

奶粉中一株阪崎肠杆菌的鉴定及其挥发性产物分析

唐 静¹, 赵丽青¹, 贾俊涛¹, 马晓玲², 姜英辉¹, 马 云¹, 王昌军¹, 李正义^{1*}

(1. 青岛海关技术中心, 青岛 266002; 2. 上海医药集团青岛国风药业股份有限公司, 青岛 266000)

摘 要: 目的 鉴定奶粉中一株阪崎肠杆菌分离菌株 F2-1, 采用顶空气相色谱-质谱联用法(headspace gas chromatography-mass spectrometry, HS-GC-MS)分析分离菌株 F2-1 在液态培养中产生的挥发性代谢产物。

方法 应用 VITEK 2 Compact 全自动微生物鉴定系统分析分离菌株的生理生化特征; 利用环介导等温扩增技术(loop-mediated isothermal amplification, LAMP)特异性扩增检测分离菌株的 16S rDNA, 通过 HS-GC-MS 分析分离菌株 F2-1 代谢的挥发性产物。**结果** 分离菌株 F2-1 为革兰氏阴性菌, 生理生化特征与阪崎肠杆菌(*Enterobacter sakazakii*, ES)的相似性为 99%, LAMP 检测进一步确认为阪崎肠杆菌, 分离菌株 F2-1 在营养肉汤中代谢的挥发性产物主要有异戊醛、乙醇、异戊醇、3-羟基-2-丁酮、乙酸、正十五烷、正十六烷、正十七烷、1-癸醇。**结论** 奶粉中分离菌株 F2-1 鉴定为阪崎肠杆菌, 该菌产生的挥发性产物为阪崎肠杆菌的快速鉴定提供参考。

关键词: 阪崎肠杆菌; 鉴定; 挥发性产物; 顶空气相色谱-质谱联用法

Identification of a strain of *Enterobacter sakazakii* from milk powder and analysis of its volatile compounds

TANG Jing¹, ZHAO Li-Qing¹, JIA Jun-Tao¹, MA Xiao-Ling², JIANG Ying-Hui¹, MA Yun¹, WANG Chang-Jun¹, LI Zheng-Yi^{1*}

(1. Technical Center of Qingdao Customs, Qingdao 266002, China; 2. Shanghai Pharmaceutical Group Qingdao Guofeng Pharmaceutical Co. LTD., Qingdao 266000, China)

ABSTRACT: Objective To identify an isolated strain of *Enterobacter sakazakii* F2-1 in milk powder, and analyze the volatile metabolites produced by isolate F2-1 in liquid culture by headspace gas chromatography-mass spectrometry (HS-GC-MS). **Methods** The physiological and biochemical characteristics were elucidated by using VITEK 2 compact automated microbiology system. The 16S rDNA of isolated strains was amplified by loop-mediated isothermal amplification (LAMP). The volatile compounds (VCs) from F2-1 cultured with liquid-state nutrient broth were analyzed by headspace gas chromatography-mass spectrometry (HS-GC-MS). **Results** The isolated strain F2-1 was a Gram-negative bacterium, and its physiological and biochemical characteristics were 99% similar to *Enterobacter sakazakii* (ES). It was confirmed as *Enterobacter sakazakii* by LAMP test. The volatile products metabolized by strain F2-1 in nutrient broth were isovaleraldehyde, ethanol, isoamyl alcohol, 3-hydroxy-2-butanone, acetic acid, n-pentane, n-cetane, n-heptadecane,

基金项目: 原国家质检总局科技计划项目(2013IK175, 2015IK203, 2015IK204)、青岛海关技术中心科研项目(SK201705)

Fund: Supported by Science and Technology Plan Projects of General Administration of Quality Supervision, Inspection and Quarantine (2013IK175, 2015IK203, 2015IK204) and Science and Technology Plan Projects of Technical Center of Qingdao Customs (SK201705)

*通讯作者: 李正义, 博士, 研究员, 主要研究方向为微生物检测及分子生物学。E-mail: sigebaby@163.com

*Corresponding author: LI Zheng-Yi, Ph.D, Professor, Technical Center of Qingdao Customs, Qingdao 266002, China. E-mail: sigebaby@163.com

1-decanol. **Conclusion** Bacterial strain F2-1 isolated from the milk powder is identified as *Enterobacter sakazakii*. The VCs produced by F2-1 will provide basis for the rapid identification of *Enterobacter sakazakii*.

