

山梨酸钾辅助 HPTS 对芽孢的杀菌动力学及应用研究

武思睿, 杨杰, 李佳佳, 王旭娟, 辛伟山, 章中*
(宁夏大学食品科学与工程学院 银川 750021)

摘要 本文研究山梨酸钾辅助高压热杀菌(HPTS)对枯草杆菌芽孢的灭活动力学。选用一级动力学模型、Weibull 和 Log-logistic 动力学模型对山梨酸钾辅助 HPTS 对枯草杆菌芽孢的失活曲线进行动力学模型拟合。分析精确因子(A_f)、偏差因子(B_f)、均方根误差(RMSE)、决定系数(R^2),在 3 个模型中,山梨酸钾辅助 HPTS 的杀菌作用更符合 Log-logistic 动力学模型($R^2=0.986$)。山梨酸钾(0.2 g/100 mL)辅助 HPTS(600 MPa、75 °C、25 min)时,失活效果最佳,芽孢致死率为 6.10 lg(CFU/mL)。山梨酸钾辅助 HPTS 处理能有效杀灭甜瓜汁中的芽孢,且杀菌后甜瓜汁的褐变度显著降低,贮藏 28 d 后山梨酸钾(0.1 g/100 mL)辅助 HPTS(600 MPa、75 °C、25 min)处理的甜瓜汁在 420 nm 处的吸光度达 0.093,而 HPTS 处理的对照样品的吸光度为 0.058。通过扫描电镜观察甜瓜汁中枯草杆菌芽孢处理前、后的微观结构,处理后的芽孢形态结构发生变化。结论:山梨酸钾辅助 HPTS 具有显著的应用价值。

关键词 山梨酸钾; HPTS; 枯草杆菌芽孢; 杀菌动力学

文章编号 1009-7848(2024)03-0122-08 **DOI:** 10.16429/j.1009-7848.2024.03.012

细菌芽孢是休眠体,具有极强的杀菌抵抗力,通常被食品工业用作灭菌效果的指标^[1-2]。其中一些细菌芽孢对食品安全构成重大威胁,虽然通过传统的高温杀菌(100 °C以上)可延长食品的保质期,但是对食品的感官和营养品质有负面影响。HPTS 处理是在中等温度和静态超高压的组合下进行杀菌的技术^[3]。HPTS 处理使得食品杀菌温度降低,更好地保证了食品的品质^[4-5]。据报道,在 621 MPa,98 °C 下处理 5 min,枯草杆菌芽孢减少 9 lg(CFU/mL)^[6],目前这种处理方法尚未在食品工业广泛使用。

Das 等^[7]发现超高压辅助山梨酸钾在灭活李斯特菌方面非常有效,用山梨酸钾(0.1 g/100 mL)浸泡样品 15 min,再经 250,350 MPa 处理,李斯特菌分别被灭活 2.345 lg(CFU/mL),5.908 lg(CFU/mL)。山梨酸钾是一种安全、高效的低酸性食品抑菌剂,在发挥抗菌作用时山梨酸钾会转变为山梨酸^[8]。其主要的抑菌方式是是与微生物细胞内酶系统中疏基键结合,破坏许多重要酶系,从而抑制细胞内的基础代谢^[7],最终使微生物的生长和繁殖受到抑制^[9]。

目前关于山梨酸钾辅助 HPTS 杀灭芽孢尚无研究报道。本文采用一级动力学模型、Weibull 和 Log-logistic 动力学模型拟合山梨酸钾辅助 HPTS 处理下枯草杆菌芽孢的失活曲线,通过模型分析参数(A_f 、 B_f 、RMSE、 R^2)评价模型的拟合程度,寻找山梨酸钾辅助 HPTS 对枯草杆菌芽孢失活曲线的最佳拟合动力学模型。利用山梨酸钾辅助 HPTS 处理鲜榨甜瓜汁,观察其芽孢的失活效果,同时研究不同处理甜瓜汁的色泽。用扫描电镜观察枯草杆菌芽孢处理前、后甜瓜汁微观结构,为山梨酸钾辅助 HPTS 在食品杀菌中的应用提供参考。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

枯草芽孢杆菌(*Bacillus subtilis*),编号 As 1.433,中国普通微生物菌种保藏管理中心。

营养琼脂,北京奥博星生物技术有限责任公司;硫酸锰(分析纯),天津市大茂化学试剂厂;胰酪胨大豆酵母浸膏琼脂(TSA-YE)、山梨酸钾,北京索莱宝科技有限公司。

1.2 仪器与设备

DSX-280B 型高压灭菌锅,上海申安医疗器械厂;AL204 电子天平,梅特勒-托利多仪器(上海)有限公司;TGL-10B 型离心机,上海安亭科学仪器厂;LRH 系列生化培养箱,上海一恒科学仪器

