文章编号：1000-5773(2004)01-0070-05

西瓜汁的超高压杀菌效果研究*

曾庆梅[1]，潘 见[1]，谢慧明[1]，杨 毅[1]，徐惠群[2]

(1.农产品生物化工教育部重点实验室(合肥工业大学)，安徽合肥 230069；
2.安徽省进出口商品检验检疫局，安徽合肥 230006)

摘要：研究了西瓜汁常温超高压处理后的微生物存活量与杀菌压力、脉动施压之间的关系，并用VITEK 32型细菌鉴定仪对耐压菌种进行了鉴别。实验杀菌压力范围在100～500 MPa之间、保压时间为10 min、以“加压—保压(10 min)—卸压—停顿(5 min)”为一个脉动施压循环，对西瓜汁样品进行多次循环高压处理。结果表明：在30 ℃、处理压力达到或超过400 MPa时，西瓜汁中微生物含量达到国家食品卫生标准要求；随着脉动施压次数的增加，微生物存活量减少；西瓜汁中残存耐压菌以革兰氏阳性菌为主，达70%，此外还残存有少量革兰氏阴性菌和霉菌。

关键词：西瓜汁；超高压；杀菌；菌落总数；霉菌和酵母菌；大肠菌群
中图分类号：TS201.3；Q939.11；O521 **文献标识码**：A

1 引 言

自1899年Hite[1]有关超高压可以减轻微生物对牛奶的破坏，延长牛奶的保存时间的研究报告发表以来，已有百年历史。直到20世纪80年代，人们才开始重视超高压处理技术在食品中的应用，超高压处理食品首先在日本问世。超高压食品加工具有很多特点，如超高压引起微生物和酶失活，同时完整地保留了香味和多种维生素小分子物质[2,3]。微生物生存环境(即基质)等外在因素对其高压存活率影响很大，如蛋白质、糖、等生物大分子及同时存在的其它微生物对相互之间的耐压能力均有影响[4～6]。由于食品所含物质的化学成分各有不同，同种微生物在不同食品中的耐压表现差异很大。此外，短时间多次加压和卸压处理，即所谓脉动施压，能增强超高压杀菌效果[5]。本研究采用几种处理条件对西瓜汁进行超高压杀菌研究，考查国家食品卫生标准(GB 4789)中要求重点控制的几种微生物的致死条件并对耐压菌进行初步鉴别。

2 材料和方法

2.1 试验材料

西瓜汁的准备：市售西瓜→高锰酸钾溶液清洗西瓜外皮→高温杀菌勺捣烂西瓜瓤→高温杀菌纱布挤压榨汁→西瓜汁。

微生物培养基与试剂：乳糖胆盐发酵培养基、营养琼脂、孟加拉红琼脂(三种培养基均为杭州微生物试剂厂生产)，山梨酸钾(北京维尔健康食品有限公司生产)，蒸馏水(自制)。

2.2 试验设备

超高压处理装置[7]：国产高压处理设备(高压容器容积为1 L、最高工作压力600 MPa)(上海大隆

* 收稿日期：2003-09-09；修回日期：2003-11-17
基金项目：安徽省“十五”农产品加工专项(02703016)
作者简介：曾庆梅(1961—)，男，博士研究生，副教授，主要研究方向为农产品生物化工.
E-mail：zengqingmei-1@163.com

