

胶囊剂型保健食品生产过程微生物分布和溯源分析

张依钰, 陈玲, 郑钰清, 刘婷婷, 周锦祯, 陆永成, 陈鉴宇, 姚非, 郭伟鹏*

(广东省科学院微生物研究所, 广东省微生物分析检测中心, 华南应用微生物国家重点实验室, 广东省微生物安全与健康重点实验室, 农业农村部农业微生物组学与精准应用重点实验室, 广东广州 510070)

摘要: 分别对胶囊剂型保健食品不同时期生产过程中的人员手部、设备表面进行微生物污染调查, 监测车间清洁卫生的质量变化, 对典型的污染微生物进行分离鉴定, 掌握各环节微生物菌群构成, 评价企业生产过程微生物控制系统的有效性。结果显示, 34份人员手部涂抹样本中大肠菌群、金黄色葡萄球菌的检出值均 <10 CFU/手, 菌落总数介于 $10\sim 10^7$ CFU/手; 132份设备表面涂抹样本中大肠菌群、金黄色葡萄球菌的检出值均 <0.4 CFU/cm² (设备表面), 菌落总数介于 $10\sim 10^4$ CFU/cm²。从样本中分离出46株微生物(其中细菌44株, 真菌2株)进行菌种鉴定, 优势种群为类芽胞杆菌属(*Paenibacillus* sp.), 占比为60.87%, 其次是不动杆菌属(*Acinetobacter* sp.)、芽胞杆菌属(*Bacillus* sp.)和短杆菌属(*Brevibacterium* sp.), 占比均为4.35%。基于16S rRNA基因序列和MALDI-TOF蛋白指纹图谱对分离的类芽胞杆菌进行溯源分析发现在人员手部和设备之间存在交叉污染, 且该菌长期定植于周转物料的容器表面, 对产品质量控制存在潜在风险。

关键词: 保健食品; 微生物污染; 16S rRNA; MALDI-TOF MS; 溯源分析

文章编号: 1673-9078(2022)08-89-96

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2022.8.1058

Microbial Distribution and Traceability Analysis in the Production of Capsule-type Health Food Products

ZHANG Yiyu, CHEN Ling, ZHENG Yuqing, LIU Tingting, ZHOU Jinzhen, LU Yongcheng, CHEN Jianyu, YAO Fei, GUO Weipeng*

(Key Laboratory of Agricultural Microbiomics and Precision Application, Ministry of Agriculture and Rural Affairs, Guangdong Provincial Key Laboratory of Microbial Safety and Health, State Key Laboratory of Applied Microbiology Southern China, Institute of Microbiology, Guangdong Academy of Sciences, Guangdong Detection Center of Microbiology, Guangzhou 510070, China)

Abstract: Microbiological contamination of human hands and the equipment surfaces in the different production stages of the health food capsule was investigated. The changes in the hygiene and sanitation of the workshop were monitored. The typical contaminating microorganisms were isolated and identified to monitor the composition of microbial flora in each stage and evaluate the effectiveness of the microbial control system in the industrial production process. The results showed that the detection values of coliform and *Staphylococcus aureus* in 34 smear samples of human hands were <10 CFU/hand with the total colony count being $10\sim 10^7$ CFU/hand; in 132 smear samples of equipment surfaces, the detection values of coliform and *Staphylococcus aureus* were <0.4 CFU/cm² (equipment surface) with the total colony count being $10\sim 10^4$ CFU/cm²; 46 strains of microorganisms (including 44 strains of bacteria and 2 strains of fungi) were isolated from the samples for strain identification. The dominant species was *Paenibacillus* sp., accounting for 60.87%, followed by *Acinetobacter* sp., *Bacillus* sp. and *Brevibacterium* sp., all accounting for 4.35%. The traceability analysis of the isolated *Paenibacillus* sp. was performed based on the

引文格式:

张依钰,陈玲,郑钰清,等.胶囊剂型保健食品生产过程微生物分布和溯源分析[J].现代食品科技,2022,38(8):89-96

ZHANG Yiyu, CHEN Ling, ZHENG Yuqing, et al. Microbial distribution and traceability analysis in the production of capsule-type health food products [J]. Modern Food Science and Technology, 2022, 38(8): 89-96

收稿日期: 2021-09-22

基金项目: 广东省“珠江人才计划”本土创新科研团队(2017BT01S174); 广东省科学院实施创新驱动发展能力建设专项(2019GDASYL-0201001)

作者简介: 张依钰(1995-), 女, 本科, 研究方向: 食品安全, E-mail: zhangyiyu134@163.com

通讯作者: 郭伟鹏(1974-), 男, 教授级高级工程师, 研究方向: 食品安全, E-mail: guowp@yeah.net

16S rRNA gene sequences and MALDI-TOF protein fingerprint revealed cross-contamination of *Paenibacillus* sp. between the human hands and equipment surfaces. Also, *Paenibacillus* sp. was colonized on the surfaces of the containers used for turnover materials, which had potential risks to production quality control.

