

[19] 中华人民共和国国家知识产权局

[51] Int. Cl⁷

A23B 5/04

A23B 5/055 A23B 5/10



[12] 发 明 专 利 说 明 书

[21] ZL 专利号 99811669.6

[45] 授权公告日 2003 年 9 月 3 日

[11] 授权公告号 CN 1119935C

[22] 申请日 1999.8.3 [21] 申请号 99811669.6
[30] 优先权
[32] 1998. 8. 3 [33] US [31] 60/095,124
[86] 国际申请 PCT/US99/17605 1999.8.3
[87] 国际公布 WO00/07453 英 2000.2.17
[85] 进入国家阶段日期 2001.4.2
[71] 专利权人 北卡罗莱纳州立大学
地址 美国北卡罗莱纳州罗利
共同专利权人 奥本大学
[72] 发明人 P·A·M·库尔蒂斯
K·E·安德森 D·E·康纳
L·A·胡赫斯 K·M·基纳
审查员 李斌卫

[74] 专利代理机构 中国专利代理(香港)有限公司
代理人 杨九昌

权利要求书 3 页 说明书 38 页 附图 22 页

[54] 发明名称 应用 CO₂ 冷却处理禽蛋

[57] 摘要

采用低温二氧化碳气体处理带壳蛋, 以提高蛋品质、延长有效保存期和/或降低蛋品内容物中微生物数目。 所述方法适用于破壳蛋和得自高峰产蛋期后的雌禽的蛋品。 所述处理的带壳蛋最好也贮存在气体二氧化碳中冷藏条件下。 也提供了按照上述方法处理的带壳蛋。

I S S N 1 0 0 8 - 4 2 7 4

1. 将在温热生带壳蛋中含有的致病微生物数目降低至少 10 倍的方法, 包括:

5 使所述带壳蛋暴露于低温二氧化碳(CO₂)气体, 其暴露时间和温度足以将带壳蛋内部温度冷却至约 7℃或更低, 但不足以引起蛋黄或蛋清冷冻, 其中所述暴露于低温 CO₂ 气体的时间不超过 10 分钟。

2. 按照权利要求 1 的方法, 其中所述带壳蛋是破壳蛋。

3. 按照权利要求 1 的方法, 其中将在带壳蛋中含有肠炎沙门氏菌
10 数目至少降低 10 倍。

4. 按照权利要求 3 的方法, 其中将在带壳蛋中含有肠炎沙门氏菌数目至少降低 10³ 倍。

5. 按照权利要求 1 的方法, 其中所述带壳蛋是带壳鸡蛋。

6. 按照权利要求 5 的方法, 其中所述带壳蛋得自至少 50 周龄的
15 母鸡。

7. 用权利要求 1 的方法产生的生带壳蛋。

8. 按照权利要求 7 的带壳蛋, 其中所述带壳蛋是带壳鸡蛋。

9. 延长生带壳蛋的冷藏有效保存期的方法, 包括:

20 使所述带壳蛋暴露于低温二氧化碳(CO₂)气体, 其暴露时间和温度足以将所述带壳蛋内部温度冷却至约 7℃或更低, 但不足以引起蛋黄或蛋清冷冻, 其中所述暴露于低温 CO₂ 气体的时间不超过 10 分钟, 并且其中所述带壳蛋的冷藏有效保存期至少为 4 周。

10. 按照权利要求 9 的方法, 其中所述的带壳蛋具有的冷藏有效保存期为 4 周至 24 周。

25 11. 按照权利要求 9 的方法, 其中所述带壳蛋的有效保存期为约 8 周至约 12 周。

12. 按照权利要求 9 的方法, 其中所述带壳蛋的有效保存期为约 5 周至约 8 周。

13. 按照权利要求 9 的方法, 其中所述带壳蛋是破壳蛋。
14. 按照权利要求 9 的方法, 其中所述带壳蛋是带壳鸡蛋。
15. 按照权利要求 14 的方法, 其中所述带壳蛋得自至少 50 周龄的母鸡。
- 5 16. 按照权利要求 9 的方法, 还包括将所述带壳蛋贮存在气体二氧化碳中的步骤。
17. 按照权利要求 16 的方法, 其中所述的带壳蛋贮存在气体二氧化碳中是在冷藏的条件下进行。
18. 用权利要求 9 的方法产生的生带壳蛋。
- 10 19. 按照权利要求 18 的带壳蛋, 其中所述带壳蛋是带壳鸡蛋。
20. 提高大多数生带壳蛋平均质量的方法, 包括:
使所述带壳蛋暴露于低温二氧化碳(CO₂)气体, 其暴露时间和温度足以将带壳蛋内部温度冷却至约 7℃或更低, 但不足以引起蛋黄或蛋清冷冻, 其中所述暴露于低温 CO₂ 气体的时间不超过 10 分钟,
- 15 由此紧接所述暴露于所述低温二氧化碳后, 分级为 A 或 AA 的蛋品比在所述暴露之前分级为 A 或 AA 的蛋品多。
21. 按照权利要求 20 的方法, 其中所述大多数带壳蛋含有包括得自高峰产蛋年龄后的雌禽的带壳蛋。
22. 按照权利要求 20 的方法, 其中所述大多数带壳蛋是带壳鸡
- 20 蛋。
23. 按照权利要求 22 的方法, 其中所述大多数带壳蛋包含得自至少 50 周龄的母鸡的带壳蛋。
24. 按照权利要求 20 的方法, 还包括将所述带壳蛋贮存在气体二氧化碳中的步骤。
- 25 25. 用权利要求 20 的方法产生的大多数生带壳蛋。
26. 处理生破壳蛋以减少其中微生物污染的方法, 包括:
使所述带壳蛋暴露于低温二氧化碳(CO₂)气体, 其暴露时间和温度足以将带壳蛋内部温度冷却至约 7℃或更低, 但不足以引起蛋黄或蛋

清冷冻，其中所述暴露于低温 CO₂ 气体的时间不超过 10 分钟。

27. 按照权利要求 26 的方法，其中所述的带壳蛋暴露于低温二氧化碳气体中，该低温二氧化碳气体不会导致该蛋的受挫折或裂开。

28. 按照权利要求 26 的方法处理的生破壳蛋。

5 29. 按照权利要求 1 的方法，该方法还包括将所述的带壳蛋在冷藏温度下贮存在二氧化碳环境中。

30. 按照权利要求 29 的方法，其中将所述带壳蛋中含有的致病微生物数目减低至少 10^3 倍。

31. 按照权利要求 30 的方法，其中将在带壳蛋中含有肠炎沙门氏
10 菌数目至少降低 10^3 倍。

32. 按照权利要求 30 的方法，其中所述带壳蛋是破壳蛋。

应用 CO₂ 冷却处理禽蛋

5

发明领域

本发明提高带壳蛋安全性和质量的方法。具体地说，本发明涉及通过用低温二氧化碳气体处理提高带壳蛋安全性和质量的方法。

发明背景

10

在生带壳禽蛋的商品加工和包装期间，通常将蛋照光检验(检查裂缝、破壳蛋和内部缺陷)以及分级、洗涤和包装以分配至零售市场。商品蛋加工厂使用的典型程序是用含洗涤剂的热水喷洗蛋品，同时用旋转刷洗刷蛋外部。洗涤后，用新鲜热水冲洗蛋以除去含洗涤剂的洗涤水。

15

然而，洗涤带壳蛋外部不影响蛋内部的有害微生物。因此，加工的生带壳蛋通常贮存于冷藏温度下，以抑制蛋内部的微生物生长。已知蛋在雌禽体内时(在形成蛋壳之前和在产蛋之前)可能污染沙门氏菌(*Salmonella species*)。

20

美国联邦法规已经要求进入商品包装加工厂的禽蛋必须用温度至少约 90°F (约 32.2 °C)且高于温度最高的生带壳蛋温度至少约 20°F (约 11 °C)的热水洗涤。因此，美国商品蛋加工者通常利用约 115°F (约 46 °C)的洗涤水，而某些加工者将水温保持高达约 125°F (约 51.7 °C)。许多致病微生物和有害微生物在提高的温度下增殖。例如，已知沙门氏菌在较高温度下增殖，直至热量大得可以杀死沙门氏菌的温度。或者当温度下降时，沙门氏菌活性下降，直至于约 45°F (约 7 °C)停止繁殖(参见例如 Anderson, “蛋品冷藏和热的去除” *Misset-World Poultry*, 第 9 卷, 第 11 期 (1993 年 11 月))。

25

最近，美国各个州政府(包括北卡罗来纳州、纽约州和宾夕法尼亚

州)立法要求带壳蛋加工后冷却,要求生带壳蛋保持在约 45°F (约 7 °C) 下。蛋品加工者因此通常在包装后(在贮存和随后运输至零售市场期间)将生带壳蛋保持冷却,零售商通常在消费者购买前于贮存期间保持生带壳蛋冷却。待定的美国联邦法将要求生带壳蛋保持于约 45°F (约 7 °C)的加工后环境温度。

典型的带壳蛋处理涉及在工业化鸡舍收集蛋,在此将生带壳蛋置于预处理冷藏间并运送至包装加工厂。然后将蛋从预处理冷藏间送至包装车间,置于卸载机上并运送到传送带系统(“筒子车(spooler)”),藉此将蛋带至洗涤设备并在热水中洗涤。离开洗涤设备后,用周围空气吹干蛋并照光检验。然后通常将蛋包装于 30 个蛋的纤维板中,堆积在箱中(每箱 12 板,因此每箱装有 30 打蛋)。将箱堆积在容纳 30 箱的托板上,每个托板总共 900 打蛋。一些蛋包装在泡沫聚苯乙烯纸盒中或纤维纸盒中(每个纸盒 12 个蛋),而不是 30 个蛋的纤维板;然后也将这些纸盒装箱并码堆。

蛋托板通常置于最后一个加工后冷藏间中,或如果冷藏间足够大,则在冷藏间中进行箱的码堆。包装并码堆的生带壳蛋由于所述洗涤可以仍是热的,将其冷藏,而不是于室温下的搁架贮存。美国许多州要求冷藏温度下的加工后贮存。

Anderson, “蛋品冷藏和热的去除” *Misset-World Poultry*, 第 9 卷, 第 11 期 (1993 年 11 月)提供了加工生带壳蛋的典型商业程序的总概述。该文章还提供了加工期间,即从进入加工设备直至置于冷藏、等待运送至零售市场的时间内生带壳蛋的温度分布型。测量了在各个加工步骤(运输至包装加工厂、洗涤、干燥、照光检验、包装和贮存以最终运送至零售市场)期间蛋温度和蛋保持在那些温度下的时间。

如 Anderson (1993)报道,在短暂平衡时间后,生带壳蛋的内部温度(在离线加工中)在表面(蛋壳外)蛋温度约 2°F (约 1.1 °C)内。当蛋从加工前冷藏间送入包装车间并置于卸载机上等待加工时测量蛋温度;当加工开始时初始表面温度范围为约 62°F 至约 68°F (约 16.7 °C 至约 20

℃)。当蛋在传送带(筒子车)上进入洗涤设备时,开始加热蛋内部,表面温度约为 105°F (约 40.6 ℃)。当蛋离开洗涤设备时,表面温度约 109°F (约 42.8 ℃)。当用周围空气吹干洗涤过的蛋时,表面温度约 95°F (约 35 ℃)。在利用在线加工加工蛋时,生带壳蛋的内部温度可以高达约 94°F 、 96°F 或甚至 98°F。

于加工车间码堆后,由于热洗涤水导致表面温度高,生带壳蛋的内部温度继续上升。但在加工后 5 分钟时,表面温度降至约 76°F 至约 80°F (约 24.4 ℃ 至约 26.7 ℃)。这些表面温度仍高于已经从预处理冷藏间取出蛋并在卸载机上等待加工时的温度约 12°F 至约 14°F (约 6.7 ℃ 至约 7.7 ℃)。某些码堆的蛋不立即置于加工后冷藏间内。因此这些蛋没有在冷藏间内立即缓慢冷却,而是从放在周围包装加工厂氛围开始保持温热长达 6 小时,直至托板最终置于冷藏间内。当然,在冷藏间内码堆的蛋温度下降较快,但在较长的时间内仍发生冷却。简而言之,甚至在蛋置于冷藏间内(无论是否在其中码堆),蛋在许多小时内仍是温热的。

对于在 30 个蛋纤维板包装、在蛋加工厂中码堆、然后运送至加工后冷藏间贮存的生带壳蛋, Anderson (1993)报道在托板中心的蛋需要约 142-150 小时达到冷藏间的室温。一般来说,托板两端附近的那些蛋在约 72 小时内平衡至冷藏间的室温。对于在泡沫聚苯乙烯纸盒中包装的生带壳蛋,由于空气运动减少和纸盒的绝缘效应,泡沫聚苯乙烯纸盒进一步延迟码堆的蛋的冷却。

正如 Anderson (1993)中描述,传统的商品加工程序可能保持生带壳蛋温热数天,在此期间可能发生蛋品中微生物的生长。根据生带壳蛋的工业化处理和已知致病微生物对带壳蛋的污染,需要降低微生物污染而不会不利地影响蛋品质的方法。由于在工业化鸡舍收集蛋和消费者使用之间有一段时间,需要增加生带壳蛋有效保存期的方法。此外,由于消费者要求高功能性质量的蛋品,因此需要提高或保持蛋品质的方法。还需要确定适用于破壳蛋的这类方法。

发明概述

根据以上描述,本发明的第一方面是减少温热生带壳蛋中含有的致病微生物数目的方法。该方法包括使带壳蛋暴露于低温二氧化碳(CO₂)气体,其暴露时间和温度足以将带壳蛋内部温度冷却至约 45°F 或更低,但不足以引起蛋黄或蛋清冷冻。暴露于低温 CO₂ 气体的时间不超过 10 分钟。

本发明的另一方面是延长生带壳蛋的冷藏有效保存期的方法。该方法包括使带壳蛋暴露于低温二氧化碳(CO₂)气体,其暴露时间和温度足以将带壳蛋内部温度冷却至约 45°F 或更低,但不足以引起蛋黄或蛋清冷冻。暴露于低温 CO₂ 气体的时间不超过 10 分钟,但所得经处理的带壳蛋的有效保存期超过 4 周。

本发明的另一方面是提高高峰产蛋年龄后雌禽所产的大多数带壳蛋平均质量的方法。该方法包括使带壳蛋暴露于低温二氧化碳(CO₂)气体,其暴露时间和温度足以将带壳蛋内部温度冷却至约 45°F 或更低,但不足以引起蛋黄或蛋清冷冻。暴露于低温 CO₂ 气体的时间不超过 10 分钟。紧接这种处理后,所述大多数 A 级或 AA 级的蛋品比在低温 CO₂ 处理之前 A 级或 AA 级的蛋品多。

本发明的另一方面是处理生破壳蛋以减少其中微生物污染的方法。该方法包括使带壳蛋暴露于低温二氧化碳(CO₂)气体,其暴露时间和温度足以将带壳蛋内部温度冷却至约 45°F 或更低,但不足以引起蛋黄或蛋清冷冻。暴露于低温 CO₂ 气体的时间不超过 10 分钟。

在优选实施方案中,处理的带壳蛋最好在冷藏条件、气体 CO₂ 环境中贮存。通过随后将低温 CO₂ 冷却的带壳蛋贮存在气体 CO₂ 中,可以增强和/或延长上述方法的有益效应。因此,本发明的另一方面是将温热生带壳蛋中含有的致病微生物数目至少降低 10 倍的方法,该方法包括使带壳蛋暴露于低温 CO₂ 气体,其暴露时间和温度足以将带壳蛋内部温度冷却至约 45°F 或更低,但不足以引起蛋黄或蛋清冷冻,其中

暴露于低温 CO₂ 气体的时间不超过 10 分钟, 并且将蛋贮存在二氧化碳环境中。

再一方面, 本发明提供已经按照上述方法处理的带壳蛋, 最好是带壳鸡蛋。

5 在以下本发明的说明中更详细地叙述本发明的这些方面和其它方面。

附图简述

10 图 1 图示用低温二氧化碳(三角)或传统冷却方法(方形)冷却的带壳蛋的平均冷却曲线。

图 2 图示用低温二氧化碳(B)或传统冷却(A)冷却的带壳蛋 10 周内的平均微生物计数。

图 3 图示用低温二氧化碳气体冷却的和发汗(B)或不发汗(A)的带壳蛋的平均微生物计数。

15 图 4 图示用低温二氧化碳(圆形; CO₂)或传统冷却方法(三角; TC)冷却的带壳蛋 10 周内的微生物生长。

图 5 图示用低温二氧化碳冷却的和发汗(第一个条带)或不发汗(第二个条带)的带壳蛋加工后 10 周内的微生物生长。

20 图 6 图示用低温二氧化碳(b)或传统冷却方法(a)冷却的和发汗或不发汗的带壳蛋的微生物生长。

图 7 比较了加工后 8 周和 10 周完整带壳蛋(B)和破壳蛋(A)中的微生物生长; 其中通过低温二氧化碳(B)进行加工后冷却。

图 8 比较了加工后 8 周完整带壳蛋和破壳蛋中的微生物生长; 其中通过低温二氧化碳(B)或传统冷却(A)进行加工后冷却。

25 图 9 图示了 12 周内带壳蛋的 Haugh 单位, 其中通过低温二氧化碳(B)或传统冷却(A)进行加工后冷却。

图 10 图示了 12 周内带壳蛋(得自高峰期雌禽)的 Haugh 单位, 其中通过低温二氧化碳(菱形)或传统冷却(方形)进行加工后冷却。

图 11 图示了 10 周内带壳蛋(得自高峰期后的雌禽)中的卵黄膜破碎力, 其中通过低温二氧化碳(方形; CO₂)或传统冷却(圆形; TC)进行加工后冷却。

5 图 12 图示了 10 周内带壳蛋(得自高峰期雌禽)中的卵黄膜破碎力, 其中通过低温二氧化碳(方形; CO₂)或传统冷却(圆形; TC)进行加工后冷却。

图 13 图示了 10 周内带壳蛋的卵黄膜相对弹性, 其中通过低温二氧化碳(实线; CO₂)或传统冷却(虚线; TC)进行加工后冷却。

10 图 14 证明低温冷却和传统冷却对接种的蛋中肠炎沙门氏菌(*Salmonella enteritidis*)群体的影响。

图 15 证明接种的蛋长期贮存期间低温冷却和传统冷却对肠炎沙门氏菌群体的影响。每组中的第一个条带代表低温冷却蛋, 而第二个条带表示传统冷却蛋。

图 16 显示(A)罐中、(B)气室中和(C)蛋清中平均二氧化碳水平。

15 图 17 显示(A)对照蛋中、(B)空气冷却蛋和(C)二氧化碳冷却蛋中的平均 Haugh 单位和蛋清二氧化碳水平。

图 18 证明受接种前贮存影响的温度失控在接种后第 26 天对肠炎沙门氏菌的效应。

20

发明详述

通过加热蛋制品将无壳蛋制品和带壳蛋巴氏杀菌的各种方法是已知的。参见例如 Rapp 的美国专利第 5,096,728 号、Bryson 等的美国专利第 5,455,054 号、Reznik 等的美国专利第 5,670,198 号、Samimi 等的美国专利第 5,612,076 号、Knipper 等的美国专利第 5,415,882 号、
25 Cascione 等的美国专利第 5,266,338 号、Cox 等的美国专利第 5,431,939 号和 Swartzel 等的美国专利第 4,808,425 号。(本文引用的所有美国专利均通过引用全文结合到本文中)。本发明的方法可以结合热巴氏杀菌法使用, 例如以达到更大程度地减少微生物污染和/或提高蛋品质量。

