

林婷婷, 孙芝兰, 刘芳, 等. 微酸性电解水对产气荚膜梭菌芽孢的杀灭效果及作用机制[J]. 江苏农业学报, 2023, 39(8): 1755-1761.
doi:10.3969/j.issn.1000-4440.2023.08.016

微酸性电解水对产气荚膜梭菌芽孢的杀灭效果及作用机制

林婷婷^{1,2}, 孙芝兰², 刘芳², 吴海虹¹, 张春红¹, 王道营^{1,2}

(1. 沈阳农业大学食品学院, 辽宁 沈阳 110866; 2. 江苏省农业科学院农产品加工研究所, 江苏 南京 210014)

摘要: 微酸性电解水(SAEW)是一种安全有效的新型杀菌剂。本研究分析了 SAEW 对产气荚膜梭菌芽孢的杀灭效果,并研究了其杀灭芽孢的作用机制。结果显示,10 mg/L、20 mg/L 和 30 mg/L SAEW 处理 30 min 后产气荚膜梭菌芽孢存活数明显降低,SAEW 杀灭效果明显。并且 40 mg/L SAEW 处理 5 min 就可以完全灭活芽孢。扫描电子显微镜观察结果表明,质量浓度为 40 mg/L SAEW 处理可使芽孢干瘪皱缩,失去原本饱满的芽孢形态。激光共聚焦显微镜观察结果显示,与对照组相比,40 mg/L SAEW 处理过的芽孢均呈现红色,说明芽孢的外膜被 SAEW 破坏,并且芽孢全部死亡。相同处理时间,随着 SAEW 质量浓度的不断提高,芽孢的疏水性不断降低, Zeta-电位绝对值和粒径不断变小,并且芽孢内核物质 DPA 大量释放,这说明 SAEW 处理破坏了芽孢的内膜结构。因此,SEAM 可通过破坏芽孢的内膜结构及外层结构达到杀灭效果。

关键词: 微酸性电解水; 产气荚膜梭菌; 芽孢

中图分类号: TS201.6 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-4440(2023)08-1755-07

Bactericidal effect and mechanism of action of slightly acidic electrolyzed water on *Clostridium perfringens* spores

LIN Ting-ting^{1,2}, SUN Zhi-lan², LIU Fang², WU Hai-hong¹, ZHANG Chun-hong¹, WANG Dao-ying^{1,2}

(1. College of Food Science, Shenyang Agricultural University, Shenyang 110866, China; 2. Institute of Agricultural Products Processing, Jiangsu Academy of Agricultural Sciences, Nanjing 210014, China)

Abstract: Slightly acidic electrolyzed water (SAEW) is a new safe and effective bactericide. In this study, the bactericidal effect of SAEW on *Clostridium perfringens* spores was analyzed, and the mechanism of its action in killing the spores was studied. The results showed that the survival number of *Clostridium perfringens* spores decreased significantly after 30 minutes of treatment with 10 mg/L, 20 mg/L, and 30 mg/L SAEW, indicating a significant bactericidal effect. Moreover, the *C. perfringens* spores were completely inactivated after treatment with 40 mg/L SAEW for 5 min. Scanning electron microscopy results showed that treatment with 40 mg/L SAEW could make the spores shrivel and shrink. Confocal laser scanning microscopy showed that all the SAEW-treated spores at 40 mg/L showed red color compared with the control group, indicating that the outer membrane of the spores was destroyed by SAEW, and all the spores died. With the increasing of SAEW concentration, the hydrophobicity of spores decreased, the absolute value of zeta-potential and particle size became smaller, and the

spore core substance DPA was released more and more, which indicated that SAEW treatment disrupted the inner membrane structure of the spores. Therefore, SAEM can achieve bactericidal effect by disrupting the inner membrane structure and outer structure of spores.

Key words: slightly acidic electrolyzed water; *Clostridium perfringens*; spores

收稿日期: 2022-10-18

基金项目: 江苏省农业科技自主创新基金项目[CX(22)2044]

