

高压 CO₂ 与超高压均质协同杀菌装置的研发

Development of a combining sterilization equipment of high pressure carbon dioxide treatment and ultra-high pressure homogenization treatment

孙彦琳 苏树朋 韩立英 江舒

SUN Yan-lin SU Shu-peng HAN Li-ying JIANG Shu

(山东师范大学生命科学学院, 山东 济南 250014)

(School of Life Sciences, Shandong Normal University, Jinan, Shandong 250014, China)

摘要: 高压 CO₂ 杀菌和超高压均质杀菌都是非常具有前途的非热杀菌技术。为了进一步提升其杀菌能力, 把高压 CO₂ 杀菌与超高压均质杀菌有机地结合起来, 构建一个新型的高压 CO₂ 与超高压均质协同杀菌技术, 并对其工作原理、工作特点、结构组成进行系统的阐述, 搭建协同杀菌试验平台。通过酿酒酵母的杀菌试验, 验证了协同杀菌系统优于单一的高压 CO₂ 杀菌或超高压均质杀菌。

关键词: 高压 CO₂; 超高压均质; 协同杀菌; 酿酒酵母

Abstract: High pressure carbon dioxide treatment (HPCD) and ultra-high pressure homogenization treatment (HPH) are promising non-thermal sterilization technologies. A new type of combining sterilization technology of HPCD and HPH was developed to enhance the sterilization capabilities. The working principles, characteristics, structural components of the combining sterilization technologies were introduced systematically, and the physical prototype was developed. These three sterilization technologies were evaluated by comparing the inactivation of *Saccharomyces cerevisiae*, and the test results showed that the combining sterilization technology was better than that of the single one.

Keywords: High pressure carbon dioxide; ultra high pressure homogenization; combining sterilization; *Saccharomyces cerevisiae*

加热杀菌是食品工业中应用最广泛的杀菌技术, 但是其存在着食品颜色和口味变化、香气消失、营养破坏和质构变化等问题, 已无法满足既要保持产品的高品质又要确保杀菌的多重要求^[1]。随着科学技术的发展, 一些非热杀菌高新技

术^[2]应运而生, 成为目前食品领域研究的一个焦点。在非热杀菌技术当中, 高压杀菌技术是近年来引起世界广泛关注的一类新型杀菌方法, 其工作原理主要是利用压力或引起的次级效应来实现微生物的致死, 其主要包括超高静压杀菌技术^[2]、超高动压杀菌(超高压均质)技术^[3]、高压 CO₂ 杀菌技术^[4]。

高压 CO₂ (high pressure carbon dioxide, HPCD) 杀菌技术就是近年来引起世界广泛关注的新型杀菌方法, 是指 CO₂ 在一定压力作用下, 能杀死食品中的微生物, 钝化食品中的内源酶, 达到杀菌保鲜的目的^[4-6]。超高压均质杀菌技术, 也称为瞬时高压杀菌技术或动力杀菌技术, 也是最近发展起来的一种新型杀菌技术, 其机理主要是液态物料在超高压均质机内受到高速撞击、湍流、压力瞬间释放等强烈的物理作用, 使料液中的细菌的细胞结构发生破坏和改变, 从而失去或钝化其生物活性, 达到杀菌目的^[3,7-8]。

然而, 这些非热杀菌方法仍存在杀菌条件要求高、杀菌不彻底等缺陷, 影响了食品超高压杀菌技术的开发和利用。尽管 CO₂ 杀菌技术能够杀灭绝大多数微生物, 但对某些微生物的灭活效果却不尽人意, 往往需要过长的处理时间或更高的温度和压力, 限制了它的应用^[9-11]。超高压均质杀菌技术要达到较好的杀菌效果, 需要较高的高压均质压力, 而高压均质压力产生的温升问题较为严重, 又不符合非热杀菌的要求^[8]。为了拓展超高压杀菌技术的应用范围, 迫切需要新的手段来提高其杀菌效果和效率。采用多种技术的协同杀菌有望成为解决目前非热杀菌技术问题的有效途径。本研究拟将高压 CO₂ 杀菌与超高压均质杀菌有机结合起来, 提出了一种新型的高压 CO₂ 与超高压均质协同杀菌技术, 对其工作原理、工作特点、结构组成及其试验样机进行系统研究, 并以酿酒酵母的灭活试验来验证其可行性。

1 工作原理及特点

高压 CO₂ 与超高压均质协同杀菌技术是在常规的高压

基金项目: 山东省优秀中青年科学家科研奖励基金(编号: 2013BSB01439); 国家级大学生创新创业训练计划项目(编号: 201510445221)

