

## 肌苷对酸土脂环酸芽孢杆菌生长及生物膜形成的影响

胡文静, 刘小雪, 梁 栋, 焦凌霞\*

(河南科技学院食品学院 河南新乡 453003)

**摘要** 由嗜酸耐热酸土脂环酸芽孢杆菌污染酸性果汁引起的营养损失、风味劣变、沉淀等质量问题是制约果蔬加工及出口贸易的瓶颈。本文通过光密度测定、生物被膜测定、扫描电子显微镜检测、平板菌落计数、果汁理化特性及感官品质鉴定等方法,研究肌苷对酸土脂环酸芽孢杆菌生长的抑制效果及对橙汁品质的影响。结果表明,不同浓度的肌苷在酸性条件下均能高效抑制该菌营养菌体的生长繁殖,且对鲜榨橙汁的酸度、糖度、色度及口感等理化特性和感官品质无显著影响。低至 5 mmol/L 的肌苷添加量即可降低该菌的生物被膜形成能力,损伤菌体的细胞壁和细胞膜,导致菌体裂解死亡。在初始污染菌含量高达  $10^5$  CFU/mL 时,仍能将菌体的数量降低 1 个数量级,控制营养菌体的数量,使之不能产生达到嗅觉阈值的愈创木酚量,肌苷有望成为酸性果汁生产中抑制酸土脂环酸芽孢杆菌污染的新型高效防腐剂。

**关键词** 酸土脂环酸芽孢杆菌; 肌苷; 抑菌效果; 生物膜形成; 果汁品质

**文章编号** 1009-7848(2023)09-0242-10 **DOI:** 10.16429/j.1009-7848.2023.09.025

酸土脂环酸芽孢杆菌 (*Alicyclobacillus acidoterrestris*) 主要存在于酸性土壤及苹果汁、番茄汁等酸性果汁中,是一种革兰氏阳性细菌,具有嗜酸耐热特性,好氧、无致病性,由该菌污染引起的果汁营养损失、风味劣变、出现沉淀等质量问题已成为制约果蔬加工及出口贸易的瓶颈<sup>[1-3]</sup>。据报道,35%的果汁产品变质问题都是因酸土脂环酸芽孢杆菌污染引起的。该菌在不利条件下可形成抗逆性极强的芽孢,条件适宜时芽孢便会萌发生长,产生愈创木酚、2,6-二溴苯酚和 2,6-二氯苯酚等代谢产物,散发出难闻气味并引起产品沉淀,是果汁加工行业比较棘手的问题<sup>[4-6]</sup>。作为果汁产业的关键质量因子,关于酸土脂环酸芽孢杆菌的控制研究已有 30 多年。在已报道的灭菌方法中,物理法控制酸土脂环酸芽孢杆菌污染的能源及经济消耗较大<sup>[7]</sup>。高温处理是生产中常用的控制酸土脂环酸芽孢杆菌污染的方法,热处理虽具有杀菌时间短、灭菌效果好的优点,但对果汁的营养成分和感官品质破坏严重<sup>[8]</sup>。新型灭菌技术中超高压灭菌法对酸土脂环酸芽孢杆菌的杀灭效果较好,能较好地

保存果汁产品的营养成分,然而对仪器的要求较高,经济耗费较大<sup>[9]</sup>。化学法对抑制酸土脂环酸芽孢杆菌也有一定的效果,生产上常用苯甲酸、亚氯酸、次氯酸钠等来抑制酸土脂环酸芽孢杆菌,然而苯甲酸含有刺激性气味,会影响果汁口感,亚氯酸在室温下不稳定,极易分解,在使用过程中对操作技术的要求较高<sup>[10-11]</sup>。随着人们健康意识的增强,具有抑菌性能的天然物质及其衍生物逐渐被开发并应用到食品工业中<sup>[12]</sup>。有研究报道天然化合物如石榴提取物、葡萄籽提取物、胡椒提取物等对酸土脂环酸芽孢杆菌有一定的抑菌效果,但多数植物提取物含有叶绿素、花色素、黄酮类色素等或者具有不良气味的挥发性气体,而且达到生产要求的抑菌效果的使用剂量较大,往往会影响产品的色泽、口感及风味等感官品质<sup>[13]</sup>。因此,果汁工业急需开创新型高效的有利于保存果汁营养成分的酸土脂环酸芽孢杆菌控制技术。

肌苷,又称次黄苷,属于人体的正常成分,无色、无味,目前常用于食品加工和制药行业<sup>[14-15]</sup>。有研究发现,肌苷可以促进细菌芽孢的复苏,对蜡样芽孢杆菌、苏云金芽孢杆菌的芽孢复苏均有促进的效果<sup>[16-17]</sup>。然而,课题组在研究肌苷对酸土脂环酸芽孢杆菌芽孢萌发的影响时发现,它不仅不能促进该菌芽孢的萌发,反而能延缓其芽孢萌发并导致萌发后的营养菌体死亡。鉴于酸土脂环酸芽孢杆菌具有独特的嗜酸耐热生理特性,推测肌苷

收稿日期: 2022-09-25

基金项目: 国家自然科学基金面上项目(31771949);河南省高校科技创新团队支持计划项目(21IRT-STHN024)

第一作者: 胡文静,女,硕士生

通信作者: 焦凌霞 E-mail: jiaolingxia@163.com

在酸性条件下对该菌可能有特异性抑菌作用。本文通过测定肌苷处理前、后的酸土脂环酸芽孢杆菌生长和生存情况,形态变化及生物膜形成能力来检测肌苷对该菌的抑制效果,研究较好抑菌效果的肌苷添加量对橙汁酸度、糖度、色度及口感的影响,为开发控制酸性果蔬制品中酸土脂环酸芽孢杆菌污染的新型绿色高效抑菌剂提供参考。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料与仪器

酸土脂环酸芽孢杆菌 (*Alicyclobacillus acidoterrestris* DSM 3922<sup>T</sup>),购于德国菌种保藏中心;肌苷、戊二醛、无水乙醇均为分析纯,天津市德恩化学试剂有限公司;橙子为市售鲜果。

ZQTY-70F 全温振荡培养箱,常州普天仪器制造有限公司;TGL-16B 台式高速离心机,湖南凯达科学仪器有限公司;ES-315 全自动高压灭菌器,上海民仪电子有限公司;H1987 手持糖度折光仪,邢台德延科技有限公司;CR400 便携式色差仪,深圳市百诚欣电子科技有限公司;环境扫描电子显微镜,北京普瑞赛司有限公司;Variokan LUX 多功能酶标仪,赛默飞世尔科技公司;MJ-BL80Y21 美的榨汁机,河南省壹格商贸有限公司。

### 1.2 培养基的制备

AAM 液体培养基:葡萄糖 2.0 g,酵母浸粉 2.0 g,氯化钙 0.38 g,磷酸二氢钾 1.2 g,七水硫酸镁 1.0 g,一水硫酸锰 0.38 g,硫酸铵 0.4 g,加灭菌水定容至 1 L,调 pH 值至 4.0,121 °C 高压灭菌 15 min;

