

大气滑动弧放电对沙门氏菌的灭活机制及在鸡蛋保鲜中的应用

朱莉华¹, 李 燕², 仝其根^{1,2}, 孙运金^{1,*}, 马挺军²

(1.北京农学院食品科学与工程学院, 食品质量与安全北京实验室, 北京 102206;

2.北京农学院食品科学与工程学院, 农产品有害微生物及农残安全检测与控制北京市重点实验室, 北京 102206)

摘 要: 为了保持鸡蛋的新鲜度、延长其保质期, 本研究提出了一种可在室温和大气环境中进行灭菌处理的新型冷杀菌技术, 即滑动弧放电技术。首先, 将配制好的沙门氏菌液均匀接种在鸡蛋表面, 然后使鸡蛋以一定的自旋速率通过等离子体放电区域进行灭菌处理, 从鸡蛋表面取得菌样后进行灭活机制研究, 并将灭菌处理后的鸡蛋在37 ℃条件下进行贮藏, 通过测定质量损失率和哈夫单位来评价大气放电技术对鸡蛋品质的影响。扫描电子显微镜观察和细胞外蛋白质质量浓度检测结果表明, 大气滑动弧放电技术可对沙门氏菌产生有效的刻蚀作用, 导致细胞膜破碎和胞内蛋白质泄漏。同时, 鸡蛋品质检测表明, 滑动弧放电处理组无论作用时间长短, 鸡蛋质量损失率增大的程度均比对照组明显, 但哈夫单位的降低程度小于对照组, 说明大气滑动弧放电可在一定程度保持鸡蛋的新鲜度。

关键词: 大气滑动弧放电; 鸡蛋; 保鲜; 灭活; 沙门氏菌

Inactivation Mechanism of *Salmonella* by Atmospheric Gliding Arc Discharge and Its Application in the Preservation of Eggs

ZHU Lihua¹, LI Yan², TONG Qigen^{1,2}, SUN Yunjin^{1,*}, MA Tingjun²

(1. Beijing Laboratory of Food Quality and Safety, College of Food Science and Engineering, Beijing University of Agriculture, Beijing 102206, China; 2. Beijing Key Laboratory of Agricultural Product Detection and Control for Spoilage Organisms and Pesticides, College of Food Science and Engineering, Beijing University of Agriculture, Beijing 102206, China)

Abstract: In order to retain the freshness and prolong the shelf-life of fresh eggs, a new type of cold sterilization technology was put forward, namely gliding arc discharge, which can be worked in air environment at room temperature. Firstly, egg surface was coated with *Salmonella* suspension and transported through plasma discharge plume at a certain speed of self-spinning to inactivate the surface bacteria, part of which was sampled to investigate its inactivated mechanism and the remaining treated eggs were stored in a sealed environment at 37 ℃ to assess the impact of this air discharge plasma on egg quality by measuring the mass loss rate and Haugh unit (HU). The results of scanning electron microscopy (SEM) and extracellular protein concentration analysis indicate that atmospheric gliding arc discharge technique could have an effective etching effect on *Salmonella*, leading to cell membrane disruption and leakage of intracellular proteins of *Salmonella*. Meanwhile, the egg quality measurements showed that the atmospheric gliding arc discharge could maintain the freshness of eggs to a certain extent.

Key words: atmospheric gliding arc discharge; fresh eggs; preservation; inactivation; *Salmonella*

DOI:10.7506/spkx1002-6630-201709021

中图分类号: TS253

文献标志码: A

文章编号: 1002-6630 (2017) 09-0133-05

引文格式:

朱莉华, 李燕, 仝其根, 等. 大气滑动弧放电对沙门氏菌的灭活机制及在鸡蛋保鲜中的应用[J]. 食品科学, 2017, 38(9): 133-137. DOI:10.7506/spkx1002-6630-201709021. <http://www.spkx.net.cn>

