

ε-聚赖氨酸对脂环酸芽孢杆菌生长与产物代谢的影响*

蔡瑞 袁亚宏 王周利 郭春锋 刘斌 岳田利

(西北农林科技大学食品科学与工程学院, 陕西杨凌 712100)

摘要: 研究了ε-聚赖氨酸对脂环酸芽孢杆菌属生长及产愈创木酚的影响。以 *A. acidoterrestris*、*A. herbarius* 和 *A. acidiphilus* 为研究对象,采用双倍稀释法测定最小抑菌浓度;通过菌落计数和高相液相色谱法检测愈创木酚的含量,评价ε-聚赖氨酸对模拟苹果汁体系中脂环酸芽孢杆菌生长代谢的影响。结果表明:ε-聚赖氨酸能够有效抑制脂环酸芽孢杆菌营养细胞和芽孢的生长,最小抑菌质量浓度为 1.25 ~ 5 mg/L。当模拟苹果汁中ε-聚赖氨酸的添加量为最小抑菌浓度时,脂环酸芽孢杆菌的菌落数呈下降趋势,减少量为 1 ~ 2 个数量级;愈创木酚的生成量显著降低,质量浓度范围为 1.7 ~ 4.74 mg/L。当ε-聚赖氨酸添加量增加至最小抑菌浓度的 4 倍时,菌落数由 (5 ~ 6) × 10⁶ 个/mL 降低至 4.6 × 10² 个/mL 以下,同时,可以完全抑制愈创木酚的产生。因此,ε-聚赖氨酸可以有效控制果汁中脂环酸芽孢杆菌属细菌腐败。

关键词: 脂环酸芽孢杆菌 ε-聚赖氨酸 抑菌 愈创木酚

中图分类号: TS201.6 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-1298(2015)10-0285-05

Effect of ε-polylysine on Growth and Guaiacol Production of *Alicyclobacillus* spp.

Cai Rui Yuan Yahong Wang Zhouli Guo Chunfeng Liu Bin Yue Tianli

(College of Food Science and Engineering, Northwest A&F University, Yangling, Shaanxi 712100, China)

Abstract: *Alicyclobacillus* spp. has recently received much attention due to its implication in the spoilage of pasteurized fruit juices, which was characterized by the production of a smoky, medicinal and antiseptic off-odor attributed to guaiacol. The species those are known to produce guaiacol are *A. acidoterrestris*, *A. acidiphilus* and *A. herbarius*. The effect of ε-polylysine on growth and guaiacol production of these three species of *Alicyclobacillus* spp. was evaluated. Minimal inhibitory concentration (MIC) of ε-polylysine was determined in AAM medium by using broth dilution method. The sensitivity of *Alicyclobacillus* spp. to ε-polylysine was species-dependent, and MIC values ranged from 1.25 mg/mL to 5 mg/mL against vegetative cells and from 2.5 mg/mL to 5 mg/mL against the spores. Then, various concentrations of ε-polylysine were added to the model apple juice. When the dose of ε-polylysine increased to 4 MIC, *Alicyclobacillus* counts were reduced below 2.66 log colony forming unit (CFU)/mL, and no guaiacol was detected after 7 d incubation. The results can be very useful for better control of *Alicyclobacillus*-related spoilage in the fruit juice and beverage industry.

Key words: *Alicyclobacillus* spp. ε-polylysine Growth inhibition Guaiacol

引言

脂环酸芽孢杆菌 (*Alicyclobacillus*) 是酸性果汁

和饮料中常见的污染菌,其菌体和芽孢可以耐受普通的巴氏杀菌并在低 pH 值及高温条件下存活甚至生长,因此这类细菌也称为“嗜酸耐热菌”^[1-2]。脂

收稿日期: 2015-07-16 修回日期: 2015-08-19

* 陕西省社会发展科技攻关资助项目(2015SF278)、港澳台科技合作专项资助项目(K304021501)、陕西省科学技术研究发展计划资助项目(2014K1315)和西北农林科技大学博士科研启动基金资助项目(Z109021503)