超高压设备厂等)、果汁生产设备、超净工作台、微生物检验仪器等。

微生物鉴别仪:VITEK 32 型细菌鉴定仪(法国生物酶里埃公司生产)。

2.3　试验方法

实验中未向液汁中接种微生物。为了保证所有试验样品中微生物的种类和数量一致,试验用西瓜汁均一次性制备。

超高压处理方法:将西瓜汁密封于双层聚乙烯塑料袋中,置于高压容器,于 30 ℃下进行超高压处理,压力范围为 100～500 MPa,保压时间为 10 min。

微生物检测:根据国家食品微生物检验标准(GB 4789)检验致病菌、霉菌和酵母菌,大肠菌群,菌落总数。

耐压微生物鉴别:细菌菌落在培养 48 h 后计数,并用法国生物梅里埃公司生产的 VITEK 32 型细菌鉴定仪对存活菌落进行菌种鉴定。

3　结果与讨论

3.1　高压对微生物存活量的影响

经超高压处理的西瓜汁中微生物存活量与压力大小之间的关系如表 1 所示。从表 1 可以看出,尽管在制备西瓜汁的过程中,对环境、材料和器具进行了严格消毒,但是西瓜汁中菌落总数仍达 12 000 cfu/mL;霉菌和酵母菌数达 210 cfu/mL;大肠菌群则未检出(说明在制备西瓜汁的过程中,环境空气、材料和器具均不存在大肠菌群)。施加的压力大小与细菌的存活量呈反比关系。处理压力为 300 MPa、保压时间 10 min 时,菌落总数从 12000 cfu/mL 急剧减少到 340 cfu/mL,表明大部分微生物在此高压下无法存活,同时说明超高压杀菌效果显著。处理压力为 400 MPa、同样保压 10 min 时,西瓜汁中菌落总数从 12000 cfu/mL 减少到 46 cfu/mL,表明:处理压力 400 MPa 时,有 294 cfu/mL((340－46)cfu/mL)微生物被杀灭。处理压力为 500 MPa、保压 10 min 时,西瓜汁中还有 20 cfu/mL 微生物存活,说明:在处理温度为 30 ℃和保压时间为 10 min 的条件下,这部分存活下来的微生物的耐受压力超过 500 MPa。

表 1　压力对西瓜汁中微生物存活量的影响

Table 1　Effect of pressure on micro-organisms in watermelon juice

Pressure/(MPa)	Coliform/(MPN/100mL)	Microflora/(cfu/mL)	Yeast and mold/(cfu/mL)
Control sample	＜3	12000	210
300	＜3	340	20
400	＜3	46	12
500	＜3	20	7

Note:High pressure treatment under temperature 30 ℃ and dwell time 10 min.

在处理温度为 30 ℃,保压时间为 10 min,压力为 300 MPa、400 MPa 和 500 MPa 的条件下,霉菌和酵母菌的存活量从待处理样品的 210 cfu/mL 分别减少到 20 cfu/mL 、12 cfu/mL 和 7 cfu/mL。其致死规律与以上所分析的菌落情况相似。在 500 MPa 压力 处理之后还有 7 cfu/mL 存活。

以上实验结果分析表明:在处理温度为 30 ℃和保压时间为 10 min 的条件下,大部分微生物在 300 MPa 下处理时即可杀灭,耐受压力超过 300 MPa 的微生物数量不多;但存在耐受压力超过 500 MPa 的微生物。处理压力大于或等于 400 MPa 时,西瓜汁微生物指标达到国家食品卫生标准要求。

3.2　反复加压－卸压(脉动施压)处理对微生物存活量的影响

从 3.1 节实验结果及分析知道,在处理温度为 30 ℃、保压时间为 10 min、压力为 500 MPa 的条件下,菌落总数以及霉菌和酵母菌分别为 20 cfu/mL 和 7 cfu/mL。为了增强超高压杀菌效果,我们在处理压力为 500 MPa 的条件下,采用脉动施压的方式对西瓜汁进行超高压杀菌处理。所谓脉动施压处理

即以“加压—保压(10 min)—卸压—停顿(5 min)”为一个高压处理循环,对处理西瓜汁样品进行多次循环高压处理。脉动压力谱图如图 1 所示。

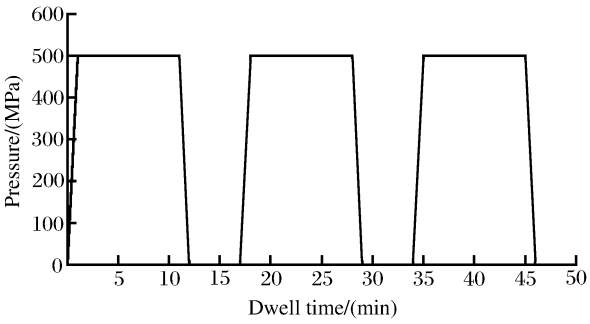


图 1 脉动施压过程中压力与时间的关系

Fig. 1 Illustration of the pulse pressure processing

脉动超高压处理西瓜汁中微生物存活量与循环次数之间的关系如表 2 所示。从表 2 可以看出,循环次数增加,无论菌落总数还是霉菌、酵母菌的存活数量都有下降。第二次循环菌落总数从 20 cfu/mL 下降到 16 cfu/mL;霉菌和酵母菌存活量从 7 cfu/mL下降到 5 cfu/mL,分别下降 20%和 28%。第三次循环菌落总数从 16 cfu/mL 下降到 14 cfu/mL;霉菌和酵母菌存活量从 5 cfu/mL 下降到 4 cfu/mL,分别下降 12%和 20%。

以上实验结果分析表明:在处理温度为 30 ℃的条件下,采用脉动施压的方式对西瓜汁进行超高压杀菌处理,对微生物存活量有很大影响。第二次循环杀菌效果比第三次效果明显,即随着脉动施压次数的增加,微生物存活量减少,但微生物存活量减少值与循环次数之间不是线性关系。

表 2 脉动施压处理对西瓜汁中微生物存活量的影响

Table 2 Effect of the pulse pressure on micro-organisms in watermelon juice

Pulse times/(times)	Coliform/(MPN/100ml)	Microflora/(cfu/ml)	Yeast and mold (cfu/ml)
Control sample	<3	12000	210
1	<3	20	7
2	<3	16	5
3	<3	14	4

Note: High pressure treatment under pressure 500 MPa, temperature 30 ℃ and dwell time 10 min; after depressurizing, dwelling for 5 min under atmospheric pressure.

