

热处理协同高静压对芽孢耐压性的影响

王 琴 曾庆孝 阮 征 张少兰

(华南理工大学食品工程系, 广州 510641)

陈柏暖 梁隶华

(华南理工大学高压容器室, 广州 510641)

摘要 协同适当的温度处理对嗜热脂肪芽孢杆菌 *A_s1.999* 进行了高静压杀菌试验。试验结果表明, 适当温度处理能有效提高高静压的灭菌率。加压前预热处理 (45℃, 25 min) 比加压后热处理杀菌效果要好, 且在不同预热处理温度 45, 65, 85℃下, 65℃的预热处理协同高静压灭菌率最高。

关键词 嗜热脂肪芽杆菌; 高静压; 热处理; 协同作用

分类号 TS201.3

0 前 言

高静压处理技术(HHPS)作为一种新型的“冷杀菌”技术, 凭借其具有有效的保留食品中原有的营养价值、色泽和天然风味的独特作用, 使之得以广泛的研究与应用。目前在日本已生产出商品化的高静压处理食品(主要是高酸性食品如果汁饮料), 但对引起低酸性食品腐败变质的、耐压性特强的孢子杀菌的研究相对较少, 至今没有什么系统性和规律性可循。且由于孢子有极强耐压性, 单独的高静压处理需要较高的压力或较长的时间, 使设备投资与操作运转费用增加, 从而使其应用受到限制。

近几年来, 许多研究者提出“加压热杀菌”的观念。一定温度下的加压杀菌可以减少加热时间或降低灭菌所需的高湿, 同时适当的中温也会减少加压所需的时间和强度, 这对解决孢子的耐热耐压性尤为重要, 有试验表明果汁在适当温度下加压可以降低酵母、霉菌和一般细菌所需的致死压力。枯草杆菌等芽孢杆菌的孢子在常温下即使 800 MPa 以上高静压也难完全杀死, 但升温至 45~60℃, 加压至 600 MPa 即可杀灭。不同芽孢菌的芽孢耐压性也不同。光浦畅洋的研究表明^[1], 对于芽孢菌属的孢子, 其耐压性与菌体的生长温度呈正比关系, 耐热性强的孢子耐压性也高。不同的压力和温度组合所取得的杀菌效果差别很大, 因此寻求不同条件下温度与压力的最佳组合对孢子的杀菌有重大意义, 笔者选择了嗜热脂肪芽孢杆菌 *A_s1.999* 为研究对象, 主要考察了加热处理协同高静压的灭菌效果, 并比较了不同的预热处理温度与压力组合的效果。

1 实验材料和方法

1.1 实验材料

1.1.1 供试菌株 嗜热脂肪芽孢杆菌(*Bscillus stearothermophilus* Donk) As1.999 购于广东省微生物研究所菌种中心。

1.1.2 培养基与试剂 营养肉汁琼脂; 芽孢染色液: 5% 孔雀绿染液、0.5% 番红染液。

1.1.3 仪器设备 高静压处理机(常压 ~ 600 MPa) 由本校高压容器研究室提供; 超净工作台、超净恒温器、高压杀菌釜、微生物实验常用仪器设备。

1.2 实验方法

将出发菌株活化, 在(45 ± 1) °C 下产芽孢斜面培养 24 h, 再接种入液体培养基。继续培养 48 h, 使其生长处于稳定状态, 以确保其营养体与孢子的比例恒定。在无菌操作条件下, 按实验方案要求吸取一定量的原菌液, 移入装有灭菌磷酸缓冲液的三角瓶中, 于回旋振荡器中振荡 15 min, 获得混合均匀的菌悬液, 备用。

将活化好的菌株接入严格杀菌的不同介质中, 保证每次接种量相同, 在无菌操作条件下, 分装入无菌塑料瓶中, 密封制成受试样。选择压力范围 200 ~ 400 MPa, 时间 15 min 下进行耐压实验。

