

射频杀菌条件下黑胡椒颗粒中沙门氏菌的替代菌研究

佟亭玉^{1,2}, 李 锋^{1,2}, 焦 阳^{*1,2}

(1. 上海海洋大学 食品学院, 上海 201306; 2. 上海海洋大学 食品热加工工程技术研究中心, 上海 201306)

摘要: 为探究热杀菌过程中屎肠球菌 NRRL B-2354 作为沙门氏菌 ATCC 14028 替代菌的可行性, 通过等温实验测定黑胡椒颗粒中屎肠球菌 NRRL B-2354 和沙门氏菌 ATCC 14028 的耐热性参数, 并对黑胡椒颗粒($A_w=0.65$)开展射频杀菌实验验证。等温实验结果表明, 黑胡椒颗粒中屎肠球菌的耐热性高于沙门氏菌。射频杀菌实验中, 将 2 g 接种微生物的黑胡椒颗粒真空包装后置于 45 g 黑胡椒中心位置, 在 40.68 MHz 射频场中加热 15 min, 黑胡椒颗粒中沙门氏菌的减少量相较于屎肠球菌更多, 证明在射频加热中屎肠球菌的耐热性高于沙门氏菌, 可作为黑胡椒颗粒杀菌过程中沙门氏菌的合适替代菌。

关键词: 低水分食品; 巴氏杀菌; 介电加热; 病原菌

中图分类号: TS 264.2 文章编号: 1673-1689(2023)12-0018-06 DOI: 10.12441/spyswjs.20210822002

Exploration of Surrogate Bacteria of *Salmonella* in Black Pepper (*Piper nigrum*) Kernels Under Radio Frequency Sterilization Conditions

TONG Tingyu^{1,2}, LI Feng^{1,2}, JIAO Yang^{*1,2}

(1. College of Food Science and Technology, Shanghai Ocean University, Shanghai 201306, China; 2. Engineering Research Center of Food Thermal-Processing Technology, Shanghai Ocean University, Shanghai 201306, China)

Abstract: This study was conducted to explore the feasibility to use *Enterococcus faecium* NRRL B-2354 (*E. faecium*) as a surrogate for *Salmonella typhimurium* ATCC 14028 (*S. typhimurium*) in black pepper during thermal processing. The thermal resistance parameters of *E. faecium* and *S. typhimurium* in black pepper were detected by isothermal experiments. Furthermore, an experimental verification of radio frequency sterilization for black pepper kernels ($A_w=0.65$) was carried out. The results of the isothermal experiments indicated that the heat resistance of *E. faecium* was higher than that of *S. typhimurium* in black pepper kernels. In the radio frequency (RF) sterilization experiment, 2 g of inoculated black pepper kernels with both bacteria strains were vacuum-sealed and placed in the center of 45 g of black pepper kernels. The samples were then heated in a 40.68 MHz RF field for 15 min. The population reduction of *S. typhimurium* in black pepper kernels was greater compared to *E. faecium*, indicating that *E. faecium* could exhibit higher heat resistance during RF heating and could be used a suitable surrogate for *S. typhimurium* during the sterilization process of black pepper kernels.

Keywords: low-moisture food, pasteurization, dielectric heating, pathogen

收稿日期: 2021-08-22 修回日期: 2021-10-25

基金项目: 国家自然科学基金青年基金项目(31801613)。

* 通信作者: 焦 阳(1985—), 女, 博士, 教授, 硕士研究生导师, 主要从事食品加工及贮藏新技术研究。E-mail: yjiao@shou.edu.cn

黑胡椒(*Piper nigrum*)被称为“香料之王”或“黑金”,在世界各地广泛种植,如中国、马达加斯加、墨西哥和越南等。由于其特殊的刺激性气味,被广泛用于食品配料、调味品、医药产品及杀虫剂中^[1-4]。黑胡椒在收获后通常干燥至湿基水分质量分数 12%~14%,即水分活度低于 0.7^[5],以防止储存过程中微生物生长繁殖,因此被归类为低水分食品。然而,尽管低水分活度能够抑制微生物生长,但黑胡椒收获后的处理、干燥和储存等加工工序,可能由于卫生条件不足引发微生物污染^[6]。

