

菌落总数测试卡用凝胶培养基和显色剂的优化

Optimization gelling medium and color developer for bacterial testing slip

郭登峰¹ 王羚佳¹ 舒晓梦¹

GUO Deng-feng¹ WANG Ling-jia¹ SHU Xiao-meng¹

杨潇¹ 张伟² 张广峰¹

YANG Xiao¹ ZHANG Wei² ZHANG Guang-feng¹

(1. 西华大学食品与生物工程学院, 四川 成都 610039; 2. 成都瑞琦科技实业股份有限公司, 四川 成都 610041)

(1. School of Food and Biological Engineering, XiHua University, Chengdu, Sichuan 610039, China;

2. Chengdu Rich Science Industry Co., Ltd., Chengdu, Sichuan 610041, China)

摘要:筛选适宜的冷水溶解凝胶, 优化凝胶培养基成分和显色剂浓度, 制备菌落总数测试卡并与倾注培养法进行菌落总数检测比较。结果显示: 卡拉胶和 CMC 以 2:1 的质量比混合、复合凝胶粉和培养基粉以 2:1 的质量比混合、TTC 实际浓度为 0.025 mg/mL 时, 制备的菌落总数测试卡具有较好的检测效果, 与倾注法比较无显著差异。说明该方案优化的凝胶与显色剂配方可用于制备菌落总数测试卡。

关键词: 菌落总数; 快速检测卡; 凝胶; TTC

Abstract: The cold water-soluble gel agent was screened and the gel medium composition and developer concentration were optimized, by comparing with colony count test results between bacterial testing slip and pour-plate culture method. The best composition was that carrageenan and CMC mixed in 2:1 (W/W), the gel powder and the medium powder mixed in 2:1 (W/W) and TTC actual concentration of 0.025 mg/mL. The colony count test results were no significant difference compared with the pour-plate culture method. The optimized gelling agent and color developer could be used to prepare bacterial testing slip.

Keywords: total bacteria amounts; bacterial testing slip; gelling agent; TTC

菌落总数是反映食品被微生物污染状况和新鲜程度的重要指标^[1]。目前菌落总数快速检测方法包括显色培养基法、ATP 生物荧光法、微热量法、阻抗法、近红外光谱技术和快速检测卡片法等^[2-4]。快速检测卡片(下文统一称为检测卡)与传统的微生物培养平板检测相比, 因其省略了培养基

制作、消毒环节, 使得劳动强度大幅减轻; 还具有体积小、便于携带储存、检测周期短、操作简便等优点^[5-6], 从而被运用于快速检测的领域, 极大地简化了对微生物总数检测的程序。

从 1955 年德国学者 FJ. Forg 发明了快速检测大肠菌群的纸片法以来^[7], 检测卡已经得到了长足的发展。目前菌落检测卡主要分为滤纸、无纺布和冷水溶性凝胶 3 种类型^[8]。其中滤纸和无纺布虽然成本低廉, 但是由于孔隙大, 保水性差, 不利于菌体生长, 导致菌落计数不准确。与前两者相比, 冷水溶性凝胶却有着稳定性好、透明度高、易挑菌、菌落计数准确等优点^{[9-10][11]9-14}。而在国内外应用最为广泛的是美国 3M 公司的 Petrifilm™ 菌落总数检测卡, 由于具有较高的可靠性, 曾被纳入中国国家标准^[12], 但是昂贵的价格, 也限制了其在中国一般实验室和企业的大规模使用。因此研究具有自主知识产权的冷水溶性凝胶菌落检测卡片, 对于降低检测卡的使用成本, 促进微生物指标检测的广泛开展, 提升食品安全具有重要意义。

本研究主要通过对常见的冷水溶性凝胶剂[卡拉胶、黄原胶、瓜尔胶、刺槐豆角、聚丙烯酸钠、羧甲基纤维素(CMC)]进行筛选组合、探索凝胶剂配方及其与培养基混合比例、优化显色剂的添加量等来提升冷水凝胶测试卡的使用性能, 为新型菌落总数检测卡的研发提供数据参考。

