

## 实验技术与方法

## 真空低温烹调条件下猪肉中单核细胞增生李斯特菌热灭活规律研究

封岩<sup>1,2</sup>,任秀<sup>2</sup>,陈怡文<sup>2</sup>,景宇<sup>1,2</sup>,陆阳<sup>1</sup>,李景云<sup>2</sup>,崔生辉<sup>2</sup>

(1. 食品营养与安全国家重点实验室,教育部食品营养与安全重点实验室,天津科技大学食品科学与工程学院,天津 300457;2. 中国食品药品检定研究院,食品化妆品检定所,北京 100050)

**摘要:**目的 研究不同温度、不同基质中单核细胞增生李斯特菌(以下简称单增李斯特菌)的热灭活规律,探讨真空低温烹调对不同基质中单增李斯特菌减灭的影响。方法 将5株单增李斯特菌冻干菌粉人工污染生理盐水、MH肉汤、真空包装精猪肉和五花肉,在55、60和63℃条件下测定该菌在生理盐水、MH肉汤、真空包装精肉和五花肉中的存活规律,计算不同菌种在不同条件下的D值和Z值,分析其灭活规律。结果 单增李斯特菌在猪肉中的D值和Z值均高于在生理盐水、MH肉汤中的D值和Z值,差异有统计学意义( $P<0.01$ ),在五花肉中的D值高于在精肉中的D值,差异有统计学意义( $P<0.01$ )。在55℃条件下,真空包装精猪肉和五花肉基质中,人工污染的单增李斯特菌下降6lg所需时间约为3~4h,而在60和63℃的时间分别为30~40和10~20min。结论 真空低温烹调条件下,食品基质、菌种遗传基础等均对单增李斯特菌的杀灭作用存在显著影响,在低于60℃条件下烹调时,需延长烹饪时间,以保障烹饪后食品的微生物安全。

**关键词:**真空低温烹饪;单核细胞增生李斯特菌;猪肉;热灭活

中图分类号:R155 文献标识码:A 文章编号:1004-8456(2024)07-0812-06

DOI:10.13590/j.cjfh.2024.07.007

**Thermal inactivation kinetics study of *Listeria monocytogenes* during sous vide cooking**FENG Yan<sup>1,2</sup>, REN Xiu<sup>2</sup>, CHEN Yiwen<sup>2</sup>, JING Yu<sup>1,2</sup>, LU Yang<sup>1</sup>, LI Jingyun<sup>2</sup>, CUI Shenghui<sup>2</sup>

(1. State Key Laboratory of Food Nutrition and Safety, Ministry of Education Key Laboratory of Food Nutrition and Safety, School of Food Science and Engineering, Tianjin University of Science and Technology, Tianjin 300457, China; 2. National Institute for Food and Drug Control, Food and Cosmetics Inspection Institute, Beijing 100050, China)

**Abstract: Objective** To explore the effect of sous-vide on the thermal inactivation rules of *Listeria monocytogenes* in different matrix, the thermal inactivation of *Listeria monocytogenes* in different substrates at different temperatures was studied. **Methods** Five lyophilized *L. monocytogenes* strains were inoculated into saline, MH broth, vacuum packed lean pork and streaky pork. The survival rates were evaluated at 55, 60, and 63 °C. The decimal reduction time (*D*-value) and temperature dependence (*Z*-value) were determined for each strain in each matrix. **Results** The *D* value and *Z* value of *Listeria monocytogenes* in pork were higher than those in normal saline and MH broth, the difference was statistically significant ( $P<0.01$ ), and the *D* value in pork belly was higher than that in lean meat, the difference was statistically significant ( $P<0.01$ ). At 55 °C, the time required for artificially contaminated *Listeria monocytogenes* to decrease 6lg in sous-vide packed lean pork and streaky pork matrix was about 3~4 h, while the time was 30-40 and 10-20 min at 60 and 63 °C, respectively. **Conclusion** Under the conditions of sous-vide, food matrix and genetic basis of strains have significant effects on the killing effect of *Listeria monocytogenes*. When cooking at below 60 °C, the cooking time should be extended to ensure the microbial safety of cooked food.

