

湘味卤豆干中腐败微生物的分离鉴定及控制

Isolation, identification and control of spoilage microorganisms in Xiangwei stewed bean

彭鑫^{1,2} 李冰鑫^{1,2} 马芳^{1,2}

PENG Xin^{1,2} LI Bingxin^{1,2} MA Fang^{1,2}

赵良忠^{1,2} 文 明^{1,2} 周小虎^{1,2}

ZHAN Liangzhong^{1,2} WEN Ming^{1,2} ZHOU Xiaohu^{1,2}

(1. 邵阳学院食品与化学工程学院, 湖南 邵阳 422000;

2. 豆制品加工与安全控制湖南省重点实验室, 湖南 邵阳 422000)

(1. College of Food Science and Chemical, Shaoyang University, Shaoyang, Hunan 422000, China;

2. Key Laboratory of Bean Products Processing and Safety Control, Shaoyang, Hunan 42200, China)

摘要:目的:更好地控制湘味卤豆干腐败微生物的生长, 保证湘味卤豆干的食物安全。方法:采用平板划线法进行初筛, 结合菌落形态观察、革兰氏染色、16S rDNA 和 ITS 序列鉴定湘味卤豆干中的腐败微生物。结果:共分离筛选得到 9 株菌株, KZ2780-3 和 KZ2780-4 为枯草芽孢杆菌 (*Bacillus subtilis*)、NZ2559-1 为蜡样芽孢杆菌 (*Bacillus cereus*)、JZ2559-5 为解淀粉芽孢杆菌 (*Bacillus amyloliquefaciens*)、FZ2559-2 为肺炎克雷伯氏菌 (*Klebsiella pneumoniae*)、SZ2641-5 为屎肠球菌 (*Enterococcus faecium*)、RZ2641-7 为溶血性葡萄球菌 (*Staphylococcus haemolyticus*)、BZ2780-1 为鲍氏不动杆菌 (*Acinetobacter baui*)、CZ2780-5 为橘青霉 (*Penicillium citri*)。结论:引起湘味卤豆干腐败的菌株是枯草芽孢杆菌、蜡样芽孢杆菌、解淀粉芽孢杆菌、肺炎克雷伯氏菌、屎肠球菌、溶血性葡萄球菌、鲍氏不动杆菌、橘青霉。湘味卤豆干的控制方法是超高温瞬时杀菌技术、等离子体杀菌技术、天然抑菌物质结合生物防腐剂、真空包装、气调保鲜等。

关键词:豆干; 微生物; 分离鉴定; 芽孢杆菌; 控制方法

Abstract: Objective: To better control the growth of spoilage microorganisms, and ensure the food safety of Xiangwei Luodou dry. Methods: The putrefactive microorganisms in Xiangwei dried tofu were identified by plate scribing method, colony morphology observation, Gram staining, 16S rDNA and ITS sequence. Results: A total of 9 strains were isolated and screened. KZ2780-3 and KZ2780-4 are *Bacillus subtilis*, NZ2559-1 is *Bacillus cereus*, and JZ2559-5 is *Bacillus amyloliquefaciens*, FZ2559-2 for *Klebsiella pneumoniae*, SZ2641-5 for *Enterococcus faecium*, RZ2641-7 for *Staphylococcus haemolyticus*, BZ2780-1 for *Acinetobacter baui*, CZ2780-5 for *Penicillium citri*. Conclusion: The strains causing dry rot of Xiangwei bean are *Bacillus subtilis*, *Bacillus cereus*, *Bacillus amyloliquefaciens*, *Klebsiella pneumoniae*, *Enterococcus faecium*, *Staphylococcus hemolyticus*, *Acinetobacter baui* and *Penicillium citri*. The control methods of Xiangwei stewed bean dry are ultra-high temperature instantaneous sterilization technology, plasma sterilization technology, natural antibacterial substances combined with biological preservatives, vacuum packaging, air conditioning preservation and so on.

Keywords: dried bean; microorganism; separation and identification; bacillus; control method

基金项目:湖南省自然科学基金区域联合基金项目(编号: 2023JJ50260); 湖南省研究生科研创新项目(编号: CX20221305); 湖南省科技创新计划资助项目(编号: 2019TP1028); 邵阳学院研究生科研创新项目(编号: CX2022SY016)

作者简介:彭鑫, 女, 邵阳学院在读硕士研究生。

通信作者:文明(1989—), 男, 邵阳学院讲师, 硕士生导师, 博士。

E-mail: wenm8906@163.com

收稿日期:2023-08-19 **改回日期:**2024-03-08

休闲豆干是将传统的卤豆干经过再加工技术制成的即食休闲产品。因其方便、美味, 深受消费者欢迎, 生产量不断增加^[1]。目前中国比较出名的几大休闲豆干派系主要是普通休闲豆干、川派休闲豆干和湘味卤豆干。湘味卤豆干作为湖南地域特色的一种美食产品, 在中国休闲豆制品市场中的占有率很高, 仅湖南省邵阳市的豆制品

