

DOI: 10.13718/j.cnki.xdzk.2024.09.009

IQRA, 李静, 刘玉凌, 等. 胖袋榨菜中 1 株产气微生物的分离和鉴定 [J]. 西南大学学报(自然科学版), 2024, 46(9): 97-104.

# 胖袋榨菜中 1 株产气微生物的分离和鉴定

IQRA<sup>1</sup>, 李静<sup>1</sup>, 刘玉凌<sup>2</sup>, 陈孝勇<sup>1</sup>, 贺稚非<sup>1</sup>, 杨吉霞<sup>1</sup>

1. 西南大学 食品科学学院/川渝共建特色食品重庆市重点实验室, 重庆 400715;

2. 重庆市渝东南农业科学院, 重庆 涪陵 408000

**摘要:** 胖袋是榨菜货架期常见的质量问题, 为了获得引起胖袋的微生物种类和生理生化性质数据, 从胖袋榨菜中分离纯化微生物, 经过三糖铁、煌绿胆盐肉汤实验筛选出产气菌株, 用榨菜污染实验验证, 进一步分析菌株的生理生化性质. 通过研究确定 1 株菌株 cq8, 在煌绿胆盐肉汤培养基中产气, 污染袋装榨菜并且抽真空封装, 引起胖袋, 经检测气体为 CO<sub>2</sub>, H<sub>2</sub>, NH<sub>3</sub>, 用 16S rRNA 基因测序鉴定为阿氏肠杆菌(*Enterobacter asburia*), 它可以代谢精氨酸产气, 利用山梨醇, 产生蛋白酶使明胶液化, 产生过氧化氢酶.

**关键词:** 榨菜; 胖袋; 产气; 污染实验; 阿氏肠杆菌

中图分类号: TS255.5

文献标志码: A

文章编号: 1673-9868(2024)09-0097-08

开放科学(资源服务)标识码(OSID):



## Isolation and Identification of A Gas-Producing Bacterial Strain from Gassy Pouch Zhacai

IQRA<sup>1</sup>, LI Jing<sup>1</sup>, LIU Yuling<sup>2</sup>,  
CHEN Xiaoyong<sup>1</sup>, HE Zhifei<sup>1</sup>, YANG Jixia<sup>1</sup>

1. College of Food Science, Southwest University/Chongqing Key Laboratory of Specialty Food Co-Built by Sichuan and Chongqing, Chongqing 400715, China;

2. Chongqing Southeast Agricultural Science Research Institute, Fuling Chongqing 408000, China

**Abstract:** Gassy pouch is a common quality issue in the shelf life of bag-packaged Zhacai. In order to obtain data of species, physiological and biochemical properties of microorganisms causing gassy pouch, this study isolated and purified the bacterial strains from swollen bag of packaged Zhacai samples, and the strains were subjected to the trisaccharide iron agar slant and brilliant green lactose bile broth (BGLB, with inverted tubes) test to screen the gas-producing strains. The strains were verified through contamin-

收稿日期: 2024-03-18

基金项目: 国家自然科学基金青年项目(31801529); 重庆市自然科学基金面上项目(CSTB2023NSCQ-MSX0521); 涪陵区科技局计划项目(FLKJ 2023AAN1002); 重庆市现代农业产业技术体系资助项目(CQMAITS202307); 四川省教育厅川菜发展研究中心科研项目(CC21Z30).

作者简介: IQRA, 硕士研究生, 主要从事传统发酵食品研究.

通信作者: 杨吉霞, 博士, 副教授.

tion experiments of Zhacai, and detailed physiological and biochemical characteristics were analyzed to get the basic knowledge of the strains. Through the experiments, a strain cq8 was identified to produce gas in BGLB medium. A contamination experiment was conducted by artificially adding the bacterial culture of the strain cq8 to the bags of Zhacai and sealed the bags with a vacuum packaging machine. The strain caused swollen bag phenomenon, and the gas components inside the package were determined to be  $\text{CO}_2$ ,  $\text{H}_2$ ,  $\text{NH}_3$  with the gas tube method. The species of cq8 was identified by 16S rRNA gene sequencing as *Enterobacter asburia*. It can metabolize arginine to produce gas, metabolize sorbitol, produce protease to liquefy gelatin, and produce catalase. This study can provide reference data for controlling gassy pouch issue of Zhacai through the actions on microorganisms more precisely.

**Key words:** Zhacai; gassy pouch; gas-producing; contamination experiment; *Enterobacter asburia*

重庆市涪陵区有“榨菜之乡”的美誉,涪陵榨菜与德国的甜酸甘蓝、欧洲的酸黄瓜并称世界 3 大名腌菜<sup>[1]</sup>,它由茎瘤芥(*Brassica juncea*)经过“3 腌 3 榨”加工而成<sup>[2]</sup>.第 1 次腌制向茎瘤芥中加入 5% 的盐,去除其中水分;第 2 次腌制再添加 6%~8% 的盐,这是榨菜风味形成的主要阶段;第 3 次加入 10% 左右的食盐腌制 4~6 个月,使榨菜风味进一步完善,同时高盐能抑制大部分微生物的生长<sup>[3]</sup>.腌制完成的茎瘤芥通过切割、脱盐、真空拌料、装袋、灭菌等步骤加工成榨菜成品.