**Key words:** Sous-vide; *Listeria monocytogenes*; pork; thermal inactivation

收稿日期:2024-02-18

基金项目:国家重点研发计划项目(2022YFF1100701)

作者简介:封岩 女 硕士生 研究方向为食品微生物学 E-mail:2324459588@qq.com

通信作者:李景云 男 主任技师 研究方向为食品药品微生物检验 E-mail:Lijy@nifdc.org.cn

崔生辉 男 研究员 研究方向为食品安全检测 E-mail:cuishenghui@aliyun.com

李景云和崔生辉为共同通信作者

真空低温烹饪(Sous-vide)法,又称低温慢煮法,是一种起源于20世纪70年代的创新烹饪方式。将食物密封在真空袋中,以50℃~80℃的恒温水浴加热3~24h不等,以达到低温慢煮的效果,赋予食材全新的美味体验<sup>[1]</sup>。该方式最大程度地保留了食物中的营养物质,避免高温导致的维生素等营养成分破坏、蛋白质变性和水分流失,充分展现了食物的原始风味和口感,适用于肉类、蛋类、鱼类、蔬菜等多种食材加工<sup>[2]</sup>。该方法自出现以来,一直是顶级厨师的秘籍。近年,随着真空密封机、恒温水浴的普及和消费者对美食追求的提升,该烹饪方式逐渐走入寻常百姓家,成为家庭厨房的新宠<sup>[3]</sup>。真空低温烹调食品虽然在一定程度上抑制了导致食品腐败的细菌生长,但仍然存在微生物安全隐患。这主要是因为无氧与低温(50℃~65℃)烹调环境下肉毒杆菌、产气荚膜梭状芽孢杆菌、单核细胞增生李斯特菌(以下简称单增李斯特菌, *Listeria monocytogenes*)等食源性致病菌可以生长繁殖,并可出现在零售、分销、家庭等环境中,增加了罹患食源性疾病的风险。迄今为止,国内外尚未发现因食用真空低温烹调食品而暴发的李斯特菌病疫情,这可能与单增李斯特菌病潜伏期较长、难以溯源到病因食品有关。因此,如何确保真空低温烹饪食品的安全,成了业界关注的焦点和学者研究的重点<sup>[4]</sup>。

目前针对真空低温烹调法微生物安全开展的研究主要涉及烹调温度、时间、真空包装、pH值、盐度、糖度和食材种类等,涉及的致病菌微生物种类主要有沙门菌、大肠埃希菌、单增李斯特菌、芽孢菌等<sup>[5-7]</sup>。其中单增李斯特菌对热、pH、盐等因素的耐受性较强<sup>[8-9]</sup>,是目前真空低温烹调法安全研究的重点致病微生物<sup>[10-11]</sup>。欧洲冷冻食品联合会及美国食药监局建议,真空低温烹调过程应确保杀灭食品中6lg的单增李斯特菌,以保障食品安全<sup>[12]</sup>。

单增李斯特菌污染的常见食品有肉、奶、水产、蔬菜等,其中猪肉污染率在11.68%~30.00%不等<sup>[13]</sup>,最常见的血清型为1/2a、1/2b、1/2c和4b<sup>[14-15]</sup>。国际上针对真空低温烹调猪肉制品中单增李斯特菌的减灭效果开展了一些研究,初步验证了该技术对用新鲜培养物染菌的猪肉中该菌的杀灭效果<sup>[16]</sup>。然而,流通环节的猪肉中污染的微生物往往经历过冷冻、紫外照射、酸处理等工艺处理,形成损伤性微生物,其耐受性与新鲜菌株培养物存在差异,使用新鲜培养物难以反映真实的杀灭效果。此外,研究表明脂肪对热处理条件下的微生物具有一定的保护作用<sup>[17]</sup>,而目前针对猪肉精肉和五花肉中单增李斯特菌减灭效果的对比性研究尚无报道。

我国是全球最大的猪肉生产和消费市场<sup>[18]</sup>,真空低温烹调技术使用和研究起步较晚。目前国内学者的研究主要集中在风味、口感、营养等非致病菌指标<sup>[19-21]</sup>,尚未关注其对单增李斯特菌的减灭效果。本研究针对单增李斯特菌污染常见血清型,研制了单增李斯特菌定量冻干菌粉,研究不同温度下、不同基质中单增李斯特菌的热灭活规律,探讨真空低温烹调对不同基质中单增李斯特菌减灭效果。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

#### 1.1.1 菌株来源

CMCC(B)54009、CMCC(B)54010、CMCC(B)54012来源于中国医学细菌保藏管理中心;CICC21633来源于中国工业微生物菌种保藏管理中心;ATCC19115来源于美国典型菌种保藏中心。

#### 1.1.2 主要仪器与试剂

恒温水浴锅,数显温度计,PL2002电子天平,MLS-3780高压灭菌器(日本三洋公司),Thermo1389生物安全柜、PR205050 GCN生化培养箱(美国THERMO),FS001-300真空封口机,EddyJET1 F2ASH AN全自动微生物螺旋加样系统(西班牙IUL),冷冻干燥机,Illumina HiSeq PE50测序仪(美国Illumina)。