Anderson 等(美国专利第 5,474,794 号)报道了一种方法,采用低温气体快速冷却生带壳蛋,与无快速冷却相比抑制蛋中的微生物生长。

5 本发明人已经确定了,应用二氧化碳低温气体快速冷却加工后禽蛋具有应用传统冷却法或应用氮气低温气体快速冷却所观察不到的有益效应。另外,本发明人已经确定了,本发明方法可用于处理破壳蛋和质量较低的蛋(即低于 AA 级或低于 A 级),尤其是来自老雌禽的蛋(可以将 A 级蛋品提高至 AA 级蛋品;可以将 B 级蛋品提高至 A 或 AA)。二氧化碳冷却对微生物污染和蛋品质量的综合效应导致与用传统冷却法或用氮气低温冷却获得的有效保存期相比,用本发明处理的生带壳蛋的有效保存期延长。目前市场普遍接受的有效保存期(即不包括加工蛋品和传送至零售市场所需的天数)为 4 周;某些州例如北卡罗来纳州认可 4 周是建议的生带壳蛋的冷藏有效保存期。当应用于破壳蛋时,有效保存期的增加特别有价值,在其它情况下预期破壳蛋的有效保存期缩短(通常当作无壳蛋制品)。本发明方法可以将完整生带壳蛋和生破壳蛋的市场冷藏有效保存期(尽管对于完整蛋和破壳蛋而言最大有效保存期可能不同)延长至至少 5 周、6 周、7 周、8 周、9 周、10 周、11 周、12 周、14 周、16 周、18 周、20 周、24 周或更长时间。经处理蛋品的市场冷藏有效保存期最好为约 4 周至约 8 周;经处理蛋品的市场冷藏有效保存期更优选为约 8 周至约 12 周;经处理蛋品的冷藏有效保存期再更优选为超过 12 周。本文所用的“市场有效保存期”是指加工的生蛋品可以冷藏温度下保持、在安全性和蛋品质量方面仍适于出售给消费者的时间。

25 另外,本发明人已经确定了,采用本发明的二氧化碳快速冷却法实际上可以提高级别较低蛋品(例如低于 AA 级)的质量(级别),并在数周冷藏贮存期内(至少 4 周,更优选至少 5 周、6 周、7 周、8 周、10 周、12 周、14 周、16 周、20 周、24 周或更长时间)保持这种较高的级别。特别是,采用本发明的二氧化碳快速冷却法可以提高得自年龄较大的雌禽(至少 50 周龄)的蛋品的级别。这种效应在年龄较小的禽

群(小于 50 周龄)中观察不到, 或观察到的程度较低。提高年龄较大产蛋禽的蛋级别的方法有益于蛋品生产者, 他们因此可能每年需要较少的禽群以产下可以高质量达到市场的蛋。

本文所用的“禽类”包括鸡、火鸡、鸭、鹅和鹌鹑。

5 本文所用的完整蛋是蛋壳未破裂的蛋。本文所用的“破壳蛋”是蛋壳破裂、但蛋膜保持完整的蛋。破壳蛋在加工期间对微生物污染更加敏感。在当前的美国法律下, 在出售给消费者的生带壳蛋中允许一定百分比的破壳蛋。(破裂的、蛋膜也穿孔的蛋被认为是“破损”蛋, 认为不能用于人类消费)。

10 微生物包括危害健康的微生物例如肠炎沙门氏菌, 可以穿透多孔蛋壳并在某些保持条件下在蛋中繁殖。沙门氏菌病原体如果摄入足够数量, 则引起严重程度大大不同的疾病。沙门氏菌的热抗性在菌株间变化很大。两倍于鼠伤寒沙门氏菌(*S. typhimurium*)抗性的热抗性菌株是已知的; 一种菌株(森夫顿堡沙门氏菌(*Salmonella senftenberg*)的 775 菌株)的抗性为 20 倍。(Ng 等, *Appl. Microbiol.* 17:78 (1969))。

15 应用于生带壳蛋的理想的巴氏杀菌程序应该几乎不引起蛋内容物的营养价值和/或功能质量的变化或引起不显著的变化。已知或者过度加热或者冷冻蛋壳中内容物可能不利地影响生带壳蛋的功能特性。当用热将蛋制品巴氏杀菌时, 在杀死大量沙门氏菌的巴氏杀菌处理和不利影响蛋品功能特性的处理之间存在相当小的范围。这种情况与牛奶的巴氏杀菌形成对比, 因为牛奶耐受的溫度高于蛋品耐受的溫度, 而且对牛奶的功能特性无不利影响。美国农业部出版的 Egg Pasteurization Manual (Agricultural Research Service)提供了对各种蛋制品的巴氏杀菌处理。因此, 本发明的优点是: 不用使蛋品暴露于使用对带壳蛋热处理的方法潜在的有害效应, 而可以达到杀死蛋壳中的微生物。

25 对蛋品包括生带壳蛋的巴氏杀菌主要涉及对沙门氏菌的破坏。蛋壳中的微生物生长随存在的微生物和保持蛋的条件而变。沙门氏菌在

蛋白和蛋黄中都生长,但看来在蛋黄中生长更容易。一般而言,沙门氏菌在约 50°F 至约 115°F 的温度下生长,尽管如果条件合适,则在约 45°F 至约 50°F 之间可能缓慢生长。微生物在蛋品中存在的状态也对生长有影响,即微生物处于快速生长期还是休眠或半休眠期。

5 对于无壳蛋制品的热巴氏杀菌处理,本领域已知在一定限度内,采用各种时间和温度的组合(例如于较低温度下处理较长时间可以提供与于较高温度处理较短时间同等的效应)可以获得同样的杀微生物效率。参见 Egg Pasteurization Manual, USDA。同样,虽然本发明列举了优选的冷却蛋的时间和温度,但显然对于本领域技术人员而言,对
10 这些参数的略微改变仍可以提供同等的结果。

禽蛋质量随产蛋雌禽年龄而变,年龄较小的雌禽产下较高质量的蛋。商品蛋生产者认识到,雌禽群会有产蛋“高峰”期,在此期间产下的蛋是禽群一生中产下的最高质量。“高峰”期后,蛋品质量下降;这段时间称为“高峰后”期。一般而言,在高峰后期,禽群(或单个雌
15 禽)产下的蛋数目和所产蛋的质量均下降。高峰后期可以定义为当所产蛋数目为高峰期所产数目的 95%或更少时开始。这可以对作为整体的禽群或单个禽进行测量。

“高峰”期在不同禽品种和同一品种的不同品系之间是不同的。另外,高峰期取决于制品生产者是使用“单循环禽群”(在一个时期例如从约 17 周龄至约 80 周龄保持产蛋的雌禽)或“双循环禽群”(雌禽在
20 一个时期保持产蛋,强制换羽和休息,然后回到第二个时期产蛋)。

在单循环禽群中,在“高峰后”期之前产下最高质量的蛋。如上所述,高峰期在品种和品系间不同,但可能在约 48、49 或 50 周龄之前。在双循环禽群中,高峰后期一般发生在强制换羽和休息之后。例
25 如,可能在约 66 周龄使禽类强制换羽,使其于约 70 周龄恢复产蛋;高峰后产蛋可以始于约 80 周龄至约 86 周龄或更大的年龄。

大多数商品蛋生产者根据年龄分离禽群,以便从蛋品生产中去掉一定年龄的雌禽。产蛋禽年龄对蛋品质的影响和“高峰”生产期的

存在是本领域已知的。

一种接受的对带壳蛋蛋清质量的量度是 Haugh 单位, 这是根据以 mm 计的蛋白高度(albumen height)和以克数计的蛋清重量计算的蛋品质量标准。通常利用 Haugh 概述的方法(*U.S. Egg Poultry Magazine*, 43:552-555, 572-573 (1937))进行 Haugh 单位测量。65 或更高的 Haugh 单位相当于 USDA 的 AA 级。

Williams (*World's Poultry Science Journal*, 48:5-16 (1992))报道了高温和带壳蛋冷却的延迟导致与充分冷却的蛋品相比 Haugh 单位较低。Curtis 等(*Journal of Food Protection*, 58:389-394 (1995))将用气体二氧化碳(GC)冷却的蛋品与传统冷却的蛋品进行了比较; 用 GC 处理的蛋品的 Haugh 单位计分高于传统冷却的蛋品。

已知随着产蛋禽年龄的增长, Haugh 单位值降低(Curtis 等, *Poultry Science*, 64:302-306 (1985))。也已经报道了在贮存期间 Haugh 单位值减小(Kahraman-Dogan 等, *Journal of Food Quality*, 17:495-501 (1994))。

USDA 有一个分级方案, 根据气室深度指定蛋品质量。1/8 英寸(3.2 mm)或更小的深度为 AA 级。1/8 至 3/16 英寸(3.2-4.8 mm)的深度为 A 级。3/16 英寸(4.8 mm)或更大的深度为 B 级。蛋品分级通常在蛋品照光检验的同时进行, 在加工后由 USDA 检察员检验。按照 USDA Egg-Grading Manual (United States Department of Agriculture, Agricultural Marketing Division, Agriculture Handbook Number 75 (1990))进行分级。

应该最好开发能够提高等级较低蛋品(例如由年龄较大的产蛋禽所产的蛋)的内部质量和等级的方法。此外, 应该最好开发延长蛋品有效保存期(即延长蛋品在冷藏温度下保持、且无不可接受的微生物生长和/或质量损失的时间)的方法, 所述蛋品包括完整蛋、破壳蛋和年龄较大的雌禽所产的蛋。

本发明人以文献记载了, 于传统冷却(TC)的蛋品相比, 用气体低温二氧化碳(CO₂)冷却的蛋品在 10 周内微生物负载量较低。发汗和未

发汗蛋品之间细菌计数没有差异。破壳蛋的细菌计数高于完整蛋，然后，应用二氧化碳冷却降低了细菌计数。这种细菌计数的降低大于用氮气低温气体处理或 TC 达到的降低。

5 这些数据表面，采用二氧化碳低温气体快速冷却蛋品的本发明方法在加工后和延长的贮存期中显著降低在带壳蛋中观察到的细菌生长。细菌计数可以在延长的时期内保持在较低水平，因此延长了全带壳蛋的有效保存期。

与恰好加工之前或恰好在用低温二氧化碳冷却之前存在的微生物污染相比，按本文所述应用低温二氧化碳处理减少了蛋品的微生物污染。

10 尽管我们不希望本发明受限于任何特定的理论，但本发明人认为，二氧化碳低温气体的应用除简单冷却蛋品例如采用低温氮气获得的有益效应外，还有其它有益效应。已知禽蛋通常含有二氧化碳。应用其它低温气体(氮气)可能将天然存在的二氧化碳吹洗出蛋品之外，可能具有有害效应。

15 与刚好在冷却之前或在商品加工期间洗涤之前的致病微生物和/或有害微生物数目相比，经过本发明方法的生带壳蛋在紧接用低温二氧化碳气体冷却后，有残留较少活的这类微生物。本发明的方法导致微生物至少减少 10 倍，可以导致微生物减少 10^2 倍、微生物减少 10^3 倍、微生物减少 10^4 倍、微生物减少 10^5 倍、微生物减少 10^6 倍、微生物减少 10^7 倍、微生物减少 10^8 倍或甚至这样的微生物减少 10^9 倍。甚至在蛋壳破裂但蛋膜完整的蛋(“破壳蛋”)中和在年龄较大的产蛋禽群所产的质量低于 AA 级的蛋中也观察到这种效应。

25 本文所用的对带壳蛋的巴氏杀菌涉及导致刚好在巴氏杀菌之前蛋内容物(蛋白和蛋黄)中存在的微生物至少约 90%破坏的处理。换句话说，在巴氏杀菌后蛋的微生物含量不高于刚好在巴氏杀菌之前存在的微生物含量的约 10%。这也称为微生物减少 10 倍。采用人工接种的蛋，可以证明导致带壳蛋中减少 10 倍的处理能力，因为天然存在的微

生物污染的水平可能太低，以致于不能显示出 10 倍的减少。

通过用 Haugh 单位值和/或目测观察测量，本发明的方法不会不利地影响经处理的生带壳蛋的质量，或仅在不显著程度上有影响。因此，杀死微生物和经处理蛋的功能性的双重效应结合提供冷藏有效保存期延长的蛋品。采用本发明方法，可以为破壳蛋(通常为去壳蛋制品)以及对得自年龄较大的雌禽的质量低于 AA 级的蛋，提供这种延长的有效保存期。本文所用的带壳蛋的“质量”是指内容物的蛋白质量(例如通过 Haugh 单位值测量)；它不仅是指蛋壳中存在或不存在裂缝。本文所用的“冷藏的”是指约 41°F 至约 45°F 的温度，而“冷藏有效保存期”是指于约 41°F 至约 45°F 下贮存蛋品直至基本上整个贮存期。(预期在冷藏期之外蛋品将经过短暂的时期，例如在从货车运送至市场展示装置期间)。“温热的”蛋是外表面和/或蛋内容物的温度高于冷藏温度的蛋。

另外，意外地发现了用二氧化碳低温气体冷却生带壳蛋的本发明方法实际上将低于 AA 级、特别是得自年龄较大产蛋禽群的等级较低的蛋品的质量提高。最初为 A 级的蛋品(在加工或 CO₂ 处理前)在二氧化碳处理后为 AA 级。另外，蛋品质量在二氧化碳低温冷却蛋品中保持较长时间。因此，本发明方法提供了将得自至少 50 周龄产蛋禽群的蛋品质量提高的方法。

在本发明方法中，经过二氧化碳低温气体冷却的生带壳蛋不需要预冷却。通常，用本发明的二氧化碳冷却法处理的蛋品的内部温度(在暴露于二氧化碳之前)至少为约 55°F (约 12.8 °C)，更优选至少约 65°F (约 18.3 °C)，最优选至少约 70°F (约 21.1 °C)或约 72°F (约 22.2 °C)或更高至约 82°F (约 33.3 °C)。另一方面，在蛋品经过在线加工的情况下，内部温度可以高达约 98°F。本发明包括将温热的蛋品置于低温二氧化碳气体环境下，气体温度足够低并且时间足够长，以产生所需效应，如本文进一步讨论的。低温二氧化碳气体快速降低蛋品内部温度，降低蛋品内部温度，并且杀死其中一定百分比的致病生物和有害生物。

在一个优选实施方案中,使经过本发明方法的蛋品暴露于低温二氧化碳气体足够时间,以使蛋内部温度降至低于约 55°F 的温度,优选低于约 52°F (约 11 °C),或低于约 50°F,更优选降至约 45°F (约 7 °C)。然后通常通过从二氧化碳低温气体环境中取出蛋品,停止在低温气体环境下的冷却。然而,蛋品内容物继续冷却至约 45°F 或更低(约 7 °C 或更低)。在蛋品离开进行对二氧化碳气体的暴露的隧道后,降至最终所需的约 45°F (约 7 °C)或更低的蛋品内部温度可能需要 50 分钟。(本文所用的将带壳蛋“暴露”于二氧化碳是指将带壳蛋外部暴露于水平高于大气中天然发现的二氧化碳。在按照本发明的方法暴露于二氧化碳之前,带壳蛋在蛋壳内可能含有二氧化碳,并且在停止按照本发明方法暴露于二氧化碳之后,可能继续在蛋壳限定的内部空间内继续含有二氧化碳)。在本发明方法中,蛋品内部温度未达到可能冷冻蛋品内部组分的温度(即约 30°F、31°F 或 32°F 的蛋品内部温度)。在本发明方法中既未将蛋白冷冻又未将蛋黄冷冻,然而,可能在蛋壳内表面上形成一个薄冰层(小于约 3 mm,最好不大于 1 mm)(“潜在带结壳(latent zone crusting)”)。

通过暴露于低温二氧化碳气体冷却的速率取决于几种因素,包括蛋品最初温度、暴露于低温二氧化碳的时间、二氧化碳的温度和环境中的二氧化碳水平。于-109.3°F (-78.5 °C)的二氧化碳构成了已知商标为 DRY ICE™的产品;美国专利第 5,765,394 号(Rhoades 等)公开了采用经过加压膨胀产生二氧化碳雪花和蒸汽流的低温(a low of)液体二氧化碳冷却物质的方法和系统。

许多致病微生物和病害微生物对冷温度反应,其生长放慢或暂时停止。一般而言,psychotroph 的微生物在冷环境中生长放慢,而嗜常温的微生物在冷环境中停止复制。具体地说,沙门氏菌生长放慢,直至约 45°F (约 7 °C),此时沙门氏菌活性受到如此程度的抑制以致其停止复制。本发明人已经确定了,应用二氧化碳低温气体冷却生带壳蛋除仅简单通过冷却蛋而获得的有益效应外,还赋予其它有益效应。这

种有益效应包括杀死微生物和提高质量。

本文所用的术语“加工”当涉及生带壳蛋时，是指目前的商品蛋加工技术，包括热水洗涤(美国联邦法要求的)以及以下描述的使用冷水洗涤的商品加工的变化。

- 5 在本发明的再一实施方案中，在传统洗涤程序之前对带壳蛋进行低温二氧化碳气体冷却处理。然而，蛋品随后应该洗涤，以使洗涤(即水温 and 暴露于水的时间的组合)不升高蛋品内部温度，以使二氧化碳处理的杀死微生物的效应不受损或降低。理想的是，任何二氧化碳后的洗涤均不将蛋品内部温度升高至约 45°F (约 7 °C) 以上。此外，水温不应比蛋品内部温度高约 50°F (最好不应高于 40°F 以上)，以避免蛋壳裂缝或破壳。

蛋品通常在密封的室或隧道中暴露于低温二氧化碳气体。在商品蛋加工操作中，最好使用冷却隧道。

- 15 温热的生带壳蛋在冷却室或冷却隧道(在此暴露于低温二氧化碳气体)中的停留时间应该为约 5 秒至约 1 小时，更优选为约 1 分钟至约 10 分钟，约 1 分钟至约 5 分钟，更优选为约 1.5 分钟至约 4.5 分钟，最优选为约 2 分钟至约 4 分钟。然而，根据冷却隧道的长度、蛋品运动速度、二氧化碳的百分比和二氧化碳温度、使用的具体低温、蛋品的状态(例如破壳或完整、得自年龄较大的产蛋禽或得自较年轻的产蛋禽)和所需的对蛋品的效应，该时间将会随之改变。最好是，选择时间和温度，以使蛋品内容物不被冷冻。可以或者使用低温二氧化碳气体，或者使用冷冻二氧化碳“雪花”。

- 25 一般而言，暴露于二氧化碳足以提供本发明的有益效应，而不使蛋品产生裂缝或不利地影响蛋品的功能特性或外观，例如带壳蛋的蛋白质量。按照本发明的低温冷却蛋基本上可以用于使用传统冷却蛋的任何目的。与传统方法冷却的蛋品相比，按照本发明冷却的蛋品的风味、质地和外观相同或提高。

本发明二氧化碳处理的合适低温范围为约 -60°F (约 -51 °C) 至约 -

120°F (约-84 °C), 更优选约-70°F (约-57 °C)至约-110°F (约-95 °C), 最优选约-80°F (约-62 °C)至约-100°F (约-73 °C)。考虑到暴露于二氧化碳气体的时间在保露后蛋品内部温度继续下降的时间, 在低温二氧化碳气体环境中达到至少约 45°F 或更低蛋品内部温度的停留时间在本文中称为“平衡至 45°F 的停留时间”。

本发明人还研究了低温冷却对带壳蛋质量的影响。在商品蛋加工设备中用气体二氧化碳(CO₂)快速冷却蛋品, 并将其与传统冷却相比。二氧化碳在低温气体中的浓度优选至少为约 50%、75%、85%、90%、95%、98%、99% (v/v)或更高。更优选二氧化碳在低温气体中的浓度基本上为 100% (v/v)。

传统冷却(TC)蛋品是指经洗涤并直接从加工线包装入箱的蛋品。二氧化碳处理的蛋品通过冷却隧道, 在隧道中蛋品暴露于低温气体二氧化碳。进行两个时期的测试, 每个时期加工的每种处理有两个平行测定。

在 12 周内贮存蛋品并进行测试。1 周 4 天进行测量。随机选择每个平行测定的 15 只蛋并取样用于 Haugh 单位测定。用 Technical Services and Supplied QCD Instrument Range 进行 Haugh 单位测试。发现在用二氧化碳(CO₂)低温冷却质量较低的蛋品(得自年龄较大的禽群)时, 与开始的蛋品质量相比内部蛋品质量提高, 并且这种质量的提高在二氧化碳处理后保持数周。当质量较好的蛋品暴露于低温冷却时, 质量上没有初始的提高, 但在 10 周内保持质量。

在研究期间 1 周 4 天进行蛋品分级。由专业蛋品质量分级员检查蛋品。每日对每个平行测定的 15 只随机取样的蛋照光检验。在贮存期间破损蛋品的百分比增加。在二氧化碳处理中破壳蛋的百分比显著($P < 0.05$)高于 TC 蛋(分别为 6.81%和 5.52%)。然而, 这种破壳蛋的百分比在容许水平内(根据 US 标准)。

本发明人确定了, 对蛋品的低温二氧化碳处理提高级别较低的蛋品(最初低于 AA 级的蛋品)的 Haugh 单位值, 并且没有不利地影响 AA

级蛋品的高 Haugh 单位值。另外，本发明人确定了，二氧化碳冷却提高质量较差蛋品(例如低于 AA 级的蛋品)的总体 Haugh 单位值。在冷却前最初为 AA 级的蛋品保持 AA 质量的时间比传统冷却的 AA 级蛋品保持质量的时间至少长 1 周。最初质量较差的蛋品(A 级或得自高峰后产蛋年龄的禽群)在二氧化碳处理后质量提高。

