

肉类调理食品中细菌多样性的分析

范晓攀^{1,2}, 王娉¹, 陈颖¹, 赵晓美¹, 谈笑¹, 曹飞扬¹, 黄文胜¹, 葛毅强^{2,3}

(1. 中国检验检疫科学研究院, 北京 100176) (2. 中国农业大学食品科学与营养工程学院, 北京 100083)

(3. 中国农村技术开发中心, 北京 100045)

摘要: 肉类调理食品方便快捷, 营养美味, 深受消费者青睐, 但其丰富的营养物质容易造成微生物的滋生, 影响食品品质和消费者健康。高通量测序技术可以全面、准确的研究肉类调理食品中微生物群落结构, 为微生物防控和标准化生产提供理论基础。本文通过均质提取法对肉类调理食品中微生物基因组进行提取, 并以 16S rRNA 可变区 V3-V4 作为测序片段, 分析细菌多样性。实验表明, 4 种肉类调理食品细菌多样性均较高, 菌群结构具有一定的相似性, 炸鸡块、骨肉相连和冷冻牛排的优势菌群是 *Andersenella* 属, 而羊肉串优势菌群是不动杆菌属, 此外肉类调理食品中还存在芽胞杆菌属、梭菌属、泛菌属、假单胞菌属、嗜冷杆菌属和乳球菌属等。本文明确了使用均质提取法对肉类调理食品中微生物进行 16S rRNA V3-V4 区测序分析, 为后续大规模菌群研究提供思路和方法。

关键词: 肉类调理食品; 细菌多样性; 高通量测序; 16S rRNA

文章编号: 1673-9078(2017)1-237-242

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2017.1.036

Bacterial Diversity of Prepared Meat Products

FAN Xiao-Pan^{1,2}, WANG Ping¹, CHEN Ying¹, ZHAO Xiao-Mei¹, TAN Xiao¹, CAO Fei-yang¹,
HUANG Wen-sheng¹, GE Yi-Qiang^{2,3}

(1. Agro-product Safety Research Center, Chinese Academy of Inspection and Quarantine, Beijing 100176, China)

(2. College of Food Science and Nutritional Engineering, China Agricultural University, Beijing 100083, China)

(3. China Rural Technology Development Center, Ministry of Science Technology, Beijing 100045, China)

Abstract: Prepared meat products are favored by consumers because of their convenience, nutrition, and taste. However, microorganisms grow easily in prepared meat products because they are rich in nutrients, affecting food quality and safety. High-throughput sequencing could comprehensively profile microbial communities at high resolution, and provide a theoretical basis for microbial control and standardized production of prepared meat products. Homogenous extraction was used to extract the microbial genomes of prepared meat products. Analysis of the V3/V4 region of the 16S rRNA sequence revealed a rich diversity of microbial taxa in prepared meat products. The four samples studied had some similarities in species composition. *Andersenella* was identified as the most abundant genus in chicken nuggets, chicken skewers, and beefsteak, while *Acinetobacter* was the most prevalent genus in mutton shashlik. Other genera present in the samples included *Bacillus*, *Clostridium*, *Pantoea*, *Pseudomonas*, *Psychrobacter*, and *Lactococcus*. By analyzing the V3-V4 16S rRNA sequences of microorganisms in prepared meat products, the feasibility of the homogenous extraction method was proven. New concepts and strategies for large-scale studies could be developed from these results.

Key words: prepared meat products; bacterial diversity; high-throughput sequencing; 16S rRNA

肉类调理食品一般是指以畜和禽肉为主要原料, 经适当加工, 在冷冻或冷藏条件下贮存、流通和售卖, 可直接食用或简单加工后食用的肉类制品^[1], 包括炸鸡块、烤翅、羊肉串、肉丸、烟熏火腿和冷冻牛排等。

收稿日期: 2015-12-14

基金项目: 国家科技支撑计划 (2014BAD04B03, 2013BAD18B11); 中国检验检疫科学研究院院所基金项目 (2016JK006)

