

电子束辐照抑制几种常见食源性致病菌生长的研究

王海宏¹, 郑琦¹, 颜伟强¹, 岳玲¹, 戚文元¹,
陈志军¹, 包英姿², 孔秋莲^{*1}

(1. 上海市农业科学院, 上海 201106; 2. 上海束能辐照技术有限公司, 上海 201401)

摘要: 为提高电子束辐照对食源性致病菌控制效果, 以大肠埃希氏菌、鼠伤寒沙门氏菌、单核细胞增生李斯特氏菌、蜡样芽孢杆菌等 4 种常见致病菌为对象, 通过分析 D_{10} 值、生长曲线、生物被膜和混菌培养中优势菌, 研究了电子束辐照对致病菌生长的影响。结果表明, 电子束辐照对 4 种致病菌具有很强的杀灭作用, D_{10} 值范围为 0.330~0.648 kGy, 多次辐照可导致 D_{10} 值变小, 致病菌对辐照耐受性降低。亚致死剂量电子束辐照可抑制致病菌生长, 表现为延迟期延长, 且稳定期菌落数量级水平低于对照, 在较低温度 15 °C 下表现更明显。不同致病菌间进行比较发现, 大肠埃希氏菌对辐照最敏感, D_{10} 值最低, 延迟期滞后程度大于其他致病菌, 而蜡样芽孢杆菌的辐照敏感度最低。4 种致病菌辐照后共同培养时, 蜡样芽孢杆菌在混合菌液中生长受到抑制, 由 33.49% 下降至 25.06%, 其他 3 种致病菌百分比都较培养前有所增加。亚致死剂量电子束辐照可影响致病菌生物被膜形成, 大肠埃希氏菌、蜡样芽孢杆菌辐照后成膜能力增强, 而鼠伤寒沙门氏菌、单核细胞增生李斯特氏菌成膜能力减弱。

关键词: 电子束; 辐照; 大肠埃希氏菌; 鼠伤寒沙门氏菌; 单核细胞增生李斯特氏菌; 蜡样芽孢杆菌; 生长抑制

中图分类号: TS 201.3 文章编号: 1673-1689(2021)10-0091-07 DOI: 10.3969/j.issn. 1673-1689.2021.10.012

Inhibition of Growth of Several Common Food Borne Pathogens by Electron Beam Irradiation

WANG Haihong¹, ZHENG Qi¹, YAN Weiqiang¹, YEU Ling¹, QI Wenyuan¹,
CHEN Zhijun¹, BAO Yingzi², KONG Qiulian^{*1}

(1. Shanghai Academy of Agriculture Science, Shanghai 201106, China; 2. Shanghai Shuneng Irradiation Technology Co., Ltd., Shanghai 201401, China)

Abstract: To improve the control effect of electron beam irradiation on foodborne pathogens, the effects of electron beam irradiation on the growth of pathogenic bacteria were studied by analysis of D_{10} value, growth curve, biofilm formation and dominant bacteria in mixed culture of four common foodborne pathogens, including *Escherichia coli*, *Salmonella typhimurium*, *Listeria monocytogenes* and *Bacillus cereus*. The results showed that electron beam irradiation had strong disinfecting influence on these four pathogens and the D_{10} values ranged from 0.330 kGy to 0.648 kGy. In

收稿日期: 2020-09-25

基金项目: 上海市科技兴农重点攻关项目(沪农科攻字 2016 第 6-3-4 号); 上海市工程技术研究中心项目(19DZ2251600)。

作者简介: 王海宏(1980—), 男, 硕士, 助理研究员, 主要从事农产品辐照保鲜加工方面的研究。E-mail: whhchina@163.com

* 通信作者: 孔秋莲(1971—), 女, 博士, 研究员, 主要从事农产品辐照保鲜加工方面的研究。E-mail: qiuliankong@yahoo.com

addition, multiple irradiation could decrease the D_{10} values, leading to the lower tolerance of pathogenic bacteria to irradiation. Sublethal dose electron beam irradiation could inhibit bacterial growth, which showed longer lag phase and lower colony quantity level of stationary phase than that of the control. And this effect was especially significant at lower temperature of 15 °C. Among different pathogenic bacteria, *Escherichia coli* was the most sensitive to irradiation, with the lowest D_{10} value and the greater lag degree of lag phase than other pathogenic bacteria, while *Bacillus cereus* was the least sensitive to irradiation. When the four pathogens were mixed and co-cultured after irradiation, the growth of *Bacillus cereus* irradiated by electron beam was inhibited and the percentage decreased from 33.49% to 25.06%, while the percentage of other three pathogens increased. Sublethal dose electron beam irradiation could affect the biofilm formation of pathogenic bacteria. After irradiation, the ability of forming biofilm of *Escherichia coli* and *Bacillus cereus* was enhanced, while that of *Salmonella typhimurium* or *Listeria monocytogenes* was weakened.

