

大肠杆菌的脉冲磁场杀菌效果 及规律性的研究

王合利¹, 马海乐^{1,2,*}, 祝子坪¹, 陈荣华¹

(1. 江苏大学食品与生物工程学院, 江苏镇江 212013;

2. 江苏省农产品生物加工与分离工程技术研究中心, 江苏镇江 212013)

摘要:以大肠杆菌为研究对象,利用自行研制的脉冲磁场杀菌设备,研究了大肠杆菌不同的生长时期、磁场强度、脉冲数和物料温度对杀菌效果的影响。结果表明:大肠杆菌在对数生长前期对脉冲磁场更敏感;随磁场强度的增加,杀菌效果呈现波动性变化,在场强为 3.47T 时杀菌效果最好;随脉冲数的增加,细菌残留率会出现一谷值,之后随脉冲数的进一步增加,杀菌效果反而变差,在脉冲数为 20 个时,杀菌效果最好;物料温度越高,细菌残留率越低,杀菌效果越好,但该温度远低于热致死温度。脉冲磁场对大肠杆菌杀菌的主次因素为磁场强度 > 脉冲数 > 物料温度;最佳参数组合为磁场强度 3.47T,脉冲数 20,物料温度 30℃。

关键词:脉冲磁场,大肠杆菌,杀菌效果

Sterilization effect and regularity of *Escherichia coli* by pulsed magnetic field

WANG He-li¹, MA Hai-le^{1,2,*}, ZHU Zi-ping¹, CHEN Rong-hua¹

(1. School of Food and Bioengineering, Jiangsu University, Zhenjiang 212013, China;

2. Jiangsu Province Research Center of Bio-process and Separation of Agri-products, Zhenjiang 212013, China)

Abstract: Using *Escherichia coli* as the object microorganism, the influence of different growth phase of *Escherichia coli*, magnetic field intensity, pulsed number of magnetic field and material temperature on sterilization effect was studied. The results indicated that *Escherichia coli* was sensitive to pulsed magnetic field at log phase. As the magnetic field intensity increase, sterilization effect appeared fluctuant change and the sterilization effect was optimal when magnetic field intensity was 3.47T. As the pulsed number increase, the survival rate of bacillus will appear a minimum value. Further increase of pulsed number, sterilization effect became bad. Material temperature was higher, the survival rate of bacillus was lower and sterilization effect was better. But comparing with thermal death point, this temperature was very low. The main factors on the sterilizing *Escherichia coli* by pulsed magnetic field were magnetic field intensity > pulsed number > material temperature. The optimum parameters were that intensity of magnetic field was 3.47T, pulsed number was 20 and material temperature was 30℃.

Key words: pulsed magnetic field; *Escherichia coli*; sterilization effect

中图分类号: TS201.3

文献标识码: A

文章编号: 1002-0306(2008)07-0079-03

食品变质主要是微生物作用的结果,在食品工业领域目前多采用加热杀菌,但热杀菌会导致食品原质、原味变化及营养成分的损失。因此,冷杀菌技术近年来受到了关注。由于冷杀菌技术是在低温环境下进行杀菌,在保证食品在微生物方面的安全的前提下,较好地保持了食品的风味及营养成分,因此在食品工业领域受到重视。冷杀菌技术主要包括辐

照杀菌、紫外线杀菌、超高压杀菌、高压脉冲电场杀菌、高强度脉冲磁场杀菌、超声波灭菌、脉冲强光杀菌等。其中高强度脉冲磁场(Pulsed Magnetic Field, 简称 PMF)灭菌近年受到较多关注。高强度脉冲磁场杀菌是利用高强度脉冲磁场发生器向螺旋线圈发出的强脉冲磁场,将放置在螺旋线圈内的食品中的微生物杀死的一种杀菌方法。目前国内外的一些研究证明:脉冲磁场可灭菌,并可望成为食品保质灭菌的有效技术和方法^[1~4];但也有研究认为,强脉冲磁场对微生物没有杀菌作用^[5]。脉冲磁场杀菌的研究还很初步,对其杀菌的效果和机理存在争议。因此,本文对脉冲磁场应用于大肠杆菌灭菌的效果及规律

收稿日期:2007-11-16 * 通讯联系人

作者简介:王合利(1982-),男,在读硕士,研究方向:食品非热力加工技术与设备。

基金项目:“863”计划重点项目子项(2007AA100400)。

性进行了研究。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

大肠杆菌 (*Escherichia coli*) ATCC 8099 中国工业微生物菌种保藏管理中心; 酵母浸膏 (BR) 上海棱光酵母制品有限公司; 牛肉膏、蛋白胨、氯化钠、琼脂等 均购自上海国药集团化学试剂有限公司。

