

# 高压脉冲电场杀菌机理及影响因素分析

卢家暄, 连宾

(1. 贵州大学电气工程学院, 贵州贵阳550003; 2. 中国科学院地球化学研究所, 环境地球化学国家重点实验室, 贵州贵阳550002)

**摘要** 高压脉冲电场杀菌是一项新型食品杀菌技术, 其杀菌过程虽温度低, 但能有效杀死食品中的微生物, 同时能保持食品原有的色香味, 是目前非热处理食品杀菌技术中效果最佳、应用前景最好的技术。综述了高压脉冲电场灭菌的原理, 高压脉冲电场处理系统的设计, 并对影响灭菌效果的因素进行了分析, 最后指出存在的问题并提出今后发展趋势。

**关键词** 高压脉冲电场; 灭菌; 机理; 食品

中图分类号 S125 文献标识码 A 文章编号 0517-6611(2007)24-07601-03

## A Study on Sterilization Mechanisms and Critical Factors of High Voltage Pulsed Electric Field

LU Jia-xuan et al (The School of Electrical Engineering, Guizhou University, Guiyang, Guizhou 550003)

**Abstract** Food sterilization is one of the most important processes in food production. The technique of sterilization could not only have an effect on security and preservation of food, but also have a critical effect on keeping greenness, nutrition and sanitation of food. However, traditional methods of sterilization, such as thermal sterilization (pasteurization, microwave sterilization etc.) and chemical process, will influence intrinsic flavor, color and nutrition when killing microorganisms. High voltage pulsed electric field (HPEF, for short PEF) sterilization is a new type of food sterilization technique, which has best effect on food. Non-thermal sterilization and has greatest foreground, due to its low temperature during sterilization process, availability in killing microorganisms in food and keeping of intrinsic color, smell and taste. In this paper, the sterilization mechanisms of PEF and design of treatment system were summarized and critical factors determining microbial inactivation by PEF were analyzed.

**Key words** High voltage pulsed electric field (PEF); Sterilization; Mechanisms; Food

食品杀菌是食品加工过程中的一个非常重要的单元操作, 通过杀菌可以钝化食品中的酶并杀死食品中存在的致病菌、腐败菌和产毒菌, 以保证食品的安全性, 延长产品的保藏期。食品杀菌技术可分为热力杀菌和非热力杀菌两类<sup>[1]</sup>。自罐藏技术和巴氏杀菌技术发明以来, 热力杀菌技术已在食品工业中广泛应用, 此后又开发了高温短时(High Temperature for Short Times, HTST)、超高温(Ultra High Temperature, UHT)、欧姆加热(Ohmic Heating)和微波(Microwave)杀菌等热力杀菌技术<sup>[1]</sup>。这些技术的广泛应用显著提高了食品尤其是流体食品的质量, 延长了食品货架期。但热力杀菌技术也存在一些难以克服的问题, 对一些热敏性食品的色、香、味及营养成分等有很大破坏作用, 使食品失去原有的新鲜度, 甚至还产生异味<sup>[2]</sup>。

随着科技水平的不断提高, 非热力杀菌技术用以保证食品的新鲜和质量受到食品行业的广泛重视。目前非热力杀菌技术主要有超高压(Ultra High Pressure processing, UHP)杀菌、高压脉冲电场(High Voltage Pulsed Electric Field, 简称 Pulsed Electric Field, PEF)杀菌、振荡磁场(Oscillating Magnetic Field, OMF)杀菌、紫外线(Ultraviolet, UV)杀菌、生物防腐剂(Antimicrobial)杀菌等<sup>[3]</sup>。其中, PEF杀菌是一种全新的非热处理杀菌方法, 其实质是利用高强度脉冲电场瞬时破坏微生物的细胞膜, 使微生物死亡。由于PEF是利用其高电位而非电流杀菌, 因此整个杀菌过程具有温度低(最高温度小于50℃)、杀菌时间短、效率高和能耗少等优点, 能有效保持食品的新鲜度和营养成分, 具有广阔的应用前景<sup>[3]</sup>。笔者概述了脉冲发生器的设计及处理系统, 分析了PEF灭菌的原理以及影响食品灭菌的诸多因素, 并指出存在问题和今后的发展趋势。