本发明提供将冷却前 A 级或更低级别(USDA 分级标准)蛋品的分级质量提高的方法，换句话说，提供提高年龄较大禽群所产蛋品级别的方法。该方法使蛋品生产者可以让禽群在较长期间内产蛋，而仍可提供 AA 级蛋品，因此减少了每年生产者需提供 AA 级蛋品所需的禽群数目。

与传统冷却相比，应用二氧化碳气体冷却带壳蛋的确提高破壳蛋的百分比。然后，这种提高程度小，并且低于 USDA 的允许水平。

已经表面，当蛋品老化时卵黄膜变弱。水穿过膜从蛋白渗透运动至蛋黄引起蛋黄变大并走味以及膜的扩张(Romanoff 和 Romanoff ,
15 The Avian Egg, John Wiley and Sons, New York, NY, 1949)。膜的某些区域可能变得透性更大，使得蛋黄和蛋白内容物可以混合。Nagoka 等(*Poultry Science*, 62:718-720 (1982))发现膜破裂力的显著差异与禽年龄相关。内部质量特性的变坏速率取决于贮存温度。Stadelman 和 Rhorer(*Egg Industry*, 93:8-10 (1987))发现，由在线生产设备产出并且温热包装入箱的蛋品需要数天时间达到约 10 °C 的内部温度。本发明人研究了快速二氧化碳冷却加工带壳蛋对在延长的贮存期间蛋品蛋黄膜强度的影响。

本发明人确定了，用二氧化碳低温冷却提高了蛋黄膜的弹性和破裂力。这种膜强度的增强提供了蛋品处理和打出(break out)期间抗蛋黄破裂的额外保护，这对于消费者是理想的。较强的膜也有助于防治蛋黄渗漏到蛋白中，导致散黄蛋和产生破损蛋品，并且为内部污染的蛋品内的肠炎沙门氏菌的生长提供养分。

本发明人也提供一种方法，将蛋品贮存在二氧化碳气体中，例如

减少带壳蛋内的微生物群体, 延长冷藏有效保存期和/或提高和保持蛋品质, 所有这些如上所述。通常, 并且更优选, 将所述蛋白贮存在冷藏条件、气体二氧化碳中。例如, 可以将单个蛋或多个蛋置于密封的容器中, 向容器内引入二氧化碳气体。二氧化碳在所述气体中的浓度高于在周围空气中发现的浓度, 优选至少约 50%、75%、85%、90%、95%、98%、99% (v/v) 或更高浓度。更优选二氧化碳在所述气体中的浓度基本上为 100% (v/v)。

按照本发明将带壳蛋在气体二氧化碳中贮存, 导致几乎不改变或不显著改变蛋品内容物的营养价值和/或功能质量。

在本文所述的本发明的低温二氧化碳冷却方法后, 最好且有利的是将低温二氧化碳冷却蛋品贮存在含二氧化碳的气体环境中。低温二氧化碳冷却蛋品贮存于低温二氧化碳气体中可以增强和/或延长在低温二氧化碳气体中冷却的有益效应。在二氧化碳中冷却并贮存的组合可以按照本发明进行, 以达到更大程度的减少带壳蛋中致病微生物(如上文所述)和/或延迟贮存带壳蛋中致病微生物的增加(例如延长有效保存期)。作为再一实施例, 在二氧化碳气体中贮存低温二氧化碳蛋品可以进一步增强实施本发明所达到的蛋品质量的提高, 并且在较长时间内保持这种提高。

在具体实施方案中, 已经和/或贮存在二氧化碳环境中的带壳蛋可以通过铁路、货车或船(例如出口)进行较长距离或较长时间的运输。已经在空气中冷却并贮存的带壳蛋一般不能长期贮存或长距离运输, 因为他们的有效保存期不够长(通过微生物污染和/或质量确定)。相比之下, 在二氧化碳环境(最好在低温二氧化碳冷却后)中运输的蛋品适用于这种用途, 因为与在空气中运输的蛋品相比, 其冷藏有效保存期延长, 微生物污染水平较低并且其质量在较长时间内保持。

在优选实施方案中, 在蛋品已经冷却的时间点和蛋品出售给商业和/或零售消费者时之间的大部分时间(更优选基本上全部时间)内, 将带壳蛋贮存在二氧化碳环境中。另一种方法是, 可以在运输至商业或

零售购买者之前的贮存期在内将蛋品贮存在二氧化碳环境中。作为再一选择方法，在运输期间将蛋品贮存在二氧化碳环境中。

在又一替代的实施方案中，在冷却蛋品、最好用低温二氧化碳气体冷却之前，可以将带壳蛋暴露于气体二氧化碳环境(例如保藏期)。

5 可以用本领域已知的任何方法，例如在密封容器或密封室中，将带壳蛋按照本发明贮存在二氧化碳环境中。另一种方法是，蛋品贮存、运输或出售的任何空间均可以充入二氧化碳气体。蛋品可以任选地在修改的保留二氧化碳气体包装中出售给商业和/或零售消费者。作为再一选择方法，可以在冷却和/或贮存期内将蛋品暴露于二氧化碳气体，
10 并且通过包裹单个带壳蛋的膜或含带壳蛋的包装，使气体保持在蛋品内部。更优选将每只蛋包裹在食用薄膜中，保持蛋品内部二氧化碳的较高水平。

在上述冷却和贮存方法中，可以用本领域已知的任何方法，例如通过向带壳蛋施加压力或增加蛋品内的真空(例如通过操作冷却蛋品
15 和周围温度之间的温度梯度)，可以提高二氧化碳在蛋品内部的水平。

以下叙述的实施例是为了说明本发明，不能解释为限制本发明。

实施例 1

达到蛋品内部温度的停留时间

20 研究了经过在低温气体环境(二氧化碳或氮气)中快速冷却以达到约 45°F (约 7 °C)的蛋品内部温度的停留时间。此外，研究了平衡至约 45°F (约 7 °C)的蛋品内部温度的停留时间。

短语“平衡停留时间”是指需要暴露于低温气体环境的时间，该暴露时间使蛋品内部温度足够冷，以使在蛋品离开低温气体环境后蛋
25 品内部温度继续降低至预定的蛋品内部温度。为了达到约 45°F (约 7 °C)的内部温度，发现平衡停留时间下的蛋品内部温度约为 52°F (约 11.1 °C)。此时从低温气体环境中取出的蛋品在约 35-45 分钟内达到 45°F (约 7 °C)的蛋品内部温度。

在本研究中使用以下条件。为了模拟在蛋品加工厂中常规洗涤、冲洗和照光检验期间给予生带壳蛋的热量，将生带壳蛋在 100°F (38 °C) 热水浴中温热 60 分钟，以使其内部温度为 90°F 至 95°F (约 32.2 °C 至 35 °C)，这接近在加工厂中在洗涤和照光检验后生带壳蛋的温度。

5 温热后，将一组 30 只蛋置于传送带上的框架中，通过含有低温气体(二氧化碳或氮气)的冷却隧道。在此期间，在三只带壳蛋中的每只中分别布置了三个温度探头，一个探头置于中间的带壳蛋中，一个探头置于框架一侧的侧边带壳蛋，而一个探头置于框架对侧的侧边带壳蛋中。

10 关于试验 1 和试验 2，进行每次 1 分钟停留时间的多程操作，总共通过 5 次。在每次 1 分钟的通过后，从框架取出 4 只带壳蛋，观察并记录其内部温度。如以下表 I 所示，比较了试验 1 和试验 2 达到最终所需的约 45°F (约 7 °C)的内部温度的实际停留时间与达到约 52°F (约 1.1 °C)的内部温度的平衡停留时间。当然，正如在下表中可以看到的，
15 “至 45°F 的平衡停留时间”少于至 45°F 的停留时间。

 对于试验 3 和试验 4，分别进行停留时间为 1 分钟、2 分钟、3 分钟、4 分钟和 5 分钟的 5 次独立的运行，每次运行采用一组 30 只带壳蛋，总共 5 组带壳蛋。如上所述，在运行期间使用三个温度探头，只是在 5 分钟停留时间的试验中使用 4 个温度探头(侧边 2 只蛋各 1
20 个，中间蛋一个，一个用于周围条件)。在每次运行后，取出 4 只带壳蛋，检查并记录其内部温度。

 在试验 1 中，冷却室采用二氧化碳隧道。操作自动进行并且具有所有集气管(header)(二氧化碳阀和喷嘴)。隧道内和带壳蛋外的低温气体温度约为-60°F (约-51 °C)。

25 关于试验 2，隧道的条件和低温气体与试验 1 相同，只是操作是人工操作而不是自动操作。

 关于试验 3，隧道的条件和低温气体与试验 1 相同，只是开放最后一个集气管，而不是所有的集气管，由此模拟逆流形式。

关于试验 4，隧道的条件与试验 3 相同，只是用液氮代替二氧化碳作为低温气体。

测定热转移曲线，发现必须除去约 40 BTU/磅，以将蛋品从约 95°F (约 35 °C) 的初始内部温度冷却至约 45°F (约 7 °C) 的所需内部温度。与此相关，以下表 I 的最右边一栏指出，在冷冻开始时的温度即约 31°F (约 -0.5 °C) 下，从蛋品移至潜在冻结带(蛋壳内侧上的冰层)到最终平衡于约 45°F (约 7 °C) 的内部温度 BTU 的损失。

以下在表 I 中总结了所述结果：

表 I

试验号	低温气体	冷冻机于 -60°F 操作	至 45°F 的平衡 停留(分钟)	至 45°F 的内部 停留(分钟)	至 45°F 内部温 度的估计平衡 温度
1	CO ₂	自动	2-2.35	4	在潜伏区中 31°F -10 BTU
2	CO ₂	人工	1.4	2.75	在潜在带中 31°F -40 BTU
3	CO ₂	逆流	3-3.5	ND*	ND
4	N ₂	逆流	2.5-3	ND	ND

ND = 未检测。

在试验 1 和试验 2 中，在低温气体环境中冷却将蛋品内部冷却至约 45°F (约 7 °C) 需要的时间比将蛋品冷却至平衡的 45°F (约 7 °C) 的时间长。内部温度为 52°F (约 11.1 °C) 的蛋品当停止气体冷却时，发现在蛋壳内表面有约 1 mm 的冰层(俗称潜在带结壳)，据认为这有助于产生散热器，由此在从低温气体环境中取出蛋品后内部温度继续下降。

比较操作条件相同的试验 3 和试验 4，看来对蛋品的冷却而言氮气冷却比二氧化碳冷却快。

在该研究中测试的蛋壳中没有观察到冷冻相关的裂缝。对经过快速冷却试验的所有带壳蛋照光检验以测定蛋壳质量，在任何带壳蛋中

均没有观察到逆热(reverse thermal)裂缝。没有观察到对蛋白高度、Haugh 单位计分或 USDA 等级的影响。此外, 蛋白 pH 并无不同于对应物(未经过快速冷却过程的蛋品), 小带壳蛋测量为 8.89-8.76, 大带壳蛋测量为 9.05-8.4。

5

实施例 2

空气冷却的与低温冷却的带壳蛋 - 方法

在商品蛋加工设备(Monroe, NC, USA)中进行以下研究。用 Diamond 8200 清洗/分级机在两个分离的时间期间加工蛋品。在传统冷却(TC)和二氧化碳处理的第一个时期中利用的蛋品得自年龄较大的雌禽(高峰产蛋年龄后), 因此代表质量较低的蛋品。第二个时期所用的蛋品得到年龄较小的禽群(高峰产蛋前或高峰产蛋时), 代表质量较高的蛋品。总共加工 43,200 只蛋, 置于泡沫纸盒中, 并通过 TC 或二氧化碳冷却。

15 将经过传统冷却(TC)的蛋品洗涤, 然后直接从加工线包装: 将蛋品置于纸盒中, 合上纸盒并包装入箱, 将箱码堆在托板上并贮存在小型市售冷却机中(周围温度约 7 °C)。

将经过气体低温二氧化碳处理(CO₂)的蛋品洗涤并置于纸盒中, 打开的纸盒通过样机(prototyke)冷却隧道(Praxair, Inc. of Burr Ridge, IL 制造的改进的 18 足 JE-U4 隧道式冷冻机; 改进以或者使用氮气或者使用二氧化碳作为致冷剂), 在此它们暴露于气体二氧化碳(隧道温度保持在 -51 °C ± 3 °C 的恒温); 离开冷却隧道后, 合上纸盒并包装入箱, 将箱码堆在托板上并贮存在小型市售冷却机(周围温度约为 7 °C)。进行二氧化碳和 TC 处理的两个平行测定。

25 另外, 为了监测蛋品的内部温度, 将连接数据记录器的温度探头置于每次平行测定的一个箱中最中心的蛋中。将该箱蛋品置于托板模拟器(Curtis 等, *Journal of Food Protection*, 58:389-394 (1995)), 根据温度探头数据建立二氧化碳处理蛋品和 TC 处理蛋品的冷却曲线(图 1)。

质量评价: 在 12 周的贮存期内测试二氧化碳处理蛋品和 TC 处理蛋品。每周 4 天进行测试。测试蛋品的内部质量(Haugh 单位)并且评估其 USDA 等级。用 Haugh 概述的方法(*U.S. Egg Poultry Magazine*, 43:552-555, 572-573 (1937))进行 Haugh 单位测量。借助于 Technical Services and Supplies QCR Instrument Range 进行测量。一周 4 天从每次平行测定测试 15 只蛋样品。

用专业蛋品质量分级员按照 US 工业标准进行蛋品质量分级。每天将每次平行测定的 50 只蛋样品分级。例外是在运行后的第一周, 此时每天将 100 只蛋样品分级。分级员根据 USDA 蛋品质量分级手册 (United States Department of Agriculture, Agricultural Marketing Division, Agriculture Handbook Number 75 (1990))评估破损蛋和破壳蛋的百分比。

采用 SAS®的线性回归法(SAS Institute, *A User's Guide to SAS®*, Sparks Press, Inc.; Cary, North Carolina, 1989)分析数据。用最小二乘法区分平均值。

蛋品发汗: 将蛋品分为两组, 一组发汗。发汗过程涉及让在加工(从蛋箱中取出蛋品较快冷却)后和在加工后约 24 小时, 将两个处理组内部冷却至约 45°F, 将冷却蛋品置于 38°F、90%湿度的恒温箱 2.25 小时。然后将蛋品放回≤45 °C 的市售小型冷却机中并贮存直至取样。在返回冷却机之前不让蛋品干燥。

微生物评估: 在加工后 10 周内, 每周 4 天每天取出蛋样品, 将内容物平板接种。从 4 个处理组(CO₂: 发汗(S)和未发汗(N); 和 TC, 发汗和未发汗)中每个组随机选择 5 只蛋。从内容物无菌取样, 将 0.3 ml 消化的内容物吸取到胰蛋白酶大豆琼脂平板上, 用火焰消毒的玻璃棒展开。将平板于 37 °C 培养 24 小时。

第 8 周和第 10 周时, 平板接种破壳蛋样品(加工后破壳)以测定每

个处理组合的破壳蛋污染水平。

实施例 3

微生物计数：二氧化碳与 TC 处理

5 在 10 周取样期内二氧化碳处理组的微生物计数低于 TC 组(参见图 2；平板接种的所有蛋品的平均数)。

 检查处理 × 周的相互作用($P < .05$)，观察到在加工后第 4 周至第 10 周二氧化碳冷却蛋品几乎没有和没有微生物生长，而 TC 冷却蛋品在同一时期持续显著生长。二氧化碳的 10 周计数低于 TC (分别为 10^{24} 和 10^{52})。

10

实施例 4

发汗二氧化碳处理蛋品的影响

如图 3、5 和 6 所示，发汗不增加微生物对蛋品的污染。

15

实施例 5

破壳蛋中细菌计数

 第 8 周时，在二氧化碳处理组和 TC 处理组中，破壳蛋的细菌计数均高于完整带壳蛋的约 5 倍($P < .0001$) (图 7；未发汗蛋品)。然而，第 8 周时获得的用二氧化碳处理的破壳蛋的细菌计数低于用 TC 处理的蛋品(参见图 7 和图 8)。

20

实施例 6

对蛋品 Haugh 单位值的影响

25 两种处理(二氧化碳和 TC)的平均蛋品冷却曲线示于图 1。二氧化碳蛋品最初在离开冷却隧道的数分钟内降至约 55°F 的平均温度。TC 蛋品在包装的数分钟内的初始平均温度约 93°F。

 分析时期 1 和时期 2 蛋品的 Haugh 单位值。二氧化碳处理在两个

时期中平均 Haugh 单位值均高(表 II)。观察到两个时期显著的处理-周相互作用。在第一个时期中, 在贮存 7 周后二氧化碳蛋品仅降(由 AA 级)至 A 级(图 9)。同一时期的 TC 蛋品在研究期间属于 A 级(图 9)。

5 二氧化碳处理的第二个时期的蛋品的 Haugh 单位值高, 其保持在 AA 级的时间比 TC 蛋品长 1 周(图 10)。

在分析蛋品质量分级数据之前, 综合两个生产期。破损蛋的总百分比在处理组之间没有显著差异, 如在表 III 中所见。二氧化碳处理的破壳蛋百分比比较高($P < 0.05$) (表 III)。

10 分别分析两个处理时期的 Haugh 单位, 因为蛋品的来源不同: 年龄较大的雌禽和年龄较小的雌禽。第一个时期所用的蛋品得自年龄较大的雌禽, 所述雌禽产下的蛋质量较差。这种较低的初始质量(在冷却前和冷却后贮存开始时测量的较低质量)可以在该时期的 TC 蛋品的 Haugh 单位值中观察到。该时期的 TC 蛋品的初始 Haugh 单位值已经属于 A 级范围(Haugh 单位 < 72)。二氧化碳蛋品的初始值为 80.70 (平均数; AA 级)。二氧化碳处理的这种较高的 Haugh 单位值在整个贮存期间持续。观察到二氧化碳处理在第二个时期的 Haugh 单位值也较高。这种差异不如在第一个时期中观察到的差异大。在第二个时期所用的蛋品得自年龄较小的雌禽, 所述雌禽产下的蛋初始质量较高(与用于第一个时期的蛋相比)。

20 二氧化碳蛋品的破壳蛋百分比比较高($P < 0.05$), 但该值不高于美国农业部限定的 7% 的允许水平。这种破壳蛋百分比的增加可能由冷却隧道设计或隧道中喷嘴方向所致。即使这两种处理的破壳蛋百分比不同, 该差异仅为 1.3%。对冷却所用的隧道修改以适用于带壳蛋的事实, 可以解释这两种处理中的破壳蛋百分比的差异。两种处理中在破
25 损蛋百分比上没有发现差异。

表 II

平均 Haugh 单位值

处理	Haugh 单位值 第一个时期	Haugh 单位值 第二个时期
二氧化碳	74.01	74.82
TC	66.71	73.64

表 III

破壳蛋和破损蛋的百分比

处理	Haugh 单位值 第一个时期	Haugh 单位值 第二个时期
二氧化碳	6.81 ^a	2.17
TC	5.52 ^b	1.84
	P < 0.05	

实施例 7方法：卵黄膜破裂强度

10 本研究研究了二氧化碳冷却在延长的贮存期内对卵黄膜强度的影响。两个分离的测试时期内加工每种处理(二氧化碳和 TC)的两个同等样品测定，并冷藏贮存用于测试。第一个时期(时期 1)加工得自年龄较大的禽群的蛋品，具有初始质量较差的蛋品。在时期 2 加工的蛋品得自年龄较小的禽群并总体初始质量较好。在加工并装箱后，将蛋品装上托板，所有样品均贮存在市售的冷藏贮存机中用于测试，如实施

15 例 2 所述。

在 11 周期间，1 周 4 天，随机选择每个处理平行测定的 10 只蛋样品并进行测定。采用容量为 5 Kg、灵敏度为 0.1 克的 TA.XT2 结构分析仪(Texture Technologies Corp., Scarsdale, NY)进行压缩测量。压力的施加速率为 3.2 mm/sec，仪器设定在满刻度 10 克。用一个 1 mm 圆