1.2.1 热处理与高压协同灭菌实验 选取 45 °C、20 min 作为加热处理条件, 协同高静压对孢子灭菌, 比较加压前加热处理和加压后加热处理的灭菌效果。

1.4.2 不同热处理温度与高静压协同灭菌实验 选取 45、65、85 °C 加热 20 min 为加压前热处理条件, 比较不同预处理温度与高静压协同孢子灭菌的效果影响, 以寻求最佳预处理温度。

2 结果与讨论

2.1 热处理与高静压的协同灭菌效果

经过初步实验, 发现高静压结合适当加温处理可以提高微生物死灭率, 减少加压所需的时间和强度。我们将受试样分成 2 组, 分别在加压前和加压后进行 45 °C、20 min 的热处理, 其灭菌效果见图 1。对于嗜热脂肪芽孢杆菌的芽孢, 适当的热处理(45 °C、20 min) 有助于高静压灭菌作用。两者协同作用的效果要优于单一方法处理, 且预处理结合高静压的灭菌作用要强于后序热处理与高静压的协同作用。究其原因, 我们认为这与芽孢菌的特性密切相关, 芽孢菌孢子可以保持较多的休眠状态, 在条件适合的情况下(如热刺激), 也可以在几分钟内破壁萌发成营养体。45 °C 是嗜热脂肪芽孢杆菌较适宜的生长温度, 预处理促使孢子液中的部分芽孢发芽(样品制片、染色后的显微镜检测结果证明了这一点, 初始孢子含量达 90% 以上, 而经过适当加温后孢子含量降到 65% 左右)。而营养体细胞对环境的敏感程度大大高于芽孢体, 尤其在磷酸缓冲液中, 比较容易受损致死, 表现为死亡率高于同一条件下的单纯高静压灭菌率。至于后序热处

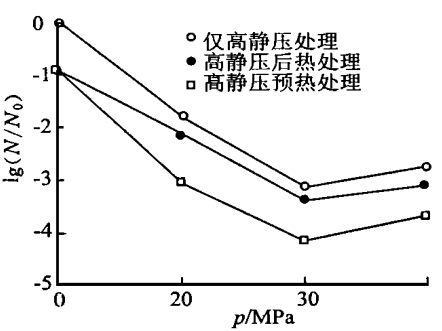


图 1 热处理对嗜热脂肪芽孢杆菌芽孢耐压性的影响

理, 对于在压力环境中存活下来的芽孢, 45℃, 20 min 的处理只会加速其复原、发芽和生长繁殖, 没有什么协同灭菌作用。

2.2 预处理与高静压协同灭菌效果

加压前热处理有利于提高孢子的灭菌率^[2], 我们将高静压配合不同的预处理方式进行耐压试验, 以寻求提高芽孢死灭率的突破口。

受试样分别经 45、65、85℃ 及 20 min 预处理, 对比不同温度预处理与压力组合的效果, 检测结果见表 1。为了进一步了解预处理对芽孢的影响, 我们对预处理后菌数作了 2 次检测, 以便对比。一是预处理后立即检测; 二是预处理后样品放置冰箱等其他需加压处理的样品加压完后同时检测(2 次间隔时间 3~4 h), 见表 1。

表 1 预处理温度对 As1.999 菌种孢子耐压性的影响

压力/MPa	菌 数			
	常温	45	65	85
装样后立即检测	7.0×10^6	6.0×10^6	6.5×10^6	4.0×10^6
与加压后同时检测	6.0×10^6	7.0×10^5	8.9×10^4	1.8×10^6
200	4.8×10^4	5.9×10^3	8.3×10^2	8.1×10^3
300	3.0×10^3	3.0×10^2	7.6×10^1	6.5×10^2
400	1.9×10^4	1.5×10^3	1.9×10^2	6.0×10^3

