

第四节 超高压灭菌的协同措施

单独使用超高压有时并不能完全确保食品的安全性，如果采取其它配合措施，或结合栅栏技术，能更有效地杀灭微生物。最常用的方法是与温度相配合、改变加压方式、使用添加剂、微波、超声波等。

1 脉冲加压

在超高压杀菌处理中，由于不同微生物的耐压特性各异，而仅仅依靠延长保压时间往往对微生物的致死率影响不大。因此一些专家尝试用间歇、多次、重复加压的方式，发现灭菌效果比较明显。例如在室温条件下，用 500MPa 对牛奶加压 10min，不如 5min+5min 的效果好。这种方式被称作脉冲加压，或交变加压。一般认为第一次加压导致大量微生物失活，一部分微生物受到损伤，第二次加压会使一部分已经损伤的微生物再度受到压力的作用而致死，如此反复多次加压能给予微生物多次剧烈的冲击，从而提高灭菌的效率。

Hayakawa等在富含营养成分介质中，密度为 10^6 /g的脂肪嗜热芽孢杆菌芽孢 (*Bacillus stearothermophilus* spore)进行了超高压杀菌研究。经过 600MPa，70℃(指加压过程中测出的实际温度，包括加压前加热和绝热压缩温升)，加压 5min，然后减压至大气压力，并重复脉冲加压处理 5 次。超高压处理后，立即用营养琼脂平板在 55℃下经过 7d 培养未能检出微生物，起到了完全杀灭作用。电子显微镜观察显示所有孢子都已碎裂。而在 70℃以下进行同样压力和更长保压时间的超高压处理，也不能达到完全灭菌的效果。

Sojka和Ludwig对处于专用萌芽培养基，密度为 10^8 /g的枯草芽孢杆菌 (*Bacillus subtilis*) ATCC 9372 芽孢进行了脉冲超高压处理。首先，在 60MPa，70℃(加压前温度)，保压 1min；随后在 500MPa 下再保压 1min，并重复 10 次进行超高压脉冲处理。超高压处理后，立即用营养琼脂平板在 37℃下经过 10d 培养未能检出微生物，芽孢被完全杀灭。他们认为，60MPa压力下的第一个脉冲可以使枯草芽孢萌发；萌发的营养体在随后的 10 次 500MPa脉冲超高压处理后相继地被破坏。而采用一次同样保压时间的超高压处理只能杀灭 50% 的芽孢。

Meyer 等认为，在 690MPa 和 90℃的条件下进行两个脉冲超高压处理，大部分食品能够达到完全无菌，而且通心面 (Macaroni)、干酪 (Cheese)、金枪鱼烤面

(Tuna noodle casserole)、酸奶油牛肉(Beef stroganoff)、意大利通心粉(Pasta dishes)等正餐食品质量不受超高压处理影响。意大利通心粉的由质构性质体现出来的口感“嚼劲”(al dente)保持完好。经上述处理的胡萝卜(Carrots)、芹菜(Celery)、洋葱(Onions)、绿豆(Greenbeans)和花椰菜(Cauliflower)保持原有的生脆口感。在966MPa 和60℃ 的条件下进行两个脉冲超高压处理, 芦笋(Asparagus)的生脆口感被破坏; 土豆(Potatoes)具有像刚煮过的风味和口感; 而鸡蛋则犹如煮得非常嫩, 具有半生的口感。Krebbers 等人将绿豆用2次脉冲高压处理, 经1个月的贮藏后, 与常规保藏方法相比, 绿豆的硬度和维生素C保留较好, 且能使99%以上的过氧化物酶失活。此外, 针对各种不同类型的低酸食品还试验总结出经过两次脉冲超高压处理达到无菌状态的工艺参数选择方案。

脉冲加压强化超高压杀菌效果机理可以解释为, 脉冲加压可以造成被处理微生物的细胞壁、细胞膜、代谢酶和核酸的损伤累积。快速的升压和降压减小上述物质对环境条件的响应能力, 从而降低适应性, 微生物薄弱位点的损伤加剧。

