

阪崎克罗诺杆菌物理和化学防控方法的研究进展

陈雪峰¹, 郭玉曦^{1,2}, 曾海燕², 龚频¹, 李程思², 张菊梅², 吴清平^{2*}

(1. 陕西科技大学食品与生物工程学院, 陕西西安 710021) (2. 广东省微生物安全与健康重点实验室, 华南应用微生物学国家重点实验室, 广东省科学院微生物研究所, 广东广州 510070)

摘要: 阪崎克罗诺杆菌 (*Cronobacter sakazakii*) 是一种重要的条件致病菌, 容易感染新生儿和早产儿并引起坏死性小肠结肠炎 (NEC)、败血症和脑膜炎, 其致死率高达 40%~80%。因其特有的致病性、生物膜形成能力, 同时对高渗透压、低 pH、高温、氧化、干燥等有较强的抵抗力, 可以在食品加工生产过程中长期存活, 具有潜在的食品安全风险。该研究综述并对比了近 5 年关于阪崎克罗诺杆菌物理防控 (如脉冲电场、微波、高压、射频、紫外光、真空干燥等) 和化学防控方法 (如植物提取物及衍生成分、生物活性肽/乳及乳制品衍生成分、碳水化合物等) 的相关研究, 综合讨论了各种防治方法及其抑菌效果。然而, 每种控制方法在其剂量和应用方法方面都有其局限性, 已有的物理和化学防控之间的协同效应, 这可能有助于降低食物中不含阪崎克罗诺杆菌的风险。

关键词: 阪崎克罗诺杆菌; 物理防控; 化学防控; 抑菌效果

文章编号: 1673-9078(2022)01-1-10

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2022.1.0890

Advancement in Physical and Chemical Methods for Controlling

Cronobacter sakazakii

CHEN Xuefeng¹, GUO Yuxi^{1,2}, ZENG Haiyan², GONG Pin¹, LI Chengsi², ZHANG Jumei², WU Qingping^{2*}

(1. School of Food and Biological Engineering, Shaanxi University of Science and Technology, Xi'an 710021, China)

(2. Guangdong Provincial Key Laboratory of Microbial Safety and Health, State Key Laboratory of Applied Microbiology Southern China, Guangdong Institute of Microbiology, Guangdong Academy of Sciences, Guangzhou 510070, China)

Abstract: *Cronobacter sakazakii*, an important conditional pathogen that causes life-threatening necrotizing enterocolitis, septicemia, and meningitis in newborns and premature infants, result in a mortality rate of 40%~80%. Moreover, its unique pathogenicity, ability to form biofilms, strong resistance to high osmotic pressure, low pH, high temperature, oxidation, and drying, and the capability of surviving for long periods of time during food processing and production render it a potential food safety risk factor. Herein, relevant studies conducted in the last five years on the various physical (such as pulsed electric field, microwave, high voltage, radio frequency, ultraviolet light, and vacuum drying) and chemical (such as plant extracts and derived components, bioactive peptides/milk and dairy-derived components, carbohydrates) methods used to control *C. sakazakii* were reviewed and compared, and their inhibition effects were discussed in a comprehensive manner. Each control method has its limitations in terms of dose and method of application. Further investigations on the possible synergistic effects between the physical and chemical control methods may help toward reducing the risk of food contamination by this pathogen.

Key words: *Cronobacter sakazakii*; physical control; chemical control; bacterial inhibition

引文格式:

陈雪峰, 郭玉曦, 曾海燕, 等. 阪崎克罗诺杆菌物理和化学防控方法的研究进展[J]. 现代食品科技, 2022, 38(1): 1-10

CHEN Xuefeng, GUO Yuxi, ZENG Haiyan, et al. Advancement in physical and chemical methods for controlling *Cronobacter sakazakii* [J]. Modern Food Science and Technology, 2022, 38(1): 1-10

收稿日期: 2021-08-13

基金项目: 国家自然科学基金项目 (81803698; 31800328)

作者简介: 陈雪峰 (1964-), 男, 博士, 教授, 研究方向: 食品功能成分/食品生物技术, E-mail: chenxf201693@163.com; 郭玉曦 (1996-), 男, 硕士研究生, 研究方向: 食品功能成分, E-mail: guoyuxi416@163.com

通讯作者: 吴清平 (1962-), 男, 博士, 研究员, 中国工程院院士, 研究方向: 微生物安全与健康, E-mail: wuqp203@163.com

克罗诺杆菌属 (*Cronobacter* spp.) 是无芽孢、能运动、具周身鞭毛的革兰氏阴性杆菌, 该属包括 7 个种: 阪崎克罗诺杆菌 (*C. sakazakii*)、苏黎世克罗诺杆菌 (*C. turicensis*)、丙二酸盐克罗诺杆菌 (*C. malonaticus*)、尤尼沃斯科罗诺杆菌 (*C. unisails*)、莫金斯克罗诺杆菌 (*C. muytjinii*)、康帝蒙提克罗诺杆菌 (*C. condiment*) 和都柏林克罗诺杆菌 (*C. dublinensis*),

其中,都柏林克罗诺杆菌包括3个亚种:都柏林亚种(*dublinensis*)、洛桑亚种(*lausannensis*)和奶粉亚种(*lactatidi*)^[1]。克罗诺杆菌是一种重要的条件致病菌,阪崎克罗诺杆菌是该属最重要的致病种,感染婴幼儿能够引起坏死性小肠结肠炎(NEC)、败血症和脑膜炎,致死率高达40%~80%,部分存在于婴幼儿配方奶粉中的克罗诺杆菌菌株,具有一定的生物膜形成能力及致病能力,同时对高渗透压、低pH、高温、氧化、干燥等有较强的抵抗力^[2]。

近5年关于阪崎克罗诺杆菌防控方法的研究相对较多,Hu等^[1]综述了2009~2017年乳品中克罗杆菌属的防控方法,Chauhan等^[3]系统的综述了阪崎克罗诺杆菌的生物控制策略(如益生菌、噬菌体防控等),与传统的物理和化学方法相比,大多数针对阪崎克罗诺杆菌的生物控制研究没有考虑居民的接受程度,以及使用这些生物控制方法可能带来的大部分潜在风险,例如它们的毒性、在食品加工条件下的稳定性、与其他食品成分的相互作用等。但物理和化学防控方法需要考虑产业化后设备及相应提取工艺、原料的应用成本。为此,本文综述了国内外近5年关于阪崎克罗诺杆菌物理和化学控制方法的相关研究,进行对比,并提出相应的建议及展望,旨在为阪崎克罗诺杆菌防控的深入研究提供理论依据。

1 物理防控

开发替代微生物热灭活方法逐渐成为食品工业微生物防控的趋势,脉冲电场(Pulsed electric fields, PEF)^[4-7]、微波^[8]、高压^[7]、射频^[9]和紫外光(UV-C)^[7,10-12]等研究作为传统热处理阪崎克罗诺杆菌的替代方法,这些方法能够避免加热或酸化等传统技术对食品基质造成的不良影响^[13]。