1 材料与方法

1.1 试验材料与仪器

2,3,5-三苯基氯化四氮唑(TTC): AR 级, 上海馨晟试化工科技有限公司;

胰蛋白胨、酵母提取物: AR 级, 西班牙 OXOID 公司;

氯化钠、瓜尔胶、卡拉胶、黄原胶、CMC、聚丙烯酸钠: AR 级, 成都科龙化工试剂厂;

作者简介: 郭登峰, 男, 西华大学在读硕士研究生。

通信作者: 杨潇(1981—), 男, 西华大学高级实验师, 硕士生导师, 博士。E-mail: 13076014204@163.com

收稿日期: 2017-12-16

乙醇:AR级,国药集团化学试剂有限公司;

全自动高温蒸汽灭菌锅:G154DWS型,致微(厦门)仪器有限公司;

电热恒温隔水式培养箱:SGSP-02型,黄石市恒丰医疗器械有限公司;

混合型球磨机:MM400型,德国 RETSCH(莱驰)公司;

万分之一电子天平:TB-214型,美国 DENVER INSTRUMENT(丹佛仪器)公司;

紫外可见分光光度计:UV2400型,上海舜宇恒平科学仪器有限公司;

pH仪:MP511型,上海三信公司;

质构仪:TA·XT2i型,英国 SMS 公司。

1.2 试验菌种

大肠杆菌(LE392)、坂崎肠杆菌(ATCC51329)、福氏志贺菌(CMCC51252)、金黄色葡萄球菌(AS1861)、沙门菌(AS1859)、铜绿假单胞菌(CICC10204)、粪链球菌(CMCC32220);西华大学食品安全实验室保存。

1.3 方法

1.3.1 菌种活化与菌悬液的制备 将各菌种分别于 LB 培养基中震荡培养 2 h 活化,并涂布于 LB 平板上并于 37℃ 倒置培养 12 h,挑取单菌落转入 LB 液体培养基中继续培养 4 h,将各菌种菌液按比例混合后稀释 10^3 倍,待用。

1.3.2 测试卡凝胶培养基粉的制备 LB 培养基(胰蛋白胨 10 g、酵母提取物 5 g、氯化钠 10 g 充分混合)与凝胶粉按一定比例充分混合后,经超微粉碎 1 min,并用紫外线进行杀菌待用。

1.3.3 测试片法 将制备好的测试卡凝胶培养基粉黏附在上下层透明塑料卡上。吸取 1 mL 新鲜制备的菌液,翻开测试片上层,均匀滴于测试片中央,小心盖上上层膜,轻轻压平使样液充满测试片,静置 5 min,待凝胶固化后于 37℃ 培养 24 h,计数红色菌落^[13-14]。

1.3.4 凝胶的吸水率、保水率测定 称取 1.00 g 胶粉置于烧杯中,加入 500.00 g 蒸馏水混匀,放置 5 min 使其充分溶胀成胶,用 100 目筛过滤,精密称定滤液重量。吸水率按式(1)计算:

$$A = \frac{M_1 - M_2}{M_0} \times 100\%, \quad (1)$$

式中:

A——吸水率,%;

M_1 ——加入蒸馏水质量,g;

M_2 ——滤出蒸馏水质量,g;

M_0 ——称取的凝胶粉水质量,g。

称取 1.00 g 胶粉置于洁净烧杯中,加入 500.00 g 蒸馏水混匀,放置 5 min 使其充分溶胀成胶,弃去多余水分,再精密称取凝胶重量,将其置于 37℃ 恒温培养箱中,分别放置 8、24 h 后精密称定重量。按式(2)计算保水率。

$$C = \frac{M_1}{M_0} \times 100\%, \quad (2)$$

式中:

C——保水率,%;

M_1 ——放置不同时间后的凝胶质量,g;