作者简介: 孙彦琳, 女, 山东师范大学在读硕士研究生。

通信作者: 苏树朋(1980—), 男, 山东师范大学讲师, 博士。

E-mail: sshpeng@163.com

收稿日期: 2016-09-22

CO₂静态杀菌技术的基础上,引入了超高压均质杀菌处理环路,由静态杀菌变成了动态杀菌。其工作原理见图 1,工作时,高压容器中的食品料液在高压 CO₂作用下进行杀菌处理的同时,部分料液和 CO₂的混合相进入环路进行超高压均质杀菌处理,处理后的料液 CO₂混合相又会重新回到高压容器,实现了协同杀菌处理。

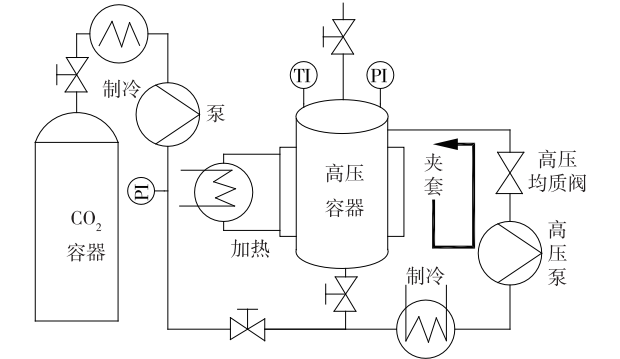


图 1 高压 CO₂与超高压均质协同杀菌原理图
Figure 1 The schematic diagram of the sterilization system combining HPCD and HPH

高压 CO₂与超高压均质协同杀菌技术在高压 CO₂杀菌技术的基础上引入超高压均质处理环路,因而具有以下优点:

(1) 具有传质快速、强化 CO₂与微生物接触、阻止微生物聚集等优点。CO₂与微生物细胞的充分接触是高压 CO₂杀菌获得较佳杀菌效果的重要条件^[9]。在协同杀菌过程中,料液与 CO₂的混合相经过高压均质处理后,两相可实现充分均质混合,使得 CO₂与料液中的微生物充分接触而实现快速传质。另外,在静态高压 CO₂杀菌时,过高密度的 CO₂易使微生物团聚阻碍 CO₂与其接触而削减杀菌作用^[10],而协同杀菌可通过高压均质操作破坏微生物积聚。

(2) 可实现连续加压/泄压循环。加压/泄压循环能够强化对微生物细胞的机械破碎和改善 CO₂传质效果,是强化微生物灭活的重要手段^[11]。协同杀菌中的高压均质处理可实现连续的加压/泄压循环,其压力差为高压均质压力和高压容器压力之差。

(3) 强化微生物细胞的机械破坏。微生物外壳是其抵抗外界影响的重要屏障,而不同微生物对高压 CO₂杀菌处理的敏感程度与微生物细胞外壳的强度密切相关^[8]。而高压均质处理的一个重要功能就是细胞破壁,因此协同杀菌中的高压均质处理可强化微生物细胞外壳的机械破坏,从而造成其损伤和死亡。

2 结构组成

依据高压 CO₂与超高压均质协同杀菌系统的工作原理,构建了协同杀菌试验平台,并制作了相应的试验样机,其结构组成见图 2,试验样机见图 3。其结构主要由 CO₂储罐 1、过滤器 2、CO₂增压泵 3、高压杀菌罐 4、换热夹套 5、均质高压泵 6、均质阀 7、阀内冷却器 8、热交换器 E1~E3、减压阀 V1、高压切换阀 V2~V7、安全阀 V8、压力表 P1~P3、温度计 T1~T4 等组成。

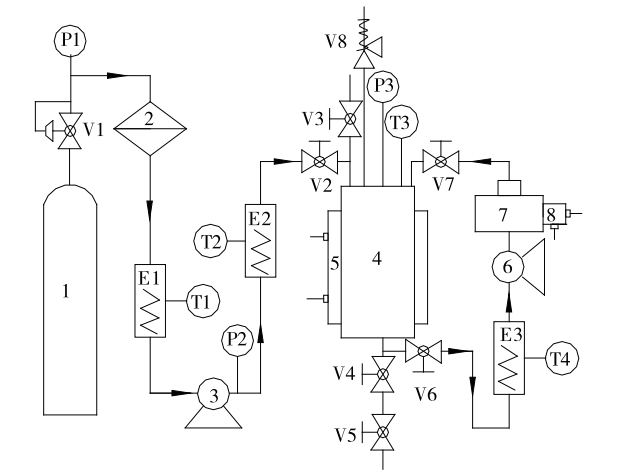


图 2 协同杀菌试验装置结构示意图
Figure 2 The general mechanical structure of the combining sterilization equipment

