

乳清分离蛋白对超声杀菌效果的影响研究

刘丽艳, 张喜梅, 李琳, 李冰

(华南理工大学轻工与食品学院轻化工研究所, 广东广州 510640)

摘要: 食品物料体系中的蛋白质、脂肪、淀粉等营养成分可能会对微生物有保护和修复作用, 使超声波作用较难达到实际应用所要求的效果。为了深入研究食品中大分子物质对超声场中细菌活性的影响, 本论文以大肠杆菌为处理对象, 研究了相同的超声场处理条件下, 乳清蛋白的加入对大肠杆菌存活率的影响, 结果表明: 当超声时间 5 min, 声强为 84 W/cm², 蛋白质的加入对细菌起到保护作用, 且蛋白质浓度越高保护作用越强。当声强为 105 W/cm², 超声作用时间达到 15 min 及以上时, 蛋白质的加入对超声杀菌起到促进作用。

关键词: 超声波; 杀菌; 大肠杆菌; 乳清分离蛋白

文章编号: 1673-9078(2012)8-903-905

Influence of WPI on Ultrasonic Sterilization

LIU Li-yan, ZHANG Xi-mei, LI Lin, LI Bing

(College of Light Industry and Food Sciences, South China University of Technology, Guangzhou 510640, China)

Abstract: In complex food system, bacteria may be protected or repaired by protein, fat and starch. In this research the protection effects of WPI on microbial inactivation under the ultrasound treatment was investigated using *E. coli* as target bacteria in order to expand the industrial application of ultrasound in food production. The results showed that WPI can protect the bacteria in the treatment of ultrasound with ultrasonic intensity (84 W/cm²) and treatment time (5 min). Under these ultrasonic radiation conditions, the higher the concentration of WPI, the stronger the effect of bacteria-protection. But under the treatment of ultrasound with intensity (105 W/cm²) and treatment time (15 min), the addition of WPI can promote the sterilization.

Key words: ultrasonic; sterilization; *E. coli*; WPI

作为一种非热物理技术, 超声波杀菌技术具有能耗低、时间短、有效保存食品营养成分和天然色、香、味等特点^[1,2], 但也存在消毒不彻底, 影响因素较多的问题。超声波杀菌效果主要受三大类因素的影响, 即超声波作用条件、媒质以及微生物特性^[3]。超声波杀菌一般只适用于液体或浸泡在液体中的物品, 并且处理用探头必须与被处理的液体接触。一般来说食品中含有丰富的营养成分, 各种蛋白质、脂肪、碳水化合物、维生素和无机盐等。由于食品本身的物理、化学性质的不同, 同种微生物在不同食品中所表现的特性是有很大的差异的, 故对其采用的超声波处理条件的要求也有所不同^[4,5]。目前, 对于超声场的研究更多地集

中于超声场参数对微生物的致死效果方面, 而食品物料体系环境复杂, 蛋白质、脂肪、淀粉等营养成分可能会对微生物有保护和修复作用, 使超声波作用较难达到实际应用所要求的效果。因此, 要想在超声工业化应用的道路上有所发展, 还需要深入研究食品中大分子物质对超声场中细菌活性的影响^[1,6]。

本文以大肠杆菌为处理对象, 在研究了超声场对大肠杆菌活性影响的基础上, 加入乳清蛋白, 对加入了蛋白质的细菌悬液与未加入蛋白质的细菌悬液在超声场作用下的杀菌效果进行比较, 研究蛋白质对超声场作用下大肠杆菌活性的影响, 以期对超声场应用于食品加工领域提供依据。

1 材料及设备

1.1 实验材料

乳清分离蛋白(含量≥90%), 新西兰进口; 菌种: 大肠杆菌(ATCC25922), 购自中国工业微生物菌种保藏管理中心。

1.2 实验设备

超声发生器, UP400S, 德国 Dr.Hielscher 公司;

收稿日期: 2012-04-05

基金项目: 国家自然科学基金重点项目(20436020); 广东省自然科学基金重点项目(04105934); 广东省博士启动基金项目(05300175); 淀粉与植物蛋白深加工教育部工程研究中心项目

作者简介: 刘丽艳(1981-), 女, 硕士研究生, 研究方向: 糖类物质及其生物利用与药物制备

通信作者: 李琳(1962-), 男, 博士, 教授, 博士生导师, 主要研究方向: 糖类物质及其药物制备与生物利用

PC 型紫外可见分光光度计, UV-2102, 上海尤尼柯有限公司。

1.3 实验方法

1.3.1 菌种培养与菌液制备

取适量的大肠杆菌于装有无菌培养基的三角瓶中, 在 37 °C 的水浴摇床中振荡培养 16 h。培养扩增后的菌液用台式离心机在 5000 r/min 的速度下离心 5 min。弃去上清液, 用无菌水重悬离心管底部的沉淀, 在可见光分光光度计上测量菌悬液的 A_{600} , 保证其菌液浓度在一定范围内, 再分别用无菌水和乳清蛋白悬浊液稀释, 待用。