收稿日期:2023-03-13

基金项目:国家自然科学基金项目(31760474)

第一作者:武思睿,女,硕士生

通信作者:章中 E-mail: zhangzhong99@126.com

有限公司;HWS-12 型电子恒温水浴锅,上海合恒仪器设备有限公司;754PC 型紫外-可见分光光度计,上海菁华科技仪器有限公司;HPP-600 MPa/5L,包头科发高压科技有限公司;1702540S 型钨灯丝扫描电子显微镜(T-SEM),德国卡尔蔡司公司。

1.3 方法

1.3.1 菌株及其芽孢悬浮液的制备 将菌株在营养琼脂培养基上活化后放入生化培养箱 37 °C 下恒温培养 48 h,将活化后的菌株接种到含有 Mn^{2+} 的营养琼脂培养基上,在 37 °C 下培养 1 周。按照 Gao 等^[10]的描述制备枯草杆菌芽孢悬浮液。用无菌水淹没培养物表面,静置片刻后振荡洗涤,在无菌烧瓶中收集芽孢。芽孢用低温的无菌水洗涤 3 次,洗涤条件为 4 °C、8 000 r/min、15 min,弃去含有细胞碎片的上清液,将最终纯化的芽孢颗粒重悬在无菌水中,所得菌悬液的浓度约为 1.5×10^9 CFU/mL,在 4 °C 下保存,1 个月内使用。每次使用前要将芽孢用无菌水再次洗涤 (4 °C、8 000 r/min、15 min)。

1.3.2 山梨酸钾辅助 HPTS 处理芽孢悬浮液 取不同处理后的芽孢悬浮液各 10 mL,调节 pH 值为 6.0,将芽孢悬浮液中山梨酸钾分别调整为 0.1、0.2 g/100 mL,置于无菌聚乙烯塑料袋中,将其抽真空封口后放入超高压加压腔体中,处理介质为水,压强为 600 MPa,处理温度为 65、75 °C,保压时间分别为 5、10、15、20、25 min,处理时间不包括升压和卸压所需时间,每个样品平行处理 3 次。

1.3.3 细菌平板计数 参照 GB 4789.2-2016 菌落总数测定法,将处理前后的菌悬液通过梯度稀释,在培养皿中注入 1 mL 的稀释菌液和 15~20 mL 的 TSA-YE 培养基,37 °C 下恒温培养 48 h,进行计数并计算致死率。计算公式为:

$$C = \lg \frac{N_t}{N_0} \quad (1)$$

式中: C ——致死率; N_0 ——山梨酸钾辅助 HPTS 杀菌前细菌菌落数,CFU; N_t ——山梨酸钾辅助 HPTS 杀菌后细菌菌落数,CFU。

1.3.4 模型的选择 一级动力学模型:一级动力学模型是指假设在一定压力和温度条件下,微生物具有相同的杀菌抗性,其杀灭对数随处理时间

的变化符合线性关系^[11],其表达式为:

$$\lg \frac{N_t}{N_0} = -\frac{t}{D_p} \quad (2)$$

式中: t ——杀菌处理时间,s; D_p ——指数递减时间,即某处理条件下每杀死 90% 的活菌数所需时间,s。

Weibull 动力学模型:由 Peleg 和 Cole¹⁹⁹⁸ 年提出的^[12],Weibull 动力学模型是将微生物的杀灭作为 Weibull 动力学模型概率事件,这与微生物群体中种群的异质性有关。其表达式为:

$$\lg \frac{N_t}{N_0} = -bt^n \quad (3)$$

式中: N_t ——处理 t 时芽孢菌落数量; N_0 ——初始芽孢菌落数量; b ——比例因子; n ——形状系数。

Log-logistic 动力学模型:Log-logistic 模型是拟合微生物热失活的非线性方程。Log-logistic 动力学模型同样适用于对杀菌抗性存在差别的微生物。本文参考文献[13]的数学模型,其表达式为:

$$\lg \frac{N_t}{N_0} = \frac{P}{1+qe^{-mt}} \quad (4)$$

式中: N_0 ——初始芽孢菌落数量; N_t ——经处理 t 后芽孢菌落数量; p ——最低的残存细菌菌落菌体浓度对数值; q, m ——为该曲线方程的参数。

1.3.5 动力学模型拟合度的评价 以 A_f 、 B_f 、RMSE 和 R^2 4 个参数来评判拟合度的优劣^[14]。用 A_f 、 B_f 来衡量模型的有效性。 A_f 值越小表明模型预测值与实测值越接近,模型越精确。当 B_f 越接近 1,模型拟合度越高。并且 R^2 越接近于 1, RMSE 越小,模型拟合度越高。公式如下:

$$RMSE = \sqrt{\frac{\sum (\text{实测值} - \text{预测值})^2}{k-1}} \quad (5)$$

$$A_f = 10 \frac{\sum \lg(\text{预测值}/\text{实测值})}{k} \quad (6)$$

$$B_f = 10 \frac{\sum \lg(\text{预测值}/\text{实测值})}{k} \quad (7)$$

式中: k ——观察值的个数。

1.3.6 不同处理后甜瓜汁褐变程度的测定 将不同处理后的甜瓜汁离心 (4 °C、8 000 r/min、10 min) 后取上清液,测定其在 420 nm 处的吸光度。

