



陈红,杨淑君,刘梦瑶,等. 巴氏杀菌对枯草芽孢杆菌芽孢灭活效果的影响[J]. 轻工学报,2026,41(2): 32-39,63.

CHEN H, YANG S J, LIU M Y, et al. Effect of pasteurization on spore inactivation of *Bacillus subtilis*[J]. Journal of Light Industry, 2026, 41(2): 32-39, 63. DOI: 10. 12187/2026. 02. 003

巴氏杀菌对枯草芽孢杆菌芽孢灭活效果的影响

陈红, 杨淑君, 刘梦瑶, 张义平, 王海磊

河南师范大学 生命科学学院, 河南 新乡 453007

摘要:【目的】提高巴氏杀菌对枯草芽孢杆菌 168(*Bacillus subtilis* 168)芽孢的灭活效果。【方法】测定不同巴氏杀菌条件下枯草芽孢杆菌 168 芽孢数和产孢率的变化,以及巴氏杀菌分别与消毒杀菌剂(H_2O_2 、亚硝酸盐、戊二醛、聚维酮碘)协同处理后的芽孢存活率,进而分析灭活效果。【结果】在培养至对数生长期末期 8 h 时对枯草芽孢杆菌 168 进行 95 °C、15 min 巴氏杀菌处理,其芽孢灭活效果最好,最终芽孢数和产孢率分别为 7 log CFU/mL 和 1%;此外,虽然该处理未能完全抑制残留菌体的增殖活力,但能显著降低其芽孢形成能力。与单独巴氏杀菌相比,当巴氏杀菌与 H_2O_2 协同处理时,枯草芽孢杆菌 168 的芽孢存活率未发生显著变化;当巴氏杀菌分别与亚硝酸盐、戊二醛和聚维酮碘协同处理时,芽孢存活率均显著降低,其中,分别与亚硝酸盐和戊二醛协同处理时,在较短时间内(90 min)均能达到显著的芽孢灭活效果,其芽孢存活率约为 20%~30%,而与聚维酮碘协同处理 4 h 才能达到相近的灭活效果。【结论】亚硝酸盐和戊二醛均能显著提高巴氏杀菌对枯草芽孢杆菌 168 芽孢的灭活效果。

关键词: 巴氏杀菌; 枯草芽孢杆菌; 芽孢灭活; 消毒杀菌剂

中图分类号: TS201.3 **文献标识码:** A **文章编号:** 2096-1553(2026)02-0032-08

0 引言

微生物污染导致的腐败变质是影响食品安全的主要因素之一,也是当前亟须解决的食品安全问题^[1-2]。巴氏杀菌是一种处理温度低于 100 °C 的常用食品热处理工艺,能够在杀灭病原微生物和腐败菌营养体的同时,最大限度地保留食品的营养成分和感官品质^[3-4]。近年来,低温肉制品凭借其独特风味、高营养价值等优势,已成为现代肉制品消费市场增长最迅速的品类之一^[5]。在低温肉制品生

产过程中,通常采用巴氏杀菌工艺将其中心温度控制在 72~85 °C,以有效保持产品的风味和营养成分,但可能导致部分耐热性芽孢及真菌孢子类微生物残留^[6-7]。这些残留微生物在贮藏期间的二次增殖是造成肉制品货架期腐败变质的主要诱因之一^[8]。因此,如何有效灭活细菌芽孢,成为肉制品杀菌及保鲜领域亟待攻克的技术难题^[9-10]。

芽孢杆菌(*Bacillus*)是低温肉制品中主要的腐败微生物,传统的巴氏杀菌难以彻底灭活其芽孢,且在适宜温湿度条件下,残留芽孢可快速萌发形成

收稿日期:2025-04-23;修回日期:2025-06-26;出版日期:2026-04-15

基金项目:河南省高等学校重点科研计划项目(23A550013);河南省重点研发与推广专项(科技攻关)项目(222102310389)

作者简介:陈红(1990—),女,河南省郑州市人,河南师范大学讲师,博士,主要研究方向为肉制品安全控制。E-mail: chen hong98583@163.com

通信作者:王海磊(1978—),男,河南省商丘市人,河南师范大学教授,博士,主要研究方向为功能微生物发酵。E-mail: 2020027@hnu.edu.cn

营养细胞,进而引发蛋白质分解、脂肪氧化等生化反应,最终导致肉制品品质劣变^[11-14]。枯草芽孢杆菌(*B. subtilis*)属于典型的需氧型革兰氏阳性菌,广泛分布于土壤、空气及农产品中^[15]。当受到高温、营养缺乏、干旱等外界环境胁迫时,枯草芽孢杆菌的营养细胞可通过复杂分化过程形成具有特殊生理结构的休眠体芽孢,具有极强的抗逆性^[16-19]。有研究^[20]发现,在市售笋子烧牛肉中分离的4株腐败菌中,枯草芽孢杆菌的致腐能力最强。此外, M. Y. Li等^[21]调查了来自河南省郑州市的360种常见食用预包装肉制品,发现芽孢流行率为60.6%,且枯草芽孢杆菌属的芽孢形成效率高达95.1%,存在明显的食源性风险。食品行业芽孢灭活的核心策略通常是先诱导芽孢萌发为营养细胞,再通过温和灭菌技术将其杀灭。然而,芽孢的灭活效果在实际生产中易受食品基质和环境因素的干扰^[22]。为了提高巴氏杀菌条件下枯草芽孢杆菌的芽孢灭活效果,在低温肉制品加工过程中,通常采用栅栏技术将巴氏杀菌、添加抑菌剂和低温贮藏相结合,以有效控制芽孢污染^[23],保障低温肉制品的食用安全性。

鉴于此,本文拟以模式菌株枯草芽孢杆菌168为研究对象,分析巴氏杀菌处理对其芽孢数和产孢率的影响;同时,采用复合灭菌策略,将巴氏杀菌分别与氧化类(H_2O_2)、亚硝化类(亚硝酸盐)、交联类(戊二醛)、碘基类(聚维酮碘)消毒杀菌剂进行协同处理,探究其对枯草芽孢杆菌168芽孢的灭活效果,以期为后续低温肉制品行业芽孢灭菌技术的开发提供参考。