M_0 ——溶胀成凝胶后的质量,g。

1.3.5 水扩散速度与成胶性评价 在透明塑料卡上绘制一个直径 10 cm 的圆,将成胶剂黏附在透明塑料卡上,向圆心滴入 1 mL 的蒸馏水并开始计时,水扩散至圆形边缘时停止计时,滴入水后静置 5 min,观察是否凝固形成凝胶。

1.3.6 凝胶物性分析 凝胶剂制成厚度为 15 mm 的凝胶,按照 ISO 9665 方法测试胶体物性。即在质构仪上选用 P/0.5R 柱状探头,以压缩模式检测,测前速度 1.0 mm/s,测试速度 1.0 mm/s,测后速度 1.0 mm/s,刺入深度 10 mm,数据采集速率 400 pps;触发力 2 g。以刺入过程中测得的最大力量为凝胶强度,以达到最大力量时的刺入距离表征凝胶弹性。在穿刺中力量和距离越大,表明凝胶越有韧性和弹性。

1.3.7 凝胶剂组成优化 将根据吸水率、保水率及成胶情况优选出的凝胶进行两两组合,评价其水扩散速度和成胶性。选择扩散速度和成胶性好的凝胶组合,并进一步进行物性比较,以筛选出最优的凝胶剂组成。

1.3.8 凝胶与培养基的比例优化 将优化过的混合凝胶粉与培养基分别按 1:1,1:2,2:1 的质量比混匀,加入蒸馏水制凝胶,在 37℃ 下培养 0,12,24 h 后,参考吴许文^{[11]33}的方法测定其 pH,在 37℃ 下培养 24 h 后测定凝胶物性,并参考吴许文^{[11]35}的方法在 500 nm 下测其透光度。选择可在 37℃ 恒温条件下 pH 稳定、凝胶强度合适、透光率好、可稳定凝固、成胶无气泡无褶皱黏附,菌落生长正常、分布均匀、清晰可辨的培养基凝胶组合。

1.3.9 TTC 加入量的优化 根据相关文献^[15-17],TTC 在培养基中浓度超过 0.100 mg/mL 时抑菌较明显,低于 0.020 mg/mL 时显色作用不明显。因此选择 TTC 实际浓度 0.020,0.025,0.030,0.035,0.040 mg/mL 进行 TTC 加入量优化。试验中,先配制浓度为 0.040,0.050,0.060,0.070,0.080 mg/mL 的 TTC 溶液,灭菌后分别与稀释 10^5 倍的菌液按 1:1 体积比混合后,接种于测试卡上并于 37℃ 培养 24 h 后计数观察。选择显色明显、易于计数且对微生物无抑制作用的 TTC 浓度。

1.3.10 测试卡片法与倾注培养法对比 将混合菌液依次稀释 $10^3, 10^4, 10^5, 10^6$ 倍,分别采用测试卡片法与倾注培养法(按 GB/T 4789.2—2016 执行)进行检测,比较二者菌落总数的检测结果。

2 结果与讨论

2.1 冷水溶凝胶的基本性能

凝胶吸水率与保水率的优良将直接影响到测试卡的测试效果。吸水率优良的凝胶可以使水快速地在测试卡上扩散,不仅缩短操作时间,还能保证菌落扩散均匀^[18]。保水率优良的凝胶将有效地保持测试卡上的水分不流失蒸发,从而为测试卡上的微生物提供一个稳定合适的生长环境。

从凝胶剂吸水率和保水率试验结果可知(表 1),各凝胶吸水率大小顺序为:聚丙烯酸钠>黄原胶>CMC>瓜尔胶>

卡拉胶。其中聚丙烯酸钠的吸水率太大,并且吸湿性极强,暴露在空气中时很容易结块黏连,不适合单独用于测试卡的制作^[19]。对各凝胶培养 8 h 后,凝胶保水率差别较小;24 h 后,保水率发生显著变化,各凝胶之间的差别也较明显,各凝胶保水率大小顺序为:聚丙烯酸钠>瓜尔胶>CMC>黄原胶>卡拉胶。

