

淀粉、脂肪、蛋白质和 NaCl 成分对 气态 ClO_2 杀菌效果的影响

Effects of starch, fat, protein and NaCl on antibacterial
activity of chlorine dioxide

毕秋芸

BI Qiu-yun

(淄博职业学院制药与生物工程系, 山东 淄博 255314)

(Department of Pharmaceutical and Bioengineering, Zibo Vocational Institute, Zibo, Shandong 255314, China)

摘要: 分别检测了几种食源性微生物革兰氏阴性菌、革兰氏阳性菌、酵母菌、霉菌孢子以及细菌芽孢, 在相对湿度为 90% 和 0.08 mg/L 气态 ClO_2 氛围下的敏感性。结果表明: 通过气态 ClO_2 处理, 5 种微生物平均减量 0.1 ~ 3.5 lg (CFU/cm²), 5 种微生物对气态 ClO_2 的抗性均呈逐渐增强。研究了食物中淀粉、脂肪、蛋白质和 NaCl 对气态 ClO_2 杀菌效果的影响。结果表明: 可溶性淀粉和 NaCl 均对 ClO_2 的杀菌效率没有显著影响; 但琼脂中的黄油、玉米油或乳清蛋白几乎消除了 ClO_2 的杀菌作用。气态 ClO_2 处理的玉米油水乳液中, 过氧化值显著增加, 表明形成了一级氧化产物。同样, 用 ClO_2 处理增加乳清蛋白中的巯基含量, 并诱导—SH 基团转变为—S—S—基团。结果表明, 气态的 ClO_2 对于富含碳水化合物的食物将是一种高效的强氧化杀菌剂, 但对高蛋白和脂肪类食物的杀菌效果有限。

关键词: 气态 ClO_2 ; 病原体; 腐败微生物; 杀菌效果; 氧化作用

Abstract: In this paper, the sensitivity of Gram-negative bacteria, Gram-positive bacteria, yeast, fungal spores and Bacillus cereus spores of several food borne microorganisms in the relative humidity of 90% and 0.08 mg/L gaseous ClO_2 was studied. The results showed that the resistance of Gram-negative bacteria, Gram-positive bacteria, yeast, fungal spores and Bacillus cereus spores to gaseous ClO_2 gradually increased. Through the treatment of gaseous ClO_2 , the average reduction of microorganism was 0.1 ~ 3.5 lg (CFU/cm²). At the same time, the effects

of starch, fat, protein and NaCl in food on the antibacterial activity of gaseous ClO_2 were also studied. Different concentrations of soluble starch, corn oil, butter, whey protein isolate and NaCl were added to the agar medium, and the Leuconostoc was inoculated to the agar plate, and then treated with ClO_2 . The results showed that soluble starch and NaCl had no significant effect on the antibacterial efficiency of ClO_2 . However, butter, corn oil or whey protein in agar almost eliminated the antibacterial effect of ClO_2 . The peroxide value of corn oil emulsion treated with gaseous ClO_2 increased significantly, indicating that the first oxidation product was formed. Similarly, treatment with ClO_2 can increase the carbonyl content of whey protein and induce the transformation of SH group to S-S-group. The results show that gaseous ClO_2 is an efficient decontamination agent for carbohydrate rich foods, but its decontamination effect for high protein and fat foods is limited.

Keywords: gaseous chlorine dioxide; pathogens; spoilage microorganism; decontamination of foods; oxidation of food components

二氧化氯(ClO_2)是一种具有独特气味的黄绿色气体^[1]。它极易溶于水并以非水解形式形成水溶液^[2]。 ClO_2 是一种应用范围较广的杀菌剂, 作为一种高选择性氧化剂, 由于其独特的单电子机制, 能攻击有机分子中富含电子的中心, 并被还原为亚氯酸根离子^[3], 其杀菌原理主要是对微生物细胞表面膜蛋白(包括参与运输的酶)进行氧化攻击^[4]。 ClO_2 能氧化酶中的巯基(—SH)和二硫化物(—S—S—), 使其生理功能失效。Young 等^[5]研究发现, 细胞膜的损伤会使枯草芽孢杆菌的孢子失活, 虽然受 ClO_2 氧化损伤的孢子可以萌发, 但不能继续生长发育。 ClO_2 主要以分子形式存在, 很容易穿透细菌细胞膜, 从而

基金项目: 山东省人文社会科学课题(编号: 14-ZC-ZF-14)