1 材料与方 法

1.1 主要菌种、试剂与培养基

所用菌种:枯草芽孢杆菌168(ATCC 23857),武汉森灵生物科技有限公司。

主要试剂:蛋白胨、酵母浸粉、琼脂粉、过氧化氢酶(3000 U/mg),北京索莱宝科技有限公司;NaCl、 H_2O_2 、 $NaNO_2$ 、乙酸钠、25%戊二醛、甘氨酸、聚维酮碘、 $Na_2S_2O_2$ 等,均为分析纯,上海麦克林生化科技股份有限公司。

LB液体培养基:蛋白胨10 g/L、酵母浸粉5 g/L、

NaCl 10 g/L, 121 °C灭菌20 min。

LB固体培养基:蛋白胨10 g/L、酵母浸粉5 g/L、NaCl 10 g/L、琼脂25 g/L, 121 °C灭菌20 min。

1.2 主要仪器与设备

SHP-080型培养箱,上海精宏实验设备有限公司;TS-100C型恒温振荡摇床,上海善志仪器设备有限公司;752N型紫外-分光光度计,上海精科仪器有限公司;HWS-26型电热恒温水浴锅,上海一恒科学仪器有限公司;H2500R型冷冻离心机,湖南湘仪实验室仪器有限公司;SES400-K型pH计,梅特勒-托利多(上海)有限公司;YM30型高压灭菌锅,上海三申医疗器械有限公司;KQ-250E型超声波清洗仪,昆山市超声仪器有限公司。

1.3 实验方法

1.3.1 生长曲线绘制 利用平板划线法纯化枯草芽孢杆菌168单菌落后,接种至LB液体培养基中,于37 °C、220 r/min恒温振荡摇床中培养12~16 h,获得种子液。按1%(体积分数,下同)接种量将种子液接种于LB液体培养基中,于37 °C、220 r/min恒温振荡摇床中培养。采用紫外-分光光度计测定最大生物量(OD_{600}),并绘制生长曲线。

1.3.2 巴氏杀菌处理条件选择 本研究选择肉制品行业常用的2种巴氏杀菌处理条件,即70 °C, 30 min;95 °C, 15 min。具体方法为:按1%接种量将枯草芽孢杆菌168的种子液接种于LB液体培养基中,在37 °C、220 r/min恒温振荡摇床中培养一段时间(0~24 h)后,于水浴锅中进行巴氏杀菌处理。以未进行巴氏杀菌处理为对照(CK)。

1.3.3 芽孢数、活菌数和产孢率测定 巴氏杀菌处理后,测定枯草芽孢杆菌168的芽孢数、活菌数和产孢率。

1)芽孢数:采用平板涂布法进行芽孢计数^[24]。取100 μ L菌液,于(90±1) °C水浴条件下孵育10 min后,加入900 μ L PBS缓冲液(0.1 mol/L, pH值为8.0,下同),用无菌生理盐水进行10倍梯度稀释,选择适宜梯度进行平板涂布,于37 °C条件下培养,根据平板上的菌落数计算芽孢数,具体计算公式如下:

$$\text{芽孢数} = \frac{N}{V \times d}$$

式中, N 为实际统计菌落数/CFU, V 为取样体积/mL, d 为取样液稀释倍数。

2) 活菌数: 取 100 μL 菌液, 用 PBS 缓冲液进行 10 倍梯度稀释后, 取 100 μL 稀释液在 LB 固体培养基上进行涂布, 于 37 $^{\circ}\text{C}$ 条件下培养 72 h 后, 测定活菌数^[25]。

3) 产孢率: 在巴氏杀菌前后分别取 100 μL 菌液, 用 PBS 缓冲液进行 10 倍梯度稀释后, 取适量稀释液在 LB 固体培养基上进行涂布, 于 37 $^{\circ}\text{C}$ 条件下培养 72 h。以巴氏杀菌前枯草芽孢杆菌 168 的菌落总数作为总细胞数, 结合巴氏杀菌后的芽孢数, 按照下式计算产孢率^[26]。

$$\text{产孢率} = \frac{\text{芽孢数}}{\text{总细胞数}} \times 100\%$$

1.3.4 巴氏杀菌与消毒杀菌剂协同处理 取 5 mL 经巴氏杀菌处理后的枯草芽孢杆菌 168 菌液, 于 4 $^{\circ}\text{C}$ 、5000 r/min 条件下离心 2 min, 收集菌体沉淀; 用 1 mL 预冷的 PBS 缓冲液洗涤菌体沉淀 2 次, 去除残留的培养基成分, 再用 PBS 缓冲液将菌体沉淀稀释至适宜梯度, 备用。

1) 与 H_2O_2 协同处理。实验组加入终浓度为 4 mol/L 的 H_2O_2 溶液; 对照组不进行该处理。将 2 组样品于 37 $^{\circ}\text{C}$ 条件下孵育, 分别于 0 min、20 min、40 min 和 60 min 时取样后, 立即加入等体积的过氧化氢酶以终止 H_2O_2 的作用。用 PBS 缓冲液将菌液稀释 10 倍后, 于 5000 r/min 条件下离心 2 min, 收集菌体沉淀, 用无菌水洗涤 2 次, 再用 1 mL 无菌水重悬浮菌体^[27]。

2) 与亚硝酸盐协同处理。实验组加入 800 μL PBS 缓冲液、100 μL 1 mol/L NaNO_2 溶液和 100 μL 1 mol/L 乙酸钠溶液; 对照组不进行该处理。将 2 组样品于 37 $^{\circ}\text{C}$ 条件下孵育, 分别于 0 min、30 min、60 min 和 90 min 时取样后, 用 PBS 缓冲液将菌液稀释 10 倍, 于 5000 r/min 条件下离心 2 min, 收集菌体沉淀, 用无菌水洗涤 2 次, 再用 1 mL 无菌水重悬浮菌体^[27]。