品相关企业就超过 150 家。

目前,大多数的豆干生产企业还是以原始的手工作坊模式进行初级生产,容易导致大豆原料清洗不净、相关工艺参数不稳定、产品易腐败等问题,难以适应连续化生产及市场需求。尽管不同种类豆制品的加工方式和产品特点不同,但豆制品都因高蛋白、高含水量等特性,极易腐败变质^[2]。为了延长湘味卤豆干的货架期,生产者往往会采用高温杀菌,但这导致豆干的质构明显变化,产品硬度增加,严重影响产品的营养品质、风味和口感。同时,即使采用高温杀菌,由于豆干中存在一些耐热腐败菌,会存在杀菌不彻底的现象,致使豆制品腐败变质现象时有发生。目前市面上很多湘味卤豆干以散装售卖为主,由于加工和保鲜方式不当,豆干货架期较短,严重制约了湘味卤豆干的发展。此外,湘味卤豆干原材料自身、生产加工过程以及贮藏条件等环节都可能会受到微生物的污染。

课题组前期通过生理生化试验发现,湘味卤豆干中最主要的腐败菌为蜡样芽孢杆菌^[3],但菌株单一不够全面且未能提出具体防治措施,研究拟以腐败变质的湘味卤豆干为研究对象,从中分离纯化出多株优势腐败微生物,通过形态学特征、16S rDNA 和 ITS 序列分析等方法鉴定湘味卤豆干中腐败微生物,并根据每种菌株的特定生理习性有针对性地提出安全有效的措施,以期为湘味卤豆干生产企业更好地控制腐败微生物的生长提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

湘味卤豆干:市售;

结晶紫:分析纯,天津市科密欧化学试剂有限公司;

乙醇:分析纯,成都金山化学试剂有限公司;

香柏油:分析纯,中国上海懿洋仪器有限公司;

PCA 培养基、PDA 培养基、营养琼脂培养基:实验室自制。

1.2 试验仪器

立式压力蒸汽灭菌锅:G15DS 型,致微(厦门)仪器有限公司;

恒温培养箱:HH-B11 型,上海跃进医疗器械有限公司;

双人单面净化工作台:SWCJ-2FD 型,江苏通净净化设备有限公司;

显微镜:XP-213 型,南京宇凡仪器科技有限公司;

PCR 仪:S-320 型,长沙肯基科技发展有限公司;

微生物均质机:Scientz-04 型,宁波新芝生物科技股份有限公司。

1.3 试验方法

1.3.1 样品采集 从湖南省邵阳市 3 家卤菜店采集卤制

的湘味卤豆干。湘味卤豆干卤制完成时,立即用无菌采样袋密封包装并做好标记后带回实验室,放置于 25 °C 恒温培养箱中备用。

1.3.2 腐败菌的培养 取新鲜湘味卤豆干,将无菌采样袋密封包装并做好标记的样品放入 25 °C 恒温培养箱中模拟常温贮藏环境,开始培养。每天观察豆干的腐败情况,培养 5 d 后,豆干表面出现较多白色绒毛、豆干开始发软并有少许黏稠黄色液体,腐败情况较明显时,对腐败菌进行分离与纯化。

1.3.3 腐败菌的分离与纯化 在超净工作台内称取 25 g 腐败豆干放入盛有 225 mL 无菌生理盐水的均质袋中,置于微生物均质器内拍打,得到 10^{-1} 的样品匀液。用移液枪准确移取 1 mL 10^{-1} 样品匀液于装有 9 mL 无菌生理盐水的试管内,得到 10^{-2} 的样品匀液,以此类推进行 10 倍稀释。

每份菌悬液吸取 1 mL 匀液于培养皿中,再将尚未凝固的培养基倒入培养皿,轻轻摇晃均匀,盖上培养皿盖静置。待凝固后,将细菌于 (37 ± 1) °C 下培养 24 h,真菌于 (28 ± 1) °C 下培养 5 d。培养完成后,挑取其中的典型单一菌落,采用平板划线法转接 2~3 次进行分离与纯化。为避免腐败菌种类过于单一,用平板计数培养基(PCA)与马铃薯葡萄糖琼脂培养基(PDA)同时培养腐败菌,重复以上步骤。最终得到的纯菌株采用甘油管藏法保存并编号。

1.3.4 革兰氏染色 参照李旭东^[4]的方法。

1.3.5 细菌基因组 DNA 提取 参照 DNA 抽提试剂盒说明书^[5]。

1.3.6 细菌 16S rDNA 基因的 PCR 扩增 采用的正向引物为 27F (5'-AGAGTTTGATCCTGGCTCAG-3'),反向引物为 1492R (5'-CTACGCTACCTTGTTACGA-3')。引物由上海派森诺生物科技股份有限公司合成,扩增体系为 50 μ L,扩增片段大小约 1 500 bp。

PCR 反应程序:预变性 95 °C, 5 min;变性 95 °C, 30 s;退火 58 °C, 30 s;延伸 72 °C, 1 min, 30 s;终延伸 72 °C, 7 min;扩增循环次数为 35 次。

1.3.7 真菌基因组 DNA 的提取及 PCR 扩增 基因组 DNA 的提取按照提取试剂盒说明书提取,采用通用引物 ITS1、ITS4 扩增 ITS 序列。引物序列为 ITS1: 5'-TCCGTAGGTGAACCTGCGG-3', ITS4: 5'-TCCTCCGCTTATTGATATGC-3'^[6]。PCR 反应体系只需将引物替换成 ITS1 和 ITS4,其他反应物及含量不变。PCR 反应程序:预变性 95 °C, 5 min;变性 94 °C, 30 s;退火 58 °C, 30 s;延伸 72 °C, 60 s;终延伸 72 °C, 7 min;扩增循环次数为 35 次。

