

高压脉冲电场对梨汁中微生物的灭菌效果分析

刘翠, 平雪良, 杨瑞金, 赵伟

(1. 江南大学机械工程学院, 江苏无锡214122; 2. 江南大学食品科学与技术国家重点实验室, 江苏无锡214122)

摘要 应用PEF代替传统的热杀菌, 考察电场强度及脉冲时间对鲜榨梨汁中大肠杆菌、沙门氏菌、酿酒酵母和李斯特菌的杀灭效果, 结果表明, 大肠杆菌、沙门氏菌、酿酒酵母和李斯特菌的残活率都随着电场强度的增大和脉冲时间的延长而逐渐下降。对脉冲电场对梨汁中微生物影响的灵敏度分析显示: 沙门氏菌 > 大肠杆菌 > 酿酒酵母, 还对高压脉冲电场同场处理室结构进行分析并提出了改进构想。

关键词 高压脉冲电场; 梨汁; 存活率; 灵敏度; 同场处理室

中图分类号 TS201.3 文献标识码 A 文章编号 0517-6611(2008)31-13854-03

Analysis on the Sterilization Effect of High voltage Pulsed Electric field on Microbes in Pear Juice

LIU Cui et al (College of Mechanical Engineering, Jiangnan University, Wuxi, Jiangsu 214122)

Abstract Pulsed electric field was applied instead of the traditional thermal sterilization to investigate the killing effect of electric field intensity and pulse time on *Escherichia coli*, *Salmonella* spp., *Saccharomyces cerevisiae* and *Listeria* spp. in fresh pear juice. The results showed the surviving rate of *E. coli*, *Salmonella* spp., *S. cerevisiae* and *Listeria* spp. gradually decreased with the increasing of electric field intensity and the prolonging of pulse time. The sensitivity of pulsed electric field on microbes in pear juice were as follows: *Salmonella* spp. > *E. coli* > *S. cerevisiae*. The structure of co-field treatment chamber in high voltage pulsed electric field was analyzed and some improving ideas were put forward.

Key words Pulsed electric field (PEF); Pear juice; Surviving rate; Sensitivity; Co-field treatment chamber

食品杀菌技术可分为热力杀菌和非热力杀菌两类。当前应用比较多的为热力杀菌技术, 自罐藏技术和巴氏杀菌技术发明以来, 热杀菌技术已在食品工业中广泛应用, 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。但热力杀菌在杀菌的同时, 也使一些热敏性的营养素和风味物质受到破坏。为了改进热力杀菌的不足之处, 保持食品的新鲜和原味, 非热力杀菌技术成为食品工程研究的热点。非热力杀菌技术又称冷灭菌技术是不以热致死为主要机理的灭菌方法, 是指在低温或室温下, 依赖化学方法或物理方法使食品中的致病菌及腐败菌失去活性。高压脉冲电场作为非热力杀菌重要技术之一, 以其良好的冷杀菌效应应用特征而被国内外学者广泛研究^[1]。

高压脉冲电场杀菌技术是将待灭菌液态物料采用泵送等方式流经设置有高强脉冲电场的处理器, 微生物在极短时间内受强电场力作用后, 细胞结构破坏, 菌体死亡。该技术具有处理时间短, 温升小, 能耗低和杀菌效果明显等优点^[2], 具有广阔的应用前景。高压脉冲电场系统由高电压脉冲电源和处理室两部分组成。高压脉冲发生系统的参数主要有电场强度、脉冲波形以及脉冲持续时间等^[3], 其中杀菌率与电场强度和脉冲数正相关^[4], 对杀菌率的效果影响比其他参数要显著。处理室是构成高压脉冲电场杀菌系统的又一重要组成部分, 其功能是将脉冲电场传递、施加、分配给待处理的液态食品进行杀菌, 处理室的结构和参数直接影响杀菌效果^[5]。笔者通过实验室规模连续处理设备考察电场强度及脉冲时间对鲜榨梨汁中大肠杆菌、沙门氏菌、酿酒酵母和李斯特菌的杀灭效果并对脉冲电场对前3种菌种的杀菌灵敏度进行分析, 最后对试验设备处理室的结构进行分析并提出改进构想。