AAM 固体培养基:在液体培养基的基础上添加 1.5%~1.8% 的琼脂。

### 1.3 试验方法

1.3.1 菌株培养条件 将冷冻保藏的酸土脂环酸芽孢杆菌接种于 AAM 液体培养基中,在 45 °C、250 r/min 条件下活化培养 12 h,然后按 1% 接种量再转接至 AAM 培养基中,45 °C、250 r/min 振荡培养。

1.3.2 光密度法测定酸土脂环酸芽孢杆菌生长曲线 将活化 12 h 的菌液按 1% 的接种量分别接种于含肌苷浓度为 0,1,5,10,20,30 mmol/L 的 AAM 液体培养基中,45 °C、250 r/min 振荡培养 24 h,每

2 h 测定一次菌液吸光值( $OD_{600nm}$ )。以时间为横坐标,吸光值为纵坐标,制作不同浓度肌苷处理下酸土脂环酸芽孢杆菌的生长曲线。

1.3.3 结晶紫染色法测定生物膜形成量 根据朱军莉等<sup>[18]</sup>采用的 96 孔板定量法,取 20  $\mu$ L  $10^6$  CFU/mL 菌悬液置于 96 孔板中,每孔分别加入 200  $\mu$ L 含 0,1,5,10,20,30 mmol/L 肌苷浓度的 AAM 培养液。然后将 96 孔板置于 45 °C 培养箱中静置培养 24 h,使细菌完全附着在孔板表面。培养结束后,每孔中加入 0.01 mol/L 的无菌 PBS 缓冲液清洗 3 次。待 96 孔板风干后,加入无水甲醇固定 15 min,弃去孔中废液后风干。然后加入 1% 的结晶紫溶液,置于室温下染色 15 min 后,用流动去离子水洗去孔板中残余的结晶紫染料后风干,再加入 200  $\mu$ L 33% 的冰乙酸溶液进行脱色。脱色完成后,用酶标仪测定每孔的  $OD_{600nm}$  值,分析生物被膜形成量。

1.3.4 环境扫描电子显微镜检测酸土脂环酸芽孢杆菌形态 根据潘旭迟等<sup>[19]</sup>描述的方法,将活化至对数期的菌液以 1% 接种量分别加入肌苷浓度为 0 mmol/L 和 5 mmol/L 的培养液中,45 °C、250 r/min 振荡培养,分别取培养 6,12,18,24 h 的菌液,离心收集菌体,用预冷的无菌水反复清洗 3~5 次,加入体积分数为 2.5% 的戊二醛溶液,置于 4 °C 环境下固定 2 h 以上。将固定好的样品用预冷的无菌水反复清洗后,利用 35%,50%,70%,80%,90% 和 100% 体积分数的乙醇进行梯度脱水后再用无水乙醇重悬。取适量菌悬液滴加于玻片上,自然风干后喷金,利用环境扫描电子显微镜观察菌体形态。

1.3.5 平板计数法测定酸土脂环酸芽孢杆菌生存情况 将菌体浓度为  $10^7$  CFU/mL 的菌液分别接种至含 0,1,5,10,20,30 mmol/L 浓度肌苷的 AAM 培养液中,调整该菌液的初始菌浓度分别为  $10^5$  CFU/mL 和  $10^6$  CFU/mL,45 °C、250 r/min 条件下振荡培养 72 h。每 6 h 取 100  $\mu$ L 菌液梯度稀释后涂布于 AAM 固体平板上,45 °C,倒置培养 24 h 后进行菌落计数,检测酸土脂环酸芽孢杆菌的存活情况。

1.3.6 鲜榨橙汁制备 选取成熟、饱满的新鲜橙子,清洗干净后加入适量纯水,使用榨汁机制汁,

用干净的纱布过滤 3~4 次, 90 ℃, 5 min 杀菌备用。

1.3.7 果汁理化指标测定 在鲜榨橙汁中分别加入终浓度为 0, 1, 5, 10, 20, 30 mmol/L 的肌苷, 按照邓红等<sup>[20]</sup>所述检测方法, 利用 pH 仪、手持式糖度折光仪、便携式色差仪测定橙汁的酸度、糖度(可溶性固形物含量, TSS)、颜色参数等理化指标。样品总色差计算公式为:

$$\Delta E = [(L^* - L_0)^2 + (a^* - a_0)^2 + (b^* - b_0)^2]^{1/2} \quad (1)$$

表 1 鲜榨橙汁的感官评分标准

Table 1 Sensory scoring standard for fresh orange juice

评分项目	标准	分值
组织状态	均匀澄清, 无沉淀	15~20
	较浑浊, 少量沉淀, 振荡可消除	10~14
	大量沉淀, 振荡也无法消除	<10
香味	具有清新的果香	25~30
	无明显香味	20~24
	有异味, 令人不悦	<20
色泽	色泽明亮	15~20
	色泽较暗沉	10~14
	色泽明显暗沉	<10
口感	酸甜适口, 无异味	25~30
	较酸或较甜, 无异味	20~24
	有异味, 口感差	<20

## 1.4 数据处理与分析

所有试验重复 3 次, 采用 Origin9.0 进行绘图, 运用 SPSS 23 软件 Duncan 进行方差分析 (ANOVA) ( $P < 0.05$ ), 试验结果以  $\bar{x} \pm s$  表示。

## 2 结果与分析

### 2.1 肌苷对低浓度的酸土脂环酸芽孢杆菌的抑制效果

将过夜活化的酸土脂环酸芽孢杆菌以 1% 接种量接种于含不同浓度肌苷的 AAM 液体培养基中, 经平板菌落计数法测定, 菌液的初始菌体浓度为  $10^4$  CFU/mL。如图 1 所示, 在不含肌苷的对照组 AAM 培养液中, 酸土脂环酸芽孢杆菌生长良好, 培养 2 h 后开始进入对数期, 培养至 12 h 时菌体密度最高,  $OD_{600nm}$  值达到 1.36, 12 h 后菌体密度略有下降, 菌株生长进入稳定期, 培养 24 h 时其  $OD_{600nm}$  值为 1.057, 这和课题组前期研究中测定的同一培养条件下的生长曲线保持一致<sup>[22]</sup>。在含 1

式中  $L^*$  代表明暗度,  $a^*$  代表红绿色值,  $b^*$  代表黄蓝色值。

1.3.8 果汁感官评定 参考崔燕等<sup>[21]</sup>对果汁感官鉴定的方法, 制订表 1 中鲜榨橙汁的评分标准, 选择 10 名食品专业的学生分别从气味、色泽、口感、状态 4 个方面对橙汁进行感官评价, 总分为 100 分。

