

# 群体感应对食源性微生物生物膜形成中的作用

The role of quorum sensing in biofilm formation of foodborne micro-organism

张国丽 敖晓琳 刘书亮

ZHANG Guo-li AO Xiao-lin LIU Shu-liang

(四川农业大学食品学院, 四川 雅安 625014)

(Food College Sichuan Agricultural University, Ya'an, Sichuan 625014, China)

**摘要:**生物膜(Biofilm)是由众多微生物聚集黏附在物体表面形成的多细胞群体结构,多种食源性微生物均能形成相应的生物膜,且该现象的产生对食品加工与安全有着重要影响。群体感应(Quorum sensing, QS)已被证明是调控生物膜形成的重要因素。文章主要介绍了群体感应对几种食源性细菌及真菌生物膜形成的调控作用,旨在为食品加工过程中微生物生物膜的控制与利用提供参考。

**关键词:**生物膜;群体感应;食源性微生物

**Abstract:** The biofilm is a multicellular group structure formed by numerous gathered microorganism which adheres on the surfaces. This phenomenon is widespread in a variety of foodborne micro-organism, and it is important for food processing and security. Quorum sensing (QS) has been proven to be an important factor in the formation of biofilm. In this review, the regulation function of QS in the biofilm formation of several kinds of foodborne bacteria and fungi was discussed, and this would provide reference to biofilm control and utilization in food processing.

**Keywords:** biofilm; quorum sensing; foodborne micro-organism

食源性微生物与食品关系密切,包括生产型食品微生物、食源性病原微生物、致腐型食品微生物,多种食源性微生物均能形成相应的生物膜。生物膜(Biofilm)是由大量微生物聚集黏附形成的多细胞群体结构,又称生物被膜,生物膜的形成可能导致发酵食品产膜生花<sup>[1-2]</sup>,影响某些菌株的耐药性从而导致食源性疾病等。沙门氏菌(*Salmonella*)引起的食源性疾病是全球重要的公共卫生问题之一,近年来在中国多个省份城市的检出率均超过 18%,有些菌株还具有多重耐药性,严重威胁人类健康<sup>[3-4]</sup>。具有类似影响的还有大肠

杆菌(*Escherichia coli*)、副溶血弧菌(*Vibrio parahaemolyticus*)、金黄色葡萄球菌(*Staphylococcus aureus*)等食源性致病菌,且多重耐药已经成为普遍现象,需要引起足够重视<sup>[5]</sup>。

群体感应(Quorum sensing, QS)是细菌之间的“语言”,可促进细胞间交流,主要通过信号分子密度进行信号识别,可调控基因表达。群体感应现象与生物膜交互影响,生物膜可通过群体感应聚集大量菌体,为生物膜的形成提供基础,而生物膜的形成也可避免群体感应信号分子的扩散。目前发现多种食源性微生物均有生物膜与群体感应现象。生物膜的形成对微生物的代谢、耐药性和致病性等都有影响,其形成过程与调控机制复杂,深入研究群体感应与生物膜之间的关系对指导食品安全生产具有现实意义。

## 1 食源性微生物生物膜的形成及其对食品的影响

### 1.1 生物膜的形成

1978 年美国学者 Costerton JW 提出的 Biofilm 这一专有名词被广泛认可<sup>[6-7]</sup>,它主要是由附着于菌体细胞和包裹菌体的基质所组成。这是微生物在生长过程中为适应生存环境,抵抗环境胁迫压力而形成的一种特殊生存方式,也是与单个细胞相对应的存在形式。其形成通常会经历 5 个基本阶段,包括可逆阶段、不可逆阶段、微菌落形成阶段、成熟阶段与传播阶段(见图 1<sup>[8]</sup>)。

### 1.2 生物膜的形成对食品的影响

近年来生物膜在医药方面研究较多, Costerton JW 等<sup>[9]</sup>提出细菌生物膜是引起细菌持续性感染的常见致病机制,大约 60% 的临床感染病例都与之有关。生物膜的形成对微生物的环境适应能力、药物敏感性等生物学特性有较大影响。同样,生物膜在食品加工与安全领域也具有重要的研究价值<sup>[10]</sup>。一方面,生物膜的形成会影响食品的加工安全性。当生物膜在食品中或者加工设施表面形成时,其抗逆性增加,从而影响杀菌效果;一旦污染多种微生物时,种间的协同作用还可能促进更复杂的混合生物膜形成<sup>[8, 11]</sup>。有报道<sup>[12]</sup>

