

食品检验用解脂耶氏酵母菌标准物质制备研究

任 秀, 白继超, 骆海朋, 王亚萍, 陈怡文, 余 文, 王 昆, 崔生辉*

(中国食品药品检定研究院, 北京 100050)

摘 要: **目的** 制备解脂耶氏酵母菌检验用标准物质, 以满足实验室酵母菌日常检验质量控制及实验室间比对需求。**方法** 通过生化、基质辅助激光解吸电离飞行时间质谱法(matrix assisted laser desorption ionization time of flight mass spectrometry, MALDI-TOF MS)及转录间隔区(internal transcribed spacer, ITS)位点测序, 对研究用菌株进行菌种鉴定确认后冻干, 制备 10^4 CFU/样品浓度的标准物质。参照 CNAS—GL003:2008《能力验证样品均匀性和稳定性评价指南》等的要求进行均匀性检验后, 采用单因素方差分析对结果进行评价。样品放于-20、4、25 和 37 °C条件下, 分别进行运输稳定性检验及储存稳定性检验。依据 GB 4789.15—2016《食品安全国家标准 食品微生物学检验 霉菌和酵母计数》, 验证标准物质在真实食品样品中适用性。**结果** CMCC98025 经生化鉴定为解脂耶氏酵母菌, 准确度为 93%; MALDI-TOF MS 鉴定结果为解脂耶氏酵母, 分数为 2.012; ITS 位点测序与美国国家生物信息中心基因库中序列比对, 匹配最优结果为解脂耶氏酵母(*Yarrowia lipolytica*)。均匀性测试结果符合正态分布, $F_{0.05}(19,20)=2.137$, $F=1.697 < F_{0.05}$, 符合均匀性要求。25 及 37 °C中放置 7 d 稳定, 标准物质中菌含量仍保持在 10^4 CFU/样品; 4 °C 储存 28 d 及 -20 °C 储存 90 d, 菌含量为 10^4 CFU/样品, 复苏率均在 91% 以上。本标准物质加入 7 类食品样品基质均可检出, 回收率为 81.3%。经 3 家实验室协作标定, 本标准物质平均浓度为 $2.0 \times 10^4 \sim 3.0 \times 10^4$ CFU/样品。**结论** 本研究制备的解脂耶氏酵母菌标准物质均匀性、稳定性、真实食品样品中应用验证及协作标定结果均符合要求, 可应用于食品中解脂耶氏酵母菌检验。**关键词:** 基质辅助激光解吸电离飞行时间质谱法; 解脂耶氏酵母; 标准物质

Study on the preparation of *Yarrowia lipolytica* reference materials for food inspection

REN Xiu, BAI Ji-Chao, LUO Hai-Peng, WANG Ya-Ping, CHEN Yi-Wen, YU Wen,
WANG Kun, CUI Sheng-Hui*

(National Institutes for Food and Drug Control, Beijing 100050, China)

ABSTRACT: Objective To prepare reference material for *Yarrowia lipolytica*, so as to meet the requirements of quality control and comparison between laboratories. **Methods** The strains were identified by biochemical, matrix assisted laser desorption ionization time of flight mass spectrometry (MALDI-TOF MS) and internal transcribed spacer (ITS) site sequencing and then lyophilized to prepare reference materials with 10^4 CFU/sample concentration. According to the requirements including CNAS—GL003:2008 *Guide for evaluation of homogeneity and stability of proficiency testing samples*, the results were evaluated by one-way analysis of variance (ANOVA). The samples were placed at -20,

基金项目: 国家重点研发计划项目(2018YFC1603900)

Fund: Supported by the National Key Research and Development Program of China (2018YFC1603900)

*通信作者: 崔生辉, 研究员, 主要研究方向为食品安全检测。E-mail: cuishenghui@aliyun.com

*Corresponding author: CUI Sheng-Hui, Professor, National Institute for Food and Drug Control, No.2, Tiantanxili, Dongcheng District, Beijing 100050, China. E-mail: cuishenghui@aliyun.com

