

# NaCl 对嗜热脂肪芽孢杆菌耐热性影响的研究

赵越<sup>1</sup>, 魏法山<sup>2</sup>, 赵改名<sup>1</sup>, 宋莲军<sup>1</sup>, 李苗云<sup>1</sup>, 高晓平<sup>1</sup>, 赵莉君<sup>1</sup>, 黄现青<sup>1</sup>

(1. 河南农业大学食品科学技术学院, 河南省肉制品加工与质量安全控制重点实验室, 河南郑州 450002)

(2. 河南省产品质量监督检验检疫院, 河南郑州 450002)

**摘要:** 为了确定在 100 °C 以下 NaCl 对嗜热脂肪芽孢杆菌耐热性的影响, 本研究以体积个数为 10<sup>7</sup> CFU/mL 的嗜热脂肪芽孢杆菌悬液为热处理时的初始菌液, 在菌悬液的中心温度在约 150 s 达到 70 °C、80 °C、90 °C 条件下, 研究不同浓度的 NaCl 制备的菌悬液经热处理后, 嗜热脂肪芽孢杆菌的残存体积个数和热致死率, 并对嗜热脂肪芽孢杆菌的残存体积个数初步建立各温度和各 NaCl 浓度条件下的热失活模型。研究结果表明, 嗜热脂肪芽孢杆菌悬液在各条件下的失活曲线均可用 Origin 8.0 软件中 DoseResp 模型拟合, 且判定系数 R<sup>2</sup> 均可达到 0.96 以上。对嗜热脂肪芽孢杆菌在不同温度、不同时间点和不同浓度 NaCl 下的热致死率进行单因素方差分析, 空白在不同热处理温度前 40 s 致死率均达到 95% 以上, 而不同浓度氯化钠在 70 °C 下前 120 s 均达到 95% 以上, 在 80 °C 下前 60 s 均达到 93% 以上, 在 90 °C 下前 60 s 均达到 98 以上, 可见不同浓度的 NaCl 对嗜热芽孢杆菌具有保护作用, 其中 2% NaCl 的保护作用显著大于其它浓度的 NaCl。

**关键词:** 嗜热脂肪芽孢杆菌; 残存体积个数; 致死率; 失活曲线; 氯化钠

文章编号: 1673-9078(2017)4-229-235

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2017.4.035

## Effect of Sodium Chloride on the Thermal Resistance of *Geobacillus stearothermophilus*

ZHAO Yue<sup>1</sup>, WEI Fa-shan<sup>2</sup>, ZHAO Gai-ming<sup>1</sup>, SONG Lian-jun<sup>1</sup>, LI Miao-yun<sup>1</sup>, GAO Xiao-ping<sup>1</sup>, ZHAO Li-jun<sup>1</sup>, HUANG Xian-qing<sup>1</sup>

(1. Henan Key Laboratory of Meat Processing and Quality Safety Control, Zhengzhou 450002, China)

(2. Henan Province Product Quality Supervision and Inspection Center, Zhengzhou 450002, China)

**Abstract:** To determine the effect of sodium chloride on the thermal resistance of *Geobacillus stearothermophilus* at temperatures below 100 °C, *G. stearothermophilus* bacterial suspensions of 10<sup>7</sup> CFU/mL were used as the initial cultures for heat treatment. After the center temperature of the suspension reached 70 °C, 80 °C, and 90 °C, respectively, the corresponding death rates and residual concentrations of *G. stearothermophilus* in the suspensions, prepared using different concentrations of sodium chloride, were studied, and the inactivation models of each temperature and concentration of sodium chloride were preliminarily established based on the residual concentrations. The results indicated that the inactivation curves of *G. stearothermophilus* suspensions under all conditions could be fitted with the DoseResp model in Origin 8.0, and all coefficients of determination (R<sup>2</sup>) were above 0.96. Single factor analysis of variance was performed on the thermal death rate of *G. stearothermophilus* at different temperatures, different time points, and different concentrations of sodium chloride. The death rate in the control during the first 40 s reached 95% or more at different temperatures, and the death rate with different concentrations of sodium chloride at temperatures below 70 °C reached more than 95% during the first 120 s, more than 93% at 80 °C during the first 60 s, and 98% or more at 90 °C during the first 60 s. Therefore, different concentrations of sodium chloride had a protective effect on *G. stearothermophilus*, and the protective effect of 2% sodium chloride was more significant than that of the other concentrations of sodium chloride tested.

**Key words:** *Geobacillus stearothermophilus*; residual concentration; death rate; inactivation curve; sodium chloride

收稿日期: 2016-04-12

基金项目: 国家级大学生创新创业训练计划项目 (201510466021); 国家自然科学基金项目 (U1504331)

作者简介: 赵越 (1992-), 女, 硕士研究生, 研究方向: 肉品科学与食品微生物

通讯作者: 黄现青 (1977-), 男, 博士, 副教授, 研究方向: 肉品科学与食品微生物

随着人们生活水平的提高和饮食结构的调整,肉类以其丰富的营养成为人们膳食营养的主要来源<sup>[1]</sup>,肉制品消费一直处于增长趋势<sup>[2]</sup>。以现代科技为基础的肉制品加工发展迅速,肉制品市场上出现的中式、西式以及中西式的高温、低温制品的品种繁多,呈现出百花齐放、一派繁荣的竞争局面。但是,我国肉类制品的生产形势不容乐观,肉类制品的安全已成为制约我国畜牧业的发展和危及人民健康的第一要素<sup>[3]</sup>。其中嗜热脂肪芽孢杆菌是一种兼性厌氧菌,其芽孢是耐热性最强的芽孢之一,通常作为验证湿热灭菌程序的生物指示剂,同时也是造成肉制品腐败变质的主要微生物之一<sup>[4-7]</sup>。