MH肉汤、胰蛋白胨大豆琼脂(Tryptose soya agar, TSA)培养基(美国BD);0.85%生理盐水(国药集团);PALCAM琼脂基础(广东环凯生物科技有限公司);28 cm×35 cm双层微孔纹路真空包装袋;DNA提取试剂盒(北京天根生化科技有限公司)。

### 1.2 方法

#### 1.2.1 菌种血清型确认

取5株单增李斯特菌的新鲜TSA培养物,参考许楠等<sup>[22]</sup>的实验方法,使用细菌基因组DNA提取试剂盒提取基因组DNA,并使用核酸蛋白分析仪测定DNA含量及260/280值。对检测合格的基因组DNA构建插入序列长度为350 bp文库,使用Illumina HiSeq平台进行测序,测序策略为150 bp双向测序。获得测序数据后,过滤低质量reads,使用SOAPdenovo(version2.04)、SPAdes、ABYSS组装软件进行组装,使用CISA软件进行整合;采用gapclose(Version:1.12)软件对初步组装结果进行优化和补洞。将组装完成的细菌基因组序列上传巴斯德实验室BIGSdb单增李斯特菌生物信息学分析平台得到菌株的血清型(<http://bigsd.b.pasteur.fr/listeria>)。

#### 1.2.2 菌种真空冷冻干燥

分别取经确认的单增李斯特菌TSA平板二代

新鲜培养物,用无菌棉签加至5%脱脂乳粉-5%海藻糖溶液中,200 μL/瓶分装,置于真空冷冻干燥机中,用如下程序进行冻干:-40℃预冻2 h,-20℃真空干燥12 h,10℃真空干燥4 h后,在真空条件下压盖密封,-20℃保存备用<sup>[23]</sup>。每株菌随机抽取3瓶冻干菌粉,经无菌生理盐水溶解稀释后,用TSA平板计数。

### 1.2.3 单增李斯特菌在生理盐水和MH肉汤基质中的热灭活

取5株单增李斯特菌冻干粉末,分别加入1 mL生理盐水溶解后,取20 μL加入已预热的2 mL生理盐水或MH肉汤中,分别浸入55℃、60℃、63℃恒温水浴中,在不同时间点吸取0.1 mL菌液,快速置于冰水浴冷却的0.9 mL MH肉汤中,用生理盐水稀释后,E50模式螺旋涂布于TSA平板上,37℃培养44~48 h后计数。本部分试验独立重复3次。

### 1.2.4 真空低温烹调对猪肉中单增李斯特菌的热灭活

取5株单增李斯特菌冻干粉末,分别加入1 mL生理盐水溶解后,等比例进行混合备用。取新鲜的精猪肉和五花肉,用无菌刀片切除猪肉表面约1 cm厚度,置于0.1%无菌缓冲蛋白胨水中清洗3次,用无菌吸水纸吸干猪肉多余水分后,充分捶打使其成为肉糜。取10 g肉糜,加入0.1 mL单增李斯特菌菌液混匀,装入真空包装用食品袋中,将袋子压扁至1 mm,真空密封后,完全浸入55℃、60℃或63℃水浴锅中,按照预定的时间取出猪肉样品,无菌方式打开,迅速浸入预冷却的90 mL 0.1%无菌缓冲

蛋白胨水中,拍打式均质器拍打2 min,经0.1%无菌缓冲蛋白胨水稀释后,用E50模式螺旋涂布于PALCAM平板上,37℃培养44~48 h后计数。实验独立重复3次。

### 1.2.5 D值和Z值的计算

使用GraphPad Prism 9.0软件绘制热灭活曲线,计算不同菌种在不同条件下的D值和Z值。

$$\text{Log}N_t = \text{Log}N_0 - 6 \frac{t}{6D} \quad [24]$$

$$Z = \frac{T_2 - T_1}{\log D_1 - \log D_2} \quad [25]$$

$\text{Log}N_t$ 为时间 $t$ 时的存活菌量(CFU/mL), $\text{Log}N_0$ 为初始菌量(CFU/mL), $t$ 为时间(min), $6D$ 为减灭6lg所需的时间(min)。 $Z$ 值为D值改变1lg所需的温度,为lgD-T曲线斜率的负倒数。

### 1.3 统计学分析

用SPSS 23.0软件,对于不同温度条件下单增李斯特菌在生理盐水、MH肉汤、真空包装猪肉基质中的灭活情况进行单因素方差分析, $P < 0.05$ 为差异有统计意义。