榨菜主要经天然微生物发酵,腌制时间较长,涉及到的微生物种类繁多,环境和青菜头原料表面可能存在腐败微生物,尽管腌制结束后有脱盐、包装(抽真空)、杀菌等步骤,但某些腐败微生物能耐受较高的盐浓度、高温、厌氧等逆境,在抽真空、杀菌后的包装中仍可能存活并生长繁殖,最终引起榨菜腐败变质<sup>[4-5]</sup>.如果腐败微生物产生气体,则会出现胖袋现象,它是一种常见的榨菜变质现象<sup>[6]</sup>.目前已有文献进行了榨菜胖袋的研究,如采用辐照处理<sup>[6]</sup>、大蒜<sup>[7]</sup>、超高压杀菌<sup>[8-9]</sup>等方法抑制腐败微生物的生长,以控制胖袋现象,然而至今获得的引起胖袋现象的微生物种类的信息仍然很少.吴丹等<sup>[10]</sup>鉴定了 2 株菌株分别为坚强芽孢杆菌和蜡状芽孢杆菌,除此之外鲜有报道.获得更多的微生物种类和生物学信息,可有针对性、高效地控制胖袋微生物,减少货架期内榨菜的变质现象.本研究从胖袋榨菜中分离纯化微生物,通过产气实验筛选出产气菌株,用污染实验验证胖袋现象,再进一步分析菌株的生理生化性质.此外,采用顶空固相微萃取(HS-SPME)和气相色谱质谱(GC-MS)联用检测正常榨菜和胖袋榨菜的挥发性成分,对比分析成分的差异显著性.

## 1 材料与方法

### 1.1 主要材料和试剂

#### 1.1.1 主要材料

从市场上采集袋装正常榨菜和胖袋榨菜样品各 5 件.

#### 1.1.2 主要试剂

营养肉汤(NB),北京奥博星生物技术有限公司;YM 培养基(霉菌和酵母菌增菌培养基),青岛海博生物技术有限公司;厌氧产气袋(2.5 L),日本三菱公司;三糖铁琼脂培养基(TSI),北京陆桥技术有限公司;煌绿乳糖胆盐肉汤(BGLB),青岛海博生物技术有限公司;2×Hieff Canace<sup>®</sup> PCR Master Mix (No Dye),翌圣生物科技(上海)股份有限公司;细菌基因组 DNA 提取试剂盒,天根生物科技(北京)有限公司;气体检测管,北京华瑞博远科技发展有限公司;明胶液化生化管(军团菌),青岛海博生物技术有限公司;肠杆菌科细菌生化编码鉴定管,北京陆桥技术有限公司;普通琼脂糖凝胶 DNA 回收试剂盒,天根生化科技(北京)有限公司.

### 1.2 主要仪器

凝胶成像系统,英国 Syngene 公司;PCR 仪(T100 梯度),美国伯乐 Bio-Rad 公司;气相色谱-质谱联用仪(GCMS-QP2010Plus 型),日本 SHIMADZU 公司;75  $\mu\text{m}$  萃取纤维头(CAR/PDMS 型),美国 Supelco 公司.

### 1.3 实验方法

#### 1.3.1 胖袋榨菜中微生物的分离

取 25 g 胖袋榨菜样品, 在无菌条件下用搅拌机打碎, 转移至带滤网的无菌均质袋中, 加入 225 mL 无菌生理盐水稀释, 拍打均质 5 min, 滤液即为  $10^{-1}$  倍稀释液, 继续用无菌生理盐水做 10 倍梯度稀释至  $10^{-5}$ 。取  $100\ \mu\text{L}$   $10^{-2}$ ,  $10^{-3}$ ,  $10^{-4}$ ,  $10^{-5}$  梯度稀释液涂布于 YM 培养基、NB 固体平板中, 放入厌氧罐中加入厌氧产气袋, 倒置放入  $37\ ^\circ\text{C}$  的恒温培养箱中培养 48 h<sup>[4]</sup>。选取菌落数在 30~300 的平板, 根据菌落形态特征挑取单菌落, 划线分离 3 次以上, 直至纯化, 观察并描述菌株的菌落形态和显微形态(革兰氏染色)。