盐类的存在对微生物受热力损伤有的具有保护作用,有的则又具有相反作用。其作用效果随盐的种类、浓度及菌种等因素的变化而有相当大的差异。NaCl是肉制品中的重要盐类,关于它对微生物耐热性的影响已有较多的研究报道<sup>[8-10]</sup>。NaCl主要通过调节细胞内外的渗透压进而对细胞起到保护或破坏作用。一般认为,低浓度的NaCl对细胞有保护作用,而高浓度的则具有破坏作用。Brigg A等<sup>[11]</sup>认为2%~8%(m/V)浓度的NaCl可以降低嗜热脂肪芽孢杆菌芽孢的耐热性。而Lopez M等<sup>[12]</sup>则认为0.06%的NaCl就能有效降低芽孢耐热性,而且D值只随着磷酸盐缓冲液浓度的增大而增大,其他缓冲液几乎没有影响。因此,目前关于NaCl对嗜热脂肪芽孢杆菌耐热性的影响并没有系统统一的认识。

因此,本文研究了70℃、80℃、90℃三个热处理中心温度条件下,以2%、4%、6%、8%、10%五个不同浓度的NaCl为热处理介质时嗜热脂肪芽孢杆菌的热失活规律<sup>[13]</sup>,研究不同浓度的NaCl在不同温度条件下对嗜热脂肪芽孢杆菌耐热性的影响,希望形成系统的NaCl对嗜热脂肪芽孢杆菌耐热性影响的理论。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

嗜热脂肪芽孢杆菌 ATCC 7953: Mecconti 菌株 MrcroSwabs 系列由河南省疾病预防控制中心微生物实验室提供;营养肉汤(NB)、营养琼脂(NA)培养基:青岛海博生物技术有限公司。

### 1.2 主要仪器设备

HVE-50 蒸汽压力灭菌锅,日本 HIRAYAMA 公司; THZ-C 台式恒温振荡器,太仓市华美生化仪器厂; SW-CJ-2F 洁净工作台,苏州安泰空气技术有限公司;

SW-CJ-2F 涡旋振荡器,美国 ScientificIndustries 公司; EasyMix 均质机,法国 AES 公司; THZ-82 水浴锅,金坛市杰瑞儿电器有限公司; SPX-1505H-II 生化培养箱,上海新苗医疗器械公司。

### 1.3 方法

#### 1.3.1 热处理菌液的准备

将嗜热脂肪芽孢杆菌扩增培养 18 h,达到稳定期,此时体积个数为  $10^8$  CFU/mL,取 10 mL 该增菌液加入 90 mL 的 2%、4%、6%、8%、10% 五个不同浓度的灭菌 NaCl 溶液中,震荡均匀即得到体积个数为  $10^7$  CFU/mL 的菌液。取 1 mL 此菌液于 1.5 mL 离心管中,热处理备用。

#### 1.3.2 热处理

将水浴锅调到要用的温度,将待处理的装有菌液的离心管放入水浴锅中,开始计时至 150 s 取 20 s、40 s、60 s、80 s、100 s、120 s 和 150 s 七个时间点,在菌液达到设定的中心温度 70℃、80℃、90℃ 开始计时,取 1 min、5 min、30 min、60 min 这四个时间点。

#### 1.3.3 活细胞计数

参考 6×6 点样法<sup>[14]</sup>,取 100 μL 菌液于 1.5 mL 灭菌的离心管(内装有 900 μL 灭菌氯化钠溶液)中,按 1:10 进行倍比稀释,选取四个合适的稀释度,取 10 μL 点在倒有培养基的平板上进行微生物测定,每个稀释度 4 个平行,每个样品做三个平行。平板置于 56℃ 培养箱中培养 18~24 h,然后计数。

#### 1.3.4 致死率计算

致死率=(初始菌数-残存菌数)/初始菌数×100%

#### 1.3.5 数据处理

采用 Excel 分别计算每个样品微生物取对数值后的平均值[平均  $\log(\bar{X})$ ],每个样品微生物取平均值后的对数值 ( $n$ ),微生物平均值的估计值( $\log A$ )。

公式:  $\log A = \bar{X} + \log_{10}(S.D^2/2)$

式中, S.D: 标准差。

采用 Origin 8.0 软件作图并拟合热失活曲线,采用 SPSS 13.0 软件单因素方差分析作致死率显著性分析。

## 2 结果与分析

### 2.1 达到中心温度之前 0~150 s 的热失活曲线

图 1~6 是根据残存菌落计数结果,利用 Origin 8.0 软件中模型拟合,绘制出以 0%、2%、4%、6%、8%、10% 一个空白和五个不同浓度的 NaCl 溶液为热处理介质,热处理中心温度分别为 70℃、80℃、90℃ 的