1.3.2 超声作用装置及实验方法

1.3.2.1 超声处理装置

超声波发生装置参数为: 变幅杆式超声波发生系统, 超声波频率固定为 24 kHz, 采用 H22 变幅杆, 末端直径为 22 mm, 最大声强 105 W/cm², 最大输出功率为 411 W, 功率输出连续可调。脉冲占空比 (pulse ratio) 选择 0.5。

1.3.2.2 实验方法

取 50 mL 大肠杆菌悬浮液 (包括无菌水菌悬液和蛋白质溶液菌悬液), 置于直径为 5 cm 的圆柱形 100 mL 烧杯中, 分别改变蛋白质浓度、超声场声强以及超声场作用时间, 研究蛋白质存在时, 大肠杆菌在超声场作用下的活性。

实验过程中, 超声探头置于烧杯中, 不能触底, 每次作用时探头伸入大肠杆菌悬液的深度固定。烧杯置于冰水浴中, 通过调节水浴的温度控制处理时的悬液温度, 以除去超声作用产生的热效应, 确保超声场对大肠杆菌作用的效果主要为非热效应的作用。

2 结果与讨论

2.1 超声作用下蛋白质浓度对大肠杆菌活性的影响

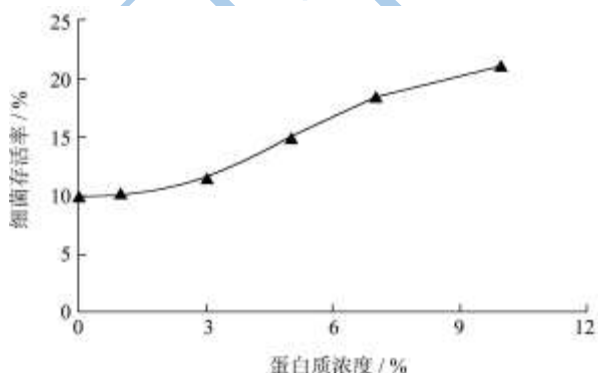


图 1 蛋白质浓度变化对大肠杆菌活性的影响

Fig.1 Effects of protein concentration on the inactivation of *E. coli* under ultrasound treatment

取 50 mL 大肠杆菌悬浮液置于直径为 5 cm, 100

mL 的圆柱形烧杯中, 在超声声强为 63 W/cm², 脉冲占空比为 0.5, 超声作用 10 min 时, 改变蛋白质浓度, 考察在超声场作用下, 大肠杆菌活性随蛋白质浓度改变而变化的情况。

如图 1 所示, 随着蛋白质浓度的增加, 大肠杆菌的存活率也在增加, 这是由于蛋白质的加入对大肠杆菌具有保护作用, 且蛋白质浓度越大, 其保护作用越强。

此外, 超声波在介质中的传播受到介质性质的影响, 溶液中蛋白质的存在, 阻碍了超声波的传播, 使超声波在溶液中衰减, 空化效应减弱, 减弱了对微生物活性影响, 且蛋白质浓度提高, 该作用增强, 大肠杆菌的活性提高。

2.2 蛋白质环境中超声场声强对大肠杆菌活性的影响

取 50 mL 蛋白质浓度为 5% 的大肠杆菌悬浮液, 置于直径为 5 cm, 100 mL 的圆柱形烧杯中, 在 42~105 W/cm² 的范围内改变超声场的声强, 超声总作用时间为 10 min, 脉冲占空比为 0.5, 比较蛋白质的存在与否, 大肠杆菌活性随超声声强的变化。

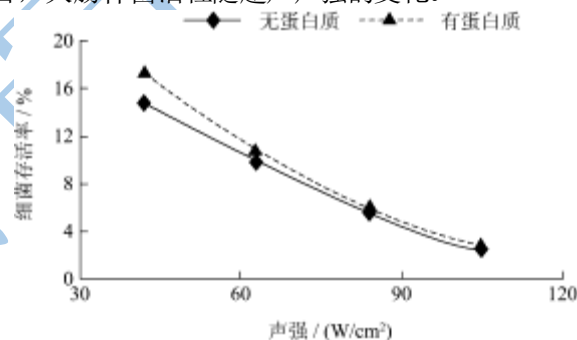


图 2 蛋白质环境中大肠杆菌活性随声强的变化

Fig.2 Effects of ultrasonic power on the inactivation of *E. coli*

如图 2 所示, 在超声功率为 42~105 W/cm² 的范围内, 超声总作用时间为 10 min, 脉冲占空比为 0.5, 蛋白质浓度为 5% 时, 改变声强, 大肠杆菌的存活率随之改变。在相同的超声条件下, 蛋白质的加入, 使得大肠杆菌的存活率不同, 有蛋白质存在的大肠杆菌经超声处理后, 其存活率较高, 而没有加入蛋白质的大肠杆菌经超声处理后大肠杆菌的存活率较低, 表明, 在此条件下蛋白质的存在对大肠杆菌具有保护作用, 而且, 随着超声声强的增加, 其保护作用越来越弱, 当声强达到 105 W/cm² 时, 加入了蛋白质与未加入蛋白质的两个菌悬液样品在相同的超声条件下, 大肠杆菌的存活率几乎相同。

