

超高压协同温度处理对烟熏火腿中单增李斯特菌生长预测模型的建立

孙新生,徐幸莲*,韩衍青,王虎虎,周光宏

(教育部肉品加工与质量控制重点实验室,南京农业大学,江苏南京 210095)

摘要: 为了建立超高压协同温度处理烟熏火腿中单增李斯特菌生长预测模型。本研究分别以20、30、40、50℃结合600MPa对接种 10^6 cfu/g单增李斯特菌烟熏切片火腿进行5min的超高压处理,4℃贮藏条件下,每10d测定处理后样品中单增李斯特菌的数量。结果表明:当超高压协同处理的温度高于40℃时显著延长了单增李斯特菌在烟熏火腿修复生长的延滞期,所得生长曲线用修正的Gompertz模型进行了拟合,在35、45d进行验证,建立了烟熏火腿中单增李斯特菌在超高压协同温度处理后的生长预测模型,经验证其精确因子(A_f)、偏差因子(B_f)、根平均方差(RMSE)和决定系数(R^2)均在较好范围内,能较好的模拟单增李斯特菌的生长情况,为低温肉制品中单增李斯特菌的控制提供理论参考。
关键词: 超高压,单增李斯特菌,修正的Gompertz模型,烟熏火腿

Predictive modelling of the recovery of *Listeria monocytogenes* on cooked smoked ham after high pressure combining with different temperature processing

SUN Xin-sheng, XU Xing-lian*, HAN Yan-qing, WANG Hu-hu, ZHOU Guang-hong

(Key Laboratory of Meat Processing and Quality Control, Ministry of Education, Nanjing Agricultural University, Nanjing 210095, China)

Abstract: To establish suitable predictive model for the recovery of *Listeria monocytogenes* on cooked smoked ham after high pressure combining with different temperature processing. Cooked smoked ham, inoculated with 10^6 cfu/g *L. Monocytogenes*, was subjected to high pressure treatments at 600MPa for 5min combined with 20, 30, 40 and 50℃ respectively, and then stored at 4℃, counts of *L. Monocytogenes* were determined every 10 days after treatment. It was found that the treatment temperature higher than 40℃ combining with high-pressure efficiently prolong self-repairing growth postponing period of *L. Monocytogenes* in sliced vacuum-packaged smoked cooked ham. The growth curve of *L. Monocytogenes* was imitated by modified Gompertz type model and validated at 35 and 45d, respectively, to establish a growth predictive model of *L. Monocytogenes* in sliced vacuum-packaged smoked cooked ham treated by high pressure and temperature. After validation of the model, the results of A_f , B_f , RMSE and R^2 were proved to be in a proper range. Consequently, the result suggested that the model could well imitate growth condition of *L. Monocytogenes* and it could provide a theory basis of *L. Monocytogenes* control in low-temperature meat product.

Key words: high pressure; *Listeria monocytogenes*; modified Gompertz model; cooked smoked ham

中图分类号: TS251.5

文献标识码: A

文章编号: 1002-0306(2012)13-0118-05

食品超高压处理是指将食品放入液体介质中,施以100~1000MPa的压力处理的过程。依靠压力的致死、致伤作用杀灭、抑制微生物来延长食品货架期,比食品工业传统的热杀菌处理更高效、简便,同时能够保持食品原有的色、香、味、型不受或很少受影响^[1-3]。单纯应用超高压处理抑制食品中微生物往往需要较高的处理参数,相应处理成本比较高,而传统热处理

方式很难满足某些低温制品的杀菌要求,且容易对产品品质造成不良影响,因此超高压协同温度处理成为当今超高压研究领域的热点。研究发现,超高压协同温度($\leq 60^\circ\text{C}$)处理可以强化杀菌效果,但不会对产品的感官和营养品质等产生不良影响,同时可以减少处理成本、缩短处理时间、提高处理效率^[4],因此,超高压协同温度处理也越来越多的应用于控制食品中的致病及腐败微生物。低温烟熏火腿由于较低的加工温度可能导致杀菌不彻底,且后续的切片工序很容易引起产品的二次污染,容易感染分布广泛、适应能力强的单增李斯特菌(*Listeria monocytogenes*),危害人类健康。研究发现不同食品或介质经过超高压处理