时间-嗜热脂肪芽孢杆菌菌数曲线,进而拟合得到各条件下的热失活曲线。

从六个图中均可明显看出,菌液残存体积个数随着加热时间的延长而降低,不同浓度氯化钠规律与空白组相同。

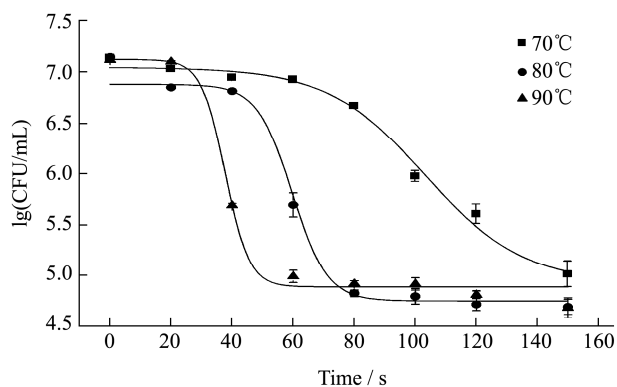


图1 空白组达到70 °C、80 °C和90 °C前的失活曲线  
Fig.1 Inactivation curves of the control group before the temperature reached 70 °C, 80 °C, or 90 °C

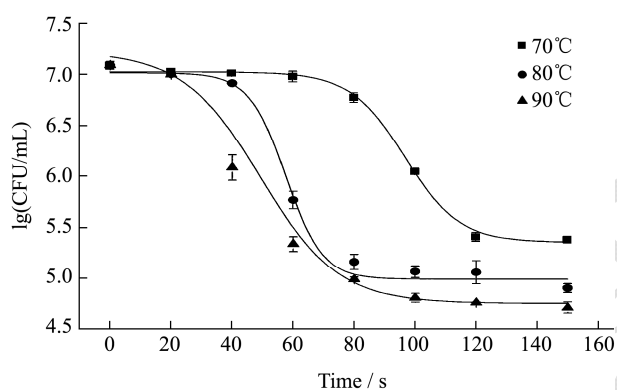


图2 2% NaCl 达到70 °C、80 °C和90 °C前的失活曲线  
Fig.2 Inactivation curves of the 2% sodium chloride group before the temperature reached 70 °C, 80 °C, or 90 °C

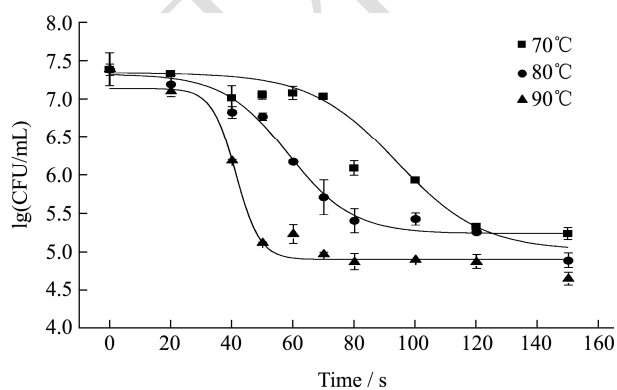


图3 4% NaCl 达到70 °C、80 °C和90 °C前的失活曲线  
Fig.3 Inactivation curves of the 4% sodium chloride group before the temperature reached 70 °C, 80 °C, or 90 °C

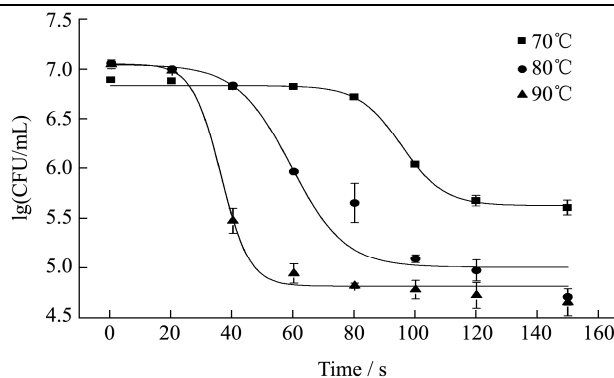


图4 6% NaCl 达到70 °C、80 °C和90 °C前的失活曲线  
Fig.4 Inactivation curves of the 6% sodium chloride group before the temperature reached 70 °C, 80 °C, or 90 °C

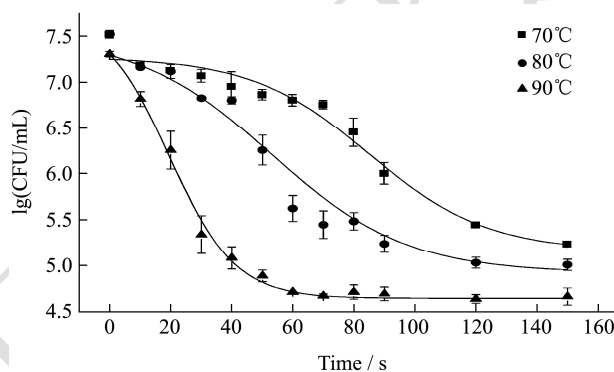


图5 8% NaCl 达到70 °C、80 °C和90 °C前的失活曲线  
Fig.5 Inactivation curves of the 8% sodium chloride group before the temperature reached 70 °C, 80 °C, or 90 °C