## 1 高压脉冲电场处理系统

良好的高压脉冲处理系统是高压脉冲电场杀菌技术得以应用的前提。设计的关键是脉冲发生器和处理腔。

具有最佳处理效果的脉冲发生器的设计和制造是高压脉冲处理技术工业化应用的最大瓶颈<sup>[4]</sup>。下面介绍脉冲形成网络, 产生的脉冲波形及处理腔的设计。

**1.1 脉冲形成网络** 脉冲电场的产生需要电能很短的时间内迅速放电, 这是通过脉冲形成网络(PFN)来完成的。通常PFN是包含一个或多个电源(充电电压高达60 kV)、多个开关(放电管、闸流管、四极管、火花隙、半导体)、电容(0.1~10 μF)、电感(30 μH)、电阻(2~10 MΩ)和处理腔的电路。网络中元器件的值决定了脉冲的形状, 如图1的A和B。脉冲形成网络的自感应阻抗和食品, 处理腔的阻抗匹配效果也将影响脉冲波形, 如图1中的E和F。

简单的PFN即RC(电阻-电容)电路, 如图1C。电容器作为储能元件, 通过激活开关, 能将储存的能量在几μs内释放到阻抗负载(处理腔)。产生的脉冲呈指数型衰落如图1A。系统中, 负载两端(PEF处理腔)的电压与时间关系可表示为:

$$V(t) = V_0 e^{-t/RC}$$

其中,  $V_0$ 为PFN电容器中的充电电压,  $t$ 为脉冲持续时间,  $RC$ 为时间常数。在RC电路中, 脉冲持续时间近似为时间常数的5倍。实际上, 脉冲所有的能量在第一个时间常数就已发送了, 因此, 大部分研究者把 $RC$ 作为有效脉冲宽度, 它是根据电压最大值衰减到 $1/e$ (0.37)所需时间来计算的<sup>[4-7]</sup>, 也有一些研究者偏向于使用全部脉冲持续时间<sup>[8]</sup>。

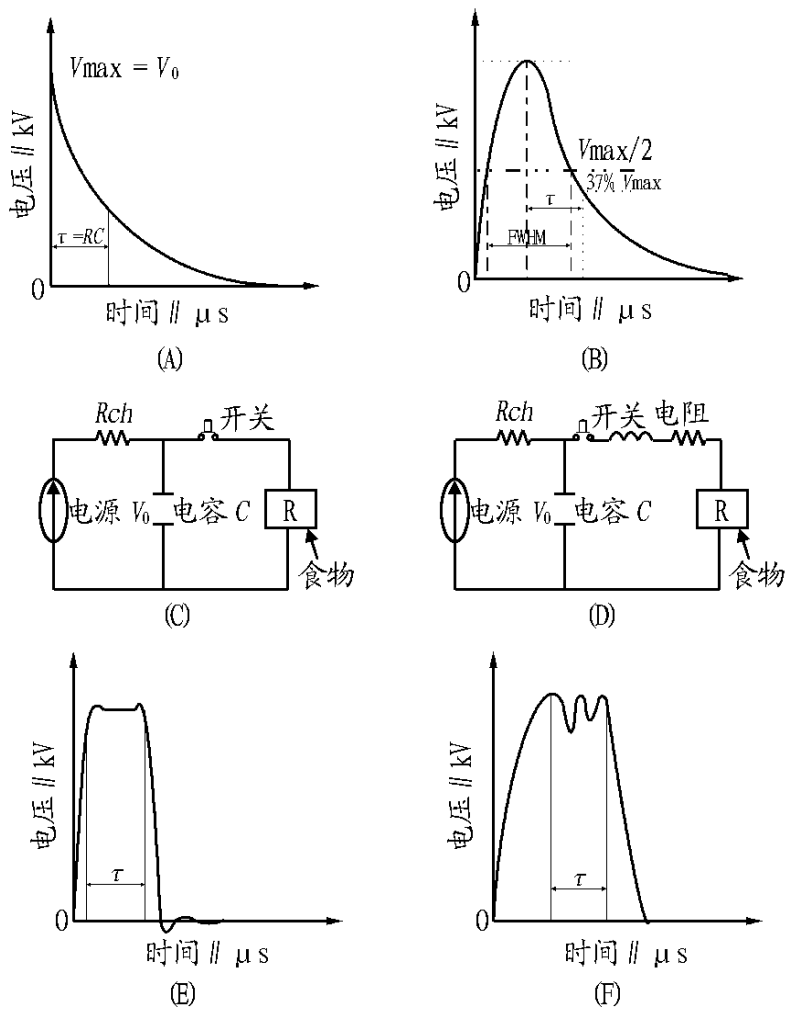
由于很多元件的连接会产生电阻和自感应, 理想的RC电路不能真正代表高压PFN。假定采用RLC(电阻-电感-电容)电路(如图1D), 这将产生过阻尼脉冲或不完全衰减脉冲(如图1B)。RLC电路还可产生即时反转脉冲, 这时, 脉冲宽度为整个脉冲持续时间。

