

控释技术在抗菌包装中的研究进展

杨玲玲¹, 卢立新^{1,2}

(1. 江南大学, 无锡 214122; 2. 中国包装总公司食品包装技术与安全重点实验室, 无锡 214122)

摘要: 介绍了控释技术的特点及其在抗菌包装中的重要作用, 并从共混、改性、多层复合等方面介绍了国内外在控释抗菌膜方面的研究现状。分析论述了抗菌剂从膜中释放速率的影响因素及意义, 进而引出了对抗菌剂释放动力学研究的重要性。

关键词: 控释包装; 抗菌膜; 释放速率; 食品安全

中图分类号: TB485.6; TS206 **文献标识码:** A **文章编号:** 1001-3563(2012)13-0030-04

Research Progress of Controlled Release Technology in Antimicrobial Packaging

YANG Ling-ling¹, LU Li-xin^{1,2}

(1. Jiangnan University, Wuxi 214122, China; 2. The Key Laboratory of Food Packaging Technology and Safety of China National Packaging Corporation, Wuxi 214122, China)

Abstract: The characteristics and important function of controlled release technology in antimicrobial packaging were introduced. The latest research progress of controlled release antimicrobial film at home and abroad were reviewed from several aspects, including blending, modification, multilayer films, and so on. The essential position and influencing factors of release rate was discussed and the necessity to explore the release kinetics of active compounds from packaging materials was emphasized.

Key words: controlled release packaging; antimicrobial film; release rate; food safety

食品由于本身营养成分的特点, 在存放过程中极易受到微生物等因素的影响而发生不良变化, 严重时甚至会导致腐败变质^[1]。而食品的生产包装过程中也不可能做到百分之百无菌, 这就不可避免对食品的货架寿命造成影响, 所以包装后能对食品中微生物进行控制是保证食品安全的关键。

抗菌包装能在一定程度上抑制食品中微生物的生长, 提高食品安全, 延长货架期。最初, 抗菌剂是作为添加剂直接添加食品中。这种方式能在很短的时间内迅速杀灭微生物, 但也存在很多弊端。如抗菌剂会与食品发生反应使得抗菌效果减弱甚至丧失抗菌性。另外食品变质通常先发生在食品表面, 因而经常是食品变质最严重的区域, 而将抗菌剂在食品中均匀混就会造成浪费。为了保证抗菌包装的抑菌效果, 在生产过程中一般会增加抗菌剂的使用量, 然而在抗菌

剂发生效应的过程中, 尤其是初期, 高浓度的抗菌剂不仅可能使细菌产生耐受性, 而且会带来食品安全问题^[2]。为解决以上问题, 当前开发应用最多的抗菌包装类型就是直接将抗菌剂加入到高分子材料中, 采用控制释放技术, 依靠抗菌剂在材料中的迁移, 缓慢释放食品表面, 使食品表面一直维持在抑制微生物所需的临界浓度以上, 从而达到理想的保鲜效果, 而不需向食品中添加过多的抗菌剂, 保证了食品的安全。

1 控释技术

控释技术是在缓释技术^[3]的基础上进一步发展起来的, 是指在预期的时间内控制某种活性物质的释放速率, 并在某种体系内维持它的浓度^[4]。通过这种技术, 活性物质的浓度能在较长时间内保持在有效的

收稿日期: 2012-01-08

基金项目: 国家“863”计划课题(2007AA100408); 江南大学创新团队项目(2009CXTD01)

作者简介: 杨玲玲(1988—), 女, 湖北随州人, 江南大学硕士生, 主攻食品包装安全技术。

通讯作者: 卢立新(1966—), 男, 江苏人, 博士, 江南大学教授、博士生导师, 主要从事食品包装技术、运输包装等研究。

范围内,延长了作用时间,提高了作用效果。该技术起于制药领域,1988年 Han 和 Floros 首先将控释理念应用到食品包装中。可控释放技术中释放系统的设计可以分为2类:化学法控释系统和物理法控释系统^[4]。食品包装设计多采用的是物理法控释系统,活性物质只是溶解、分散或包含^[5-6]在聚合物中,利用物理法制得的控释系统在食品领域称为可控释放包装材料。它是包装材料新一代的生命力,能够控制活性物质从基体材料中以可控的合适的速率释放出来,达到延长食品货架寿命的作用^[7]。