1.3.8 微生物回接及腐败现象分析

(1) 原料预处理:将无菌采样袋所取样品放入高压灭

菌锅,灭菌条件为 121 °C, 15 min。

(2) 微生物回接:分别吸取 1 mL 含菌量为 10^5 CFU/mL 的 9 种腐败菌菌液,接种至装有 3 540 g 样品的无菌采样袋中,密封包装。接菌后的样品分别放置于 37 °C 恒温培养箱中。观察样品腐败现象。

1.3.9 数据处理 将扩增出的菌株的 DNA 片段送到上海派森诺生物科技股份有限公司进行测序。将测序获得序列与 NCBI 数据库中的序列进行 BLAST 比对分析,后选取近似菌种序列采用 MAGE 6.0 软件构建系统发育树^[6]。

2 结果与讨论

2.1 腐败菌株形态特征

如图 1 所示,通过平板划线法,对腐败的湘味卤豆干产生的腐败菌进行分离纯化,将单个菌落进行革兰氏染色并镜检,共筛选出 9 株菌种,编号分别为 K3、K4、N、J、F、S、R、B、C。

菌落 K3 在 PCA 培养基上生长繁殖速度较快,表面呈圆润水滴状,有光泽半透明,为污白色,用接种环挑起有黏稠拉丝样,革兰氏染色为阴性。K4 菌落颜色为乳白色,表面皱褶边缘为啮齿状,呈雪花状,单个菌落四周为不规则多边形,菌落整体较干燥,镜检结果为杆状,通过菌株形态特征,推测 K3、K4 极有可能为芽孢杆菌属;N

菌落较大且不规则,颜色为白色菌落周围较完整,在灯光下表面透亮光滑,用接种环挑取时有蜡样质地,革兰氏阳性杆菌;J 菌落呈圆形,颜色为淡黄色,表面粗糙,有隆起,菌落四周为不规则的锯齿粉粒状,在 100 倍油镜中观察发现为杆菌,初步确定为芽孢杆菌;F 菌落半透明状,颜色为灰白色,用接种环挑取时发现可形成较长的丝状,黏度较大,镜检下成粗短杆菌;S 菌落颜色为乳白色,形成较小的菌落,菌落形状为圆形;R 菌落整体颜色偏白,无光泽,菌落表面较粗糙且菌落扁平,边缘不整齐,与韩翠萍等^[7]的检验结果一致,推测可能是溶血性葡萄球菌;B 菌落在 100 倍油镜中未看到芽孢和鞭毛,单个菌的形态为球杆状,菌的两端较圆润,无规则散乱或者成对排列;C 菌落正面随其生长由白色绒毛变为灰绿色绒毛,少量规则或不规则的放射状短纹,中部隆起而其他部分平坦,质地绒状,分生孢子呈球形或近球形,镜检呈典型的蓝绿色,帚状枝由 3~5 个不同程度叉开的梗基组成,充分成熟的梗基顶端膨大成囊状,并结合《真菌鉴定手册》^[8]对初筛菌进行初步鉴定。

2.2 分子生物学鉴定

2.2.1 优势腐败菌的分子鉴定 如图 2 所示,9 株细菌经过基因组 DNA 的提取,以总 DNA 为模板,通过利用 27F/1492R 引物进行 PCR 扩增;1 株真菌经过基因组