1.3.7 扫描电镜 参照 Callow 等^[15]的方法。将不同处理前后接种芽孢的甜瓜汁冷冻干燥,制样时

用牙签蘸取少量菌粉于导电胶中,然后置于扫描电子显微镜的载物台上,镀金后放入扫描电子显微镜观察,多次观察选择合适的视野和放大倍数,保存电镜图。

1.3.8 数据处理与分析 所有试验至少重复3次,试验结果以均值±标准误差表示。使用 Origin 2021 软件对试验结果进行统计分析和作图,使用 Curve Expert 2.6.5 软件进行模型拟合。以 $P < 0.05$

为显著差异的标准,图表中不同的标注字母表示有显著性差异($P < 0.05$)。

2 结果与分析

2.1 山梨酸钾辅助 HPTS 处理后芽孢致死率曲线

图1为山梨酸钾辅助 HPTS 对枯草杆菌芽孢的灭活效果。山梨酸钾质量浓度为 0.1, 0.2 g/100 mL, 温度为 65, 75 °C, 压力为 600 MPa。

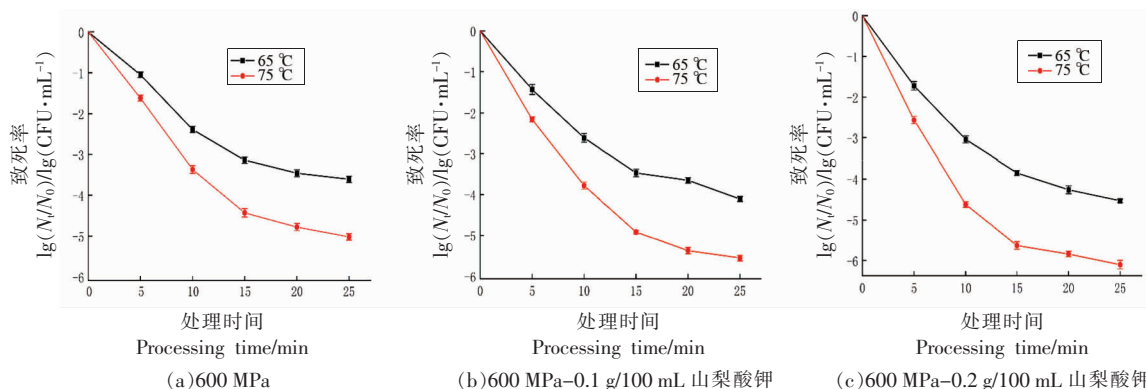


图1 山梨酸钾辅助 HPTS 处理对枯草杆菌芽孢灭活效果

Fig.1 Inactivation of *Bacillus subtilis* spores by potassium sorbate-assisted HPTS treatment

当保压时间为 25 min 时,600 MPa-65 °C/75 °C 处理下芽孢致死率为 3.61, 5.02 lg(CFU/mL); 当山梨酸钾为 0.1 g/100 mL 时,600 MPa-65 °C/75 °C 处理下芽孢致死率为 4.11, 5.56 lg(CFU/mL); 山梨酸钾为 0.2 g/100 mL 时,600 MPa-65 °C/75 °C 处理下芽孢致死率为 4.53, 6.10 lg(CFU/mL), 表明相同温度及保压时间下,山梨酸钾辅助 HPTS 处理比单独 HPTS 处理能更有效提升对芽孢的杀灭效果。

同时从图1中发现,不同处理后芽孢的致死率在不同保压时间段均呈现出两种趋势,保压时间 15 min 后,芽孢致死率曲线出现拖尾现象。这是因为不同芽孢群体对热和压力具有异质性,导致杀菌过程中芽孢致死率出现拖尾现象^[16]。在 15 min 时,600 MPa-65 °C/75 °C 处理下芽孢致死率为 3.14, 4.43 lg(CFU/mL)。在 25 min 时,0.1 g/100 mL 山梨酸钾辅助 600 MPa-65 °C/75 °C 处理后芽孢致死率为 3.47, 4.92 lg(CFU/mL), 0.2 g/100 mL 山梨酸钾辅助 600 MPa-65 °C/75 °C 处理后芽孢致死率为 3.85, 5.63 lg(CFU/mL), 在 600 MPa-75