作者简介: 范晓攀 (1991-), 女, 硕士研究生, 研究方向: 食品微生物及分子生物学

通讯作者: 陈颖 (1972-), 女, 博士, 研究员, 研究方向: 农产品的质量与安全; 葛毅强 (1971-), 男, 博士, 研究员, 研究方向: 食品科学

肉类调理食品营养丰富, 且由于加工过程中杀菌不彻底, 以及我国冷链设备不完善, 容易滋生微生物。因此, 开展肉类调理食品菌群结构研究, 分析微生物多样性, 有利于抑制致病菌和腐败菌的产生, 对肉类调理食品的质量控制和标准化生产具有一定的指导意义。

在菌群结构的分析检测方面, 分子生物学技术, 如变性梯度凝胶电泳(DGGE)和限制性片段长度多态性(RFLP)等, 相对于传统分离培养法, 操作简单, 准确度高, 但是无法检测样本中低丰度的物种。近年来, 新兴的高通量测序技术可以进行大规模平行测序, 能

够客观反映样本中低丰度和不可培养的细菌, 逐渐发展为菌群结构研究的主流技术, 广泛应用于医药^[2]、环境^[3]、食品^[4]等各个领域。Abdul-Mutalib^[5]等利用焦磷酸测序研究了不同卫生等级餐厅案板上微生物菌群分布情况, 发现案板上的菌群多样性较高, 且微生物数量与餐厅卫生等级无关, 不同卫生等级的餐厅均存在一定的安全隐患。

二代测序以 454 和 Illumina 平台应用最为广泛, 菌群分析的测序基因主要是 16S rRNA 的 9 个可变区, 不同可变区对于不同菌属细菌的分辨能力不同, 根据研究需要和测序平台选择合适的测序片段, 菌群分析相关文献中涉及到的基因片段包括一个可变区 (V3、V4 和 V6)、两个可变区 (V1-V2、V3-V4 和 V4-V5) 或三个可变区 (V1-V3、V3-V5 和 V4-V6) 等, 但目前还没有统一的测序标准。

为了研究肉类调理食品中细菌多样性, 本文采用均质提取法对样本中微生物基因组进行提取, 利用 Illumina MiSeq 测序平台完成微生物 16S rRNA 可变区 V3-V4 测序, 分析肉类调理食品菌群结构, 对产品工艺改进和微生物控制提供基础数据。此外, 本文明确了使用均质提取法和 16S rRNA V3-V4 区测序分析肉类调理食品中微生物多样性, 为后续大规模菌群研究提供思路和方法。

1 材料与方法

1.1 实验材料

炸鸡块、羊肉串、骨肉相连和冷冻牛排购于北京市某大型超市, 样品均为普通袋装, 执行速冻调理食品行业标准 SB/T 10379-2012, 购买后按照产品贮存条件 (-18 °C 以下) 进行冷冻保存, 在保质期内对样本进行检测。样本信息见表 1。

表 1 样品主要信息

Table 1 Sample information

名称	规格	产地	生产日期
炸鸡块	500 g	山东	20150421
羊肉串	240 g	内蒙古	20150128
骨肉相连	400 g	内蒙古	20150422
牛排	300 g	河北	20150506

1.2 仪器与设备

拍打式均质机; 恒温水浴锅; 涡旋振荡器 (美国 Scientific Industries 公司); 高速冷冻离心机 (德国 Heraeus 公司); 小型台式离心机 (美国 Thermo Fisher 公司); PCR 扩增仪 (Mastecycler, 德国 Eppendorf

公司); 电泳仪 (MODEL 200/2.0 POWER SUPPLY, 美国 BIO-RAD 公司); 凝胶成像仪 (VersaDoc, 美国 BIO-RAD 公司)。

1.3 试验方法

1.3.1 样本前处理

以无菌操作取样品 25 g, 充分剪碎后, 加入到含有 225 mL 生理盐水的均质袋中, 使用拍击式均质器均质 1 min, 获得样品匀液。吸取上清 30 mL、2000 r/min 离心 10 min, 沉淀食品杂质; 吸取上清液 20 mL, 10000 r/min 离心 3 min, 缓慢倒掉上清液, 获得菌体沉淀。每个样本均设置 2 个平行, 炸鸡块、羊肉串、骨肉相连和冷冻牛排样本编号分别为 J-JK、J-YR、J-GR 和 J-NP。

