超声波处理协同 $^{60}Co\ \gamma$ 辐照对番茄酱的灭菌效果研究

丘苑新[1,2]，黄小丹[1]
(1.仲恺农业工程学院轻工食品学院，广东 广州 510225；2.华南农业大学食品学院，广东 广州 510642)

摘 要：用一定频率的超声波处理后经 $^{60}Co\gamma$ 辐照对番茄酱进行复合处理，通过二次旋转试验设计，采用不同的超声波功率、超声波处理时间及辐照剂量，以细菌总数及乳酸杆菌两个微生物指标来考察其复合杀菌能力。结果表明，当超声波功率为 120 W，处理时间为 20.8 min，辐照剂量为 7.05 kGy 时，总细菌的灭菌率可达 99%；当超声波功率为 120 W，处理时间为 16 min，辐照剂量为 7.11 kGy 时，乳酸杆菌的灭菌率可达 98%。经过超声波处理的番茄酱，可以以较低的辐照剂量，获得令人满意的杀菌效果。

关键词：超声波；$^{60}Co\gamma$ 辐照；番茄酱；灭菌；乳酸杆菌
中图分类号：TS255.5 **文献标识码**：A **文章编号**：1004-874X(2011)04-0105-04

Effect of ultrasoud treatment assisted with $^{60}Co\ \gamma$-irradiation on microorganism inactivation of ketchup

QIU Yuan-xin[1,2], HUANG Xiao-dan[1]
(1.*College of Light Industry and Food Science, ZhongKai University of Agricultral and Engineering, Guangzhou* 510225, *China*;
2.*College of Food Science, South China Agricultural University, Guangzhou* 510642, *China*)

Abstract: $^{60}Co\gamma$-irradiation assisted with ultrasound was employed for the processing of ketchup. The combined effect on microorganism inactivation was evaluated by the two responses including total bacteria count and lactobacillus survival through Central Composite Rotation Design using factors including the frequency of ultrasound treatment, ultrasound treatment time and irradiation dosage. The results indicated that the effectiveness of total bacterial inactivation reached 99% under the condition of 120 W ultrasound frequency, 20.8 min treatment time, and 7.05 kGy dosage; and the effectiveness of lactobacillus inactivation was 98% under the condition of 120 W ultrasound frequency, 16 min treatment time, and 7.11 kGy dosage. Satisfactory inactivation effect could be achieved by combination of ultrasound treatment and low dosage irradiation..

Key words: ultrasonic; $^{60}Co\gamma$-irradiation; ketchup; inactivation; lactobacillu

在单一的超声波灭菌技术难以达到期望效果时，人们便开始探求与其他灭菌方法复合处理，以提高其对微生物的杀灭效果。据报道，将超声波和热结合可有效控制耐热肠球菌及金黄色葡萄球菌，还可缩短杀菌时间，降低热处理温度[1]；Lee 等[2]将超声波与超高静压相结合，将 0.5 MPa/12 min 的超高静压和 117 μm/20 kHz 的超声波复合处理，可以杀灭李斯特菌及大肠杆菌，比单独使用超声波的效果要好；李儒荀等[3]将超声波与激光复合起来对微生物进行处理，取得了一定的效果；同样亦有研究者将超声波与化学消毒剂相结合，如与戊二醛对芽孢复合处理，与环氧乙烷对枯草杆菌复合处理，与臭氧等复合处理，都取得一定的效果[4]。Maxie[5]将辐照用于辅助果蔬采后传统的加工保藏方法，取得很好的效果。

本研究提出超声波复合 $^{60}Co\gamma$ 辐照对细菌的杀菌技术，期望发挥超声波与辐照灭菌的优点，避免其不足，探讨它们的复合杀菌效果。本试验选用番茄酱作为处理对象，是因为番茄酱除含有常见的微生物外，还含有大量的乳酸杆菌，番茄酱属酸性产品，生产实践发现，乳酸杆菌能引起酸性产品的腐败。因此，乳酸杆菌也是相关产品加工中应杀灭的目标菌之一。