收稿日期:2011-12-31 * 通讯联系人

作者简介:孙新生(1987-),男,硕士,研究方向:畜产品加工与质量控制。

基金项目:江苏省科技成果转化专项资金项目(BA2009007);农业行业科技专项资金(200903012)。

后其中一些致病菌或腐败菌会在随后的贮藏阶段得到修复生长^[5-6]。基于这种情况,若单增李斯特菌经高压处理后在贮藏期间得到修复生长就会对食品安全造成隐患,因此,有必要对其修复情况做出评估。以往研究发现^[7],常温下600MPa处理5min可以瞬间杀灭低温火腿中 $10^5\sim 10^6$ cfu/g的单增李斯特菌,但在贮藏期该菌会有修复再生长的现象,本文研究不同温度协同超高压处理对烟熏切片火腿中单增李斯特菌在贮藏期的修复生长情况,用修正的Gompertz模型^[8]拟合单增李斯特菌非线性修复生长曲线,建立超高压协同温度处理烟熏火腿中单增李斯特菌的生长模型,为低温肉制品中单增李斯特菌的控制提供理论参考。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

PALCAM培养基、蛋白胨、胰蛋白胨大豆琼脂(TSA)培养基、脑心浸液琼脂 北京陆桥技术有限责任公司;耐压性较强的标准菌株ATCC19117^[9] 活化后放入37℃恒温恒湿箱中进行培养36~48h,4℃冰箱贮藏备用;烟熏火腿 取自江苏雨润食品产业集团第一生产车间,冻藏猪后腿肉经解冻、修整、注射配料、腌制、滚揉、冷却、灌装、蒸煮烟熏、冷却、切片(厚约0.5cm,质量为15~17g)并真空包装,具体加工工序参考韩衍青等^[10]的研究结果;真空包装材料 选用聚酰胺/聚乙烯包装袋,20℃时的透氧率 $1\text{cm}^3/(\text{m}^2\cdot\text{h})$,每4片一个包装(每袋100g),样品放入盛有碎冰的泡沫箱中运往实验室。

UHPF/4L/1000MPa型可控温超高压设备 包头科发高新技术食品机械公司。

1.2 实验方法

1.2.1 样品前处理(灭菌、接种、包装) 随机取2份烟熏火腿样品(20g),用选择性培养基单增李斯特菌原始污染情况进行检测,剩余样品进行接种,方法为:取调整好数量的单增李斯特菌悬液(10^7 cfu/mL),采用点接种法^[11]正反面各接种 10^6 cfu/g于切片火腿表面,6~10℃条件下放置40min,使细菌充分粘附于火腿样品中,然后将火腿放入无菌真空包装袋中抽真空包装。

1.2.2 超高压处理 分别在室温(20℃,对照)、30、40、50℃协同600MPa处理5min,处理时间不包括升压和卸压的时间,传压介质为水。超高压处理结束后样品放置于4℃冷藏环境中,每组三个重复。

1.2.3 单增李斯特菌计数 为了能够将超高压处理后正常存活和处于受伤状态的单增李斯特菌一起计数,因而选用Wu^[12]等人改良的薄层平板法。在培养皿中倒入20~25mL PALCAM培养基,待凝固后,将10~15mL TSA培养基铺于表面,制成薄层平板培养基,以此计数存活单增李斯特菌,由于平板计数检测限为10cfu/g,为便于模型的拟合,当小于检测限时计数为1log(cfu/g)。