1.3.2 基因组 DNA 提取

使用 QIAamp DNA Stool Mini Kit (德国 QIAGEN 公司), 根据试剂盒说明书提取菌体沉淀基因组 DNA。提取后进行 1% 琼脂糖凝胶电泳检测提取效果。

1.3.3 高通量测序

提取的基因组 DNA 送至生工生物工程 (上海) 有限公司进行 Illumina MiSeq 高通量测序。首先使用细菌的通用引物 341F (barcode-CCTACGGGNGGCW GCAG) 和 805R (barcode-GACTACHVGGGTATCTA ATCC) 扩增 16S rRNA 基因 V3-V4 区, 第二轮扩增引入 Illumina 桥式扩增引物, 并利用胶回收纯化扩增产物, 经 Qubit 2.0 精确定量后上机测序。

1.3.4 数据分析

通过 Barcode 区分样本, 并使用 FLASH 软件将双端测序序列拼接成单条序列。利用 Prinseq 过滤低质量的序列, 完成质量控制。随后使用 Mothur 软件对序列进行测序错误校正, 并采用 chimeras. uchime 去除序列中的嵌合体, 获得优化序列。基于上述优化序列, 利用 Uclust 软件聚类, 以序列之间的相似性 (0.97) 作为阈值, 分成操作分类单元 (Operational Taxonomic Units, OTU), 并采用 RDP classifier 完成物种分类。最后使用 R 软件进行 α 多样性指数的计算, 绘制菌群丰度图和样本聚类图。

2 结果与讨论

2.1 测序数据信息

本研究使用二代测序技术对微生物 16S rRNA V3-V4 区进行扩增, 测序平均序列读长 459 bp, 优化后序列平均读长为 420 bp, 通过对序列进行归类操作, 按照序列间的距离进行聚类, 以 0.97 作为序列相似性

阈值划分操作分类单元(OTU)。本次实验将所有 OTU 比对到 SILVA 数据库,共得到 28 个门、57 个纲、107 个目和 229 个科共 783 个属,其中包括 62 个无法鉴定的属。各样本的原始序列数、优化序列数和 OTU 数及在门和属水平对应的细菌数见表 2。由表 2 可知,测序数据量基本满足分析需求,4 种肉类调理食品中微生物种类很多,平均每个样本中存在三百余种细菌。

表 2 样本 16S rRNA V3-V4 区测序数据信息

Table 2 Data on the V3-V4 regions of the 16S rRNA gene

样品	原始序列数	优化序列数	OTU 数	门个数	属个数
J-JK1	14394	14033	2325	17	296
J-JK2	15877	15481	2671	23	324
J-YR1	15243	14407	2953	17	285
J-YR2	19105	18224	3550	20	322
J-GR1	17598	17182	3143	18	324
J-GR2	21807	21289	3270	20	337
J-NP1	15331	14456	2897	23	347
J-NP2	11086	10564	2402	21	339

Nam^[6]等对发酵食品中微生物 V1-V2 区进行测序分析,样本序列数在 18000~25000 之间,OTU 数在 700~1100 之间,本研究获得的序列数和 OTU 数分别

表 3 各样本菌群多样性指数

Table 3 Diversity indices of eight samples used

样品	Chao1 Index	ACE Index	Shannon Index	Simpson Index	Coverage
J-JK1	4122.26	5268.99	5.25	0.06	0.91
J-JK2	5127.11	7021.04	5.38	0.05	0.90
J-YR1	7202.15	11397.51	6.17	0.01	0.87
J-YR2	7568.19	12374.41	6.21	0.01	0.88
J-GR1	6643.25	10471.15	6.00	0.02	0.89
J-GR2	6843.29	10479.30	5.82	0.02	0.91
J-NP1	5504.03	7421.04	5.83	0.04	0.89
J-NP2	4672.62	6693.76	6.00	0.02	0.87

