

气体二氧化氯对苹果表面细菌杀菌规律研究

晋日亚, 胡双启

(中北大学化工与环境学院, 山西 太原 030051)

摘要: 本实验研究了气体二氧化氯杀灭金黄色葡萄球菌、大肠杆菌、单核细胞增生李斯特氏菌以及腐生酵母菌四种苹果表面的危险致病菌的杀菌规律。在杀菌时间 5min、杀菌温度 25℃条件下, 金黄色葡萄球菌、大肠杆菌、单核细胞增生李斯特氏菌和腐生酵母菌杀菌达到 99.99% 的杀菌率, 所需的气体二氧化氯的浓度分别为 23、21、6 和 11mg/L。在杀菌气体二氧化氯浓度 10mg/L、杀菌温度 25℃时, 四种菌杀菌时间分别达到 7、8、2 和 6.5min 时, 杀菌率均超过 99.99%。在实验范围内, 作用温度对杀菌效果影响不大。

关键词: 金黄色葡萄球菌; 大肠杆菌; 单核细胞增生李斯特氏菌; 腐生酵母菌; 气体二氧化氯; 苹果

Study on Sterilization Regularity of Chlorine Dioxide Gas on Apple Surface

JIN Ri-ya, HU Shuang-qi

(Institute of Chemical and Environmental Engineering, North University of China, Taiyuan 030051, China)

Abstract: The regularity of sterilization to *Staphylococcus Aureus*, *Escherichia Coli* O157:H7, *Listeria Monocytogenes* and saprophytic yeast on apple surface with chlorine dioxide gas were studied. Result showed that under the conditions of 25 °C, sterilization time 5 min and the 99.99% bactericidal rate to *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Listeria monocytogenes* and saprophytic yeast can be achieved at the concentration of chlorine dioxide gas 23, 21, 6 and 11 mg/L, respectively. Under the conditions of 25 °C and concentration of chlorine dioxide gas 10 mg/L, all bactericidal rates to the mentioned above four bacteria are over 99.99% at 7, 8, 2 and 6.5 min, respectively. In the experimental range, the effect of bactericidal temperature is weak.

Key words: *Staphylococcus aureus*; *Escherichia coli* O157:H7; *Listeria monocytogenes*; saprophytic yeast; chlorine dioxide gas; apple

中图分类号: X792

文献标识码: A

文章编号: 1002-6630(2008)07-0109-04

对于新鲜果蔬或鲜榨果蔬汁, 能够有效的控制致病菌的数量是目前食品安全的研究热点^[1-3]。二氧化氯是目前国际上公认的高效 A1 级灭菌消毒剂, 它杀菌力极强、杀菌速度快、效率高、副产物少, 其毒理性与水同级, 非常适合作为果蔬原料表面的杀菌消毒剂^[4-7]。采用气体二氧化氯杀菌, 可以提高鲜食果蔬安全质量, 减轻鲜切果蔬和鲜榨汁生产过程中后续杀菌工艺的负担, 也是对食品安全的非热杀菌技术的完善。

本实验以苹果为研究对象, 研究气体二氧化氯对苹果表面的危险致病菌——金黄色葡萄球菌、大肠杆菌、单核细胞增生李斯特氏菌、腐生酵母菌的杀菌规律、杀菌效果以及各个影响因素之间的关系, 为果蔬生产过程中合理地预测杀菌效果、提高气体二氧化氯的杀菌效率、最大限度地减少果蔬的致病菌提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 菌种与培养基

四种菌种均由新鲜苹果原料表面分离纯化取得。单核细胞增生李斯特氏菌、金黄色葡萄球菌、大肠杆菌培养基为牛肉膏蛋白胨培养基, 腐生酵母菌以豆芽汁蔗糖为培养基。

1.2 仪器

SW-CJ-LF 净化操作台 苏州净化设备厂; LRH-250- II 型微机控制生化培养箱 广东省医疗器械厂; THZ-82B 气浴恒温振荡器 江苏省金坛市医疗仪器厂; YXQG01 型蒸汽消毒器 山东新华医疗器械厂; 岛津精密电子天平 日本岛津公司; TGL-220 型冷冻离心机 上海安亭科学仪器厂。

1.3 方法

收稿日期: 2007-09-21

基金项目: 国家自然科学基金项目(50774068)