脉冲磁场杀菌设备 自行研制, 专利号 ZL03220551.1; LZ-610H 型特斯拉计 湖南娄底市联众科技有限公司; WJF7200 型分光光度计 尤尼柯(上海)仪器有限公司; PHS-25A 型精密 pH 计 上海大普仪器有限公司; SPX-250B 型生化培养箱 常州国华电器有限公司; QYC-211 型恒温培养摇床

上海福玛实验设备有限公司; SW-CJ-2FD 型净化工作台 苏州净化设备有限公司; YX.400Z 型电热蒸汽压力消毒器 上海三申医疗器械有限公司; SK-1 型快速混匀器 江苏金坛医疗仪器厂; SHZ-88A 型恒温水浴振荡器 太仓市实验设备厂。

1.2 实验方法

1.2.1 微生物测定 菌落总数的测定按照 GB/T 4789.2-2003 执行。

1.2.2 大肠杆菌生长曲线测定 用无菌吸管, 准确吸取 0.2mL 大肠杆菌培养液, 分别接种到已编号的 11 支装有牛肉膏蛋白胨液体培养基的试管中, 接种后振荡培养 (150r/min, 30℃)。当培养 0、1.5、3、4、6、8、10、12、14、16、20h 时, 各取出一只试管, 放入 4℃ 冰箱, 培养结束后以未接种的牛肉膏蛋白胨培养基作空白对照, 用 600nm 波长进行比浊测定。测定时光密度值在 0.1~0.65 以内, 对浓度大的菌悬液用未接种的牛肉膏蛋白胨培养基适当稀释后测定。记录 OD 值时, 乘以稀释倍数。以菌悬液的 OD 值为纵坐标, 培养时间为横坐标, 绘制生长曲线。再以生长曲线划分出大肠杆菌的延迟生长期、对数生长期和稳定生长期。

1.2.3 脉冲磁场杀菌 本文使用的脉冲磁场杀菌设备能通过螺旋线圈产生轴向磁场, 磁场强度范围为 0.5~4.5T。磁场强度可通过调节充电电压进行调节, 并用特斯拉计进行测量。杀菌时将装有菌液的样品瓶贴好标签后放在料斗中, 再将料斗放入螺旋线圈, 接通电源, 调整电压到需要值, 进行充电, 当电容两端电压达到规定的放电电压时, 进行放电, 完成一个脉冲数的杀菌。在完成一次杀菌后, 让脉冲磁场发生器停止工作几分钟, 以削弱焦耳热导致螺旋线圈的温度升高, 然后再进行下一次的杀菌实验。施加到实验设计的磁场脉冲数后, 即完成杀菌处理。取出样品瓶, 将菌液摇匀后进行杀菌效果的检验。

1.2.4 杀菌效果检验 吸取 1mL 杀菌后的菌悬液, 用 10 倍递增稀释法连续稀释成几个浓度梯度。选取三个稀释梯度的菌液, 用倾注法进行平板接种, 每个稀释度做三个重复, 以未杀菌的菌液为对照, 采用平板菌落计数法统计大肠杆菌残留率来检测杀菌效果。大肠杆菌残留率的计算公式为:

$$\text{残留率} = \frac{N}{N_0} \times 100\%$$

式中, N 为杀菌后菌液中大肠杆菌数; N_0 为杀菌前菌液中大肠杆菌数。

以大肠杆菌残留率为纵坐标, 分别以大肠杆菌培养时间、磁场强度、脉冲数及样品温度为横坐标作曲线, 研究大肠杆菌生长时期、磁场强度、脉冲数及样品温度对脉冲磁场杀菌效果的影响, 寻找脉冲磁场对大肠杆菌杀菌的规律性。

2 结果与讨论

2.1 大肠杆菌生长时期对杀菌效果的影响

测得大肠杆菌的生长曲线如图 1 所示, 由图可知, 大肠杆菌 8099 在 0~1.5h 为延迟生长期, 1.5~14h 为对数生长期, 从 14h 起进入稳定生长期。