1.1 强脉冲光处理

脉冲电场(Pulsed electric fields, PEF)是一种新兴的食品加工技术,由于其非热特性、低能耗和短处理时间的优点,目前已广泛应用于食品工业,可能逐渐替代食品加工中传统的热巴氏杀菌法,也是近五年内低水分食品(尤其是婴幼儿配方乳粉)中阪崎克罗诺杆菌物理防控的热点研究(表1)。PEF杀灭阪崎克罗诺杆菌的主要机制是光化学效应,光化学效应有助于阪崎克罗诺杆菌DNA中嘧啶二聚体的形成,从而阻止细胞复制^[14]。

Ruan课题组^[4-6]对强脉冲光(Intense Pulsed Light, IPL)设备在粉状食品中阪崎克罗诺杆菌的灭活进行一系列的优化研究。Chen等^[5]考察了相对湿度、环境温

度、初始水分活度、初始温度和停留时间等工艺参数对脱脂乳粉中阪崎克罗诺杆菌的杀菌效果,结果表明,在水分活度为0.25时,强脉冲光与温和温度(57℃)协同作用下,IPL处理的滞留时间为28s,具有一定的灭活效果。Chen等^[4]使用振动辅助IPL系统调查不同粉状食品(脱脂乳粉、面粉、蛋清粉)中的阪崎克罗诺杆菌灭活情况,同时对光源光谱、粉末层厚度、光源与粉末的距离和通过次数等各种变量进行进一步的优化。最后,Chen等^[6]研究了强脉冲光和TiO₂光催化对脱脂奶粉和面粉中阪崎克罗诺杆菌灭活的协同作用。结果表明,高脉冲能量强度、高峰值强度、短脉冲持续时间是微生物失活的主要原因,且样品的颜色没有变化或者变化很小。在强脉冲光和TiO₂光催化作用下,脱脂奶粉中阪崎克罗诺杆菌减少到4.71 log CFU/g,面粉中减少到5.42 log CFU/g。但是IPL处理及其协同处理在工业化应用之前,从保持食品质量的可行性来看,仍需要对这些粉状食品更多的质量属性进行表征研究,如感官、理化等指标变化。从经济 and 操作的可行性来看,还需要进一步研究开发一种处理方法连续、能耗较低的IPL系统。

1.2 射频处理

射频(Radio frequency, RF)是一种新型的热杀菌技术,频率范围为1~300 MHz,射频处理具有加热速度快、穿透深度深、无化学残留等优点。已有研究报告了RF用于灭活低水分粉状材料中的食源性病原体,如黑色胡椒调味粉、小麦粉以及粉状脱脂乳粉。此外,由于穿透深度深,射频还可以改善精加工后的样品的质量,如蛋清粉和玉米粉^[15]。因此,射频有可能对包装的PIF进行杀菌。Lin等^[9]验证了射频辅助传统热处理(RF Assisted-TTP)用于婴幼儿配方乳粉PIF杀菌的有效性(表1)。根据保温过程中微生物的失活情况,确定了65℃时的D值。恒温21h后,阪崎克罗诺杆菌的降解率可达5 log CFU/g。射频技术在控制阪崎克罗诺杆菌的应用研究还相对较少,仍需要对杀菌效果及动力学模型拟合进行进一步的研究。

1.3 紫外辐射处理

与其他热和非热过程相比,紫外辐射(UV)处理在灭菌的同时,对食品的营养和感官质量损失较小,且无毒害和残留,能耗较低。Santo等^[11,12]探究了采用UV-C光照、酸性电解水(Acidic Electrolyzed Water, AEW)和中性电解水(Neutral Electrolyzed Water, NEW)处理对鲜切苹果、梨、甜瓜^[11]和芒果^[12]中阪崎克罗诺杆菌生长情况的影响(表1)。鲜切苹果、梨、

甜瓜接种后在不同温度下培养 10 d, 同时监测阪崎克罗诺杆菌, 研究了不同剂量 UV-C (0~10 kJ·m⁻²)、电解水和次氯酸钠 (SH) 对接种阪崎克罗诺杆菌果实的抑制活性。与 AEW、NEW 和 SH (1.2~1.8 log CFU/g) 相比, UV-C 对阪崎克罗诺杆菌的杀灭效果更好 (2.4~2.6 log CFU/g) [16]。紫外辐射杀菌已产业化应用于婴幼儿配方奶粉生产中, 由于阪崎克罗诺杆菌对高渗透压、低 pH、高温、氧化、干燥等具有较强的抵抗力, 可能被紫外线照射失活后可通过光协助修复自身被破坏的组织, 已达到复活的目的, 其机制仍需要进一步研究。

1.4 微波处理

牛乳铁蛋白 (Bovine Lactoferrin, BLF) 是一种铁结合型糖蛋白, 具有一定的抗菌活性。Harouna 等 [8] 研究了微波加热 (450、550、650 W, 作用时间分别为 5、10、15 s) 对重组 PIF 中 BLF (2.5 mg/mL) 抗菌活性和稳定性的影响。450 W 和 550 W 处理 5 s 后, BLF 的抗菌活性保持不变, 分别保持了 BLF 94% 和

89% 的营养特性 (免疫活性)。重组 PIF 加或不加 BLF, 650 W 作用 5 s, 450、550 和 650 W 作用 10 s 和 15 s, 可完全灭活阪崎克罗诺杆菌。但是, 微波加热过程中的温度分布不均匀是目前阪崎克罗诺杆菌微波处理防控面临的主要挑战, 加热不均匀会形成加热缓慢的冷点和可能过热的热点, 这产生了一定的安全隐患。加热能力的这种变化无法完全保证食品, 尤其是婴幼儿食品的质量和安全性, 如果阪崎克罗诺杆菌分布于冷点位置, 它们可能无法被灭活。

2 化学防控

选择化学防控的主要标准包括对病原体的高度拮抗性、人类食用的安全性以及不应改变食品的感官和营养质量。目前针对阪崎克罗诺杆菌化学防控的研究主要集中在使用植物提取物及衍生成分 [17-29]、生物活性肽/乳及乳制品衍生成分 [30-36]、碳水化合物 [37] 等 (表 2), 这些方法能够降低物理防控对食品基质造成的色泽、风味等不良影响, 同时降低大型杀菌仪器的使用成本。

表 1 物理方法在阪崎克罗诺杆菌防控中的应用

Table 1 Application of physical methods in the prevention and control of *C. sakazakii*