## 2 结果

### 2.1 单增李斯特菌的冻干

五株菌经全基因组二代测序方法测试,确认为单增李斯特菌,结合巴斯德实验室BIGSdb单增李斯特菌生物信息学分析,对血清型进行了确认,结果与预期一致。5株菌经真空冷冻干燥后,菌浓度均约为 $10^9$  CFU/瓶(表1)。

表1 试验用单增李斯特菌菌株信息及冻干后浓度

Table 1 Information and concentrations of free Ze-dried samples of *Listeria monocytogenes*

菌株编号	来源	血清型	冻干菌粉浓度( $10^9$ CFU/瓶)( $n=3$ )
CMCC(B)54009	中国医学细菌保藏管理中心	1/2a	1.94±0.06
CICC21633	中国工业微生物菌种保藏管理中心	1/2a	1.40±0.12
CMCC(B)54010	中国医学细菌保藏管理中心	1/2b	1.52±0.16
CMCC(B)54012	中国医学细菌保藏管理中心	1/2c	1.60±0.15
ATCC19115	美国典型菌种保藏中心	4b	1.22±0.12

### 2.2 单增李斯特菌在生理盐水和MH肉汤基质中的灭活

如表2所示,5株单增李斯特菌在生理盐水和MH肉汤中的Z值差异无统计学意义( $P < 0.05$ )。5株单增李斯特菌在MH肉汤中的D值均高于生理盐水中的D值( $P < 0.01$ ),随着温度的升高,D值均显著性下降( $P < 0.01$ )。55℃时,5株菌在生理盐水中的D值范围为13~17 min,而在MH肉汤中的D值范围为29~38 min,据此计算5株菌在55℃的MH肉汤中下降6lg的时间为3~4 h;当温度上升到63℃时,5株菌在生理盐水中的D值均在30 s左右,而在

MH肉汤中的D值则在1 min左右,据此计算五株菌在63℃的MH肉汤中下降6lg的时间不足10 min。

### 2.3 单增李斯特菌在真空包装猪肉基质中的灭活

在55℃、60℃和63℃条件下,单增李斯特菌在五花肉中的D值均高于在生理盐水、MH肉汤和真空包装精肉中的D值( $P < 0.01$ ),但在五花肉和精肉中的Z值相接近。据表3计算,在55℃、60℃和63℃条件下,真空包装精肉和五花肉基质中人工污染的单增李斯特菌下降6lg所需时间约为3~4 h、30~40和10~20 min(图1)。

表2 五株单增李斯特菌在生理盐水和MH肉汤中的D值与Z值

Table 2 D and Z values of five *Listeria monocytogenes* strains in saline and MH broth

菌株	D值/min(n=3)						R <sup>2</sup>		Z值/°C(n=3)	
	55 °C		60 °C		63 °C		生理盐水	MH肉汤	生理盐水	MH肉汤
	生理盐水	MH肉汤	生理盐水	MH肉汤	生理盐水	MH肉汤				
CMCC(B)54009	13.92±0.35	29.10±1.07	1.80±0.09	2.73±0.10	0.40±0.01	1.05±0.02	0.9963	0.9914	5.19±0.05	5.55±0.06
CICC21633	14.17±0.05	29.92±0.79	1.74±0.11	2.84±0.03	0.39±0.01	1.06±0.04	0.9978	0.9910	5.14±0.02	5.52±0.09
CMCC(B)54010	15.29±0.37	33.04±3.59	2.73±0.02	3.42±0.01	0.53±0.01	1.08±0.03	0.9818	0.9980	5.48±0.07	5.40±0.19
CMCC(B)54012	15.43±0.23	37.82±0.45	2.19±0.03	4.35±0.89	0.55±0.03	0.87±0.02	0.9981	0.9965	5.54±0.11	4.89±0.02
ATCC19115	16.70±0.22	36.99±0.24	3.23±0.19	5.53±0.08	0.56±0.06	1.14±0.03	0.9737	0.9926	5.41±0.19	5.29±0.04
均值	15.10	33.37	2.34	3.77	0.49	1.04	—	—	5.35	5.33

表3 五株单增李斯特菌在真空包装精肉和五花肉基质中的D值和Z值

Table 3 D and Z values of five *Listeria monocytogenes* strains in vacuum packaged lean pork and streaky pork matrices

