

培养条件对单增李斯特菌生长的影响

周小红^{1,2}, 李学英¹, 杨宪时^{1,*}, 迟海¹

(1. 中国水产科学研究院东海水产研究所, 上海 200090;

2. 上海海洋大学食品学院, 上海 201306)

摘要:以纯度为 99.97% 的单增李斯特菌为研究对象, 通过测定菌株在各培养条件下菌液的 OD₆₀₀ 值, 分析了不同的 NaCl 浓度、pH、温度及 NaCl 浓度为 3%~8% (梯度为 1%), pH 为 6~9 (梯度为 1), 温度为 0~40℃ (梯度为 10℃) 的交互作用条件下单增李斯特菌的生长状况。结果表明: 菌株的对数增长期为 8~14h, 稳定期为 14~18h, 18h 以后进入衰亡期; 菌株在 NaCl 浓度为 0.5%~3.5% 范围内生长良好, 其最适生长 pH 为 7.5, 最适生长温度为 37℃。各因素的交互作用通过 SPSS 软件进行方差分析, 得到其 $p < 0.01$, 即各因素的交互效应极显著。

关键词:单增李斯特菌, 培养条件, 生长状况, 影响

Study the effect of cultural condition on growth state of *Listeria monocytogenes*

ZHOU Xiao-hong^{1,2}, LI Xue-ying¹, YANG Xian-shi^{1,*}, CHI Hai¹

(1. East China Sea Fisheries Research Institute, Chinese Academy of Fishery Sciences, Shanghai 200090, China;

2. Shanghai Ocean University, College of Food Science and Technology, Shanghai 201306, China)

Abstract: This study was based on *Listeria monocytogenes* of 99.97% purity, and determined the growth curve of strain before changing medium conditions, and then culture conditions had been adjusted. By measuring the OD₆₀₀ value of bacteria liquid under different cultural condition, the growth status of *Listeria monocytogenes* under different NaCl concentration, pH value, temperature and their interactions under NaCl concentration 3%~8% (one for per gradient), pH 6~9 (one for per gradient), temperature 0~40℃ (10℃ for per gradient) had been analyzed. The results showed that the logarithmic phase of this strain was 8~14h, the stationary phase was 14~18h, and it entered into decline phase after 18h. It could grow well in range of 0.5%~3.5% concentration of NaCl and its optimum growth pH value was 7.5, and its optimum growth temperature was 37℃. The interaction effect of each factor had been analyzed by means of SPSS software, and variance analyses had been carried out, and results showed that the $p < 0.01$, and that means interaction effects were quite notable.

Key words: *Listeria monocytogenes*; cultural condition; growth state; effect

中图分类号: TS201.3

文献标识码: A

文章编号: 1002-0306(2013)15-0140-05

近年来,随着人们生活水平的提高,食品安全意识的增强,食品安全问题越来越成为全球关注的公共卫生问题。食源性致病菌是引起食源性疾病的首要原因,其对人类健康带来严重危害,是食品安全的严重隐患。单增李斯特菌(*Listeria monocytogenes*, L.M.)作为国际公认的四大食源性致病菌之一,在食品中具有较高的污染率^[1],它是一种人畜共患食源性致病菌,可使人畜患脑膜炎、心肌炎、败血症、早产等疾病^[2],危害较大。因而,有效控制食品中的单增李斯特菌,是确保食品安全的重要课题之一。单增李斯特菌在自然环境中广泛存在,且致病率极高,可达 30%~70%^[3],即使在 4℃ 以下的低温环境中也能生

长^[4]。因此,研究单增李斯特菌在不同培养条件下的生长状况具有重要的意义。本文同时用 OD₆₀₀ 值和菌落总数两种方法测定了单增李斯特菌的生长曲线,并对培养基灭菌前后的水分活度和 pH 的变化进行了测定,分析了不同的 NaCl 浓度、pH、温度对单增李斯特菌生长的影响,初步探讨了 NaCl 浓度、pH、温度交互作用下单增李斯特菌的生长状况,并用 SPSS 软件对各因素的交互作用进行了方差分析,旨在为下一步单增李斯特菌在温度、pH、盐度等因素影响下的生长与非生长界面模型的建立及其他相关性研究提供参考依据。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

实验菌株单核细胞增生李斯特菌(LM54001)购自中国药品生物制品研究所;含 0.6% 酵母浸膏的胰酪胨大豆肉汤(TSB-YE),含 0.6% 酵母浸膏的胰酪胨大豆琼脂(TSA-YE),脑心浸液(BHI)均为北