3) 与戊二醛协同处理。实验组用终质量浓度为 9 g/L 的戊二醛溶液处理菌悬液, 对照组不进行该处理。将 2 组样品于 37 $^{\circ}\text{C}$ 条件下孵育, 分别于

0 min、45 min 和 90 min 时取样。用 20 g/L 甘氨酸溶液(pH 值为 6.0) 将菌液稀释 10 倍, 以终止戊二醛的作用。用 PBS 缓冲液继续将菌液稀释 10 倍后, 于 5000 r/min 条件下离心 2 min, 收集菌体沉淀, 用无菌水洗涤 2 次, 再用 1 mL 无菌水重悬浮菌体^[27]。

4) 与聚维酮碘协同处理。实验组用质量分数为 85% 的聚维酮碘溶液重悬浮菌体沉淀; 对照组用 PBS 缓冲液重悬浮菌体沉淀。将 2 组样品于 37 $^{\circ}\text{C}$ 条件下孵育, 分别于 0 h、2 h 和 4 h 时取样。用 1 mL 10 g/L $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_2$ 溶液将菌液稀释 10 倍, 以终止碘的作用, 并在室温下孵育 30 min。用 PBS 缓冲液继续将菌液稀释 10 倍后, 于 5000 r/min 条件下离心 2 min, 收集菌体沉淀, 用无菌水洗涤 2 次, 再用 1 mL 无菌水重悬浮菌体^[27]。

根据 1.3.1 所述方法计算芽孢数, 并根据下式计算芽孢存活率以评估芽孢的灭活效果。

$$\text{芽孢存活率} = \frac{\text{实验组芽孢数}}{\text{对照组原始芽孢数}} \times 100\%$$

1.4 数据处理

上述实验均至少设置 3 个独立生物学重复, 采用 SPSS 26.0 对实验数据进行处理, 选用独立样本 t 检验 (Independent Samples t-test) 分析组间差异, 以 * 表示差异显著 ($P < 0.05$), **、*** 和 **** 表示差异极显著 ($P < 0.01$ 、 $P < 0.001$ 和 $P < 0.0001$); 利用 Origin 8.0 进行绘图。

2 结果与分析

2.1 巴氏杀菌处理条件对枯草芽孢杆菌 168 芽孢灭活效果的影响

枯草芽孢杆菌 168 的生长曲线如图 1 所示。

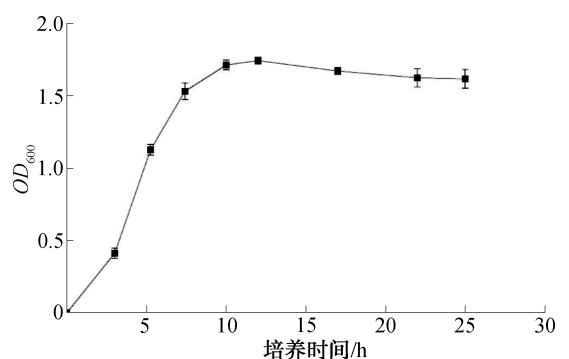


图 1 枯草芽孢杆菌 168 的生长曲线
Fig. 1 Growth curve of *B. subtilis* 168

由图 1 可知,枯草芽孢杆菌 168 在 37 °C、220 r/min 恒温振荡培养条件下,4~6 h 为对数生长期,7~10 h 为对数生长末期,10 h 后进入稳定期。

不同巴氏杀菌处理条件下枯草芽孢杆菌 168 的芽孢数如图 2 所示。由图 2 可知,与 CK 组相比,将处于不同生长期的枯草芽孢杆菌 168 进行 70 °C、30 min 巴氏杀菌处理后,其最终芽孢数无显著差异;将处于对数生长期(6 h、8 h 和 10 h)的枯草芽孢杆菌 168 进行 95 °C、15 min 巴氏杀菌处理后,其最终芽孢数显著降低($P < 0.05$)。因此,在对数生长期对枯草芽孢杆菌 168 进行 95 °C、15 min 巴氏杀菌处理,其芽孢灭活效果较好。

另外,在对数生长期对枯草芽孢杆菌 168 进行 95 °C、15 min 巴氏杀菌处理,其产孢率的变化如图 3 所示。由图 3 可知,该处理会导致其产孢率较 CK 组极显著下降($P < 0.0001$),其中在培养至对数生长末期 8 h 时进行巴氏杀菌处理,枯草芽孢杆菌 168 的芽孢数和产孢率均最低,分别为 7 log CFU/mL 和 1%,表明培养至 8 h 时,枯草芽孢杆菌 168 的芽孢形成系统对热应激最敏感。

2.2 巴氏杀菌后枯草芽孢杆菌 168 的活菌曲线和产孢曲线分析

进行 95 °C、15 min 巴氏杀菌后枯草芽孢杆菌 168 的活菌曲线如图 4 所示。由图 4 可知,与 CK 组相比,在培养至 8 h 时对枯草芽孢杆菌 168 进行 95 °C、15 min 巴氏杀菌处理后,活菌数急剧下降,表

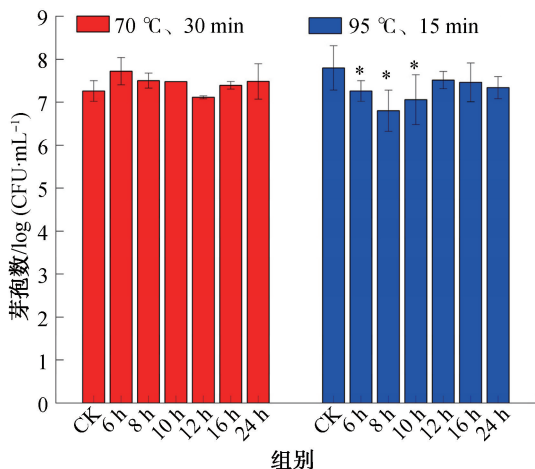


图 2 不同巴氏杀菌处理条件下枯草芽孢杆菌 168 的芽孢数

Fig. 2 Spore counts of *B. subtilis* 168 under different pasteurization conditions

