

免疫磁珠技术分离检测熟制食品中的 蜡样芽孢杆菌

平 洋, 谭 静, 王晓瑞, 朱海华, 王法云, 周 莉*

(河南省商业科学研究所有限责任公司, 郑州 450002)

摘要: **目的** 建立一种免疫磁珠技术分离富集熟制食品中的蜡样芽孢杆菌。**方法** 在一定量的蜡样芽孢杆菌体系中优化免疫磁珠与抗体用量以及最佳反应时间。在最佳实验条件下, 对免疫磁珠分离蜡样芽孢杆菌的敏感性和特异性进行实验, 并对实际熟制食品的蜡样芽孢杆菌进行分离。**结果** 最终确定了蜡样芽孢杆菌抗体添加量 50 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、免疫磁珠添加量 100 μL , 免疫磁珠与菌液最佳作用时间为 15 min, 当菌液稀释度达到 10^{-7} , 免疫磁珠法仍然可以检出, 相应的细菌数为 4 CFU/mL。**结论** 本实验制备的免疫磁珠技术灵敏性高, 特异性好, 节省了检测时间和费用, 适用于食品中的蜡样芽孢杆菌的检测。

关键词: 蜡样芽孢杆菌; 检测; 免疫磁珠

Separation and determination of *Bacillus cereus* in cooked foods by immunomagnetic beads technology

PING Yang, TAN Jing, WANG Xiao-Rui, ZHU Hai-Hua, Wang Fa-Yun, ZHOU Li*

(The Institute of Commercial Sciences Co., Ltd of Henan Province, Zhengzhou 450002, China)

ABSTRACT: Objective To establish an immunomagnetic beads technique for the separation and determination of *Bacillus cereus* in cooked foods. **Methods** In a certain amount of *Bacillus cereus* system to optimize the immune magnetic beads and antibody dosage and the best reaction time. Under the best experimental conditions, the sensitivity and specificity of bacillus cereus isolated by immunomagnetic beads were tested. **Results** The amount of *Bacillus cereus* antibody added was 50 $\mu\text{g}/\text{mL}$, the amount of immunomagnetic beads was 100 μL , and the optimal time for immunomagnetic beads and bacteria was 15 min. When the dilution of the bacteria reached 10^{-7} , the immunomagnetic beads were obtained. The method could still be detected, and the corresponding bacteria number was 4 CFU/mL. **Conclusion** The immunomagnetic beads technology prepared in this experiment has high sensitivity and good specificity, saves detection time and cost, and is suitable for detection of *Bacillus cereus* in food.

KEY WORDS: *Bacillus cereus*; detection; immuno magnetic beads

基金项目: 河南省科学院基本科研业务费项目(190611031)

Fund: Supported by Basic Scientific Research Business Expenses of Henan Academy of Sciences (190611031)

*通讯作者: 周莉, 助理研究员, 主要研究方向为食品安全研究。E-mail: zhoulizuo@126.com

*Corresponding author: ZHOU Li, Assistant Professor, The Institute of Commercial Sciences Co., Ltd. of Henan Province, Zhengzhou 450002, China. E-mail: zhoulizuo@126.com

1 引言

蜡样芽孢杆菌作为一种常见的食源性致病微生物,广泛存在于水、空气、土壤等可能与食品接触的环境中,较容易引起食物中毒。蜡样芽孢杆菌(*Bacillus cereus*)属于兼性喜氧菌,革兰氏阳性杆菌。在 20~45 °C 生长较好,而在 10 °C 或 10 °C 以下生长缓慢或不生长,而在 100 °C 加热一定时间即可杀死该菌^[1]。由于毒性因子及生长环境的不同,一些蜡样芽孢杆菌在食品行业和畜牧上会被作为益生菌添加到食品和饲料中,有的菌株则为条件性致病菌^[2],对食品健康以及人们生存环境造成影响巨大。蜡样芽孢杆菌分布较广,在生熟制品食品中较常见,容易造成食物中毒。而食物放置时间较长或保存温度不当,容易使污染的蜡样芽孢杆菌繁殖,从而产生毒素引起中毒。在美国,引发蜡样芽孢杆菌食物中毒的主要原因是炒米饭;在欧洲主要由牛奶、肉类食品和甜品引起,在我国主要与受污染的米饭或淀粉类制品有关^[3]。呕吐和腹泻是蜡样芽孢杆菌的中毒典型症状,与其他细菌毒素导致的中毒症状较相似,如金黄色葡萄球菌肠毒素^[4],二者都能导致急性的恶心与呕吐症状,因此,容易低估蜡样芽孢杆菌所导致的食物中毒事件^[5]。