°C、山梨酸钾为 0.2 g/100 mL 处理下,芽孢致死率曲线拖尾现象明显。研究发现拖尾现象可能是由于部分芽孢具有极强的抗性^[17-18]。

2.2 山梨酸钾辅助 HPTS 处理下芽孢灭活动力学拟合分析

运用一级动力学模型、Weibull 和 Log-logistic 动力学模型对山梨酸钾辅助 HPTS 对枯草杆菌芽孢的灭活动力学曲线进行拟合,其拟合模型参数如表1所示。

决定系数(R^2)一般用来对模型拟合程度做一个总体评价^[19]。高压热处理下芽孢灭活不遵循一级动力学,主要是由于灭活曲线的肩部和拖尾特征的出现^[20]。由表1可知一级动力学模型拟合的决定系数 R^2 在 0.757~0.880 之间,且随着山梨酸钾的质量浓度增加和温度的升高该模型决定系数 R^2 逐渐降低,这也与 Peleg 等^[21]的结论一致。而 Weibull 动力学模型拟合的决定系数 R^2 在 0.958~0.983 之间,与一级动力学模型相比,Weibull 动力学模型的拟合度较高。Log-logistic 动力学模型拟合的决定系数 R^2 在 0.979~0.993 之间,相较于以

表 1 动力学模型拟合曲线参数

Table 1 Kinetic model fitting curve parameters

山梨酸钾质量 浓度/g·(100 mL) ⁻¹	温度/°C	一级动力学模型		Weibull 动力学模型			Log-Logistic 动力学模型			
		<i>D</i>	<i>R</i> ²	<i>b</i>	<i>n</i>	<i>R</i> ²	<i>p</i>	<i>q</i>	<i>m</i>	<i>R</i> ²
0	65	5.834	0.880	0.533	0.616	0.958	-3.527	14.983	0.344	0.993
	75	4.175	0.862	0.825	0.581	0.962	-4.895	13.221	0.341	0.991
0.1	65	5.267	0.873	0.668	0.574	0.980	-3.901	10.309	0.309	0.979
	75	3.726	0.832	1.088	0.526	0.976	-5.447	9.994	0.323	0.983
0.2	65	4.658	0.848	0.841	0.537	0.983	-4.366	9.645	0.315	0.980
	75	3.331	0.757	1.489	0.456	0.964	-5.895	11.414	0.394	0.986

上两种动力学模型,Log-logistic 动力学模型拟合度最高。Chen 等^[22]研究发现 Log-logistic 动力学模型对于超高压协同热处理对李斯特菌的失活曲线具有较好的拟合度。

2.3 模型拟合度评价

实测值和预测值拟合方程的斜率越接近 1,截距越趋向 0,相关性越好。从图 2 中看出,Weibull 和 Log-logistic 动力学模型预测值和实测值的相关性程度较好,一级动力学模型的拟合方程截距较大,其预测值与实测值的相关性较差。参数 *A_f* 和 *B_f* 表示模型性能^[23],*A_f* 越小 *B_f* 值越接近于 1,模型拟合度越高,决定系数 *R*² 和 RMSE 表示模

型的可靠度,*R*² 越大,RMSE 越小,模型拟合度越高。由表 2 可知,Log-logistic 动力学模型的相关性方程相较于其余两种动力学模型其斜率最接近 1,截距最接近 0。Log-logistic 动力学模型的 *A_f* 均小于 Weibull 动力学模型和一级动力学模型,且 Log-logistic 动力学模型和 Weibull 动力学模型的 *B_f* 都很接近 1,同时 Log-logistic 动力学模型的均方根误差 RMSE 最小,且 *R*² 最接近 1,综合以上参数比较,说明 Log-logistic 动力学模型的精确度和拟合度最高,可靠度高于其它模型。因此 Log-logistic 动力学模型最适合拟合山梨酸钾辅助 HPTS 对枯草杆菌芽孢杀灭效果的动力学曲线。在