ZHU Lihua, LI Yan, TONG Qigen, et al. Inactivation mechanism of *Salmonella* by atmospheric gliding arc discharge and its application in the preservation of eggs[J]. Food Science, 2017, 38(9): 133-137. (in Chinese with English abstract)

DOI:10.7506/spkx1002-6630-201709021. <http://www.spkx.net.cn>

收稿日期: 2016-11-02

基金项目: 北京市教育委员会重点学科建设项目 (pxm2014-014207-0000029); 北京农学院青年科学基金项目;

大北农青年教师科研基金项目 (14ZK006)

作者简介: 朱莉华 (1991—), 女, 硕士研究生, 研究方向为农产品加工及贮藏工程。E-mail: 15210378619@163.com

*通信作者: 孙运金 (1982—), 男, 讲师, 博士, 研究方向为食品包装工程。E-mail: aosdf2@163.com

近年来我国鸡蛋总产量从2010年的2 763万 t增长至2014年的2 893万 t, 一直呈上升趋势, 但出口贸易额较低^[1]。究其原因, 这与我国鸡蛋的卫生标准息息相关, 目前市场上对鲜蛋的销售没有一个统一的业内标准, 虽然有一些大型的企业已经开始关注并供应洁蛋产品, 但未经清洗直接上市销售的鲜蛋还是随处可见, 鲜蛋表面携带的微生物会通过蛋壳气孔进入蛋内部, 引起腐败变质, 同时也会危害人体健康。根据我国微生物危险性评估得出结论, 鸡蛋在我国食物中毒的高危食品中位居第6位^[2]。《中华人民共和国国民经济和社会发展第十三个五年规划纲要》提出了“实施食品安全战略, 形成严密高效、社会共治的食品安全治理体系, 让人民群众吃得放心”^[3]。因此无论是从人体健康还是从国家战略角度来看, 对鸡蛋表面进行消毒灭菌处理, 提高我国鸡蛋的卫生标准, 至关重要。

目前, 针对鸡蛋表面存在的微生物污染问题, 常采用的杀菌方法是蒸汽热杀菌, 但此法可能会破坏鸡蛋内部的蛋白质, 影响鸡蛋的风味。因此, 一般选用冷杀菌方法, 鉴于鸡蛋外壳的易碎性, 可选用的冷杀菌技术主要有超高压杀菌、紫外线杀菌和化学消毒剂等^[4]。这些方法虽具有一定功效, 但也存在一些弊端。如紫外线杀菌会破坏蛋品成分并影响其色泽风味^[5]; 超高压杀菌技术比较成熟, 在国外具有一定的应用, 但在我国尚处于实验室研究阶段, 难以实现较大规模的应用^[6]; 化学消毒剂容易造成化学残留且污染环境。鉴于上述杀菌技术的不足, 等离子体杀菌作为一种新型环保、绿色的技术在20世纪90年代出现^[7]。等离子体杀菌能够有效灭活来自材料或设备表面的微生物和浮游细菌生物膜^[8-9], 在医药科学、伤口愈合、组织再生等领域有广泛应用前景^[10-11]。这项技术被证实将在将来的商业化应用中有巨大潜力, 例如在蓝莓^[12]和马铃薯^[13]中的细菌灭活。

本研究拟采用这种新型冷杀菌技术——大气滑动弧放电技术对新鲜鸡蛋表面的沙门氏菌进行灭杀, 验证其灭活效果, 通过扫描电子显微镜观察和细胞外蛋白质质量浓度测定分析其灭菌机理, 并通过测定质量损失率和哈夫单位(Haugh unit, HU)来评价大气放电技术对鸡蛋品质的影响。此研究结果将为该技术在食品灭菌领域中的应用开启新的方向。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

鸡蛋 北京富兴达禽蛋养殖专业合作社; 沙门氏菌(CICC22956) 中国工业微生物菌种保藏管理中心; 氯化钠(分析纯) 北京化工厂; 营养琼脂 北京奥博星生物技术有限责任公司; Oxoid胰蛋白胨、酵母浸粉 中海威(北京)基因科技有限公司; 叔丁醇(分析纯)、戊二醛 国药集团化学试剂有限公司。