Keywords: electron beam, irradiation, *Escherichia coli*, *Salmonella typhimurium*, *Listeria monocytogenes*, *Bacillus cereus*, growth inhibition

食源性致病菌可导致食源性疾病和食物中毒,是影响食品安全的最主要原因。据世界卫生组织统计,全球腹泻病例每年高达 1.5 亿,其中 70% 与食品污染致病微生物有关,我国致病性微生物污染导致的疾病在食源性疾病中占比高达 46.4%^[1]。食源性致病菌多达几十种,在我国食源性致病菌监测中常见的有蜡样芽孢杆菌、副溶血性弧菌、单核细胞增生李斯特氏菌、沙门氏菌、金黄色葡萄球菌、大肠杆菌、创伤弧菌、阪崎肠杆菌等,在熟肉制品、即食豆制品、焙烤食品、中式凉拌菜、牛乳、盒饭等方便即食类食品中多有检出^[2-7]。

为保障食品安全,必须对食源性致病菌进行控制。我国 2013 年发布的《食品安全国家标准食品中致病菌限量(GB 29921—2013)》中规定了肉制品、水产制品、粮食制品、豆类制品、果蔬制品、饮料及冷冻饮品、即食调味品共 8 大类即食食品的致病菌的限量标准。除金黄色葡萄球菌和副溶血性弧菌按三级采样方案允许有一定检出外,沙门氏菌、单核细胞增生李斯特氏菌、大肠埃希氏菌 O157:H7 均要求无检出^[8]。方便即食类食品的安全性是第一需求,杀菌除虫是食品安全的关键技术环节,是延长食品保质期、保证食品食用安全的必不可少的措施。传统热杀菌是保持食品安全和货架期的主要技术,但热加工易导致食品过度熟化和维生素等营养物质损失。非热加工技术是一种相对新兴的技术,在加工中产品温升很低,对食品的感官和营养品质影响

小,可避免食品色、香、味、质构的改变及营养损失。电子束辐照作为一种安全卫生、低碳高效的非热杀菌除虫技术,在控制食源性疾病、杀灭有害昆虫方面具有独特优势,还可降低一些食品 γ -射线加工的不良反应,能最大限度保持其原有的色、香、味,是不适于高温灭菌的冷冻、冷藏类食品加工的理想灭菌除虫技术。

研究证明,电子束能杀灭 O157:H7 大肠埃希氏菌、沙门氏菌属、李斯特氏菌属等食源性致病菌以及食物致腐微生物,在食品安全领域有良好应用前景^[9]。1.5 kGy 电子束辐照可杀灭鲜切哈密瓜接种的沙门氏菌^[10];2 kGy 电子束辐照可杀灭牛肉香肠中接种的沙门氏菌,产品感官特性未受到显著影响^[11];3 kGy 电子束辐照后,方便曲奇面团中接种大肠杆菌 O157:H7、沙门氏菌、沙门氏菌、单核细胞增生李斯特菌均无检出,面团的色泽和质构较未辐照处理未出现显著差异^[12];6 kGy 电子束辐照可有效杀灭散装即食酱卤牛肉的大肠菌群和金黄色葡萄球菌^[13]。辐照杀灭微生物的有效性受微生物辐射耐受性和微生物数量的影响,微生物的耐受性越强、数量越多,杀灭微生物需要的辐照剂量越高。鲜切果蔬等食品因品质保持需求,对辐照剂量有一定的限制要求,实际生产中辐照剂量较低。而亚致死的低剂量辐照作为一种外加的逆境刺激,可能引起微生物的应激反应,从而影响辐照效果。目前关于低剂量电子束处理对食源性致病菌生长影响还少见报道,作

者以常见食源性致病菌大肠埃希氏菌、沙门氏菌、单核细胞增生李斯特氏菌、蜡样芽孢杆菌为对象,研究亚致死剂量电子束辐照对微生物生长的影响,以期电子束辐照在食源性疾病控制中的应用提供参考。

1 材料与方法

1.1 材料

鼠伤寒沙门氏菌 ATCC 14028、大肠埃希氏菌 ATCC25922;购自广东环凯微生物科技有限公司;单核细胞增生李斯特氏菌 BNCC336877;购自商城北纳创联生物科技有限公司;蜡样芽孢杆菌 B10;购自上海市工业微生物研究所菌种保藏中心;培养基:购自北京陆桥技术股份有限公司。