4, 25 and 37 °C for transport stability test and storage stability test respectively. According to GB 4789.15—2016 *National food safety standard-Microbiological examination-Food molds and yeasts count*, the applicability of the reference materials in real food samples was verified. **Results** CMCC98025 was biochemically identified as *Yarrowia lipolytica* with an accuracy of 93%; The result of MALDI-TOF-MS identification was *Yarrowia lipolytica* with a fraction of 2.012; The site sequencing was compared with National Center for Biotechnology Information gene bank, and the best result was *Yarrowia lipolytica*. The uniformity test results accorded with the normal distribution, $F_{0.05}(19,20)=2.137$, $F=1.697 < F_{0.05}$, which met the uniformity requirements. The bacteria content in the reference material remained at 10^4 CFU/sample after 7 d at 25 and 37 °C; When stored at 4 °C for 28 d and -20 °C for 90 d, the bacterial content was 10^4 CFU/sample, and the recoveries rates were above 91%. The reference substances could be detected in 7 kinds of food samples, and the recoveries were 81.3%. The average concentration of the reference materials were 2.0×10^4 – 3.0×10^4 CFU/sample. **Conclusion** The homogeneity, stability, application verification and collaborative calibration results of the reference materials of *Yarrowia lipolytica* prepared in this study meet the requirements, and can be applied to the detection of *Yarrowia lipolytica* in food.

KEY WORDS: matrix assisted laser desorption ionization time of flight mass spectrometry; *Yarrowia lipolytica*; reference material

0 引 言

小麦、稻谷、玉米、花生等是常见的粮食类食品,有报道显示,由真菌所致的食品变质给粮食产量带来了巨大损失,占全球粮食产量损失的 5%~10%^[1],更加严重的是由此产生的不同种类的真菌会产生多种损害人体健康的有毒物质^[2-4],引发严重的食品安全问题^[5-6]。真菌主要指霉菌及酵母菌,在特殊的环境下,可利用食品中的某些物质合成有毒的代谢物,使食品腐败,甚至危害人类健康^[7-8]。

微生物检验是食品卫生检验的重要工作,对评价食品卫生质量、保证食品安全有极其重要的意义^[9]。食品中酵母、霉菌的检验方法按照 GB 4789.15—2016《食品安全国家标准 食品微生物学检验 霉菌和酵母计数》进行。霉菌、酵母菌的检验方法看似简单,但由于食品种类繁多、成分复杂,受污染程度不同,霉菌、酵母菌种类多样,对环境的温湿度及营养成分的要求不同,尽可能真实地反映食品中总体酵母菌生长情况并不容易^[10]。检验过程中影响检验结果的因素很多,需要标准物质来衡量检验质量。微生物标准物质作为衡量或计量标准^[11-14],发挥着重要角色。除保证结果的相对一致性,还可为进一步的数据对比分析提供依据。目前,一些实验室已经开展了部分微生物标准物质的研制工作,制备了如单核细胞增生李斯特氏菌^[15]、大肠杆菌^[16]等标准物质,但未见酵母菌检验用标准物质相关的制备研究报道。本研究制备酵母菌标准物质使用的菌株为解脂耶氏酵母(*Yarrowia lipolytica*),分离自北京某大型海鲜市场购买的黄鱼干制品。海产干制品中水分活度较低,仅极少数微生物可在其中生长,这类微生物具有更稳定更易存活的特点,同时更具有我国食源性微生物特点。除此以外,解脂耶氏酵母菌为子囊酵母的一种^[17],在工业

上主要用于水中油污的分解,安全、无毒,对环境及人员危害性几乎为零^[18]。

本研究利用生化鉴定、基质辅助激光解析电离飞行时间质谱法(matrix-assisted laser desorption/ionization-time of flight mass spectrometry, MALDI-TOF MS)及转录间隔区(internal transcribed spacer, ITS)位点测序方法对解脂耶氏酵母菌进行菌种确认,制备 10^4 CFU/样品浓度的标准物质,根据 CNAS—GL003:2018《能力验证样品均匀性和稳定性评价指南》、CNAS—GL29:2010《标准物质/标准物质(样品)定值的一般原则和统计方法》及 ISO/TS 22117 的要求,对样品进行均匀性、稳定性、实验室协作标定及食品真实样品中应用验证,以期为保障日常检验工作结果可靠性,进一步提升检验机构人员的检验水平提供支持。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