Key words: health food; microbial contaminations; 16S rRNA; MALDI-TOF MS; traceability analysis

随着中国经济的快速发展和人们对健康的迫切需求,我国大力推进健康中国建设,保健食品产业将迎来新的发展高潮,与此同时保健食品的安全问题也越来越受到社会关注。微生物是影响保健食品安全质量的主要因素之一,具有易繁殖、危害多、范围广等特点,成为了贯穿食品安全环节的首要风险因子。食品加工过程的微生物监控主要包括环境微生物和过程产品的微生物监控,环境微生物监控通过检测环境中的指示微生物,如菌落总数、大肠杆菌、酵母菌或其他指示菌以及其他致病菌,来评判加工过程的卫生控制状况和追溯可能存在的污染源^[1]。除了定期监测生产过程中关键环节的微生物限度外,采用快速、可靠的微生物鉴定技术对污染微生物进行溯源,有助于企业锁定微生物关键控制点,加强卫生管理与操作规范,从而使产品安全管理从末端控制向防患于未然的风险控制转变。

目前,微生物溯源方法已从传统表型鉴定转向基因序列分析、蛋白差异分析等多项手段,其中基因序列分析方法具有简便、灵敏度高的特点,但对操作人员技术要求较高;基质辅助激光解吸电离飞行时间质谱(matrix-assisted laser desorption ionization time-of-flight mass spectrometry, MALDI-TOF MS)是

近年被广泛用于临床、食品、环境微生物鉴定的新技术,它是基于微生物特征蛋白指纹图谱比对进行菌种快速鉴别的新技术^[2-4],速度快、样品需求量少且操作简单^[5],对于大量微生物的同时快速鉴定更具优势^[6,7],非常适合用于环境微生物检测。

本研究通过监测车间操作人员手部和设备表面的微生物污染状况,初步掌握车间与产品密切接触表面的微生物负载情况,为胶囊剂型保健食品生产过程中的微生物污染控制及风险评估提供数据支持。此外,比较了16S rRNA基因测序和MALDI-TOF MS方法对类芽胞杆菌属的鉴别和分型能力,旨在为高效快速准确地溯源和分析生产中常见微生物提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 样本来源

根据GB 15979-2002《一次性使用卫生用品卫生标准》附录E进行采样^[8]。于2018年4月、11月、2019年1月、5月采集生产同一胶囊剂型保健食品的车间中人员手部和设备表面的涂抹样本共166份,具体采集数量见表1。

表1 涂抹样本采集数量

Table 1 Quantity of smear samples collected

样本种类	A组(2018年4月)	B组(2018年11月)	C组(2019年1月)	D组(2019年5月)
人员手部/份	7	9	9	9
设备表面/份	35	31	32	34
合计/份	166			

主要生产工艺:

原料、半成品→称重→调配→总混→充填→内包→外包

1.1.2 主要试剂与仪器

微生物培养所用的培养基、细菌生化鉴定管均购自广东环凯微生物科技有限公司,乙腈(色谱纯)、甲酸(色谱纯)购自上海安谱实验科技股份有限公司, α -氰基-4-羟基肉桂酸(HCCA)购自布鲁克(北京)科技有限公司广州分公司,细菌基因组提取试剂盒及PCR扩增试剂购自广州东盛生物科技有限公司,真菌基因组提取试剂盒购自北京六合华大基因科技有限公司广州分公司,PCR引物由北京六合华大基因科技有限公司广州分公司合成。

CX21FS1C型生物显微镜,奥林巴斯(广州)工业有限公司;Biometra Tadvanced Twin 48G型耶拿双槽基因扩增仪,德国耶拿分析仪器股份公司;Bruker IVD-MBT Smart system GP型基质辅助激光解吸电离飞行时间质谱仪(MBTTM smart),布鲁克(北京)科技有限公司。

1.2 方法

1.2.1 检测方法

对生产过程中人员手部和设备表面微生物采样和测试方法均参照GB 15979-2002《一次性使用卫生用品卫生标准》附录E^[8],对样本进行菌落总数、大肠

菌群和金黄色葡萄球菌的检测。

1.2.2.1 形态学鉴定

观察菌株在适宜培养基上纯培养的菌落形态，分别利用革兰氏染色法和乳酸酚棉蓝染色法处理细菌和真菌，在光学显微镜下观察其微观特征。

1.2.2.2 基因型鉴定

(1) 基因组 DNA 提取：根据商品化细菌或真菌 DNA 提取试剂盒说明书进行 DNA 的提取。

(2) 细菌鉴定方法

采用 PCR 方法扩增细菌的 16S rRNA 基因，引物：27 F (5'-AGA GTT TGA TCC TGG CTC AG-3')，1492 R (5'-TAC GGC TAC CTT GTT ACG ACT T-3')；PCR 扩增条件：94 °C 预变性，5 min；94 °C 变性，1 min；56 °C 退火，1 min；72 °C 延伸，2 min；共进行 30 循环；最后 72 °C 终延伸，7 min。