#### 1.3.2 产气微生物的筛选和验证实验

将纯化后的菌株接种于三糖铁琼脂培养基斜面、煌绿乳糖胆盐肉汤(含倒管)中,  $30\ ^\circ\text{C}$  培养 48 h 后观察, 如果菌株出现产气现象, 则进一步用污染实验验证。预先将榨菜分装 20 g/袋, 于  $121\ ^\circ\text{C}$  下灭菌 15 min, 制备无菌榨菜。将产气菌株接种于 NB 培养基中培养至对数期, 于 5 000 r/min 离心 5 min 沉淀菌细胞, 用无菌 PBS 缓冲液清洗菌细胞, 再加入 PBS 悬浮菌细胞至  $OD_{540}$  为 1.0, 取  $20\ \mu\text{L}$  上述菌液加入无菌榨菜中(20 g/袋), 抽真空密封, 于  $30\ ^\circ\text{C}$  培养箱中培养, 重复 5 次, 如果出现胖袋现象, 则可验证该菌株为引起胖袋的菌株。采用气体检测管检测所产生的气体种类, 包括  $\text{CO}_2$ ,  $\text{H}_2$ ,  $\text{NH}_3$ ,  $\text{H}_2\text{S}$ ,  $\text{CO}$ ,  $\text{NO}_2$ ,  $\text{CH}_3\text{OH}$  等 7 种气体。

#### 1.3.3 微生物的种类鉴定

按照细菌基因组 DNA 提取试剂盒中的方法提取胖袋菌株的 DNA, 用通用引物 27 F(5'-AGAGTTT GATCMTGGCTCAG-3')和 1 541 R(5'-AAGGAGGTGATCCAGCC-3')扩增 16S rRNA 基因。PCR 反应体系为:  $12.5\ \mu\text{L}$  预混缓冲液( $2\times$  Hieff Canace<sup>®</sup>),  $0.5\ \mu\text{L}$  引物 ( $10\ \text{mmol/L}$ ),  $2\ \mu\text{L}$  DNA,  $10\ \mu\text{L}$  ddH<sub>2</sub>O。PCR 反应程序为:  $94\ ^\circ\text{C}$  预变性 5 min,  $94\ ^\circ\text{C}$  变性 45 s;  $55\ ^\circ\text{C}$  复性 45 s,  $72\ ^\circ\text{C}$  延伸 90 s, 共 30 次循环;  $72\ ^\circ\text{C}$  延伸 10 min。用 SanPrep 柱式 PCR 产物纯化试剂盒纯化后, 送至生工生物工程(上海)有限公司做双向测序。

#### 1.3.4 微生物的生化性质分析

采用 E75/15 肠杆菌科细菌生化编码鉴定管检测菌株的 15 个生化项目, 参照文献[11-14]的方法检测过氧化氢酶、氧化酶、明胶液化、甲基红等。

#### 1.3.5 袋装榨菜中挥发性气体成分分析

采用顶空固相微萃取和气相色谱质谱联用分析榨菜样品中的挥发性成分。参照李莹等<sup>[15]</sup>的方法并稍做修改, 取 5 g 榨菜样品, 搅碎后置于 20 mL 的顶空瓶中, 加入  $10\ \mu\text{L}$  癸酸乙酯( $5\ \mu\text{g/mL}$ , 溶于乙醇)作为内标, 顶空瓶在  $80\ ^\circ\text{C}$  恒温水浴中平衡 5 min 后, 推出纤维头吸附 35 min, 插入 GC 进样口在  $250\ ^\circ\text{C}$  下解析 5 min。GC 条件: 初温  $40\ ^\circ\text{C}$ , 保持 3 min, 以  $5\ ^\circ\text{C/min}$  的速度上升至  $10\ ^\circ\text{C}$ , 保持 2 min, 以  $10\ ^\circ\text{C/min}$  上升至  $250\ ^\circ\text{C}$ , 保持 1 min; 载气为高纯度氦气, 柱流量为  $1.0\ \text{mL/min}$ , 不分流。MS 条件: 接口温度  $250\ ^\circ\text{C}$ , 离子源温度  $250\ ^\circ\text{C}$ , 质子扫描范围 35~200 m/z。通过 NIST 17 谱库进行自动检索以对挥发性成分进行定性。胖袋/正常榨菜样品分别有 5 件, 每个样品重复检测 3 次, 结果以  $\bar{x}\pm s$  表示, 使用 SPSS 25 软件对数据进行独立样本  $t$  检验,  $p<0.05$  表示差异有统计学意义。

## 2 结果与分析

### 2.1 产气微生物的筛选和污染验证实验结果

将胖袋榨菜中微生物进行培养、划线分离纯化, 获得 45 株菌株。经过三糖铁琼脂培养基和煌绿乳糖胆盐肉汤(BGLB)(含倒管)实验, 筛选出产气菌株 1 株(cq8), 用污染实验验证 cq8 能够引起胖袋现象。

