

豆芽萌发过程中的微生物组成分析

张浩琪¹, 刘雨杉², 吴楚倩², 郑家悒², 吴希阳^{3*}

(1. 湖南食品药品职业学院食品学院, 湖南长沙 410208)

(2. 暨南大学国际学院, 广东广州 510632) (3. 暨南大学理工学院, 广东广州 510632)

摘要: 研究了广州市售(超市和农贸市场)的成品绿豆芽、黄豆芽、豌豆苗和实验室自种绿豆芽的微生物的生长情况和主要细菌鉴定,并用16S基因高通量测序方法对豆芽整体微生态组成进行测定。结果表明:成品绿豆芽中微生物总量为 $10^6\sim 10^7$ CFU/g,主要来自豆种,子叶部分中细菌总数为 8.80×10^7 CFU/g,消毒组发芽36 h菌落总数为 8.10×10^6 CFU/g,未消毒组发芽24 h菌落总数 7.90×10^6 CFU/g,微生物的种类主要为克雷伯氏菌、肠杆菌、泛菌属、柠檬酸细菌,而整体微生态中核心菌群为蓝细菌、变形菌门、厚壁菌门和拟杆菌门。对从绿豆芽中分离的20株肠杆菌属细菌运用纸片扩散法进行11种药敏试验,结果显示细菌均对红霉素、利福平、头孢西丁、克林霉素、青霉素这五种抗生素显现出显著的耐药性。该研究结果显示市售的豆芽菜均携带大量的微生物,其中的肠杆菌属细菌是条件致病菌,具有广泛的抗生素耐药性。化学消毒剂能延长绿豆芽货架期约12 h,如果生食或是烹调方式不正确可能带来安全性问题,值得生产企业,政府监管部门和广大消费者借鉴。

关键词: 绿豆芽; 微生物; 菌种鉴定; 16S高通量测序; 菌群结构; 耐药性

文章编号: 1673-9078(2024)12-75-81

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2024.12.1345

Analysis of Microbial Composition during the Germination of Bean Sprouts

ZHANG Haoqi¹, LIU Yushan², WU Chuqian², ZHENG Jiayi², WU Xiyang^{3*}

(1.College of Food, Hunan Food and Drug Vocational College, Changsha 410208, China)

(2.College of International, Jinan University, Guangzhou 510632, China)

(3.College of Science & Engineering, Jinan University, Guangzhou 510632, China)

Abstract: The microbial growth and identification of main microorganisms in mung bean sprouts, soybean sprouts, pea seedlings sold in Guangzhou (supermarkets and farmers' markets), and the laboratory-grown mung bean sprouts were studied, and the overall microecological composition of bean sprouts was determined using 16S gene high-throughput sequencing method. The results showed that the total number of microorganisms in the finished mung bean sprouts was $10^6\sim 10^7$ CFU/g, which mainly came from the bean seeds (8.80×10^7 CFU/g in the cotyledon). The total number of the microorganisms was 8.10×10^6 CFU/g for the sterilized group after 36 h of germination and 7.90×10^6 CFU/g for the unsterilized group after 24 h of germination. The major microbial species were mainly *Klebsiella*, *Enterobacteria*, *Pantobacteria*, and *Citrobacter*. The core microbial groups in the overall microecology were Cyanobacteria, Proteobacteria, Firmicutes, and Bacteroidetes. Eleven drug susceptibility

引文格式:

张浩琪,刘雨杉,吴楚倩,等.豆芽萌发过程中的微生物组成分析[J].现代食品科技,2024,40(12):75-81.

ZHANG Haoqi, LIU Yushan, WU Chuqian, et al. Analysis of microbial composition during the germination of bean sprouts [J]. Modern Food Science and Technology, 2024, 40(12): 75-81.