沙门氏菌已被确定为部分低水分食品中的潜在危险^[7]。有研究者对进口到美国的香料进行调查,发现香料中沙门氏菌的感染率为 1.7%~18.0%,且沙门氏菌污染的黑胡椒与数起食源性疾病暴发有关^[8-9]。因此,需要进一步对低水分食品中的沙门氏菌进行预防控制,以尽量减少或防止食源性疾病的暴发^[10-11]。尽管低水分活度会阻止沙门氏菌的生长,但 Keller 等研究表明,沙门氏菌可以在黑胡椒中长期存活^[6]。此外,有研究者对核桃、小麦粉、辣椒粉、杏仁和奶粉中致病菌的研究表明,在低水分食品中,细菌的耐热性随水分活度降低而更高^[12-16]。2013 年,美国食品和药物管理局(FDA)建议确定并使用非致病性的替代菌来代替目标病原体进行工艺验证,并提及一个理想的替代菌应与目标病原体具有相似生物特性,且易于繁殖。美国加利福尼亚杏仁委员会在杏仁加工中发现屎肠球菌 NRRL B-2354 具备适宜的热阻抗性,适合作为沙门氏菌的替代菌^[17],并已应用于低水分食品的热杀菌过程中。在后续研究中,前人针对奶粉的射频杀菌、杏仁的红外杀菌以及小麦粉和孜然颗粒的射频杀菌研究中,均证实了屎肠球菌 NRRL B-2354 作为沙门氏菌替代菌的可行性^[18-21]。但由于不同菌种在不同食品体系及加工过程中的耐热性不同,对黑胡椒射频杀菌时,将屎肠球菌作为沙门氏菌替代菌的研究尚需开展。

作者通过测定黑胡椒颗粒中沙门氏菌和屎肠球菌的耐热性,并用 40.68 MHz 射频加热设备进行验证,评估屎肠球菌 NRRL B-2354 在黑胡椒颗粒射频加工过程中作为沙门氏菌替代菌的可行性。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

黑胡椒颗粒:味好美公司;鼠伤寒沙门氏菌

(*Salmonella typhimurium* ATCC 14028):上海鲁微科技有限公司;屎肠球菌(*Enterococcus faecium* NRRL B-2354):北京百欧博伟生物技术有限公司;胰酪蛋白胨大豆肉汤培养基(trypticase soy broth,TSB)、LB 肉汤(LB)、亚硫酸铋琼脂(bismuth sulfite agar,BS)、缓冲蛋白胨水(buffered peptone water,BPW):北京陆桥技术股份有限公司。

1.2 仪器与设备

射频加热器:上海点为智能科技有限公司;LHS-50CL 恒温恒湿箱:上海一恒科技公司;YP802N 电子天平:上海天美天平仪器有限公司;FLIR A-600 Series 红外热像仪:美国 Flir 公司;BHS-4 数显恒温四孔水浴锅:宁波市鄞州群安实验仪器有限公司;MIR-154-PC 恒温培养箱:日本松下公司;SPH-2008 超凡型恒温培养摇床:上海世平实验设备有限公司;Rotina 380 高速离心机:德国 Hettich 科学仪器公司;HX-4 均质机:上海沪析实业有限公司;AQUALAB 4TEV 水分活度仪:美国 METER Group 公司。

1.3 菌株生长条件

菌株活化:将甘油管中的屎肠球菌和沙门氏菌分别接入 TSB 和 LB 平板,在 37 ℃的恒温培养箱中培养 24 h。

增菌培养:将活化后的屎肠球菌接入 TSB 培养基,在 37 ℃的恒温培养箱中培养 24 h;活化后的沙门氏菌接入 BPW 培养基,在 37 ℃的摇床中培养 48 h。