三糖铁琼脂培养基实验结果如图 1a, 琼脂斜面部分呈红色, 底部柱状部分呈黄色, 说明菌株 cq8 只能代谢葡萄糖, 不能代谢乳糖和蔗糖, 因为葡萄糖的浓度为乳糖、蔗糖的 1/10, 菌株只能利用葡萄糖产生少量的酸使培养基变黄, 斜面部分因与空气接触氧化, 与细菌代谢生成的碱性产物中和而呈红色, 底部因缺氧不能被氧化而保持黄色。琼脂没有变黑现象说明菌株不产生  $\text{H}_2\text{S}$  气体。煌绿乳糖胆盐肉汤(BGLB)实验结果如图 1b, 液体由蓝色变为黄色并且混浊, 液面有菌膜, 倒管中出现气泡, 说明菌株 cq8 能够代谢乳糖

产酸，有产气现象，能形成生物膜。

在 20 g 榨菜中人为添加 cq8 菌液(对数期， $OD_{540}=1.0$ )，装袋抽真空密封，在 30 ℃ 培养箱中培养 14 d，出现胖袋，证实该菌株能引起胖袋现象(图 1c)。采用气体检测管检测， $CO_2$ ， $H_2$ ， $NH_3$  的检测结果为阳性，而  $H_2S$ ， $CO$ ， $NO_2$ ， $CH_3OH$  的检测结果为阴性，如表 1。

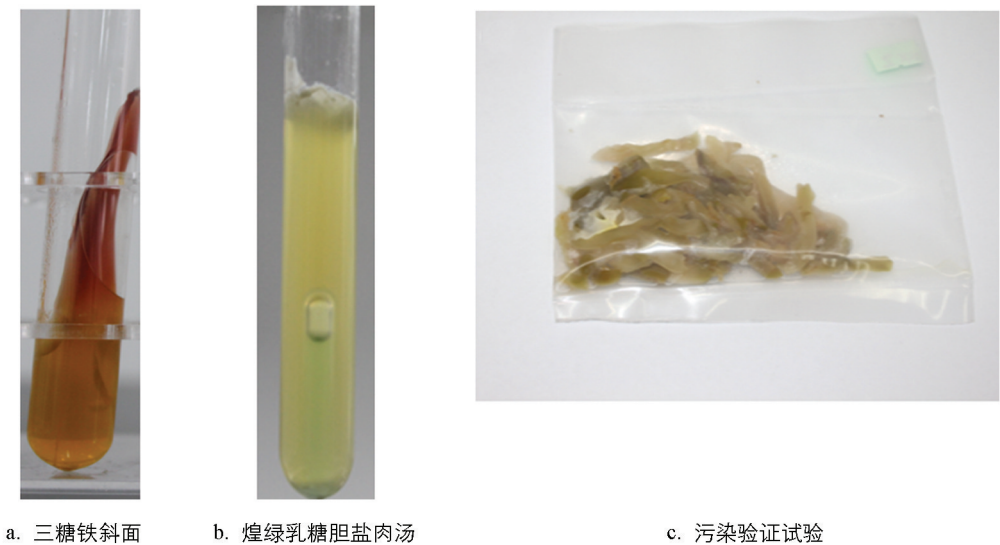


图 1 产气微生物的筛选和污染验证实验结果

表 1 污染验证实验中胖袋气体成分检测结果(气体管法)

| 污染的菌株 | 气体成分   |       |        |        |      |        |          |
|-------|--------|-------|--------|--------|------|--------|----------|
|       | $CO_2$ | $H_2$ | $NH_3$ | $H_2S$ | $CO$ | $NO_2$ | $CH_3OH$ |
| cq8   | +      | +     | +      | —      | —    | —      | —        |

注：+为阳性；—为阴性。

2.2 产气菌株的形态学和生理生化特征

cq8 的菌落形态特征(图 2a)：菌落直径在 0.5~2.5 mm，圆形、表面光滑、白灰色、中间凸起。cq8 的显微形态特征(图 2b)：革兰氏染色阴性，短杆状。表 2 列出了 cq8 的生理生化实验结果，它不能利用赖氨酸和苯丙氨酸，可以利用鸟氨酸，并且可以利用精氨酸产生氨气；在糖代谢特性上，能利用山梨醇，不能利用蜜二糖、侧金盏花醇、棉子糖；在产酶特性上，可以产生蛋白酶使明胶液化，能产生过氧化氢酶，不能产生氧化酶。

表 2 产气菌株 cq8 的生理生化实验结果

| 生化项目 | 实验结果 | 生化项目  | 实验结果 |
|------|------|-------|------|
| 动力   | +    | 山梨醇   | +    |
| 赖氨酸  | —    | 蜜二糖   | —    |
| 鸟氨酸  | +    | 侧金盏花醇 | —    |
| 柠檬酸盐 | +    | 棉子糖   | —    |
| 硫化氢  | —    | 革兰氏染色 | —    |
| 尿素   | —    | 过氧化氢酶 | +    |
| 吲哚   | —    | 明胶液化  | +    |
| V-P  | +    | 甲基红   | —    |
| 苯丙氨酸 | —    | 精氨酸产氨 | +    |
| 甘露醇  | —    | 氧化酶   | —    |
| 肌醇   | —    |       |      |

