Titolo:

ALCUNE TECNICHE ALTERNATIVE PER L'INATTIVAZIONE MICROBICA NELLA CONSERVAZIONE DEGLI ALIMENTI: "MILD TECHNOLOGIES"

Dott.ssa Gianpiera MODANO

Tecnico della Prevenzione nell'Ambiente e nei Luoghi di Lavoro

INTRODUZIONE:

Conservare significa difendere gli alimenti dagli attacchi degli agenti esterni che potrebbero alterare le caratteristiche organolettiche e le proprietà nutritive. I fattori che influenzano le alterazioni sono i microrganismi, le attività enzimatiche e i fattori di rischio, vale a dire, il tempo la temperatura e l'umidità.

Oggi i metodi di conservazione sono in grado di risolvere questi problemi senza correre rischi di malattie alimentari. Anche nell'antichità l'esigenza di conservare gli alimenti era necessaria per evitare di consumare immediatamente l'alimento, cercando di prolungare nel tempo la sua integrità.

Alcune tecniche che venivano usate in passato, come salagione ed essiccamento, sono state usate per lunghi periodi. Attualmente con degli studi chimico-fisici approfonditi, si sono scoperte tecniche in grado di allungare il tempo di conservabilità dell'alimento senza alterarne particolarmente le caratteristiche organolettiche.

Queste insieme di tecniche, alcune ancora in via di sperimentazione, possono essere chiamate "MILD TECHOLOGIES". Inoltre con esse viene assicurata la sicurezza alimentare.

Queste tecniche sono ampiamente utilizzate all'estero, in particolare in America, mentre in Italia non vengono adottate tutte in modo assiduo, forse, per la scarsa conoscenza degli effetti sulla salute dell'uomo.

Le nuove tecnologie non sono un problema per il futuro del settore alimentare, sono il futuro del FOOD SECTOR. La mediazione che la tecnologia opera tra natura e consumatore sarà crescente. I conflitti tra nuove tecnologie ed alcune tipologie di consumo sono solo apparenti, dal momento che le nuove tecnologie si orienteranno verso tutte le diverse attitudini di consumo, potendo muoversi all'interno di un'ampi superficie innovativa.

Secondo vari studiosi il futuro del settore alimentare potrà prendere tre possibili direzioni alternative, secondo l'impatto delle nuove tecnologie:

- ✓ Naturalità: Prodotti biologici e di origine / tipici
- ✓ Funzionalità: Functional food (cibo funzionale)
- ✓ Convenienza: Convenience food

PROSPETTIVA STORICA:

La prima sperimentazione di alta pressione idrostatica in grado di uccidere i batteri è stata da H. Roger nel 1895 anche se nel settore delle scienze e tecnologie alimentari, l'opera più importante conosciuta e che tratta della inattivazione microbica è attribuita a Bert Hite, pubblicato nel giugno

del 1899 [1]. Hite originariamente sperimentò l'applicazione di elevate pressioni idrostatiche sui prodotti alimentari e sui microrganismi alimentari. Egli dimostrò che il ciclo vitale di immagazzinamento del latte crudo potrebbe essere prolungato di circa 4 giorni dopo il trattamento a pressione a 600 MPa per un'ora a temperatura ambiente. L'inacidimento si ritardava per circa 24 ore dopo il trattamento a 200 MPa. Nel lavoro successivo, Hite e altri (1914) osservarono che una buona parte di frutta trattata in questa maniera rimase commercialmente sterili per almeno 5 anni dopo il trattamento a pressioni da 400-820 MPa. L' ultimo contributo di Hite è stato nel 1929 (Giddings e altri 1929) in cui il virus del mosaico del tabacco è stato trattato a pressioni superiori a 930 MPa con una inattivazione inconsistente.

Larsen e gli altri (1918) confermarono che HPP può inibire la crescita microbica ed essere causa della mortalità cellulare. Campioni vegetativi sono stati distrutti dopo 14 ore a 607 MPa. Fu dunque constatato che le spore di batteri erano estremamente resistenti alla inattivazione da parte pressione, ma potevano essere distrutte a 1.214 MPa.