基质	D值/min(n=3)			R <sup>2</sup>	Z值/°C(n=3)
	55 °C	60 °C	63 °C		
真空包装精肉	31.76±1.51	5.3±0.25	2.1±0.20	0.9984	6.80±0.18
真空包装五花肉	39.65±1.00	6.5±0.26	3.0±0.19	0.9920	7.17±0.16

### 3 讨论

本研究对真空低温烹调法常用的3个温度条件对5株单增李斯特菌在不同基质中的杀灭效果进行分析,发现单增李斯特菌在猪肉中的D值和Z值均显著性高于在生理盐水和MH肉汤中的D值和Z值( $P<0.01$ ),在五花肉中的D值显著性高于在精肉中的D值( $P<0.01$ )。在55 °C条件下,真空包装精肉和五花肉基质中,人工污染的单增李斯特菌下降6lg所需时间约为3~4 h,而在60 °C和63 °C的时间分别为30~40和10~20 min,提示在低于60 °C条件下使用真空低温烹调法时需要注意延长烹饪时间,以保障烹饪后的食品安全。

本试验过程中采用了同批次、均一、稳定的定

量冻干单增李斯特菌开展,客观上保证了研究过程中不同时间点、不同样品染菌浓度的一致性,同时也提高了试验的便捷性。另外,冻干细菌会受到一定的损伤<sup>[18]</sup>,在污染样品后存在一个修复过程<sup>[23]</sup>,这更接近自然条件下样品中污染单增李斯特菌的状态。冻干菌株制备方法及本染菌方案也为后续相关食品染菌研究提供了有效的技术参考。

单增李斯特菌是猪肉中常见的致病菌之一<sup>[26]</sup>,其对温度的抵抗力要高于沙门菌、弯曲杆菌等常见食源性致病菌<sup>[27]</sup>。研究表明,不同单增李斯特菌株间对热的耐受也存在一定差异,这一差异在55 °C条件下表现的尤为明显,这可能与不同菌株细胞壁中磷壁酸含量、细胞内热休克蛋白的表达量、ATP依赖性蛋白酶ClpL等密切相关<sup>[28-30]</sup>,鉴于这些差异的存在,在后续研究中应测试更多的菌种,以掌握单增李斯特菌对热的耐受差异,并在真空低温烹调时,适当延长烹调时间,以保障食品的微生物安全。

不同的研究均显示,基质对单增李斯特菌的热抵抗力存在显著性影响<sup>[31-34]</sup>。本研究数据表明,在

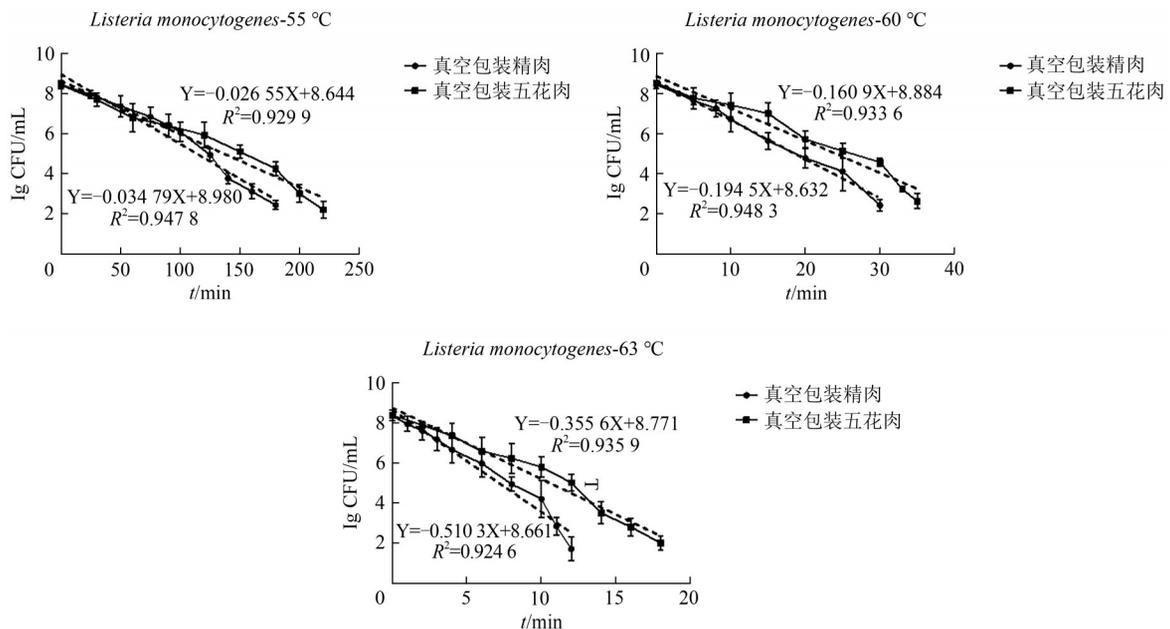


图1 不同温度条件下单增李斯特菌在真空包装精猪肉和五花肉基质中的消减曲线

Figure 1 Reduction curves of *Listeria monocytogenes* in vacuum packaged lean pork and streaky pork matrices at different temperatures

