

doi:10.3969/j.issn.1001-4616.2017.04.017

# 克氏原螯虾调理产品中主要腐败菌的分离鉴定

周 涛,宋方霞,黄村惠

(南京师范大学金陵女子学院,江苏 南京 210097)

[摘要] 为了分离鉴定克氏原螯虾调理产品在 4 ℃ 冷藏条件下的腐败菌菌相组成,将其在 4 ℃ 条件下冷藏至货架期末(20 d 左右),此时克氏原螯虾调理产品中菌落总数为 7.05 logcfu/mL. 采用传统分离纯化、菌落形态观察、生理生化鉴定与 16S rDNA 序列分析方法结合,对腐败菌进行分离鉴定. 结果表明:在克氏原螯虾样品中共分离得到 85 株菌株,经镜检、生理生化鉴定以及 16S rDNA 测序得到 5 株典型优势菌,分别为蜡样芽孢杆菌(*Bacillus cereus*)、甲基营养型芽孢杆菌(*Bacillus methylophilus*)、赖氨酸芽孢杆菌(*Lysinibacillus fusiformis*)、沃氏葡萄球菌(*Staphylococcus wamari*)和溶酪巨型球菌(*Macrocooccus caseolyticus*).

[关键词] 克氏原螯虾,调理产品,优势腐败菌,分离鉴定

[中图分类号]TS251.7 [文献标志码]A [文章编号]1001-4616(2017)04-0103-06

## Isolation and Identification of Specific Spoilage Organisms in Conditioning Crayfish Products

Zhou Tao, Song Fangxia, Huang Cunhui

(Ginling College, Nanjing Normal University, Nanjing 210097, China)

**Abstract:** In order to isolate and identify the spoilage organism from conditioning crayfish products under 4 temperature conditions, the spoilage bacteria were separated from the conditioning crayfish products stored under low temperature of 4, while the total number of colonies is 7.05 logcfu/mL in conditioning crayfish products. Isolation and identification of spoilage bacteria were performed by traditional methods of isolation and purification, colony morphology observation, physiological and biochemical identification and 16S rDNA sequence analysis. The results showed that, 85 strains were isolated from the conditioning crayfish products samples and 5 strains of typical dominant bacteria obtained by microscopy, physiological and biochemical identification and 16S rDNA sequencing. Respectively, *Bacillus cereus*, *Bacillus methylotrophicus*, *Lysinibacillus fusiformis*, and *Macrocooccus caseolyticus*.

**Key words:** *Procambarus clarkii*, conditioning products, SSO, isolation and identification

克氏原螯虾(*Procambarus clarkii*)又名小龙虾,属节肢动物门,甲壳纲,十足目,虾蛄科的经济水产动物<sup>[1]</sup>. 因其味道鲜美、风味独特,蛋白质和矿物质含量较高,脂肪含量较低而深受人们喜爱<sup>[2]</sup>. 克氏原螯虾原产于北美洲,是我国目前养殖范围最广的淡水螯虾种类. 近年来,江浙沪地区大中城市的年克氏原螯虾消费量都在万吨以上,克氏原螯虾产品的出口量也在逐年增长<sup>[3]</sup>. 目前,市售的龙虾制品多为冷冻制品,如冷冻龙虾仁、冻熟整只龙虾、冻虾黄等<sup>[4]</sup>.

克氏原螯虾制品与其他水产品相似,具有肉质营养丰富且水分含量高等特点,因而在其储藏过程中易受到细菌的影响而腐败变质<sup>[5-6]</sup>. 传统的高温高压处理可以杀死食品中的致病菌等有害微生物,钝化酶活,改善食品品质<sup>[7-8]</sup>. 但传统的高温高压杀菌技术可能会对龙虾的肉质和口感产生不利的影晌<sup>[9]</sup>. 在龙虾加工过程中,选择适合的低温巴氏杀菌条件,对其产品的质地和营养成分的保持有着很大的作用,但低温巴氏杀菌并不能杀死克氏原螯虾产品中的腐败菌,造成产品货架期较短的弊端,因此如何延长货架期就尤为重要.

收稿日期:2017-05-18.

基金项目:江苏省农业科技自主创新资金项目(CX(16)1057).