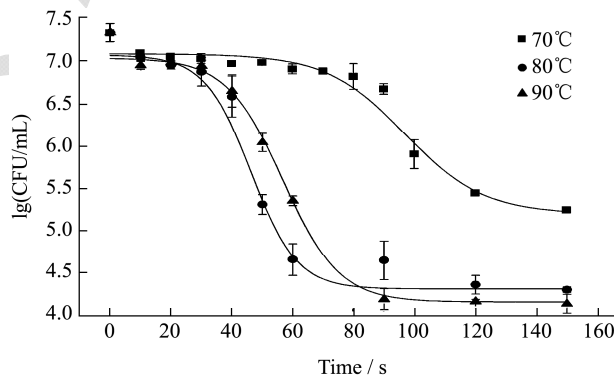


图6 10% NaCl 达到70 °C、80 °C和90 °C前的失活曲线  
Fig.6 Inactivation curves of the 10% sodium chloride group before the temperature reached 70 °C, 80 °C, or 90 °C

从图1可得,空白组中的菌液体积个数是从一置于水浴锅中就开始降低,且前40s的失活速率最高,之后失活速率有所降低,然后菌液体积个数基本达到稳定值之后不再变化。而当以NaCl溶液为热处理介质时,早期菌液体积个数变化并不明显,只有当加热时间超过某一阈值时,细菌才以先慢后快再慢的速度失活,到后期时菌液残存体积个数又基本达到某稳定值。这可能有两方面的原因:一方面添加不同浓度的

NaCl 可以不同程度地改变水分活度并调节微生物细胞内外的渗透压, 从而影响细胞内某些成分在热处理过程中向外渗漏情况, 最终对细菌耐热性产生不同影响; 另一方面 NaCl 对蛋白质的水合作用具有显著影响, 进而可能对酶等重要蛋白质的稳定性也产生影响。但不同浓度在不同热处理温度条件下的具体影响机理仍有待深入研究。但 NaCl 浓度不同, 热处理温度不同时, 最初的延滞时间也不同。浓度为 2%、4%、6%、8%、10% 的 NaCl 溶液, 热处理中心温度 70 °C、80 °C、90 °C 时对应的初始延滞时间分别为 60 s、40 s、20 s、

60 s、30 s、20 s、40 s、30 s、0 s、40 s、20 s、0 s、60 s、30 s、20 s。由此看出 NaCl 浓度相同时, 热处理温度越低, 延滞时间越长。但不同浓度 NaCl 间的延滞时间无明显规律。经过延滞期后, 大致呈现温度越高, 菌液的热失活速率越快, 残存体积个数达到稳定值的时间越早, 残存体积个数也越低的规律。除 6%、70 °C, 在 150 s 时残存体积个数仍持续降低, 各浓度不同温度对应的稳定时间分别为 120 s、80 s、100 s、120 s、80 s、70 s、90 s、90 s、140 s、120 s、100 s、130 s、90 s、90 s。

表 1 不同浓度 NaCl 各失活曲线的模型拟合参数

Table 1 Parameter values and statistical criteria of inactivation curve models at various concentrations of sodium chloride

NaCl/%	温度/°C	模型	A <sub>1</sub>	A <sub>2</sub>	LOGx <sub>0</sub>	p	R <sup>2</sup>
0	70	DoseResp	5.00148	8.10989	24.3735	-0.02158	0.99042
	80	DoseResp	4.18963	6.56173	48.18065	-0.03348	0.9823
	90	DoseResp	3.46784	9.33097	10.63978	-0.01789	0.99709
2	70	DoseResp	5.3530	7.0223	96.7325	-0.0484	0.9973
	80	DoseResp	4.9861	7.0106	57.5794	-0.0712	0.9943
	90	DoseResp	4.7470	7.2218	49.2812	-0.0339	0.9996
4	70	DoseResp	5.0243	7.3380	93.7844	-0.0310	0.9996
	80	DoseResp	5.2400	7.3181	58.1590	-0.0410	0.9778
	90	DoseResp	4.9045	7.1295	41.1629	-0.1100	0.9928
6	70	DoseResp	4.2635	7.2957	109.4534	-0.0151	0.9696
	80	DoseResp	4.5868	7.0119	57.2980	-0.0727	0.9936
	90	DoseResp	4.2527	7.6039	34.4109	-0.0257	0.9919
8	70	DoseResp	5.1621	7.2744	85.0151	-0.0224	0.9916
	80	DoseResp	4.9202	7.5092	52.7994	-0.0195	0.9692
	90	DoseResp	4.7470	7.2218	49.2812	-0.0339	0.9996
10	70	DoseResp	5.2025	7.0854	96.8838	-0.0338	0.9981
	80	DoseResp	4.3043	7.0697	46.2846	-0.0572	0.9963
	90	DoseResp	4.1512	7.0349	56.7249	-0.0470	0.9981

由表 1 可得, 不同浓度 NaCl 的各失活曲线均可用 Origin 8.0 软件中的 DoseResp 模型拟合, 拟合方程为:

$$y = A_1 + (A_2 - A_1) / \{1 + 10^{[(\text{LOG}x_0 - x) \times p]}\}$$

式中 y 为嗜热脂肪芽孢杆菌的残存菌数; x 为热处理时间; A<sub>1</sub>、A<sub>2</sub>、LOGx<sub>0</sub> 和 p 为参数。

各拟合参数如表 1 所示, 所有模型的判定系数 R<sup>2</sup> 均大于 0.9, 拟合能力较好。

## 2.2 达到中心温度之前 0~150 s 的致死率

表 2 表示分别对热处理时间前 150 s、中心温度、NaCl 浓度三个因素进行了方差分析。a、b、c、d、e 和 f 表示对同一温度不同时间的单因素方差分析。x、y 和 z 表示同一时间点不同温度的单因素方差分析。