20 端不锈钢探头直接对卵黄膜施压直至卵黄膜破裂。卵黄膜强度中主要

变量之一是选择与胚盘位置相关的测量区域。参见 Fromm (*Poultry Science* 41:1516-1521 (1964))和 Holder 等(*Poultry Science* 47:326-329 (1968))。在本实验中, 将蛋品打成浅圆盘, 让蛋黄沿中纬线区定向穿透。打出的蛋包括蛋白和蛋黄, 用来防止表面干燥并限制由分离所需的额外处理引起的应力。

卵黄膜的相对弹性以探针从表面接触点直至卵黄膜破裂所移动的距离来测量。膜破裂强度以破裂所需力的克数表示。

采用 SAS®的线性回归法(SAS Institute, *A User's Guide to SAS®*, Sparks Press, Inc.; Cary, North Carolina, 1989)分析数据。

实施例 8

结果: 卵黄膜破裂强度

图表 IV 所示, 用气体二氧化碳(CO₂)冷却蛋品的卵黄膜需要的破裂力显著高于($P < 0.05$)传统冷却蛋品(分别为平均 1.91 克和 1.85 克)。低温二氧化碳冷却在测试的最初数周内明显提高了卵黄膜的强度, 这种提高在贮存前 4 周至 5 周内仍是显著的。而且, 这种益处对于在时期 1 期间加工的质量较差的蛋品更具前景(参见图 11), 对于时期 2 的蛋品不太显著(图 12)。二氧化碳处理蛋品的膜相对弹性显著高于($P < 0.05$)传统冷却蛋品(图 13)。

表 IV

卵黄膜的破裂力和相对弹性

周	破裂力(克)		周	相对弹性(mm)	
	CO ₂ 冷却	TC 冷却		CO ₂ 冷却	TC 冷却
1	2.23	2.00	1	2.47	2.19
2	2.05	1.85	2	2.31	2.07
3	2.02	1.96	3	2.13	2.14
4	1.92	1.87	4	2.15	2.07
5	1.91	1.95	5	2.05	2.03
6	1.89	1.86	6	1.97	1.77
7	1.87	1.86	7	1.87	1.92
8	1.75	1.77	8	1.71	1.63
9	1.79	1.71	9	1.72	1.59
10	1.68	1.67	10	1.55	1.51

实施例 9

接种的蛋品 - 年轻产蛋禽

5

由高峰产蛋期的产蛋雌禽群获得大量的蛋。用已知量的沙门氏菌(例如肠炎沙门氏菌)人工接种蛋，或用可容易测量的微生物诸如荧光假单胞菌(*Pseudomonas fluorescens*)或得自商业产蛋和/或加工设备的已知污染蛋品的蛋内容物的微生物人工接种蛋。可以用本领域已知的任何合适方法进行接种，例如浸、浸入或喷洒含已知浓度实验微生物的溶液。所述蛋品包括多个非破壳(完整)蛋、破壳蛋和裂缝蛋亚组。

10

如以上实施例 1 中所述加工大量的接种蛋和未接种对照蛋，某些蛋接受传统冷却处理(TC)，而其它蛋接受低温气体二氧化碳(CO₂)处理。另外的蛋接受低温气体氮气或液氮处理。一份蛋样品(接种或未接种)不冷却，但在冷却之前加工期间的不同点(例如洗涤之前、洗涤之后)研究，以测定冷却之前微生物负载量。

15

在 TC、氮气或二氧化碳处理后的不同时间点，测定每个蛋品亚组的蛋品的内部污染。按照本领域已知的技术评估内部污染，诸如通过评价壳膜污染水平。一种这样的方法涉及将蛋浸入乙醇中将蛋表面消毒，打破蛋，弃去内部壳内容物，用带有藻酸钙尖端的无菌拭子(swab)

20

擦洗气室。然后将拭子置于具有柠檬酸缓冲液的样品管，以溶解拭子尖端并释放任何存在的微生物。然后将一部分柠檬酸缓冲液置于一个或多个含合适生长培养基的平板上。在预定的时间和温度下培养平板，在每个蛋基础上测定菌落数。

5

实施例 10

接种的蛋 - 年龄较大的产蛋禽

用得自高峰产蛋期后的产蛋禽的蛋品重复如以上实施例 9 中所述的方法。将用这些不同年龄的产蛋禽获得的结果与实施例 9 中获得的结果进行比较。

10

实施例 11

在冷藏贮存期间微生物污染水平

如以上实施例 9 和 10 中所述处理的蛋品贮存在市售冷藏的小型冷却机中，周围温度约为 45°F。研究了在 4 周或 4 周以上至 15 周的延长贮存期期间蛋品(二氧化碳、氮气和 TC 处理；完整蛋、破壳蛋和裂缝蛋；得自年龄较大和年龄较小的禽群)的微生物负载量。

15

与二氧化碳处理之前预期的微生物负载量相比，应用低温二氧化碳快速冷却法减少生带壳蛋内部的微生物负载量。亦即与没有进行二氧化碳处理得到的结果相比，应用二氧化碳快速冷却导致破坏一定百分比的微生物，因此减少了在规定的期间后观察到的微生物的增加。以这种方式，加工生带壳蛋的二氧化碳快速冷却导致生带壳蛋微生物负载量至少减少 10 倍。在破壳蛋和/或裂缝蛋以及完整蛋中观察到有益的微生物破坏效应。在得自年龄较大的产蛋禽的蛋品中也观察到有益效应。

20

25

实施例 12

在冷藏贮存期间微生物污染水平

用沙门氏菌接种新鲜蛋品，然后经过二氧化碳低温冷却或传统冷却处理(TC)。处理后，计数存活的沙门氏菌。

- 5 将抗萘啶酮酸的肠炎沙门氏菌菌株 Benson、Rochester 和 Puerto Rico 接种到蛋品内壳膜中心。

实施例 13

带壳蛋的接种 - 实验 I

10 接种方案:

由 Auburn University 产蛋禽群在 12 小时产蛋期间得到蛋品。将所有均抗萘啶酮酸的肠炎沙门氏菌菌株 Benson、Puerto Rico、Rochester (由 N. A. Cox 提供, USDA-ARS, Athens, GA)注射(2.1×10^8 cfu/ml 蛋品)到蛋品中，使接种物(50 μ l)存积在两个不同位点：靠近蛋黄的中心蛋白和蛋黄中心。每个蛋位于沿中纬线轴几何中心约 10 mm 的区域，通过用无菌棉签涂上 95%乙醇进行消毒。通过用连接 50 μ l 重复注射器(repeating syringe)2.54 cm/23 号无菌针(Hamilton Co., Reno, NY, USA)刺穿蛋壳完成接种。接种后，用 1 小滴 DURO™ Super Glue (Loctite Corp., Cleveland, OH, USA)密封蛋壳。

20

冷却方案:

按照接种方案(上文)，在小滴胶干燥后，将传统冷却蛋品置于泡沫聚苯乙烯纸盒中并置于低温恒温箱(MIR 252 型, Sanyo, Inc.)。用从实际食用蛋加工厂收集的蛋品冷却数据(Anderson 等, (1992) North Carolina Extension Report 第 1 卷, ER-1)建立用传统冷却曲线冷却的蛋品冷却曲线。通过将蛋品置于低温恒温箱中，在此第 1 天温度为 25.5 $^{\circ}$ C，第 2 天为 18.3 $^{\circ}$ C，第 3 天为 12.8 $^{\circ}$ C，第 4 天为 11.1 $^{\circ}$ C，第 15 天为 7.0 $^{\circ}$ C，此时保持温度直至研究结束。将低温冷却蛋品在放入 Praxair

(Burr Ridge, IL)提供的低温冷却机之前, 置于常规纸板台(2.5 打)中。将低温冷却蛋品在约 6 分钟内用气体二氧化碳冷却至约 7 °C, 然后置于泡沫聚苯乙烯纸盒中, 然后置于约 7 °C 的低温恒温箱中达 15 天。

5 微生物测试:

在每次测试当天, 将每个处理组的 5 只蛋浸入无水乙醇中并让其风干。将蛋内容物无菌收集到无菌取样袋(Fisher, Pittsburgh, PA)中, 并消化 2 分钟。从每个袋中取出 1 ml, 置于 9 ml 蛋白胨水缓冲液(BPW)中, 然后用 DU2 涂布器(Spiral System Instruments, Inc., Bethesda, MD)螺旋平板接种到含有 200 ppm 萘啶酮酸的亮绿硫(BGS, Difco)上。将平板于 37 °C 培养 24 小时, 然后计数。

实施例 14

带壳蛋的接种 - 实验 II

15 接种和冷却方案:

以实验 I (实施例 13)的蛋品相同的方式, 在蛋白中心附近在实验 II 的蛋品中接种在 50 µl 无菌 BPW 中的约 500 cfu 肠炎沙门氏菌。然后将蛋品在室温(23 °C)下保持 10 小时, 然后经过与实验 I (实施例 13)中所述的相同冷却方法。将蛋品贮存直至 14 周。

20

微生物测试:

从每种处理的第 1 天和第 2、4、6、8、10、12 和 14 周对肠炎沙门氏菌计数。第 0 天时, 用三试管最可能数目(three tube most probable numbers) (MPN, FDA, 1998)测试所有蛋品。每个处理组取出 3 只蛋, 浸入无菌乙醇中并让其风干。然后敲开蛋品, 将内容物置于无菌取样袋(Fisher, Pittsburgh, PA)中。在将蛋内容物消化 2 分钟后, 将 1 ml 蛋品内容物吸取到 3 个含有 10 ml 2 × BPW 的试管中, 将 1 ml 蛋品内容物吸取到含有 9 ml BPW 的试管中, 从这些试管取出 1 ml, 置于

25

另外的含 9 ml BPW 的试管中。所有试管均于 37 °C 培养 24 小时。然后将每个试管的 1 ml 吸取到 10 ml 连四硫酸盐肉汤(Difco)中, 于 42 °C 再培育 24 小时, 然后在含有 200 ppm 萘啶酮酸 BGS (Difco)平板上划线接种。将平板于 37 °C 培养 24 小时, 然后检查典型的沙门氏菌菌落。

5 第 2 周, 用同样三试管 MPN 程序测试低温冷却蛋品。对直至研究结束所实测的所有其它蛋品取样, 并用实施例 I (实施例 13)所述的计数方法进行分析。

实施例 15

10 用带壳蛋进行的接种研究的结果

由实施例 13 和 14 所述实验获得的结果表示为 $\log_{10}$ cfu/ml, 并用一般线性模型程序(General Linear Models procedure) (SAS institute, 1997)分析。关于实验 I (实施例 13), 用 $2 \times 6 \times 2$ (接种位点 $\times$ 贮存时间 $\times$ 冷却方法)阶乘排列。在实验 II (实施例 14)中用 2×8 (冷却方法 $\times$ 贮存时间)排列。通过 LS 均值检测比较处理平均值。用 Tukeys 检测区分平均值。显著性设定为 $p \leq 0.05$ 。

15

实验 I:

接种位点对肠炎沙门氏菌的生长和存活能力无影响($p > 0.05$), 而接种位点、冷却方法和贮存时间相互作用, 影响($p < 0.001$)肠炎沙门氏菌群体(表 V)。接种蛋黄并传统冷却的蛋品(TY)在贮存 1 天后群体为 7.18 $\log_{10}$ cfu/ml。该群体在第 15 天时逐渐增至 8.34 $\log_{10}$ cfu/ml。以同样方式冷却、但在蛋白中接种的蛋品(TA)在贮存 1 天群体为 7.12 $\log_{10}$ cfu/ml, 而到第 15 天群体增至 7.9 $\log_{10}$ cfu/ml (图 14)。

20

低温冷却蛋品表现出随时间流逝肠炎沙门氏菌数目逐渐减少。当在蛋黄中接种蛋并低温冷却(CY)时, 肠炎沙门氏菌的群体在贮存第 1 天为 6.88 $\log_{10}$ cfu/ml, 而到第 15 天时降至 6.00 $\log_{10}$ cfu/ml。低温冷却且在蛋白中接种的蛋品(CA)在贮存第 1 天时群体为 7.02 $\log_{10}$

25

cfu/ml，而到第 15 天时这些蛋品的肠炎沙门氏菌群体降至 6.26 log₁₀ cfu/ml (图 14)。

实验 II：

5 冷却方法和贮存时间相互作用影响(p<0.001)肠炎沙门氏菌群体
(图 15)。传统冷却的蛋品从接种当天至贮存 2 周时，肠炎沙门氏菌群
体增加 4.83 log₁₀ cfu/ml，而低温冷却蛋品在细菌计数仅显示增加 1.0
log₁₀ cfu/ml。传统冷却蛋品至第 6 周时继续显示肠炎沙门氏菌群体增
加，最大计数达 8.78 log₁₀ cfu/ml。这种群体到 14 周时降至 7.64 log₁₀
10 cfu/ml。低温冷却蛋品在第 4 周时显示肠炎沙门氏菌群体增加，达到
5.68 log₁₀ cfu/ml，然后到第 6 周时降至 4.84 log₁₀ cfu/ml。直至结束时
观察到肠炎沙门氏菌群体的逐渐增加，在第 14 周时计数为 5.78 log₁₀
cfu/ml。

15	表 V
	肠炎沙门氏菌群体 (log ₁₀ cfu/ml)
	接种位点(S)
	NS ¹
	蛋黄
	6.74
	蛋白
	6.88
	贮存时间(T)

	1
	6.76
	3
	7.29
	6
	7.01
	9
	6.91
	12
	6.62
	15 天
	6.41
	冷却方法(C)

	传统
	7.75

低温	6.24
相互作用	
SxT	***
SxC	***
TxC	***
SxTxC	***

¹NS = 不显著(p≥0.05)
* = p≤0.05
** = p≤0.01
*** = p≤0.001

实施例 16

蛋品质

带壳蛋在二氧化碳中冷却和贮存 - 方法

5 该研究评估快速冷却和低温贮存对带壳蛋质量的影响。有三个实验组：空气冷却和贮存(对照)组、空气冷却和二氧化碳贮存组以及二氧化碳冷却和贮存组。

二氧化碳冷却蛋品：

10 96 只蛋在 47 ℃ 恒温箱中加热 24 小时。在约 1.5m × 1.0m × 1.5m 的绝缘室中将这
些蛋品冷却至 45°F。冷冻机采用加压下的液体二氧化碳将箱冷却至-50 ℃并保
持富含二氧化碳(> 92%)的环境。一个架子装 4 板，2 板在前，2 板在后。架
子下的一个送风机在冷却期间使二氧化碳循环。将蛋品于-50 ℃至-40 ℃下
冷却 7 分钟。冷却后，将蛋品置于
15 罐中，1 次 24 只，置于 250 ml 玻璃罐中。当罐中充填 UHP 级(99.9999%)
二氧化碳时，将一个氧气传感器插入每个罐中。当罐中氧气水平低于 1.0%
氧气时，用螺旋盖密封罐。盖上配有橡胶隔片用于注射注射器取样，盖内
侧有一个永久性橡胶垫以产生紧密密封该罐。然后将罐置于 5 ℃ 冷藏。

空气冷却蛋品和对照蛋品:

5 以与二氧化碳冷却蛋品相同的方式加热 154 只蛋。将 6 个板上的蛋品置于-20 °C 冷冻机中。所述板以 2 栏每栏 3 板排列。将一个 21 英寸箱式送风机置于所述 2 栏之前, 开动以将冷空气在蛋品上循环 14 分钟。然后取出蛋品, 以与二氧化碳冷却蛋品相同的方式将 96 只蛋密封二氧化碳的罐中。将其余 48 只蛋密封在充空气的罐中, 构成对照组。

气体取样:

10 用 1 ml 结核菌素注射器取出罐内的大气样品。首先, 注射器中充满氮气, 然后通过金属盖中的橡胶隔片插入罐中。抽出 1 ml 气体样品并在 1200 型 Fisher Gas Partitioner (Pittsburgh, PA) 中测试。从罐中取出蛋品, 放在检蛋器上, 在此鉴定气室, 并用铅笔在壳上画出轮廓。用 SUPERGLUE™ 将橡胶隔片粘到气室正上方的壳上。将 1 ml Hamilton
15 气密注射器充满氮气, 然后通过隔片插入气室中。取样(0.5 ml)并分析。

Haugh 单位:

20 将蛋称重并在打蛋台(breakout table)上敲开。用 Haugh 单位分析仪 (Technology Services and Supplies, Dunnington, England) 测量蛋白高度并计算 Haugh 单位。

pH:

25 分离蛋白并弃去蛋黄。将蛋白置于 8 盎司塑料 WHIRL-PAK™ 袋中。手工混合蛋白并用 Orion Research, Inc. (Boston, MA) 250A 型 pH 计和低维护 pH 三极管测定 pH。每组样品仅测定每组前 5 只蛋的 pH。

二氧化碳分析:

将 3-5 克蛋白样品置于清洁的 250 ml 玻璃罐中。记录准确的质量。接着, 将含 5.0 ml NaOH 的小开口小瓶置于含有蛋白的罐中。将罐用金属螺旋盖密封, 如用于贮存的盖子一样(具有橡胶封条和隔片)。用注射器通过盖中的隔片, 将 10 ml 低 pH (< 1.0) 酸性磷酸盐溶液注射到蛋白中。将罐于 40 °C 加热 24 小时。在此期间, 蛋白中所有的二氧化碳均与小瓶中的 NaOH 反应。取出小瓶, 用 HCl 滴定以测定蛋白中的二氧化碳量。

10

统计学:

对所有组数据进行 ANOVA 分析, 用 t 检验平均值比较测定样品平均值之间的统计学显著性。所有比较均显示统计学显著性, $p < 0.05$ 。

15

实施例 17

蛋品质

在二氧化碳中冷却和贮存带壳蛋 - 结果

如图 16 所示, 空气冷却蛋品质和二氧化碳冷却蛋品质在整个 14 周内均在具有约 75% 二氧化碳的密封罐中贮存(图 16A)。对照蛋品质在存在约 0.04% 二氧化碳的开放容器中贮存(图 16B)。气室中的二氧化碳水平在贮存期间波动, 从 35% 至 65% (图 16B)。然而, 不存在明显的倾向。二氧化碳水平在二氧化碳贮存蛋品质中恒定为 0.30%, 在空气贮存蛋品质中恒定为 0.10% (图 16C)。空气贮存蛋品质仅保持 10 周有活力。霉菌生长和腐败限制其有效保存期。二氧化碳贮存蛋品质在 14 周时仍处于非常好的状态, 无腐败或破坏迹象。

25

质量结果(即 Haugh 单位)示于图 17。在 10 周有效保存期内对照蛋品质蛋白中二氧化碳水平平均为 0.1%, 但 Haugh 单位在 74-65 之间波

动,无明显倾向(图 17A)。关于空气冷却-二氧化碳贮存蛋品,蛋品中二氧化碳水平平均为 0.30%,但 Haugh 单位在 66-74 之间波动,无明显倾向(图 17B)。关于二氧化碳冷却-二氧化碳贮存蛋品,蛋白中的二氧化碳水平开始为 0.31%,于 14 周降至 0.29%(图 17C)。在 14 周内二氧化碳水平平均约为 0.3%。Haugh 单位的倾向相似。第 1 周时, Haugh 单位是 83,在第 14 周降至 75。平均来说,与空气冷却-二氧化碳贮存蛋品(70)和空气冷却-空气贮存蛋品(70)相比,在二氧化碳冷却-二氧化碳贮存蛋品中 Haugh 单位(74)在统计学上较高。该结果表明,在二氧化碳冷却和二氧化碳贮存的蛋品中 Haugh 单位增加。

空气冷却和空气贮存蛋品的 pH 为 9.2,所有二氧化碳贮存蛋品的 pH 为 6.5-7.0。

总之,快速空气冷却产生的蛋品质量低于用二氧化碳冷却的蛋品。二氧化碳冷却并且随后在二氧化碳中贮存在统计学上提高了带壳蛋的质量和有效保存期(> 14 周)。

实施例 18

接种研究 - 贮存时间和接种位点 - 方法

将得自 Auburn University 产蛋禽群在 3 小时产蛋期间获得的蛋贮存于 7℃。在贮存 0、7、14 或 28 天时,将肠炎沙门氏菌菌株 Benson、Puerto Rico 和 Rochester (由 N. A. Cox 提供, USDA-ARS, Athens, GA) 混合悬浮液注射到蛋品中并使其存积(500 cfu)在三个不同位点: 外部蛋白、蛋黄附近的内部蛋白和蛋黄中心。在每个蛋位于沿中纬线轴几何中心约 10 mm 的区域,通过用无菌棉签涂上 95%乙醇进行消毒。乙醇干燥后,将一小滴 SUPERGLUE™ (Loctite Corp., Cleveland, OH)置于该区域上。然后将一个 9.5 mm 直径的橡胶隔片粘附在每只蛋的胶滴位点上,并让其风干。胶干燥后,用 95%乙醇将橡胶隔片消毒。用高强度检蛋器确定接种位点。通过用连接 50 µl 重复注射器的 2.54 cm/23 号无菌针(Hamilton Co., Reno, NY)刺穿蛋壳完成接种。