抑菌方法	存在基质	抑菌实验方法	抑菌强度	参考文献
强脉冲光	脱脂奶粉、面粉、蛋清粉	琼脂稀释法	脱脂干奶粉: 5.27 log CFU/g 面粉: 4.92 log CFU/g 蛋清粉: 5.30 log CFU/g	[4]
强脉冲光	脱脂奶粉	琼脂稀释法	3.18 log CFU/g	[5]
强脉冲光处理结合 TiO ₂ 光催化	脱脂奶粉和面粉	琼脂稀释法	脱脂奶粉: 减少到 4.71±0.07 log CFU/g 面粉: 减少到 5.42±0.10 log CFU/g	[6]
牛乳铁蛋白水解处理 (胃蛋白酶和凝乳酶水解牛乳铁蛋白)	天然牛乳	平板计数法	抑制率 (乳清) = 100%	[8]
微波处理			抑菌率 = 100%	
射频辅助传统热处理	婴幼儿配方乳粉	平板计数法	减少 > 5 log	[9]
连续波紫外线 C 光 (UV-C) 和广谱强脉冲光 (HILP)	婴幼儿配方乳粉	琼脂稀释法	抑菌率 = 99.9%	[10]
紫外线辐射 (UV-C)、 酸性电解 (AEW)、 中性电解 (NEW)、次氯酸钠 (SH)	鲜切苹果、梨、甜瓜	肉汤稀释法	UV-C 7.5 和 10 kJ/m ² 产生量下降幅度 (2~2.4 log CFU/g) 大于 AEW (1.3~1.8 log CFU/g)、NEW (1~1.2 log CFU/g) 和 SH (0.8~1.4 log CFU/g)	[11]
紫外线辐射 (UV-C)、 酸性电解 (AEW)、 中性电解 (NEW)	芒果	肉汤稀释法	与 AEW、NEW 和 SH (1.2~1.8 log CFU/g) 相比, UV-C 对 <i>C. sakazakii</i> 的杀灭效果更好 (2.4~2.6 log CFU/g)	[12]
真空冷冻干燥	-	-	真空冷冻干燥 24 和 36 h 后, 细胞发生了明显的细胞内损伤和明显变形, 损伤细胞数量随真空干燥时间的延长而增加	[13]

表 2 化学方法在阪崎克罗诺杆菌防控中的应用

Table 2 Application of chemical methods in the prevention and control of *C. sakazakii*

抑菌方法	存在基质	抑菌实验方法	抑菌强度	参考文献
柠檬醛、 香芹酚结合温热	婴幼儿配方乳粉	肉汤稀释法	MIC (柠檬醛)=0.8 mg/mL MIC (香芹酚)=0.1 mg/mL	[18]
		牛津杯法	抑菌圈直径=14.35±0.67 mm	
苋菜三色粗提物	婴幼儿配方乳粉	纸片扩散法	MIC=20 mg/mL MBC=40 mg/mL	[21]
百里香 (浸泡)			3.0~7.0 mm	
百里香 (煎煮)	-	纸片扩散法	3.0~7.0 mm	[29]
百里香 (水醇萃取)			3.0~7.0 mm	
百里香酚	-	肉汤稀释法	MIC=1.25 mg/mL	[19]
百里香醌	-	肉汤稀释法	MIC=2.4 mM	[20]
百里香醌	-	琼脂稀释法	MIC=2.4 μmol/L	[38]
			MIC=2.4 μmol/L	
			MIC=1.8 μmol/L	
单月桂酸甘油酯 (TGML)	婴幼儿配方乳粉	肉汤稀释法	5 μg/mL TGML 能完全抑制病原菌的生长达 24 h	[22]
辅酶 Q ₀	-	肉汤稀释法	MIC=0.1~0.2 mg/mL	[39]
百里香酚、反式肉桂醛、 丁子香酚、薄荷脑精油	-	纸片扩散法	MIC (百里香酚精油)=0.05%	[23]
			MIC (反式肉桂醛精油)=0.05%	
			MIC (丁子香酚精油)=0.2%	
			MIC (薄荷脑精油)=0.8%	
反式肉桂醛	-	-	对 <i>C. sakazakii</i> 诱导的小鼠肠道炎症有保护作用	[24]
茶多酚	婴幼儿配方乳粉	平板计数法	1 h 内可杀灭 7.0 logCFU/mL	[26]
橄榄油多酚提取物	-	琼脂稀释法	MIC=1.25 mg/mL; MBC=2.50 mg/mL	[25]
		琼脂稀释法	MIC=0.625 mg/mL; MBC=1.25 mg/mL	
		琼脂稀释法	MIC=0.625 mg/mL; MBC=1.25 mg/mL	
		琼脂稀释法	MIC=0.625 mg/mL; MBC=1.25 mg/mL	
		琼脂稀释法	MIC=0.625 mg/mL; MBC=1.25 mg/mL	
		琼脂稀释法	MIC=0.625 mg/mL; MBC=1.25 mg/mL	
		琼脂稀释法	MIC=0.625 mg/mL; MBC=1.25 mg/mL	
香兰素	-	肉汤稀释法	4 °C 非干燥 <i>C. sakazakii</i> : MIC=3.33 mg/mL; MBC=8.00 mg/mL	[28]
		肉汤稀释法	4 °C 干燥 <i>C. sakazakii</i> : MIC=8.00 mg/mL; MBC=10.67 mg/mL	
		肉汤稀释法	10 °C 非干燥 <i>C. sakazakii</i> : MIC=3.00 mg/mL; MBC=8.00 mg/mL	
		肉汤稀释法	10 °C 干燥 <i>C. sakazakii</i> : MIC=7.00 mg/mL; MBC=11.00 mg/mL	
		肉汤稀释法	23 °C 非干燥 <i>C. sakazakii</i> : MIC=2.67 mg/mL; MBC=7.67 mg/mL	
		肉汤稀释法	23 °C 干燥 <i>C. sakazakii</i> : MIC=6.33 mg/mL; MBC=10.00 mg/mL	

续表 2

抑菌方法	存在基质	抑菌实验方法	抑菌强度	参考文献
重组菌丝肽	婴幼儿配方乳粉	肉汤稀释法	MIC=15.6 g/mL	[33]
甲壳低聚糖	-	肉汤稀释法	MIC=20 μ g/mL	[37]
壳聚糖和乳酸	婴幼儿配方奶粉 和婴幼儿谷类食品	平板计数法	降低约 3~4 个对数	[27]
硫辛酸	-	琼脂稀释法	MIC=5 mg/mL	[40]
	-	琼脂稀释法	MIC=2.5 mg/mL	

