

# 高压处理对鲜牛乳中枯草杆菌芽孢致死效应的研究

德力格尔桑<sup>1</sup>, 王英利<sup>1</sup>, 阿拉达日图<sup>1</sup>, 玛丽娜<sup>2</sup>

(1. 内蒙古农业大学食品科学与工程学院, 内蒙古 呼和浩特 010018;

2. 内蒙古农业大学生物工程学院, 内蒙古 呼和浩特 010018)

**摘 要:** 采用压力、时间、循环处理次数相结合的方法, 在较低的温度下, 对鲜乳中枯草杆菌芽孢激活及致死效应进行了研究。在 40℃ 条件下, 200MPa 低压处理 5min, 停压 1min, 再升至 700MPa 下处理 5min, 循环处理 7 次, 可将鲜乳中枯草杆菌芽孢数减少到  $10^2 \sim 10^3$  cells/ml。

**关键词:** 超高压处理; 枯草杆菌芽孢; 芽孢萌发; 芽孢致死

Study on Germination and Inactivation of *B. subtilis* Spores in Fresh Milk by Oscillatory and Pulsed Ultra High Pressure

Deligeersang<sup>1</sup>, WANG Ying-li<sup>2</sup>, Aladari tu<sup>1</sup>, Malina<sup>2</sup>

(1. College of Food Science and Engineering, Inner Mongolia Agricultural University, Huhhot 010018, China;

2. College of Biotechnology, Inner Mongolia Agricultural University, Huhhot 010018, China)

**Abstract:** A method of germinating and sterilizing *B. Subtilis* spores with minimal heating was studied by the combined effect of oscillatory and pulsed UHP, pressurization times, and with certain operations cycles. The condition above room temperature was benefit to UHP sterilization. At 40℃, seven pressurization cycles with the first pressure at 200MPa for 5min, followed by an ambient pressure pause for 1min, then another 700MPa pressurization for 5min, decreases the spores count from  $10^7$  to  $10^2 \sim 10^3$  cells/ml.

**Key words:** ultra high pressure(UHP); *B. Subtilis* spores; spore germination; spore inactivation

中图分类号: TS252.2

文献标识码: A

文章编号: 1002-6630(2007)01-0073-04

高压杀菌技术作为国际上在 20 世纪 80 年代开创并发展起来的一种新型食品杀菌保鲜方法, 现已应用于我国

食品加工过程中, 但是由于不同种属的微生物对高压的反应不同, 此技术仅局限于果蔬加工领域<sup>[1-2]</sup>。一般而

收稿日期: 2006-04-28

作者简介: 德力格尔桑(1943-), 男, 教授, 主要从事畜产品加工原理与高新技术方面的研究。

中国乳业, 2002(4): 29-33.

[2] 邢攸荷. 初乳的营养价值与利用技术[J]. 中国饲料, 2004(1): 39-41.

[3] 曹斌云, 等. 牛奶奶主要营养成分的比较研究[J]. 天津农学院学报, 1996, 9(3): 3.

[4] 陆东林, 等. 奶牛初乳中常量成分和矿物元素的测定[J]. 新疆农业科学, 2001, 38(6): 299-301.

[5] 张兰威, 郭明若. 牛初乳成分、性质及其产品研制[J]. 食品工业, 1998(1): 20-22.

[6] 郭本恒, 骆承庠. 牛初乳免疫球蛋白变性动力学研究[J]. 食品科学, 1996, 17(7): 10-13.

[7] CLARE D A, CATIGNANI G L, SWAISGOOD H E, et al. Biodefense properties of milk: the role of antimicrobial proteins and peptides[J].

Current Pharmaceutical Design, 2003(9): 1239-1255.

[8] 杨玉芬, 乔建国. 初乳的重要性[J]. 畜禽业, 2002(3): 10-11.

[9] 李树珩, 杨松福. 略谈羊奶的营养价值[J]. 江西畜牧兽医杂志, 1998(4): 48.

[10] 曹斌云, 宋社果, 宋宇轩. 牛奶奶主要营养成分的比较研究[J]. 天津农学院学报, 1996(3): 17-21.

[11] ELFSTRAND L. Immunoglobulins, growth factors and growth hormone in bovine colostrum and the effects of processing[J]. International Dairy Journal, 2002(12): 879-887.

[12] GAJDUSEK S, KRACMAR S, JELINEK P, et al. Changes in protein content and correlations between contents of amino acids of goat's colostrum during the first 72 hours after parturition[J]. Czech J Anim Sci, 2001, 46(1): 11-16.

