

胀袋红烧肉和酱料包中产气微生物的分离与鉴定

张园园¹, 朱瑶迪^{1,2}, 李苗云^{1*}, 赵莉君¹, 刘世杰¹, 赵改名¹, 马阳阳¹, 王心怡¹

(1. 河南农业大学食品科学技术学院, 河南郑州 450000)

(2. 河南恒都食品有限公司博士后工作站, 河南驻马店 463700)

摘要: 为解决红烧肉和酱料包的胀袋和腐败问题, 该研究对胀袋红烧肉、牛排酱与番茄酱的微生物进行分离鉴定, 并通过 16S rDNA 鉴定和产气验证试验确定导致产品胀袋的主要产气微生物。结果显示, 从 3 种胀袋产品中共分离出 9 株优势菌, 编号为 1~9。其中菌株 1 号和 5 号为革兰氏阳性球菌, 经鉴定 1 号菌株为枝状葡萄球菌 (*Staphylococcus edaphicus*)、5 号菌株为戊糖片球菌 (*Pediococcus pentosaceus*); 4 号和 8 号菌为革兰氏阴性杆菌, 经鉴定 4 号菌株为巴氏柠檬酸杆菌 (*Citrobacter braakii*)、8 号菌株为弗氏柠檬酸杆菌 (*Citrobacter freundii*); 2 号、3 号、6 号、7 号和 9 号为革兰氏阳性杆菌, 经鉴定 2 号菌株为魏斯氏菌 (*Weissella cibaria*)、3 号菌株为贝莱斯芽孢杆菌 (*Bacillus velezensis*)、6 号菌株为蜡样芽孢杆菌 (*Bacillus cereus*)、7 号菌株为太平洋芽孢杆菌 (*Bacillus pacificus*)、9 号菌株为解淀粉芽孢杆菌 (*Bacillus amyloliquefaciens*)。经产气验证试验, 可以确定 *Bacillus velezensis*、*Citrobacter braakii*、*Bacillus cereus*、*Bacillus pacificus* 和 *Citrobacter freundii* 为产气微生物, 是引起红烧肉和酱料包胀袋的主要污染微生物。综合分析, 芽孢杆菌是导致包装食品胀袋的主要产气微生物之一, 有效控制芽孢及芽孢杆菌的污染是解决食品胀袋问题的关键。

关键词: 胀袋红烧肉; 胀袋番茄酱; 胀袋牛排酱; 产气微生物; 分离与鉴定

文章编号: 1673-9078(2022)07-107-112

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2022.7.1095

Isolation and Identification of Gas-producing Microorganisms from Bagging Red Braised Pork and Sauce Packs

ZHANG Yuanyuan¹, ZHU Yaodi^{1,2}, LI Miaoyun^{1*}, ZHAO Lijun¹, LIU Shijie¹, ZHAO Gaiming¹, MA Yangyang¹, WANG Xinyi¹

(1.School of Food Science and Technology, Henan Agricultural University, Zhengzhou 450000, China)

(2.Postdoctoral Workstation of Henan Hengdu Food Co. Ltd., Zhumadian 463700, China)

Abstract: In order to solve the problem of swelling and corruption of red braised pork and sauce packs, the microorganisms in swelling red braised pork, steak sauce and tomato sauce were isolated and identified, and through the gas production verification test and 16S rDNA identification, the main gas producing microorganisms that caused the product swelling were determined. The results showed that 9 strains of dominant bacteria, numbered 1-9, were isolated from 3 kinds of expanded bag products. Bacteria 1 and 5 were Gram-positive cocci, strain 1 was identified as *Staphylococcus edaphicus*, and strain 5 was *Pediococcus pentosaceus*; Strain 4 and strain 8 were Gram-negative bacteria, strain 4 was *Citrobacter braakii*, and strain 8 was *Citrobacter freundii*. Strains 2, strain 3, strain 6, strain 7 and strain 9 were Gram-positive bacteria, strain 2 was identified as *Weissella cibaria*, strain 3 was *Bacillus velezensis*, strain 6 was identified as *Bacillus cereus*, strain 7 was identified as *Bacillus pacificus*, and strain 9 was identified as *Bacillus amyloliquefaciens*. According to the verification test of gas production, *Bacillus velezensis*, *Citrobacter braakii*, *Bacillus cereus*, *Bacillus pacificus* and *Citrobacter freundii* were identified as gas-producing microorganisms,