超高压处理后,处于真空包装冷藏环境中的单增李斯特菌修复过程较为缓慢,一般每10d或14d取样计数一次^[7]。本实验每10d取样计数一次,直至烟熏火腿中单增李斯特菌数量达到稳定期为止。取样时烟熏

火腿经拍打均质机混匀,无菌取样20g,稀释于灭菌的180mL 0.1%蛋白胨-0.85%生理盐水中,选择适当稀释度,参考GB4789.2-2003《食品卫生微生物菌落总数检测》进行薄层平板涂布计数操作,每个稀释度做3个重复,37℃培养48h后计数。

1.2.4 数学模型的建立与验证

1.2.4.1 一级模型的建立 应用Zwietering等人^[13]修正的Gompertz模型对单增李斯特菌的生长曲线进行拟合,估计生长曲线的最大比生长速率(Growth rate, μ_{\max})和迟滞期(Lag time, λ)。

$$\lg N_t = \lg N_0 + \lg \left(\frac{N_{\max}}{N_0} \right) \times \exp \left\{ -\exp \left[\frac{e \times \mu_{\max}}{\lg \left(\frac{N_{\max}}{N_0} \right)} \times (\lambda - t) + 1 \right] \right\} \quad \text{式(1)}$$

式中: t 为时间(d); N_t 为 t 时的菌数(cfu/g); N_{\max} 、 N_0 分别为最大和初始菌数(cfu/g); μ_{\max} 为微生物生长的最大比生长速率(d^{-1}); λ 为微生物生长的延滞期(d)。

1.2.4.2 模型评价因子 以 A_f 、 B_f 、RMSE和 R^2 4个参数来评判拟合度的优劣^[13]。参数 A_f 是精确因子, B_f 是偏差因子,两者用于衡量模型的有效性。 A_f 值表示预测值与实测值偏离的程度, A_f 值越小表明模型预测值与实测值越接近,模型越精确。当 $B_f > 1$ 表示模型预测值比实测值低,当 $B_f < 1$ 表示模型预测值比实测值高,因此,当 B_f 越接近1,模型拟合度越高^[14]。决定系数 R^2 和根平均方差RMSE表示模型的精确度、可靠度, R^2 越接近于1, RMSE越小,模型拟合度越高。 A_f 、 B_f 和RMSE公式如式(2)~式(4)。

$$B_f = 10^{\left(\frac{\sum \log \left(\frac{\text{obs}}{\text{pred}} \right)}{n} \right)} \quad \text{式(2)}$$

$$A_f = 10^{\left(\frac{\sum \left| \log \left(\frac{\text{pred}}{\text{obs}} \right) \right|}{n} \right)} \quad \text{式(3)}$$

$$\text{RMSE} = \left[\frac{\sum (\text{obs} - \text{pred})^2}{(n-1)} \right]^{0.5} \quad \text{式(4)}$$

其中,式(2)~式(4)中的 n 是实验中实测值的个数;obs是实测值;pred是预测值。

1.2.5 数据处理 数据统计采用SAS 8.0软件,图形制作和模型拟合采用SigmaPlot 10.0软件。

2 结果与分析

2.1 样品前处理效果

用单增李斯特菌的PALCAM选择性培养基测定样品中原始污染状况,结果表明,按照前处理后得到的样品在选择性平板中无典型菌落形成,即样品中单增李斯特菌是不能检出,表明该前处理方法较为合理,不会对后续样品接种实验的结果造成影响。

2.2 一级生长模型的建立

根据不同处理组在贮藏期中单增李斯特菌的生长实测计数值绘制生长趋势线,如图1所示。

图1实验结果表明,温度与高压结合处理后的贮藏阶段,40、50℃与600MPa高压结合处理后的延滞期显著比20、30℃与高压结合处理后的延滞期长($p < 0.05$),20、30℃与高压结合处理后延滞期变化不显著。

接种单增李斯特菌的烟熏火腿分别在20、30、40、50℃协同600MPa处理后,选用修正的Gompertz模型回归描述单增李斯特菌在贮藏期中的生长情况,得到的模型如表1所示。