2 温度协同超高压灭菌

如前所述, 温度是影响超高压灭菌的一个重要因素, 主动地采取温度控制手段协同超高压提高灭菌效果, 是最可行的方法, 目前它已成为高压食品加工研究的重要方向。

温度和压力会引起蛋白质变性, 但是它们的机理不同。对不同的微生物, 施加大小不同的温度和压力, 其灭菌效果是不同的。这是很复杂的问题, 需要通过实验和经验摸索灭菌参数。另外, 加热和加压的顺序也会影响灭菌效果。

在本节暂且对温度范围做以下定义, 低于0℃为低温, 0-60℃为中温, 高于60℃为高温, 这样我们可方便地阐述各个温度范围与超高压协同的效果。

中温协同灭菌

Alpas等学者认为细菌细胞在20~35℃下对超高压敏感性不强, 当温度高于35℃时, 由于细胞膜脂质(cell membrane lipids)发生相变(phase transition), 增强了细菌对压力的敏感性; 而Hayakawa 等认为, 脉冲加压(Oscillatory Pressurization, OP 法)结合温和加热条件下, 芽孢死亡的主要原因是:

(1)超高压的释放会引起芽孢菌细胞壁与水的绝热膨胀;

(2)超高压下升温(20~70℃), 会增大芽孢细胞壁内外的压力差, 加快水分向细胞壁和细胞膜的渗透, 并导致水分粘度与表面张力的下降, 及其它物理变化, 从而强化了对芽孢的破坏能力。

在日本首先实现了高压食品上市。最初的产品是密饴和果昔。在保藏这类食品时酵母菌是主要考虑的对象。Horie等人发现从鲜草莓中分离出来的近平滑假丝酵母(*Candida Parapsilosis*)具有耐压性, 它和热带假丝酵母的耐压性要高于存活在草莓酱中的啤酒酵母。配合温度高达34—54℃对近平滑假丝酵母进行施压处理。可以将初始数量为 10^6 cfu /g的该酵母菌迅速灭活, 而所用的时间远远短于单纯使用压力时的时间。

Hayakawa报道, 当压力达到800MPa, 施压时间60min, 在60℃条件下, 可将嗜热芽孢杆菌数量从初始的 10^6 下降到 10^2 个/毫升。而在室温条件下, 施加同样压力时, 并不会发生明显变化。

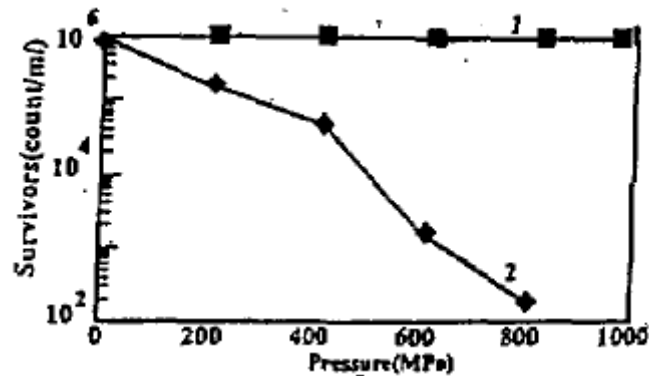


图3.19 压力和温度对嗜热芽孢杆菌的作用

图中 (1) 60min, 20℃ (2) 60min, 60℃

低温协同灭菌

低温超高压处理具有良好的杀菌效果, 但其作用机理还不清楚, 目前主要有两种观点: 一是认为压力使得低温下细胞因冰晶析出而破裂程度加剧, 降低了大多数微生物低温下的耐压能力; 二是由于蛋白质在低温下对超高压的敏感性提高, 致使蛋白质在此条件下更易变性, 且低温超高压下菌体细胞膜结构更易损伤。总之, 介质的相变对菌体死亡有一定的影响。但对酵母菌的研究显示, 介质的冻结和解冻对酵母菌的死亡并没有太大的影响, 即低温超高压下介质的相变并非酵