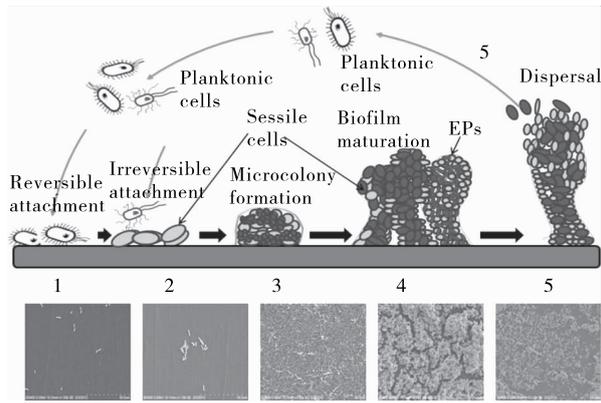
**基金项目:**国家自然科学基金项目(编号:31171726);四川省科技支撑计划项目(编号:2012N0002)

**作者简介:**张国丽,女,四川农业大学在读硕士研究生。

**通信作者:**敖晓琳(1979—),女,四川农业大学副教授,博士。

E-mail: huavslin@163.com

**收稿日期:**2016—12—28



1. 可逆阶段 2. 不可逆阶段 3. 微菌落形成阶段 4. 成熟阶段 5. 传播阶段 下方为嗜水气单胞菌在微量滴定板中培养所对应的 5 个发展阶段的照片

图 1 混合生物膜形成的 5 个基本阶段的假设模型<sup>[8]</sup>

Figure 1 Representation of a hypothetical developmental model of a mixed-species biofilm

称 80% 的食源性疾病与食源性致病菌形成的生物膜有关,例如单核细胞增生李斯特氏菌,容易在食品加工设施及容器上形成生物膜,可利用这种保护机制和其他微生物形成更为坚固的混合生物膜,难以去除,常导致食源性疾病。另一方面,生物膜中的微生物可降解食品工业中的废渣废水等废弃物,并对污染的环境进行生物修复<sup>[13]</sup>;还能促进有益微生物对不利环境的适应能力,使其具有良好的稳定性<sup>[14]</sup>,因此有望解决发酵剂不稳定等食品工业中的实际问题。

### 1.3 影响生物膜形成的因素

影响生物膜的形成主要有以下几种因素(见表 1),可通过调节此类因子控制生物膜的形成。

表 1 影响生物膜形成的主要因素及机理

Table 1 The main factors and mechanism influencing biofilm formation

影响因素	机理
黏附素	主要通过影响生物膜的黏附、分离以及播散过程 <sup>[15]</sup>
金属离子	Fe <sup>3+</sup> 能通过调节 DNA 的释放起到稳固生物膜的作用 <sup>[16]</sup> ;金属镓通过对铁的置换,能阻断菌体内依赖于铁的多种代谢途径从而阻止生物膜形成 <sup>[17]</sup> ,此外,铜、钙、镁离子等也对生物膜的形成有一定影响 <sup>[18-19]</sup>
基因	基因变异或基因阻断等可影响生物膜形成的部位、速度、形态、性质等 <sup>[20]</sup> 。如 LuxS 基因可调控群体感应促使细菌聚集, Aap 基因可调控聚集相关蛋白 <sup>[21]</sup> , IcaA 基因编码的多糖胞间黏附素、Fbe 基因编码的纤维蛋白原结合蛋白均参与了生物膜形成 <sup>[22]</sup>
噬菌体	将其整合到生物膜的基质中,生物膜可被噬菌体清除 63%~91%,而且生物膜清除速率与形成的时间有关 <sup>[22]</sup>
小蛋白分子	通过抑制稀有密码子 tRNAs(调控菌毛生成)、菌毛基因 fimA 与 ihfA 的转录,从而减少生物膜形成 <sup>[23]</sup>
培养条件	培养时间、环境 pH 值、温度、营养条件等

## 2 群体感应系统及其对食源性微生物生物膜形成的调控作用

### 2.1 群体感应系统简介

群体感应(QS)是细菌之间的“语言”,也是细胞之间相互交流的通讯机制,可通过信号分子密度进行信号识别,调控基因表达。细菌所分泌的这种特定信号分子通常被称为自体诱导物(Autoinducer, AI),当信号分子达到一定浓度时就能诱导菌体相关基因表达,以达到适应环境变化的目的<sup>[24]</sup>。

