

# 瞬时高压作用对 *E.coli* 存活率的影响

刘成梅, 刘 伟, Roger Ruan, 林向阳, 梁瑞红

(1.南昌大学食品科学教育部重点实验室, 江西 南昌 330047;

2.南昌大学中德食品工程中心, 江西 南昌 330047)

**摘 要:** 本文研究了超高压均质作用 Microfluidization 处理后的大肠杆菌存活率与杀菌压力、次数之间的关系, 结果表明: 随着压力、次数的增加, 微生物存活率减小; 而添加在某些食品(介质)的大肠杆菌比添加在蒸馏水的大肠杆菌存活机会更大一些。此外, 本文首次提出“瞬时高压作用”这一概念, 为进一步将超高压均质作用作为一门新的物理杀菌技术的研究奠定理论基础。

**关键词:** 超高压均质作用; 物理杀菌; 瞬时高压作用

## Effect of Instantaneous High Pressure on *E.coli* Reductions

LIU Cheng-mei, LIU Wei, Roger Ruan, LIN Xiang-yang, LIANG Rui-hong

(1.The Key Laboratory of Food Science of MOE, Nanchang University, Nanchang 330047, China;

2.Sino-German Food Engineering Center, Nanchang University, Nanchang 330047, China)

**Abstract:** The relation between the microbial(*E.coli*) reductions and the processing pressure and processing pass of ultra-high pressure homogenization (Microfluidization) are described. Results showed processing pressure and pass increase, the survivors of microorganisms reduce; and the survivors chance of additive *E.coli* in some food(medium) solution are greater than in distilled water. In addition, the conception of “instantaneous high pressure(IHP)” is first put forward in the paper, It is an important theory base for farther study on Ultra-high pressure homogenization as a new physic Pasteurization.

**Key words:** ultra-high pressure homogenization; physic pasteurization; instantaneous high pressure(IHP)

中图分类号: TS201.3

文献标识码: A

文章编号: 1002-6630(2005)02-0087-04

传统阀式高压均质机对液体物料微生物的影响较早被人所关注, 如 Lutz Popper 等<sup>[1]</sup>研究了高压均质作用并结合 pH 值、温度和水分活度对食品中的一些致病微生物和腐败菌的影响, 但这种均质机形式受限于其压力(一般为 60~80MPa)和作用机制, 杀菌能力不足使其成为一道独立的杀菌工序或发展一门独立的物理杀菌技术, 更多情况下只能是作为杀菌工序的辅助手段, 如 Heinz 等<sup>[2]</sup>应用高脉冲电场、高压均质、超声波、压力移动冻结和加热等方法与 HHP 技术相结合有增强杀灭枯草杆菌芽孢的效果。日前新兴开发的超高压均质机压力大幅提高, 并在工作原理上与阀式高压均质机具有很大的不同, 在对液体物料进行均质处理的同时能起到更大的杀菌效果。目前, 国际上为数不多的学者注意到这一现象。如 Neil H.Mermelstein 等<sup>[3]</sup>研究了超高压(45000Psi, 约 310.34MPa)均质处理的鲜橙汁货架期可达六个月; 加拿大 AVESTIN 公司对其生产的 EmulsiFlex 系

列超高压均质机在酵母和大肠杆菌的破碎试验方面作了一些简介; S C Feijoo 等<sup>[4]</sup>在应用 Microfluidizer 对冰淇淋处理时发现对枯草芽孢杆菌有一定的杀灭作用, 如在 50℃进料条件下, 施加 200MPa, 出料温度升高到 88℃, 芽孢杆菌数下降为 63%; Randy Cronk 在“A New Way to Pasteurize: Microfluidizer Processor Technology”一文中专题讨论到这一问题。M E Guerzoni 等<sup>[5]</sup>研究了高压均质对微生物和山羊奶酪理化性质的影响; Coca-Cola 公司申请了利用高压均质处理鲜橙汁来有效降低细菌活力的专利<sup>[6]</sup>; 我国的杜军以“动力作用”这一称谓初探了我国廊坊通用机械生产的 NCJ 型纳米超高压均质机作为冷杀菌方法的可行性<sup>[7]</sup>。