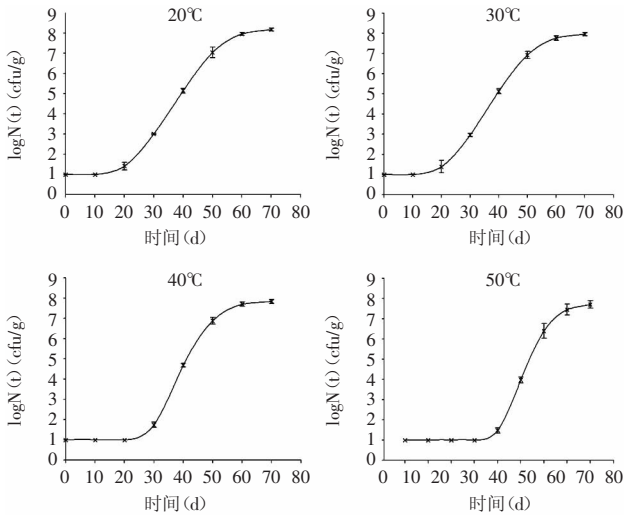


图1 不同温度协同600MPa处理后单增李斯特菌在烟熏火腿中的生长情况

Fig.1 Log-recovery of *Listeria monocytogenes* inoculated onto cooked smoked ham after high pressure combining with different temperature processing

2.3 模型评价因子

为了客观地评价模型的可靠性,引入精确因子(A_f)、偏差因子(B_f)、决定系数(R^2)和根平均方差(RMSE)对预测值和实测值进行了分析检验。 A_f 值越大表示平均值准确性越低,而 A_f 值等于1表示预测值与观测值之间完全吻合^[15]。一般 $0.90 < B_f < 1.05$,模型为最好; $0.70 < B_f < 0.90$ 或 $1.06 < B_f < 1.15$,模型为可接受; $B_f < 0.70$ 或 $B_f > 1.15$,模型不可接受^[16]。决定系数 R^2 和根

表2 不同处理下单增李斯特菌的生长模型的评价因子

Table 2 Evaluation factors of recovery kinetics curves models of *L. monocytogenes* in different treatment

处理温度(°C)	评价因子			
	R^2	A_f	B_f	RMSE
20(对照)	0.990	1.021	0.997	0.090
30	0.992	1.019	0.981	0.079
40	0.989	1.006	0.998	0.031
50	0.985	1.035	1.029	0.035

表1 不同处理条件下模型方程表达式及生长参数

Table 1 Equation expression and Kinetic parameters of the model in different treatment

处理温度(°C)	最大生长速率 μ_{max} (d ⁻¹)	延滞期 λ (d)	最大菌数 $lg[N_{max}](cfu/g)$	模型表达式
20(对照)	0.236	21.753	8.641	$logN(t) = 1.0223 + 7.619 \times \text{Exp}\{-\text{Exp}[0.0842 \times (21.753 - t) + 1]\}$
30	0.237	21.883	8.349	$logN(t) = 1.0244 + 7.325 \times \text{Exp}\{-\text{Exp}[0.0878 \times (21.883 - t) + 1]\}$
40	0.331	28.631	7.980	$logN(t) = 1.0034 + 6.977 \times \text{Exp}\{-\text{Exp}[0.129 \times (28.631 - t) + 1]\}$
50	0.297	40.211	8.089	$logN(t) = 0.9961 + 7.093 \times \text{Exp}\{-\text{Exp}[0.114 \times (40.211 - t) + 1]\}$

表3 不同处理下单增李斯特菌生长动力学模型的验证

Table 3 Observed and predicted values of growth kinetics model of *L. monocytogenes* in different treatment