2.3 肉类调理食品细菌多样性

实验样本购买于同一超市,均贮藏于-18℃以下冷冻条件下,但是不同样本的肉类品种来源、加工工艺与生产环境存在差异,因此,各样本之间的主要细菌类群、菌群比例也会存在一定的差异。

在门分类水平上,4 种肉类调理食品中微生物主要是变形菌门和厚壁菌门,这两类细菌占总菌数的 80%~90%左右,此外还存在少量的拟杆菌门和放线菌门等。在属水平上,4 种肉类调理食品表现出一定的差异,图 1 显示了各样本属水平物种丰度较高的前 20 个序列信息。其中,炸鸡块中优势菌群是 *Anderseniella* 属(占总序列数的 45.21%),此外占总序列数 2%以上

在 11000~22000 和 2300~3500 之间,样本中细菌菌属在 285~347 之间,说明实验采用的 V3~V4 区可以较好地鉴定各类细菌,基本满足物种在属水平上的比较分析。而利用 PCR-DGGE 技术检测骨肉相连,仅发现假单胞菌属等 7 个优势菌属,与本实验检出的 300 余种菌相比,PCR-DGGE 技术无法客观反应低丰度物种,容易对微生物物种组成和丰度做出片面的判断^[7]。

2.2 α 多样性指数

α 多样性指某个生境内的多样性,是评价生境内部物种多样性的指标。 α 多样性主要关注两方面信息,一是群落所含物种种类的多少,即物种丰富度,用 Chao1 Index 和 ACE Index 计算;二是群落中各物种的相对数量,即物种均匀度,既考察物种多样性,又考察种的多度,由 Shannon Index 和 Simpson Index 反映。表 3 显示的是各样本 α 多样性指数,由表 3 可知,各样本菌群丰度很高,菌群多样性也较高。测序深度指数(Coverage)是指各样品文库的覆盖率,数值越高,越能反应样本的真实情况,本次实验覆盖率在 0.87~0.91 之间,基本可以涵盖样本中大多数菌群,测序数据量满足分析的需要。

的还包括乳球菌属(*Lactococcus*)、明串珠菌属(*Leuconostoc*)、不动杆菌属(*Acinetobacter*)、沙雷氏菌属(*Serratia*)以及未分类的菌属等;羊肉串优势菌群是不动杆菌属(*Acinetobacter*, 占总序列数的 26.90%),还存在 *Anderseniella* 属、梭菌属(*Clostridium*)、嗜冷杆菌属(*Psychrobacter*)、金黄杆菌属(*Chryseobacterium*)、漫游球菌属(*Vagococcus*)、乳球菌属(*Lactococcus*)、假单胞菌属(*Pseudomonas*)、肠杆菌属(*Enterobacter*)以及泛菌属(*Pantoea*)等;骨肉相连优势菌群是 *Anderseniella* 属(占总序列数的 25.32%),此外还存在泛菌属(*Pantoea*)、梭菌属(*Clostridium*)、不动杆菌属(*Acinetobacter*)、假单胞菌属(*Pseudomonas*)、嗜冷杆菌属(*Psychrobacter*)、金黄杆菌属(*Chryseobacterium*)、香

味菌属(*Myroides*)以及肠杆菌属(*Enterobacter*)等; 冷冻牛排优势菌群是 *Anderseniella* 属 (占总序列数的 28.49%), 此外还存在漫游球菌属(*Vagococcus*)、肠球菌属(*Enterococcus*)、假单胞菌属(*Pseudomonas*)、泛菌属(*Pantoea*)、链球菌属(*Streptococcus*)、魏斯氏菌属(*Weissella*)以及梭菌属(*Clostridium*)等。