从表 1 可看出间隔 3~4 h 的 2 次检测的数据相差甚大, 近 1~2 个数量级。我们认为这主要还是与嗜热脂肪芽孢杆菌的特性有关, 此孢子比其它任何嗜温种的孢子更抗热, 相反, 营养细胞对不良的条件非常敏感, 冷至室温, 它们立即失去活性。嗜热脂肪芽孢杆菌生长的温度最高 65~75℃, 最低 30~45℃。在嗜热脂肪芽孢杆菌的适宜温度范围内, 预处理使孢子液中的部分芽孢发芽, 样品制片、染色后的显微镜镜检结果证明了这一点, 如表 2 所示。预处理后立即检测时, 不论孢子还是营养体复原到培养基中, 均表现为菌落数; 然而在冰箱

中放置 3~4 h 后与加压样同时检测, 其由于预热中产生的营养体细胞在磷酸缓冲液中却极易死亡, 从而表现为菌数大大减少。

表 2 预处理对 As1.999 菌悬液的芽孢含量的影响

温度/℃	室温	45	65	85
芽孢含量/%	90	65	45	80

如图 2 所示, 45、65℃ 表现出的协同高静压数据的灭菌率较好, 65℃ 最高, 而 85℃ 相对较差。从表 2 中可看到, 通过显微镜有观察, 发现适当温度处理使芽孢含量 90% 降到 65%~45%。而产生的营养体细胞对环境敏感程度大大高于芽孢体, 尤其在磷酸缓冲液中, 比较容易受压损致死, 表现为死亡率高于同条件下的单纯高静压灭菌率, 但 85℃ 在嗜热脂肪芽孢杆菌最高生长温度范围之外, 不仅不能诱使孢子发芽, 反而抑制孢子, 我们认为 85℃

的杀菌效果主要由于高温的作用, 至于高温协同高静压杀菌实验研究及机理的探讨还有待于下一个阶段的研究。

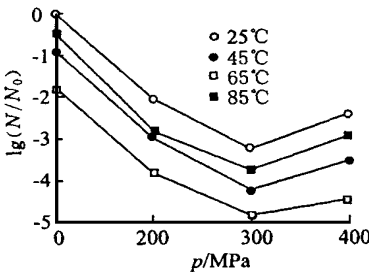


图 2 预处理温度对 As1.999 菌种孢子耐压性的影响

3 结 论

1) 单独加热(45 , 20 min) 没有明显的杀菌效果, 但与高静压协同, 则菌残存数比对照样减少 1~2 个数量级, 且加压前预热处理比加压后热处理杀菌效果好。

2) 适当中温 45, 65 预热处理温度能有效的提高高静压的灭菌率, 相对而言, 65 热处理效果最好; 而 85 时孢子的灭菌率反而有所降低。显微镜检测结果发现, 在适当温度范围(25 ~ 65) 内随温度升高芽孢含量由 90% 降至 45%, 而在 85 时芽孢的含量反增至 80%。

参 考 文 献

- 1 光浦畅洋. 高压による微生物コントロール技术. 食品と开发, 1989, 24(2): 62~67
- 2 阮征. 微生物对高静压的耐性研究及其初步动力学表征: [硕士学位论文]. 广州: 华南理工大学, 1997, 3

Influence of the Association of Multi-factors with HHP on the Sterility of Bacillus

Wang Qin Zeng Qingxiao Ruan Zhen Zhang Shaolan Cheng Boruan Lian Lihua

(Dep. of Food Eng, South-China Univestity of Technology, Guang Zhou 51064)

Abstract Combination with heating, *B. stearothermophilus* (As1. 999) was chosen to be sterilized by High Hydrastatic Pressure(HHP). It was indicated that effective temperature treatment could increased the sterilization rate of HHP. The pre-heating conditions(45) was betler for the inactivation of spores than the post-heating. At different temperature (45, 65, 85) pre-heating conditiens, the sterilization results at 65 combination whih HHP was superior to others.

Key words *B. stearothermophilus* ; HHP; heating; combination

(责任编辑: 陈 娇)