### 2.2 QS 在食源性细菌生物膜形成中的总体调控

微生物从游离状态到形成成熟的生物膜过程中,牵涉到复杂的调控机制,主要是由 QS 系统和环境信号应答系统调节<sup>[25]</sup>,见图 2。其基本过程为:对微生物生长不利的环境因子激活了细胞的环境信号应答系统,导致细胞内的调控元件转录或表达发生改变,影响了胞外聚合物(Extracellular polymeric Substances, EPS)的合成,细胞表面结构的改变促进其黏附于固体表面。当细胞黏附聚集达到一定的数量即诱发群体感应系统,使细菌分泌信号分子,胞内外的信号分子积累达到一定浓度时,就会结合到细菌的信号分子应答元件上,引起细胞内相应的蛋白转录或表达水平改变,使微生物大量聚集,进而形成复杂的生物膜系统<sup>[26]</sup>。群体感应系统也会直接刺激 EPS 的分泌以及调控 EPS 产生量和成分来影响细菌黏附性继而影响生物膜形成与结构<sup>[27-29]</sup>。胞外聚合物中包含多种有机分子(如蛋白质、核酸、多糖等),既可以提高生物膜结构稳定性,又可将环境中的营养成分富集,通过胞外酶降解一些高分子物质以被细菌利用,信号分子浓度的变化也会影响黏附蛋白以及多糖等物质的形成<sup>[30]</sup>。QS 系统诱导 EPS 分泌还可使微生物从大量繁殖阶段转化为大量产 EPS 阶段,使生物膜从侵略模式切换为保护模式,利用 EPS 应对环境威胁。

生物膜的存在方式是微生物的聚集体,胞外聚合物可将信号分子保持在细菌周围,可避免因环境开放而导致的信号分子扩散,难以发挥其作用,因此, QS 调节在生物膜形成过程中可发挥重要作用,而生物膜形成后也会反促进 QS 调控,二者可能具有协同作用。

### 2.3 QS 在几种常见食源性细菌生物膜形成中的调控作用

2.3.1 副溶血弧菌 副溶血弧菌分布广泛,若摄入未煮熟或烹饪不当的产品,会引起胃肠炎或食物中毒,是常见的食源性病原菌之一。副溶血弧菌的 QS 系统调控子蛋白 OpaR 能调控副溶血弧菌荚膜胞外多糖基因、鞭毛基因以及多糖基因等与生物膜形成相关基因的表达,但是其转录调控机制并未被阐明<sup>[31]</sup>。汪映<sup>[32]</sup>也提出溴化呋喃酮可以抑制副溶血弧菌 QS 信号分子 AI-2 的活性以及 luxS 基因的表达,且生物膜的生成量和胞外酶的活性也会受到影响。He 等<sup>[33]</sup>证实呋喃 C-30 也可以抑制生物膜的形成,使其厚度变小且疏松多孔,是一种 QS 抑制剂。这些试验结果表明 QS 可以通过基因表达与信号分子调控胞外聚合物从而调控生物膜的形成。溴化呋喃酮与呋喃 C-30 其抑制生物膜形成的机理可能为这