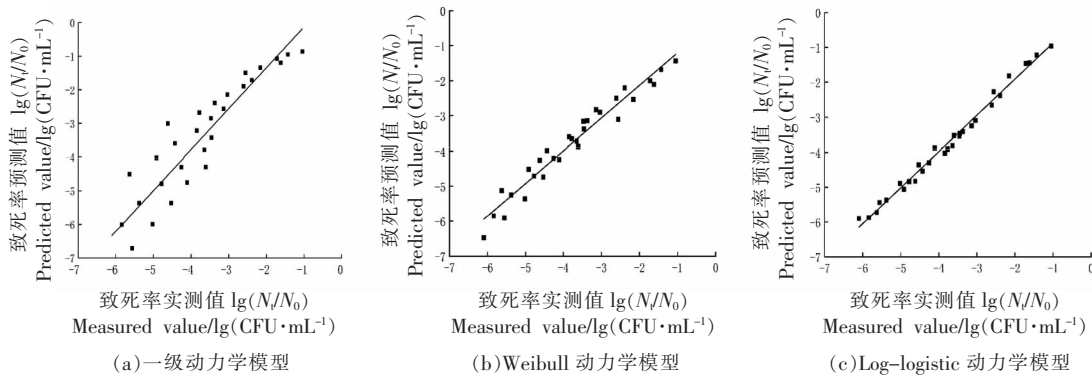


图 2 山梨酸钾辅助 HPTS 对芽孢杀灭效果实测值和预测值的相关性分析

Fig.2 Correlation analysis between measured and predicted values of spore killing effect of potassium sorbate-assisted HPTS

表 2 动力学模型拟合度参数及相关性方程

Table 2 Kinetic model fit parameter and correlation equation

模型	相关性方程	<i>A_f</i>	<i>B_f</i>	RMSE	<i>R</i> ²
一级动力学模型	$y=1.091+1.218x$	1.257	0.858	0.807	0.849
Weibull 动力学模型	$y=-0.273+0.930x$	1.090	1.020	0.302	0.951
Logistic 动力学模型	$y=0.160+1.034x$	1.048	0.977	0.156	0.989

Sencer 等^[24]的研究中也同样发现,在采用压力协同温度杀灭芽孢时,3种模型中 Log-logistic 动力学模型具有更好的拟合效果。同时 Chen 等^[25]也发现在温度协同压力灭活多种食源性致病菌时 Weibull 和 Log-logistic 动力学模型比一级动力学模型有较好的拟合度。

2.4 山梨酸钾辅助 HPTS 对甜瓜汁中芽孢的杀灭效果及甜瓜汁褐变度的影响

食品成分对于 HPTS 的杀菌效果及芽孢的耐受性均有不同程度的影响,可能会减少或增加杀菌功效^[25-27]。在甜瓜汁体系中,600 MPa-25 °C 对于芽孢基本没有杀灭作用。随着温度升高,600 MPa-65 °C/75 °C 时芽孢存活量为 3.28,4.51 lg (CFU/mL)。山梨酸钾辅助 HPTS 处理时,芽孢杀灭效果进一步增强,表明 HPTS 与山梨酸钾在甜瓜汁体系中仍具有协同杀菌效果,在 0.1 g/100 mL 山梨酸钾辅助 600 MPa-75 °C 处理时芽孢存活量 5.26 lg (CFU/mL),而在缓冲液体系中 0.1 g/100 mL 山梨酸钾辅助 600 MPa-75 °C 处理下芽孢致死率为 5.56 lg (CFU/mL)。Van 等^[28-29]发现一些食品成分尤其是糖、脂肪和盐会结合 HPTS 在杀灭芽孢时会降低对芽孢的杀灭效果。而甜瓜糖分较高,所以在试验过程中糖分会对芽孢的杀灭效果有一定的抑制作用。

由于果汁中的酚类物质经非酶、酶促褐变生成黑色物质,该物质在 420 nm 处有最大吸收峰,所以 420 nm 处的吸光度值可作为果蔬褐变度的评判标准^[30]。HPTS 处理后,在贮藏过程中,甜瓜汁的褐变度整体呈现上升趋势,但在添加山梨酸钾后的甜瓜汁其褐变度显著低于未添加山梨酸钾的褐变度。表明山梨酸钾辅助 HPTS 处理可以有效抑制甜瓜汁的褐变程度。

2.5 扫描电镜

为进一步研究山梨酸钾辅助 HPTS 对枯草杆菌芽孢形态结构的破坏情况,利用扫描电镜对未处理的、HPTS 单独处理及山梨酸钾辅助 HPTS 处理的甜瓜汁中芽孢表面结构进行观察。

扫描电镜结果如图 5 所示。图 5a 中芽孢完整且饱满,表面平滑无凹陷,整体呈短棒状;图 5b 是 600 MPa-75 °C 处理后,芽孢形态结构发生破裂。图 5c 为 HPTS(600 MPa-75 °C)结合 0.1 g/100 mL 山

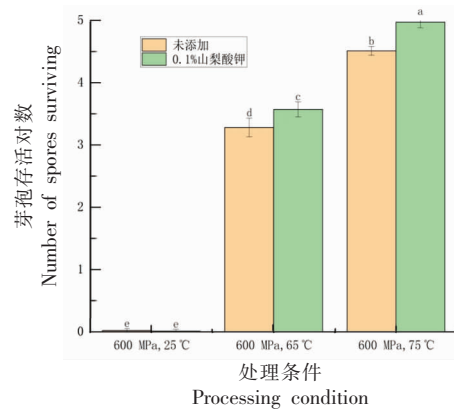


图3 山梨酸钾辅助 HPTS 处理对甜瓜汁中芽孢的杀灭效果

Fig.3 Killing effect of potassium sorbate-assisted HPTS treatment on spores in melon juice