作者简介: 毕秋芸(1980—), 女, 淄博职业学院讲师, 硕士。

E-mail: 13869316969@163.com

收稿日期: 2020-07-06

改变跨膜离子梯度并抑制呼吸,同时 ClO_2 也会破坏微生物中的蛋白质合成^[6]。

气态 ClO_2 和 ClO_2 溶液作为消毒剂在食品杀菌领域应用非常广泛^[7]。作为一种消毒剂,气态 ClO_2 比 ClO_2 溶液具备更多的优势,具体表现在其高氧化能力,与有机物的反应性低,在低浓度和 pH 3.0~8.0 的范围内杀菌效率很高,并且不会与氨、腐殖酸或其他有机前体反应形成有害的氯胺、氯酚和三卤甲烷^[8]。 ClO_2 气体还具有很强的渗透性和强溶解性,使其能够尽可能地降低食品或与食品接触面的微生物含量^[9]。浓度、接触时间、相对湿度以及温度是影响气态 ClO_2 杀菌效果的主要因素^[10]。 ClO_2 的主要缺点是由它的不稳定性而形成的无机副产物,如亚硝酸盐和氯酸盐^[11]。

研究拟先确定各种食源性病原体 and 腐败微生物对气态 ClO_2 的敏感性。由于腌制肉类及黄瓜、胡萝卜等加工过的蔬菜变质与肠膜明串珠菌有关,因此以肠膜明串珠菌为测试对象,探究食品中脂肪、蛋白质、碳水化合物以及氯化钠等成分,对气态 ClO_2 杀菌效果的影响。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

食源性微生物革兰氏阴性菌、革兰氏阳性菌、霉菌孢子、细菌芽孢、酵母菌:中国药品生物制品检验所;

NaOH、HCl、KI、硫代硫酸钠:分析纯,成都西亚化工股份有限公司;

紫外/可见光光度计:Alpha-1900SPlus 型,上海谱元仪器有限公司;

离心机:5930 型,久保田商事株式会社;

显微镜:SteREO Discovery.V20 型,德国卡尔蔡司公司。

1.2 试验方法

1.2.1 菌株、孢子悬浮液的培养和制备 将细菌和酵母接种到 5 mL 无菌培养液中培养 48 h,取一环培养物转移到 5 mL 的肉汤中培养 24 h,然后将培养物保存在 7 °C 的琼脂斜面上。霉菌在 7 °C 的马铃薯葡萄糖琼脂上保存。分生孢子悬浮液通过将一些产孢菌丝体无菌转移到 Eppendorf 试管中而制成的,试管中分别填充有 1 g/L 细菌蛋白胨和 8.5 g/L NaCl 的无菌溶液,然后将 0.1 mL 分生孢子悬浮液分散在 PDA 平板上。通过 Marquenie 等^[12]的方法从培养皿中获得孢子。用 5 mL 无菌 0.3 g/100 mL 吐温-20 溶液洗涤每个平板,并用无菌玻璃棉过滤孢子悬浮液两次,去除菌丝碎片,然后,滤液在 3 700 × g 下离心 15 min。将沉淀的孢子重新悬浮于 4 mL pH 7.2 的无菌磷酸盐缓冲液(10 mmol/L)中。

为了制备蜡状芽孢杆菌孢子的悬浮液,按照 Gaillard 等^[13]的方法制备产孢培养基。分别将 1 mL 浓度

40 mg/L MnSO_4 灭菌溶液和浓度 100 mg/L CaCl_2 灭菌溶液添加到 1 L 的营养琼脂中,然后,倒入培养皿,接种 100 μL 经 24 h 培养的蜡样芽孢杆菌。温育 4 d 后,用无菌拭子刮平培养皿,用 10 mL 蛋白胨/NaCl 溶液摇匀。将孢子悬浮液加热至 80 °C 保持 10 min 以破坏营养细胞。最后通过显微镜检查孢子悬浮液的萌发孢子。

1.2.2 气态 ClO_2 处理 图 1 为 ClO_2 气体处理系统示意图,处理系统包括汽提塔、处理室和取样装置(图 1C)。汽提塔通过塑料管与处理室相连,处理室包含 12 个培养皿。通过温湿度计测量室内的温度和相对湿度。在左侧与采样设备建立了连接。穿孔管保证了室内 ClO_2 气体的分布。将用于处理的培养皿放置在入口管上方的穿孔塑料板上(图 1A 和 B)。柜盖中央的风扇保证了 ClO_2 的快速均匀分布。

12 个培养皿可以同时处理。每次处理前,通过 4 L/h 的热湿气流将处理室内的相对湿度调节至 90% 以上,温度控制为 (25 ± 3) °C。通过水浴法将 0.01% 的 ClO_2 溶液加热至 48 °C,并通过压缩空气将 ClO_2 从溶液中分离出来。每 0.5 min 对试验箱中的空气采用空气取样泵进行取样,以 1 L/min 的速率从试验箱中取出样品。在处理室和取样泵之间连续放置两个含有 25 mL 7 g/100 mL KI 缓冲溶液(pH 7.0)的洗涤瓶,使得含有 ClO_2 的空气被吸入碘化钾溶液。定量转移两个洗涤瓶的样品并添加 3 mL HCl (6 mol/L) 溶液,用 0.002 mol/L 硫代硫酸钠滴定混合物至无色终点,以 1 g/100 mL 可溶性淀粉为指示剂。