收稿日期:2012-12-26 * 通讯联系人

作者简介:周小红(1988-),女,硕士研究生,研究方向:食品科学与工程。

基金项目:农业部引进国际先进农业科学技术项目(2011-Z12)。

京陆桥技术有限公司提供;邻苯二甲酸氢钾、硼砂、磷酸氢二钠、氢氧化钠、盐酸等化学试剂(AR)均由国药集团化学试剂上海分公司提供。

Sensitre AutoReader 微生物鉴定和药敏分析仪 英国TREK Diagnostic Systems 公司;Sanyo MIR 253、553 高精度低温培养箱 日本三洋科研设备公司;ESCO CA2-4A1 操作安全柜 上海生叉仪器有限公司;YXQ-LS-50SII 全自动立式压力蒸汽灭菌锅 上海博讯实业有限公司;Sanyo MIR 150、153 恒温培养箱 日本三洋科研设备公司;721 型可见光分光光度计 上海菁华科技仪器有限公司数显;pHS-3C型数显酸度计 上海伟业仪器厂。

1.2 实验方法

1.2.1 种子液的培养 在无菌条件下,将在4℃下保存的斜面菌种用无菌接种环挑取一至两环加入无菌的脑心浸液(BHI)培养基试管中,置于30℃^[5]摇床培养12h,菌液浑浊后,用划线法接种于无菌的TSA-YE平板上,置于30℃再培养24h,然后挑取典型的单个菌落接种于TSB-YE中,37℃^[6]下培养至菌液浓度达到10⁸CFU/mL^[7],以备扩大培养用。

1.2.2 单因素对单增李斯特菌生长状况的影响

1.2.2.1 菌液的稀释 将活化的菌种培养液(菌液浓度为10⁸CFU/mL)做10倍梯度稀释,然后选取合适浓度的菌液接种。

1.2.2.2 单增李斯特菌生长曲线的测定 取浓度为10⁴CFU/mL的菌液1mL,分别接种到数支含有9mL TSB-YE(pH7.2左右)试管中,置于37℃恒温静止培养。用分光光度计测定菌液的OD₆₀₀值,并结合活菌稀释计数法同时涂布TSA-YE平板测培养基中的细菌浓度,每隔2h重复以上步骤。结果以培养时间为横坐标,OD₆₀₀值、菌落总数为纵坐标,绘制单增李斯特菌的生长曲线。

1.2.2.3 NaCl对单增李斯特菌生长的影响 取浓度为10⁴CFU/mL的菌液1mL,分别接种到若干支NaCl含量为0.5%~12.5%、梯度为1的装有9mL TSB-YE(pH7.0左右)的试管中,每梯度做两个平行,置于37℃恒温箱中培养14h,然后测定各NaCl浓度下菌液的OD₆₀₀值,以NaCl浓度(%)为横坐标,OD₆₀₀值为纵坐标,绘制生长曲线。

1.2.2.4 pH对单增李斯特菌生长的影响 取浓度为10⁴CFU/mL的菌液1mL,接种到灭菌后pH为4、5、6、7、7.5、8、8.5、9、9.5、10的装有9mL TSB-YE液体培养基试管中,每个pH做两个平行,置于37℃恒温箱中培养14h,然后测定各pH条件下菌液的OD₆₀₀值,以pH为横坐标,OD₆₀₀值为纵坐标,绘制生长曲线。

1.2.2.5 温度对单增李斯特菌生长的影响 取浓度10⁴CFU/mL的菌液1mL,接种数支装有9mL TSB-YE(pH7.2左右)的试管中,分别于0、4、10、15、20、25、30、35、37、42、45℃恒温培养箱中培养14h,每个温度做两个平行,然后测定各温度条件下菌液的OD₆₀₀值,以温度(℃)为横坐标,OD₆₀₀值为纵坐标,绘制生长曲线,并对0℃和45℃菌液做适当梯度稀释后

涂布TSA-YE平板。

1.2.3 双因素对单增李斯特菌生长特性的影响

1.2.3.1 温度和pH对单增李斯特菌生长的影响 固定NaCl浓度为0.5%,选取pH6~9(梯度为1),温度0~40℃(梯度为10℃),总共20种组合;按上述分光光度计法测定单增李斯特菌接种于调整后灭菌的TSB-YE(初始菌液10³CFU/mL)培养14h后的OD₆₀₀值,每种组合作两个平行。