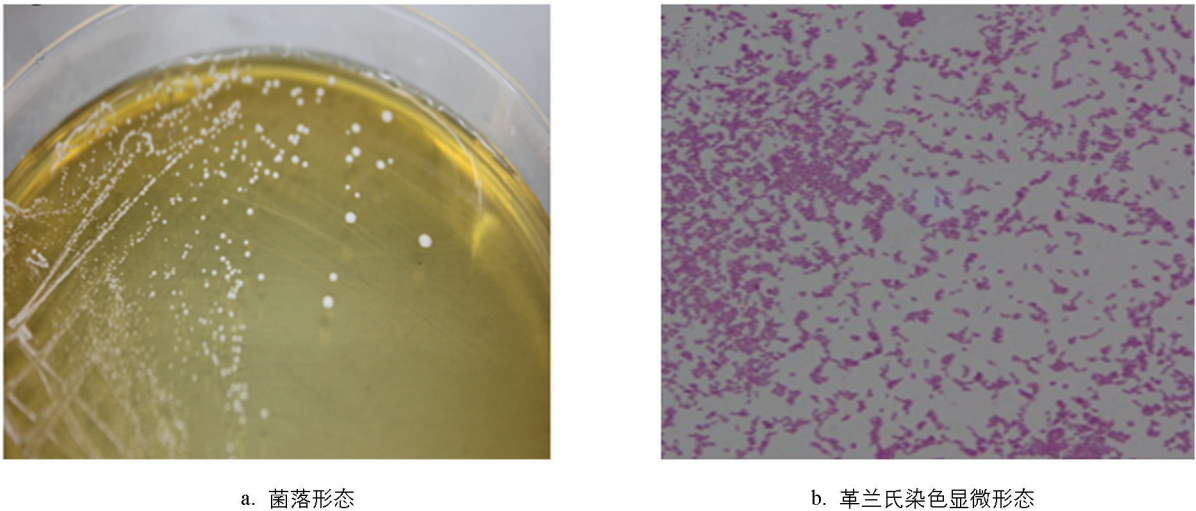


图 2 产气菌株 cq8 的菌落形态和革兰氏染色显微形态

2.3 产气菌株的菌种鉴定

对 cq8 菌株的 16S rRNA 基因扩增、测序，得到序列 1 342 bp，将序列信息输入 NCBI 的 Blast 中，与 GenBank 数据库中的标准菌株序列进行比对，获得菌种鉴定结果为阿氏肠杆菌(*Enterobacter asburiae*)，覆盖度为 99.99%，相似度为 99.78%。采用 MEGA 6.0 软件对 cq8 菌株和标准菌株的 16S rRNA 基因序列构建系统进化树(图 3)，采用邻位连接(Neighbor-Joining, NJ)方法，Kimura 的双参数模型法计算进化距离矩阵，1 000 个 bootstrap 重复数据评价树拓扑结构的稳定性<sup>[16]</sup>。

