

采用高压 CO₂ 气体灭活啤酒酵母的试验研究

柏冰¹, 周建军¹, 俞逾¹, 卢啸风¹, 邵春波², 杨卓², Ryo S. Amano³

(1.重庆大学动力工程学院, 重庆 400030; 2.重庆啤酒股份有限公司, 重庆 400039; 3.Department of Mechanical Engineering, The University of Wisconsin-Milwaukee, Milwaukee, WI53201-0784, USA)

摘要: 本文对啤酒酵母溶液采用高压 CO₂ 气体杀菌过程进行了试验研究。试验表明, 向啤酒酵母溶液中通入高压 CO₂ 气体, 对啤酒酵母有明显的杀灭作用。CO₂ 气体压力、通气时间、酵母溶液浓度、微孔气体分配管孔径等参数对杀菌效果有明显影响。在 1MPa 的 CO₂ 压力下, 通气 4min, 即可达到 37.2% 的杀菌率。

关键词: 杀菌; 高压; CO₂; 啤酒酵母

Experiments on Sterilization of Beer Yeast with High-pressure CO₂

BAI Bing¹, ZHOU Jian-jun¹, YU Yu¹, LU Xiao-feng¹, SHAO Chun-bo², YANG Zhuo², Ryo S. Amano³

(1.College of Power Engineering, Chongqing University, Chongqing 400030, China; 2.Chongqing Brewery Co. Ltd., Chongqing 400039, China; 3.Department of Mechanical Engineering, The University of Wisconsin-Milwaukee, Milwaukee, WI53201-0784,USA)

Abstract: Experiments on the beer yeast liquid sterilized by high-pressure carbon dioxide were carried out in this paper. Tests showed that, an obvious sterilizing effect on beer yeast was resulted. The sterilizing effects were strongly affected by the parameters, such as the pressure of the carbon dioxide, sterilizing time, the concentration of the beer yeast solution, and the diameter of the micro-pore from which the high pressure CO₂ was spouted into the solution. The highest sterilizing efficiency was reached at 37.2% under the test conditions of 1.0MPa CO₂ and 4 min sterilizing time.

Key words: sterilization; high-pressure; carbon dioxide; beer yeast

中图分类号: Q93-334

文献标识码: A

文章编号: 1002-6630(2005)10-0043-03

在啤酒生产中, 啤酒装瓶之前的酵母为有害细菌, 必须加以去除才能保证啤酒的质量。啤酒厂通常采用巴氏灭菌法, 但这种高温杀菌的方法改变了啤酒的风味。不使用巴氏灭菌法, 改用膜过滤方法生产出来的纯生啤酒风味鲜美, 但生产成本昂贵。CO₂ 来源广泛, 它具有无毒、不可燃、对环境 and 人体安全性好、无化学残留、价廉等优点, 而且啤酒生产中自身产生 CO₂, 因此使用高压或超临界 CO₂ 杀菌可以同时达到既能降低杀菌成本、又能保持啤酒原有风味的目的^[1~4]。

本文作者曾与美国威斯康星大学(UWM)R.S.Amano 教授合作, 对高压 CO₂ 气体杀菌机理进行了试验研究, 认为从微孔气体分配管中出来的 CO₂ 气体具有很高压, 当溶液中的酵母细胞接触到这些高压气泡时, 高压 CO₂ 会瞬时渗入酵母细胞内部, 并继续膨胀, 胀破