明该处理条件对枯草芽孢杆菌 168 具有显著杀灭效果。然而,随着培养时间的延长,实验组的活菌数逐渐增加,在培养至 32 h 时与 CK 组的活菌数趋于一致,且无显著差异。这表明 95 °C、15 min 巴氏杀菌处理只在短时间培养内显著降低了枯草芽孢杆菌 168 活菌数,但并未完全抑制残留菌体的增殖活力。

此外,95 °C、15 min 巴氏杀菌后枯草芽孢杆菌 168 的产孢曲线如图 5 所示。由图 5 可知,CK 组的芽孢数随着培养时间的延长而逐渐增加,呈典型 S 型增长。在培养至 8 h 时对枯草芽孢杆菌 168 进行 95 °C、15 min 巴氏杀菌,其最终芽孢数极显著低于 CK 组($P < 0.0001$),表明该处理显著抑制了菌体的芽孢形成能力。结合图 4 可知,在对数生长末期对枯草芽孢杆菌 168 进行 95 °C、15 min 巴氏杀菌

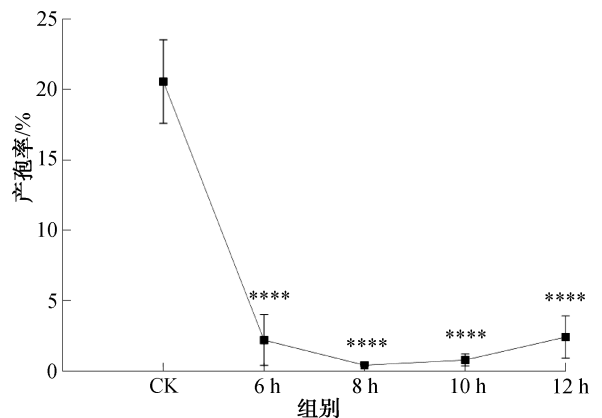


图 3 对数生长期进行 95 °C、15 min 巴氏杀菌后枯草芽孢杆菌 168 产孢率的变化

Fig. 3 Changes in sporulation rate of *B. subtilis* 168 after pasteurization at 95 °C for 15 min during the logarithmic growth phase

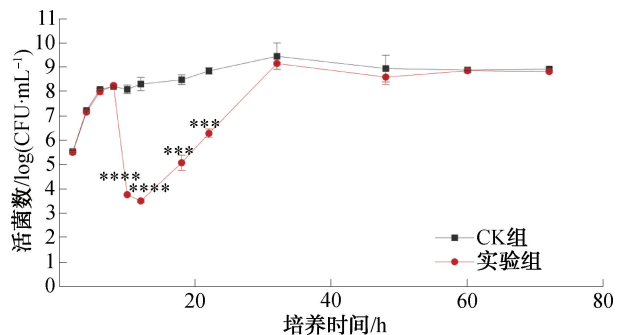


图 4 95 °C、15 min 巴氏杀菌后枯草芽孢杆菌 168 的活菌曲线

Fig. 4 Viable bacterial curves of *B. subtilis* 168 after pasteurization at 95 °C for 15 min

处理,其抑制芽孢形成的原因并非单纯依赖营养细胞数量的减少,可能是通过影响胞内转录调控系统直接干扰了芽孢形成过程。有研究^[19]发现,枯草芽

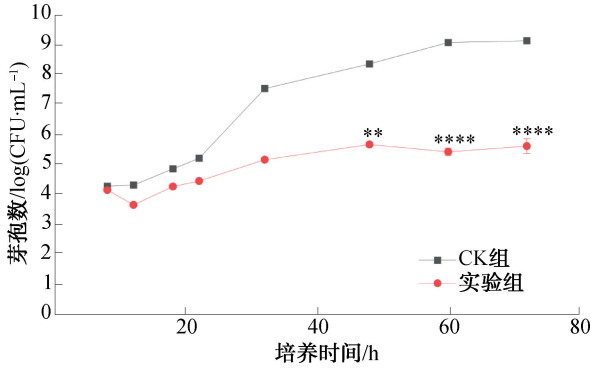


图5 95 °C、15 min 巴氏杀菌后枯草芽孢杆菌 168 的产孢曲线

Fig. 5 Sporulation curves of *B. subtilis* 168 after pasteurization at 95 °C for 15 min

孢杆菌中芽孢的形成受 *spo0A*、*sigE*、*sigG*、*sigF*、*sigK* 等多种调控基因的控制。后续可通过检测芽孢形成过程中关键调控基因的表达情况,解析在对数生长末期进行巴氏杀菌以抑制枯草芽孢杆菌 168 芽孢形成的分子机制。

2.3 巴氏杀菌与消毒杀菌剂协同处理对枯草芽孢杆菌 168 芽孢灭活效果的影响

巴氏杀菌与消毒杀菌剂协同处理对枯草芽孢杆菌 168 芽孢的灭活效果如图 6 所示。 H_2O_2 作为强氧化剂能够改变细胞膜通透性,破坏胞内酶和核酸结构,进而发挥灭菌效果^[28]。由图 6a)可知,实验组与对照组芽孢的存活率变化趋势基本一致,无显著性差异,表明巴氏杀菌与 H_2O_2 协同处理并未进一步提高对枯草芽孢杆菌 168 芽孢的灭活效果。有研究^[29-30]发现, H_2O_2 对枯草芽孢杆菌芽孢的灭