可控释放技术在抗菌包装中研究的意义就在于,结合食品本身特性及其易感微生物生长规律,设计合理的释放系统,使得该系统中的抗菌剂以最佳速率释放到食品表面,并能在食品表面维持抑制细菌所需的最佳浓度,有效保证食品安全,延长货架寿命。目前国内有关控释抗菌膜的研究大部分集中在膜本身的杀菌效果及膜的保鲜方面,而对膜中抗菌剂的释放规律没有太多的研究。国外关于抗菌剂释放的研究的比较早,其众多学者利用高效液相或气相色谱仪、扫描电镜、孔经分析仪、分光光度计等仪器,研究膜的相关性能,并在已有的经验模型上探究了抗菌剂释放规律,为控释技术在抗菌包装中的应用奠定了基础。

2 抗菌膜控释性能研究

2.1 合成高分子膜的控释性能

传统的塑料材料在机械性能上具有很强的优势^[8]。国内外对 PP^[9-10], PVA^[11-12], EVA^[13] 和 PE 等高分子抗菌膜的研究比较多。由于合成高分子材料成膜工艺对温度具有较高的要求,添加到塑料中的抗菌剂多是无机抗菌剂或植物精油,这些抗菌剂的添加对膜的综合性能基本没有影响,通过抗菌剂迁移量检测及抗菌试验表明,合成高分子膜对抗菌剂也具有一定的缓释性能。另一方面,现有的聚合物涂覆技术、流延膜、复合技术制得的膜虽然具有一定的控释能力,但抗菌剂的释放速率要么太慢要么太快,有些抗菌剂在一些聚合物基材中甚至根本不能释放出来,所以直接利用通用的聚合物基材很难达到理想的释放效果。

2.2 天然高分子膜的控释性能

天然高分子材料制成的可食性抗菌膜中,抗菌剂能按一定规律缓慢的释放,在较长的时间内逐渐作用

于食品,从而持久的抑制或防止微生物生长^[14]。其中多糖类和蛋白质类材料以其在成膜性和安全性等方面的优势成为活性物质的有效载体。多糖类膜主要包括植物多糖或动物多糖为基质的可食性膜^[15],主要有壳聚糖膜^[16]、改性纤维素膜^[17-18]、淀粉膜、动植物胶膜等。也有选用海藻酸钠来制备可食性抗菌膜^[19]。蛋白质类可食性抗菌膜成膜基质主要为动物分离蛋白和植物分离蛋白。试验证明大豆蛋白膜本身具有良好的机械性能,而茶多酚的加入改善了膜的阻水性和水蒸气透过性,对圣女果的保鲜效果显著^[20]。文献[21]中通过试验发现玉米蛋白膜中纤维素的含量等因素对百里酚的释放速率有影响。这些研究证明,天然高分子材料制得的抗菌膜能对抗菌剂能起到较好的释放效果。

3 高分子膜控释性能改善

通常添加到聚合物中抗菌剂的总量是有限的,如果抗菌剂释放速率过快,短时间内迅速消耗,之后就不能在食品表面维持一个抑制微生物生长的最小浓度。另一方面,释放速率过慢,则不能达到很好的保鲜效果^[22]。因此如何有效的控制抗菌剂的释放速率成为抗菌包装中最新的焦点。现有的研究证明,聚合物交联度^[23]、聚合物组分^[24]、温度^[25-26]、膜的孔隙率^[22]、孔径大小等对释放速率具有一定的影响^[9]。另外也有文献报道^[27],小麦蛋白抗菌膜中香芹酚的释放还受湿度的影响。控释抗菌膜的设计原则上只能通过工艺参数,如共混、多层复合、改性等来改善抗菌剂的释放规律。

3.1 共混

不论是合成高分子材料还是天然高分子材料,任何一种材料对抗菌剂的释放速率都无法满足所有食品要求的。通常是采用共聚、共混或者引入无机物等来调节聚合物的缓释性能。天然高分子之间的共混制得可食性复合膜能综合各种材料的优良性能,满足不同食品包装的需要,同时能有效的改善膜的控释性能,而纤维素与壳聚糖进行共混制得的复合共混抗菌膜^[28],无机物的引入也能有效改善膜的释放性能。如丝素蛋白及丝素蛋白/二氧化硅纳米杂化材料2种膜对茶多酚具有较好的释放性能^[29]。也有学者研究了层状硅酸盐对聚合物中抗菌剂释放的影响,如蒙脱土添加到小麦蛋白^[30]、甲基纤维素^[31]、羧甲基壳聚糖