1.2 仪器与设备

大气弧光放电装置 北京农学院食品科学与工程学院食品包装研究室自制; SW-CJ-1FD型超净工作台 苏州尚田洁净技术有限公司; SN200型灭菌锅 昆明倍捷科技有限公司; DHP-500型恒温培养箱 天津市中环实验电炉有限公司; MP5002型分析天平 上海舜宇恒平科学仪器有限公司; TGL-16G型台式离心机 湖南凯达科学仪器有限公司; VFD-21S型冷冻干燥仪 上海育丰国际贸易有限公司; SU8010型扫描电子显微镜 天美(中国)科学仪器有限公司; 722N可见分光光度计 上海圣科仪器设备有限公司; ORKA EA-01蛋白质分析仪 北京天翔飞域仪器设备有限公司。

1.3 方法

1.3.1 大气弧光放电的产生

大气弧光放电装置主要由两个平行铜电极(长度95 mm、直径4 mm)和一个交流高压电源组成, 如图1所示。两电极间距为2~5 cm, 电源频率为10 kHz, 电压为3~6 kV。空气从陶瓷管顶部进入两电极之间时被电离, 形成等离子体。样品放置在一个传送带上, 此传送带与一个旋转支架相连, 使得鸡蛋可以在旋转的同时通过弧光放电羽状区, 在100 mm×50 mm的区域内实现360°全方位杀菌。同时, 陶瓷喷嘴与输送带之间的距离和空气流量以及放电功率可以自由调整。

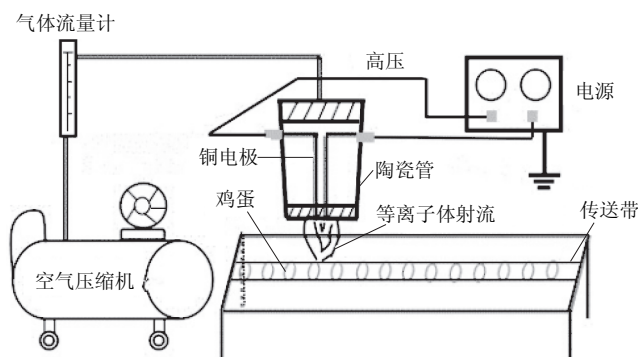


图1 大气滑动弧放电设备示意图

Fig. 1 Schematic diagram of atmospheric gliding arc discharge equipment

1.3.2 沙门氏菌悬液的制备

沙门氏菌(CICC22956)冻干粉标准菌株在无菌条件下经菌株复溶、复壮、传代各步骤得到第3代培养物, 用无菌甘油在-80℃保藏菌种。每次使用前, 将此菌种以1%~2%的接种量接种至BPY液体培养基, 于水浴恒温振荡器37℃、180 r/min条件下培养12~16 h至浓度为 $10^6 \sim 10^8$ CFU/mL^[14], 此浓度可由平板计数法测定得出。

1.3.3 样品前处理

将购买的135枚鸡蛋平均分为5组, 每组27枚。所有组分别用去离子水和无水乙醇清洗后在无菌室温条件下晾干^[15], 之后置于上述沙门氏菌悬液中浸泡10 s后

在密闭无菌环境中彻底晾干。第1组用作空白对照,不作任何处理。第2~5组分别置于大气弧光放电设备下作用30、60、120、300 s,陶瓷管喷嘴距离鸡蛋表面3 cm。此外,气体流量控制在40 L/min。各组鸡蛋经处理后置于37 ℃恒温培养箱中贮藏5 d,每天测定一次蛋壳表面菌落总数,每隔8~9 h测定一次鸡蛋各质量指标。