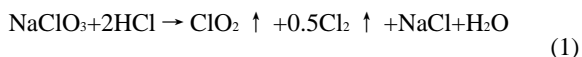
作者简介: 晋日亚(1968-), 男, 副教授, 博士研究生, 研究方向为环境工程及食品安全。E-mail: jrya@nuc.edu.cn

1.3.1 菌种培养

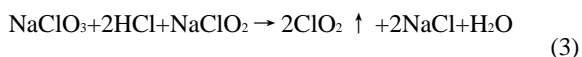
将金黄色葡萄球菌、单核细胞增生李斯特氏菌、大肠杆菌在无菌条件下,分别接入牛肉膏蛋白胨培养基,在37℃下培养12h后,进入对数生长期,将菌液经过12000r/min离心5min。腐生酵母菌同样在无菌条件下接入豆芽汁蔗糖,在32℃下培养24h后,进入对数生长期,将菌液经过12000r/min离心5min。用不同pH值的磷酸盐缓冲液稀释,各自制备成菌悬液;在每组洁净苹果的表面上分别滴50μl上述稀释后的菌悬液后,放入不锈钢消毒柜中,通入不同浓度的气体二氧化氯进行杀菌。杀菌前后进行平板菌落计数,计算杀菌效率。

1.3.2 气体二氧化氯制备

气体二氧化氯采用NaClO₃与HCl反应,产生的混合气体经过NaClO₂过滤后,得到高纯度的气体二氧化氯,原理如下:



总反应:



1.3.3 实验设计

根据相关文献的研究成果^[1,3,6-7],确定本实验以气体二氧化氯浓度、灭菌时间以及杀菌温度为影响杀菌效果的主要因素。以杀菌效率的对数来表示杀菌效果(Y),即 $\lg \frac{a_0}{a}$ 式中, a_0 表示杀菌前的活菌浓度(CFU/ml); a 表示杀菌后的活菌浓度(CFU/ml)。实验研究装置见图1。

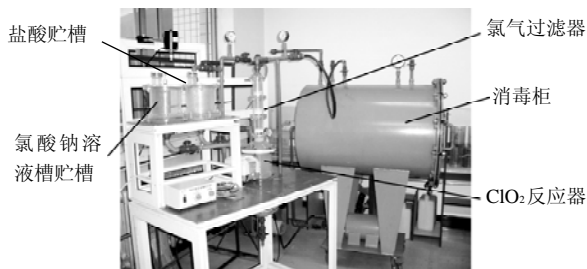


图1 气体二氧化氯发生器及灭菌消毒装置

Fig.1 Chlorine dioxide generator and sterilizing device

2 结果与分析

2.1 气体二氧化氯浓度对杀菌效果的影响

当杀菌时间为5min,杀菌温度为25℃条件下,消毒柜中气体二氧化氯的浓度与杀菌效果的关系见图2~5。

从图2~5中可见,气体二氧化氯的作用浓度对杀菌效果起重要作用,在杀菌时间和杀菌温度一定的条件下,对于金黄色葡萄球菌、大肠杆菌、单核细胞增生李斯特菌、腐生酵母菌四种菌种,当气体二氧化氯的

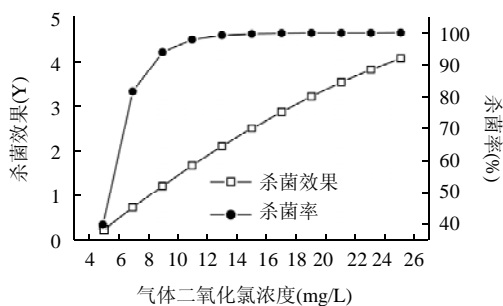


图2 气体ClO₂浓度对金黄色葡萄球菌杀菌效果的影响

Fig.2 Effects of ClO₂ gas concentration on bactericidal effect to *Staphylococcus aureus*

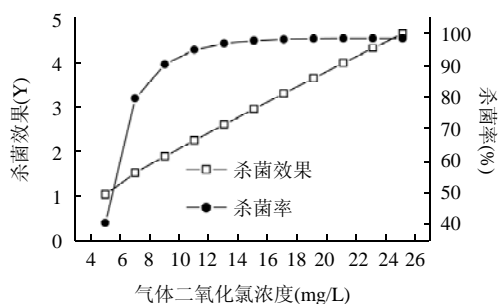


图3 气体ClO₂浓度对大肠杆菌杀菌效果的影响

Fig.3 Effects of ClO₂ gas concentration on bactericidal effect to *Escherichia coli* O157:H7