由于超高压均质机的杀菌作用的国内外研究现状总体而言仅仅处于初始阶段, 存在的主要问题表现在: ①对超高压均质机的杀菌效果缺乏系统而全面的了解; ②对超高压均质机的多种作用机制有待进一步探索, 目前

收稿日期: 2004-12-02

基金项目: 江西自然科学基金(0430031); 江西省教育厅重点实验室建设基金资助项目。

作者简介: 刘成梅(1963-), 男, 教授, 从事食品科学与工程的教学和科研。

提出的理论尚有很大争议;③超高压均质机对微生物的致死原因或作用效应也有待论证;④关于超高压均质机的杀菌作用有待上升到理论,尤其是需要摆脱均质机设备的囿限。因此,目前国际上也并没有明确地把超高压均质作用作为一门独立的物理杀菌技术提出来。

我国廊坊通用机械生产的NCJJ型纳米超高压均质机和S C Feijoo等人应用美国Microfluidics公司生产的Microfluidizer是有别于传统阀式高压均质机。这种均质机的命名在国内国际上均较为混乱。郑家林<sup>[8]</sup>曾用“微射流均质机”这一称谓,与Sien Y Soon等<sup>[9]</sup>用“超高速射流均质机(Ultra High Velocity Jet Homogenizer)”称谓相似;也有厂商用“超高压射流对撞机”命名;而Microfluidics公司干脆将其生产机器注册为Microfluidizer。我们在应用该设备研究其对膳食纤维的物化性质<sup>[10]</sup>和粒度分布<sup>[11]</sup>影响时也在国外大多学者一样直接沿用这一称谓。该设备名称的混乱是该设备核心元件Interaction chamber(或叫振荡头,这一称谓也混乱)中各种Microchannel构造不同和对其作用机制缺乏系统而全面了解的表现。对此我们也曾力图分析Interaction chamber中的流场动力学行为<sup>[12]</sup>和压力与能量的变化<sup>[13]</sup>。这些努力是为进一步探索微射流均质机的多种作用机制和对微生物的致死原因奠定理论基础;为微射流均质机改造成具有更好效果的专职杀菌设备,摆脱现有均质机设计形式的囿限,从而上升到可“商业化操作(美国密西西比州立大学James Martin博士的理念)”甚至发展一门新兴物理杀菌理论“瞬时高压作用(Instantaneous high pressure, IHP)”提供可能。提出这一概念的目的在于:①这一概念作为一门独立的杀菌理论(形而上者)力图摆脱均质机这一具体设备(形而下者)上的囿限;②IHP这一概念是作为这一杀菌技术的理论概括,突出体现了杀菌过程中,物料受压时间非常短暂(小于1s)而压力变化率非常巨大。瞬时高压作用从字面上具有两层含义:压力变化的瞬时性(transients)和处理过程的瞬时性。目前,我们已对这一作用方式的力学形式即作用机制和对微生物或颗粒的作用效应进行了初步研究<sup>[14]</sup>。

超高压均质作用的杀菌效果从技术上而言是具有多因素相关性。这些因素包括:①处理条件(如压力范围、输入功率、频率、转速、流量、处理次数、处理温度等);②微生物对象(如微生物种类、浓度以及微生物生长阶段);③处理介质(溶液的介质成分,如盐、蛋白质、酸、糖、油脂等,溶液粘度,介质离子强度等)。全面考查这些因素的影响以及因素之间的相关性需要有更多的时间去探索,本文应用美国Microfluidics公司生产的Microfluidizer和我国廊坊通用机械生产的NCJJ-0.2/150型纳米超高压均质机对添加在蒸馏水和一些食品介质溶液的大肠杆菌存活率的影响作了