注射后,将蛋贮存于 7 °C 0、7、14、21 或 28 天;然而,贮存 28 天的组在经过 37 °C 达 24 小时后立即取样。在每个注射后的时间,从每个注射位点组/接种前贮存处理组取 4 只蛋样品。将蛋品内容物无菌收集到无菌取样袋(Fisher, Pittsburgh, PA)中并消化 2 分钟。取出 1 ml 置于 9 ml 无菌蛋白胨水缓冲液(BPW, Difco, Detroit, MI)中。如果需要,在胰酪胨琼脂(TSA, Difco)上用 DU2 涂布器(Spiral system Instruments, Inc., Bethesda, MD)螺旋平板接种前,用 9 ml BPW 进行连续稀释。将平板于 37 °C 培养 24 小时,然后进行菌落计数。

实施例 19

接种研究 - 贮存时间和接种位点 - 结果

如实施例 18 中所示进行研究。数据表示为 $\log_{10}$ cfu/ml, 并用一般线性模型程序(SAS institute, 1997)分析。用 $4 \times 3 \times 4$ (接种前时间 $\times$ 接种位点 $\times$ 接种后时间)阶乘排列。通过 LS 均值检验比较处理平均值。用 Tukeys 检验区分平均值。

只要蛋品是在 7 °C 贮存, 接种前时间以及接种位置对肠炎沙门氏菌生长几乎没有影响。直至接种后于 7 °C 21 天, 在蛋品中没有发生生长(数据未示出)。然而, 当在第 27 天发生温度失控时, 在接种后第 28 天时在所有测试的组分中肠炎沙门氏菌数目均增加。

所有所示的数据(图 18)均取自已经于第 26 天暴露于温度失控的蛋品。在第 0 天在蛋黄中接种的蛋品中的沙门氏菌群体为 $6.9 \log_{10}$ cfu/ml。来自该组在外部蛋白区中接种的蛋品的计数最低, 为 $6.0 \log_{10}$ cfu/ml。在蛋黄中和内部蛋白中接种肠炎沙门氏菌前已经贮存 7 天的蛋品的群体分别为 $5.6 \log_{10}$ cfu/ml 和 $5.2 \log_{10}$ cfu/ml。在外部蛋白中接种的蛋品中没有检测到生长(< 10 cfu/ml)。关于接种前贮存 14 天的蛋品, 在外部蛋白中接种的组计数最高, 为 $7.3 \log_{10}$ cfu/ml 在蛋黄和内部蛋白中接种的蛋品的群体为 $6.8 \log_{10}$ cfu/ml。在蛋黄中接种的蛋品和内部蛋白中接种的蛋品的群体分别为 $6.8 \log_{10}$ cfu/ml 和 $6.4 \log_{10}$

cfu/ml。接种前已经贮存 21 天、在外部蛋白中接种的蛋品中肠炎沙门氏菌群体显示与接种前贮存 14 天的蛋品无差异。肠炎沙门氏菌接种在蛋黄中和内部蛋白中的同一组蛋品的蛋白，其计数均略微增加，为 6.9 $\log_{10}$ cfu/ml。在内部蛋白中接种肠炎沙门氏菌前已经贮存 28 天的蛋品的群体为 7.0 $\log_{10}$ cfu/ml。如果将肠炎沙门氏菌接种到蛋黄中，则计数为 6.8 $\log_{10}$ cfu/ml。在细菌接种到外部蛋白的蛋品中，肠炎沙门氏菌群体为 6.5 $\log_{10}$ cfu/ml。

该研究证明，当带壳蛋经过温度处理时，肠炎沙门氏菌能够繁殖，如果蛋品没有适当地蒸煮，则提高食物中毒的机会。

10

实施例 19

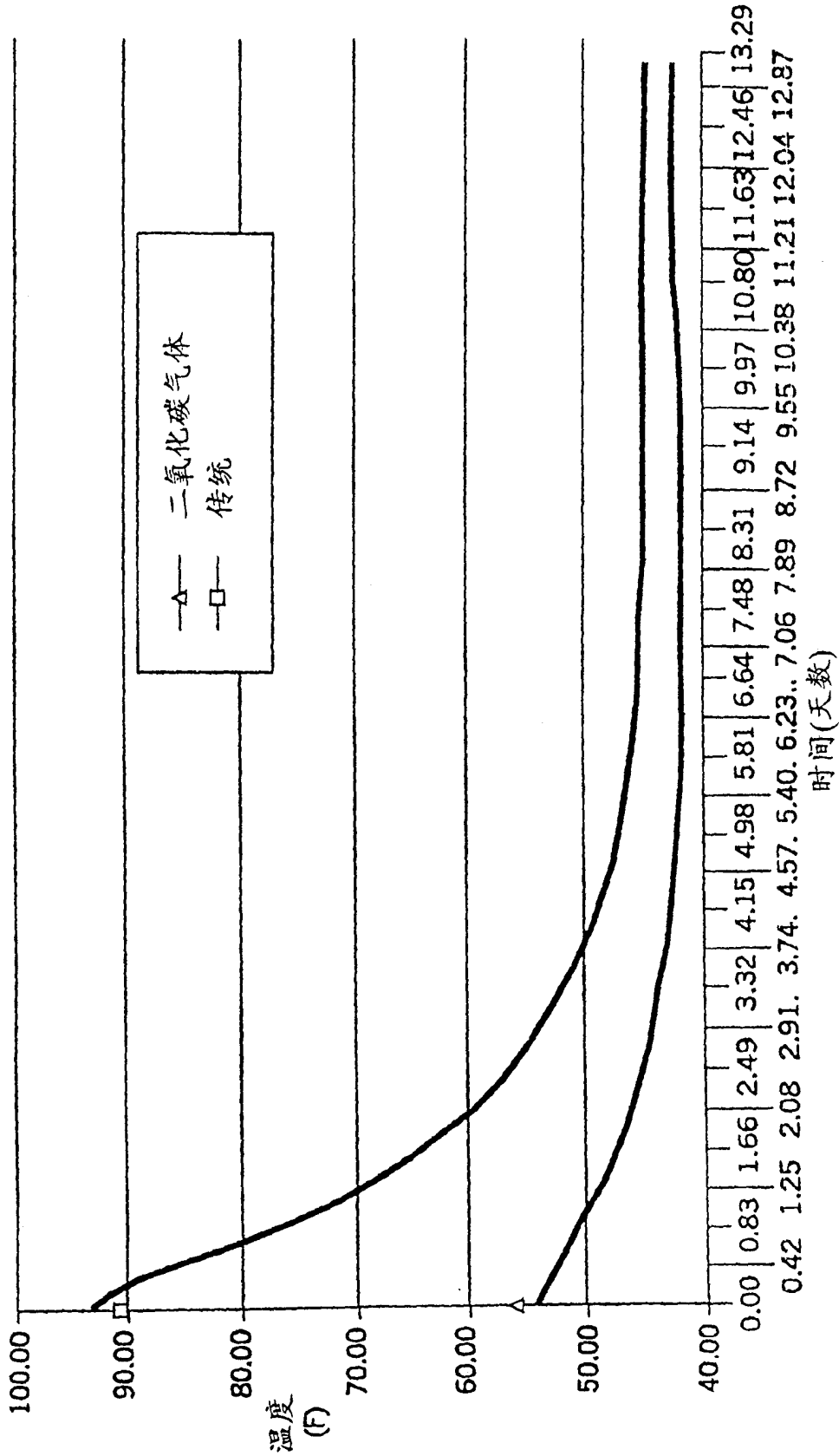
接种研究 - 在二氧化碳中冷却并贮存

如实施例 17 中所述，在蛋品不同位点对每组蛋品亚组接种肠炎沙门氏菌，然后贮存不同时间。在接种后如实施例 16 中所述，将蛋品空气冷却并空气贮存、二氧化碳冷却并空气贮存或二氧化碳冷却和二氧化碳贮存。贮存 28 天后，将蛋品如实施例 17 中所述经过 37 °C 温度失控达 24 小时。如实施例 17 中所述测定每组蛋品中肠炎沙门氏菌污染。在处理组间比较结果。在温度失控后微生物污染在空气冷却-空气贮存组中最高，在二氧化碳冷却-二氧化碳贮存组中最低，在空气冷却-二氧化碳贮存组中为中等。也如实施例 17 中所述，测定每组蛋品在接种后不同时间的微生物负载量。

20

以上实施例说明本发明，不能解释为限制本发明。本发明由以下权利要求书描述，其中包括权利要求书的等同方案。

图1
平均冷却曲线



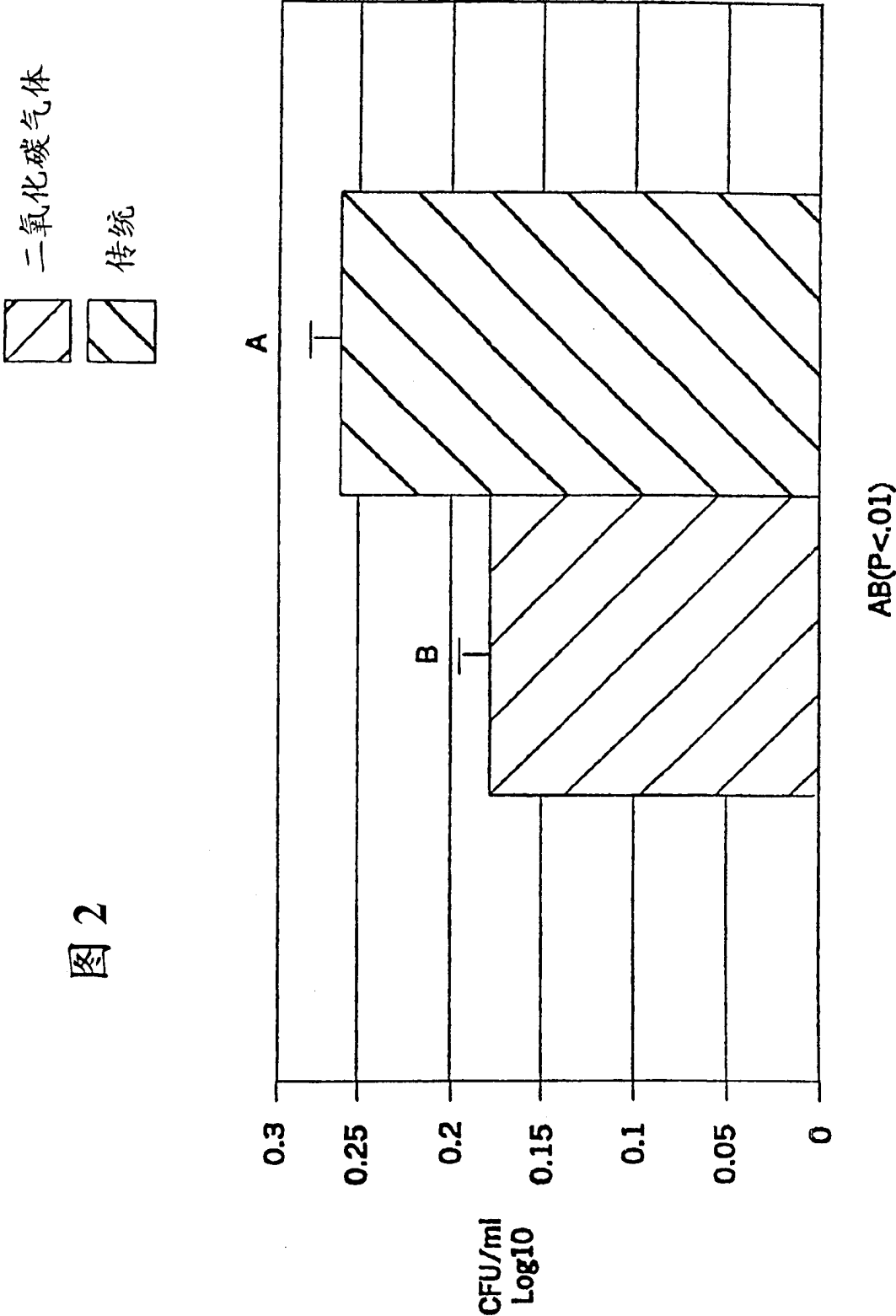
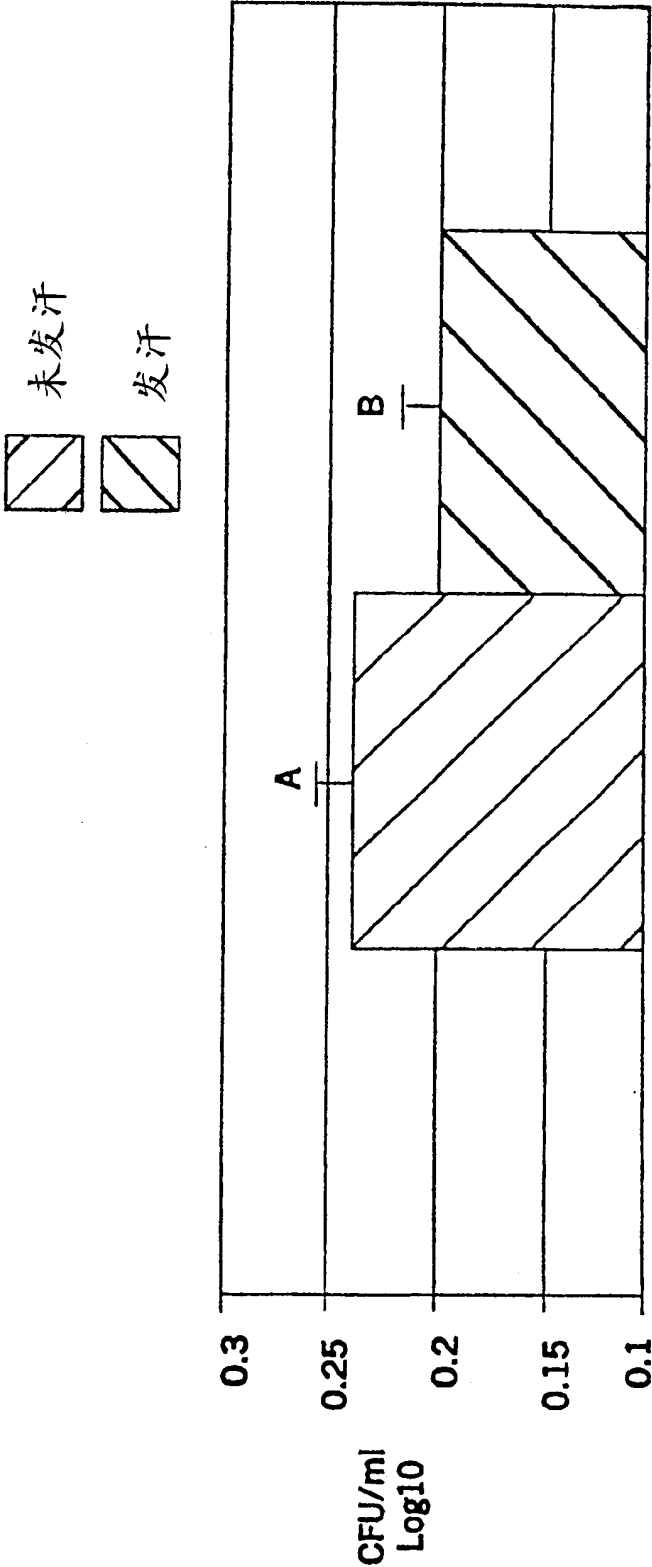
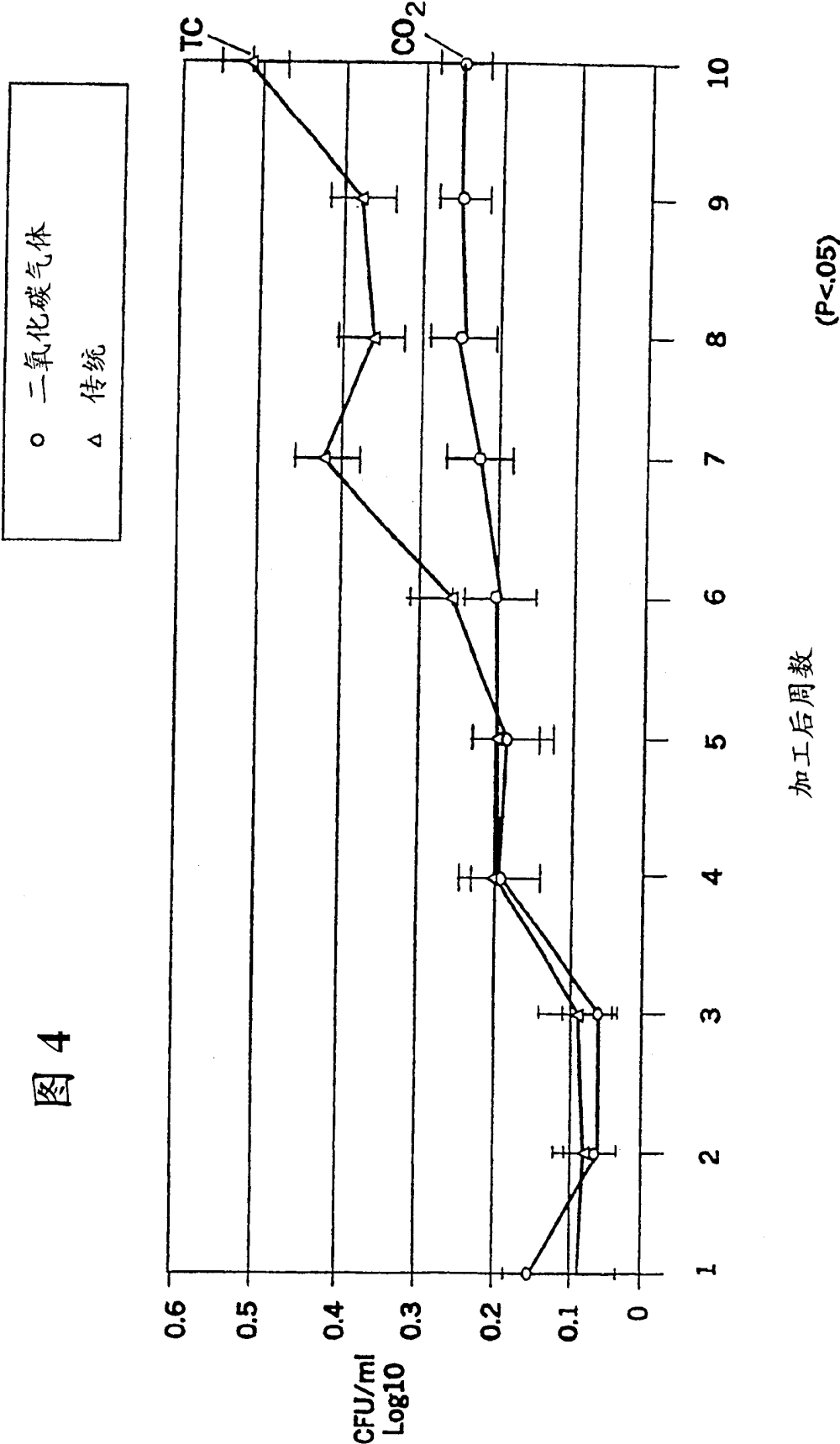
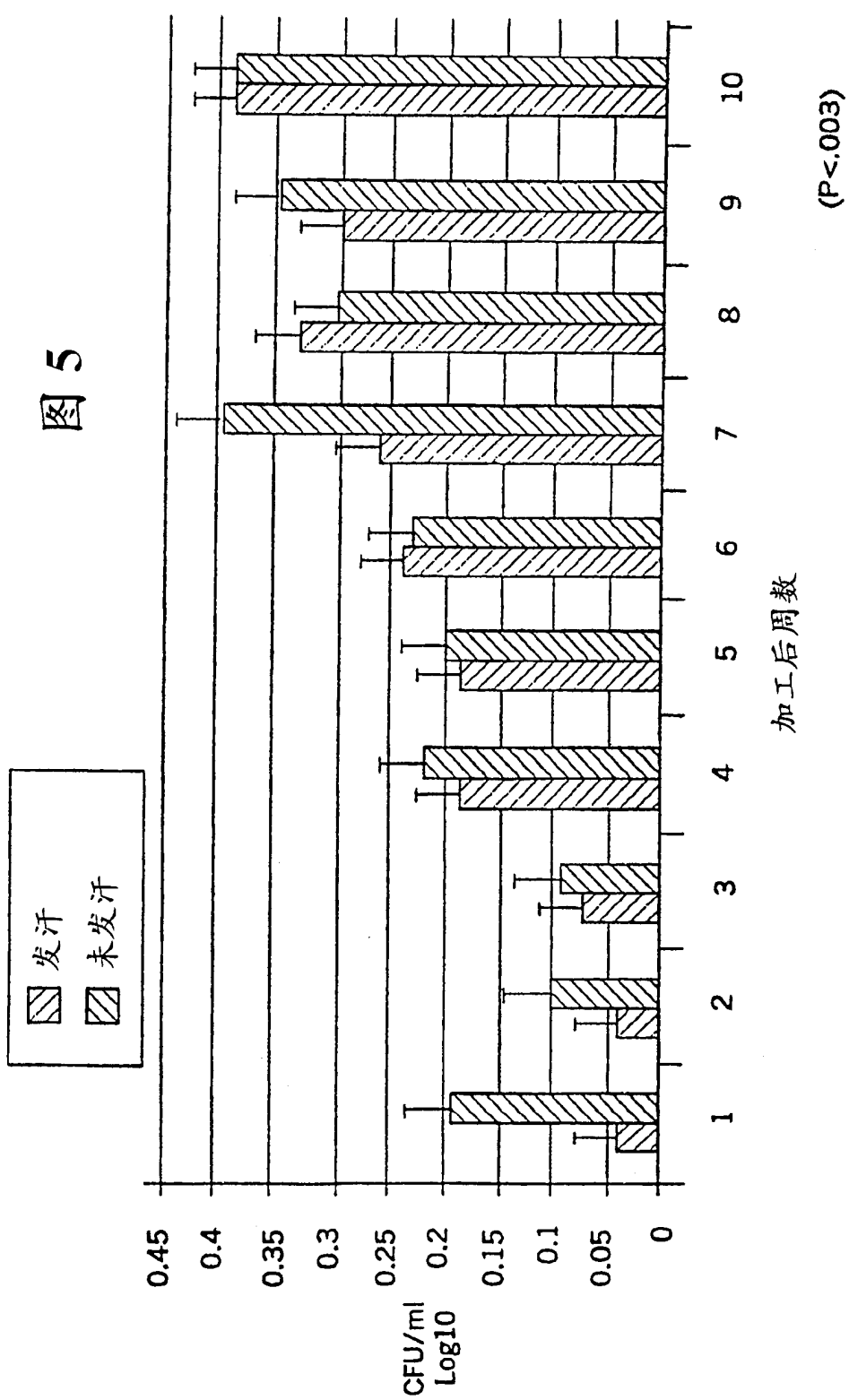
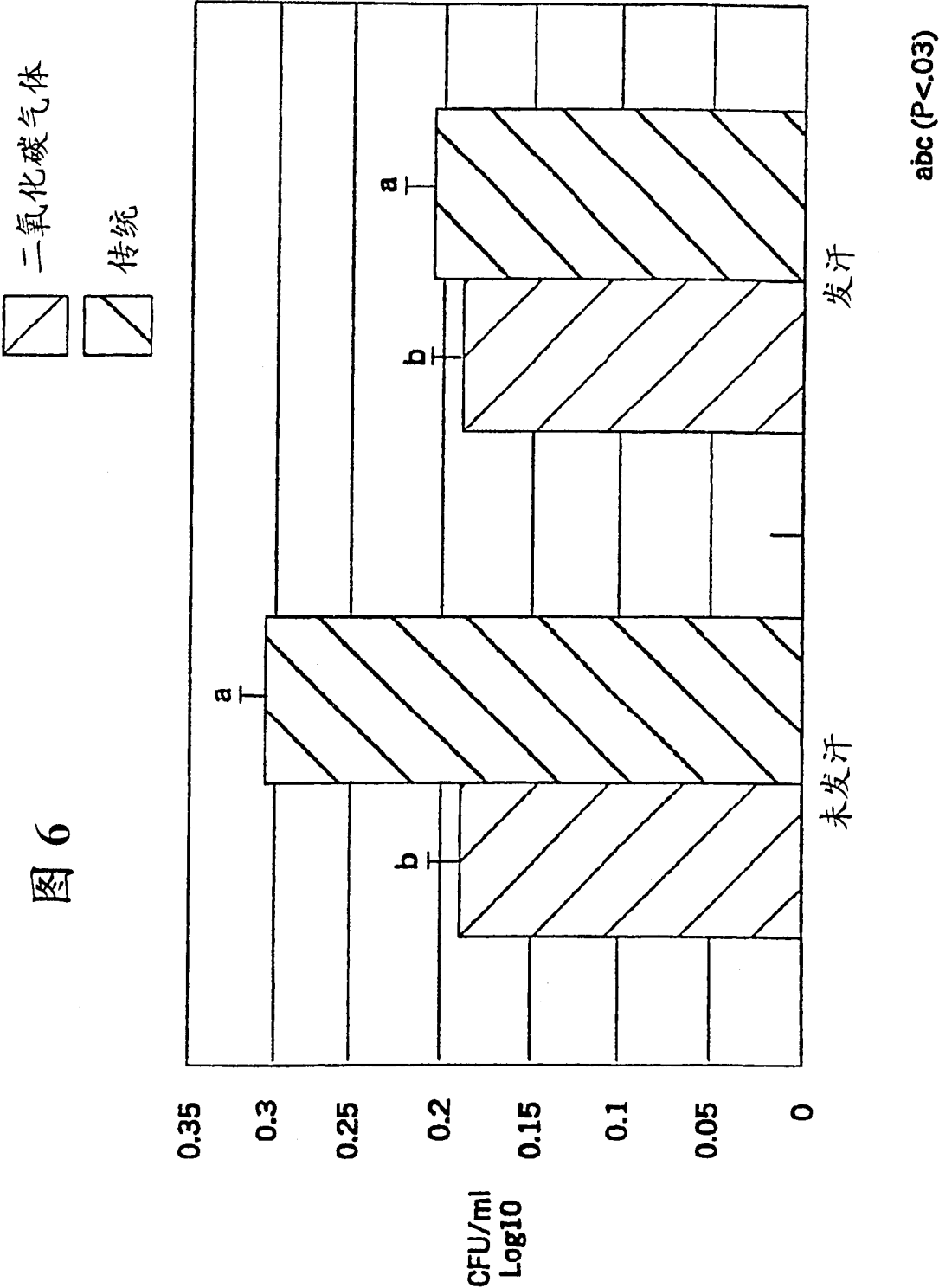


