

过滤去除 TAB

使用深层过滤纸板除掉果汁和浓缩果汁中的脂环酸芽孢杆菌

在今天的果汁行业，安全理念与公司的产品质量密切相关。就这一点而言，产品质量在很大程度上取决于水果质量和加工方法。水果采收过程带入的微生物，从生产环境中进入的微生物，在果汁或浓缩果汁运输或储存过程中进入的微生物，都可能使果汁变质。但是，在这些过程中进入产品的这些微生物并不一定会使产品腐败。果汁中的多种因素，如低 pH 值和高渗透压，对大多数自然存在的微生物菌群的生长具有抑制作用，自然而然地防止了这些微生物大量繁殖。然而，有些微生物的繁殖是这些因素无法防止的，这就会影响产品的口味或使产品变质。

pH 值和高温——灭菌工具

大多数果汁的 pH 值介于酸性的 3.0 ~ 4.0 之间。大多数细菌喜欢中性或碱性的生活环境，这为大多数果汁提供了天然保护。为了延长产品保质期，澄清的果汁和浓缩果汁通常需要经过巴氏灭菌处理来防止微生物繁殖。这个过程是在 15 ~ 20 s 内将果汁加热到 90 ~ 95℃，这会杀死大多数细菌，从而获取微生物稳定性。下一步“热灌装-热保持”工艺保证了零售产品的微生物稳定性。刚刚经过巴氏灭菌的果汁在 82 ~ 92℃ 被灌装到无菌容器中。在此温度下继续维持两分钟或更长时间后再冷却。

脂环酸芽孢杆菌：一个特殊挑战

一个例外是嗜酸耐热菌的内生芽孢。国际果汁联合会 (IFU) 使用缩略词 TAB (thermo acidophilic bacteria)。典型的脂环酸芽孢杆菌是体型大、不会运动，可以生成芽孢的细菌。与其他大多数细菌不同，TAB 是一种嗜酸耐热菌：巴氏灭菌的持续时间、温度和后续保持温度和时间不足以杀死该细菌的孢子（抗逆休眠体）。生产中将巴氏灭菌处理时间延长几倍，至 1 ~ 5.5 min，大家认为这样可以杀死孢子。但这有两个严重缺点：首先，延长果汁/浓缩果汁的加热时间会使其质量受损。其次，如果巴氏灭菌

本文作者：Ilona Schneider 博士，就职于德国 Langenlonsheim 的 Eaton Technologies GmbH

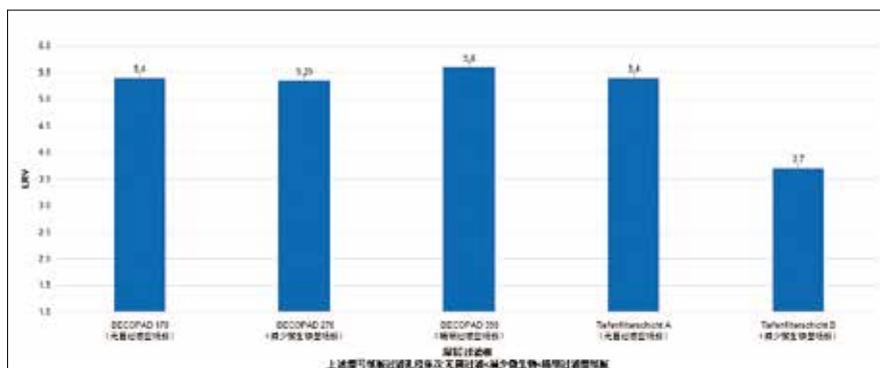


图 1 不同过滤纸板对 TAB 孢子过滤效果 LRV 比较

时间较长，会刺激嗜热细菌孢子发芽。这好比对孢子实行了热激处理^[1]。

孢子的高耐酸性也有助于维持受污染果汁中孢子数目在长时间保存时（多于 40 天）保持不变甚至增长^[2]。到目前为止，果汁的低 pH 值是否能够降低孢子活性还没有得到实验证实。在不进行冷却、尤其是在较高环境温度下保存的产品中，孢子萌发后迅速生长^[3]。在这个过程中，非常低的初始含菌量（1 孢子/毫升）就足以导致孢子发芽细菌大量繁殖。最终受污染的产品将腐败变质。饮料行业对此是零容忍的。

