DOI: 10.19812/j.cnki.jfsq11-5956/ts.20251120006
引用格式: 包雨飞, 何晓娟, 贺凯茹, 等. 耐热枯草芽孢杆菌生物膜形成、调控及防控研究进展[J]. 食品安全质量检测学报, 2026, 17(9): 208–216.
BAO YF, HE XJ, HE KR, *et al*. Research progress on the formation, regulation and control of heat-resistant *Bacillus subtilis* biofilms [J]. Journal of Food Safety & Quality, 2026, 17(9): 208–216. (in Chinese with English abstract).

耐热枯草芽孢杆菌生物膜形成、调控及防控研究进展

包雨飞[1#], 何晓娟[2#], 贺凯茹[1], 宁　森[1], 程方键[1], 闵　捷[1], 张广福[2*], 武俊瑞[1*]
(1. 沈阳农业大学食品学院, 沈阳　110866; 2. 内蒙古蒙牛乳业科尔沁有限责任公司, 通辽　028000)

摘　要: 耐热枯草芽孢杆菌(*Bacillus subtilis*)普遍存在于食品产业链条中, 在环境胁迫下可形成生物膜, 是影响食品安全与产品质量的重要隐患。近年来, Spo0A、DegU 等转录因子, c-di-GMP、c-di-AMP 信号分子, 以及 Rap-Phr 群体感应系统和 sinR-sinI 调控网络等关键节点被相继揭示, 为理解耐热枯草芽孢杆菌生物膜发生发展以及控制提供了理论支撑。然而, 不同食品类型、加工工艺及卫生环境对耐热枯草芽孢杆菌的附着状况、微菌落成熟及分散过程的影响尚缺乏系统总结。因此, 本文在系统梳理国内外相关研究进展的基础上, 结合团队在声热耦合去除芽孢杆菌生物膜方面的研究成果, 综合分析生物膜形成的分子调控机制与防控措施, 探讨了声热耦合技术在食品品质保持与能耗优化中的协同效应。未来应从分子机制解析、技术集成优化及绿色防控体系构建等方面入手, 推动防控技术在食品工业中的应用。

关键词: 耐热枯草芽孢杆菌; 生物膜; 形成; 调控; 声热耦合防控

Research progress on the formation, regulation and control of heat-resistant *Bacillus subtilis* biofilms

BAO Yu-Fei[1#], HE Xiao-Juan[2#], HE Kai-Ru[1], NING Miao[1], CHENG Fang-Jian[1], MIN Jie[1], ZHANG Guang-Fu[2*], WU Jun-Rui[1*]
[1. *College of Food Science*, *Shenyang Agricultural University*, *Shenyang* 110866, *China*; 2. *Inner Mongolia Mengniu Dairy* (*Horqin*) *Co.*, *Ltd*., *Tongliao* 028000, *China*]

ABSTRACT: Heat-resistant *Bacillus subtilis* species are widely distributed throughout the food production chain and

收稿日期: 2025-11-20
基金项目: 国家自然科学基金项目(32172279); 通辽市“英才兴蒙”专项资金拟支持人才科研项目(2024-2); 辽宁省“兴辽英才计划”项目(XLYC2213026, XLYC2402005); 辽宁省科学技术计划项目(2024JH2/101900005); 沈阳农业大学高层次人才引进项目(2023YJRC002); 沈阳市科技创新平台项目(21-103-0-14, 21-104-0-28)
#包雨飞和何晓娟为共同第一作者
第一作者: 包雨飞(2000—), 女, 博士研究生, 主要研究方向为乳品科学。E-mail: 1922963248@qq.com
何晓娟(1985—), 女, 主要研究方向为乳业技术。E-mail: hexiaojuan@mengniu.cn
***通信作者:** 张广福(1980—), 男, 主要研究方向为乳业技术。E-mail: zhangguangfu@mengniu.cn
武俊瑞(1977—), 男, 博士, 教授, 主要研究方向为乳制品、微生物发酵食品、生物智能制造。E-mail: junruiwu@126.com

can form biofilms under environmental stress, posing significant risks to food safety and product quality. In recent years, key regulatory elements—including transcription factors Spo0A and DegU, the signaling molecules c-di-GMP and c-di-AMP, as well as the Rap-Phr quorum-sensing system and the sinR-sinI regulatory network—have been progressively elucidated, providing a theoretical basis for understanding and controlling biofilm formation in heat-resistant *Bacillus subtilis*. However, systematic summaries remain lacking regarding how food type, processing parameters and hygiene conditions influence bacterial adhesion, microcolony maturation and biofilm dispersal. Based on a comprehensive review of domestic and international research and integrating our team's findings on acoustic-thermal coupling technology for biofilm removal, this study analyzed the molecular regulatory mechanisms and control strategies of biofilm formation and further explored the synergistic effects of acoustic-thermal coupling in balancing food quality preservation and energy efficiency. Future research should focus on elucidating molecular mechanisms, optimizing technological integration and constructing green prevention systems to facilitate the practical application of biofilm control technologies in the food industry.

KEY WORDS: heat-resistant *Bacillus subtilis*; biofilm; formation; regulation; acoustic-thermal coupling control

0　引　言

食品安全是食品工业可持续发展的核心基石。随着食品加工的规模化与自动化程度不断提高, 加工环境中微生物污染的防控难度显著增加, 其中细菌生物膜的形成已成为威胁食品安全的重要隐患之一[1]。生物膜是由细胞外多糖 (exopolysaccharides, EPS) 、蛋白质和胞外 DNA (extracellular DNA, eDNA)等基质包裹微生物细胞所构成的三维聚集结构。这种特殊结构使微生物能够抵抗杀菌处理和抗生素作用, 显著增强其在不利环境中的生存能力[2]。

在众多与食品工业相关的微生物中, 枯草芽孢杆菌的较强耐热性, 导致其在热杀菌等加工环节后仍能存活, 从而加剧了在加工设备表面形成生物膜的持久性污染风险, 这一问题在乳制品和肉制品工业中尤为突出[3]。研究表明, 枯草芽孢杆菌生物膜可耐受巴氏杀菌和超高温瞬时灭菌 (ultra-high temperature instantaneous sterilization, UHT)等工艺的处理, 残留的活菌或芽孢在后续加工与贮藏过程中容易重新激活繁殖, 导致产品胀包、结块以及货架期缩短等质量问题。此外, 生物膜分泌的脂肪酶和蛋白酶会破坏食品的风味与营养成分, 其毒素甚至可能引发食源性疾病; 同时, 生物膜对加工设备金属表面的腐蚀不仅缩短设备使用寿命, 还可能通过交叉污染进一步加剧食品安全风险[4]。在食品工业中, 生物膜一旦形成, 会成为持续的污染源, 同时引发产品腐败、加速设备损坏并增加食源性疾病风险, 从而带来严重的经济与公共卫生后果[5]。

目前, 细菌生物膜的研究已在形成过程、调控机制和防控方法等方面取得了显著进展[6–7], 但针对枯草芽孢杆菌这一耐热菌株的系统性研究仍相对不足。已有研究报道了 Spo0A、DegU 等关键转录因子及 c-di-GMP 等信号分子在生物膜形成中的作用, 然而调控网络的复杂性, 以及各通路间的协同与拮抗关系尚未得到全面阐明[8–9]。在防控方面, 传统物理方法(如机械刷洗)的清除效率有限, 化学方法(如消毒剂)可能带来化学残留与环境压力, 而单一非热物理方法(如超声波)在去除耐热生物膜方面的效果仍不理想[10]。

