

# 脉冲强光对大肠杆菌的杀菌实验研究

马凤鸣<sup>1</sup>,张佰清<sup>2,\*</sup>,朱丽霞<sup>3</sup>

(1.东北林业大学林学院食品科学与工程,黑龙江哈尔滨 150040;

2.沈阳农业大学食品学院,辽宁沈阳 110161;3.塔里木大学农业工程学院,新疆阿拉尔 843300)

**摘要:**脉冲强光杀菌是一种新兴的冷杀菌技术,自制脉冲强光杀菌装置,光脉冲的脉冲宽度为 $20\mu\text{s}$ ,最大输入能量为644J。使用该装置对大肠杆菌进行杀菌实验,对脉冲强光的杀菌影响因素进行研究。结果表明,脉冲强光对大肠杆菌的杀菌效果十分显著,输入电压2500V时,闪照4次能达到完全致死。各因素对脉冲强光杀菌效果影响的主次顺序是:闪照次数>输入电压>菌液透光率>菌液厚度。此外,杀菌菌液的物理性质对杀菌效果有较大影响。

**关键词:**脉冲,光,杀菌,微生物

## Research on sterilization of *E. coli* by pulsed light

MA Feng-ming<sup>1</sup>,ZHANG Bai-qing<sup>2,\*</sup>,ZHU Li-xia<sup>3</sup>

(1.College of Food Science and Engineering,Northeast Forestry University,Harbin 150040,China;

2.Food College of Shenyang Agriculture University,Shenyang 110161,China;

3.College of Agriculture Engineering,Tarim University,Alaer 843300,China)

**Abstract:** The sterilization by the means of pulsed-light is a new method of unheated sterilization. The continuous time of stimulating the pulse is  $20\mu\text{s}$  and the biggest input power is 644J. Sterilizing of *E. coli* with pulsed light was studied. The results showed that the sterilizing effect was remarkable. *E. coli* was sterilized completely with 2000V and 16 pulse light flashes. The effect order of the factors was flash frequency > input voltage > the bacterium liquid depth > the bacterium liquid transparency. Besides, the physical characteristic was the evidently effect.

**Key words:** pulse; light; sterilization; *E. coli*

中图分类号:TS201.3

文献标识码:A

文章编号:1002-0306(2008)01-0074-03

脉冲强光杀菌技术是近年来开发的一种新型冷杀菌技术,利用强烈白光闪照进行杀菌。主要由一个动力单元和一个惰性气体灯单元组成。动力单元是用来提供高电压高电流脉冲的部件,为惰性气体灯提供所需的能量。脉冲光由增加能量许多倍的工程技术产生。以相对长的时间(几分之一秒)用能量贮存电容器积累电能,并且在很短的时间(百万分之一或千分之一秒)内释放这些贮存的能量去工作,扩大能量的使用。结果在有效循环期间提供一个非常高的能量,而只有中等能量消耗的费用<sup>[1]</sup>。本文主要研究了脉冲强光对大肠杆菌的致死作用,自行研制了脉冲强光杀菌装置,实验结果表明,闪照16次可使大肠杆菌从每毫升高于 $10^6$ 个减少到0个,闪照32次可使酵母从每毫升高于 $10^5$ 个减少到0个。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料与设备

通过确定惰性气体灯参数,设计可行的脉冲发生电路,自主研制了脉冲强光杀菌装置。经测定,光

脉冲的脉冲宽度为 $20\mu\text{s}$ ,最大输入能量为644J。该装置输入电压、闪照次数、闪照间隔、受照射物体离光源的距离可调整控制。其总的工作原理如图1所示<sup>[2]</sup>。

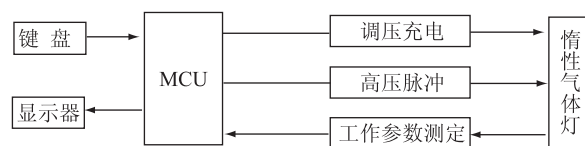


图1 脉冲强光杀菌装置原理图

### 1.2 实验方法

**1.2.1 菌液的制备** 将斜面试管中的大肠杆菌活化,在无菌超净工作台上接种于无菌水中,接种量控制在 $10^6\sim 10^7$ 个/mL。

**1.2.2 处理方法** 每个直径为75mm平皿中盛入一定体积的待处理菌液,放在杀菌处理室中央,与光源距离为2cm,按照设定的工艺参数进行脉冲强光照处理,每次实验3次重复。

**1.2.3 实验参数设置** 输入电压:800、1000、1200、1500、2000、2500、3000V;闪照次数:1、2、4、8、16次;菌液厚度:3.4、6.8、10.2、13.6、17cm;菌液透光率:1、2、4、8、16、32。