3.3 耐压微生物种类鉴别

上述实验结果表明:在处理温度为 30 ℃、压力为 500 MPa 和保压时间为 10 min 的条件下,超高压处理并没有将西瓜汁中的微生物彻底杀灭。为了弄清楚耐压微生物的种类,用营养琼脂,对耐压的残存微生物进行培养和分离。再用法国生物梅里埃公司生产的 VITEK 32 型细菌鉴定仪进行种类鉴定。鉴定结果(如表 3 所示)表明,耐压存活菌包括:(1) 革兰氏阳性菌(革兰氏阳性需氧芽孢杆菌、表皮葡萄球菌、藤黄微球菌、A 群链球菌、人形葡萄球菌);(2) 革兰氏阴性菌(恶臭假单胞菌、荧光假单胞菌、干燥棒状杆菌);(3) 真菌(霉菌)。

表 3 西瓜汁高压杀菌后耐压存活菌的种类和相对量

Table 3 Comparative content and species of the pressure-resisting micro-organisms in watermelon juice

Species	Gram positive bacteria					Gram negative bacteria			Fungi
	Bacillus aerobium	Sta. epidermidis	Micrococcus Garcinia	Streptococcus cluster A	Sta. Anthropomorphosis	P. mephitis	P. fluorescence	Corynebacterium xeransis	Molds
Counts of colony	5	3	2	2	2	2	1	1	2
Percentage	25%	15%	10%	10%	10%	10%	5%	5%	10%
Classified; statistic	70%					20%			10%

Note: High pressure treatment under pressure 500 MPa, temperature 30 ℃ and dwell time 10 min.

在高压处理后的西瓜汁中,耐压菌以革兰氏阳性菌居多,占总数的 70%;革兰氏阴性菌占 20%;真菌类的霉菌占 10%。由于革兰氏阴性菌细胞与革兰氏阳性菌细胞相比,细胞壁结构更复杂而且厚度小,高压更易影响、破坏或改变其细胞壁结构,其细胞的代谢功能更容易被干扰,从而影响此类菌的生存。也就是说,革兰氏阴性菌比革兰氏阳性菌对压力更敏感、更容易致死。芽孢对抗外部恶劣生长环境的能力非常强,也非常耐压。真菌界的霉菌与其同界的酵母菌相比,更为耐压,故在高压处理后的残存菌中只有霉菌。此外,霉菌孢子与芽孢杆菌的芽孢耐压能力强,这是由于霉菌孢子和芽孢自身的结构特性所致。

一般,就细菌的营养细胞而论,酵母菌、霉菌的耐压性比细菌中的革兰氏阴性菌的耐压性低,而革兰氏阴性菌的耐压性又较革兰氏阳性菌低。芽孢较营养细胞的耐压性强,尤其是革兰氏阳性菌中的芽孢杆菌和梭状芽孢杆菌的芽孢最为耐压。杀死一般微生物的营养细胞,通常只需室温(20～25 ℃)和 450 MPa 以下的压力,而杀死耐压性的芽孢则需要更高的压力或结合其他处理形式。

以上实验结果分析表明:在上述超高压处理条件下,西瓜汁中残存耐压菌以革兰氏阳性菌为主,占 70%,此外还残存有少量革兰氏阴性菌和真菌界的霉菌。

4　结　论

通过研究西瓜汁常温超高压处理后的微生物存活量与杀菌压力、脉动施压之间的关系,并对耐压菌种进行了鉴别,所得结果表明:

(1) 在处理温度为 30 ℃、保压时间为 10 min 的条件下,大部分微生物经 300 MPa 压力处理时即可杀灭,耐受压力超过 300 MPa 的微生物数量不多。存在耐受压力超过 500 MPa 的微生物,但是处理压力达到或超过 400 MPa 的情况下,西瓜汁微生物指标可达到国家食品卫生标准要求。

(2) 在处理温度为 30 ℃的条件下,采用脉动施压的方式对西瓜汁进行超高压杀菌处理,对微生物存活量有很大影响。第二次循环杀菌效果比第三次效果明显,即随着脉动施压次数的增加,微生物存活量减少,但微生物存活量减少值与循环次数之间不是线性关系。

(3) 经 30 ℃、压力均为 500 MPa、保压时间为 10 min 的超高压处理,西瓜汁中残存耐压菌以革兰氏阳性菌为主,占 70%,此外还残存有少量革兰氏阴性菌和真菌界的霉菌。

References:

[1] Hite B H. The Effect of Pressure in the Preservation of Milk [J]. West Virginia Agricultural Experimental Station Bulletin, 1899, 58: 15－35.