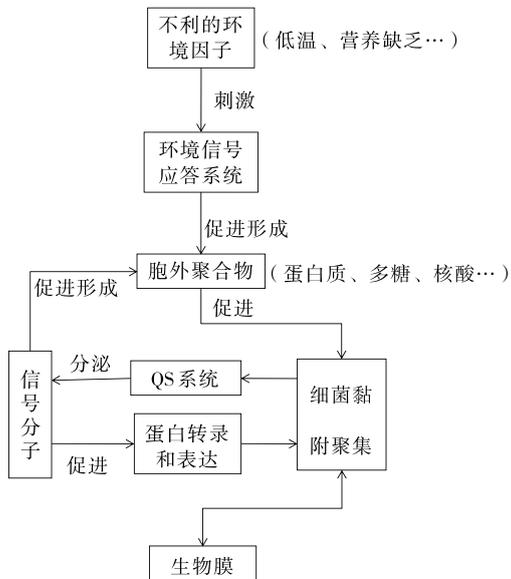


图 2 QS 系统在食源性细菌生物膜形成中的调控过程

Figure 2 The control process of QS in foodborne bacterial biofilm

类化学物质与 QS 信号分子结构类似,可以竞争性结合细菌胞内外的信号分子受体,干扰 QS 系统,进而干扰生物膜的形成。因此,干扰或阻断细菌的 QS 系统,就可有效调控生物膜的形成。另外,除了通过抑制 AI-2 信号分子抑制生物膜的形成以外,还可以通过添加寡肽类信号分子如感受态刺激肽(Competence-stimulating Peptide, CSP)来增加生物膜的形成量<sup>[34]</sup>。该信号分子可以诱导多种适应环境胁迫基因的表达,从而影响生物膜形成和积累。

**2.3.2 铜绿假单胞菌** 铜绿假单胞菌是常见的致病菌。WHO 在 HACCP 评估中明确指出铜绿假单胞菌是婴儿瓶装饮用水的危害指示菌,可造成婴儿腹泻,抵抗力较差的人群饮用含铜绿假单胞菌的饮用水也可能导致疾病的发生。Jarosz 等<sup>[35]</sup>研究了铜绿假单胞菌的 QS 系统,发现其是一个非常复杂的信号交流系统,包括 Las 系统、Rhl 系统和 PQS 系统,不仅可以调控细菌产生胞外酶和毒性因子,还可调节产生大量胞外多糖,形成能自我保护的生物膜,可保护细菌免遭宿主免疫功能的清除以及抗生素的作用,是导致抗菌治疗失败的重要原因之一。Davies<sup>[36]</sup>在研究 QS 信号分子与生物膜的关系时发现不能产生特定 AHLs 信号分子的铜绿假单胞菌突变菌株只能形成均质、扁平的生物膜,野生型菌株则形成了有结构的、异质化的生物膜,在人为添加信号分子后,突变菌株又能形成成熟的生物膜,从而证实 QS 信号分子在铜绿假单胞菌生物膜的成熟过程起重要调控作用。

**2.3.3 大肠杆菌** 研究学者<sup>[37-38]</sup>发现大肠杆菌 O157:H7 生物膜的形成对原生新鲜农产品以及肉制品的加工过程也具有一定的影响。食品在转移或处理的过程中,会直接接触污染的物体表面,从而导致与其他微生物的交叉污染,一旦混合微生物生物膜形成,则会包裹病原体,增大清洁和卫生操作的难度<sup>[39]</sup>。但是部分大肠杆菌具有不完整的群体感应系统,虽具有 LuxR 的同源蛋白,但是不能表达 LuxI 的同源蛋白,因此不能合成具有 AI-1 活性的信号分子,但能与其

他细菌的 AI-1 信号分子结合并调控相关基因表达<sup>[40]</sup>。羊肠<sup>[41]</sup>从牛瘤胃中分离出一株铜绿假单胞菌,该菌能合成 AHL 信号分子(即 AI-1),将该信号分子作为大肠杆菌群体感应系统的外源信号分子,发现本身不具有合成 AHL 信号分子能力的大肠杆菌能通过外源信号分子调控牛胃肠道环境中大肠杆菌毒力基因变化。这也间接表明,食品中多种微生物共同存在时,群体感应系统可交互刺激,调控基因表达,使得混合生物膜更易形成。另外, QS 系统中的信号分子也可以通过调节大肠杆菌 O157:H7 生物膜的形成来调控该菌产生毒力因子的能力,进一步调控其致病性<sup>[42]</sup>。

**2.3.4 乳酸菌** 除了通过调控 QS 来控制生物膜的形成,降低微生物的抗逆性,还可以通过 QS 调控来促进某些益生菌生物膜的形成,从而可以加速合成某些人类需要的代谢产物,也可以利用其生物膜提高益生菌的环境适应力和稳定性。乳酸菌作为益生菌能代谢产生乳酸及其他一些抑菌性物质,被广泛应用在酸奶、泡菜等产品中。研究<sup>[43]</sup>发现植物乳杆菌 HE-1 可以产生抑菌物质,但只在固体培养基或与其他菌种共培养时才能发酵产生细菌素,且其代谢过程中 QS 信号分子 AI-2 与生物膜合成量几乎同时到达高峰期,表明乳酸菌代谢产细菌素可能是依赖于群体感应以及生物膜的形成,二者相辅相成,而且在共培养过程中也可能借助其他菌种的群体感应信号分子调节生物膜的形成,但是尚不明确。由此可以考虑通过促进群体感应加强生物膜的形成来增加有益代谢产物的产量,可为某些食品的生产提供新思路。