引文格式:

张园园,朱瑶迪,李苗云,等.胀袋红烧肉和酱料包中产气微生物的分离与鉴定[J].现代食品科技,2022,38(7):107-112,+26

ZHANG Yuanyuan, ZHU Yaodi, LI Miaoyun, et al. Isolation and identification of gas-producing microorganisms from bagging red braised pork and sauce packs [J]. Modern Food Science and Technology, 2022, 38(7): 107-112, +26

收稿日期: 2021-09-30

基金项目: 河南省杰出青年科学基金项目 (212300410008); 河南农业大学科技创新基金项目 (KJGX2020A17); 中国博士后面上基金项目 (2020M672219); 河南省重点研发与推广专项 (科技攻关) 项目 (202102110141); 财政部和农业农村部: 国家现代农业产业技术体系资助 (GARS-37)

作者简介: 张园园 (1995-), 女, 硕士研究生, 研究方向: 肉品加工与安全控制, E-mail: hndzy123@163.com

通讯作者: 李苗云 (1976-), 女, 博士, 教授, 研究方向: 肉品加工与安全控制, E-mail: limy7476@126.com

which were the main contaminating microorganisms that caused braised pork and sauce bags to swell. Comprehensive analysis showed that *Bacillus* was one of the main gas-producing microorganisms that caused swelling of packaged food. Effective control of the contamination of spores and bacillus is the key to solving the problem of food swelling.

Key words: bagging red braised pork; bagging tomato sauce; bagging steak sauce; gas-producing microorganisms; separation and identification

随着我国经济进入新常态, 消费者越来越注重生活质量的提高, 熟肉制品因具有营养、美味、即食等优点, 深受人民喜爱。目前市场上的熟肉制品主要包括酱卤肉制品、发酵肉制品、腌腊肉制品、熏烧烤制品、香肠制品、油炸制品及其他熟肉制品^[1-2]。不同风味酱料品类的出现使人们对调味酱的消费需求在不断提升, 市场需求不断扩大, 我国调味酱产业发展呈现逐年增长趋势^[3-4]。熟肉制品和调味酱中富含丰富的脂肪和蛋白质, 具有较高的水分活度, 在制作和加工过程中一旦受到污染很容易造成微生物的大量繁殖, 导致食品腐败变质, 甚至引发食源性疾病^[5]。在高温高湿季节, 熟肉制品及酱料制品极易在贮藏、运输和销售过程中发生胀袋现象, 造成大量的食物浪费和经济损失, 是众多食品企业面临的主要问题之一^[6]。

国内外有较多关于食品中胀袋微生物分离鉴定的报道, 如杨颖等^[7]从胀袋腌梅中分离出朗比克假丝酵母和藤黄微球菌; 李靖等^[8]研究发现引起红油豆瓣酱胀罐的微生物是地衣芽孢杆菌和解淀粉芽孢杆菌; Silva 等^[9]从胀袋的巴西真空包装牛肉片中分离出嗜冷梭状芽孢杆菌; 高鹏等^[10]从胀袋的真空包装肘花中分离出地衣芽孢杆菌、枯草芽孢杆菌和寡养单胞菌。但是有关引起红烧肉和酱料包胀袋的污染微生物报道较少, 对于不同胀袋污染微生物应进行不同的针对性分离、鉴定和分析。