KEY WORDS: *Enterobacter sakazakii*; identification; volatile compounds; headspace gas chromatography-mass spectrometry

1 引言

阪崎肠杆菌(*Enterobacter sakazakii*, ES), 又被称为克罗诺杆菌(*Cronobacter species*), 是一种常见的食源性条件致病菌, 可引起任何年龄段的人群发病^[1], 尤其是对新生儿、早产儿、低体重儿和免疫缺陷的婴幼儿, 能引起婴幼儿的脑膜炎、菌血症和坏死性小肠结肠炎等疾病^[2], 严重的能引起神经系统后遗症, 发病婴儿的死亡率高达80%^[3]。阪崎肠杆菌是一种低剂量条件即可致病的食源性致病菌^[4], 其感染源头不易确定, 在婴幼儿配方乳粉、肉类、饮用水和蔬菜等多种食品中均检出过阪崎肠杆菌^[5]。目前检测阪崎肠杆菌的方法主要还是以传统手工生理生化方法为主, 该方法存在操作繁琐、培养时间长、对结果判读需要检测经验等缺点^[6]。现代的分子生物学方法、免疫学方法和其他方法^[7-9]的不断完善和发展, 克服了传统检测方法存在的问题, 为快速检测阪崎肠杆菌提供了关键性的技术手段。

细菌在其正常的生理代谢过程中会产生某些挥发性化合物(volatile compounds, VCs), 细菌挥发性代谢产物是细菌正常生理代谢产物的一部分^[10], 这些挥发性代谢产物多为烃类、脂肪族醇类、酮类、芳香族化合物、含氮化合物等有机化合物^[11,12]。通常情况下, 绝大多数细菌正常生理代谢所释放的挥发性化合物都具有其种属特异性, 这就意味着可以将特异性和典型性细菌挥发性代谢产物作为检测和鉴别细菌的生物标志^[10,13,14]。阪崎肠杆菌在正常的生理代谢过程中也会产生挥发性物质, 但是目前应用其特异性挥发产物对其进行鉴别的研究较少。目前分子生物学核酸诊断, 特别是荧光定量 PCR 和数字 PCR 技术, 无论是仪器还是试剂, 前期投入都很高, 这是先进核酸诊断方法难以普及的原因之一。环介导等温扩增技术(loop-mediated isothermal amplification, LAMP)针对靶序列上6个特异性DNA序列区域设计引物, 在一种具有链置换功能的DNA聚合酶的作用下, 在普通恒温条件下即可完成靶序列的扩增。LAMP技术具有与PCR技术同等甚至超越的优势, 其反应速度快, 时间短, 成本较低, 对仪器设备要求简单, 几乎无前期投入, LAMP技术以其快速、灵敏、特异性强等优点已广泛应用于分子生物学和医学研究等领域, 该技术可以快速筛选传统培养方法得到的可疑菌和其他培养物。

本研究采用LAMP结合VITEK全自动微生物鉴定系统对分离自奶粉中的一株阪崎肠杆菌分离株进行快速鉴定,

并利用静态顶空气质联用技术对该分离菌株的挥发性代谢产物进行了定性及相对定量分析, 分析挥发性代谢产物的检测结果, 得到的挥发性化合物的相关信息, 为今后阪崎肠杆菌挥发性化合物指纹库的建立提供数据支持。

2 材料与方法

2.1 材料与试剂

菌株 F2-1 分离自奶粉样品中。

阪崎肠杆菌标准株 ATCC29544、产气肠杆菌(*Enterobacter aerogenes*)标准株 ATCC13048、大肠杆菌(*Escherichia coli*)标准株 ATCC25922(美国典型培养物保藏中心)。

细菌分离培养用培养基: 营养肉汤(nutrient broth, NB)、缓冲蛋白冻水(buffer peptone water, BPW)、改良月桂基硫酸盐胰蛋白胨肉汤-万古霉素(modified lauryl sulfate tryptose broth-vanco mycin medium, mLST-Vm)、阪崎肠杆菌显色培养基和胰蛋白胨大豆琼脂(trypticase soy agar, TSA)(北京陆桥技术股份有限公司); 细菌基因组 DNA 提取试剂盒(北京天根生化科技有限公司); Bst DNA 聚合酶(大片段, 美国 New England Biolabs 公司); 硫酸镁(分析纯, 上海生工生物工程股份有限公司); 甜菜碱(分析纯, 美国 Sigma 公司); dNTPs(上海生工生物工程股份有限公司); 引物^[15]由大连宝生物工程有限公司合成并纯化; 全自动微生物鉴定仪 VITEK 2 Compact 的革兰氏阴性菌鉴定卡(GN test kit)(法国生物梅里埃公司)。

2.2 仪器与设备

Agilent7890B-5977A 气相色谱/质谱联用仪, 仪器配有 Agilent 7697A 顶空自动进样系统, 色谱柱使用 HP-INNOWax 毛细管色谱柱(30 m×250 μm×0.25 μm)(美国安捷伦公司); Vitek 2 Compact 全自动微生物鉴定系统(法国生物梅里埃公司); Infinity 3000 全自动凝胶成像系统(法国 Vilber 公司); DK-8D 型电热恒温水槽(上海森信实验仪器有限公司)。