(3) 真菌鉴定方法

采用 PCR 方法扩增霉菌的 ITS 基因，引物：ITS1 (5'-TCC GTA GGT GAA CCT GCG G-3')，ITS4 (5'-TCC TCC GCT TAT TGA TAT GC-3')；PCR 扩增条件：94 °C 预变性，5 min；94 °C 变性，40 sec；53 °C 退火，45 sec；72 °C 延伸，45 sec；共进行 30 循环；最后 72 °C 终延伸，5 min。

采用 PCR 方法扩增酵母菌的 26S rDNA 基因，引物：NL1 (5'-GCA TAT CAA TAA GCG GAG GAA AAG-3')，NL4 (5'-GGT CCG TGT TTC AAG ACG G-3')；PCR 扩增条件：94 °C 预变性，5 min；94 °C 变性，40 sec；53 °C 退火，45 sec；72 °C 延伸，45 s；共进行 30 循环；最后 72 °C 终延伸，5 min。

(4) 测序与分析：扩增产物交付北京六合华大基因科技有限公司广州分公司进行测序。最后将所得测序结果提交到 GENBANK (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/blast>) 进行比对，分析其与经验证过的标准菌株或模式菌株序列的相似性，选取最高得分作为鉴定结果。

1.2.2.3 细菌 MALDI-TOF MS 鉴定

(1) 菌株前处理：待测菌株划线接种于营养琼脂平板，置 36 °C 培养 24 h 后，挑取新鲜菌落点样至靶板上并记录样品的靶板编号，取 1 μL 70% 甲酸覆盖在每个样点上，室温晾干；再取 1 μL HCCA 基质液覆盖在每个样点上，室温晾干。

(2) MALDI-TOF MS 质谱仪鉴定：将晾干后的靶板放入 MALDI-TOF MS 质谱仪中进行检测。仪器参数设置：选择 MBT_FC.par 方法（线性操作模式，正离子模式；检测范围：2000 u~20000 u）。数据库选用 MALDI BIOTYPER，进行质谱数据采集并保存，通过 MBT Compass 软件进行分析鉴定。结果判读：分值范围 2.300~3.000，表示完全可靠地鉴定到种的水平；分值范围 2.000~2.299，表示鉴定到种的水平；分值范围 1.700~1.999，表示鉴定到属的水平；0.000~1.699，表示无可信的鉴定结果。一致性分类结果的含义：A 表示种水平的一致性；B 表示属水平的一致性；C 表示无一致性。

1.2.3 数据分析

将基因测序获得的序列运用 MEGA 7.0 软件构建邻接法系统发育进化树。MALDI-TOF MS 方法得到的质谱图运用 MALDI-Biotyper 软件进行聚类分析和主成分分析 (principle component analysis, PCA)。

2 结果与讨论

2.1 生产过程中微生物检测

采集的 166 份涂抹样本的大肠菌群和金黄色葡萄球菌均未检出，菌落总数结果见表 2 和表 3，其中，人员手部涂抹样本的菌落总数介于 10~10⁷ CFU/手，检出阳性的人员主要分布在总混、充填和内包生产环节；设备表面涂抹样本菌落总数介于 10~10⁴ CFU/cm²，其中内包车间设备表面涂抹样本的菌落总数均为 <10 CFU/cm²；位于总混车间的“容器”菌落总数检出频次较高，且消毒后仍负载微生物。

表 2 人员手部涂抹样本菌落总数结果

Table 2 Results of total colony count of hands smeared samples

工艺点	采样量/个	菌落总数 (CFU/手)		
		<10	≥10~<1×10 ⁵	≥1×10 ⁵
总混	14	4	5	5
充填	11	6	3	2
内包	9	5	3	1
合计 (占比)	34 (100.00%)	15 (44.12%)	11 (32.35%)	8 (23.53%)

表3 设备表面涂抹样本菌落总数结果

Table 3 Results of total colony count of equipment face smeared samples

工艺点	采样位置	采样量/个	菌落总数/(CFU/cm ²)		
			<0.4	≥0.4~<1×10 ³	≥1×10 ³
总混	烘箱	8	8	0	0
	制粒机	10	10	0	0
	容器 ^a	16	10	6	0
	容器 ^b	16	6	9	1
	混合机	8	6	2	0
充填	充填机	38	35	3	0
	抛光机	8	7	0	1
	金检机	4	4	0	0
内包	切割机	4	4	0	0
	理瓶机	8	8	0	0
	输送带	12	12	0	0
合计(占比)		132(100%)	110(83.33%)	20(15.15%)	2(1.52%)