中^[32],都能明显提高膜的机械性能,并且能有效地改善膜对抗菌剂的释放性能。

3.2 多层复合

Han 和 Floros 首先研发了具有控释能力的多层膜,即由控制释放层、膜基质层和阻隔层组成。内层用于控制抗菌剂扩散到食品表面的速率,中间基质层包含抗菌剂,而阻隔型外层则为防止抗菌剂的外渗损失^[17],并通过试验证明这种形式的抗菌膜具有更强的应用价值。国外研究学者^[21,30]通过试验证明了多层结构能够有效的控制抗菌剂的释放,并且膜的抗菌性良好。国内研究学者^[33]通过流延共挤技术生产出了聚乙烯、乙烯/乙醇共聚物多层高阻隔纳米抗菌包装膜^[33],试验表明该包装膜也具有较好的抗菌性及高阻隔性。

3.3 改性

对于合成高分子材料,聚合物的交联度、分子的取向、塑化程度等对其释放特性有一定的影响。国外研究学者^[34]通过不同的拉伸速率制得具有不同分子取向的 HDPE 抗菌膜,结果显示,随着分子取向增强,从薄膜释放到模拟液中抗菌剂含量会明显减少。同时分析认为,抗菌剂的释放也可能有聚合物在拉伸过程中出现结晶的协同作用。通过混沌对流的原理,使用智能共混技术研发出具有控释能力的薄膜^[7],通过这种方法可以制得结构可控性的纳米微观结构的薄膜,因而具有宽泛的释放性能。

3.4 瞬时释放与缓释的结合

Balasubramanian 等^[35]通过计算机化注射泵系统,模拟尼生素从包装膜中的释放情况,结合瞬时释放和缓释的优势,结果显示这种方法比它们单独任何一种都具有更好的效果,能瞬时杀灭细菌,又结合缓释的优势,在较长时间对微生物起到抑制作用,大大延长了抑菌持久性。也有文献^[36]模拟将尼生素的释放。结果表明,将直接添加和缓释技术结合起来能在食品安全和质量方面有着明显的效果,是一种很有发展前景的抗菌包装技术。目前这种理想的释放速率特性还处于模拟阶段,还需要进一步研究影响聚合物中抗菌剂释放的决定性因素。

4 结语

当前正在研究或应用的抗菌膜大多数只能对抗菌剂起到减缓释放的作用,对控释抗菌膜也多是定性

的研究,根据实验分析得到的影响抗菌剂释放的因素很多,其中膜的孔隙率、孔径大小、溶胀比等与抗菌剂的释放有密切联系,必须将这些因素量化成参数,建立理论模型才能为实际的应用提供更有利的价值。另外控释技术需要与食品包装系统所需求的抗菌剂释放速率相结合,深入研究抗菌剂从膜中的释放速率与食品系统对抗菌剂的消耗速率之间的关系,以便为食品的包装设计提供更为实际的指导作用。

参考文献:

- [1] 黄现青,高晓平,胡惠,等.可食性抗菌膜在肉类食品中的应用[J].肉类工业,2009(8):11-13.
HUANG Xian-qing,GAO Xiao-ping,HU Hui,et al. Application of Edible Antimicrobial Film in Meat Foods[J]. Meat Industry,2009(8):11-13.
- [2] 王长安,陈晓翔.活性-智能食品包装的应用进展[J].包装工程,2010,31(17):68-73.
WANG Chang-an,CHEN Xiao-xiang. Advances in Applications of Active and Intelligent Food Packaging[J]. Package Engineering,2010,31(17):68-73.
- [3] 彭海辉,陆海云.环保型缓/控释技术及其应用[J].广东化工,2007,34(8):81-84.
PENG Hai-hui,LU Hai-yun. Environmental Protection Slow/controlled-release-technique and Applications[J]. Guangdong Chemical Industry,2007,34(8):81-84.
- [4] 冯文来,赵平.控制释放技术发展 with 展望[J].化学工业与工程,1996,13(1):49-52.
FENG Wen-lai,ZHAO Ping. Development and Prospect of Controlled Release Technology[J]. Chemical Industry and Engineering,1996,13(1):49-52.
- [5] 李学红.环糊精在抗菌食品包装中的基础应用研究[D].无锡:江南大学,2007.
LI Xue-hong. Study on Cyclodextrins in Antimicrobial Food Packaging[D]. Wuxi:Jiangnan University, 2007.
- [6] 林立敏.改性壳聚糖微球的制备及其对蛋白分子包埋和缓释性能的研究[D].武汉:华中师范大学,2008.
LIN Li-min. Study of Controlled Releasing Behaviors of Protein from Modified Chitosan Microspheres[D]. Wuhan:Huazhong Normal University,2008.
- [7] LACOSTE A,SCHAICH K M,ZUMBRUNNEN D,et al. Advancing Controlled Release Packaging through Smart Blending[J]. Packag Technol Sci,2005,18:77-87.
- [8] 李婷,钟泽辉,邵杰.食品抗菌包装材料的研究进展[J].包装学报,2011,3(2):34-36.
LI Ting,ZHONG Ze-hui,SHAO Jie. Developments of Food Packaging Materials[J]. Packaging Journal, 2011, 3(2):34-36.

- [9] MARINA R, JIMÉNEZ A, PELTZERM, et al. Characterization and Antimicrobial Activity Studies of Polypropylene Films with Carvacrol and Thymol for Active Packaging[J]. Journal of Food Engineering, 2012(109): 513—519.
- [10] 高向华, 魏丽乔. 聚丙烯抗菌塑料的研制[J]. 山西化工, 2007, 27(6): 9—11.
GAO Xiang-hua, WEI Li-qiao. Study on Preparation of Antibacterial Polypropylene[J]. Shanxi Chemical Industry, 2007, 27(6): 9—11.
- [11] 王振中. PVA 缓释膜的制备及缓释性能的研究[D]. 株洲: 湖南工业大学, 2010.
WANG Zhen-zhong. Research on Preparing PVA Release Film and its Related Properties[D]. Zhuzhou: Hunan University of Technology, 2010.
- [12] 郝喜海, 史翠平, 孙森, 等. 聚乙烯醇缓释膜缓释性能的初步研究[J]. 塑料科技, 2012, 40(1): 76—79.
HAO Xi-hai, SHI Cui-ping, SUN Miao, et al. Preliminary Study on Slow-release Performance of PVA Slow-release Film[J]. Plastics Science and Technology, 2012, 40(1): 76—79.
- [13] 唐慕菲. EVA 部分水解产物载药膜的制备、表征及释药行为[D]. 上海: 上海交通大学, 2011.
TANG Mu-fei. Preparation, Characterization and Properties of Partially Hydrolyzed Ethylene Vinyl Acetate Copolymer Films for Controlled Drug Release[D]. Shanghai: Shanghai Jiaotong University, 2011.
- [14] 王四维. 复合型抗菌膜保鲜虾的研究与应用[D]. 无锡: 江南大学, 2006.
WANG Si-wei. Research and Application of Antimicrobial Coatings on Preservation of Shrimp[D]. Wuxi: Jiangnan University, 2006.
- [15] 李超, 李梦琴, 赵秋艳. 可食性膜的研究进展[J]. 食品科学, 2005, 26(2): 264—269.