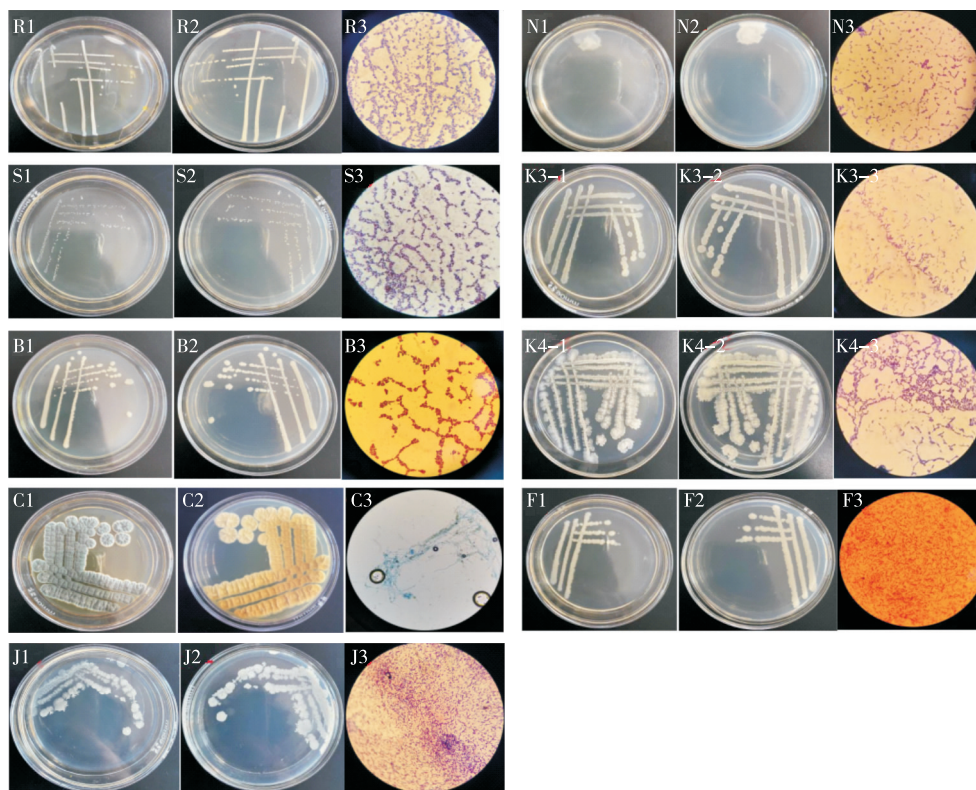


图 1 菌株菌落形态和微观结构

Figure 1 Colony morphology and microstructure of strains

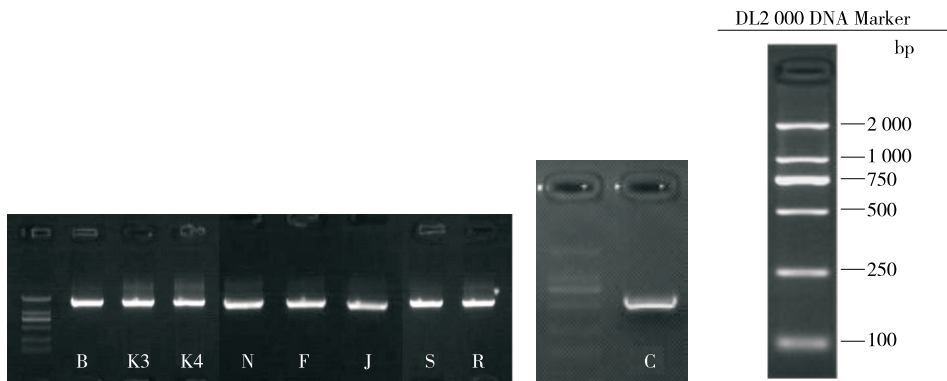


图2 PCR扩增鉴定胶图

Figure 2 Identification of glue by PCR

DNA的提取,以总DNA为模板,通过利用ITS1/ITS4引物,进行PCR扩增。取3 μ L PCR产物进行1%琼脂糖凝胶电泳检测操作后,真菌C在500 bp左右出现特异性条带。

2.2.2 构建腐败微生物的系统发育树 如图3和图4所示,将9株菌测序的结果上传至NCBI网站的GenBank数据中进行Blast比对^[6],发现KZ2780-3、KZ2780-4与已知的*Bacillus subtilis* (OP904234.1)处于同一分支,同源性达99%;NZ2559-1与已知的*Bacillus cereus* (MF988719.1)处于同一分支,同源性达100%;JZ2559-5与已知的*Bacillus amyloliquefaciens* (MH719374.1)处于同一分支,同源性达98%;FZ2559-2与已知的*Klebsiella sp* (KJ803939.1)处于同一分支,同源性达99%;SZ2641-5与已知的*Enterococcus faecium* (KY682304.1)处于同一分支,同源性达100%;RZ2641-7与已知的*Staphylococcus haemolyticus* (KF543100.1)处于同一分支,同源性达100%;BZ2780-1与已知的*Acinetobacter baumannii* (MH393496.1)处于同一分支,同源性达100%;CZ2780-5与已知的*Penicillium citrinum* (MT422089.1)处于同一分支,同源性达100%。

将与9株菌相似度高的序列采用MEGA7.0软件中的NJ法构建系统发育树,KZ2780-3、KZ2780-4、NZ2559-1、JZ2559-5与芽孢杆菌属聚于一支,亲缘关系较近,K3和K4鉴定为枯草芽孢杆菌、N为蜡样芽孢杆菌、J为解淀粉芽孢杆菌。试验发现,芽孢杆菌是导致卤豆干腐败的主要腐败菌,其中分离出枯草芽孢杆菌(KZ2780-3和KZ2780-4)、蜡样芽孢杆菌(NZ2559-1)、解淀粉芽孢杆菌(JZ2559-5),与柳玉^[9]探究的大豆致腐菌结果部分相同。在卤豆干制作过程中,高温处理虽能够杀死一部分不耐热的微生物,但芽孢杆菌对于高温、紫外线及多种化学物质都有很强的抗性,传统的高温杀菌方式不能很好地消除芽孢杆菌带来的不良影响。如何去除芽孢杆菌是延长保质期的关键点,现阶段超高温瞬时杀菌技术^[11]和等离

子体杀菌技术^[12]等物理方法对于芽孢杆菌有较强杀菌作用,可使抑菌最大化。此外,通过控制原料中芽孢杆菌的来源,减少初始微生物,也能从一定程度上直接影响大豆制品的食用安全和货架期。