通讯联系人:周涛,博士,副教授,研究方向:食品生物技术. E-mail: zhoutao@sina.com

本研究利用低温巴氏杀菌方法,生产克氏原螯虾调理产品.然后在4℃条件下冷藏一段时间,对其货架期末的特定腐败菌(SSO)菌相进行分析<sup>[10]</sup>,以便为进一步选择合适的防腐剂来延长其货架期提供理论依据和研究方向.

## 1 材料与方法

### 1.1 实验材料

克氏原螯虾,购于南京市苏州路水产市场;营养琼脂培养基(NA)、营养肉汤培养基(NB)、PCA平板计数琼脂,均购于北京陆桥技术责任有限公司. Ezup柱式细菌基因组DNA抽提试剂盒、Taq DNA聚合酶、PCR引物,均于上海生工生物工程技术有限公司购买与合成;其余试剂均为分析纯,购于南京化学试剂有限公司.

### 1.2 实验仪器

CJ-2S超净工作台购于天津市泰斯特仪器有限公司;自动高压灭菌锅HVE-50购于南京博惠科学仪器有限公司;生化培养箱LRH-250A购于广东省医疗器械厂;数显恒温培养箱HPX-9082ME购于上海博迅实业有限公司医疗设备厂;恒温摇床TH2-C购于太仓市实验设备厂;显微镜CH30-313购于江南光电股份有限公司;荧光光谱仪TH4-200购于南京奥力科学仪器有限公司;稳压电泳仪DYY-5、DNA电泳槽DYCP-31DN购于北京六一仪器厂;PCR仪、凝胶成像仪FR980购于上海复日科技仪器有限公司.

### 1.3 实验方法

#### 1.3.1 克氏原螯虾调理产品加工工艺

鲜活龙虾→浸泡吐污6h→清洗→调味煮制→冷却→真空包装→低温巴氏灭菌(90℃/20min)→即食调理产品→4℃冷藏.

#### 1.3.2 克氏原螯虾冷藏过程中菌落总数的测定

将制备好的克氏原螯虾调理产品置于4℃下冷藏,分别在第0d、5d、10d、15d、20d、25d测定其菌落总数,观察菌落总数的变化情况,观察其在(4℃)冷藏条件下的货架期.

#### 1.3.3 腐败菌的分离纯化

将处于货架期末已经腐败的克氏原螯虾制品取出,在无菌操作台中将胀袋样品中的克氏原螯虾取出,用无菌剪刀去头去壳,称取虾肉10g,剪碎并加到90mL无菌生理盐水中,加塞密封震荡30min,使其混匀.取1mL上清液进行10倍梯度稀释直至 $10^{-6}$ ,然后取100μL涂布于营养琼脂平板中,每个稀释度做3个重复,同时做空白对照实验,将平板置于37℃恒温培养箱中培养.培养12h~18h后,挑取一个较合适的平板(约30cfu~300cfu)进行计数,挑取该平板上所有的可见菌落<sup>[11]</sup>编号并分离纯化,直至获得最终纯化的单菌落<sup>[12]</sup>.将纯化后的单菌落用终浓度为20%的甘油于-80℃保存.

#### 1.3.4 菌落形态与特征观察

菌落特征:菌落大小(细如针尖、小、中等、大);菌落质地(坚硬、干燥、湿润)<sup>[13]</sup>;菌落表面形状(平滑、褶皱、崎岖);菌落边缘形状(整齐、波状、枫叶状、树枝状等);菌落颜色.

#### 1.3.5 生理生化实验

根据《常见细菌系统鉴定手册》<sup>[14]</sup>和《伯杰细菌鉴定手册》<sup>[15]</sup>对各菌株进行吲哚实验、V-P实验、接触酶实验、淀粉水解实验、甲基红(MR)实验、动力实验、明胶液化实验等.

#### 1.3.6 16S rDNA的PCR扩增

DNA提取与纯化:采用Ezup柱式细菌基因组DNA抽提试剂盒直接提取单菌落DNA.16S rDNA目标片段的PCR扩增:以提取的基因组的DNA为模板,选用细菌通用引物27F(5'-AGTTTGATCMTGGCTC-3'),1492R(5'-GGTACCTTGTACGAC-3').选用25μL体系进行PCR反应.PCR反应条件为:94℃预变性4min,94℃变性45s,55℃退火45s,共30个循环,72℃延伸1min,72℃修复延伸10min,4℃终止反应.扩增产物经1%琼脂糖凝胶电泳(150V,100mA,20min)检测.使用SanPrep柱式DNA胶回收试剂盒回收纯化PCR扩增产物,并送上海生工生物工程技术有限公司测序.