作者简介: 林婷婷(1996-), 女, 河南信阳人, 硕士研究生, 研究方向为食品微生物。(E-mail) Ltt9625@163.com

通讯作者: 吴海虹, (E-mail) 305087638@qq.com; 张春红, (E-mail) zhangchsy@163.com

产气荚膜梭菌 (*Clostridium perfringens*) 是一种可产芽孢、形成生物被膜的革兰氏阳性条件致病菌,普遍存在于自然环境中,尤其是存在于人和动物肠道内以及土壤中^[1]。该菌有分解动植物体内大部分糖分的能力,并且产生气体和毒素,因此称为产气荚膜梭菌^[2]。该菌体积较大,呈杆状,其芽孢经常位于菌体两端,对于特殊条件的抵抗力,芽孢比营养体更强。产气荚膜梭菌可形成芽孢,芽孢内部含水量极低,条件不适宜时,会形成休眠体,且休眠体对外界环境的改变抵抗性极强^[3]。待到外界环境适宜时,芽孢便会萌发,此时就会污染所处的环境,由于芽孢致病性极强,因此常常造成巨大的经济损失^[4]。据统计,每年因为产气荚膜梭菌导致的坏死性肠炎给全球畜牧业造成的经济损失高达 2.0×10^9 美元^[5]。高温、强酸、强碱、高压等条件都不足以灭活芽孢,所以普通杀菌条件并不能杀死芽孢,因此可以选择协同灭菌方法去灭活芽孢。

微酸性电解水 (Slight acidic electrolyzed water, SAEW) 是指 pH 为 5.0~6.5、有效氯质量浓度为 10~90 mg/L 的电解水^[6]。SAEW 具有杀菌范围广、杀菌效果显著、对人体和环境无害、获取方法简便等众多优势,所以被用于食品、农业、医疗等领域^[7]。研究结果显示,SAEW 对水产品表面的有害菌例如单增李斯特菌具有良好的灭活作用^[8]。Okanda 等^[9]利用 SAEW 对生菜进行冲洗和浸泡处理,结果显示其有较好的杀菌效果。刘如霆等^[10]研究 SAEW 对净化太平洋牡蛎的杀菌效果,与未经 SAEW 处理的对照组太平洋牡蛎相比,经过 SAEW 处理的太平洋牡蛎的菌落总数显著降低,并且在之后的暂养过程中也呈现良好的抑菌效果。

产气荚膜梭菌在现实生活中严重影响食品安全,由于其污染的范围广、污染种类多、污染途径多,并且其产生的毒素对人类和畜禽都有巨大的毒性。因此控制与消除产气荚膜梭菌污染对保证食品安全至关重要。本试验主要研究不同质量浓度的 SAEW 对产气荚膜梭菌芽孢的杀灭效果,并探索了 SAEW 对产气荚膜梭菌芽孢的灭活机制,为食品和其他领域提供一种新的灭活产气荚膜梭菌芽孢的思路。

1 材料与方法

1.1 产气荚膜梭菌芽孢的制备

产气荚膜梭菌 C1 是从实验室购买的生鸡中获

取的,并通过 16S rRNA 测序确定其准确性。将产气荚膜梭菌 C1 接入到胰蛋白胨葡萄糖酵母浸膏肉汤培养基 (TPGY) 中,放入厌氧罐厌氧培养 24 h。参考 Juneja 等^[11]的方法,将上述培养基里的 0.1 ml 产气荚膜梭菌 C1 菌液接入新鲜制备的 10 ml 液体硫乙醇酸盐培养基 (FTG) 中,75 °C 水浴激活 20 min,冷却后放入厌氧罐厌氧培养 18 h。再从刚才培养的 FTG 中吸取 1 ml 接入新 1 支液体硫乙醇酸盐培养基中,厌氧培养 4 h,之后再重复上述步骤 1 次。然后将 FTG 中的菌体接入新鲜制备的邓肯 (Duncan strong, DS) 强培养基中。放入厌氧罐厌氧培养 3 d。将培养好的产气荚膜梭菌芽孢进行离心,4 °C 下 10 000 g 离心 10 min,反复离心 3 次。将离心好的芽孢保存在无菌水中并存放在 4 °C 冰箱中。用光学显微镜计数来测定孢子的含量。首先,取 10 ml 培养液到载玻片上涂抹、干燥并固定,然后加入 3~5 滴孔雀绿染色液,加热染色液使其变热,但不煮沸,在染色溶液出现热蒸汽 4~5 min 后,倒出染色溶液并洗涤,之后在光学显微镜下观察孢子。

1.2 微酸性电解水 (SAEW) 的制备与试验设计

SAEW 是利用一个电解水装置 (HD-240L, 上海旺普贸易有限公司产品) 制备的,制备的 SAEW 质量浓度分别为 10 mg/L、20 mg/L、30 mg/L 和 40 mg/L。采用 Seven Mult pH 计对 SAEW 的 pH 值进行测定,利用碘量法测定其有效氯浓度。将培养好的产气荚膜梭菌芽孢和不同质量浓度的 SAEW 等量混合处理 5 min、15 min、30 min。产气荚膜梭菌芽孢的初始含量在 1×10^5 CFU/ml 左右,加入 SAEW 后芽孢的含量为 1×10^4 CFU/ml 左右。SAEW 处理之后,进行梯度稀释,吸取等量的菌液接入 FTG 中进行厌氧培养,如在 FTG 中澄清透明说明芽孢被完全灭活,如在平板上未形成菌落,FTG 中有絮状物和气泡产生,则低于检测限以下。

