

超高压灭菌效果实验研究

夏远景, 李志义, 薄纯智, 陈淑花, 刘学武

(大连理工大学流体与粉体工程研究设计所, 辽宁 大连 116012)

摘要: 超高压灭菌技术是一项具有广阔应用前景的食品加工新技术。本文以食品中常见的大肠杆菌、枯草芽孢杆菌为研究对象, 通过实验对影响超高压灭菌效果的处理条件(压力、保压时间、pH值等)进行了考察与评价。实验结果表明: 压力、保压时间对灭菌效果影响显著, 随着压力的增大和时间的增长, 细菌的死亡率增大。但当处理压力和保压时间达到一定值后, 它对灭菌效果的影响趋于平缓。强的酸性和碱性环境中, 即在低pH值和高pH值时, 有利于超高压杀菌, 在中性环境中, 灭菌效果最差。同时, 本文对超高压处理后大肠杆菌的活性进行了研究, 得出大肠杆菌经超高压处理后活性降低的结论。研究结果对进一步优化超高压杀菌工艺具有一定的参考价值。

关键词: 超高压; 大肠杆菌; 枯草芽孢杆菌; 细菌活性

中图分类号: TS205.9; 文献标识码: A; 文章编号: 1673-9078(2007)02-0020-03

Experimental Investigation of the Ultra-high Pressure Sterilization

XIA Yuan-jing, LI Zhi-yi, BO Chun-zhi, CHEN Shu-hua, LIU Xue-wu

(R&D Institute of Fluid and Powder Engineering, Dalian University of Technology, Dalian 116012, China)

Abstract: The ultra-high pressure sterilization is a novel method for food processing and has a promising future in food industry. Several influential parameters in the sterilization with this method, including processing pressure, sustaining time and pH value, are studied using *Escherichia coli* and *Bacillus subtilis*, which commonly exist in foods, as the objects of the experiments. The results indicate that the reductions of microorganisms increase with an increase of processing pressure and sustaining time. While the effects of high-pressure and sustaining time on Microorganisms vary gently after they reach a certain value. A acidic medium or alkaline medium are helpful for high pressure sterilization, and the neutral circumstance is the last choice for it. We also have studied the activity of Bacteria after high-pressure sterilization. The results show that the activity of *Escherichia coli* reduces after high-pressure treatment. The study provides some valuable references to optimize of high-pressure sterilization process.

Key words: high-pressure; *escherichia coli*; *bacillus subtilis*; activity of Bacteria

超高压灭菌技术是将处理物料置于高压容器中, 以水或其它流体介质作为压力传媒, 在 100~1000 MPa 压力下处理一段时间, 使之达到杀菌要求^[1]。高压导致微生物的形态结构, 基因机制及细胞壁膜发生多方面变化, 从而影响微生物原有的生理活动机能, 甚至使原有功能破坏或发生不可逆变化, 所以超高压在常温下具有致死微生物的作用^[2]。与热处理方法相比较, 经超高压处理的食物天然风味和营养价值不受或极少受影响^[3], 且杀菌均匀、瞬时、高效, 耗能低^[4,5], 其应用前景十分广阔。

近年来, 超高压灭菌技术研究进展迅速, 然而要实现工业化, 还有许多问题有待深入研究。本文以食品中常见的污染指标菌—大肠杆菌、枯草芽孢杆菌为

研究对象, 对影响超高压杀菌效果的相关外界因子进行研究, 为进一步优化超高压杀菌工艺提供具有参考价值的基础性数据。

1 材料和方法

1.1 实验材料

材料与试剂: 牛肉膏、蛋白胨、琼脂粉, 均为生化试剂, 北京奥博星生物技术责任有限公司; NaCl、NaOH、无水乙醇, 均为分析纯, 沈阳市联邦试剂厂。

菌株: 由大连理工大学生物工程系微生物实验室提供。

培养基: 营养肉汁琼脂培养基。

1.2 仪器设备

超高压设备(压力范围 0~800 MPa), 包头科发新型高技术食品机械有限公司; CA-1390-1 垂直层流洁净工作台, 上海上净净化设备有限公司; HZQ-F160A

收稿日期: 2006-09-12

作者简介: 夏远景, 讲师, 在读博士

通讯作者: 李志义

高低温恒温振荡培养箱,上海一恒科学仪器有限公司; YXQ.SG41-280 手提式压力蒸汽消毒器,宁波永兴医疗器械有限公司;精密电子天平,上海天平仪器厂;电子万用炉,北京市永光明医疗仪器厂;干燥机,无锡医疗仪器厂;721 分光光度计,上海第三分析仪器厂。