细胞壁, 从而杀死酵母菌。酵母菌数目的减少可以认为是酵母细胞已被破碎。本文进行了高压 CO₂ 杀菌的初步试验研究。

1 材料与方法

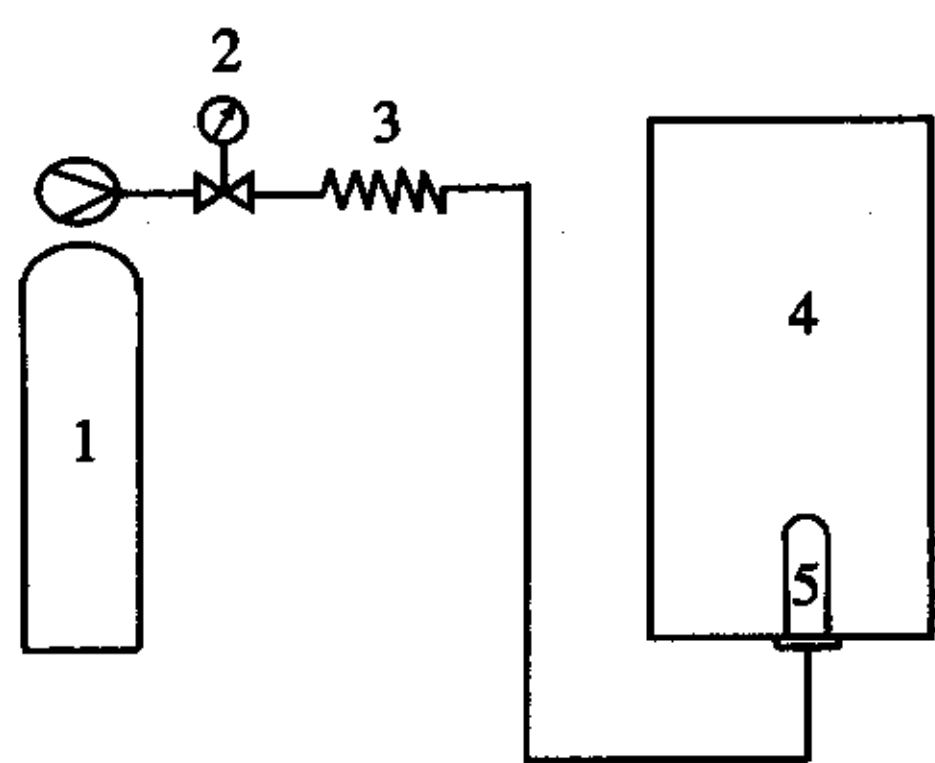
1.1 试验台介绍

杀菌筒为一个自行设计的透明度很高的有机玻璃方筒, 尺寸为 400 × 400 × 1000mm, 壁厚 10mm。试验时杀菌筒内灌入高度为 700mm 啤酒酵母菌溶液, 溶液表面与大气接触。杀菌筒底部安装一个微孔气体分配管, 其尺寸为 Φ 30 × 200mm, 管内径 10mm。微孔气体分配管为陶瓷制品, 它内部承受高压气体, 试验中使用了微孔径为 5、15、30 μm 的三种陶管。来自高压气瓶的 CO₂ 气体经过带加热装置的气体减压阀和高压管路进入微孔气体分配管。图 1 为试验台的结构原理图。

收稿日期: 2004-10-21

基金项目: 重庆市应用基础研究基金资助项目(8064)

作者简介: 柏冰(1971-), 男, 硕士研究生, 主要从事高压气液两相流动理论与工程技术研究。



1.CO₂气瓶 2.减压阀 3.加热带 4.杀菌筒 5.气体分配管
1.Compressed CO₂; 2.Decompressed valve; 3.Calefacient belt; 4.Sterilized bucket; 5.Micro-pore tube

图1 试验台结构原理图

Fig.1 Scheme of the experimental apparatus and principle

1.2 试验微生物

试验微生物为啤酒酵母, 由重庆啤酒股份有限公司提供, 其尺寸约为 $5\sim 12\mu\text{m}$, 它是一种对温度特别敏感的微生物, 在 0°C 以下, 细胞的容积会增大, 引起酵母死亡; 而温度超过 60°C 后, 酵母会产生自消化作用, 因此须将酵母存放在 $3\sim 5^\circ\text{C}$ 的冷藏柜中保存。