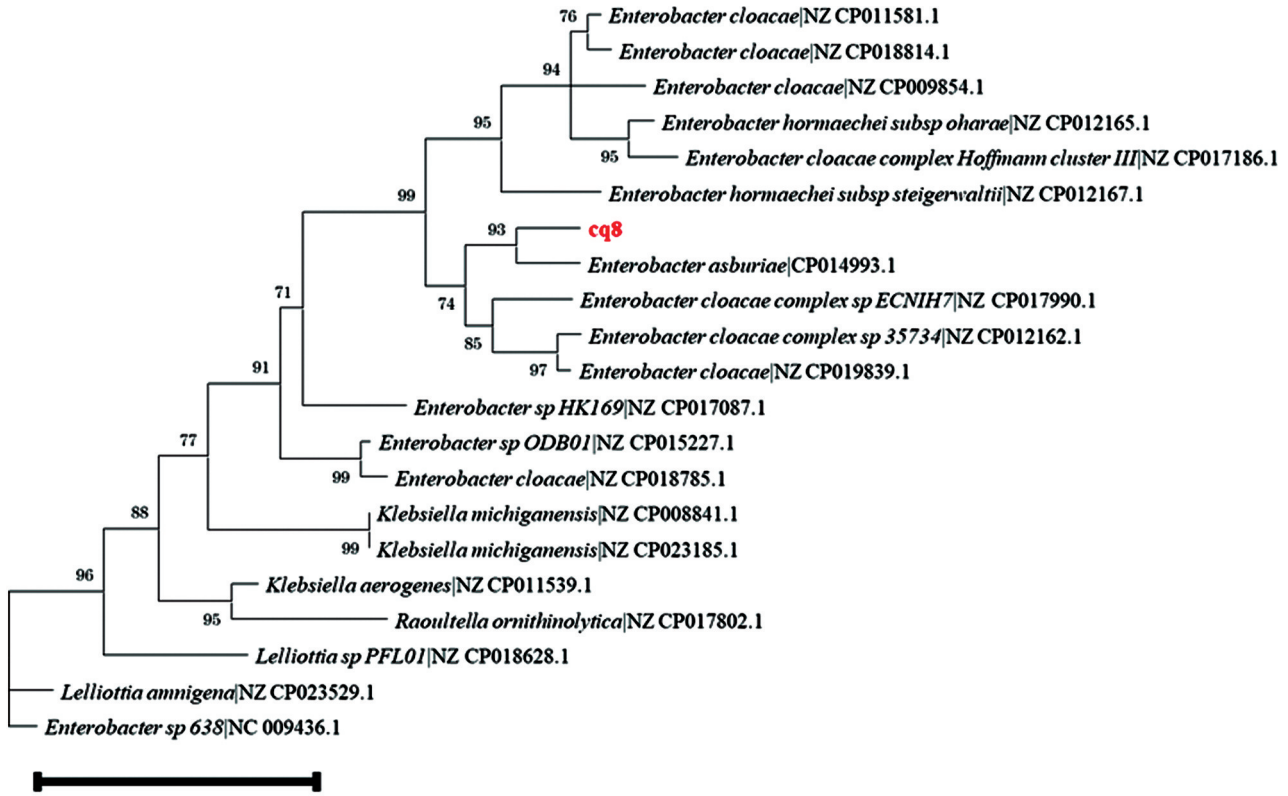


图 3 产气菌株 cq8 的 16S rRNA 基因序列系统进化树

2.4 胖袋榨菜中主要挥发性气体成分检测

采用 GC-MS 检测胖袋、正常榨菜中的主要挥发性气体成分，结果如表 3。共鉴定出 10 种物质，其中醇

类、酯类、酸类、其他成分分别有 1, 1, 4, 4 种. 对比正常榨菜和胖袋榨菜, 挥发性成分的差异主要体现在酸性挥发物上, 如十五烷酸、十八烯酸、二十碳烯酸在胖袋榨菜中的相对含量明显高于正常榨菜, 可能是微生物在胖袋榨菜中利用营养物质产生酸性物质. 此外氢气在胖袋榨菜中的含量也明显升高, 这与污染实验产生了氢气的结果一致.

表 3 胖袋和正常榨菜中主要挥发性气体成分( $n=5$ )

| 挥发性气体成分                | 正常榨菜/%    | 胖袋榨菜/%       |
|------------------------|-----------|--------------|
| 十五烷酸                   | 1.21±0.12 | 1.62±0.10**  |
| 十八碳三烯酸(亚麻酸)            | 3.37±0.34 | 3.78±0.26    |
| 二十碳烯酸                  | 1.09±0.24 | 1.87±0.25*   |
| 十八烯酸                   | 0.46±0.14 | 2.56±0.23*** |
| 十九烷                    | 2.56±0.13 | 3.00±0.64    |
| 雪松醇                    | 1.32±0.25 | 1.78±0.24    |
| 2,2,4-三甲基-1,3-戊二醇二异丁酸酯 | 0.85±0.34 | 1.12±0.15    |
| 茴香烯                    | 1.82±0.13 | 2.60±0.35*   |
| 氢气                     | 2.33±0.74 | 3.54±0.53*   |
| 三甲基十三烷                 | 0.98±0.15 | 1.12±0.26    |

注: \*\*\* 为  $p<0.001$ , \*\* 为  $p<0.01$ , \* 为  $p<0.05$ , 差异有统计学意义.

3 讨论与结论

本研究从胖袋榨菜中分离纯化微生物, 通过产气实验、污染验证实验鉴定出 1 株(cq8)能引起抽真空包装的榨菜胖袋, 并且分析了它的生理生化性质. 菌株 cq8 在三糖铁琼脂培养基(斜面)中可以代谢葡萄糖, 不能代谢乳糖和蔗糖, 不产气, 然而它在煌绿胆盐肉汤培养基中能够代谢乳糖产气. 在榨菜污染实验中产生的气体为  $\text{CO}_2$ ,  $\text{H}_2$ ,  $\text{NH}_3$ . 经过 16S rRNA 基因测序分析将 cq8 的菌种鉴定为阿氏肠杆菌(*Enterobacter asburia*).