本研究从企业高投诉率产品中选择胀袋红烧肉、胀袋番茄酱和胀袋牛排酱为研究对象, 对其进行微生物多样性分离培养, 并通过形态学和分子生物学(16S rDNA)方法进行种属鉴定, 确定导致红烧肉、番茄酱和牛排酱胀袋变质的关键微生物, 并通过产气验证实验通过确定导致产品胀袋的微生物。通过探究引起这些产品胀袋的原因, 针对性地制定质量控制措施, 减少食品中危险因素的污染, 保障肉制品与酱料制品的安全性, 从而减少企业损失, 保障消费者的健康, 为食品安全发展奠定一定基础。

1 材料与方法

1.1 主要实验材料

胀袋红烧肉, 胀袋牛排酱, 胀袋番茄酱, 均为肉

品企业提供胀袋样品。

1.2 主要仪器与设备

德国 IKA VORTEX GENIU 旋涡混匀仪, 北京佳源兴业科技有限公司; AL104 电子分析天平, 梅特勒-托利多仪器(上海)有限公司; Nikon ECLIPSE 80i 科研级显微镜, 日本尼康公司; Electrotek AW200SG 厌氧工作站, 陕西鹏展科技有限公司; SHP-80 生化培养箱, 北京中兴伟业仪器有限公司; 日本 HIRAYAMA -HVE50 高压灭菌器, 华粤行仪器有限公司; Biometra TGradient 梯度 PCR 仪, 济南鑫贝西生物技术有限公司; 德国 Biometra DYY-12 电泳仪, 北京市六一仪器厂; NAI-JZQ 灭菌型拍打式均质器, 上海那艾实验仪器有限公司。

1.3 主要试剂

营养琼脂(NA)培养基、强化梭菌琼脂(RCM)培养基、乳酸细菌琼脂(MRS)培养基、酵母膏腺葡萄糖琼脂(YPD)培养基、胰胨-亚硫酸盐-环丝氨酸琼脂(TSC)培养基、革兰氏染色试剂盒, 均购于青岛高科园海博生物技术有限公司; 大肠杆菌测试片, 购于长沙三行生物科技有限公司; PCR 检测试剂盒、离心柱型细菌 DNA 提取试剂盒, 购于赛默飞世尔科技(中国)有限公司。

1.4 试验方法

1.4.1 多种培养基分离微生物

分别从不同胀袋食品中称取 25 g 样品, 加到装有 225 mL 0.85% 无菌生理盐水中, 使用均质器拍打混匀。使用 0.85% 无菌生理盐水进行 10 倍梯度稀释。使用稀释涂布平板法, 取 10^{-2} 、 10^{-3} 、 10^{-4} 、 10^{-5} 、 10^{-6} 稀释液各 0.2 mL, 分别涂布于 NA、RCM、MRS、YPD 和 TSC 平板上, 大肠杆菌检测选择在大肠杆菌快检试纸片上进行, 进行厌氧和好氧培养并计数。观察、记录优势微生物的菌落特征, 挑取优势单菌落分离纯化 3 次, 最后接种到菌株磁珠保存管中, 放于 $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ 冰箱保存备用。

1.4.2 微生物镜检

使用革兰氏染色法对分离纯化后的菌株进行微生物镜检, 并判别微生物是革兰氏阳性还是阴性菌。通

过观察分离到的微生物在平板上的菌落形态与在显微镜下观察到的个体形态，参考《常见细菌系统鉴定手册》^[11]对其进行初步判定。

1.4.3 微生物种属鉴定

表 1 PCR 扩增反应体系

Table 1 PCR amplification reaction system	
PCR 反应体系 (40 μL)	添加量/μL
DNA 模板	2
ddH ₂ O	14
引物 1 (27F)	2
引物 2 (1492R)	2
Taq DNA 聚合酶 10×缓冲液	20

