

会员登录

用户名:
密码:
验证码: 3828

相关文章

- 发酵豆粕在水产饲料中的应用...
- 哺乳动物斯钙素-1的研究
- 微生物制剂降低胆固醇研究进...
- 饲料企业库存系统的系统动力...
- 槲皮素的生物学效应及应用前...
- 类胡萝卜素在水产饲料中的应...
- 瘤胃微生物来源的纤维降解酶...
- 中草药植物内生菌产生抗生素...
- 蒸汽压片玉米加工工艺及其对...
- 乳酸菌的耐酸性机制

合作伙伴



SPF实验动物饲料的灭菌

作者:杨红军 时建忠 艾琴等 期号:2007年第3期

SPF(Specific pathogen free)实验动物,即无特定病原菌动物。我国现行的《中华人民共和国兽用生物制品质量标准》和《中华人民共和国兽用生物制品规程》中明确规定:二、三级(SPF级)实验动物须使用灭菌饲料。本文介绍了常用的⁶⁰Co辐照灭菌、高温高压蒸汽灭菌、微波灭菌,饲料加工工艺灭菌等,这些方法主要源自于食品工业和医疗消毒行业。

1 电离辐照灭菌

FDA(美国食品与药物管理局)规定,用于食品的电离辐照仅限于以下三种:①放射性核素⁶⁰Co或¹³⁷Cs的γ射线;②机械能源产生的能量不高于5 MeV的X射线;③机械能源产生的能量不高于10 MeV的电子束辐射。目前使用最多的是⁶⁰Co,其不断衰变而放出γ射线,使微生物新陈代谢、生长发育受抑制或破坏,从而达到灭菌的作用。

1.1 辐照历史

很久以前电离辐照就被认为是一种杀灭食品中病原微生物的方法,可用于杀灭细菌、昆虫、病原体。据报道,1904年就有人使用镭放射来灭活葡萄球菌、霍乱弧菌和炭疽杆菌,1918年有人用辐照来灭活猪肉中的旋毛虫,20世纪末期出现了商业化的食品辐照,目前,100多种辐照食品在40多个国家被认可,其中30多个正在申请商业化。由于辐照饲料明显优于热处理或重蒸的饲料,因此,商业化的辐照饲料用于SPF动物和无菌动物已经有三四十年的历史了。

1.2 辐照原理

水的辐解是辐照过程中最主要的反应,它会产生各种不同的激发分子,见式(1),括号中的数值表示形成该物质所吸收的能量(J/kg)。该过程产生的氢氧自由基(OH·)能使DNA分子的单链断裂,引起DNA损伤,从而导致微生物的死亡。



辐照剂量用戈瑞(Gy)或千戈瑞(kGy)来计量,1 Gy等于1 kg物质吸收1 J的能量。在早期的文献中辐照剂量的单位是拉德(rad),1 Gy=100 rad。食品辐照分为低剂量(<1 kGy)、中剂量(1~10 kGy)、高剂量(>10 kGy)3种剂量,高剂量可用于完全灭菌。食品中各类致病菌辐照剂量见表1。

表1 食品中各类致病菌辐照处理的D₁₀值

致病菌种类	D ₁₀ 值(kGy)
沙门氏菌	0.5~1.0
耶森氏菌	0.1~0.2
弯曲杆菌	0.12~0.25
李斯特菌	0.27~0.77
金黄色葡萄球菌	0.26~0.45
大肠杆菌 O157:H7	0.25~0.45
肉毒芽杆菌	3.45~4.30

1.3 辐照安全性

1979年,FDA认为任何食品经过1 kGy的辐照,或者所含成分中经50 kGy辐照的比例不超过0.01%的对人类都是安全的,不会产生任何有毒物质。1980年,FAO(粮食与农业组织)、IAEA(国际原子能机构)和WHO(世界卫生组织)根据长期的毒理学、营养学和微生物学资料及辐射化学分析,认为“任何食品当其总体平均吸收剂量不超过10 kGy时没有毒理学危险,不再要求做毒理学试验,同时在营养学和微生物学上也是安全的”。连续9代的动物实验表明:辐照食品在动物体不会引起突变、肿瘤,也不会有毒害影响。1997年FAO、IAEA和WHO联合宣告:超过10 kGy高剂量辐照食品也是安全的,因此取消了最高剂量的限制。