处理结束后,打开盖子,取出培养皿。在初步试验后选择 ClO_2 气体浓度和处理时间,以确定阈值并进行量化分析。

1.2.3 微生物对气态 ClO_2 的敏感性 分别在琼脂平板上接种 100 μL 的细菌、酵母菌、霉菌孢子悬浮液。在室温下放置 30 min 后,于 1 min(0.5 min 供气+0.5 min 取样时间)内用 ClO_2 处理 6 个接种板。3 个未经处理的琼

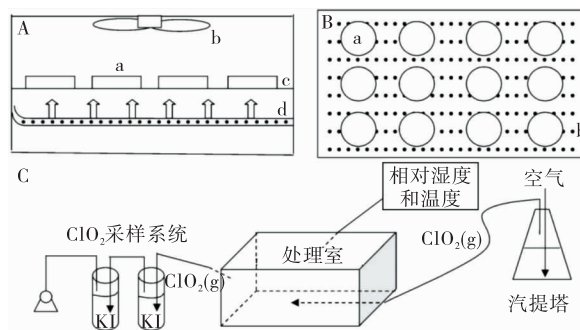


图 1 ClO_2 气体处理系统示意图

Figure 1 Diagram of the ClO_2 gas treatment system

脂平板作为对照。

1.2.4 不同食物成分对 ClO₂ 杀菌效果的影响 肠膜明串珠菌的原代培养物在 7 ℃ 的胰蛋白胨大豆琼脂斜面上保存,将接种物转移到 5 mL MRS 肉汤培养基,并于 30 ℃ 下孵育 24 h。

为了研究可溶性多糖的影响,在 MRS 琼脂中加入浓度为 0,1,10,30 g/100 mL 的可溶性淀粉。同样,用浓度为 0,1,3,5 g/100 mL NaCl 制备平板培养基。用玉米油和未加盐的黄油研究油脂存在的影响。玉米油、熔融态黄油和 MRS 琼脂在 121 ℃ 下分别蒸压 15 min。冷却到 48 ℃ 后,将玉米油和黄油添加到琼脂中,以获得最终的油脂浓度为 1,10,30 mL/100 mL。随后,添加 Tween-20 以稳定这些乳剂,使其最终浓度达到 0.005 mL/100 mL。为了研究蛋白质存在的影响,采用 pH 为 5.0~5.2 的等电点乳清蛋白、含 85% β-乳球蛋白和 15% α-乳清蛋白(浓度分别为 0,1,7 g/100 mL)进行研究。当乳清蛋白分离物浓度较高时,MRS 琼脂不能正常固化,将乳清分离蛋白粉末以干粉形式分别蒸压(15 min,121 ℃)。将经过调质的 MRS 琼脂添加到蛋白质粉末中,以获得所需的蛋白质浓度。

1.2.5 微生物分析 将每个培养皿中的琼脂转移到无菌袋中,进行稀释并将稀释液涂在琼脂培养基上,用 MRS 琼脂平板进行食品成分试验。在 30 ℃ 下孵育 2 d 后记录菌落总数。

1.2.6 ClO₂ 处理对乳液过氧化物值的影响 以浓度为 0.005 mL/100 mL 的吐温-20 为乳化剂,制备浓度为 0%,1%,10%或 30%玉米油乳液,并以 0.005%吐温-20 溶液为对照。用 Gray^[14] 的方法测定各乳液处理前后的过氧化物值。将 5 mL 各种样品乳液溶解在 10 mL 氯仿/乙酸混合液中(体积比为 2:3)。然后,加入 3 mL 14 g/100 mL 的 KI 溶液,将混合物置于黑暗中 1 min。加入 20 mL 1 g/100 mL 的淀粉溶液作为指示剂后,用 0.01 mol/L 硫代硫酸钠溶液滴定混合物至无色终点,得到样品中的过氧化物值。

1.2.7 ClO₂ 处理对乳清蛋白分离物中巯基含量以及 —SH 和 —S—S—基团的影响 将 1%和 7 g/100 mL 乳清蛋白分离液处理为乳状液,并于 5 000×g 离心 8 min。分别经 ClO₂ (1.38 mg/L) 处理 10 min 以及 ClO₂ (0.08 mg/L)处理 1 min 后,测定溶液中巯基含量。1%乳清蛋白分离液经 ClO₂ (1.38 mg/L)处理 10 min 后,检测其 —SH 和 —S—S—的含量。