#### 1.3.7 DNA测序和系统发育树的构建

将测得的16S rDNA序列在NCBI网站(<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>)上使用BLAST程序在GeneBank

基因库上进行同源性检索,然后选取相似性较高的代表菌株的 16S rDNA 序列,与测得的菌株用 ClustalX 1.83 校准排齐后进行多序列比较,用 MEGA 5.1 软件进行多重比较后通过邻接法(Neighbor-Joining)做 1 000 次随机抽样构建系统发育树<sup>[16-17]</sup>。

## 2 结果

### 2.1 克氏原螯虾调理产品冷藏过程中菌落总数的变化

克氏原螯虾调理产品冷藏过程中菌落总数的变化情况见图 1。

食品中的菌落总数能直接反映食品被污染的程度,以及是否符合卫生安全要求。Al-Dagal<sup>[18]</sup>等研究表明:虾类产品分两个鲜度,其中菌落总数低于 5.0 logcfu/mL 为一级鲜度;菌落总数在 5.0 logcfu/mL~5.7 logcfu/mL 为二级鲜度。当虾类食品中菌落总数超过二级鲜度时,表明其已经腐败不能再食用。由图 1 可知,经低温巴氏杀菌后,克氏原螯虾的菌落总数为 3.85 logcfu/mL,到 15 d 时,菌落总数达 5.34 logcfu/mL,已经超过虾类食品的一级鲜度,到 20 d 时,菌落总数为 7.05 logcfu/mL,超过了虾类食品的二级鲜度,已经不能食用。结果表明克氏原螯虾在冷藏条件下(4 ℃),货架期为 20 d 左右。

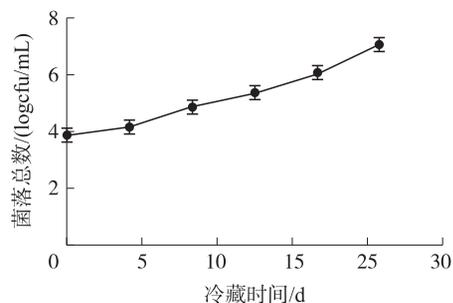


图 1 克氏原螯虾调理产品冷藏过程中菌落总数的变化

Fig. 1 Changes in CFU conditioning crayfish products with refrigeration

### 2.2 优势腐败菌的分离纯化

低温灭菌后的克氏原螯虾调理产品在冷藏条件下(4 ℃)贮藏 20 d 左右,即到达货架期末。随机对虾肉进行取样,经梯度稀释涂布后,在稀释度为  $10^{-5}$  的平板上共挑取 85 株菌落,分别划线纯化,并对纯化菌落进行革兰氏染色和芽孢染色。根据革兰氏染色和芽孢染色结果,将 85 株菌落大致分为 5 组,每组菌株的代表菌染色结果分别见图 2、图 3。

在分离得到的 5 组优势菌中选取其中的代表菌株,编号为 A7、A24、A31、D10、E3,经革兰氏染色后,其中有 4 株为革兰氏阳性菌,1 株为革兰氏阴性菌;经芽孢染色后,有 3 株菌株有芽孢。