2.3 形态观察及生理生化实验

无菌操作取奶粉样品 100 g, 置于装有 900 mL 灭菌 BPW 稀释液的锥形瓶中, 36 °C 恒温培养 20 h, 移取 1 mL, 接种于 10 mL ST-Vm 中, 44 °C 恒温培养 24 h, 划线接种于阪崎肠杆菌显色培养基上, 36 °C 培养 24 h, 观察菌落形态, 挑取显色平板上蓝绿色可疑菌落接种于 TSA 平板上, 25 °C

培养 48 h, 再挑取黄色菌落使用全自动微生物鉴定仪对分离可疑菌落(F2-1)进行生化试验。

2.4 LAMP 检测阪崎肠杆菌

采用 G 细菌基因组 DNA 小量提取试剂盒提取 F2-1、阪崎肠杆菌标准株和大肠杆菌标准株的基因组 DNA。阪崎肠杆菌 LAMP 检测用引物参考贺楠等^[15]的研究引物序列 FIP: TATGCGGGATCGAACCGCAGAGGCTATAGCTCAGCTGGGA; BIP: GCTCCACCATCACTTCGGAGTGTTACGTTGTTCGGGATTGT; F3: TCCGCAGGAGTTGAAGAGG; B3: CAGCAGCGTGCTGTTTCA。扩增反应总体积为 25 μL : FIP/BIP 4 μL (终浓度 1.6 $\mu\text{mol/L}$), F3/B3 0.5 μL (终浓度 0.2 $\mu\text{mol/L}$), Betaine 5 μL (终浓度 1 M), dNTPs 1.4 μL (终浓度 1.4 mmol/L), MgSO_4 2 μL (终浓度 8 mmol/L), Buffer 2.5 μL , 模板 DNA 2 μL , Bst DNA polymerase 1 μL (终浓度 8 U), 最后加去离子水至 25 μL 。反应条件: 65 $^\circ\text{C}$ 孵育 60 min, 80 $^\circ\text{C}$ 5 min 结束反应。采用阪崎肠杆菌标准株核酸作为阳性对照, 大肠杆菌标准株核酸作为阴性对照, 无菌水作为空白对照。

2.5 挥发性物质分析

2.5.1 细菌培养物的制备

用 5 μL 接种环接种菌株 F2-1、阪崎肠杆菌标准株、产气肠杆菌标准株和大肠杆菌标准株各一环, 分别接种在营养肉汤培养基中, 36 $^\circ\text{C}$, 120 r/min 条件下振荡培养, 进入细菌对数生长期后期, 分别吸取对数期培养物 5 mL 转入 20 mL 顶空气质瓶内, 加盖密封, 作为检测样品。每种菌株的顶空气质分析试验进行 3 次生物学重复。以不接种任何菌株的营养肉汤培养基为空白对照。

2.5.2 顶空气质分析

顶空气质分析的实验方法, 参考李正义等^[16]的研究。

顶空进样条件: 加热箱温度 55 $^\circ\text{C}$, 定量环温度: 85 $^\circ\text{C}$, 传输线温度: 100 $^\circ\text{C}$, 样品平衡时间: 50 min; 色谱柱压力: 7.7 psi; 填充压力: 15 psi; 加压时间: 0.2 min; 进样持续时间: 1.0 min, 拔针时间: 0.5 min。

气相色谱条件: HP-INNOWax 色谱柱 (30 m \times 250 μm \times 0.25 μm); 分流进样, 分流比为 5:1, 隔垫吹扫流量为 3 mL/min; 升温程序: 初始温度 50 $^\circ\text{C}$ 保持 2 min, 以 7 $^\circ\text{C}/\text{min}$ 升至 180 $^\circ\text{C}$; 再以 10 $^\circ\text{C}/\text{min}$ 升至 250 $^\circ\text{C}$, 保持 2 min, 进样口温度: 250 $^\circ\text{C}$; 载气: 高纯氦(He), 流速: 1 mL/min。

质谱条件: 离子源 EI, 离子源温度 230 $^\circ\text{C}$, 四级杆温度 150 $^\circ\text{C}$, 电子能量 70 eV, 传输线温度 280 $^\circ\text{C}$, 采集模式全扫描, 质量扫描范围 m/z : 33~300 u, 溶剂延迟: 2.2 min。

2.5.3 定性定量

质谱数据经安捷伦的自带检索谱库(NIST11.L)进行定性分析, 由安捷伦软件系统 NIST MS Search 2.0 手动对照检索, 要求正反向匹配因子(Match)都大于 800, 可能性

(Prob.%)大于 60。采用提取离子流方式报告代表性挥发性物质的峰面积, 利用面积归一法计算挥发性化合物的相对含量。

3 结果与分析

3.1 形态和生理生化特征

菌株 F2-1 在阪崎显色培养基上形成的菌落为绿色菌落, 在 TSA 平板上为黄色菌落。菌体细胞经革兰氏染色显阴性, 无芽孢, 杆状。采用 VITEK 2 Compact 革兰氏阴性菌鉴定卡鉴定该菌株, 鉴定结果显示该菌株 F2-1 与阪崎肠杆菌的生理生化特征相似性为 99%(表 1), 其置信水平位于鉴定卡极好的置信区间范围内(96%~99%)。