2.2.3 6株腐败菌的系统发育树分析 如图3所示,将与6株菌相似度高的序列采用MEGA7.0软件中的NJ法构建系统发育树,C与橘青霉聚于一支,亲缘关系最近,鉴定为橘青霉(CZ2780-5);橘青霉是丝状真菌,青霉属,易使果蔬作物致病,推测可能是湘味卤豆干的贮藏方式不当,导致橘青霉污染。马征等^[13]采用纸片扩散法测定了香茅醛、冬青油以及两者的复配油对橘青霉的抑制效果。植物精油天然抑菌物质^[14]结合生物防腐剂^[15],为湘味卤豆干保鲜带来了新的思路。此外,橘青霉是需氧型微生物,不能在完全没有氧气的环境中正常生存繁殖,因此在豆干的贮藏过程中可以采用真空包装方式抑制其生长。

通过6株腐败菌的系统发育树可以发现S与屎肠球菌聚于一支,亲缘关系最近,鉴定为屎肠球菌(图3)。李博等^[16]研究发现GDL豆腐中屎肠球菌是主要的腐败菌,与试验分离出的屎肠球菌(SZ2641-5)结果一致。屎肠球菌主要来源于大豆的外表面和表皮中^[17],传统的原料清洗步骤和脱皮并不能去除,根据屎肠球菌的生长温度预测模型可知其最高生长温度为54.6 $^{\circ}$ C^[18],传统豆干制作过程中的煮浆温度一般为105 $^{\circ}$ C,煮浆时间6.0 min^[19]。因此,适当延长煮浆时间可有效解决屎肠球菌残留问题。

2.2.4 3株致病菌的系统发育树分析 如图4所示,将与3株菌相似度高的序列采用MEGA7.0软件中的NJ法构建系统发育树,F与肺炎克雷伯氏菌聚于一支,亲缘关系最近,鉴定为肺炎克雷伯氏菌(RZ2641-7)。肺炎克雷伯氏菌是一种食源性致病菌,一般在奶制品和肉类中广泛存在^[20],常导致腹泻呕吐、肺部感染、肝脓肿和菌血症等疾病^[21]。Dhara等^[22]研究发现肉桂醛能降低肺炎克雷伯氏菌的敏感性;张宁^[23]发现茶多酚对肺炎克雷伯氏菌的群体感应系统具有抑制作用,咖啡酸能消减肺炎克雷伯氏

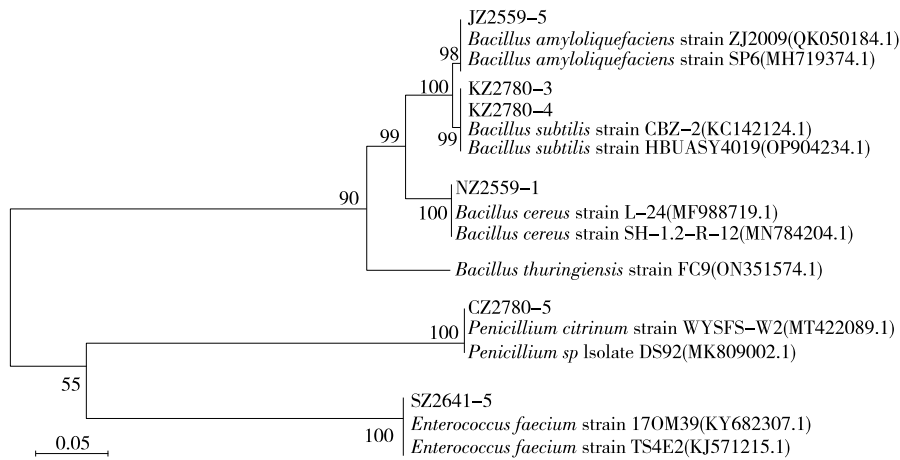


图 3 6 株腐败菌的系统发育树

Figure 3 Phylogenetic trees of six putrefaction strains

菌的耐药性;林碧莲等^[24]也证实壳寡糖对豆腐能够起到保鲜作用。肉桂醛、茶多酚、咖啡酸和壳寡糖等抑菌活性物质一般具有抗氧化、抗菌抗炎、天然无毒副作用等优点,但是在湘味卤豆干卤料中加入肉桂醛等物质是否能够起到保鲜效果还有待进一步研究。

通过图 4 的系统发育树,发现 B 与鲍氏不动杆菌聚于一支,亲缘关系最近,鉴定为鲍氏不动杆菌。R 与溶血性葡萄球菌聚于一支,亲缘关系最近,鉴定为溶血性葡萄球菌。鲍氏不动杆菌又称鲍曼不动杆菌,广泛存在于自然界中的水和土壤及呼吸道中,溶血性葡萄球菌能够定