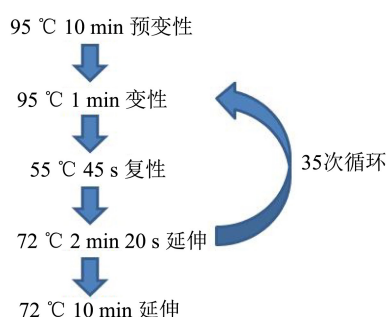


图 1 PCR 扩增反应程序

Fig.1 PCR amplification reaction procedure

采用离心柱型细菌基因组 DNA 序列提取试剂盒提取得到超纯的基因组 DNA^[12-13]，用于 PCR 后进行凝胶电泳成像，DNA 样品由北京六合华大基因科技有限公司完成测序，进行菌株种属鉴定。菌株 PCR 扩增所用反应体系如表 1 所示，反应程序如图 1 所示。

1.4.4 产气微生物的验证

配置 NB 和 YPD 液体培养基，分装于试管中，放入杜氏管，115 °C 灭菌 20 min 备用。将各培养基上挑选出来的典型菌株纯化 2~3 次，用无菌生理盐水将其制备成菌悬液，无菌条件下用移液枪吸取一定量的菌悬液加入到灭过菌的产气验证试管中，每种 3 个平行，37 °C 培养并连续观察 7 d，若管内产生气泡则为产气微生物。同时，用接入胀袋样品悬浊液的和接入无菌生理盐水的试管作为对照实验，以确保实验准确性。

2 结果与分析

2.1 分离菌株菌落及菌体形态观察

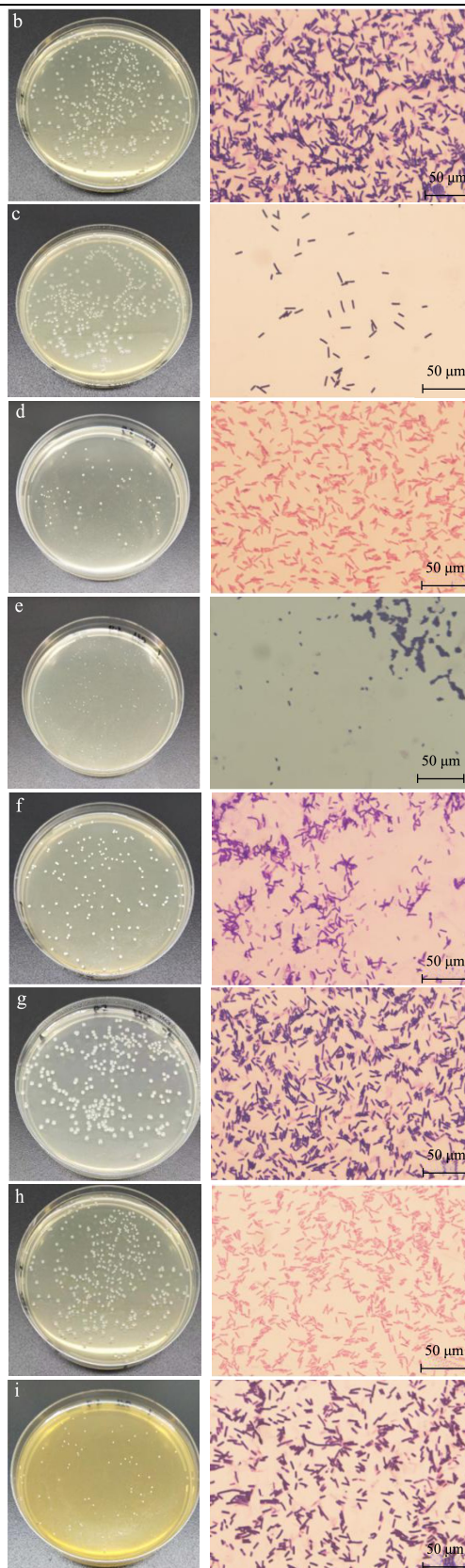


图 2 1~9 号菌在不同培养基上的菌落形态及革兰氏镜检图

Fig.2 Colony morphology and gram microscopic examination of No.1~9 strains on different mediums

