

黑色冲调粉加工过程中细菌与真菌菌群分析

Analysis of bacteria and fungi flora in the processing of black blending powder

王雅芳^{1,2} 何新益^{1,2} 于政红^{1,2} 徐甜甜^{1,2} 吴海清^{1,2}

WANG Ya-fang^{1,2} HE Xin-yi^{1,2} YU Zheng-hong^{1,2} XU Tian-tian^{1,2} WU Hai-qing^{1,2}

(1. 天津农学院食品科学与生物工程学院, 天津 300392; 2. 天津市农副产品深加工技术工程中心, 天津 300392)

(1. College of Food Science and Biological Engineering, Tianjin Agricultural University, Tianjin 300392, China; 2. Tianjin Agricultural and Sideline Products Deep Processing Technology Engineering Center, Tianjin 300392, China)

摘要:目的:利用高通量测序技术分析黑色冲调粉在加工过程中的细菌与真菌的多样性。方法:对车间各部位进行微生物取样,用 Nanodrop 检测样品质量后进行 PCR 扩增,对数据进行质控,通过序列拼接、过滤和去嵌合体后得到优化序列,然后进行 OTU 聚类及注释。结果:谷物冲调粉中的短接杆菌属(*Curtobacterium*)相对含量较高,烘烤对细菌的影响较小;辐照有明显的减菌效果,短接杆菌属经辐照后能减少一个数量级;分析真菌上属水平的物种发现,原料中大部分的真菌对高温环境敏感,黑色冲调粉中相对含量最高的是木耳菌属(*Auricularia*)约占 97.99%,说明烘烤可以有效减少真菌数量。结论:谷物冲调粉生产加工过程中的细菌与真菌控制有助于提升冲调粉品质及安全性。

关键词:微生物;黑色冲调粉;烘烤;高通量测序

Abstract: Objective: The diversity of bacteria and fungi during the processing of black powder was analyzed by high-throughput sequencing technology. **Methods:** For each part of the workshop for the sampling, use the Nanodrop samples quality after PCR amplification, the data quality control, through the sequence splicing, filtering, and optimizing sequence, and then OTU clustering and comments were conducted. **Results:** The relative content of *Curtobacterium* in grain flushing and mixing powder was higher, and baking had little effect on bacteria. Irradiation had a noticeable effect on reducing bacteria, and brachyacter could be reduced by order of magnitude after irradiation. The analysis of fungal species at the genus level showed that most of

the fungi in the raw materials were sensitive to the high-temperature environment, and *Auricularia* had the highest relative content in the black powder, accounting for 97.99%, which indicated that baking could effectively reduce the number of fungi.

Conclusion: This research provides technical support for bacteria and fungus control in the process of grain milling, improving the quality and safety and reference for the production of milling.

Keywords: microorganism; black powder; bake; high-throughput sequencing

目前,冲调粉作为新兴以“营养、快捷”为主要卖点的代餐食品在市面上层出不穷,其中大多数冲调粉生产加工厂采用一体化管道输送加工模式生产冲调粉,很大程度上使冲调粉的生产变得更快更便捷^[1-2]。但是,近年来有不少冲调粉微生物超标的报道,微生物生长繁殖到一定数量时会消耗冲调粉中营养物质使其变质,影响产品感官和品质^[3]。

生物危害主要是微生物对产品的危害。在冲调粉生产加工过程中加工方法、操作、设备等都可能引起微生物污染^[4-5]。因此,若能明确冲调粉在实际加工过程中的微生物情况,找到加工过程中的关键污染源,加强制定针对微生物方面的管理制度,进而减少生产过程中的微生物数量,从根本上降低产品因微生物污染所造成的质量风险^[6]。

文章拟从黑色冲调粉加工的实际出发,测试各个环节原料、设备、车间空气的微生物情况,结合高通量测序^[7]的方法对加工各点的原料进行取样分析,了解实际生产中各加工点的微生物物种分布情况,针对实际生产加工中微生物的消长规律,提出能够减少加工过程中微生物含量的建议,为今后完善黑色冲调粉或相关产品的加工工序,实施减菌化技术及日后以微生物为主要观

基金项目:天津市科技计划项目(编号:17YFNZNC00070);天津市武清区科技发展计划项目(编号:WQKJ201720)

作者简介:王雅芳,女,天津农学院在读硕士研究生。

通信作者:何新益(1974—),男,天津农学院教授,博士。

E-mail: hedevid@163.com

收稿日期:2021-05-06

察对象的信息化、动态监控提供依据^[8]。

1 材料与方法

1.1 试验基地

某食品公司冲调粉标准化生产车间(净度 10 万级)。

1.2 主要试剂、仪器设备

PCA 琼脂:北京奥博星生物技术有限责任公司;

基因扩增仪:My Cycler 型,美国 Bio-RAD 公司;

超微量紫外分光光度计:ES-2 型,日本岛津公司。

1.3 方法

1.3.1 样品分组 将黑米、黑豆、黑枣、黑木耳、黑芝麻分别按 1~5 进行编号,原料记为 A 组,烘烤后记为 B 组,粉碎后记为 C 组,包装前记为 D 组,包装后记为 E 组,辐照杀菌后记为 F 组。