LI Chao, LI Meng-qin, ZHAO Qiu-yan. Review on Varieties and Applications of Edible Films[J]. Food Science, 2005, 26(2): 264—269.
- [16] ROBSON M G, SOARES, BOTREL D A, et al. Characterization and Effect of Edible Coatings on Minimally Processed Garlic Quality[J]. Carbohydrate Polymers, 2008, 72: 403—409.
- [17] GEMILI S, YEMENICIOGLU A, ALTINKAYA S A. Development of Cellulose Acetate Based Antimicrobial Food Packaging Materials for Controlled Release of Lysozyme[J]. Journal of Food Engineering, 2009(90): 453—462.
- [18] 金政伟, 王建清, 徐梅. NMMO 法制备天然纤维素/Ag⁺ 复合抗菌包装薄膜[J]. 中国印刷与包装研究, 2010.
JIN Zheng-wei, WANG Jian-qing, XU Mei. Preparation of Cellulose/Ag⁺ Antibacterial Composites Films by NMMO-Technology[J]. Proceeding of CACPP, 2010.
- [19] 邓靖, 谭兴和, 周晓媛. 丁香油-海藻酸钠可食性抗菌膜的研制[J]. 食品工业科技, 2009, 30(6): 302—305.
DENG Jing, TAN Xing-he, ZHOU Xiao-yuan. Research on Edible Antimicrobial Lilac Oleoresin Sodium Alginate Film[J]. Science and Technology of Food Industry, 2009, 30(6): 302—305.
- [20] 郭丛珊, 张丽叶. 含茶多酚大豆分离蛋白抗菌膜的制备及其性能和保鲜效果[J]. 北京化工大学学报, 2011(4): 104—109.
GUO Cong-shan, ZHANG Li-ye. Properties and Preservation Effect of Tea Polyphenol-incorporated Soy Protein Isolate Antibacterial Films[J]. Journal of Beijing University of Chemical Technology (Natural Science), 2011(4): 104—109.
- [21] MASTROMATTEO M, BARBUZZI G, CONTE A, et al. Controlled Release of Thymol From Zein Based Film[J]. Innovative Food Science and Emerging Technologies, 2009(10): 222—227.
- [22] UZ M, ALTINKAYA S A. Development of Mono and Multilayer Antimicrobial Food Packaging Materials for Controlled Release of Potassium Sorbate[J]. LWT-Food Science and Technology, 2011(44): 2302—2309.
- [23] BUONOCORE G G, CONTE A, CORBO M R, et al. Mono- and Multilayer Active Films Containing Lysozyme as Antimicrobial Agent[J]. Innovative Food Science and Emerging Technologies, 2005, 6: 459—464.
- [24] 吕飞, 叶兴乾, 丁玉庭. 桂皮醛在肉桂油/海藻酸钠抗菌薄膜中的释放动力学[J]. 中国食品学报, 2011, 11(7): 36—40.
LYU Fei, YE Xing-qian, DING Yu-ting. Release Kinetics of Trans-Cinnamaldehyde from Cinnamon Oil/Alginate Antimicrobial Films[J]. Journal of Chinese Institute of Food Science and Technology, 2011, 11(7): 36—40.
- [25] TEERAKARN A, HIRTDE, ACTON J C, et al. Nisin Diffusion in Protein Films: Effects of Film Type and Temperature[J]. Journal of Food Science, 2002, 67(8): 3019—3025.
- [26] 崔珊珊, 卢立新, 刘志刚. 温度对抗菌涂层薄膜中 Nisin 扩散性能的影响[J]. 包装工程, 2009, 30(9): 8—9.
CUI Shan-shan, LU Li-xin, LIU Zhi-gang. Effect of Temperature on the Diffusibility of Nisin in Antimicrobial Coating Film[J]. Package Engineering, 2009, 30(9): 8—9.
- [27] MASCHERONI E, GUILLARD V, GASTALDI E, et al. Anti-microbial Effectiveness of Relative Humidity-controlled Carvacrol Release from Wheat Gluten/montmorillonite Coated Papers[J]. Food Control, 2011(22): 1582—1591.