注：a：1 号菌在 NA 培养基上；b：2 号菌在 YPD 培养基上；c：3 号菌在 RCM 培养基上；d：4 号菌在 NA 培养基上；

e: 5号菌在 YPD 培养基上; f: 6号菌在 RCM 培养基上; g: 7号菌在 NA 培养基上; h: 8号菌在 YPD 培养基上; i: 9号菌在 RCM 培养基上。

通过对胀袋红烧肉、牛排酱和番茄酱中的微生物进行分离、纯化,三种胀袋产品在 MRS、TSC 培养基和大肠杆菌检测试纸片上均未检出微生物,在 NA、YPD 和 RCM 培养基均有菌检出。根据各培养基上微生物的菌落形态进行分类,共得到 9 种不同形态的优势菌,分别编号 1~9,并进行形态观察和革兰氏染色镜检,菌落特征^[14]和镜检结果如下表 2 和图 2 所示。其中,菌株 1 号和 5 号菌为革兰氏阳性球菌,2、3、6、7 和 9 号菌为革兰氏阳性杆菌,4 号菌和 8 号菌为革兰氏阴性杆菌。

2.2 细菌 16S rDNA 基因序列同源性比对分析及系统发育分析

及系统发育分析

1~9 号菌株的 16S rDNA 扩增电泳结果如图 3 所示,序列基因序列全场约 1500 bp。将测序得到的序列用 BLAST 软件上传至在 NCBI-GenBank 进行同源性检索分析,并通过比对结果构建系统发育树,结果如图 4、表 3 所示。分析可知,1 号菌株与多株枝状葡萄球菌

(*Staphylococcus edaphicus*) 的同源性达 99% 以上,故鉴定 1 号菌为枝状葡萄球菌 (*Staphylococcus edaphicus*)。同理,2 号菌株为魏斯氏菌 (*Weissella cibaria*),3 号菌株为贝莱斯芽孢杆菌 (*Bacillus velezensis*),4 号菌株为巴氏柠檬酸杆菌 (*Citrobacter braakii*),5 号菌株为戊糖片球菌 (*Pediococcus pentosaceus*),6 号菌株为蜡样芽孢杆菌 (*Bacillus cereus strain*),7 号菌株为太平洋芽孢杆菌 (*Bacillus pacificus*),8 号菌株为弗氏柠檬酸杆菌 (*Citrobacter freundii*),9 号菌株为解淀粉芽孢杆菌 (*Bacillus amyloliquefaciens*)。

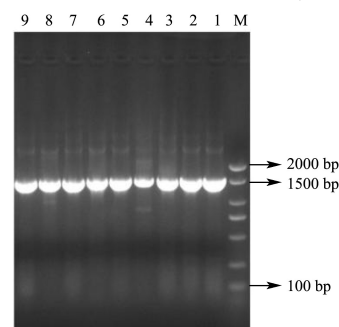


图 3 1~9 号菌的 16S rDNA 扩增电泳结果

Fig.3 16S rDNA amplification electrophoresis results of No.1~9 strain

表 2 9 种微生物的菌落形态

Table 2 Colony morphology of nine gas producing microorganisms

编号	菌落特征	镜检结果
1	乳白色, 圆形, 边缘整齐, 表面光滑、湿润, 隆起, 不透明	G+球状
2	白色, 小圆形, 边缘整齐, 表面光滑, 隆起, 不透明	G+杆状
3	乳白色, 圆形, 边缘整齐, 表面光滑、湿润, 隆起, 不透明	G+杆状
4	乳白色, 圆形, 边缘整齐, 表面光滑、湿润, 隆起, 不透明	G-杆状
5	乳白色, 小圆形, 边缘整齐, 表面光滑, 隆起, 不透明	G+球状
6	乳白色, 圆形, 边缘整齐, 表面光滑、湿润, 隆起, 不透明	G+杆状
7	白色, 圆形, 边缘不整齐, 表面光滑、湿润, 隆起, 不透明	G+杆状
8	乳白色, 圆形, 边缘整齐, 表面光滑、湿润, 隆起, 不透明	G-杆状
9	白色, 小圆形, 边缘整齐, 表面光滑, 隆起, 不透明	G+杆状