采用 2,4-二硝基苯肼(DNPH)法,按 Batifoulier 等^[15] 的方法测定巯基。用 Ellman 试剂测定 —SH 和 —S—S—基团。

1.2.8 统计分析 用 SPPlus 7.0 软件进行所有的统计分析工作。由于数据的非正态性,使用非参数 Krus-kal-

Wallis 检验分析经 ClO₂ 处理后获得的微生物减少量。使用 Mann-Whitney 检验比较两组试验之间的平均微生物减少量。这两种分析方法目的均是为了研究食物成分对 ClO₂ 杀菌效果的影响,以及 ClO₂ 处理对过氧化物值和巯基的影响。为了确定处理前后 —SH 和 —S—S—含量差异的显著性,采用假设方差相等和不相等的 *t* 检验。

2 结果与分析

2.1 常见食物微生物对气态 ClO₂ 的敏感性

表 1 显示了在室温和相对湿度(90.0±0.5)% 环境下,用(0.08±0.02) mg/L ClO₂ 对微生物处理 1 min 后,各类微生物的平均减少量情况。除荧光假单胞菌受 ClO₂ 的影响较小,其他革兰阴性菌和革兰阳性菌的平均下降量分别为 3.5,2.6 lg (CFU/cm²)。酵母菌的平均下降量为 1.1 lg (CFU/cm²),而蜡样芽胞杆菌和霉菌孢子的平均下降量很小。革兰氏阴性菌和革兰氏阳性菌的平均下降量差异显著。除荧光假单胞菌和革兰氏阳性菌外,酵母菌对 ClO₂ 抗性显著高于革兰氏阴性菌类的其他细菌,但低于霉菌孢子和蜡样芽胞杆菌。

一般来说,革兰氏阴性菌对 ClO₂ 的抗性优于革兰氏阳性菌,而酵母菌表现出中等抗性,霉菌孢子和蜡样芽胞

表 1 ClO₂ 处理过的微生物平均减少量

Table 1 Mean reductions obtained by a treatment with ClO ₂ (n=6)		lg (CFU/cm ²)
微生物		平均减少量
革兰氏阴性菌	嗜水气单胞菌	2.6±0.9
	铜绿肠杆菌	3.4±0.8
	大肠杆菌	2.7±0.6
	产酸克雷伯菌	3.1±0.7
	荧光假单胞菌	0.5±0.5
	鼠伤寒沙门氏菌	3.2±0.3
	志贺氏菌	3.4±0.5
	小肠结肠炎耶尔森菌	3.5±0.6
	嗜热支气管	1.4±0.7
	清酒乳杆菌	2.6±0.6
革兰氏阳性菌	肠膜明串珠菌	3.2±0.4
	李斯特菌	2.8±0.6
	金黄色葡萄球菌	3.1±0.5
	兰迪假丝酵母	1.1±0.2
霉菌孢子	伯氏毕赤酵母	2.0±0.5
	酿酒酵母	0.6±0.1
	黑曲霉	0.1±0.1
	罗氏青霉	0.4±0.5
细菌芽孢	灰葡萄孢	0.9±0.4
	蜡状芽胞杆菌	0.2±0.2

杆菌是最具抗性的微生物。然而,荧光假单胞菌却表现出非常优异的抗性,表明用 ClO_2 处理荧光假单胞菌引起的腐败是很困难的。此外,虽然尽可能的控制 ClO_2 处理微生物的过程,但大多数的微生物对数减少率的基本偏差在 0.5 以上。基本偏差可能是由于工艺参数的变化影响,如 ClO_2 汽提程度、相对湿度、温度和室内气体的分布。

目前关于气态 ClO_2 对食源性微生物杀菌作用的影响相关研究很少。据 Han 等^[16] 的研究报道,相比于乳酸菌,气态 ClO_2 更容易灭活酵母菌和霉菌的混合物。Reina 等^[17] 研究了 ClO_2 溶液对各种腐败微生物的影响,根据其研究, ClO_2 溶液对酵母菌和霉菌的灭菌效果更为理想。革兰氏阴性菌和革兰氏阳性菌对 ClO_2 气体抗性的不同,可能是由于革兰氏阴性菌具有易于被 ClO_2 穿透的板网肽聚糖细胞壁结构,而革兰氏阳性菌细胞壁是三维网状结构。

2.2 食物成分对气态 ClO_2 杀菌效果的影响

图 2 显示了在室温和相对湿度(90.0 ± 0.5)% 的环境下,不同浓度的可溶性淀粉、氯化钠、乳清蛋白分离物、玉米油及黄油对气态 ClO_2 [浓度(0.08 ± 0.02) mg] 处理肠膜明串珠菌的影响。