基于上述问题, 本研究以枯草芽孢杆菌生物膜为研究对象, 首先梳理其形成阶段及主要影响因素, 进一步解析其基因调控网络, 阐明关键转录因子、信号分子与群体感应系统的作用机制; 随后结合食品工业中的实际危害, 系统评估现有物理与化学防控手段的优势与局限, 重点探讨声热耦合这一新兴技术的作用原理及应用潜力。本文通过整合最新研究进展, 本研究旨在构建"形成机制-危害表现-防控策略"的系统研究框架, 为食品工业中枯草芽孢杆菌生物膜的高效防控提供理论依据与技术参考, 促进食品质量安全保障与行业可持续发展。

1　枯草芽孢杆菌生物膜的形成

生物膜的形成是微生物在不利环境条件下的一种重要生存机制与适应策略[11]。其形成过程始于微生物由游离的浮游状态向聚集状态的转变, 最终发育形成具有复杂三维结构的成熟生物膜。在成熟的生物膜中, 由胞外多糖、蛋白质、eDNA 和脂质等组成的基质占据了生物膜干质量的 90%以上, 而微生物细胞仅占约 10%[12]。这些基质成分不仅有利于微生物群落的生长与稳态维持, 还能有效抵御外界不利因素的侵害[13]。

枯草芽孢杆菌生物膜的形成过程通常可分为 4 个阶段, 可逆附着与不可逆附着、微菌落形成、生物膜成熟及生物膜分散[14]。在附着阶段时, 表面感应是关键步骤。微生物最初以松散且可逆的方式附着于物质表面, 该阶段的特征是细胞以极性方式黏附; 随后, 微生物调整自身取向, 平放于接触表面, 并通过分泌初始黏附物质实现牢固附着。这一附着状态增强了微生物对流体剪切力等物理清除因素

的抵抗能力[15]。c-di-GMP 作为一种重要的细胞内信号分子，可抑制鞭毛介导的游动行为并促进部分黏附物质的合成，在生物膜形成的早期阶段发挥着促进作用[16]。细菌表面的 Pil-Chp 传感系统可感知附着状态并调节 c-di-GMP 水平，其浓度会随细胞的每次附着或脱落行为逐步升高。因此，生物膜形成的初期阶段包括浮游细胞(c-di-GMP 浓度较低、未接触表面)向表面感知细胞(c-di-GMP 浓度升高、初次接触表面)的转变，以及随后细胞在表面的不可逆附着[17]。

当微生物成功黏附至表面后，开始在自身分泌的 EPS 基质中聚集并繁殖，在高浓度 c-di-GMP 的作用下形成小型微菌落。鞭毛和 IV 型菌毛介导的运动在此过程中亦至关重要，它们既促进微生物与表面的相互作用，又推动细胞间的聚集和微菌落的形成[18]。在生物膜的成熟阶段，EPS 促进细胞牢固附着于表面，稳定生物膜的三维结构并抵御外界环境压力。成熟的生物膜具有 3 层结构：内层为调节层，中间为微生物基底层，外层为浮游细胞栖息层，后者可在适宜条件下脱离生物膜[19]。最后，成熟的生物膜会通过主动分散(如运动性增强和 EPS 降解)或被动脱落/侵蚀(如外界物理力作用)而发生结构解离，完成其生命周期。示意图如图 1[20]。

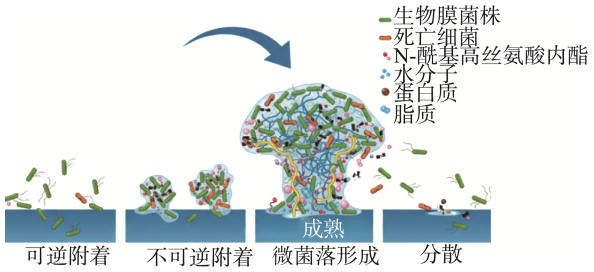


图 1 生物膜形成的 4 个阶段：可逆附着和不可逆附着及微菌落形成、成熟、分散[20]

Fig.1 The 4 stages of biofilm formation: Reversible and irreversible attachment, microcolony formation, maturation and dispersion[20]

2 枯草芽孢杆菌生物膜的基因调控网络

枯草芽孢杆菌作为乳中常见的嗜热芽孢杆菌，其细胞及其形成的生物膜具有显著的耐热与耐压特性，能够在高温杀菌环节后仍保持活性，因而在乳品生产过程中备受关注[21–22]。生物膜形成过程受多种环境与生理因素的影响，包括温度、pH、重力、流体动力条件、黏附表面性质、群体感应机制等[21]。其中，群体感应(quorum sensing, QS)是细菌生物膜形成的重要调控机制，细菌通过分泌并感知特定信号分子，实现密度依赖的群体行为调控[23]。在外界环境胁迫下，游离的细菌首先借助鞭毛或菌毛等结构黏附于表面，初期仅被少 EPS 包裹[24]。随着细菌数量的增殖，QS 信号的分子浓度逐渐增高，当达到阈值后，细菌群体启动 EPS 大量分泌与结构重构过程，形成具有三维结构的蘑菇状或堆状成熟生物膜[1]，此阶段的细菌因渗透屏障增强、局部微环境变化、表型可塑性提高及基因水平转移而表现出显著的抗生素耐受性[25–28]。生物膜的复杂性可归因于微生物的遗传可塑性和各种菌落物种在多变环境中的适应性，这不仅增加了其在食品加工设备和管道中的定植能力，也使其清除过程更加困难[29]。因此，深入解析枯草芽孢杆菌生物膜形成的分子机制与环境响应规律，对于食品工业的生物污染防控具有重要意义。