一些研究者<sup>[9]</sup>认为, 过阻尼脉冲或不完全衰减脉冲的脉

基金项目 中国科学院知识创新工程项目(KZCX3-SW140)。

作者简介 卢家暄(1974-), 女, 贵州贵阳人, 硕士, 讲师, 从事电磁学及食品微生物方面的研究。

收稿日期 2007-05-29



注:A. 指数型脉冲;B. 过阻尼脉冲;C. RC 电路;D. RLC 电路;E. 方波;F. 假方波。 $V_0$  为电源的充电电压,  $C$  为电容,  $R_{ch}$  为充电电阻,  $R$  为 PEF 处理腔电阻,  $\tau$  为时间常数。

图1 PEF 中的典型电路及脉冲波形

冲宽度为峰值电压到电压衰减到峰值电压的 37% 时的时间常数。而过阻尼脉冲或不完全衰减脉冲有几乎占整个脉冲时间 1/5 的上升时间, 用 FWHM 即实际电压维持在较高水平到峰值电压一半持续的时间, 如图 1B) 可以较好地描述有效脉冲持续时间。

**1.2 脉冲波形** 指数形脉冲容易产生, 但低于最高电压 36.8% 的电压无杀菌作用, 却能使食品的温度升高, 这是其不利的一面。如果系统的自感应阻抗和食品的阻抗匹配较好, 产生方波的脉冲形成网络(图 1E), 可以为食品提供相对稳定的电场。而处理腔阻抗与 PFN 阻抗的完全匹配, 对于低电阻 ( $< 50 \Omega$ ) 的处理腔比较困难。匹配不好会使信号减弱, 产生电场干扰(图 1F)。在匹配良好的情况下, 在电阻加热时能量损失最小, 简单地假定瞬时脉冲宽度近似为脉冲的时间常数。相对于指数形高压脉冲发生器, 方波脉冲发生器的制作成本高且调试麻烦。在食品杀菌中, 矩形波脉冲比指数形脉冲杀菌效果更好, 对细菌有致命作用, 但需脉冲整形网络, 结构复杂, 对电路的设计及元器件的要求高, 成本也比较高<sup>[10]</sup>。

由于 PEF 脉冲的理想波形和实际瞬时波形有一定差异, 且在选择脉冲宽度和总处理时间等方面也没有统一的标准, 这些都使得在 PEF 元器件、处理工艺条件和动力学模型数据等方面的研究中很难得到一致的结论。

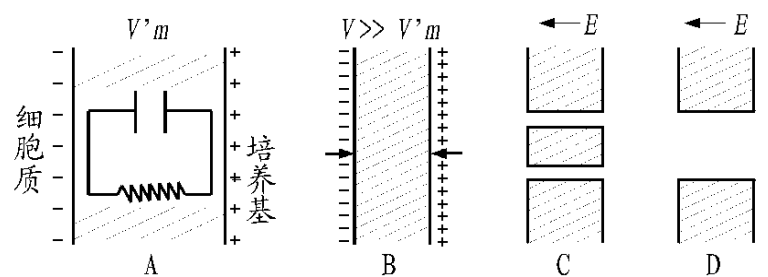
**1.3 处理腔设计** 处理腔可分为静态分批式和连续式两种。静态分批式处理腔规模小、考虑影响因素较少, 不适于大规模工业化应用。为此, 人们设计了各种连续式处理腔, 主要有平行盘式、线圈绕柱式、柱-柱式、柱-盘式、同心轴式。在众多的研究结果中, 平行盘式和同心轴式处理腔结构被广泛报道。分布在处理腔中的电场强度必须是相同的, 即