1.2.3.2 NaCl浓度和温度对单增李斯特菌生长的影响 在最适的pH7.5左右条件下,选取NaCl浓度3%~8%(梯度为1%),温度0~40℃(梯度为10℃),总共30种组合;用分光光度计法测定单增李斯特菌接种调整后灭菌的TSB-YE(初始菌液10³CFU/mL)培养14h后的OD₆₀₀值,每种组合作两个平行。

1.2.3.3 NaCl浓度和pH对单增李斯特菌生长的影响 在最适温度37℃下,选取pH6~9(梯度为1),NaCl浓度3%~8%(梯度为1%),总共24种组合;用分光光度计法测定单增李斯特菌接种调整后灭菌的TSB-YE(初始菌液10³CFU/mL)培养14h后的OD₆₀₀值,每种组合作两个平行。

2 结果与分析

2.1 单增李斯特菌的生长曲线

如图1所示,单增李斯特菌在培养8h后就进入对数增长期,并持续到14h,14~18h进入稳定期,18h以后进入衰亡期。而活菌计数法测得的细菌生长接近于线性递增的趋势,12h后基本不变或略微有所减少,与分光光度计菌液的OD₆₀₀值变化趋势略有差异,这是因为分光光度计测出的为细菌的总数,其中包括死亡的细菌,在对数生长期死亡的细菌极少,可忽略不计。因此,在对这种细菌进行研究时可选用培养14~18h的细菌。

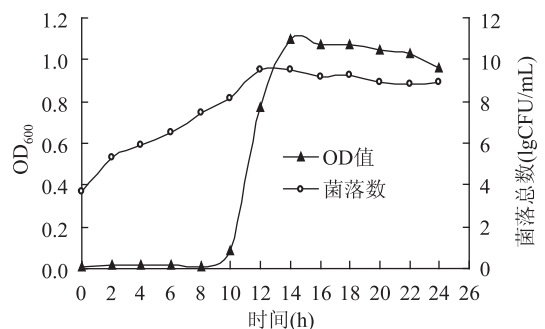


图1 单增李斯特菌的生长曲线

Fig.1 Growth curve of *Listeria monocytogenes*

2.2 培养基条件灭菌前后的变化

2.2.1 不同NaCl浓度的培养基在灭菌前后水分活度的变化 表1中的数据通过Excel统计中的F检验,得到灭菌前后两组数据的 $p = 0.834 > 0.05$,表明两组数据在实验误差范围内无明显差异,即说明不同NaCl浓度的TSB-YE培养基在灭菌前后其水分活度基本没有变化。

2.2.2 不同pH的培养基灭菌前后pH的变化 通过表2的数据观察得到:当TSB-YE培养基的pH为中性或酸性时,培养基灭菌前后其pH基本无变化,但

表1 不同 NaCl 浓度 TSB-YE 培养基灭菌前后的水分活度

Table1 The water activity in different NaCl concentration of TSB-YE medium before and after sterilization

NaCl (%)	0.5	1.5	2.5	3.5	4.5	5.5	6.5	7.5	8.5	9.5	10.5	11.5	12.5
灭菌前	0.991	0.984	0.981	0.969	0.965	0.962	0.957	0.949	0.943	0.940	0.933	0.928	0.922
灭菌后	0.990	0.993	0.986	0.965	0.966	0.959	0.956	0.950	0.944	0.941	0.930	0.928	0.922

表2 不同 pH 的 TSB-YE 培养基灭菌前后 pH 的变化

Table 2 The pH change of TSB-YE medium of different pH before and after sterilization

pH	4.0	5.0	6.0	7.0	7.5	8.0	8.5	9.0	9.5	10.0
灭菌前	4.01	5.01	6.01	7.01	7.52	8.13	8.64	9.22	9.71	10.60
灭菌后	4.00	5.00	6.03	7.06	7.52	8.01	8.48	8.98	9.51	10.01

当 pH 为碱性时,随着培养基 pH 的增大,其灭菌后 pH 减少的越多,即培养基碱性时受灭菌作用影响较大。根据预处理结果,实验将灭菌前 TSB-YE 的 pH 做适当调整以符合实验要求。

