

响应曲面法优化酸性电解水对鲜切苹果杀菌效果的影响

于晓霞, 李燕*, 王婷婷, 宋星

(上海海洋大学 食品学院, 上海 201306)

摘要: 以微生物减菌率为评价指标, 在单因素试验的基础上, 采用中心组合设计法, 研究 NaCl 质量浓度、处理温度、处理时间, 以及料液比对接种金黄色葡萄球菌、大肠杆菌、沙门氏菌和单增细胞李斯特菌的鲜切苹果杀菌效果的影响。响应面分析结果表明, 鲜切苹果减菌工艺最优条件为: NaCl 质量浓度 4.5 g/L, 处理温度 25 ℃, 处理时间 6.45 min, 液料比 6:1(mL/g), 在此条件下经处理后细菌总数由 1.14×10^5 CFU/g 降为 9.3×10^3 CFU/g, 减菌率可达 91.84%。同时, 该处理对鲜切苹果的 pH 值和可溶性固形物影响不大, 且能较好地抑制维生素 C 的降解及其表面的褐变。

关键词: 鲜切苹果; 响应曲面法; 中心组合设计; 工艺优化

中图分类号: TS201.6 **文献标志码:** A **文章编号:** 1673—1689(2015)06—0653—07

Response Surface Methodology for Optimization of Sterilization Effect on Fresh-Cut Apple Treated with Acidic Electrolyzed Water

YU Xiaoxia, LI Yan, WANG Tingting, SONG Xing

(College of Food Science and Technology, Shanghai Ocean University, Shanghai 201306, China)

Abstract: The sterilization effect of acidic electrolyzed water on fresh-cut apple against *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *salmonella* and *Listeria monocytogenes* cells was studied by response surface methodology and a central composite design with one-factor-at-a-time. Studied variables of NaCl concentration, time, temperature and solid-liquid ratio were selected for the determination of optimal conditions with bactericidal ability evaluated. The optimal conditions were found to be as follows: 6 : 1 liquid-solid ratio (mL/g) and 4.5 g/L NaCl treated under 25 ℃ for 6.45 min. Under these conditions, the total bacteria count was reduced from 1.14×10^5 CFU/g to 9.3×10^3 CFU/g and the reduction rate of bacteria was up to 91.84%. Moreover, this treatment slightly affected the pH value and the soluble solid contents of fresh-cut apples, while effectively inhibited the degradation of vitamin c and provided surface browning control.

Keywords: fresh-cut apple, response surface methodology, central composite design, optimization

鲜切果蔬又名半处理果蔬或轻度加工果蔬, 是对新鲜果蔬进行分级、整理、清洗、切分、保鲜、包装

等处理, 并使产品保持生鲜状态的制品。消费者购买这类产品后, 不需要作进一步的处理, 可直接食

收稿日期: 2014-05-28

基金项目: 上海市科委工程中心建设项目(11DZ2280300)

*通讯作者: 李燕(1965-), 女, 天津人, 工学硕士, 教授, 主要从事生物活性物质的提取及应用, 以及食品应用化学的研究。

E-mail: liyan@shou.edu.cn

用或烹饪。随着现代生活节奏的加快和生活水平的提高,人们对果蔬消费的需求越来越高,鲜切果蔬以其新鲜、方便、营养丰富和无公害等特点,近年来在欧美和日本等一些国家发展很快,在我国也开始受到关注^[1]。然而,由于果蔬组织内的营养汁液大量外流,给微生物的生长与繁殖提供了良好的环境条件,以致鲜切果蔬表面微生物大量滋生而引起腐败^[2]。近年来,鲜切水果常与大肠杆菌 O157:H7 和沙门氏菌等引起的食源性疾病联系起来^[3-5]。有研究表明,在未冷藏或 10℃ 以上的储存环境下,大肠杆菌 O157:H7、沙门氏菌和单增细胞李斯特菌能在水果组织中生长,比如苹果^[3,6-7]。因此,如何在加工过程中有效减少微生物污染,最大限度保持产品的安全性与品质,延长货架期,一直是鲜切果蔬加工中的关键性难题^[8]。用消毒剂清洗产品是鲜切果蔬生产链中减少腐败菌以及潜在病原菌的唯一途径^[9-10]。目前,鲜切果蔬加工过程中常用的消毒剂有臭氧^[11]、双氧水^[12]和含氯制剂^[13]等。双氧水属于低毒杀菌剂,使用量如果不当会对人体产生潜在的致癌性;臭氧虽能有效杀菌,但因为存在着残留物发生氧化反应产生副产物的可能,其使用一直存在质疑;含氯制剂因其对设备的腐蚀性及存在余氯残留的危害,使用也受到一定限制^[14]。