3.2 LAMP 扩增产物分析

对分离菌株 F2-1, 阪崎肠杆菌标准株 ATCC29544 和大肠杆菌标准株 ATCC25922 等进行 LAMP 检测, 其 LAMP 检测扩增产物的琼脂糖凝胶电泳结果见图 1。电泳结果表明, 阳性对照阪崎肠杆菌 ATCC29544 以及分离菌株 F2-1 均为阳性, 空白对照和阴性对照大肠杆菌 ATCC25922 均为阴性, 结果与预期结果完全吻合。LAMP 扩增产物分析结合分离菌株 F2-1 的形态特征, 以及 VITEK 2 Compact 革兰氏阴性菌鉴定卡给出的该菌株的生理生化特征, 判断该分离菌株 F2-1 为阪崎肠杆菌。

3.3 分离菌株挥发性产物分析

经处理培养后, 菌株 F2-1、阪崎肠杆菌标准株、产气肠杆菌标准株和大肠杆菌标准株产生的挥发性产物采用顶空气相色谱-质谱联用法分析, 经安捷伦自带 NIST11 谱库检索, 其结果见表 2; 分离菌株 F2-1 的气质检测谱图见图 2。由表 2 可知, 分离菌株 F2-1 的主要挥发性产物为异戊醛、乙醇、异戊醇、3-羟基-2-丁酮、乙酸、正十五烷、正十六烷、正十七烷、1-癸醇, 这与实验中阪崎肠杆菌标准株 ATCC29544 产生的主要挥发性产物相同。

产气肠杆菌标准株 ATCC13048 的主要挥发性产物为乙醇、异戊醇、3-羟基-2-丁酮、乙酸、苯甲醛、正十五烷、正十六烷、5-甲基-2-十一烯、正十七烷、甲酸十一酯、棕榈酸丁酯、邻苯二甲酸异丁酯, 与阪崎肠杆菌标准株和分离株相比未检测到异戊醛和 1-癸醇, 但是检测到苯甲醛、5-甲基-2-十一烯、甲酸十一酯、棕榈酸丁酯和邻苯二甲酸异丁酯; 大肠杆菌标准株 ATCC25922 的主要挥发性产物为乙醇、正丙醇、异戊醇、乙酸、苯甲醛、正十六烷、甲酸十一酯、棕榈酸丁酯、邻苯二甲酸异丁酯、吡啶, 与阪崎肠杆菌标准株和分离株相比未检测到异戊醛、3-羟基-2-丁酮、正十五烷、正十七烷和 1-癸醇, 但是检测到正丙醇、苯甲醛、甲酸十一酯、棕榈酸丁酯、邻苯二甲酸异丁酯和吡啶。

表 1 分离菌株 F2-1 生化特征
Table 1 Biochemical characteristics of isolated strain F2-1

生化项目	反应结果	生化项目	反应结果
丙氨酸-苯丙氨酸-脯氨酸芳胺酶	-	蔗糖	+
侧金盏花醇	-	D-塔格糖	-
吡咯烷基芳胺酶	-	D-海藻糖	+
L-阿拉伯醇	-	柠檬酸盐(钠)	+
D-纤维二糖	+	丙二酸盐	-
β -半乳糖苷酶	+	5-酮-葡萄糖苷	-
H ₂ S 产生	-	乳酸盐产碱	+
β -N-乙酰葡萄糖苷酶	+	α -葡萄糖	+
谷氨酰芳胺酶	-	琥珀酸盐产碱	+
D-葡萄糖	+	N-乙酰- β -半乳糖氨酶	-
γ -谷氨酰转移酶	-	α -半乳糖苷酶	+
葡萄糖发酵	+	磷酸酶	-
β -葡萄糖苷酶	+	氨基乙酸芳胺酶	+
D-麦芽糖	+	鸟氨酸脱羧酶	+
D-甘露醇	+	赖氨酸脱羧酶	-
D-甘露糖	+	组氨酸同化	-
β -木糖苷酶	+	COURMARATE	-
β -丙氨酸芳胺酶	-	β -葡萄糖苷酸酶	-
L-脯氨酸芳胺酶	-	O/129 耐受	+
脂酶	-	谷氨酸-甘氨酸-精氨酸芳胺酶	-
古老糖	+	L-苹果酸盐同化	-
酪氨酸芳胺酶	+	ELLMAN	+
尿素酶	-	L-乳酸盐同化	-
D-山梨醇	-		