注: a 为未消毒; b 为已消毒。

2.2 微生物鉴定

从 42 份菌落总数阳性样本中共分离纯化 46 株菌株, 经基因测序鉴定为 44 株细菌(见图 1), 1 株霉菌(*Aureobasidium melanogenum*) 和 1 株胶红酵母(*Rhodotorula mucilaginosa*); 其中 52.17% 的菌株来自人员手部, 47.83% 分离自设备表面。44 株细菌分为 16 个属, 24 个种, 有 4 株细菌未鉴定到种; 从属的水平分析, 分离的细菌主要由类芽胞杆菌属(60.87%)、不动杆菌属(4.35%)、芽胞杆菌属(4.35%)、短杆菌属(4.35%), 以及其他种属占小部分组成; 其中占比最高的类芽胞杆菌属包括 16 株腐殖质类芽胞杆菌、10 株台中类芽胞杆菌和 2 株解葡聚糖类芽胞杆菌, 这三种类芽胞杆菌在人员手部及设备表面(容器)中同时存在, 存在交叉污染; 作为优势菌的类芽胞杆菌是芽胞杆菌属分类上的新发现^[9], 常分离自土壤, 为革兰氏阳性、阴性或可变杆菌, 可产生芽胞, 抗热和耐热, 不易被杀灭^[10]。不动杆菌属是一类条件致病菌, 当人体抵抗力降低时可引起感染, 如呼吸道感染、脑膜炎、心内膜炎、泌尿系统感染及败血症等^[11,12], 其对于特定群体而言具有更大的感染风险, 如婴幼儿、孕妇和老人等, 而这些人恰恰是食用保健食品的主要对象。2 株芽胞杆菌分别为蜡样芽胞杆菌和尼氏芽胞杆菌, 蜡样芽胞杆菌是食品中常见污染菌和食源性致病菌, 因产肠毒素而致呕吐型或腹泻型综合症^[13,14]。

2.3 溯源分析

将所有细菌测序序列和标准菌株或模式菌株的序

列一起构建系统进化树获得其在分子水平的亲缘关系和位置。图 1 显示同种微生物均具有高度的同源性, 提示同种微生物的来源相同; 类芽胞杆菌作为优势菌, 分为两个分支; 其中 16 株腐殖质类芽胞杆菌均归为一支, 来源多样; 10 株台中类芽胞杆菌则集中分布在总混车间的人员手部表面和设备表面; 推测人员与设备存在交叉污染。数据显示设备表面微生物检出主要分布在总混环节; 可能原因是此环节涉及多种物料、车间人员、设备和空气等的频繁接触。从容器 1 和容器 2 表面分离的微生物占总混环节设备表面的 46.67%, 且在不同时期消毒前后均可在其表面分离到腐殖质类芽胞杆菌和台中类芽胞杆菌, 提示同种微生物的持续性污染, 可能与容器的清洗消毒不彻底、空气或物料长期存在该种菌株有关。此外, 人员手部样本分离株中占优势的类芽胞杆菌与来源于容器的相同菌株亲缘关系非常相近, 推测容器是微生物污染源, 通过接触人员手部进行传播。袁先铃等^[15]对富顺香辣酱生产环境的致病菌进行溯源分析, 发现从生产人员手上分离出的 3 株不动杆菌与原辅料分离的不动杆菌有很高的同源性, 原辅料是污染源, 人员流动易造成交叉污染。喻世哲等^[16]除了对低盐腐乳生产车间主要接触面进行微生物检测外, 还研究了车间空气、生产过程中的原辅料、半成品和成品中微生物负载情况, 结果显示接触面和操作人员手部容易带入微生物。针对生产接触面, 企业应适当增加消毒频率和定期更换消毒剂, 同时对于污染严重及关键控制点应用强效消毒剂, 并对清洗消毒规程进行消毒效果验证; 同时, 严格规范进入生产车间人员的清洁消毒程序。