收稿日期:2007-05-29

作者简介:马凤鸣(1981-),男,助教,研究方向:食品工程。

1.2.4 大肠杆菌致死检验 将处理完的菌液按 1:10 倍比稀释,选取  $10^{-2}$ 、 $10^{-3}$ 、 $10^{-4}$ 、 $10^{-5}$ 、 $10^{-6}$  五个稀释度,每个稀释度做 3 次重复实验,取平均值。菌检使用蛋白胨培养基,菌种经培养后与对照组(未经处理的同样菌种)进行比较。将处理过的菌用平板计数法进行活菌数的检测。选择输入电压、闪照次数、菌液厚度、菌液透光率、菌液浓度、闪照间隔作为影响因素。

杀菌率 = [(对照残菌数 - 处理残菌数) / 对照残菌数] × 100%

## 2 结果与分析

### 2.1 输入电压对杀菌效果的影响

输入电压指直接对灯两端提供的能量。在闪照次数为 4 次,菌液厚度 3.4mm,菌液透光率为 100 的情况下,采用不同的输入电压进行处理。图 2 表明,输入电压与杀菌率成正比,杀菌率随输入电压增大而增加,当输入电压为 3kV 时大肠杆菌完全致死。

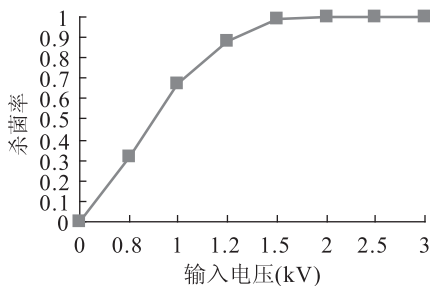


图 2 输入电压对杀菌效果的影响

### 2.2 闪照次数对杀菌效果的影响

闪照次数指灯对处理物所闪照的次数。在输入电压为 2000V,菌液厚度 3.4mm,菌液透光率为 100 的情况下,采用不同的闪照次数进行处理。图 3 表明,杀菌率随闪照次数增多而增加,当闪照高于 16 次时大肠杆菌可完全致死。

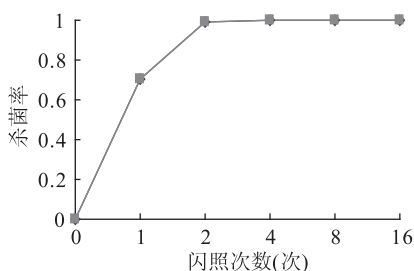


图 3 闪照次数对杀菌效果的影响

### 2.3 菌液厚度对杀菌效果的影响

由于脉冲强光主要是表面处理方式,在液体中光的穿透率对杀菌效果有直接的影响,所以菌液厚度是一个很重要的影响因素。在输入电压为 2000V,闪照次数为 4 次,菌液厚度 3.4mm,采用菌液透光率为 1、100 条件下分别进行处理。图 4、图 5 表明,在透光率为 1 的情况下,菌液厚度与杀菌率成反比,菌液液层越厚,杀菌率越低。当透光率为 100 时,改变菌液厚度,杀菌率基本没有变化。由此得出,菌液厚度与菌液透光率相互影响,一定菌液厚度只有在一定透光率下才影响杀菌效果,反之也成立。

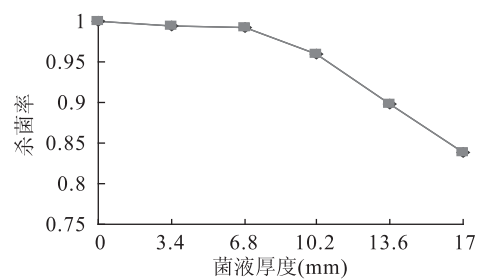


图 4 菌液厚度对杀菌效果的影响(透光率为 1)