作者简介: 蔡瑞, 博士生, 主要从事食品安全检测与控制研究, E-mail: cairui@nwsuaf.edu.cn

通讯作者: 岳田利, 教授, 博士生导师, 主要从事农产品加工与食品安全控制研究, E-mail: yuetl@nwsuaf.edu.cn

环酸芽孢杆菌引起的果汁腐败问题被相继报道,其中以苹果汁中污染频率最高^[3]。同时,脂环酸芽孢杆菌主要来源于果园环境的土壤中,其易于粘附在落果表面,在果汁工业化生产中,一旦原料果清洗不干净,这些微生物会侵入果汁生产线并在后续加工过程中难以去除和控制。由于脂环酸芽孢杆菌可以在果汁中生长代谢并产生愈创木酚、2,6-二溴苯酚、2,6-二氯苯酚等物质,使果汁的口感、风味变差并形成白色沉淀或雾状浑浊,且愈创木酚作为最主要的代谢产物,其感官阈值仅为 2 μg/L,即使痕量也可以使果汁呈现不愉快的气味,所以脂环酸芽孢杆菌污染及愈创木酚产生依然是世界范围内果汁生产中的一个重要的质量安全控制指标^[4-5]。目前研究发现的愈创木酚产生菌主要集中在 *A. acidoterrestris*、*A. herbarius*和 *A. acidiphilus*^[6-7],因此,对这些污染菌株的有效控制及愈创木酚的代谢阻断依然是保证果汁产品质量安全的重要举措。

目前,对果汁中脂环酸芽孢杆菌的控制和杀灭方法研究较多,而通过天然防腐剂对其进行控制依然是最有效和低成本的。 ϵ -聚赖氨酸(ϵ -PL)是一类天然存在的阳离子短肽,通过赖氨酸分子的 α -羧基与 ϵ -氨基形成酰胺键并连接成多聚体。研究结果表明,分子量在 3 600~4 300 之间的 ϵ -PL 具有较高的抑菌活性^[8-9]。作为天然的防腐剂, ϵ -PL 具有以下几个优势:安全性高,不会在人体内积累且会被分解成人体必需的赖氨酸;抑菌谱广,能有效抑制革兰氏阳性菌、革兰氏阴性菌、酵母菌和霉菌等多种微生物^[10-12];溶水性好,无色无味,不会影响食品的品质和风味;热稳定性高,可以加入后进行热处理,因此更有利于抑制耐热菌^[13-14]。同时, ϵ -PL 是允许添加的食品添加剂,其在果蔬汁中的最大限量为 0.2 g/L^[15]。

因此,本文以 *A. acidoterrestris*、*A. herbarius* 和 *A. acidiphilus* 为供试材料,以 ϵ -PL 为抑菌剂,探讨 ϵ -PL 对这些脂环酸芽孢杆菌的生长及代谢产生愈创木酚的影响,为实现果汁中脂环酸芽孢杆菌的有效控制提供理论依据和技术支撑。

1 材料与方法

1.1 试剂

香草酸(97%)、愈创木酚(99%)购于 Sigma-Aldrich 公司;聚赖氨酸(98%)由郑州拜纳佛生物工程股份有限公司提供;其它化学试剂均为国产分析纯。

1.2 主要仪器设备

LC-20A 型高效液相色谱仪,包括 LC-20AD

型高压泵,SPD-M20A 型二极管阵列检测器,SIL-20A型自动进样器、CBM-20A 型系统控制器,CTO-10AS型柱温箱,LC solution 工作站(岛津(中国)有限公司);YXQ-LS-50A 型立式压力蒸汽灭菌锅(上海博讯实业有限公司);SCB-1360 型超净工作台(北京东联哈尔有限公司);PHS-3C 型 pH 计(上海雷磁仪器厂);QYC-2102C 型恒温培养摇床(上海福玛实验设备有限公司);HC-3018R 型高速冷冻离心机(安徽中科中佳科学仪器有限公司);ZCSD-1160 型生化培养箱(上海智城分析仪器制造有限公司)。

1.3 菌株及培养基

标准菌:*A. acidoterrestris* (DSM 3922)、*A. acidiphilus* (DSM 14558) 和 *A. herbarius* (DSM 13609)购于德国微生物菌种保藏中心。

分离菌:*A. acidoterrestris* C-ZJB-12-10、C-ZJB-12-28和 C-ZJB-12-42 分离自采后成熟贮藏和待加工的猕猴桃中^[16],*Alicyclobacillus* spp. AAT10 和 AAT92 菌株取自日本三井公司食品研究实验室;*A. herbarius* C-ZJB-12-38、C-ZJB-12-47 和 C-ZJB-12-61 分离自陕西果园的猕猴桃或土壤中^[16]。