1.1.1 菌 株

本研究所用菌株来源于中国医学细菌保藏管理中心(National Center for Medical Culture Collections, CMCC)储存的解脂耶氏酵母菌(*Yarrowia lipolytica*) CMCC98025,该菌分离自北京某大型海鲜市场黄鱼干制品。

1.1.2 试 剂

马铃薯葡萄糖琼脂(potato dextrose agar, PDA)培养基(美国 BD 公司); 0.85%生理盐水(国药集团容生制药公司); 0.45%生理盐水(美国 Carefusion 公司); VITEK[®]2 YST 酵母菌鉴定卡(法国 BioMérieux 公司); α -氰基-4-羟基肉桂酸(α -cyano- 4-hydroxycinnamic acid, HCCA)基质溶液(德国 Bruker 公司); 甲酸(北京百灵威科技有限公司); DNeasy Plant Mini Kit 试剂盒(德国 QIAGEN 公司); Qubit[™] dSDNA

BRAssay Kit(美国 Invitrogen 公司); 冻干保护剂(中国食品药品检定研究院); ITS 位点测序引物由英捷捷基有限公司合成, 经聚丙烯酰胺凝胶电泳 (polyacrylamide gel electrophoresis, PAGE) 纯化。

验证用食品样品 7 类, 共 20 件, 均购买于北京大型连锁超市, 包含冷冻饮品 5 件、婴儿配方乳粉 5 件、蜂花粉 3 件、非发酵豆制品 2 件、膨化食品 1 件、饼干 2 件、果干制品 2 件。

1.2 仪器与设备

HETO POWER DRYLL1500 冷冻干燥机、Thermo 1389 生物安全柜、ND 2000 核酸蛋白分析仪(美国 Thermo Fisher Scientific 公司); PL2002 电子天平(瑞士梅特勒托利多公司); Autoflex 基质辅助激光解吸电离飞行时间质谱仪(德国 Bruker 公司); Vitek 2 Compact 全自动微生物分析系统(法国 BioMérieux 公司); Qubit1.0 核酸蛋白定量仪(美国 Invitrogen 公司); HYC-940 全自动微生物螺旋加样系统(西班牙 IUL 公司); Digital 4000cc 均质器(法国 Interscience 公司)。

1.3 实验方法

1.3.1 菌株鉴定确认

菌株复苏及分纯: 将菌株划线接种于 PDA 琼脂平板, 28 °C 培养 44~48 h 进行复苏, 复苏后挑取单菌落再次划线于 PDA 琼脂平板, 28 °C 培养 44~48 h 进行分纯, 待用。

生化鉴定: 用无菌棉签刮取新鲜培养物, 置于 0.45% 生理盐水中, 制成麦氏浊度单位 (McFarland, MCF)=1.8~2.2 的菌悬液, 使用 VITEK® 2 YST 酵母菌鉴定卡及全自动微生物分析系统进行鉴定。

MALDI-TOF MS 鉴定: 挑取新鲜培养物单个菌落涂布于 MALDI-TOF MS 靶板上, 覆盖 1 μ L 70% 甲酸水溶液, 室温下自然晾干后, 再覆盖 1 μ L HCCA 基质溶液, 室温下自然晾干后, 将靶板置于仪器中进行检测。检测软件: MALDI Biotyper RTC, 检测条件: MALDI 离子源, 线性正离子模式, N₂ 激光器, 激光波长 337 nm, 激光频率 60 Hz, 采集质量范围 m/z 2000~20000, 每个样品采集 240 次激光脉冲的叠加信号。