1 材料与方 法

1.1 梨汁的制备

将梨清洗去皮后切成2 cm × 2 cm × 2 cm

的小块, 放入捣碎机打浆成汁, 打浆时为防止褐变加入0.1%的Vc护色, 将破碎好的梨浆在500 g下离心20 min, 然后用2层滤布过滤, 以除去分散在梨汁中的粗大颗粒或悬浮粒, 得到较澄清的梨汁(常温下梨汁电导率为1 500 μs/cm左右, pH值约为4.7)。梨汁冷藏备用。

1.2 微生物菌种 试验采用大肠杆菌、沙门氏菌、酿酒酵母和李斯特菌为目标微生物。微生物菌种均来自江南大学食品科学与技术国家重点实验室。

1.3 微生物的接种 试验用大肠杆菌、沙门氏菌由营养琼脂斜面培养基移至营养肉汤, 37℃摇床培养10 h, 菌体浓度达到10⁸~10⁹ cfu/ml。将上述6 ml培养液接到600 ml灭菌梨汁中, 使样品中菌体浓度达到10⁶~10⁷ cfu/ml。

用李斯特菌由胰蛋白大豆琼脂(tryptic soya agar, TSA)斜面移至胰蛋白大豆肉汤(tryptic soya agar, TSB)培养液, 37℃摇床培养12 h, 菌体浓度达到10⁸~10⁹ cfu/ml。将上述6 ml培养液接到600 ml灭菌梨汁中, 使样品中菌体浓度达到10⁶~10⁷ cfu/ml。

酿酒酵母由酵母粉-葡萄糖斜面培养基移至液体培养基, 30℃摇床培养16 h, 菌体浓度达到10⁸~10⁹ cfu/ml。将上述6 ml培养液接到600 ml灭菌梨汁中, 使样品中菌体浓度达到10⁶~10⁷ cfu/ml。

1.4 微生物计数 根据GB/T4789.2-2003方法, 对样品在PEF处理前后进行菌落计数。细菌、李斯特菌、酿酒酵母分别采用营养琼脂、胰蛋白大豆琼脂和酵母粉-葡萄糖培养基37℃下培养48 h, 进行计数。

杀菌效果采用残活率来表示, 计算公式:

$$\log S = \log N / N_0^{[6]}$$

式中, N为脉冲电场处理后的微生物数(cfu/ml); N₀为脉冲处理前的微生物数(cfu/ml)。

1.5 高压脉冲电场杀菌试验装置 高压脉冲电场杀菌试验装置采用美国俄亥俄州立大学研制的CSU4L型实验室规模连续处理设备。电压场强0~50 kV/cm, 脉冲频率0~500 Hz, 流速0~2 ml/s, 专门有一个降温装置, 采用动态处理, 采