1.3.4 蛋壳表面菌落总数的测定

用无菌生理盐水浸湿的棉签均匀擦拭蛋壳表面后,将棉签放入装有9 mL灭菌生理盐水的无菌试管内浸泡0.5 h,制成样品匀液^[16]。振荡1~2 min,之后逐级递增稀释至适宜倍数,即为沙门氏菌悬液。将1 mL菌悬液接种到20 mL无菌营养琼脂培养基,冷却凝固后倒置于37 ℃恒温培养箱培养,每24 h观察并测定一次蛋壳表面菌落总数。依据GB 4789.2—2010《食品微生物学检验 菌落总数测定》法^[17]中平板计数法对蛋壳表面细菌进行计数。

1.3.5 扫描电子显微镜样品前处理

对从鸡蛋表面取样的菌种采用适量2.5%的戊二醛溶液固定(反复冲洗鸡蛋表面,收集清洗液),将固定获得的收集液在8 000 r/min离心3 min,将离心所得沉淀加入相同的戊二醛溶液400 μL在-4 ℃条件下固定过夜^[18]。用0.1 mol/L磷酸盐缓冲液(phosphate buffered saline, PBS)洗涤3次后,在1%的锇酸和0.1 mol/L PBS混合液中固定2 h。然后用相同的缓冲液洗涤3次后进行一系列的乙醇(体积分数分别为10%、30%、50%、70%、90%、95%、100%、100%)梯度脱水^[19]。脱水后的样品用叔丁醇置换3次,经冷冻干燥机干燥成粉末后电镀喷金,用于扫描电子显微镜分析。

1.3.6 细胞外蛋白质质量浓度的测定

蛋白质质量浓度检测需要较多蛋白质,而通过上述冲洗鸡蛋表面的方法最终得到的蛋白质量较少,无法满足检测要求。为了真实反映大气滑动弧放电对沙门氏菌的灭活机理,将用于接种鸡蛋的沙门氏菌悬浮液4 500 r/min离心15 min,沉淀涂于无菌载玻片后晾干,置于大气弧光放电处理不同时间。用无菌生理盐水冲洗样品制成悬浮液后于10 000 r/min离心10 min,取上清液与考马斯亮蓝溶液结合后在595 nm波长处测定吸光度^[20-21],即沙门氏菌细胞外蛋白质质量浓度取决于吸光度的变化,根据细胞外蛋白质质量浓度变化情况可以进一步确认细胞内蛋白质泄漏情况。

1.3.7 蛋品质指标的评价

将贮藏前的蛋品置于精度为0.001 g的分析天平称量原始质量,记为 m_0 ;之后置于37 ℃恒温箱培养,每隔8~9 h取出蛋品用同样方法称其质量,记为 m ,则蛋品质损失率用式(1)表示^[22]。

$$\text{质量损失率/\%} = \frac{m_0 - m}{m_0} \times 100 \quad (1)$$

之后,将鸡蛋磕开置于蛋品质分析仪检测盘上检测以下数据:用RGB传感器根据蛋黄颜色扇来测蛋黄颜色;用超声波测定蛋黄高度和蛋白厚度。用HU来表示蛋品新鲜度,HU越大表示鸡蛋越新鲜。HU如式(2)所示^[23]。