ITS 位点测序: 使用 DNeasy Plant Mini 试剂盒对分纯后菌株进行 DNA 提取, 具体操作步骤参照 DNeasy Plant Mini 试剂盒说明书进行。提取后使用 Qubit dsDNA BR Assay Kit、Qubit1.0 核酸蛋白定量仪及核酸蛋白分析仪进行浓度及纯度测定。提取 DNA 后进行 ITS 位点扩增, 扩增引物序列为: ITS-F: 5'-TCCTCCGCTTATTGATATGC-3'; ITS-R: 5'-GGAAGTAAAAGTCGTAACAAGG-3', 扩增产物大小为 500~600 bp, 扩增体系: 10 $\times$ buffer 2.5 μ L, dNTP (0.05 mmol/L) 2 μ L, 引物(50 pmol/L) 0.2 μ L, Taq 酶(5 U/mL) 0.2 μ L, ddH₂O 补至 25 μ L 体积, DNA 模板 2 μ L; 扩增条件如下: 95 °C 预变性 10 min, 95 °C 变性 30 s, 52 °C 退火 30 s, 72 °C 延伸 90 s, 35 个循环, 72 °C 7 min, 4 °C 保存。扩增产物送至北京天一辉远生物科技有限公司进行克隆测序, 结果上传至美国国家生物信息

中心(National Center for Biotechnology Information, NCBI) GenBank 网站进行 Blast 比对。

1.3.2 标准物质的生产制备

无菌棉签刮取本菌新鲜培养物, 混悬于冻干保护剂中, 进行冷冻干燥, 于西林瓶中真空压盖密封, 制成菌浓度为 10⁴ CFU/样品的标准物质, -20 °C 保存。

1.3.3 均匀性验证实验

随机抽取冻干后样品 20 瓶, 每瓶中加入 1 mL 0.85% 生理盐水溶液, 充分混匀溶解后, 使用全自动微生物螺旋加样系统的 E50 模式涂布于 PDA 琼脂平板, 每个样品平行涂布 2 块平板, 28 °C 培养 44~48 h 后进行菌落计数。参照 CNAS—GL003:2018 等相关文件中单因素方差分析 (one-way analysis of variance, ANOVA) 方法对其均匀性检测结果进行统计, 评价样品的均匀性。

1.3.4 运输稳定性检验

实验周期为 7 d。随机抽取冻干后样品, 分别存放于 25 及 37 °C 培养箱中, 于 1、3、5、7 d 各取出 3 个样品, 每瓶中加入 1 mL 0.85% 生理盐水溶液, 充分混匀溶解后, 使用全自动微生物螺旋加样系统的 E50 模式涂布于 PDA 琼脂平板, 每个样品平行涂布 2 块平板, 28 °C 培养 44~48 h 后进行菌落计数, 同时计算样品的存活率。

1.3.5 储存稳定性检验

实验周期为 90 d。将制备的标准物质存放于 -20、4 °C 保存。-20 °C 样品于 7、14、28、60、90 d 时各取出 3 个样品, 4 °C 样品于 1、3、5、7、14、28 d 时各取出 3 个样品。所有样品每瓶中加入 1 mL 0.85% 生理盐水溶液, 充分混匀溶解后, 使用全自动微生物螺旋加样系统的 E50 模式涂布于 PDA 琼脂平板, 每个样品平行涂布 2 块平板, 28 °C 培养 44~48 h 后进行菌落计数, 计算 -20 °C、4 °C 温度下各时间点样品菌含量的存活率, 以评价 2 个温度条件下样品储存的稳定性。

1.3.6 真实食品样品中应用验证

取食品样品 20 件, 包括冷冻饮品、婴儿配方奶粉、蜂花粉、非发酵豆制品、膨化食品、饼干、果干制品 7 类常见食品。每个样品称取 2 份, 其中 1 份作为本底对照进行检验, 另 1 份样品加入冻干的标准物质 1 个, 充分混匀后, 按照 GB 4789.15—2016 进行后续检测, 以验证标准样品在真实食品中的使用效果。

1.3.7 协作标定

随机抽取冻干后标准物质样品 30 瓶, 发放给 3 家实验室, 每个实验室 10 瓶。实验室于每瓶样品中加入 1 mL 0.85% 无菌生理盐水, 充分混匀后按照 GB 4789.15—2016 进行后续检测, 对平板上菌落进行计数及生化鉴定。

2 结果与分析

2.1 菌株确认

本研究用菌株生化鉴定结果为解脂耶氏酵母, 准确度为 93%; MALDI-TOF MS 鉴定结果为解脂耶氏酵母, 分

数为 2.012, 结果可信; ITS 位点测序结果与 NCBI Genbank 中已有序列比对, 匹配最优结果为解脂耶氏酵母(*Yarrowia lipolytica*)(Accession number: CP061015.1; Query Cover: 95%; Ident: 100%)。综上, 本研究使用的菌株确认为解脂耶氏酵母。