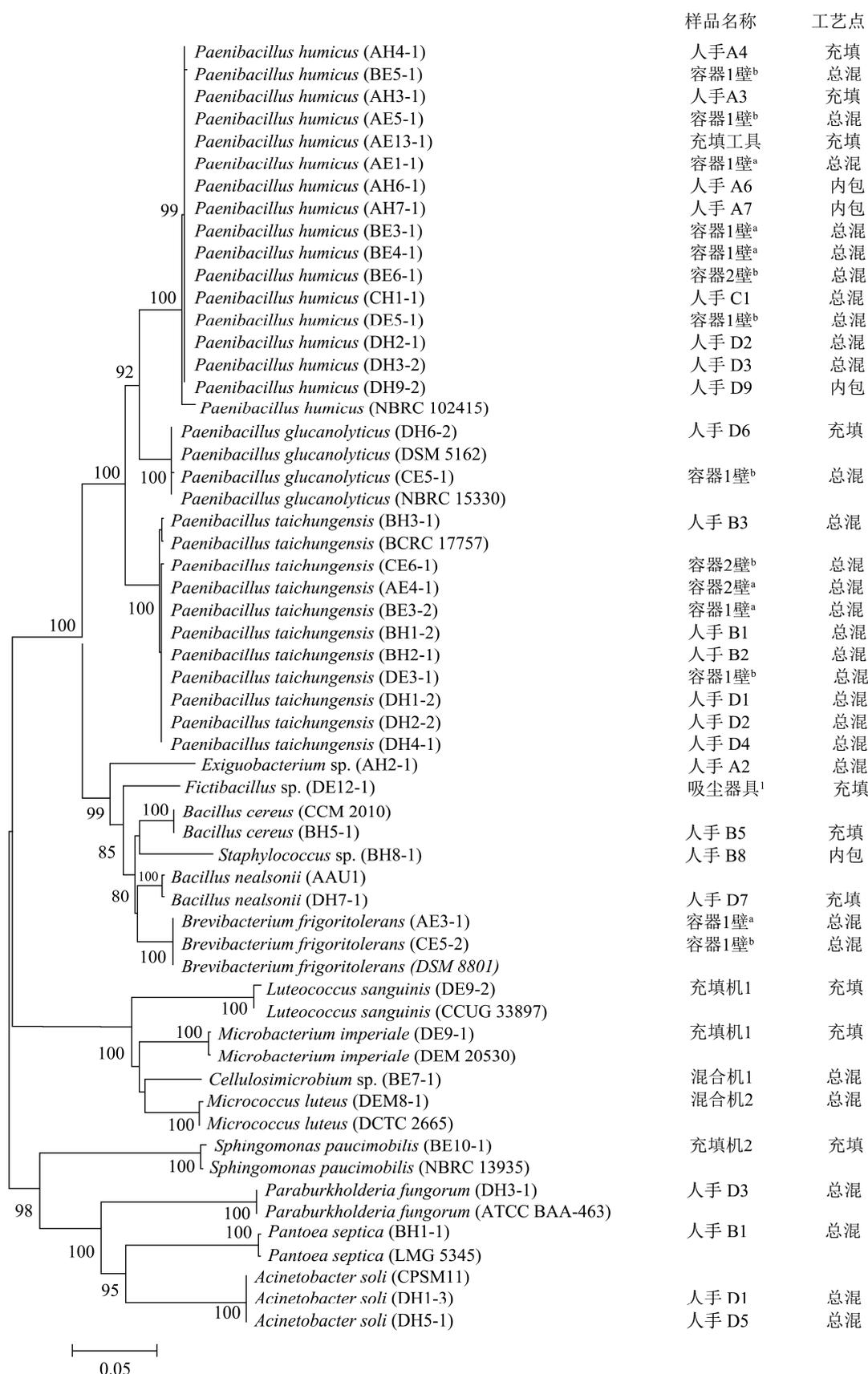


图 1 16S rRNA 基因序列系统发育树

Fig.1 Phylogenetic tree of 16S rRNA sequence

注: a 为未消毒; b 为已消毒。

表 5 类芽胞杆菌的两种鉴定方法结果比较

Table 5 Comparison of the results of two identification methods for *Paenibacillus* sp.

16S rRNA 基因鉴定结果	MALDI TOP MS 鉴定结果			
	拉丁文	Score Value	一致性分类	鉴定水平
<i>Paenibacillus humicus</i>	<i>Paenibacillus humicus</i>	>2.00	A	种
<i>Paenibacillus glucanolyticus</i>	<i>Paenibacillus glucanolyticus</i>	>2.00	A	种
<i>Paenibacillus taichungensis</i>	<i>Paenibacillus pabuli</i>	>1.00~<2.00	B	属

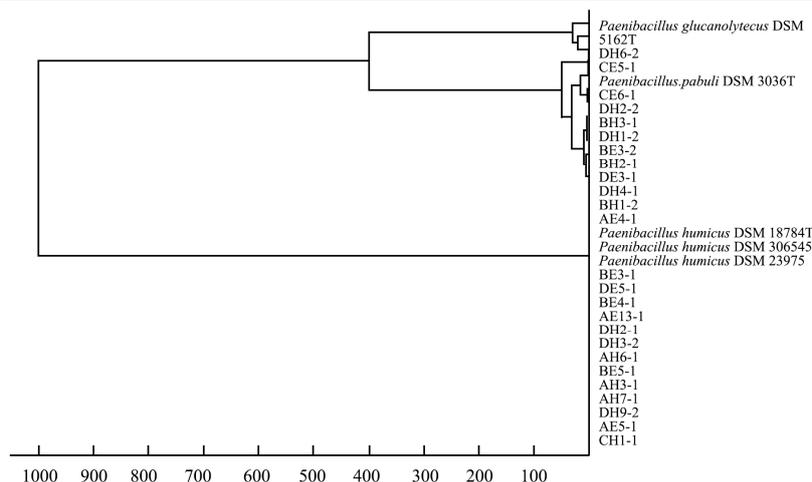


图 2 类芽胞杆菌聚类分析结果

Fig.2 Dendrogram results of *Paenibacillus* sp.