基金项目 “十一五”国家支撑计划项目(2006BAD05A02)。

作者简介 刘翠(1984-), 女, 江苏徐州人, 硕士研究生, 研究方向: CAD/CAM逆向工程与机电一体化技术。

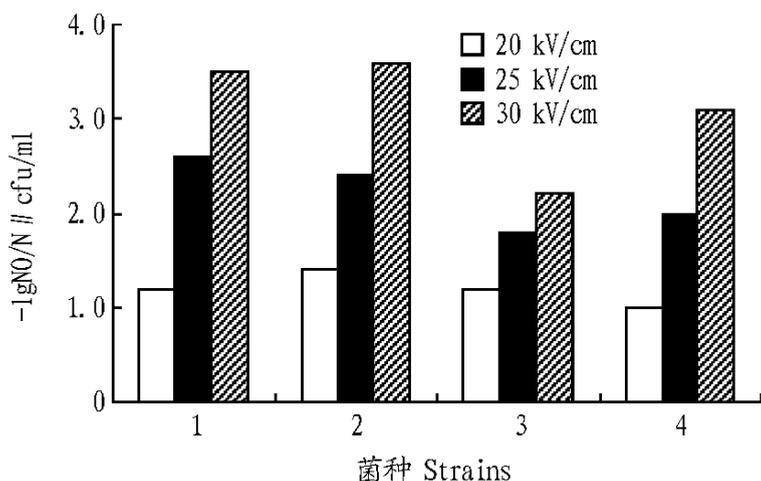
收稿日期 2008-08-18

用的波形为能获得较好杀菌效果的双极矩形脉冲波形^[7-8]。仪器管路清洗采用4%NaOH、10%市售次氯酸消毒液和无菌水,清洗至无菌备用^[9]。

2 结果与分析

2.1 高压脉冲电场对不同微生物杀灭效果的影响 试验是在电场强度分别为20、25和30 kV/cm,脉冲时间分别为40、80、120、160、200和240 μ s下进行的。

2.1.1 电场强度对梨汁中不同微生物杀灭效果的影响。从图1可看出,脉冲电场处理时间(200 μ s)一定时,随着电场强度的增大,脉冲电场对梨汁中微生物的杀菌效果也越来越明显。当电场强度从20 kV/cm上升到30 kV/cm时,大肠杆菌、沙门氏菌、酿酒酵母和李斯特菌分别下降了2.3、2.2、1.0和2.1个对数级。



注:1 为大肠杆菌;2 为沙门氏菌;3 为酿酒酵母;4 为李斯特菌。

Note: 1, *Escherichia coli*; 2, *Salmonella spp.*; 3, *Saccharomyces cerevisiae*; 4, *Listeria spp.*

图1 同处理时间不同场强对梨汁中微生物的杀灭效果

Fig.1 The killing effect of different field intensity on microbe in pear juice at the same treatment time

2.1.2 脉冲时间对梨汁中不同微生物杀灭效果的影响。由图2可知,在同一电场强度(30 kV/cm)下,随脉冲处理时间的延长,梨汁中大肠杆菌、沙门氏菌、酿酒酵母和李斯特菌的残活率逐渐下降。当电压为30 kV/cm,脉冲时间从40 μ s上升到240 μ s时,大肠杆菌、沙门氏菌、酿酒酵母、李斯特菌分别下降了2.8、2.5、1.6、2.0个对数级。

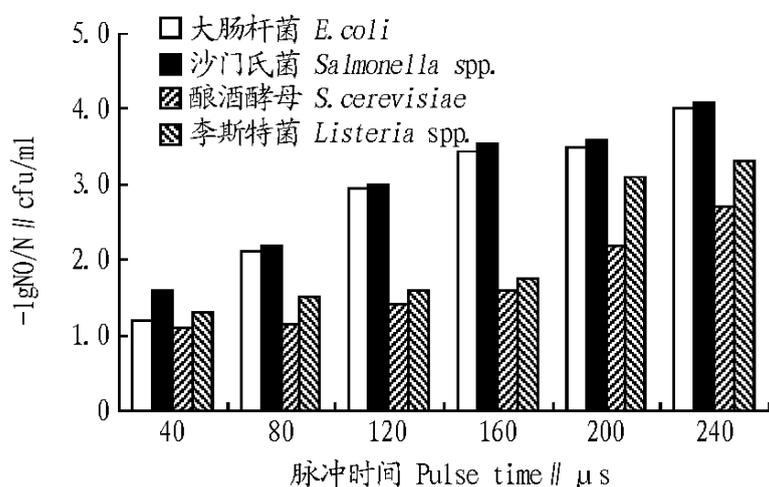
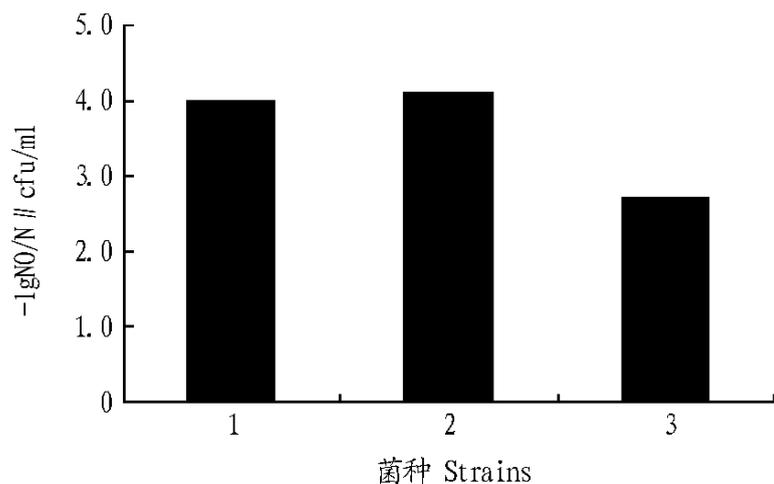