1.4 样品处理

将购置的黑胡椒颗粒保存于 25 ℃,相对湿度 60%的恒温恒湿箱中备用,随机称取 2 g 黑胡椒颗粒进行水分活度测量。

将 150 mL 增菌培养后的菌液在 4 ℃冷冻离心机中以 8 000 r/min 离心 5 min^[22]。弃去上清液,取沉淀接种于 40 g 黑胡椒颗粒(25 ℃下 $A_w=0.65$),充分混匀。将接种后的黑胡椒颗粒放置在无菌操作台中,25 ℃下静置干燥 2 h。干燥后测定菌落浓度(N ,单位为 CFU/g),结果以 $\lg N$ 表示。屎肠球菌和沙门氏菌的初始 $\lg N$ 分别约为 8.0 和 9.0。

1.5 温度分布

将 45 g 黑胡椒颗粒平铺在一次性培养皿($d=9$ cm, $h=1$ cm)中,放置于射频加热器中进行加热杀菌,并将光纤温度传感器探头放置在样品的接种位置进行实时测温。待样品加热至目标温度(85 ℃)后

立即将样品从射频加热器中取出,并用红外热像仪对样品表面进行拍照,以此确认样品的冷点位置。

1.6 等温加热处理

参照 Chung 等的研究方法,将接种后的待测样品放入特定铝制容器进行等温实验^[23]。首先,在容器盖的几何中心处及其中一颗黑胡椒颗粒中心打孔($d=0.1$ cm),用于插入热电偶探头进行测温。随后,将 2 g 未接种的黑胡椒颗粒放置在铝制测温容器内,平铺为一层,在容器和容器盖连接处的螺纹表面涂防水胶并拧紧。在 1 个带有温度传感器和 6 个不带温度传感器的铝制容器内全部装入接种后的黑胡椒颗粒,并同时放置在恒温(65、70、75 °C)水浴锅中,对样品升温情况进行记录。观察热电偶示数,待示数达到目标温度时开始计时。加热程序为 65 °C, 4 min; 70 °C, 3 min; 75 °C, 2 min。加热后将铝制测温容器依次取出,并立即用冰水进行降温,随后进行菌落计数,重复 3 次实验。

1.7 杀菌动力学模型

使用一阶动力学模型和 Weibull 模型^[24]描述细菌的热抗性。

$$\lg\left(\frac{N}{N_0}\right) = -\frac{t}{D} \quad (1)$$

$$\lg\left(\frac{N}{N_0}\right) = -\left(\frac{t}{\delta}\right)^\alpha \quad (2)$$

式中: N 和 N_0 分别为 t 时刻和 0 时刻的特定微生物菌落浓度,CFU/g; t 为等温加热的时间,min; D 为特定温度下,将微生物数量减少到原来的 1/10 所需的时间,min; δ 为存活曲线的总体陡度; α 为曲线形状参数,即曲线为线性($\alpha=1$)或非线性($\alpha \neq 1$)时,随着时间的增加,灭活率下降($\alpha < 1$)或上升($\alpha > 1$)。

数据与模型的拟合度通过均方根误差(RMSE)表示^[25]:

$$R = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n \left[\lg\left(\frac{N}{N_0}\right)_{\text{data}, i} - \lg\left(\frac{N}{N_0}\right)_{\text{model}, i} \right]^2}{n-p}} \quad (3)$$

式中: R 为均方根误差; N 和 N_0 分别为 t 时刻和 0 时刻的特定微生物菌落浓度,CFU/g; $\lg\left(\frac{N}{N_0}\right)_{\text{data}, i}$ 为实验测得菌落浓度的对数减少量; $\lg\left(\frac{N}{N_0}\right)_{\text{model}, i}$ 为模型预测的菌落浓度对数减少量; n 为观测数据的总数; p 为模型参数的数量。

$$z = \frac{(T_2 - T_1)}{\lg(D_1 - D_2)} \quad (4)$$

式中: z 为灭菌时间 D 降低到原来的 1/10 所需要升高的温度^[26],°C; T 为杀菌温度,°C; D_1 和 D_2 分别为 T_1 和 T_2 温度下所对应的特定微生物的 D 值,min。