目前,一些学者对此致病菌进行了相关研究。如贾雅菁等^[6]在环介导等温扩增(loop-mediated isothermal amplification, LAMP)反应体系中加入 SYBR GreenI,实现了对蜡样芽孢杆菌的定性荧光监测; Dzieciol 等^[7]针对蜡样芽孢杆菌 *gyr B*、16S rRNA 和编码呕吐毒素的基因构建了 mPCR 体系,人工污染牛奶中检测限达 1.91×10^3 CFU/mL; artinez 等^[8]对食品中活的蜡样芽孢杆菌进行了 qPCR 定量检测,检测限能达到 1.1×10^4 CFU/mL; 刘立兵等^[9]建立了实时荧光重组酶聚合酶扩增方法,在 39 °C 恒温下仅需 20 min 即可完成检测。孙婷婷^[10]等采用 PCR 扩增技术和血平板检测的方法对 176 份乳源性食品进行检测,婴幼儿配方食品和谷类辅助食品蜡样芽孢杆菌检出率为 12.5%。赵薇等^[11]对吉林省不同地区各流通环节的 1693 份样品进行检测,共检出蜡样芽孢杆菌 557 株,总检出率为 32.9%。蜡样芽孢杆菌传统的检测方法操作过程繁琐,检测周期长,需要经验丰富的操作人员^[12]。上述方法中总结了国内外学者最新研究的检测及控制蜡样芽孢的手段^[13],LAMP 成本较高,PCR 耗时较长且成本高,因此,建立快速且准确的蜡样芽孢杆菌检测方案对其进行监控,为食品安全监管以及临床诊断提供可靠的手段^[14]。

免疫磁珠技术作为一种快速的微生物技术,具有特异性好,灵敏度高,能将致病菌和食品基质快速分离,达到分离富集细菌的目的^[15,16]。在一定程度上弥补了目前其他微生物检测方法存在的检测周期长、检测灵敏度低等弊端,在实现食品卫生安全检测方面具有重要意义。目前已有将免疫磁珠技术应用于金黄色葡萄球菌^[17]和单增李斯特

菌^[18]等食源性病原微生物的检测研究,但在食品中蜡样芽孢杆菌的应用研究相对较少。本研究在此基础上利用免疫磁珠技术,建立了食品中蜡样芽孢杆菌的检测方法。研究快速、准确的蜡样芽孢杆菌检测方法具有重要的现实意义,不仅能防止食物污染和食源性疫情,提高食品的安全性;而且有助于全面准确地评估蜡样芽孢杆菌的风险,为主动监测和预警提供科学依据。

2 材料与方法

2.1 试剂、仪器与材料

蜡样芽孢杆菌(CMCC63303)、金黄色葡萄球菌(ATCC6538)、鼠伤寒沙门氏菌(CMCC 50115)、单增李斯特菌(ATCC 19115)、枯草芽孢杆菌(ATCC6633)、苏云金芽孢杆菌、大肠埃希氏菌(CMCC44102)、阪崎肠杆菌(ATCC29544)(广东环凯微生物科技有限公司)。

兔抗蜡样芽孢杆菌抗体(实验室自制)。

营养琼脂、营养肉汤、显色培养基(青岛海博生物技术有限公司)。

甘油、十二水合磷酸一氢钠、磷酸二氢钾、氯化钠、氯化钾、吐温-20、脂肪酸甲酯磺酸盐(分析纯,国药集团化学试剂有限公司);PBS 缓冲溶液(0.01 mol/L, pH 7.4, 实验室自制)。

