

等离子水处理对马铃薯杀菌保鲜效果的影响

沈超怡¹, 吴清燕¹, 饶景珊¹, 林梦桦¹, 李江阔², 吴迪¹

(1.浙江大学 农业与生物技术学院, 杭州 310058; 2.国家农产品保鲜工程技术研究中心(天津)
天津市农产品采后生理与贮藏保鲜重点实验室, 天津 300384)

摘要: 目的 为了解决马铃薯容易感染微生物等问题, 开展基于等离子水处理的马铃薯杀菌研究。方法 以马铃薯为原料, 以马铃薯表面菌落总数为指标, 研究室温(25℃)条件下, 不同电流、水量、制备时间、处理马铃薯时间条件下制备成的等离子水对马铃薯的杀菌效果。结果 在水量为15L, 制备等离子水时间为1h, 清洗马铃薯时间为10min, 电流为6A条件下制备成的等离子水杀菌效果最好, 马铃薯表面的菌落总数(2.15 lg CFU/g)明显少于对照组(5.24 lg CFU/g)和水处理组(4.22 lg CFU/g), 且采用等离子水处理不会改变马铃薯的颜色和硬度。电镜结果表明, 等离子水可使马铃薯表面微生物的细胞破裂, 使其灭活, 但对马铃薯表皮结构没有影响。结论 研究表明采用等离子水处理方法可以有效降低马铃薯表面的微生物含量, 为马铃薯保鲜提供了一种新的物理绿色杀菌方式, 对产业应用具有一定的参考和指导作用。

关键词: 马铃薯; 等离子水; 杀菌; 品质

中图分类号: S609⁺.3; S532 **文献标识码:** A **文章编号:** 1001-3563(2019)19-0009-07

DOI: 10.19554/j.cnki.1001-3563.2019.19.002

Effect of Plasma Water Treatment on Sterilization and Preservation of Potato

SHEN Chao-yi¹, WU Qing-yan¹, RAO Jing-shan¹, LIN Meng-hua¹, LI Jiang-kuo², WU Di¹

(1.College of Agriculture and Biotechnology, Zhejiang University, Hangzhou 310058, China;

2.Technology Research Center for Preservation of Agricultural Products (Tianjin),

Tianjin Key Laboratory of Postharvest Physiology and Storage of Agricultural Products, Tianjin 300384, China)

ABSTRACT: The work aims to carry out the study on potato sterilization based on plasma water treatment, in order to solve the problem of easy infection of microorganisms in potatoes. With potatoes as the raw material, and the total number of colonies on the potato surface as the index, the bactericidal effect of plasma water prepared by different currents, water volume, preparation time and potato treatment time at 25 °C was studied. The results showed that, under the following conditions, i.e. 15 L water volume, 1 h plasma water preparation time, 10 min potato cleaning time and 6A current, the plasma water prepared had the best bactericidal effect, the total number of colonies (2.15 lg CFU/g) on the potato surface was significantly less than that of the control group (5.24 lg CFU/g) and water treatment group (4.22 lg CFU/g), and the plasma water treatment would not change the color or hardness of the potato. The results of SEM showed that, the plasma water could break the microbial cells on the surface of potato and inactivate them, but had no effect on the epidermal structure of potato. This study shows that, the plasma water treatment can effectively reduce the microbial content of potato

收稿日期: 2019-08-05

基金项目: 国家重点研发计划(2018YFD0700105); 浙江省重点研发计划(2019C02074)

作者简介: 沈超怡(1997—), 男, 浙江大学硕士生, 主攻果蔬物理杀菌保鲜。

通信作者: 吴迪(1984—), 男, 浙江大学副教授、博导, 主要研究方向为果蔬品质生物学与贮藏物流。

surface, provides a new physical green sterilization way for potato preservation and has certain reference and guidance for industrial applications.