图2 同场强不同脉冲时间对梨汁中微生物的杀灭效果

Fig.2 The killing effect of different pulse time at the same field intensity on microbe in pear juice

2.1.3 对梨汁中不同微生物的杀灭效果的敏感度分析。由上述对电场强度和脉冲时间的分析可知,当电场强度和脉冲时间均达到试验数据的最大值时(场强为30 kV/cm,脉冲时间为240 μ s),灭菌效果也应当达到最佳值。从图3可以看出,

在同一条件下大肠杆菌的灭菌率比沙门氏菌小,比酿酒酵母大。所以三者对脉冲电场的敏感度沙门氏菌最大,大肠杆菌次之,酿酒酵母最小。这与文献[10]试验结果相似,证明了结果的正确性。



注:1 为大肠杆菌;2 为沙门氏菌;3 为酿酒酵母。

Note: 1, *E. coli*; 2, *Salmonella spp.*; 3, *S. cerevisiae*.

图3 同场强同脉冲时间对梨汁中不同微生物的杀灭效果

Fig.3 The killing effect of the same pulse time at the same field intensity on different microbe in pear juice

2.2 试验装置处理室结构分析与改进 除了脉冲发生系统之外,处理室的结构对杀菌效果也有很大的影响。在脉冲电场处理系统中,处理室主要用于装载待处理的物料和安放电极,其作为高压脉冲电场处理系统的关键技术之一,在PEF处理过程中起着至关重要的作用。PEF处理室的结构和参数直接影响到PEF杀菌效果。处理室包括通过绝缘材料固定的2个对立的电极以及两者之间用于盛放处理物料的空腔^[11]。随着PEF杀菌技术的不断发展,对处理室的研究也越来越广泛,对其探讨也越来越深入。由原来的静态处理室发展到现在的动态处理室,由原来的平板式发展到同轴式以至于后来出现的同场式。同场处理室是一种比较新的处理室,试验中用到的OSU 4L设备的处理室就是同场处理室。它的结构充分考虑到了电场的分布特性。相对平行式和同轴式处理室而言,其结构比较灵活,电场分布也比较集中并且由于同场式处理室相互电极之间有间隔,节省能源和材料。但现有设备上的同场处理室随着距离电极距离的不同,电场的分布也不一样。如图4所示,在同场处理室电极中心的位置电场比靠近电极弱得多。处理室内部电场分布不均匀,电场对处理室内部待处理液中微生物的灭活效果也不同。