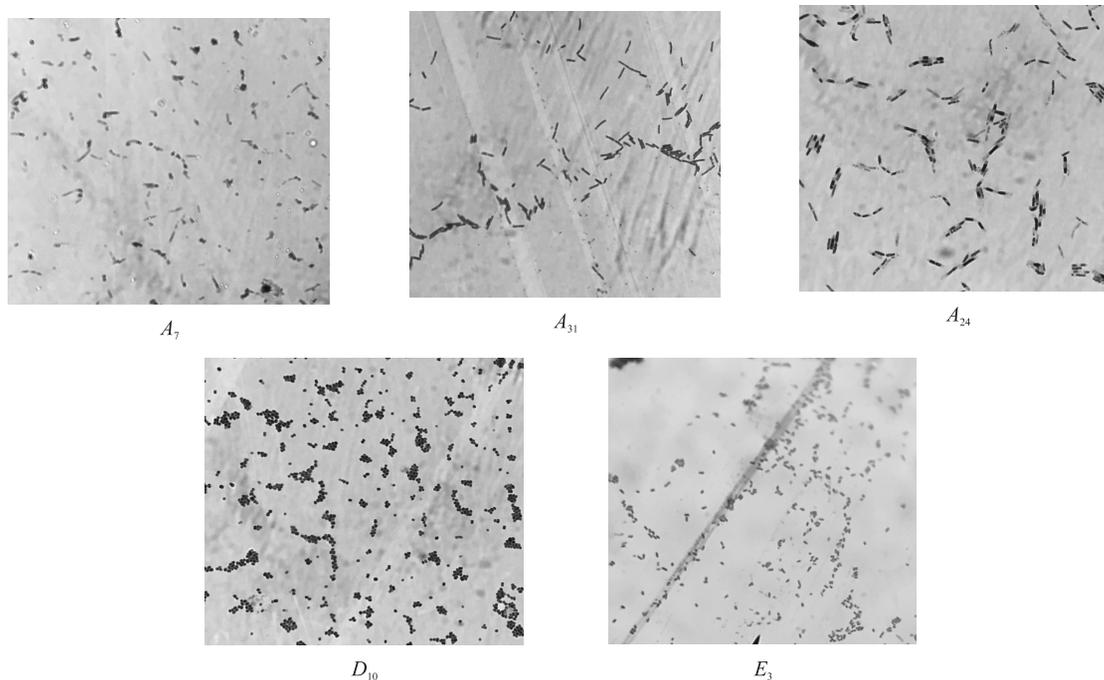


图 2 各代表菌株革兰氏染色图(1000 倍)

Fig. 2 Gram staining of each representative strain

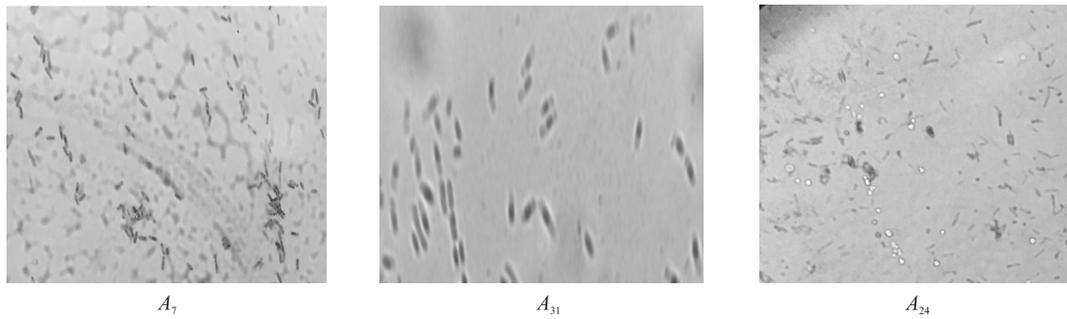


图 3 代表菌株的芽孢染色图(1000 倍)

Fig. 3 Spore staining of representative strains

### 2.3 腐败菌的菌落特征与形态观察

各代表菌株的菌落特征与形态观察结果见表 1.

表 1 各代表菌株的菌落特征与形态

Table 1 The colony characteristics and morphology of each representative strains

特征	A31	A24	D10	E3	A7
菌落形状	不规则	圆形	圆形	圆形	圆形
菌落颜色	粉红	白色	乳白	黄色	灰白
菌落大小	较大	中等	小	大	小
表面状态	粗糙干燥	干燥起皱	光滑	稍粗糙	湿润粘稠
边缘状态	缺刻状	平整光滑	整齐	整齐	不整齐
隆起程度	扁平	隆起	隆起	隆起	隆起

### 2.4 腐败菌的生理生化特征

对各代表菌株进行生理生化实验,根据《常见细菌系统鉴定手册》<sup>[14]</sup>和《伯杰细菌鉴定手册》<sup>[15]</sup>判定结果见表 2.