处理温度(°C)	验证天数(d)					
	35			55		
	实测值[log(cfu/g)]	预测值[log(cfu/g)]	相对误差(%)	实测值[log(cfu/g)]	预测值[log(cfu/g)]	相对误差(%)
20(对照)	4.213	4.147	1.592	7.386	7.479	1.243
30	4.087	4.126	0.945	7.412	7.338	1.008
40	3.066	3.109	1.383	7.224	7.317	1.271
50	1.000	1.056	5.303	5.128	5.299	3.227

平均方差RMSE表示模型的精确度、可靠度, R^2 越接近于1, RMSE越小,模型拟合度越高。各处理组预测模型的评价因子如表2所示,都能够满足预测要求,说明所建立的预测模型能较好的预测单增李斯特菌在贮藏期内的修复生长状况。

2.4 模型的验证

为了验证各处理温度下生长模型的准确性,在四个不同处理条件下,各取35、55d计数结果进行验证,结果见表3,各条件下拟合模型的预测值与实测值接近,相对误差值较小,说明各模型能够准确预测中温协同超高压处理单增李斯特菌贮藏期的修复生长情况。

3 讨论

超高压技术越来越多的应用在食品保鲜方面,与温度协同处理亦是超高压应用方面的研究热点。因此对于热协同超高压处理后微生物生长动力学模型的研究具有重要的实际意义。很多微生物生长预测模型是基于液体培养基上建立起来的^[17]。用液体培养基建立模型,虽然简洁、快速、测定数值准确,但近年来对肉制品中单增李斯特菌的生长研究表明,基于肉汤培养基上建立的模型不能很好地描述微生物的生长^[18]。由于肉类基质在施压时能够为微生物提供一定的保护作用^[19]。所以,相比在各种模拟体系中的研究,对真实肉制品施压后致病及腐败微生物的研究更具指导意义^[20]。

微生物计数方面,由于超高压的作用使得某些单增李斯特菌处在受伤状态,无法直接在选择性培养基上生长,选用选择性培养基计数会导致计数结果偏少,为了提高计数的准确性选择薄层平板法^[21],其中受伤单增李斯特菌在薄层平板表面(即上层的非选择性培养基)得到修复生长,由于选择性成分的不断下沉,修复完毕的正常单增李斯特菌汲取下层培养基的选择性成分不断增殖,形成菌落,通过薄层平板法计数使得模型的数据更加符合实际情况。

国内外学者在建立单增李斯特菌生长模型时,一级模型经常使用修正的Gompertz模型^[21-22]。本文在建立单增李斯特菌生长模型时,发现应用修正的Gompertz模型拟合其生长情况较好,各评价因子都在

较好范围内,表明此模型能够模拟不同温度协同超高压处理对烟熏火腿中单增李斯特菌生长情况,这与Huang^[23]、Chhabra^[24]和Zwietering^[25]等人的研究结果一致。根据实验结果发现,协同超高压处理的温度不同,烟熏火腿中单增李斯特菌的生长延滞期也不相同,40℃与50℃与高压结合处理后的延滞期显著比20℃与30℃与高压结合处理后的长($p < 0.05$),20℃与30℃与高压结合处理后延滞期变化不显著,说明单增李斯特菌在20℃和30℃时抗压性显著高于40℃和50℃,这与Chen^[26]的研究结果一致。Koseki^[7]在常温下600MPa处理接种 10^5 cfu/g单增李斯特菌的蒸煮火腿10min后贮藏40d检出单增李斯特菌,本实验中50℃与600MPa结合处理接种 10^6 cfu/g单增李斯特菌5min后贮藏40d后检出李斯特菌,超高压协同温度处理可以节约高压处理时间,提高处理效果。Alpas等学者认为当温度高于35℃时,由于细胞膜脂质发生相变,增强了细菌对压力的敏感性^[27];而且协同热处理弱化了分子间力,使得因压力引起出现的细胞膜孔道修复变得更加困难^[28],因此当协同温度越高时,单增李斯特菌所需修复时间也越长,延滞期也就越长。各处理组在贮藏期中随着单增李斯特菌,得到修复后进入对数期和稳定的情况变化不大,最终达到的最大菌数差异不显著。是因为贮藏温度以及肉类介质相同,所以单增李斯特菌经过不同延滞期修复后,在相同贮藏环境下,生长情况也基本一致。应用修正的Gompertz模型可以较好的体现不同处理下单增李斯特菌的不同延滞期情况以及随后的生长情况,很好的预测了超高压协同温度处理烟熏火腿中单增李斯特菌在贮藏期的修复生长动态。