初步探讨,以验证这种形式的均质机的杀菌效果。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料与仪器

材料 大肠杆菌(*E.coli*) 由本校微生物教研室提供微生物培养基与试剂、牛奶、桔囊、胡萝卜 市购

仪器 DJ型磨浆机、JMS-80胶体磨、SLS250-70均质机、Microfluidics微射流均质机(M-110F)、NCJJ-0.2/150纳米超高压均质机、电镜。

### 1.2 样品的制备

1.2.1 蒸馏水添加大肠杆菌处理 液态大肠杆菌培养液,单位 $10^8 \sim 10^9$ cfu/ml,稀释1000倍作为起始样品。

1.2.2 桔囊溶液 桔子→去皮→榨汁→滤渣→配水→磨浆→胶体磨→均质→添加*E.coli*→IHP处理→检测

1.2.3 胡萝卜溶液 胡萝卜→清洗→去皮→切段→配水→磨浆→胶体磨→均质→添加*E.coli*→IHP处理→检测

### 1.3 培养基配制

乳糖发酵管 蛋白胨20g、乳糖10g、0.04%溴甲酚紫水溶液25ml、蒸馏水1000ml。

伊红美蓝琼脂(EMB)(Ievine) 蛋白胨10g、乳糖10g、磷酸氢二钾2g、琼脂17g、2%伊红Y溶液20ml、0.65%美蓝溶液10ml、蒸馏水1000ml。

### 1.3.1 设备的清洗和灭菌工作

①清水处理15min;②用消毒液(过氧乙酸等)处理8min;③蒸馏水清洗2~3次;④取最后的蒸馏水清洗液儿为空白样对照。

### 1.4 检测方法

微生物检测、根据国家食品微生物检测标准(GB4789)检测大肠杆菌群。

## 2 结果与讨论

### 2.1 处理压力对杀菌效果的影响

在超高压均质作用处理过程中,施加压力的高低,对杀菌效果影响很大,一般而言,随着压力的升高,微生物的存活率愈小。然而,当微生物的存活率至一定程度后,其下降趋势趋缓(见图1)。因此,要想再增大下降率,应用的手段往往是在一定压力条件下增大处理次数。这一点随后将继续讨论。

压力的增大是由于通过增加电机的输出功率而获得,因此,在提高压力的同时,电机频率也随之增加,流量也随之增大,物料的温升也随之增大,通过对实验的摸索,我们认为,流量的增加未必能提高微生物的存活率,而物料温升的增加应该对杀菌效果有积极贡

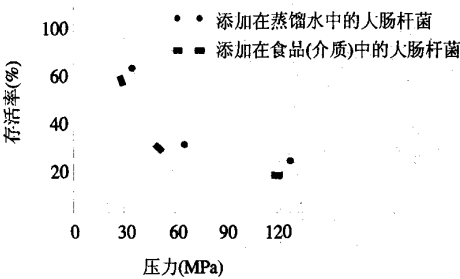


图1 均质压力对杀菌效果的影响

献。S C Feijoo 等<sup>[4]</sup>认为 Microfluidizer 处理过程中, 包括压力与温度在内的综合作用对 *Bacillus licheniformis* 芽孢破坏产生多重效应。

2.2 处理次数对杀菌效果的影响

与较高的压力条件下处理一次的杀菌效果相比, 相同的或较低一些的压力条件下处理多次的杀菌效果往往更有优势, 这或许是由于连续进料出料的处理工艺所决定的, 在连续化过程中, 压力的施加与物料受压的获得往往存在一个“均匀性”问题, 以下是以牛奶、桔囊、胡萝卜溶液中添加大肠杆菌的 IHP 处理实验结果(见表 1, 表 2, 表 3), 从表中可以看出, 在 14000Psi(96.5MPa)流速 350~400ml/min 条件下的杀

菌率。

2.3 食品(介质)成分对杀菌效果的影响

在实验中, 我们采用两种方案: 一种是在食品介质中(如牛奶、桔囊、胡萝卜等)添加大肠杆菌; 另一种是在蒸馏水添加大肠杆菌。实验结果发现, 在相似的条件, 后者可能更易被杀死(见表 4)。