母菌死亡的主要原因。这也就说明微生物在低温超高压下容易死亡可能还有其它原因，有待进一步研究。

高温协同灭菌

超过60℃，热力灭菌的作用开始显现，与超高压协同会出现更好的效果。Wilson and Baker经过超高压杀菌研究并注册了一个专利(International Patent Filing W0 97/21361和美国专利U. S. patent 6,086,936)。专利中指出，在内汤营养液中，密度为10⁶/g的枯草芽孢杆菌(*Bacillus subtilis*)、嗜热脂肪芽孢杆菌芽孢(*Bacillus stearothermophilus* spore)和梭状芽孢杆菌(*Clostridium sporogenes*)芽孢，经过621MPa，85℃，保压30min和621MPa，98℃，保压5min 两次超高压处理。超高压处理后，立即用营养琼脂平板在37℃下经过7d 和30d 培养未能检出微生物，芽孢被完全杀灭。进行30d 的培养是为了让可能残存或受伤的芽孢和营养体有充分的时间进行修复。如果需要降低处理温度，只有相应地提高压力值才能达到相同的效果。

表3.3 高温协同灭活芽孢

菌种	压力 MPa	温度 ℃	时 间 min	初始菌 数	处理后菌 数	
枯草芽孢杆菌(<i>Bacillus subtilis</i>)	621 600	85 98 40—60	30 5	10 ⁶	0 杀死	Wilson and Baker
嗜热脂肪芽孢杆菌芽孢 (<i>Bacillus stearothermophilus</i> spore)	621 800	85 98 60	30 5 60	10 ⁶ 10 ⁶	0 10 ⁶	Wilson and Baker
梭状芽孢杆菌(<i>Clostridium sporogenes</i>)芽孢	621	85 98	30 5	10 ⁶	0	Wilson and Baker
金黄色葡萄球菌 (<i>Staphylococcus aureus</i>)	207	50	5		下降6—7 个数量级	
埃希氏大肠杆菌(<i>Escherichia coli</i>)	207	50	5		下降6—7 个数量级	
单核细胞增生李斯特氏菌 (<i>Listeria monocytogenes</i>)	207	50	5		下降6—7 个数量级	
肠炎沙门氏菌 (<i>Salmonella enteritidis</i>)	207	50	5		下降6—7 个数量级	
单核细胞增生李斯特氏CA 菌(<i>Listeria monocytogenes</i>)	207	50	10		0	

CA)						
-----	--	--	--	--	--	--

预热处理和预冷处理

Seyderhelm 和 Knorr(1992)提出了嗜热脂肪芽孢杆菌孢子死灭率最高的处理工艺：100MPa，50 或 60℃预处理→降至常压，20℃，停 45min→200-400MPa，50 或 60℃处理。除高温区杀菌研究外，低温域的探讨也受到重视。高桥(1991)指出，-20℃下的杀菌效果要比 20℃好。将试验菌在-20℃下预处理 24h 后再加压处理，也得出类似结论。低温预处理有助于杀灭大肠杆菌。当菌悬液的水相出现冰结晶，细胞受到机械损伤，又受到压力作用，杀菌效果自然增强。因此，寻求不同条件下温度与压力的最佳组合意义重大。

预热处理和后热处理

将受试样分成2组，分别在加压前和加压后进行45℃，20 min的热处理，其灭菌效果见图3. 20。对于嗜热脂肪芽孢杆菌的芽孢，适当的热处理(45℃，20 min)有助于超高压灭菌作用。两者协同作用的效果要优于单一方法处理，且预热处理结合超高压的灭菌作用要强于后序热处理与超高压的协同作用。究其原因，我们认为这与芽孢菌的特性密切相关，芽孢菌孢子可以保持较多的休眠状态，在条件适合的情况下(如热刺激)，也可以在几分钟内破壁萌发成营养体。45℃是嗜热脂肪芽孢杆菌较适宜的生长温度，预热处理促使孢子液中的部分芽孢发芽(样品制片、染色后的显微镜检测结果证明了这一点，初始孢子含量达90%以上，而经过适当加温后孢子含量降到65%左右)。而营养体细胞对环境的敏感程度大大高于芽孢体，尤其在磷酸缓冲液中，比较容易受损致死，表现为死亡率高于同一条件下的单纯超高压灭菌率。

另外，对受试样分别经45，65，85℃及20min预热处理，对比不同温度预热处理与压力组合的效果，检测结果可看出间隔3—4h的2次检测的数据相差甚大，近1—2个数量级。45，65℃表现出的协同超高压数据的灭菌率较好，65℃最高，而85℃相对较差。通过显微镜有观察，发现适当温度处理使芽孢含量90%降到65%—45%。而产生的营养体细胞对环境敏感程度大大高于芽孢体，尤其在磷酸缓冲液中，比较容易受压损致死，表现为死亡率高于同条件下的单纯超高压灭菌率，但85℃在嗜热脂肪芽孢杆菌最高生长温度范围之外，不仅不能诱使孢子发芽，反