2.1 植物提取物及衍生成分的防控作用

2.1.1 柠檬醛

柠檬醛 (GRAS 182.60) 是山苍子油 (*Litsea cubeba* oil) 的主要生物活性成分, 具有抗病毒、抗炎、抗肿瘤、抗氧化和抑菌等体外活性。研究表明, 柠檬醛在体外对阪崎克罗诺杆菌具有抗毒力的作用^[41]。Shi 等^[42]采用新生小鼠肠道炎症模型, 研究了柠檬醛对阪崎肠炎的保护作用, 柠檬醛减少了回肠组织中阪崎克罗诺杆菌细胞的数量。同时, 柠檬醛处理也改善了严重的回肠组织损伤 (如上皮脱落、绒毛破裂和肠细胞凋亡)。再者, 阪崎克罗诺杆菌感染上调了多种炎症相关基因的 mRNA 转录水平, 增加了 IL-6 和 TNF- α , 激活了 NF- κ B 和 MAPK 信号通路, 而柠檬醛治疗减轻了这些炎症反应, 抑制肠细胞凋亡和 Caspase 3、Caspase 8 和 Caspase 9 的激活。Cao 等^[17]采用转录组测序的方法, 研究了柠檬醛和香芹酚联合处理对阪崎克罗诺杆菌对胁迫的响应机制。研究发现 25 个差异表达基因与抗逆能力密切相关, 主要涉及甘油代谢、柠檬酸代谢、甲酸代谢、核糖体功能和跨膜运输系统。香芹酚和柠檬醛的结合可引起质子推动力的耗散, 而 *psp* 调节子作为阪崎克罗诺杆菌对此反应的一个重要开关, 为了维持质子推动力, *psp* 调节细胞反应过程, 以减少细胞膜修复和质子消耗过程中的细胞能量消耗。Cao 等^[18]研究了香芹酚、柠檬醛、百里香酚和辛酸四种物质联合作用对 *C. sakazakii* CICC 21544 生长的影响。在 6 种组合中, 只有柠檬醛和香芹酚的组合表现出协同效应。温和的热处理结合 2~3 MIC 的柠檬醛和香芹酚, 可完全根除重组婴儿配方奶粉中的阪崎克罗诺杆菌。此外, 2 MIC 的组合对重组婴儿配方奶粉的颜色和香气评分没有显著影响 (表 2)。

2.1.2 百里香及其衍生成分

百里香 (*Thymus vulgaris* L.), 是一种多年生亚灌木, 属于唇形科 (*Labiatae*)。百里香及其衍生物 (百里香酚、百里香醌) 是近些年对阪崎克罗诺杆菌化学防控研究的热点。Martins 等^[29]对百里香采用煎煮、浸泡、水提物并对其抗氧化、抑菌 (阪崎克罗诺杆菌)

性能进行了评价和比较 (表 2)。百里香酚同样具有抗菌的特性, 为了提高百里香酚的溶解性和热稳定性, 百里香酚/环糊精包合物 (CD-IC) 主要作为食品包装和抗菌剂用于食品工业。Xu 等^[43]提示百里香酚通过诱导细胞膜的通透性和去极化而显示出抗菌机制。Tian 等^[19]用肉汤微量稀释法测定百里香酚的 MIC (表 2), 研究证实百里香酚通过诱导广泛的膜破坏, 抑制细菌生长, 降低细胞内 ATP, 细胞膜去极化, 降低 pH, 从而对 *C. sakazakii* 具有较强的抑制活性。

百里香醌 (Thymoquinone, TQ) 是从黑种草 (*Nigella Sativa*) 种子中提取的挥发油的主要生物活性成分, 数千年来一直被用作香料和食品防腐剂, 近些年被用于功能性食品和医药产品。Shi 等^[20]研究证明, TQ 对重组婴儿配方奶粉中的阪崎克罗诺杆菌具有良好的抗菌活性, 可显著降低阪崎克罗诺杆菌 ATCC 29544 对 HT-29 细胞的黏附和侵袭能力, 并减少原始 RAW 264.7 巨噬细胞内细菌细胞的数量。CHEN 等^[20]探究百里香醌 (TQ) 对阪崎克罗诺杆菌对环境 and 抗生素胁迫耐受性的影响。在测定了 TQ 对阪崎克罗诺杆菌的亚抑制浓度 (SICs) 后, 研究了胰蛋白胨大豆肉汤 (TSB) 和 RIF 中 TQ 对热、酸、干燥和高渗胁迫下细菌存活率的影响 (表 2)。百里香及其衍生成分可以通过改变细胞膜通透性, 降低细胞内 ATP, 细胞膜去极化, 从而破坏阪崎克罗诺杆菌细胞膜的完整性, 干扰菌体内蛋白质代谢等途径来抑制其生长繁殖, 并且在 SICs 能够抑制阪崎克罗诺杆菌生物被膜的形成, 但其他的作用机制仍有待于进一步研究。

2.1.3 其他植物提取物

苋菜及其提取物含有生物碱 (甜菜碱)、多酚 (黄酮、甾体、儿茶酸和单宁)、萜类和皂苷, 具有不同程度的抗菌活性。Peng 等^[21]研究旨在阐明苋菜三色粗提物 (ATCE) 对 PIF 中阪崎克罗诺杆菌的抑菌活性及其可能的作用机制。ATCE 对阪崎克罗诺杆菌的最低抑菌浓度 (DIZ) 为 14.35 mm, 最低 MIC 为 20 mg/mL, MBC 为 40 mg/mL。ATCE 处理结束了阪崎克罗诺杆菌的对数生长期, 导致细胞膜去极化, 降低了细胞内 pH、细菌蛋白质和基因组 DNA 含量, 导致细胞质渗

漏和变形。此外, ATCE 能有效灭活生物膜中的阪崎克罗诺杆菌, 在 25 °C 下用 1 MIC (1 MIC=20 mg/mL) 的 ATCE 处理 20 min, 可使活菌数减少约 6.5 log CFU/mL。

聚甘油单脂肪酸酯 (polyglycerol mono-fatty acid esters, TGML) 是一类被欧洲食品安全局 (EFSA) 认定为无安全风险的食品添加剂的抗菌化合物。由于分子中含有更多的羟基, 它们比传统的单甘酯具有更好的水溶性。根据此前的报道^[44], 阪崎克罗诺杆菌生长的最低 pH 值在婴幼儿胃 pH 为 4~5 的范围内, 说明该病原菌可能在婴幼儿胃肠道内存活甚至生长。此外, 婴儿胃排空时间可能长达 21 h^[45], 在此期间, 阪崎克罗诺杆菌的数量很可能达到或超过感染量 (总共 10⁴ CFU)。Zhang 等^[46]研究了阪崎克罗诺杆菌在 TGML 处理的 RIF 中的生长曲线以及不同温度、pH 值和离子强度对其活性的影响。结果表明, TGML 对阪崎克罗诺杆菌的抑制作用呈剂量依赖性, 1、2 和 5 μg/mL TGML 分别使病原菌的可见生长延迟 4、12 和 24 h。随后, 进一步探讨了 TGML 在生理性胃酸和体外模拟胃液中的抗菌作用。结果发现, 在整个胃排空期 (3.5 h~21 h), 只有 5 μg/mL TGML 在模拟胃液中对病原菌生长的抑制作用低于感染量 (10⁴ CFU), 弱于生理胃酸和室温培养条件下的抑菌效果。这一研究为化学防控对阪崎克罗诺杆菌的模拟婴幼儿胃液中的生长行为的相关研究提供理论依据。