2.3 单因素对单增李斯特菌生长特性的影响

2.3.1 NaCl 对单增李斯特菌生长的影响 图 2 表明,在 NaCl 浓度为 0.5%~12.5% 范围内,随着浓度的增加,单增李斯特菌培养液的 OD₆₀₀ 值逐渐降低。在 0.5%~3.5% 浓度范围内,菌液的 OD₆₀₀ 值均高于 0.8,说明在此浓度范围内,菌株生长极好。在 3.5%~5.5% 范围内,菌液的 OD₆₀₀ 值明显下降,说明在此浓度范围内,单增李斯特菌生长受到抑制。但当 NaCl 浓度高于 5.5% 时,菌液的 OD₆₀₀ 值几乎接近于零,说明单增李斯特菌受高浓度的 NaCl 抑制效果明显。

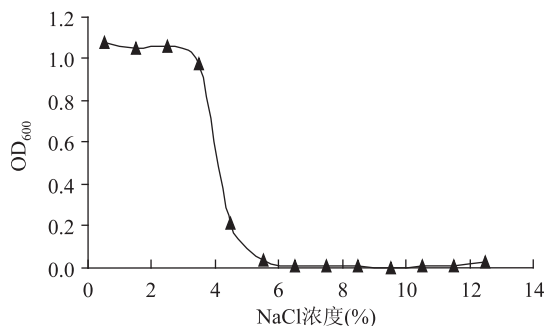


图2 NaCl 对单增李斯特菌生长的影响

Fig.2 Influence of NaCl concentration on growth of *Listeria monocytogenes*

2.3.2 pH 对单增李斯特菌生长的影响 由图 3 可以看出,pH 对单增李斯特菌生长影响有一个最适点 7.5,pH < 5.0 和 pH > 9.5 时,生长受到了明显的抑制,OD₆₀₀ 值几乎接近于零。在 pH 范围为 5.0~7.5 时,菌液的 OD₆₀₀ 值随 pH 的增加而逐渐增大,当 pH 为 7.5 时,菌液 OD₆₀₀ 值增至最大,之后随 pH 的增加而菌液 OD₆₀₀ 值逐渐降低。

2.3.3 温度对单增李斯特菌的影响 从图 4 中可看出,在 0~20℃ 范围内,菌液的 OD₆₀₀ 值增长极慢;20~37℃ 范围内,随温度的升高菌液的 OD₆₀₀ 值逐渐增大,至 37℃ 增至最大,在 30~42℃ 范围内生长良好,而后随着温度的升高其 OD₆₀₀ 值逐渐降低,至 45℃ 时菌液 OD₆₀₀ 值几乎为零,由图分析得出,单增李斯特菌生长的最适温度为 37℃。通过涂布 TSA-YE 平板计数得到:0、45℃ 时菌液菌数分别为 5×10^3 、

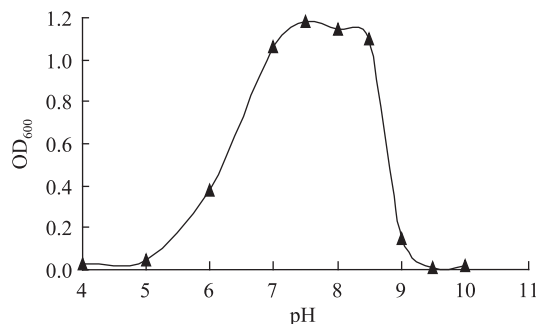


图3 pH 对单增李斯特菌生长的影响

Fig.3 Influence of pH on growth of *Listeria monocytogenes*

1×10^3 CFU/mL,说明单增李斯特菌在该两者温度下开始停止生长。

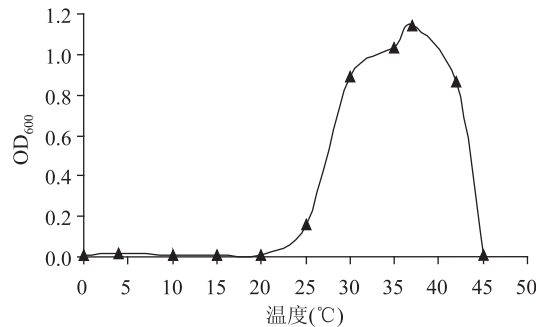


图4 温度对单增李斯特菌生长的影响

Fig.4 Influence of temperature on growth of *Listeria monocytogenes*

2.4 双因素对单增李斯特菌生长特性的影响

2.4.1 温度和 pH 对单增李斯特菌生长的交互作用 从表 3 可知,温度的 $F = 567.449, p < 0.01$; pH 的 $F = 180.374, p < 0.01$; 温度与 pH 的交互作用 $F = 54.684, p < 0.01$; 由方差分析得出温度、pH 及其交互作用对单增李斯特菌的生长有极其显著的影响。