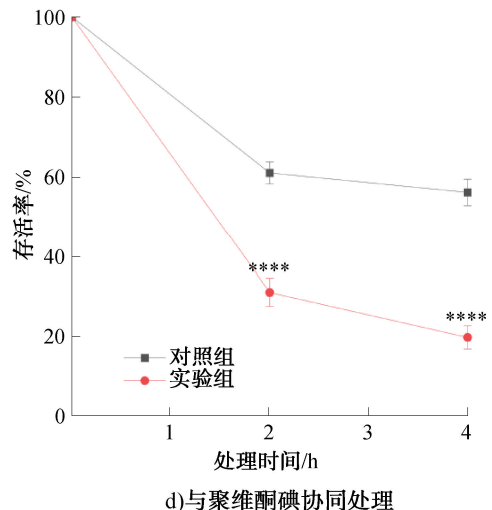
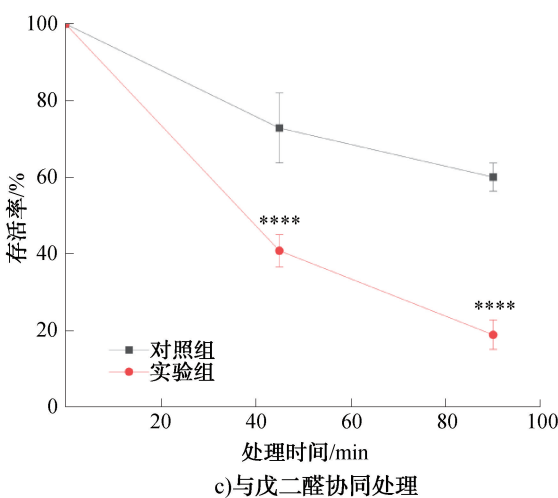
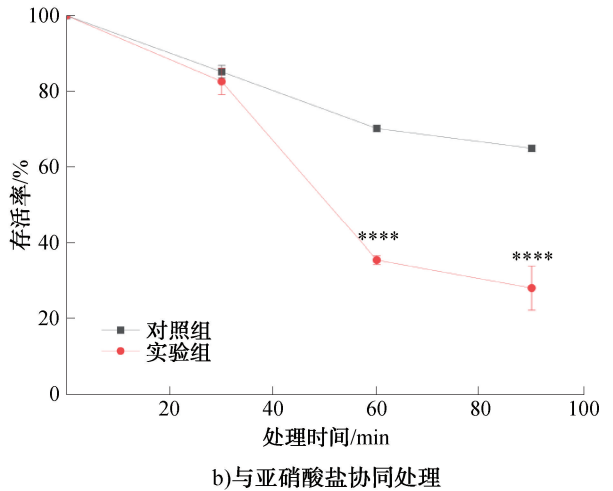
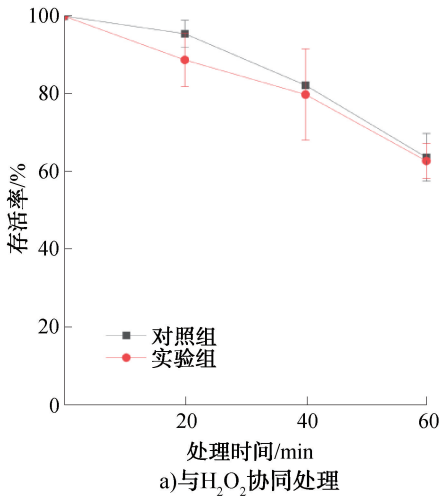


图6 巴氏杀菌与消毒杀菌剂协同处理对枯草芽孢杆菌 168 芽孢的灭活效果

Fig. 6 Effect of pasteurization combined with disinfectants and sanitizers on spore inactivation of *B. subtilis* 168

活效果均明显低于含氯型消毒剂(NaClO 和 ClO_2)及过氧乙酸。枯草芽孢杆菌是典型的过氧化氢酶阳性菌,其基因组中含有的过氧化氢酶合成基因 *katA* 能够合成和分泌过氧化氢酶,减弱 H_2O_2 对其细胞的杀灭能力^[31]。因此, H_2O_2 不适用于枯草芽孢杆菌 168 芽孢的灭活。

亚硝酸盐除了作为化学诱变剂用于工业微生物育种^[32],还可作为强氧化剂直接攻击芽孢的皮层、核心等结构,并与芽孢内部的蛋白质、DNA 等发生反应,发挥灭菌的作用^[27]。由图 6b)可知,杀菌处理 30 min 后,实验组芽孢的存活率较对照组显著降低,90 min 时降至 30%左右。有研究^[27]发现,亚硝酸盐能引起 DNA 损伤,进而杀死枯草芽孢杆菌芽孢。因此,在巴氏杀菌与亚硝酸盐协同处理过程中,物理(热胁迫)与化学(氧化作用)的双重作用能显著增强对枯草芽孢杆菌 168 芽孢的灭活效果。

在食品加工领域,戊二醛常作为交联剂用于提高蛋白质类食品的凝胶性、持水性、乳化性功能特性^[33]。此外,戊二醛也是一种高效、广谱的环境消毒剂,被广泛用于医疗器械和设备表面的消毒处理^[34]。由图 6c)可知,杀菌处理 45 min 后,实验组芽孢的存活率较对照组显著降低,90 min 时降至 20%左右。戊二醛能够通过化学交联作用破坏芽孢的蛋白质、DNA 和酶系统,阻断其代谢与修复功能,并凭借其强穿透性实现有效灭菌^[35]。同时,戊二醛还能抑制枯草芽孢杆菌芽孢的萌发,进一步增强芽孢的灭活效果^[27]。因此,巴氏杀菌与戊二醛协同处理能显著增强对枯草芽孢杆菌 168 芽孢的灭活效果。

聚维酮碘对细菌繁殖体和病毒具有较强的消毒能力^[36]。此外,有研究^[27]发现,聚维酮碘溶液中的游离碘能通过氧化作用破坏芽孢的细胞壁和膜结构,干扰其代谢功能,最终导致芽孢死亡。由图 6d)可知,杀菌处理 2 h 后,实验组芽孢的存活率较对照组显著降低至 30%左右;当处理时间延长至 4 h 时,聚维酮碘对芽孢结构的破坏作用逐渐累积,最终导致芽孢存活率降低至 20%。因此,巴氏杀菌与聚维酮碘的协同灭活效果呈时间依赖性,需延长处理时间至 4 h 方可达到较好的灭活效果。