2.1 组氨酸激酶 Kin 催化 Spo0A 的磷酸化

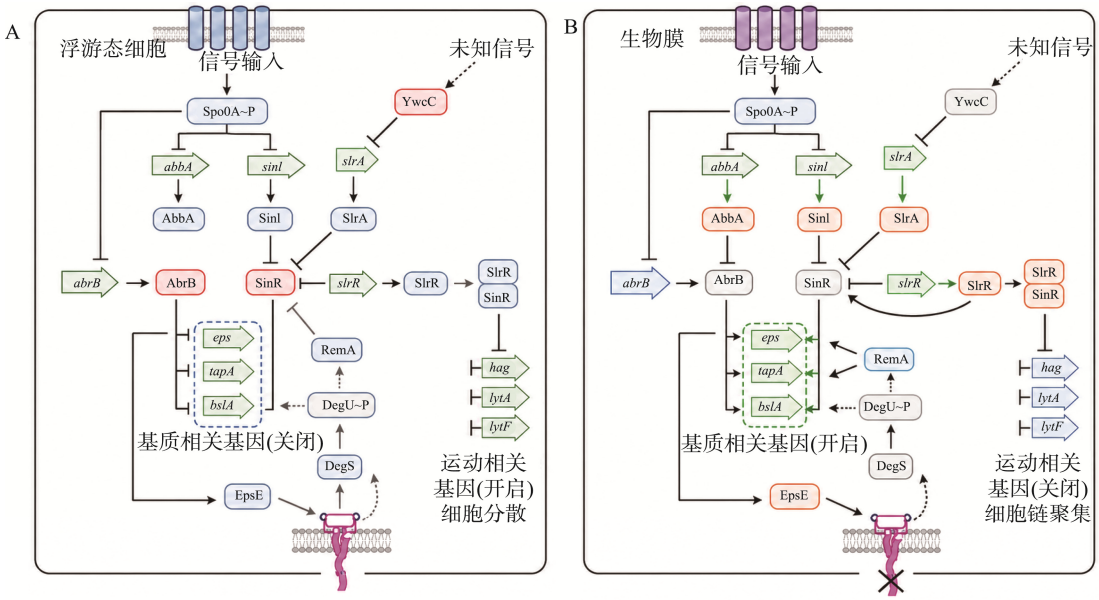
转录因子 Spo0A 是枯草芽孢杆菌生物膜形成的关键调控因子，其信号通路作为多种竞争性与重叠信号的整合“中枢”，能够调控生物膜中与转录及基质合成相关基因的表达比例。当细胞内 Spo0A 的磷酸化水平达到中等程度(Spo0A~P)时，生物膜形成过程即被启动[30]。在该信号传导过程中，传感器组氨酸激酶 KinA、KinB、KinC 和 KinD 通过磷酸化级联反应间接催化 Spo0A 的磷酸化。在磷酸化链中，磷酸基团依次从激酶转移到中继蛋白 Spo0F 和 Spo0B，最终传递至 Spo0A[31–32]。此外，当 Spo0A~P 达到临界水平时，它可直接抑制 AbrB 的转录，同时激活 AbbA 的表达。AbrB 作为生物膜形成过程中起调控作用的过渡期转录抑制因子，会被 AbbA 蛋白所拮抗，从而促进生物膜基质的形成[33](图 2)。

2.2 多聚体 Sin 调控 Spo0A~P 的转化

第 2 条依赖 Spo0A~P 的抗阻遏物途径涉及转录阻遏物 SinR，该蛋白是一种同源四聚体，可直接抑制基质编码基因簇 *epsA-O* 和 *tapA* 操纵子的转录[35]。当 Spo0A~P 水平达到阈值时，会诱导抗阻遏蛋白 SinI 的表达，从而解除 SinR 的抑制效应并激活基质基因的转录。MILTON 等[36]首次解析全长四聚体 SinR 和二聚体 SinI 在溶液中的结构，揭示了 SinR 与 DNA 的结合机制以及 SinI 的抑制模式，即 SinI 通过形成 SinR-SinI 二聚体抑制 SinR 与 DNA 的有效结合，从而破坏 SinR 同源四聚体的形成。此外，SlrR 是 SinR 的另一种拮抗蛋白，其表达同样受阈值水平 Spo0A~P 的诱导，能够促进 *epsA-O* 和 *tapA* 操纵子的转录，实现细胞由运动状态向生物膜形成状态的转变[37](图 2)。研究还发现，SlrA 也是 SinR 的结合拮抗物，但其转录调控机制与 SinI 显著不同。SlrA 的表达受转录阻遏物 YwcC 控制，但目前尚不清楚解除该抑制作用的具体信号途径[38]。

2.3 环二腺苷酸调节 Spo0A 介导的调控途径

Spo0A 介导的调节途径还受到 c-di-AMP 的调节。研究表明，c-di-AMP 可下调 tapA 与 epsA-O 操纵子的表达，从而抑制生物膜的形成[39–40]。尽管在细胞内 c-di-AMP 浓度增加的情况下，敲除调控 SinR 的基因可恢复生物膜的形成，



注：图中箭头框表示基因，方框表示蛋白；不同的颜色表示调控网络中基因或蛋白受到调控的方向。

图 2　控制生物膜形成的调控网络[34]

Fig.2　Regulatory networks governing biofilm formation[34]

但 c-di-AMP 的积累并不会改变 SinR 的转录水平，这说明该核苷酸可能通过调节 SinR 的活性发挥作用。此外，枯草芽孢杆菌基因组中编码有两种预测的 c-di-AMP 转运蛋白，它们参与 c-di-AMP 的胞外分泌。因此，枯草芽孢杆菌可以感知细胞外 c-di-AMP 并做出响应，这也揭示了这种第二信使在细菌间通讯中的潜在作用[41]。除此之外，c-di-GMP 信号可以通过 c-di-GMP 受体 YpfA 与鞭毛运动蛋白 MotA 的相互作用直接抑制枯草芽孢杆菌的运动。然而 c-di-GMP 水平对生物膜形成的影响存在争议[42–43]。

2.4　运动相关基因调节生物膜的形成

DegU 是调节生物膜的形成的重要转录因子，由其同源组氨酸激酶 DegS 磷酸化激活，在多种多细胞行为中发挥关键作用，包括游泳与群体运动、生物膜形成、胞外蛋白酶合成以及孢子形成等过程[44–45]。细胞中 DegU 的磷酸化(DegU~P)水平决定了细胞的行为表现：当 DegU~P 处于中等水平时，可间接促进 *bslA* 基因的转录，从而激活生物膜形成；而当 DegU~P 达到高水平时，则会抑制 EPS 与 TapA 操纵子的转录，阻碍生物膜形成，使多数细胞进入孢子形成途径[46–48]。研究表明，DegS-DegU 途径是通过抑制鞭毛旋转来激活的。无论是遗传操作还是物理干扰鞭毛旋转，均可导致细胞内 DegU~P 水平上升，从而促进包括 BslA 在内的靶基因表达。这表明，鞭毛旋转的停止可作为启动基质合成的附加信号[49]。除此之外，YmdB 作为编码磷酸二酯酶的基因，影响着生物膜和运动基因表达之间的转换。缺失 YmdB 会导致生物膜相关基因的表达下降，而运动相关基因(如 Hag，编码鞭毛蛋白)及自溶素基因的表达上调[50–51]；YmdB 通过解除部分细胞亚群中 SinR 对基因的抑制，发挥其调控蛋白的功能，从而影响基质基因表达的表型异质性[52]。

2.5　Rap-Phr 群体感应系统制衡 Spo0A~P 的转化

在枯草芽孢杆菌等芽孢杆菌属细菌中，Rap 家族蛋白及其配对的 Phr 信号肽共同构成了典型的群体感应调控模块。Rap 蛋白主要通过与 Spo0F 等信号转导蛋白结合并发挥去磷酸化作用，进而抑制 Spo0A 的磷酸化水平[53]。Spo0A~P 是芽孢形成与生物膜形成的核心转录调控因子，其活性水平决定了细胞群体在营养匮乏或高密度条件下的发育命运。因此，Rap 家族在群体行为调控中起着关键的“制动器”作用。当群体密度较低时，Rap 蛋白处于活跃状态，对 Spo0F 进行去磷酸化，阻断信号向 Spo0A 的传递，从而抑制包括孢子形成和生物膜形成在内的群体性行为。随着细胞密度的升高，前体 Phr 肽被分泌、加工并经寡肽转运系统回收至胞内，成熟的 Phr 肽与其对应的 Rap 蛋白结合，抑制其磷酸酶活性，从而解除对 Spo0F 的抑制[51]。此时 Spo0A~P 水平得以积累，驱动下游基因表达，促进群体性表型的发生。不同的 Rap-Phr 系统在芽孢化、遗传转化、生物膜形成等过程中发挥差异化调控作用[1,3]。例如，RapH 通过直接作用于 Spo0F 抑制 Spo0A~P 的积累，而 PhrH 则在高密度时通过反馈机制阻断 RapH 活性，从而促进生物膜和孢子形成。这种以 Rap-Phr 为核心的群体感应网络，使细菌能够根据环境条件和群体状态动态调节发育程序，保证种群的适应性与竞争优势[54]。