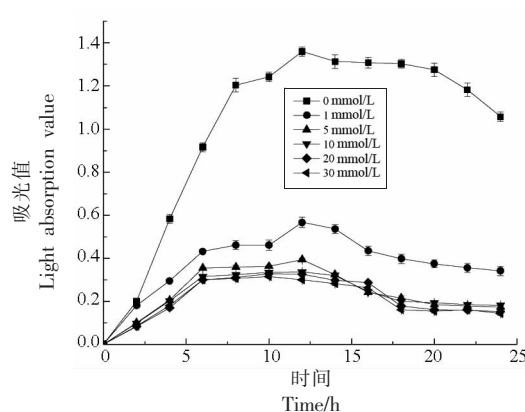


图 1 酸土脂环酸芽孢杆菌在添加不同浓度肌苷的 AAM 培养液中的生长曲线

Fig.1 Growth curve of *A. acidoterristris* in AAM medium with different concentrations of inosine

mmol/L 肌苷的 AAM 培养液中, 菌体生长稍慢, 培养至 12 h 时, 菌体密度最高,  $OD_{600nm}$  值仅为 0.57, 是对照组的 0.42 倍。培养 24 h 后, 菌体的  $OD_{600nm}$  值为 0.342, 是对照组的 0.32 倍。培养液中肌苷浓

度升至 5 mmol/L 时,酸土脂环酸芽孢杆菌的生长明显被抑制,培养 12 h 时的菌液 OD<sub>600nm</sub> 值仅为 0.40,是对照组的 0.29 倍。培养至 24 h,菌液 OD<sub>600nm</sub> 值降至 0.17,是对照组的 0.16 倍。随着肌苷浓度的继续增加,对该菌的抑制效果也有所增强。肌苷浓度分别为 10,20,30 mmol/L 的 AAM 培养液中,菌液最高 OD<sub>600nm</sub> 值分别为 0.337,0.328 和 0.315。表明肌苷浓度高于 5 mmol/L 时,抑菌效果并没有明显提升。因此,对初始污染菌含量不高于 10<sup>4</sup> CFU/mL 时,5 mmol/L 的肌苷浓度即能达到较好的抑制酸土脂环酸芽孢杆菌生长繁殖的效果。

## 2.2 肌苷对高初始菌体浓度的酸土脂环酸芽孢杆菌的抑制效果

实际生产上常用的抑菌剂在产品初始污染菌含量高时便会失去防腐效果。为检测肌苷对高初始菌体浓度的抑制效果,本文检测了初始菌体浓度分别为 10<sup>5</sup> CFU/mL 和 10<sup>6</sup> CFU/mL 的酸土脂环酸芽孢杆菌在不同浓度肌苷作用下的存活情况。如图 2a 所示,初始菌体浓度为 10<sup>5</sup> CFU/mL 的酸

土脂环酸芽孢杆菌营养菌体在不含肌苷的培养液中,随培养时间延长,菌落数也稳定增长,12 h 后达到最高,为 7.41 lg(CFU/mL)。在 1 mmol/L 肌苷培养液中,培养初期,菌落数呈上升趋势,作用 12 h 后,菌体数量逐渐下降,最高菌落数达 6.9 lg(CFU/mL)。随着肌苷浓度增大,菌体生长受到了明显的抑制,在 5,10,20,30 mmol/L 的肌苷培养液中,最高菌落数分别为 4.53,4.30,4.20,4.17 lg(CFU/mL),与初始菌体量相比,菌体数量下降了 1 个数量级。

当初始菌体密度为 10<sup>6</sup> CFU/mL 时,在不含肌苷的培养液中,菌落数最高可达 7.49 lg(CFU/mL)。在含有 1,5,10,20,30 mmol/L 的肌苷培养液中,菌落数最高分别为 6.94,6.10,6.03,5.82,5.66 lg(CFU/mL),与初始菌体量相比,菌体数量没有增加。结果表明,5 mmol/L 的肌苷浓度在初始污染菌含量高达 10<sup>5</sup> CFU/mL 和 10<sup>6</sup> CFU/mL 时,仍具有较好的抑菌效果。

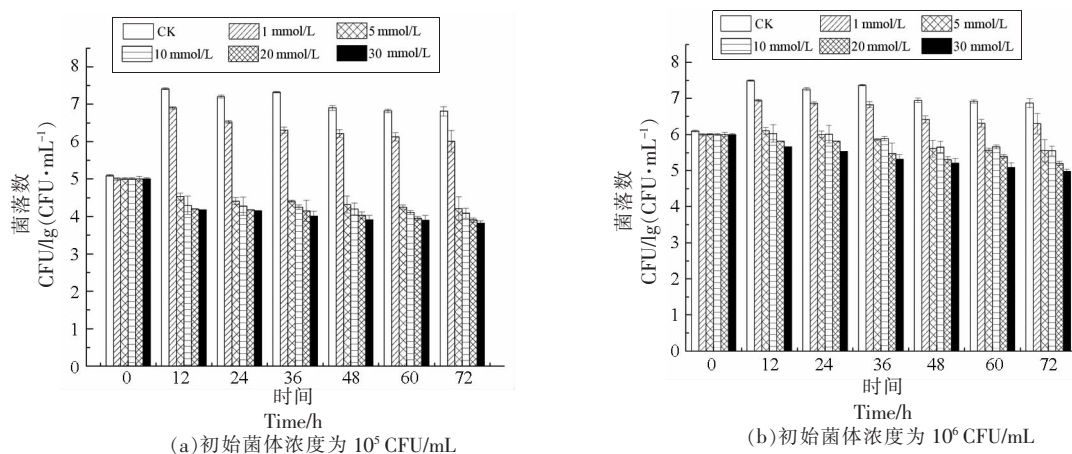


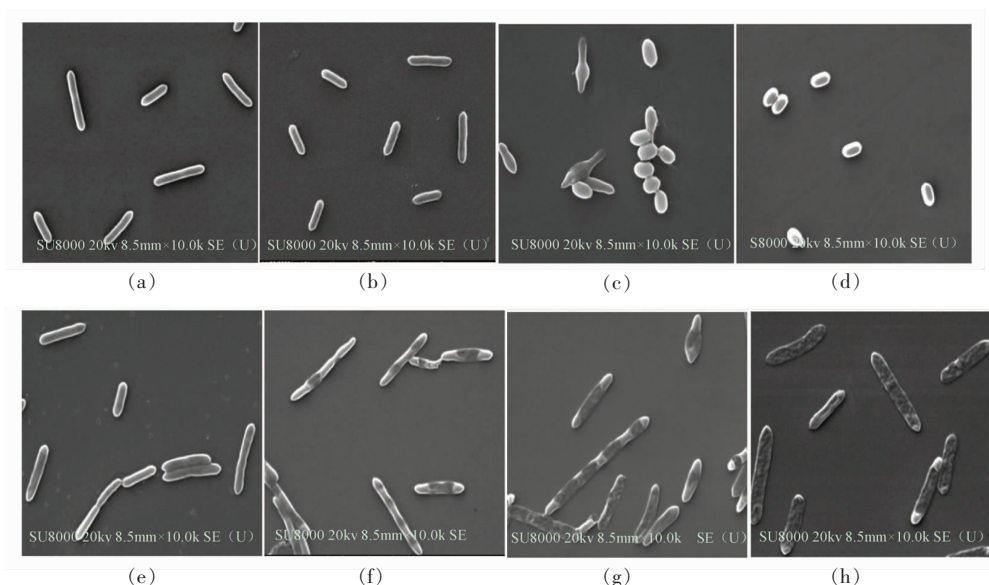
图 2 肌苷对酸土脂环酸芽孢杆菌菌体的抑制效果

Fig.2 Inhibitory effect of inosine on *A. acidoterristris*

## 2.3 肌苷对酸土脂环酸芽孢杆菌菌体形态的影响

扫描电子显微镜检测结果如图 3 所示,不添加肌苷的对照组的酸土脂环酸芽孢杆菌在培养至 6 h 时,菌体形态结构完整,表面光滑饱满,菌体呈长杆状,处于分裂增殖阶段;12 h 时进入稳定期,菌体呈正常的杆状;18 h 时,菌体顶端膨大,大部分菌体变短变圆,开始形成芽孢;24 h 时,绝大部分营养菌体已形成芽孢。5 mmol/L 肌苷处理的试