1.8 射频加热验证

将 2 g 接种后的黑胡椒颗粒装入塑封袋并进行抽真空处理,置于样品的冷点位置,加热至目标温度(85 °C)后立即取出并使用冰水降温,随后进行细菌计数^[24]。

1.9 细菌计数

在均质袋中加入 2 g 样品和 18 mL 生理盐水,密封后放入无菌均质机,以 7 次/s 的速率均质处理 3 min。将均质后的匀浆在生理盐水中进行连续梯度稀释。尿肠球菌每个梯度取 1 mL 加到肠球菌培养基中混匀,37 °C 培养 48 h;沙门氏菌每个梯度取 0.1 mL 涂布在亚硫酸铋琼脂上,37 °C 培养 48 h。

1.10 数据统计与分析

利用 Origin 2018 进行制图。使用 IPMP 2013 对数据进行分析并直接获得 RMSE。

2 结果与分析

2.1 温度分布

黑胡椒样品的红外温度图谱显示(见图 1),一次性培养皿内的黑胡椒颗粒经射频加热后,上表面中心位置温度较低,为射频加热中样品的冷点。造成中心温度相对较低的原因是射频加热的边缘过热效应。Liu 等在射频加热面粉实验中同样发现冷点位于样品的上表面中心位置^[10]。Huang 等在射频加热大豆实验中也得到类似结论,即样品上表面中心温度最低^[27]。因此,在射频加热验证实验中将上表面中心位置作为接种样品的放置位置,并对冷点温度实时记录(见图 2)。

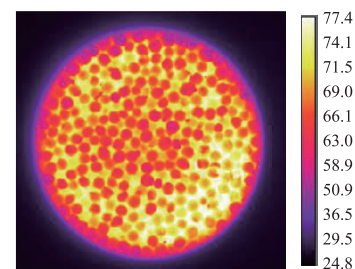


图 1 黑胡椒颗粒经射频杀菌后的红外温度图谱

Fig. 1 Infrared temperature profile of black pepper kernels after RF sterilization

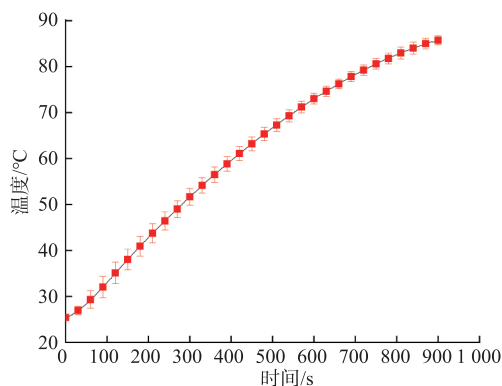


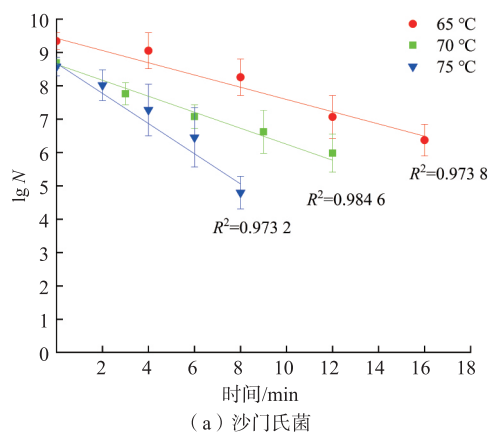
图2 黑胡椒颗粒在射频加热中冷点位置升温曲线

Fig. 2 Temperature history of the cold spot of black pepper kernels in RF heating