图 2 协同杀菌试验装置结构示意图
Figure 2 The general mechanical structure of the combining sterilization equipment



图 3 协同杀菌试验样机
Figure 3 The experimental prototype of the combining sterilization equipment

T1~T4 等组成。其主体结构可分为 CO₂产生输送单元、高压杀菌罐、超高压均质单元、温度控制单元和高温灭菌单元。

高密度 CO₂产生输送单元主要为动态高压 CO₂杀菌系统提供相应压力的 CO₂。其产生和输送过程是,从 CO₂储罐中出来的气态 CO₂,经过滤器过滤,换热器改变温度或液体相态,再经增压泵加压,从而使高压杀菌罐获得相应杀菌压力的 CO₂。所开发的杀菌系统采用气态增压输送形式,CO₂增压装置采用德科 DT25 气体增压泵,压缩比为 15:1,压缩空气驱动。

高压杀菌罐是杀菌系统的核心装置,由高压杀菌罐盖和高压杀菌罐体两部分组成。杀菌罐盖与罐体通过细牙螺纹连接,密封采用 O 形密封圈密封,密封材料为氟橡胶。高压杀菌罐体为夹套式容器,内部为圆柱孔腔,底面为圆锥面,利于卸料,罐体底部连接出料口。外部夹套与外部恒温槽连接,实现高压杀菌罐体的温度调节和控制。

高压均质单元采用 ATS 工业系统公司生产的 AH2010 高压均质机。其最大工作压力可达 200 MPa,流量数显可调控为 5~10 L/h,最小处理量为 30 mL,且物料无残留。所

有接触物料管道均为 316L 材质,且配备了与高压杀菌罐连接的高压连接接口,实现了与高压杀菌罐的无缝连接。

高压均质工作过程中,随着均质压力的提高,物料升温严重,要达到非热杀菌效果,需要对其高压均质环路进行冷却。温度控制单元主要包括高压杀菌罐温度控制和高压均质区域的低温冷却两部分。高压杀菌罐的温度控制采用夹套换热形式,罐体的夹套结构与宁波新芝的低温恒温槽连接,其温度控制范围-20~100℃。高压均质区域的低温冷却采用 AH2010 附加的内置冷却器与低温恒温槽连接的形式,其冷却温度最低为-20℃。

高温灭菌单元主要为动态高压 CO₂ 杀菌装置提供良好的无菌环境,是研究目标微生物灭菌效果及其机理的重要前提。本试验系统主要采用高压灭菌锅与协同杀菌装置串联的形式,通过高压灭菌锅产生的高压蒸汽对高压杀菌罐和高压均质机进行长时超高温灭菌。

3 验证实验

酵母菌是分布于果蔬表面的主要微生物,也是引起果蔬及其果蔬汁变质的主要腐败菌。本研究以酿酒酵母(*Saccharomyces cerevisiae*) ATCC9763 为目标菌,对比研究单纯高压 CO₂ 杀菌、单纯超高压均质杀菌与协同杀菌不同的杀菌效果。

对酿酒酵母液体培养物进行离心分离(3 000 r/min, 5 min),弃上清,用无菌 PBS 缓冲液重悬,制备浓度为 $1 \times 10^7 \sim 1 \times 10^8$ CFU/mL 的菌悬液作为测试菌液,然后进行不同杀菌方式的杀菌试验。高压 CO₂ 杀菌条件:处理料液体积为 100 mL,CO₂ 压力为 8 MPa,罐体料液温度为 35℃,杀菌时间为 30 min;超高压均质杀菌条件:处理料液体积为 100 mL,均质压力为 150 MPa,罐体料液温度为 35℃,均质阀冷却温度为 0℃,杀菌时间为 30 min;协同杀菌条件:处理料液体积为 100 mL,CO₂ 压力为 8 MPa,均质压力为 150 MPa,罐体料液温度为 35℃,均质阀冷却温度为 0℃,杀菌时间为 30 min。采用平板计数法对其处理液进行菌落计数,杀菌效果采用处理前后酿酒酵母存活数目的对数比值 $[\lg(N_0/N)]$ 进行表示,其中, N_0 为处理前的初始微生物数量(CFU/mL), N 为处理后的微生物数量(CFU/mL)。