2.2 均匀性检验结果

随机抽取 20 瓶冻干后解脂耶氏酵母样品计数, 结果的均值为 4.8×10^4 CFU/样品。经 SPSS 统计分析, 数值符合正态分布, 最大值为 6.8×10^4 CFU/样品, 最小值为 3.8×10^4 CFU/样品, 中位数为 4.7×10^4 CFU/样品。使用单因素方差分析方法计算得到相应样品间均方及样品内均方, 并进一步计算 F 值结果为 1.697, F 临界值 $F_{0.05}(19,20)=2.137$, F 值 $< F_{0.05}$, 表明在 0.05 显著性水平时, 制备的标准物质均匀性符合要求。

2.3 运输稳定性检验结果

25 及 37 °C 7 d 内, 制备的本标准物质中菌含量仍能保持在 10^4 CFU/样品, 7 d 内存活率良好(表 1), 37 °C 7 d 内存活率大于 89%, 25 °C 存活率大于 97%。

表 1 25 及 37 °C 条件下酵母标准物质运输稳定性检验结果
Table 1 Results of transport stability test of reference material at 25 and 37 °C

时间/d	37 °C 检测存活率/%	25 °C 检测/存活率/%
0	/	/
3	89.6	97.9
5	93.8	106.3
7	89.6	106.3

注: “/”表示不需测定。

2.4 储存稳定性检验结果

放置于 4 °C 条件下储存, 本标准物质 28 d 内菌含量均为 10^4 CFU/样品(表 2), 存活率良好, 均在 91% 以上。

放置于 -20 °C 条件下储存, 本标准物质 90 d 内菌含量均为 10^4 CFU/样品(表 2), 存活率良好, 均在 91% 以上。

2.5 真实食品中应用验证结果

20 件食品样品按照 GB 4789.15—2016 进行稀释、培养及菌落计数, 均未见酵母菌生长, 可作为本底对照。本研究制备的标准物质加入 20 件食品样品后, 检验后均可见酵母菌典型菌落, 对典型菌落进行生化鉴定, 均为解脂耶氏酵母菌, 同时进行结果计数(表 3), 总体平均值为 3.9×10^4 CFU/样品, 将 20 瓶标准物质均一性检测平均值 4.8×10^4 CFU/样品作为原始含量参考值, 计算回收率为 81.3%。说明该标准物质在不同基质中应用效果较好, 回收率可满足食品中酵母菌计数的检验要求。

表 2 4 及 -20 °C 条件下标准物质储存稳定性检验结果
Table 2 Results of storage stability test of reference materials at 4 and -20 °C

时间/d	4 °C 检测存活率/%	-20 °C 检测存活率/%
0	/	/
1	97.9	/
3	95.8	/
5	91.7	/
7	91.7	95.8
14	93.8	100.0
28	100.0	108.3
60	/	95.8
90	/	91.7

注: “/”表示不需测定。

2.6 协作标定验证结果

3 家实验室对酵母标准物质的计数结果均为 10^4 CFU/样品(表 4), 计数后观察平板上菌落均为单一典型菌落, 每个平行涂布的平板挑取 1~2 个菌落进行生化鉴定, 生化鉴定结果均为解脂耶氏酵母菌。

3 结论与讨论

酵母菌计数检验作为食品微生物检验的基础指标, 保证其检验可靠是必须也是具有难度。因此, 实验室不光需要考虑人员、环境等因素, 使用可靠的标准物质作为检验对照也是非常必要的。本研究制备的具有生物活性的微生物标准物质样品, 使用的菌株为我国食品样品(黄鱼干制品)中分离的解脂耶氏酵母菌, 经生化、MALDI-TOF MS、ITS 位点测序和来源及生物信息背景明确, 对人员及环境安全。目前, 大部分用于检验对照的菌株都是标准菌株^[19], 并来自于如美国典型微生物菌种保藏中心等国外菌种保藏中心的菌株, 购买使用时价格昂贵、周期长, 长期依赖国外菌种保藏中心, 不利于我国开展食品微生物自主研究。因此, 本研究制备的标准物质具有我国食源性特点, 提供了可靠的酵母菌计数检验标准物质。