盐水、MH肉汤、精肉和五花肉四种基质中,单增李斯特菌对热的抵抗力依次增强,这与不同基质中多肽、脂肪的含量差异密切相关<sup>[17,35]</sup>。本研究使用了厚度约为1 mm的肉糜人工染菌进行了真空低温烹调杀菌试验研究,这种方法利于细菌与肉的充分接触,与涂抹在肉表面相比<sup>[36-37]</sup>,有利于充分体现食品基质对细菌的热保护作用;同时1 mm厚度也保证食品基质瞬间即可达到所需测定的温度,与使用大体积的食品样品相比<sup>[38-40]</sup>,可充分展示该温度条件对所测定基质中细菌的存活影响。数据显示,55 °C的五花肉基质中,人工污染的单增李斯特菌下降6lg所需时间最长,约为3~4 h,这也充分验证了脂肪的热保护作用<sup>[41-42]</sup>,同时提示,在用真空低温烹调方法加工食品时,应充分考虑食品基质的差异。

综上,真空低温烹调条件下,食品基质、菌种遗传基础等均对单增李斯特菌的杀灭作用存在显著影响,在低于60 °C条件下烹调时,需延长烹饪时间,以保障烹饪后食品的微生物安全。建议猪肉55 °C下烹饪4 h,60 °C下烹饪40 min,63 °C下烹饪20 min,以达到单增李斯特菌杀灭6lg目的,促进真空低温烹调猪肉微生物安全。后续研究应丰富真空低温烹调食品类型、食源性致病菌种类,扩大应用范围,不断提升真空低温烹饪技术的安全性,以期为人们带来更加健康美味的烹饪体验和健康安全食品。