2.3 蛋白质环境中超声场作用时间对大肠杆菌活性的影响

取 50 mL 蛋白质浓度为 5% 的大肠杆菌悬浮液,

置于直径为 5 cm 100 mL 的圆柱形烧杯中, 超声声强为 84 W/cm^2 , 脉冲占空比为 0.5, 蛋白质浓度为 5%, 在 0~20 min 的范围内, 改变超声作用时间, 研究在蛋白质是否存在的情况下, 超声场作用时间对大肠杆菌活性的影响, 结果如图 3 所示。

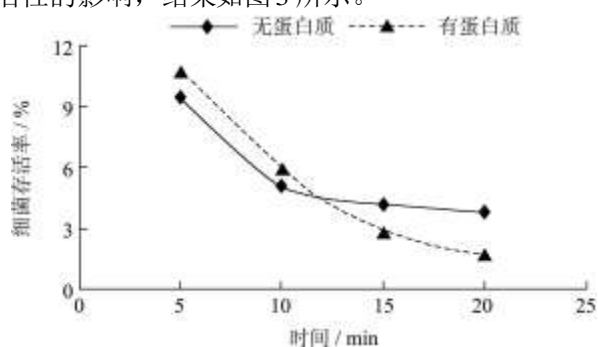


图 3 不同超声作用时间对大肠杆菌活性的影响

Fig.3 Effects of ultrasonic treatment time on the inactivation of *E. coli*

由图 3 可知, 在超声场的声强为 84 W/cm^2 , 脉冲占空比为 0.5, 蛋白质浓度为 5% 时, 无论蛋白质存在于否, 大肠杆菌的活性随超声场作用时间的增加而降低。但是, 超声波作用 10 min 以内, 蛋白质对大肠杆菌具有保护作用, 因此, 蛋白质的加入, 使得大肠杆菌的活性高于未加蛋白质的大肠杆菌的活性; 但随着超声作用时间的进一步增加, 达到 15 min 及以上时, 由于超声作用破坏了蛋白质的保护作用, 而且, 蛋白质的存在, 可以吸收超声波的能量而转化成热能, 因此, 使大肠杆菌的活性大大低于未加蛋白质的大肠杆菌的活性。

3 结论

3.1 在超声场声强为 63 W/cm^2 , 超声作用时间为 10 min, 脉冲占空比为 0.5 时, 蛋白质的加入, 使得大肠杆菌的活性提高, 而且, 随着蛋白质浓度的提高, 大肠杆菌的活性随之提高。

3.2 在超声总作用时间为 10 min, 脉冲占空比为 0.5,

蛋白质浓度为 5% 时, 大肠杆菌的活性随着超声场声强的提高而下降, 但高于未加蛋白质的大肠杆菌的活性; 当超声场的声强达到 105 W/cm^2 时, 二者的活性差别不大。

3.3 在超声场的声强为 84 W/cm^2 , 脉冲占空比为 0.5, 蛋白质浓度为 5% 时, 大肠杆菌的活性随着超声场作用时间的增加而下降。在超声波作用低于 10 min 时, 蛋白质对大肠杆菌具有保护作用, 大肠杆菌的活性高于未加蛋白质的大肠杆菌的活性; 但随着超声作用时间的进一步增加, 达到 15 min 及以上时, 蛋白质的加入反而不利于大肠杆菌的存在, 大肠杆菌的活性低于未加蛋白质的大肠杆菌的活性。

参考文献

- [1] Piyasena P, Mohareb E, Mckllar RC. Inactivation of microbes using ultrasound: a review [J]. International Journal of Food Microbiology, 2003, 87: 207-216
- [2] Villamiel M, Jong PD. Inactivation of *Pseudomonas fluorescens* and *Streptococcus thermophilus* in Trypticase soy Broth and total bacteria in milk by continuous-flow ultrasonic treatment and conventional heating [J]. Journal of Food Engineering, 2000, 45: 171-179
- [3] 宋国胜, 胡松青, 李琳. 超声波技术在食品科学中的应用与研究[J]. 现代食品科技, 2008, 24(6): 609-612
- [4] Wrigley DM, Lorca NG. Decrease of *Salmonella* Typhimurium in skim milk and egg by heat and ultrasonic wave treatment [J]. Journal of Food Protection, 1992, 55(9): 678-680
- [5] Fuerrero S, Lopez A, Alzamora S M. Effect of ultrasound on the survival of *Saccharomyces cerevisiae*: influence of temperature, pH and amplitude [J]. Innovative Food Science and Emerging Technologies, 2001, 2: 31-39
- [6] 王蕊, 高翔. 超声波在原料乳保鲜中应用的研究[J]. 中国乳品工业, 2004, 32(6): 35-37