A、B、C、D、E 和 F 表示同一温度同一时间点不同浓度的单因素方差分析。分别以 2%、4%、6%、8%、10% 五个不同浓度的 NaCl 溶液为热处理介质, 以 70 °C、80 °C、90 °C 浓度为中心温度, 从菌液进入水浴锅即开始计时, 热处理 150 s 过程中不同时间点嗜热脂肪芽孢杆菌的致死率。各组实验菌液的初始体积个数均在 7 个数量级左右, 但具体数值存在一定差异, 因此相比残存体积个数, 致死率可以更直观准确地表现不同条件下的细菌失活情况。

当热处理介质为 2% NaCl 溶液时, 70 °C、80 °C、90 °C 三个温度条件下的致死率分别于 120 s、90 s、60 s 进入不再显著变化的稳定期。120 s 之前, 不同温度在相同时间点的致死率整体呈现温度越高致死率越高的变化规律, 但 80 °C 和 90 °C 间无显著性差异;

120~150 s, 70 °C、80 °C、90 °C之间的致死率均存在显著性差异, 90 °C最高, 80 °C其次, 70 °C最低。

当热处理介质为4% NaCl 溶液时, 70 °C、80 °C、90 °C不同温度的致死率变化规律与2% NaCl 具有一定的差异, 分别于90 s、60 s、60 s进入稳定期。当热处理时间为150 s时, 90 °C致死率显著高于80 °C, 且80 °C也显著高于70 °C。

当热处理介质为6% NaCl 溶液时, 70 °C、80 °C、90 °C均呈现出较好的变化规律。各温度分别于90 s、60 s、40 s进入稳定期。60~120 s, 70 °C条件下的致死率显著低于80 °C和90 °C的相应值, 但80 °C和90 °C间无显著性差异; 当热处理时间为150 s时, 70 °C和80 °C致死率值间无显著性差异, 但二者均显著低于

90 °C。

当热处理介质为8% NaCl 溶液时, 和浓度为6%时相同, 70 °C、80 °C、90 °C三个温度也分别于120 s、90 s、60 s进入稳定期。20~40 s, 在相同时间点条件下, 70 °C和80 °C的致死率相应值间无显著性差异, 但二者均显著低于90 °C; 60~90 s则是80 °C和90 °C间无显著性差异, 且二者显著高于70 °C; 120~150 s的规律则与浓度为2%时相一致, 90 °C显著高于80 °C, 80 °C又显著高于70 °C。

当热处理介质为10% NaCl 溶液时, 70 °C、80 °C、90 °C分别于120 s、60 s、60 s进入稳定期。20~150 s整个热处理阶段, 80 °C和90 °C的致死率相应值间无显著性差异, 且二者均显著高于70 °C。

表2 达到中心温度前不同浓度 NaCl 各时间点的致死率

Table 2 Death rate at different time points with various concentrations of sodium chloride before reaching center temperature