1.4 辐照灭菌效果的研究

辐照是一种有效的灭菌方法,食品辐照灭菌和饲料辐照灭菌在本质上是一样的。1963年,国际原子能机构推荐使用辐照来减少饲料中的细菌含量,尤其是沙门氏菌。Adamiker(1979)报道,辐照能够有效替代热处理和化学的消毒方法,满足无菌动物和SPF动物的需要。试验证明,8 kGy就能杀灭饲料中的微生物;酵母和霉菌对辐照比较敏感,大约5 kGy就能将其除去,但是霉菌毒素就很难除去;沙门氏菌和肠属细菌等病原菌一般对辐照较敏感,4~6 kGy就能将其杀灭;5~10 kGy能消除动物废弃物和饲料中的沙门氏菌和它的肠道细菌。高剂量(15~40 kGy)能够灭活病毒,但对饲料组成可能有影响。如果饲料辐照前就进行了热处理(制粒),虽然在冷却和储藏过程中会被再次污染,但是通常是轻度的,因此,与粉料相比,颗粒料所需的剂量较低。为了在家禽中控制沙门氏菌,一些国家规定必须使用灭菌饲料。目前FDA允许用辐照来控制狗咬胶(dog chews)中的微生物,以及用来杀灭家禽饲料中的沙门氏菌。2000年7月,FDA允许使用辐照来减少蛋壳的沙门氏菌,剂量为3 kGy,辐照鸡蛋必须贴上标签。

1.5 辐照营养成分的损失

Ford(1976)报道,经25 kGy和100 kGy辐照的鼠饲料,其总氨基酸、真消化率、生物学价值、净蛋白利用率都没有显著的变化,但是可消化赖氨酸有轻微的减少。矿物元素和微量成分在辐照过程中没有受到影响,但是VC、VB1等有部分的损失,因此高剂量辐照后的饲料需要补充维生素。辐照不会影响碳水化合物、蛋白质和脂肪等高分子化合物。Hayakawa等(1985)研究表明,经25 kGy辐照的家禽饲料饲喂小鼠,不会对其生长产生影响。

1.6 有效剂量的确定

有效辐照剂量的确定依赖于抗氧化剂的含量、湿度、饲料的性质以及生产者的要求。环境温度、有无氧气以及辐照后的储藏条件都会影响辐照剂量的效果。不同种类的饲料,要达到不同效果所需的辐照剂量并不相同。一般来讲,辐照剂量越高,灭菌效果越好。但随着辐照剂量的增加,营养成分的损失增大,而且辐照费用也大大增加。因此,需要寻求一个最佳的辐照剂量,控制微生物含量,减少饲料营养成分的损失,降低生产成本。

目前,实验动物饲料辐照剂量还没有具体的规定,各研究报道差异较大。我国一般在6~25 kGy间,日本在25~50 kGy间,法国用25

kGy, 以色列用15 kGy。有报道认为, SPF免饲料用15 kGy, 大鼠与小鼠饲料用25 kGy, 而哈益明和程述汉(2001)对 γ 射线辐照灭菌剂量的模糊优化, 得出SPF实验动物饲料的最佳辐照剂量为8.06 kGy, 对于猪饲料的辐照剂量尚未见报道。历来人们认为25 kGy是灭菌的最低剂量, 但是ISO11137和EN552现在允许根据不同的灭菌物品而降低辐照剂量, 因此, 可以结合实际情况选择适当的辐照剂量。