根据国标 GB 4789.15—2016 中“样品的稀释”及“菌落计数”要求, 样品应取 25 g (mL) 置于 225 mL 无菌稀释液中, 计数时应选取菌落数在 10~150 CFU 的平板。本次制备的标准物质浓度为 10^4 CFU/样品, 使用时加入一个标准物质于食品样品, 经稀释(约稀释 225 倍), 最终得到平板上可计数的菌落数约为 10^2 CFU/样品, 正好符合国标中应选取的菌落范围要求。故检验人员使用时, 无需考虑稀释度问题, 可直接作为对照使用, 非常方便快捷。

表 3 真实食品样品中酵母标准物质计数结果(n=3)
Table 3 Count results of reference materials in food sample (n=3)

瓶号	样品检测平均值/(CFU/样品)	回收率/%	总平均值/(CFU/样品)	总标准差/(CFU/样品)	总回收率/%
1	4.5×10 ⁴	93.8%	3.9×10 ⁴	6.9×10 ³	81.3
2	5.9×10 ⁴	122.9%			
3	4.5×10 ⁴	93.8%			
4	3.6×10 ⁴	75.0%			
5	4.1×10 ⁴	85.4%			
6	4.1×10 ⁴	85.4%			
7	3.2×10 ⁴	66.7%			
8	3.6×10 ⁴	75.0%			
9	4.1×10 ⁴	85.4%			
10	4.1×10 ⁴	85.4%			
11	3.2×10 ⁴	66.7%			
12	3.6×10 ⁴	75.0%			
13	3.6×10 ⁴	75.0%			
14	4.1×10 ⁴	85.4%			
15	5.0×10 ⁴	104.2%			
16	3.2×10 ⁴	66.7%			
17	3.6×10 ⁴	75.0%			
18	3.2×10 ⁴	66.7%			
19	3.2×10 ⁴	66.7%			
20	3.6×10 ⁴	75.0%			

注：其中 1~5 号为冷冻饮品，6~10 号为婴儿配方乳粉，11~13 号为蜂花粉，14~15 号为非发酵豆制品，16 号为膨化食品，17~18 号为饼干，19~20 号为果干制品。

表 4 酵母标准物质协作标定结果(CFU/样品)
Table 4 Result of collaborative calibration for reference material (×10⁴ CFU/样品)

实验室	A	B	C
1	3.5	2.2	3.2
2	4.2	2.3	3.5
3	4.2	2.1	2.2
4	2.9 ⁴	2.4	2.7
5	3.8	2.5	4.0
6	3.9	2.1	3.3
7	3.3	2.6	2.8
8	3.3	2.4	3.6
9	3.4	2.2	5.3
10	4.2	2.4	2.7
平均值	3.7	2.3	3.3

本研究制备的标准物质是 10⁴ CFU/样品的定量标准物质，不同于目前大部分制备出的定性标准物质^[20]，保证其均匀性及稳定性更具有挑战^[21-22]。通过结果分析，本研究制备的标准物质均匀性良好，单因素方差分析符合要求。根据 CNAS—GL003:2018，在 25 及 37 °C 下运输稳定性测试，7 d 内均维持在 10⁴ CFU/样品，可保证极端天气下

运输的稳定。样品可长期存放在-20 °C 条件下稳定。通过 20 件食品基质中应用验证，样品可回收，总回收率在 81.3%，各样品间为 66.7%~122.9%，考虑到食品样品基质对回收有影响且样品间存在一些小差异，通过回收率计算，使用时仍可满足要求。3 家实验室协作标定结果也与预期相符。因此本标准样品作为日常检验的质量控制手段是可行的，可进一步保障检验结果的真实性、准确性及可靠性。

标准物质作为日常检验频繁使用的样品，还应利于实验人员使用。本标准物质为冻干球形，紧致光滑，不易破碎。不同于大部分冻干粉状的标准物质，样品打开前无需离心，打开时不易扑溅及喷出，一方面保证了使用时的准确度，另一方面保护了人员及环境不受污染。