而抑制孢子，我们认为85℃的杀菌效果主要由于高温的作用，至于高温协同超高压杀菌实验研究及机理的探讨还有待于下一个阶段的研究。

我们认为这主要还是与嗜热脂肪芽孢杆菌的特性有关，此孢子比其它任何嗜温种的孢子更抗热，相反，营养细胞对不良的条件非常敏感，冷至室温，它们立即失去活性。嗜热脂肪芽孢杆菌生长的温度最高65—75℃，最低30—45℃。

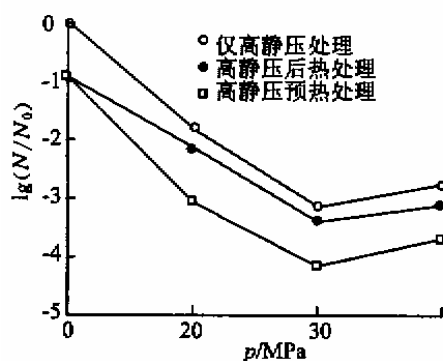


图3.20 热处理对嗜热脂肪芽孢杆菌芽孢耐压性的影响

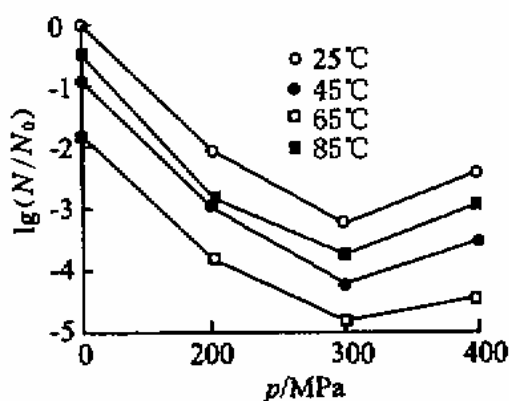


图3.21 预处理温度对As1.999菌种孢子耐压性的影响

3 抑菌剂协同灭菌

利用食品中原有的天然抗菌物质(Moio, 1994, Previdi, 1994)或添加某些抑菌成分是高压杀菌研究的一个重要方向。Kammura(1993)将煮熟的鹌鹑蛋用氯化钠溶液浸泡，加有50ppm的多聚赖氨酸，则500 MPa，5min就能杀灭其中的芽孢杆菌孢子。Nakagawa(1994)在果汁中添加蛋白酶，200 MPa下加压10 min就可取得很好的灭菌效果。此外，加酸(Ogawa, 1990; Pandya, 1995; Roberts, 1995, Mackey, 1995)，溶菌酶(Meisei, 1992)，乙醇(Tamura, 1993)，甘油脂肪酸脂

(Murata, 1993), 脂肪酸糖脂(Hayakawa, 1994), 壳聚糖(Knorr / 1994), 乳链球菌肽素(Roberts, 1995), 山梨酸钾(Mackey, 1995)等等, 都因添加物的存在而改变了细菌正常生长的环境, 具有一定的协同灭菌效果。这种协同灭菌工艺有助于杀灭一些耐压性高的营养细胞和孢子。

Nisin (尼生素)

Nisin (尼生素)即乳酸链球菌肽, 它是带正电的小分子肽, 具有34个氨基酸残基, 分子量在3500左右, 是目前多个国家食品药品管理部门认可的, 对人体无害, 能正常消化吸收的天然防腐剂。

Nisin的杀菌机制: Nisin可以与革兰氏阳性菌细胞壁膜结合并在其细胞壁膜上形成微孔通道, 导致细胞内小分子物质泄漏, 使细胞丧失质子转运能力, 从而致死细菌; 革兰氏阴性菌则没有尼生素的结合位点, 不能被抑制。而革兰氏阳性菌是公认的耐压能力很强的一类微生物, 超高压与尼生素结合处理具有很好的协同杀灭革兰氏阳性菌效果。