本实验在肉类调理食品中检出 *Anderseniella* 的存在, 且占据较大比例。*Anderseniella* 是革兰氏阴性菌, 异养需氧型, 属于变形菌门、 α 变形菌纲、根瘤菌目、红菌科, 与红菌属(*Rhodobium*)相似度很高, *Anderseniella* 目前仅包含 *Anderseniella baltica* 一个种, 曾从波罗的海缺氧表层沉积物中分离出来, 可以在盐度 0.8%~6% 之间生长^[8]。有关 *Anderseniella* 的研究文献较少, 目前还没有文献显示 *Anderseniella* 在肉类食品中检测或者分离出来。而本实验使用二代测序技术检出 *Anderseniella* 在肉类调理食品中存在, 这可能与食品的生产工艺有关。炸鸡块、羊肉串、骨肉相连和冷冻牛排生产工艺流程有一定的相似性, 将肉类原料预处理(清洗并切块等)后, 再加入食盐等调味料腌制一定的时间, 熟制或不经熟制后, 真空包装、冷冻保藏。由于调理食品需要进行腌制, 腌制过程中高盐度对微生物进行了选择和富集, 4 种肉类调理食品营养成分表显示, 钠含量在 4.81 mg/g~14 mg/g 之间, 若钠均以氯化钠形式存在, 那么换算成盐度, 4 种食品盐度介于 1.22%~3.56% 之间, 适于 *Anderseniella* 的生长, 而对其他菌属具有抑制作用, 因此腌制过程结束后 *Anderseniella* 可能大量存在于食品中。

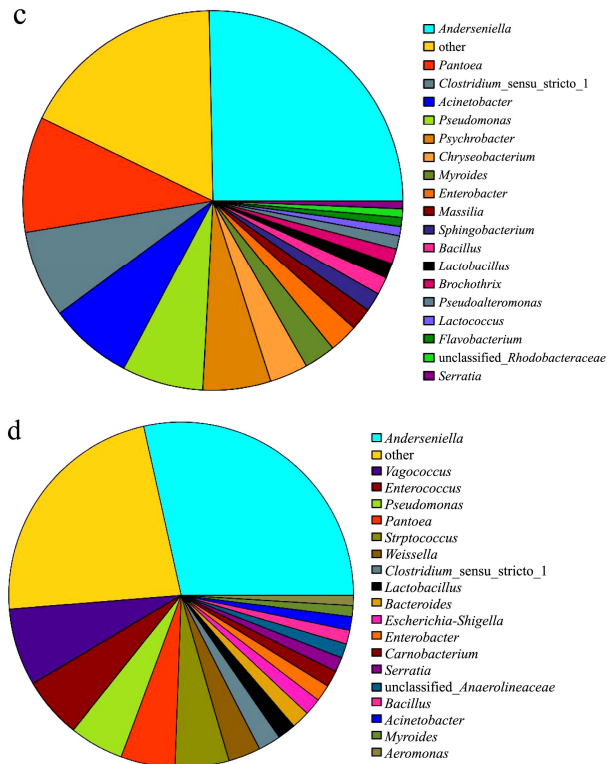
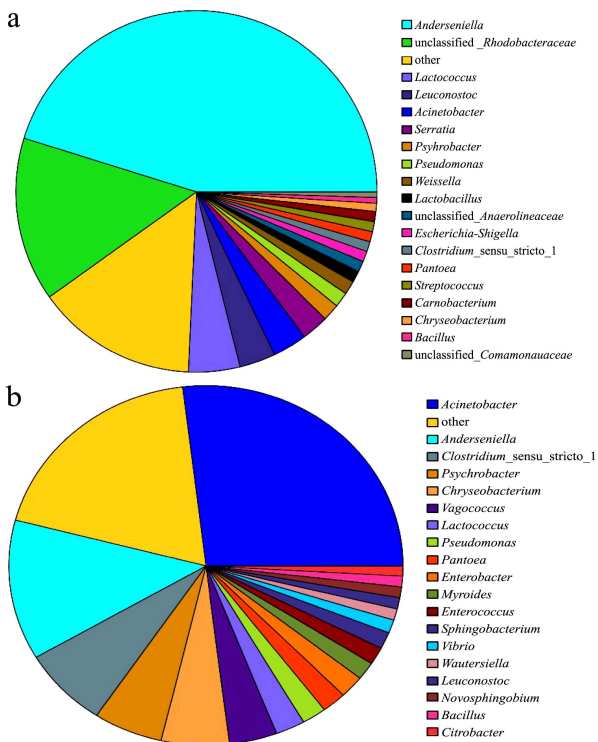