注: +: 阳性; -: 阴性。

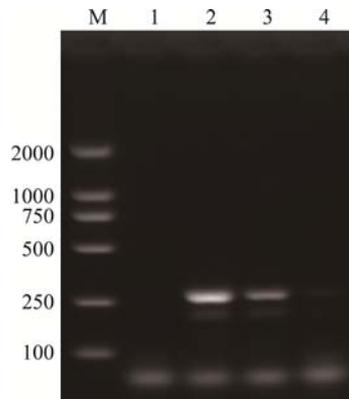
产气肠杆菌和大肠杆菌的主要挥发性产物与阪崎肠杆菌相比, 均未检出异戊醛和 1-癸醇; 但是都检出苯甲醛、甲酸十一酯、棕榈酸丁酯和邻苯二甲酸异丁酯。异戊醛, 又名 3-甲基丁醛, 具有强烈的令人恶心的气味, 低浓度时有水果香气。有研究表明, 测定挥发性代谢化合物的变化可以用来预测冷鲜黄羽肉鸡中微生物的动态变化, 其中检测到异戊醛可能与腐败的肉质呈正相关, 该化合物的

量与其他 16 种化合物可有效预测不同微生物(细菌总数、肠杆菌科、乳酸菌、假单胞菌和热杀索丝菌)数量^[17]。

4 结论与讨论

本研究从奶粉样品中分离得到的菌株 F2-1, 通过全自动微生物鉴定仪 VITEK 2 鉴定为阪崎肠杆菌, 相似度达 99%, LAMP 检测方法扩增出版崎肠杆菌 16S rDNA 特异性

基因片段,因此综合 VITEK 2 给出的生理生化特征、LAMP 检测的分子生物学特征,确定分离菌株 F2-1 为阪崎肠杆菌。



注: M: DNA marker DL2000; 1: 空白对照; 2: 阪崎肠杆菌 ATCC29544; 3: 分离菌株 F2-1; 4: 大肠杆菌 ATCC25922。

图 1 阪崎肠杆菌 LAMP 扩增产物电泳结果

Fig.1 Electrophoresis results of LAMP amplification products of *Enterobacter sakazakii*

近年来,通过检测细菌正常生理代谢过程中产生的特异性挥发有机化合物,结合统计学分析方法对细菌的种属进行鉴定成为研究热点。已有研究表明在某些培养条件下,某种细菌在其正常代谢过程中产生的挥发性化合物,与其他细菌相比具有其种属特异性,意味着特异性挥发性化合物能够作为检测和鉴别细菌的生物标志^[13]。Dhaisne 等^[18]的研究表明可以用挥发性有机化合物作为鉴别标记区分牛

奶中 9 种不同的乳酸菌。Syhre 等^[19]的研究表明,结核分枝杆菌在代谢过程中产生的苯乙酸甲酯和烟酸甲酯是其独特的挥发性标记物,可以作为检测和诊断结核分枝杆菌的手段。胡惠平等^[20]的研究表明,通过检测假单胞菌代谢过程中产生的挥发性化合物,应用 E-nose 和 HS-SPME-GC-MS 气味指纹技术能快速、无损的对假单胞菌进行区分鉴别。本研究通过 GC-MS 分析获得的阪崎肠杆菌分离株 F2-1 代谢挥发性化合物主要为异戊醛、乙醇、异戊醇、3-羟基-2-丁酮、乙酸、正十五烷、正十六烷、正十七烷、1-癸醇;与阪崎肠杆菌 ATCC29544 的挥发性产物相同,而有异于产气肠杆菌 ATCC13048 和大肠杆菌 ATCC25922。这可能成为阪崎肠杆菌快速检测的一种新手段。

但是由于细菌产生的挥发性化合物的组分和含量与菌种、培养基、培养条件等都存在联系^[21],所以对其进行定性和定量检测都有很大的难度。有报道称,能检测到具体挥发性化合物的细菌已有 349 种^[22],但是这个世界上的微生物种类远远超过这个数字,并且针对真菌的挥发性代谢产物研究也成为近期该领域的研究热点^[23,24],因此微生物产生的挥发性化合物有很好的研究开发前景。本研究获得的阪崎肠杆菌分离株 F2-1 的挥发性化合物信息,为日后建立阪崎肠杆菌气味指纹数据库提供了理论基础。应进一步积累不同来源阪崎肠杆菌标准菌株和分离菌株的挥发性化合物的信息,完善阪崎肠杆菌气味指纹数据库,确定阪崎肠杆菌特异性挥发性化合物标志物,使检测样品的挥发性化合物通过阪崎肠杆菌气味指纹数据库的信息比对即可完成阪崎肠杆菌的无损、快速检测。

表 2 培养 24 h 后不同细菌菌株产生的各种挥发性物质
Table 2 Volatile compounds produced by various bacterial strains after 24 h incubation