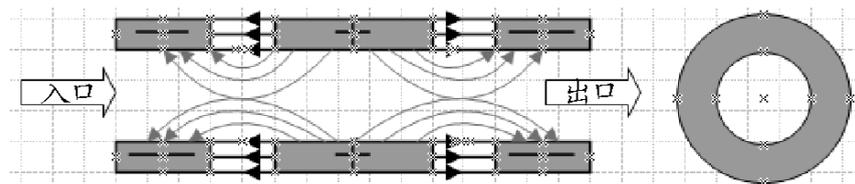


图4 动态同场处理室的结构简图

Fig.4 The structural diagram of the dynamic co-field treatment chamber

针对远离电极的位置杀菌不均的问题,很多研究高压脉冲电场的学者都想办法改进处理室,以便于能使同场处理室工业化。其中福建农林大学食品科学学院的陈锦权等在这方面提出了自己的见解:在电极边缘和相对的电极间焊接2对导体。这样当电极同高压电的时候正、负电极各成为一体,就减少了处理室直径的大小对电场分布的影响,同时2

对电极之间也形成了局部的电极场,可以起到很好的杀菌效果。陈锦权等并进一步利用 Matlab 等相关软件对改进前后的处理室结构分别进行场强分布仿真分析,并利用改进前后的处理室对大肠杆菌和酵母菌进行试验。结果表明,改进方案是可行的,改进后的处理室杀菌效果明显优于改进前的处理室。但分析过程都是对处理室中电场的稳态分析,如果能应用流体力学软件 FLUENT 及 ANSYS 软件对处理室中流体进行速度、电场及温度进行瞬态分析并考虑到杀菌时温度对杀菌效果的影响,分析就会更全面。当然改进的方法还很多,还需要继续进行探讨,最终达到处理室能应用到大批量工业化杀菌的目的。

3 结论

随高压脉冲电场的电场强度增强和脉冲处理时间的延长,鲜榨梨汁中大肠杆菌、沙门氏菌、酿酒酵母和李斯特菌的残活率逐渐下降。分别对电场强度和脉冲时间对梨汁中微生物的杀菌效果进行试验,结果显示,在同一处理时间(200 μ s)下当电场强度从 20 kV/cm 升到 30 kV/cm 时,大肠杆菌、沙门氏菌、酿酒酵母和李斯特菌分别下降了 2.3、2.2、1.0 和 2.1 个对数级。当电压为 30 kV/cm,脉冲时间从 40 μ s 上升到 240 μ s 时,大肠杆菌、沙门氏菌、酿酒酵母、李斯特菌分别下降了 2.8、2.5、1.6、2.0 个对数级。并且对沙门氏菌脉冲电场的

(上接第13846页)

1.4.2 - 淀粉酶酶解。将豆浆 pH 值调至 6.5,加热煮沸 1 h 糊化,然后加 0.3% - 淀粉酶,98 酶解 2 h,浆液经过 140 目筛过滤,去除残渣。

1.4.3 接种发酵。采用保加利亚乳杆菌和嗜热链球菌进行接种,两种菌的比例为 1:1,接种量为 4%,然后在 42 发酵 6~8 h。后发酵:0~4 冷藏 18~20 h。

1.4.4 调配均质。发酵后的绿豆乳中加入 0.2% PGA、0.2% CMC Na、0.6% 单甘酯、3% 海藻糖搅拌混合均匀。用高压均质机在 20 MPa 压力下连续均质 2 次。

1.4.5 真空冷冻干燥。将绿豆酸奶置于低温冰箱(-20)中预冻 15 h,取出后立即在真空冷冻干燥机中干燥,冷阱温度:-50,真空度:300 mbr,干燥时间 24 h,得到速溶绿豆酸奶。

2 结果与分析

2.1 产品的理化和微生物指标 经测定速溶酸豆乳产品的理化指标为:水分含量 5.0%,酸度 80 ^\circ T ,蛋白质含量 25%~30%,脂肪含量 0.3%~1.0%;产品的微生物指标为:乳酸菌含量 10^8 cfu/g,大肠菌群含量 30 cfu/100 g,致病细菌未检出。