2 高温、高压蒸汽灭菌

传统的是最成熟, 也是应用最广泛的灭菌方法, 主要有普通下排气式和预真空式两种设备, 灭菌效果都很好, 但对营养成分有不同程度的破坏。其中预真空式灭菌后饲料的饲喂效果要优于普通式。国内绝大多数的SPF鸡场采用医用的双扉脉动真空灭菌器, 灭菌温度为121℃或者134℃。该设备自动化程度高, 有干燥装置, 产量大, 灭菌时间短。

高压蒸汽灭菌较为彻底, 但是对营养成分破坏较大, 尤其是一些热敏成分, 如酶和维生素等, 蛋白质的品质也会降低。Udes等(1971)报道, 高压蒸汽灭菌饲料会减少总氨基酸的利用价值。

影响灭菌效果的主要因素是灭菌温度和灭菌时间。灭菌鼠饲料时, 与121℃、60 min相比, 134℃、3 min灭菌时蛋白质的生物学价值、真消化率和净蛋白利用率的减少都较少。随着温度上升和时间的延长, 可利用氨基酸逐渐减少, 但是总氨基酸本质上没有受到影响。

目前, 使用高温、高压蒸汽灭菌常用参数组合为121℃、20 min和134℃、4 min, 其灭菌效果较好。这方面的研究报道非常少。

3 微波灭菌

3.1 灭菌机理

微波(Microwaves)是指频率在300~300 000 MHz的电磁波。一旦微波能量被吸收, 极性分子和离子随着电磁波的交替变化而开始旋转或者碰撞, 从而产生热量。美国联邦通信委员会规定了用于工业加热的微波频率为2 450 MHz和915 MHz, 家用微波炉为2 450 MHz。

传统的加热是从表面开始, 通过热介质(蒸汽或水)传导至中心, 传导过慢, 表面过热。微波加热通常是靠微波和食品间的直接相互作用, 渗透性强, 灭菌时间短, 是传统加热时间的20%, 至少能节约20%的能量, 降低生产成本。微波能够随时开启和关闭, 而且产品能够在包装后进行灭菌, 具有较好的应用前景。

目前关于微波灭菌的机理存在热效应和非热效应两种说法。前者认为微波灭菌的动力学在本质上与传统热灭菌是一样的, 微生物细胞在微波场的作用下, 其分子被极化并作高频振荡, 产生热效应, 温度升高, 使其蛋白质结构发生变化, 失去生物活性, 导致微生物死亡。由于最终的致死温度较低, 一些人则认为存在非热效应, 又称生物效应, 是在电磁波的作用下, 生物体内不产生明显的升温, 却可以产生强烈的生物效应, 使生物体内发生各种生理生化和功能的变化。非热效应主要的机理是: 改变微生物细胞膜附近电荷分布, 导致膜功能障碍, 甚至膜破裂; 使微生物细胞赖以生存的水分活度降低, 破坏其生存环境; 导致细胞DNA和RNA分子结构中的氢键松弛、断裂和重新组合, 诱发基因突变, 染色体畸变。由于无法精确地在线测量时间-温度关系以及磁场空间的变化, 因此非热效应无法被证实。虽然可能存在非热效应, 但灭活微生物主要的还是靠热效应作用。

3.2 灭菌研究

微波可以杀灭细菌(如沙门氏菌、大肠杆菌、葡萄球菌)、病毒、真菌和寄生虫。目前, 已经研究了微波对埃希氏大肠杆菌、沙门氏菌、酵母等的灭活作用, 还没有发现对微波有抵抗力的病原菌。75℃、15 s能够杀灭动物食品中的病原菌。大肠杆菌、霉菌和酵母等对微波特别敏感。2 450 MHz、500 W微波作用2 min可杀灭大肠杆菌、金黄色葡萄球菌, 5 min可杀灭枯草黑色变种芽孢。使用功率800 W的微波炉处理135 s, 可将250 g茶叶中的霉菌完全杀灭。用家用微波炉对大、小鼠颗粒饲料和垫料(木屑)进行灭菌, 分别经7 min和5 min可达到无菌。