图 1 各样本在属水平物种丰度图

Fig.1 Genus level microbial distribution of the four kinds of prepared meat products

注: a, 炸鸡块; b, 羊肉串; c, 骨肉相连; d, 牛排。

虽然肉类调理食品种类不同, 但菌群结构存在一定的相似性。在物种丰度较高的前 20 个序列中, *Anderseniella* 属、不动杆菌属、芽胞杆菌属、梭菌属、泛菌属和假单胞菌属是 4 种肉类调理食品中的共有菌群, 乳球菌属、嗜冷杆菌属、乳杆菌属、香味菌属、漫游球菌属、沙雷氏菌属和泛菌属等也广泛存在于肉类调理食品中。除了 *Anderseniella*, 其他菌属在肉及肉制品中常有检出^[9,10]。其中革兰氏阳性菌有乳球菌属、乳杆菌属、芽胞杆菌属、梭菌属和漫游球菌属; 革兰氏阴性菌有 *Anderseniella*、假单胞菌属、不动杆菌属、嗜冷杆菌属、泛菌属、香味菌属和沙雷氏菌属。乳球菌属和乳杆菌属是乳品发酵中有益微生物, 常用于干酪和酸牛乳的生产; 芽胞杆菌属、假单胞菌属、沙雷氏菌属和不动杆菌属广泛存在于自然界, 部分菌种是食品腐败菌或人致病菌, 如蜡样芽胞杆菌、炭疽芽胞杆菌、铜绿假单胞菌、粘质沙雷氏菌和鲍曼不动杆菌等。

肉类调理食品中细菌种类较多, 除了来源于动物肠道, 还可能来源于动物屠宰、食品加工和包装等每一个生产环节, 肉及肉制品所接触的外界环境、加工用具、包装材料和人员等均会造成微生物污染, 肉制品之间也存在交叉污染。因此, 各食品企业需要加强

对原料肉的检测, 实施规范化生产、标准化管理, 重点对动物屠宰、切割及修整过程微生物污染进行监管和控制^[1], 保证产品质量。此外, 很多肉类调理食品在流通和贮藏过程中需要冷藏或冷冻保存, 而我国冷链系统尚不完善, 温度的波动也为微生物的生长繁殖提供条件。

值得关注的是, 肉类调理食品中的优势菌群并不是嗜冷菌, 这与我们实验前的理论推测是不同的。实验结果表明, 尽管样本的贮存条件是-18 ℃, 但仍然存在生长温度在 30 ℃~37 ℃的中温菌, 如不动杆菌属、梭菌属、泛菌属和明串珠菌属等。这些菌属很可能处于“活的不可培养状态(Viable but nonculturable state, VBNC)”, 即丧失细菌可培养的特征, 但是细胞膜完整, 有一定的代谢活力, 遇到适宜条件, 可恢复到可培养的状态, 这是某些无法产生芽胞的细菌对抗环境压力的一种反应。研究表明, 温度是诱导细菌进入 VBNC 状态最主要的原因, 因此肉类调理食品在冷冻处理时, 埃希氏菌属、志贺氏菌、肠球菌和弧菌等很可能进入 VBNC 状态, 一旦遇到适宜的生长条件, 便会再次复苏, 对消费者的身体健康造成危害。

2.4 样本间菌群结构比较

维恩图可在 OTU 水平对 4 种肉类调理食品中菌群进行分析, 图 2 直观的反映了样本间的共有 OTU 和特有 OTU。为了清楚显示, 本实验将 2 个平行样本合并分析(J-JK1 和 J-JK2 合并为 J-JK, 其他样本类同), J-JK、J-YR、J-GR 和 J-NP 获得的 OTU 数分别为 3486、5014、5122 和 3773, 所有样本共含有 12000 余种不同