4 结论

本文应用修正的Gompertz模型拟合了不同温度协同超高压处理单增李斯特菌在烟熏火腿中贮藏期的生长情况,各处理组预测模型的评价因子都能够满足预测要求,表明方程能很好地描述不同温度结合超高压处理后单增李斯特菌的生长动态,为低温肉制品中单增李斯特菌的控制提供理论参考。同时,与超高压协同处理的温度增高显著延长了单增李斯特菌在烟熏火腿修复生长的延滞期。接种 10^6 cfu/g单增李斯特菌的烟熏火腿在40℃协同600MPa处理5min后,可使产品在保质期(30d)内计数时低于检测限。

参考文献

[1] Cheftel J C, Culioli J. Effects of high pressure on meat: A review[J]. Meat science, 1997, 46(3): 211-236.
 [2] Aymerich T, Picouet P, Monfort J. Decontamination technologies for meat products[J]. Meat Science, 2008, 78(1-2): 114-129.
 [3] Norton T, Sun D W. Recent advances in the use of high pressure as an effective processing technique in the food industry[J]. Food and Bioprocess Technology, 2008, 1(1): 2-34.
 [4] Rastogi N, Raghavarao K, Balasubramaniam V, et al. Opportunities and challenges in high pressure processing of foods[J]. Critical Reviews in Food Science and Nutrition, 2007, 47(1): 69-112.

[5] Koseki S, Yamamoto K. Recovery of *Escherichia coli* ATCC 25922 in phosphate buffered saline after treatment with high hydrostatic pressure[J]. International Journal of Food Microbiology, 2006, 110(1): 108-111.
 [6] Bozoglu F, Alpas H, Kaletunc G. Injury recovery of foodborne pathogens in high hydrostatic pressure treated milk during storage[J]. FEMS Immunology & Medical Microbiology, 2004, 40(3): 243-247.
 [7] Koseki S, Mizuno Y, Yamamoto K. Predictive modelling of the recovery of *Listeria monocytogenes* on sliced cooked ham after high pressure processing[J]. International Journal of Food Microbiology, 2007, 119(3): 300-307.
 [8] Whiting R C, Buchanan R L. A classification of models for predictive microbiology[J]. Food Microbiol, 1993(10): 175-177.
 [9] Koseki S, Yamamoto K. A novel approach to predicting microbial inactivation kinetics during high pressure processing[J]. Int J Food Microbiol, 2007a, 116: 75-282.
 [10] 韩衍青. 超高压处理对烟熏切片火腿保质期的影响[J]. 农业工程学报, 2009, 25(8): 305-310.
 [11] Rio E, Panizo-Moran M, Prieto M, et al. Effect of various chemical decontamination treatments on natural microflora and sensory characteristics of poultry[J]. International Journal of Food Microbiology, 2007, 115(3): 268-280.
 [12] Wu V. A review of microbial injury and recovery methods in food[J]. Food Microbiology, 2008, 25(6): 735-744.
 [13] Alvarez I, Virto R, Raso J, et al. Comparing predicting models for the *Escherichia coli* inactivation by pulsed electric fields[J]. Innovative Food Science and Emerging Technologies, 2003(4): 195-202.
 [14] 钟葵, 吴继红, 廖小军, 等. 高压脉冲电场对植物乳杆菌的杀菌效果及三种模型比较分析[J]. 农业工程学报, 2006, 22(11): 238-242.
 [15] Lebert I, Robles-Olvera V, Lebert A. Application of polynomial models to predict growth of mixed cultures of *Pseudomonas ssp.* and *Listeria* in meat[J]. International Journal of Food Microbiology, 2000, 61: 27-39.
 [16] Wilson P D G, Brocklehurst T F, Arino S, et al. Modelling microbial growth in structured foods: towards a unified approach[J]. International Journal of Food Microbiology, 2002, 73(2-3): 275-289.
 [17] Gill C O, Greer G G, Dilts B D. The aerobic growth of *Aeromonas hydrophila* and *Listeria monocytogenes* in broths and on pork[J]. International Journal of Food Microbiology, 1997, 35: 67-74.
 [18] Pal A, Labuza T P, Diez-Gonzalez F. Comparison of primary predictive models to study the growth of *Listeria monocytogenes* at low temperatures in liquid cultures and selection of fastest growing ribotypes in meat and turkey product slurries[J]. Food Microbiology, 2008, 25(3): 460-470.
 [19] Cheftel J C. Review: High-pressure, microbial inactivation and food preservation[J]. Food Science and Technology International, 1995, 1(2/3): 75-90.
 [20] Garriga M, Grèbol N, Aymerich M T, et al. Microbial