NaCl	时间/s	0%	2%	4%	6%	8%	10%
70 °C	20	82.12±3.47 <sup>cyA</sup>	12.57±5.56 <sup>dyD</sup>	11.66±3.79 <sup>czD</sup>	21.81±8.79 <sup>cC</sup>	53.75±4.07 <sup>cyB</sup>	47.85±4.32 <sup>cyB</sup>
	40	95.00±0.75 <sup>bzA</sup>	15.68±3.46 <sup>czdD</sup>	57.24±6.05 <sup>byC</sup>	35.95±3.63 <sup>bzC</sup>	77.77±2.94 <sup>byB</sup>	56.60±3.15 <sup>dyB</sup>
	60	99.04±0.09 <sup>azA</sup>	21.66±9.03 <sup>cyD</sup>	50.60±9.66 <sup>bzBC</sup>	42.06±5.92 <sup>byC</sup>	80.58±2.88 <sup>byA</sup>	64.66±1.39 <sup>cyB</sup>
	90	99.55±0.06 <sup>azA</sup>	90.86±0.46 <sup>byE</sup>	96.43±0.03 <sup>azC</sup>	96.61±0.51 <sup>ayD</sup>	96.81±0.81 <sup>ayB</sup>	77.99±3.48 <sup>byC</sup>
	120	99.56±0.03 <sup>azA</sup>	97.89±0.28 <sup>azD</sup>	99.10±0.03 <sup>ayB</sup>	96.20±0.96 <sup>ayC</sup>	99.15±0.02 <sup>azB</sup>	98.71±0.03 <sup>ayCB</sup>
	150	99.49±0.05 <sup>azA</sup>	98.00±0.18 <sup>azC</sup>	99.27±0.04 <sup>azAB</sup>	99.60±0.03 <sup>ayA</sup>	99.48±0.01 <sup>azA</sup>	98.66±0.22 <sup>ayB</sup>
80 °C	20	91.59±1.47 <sup>cxA</sup>	16.71±2.17 <sup>dxvF</sup>	35.85±5.44 <sup>cyD</sup>	30.45±9.36 <sup>cE</sup>	60.38±6.14 <sup>cyB</sup>	59.00±3.68 <sup>cxC</sup>
	40	96.38±0.76 <sup>byA</sup>	32.31±4.53 <sup>cyE</sup>	72.34±4.83 <sup>byD</sup>	58.12±4.50 <sup>byC</sup>	80.86±1.44 <sup>byB</sup>	81.68±8.08 <sup>bxB</sup>
	60	99.60±0.06 <sup>byA</sup>	95.20±0.83 <sup>bxD</sup>	93.78±0.28 <sup>ayB</sup>	96.31±0.51 <sup>axA</sup>	99.14±0.26 <sup>axA</sup>	99.79±0.10 <sup>axC</sup>
	90	99.88±0.01 <sup>ayA</sup>	99.04±0.13 <sup>axC</sup>	98.87±0.17 <sup>ayA</sup>	99.67±0.04 <sup>axA</sup>	99.47±0.12 <sup>axA</sup>	99.79±0.10 <sup>axB</sup>
	120	99.90±0.01 <sup>ayA</sup>	99.06±0.19 <sup>ayB</sup>	99.24±0.01 <sup>axyC</sup>	99.67±0.05 <sup>axA</sup>	99.67±0.04 <sup>ayAB</sup>	99.89±0.02 <sup>axA</sup>
	150	99.90±0.02 <sup>ayA</sup>	99.35±0.06 <sup>ayC</sup>	99.67±0.20 <sup>ayC</sup>	99.68±0.08 <sup>ayB</sup>	99.69±0.04 <sup>ayB</sup>	99.91±0.01 <sup>axA</sup>
90 °C	20	94.09±0.13 <sup>bxA</sup>	19.16±0.87 <sup>cxC</sup>	48.71±4.47 <sup>cxAB</sup>	42.92±13.00 <sup>bdD</sup>	90.62±3.68 <sup>bxAB</sup>	55.58±2.37 <sup>cxB</sup>
	40	98.95±0.16 <sup>axA</sup>	90.05±2.64 <sup>bxC</sup>	93.69±0.08 <sup>bxB</sup>	97.88±0.31 <sup>axA</sup>	99.38±0.17 <sup>axA</sup>	78.67±9.02 <sup>bxA</sup>
	60	99.92±0.01 <sup>axA</sup>	98.22±0.28 <sup>axD</sup>	99.29±0.01 <sup>axC</sup>	99.71±0.05 <sup>axB</sup>	99.77±0.01 <sup>axB</sup>	98.96±0.14 <sup>axA</sup>
	90	99.96±0.00 <sup>axA</sup>	99.48±0.05 <sup>axD</sup>	99.67±0.08 <sup>axB</sup>	99.78±0.03 <sup>axA</sup>	99.75±0.04 <sup>axA</sup>	99.93±0.00 <sup>axC</sup>
	120	99.97±0.00 <sup>axA</sup>	99.53±0.00 <sup>axC</sup>	99.69±0.01 <sup>axB</sup>	99.75±0.03 <sup>axB</sup>	99.78±0.02 <sup>axB</sup>	99.93±0.02 <sup>axA</sup>
	150	99.98±0.00 <sup>axA</sup>	99.58±0.05 <sup>axC</sup>	99.82±0.02 <sup>axB</sup>	99.87±0.01 <sup>axA</sup>	99.77±0.05 <sup>axB</sup>	99.94±0.02 <sup>axA</sup>

注: 1.数据为平均值±标准差; 2.<sup>a,b,c,d,e,f,x,y,z</sup>: 表示每列数据中字母不同者差异显著 ( $p<0.05$ ); 3.<sup>A,B,C,D,E,F</sup>: 表示每行数据中字母不同者差异显著 ( $p<0.05$ )。

由空白组和2%、4%、6%、8%、10%五个不同浓度 NaCl 组间的方差分析结果可知, 空白组各点的致死率值基本显著高于各 NaCl 组。在热处理时间为150 s条件下, 当中心温度为70 °C时, 4%、6%、8%三个浓度 NaCl 组的相应致死率值和空白组均无显著性差异, 但2%和10% NaCl 组的相应值则显著低于空白组; 当中心温度为80 °C时, 2%、4%、6%、8%四个浓度 NaCl 组的致死率值均显著低于空白组, 10% NaCl 的

相应值则与空白组无显著性差异; 当中心温度为90 °C时, 2%、4%、8% NaCl 组的致死率值显著低于空白组, 而6%和10% NaCl 的相应值则与空白组无显著性差异。这表明不同浓度的 NaCl 对嗜热芽孢杆菌具有保护作用, 其中2% NaCl 的保护作用明显大于其它浓度的 NaCl。

### 2.3 达到中心温度之后各时间点的致死率

表3 达到中心温度后不同浓度 NaCl 各时间点的致死率

Table 3 Death rate at different time points with various concentrations of sodium chloride after reaching center temperature