表 1 凝胶剂的吸水率与保水率[†]

Table 1 Water absorption and water retention of gels (*n*=3)

凝胶名称	吸水率	保水率	
		8 h	24 h
卡拉胶	13.69±0.51 ^e	74.00±0.83 ^b	40.43±0.63 ^d
黄原胶	115.28±1.09 ^b	74.57±0.77 ^b	41.57±0.69 ^d
瓜尔胶	27.09±0.32 ^d	74.71±0.47 ^b	48.14±0.42 ^b
CMC	42.75±1.78 ^c	75.86±0.80 ^a	43.29±0.75 ^c
聚丙烯酸钠	436.62±0.54 ^a	73.14±0.38 ^c	51.43±0.85 ^a

† 同列不同字母表示差异显著(*P*<0.05)。

由表 2 可知,卡拉胶、聚丙烯酸钠、瓜尔胶均可以快速吸水,使水在胶粉内快速扩散;其中以卡拉胶扩散速度最快,瓜尔胶次之,聚丙烯酸钠最慢。但在黄原胶与 CMC 中水扩散极为缓慢。CMC、聚丙烯酸钠、黄原胶可完全凝固成胶,但黄原胶凝固后气泡较多;卡拉胶、瓜尔胶未能完全凝固,成流动状态。此外各凝胶剂中黄原胶成本最高、卡拉胶和瓜尔胶次之、CMC 与聚丙烯酸钠最低。

表 2 凝胶剂的水扩散速度和成胶情况

Table 2 Gel water diffusion speed and gel conditions

凝胶剂种类	水扩散时间/s	成胶情况
卡拉胶	48	未完全凝固
黄原胶	>180	完全凝固,但胶体有气泡
瓜尔胶	92	未完全凝固
聚丙烯酸钠	134	完全凝固
CMC	>180	完全凝固

凝胶剂基本性能试验的结果表明,选用以上任何单一凝胶剂均不能满足菌落总数测试卡用冷水溶性凝胶的要求。综合考虑各凝胶剂的吸水率、保水率、水扩散速度、成胶状况和成本,需将凝胶进行组合优化。

2.2 凝胶组合优化

从表 3 可知,由于水不易在黄原胶胶粉内扩散,故需在黄原胶中加入卡拉胶以增加其水扩散性,但加入卡拉胶后不能形成可凝固的凝胶;将聚丙烯酸钠分别与 CMC、瓜尔胶进行混合,但混合后扩散速率较慢且极易吸潮聚团,不能成胶;只有卡拉胶与 CMC、瓜尔胶混合时具有较好的水扩散速度和成胶性。

比较卡拉胶与 CMC、瓜尔胶组合的凝胶物性发现(表 4),卡拉胶与 CMC 组合的凝胶物性显著好于卡拉胶与瓜尔胶组合,且卡拉胶与 CMC 组合的成本更为经济,综合考

表 3 不同凝胶组合的水扩散速度和成胶情况

Table 3 Gel combination water diffusion speed and gel combination conditions

凝胶组合(质量比)	水扩散时间/s	成胶效果
卡拉胶:黄原胶(2:1)	>180	水不易扩散,边缘不能成胶
卡拉胶:瓜尔胶(3:1)	71	水易扩散,成胶性好
卡拉胶:CMC(2:1)	67	水易扩散,成胶性好
卡拉胶:聚丙烯酸钠(3:1)	133	易聚团,不能成胶
黄原胶:瓜尔胶(3:1)	>180	水不易扩散,边缘不能成胶
黄原胶:CMC(1:1)	>180	水不易扩散,边缘不能成胶
黄原胶:聚丙烯酸钠(3:1)	>180	易聚团,不能成胶
瓜尔胶:CMC(4:1)	>180	水不易扩散,边缘不能成胶
瓜尔胶:聚丙烯酸钠(3:1)	>180	易聚团,不能成胶
CMC:聚丙烯酸钠(3:1)	>180	易聚团,不能成胶