收稿日期: 2023-11-09

基金项目: 广东省科技厅国际科技合作项目(2023A0505050160); 广东省科技厅国际科技合作基地项目(2021A0505020016)

作者简介: 张浩琪(1988-),女,硕士,工程师,研究方向:食品生物技术, E-mail: 270830713@qq.com

通讯作者: 吴希阳(1966-),男,博士,教授,研究方向:食品安全、功能性食品和肠道微生态与免疫, E-mail: tkentwu@jnu.edu.cn

tests were conducted on 20 strains of *Enterobacteriaceae* isolated from mung bean sprouts by the disk diffusion method. The results showed that the bacteria exhibited significant resistance to five antibiotics, namely erythromycin, rifampicin, cefoxitin, clindamycin, and penicillin. Results of this study showed that the commercially available bean sprouts carried a large number of microorganisms, among which the *Enterobacteriaceae* are opportunistic pathogens with broad-spectrum antibiotic resistance. Chemical disinfectants could extend the shelf life of mung bean sprouts by about 12 h. Consuming raw or inappropriately cooked bean sprouts would cause safety problems, which is worthy of reference for manufacturers, government regulatory authorities and consumers.

Key words: mung bean sprouts; microorganisms; strain identification; 16S high-throughput sequencing; microbial community structure; antibiotic resistant

豆芽鲜嫩可口，且营养丰富，一直以来是中国、日本及东南亚各国饭桌上常见的蔬菜^[1]。按中国的传统饮食文化，所有的蔬菜都是进行加热处理再食用，基本不存在微生物源性的食品安全风险。但随着西方蔬菜鲜食文化的引入，生食蔬菜的人群数量庞大，我国生食蔬菜的微生物源安全问题变得严峻起来，豆芽生产安全性问题也成为了不可忽视的问题。尽管现代农业采用无土栽培技术和良好农业操作（GAP），但是复杂的环境导致蔬菜的内部和表面都存在大量的各类微生物，难以在作物环节进行完全控制。

豆芽菜本身蛋白质丰富，在生产过程中所需的环境温度和湿度也是微生物繁殖的良好培养基，与其它蔬菜相比，豆芽菜更容易受到细菌污染。近年来有关豆芽菜的安全性问题频发，即使在食品安全管理较为严格的欧洲、美国等地，每年因为生食豆芽等蔬菜而导致的食品安全事件，甚至群体性食物中毒事件导致死亡报道层出不穷。例如，2011年的德国出现的出血性大肠杆菌污染的豆芽导致超2 200人患病，其中近30人死亡，2018年美国生菜感染单增李斯特菌导致的中毒事件^[2-4]。早在2000年，美国就爆发了被沙门氏菌污染的绿豆芽菜而引起的食源性疾病，由此美国食品药品监督管理局（Food and Drug Administration, FDA）将生芽菜食品认定为“潜在的危险化学品”，向消费者指出了许多有关食用生芽菜类食品的风险问题，也为国内生食蔬菜习惯的形成提出了严重的警惕^[5]。

由于豆芽等生食蔬菜需要保留蔬菜的新鲜和完整^[6]，以热处理为代表的物理方法无能为力，只能在前处理过程中进行清洗和氧化性灭菌剂处理。将NaClO溶液或AgNO₃溶液对豆芽进行浸泡、淋洗是现阶段国内外普遍使用的豆芽消毒杀菌方法。然而这些化学药剂并不能十分有效地抑制豆芽微生物

生长^[7]。培育中的豆芽拥有丰富的营养，加上适合的湿度和温度，极少数的致病菌污染可在短时间内实现指数生长，给人们生食成品豆芽带来安全风险^[8,9]。

本课题着重探究广州市超市销售的包装成品豆芽与菜市场销售的散装豆芽的微生物生长情况及主要菌株鉴定。以绿豆芽为重点研究对象，通过模拟发芽，测定了其在萌发过程中活菌总数随时间变化的生长曲线。通过16S基因高通量测序，分析了常用化学消毒剂消毒处理后绿豆芽整体微生态构成，对比确定了常用化学消毒剂对具体菌群的杀菌效果，为后期如何针对性控制豆芽内致病菌及条件致病菌提供信息和研究基础。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

绿豆芽、黄豆芽，分别购买于太古汇Ole超市（东昇牌）和广州市天河区石牌菜市场（散装）；豌豆苗，分别购买于太古汇Ole超市（旺泰嘉牌）和广州市天河区石牌菜市场（散装）；绿豆，广州市天河区石牌菜市场。

脑心浸液琼脂培养基（BHIA）、脑心浸出液肉汤培养基（BHI）、MRS培养基、LB肉汤，广东环凯微生物科技有限公司；细菌基因组DNA提取试剂盒、植物基因组DNA提取试剂盒，天根生化科技有限公司。