2.2 产品的速溶性 速溶绿豆酸奶速溶性研究表明,产品的润湿下沉性为搅拌时 35 s、静置 81 s;冲调性为无团块、无

沉淀。敏感性最大,大肠杆菌次之,酿酒酵母最小。最后对设备同场处理室杀菌不均的现象,在福建农林大学陈锦权提出方案的基础上提出了对处理室中流体进行速度、温度和电场的瞬态和全面分析以便能更好地为工业化道路提供依据。

参考文献

- [1] 孙静,孔繁东,祖国仁,等.高压脉冲电场对酵母菌和大肠杆菌存活率的影响[J].食品科学,2004,25(2):87-90.
- [2] 张铁华,殷涌光,陈玉江.高压脉冲电场非热处理的加工原理与安全控制[J].食品科学,2006,27(12):881-885.
- [3] 何进武,黄惠华.食品高压脉冲电场杀菌技术[J].食品与机械,2007,23(4):155-158.
- [4] 贾健辉,于国萍.高压脉冲电场对牛乳杀菌效果的研究[J].乳业科学与技术,2007(5):221-224.
- [5] VEGA MERCADO H,POTHAKAMRY U R,CHANG F J,et al. Inactivation of escheichia coli by combining pH, ionic strength and pulsed electric fields hurdles[J]. Food Res Int,1996,29(2):117-121.
- [6] 房俊龙,张长利,李文哲.100 kV/cm 高压脉冲电场杀菌系统设计与试验[J].中国乳品工业,2007,35(11):38-40.
- [7] 田红云,孔繁东,祖国仁.高压脉冲电场杀菌技术的研究与展望[J].饮料工业,2004,7(4):1-5.
- [8] 陈梅仙,胡晓宇,卢蓉蓉.高压脉冲电场对乳铁蛋白抑菌性能的影响[J].食品与生物技术学,2007,26(3):1-5.
- [9] 崔晓美,杨瑞金,赵伟,等.高压脉冲电场对石榴汁杀菌的研究[J].农业工程学报,2007,23(3):252-256.
- [10] 卢家暄,连宾.高压脉冲电场杀菌机理及影响因素分析[J].安徽农业科学,2007,35(24):7601-7606.
- [11] 曾新安,陈勇.脉冲电场非热杀菌技术[M].北京:中国轻工业出版社,2005.

沉淀。

2.3 产品的感官评价 经 30 位品尝者评定,一致认为该产品具有绿豆乳香味和乳酸发酵风味,口感细腻、无异味,香气浓郁、酸甜爽口。感官评价结果:色泽:乳白色,微显绿色;滋味:具有酸奶特有的酸甜味,淡淡的绿豆香味和奶香味,酸甜适口,清爽润喉,无异味;组织形态:细腻,质地均匀,不分层、无沉淀,无乳清析出,无气泡产生,粘度适中。该产品保质期为常温整包贮存 12 个月。

3 结论

速溶绿豆酸奶具有很好的速溶性,并含有一定量的乳酸菌活菌,具有乳酸菌和绿豆的双重保健功能,并且运输方便,保质期长。

参考文献

- [1] 纪花,陈锦屏,卢大新.绿豆的营养价值及综合利用[J].现代生物医学进展,2006,6(10):143-144,156.
- [2] 李敏.绿豆化学成分及药理作用的研究概况[J].上海中医药杂志,2001(5):47-49.
- [3] 吕嘉枋,齐文华.乳酸菌的生理功能及在食品酿造工业中的应用[J].食品科技,2007(10):13-17.
- [4] 赵佳锐,杨虹.益生菌降解胆固醇的作用及机理研究进展[J].微生物学报,2005,45(2):315-319.
- [5] 张红.乳酸菌的发酵性质和生物学功能[J].生物学通报,1999,34(12):18-20.
- [6] 赵虎山,阎青松,高辉.豆乳发酵改善其营养价值的研究[J].食品工业科技,1996(4):28-30.
- [7] 马文强,冯杰,刘欣.微生物发酵豆粕营养特性研究[J].中国粮油学报,2008,23(1):121-124.