1.3.2 菌落总数测定 按 GB 4789.2—2016 执行。

1.3.3 微生物取样 按加工过程在清洗车、传送带、烘烤托盘、盛料筒、炒芝麻机、粗粉机、中粉机、微粉机、芝麻粉碎机、混料机、包装机 1、包装机 2、工人手皮肤表面(包装间)、工人手皮肤表面(粉碎间)等部位取样。将取样框压在检测部位上,用无菌生理棉球沾无菌生理盐水润湿后,在框内顺序涂抹,每个待检点表面选择 4 个部位,一个棉球对应一个部位,棉球不能重复使用,棉球使用后即刻放入 100 mL 无菌水瓶中,同时密封、摇匀,低温运输至实验室分析。用无菌水进行梯度稀释,计算 1 cm² 的含菌量,换算成 lg(CFU/cm²)。培养 37 ℃、48 h 后计数。

1.3.4 车间空气微生物测定 采用空气自然沉降法^[9],在清洗间、挑选间、暂存间、脱包间、烘干间、粉碎间、混料间、包装间、参观通道中用直径 90 mm 营养琼脂培养基,参照 GB/T 18204—2013 进行布点,打开培养基在空气中暴露 15 min,随即加盖,37 ℃ 培养 48 h。

1.3.5 高通量测序法测定加工过程中的原料菌群变化

(1) 原料总 DNA 提取:分别在实际加工车间进行现场取样,严格按照 DNA 试剂盒的操作需求进行取样,取回后置于-20 ℃ 的冷库中贮藏,由北京奥维森基因科技有限公司专人冷链运输至公司进行测序。

(2) 细菌、真菌菌群变化:将样品在冰上融化后,离心并充分混匀,Nanodrop 检测样品质量,取 30 ng 进行 PCR 扩增,为使分析结果更加准确、可靠,测序原始数据下机后,对数据进行质控,通过序列拼接、过滤和去嵌合体后得到优化序列,然后进行 OTU 聚类及注释。基于聚类结果,可以进行 Alpha 多样性分析和 Beta 多样性分析;基于注释结果,可以得到各水平的分类信息,从而进行样本组成及样本间群落结构差异相关分析。

2 结果与分析

2.1 冲调粉加工过程各工序原料菌落总数分布

黑色冲调粉中黑米、黑豆、黑枣、黑木耳的烘烤温度

分别为 100、120、120、80 ℃。由图 1 可知,烘烤对 5 种原料中的菌落总数均有较好的抑制作用,菌落总数均大幅度减少,但经粉碎后,原料粉菌落总数又有所提升,因此推测粉碎这一加工工序是影响菌落总数的主要因素之一,原料中的内生菌在加工过程中进入冲调粉。此外,与未包装的冲调粉相比,包装后的冲调粉菌落总数更高,包装过程中可能会受到微生物污染,使成品菌落总数增加,说明包装的微生物控制应作为冲调粉加工过程中关键控制点。经辐照杀菌^[10]后菌落总数明显下降,且数量未超过 2 lg(CFU/g),说明辐照可有效减少产品中的微生物,且最后成品测得菌落总数均符合国家标准。

2.2 冲调粉加工过程操作器具菌落总数分布

由图 2 可知,芝麻粉碎机、混料机和包装机等对黑芝麻进行处理的机器中的菌落总数均>5.0 lg(CFU/cm²),由此推测是因为黑芝麻中所含的油脂容易附着在机器内壁上,使机器的清理变得困难,也更容易滋生微生物,因此清洁不彻底的粉碎设备和传输设备是微生物的主要来源。包装机的菌落总数较高,表明包装后产品的菌落总数增长的主要原因是来自于包装机设备。此外,在包装间和粉碎间进行搬运和混料的工人手表面的菌落总数也均>5.0 lg(CFU/cm²),高于包装间工人粉碎间工人手表面的,经调查发现粉碎间的工人不仅要负责原料的粉碎,还需要对原料进行拆包、烘烤后的搬运等工作,对此建议增加工人数量,尽量做到一个车间一位主要负责的工人,这样可以有效减少工人在不同车间来回工作时对原料的接触,可采用有效的消毒液,监督工人定时洗手,重点监控粉碎间工人手部的卫生状况。

2.3 冲调粉加工过程各车间空气菌落总数分布

由图 3 可知,冲调粉加工过程中各车间污染程度最高的粉碎间和混料间的菌落总数均>2.5 lg(CFU/cm²),是因为这两个车间主要进行的粉碎和混料容易造成粉末外溢;烘干间、包装间和暂存间 3 个车间相对密闭且温度较高,人员流动较多;清洗间和挑选间菌落总数较少,是