3 生物膜在食品工业中的危害

随着食品工业的技术进步、食品消费行为模式的改变以及消费者对食品安全需求的增加，有害生物生物膜的形成与存在已被视为严重的公共卫生问题，尤其是在微生物食品污染普遍存在的情况下[55]。由于生产周期长和加工设施复杂，大规模食品生产系统为食品加工线和接触表面的生物膜形成提供了有利的环境[34]。在食品表面和相关环境中形成生物膜，其耐受性主要源于细胞代谢活动的改变、外排泵系统对抗菌剂的排出作用以及耐抗菌剂基因的表达调控[56]，当形成混合生物膜时，其对传统消毒剂的抗性会进一步增强，从而导致严重的经济损失和健康损失[57]。在医疗领域，抗生素具有消除或治疗病原体引起的传染病的能力，但嵌入生物膜中的固着细胞仍然存在；而在乳制品工业中，芽孢杆菌属细菌是原料乳中最常见的污染菌群，主要包括枯草芽孢杆菌、地衣芽孢杆菌和蜡样芽孢杆菌等，这些未被杀灭的耐热芽孢杆菌会缩短乳制品的货架期并导致胀包、结块等质量问题，在后续乳制品罐装、储存等一系列过程中，芽孢在其适宜的生长条件也会被激活，在产品中进行生长繁殖从而引起乳制品腐败[28]。此外，加工环节的污染风险同样不容忽视，各种工艺和结构在不同温度下都是有利于生物膜形成的表面基质，生物膜形成后可能分泌毒素、脂肪酶或蛋白酶，改变产品感官品质，甚至腐蚀金属设备表面[58]。这些病原体在乳制品加工设备中形成的生物膜以及造成的交叉污染，也会因食源性疾病、产品腐败和设备损坏而导致严重的公共卫生问题和经济损失[59−60]。因此，开发安全、高效且环境友好的抗生物膜策略已成为乳制品及食品工业领域的迫切需求。

4 细菌生物膜的防控策略

4.1 物理方法

食品工业中，传统的机械刷洗和高压水冲技术已难以清除细菌的生物膜。近年来，多种新型物理处理技术在生物膜清除方面展现出显著优势，其中包括超声波、紫外线照射及冷等离子体处理等方法。超声波处理是一种非化学、环保的生物膜控制技术，能够通过空化效应和机械剪切力破坏生物膜结构。据报道，直接接触超声波可将成熟生物膜内的细菌细胞数量减少 70%[61]。ERRIU 等[62]研究了频率为 38~800 kHz、强度为 0.3 W/cm^2 的超声波对大肠杆菌生物膜的作用，结果表明，高强度超声波对生物膜内的活细菌具有显著的抑制效果；此外，超声波与苯乳酸联合使用可严重破坏细菌细胞膜完整性，导致胞内腺嘌呤核苷三磷酸地泄漏，从而显著削弱生物膜活性[63]。

紫外线照射是一种不含化学物质的方法，凭借其高效的抗菌特性，已被广泛应用于生物膜的清除。研究表明，紫外线波长为 260 nm 时，可对核酸和生物膜造成严重损害；波长为 265 nm 或 275 nm 的紫外线对多种细菌的生物膜形成也表现出显著的抑制效果(P<0.001)[64]。与超声波类似，紫外线辐射与其他消毒剂的协同作用能显著抑制细菌细胞活性并破坏细菌生物膜。与单独使用紫外线相比，紫外线结合微酸性电解水对副溶血弧菌生物膜的形成具有更强的抑制作用[65]；紫外线 EPS 的影响与照射剂量、波长及目标菌株密切相关：波长为 254 nm 的照射可抑制 EPS 生成，而波长为 208 nm 的紫外线则可能通过诱导保护性反馈机制促进其合成。总体而言，紫外线通过诱导活性氧生成，改变 EPS 的结构与数量，从而削弱生物膜稳定性。

冷等离子体处理方法包括热等离子体(电子和离子处于热平衡)和非热等离子体(电子温度远高于离子温度)2 种类型。非热等离子体由于其低能耗、无毒性残留以及能够在室温下操作而更适用于食源性病原体和细菌生物膜的灭活[66]。研究表明，使用冷等离子体处理的 48 h 内，大肠杆菌生物膜的数量减少了 6 个对数值[67]。除了上述提到的物理方法，磁性材料产生的磁场亦被认为是潜在的抗生物膜手段。磁场可穿透细胞壁，引发细胞溶解并导致细菌死亡[68]。其中，磁性纳米颗粒因其高反应性与可控性成为应用热点。LI 等[69]利用磁性纳米颗粒有效减少了金黄色葡萄球菌生物膜的形成。此外，噬菌体–纳米复合物作为新型磁性材料，表现出优异的抗生物膜活性，对大肠杆菌和铜绿假单胞菌成熟生物膜的清除率可高达 98%。

4.2 生物化学方法

一些化学方法，如 *D*-氨基酸、维生素或抗菌肽可通过抑制 EPS 的产生或阻断黏附介导的附着力来防止生物膜的形成。当生物膜已经形成时，它们可以降解 EPS 大分子，导致生物膜结构扩散[70]。研究表明，*D*-色氨酸(*D*-tryptophan, *D*-Trp)、*D*-天冬氨酸(*D*-aspartic acid, *D*-Asp)、*D*-亮氨酸(*D*-leucine, *D*-Leu)、*D*-蛋氨酸(*D*-methionine, *D*-Met)和 *D*-谷氨酸(*D*-glutamic acid, *D*-Glu)对生物膜形成具有显著的抑制作用(P<0.01)，例如，浓度为 40 mmol/L 的 D-Asp 可导致金黄色葡萄球菌生物膜的形成量减少 70%，而 D-Asp 与 D-Glu 的组合显示了更强的抑制作用，其可在 72 h 内减少 97%的生物膜形成[71]。*D*-Trp 和 *D*-Leu 还能与枯草芽孢杆菌主要基质蛋白 TasA 相互作用，从而破坏生物膜结构稳定性[72]。维生素类物质中，抗坏血酸(维生素 C)可通过分解 EPS 基质或抑制 Spo0A、SlrR、KinC 等生物膜相关基因的表达，阻断胞外多糖的合成[68]。此外，亚致死浓度的维生素 C 还可通过抑制细菌群体感应而降低生物膜的活性[73]。抗菌肽对生物膜的抑制活性可能源于其在细胞膜上形成孔洞或破坏膜结构的能力[74]；抗菌肽可以通过抑制细菌的运动直接阻碍生物膜的形成[75]。例如，在铜绿假单胞菌中，抗菌肽能通过抑制群体感应及 IV 型菌毛合成相关基因表