$$HU = 100 \times \lg(H - 1.7m^{0.37} + 7.57) \quad (2)$$

式中: H 为浓厚蛋白高度/mm; m 为鸡蛋质量/g。

显示屏上自动显示报告结果,注明级别、蛋黄颜色、蛋白厚度等。

1.4 数据分析与处理

实验数据采用Excel 2007软件进行初步处理后,采用Origin 8.0软件进行作图并分析,其中涉及线性拟合处理。每个实验重复3次。

2 结果与分析

2.1 大气滑动弧放电对沙门氏菌的灭活工艺

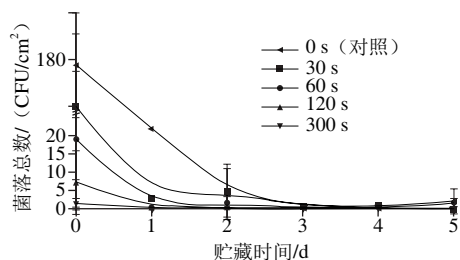


图2 沙门氏菌菌落总数随放电处理时间的变化

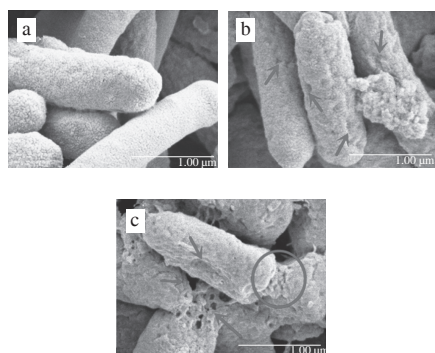
Fig. 2 Total number of *Salmonella* bacteria as a function of treatment time

大气滑动弧放电对贮藏期内蛋壳表面沙门氏菌的灭活效果如图2所示。可看出,在自然状态下,沙门氏菌的菌落总数随着贮藏时间延长从初始状态的180 CFU/cm²线性降低至2.5 d时的3.0 CFU/cm²左右,之后维持一较低水平,这主要是因为蛋壳表面缺少营养物质,也可能因为有部分沙门氏菌通过表面气孔进入蛋内部,因此表面菌落总数随贮藏时间的延长而减少。相对于对照组,经大气滑动弧放电作用后的菌落总数开始时随处理时间延长从30 s的150 CFU/cm²降低至300 s的1.0 CFU/cm²,然后在贮藏1.5 d时达到一个较低水平。相对于对照样来说,大气滑动弧放电处理可加速沙门氏菌的线性失活速率,这可能是由于滑动弧放电处理后,沙门氏菌受到一定程度的损伤,从而加速其失活速率。由此可推断,滑动弧放电技术可有效清除鸡蛋表面有害微生物,从而降低微生物通过表面气孔进入蛋内部的几率,使得样品处于相对无菌环境中,这为避免周围环境中的微生物污染开辟了一种新方法。

2.2 扫描电子显微镜观察

为了进一步分析大气滑动弧放电对沙门氏菌的失活机制,对鸡蛋表面的沙门氏菌进行冷冻干燥后检测其表

面形貌。与对照完整光滑表面相比,如图3b所示,滑动弧放电处理30 s后,菌体表面出现了均匀的凹坑,大小在100 nm左右,同时也出现了长度约200~300 nm的褶皱,但菌的边缘清晰,整体长度大于1.0 μm ,直径约为400 nm。随着处理时间进一步延长至300 s,如图3c所示,沙门氏菌的表面发生了严重变形,菌的边缘出现不规则锯齿形轮廓,特别是端部变形严重,之前的凹坑变成了空洞,菌的整体长度也降低至600 nm以下,菌体之间界限不清晰,难以保持初始的圆柱形状态,部分菌体甚至发生了断裂,菌体之间填满了较多的碎片甚至连成一片变得模糊。



a.放电处理0 s (对照); b.放电处理30 s; c.放电处理300 s。

图3 沙门氏菌在不同处理时间条件下的表面扫描电子显微镜图

Fig. 3 SEM of *Salmonella* at different treatment times

滑动弧放电形成的大气等离子体中含有大量的活性粒子,如活性自由基、带电离子、高能电子和光子等,其电子温度仅为几个电子伏,这些带电粒子可有效分解、激发或氧化沙门氏菌的细胞壁,在微生物表面产生大于其细胞膜表面张力的剪切力,破坏细菌的细胞膜,使膜脂质中的不饱和脂肪酸和蛋白质分子变性失活^[24],这种作用称之为刻蚀作用^[25-26]。同时,与其他灭活方法如介质阻挡放电(dielectric barrier discharge, DBD)技术比较,DBD技术的放电时间需花费几分钟甚至十几分钟^[27],本研究中的滑动弧放电技术在数秒内即可实现,更加高效。