不少学者进行了尼生素协同超高压杀菌研究。经高压处理后, 微生物对Nisin更加敏感。这主要是因为高压处理, 微生物细胞膜被破坏加速了Nisin的渗透。

Nisin协同超高压杀菌作用机理: Lee 等认为微生物的细胞膜刚性越大, 对超高压压力越敏感; 由于Nisin插入到细胞膜中, 稳定了细胞膜上的磷脂, 减少了磷脂的流动性, 从而增加了细胞膜对高压力的敏感性。由于革兰氏阳性菌没有外层膜, Nisin可以直接插入细胞质膜, 而在革兰氏阴性菌中Nisin要先通过外层膜才能到达细胞质膜, 故Nisin与超高压协同效果在革兰氏阳性菌中更有效。

Lee等人研究了鸡蛋中接种李斯特氏菌(*Listeria monocytogenes*) (革兰氏阳性菌)和大肠杆菌的Nisin协同超高压杀菌效果。由于压力超过 300MPa时, 鸡蛋蛋清等将发生变性(凝结)从而失去鸡蛋原有的组织结构、流变特性和新鲜感, 故超高压处理压力不能大于 300MPa; 但室温下 300MPa 不足以杀灭李斯特菌, 为此, Lee 等人设计了Nisin与超高压结合的处理条件。Nisin (10mg/L, 约 0.01%)和超高压(5℃、300MPa、200s)分别进行处理时, 杀菌效果很差, 甚至可以忽略不计; 然而同样的Nisin浓度和超高压处理条件协同作用, 可以致死使李斯特氏菌在原有 10^7 cfu/ml减少到 10^2 cfu/ml。

嗜热脂肪芽孢杆菌 As1. 999 具有较高的耐压性, 在菌悬液中添加 10IU / ml

的 Nisin 后，虽然用量只有通常剂量的 1/20—1/10，但配合高压处理已有明显的抑菌效果。

在大肠杆菌杀菌实验中，实验条件与李斯特菌一致，实验结果表明，在 Nisin 和超高压单独作用时，Nisin 对大肠杆菌几乎没有杀灭和抑制作用；超高压对革兰氏阴性菌—大肠杆菌的抑制杀灭作用较之革兰氏阳性菌—李斯特菌大得多。在 5℃、300MPa、200s 超高压条件下处理，大肠杆菌活菌计数从原有 10^8 cfu/ml 减少到 10^6 cfu/ml；而李斯特菌几乎没有减少。在上述超高压处理条件下，加入 Nisin (10mg/L, 约 0.01%) 协同处理，与超高压单一作用结果没有区别，即 Nisin 对大肠杆菌没有协同作用。

nisin 能在中等高压 (400 MPa) 条件下提高病原菌和腐败菌的死亡率，抑制高压后残留微生物的生长，延长食品货架期。Masschalk 等认为，在高压条件下微生物对抗微生物化合物有 2 种反应方式：一种是临时敏感反应，即高压存在时微生物对抗微生物化合物有敏感性或敏感性提高，当压力消失后即刻恢复原有的敏感性，这类抗微生物化合物主要是一些大分子物质，如溶菌酶和 nisin；另一种是持续性敏感反应，即当高压消失后微生物对抗微生物化合物的敏感性仍然保持数小时，这些物质主要是小分子物质，在高压作用下可渗入微生物细胞膜中。

几丁质酶

Fenice 等进行了真菌产几丁质酶和超高压单独或协同处理毛霉 (*Mucor plumbeus*) 孢子的研究，其几丁质酶产自微紫青霉菌 P9 (*Penicillium janthinellum* P9)。研究表明，压力为 400MPa 处理时，即可完全抑制毛霉孢子的萌发和生长；单独使用浓度为 10U/ml 的真菌产几丁质酶也可完全抑制毛霉孢子的萌发生长；浓度为 1U/ml 的几丁质和超高压处理同时作用时，完全抑制毛霉孢子萌发生长的压力降为 300MPa。而单独进行压力为 300MPa 的超高压处理毛霉孢子只减少 1.5log。Lorito 和 Schirmbock 等人也做过类似的研究，得出几丁质酶协同超高压杀菌处理效果明显。