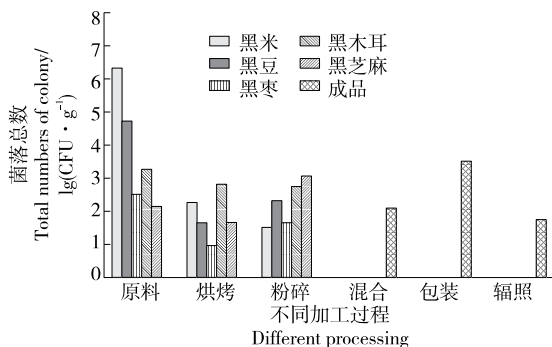


图 1 加工过程中原料及产品菌落总数

Figure 1 Total number of colonies in raw materials and products during processing

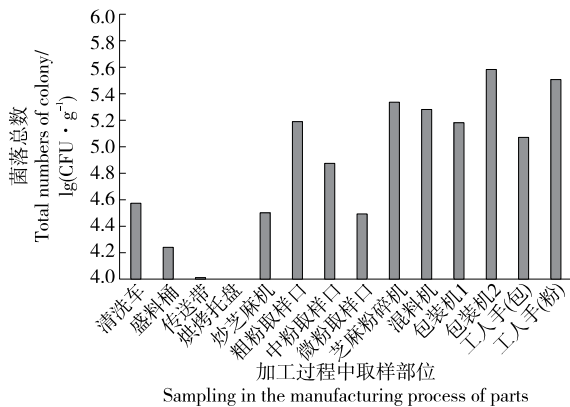


图2 加工过程中操作器具及工人的菌落总数
Figure 2 Total number of colonies of operating appliances and workers during processing

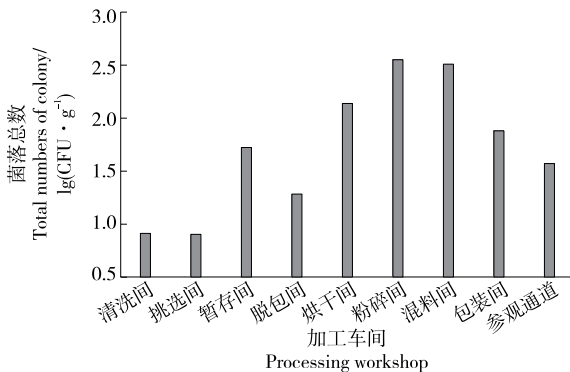


图3 加工过程中各车间空气的菌落总数
Figure 3 Total number of colonies in the workshop air during processing

因为这两个车间经常开窗换气,且每次使用后会 对车间进行清洗。因此,所有的车间除了要定时对相关设备进行清理外,也应定时清洁地面、加强消毒和通风工作。

2.4 16S rDNA 细菌菌群分析

通过对序列进行聚类,对 97%的相似水平的 OTU 进行生物信息统计分析^[11],结果统计见表 1。表 1 中没有 A2、B1、B2、B3 样品所对应的 OTU 数,因为样品在经过 PCR 扩增后,PCR 产物中无目的条带或是浓度太低未能达到建库要求,由此推断,烘烤组的黑米、黑豆、黑枣在经烘烤后微生物数量大幅度减少,且烘烤后的黑木耳、黑芝麻的 OTU 数(167,175)比原料中的(212,215)少很多,说明烘烤处理能够起到一定减少或杀灭微生物的作用,是减少产品微生物的重要步骤。

对单个样品的 OTU 数按 A~F 进行分组,并绘制韦恩图^[12](见图 4)。由图 4 可知,5 组样品中共有的 OTU 数为 184 个,E 组与 A、C、F 组间没有相同的 OTU 数,推测 E 组中所特有的 OTU 数可能是因来源不同(除原料外)。

表 1 单个样品的细菌菌群 OTU 数目统计

Table 1 Statistics on the number of Bacterial flora OTUs for a single sample

样品	最终条数	OTU 数	样品	最终条数	OTU 数
A1	52 963	123	C1	49 262	217
A3	33 281	504	C2	30 436	345
A4	48 905	212	C3	24 158	338
A5	22 000	225	D	38 461	352
B4	31 609	167	E	41 899	369
B5	35 493	175	F	43 576	374

对所有的样品进行构建稀释性曲线(Rarefaction curve),并利用香依(Shannon)指数分析绘制曲线,结果分别见图 5 和图 6。

从测序数目上看,样品的稀释曲线并未全部进入平台期,但所有样品香依曲线最后均趋于平整,说明随着测序数量的增加有可能会发现新的种属,但此时样品中细菌的多样性不会变化,说明试验所测的数据量足够,能够满足试验要求^[13]。

由图 7 可知,所有检测的样品在门水平上共有的主要优势菌为变形菌门^[14](*Proteobacteria*),为细菌域中最大的一门,其成员为革兰氏阴性菌,包括大肠杆菌、沙门