图 3



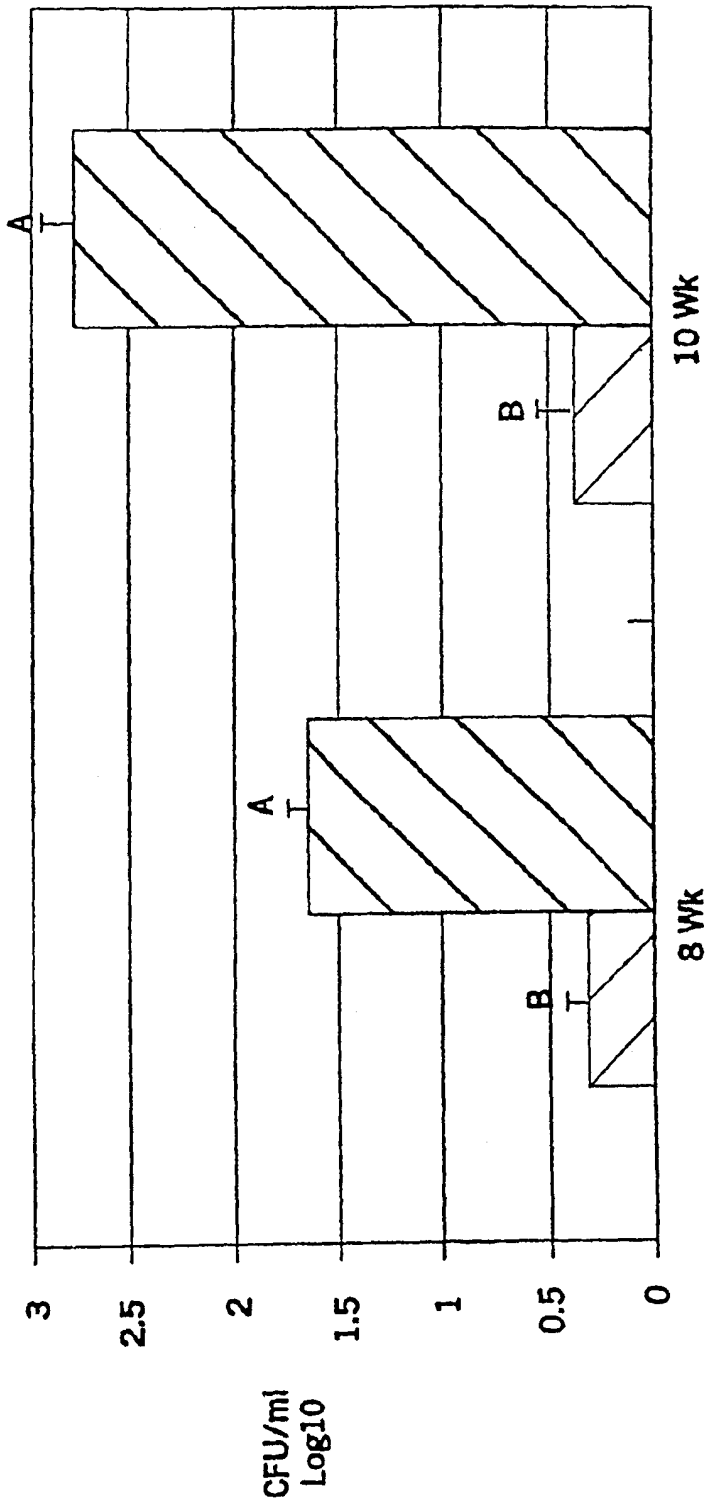






完整蛋
裂缝蛋

图 7



($P < .0001$)

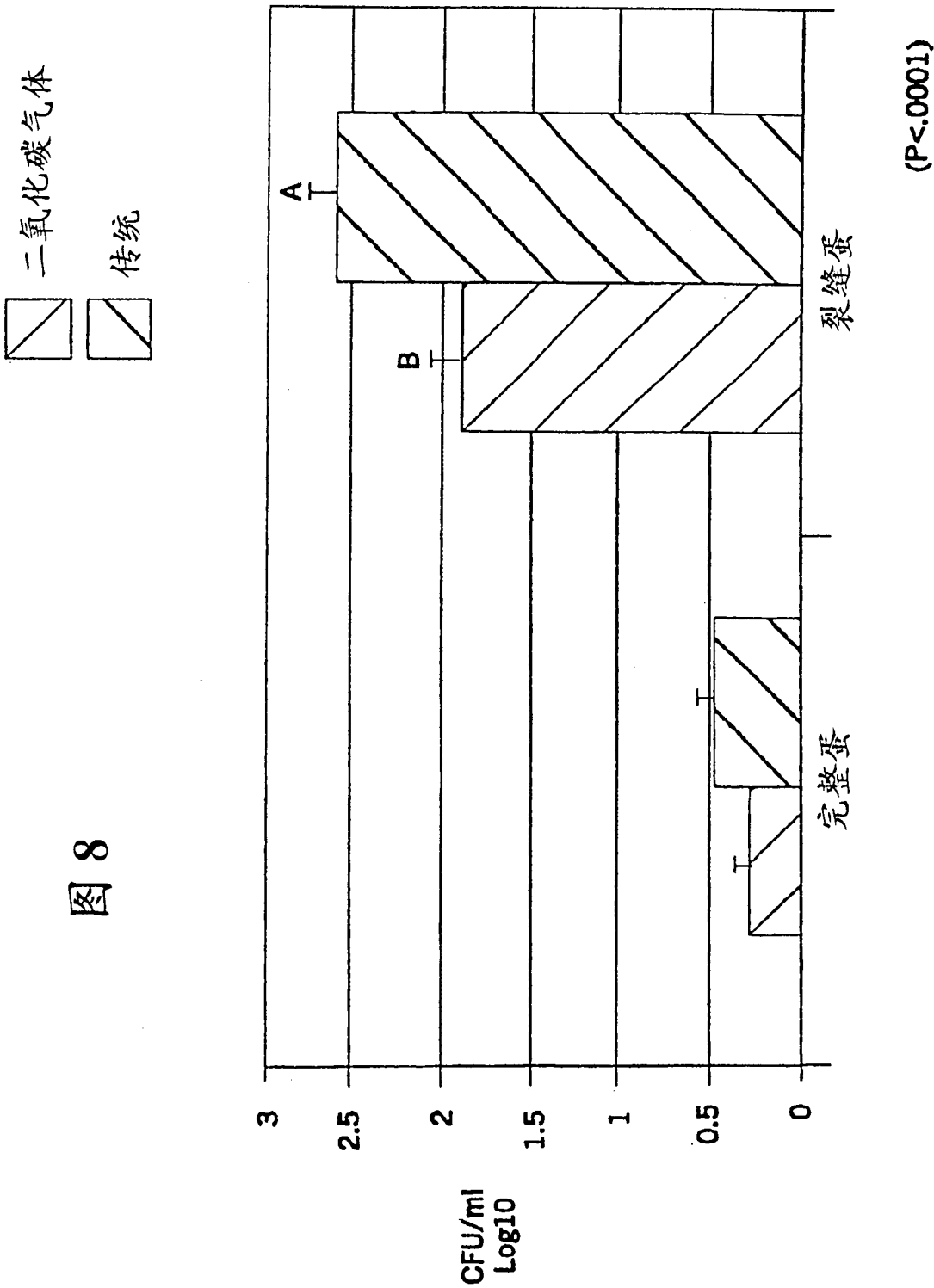
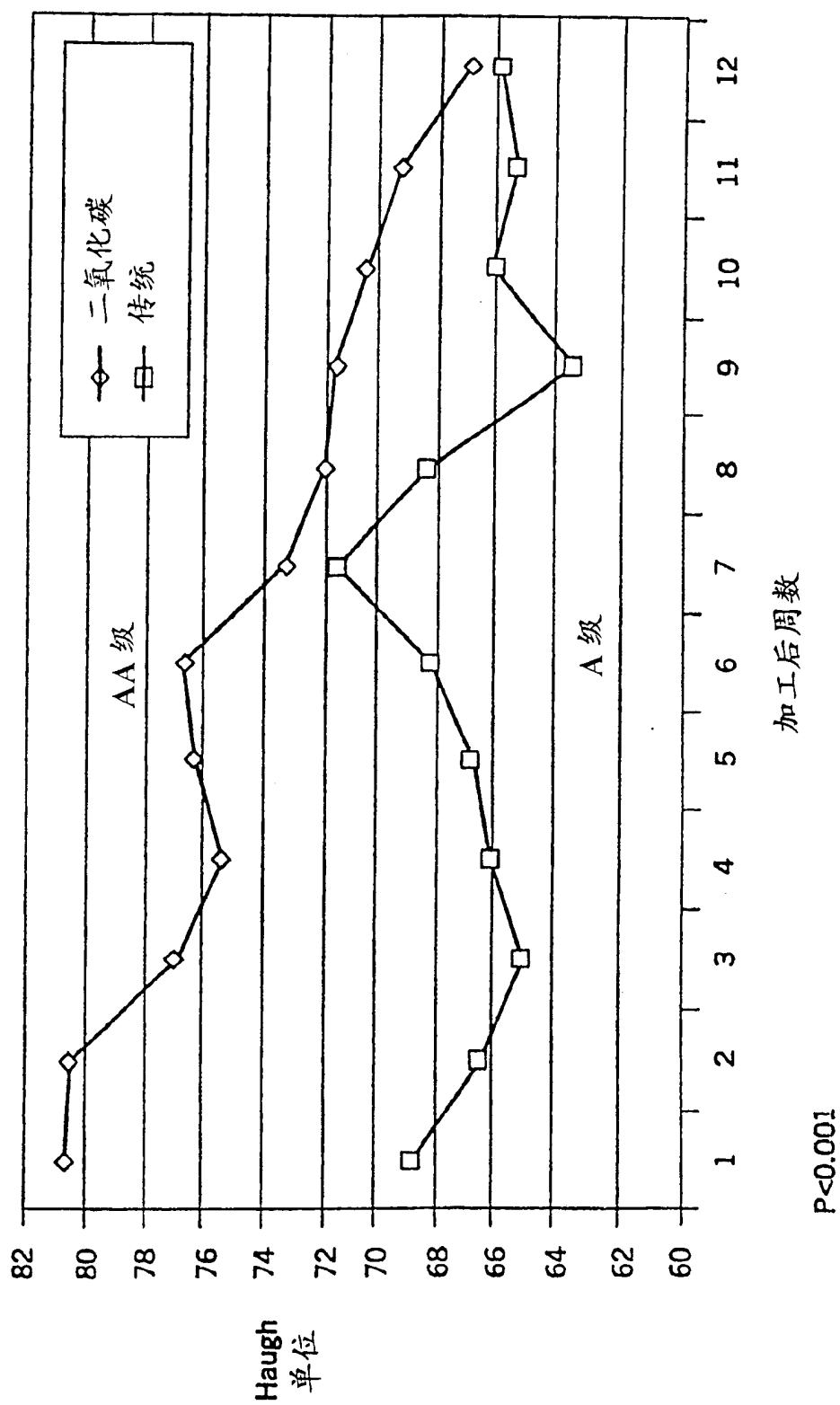
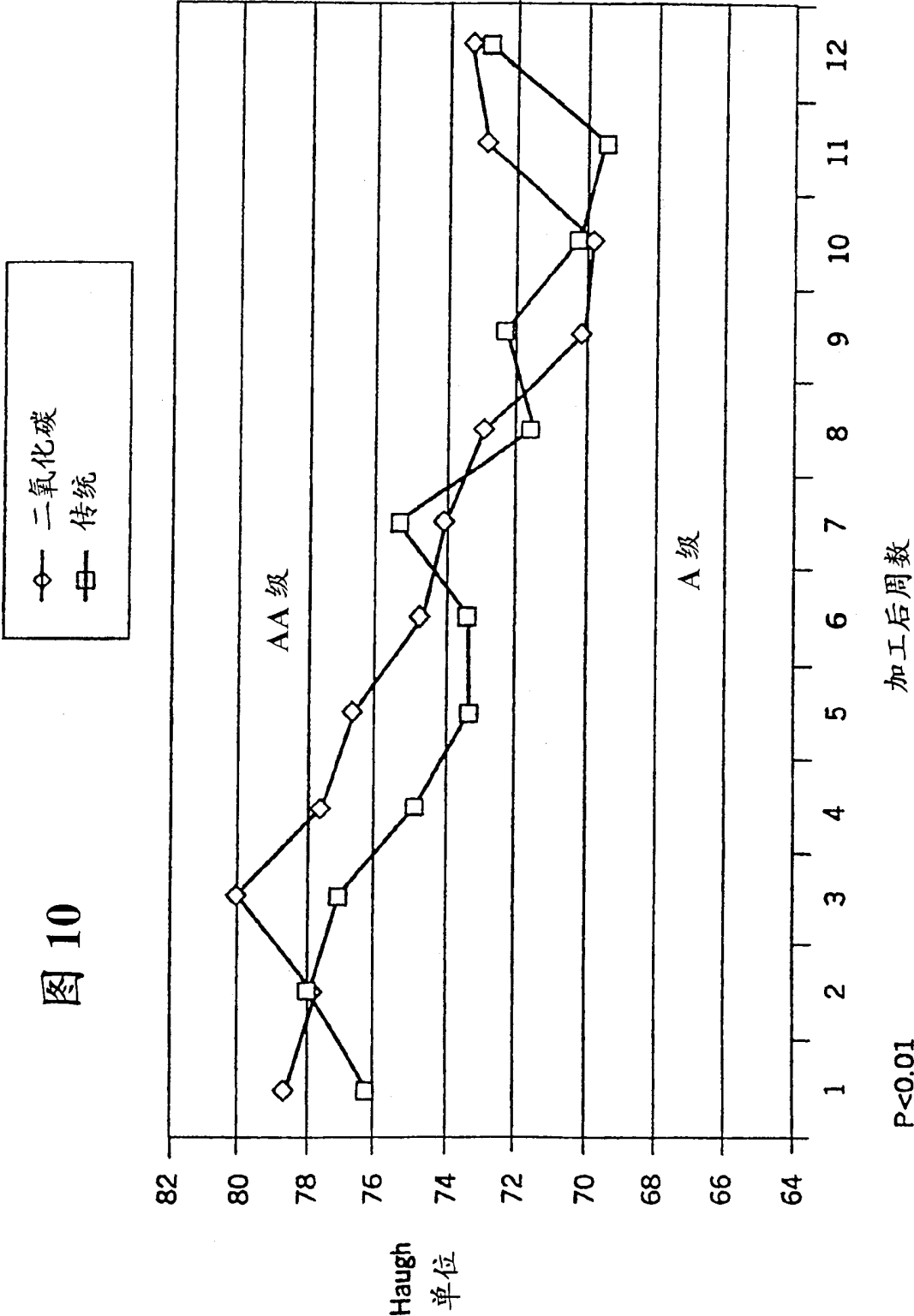