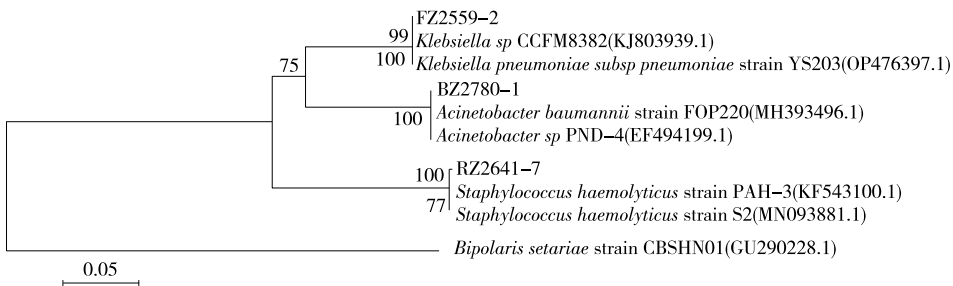


图 4 3 株致病菌的系统发育树

Figure 4 Phylogenetic trees of three pathogenic strains

植于人类皮肤和黏膜。鲍氏不动杆菌和溶血性葡萄球菌作为常见的机会性致病菌,需要一定致病条件,推测在湘味卤豆干生产过程中人员操作卫生可能存在不规范问题,导致人体上的病原菌进入豆干中。在工业化生产中,可以通过 HACCP 体系,严格把关人员与环境的卫生安全,可以在源头上解决溶血性葡萄球菌和鲍氏不动杆菌。

2.3 微生物回接现象及腐败现象分析

将上述 9 种微生物回接到已灭菌的湘味卤豆干中,37℃培养 72 h,观察腐败现象。根据表 2,蜡样芽孢杆菌(N)、屎肠球菌(S)、溶血性葡萄球菌(R)是导致胀袋的主要微生物;枯草芽孢杆菌(K3、K4)、解淀粉芽孢杆菌(J)、屎肠球菌(S)会导致样品产生臭味;而肺炎克雷伯氏菌(F)、鲍氏不动杆菌(B)、橘青霉(C)是导致湘味卤豆干发黏、质构变软、产生霉点的相关微生物。回接试验表明,以上 9 种微生物是引起豆干腐败变质的微生物。

表 1 微生物回接试验腐败现象[†]

Table 1 The phenomenon of spoilage in microbial backtesting

腐败菌种类	保存时间/h	渗水	胀袋	变软	发黏	发臭	霉点
K3	72	○	/	#	*	□	/
K4	72	○	/	#	*	□	/
N	72	/	+	#	*	/	/
J	72	/	/	#	/	□	/
F	72	/	/	/	*	/	/
S	72	/	+	#	/	□	/
R	72	/	+	#	*	/	/
B	72	/	/	#	/	/	/
C	72	/	/	/	/	/	◇

[†] /:无明显变化;○:渗水;+:胀袋;#:变软;*:变黏;□:发臭;◇:霉点。

3 结论

研究对市售湘味卤豆干的腐败菌进行分离纯化,并通过菌落形态学观察和 16S rDNA、ITS 分子鉴定等方法,对卤豆干中的腐败菌进行了分离鉴定,得到 9 株腐败微生物,枯草芽孢杆菌(*Bacillus subtilis*)、蜡样芽孢杆菌(*Bacillus cereus*)、解淀粉芽孢杆菌(*Bacillus amyloliquefaciens*)、肺炎克雷伯氏菌(*Klebsiella pneumoniae*)、屎肠球菌(*Enterococcus faecium*)、溶血性葡萄球菌(*Staphylococcus haemolyticus*)、鲍氏不动杆菌(*Acinetobacter baui*)、橘青霉(*Penicillium citri*)。其中,蜡样芽孢杆菌、屎肠球菌、溶血性葡萄球菌是导致胀袋的主要微生物;枯草芽孢杆菌、解淀粉芽孢杆菌、屎肠球菌产生臭味;而肺炎克雷伯氏菌、鲍氏不动杆菌、橘青霉是导致湘味卤豆干发黏、质构变软、产生霉点的相关微生物。