Negli anni successivi, Timson e Short (1965) pressurizzarono il latte a 1.034 MPa/35 C per90 min, notando che circa il 0,05% della popolazione batterica è fu in grado di resistere a questa pressione. Un'Analisi microbica individuò i superstiti come le spore di Bacillus subtilis e Bacillus alvei. È stato suggerito che l'effetto letale di pressione era più evidente in fase solida che non nella fase liquido [dell'acqua]. Cioè, B. subtilis è sopravvissuto nelle transizioni dalle fase solida del ghiaccio II, III, V, fino a Ice I. fu notato un pH neutro maggiormente protettivo alle spore che non il pH acido; inoltre, la presenza di NaCl o di glucosio fornirono protezione contro gli effetti dannosi della pressione incontrati in acido e pH alcalino. In un loro articolo 1965, W. e J. Timson A.J. Short sulla scia di un articolo del 1932 i J. Basset e MA Macheboeuf che segnalarono la sopravvivenza delle spore di B. subtilis esposti a più di 1.724 MPa (250.000 psi) per 45 min. Presso l'Istituto di tecnologi alimentari alla riunione annuale del 1974, DC Wilson presentato un documento che ristabiliva l'uso di pressione e di temperature elevate come un metodo di conservazione degli alimenti. Bassa pressione di circa 140 MPa combinato con temperature di 82-103 C sono stati efficaci per la sterilizzazione di alimenti a bassa acidità in contenitori sigillati. La combinazione di calore mite con la pressione idrostatica produce un effetto sinergico. Il valore 0,35 MPa e 100 ° C il valore D sono necessari 280 min per

[1] *(Hite 1899).*

batteri produttori di spore gram-positivi, mentre a 138 MPa e 100 C, la D-valore il tempo è di 2,2 min. Di conseguenza, una riduzione sostanziale dei microrganismi possono essere raggiunto quando co-trattamenti di calore e pressione, sono utilizzate.

Negli anni 1980, vi era una carenza di informazioni riguardanti la cinetica di inattivazione HPP per microrganismi importante alimento, ma la letteratura corrente è relativamente voluminosa riguardanti l'inattivazione di microrganismi (ed enzimi) in alimenti elaborati con HPP.

Alcune tecniche alternative per l'inattivazione microbica nella conservazione degli alimenti

Questo lavoro valuta le informazioni scientifiche disponibili su una varietà di tecnologie di conservazione alimentare alternativa. Lo scopo della relazione è quello di evidenziare le metodologie di valutazione dell'efficacia di alcune tecniche nella riduzione e l'inattivazione degli agenti patogeni nocivi per la salute pubblica. Per ogni tecnologia, si definiscono, sempre in maniera riassuntiva e ridotta, i procedimenti, e si individuano gli agenti patogeni riguardanti la salute pubblica più resistenti alle specifiche tecnologie.

I parametri e modelli cinetici qui descritti sono stati utilizzati per lo sviluppo dei processi per la conservazione degli alimenti in modo da garantirne la sicurezza. Essi hanno inoltre permesso il confronto tra i diversi processi tecnologici per la riduzione delle popolazioni microbiche. I parametri, con i loro limiti riconosciuti, sono utilizzati per analizzare e segnalare la riduzione di una

popolazione microbica e sono stati elaborati in modo sperimentale da una riduzione cinetica della carica microbica. Inoltre, i modelli e parametri cinetici sono utilizzati per presentare e confrontare l'inattivazione microbica che avviene da processi termici, di pressione e elettromagnetici. I parametri termici riguardano i processi ad energia a microonde e la resistenza elettrica (ohmico), nonché qualsiasi altra tecnologia dove la temperatura è il fattore primario.

I parametri per trattamenti a pressione o di PEF dovrebbero essere applicati a qualsiasi processo in cui la pressione o l'energia elettrica è il principale fattore critico nella riduzione delle popolazioni microbiche.