协同杀菌与单纯高压 CO₂ 杀菌、单纯超高压均质杀菌的试验结果见图 4。由图 4 可知,在基本试验条件相同的情况下,高压均质杀菌处理,酿酒酵母菌落数平均下降 1.77 个数量级;高压 CO₂ 杀菌处理,酿酒酵母菌落数平均下降 1.92 个数量级;而协同杀菌处理的效果远优于前两者,其酿酒酵母菌落数平均下降 3.92 个数量级。

4 结论

基于高压 CO₂ 杀菌和超高压均质杀菌各自的杀菌特点,构建了一种新型的高压 CO₂ 与超高压均质协同杀菌技术,并依据其工作特点,搭建了协同杀菌试验平台,并对酿酒酵母的灭活进行了试验,试验结果表明,在杀菌条件基本一致的情况下,协同杀菌技术的杀菌能力远优于单一的高压 CO₂ 杀菌和超高压均质杀菌技术,这有望为非热杀菌技术的开发提供新的路径。本研究仅对高压 CO₂ 与超高压均质协同杀菌

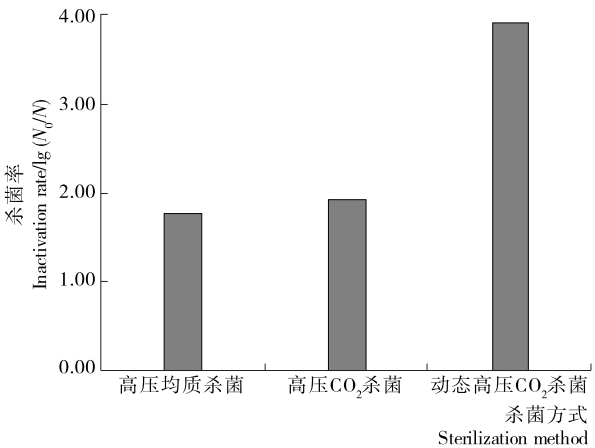


图 4 杀菌方式对酿酒酵母灭活的影响

Figure 4 Effect of different sterilization methods on the inactivation of *Saccharomyces cerevisiae*

技术的开发进行了初步探索,还有更多的问题需要继续深入研究,例如其它致病菌或腐败菌的杀菌效果如何,协同杀菌技术对食品基质的影响,其致死细菌的主要杀菌机制等。

参考文献

[1] 王允圃,刘玉环,阮榕生,等. 食品热加工与非热加工技术对食品安全性的影响[J]. 食品工业科技, 2011, 32(7): 463-467.

[2] 李梦颖,李建科,何晓,等. 食品加工中的热杀菌技术和非热杀菌技术[J]. 农产品加工: 学刊, 2013(8): 109-113.

[3] SUDARSAN M, KIMBERLY S, DIKE U, et al. Inactivation of *Salmonella enterica* and *Listeria monocytogenes* in cantaloupe puree by high hydrostatic pressure with/without added ascorbic acid[J]. International Journal of Food Microbiology, 2016, 35 (17): 77-84.

[4] 廖红梅,廖小军,胡小松. 高压二氧化碳杀菌机理研究进展[J]. 食品工业科技, 2012, 33(19): 387-390.

[5] 李静,李顺峰,田广瑞,等. 高压二氧化碳处理对双孢蘑菇贮藏品质的影响[J]. 食品与机械, 2016, 32(2): 101-105.

[6] 张华,董月强,李星科,司俊玲. 高密度二氧化碳技术对鲜切莲藕酶活性的影响[J]. 食品与机械, 2013, 29(1): 170-176.

[7] 张晶,丁芳,邹晴晴,等. 高压均质对大米蛋白功能特性及物化特性的影响[J]. 食品与机械, 2016, 32(6): 9-12.

[8] ANN M J D, CHRIS W M. High-Pressure homogenization as a non-thermal technique for the inactivation of microorganisms[J]. Critical Reviews in Microbiology, 2006, 32(4): 201-216.

[9] GIOVANNA F, JULIAN S, ANDREAS B, et al. In situ Raman quantification of the dissolution kinetics of carbon dioxide in liquid solutions during a dense phase and ultrasound treatment for the inactivation of *Saccharomyces cerevisiae*[J]. The Journal of Supercritical Fluids, 2016, 111: 104-111.

[10] MICHEL P. Sterilization and virus inactivation by supercritical fluids (a review)[J]. The Journal of Supercritical Fluids, 2012, 66: 359-371.

[11] JULIANA M S, ALINE A R, IREDE A D. Effect of pressure depressurization rate and pressure cycling on the inactivation of *Escherichia coli* by supercritical carbon dioxide[J]. Food Control, 2013, 29(1): 76-81.