表 4 不同凝胶组合的物性比较[†]

Table 4 Gel composition properties comparison (*n*=3)

凝胶组合(质量比)	凝胶强度/g	凝胶弹性/mm
卡拉胶:瓜尔胶(3:1)	141.55±15.57 ^b	4.01±0.63 ^b
卡拉胶:CMC(2:1)	211.35±16.24 ^a	5.94±1.05 ^a

† 同列不同字母表示差异显著(*P*<0.05)。

虑选取卡拉胶与 CMC 按 2:1 的质量比混合为宜。

2.3 培养基与凝胶的比例优化

培养基与凝胶的混合比例将直接影响到菌落检测的效果。适合的比例才能使其在加水后迅速溶解形成凝胶培养基,满足微生物正常生长代谢的需求,并起到承载微生物的作用。混合凝胶粉与培养基分别按 1:2,1:1,2:1 的质量比混匀制成培养基凝胶。由表 5 可知,在 37℃ 下不同时间点的 pH 基本保持稳定并成中性,表明培养温度、混合比例和培养时间的改变对 pH 影响不大。

而在 37℃ 恒温培养 24 h 后,按照上述混合比例制作的培养基凝胶的物性、透光度、成胶效果和菌落生长状况均有较大的差异(表 6),其中随着混合胶粉比例的增加,培养基凝胶物性指标和透光度都相应地提高,以质量比 2:1 制备的培养基凝胶在物性指标和透光度上显著优于其他 2 组。此外虽然制作的培养基凝胶均能在 5 min 内凝固成胶,但在 37℃ 下培养 24 h 后,以 1:1,1:2 质量比制备的培养基凝胶出现了部分融化,严重影响菌落生长。而以 2:1 质量比制备的培养基凝胶仍然保持凝固状态,整体透明度好且菌落

表 5 37℃ 恒温培养期间凝胶的 pH

Table 5 pH of gel during cultivation (*n*=3)

时间/h	混合凝胶:培养基(质量比)		
	1:2	1:1	2:1
0	6.91±0.35	6.89±0.28	6.83±0.33
12	6.87±0.40	6.92±0.35	6.94±0.31
24	7.01±0.33	6.87±0.41	6.91±0.37

表 6 不同比例凝胶的物理特性及菌落生长情况[†]

Table 6 Physical properties of different proportions of gels and colony growth (*n* = 3)

混合凝胶：培养基 质量比	凝胶强度/g	凝胶弹性/mm	透光度/%	37 ℃ 恒温 24 h 后的成胶 及菌落生长情况
1：2	74.1±5.57 ^c	2.01±0.63 ^c	18.87±0.77 ^c	凝胶出现融化，气泡多，透光度差，菌落极少
1：1	97.1±7.46 ^b	3.78±0.33 ^b	24.81±1.56 ^b	凝胶出现融化，菌落极少
2：1	111.5±9.24 ^a	4.94±0.75 ^a	37.65±0.91 ^a	凝胶保持凝固，整体透明，菌落生长正常且均匀

[†] 同列不同字母表示差异显著(*P* < 0.05)。

生长正常、分布均匀易于计数。因此，以混合凝胶粉与培养基按质量比 2：1 混合为最优。

2.4 TTC 的含量优化

TTC 对菌落的显色相对于其他显色剂更为灵敏准确，而且在常温下它与菌落形成的颜色在空气中十分稳定，可以保存较长时间，方便计数。但其浓度对微生物生长却有显著影响，需要对其使用浓度进行优化^[20]。