言, 革兰氏阳性菌比革兰氏阴性菌对压力更具抵抗性, 而芽孢菌对压力的抵抗力则更强, 其中革兰氏阳性菌中的芽孢杆菌属和梭状芽孢杆菌属的芽孢最为耐压<sup>[3]</sup>。在乳及乳制品的加工领域, 高温瞬时杀菌技术已广泛应用于液态乳的生产<sup>[4]</sup>, 但产品中仍残留一定数量的芽孢类细菌, 进而影响产品的货架期<sup>[5]</sup>。因此探讨研究高压杀菌技术对乳样中枯草杆菌芽孢致死效应, 对乳品工业的发展具有一定的理论指导意义。

由于芽孢壳的结构极其致密, 使芽孢类细菌更具备了抵抗高压的能力, 本实验采用压力、温度、时间及循环次数等因素相结合的方法对乳样进行处理, 从而确定其最佳生产工艺条件、工艺参数, 为其进行工业化生产提供有力的理论依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 菌株

枯草芽孢杆菌 IF03335 是本文的主要研究对象。

### 1.2 方法

#### 1.2.1 乳样的预处理

鲜牛乳购于内蒙古农业大学奶站, 使用前存于 4℃ 冰箱中。经检验过的鲜乳 过滤、净化 离心去杂质 均质(10~25MPa, 二级均质) 巴氏灭菌(75~80℃, 15min) 迅速冷却至 4℃ 鲜牛乳样

#### 1.2.2 含枯草芽孢杆菌乳样的制备

在无菌操作台上, 将已增殖过的枯草杆菌芽孢接种于鲜牛乳中, 并使其乳样中含菌量为  $10^7$  cell/s/ml。将乳样以 10ml 的量密封(不留顶隙)于聚乙烯复合塑料袋中进行热封, 再进行一次真空塑封, 并放置于 4℃ 冰盒中, 送至压力处理处。

#### 1.2.3 压力处理

压力处理设备由包头五二〇厂提供。每次升压和降压时间均小于 5 s, 处理时间不含升压、降压所用的时间。乳样的温度由冰盒和热水浴获得, 加压前后乳样的温差 4~6℃。压力处理后将乳样的温度迅速降低到 0~4℃。

## 2 结果与分析

### 2.1 低压 - 高压组合对枯草杆菌芽孢激活及致死处理

#### 2.1.1 不同压力组对枯草杆菌芽孢的致死情况

施压处理 5min 对乳样中枯草杆菌芽孢的致死效果远高于施压处理 1min 的( $p < 0.01$ )。在相同的低压压力下, 随高压部分压力的增加, 乳样中枯草杆菌芽孢的致死数出现增加, 施压处理 1min 时尤为明显。随低压部分压力的增加, 各压力处理组合的处理结果变化不显著。从表 1 可知, 不同压力组合和施压时间各水平组合下, 400~700MPa 压力组合、施压 1min 的处理条件下, 处理乳样中枯草杆菌芽孢的致死数最多, 处理乳样中枯草杆菌芽孢的致死率均可达到 77% 以上, 在施压 5min 的处理条件下, 其致死率均在 97% 以上。

施压处理 5min 下, 在相同的低压力处理下随高压部分压力的增加, 处理乳样中枯草杆菌芽孢的减少数(即萌发或致死的芽孢数)出现增加, 但随低压部分压力的增加, 其增加效果逐渐降低。而在施压处理 5min 的处理乳样中, 100MPa 低压处理组合随高压部分压力的增加其枯草杆菌芽孢减少数出现增加, 而其它压力组合处理当高压部分压力达到 600MPa 时, 乳样中枯草杆菌芽孢的减少数开始下降, 到 700MPa 下较为明显。

#### 2.1.2 不同压力组对枯草杆菌芽孢激活及致死参数的确定

在对含枯草杆菌芽孢乳样进行一次循环压力处理的

表 1 不同压力处理组和施压时间各水平组合下, 乳样中枯草杆菌芽孢致死情况和减少情况  
Table 1 Variation of *B. Subtilis* spores in milk sample under treatments of combined pressure and time