表 3 1~9 号菌 16S rDNA 的 BLAST 结果

Table 3 BLAST results of 16S rDNA of No.1~9 strain

编号	搜索号	匹配菌株	登录序列/bp	匹配度/%
1	MN229555.1	<i>Staphylococcus edaphicus</i> strain	1430	99.20
2	NR036924.1	<i>Weissella cibaria</i> strain	1529	99.79
3	MT124533.1	<i>Bacillus velezensis</i> strain	1445	99.65
4	NR028894.1	<i>Citrobacter braakii</i> strain	1505	99.43
5	MT544941.1	<i>Pediococcus pentosaceus</i> strain	1482	100.00
6	NR157736.1	<i>Bacillus cereus</i> strain	1509	99.73
7	NR157733.1	<i>Bacillus pacificus</i> strain	1509	100.00
8	NR 28894.1	<i>Citrobacter freundii</i> strain	1505	99.43
9	NR 041455.1	<i>Bacillus amyloliquefaciens</i> strain	1472	99.51

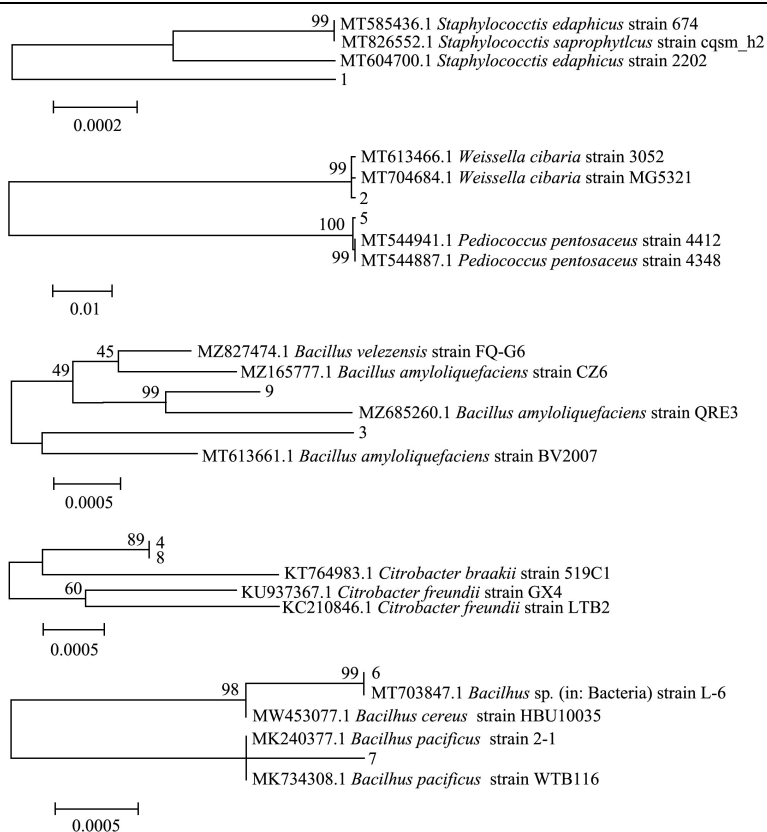


图 4 1~9 号菌的系统发育树

Fig.4 Phylogenetic tree of No.1~9 strain

表 4 微生物产气验证实验结果

Table 4 Validation test results of microbial gas production

菌株序号	3 d		7 d	
	产气管数	产气量	产气管数	产气量
1	0	-	0	-
2	0	-	0	-
3	3	+	3	++
4	3	+	3	++
5	0	-	0	-
6	1	+	3	++
7	1	+	2	++
8	3	++	3	+++
9	0	-	0	-
空白样品	0	-	0	-
胀袋红烧肉样品	3	+	3	+++
胀袋牛排酱样品	3	+	3	+++
胀袋番茄酱样品	3	+	3	+++