由图 2(a)可知,可溶性淀粉的存在对 ClO_2 的杀菌效果没有显著影响。然而,添加相同浓度淀粉的琼脂培养基在试验 1 和试验 2 之间,微生物减少量变化约为 1 lg (CFU/cm²)。由图 2(b)可知,试验 1 中,含有不同浓度 NaCl 的琼脂培养基经 ClO_2 处理后的微生物减少量差异不大。而在试验 2 中,未添加 NaCl 的琼脂培养基和添加 5% NaCl 的琼脂培养基菌落数相差约 2 lg (CFU/cm²)。由图 2(c)可知,乳清蛋白对 ClO_2 的杀菌效果影响显著。

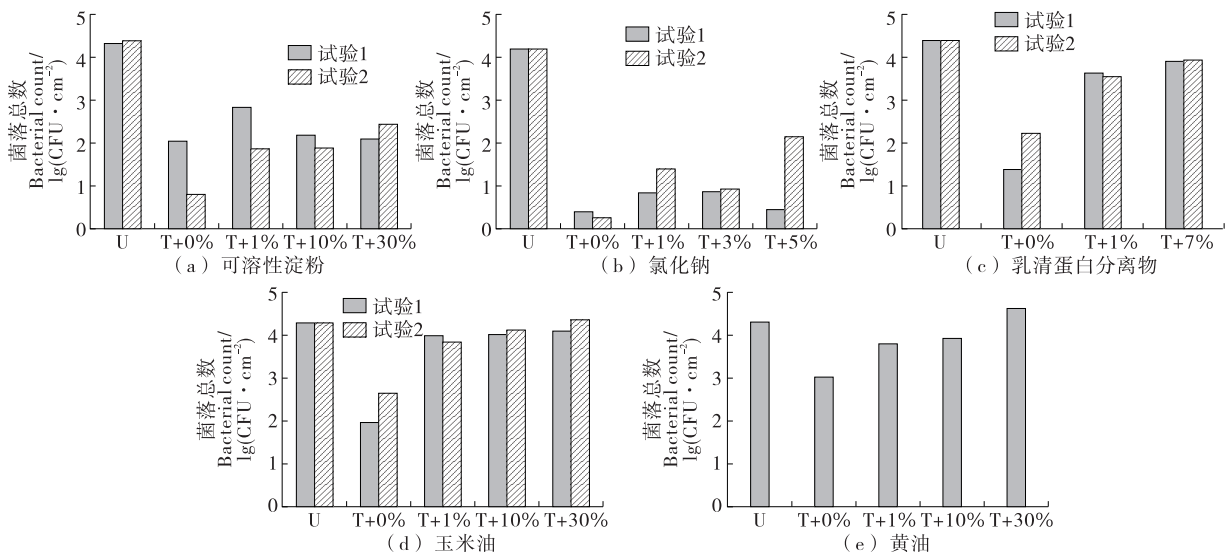
1%浓度的乳清蛋白使 ClO_2 的抑菌效果显著降低,而用 7%的乳清蛋白和 1%的乳清蛋白对二氧化氯的抑菌效果影响差不多。由图 2(d)和(e)可知,相对较低的玉米油或黄油浓度(1%)显著降低了 ClO_2 的杀菌效果。将黄油浓度从 1%提高到 10%对 ClO_2 的抑菌效果没有显著影响,而 30%则显著降低了 ClO_2 的抑菌效果。

虽然,在 MRS 琼脂中添加淀粉或 NaCl 对 ClO_2 的杀菌效果影响不大。但低浓度的油脂或蛋白质明显降低了 ClO_2 的杀菌作用。

目前还没有关于食品成分对 ClO_2 杀菌效果影响的研究报道,但食品成分对臭氧杀菌效果的影响已经得到了证实。与试验结果相似,富含蛋白质的食物基质如牛血清白蛋白、酪蛋白酸盐、牛奶或肉汤降低了臭氧的杀菌作用^[18],鲜奶油也会降低臭氧的杀菌作用^[19]。蛋白质和脂质也降低了脉冲强光的杀菌作用。碳水化合物则根据微生物的不同而对杀菌的影响也不同^[20]。

2.3 ClO_2 对油脂过氧化值和和乳清蛋白中巯基含量及—SH、—S—S—基团浓度的影响

在室温及相对湿度为(90.0 ± 0.5)% 环境氛围用 ClO_2 处理 1 min 后, ClO_2 对玉米油乳剂过氧化值和乳清蛋白中巯基和—SH 和—S—S—基团的影响如表 2 所示。从表 2 可以看出,用 0.08 mg/L ClO_2 处理玉米油乳液 1 min 后,所有乳剂的过氧化值都显著增加。在 0.08 mg/L ClO_2 处理下,1%和 7%乳清蛋白溶液的巯基含量没有显著增加,但 1.38 mg/L ClO_2 处理后,巯基含量显著增加,1%乳清蛋白溶液的巯基含量增加了 6 倍以上,而 7%乳清蛋白溶液中巯基含量的上升不太明显,但仍达到 145%。使用 1.38 mg/L ClO_2 处理 10 min 后,1%乳清蛋