DYJ-A01型豆芽机，中山荣威电器厂；HR-120型电子天平，上海精密仪器厂；HN-403型电热恒温培养箱，上海邦西仪器科技有限公司；SW-CJ-1BU型超净工作台，苏州安泰空气技术有限公司；SW-CJ-2FD灰型氧超净工作台，苏州安泰空气技术有限公司；YQX-SG46-280S型蒸汽灭菌锅，上海博

讯实业有限公司；VERITI2.0型PCR仪，美国AB公司；HE99型电泳仪，美国通用电气公司；BOX EF型凝胶成像系统，美国基因有限公司。

1.2 实验方法

1.2.1 市售豆芽中菌落总数的测定

称取新鲜完整的豆芽10 g，用无菌水冲洗数次，除去表面的灰尘、杂质。加入90 mL无菌生理盐水，放入体积分数75%酒精消毒过的均质机中均质得到豆芽匀浆。用BHI琼脂培养基进行浓度梯度培养以测定豆芽中菌落总数。

1.2.2 市售豆芽中细菌分离与鉴定

1.2.2.1 细菌分离

从BHI琼脂培养基上选取菌落形态不同、独立清晰的菌种单独进行纯化培养。从超市绿豆芽中挑取的菌种编号为SG1-SG2；从超市黄豆芽中挑取的菌种编号为SY1-SY3；从超市豌豆苗中挑取的菌种编号为SM1-SM4；从市场绿豆芽中挑取的菌种编号为MG1-MG9；从市场大黄豆芽中挑取的菌种，编号为DY1-DY3；从市场小黄豆芽中挑取的菌种，编号为XY1-XY6；从市场豌豆苗种挑取的菌种，编号为MM1-MM5。

1.2.2.2 DNA提取

采用细菌基因组DNA提取试剂盒分别提取每种菌的基因组DNA。

1.2.2.3 16S rRNA的PCR扩增

将提取到的基因组作为模板进行PCR扩增，扩增引物为通用引物27F和1492R^[10]。

PCR电泳检测：吸取4 μ L PCR产物与1 μ L DNA Loading Buffer混匀，在1%琼脂糖凝胶上点样，100 V电泳45 min。结束后经EB染色，用凝胶成像系统进行观察^[11,12]。

扩增产物送至广州生工生物工程公司进行测序。将测序结果提交至NCBI的GeneBank数据库，与已知序列进行Blast比较。

1.2.3 未消毒及经化学消毒剂消毒的绿豆芽生长过程中菌落总数的测定

称取饱满的绿豆30 g，对照组用无菌水冲洗数次，除去表面灰尘、杂质，在无菌水中浸泡12 h；消毒组将绿豆浸泡在有效氯质量浓度为2 g/L的NaClO溶液中超声10 min，在体积分数为75%的酒精中震荡30 s，无菌生理盐水冲洗3次，无菌水

冲洗2次，在无菌水中浸泡12 h^[13,14]。取消毒组最后一次冲洗豆种的无菌水倒平板培养以观察消毒后豆种表面微生物存活数量。豆芽机用体积分数75%的酒精充分洗涤，将未消毒组及经化学消毒剂消毒组绿豆别分放入豆芽机中发芽，每隔12 h更换无菌水。每隔12 h取样，测定各时段菌落总数^[15]。

1.2.4 绿豆芽各部分菌落总数的测定

将绿豆芽分为子叶、下胚部和根部（根部0.8~1.2 cm处）三部分，分别称取10 g，无菌水冲洗数次，除去表面灰尘、杂质。加入90 mL无菌生理盐水，放入体积分数为75%酒精消毒过的均质机中均质得到绿豆芽匀浆。用BHI琼脂培养基进行浓度梯度培养以测定菌落总数^[16,17]。

1.2.5 未消毒及经化学消毒剂消毒的绿豆芽整体微生态的测定

1.2.5.1 消毒剂处理

称取健康完整的绿豆芽10 g，在有效氯质量浓度为2 g/L的NaClO溶液中在40 $^{\circ}$ C条件下浸泡10 min，用无菌水冲洗数次。

1.2.5.2 DNA提取

称取未消毒组及消毒组绿豆芽各10 g，采用植物基因组DNA提取试剂盒分别提取两组绿豆芽的微生物整体DNA。

1.2.5.3 16S高通量测序

将两组DNA样品送往广州LONGSEE生物工程公司进行16S高通量测序，确定绿豆芽整体微生态的构成^[18-20]。

1.2.6 豆芽细菌的耐药性实验

从培养豆芽细菌的培养基中分离纯化得到以下20株细菌，其中14株来自豆芽分离的典型菌落，余下6株来自培养豆芽细菌的培养基上菌落形态不同、独立清晰的菌种单独纯化培养。除来自豆芽中的菌株Y3为*Exiguobacterium indicum*外，其余均为肠杆菌^[21]。