验组中,肌苷作用 6 h 时,与同时段对照组的菌体形态相比,菌体形态较完整,饱满度稍差,但也存在分裂增殖现象;作用 12 h 时,大部分菌体细胞壁受损,表面凹陷;作用时间增至 18 h 和 24 h 时,细胞壁受损加重,菌体干瘪皱缩,表面粗糙,出现严重的破裂和孔洞,而且菌体颜色逐渐加深,可能是由于细胞裂解、细胞内容物泄露导致菌体的导电性降低造成的。结果表明,肌苷能够破坏和损伤酸土脂环酸芽孢杆菌的细胞壁和细胞膜。



注:对照组 a~d;6,12,18,24 h;试验组 e~h;6,12,18,24 h。

图3 添加5 mmol/L肌苷的AAM培养液中酸土脂环酸芽孢杆菌菌体形态变化

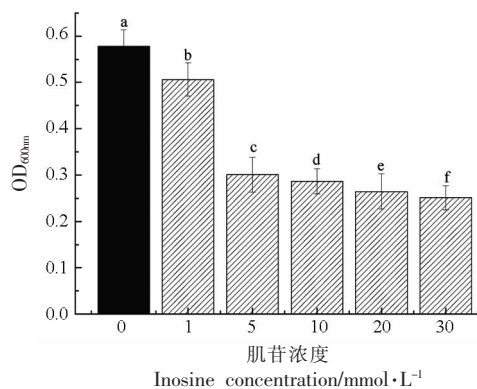
Fig.3 Morphological changes of *A. acidoterrestris* in AAM medium with 5 mmol/L inosine

#### 2.4 肌苷对酸土脂环酸芽孢杆菌生物膜形成的影响

如图4所示,肌苷处理后,酸土脂环酸芽孢杆菌的生物被膜形成量与对照组相比明显降低( $P < 0.05$ )。随着肌苷浓度的增加,生物被膜的含量逐渐减小。经1,5,10,20,30 mmol/L肌苷作用的酸土脂环酸芽孢杆菌生物被膜形成量在 $OD_{600nm}$ 的吸光值由0.57分别下降至0.51,0.30,0.29,0.26和0.25,表明肌苷对酸土脂环酸芽孢杆菌生物被膜的形成有显著的抑制作用( $P < 0.05$ )。

#### 2.5 肌苷对橙汁理化特性及感官品质的影响

果汁的酸度、糖度及色泽是影响果汁品质的主要指标。肌苷无色无味,推测其对果汁的品质应该不产生影响。经验证发现(表2),相同处理时间下肌苷添加量高低对橙汁的酸度、糖度(TSS含量)及色泽均无显著影响( $P < 0.05$ );但是随着处理时间延长,不添加肌苷的对照组和添加不同浓度肌苷的试验组中,橙汁的糖度(TSS含量)和 $L^*$ 值(明暗度)都有所增加。这可能是由于取样测定过程中有空气混入导致果汁营养成分发生氧化所致。在24 h的肌苷处理过程中,添加不同肌苷浓度的橙汁的总色差( $\Delta E$ )最大值为1.86,一般 $\Delta E > 3$ 时,才能肉眼观察到颜色的变化<sup>[23]</sup>。因此,肌苷



注:不同小写字母表示不同处理方式在同一时间数据差异显著, $P < 0.05$ 。

图4 不同浓度肌苷处理酸土脂环酸芽孢杆菌后生物膜的形成量

Fig.4 Biofilm formation treated with different concentrations of inosine

对橙汁色泽的影响是肉眼觉察不到的。在相同处理时间下,肌苷添加量低于5 mmol/L的试验组果汁的酸度、糖度(TSS含量)及色泽均与对照组无显著差异( $P < 0.05$ )。