2.3 不同放电时间下沙门氏菌的细胞外蛋白质质量浓度

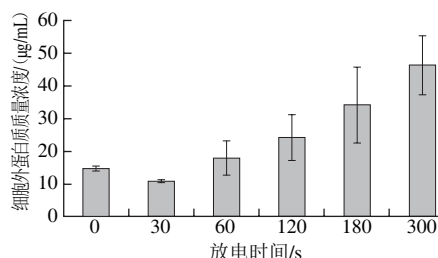


图4 不同放电时间下沙门氏菌的细胞外蛋白质质量浓度

Fig. 4 Extracellular protein concentrations of *Salmonella* at different discharge times

为了进一步探索大气等离子体放电与沙门氏菌的化学作用机制,验证是否是刻蚀导致蛋白质泄漏,测定了菌液的蛋白质质量浓度,结果如图4所示。随着放电时间的延长,蛋白质质量浓度逐渐增大,并在60 s时接近达到20 $\mu\text{g/mL}$,随着放电时间进一步延长至300 s时,蛋白质质量浓度增大至45 $\mu\text{g/mL}$ 以上。由此可推断,沙门氏菌的蛋白质泄漏是其失活的主要原因,这与扫描电子显微镜的检测结果一致。同时也不能排除其他因素的影响,比如电场效应^[28]和紫外辐照^[29]。

2.4 鸡蛋质量指标的评价

为了评估滑动弧放电技术对鸡蛋贮藏保鲜效果的影响,对不同放电时间处理的蛋品质进行了测定,包括质量损失率及HU。

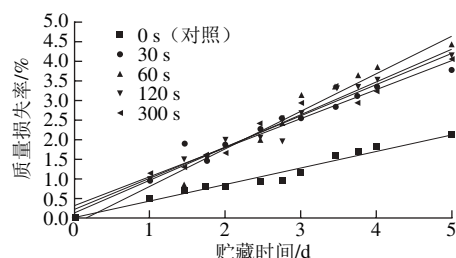


图5 不同放电处理的质量损失率随贮藏时间的变化

Fig. 5 Mass loss rate at different exposure times as a function of storage time

在贮藏期内不同放电时间处理组的质量损失率变化如图5所示,随着贮藏时间的延长,鸡蛋质量损失率不断增大,与对照组相比,滑动弧放电处理组无论作用时间较长或较短,鸡蛋质量损失率增大的程度均比对照组明显,处理组之间差异不显著。在贮藏4 d后处理组的质量损失率甚至增大了3.5%。这是因为大气滑动弧放电处理在有效灭活表面微生物的同时也会破坏鸡蛋壳表面的保护层,扩大了鸡蛋壳表面的气孔孔径,增加了内部水分的蒸发速率,从而导致更大的质量损失率。因此,如果将此技术与涂膜技术^[30]结合使用将可能成为一种更合适的鸡蛋保鲜途径。

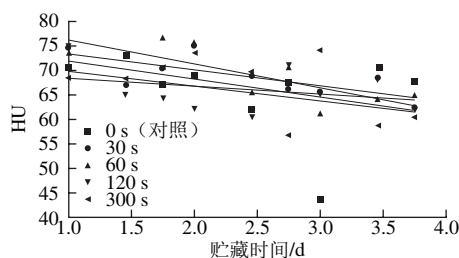


图6 不同放电条件下的鸡蛋HU随贮藏时间的变化

Fig. 6 HU at different exposure times as a function of storage time

一般情况下,新鲜鸡蛋的HU通常在75~82之间,HU越高,鸡蛋的新鲜度就越高。由图6可知,在贮藏期

内鸡蛋HU因内部水分的挥发而降低,但滑动弧放电处理组的HU降低程度要小于未处理组的,表明滑动弧放电可以在一定程度上保证蛋品的新鲜度,为蛋品的保鲜和运输提供了一种新的可能,日后还需要进一步的研究来确保这项技术对于蛋品贮藏保鲜的有效性,如营养完整性、保质期和其他质量指标。