球菌、嗜盐四联球菌、乳杆菌。这些乳酸菌的耐乳酸能力不太强,因此不会因产生过量乳酸使酱醅pH过低而造成酱醅质量变坏。适量的乳酸是构成豆酱风味的重要因素之一,乳酸不仅本身具有特殊香气而对豆酱有调味和增香作用,而且与乙醇生成的乳酸乙酯也是一种重要的香气成分。在发酵过程中,由嗜盐片球菌与鲁氏酵母共同作用生成的糠醇,赋予豆酱独特香气。乳酸菌的另一个作用是使酱醅pH下降至5.5以下,促使鲁氏酵母繁殖和发酵。酱醅中典型的鲁氏酵母是大豆接合酵母和酱醅接合酵母的菌株,它们都是耐盐性的非产膜酵母,都能利用葡萄糖、麦芽糖及果糖发酵,不能发酵乳糖,不能利用硝酸盐。在酱醅发酵前期,由于酱醅中糖含量高,pH适宜,酵母的酒精发酵旺盛,酱醅的酒精含量可达到2.0%以上,同时生成少量甘油、琥珀酸以及其他多元醇^[15]。

参考文献

- [1] 孙常雁,马莺,李德海. 自然发酵黄豆酱曲培养过程中蛋白酶的形成及蛋白质的分解[J]. 食品科技,2007(8):188-192.
- [2] 高岭. 郟县豆瓣酱的生产工艺改进[J]. 中国调味品,2006(5):34-39.
- [3] Di Cello F, Bevivino A, Chiarini L, et al. Biodiversity of a burkholderia cepacia population isolated from the maize rhizosphere at different plant growth stages[J]. Appl Environ Microbiol,1997,63:4485-4493.
- [4] Zoetendal E G, Akkermans A D, DeVos W M. Temperature gradient gel electrophoresis analysis of 16S rRNA from human fecal samples reveals stable and host-specific communities of active bacteria[J]. Appl Environ Microbiol,1998,64(10):3854-3859.
- [5] Janus L R, Angeloni N L, McCormack J, et al. Elevated atmospheric CO₂ alters soil microbial communities associated with trembling aspen (*Populus tremuloides*) roots[J]. Microb Ecol,2005,50(1):102-109.