感官鉴定可更直观的分析果汁的品质。由表3可知,添加不同浓度肌苷的橙汁,在相同放置时间下,与不添加肌苷的对照组相比,果汁原有的香

味、口感、色泽、状态等均无明显变化( $P<0.05$ )。随放置时间延长,果汁的口感和香味略有降低,可能由于取样时的空气混入导致橙汁中的醛类及酚类

物质发生氧化反应,从而影响果汁的香气和口感<sup>[24]</sup>。

表 2 肌苷对橙汁理化特性的影响

Table 2 Effects of inosine on physicochemical properties of orange juice

时间/h	肌苷浓度/ mmol·L <sup>-1</sup>	pH 值	TSS(°Brix)	<i>L</i> *	<i>a</i> *	<i>b</i> *	$\Delta E$
0	0	4.07 ± 0.01 <sup>ab</sup>	2.68 ± 0.01 <sup>a</sup>	26.28 ± 0.11 <sup>a</sup>	-5.19 ± 0.05 <sup>a</sup>	8.88 ± 0.16 <sup>a</sup>	-
	1	4.06 ± 0.01 <sup>b</sup>	2.68 ± 0.01 <sup>a</sup>	26.28 ± 0.01 <sup>a</sup>	-5.19 ± 0.05 <sup>a</sup>	8.87 ± 0.16 <sup>a</sup>	0.01
	5	4.06 ± 0.01 <sup>b</sup>	2.68 ± 0.01 <sup>a</sup>	26.30 ± 0.03 <sup>a</sup>	-5.21 ± 0.04 <sup>a</sup>	8.87 ± 0.15 <sup>a</sup>	0.03
	10	4.07 ± 0.01 <sup>ab</sup>	2.68 ± 0.01 <sup>a</sup>	26.26 ± 0.04 <sup>a</sup>	-5.20 ± 0.04 <sup>a</sup>	8.87 ± 0.15 <sup>a</sup>	0.02
	20	4.07 ± 0.01 <sup>a</sup>	2.68 ± 0.01 <sup>a</sup>	26.25 ± 0.03 <sup>a</sup>	-5.20 ± 0.04 <sup>a</sup>	8.86 ± 0.18 <sup>a</sup>	0.04
	30	4.07 ± 0.01 <sup>ab</sup>	2.68 ± 0.01 <sup>a</sup>	26.25 ± 0.06 <sup>a</sup>	-5.18 ± 0.05 <sup>a</sup>	8.85 ± 0.14 <sup>a</sup>	0.04
12	0	4.06 ± 0.03 <sup>a</sup>	2.78 ± 0.01 <sup>d</sup>	30.85 ± 0.77 <sup>a</sup>	-5.93 ± 0.26 <sup>a</sup>	9.27 ± 0.75 <sup>a</sup>	-
	1	4.05 ± 0.01 <sup>ab</sup>	2.79 ± 0.01 <sup>d</sup>	30.78 ± 0.17 <sup>a</sup>	-6.17 ± 0.20 <sup>a</sup>	9.45 ± 0.29 <sup>a</sup>	0.21
	5	4.05 ± 0.01 <sup>ab</sup>	2.81 ± 0.01 <sup>c</sup>	30.54 ± 0.54 <sup>a</sup>	-6.04 ± 0.27 <sup>a</sup>	9.32 ± 0.50 <sup>a</sup>	0.34
	10	4.05 ± 0.01 <sup>ab</sup>	2.82 ± 0.01 <sup>c</sup>	30.87 ± 0.55 <sup>a</sup>	-5.92 ± 0.08 <sup>a</sup>	8.94 ± 0.10 <sup>a</sup>	0.33
	20	4.03 ± 0.02 <sup>ab</sup>	3.21 ± 0.01 <sup>b</sup>	29.22 ± 0.47 <sup>b</sup>	-5.93 ± 0.11 <sup>a</sup>	9.43 ± 0.46 <sup>a</sup>	1.64
	30	4.04 ± 0.01 <sup>ab</sup>	3.35 ± 0.01 <sup>a</sup>	29.01 ± 0.26 <sup>b</sup>	-5.91 ± 0.12 <sup>a</sup>	9.00 ± 0.26 <sup>a</sup>	1.86
24	0	4.02 ± 0.02 <sup>a</sup>	3.12 ± 0.01 <sup>d</sup>	32.56 ± 0.21 <sup>a</sup>	-6.25 ± 0.03 <sup>a</sup>	8.97 ± 0.14 <sup>a</sup>	-
	1	4.01 ± 0.01 <sup>a</sup>	3.22 ± 0.02 <sup>d</sup>	32.58 ± 0.78 <sup>a</sup>	-6.30 ± 0.05 <sup>a</sup>	8.83 ± 0.33 <sup>a</sup>	0.15
	5	4.01 ± 0.01 <sup>a</sup>	3.45 ± 0.18 <sup>c</sup>	32.33 ± 0.19 <sup>a</sup>	-6.23 ± 0.21 <sup>a</sup>	8.87 ± 0.02 <sup>a</sup>	0.25
	10	4.02 ± 0.01 <sup>a</sup>	3.80 ± 0.01 <sup>b</sup>	32.07 ± 0.47 <sup>ab</sup>	-6.40 ± 0.18 <sup>a</sup>	9.03 ± 0.15 <sup>a</sup>	0.52
	20	4.01 ± 0.01 <sup>a</sup>	3.87 ± 0.05 <sup>ab</sup>	31.38 ± 0.47 <sup>bc</sup>	-6.30 ± 0.07 <sup>a</sup>	8.96 ± 0.16 <sup>a</sup>	1.18
	30	4.01 ± 0.01 <sup>a</sup>	3.97 ± 0.01 <sup>a</sup>	31.00 ± 0.52 <sup>c</sup>	-6.31 ± 0.07 <sup>a</sup>	9.10 ± 0.17 <sup>a</sup>	1.56

注:不同小写字母表示相同时间条件下肌苷浓度组间的显著差异( $P<0.05$ );*L*\*表示明暗度,正数表示偏白,负数表示偏黑;*a*\*表示红绿值,正数表示偏红,负数表示偏绿;*b*\*表示黄蓝值,正数表示偏黄,负数表示偏蓝。“-”表示无。

表 3 添加不同肌苷浓度的橙汁的感官评价结果

Table 3 Sensory evaluation of orange juice with different inosin concentration

时间/h	肌苷浓度/ mmol·L <sup>-1</sup>	状态	香味	色泽	口感	总分
0	0	18.01 ± 0.03 <sup>a</sup>	28.11 ± 0.04 <sup>a</sup>	19.01 ± 0.03 <sup>a</sup>	26.05 ± 0.03 <sup>a</sup>	91.18 ± 0.16 <sup>a</sup>
	1	18.02 ± 0.03 <sup>a</sup>	28.10 ± 0.03 <sup>a</sup>	19.01 ± 0.03 <sup>a</sup>	26.04 ± 0.02 <sup>a</sup>	91.17 ± 0.16 <sup>a</sup>
	5	18.01 ± 0.02 <sup>a</sup>	28.11 ± 0.04 <sup>a</sup>	19.02 ± 0.02 <sup>a</sup>	26.03 ± 0.02 <sup>a</sup>	91.17 ± 0.15 <sup>a</sup>
	10	18.01 ± 0.03 <sup>a</sup>	28.11 ± 0.04 <sup>a</sup>	19.02 ± 0.02 <sup>a</sup>	26.04 ± 0.02 <sup>a</sup>	91.18 ± 0.15 <sup>a</sup>
	20	18.02 ± 0.04 <sup>a</sup>	28.10 ± 0.05 <sup>a</sup>	19.01 ± 0.02 <sup>a</sup>	26.05 ± 0.03 <sup>a</sup>	91.18 ± 0.18 <sup>a</sup>
	30	18.03 ± 0.04 <sup>a</sup>	28.09 ± 0.03 <sup>a</sup>	19.01 ± 0.03 <sup>a</sup>	26.04 ± 0.04 <sup>a</sup>	91.17 ± 0.14 <sup>a</sup>
12	0	16.88 ± 0.03 <sup>a</sup>	26.83 ± 0.02 <sup>a</sup>	18.61 ± 0.01 <sup>a</sup>	23.51 ± 0.11 <sup>a</sup>	85.84 ± 0.05 <sup>a</sup>
	1	16.88 ± 0.03 <sup>a</sup>	26.84 ± 0.01 <sup>a</sup>	18.62 ± 0.01 <sup>a</sup>	23.53 ± 0.11 <sup>a</sup>	85.85 ± 0.02 <sup>a</sup>
	5	16.88 ± 0.02 <sup>a</sup>	26.84 ± 0.03 <sup>a</sup>	18.62 ± 0.01 <sup>a</sup>	23.49 ± 0.12 <sup>a</sup>	85.85 ± 0.03 <sup>a</sup>
	10	16.88 ± 0.03 <sup>a</sup>	26.83 ± 0.01 <sup>a</sup>	18.62 ± 0.02 <sup>a</sup>	23.51 ± 0.10 <sup>a</sup>	85.84 ± 0.04 <sup>a</sup>
	20	16.87 ± 0.03 <sup>a</sup>	26.84 ± 0.02 <sup>a</sup>	18.62 ± 0.01 <sup>a</sup>	23.45 ± 0.11 <sup>ab</sup>	85.81 ± 0.03 <sup>ab</sup>
	30	16.88 ± 0.03 <sup>a</sup>	26.83 ± 0.02 <sup>a</sup>	18.62 ± 0.02 <sup>a</sup>	23.43 ± 0.12 <sup>ab</sup>	85.79 ± 0.06 <sup>ab</sup>