微波灭菌最大的优点就是升温速度快、灭菌时间短、效果好。林勇(2005)研究发现, 固体培养物料在400、600和850 W的功率下, 完全灭菌所需的时间分别为4、3.5和2.5 min。用400 W功率的微波照射1 min, 霉菌、酵母菌的致死率都达到了93.2%, 2 min后达到99.13%, 3 min后达到100%。用850 W功率的微波照射, 1 min后致死率为99.31%, 1.5 min后为100%。试验表明, 相对细菌而言, 霉菌、酵母菌对微波更敏感。图1描述了微波加热过程中, 沙门氏菌在物料几何中心和表面的存活情况, 其热致死时间分别为77.5 s和67.5 s。从图1中可以明显地看出, 微波存在着加热不均匀性, 中心温度比表面温度要高, 升温要快。

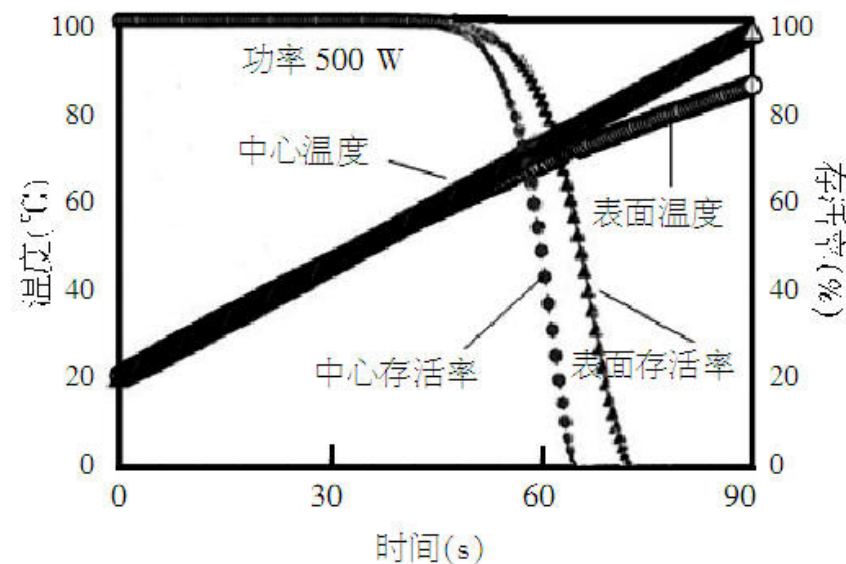


图1 温度及沙门氏菌的存活曲线

3.3 影响灭菌效果的因素

影响微波灭菌效果的主要因素有: 被加工产品本身的性质(初始含菌量、pH值、湿度、化学组成、数量、粒度和形状等)和外部的因素(温度、湿度、气体、微波频率和强度、暴露时间、放置位置、包装等)。

3.3.1 水分含量

最近报道显示, 只有含有水分时, 微生物才能被灭活。水分含量及离子浓度较高的食品加热速度较快。也有人认为含水分或盐分太高的食品会吸收较多的微波, 表面温度较高, 会限制微波的渗透。

3.3.2 物料的厚度、装载量、微波的功率

物料的厚度、微波的功率是影响灭菌效果的主要因素之一, 图2描述了在不同样品厚度下微波功率与沙门氏菌致死时间的关系, 可以看出, 功率越大、料层厚度越小, 热致死时间越短。