化合物	分子式	挥发物产物相对含量/%				CAS 编号
		阪崎肠杆菌 (<i>Enterobacter sakazakii</i>) ATCC29544	分离 菌株 F2-1	产气肠杆菌 (<i>Enterobacter aerogenes</i>) ATCC13048	大肠杆菌 (<i>Escherichia coli</i>) ATCC25922	
异戊醛	C ₅ H ₁₀ O	1.74	5.0	—	—	000590-86-3
乙醇	C ₂ H ₆ O	58.01	33.58	60.78	71.67	000064-17-5
正丙醇	C ₃ H ₈ O	—	—	—	0.6	000071-23-8
异戊醇	C ₅ H ₁₂ O	18.54	32.74	9.03	0.5	000123-51-3
3-羟基-2-丁酮	C ₄ H ₈ O ₂	0.5	1.0	1.72	—	000513-86-0
乙酸	C ₂ H ₄ O ₂	16.13	18.97	8.25	2.39	000064-19-7
苯甲醛	C ₇ H ₆ O	—	—	0.9	0.5	000100-52-7
正十五烷	C ₁₅ H ₃₂	0.8	1.67	1.71	—	000629-62-9
正十六烷	C ₁₆ H ₃₄	1	2.85	2.24	0.5	000544-76-3

续表 2

化合物	分子式	挥发物产物相对含量/%				CAS 编号
		阪崎肠杆菌 (<i>Enterobactersakazakii</i>) ATCC29544	分离 菌株 F2-1	产气肠杆菌 (<i>Enterobacteraerogenes</i>) ATCC13048	大肠杆菌 (<i>Escherichia coli</i>) ATCC25922	
5-甲基-2-十一烯	C ₁₂ H ₂₄	—	—	1	—	056851-34-4
正十七烷	C ₁₇ H ₃₆	0.7	1.87	1	—	000629-78-7
甲酸十一酯	C ₁₂ H ₂₄ O ₂	—	—	1.9	0.6	1000368-25-0
1-癸醇	C ₁₀ H ₂₂ O	1.03	2.26	—	—	000112-30-1
棕榈酸丁酯	C ₂₀ H ₄₀ O ₂	—	—	3.15	0.7	000111-06-8
邻苯二甲酸异丁酯	C ₁₆ H ₂₂ O ₄	—	—	8.35	0.7	1000356-95-4
吡啶	C ₅ H ₇ N	—	—	—	9.88	000120-72-9

注: “—”表示未检出。

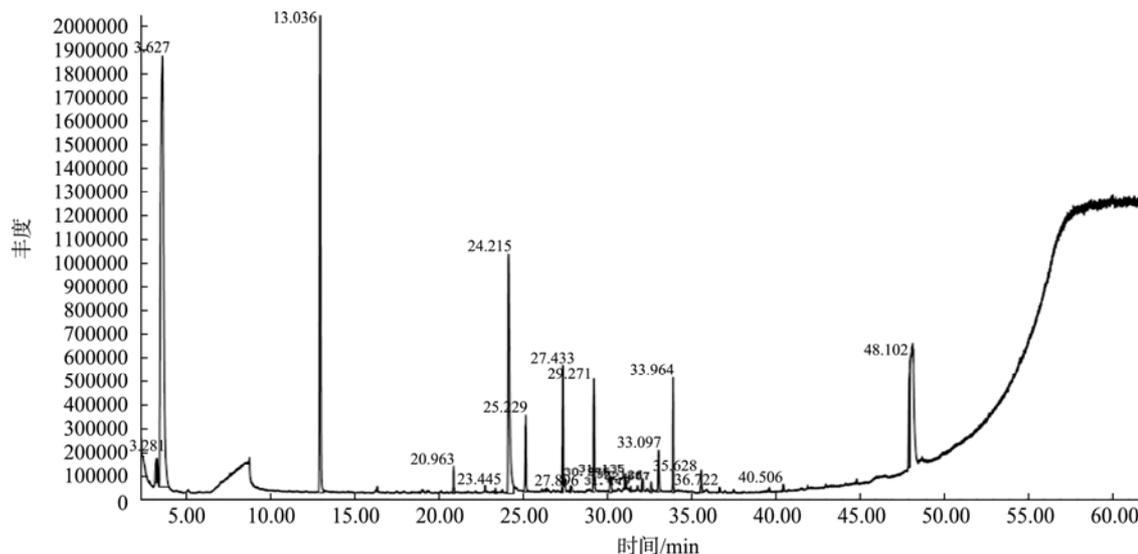


图 2 分离菌株 F2-1 的气质检测谱图
Fig.2 Gas chromatography spectrum of isolated strain F2-1

参考文献

[1] 乔雪飞, 邱香, 吴佳瑾, 等. 2016 年上海市松江区婴幼儿食品中阪崎肠杆菌污染状况分析[J]. 环境与职业医学, 2017, 34(7): 612-616.
Qiao XF, Qiu X, Wu JJ, et al. *Enterobacter sakazakii* pollution in infant food products in Songjiang district of Shanghai in 2016 [J]. J Environ Occup Med, 2017, 34(7): 612-616.