达而发挥抗生物膜活性。

除小分子物质外, 纳米颗粒及酶制剂也是重要的生物膜去除手段。纳米颗粒可通过干扰三磷酸腺苷(adenosine triphosphate, ATP)代谢、改变膜通透性及诱导羟基自由基生成实现抗生物膜作用[76]。例如, 银纳米颗粒对铜绿假单胞菌生长与生物膜形成具有显著抑制作用(P<0.05)[77], 而铜纳米颗粒对白色念珠菌生物膜的形成同样显示强抑制效果, 其机制与 QS 信号阻断相关[78]。酶类则能直接降解生物膜基质组分, 削弱其结构稳定性。研究表明, 风味蛋白酶可在 24 h 内分别使肠道链球菌与大肠杆菌成熟生物膜减少约 4 和 5.5 个对数值, 该过程与生物膜基因、毒力因子及 QS 系统的调控有关[79]。此外, 丝氨酸蛋白酶和多糖酶均具有显著的抗生物膜活性, 其中前者对芽孢杆菌的清除效果更佳[80–82]。

此外, 噬菌体疗法作为一种替代抗生素的生物控制策略, 因能穿透 EPS 并裂解宿主细胞而受到关注[29], 例如, 李斯特菌噬菌体 P100 已获美国食品安全应用许可, 可有效去除食品表面的生物膜细菌。研究表明, 噬菌体处理后, 铜绿假单胞菌与大肠杆菌的生物膜形成量显著下降(P<0.05)[82]。但需要注意的是, 细菌可能通过改变噬菌体受体或相关酶功能而产生噬菌体抗性, 这在一定程度上限制了其持续应用[83]。

4.3　声热耦合技术在生物膜中的应用

在食品工业中, 传统热杀菌技术因其能够有效杀灭多种微生物且杀菌效果可控而被广泛应用, 然而, 其缺点也是显而易见的, 如导致乳品发生色变[84]、产生异味[85]、营养成分损失[86]等。此外, 热杀菌过程中能耗较高, 可能对环境造成污染。近年来, 新型热杀菌技术和非热杀菌技术逐渐兴起, 例如, 超声波处理、辐照杀菌、臭氧杀菌以及低温等离子体等技术, 这些方法不仅能够有效杀灭微生物, 还能更好地保持食品的感官特性和营养价值。超声波技术因其方向性好、功率大、穿透力强等优点, 在食品加工中展现出独特的潜力, 超声波能够引发空化效应, 并产生力学、热学、化学和生物等多重效应[87]。通过空化作用, 超声波可以破坏微生物的细胞膜和内部结构, 从而导致细胞死亡。然而, 对于乳制品中残留的耐热性较强的生物膜和芽孢类物质, 超声波单独处理的效果并不显著(P>0.05)[88–89]。

相比之下, 超声波协同热处理(声热耦合)能通过空化效应产生局部高温高压及温度压力交变, 降低微生物抗胁迫能力[90]。热作用下, 空气泡振动形成冲击波, 产生高剪切应力, 破坏细胞壁和细胞膜, 从而抑制细菌及其生物膜形成[91]。近年来, 研究逐渐揭示了声热耦合技术在生物膜去除中的潜在效果。SUN 等[92]采用功率为 800 W, 频率为 50 kHz 的超声波(ultrasound, US)、温和热处理(50、60、70 ℃)以及超声波协同温和热处理(功率为 800 W, 频率为 50 kHz, 温度分别为 50、60、70 ℃) 3 种处理方式, 对肺炎克雷伯菌浮游细胞和生物膜细胞分别进行了 5、10、20、30、60 min 的处理, 结果表明, 超声波与温和热处理的协同作用可有效去除浮游生物及生物膜, 其作用机制主要基于对细胞膜结构的破坏以及对微生物细胞呼吸的抑制作用。联合应用中等强度超声波(功率不低于 80 W)与温和热处理(温度不超过 50 ℃)可在 15 min 内显著破坏荧光假单胞菌生物膜的结构完整性(P<0.05), 并显著降低其活菌数量(P<0.05)[93]。综上所述, 声热耦合技术兼具超声波和热处理的优势, 不仅能够高效灭活微生物, 还能减少对乳品品质的影响, 同时降低能耗与环境负担, 显示出广阔的应用前景。

5　结束语

耐热枯草芽孢杆菌在食品加工环境中广泛存在, 其生物膜的形成与稳态维持是导致食品污染和产品品质劣变的重要因素。生物膜形成受 Spo0A、DegU、SinR 等核心转录因子以及 c-di-AMP、c-di-GMP 等第二信使精细调控, 同时受 Rap-Phr 群体感应系统的动态制衡。这些信号网络相互交织, 共同决定了细胞在不同环境胁迫下的行为命运。深入解析这些分子机制不仅有助于揭示芽孢杆菌生物膜的形成规律, 也为开发高效的防控策略提供了理论依据。

在防控层面, 传统机械与热杀菌方法虽可有效去除部分微生物, 但难以彻底清除成熟生物膜且易损食品品质。近年来, 超声波、紫外线、冷等离子体、磁性纳米材料以及酶促降解等新兴技术在抗生物膜领域展现出良好效果。其中, 声热耦合技术作为一种兼具高效性与环境友好性的复合物理方法, 能够协同破坏细胞膜结构、削弱生物膜耐受性, 并在降低能耗和品质损失的同时实现生物膜的显著去除, 显示出在乳制品及食品工业中的广阔应用前景。

未来研究需在现有基础上实现多维度突破: 在机制层面, 应结合多组学技术深入解析环境胁迫下生物膜调控网络的动态响应, 揭示关键信号通路间的交叉对话; 在防控层面, 需优化声热耦合等物理策略的参数以平衡效能与食品品质, 并加速群体感应抑制、纳米材料等绿色技术的开发与集成应用; 最终, 通过建立实时监测体系与全链条风险预警模型, 推动基础研究成果向产业化精准防控的转化, 为食品安全生产提供更坚实的保障。

参考文献

[1] FLEMMING HC, WINGENDER J, SZEWZYK U, *et al*. Biofilms: An emergent form of bacterial life [J]. Nature Reviews Microbiology, 2016, 14(9): 563–575.

[2] HALL-STOODLEY L, COSTERTON JW, STOODLEY P. Bacterial biofilms: From the natural environment to infectious diseases [J]. Nature

Reviews Microbiology, 2004, 2(2): 95–108.

[3] PENG J, HOU Y, ZHANG Y. Biofilm formation of *Bacillus subtilis* and its effects in food processing environments [J]. Food Control, 2020, 112: 107110.

[4] DIARRA C, BRUNO E, DOUILLARD FP, *et al*. Biofilm formation by heat-resistant dairy bacteria: Implications for food safety and processing hygiene [J]. Food Research International, 2023, 150: 110754.

[5] BRIDIER A, SANCHEZ-VIZUETE MP, GUILBAUD M, *et al*. Biofilm-associated persistence of food-borne pathogens [J]. Food Microbiology, 2015, 45: 167–178.

[6] MUHAMMAD MH, IDRIS AL, FAN X, *et al*. Beyond risk: Bacterial biofilms and their regulating approaches [J]. Frontiers in Microbiology, 2020, 11: 928.