酸性电解水(acidic electrolyzed water, AEW)是由电解法产生的一种新型杀菌剂,相较于传统的消毒剂,具有杀菌能力强、杀菌范围广、无污染、无残留、对人体安全、制取方便、价格低廉等特点,近年来得到了越来越广泛的关注^[15]。至今,酸性电解水作为消毒剂已广泛应用于研究以及实际生产中^[16]。已有不少研究表明,酸性电解水能有效地减少或消除鲜切果蔬中的食源性病菌^[17-21]。响应曲面法(response surface methodology, RSM)是统计、设计、试验技术的合成,采用合理的试验设计,能以最经济的方式,以很少的试验数量和时间对实验进行全面研究,它可以有效快速地确定多因子系统的最佳条件,该法已经广泛地应用于各类条件优化实践中^[22-23]。

本文主要报道的是酸性电解水对鲜切苹果的杀菌工艺。在单因子试验的基础上,对影响减菌率的各因子 NaCl 质量浓度、处理时间、处理温度、液料比等进行了初步探究,再借助试验设计软件 Design Expert(version 8.0.6),采用响应曲面法的中心组合设计(Central composite design, CCD),对各影响因子

间的单一和交互作用等进行了较深入的研究,并优化出最佳的减菌工艺参数。

1 材料与amp;方法

1.1 材料与试剂

1.1.1 菌种 金黄色葡萄球菌 ATCC 6538、大肠杆菌 ATCC 25922、沙门氏菌 ATCC14028 和单增李斯特菌 ATCC 19115,菌株均为上海海洋大学食品学院保存菌株。以该4种常见的食源性致病菌的混合菌悬液模拟鲜切苹果在流通过程中可能存在的细菌残留情况。

1.1.2 培养基、试剂和设备 胰蛋白胨大豆肉汤(TSB)、胰蛋白胨大豆琼脂(TSA),购自北京陆桥技术有限责任公司;NaCl 为分析纯,购于国药集团化学试剂有限公司。

FW-200型强 AEW 生成器,日本 AMANO 公司制造;SW-CJ-2F 超净工作台,苏州净化设备有限公司制造;pH/ORP 测定仪,梅特勒-托利多仪器(上海)有限公司制造;JT-B 匀浆仪,漯河市金田实验设备研究所研制;SX-500 型高压灭菌锅,上海田源生物技术有限公司制造;QYC-2102C 全温培养摇床,上海沪粤明科学仪器有限公司制造;PYX-DHS 恒温培养箱,上海跃进医疗器械厂制造;还有移液枪等日常用工具。

1.2 方法

1.2.1 微生物总数测定 采用 GB 4789.2-2010《食品卫生微生物学检验:菌落总数测定》方法进行测定^[24]。

$$Y = \frac{V - V_1}{V} \times 100\% \quad (1)$$

式(1)中:Y 为减菌率/%;V 为空白处理的苹果切片微生物菌落总数/(CFU/g);V₁为酸性电解水浸泡处理的苹果切片微生物菌落总数/(CFU/g)。

1.2.2 酸性电解水的制备 采用二槽隔膜电解水装置,通过调解电压、电流、电解时间、电解液浓度等参数制得电解水。本实验通过配置不同质量浓度 NaCl 溶液电解 15 min 制得不同浓度酸性电解水。酸性电解水的物理指标包括:pH、氧化还原电位(ORP)和有效氯质量浓度(ACC)。其中 pH 和 ORP 由 pH/ORP 测定仪测得,ACC 采用碘量法滴定。本实验所用酸性电解水的指标范围为 pH 2.32~2.57, ORP 1125~1188 mV, ACC 58~134 mg/L。

1.2.3 菌液的制备 将 50 μL 甘油保藏的金黄色葡

萄球菌、大肠杆菌、沙门氏菌和单增李斯特菌分别接种到 5 mL 灭菌 TSB 上, (36±1)℃ 和 150 r/min 摇床培养(24±1) h 活化, 活化后取 4 种菌各 1 mL 于试管中混合, 即为混合菌悬液, 菌液浓度为 8~9 lg CFU/mL。