1.3 产气荚膜梭菌芽孢形态变化观察

使用扫描电子显微镜对经过 SAEW 处理的产气荚膜梭菌芽孢形态变化进行观察。参考前人的方法^[12],通过离心 (6 000 r/min, 10 min, 4 °C) 收集经过 SAEW 处理的产气荚膜梭菌的芽孢,使用 0.1 mol/L 磷酸缓冲盐溶液 (PBS) 洗涤 3 次。然后,加入 1 ml 2.5% 戊二醛溶液,芽孢在 4 °C 下固定 12 h,随后在不同体积分数 (50%、70%、80%、90%) 的乙醇中脱水,每个梯度 10 min,最后用 100% 无水乙醇脱

水3次,每次30 min。将脱水之后的芽孢悬浮于乙醇,吸取一定量到载玻片上并风干^[12]。将处理后的芽孢固定在金属载板上,然后进行喷金处理。制备后,用扫描电镜观察不同质量浓度 SAEW 对产气荚膜梭菌芽孢的表面形态的影响。

1.4 激光共聚焦显微镜观察芽孢通透性

产气荚膜梭菌芽孢经过方法 1.2 处理后,参考 Liu^[13]的方法,将芽孢以6 000 r/min离心 10 min,离心温度为 4 ℃。加入 0.1 mol/L PBS,用 LIVE/DEAD BacLight™活力试剂盒避光染色 30 min,之后,将样品以6 000 r/min离心 3 次,每次 5 min,离心温度设置为 4 ℃。最后加入 0.1 mol/L PBS 并混合均匀,用 Leica Ultra View VOX 共聚焦激光扫描显微镜观察芽孢的通透性。

1.5 2,6-吡啶二羧酸(DPA)释放率测定

参考 Alistair 等^[14]的方法并进行适当修改,用荧光分光光度计测定芽孢上清液荧光强度。根据方法 1.2 中的方法利用不同质量浓度的 SAEW 对芽孢进行试验处理,在10 000 r/min条件下离心 10 min,收集上清液。同时在 100 ℃下分别准备相同含量的芽孢进行水浴 1 h,测定的 2,6-吡啶二羧酸作为芽孢总 2,6-吡啶二羧酸(DPA)含量。激发波长为 270 nm,发射波长为 545 nm。通过以下公式计算 DPA 释放率:

$$\text{DPA 含量} = F_d / F_i \times 100\%$$

式中 DPA 含量是初始 DPA 的含量, F_d 是对照组产气荚膜梭菌芽孢释放的 DPA 的含量, F_i 为不同 SAEW 处理组产气荚膜梭菌芽孢中 DPA 的含量。

1.6 芽孢粒径和 Zeta-电位的测定

参考 Lyu 等^[15]和 Chen 等^[16]的方法并进行修改,对芽孢进行不同质量浓度的 SAEW 处理之后,采用 Nano-ZS 粒径分析仪对芽孢进行粒径和 Zeta-电位测量。测定之前开机进行自动调节参数,加样量超过容器体积的 3/4,每次换样前都用清水清理仪器,以蒸馏水作为空白对照。

1.7 疏水性的测定

根据 Lyu^[15]和 Noma 等^[17]的研究方法并稍作修改,首先对未处理和处理后的芽孢悬浮液进行测定,其在 600 nm 处的光度值记作 A_0 ,取 3.0 ml 芽孢悬浮液加入 0.5 ml 正十六烷涡旋混合,室温下静置 15 min,测定其上清液在 600 nm 处光度值记作 A_i ,芽孢疏水性(RSH)按照以下公式进行计算:

$$RSH = (A_0 - A_i) / A_0 \times 100\%$$

1.8 数据处理及分析

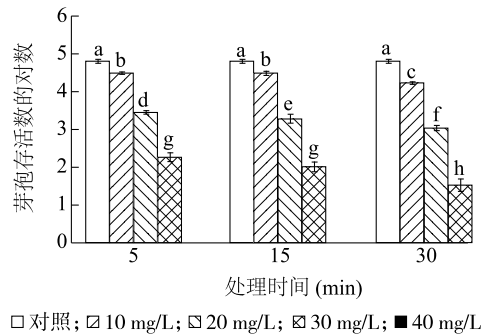
采用 Origin2019 作图,本试验的所有处理均重复 3 次,数据用平均值和标准差计算。使用 SPSS 软件通过单向方差分析(ANOVA)和 LSD 检验进行统计分析,其中组间显著性水平为 $P < 0.05$ 。