表 2 各代表菌株生理生化特征

Table 2 Physiological characteristics of each representative strain

实验名称	A7	A24	A31	D10	E3
吲哚实验	-	-	+	+	ND
V-P 实验	+	+	+	+	-
接触酶试验	+	+	+	+	+
M R 实验	-	-	+	+	+
尿素实验	-	-	+	-	-
葡萄糖利用实验	ND	+	+	ND	+
蔗糖利用实验	-	+	-	+	+
硝酸盐还原实验	ND	+	+	-	ND
淀粉水解实验	-	+	+	-	-
油脂水解实验	-	-	+	+	+
明胶液化实验	+	+	+	+	-
15 °C 生长实验	+	ND	+	-	+
40 °C 生长实验	+	+	+	+	+
7%Nacl	-	-	-	+	-

注:“+”为阳性;“-”为阴性;ND 为 not detected.

### 2.5 16S rDNA 的 PCR 扩增

各代表菌株的 16S rDNA 经 PCR 扩增后进行 1%琼脂糖凝胶电泳,结果见图 4. 由图 4 可知,经 1%琼脂糖凝胶电泳后,各代表菌株均得到特异性条带,片段大小均为 1 500 bp 左右.

### 2.6 16S rDNA 序列比对与系统发育树构建

将冷藏克氏原螯虾分离出的 5 株代表菌株经 16S rDNA 扩增后的产物送检测序,所得结果使用 NCBI 的 BLAST 分析,选取同源性在 99%以上的菌株序列,利用 ClustalX 1.83 校准排齐后进行多序列比较,用 MEGA 5.1 软件进行多重比较后通过邻接法(Neighbor-Joining)构建系统发育树,见图 5.