由于脂环酸芽孢杆菌并不会危害健康，这种情况下的变坏只意味着产品产生异味^[4]。受到脂环酸芽孢杆菌污染的果汁和浓缩果汁，最明显的表现是产生异味（愈创木酚、2,6-二氯苯酚和 2,6-二溴苯酚）。这些异味被描述成药房味、消毒剂味、防腐剂味、苯酚味或烟熏味^[5]。然而，并不是所有的脂环

酸芽孢杆菌都能产生异味。现在已知能够导致产生异味的脂环酸芽孢杆菌有 18 种。已证明，导致产生异味的最普遍种是 Alicyclobacillus acidoterrestris，以及 Alicyclobacillus acidophilus、Alicyclobacillus herbarius 等其他种的脂环酸芽孢杆菌^[6]。Alicyclobacillus acidoterrestris 是最常见且最能导致产生异味的细菌。如果受到这种细菌污染，上述代谢产物会导致果汁不适合饮用，但不会危害健康。外观上质量的变化是看不到的，因为既没有颜色的变化，也没有任何气体的形成。

解决方案：用深层过滤板去除孢子

传统的巴氏灭菌和超滤不足以除去果汁生产中的酸土脂环酸芽孢杆菌 (Alicyclobacillus acidoterrestris)。为了寻找替代方案，德国伊顿技术有限公司 (Eaton Technologies) 实验室委托利珀大学 (Hochschule Lippe) 对孢子悬液做了过

滤去除试验。目的之一是证明深层过滤板的有效性，目的之二是为去除果汁或半浓缩果汁及全浓缩果汁中的 TAB 提供具体可操作建议。

为了实现这两个目的，首先要测定深层过滤板对 TAB 孢子的菌体滞留率 LRV (对数减少值)。测定 LRV 是一个繁琐的过程，需要 5 天时间。对此实验伊顿技术有限公司 (Eaton Technologies) 定义 $LRV \geq 5$ 即判定达到无菌效果。LRV ≥ 5 的意思是说在未经过滤的液体中初始菌体浓度为 $\geq 10^5$ cfu (菌落生长个数) /mL, 经过纸板过滤后降低至零个。

试验过程和结果

在试验室中，对酸土脂环酸芽孢杆菌的孢子悬浮液进行了过滤。整个实验共对 5 个具有 3 种不同滞留率的深层过滤板进行了试验：

- 用于无菌过滤的两个深层过滤板 (伊顿的 BECOPAD[®] 170 和一名竞争对手的深层过滤板 A)；

- 用于减少微生物的两个深层过滤板 (伊顿的 BECOPAD 270 和一名竞争对手的深层过滤板 B)；

- 更粗一点的用于精细过滤的深层过滤板 BECOPAD 350。

必须指出的是，在饮料行业中，“无菌”的定义只是指没有对饮料有害的细菌。为进行公平的比较，选择的深层过滤板 A 和 B 与 BECOPAD 深层过滤板尽可能相似。所有的过滤试验都进行了两次。过滤流速与实际生产保持一致，500 L/m²/h。

根据国际果汁联合会 (IFU) 的培养方法 12(2012)，对从天然花蜜中选择的一株野生酸土脂环酸芽孢杆菌在 BAT 培养液 (脂环酸芽孢杆菌培养液) 中进行培养。培养完成后测得的孢子浓度在 1.1 到 5.6×10^5 cfu/ml 之间。用此培养液测定各种深层过滤板的菌体滞留率。

试验结果 (图 1) 非常令人意外。用于无菌过滤的两个深层过滤板 BECOPAD 170 和 A，甚至更粗一点的 BECOPAD 270 (用于减少微生物，比 BECOPAD 170 粗