2 结果与分析

2.1 产气荚膜梭菌芽孢的灭活

为观察不同质量浓度 SAEW 处理对产气荚膜梭菌芽孢的作用效果,本试验选取 10 mg/L、20 mg/L、30 mg/L 的 SAEW 分别处理产气荚膜梭菌 5 min、15 min、30 min,比较不同质量浓度 SAEW 处理下产气荚膜梭菌芽孢的失活情况。由图 1 可知,微酸性电解水质量浓度越大,芽孢失活越明显。当 SAEW 处理质量浓度为 10 mg/L,处理 5 min、15 min 芽孢的失活效果没有明显区别,芽孢最大失活量为 4.31×10^4 CFU/ml;当 SAEW 质量浓度为 20 mg/L,处理 5 min 芽孢的失活量为 5.74×10^4 CFU/ml,处理 15 min 芽孢的失活量为 5.82×10^4 CFU/ml,当处理时间延长到 30 min,芽孢的失活量为 5.92×10^4 CFU/ml。结果显示,当微酸性电解水质量浓度为 20 mg/L 时,随着处理时间的延长,微酸性电解水处理灭活芽孢效果显著提高;当 SAEW 质量浓度为 30 mg/L,处理时间为 5 min,芽孢的失活量为 5.97×10^4 CFU/ml,当处理时间延长至 15 min 和 30 min,芽孢的失活量为 6.02×10^4 CFU/ml 和 6.03×10^4 CFU/ml。芽孢失活量与 SAEW 的质量浓度有关,与处理时间的关系紧密且随着时间的变化而变化;当 SAEW 质量浓度为 40 mg/L 时,芽孢在 5 min 内就全部失活,证明随着微酸性电解水处理时间的延长和微酸性电解水质量浓度提高,杀灭产气荚膜梭菌芽孢的效果越好。由以上结果得知,随着微酸性电解水质量浓度增加,微酸性电解水对产气荚膜梭菌芽孢的杀灭效果越强,这一结果与 Ni 等^[18]的研究结果相似。Han 等^[19]通过用有效氯质量浓度为 20~80 mg/L 的微酸性电解水,1~7 min 的处理时间单独处理生菜,可使生菜上的沙门氏菌减少一半的数量。Issa-Zacharia 等^[20]采用有效氯质量浓度为 21~22 mg/L 的 SAEW 对新鲜即食蔬菜和芽苗菜处理 15 min,并与用次氯酸钠处理的进行比较,结果显示 SAEW 处理比次氯酸钠处理显著($P < 0.05$)降低了芹菜、生菜和

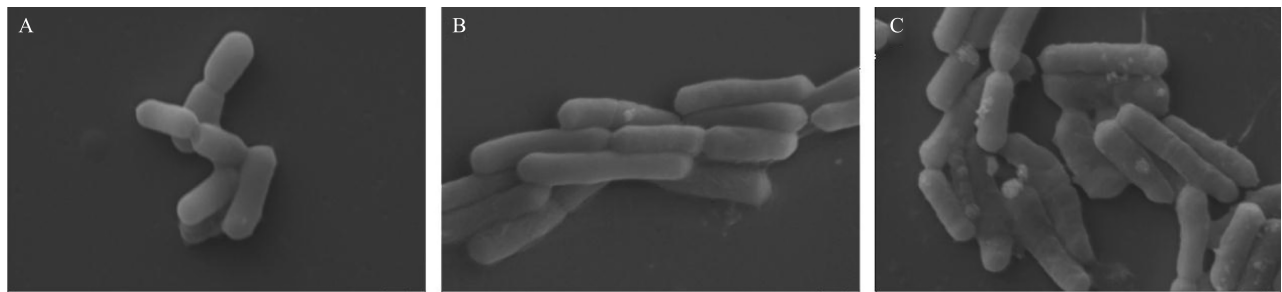
大白菜芽中大肠杆菌和沙门氏菌的数量。



图柱上不同小写字母表示处理间差异达 0.05 显著水平。

图 1 不同质量浓度微酸性电解水 (SAEW) 处理后产气荚膜梭菌芽孢的存活数

Fig.1 Survival number of *Clostridium perfringens* spores treated with different concentrations of slightly acidic electrolyzed water (SAEW)



A: 对照组; B: 20 mg/L 微酸性电解水处理 30 min; C: 40 mg/L 微酸性电解水处理 30 min。

图 2 不同处理下产气荚膜梭菌芽孢的扫描电子图

Fig.2 Scanning electron micrographs of *C. perfringens* spores under different treatments