避免本地电场强度在处理腔中发生变化, 这样才能确保每个微生物个体都受到相同的处理。为了保持处理腔内电场的均匀分布, 国外学者运用有限元分析法对这两种处理腔的设计进行了研究, 使得这两种处理腔不仅能够保持腔内电场的均匀分布, 而且能够保证产品的流动稳定性, 具有较好的应用前景<sup>[11-12]</sup>。

## 2 高压脉冲电场灭菌的机理

尽管 PEF 对微生物有明显的杀灭效果, 但 PEF 杀菌机理仍不十分清楚。目前相关的杀菌机理假说有细胞电穿孔模型、电崩解模型、粘弹性模型、电解产物效应和臭氧效应等<sup>[13-14]</sup>, 其中电崩解和电穿孔模型为较多人所接受<sup>[15-18]</sup>。

**2.1 电崩解 (Electric breakdown)** 微生物的细胞膜可看作是一个注满电解质的电容器, 在正常情况下膜电位差  $V'_m$  很小, 由于在外加电场的作用下细胞膜上的电荷分离形成跨膜电位差  $V$ , 这个电位差  $V$  与外加电场强度和细胞直径成比例, 如外加电场强度进一步增强, 膜电位差增大, 将导致细胞膜厚度减少, 当细胞膜上的电位差达到临界崩解电位差  $V_c$  时, 细胞膜就开始崩解, 导致细胞膜穿孔(充满电解质)形成, 进而在膜上产生瞬间放电, 使膜分解。当细胞膜上孔的面积占细胞膜的总面积很少时, 细胞膜的崩解是可逆的; 如果细胞膜长时间处于高于临界电场强度的作用, 致使细胞膜大面积的崩解, 由可逆变成不可逆, 最终导致微生物死亡<sup>[18]</sup>(图 2)。



注:A. 细胞膜电位差为  $V'_m$ ; B. 外加电场  $V$  远大于跨膜电位差  $V'_m$  时, 细胞膜受挤压变薄; C. 细胞膜上的电位差达到临界崩解电位差  $V_c$  时, 细胞膜崩解并导致穿孔; D. 细胞膜大面积崩解。

图2 细胞膜的电崩解过程

**2.2 电穿孔 (Electroporation)** 电穿孔是由于微生物细胞在高压脉冲电场的作用下细胞膜上的双磷脂层和蛋白质暂时变得不稳定导致的一种现象。在外加电场的作用下其细胞膜压缩并形成小孔, 通透性增加, 小分子物质如水分子可透过细胞膜进入细胞内, 致使细胞体积膨胀, 最后导致细胞膜破裂, 细胞内容物外漏, 使细胞死亡<sup>[19]</sup>(图 3)。

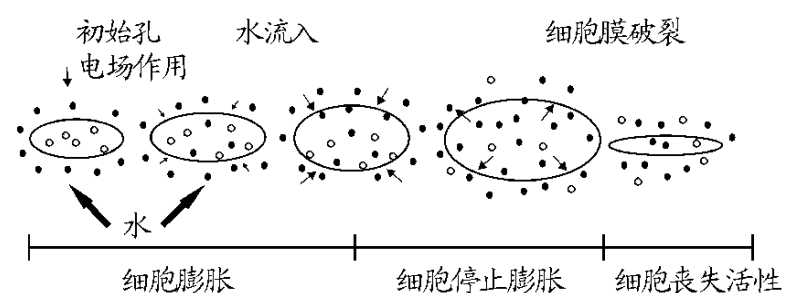


图3 细胞膜的电穿孔过程

## 3 高压脉冲电场在食品杀菌上的应用

传统灭菌保鲜均以损失食品原质、原味和营养为代价, 多年来各国科学家一直寻求冷灭菌技术。尤其是高压脉冲电场(PEF)应用于灭菌研究更是引人注目, 已有较多研究表明 PEF 可灭菌。采用高压脉冲电场同一脉冲次数 40 次、脉