#### 2.4 QS 在食源性真菌生物膜形成中的调控作用

真菌 QS 系统没有特定 QS 信号分子,但在其生物膜形成过程同样有类似于细菌 QS 调控的现象,目前研究较深入的为白色念珠菌与酿酒酵母<sup>[44]</sup>。

**2.4.1 QS 在白色念珠菌生物膜形成中的调控作用** 白色念珠菌是常见的真菌病原体,可能会导致危及生命的侵入性感染,尤其是针对免疫功能不全的人群。白色念珠菌生物膜的形成会受到类似 QS 信号分子的影响。例如金合欢醇(Farnesol)在白色念珠菌高密度生长时,能抑制白色念珠菌的生长,并能抑制白色念珠菌形成生物膜,说明其有着与 QS 信号分子相反的作用。Ramage G 等<sup>[45]</sup>研究发现金合欢醇能够降低与菌丝体形成有关基因的表达,且金合欢醇不能抑制组氨酸激酶基因 CHK1 缺陷型的白色念珠菌突变株菌丝生长和生物膜形成<sup>[46]</sup>,说明金合欢醇可能是通过影响白色念珠菌菌丝体形成相关基因来间接调控生物膜的形成。

**2.4.2 QS 在酿酒酵母生物膜形成中的调控作用** 酿酒酵母是食品发酵中最常用的生物种类。研究<sup>[47]</sup>发现,酿酒酵母进入稳定期后,其培养物可强烈诱导菌体的丝状生长,促进生物膜的形成,虽然酵母菌是单细胞真菌不能形成菌丝,但是近年来人们在酵母表面观察到一种像头发一样的“微丝”,它与酵母的凝聚性有关,也可能影响酵母菌生物膜的形成。对该培养物纯化鉴定发现,其主要的活性物质为苯乙醇(Phenylethyl alcohol)和色氨酸(Tryptosol),也有类似 QS 信号分子的作用。当细胞密度足够高时,产生的色氨酸和苯乙醇通过蛋白激酶 A(Protein kinase A, PKA)激活 FLO11 基因(编码细胞表面凝集素)表达,进而促进生物膜形成<sup>[48]</sup>,而

且同时向培养基中同时添加这两种物质比单一添加其诱导菌丝体生长的效应要强得多,说明二者可能具有协同作用,可强烈诱导酿酒酵母菌的丝状生长。因此,类似 QS 信号分子的色氨酸和苯乙醇既可以通过调节 FLO 基因也可以通过调节菌体丝状生长调控生物膜的形成。

### 3 展望

腐败微生物产膜不仅影响食品的感官性能,而且因其抗逆性、耐药性等性能增强,食品的食用安全性也受到很大影响,且食品生产运输等过程复杂,常存在多种微生物共存,易导致难以去除的混合生物膜形成,造成菌体蓄积,食品发酵过程受阻,发酵失败等。如考虑通过控制群体感应信号分子的产生或者阻断信号分子交流的方式来抑制致病菌生物膜的形成,能有效抑制该菌的产毒能力,为解决食品安全问题提供新思路。而有益微生物生物膜的形成有利于抵抗环境胁迫压力,同时也可增强种群间的交流合作并影响菌体的行为与代谢,为寻找稳定性较高的发酵菌种和提高有益代谢产物产量提供新思路。研究生物膜形成的机制以及群感效应和群感淬灭机理有利于调控有益微生物聚集或食源性病原菌解聚,如何通过群体感应系统调控生物膜的形成对提高发酵食品品质以及对发酵食品进行安全控制起着重要作用。

#### 参考文献

[1] 赵爽,朱亚琴,刘书亮,等.袋装变质食醋产膜菌的分离鉴定及其控制[J].食品工业科技,2014,35(23):118-122.

[2] 敖晓琳,蔡义民,夏姣,等.引起泡菜“生花”腐败微生物的分离鉴定[J].食品科学,2013(21):204-208.

[3] YANG Bao-wei, QU Dong, ZHANG Xiu-li, et al. Prevalence and characterization of Salmonella serovars in retail meats of marketplace in Shaanxi, China[J]. International Journal of Food Microbiology, 2010, 141(1): 63-72.