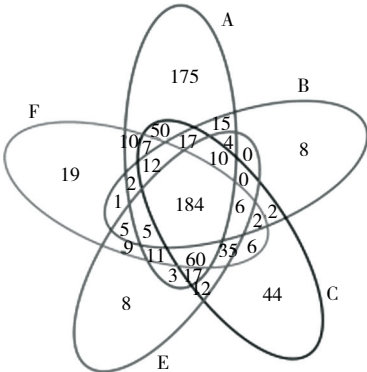


图4 6组样品 OTUs 的韦恩图
Figure 4 Six sets of samples OTUs venn FIG

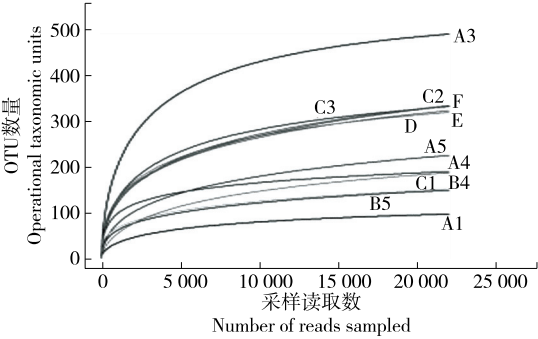


图5 样品稀释曲线
Figure 5 Sample dilution curve

氏菌、霍乱弧菌、幽门螺杆菌等病原菌。此外,放线菌门(*Actinobacteria*)和拟杆菌门(*Bacteroidetes*)在各个样品中均有体现,其主要是来自土壤、人或动物肠道内的细菌。

由图 8 可知,A 组中主要的细菌为日本梗稻水稻属(*Oryzasativa Japonica Group Japaneserice*)约占 18.34%、假单胞菌属(*Pseudomonas*)约占 7.89%和甲基杆菌属(*Methylobacterium*)约占 4.73%;经烘烤后 *Mucilaginibacter*、根瘤菌属(*Rhizobium*)和假单胞菌属占优

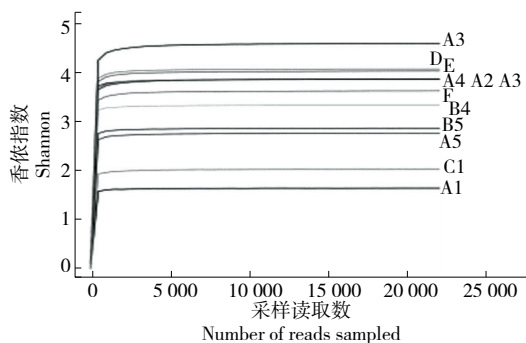


图 6 香依指数曲线

Figure 6 Shannon index curve

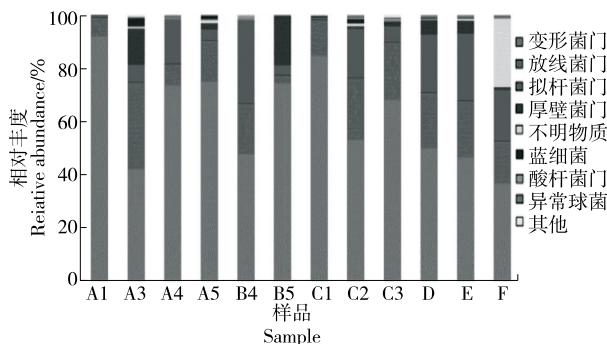


图 7 门水平上样品间物种组成分析柱状图

Figure 7 An analysis of histograms of species composition between samples at the phylum level

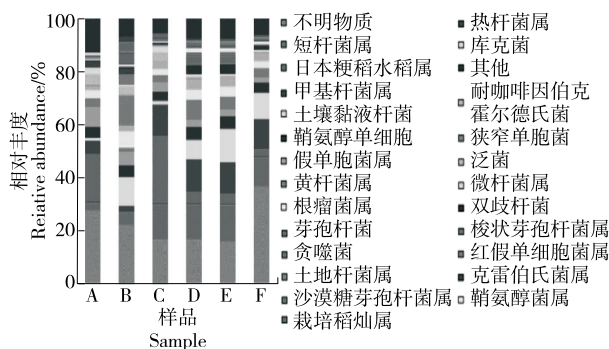


图 8 属水平上组间物种组成分析柱状图

Figure 8 Analysis of species composition analysis histograms at the genus level

势,分别约占 10.83%,6.08%,5.42%;粉碎后日本梗稻水稻属、短杆菌属(*Curtobacterium*)和甲基杆菌属分别以 25.91%,13.50%,11.44%成为此工序中的主要细菌;混合、包装和辐照灭菌中短杆菌属均是相对含量最高的,其在混合时的相对含量为 13.48%,经包装后上升至 13.94%,而经辐照处理后降低至 11.26%,不仅是短杆菌属,基本占主要的菌属在经辐照后均有一定幅度的减少,由此推断,在混合到包装的过程中可能会受到一些微生物的污染,辐照灭菌处理对细菌有一定的作用,但要更高程度地减少细菌,还应在生产加工过程中的设备、接触人员的清洁等方面多加注意。

对样品的 OTU 组成进行 PCA 分析^[15],结果见图 9,其中 C2、D、E、F 样品间距离较近,说明其物种组成更相似。图 10 为 NMDS 分析图,即非度量多维尺度法^[16]。结合图 9 和图 10 可知,D、E、F 和 C 组的样品均位于 A 组的圈内,说明这些组间的细菌种属差异不明显,产品中的主要微生物来自于原料,除了利用辐照处理对最终产品减少细菌外,还可以在现有工序基础上加强原料清洗等。