1.3 测量方法

气瓶中的高压 CO₂ 经过减压阀到达微孔气体分配管, 经微孔气体分配管的微孔出来, 分布在溶液中进行杀菌。比较不同气体压力、不同通气时间、不同酵母浓度和不同孔径的微孔气体分配管试验条件下的酵母杀死率, 求得酵母杀死率与上述四种影响因素之间的关系。

配制不同浓度的酵母溶液, 加入杀菌筒内, 且每次试验前均搅拌均匀取样验证。酵母在试验前和试验后的数量变化使用 400 倍带光源显微镜和血球计数板测量, 酵母浓度的计算采用如下公式: 酵母浓度(cfu/ml) = 血球计数板读数 $\times 5 \times$ 稀释因子 $\times 10^4 \times$ 酵母活性。酵母活性是指活体酵母在酵母总数中所占的比率, 酵母的死活用亚甲基蓝溶液区分, 亚甲基蓝溶液与待测溶液以 1:1 混合 $3\sim 5\text{min}$ 后观测计数。活体酵母会使亚甲基蓝褪色, 死体酵母则会被染色, 这样死体酵母呈深蓝色, 活体酵母呈无色或浅蓝色。酵母浓度计数如图 2。

2 结果与分析

2.1 CO₂ 压力对杀菌效果的影响

试验结果如图 3 所示。在图 3 所示的试验结果中, 微孔气体分配管的孔径为 $5\mu\text{m}$ 、酵母溶液浓度为 $1.85 \times 10^6\text{cfu/ml}$ 、杀菌时间为 5min 。由图 3 可见, 随着压力的增加, 杀菌数和杀菌率都随之增加, 这可能是因为从微孔管里出来的气泡压力增大, 使气泡“瞬时杀菌”能力增强所致。