U. 接种但未经 ClO_2 处理的参考样品 T. 经气态 ClO_2 处理的接种样品

图 2 食物成分对气态 ClO_2 杀菌效果的影响

Figure 2 Effects of food components on the antimicrobial activity of gaseous ClO_2

表 2 ClO₂对玉米油乳剂过氧化值和和乳清蛋白中羰基含量及—SH、—S—S—基团浓度的影响[†]
Table 2 The effects of treatment with gaseous ClO₂ on the peroxide values of corn oil emulsions and on the carbonyl groups and the SH and the S-S-groups present in whey protein (n=3)

样品	过氧化值/ (meq · kg ⁻¹)	羰基/ (μmol · g ⁻¹ Pro)	自由巯基/ (μmol SH · g ⁻¹ Pro)	总巯基/ (μmol SH · g ⁻¹ Pro)
未经处理的玉米油乳液	0.10±0.00	—	—	—
1%玉米油乳液+0.08 mg/L ClO ₂ 持续 1 min	2.91±0.63	—	—	—
10%玉米油乳液+0.08 mg/L ClO ₂ 持续 1 min	1.05±0.13	—	—	—
30%玉米油乳液+0.08 mg/L ClO ₂ 持续 1 min	0.48±0.06	—	—	—
未经处理的 1%乳清蛋白	—	5.30±0.44	20.47±0.33	255.46±10.01
未经处理的 7%乳清蛋白	—	4.94±0.07	—	—
1%乳清蛋白+0.08 mg/L ClO ₂ 持续 1 min	—	5.59±0.51	—	—
1%乳清蛋白+1.38 mg/L ClO ₂ 持续 10 min	—	40.41±1.41	4.24±0.07	225.68±16.08
7%乳清蛋白+0.08 mg/L ClO ₂ 持续 1 min	—	5.15±0.07	—	—
7%乳清蛋白+1.38 mg/L ClO ₂ 持续 10 min	—	12.09±0.14	—	—

白溶液中的一SH 基团显著降低,而总巯基量没有显著降低。研究结果表明,用 1.38 mg/L ClO₂ 处理后能够诱导—SH 到—S—S—的半转化。

ClO₂的杀菌性能受蛋白质和脂肪的影响很大。原因是 ClO₂的强氧化特性及能与许多有机化合物进行反应。油脂存在时抗微生物效果降低可能是由于油脂中抗氧化剂(如油中的生育酚)和 ClO₂发生反应所致^[21]。3 种不饱和脂肪酸(油酸、亚油酸和亚麻酸)约占玉米油脂脂肪酸含量的 85%,而黄油主要含有饱和脂肪酸。鉴于 ClO₂氧化脂肪酸的程度与油脂中的双键数量密切相关,而 1%的脂肪已经提供了足够的反应性位点,以消除 0.08 mg/L ClO₂处理的杀菌作用^[22]。因此 1%的黄油和 1%的玉米油对 ClO₂杀菌效果的影响程度十分相似。这一点已被油—水乳剂的过氧化值的显著增加所证实。

乳清蛋白显著降低了 ClO₂的杀菌作用。ClO₂会与酪氨酸和色氨酸等芳香族氨基酸以及含硫氨基酸半胱氨酸和三肽谷胱甘肽发生反应,从而消耗了可用作消毒剂的 ClO₂的量^[23]。乳清蛋白分离物含有质量分数约 5%的含硫氨基酸。经过 ClO₂处理后,由 ClO₂诱导的蛋白质构象变化会促使芳香族氨基酸暴露,并可能导致还原的巯基(SH)基团增加暴露^[24]。这项研究证实了 ClO₂增加了羰基含量并将—SH 基团转变为—S—S—基团,然而,浓度为 1.38 mg/L 的 ClO₂可显著提高羰基含量和降低—SH 含量,而较低浓度的 ClO₂则有明显的灭活作用。

3 结论

淀粉、NaCl 对气态 ClO₂的杀菌效果影响不大,而油脂和蛋白质则显著降低了 ClO₂的杀菌作用。因此,在处理富含蛋白质和/或脂类的食品(如肉和鱼制品)时,与富含碳水化合物的食品(如面包房产品、蔬菜和水果)相比,