选用庆大霉素，红霉素，呋喃妥因，克林霉素，利福平，氯霉素，甲氧苄胺嘧啶，头孢西丁，青霉素，四环素，诺氟沙星11种抗生素对分离纯化的细菌进行纸片药敏试验^[22]。

1.2.7 数据分析

所有实验数据，统计分析时采用Duncan's新复极差法比较，实验值均在0.01水平上是否有显著性差异。

表 1 市售豆芽中主要微生物属水平分布

Table 1 Distribution of microbial species in sprouts on the market

分离菌株	16S rRNA 相似性/%	鉴定结果 (最相似模式菌株)	分离菌株	16S rRNA 相似性/%	鉴定结果 (最相似模式菌株)
SG1	99	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	DY1	99	<i>Citrobacter freundii</i>
SG2	99	<i>Klebsiella quasipneumoniae</i>	DY2	99	<i>Enterobacter cloacae</i>
SY1	99	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	DY3	99	<i>Enterobacter asburiae</i>
SY2	99	<i>Klebsiella quasipneumoniae</i>	XY1	99	<i>Pantoea</i>
SM1	99	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	XY2	99	<i>Enterobacter cloacae</i>
SM2	99	<i>Klebsiella aerogenes</i>	XY3	99	<i>Lactococcus formosensis</i>
SM3	99	<i>Serratia</i> sp	XY4	99	<i>Leuconostoc pseudomesenteroide</i>
SM4	99	<i>Raoultella</i> sp.	XY5	99	<i>Lactococcus garvieae</i>
MG1	99	<i>Enterobacter asburiae</i>	XY6	99	<i>Lactococcus lactis</i>
MG2	99	<i>Enterobacter cancerogenus</i>	MM1	99	<i>Pantoea dispersa</i>
MG3	99	<i>Enterobacter cloacae</i>	MM2	99	<i>Pantoea agglomerans</i>
MG4	99	<i>Enterobacteriaceae bacterium strain</i>	MM3	99	<i>Gammaproteobacteria</i>
MG5	99	<i>Klebsiella oxytoca strain</i>	MM4	99	<i>Acinetobacter baylyi</i>
MG6	99	<i>Exiguobacterium indicum</i>	MM5	99	<i>Acinetobacter soli</i>
MG7	99	<i>Klebsiella aerogenes</i>	MM6	99	<i>Klebsiella pneumoniae</i>
MG8	99	<i>Escherichia</i> sp. Strain	MM7	99	<i>Citrobacter freundii</i>

2 结果与分析

2.1 市售豆芽

2.1.1 市售豆芽菌落总数

图 1 结果显示：超市销售的豆芽均比市场销售的豆芽菌落总数多。其中绿豆芽的菌落总数差异最为显著；市场绿豆芽细菌总数为 4.40×10^6 CFU/g，而超市绿豆芽细菌总数则达到了 2.19×10^8 CFU/g。