[4] 陈玲,张菊梅,杨小鹏,等.南方食品中沙门氏菌污染调查及分型[J].微生物学报,2013,53(12):1326-1333.

[5] 邹立扣,蒲妍君,杨莉,等.四川省猪肉源大肠杆菌和沙门氏菌的分离与耐药性分析[J].食品科学,2012,33(13):202-206.

[6] COSTERTON J W. The biofilm primer [M]. New York: Springer Science & Business Media, 2007: 4-28.

[7] COSTERTON J W, GEESSEY G G, CHENG K J. How bacteria stick[J]. Scientific American, 1978(238): 86-95.

[8] JAHID I K, HA S D. The Paradox of Mixed - Species Biofilms in the Context of Food Safety[J]. Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety, 2014, 13(5): 990-1011.

[9] COSTERTON J W, STEWART P S, GREENBERG E P. Bacterial biofilms: a common cause of persistent infections[J]. Science, 1999, 284(5418): 1318-1322.

[10] YAN Xiang-he, FRATAMICO P M, GUI Jin, et al. A centralized database for use in studying bacterial biofilms and quorum sensing in food processing and other environments: MicroBQs [M]//FRATAMICO P M, ANNOVS B A GUENTHER N W. Biofilms in the Food and Beverage Industries. 2009: 152-166.

[11] RØDER H L, RAGHUPATHI P K, HERSCHEND J, et al. Interspecies interactions result in enhanced biofilm formation by co-cultures of bacteria isolated from a food processing environ-

ment[J]. Food Microbiology, 2015, 51: 18-24.

[12] DANESHVAR Alavi H E, TRUDELSTRUP Hansen L. Kinetics of biofilm formation and desiccation survival of *Listeria monocytogenes* in single and dual species biofilms with *Pseudomonas fluorescens*, *Serratia proteamaculans* or *Shewanella baltica* on food-grade stainless steel surfaces[J]. Biofouling, 2013, 29(10): 1253-1268.

[13] SINGH R, PAUL D, JAIN R K. Biofilms: implications in bioremediation[J]. Trends in Microbiology, 2006, 14(9): 389-397.

[14] 王坤,闫颖娟,姜梅,等.保加利亚乳杆菌和嗜热链球菌生物膜形成研究[J].食品科学,2011,32(19):184-187.

[15] OTTO M. Virulence factors of the coagulase-negative staphylococci [J]. Frontiers in Bioscience: a Journal and Virtual Library, 2004, 9: 841-863.

[16] YANG Liang, BARKEN K B, SKINDERSOE M E, et al. Effects of iron on DNA release and biofilm development by *Pseudomonas aeruginosa*[J]. Microbiology, 2007, 153(5): 1318-1328.

[17] KANEKO Y, THOENDEL M, OLAKANMI O, et al. The transition metal gallium disrupts *Pseudomonas aeruginosa* iron metabolism and has antimicrobial and antibiofilm activity[J]. The Journal of Clinical Investigation, 2007, 117(4): 877.

[18] 胡学伟,李姝,荣焯,等.  $\text{Cu}^{2+}$  对生物膜及其胞外聚合物的影响[J].化工学报,2014,65(3):1062-1067.

[19] FLEMMING H, WINGENDER J. The biofilm matrix[J]. Nature Reviews Microbiology, 2010, 8(9): 623-633.

[20] GE Xiu-chun, KITTEN T, CHEN Zhen-min, et al. Identification of *Streptococcus sanguinis* genes required for biofilm formation and examination of their role in endocarditis virulence [J]. Infection and Immunity, 2008, 76(6): 2551-2559.

[21] 滕美君.表皮葡萄球菌的生物膜形成及其相关基因的研究[J].大连大学学报,2007,28(3):89-92.

[22] 王小燕,陈颖,黄云超,等.表皮葡萄球菌生物膜形成相关基因在表皮葡萄球菌和白假丝酵母菌混合生物膜形成中的作用研究[J].中国修复重建外科杂志,2015,29(1):63-68.

[23] PIAO Z, SZE C C, BARYSHEVA O, et al. Temperature-regulated formation of mycelial mat-like biofilms by *Legionella pneumophila* [J]. Applied and Environmental Microbiology, 2006, 72(2): 1613-1622.