[7] LYNNE S, CAIRNS L, HOBLEY N. Biofilm formation by *Bacillus subtilis*: New insights into regulatory strategies and assembly mechanisms [J]. Molecular Microbiology, 2014, 93(4): 587–598.

[8] SHE Q, HUNTER E, QIN Y, *et al*. Negative interplay between biofilm formation and competence in the environmental strains of *Bacillus subtilis* [J]. mSystems, 2020, 5(5). DOI: 10.1128/mSystems.00539–20

[9] COMMICHAU FM, DICKMANNS A, GUNDLACH J, *et al*. A jack of all trades: c-di-AMP regulates cell physiology in *Bacillus subtilis* [J]. Current Genetics, 2025, 61(3): 199–206.

[10] GÓMEZ-LÓPEZ VM, DEVLIEGHERE F, BONDUELLE V, *et al*. Factors affecting the inactivation of micro-organisms by intense light pulses [J]. Journal of Applied Microbiology, 2010, 99(3): 460–470.

[11] VESTBY LK, GRØNSETH T, SIMM R, *et al*. Bacterial biofilm and its role in the pathogenesis of disease [J]. Antibiotics, 2020, 9(2): 59.

[12] FLEMMING HC, WINGENDER J. The biofilm matrix [J]. Nature Reviews Microbiology, 2010, 8(9): 623–633.

[13] MIQUEL S, LAGRAFEUILLE R, SOUWEINE B, *et al*. Anti-biofilm activity as a health issue [J]. Frontiers in Microbiology, 2016, 7: 592.

[14] MA W, PENG D, WALKER SL, *et al*. Bacillus subtilis biofilm development in the presence of soil clay minerals and iron oxides [J]. NPJ Biofilms and Microbiomes, 2017, 3: 4.

[15] BANERJEE P, SINGH M, SHARMA V. Biofilm formation: A comprehensive review [J]. International Journal of Pharmaceutical Research and Health Sciences, 2015, 3: 556–560.

[16] RÖMLING U, GALPERIN MY, GOMELSKY M. Cyclic di-GMP: The first 25 years of a universal bacterial second messenger [J]. Microbiology and Molecular Biology Reviews, 2013, 77(1): 1–52.

[17] ARMBRUSTER CR, PARSEK MR. New insight into the early stages of biofilm formation [J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 2018, 115: 4317–4319.

[18] RABIN N, ZHENG Y, OPOKU-TEMENG C, *et al*. Biofilm formation mechanisms and targets for developing antibiofilm agents [J]. Future Medicinal Chemistry, 2015, 7: 493–512.

[19] ZHAO X, ZHAO F, WANG J, *et al*. Biofilm formation and control strategies of food borne pathogens: Food safety perspectives [J]. RSC Advances, 2017, 7: 36670–36683.

[20] RATHER MA, GUPTA K, MANDAL M. Microbial biofilm: Formation, architecture, antibiotic resistance, and control strategies [J]. Brazilian Journal of Microbiology, 2021, 52(4): 1701–1718.

[21] OSTROV I, SELA N, BELAUSOV E, *et al*. Adaptation of *Bacillus* species to dairy-associated environment facilitates their biofilm-forming ability [J]. Food Microbiology, 2019, 82: 316–324.

[22] SADIQ FA, FLINT S, HE GQ. Microbiota of milk powders and the heat resistance and spoilage potential of aerobic spore-forming bacteria [J]. International Dairy Journal, 2018, 85: 159–168.

[23] COUGHLAN LM, COTTER PD, HILL C, *et al*. New weapons to fight old enemies: Novel strategies for the (bio) control of bacterial biofilms in the food industry [J]. Frontiers in Microbiology, 2016, 7: 1641.

[24] KIM JS, PARK C, KIM YJ. Role of flgA for flagellar biosynthesis and biofilm formation of *Campylobacter jejuni* NCTC11168 [J]. Journal of Microbiology and Biotechnology, 2015, 25: 1871–1879.

[25] HARRIOTT MM, NOVERR MC. Importance of Candida-bacterial polymicrobial biofilms in disease [J]. Trends in Microbiology, 2011, 19: 557–563.

[26] REN L, YUAN Y, FAREA K, *et al*. The adaptability of *Pseudomonas aeruginosa* biofilm in oxygen-limited environments [J]. Frontiers in Cellular and Infection Microbiology, 2025, 15: 1655335.

[27] CONLON BP. *Staphylococcus aureus* chronic and relapsing infections: Evidence of a role for persister cells: An investigation of persister cells, their formation and their role in *S. aureus* disease [J]. BioEssays, 2014, 36(10): 991–996.

[28] KRÓL JE, WOJTOWICZ AJ, ROGERS LM, *et al*. Invasion of *E. coli* biofilms by antibiotic resistance plasmids [J]. Plasmid, 2013, 70(1): 110–119.

[29] GALIE S, GARCIA-GUTIERREZ C, MIGUELEZ EM, *et al*. Biofilms in the food industry: Health aspects and control methods [J]. Frontiers in Microbiology, 2018, 9: 898.

[30] ARNAOUTELI S, BAMFORD NC, STANLEY-WALL NR, *et al*. *Bacillus subtilis* biofilm formation and social interactions [J]. Nature Reviews Microbiology, 2021, 19(9): 600–614.

[31] JIANG M, SHAO W, PEREGO M, *et al*. Multiple histidine kinases regulate entry into stationary phase and sporulation in *Bacillus subtilis* [J]. Molecular Microbiology, 2000, 38(3): 535–542.

[32] CHEN Z, SRIVASTAVA P, ZARAZÚA-OSORIO B, *et al*. *Bacillus subtilis* histidine kinase KinC activates biofilm formation by controlling heterogeneity of single-cell responses [J]. mBio, 2022, 13(1). DOI: 10.1128/mbio.01694-21

[33] YAMAMOTO J, KOBAYASHI H, TANAKA S, *et al*. Constitutive expression of the global regulator AbrB restores glycolytic flux and affects stationary-phase adaptation in *Bacillus subtilis* [J]. DNA Research, 2022, 29(3). DOI: 10.1093/dnares/dsac015

[34] CAIRNS LS, HOBLEY L, STANLEY-WALL NR. Biofilm formation by *Bacillus subtilis*: New insights into regulatory strategies and assembly mechanisms [J]. Molecular Microbiology, 2014, 93(4): 587–598.

[35] DOGSA I, KOJIC M, KRAJNC M, *et al*. Bacillus subtilis EpsA-O: A novel exopolysaccharide and its role in biofilm structure and function [J]. NPJ Biofilms and Microbiomes, 2024, 10(1): 12.

[36] MILTON ME, DRAUGHN GL, BOBAY BG, *et al*. The solution structures and interaction of SinR and SinI: Elucidating the mechanism of action of the master regulator switch for biofilm formation in *Bacillus subtilis* [J]. Journal of Molecular Biology, 2020, 432(2): 343–357.

[37] BREMER E, SCHWEMMLER M, LÜHMANN T, *et al*. The many faces of the unusual biofilm activator RemA [J]. BioEssays, 2022, 44(12). DOI:

10.1002/bies.202200009

[38] XIE CY, LI JT, ZHANG HB, *et al*. Tuning transcription factor DegU for developing robust biofilms in *Bacillus subtilis* [J]. Microbial Cell Factories, 2023, 22(1): 277.