1 材料与方法

1.1 试验材料

番茄酱，抽真空包装，每包 50 g，由味可美(广州)食品有限公司提供，其中固形物含量为 28%~30%，pH 值为 4.0~4.4。

培养基包括营养琼脂培养基和 MRS 培养基。

$^{60}Co\gamma$ 辐照设备，由华南农业大学辐照中心提供，源强 10 万 Ci，剂量率 8~10 Gy/s；超声波发生器 (NP-B-40-300)为广州新栋力超声电子设备有限公司产品。

1.2 试验方法

1.2.1 *超声波对样品细菌总数和乳酸杆菌的影响* 室温下(30℃，循环水以保证水温保水不变)将包装好的番茄酱放入超声波发生器的介质水中，分别在 210、150、90 W 的功率下处理 0、5、10、15、20、25、30、35 min 后，立即进行细菌总数及乳酸杆菌数的测定。选择对细菌总数及乳酸杆菌的灭菌率都较高的 3 个时间参数作为固定的时间参数，测定番茄酱在功率为 0、30、60、90、120、150、180、210 W 下细菌总数及乳酸杆菌的灭菌率，从而确定超声波处理所用的功率及处理时间。每个处理 3 次

收稿日期：2010-09-12
基金项目：广东省科技计划项目(2009B020312014)
作者简介：丘苑新(1980-)，男，在读博士生，E-mail：qiufsv@gmail.com

万方数据

重复。

1.2.2 *^{60}Coγ 辐照对细菌总数和乳酸杆菌的影响* 辐照试验在华南农业大学辐照中心进行，剂量率 8~10 Gy/s。番茄酱在 0、2.0、4.0、6.0、8.0、10.0 kGy 剂量下辐照，辐照后立即检测细菌总数及乳酸杆菌的灭菌率。每个处理 3 次重复。

1.2.3 *超声波与 ^{60}Coγ 辐照复合处理对番茄酱中细菌总数和乳酸杆菌的影响* 从以上的单因素试验结果选择合适的超声波功率水平、超声波处理的时间和辐照剂量，采用二次旋转回归设计试验。试验的因素、水平设计见表 1。先经超声波处理，再辐照处理后，立即检测其中的细菌总数和乳酸杆菌数，并算出灭菌率。每个处理 3 次重复。

表 1 因素水平编码表

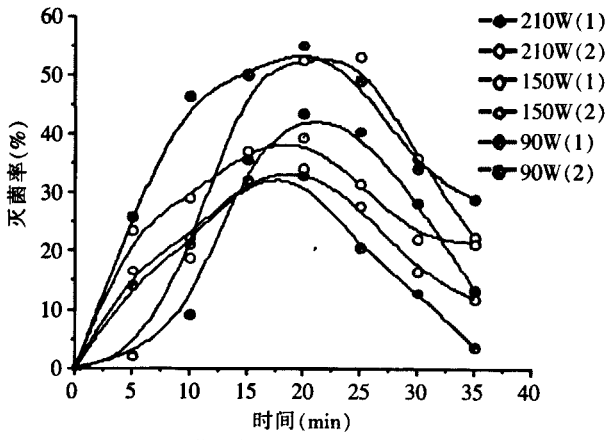
水平	因素		
	X_1(超声波功率,W)	X_2(超声波时间,min)	X_3(辐照剂量,kGy)
+1.682	120	25	7
1	108	23	6
0	90	20	4
−1	72	17	2
−1.682	60	15	1
Δx	18	3	2

1.2.4 *指标测定* 细菌总数按参考文献[6]中的方法测定；乳酸杆菌为番茄酱类工业产品的常测的微生物指标之一，采用参考文献[7]中方法测定。灭菌率(%)=(对照样菌落数−样品菌落数)/对照样菌落数×100。