[24] BASSLER B L. How bacteria talk to each other: regulation of gene expression by quorum sensing[J]. Current Opinion in Microbiology, 1999, 2(6): 582-587.

[25] 唐俊妮,史贤明,王红宁,等.细菌生物膜的形成与调控机制[J].生物学杂志,2009,26(2):48-50.

[26] PODBIELSKI A, KREIKEMEYER B. Cell density-dependent regulation: basic principles and effects on the virulence of Gram-positive cocci[J]. International Journal of Infectious Diseases, 2004, 8(2): 81-95.

[27] FOZARD J A, LEES M, KING J R, et al. Inhibition of quorum sensing in a computational biofilm simulation[J]. Biosystems, 2012, 109(2): 105-114.

[28] VALLEJO J A, SÁNCHEZ-PÉREZ A, MARTÍNEZ J P, et al. Cell aggregations in yeasts and their applications[J]. Applied microbiology and biotechnology, 2013, 97(6): 2305-2318.

[29] HUANG Min-ting, LU Chun. Detection and Function of Bio-

- Membrane Extracellular Polymer[J]. Journal of Microbiology, 2010, 6: 23.
- [30] GUO Min, GAMBY S, ZHENG Yue, et al. Small molecule inhibitors of AI-2 signaling in bacteria: state-of-the-art and future perspectives for anti-quorum sensing agents[J]. International Journal of Molecular Sciences, 2013, 14(9): 17 694-17 728.
- [31] 杜德燕. 副溶血弧菌生物膜及 LacZ 报告基因融合实验技术平台的建立[D]. 雅安: 四川农业大学, 2012: 46-47.
- [32] 汪映. 副溶血弧菌群体感应与调控的初步研究[D]. 青岛: 中国海洋大学, 2014: 39-41.
- [33] HE Zhi-yan, WANG Qian, HU Yue-jian, et al. Use of the quorum sensing inhibitor furanone C-30 to interfere with biofilm formation by *Streptococcus mutans* and its luxS mutant strain[J]. International Journal of Antimicrobial Agents, 2012, 40(1): 30-35.
- [34] ZHANG Kai, OU Mei-zhen, WANG W, et al. Effects of quorum sensing on cell viability in *Streptococcus mutans* biofilm formation[J]. Biochemical and Biophysical Research Communications, 2009, 379(4): 933-938.
- [35] JAROSZ L M, OVCHINNIKOVA E S, MEIJLER M M, et al. Microbial spy games and host response: roles of a *Pseudomonas aeruginosa* small molecule in communication with other species [J]. PLoS Pathog, 2011, 7(11): e1002312.
- [36] DAVIES D G, PARSEK M R, PEARSON J P, et al. The involvement of cell-to-cell signals in the development of a bacterial biofilm[J]. Science, 1998, 280(5 361): 295-298.
- [37] GIAOURIS E, HEIR E, HÉBRAUD M, et al. Attachment and biofilm formation by foodborne bacteria in meat processing environments: Causes, implications, role of bacterial interactions and control by alternative novel methods [J]. Meat Science, 2014, 97(3): 298-309.
- [38] LIU Nancy, NOU Xiang-wu, LEFCOURT A M, et al. Dual-species biofilm formation by *Escherichia coli* O157: H7 and environmental bacteria isolated from fresh-cut processing facilities[J]. International Journal of Food Microbiology, 2014, 171: 15-20.
- [39] VAN der Veen S, ABEE T. Mixed species biofilms of *Listeria monocytogenes* and *Lactobacillus plantarum* show enhanced resistance to benzalkonium chloride and peracetic acid[J]. International Journal of Food Microbiology, 2011, 144(3): 421-431.
- [40] YAO Yong, MARTINEZ-YAMOUT M A, DICKERSON T J, et al. Structure of the *Escherichia coli* quorum sensing protein SdiA: activation of the folding switch by acyl homoserine lactones [J]. Journal of Molecular Biology, 2006, 355(2): 262-273.
- [41] 羊扬. 大肠杆菌 I 型群体感应功能研究[D]. 扬州: 扬州大学, 2014: 121-125.
- [42] STURBELLE R T, DE AVILA L F D C, ROOS T B, et al. The role of quorum sensing in *Escherichia coli* (ETEC) virulence factors [J]. Veterinary Microbiology, 2015, 180(3): 245-252.
- [43] 张腾. 植物乳杆菌 HE-1 在共培养中产抑菌物质与 LuxS/AI-2 群体感应现象关系的研究[D]. 呼和浩特: 内蒙古农业大学, 2014: 33-35.
- [44] 李曼, 邱健, 宋水山. 真菌中的群体感应系统[J]. 微生物学通报, 2007, 34(3): 566-568.
- [45] RAMAGE G, SAVILLE S P, WICKES B L, et al. Inhibition of *Candida albicans* biofilm formation by farnesol, a quorum-sensing molecule[J]. Applied and Environmental Microbiology, 2002, 68(11): 5 459-5 463.
- [46] KRUPPA M, KROM B P, CHAUHAN N, et al. The two-component signal transduction protein Chk1p regulates quorum sensing in *Candida albicans*[J]. Eukaryotic Cell, 2004, 3(4): 1 062-1 065.
- [47] DICKINSON J R. Filament formation in *Saccharomyces cerevisiae*: a review[J]. Folia microbiologica, 2008, 53(1): 3.
- [48] BOJSEN R K, ANDERSEN K S, REGENBERG B. *Saccharomyces cerevisiae*-a model to uncover molecular mechanisms for yeast biofilm biology[J]. FEMS Immunology & Medical Microbiology, 2012, 65(2): 169-182.