一点) 和 BECOPAD 350 (用于精细过滤，比 BECOPAD 270 更粗一点) 的过滤结果显示，LRV 明显大于 5。只有用于减少微生物的深层过滤板 B 表现差一点，LRV 为 3.7。这些结果为早期的系列试验提供了支持。在早期试验中，过滤孔径更开放的 BECOPAD 270 和 350 已经达到很高的 LRV，菌体滞留率比含有其他过滤材料 (如硅藻土) 的深层过滤板高了多达 100 倍。^[6] 这些结果对工业应用来说具有特别的意义，因为它们表明，TAB 孢子可以通过深层过滤板去除，并让人们认为，并不一定需要用于无菌过滤的深层过滤板才能有效过滤掉 TAB。试验结果表明，也可以使用允许更高流量的 BECOPAD 270 和 350 等更粗一点的深层过滤板。

深层过滤板 B (LRV 3.7) 和 BECOPAD 270 (LRV 5.35) 的微生物滤除性能有非常显著的差异。这表明，不仅深层过滤板的成份，它的加工过程、结构对分离酸土脂环酸芽孢杆菌也起了重要作用。

适合过滤 TAB 的过滤板——对生产过程的推荐

伊顿的 BECOPAD 深层过滤板不添加任何矿物成分 (如硅藻土)，已在饮料行业成功应用了十多年，也可用于分离 TAB，实验室试验已证明这一点。

为了使实验室的试验结果在实际中得以应用，综合伊顿多年来在果汁和浓缩果汁安全生产的经验和一般工业标准我们推荐如下工艺条件：最大过滤流量为 500 L/m²/h，最高过滤温度为 80℃，最大压差为 1.5 bar。对孢子浓度的测定非常重要。在酸土脂环酸芽孢杆菌孢子的初始浓度 $\geq 10^5$ cfu/mL 时，在使用经试验的 BECOPAD 170、270 和 350 深层过滤板 (LRV ≥ 5) 过滤后，不会再检测到任何残留孢子，这表明这些深层过滤板非常适合这种应用。

在初始孢子浓度更高，即 $> 5.6 \times 10^5$ cfu/mL 时，有两种选择：降低过滤流量滞留更多的孢子，或者进行两次过滤，后者较为安全。在这个过程中，使用深层过滤板进行预过滤，目的



是减少浑浊物质和将菌体浓度至少降到 10^5 cfu/mL。考虑到成本和效率，我们在这里建议，根据污染程度，使用 BECOPAD 550 (粗滤)、BECOPAD 450 (澄清过滤)、甚至 BECOPAD 350 深层过滤板 (精细过滤) 等进行预过滤。在将浑浊物质成功减少到 1 NTU (浊度单位) 后，可以使用 LRV ≥ 5 的其中任何一种经试验的 BECOPAD 深层过滤板。无论采用何种方法，都必须确保过滤后的果汁或浓缩果汁不会在下游工艺步骤中接触到任何污染物质，以避免在储存或运输过程中发生二次污染。■

【参考文献】

- [1] Keweloh, Heribert, 《食品中的微生物：理论与实践》，第二版，Haan-Gruiten, 2008.
- [2] Juan Martín Oteiza, Silvina Soto, Verónica Ortiz Alvarenga, Anderson S. Sant'Ana, Leda Giannuzzi, 《国际食品微生物学杂志》，《由于破坏性脂环酸芽孢杆菌的作用，香精成为果汁和饮料的新污染源》(2014) 172, 第 119-124 页.
- [3] Cerny G., Hennlich W., Poralla K., 《由杆菌引起的果汁变质——破坏性微生物的分离和特性描述》，《食品科学的调查与研究》(1984), 179, 第 224-227 页.
- [4] Juan Martín Oteiza, Gastón Ares, Anderson S. Sant'Ana, Silvina Soto, Leda Giannuzzi, 《使用多变量分析法评估脂环酸芽孢杆菌在阿根廷市场销售的浓缩果汁中的产生率：14 年调查结果》，《国际食品微生物学杂志》，(2011)151 (2), 第 229-234 页.
- [5] Yue Tianli, Zhang Jiangbo, Yuan Yahong, 《由脂环酸芽孢杆菌引起的果汁和饮料产品的变质：化学、物理和联合控制法》，《食品科学和食品安全综合评述》，2014, 第 13 (5) 卷, 第 771-1123 页.
- [6] Junker Rainer, 《Fruchtsaft Ein Kompendium》，Eaton Technologies GmbH, 2014-2017, 第 97 页.