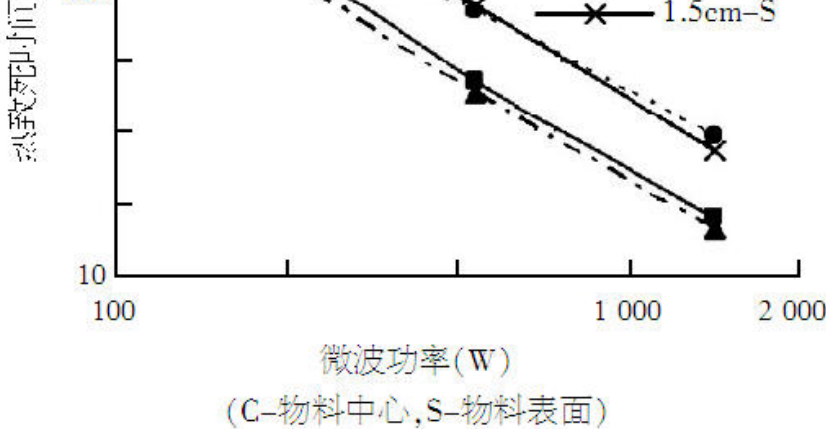


图2 料厚、功率与沙门氏菌致死时间的关系

研究发现,微波灭菌效果与装载量有关。微波加热茶叶90 s时,在复合薄膜袋中,装量越少,霉菌的杀菌率越高;而在玻璃烧杯中,装量200 g时杀菌效果较好,再多增加则杀菌效果就会降低。这可能是一定量的物料可使微波加热产生的热蒸汽不能及时扩散,对霉菌的杀灭有一定程度的后续增效作用,在玻璃杯中这种效应更为明显。

3.3.3 负载水量

在空载或者负载较小的情况下,容易烧毁磁控管,因此,试验中往往负载一定量的水,负载水量直接影响灭菌效果。750 W微波作用24 min,负载水量400、800、1 200 ml,白色念珠菌杀灭率为100%、99.38%、99.19%,可见杀灭率与负载水量呈负相关。

3.4 存在的问题

3.4.1 加热不均

任何灭菌方法都有缺点,微波也不例外,加热温度不均匀就是最大的问题,图1清晰地显示了由于加热不均造成的物体表面和中心的差异。这主要是由于电磁场在微波炉中分布不均匀造成的。造成不均匀性还有两个原因:①微波升温的选择性;②“边缘效应(edge effect)”或称“棱角效应”,在物料的边缘和尖角部位会形成较高的电场强度,这些部位的温度较其它部位高。由于被加工产品各部分不可能完全相同,要完全消除加热不均匀性是不可能的。克服的措施有:①采用间歇灭菌法,使集中的热量得以向周围扩散;②尽量使用大小合适的圆角容器、环状容器;③用旋转或翻转方法使各个部分温度均一;④覆盖铝箔等,起到屏蔽作用。

目前很多研究采用家用微波炉作为微波发生器,所产生的电磁场分布更不均匀,并且难以对样品温度进行准确的在线测量,为研究带来一定的困难。美国FDA也因此未允许微波杀菌作为一项高温杀菌工序在美国进行合法应用。

3.4.2 水分散失

微波加热时水分散失非常快,高达30%,所以实际应用中应该在原始物料中多加水,这样可以防止水分的散失,同时,水分对微波杀菌也具有很大的影响,一般来说,水分含量越高,杀菌效果越好。

3.4.3 包装材料

包装材料要求能够透过微波,同时不能因微波作用分解而产生有害物质。微波一般能够穿透塑料、纸、陶瓷和玻璃,但是其中一些材料可能吸收一定量的微波能量,从而减少食品吸收的能量。常用的玻璃对微波的吸收率仅在3%以下,并且具有刚性结构,有良好的隔热性能,更重要的是不会出现包装材料分解的问题,是目前微波杀菌适宜采用的容器之一。

但是,有研究表明,复合薄膜袋(聚乙烯/聚丙烯,PE/PP)包装比玻璃包装的灭菌效果更好(见表2),这可能与玻璃杯对微波具有一定程度的反射或阻隔作用有关。

表2 微波处理不同容器和物料量的绿茶中霉菌的存活率(%)

微波处理时间(s)	玻璃杯茶叶装量(g)				复合薄膜茶叶装量(g)			
	100	150	200	250	100	150	200	250
90	12.45	53.75	2.04	3.06	0.00	3.57	17.35	30.61
120	16.33	11.22	0.00	16.8	0.00	0.00	16.33	1.02
135	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00