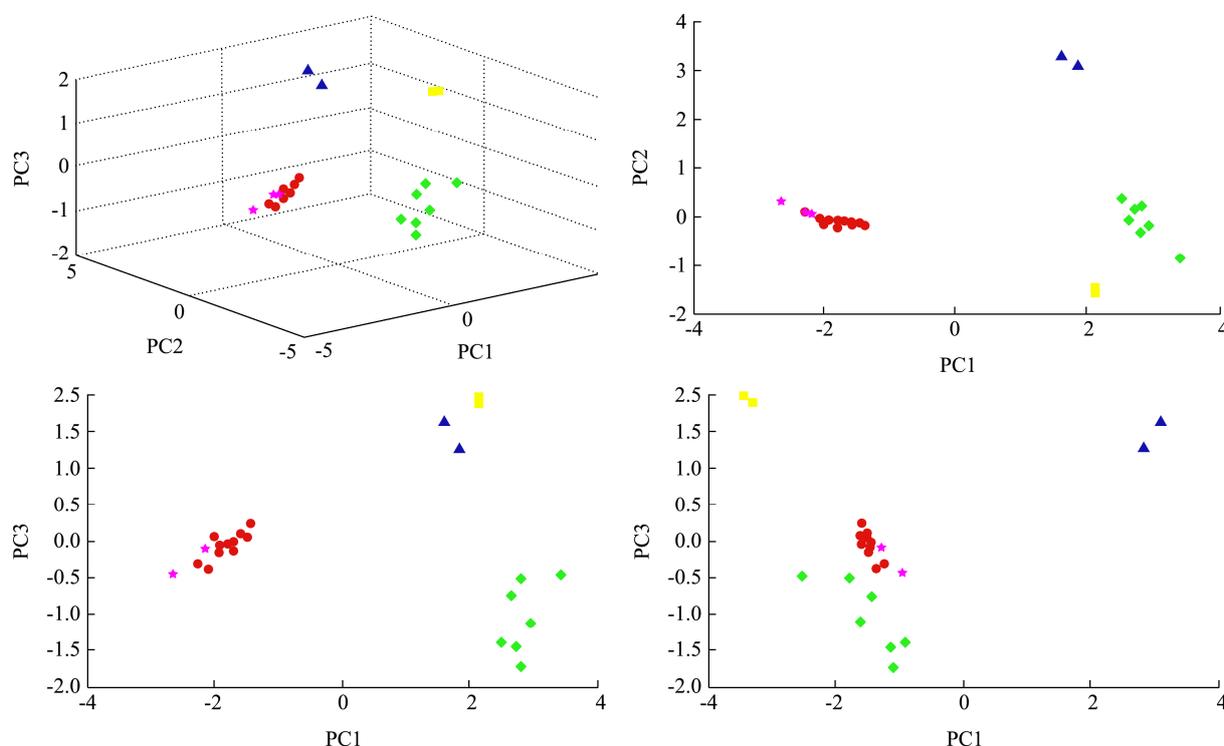


图 3 类芽胞杆菌 PCA 结果

Fig.3 PCA results of *Paenibacillus* sp.

2.4 16S rDNA 与 MALDI-TOF MS 方法对类芽胞杆菌鉴定比较分析

类芽胞杆菌在分离株中数量最多，分布最广，采用 MALDI-TOF MS 方法对其进行鉴定及分析，该法

对 16 株腐殖质类芽胞杆菌和 2 株解葡聚糖类芽胞杆菌可鉴定至种水平，分值均>2.00，与 16S rDNA 鉴定结果一致，但对 10 株台中类芽胞杆菌则鉴定为饲料类芽胞杆菌 (*Paenibacillus pabuli*)，分值在 1.85~1.99，只

可作为属水平报告,造成这一结果主要是因为MALDI-TOF MS 数据库中无台中类芽胞杆菌的质谱信息。为了满足更多菌株的鉴定需求,可通过拓展数据库来提高MALDI-TOF MS 方法对生产常见微生物的菌种鉴定能力^[17-19]。

基于 28 株类芽胞杆菌的蛋白指纹特征质谱图将进行聚类分析(图 2)和 PCA 分析(图 3),发现 28 株类芽胞杆菌(包括 2 株解葡聚糖类芽胞杆菌、10 株台中类芽胞杆菌和 16 株腐殖质类芽胞杆菌)被分成了 5 个聚类;PCA 分析中 10 株台中类芽胞杆菌中有 3 株(CE6-1、DH2-2 和 BH3-1)与其它 7 株有区别,这与聚类分析的结果一致;16 株腐殖质类芽胞杆菌中有 2 株与其他 14 株可以区分,但这 16 株菌株的 PC1、PC2、PC3 均集中靠拢。对比分子系统发育树,通过蛋白质特征图谱在一定程度上能更好地地区分亲缘关系相近的类芽胞杆菌。