1.2 供试菌液制备

鼠伤寒沙门氏菌、单核细胞增生李斯特氏菌、大肠埃希氏菌、蜡样芽孢杆菌冷冻甘油保藏菌种复苏,TSB 培养基 35℃培养过夜,PCA 培养基划线接种,35℃培养 48 h 得到单菌落,挑取单菌落再次在 TSB 培养基于 35℃培养过夜增菌,控制菌量在 10^7 水平,得到供试菌液。

1.3 辐照处理

1.3.1 致病菌辐照 D_{10} 值 设定剂量为 0、0.4、0.8、1.2、1.6、2 kGy 共 6 个水平,每个剂量水平设置 3 次重复。供试菌液加入无菌的一次性平板,每个平板 10 mL 菌液,加盖后用封口膜缠绕封口,电子束单面辐照,根据菌液可培养菌落数量计算 D_{10} 值。

1.3.2 多次辐照的致病菌辐照 D_{10} 值 供试菌液加入无菌的一次性平板,每个平板 10 mL 菌液,加盖后用封口膜缠绕封口,电子束单面辐照,辐照剂量设定 0、0.4、0.8、1.2、1.6、2 kGy 共 6 个水平,每个剂量水平设置 3 次重复。同样操作重复 3 次,得到多次亚致死剂量辐照的病原菌供试菌液,根据菌液可培养菌落数量分别计算每次辐照的 D_{10} 值。

1.3.3 亚致死剂量辐照对致病菌生长曲线和生物被膜形成的影响 供试菌液加入无菌的一次性平板,每个平板 10 mL 菌液,加盖后用封口膜缠绕封口。根据致病菌 D_{10} 值,选择亚致死的剂量辐照供试菌液,电子束单面辐照,辐照剂量设定 0、2 kGy,每个剂量水平设置 3 次重复,每个重复 10 个平板。

1.3.4 亚致死剂量辐照对病原菌混合菌中百分比的影响 将大肠埃希氏菌、鼠伤寒沙门氏菌、单核

细胞增生李斯特氏菌、蜡样芽孢杆菌供试菌液等比例混合,制备混合供试菌液。混合供试菌液加入无菌的一次性平板,每个平板 10 mL 菌液,加盖后用封口膜缠绕封口。根据致病菌 D_{10} 值,选择亚致死的剂量辐照供试菌液,电子束单面辐照,辐照剂量设定 0、2 kGy,每个剂量水平设置 3 次重复。

以上所有辐照利用清华同方威视 IS1020 电子加速器(10 MeV、20 kW)进行,使用重铬酸银液体化学剂量计对实际辐照剂量进行监测^[14],剂量计的校准按照 GB/T 16640—2008 进行^[15]。

1.4 方法

1.4.1 致病菌辐照 D_{10} 值的计算 D_{10} 值是指将微生物总数降低一个数量级的辐照剂量,通过不同辐照剂量对应的致病菌可培养数量的对数值,建立线性拟合方程 $y=ax+b$, D_{10} 值即为 a 的倒数的绝对值,其中: y 为辐照剂量; x 为致病菌可培养数量的对数值; a 、 b 为常数。

1.4.2 生长曲线测定方法 参考王蒙蒙方法稍做改动^[16]。供试菌液 5 000 r/min 离心 5 min,得到微生物菌体沉淀,用无菌生理盐水清洗沉淀后再离心,重复一次,将菌体沉淀用 TSB 培养基悬浮,控制菌量为 10^2 mL⁻¹ 水平。采用 12 孔板测定,每个孔板加入菌液 4 mL,35℃下静置培养,定期监测 $A_{600\text{nm}}$ 值,同时进行 PCA 平板菌落计数。

1.4.3 生物被膜测定方法 供试菌液于 5 000 r/min 离心 5 min,得到微生物菌体沉淀,用无菌生理盐水清洗沉淀后再离心,重复一次,将菌体沉淀用 TSB 培养基悬浮,控制菌量为 10^2 CFU/mL 水平。采用 12 孔板测定,每个孔板加入菌液 4 mL,35℃下静置培养 7 d,使用结晶紫染色法^[17]测定生物被膜。