## 参考文献

- [ 1 ] KILIBARDA N, BRDAR I, BALTIC B, et al. The safety and quality of sous vide food[J]. *Meat Technology*, 2018, 59: 38-45.
- [ 2 ] KATHURIA D, DHIMAN A K, ATTRI S. Sous vide, a culinary technique for improving quality of food products: A review[J]. *Trends in Food Science & Technology*, 2022, 119: 57-68.
- [ 3 ] 杨梓莹, 黄彬. Sous vide烹调法在我国运用的探讨[J]. *轻工科技*, 2017, 33(4): 144-145, 170.  
YANG Z Y, HUANG B. discussion on the application of Sous vide cooking method in our country[J]. *Light Industry Science and Technology*, 2017, 33(4): 144-145, 170.
- [ 4 ] ONYEAKA H, NWABOR O, JANG S, et al. Sous vide processing: a viable approach for the assurance of microbial food safety[J]. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 2022, 102(9): 3503-3512.
- [ 5 ] DOMINGUEZ-HERNANDEZ E, SALASEVICIENE A, ERTBJERG P. Low-temperature long-time cooking of meat: Eating quality and underlying mechanisms[J]. *Meat Science*, 2018, 143: 104-113.
- [ 6 ] AMOROSO L, RIZZO V, MURATORE G. Nutritional values of potato slices added with rosemary essential oil cooked in sous vide bags [J]. *International Journal of Gastronomy and Food Science*, 2019, 15: 1-5.
- [ 7 ] JØRGENSEN F, SADLER-REEVES L, SHORE J, et al. An assessment of the microbiological quality of lightly cooked food (including sous-vide) at the point of consumption in England [J]. *Epidemiol Infect*, 2017, 145(7): 1500-1509.
- [ 8 ] ENGSTROM S K, MAYS M F, GLASS K A. determination and validation of d-values for *Listeria monocytogenes* and *Shiga toxin-producing Escherichia coli* in cheese milk [J]. *Journal of Dairy Science*, 2021, 104(12): 12332-12341.
- [ 9 ] KARYOTIS D, SKANDAMIS P N, JUNEJA V K. Thermal inactivation of *Listeria monocytogenes* and *Salmonella* spp. in sous-vide processed marinated chicken breast[J]. *Food Research International*, 2017, 100: 894-898.
- [ 10 ] ONYEAKA D H, NWAIZU C-C, EKAETTE I. Mathematical modeling for thermally treated vacuum-packaged foods: A review on sous vide processing[J]. *Trends in Food Science & Technology*, 2022, 126: 73-85.
- [ 11 ] JUNEJA V K, OSORIA M, TIWARI U, et al. The effect of lauric arginate on the thermal inactivation of starved *Listeria monocytogenes* in sous-vide cooked ground beef [J]. *Food Research International*, 2020, 134: 109280.
- [ 12 ] STRINGER S C, METRIS A. Predicting bacterial behaviour in sous vide food[J]. *International Journal of Gastronomy and Food Science*, 2018, 13: 117-128.
- [ 13 ] WANG Y, JI Q, LI S, et al. Prevalence and genetic diversity of *Listeria monocytogenes* isolated from retail pork in Wuhan, China [J]. *Frontiers in Microbiology*, 2021, 12: 620482.
- [ 14 ] FANG C, SHAN Y, CAO T, et al. Prevalence and virulence characterization of *Listeria monocytogenes* in chilled pork in Zhejiang province, China[J]. *Foodborne Pathogens and Disease*, 2016, 13(1): 8-12.
- [ 15 ] ABDELHAMED H, NHO S W, KIM S W, et al. Serotype-identifying ions in *Listeria monocytogenes* using matrix-associated laser desorption ionization-time of flight mass spectrometry [J]. *Heliyon*, 2022, 8(12): e11769.
- [ 16 ] FELÍCIO M T S, RAMALHEIRA R, FERREIRA V, et al. Thermal inactivation of *Listeria monocytogenes* from alheiras, traditional Portuguese sausage during cooking[J]. *Food Control*, 2011, 22(12): 1960-1964.
- [ 17 ] JIANG S, XUE D, ZHANG Z, et al. Effect of Sous-vide cooking on the quality and digestion characteristics of braised pork[J]. *Food Chemistry*, 2022, 375: 131683.
- [ 18 ] FAN H, CHEN K, MA H, et al. Carbon footprints in pork production and consumption in China from 2005 to 2020 [J]. *Journal of Cleaner Production*, 2023, 419: 138252.
- [ 19 ] 卜俊芝, 徐迅, 唐振兴, 等. 不同热加工方式对胡萝卜品质的影响[J]. *食品与发酵工业*, 2022, 48(6): 225-232.  
BU J Z, XU X, TANG Z X, et al. The influence of different heat treatment methods on the quality of carrot[J]. *Food and Fermentation Industries*, 2022, 48(6): 225-232.
- [ 20 ] 康晓风, 黎家奇, 闫寒, 等. 真空低温烹饪鲤鱼工艺优化及其品质[J]. *食品工业*, 2020, 41(4): 1-5.  
KANG X F, LI J Q, YAN H, et al. Process optimization and quality of sous-vide cooking carp[J]. *The Food Industry*, 2020, 41(4): 1-5.
- [ 21 ] 李艳红, 王稳航. 低温热处理对牦牛肉理化性质及感官特性的影响[J]. *食品与发酵工业*, 2021, 47(2): 145-152.  
LI Y H, WANG W H. Effects of low-temperature cooking on