2.3 芽孢通透性

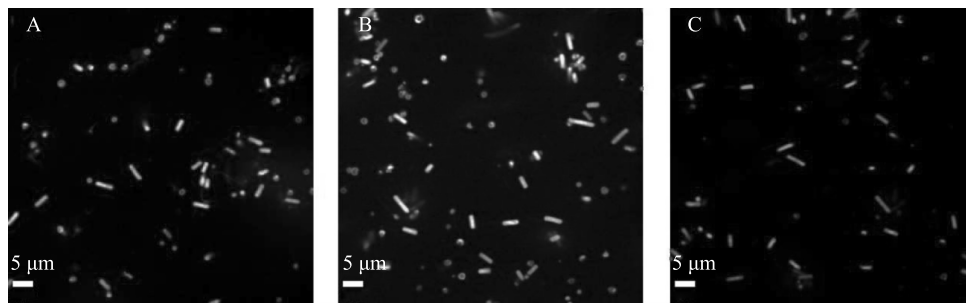
采用激光共聚焦显微镜分析不同质量浓度 SAEW 处理产气荚膜梭菌芽孢后细胞膜渗透性的变化 (图 3)。对照组的芽孢整体呈绿色 (图 3A), 这说明此时芽孢处于存活状态。经过 20 mg/L SAEW 处理 30 min 后, 有小部分芽孢呈现橙红色, 但大部分还是处于绿色 (图 3B), 这说明此时的芽孢有小部分处于死亡状态。经过 40 mg/L SAEW 处理 30 min 后, 大部分芽孢转变成红色 (图 3C), 可以看出芽孢此时大部分已经死亡。这一结果也与 SAEW 处理其他菌的结果相似, 如 Liu 等^[22] 用 30 mg/L SAEW 杀灭克雷伯菌, 在激光共聚焦显微镜下可以观察到 30 mg/L SAEW 处理下, 克雷伯菌大部分都变成了红色, 此时菌体处于被灭活状态。

2.2 芽孢形态

不同质量浓度的 SAEW 处理后, 产气荚膜梭菌芽孢的表观结构变化见如图 2。图 2A 显示, 未处理的芽孢表面光滑圆润, 没有任何的破损和褶皱。图 2B 呈现的是 20 mg/L SAEW 处理 30 min 后产气荚膜梭菌芽孢的状态, 芽孢表面仍未有明显变化, 说明此时的芽孢仍未受到严重伤害。图 2C 显示的是产气荚膜梭菌芽孢经过 40 mg/L SAEW 处理 30 min 后的形态。与对照组相比, 40 mg/L SAEW 处理 30 min 后芽孢形态发生明显变化, 芽孢表面出现褶皱, 芽孢外膜受到破坏, 表明 SAEW 对产气荚膜梭菌芽孢的外膜有破坏作用。梁铎^[21] 在微酸性电解水对李斯特菌进行抑菌作用的研究中发现, 对照组李斯特菌菌体完整, 表面光滑, 而经过 SAEW 处理的李斯特菌表面出现褶皱, 菌体变形, 菌体内容物也出现泄露。

2.4 2,6-吡啶二羧酸释放率

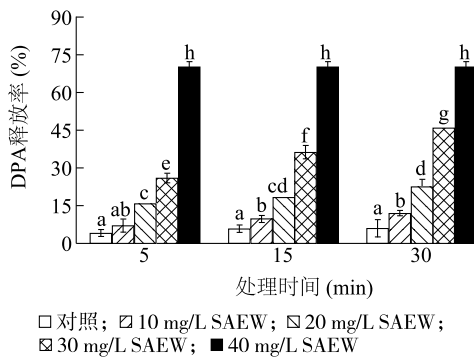
2,6-吡啶二羧酸 (DPA) 是细菌芽孢内核特有的物质, 当芽孢萌发或内核结构完整性受到破坏时, DPA 就被释放出来^[23-24]。不同质量浓度 SAEW 处理产气荚膜梭菌芽孢后其结构变化如图 4 所示, 未处理的芽孢 (对照) 结构较完整, 不能释放 DPA, 经过 10 mg/L SAEW 处理 15 min 后, 芽孢 DPA 释放率与对照组相比显著增加。经过 20 mg/L 和 30 mg/L SAEW 处理后, 尤其是 40 mg/L SAEW 处理后, 导致芽孢内 DPA 大量释放。从图 4 可知, 随着 SAEW 质量浓度的增加, DPA 的释放量也呈现不断上升的趋势 ($P < 0.05$)。说明, 微酸性电解水可能通过扩散作用穿透芽孢外衣, 破坏芽孢内膜, 导致芽孢内特有物质 DPA 大量释放。Fan 等^[25] 研究发现被超声联合热处理杀死的孢子在随后的热处理中比未处理的孢子更容易释放 DPA。