冲时间40  $\mu\text{s}$  和不同场强,对含有3种微生物(酿酒酵母 *Saccharomyces cerevisiae* AS 2397、大肠杆菌 *Escherichia coli* AS 1.90、黄曲霉 *Aspergillus flavus* W 3020)的不同液态食品进行处理,结果表明:其存活率随场强增高而下降,存活率大小顺序表现为  $A. flavus > E. coli > S. cerevisiae$ ;微生物在纯净水、鲜橘汁和鲜牛奶这3种液体中的存活率为:纯净水>鲜橘汁>鲜牛奶。不同的脉冲时间对微生物液态食品进行PEF处理,微生物存活率均随脉冲时间延长而下降。PEF脉冲次数对微生物存活也有一定影响,微生物存活率随脉冲次数增加而降低, $S. cerevisiae$ 和 $E. coli$ 的失活大于 $A. flavus$ 。PEF(场强25 kV/cm、脉冲次数40次、脉冲时间40  $\mu\text{s}$ )对 $S. cerevisiae$ 、 $E. coli$ 和 $A. flavus$ 处理,浓度分别为 $3.5 \times 10^3$ 、 $4.8 \times 10^3$ 和 $3.7 \times 10^3$ 个/ml,PEF处理后的微生物存活率不随浓度变化。高压脉冲电场作用液态介质中的微生物,可使 $S. cerevisiae$ 和 $E. coli$ 的失活率达到95%以上,杀菌效果明显。 $A. flavus$ 存活率较高,杀菌效果不明显。显然,相同高压脉冲电场灭菌条件,对于不同菌种存活率是不相同的,其中霉菌>大肠杆菌>酵母菌。各种细菌对电场具有不同的敏感度,酵母菌比营养细菌更敏感;细菌细胞直径不同、细胞壁和细胞膜化学组成不同对电场有不同的敏感度,因此细菌在高压脉冲电场中存活率存在差异<sup>[10-11]</sup>。

陈伟等<sup>[20]</sup>研究了PEF对液蛋的杀菌效果,表明电场强度和處理时间是影响杀菌效果的主要参数,随着电场强度和處理时间的增加,杀菌效果更为显著。当电场强度为40 kV/cm,處理时间1660  $\mu\text{s}$ 时,接种液蛋中的大肠杆菌、沙门氏菌和金黄色葡萄球菌的总菌数均大大降低。

国外研究人员使用高压脉冲电场对培养液中的酵母、各类革兰氏阴性菌、革兰氏阳性菌,以及苹果汁、香蕉汁、菠萝汁和牛奶等进行了大量研究<sup>[14]</sup>,结果表明,这种处理方法对食品的感官质量没有影响,其货架期一般可延长28~42 d,抑菌效果可达到4~6个对数周期,其處理时间一般在几个 $\mu\text{s}$ 到几个ms,最长不超过1 s。国内也有研究人员在这方面进行研究,如曾新安等<sup>[21]</sup>研究了高压交流电场的灭菌效果,结果表明在22.5 kV/cm的场强處理下,乳酸杆菌数降低近6个数量级;陈键<sup>[22]</sup>在40 kV/cm条件下,用50个脉冲處理脱脂乳中的大肠杆菌,结果其中99%的大肠杆菌失活。

#### 4 影响食品灭菌效果的因素分析

根据对高压脉冲电场灭菌的机理分析,认为采用高压电脉冲进行食品灭菌会受到电场强度、脉冲持续时间、脉冲特性和温度等因素的影响。现将该灭菌方法的主要影响因素及其对食品灭菌效果的影响总结如下(表1)。

