

二氧化碳杀菌技术研究进展

陈静静¹, 孙志高²

(1. 西南大学食品科学学院, 重庆 400715; 2. 中国农业科学院柑桔研究所, 重庆 400712)

摘要: 二氧化碳具有化学惰性、无腐蚀性、高挥发性等独特理化性质及经济性, 在食品加工工业得到广泛应用; 二氧化碳在果蔬、肉制品、谷物、液体食品中保鲜作用已有相关研究, 近年研究发现, 高压和超临界状态二氧化碳能抑制微生物生长, 已成为非热力杀菌方法的一个研究热点。该文主要介绍二氧化碳杀菌机理及其应用。

关键词: 二氧化碳; 杀菌; 非热力杀菌

Research on the sterilization effect of CO₂

CHEN Jing-jing¹, SUN Zhi-gao²

(1. College of Food Science, Southwest University, Chongqing 400716, China;

2. Citrus Research Institute, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Chongqing 400712, China)

Abstract: Carbon dioxide have unique characteristics such as inertness, non-corrosiveness, high volatility and low-cost, which is being used in a variety of applications in food and processing industries. Applications of carbon dioxide in preserving fruits, vegetables, meats, food grains, and liquid foods has been discussed, but recently it find that carbon dioxide as high pressure gas and supercritical fluid can inactivate microorganisms, which has become a research focus of non-thermal pasteurization method. The mechanisms of sterilization of microoraganisms by CO₂ and its applications are introduced in this article.

Key Words: CO₂; sterilization; nom-thermal sterilization

中图分类号: TS205.9

文献标识码: A

文章编号: 1008-9578(2008)04-0010-03

食品杀菌技术可分为热力杀菌和非热力杀菌。热力杀菌技术是食品工业普遍采用方法, 根据采用温度又分为巴氏杀菌、低温杀菌、高温杀菌和超高温瞬时灭菌。非热力杀菌包括物理杀菌和化学杀菌两种类型, 物理杀菌主要是指超高压杀菌、高压脉冲电场杀菌、脉冲强光杀菌、微波杀菌、放射线杀菌、紫外线杀菌等; 化学杀菌主要是指在食品中通过添加抑菌剂和防腐剂, 如臭氧、二氧化碳和抗微生物酶等。传统热力杀菌虽能保证食品抗微生物方面安全, 但高温会破坏热敏感营养成分, 影响食品质构、色泽和风味; 而非热力杀菌技术以其独有优势能较好保持食品固有营养成分、色泽和新鲜度, 是目前食品领域研究热点^[1]。

CO₂是一种天然抗微生物剂, 单独作用能抑制微生物生长^[2], 但不能杀死微生物, 若与压力结合则能达到有效杀菌效果, 因此, 高压 CO₂ 技术已成为一种新型非热力杀菌技术。研究表明, 在一定压力下(3~70 MPa), CO₂对食品中微生物具有杀灭效果, 同时使酶部分失活^[3-4]。高压 CO₂(包括超临界 CO₂)技术主要优点是, 不破坏食品营养成分, 能保留食品原有品质等, 因此

对此进行深入研究很有实际意义。

1 二氧化碳基本理化性质

二氧化碳是碳原子最高氧化状态, 呈化学惰性, 大气中含量为 0.03%, 常温常压下无色、无味、无毒, 微溶于水, 水溶液呈酸性, 其在水中溶解度遵循亨利定律。随着压力和温度变化, 其存在形态和物理性质发生变化, 其临界温度为 31.0℃, 临界压力为 7.36 MPa, 在此温度、压力以上, CO₂只能以流体状态存在, 称为超临界 CO₂ 流体(SCCO₂)。超临界 CO₂ 流体具有气体低粘度、高扩散性和液体高密度特性, 对许多物质有很强溶解能力, 且其溶解能力对温度和压力变化极为敏感, 易于调节。表 1 为不同状态下二氧化碳性质。