参考文献

- [1] 武杰, 朱飞, 赵颖. 五香豆干微波杀菌真空包装加工工艺研究[J]. 大豆科学, 2011, 30(4): 697-699.
WU J, ZHU F, ZHAO Y. Process research on microwave sterilization and vacuum packaging of fragrant dried bean curd[J]. Soybean Science, 2011, 30(4): 697-699.
- [2] 郑玉玺. 盒装豆腐腐败菌多样性及品质变化研究[D]. 广州: 华南理工大学, 2018: 3.
ZHENG Y X. Study on spoilage bacteria diversity and quality changes in boxed Tofu[D]. Guangzhou: South China University of Technology, 2018: 3.
- [3] 彭玲慧, 吴菲菲, 李化强, 等. 休闲卤豆干中腐败菌的分离鉴定[J]. 安徽农业科学, 2015, 43(32): 154-156.
PENG L H, WU F F, LI H Q, et al. Isolation and identification of spoilage bacteria in leisure dried beancurd[J]. Journal of Anhui Agricultural Sciences, 2015, 43(32): 154-156.
- [4] 李旭东. 羽毛针禾共生菌的分离鉴定及其植株表型多样性的研究[D]. 石河子: 石河子大学, 2019: 18-24.
LI X D. Isolation and identification of the *Stipagrostis pennata* symbiotic bacteria and studying on plant phenotypic diversity[D]. Shihezi: Shihezi University, 2019: 18-24.
- [5] 徐云凤, 张欣, 褚泽军, 等. 一株具有高效抑菌活性乳酸菌的分离鉴定及生长特性研究[J]. 食品与机械, 2021, 37(3): 12-14.
XU Y F, ZHANG X, CHU Z J, et al. Isolation, identification and growth characteristics of a strain of lactic acid bacteria with efficient antimicrobial activity[J]. Food & Machinery, 2021, 37(3): 12-14.
- [6] 林丽丹, 赵良忠, 黄展锐, 等. 湘派卤制品卤汁中黄曲霉毒素产毒菌的筛选鉴定及其产毒能力测定[J]. 食品与发酵工业, 2023, 49(8): 170-176.
LIN L D, ZHAO L Z, HUANG Z R, et al. Screening, identification and toxin-producing ability analysis of aflatoxin producing strains in brine of Xiangpai brined products[J]. Food and Fermentation Industries, 2023, 49(8): 170-176.
- [7] 韩翠萍, 葛子榜, 刘庆冠, 等. 豆腐中主要腐败菌的分离鉴定及与品质的相关性分析[J]. 中国食品学报, 2019, 19(7): 283-291.
HAN C P, GE Z B, LIU Q G, et al. Isolation and identification of main spoilage bacteria in Tofu and its correlation with quality[J]. Journal of Chinese Institute of Food Science and Technology, 2019, 19(7): 283-291.
- [8] 魏景超. 真菌鉴定手册[M]. 上海: 上海科学技术出版社, 1979: 129-133.
WEI J C. Fungal identification handbook[M]. Shanghai: Shanghai Scientific & Technical Publishers, 1979: 129-133.
- [9] 柳玉. 大豆籽粒中微生物的分布及黑龙江大豆致腐菌的种类比较[D]. 北京: 中国农业大学, 2007: 5-6.
LIU Y. The distribution of microorganisms in soybean grains and the comparison of the types of soybean spoilage fungi in Heilongjiang[D]. Beijing: China Agricultural University, 2007: 5-6.
- [10] VIDAL-QUIST J C, ROGERS H J, MAHENTHIRALINGAM E, et al. *Bacillus thuringiensis* colonises plant roots in a phylogeny-dependent manner [J]. FEMS Microbiol Ecol, 2013, 86 (3): 474-489.
- [11] 陈浩. 休闲豆制品超高压杀菌工艺及产品品质研究[D]. 邵阳: 邵阳学院, 2015: 29-36.
CHEN H. Study on ultra high pressure sterilization process and quality of leisure bean products [D]. Shaoyang: Shaoyang University, 2015: 29-36.
- [12] FRÍAS E, IGLESIAS Y, ALVAREZ-ORDÓÑEZ A, et al. Evaluation of cold atmospheric pressure plasma (CAPP) and plasma-activated water (PAW) as alternative non-thermal decontamination technologies for Tofu: Impact on microbiological, sensorial and functional quality attributes [J]. Food Research International, 2020, 129: 108859.
- [13] 马征, 唐欢. 香茅醛、冬青油及其复配物熏蒸和绝氧处理对橘青霉的抑制作用[J]. 香料香精化妆品, 2022, 43(3): 19-24.
MA Z, TANG H. Inhibition effects of fumigation and deoxygenation treatment of citronellal, wintergreen oil and their composite essence on *Penicillium citrinum* [J]. Flavour Fragrance Cosmetics, 2022, 43(3): 19-24.
- [14] 孟庆磊, 贾伟娟, 郝珊珊, 等. 蜡样芽孢杆菌生物膜形成的调控及其去除方法的研究进展[J]. 中国病理生理杂志, 2023, 39(6): 1127-1135.
MENG Q L, JIA W J, XI S, et al. Progress in regulation of *Bacillus cereus* biofilm formation and its removal methods [J]. Chinese Journal of Pathophysiology, 2023, 39(6): 1127-1135.
- [15] AN J, ZHU W, LIU Y, et al. Purification and characterization of a novel bacteriocin camt2 produced by *Bacillus amyloliquefaciens* isolated from marine fish epinephelus areolatus[J]. Food Control, 2015, 51: 278-282.