2.4.2 NaCl 浓度和温度对单增李斯特菌生长的交互作用 从表 4 可知,温度的 $F = 1404.719, p < 0.01$; NaCl 浓度的 $F = 949.296, p < 0.01$; 温度与 NaCl 的交互作用 $F = 434.990, p < 0.01$; 由方差分析得出温度、NaCl 浓度及其交互作用对单增李斯特菌的生长有极其显著的影响。

2.4.3 NaCl 浓度和 pH 对单增李斯特菌生长的交互作用 从表 5 可知,NaCl 浓度的 $F = 90.660, p < 0.01$; pH 的 $F = 52.993, p < 0.01$; NaCl 浓度与 pH 的交互作

用 $F = 24.632, p < 0.01$; 由方差分析得出 NaCl 浓度、pH 及其交互作用对单增李斯特菌的生长有极其显著的影响。

表3 菌液在不同温度和 pH 下 OD_{600} 值的方差分析

Table 3 Variance analysis of bacteria liquid

OD_{600} under different temperature and pH value

源	III型平方和	df	均方	F	p
校正模型	4.720 ^a	19	0.248	182.481	0.000
截距	4.943	1	4.943	3631.452	0.000
温度	3.090	4	0.772	567.449	0.000
pH	0.737	3	0.246	180.374	0.000
温度 × pH	0.893	12	0.074	54.684	0.000
误差	0.027	20	0.001		
总计	9.691	40			
校正的总计	4.747	39			

注: a. $R^2 = 0.994$ (调整 $R^2 = 0.989$)。

表4 菌液在不同 NaCl 浓度和温度下 OD_{600} 值的方差分析

Table 4 Variance analysis of bacteria liquid OD_{600}

under different NaCl concentration and temperature

源	III型平方和	df	均方	F	p
校正模型	4.844 ^a	29	0.167	657.419	0.000
截距	0.902	1	0.902	3550.374	0.000
温度	1.428	4	0.357	1404.719	0.000
NaCl 浓度	1.206	5	0.241	949.296	0.000
温度 × NaCl 浓度	2.210	20	0.111	434.990	0.000
误差	0.008	30	0.000		
总计	5.754	60			
校正的总计	4.852	59			

注: a. $R^2 = 0.998$ (调整 $R^2 = 0.997$)。

表5 菌液在不同 NaCl 浓度和 pH 下 OD_{600} 值的方差分析

Table 5 Variance analysis of bacteria liquid OD_{600}

under different NaCl concentration and pH value

源	III型平方和	df	均方	F	p
校正模型	3.020 ^a	23	0.131	42.685	0.000
截距	0.729	1	0.729	236.848	0.000
NaCl 浓度	1.395	5	0.279	90.660	0.000
pH	0.489	3	0.163	52.993	0.000
NaCl 浓度 × pH	1.137	15	0.076	24.632	0.000
误差	0.074	24	0.003		
总计	3.823	48			
校正的总计	3.094	47			

注: a. $R^2 = 0.976$ (调整 $R^2 = 0.953$)。

3 结论与讨论

单增李斯特菌作为一种重要的食源性致病菌, 在自然界广泛存在, 如水、土壤、植物。由于其能耐受各种极端环境的生物学特性, 使其可通过食物链上的任一环节使人和动物患脑膜炎、败血症、流产等疾病^[8], 如奶及奶制品、肉制品包括猪肉、牛肉、羊肉、腌腊食品、水产品、新鲜蔬菜等植物性食品^[9]。世界