如表 7 所示，当 TTC 浓度在 0.025 mg/mL 以下时，菌落生长分布均匀且与对照组无显著差异；但 TTC 浓度超过 0.030 mg/mL 时，菌落数量显著低于对照组，表明微生物的生长受到抑制。而当 TTC 浓度为 0.025 mg/mL 时对菌落的染色比 0.020 mg/mL 更加清晰可辨，暴露在空气中也更加稳定。因此，以 TTC 在培养基中实际浓度 0.025 mg/mL 为最优加入量。

表 7 TTC 浓度对菌落总数的影响[†]

Table 7 Total number of colonies at different concentrations of TTC (*n* = 3)

TTC 浓度/(mg · mL ⁻¹)	0.000	0.020	0.025	0.030	0.035	0.040
菌落数/ CFU	52±8 ^a	45±6 ^a	49±4 ^a	41±3 ^b	36±4 ^b	33±4 ^c

[†] 同行不同字母表示差异显著(*P* < 0.05)。

2.5 与平板法的检测比较

采用最优条件的测试卡片法与倾注培养法进行对比，发现二者在菌落生长的形态上无明显差异。由表 8 可知，2 种方法在各稀释浓度上的菌落计数结果并无显著差异。

表 8 2 种不同方法的菌落数

Table 8 Number of colonies in two different ways (*n* = 3)
CFU/mL

培养方法	稀释倍数			
	10 ³	10 ⁴	10 ⁵	10 ⁶
倾注培养法	>400	364±22	47±5	5±1
测试卡片	>400	387±26	48±2	6±1

3 结论

采用卡拉胶和 CMC 在 2：1 的质量比下制成混合凝胶剂，再与培养基粉以 2：1 的质量比混合制成的凝胶培养基用于制备菌落总数测试卡片具有较好的效果，在 TTC 浓度为 0.025 mg/mL 时，菌落显色效果最佳且不会对细菌生长产生抑制作用。在该条件下采用测试卡片法与倾注培养法对微生物菌落总数的检测结果无显著差异。

参考文献

[1] 姚景慧, 崔生辉, 付萍, 等. 菌落总数检测纸片的比较试验[J]. 中国食品卫生杂志, 2000(3): 76-77.
[2] 程金权, 胡继贵. 食品中菌落总数快速检测研究进展[J]. 食品与发酵科技, 2014, 50(6): 1-5.
[3] 熊海燕. 菌落总数检测技术研究进展[J]. 粮食与油脂, 2010(4): 42-44.

[4] HAWRONSKYJ Jane-marie, HOLAH John. ATP: a universal hygiene monitor[J]. Trends in Food Science & Technology, 1997, 8(3): 79-84.
[5] 孙永. 食品卫生微生物快速测试卡的研制[D]. 武汉: 中国科学院武汉病毒研究所, 2007: 15-21.
[6] SCHOELLER N P, INGHAM S C. Comparison of the Baird-Parker agar and 3M TM Petrifilm TM rapid S. aureus count plate methods for detection and enumeration of Staphylococcus aureus[J]. Food Microbiology, 2001, 18(6): 581-587.
[7] 孙永. 微生物快速测定卡凝胶剂性能初步研究[J]. 中国卫生检验杂志, 2007, 17(3): 419-421.
[8] 王静. 以冷水溶性凝胶为载体的细菌快速检测纸片的凝胶剂优化[J]. 卫生研究, 2012, 41(2): 300-302.
[9] WILLIAMS M G, HESSELROTH K E, RAJAGOPAL R. Device for propagation and storage of microorganisms: US, 6649406[P]. 2003-11-18.
[10] 王少鹏, 刘艳丽, 冯冲, 等. 食品添加剂聚丙烯酸钠的合成工艺研究[J]. 安徽农业科学, 2011, 39(12): 7 095-7 096.
[11] 吴许文. 食品卫生微生物培养基冷水可凝胶 HKG 的研究和应用[D]. 武汉: 中国科学院武汉病毒研究所, 2009.
[12] 中华人民共和国卫生部, 中国标准化委员会. GB/T 4789.2—2008 食品卫生微生物学检验 菌落总数测定[S]. 北京: 中国标准出版社, 2009: 11-21.
[13] 陈晓珑, 董煜, 陈灿映, 等. 大肠菌群测试片中冷水可凝凝固剂初步研究[J]. 河南工业大学学报: 自然科学版, 2013, 34(1): 77-81.
[14] 吴许文, 吴清平, 张淑红, 等. 细菌测试片的冷水可凝凝固剂初步研究和应用[J]. 微生物学通报, 2009, 36(11): 1 783-1 788.