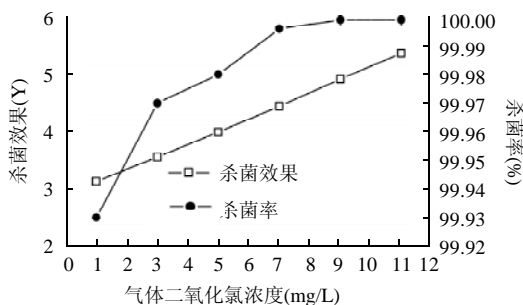


图4 气体ClO₂浓度对单核细胞增生李斯特氏菌杀菌效果的影响

Fig.4 Effects of ClO₂ gas concentration on bactericidal effect to *Listeria monocytogenes*

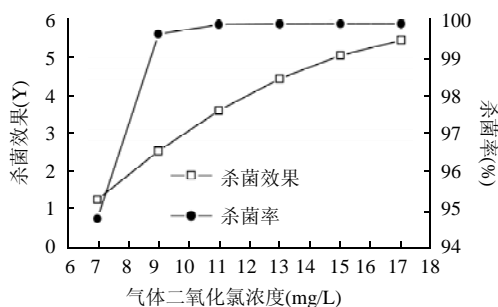


图5 气体ClO₂浓度对腐生酵母菌的杀菌效果的影响

Fig.5 Effects of ClO₂ gas concentration on bactericidal effect to saprophytic yeast

浓度分别达到 12、13、1.0 和 8mg/L 时, 杀菌率达到了 99% 以上; 当二氧化氯的浓度分别为 23、21、6、11mg/L 时, 杀菌率达到 99.99%, 但是总体上气体二氧化氯的杀菌效果是随着气体二氧化氯浓度的增加而明显增加。图 2~5 还反映出这四个菌种中, 单核细胞增生李斯特菌最容易被杀灭, 而金黄色葡萄球菌和大肠杆菌相对难以杀灭。

2.2 杀菌时间对杀菌效果的影响

当气体二氧化氯的浓度为 10mg/L, 杀菌温度为 25℃ 条件下, 杀菌时间与杀菌效果的关系见图 6~9。

如图 6~9 所示, 当气体二氧化氯的浓度一定, 杀

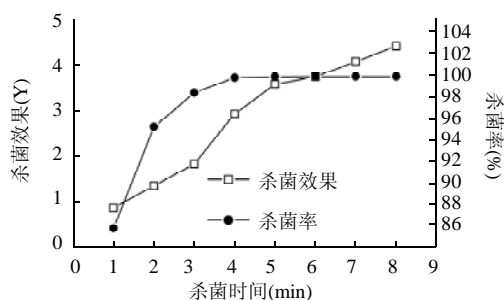


图 6 杀菌时间对金黄色葡萄球菌杀菌效果的影响

Fig.6 Effects of sterilization time on bactericidal effect to *Staphylococcus aureus*

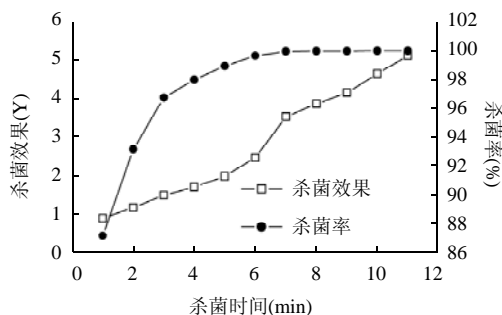


图 7 杀菌时间对大肠杆菌杀菌效果的影响

Fig.7 Effects of sterilization time on bactericidal effect to *Escherichia coli* O157:H7

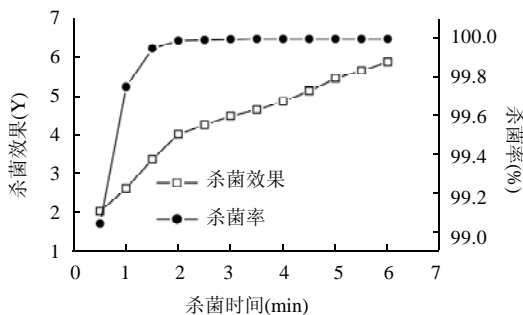


图 8 杀菌时间对单核细胞增生李斯特氏菌杀菌效果的影响

Fig.8 Effects of sterilization time on bactericidal effect to *Listeria monocytogenes*