3 结论

本文以枯草芽孢杆菌 168 为研究对象,研究了

不同巴氏杀菌条件下枯草芽孢杆菌 168 的芽孢数和产孢率变化情况,分析了巴氏杀菌与常见消毒杀菌剂(H_2O_2 、亚硝酸盐、戊二醛、聚维酮碘)协同作用对枯草芽孢杆菌 168 芽孢的灭活效果,得到如下结论:在对数生长末期 8 h 时对枯草芽孢杆菌 168 进行 95 °C、15 min 巴氏杀菌处理,其芽孢的灭活效果最好,这可能与其胞内芽孢形成的转录调控机制有关。相较于单独巴氏杀菌处理,巴氏杀菌与 H_2O_2 协同处理不能进一步增强芽孢的灭活效果;巴氏杀菌分别与亚硝酸盐和戊二醛协同处理时,均能在较短时间(90 min)内达到显著的芽孢灭活效果,芽孢存活率约 20%~30%,而巴氏杀菌与聚维酮碘协同处理 4 h 时才能达到相同的芽孢灭活效果。以上研究可为后续低温肉制品加工过程中芽孢灭活机制解析及巴氏杀菌工艺条件优化提供理论基础,同时也为芽孢复合杀菌策略开发提供参考。

参考文献:

- [1] 张艺林,刘静飞,任梦梦,等.微高压 CO_2 对 *Pseudomonas deceptionensis* CM2 的杀菌效应研究[J].轻工学报,2022,37(5):24-31.
ZHANG Y L,LIU J F,REN M M,et al. The bactericidal effect of petit-high pressure CO_2 on *Pseudomonas deceptionensis* CM2 [J]. Journal of Light Industry, 2022, 37 (5):24-31.
- [2] 郭紫薇,张念洁,郭航宏,等.食品中微生物检测技术及其发展趋势[J].食品安全导刊,2023(31):165-167.
GUO Z W,ZHANG N J,GUO H H,et al. Microbial detection technology in food and its development trend [J]. China Food Safety Magazine,2023(31):165-167.
- [3] 王蒙蒙,吕晓慧,靳皓博,等.溏心卤蛋杀菌工艺优化及其贮藏期间品质变化[J].食品工业科技,2024,45(4):142-150.
WANG M M,LÜ X H,JIN H B,et al. Sterilization process optimization and quality changes of soft-boiled marinated eggs during storage[J]. Science and Technology of Food Industry,2024,45(4):142-150.
- [4] 郑荣美,张磊,郑淮升,等.不同杀菌方式对白切香猪肉品质和挥发性成分的影响[J].食品与发酵工业,2024,50(22):246-253.
ZHENG R M,ZHANG L,ZHENG H S,et al. Analysis of differences in quality and volatile components of cooked Xiang pork with different sterilization methods [J]. Food and Fermentation Industries,2024,50(22):246-253.
- [5] 李雯雯,郭珏成,滕建文,等.低温肉制品卤羊腩的加