NaCl	时间/min	0%	2%	4%	6%	8%	10%
70 °C	1	99.54±0.05 <sup>cyAB</sup>	99.32±0.03 <sup>zBC</sup>	99.38±0.03 <sup>bzA</sup>	99.67±0.04 <sup>bzAB</sup>	99.61±0.06 <sup>byC</sup>	98.29±0.40 <sup>byD</sup>
	5	99.68±0.01 <sup>byA</sup>	99.41±0.05 <sup>bzD</sup>	99.72±0.00 <sup>byB</sup>	99.69±0.01 <sup>bzB</sup>	99.64±0.04 <sup>azC</sup>	98.61±0.34 <sup>byB</sup>
	30	99.78±0.02 <sup>ayA</sup>	99.45±0.01 <sup>bzD</sup>	99.70±0.01 <sup>abyB</sup>	99.69±0.00 <sup>bzB</sup>	99.66±0.08 <sup>azC</sup>	99.43±0.19 <sup>ayA</sup>
	60	99.77±0.02 <sup>ayA</sup>	99.57±0.06 <sup>ayB</sup>	99.84±0.00 <sup>ayA</sup>	99.87±0.02 <sup>azA</sup>	99.83±0.04 <sup>ayA</sup>	99.74±0.06 <sup>ayA</sup>
80 °C	1	99.93±0.01 <sup>cxA</sup>	99.41±0.01 <sup>dyB</sup>	99.79±0.12 <sup>byC</sup>	99.79±0.06 <sup>cyB</sup>	99.76±0.02 <sup>cxC</sup>	99.95±0.01 <sup>cxA</sup>
	5	99.97±0.00 <sup>bxA</sup>	99.88±0.00 <sup>cyE</sup>	99.77±0.18 <sup>byB</sup>	99.88±0.03 <sup>byC</sup>	99.81±0.02 <sup>byD</sup>	99.95±0.00 <sup>cxA</sup>
	30	99.98±0.00 <sup>axA</sup>	99.71±0.01 <sup>byB</sup>	99.94±0.06 <sup>axA</sup>	99.91±0.01 <sup>abyA</sup>	99.81±0.02 <sup>byA</sup>	99.97±0.00 <sup>bxB</sup>
	60	99.98±0.01 <sup>axA</sup>	99.90±0.01 <sup>axE</sup>	99.96±0.01 <sup>axB</sup>	99.95±0.00 <sup>ayC</sup>	99.92±0.04 <sup>axD</sup>	99.99±0.01 <sup>axA</sup>
90 °C	1	99.97±0.00 <sup>cxA</sup>	99.58±0.02 <sup>dxD</sup>	99.90±0.01 <sup>bxAB</sup>	99.90±0.02 <sup>cxBC</sup>	99.81±0.02 <sup>bxC</sup>	99.98±0.00 <sup>bxABC</sup>
	5	99.98±0.00 <sup>bxBC</sup>	99.65±0.01 <sup>cxD</sup>	99.93±0.01 <sup>abxA</sup>	99.94±0.01 <sup>bxA</sup>	99.82±0.02 <sup>bxAB</sup>	99.98±0.00 <sup>bxC</sup>
	30	99.99±0.02 <sup>axA</sup>	99.85±0.02 <sup>bxB</sup>	99.96±0.00 <sup>axA</sup>	99.96±0.03 <sup>abxA</sup>	99.95±0.02 <sup>axB</sup>	99.96±0.00 <sup>cxA</sup>
	60	99.99±0.00 <sup>axBC</sup>	99.88±0.00 <sup>axE</sup>	99.98±0.00 <sup>axC</sup>	99.99±0.00 <sup>axAB</sup>	99.96±0.01 <sup>axD</sup>	99.99±0.00 <sup>axA</sup>

注: 1.数据为平均值±标准差; 2.<sup>a,b,c,d,x,y,z</sup>: 表示每列数据中字母不同者差异显著 ( $p<0.05$ ); 3.<sup>A,B,C,D,E,F</sup>: 表示每行数据中字母不同者差异显著 ( $p<0.05$ )。

表3表示分别对热处理达到中心温度后60 min、中心温度和NaCl浓度三个因素进行了方差分析。a、b、c和d表示对同一温度不同时间的单因素方差分析。x、y和z表示同一时间点不同温度的单因素方差分析。A、B、C、D、E和F表示同一温度同一时间点不同浓度的单因素方差分析。由表3可知,致死率随着热处理时间的增加和热处理温度的提高均整体呈现显著增加趋势。但当热处理温度相同时,1 min、5 min、30 min、60 min这四个不同的时间点下不同浓度间致死率的差异性完全不同。当热处理时间为60 min时,相对空白组致死率,70 °C温度条件下2% NaCl的致死率显著低于空白组,4%、6%、8%、10%四个不同浓度NaCl组与空白组间均无显著性差异;80 °C温度条件下是2%、4%、6%、8% NaCl组均显著低于空白组,10% NaCl与空白组之间则无显著性差异;90 °C温度条件下则是2%、8%显著低于空白组,4%、6%无显著性差异,10%显著高于空白组。

达到中心温度前的0~150 s热处理阶段,将150 s时各条件下的致死率跟空白组相应温度条件下的致死率值进行比较。如果实验组致死率高于空白组,则说明该条件下的NaCl降低了嗜热脂肪芽孢杆菌的耐热性;如果实验组低则说明提高了该菌的耐热性。由此分析可得,在此阶段,2% NaCl三个温度条件下均提高了嗜热脂肪芽孢杆菌的耐热性;4%、8% NaCl在70 °C温度条件下对嗜热脂肪芽孢杆菌的耐热性无显著性影响,80 °C和90 °C却提高了该菌的耐热性;6% NaCl在70 °C和90 °C温度条件下对该菌的耐热性无显著性影响,80 °C温度却提高了其耐热性;10% NaCl