- [16] 李博, 籍保平. 葡萄糖酸内酯豆腐生产过程中微生物的变化及豆腐中主要腐败菌的鉴定[J]. 食品科学, 2006(5): 77-82.
LI B, JI B P. Isolation and identification of major purified bacteria in glucono-delta-lactone Tofu processing[J]. Food Science, 2006(5): 77-82.
- [17] 曲敏, 陈红丽, 王宇, 等. 传统豆制品腐败菌污染及抑制研究进展[J]. 食品科学技术学报, 2022, 40(3): 167-178.
QU M, CHEN H L, WANG Y, et al. Research progress of spoilage bacteria pollution and inhibition of traditional soy products[J]. Journal of Food Science and Technology, 2022, 40(3): 167-178.
- [18] 李博, 李里特, 辰巳英三, 等. 豆腐(豆浆)中屎肠球菌生长的温度预测模型[J]. 中国农业大学学报, 2003, 8(2): 49-54.
LI B, LI L T, TATSUMI E, et al. Predictive model for effect of temperature on the growth of *E. faecium* in tofo (soymilk) [J]. Journal of China Agricultural University, 2003, 8(2): 49-54.
- [19] 何婉莹, 黄展锐, 赵良忠, 等. 生浆法制作豆腐的工艺优化[J]. 现代食品科技, 2021, 37(10): 188-196.
HE W Y, HUANG Z R, ZHAO L Z, et al. Optimization of Tofo production from filtered raw soybean milk [J]. Modern Food Science and Technology, 2021, 37(10): 188-196.
- [20] BOBBADI S, KIRANMAYI CHINNAM B, NELAPATI S, et al. Occurrence and genetic diversity of ESBL producing *Klebsiella* species isolated from livestock and livestock products[J]. Journal of Food Safety, 2019, 40(1): e12738.
- [21] 陈金玉, 刘单阳, 蓝蔚青, 等. 3 种天然产物联合抗生素对肺炎克雷伯氏菌的协同抗菌作用[J]. 上海海洋大学学报, 2022, 31(2): 586-593.
CHEN J Y, LIU D Y, LAN W Q, et al. Synergistic antibacterial effect of three natural products combined with antibiotics on *Klebsiella pneumoniae* [J]. Journal of Shanghai Ocean University, 2022, 31(2): 586-593.
- [22] DHARA L, TRIPATHI A. Cinnamaldehyde: A compound with antimicrobial and synergistic activity against esbl-producing quinolone-resistant pathogenic *Enterobacteriaceae* [J]. European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases, 2019, 39(1): 65-73.
- [23] 张宁. 基于群体感应途径探讨茶多酚对肺炎克雷伯菌毒力及耐药性的作用[D]. 南昌: 南昌大学, 2020: 17-18.
ZHANG N. Effects of tea polyphenols on the virulence and drug resistance of *Klebsiella pneumoniae* based on quorum sensing[D]. Nanchang: Nanchang University, 2020: 17-18.
- [24] 林碧莲, 陈浩, 代传芝, 等. 壳寡糖的酶法可控制备及其在预包装豆腐保鲜中的应用[J]. 食品与发酵工业, 2023, 49(12): 136-143.
LIN B L, CHEN H, DAI C Z, et al. Enzymatic controlled preparation of chitosan oligosaccharides and its application in preservation of pre-packaged tofu [J]. Food and Fermentation Industries, 2023, 49(12): 136-143.
-
- (上接第 135 页)
- [11] MASEKO K H, REGNIER T, ANYASI T A, et al. Discrimination of *Musa* banana genomic and sub-genomic groups based on multi-elemental fingerprints and chemometrics [J]. Journal of Food Composition and Analysis, 2022, 106: 104334.
- [12] 王辉, 张帆, 刘晓凤, 等. 基于 DarkNet-53 和 YOLOv3 的水果图像识别[J]. 东北师大学报(自然科学版), 2020, 52(4): 60-65.
WANG H, ZHANG F, LIU X F, et al. Fruit image recognition based on DarkNet-53 and YOLOv3 [J]. Journal of Northeast Normal University (Natural Science Edition), 2020, 52(4): 60-65.
- [13] 王灵敏, 蒋瑜. 基于深度学习的香蕉成熟度自动分级[J]. 食品与机械, 2022, 38(11): 149-154.
WANG L M, JIANG Y. Automatic classification of banana ripeness based on deep learning[J]. Food & Machinery, 2022, 38(11): 149-154.
- [14] 刘海军, 赵文锋, 刘韵锋, 等. 基于 ANN 和贝叶斯优化算法的香蕉成熟度检测模型研究[J]. 现代农业装备, 2021, 42(5): 42-46.
LIU H J, ZHAO W F, LIU Y F, et al. Model for detecting banana maturity based on artificial neural network and bayesian optimization algorithm[J]. Modern Agricultural Equipment, 2021, 42(5): 42-46.
- [15] KAHFI A H, HASAN M, HASANAH R L. Classification of banana ripeness based on color and texture characteristics [J]. Journal of Computer Networks, Architecture and High Performance Computing, 2023, 5(1): 10-17.
- [16] SARANYA N, SRINIVASAN K, PRAVIN K S K. FBCNN-TSA: An optimal deep learning model for banana ripening stages classification[J]. Journal of Intelligent & Fuzzy Systems, 2023, 44(3): 5 257-5 273.
- [17] HE W W, HE H Y, WANG F L, et al. Rapid and uninvase characterization of bananas by hyperspectral imaging with extreme gradient boosting (XGBoost) [J]. Analytical Letters, 2022, 55(4): 620-633.
- [18] 范志文, 光翠娥, 干建平. 基于反向传播人工神经网络的酱牛肉中金黄色葡萄球菌的生长模型[J]. 食品与生物技术学报, 2020, 39(7): 83-90.
FAN Z W, GUANG C E, GAN J P. Growth model of *Staphylococcus aureus* in soy beef based on backpropagation artificial neural network [J]. Journal of Food Science and Biotechnology, 2020, 39(7): 83-90.
- [19] UPADHYAY A, SINGH S, KAOJIYA S. Segregation of ripe and raw bananas using convolutional neural network [J]. Procedia Computer Science, 2023, 218: 461-468.
- [20] 高立秀, 陈得丽, 万兴森, 等. 基于机器学习的切丝后含水率预测及控制方法[J]. 食品与机械, 2021, 37(4): 189-194, 211.
GAO L X, CHEN D L, WAN X M, et al. Prediction and control method of moisture content after cutting based on machine learning[J]. Food & Machinery, 2021, 37(4): 189-194, 211.