Data la scarsità di dati, i parametri che sono stati presi in considerazione sono ipotizzati, sottolineando la necessità di intensificare la ricerca in questo settore.

Nella letteratura utilizzata come riferimento, i parametri cinetici per le popolazioni microbiche esposti a trattamenti termici sono stato assemblati in un periodo di tempo significativo. I dati pubblicati includono i parametri cinetici necessari per rispondere alla maggior parte delle situazioni di processo, di prodotto e microbiche. I parametri termici offrono una solida base per lo sviluppo delle tecnologie che impiegano l'energia a microonde e la resistenza elettrica (ohmico).

Tuttavia, ci sono condizioni da considerare quando si interpretano questi parametri. Nel momento in cui essi sono utilizzati per sviluppare le tecnologie è necessario essere attenti al confronto della resistenza delle diverse popolazioni microbiche, e per identificare i microrganismi di un caso specifico. L'identificazione degli agenti patogeni chiave ed i loro surrogati è una sfida ricorrente. I limiti di questi dati sono associati principalmente al controllo della temperatura o a variazioni di temperatura durante i trattamenti a pressione. Le prove che potrebbero ipotizzare un effetto sinergico tra pressione e temperatura sulle popolazioni microbiche ancora non sono tali ritenersi utili. Durante gli esperimenti, generalmente i dati sono raccolti in condizioni di pressione unica, trovando, nei riferimenti usati solo 4 studi che hanno utilizzato 3-5 livelli di pressione, controllando nel contempo tutti gli altri fattori che interessano i parametri.

I dati disponibili sull'influenza del PEF sulle popolazioni microbiche hanno molte limitazioni. I parametri cinetici sono basati su due punti sulla curva della sopravvivenza [*microbica ndt*]. Nei dati studiati nessuna relazione unica ha misurato l'inattivazione di popolazioni microbiche ai diversi livelli di intensità di campo elettrico, che porta alla quantificazione del PEF coefficiente, ne è stata

quantificata l'influenza sinergica di temperatura.

Le tecnologie alternative elettrotermiche utilizzano parametri cinetici termici ben consolidati per l'inattivazione termica di cellule vegetative di Salmonella,

Escherichia coli, Yersinia enterocolitica, Vibrio spp., Aeromonas hydrophila,

Campylobacter jejuni, Listeria monocytogenes e Staphylococcus aureus.

PRINCIPI GENERALI: caratteristiche fondamentali di alcune tecnologie di conservazione:

Trattamento a Microonde

Il riscaldamento a microonde è riferito all'utilizzo di onde elettromagnetiche di determinate frequenze per generare calore in un materiale attraverso due meccanismi - dielettrico e ionico. Si preferiscono le microonde ed il riscaldamento per la pastorizzazione e il rispetto al riscaldamento convenzionale perché richiedono meno tempo per raggiungere la temperatura desiderata per il procedimento, in particolare modo per gli alimenti solidi e semi-solidi. Tuttavia, anche se sistemi di pastorizzazione e la sterilizzazione a microonde industriale sono stati segnalati a periodi alterni per più di 30 anni, attualmente non si è a conoscenza di impianti commerciale di riscaldamento a onde radio ai fini della pastorizzazione o sterilizzazione di alimenti.

Per il processo di sterilizzazione a microonde, a differenza del procedimento a riscaldamento tradizionale, il design di questi apparecchi può influire notevolmente sul parametro critico del processo – la posizione e la temperatura del punto più freddo. Questa incertezza rende più difficile trarre conclusioni di carattere generale su processi, le deviazioni dei processi e su come gestire le deviazioni.

Molte tecniche sono state sperimentate per migliorare l'uniformità di riscaldamento; molto probabilmente il fattore critico del processo che utilizza sia il riscaldamento tradizionale sia le microonde o qualsiasi altra nuova tecnica rimarrà la temperatura del cibo al punto di freddo, soprattutto a causa della complessità del assorbimento di energia e dei processi di trasferimento di calore.