1.2.4 样品制备及样品表面接种 苹果购自上海海洋大学共享区, 品种为红富士, 使用前于 4℃ 下贮藏。使用时去皮去核, 用无菌刀于超净工作台内切取(10±1)g 苹果, 待其温度恢复至室温后, 正反面紫外照射杀菌各 15 min。将上述菌悬液用 1 mL 移液枪滴加到苹果切片表面 0.5 mL, 15 min 后再滴加到另一侧 0.5 mL, 于超净台放置 30 min 使细菌吸附在苹果切片表面。苹果切片最终菌落数约为 4~5 lg CFU/g。

1.2.5 NaCl 质量浓度单因素试验 取上述接种过的苹果切片, 分别于 8 倍体积预热至 30℃ 的 1、2、3、4、5 g/L 和 6 g/L NaCl 产生的酸性电解水中浸泡 5 min 后取出, 放入含质量分数 0.85% 无菌生理盐水 90 mL 的无菌匀浆仪中均质 1 min, 然后选择合适稀释度用质量分数 0.85% 无菌生理盐水进行稀释。取 1 mL 的稀释液于无菌平皿内, 并将 15~20 mL 冷却至 46℃ 的 TSA 培养基倾注平皿, 混合均匀, 于(36±1)℃ 培养(24±1) h 后计算菌落数。每个处理均做 2 个平行样本, 每个稀释度重复 2 次。同时以不经任何处理的苹果切片作为减菌试验的空白对照, 计算减菌率。

1.2.6 处理温度单因素试验 取上述接种过的苹果切片, 分别于 8 倍体积预热至 10、20、30、40、50℃ 和 60℃ 的 1 g/L NaCl 产生的酸性电解水中, 浸泡 5 min 后取出, 然后分别进行菌落总数测定(方法同 2.2.4), 同时以不经任何处理的苹果切片作为减菌试验的空白对照, 计算减菌率。

1.2.7 处理时间单因素试验 取上述接种过的苹果切片, 分别于 8 倍体积预热至 30℃ 的 1g/L NaCl 产生的酸性电解水中, 分别处理 3、5、7、9、11、13 min 后取出, 然后分别进行菌落总数测定, 同时以不经任何处理的苹果切片作为减菌试验的空白对照, 计算减菌率。

1.2.8 液料比单因素试验 取上述接种过的苹果切片, 分别于 4、8、12、16、20 和 24 倍体积预热至 30℃ 的由 1 g/L NaCl 产生的酸性电解水中浸泡 5 min 后取出, 然后分别进行菌落总数测定, 同时以不经任何处理的苹果切片作为减菌试验的空白对照, 计算减菌率。

1.2.9 响应曲面法试验设计 在单因素试验的基础

上, 根据 Design Expert 软件中的中心组合试验设计原理, 对 NaCl 质量浓度、处理时间、处理温度和液料比 4 个因素设计响应曲面试验以确定最优的减菌工艺。以减菌率为响应值, 自变量为 NaCl 质量浓度、处理时间、处理温度、液料比, 分别以 X_1 、 X_2 、 X_3 和 X_4 来表示, 并以 +1、0、-1 分别代表变量的水平, 按方程

$$x_i = (X_i - X_0) / \Delta X \quad (2)$$

对自变量进行编码, 式(2)中 x_i 为自变量的编码值, X_i 为自变量的真实值, X_0 为实验中心点处自变量的真实值, ΔX 为自变量的变化步长。因素编码及各自变量水平见表 1。

表 1 试验因素水平及编码

Table 1 Variables and experimental design levels for response surface

水平	因素			
	X_1 NaCl 质量浓度/ (g/L)	X_2 处理 温度/℃	X_3 处理时间/ min	X_4 液料比/ (mL/g)
-2	3	10	3	4
-1	3.5	15	5	6
0	4	20	7	8
+1	4.5	25	9	10
+2	5	30	11	12