A:对照组;B:20 mg/L SAEW 处理 30 min;C:40 mg/L SAEW 处理 30 min。

图 3 不同质量浓度微酸性电解水 (SAEW) 处理后产气荚膜梭菌芽孢的激光共聚焦显微镜图

Fig.3 Confocal laser scanning micrographs of *C. perfringens* spores treated with different concentrations of slightly acidic electrolyzed water (SAEW)



图柱上不同小写字母表示处理间差异达 0.05 显著水平。

图 4 不同质量浓度微酸性电解水 (SAEW) 处理后产气荚膜梭菌芽孢 2,6-吡啶二羧酸 (DPA) 的释放率

Fig.4 Release rate of 2,6-pyridinedicarboxylic acid (DPA) from *C. perfringens* spores treated with different concentrations of slightly acidic electrolyzed water (SAEW)

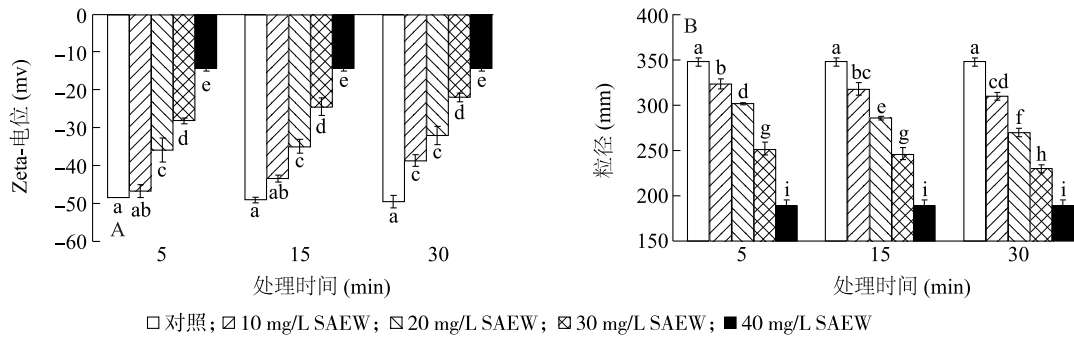
2.5 粒径和 Zeta-电位

不同质量浓度 SAEW 对产气荚膜梭菌芽孢的 Zeta-电位的影响如图 5A 所示,未经处理的芽孢 Zeta-电位的绝对值最高,经过不同质量浓度的 SAEW 处理后, Zeta-电位的绝对值出现下降的趋势。可能是在微酸性电解水处理过程中芽孢外层结构受到破坏,因此芽孢的 Zeta-电位下降^[17]。Zeta-电位的绝对值降低,可能是因为微酸性电解水通过扩散作用穿过芽孢外膜进入芽孢内部,使芽孢结构蛋白质发生变性,从而导致芽孢电位的绝对值降低^[26]。Lyu 等^[15]研究发现,蜡样芽孢的 Zeta-电位值在未处理和处理过的样品中均为负值。且随着超声波处理时间的增加而降低,这说明超声波处理破坏了芽孢的外层结构。

不同质量浓度 SAEW 对芽孢粒径的影响如图 5B 所示,与对照组相比,经过不同质量浓度 SAEW 处理的芽孢粒径变小,尤其是 40 mg/L SAEW 处理。经过 10 mg/L SAEW 处理 5 min 后,芽孢粒径与对照组相比显著缩小。20 mg/L SAEW 处理,随着处理时间的延长,芽孢粒径逐渐缩小 ($P < 0.05$)。经过 30 mg/L SAEW 处理后,芽孢的粒径比 10 mg/L 和 20 mg/L SAEW 处理缩小更加明显。用 40 mg/L SAEW 处理后,芽孢的粒径达到最小,这与芽孢残存数是一致的。图 5B 显示,相同处理时间,随着 SAEW 质量浓度的增加,芽孢的粒径呈现不断下降的趋势,这可能是因为芽孢被 SAEW 破坏了外层结构,因此芽孢粒径减小。樊丽华^[27]的研究结果显示,在超声波处理芽孢过程中,芽孢粒径变小,这可能是由于芽孢外层蛋白质在超声波处理中遭到破坏,从而导致芽孢粒径减小。