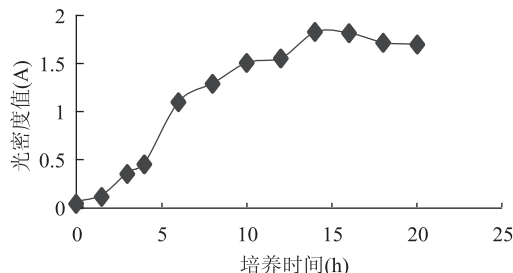


图1 大肠杆菌生长曲线

为探讨大肠杆菌不同生长期对脉冲磁场敏感程度的差异, 分别对培养 1.5、4、6、8、10、12、14、16h 的大肠杆菌进行杀菌实验研究, 杀菌实验采用的磁场强度为 3.47T, 脉冲数 20, 介质温度为 30℃, pH7.0, 实验结果见图 2。实验结果表明: 大肠杆菌 8099 在对数生长期比稳定生长期和延迟生长期对脉冲磁场更敏感, 特别在对数生长前期时, 杀菌效果最明显。这可能是因为, 对数生长前期正好是大肠杆菌细胞人工感受态最易建立的阶段, 是对外界变化最为敏感的阶段, 该结果体现了这一生物学特性。

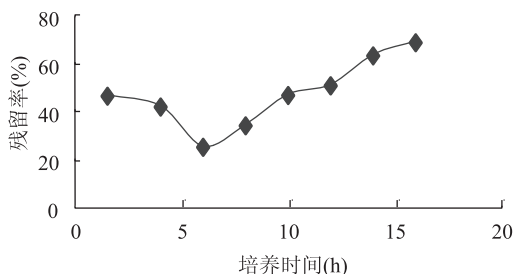


图2 大肠杆菌不同生长期对脉冲磁场杀菌效果的影响

2.2 磁场强度和脉冲数对杀菌效果的影响

在脉冲数为 20, 样品温度 30℃, pH7.0 的条件下, 不同磁场强度对杀菌效果的影响如图 3 所示, 由图可知, 随着磁场强度的增大, 大肠杆菌残留率总体上呈下降趋势, 但存在波动性变化, 在 1.06、1.99、3.47T 时, 残留率出现谷值, 其中 3.47T 时杀菌效果最好。在磁场强度 3.47T, 样品温度 30℃, pH7.0 的条件下, 不同脉冲数对杀菌效果的影响如图 4 所示, 随着脉冲数的增大, 大肠杆菌残留率降低, 在 20 个脉冲时出现一谷值, 随后, 大肠杆菌残留率反而升高, 杀菌效果变差。这种现象与脉冲磁场杀菌的生物学机理有着密切的关系, 特别是杀菌效果的波动性变化很可能与电磁波的生物学窗效应有关^[6], 但是目前

还没有对此现象的科学解释,需要深入的实验研究。

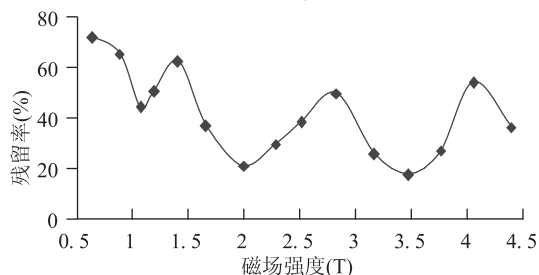


图3 磁场强度对脉冲磁场杀菌效果的影响

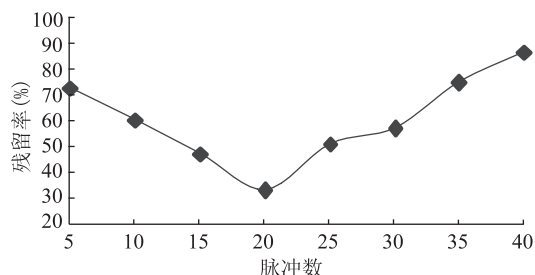


图4 脉冲数对脉冲磁场杀菌效果的影响

2.3 样品温度对杀菌效果的影响

在磁场强度 3.47T, 脉冲数 20, pH7.0 的条件下, 不同温度对杀菌效果的影响如图 5 所示, 由图可知, 温度对杀菌效果的影响要比磁场强度和脉冲数对杀菌效果的影响微弱。随着温度的升高, 细菌残留率逐渐降低, 在 30℃ 以后杀菌效果较好且趋于平缓, 但在 5~20℃ 范围杀菌效果相对较差且变化明显。由此可见, 温度的升高对脉冲磁场的杀菌有辅助作用, 但此温度远低于大肠杆菌的热致死温度。另外, 处于最适生长温度范围内的大肠杆菌对脉冲磁场的杀菌处理比较敏感, 容易被杀死; 而在较低温度下, 杀菌效果却不好, 这可能是由于微生物对不利生存环境的抗逆性, 使它对脉冲磁场的作用产生抵抗。