2 结果与分析

2.1 超声波对番茄酱的灭菌效果

2.1.1 *不同超声波时间对细菌总数和乳酸杆菌灭菌率的影响* 在相同超声波功率条件下，不同的超声波处理时间对细菌总数和乳酸杆菌的灭菌效果见图 1。



(1):细菌总数;(2):乳酸杆菌,图 2 同

图 1 不同超声波时间的灭菌效果

从图 1 可以看出，在功率为 210、150、90 W 时，处理时间对细菌总数和乳酸杆菌的灭菌率都是呈先升高、后下降的趋势，细菌总数的灭菌率在超声波处理 20~25 min 时达到最大，为 54.98%；而对乳酸杆菌的灭菌率在超声波处理 20 min 时达到最大，为 43.53%。对细菌总数和乳酸杆菌的灭菌率的最大值范围都出现在 15~25 min 之间。

超声波对微生物同时有抑制和激活效应。根据超声波原理推测，超声波对微生物处理为 15~25 min 时，能使大部分的微生物处于休眠状态或被破坏，起到了很好的抑制活性的作用。但随着超声波处理时间的延长，微生物受到轻微波强的连续作用，重新被激活，慢慢苏醒而变得活跃[8]。这可能就是细菌总数和乳酸杆菌的灭菌率先上升后下降的原因。分析以上试验数据，选取 15、20、25 min3 个水平用于设计复合处理试验。

2.1.2 *不同超声波功率对细菌总数和乳酸杆菌灭菌率的影响* 分别在超声波处理时间为 15、20、25 min 时，不同的超声波功率对细菌总数和乳酸杆菌的灭菌率见图 2。

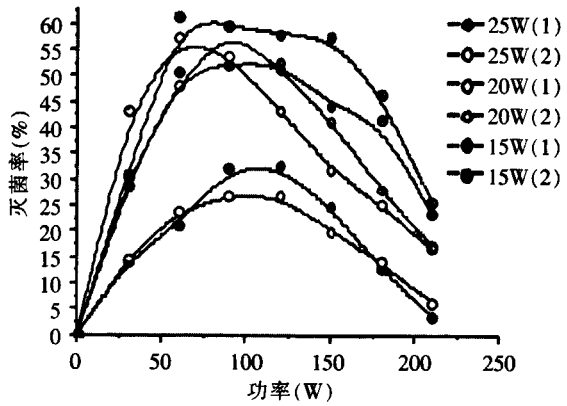


图 2 不同超声波功率的灭菌效果

由图 2 可知，灭菌率曲线的趋势均随着超声波功率的增加先上升后下降。最大灭菌率为超声波的功率为 60 W，处理时间 15 min 时，灭菌率为 62.38%；而超声波对乳酸杆菌的最大灭菌率为 57.53%，处理条件为功率 60 W，时间 20 min。

在本试验条件下，试验指标细菌总数灭菌率及乳酸杆菌灭菌率都没有表现出随超声波功率的增加而上升的趋势。而灭菌率的下降，应是随着功率的增大，超声波强度上升，瞬态空化转变为稳态空化的原因，而同时细菌的 DNA 进行自动修复。稳态空化一般发生在较高的声强下，液体中的小气泡可以长时间存在，并在声波的驱动下完成多次振荡。稳态空化常常表现为非线性振荡，且振荡可以延续多个周期[9]。

在 25、20、15 min 时，细菌总数和乳酸杆菌总数的最大灭菌率的功率都在 60~120 W 的范围内。故本试验选择 60、90、120 W 作为超声波功率的参数水平，进行超声波与辐照复合处理灭菌的试验。

2.2 ^{60}Coγ 辐照对番茄酱的灭菌效果

万方数据

辐照对细菌总数和乳酸杆菌的灭菌率曲线见图3。从图3可以看出,辐照后番茄酱中细菌总数和乳酸杆菌的灭菌率随辐照剂量的增加而提高。7 kGy时,细菌总数及乳酸杆菌的杀灭率约80%,当辐照的剂量达到8 kGy时,细菌总数及乳酸杆菌的灭菌率达99.99%和96.99%。10 kGy的辐照已不能检出任何细菌总数和乳酸杆菌的存在。故本试验中选取对细菌总数及乳酸杆菌杀灭率在80%以下的剂量作为复合处理的辐照剂量,选择1、4 kGy及7 kGy进行后续试验。