图 9





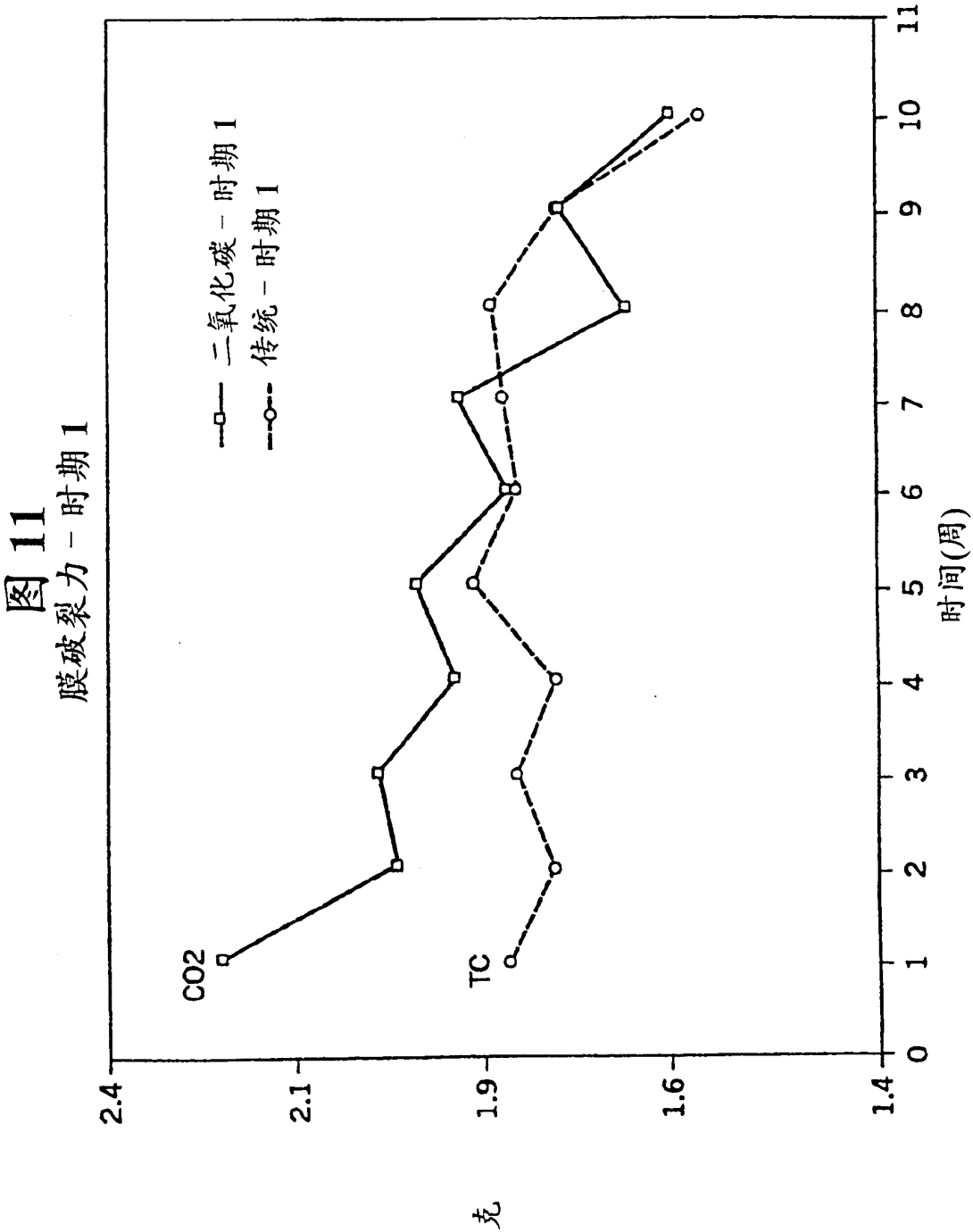


图 12
膜破裂力 - 时期 2

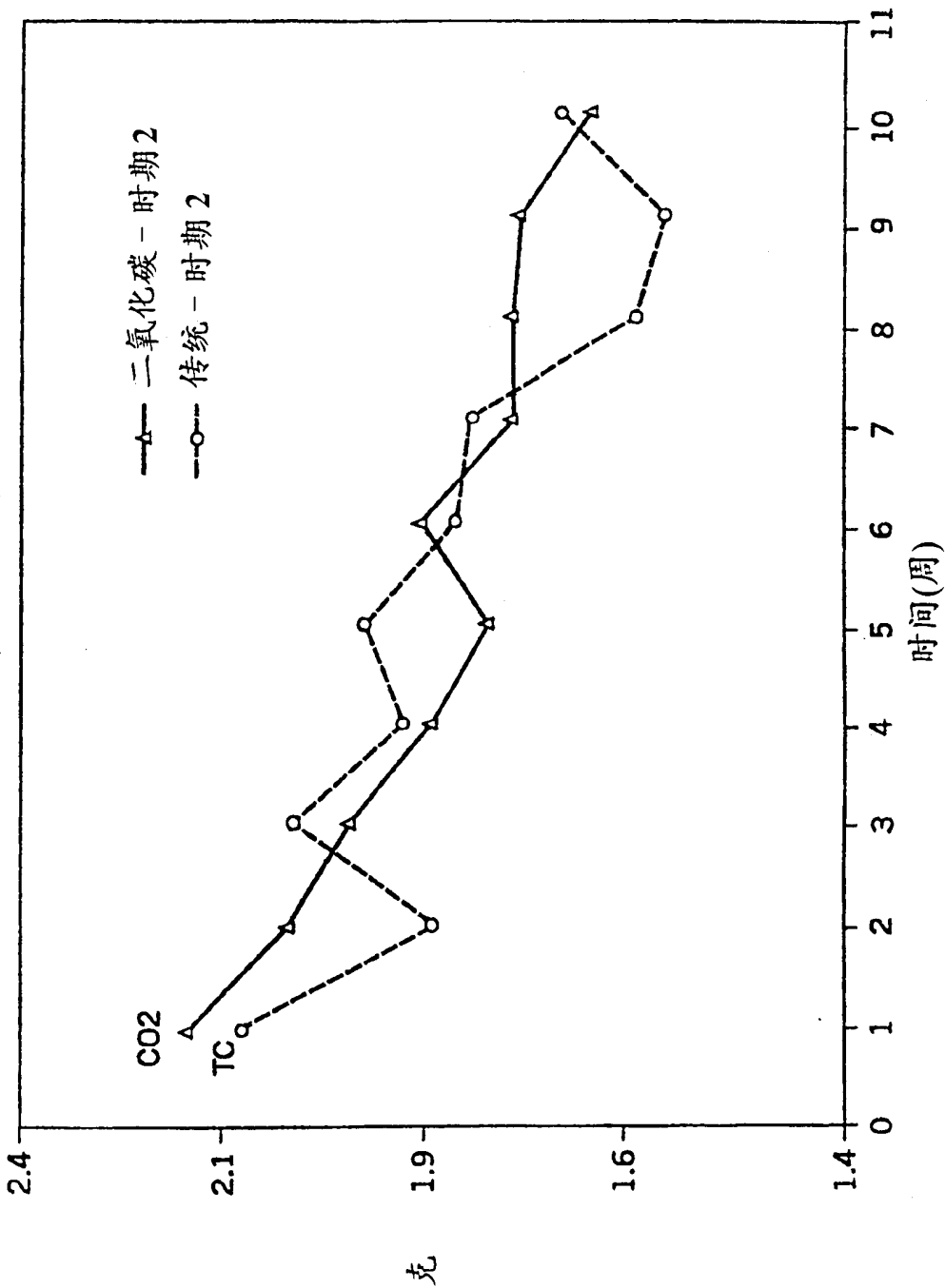


图 13
膜相对弹性

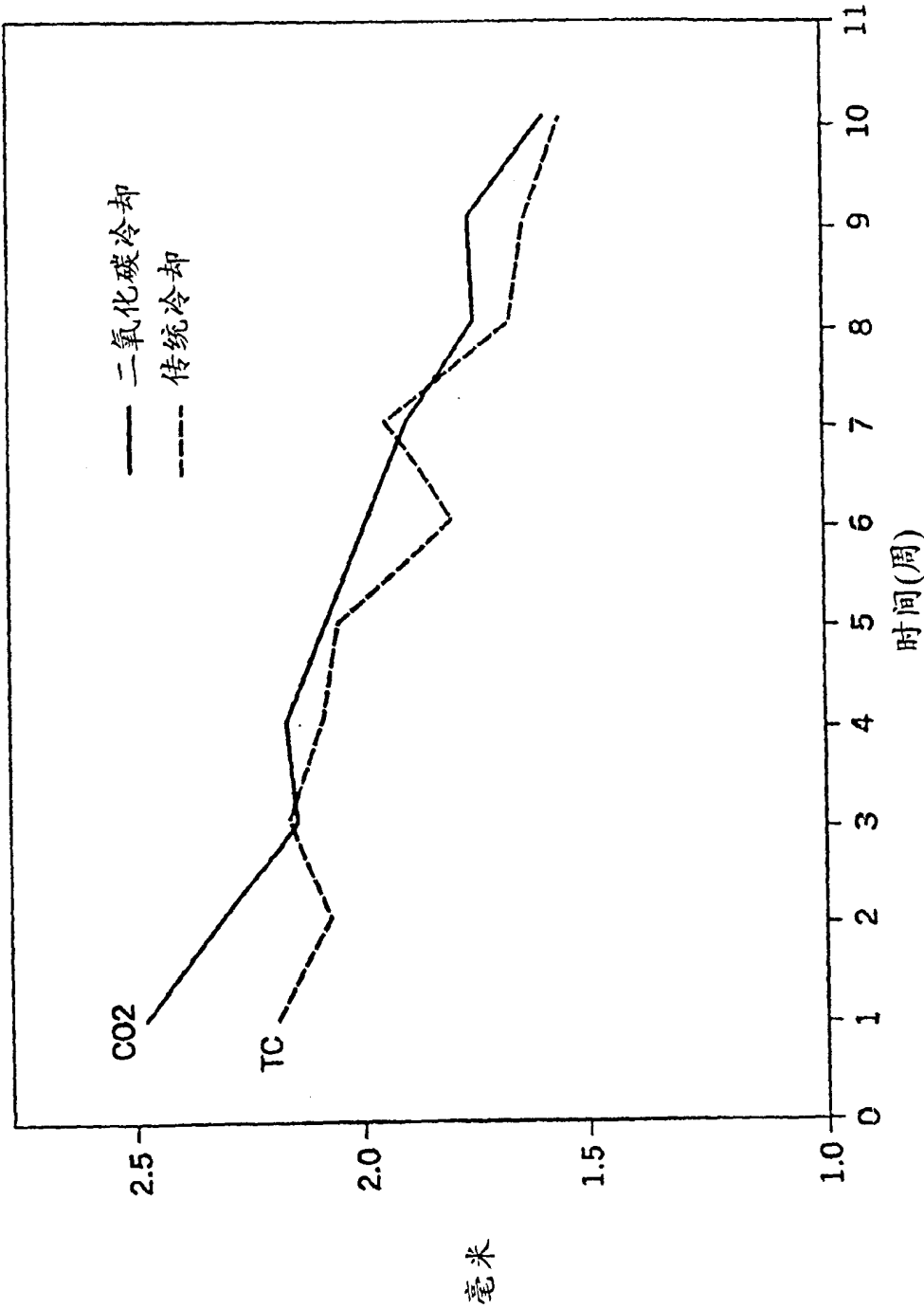
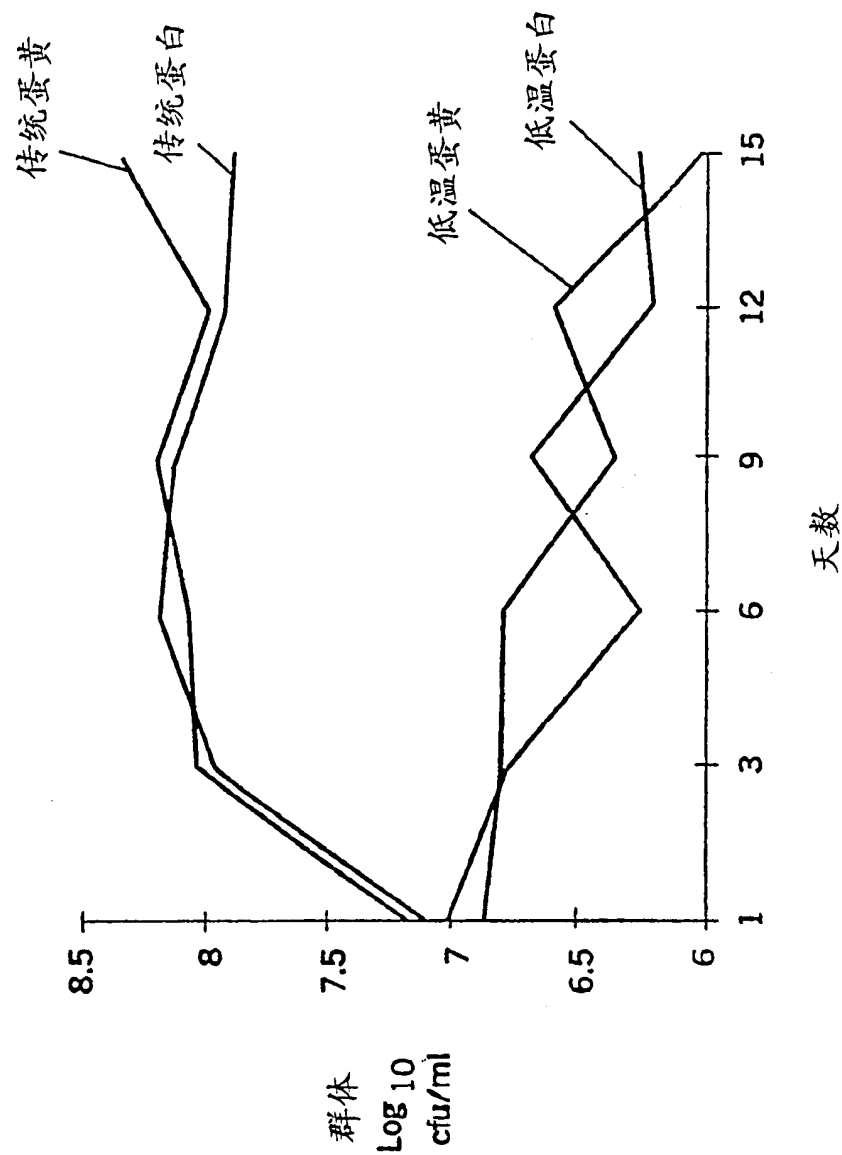


图 14



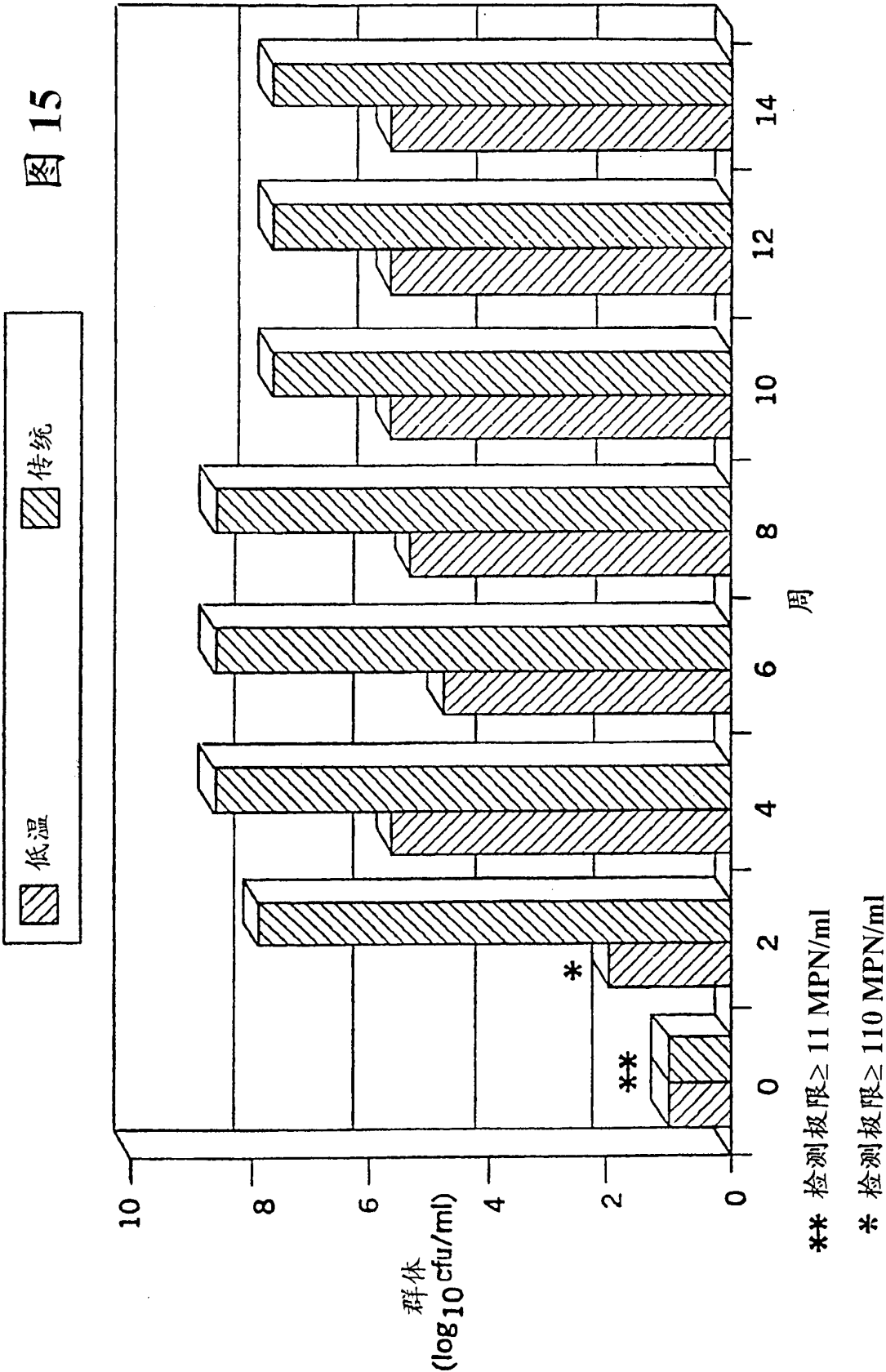
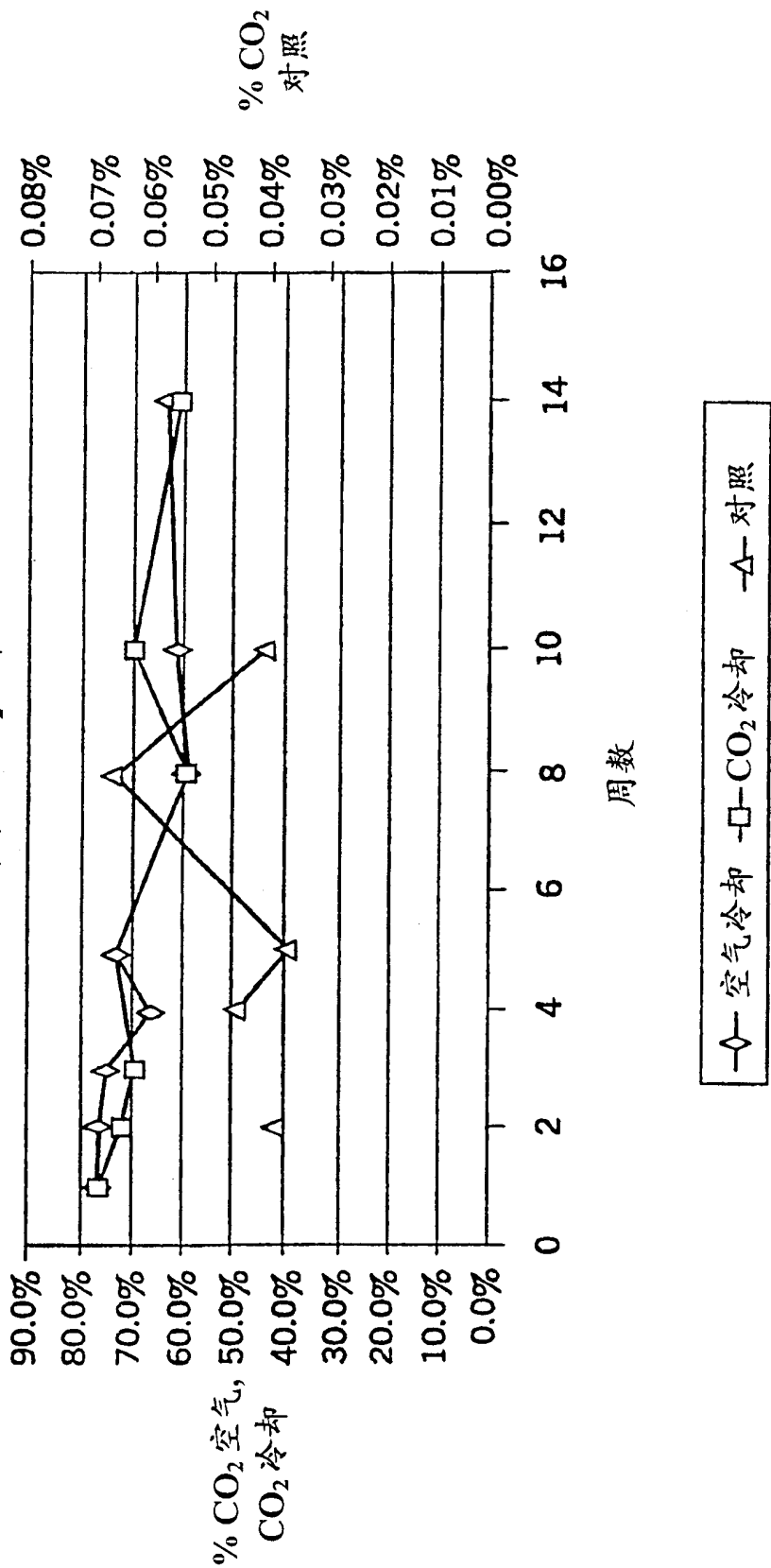