AAM 培养基:酵母膏 0.2%、葡萄糖 0.2%、(NH₄)₂SO₄ 0.04%、MgSO₄·7H₂O 0.1%、CaCl₂·2H₂O 0.05%、KH₂PO₄ 0.12%、MnSO₄·H₂O 0.05%,用 1 mol/L H₂SO₄ 调节 pH 值至 4.0。固体 AAM 培养基则加入 2% 的琼脂。

1.4 菌悬液的制备

将活化后的各菌株在 45℃、150 r/min 条件下扩大培养 18 h 得营养细胞;继续培养 5~7 d,直至显微观察 90% 以上细菌形成芽孢为相应菌株芽孢。培养结束后,4 000 g 条件下离心洗涤菌体和芽孢,每次 10 min,获得营养细胞和芽孢,并悬浮于 AAM 培养基中使其菌体最终浓度均为 (5~6) × 10⁸ 个/mL。

1.5 模拟苹果汁的配制

模拟苹果汁的组分:果糖 60 g/L、葡萄糖 30 g/L、蔗糖 20 g/L、L-苹果酸 2 g/L、柠檬酸钠 0.1 g/L、KH₂PO₄ 1.5 g/L、(NH₄)₂SO₄ 0.4 g/L、MgSO₄·7H₂O 1.0 g/L和 CaCl₂·2H₂O 0.5 g/L,并通过 1 mol/L H₂SO₄和1 mol/L NaOH 调整其 pH 值为 4.0^[17]。

1.6 ϵ -PL 最小抑菌质量浓度的测定

采用双倍稀释法进行测定:用无菌水将 ϵ -PL 稀释成一系列双倍浓度梯度的 ϵ -PL 溶液,取各溶液 0.1 mL 加入至含 9.8 mL AAM 培养基的试管中,使其质量浓度为 40、20、10、5、2.5、1.25、0.625 mg/L。

然后在每支试管中分别接入 0.1 mL 菌悬液(营养细胞和芽孢),使菌体浓度达到 $(5 \sim 6) \times 10^6$ 个/mL。将接种好的试管在 45℃、150 r/min 条件下培养 24 h,培养液未出现混浊的最低质量浓度即为 ε-PL 对该菌株的最小抑菌浓度。

1.7 ε-PL 对模拟苹果汁中脂环酸芽孢杆菌的影响

采用模拟苹果汁体系进行 ε-PL 的抑菌实验^[17]。在 100 mL 三角瓶中分别加入 49 mL 无菌模拟苹果汁(含有 10 μg/mL 香草酸)、0.5 mL ε-PL 溶液和 0.5 mL 营养细胞悬液。在 45℃、150 r/min 条件下培养 7 d,并在第 1、2、3、5、7 天取样进行菌落计数,在第 7 天取样检测模拟苹果汁中愈创木酚的含量。

1.8 菌落计数

按 1:10、1:100、1:1 000 和 1:10 000 的比例对模拟苹果汁样品进行稀释,取稀释后的样品 100 μL 涂布于 AAM 固体培养基上,在 45℃ 下培养 48 h 后计数。

1.9 愈创木酚的测定

采用高效液相色谱法(HPLC)测定愈创木酚的含量。色谱柱:Welch Ultimate XB-C18 柱(5 μm, 4.6 mm × 250 mm);流动相:A 为乙腈,B 为含有 0.1% 甲酸的水;等度洗脱程序:30% A 洗脱 20 min;

进样体积 20 μL,柱温 40℃,流速 1.0 mL/min,二极管阵列检测器波长 275 nm。

1.10 数据分析

每组实验进行 3 次重复,所有数据以平均值 ± 标准差的形式表示。采用 SPSS 18.0 统计分析软件,先对数据进行单因素方差分析,然后利用 Duncan 新复极差法进行多重比较分析。

2 结果与分析

2.1 HPLC 法测定愈创木酚

不同样品体系中愈创木酚液相色谱图如图 1 所示。其中图 1a 是愈创木酚标准样品检测图,其保留时间为 7.63 min(5 mg/L);图 1b 为模拟苹果汁体系中加愈创木酚液相色谱图(5 mg/L);图 1c 为模拟苹果汁体系中 *A. acidoterrestris* DSM 3922 培养 7 d 后代谢产生愈创木酚的检测图谱(4.7 mg/L),可以看出在愈创木酚的出峰时间处无杂质峰,检测信号良好。以信噪比 3:1 确定方法检出限(LOD)为 0.10 mg/L,信噪比 10:1 确定方法定量限(LOQ)为 0.35 mg/L。图 1d 是愈创木酚的标准曲线图,其相关系数 R^2 为 0.998,表明愈创木酚在 0.35 ~ 10 mg/L 之间峰面积线性关系良好,可以用于定量分析。