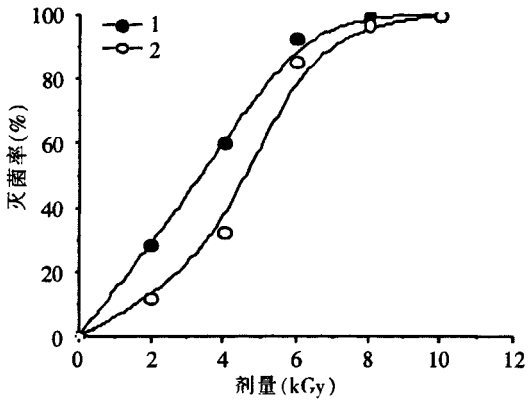


图3 辐照对番茄酱的灭菌效果

2.3 超声波与$^{60}Co\gamma$辐照复合处理对番茄酱的灭菌效果

按照试验设计安排试验,不同因素、水平及试验结果见表2。

2.3.1 *试验数据的分析和回归方程的检验* 利用SAS软件对试验数据进行处理,经旋转回归分析和拟合得到细菌总数灭菌率Y_1,乳酸杆菌灭菌率Y_2的二次回归方程:

$$Y_i=b_0+b_{11}X_1^2+b_{22}X_2^2+b_{33}X_3^2+b_1X^1+b_2X^2+b_3X^3+b_{12}X_1X_2+b_{13}X_1X_3+b_{23}X_2X_3$$

对模型进行失拟性和显著性检验,运行筛选程序,剔除影响不显著项,得两者的回归方程为:

$$Y_1=0.01X_2^2-2.37X_3^2+1.24X_2+43.92X_3-0.69X_1X_3$$

$$Y_2=147.06+2.88X_3^2-7.73X_3$$

2.3.2 *3个因素对灭菌效果的影响* 从方差分析的结果来看,对细菌总数灭菌率效果Y_1的总体影响:辐照剂量X_3>超声波处理时间X_2>超声波功率X_1;其中X_2在P=0.1的水平上显著。对乳酸杆菌灭菌率效果Y_2的总体影响:辐照剂量X_3>超声波功率X_1>超声波处理时间X_2,其中,X_1、X_2都是在P=0.1的水平上显著。

2.3.3 *参数优化与实测值* 通过SAS程序以对二次旋转回归进行分析,最佳组合为:

对于细菌总数灭菌率Y_1:当超声波功率X_1=120 W,超声波处理时间X_2=20.8 min,辐照剂量X_3=7.05 kGy时,Y_1=100%;试验验证实测值为99%。

对于乳酸杆菌灭菌率Y_2:当超声波功率X_1=120 W,超声波处理时间X_2=16 min,辐照剂量X_3=7.11 kGy时,Y_2=100%;试验验证实测值为98%。

表2 超声波复合$^{60}Co\gamma$辐照对番茄酱的杀菌效果

试验号	因素			灭菌率(%)	
	X_1(超声波功率,W)	X_2(超声波时间,min)	X_3(辐照剂量,kGy)	细菌总数灭菌率(Y_1)	乳酸杆菌灭菌率(Y_2)
1	108	23	6	92.87	88.66
2	108	23	2	54.16	13.33
3	108	17	6	96.08	84.00
4	108	17	2	33.33	13.33
5	72	23	6	96.33	80.66
6	72	23	2	54.16	0.00
7	72	17	6	92.91	77.33
8	72	17	2	41.66	0.00
9	60	20	4	71.66	20.00
10	120	20	4	78.75	26.66
11	90	15	4	75.41	33.33
12	90	25	4	77.50	33.33
13	90	20	1	8.33	0.00
14	90	20	7	97.95	95.77
15	90	20	4	78.75	20.00
16	90	20	4	80.83	16.66
17	90	20	4	80.83	16.66
18	90	20	4	77.08	20.00
19	90	20	4	79.16	24.66
20	90	20	4	79.58	20.00
21	90	20	4	78.33	26.66
22	90	20	4	78.75	20.00
23	90	20	4	80.41	23.33