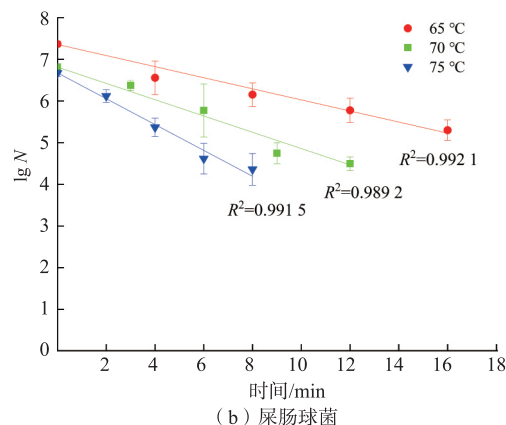
2.2 D 、 z 值结果

在等温加热实验中,黑胡椒颗粒(25 °C下 $A_w=0.65$)中沙门氏菌和屎肠球菌在 65、70、75 °C 下的存活曲线见图 3。黑胡椒颗粒中灭活沙门氏菌和屎肠球菌的数据与两种失活动力学模型都比较契合,且两种模型的 RMSE 数值接近(见表 1)。数据经 IPMP 软件处理后,由 z 值定义绘制沙门氏菌和屎肠球菌的 $\lg D$ 与 T 的关系图(见图 4),并根据公式(4)计算沙门氏菌和屎肠球菌的 z 值,沙门氏菌和屎肠球菌的 z 值分别为 26.3 °C 和 27.8 °C。

王品正等在黑胡椒射频杀菌实验中测得沙门氏菌在 65、70、75 °C 的 D 值为 4.88、3.44、1.95 min^[28]。Wei 等加热不同水分活度黑胡椒粉,测得沙门氏菌在 65、70、75 °C 的 D 值分别为 (13.3 ± 2.1) 、 (3.9 ± 0.4) 、 (2.0 ± 0.4) min^[17]。Liu 等采用射频加热面粉,测得 75、80、85 °C 下沙门氏菌的 D 值分别为 (17.65 ± 1.58) 、 (7.17 ± 0.85) 、 (2.92 ± 0.35) min;屎肠球菌的 D 值分别为 (29.15 ± 1.10) 、 (11.80 ± 0.60) 、 (4.08 ± 0.22) min^[10]。不同实验中测得的沙门氏菌和屎肠球菌的 D 值不同,可能是由于接种的样品种类、样品水分活度、样品特征尺寸不同而产生的差异。本研究中所选取温



(a) 沙门氏菌



(b) 屎肠球菌

图3 黑胡椒颗粒中沙门氏菌和屎肠球菌在不同温度下的存活曲线

Fig. 3 Survival curves of *S. typhimurium* and *E. faecium* in black pepper kernels at different temperatures

度下,黑胡椒颗粒中沙门氏菌的 D 值均低于屎肠球菌的 D 值, z 值较为接近。证明在黑胡椒颗粒加热杀菌中,屎肠球菌适宜作为沙门氏菌的替代菌。

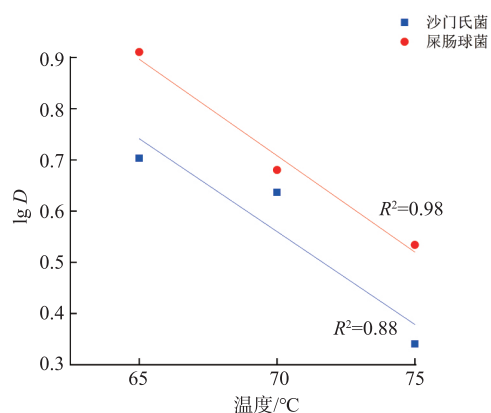
2.3 射频加热验证结果

采用 40.68 MHz 的射频设备进行微生物的射频加热致死实验。将接种后的样品放置在冷点位置,经预实验可知,加热 15 min 后冷点温度可达 85 °C,以此作为正式实验加热工艺。图 5 为射频加热黑胡椒颗粒中微生物存活曲线,可发现微生物数