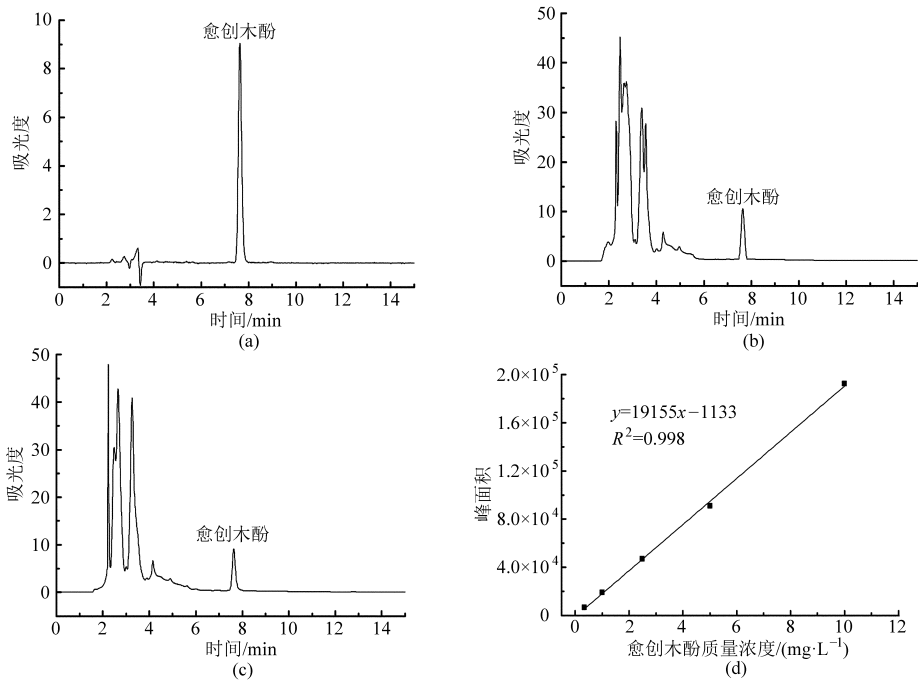


图 1 愈创木酚的液相色谱图及标准曲线

Fig. 1 HPLC chromatograms and calibration curve of guaiacol

2.2 ε-PL 最小抑菌质量浓度测定结果

ε-PL 对 11 株脂环酸芽孢杆菌的最小抑菌质量浓度测定结果如表 1 所示。ε-PL 对 *A. acidoterrestris* 营养细胞的最小抑菌质量浓度为 5 mg/L,对标准菌株

芽孢的最小抑菌质量浓度为 5 mg/L,而对分离菌株芽孢的最小抑菌质量浓度为 2.5 mg/L。ε-PL 对 4 株 *A. herbarius* 营养细胞和芽孢的最小抑菌质量浓度相同,分别为 1.25 mg/L 和 2.5 mg/L。而 *A. acidiphilus*

营养细胞和芽孢的最小抑菌质量浓度均为 2.5 mg/L。可以看出,在模拟苹果汁中 ϵ -PL 对脂环酸芽孢杆菌有较好的抑制作用,质量浓度在 5 mg/L 时即可有效抑制这些愈创木酚产生菌的生长。

表 1 ϵ -PL 对 11 株脂环酸芽孢杆菌的最小抑菌浓度

Tab.1 Minimal inhibitory concentration of ϵ -polylysine against eleven *Alicyclobacillus* strains mg/L

菌株	营养细胞	芽孢
<i>A. acidoterrestris</i>	DSM 3922	5
	C-ZJB-12-10	2.5
	C-ZJB-12-28	2.5
	C-ZJB-12-42	2.5
	AAT10	2.5
	AAT92	2.5
<i>A. herbarius</i>	DSM 13609	1.25
	C-ZJB-12-38	1.25
	C-ZJB-12-47	1.25
	C-ZJB-12-61	1.25
<i>A. acidiphilus</i>	DSM 14558	2.5