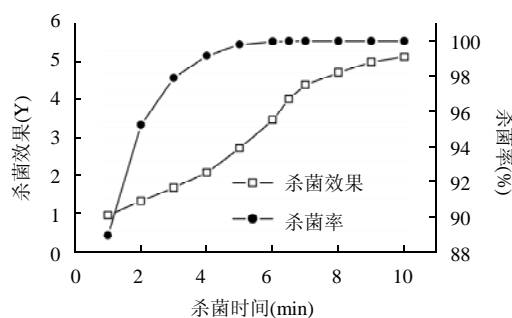


图 9 杀菌时间对腐生酵母菌杀菌效果的影响

Fig.9 Effects of sterilization time on bactericidal effect to saprophytic yeast

菌温度一定时, 金黄色葡萄球菌、大肠杆菌、单核细胞增生李斯特菌、腐生酵母菌四种菌种, 在杀菌时间分别为 4、6、0.5 和 4min 时杀菌率均达到了 99%, 当杀菌时间分别达到 7、8、2 和 6.5min 时, 杀菌率超过 99.99%, 同样, 杀菌效果随着杀菌时间的延长而明显增加。图 8 还反映出, 对于单核细胞增生李斯特菌, 在浓度为 10mg/L 的气体二氧化氯的作用下, 仅用 0.5min 杀菌效率达到了 99%, 2min 时杀菌率达到 99.99%, 该种菌基本上全部被杀灭。

2.3 杀菌温度对杀菌效果的影响

气体二氧化氯浓度 10mg/L, 杀菌时间 5min 条件下, 考察杀菌温度对杀菌效果的影响。杀菌温度对杀菌效果的影响见图 10~13。

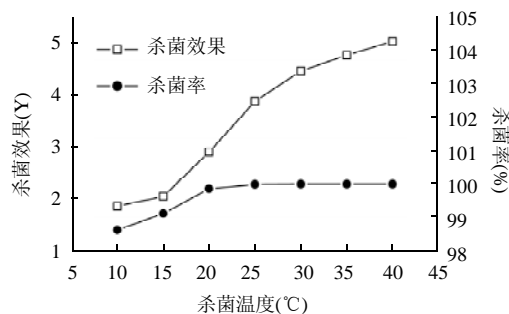


图 10 杀菌温度对金黄色葡萄球菌杀菌效果的影响

Fig.10 Effects of sterilization temperature on bactericidal effect to *Staphylococcus aureus*

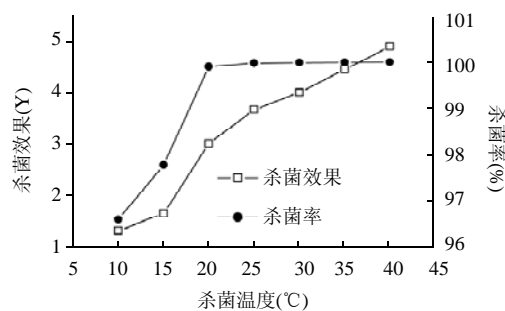


图 11 杀菌温度对大肠杆菌杀菌效果的影响

Fig.11 Effects of sterilization temperature on bactericidal effect to *Escherichia coli* O157:H7

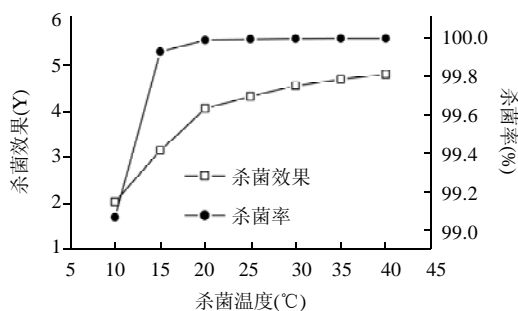


图12 杀菌温度对单核细胞增生李斯特氏菌杀菌效果的影响

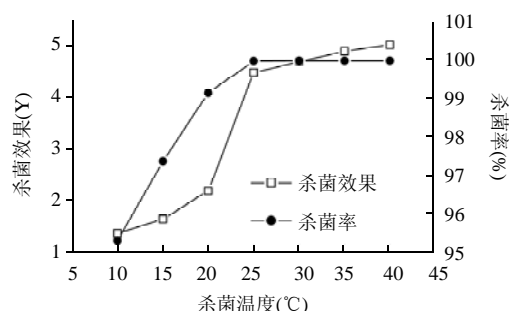
Fig.12 Effects of sterilization temperature on bactericidal effect to *Listeria monocytogenes*