2 结果与分析

2.1 单因素试验

2.1.1 NaCl 质量浓度的选择 由图 1 可见, 随着 NaCl 质量浓度增加, 苹果切片减菌率逐渐增大, 当 NaCl 质量浓度大到 4 g/L 后, 减菌率增加缓慢且曲线趋于平坦。由于高质量浓度 NaCl 所产生的酸性电解水具有较高的 ACC, 从而可能会对苹果切片的品质造成一定的影响。综合考虑成本、减菌效果和产品质量, 选择 NaCl 溶液质量浓度为 4 g/L。

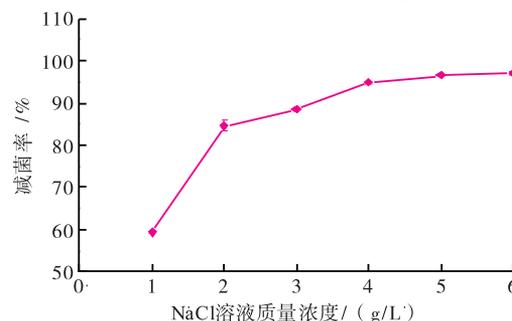


图 1 NaCl 溶液质量浓度对减菌率的影响

Fig.1 Effects of bacteria reduction of NaCl mass concentration

2.1.2 处理温度的选择 由图2可见,随着处理温度的增加,苹果切片减菌率迅速增加,当温度大于20℃后,减菌率稍微下降,但当温度大于40℃后减菌率又有所上升,这可能是温度过高导致细菌部分失活,从而导致减菌率增加。考虑到高温会影响到苹果本身的感官品质,因而选择处理温度20℃比较合适。

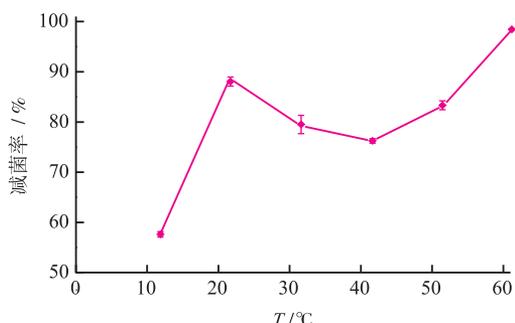


图2 处理温度对减菌率的影响

Fig.2 Effects of bacteria reduction of treatment temperature

2.1.3 处理时间的选择 由图3可知,在处理时间7 min内,苹果切片减菌率增加明显,但随着处理时间继续延长,苹果切片减菌率增加趋于平缓。因此,选择浸泡时间7 min比较合适。

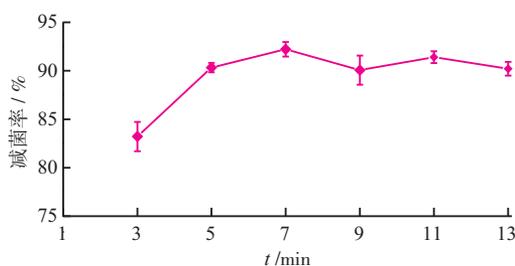


图3 处理时间对减菌率的影响

Fig.3 Effects of bacteria reduction of treatment time

2.1.4 液料比的选择 由图4可以看出,液料比的增加对苹果减菌率有明显的效果,在液料比为8:1 (mL/g)时减菌率基本上达到最大值,之后随着液料比的继续增加,减菌率又略有下降,但不明显,这可能是苹果切片与酸性电解水的接触面积有限,从而一定程度上限制了减菌的效果。