卫生组织 (WHO) 关于单增李斯特菌引发的食源性疾病报告中指出: 4%~8% 的水产品, 5%~10% 的奶及奶制品, 30% 以上的肉制品, 15% 以上的家禽均被该菌污染^[10], 因此单增李斯特菌对人类的危害极大。实验中通过测定 37℃ 下单增李斯特菌的生长曲线, 得到单增李斯特菌生长的稳定期约为 14~18h, 且其 14h 测得的 OD_{600} 值最大, 所以在本实验中均选择了 14h 作为菌液的培养时间。单增李斯特菌生长温度范围为 2~42℃, 最适生长温度为 30~37℃, 能在普通冰箱冷藏室生长, 是一种典型的耐冷性细菌^[11]。也有报道指出其能在冷藏温度 (0~4℃) 以下生长^[12], 最高生长温度约为 45℃^[13], 所以本实验分别选择了 0℃ 和 45℃ 作为最低最高温度进行测定。其生长 pH 为 4.3~9.6^[14], 最适 pH 为中性至弱碱性^[15], 本实验得到的结论与此基本一致。单增李斯特菌对盐有较高的耐受性, 在浓度高于 10%^[16] 的氯化钠中都能生长, 有报道中指出其甚至能在浓度为 12% 的盐溶液中生长。本实验中虽测得其在 12.5% 的 NaCl 溶液中 OD_{600} 值几乎为零, 但涂布平板得到其菌落数接近 10^3 CFU/mL, 比初始接种量略有所降低, 说明其在此浓度下开始停止生长。单增李斯特菌在 0.5%~3.5% 的 NaCl 浓度范围内生长良好, 且其测得的 OD_{600} 值差异不明显, 其对应的水分活度约为 0.97~0.99, 此结果与张春林^[17] 等的研究一致, 即水分活度升高到 0.97 以上时, 水分活度对生长量的影响不明显。各因素的交互作用都极显著 ($p < 0.01$), 表明温度、pH、NaCl 浓度不仅对单增李斯特菌的生长有显著的影响, 而且其综合因素对单增李斯特菌的生长有协同作用, 为进一步建立生长与非生长模型提供了参考依据。

虽然实验测得的单增李斯特菌在 37℃ 下的稳定期为 14~18h, 但是由于在不同的温度条件下, 菌种的生长期是不同的, 在菌种的最适生长温度范围外, 其进入对数期的时间可能会延长或生长受到显著抑制, 所以 14h 对于其他的培养温度来说, 菌的生长可能还处于延滞期或菌株不能生长, 所以菌液的变化极不明显, 可见光分光光度计测得的 OD_{600} 值均几乎为零, 而其某些菌液的菌量可能已经远远超过 10^3 CFU/mL, 所以仅仅通过测定菌液的 OD_{600} 值还不能完全准确地了解菌种的实际生长特性, 只能初步探索出单增李斯特菌大致的生长趋势, 对于单增李斯特菌的生长与非生长界面模型建立, 还需其他能更准确了解单增李斯特菌生长状况的方法指标, 以进一步探索建立单增李斯特菌生长与非生长的界面模型的可行方法。

参考文献

- [1] 邵美丽, 许岩, 赵燕丽, 等. 一多重耐药单增李斯特菌株的生长特性及毒力分析[J]. 微生物学杂志, 2011, 31(2): 24-25.
- [2] 张加林, 杨林娟. 单增李斯特菌的食源性污染状况及检测方法[J]. 医学理论与实践, 2012, 25(8): 909-915.
- [3] Kerr K G, Laeoy Listeriosis R W. New problems with an old pathogen[J]. J of Hospital Infection, 1988, 12: 247-251.
- [4] 潘利华, 刘竹青, 于荟, 等. 单核细胞增生李斯特菌复合抑

(下转第 148 页)

在光合自养下细胞中能积累更多的藻胆蛋白和叶绿素 a, 培养液最终 pH 大于混合营养培养。

3.2 结果表明, 尽管混合营养半连续培养的藻体细胞品质比光合自养条件下略差, 但最终藻体干重得到了极大提高, 降低了培养成本。因此, 从长远来看, 混合营养半连续培养是一种可行的培养方式。如果在每次回收培养液时测定其各组分含量, 根据需要补加相应的成分应该会得到更好的培养结果, 这有待今后进一步的研究。