1.4.4 混合菌百分比分析方法 将处理后的混合供试菌液立即进行 PCA 平板菌落计数,同时将混合供试菌液 5 000 r/min 离心 5 min,得到微生物菌体沉淀,用无菌生理盐水清洗沉淀后再离心,重复一次,将菌体沉淀用原体积的 TSB 培养基悬浮,再用 TSB 培养基适当稀释,调整菌量为 10^2 CFU/mL 水平,35℃培养过夜后平板计数检测。大肠埃希氏菌、鼠伤寒沙门氏菌、单核细胞增生李斯特氏菌、蜡样芽孢杆菌分别采用伊红美蓝琼脂、亚硫酸铋琼脂、改良 Mc Bride 琼脂培养基、甘露醇卵黄多粘菌素琼脂基础平板计数,分析各菌种百分比。

1.5 统计分析

实验数据采用 SPSS 13.0 软件进行分析。

2 结果与分析

2.1 电子束辐照几种食源性致病菌的致死剂量分析

D_{10} 值是指将微生物总数降低一个数量级的辐照剂量,数值大小可反映微生物对射线的耐受能力,是辐照加工工艺中选择适宜灭菌剂量的重要参数^[18]。从表 1 可以看出,蜡样芽孢杆菌的 D_{10} 值最高,其后依次是单核细胞增生李斯特氏菌和鼠伤寒沙门氏菌,大肠埃希氏菌的 D_{10} 值最低,表明同样含量水平条件下,电子束辐照食源性致病菌的致死剂量要求由高到低依次为蜡样芽孢杆菌、单核细胞增生李斯特氏菌、鼠伤寒沙门氏菌、大肠埃希氏菌。

表 1 4 种食源性致病菌电子束辐照 D_{10} 值

Table 1 D_{10} values of four foodborne pathogens irradiated by electron beam

致病菌	回归方程	D_{10} 值/kGy
鼠伤寒沙门氏菌	$y = -1.8873x + 9.1156$ $R^2 = 0.9897$	0.530
单核细胞增生李斯特氏菌	$y = -1.7178x + 8.6585$ $R^2 = 0.853$	0.582
大肠埃希氏菌	$y = -3.0328x + 9.4282$ $R^2 = 0.9877$	0.330
蜡样芽孢杆菌	$y = -1.5425x + 9.2817$ $R^2 = 0.9972$	0.648

2.2 多次辐照对食源性致病菌致死剂量的影响

辐照可杀灭微生物,引起可培养微生物数量大幅下降,同时作为一种逆境刺激,辐照可导致未被杀死的微生物产生损伤修复。研究表明,微生物主要通过快速修复受损的 DNA 片段、形成芽孢减缓新陈代谢速率、产生超氧化物歧化酶清除自由基等途径来降低辐照损伤^[19]。辐照损伤修复可影响微生物对辐照的耐受特性。由图 1 可以看出,食源性病原菌电子束辐照的 D_{10} 值随辐照次数增加而降低,降低幅度因病原菌种类和辐照次数不同而不同,其中第二次辐照时 D_{10} 值下降幅度最大,不同病原菌之间以蜡样芽孢杆菌下降幅度最大,大肠埃希氏菌下降幅度最小。第三次辐照时不同种类病原菌的 D_{10} 值趋于一致,菌间差异大幅减小。

2.3 亚致死剂量电子束辐照对 4 种致病菌生长曲线的影响

生长曲线的测定有助于了解菌株的生长及代

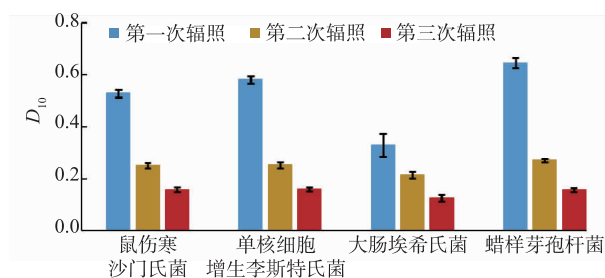


图 1 多次辐照对 4 种食源性病原菌 D_{10} 值的影响

Fig. 1 Effect of multiple irradiation on D_{10} values of four foodborne pathogens

谢情况。由图 2 可以看出,35 °C 下食源性致病菌生长曲线表现为接种后至 4 h 时处于延迟期,4~12 h 处于对数生长期,12~32 h 处于稳定期,菌落的数量最高到 $10^8 \sim 10^9$ CFU/mL 水平。电子束亚致死剂量辐照影响食源性致病菌的对数生长期的开始阶段,在同样 2 kGy 剂量处理下,大肠埃希氏菌的对数生长期明显滞后于对照处理,原因可能在于其较低的 D_{10} 值。亚致死剂量辐照还影响食源性致病菌稳定期的菌落数量级水平,2 kGy 剂量处理下,食源性致病菌稳定期的菌落数量级水平低于对照,其中沙门氏菌与对照的差别最大,蜡样芽孢杆菌与对照的差别最小。在 25 °C 和 15 °C 较低温度下培养时,食源性致病菌的生长呈缓慢增加趋势,25 °C 下 60 h、15 °C 下 84 h 时对照处理的菌落数量级与 35 °C 培养时的水平接近,2 kGy 辐照处理的菌落数量级水平低于对照,其中 15 °C 下 2 kGy 处理的菌落数量级明显低于未辐照处理,见图 3~4。另外,5 °C 下培养时所有处理基本都无生长。

