

高压电场灭菌效果研究

曾新安 高大维 李国基

(华南理工大学食品与生物工程学院 广州 510641)

摘要 本文以乳酸杆菌、枯草杆菌及酵母菌为研究对象,研究了高压交流电场作用对它们的致死率影响及细胞结构的变化。实验表明:在 22.5kv/cm 的场强下处理 1s 能导致乳酸杆菌活菌数降低近 6 个数量级,通过显微摄影可明显观察到枯草杆菌细胞结构的破裂和酵母细胞的死亡。

关键词 高压电场,灭菌,乳酸杆菌,枯草杆菌,酵母菌

分类号 Q93-3

近一二十年以来,国内外许多学者均在寻找能代替传统方法的新型灭菌方法,如超高静压灭菌、强光灭菌、紫外灭菌以及电磁场灭菌等。其中人们对电磁场灭菌方法研究较多,这些研究中采用的电场多为高压脉冲电场或直流电场,本文采用高压交流电场。传统的灭菌方法有热处理法、化工单元操作法及加入消毒剂、抑菌剂等方法,但这些方法均有某种不足,如设备规模大、操作时间长等,还有可能破坏食品中

的营养素、使蛋白质变性、带来副产物等,从而严重影响产品的风味。而添加消毒剂方法由于具有潜在的危险,在食品行业中应用较少^[1~5]。

对于电场作用致死微生物的机理研究,国外有些学者作了报道。这种理论先假设生物细胞为球形,其双层膜结构为一等效电容。由于

广州市自然科学基金资助项目

1998-01-19收稿

© 中国科学院微生物研究所期刊联合编辑部 <http://journals.im.ac.cn>

磷脂双分子层生物薄膜内部充满着电解质和带电荷的离子,当细胞受到外界低电场作用时,细胞膜内各带电物质在电场作用下按电场作用力方向移动,此移动现象称为极化(Pore perforation),在极短的时间内,各带电物质移至膜两侧,膜两壁之间形成一微电场,此微电场之间的位差称为穿透膜位差(Transmembrane potential 简称TMP)。随着电场强度的增大或者处理时间的延长,细胞膜极化加剧,刚刚形成的微电场场强增大,膜两侧异性离子之间产生相互吸引的作用力,此作用力相当于使膜受到两侧的挤压力,TMP不断加大,这就使得球的两极变薄,阴阳离子积聚度增加和膜抗性降低,到一定程度时细胞膜就形成穿孔极化现象(Permeabilization),若此时将外电场撤除,由于此时细胞尚具生理活性,在自身的修复功能作用下可将刚形成的极化穿孔“愈合”,细胞尚能存活,此时的细胞破裂称为可逆破裂(Reversible permeabilization)。但当TMP值增大到超过某一临界值时,细胞的穿孔极化破裂就不可逆了(Irreversible permeabilization),这时的破裂使得细胞膜结构紊乱和通透性大大提高,并使得胞内汁液流失,膜内各生物酶活力亦受到影响,最终导致细胞的彻底死亡^[6-8]。笔者认为,这一理论有待进一步证实和完善。

本文以乳酸杆菌、枯草杆菌及酵母菌为研究对象,研究了高压交流电场对它们的致死作用,现将结果简要报道如下。

1 材料与方法

1.1 材料与设备

1.1.1 主要原材料:乳酸杆菌(*Lactobacillus*), 枯草杆菌(*Bacillus subtilis*), 酿酒酵母菌(*Saccharomyces cerevisiae*):由华南理工大学生化系提供;染色液:碳酸复红染色液,碱性美蓝染色液(1%,0.1%两种)。

1.1.2 主要仪器设备:高压交流电场处理设备:自行设计制造,最大电场强度30kv/cm,电场强度连续可调,处理时间由时间继电器控制,最小为0.1s。

显微摄影仪:放大300倍,带摄影装置。

1.2 实验步骤

1.2.1 将乳酸杆菌和酵母菌在生化培养箱中30℃下恒温培养48h,枯草杆菌为37℃下恒温培养36~48h。

1.2.2 将培养好后的乳酸杆菌置于高速离心机中在4℃下以5,000 r/min转速离心5min,再用磷酸缓冲液冲洗、稀释,使菌液中活菌数大概在108~109个/ml左右。