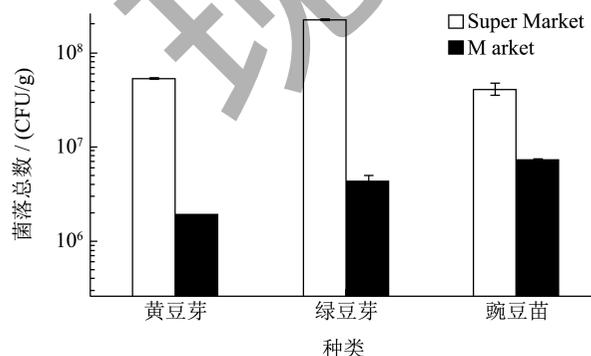


图 1 市售豆芽菌落总数比较

Fig.1 Comparison of total bacterial count of commercially available bean sprouts

2.1.2 市售豆芽主要菌种分离和鉴定

将豆芽中主要菌种提取 DNA 测序后 NCBI 的 Genbank 数据库中进行 Blast 比较，结果见表 1。其中从超市豆芽中分离菌株 SG1、SG2、SY1、SY2、SM1、SM2 和从市场售卖豆芽中分类菌种 MG5、MG7 属于克雷伯氏菌属 (*Klebsiella*)，菌株 MG1、MG2、MG3、MG4、DY2、DY3、XY2 属于肠杆菌属 (*Enterobacter*)，菌株 MG8 属于埃希氏菌属 (*Escherichia*)，菌株 XY3、XY5、XY6 属于乳球菌属 (*Lactococcus*)，菌株 MM4、MM5 属于不动杆菌属 (*Acinetobacter*)，菌种 DY1、MM7 属于柠檬酸杆菌属 (*Citrobacter*)，菌株 SM3 属于沙雷氏菌属 (*Serratia*)，菌株 SM4 属于柔特勒菌属 (*Raoultella*)。其中肺炎克雷伯氏菌对人致病性较强，是重要的条件致病菌和医源性感染菌之一，大肠埃希氏菌容易产生细菌生物膜^[23]。

2.2 绿豆芽发芽过程中细菌总数生长规律

经消毒处理后，豆种表面无菌落检出。该豆种组织匀浆中菌落总数为 5.0 lg CFU/g 。

由图 2 可知，经无菌水简单冲洗后的空白组豆

种, 细菌总数为 2.35×10^5 CFU/g, 经化学消毒剂消毒后的消毒组豆种, 细菌总数为 1.80×10^5 CFU/g。空白组豆芽避光淋水发芽 12 h 后, 豆芽细菌总数增长到 6.85×10^5 CFU/g, 菌落总数 24 h 后快速增长至 7.90×10^6 CFU/g, 从 36 h 后增长趋势减缓, 直到 72 h 成熟时, 豆芽菌落总数保持约 $10^6 \sim 10^7$ CFU/g; 而消毒组豆芽经避光淋水发芽, 36 h 后快速增长到 8.10×10^6 CFU/g, 直至 72 h 豆芽成熟时, 豆芽菌落总数基本保持不变, 维持在 $1.10 \times 10^7 \sim 1.38 \times 10^7$ CFU/g。说明绿豆芽发芽过程中, 前期细菌繁殖速度快, 后期菌落总数保持相对较稳定。对比两组数据可得出, 化学消毒剂确实对豆芽细菌生长有一定的抑菌效果, 延缓了细菌在发芽后 12~24 h 之间的快速繁殖, 延长了绿豆芽的货架期约 12 h。

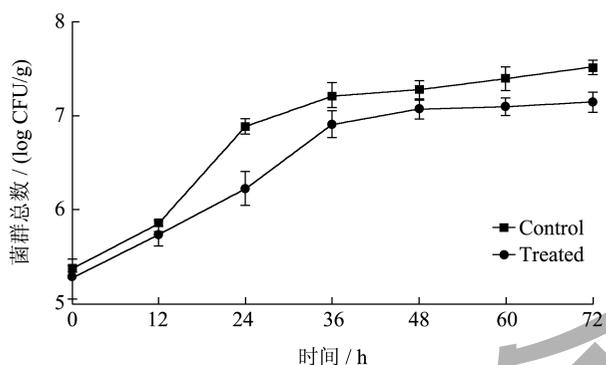


图 2 绿豆芽发芽过程中细菌总数变化规律

Fig.2 Growth curve of bacterial in mung bean sprouts

2.3 绿豆芽不同部位细菌分布情况

表 2 绿豆芽不同部分细菌菌落总数

Table 2 Total bacterial colonies in different parts of mung bean sprouts

绿豆芽部位	菌落总数/(log CFU/g)
子叶	7.93 ± 0.01^A
下胚轴	6.55 ± 0.01^D
根部	7.29 ± 0.03^C
整体	7.42 ± 0.03^B

注: 菌落总数值是平均值 \pm 标准差, $n=3$ 。不同字母表示两组数据存在显著性差异 ($P < 0.01$)。

由表 2 可知, 绿豆芽不同部位(子叶, 下胚轴和根部)的菌落总数均有显著性差异, 其中子叶中的细菌明显多于其他部位, 高达 (8.80×10^7 CFU/g), 而下胚轴和根部则均少于整体细菌数量(分别