表 1 不同状态下二氧化碳性质

二氧化碳状态	密度(g/cc)	粘度(cP)	扩散系数(cm ² /s)
气体	0.002	0.014	0.01
超临界	0.5	0.02~0.12	0.0001
液体	1.0	1.0	0.00001

2 二氧化碳杀菌机理研究^[5-7]

2.1 常压二氧化碳杀菌机理

二氧化碳是一种天然抗微生物剂, 单独作用能抑

收稿日期: 2008-03-11

作者简介: 陈静静(1984~), 女, 硕士研究生, 主要从事食品加工技术研究。

制微生物生长,但不能杀死微生物,与压力结合则能达到有效杀菌。与其它气体相比,CO₂使用安全,价格低廉,且易得到较高纯度成品,所以在食品工业中应用相当广泛。在新鲜果蔬与粮食气调贮藏中,通过调节贮藏库中二氧化碳与氧气比例,降低果蔬呼吸强度,能抑制微生物生长,同时结合其它处理方法以达到保鲜目的。在鲜肉与海产品保鲜中将二氧化碳充入包装袋内,形成缺氧状态抑制微生物生长;在饮料生产中,高纯度CO₂(99.9%)作为碳酸饮料配料,碳酸化后饮料pH降低,从而抑制微生物生长繁殖、延长产品保质期。

2.2 高压二氧化碳(Pressurized carbon dioxide)杀菌机理研究^[8-9]

2.2.1 高压二氧化碳对微生物杀灭作用

近年研究表明,高压二氧化碳对微生物具有很强杀灭作用,主要采用静态方式进行杀菌处理。目前研究集中在对食品中常见微生物杀灭效果及其机理研究,建立一些相关杀菌模型。关于高压CO₂对食品中内源酶钝化作用研究相对较少,但已发现高压CO₂技术处理能有效降低多种酶活性,并认为酶活性降低与酶二级结构中 α 螺旋结构变化有关。高压CO₂处理对大部分细菌和霉菌杀灭效果可达到降低4~7个对数值。Erkmen等对食品中常见致病菌,如李斯特菌、沙门氏菌、大肠杆菌等进行高压CO₂处理,达到较好灭菌效果。其中生理盐水中李斯特菌在高压CO₂(6.05 MPa、35℃)条件下处理75 min后,菌数下降6.98个对数值;生理盐水中沙门氏菌和大肠杆菌对数值也明显下降。对于能产生芽孢和孢子微生物,高压CO₂技术也表现出较好杀灭作用,由于孢子对热的耐受性很强,在一定温度下结合高压CO₂能达到比单独热杀菌更好杀灭效果。

相关研究资料提出一些高压CO₂杀菌机理,如细胞内氧排除作用,细胞内溶物抽取效应和酸化作用理论等。细胞内氧排除作用认为,在CO₂存在时,会排除细胞中的氧,有氧呼吸微生物不能生存;但CO₂也可作用于厌氧微生物,这一理论存在矛盾。细胞内溶物抽取效应认为,高压CO₂能透过细胞膜,溶解在细胞液中,当压力释放时,抽取细胞内溶物,从而抑制其生长;且随着压力增加,从细胞中抽取出物质越多,对比缓慢和瞬间释放压力,发现急速减压时细胞内有较多蛋白质被抽出,但微生物抑制作用不受减压速

度影响。并认为抑制作用发生在加压阶段。

酸化作用认为,CO₂和水反应生成碳酸,降低微生物细胞pH值,且在细胞外和细胞内都产生,这一理论在干燥细胞和湿细胞CO₂处理中得到证实。但有研究证明,CO₂可抑制非酸敏感性微生物,而不是酸敏感性微生物如大肠杆菌;一些研究资料还表明,不仅是pH值降低对抑制微生物有影响,酸的类型也有影响。许多研究者认为,细胞失活是多种机理共同作用结果,故需要更深入研究以确定高压CO₂杀菌机理。