在70 °C条件下提高了该菌的耐热性,80 °C、90 °C则均无显著性影响。

在菌液温度达到中心既定中心温度(70 °C、80 °C、90 °C)后继续热处理60 min,计算得到60 min时不同条件下的致死率,通过对比空白组分析可得,70 °C中心温度条件下,2% NaCl显著提高了嗜热脂肪芽孢杆菌的耐热性,其他四个浓度(4%、6%、8%、10%)则对嗜热脂肪芽孢杆菌的耐热性均无显著性影响;80 °C中心温度条件下,2%、4%、6%、8%四个浓度的NaCl均显著提高了嗜热脂肪芽孢杆菌的耐热性,10%则对该菌的耐热性无显著性影响;90 °C中心温度条件下,2%、8%的NaCl显著提高了嗜热脂肪芽孢杆菌的耐热性,10% NaCl则又显著降低了该菌耐热性,4%、6%浓度的NaCl无显著性影响。从表中可以看出,不同温度下热处理达到中心温度后嗜热芽孢杆菌的致死率均达到了98%以上,但是还没有完全杀死细菌,这说明嗜热芽孢杆菌经过热激后有可能萌发成孢子或者萌发出超休眠孢子,这就需要以后进一步地研究。

### 3 结论

达到中心温度前0~150 s热处理阶段,以及达到中心温度之后热处理至60 min,70 °C、80 °C、90 °C三个温度条件下,不同浓度NaCl均可提高嗜热脂肪芽孢杆菌的耐热性,而且2%的NaCl可显著提高嗜热脂肪芽孢杆菌的耐热性。本文数据处理方式也表明了热失活拟合模型可以直观地反映嗜热脂肪芽孢杆菌失活规律,致死率更能直观地表达出嗜热脂肪芽孢杆菌失活情况。

## 参考文献

- [1] 张春江,王海燕,罗欣.微生物引起的肉与肉制品的腐败[J].微生物与食品,2001,6:16-19  
ZHANG Chun-jiang, WANG Hai-yan, LUO Xin. Caused by microorganisms in meat and meat products of corruption [J]. Microbiology and Food, 2001, 6: 16-19
- [2] 高瑗,冉然,卢晓黎.肉制品流通安全问题及相关解决措施[C]//第十一届中国科协年会.重庆:中国科协,2009  
GAO Yuan, RAN Ran, LU Xiao-li. Meat circulation security issues and related solutions [C]// Eleventh Annual Meeting of China Association for Science. Chongqing: China Association for Science, 2009
- [3] 钟飞.当前肉类食品安全存在的主要问题[N].中国畜牧兽医报,2005-8-21(7)  
ZHONG Fei. Current problems in the presence of meat safety [N]. China Animal Husbandry and Veterinary Newspaper, 2005-8-21(7)
- [4] Clémence Rigaux, Stéphane André, Isabelle Albert, et al. Quantitative assessment of the risk of microbial spoilage in foods. Prediction of non-stability at 55 °C caused by *Geobacillus stearothermophilus* in canned green beans [J]. Journal of Food Microbiology, 2014, 171: 119-128
- [5] Ahn J, Lee H Y, Balasubramaniam V M. Inactivation of *Geobacillus stearothermophilus* spores in low-acid foods by pressure-assisted thermal processing [J]. Journal of the Science of Food & Agriculture, 2015, 95(1): 174-178
- [6] You Z Q, Li J, Qin S, et al. *Bacillus abyssalis* sp. nov., isolated from a sediment of the south china sea [J]. Antonie Van Leeuwenhoek, 2013, 103(5): 963-969
- [7] Zhou W, Orr M W, Jian G, et al. Inactivation of bacterial spores subjected to sub-second thermal stress [J]. Chemical Engineering Journal, 2015, 279: 578-588
- [8] 王涛.食品组分与抑菌剂对嗜热脂肪芽孢杆菌芽孢耐热性的影响[D].无锡:江南大学,2011  
WANG Tao. The effect of food constituents and preservatives on the thermal resistance of *Bacillus Sitearothermophilus* spores [D]. Wuxi: Jiangnan University, 2011
- [9] 王涛,何志勇,陈洁.食品组分与天然抑菌剂对芽孢耐热性的影响[J].食品工业科技,2011,9:128-130  
WANG Tao, HE Zhi-yong, CHEN Jie. The effect of food constituents and natural preservatives on the thermal resistance of *Bacillus Sitearothermophilus* spores [J]. Science and Technology of Food Industry, 2011, 9: 128-130
- [10] Islam M S, Inoue A, Igura N, et al. Inactivation of *Bacillus* spores by the combination of moderate heat and low hydrostatic pressure in ketchup and potage [J]. International Journal of Food Microbiology, 2006, 107(2): 124-30
- [11] Briggs A, Yazdanyd S. Effect of sodium chloride on the heat and radiation resistance and on the recovery of heated or irradiated spores of the genus *bacillus* [J]. J. Appl. Microbiol., 1970, 33(4): 621-632
- [12] Lopez M, Mazas M, GonzBlez I. Thermal resistance of *Bacillus stearothermophilus* spores in different heating systems containing some approved food additives [J]. Lett. Appl. Microbiol., 1996, 23(3): 187-191
- [13] Mtimet N, Trunet C, Mathot A G, et al. Modeling the behavior of *Geobacillus stearothermophilus* ATCC 12980 throughout its life cycle as vegetative cells or spores using growth boundaries [J]. Food Microbiology, 2015, 48: 153-162
- [14] Chin-Yi Chen, Gary W Nace Peter L. Irwin. A 6×6 drop plate method for simultaneous colony counting and MPN enumeration of *Campylobacter jejuni*, *Listeria monocytogenes*, and *Escherichia coli* [J]. Journal of Microbiological Methods, 2003, 55(2): 475-479