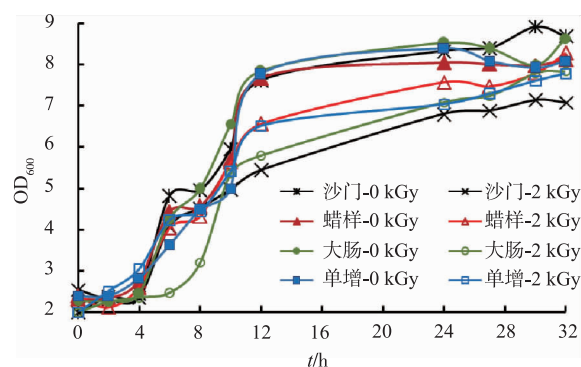


图 2 35 °C 下亚致死剂量的食源性致病菌生长曲线

Fig. 2 Growth curve of foodborne pathogens irradiated by sublethal dose at 35 °C

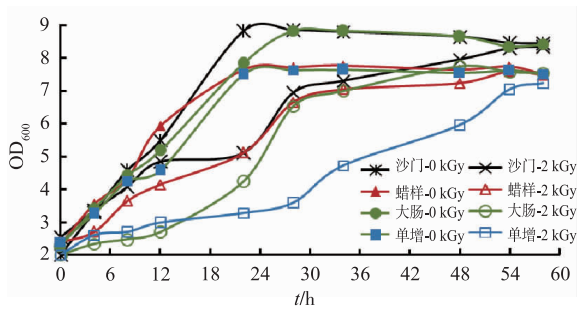


图3 25 °C下亚致死剂量的食源性致病菌生长曲线

Fig. 3 Growth curve of foodborne pathogens irradiated by sublethal dose at 25 °C

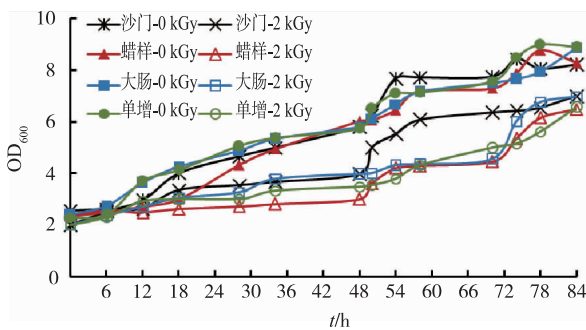


图4 15 °C下亚致死剂量的食源性致病菌生长曲线

Fig. 4 Growth curve of foodborne pathogens irradiated by sublethal dose at 15 °C

2.4 亚致死剂量电子束辐照对4种致病菌生物被膜形成的影响

生物被膜是致病菌控制中较难解决的问题,生长环境条件的变化对生物被膜的形成有着重要影响^[17]。由图5可知,4种致病菌的生物被膜形成能力有较大差异,单核细胞增生李斯特菌成膜能力最强,其次是大肠埃希氏菌和蜡样芽孢杆菌,鼠伤寒沙门氏菌成膜能力最低。亚致死剂量电子束辐照对4种致病菌的生物被膜形成有明显影响,但其效果因致病菌种类而异,大肠埃希氏菌和蜡样芽孢杆菌

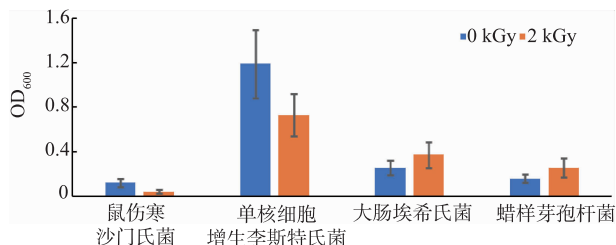


图5 辐照对4种食源性致病菌生物被膜形成的影响

Fig. 5 Effect of irradiation on biofilm formation of four foodborne pathogens

的生物被膜形成量在亚致死剂量电子束辐照后有所增加,而单核细胞增生李斯特菌和鼠伤寒沙门氏菌则表现为降低。统计分析结果表明,电子束辐照对4种致病菌生物被膜形成的影响均为极显著水平,见表2。