KEY WORDS: potato; plasma water; sterilization; quality

马铃薯的淀粉和氨基酸含量较高,是膳食纤维、维生素、植物营养素和矿物质的重要来源^[1],是世界上最重要的蔬菜和粮食作物之一。我国马铃薯栽培面积和产量均为世界第一,马铃薯在我国农业生产中扮演着重要的角色,是我国第四大粮食作物,仅次于玉米、水稻和小麦^[2]。近年来,由于三大粮食作物的世界总产值趋于下降^[3],且地球人口急剧增长,粮食危机问题不容忽视,粮食在贮藏过程中易腐败,每年都会造成严重的经济损失,对农业生产造成了严重影响^[4]。田间感染是造成马铃薯贮藏期间变质腐烂的主要原因之一,会引发马铃薯的晚疫病、干腐病等^[5],对马铃薯生产造成巨大损失,由此文中拟研究马铃薯采后杀菌保鲜技术,这对解决粮食危机具有重要意义。

目前果蔬的保鲜技术不在少数,包括冷藏保鲜、气调贮藏保鲜、减压保鲜、化学处理保鲜、辐射保鲜等^[6]。这些保鲜技术在生产上发挥着重要作用,但如今的保鲜技术正朝着无毒、绿色、无残留的方向发展。气调贮藏保鲜、臭氧保鲜、化学处理保鲜等技术或多或少会面临保鲜剂残留、成本高昂、破坏果蔬营养等问题^[7],因此急需一种更高效、低成本,关键是绿色无毒的杀菌保鲜技术来弥补传统保鲜技术的不足。

非热等离子体技术是近年来用于果蔬杀菌的一种新途径,已经被证明是一种有效的杀菌保鲜手段,能有效地灭活细菌、真菌、病毒等微生物,从而达到保鲜的目的^[8]。非热等离子体技术不仅杀菌保鲜效果出色,而且可以确保果蔬安全,同时保持果蔬的香气、质地、味道、色泽等品质^[9]。非热等离子体灭活的主要作用因子是活性氧(ROS)^[10]。等离子活化水(PAW)正是非热等离子体中的一种,主要是由非热等离子体中的活性成分(即活性氧)与水反应所生成。食品工业中广泛运用的传统化学杀菌手段会对公众的健康造成风险和危害,而等离子水处理更加绿色,对环境更加友好^[11]。等离子水能有效地灭活多种微生物,人们普遍认为其杀菌活性来自于高氧化还原电位和低 pH 值的联合作用^[12]。等离子水是一种绿色杀菌保鲜技术,能够有效地消灭细菌,同时具有无污染、无毒等优点,且能保持果蔬的外观和内在品质^[13]。

文中实验以马铃薯为原料,通过正交实验设计,研究等离子水杀菌保鲜技术在不同电流、水量、制备时间、处理马铃薯时间条件下对马铃薯表面菌落总数的影响,以确定等离子水杀菌技术的最佳条件,并通过实验验证最佳条件的正确性,同时评价等离子水对

马铃薯品质的影响。

1 实验

1.1 材料与试剂

主要实验为马铃薯,购于杭州市西湖区某一菜市场。挑选大小一致、形状相似、无机械损伤、无病虫害的小马铃薯若干和大马铃薯若干,于 1 h 内运送至浙江大学紫金港校区实验室。主要试剂:PDA、PCA 培养基,浙江格陵设备科技有限公司;氯化钠,浙江同力信息科技有限公司;戊二醛、磷酸缓冲液、乙醇,国药集团化学试剂公司;饿酸, SPI-CHEM 公司。

1.2 仪器与设备

主要仪器与设备:CTE-2000KW 低温等离子试验电源和水处理反应器,由浙江大学设计,南京苏曼等离子科技有限公司制作;BSA2202S 电子天平,sartorius 公司;色差仪,上海信联创作电子有限公司;TA-XT plus 质构仪,Stable Micro Systems 公司;摇床,华立达公司;移液枪,德国 eppendorf 公司;SU8010 冷场发射扫描电子显微镜, HITACHI 公司。

1.3 方法

1.3.1 正交试验设计

选取质量为 (25 ± 1) g 的马铃薯,选用电流、水量、制备等离子水时间、处理马铃薯时间为参考因素,以马铃薯表面菌落总数为评价指标,用 $L_9(3^4)$ 正交试验对以上 4 个因素进行比较,见表 1。设置 3 个重复实验。