[2] 董晓晖, 李程思, 吴清平, 等. 食品污染克罗诺杆菌(阪崎肠杆菌)的分离及鉴定[J]. 微生物学报, 2013, 53(5): 429-436.
Dong XH, Li CS, Wu QP, et al. Isolation and identification of Cronobacter (*Enterobacter sakazakii*) strains from food [J]. Acta Microbiol Sin, 2013, 53(5): 429-436.

- [3] Yan QQ, Condell O, Power K, *et al.* *Cronobacter* species (formerly known as *Enterobacter sakazakii*) in powdered infant formula: A review of our current understanding of the biology of this bacterium [J]. *J Appl Microbiol*, 2012, 113(1): 1–15.
- [4] Richardson AN, Lambert S, Smith MA. Neonatal mice as models for *Cronobacter sakazakii* infection in infants [J]. *J Food Prot*, 2009, 72(11): 2363–2367.
- [5] Norberg S, Stanton C, Ross RP, *et al.* *Cronobacter* spp. in powdered infant formula [J]. *J Food Prot*, 2012, 75(3): 607–620.
- [6] 宋春美, 朱政辉, 李建武, 等. 乳粉中阪崎肠杆菌污染检测试剂盒的研制[J]. *食品科学*, 2016, 37(24): 233–238.
Song CM, Zhu ZH, Li JW, *et al.* Development of a test kit for rapid detection of *Enterobacter sakazakii* contamination in milk powder [J]. *Food Sci*, 2016, 37(24): 233–238.
- [7] 韩伟, 顾鸣, 杨捷琳. 建立一种快速检测阪崎肠杆菌的方法[J]. *食品科学*, 2006, 27(2): 208–212.
Han W, Gu M, Yang JL. Rapid method detection of residual *E. sakazakii* in milk-based powder infant formulae [J]. *Food Sci*, 2006, 27(2): 208–212.
- [8] Hu X, Dou W, Zhao G. Electrochemical immunosensor for *Enterobacter sakazakii* detection based on electrochemically reduced graphene oxide-gold nanoparticle/ionic liquid modified electrode [J]. *J Electroanal Chem*, 2015, 756: 43–48.
- [9] 封莉, 黄继超, 刘欣, 等. 食源性致病菌快速检测技术研究进展[J]. *食品科学*, 2012, 33(21): 332–339.
Feng L, Huang JC, Liu X, *et al.* Research progress on rapid detection of food-borne bacterial pathogens [J]. *Food Sci*, 2012, 33(21): 332–339.
- [10] 史辉, 唐俊妮, 陈娟, 等. 顶空固相微萃取分析金黄色葡萄球菌挥发性代谢产物的条件优化[J]. *食品科学*, 2015, 36(12): 185–190.
Shi H, Tang JN, Chen J, *et al.* Optimization of headspace solid phase micro-extraction conditions for gc-ms analysis of volatile metabolites from *Staphylococcus aureus* [J]. *Food Sci*, 2015, 36(12): 185–190.
- [11] 李正义, 贾俊涛, 姜英辉, 等. 微生物挥发性有机化合物及其在线数据库[J]. *食品安全质量检测学报*, 2016, 7(12): 4801–4808.
Li ZY, Jia JT, Jiang YH, *et al.* Microbial volatile organic compounds and their online database [J]. *J Food Saf Qual*, 2016, 7(12): 4801–4808.
- [12] 王昌军, 赵丽青, 马云, 等. 进口黑虎虾中霍乱弧菌的鉴定及其挥发性产物分析[J]. *食品安全质量检测学报*, 2017, 8(11): 4147–4152.
Wang CJ, Zhao LQ, Ma Y, *et al.* Identification of *Vibrio cholerae* and analysis of its volatile compounds in imported *Penaeus monodon* [J]. *J Food Saf Qual*, 2017, 8(11): 4147–4152.
- [13] Schulz S, Dickschat JS. Bacterial volatiles: the smell of small organisms [J]. *Nat Prod Report*, 2007, 24: 814–842.
- [14] 梁华正, 张燮, 饶军, 等. 微生物挥发性代谢产物的产生途径及其质谱检测技术[J]. *中国生物工程杂志*, 2008, 28(1): 124–133.
Liang HZ, Zhang X, Rao J, *et al.* Microbial volatile organic compounds: Generation pathways and mass spectrometric detection [J]. *China Biotechnol*, 2008, 28(1): 124–133.
- [15] 贺楠, 雷质文, 高宏伟, 等. 阪崎肠杆菌环介导恒温扩增方法检测[J]. *中国公共卫生*, 2009, 25(4): 509–511.
He N, Lei ZW, Gao HW, *et al.* Detection of *Enterobacter sakazakii* by loop-mediated isothermal amplification [J]. *Chin J Public Health*, 2009, 25(4): 509–511.
- [16] 李正义, 贾俊涛, 唐静, 等. 进口鸡翼中单核细胞增生李斯特菌的鉴定及其挥发性产物分析[J]. *食品安全质量检测学报*, 2017, 8(2): 550–555.
Li ZY, Jia JT, Tang J, *et al.* Identification of *Listeria monocytogenes* from imported chicken wings and analysis of its volatile compounds [J]. *J Food Saf Qual*, 2017, 8(2): 550–555.
- [17] 陈鹏, 程镜蓉, 杨禹新, 等. 基于HS/SPME-GC/MS技术预测冷鲜黄羽肉鸡中微生物的动态变化[J]. *现代食品科技*, 2017, 33(3): 295–303.
Chen P, Cheng JR, Yang YX, *et al.* Prediction of changes in microbial composition of chilled yellow broiler chicken meat using HS/SPME-GC/MS technology [J]. *Mod Food Sci Technol*, 2017, 33(3): 295–303.
- [18] Dhaisne A, Guellerin M, Laroute V, *et al.* Genotypic and phenotypic analysis of dairy *Lactococcus lactis* biodiversity in milk: Volatile organic compounds as discriminating markers [J]. *Appl Environ Microb*, 2013, 79(15): 4643–4652.
- [19] Syhre M, Chambers ST. The scent of *Mycobacterium tuberculosis* [J]. *Tuberculosis*, 2008, 88(4): 317–323.
- [20] 胡惠平, 潘迎捷, 刘源, 等. 应用气味指纹技术检测猪肉假单胞菌[J]. *食品科学*, 2009, 30(18): 327–332.
Hu HP, Pan YJ, Liu Y, *et al.* Application of odor fingerprint for the detection of *Pseudomonas* spp. isolated from pork [J]. *Food Sci*, 2009, 30(18): 327–332.
- [21] 陈利军, 宁万光, 史洪中, 等. 一株脉孢菌的鉴定及其挥发性物质GC-MS分析[J]. *中国农学通报*, 2014, 30(12): 279–282.
Chen LJ, Ning WG, Shi HZ, *et al.* The identification of a strain *Neurospora* sp. and its chemical component analysis of volatile compounds [J]. *Chin Agric Sci Bull*, 2014, 30(12): 279–282.
- [22] Lemfack MC, Nickel J, Dunkel M, *et al.* mVOC: A database of microbial volatiles [J]. *Nucl Acids Res*, 2014, 42(D1): 744–748.
- [23] 陈利军, 王国君, 田雪亮, 等. 产香真菌 ZY-2 菌株鉴定及其挥发性物质抑菌活性测定与组分分析[J]. *南方农业学报*, 2013, 44(11): 1818–1822.
Chen LJ, Wang GJ, Tian XL, *et al.* Identification of an aroma-producing