(下转第 145 页)

从图 3 可以看出,本算法完成各种漏检率所消耗的时间最少,能够解决苹果检测数据处理量大和检测实时性之间的矛盾。

4 结论

(1) 针对基于智能算法苹果表面缺陷识别过程中存在的问题,本试验提出一种基于改进粒子群算法的苹果表面缺陷识别方法。通过缺陷区域选择、定位、阈值分割,然后用改进粒子群算法获得最优分割阈值。试验结果表明,能够识别各种缺陷,漏检率较低,说明该方法在缺陷苹果识别中十分有效。

(2) 在苹果表面缺陷的分割图像中,存在多个分割阈值,采用改进粒子群算法能够计算出最优分割阈值,避免了非最优分割阈值的存在,大大地提高了识别结果。

(3) 本试验只是针对苹果表面缺陷进行检测,并未对缺陷作进一步分类,这将是今后研究的一个方向。

参考文献

- [1] 程荣花, 马飞, 石梦. 基于颜色特征的苹果表面质量检测系统设计与实现[J]. 辽宁农业科学, 2014(3): 22-24.
- [2] 李丽娜, 赵武奇, 曾祥源. 苹果的质构与感官评定相关性研究[J]. 食品与机械, 2017, 33(6): 37-41.
- [3] 项辉宇, 薛真, 冷崇杰, 等. 基于 Halcon 的苹果品质视觉检测试验研究[J]. 食品与机械, 2016, 32(10): 123-126.
- [4] 刘燕妮, 张贵仓, 安静. 基于数学形态学的双直方图均衡化图像增强算法[J]. 计算机工程, 2016, 42(1): 215-219.
- [5] 唐伟伟, 陆海林, 葛俊祥. 基于 Prewitt 算子的抗雷达同频干扰法设计与 FPGA 实现[J]. 科学技术与工程, 2015, 15(27): 42-47.
- [6] 文永革, 何红洲, 李海洋. 一种改进的 Roberts 和灰色关联分析的边缘检测算法[J]. 图学学报, 2014, 34(4): 637-641.
- [7] 陈汉武, 朱建锋, 阮越, 等. 带交叉算子的量子粒子群优化算法[J]. 东南大学学报: 自然科学版, 2016, 46(1): 23-29.
- [8] 王飞. 带时间窗车辆调度问题的改进粒子群算法[J]. 计算机工程与应用, 2014, 50(6): 226-229.
- [9] 杨进, 高飞, 马良. 基于改进并行粒子群算法的彩色图像匹配[J]. 计算机应用研究, 2015, 33(10): 35-42.
- [10] 白晓波, 吉晓民, 胡月. 多工况条件下滚针轴承的改进粒子群优化方法[J]. 计算机辅助设计与图形学学报, 2014, 26(10): 1 900-1 908.
- [11] 张聪, 汤伟. 基于粒子群优化算法与形态学的纸病图像检测方法[J]. 造纸科学与技术, 2014, 33(2): 60-64.
- [12] 刘慧忠, 汤伟. 基于 FPGA 的纸病检测预处理算法的实现[J]. 中国造纸学报, 2014, 29(1): 53-57.
- [13] 吴一全, 王凯, 曹鹏祥. 蜂群优化的二维非对称 Tsallis 交叉熵图像阈值选取[J]. 智能系统学报, 2015, 10(1): 103-112.
- [14] 王晓文, 张俊伟. TTC 应用于食品菌落总数测定的研究[J]. 辽宁大学学报: 自然科学版, 2011, 38(1): 86-89.
- [15] 曹杨. 纸片法测定细菌总数——TTC 显色浓度试验[J]. 江苏食品与发酵, 2008(4): 39-40.
- [16] 刘睿哲. 食品菌落总数测定中 TTC 做显色剂的探索[J]. 产业与科技论坛, 2011, 10(20): 64-65.
- [17] 贾振宇, 崔英德, 黎新明, 等. 聚丙烯酸钠高吸水性树脂的改性研究进展[J]. 化工进展, 2004, 23(5): 468-471.
- [18] 王静, 陈萍, 任常菲. 以冷水溶性凝胶为载体的细菌快速检测纸片的凝胶剂优化[J]. 卫生研究, 2012, 41(2): 300-302.
- [19] 廖茂彬, 陈向标, 赖明河. 食品中菌落总数的国标法测定注意事项及微生物快速测试卡法检测[J]. 中国食品与营养, 2013, 19(7): 16-18.