表 1 正交试验因素水平
Tab.1 Orthogonal test factor level

水平	因素			
	水量/L	制备时间/h	处理时间/min	电流/A
1	15	0.5	5	2
2	20	1	10	4
3	25	1.5	15	6

1.3.2 马铃薯处理

用低温等离子试验电源和水处理反应器制备等离子水。在室温条件下,将单个质量为 (25 ± 1) g 的马铃薯置于等离子水中,使等离子水没过马铃薯,在整个处理过程中用洁净的刷子轻轻地洗刷马铃薯表面。

处理时条件按照正交试验表设置。

1.3.3 CFU（菌落形成单位）计数法

将处理好的马铃薯置于 225 mL 质量分数为 0.85%的氯化钠溶液中，置于摇床中摇晃 3 min。用移液枪吸取 100 μL 原液，分别稀释 10，100，1000 倍，共 3 个梯度。吸取各梯度的稀释液 100 μL，在无菌 PCA 培养基上涂布均匀，在 37 ℃培养箱中培养 48 h 后进行平板菌落计数。根据稀释倍数得出各组马铃薯表面的菌落总数^[14]。

1.3.4 验证试验

根据 CFU 计数结果进行正交试验结果分析，找到等离子水杀菌技术的最优条件，并在此条件下对相同质量马铃薯进行处理（步骤同 1.3.2 节）。将处理完的马铃薯、未处理的马铃薯、清水处理的马铃薯进行 CFU 计数；同时将稀释液涂布于无菌 PDA 培养基上，于 72 h 后观测培养基表面菌落的生长状况。将处理后的马铃薯放于清洁消毒过的筐内，在温度为 10 ℃、相对湿度为 90%的条件下进行贮藏。对马铃薯进行色差测定、硬度测定。对等离子水处理的马铃薯和清水处理的马铃薯进行扫描电镜分析。

1.3.5 品质测定

- 1）色差测定。处理完后每隔 3 d，用色差计对每组 8 个马铃薯的表面颜色进行了测定，记录 L^* ， a^* ， b^* 值，计算色调角 θ ， $\theta=\arctan(b^*/a^*)$ ；计算色度 C ， $C=(a^{*2}+b^{*2})^{0.5}$ ；计算红葡萄颜色指数 CIRG(The color index of red grapes) $= (180-\theta)/(L+C)$ ，用于检测马铃薯的颜色差异^[15]。每个马铃薯取对侧面 2 次读数。
- 2）硬度测定。处理完后每隔 3 d，用质构仪对每组 8 个马铃薯的硬度进行了测定，测定前用小刀去除马铃薯对侧面的表皮，每个马铃薯取 2 次读数。所

用探针直径为 5 mm，穿透深度为 10 mm。硬度单位为 $N^{[16]}$ 。

1.3.6 扫描电镜（SEM）

切下一小块用清水处理和等离子水处理后的马铃薯表皮，置于体积分数为 2.5%戊二醛溶液中固定，在温度为 4 ℃的冰箱内放置 4 h，然后用磷酸缓冲溶液漂洗 3 次（每次 15 min）。之后在锇酸溶液中放置 15 min，然后再次用磷酸缓冲溶液漂洗 3 次（每次 15 min）。然后在一系列不同体积分数的乙醇溶液（30%，50%，70%，80%，90%，95%，100%）中进行脱水处理，前 5 种浓度处理 15 min，后 2 种浓度处理 20 min。对样品进行临界点干燥。在此之后，将样品固定，在真空发射皿中镀膜。用扫描电镜在 15 kV 时进行观测。

1.4 数据处理

采用 Spss 20 软件一般线性模型中的单变量对正交试验方差进行分析，用 Duncan 对菌落总数、色差和硬度进行差异显著性分析。用 Origin 9.0 软件进行作图。

2 结果与分析

2.1 正交试验结果分析

以处理马铃薯时间为误差列，得到方差分析表，见表 2—3。从方差分析和极差分析结果来看，4 个因素中影响最大的是制备等离子水时的水量，其次是电流和制备等离子水的时间，这两者的影响差距不大，而处理马铃薯时间对杀菌效果影响最小。根据正交试验结果分析得出最优的条件为 $A_1B_2C_2D_3$ ，即水量为 15 L，水制备时间为 1 h，处理马铃薯时间为 10 min，电流为 6 A。