2.2 响应面试验结果与分析

2.2.1 试验结果 综合考虑各种因素对减菌率的影响,采用中心组合设计(CCD)对减菌工艺进行四因素优化试验设计,试验结果见表2。

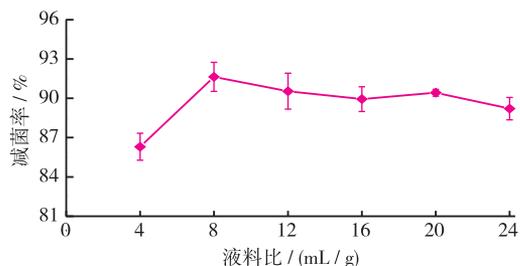


图4 液料比对减菌率的影响

Fig.4 Effects of bacteria reduction of solid-liquid ratio

表2 CCD试验设计及响应值的实测和预测值

Table 2 CCD design matrix along with the experimental and predicted values of Y

试验组	X ₁	X ₂	X ₃	X ₄	真实值/%	预测值/%
1	3.5	15	5	6	87.92	87.60
2	4.5	15	5	6	92.98	91.83
3	3.5	25	5	6	89.20	88.39
4	4.5	25	5	6	91.83	91.21
5	3.5	15	9	6	89.74	88.70
6	4.5	15	9	6	88.37	88.27
7	3.5	25	9	6	90.81	91.43
8	4.5	25	9	6	90.09	89.60
9	3.5	15	5	10	82.88	82.34
10	4.5	15	5	10	88.83	87.75
11	3.5	25	5	10	87.36	87.00
12	4.5	25	5	10	91.01	91.01
13	3.5	15	9	10	83.44	83.60
14	4.5	15	9	10	84.58	84.36
15	3.5	25	9	10	90.09	90.21
16	4.5	25	9	10	89.69	89.56
17	3	20	7	8	87.74	88.08
18	5	20	7	8	90.51	91.66
19	4	10	7	8	87.74	89.14
20	4	30	7	8	95.04	95.13
21	4	20	3	8	76.27	77.96
22	4	20	11	8	77.81	77.61
23	4	20	7	4	94.86	96.07
24	4	20	7	12	90.48	90.77
25	4	20	7	8	90.84	90.13
26	4	20	7	8	89.46	90.13
27	4	20	7	8	89.08	90.13
28	4	20	7	8	91.21	90.13
29	4	20	7	8	89.86	90.13
30	4	20	7	8	90.33	90.13

2.2.2 模型的建立及其显著性检验 利用 Design Expert 软件,通过表2中试验数据进行多元回归拟合,获得减菌率对编码自变量 NaCl 质量浓度、处理温度、处理时间、液料比的二次多元回归方程:

$$Y = 50.30104 + 124.51667X_1 - 1.05567X_2 + 14.36625X_3 - 7.14208X_4 - 1.40500X_1X_2 - 11.65000X_1X_3 + 2.96250X_1X_4 + 0.048500X_2X_3 + 0.096875X_2X_4 + 0.010000X_3X_4 - 25.83333X_1^2 + 0.020067X_2^2 - 0.77146X_3^2 + 0.20542X_4^2 \quad (3)$$

从该模型的方差分析(表3)可见,本试验所选用的二次多项模型具有高度的显著性($P_{\text{model}} < 0.01$),而失拟项不显著($P = 0.2198 > 0.05$)。且模型的复相关系数 R^2 为 96.59%, 大于 90%, 说明回归方程的拟合程度很好, 试验误差小, 不存在模型拟合不足的情况, 因此该响应面能够较真实地反映试验结果。

表3 二次回归模型的方差分析结果

Table 3 Variance analysis for the fitted quadratic polynomial

方差来源	平方和	自由度	均方	F 值	Prob > F
模型	483.143 4	14	34.510 2	30.31	< 0.000 1
失拟项	13.745 6	10	1.374 5	2.06	0.219 8
纯误差	3.334 8	5	0.667		
总和	500.223 6	29			
					$R^2 = 0.9659$ $R^2_{\text{Adj}} = 0.9340$

2.2.3 苹果切片减菌率的响应面分析与优化 根据回归模型作出相应的响应面和等高线, 见图5—7。当处理时间为 7 min, 液料比为 8:1(mL/g) 时,

NaCl 溶液质量浓度和处理温度对减菌率的影响见图5。可以看出, 随着 NaCl 溶液质量浓度、处理温度的增大, 减菌率也不断增加。当温度为 20 °C, 液料比为 8:1(mL/g) 时, NaCl 溶液质量浓度和处理时间对减菌率的影响见图6。可知, 随着 NaCl 溶液质量浓度的增加, 减菌率不断增加。在处理时间 5~7 min 的范围内, 减菌率不断增加, 之后随着处理时间的延长, 减菌率有下降的趋势。

当 NaCl 溶液质量浓度为 4 g/L, 处理时间为 7 min 时, 处理温度和液料比对减菌率的影响见图7。从图7可以看出, 处理温度 15~25 °C 的范围内减菌率变化不太明显。而液料比 6:1~10:1(mL/g) 的范围内, 减菌率则是逐渐较少。