几个世纪以来, 从植物中提取的天然抗菌剂 (如精油, Essential oils, EOs) 逐渐应用于食品保鲜和食品风味的改善。在选择添加到食品中的 EOs 剂量时, 不仅要注意 EOs 的预期技术效果, 而且要注意其成分在特定食品中可能引起的感官变化。Berthold-pluta 等^[47]用纸片扩散法筛选百里香、肉桂、丁香、薄荷、马郁兰、孜然、迷迭香、茴香、罗勒、酸橙、佛手柑、橙子、柠檬、柚子、柑橘、豆蔻、茴香和生姜中的 EOs, 对 21 株 *Cronobacter* 种的 EOs 进行了筛选, 其中包括: *C. Skazakii*、*C. muytjinii*、*C. turicensis*、*C. condimenti* 和 *C. malonatici*。此外, 还测定了百里香酚、反式肉桂醛、丁香酚和薄荷脑对 5 株 *Cronobacter* spp 的最小抑菌浓度 (MIC) 和最大耐受浓度 (MTC)。最有效的 EOs 为: 百里香>肉桂>马郁兰。反过来, 丁香、孜然和茴香中的 EOs 只对部分被分析菌株有适度的抑制作用。大多数受试 EOs: 薄荷、迷迭香、罗勒、豆蔻、茴香、生姜以及柑橘果实中的所有 Eos 对所有供试菌株均无效^[47]。但是由于植物精油中的化学成分较为复杂, 真正具有抑菌作用的化合物仍需要进一步鉴定, 各种化合物之间可能存在复杂的拮抗或者增效作用,

因而关于精油对阪崎克罗诺杆菌的作用机制仍需要深入的研究。

反式肉桂醛 (TC; C₉H₈O) 是从肉桂树皮中分离得到的一种主要生物活性成分, 具有抗菌、抗癌和抗氧化作用^[48]。Gao 等^[24]采用阪崎克罗诺杆菌诱导的新生小鼠肠道炎症模型来确定反式肉桂醛 (TC) 对感染的影响。TC 处理降低了回肠组织中阪崎克罗诺杆菌集落形成单位的数量, 减轻了肠道组织的形态学损伤。此外, 它还能降低感染阪崎克罗诺杆菌的小鼠炎症基因的转录, 以及 IL-6 和 TNF-α 的产生。同时, TC 处理可抑制 Caspase-3 活性, 调节肠细胞凋亡, 抑制阪崎克罗诺杆菌诱导的 NF-κB 信号通路的激活^[24]。但是明确其作为食品添加剂加入到婴幼儿配方乳粉中的限量及其对于婴幼儿肠道微环境的影响和作用机制仍需要进一步研究。

与茶^[26]或其他来源的多酚相比, 橄榄油多酚提取物 (olive oil polyphenols extract, OOPE) 中含有羟基酪醇和酪醇, 这是 OOPE 显示出抗氧化活性优势的重要原因。Fei 等^[25]研究了橄榄油多酚提取物 (OOPE) 对阪崎克罗诺杆菌的抑菌活性。OOPE 可以通过降低细胞内 ATP 浓度、细胞膜去极化、细胞质渗漏、减少细菌蛋白含量等途径对阪崎克罗诺杆菌起到有效的抗菌活性, 这与细胞膜通透性的增加有关。

2.2 生物活性多肽/乳及乳制品衍生成分的防控作用

2.2.1 浓缩甜乳清蛋白及其部分水解物

研究表明, 牛奶及其衍生物 (如乳清) 中的某些保护性物质只有在通过胃肠道消化释放后才有活性。这些物质包括来自脂肪消化的脂肪酸和来自蛋白质消化的肽。从牛奶蛋白中提取的生物活性肽在母体蛋白的序列中是不活跃的, 但可以通过酶蛋白水解释放出来。Mcevoy 等^[32]研究了浓缩甜乳清蛋白及其部分水解物 (sweet whey protein concentrate, SWPC) 对阪崎克罗诺杆菌宿主-病原菌相互作用的影响。研究表明 SWPC 几乎完全抑制了阪崎克罗诺杆菌在 Caco-2 细胞单层上的转位。脂肪酶和胃蛋白酶处理的 SWPC 也分别减少了 75% 和 90% 的易位。然而, 胰蛋白酶处理使 SWPC 对易位的影响无效。在阪崎克罗诺杆菌侵入 Caco-2 细胞后, 活细菌细胞和 SWPC 的存在都增加了 IL-8 的表达^[32]。该研究提出乳粉本身成分对于阪崎克罗诺杆菌就存在抑制作用, 但是缺乏进一步的动物实验验证结果, 及其对于婴幼儿肠道微环境的影响和作用机制仍需要进一步研究。

2.2.2 D-色氨酸

Li 等^[30]研究了 D-色氨酸 (D-Try) 对阪崎克罗诺杆菌生物膜发育的影响。与相应对照相比, 10 mmol/L D-Try 在 24、48 和 72 h 对生物被膜的形成分别减少了 87%、84%和 76%。此外, 营养丰富的培养基有助于维持现有的生物膜, 但当暴露在 D-Try 中时, 有利于脱离。D-Try 对生物膜发育的抑制作用可能与细胞间初始黏附和细胞外基质性质的改变有关。

2.3 碳水化合物

壳寡糖 (Chitooligosaccharide, COS) 是一种由 β -1,4-连接的 D-氨基葡萄糖单元通过酶或化学技术从壳聚糖中合成的线性聚合物。COS 具有链长短、溶解性好、安全性高等特点, 已广泛应用于医药、农业、环境、食品等众多领域。尤其是在食品行业, COS 经常被用来改善食品质量、安全性和保质期。Lu 等^[37]研究发现分子量为 2000 Da 的壳寡糖 (COS) 能有效地抑制阪崎克罗诺杆菌生物被膜, 尤其是在脱脂牛乳发酵液中。COS 的最低生物被膜抑制浓度 (MBIC77) 为 20 μ g/mL, 低于以往文献报道的最低生物被膜抑制浓度。此外, 当浓度为 10 mg/mL 时, COS 对阪崎克罗诺杆菌成熟生物膜的清除率为 50%。COS 能显著抑制阪崎克罗诺杆菌可溶性多糖分泌和生物膜细胞生长, 并改变细胞膜通透性。然而, 在抑制过程中, 除 *bcsA* 基因外, 与生物膜形成相关的 5 个重要基因 *flhD*、*flgJ*、*LuxR*、*OmpA* 和 *wcaJ* 在 COS 处理后均上调^[37]。Al-holy 等^[27]研究了壳聚糖和乳酸对重组 RIF 和麦基婴幼儿谷类食品 (WBIC) 中阪崎克罗诺杆菌的抑菌活性。在 RIF 和 WBIC 中加入 3 株阪崎克罗诺杆菌的鸡尾酒 (约 5.5×10^5 CFU/mL)。壳聚糖浓度为 1.5%和 2.0%时, 在室温下处理 6 h 后, 阪崎克罗诺杆菌的数量减少了 2~3 个对数^[27]。但值得注意的是, 大部分壳聚糖需要在酸性环境中溶解才能发挥其抑菌效果, 因此仍需要探究其作为食品添加剂加入到婴幼儿配方奶粉中的限量和安全性。