- physicochemical properties and sensory of yak meat [J]. Food and Fermentation Industries, 2021, 47(2): 145-152.
- [22] 许楠, 杨旭东, 田莹, 等. 临床患者血培养分离出卡明斯假谷氨酸杆菌的全基因组测序及基因功能分析[J]. 现代检验医学杂志, 2023, 38(3): 58-64.
- XU N, YANG X D, TIAN Y, et al. Whole genome sequencing and gene function analysis of *Pseudoglutamicibacter cuminsii* isolated from blood culture of clinical patients [J]. Journal of Modern Laboratory Medicine, 2023, 38(3): 58-64.
- [23] 瞿洪仁, 骆海朋, 申静云, 等. 食品检测用单核细胞增生李斯特氏菌标准物质的研制[J]. 食品安全质量检测学报, 2019, 10(1): 65-70.
- QU H R, LUO H P, SHEN J Y, et al. Preparation of reference material of *Listeria monocytogenes* for food detection[J]. Journal of Food Safety & Quality, 2019, 10(1): 65-70.
- [24] METSELAAR K I, DEN BESTEN H M W, ABEE T, et al. Isolation and quantification of highly acid resistant variants of *Listeria monocytogenes* [J]. International Journal of Food Microbiology, 2013, 166(3): 508-514.
- [25] LING B, TANG J, KONG F, et al. Kinetics of food quality changes during thermal processing: A review [J]. Food and Bioprocess Technology, 2014, 8: 343-358.
- [26] GUTIÉRREZ-CHOCOZA M A, LÓPEZ-ROMERO J C, GARCÍA-GALAZ A, et al. Modeling the effects of temperature and pH on *Listeria monocytogenes* growth in Mexican-style pork choriZo[J]. Applied Food Research, 2023, 3(2): 100336.
- [27] SHIMOJIMA Y, SHIMOJIMA H, MORITA Y. Survival of *Campylobacter jejuni*, *Salmonella*, and *Listeria monocytogenes* and temperature change in Low-Temperature-Longtime-Cooked chicken meat [J]. Journal of Food Protection, 2022, 85(8): 1166-1171.
- [28] GUAN P, WANG X, DONG Z, et al. Cinnamaldehyde inactivates *Listeria monocytogenes* at a low temperature in ground pork by disturbing the expression of stress regulatory genes [J]. Food Bioscience, 2023, 51: 102277.
- [29] PÖNTINEN A, AALTO-ARANEDA M, LINDSTRÖM M, et al. Heat resistance mediated by pLM58 plasmid-Borne *ClpL* in *Listeria monocytogenes* [J]. mSphere, 2017, 2(6): 10.1128/msphere.00364-17.
- [30] YAO H, LI G, XIONG X, et al. LygA retention on the surface of *Listeria monocytogenes* via its interaction with wall teichoic acid modulates bacterial homeostasis and virulence [J]. PLoS Pathogens, 2023, 19(6): e1011482.
- [31] LOPES S M, FÖSCH BATISTA A C, TONDO E C. *Salmonella* survival during soft-cooked eggs processing by temperature-controlled water circulator[J]. Food Control, 2018, 94: 249-253.
- [32] ESPINOSA M C, LÓPEZ G, DÍAZ P, et al. Development of a convenience and safety chilled sous vide fish dish: diversification of aquacultural products [J]. Food Science and Technology International, 2016, 22(3): 185-195.
- [33] GÁL R, ČMIKOVÁ N, PROKOPOVÁ A, et al. Antilisterial and antimicrobial effect of salvia officinalis essential oil in beef sous-vide meat during storage[J]. Foods, 2023, 12(11): 2201.
- [34] ABEL T, BOULAABA A, LIS K, et al. Inactivation of *Listeria monocytogenes* in game meat applying sous vide cooking conditions [J]. Meat Science, 2020, 167: 108164.
- [35] MATÉ J, PERIAGO P M, ROS-CHUMILLAS M, et al. Fat and fibre interfere with the dramatic effect that nanoemulsified d-limonene has on the heat resistance of *Listeria monocytogenes* [J]. Food Microbiology, 2017, 62: 270-274.
- [36] LUCHANSKY J B, BARLOW K, WEBB B, et al. Inactivation of *Listeria monocytogenes* and *Salmonella* spp. during cooking of country ham and fate of *L. monocytogenes* and *Staphylococcus aureus* during storage of country ham slices [J]. Journal of Food Protection, 2024, 8(3): 100222.
- [37] SMITH C J, OLSZEWSKA M A, DIEZ-GONZALEZ F. Selection and application of natural antimicrobials to control *Clostridium perfringens* in sous-vide chicken breasts [J]. International Journal of Food Microbiology, 2021, 347: 109193.
- [38] BALDWIN D E. Sous vide cooking: A review [J]. International Journal of Gastronomy and Food Science, 2012, 1(1): 15-30.
- [39] DOGRUYOL H, MOL S, COSANSU S. Increased thermal sensitivity of *Listeria monocytogenes* in sous-vide salmon by oregano essential oil and citric acid [J]. Food Microbiology, 2020, 90: 103496.
- [40] TANGWATCHARIN P, SORAPUKDEE S, KONGSRIRAT K. Sous-vide restructured goat steaks: Process optimized by thermal inactivation of *Listeria monocytogenes* and their quality characteristics [J]. Food Science of Animal Resources, 2019, 39(6): 863.
- [41] MONU E A, VALLADARES M, D' SOUZA D H, et al. determination of the thermal inactivation kinetics of *Listeria monocytogenes*, *Salmonella enterica*, and *Escherichia coli* O157: H7 and non-O157 in buffer and a spinach homogenate [J]. Journal of Food Protection, 2015, 78(8): 1467-1471.
- [42] TSAI H-C, TAYLOR M H, SONG X, et al. Thermal resistance of *Listeria monocytogenes* in natural unsweetened cocoa powder under different water activity [J]. Food Control, 2019, 102: 22-28.