通过软件分析, 得到苹果切片杀菌的最佳条件为 NaCl 溶液质量浓度 4.5 g/L, 处理温度 25 °C, 处理时间 6.45 min, 液料比 6:1(mL/g), 在此条件下减菌率的理论值为 93.54%。在此优化条件下进行 3 次平行实验, 得到的实际平均减菌率为 91.84%, 其相对误差不到 1%, 因此基于响应曲面法所得的优化减菌工艺参数准确可靠, 得到的鲜切苹果减菌条件具有实际应用价值。

2.3 酸性电解水处理对鲜切苹果品质的影响

将 4.5 g/L NaCl 电解得到的 AEW 与自来水对样品的处理结果作比较, 同时以未处理组为空白, 于 25 °C 下, 以 6:1(mL/g) 的液料比浸泡鲜切苹果 6.45 min, 测定各处理后鲜切苹果的 pH 值、可溶性固形物含量和维生素 C 含量, 其结果见表4。

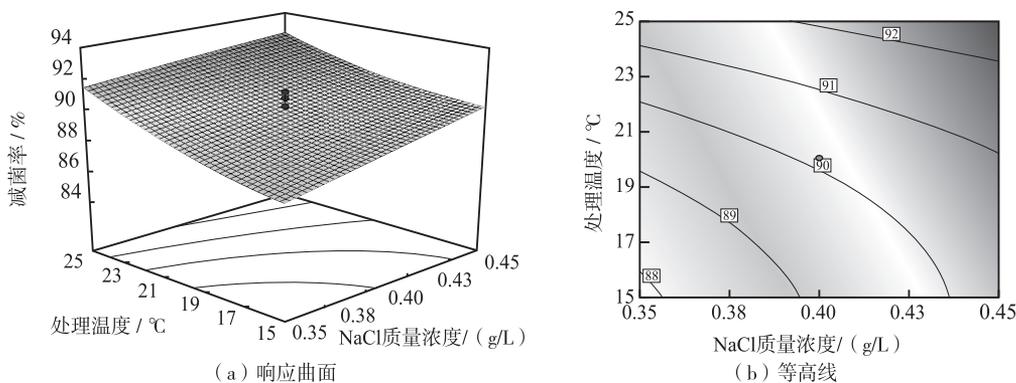


图5 NaCl 溶液质量浓度和处理温度对减菌率影响的响应面图和等高线图

Fig.5 Response surface plot and contour plot describing the interactive effect of NaCl mass concentration and treatment temperature on bacteria deduction

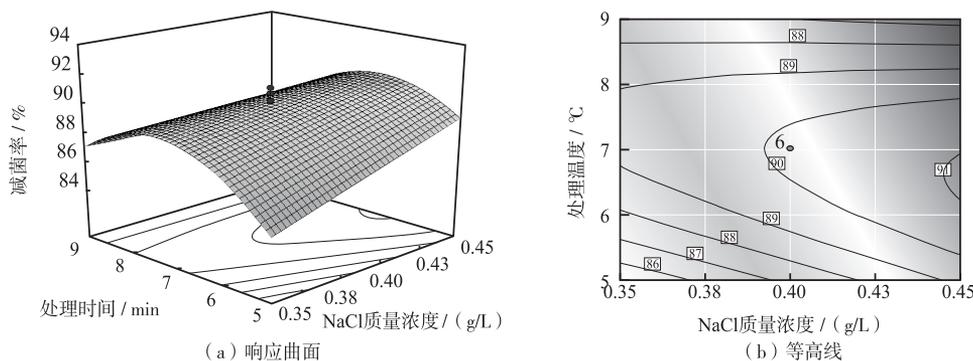


图6 NaCl溶液质量浓度和处理时间对减菌率影响的响应面图和等高线图

Fig.6 Response surface plot and contour plot describing the interactive effect of NaCl mass concentration and treatment time on bacteria deduction