3 结 论

本研究基于洁蛋的处理及保鲜背景将大气滑动弧放电技术用于鸡蛋的表面灭菌,以引起鸡蛋腐败的沙门氏菌为例开展相关灭活机制的研究。采用菌落总数测定法研究该技术对沙门氏菌的杀菌效果,通过扫描电子显微镜观察和细胞外蛋白质质量浓度检测发现,大气等离子体中产生的具有氧化作用的活性粒子对沙门氏菌的细胞壁产生刻蚀作用,导致蛋白质泄漏、菌体失活,表明大气滑动弧放电可快速有效灭活鸡蛋表面的沙门氏菌。同时,鸡蛋品质检测表明,大气滑动弧放电可在一定程度上保持鸡蛋新鲜度,但会造成水分挥发较大,需要和其他的涂膜技术结合起来使用。

参考文献:

- [1] 科学技术部农村科技司等编. 我国禽蛋产量. 中国农产品加工业年鉴(2015)[G]. 北京: 中国农业出版社, 2016: 277-278.
- [2] 佚名. 微生物食品安全现状与挑战[EB/OL]. (2004-08-09) [2016-11-02]. <http://www.bioon.com/bioindustry/agriculture/341947.shtml>.
- [3] 顾秀莲. 实施食品安全战略是实现全民健康的重要内涵[EB/OL]. (2016-11-22) [2016-11-02]. http://www.cfsn.cn/2016-11/22/content_282128.htm.
- [4] CHAU T T, KAO K C, BLANK C, et al. Microwave plasma for low-temperature dry sterilization[J]. Biomaterials, 1996, 17(13): 1273-1277. DOI:10.1016/j.biotechadv.2008.08.001.
- [5] 夏文水, 钟秋平. 食品冷杀菌技术研究进展[J]. 中国食品卫生杂志, 2003, 15(6): 539-544. DOI:10.3969/j.issn.1004-8456.2003.06.022.
- [6] 梅从笑, 方远超. 新兴的冷杀菌技术在食品工业中的应用研究[J]. 江苏食品与发酵, 2001(2): 31-33.
- [7] LILTVED H, HEKTOEN H, EFRAIMSEN H. Inactivation of bacterial and viral fish pathogens by ozonation or UV irradiation in water of different salinity[J]. Aquacultural Engineering, 1995, 14(2): 107-122. DOI:10.1016/0144-8609(94)P4430-J.
- [8] SARA B, WERNER B H, SUSANNE N, et al. Impact of cold atmospheric pressure plasma on physiology and flavonol glycoside profile of peas (*Pisum sativum* 'Salamanca')[J]. Food Research International, 2015, 76(1): 132-141. DOI:10.1016/j.foodres.2015.03.045.
- [9] ZHOU R W, ZHANG X H, ZONG Z C, et al. Reactive oxygen species in plasma against *E. coli* cells survival rate[J]. Chinese Physics B, 2015, 24(8): 431-437. DOI:10.1088/1674-1056/24/8/085201.
- [10] GREGORY F, GARY F, ALEXANDER G, et al. Applied plasma medicine[J]. Plasma Processes and Polymers, 2008, 5: 503-533. DOI:10.1002/ppap.200700154.
- [11] MOREAU M, ORANGE N, FEUILLOLEY M G J. Non-thermal plasma technologies: new tools for bio-decontamination[J]. Biotechnology Advances, 2008, 26(6): 610-617. DOI:10.1016/j.biotechadv.2008.08.001.
- [12] ALISON L, BRENDAN A N, JOSHUA B G, et al. Atmospheric cold plasma inactivation of aerobic microorganisms on blueberries and effects on quality attributes[J]. Food Microbiology, 2015, 46: 479-484. DOI:10.1016/j.fm.2014.09.010.
- [13] MOREAU M, FEUILLOLEY M G J, VERON W, et al. Gliding arc discharge in the potato pathogen *Erwinia carotovora* subsp. atroseptica: mechanism of lethal action and effect on membrane-associated molecules[J]. Applied and Environmental Microbiology, 2007, 73(18): 5904-5910. DOI:10.1128/AEM.00662-07.
- [14] DENG S B, RUAN R, MOK C K, et al. Non-thermal plasma disinfection of *Escherichia coli* on almond[C]//American Society of Agricultural and Biological Engineers annual international meeting, Tampa, 2005.