2.4 其他化学防控

2.4.1 辅酶 Q₀

辅酶 Q₀ (CoQ₀) 是一种主要积累在线粒体中的氧化还原活性天然化合物, 已被证明能抑制线粒体呼吸链复合物 I 的活性, 并防止线粒体通透性转换孔的打开。CoQ₀ 在食品工业中被认为是一种食品添加剂, 其安全性尚未得到系统评估, 尽管一些体内研究显示 CoQ₀ 与其他营养素联合使用没有有害影响。Guo 等人^[39]研究了 CoQ₀ 对阪崎克罗诺杆菌的抗菌活性及其可

能的抑菌机制, 并评价了辅酶 Q₀ 对生物膜中阪崎克罗诺杆菌的灭活效果。CoQ₀ 对阪崎克罗诺杆菌的 MIC 为 0.1~0.2 mg/mL。治疗引起细胞膜功能障碍, 表现为细胞膜超极化, 细胞内 ATP 浓度和细胞膜完整性降低, 细胞形态发生改变。辅酶 Q₀ 与温和的热处理 (45、50 或 55 $^{\circ}$ C) 相结合, 以时间和剂量依赖的方式减少重组婴儿奶中未干燥和干燥的阪崎克罗诺杆菌活细胞数。此外, CoQ₀ 在不锈钢生物膜中显示出对阪崎克罗诺杆菌的有效灭活作用, 降低了活细胞数, 破坏了生物膜的结构^[39]。然而, 在推荐在食品中应用 CoQ₀ 之前, 需要对 CoQ₀ 的安全性进行研究。

2.4.2 硫辛酸

硫辛酸 (Lipoic acid, LA, C₈H₁₄O₂S₂) 含有两个巯基, 一般以氧化或还原状态存在。还原形式被称为二氢硫辛酸 (DHLA), 而氧化形式通常被称为硫辛酸。LA 是一种亲脂性抗氧化剂, 也是线粒体呼吸酶的重要辅因子, 它在人血清中的含量约为 16 mg/L。LA 是一种有效的抗氧化剂, 能够螯合金属, 消除活性物种, 修复细胞氧化损伤。同时是一种重要的 NF- κ B 抑制剂, 转录因子, 可以诱导许多与宿主疾病的炎症相关的基因的表达。LA 的特点是对自由基的高反应性, 增加组织谷胱甘肽水平, 通过显著减少脂质过氧化物 (LPO) 的形成来减少氧化应激, 并恢复正常的抗氧化酶谱。Shi 等^[40]的研究中, LA 对阪崎克罗诺杆菌的 MIC 为 2.5~5.0 mg/mL。LA 的加入对阪崎克罗诺杆菌的增殖有直接和持续的抑制作用。LA 影响阪崎克罗诺杆菌细胞膜的完整性, 表现为胞内 ATP 浓度的降低。此外, 暴露于 LA 后, 阪崎克罗诺杆菌的 pH 值降低, 细胞膜去极化。结果表明, LA 对阪崎克罗诺杆菌具有中等抗菌活性, 它的抗菌作用部分是通过引起细胞膜功能障碍和细胞形态改变来实现的^[40]。尽管在相对高的浓度下, LA 对阪崎克罗诺杆菌具有抗菌特性, 但考虑到对婴儿食品中添加物质的严格限制, LA 作为婴儿配方或其他食品中的补充剂仍需要进一步探究。

3 展望及建议

3.1 目前, 随着科学技术的快速发展及对阪崎克罗诺杆菌防控的深入研究, 将高压、超声波、微波、UV-C 处理、脉冲电场、冷冻干燥等新型食品杀菌处理方法与化学方法相结合, 有望成为控制食品中阪崎克罗诺杆菌等食源性致病菌的有效途径; 因为阪崎克罗诺杆菌中出现的抗药性, 化学抑菌的方法被认为是较为安全的致病菌防控方法。但从工业的角度来看, 上述方法的使用成本是在任何食品行业采用和实施这些方法

的另一个关键点。与传统的热杀菌或抗生素等方法相比,目前进行的大多数防治研究都没有对生产成本进行探讨,使用方法的成本及其在食品加工中的工作效率是接受使用该技术生产产品的重要考虑因素。同时,对于食品本身而言,除了化学成分变化外,保持风味、颜色、味道和质地等感官特性也是控制阪崎克罗诺杆菌的重要方面。

3.2 因此,未来应加强以下研究以推进阪崎克罗诺杆菌防控的产业化应用:(1)探索和开发更多天然提取物、生物活性肽等更多化学防控措施;(2)协同联合使用物理、化学方法对阪崎克罗诺杆菌进行控制,优化使用条件,研究其相互作用(拮抗或协同)机制,实现物理、化学方法优势的协同互补;(3)仍需进一步考虑在不同的食品基质中对阪崎克罗诺杆菌进行物理和化学防治方法相关的潜在风险,例如毒性、在不同食品基质及食品加工条件下的稳定性、与其他食品成分之间的相互作用。此外,还需要根据婴幼儿食品配方的要求和标准来优化指定化学防控方法的剂量。