1.3 实验方法

1.3.1 菌悬液的超高压处理

将待处理细菌溶液封装于无菌塑料管内,置于高压容器内,于室温下进行超高压处理,压力范围为常压至600 MPa,保压时间为0~30 min。

微生物检测:根据国家食品微生物检验标准(GB4789)检测微生物。

1.3.2 细菌活性测定

将大肠杆菌的菌悬液在 300 MPa 下处理 10 min,从原液和处理液中各取出 1 ml,同时加入到 99 ml 液体培养基中,放入振荡培养箱震荡培养。每 30 min 分别从原液和处理液培养基中各取出 5 ml 溶液,用紫外分光光度计测出吸光度值,通过考察细菌的延迟期来分析细菌的活性。

2 结果与讨论

2.1 压力大小对细菌死亡率的影响

2.1.1 压力对大肠杆菌死亡率的影响

为了考察菌悬液中大肠杆菌死亡率与处理压力之间的关系,实验选择在室温,保压时间为 5 min, pH 6.4 的条件下,进行了不同压力的超高压处理。压力对大肠杆菌死亡率的影响如表 1 所示。

表 1 大肠杆菌死亡率与压力的关系

压力/MPa	0.0	80.0	140.0	200.0	250.0
死亡率/%	0	8.40	17.65	69.75	83.45
压力/MPa	280.0	320.0	400.0	480.0	
死亡率/%	97.50	99.71	99.88	99.95	

从表 1 可见,当压力达到 280 MPa 时,大肠杆菌的死亡率已达到 97.5%,再加大压力,上升趋势趋缓。当压力达到 400 MPa 时,细菌的死亡率达到 99.88%。可见在超高压处理过程中,压力的大小对杀菌效果影响很大。一般而言,随着压力的升高,微生物的死亡率增大。然而,当微生物的死亡率达到一定数值以后,其上升趋势趋缓。

2.1.2 压力对枯草芽孢杆菌死亡率的影响

表 2 是枯草芽孢杆菌在保压时间 5 min, pH 6.4 时处理压力大小与死亡率的关系。

表 2 枯草芽孢杆菌死亡率与压力的关系

压力/MPa	0.0	140.0	200.0	280.0
死亡率/%	0	26.46	54.05	96.25
压力/MPa	380.0	460.0	480.0	600.0
死亡率/%	97.10	97.44	99.43	99.54

从表 2 可看出,在低压段,细菌死亡率上升较快,当压力上升到 200 MPa 时,枯草芽孢杆菌的死亡率为 54.05%,当压力达到 280 MPa 时,枯草芽孢杆菌的死亡率达到 96.25%。再增大压力,上升趋势趋缓,即在压力为 280~480 MPa 这个范围,死亡率基本趋平。当压力增大到 480 MPa 时,枯草芽孢杆菌的死亡率达到 99.43%。

2.2 保压时间对细菌死亡率的影响

2.2.1 保压时间对大肠杆菌死亡率的影响

表 3 是压力 240 MPa 和 pH 6.4 条件下,保压时间与大肠杆菌死亡率的关系。

表 3 大肠杆菌死亡率与保压时间的关系

时间/min	0	1	5	10	15	20	30
死亡率/%	0	25.80	82.72	90.49	94.32	94.94	96.54

从表 3 可看出,随着保压时间的增加,细菌的死亡率急剧增大。处理 1 min 时,只有 25.80%的死亡率,而保压时间达到 10 min 时,死亡率达到 90.49%。此后,保压时间对死亡率的影响趋于平缓。

2.2.2 保压时间对枯草芽孢杆菌死亡率的影响

表 4 是枯草芽孢杆菌在处理压力 460 MPa, pH 6.4 时保压时间与死亡率的关系。

表 4 枯草芽孢杆菌死亡率与保压时间的关系

时间/min	0	2	5	10	15	20	30
死亡率/%	0	64.18	97.44	97.78	97.85	99.72	99.73

表 4 可看出,随着保压时间的增加,细菌的死亡率急剧增大。保压时间为 2 min 时,死亡率为 64.17%。而保压时间达到 5 min 时,死亡率达 97.78%;当保压时间达到 30 min 时,死亡率达到 99.73%。在 5~30 min 的范围内,死亡率上升缓慢,几乎持平。