Poiché l'effetto termico è probabilmente il solo meccanismo letale, il momento nel quale si verificherà la temperatura più fredda determinerà la posizione di sicurezza per il processo ed è una funzione della composizione, della forma e delle dimensioni del cibo, la frequenza di microonde e l'applicatore design (struttura del forno). Il tempo è anche un fattore nel senso che, come il cibo si riscalda, le proprietà di assorbimento a microonde possono cambiare in modo significativo e la posizione dei punti freddi possono spostarsi.

RISCALDAMENTO OHMICO E INDUTTIVO

Riscaldamento ohmico (a volte indicato anche come riscaldamento Joule, riscaldamento a resistenza elettrico, riscaldamento resistenza elettrica diretto, e riscaldamento elettrico, e riscaldamento elettroconduttivo) è definito come il processo di passaggio di correnti elettriche attraverso gli alimenti o altri materiali per riscaldarle.

Il riscaldamento ohmico si distingue da altri metodi di riscaldamento elettrico o per la presenza di elettrodi che hanno un contatto con il cibo, la frequenza e forma d'onda.

Il riscaldamento a induzione è un processo in cui le correnti elettriche indotte all'interno dell'alimento grazie a campi elettromagnetici oscillante generati da bobine elettriche.

Il vantaggio principale che deriva dal riscaldamento ohmico è la sua capacità di riscaldare rapidamente i materiali e in modo uniforme, compresi i prodotti contenenti particolato. I principali meccanismi di inattivazione microbica sono termici.

TRATTAMENTO AD ALTA PRESSIONE

Il trattamento ad alta pressione (HPP), descritto anche come trattamento ad alta pressione idrostatica (HHP) o ad altissima pressione (UHP) riguarda gli alimenti liquidi e solidi, con o senza imballaggi, a pressioni comprese tra 100 e 800 MPa.

La temperatura durante il trattamento con la pressione può essere specificata da inferiore a 0 ° C a superiore a 100 ° C. HPP agisce istantaneamente e in modo uniforme su tutta una massa di cibo indipendentemente dalla dimensione, forma e composizione degli alimenti. La compressione uniforme aumenterà la temperatura degli alimenti circa 3 °C ogni 100 MPa. La temperatura aumenterà in modo uniforme a causa della compressione. La compressione dei prodotti alimentari può spostare il pH del prodotto alimentare in funzione della pressione imposta e deve essere determinato per ciascun processo di trattamento degli alimenti. L'attività dell'acqua e il pH sono i fattori critici del processo di inattivazione microbica con questa tecnica. Un aumento della temperatura del cibo che superi la temperatura ambientale e, in misura minore, una diminuzione rispetto alla stessa aumenta il tasso di inattivazione dei microrganismi durante il trattamento. Temperature nella gamma da 45°C a 50° C sembrano aumentare il tasso di inattivazione degli agenti

patogeni degli alimenti e dei microbi responsabili del deterioramento. Temperature che variano tra 90°C e 110°C, insieme a pressioni di 500-700 MPa sono stati utilizzati per inattivare batteri sporeforming quali il Clostridium botulinum. I processi attuali comprendono sistemi a lotti interi e sistemi semi-continui, ma attualmente non si ha notizia di sistemi di inattivazione HPP impiantato in dimensioni commerciali. I fattori critici in HPP includono pressione, il tempo a pressione, tempo per raggiungere la pressione di trattamento, il tempo di decompressione, la temperatura di trattamento (compreso il riscaldamento adiabatico), prodotto di temperatura iniziale, distribuzione della temperatura del contenitore a pressione, il pH del prodotto, la composizione del prodotto, l'attività dell'acqua del prodotto, l'integrità del materiale d'imballaggio, e coadiuvanti tecnologici.

Poiché alcuni tipi di spore di C. botulinum sono in grado di sopravvivere anche a pressioni e temperature più estreme di HPP, non esiste un indicatore assoluto di sterilità microbica dopo il trattamento da HPP.