为 3.53×10^6 CFU/g 和 1.99×10^7 CFU/g)。再次证明了绿豆芽的细菌主要来自于豆种, 即便发育成绿豆芽, 子叶部分仍是绿豆芽中细菌总数最多的部位。

2.4 未消毒及经化学消毒剂消毒的绿豆芽整体微生态组成

由图 3 可知, 实验室条件下种植绿豆芽与市面销售绿豆芽核心菌群种类基本一致但数量分布有所差别。蓝细菌在实验室自种绿豆芽中所占比例远高于市售豆芽; 变形菌门是又一主要菌门, 占比远高于厚壁菌门及拟杆菌们。由对比可推测, 消毒剂主要作用于变形菌门细菌, 使其在整体微生态中占比下降。

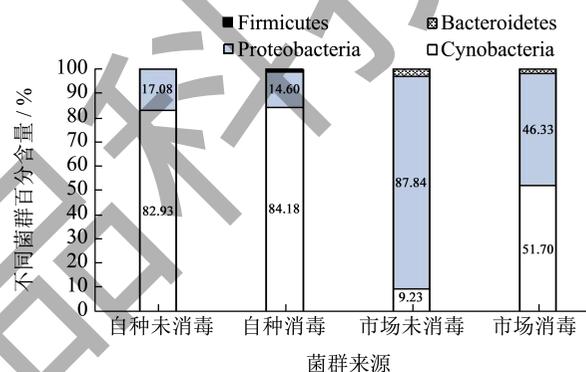


图 3 豆芽微生态核心菌门分布图

Fig.3 Distribution map of core microflora in bean sprout microecology

2.5 豆芽细菌耐药性实验

所有的检测细菌均为多重耐药性菌株, 同时对红霉素、利福平、克林霉素、青霉素这四种抗生素表现出明显的耐药性, 检验结果见表 3。从豆芽中分离纯化得到的细菌中除 N3: *Klebsiella oxytoca* strain、N5: *Enterobacter cloacae* strain/*Escherichia* sp. strain/*Kosakonia* sp. strain/*Altantibacter* sp. strain/*salmonella* sp. strain 两株菌外其余 11 株细菌均对头孢西丁抗生素表现出明显的耐药性。

另外处于中介度的抗生素主要是呋喃妥因和诺氟沙星, 其中从豆芽中分离得到的细菌只有 N4: *Enterobacter* sp. strain 对呋喃妥因表现出中介, 其余均无处于中介度的细菌。