施压组合	致死均值		致死率(%)		枯草杆菌芽孢的减少量	
	施压时间(mi n)		施压时间(mi n)		施压时间(mi n)	
	1	5	1	5	1	5
100~500MPa	0.7995 <sup>e</sup>	1.6668 <sup>f</sup>	84.13	97.85	2.5238 <sup>e</sup>	2.9818 <sup>e</sup>
100~600MPa	0.8600 <sup>d</sup>	1.7018 <sup>e</sup>	86.20	98.01	2.5918 <sup>d</sup>	3.2000 <sup>e</sup>
100~700MPa	1.0743 <sup>c</sup>	1.8760 <sup>b</sup>	91.57	98.67	2.8313 <sup>a</sup>	3.3985 <sup>a</sup>
200~500MPa	0.6493 <sup>f</sup>	1.6668 <sup>f</sup>	77.58	97.85	2.5435 <sup>e</sup>	2.8860 <sup>a</sup>
200~600MPa	0.7890 <sup>e</sup>	1.7963 <sup>d</sup>	83.74	98.40	2.7620 <sup>b</sup>	3.0618 <sup>d</sup>
200~700MPa	1.2088 <sup>a</sup>	1.8680 <sup>b</sup>	93.82	98.64	2.7060 <sup>c</sup>	3.3235 <sup>b</sup>
300~500MPa	0.7965 <sup>e</sup>	1.6375 <sup>a</sup>	84.02	97.70	2.3473 <sup>f</sup>	2.7055 <sup>i</sup>
300~600MPa	0.8620 <sup>d</sup>	1.6668 <sup>f</sup>	86.26	97.85	2.3788 <sup>f</sup>	2.7480 <sup>i</sup>
300~700MPa	1.1613 <sup>b</sup>	1.7978 <sup>d</sup>	93.10	98.41	2.2228 <sup>a</sup>	2.7943 <sup>b</sup>
400~500MPa	0.6718 <sup>f</sup>	1.8278 <sup>c</sup>	78.71	98.51	2.2550 <sup>b</sup>	2.9140 <sup>f</sup>
400~600MPa	0.8170 <sup>e</sup>	1.8863 <sup>b</sup>	84.76	98.71	2.6938 <sup>c</sup>	2.9920 <sup>f</sup>
400~700MPa	1.0973 <sup>c</sup>	2.0588 <sup>a</sup>	92.01	99.13	2.1008 <sup>b</sup>	3.0588 <sup>d</sup>

注: (1) 乳样最初接种量为  $4.0 \times 10^7$  cell/s/ml; (2) 致死均值采用  $-\lg(N/N_0)$  形式计算; (3) 枯草杆菌芽孢的减少量为  $\lg N_0 - \lg N$ 。

表2 不同压力组合、施压时间及循环次数各水平组合下枯草杆菌芽孢的致死情况  
Table 2 Deaths of *B.Subtilis* spores in milk sample under treatments of combination of pressure, time and cycling

施压组合	施压时间(min)							
	1				5			
	循环次数				循环次数			
	4	5	6	7	4	5	6	7
100 ~ 600MPa	2.0965 <sup>c</sup>	2.5920 <sup>c</sup>	3.7098 <sup>c</sup>	4.2070 <sup>c</sup>	2.1963 <sup>c</sup>	3.0073 <sup>c</sup>	3.9175 <sup>c</sup>	4.5910 <sup>c</sup>
100 ~ 700MPa	2.1803 <sup>b</sup>	2.7880 <sup>b</sup>	3.8310 <sup>b</sup>	4.4128 <sup>b</sup>	2.4128 <sup>b</sup>	3.2093 <sup>b</sup>	4.0483 <sup>b</sup>	4.7153 <sup>b</sup>
200 ~ 600MPa	1.9293 <sup>d</sup>	2.0440 <sup>d</sup>	3.6268 <sup>d</sup>	3.9480 <sup>d</sup>	2.0763 <sup>d</sup>	2.2483 <sup>d</sup>	3.8788 <sup>d</sup>	4.1708 <sup>d</sup>
200 ~ 700MPa	2.2198 <sup>a</sup>	2.9328 <sup>a</sup>	4.2323 <sup>a</sup>	4.5398 <sup>a</sup>	2.5528 <sup>a</sup>	3.3978 <sup>a</sup>	4.4500 <sup>a</sup>	5.0610 <sup>a</sup>