溶菌酶

溶菌酶有较好的协同灭菌作用，当介质中溶菌酶浓度为 2000IU 时、在 300MPa 下灭菌 15min，嗜热脂肪芽孢杆菌残留可下降 5 个数量级。

其它抑菌剂

抗菌肽、蛋白酶、山梨酸钾等与超高压协同灭菌都有较好的效果，而且不同的抑菌剂混合使用时，互相又有增效作用。因此，采用超高压处理与抑菌剂结合既可解决压力增大所带来的设备体积和成本增大的要求，减少防腐剂的用量，又可达到良好的杀灭微生物效果，是一种较好的食品高压杀菌的工艺条件，其弊端是仍要使用一些抑菌剂，与采用高压杀菌的宗旨“无添加剂”有矛盾，但对于一些较难杀灭的微生物此种方法仍具可行性。

4 调整食品成分、配料及其工艺

食品中采用超高压杀菌在很大程度上还取决于食品成分和其它食品属性如酸碱度、水分活度等因素。因此我们在实际应用超高压技术时，要进行具体研究后再对某种特定食品的安全保藏进行合理的超高压处理设计。

1991年ltoover等发现，23℃高压处理生乳60min，乳中单细胞增生李斯特氏菌的致死量达 10^6 cfu / ml，还发现高压处理时，单细胞李斯特氏菌在乳中比在磷酸盐缓冲液中易受到保护。

Kajyama等人用大肠杆菌菌悬液做超高压试验，发现当基质中有50%的豆油或猪油时，400MPa灭菌分别需15或10min；当菌种置于油—蛋白质形成的乳浊液中，则加压时间要延长至30min。Metrick将鸡肉培养基中的沙门氏菌暴露在340MPa的环境中，加压90min仍不能完全灭活，这主要是由于脂肪、蛋白质等大分子有机物具有缓冲保护功能，丰富的营养基促进微生物的伤修复。Robert报道pH4—7的范围内，以pH4对凝结芽孢杆菌的压力致死效果最好。林欣榜检测加压后的瓜花汁，发现pH3.9时灭菌效果强于pH4.7。

5 超声协同超高压杀菌

Lee等人对接种李斯特菌(*Listeria seeligeri*)和大肠杆菌(*E. coli*)DH 5a的液态鸡蛋进行了超声波与超高压结合处理研究。在超高压处理前进行强度分别为24.6、34.6和42.0W、时间为30~300s的超声波处理。经检验，在以上参数条件下的超声波处理造成 $< 10^{\circ}\text{C}$ 的温升，并且对李斯特菌(*Listeria seeligeri*)基本不造成损害；而对大肠杆菌(*E. coli*)DH 5a当超声波辐照时间超过150s时会造成大约0.5log的下降。超声波处理后立刻进行压力、保压时间分别为250MPa、886s和300MPa、200s，试样温度均为5℃。实验结果表明，相对于单

独超高压处理仅有造成上述两个菌种0.1~0.5log的附加下降，超声波联合对超高压杀菌增强效果不显著。

Sala 等人研究了超声波、加热以及超声波、加热和超高压联合作用的杀菌处理。结果表明，结合有利于杀灭各种微生物，并且认为这种杀菌作用表现为非实时性的，即具有延时损伤作用。损伤的部位包括细胞壁、细胞质膜或者是DNA，指出精确的破坏机制还有待进一步研究。

6 微波协同超高压杀菌

有人对嗜热脂肪芽孢杆菌孢子进行微波协同超高压杀菌的研究，据说加压前微波预热处理比加压后微波处理的杀菌效果好。

7 CO₂ 和超临界CO₂ 的协同高压杀菌

Corwin 等人把2mmolPL的CO₂充入橙汁，用500MPa的压力处理，果胶甲酯酶的活性比单独用500MPa 压力的能更进一步地钝化，在500~800MPa下，CO₂也同样能显著地降低多酚氧化酶的活性。Park等人进一步利用高压CO₂和高压技术相结合的方法处理胡萝卜汁，结果表明419MPa二氧化碳和300MPa高静水压结合处理可使需氧菌完全失活，多酚氧化酶、脂肪氧化酶、果胶甲酯酶残留活性分别低于11.13%、81.3%、35.11%，高静水压并不影响胡萝卜汁的浊度和色泽，但这种结合处理对胡萝卜汁的品质有些影响。