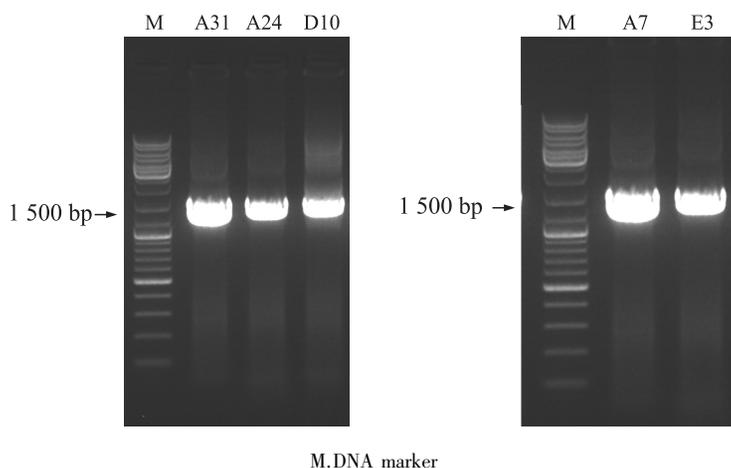


图 4 1% 琼脂糖凝胶电泳图

Fig. 4 Picture of 1% agarose gel electrophoresis

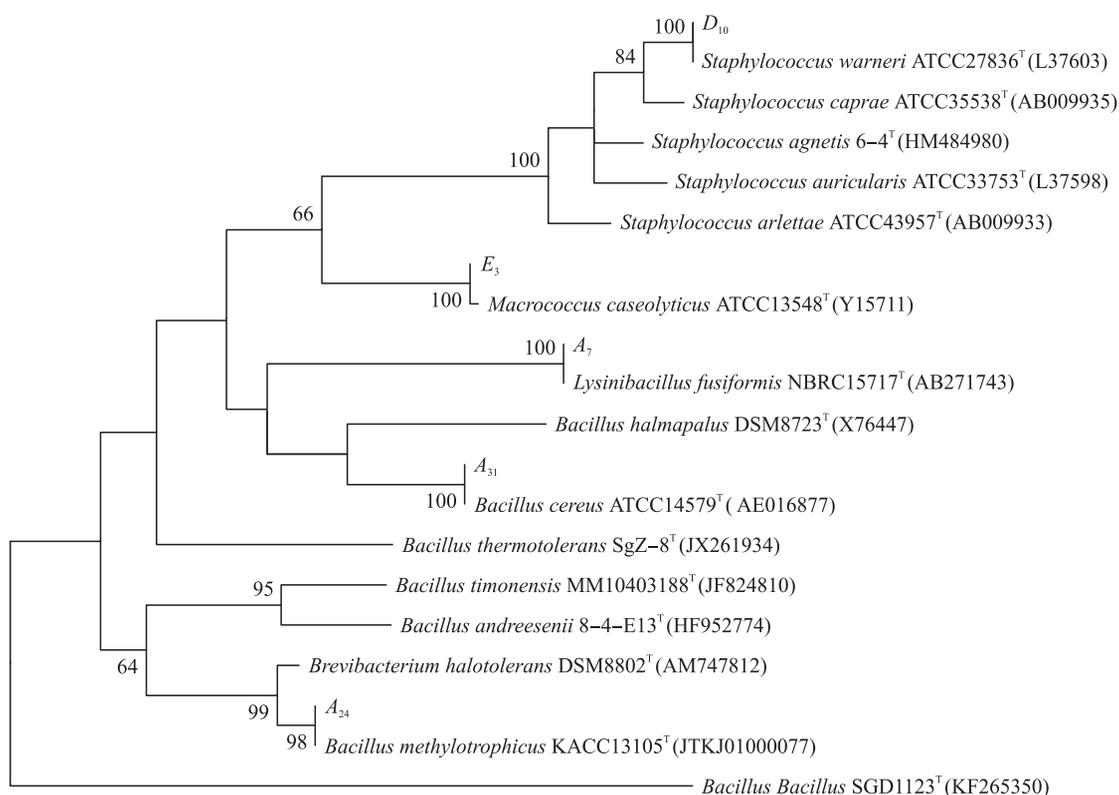


图 5 各代表菌株的系统发育树

Fig. 5 Phylogenetic tree of each representative strain

结合 5 株代表菌的菌落形态及部分生理生化实验和 16S rDNA 分子鉴定,可判定 A31、A24 和 A7 为芽孢杆菌属,其中 A31 为蜡样芽孢杆菌(*Bacillus cereus*);A24 为甲基营养型芽孢杆菌(*Bacillus methlotrophicus*);A7 为赖氨酸芽孢杆菌(*Lysinibacillus fusiformis*)。而 D10 为沃氏葡萄球菌(*Staphylococcus wameri*);E3 为溶酪巨型球菌(*Macrocooccus caseolyticus*)。

### 3 讨论

水产品由于蛋白质、水分含量高、脂肪高度不饱和等特点非常容易被微生物污染而腐败变质,从而导致产品货架期缩短。

张永进等<sup>[11]</sup>研究了常温贮藏条件下即食小龙虾的主要优势腐败菌,结果表明:在 25 ℃ 条件下贮藏的小龙虾制品其主要优势腐败菌为苏云金芽孢杆菌(*Bacillus thuringiensis*),苏云金芽孢杆菌与蜡样芽孢杆菌

属于同源菌群,通常低温加热灭菌方法难以将其杀灭,这也是导致小龙虾制品腐败变质的重要因素,本研究结果与其结果相似。谢丽丹等<sup>[19]</sup>研究了低温贮藏下南美白对虾的特定腐败菌,其结果表明:在对虾中共分离获得12株优势菌株,其中包括蜡样芽孢杆菌和地衣芽孢杆菌(*Bacillus licheniformis*),这也表明在虾类物质的贮藏过程中,芽孢杆菌为主要优势菌群。唐文静<sup>[17]</sup>等对冷藏海鲈鱼优势腐败菌进行筛选和鉴定,其结果表明:冷藏海鲈鱼中主要的优势腐败菌为腐败希瓦氏菌(*Shewanella putrefaciens*)和假单胞菌,经研究发现在有氧冷藏条件下贮藏的鲜鱼SSO主要为希瓦氏菌和假单胞菌(*Pseudomonas sp.*)。Gill<sup>[20]</sup>等人研究认为假单胞菌属和希瓦氏菌是冷链流通中高水分蛋白食品的特定腐败菌。这与本研究中克氏原螯虾制品的优势腐败菌有所差异,原因可能是本研究是将克氏原螯虾蒸煮后真空包装,然后低温巴氏杀菌将大部分希瓦氏菌或假单胞菌杀死,使其难以生长繁殖,而低温巴氏杀菌无法杀灭嗜热菌以及芽孢菌属。杨宪时等<sup>[21]</sup>研究表明:低温巴氏杀菌处理制作的真空蒸煮袋食品,贮藏中芽孢杆菌(*Bacillus*)或梭状芽孢杆菌(*Clostridium*)会大量生长。