DPX-9162B-2 电热恒温培养箱(上海福玛公司); YXQ-LS-50 立式压力蒸汽灭菌锅(上海博迅公司); GL3202-1SCN 电子天平(瑞士梅特勒-托利多公司); UNIVERSAL 320R 高速离心机(德国 Hettich 公司); QL-866 旋涡振荡器(江苏其林贝尔公司); BSC-1500HB2-X 生物安全柜(鑫贝西 Biobase 公司); SHZ-82 恒温振荡器(常州润华仪器公司); 磁力架(天津倍思乐公司); HH-S 恒温水浴锅(金坛医疗公司); -80 °C 冰箱(中科美菱公司)、milli-Q 超纯水仪(美国 Milipore 公司)。

炒青菜、鸡丝花菜、红烧肉、卤鸭肉(河南省科高食品安全检测有限公司提供)。

2.2 方法

2.2.1 蜡样芽孢杆菌菌种活化

(1) 取出低温保存的蜡样芽孢杆菌菌种,接种于营养琼脂斜面,37 °C 恒温培养。

(2) 挑取单菌落,接种于营养肉汤中,30 °C 振荡 200 r/min,培养 10 h。

取 1 mL 菌液放入 1.5 mL 环氧树脂管(epoxy pipe, EP)中,离心去上清,加入新鲜培养基 500 μ L 后,加入等体积的灭菌 20% 的甘油,保存于 -70 °C 冰箱。

2.2.2 抗体添加量的确定

分别加入不同含量的蜡样芽孢杆菌抗体到蜡样芽孢杆菌培养液中(稀释至 10^4 CFU/mL)。取 100 μ L 的细菌培

养液加入到 100 μL 磁珠(100 mg/mL)中, 37 $^{\circ}\text{C}$ 振荡吸附 15 min, 静置磁力架上 2 min 分层, 弃上清液, 重复洗涤 2 次, 加入 1 mL 0.01 mol/L PBS 缓冲液振荡重悬磁珠, 涂于显色培养基, 30 $^{\circ}\text{C}$ 培养 24 h 观察。

2.2.3 免疫磁珠添加量的确定

分别取不同添加量的免疫磁珠, 加入到 1 mL 蜡样芽孢杆菌培养液中(稀释至 10^4 CFU/mL), 37 $^{\circ}\text{C}$ 振荡吸附 15 min, 静置磁力架上 2 min 分层, 弃上清液, 重复洗涤 2 次, 加入 1 mL 0.01 mol/L PBS 缓冲液振荡重悬磁珠, 涂于显色培养基, 30 $^{\circ}\text{C}$ 培养 24 h 观察。

2.2.4 免疫磁珠与菌液最佳反应时间

分别取偶联磁珠 100 μL , 加入到 1 mL 蜡样芽孢杆菌培养液中, 37 $^{\circ}\text{C}$ 振荡吸附 5、10、15、20、25 min 后, 静置磁力架上 2 min 分层, 弃上清液, 重复洗涤 2 次, 加入 1 mL 0.01 mol/L PBS 缓冲液振荡重悬磁珠, 吸取 50 μL 涂于显色培养基, 30 $^{\circ}\text{C}$ 培养 24 h 观察。

2.2.5 免疫磁珠分离蜡样芽孢杆菌的敏感性试验

将蜡样芽孢杆菌菌液, 按一定梯度进行倍比稀释。取 100 μL 免疫磁珠分别加入到 1 mL 的经稀释至 10^4 CFU/mL 的蜡样芽孢杆菌培养液中, 37 $^{\circ}\text{C}$ 振荡吸附 15 min, 静置磁力架上 2 min 分层, 弃上清液, 重复洗涤 2 次, 加入 1 mL 0.01 mol/L PBS 缓冲液振荡重悬磁珠, 然后涂于显色培养基, 30 $^{\circ}\text{C}$ 培养 24 h, 观察平板上菌落的生长状况。