注：“-”表示没有产气；“+”表示产气；“+”的数量表示产气程度。

2.3 产气验证实验结果

通过微生物产气验证实验，确定了 9 株菌株中导致红烧肉和酱料包胀袋的产气微生物，结果如表 4 所

示。经产气验证试验可确定 3 号贝莱斯芽孢杆菌 (*Bacillus velezensis*)、4 号巴氏柠檬酸杆菌 (*Citrobacter braakii*)、6 号蜡样芽孢杆菌 (*Bacillus cereus*)、7 号太平洋芽孢杆菌 (*Bacillus pacificus*) 和 8 号弗氏柠檬酸杆菌 (*Citrobacter freundii*) 为导致红烧肉和酱料包胀袋的产气微生物，其中 8 号 *Citrobacter freundii* 的产气量高于其他产气微生物。空白样品试管未产气，胀袋红烧肉、胀袋牛排酱和胀袋番茄酱试管均不同程度产气，证明试验的准确性。

张小丽等^[15]在胀袋酱油中分离纯化出巨大芽孢杆菌 (*Bacillus megaterium*)，确定该菌株是引起产品胀袋的主要产气微生物。李慧等^[16]研究发现地衣芽孢杆菌 (*Bacillus licheniformis*) 和枯草芽孢杆菌 (*Bacillus subtilis*) 是引起牛肉方便菜肴食品胀袋的主要污染源。张怀敏等^[17]也确定了芽孢杆菌为老陈醋胀袋的主要产气微生物。芽孢杆菌在自然条件下极易形成芽孢休眠体，芽孢具有含水量低，抗逆性强和休眠特性等特点，能够对各种外界胁迫，如高温、干燥、紫外线、电离辐射以及多种化学物质等具有极强抵抗力，在食品工业杀菌后仍可存活^[18]。残留在食品中的芽孢在产品的贮藏、运输和销售过程中，可能会由于外界环境的波动引起食物腐败变质，导致产品胀袋^[19]。综上所述，芽孢杆菌是引起不同包装食品胀袋的主要污染

微生物,有效控制芽孢污染是解决食品胀袋问题的主要条件之一。

3 结论

本研究以胀袋红烧肉、胀袋牛排酱和胀袋番茄酱为研究对象,分离鉴定了导致红烧肉、牛排酱和番茄酱胀袋的产气微生物。采用多种培养基分离纯化出9种胀袋产品中的典型菌落,通过形态学和分子生物学(16S rDNA)方法进行种属鉴定,确定2株革兰氏阳性球菌,分别为枝状葡萄球菌(*Staphylococcus edaphicus*)和戊糖片球菌(*Pediococcus pentosaceus*);2株革兰氏阴性杆菌,分别为巴氏柠檬酸杆菌(*Citrobacter braakii*)和弗氏柠檬酸杆菌(*Citrobacter freundii*);5株革兰氏阳性杆菌,分别为魏斯氏菌(*Weissella cibaria*)、贝莱斯芽孢杆菌(*Bacillus velezensis*)、蜡样芽孢杆菌(*Bacillus cereus*)、太平洋芽孢杆菌(*Bacillus pacificus*)和解淀粉芽孢杆菌(*Bacillus amyloliquefaciens*)。经产气验证试验鉴定出引起红烧肉和酱料包胀袋的产气微生物为 *Bacillus velezensis*、*Citrobacter braakii*、*Bacillus cereus*、*Bacillus pacificus* 和 *Citrobacter freundii*。该结论为胀袋红烧肉、胀袋牛排酱和胀袋番茄酱中产气微生物的进一步溯源分析提供了依据,进而寻找并切断微生物的确切污染源,保障产品品质,提高食用安全性。