3 结论与讨论

根据前期的研究结果,10 kGy能杀灭番茄酱中绝大多数的细菌[10],但由于高剂量对包装袋(对选用的包装复合膜PP/Al/PE,经过10 kGy辐照后透湿率升高37%,透气率升高25%)及对番茄红素(经过10 kGy辐照后a值由15.45上升到16.56)的影响[11],所以取其适宜的辐照剂量范围和超声波的复合处理研究其对番茄酱中细菌总数和乳酸杆菌的影响。

超声波与媒质的相互作用使其蕴藏着巨大的能量,这种能量能在短时间内足以起到杀灭和破坏微生物的作用[12]。一般认为,超声波所具有的杀菌效力主要来自于细胞内部的空化作用。可能在超声波作用下,波动的压力使微小的气泡不断产生和破灭,进而在宏观上表现为机械冲击。这种冲击破坏了细胞的结构和功能成分,使细胞溶解,从而达到杀菌的目的[13]。虽然超声波对微生物的作用在理论上已获得较为满意的解释,但在实际应用上还存在着一些问题,得不到理想的杀菌效果,将其单独应用于食品等物料的杀菌仍缺乏说服力。

辐照可对微生物细胞的核物质(特别是脱氧核糖核酸分子)产生损伤,并且破坏细胞质膜,引起酶系统紊乱,造成生理生化反应的延缓或停止、新陈代谢的紊乱或中断,从而导致细胞死亡。辐照时水分变化所产生的间接效应也是导致微生物死亡的重要原因[11]。辐照对微生物处理虽然能起到很好的作用,取得很好的杀菌效果[14]。虽然

万方数据

辐照灭菌容易实现大规模的商业化应用，但高剂量的辐照对食品品质和包装物的损害都比较大[15]；而超声波对食品的营养成分的保存较好，但难以实现比较完全的灭菌。

适当条件的超声波使一部分细菌死亡，一部分损伤，一部分处于休眠状态；接着经过中低剂量的辐照，使存活的细菌细胞膜破裂，内溶物流出而死[16]。本试验番茄酱中的细菌及乳酸杆菌先经过超声波处理再经过辐照处理，相比于相同剂量处理而没经过超声波处理的，杀菌率都要高几个到几十个百分点，说明两者的复合处理起到一定的效果。此法用于番茄酱中，取代普通热处理杀菌方法，对于更好的保持番茄酱的原有风味，减少番茄红素的损失，保持色泽都起到很好的作用[17]。同时对于食品工业中相似物态的食品的灭菌也可起到一定的参考作用。

参考文献：

[1] 田三德，孙鹏，任红涛.超声波对酿酒酵母诱变作用的初探[J].北京工商大学学报(自然科学版)，2004，22(1)：12-14.

[2] Lee D，Heinz V，Knorr D.Effects of combination treatments of nisin and high-intensity ultrasound with high pressure on the microbial inactivation in liquid Whole egg [J].Innovative Food Science and Emerging Technologies，2003(4)：387-393.

[3] 李儒荀，袁锡昌，王跃进.超声波——激光联合杀菌的研究[J].包装与食品机械，1998，16(3)：6-7.

[4] 汪川，许欣，余倩.超声波与戊二醛的协同杀菌及其在临床消毒中的应用探索[J].卫生研究，2004，33(1)：42-45.

[5] Maxie E C.Radiation technology in conjunction with postharveat procedures as a means of extending the shelf-life fruits and vegetable [J].Atomic energy Commisilon USA Food Irradiation Contractors，1968(23)：23-26.

[6] 中国疾病预防控制中心营养与食品安全所. 食品微生物学检验——细菌总数测定[M]. 北京：中国标准出版社，2005.

[7] 中国疾病预防控制中心营养与食品安全所. 食品微生物学检验——乳酸菌饮料中乳酸菌测定[M]. 北京：中国标准出版社，2005.