表2 电子束辐照后4种食源性致病菌生物被膜形成量的差异分析

Table 2 Difference analysis of biofilm formation of four foodborne pathogens after electron beam irradiation

致病菌	辐照剂量/kGy	OD ₆₀₀	F	P
鼠伤寒沙门氏菌	0	0.121 1±0.008 25	80.383	0.000
	2	0.040 0±0.003 70		
单核细胞增生李斯特氏菌	0	1.187 8±0.069 04	32.126	0.000
	2	0.778 9±0.042 31		
大肠埃希氏菌	0	0.255 6±0.014 25	15.306	0.000
	2	0.370 3±0.025 61		
蜡样芽孢杆菌	0	0.157 9±0.008 19	22.694	0.000
	2	0.255 6±0.018 79		

2.5 亚致死剂量电子束辐照对4种致病菌数量比的影响

为探讨不同食源性致病菌共存时的竞争,研究了鼠伤寒沙门氏菌、单核细胞增生李斯特氏菌、大肠埃希氏菌和蜡样芽孢杆菌混合菌液的菌种数量比,见图6。首先通过稀释度控制和添加量控制保持菌混合液中各食源性致病菌占比基本一致,即0 kGy-0 h处理各菌数量比控制在23%~26%。混合菌液经2 kGy亚致死剂量辐照后,2 kGy-0 h处理的各菌数量比有较大变化,蜡样芽孢杆菌最高,其后依次是单核细胞增生李斯特氏菌和鼠伤寒沙门氏菌,大肠埃希氏菌最低,与其辐照D₁₀值表现一致。经过35 °C、18 h培养后,各食源性致病菌的占比发生变化,未辐照处理0 kGy-18 h各菌数量比差别不大,由高到低依次为鼠伤寒沙门氏菌、单核细胞增生李斯特氏菌、大肠埃希氏菌、蜡样芽孢杆菌;2 kGy辐照处理2 kGy-18 h表现为大肠埃希氏菌最低,其次是蜡样芽孢杆菌,其中亚致死剂量处理的蜡样芽孢杆菌占比从培养前的33.49%下降至25.06%,其他3种致病菌百分比都较培养前有所增加,表明辐照后的蜡样芽孢杆菌在混合菌液中生长受到抑制。

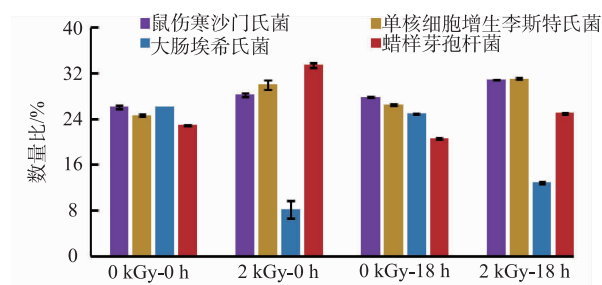


图6 辐照对4种食源性致病菌的数量比例的影响

Fig. 6 Effect of irradiation on the percentage of four foodborne pathogens

3 结语

辐照作为一种逆境处理,对食源性致病菌的杀灭作用受到病原菌自身辐射耐受特性和环境条件的影响, D_{10} 值是反映微生物对射线耐受能力的指标^[18],是辐照加工中剂量确定的主要参数,在产品微生物污染水平确定的条件下, D_{10} 值越高,微生物辐射耐受性越强,杀灭微生物的剂量要求就越高^[18]。 D_{10} 值在食品辐照加工业研究报道较多^[20-21],为实现工艺目的,食品辐照加工中允许将所需的全部吸收剂量分多次进行照射^[22],而有关多次电子束辐照处理条件下 D_{10} 值的变化少见报道。本研究表明,4种食源性致病菌中,蜡样芽孢杆菌 D_{10} 值最高,大肠埃希氏菌 D_{10} 值最低,但不同致病菌 D_{10} 值的差异在多次辐照条件下减小。多次辐照可引起致病菌的 D_{10} 值下降,但其下降幅度并未随辐照次数增加而增加,不同致病菌的下降幅度也有所不同,随着辐照次数增加,各致病菌的 D_{10} 值逐渐趋于接近。陈晓明等研究枯草芽孢杆菌辐射耐受性,从不同剂量1次中子辐照后的存活平板中随机挑取菌落,扩大培养后再次进行不同剂量的中子和 γ 射线辐照,发现中子1次辐照后,能显著提高中子和 γ 射线2次辐照杀死芽孢的能力^[23],与本文结果一致。