此外,也有研究表明,水产品中产生的许多微生物代谢与肉类产品相似<sup>[22]</sup>,黄林<sup>[23]</sup>等对冷却猪肉优势腐败菌分离鉴定,结果表明:在分离得到的5株腐败菌中,芽孢杆菌属占优势且腐败能力较强。雷鸣<sup>[24]</sup>等对不同真空包装冷藏肉制品进行优势菌检测,结果表明,芽孢杆菌属(*Bacillus*)、葡萄球菌属(*Staphylococcus*)为冷藏真空肉制品中主要的优势菌。

## 4 结语

经低温巴氏杀菌后的克氏原螯虾调理产品在冷藏条件(4℃)下,货架期较短,只有20d左右。分离纯化克氏原螯虾中的主要优势腐败菌,通过菌落形态、生理生化实验和16S rDNA方法对冷藏克氏原螯虾中的优势腐败菌进行分离鉴定。检测结果表明,分离出的5株优势腐败菌分别为:蜡样芽孢杆菌(*Bacillus cereus*)、甲基营养型芽孢杆菌(*Bacillus methlotrophicus*)、赖氨酸芽孢杆菌(*Lysinibacillus fusiformis*)、沃氏葡萄球菌(*Staphylococcus wameri*)和溶酪巨型球菌(*Macrocooccus caseolyticus*)。

针对本实验冷藏克氏原螯虾调理产品中分离筛选出的几种优势菌,可有选择地开发利用合适的天然防腐剂来抑制优势菌的生长繁殖,以此来延长冷藏克氏原螯虾调理产品的货架期,使克氏原螯虾制品得以更加广泛地推广。

### [参考文献]

- [1] 戈兴杰. 盱眙龙虾产业化研究[D]. 上海:上海水产大学,2007.
- [2] BONO G, GAI F. Chemical and nutritional characterisation of the central mediterranean giant red shrimp: influence of trophic and geographical factors on flesh quality[J]. Food chemistry, 2012, 130(1): 104-110.
- [3] 沈毅. 江苏省克氏原螯虾产业发展报告[J]. 中国水产, 2010(6): 14-16.
- [4] 郭力, 过世东, 刘海英. 盐煮和微波加热对即食龙虾质构的影响[J]. 食品与生物技术学报, 2011(3): 376-380.
- [5] KAMADIA V V, SCHILLING M W, MARSHALL D L. Cooking and packaging methods affect consumer acceptability and shelf life of ready-to-eat gulf brown shrimp[J]. Journal of aquatic food product technology, 2013, 22(2): 146-159.
- [6] 王焕庆, 李学英, 杨宪时, 等. 高水份烤虾贮藏过程中的品质变化和菌相分析[J]. 食品与机械, 2012, 28(2): 165-169.
- [7] SUN D W. Thermal food processing: new technologies and quality issues[M]. 2nd ed. Boca Raton: CRC Press, 2012.
- [8] 陈银基, 周光宏, 鞠兴荣. 蒸煮与微波加热对牛肉内脂肪中脂肪酸组成的影响[J]. 食品科学, 2008, 29(2): 130-136.
- [9] 曹荣, 刘淇, 殷邦忠, 等. 虾仁TPA质构分析及不同熟制加工方式对其品质的影响[J]. 食品研究与开发, 2010(6): 1-5.
- [10] DALGAARD P. Qualitative and quantitative characterization of spoilage bacteria from packed fish[J]. Int J Food Microbiol, 1995, 26: 319-333.
- [11] 张永进, 魏静, 王伟, 等. 巴氏灭菌克氏原螯虾特定腐败菌的16S rRNA鉴定[J]. 渔业现代化, 2013(6): 46-51.
- [12] 曹荣, 刘淇, 殷邦忠. 对虾冷藏过程中细菌菌相变化的研究[J]. 保鲜与加工, 2011(1): 17-20.
- [13] 高磊, 谢晶, 叶藻, 等. 冷鲜鸡腿肉中优势腐败菌的分离鉴定及腐败能力研究[J]. 食品与发酵工业, 2015(8): 48-53.
- [14] 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: 66-242.