[2] Pan J, Zhang W C, Chen C G, et al. Study on Ultra High Pressure Sterilization Practical Procedure and Equipment on Beverage [J]. Transaction of the Chinese Society of Agriculture Engineering, 2000, 16 (1): 125－128. (in Chinese)
潘　见,张文成,陈从贵,等. 饮料超高压杀菌实用性工艺及设备探讨 [J]. 农业工程学报,2000,16 (1):125－128.

[3] Tauscher B. Pasteurization of Food by Hydrostatic Hydrostatic High Pressure Chemical Aspects [J]. Lebensm Unters Forsch, 1995, 200: 3－13.

[4] Smelt J P P M. Recent Advances in the Microbiology of High Pressure Processing [J]. Food Science & Technology, 1998, 9: 152－158.

[5] Li B S, Zeng Q X, Peng Z Y. Study on Kinetics of Ultra High Pressure Sterilization [J]. Food Science, 1997, 18(9): 3－8. (in Chinese)
李汴生,曾庆孝,彭志英,等. 超高压杀菌及其反应动力学 [J]. 食品科学,1997,18(9):3－8.

[6] Pandya Y. Concurrent Effects of High Hydrostatic Pressure, Acidity and Heat on the Destruction and Injury of Yeasts [J]. Food Protection, 1995, 58(3): 301－304.

[7] Pan J, Zhang W C, Chen C G. Design of Ultra High Pressure Processing Procedure and Equipment on Foodstuff [J]. Food and Machine, 1999, 5: 32－33. (in Chinese)
潘 见, 张文成, 陈从贵. 超高压食品杀菌工艺及设备的设计 [J]. 食品与机械, 1999, (5): 32－33.

Influence of Ultra High Pressure (UHP) on Micro-organisms in Watermelon Juice

ZENG Qing-Mei[1], PAN Jian[1], XIE Hui-Ming[1], YANG Yi[1], XU Hui-Qun[2]

(1. *Key Laboratory of Bio-Process (Hefei University of Technology), Ministry of Education, Hefei* 230069, *China*;
2. *Anhui Province Import and Export Commodity Inspection and Quarantine Bureau, Hefei* 230006, *China*)

Abstract: The relation between the survivors of micro-organisms and the processing pressure and the pulse pressure processing was investigated in UHP treatment to watermelon juice. And species of baroduric bacteria were discriminated. Processing pressure is between the atmosphire pressure and 500 MPa, and the pressurized duration 10 min in this experiment. Results show that under the ambient temperature (30 ℃) and pressure equal to or above 400 MPa the number of natural microflora, yeast, mold and coliform bacteria meets the requirement of National Food Hygienic Standard of China. When the times of pulse pressure processing increases, the survivors of micro-organisms decreases. Gram positive bacteria are the main part, ≈70%, of the survived bacteria, and the rests are the Gram negative bacteria and molds.

Key words: watermelon juice; ultra high pressure (UHP); sterilization; microflora; yeast and mold; coliform bacteria

《高压物理学报》征订启事

《高压物理学报》是我国高压物理领域唯一的专业性学术刊物, 在国内外公开发行。《高压物理学报》力求及时报道高压物理学科基础理论和应用研究方面具有创新性、高水平、有重要意义的研究成果, 读者对象为国内外科技工作者。《高压物理学报》刊载内容为动态及静态高压技术, 人工合成新材料, 高温高压下材料的力学、光、电、磁等特性以及物质微观结构的研究, 动态及静态高压研究中的测试技术, 高温高压下的相变, 高温高压物态方程等。

自1987年创刊以来, 《高压物理学报》取得了较大的成就。2001年, 《高压物理学报》被科技部和国家新闻出版总署评为"中国期刊方阵"双效期刊。国际主要检索系统"EI Compendex"和"CA"一直收录《高压物理学报》文章。由北京高校图书馆期刊工作研究会和北京大学图书馆编著的《中文核心期刊要目总览》连续三版把《高压物理学报》列为物理学类核心期刊(北京大学出版社, 1992年、1996年、2000年)。据中国科学引文数据库公布的"2000年影响因子最高的中国科技期刊300名排行榜"显示, 《高压物理学报》影响因子为0.3627, 全国排名第94名, 列物理类期刊第3名。

《高压物理学报》为季刊, 国际16开本(A4), 每年3、6、9、12月5日出版。国内读者可直接在当地邮局订阅, 邮发代号: 62－132; 或随时向编辑部订阅。

地 址: 四川省绵阳市919信箱110分箱《高压物理学报》编辑部, 邮政编码: 621900
电子邮件: gywl@chinajournal.net.cn; gaoya@caep.ac.cn (征订、投稿、咨询)
电 话: (0816)2490042; 传真: (0816)2282695
邮发代号: 62－132; 价格: 10元/本; 40元/年。

《高压物理学报》编辑部