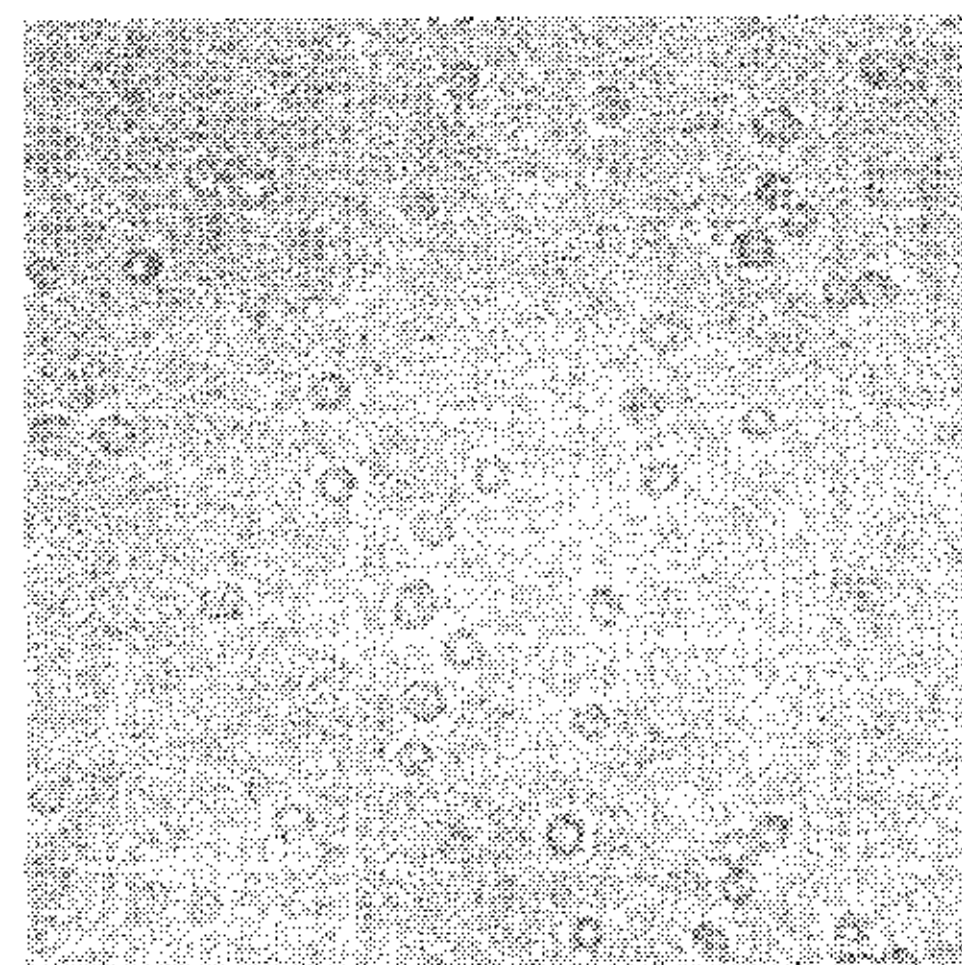


图2 酵母浓度计数

Fig.2 Count of the yeasty concentration

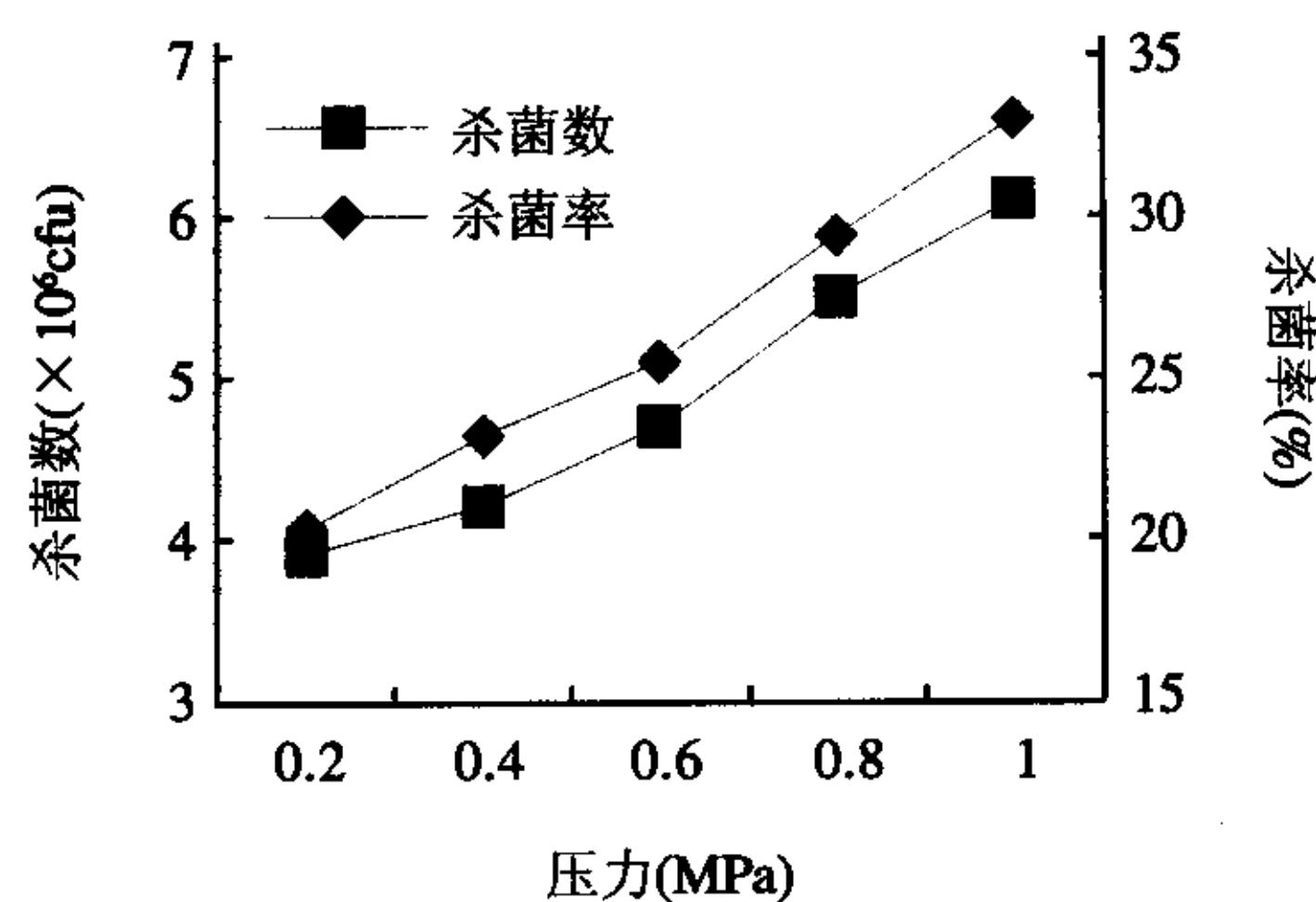


图3 不同压力下的杀菌效果

Fig.3 Sterizing effects on different pressure

由图 3 还可以看出, 在整个试验压力范围内, 杀菌率是一直上升的, 可以预计, 如果继续提高 CO₂ 压力, 杀菌率在一定范围内还会上升。由于受当前试验条件的限制, 更高 CO₂ 压力下的杀菌试验将在下一阶段进行。