的 OTU。由图可知, 每 2 种实验样本之间相同的 OTU 数在 1019~1902 之间, 4 种样本之间相同的 OTU 数为 502 个, 占总 OTU 数的 4.16%。

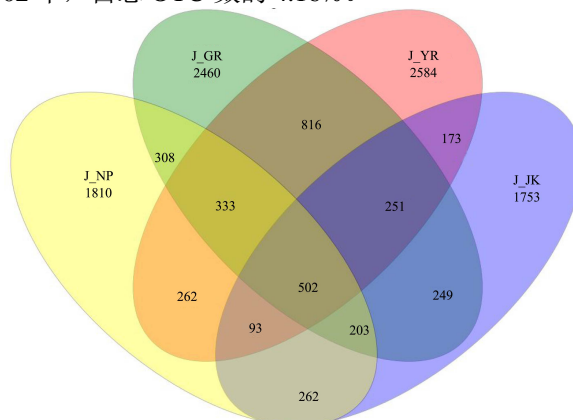


图 2 操作分类单元维恩图

Fig.2 Venn diagram of operational taxonomic units

为了从微生物种类和丰度层面研究 4 种肉类调理食品的同异, 本研究基于 Bray-Curtis 指数绘制样本聚类图, 如图 3 所示, 菌群组成相似度越高的样本在图中的距离越小。整体而言, 4 种肉类调理食品之间具有很大的相似性, 其中, 炸鸡块和牛排、羊肉串和骨肉相连相似度较高, 分别聚为一簇。而同为鸡肉制品的炸鸡块和骨肉相连并未表现出明显的相似性, 这可能是二者加工工艺、加工环境不同引起的。此外, 在样品中检测出了不可分类微生物, 如 unclassified Rhodobacteraceae 和 unclassified Anaerolineaceae 等, 这是由于测序结果与数据库中序列不匹配或相似度不够阈值, 因此这些序列被归为不可分类的微生物。