2.6 疏水性

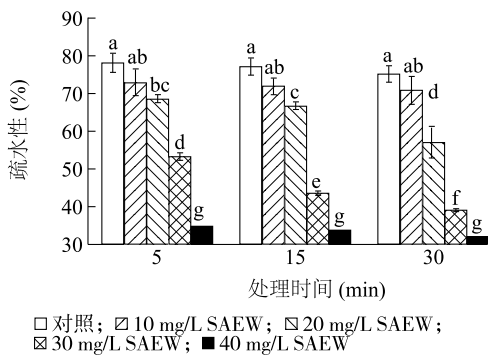
如图 6 所示,相同处理时间,随着 SAEW 处理质量浓度的升高,芽孢的疏水性总体上呈现下降的趋势。在 10 mg/L SAEW 处理下,芽孢疏水性变化不明显;在 30 mg/L SAEW 处理下,芽孢疏水性出现明显下降趋势。在 40 mg/L SAEW 处理下,芽孢疏水性较对照显著下降,但不随处理时间变化而变化。这说明 SAEW 处理芽孢会破坏芽孢外层结构蛋白质,引起芽孢结构发生不可逆改变进而影响芽孢疏水性。据报道,SAEW (有效氯质量浓度为 25.27 mg/L) 会破坏大肠杆菌和枯草芽孢杆菌的细胞膜^[28]。研究结果显示,这可能是由于 SAEW 中的有效成分通过芽孢外膜进入芽孢导致内部成分失活,芽孢自身抗性下降^[29]。



图柱上不同小写字母表示处理间差异达 0.05 显著水平。

图 5 不同质量浓度微酸性电解水 (SAEW) 处理对产气荚膜梭菌芽孢 Zeta-电位 (A) 和粒径 (B) 的影响

Fig.5 Effects of different concentrations of slightly acidic electrolyzed water (SAEW) on the zeta-potential (A) and particle size (B) of *C. perfringens* spores



图柱上不同小写字母表示处理间差异达 0.05 显著水平。

图 6 不同质量浓度微酸性电解水 (SAEW) 处理后产气荚膜梭菌芽孢疏水性变化

Fig.6 Changes in hydrophobicity of *C. perfringens* spores after treatment with different concentrations of slightly acidic electrolyzed water (SAEW)

3 结论

SAEW 处理质量浓度的不断增加可以有效缩短产气荚膜梭菌芽孢失活时间,破坏芽孢外层蛋白质中氨基酸带电荷量,从而导致芽孢 Zeta-电位绝对值降低,粒径下降,疏水性也随之下降低,导致芽孢内物质 DPA 大量释放,由此可知 SAEW 处理能使芽孢的内核结构崩溃。在扫描电镜下观察,可以明显看到在 SAEW 处理质量浓度为 40 mg/L 时芽孢的状态,芽孢整体结构遭到破坏,芽孢的表面变得粗糙甚至变形。SAEW 的杀灭效果与其自身的质量浓度及处理时间有关,在使用时,可根据不同食品类型的特点来确定。本研究结果为灭活产气荚膜梭菌芽孢提供了一定的科学依据,也为在那些不能高温灭菌的食

品上灭活芽孢提供了新方法。

参考文献:

- [1] ROOD J I, COLE S T. Molecular genetics and pathogenesis of *Clostridium perfringens* [J]. Microbiol Rev, 1991, 55 (4): 621-648.
- [2] CARMAN R J, SAYEED S, LI J H, et al. *Clostridium perfringens* toxin genotypes in the feces of healthy North Americans [J]. Anaerobe, 2008, 14 (2): 102-108.
- [3] CHRISTIE G, SETLOW P. *Bacillus* spore germination: knowns unknowns and what we need to learn [J]. Cellular Signalling, 2020, 74: 109729.
- [4] RAHAYU W P, FARDIAZ D, KARTIKA G D, et al. Estimation of economic loss due to food poisoning outbreaks [J]. Food Science and Biotechnology, 2016, 25 (5): 157-161.
- [5] 胡均, 张克英, 白世平, 等. 枯草芽孢杆菌对产气荚膜梭菌攻毒肉鸡生长性能和肠道健康的影响 [J]. 动物营养学报, 2019, 31 (5): 2127-2135.
- [6] 蓝蔚青, 刘琳, 孙晓红, 等. 酸性电解水发生机理及在水产领域中的应用研究进展 [J]. 食品与发酵工业, 2020, 46 (4): 294-298.
- [7] 唐志龙, ALERYANI H, 高晴, 等. 微酸性电解水凝胶对天麻鲜切片贮藏品质的影响 [J]. 食品安全质量检测学报, 2022, 13 (8): 2625-2632.
- [8] 梁凡, 杜明, 潘迎捷, 等. 酸性电解水对低温条件下单增李斯特菌杀灭效果 [J]. 上海海洋大学学报, 2022, 31 (6): 1570-1581.
- [9] OKANDA T, TAKAHASHI R, EHARA T, et al. Slightly acidic electrolyzed water disrupts biofilms and effectively disinfects *Pseudomonas aeruginosa* [J]. Journal of Infection and Chemotherapy, 2019, 25 (6): 452-457.
- [10] 刘如霆, 李紫薇, 马磊, 等. 微酸性电解水对净化太平洋牡蛎杀菌效果与品质和生理活性的影响 [J]. 食品科技, 2022, 47 (3): 125-133.