[39] MEHNE FM, GUNKA K, EILERS H, *et al*. Cyclic di-AMP homeostasis in *Bacillus subtilis*: Both lack and high level accumulation of the nucleotide are detrimental for cell growth [J]. Journal of Biological Chemistry, 2013, 288(3): 2004–2017.

[40] GUNDLACH J, RATH H, HERZBERG C, *et al*. Second messenger signaling in *Bacillus subtilis*: Accumulation of cyclic di-AMP inhibits biofilm formation [J]. Frontiers in Microbiology, 2016, 7: 804.

[41] TOWNSLEY L, YANNARELL SM, HUYNH TN, *et al*. Cyclic di-AMP acts as an extracellular signal that impacts *Bacillus subtilis* biofilm formation and plant attachment [J]. mBio, 2018, 9(2). DOI: 10.1128/mBio.00341–18

[42] CHEN Y, CHAI Y, GUO JH, *et al*. Evidence for cyclic Di-GMP-mediated signaling in *Bacillus subtilis* [J]. Journal of Bacteriology, 2012, 194(18): 5080–5090.

[43] GAO X, MUKHERJEE S, MATTHEWS PM, *et al*. Functional characterization of core components of the *Bacillus subtilis* cyclic-di-GMP signaling pathway [J]. Journal of Bacteriology, 2013, 195(21): 4782–4792.

[44] YU C, QIAO J, ALI Q, *et al*. DegQ associated with the degS/degU two-component system regulates biofilm formation, antimicrobial metabolite production, and biocontrol activity in *Bacillus velezensis* DMW1 [J]. Molecular Plant Pathology, 2023, 24(12): 1510–1521.

[45] MURRAY EJ, KILEY TB, STANLEY-WALL NR. A pivotal role for the response regulator DegU in controlling multicellular behaviour [J]. Microbiology, 2009, 155: 1–8.

[46] HOBLEY L, OSTROWSKI A, RAO FV, *et al*. BslA is a self-assembling bacterial hydrophobin that coats the *Bacillus subtilis* biofilm [J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA, 2013, 110(33): 13600–13605.

[47] MILTON M E, YANG D, TAYLOR K J, *et al*. The biofilm regulatory network from *Bacillus subtilis* [J]. Journal of Bacteriology, 2023, 205(12). DOI: 10.1016/j.jmb.2022.167923

[48] MARLOW VL, PORTER M, HOBLEY L, *et al*. Phosphorylated DegU manipulates cell fate differentiation in the *Bacillus subtilis* biofilm [J]. Journal of Bacteriology, 2014, 196(1): 16–27.

[49] CAIRNS LS, MARLOW VL, BISSETT E, *et al*. A mechanical signal transmitted by the flagellum controls signalling in *Bacillus subtilis* [J]. Molecular Microbiology, 2013, 90: 6–21.

[50] DIETHMAIER C, NEWMAN JA, KOVÁCS AT, *et al*. The YmdB phosphodiesterase is a global regulator of late adaptive responses in *Bacillus subtilis* [J]. Journal of Bacteriology, 2014, 196(2): 265–275.

[51] DANNENBERG S, PENNING J, SIMM A, *et al*. The motility-matrix production switch in *Bacillus subtilis* [J]. Journal of Bacteriology, 2024, 206(1). DOI: 10.1128/jb.00047-23

[52] KAMPF J, GERWIG J, KRUSE K, *et al*. Selective pressure for biofilm formation in *Bacillus subtilis*: Differential effect of mutations in the master regulator SinR on bistability [J]. mBio, 2018, 9(5). DOI: 10.1128/mBio.01464-18

[53] PARASHAR V, MIROUZE N, DUBNAU DA, *et al*. Structural basis of response regulator dephosphorylation by Rap phosphatases [J]. PLoS Biology, 2011, 9(2). DOI: 10.1371/journal.pbio.1000589

[54] GALLEGOS-MONTERROSA R, MORTENSEN RMR, KIRK NK, *et al*. Deletion of Rap-Phr systems in *Bacillus subtilis* influences *in vitro* biofilm formation and plant root colonization [J]. Microbiology Open, 2021, 10(3). DOI: 10.1002/mbo3.1212

[55] BUTTNER J, BURGHOFF S, DÖRRIES-GRABSCHEID K, *et al*. Impact of Rap-Phr system abundance on adaptation of *Bacillus subtilis* sporulation and biofilms [J]. Frontiers in Microbiology, 2020, 11: 507.

[56] PERRY EK, TAN MW. Bacterial biofilms in the human body: Prevalence and impacts on health and disease [J]. Frontiers in Cellular and Infection Microbiology, 2023, 13: 1237164.

[57] SUNG K, KHAN S, AHN J. Food borne pathogen biofilms: Development, detection, control, and antimicrobial resistance [J]. Pathogens, 2023, 12(2): 352.

[58] 邱月, 秦雪, 马钰, 等. 原料乳中腐败微生物对液态乳品质的影响及防控[J]. 食品安全质量检测学报, 2023, 14(16): 8–15.
QIU Y, QIN X, MA Y, *et al*. Effects and control of spoilage microorganisms in raw milk on quality of liquid milk [J]. Journal of Food Safety & Quality, 2023, 14(16): 8–15.

[59] GOETZ C, LAROUCHE J, VELÉZ ARISTIZÁBAL M, *et al*. Evaluation of the efficacy of organic peroxyacids for eradicating dairy biofilms using an approach combining static and dynamic methods [J]. International Journal of Food Microbiology, 2022, 365: 131044.

[60] GIAOURIS E E, SIMÕES M V. Pathogenic biofilm formation in the food industry and alternative control strategies[M]//HOLBAN AM, GRUMEZESCU AM. Foodborne Diseases. Academic Press, 2018.

[61] WU X, SHI X, CHEN M, *et al*. Direct-contact low-frequency ultrasound and pulse lavage eradicates biofilms on implant materials *in vitro* [J]. Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine, 2021,, 2021: 1562605.

[62] ERRIU M, BLUS C, SZMUKLER-MONCLER S, *et al*. Microbial biofilm modulation by ultrasound: Current concepts and controversies [J]. Ultrasonics Sonochemistry, 2014, 21(1): 15–22.

[63] LUO X, ZHANG B, LU Y, *et al*. Advances in application of ultraviolet irradiation for biofilm control in water and wastewater infrastructure [J]. Journal of Hazardous Materials, 2022, 421: 126682.

[64] ZHAO Z, RHO H, SHAPIRO N, *et al*. Biofilm inhibition on surfaces by ultraviolet light side-emitted from optical fibres [J]. Nature Water, 2023, 1(7): 649–657.

[65] ROY PK, MIZAN MFR, HOSSAIN MI, *et al*. Elimination of *Vibrio parahaemolyticus* biofilms on crab and shrimp surfaces using ultraviolet C irradiation coupled with sodium hypochlorite and slightly acidic electrolyzed water [J]. Food Control, 2021, 128: 108179.

[66] MANDAL R, SINGH A, SINGH PA. Recent developments in cold plasma decontamination technology in the food industry [J]. Trends in Food Science and Technology, 2018, 80: 93–103.

[67] XIA B, VYAS HKN, ZHOU R, *et al*. The importance of superoxide anion for Escherichia coli biofilm removal using plasma-activated water [J]. Journal of Environmental Chemical Engineering, 2023, 11(3): 109977.