(续表 3)

时间/h	肌苷浓度/ mmol·L <sup>-1</sup>	状态	香味	色泽	口感	总分
24	0	15.77 ± 0.02 <sup>a</sup>	25.47 ± 0.01 <sup>a</sup>	18.05 ± 0.04 <sup>a</sup>	21.07 ± 0.05 <sup>a</sup>	80.35 ± 0.05 <sup>a</sup>
	1	15.75 ± 0.03 <sup>a</sup>	25.47 ± 0.01 <sup>a</sup>	18.04 ± 0.03 <sup>a</sup>	21.08 ± 0.03 <sup>a</sup>	80.36 ± 0.06 <sup>a</sup>
	5	15.76 ± 0.04 <sup>a</sup>	25.48 ± 0.04 <sup>a</sup>	18.06 ± 0.02 <sup>a</sup>	21.08 ± 0.03 <sup>a</sup>	80.36 ± 0.04 <sup>a</sup>
	10	15.76 ± 0.03 <sup>a</sup>	25.46 ± 0.02 <sup>a</sup>	18.04 ± 0.02 <sup>a</sup>	21.08 ± 0.04 <sup>a</sup>	80.36 ± 0.08 <sup>a</sup>
	20	15.77 ± 0.03 <sup>a</sup>	25.40 ± 0.05 <sup>a</sup>	18.04 ± 0.01 <sup>a</sup>	20.98 ± 0.02 <sup>a</sup>	80.19 ± 0.03 <sup>ab</sup>
	30	15.76 ± 0.03 <sup>a</sup>	25.39 ± 0.02 <sup>a</sup>	18.05 ± 0.03 <sup>a</sup>	20.98 ± 0.03 <sup>a</sup>	80.18 ± 0.07 <sup>ab</sup>

注:不同小写字母表示相同时间条件下肌苷浓度组间的显著差异( $P<0.05$ )。

### 3 讨论与结论

酸土脂环酸芽孢杆菌广泛存在于自然界和土壤中,其菌体和芽孢可附着在水果表面,在加工过程中不可避免地会导致果汁生产设备和产品被污染。尤其是浓缩果汁生产中,一般会利用回收果汁浓缩时蒸发的水分清洗设备,由于回收的冷凝水温度较高且呈微酸性,给酸土脂环酸芽孢杆菌生长繁殖提供了良好的环境。该菌在设备表面能形成致密的生物被膜<sup>[25]</sup>,形成生物被膜的细菌内部有致密的三维空间结构,使细菌可以大量繁殖、扩散,对环境的耐受性也增强,导致其难以从加工设备的表面被清除<sup>[26]</sup>。因此,酸土脂环酸芽孢杆菌往往通过污染生产设备、生产材料(加工水果)及半成品(浓缩果汁)等导致水果加工产品污染,对酸性果蔬产品的加工和保藏造成了严重危害,再加上该菌嗜酸耐热的特性及其芽孢的高抗逆性,也对酸性果蔬制品的灭菌工艺提出了严峻的挑战。鉴于果蔬汁中热敏性营养成分丰富,果汁加工中尤为重视杀菌工艺对果汁品质的影响,如何采用温和的方式控制该菌污染一直是食品杀菌领域亟待解决的问题。

肌苷是芽孢杆菌属细菌的细胞代谢产物,可用做食品、药品和药物中间体等,具有改善肾功能,加速肝细胞的修复等多种医疗和保健功能<sup>[27]</sup>。目前,与肌苷有关的细菌方面的研究一方面是肌苷生产细菌的选育,另一方面是对细菌芽孢萌发的促进作用<sup>[28]</sup>,尚无其抑制细菌生长繁殖的研究和报道。课题组前期研究发现,肌苷对酸土脂环酸芽孢杆菌芽孢萌发的作用与现有报道截然相反,不仅延缓该菌芽孢萌发且导致营养菌体死亡。由于酸土脂环酸芽孢杆菌具有嗜酸耐热的独特生理

特性,推测原因可能与该菌在酸性条件下具有特殊的代谢机制有关。大部分抑菌物质主要从破坏胞内蛋白和遗传物质、损伤菌体细胞壁及抑制呼吸这三方面来发挥作用<sup>[29]</sup>。本研究发现,5 mmol/L浓度的肌苷就对酸土脂环酸芽孢杆菌的细胞壁和细胞膜具有明显的损伤作用,并导致菌体死亡。肌苷作为细胞内ATP、辅酶A、核糖核酸及脱氧核糖核酸的组成部分,能直接透过细胞膜进入细胞,参与细胞的核酸代谢、物质代谢和能量代谢,并参与蛋白质的合成<sup>[30-31]</sup>,因此,推测肌苷对酸土脂环酸芽孢杆菌细胞壁和细胞膜的破坏作用可能与肌苷进入菌体后对该菌的正常代谢功能造成了影响,进而导致菌体细胞壁和细胞膜合成受到影响而死亡,其分子机制有待深入研究。有研究报道,在橙汁和非碳酸饮料中,当该菌的菌体浓度达到 $10^5\sim 10^6$  CFU/mL时,产生的愈创木酚量就能达到嗅觉的感官阈值<sup>[32]</sup>。本研究发现,当初始污染菌含量高达 $10^5$  CFU/mL和 $10^6$  CFU/mL时,5 mmol/L的肌苷添加量仍能将 $10^5$  CFU/mL的初始菌体的数量降低1个数量级,控制营养菌体的数量使之不能产生达到嗅觉阈值的愈创木酚量,抑制 $10^6$  CFU/mL的初始菌体数量不再增加,且对果汁的理化特性和感官品质均无显著影响。因此,鉴于肌苷对酸土脂环酸芽孢杆菌具有抑制芽孢萌发和低剂量高效抑杀营养菌体的双重效果,不失为理想的控制酸土脂环酸芽孢杆菌污染的高效绿色特异性抑菌剂。

在检测肌苷对酸土脂环酸芽孢杆菌生物被膜形成能力的影响时,发现较低浓度的肌苷便可对酸土脂环酸芽孢杆菌的生物被膜量发挥抑制作用。推测肌苷可能一方面抑制了酸土脂环酸芽孢

杆菌的生长而影响其生物被膜的形成量<sup>[33]</sup>,另一方面可能是由于肌苷影响了酸土脂环酸芽孢杆菌细胞代谢,导致其胞外蛋白或多糖分泌减少,降低了菌体的黏附性,干扰了生物被膜的形成<sup>[34]</sup>。细菌的生物被膜形成力与多种因素有关,如营养条件、环境等,因此肌苷对酸土脂环酸芽孢杆菌生物膜形成的影响机制需要进一步探讨。菌体生物被膜含量的减少可以使菌体的活力以及抗性减弱<sup>[35]</sup>,这为肌苷协同其它抑菌剂或杀菌技术发挥更好的控制该菌污染的作用提供了试验和理论依据,肌苷有望成为酸性果汁生产中抑制酸土脂环酸芽孢杆菌污染的新型高效防腐杀菌剂。研究结果为开发能最大程度保存果汁营养成分和感官品质的新型酸土脂环酸芽孢杆菌的控制技术提供了试验和理论依据。