表 2 正交试验结果分析
Tab.2 Orthogonal test result analysis

试验组别	水量/L	制备等离子水时间/h	处理时间/min	电流/A	菌落总数/(lg CFU/g)
A	1	1	1	1	3.20±0.17
B	1	2	2	2	2.53±0.65
C	1	3	3	3	3.07±0.07
D	2	1	2	3	2.82±0.71
E	2	2	3	1	3.35±0.14
F	2	3	1	2	3.38±0.15
G	3	1	3	2	3.84±0.19
H	3	2	1	3	3.02±0.17
I	3	3	2	1	4.03±0.03
K_1	2.93	3.29	3.20	3.53	
K_2	3.18	2.97	3.13	3.25	
K_3	3.63	3.49	3.42	2.97	
R	0.70	0.52	0.29	0.56	

注：K 为菌落总数，R 为极差

表3 正交试验结果方差分析
Tab.3 Anova of orthogonal test results

源	III型平方和	自由度	均方	F	显著性
校正模型	1.635a	6	0.272	3.897	0.218
截距	94.998	1	94.998	1358.833	0.001
电流	0.465	2	0.232	3.324	0.231
水量	0.747	2	0.374	5.345	0.158
制备时间	0.422	2	0.211	3.022	0.249
误差	0.140	2	0.070		
总计	97.662	9			
校正的总计	1.774	8			

注：拟合优度 $R^2=0.921$ （校正 $R^2=0.685$ ）

2.2 微生物分析

分布在马铃薯表面的微生物包括细菌类和真菌类微生物，它们通常是对人体健康造成危害的主要原因，也是导致马铃薯变质腐败的主要原因。由此，采用CFU法对不经处理、清水处理和最优条件下产生的等离子水处理后的马铃薯进行评价。由图1（图中字母表示各组之间差异显著）可知，未经处理的马铃薯表面菌落总数为5.24 lg CFU/g，经清水处理过的马铃薯表面菌落总数为4.22 lg CFU/g，经等离子水处理后的马铃薯表面菌落总数为2.15 lg CFU/g，差异性显著（ $P \leq 0.05$ ）。该条件下产生的等离子水杀菌效果最好，与正交试验预测结果一致，可以确定该条件为等离子水生产工艺的最佳条件。此外，由图2可以清楚地看到，等离子水处理后的马铃薯表面真菌数量远远少于清水处理后的马铃薯，说明等离子水具有优越的杀菌作用。

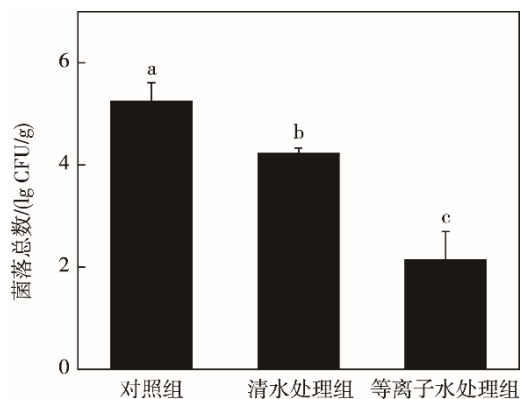


图1 不同处理后马铃薯表面菌落数

Fig.1 Number of colonies on potato surface after different treatments

2.3 清洗结果分析

由于马铃薯生长在地下，因此市面上的马铃薯表面均附着有泥土。将选用的大马铃薯分别用清水和等离子水清洗5 min，等离子水与清水的去泥效果一致，都可清洗掉马铃薯表面附着的泥土，见图3。

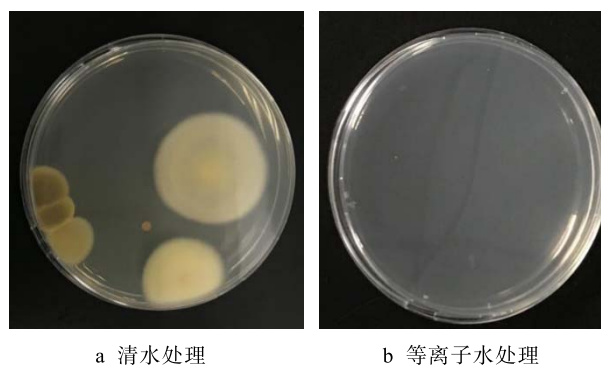


图2 马铃薯采用清水处理和等离子水处理后表面真菌和酵母数量

Fig.2 Number of surface fungi and yeast of potato after water treatment and plasma water treatment