本研究制备的酵母菌标准物质可用于规范检验工作的整个过程，检验中产生问题时可作为指示线索，使今后检验工作更具先进性、科学性及权威性，也为我国食品安全监管提供有力的技术支撑。

参考文献

[1] 孙皖如, 马玉帅, 许向华, 等. 食源性霉菌和酵母菌检测技术进展[J]. 河北北方学院学报(自然科学版), 2019, 35(3): 48-52.
SUN WR, MA YS, XU XH. Research advances in detection technology for foodborne molds and yeasts [J]. J Hebei North Univ (Nat Sci Ed), 2019,

- 35(3): 48–52.
- [2] 张群. 粮食加工中真菌毒素控制技术研究[J]. 食品与生物技术学报, 2019, (4): 160.
ZHANG Q. Research on mycotoxin control technology in food processing [J]. J Food Sci Biotechnol, 2019, (4): 160.
- [3] 苏红梅, 滕安然, 李力. 谷物和饲料中真菌毒素的危害、降解及其检测技术[J]. 福建轻纺, 2021, (2): 18–23.
SU HM, TENG AR, LI L. The harm, degradation and detection technology of mycotoxins in grains and feed [J]. Light Text Ind Fujian, 2021, (2): 18–23.
- [4] 李雅静, 秦曙, 杨艳梅, 等. 中国谷物真菌毒素污染研究现状[J]. 中国粮油学报, 2020, 35(3): 186–194.
LI YJ, QIN S, YANG YM, *et al.* Research status of mycotoxin contamination in grains in China [J]. J Chin Cere Oil Ass, 2020, 35 (3): 186–194.
- [5] 周玉庭, 任佳丽, 张紫莺. 粮食中霉菌污染检测方法现状及发展趋势[J]. 食品安全质量检测学报, 2016, 7(1): 244–250.
ZHOU YT, REN JL, ZHANG ZY. Current situation and development trends of detection methods for mold contamination in grains [J]. J Food Saf Qual, 2016, 7(1): 244–250.
- [6] 李树立, 刘国兴. 浅谈食品中酵母和霉菌的污染及其检验[J]. 河北经贸大学学报(综合版), 2004, 4(2): 83–85.
LI SL, LIU GX. Discussion about the contamination and inspection of yeast and mold in food [J]. J Hebei Univ Econ Bus (Compr Ed), 2004, 4(2): 83–85.
- [7] 覃晓, 罗秋敏, 王玲. 食品中霉菌、酵母菌检验能力验证的影响因素探讨[J]. 现代食品, 2018, (11): 114–117.
QIN X, LUO QM, WANG L. Discussion on influencing factors of verification of inspection ability of mold and yeast in food [J]. Mod Food, 2018, (11): 114–117.
- [8] 石丽丽, 顾悦, 高鹏飞, 等. 食品用包装材料中霉菌、酵母菌检测方法研究[J]. 现代食品, 2020, (9): 206–208, 211.
SHI LL, GU Y, GAO PF, *et al.* Study on the detection method of mold and yeast in food packaging materials [J]. Mod Food, 2020, (9): 206–208, 211.
- [9] 白海娜. 食品中微生物污染的来源及其控制分析[J]. 食品安全导刊, 2020, (36): 8.
BAI HN. The source of microbial contamination in food and its control analysis [J]. China Food Saf Magaz, 2020, (36): 8.
- [10] 梁美丹, 肖剑, 易云婷, 等. 食品微生物能力验证霉菌酵母菌计数—检验方法比较[J]. 轻工科技, 2015, (7): 5–6.
LIANG MD, XIAO J, YI YT, *et al.* Food microbiological proficiency test mold yeast count-comparison of inspection methods [J]. J Light Ind, 2015, (7): 5–6.
- [11] 王鹤. 环境监测实验室标准物质的管理研究[J]. 科技创新导报, 2020, (9): 177, 182.
WANG H. Study on the management of reference materials in environmental monitoring laboratory [J]. Sci Technol Innov Herald, 2020, (9): 177, 182.
- [12] 罗丽珠, 陈婉娃. 标准菌株在微生物检测中的作用[J]. 食品安全质量检测学报, 2021, 12(8): 3281–3286.
LUO LZ, CHEN WW. The role of standard strains in microbial testing [J]. J Food Saf Qual, 2021, 12(8): 3281–3286.