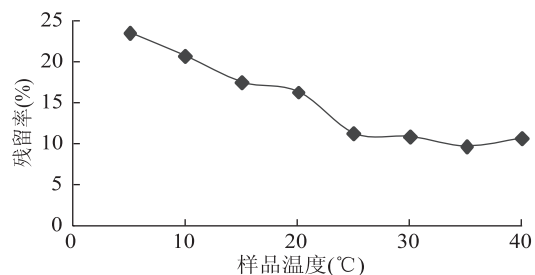


图5 温度对脉冲磁场杀菌效果的影响

3 结论

3.1 大肠杆菌 8099 在对数生长期比稳定生长期和延迟生长期对脉冲磁场更敏感, 特别是对数生长前期, 杀菌效果最好。

3.2 随着磁场强度的增大, 大肠杆菌残留率总体呈下降趋势, 但存在波动性变化。在 1.06、1.99、3.47T 时, 残留率出现谷值, 其中 3.47T 时杀菌效果最好。

3.3 随着脉冲数的增加, 大肠杆菌残留率降低, 在 20 个脉冲时出现一谷值; 随后, 大肠杆菌残留率反而升高, 杀菌效果变差。

3.4 温度的升高对脉冲磁场的杀菌有促进作用, 温度越高, 大肠杆菌对脉冲磁场越敏感, 杀菌效果越好, 但该温度远低于大肠杆菌的热致死温度。

3.5 脉冲磁场对大肠杆菌 8099 杀菌的主次影响因素为: 磁场强度 > 脉冲数 > 物料温度。最佳参数组合为磁场强度 3.47T, 脉冲数 20, 物料温度 30℃。

参考文献:

- [1] Ji - Yao Chen, Ya - Ling Liao, Tzu - Hsien Wang, et al. Transformation of *Escherichia coli* mediated by magnetic nanoparticles in pulsed magnetic field[J]. *Enzyme and Microbial Technology*, 2006(39):366~370.
- [2] 高梦祥, 马海乐, 郭康权. 强脉冲磁场对牛奶的杀菌效果及其营养成分的影响研究[J]. *农业工程学报*, 2005, 21(3): 181~184.
- [3] 马海乐, 邓玉林, 储金宇. 西瓜汁的脉冲磁场杀菌实验研究及杀菌机理分析[J]. *农业工程学报*, 2003, 19(2): 163~166.
- [4] 王洪翔, 叶盛英, 宋贤良, 等. 从微观层面研究两极交变磁场对微生物的影响[J]. *农业工程学报*, 2007, 23(8): 253~256.
- [5] M Fernanda San Martin, Federico M Harte, Huub Lelieveld, et al. Inactivation effect of an 18 - T pulsed magnetic field combined with other technologies on *Escherichia coli* [J]. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 2001(2): 273~277.
- [6] 牛中奇, 侯建强, 王海彬, 等. 电磁波的生物学窗效应[J]. *中国生物医学工程学报*, 2003, 22(2): 126~131.
- [7] 沈萍, 范秀荣, 李广武. 微生物学实验(第3版)[M]. 北京: 高等教育出版社, 2001.

~34.

[9] 王永菲, 王成国. 响应面法的理论与应用[J]. *中央民族大学学报(自然科学版)*, 2005(8): 236~239.

[10] Moyo S, Gashe BA, Collison EK, Mpuchane S. Optimising growth conditions for the pectinolytic activity of *Kluyveromyces wickerhamii* by using response surface methodology [J]. *Int J Food Microbiol*, 2003, 85: 87~100.

[11] Francis F, Sabu A, Nampoothiri KM. Use of response surface methodology for optimizing process parameters for the production of amylase by *Aspergillus oryzae* [J]. *Biochem Eng J*, 2003, 15: 107~115.

(上接第 78 页)

[5] 冯德荣. 谷氨酸发酵中乳酸值变化规律的研究[EB/OL]. <http://www.cnferment.net/Article/ShowArticle.asp?ArticleID=430>. 2007-07-21/2007-10-18.

[6] 徐凯, 王营, 崔玉波, 等. 谷氨酸发酵过程不同溶氧水平产有机酸[J]. *中国调味品*, 2007(1): 41~44.

[7] 李琼. 以纯生物素代玉米浆、糖蜜的研究[J]. *广西轻工业*, 2000(4): 22~26.

[8] Li C, Bai J, Cai Z, Ouyang F. Optimization of a cultural medium for bacteriocin production by *Lactococcus lactis* using response surface methodology [J]. *J Biotechnol* 2002, 93: 27