图3 清水清洗和等离子水清洗前后对比

Fig.3 Comparison before and after clean water cleaning and plasma water cleaning

2.4 品质结果分析

2.4.1 色差分析

马铃薯的颜色也是影响消费者购买的一个重要品质。由图 4（图中字母表示各组之间差异显著）可知，在等离子水处理完的 12 d 贮藏时间内，只有第 6 天时马铃薯的颜色与对照组并无显著差异。由此可知，等离子水处理对马铃薯的颜色并无影响。

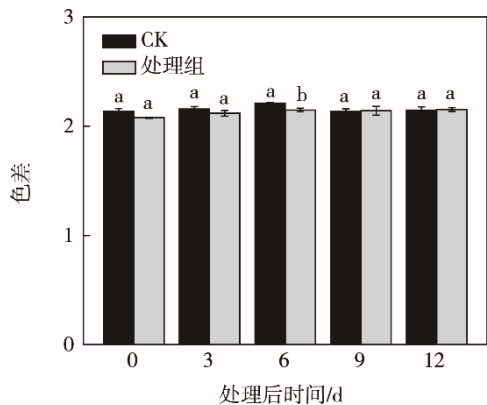


图 4 色差变化
Fig.4 Color difference change

2.4.2 硬度分析

硬度是评价果蔬品质最常见的物理指标之一。马

铃薯在贮藏过程中硬度会降低，这是由于受到微生物感染所致。由图 5（图中字母表示各组之间差异显著）可知，在整个贮藏过程中，马铃薯的硬度并无显著变化，且处理组与对照组也无显著差异。

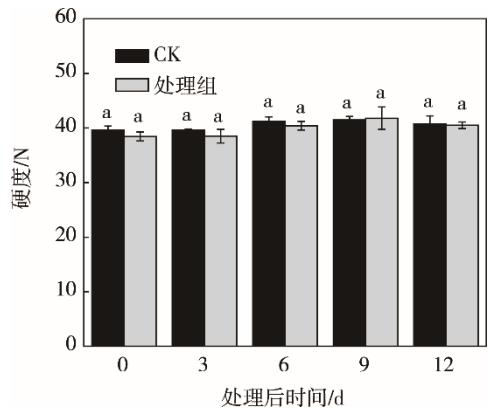


图 5 硬度变化
Fig.5 Hardness change

2.5 扫描电镜分析

用扫描电镜观察了马铃薯经等离子水处理后表面形态和微生物形态的变化，见图 6。清水处理后马铃薯表面的微生物形态完整。经过等离子水处理后，微生物细胞呈不规则形，细胞皱缩。通过比较发现，