CAMPI ELETTRICI PULSATI

La tecnica a campi elettrici pulsati ad alta intensità (PEF) comporta l'applicazione di impulsi di alta tensione (in genere 20-80 kV / cm) per prodotti alimentari immessi tra due elettrodi.

La perdita di energia dovuta al riscaldamento dei cibi è ridotta al minimo, riducendo le variazioni negativi nelle proprietà sensoriali e fisiche dei cibi.

Alcuni aspetti importanti per la tecnologia ad impulsi di campo elettrico sono l'alta intensità del campo elettrico, la progettazione degli ambienti che devono assicurare un trattamento uniforme degli alimenti con un aumento minimo della temperatura e la progettazione di elettrodi che riducono al minimo l'effetto di elettrolisi.

Anche se diversi laboratori e camere di trattamento sono stati progettati ed utilizzati per il trattamento di alimenti PEF in via sperimentale, solo due sistemi su scala industriale PEF sono disponibili. I sistemi (comprese gli ambienti di trattamento e la potenza delle apparecchiature di alimentazione) devono essere prodotti in modo da soddisfare i sistemi commerciali. Oggi giorno, il PEF viene applicato principalmente per migliorare la qualità dei prodotti alimentari.

La sua applicazione è limitata a quei prodotti che possono sopportare elevati campi elettrici, hanno una bassa conducibilità elettrica, e non contengono né producono bolle. Diverse teorie sono state proposte per spiegare l'inattivazione microbica da PEF.

Le più studiate sono la scomposizione elettrica e l'elettroporazione.

L' inattivazione microbica con PEF è influenzata da fattori inerenti al processo (Intensità di campo elettrico, ampiezza dell'impulso, tempo di trattamento e la temperatura e la forma delle onde), da fattori di entità microbiche (tipo, la concentrazione e la fase di crescita microrganismo) e fattori di conduzione (pH, antimicrobici e dei composti ionici, conducibilità e forza ionica media).

Anche se PEF ha un potenziale tra le tecniche per la conservazione degli alimenti, i sistemi PEF esistenti e le condizioni sperimentali sono diversi, e sono necessari ulteriori studi sulle conclusioni riguardanti gli effetti dei fattori critici sugli agenti patogeni e la dinamica di inattivazione.

SCARICA AD ALTA TENSIONE

L'impiego di scariche elettriche è un'applicazione precoce di energia elettrica ai fluidi per pastorizzarli con applicazioni rapide attraverso una distanza tra gli elettrodi al di sotto della superficie di sospensioni acquose di microrganismi. Una serie di effetti fisici (onda intense) e composti chimici (elettrolisi) vengono generati, causando l'inattivazione dei microrganismi.

L'utilizzo di questa tecnica per alimenti liquidi può non essere adatta maggiormente perché si verificano l'elettrolisi e la formazione di sostanze chimiche altamente reattive durante la scarica elettica. Studi più recenti possono evidenziare qualche aspettativa per il suo utilizzo nella conservazione degli alimenti, anche se i risultati riportati dovrebbero essere confermati da ricercatori indipendenti.

TECNOLOGIA A LUCE PULSATA

La luce pulsata è un metodo di conservazione degli alimenti, che implica l'uso di impulsi di "luce bianca" ad ampio spettro intensi e di breve durata (ultravioletto all' infrarosso). Poche applicazioni per la frazione di un secondo forniscono un livello notevole di inattivazione microbica. Questa

tecnologia è applicabile principalmente per sterilizzare o ridurre la popolazione microbica sulle confezioni o sulle superfici alimentari.

CAMPI MAGNETICI OSCILLANTI

I campi magnetici statici (SMF-*static magnetic field*) e oscillanti (OMF-*oscillating magnetic field*) sono stati studiati per la potenzialità di inattivare i microrganismi. Per i campi magnetici statici, l'intensità magnetica del campo è costante nel tempo, mentre un campo magnetico oscillante è applicato sotto forma di ampiezza costante o in onde ad ampiezza sinusoidali di decomposizione.