注:未经微波处理对照茶叶霉菌数为 2.4×10^3 CFU/g,水分含量为 7.15%

4 饲料加工工艺灭菌

调质过程中的高温环境以及粉料经压模制粒过程或膨化过程中承受的压力和摩擦热都可以起到灭菌作用。调质过程中蒸汽的压力一般为0.2~0.4 MPa,物料的温度可达到82~95 °C,这样的高温、高压可使饲料中大量病原微生物灭活;压粒过程中物料在压紧区和挤压区受摩擦和剪切作用下,产生了热量,使物料温度再上升5~10 °C,更有利于杀菌。挤压膨化过程的最高温度可达130~180 °C,压力可达4 MPa,而物料在高温段的时间只有5~10 s,可以杀灭微生物,同时减少营养成分的损失。

膨化是目前认为最有可能实现无菌的饲料加工工艺。膨化是将物料加热、加压进行调质处理,并挤出模孔或突然喷出压力容器,使之骤然降压而实现体积膨大的工艺操作。挤压膨化过程的最高温度可达180 °C,可以杀灭致病菌,使饲料中微生物数量大大减少,并使导致饲料在贮藏期间劣变的酶钝化,从而提高卫生指标,而且可使各种有害因子和酶失活,使饲料的品质得以提高。

沙门氏菌能承受的最高温度是89 °C,在90 °C的高温下35 s即被杀死。93 °C下热处理90 s预计可使含水量15%的饲料中活沙门氏菌数减少10 000倍。Ched Riale(1992)报道,酵母不能耐受82~86 °C的制粒温度。在调质器内,当蒸汽把物料加热到98 °C,并维持3 min,就可以达到巴斯德灭菌的效果,85 °C、4 min就能生产出真正的卫生无菌饲料。姚永华(2004)报道,大肠杆菌一般在60 °C、15 min便可被杀死,对一般消毒剂的抵抗力也很弱。使用WENGER公司生产的DDC,调质前后的物料微生物变化见表3。

庞彦芳等(2000)研究了广东饲料制粒工艺对微生物的影响,发现较好的工艺可使酵母的杀死率达到100%、霉菌99.74%、细菌98.18%。目前,布勒公司的“HYSYS”系统能将混合粉料通过蒸汽处理到无菌。以上试验结果及数据表明,只要工艺处理过程中的温度和时间能够保证,再加以生产过程中的严格控制,杜绝二次污染,应该能生产出符合SPF动物要求的颗粒料,但到目前为止,尚未有人进行过这方面的研究。即使达不到灭菌效果,也能大大降低饲料中微生物的含量,从而降低辐照剂量或者减小高压灭菌强度,减少营养损失,降低成本。

5 结语

目前,灭菌新工艺不断出现,例如超高温瞬时杀菌技术(UHT)、电阻加热杀菌技术(欧姆杀菌)、高压电场脉冲杀菌技术、超高压杀菌技术(高静压技术, High Hydro static Pressure, 简称HHP)。这些技术绝大多数都是应用在食品方面,而且有些技术在目前只适用于液体。饲料和食品在本质上是是一致的,可以借鉴这些工艺,结合实验动物饲料的实际情况,对其进行灭菌,从而达到实验动物的要求。

(参考文献83篇,刊略,需者可函索)

(编辑:刘敏跃, lm-y@tom.com)

...评论...

发
表
评
论

*40字以内

提交

重置

[关于我们](#) | [网站导航](#) | [友情连接](#) | [联系我们](#) | [会员须知](#) | [广告服务](#) | [服务条款](#)

版权所有:饲料工业杂志社 Copyright © [Http://www.feedindustry.com.cn](http://www.feedindustry.com.cn) 2004-2005 All Rights 辽ICP备05006846号

饲料工业杂志社地址:沈阳市皇姑区金沙江街16号6门 邮编:110036 投稿:E-mail:tg@feedindustry.com.cn 广告:E-mail:ggb@feedindustry.com.cn

编辑一部:(024)86391926(传真) 编辑二部:(024)86391925(传真) 网络部、发行部:(024)86391237 总编室:(024)86391923(传真)