图 16A
罐中的 CO₂ 水平



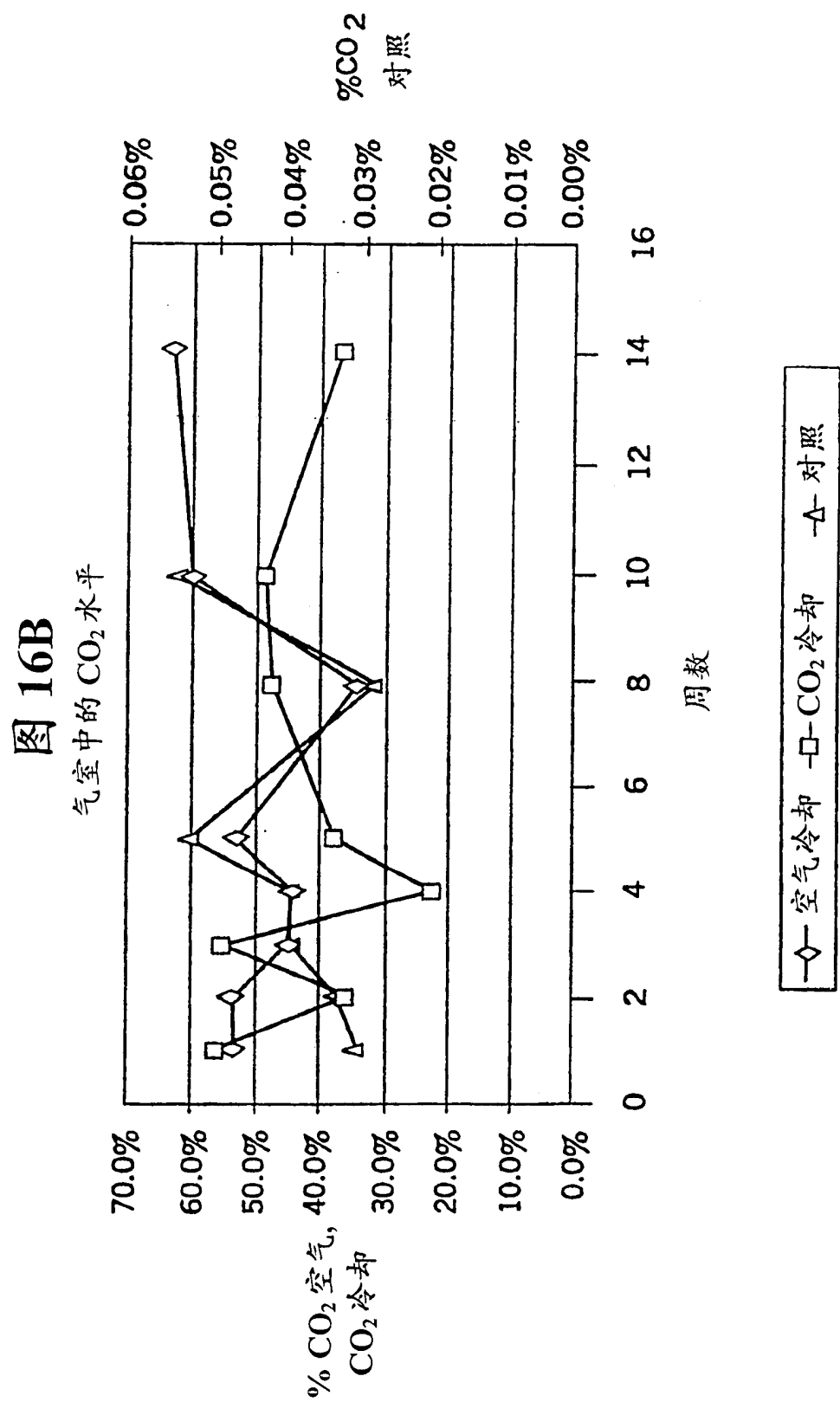


图 16C
蛋白中的 CO₂ 水平

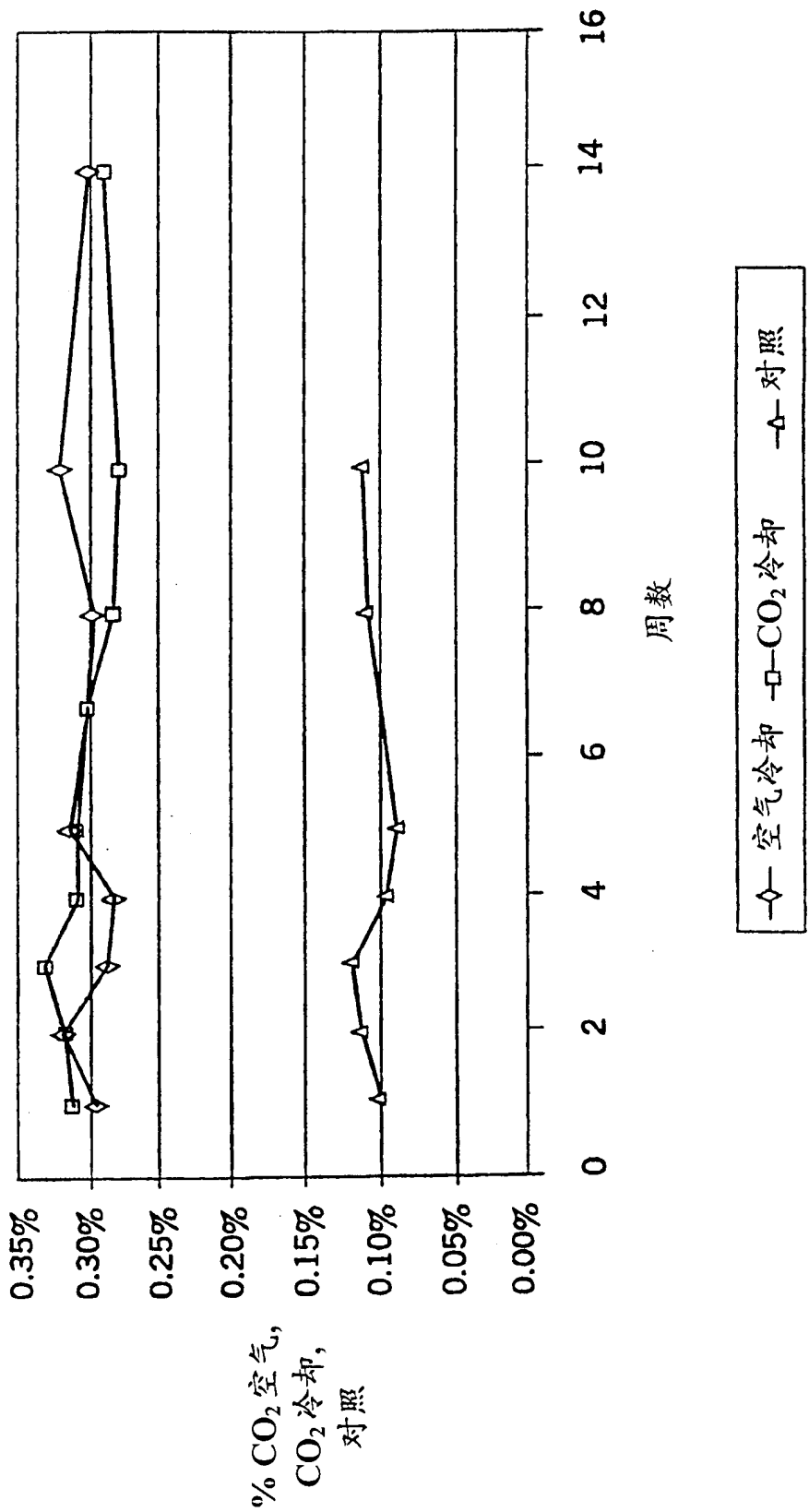


图 17A
对照蛋的 Haugh 单位和蛋白中的 CO₂

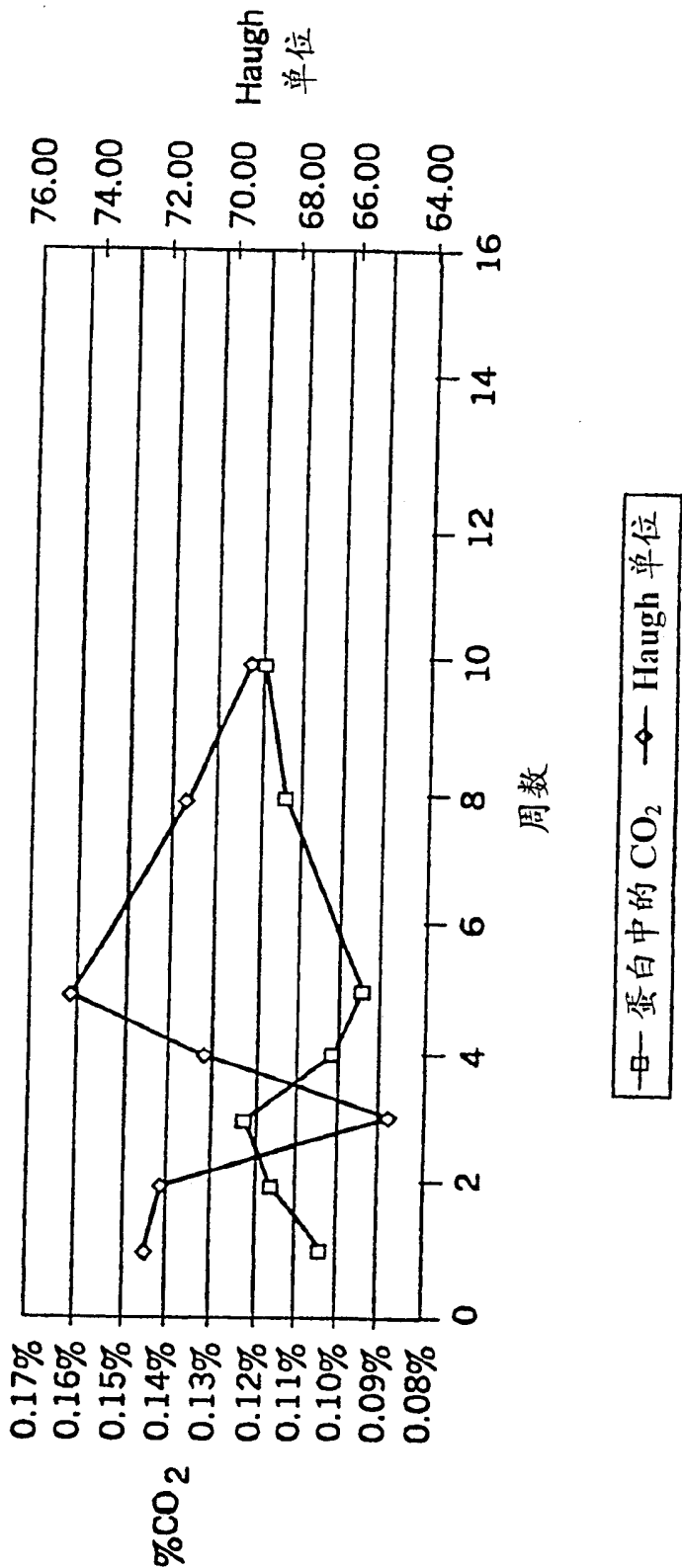


图 17B
空气冷却蛋的 Haugh 单位和蛋白中的 CO₂

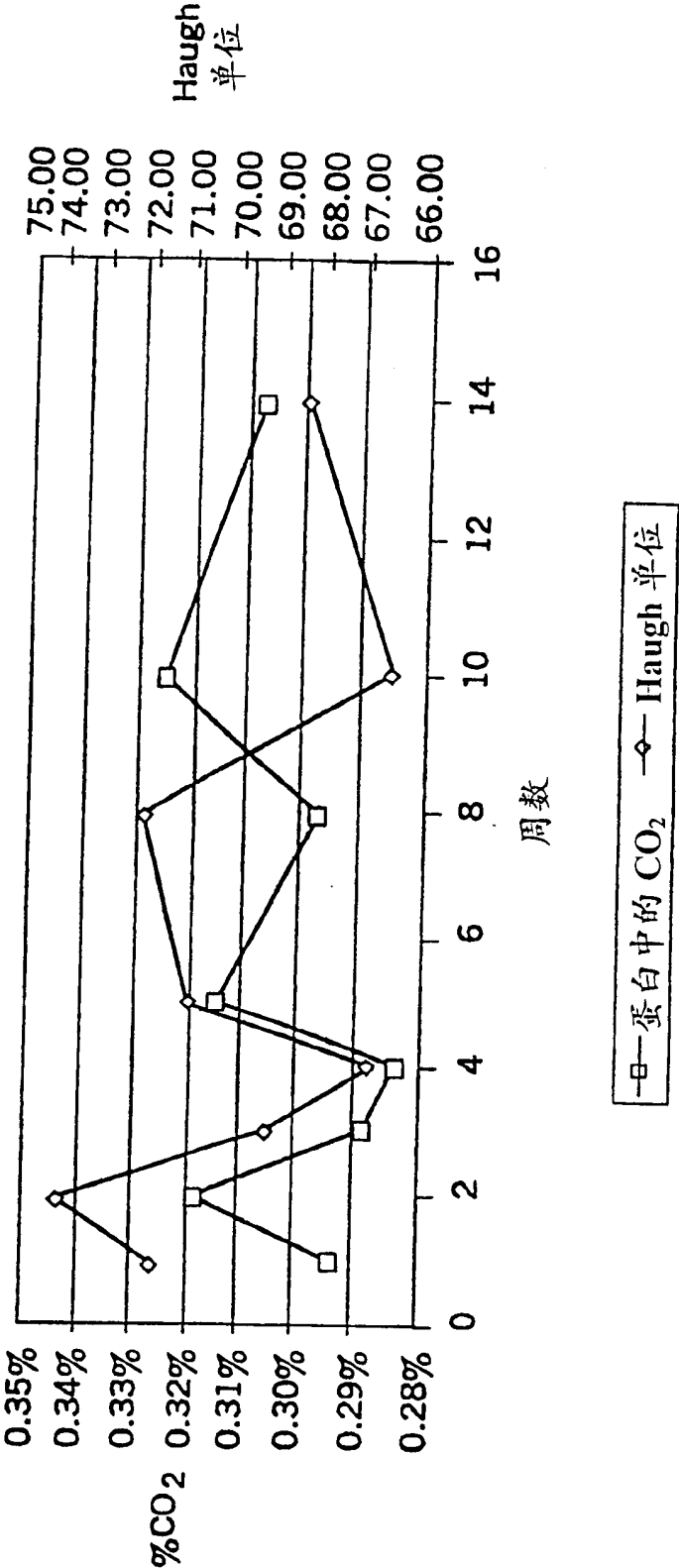


图 17C
CO₂ 冷却蛋的 Haugh 单位和蛋白中的 CO₂

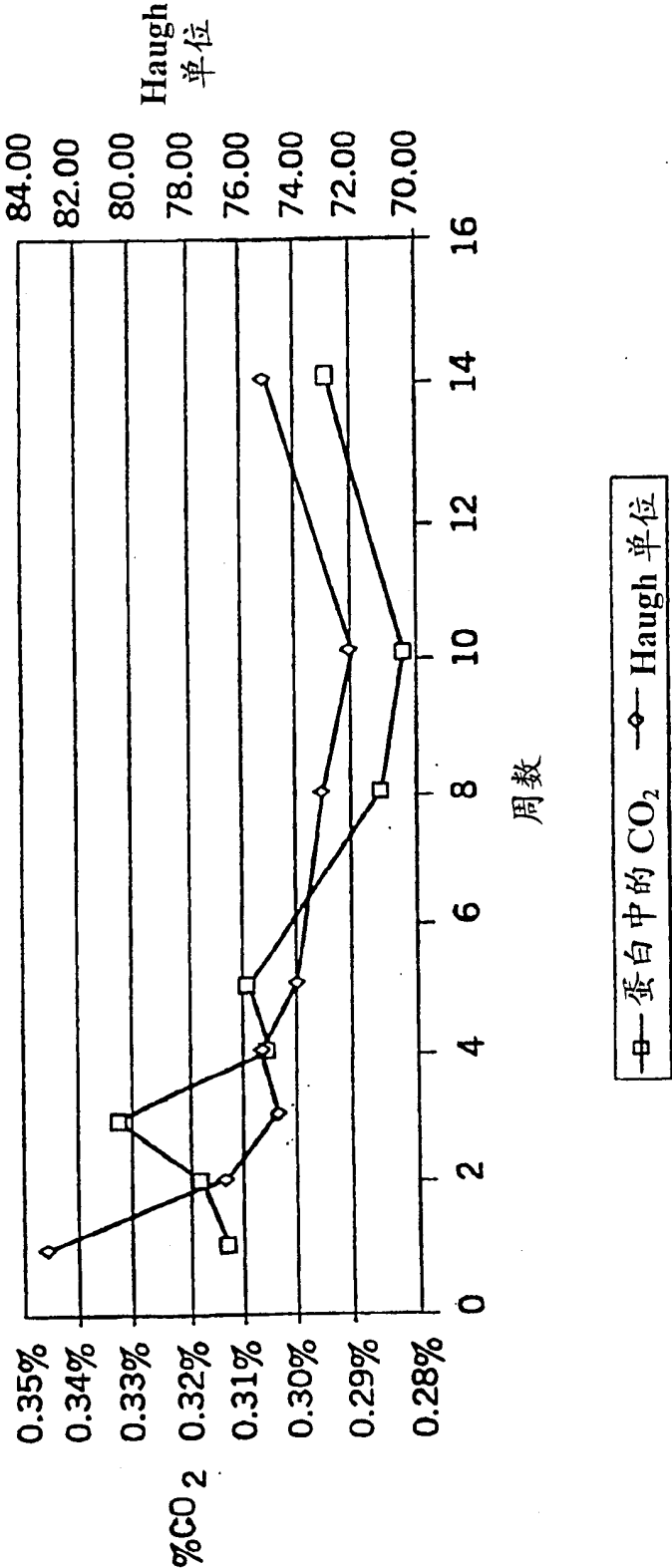


图 18