注:(1)乳样最初接种量为 $3.1 \times 10^7$  cells/ml;(2)致死均值采用 $-\lg(N/N_0)$ 形式计算。

结果分析中得到,400~700MPa压力组合、施压处理5min使最终乳样所含枯草芽孢杆菌数最少,其次为100~700MPa压力组合处理5min、200~700MPa压力组合处理5min。而乳样中残留的枯草杆菌芽孢最少的处理参数则为100~700MPa压力组合处理5min,紧接其后的是200~700MPa压力组合处理5min、100~600MPa压力组合处理5min。针对本次实验研究的目的,为了使乳样中的枯草杆菌芽孢数量得到最大程度的减少,对乳样进行循环加压处理实验。

## 2.2 低压-高压处理组合,循环处理次数对乳样中枯草杆菌芽孢激活及致死处理

### 2.2.1 循环处理对枯草杆菌芽孢致死情况

随压力组合处理循环次数的增加,各压力处理组合乳样中枯草杆菌芽孢的致死数出现显著增加,以200~700MPa压力处理组合乳样中枯草杆菌芽孢的致死数最多,由数据分析可得,不同压力处理组合中,施压部分的差值高低对乳样中枯草杆菌芽孢的致死效果无明显作用。施压时间的长短对乳样中枯草杆菌芽孢的杀灭效果作用并不显著。

从结果可知200~700MPa下施压5min、循环处理七次是本次实验乳样中枯草杆菌芽孢致死率最高的最佳组合,但从200~700MPa各水平组合下枯草杆菌芽孢的致死率来看,施压处理1min的条件下,每增加1个循环次数其致死率分别增加0.4858%、0.1112%和0.0030%,而5min的施压处理下则分别为0.2400%、0.0366%和0.0026%,由此可知随施压时间的延长,乳样中枯草杆菌芽孢的致死效果是呈下降趋势,具体数据见表2。

### 2.2.2 视觉观察与分析

如图1所示,经压力处理后的乳样中枯草杆菌芽孢的形态发生了变化。有部分枯草杆菌芽孢萌发后在压力的进一步作用下被破碎,这也不排除枯草杆菌芽孢在压力的作用下直接被破碎。

从图1可知,乳样中的大部分枯草杆菌芽孢已不存在,仅存在少量的枯草杆菌芽孢体、大部分的枯草芽孢

杆菌的营养细胞及部分被压力破碎的菌体或芽孢,由此可知,低压与高压组合处理对枯草杆菌芽孢有一定的致死效果,大部分的枯草杆菌芽孢消失而乳样中存留下较多的枯草芽孢杆菌,这说明有一部分的枯草杆菌芽孢在压力处理过程中萌发变成了枯草芽孢杆菌。这与前面文献的结果相吻合。另外,由平板菌落计数的宏观分析结果可知,如图2所示,处理乳样中的枯草杆菌芽孢的数量出现明显的减少,这与上述的图片分析结果相吻合。

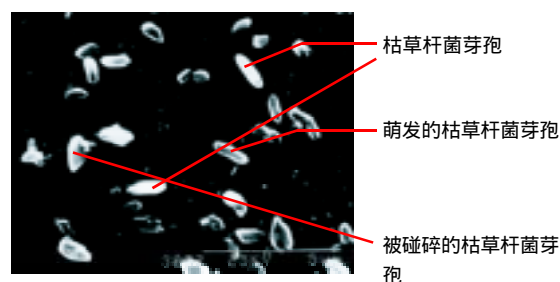
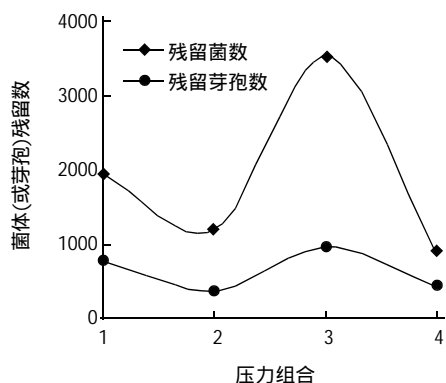


图1 施压5min,100~600MPa组合循环处理5次乳样中枯草杆菌芽孢的形态(放大倍数 $\times 8000$ )

Fig.1 Phase of *B.Subtilis* spores ( $\times 8000$ ) in milk sample after treatments of 100~600MPa pressures with five cycling



1. 100~600MPa; 2. 100~700MPa; 3. 200~800MPa; 4. 200~700MPa。

图2 各压力组合循环4次处理乳样中残留的菌体及芽孢数情况  
Fig.2 Residuals of vegetative and spores of *B.Subtilis* under treatments of pressures with four cycling