参考文献

- [1] HU Shuangfang, YU Yigang, XIAO Xinglong. Stress resistance, detection and disinfection of *Cronobacter* spp. in dairy products: a review [J]. Food Control, 2018, 85: 400-415
- [2] Ling Na, Forsythe Stephen, Wu Qingping, et al. Insights into *Cronobacter sakazakii* biofilm formation and control strategies in the food industry [J]. Engineering, 2020, 6(4): 393-405
- [3] Chauhan Rajni, Singh Niharika, Pal Gaurav Kumar, et al. Trending biocontrol strategies against *Cronobacter sakazakii*: a recent updated review [J]. Food Research International, 2020, 137: 109385-109391
- [4] CHEN Dongjie, CHENG Yanling, PENG Peng, et al. Effects of intense pulsed light on *Cronobacter sakazakii* and *Salmonella* surrogate *Enterococcus faecium* inoculated in different powdered foods [J]. Food Chemistry, 2019, 296: 23-28
- [5] CHEN Dongjie, Wiertzema Justin, PENG Peng, et al. Effects of intense pulsed light on *Cronobacter sakazakii* inoculated in non-fat dry milk [J]. Journal of Food Engineering, 2018, 238: 178-187
- [6] CHEN Dongjie, Wiertzema Justin, PENG Peng, et al. Catalytic intense pulse light inactivation of *Cronobacter sakazakii* and other pathogens in non-fat dry milk and wheat flour [J]. Food Chemistry, 2020, 332: 127420-127427
- [7] Cebrián Guillermo, Mañas Pilar, Condón Santiago. Comparative resistance of bacterial foodborne pathogens to non-thermal technologies for food preservation [J]. Frontiers in Microbiology, 2016, 7: 734-740
- [8] Harouna Saidou, Franco Indira, Carraminana J Juan, et al. Effect of hydrolysis and microwave treatment on the antibacterial activity of native bovine milk lactoferrin against *Cronobacter sakazakii* [J]. International Journal of Food Microbiology, 2020, 319(108495): 1-8
- [9] LIN Yawen, Subbiah Jeyamkondan, CHEN Long, et al. Validation of radio frequency assisted traditional thermal processing for pasteurization of powdered infant formula milk [J]. Food Control, 2020, 109(106897): 1-7
- [10] Arroyo Cristina, Dorozko Anna, Gaston Edurne, et al. Light based technologies for microbial inactivation of liquids, bead surfaces and powdered infant formula [J]. Food Microbiology, 2017, 67: 49-57
- [11] Santo David, Graca Ana, Nunes Carla, et al. Survival and growth of *Cronobacter sakazakii* on fresh-cut fruit and the effect of UV-C illumination and electrolyzed water in the reduction of its population [J]. International Journal of Food Microbiology, 2016, 231: 10-15
- [12] Santo David, Graca Ana, Nunes Carla, et al. Escherichia coli and *Cronobacter sakazakii* in Tommy Atkins minimally processed mangos: survival, growth and effect of UV-C and electrolyzed water [J]. Food Microbiology, 2018, 70: 49-54
- [13] JIAO Rui, GAO Jina, ZHANG Xiyan, et al. Short communication: effects of vacuum freeze-drying on inactivation of *Cronobacter sakazakii* ATCC 29544 in liquid media with different initial inoculum levels [J]. Journal of Dairy Science, 2017, 100(3): 1674-1678
- [14] ZHAO Wei, YANG Ruijin, ZHANG Howard Q. Recent advances in the action of pulsed electric fields on enzymes and food component proteins [J]. Trends in Food Science & Technology, 2012, 27(2): 83-96
- [15] Hassan Amro B, Pawelzik Elke, Von Hoersten Dieter. Effect of radio frequency heating on nutritional quality and protein solubility of corn [J]. Food Science & Nutrition, 2016, 4(5): 686-689
- [16] Santo David, Graca Ana, Nunes Carla, et al. Escherichia coli and *Cronobacter sakazakii* in 'Tommy Atkins' minimally processed mangos: survival, growth and effect of UV-C and electrolyzed water [J]. Food Microbiology, 2018, 70: 49-54
- [17] CAO Yifang, ZHOU Ailian, ZHOU Donggen, et al. *Cronobacter sakazakii* CICC 21544 responds to the combination of carvacrol and citral by regulating proton

- motive force [J]. *LWT - Food Science and Technology*, 2020, 122: 109040-109047
- [18] CAO Yifang, ZHOU Donggen, ZHANG Xiaowei, et al. Synergistic effect of citral and carvacrol and their combination with mild heat against *Cronobacter sakazakii* CICC 21544 in reconstituted infant formula [J]. *LWT - Food Science and Technology*, 2021, 138: 110617-110623
- [19] TIAN Lu, WANG Xuyang, LIU Rongjie, et al. Antibacterial mechanism of thymol against *Enterobacter sakazakii* [J]. *Food Control*, 2021, 123: 107716-107723
- [20] TONG Xianqin, QI Xiaoliang, MAO Ruiting, et al. Construction of functional curdlan hydrogels with bio-inspired polydopamine for synergistic periodontal antibacterial therapeutics [J]. *Carbohydrate Polymers*, 2020, 245: 116585-116590
- [21] PENG Fei, FENG Hongxia, WANG Yanyan, et al. *Amaranthus tricolor* crude extract inhibits *Cronobacter sakazakii* isolated from powdered infant formula [J]. *Journal of Dairy Science*, 2020, 103(11): 9969-9979
- [22] ZHANG Song, XIONG Jian, LOU Wenyong, et al. Inhibition of *Cronobacter sakazakii* in reconstituted infant formula using triglycerol monolaurate and its effect on the sensory properties of infant formula [J]. *International Journal of Food Microbiology*, 2020, 320(108518): 1-7
- [23] Berthold-Pluta Anna, Stasiak-Rozanska Lidia, Pluta Antoni, et al. Antibacterial activities of plant-derived compounds and essential oils against *Cronobacter* strains [J]. *European Food Research and Technology*, 2019, 245(5): 1-8
- [24] YANG Gaoji, JIN Tong, YIN Shuhua, et al. Trans-cinnamaldehyde mitigated intestinal inflammation induced by *Cronobacter sakazakii* in newborn mice [J]. *Food & Function*, 2019, 10(5): 2986-2996
- [25] FEI Peng, Ali M Aslam, GONG Shaoying, et al. Antimicrobial activity and mechanism of action of olive oil polyphenols extract against *Cronobacter sakazakii* [J]. *Food Control*, 2018, 94: 289-294
- [26] HAN Qiaohong, WU Zili, HUANG Bo, et al. Extraction, antioxidant and antibacterial activities of *Broussonetia papyrifera* fruits polysaccharides [J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2016, 92: 116-124
- [27] Al-Holy Murad A, Sabbah Kefah, Osaili Tareq M, et al. Inactivation of *Cronobacter sakazakii* in infant formula and infant cereals using chitosan and lactic acid [J]. *Journal of Food Processing and Preservation*, 2015, 39(6): 1229-1234
- [28] Obaidat Mohammad M, Alu'datt Mohammad H, Salman Alaa E Bani, et al. Inactivation of nondesiccated and desiccated *Cronobacter Sakazakii* and *Salmonella* spp. at low and high inocula levels in reconstituted infant milk formula by vanillin [J]. *Food Control*, 2015, 50: 850-857
- [29] Martins Natália, Barros Lillian, Santos-Buelga Celestino, et al. Decoction, infusion and hydroalcoholic extract of cultivated thyme: antioxidant and antibacterial activities, and phenolic characterisation [J]. *Food Chemistry*, 2015, 167: 131-137
- [30] LI Hui, YE Yingwang, LING Na, et al. Inhibitory effects of d-tryptophan on biofilm development by the foodborne *Cronobacter sakazakii* [J]. *International Dairy Journal*, 2015, 49: 125-129
- [31] Endersen Lorraine, Coffey Aidan, Ross R Paul, et al. Characterisation of the antibacterial properties of a bacterial derived peptidoglycan hydrolase (LysCs4), active against *C. sakazakii* and other gram-negative food-related pathogens [J]. *International Journal of Food Microbiology*, 2015, 215: 79-85
- [32] Mcevoy K, Hayes J, Kealey C, et al. Influence of sweet whey protein concentrate and its hydrolysates on host-pathogen interactions in the emerging foodborne pathogen *Cronobacter sakazakii* [J]. *Journal of Applied Microbiology*, 2016, 121(3): 873-882
- [33] CHEN Yong, ZHANG Yifan, WANG Xiaohong, et al. Antibacterial activity and its mechanisms of a recombinant funne peptide against *Cronobacter sakazakii* in powdered infant formula [J]. *Food Research International*, 2019, 116: 258-265
- [34] Campion Alicia, Morrissey Ruth, Field Des, et al. Use of enhanced nisin derivatives in combination with food-grade oils or citric acid to control *Cronobacter sakazakii* and *Escherichia coli* O157:H7 [J]. *Food Microbiology*, 2017, 65: 254-263
- [35] YI Lanhua, LI Xin, LUO Lingli, et al. A novel bacteriocin BMP11 and its antibacterial mechanism on cell envelope of *Listeria monocytogenes* and *Cronobacter sakazakii* [J]. *Food Control*, 2018, 91: 160-169
- [36] LUO Lingli, YI Lanhua, CHEN Jiabin, et al. Antibacterial mechanisms of bacteriocin BM1157 against *Escherichia coli* and *Cronobacter sakazakii* [J]. *Food Control*, 2020, 123: 107730-107737
- [37] Valverde Ainara, Pérez-Álvarez Leyre, Ruiz-Rubio Leire, et al. Antibacterial hyaluronic acid/chitosan multilayers onto smooth and micropatterned titanium surfaces [J]. *Carbohydrate Polymers*, 2019, 207: 824-833