3 结论

3.1 对生产过程中车间人员手部和生产设备表面进行微生物污染调查,结果显示样本均未检出大肠杆菌和金黄色葡萄球菌,说明车间人员手部和生产设备表面食源性致病菌污染控制良好;人员手部涂抹样本菌落总数介于 $10\sim 10^7$ CFU/手,设备表面涂抹样本菌落总数介于 $10\sim 10^4$ CFU/cm²。从样本中共分离出 46 株菌,其中类芽胞杆菌占 60.87%;通过构建系统发育树,发现同种微生物高度相关,推测人员手部与设备表面存在微生物交叉污染。此外,作为产品生产过程中物料周转使用的容器可多次分离出类芽胞杆菌,提示容器是生产过程的污染源,建议增加容器消毒频率,必要时验证现有卫生消毒措施是否满足质量控制要求,同时需加强监督生产车间人员落实清洁消毒操作规范。

3.2 采用 MALDI-TOF MS 方法对腐殖质类芽胞杆菌和解葡聚糖类芽胞杆菌可鉴定至种水平,对台中类芽胞杆菌则鉴定仅鉴定到属水平,后续可通过自建库扩大该法的微生物鉴定范围;基于基因序列和蛋白指纹图谱的微生物溯源分析结果基本一致,采用 MALDI-TOF MS 方法鉴定微生物操作更为简单,适于高通量检测,该技术可作为胶囊剂型保健食品生产环境的微生物快速鉴定和溯源分析的一种手段。

参考文献

[1] GB 14881-2013,食品安全国家标准 食品生产通用卫生规范[S]
GB 14881-2013, The National Food Safety Standard,

General Hygienic Code for Food Production [S]

- [2] Seng P, Drancourt M, Gouriet F, et al. Ongoing revolution in bacteriology: routine identification of bacteria by matrix-assisted laser desorption ionization time-of-flight mass spectrometry [J]. University of Chicago Press, 2009, 49(4): 543-551
- [3] Kyoung-Soon J, Young Hwan K. Rapid and robust MALDI-TOF MS techniques for microbial identification: a brief overview of their diverse applications [J]. Journal of Microbiology, 2018, 56(4): 209-216
- [4] 郝小妹.食品中幽门螺杆菌 MALDI-TOF MS 检测方法的建立与应用[J].现代食品,2019,2:144-148
HAO Xiaomei. Establishment and application of MALDI-TOF MS detection method for Helicobacter pylori in food [J]. Modern Food, 2019, 2: 144-148
- [5] 何江,朱军,胡双双,等.MALDI-TOF MS 与 16S rDNA 方法对弧菌科微生物的鉴定与系统分类学分析[J].中国微生态学杂志,2019,31(7):836-840
HE Jiang, ZHU Jun, HU Shuangshuang, et al. Identification and systematic taxonomic analysis of Vibrionaceae by MALDI-TOF MS and 16S rDNA method [J]. Chinese Journal of Microecology, 2019, 31(7): 836-840
- [6] 卮娟,董华夏,张珣,等.桶装饮用水中铜绿假单胞菌的污染调查及分型[J].食品研究与开发,2019,40(11):170-174
LI Juan, DONG Huaxia, ZHANG Xun, et al. Investigation on pollution and typing of *Pseudomonas aeruginosa* in barreled water [J]. Food Research and Development, 2019, 40(11): 170-174
- [7] 杨祖顺,汤晓召,邹颜秋硕,等.基质辅助激光解吸/电离飞行时间质谱法溯源分析云南省肉制品中金黄色葡萄球菌[J].食品安全质量检测学报,2019,10(22):7494-7501
YANG Zushun, TANG Xiaozhao, ZOU Yanqiushuo, et al. Traceability analysis of *Staphylococcus aureus* isolated from meat products in Yunnan province by matrix assisted laser desorption/ionization time of flight mass spectrometry [J]. Journal of Food Safety and Quality, 2019, 10(22): 7494-7501
- [8] GB 15979-2002,一次性使用卫生用品卫生标准[S]
GB 15979-2002, Hygienic Standard for Disposable Sanitary Products [S]
- [9] Buchanan R E.伯杰细菌鉴定手册(第八版)[M].北京:科学出版社,2002
Buchanan R E. Bergey's Manual of Systematic Bacteriology [M]. Beijing: Science Press, 2002
- [10] 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