表 4 蒸馏水添加 *E.coli* 的 IHP 处理结果

次数	实验 1	下降率 (%)	实验 2	下降率 (%)	平均下降率 (%)
0(Control)	$6.4 \times 10^4$		$6.4 \times 10^4$		
1	$2.7 \times 10^2$	99.6	$0.9 \times 10^2$	99.9	99.7
2	0		0		

必须承认, 上述实验仅仅只能说明添加在牛奶、桔囊、胡萝卜溶液中的 *E.coli* 或许比添加在蒸馏水中的 *E.coli* 具有更大存活量, 然而, 对于不同的食品(介质)成分(如糖类、酸类、盐类)或许对杀菌效果产生作用不同的贡献, 李汴生等<sup>[15]</sup>在讨论 HHP 杀菌时也曾分析食品(介质)成分的影响问题, 而这一因素对于 IHP 杀菌效果的影响必须有更多时间逐类分析。

3 结 论

表 1 牛奶添加 *E.coli* 的 IHP 处理结果

次数	实验 1	下降率 (%)	实验 2	下降率 (%)	平均下降率 (%)	总平均下降率 (%)
0(Control)	$1.40 \times 10^6$		$2.01 \times 10^6$			
1	$1.84 \times 10^4$	98.7	$1.19 \times 10^4$	99.4	97	99.047
2	$3.20 \times 10^2$	98.3	$2.50 \times 10^2$	97.9	98.1	99.982
3	$6.00 \times 10^1$	81.2	$5.00 \times 10^2$	80	80.6	99.997
4	0		0			100.00

表 2 胡萝卜溶液添加 *E.coli* 的 IHP 处理结果

次数	实验 1	下降率 (%)	实验 2	下降率 (%)	平均下降率 (%)	总平均下降率 (%)
0(Control)	$1.96 \times 10^6$		$2.21 \times 10^6$			
1	$2.25 \times 10^4$	98.9	$3.35 \times 10^4$	98.5	98.7	98.668
2	$1.50 \times 10^3$	93.3	$1.55 \times 10^3$	95.4	94.4	99.926
3	$2.00 \times 10^2$	86.7	$2.10 \times 10^2$	86.4	68.6	99.990
4	$3.50 \times 10^1$	82.5	$3.80 \times 10^1$	81.9	82.3	99.998
5	0		$9.00 \times 10^0$	76.3		100.00

表 3 桔囊溶液添加 *E.coli* 的 IHP 处理结果

次数	实验 1	下降率 (%)	实验 2	下降率 (%)	平均下降率 (%)	总平均下降率 (%)
0(Control)	$1.48 \times 10^5$		$1.55 \times 10^5$			
1	$4.04 \times 10^3$	97.3	$4.19 \times 10^3$	97.3	97.2	97.284
2	$3.20 \times 10^2$	92.1	$3.55 \times 10^2$	91.5	91.8	99.778
3	$4.50 \times 10^1$	82.9	$4.60 \times 10^1$	87	86.5	99.970
4	$1.30 \times 10^1$	71.1	$1.20 \times 10^1$	73.9	72	99.992
5	0		0			100.00

# 干酪乳杆菌 6033 蛋白酶降解肌肉蛋白质的作用研究

王 俊, 周光宏, 徐幸莲, 黄 明

(南京农业大学 农业部农畜产品加工与质量控制重点开放实验室, 江苏 南京 210095)