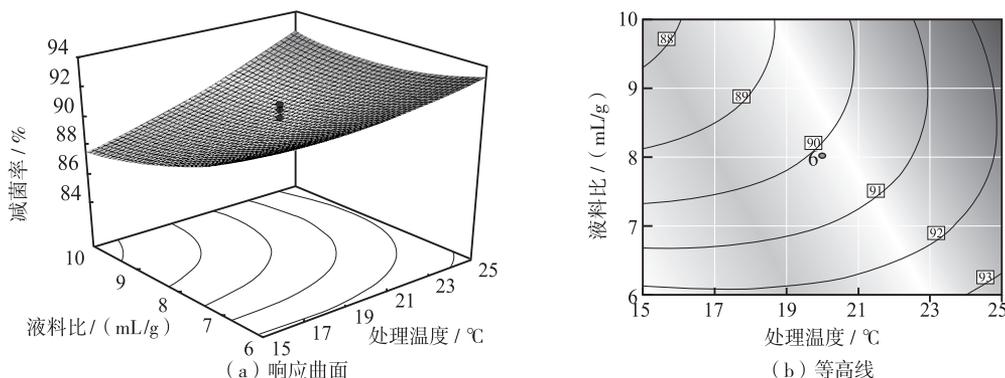


图7 处理温度和液料比对减菌率影响的响应面图和等高线图

Fig.7 Response surface plot and contour plot describing the interactive effect of treatment temperature and solid-liquid ratio on bacteria deduction

表4 不同清洗方式对苹果品质的影响

Table 4 Effects of different washing methods on the quality of fresh-cut apples

指 标	空白	自来水	AEW
pH	4.21±0.14	4.32±0.02	4.18±0.01
可溶性固形物质量分数/%	13.5±0.35	11.24±0.01	11.28±0.04
VC质量分数/(mg/hg)	1.62±0.26	2.27±0.25	2.64±0.20

由表4可知, AEW处理后, 鲜切苹果的pH值与空白组相差不大, 虽然可溶性固形物含量较空白组有所下降, 但与自来水处理组相近, 同时 AEW处理能更好地抑制维生素C的降解。比较3 h内鲜切苹果的褐变情况, 样品处理后空白组已显示轻微褐变, 自来水组与 AEW组均无褐变; 3 h时, 空白组已

严重褐变, 自来水组轻微褐变, 而 AEW组仍具有良好的色泽, 故而推测 AEW处理可以有效地抑制鲜切苹果的褐变。

3 结 语

在单因素试验的基础上, 运用响应面分析法对苹果切片减菌工艺进行优化。得到最优工艺条件为: NaCl溶液质量浓度4.5 g/L, 处理温度25℃, 处理时间6.45 min, 液料比6:1(mL/g), 在此条件下经处理后细菌总数由 1.14×10^5 CFU/g降为 9.3×10^3 CFU/g, 减菌率可达91.84%。同时, 该处理对鲜切苹果的pH值和可溶性固形物影响不大, 且能较好地抑制维生素C的降解及其表面的褐变。

参考文献:

[1] 周会玲. 鲜切果蔬的加工与保鲜技术[J]. 食品科学, 2001, 22(8): 82-83.

ZHOU Huilin. Processing and preservation techniques of fresh-cut fruits and vegetables [J]. Food Science, 2001, 22(8): 82-83. (in

Chinese)