(下转第115页)

- [14] 中国科学院实验生物研究所. 家鱼人工生殖的研究[M]. 北京:科学出版社,1962:125-136.
- [15] 易伯鲁,余志堂,梁秩,等. 葛洲坝水利枢纽与长江四大家鱼[M]. 武汉:湖北科技出版社,1998.
- [16] 上海水产学院. 组织胚胎学[M]. 北京:农业出版社,1981:321-322.
- [17] 江林源,梁万文,黄光华,等. 倒刺鲃的人工繁殖技术研究[J]. 西南农业学报,2006,19(6):1 172-1 175.
- [18] 李修峰,黄道明,谢文星,等. 汉江中游银鮡的胚胎发育[J]. 大连水产学院学报,2005,20(3):181-185.
- [19] 任波,任慕莲,郭焱,等. 扁吻鱼胚胎及仔鱼发育的形态学观察[J]. 大连海洋大学学报,2008,22(6):397-402.
- [20] 耿龙武,徐伟,蔺玉华,等. 大鳞鲃人工繁育技术初报[J]. 吉林农业大学学报,2010,32(2):218-220.
- [21] 张峰,权生林. 虹鳟鱼人工繁殖和养殖技术[J]. 水产养殖,2015,36(12):22-24.
- [22] 郑文彪. 泥鳅胚胎和幼鱼发育的研究[J]. 水产学报,1985,9(1):37-47.
- [23] 曹克驹,徐桂珍,邢国新. 草鱼、鲢、鳙鱼卵受精率计算方法的探讨[J]. 水生态学,1995(6):3-5.
- [24] 徐桂珍,沈新玉. 四大家鱼鱼卵受精率计算方法的探讨[J]. 安徽农业科学,1994,22(2):190-192.
- [25] 刘筠. 中国养殖鱼类繁殖生理学[M]. 北京:农业出版社,1993:56-101.
- [26] СМІРНОВА Е Н. 鱼类发育生态形态和生态生理学研究[M]. 北京:科学出版社,1985:44-55.
- [27] 易祖盛,王春. 尖鳍鲤的早期发育[J]. 中国水产科学,2002,9(2):120-124.
- [28] 赵鹤凌. 胭脂鱼胚胎发育的观察[J]. 水利渔业,2006,26(1):34-35.
- [29] JOBLING M. Environmental biology of fishes[M]. London; Chapman N & Hall,1995:357-390.
- [30] 王吉桥,赵兴连. 鱼类增养殖学[M]. 大连:大连理工大学出版社,2000:130-180.
- [31] 殷名称. 鱼类生态学[M]. 北京:中国农业出版社,1995:105-130.

[责任编辑:黄 敏]

(上接第 108 页)

- [15] BUCHANAN R E. 伯杰氏菌种鉴定手册[M]. 8版. 北京:科学出版社,1984:274-828.
- [16] EFRON B, HALLORAN E, HOLMES S. Bootstrap confidence levels for phylogenetic trees[J]. Proceedings of the national academy of sciences,1996,93(14):7 085-7 090.
- [17] 唐文静,王楚文,柳云龙,等. 冷藏海鲈鱼优势腐败菌的筛选和鉴定[J]. 食品科学,2016(3):170-174.
- [18] AL-DAGAL M M, BAZARAA W A. Extension of shelf life of whole and peeled shrimp with organic acid salts and bifidobacteria[J]. Journal of food protection,1999,62(1):51-56.
- [19] 谢丽丹,李蕾蕾,王素英. 低温贮藏南美白对虾特定腐败菌的分离鉴定及腐败能力分析[J]. 食品与发酵工业,2016(3):67-72.
- [20] GILL C O, BADONI M, JONES T. Hygienic effects of of trimming and washing operations in a beef carcass dressing process[J]. Journal of food protection,1996,59:666-669.
- [21] 杨宪时,郭全友,许钟. 罗非鱼冷藏过程细菌种群的变化[J]. 中国水产科学,2008,15(6):1 050-1 055.
- [22] NYCHAS G J E, DROSINOS E H, BOARD R G. Chemical changes in stored meat[A]. Board RG, Davies A. Microbiology of meat and poultry[M]. London, England; Blackie Academic and Professional,1998:288-326.
- [23] 黄林,陈全胜,张燕华,等. 冷却猪肉优势腐败菌分离鉴定及致腐能力测定[J]. 食品科学,2013(1):205-209.
- [24] 雷鸣,蒋荣荣,鞠荣华,等. 低温肉制品中微生物检测及优势菌群的鉴定和分析[J]. 中国酿造,2013,32(3):83-87.

[责任编辑:黄 敏]