2.2 高压 CO₂ 杀菌时间对杀菌效果的影响

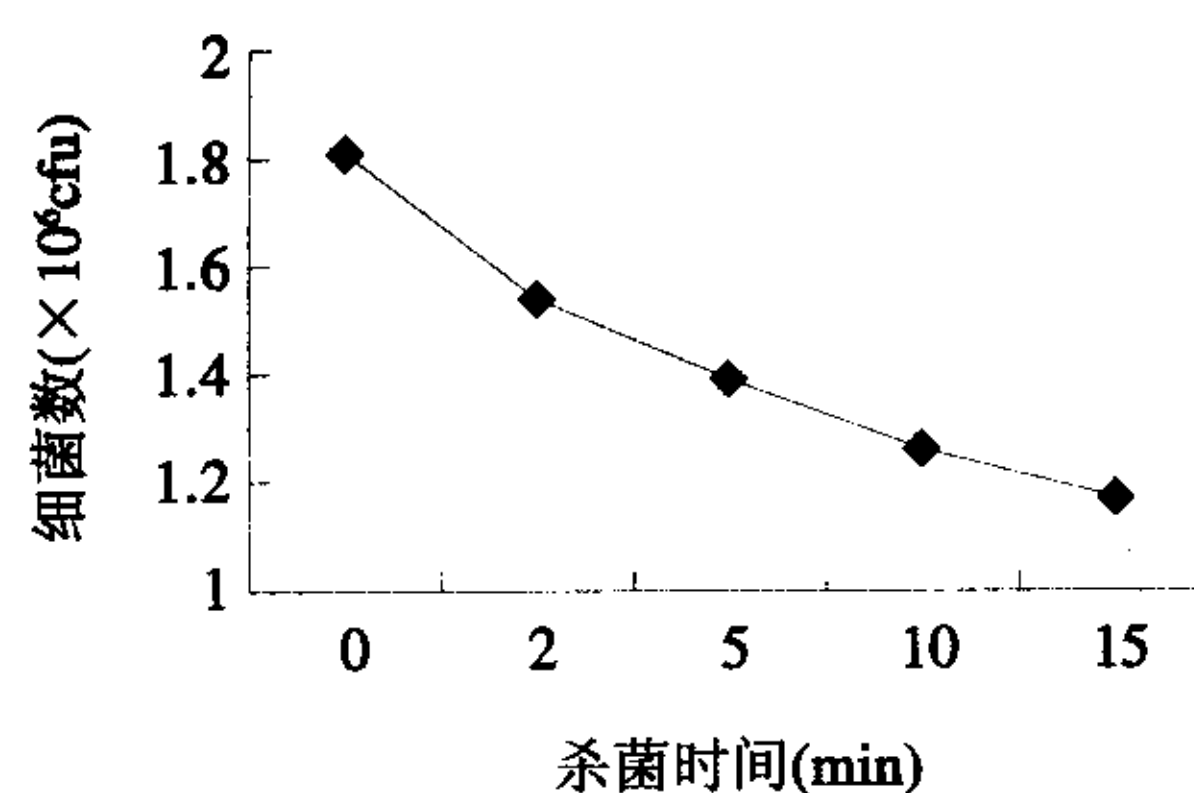


图4 不同杀菌时间下的杀菌效果

Fig.4 Sterizing effects on different hours

图 4 给出了压力为 0.4MPa 、微孔气体分配管孔径为 $5\mu\text{m}$ 、酵母溶液浓度为 $1.85 \times 10^6\text{cfu/ml}$ 条件下, 不同杀菌时间的杀菌效果。可以看出, 溶液中活细菌的数目随着杀菌时间的延长而减少。容易理解, 延长杀菌时间使得更多的酵母菌能碰到高压 CO₂ 气体, 从而杀菌效果增加。