2.5 ITS1 真菌菌群分析

由表 2 可知,原料 A 组和烘烤 B 组的 OTU 数差别较大,均有大幅度减少,可能是因为某些真菌对烘烤的高温环境不耐受,从而对原料起到一定减少或杀灭微生物的作用,是控制产品微生物的重要步骤。

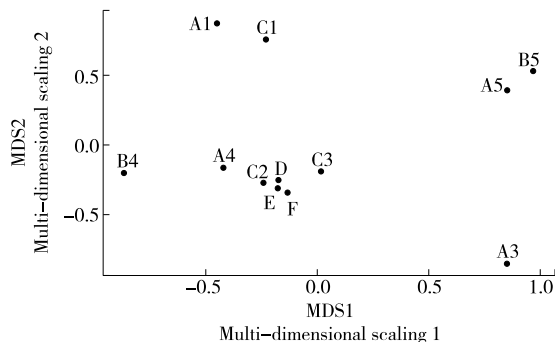


图 9 OTU 水平 PCA 分析图

Figure 9 OTU level PCA analysis diagram

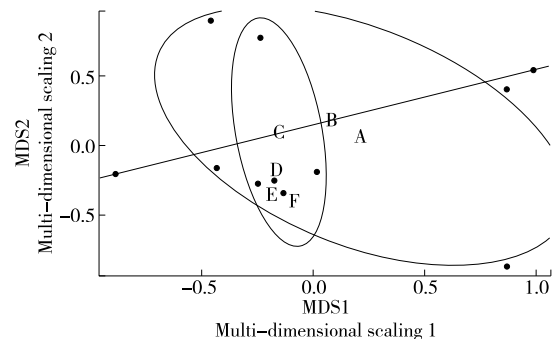


图 10 OTU 水平 NMDS 分析图

Figure 10 OTU level NMDS analysis diagram

由图 12 可知,5 组样品中共有的 OTU 数是 21 个,明显不同于细菌高达 184 个相同数,共有的 OTU 数量少,推测每个加工环节会在一定程度上带来一些不是原料中所持有的真菌。

由图 12 和图 13 可知,从测序数目上看,样品的稀释曲线并未全部进入平台期,但所有样品的香依曲线最后均趋于平整,说明随着测序数量的增加可能会发现新的种属,但此时样品中细菌的多样性不再变化,说明试验所测的数据量足够,满足试验要求。

表 2 单个样本的真菌菌群 OTU 数目统计

Table 2 Statistics on the number of fungi flora OTUs for a single sample

样品	最终条数	OTU 数	样品	最终条数	OTU 数
A1	81 562	273	B4	21 201	67
A2	38 752	236	B5	23 447	70
A3	41 981	188	C1	22 207	109
A4	45 878	143	C2	38 215	83
A5	40 076	150	C3	40 061	85
B1	41 018	138	D	21 100	58
B2	22 206	103	E	35 965	73
B3	25 669	94	F	24 238	91

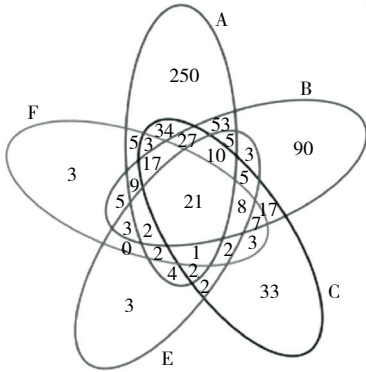


图 11 6 组样品 OTUs 的韦恩图

Figure 11 Six sets of samples OTUs venn FIG

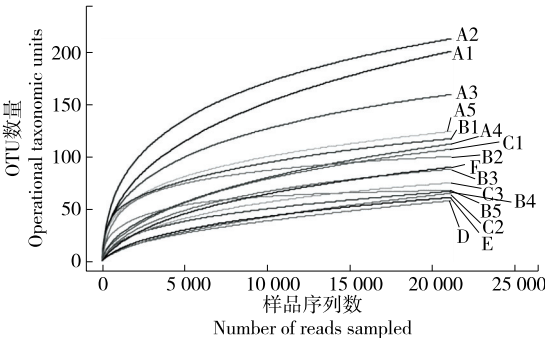


图 12 样品稀释曲线

Figure 12 Sample dilution curve

由图 14 可知,所检测的样品在门水平上的主要优势菌有担子菌门 (*Basidiomycota*) 和子囊菌门 (*Ascomycota*),为真菌中的高等真菌,担子菌门是构成蘑菇、木耳等主要食用菌的菌种,子囊菌门是真菌中最大的类群,与其他真菌不同的是会产生子囊。门水平上能够得到的真菌物种信息较少,还需对其进行更深的探究。