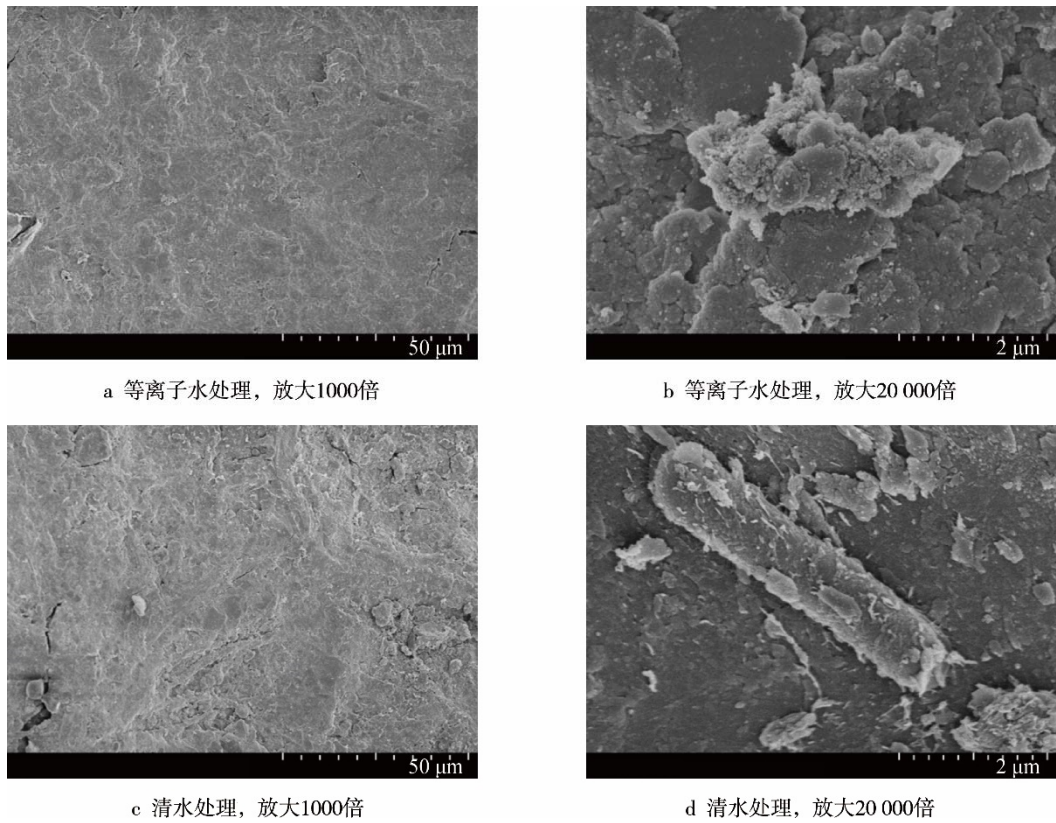


图 6 马铃薯采用等离子水处理和清水处理后的扫描电镜图
Fig.6 SEM images of potato treated with plasma water and clean water

等离子水处理与清水处理后的马铃薯表面形态非常相似,没有差异。推测等离子水通过使微生物细胞破裂达到灭活效果,因而不破坏马铃薯本身的结构。

3 结语

通过改变电流、水量、制备等离子水时间、处理马铃薯时间等因素,尝试探究了等离子水处理的最佳杀菌效果。试验结果表明,等离子水处理可以有效降低马铃薯表面的微生物含量,其中水量对等离子水杀菌效果影响最大,其次是电流,再其次是制备等离子水时间,影响最小的是清洗马铃薯的时间。最佳参数:水量为15 L,制备等离子水时间为1 h,清洗马铃薯时间为10 min,电流为6 A,在此条件下的菌落总数为2.15 lg CFU/g。等离子水清洗马铃薯与清水清洗马铃薯都可以有效地清洗掉马铃薯表面的泥土。等离子水处理不会影响马铃薯的表皮结构、硬度和颜色。等离子水作为一种新兴的物理绿色杀菌保鲜手段,效率高、污染小、对马铃薯品质影响小,有很大的应用前景。

致谢:感谢浙江大学动物科学学院黄凌霞老师提供的微生物检测平台。

参考文献:

- [1] 刘刚,曾凡逵,许丹.马铃薯营养综述[J].中国马铃薯,2015,29(4):233—243.
LIU Gang, ZENG Fan-kui, XU Dan. Potato Nutrition: a Critical Review[J]. Chinese Potato Journal, 2015, 29(4): 233—243.
- [2] 杨雅伦,郭燕枝,孙君茂.我国马铃薯产业发展现状及未来展望[J].中国农业科技导报,2017,19(1):29—36.
YANG Ya-lun, GUO Yan-zhi, SUN Jun-mao. Present Status and Future Prospect for Potato Industry in China[J]. Journal of Agricultural Science and Technology, 2017, 19(1): 29—36.
- [3] 屈冬玉,谢开云,金黎平,等.中国马铃薯产业发展与食物安全[J].中国农业科学,2005,38(2):358—362.
QU Dong-yu, XIE Kai-yun, JIN Li-ping, et al. Development of Potato Industry and Food Security in China[J]. Scientia Agricultura Sinica, 2005, 38(2): 358—362.
- [4] 田甲春,田世龙,葛霞,等.马铃薯贮藏技术研究进展[J].保鲜与加工,2017(17):108—112.
TIAN Jia-chun, TIAN Shi-long, GE Xia, et al. Research Advances on Storage Technology of Potato[J]. Storage and Process, 2017(17): 108—112.
- [5] 袁晶,李梅.马铃薯采后贮藏防腐保鲜技术研究现状与发展趋势[J].农业科技通讯,2014(4):12—14.
YUAN Jing, LI Mei. Research Status and Development Trend of Preservation and Preservation Technology of Potato Postharvest Storage[J]. Bulletin of Agricultural Science and Technology, 2014(4): 12—14.
- [6] 黄承丽.果蔬保鲜技术进展探索[J].现代园艺,2013(18):41—42.
HUANG Cheng-li. Exploration on the Progress of Fruit and Vegetable Preservation Technology[J]. Xiandai Horticulture, 2013(18): 41—42.
- [7] 任翠荣,刘金光,王世清,等.常压低温等离子体处理对草莓保鲜效果的影响[J].青岛农业大学学报:自然科学版,2017(3):228—234.
REN Cui-rong, LIU Jin-guang, WANG Shi-qing, et al. Effect of Strawberry Preservation by Atmospheric Pressure Low Temperature Plasma[J]. Journal of Qingdao Agricultural University(Natural Science), 2017(3): 228—234.
- [8] MA R, YU S, TIAN Y, et al. Effect of Non-Thermal Plasma-Activated Water on Fruit Decay and Quality in Postharvest Chinese Bayberries[J]. Food and Bioprocess Technology, 2016, 9(11): 1825—1834.
- [9] PANKAJ SK, BUENOF C, MISRA NN, et al. Applications of Cold Plasma Technology in Food Packaging[J]. Trends in Food Science & Technology, 2014, 35(1): 5—17.
- [10] GRAVES DB. The Emerging Role of Reactive Oxygen and Nitrogen Species in Redox Biology and Some Implications for Plasma Applications to Medicine and Biology[J]. Journal of Physics D: Applied Physics, 2012, 45(26): 263001.
- [11] XU Y, TIAN Y, MA R, et al. Effect of Plasma Activated Water on the Postharvest Quality of Button Mushrooms, Agaricus bisporus[J]. Food Chemistry, 2016, 197(Pt A): 436—444.
- [12] TIAN Y, MA R, ZHANG Q, et al. Assessment of the Physicochemical Properties and Biological Effects of Water Activated by Non-thermal Plasma Above and Beneath the Water Surface[J]. Plasma Processes and Polymers, 2015, 12(5): 439—449.
- [13] 孙艳,张志伟,王世清.常压低温等离子体对黄瓜表面大肠杆菌杀菌效果及品质的影响[J].粮油食品科技,2018,26(1):61—67.
SUN Yan, ZHANG Zhi-wei, WANG Shi-qing. Effect of Atmospheric Pressure Low Temperature Plasma on Sterilization Rate of Escherichia Coli on Sliced Cucumber Surface and Quality Attributes[J]. Science and Technology of Cereals, Oils and Foods, 2018, 26(1): 61—67.

- [14] GB 4789.2—2016, 食品安全国家标准 食品微生物学检验 菌落总数测定[S].
GB 4789.2—2016, Food Safety National Standards Food microbiology Testing Total Number of Bacterial Colonies[S].
- [15] 赵丽霞, 张瑞峰, 何静, 等. 质检辐照处理对竹材颜色的影响研究[J]. 林业科技通讯, 2015(12): 53—56.
ZHAO Li-xia, ZHANG Rui-feng, HE Jing, et al. Study on the Influence of Quality Inspection Irradiation on Bamboo Color[J]. Forest Science and Technology, 2015(12): 53—56.
- [16] 康孟利, 叶珂欣, 宣晓婷, 等. 鲜食马铃薯货架期与品质保持关键技术研究[J]. 食品研究与开发, 2017, 38(22): 213—218.
KANG Meng-li, YE Ke-xin, XUAN Xiao-ting, et al. Study on Key Technology of Shelf Life and Quality Preservation of Fresh Potato[J]. Food Research and Development, 2017, 38(22): 213—218.