表1 影响灭菌效果的因素

参数	影响因素	对灭菌效果的影响
脉冲电场工作参数	电场强度	电场强度是影响杀菌效果最主要的因素之一,当超过微生物的临界跨膜电压时,微生物死亡率随场强的增加而增加 <sup>[14]</sup>
	脉冲持续时间	刚开始的杀菌效果随脉冲时间的延长而明显增强,但达到拐点值后,脉冲时间的增加对杀菌效果基本无影响 <sup>[23]</sup>
	温度	在40~50 温度范围内,电场强度维持恒定,升高温度可以提高电场的杀菌效果。为保证脉冲电场杀菌的非热优势,可采用冷却系统对物料进行冷却,使其温度低于巴氏杀菌的温度 <sup>[2]</sup>
	脉冲特性 波形、频率、极化形式	矩形波的灭菌率要高于指数波,脉冲频率对灭菌效果基本无影响,双向脉冲的灭菌率高于单向脉冲 <sup>[14]</sup>
微生物特性	处理腔的特性	结构、体积、缝隙、流速和停留时间等因素对杀菌效果均有一定影响 <sup>[3,23]</sup>
	微生物的种类	微生物种类对杀菌效果有一定影响 <sup>[2]</sup>
	生长时期	PEF对处在稳定生长期微生物的杀菌率低于处于对数生长期的微生物 <sup>[24-25]</sup>
	生长条件	培养基成分、温度、氧浓度对灭菌率有影响,其机理尚不清楚,但在PEF中不考虑这些因素将导致错误的结论 <sup>[23]</sup>
食品特性参数	成分	对不同食品成分,不同物质结构的灭菌效果不同 <sup>[1,14,23]</sup>
	电导率	低电导率情况下灭菌率较高 <sup>[14]</sup>
	离子强度	脉冲电场的杀菌效果随介质离子强度的下降而增加 <sup>[20]</sup>
	pH值	介质pH值下降杀菌效果稍有提高 <sup>[23]</sup>
	水的活性	降低水活性将会导致灭菌率降低 <sup>[23]</sup>

脉冲技术用于食品杀菌是一种常温下非加热杀菌新技术,可避免加热法引起的蛋白质变性和维生素等营养成分的破坏。根据上述分析,使用该技术应综合考虑脉冲电场强度、脉冲波形、杀菌时间、食品特性、食品pH值、细菌种类和数量等多种因素,以确定最佳杀菌方案。

#### 5 结语

高压脉冲电场灭菌具有高效、均匀、快速、产热少等特点,最大程度地减少对食品营养素的破坏,是值得研究和推广的食品灭菌技术。高压脉冲电场灭菌理论经过多年的研究已取得很大进展,但要实现产业化,仍存在一些问题需要解决: 高压电场灭菌目前虽在液体食品灭菌方面取得较大

成功,但在固体和半固体食品的处理效果上还不理想; 要得到大范围的推广和应用,还需要进一步降低技术成本; 需要设计出合理可行的,界面友好的脉冲发生器; 若使PEF能够和其他工艺相结合,需要较准确地制定灭菌的参数组合。

PEF杀菌技术由于同时具有杀菌及对介质质量影响小的特点,在水处理、食品杀菌中都有很好的应用效果。今后应进一步研究使其规范化、可控化,向产业化的方向发展,加强探索PEF杀菌技术在农业、食品、环境、卫生等相关领域的应用。总之,高压脉冲电场杀菌在食品工业中的应用将以其

(上接第7603页)