- [15] FUHRMANN H, RUPP N, BUCHNER A, et al. The effect of gaseous ozone treatment on egg components[J]. Journal of the Science of Food and Agriculture, 2010, 90(4): 593-598. DOI:10.1002/jsfa.3853.
- [16] 赵磊. 鲜鸡蛋致病微生物检测与控制技术研究[D]. 乌鲁木齐: 新疆农业大学, 2010: 18-24.
- [17] 卫生部. 食品微生物学检验 菌落总数测定: GB 4789.2—2010[S]. 北京: 中国标准出版社, 2010: 1-4.
- [18] DANIELA B A, ERIK W, PATRICK P, et al. Effect of atmospheric pressure cold plasma (APCP) on the inactivation of *Escherichia coli* in fresh produce[J]. Food Control, 2013, 34 (1): 149-157. DOI:10.1016/j.foodcont.2013.04.022.
- [19] DANA Z, LU H N, PATRICK J, et al. Cold plasma inactivation of internalised bacteria and biofilms for *Salmonella enterica* serovar Typhimurium, *Listeria monocytogenes* and *Escherichia coli*[J]. International Journal of Food Microbiology, 2015, 210: 53-61. DOI:10.1016/j.ijfoodmicro.2015.05.019.
- [20] 于红. 大气压下等离子体失活微生物的机理研究[D]. 大连: 大连理工大学, 2007: 37-42.
- [21] MA Y, ZHANG G J, SHI X M, et al. Bacteria inactivation mechanisms by dielectric barrier discharge[J]. High Voltage Engineering, 2008, 34(2): 363-367.
- [22] 王耀峰, 刘良忠, 宫智勇, 等. 二氧化氯在鲜蛋消毒保鲜中的应用研究[J]. 食品科学, 2008, 29(11): 632-636.
- [23] 李小利. 哈氏单位是检验鸡蛋品质的重要指标[J]. 检验检疫学刊, 2013, 23(2): 48-50.
- [24] ROTH J R, SHERMAN I M, GADRI R B, et al. A remote exposure reactor (RER) for plasma processing and sterilization by plasma active species as one atmosphere[J]. IEEE Transaction Plasma Science, 2000, 28(1): 56-63.
- [25] HAO X L, AMBER M M, CHELSEA M E, et al. Nitric oxide generation with an air operated non-thermal plasma jet and associated microbial inactivation mechanisms[J]. Plasma Processes and Polymers, 2014, 11(11): 1044-1056. DOI:10.1002/ppap.201300187.
- [26] XU Z M, SHEN J, ZHANG Z L, et al. Inactivation effects of non-thermal atmospheric-pressure helium plasma jet on *Staphylococcus aureus* biofilms[J]. Plasma Processes and Polymers, 2015, 12(8): 827-835. DOI:10.1002/ppap.201500006.
- [27] TIAN Y, MA R N, ZHANG Q, et al. Assessment of the physicochemical properties and biological effects of water activated by non-thermal plasma above and beneath the water surface plasma process[J]. Plasma Processes and Polymers, 2015, 12(5): 439-449. DOI:10.1002/ppap.201400082.
- [28] BIRMINGHAM J G, HAMMERSOTROM D J. Bacterial decontamination using ambient pressure non-thermal discharge[J]. IEEE Transaction Plasma Science, 2000, 28(1): 51-55.
- [29] ZHANG Y, WEI C, CAO W, et al. A plasma-activated Ni/ α -Al₂O₃ catalyst for the conversion of CH₄ to syngas[J]. Plasma Chemistry and Plasma Processing, 2000, 20(1): 137-144.
- [30] 刘会珍. 鸡蛋涂膜保鲜工艺的试验研究[D]. 北京: 中国农业大学, 2005: 41-47.