## 3 结论

# 菜籽分离蛋白及菜籽蛋白肽的功能特性研究

杨国燕<sup>1</sup>, 陈栋梁<sup>1,\*</sup>, 刘莉<sup>1</sup>, 邬冠鹏<sup>1</sup>, 王阿敬<sup>2</sup>

(1. 武汉肽类物质应用研究中心, 湖北 武汉 430023;

2. 华中科技大学同济医学院实验医学研究中心, 湖北 武汉 430030)

**摘要:** 将菜籽分离蛋白和菜籽蛋白肽的功能特性进行比较, 它们均对热稳定, 其中菜籽蛋白肽的溶解性比菜籽分离蛋白有显著地提高, 菜籽蛋白肽的起泡性及起泡稳定性均比菜籽分离蛋白好。

**关键词:** 菜籽分离蛋白; 菜籽蛋白肽; 功能特性

## Study on Function of Rapeseed Protein Isolate and Polypeptide

YANG Guo-yan<sup>1</sup>, CHEN Dong-liang<sup>1,\*</sup>, LIU Li<sup>1</sup>, WU Guan-peng<sup>1</sup>, WANG A-jing<sup>2</sup>

(1. Wuhan Application Research Center for Peptide Substance, Wuhan 430023, China; 2. Research Center of Experimental Medicine, Tongji Medical College, Huazhong Science and Technology University, Wuhan 430030, China)

**Abstract:** The solubility of rapeseed protein polypeptide is higher than that of rapeseed protein isolate, but both are hot stable. The foamability and foam stability of rapeseed protein polypeptide are better than those of rapeseed protein isolate.

**key words:** rapeseed protein isolate; rapeseed protein polypeptide; function

中图分类号: TS201.2

文献标识码: A

文章编号: 1002-6630(2007)01-0076-03

所谓功能特性, 是指菜籽蛋白在配制、加工、储藏和制取过程中的理化性质, 包括溶解性、组织形成性、吸水性、保水性、膨润性、乳化性、吸油性、

粘度、胶凝性、起泡性等, 其功能特性的优劣取决于蛋白质本身的大小与结构、环境因素(浓度、pH值、离子强度等)以及其他成分(水、糖、气味等)的存在。任

收稿日期: 2005-11-03

\*通讯作者

基金项目: 武汉市科技攻关项目(20032003036)

作者简介: 杨国燕(1979-), 女, 助理研究员, 硕士, 研究方向为多肽的生物化学与应用。

3.1 本实验结果表明不同压力处理组合对乳样中枯草杆菌芽孢进行一次全面的低压激活后迅速停压, 再升至更高的压力下进行致死处理的方法是可行的。施压时间、施加压力与循环次数相结合的高压处理对乳样中枯草杆菌芽孢致死作用极显著( $p < 0.01$ )。随施压时间的延长, 乳样中枯草杆菌芽孢的残留量出现显著性减少( $p < 0.01$ )。这部分采用不同的压力处理组合, 筛选出能最大程度上衰弱枯草杆菌芽孢的最佳压力组合, 可判断高压处理对鲜乳中枯草杆菌芽孢的致死程度。

3.2 本实验所获得的能促进鲜乳样中枯草杆菌芽孢萌发及致死的最佳压力处理参数为 40 下 200 ~ 700 MPa 施压处理 5 min、压力处理循环 7 次, 其相应的枯草杆菌芽孢致死率为 99.9991%, 所残留的芽孢率为 0.000610% (接种量为  $3.1 \times 10^7$  cells/ml)。

总之, 高静态压力处理对乳样中枯草杆菌芽孢具有

一定的致死和衰弱作用, 在每一个压力测试下都有可测量的失活效果, 随着温度的升高、施压时间的延长, 其失活效果更显著。

## 参考文献:

- [1] 邱伟芬, 等. 食品超高压杀菌技术及其研究进展[J]. 食品科学, 2001, 22(5): 81-83.
- [2] LECHOWICH R V. Food safety implication of high hydrostatic pressure as a food processing method[J]. Food Technology, 1993(7): 170-172.
- [3] MEYER R S, et al. High-pressure sterilization of foods[J]. Food Technology, 2000, 54(11): 67-72.
- [4] ADAPA S, et al. Functional properties of skim milk processed with continuous high pressure throttling[J]. J Dairy Sci, 1997, 80: 1941-1948.
- [5] HAYAKAWA I, et al. Application of high pressure for spore inactivation and protein denaturation[J]. Journal of Food Science, 1994, 59(1): 159-163.