2.3 pH 值对细菌死亡率的影响

2.3.1 pH 值对大肠杆菌死亡率的影响

表 5 为大肠杆菌在处理压力 300 MPa, 保压时间 10 min 时 pH 值与死亡率的关系。

表 5 大肠杆菌死亡率与 pH 值的关系

pH	5	6.4	7.2	8.5	10
死亡率/%	99.98	99.66	99.62	99.52	99.69

从表 5 可看出,在酸性和碱性条件下均比中性条件下易于杀菌,即在溶液由酸性到中性到碱性的变化

过程中,细菌的死亡率先是随着 pH 值的增大而减小,后是随着 pH 值的增大而增大。在酸性环境下大肠杆菌的死亡率比碱性环境下要高。

2.3.2 pH 值对枯草芽孢杆菌死亡率的影响

表 6 为枯草芽孢杆菌在处理压力 380 MPa, 处理时间 10 min 时 pH 值与死亡率的关系。

表 6 枯草芽孢杆菌死亡率与 pH 值的关系

PH	5	6.4	7.2	8.5	10
死亡率/%	98.97	97.48	98.04	98.14	98.44

从表 6 可看出,在酸性环境下枯草芽孢杆菌的死亡率比碱性和中性环境下要略高。中性环境下死亡率最低。其变化趋势同大肠杆菌相似。

2.4 大肠杆菌经超高压处理后的活性

在超高压食品灭菌中,众多的研究者都比较关心细菌总量的变化,而很少去关注单个细菌活性的变化。在本实验中借助紫外分光光度计,通过对大肠杆菌溶液吸光度值的变化来分析大肠杆菌在超高压处理前后活性的变化。表 7 是未经处理溶液即原液中大肠杆菌数目的对数与培养时间的关系曲线。

表 7 原液中细菌数目的对数与时间的关系

时间/h	0	0.5	1	1.5	2	2.5
对数数目	7.88	7.91	8.04	8.26	8.54	8.74
时间/h	3	.35	4	4.5	5	5.5
对数数目	8.94	9.13	9.17	9.25	9.35	9.43

从表 7 可看出,细菌数目一直处于上升,其中 1 h 后整个上升的趋势很明显。即 1 h 前为细菌繁殖的延迟期,该阶段细菌数量几乎不变。1~6 h 为细菌繁殖的对数期,该阶段细菌繁殖迅速,数量急剧增加。

表 8 处理液中细菌数目的对数与时间的关系

时间/h	0	0.5	1	1.5	2	2.5
对数数目	5.48	5.49	5.60	5.62	5.74	5.76
时间/h	3	.35	4	4.5	5	6
对数数目	5.80	5.85	5.85	5.87	5.91	5.94

表 8 是原液经压力 300 MPa, 保压 10 min 处理后,溶液中大肠杆菌数目的对数与培养时间的关系,从表

8 可看到 1~6 h 范围内,细菌数目几乎没有什么变化。即在培养开始的 6 h 内,细菌一直处于繁殖的延迟期,数量几乎没有变化。说明经超高压处理后的大肠杆菌延迟期延长,即细菌的活性经超高压处理后降低,这可能是超高压破坏了细菌细胞导致的结果。

3 结论

(1) 随着超高压处理压力的增大,两种细菌的死亡率都显著增加,其中大肠杆菌在压力 400 MPa, 处理时间为 5min 时,死亡率可达 99.88%。表明利用超高压进行灭菌处理非常有效。压力增加到一定范围后,继续增大对灭菌效果不大;

(2) 保压时间对超高压灭菌效果影响显著,随时间的增长,细菌的死亡率增大。保压时间超过一定范围后,继续延长效果不大;

(3) pH 值对超高压灭菌效果有一定影响,酸性或碱性环境有利于超高压灭菌,但效果不是十分明显;

(4) 经过超高压处理的大肠杆菌活性降低,繁殖周期中的延迟期变长,说明细菌在超高压处理后不仅在量上大规模的减少,而且在质上也有显著的改变。

参考文献

- [1] 林淑英.超高压对食品中的酶的影响[J].食品与机械,1999,(5):30-32.
- [2] 尹莲.绿茶饮料稳定剂的研究[J].江苏食品与发酵,1998(9):5-7.
- [3] Kristien M F A R,Carine C F S,Kris C et al. Kinetic analysis and modelling of combined high-pressure-temperature inactivation of the yeast *Zygosaccharomyces bailii*[J]. International Journal of Food Microbiology,2000,56:199~210.
- [4] Tauscher B. Pasteurization of food by hydrostatic high pressure[J].Chemical Aspects in Z. Lebensm. Unters. Forsch, 1995,200:3~13.
- [5] Matser A M, Krebbers B,van den Berg R W et al. Advantages of high pressure sterilisation on quality of food products[J]. Trends in Food Science & Technology,2004,15:79~85.