阿氏肠杆菌属于肠杆菌科肠杆菌属, 革兰氏阴性杆菌, 厌氧发酵, 广泛分布在植物、土壤和水中, 是一种条件致病菌, 在血琼脂平板上呈灰白色菌落, 不溶血; 在麦康凯培养基上呈圆形灰色、轻度隆起、光滑湿润、边缘整齐、直径为 0.2~0.3 mm 的针尖状小菌落<sup>[17]</sup>. 肠杆菌属是食品中常见的引起腐败的菌属, 李娜<sup>[18]</sup>从胀罐酱油中分离出 2 株具有强产气能力的菌株, 分别为产气肠杆菌(*Enterobacter aerogenes*)和粪肠球菌(*Enterococcus faecium*); 张巧等<sup>[19]</sup>通过培养法分离出 1 株产气肠杆菌(*Enterobacter aerogenes*), 污染实验中能引起荸荠腐烂; 王洋等<sup>[20]</sup>也在一批胀罐变质的茶饮料中分离出肠杆菌属(*Enterobacter* sp.)的菌株. 肠杆菌属菌株能够从原料、加工环境、加工人员等多个途径进入榨菜生产中, 进而在榨菜储存、售卖中引起榨菜的胀袋变质.

菌株 cq8 可以利用精氨酸产生  $\text{NH}_3$ . 微生物对精氨酸的降解存在多种途径, 其中精氨酸脱亚胺酶(Arginine deiminase, ADI)途径是最广泛的厌氧途径<sup>[21]</sup>. 精氨酸在精氨酸脱亚胺酶的催化下转化成瓜氨酸, 释放出氨气, 再转化为鸟氨酸, 并且生成氨甲酰磷酸, 后者在氨基甲酸酯激酶催化下生成氨气和二氧化碳, 通过此途径在厌氧条件下产生  $\text{CO}_2$  和  $\text{NH}_3$ (图 4), 这与菌株在抽真空包装的榨菜污染实验中能产生  $\text{CO}_2$  和  $\text{NH}_3$  相吻合.

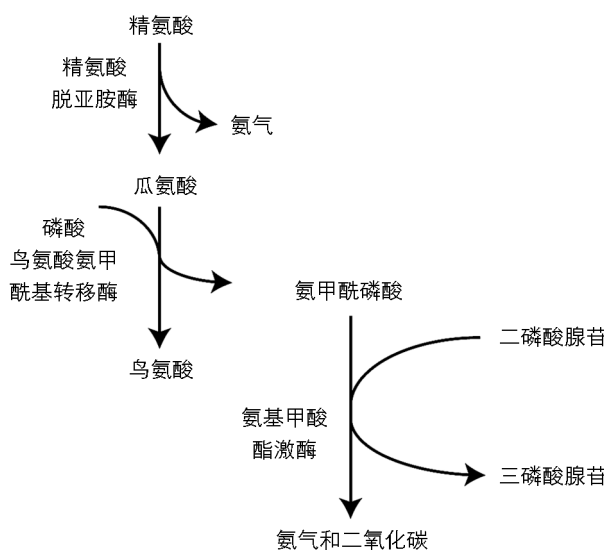


图 4 精氨酸脱亚氨酶途径<sup>[22]</sup>

肠杆菌属(*Enterobacter*)的菌株常见于发酵制品中，其繁殖速度快，生长迅速，有很强的制氢能力，并同时产生 CO<sub>2</sub>，从而造成产气胀袋现象<sup>[23]</sup>。肠杆菌属发酵产氢主要包括甲酸裂解途径和 NADH 途径<sup>[24]</sup>。甲酸裂解途径即葡萄糖经过 EMP 途径产生丙酮酸，丙酮酸在丙酮酸甲酸裂解酶的作用下生成甲酸和乙酰辅酶 A(Acetyl-CoA)，甲酸在甲酸氢裂解酶系的催化下完成裂解生成 CO<sub>2</sub> 和 H<sub>2</sub>。另一条途径为 NADH 产氢途径，它在严格厌氧菌中起着重要作用，至今对此条途径的认识不多，获得的相关氢酶的类型、基因、电子传递链等信息非常有限<sup>[24-26]</sup>。

肠杆菌属的菌株广泛存在于自然环境中，在厌氧条件下能够生存，繁殖活性强，能够产生多种气体，引起胖袋现象。针对肠杆菌属菌株的生物学特性，根据其耐热性不强的特点，榨菜加工中可采用较高的温度杀菌，以控制肠杆菌属的菌株。

参考文献：

[1] 况小锁, 陈发波. 茎瘤芥(榨菜)种质资源研究进展 [J]. 现代农业科技, 2011(13): 132-134, 137.

[2] ZUKALOVÁ H, VAŠÁKJ. The Role and Effects of Glucosinolates of Brassica Species-a Review [J]. Rostlinna Vyroba, 2002, 48(4): 175-180.

[3] 何松, 练银银, 杨菊香, 等. 榨菜“三腌三榨”过程中品质形成研究 [J]. 西南大学学报(自然科学版), 2023, 45(4): 219-225.