参考文献

- [1] Hendrickson O D, Zvereva E A, Dzantiev B B, et al. Sensitive lateral flow immunoassay for the detection of pork additives in raw and cooked meat products [J]. Food Chemistry, 2021, 359(6): 129927
- [2] Yasmin E A, Abdel-Fattah D M, Ahmed E D. Some biochemical studies on trans fatty acid-containing diet [J]. Diabetes & Metabolic Syndrome Clinical Research & Reviews, 2019, 13(3): 1753-1757
- [3] Timothy Calkins. A.1. Steak sauce: Lawry's defense [J]. Kellogg School of Management Cases, 2017, 1(1)
- [4] 林祖申.袋装酱类保鲜防胀包的探讨[J].中国酿造,2006,12: 39-41
LIN Zushen. Techniques on fresh keeping and prevention of package expansion for bag-package sauce [J]. China Brewing, 2006, 12: 39-41
- [5] 孙志愿,刘焕书,张晓斌.酱油在贮存过程中偶有胀袋原因的初步研究[J].微生物学报,2001,2:12-15
SUN Zhiyuan, LIU Huanshu, ZHANG Xiaobin. Preliminary study on the causes of occasionally bagging of soy sauce during storage [J]. Journal of Microbiology, 2001, 2: 12-15
- [6] Li M, Huang L, Zhu Y, et al. Growth of *Clostridium perfringens* in roasted chicken and braised beef during cooling - One-step dynamic analysis and modeling [J]. Food Control, 2019, 106: 106739
- [7] 杨颖,陆胜民,夏其乐,等.胀袋脆梅微生物的分离、鉴定与抑制研究[J].中国食品学报,2009,9(2):34-40
YANG Ying, LU Shengmin, XIA Qile, et al. Study on isolation, identification and inhibition of microorganisms in bagged crisp plum [J]. Chinese Journal of Food, 2009, 9(2): 34-40
- [8] 李靖,马嫻,徐丹,等.红油豆瓣酱中产气芽孢杆菌的分离、鉴定与抑制研究[J].中国酿造,2017,36(8):31-35
LI Jing, MA Yuan, XU Dan, et al. The isolation, identification and inhibition of *Bacillus aerogenes* in red soy sauce [J]. China Brewing, 2017, 36(8): 31-35
- [9] Silva Alessandra R, Paulo Ezio N, Sant'Ana Anderson S, et al. Involvement of *Clostridium gasigenes* and *C. aldicarnis* in 'blown pack' spoilage of Brazilian vacuum-packed beef [J]. International Journal of Food Microbiology, 2011, 148(3): 156-163
- [10] 高鹏,伏毅,陈谦,等.真空包装肘花胀袋微生物的鉴定及验证[J].湖北农业科学,2016,55(13):3434-3438
GAO Peng, FU Yi, CHEN Qian, et al. Identification and verification of microorganisms in vacuum-packed elbow bag [J]. Hubei Agricultural Science, 2016, 55(13): 3434-3438
- [11] 东秀珠,蔡妙英.常见细菌系统鉴定手册[M].北京:科学出版社,2001:43-46
DONG Xiuzhu, CAI Miaoying. Manual for Identification of Common Bacterial Systems [M]. Beijing: Science Press, 2001: 43-46
- [12] Shaffer J P, Marotz C, Belda-Ferre P, et al. A comparison of DNA/RNA extraction protocols for high-throughput sequencing of microbial communities [J]. BioTechniques, 2021, 70(3)
- [13] V Pérez-Brocal, Magne F, Ruiz-Ruiz S, et al. Optimized DNA extraction and purification method for characterization of bacterial and fungal communities in lung tissue samples [J]. SSRN Electronic Journal, 2020, 10(1): 17377

(下转第26页)