- 工工艺研究[J]. 轻工科技, 2024, 40(3): 1-5, 11.
- LI W W, GUO J C, TENG J W, et al. Study on processing technology of low-temperature meat products braised mutton brisket[J]. Light Industry Science and Technology, 2024, 40(3): 1-5, 11.
- [6] LAMO C, SHAHI N C, SINGH A, et al. Pasteurization of guava juice using induction pasteurizer and optimization of process parameters[J]. LWT-Food Science and Technology, 2019, 112: 108253.
- [7] 种婷. 蜡样芽孢杆菌检测方法的研究进展[J]. 品牌与标准化, 2025(1): 182-184.
- CHONG T. Research progress on detection methods of *Bacillus cereus*[J]. Enterprise Standardization, 2025(1): 182-184.
- [8] BOTINESTEAN C, HOSSAIN M, MULLEN A M, et al. The influence of the interaction of sous-vide cooking time and papain concentration on tenderness and technological characteristics of meat products[J]. Meat Science, 2021, 177: 108491.
- [9] SETLOW P, CHRISTIE G. What's new and notable in bacterial spore killing! [J]. World Journal of Microbiology and Biotechnology, 2021, 37(8): 144.
- [10] 杜秋, 唐辉, 孙军华, 等. 即食豆干加工过程中的细菌污染溯源[J]. 轻工学报, 2024, 39(2): 28-35.
- DU Q, TANG H, SUN J H, et al. Traceability of bacterial contamination during the processing of ready-to-eat dried soybean curd[J]. Journal of Light Industry, 2024, 39(2): 28-35.
- [11] 王晓明, 石金明, 韩敏义, 等. 巴氏杀菌工艺对白切鸡食用品质及货架期的影响[J]. 食品工业科技, 2024, 45(11): 93-101.
- WANG X M, SHI J M, HAN M Y, et al. Effect of pasteurization process on the edible quality and shelf life of white cut chicken[J]. Science and Technology of Food Industry, 2024, 45(11): 93-101.
- [12] POUND C, UNGER S, BLAIR B. Pasteurized and unpasteurized donor human milk[J]. Paediatrics & Child Health, 2020, 25(8): 549-550.
- [13] 张慧, 刘思露, 陈珊珊, 等. 肉源性芽孢杆菌致病性能异质性研究[J]. 食品工业科技, 2024, 45(19): 142-148.
- ZHANG H, LIU S L, CHEN S S, et al. Heterogeneity of spoilage potential of meat-borne *Bacillus*[J]. Science and Technology of Food Industry, 2024, 45(19): 142-148.
- [14] 杨啸吟, 张一敏, 梁荣蓉, 等. 包装冷却肉中微生物腐败及其挥发性气味的研究进展[J]. 食品科学, 2021, 42(1): 285-293.
- YANG X Y, ZHANG Y M, LIANG R R, et al. Microbial spoilage and formation and detection of volatile odor compounds in packaged chilled meat: A review[J]. Food Science, 2021, 42(1): 285-293.
- [15] 唐静, 彭圣娟, 顾卫华, 等. 枯草芽孢杆菌对聚丙烯塑料的有效降解[J]. 有色金属(冶炼部分), 2025(4): 116-123.
- TANG J, PENG S J, GU W H, et al. Effective degradation of polypropylene plastics by *Bacillus subtilis*[J]. Nonferrous Metals (Extractive Metallurgy), 2025(4): 116-123.
- [16] DUNLAP C A, BOWMAN M J, ZEIGLER D R. Promotion of *Bacillus subtilis* subsp. inaquosorum, *Bacillus subtilis* subsp. spizizenii and *Bacillus subtilis* subsp. stercoris to species status[J]. Antonie Van Leeuwenhoek, 2020, 113(1): 1-12.
- [17] DE O NUNES P S, DE MEDEIROS F H V, DE OLIVEIRA T S, et al. *Bacillus subtilis* and *Bacillus licheniformis* promote tomato growth[J]. Brazilian Journal of Microbiology, 2023, 54(1): 397-406.
- [18] OWUSU-DARKO R, ALLAM M, ISMAIL A, et al. Comparative genome analysis of *Bacillus sporothermodurans* with its closest phylogenetic neighbor, *Bacillus oleronius*, and *Bacillus cereus* and *Bacillus subtilis* groups[J]. Microorganisms, 2020, 8(8): 1185.
- [19] 张东春, 张雅娟, 孙颖, 等. 细菌芽孢的形成、萌发及控制手段研究进展[J]. 食品工业科技, 2023, 44(15): 463-473.
- ZHANG D C, ZHANG Y J, SUN Y, et al. Research progress on formation, germination and control methods of bacterial spores[J]. Science and Technology of Food Industry, 2023, 44(15): 463-473.
- [20] 甯雨荞, 田靓, 袁先铃, 等. 市售笋子烧牛肉中优势腐败菌的分离与鉴定[J]. 农产品加工, 2021(8): 51-55.
- NING Y Q, TIAN L, YUAN X L, et al. Identification of dominant spoilage bacteria in bamboo shoots and beef[J]. Farm Products Processing, 2021(8): 51-55.
- [21] LI M Y, LIANG D, LIU S J, et al. Analysis of spore prevalence and sporulation potential in prepackaged meat products[J]. LWT-Food Science and Technology, 2024, 201: 116150.
- [22] 牛力源, 张殿鹤, 马云芳, 等. 冷等离子体技术灭活细菌芽孢的研究进展[J]. 食品工业科技, 2024, 45(11): 381-387.
- NIU L Y, ZHANG D H, MA Y F, et al. Research progress of cold plasma-induced inactivation of bacterial spores[J]. Science and Technology of Food Industry, 2024, 45(11): 381-387.
- [23] 张志刚, 林祥木, 胡涛, 等. 即食肉制品微生物污染及其控制技术研究进展[J]. 肉类研究, 2020, 34(1): 94-102.
- ZHANG Z G, LIN X M, HU T, et al. Microbial contamination of ready-to-eat meat products and its control: A review[J]. Meat Research, 2020, 34(1): 94-102.
- [24] 董芳华, 王银环, 李珏, 等. 地衣芽孢杆菌活菌制剂芽孢数的快速检测方法研究[J]. 中国现代应用药学,

- 2020,37(11):1333-1337.
- DONG F H, WANG Y H, LI J, et al. Research on rapid detection method for spore counting of viable organism preparation of *Bacillus licheniformis* [J]. Chinese Journal of Modern Applied Pharmacy, 2020,37(11):1333-1337.
- [25] 王梅, 卢宗梅, 陈影, 等. 一种枯草芽孢杆菌的计数方法[J]. 当代化工, 2020,49(9):1930-1933.
- WANG M, LU Z M, CHEN Y, et al. Counting method of *Bacillus subtilis* [J]. Contemporary Chemical Industry, 2020,49(9):1930-1933.
- [26] 严涛, 朱建国, 姜甜, 等. 一株凝结芽孢杆菌的分离筛选及产孢条件优化[J]. 微生物学通报, 2018,45(2):238-249.
- YAN T, ZHU J G, JIANG T, et al. Isolation and optimization on spore-forming conditions of *Bacillus coagulans* [J]. Microbiology China, 2018,45(2):238-249.
- [27] TENNEN R, SETLOW B, DAVIS K L, et al. Mechanisms of killing of spores of *Bacillus subtilis* by iodine, glutaraldehyde and nitrous acid [J]. Journal of Applied Microbiology, 2000,89(2):330-338.
- [28] 刘云飞, 罗异, 汪航, 等. 细菌对过氧化氢应激反应研究现状的可视化分析与发展趋势展望[J]. 微生物学通报, 2024,51(6):2227-2242.
- LIU Y F, LUO Y, WANG H, et al. Visualization of research status and prediction of development trends in bacterial responses to hydrogen peroxide stress [J]. Microbiology China, 2024,51(6):2227-2242.
- [29] 白淼, 张灿, 张熙遥, 等. 三种化学消毒剂对脂环酸芽孢杆菌芽孢的杀灭效果评价[J]. 中国消毒学杂志, 2019,36(7):500-501,504.
- BAI M, ZHANG C, ZHANG X Y, et al. Assessment of the germicidal effect of three chemical disinfectants on *Alicyclobacillus* spp. spores [J]. Chinese Journal of Disinfection, 2019,36(7):500-501,504.
- [30] 刘阳. 婴幼儿配方羊乳粉生产环节蜡样芽孢杆菌污染分析及其防控技术优化[D]. 杨凌:西北农林科技大学, 2018.
- LIU Y. The Analysis of pollution and prevention measures of *Bacillus cereus* in goat milk powdered infant formula production factories [D]. Yangling: Northwest A&F University, 2018.
- [31] 庞焦, 姜梦彤, 刘羽欣, 等. 融合自组装双亲短肽对重组过氧化氢酶酶学性质的影响[J]. 微生物学报, 2022,62(9):3449-3463.
- PANG J, JIANG M T, LIU Y X, et al. Effect of fusing a self-assembling amphipathic peptide on the enzymatic properties of recombinant catalase [J]. Acta Microbiologica Sinica, 2022,62(9):3449-3463.
- [32] 袁姚梦, 邢新会, 张翀. 微生物细胞工厂的设计构建:从诱变育种到全基因组定制化创制[J]. 合成生物学, 2020,1(6):656-673.
- YUAN Y M, XING X H, ZHANG C. Progress and prospective of engineering microbial cell factories: From random mutagenesis to customized design in genome scale [J]. Synthetic Biology Journal, 2020,1(6):656-673.
- [33] 荆树桐, 李正盛, 李涵, 等. 二醛木糖的合成及其关联性分析[J]. 食品科学, 2023,44(20):71-78.
- JING S T, LI Z S A, LI H, et al. Preparation and crosslinking capacity of dialdoxylose [J]. Food Science, 2023,44(20):71-78.
- [34] 国家市场监督管理总局, 国家标准化管理委员会. 消毒剂原料清单及禁限用物质: GB 38850—2020[S]. 北京: 中国标准出版社, 2020.
- State Administration for Market Regulation, Standardization Administration of the People's Republic of China. List for materials and restricted substances in disinfectant: GB 38850—2020[S]. Beijing: China Standards Press, 2020.
- [35] 唐文雅, 聂福旭, 曹伟军, 等. 4种消毒剂对规模化奶牛场常见病原菌消毒效果的评价[J]. 现代畜牧兽医, 2024(6):10-14.
- TANG W Y, NIE F X, CAO W J, et al. Evaluation of disinfection effect of four disinfectants on common pathogenic bacteria in large-scale dairy farms [J]. Modern Journal of Animal Husbandry and Veterinary Medicine, 2024(6):10-14.
- [36] SAUERBREI A. Bactericidal and virucidal activity of ethanol and povidone-iodine [J]. MicrobiologyOpen, 2020,9(9):e1097.