[4] 秦南南, 夏俊芳, 沈玉敏, 等. 胀袋酱油中产气微生物筛选鉴定及特性研究 [J]. 中国调味品, 2018, 43(4): 9-14.

[5] 张园园, 朱瑶迪, 李苗云, 等. 胀袋红烧肉和酱料包中产气微生物的分离与鉴定 [J]. 现代食品科技, 2022, 38(7): 107-112, 26.

[6] 沈国华, 周国治, 林孟勇. 辐照处理对小包装榨菜胖袋的效果及对品质的影响 [J]. 食品科学, 1991(11): 39-41.

[7] 沈国华, 周国治, 林孟勇. 大蒜对小包装榨菜胖袋的控制效果 [J]. 食品科学, 1991(1): 35-37.

[8] 翟金亮, 苏平, 那宇. 软包装榨菜的超高压杀菌工艺研究 [J]. 食品与发酵工业, 2008, 34(1): 80-83.

[9] 那宇. 软包装榨菜的超高压杀菌研究 [D]. 杭州: 浙江大学, 2007.

[10] 吴丹, 陈健初, 叶兴乾, 等. 榨菜腐败微生物的分离、鉴定及生物学特性研究 [J]. 浙江大学学报(农业与生命科学版), 2009, 35(2): 135-140.

- [11] 胡怀容. 腌制大头菜中腐败微生物的调查及控制研究 [D]. 成都: 西华大学, 2016.
- [12] SILVA A R, PAULO E N, SANT'ANA A S, et al. Involvement of *Clostridium gasigenes* and *C. algidicarnis* in 'Blown Pack' Spoilage of Brazilian Vacuum-packed Beef [J]. International Journal of Food Microbiology, 2011, 148(3): 156-163.
- [13] 卢玉, 李慧, 钟鸣, 等. 小米乳酸菌发酵饮料胀罐微生物的分离及鉴定 [J]. 食品安全质量检测学报, 2021, 12(14): 5600-5605.
- [14] 李慧, 卢玉, 钟鸣, 等. 土豆烧牛肉方便菜肴胀袋微生物分离鉴定及产气特性研究 [J]. 粮油食品科技, 2020, 28(4): 36-42.
- [15] 李莹, 吕欣然, 马欢欢, 等. 应用顶空-固相微萃取结合气相色谱-质谱联用技术分析传统锦州虾酱中挥发性物质 [J]. 食品与发酵工业, 2016, 42(9): 210-216.
- [16] MASANORI T, YASUHIRO T, HIROYUKI S, et al. A Novel Species of Lactic Acid Bacteria, *Ligilactobacillus pabuli* sp. Nov., Isolated from Alfalfa Silage [J]. International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology, 2022, 72(10): 5587-5597.
- [17] GIANNATTASIO-FERRAZ S, MASKERI L, OLIVEIRA A P, et al. Draft Genome Sequence of *Enterobacter asburiae* UFMG-H9, Isolated from Urine from a Healthy Bovine Heifer (Gyr Breed) [J]. Microbiology Resource Announcements, 2020, 9(21): e00385-e00320.
- [18] 李娜. 胀罐酱油污染微生物的分离鉴定与性质研究 [D]. 广州: 华南理工大学, 2015.
- [19] 张巧, 商飞飞, 段振华, 等. 荸荠贮藏期间 2 株腐败菌鉴定及其特性 [J]. 江苏农业学报, 2019, 35(1): 189-194.
- [20] 王洋, 周帼萍. 一例茶饮料污染源的分析 [J]. 食品与发酵工业, 2011, 37(5): 230-233.
- [21] 吕佳良, 刘芳, 孙芝兰, 等. 不同盐浓度下粪肠球菌代谢精氨酸的规律 [J]. 江苏农业科学, 2017, 45(24): 189-191.
- [22] 代晓航, 郭灵安, 魏超. 生菜中肠杆菌污染分析 [J]. 中国卫生检验杂志, 2014, 24(7): 1011-1013.
- [23] 刘波, 王海岩, 赵静玫, 等. 几株产氢微生物的产氢能力及协同作用 [J]. 食品与发酵工业, 2003, 29(8): 23-26.
- [24] 皮健. 基于氢酶-3 的产氢代谢调控及 NADH 产氢途径机制初探 [D]. 武汉: 华中科技大学, 2015.
- [25] BAGRAMYAN K, TRCHOUNIAN A. Structural and Functional Features of Formatehydrogenlyase, an Enzyme of Mixed-Acid Fermentation from *Escherichia coli* [J]. Biochemistry(Mosc), 2003, 68(11): 1159-1170.
- [26] TANISHO S, ISHIWATA Y. Continuous Hydrogen Production from Molasses by Thebacterium *Enterobacter aerogenes* [J]. International Journal of Hydrogen Energy, 1994, 19(10): 807-812.

责任编辑 周仁惠