表 3 豆芽细菌耐药性检验结果

Table 3 Antibioticresistance of bean sprout bacteria

菌株	耐药	中介
Y1: <i>Enterobacter asburiae</i> strain	红霉素、利福平、头孢西丁、克林霉素、青霉素	/
Y2: <i>Enterobacter asburiae</i> strain	红霉素、利福平、头孢西丁、克林霉素、青霉素	/
Y3: <i>Exiguobacterium indicum</i> strain	/	/
Y4: <i>Enterobacter cancerogenus</i> / <i>Enterobacter asburiae</i> strain/ <i>Enterobacter cloacae</i> strain	红霉素、利福平、头孢西丁、克林霉素、青霉素	/
Y5: <i>Enterobacter asburiae</i> strain/ <i>Enterobacter cloacae</i> strain/ <i>Enterobacter cancerogenus</i>	红霉素、利福平、头孢西丁、克林霉素、青霉素	/
Y6: <i>Enterobacter asburiae</i> strain/ <i>Enterobacter cloacae</i> strain	红霉素、利福平、头孢西丁、克林霉素、青霉素	/
N1: <i>Enterobacteriaceae bacterium</i> strain/ <i>Serratia</i> sp. strain	红霉素、利福平、头孢西丁、克林霉素、青霉素	/
N2: <i>Enterobacteriaceae bacterium</i> strain/ <i>Serratia</i> sp. strain	红霉素、利福平、头孢西丁、克林霉素、青霉素	/
N3: <i>Klebsiella oxytoca</i> strain	红霉素、利福平、克林霉素、青霉素	/
N4: <i>Enterobacter</i> sp. strain	红霉素、利福平、头孢西丁、克林霉素、青霉素	呋喃妥因
N5: <i>Enterobacter cloacae</i> strain/ <i>Escherichia</i> sp. strain/ <i>Kosakonia</i> sp. strain/ <i>Atlantibacter</i> sp. strain/ <i>salmonella</i> sp. strain	红霉素、利福平、克林霉素、青霉素	/
N6: <i>Enterobacteriaceae bacterium</i> strain/ <i>Serratia</i> sp. strain	红霉素、利福平、头孢西丁、克林霉素、青霉素	/
N7: <i>Klebsiella aerogenes</i> strain	红霉素、利福平、头孢西丁、克林霉素、青霉素	/
N8: <i>Enterobacteriaceae bacterium</i> strain/ <i>Serratia</i> sp. strain	红霉素、利福平、头孢西丁、克林霉素、青霉素	/
10-2N1: <i>Klebsiella varriicola</i> / <i>Klebsiella pneumoniae</i>	红霉素、利福平、克林霉素、青霉素	/
10-2N5: <i>Kosakonia cowanii</i> / <i>Atlantibacter</i> <i>hermannii</i> / <i>Salmonella</i> / <i>Enterobacter cloacae</i>	红霉素、利福平、克林霉素、青霉素	/
10-2N6: <i>Klebsiella oxytoca</i> / <i>Klebsiella</i> <i>pneumoniae</i> / <i>Klebsiella</i> sp	红霉素、利福平、甲氧苄胺嘧啶、头孢西丁、四环素、 克林霉素、青霉素	呋喃妥因
10-2N7: <i>Kosakonia</i> sp/ <i>Kosakonia cowanii</i> / <i>Atlantibacter</i> sp	红霉素、利福平、四环素、克林霉素、青霉素	呋喃妥 诺氟沙星
10-2Y1: <i>Enterobacter cloacae</i> / <i>Enterobacter hormaechei</i>	红霉素、利福平、氯霉素、头孢西丁、克林霉素、青霉素	呋喃妥因
10-2Y2: <i>Enterobacter cloacae</i> / <i>Leclercia adecarboxylata</i>	红霉素、利福平、头孢西丁、克林霉素、青霉素	呋喃妥因

3 结论

本研究结果显示广州超市销售的密封包装成品豆芽总菌落数高于菜市场散装零售豆芽。两种来源豆芽中的微生物均以克雷伯氏菌属和埃希氏菌属为主，二者均属条件致病菌，生食豆芽可能给人体健康带来较大的风险。当豆种经过表面灭菌后，其组织匀浆中仍有高数量（5.0 lg CFU/g）的微生物检出，由此可推测豆子内部含有大量内生菌，这可能是子叶部分含有最高浓度的微生物和传统消毒剂处理法无法有效清除芽菜微生物的根本原因。这些内

生菌可在豆芽生长过程中大量繁殖，增加生食豆芽的微生物风险性；如何抑制内生菌则可能成为控制豆芽整体微生物含量的关键因素。

本研究首次使用 16S 宏基因组测序对市售绿豆芽微生态内核心菌群进行检验分析，测得四种核心菌门分别为蓝细菌、变形菌门、厚壁菌门和拟杆菌门，为将来进一步针对性抑制豆芽内致病菌及条件致病菌提供了研究基础。此外，我们从绿豆芽微生物菌群里成功分离出一株乳酸乳球菌菌株（WZ-01），将来可使用该菌株作为生物防控菌，使之与其他有害内生菌形成对生存环境及营养的竞争，从而抑制致

病菌的数量和增殖,使之控制在安全范围内。除此之外,抗菌肽作为一种无毒无害及广谱抗菌的天然小分子蛋白,也被许多研究证明可作为天然食品添加剂为食物提供保护杀菌的功能,后续研究可考虑尝试将抗菌肽应用于芽菜生产过程中。