1.2.3 对培养好的枯草杆菌进行抗酸性染色,对酵母菌进行美蓝染色。

1.2.4 取上述处理好的菌液作各条件下的高压电致死实验。

1.2.5 对乳酸杆菌处理液作10倍稀释培养,检查其细胞存活率。

1.2.6 对枯草杆菌和酵母菌进行显微观察,并拍照,观察高压电场处理对细胞结构的影响。

2 结果与讨论

2.1 乳酸杆菌电处理实验

在25℃下,将乳酸杆菌处理1s,电场强度变化对致死率的影响情况见图1。

从该图可以看出,随着电场强度的增加,乳

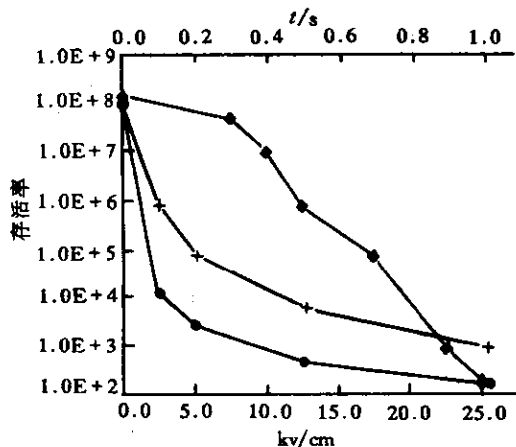


图1 处理时间和电场强度变化对乳酸杆菌致死率的影响

●E=22.5kv/cm +E=12.5kv/cm ◆t=1s

酸杆菌的活菌数大大减少,电场强度的增加可明显促进其死亡。当电场强度较小($E <$

7.5kv/cm)时,处理1s后乳酸杆菌活菌数降低很小,而当电场强度达到25kv/cm时,活菌数降低了近6个数量级,而这样的处理时间仅为1s,温度为室温,处理前后菌液升温不足1℃。高压发生器功率为300W,这说明高压电场灭菌方法是一种高效、快速而又节能的方法。

将电场强度控制在12.5kv/cm和2.5kv/cm,处理温度为25℃,处理时间的变化对乳酸杆菌致死率的影响情况也可以从该图中看出。图中曲线表明,处理时间的延长促进了高压电场对杆菌的致死作用,在最初的0.1~0.2s时间内,处理时间的增加能明显地增强高压电场对活菌的致死作用。当电场强度为12.5kv/cm时,约0.2s的作用使活菌数降低了3个数量级;而在22.5kv/cm的场强下同样长的时间使活菌数降低了近5个数量级,但经过一定时间(如0.4s)后,处理时间的延长对活菌数的减少影响并不显著。

2.2 枯草杆菌和酵母菌电处理实验

在25℃下,将已染色好后的枯草杆菌和酵母菌在22.5kv/cm的场强下处理3s,然后在显微镜下观察,并拍照。从这些照片中可以看到:未经任何高压电处理的枯草杆菌菌体,细胞具旺盛的生命力,形体饱满,有规则,而经电场作用后,枯草杆菌细胞结构已被破坏,菌体完全破裂,活菌已绝大部分死亡。从对酵母的实验中也可看到其细胞在经受电场作用后已死亡,实

验时对酵母细胞进行美蓝染色,活的细胞活性强,能将稀美蓝染色液(0.1%)分解,不能被染色,从照片上看到的细胞是浅色的;细胞受到电场作用后,在电刺激下,各结构活力下降,甚至死亡,这时的细胞就不能分解美蓝染色液而被染成深黑色,这样就可以很直观地看到电场处理对酵母菌的致死作用^[9~10]。

高压电场灭菌作为一种全新的概念和方法,由于其具有高效、快速、节能、副产物少、污染少等优点必将日益受到人们的关注。本文仅作简单介绍,希望和读者共同探讨有关机理和开发实用技术。

参 考 文 献

- [1] 李里特. 食品与机械, 1995, 6: 6~7.
- [2] 李勇. 微生物学通报, 1995, 22(4): 243~245.
- [3] 林力丸. 食品与开发, 1987, 23(12): 40.
- [4] 岛井圭子. 食品与开发, 1990, 25(12): 11.
- [5] Metrick C J. *Of Food Sci*, 1989, 54(6): 1547.
- [6] Bart Mertens and Dirtrich. *Knorr. Food Tech.* May 1992, 124~133.
- [7] Dietrich Knorr. *Trends in Food Sci. & Tech.* 1994, V5.
- [8] Manucla. *Trends in Food Sci. & Tech.* 1995(5): 71~75.
- [9] 诸葛健. 工业微生物实验技术手册. 北京: 中国轻工业出版社, 1994, 94~99.
- [10] 方心芳. 应用微生物实验法. 北京: 中国轻工业出版社, 1993.

STUDY ON THE STERILIZATION EFFECTS OF BACTERIA BY THE APPLICATION OF HIGH VOLTAGE ELECTRIC FIELD

Zeng Xinan Gao Dawei Li Guojia

(College of Food and Bioengineering, South China University of Technology, Guangzhou, 510641)

Abstract This paper studied the lethal effect on *Lactobacillus*, *Bacillus subtilis* and *Saccharomyces cerevisiae* by high voltage A. C. field. The equipment was designed and made by ourselves, and its highest electric field up to 30kv/cm. Tests were carried out at different electric field and treatment time. Experiment results indicate that the viability of *Lactobacillus*,

decreased by 6log. When the treatment time is 1s and E is 22.5kv/cm. By microphotograph, we can clearly see that the structure of the treated microbe is seriously destroyed.

Key words High voltage A. C. field, Sterilization, *Lactobacillus*, *Bacillus Subtilis*, *Saccharomyces cerevisiae*