气态 ClO₂的杀菌效果较差。由于细菌芽孢、酵母菌、霉菌和假单胞菌是富含蛋白质和/或脂类的食品腐败的重要原因,因此需要较长的接触时间和/或高浓度的 ClO₂来灭活这些更具抗性的微生物。

参考文献

[1] 韦明肯, 赖洁玲, 詹萍. 二氧化氯杀菌机理研究进展[J]. 微生物学报, 2012(4): 429-434.
[2] 张海伟, 张晓晴, 张雨露, 等. 前处理方式对蓝莓贮藏品质的影响[J]. 食品与机械, 2016, 32(9): 105-108.
[3] 曹凡, 高贵田, 雷玉山, 等. 3 种药剂对猕猴桃花粉溃疡病菌灭菌及果实产量的影响[J]. 食品与机械, 2018, 34(1): 121-125.
[4] 潘燕, 陈义伦, 张培正, 等. ClO₂ 杀菌剂在菠菜保鲜中的应用[J]. 食品与发酵工业, 2005, 31(12): 123-125.
[5] YOUNG S B, SETLOW P. Mechanisms of killing of bacillus subtilis spores by hypochlorite and chlorine dioxide [J]. Journal of Applied Microbiology, 2003, 95(1): 54-67.
[6] 余元善, 张友胜, 肖更生, 等. 稳定性 ClO₂ 溶液杀菌特性分析及其在葡萄干加工中的应用[J]. 江西农业大学学报, 2007 (5): 751-755.
[7] 申小静. 气体二氧化氯对鲜枣的杀菌保鲜研究[D]. 太原: 中北大学, 2010: 25-28.
[8] 池致超. 气体 ClO₂ 对葡萄致腐菌的杀菌及保鲜效果研究[D]. 太原: 中北大学, 2010: 37-39.
[9] 顾宁, 胡双启, 晋日亚. 稳定性二氧化氯在食品杀菌保鲜中的应用[J]. 山西化工, 2007(5): 24-27.
[10] 潘永贵, 植丽华, 黄德凯. 稳定态二氧化氯杀菌剂在 MP 芒果上应用研究[J]. 食品科学, 2003(2): 142-144.
[11] 陈峰, 金福云. 缓释型 ClO₂ 消毒灭菌剂的开发应用[J]. 西南民族学院学报(自然科学版), 1994(2): 151-154.
[12] MARQUENIE D, MICHIELS C W, GEERAERD A H, et

- al. Using survival analysis to investigate the effect of UV-C and heat treatment on storage rot of strawberry and sweet cherry[J]. International Journal of Food Microbiology, 2002, 73(2/3): 187-196.
- [13] GAILLARD S, LEGUERINEL I, MAFART P. Modelling combined effects of temperature and pH on the heat resistance of spores of *Bacillus cereus*[J]. Food Microbiology, 1998, 15(6): 625-630.
- [14] GRAY J I. Measurement of lipid oxidation: A review[J]. Journal of the American Oil Chemists' Society, 1978, 55(6): 539-546.
- [15] BATIFOULIER F, MERCIER Y, GATELLIER P. Influence of vitamin E on lipid and protein oxidation induced by H₂O₂-activated MetMb in microsomal membranes from turkey muscle[J]. Meat Science, 2002, 61(4): 389-395.
- [16] HAN Y, GUENTERT A M, SMITH R S, et al. Efficacy of chlorine dioxide gas as a sanitizer for tanks used for aseptic juice storage[J]. Food Microbiology, 1999, 16(1): 53-61.
- [17] REINA L D, FLEMING H P, HUMPHRIES E G. Microbiological control of cucumber hydrocooling water with chlorine dioxide[J]. Journal of Food Protection, 1995, 58(5): 541-546.
- [18] 诸爱士, 蒋家新, 苏晓霞. 亚氯酸钠制备二氧化氯及其杀菌效果研究[J]. 食品工业科技, 2006(1): 174-177.
- [19] 田卫, 李军, 李新华. 二氧化氯(ClO₂)对苹果表面金黄色葡萄球菌杀菌规律的研究[J]. 食品研究与开发, 2006(1): 145-149.
- [20] 安丽娜, 廖春. 二氧化氯发生器对饮用水的消毒效果的试验观察[J]. 医学动物防制, 2011, 27(2): 162-163.
- [21] 张仲阳, 张向超, 俞龙泉, 等. 超声波协同 ClO₂ 对西瓜汁灭菌效果的影响[J]. 食品工业科技, 2014(7): 172-177.
- [22] 曹凡, 高贵田, 王铎, 等. ClO₂ 对猕猴桃表面溃疡病菌的杀菌作用及果实货架期品质的影响[J]. 核农学报, 2017, 33(1): 88-95.
- [23] 李志富, 邵伟, 任少红, 等. ClO₂ 消毒粉剂杀菌效果及毒性试验研究[J]. 泰山医学院学报, 2005(4): 77-80.
- [24] OGATA N. Denaturation of protein by chlorine dioxide: Oxidative modification of tryptophan and tyrosine residues[J]. Biochemistry, 2007, 46(16): 4 898-4 911.