2.3 菌液浓度对杀菌效果的影响

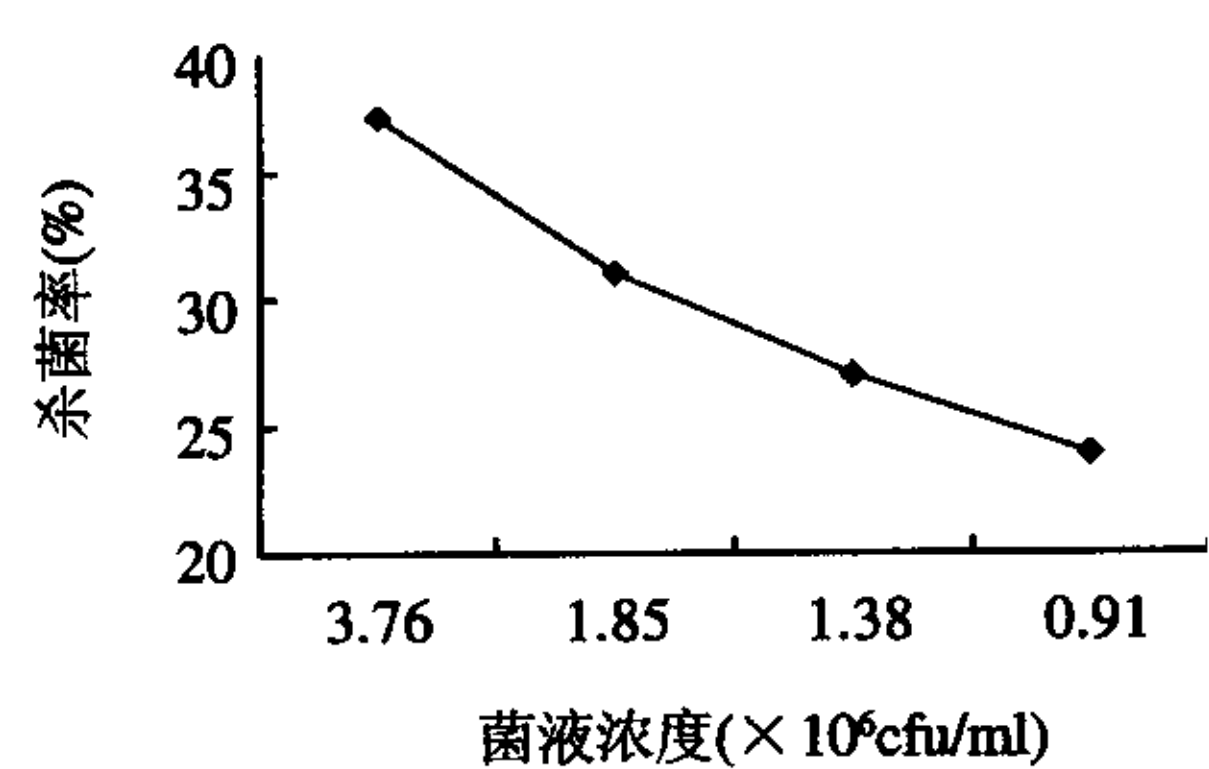


图5 不同菌液浓度的杀菌效果
Fig.5 Sterizing effects in the solutions of different concentration

在图5所示的试验工况为1.0MPa压力、微孔气体分配管孔径为5 μ m、杀菌时间为4min时，不同浓度的酵母溶液对杀菌效果的影响。由图5可以看出高压CO₂气体对于较高浓度的酵母溶液具有较好的杀菌效果。事实上，相同压力的CO₂气体在较高浓度的酵母溶液中比在较低浓度的酵母溶液中更容易碰到较多的酵母菌。