- [13] 朱麟亚. 标准菌株在进行食品微生物检测中的应用价值分析[J]. 当代医药论丛, 2019, 17(12): 199–200.
ZHU LY. Analysis of application value of standard strains in food microbiological detection [J]. Contemp Med Forum, 2019, 17(12): 199–200.
- [14] 王鹏宇. 农业食品加工中的微生物污染及其控制研究[J]. 南方农机, 2021, 52(3): 73–74.
WANG PY. Research on microbial contamination and its control in agricultural food processing [J]. South Agric Mach, 2021, 52(3): 73–74.
- [15] 罗超, 李妍, 赵珂珂, 等. 单核细胞增生李斯特氏菌标准物质冻干保存方法[J]. 上海计量测试, 2019, (4): 6–10.
LUO C, LI Y, ZHAO KK, *et al.* Freeze-drying and preservation method studies on standard reference materials of *Listeria monocytogenes* [J]. Shanghai Meas Test, 2019, (4): 6–10.
- [16] 夏丹丹, 赵莹莹, 马盼盼, 等. 大肠杆菌 DNA 定性标准物质的制备及在枸杞子污染检测中的应用[J]. 食品科学, 2020, 41(18): 267–274.
XIA DD, ZHAO YY, MA PP, *et al.* Preparation of plasmid DNA reference material and its application in rapid detection of goji berries (*Lycium barbarum*) contaminated with *Escherichia coli* [J]. Food Sci, 2020, 41(18): 267–274.
- [17] 吴兰, 罗玉萍, 王金保, 等. 解脂耶氏酵母菌处理含油废水的研究[J]. 环境科学研究, 2006, (5): 124–127.
WU L, LUO YP, WAN JB, *et al.* Use of *Yarrowia lipolytica* for the treatment of oil grease wastewater [J]. Res Environ Sci, 2006, (5): 124–127.
- [18] LIU HH, ZENG SY, SHI TQ, *et al.* A *Yarrowia lipolytica* strain engineered for arachidonic acid production counteracts metabolic burden by redirecting carbon flux towards intracellular fatty acid accumulation at the expense of organic acids secretion [J]. Biochem Eng J, 2017, 128: 201–209.
- [19] 张彩文, 李金霞, 陈怡文, 等. 致泻大肠埃希氏菌检验用标准菌株的研究[J]. 食品与发酵工业, 2020, 46(23): 72–77.
ZHANG CW, LI JX, CHEN YW, *et al.* Study of standard strain for testing diarrheagenic *Escherichia coli* [J]. Food Ferment Ind, 2020, 46(23): 72–77.
- [20] 林杰, 柯璐, 黄晓蓉, 等. 甲型副伤寒沙门菌菌株标准物质制备工艺初探[J]. 黑龙江畜牧兽医, 2014, (7): 127–129.
LIN J, KE L, HUANG XR, *et al.* Preliminary study on the preparation process of standard substances of *Salmonella paratyphoid* A [J]. Heilongjiang Anim Sci Vet Med, 2014, (7): 127–129.
- [21] 宋国强, 施敏芳, 李可芳, 等. 用有证标准样品进行能力验证的方法探讨[J]. 环境科学与技术, 2004, 27(6): 42–43.
SONG GQ, SHI MF, LI KF, *et al.* Discussion on the method of proficiency testing with certified standard samples [J]. Environ Sci Technol, 2004, 27(6): 42–43.
- [22] 余文, 安琳, 陈怡文, 等. 铜绿假单胞菌能力验证样品的研制及应用研究[J]. 中国药事, 2020, 34(7): 806–811.
YU W, AN L, CHEN YW, *et al.* Research on preparation and application of *Pseudomonas aeruginosa* capability verification samples [J]. Chin Pharm Aff, 2020, 34(7): 806–811.

(责任编辑: 李磅礴 郑 丽)

作者简介



任 秀, 硕士, 主管药师, 主要研究方向为食品微生物学、分子生物学检测。
E-mail: wanwan329@sina.cn



崔生辉, 研究员, 主要研究方向为食品安全检测。
E-mail: cuishenghui@aliyun.com