2.2.2 亚、超临界二氧化碳杀菌机理研究

有关研究发现,亚临界或超临界状态CO₂也可用于杀菌,它可缩短灭菌时间和降低灭菌温度。马丽等^[10]曾研究利用超临界CO₂钝化蒜酶和大蒜SOD保留,取到较好效果。目前普遍认为,其灭菌机理主要是,超临界CO₂处理能抽出微生物细胞内或细胞膜功能性物质,使微生物细胞受到损伤;由于进入微生物细胞内CO₂电离,使细胞质H⁺离子浓度增大,pH下降。微生物细胞内某些酶由于浸透在CO₂中而失活,溶解于微生物细胞内CO₂急速减压时,体积膨胀而使细胞破裂。Rizvi和Daniels等认为,超临界CO₂是相当好溶剂,尤其对于非极性组分具有很高溶解性,其可能溶解细胞膜组成成分。

超临界CO₂处理还可钝化酶活性,在13.7 MPa,60℃,75分钟超临界处理条件下可使桔汁中果胶酶全部失活。相关研究发现,在25 MPa、45℃、30 min超临界CO₂处理下,脂肪酶、碱性蛋白酶、酸性蛋白酶及葡萄糖氧化酶活性分别为处理前62.9%、31.3%、37.6%和12.4%。同时观察到处理后酶的 α 螺旋结构发生变化,可能是这种变化导致酶活性变化。不同酶在SCCO₂中稳定性各不相同,且酶失活程度随实验处理条件改变而改变,对此还需进一步研究^[11]。

3 影响二氧化碳杀菌效果因素

目前研究表明,高压CO₂灭菌效果主要取决于四个方面:CO₂状态(气态、超临界、液态);对象微生物(种类、生长阶段及水分含量);食品或培养液性质;处理条件(压力、温度、处理时间等)。

3.1 存在状态

CO₂杀菌效果还受其存在状态影响,超临界状态CO₂兼有液体和气体性质,其相对密度大,有很好溶解性和扩散性,CO₂很容易穿透细胞壁和芽孢,从而降低细胞pH值或将微生物内溶物抽取,抑制微生物生长。

Kamihira 等研究 CO₂ 存在状态对大肠杆菌细胞活性影响,发现气态和液态 CO₂ 对细胞钝化作用没有差别,但当 CO₂ 处于超临界状态时,其钝化作用增强。

3.2 浓度、温度、压力^[12-13]

Matin 等研究表明,CO₂ 和温度共同作用能明显减少原料乳中微生物生长;增加 CO₂ 浓度和降低温度同时处理比单独处理可更好抑制微生物生长。一般来说,CO₂ 抑菌效果随浓度增加而增强。研究发现,添加 CO₂ 当浓度达 1,500 mg/L 时,能降低乳中假单胞菌热抵抗能力,被溶解 CO₂ 有助于提高巴氏杀菌过程中微生物死亡率。对于不同原料,CO₂ 杀菌效果受浓度、温度、压力影响各不相同,目前关于 CO₂ 浓度、温度、压力对原料乳及乳制品杀菌效果方面研究较多,其它原料影响情况还需具体研究。在实际生产时,需要合理设定温度、压力、浓度,以达到较好杀菌效果。

4 二氧化碳杀菌应用

4.1 果蔬汁杀菌^[14]

美国 Praxair 公司首先将压力与 CO₂ 相结合应用于果蔬汁杀菌。在压力作用下鲜果蔬汁与 CO₂ 混合,液态 CO₂ 对果蔬汁进行杀菌,尽管不能杀死全部细菌,但能满足减少 5 个对数值要求,延长鲜榨汁货架期。其机理是在压力作用下 CO₂ 溶解于水成为碳酸,使果蔬汁变得更酸,足以使酶(如果胶甲基酯酶 PME)变性,卸压后 CO₂ 挥发,果蔬汁酸度恢复。对于微生物,高浓度 CO₂ 和低 pH 能抑制微生物生长。Corwin 等将 2 mmol/L CO₂ 充入橙汁,用 500 MPa 压力处理,果胶甲酯酶活性比单独用 500 MPa 压力能更进一步钝化;在 500~800 MP 下,CO₂ 也同样能显著降低多酚氧化酶活性。