2.4 气体分配管孔径对杀菌效果的影响

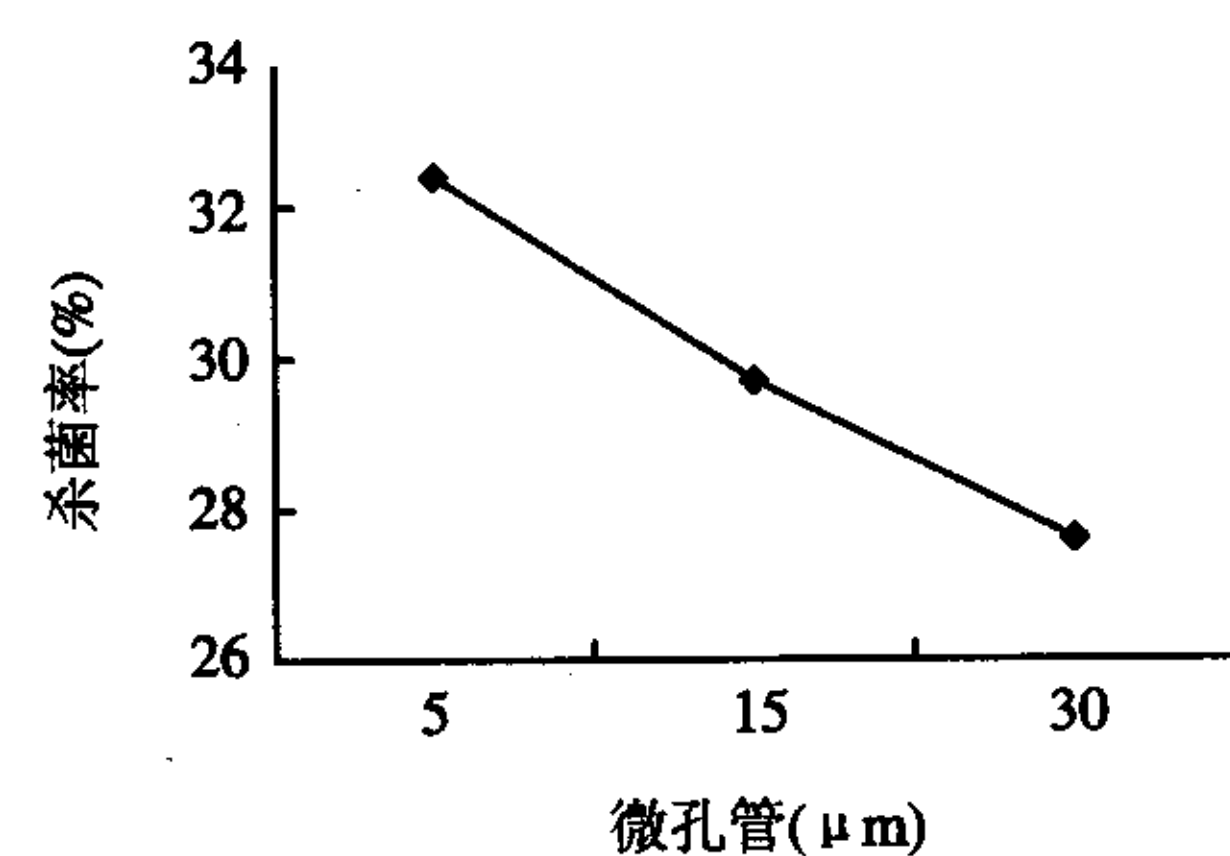


图6 不同孔径微孔管的杀菌效果
Fig.6 Sterizing effects with tubes of different aperture

图6是压力为1.0MPa、酵母溶液浓度为 1.85×10^6 cfu/ml、杀菌时间为4min的工况下，使用了孔径为5、15、30 μ m的三种微孔气体分配管的杀菌试验结果。试验表明，使用较小孔径的气体分配管具有较好的杀菌效果，这可能是因为较小孔径的气体分配管能够产生初始直径更小的CO₂气泡，从而增加了高压CO₂气泡的表面积，使高压CO₂气体能够接触到更多的酵母菌，从而

提高了杀菌效果。

3 结 论

- 3.1 采用高压CO₂杀菌的方法是可行的，这一技术可广泛用于食品生产、公共浴池、水产养殖、医学废水处理等领域。
- 3.2 试验表明，可以通过提高气体压力、延长杀菌时间、减小微孔气体分配管孔径、改变杀菌工艺流程等方法增加杀菌效果。
- 3.3 提高气体压力易于操作，而CO₂在超临界状态(7.2MPa, 31.7℃为临界点)下对细胞具有很好的渗透性^[5]，超临界CO₂“破壁杀菌”的效果将更为明显，它甚至会破碎液体中很难杀死的孢子。
- 3.4 本文在国内首次报道了采用高压CO₂杀菌方法的试验，为了实现对液体进行连续性杀菌和完全灭菌，以及扩大菌种范围，我们将围绕改变气体压力、杀菌时间、微孔气体分配管孔径等参数，在超临界CO₂条件下，进一步进行试验研究。

参考文献：

- [1] 朱自强. 超临界流体技术——原理和应用[M]. 北京: 化学工业出版社, 2000. 337-341.
- [2] 贾士儒, 孙爱友, 张保全, 等. 超临界CO₂对酵母菌生理活性的影响[A]. 第四届全国超临界流体技术学术技术及应用研讨会论文集[C]. 2002. 33-37.
- [3] S Spilimbergo, N Elvassore, A Bertucco. Microbial inactivation by high-pressure[J]. Journal of Supercritical Fluids, 2002, 22: 55-63.
- [4] Angela K Dillow, Fariba Dehghani, Jeffrey S Hrkach, et al. Bacterial inactivation by using near and supercritical carbon dioxide Natl Acad[J]. Sci USA, 1999, 96: 10344-10348.
- [5] Matthew Ng. Cell Permeabilization using supercritical carbon dioxide[D]. Thesis of Master Degree. University of Waterloo, Ontario, Canada, 2001.



德国成功研制便携式真空包装器

一种体积小、重量轻、使用携带方便的真空包装器最近由德国一家公司研制成功。这种真空包装器在使用时，将点心、饭菜、食品等放在塑料食品袋内，按动真空包装器的按钮，即可在塑料食品袋的开口处将袋内空气抽净后密封，使袋内食品如同软包装罐头，密封后在室温下一周内食品不变质。

用此法贮藏鱼、肉、青菜等，可保持味道不变，并能防止维生素、矿物质等营养成分被破坏。如将易变形食品放入真空塑料袋内，经过这种真空包装器处理后再冷藏可防止变形。真空包装器的问世开辟了食品贮存的新途径，使用方便轻巧，可部分代替冰箱。