2.2.6 免疫磁珠分离蜡样芽孢杆菌的特异性试验

将 100 μL 免疫磁珠, 分别加入到 1 mL 蜡样芽孢杆菌、鼠伤寒沙门氏菌、枯草芽孢杆菌、苏云金芽孢杆菌、金黄色葡萄球菌、乙型溶血性链球菌、大肠埃希氏菌和阪崎肠杆菌混合液中。37 $^{\circ}\text{C}$ 振荡吸附 15 min, 静置磁力架上 2 min 分层, 弃上清液, 重复洗涤 2 次, 加入 1 mL 0.01 mol/L PBS 缓冲液振荡重悬磁珠, 然后涂于显色培养基, 30 $^{\circ}\text{C}$ 培养 24 h, 观察平板上菌落的生长状况。

2.2.7 熟制样品的检测

分别称取 25 g 炒青菜、鸡丝花菜、红烧肉、卤鸭肉为基质样品, 每份样品中加入 225 mL 稀释液, 分别接种蜡样芽孢杆菌(CMCC63303)(10^4 CFU/mL)制备样品。充分混匀(所有样品均质 2 min), 加入免疫磁珠, 37 $^{\circ}\text{C}$ 振荡吸附 15 min, 磁分离 2 min, 取上清, 并用 PBS 洗涤。并作空白对照, 涂于显色培养基, 30 $^{\circ}\text{C}$ 培养 24 h, 观察平板上菌落的生长状况, 并计算捕获率。

3 结果与分析

3.1 抗体添加量的确定

用不同浓度的磁珠偶联抗体, 经 2.2.2 步骤处理后培养观察。由图 1 可知, 当抗体量添加过低时, 富集到的细菌数较少, 随着抗体量的增多, 富集到的细菌数也越来越多。但超过了一定浓度细菌数并不增加, 所以选用蜡样芽

孢杆菌抗体添加量为 50 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 。

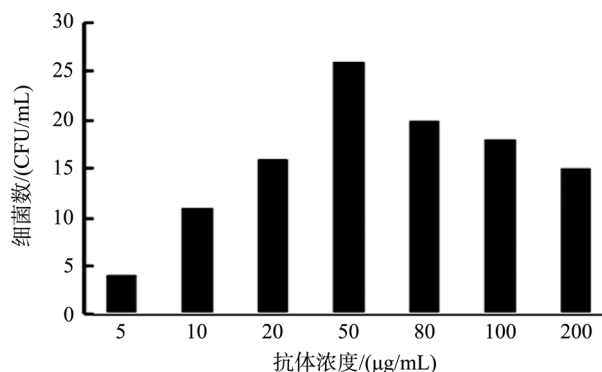


图 1 抗体添加量的确定

Fig.1 Determination of the addition of antibodies

3.2 免疫磁珠添加量的确定

取偶联后的免疫磁珠 5、10、20、50、80、100、150 和 200 $\mu\text{g}/\text{mL}$, 经 2.2.3 步骤处理后培养观察。由图 2 得出, 细菌数并不随免疫磁珠添加量的增多而增多, 且磁珠量过多, 会导致非特异性反应的发生, 当磁珠添加量为 100 μL 时, 细菌数最多。故免疫磁珠添加量确定为 100 μL 。

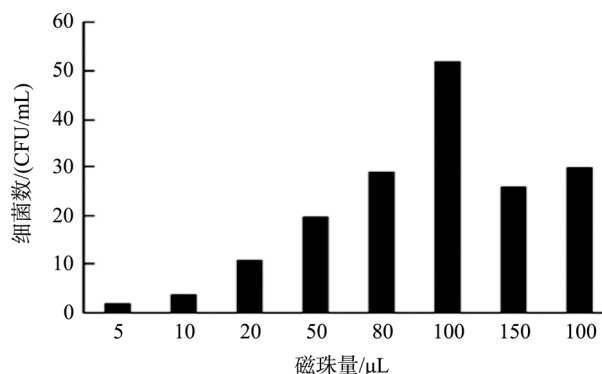


图 2 免疫磁珠添加量的确定

Fig.2 Determination of the addition of immuno magnetic beads

3.3 免疫磁珠与菌液最佳反应时间

分别取磁珠 100 μL , 经 2.2.4 步骤处理后培养观察。由图 3 得出, 磁珠与菌液作用时间为 15 min 时细菌数最多, 选用 15 min 作为磁珠与菌液最佳反应时间。