(上接第 65 页)

分析。因未完全收集到所分析化合物的标准物质,本方法的回收率、主要香味成分的准确定量分析等有待于进一步开展。

### 参考文献

- [1] 杨斌, 白俊海. HXD 前后烟丝中烟碱及部分香味成分的变化 [J]. 烟草科技, 2006(1): 18-21.
- [2] 李晓, 姚光明, 穆林, 等. 烟叶复烤前后香味成分的变化[J]. 河南农业科学, 2010(1): 40-43.
- [3] 刘嘉莉, 文建辉, 虞苏行, 等. HS-SPME-GC/MS 法测定主流烟气中 8 种香味成分的逐口释放量[J]. 烟草科技, 2016, 49(1): 31-37.
- [4] 邓凯芬, 任佳丽, 彭湘莲, 等. ASE/HPLC 测定纸塑包装中荧光增白剂 VBL[J]. 食品与机械, 2012, 28(3): 96-100.
- [5] 袁培耘, 陈卓, 杨成阁, 等. ASE-UPLC-PDA 法测定 PM2.5 中 16 种多环芳烃[J]. 环境科学与技术, 2015, 38(2): 89-93.
- [6] 李星, 曹彦忠, 张进杰, 等. ASE-SPE/GC-MS/MS 同时测定海洋沉积物中 71 种农药残留[J]. 分析测试学报, 2013, 32(10): 1 180-1 186.
- [7] 欧阳运富, 唐宏兵, 吴英, 等. 加速溶剂萃取-在线凝胶渗透色谱-一气相色谱-质谱联用法快速测定蔬菜和水果中多农药残留 [J]. 色谱, 2012, 30(7): 654-659.
- [8] CHEN Shuo, GFRERER M, LANKMAYR E, et al. Optimization of accelerated solvent extraction for the determination of chlorinated pesticides from animal feed [J]. Chromatographia, 2003, 58(9): 631-636.
- [9] 刘思思, 杜鹃, 陈景文, 等. 加速溶剂萃取-高效液相色谱-串联质谱联用测定莱州湾海水养殖区野生鱼肌肉中 19 种抗生素及 2 种磺胺代谢产物残留[J]. 色谱, 2014, 32(12): 1 320-1 325.
- [10] 谭亮, 冀恬, 耿丹丹, 等. ASE 快速溶剂萃取与测定青海十六种高寒植物中多糖含量[J]. 天然产物研究与开发, 2014, 26(12): 1 992-1 999.
- [11] 朱晓兰, 黄兰, 李盼盼, 等. 加速溶剂萃取法在烟草香气分析中的应用[J]. 分析仪器, 2011(5): 13-17.
- [12] 陈玲, 李剑政, 杨文斌. 应用加速溶剂萃取法分离烟丝致香成分[J]. 分析测试学报, 2007, 26(9): 296-298.
- [13] 韦小玲, 康金玲. 管板式烘丝机工艺参数对卷烟香气的影响 [J]. 食品与机械, 2012, 28(6): 193-196.