由图 15 可知,除去未确认的, A 组中主要的真菌为

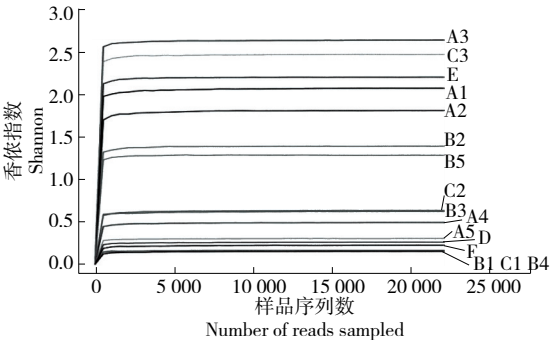


图 13 香依指数曲线

Figure 13 Shannon index curve

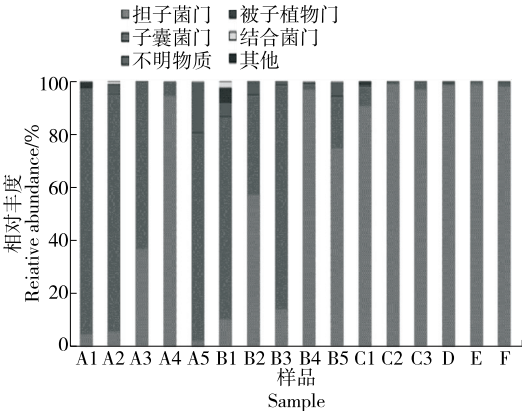


图 14 门水平上样品间物种组成分析柱状图

Figure 14 An analysis of histograms of species composition between samples at the phylum level

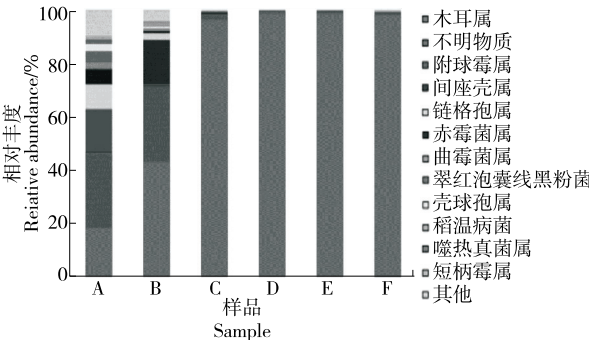


图 15 属水平上组间物种组成分析柱状图

Figure 15 Analysis of species composition analysis histograms at the genus level

木耳属 (*Auricularia*) 约占 18.29% 和附球菌属 (*Epicoccum*) 约占 15.95%, 木耳菌属来自于原料中的黑木耳, 附球菌属主要参在土壤中, 与植物原料的来源相符; 烘烤后, 占最主要的真菌为木耳菌属, 来自于原料中的黑木耳, 其他菌属占比不足 1%, 由此推测, 原料中带有真菌, 大部分对烘烤的高温环境并不耐受, 烘烤可减少大部分的真菌, 是控制产品中真菌的重要工序。

由图 16 可知, A4 在真菌物种组成上与 D、E、F 的样品间距离较近, 说明其物种组成更相似, 与 2.4 的结果相同。由图 16 和图 17 可知, 产品中的主要真菌来源于黑木耳, 经烘烤后, 只有木耳菌属为主要菌属, 说明烘烤对产品最终真菌数量的控制有一定效果。

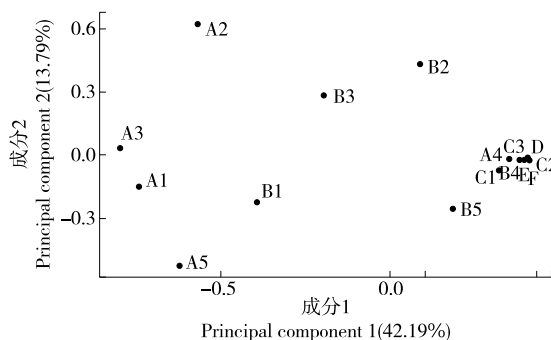


图 16 OTU 水平 PCA 分析

Figure 16 OTU level PCA analysis diagram

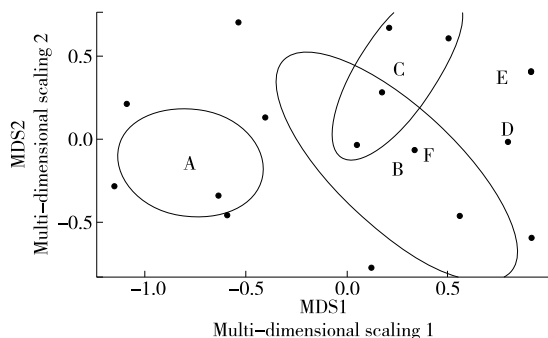


图 17 OTU 水平 NMDS 分析

Figure 17 OTU level NMDS analysis diagram

3 结论

通过对黑色冲调粉的实际加工过程中车间空气、设备、材料进行菌落总数测定, 发现车间设备、空气及人员均会对产品中微生物含量有所影响, 通过对加工关键点取样进行测序分析发现, 产品中的短接杆菌属相对含量较高, 经辐照后能够减少至 11.26%, 烘烤对细菌的影响较小, 辐照对细菌的减少也有一定效果; 分析真菌上属水平的物种发现, 原料中大部分的真菌对高温环境敏感, 产品中相对含量最高的是木耳菌属约占 97.99%, 说明烘烤可以有效减少真菌数量。因此, 若要更进一步减少产品