参考文献

- [1] 徐建红, 辛晓芸, 王爱业. 螺旋藻的研究现状及进展[J]. 山西师大学报, 2003, 17(3): 57-63.
- [2] 李冰, 张学成. 钝顶螺旋藻藻蓝蛋白和多糖的抗肿瘤免疫活性研究[J]. 中国海洋大学学报, 2004, 34(3): 396-403.
- [3] 李志勇, 郭祀远. 气升式内环流光生物反应器中的螺旋藻生长特性与模型[J]. 郑州粮食学院学报, 1998, 19(2): 24-28.
- [4] 张义明, 陈峰, 郭祀远. 光照强度及葡萄糖浓度对螺旋藻
-
- (上接第 139 页)
- Industrial Microbiology, 1995, 14: 467-471.
- [19] 包启安. 酱油科学与酿造技术[M]. 北京: 中国轻工业出版社, 2011: 119-128.
- [20] 陈之瑶, 冯云子, 尹文颖, 等. 不同菌种制备酱油大曲生产酶系特性及其耐盐性的比较[J]. 食品与发酵工业, 2012, 38(6): 8-9.
- [21] 李丹, 王娅琴, 赵海锋, 等. 盐水浓度及 pH 对高盐稀态酱油酿造初期酱醪理化性质影响的研究[J]. 现代食品科技, 2011, 27(4): 380-383.
- [22] 王亚威, 王鸿. 高盐稀态酱油混合菌种制曲发酵工艺的研究[J]. 中国调味品, 2011, 36(11): 51-54.
- [23] 邹阳, 崔春, 赵谋明. 不同原料配比对酱油成曲抗氧化活

.....

(上接第 143 页)

- 性的影响[J]. 食品与发酵工业, 2010, 36(7): 1-5.
- [24] Kuba-Miyara M, Yasuda M. Bioorganic compounds produced by the fungus *Monascus* and their use in health sciences and medicine[J]. *Mini-Rev Org Chem*, 2012(9): 11-19.
- [25] Lin Y L, Wang T H, Lee M H, et al. Biologically active components and nutraceuticals in the *Monascus*-fermented rice: a review[J]. *Appl Microbiol Biotechnol*, 2008, 77: 965-973.
- [26] 杨成龙. 偏黄色调高色价红曲米发酵条件的研究[J]. 福建农业学报, 2009, 24(4): 360-364.
- [27] 张庆庆, 吕闻闻, 汤文晶, 等. 红曲霉 ZL307 固态发酵豆渣产 γ -氨基丁酸的工艺优化[J]. 食品发酵与工业, 2012, 38(1): 96-100.
-
- [5] 田华, 赵琪, 张义明. 抗氧化剂对螺旋藻生长的影响. 化学与生物工程, 2006, 23(1): 37-38.
- [6] Yiming Zhang, Feng Chen. A simple method for efficient separation and purification of c-phycoerythrin and allophycocyanin from *Spirulina Platensis*[J]. *Biotechnology Techniques*, 1999, 13: 601-603.
- [7] Zarrouk C. Influence de divers facteurs physiques et chimiques sur la croissance et photosynthèse de *Spirulina maxima* Geitler[D]. University of Paris, 1966.
- [8] 孙鹏. 螺旋藻和节旋藻营养成分的比较研究[D]. 青岛: 中国海洋大学, 2004.
- [9] 杨洪芳, 丁峰元, 陈德辉. 乙醇-超声法在浮游植物叶绿素 a 含量测定中的应用[J]. 海洋渔业, 2006, 28(4): 309-313.
- [10] Ben Dhiab Rym, Ghenim Nejeh, Trabelsi Lamia, et al. Modeling growth and photosynthetic response in *Arthrospira platensis* as function of light intensity and glucose concentration using factorial design[J]. *J Appl Phycol*, 2010, 22: 745-752.
-
- [11] 宋爱莉, 杨左光. 奇特的单增李斯特菌[J]. 航空航天医药, 2010, 21(3): 364-365.
- [12] 张培培, 刘媛, 方春, 等. 单增李斯特菌在冷鲜猪肉中的生长预测模型比较[J]. 微生物学报, 2011, 51(12): 1625-1631.
- [13] 刘柳, 孙保华. 温度及气调包装对冷却猪肉中单核细胞增生性李斯特菌生长的影响[J]. 食品科学, 2008, 29(1): 334-337.
- [14] Jeffery M. Farber. Present situation in Canada regarding *Listeria monocytogenes* and ready-to-eat seafood products[J]. *International Journal of Food Microbiology*, 2000, 62: 247-251.
- [15] 沈晓盛, 郑国兴, 李庆, 等. 食品中单核细胞增生李斯特菌的危害及其检测[J]. 食品与发酵工业, 2004, 30(8): 87-91.
- [16] 孙新生, 徐幸莲, 韩衍青, 等. 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[J]. 食品工业科技, 2012, 33(13): 118-126.
- [17] 张春林, 张家国. 单增李斯特菌增值的影响因素研究[J]. 食品研究与开发, 2011, 32(7): 48-53.