3.4 免疫磁珠分离蜡样芽孢杆菌的敏感性试验

对每个稀释度铺板培养后进行菌落计数, 利用蜡样芽孢杆菌免疫磁珠富集分离敏感性可达到 4 CFU/mL, 而直接平板计数法(GB 4789.14-2014 《食品安全国家标准 食品微生物学检验 蜡样芽孢杆菌检验》^[19])已经不能检出菌落, 如表 1, 免疫磁珠富集效果较直接平板计数高出 1 个数量级, 提高了蜡样芽孢杆菌菌液中蜡样芽孢杆菌的检出率, 敏感度较好, 与直接涂板相比免疫磁珠具有一定的灵敏度。

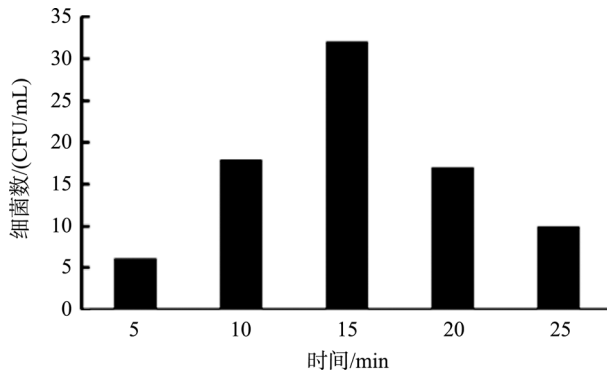


图 3 免疫磁珠与菌液最佳反应时间

Fig.3 Optimum reaction time between immuno magnetic beads and bacterial solution

表 1 免疫磁珠技术的敏感性试验

稀释度	直接平板计数/(CFU/mL)	磁珠组细菌数/(CFU/mL)
10^{-3}	>300	>300
10^{-4}	>300	>300
10^{-5}	84	95
10^{-6}	3	16
10^{-7}	-	4
10^{-8}	-	-

注: -为未检出。

3.5 免疫磁珠分离蜡样芽孢杆菌的特异性试验

经过分离、培养、染色镜检及生化鉴定检测后发现蜡样芽孢杆菌平板菌落较多,与直接涂布较为接近,但多于直接涂布,说明蜡样芽孢杆菌免疫磁珠富集效果较好。其他干扰菌直接涂布平板,芽孢杆菌属均有生长,而经蜡样芽孢杆菌免疫磁珠富集分离后涂布平板相对直接涂布则均较少或很少生长,如表 2,说明蜡样芽孢杆菌的特异性良好。

表 2 免疫磁珠技术的特异性试验

菌液	蜡样芽孢杆菌免疫磁珠	直接平板计数
蜡样芽孢杆菌	+++	++
鼠伤寒沙门氏菌	-	-
金黄色葡萄球菌	-	-
乙型溶血性链球菌	-	-
枯草芽孢杆菌	++	+
苏云金芽孢杆菌	++	+
蕈状芽孢杆菌	++	+
大肠埃希氏菌	-	-
阪崎肠杆菌	-	-

注: +++表示生长较多(>100 CFU/mL), ++表示生长较少(10~100) CFU/mL, +表示生长很少(1~10) CFU/mL, -表示未生长。

3.6 熟制食品检测

分别取炒青菜、鸡丝花菜、红烧肉、卤鸭肉等系列菜品,放置 15 h 后,加入一定浓度目的菌,经前处理步骤处理后,取 100 μ L 的免疫磁珠与不同基质的菌悬液均匀混合,样品按照前述方法进行免疫磁珠检测,检测出与预期相符的蜡样芽孢杆菌。