参考文献

- [1] 李建英,田中艳,周长军,等.绿豆芽菜萌发条件及物质含量测定[J].黑龙江农业科学,2010,7:37-40.
- [2] 罗欣,傅亮,郝天瑶,等.绿豆芽生产过程中微生物的生长、分布及消毒剂处理效果评价[J].食品与机械,2017,33(7):51-55.
- [3] MARGOT H, STEPHAN R, TASARA T. Mungo bean sprout microbiome and changes associated with culture based enrichment protocols used in detection of gram-negative foodborne pathogens [J]. *Microbiome*, 2016, 4(1): 48.
- [4] 赵燕楠,傅亮,罗欣,等.次氯酸钠真空处理绿豆消毒效果评价及机理研究[J].工业微生物,2016,46(3):47-50.
- [5] STUDER P, HELLER W E, HUMMERJOHANN J, et al. Evaluation of aerated steam treatment of alfalfa and mung bean seeds to eliminate high levels of *Escherichia coli* O157:H7 and O178: H12, *Salmonella enterica*, and *Listeria monocytogenes* [J]. *Applied & Environmental Microbiology*, 2013, 79(15): 4613-4619.
- [6] 王邈,李玮,王邦辉,等.保鲜技术在鲜切果蔬中的应用[J].中国食物与营养,2010,2:43-45.
- [7] 范贤贤,田密霞,姜爱丽,等.鲜切果蔬表面微生物侵染途径及控制[J].保鲜与加工,2009,9(2):15-17.
- [8] SHEN Z Y, MUSTAPHA A, LIN M S, et al. Biocontrol of the internalization of *Salmonella enterica* and enterohaemorrhagic *Escherichia coli* in mung bean sprouts with an endophytic *Bacillus subtilis* [J]. *International Journal of Food Microbiology*, 2017, 250: 37-44.
- [9] MARCHANT P, HIDALGO-HERMOSO E, ESPINOZA K, et al. Prevalence of *Salmonella enterica* and shiga toxin-producing *Escherichia coli* in zoo animals from Chile [J]. *Journal of Veterinary Science (Suwön-si, Korea)*, 2016, 17(4): 583-586.
- [10] 陈庆河,翁启勇,王源超,等.福建省大豆疫病病原鉴定及其核糖体DNA-ITS序列分析[J].植物病理学报,2004,34(2):112-116.
- [11] 王发祥,刘永乐,俞健,等.PCR-DGGE分析鲜切莲藕冷藏过程中的菌相变化[J].中国食品学报,2017,17(8):255-260.
- [12] 费鹏,白洪健,程述震,等.PCR-DGGE法分析婴儿肠道菌群多样性[J].食品与机械,2013,2:60-63.
- [13] 燕平梅,樊文菊,王青,等.不同清洗剂对鲜切豇豆品质的影响[J].食品工程,2010,1:40-44.
- [14] 沈莉芹,王艳红,吴爱平.空心莲子草浸提液对5种蔬菜种子萌发的影响[J].种子,2015,34(5):80-83.
- [15] 张丽,吴小刚,张力群,等.豆芽烂芽的病原菌分离鉴定及致病性研究[J].长江蔬菜,2010,2:71-74.
- [16] 崔一平,彭埃天,宋晓兵,等.广东省番木瓜茎基腐病病原菌鉴定[J].植物保护学,2020,6:1387-1388.
- [17] 杨秋月.芽苗菜优势腐败菌生长规律及控制技术研究[D].天津:天津科技大学,2012.
- [18] 张安华,蔡翔,陈涛,等.8种常见芽菜致病微生物的分离鉴定[J].中国蔬菜,2016,4:48-52.
- [19] JUSTYNA P, ANNALISA R, VINCENZA P, et al. Bacterial diversity in typical Italian Salami at different ripening stages as revealed by high-throughput sequencing of 16S rRNA amplicons [J]. *Food Microbiology*, 2015, 46(1): 342-356.
- [20] 左勇,王小龙,张晶,等.基于高通量测序技术的宜宾芽菜真菌多样性研究[J].中国调味品,2016,41(4):19-22.
- [21] 吴小梅.美洲鳗鲡与其养殖水体细菌的耐药性、抗性基因及整合子的研究[D].厦门:集美大学,2016.
- [22] 闫军,遇晓杰,安宏,等.原料乳中金黄色葡萄球菌的溯源分析及耐药性研究[J].中国初级卫生保健,2010,24(12):45-46.
- [23] BENDOUAH Z, BARBEAU J, HAMAD W A, et al. Biofilm formation by *Staphylococcus aureus* and *Pseudomonas aeruginosa* is associated with an unfavorable evolution after surgery for chronic sinusitis and nasal polyposis [J]. *Otolaryngology-Head and Neck Surgery*, 2006, 134(6): 991-996.