- [20] 傅延振, 林雨晨. 无油空压机技术为食品行业带来纯净气源[J]. 食品安全导刊, 2016(7): 72-73.
- [21] 阿特拉斯-科普柯公司. 阿特拉斯-科普柯公司在中国推出全新系列高效能压缩机[J]. 包装与食品机械, 2012, 30(6): 70.
- [22] STOSIC N, SMITH I K, KOVACEVIC A. Screw compressors: Mathematical modeling and performance calculation[M]. Berlin: Springer, 2005: 32-34.
- [23] SU Shyh-haur, TSENG Ching-huan. Synthesis and optimization for rotor profiles in twin rotor screw compressors[J]. Journal of Mechanical Design, 2000, 122(4): 543-552.
- [24] WU Yu-ren, FONG Zhang-hua. Rotor profile design for the twin-screw compressor based on the normal-rack generation method[J]. Journal of Mechanical Design, 2008, 130(4): 42 601-42 608.
- [25] 何雪明, 戴进, 刘洪园. 基于自由曲线的螺杆转子型线的正反向设计[J]. 中国机械工程, 2012, 23(22): 2 752-2 757.
- [26] ZAYTSEV D, FERRIRA C A I. Profile generation method for twin screw compressor rotors based on the meshing line[J]. International Journal of Refrigeration, 2005(28): 744-755.
- [27] ZAYTSEV D, FERRIRA C A I. Screw compressor rotor profile generation method based on pre-defined meshing line[C]// 3rd International Compressor Technique Conference (ICTC 2001). Wuxi: [s.n.], 2001: 117-127.
- [28] 卜啸华, 邹友金, 孟尔镛. 螺杆压缩机型线设计的逆命题法[J]. 上海理工大学学报, 1986(3): 43-51.
- [29] 何雪明, 童洁, 戴进, 等. 双螺杆转子型线的反向优化设计及应用[J]. 机械设计与研究, 2015, 31(4): 151-157.
- [30] 何雪明, 姜振钢, 武美萍, 等. 双螺杆压缩机转子啮合线与型线关系研究[J]. 中国机械工程, 2017, 28(7): 763-770.
- [31] PIEGL L A, TILLER W. 非均匀有理 B 样条[M]. 2 版. 赵罡, 穆国旺, 王拉柱, 等, 译. 北京: 清华大学出版社, 2010: 86-93.
- [32] 邢诚, 王建强, 贾志强, 等. 多种数值积分方法比较分析[J]. 城市勘测, 2010(1): 104-106.
- [33] 刘玉娟, 陈应祖, 卢克功. 龙贝格积分法及其应用编程[J]. 重庆科技学院学报: 自然科学版, 2007, 9(1): 97-99.
- [34] LEE H T. Screw-rotor machine with an ellipse as a part of its male rotor: US, A4890992[P]. 1990-01-02.

(上接第 85 页)

(上接第 97 页)