fungus ZY-2 and its analysis on antifungal activity and chemical component of volatile compounds [J]. J South Agric, 2013, 44(11): 1818-1822.

[24] 陈奕鹏, 杨扬, 时涛, 等. 内生真菌 HND5 挥发性物质组分分析及其抑菌作用测定[J]. 热带作物学报, 2017, 38(4): 689-694.

Chen YP, Yang Y, Shi T, *et al.* Identification and fungistasis of volatile compounds produced by endophytic fungi HND5 [J]. Chin J Trop Crop, 2017, 38(4): 689-694.

(责任编辑: 韩晓红)

作者简介



唐 静, 高级工程师, 主要研究方向为食品微生物检测及分子生物学。
E-mail: sigebaby@163.com



李正义, 博士, 研究员, 主要研究方向为食品微生物检测及分子生物学。
E-mail: lizhengyisdciq@163.com

“动物性食品质量与安全”专题征稿函

动物性食品是人们食品的重要组成部分, 这类食品含有丰富蛋白质、脂肪、碳水化合物、矿物质等。然而这类食品容易腐败变质, 且养殖环境的污染、饲料的污染也会对动物源食品安全造成危害, 从而影响消费者健康。

鉴于此, 本刊特别策划了“动物性食品质量与安全”专题, 由中国农业科学院饲料研究所李俊研究员担任专题主编, 主要围绕动物性食品及饲料中农兽药残留、违禁添加物、霉菌毒素、环境污染物的检测、加工贮藏与品质控制、营养成分分析等方面或您认为有意义的相关领域展开论述和研究, 综述及研究论文均可。

鉴于您在该领域丰富的研究经历和突出的学术造诣, 学报主编吴永宁研究员和专题主编李俊研究员特邀请您为本专题撰写稿件, 综述、研究论文、研究简报均可, 以期进一步提升该专题的学术质量和影响力。本专题计划在 **2020 年 5 月** 出版, 请在 **2020 年 3 月 15 日** 前通过网站或 E-mail 投稿。我们将快速处理并经审稿合格后优先发表。

同时烦请您帮忙在同事之间转发一下, 再次感谢您的关怀与支持!

谢谢您的参与和支持!

投稿方式:

网站: www.chinafoodj.com(备注: 投稿请登录食品安全质量检测学报主页-作者登录-注册投稿-投稿选择“专题: 动物性食品质量与安全”)

E-mail: jfoodsqa@126.com

《食品安全质量检测学报》编辑部