- [2] 果雅凝, 陆胜民, 谢晶, 等. 鲜切果蔬中的微生物及其控制[J]. 保鲜与加工, 2005, 5(6): 1-4.
GUO Yaning, LU Shengmin, XIE Jing, et al. Microorganism and control of fresh-cut fruit and vegetable[J]. **Storage and Process**, 2005, 5(6): 1-4. (in Chinese)
- [3] Beuchat L R. Pathogenic microorganisms associated with fresh produce[J]. **Journal of Food Protection**, 1996, 59(2): 204-216.
- [4] Del Rosario B A, Beuchat L R. Survival and growth of enterohemorrhagic Escherichia coli O157:H7 in cantaloupe and watermelon [J]. **Journal of Food Protection**, 1995, 58(1): 105-107.
- [5] Krause G, Trzagian R, Hammond R. Outbreak of Salmonellaserotype Anatum infection associated with unpasteurized orange juice [J]. **Southern Medical Journal**, 2001, 94(12): 1168-1172.
- [6] Alegre I, Abadias M, Anguera M, et al. Factors affecting growth of foodborne pathogens on minimally processed apples[J]. **Food Microbiology**, 2010, 27(1): 70-76.
- [7] Alegre I, Abadias M, Anguera M, et al. Fate of Escherichia coli O157:H7, Salmonella and Listeria innocua on minimally-processed peaches under different storage conditions[J]. **Food Microbiology**, 2010, 27(7):862-868.
- [8] 张甫生, 李蕾, 陈芳, 等. 非热加工在鲜切果蔬安全品控制中的应用进展[J]. 食品科学, 2011, 32 (9): 329-334.
ZHANG Fusheng, LI Lei, CHEN Fang, et al. Progress in applications of non-thermal processing technologies in ensuring safety and quality of fresh-cut fruits and vegetables[J]. **Food Science**, 2011, 32 (9): 329-334. (in Chinese)
- [9] Allende A, Aguayo E, Artes F. Microbial and sensory quality of commercial fresh processed red lettuce throughout the production chain and shelf life[J]. **International Journal of Food Microbiology**, 2004 91(2):109-117.
- [10] Allende A, Selma M V, Lopez-Golvez F, et al. Role of commercial sanitizers and washing systems on epiphytic microorganisms and sensory quality of fresh-cut escarole and lettuce[J]. **Postharvest Biology and Technology**. 2008,49(1):155-163.
- [11] Yuk H G, Yoo M Y, Yoon J W, et al. Effect of combined ozone and organic acid treatment for control of escherichia coli O157:H7 and Listeria monocytogenes on enoki mushroom[J].**Food Control**, 2007, 18(5): 548-553.
- [12] Aarnisalo K, Salo S, Miettinen H, et al. Bactericidal efficiencies of commercial disinfectants against Listeria monocytogenes on surfaces[J]. **Journal of Food Safety**, 2000, 20(4): 237-250.
- [13] Tuncan E U. Effect of cold temperature on germicidal efficacy of quaternary ammonium compound, iodofor and chlorine on Listeria[J]. **Journal of Food Protection**, 1994, 56(12):1029-1033.
- [14] 杨楠. 微酸性电解水对南美白对虾虾仁杀菌效果及品质影响的研究[D]. 杭州: 浙江大学, 2013.
- [15] Zumi H. Electrolyzed water as a disinfectant for fresh-cut vegetables [J]. **Journal of Food Science**, 1999, 64(3): 536-539.
- [16] Ding Tian, Dong Qingli, Rahman S M E. Response surface modeling of listeria monocytogenes inactivation on lettuce treated with electrolyzed oxidizing water[J]. **Journal of food process engineering**, 2010, 34(5): 1729-1745.
- [17] Yang H, Swem B L, Li Y. The effect of pH on inactivation of pathogenic bacteria on fresh-cut lettuce by dipping treatment with electrolyzed water[J]. **Journal of Food Science**, 2003, 68(3): 1013-1017.
- [18] Gomez-Lopez V M, Ragaert P, Ryckeboer J, et al. Shelf-life of minimally processed cabbage treated with neutral electrolysed oxidising water and stored under equilibrium modified atmosphere[J].**International Journal of Food Microbiology**, 2007, 117(1):91-98.
- [19] Wang Hua, Feng Hao, Luo Yaguang. Dual-phasic inactivation of Escherichia coli O157:H7 with peroxyacetic acid, acidic electrolyzed water and chlorine on cantaloupes and fresh-cut apples[J]. **Journal of Food Safety**, 2006, 26(4): 335-347.
- [20] Wang Hua, Feng Hao, Luo Yaguang. Control of browning and microbial growth on fresh-cut apples by sequential treatment of sanitizers and calcium ascorbate[J]. **Journal of Food Science**, 2007,72(1): M001-M007.
- [21] Graca A, Abadias M, Salazar M, et al. The use of electrolyzed water as a disinfectant for minimally processed apples[J]. **Postharvest Biology and Technology**, 2011, 61(2-3): 172-177.
- [22] 吴有炜. 试验设计与数据处理[M]. 苏州: 苏州大学出版社, 2002.
- [23] 崔凤杰, 许泓瑜, 舒畅, 等. 响应曲面法优化灰树花水溶性多糖提取工艺的研究[J]. 食品科学, 2006,27(4): 142-147.
CUI Fengjie, XU Hongyu, SHU Chang, et al. Optimization of processing parameters for extraction of soluble grifola frondosa polysaccharides by response surface methodology [J]. **Food Science**, 2006,27(4): 142-147. (in Chinese)
- [24] 中国疾病预防控制中心营养与食品安全所. GB 4789.2-2010 食品卫生微生物学检验:菌落总数测定[S]. 北京.: 中华人民共和国卫生部, 2003.