- [38] SHI Chao, YAN Chunhong, SUI Yue, et al. Thymoquinone inhibits virulence related traits of *Cronobacter sakazakii* ATCC 29544 and has anti-biofilm formation potential [J]. *Frontiers in Microbiology*, 2017, 8(2220):1-7
- [39] GUO Du, WANG Shuo, LI Jiahui, et al. The antimicrobial activity of coenzyme Q₀ against planktonic and biofilm forms of *Cronobacter sakazakii* [J]. *Food Microbiology*, 2020, 86: 103337-103342
- [40] SHI Chao, SUN Yi, ZHANG Xiaorong, et al. Antimicrobial effect of lipoic acid against *Cronobacter sakazakii* [J]. *Food Control*, 2016, 59: 352-358
- [41] SHI Chao, SUN Yi, LIU Zhiyuan, et al. Inhibition of *Cronobacter sakazakii* virulence factors by citral [J]. *Scientific Reports*, 2017, 7: 1-7
- [42] SHI Chao, JIN Tong, GUO Du, et al. Citral attenuated intestinal inflammation induced by *Cronobacter sakazakii* in newborn mice [J]. *Foodborne Pathogens and Disease*, 2020, 17(4): 243-252
- [43] HUANG Wei, WANG Jianqing, SONG Haiyan, et al. Chemical analysis and in vitro antimicrobial effects and mechanism of action of *Trachyspermum copticum* essential oil against *Escherichia coli* [J]. *Asian Pacific Journal of Tropical Medicine*, 2017, 10(7): 726-732
- [44] Agunod M, Yamaguchi N, Lopez R, et al. Correlative study of hydrochloric acid, pepsin, and intrinsic factor secretion in newborns and infants [J]. *The American Journal of Digestive Diseases*, 1969, 14(6): 400-414
- [45] Zhu S, Schnell S, Fischer M. Growth inhibition of *Cronobacter* spp. strains in reconstituted powdered infant formula acidified with organic acids supported by natural stomach acidity [J]. *Food Microbiology*, 2013, 35(2): 121-128
- [46] ZHANG Song, XIONG Jian, LOU Wenyong, et al. Inhibition of *Cronobacter sakazakii* in reconstituted infant formula using triglycerol monolaurate and its effect on the sensory properties of infant formula [J]. *International Journal of Food Microbiology*, 2020, 320: 1-9
- [47] Frankova A, Marounek M, Mozrova V, et al. Antibacterial activities of plant-derived compounds and essential oils toward *Cronobacter sakazakii* and *Cronobacter malonicus* [J]. *Foodborne Pathogens and Disease*, 2014, 11(10): 795-807
- [48] Farag Mayada Ragab, Alagawany Mahmoud, Tufarelli Vincenzo. *In vitro* antioxidant activities of resveratrol, cinnamaldehyde and their synergistic effect against cyadox-induced cytotoxicity in rabbit erythrocytes [J]. *Drug and Chemical Toxicology*, 2017, 40(2): 196-205

(上接第 49 页)

- [14] GB 4789.30-2016. 食品安全国家标准食品中微生物学检验单核细胞增生李斯特氏菌检验[S]
GB 4789.30-2016. National Standard for Food, Microbiological Examination in Food, *Listeria monocytogenes* Test [S]
- [15] GB 4789.28-2013. 食品微生物学检验培养基和试剂的质量要求[S]
GB 4789.28-2013. National Standard for Food, Quality Requirements for Media and Reagents [S]
- [16] 朱海华,周莉,章建军,等.一种富集即食肉制品中单核细胞增生李斯特氏菌的方法[J]. *食品科技*, 2020, 45(1):361-367
ZHU Haihua, ZHOU Li, ZHANG Jianjun, et al. A method for enriching *Listeria monocytogenes* in ready-made meat products [J]. *Food Science and Technology*, 2020, 45(1): 361-367
- [17] 刘成文,焦焱,汪春翔.定位显色培养基对食品中单核细胞增生李斯特菌快速鉴定的效果评价[J]. *医学动物防制*, 2016, 32(6):643-645
LIU Chengwen, JIAO Yan, WANG Chunxiang. Effect of orientation chromogenic medium for rapid identification of *Listeria monocytogenes* in food [J]. *Journal of Medical Pest Control*, 2016, 32(6): 643-645
- [18] 炊慧霞,崔莹,李艳芬,等.3种选择性分离培养基检测单核细胞增生李斯特菌效果比较[J]. *中国卫生检验杂志*, 2016, 26(3):354-357
CUI Huixia, CUI Ying, LI Yanfen, et al. Comparison of three selective isolation media for detection of *Listeria monocytogenes* [J]. *Chinese Journal of Health Laboratory Technology*, 2016, 26(3): 354-357