(上接第 62 页)

- [8] 杨晓雯. 布鲁氏菌等三种兼性胞内寄生菌比较基因组分析及应用[D]. 北京: 中国农业大学, 2018: 12-24.
- [9] 厚华艳. 肠炎沙门氏菌菌毛编码基因 *sefA* 和 *fimA* 的功能探析[D]. 扬州: 扬州大学, 2013: 2-6.
- [10] 何华, 斐洁, 吴斌, 等. 猪支气管败血波氏杆菌菌毛 *fimD* 基因的克隆表达及间接 ELISA 检测方法的建立[J]. 畜牧兽医学报, 2009, 40(1): 98-102.
- [11] 曹恬雪, 蒋文灿, 何文成, 等. 沙门氏菌毒力因子的研究进展[J]. 中国预防兽医学报, 2014, 36(4): 331-334.
- [12] 黄冠军, 刘天强, 杨晓玲, 等. 沙门氏菌入侵基因研究进展[J]. 亚太传统医药, 2013, 9(11): 65-67.
- [13] 王小元, 宋鸿军. 细菌内毒素的生物合成途径及分子结构多样性[J]. 食品与生物技术学报, 2013, 32(10): 1 009-1 015.
- [14] 董方. 沙门氏菌外膜蛋白的研究[D]. 北京: 中国食品药品检定研究院, 2013: 8-11.
- [15] 汤佩佩. 肠炎沙门菌 *sopE2* 与 *sptP* 基因缺失株的构建及其免疫生物学研究[D]. 扬州: 扬州大学, 2016: 9-21.
- [16] 李隽. 系统性红斑狼疮生物标志物的筛选及致病机制的研究[D]. 北京: 北京协和医学院, 2017: 42-72.
- [17] 徐婷, 金顺鑫, 王潇, 等. 细菌外排泵系统 *acrAB-tolC* 的研究进展[J]. 黑龙江畜牧兽医, 2016(9): 92-95.
- [18] 钊慧芬. 三种菌 *ampG* 基因的结构及遗传互补功能研究[D]. 温州: 温州医学院, 2013: 1-8.
- [19] 许泽仰. 甲型副伤寒沙门氏菌 *norRVW* 操纵子的功能研究[D]. 昆明: 昆明理工大学, 2016: 15-22.
- [20] 朱培, 李鑫强, 李振轮. 磷酸酶在病原菌感染宿主中的作用[J]. 生物工程学报, 2012, 28(2): 154-163.
- [21] 程序. 万古霉素耐药靶酶 VanX 抑制剂及金属-β-内酰胺酶检测试剂 Nitrocefin 的合成与表征[D]. 西安: 西北大学, 2011: 7-22.

(上接第 126 页)

- [5] LI T, SCICOLONE J V, SANCHEZ E, et al. Identifying a loss-in-weight feeder design space based on performance and material properties [J]. Journal of Pharmaceutical Innovation, 2019(8): 1-14.
- [6] 赵冬梅, 余书豪. 变螺距螺旋输送机的螺距设计与性能分析[J]. 机械设计与制造, 2018(6): 52-55.
- [7] BATES L. Entrainment patterns of screw hopper dischargers[J]. Journal of Engineering for Industry, 1969, 91(2): 295-302.
- [8] FERNANDEZ J W, CLEARY P W, MCBRIDE W. Effect of screw design on hopper drawdown of spherical particles in a horizontal screw feeder[J]. Chemical Engineering Science, 2011, 66(22): 5 585-5 601.
- [9] 龚志明. 螺旋式配料器取料螺旋结构参数初探[J]. 粮油加工与食品机械, 1984(7): 5-7.
- [10] 李永祥, 李飞翔, 徐雪萌, 等. 基于颗粒缩放的小麦粉离散元参数标定[J]. 农业工程学报, 2019, 35(16): 320-327.
- [11] MOYSEY P A, THOMPSON M R. Modelling the solids inflow and solids conveying of single-screw extruders using the discrete element method [J]. Powder Technology, 2005, 153: 95-107.
- [12] 刘威, 唐倩, 刘宗敏, 等. 水平式螺旋输送机运动模型搭建和参数化设计[J]. 食品与机械, 2019, 35(6): 96-99.
- [13] GAN J Q, ZHOU Z Y, YU A B. A GPU-based DEM approach for modelling of particulate systems[J]. Powder Technology, 2016, 301: 1 172-1 182.