Effect of pasteurization on spore inactivation of *Bacillus subtilis*

CHEN Hong, YANG Shujun, LIU Mengyao, ZHANG Yiping, WANG Hailei

College of Life Sciences, Henan Normal University, Xinxiang 453007, China

Abstract: [Objective] To improve the efficiency of pasteurization on the spore inactivation of *Bacillus subtilis* 168. **[Methods]** The changes in spore count and sporulation rate of *B. subtilis* 168 under different pasteurization conditions were determined, and the spore survival rate after synergistic treatment of pasteurization with different sanitizers (H_2O_2 , nitrite, glutaraldehyde, povidone-iodine) was also measured to analyze the spore inactivation efficiency. **[Results]** When *B. subtilis* 168 was subjected to pasteurization at 95 °C for 15 min at the late

(下转第 63 页)

acids (FAA), flavor nucleotides and organic acids, as well as taste activity value (TAV), equivalent umami concentration (EUC) and taste intensity (TI). Combined with electronic tongue and electronic nose, gas chromatography-ion mobility spectrometry (GC-IMS) was adopted to analyze the evolution of volatile organic compounds (VOCs). **【Results】** Targeted enzymatic hydrolysis significantly increases the contents of key flavor substances such as TCA-soluble peptides, FAA and flavor nucleotides ($P < 0.05$). In the enzymatic flavor base, the TAV of glutamic acid increases significantly from 4.71 to 11.74 ($P < 0.05$), the EUC rises from 1.46 g MSG/100 g to 5.31 g MSG/100 g, and its TI is approximately 3.6 times that of the original *Ruditapes philippinarum* cooking liquid. Electronic tongue analysis shows that the umami and richness of the enzymatic flavor base are significantly enhanced. Electronic nose-PCA reveals remarkable differences in odor intensity of the cooking liquid pre- and post-enzymatic hydrolysis, confirming that targeted enzymatic hydrolysis effectively alters its volatile flavor profile. A total of 72 VOCs are qualitatively identified by GC-IMS. The contents of flavor substances such as esters, aldehydes, ketones and furans in the enzymatic flavor base increase significantly, while the contents of undesirable flavor substances like isobutanol and triethylamine decrease obviously. **【Conclusion】** Targeted enzymatic hydrolysis can not only improve the umami quality of *Ruditapes philippinarum* cooking liquid, but also endow it with diverse composite flavor characteristics of fruity and fatty aromas.

Key words: *Ruditapes philippinarum* cooking liquid; targeted enzymatic hydrolysis; flavor characteristic; volatile organic compounds

[责任编辑:杨晓娟 申慧珊]

(上接第 39 页)

logarithmic growth phase (8 h of culture), it exhibited the best spore inactivation effect, with the final spore count and sporulation rate being 7 log CFU/mL and 1%, respectively. In addition, although this treatment did not completely inhibit the proliferative activity of residual bacterial cells, it significantly reduced their spore-forming ability. Compared with pasteurization alone, there was no significant change in the spore survival rate of *B. subtilis* 168 when pasteurization was combined with H₂O₂. However, the spore survival rate of *B. subtilis* 168 was significantly reduced when pasteurization was combined with nitrite, glutaraldehyde, or povidone-iodine, respectively. Among them, the combination of pasteurization with nitrite or glutaraldehyde achieved a significant spore inactivation effect within a short time (90 min), with the spore survival rate being approximately 20%~30%, while it required 4 h of synergistic treatment with povidone-iodine to achieve a similar inactivation effect. **【Conclusion】** Both nitrite and glutaraldehyde can significantly improve pasteurization's effectiveness in the spore inactivation of *B. subtilis* 168.

Key words: pasteurization; *Bacillus subtilis*; spore inactivation; sanitizer

[责任编辑:杨晓娟 申慧珊]