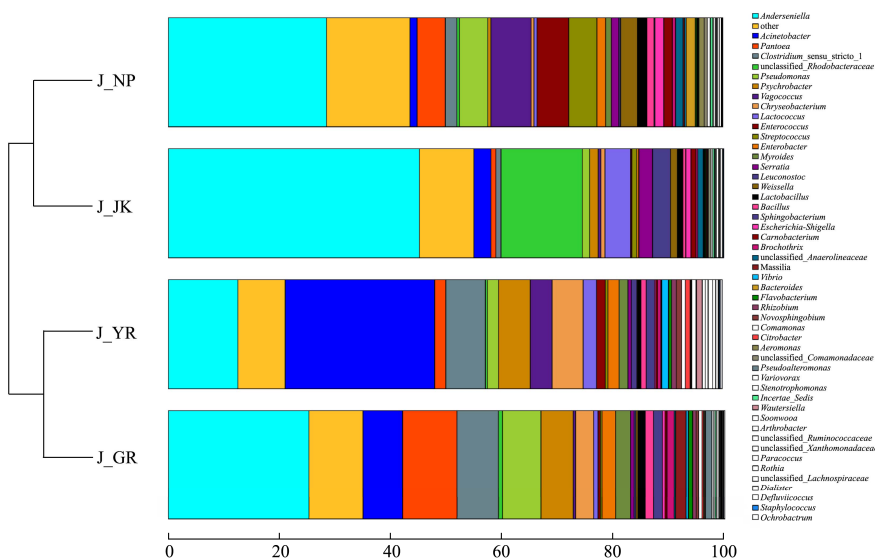


图 3 各样本在属水平聚类图

Fig.3 Genus level cluster dendrogram of samples

3 结论

利用高通量测序技术可以直接从食品中提取微生物基因组,对不可培养细菌和低丰度细菌也可有效检测,能够客观分析食品中菌群结构,且高通量测序技术可以对多个样本同时检测,相对于传统方法能够迅速、高效的完成样本菌群分析。本论文明确了使用均质提取法提取微生物基因组,并采用二代测序技术进行 16S rRNA V3-V4 区测序,为后续大规模菌群研究提供思路和方法。实验结果表明,肉类调理食品中细菌多样性高,4 种肉类调理食品菌群结构具有一定的相似性,在门分类水平,主要是变形菌门和厚壁菌门组成;在属水平, *Andersenella* 属、不动杆菌属、芽胞杆菌属、嗜冷杆菌属、乳球菌属、梭菌属、泛菌属和假单胞菌属等广泛存在,这些微生物可能来源于动物肠道、动物屠宰、食品加工和包装等加工工序,因此,各食品企业需要优化生产工艺,加强生产管理,制定标准化操作流程,保证产品质量稳定。

参考文献

- [1] 冯月荣,樊军浩,陈松. 调理食品现状及发展趋势探讨[J]. 肉类工业, 2006, 10: 36-39
FENG Yue-rong, FAN Jun-hao, CHEN Song. Investigation on the current stage and development trend of the adjust-manage food [J]. Meat Industry, 2006, 10: 36-39
- [2] Smoller J W, Craddock N, Kendler K, et al. Identification of risk loci with shared effects on five major psychiatric disorders: a genome-wide analysis [J]. Cross-Disorder Group of the Psychiatric Genomics Consortium, 2013, 381(9875): 1371-1379
- [3] Dunn R R, Fierer N, Henley J B, et al. Home life: factors structuring the bacterial diversity found within and between homes [J]. Plos One, 2013, 8(5): e64133
- [4] Marsh A J, O'Sullivan O, Hill C, et al. Sequencing-based analysis of the bacterial and fungal composition of kefir grains and milks from multiple sources [J]. Plos One, 2013, 8(7): 61-61
- [5] Abdul-Mutalib N A, Nordin S A, Osman M, et al. Pyrosequencing analysis of microbial community and food-borne bacteria on restaurant cutting boards collected in Seri Kembangan, Malaysia, and their correlation with grades of food premises [J]. International Journal of Food Microbiology, 2015, 200: 57-65
- [6] Nam Y D, Park S, Lim S I. Microbial composition of the Korean traditional food "kochujang" analyzed by a massive sequencing technique [J]. Journal of Food Science, 2012, 77(4): M250-M256
- [7] 梁荣蓉. 生鲜鸡肉调理制品菌群结构分析和货架期预测模型的研究[D]. 泰安: 山东农业大学, 2010
LIANG Rong-rong. Bacterial community and shelf-life predictive model of freshly prepared chicken products [D]. Tai'an: Shandong Agricultural University, 2010
- [8] Brettar I, Christen R, Bötöl J, et al. *Andersenella baltica* gen. nov., sp. nov., a novel marine bacterium of the *Alphaproteobacteria* isolated from sediment in the central Baltic sea [J]. International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology, 2007, 57(10): 2399-2405
- [9] De Filippis F, La Stora A, Villani F, et al. Exploring the sources of bacterial spoilers in beefsteaks by culture-independent high-throughput sequencing [J]. Plos One, 2013, 8(7): e70222
- [10] Schirmer B C, Heir E, Langsrud S. Characterization of the bacterial spoilage flora in marinated pork products [J]. Journal of Applied Microbiology, 2009, 106(6): 2106-2116
- [11] 于小乔. 屠宰和分割工序对真空包装冷却牛肉贮藏过程微生物多样性的影响[D]. 泰安: 山东农业大学, 2012
YU Xiao-qiao. Effect of different slaughtering plant conditions on microbial diversity of chilled beef during vacuum-packing [D]. Tai'an: Shandong Agricultural University, 2012

更正说明

2016 年第 12 期第 93~98 页文章《人工模拟肠炎沙门氏菌在绿豆芽中的内化定殖能力及其消毒处理研究》, 文中内容出现非核红, 作者简介中作者姓名更正为: 许思笑 (1999-), 女; 作者单位英文更正为: 1. No.1 Middle School Affiliated to Central China Normal University, Wuhan 430223, China。