- [11] JUNEJA V K, CALL J E, MARMER B S, et al. The effect of temperature abuse on *Clostridium perfringens* in cooked turkey stored under air and vacuum [J]. Food Microbiology, 1994, 11(3): 187-193.
- [12] LUO W, WANG J Q, WANG Y, et al. Bacteriostatic effects of high-intensity ultrasonic treatment on *Bacillus subtilis* vegetative cells [J]. Ultrasonics Sonochemistry, 2021, 81: 105862.
- [13] LIU F, WANG F T, DU L H, et al. Antibacterial and antibiofilm activity of phenyllactic acid against *Enterobacter cloacae* [J]. Food Control, 2018, 84: 442-448.
- [14] ALISTAIR A, HINDLE, ELIZABETH A, et al. Dipicolinic acid (DPA) assay revisited and appraised for spore detection [J]. The Analyst, 1999, 124(11): 1599-1604.
- [15] LYU R, ZOU M M, CHEN W J, et al. Ultrasound: enhance the detachment of exosporium and decrease the hydrophobicity of *Bacillus cereus* spores [J]. LWT-Food Science and Technology, 2019, 116: 108473.
- [16] CHEN W J, ZOU M M, MA X B, et al. Co-encapsulation of EGCG and quercetin in liposomes for optimum antioxidant activity [J]. Journal of Food Science, 2019, 84(1): 111-120.
- [17] NOMA S, KIYOHARA K, HIROKADO R, et al. Increase in hydrophobicity of *Bacillus subtilis* spores by heat, hydrostatic pressure, and pressurized carbon dioxide treatments [J]. Journal of Bioscience and Bioengineering, 2018, 125(3): 327-332.
- [18] NI L, ZHENG W C, QIANG C, et al. Application of slightly acidic electrolyzed water for decontamination of stainless steel surfaces in animal transport vehicles [J]. Preventive Veterinary Medicine, 2016, 133: 42-51.
- [19] HAN R W, LIAO X Y, AI C M, et al. Sequential treatment with slightly acidic electrolyzed water (SAEW) and UVC light-emitting diodes (UVC-leds) for decontamination of *Salmonella typhimurium* on lettuce [J]. Food Control, 2020, 123(6): 107738.
- [20] ISSA-ZACHARIA A, KAMITANI Y, MIWA N, et al. Application of slightly acidic electrolyzed water as a potential non-thermal food sanitizer for decontamination of fresh ready-to-eat vegetables and sprouts [J]. Food Control, 2011, 22(3/4): 601-607.
- [21] 梁 铎. 微酸性电解水对单增李斯特菌的杀菌机制及应用研究[D]. 石家庄: 河北科技大学, 2019.
- [22] LIU F, TANG C, WANG D B, et al. The synergistic effects of phenyllactic acid and slightly acid electrolyzed water to effectively inactivate *Klebsiella oxytoca* planktonic and biofilm cells [J]. Food Control, 2020, 125(20): 107804.
- [23] DING T, XUAN X T, LI J, et al. Disinfection efficacy and mechanism of slightly acidic electrolyzed water on *Staphylococcus aureus* in pure culture [J]. Food Control, 2016, 60: 505-510.
- [24] 王一晓. 热和化学物质最佳诱导枯草杆菌芽孢萌发条件的研究[D]. 银川: 宁夏大学, 2016.
- [25] FAN L H, ISMAIL B B, HOU F R, et al. Thermosonication damages the inner membrane of *Bacillus subtilis* spores and impels their inactivation [J]. Food Research International, 2019, 125: 108514.
- [26] 刘文光, 李云芝, 孙福强, 等. 含氯消毒剂的碘量法分析[J]. 中国蚕业, 2005(1): 47-48.
- [27] 樊丽华. 超声波协同热失活 *Bacillus subtilis* 芽孢的机制研究[D]. 杭州: 浙江大学, 2021.
- [28] HAO J X, WU T J, LI H J, et al. Differences of bactericidal efficacy on *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, and *Bacillus subtilis* of slightly and strongly acidic electrolyzed water [J]. Food & Bioprocess Technology, 2016, 10(1): 155-164.
- [29] HAO J X, QIU S, LI H Y, et al. Roles of hydroxyl radicals in electrolyzed oxidizing water (EOW) for the inactivation of *Escherichia coli* [J]. International Journal of Food Microbiology, 2012, 155(3): 99-104.

(责任编辑:陈海霞)