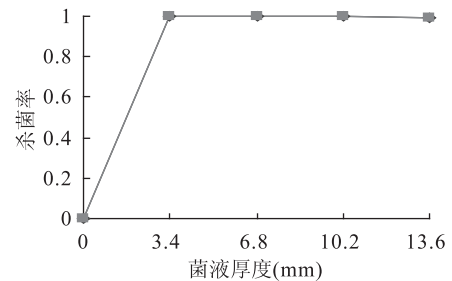


图 5 菌液厚度对杀菌效果的影响(透光率为 100)

### 2.4 菌液透光率对杀菌效果的影响

在食品工业中,绝大部分的液体食品都不是纯粹透明的,或多或少都具有一定的混浊度,这对于光的穿透率是一个很重要的影响因素。本实验的透光率是以蒸馏水的透光率(100%)作为对照,用紫外分光光度计测菌液的透光率。在输入电压为 2000V,闪照次数为 4 次,菌液厚度 3.4mm 的情况下,采用不同菌液透光率进行处理。图 6 表明,菌液透光率越高,杀菌率越高,即杀菌效果越好。

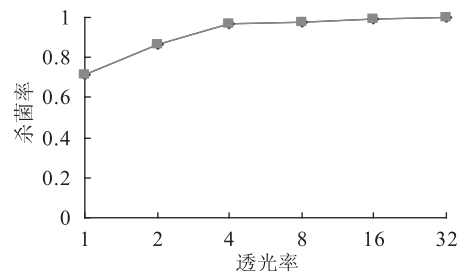


图 6 透光率对杀菌效果的影响

### 2.5 菌液浓度对杀菌效果的影响

在输入电压为 2000V,闪照次数为 4 次,菌液厚度 3.4mm,菌液透光率 100 的情况下,采用不同的菌液浓度进行处理。图 7 表明,菌液浓度几乎对杀菌效果不产生影响。

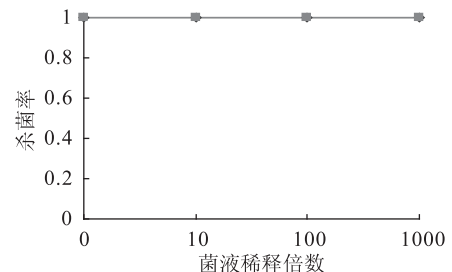


图 7 菌液浓度对杀菌效果的影响

### 2.6 正交实验

根据实际应用,选择输入电压、闪照次数、菌液厚度、菌液透光率四个因素作为实验因素,采用二次

回归正交设计进行实验,选用正交表安排实验,因素水平见表1,结果表略。

表1 因素水平编码表

水平	$x_1$ 输入电压(V)	$x_2$ 闪照次数(次)	$x_3$ 菌液厚度(mm)	$X_4$ 菌液透光率
+1.546	3000	32	1.698	32
+1	2647	27	1.472	26.5
0	2000	17	1.019	16.5
-1	1353	7	0.566	6.5
-1.546	1000	2	0.340	1
$\Delta_j$	646.8305	10	0.453	10

结果表明,各因素对脉冲强光杀菌效果影响的主次顺序是:闪照次数、输入电压、菌液透光率、菌液厚度。得出杀菌的最佳组合为:输入电压 2265.5V,闪照次数 18 次,菌液厚度 0.613mm,菌液透光率 18.8721。

### 3 结论与讨论

实验表明,脉冲强光杀菌对于大肠杆菌的杀菌效果是十分显著的,输入电压 1200V、闪照 4 次,杀菌率为 90% 以上;输入电压为 2000V、闪照 4 次,就可达到 99% 以上的杀菌率;在闪照 16 次时,就可达到完全杀死;在 2500V 下,闪照 4 次也可完全杀死。

输入电压和闪照次数两个因素之间存在相互作用,低电压多闪照、高电压少闪照都可以达到相同的杀菌效果,但电压不可过低,低于 800V 则不具有杀菌的能力。菌液厚度和菌液透光率两个因素之间也存在着相互作用,在透光率为 100,菌液厚度