2.3 ϵ -PL 对脂环酸芽孢杆菌生长的影响

根据前期研究和文献报道,愈创木酚的产生需要 $10^4 \sim 10^5$ 个/mL 的脂环酸芽孢杆菌细胞^[18],因此,研究中接入模拟苹果汁中菌体浓度为 $(5 \sim 6) \times 10^6$ 个/mL。当添加最小抑菌质量浓度的 0.5 倍 ϵ -PL 时,在开始阶段 5 株脂环酸芽孢杆菌的生长受到一定的抑制作用,但培养 3 d 后,与空白对照样品相比无显著性差异。当添加 ϵ -PL 的浓度为最小抑菌质量浓度时,5 株测试菌的菌落数呈下降趋势,但减少量并不大,约 1~2 个数量级,其中降低最小的是 *A. acidoterrestris* DSM 3922,数量级仅有 0.83。当 ϵ -PL 的添加量增加至最小抑菌质量浓度的 4 倍时,各菌株的菌落数明显降低,其中 *A. herbarius* C-ZJB-12-38 在第 7 天已经降至检测限 (10 个/mL) 以下,另外 4 株菌的菌体浓度也只有 $10 \sim 10^2$ 个/mL (图 2)。同时,以上实验结果也说明: ϵ -PL 对脂环酸芽孢杆菌有较好的杀灭作用。

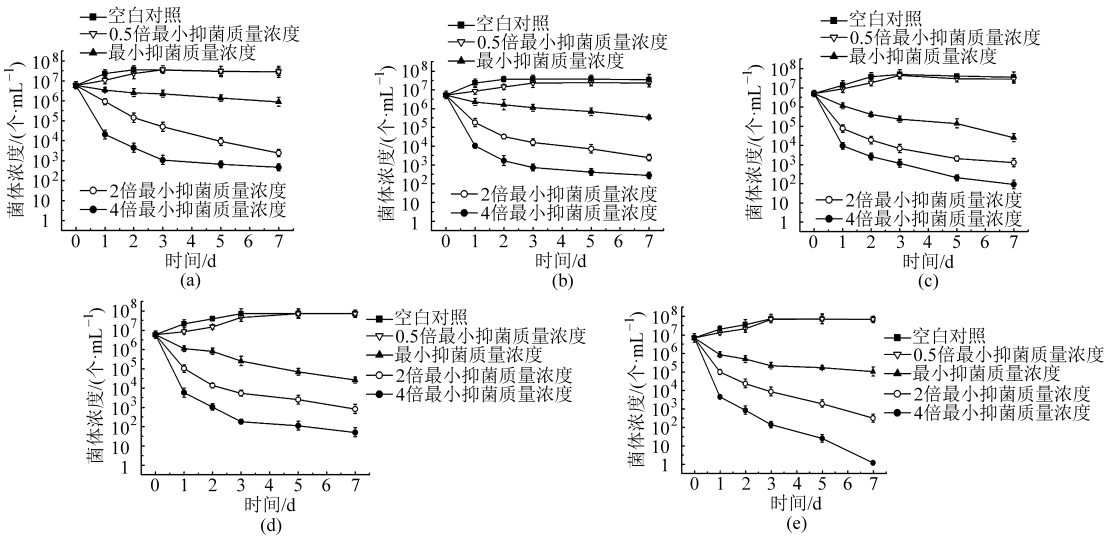


图 2 不同质量浓度 ϵ -PL 对脂环酸芽孢杆菌愈创木酚产生菌生长的影响

Fig.2 Effects of different concentrations of ϵ -PL on growth of guaiacol produced by *Alicyclobacillus* spp.

(a) DSM 3922 (b) C-ZJB-12-10 (c) DSM 14558 (d) DSM 13609 (e) C-ZJB-12-38

2.4 ϵ -PL 对脂环酸芽孢杆菌产愈创木酚的影响

大量研究表明,在果汁环境中脂环酸芽孢杆菌以香草酸和香草醛为中间产物代谢产生愈创木酚,即香草酸是愈创木酚生成的直接前提物质^[19],因此,本研究在模拟苹果汁体系中加入 10 mg/L 的香草酸。将含有不同浓度 ϵ -PL 的模拟苹果汁样品培养 7 d 后,检测其中愈创木酚的含量,结果如图 3 所示,图中不同小写字母表示具有显著性差异 ($p < 0.05$)。在阳性对照中 (无 ϵ -PL),5 株测试菌株均代谢生成了 7.3 mg/L 的愈创木酚。添加最小抑菌质量浓度的 0.5 倍 ϵ -PL 对愈创木酚的产生无显著