良好的处理效果及低能耗而成为未来发展的方向,具有广阔的应用前景。

### 参考文献

- [1] 徐怀德,王云阳.食品杀菌新技术[M].北京:科学技术文献出版社,2005.
- [2] 杨寿清.食品杀菌和保鲜技术[M].北京:化学工业出版社,2005.
- [3] 李沛生,阮征.非热杀菌技术与应用[M].北京:化学工业出版社,2004.
- [4] 孙学兵,方胜,陆守道.高压脉冲电场杀菌技术研究进展[J].食品科学,2001,22(8):84-86.
- [5] GRAHL T, MARKL H. Killing of microorganisms by pulsed electric fields[J]. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 1996, 45: 148-157.
- [6] JONG DE, P VAN HEESH, E J M. Review: Effect of pulsed electric fields on the quality of food products[J]. *Milchwissenschaft*, 1998, 53(11): 4-8.
- [7] BARSOTTI L, MERLE P, CHEFTIEL J C. Food processing by pulsed electric fields. I. Physical aspects[J]. *Rev Food Res Int*, 1999, 15(2): 181-213.
- [8] KOINIK T, BOBANOVIC F, MCKLAVIC D. Sensitivity of transmembrane voltage induced by applied electric fields: a theoretical analysis[J]. *Bioelectrochemistry and Bioenergetics*, 1997, 43(2): 285-291.
- [9] GANCORA NETO M M, SEPULVEDA D R, PEDROW P, et al. Food processing by pulsed electric fields: Treatment delivery, inactivation level and regulatory aspects[J]. *Lebensmittel-Wissenschaft und Technologie*, 2002, 35(5): 375-388.
- [10] 应雪正,王剑平,叶尊忠.国内外高压脉冲电场食品杀菌关键技术概况[J].食品科技,2006(3):4-7.
- [11] JEYAMKONDAN S, JAYAS D S, HOLLEY R A. Pulsed electric field processing of foods: A review[J]. *Journal of Food Protection*, 1999, 62(9): 1088-1096.
- [12] ZHANG Q, BARBOSA CANOVAS G V, SWANSON B G. Engineering aspects of pulsed electric field pasteurization[J]. *Food Eng*, 1995, 25(2): 261-281.
- [13] JAYARAMS, CASILE G S P, MARGARITIS A. Kinetics of sterilization of *Lactobacillus brevis* by the application of high voltage pulses[J]. *Bioelectrochemistry*, 1992, 40(11): 1412-1420.
- [14] QIN B L, BARBOSA CANOVAS G V, SWANSON B G, et al. Inactivating microorganisms using a pulsed electric field continuous treatment system[J]. *IEEE Trans Indus Applic*, 1998, 34(1): 43-49.
- [15] DIMITROV D S, SOWERS A E. Membrane electroporation: fast molecular exchange by electroosmosis[J]. *Biochim Biophys Acta*, 1990, 1022(3): 381-392.
- [16] GLASER R W, LEKINS L, CHERNOMORDIK L V, et al. Reversible electrical breakdown of lipid bilayers: Formation and evolution of pores[J]. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1988, 940(2): 275-287.
- [17] KOINIK T, MCKLAVIC D, SIVNICK T. Time course of transmembrane voltage induced by time-varying electric fields—a method for theoretical analysis and its application[J]. *Bioelectrochemistry and Bioenergetics*, 1998, 45(1): 3-16.
- [18] ZIMMERMANN U. Electrical breakdown, electroporation and electrofusion[J]. *Rev Physiol Biochem Pharmacol*, 1986, 105: 176-256.
- [19] VEGA MERCADO H, MARTIN BELLOSO O, QIN B L, et al. Nonthermal food preservation: Pulsed electric fields[J]. *Trends in Food Science & Technology*, 1997, 8(5): 151-157.
- [20] 陈伟,杨瑞金,崔晓美.高压脉冲电场应用于液蛋杀菌的研究[J].食品科学,2007,28(4):60-64.
- [21] 曾新安,高大维,李国基.高压电场灭菌效果研究[J].微生物学通报,1998,25(5):268-270.
- [22] 陈键.高强度脉冲电场用于液态食品的杀菌[J].物理,1997,26(11):688-689.
- [23] WOUTERS P C, ALVAREZ I, RASO J. Critical factors determining inactivation kinetics by pulsed electric field food processing[J]. *Trends in Food Science & Technology*, 2001, 12(3): 112-121.
- [24] HÜLSHEGER H, POTEI J, NIEMANN E G. Electric field effects on bacteria and yeast cells[J]. *Radiat Environ Biophys*, 1983, 22: 149-162.
- [25] WOUTERS P C, SMELT J P P M. Inactivation of microorganisms with pulsed electric fields: Potential for food preservation[J]. *Food Biotechnol*, 1997, 11(3): 193-229.