- al. Technical Analysis and Prospect of Fast Pyrolysis Liquefaction Technology of Wood Residue[J]. Forestry Machinery & Woodworking Equipment, 2008, 36(9): 13-16.
- [2] 杨昌炎, 鲁长波, 吕雪松, 等. 生物质热解制燃料油及化学品的工艺技术研究进展[J]. 现代化工, 2006, 26(4): 10-14.
- YANG Chang-yan, LYU Chang-bo, LYU Xue-song, et al. Advances in Study on Technologies of Fast Pyrolysis of Biomass for Liquid Fuels and Chemicals Production [J]. Modern Chemical Industry, 2006, 26(4): 10-14.
- [3] 徐长妍, 李大刚. 木质包装废弃物的能源化利用[J]. 中国包装, 2003(1): 50-51.
- XU Chang-yan, LI Da-gang. Energy Utilization of Wood Packaging Waste[J]. China Packing, 2003(1): 50-51.
- [4] 任学勇, 杜洪双, 王文亮, 等. 基于 TG-FTIR 的落叶松木材热失重与热解气相演变规律研究[J]. 光谱学与光谱分析, 2012, 32(4): 944-948.
- REN Xue-yong, DU Hong-shuang, WANG Wen-liang, et al. Analysis of Pyrolysis Process and Gas Evolution Rule of Larch Wood by TG-FTIR[J]. Spectroscopy and Spectral Analysis, 2012, 32(4): 944-948.
- [5] 苟进胜, 韩静芸, 李文燕, 等. 基于 TG-FTIR 联用的利乐包热解实验研究[J]. 包装工程, 2010, 31(17): 54-56.
- GOU Jin-sheng, HAN Jing-yun, LI Wen-yan, et al. Experiment Research on Pyrolysis of Tetra Pak Based on TG-FTIR[J]. Packaging Engineering, 2010, 31(17): 54-56.
- [6] 付旭峰, 仲兆平, 肖刚, 等. 几种生物质热解特性及动力学的对比[J]. 农业工程学报, 2009, 25(1): 199-202.
- FU Xu-feng, ZHONG Zhao-ping, XIAO Gang, et al. Comparative Study on Pyrolysis Characteristics and Dynamics of Grass Biomass[J]. Transactions of the CSAE, 2009, 25(1): 199-202.
- [7] TSAMBA A J, YANG Wei-hong, BLASIAK W. Pyrolysis Characteristics and Global Kinetics of Coconut and Cashew Nut Shells [J]. Fuel Processing Technology, 2006, 87(6): 523-530.
- [8] COATS A W, REDFERN J P. Kinetic Parameters from Thermo-Gravimetric Data[J]. Nature, 1964, 201: 68-69.

~~~~~

(上接第 33 页)

- [28] 张林, 杨立邦, 隋淑英. 抗菌纤维素/壳聚糖衍生物复合共混膜的制备及性能研究[J]. 印染助剂, 2010, 27(6): 20-22.
- ZHANG lin, YANG Li-bang, SUI Shu-ying. Study on the Preparation and Performance of the Antibacterial Cellulose/chitosan Derivative Composite Film [J]. Textile Auxiliaries, 2010, 27(6): 20-22.
- [29] 于方方, 杨静兰, 王夏琴. 含丝素蛋白膜对茶多酚的缓释作用[J]. 东华大学学报, 2010, 36(5): 481-505.
- [30] MASCHERONI E, CHALIER P, GONTARD N, et al. Designing of A Wheat Gluten/montmorillonite Based System As Carvacrol Carrier; Rheological and Structural Properties[J]. Food Hydrocolloids, 2010(24): 406-413.
- [31] TUNC S, DUMANV O. Preparation of Active Antimicrobial Methyl Cellulose/carvacrol/montmorillonite Nanocomposite Films and Investigation of Carvacrol Release[J]. LWT-Food Science and Technology, 2011(4): 465-472.
- [32] 孟娜, 周宁琳, 刘颖等. 羧甲基壳聚糖-银/蒙脱土纳米抗菌中间体的制备及性能研究[J]. 功能材料, 2007, 38(6): 958-960.
- MENG Na, ZHOU Ning-lin, LIU Ying, et al. Synthesis and Properties of CMC-Ag/MMT Antimicrobial Nano-composites[J]. Journal of Functional Materials, 2007, 38(6): 958-960.
- [33] 杨中文, 刘西文. 高阻隔纳米抗菌包装膜的研制与应用[J]. 工程塑料应用, 2010, 38(10): 55-57.
- YANG Zhong-wen, LIU Xi-wen. Development and Application of Nano-antibacterial and High Barrier Packaging Film [J]. Engineering Plastics Application, 2010, 38(10): 55-57.
- [34] ICONOMOPOULOU S M, VOYIATZI G A. The Effect of the Molecular Orientation on the Release of Antimicrobial Substances from Uniaxially Drawn Polymer Matrices[J]. Journal of Controlled Release, 2005(103): 451-464.
- [35] BALASUBRAMANIAN A, LEE D S, CHIKINDAS M L, et al. Effect of Nisin's Controlled Release on Microbial Growth as Modeled for Micrococcus luteus[J]. Probiotics & Antimicro Prot, 2011(3): 113-118.
- [37] CHI-ZHANG Y D, YAM K L, CHIKINDAS M L. Effective Control of Listeria Monocytogenes By Combination of Nisin Formulated and Slowly Released into A Broth System[J]. International Journal of Food Microbiology, 2004, (90): 15-22.