性影响,而添加量至最小抑菌浓度时,愈创木酚的生成量明显降低,质量浓度为 1.7~4.7 mg/L。当 ϵ -PL 的添加量为最小抑菌质量浓度的 2 倍时, *A. acidoterrestris* DSM 3922、C-ZJB-12-10 和 *A. herbarius* DSM13609 3 株菌产生了少量的愈创木酚 (0.2~0.9 mg/L),而在 *A. acidiphilus* DSM 14558 和 *A. herbarius* C-ZJB-12-38 两个测试菌株样品中未检测到愈创木酚。当模拟苹果汁中 ϵ -PL 的质量浓度增大至最小抑菌质量浓度的 4 倍时即可完全抑制愈创木酚的产生。

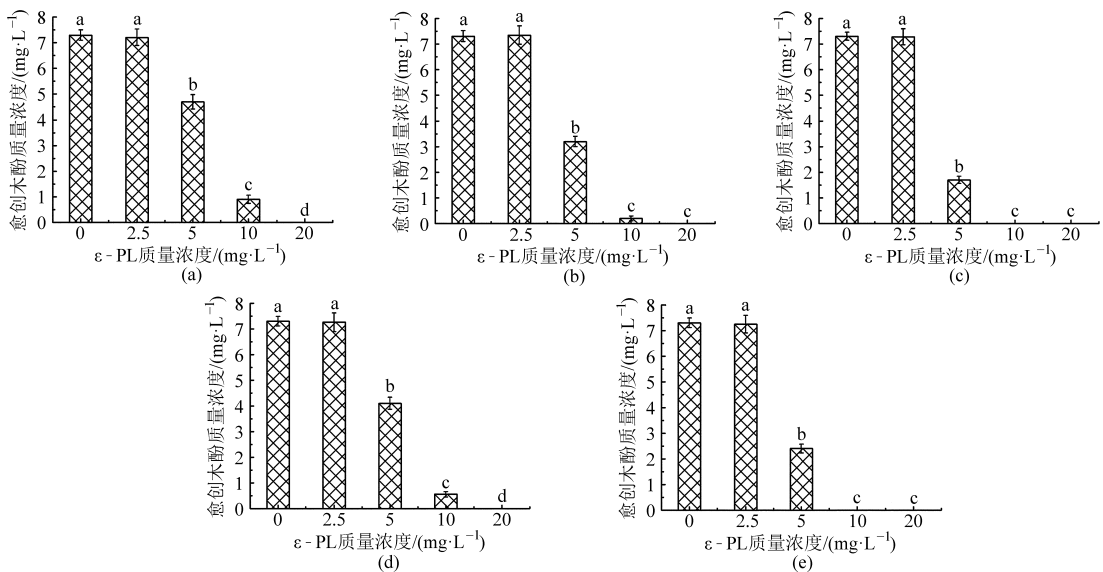


图 3 不同浓度 ε-PL 对脂环酸芽孢杆菌产愈创木酚的影响

Fig. 3 Effects of different concentrations of ε-PL on guaiacol production of *Alicyclobacillus* spp.

(a) DSM 3922 (b) C-ZJB-12-10 (c) DSM 14558 (d) DSM 13609 (e) C-ZJB-12-38

3 结束语

测定了 ε-PL 对 11 株脂环酸芽孢杆菌的最小抑菌质量浓度,在此基础上考察了模拟苹果汁中不同质量浓度 ε-PL 对 5 株测试菌株生长及产愈创木酚的影响。结果表明:测试菌株不同,其营养细胞和芽孢的最小抑菌质量浓度也有所不同,分布在 1.25 ~

5 mg/L 之间。当模拟苹果汁中 ε-PL 的添加量为最小抑菌质量浓度的 4 倍时,脂环酸芽孢杆菌菌落数从 $(5 \sim 6) \times 10^6$ 个/mL 降低至 4.6×10^2 个/mL 以下,同时,可以完全抑制愈创木酚的产生。本文为利用天然防腐剂 ε-PL 有效控制果汁中脂环酸芽孢杆菌污染问题提供了理论依据。

参 考 文 献

1 Smit Y, Cameron M, Venter P, et al. *Alicyclobacillus* spoilage and isolation—a review[J]. Food Microbiology, 2011, 28(3): 331–349.

2 Walls I, Chuyate R. Spoilage of fruit juices by *Alicyclobacillus acidoterrestris*; *Alicyclobacillus* in the food industry[J]. Food Australia, 2000, 52:286–288.