- DONG Xiuzhu, CAI Miaoying. Identification of Common Bacteria in the System Manual [M]. Beijing: Science Press, 2001
- [11] 王辉,孙宏莉,宁永忠,等.不动杆菌属多重耐药及泛耐药的分子机制研究[J].中华医学杂志,2006,86(1):17-22
- WANG Hui, SUN Hongli, NING Yongzhong, et al. Study on the molecular mechanism of multi-drug resistance and pan-drug resistance of *Acinetobacter* sp. [J]. National Medical Journal of China, 2006, 86(1): 17-22
- [12] Flávia Lúcia Piffano Costa P, Verônica V V, Paulo Victor Pereira B, et al. *Acinetobacter* soli as a cause of bloodstream infection in a neonatal intensive care unit [J]. Journal of Clinical Microbiology, 2011, 49(6): 2283-2285
- [13] 李玲,刘耀,魏元苗,等.食品中蜡样芽孢杆菌耐药性及其机制研究进展[J].微生物学通报,2021,12:4943-4953
- LI Ling, LIU Yao, WEI Yuanmiao, et al. Research progress on antibiotic resistance of *Bacillus cereus* in the food chain [J]. Microbiology China, 2021, 12: 4943-4953
- [14] 张伟伟,鲁绯,张金兰,等.食品中蜡样芽孢杆菌的研究进展[J].中国酿造,2010,5:1-4
- ZHANG Weiwei, LU Fei, ZHANG Jinlan, et al. Research progress of *Bacillus cereus* in food [J]. China Brewing, 2010, 5: 1-4
- [15] 袁先铃,张洲铄,袁玉梅,等.富顺香辣酱生产环境食源性致病细菌的分析及溯源分析[J].食品工业科技,2021,42(22): 118-124
- YUAN Xianling, ZHANG Zhouyou, YUAN Yumei, et al. Analysis and traceability analysis of food-borne pathogenic bacteria in the production environment of Fushun spicy sauce [J]. Science and Technology of Food Industry, 2021, 42(22): 118-124
- [16] 喻世哲,范熠,韩北忠,等.低盐腐乳生产过程及加工环境中的微生物分析[J].中国酿造,2017,12:18-22
- YU Shizhe, FAN Yi, HAN Beizhong, et al. Analysis of microorganism during the production and processing environment of low-salt sufu [J]. China Brewing, 2017, 12: 18-22
- [17] Karger A. Current developments to use linear MALDI-TOF spectra for the identification and typing of bacteria and the characterization of other cells/organisms related to infectious diseases [J]. Proteomics - Clinical Applications, 2016, 10(9-10): 982-993
- [18] Marta D, Andrzej P, Renata U, et al. 16S-ARDRA and MALDI-TOF mass spectrometry as tools for identification of *Lactobacillus bacteria* isolated from poultry [J]. BMC Microbiology, 2016, 16(1): 105
- [19] Anderson A A, Sanunu M, Schneider C, et al. Rapid species-level identification of vaginal and oral lactobacilli using MALDI-TOF MS analysis and 16S rDNA sequencing [J]. BMC Microbiology, 2014, 14(1): 312

(上接第 207 页)

- [19] 林向阳,张宏,林玲,等.利用核磁共振技术研究添加剂对面团持水性的影响[J].食品科学,2008,10:353-356
- LIN Xiangyang, ZHANG Hong, LIN Ling, et al. Study of effects of additives on water holding capability of wheat dough by using NMR and MRI [J]. Food Science, 2008, 10: 353-356
- [20] 潘志琴,李琳,李冰,等.漆酶对小麦面团冻藏期间品质的影响研究[J].食品科技,2019,44(8):132-139
- PAN Zhiqin, LI Lin, LI Bing, et al. Effects of laccase on the quality of wheat dough during storage [J]. Food Science and Technology, 2019, 44(8): 132-139
- [21] 张磊.L-抗坏血酸对面团特性的影响[J].现代面粉工业, 2015,29(1):23-25
- ZHANG Lei. Effect of L-ascorbic acid on dough properties [J]. Modern Flour Milling Industry, 2015, 29(1): 23-25
- [22] 汪磊.燕麦 β -葡聚糖对面粉、面团特性及馒头品质的影响和机制[D].重庆:西南大学,2017
- WANG Lei. Effect and mechanism of oats β -glucan on flour, dough characteristics and steamed bread quality [D]. Chongqing: Southwest University, 2017
- [23] 梁霞,孟婷婷,周柏玲,等.藜麦-小麦粉的流变学特性及其面条研制[J].现代食品科技,2020,36(7):184-192
- LIANG Xia, MENG Tingting, ZHOU Boling, et al. Rheological properties of quinoa-wheat flour and development of its noodles [J]. Modern Food Science and Technology, 2020, 36(7): 184-192
- [24] Barak S, Mudgil D, Khatkar B S. Effect of compositional variation of gluten proteins and rheological characteristics of wheat flour on the textural quality of white salted noodles [J]. International Journal of Food Properties, 2014, 17(4-5-6): 731-740