4.2 乳制品杀菌应用

CO₂ 是一种可与牛奶共存天然成分,能抑制一些导致牛奶变质微生物生长,通过充入 CO₂ 气调包装或直接在包装中充入 CO₂ 都能显著延长乳制品货架期。国外许多乳品企业,已把 CO₂ 作为一种物美价廉而又安全可靠食品添加剂,应用到乳制品工业化生产中,尤其在原料乳保鲜和干酪制造中被更为广泛使用。在原料乳中溶解 CO₂ 能延缓蛋白水解和脂肪水解作用时间,同时能延缓细菌生长周期,并在一定程度上抑制乳中嗜冷菌生长。在干酪制作中,蛋白质水解会产

生苦味,脂质水解产生恶臭味,因此通过 CO₂ 抑菌作用可保证干酪质量。

5 结束语

CO₂ 作为新的非热杀菌形式,具有成本低廉、安全无毒、杀菌灭酶效果好、有效保持食品原有品质等特点。目前对于高压 CO₂ 杀菌基本机理尚未完全研究清楚,比如超临界 CO₂ 萃取过程中酶的失活,可能是高压 CO₂ 杀菌作用结果,也可能是某些机理共同作用造成细胞失活,因此需要研究确定,在不同加工条件下是哪种机理起主要作用。

〔参考文献〕

- [1] 夏文水,钟秋平. 食品冷杀菌技术的研究进展[J]. 中国食品卫生杂志,2003,15(6):539-544.
- [2] King A D, Nagel C W. Growth inhibition of a pseudomonas by carbon dioxide[J]. Journal of Food Science, 1967,32(5):575.
- [3] Erkmen O. Effect of carbon dioxide pressure on listeria monocytogenes in physiological saline and foods [J]. Food Microbiology, 2000,17(6):589-596.
- [4] Ballestra P, Jean-louis Cuq. Influence of pressurized carbon dioxide on the thermal inactivation of bacterial and fungal spores[J]. Lebensm-Wissu-Technol., 1998.31:84-88.
- [5] 赵玉生,赵俊芳,周昇昇. 初探非热力杀菌技术在食品工业中的应用[J]. 食品工业科技,2006,27(9):175-177.
- [6] 薛源,桂芬琦,孙志健,等. 高压 CO₂ 技术杀灭酶效果及其机理研究进展[J]. 食品工业科技,2006,27(3):203-205.
- [7] 陈宇. 非加热灭菌技术在食品工业上的应用[J]. 食品工业科技,2003,24(8):100-103.
- [8] Werner B G, Hotchkiss J H. Effect of carbon dioxide on the growth of Bacillus cereus spores in milk during storage[J]. American Dairy Science Association, 2002,85:15-18.
- [9] 柏冰,周建军,俞逾,等. 采用高压 CO₂ 气体灭活啤酒酵母的试验研究[J]. 食品科学,2005,26(10):43-45.
- [10] 张骊,向智敏,樊健康. 超临界 CO₂ 用于蒜酶失活和大蒜 SOD 的保留[J]. 化学通报,1997,(9):58-60.
- [11] 尹卓睿,冯德勤,王晓霞. 超临界二氧化碳抑制脂肪酶及灭菌作用的研究[J]. 山东轻工业学院学报,1999,13(4):33-36.
- [12] 崔旭海,李晓东. CO₂ 对乳性质的影响及在乳品杀菌中的研究进展[J]. 中国乳品工业,2004,32(10):23-26.
- [13] 李松涛,孟婧,刘宁. 二氧化碳对原料乳保藏及原料乳中部分成分的影响[J]. 食品科学,2007,28(4):351-354.
- [14] 廖小军. 果蔬汁非热加工技术进展[J]. 饮料工业,2002,5(6):4-7.