[68] LU J, HU X, REN L. Biofilm control strategies in food industry: Inhibition and utilization [J]. Trends in Food Science and Technology, 2022, 123: 103–113.

[69] LI J, NICKEL R, WU J, *et al*. A new tool to attack biofilms: Driving

magnetic iron-oxide nanoparticles to disrupt the matrix [J]. Nanoscale, 2019, 1(14): 6905–6915.

[70] ELAFIFY M, LIAO X, FENG J, *et al*. Biofilm formation in food industries: Challenges and control strategies for food safety [J]. Food Research International, 2024, 190: 1146–1150.

[71] WARRAICH AA, MOHAMMED AR, PERRIE Y, *et al*. Evaluation of anti-biofilm activity of acidic amino acids and synergy with ciprofloxacin on *Staphylococcus aureus* biofilms [J]. Scientific Reports, 2020, 10(1): 9021.

[72] LI X, ZHOU Y, LIU Y, *et al*. D-histidine inhibits biofilm formation and triggers disassembly of mature biofilms in *Pseudomonas aeruginosa* [J]. Archives of Microbiology, 2024, 206(4): 459–470.

[73] PANDIT S, RAVIKUMAR V, ABDEL-HALEEM AM, *et al*. Low concentrations of vitamin C reduce the synthesis of extracellular polymers and destabilize bacterial biofilms [J]. Frontiers in Microbiology, 2017, 8: 2599.

[74] PIRTSKHALAVA M, VISHNEPOLSKY B, GRIGOLAVA M, *et al*. Physicochemical features and peculiarities of interaction of AMP with the membrane [J]. Pharmaceuticals, 2021, 14(5): 471.

[75] YIN R, CHENG J, WANG J, *et al*. Treatment of *Pseudomonas aeruginosa* infectious biofilms: Challenges and strategies [J]. Frontiers in Microbiology, 2022, 13: 955286.

[76] MOHANTY S, PAUL S. Biofilm formation, problems, and diseases: Methods for film eradication, a nanostructured material based approach [J]. Microbial Ecology of Wastewater Treatment Plants, 2021.

[77] SAEKI EK, MARTINS HM, CAMARGO LC, *et al*. Effect of biogenic silver nanoparticles on the quorum-sensing system of *Pseudomonas aeruginosa* PAO1 and PA14V [J]. Microorganisms, 2022, 10(9): 1755.

[78] RASOOL U, SAH SK, HEMALATHA S. Effect of biosynthesized copper nanoparticles (CuNPs) on the growth and biofilm formation of fluconazole-resistant *Candida albicans* [J]. Journal of Microbiology, Biotechnology and Food Sciences, 2019, 9(1): 21–24.

[79] NAHAR S, JEONG L, KIM Y, *et al*. Inhibitory effects of flavourzyme on biofilm formation, quorum sensing, and virulence genes of foodborne pathogens *Salmonella typhimurium* and *Escherichia coli* [J]. Food Research International, 2021, 147: 110461.

[80] PARK J, LEE H, KWON SH, *et al*. Extracellular matrix-degrading enzymes as a biofilm control strategy for food-related microorganisms [J]. Food Science and Biotechnology, 2023, 32(5): 789–798.

[81] YU T, MA M, SUN Y, *et al*. The effect of sublethal concentrations of benzalkonium chloride on the LuxS/AI-2 quorum sensing system, biofilm formation and motility of *Escherichia coli* [J]. International Journal of Food Microbiology, 2021, 353: 109313.

[82] PALLAVALI RR, DEGATI VL, NARALA VR, *et al*. Lytic bacteriophages against bacterial biofilms formed by multidrug-resistant *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, and *Staphylococcus aureus* isolated from burn wounds [J]. Journal of Applied Microbiology, 2021, 2(3): 120–130.

[83] AKBARIAN M, CHEN SH, KIANPOUR M, *et al*. A review on biofilms and the currently available antibiofilm approaches: Matrix-destabilizing hydrolases and antibacterial peptides as promising candidates for the food industries [J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2022, 219: 1163–1179.

[84] 孙玥, 吴华星, 段雪梅, 等. 2021. 原料乳离心除菌对 UHT 乳品质的改善作用[J]. 中国乳品工业, 49(4): 13–18.
SUN Y, WU XH, DUAN XM, *et al*. Improvement of UHT milk quality by centrifugal decontamination of raw milk [J]. China Dairy Industry, 2021, 49(4): 13–18.

[85] 杨姗姗, 丁瑞雪, 史海粟, 等. 2020. 热处理条件对巴氏杀菌乳风味品质的影响[J]. 食品科学, 2020, 41(24): 131–136.
YANG SS, DING RX, SHI HS, *et al*. Effect of heat treatment conditions on flavor quality of pasteurized milk [J]. Food Science, 2020, 41(24): 131–136.

[86] 吴仪凡, 宋宇轩, 张艳, 等. 2020. 不同巴氏杀菌处理对绵羊乳热加工特性的影响[J]. 食品安全质量检测学报, 2020, 11(17): 5886–5890.
WU YF, SONG YX, ZHANG Y, *et al*. Effects of different pasteurization treatments on heat processing properties of sheep milk [J]. Journal of Food Safety & Quality, 2020, 11(17): 5886–5890.

[87] SINGLA M, SIT N. Application of ultrasound in combination with other technologies in food processing: A review [J]. Ultrasonics Sonochemistry, 2021, 73: 105506.

[88] CHEN FY, ZHANG M, YANG CH. Application of ultrasound technology in processing of ready-to-eat fresh food: A review [J]. Ultrasonics Sonochemistry, 2020, 63: 104953.

[89] ZHANG L, WANG P, SUN X, *et al*. Calcium permeation property and firmness change of cherry tomatoes under ultrasound combined with calcium lactate treatment [J]. Ultrasonics Sonochemistry, 2020, 60: 104784.

[90] 李欣霏, 杨姗姗, 贺凯茹, 等. 2024. 声热耦合杀菌对乳中耐热枯草芽孢杆菌抑制作用研究进展[J]. 食品科学, 45(16): 294–302.
LI XF, YANG SS, HE KR, *et al*. Research progress on inhibition of thermophilic *Bacillus subtilis* in milk by combined acoustic and thermal sterilization [J]. Food Science, 2024, 45(16): 294–302

[91] LEGAY M, GONDREXON N, LE PERSON S, *et al*. Enhancement of heat transfer by ultrasound: Review and recent advances [J]. International Journal of Chemical Engineering, 2011, 2011(1): 670108.

[92] SUN J, WANG D, ZHANG J, *et al*. Antibacterial and antibiofilm effect of ultrasound and mild heat against a multidrug-resistant *Klebsiella pneumoniae* strain isolated from meat of yellow-feathered chicken [J]. Foodborne Pathogens and Disease, 2022, 19(1): 70–79.

[93] SU Y, JIANG L, CHEN D, *et al*. In vitro and in silico approaches to investigate antimicrobial and biofilm removal efficacies of combined ultrasonic and mild thermal treatment against *Pseudomonas fluorescens* [J]. Ultrasonics Sonochemistry, 2022, 83: 105930.

(责任编辑: 韩晓红 安香玉)