### 参 考 文 献

- [1] WALLS I, CHUYATE R. *Alicyclobacillus*: Historical perspective and preliminary characterization study[J]. Dairy, Food and Environmental Sanitation, 1998, 18(8): 499-503.
- [2] 徐茜茜. 酸土脂环酸芽孢杆菌 (*Alicyclobacillus acidoterrestris*) 芽孢形成及低 pH 条件下芽孢萌发的蛋白组学研究[D]. 新乡: 河南科技学院, 2023.  
XU X X. Proteomics study on spore formation and spore germination of *Alicyclobacillus acidoterrestris* under low pH conditions[D]. Xinxiang: Henan Institute of Science and Technology, 2023.
- [3] MOLVA C, BAYSAL A H. Antimicrobial activity of grape seed extract on *Alicyclobacillus acidoterrestris* DSM 3922 vegetative cells and spores in apple juice [J]. LWT-Food Science and Technology, 2015, 60(1): 238-245.
- [4] FERRARIO M I, GUERRERO S N. Inactivation of *Alicyclobacillus acidoterrestris* ATCC 49025 spores in apple juice by pulsed light. Influence of initial contamination and required reduction levels[J]. Revista Argentina de Microbiología, 2018, 50(1): 3-11.
- [5] LOPEZ M, GARCIA P, MUNOZ-CUEVAS M, et al. Thermal inactivation of *Alicyclobacillus acidoterrestris* spores under conditions simulating industrial heating processes of tangerine vesicles and its use in time temperature integrators [J]. European Food Research and Technology, 2011, 232(5): 821-827.
- [6] HUNNIGER T, FISCHER C, WESSELS H, et al. Food Sensing: Selection and characterization of DNA aptamers to *Alicyclobacillus* spores for trapping and detection from orange juice[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2015, 63(8): 2189-2197.
- [7] BEVILACQUA A, CORBO M R, SINIGAGLIA M. High-pressure homogenisation and benzoate to control *Alicyclobacillus acidoterrestris*: a possible way [J]. International Journal of Food Science & Technology, 2012, 47(4): 879-883.
- [8] 张晨星, 崔丽佼, 于有伟, 等. 浓缩苹果汁中酸土脂环酸芽孢杆菌检测及控制措施研究进展[J]. 中国果菜, 2021, 41(1): 33-42.  
ZHANG C X, CUI L J, YU Y W, et al. Research progress on detection and control measures of *Alicyclobacillus acidoterrestris* in concentrated apple juice [J]. Chinese Fruit and Vegetable, 2021, 41(1): 33-42.
- [9] PORNPUKDEEWATTANA S, JINDAPRASERT A, MASSA S. *Alicyclobacillus* spoilage and control - a review[J]. Critical Reviews in Food Science and Nutrition, 2020, 60(1): 108-122.
- [10] 黄玉鑫, 冯鑫, 史文鑫, 等. 酸土脂环酸芽孢杆菌危害及其控制研究进展[J]. 食品工业科技, 2019, 40(12): 347-353.  
HUANG Y X, FENG X, SHI W X, et al. Research progress on the hazards and control of *Alicyclobacillus acidoterrestris* [J]. Food Industry Science and Technology, 2019, 40(12): 347-353.
- [11] 林海. 食品防腐剂的种类及其研究进展[J]. 饮食保健, 2017, 4(14): 340-341.  
LIN H. Types and research progress of food preservatives[J]. Diet Health, 2017, 4(14): 340-341.
- [12] TIWARI B K, VALDRAMIDIS V P, BOURKE P, et al. Application of natural antimicrobials for food preservation [J]. Journal of Agricultural & Food Chemistry, 2009, 57(14): 5987.
- [13] 刘旺景, 敖长金, 萨茹丽, 等. 植物提取物抑菌活性及作用机理[J]. 动物营养学报, 2016, 28(8): 9.  
LIU W J, AO C J, SA R L, et al. Antibacterial activity and mechanism of plant extracts[J]. Animal Nutrition, 2016, 28(8): 9.
- [14] 吕东坡, 吕广磊, 刘芳芳, 等. 肌苷发酵条件优化的研究[J]. 中国食品添加剂, 2009(2): 161-165, 137.