**摘 要:** 本试验将干酪乳杆菌(*Lactobacillus casei*, Lc)6033 蛋白酶液按 5% 的比例分别加入肌浆蛋白和肌原纤维蛋白提取液, 然后设定不同的 pH 值, 于 15℃ 培养 7d, 定时取样, 测定反应后的 pH 值、十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳(SDS-PAGE)检测蛋白质的变化。结果发现: 不同设定的肌浆蛋白和肌原纤维蛋白试验组在反应初期 pH 值均稍稍降低, 随着反应进程, 各试验组的 pH 值呈现出逐步升高的趋势; 其中, 肌浆蛋白以 pH5.0、4.5 组的变化较为明显, 肌原纤维蛋白则以 pH6.0、5.0、4.5 组的变化较为明显。经 7d 振荡培养后, 电泳检测发现, 各试验组肌浆蛋白均表现出分解现象, 尤其以 pH5.0 组和 pH4.5 组更为明显; 而肌原纤维蛋白也都表现出了明显的分解现象, 尤以 pH 5.0 组肌原纤维蛋白分解最明显。

**关键词:** 干酪乳杆菌; 蛋白酶; 肌肉蛋白质; 降解

收稿日期: 2003-12-23

基金项目: “十五”国家高技术研究发展计划(863)项目(2002AA248031)

作者简介: 王俊(1971-), 男, 博士, 研究方向为畜产品加工与质量控制。

3.1 随着 IHP 处理压力增大, 微生物的存活率愈小, 但下降至一定程度后, 变化趋缓。

3.2 随着 IHP 处理次数增多, 微生物的存活率愈小, 对于某一类微生物的杀灭或许存在多大压力条件下进行多少次可以获得最为经济同时又最彻底的工艺条件。

3.3 不同的食品(介质)成分对 IHP 杀菌效果影响或许是不同的, 而对于奶类、纤维物料类等介质比蒸馏水更有利于保护微生物作用。

## 参考文献:

- [1] Lutz Popper, Dietrich Knorr. Application of high-pressure homogenization for food preservation[J]. Food Technology, 1990, (7): 84-90.
- [2] Heinz V, et al. Inactivation of *Bacillus subtilis* spores by ultra-high-pressure in combination with other treatment[A]. IFT Annual Meeting, 1995, 268.
- [3] Neil H. Mermelstein, High-Pressure pasteurization Juice[J]. Food Technology, 1999, (4): 86-90.
- [4] S C Feijoo, et al. Effects of microfluidizer technology on *Bacillus licheniformis* spores in ice cream mix[J]. Jour of Dairy Science, 1997, (9): 2184-2187.
- [5] M E Guerzoni, et al. Effect of high pressure homogenization on microbial and chemico-physical characteristics of goat cheese[J]. J Dairy Sci, 1999, (5): 851-862.
- [6] The Coca-Cola Co. Ultra high pressure homogenization of unpasteurized juice. USA Patent, 1993, (5): 232, 726.
- [7] 杜军, 张绍英, 等. 动力作用作为冷杀菌方法的可行性初探[J]. 中国乳品工业, 2002, (6): 25-27.
- [8] 郑家林. 微射流均质机——一种高效新型乳化设备[J]. 广州食品工业科技, 1994, (1): 59.
- [9] Sien Y Soon, John Harbidge, et al. Prediction of drop breakage in an ultra high velocity jet homogenizer[J]. Journal of Chemical Engineering of Japan, 2001, (5): 640-646.
- [10] 刘成梅, 刘伟, 等. Microfluidizer对膳食纤维溶液物理性质的影响[J]. 食品科学, 2004, (2): 72-75.
- [11] 刘成梅, 刘伟, 等. Microfluidizer对膳食纤维的微粒粒度分布的影响[J]. 食品科学, 2004, (1): 52-55.
- [12] 刘成梅, 刘伟, 等. 微射流均质机流体动力学行为分析[J]. 食品科学, 2004, (4): 58-62.
- [13] 刘伟, 刘成梅, 等. 高压过程中的压力与能量分析[J]. 食品科学, 2003, (7): 162-164.
- [14] 刘伟. 瞬时高压作用对膳食纤维的物理性质影响及其杀菌机制[D]. 南昌大学硕士毕业论文, 2004.
- [15] 李汴生, 等. 超高压杀菌及其反应动力学[J]. 食品科学, 1997, (9): 3-8.