表 1 微生物动力学模型的参数估计值及 RMSE

Table 1 Parameter estimation and RMSE of the microbial kinetic model

菌种	一阶线性模型			Weibull 模型		
	温度/°C	D 值/min	RMSE	δ /min	α	RMSE
沙门氏菌	65	5.05 ± 0.54	0.27	6.91 ± 1.23	1.36 ± 0.26	0.20
	70	4.33 ± 0.29	0.15	3.57 ± 0.71	0.85 ± 0.12	0.14
	75	2.19 ± 0.29	0.38	3.30 ± 0.46	1.50 ± 0.27	0.19
屎肠球菌	65	8.14 ± 0.75	0.14	5.97 ± 0.69	0.80 ± 0.07	0.07
	70	4.79 ± 0.48	0.20	5.13 ± 1.40	1.08 ± 0.30	0.24
	75	3.42 ± 0.08	0.04	3.55 ± 0.20	1.04 ± 0.06	0.05

图4 沙门氏菌和屎肠球菌的 $\lg D$ 与 T 的关系图Fig. 4 Relationship between $\lg D$ and T of *S. typhimurium* and *E. faecium*

量随着时间的延长而减少。射频加热前沙门氏菌和屎肠球菌的菌落浓度的对数值($\lg N$)分别为 8.68、7.80;加热 13 min 后,沙门氏菌和屎肠球菌的 $\lg N$ 分别为 2.78、4.79;加热 15 min 后,沙门氏菌和屎肠球菌均无检出。0~9 min 内沙门氏菌和屎肠球菌的 $\lg N$ 缓慢减少,约为 1.00,在 9 min 时微生物减少的速率开始加快,且沙门氏菌减少的速率比屎肠球菌更快。结合图 2 可知,加热 12 min 时样品的冷点温度约为 70 °C。射频加热 0~9 min 内微生物减少的原因可能是微生物接种后,水分活度发生变化,且黑胡椒内的挥发性物质有一定抑菌作用,随着温度升高,这些物质挥发后在一定程度上造成致病菌的死亡。邹兰等研究黑胡椒提取物抑制大肠杆菌和金黄色葡萄球菌的抑菌机理实验中表明,黑胡椒提取物对微生物有杀菌作用^[29]。区敏港等的研究结果表明,黑胡椒中的挥发性物质,如酚类和萜类对微生物具

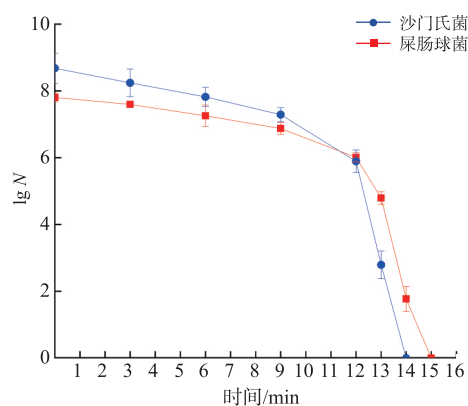


图5 射频加热杀菌黑胡椒颗粒中沙门氏菌和屎肠球菌的存活曲线

Fig. 5 Survival curves of *S. typhimurium* and *E. faecium* in black pepper kernels in RF sterilization

有抑菌效果^[30]。实验结果证实射频加热杀菌时,黑胡椒颗粒中屎肠球菌具有比沙门氏菌更强的耐热性,能够作为黑胡椒颗粒在射频加热杀菌中沙门氏菌的替代菌。

3 结 语

通过等温加热实验获得了 65、70、75 °C 下黑胡椒颗粒(25 °C 下 $A_w=0.65$)中沙门氏菌和屎肠球菌的 D 值和 z 值。结果表明,在所选温度范围内,黑胡椒颗粒中屎肠球菌的耐热性比沙门氏菌的耐热性更强。使用频率为 40.68 MHz 的射频波对黑胡椒颗粒进行杀菌验证,结果表明,屎肠球菌耐热性高于沙门氏菌,可作为沙门氏菌的替代菌。该研究为黑胡椒射频杀菌技术、工艺开发及工业化推广奠定了理论基础。

参考文献:

- [1] NISHA P, SINGHAL R S, PANDIT A B. The degradation kinetics of flavor in black pepper (*Piper nigrum* L.) [J]. *Journal of Food Engineering*, 2009, 92(1): 44-49.
- [2] YOGENDRARAJAH P, SAMAPUNDO S, DEVLIEGHERE F, et al. Moisture sorption isotherms and thermodynamic properties of whole black peppercorns (*Piper nigrum* L.) [J]. *LWT - Food Science and Technology*, 2015, 64(1): 177-188.
- [3] VAN RUTH S M, SILVIS I C J, RAMOS M E, et al. A cool comparison of black and white pepper grades [J]. *LWT - Food Science and Technology*, 2019, 106: 122-127.
- [4] 王品正, 李锋, 张汝怡, 等. 黑胡椒颗粒的介电特性混合方程研究 [J]. *食品与生物技术学报*, 2020, 39(7): 36-43.
WANG P Z, LI F, ZHANG R Y, et al. Mixing equations for dielectric properties of black pepper particles [J]. *Journal of Food Science and Biotechnology*, 2020, 39(7): 36-43. (in Chinese)
- [5] JAYATUNGA G K, AMARASINGHE B M W P K. Drying kinetics, quality and moisture diffusivity of spouted bed dried Sri Lankan black pepper [J]. *Journal of Food Engineering*, 2019, 263: 38-45.
- [6] KELLER S E, VANDOREN J M, GRASSO E M, et al. Growth and survival of *Salmonella* in ground black pepper (*Piper nigrum*) [J]. *Food Microbiology*, 2013, 34(1): 182-188.