有些食品不仅含有大量热敏性物质，不能耐受高温，而且也不能耐受太高的压力，如芦笋等，压力太大将影响其质构，生脆口感消失。CO₂的超临界流体临界温度T_c=31.3℃、临界压力P_c=7.38MPa，而且具有无毒无味、安全、来源方便等优点，是最常用的一种超临界流体。利用CO₂或者超临界CO₂流体协同加压进行杀菌处理，压力不高(相对超高压杀菌要求压力)，成本较低，前景广阔。

Spilimbergo等对悬浮在生理盐水中浓度为10 cfu/ml 的枯草芽孢杆菌芽孢，在温度为36~75℃、压力为70~150bar、保压时间1~24h 的条件下进行杀菌处理。单独进行60℃、24h加热处理枯草芽孢杆菌芽孢安然无恙，芽孢无一灭活；但是在60℃、70bar、保压24h超临界CO₂处理，所有芽孢全部灭活。单独进行75℃、24h加热处理只有部分芽孢灭活；而在75℃、70bar、保压2 h 超临界CO₂处理，所有芽孢全部灭活。

Erkmen对处于肉汤和牛奶中的金黄色葡萄球菌(*Staphylococcus aureus*) 27690, 在25℃、7~14.6MPa之间进行了高压CO₂(温度低于31.3℃未达到超临界状态)杀菌处理。试验结果表明, 杀菌动力学曲线表现出两个明显不同的阶段, 处理前期杀菌速度很慢; 后期杀菌速度迅速增加。在7MPa、100min和8MPa、60min 两种处理条件下, 肉汤中的金黄色葡萄球菌完全被杀灭。在14.6MPa、5h 和9MPa、2h 两种处理条件下, 全脂牛奶和脱脂牛奶中的金黄色葡萄球菌则只能部分杀灭。Erkmen 认为是因为牛奶阻止了CO₂渗透进入微生物细胞所致; 并且认为金黄色葡萄球菌及需氧微生物对压力、保压时间和微生物的悬浮基质都非常敏感。

Spilimbergo 等对铜绿假单胞菌(*Pseudomonasaeruginosa*)、枯草芽孢杆菌(*Bacillus subtilis*)和枯草芽孢杆菌孢子(Spores of *B. subtilis*)进行了超临界CO₂流体的杀菌试验研究。在74bar、38℃、保压时间为2.5~30min 的条件下, 革兰氏阴性的铜绿假单胞菌和革兰氏阳性的枯草芽孢杆菌的活菌计数下降7log (即7个数量级)以上。在200bar、54℃、保压时间为30~90min 的条件下枯草芽孢杆菌芽孢活孢子计数仅下降不到1log; 但是在70bar、75℃、保压时间为24h 的条件下, 活孢子计数下降达到7log 以上。说明温度和保压时间是杀灭芽孢的关键影响因子。

Spilimbergo 等认为, 超临界CO₂流体的杀菌机理包括: (1) CO₂方便快速地溶入微生物液体基质中形成碳酸, 降低了液体基质的pH0.5 左右, 从而抑制了微生物的生长和微生物细胞的新陈代谢, 削弱了微生物的命力。(2) CO₂迅速渗透到微生物细胞的双磷脂分子膜层改变其流变性能, 同样降低细胞内的pH值, 导致细胞膜层的酶变性失活, 影响跨膜离子、氨基酸和短肽等细胞新陈代谢物质的传递运输, 造成细胞质的外泄。为了说明上述作用, 还计算了不同温度下CO₂在磷脂中的溶解量变化, 结果证明, 其溶解量随温度增高而增加。

8 电协同超高压杀菌

细菌细胞的酶系、电荷分布、电子传递等是维系细菌生存的重要因素。高压下微生物在细胞膜附近的酶系受到影响, 蛋白质、核酸、多糖类等生物大分子的非共价键被干扰, 立体结构破坏, 失去机能。若高压与交流电组合, 则会产生菌体表层成分的化学修饰和菌体内成分渗出的现象, 促进菌体死亡。岛田(1990)

等人的研究表明，仅通电不加压时，菌体生存率减少的程度与非通电菌体相当。大肠杆菌在通电时加压，可以提高其致死效果。

9 冷冻浓缩

桑野(1994)等人将冷冻浓缩与高压处理结合起来，无需添加助凝剂就可获得很好的牛乳凝乳，液态食品加压处理后在保持无菌的条件下降压，然后配合其他无菌工序装填也应成为高压应用的努力方向。