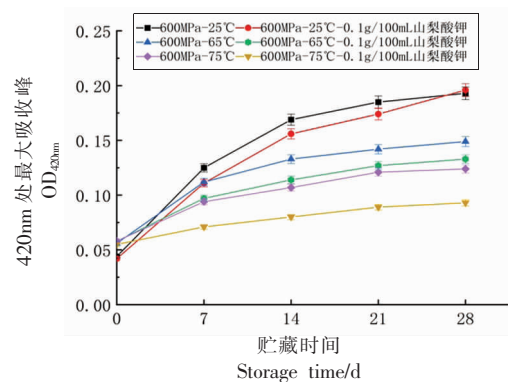


图4 山梨酸钾辅助 HPTS 处理后甜瓜汁贮藏过程中褐变度的变化

Fig.4 Changes of browning degree of melon juice during storage after potassium sorbate-assisted HPTS treatment

梨酸钾处理结果,芽孢形态结构破裂进一步增强。Zeng 等^[31]研究发现高压破坏了芽孢的细胞壁从而导致内容物的泄露,降低了菌体对外界环境的抗性,进一步的中温(大于 60 °C)处理使得芽孢加速失活。

3 结论

山梨酸钾辅助 HPTS 对枯草杆菌芽孢的杀菌动力学模型中,一级动力学模型、Weibull 和 Log-logistic 动力学模型的决定系数 R^2 分别为 0.849, 0.951, 0.989, Log-logistic 模型能更好的拟合山梨酸钾辅助 HPTS 对枯草杆菌芽孢的杀菌动力学过程。在甜瓜汁体系中,山梨酸钾辅助 HPTS 对枯草

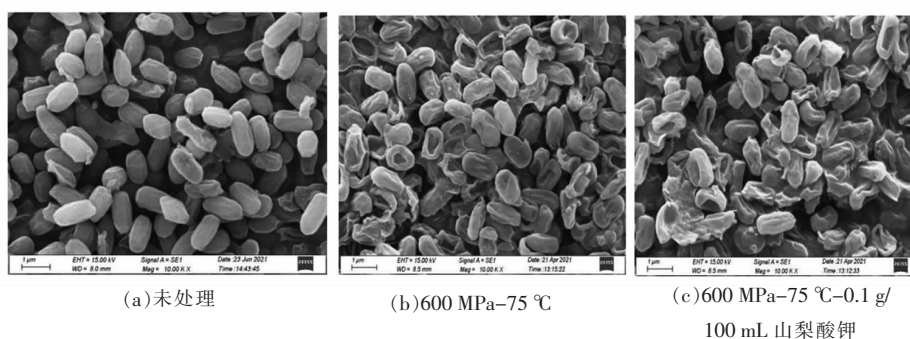


图 5 山梨酸钾辅助 HPTS 处理后芽孢形态变化

Fig.5 Morphological changes of spores after potassium sorbate-assisted HPTS treatment

杆菌芽孢有较好的杀灭效果, 稍低于 PBS 缓冲液体系中芽孢的杀灭效果, 添加山梨酸钾后甜瓜汁褐变程度显著降低。通过扫描电镜对甜瓜汁体系中处理前后芽孢的微观结构进行观察, 发现处理后的芽孢形态结构受损, 对外界的抗性降低。该研究为山梨酸钾辅助 HPTS 在食品杀菌中的应用提供了重要的参考价值。