- [7] 张杭进. 辣椒粉中鼠伤寒沙门氏菌在射频加热胁迫下的耐受性[D]. 上海:上海交通大学,2020.
- [8] ZHANG G D, HU L J, POUILLOT R, et al. Prevalence of *Salmonella* in 11 spices offered for sale from retail establishments and in imported shipments offered for entry to the United States[J]. **Journal of Food Protection**, 2017, 80(11): 1791-1805.
- [9] DEY M, MAYO J A, SAVILLE D, et al. Recalls of foods due to microbiological contamination classified by the U. S. Food and Drug Administration, fiscal years 2003 through 2011[J]. **Journal of Food Protection**, 2013, 76(6): 932-938.
- [10] LIU S X, ROJAS R V, GRAY P, et al. *Enterococcus faecium* as a *Salmonella* surrogate in the thermal processing of wheat flour: influence of water activity at high temperatures[J]. **Food Microbiology**, 2018, 74: 92-99.
- [11] 胡蝶, 胡昊, 杨本芹, 等. 沙门氏菌污染豆腐干和牛肉干后代谢物的研究[J]. 食品与生物技术学报, 2020, 39(10): 104-111.
HU D, HU H, YANG B Q, et al. Study on metabolites of *S. typhimurium* polluted dried bean curd and beef jerky[J]. **Journal of Food Science and Biotechnology**, 2020, 39(10): 104-111. (in Chinese)
- [12] 张莉慧. 核桃射频杀菌机制及方法研究[D]. 杨凌:西北农林科技大学,2020.
- [13] SMITH D F, HILDEBRANDT I M, CASULLI K E, et al. Modeling the effect of temperature and water activity on the thermal resistance of *Salmonella enteritidis* PT 30 in wheat flour[J]. **Journal of Food Protection**, 2016, 79(12): 2058-2065.
- [14] 张蓓花. 辣椒粉的射频杀菌技术研究[D]. 杨凌:西北农林科技大学,2020.
- [15] VILLA-ROJAS R, TANG J M, WANG S J, et al. Thermal inactivation of *Salmonella enteritidis* PT 30 in almond kernels as influenced by water activity[J]. **Journal of Food Protection**, 2013, 76(1): 26-32.
- [16] WEI X Y, LAU S K, CHAVES B D, et al. Effect of water activity on the thermal inactivation kinetics of *Salmonella* in milk powders[J]. **Journal of Dairy Science**, 2020, 103(8): 6904-6917.
- [17] WEI X Y, VASQUEZ S, THIPPAREDDI H, et al. Evaluation of *Enterococcus faecium* NRRL B-2354 as a surrogate for *Salmonella* in ground black pepper at different water activities[J]. **International Journal of Food Microbiology**, 2021, 344: 109114.
- [18] LIU S X, XU J, XIE L, et al. Dry inoculation methods for nonfat milk powder[J]. **Journal of Dairy Science**, 2019, 102(1): 77-86.
- [19] BINGOL G, YANG J H, BRANDL M T, et al. Infrared pasteurization of raw almonds[J]. **Journal of Food Engineering**, 2011, 104(3): 387-393.
- [20] VILLA-ROJAS R, ZHU M J, MARKS B P, et al. Radio frequency inactivation of *Salmonella enteritidis* PT 30 and *Enterococcus faecium* in wheat flour at different water activities[J]. **Biosystems Engineering**, 2017, 156: 7-16.
- [21] CHEN L, IRMAK S, CHAVES B D, et al. Microbial challenge study and quality evaluation of cumin seeds pasteurized by continuous radio frequency processing[J]. **Food Control**, 2020, 111: 107052.
- [22] 吕晓英, 王绍金, 吴倩, 等. 猕猴桃汁射频杀菌工艺初探[J]. 食品工业科技, 2015, 36(2): 267-270.
LYU X Y, WANG S J, WU Q, et al. Preliminary study on sterilization technology of kiwifruit juice by radio frequency treatment [J]. **Science and Technology of Food Industry**, 2015, 36(2): 267-270. (in Chinese)
- [23] CHUNG H J, BIRLA S L, TANG J. Performance evaluation of aluminum test cell designed for determining the heat resistance of bacterial spores in foods[J]. **LWT - Food Science and Technology**, 2008, 41(8): 1351-1359.
- [24] LIU S X, OZTURK S, XU J, et al. Microbial validation of radio frequency pasteurization of wheat flour by inoculated pack studies [J]. **Journal of Food Engineering**, 2018, 217: 68-74.
- [25] 雷玉洁, 周良付, 李宇坤, 等. 大肠杆菌射频加热杀菌效果及动力学模型拟合[J]. 中国食品学报, 2018, 18(4): 132-138.
LEI Y J, ZHOU L F, LI Y K, et al. Inactivation effect and inactivation kinetics of *Escherichia coli* by radio frequency heating[J]. **Journal of Chinese Institute of Food Science and Technology**, 2018, 18(4): 132-138. (in Chinese)
- [26] 徐含青, 潘建良, 宋姗姗, 等. 残存概率法灭菌程序的设计与验证[J]. 上海计量测试, 2015, 42(5): 12-14.
XU H Q, PAN J L, SONG S S, et al. Design and verification of the sterilization program according to bioburden based process[J]. **Shanghai Measurement and Testing**, 2015, 42(5): 12-14. (in Chinese)
- [27] HUANG Z, ZHU H K, YAN R J, et al. Simulation and prediction of radio frequency heating in dry soybeans[J]. **Biosystems Engineering**, 2015, 129: 34-47.
- [28] 王品正. 黑胡椒的射频杀菌工艺研究[D]. 上海:上海海洋大学,2020.
- [29] 邹兰, 胡月英, 陈文学. 黑胡椒石油醚相提取物对大肠杆菌和金黄色葡萄球菌的抑菌机制研究[J]. 食品科技, 2018, 43(6): 245-249.
ZOU L, HU Y Y, CHEN W X. The antibacterial mechanism of black pepper petroleum ether extracts on *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus* [J]. **Food Science and Technology**, 2018, 43(6): 245-249. (in Chinese)
- [30] 区敏港, 彭新宇, 唐兴刚, 等. 黑胡椒、快乐鼠尾草与生姜精油的化学成分及其对产气荚膜梭菌的抑制活性[J]. 畜牧与兽医, 2012, 44(3): 62-65.
OU M G, PENG X Y, TANG X G, et al. Chemical constituents of essential oils from black pepper, *Salvia officinalis* and ginger and their inhibitory activities against *Clostridium perfringens* [J]. **Animal Husbandry and Veterinary Medicine**, 2012, 44(3): 62-65. (in Chinese)