图13 杀菌温度对腐生酵母菌杀菌效果的影响

Fig.13 Effects of sterilization temperature on bactericidal effect to saprophytic yeast

从图10~13可以看出,当气体二氧化氯浓度和杀菌时间不变的情况下,大肠杆菌和腐生酵母菌均在20℃时杀菌率达到99%,金黄色葡萄球菌则在15℃时达到99%的杀菌率,只有单核细胞增生李斯特菌在10℃时杀菌率达到99%;当温度上升到25℃时腐生酵母菌和金黄色葡萄球菌的杀菌率达到了99.99%,而单核细胞增生李斯特菌在20℃时杀菌率已经达到99.99%,只有大肠杆菌在温度上升到30℃时,杀菌率才达到99.99%。除了单核细胞增生李斯特菌外,其他三种菌基本上都在15~20℃时杀菌率增加较快,但是单核细胞增生李斯特菌在10~15℃范围内,杀菌率急剧增加,由此可见,该种菌最易被杀灭。

3 结论

气体二氧化氯是一种效率非常高的杀菌方法,研究

认为:在杀菌时间5min、杀菌温度25℃的条件下,随着气体二氧化氯浓度的增加,杀菌效果明显增加,达到99.99%的杀菌率时,金黄色葡萄球菌、大肠杆菌、单核细胞增生李斯特氏菌、腐生酵母菌杀菌所需的气体二氧化氯的浓度分别为23、21、6和11mg/L。也就是说,在固定的条件下,提高二氧化氯的作用浓度可以使杀菌效果很快的提高。

当气体二氧化氯浓度为10mg/L、杀菌温度为25℃时,四种菌的杀菌率均随杀菌时间的延长而增加,金黄色葡萄球菌、大肠杆菌、腐生酵母菌的杀菌时间分别在7、8、6.5min达到99.99%,而单核细胞增生李斯特氏菌在2min时杀菌率达到99.99%,可见气体二氧化氯对单核细胞增生李斯特氏菌具有很好的杀菌效果。

在杀菌时间5min,二氧化氯浓度为10mg/L的条件下,单核细胞增生李斯特氏菌在20℃、大肠杆菌在30℃、其他两种菌在25℃时杀菌率达到99.99%,基本在常温条件下,上述四种菌在给定条件下均可以达到99.99%的杀菌率,可见在实验范围内,作用温度对杀菌效果影响不大。

参考文献:

- [1] MAZZOTTA A S. Thermal inactivation of stationary-phase and acid-adapted *Escherichia coli* O157:H7, *Salmonella*, and *Listeria monocytogenes* in fruit juices[J]. *J Food Prot*, 2001, 64: 315-320.
- [2] DU J H, HAN Y, LINTON R H. Inactivation by chlorine dioxide gas (ClO_2) of *Listeria monocytogenes* spotted onto different apple surfaces[J]. *Food Microbiology*, 2002, 19(4):481-490.
- [3] ALLENDE A, TOMA S, BARBERA N F A, GIL M I. Minimal processing for healthy traditional foods[J]. *Trends in Food Science and Technology*, 2006, 17: 513-519.
- [4] LEE S Y, GRAY P M, DOUGHERTY R H, et al. The use of chlorine dioxide to control *Alicyclobacillus acidoterrestris* spores in aqueous suspension and on apples[J]. *International Journal of Food Microbiology*, 2004, 92: 121-127.
- [5] LEE S Y, DANCER G I, CHANGA S S, et al. Efficacy of chlorine dioxide gas against *Alicyclobacillus acidoterrestris* spores on apple surfaces[J]. *International Journal of Food Microbiology*, 2006, 108: 364-368.
- [6] HAN Y, LINTON R H, NIELSEN S S, et al. A comparison of methods for recovery of chlorine dioxide-injured *Escherichia coli* O157:H7 and *Listeria monocytogenes*[J]. *Food Microbiology*, 2002, 19:201-210.
- [7] DU J, HAN Y, LINTON R H. Efficacy of chlorine dioxide gas in reducing *Escherichia coli* O157:H7 on apple surfaces[J]. *Food Microbiology*, 2003, 20(12):583-591.