参 考 文 献

- [1] TSENG S, ABRAMZON N, JACKSON J O, et al. Gas discharge plasmas are effective in inactivating *Bacillus* and *Clostridium* spores[J]. *Applied Microbiology & Biotechnology*, 2012, 93(6): 2563-2570.
- [2] 梁栋, 陈芳, 胡小松. 芽孢萌发研究进展[J]. *中国食品学报*, 2018, 18(6): 221-228.
LIANG D, CHEN F, HU X S. Research progress of spore germination[J]. *Journal of Chinese Institute of Food Science and Technology*, 2018, 18(6): 221-228.
- [3] ZHANG Z, JIANG B, LIAO X J, et al. Inactivation of *Bacillus subtilis* spores by combining high-pressure thermal sterilization and ethanol[J]. *International Journal of Food Microbiology*, 2012, 160(2): 99-104.
- [4] LAU M H, EVAN J T. Determination of quality differences in low - acid foods sterilized by high pressure versus retorting[M]. UK: IFT Press-Blackwell Publishing, 2007: 194-217.
- [5] 申瑾, 谭睿, 郭家俊, 等. 高压热杀菌灭活枯草杆菌芽孢的作用研究[J]. *中国食品学报*, 2022, 22(6): 11.
SHEN J, TAN R, GUO J J, et al. Effect of high pressure heat on sterilization and inactivation of *Bacillus subtilis* spore[J]. *Journal of Chinese Institute of Food Science and Technology*, 2022, 22(6): 11.
- [6] WILSON M J, BAKER R. High temperature/ultra-high pressure sterilization of foods[J]. *Food Engineering Interfaces*, 2010(15): 341-351.
- [7] DAS S, LALITHA K V, JOSEPH G, et al. High pressure destruction kinetics along with combined effect of potassium sorbate and high pressure against *Listeria monocytogenes* in Indian white prawn muscle [J]. *Annals of Microbiology*, 2016(66): 245-251.
- [8] 任剑豪, 吴卫国. 山梨酸及其钾盐防腐效果的研究进展[J]. *南方农业*, 2017, 11(17): 77-78.
REN J H, WU W G. Research progress of sorbic acid and its potassium salt antiseptic effect [J]. *Southern Agriculture*, 2017, 11(17): 77-78.
- [9] 张聪聪, 艾佳音, 吉茹, 等. 山梨酸钾和热处理对“夏黑”葡萄防腐保鲜的影响[J]. *食品科技*, 2020, 45(7): 8.
ZHANG C C, AI J Y, JI R, et al. Effect of potassium sorbate and heat treatment on preservation and preservation of ‘Summer black’ grape[J]. *Food Science and Technology*, 2020, 45(7): 8.
- [10] GAO Y L, JU X R, JIANG H H. Studies on inactivation of *Bacillus subtilis* spores by high hydrostatic pressure and heat using design of experiments[J]. *Journal of Food Engineering*, 2006, 77(3): 672-679.
- [11] ROSS T. Indices for performance evaluation of predictive models in food microbiology [J]. *Journal of Applied Microbiology*, 1996, 81(5): 501-508.
- [12] PELEG M, COLE M B. Reinterpretation of microbial survival curves[J]. *C R C Critical Reviews in*

- Food Technology, 1998, 38(5): 353–380.
- [13] 迟媛, 弓敏, 马艳秋, 等. 超声协同次氯酸钠杀灭腐败菌效果与动力学研究[J]. 农业机械学报, 2020, 51(7): 372–381.
- CHI Y, GONG M, MA Y Q, et al. Study on the efficacy and kinetics of ultrasonic combined with sodium hypochlorite in killing spoilage bacteria[J]. Transactions of the Chinese Society for Agricultural Machinery, 2020, 51(7): 372–381.
- [14] 靳志强, 王顺喜, 韩培. 微波杀灭霉变玉米中寄生曲霉动力学模型[J]. 农业机械学报, 2011, 42(12): 148–153, 170.
- JIN Z Q, WANG S X, HAN P. Kinetic model for killing *Aspergillus parasitica* in maize by microwave irradiation[J]. Transactions of the Chinese Society for Agricultural Machinery, 2011, 42(12): 148–153, 170.
- [15] CALLOW J A, OSBORNE M P, CALLOW M E, et al. Use of environmental scanning electron microscopy to image the spore adhesive of the marine alga enteromorpha in its natural hydrated state[J]. Colloids and Surfaces B:Biointerfaces, 2003, 27(4): 315–321.
- [16] RAJAN S, PANDRANGI S, BALASUBRAMANIAM V M, et al. Inactivation of *Bacillus stearothermophilus* spores in egg patties by pressure-assisted thermal processing[J]. LWT – Food Science and Technology, 2006, 39(8): 844–851.
- [17] CERF O. A review tailing of survival curves of bacterial spores[J]. Journal of Applied Bacteriology, 1977, 42(1): 1–19.
- [18] WANG B S. Inactivation kinetics and reduction of *Bacillus coagulans* spore by the combination of high pressure and moderate heat[J]. Journal of Food Process Engineering, 2009(23): 692–708.
- [19] 王军, 董庆利, 丁甜. 预测微生物模型的评价方法[J]. 食品科学, 2011, 32(21): 5.
- WANG J, DONG Q L, DING T. Evaluation methods for predicting microbial models[J]. Food Science, 2011, 32(21): 5.
- [20] BOEKEL M. On the use of the Weibull model to describe thermal inactivation of microbial vegetative cells[J]. International Journal of Food Microbiology, 2002, 74(1/2): 139–159.
- [21] PELEG M, COLE M B. Estimating the survival of *Clostridium botulinum* spores during heat treatments[J]. J Food Prot, 2000, 63(2): 190–195.
- [22] CHEN H, HOOVER D. Modeling the combined effect of high hydrostatic pressure and mild heat on the inactivation kinetics of *Listeria monocytogenes* Scott A in whole milk[J]. Innovative Food Science & Emerging Technologies, 2003, 4: 25–34.
- [23] ROSS T. Indices for performance evaluation of predictive models in food microbiology[J]. Journal of Applied Bacteriology, 1996, 81(5): 501–508.
- [24] SENCER B, HAMI A. Modeling the synergistic effect of high pressure and heat on inactivation kinetics of *Listeria innocua*: A preliminary study[J]. FEMS Microbiology Letters, 2004(1): 29–36.
- [25] CHEN H Q. Use of linear, weibull, and log-logistic functions to model pressure inactivation of seven foodborne pathogens in milk[J]. Food Microbiology, 2007(243): 197–204.
- [26] 钟业俊, 刘成梅, 刘伟, 等. 食品基质成分对瞬时高压杀灭枯草芽孢杆菌效果的影响[J]. 现代食品科技, 2006(3): 17–20.
- ZHONG Y J, LIU C M, LIU W, et al. Effects of food substrate components on the killing effect of *Bacillus subtilis* under instantaneous high pressure[J]. Modern Food Science and Technology, 2006(3): 17–20.
- [27] MOLINA-HÖPPNER A, DOSTER W, VOGEL R F, et al. Protective effect of sucrose and sodium chloride for *Lactococcus lactis* during sublethal and lethal high-pressure treatments[J]. Applied and Environmental Microbiology, 2004, 70(4): 2013–2020.
- [28] OPSTAL V, VANMUYSEN S C M, MICHIELS C W. High sucrose concentration protects *E. coli* against high pressure inactivation but not against high pressure sensitization to the lactoperoxidase system[J]. International Journal of Food Microbiology, 2003, 88(1): 1–9.
- [29] STEWART K, SETLOW P, LI Y et al. High salinity alters the germination behavior of *Bacillus subtilis* spores with nutrient and nonnutrient germinants[J]. Applied and Environmental Microbiology, 2013(80): 1314–1321.
- [30] 冯立娟, 尹燕雷, 杨雪梅, 等. 柠檬酸处理对石榴果皮离体褐变的影响[J]. 林业科学, 2015, 51(9): 42–50.