微生物的生长繁殖有一定规律性,可分为延迟期、对数期、稳定期和衰亡期4个阶段,其中延迟期在食品工业中具有重要的实际应用价值,人们可以根据控制外界环境条件来延长延迟期的时间,一旦度过延迟期,即标志着食品保质期的结束^[24-25]。本研究表明,2 kGy辐照处理可延长致病菌的延迟期时间,其中15℃下2 kGy处理的菌落数量级明显低于未辐照处理。研究也表明,加热和辐照均可延长蜡

样芽孢杆菌生长延迟期,但加热不影响存活细胞的比生长速率,而辐照降低了最大生长速率,且其降低幅度与剂量相关^[9],表明辐照处理的食物货架期比热处理长,对大肠菌群等食品中允许检出的病原菌控制方面意义重大。

细菌生物被膜是细菌黏附于物体表面,因自身分泌多糖蛋白复合物等物质形成的聚集膜,对细菌菌体具有强烈的保护作用,因其特殊的立体多层结构导致可到达被膜内层细菌的抗菌剂浓度低、渗透时间长,耐药性明显大于浮游细菌^[17]。研究表明,李斯特菌、沙门氏菌等常见致病菌均易形成生物被膜,多见于食品加工厂房的地板、天花板及加工设备、工业管道的内外表面,不仅损害设备,而且会污染食品,传播食源性疾病^[26]。不同种类致病菌的生物被膜形成能力有所差异,本研究条件下,单核细胞增生李斯特氏菌最强,鼠伤寒沙门氏菌最低。低剂量电子束辐照对4种食源性致病菌的生物被膜形成有极显著影响,鼠伤寒沙门氏菌、单核细胞增生李斯特氏菌成膜能力减弱,而大肠埃希氏菌、蜡样芽孢杆菌辐照后成膜能力增强,其机理和影响因子控制技术有待进一步研究。因此在食品原料和配料等产品的辐照加工中,剂量设定应该充分考虑相关因素。

辐照作为一种物理冷杀菌技术,已广泛应用于食品及其配料产品的消毒灭菌,其对生鲜食品的食源性致病菌控制方面前景良好。已有研究表明,冷却猪肉经0.5、1、2 kGy辐照后,肠杆菌科均受明显抑制,其中0.5、1 kGy处理显著低于对照,2 kGy处理极显著低于对照,同时假单胞菌水平也显著低于对照^[27]。小麦粉3 kGy辐照时,蜡样芽孢杆菌从55 CFU/g下降至未检出(<10 CFU/g)^[28]。0.68~2.32 kGy剂量范围内的辐照可有效控制鲜切圆生菜中的微生物而不影响其食用和感官品质,大肠菌群对数值为3.36时,1.46 kGy辐照处理4℃冷藏3 d时无检出,4 d时低于15 CFU/g,可有效控制圆生菜的大肠菌群^[29]。本研究从微生物生长抑制方面证明,电子束辐照处理对食源性致病菌具有良好的杀灭作用,低剂量处理即可有效抑制致病菌生长繁殖,对鼠伤寒沙门氏菌、单核细胞增生李斯特氏菌的生物被膜形成还有极显著抑制作用。因此,可考虑适宜剂量电子束辐照结合低温等品质保持技术控制致病菌生长繁殖,降低致病菌的数量级水平,可有效延长产品货架期、保障食品卫生安全。

参考文献:

- [1] 赵静,孙海娟,冯叙桥.食品中食源性致病菌污染状况及其监测技术研究进展[J].食品安全质量监测学报,2013,4(5):1353-1360.
- [2] 刘天洁,许烈英,崔敏,等.2007-2012年自贡市食品食源性致病菌监测分析[J].预防医学情报杂志,2014,30(6):494-497.
- [3] 魏战峰,王利,杨囡,等.2010-2012年咸阳市食源性致病菌监测结果分析[J].食品安全质量监测学报,2013,4(5):1353-1360.
- [4] 侯海燕,李兵兵,刘靛,等.2010-2015年淮安市食品中致病菌检测结果分析[J].公共卫生与预防医学,2016,27(4):23-25.
- [5] 高银平.2010-2015年酒泉市市售食品中食源性致病菌监测与分析[J].中国食物与营养,2018,24(8):18-20.
- [6] 李小成,马连凯,陈洋,等.2010-2015年南京市食品中微生物污染监测分析[J].现代预防医学,2017,44(6):1007-1010,1027.
- [7] 王闻卿,张勇,赵冰,等.上海市浦东新区生鲜食品中食源性致病菌监测[J].中国食品卫生杂志,2016,28(6):791-795.
- [8] 中华人民共和国国家卫生和计划生育委员会.食品安全国家标准食品中致病菌限量:GB29921-2013[S].北京:中国标准出版社,2013:12.
- [9] JUAN SA, JUAN A O, GONZALO DG. A comparison of the effects of E-beam irradiation and heat treatment on the variability of *Bacillus cereus* inactivation and lag phase duration of surviving cells[J]. *International Journal of Food Microbiology*, 2012, 153(3):444-452.
- [10] MANGESH P P, MATTHEWT T, JOSEPH EM, et al. Reduction of *Salmonella enterica* serotype Poona and background microbiota on fresh-cut cantaloupe by electron beam irradiation[J]. *International Journal of Food Microbiology*, 2015, 202(1):66-72.
- [11] BOUZARJOMEHR F, DADV, HAJIMOHAMMADIB, et al. The effect of electron-beam irradiation on microbiological properties and sensory characteristics of sausages[J]. *Radiation Physics and Chemistry*, 2020, 168:108524.
- [12] JEONG S G, KANG D H. Inactivation of *Escherichia coli* O157:H7, *Salmonella typhimurium*, and *Listeria monocytogenes* in ready-to-bake cookie dough by gamma and electron beam irradiation[J]. *Food Microbiology*, 2017, 64:172-178.
- [13] 张艳艳,王健,李海军,等.电子束辐照对酱卤牛肉品质的影响[J].安徽农业科学,2014,42(14):4441-4443.
- [14] 国家技术监督局.使用重铬酸银剂量计测量 γ 射线水吸收剂量标准方法:JJG 1028-91[S].北京:中国计量出版社,1991:9.
- [15] 中华人民共和国国家质量监督检验检疫总局,中国国家标准化管理委员会.辐射加工剂量测量系统的选择和校准规则:GB/T 16640-2008[S].北京:中国标准出版社,2008:9.
- [16] 王蒙蒙,张莉,李慧,等.粪肠球菌生长曲线的测定及其对小鼠脑组织的影响[J].中国畜牧兽医,2018,45(4):1041-1049.
- [17] 曹启航,刘园园,孙亚楠,等.不同培养条件对单核细胞增生李斯特菌生物被膜形成的影响[J].中国兽医科学,2020,50(12):1563-1571.
- [18] 马俊,颜伟强,孔秋莲,等.香辛料中微生物在电子束加速器下的 D_{10} 值研究[J].保鲜与加工,2013,13(1):40-44.
- [19] 宋家斑,蒯琳萍.辐照对长江可培养微生物的影响及挑选指示微生物[J].福州大学学报(自然科学版),2018,46(1):115-119,127.
- [20] 王海宏,陈志军,颜伟强,等.速冻芦笋的电子束辐照杀菌和辐照工艺[J].食品与生物技术学报,2017,36(12):1290-1297.
- [21] KAWASAKI S, SAITO M, MOCHIDA M, et al. Inactivation of *Escherichia coli* O157 and *Salmonella enteritidis* in raw beef liver by gamma irradiation[J]. *Food Microbiology*, 2019, 78:110-113.
- [22] 中华人民共和国国家卫生和计划生育委员会,国家食品药品监督管理总局.食品安全国家标准食品辐照加工卫生规范:GB18524-2016[S].北京:中国标准出版社,2016:12.
- [23] 陈晓明,张建国,柳芳,等.中子和 γ 射线辐照灭菌后残留菌的生物安全性初步研究[J].安全与环境学报,2009,9(5):1-4.
- [24] 朱艳蕾.细菌生长曲线测定实验方法的研究[J].微生物学杂志,2016,36(5):108-112.
- [25] GEORGE T Y, THOMAS S. On the lag phase and initial decline of microbial growth curves[J]. *Journal of Theoretical Biology*, 2007, 244(3):511-517.
- [26] 张君怡,王静怡,巴巨伟,等.细菌生物被膜检测与清除方法研究进展[J].食品研究与开发,2020,41(20):218-224.
- [27] 马丽珍,南庆贤,戴瑞彤.真空包装冷却猪肉低剂量辐照后的微生物菌落特性变化[J].中国食品学报,2004,4(1):15-21.
- [28] 魏会惠,罗小虎,王莉,等.电子束辐照小麦粉的杀菌效果及对低菌小麦粉品质的影响[J].现代食品科技,2017,33(2):142-147.
- [29] 沈月,刘超超,高美须,等.辐照处理对鲜切圆生菜减菌效果及品质的影响[J].核农学报,2015,29(4):710-716.