- [6] Purohit H J, Kapley A, Moharikar A A, et al. A novel approach for extraction of PCR-compatible DNA from activated sludges samples collected from different biological effluent treatment plants[J]. Microbiol Methods,2003,52(3):315-323.
- [7] 刘玮琦,茹振川,杨宇红,等. 应用16S rRNA基因文库技术分析土壤细菌群落的多样性[J]. 微生物学报,2008,48(10):1344-1350.
- [8] 许丽娟,谭之磊,刘刚,等. NK13中(S)-酮基布洛芬拆分用酯酶基因的克隆及表达[J]. 中国生物工程杂志,2008,28(2):32-36.
- [9] Lee SS, Park KH, Choi KJ, et al. Identification and isolation of Zygomyceteous fungi found on maejus, a raw material of Korean traditional soy sauces[J]. Korean Journal of Mycology, 1993a,21:172-187.
- [10] Lee SS, Park KH, Choi KJ, et al. A study on Hyphomyceteous fungi found on maejus, a raw material of Korean traditional soy sauces[J]. Korean Journal of Mycology, 1993b,21:172-187.
- [11] Kang MJ, Kim SH, Joo HK, et al. Isolation and identification of microorganisms producing the soy protein-hydrolyzing enzyme from traditional mejus[J]. Journal of the Korean Society of Agricultural Chemistry and Biotechnology,2000,43:86-94.
- [12] Zhao JX, Dai XJ, Liu XM, et al. Changes in microbial community during Chinese traditional soybean paste fermentation[J]. International Journal of Food Science and Technology, 2009,44(12):2526-2530.
- [13] 高秀芝,王小芬,刘慧,等. PCR-DGGE分析天源酱园豆酱发酵过程中微生物多样性[J]. 食品科学,2011,32(1):112-114.
- [14] Haruta S, Ueno S, Egawa I, et al. Succession of bacterial and fungal communities during a traditional pot fermentation of rice vinegar assessed by PCR-mediated denaturing gradient gel electrophoresis[J]. International Journal of Food Microbiology, 2006,109:79-87.
- [15] 徐琳娜,王璋,许时婴. 豆瓣酱后熟过程中氨基酸和风味物质的变化[J]. 中国调味品,2006(9):21-25.

(上接第121页)

- inactivation after high-pressure processing at 600MPa in commercial meat products over its shelf life[J]. Innovative Food Science and Emerging Technologies,2004,5(4):451-457.
- [21] Vermeulen A, Gysemans K, Bernaerts K, et al. Modelling the influence of the inoculation level on the growth/on-growth interface of *Listeria monocytogenes* as a function of pH, Aw and acetic acid[J]. International Journal of Food Microbiology,2009,135:83-89.
 - [22] García-Gimeno R M, Hervás-Martínez C, Barco-Alcalá E, et al. An artificial neural network approach to *Escherichia Coli* O157:H7 growth estimation[J]. Journal of Food Science,2003,68(2):639-645.
 - [23] Huang L. Thermal inactivation of *Listeria monocytogenes* in ground beef under isothermal and dynamic temperature conditions[J]. Journal of Food Engineering,2009,90(3):380-387.
 - [24] Chhabra A, Carter W, Linton R, et al. A predictive model

- that evaluates the effect of growth conditions on the thermal resistance of *Listeria monocytogenes*[J]. International Journal of Food Microbiology,2002,78(3):235-243.
- [25] Zwietering M, De Koos J, Hasenack B, et al. Modeling of bacterial growth as a function of temperature[J]. Applied and Environmental Microbiology,1991,57(4):1094.
 - [26] Chen H. Temperature-assisted pressure inactivation of *Listeria monocytogenes* in Turkey breast meat[J]. International Journal of Food Microbiology,2007,117:55-60.
 - [27] Buzrul S, Alpas H, Bozoglu F. Use of Weibull frequency distribution model to describe the inactivation of *Alicyclobacillus acidoterrestris* by high pressure at different temperatures[J]. Food Research International,2005,38(2):151-157.
 - [28] Russell N J. Bacterial membranes: The effects of chill storage and food processing. An overview[J]. International Journal of Food Microbiology,2002,79(1-2):27-34.