为 1cm 左右的情况下,菌液厚度对杀菌效果几乎没有影响,只有和菌液透光率相互作用才能对杀菌效果产生影响;反之,菌液透光率在一定范围也是如此。

另外,根据对牛奶中加入大肠杆菌所做的一些实验表明,在 3000V、闪照 30 次、奶液厚度为 3mm 的情况下,杀菌率达 70% 左右,杀菌效果很不理想。这可能是因为牛奶本身为白色,对光的反射性强;还有牛奶黏度大,透光性太差,光线无法穿透到很深的牛奶层,不能对其进行杀菌,这也是脉冲强光杀菌的局限性所在,被处理物的物理性质对杀菌效果有很大的影响。

此外,菌液浓度,闪照间隔对杀菌效果几乎没有影响。

### 参考文献:

- [1] JosePh Dunn, Thomas Ott, et al. Pulsed-light treatment of food and packaging[J]. Food Technology, 1995, 49(9): 95~98.
- [2] 周万龙,高大维,等. 自控脉冲强光杀菌装置的实验研究[J]. 华南理工大学学报, 1998, (7): 69~72.
- [3] 周万龙,高大维,等. 脉冲强光杀菌技术的研究[J]. 食品科学, 1998(1): 16~19.
- [4] 陆燕. 食品冷杀菌技术-脉冲强光杀菌[J]. 浙江农村机电, 2005(2): 17.
- [5] 周素梅. 脉冲光杀菌新技术在食品及包装中的应用[J]. 广州食品工业科技, 2002, 57(2): 55~57.

(上接第 73 页)

50% 左右。可见,脂肪对蛋白的变性具有保护作用,可能是因为长链脂肪酸可以结合在蛋白的次级结构中,增加了蛋白质分子的稳定性,提高了其中一些蛋白质的热变性温度,从而使蛋白质的变性率降低<sup>[8]</sup>。

### 3 结论

3.1 在 25~75℃ 之间,蛋白质变性明显加快;当中心温度为 75℃ 时,蛋白质的变性率达到 92.98%;中心温度升高至 80℃ 以上时,变性率变化不显著。

3.2 在 0~5min 时,随着加热保温时间的延长,70、75、80℃ 三种处理的样品变性率均显著提高。在 5min 以后,时间对蛋白质变性率的影响不显著。

3.3 NaCl 的含量对蛋白质的变性有促进作用。2% 的盐对蛋白质变性率无显著影响,而 4% 和 6% 的影响显著。

3.4 酸碱均可以显著提高蛋白质的变性率。pH 为 7.86 的蛋白质的变性率最低,为 27.61%;随酸度降低和碱性升高,变性率均升高;而在 pH 为 7 时变性率最高,为 77.10%。

3.5 脂肪的存在对蛋白质的变性具有保护作用,不存在脂肪时,蛋白质的变性率最高,达到了 77.7%;而存在 20% 脂肪时,其变性率最低,为 27.61%。

### 参考文献:

- [1] Calhoun C M, Schnell T D. Porcine bone marrow: extraction procedure and characterization by bone type[J]. Meat Science, 1998, 50(4): 489~497.
- [2] 马汉军,王霞,等. 高压和热结合处理对牛肉蛋白质变性和脂肪氧化的影响[J]. 食品工业科技, 2004, 25(10): 63~68.
- [3] Samejima K, Oka Y, Yamamoto K. Effect of temperature, actin-myosin ratio, pH, salt and protein concentration on heat induced gelling of cardiac myosin[J]. Agric Biol Chem, 1986, 50(8): 2101~2110.
- [4] Sittikijyothina W, Sampaiob P, Gonc-alves M P. Heat-induced gelation of  $\beta$ -lactoglobulin at varying pH: effect of tara gum on the rheological and structural properties of the gels[J]. Food Hydrocolloids, 2007, 21: 1046~1055.
- [5] Eduard Davila, Dolores Pare', Ge'rrard Cuvelier, Perla Relkin. Heat-induced gelation of porcine blood plasma proteins as affected by pH[J]. Meat Science, 2007, 76: 216~225.
- [6] 丁士勇,张家年. 牛肉肌红蛋白和血红蛋白稳定性研究[J]. 食品科学, 2006, 27(7): 93~94.
- [7] 钟朝辉,李春美,等. 草鱼鱼鳞酶溶性胶原蛋白黏度特性及变性温度研究[J]. 食品与发酵工业, 2006(2): 56~60.
- [8] 倪晨,石彦国. 血清蛋白加热凝胶的形成[J]. 中国食品学报, 2004, 32(6): 64~68.