- FENG L J, YIN Y L, YANG X M, et al. Effects of citric acid treatment on *in vitro* browning of pomegranate peel[J]. *Scientia Silvae Sinicae*, 2015, 51(9): 42–50.
- [31] ZENG X, TANG W, YE G, et al. Studies on disinfection mechanism of electrolyzed oxidizing water on *E. coli* and *Staphylococcus aureus*[J]. *Journal of Food Science*, 2010, 75(5): M253–M260.
- [32] LIN L, WANG X, LI C Z, et al. Inactivation mechanism of *E. coli* O157:H7 under ultrasonic sterilization[J]. *Ultrasonics Sonochemistry*, 2019, 59: 104751.

Study on Bactericidal Kinetics and Application of Potassium Sorbate Assisted HPTS to Spores

Wu Sirui, Yang Jie, Li Jiajia, Wang Xujuan, Xin Weishan, Zhang Zhong*
(College of Food Science and Engineering, Ningxia University, Yinchuan 750021)

Abstract In this paper, the inactivation kinetics of potassium sorbate-assisted high pressure thermal sterilization (HPTS) on *Bacillus subtilis* spores were studied. First-order kinetics model, Weibull and Log-logistic kinetics models were used to fit the inactivation curve of *B. subtilis* spores by potassium sorbate-assisted HPTS. By analysis of precision factor (A_t), bias factor (B_t), root mean square error (RMSE), coefficient of determination (R^2), In the three models, Log-logistic Kinetic model fitted best the spore sterilization effect of potassium sorbate-assisted HPTS ($R^2=0.986$). When potassium sorbate (0.2 g/100 mL) assisted HPTS (600 MPa, 75 °C, 25 min), the inactivation effect was the best, and the spore inactivation was 6.10 lg (CFU/mL). Potassium sorbate assisted HPTS treatment was applied to the inactivation of spores in muskmelon juice, it was found that the browning degree was significantly reduced, after 28 days of storage, the absorbance of potassium sorbate (0.1 g/100 mL) assisted HPTS (600 MPa, 75 °C, 25 min) at 420 nm reached 0.093, The absorbance of the HPTS-treated control sample was 0.058. Scanning electron microscope was used to observe the microstructure of *Bacillus subtilis* spores in muskmelon juice before and after treatment, and it was found that the morphological structure of the spores changed after treatment. In conclusion, potassium sorbate assisted HPTS has significant application value.

Keywords potassium sorbate; HPTS; *Bacillus subtilis* spores; bactericidal kinetics