中细菌和真菌数量, 还需对车间定时进行通风换气、清洁地面, 设备按时全面清洁, 对工人手皮肤表面要多次有效清洁来控制产品加工过程中的微生物。后续将进一步分析黑色冲调粉对人体的消化特性和对肠道微生物的影响。

参考文献

- [1] 乐梨庆, 万燕, 向达兵, 等. 藜麦奇亚籽冲调粉的研制及工艺优化[J]. 食品工业, 2020, 41(8): 81-85.
LE Li-qing, WAN Yan, XIANG Da-bing, et al. Development and process optimization of quinoa and chia seed powder[J]. The Food Industry, 2020, 41(8): 81-85.
- [2] 崔琳琳, 吕欣东, 冯飞, 等. 复合杂粮共挤压营养冲调粉的配方设计和工艺[J]. 食品工业, 2020, 41(9): 110-114.
CUI Ling-ling, LU Xin-dong, FENG Fei, et al. Processing optimization and formula design of compound mixed grain co-extruding nutritive powder[J]. The Food Industry, 2020, 41(9): 110-114.
- [3] 王颖. 利用超声波辅助气流超微粉碎技术制备可冲调木耳粉的研究[D]. 大庆: 黑龙江八一农垦大学, 2016: 27-37.
WANG Ying. Study on preparation of pulverized agaric powder by ultrasound-assisted airflow ultrafine pulverization[D]. Daqing: Heilongjiang Bayi Agricultural University, 2016: 27-37.
- [4] MCEVOY J M, SHERIDAN J J, BLAIR I S, et al. Microbial contamination on beef in relation to hygiene assessment based on criteria used in EU Decision 2001/471/EC.[J]. International Journal of Food Microbiology, 2004, 92(2): 218-225.
- [5] 邓晋, 山成. 生物学实验中的生物危害[J]. 技术与市场, 2015, 22(7): 394.
DENG Jin, SHAN Cheng. Biological hazards in biological experiments[J]. Technology and Market, 2015, 22(7): 394.
- [6] 刘寿春, 赵春江, 杨信廷, 等. 基于微生物危害的冷却猪肉加工过程关键控制点分析与控制[J]. 食品科学, 2013, 34(1): 285-289.
LIU Shou-chun, ZHAO Chun-jiang, YANG Xin-yan, et al. Microbiological hazard analysis and critical control points in the processing of chilled pork[J]. Food Science, 2013, 34(1): 285-289.
- [7] MA Wen-rui, GENG Xiao-jie, JIA Fu-chen, et al. Investigation of microbial composition and functional characterization of Zangqu using high throughput sequencing[J]. LWT-Food Science and Technology, 2021, 136(8): 1-12.
- [8] 夏小龙, 刘书亮, 彭珍, 等. 肉鸡胴体分割过程中污染微生物分析及不同冲淋条件对产品减菌影响[J]. 食品工业科技, 2015, 36(9): 194-199.
XIA Xiao-long, LIU Shu-liang, PENG Zhen, et al. Analysis of contaminant microorganisms of chicken carcasses during segmentation and effects of sterilization of chicken products under different drenching conditions[J]. Science and Technology of Food Industry, 2015, 36(9): 194-199.

(下转第 82 页)

4 结语

2018 年修正的《中华人民共和国食品安全法》强调“食品安全工作实行预防为主、风险管理、全程控制、社会共治”，提出坚持多元主体参与食品安全治理，打造农村食品安全社会共治格局。可见，社会共治是农村食品安全治理的必然选择。实践中，政府为主导的硬治理和软治理是农村食品安全治理的主要模式，硬治理主要依靠政府通过权力下沉、资源下沉等方式开展农村食品安全治理，具有治理主体单一性、一元化特征，治理手段管制性、垄断性特征；与硬治理不同，软治理主要依靠多元主体在平等交流、民主协商基础上制定普遍认同的内部规范，依靠自律互律机制、利益驱动、社会舆论、道德评价、制度约束、协商合作等途径实施农村食品安全软治理，对构建社会共治格局，激发农村食品安全治理内生动力，具有适应性较强、执行效率高，是未来农村食品安全治理的发展趋势。

需要强调的是，提倡农村食品安全软治理并不排斥硬治理，二者相互依赖、刚柔相济的关系，在全面推进乡村治理体系现代化都是不可缺少的。因此，在保证硬治理有效运行的前提下，在农村食品安全治理中灵活嵌入软治理，能有效增加治理的灵活性和韧性。概而言之，构建农村食品安全软硬协同共治格局，做到软硬兼容，有利于实现农村食品安全“善治”目标。