- LV D P, LV G L, LIU F F, et al. Optimization of inosine fermentation conditions[J]. Food Additives in China, 2009(2): 161-165, 137.
- [15] 张昆, 邝芳, 闫飞, 等. 肌苷对糖尿病性膀胱病的保护作用及机制[J]. 医学研究生学报, 2018, 31(1): 5-12.
- ZHANG K, KUANG F, YAN F, et al. Protective effect and mechanism of inosine on diabetic bladder disease[J]. Journal of Medical Postgraduates, 2018, 31(1): 5-12.
- [16] GOUNINA -ALLOUANE R, BROUSSOLLE V, CARLIN F. Influence of the sporulation temperature on the impact of the nutrients inosine and l-alanine on *Bacillus cereus* spore germination[J]. Food Microbiology, 2008, 25(1): 202-206.
- [17] 项丰娟, 宋琳琳, 秦仁炳, 等. 不同浓度芽孢萌发剂对肉毒梭菌芽孢萌发的影响[J]. 食品工业科技, 2021, 42(8): 88-94.
- XIANG F J, SONG L L, QIN R B, et al. Effects of different concentrations of spore germination agents on spore germination of *Clostridium botulinum* [J]. Food Industry Technology, 2021, 42(8): 88-94.
- [18] 朱军莉, 王慧敏, 王桂洋, 等. 茶多酚和葡萄籽提取物对假单胞菌抗生物被膜的抑制作用[J]. 中国食品学报, 2016, 16(1): 84-90.
- ZHU J L, WANG H M, WANG G Y, et al. Inhibition of tea polyphenols and grape seed extracts on *Pseudomonas* biofilm[J]. Journal of Chinese Institute of Food Science and Technology, 2016, 16(1): 84-90.
- [19] 潘旭迟, 傅昱晟, 许剑锋, 等. 17种植物挥发油对食源微生物抑菌活性研究[J]. 食品工业科技, 2016, 37(16): 6.
- PAN X C, FU Y S, XU J F, et al. Antimicrobial activity of 17 plant volatile oils against food-borne microorganisms[J]. Food Industry Science and Technology, 2016, 37(16): 6.
- [20] 邓红, 刘旻昊, 马婧, 等. UHP与HTST杀菌处理的猕猴桃NFC果汁贮藏期品质变化[J]. 食品工业科技, 2020, 41(9): 269-277, 296.
- DENG H, LIU M H, MA J, et al. Quality changes of kiwifruit NFC juice treated by UHP and HTST during storage[J]. Food Industry Science and Technology, 2020, 41(9): 269-277, 296.
- [21] 崔燕, 谭卓, 宣晓婷, 等. 天然复合水蜜桃果汁配方优化及超高压对果汁品质的影响[J]. 食品工业科技, 2021, 42(6): 151-158, 165.
- CUI Y, TAN Z, XUAN X T, et al. Formula optimization of natural compound peach juice and effect of ultra-high pressure on juice quality[J]. Food Industry Science and Technology, 2021, 42(6): 151-158, 165.
- [22] 冯鑫, 何承云, 徐茜茜, 等. 培养基成分对酸土脂环酸芽孢杆菌生长及芽孢形成的影响[J]. 食品工业科技, 2018, 39(19): 84-89.
- FENG X, HE C Y, XU X X, et al. Effect of medium composition on growth and spore formation of *Alicyclobacillus acidoterrestris* [J]. Food Industry Science and Technology, 2018, 39(19): 84-89.
- [23] 赵沁雨, 兰天, 袁取予, 等. 植物乳杆菌发酵对果汁品质的影响研究概述[J]. 食品与发酵工业, 2021, 47(16): 300-307.
- ZHAO Q Y, LAN T, YUAN Q Y, et al. Overview of the effects of *Lactobacillus* fermentation on juice quality[J]. Food and Fermentation Industry, 2021, 47(16): 300-307.
- [24] CAGNO R D, SURICO R F, PARADISO A, et al. Effect of autochthonous lactic acid bacteria starters on health-promoting and sensory properties of tomato juices[J]. International Journal of Food Microbiology, 2009, 128(3): 473-483.
- [25] TYFA A, A KUNICKA-STYCZYNSKA, ZABIELSKA J. Evaluation of hydrophobicity and quantitative analysis of biofilm formation by *Alicyclobacillus* sp. [J]. Acta Biochimica Polonica, 2015, 62(4): 785-790.
- [26] HENDERSON L O, CABRERA-VILLAMIZAR L A, SKEENS J, et al. Environmental conditions and serotype affect *Listeria monocytogenes* susceptibility to phage treatment in a laboratory cheese model[J]. Journal of Dairy Science, 2019, 102(11): 9674-9688.
- [27] 张珊. 肌苷的研究进展[J]. 山西青年, 2016(12): 193.
- ZHANG S. Research progress on inosine[J]. Shanxi Youth, 2016(12): 193.
- [28] 孙静, 贺晓光, 张津瑜, 等. 芽孢皮层裂解酶的提取与SDS-PAGE分析[J]. 食品研究与开发, 2018, 39(4): 14-19.
- SUN J, HE X G, ZHANG J Y, et al. Extraction and SDS-PAGE analysis of spore cortex lyase[J]. Food Research and Development, 2018, 39(4):

- 14-19.
- [29] 霍健聪, 邓尚贵, 励建荣. 鱼腥草黄酮的制备及其对枯草芽孢杆菌的抑制机理[J]. 中国食品学报, 2017, 17(9): 82-89.
- HUO J C, DENG S G, LI J R. Preparation of flavonoids from *Houttuynia cordata* and its inhibitory mechanism on *Bacillus subtilis*[J]. Journal of Chinese Institute of Food Science and Technology, 2017, 17(9): 82-89.
- [30] HASKO G, KUHEL D G, NEMETH Z H, et al. Inosine inhibits inflammatory cytokine production by a posttranscriptional mechanism and protects against endotoxin-induced shock[J]. Journal of Immunology, 2000, 164(2): 1013-1019.
- [31] 汪桂华. 肌苷对动物实验性心律失常的作用[J]. 中国药理学通报, 1989(6): 380.
- WANG G H. Effect of inosine on experimental arrhythmia in animals[J]. Chinese Pharmacology Circular, 1989(6): 380.
- [32] STEYN C E, CAMERON M, WITTHUHN R C. Occurrence of *Alicyclobacillus* in the fruit processing environment -A review [J]. International Journal of Food Microbiology, 2011, 147(1): 1-11.
- [33] 王琳, 李宇轩, 刘国荣, 等. 金银花和蒲公英提取物对肉源性假单胞菌生物被膜的清除作用[J]. 食品工业科技, 2020, 41(12): 106-111, 120.
- WANG L, LI Y X, LIU G R, et al. Scavenging effect of honeysuckle and dandelion extracts on meat-borne *Pseudomonas* biofilm [J]. Food Industry Technology, 2020, 41(12): 106-111, 120.
- [34] JUNG J H, CHOI N Y, LEE S Y. Biofilm formation and exopolysaccharide (EPS) production by *Cronobacter sakazakii* depending on environmental conditions[J]. Food Microbiology, 2013, 34(1): 70-80.
- [35] 朱军莉, 王慧敏, 王桂洋, 等. 茶多酚和葡萄籽提取物对假单胞菌抗生物被膜的抑制作用[J]. 中国食品学报, 2016, 16(1): 84-90.
- ZHU J L, WANG H M, WANG G Y, et al. Inhibition of tea polyphenols and grape seed extracts on *Pseudomonas* biofilm[J]. Journal of Chinese Institute of Food Science and Technology, 2016, 16(1): 84-90.

### Effects of Inosine on Growth and Biofilm Formation of *Alicyclobacillus acidoterrestris*

Hu Wenjing, Liu Xiaoxue, Liang Dong, Jiao Lingxia\*

(Henan Institute of Science and Technology of Food Science and Technology, Xinxiang 453003, Henan)

**Abstract** The quality problems of acidic juices such as nutritional loss, flavor deterioration and precipitation caused by the pollution of acidophilic and thermophilic *Alicyclobacillus acidoterrestris* have become the bottleneck restricting the processing and export trade of fruits and vegetables. In this paper, the antibacterial activity of inosine on growth of *A. acidoterrestris* and its influence on the quality of orange juice were studied by determination of optical density, measurement of biofilm formation, scanning electron microscopy (SEM) detection, plate colony count, physicochemical properties and sensory quality identification of fruit juice. The results showed that inosine with different concentrations could effectively inhibit the growth and reproduction of the vegetative cells of *A. acidoterrestris* under acidic conditions, and had no significant effect on the physicochemical properties such as acidity, sugar content, color, taste and sensory quality of fresh orange juice. The addition of inosine as low as 5 mmol/L could reduce the biofilm formation ability of *A. acidoterrestris*, damage the cell wall and cell membrane, and lead to cell lysis and death. When the initial contaminated bacteria content is up to  $10^5$  CFU/mL, the total number of *A. acidoterrestris* can still be reduced by one order of magnitude, which control the number of vegetative bacteria so that it can not produce guaiacol that reaches the olfactory threshold. It is expected to be a new and efficient preservative for inhibiting the pollution of *A. acidoterrestris* in acidic juice production.

**Keywords** *Alicyclobacillus acidoterrestris*; inosine; antibacterial effect; biofilm formation; juice quality