在纯培养液、炒青菜、鸡丝花菜、红烧肉、卤鸭肉中,由表 3 可以看出,免疫磁珠在纯培养液中富集效果较好,吸附率能达到 81.0%,在食品基质中吸附率均能达到 62% 以上,说明本实验制备的免疫磁珠抗干扰能力较强。

表 3 免疫磁珠对样品的检测

样品	对照菌数/(CFU/mL)	残留菌数/(CFU/mL)	吸附率/%
纯培养液	3.58×10^2	6.8×10	81.00
炒青菜	2.89×10^2	8.1×10	71.90
鸡丝花菜	2.78×10^2	9.9×10	64.38
红烧肉	2.66×10^2	8.7×10	67.30
卤鸭肉	2.81×10^2	1.04×10^2	62.99

4 小 结

本实验通过对免疫磁珠添加量免疫磁珠与菌液最佳反应时间免疫磁珠分离蜡样芽孢杆菌的敏感性试验、特异性试验的研究,确定了蜡样芽孢杆菌免疫磁珠添加量 100 μ L,免疫磁珠与菌液最佳作用时间为 15 min,免疫磁珠法检测灵敏度底限为 10^{-7} ,相应的细菌浓度为 4 CFU/mL,免疫磁珠具有较好的灵敏度和特异性。在食品基质中能达到较好效果。

参考文献

- 刘芳,罗臻,黄静敏,等.致病性蜡样芽孢杆菌的研究进展[J]. 检验检疫学刊,2016,26(1): 68-71.
Liu F, Luo Z, Huang JM, et al. Research progress of pathogenic *Bacillus cereus* [J]. J Inspect Quarant, 2016, 26(1): 68-71.
- 董丹,车振明,杨娜,等.豆瓣中腐败菌蜡样芽孢杆菌性能及对抗生素敏感性研究[J]. 中国酿造,2015, (34): 7.
Dong D, Che ZM, Yang N, et al. The characteristics of *Bacillus cereus* in soybean paste and its sensitivity to antibiotics [J]. Chin Brew, 2015, (34): 7.
- 褚小菊. 米饭中蜡样芽孢杆菌引起食物中毒的风险分析[J]. 粮食与饲料工业,2011, (3): 12-15.
Chu XJ. Risk analysis of food poisoning caused by *Bacillus cereus* in rice [J]. Food Feed Ind, 2011, (3): 12-15.
- Stenfors ALP, Fagerlund A, Granum PE. From soil to gut: *Bacillus cereus* and its food poisoning toxins [J]. FEMS Microbiol Review, 2008, 32(4): 579-606.
- 黄晶菁,罗静,何宏轩.蜡样芽孢杆菌检测方法研究进展[J]. 中国畜牧兽医,2018, 45(3): 635-642.