3 Wang Z L, Cai R, Yuan Y H, et al. An immunomagnetic separation-real-time PCR system for the detection of *Alicyclobacillus acidoterrestris* in fruit products[J]. International Journal of Food Microbiology, 2014, 175:30–35.

4 岳田利,耿玉丽,袁亚宏,等. 陕西省果库中嗜酸耐热菌的分离鉴定[J]. 农业机械学报,2013,44(7):187–193.

Yue Tianli, Geng Yuli, Yuan Yahong, et al. Isolation and identification of *Alicyclobacillus* from Shaanxi apple libraries[J]. Transactions of the Chinese Society for Agricultural Machinery, 2013, 44(7): 187–193. (in Chinese)

5 张江波,刘兴华,岳田利,等. 陕西猕猴桃汁嗜酸耐热菌污染能力评测与多样性分析[J]. 农业机械学报,2015,46(2):198–207.

Zhang Jiangbo, Liu Xinghua, Yue Tianli, et al. Evaluation of kiwi-fruit juice contaminant capacity of indigenous *Alicyclobacillus* and its biodiversity[J]. Transactions of the Chinese Society for Agricultural Machinery, 2015, 46(2):198–207. (in Chinese)

6 Steyn C E, Cameron M, Witthuhn R C. Occurrence of *Alicyclobacillus* in the fruit processing environment—a review[J]. International Journal of Food Microbiology, 2011, 147(1):1–11.

7 Yue T L, Zhang J B, Yuan Y H. Spoilage by *Alicyclobacillus* bacteria in juice and beverage products: chemical, physical, and combined control methods[J]. Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety, 2014, 13(5):771–797.

8 Shih I L, Shen M H, Van Y T. Microbial synthesis of poly(ε-lysine) and its various applications[J]. Bioresource Technology, 2006, 97(9):1148–1159.

9 Li Y Q, Feng J L, Han Q, et al. Effects of ε-polylysine on physicochemical characteristics of chilled pork[J]. Food and Bioprocess Technology, 2014, 7(9): 2507–2515.

10 Chang Y, McLandsborough L, McClements D J. Cationic antimicrobial (ε-polylysine)-anionic polysaccharide (pectin) interactions: influence of polymer charge on physical stability and antimicrobial efficacy[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2012, 60(7): 1837–1844.

(下转第 327 页)