参考文献

- [1] 刘文萃. 农村食品安全治理中的公众参与：问题识别与路径选择：基于天津调研的实证分析[J]. 云南行政学院学报, 2015, 17(6): 161-167.
- [2] 吴林海, 龚晓茹, 吕煜昕. 村民自治组织参与农村食品安全风险治理的动因与路径[J]. 江海学刊, 2017(3): 76-81, 238.
- [3] 范海玉, 申静. 公众参与农村食品安全监管的困境及对策[J]. 人民论坛, 2013(23): 40-41.
- [4] 张志勋. 论农村食品安全多元治理模式之构建[J]. 法学论坛, 2017, 32(4): 119-124.
- [5] 李蛟. 农村食品安全监管的困境及解决对策[J]. 农业经济, 2018(4): 143-144.
- [6] 张蓓, 马如秋. 论农村食品安全风险社会共治[J]. 人文杂志, 2020(4): 104-112.
- [7] 唐彰元. 旅游食品安全治理中社会监督机制[J]. 食品与机械, 2020, 36(6): 104-105.
- [8] LIU Wen-cui. Public participation in rural food safety governance: Problem identification and path selection: Empirical analysis based on tianjin research[J]. Journal of Yunnan University of administration, 2015, 17(6): 161-167.
- [9] 覃宗胜, 孟忠伟, 沈旭东. 大气有害颗粒物室内自然沉降实验研究[J]. 合成材料老化与应用, 2020, 49(4): 81-84.
- [10] 石亮, 黄晓娜, 张德利, 等. 电子束辐照对细胞工厂灭菌效果的验证[J]. 中国生物制品学杂志, 2017, 30(8): 868-871.
- [11] 朱诗应, 戚中田. 16S rDNA 扩增及测序在细菌鉴定与分类中的应用[J]. 微生物与感染, 2013, 8(2): 104-109.
- [12] FOUTS D E, SZPAKOWSKI S, PURUSHE J, et al. Next generation sequencing to define prokaryotic and fungal diversity in the bovine rumen[J]. PLoS One, 2012, 7(11): e48289.
- [13] HAMADY M, KNIGHT R. Microbial community profiling for human microbiome projects: Tools, techniques, and challenges[J]. Genome Research, 2009, 19(7): 1 141-1 152.
- [14] MORGAN B. Motility in the epsilon-proteobacteria[J]. Current Opinion in Microbiology, 2015, 28: 115-121.
- [15] WANG Yu, SHENG Hua-fang, HE Yan, et al. Comparison of the levels of bacterial diversity in freshwater, intertidal wetland, and marine sediments by using millions of illumine tags[J]. Appl and Environ Microbiol, 2012, 78(23): 8 264-8 271.
- [16] RIVAS M N, BURTON O T, WISE P, et al. A microbita signature associated with experimental food allergy promotes allergic sensitization and anaphylaxis[J]. The Journal of Allergy and Clinical Immunology, 2013, 131(1): 201-212.

(上接第 72 页)

- [9] 覃宗胜, 孟忠伟, 沈旭东. 大气有害颗粒物室内自然沉降实验研究[J]. 合成材料老化与应用, 2020, 49(4): 81-84.
- [10] QIN Zong-sheng, MENG Zhong-wei, SHEN Xu-dong. Experimental study on natural deposition of harmful atmospheric particles [J]. Synthetic Materials Aging and Application, 2020, 49(4): 81-84.
- [11] 石亮, 黄晓娜, 张德利, 等. 电子束辐照对细胞工厂灭菌效果的验证[J]. 中国生物制品学杂志, 2017, 30(8): 868-871.
- [12] SHI Liang, HUANG Xiao-na, ZHANG De-li, et al. Verification of sterilization effect of cell factory by electronic beam irradiation[J]. Chinese Journal of Biologicals, 2017, 30(8): 868-871.
- [13] 朱诗应, 戚中田. 16S rDNA 扩增及测序在细菌鉴定与分类中的应用[J]. 微生物与感染, 2013, 8(2): 104-109.
- [14] ZHU Shi-ying, QI Zhong-tian. Application of bacterial 16S rDNA amplification and sequencing in the classification and identification of bacteria[J]. Journal of Microbes and Infections,

- 2013, 8(2): 104-109.
- [15] FOUTS D E, SZPAKOWSKI S, PURUSHE J, et al. Next generation sequencing to define prokaryotic and fungal diversity in the bovine rumen[J]. PLoS One, 2012, 7(11): e48289.
- [16] HAMADY M, KNIGHT R. Microbial community profiling for human microbiome projects: Tools, techniques, and challenges[J]. Genome Research, 2009, 19(7): 1 141-1 152.
- [17] MORGAN B. Motility in the epsilon-proteobacteria[J]. Current Opinion in Microbiology, 2015, 28: 115-121.
- [18] WANG Yu, SHENG Hua-fang, HE Yan, et al. Comparison of the levels of bacterial diversity in freshwater, intertidal wetland, and marine sediments by using millions of illumine tags[J]. Appl and Environ Microbiol, 2012, 78(23): 8 264-8 271.
- [19] RIVAS M N, BURTON O T, WISE P, et al. A microbita signature associated with experimental food allergy promotes allergic sensitization and anaphylaxis[J]. The Journal of Allergy and Clinical Immunology, 2013, 131(1): 201-212.