- Huang JJ, Luo J, He HX. Progress in detection of *Bacillus cereus* [J]. Chin Anim Husband Veter Med, 2018, (3): 635-642.
- [6] 贾雅菁, 付博宇, 王羽, 等. 实时荧光环介导等温扩增技术检测牛乳中的蜡样芽孢杆菌[J]. 食品科学, 2016, 37(6): 184-189.
Jia YJ, Fu BY, Wang Y, et al. Detection of *Bacillus cereus* in milk by real-time fluorescence loop mediated isothermal amplification [J]. Food Sci, 2016, 37(6): 184-189.
- [7] Dziejczal M, Fricker M, Wagner M, et al. A novel diagnostic real-time PCR assay for quantification and differentiation of emetic and non-emetic *Bacillus cereus* [J]. Food Control, 2013, 32(1): 176-185.
- [8] Martínez-Blanch JF, Sánchez G, Garay E, et al. Detection and quantification of viable *Bacillus cereus* in food by RT-PCR [J]. Eur Food Res Technol, 2011, 232(6): 951-955.
- [9] 刘立兵, 南汇珠, 孙晓霞, 等. 食品中蜡样芽孢杆菌实时荧光 RPA 检测方法的建立与应用[J]. 食品科学技术学报, 2018, 36(1): 89-94.
Liu LB, Nan HZ, Sun XX, et al. Establishment and application of real-time fluorescence RPA assay for detection of *Bacillus cereus* in food [J]. J Food Sci Technol, 2018, 36(1): 89-94.
- [10] 孙婷婷, 王伟杰, 韩佳敏, 等. 2016 年辽宁省婴幼儿配方食品及谷类辅助食品中蜡样芽孢杆菌毒力基因的鉴定[J]. 中国微生物生态学杂志, 2018, 30(7): 791-794.
Sun TT, Wang WJ, Han JM, et al. Identification of virulence genes of *Bacillus cereus* in formulated foods and cereals of Liaoning Province in 2016 [J]. Chin J Microecol, 2018, 30(7): 791-794.
- [11] 赵薇, 孙景昱, 刘思洁. 吉林省 2011-2015 年食品中蜡样芽孢杆菌污染监测数据分析[J]. 食品安全质量检测报, 2018, 9(5): 1190-1194.
Zhao W, Sun JY, Liu SJ. Analysis of monitoring data of *Bacillus cereus* contamination in food of Jilin province from 2011 to 2015 [J]. J Food Saf Qual, 2018, 9(5): 1190-1194.
- [12] 刘立兵, 南汇珠, 孙晓霞, 等. 食品中蜡样芽孢杆菌实时荧光 RPA 检测方法的建立与应用[J]. 食品科学技术学报, 2018, 36(1): 89-93.
Liu LB, Nan HZ, Sun XX, et al. Establishment and application of real-time fluorescence RPA for detection of *Bacillus cereus* in food [J]. J Food Sci Technol, 2018, 36 (1): 89-93.
- [13] 伊崧, 郦娟, 董玲, 等. 食品中蜡样芽孢污染特点及检测方法研究进展[J]. 中国酿造, 2014, 33(12): 11-15.
Yi T, Li J, Dong L, et al. Research progress on contamination characteristics and detection methods of cereus spores in food [J]. Chin Brew, 2014, 33(12): 11-15.
- [14] 李凡. 食源性蜡样芽孢杆菌毒力基因调研及基于 aPCR 裸眼检测方法的研究[D]. 南昌: 南昌大学, 2017.
- Li F. Investigation of virulence genes of food-borne *Bacillus cereus* and study on naked eye detection based on aPCR [D]. Nanchang: Nanchang University, 2017.
- [15] Stevens KA, Jaykus LA. Bacterial separation and concentration from complex sample matrices: A review [J]. Crit Rev Micro Boil, 2004, 30(1): 7-24.
- [16] 李雅静, 吴绍强. 免疫磁性分离技术在食源性疾病检测中的应用[J]. 食品工业科技, 2008, 29(12): 248-251.
Li YJ, Wu SQ. Application of immunomagnetic separation technique in the detection of foodborne diseases [J]. Sci Technol Food Ind, 2008, 29(12): 248-251.
- [17] 周莉, 王永, 王法云, 等. 免疫磁珠检测食品中金黄色葡萄球菌的研究[J]. 河南科学, 2015, 33(7): 1119-1123.
Zhou L, Wang Y, Wang FY, et al. Detection of *Staphylococcus aureus* in food by immunomagnetic beads [J]. Henan Sci, 2015, (7): 1119-1123.
- [18] 周莉, 朱海华, 关炳峰, 等. 免疫磁珠检测食品中单增李斯特菌的研究[J]. 中国食品添加剂, 2016, (2): 132-136.
Zhou L, Zhu HH, Guan BF, et al. Detection of *Listeria monocytogenes* in food by immunomagnetic beads [J]. Chin Food Addit, 2016, 2: 132-136.
- [19] GB 4789.14-2014 食品安全国家标准 食品微生物学检验 蜡样芽孢杆菌检验[S].
GB 4789.14-2014 National food safety standard-Food microbiology inspection-*Bacillus cereus* test [S].

(责任编辑: 韩晓红)

作者简介



平 洋, 工程师, 主要研究方向为食品安全检测与研究。

E-mail: 1440164003@qq.com



周 莉, 硕士, 助理研究员, 主要研究方向为食品安全研究。

E-mail: zhoulizuo@126.com