- [J]. International Journal of Remote Sensing, 2001, 22(7): 1335 – 1348.
- 19 李鑫川, 徐新刚, 王纪华, 等. 基于时间序列环境卫星影像的作物分类识别[J]. 农业工程学报, 2013, 29(2): 169 – 176.
Li Xinchuan, Xu Xin'gang, Wang Jihua, et al. Crop classification recognition based on time-series images from HJ satellite [J]. Transactions of the CSAE, 2013, 29(2): 169 – 176. (in Chinese)
- 20 刘建光, 李红, 孙丹峰, 等. MODIS 土地利用/覆被多时相多光谱决策树分类[J]. 农业工程学报, 2010, 26(10): 312 – 318.
Liu Jianguang, Li Hong, Sun Danfeng, et al. Land use/cover decision tree classification fusing multi-temporal and multi-spectral of MODIS [J]. Transactions of the CSAE, 2010, 26(10): 312 – 318. (in Chinese)
- 21 李颖, 刘荣花, 郑东东. 基于多源数据和决策树估算夏玉米种植面积[J]. 中国农业气象, 2014, 35(3): 344 – 348.
Li Ying, Liu Ronghua, Zheng Dongdong. Summer maize planting area estimation based on multi-source data and decision tree [J]. Chinese Journal of Agrometeorology, 2014, 35(3): 344 – 348. (in Chinese)
- 22 Ouma Y, Tetuko J, Tateishi R. Analysis of co-occurrence and discrete wavelet transform textures for differentiation of forest and non-forest vegetation in very-high-resolution optical-sensor imagery[J]. International Journal of Remote Sensing, 2008, 29(12): 3417 – 3456.
- 23 黄昕. 高分辨率遥感影像多尺度纹理、形状特征提取与面向对象分类研究[D]. 武汉: 武汉大学, 2009.
Huang Xin. Multiscale texture and shape feature extraction and object-oriented classification for very high resolution remotely sensed imagery [D]. Wuhan: Wuhan University, 2009. (in Chinese)
- 24 林楠, 姜琦刚, 杨佳佳, 等. 基于资源一号 02C 高分辨率数据的农业区土地利用分类[J]. 农业机械学报, 2015, 46(1): 278 – 284.
Lin Nan, Jiang Qigang, Yang Jiajia, et al. Classifications of agricultural land use based on high-spatial resolution ZY1-02C remote sensing images [J]. Transactions of the Chinese Society for Agricultural Machinery, 2015, 46(1): 278 – 284. (in Chinese)
- 25 王正兴, 刘闯, Alfredo Huete. 植被指数研究进展: 从 AVHRR—NDVI 到 MODIS—EVI [J]. 生态学报, 2003, 23(5): 979 – 987.
Wang Zhengxing, Liu Chuang, Alfredo Huete. From AVHRR-NDVI to MODIS-EVI: advances in vegetation index research [J]. Acta Ecologica Sinica, 2003, 23(5): 979 – 987. (in Chinese)
- 26 左丽君, 张增祥, 董婷婷, 等. MODIS/NDVI 和 MODIS/EVI 在耕地信息提取中的应用及对比分析[J]. 农业工程学报, 2008, 24(3): 167 – 172.
Zuo Lijun, Zhang Zengxiang, Dong Tingting, et al. Application of MODIS/NDVI and MODIS EVI to extracting the information of cultivated land and comparison analysis [J]. Transactions of the CSAE, 2008, 24(3): 167 – 172. (in Chinese)
- 27 王正兴, 刘闯, 陈文波, 等. MODIS 增强型植被指数 EVI 与 NDVI 初步比较[J]. 武汉大学学报: 信息科学版, 2006, 31(5): 407 – 410.
Wang Zhengxing, Liu Chuang, Chen Wenbo, et al. Preliminary comparison of MODIS-NDVI and MODIS-EVI in eastern Asia [J]. Geomatics and Information Science of Wuhan University, 2006, 31(5): 407 – 410. (in Chinese)
- ~~~~~

(上接第 289 页)

- 11 Liu H X, Pei H B, Han Z N, et al. The antimicrobial effects and synergistic antibacterial mechanism of the combination of ϵ -polylysine and nisin against *Bacillus subtilis* [J]. Food Control, 2015, 47: 444 – 450.
- 12 王凤, 石侃, 潘涛, 等. 柠檬酸钠和生物素对白色链霉菌发酵产 ϵ -聚赖氨酸的影响[J]. 现代食品科技, 2013, 29(6): 1230 – 1233.
Wang Feng, Shi Kan, Pan Tao, et al. Effect of sodium citrate and biotin on ϵ -poly-lysine fermentation of *Streptomyces albulus* [J]. Modern Food Science and Technology, 2013, 29(6): 1230 – 1233. (in Chinese)
- 13 Chang S S, Lu W W, Park S H, et al. Control of foodborne pathogens on ready-to-eat roast beef slurry by ϵ -polylysine [J]. International Journal of Food Microbiology, 2010, 141(3): 236 – 241.
- 14 Hyldgaard M, Mygind T, Vad B S, et al. The antimicrobial mechanism of action of epsilon-poly-L-lysine [J]. Applied and Environmental Microbiology, 2014, 80(24): 7758 – 7770.
- 15 GB 2760—2011 食品添加剂使用标准[S]. 中华人民共和国卫生部, 2011.
- 16 Zhang J B, Yue T L, Yuan Y H. *Alicyclobacillus* contamination in the production line of kiwi products in China [J]. PloS One, 2013, 8: e67704
- 17 Reinders R D, Biesterveld S, Bijker P G. Survival of *Escherichia coli* O157: H7 ATCC 43895 in a model apple juice medium with different concentrations of proline and caffeic acid [J]. Applied and Environmental Microbiology, 2001, 67(6): 2863 – 2866.
- 18 Pettipher G L, Osmundson M E, Murphy J M. Methods for the detection and enumeration of *Alicyclobacillus acidoterrestris* and investigation of growth and production of taint in fruit juice and fruit juice-containing drinks [J]. Letters in Applied Microbiology, 1997, 24(3): 185 – 189.
- 19 Witthuhn R C, van der Merwe E, Venter P, et al. Guaiacol production from ferulic acid, vanillin and vanillic acid by *Alicyclobacillus acidoterrestris* [J]. International Journal of Food Microbiology, 2012, 157(1): 113 – 117.