[8] 朱绍华.超声波灭菌试验初探[J].食品工业科技，1998(1)：12-14.

[9] Limaye M S，Hawkes J J，Coakley W T.Ultrasonic standing wave removal of microorganism from suspension in small batch systems[J].Journal of Microbiological Methods，1996，27(2-3)：211-220.

[10] 翟建青，包建忠，曹宏，等. 辐照脱水蔬菜的剂量与灭菌效果研究初报[J].核农学报，2004(2)：125-127.

[11] 丘苑新，叶盛英，余恺.^{60}Coγ 辐射对抽真空复合包装材料性能影响初探[J].核农学报，2007，21(4)：383-386.

[12] 李汴生，阮征.非热杀菌技术与应用[M].北京：化学工业出版社，2004：102-103.

[13] 饶林，将莉，姜朴，等.超声波处理对评价戊二醛致死细菌芽胞效果的影响[J].中国消毒学杂志，2001，18(3)：185-187 .

[14] 徐艺青，孙宝忠，易欣欣，等. ^{60}Coγ 辐照对酱排骨杀菌效果的研究[J].核农学报，2004(1)：33-35.

[15] 刘宇琴.^{60}Coγ 辐射灭菌对血袋性能的影响 [J]. 甘肃科技，2003，19(7)：112-113.

[16] 丘苑新，叶盛英，余恺.大肠杆菌及乳酸杆菌的辐射致死机理初探[J].食品科技，2007(6)：38-42.

[17] 高美须，陈浩，刘春泉，等.食品辐照技术在中国的研究和商业化应用[J].核农学报，2007，21(6)：606-609.

(上接第 77 页)

2.4.3 不同碳源对菌丝生长的影响　由表 1 可知，不同碳源对病原菌菌丝的生长影响未到达统计学上的显著差异。

2.4.4 不同氮源对病原菌菌丝生长的影响　由表 1 可知，在供试的氮源中，最好的是肌氨酸和蛋白胨，最差的是硫酸铵。

2.4.5 菌丝致死温度　菌丝经过 45、50、55、60、65、70℃不同温度下恒温水浴处理 10 min 后，培养 4 d 进行观察。结果发现，在 45、50、55、60℃下处理的菌丝均能生长，而在 65、70℃下处理的菌丝不能再生长。因此，确定该镰刀菌菌丝的致死温度为 65℃。

2.4.6 不同 pH 对菌丝生长的影响　由表 1 可知，在 pH 4.0~10 的范围内，菌丝均能生长，并且都能产孢，以 pH 5~10 最适。说明此病原菌对于 pH 的适应性较强。

3 结论与讨论

通过镜检观察孢子的形态，把病原菌确定为半知菌类镰孢属。结合 Booth、Nelson 的分类系统，通过病原菌在米饭上的颜色把病原菌确定为是美丽组(Eleagans)。再通过病原菌在 PSA 培养基中的培养性状、菌丝和孢子的形态等方面，将朱蕉枯尖病的病原菌鉴定为粘团镰刀菌(*Fusarium conglutinans* Wollenw.)。

致病性测定结果表明，该分离菌是一种弱寄生菌或条件寄生菌。在田间流行于易产生伤口(暴风雨、农事活动等)的夏秋季。

菌丝生长的最适宜温度是 25~30℃。该菌的最适宜 pH 为 5~10，各碳源都比较适宜生长，肌氨酸为最好的氮源，光照处理对菌丝有一定的抑制作用，且影响菌丝产生色素。菌丝致死温度为 65℃。

参考文献：

[1] 方中达.植病研究方法[M].第 3 版.北京：农业出版社，1998.

[2] 谢联辉.普通植物病理学[M].北京：科学出版社，2006.

[3] Booth C.The Genus Fusarium[M].C M I，Kew，Surrrey，England，1971.

[4] Nelson P E，Toussoun T A，Marasas W F O.Fusarium Species：An illustrated manual for identification [D].Pennsylvania State University Press，University Park，Pennsylvania，1983.

万方数据