La conservazione degli alimenti con OMF coinvolge la conservazione del cibo in un sacchetto di plastica e sottoporlo ad impulsi di 1 a 100 in un OMF con una frequenza compresa tra 5-500 kHz, con temperatura tra 0°C e -50° C per un tempo di esposizione totale da 25 ms a 100 ms. Gli effetti dei campi magnetici sulle popolazioni microbiche hanno prodotto risultati controversi.

LUCE ULTRAVIOLETTA

C'è un particolare interesse ad utilizzare i raggi ultravioletti (UV) per il trattamento di succhi di frutta, specialmente succo di mela e sidro. Altre applicazioni includono la sterilizzazione delle forniture di acqua e le superfici di contatto con gli alimenti. Il trattamento con i raggi ultravioletti comporta l'uso di radiazioni ultraviolette provenienti dallo spettro elettromagnetico.

Per realizzare l'inattivazione microbica, l'esposizione ai raggi UV radiante deve essere di almeno 400 J/m2 in tutte le parti del prodotto. I fattori critici includono la capacità di trasmissione del prodotto, la configurazione geometrica del reattore, la potenza, la lunghezza d'onda e la disposizione fisica della sorgente UV (s), il flusso e il profilo del prodotto e la lunghezza del percorso di radiazione. I raggi UV possono essere utilizzati in combinazione con altre tecnologie alternative, e con vari potenti agenti ossidanti come l'ozono e perossido di idrogeno.

ULTRASUONI

L'ultrasuono è l'energia generata dalle onde sonore di 20.000 o più vibrazioni al secondo. Sebbene la tecnologia a ultrasuoni ha una vasta gamma di applicazioni attuali e future nel settore alimentare, tra cui l'inattivazione di microrganismi e enzimi, attualmente, la maggior parte degli sviluppi per applicazioni alimentari non sono microbiche.

Non sono disponibili molti dati relativi alla inattivazione tramite ultrasuoni dei microrganismi nel settore alimentare e la maggior parte delle applicazioni sono usate contemporaneamente ad altre tecniche di conservazione alimentare. L'effetto battericida degli ultrasuoni viene attribuita a cavitazione intracellulare, cioè, shock micro- meccanici che scompongono le cellule fino al punto di scissione cellulare. La natura eterogenea e protettiva dei prodotti alimentari con l'inclusione di particolato e di altre sostanze interferenti compromette gravemente l'uso esclusivo degli ultrasuoni come modalità di conservazione. Nonostante queste limitazioni rendono minime le attuali probabilità di sviluppo commerciale, la combinazione di ultrasuoni con altri processi di conservazione (ad esempio, il calore e la pressione lieve) sembra avere le maggiori potenzialità nelle applicazioni industriali.

L 'ampiezza delle onde ad ultrasuoni, l'esposizione / tempo di contatto con i microrganismi, il tipo di microrganismo, il volume di cibo da trasformare, la composizione del cibo e la temperatura del trattamento sono considerati i fattori critici di applicazione di questa tecnica.

RAGGI X PULSATI

L'impiego dei raggi X a pulsazione è una nuova tecnologia alternativa che utilizza un interruttore per generare impulsi di fasci di elettroni di raggi ad alta intensità. La differenza negli effetti specifici tra la tecnica che utilizza i raggi pulsati e la tecnica tradizionale non è stata ancora stabilita.

L'applicazione pratica di irradiazione degli alimenti da raggi X in collaborazione con impianti esistenti di trattamento degli alimenti è ulteriormente agevolato da:

1-possibilità di controllare la direzione della radiazione elettrica prodotta;

2 - la possibilità di modellare la geometria del campo di radiazione a ospitare confezioni diverse, e

3 - la sua alta riproducibilità e versatilità.

Un fattore positivo è che gli effetti negativi delle radiazioni sulla qualità degli alimenti possono essere potenzialmente ridotti, la temperatura e altre variabili anche dovrebbero essere valutati.

BIBLIOGRAFIA

- Haeghebaert, S., P. Sulem, L. Deroudille, E. Vanneroy-Adenot, O. Bagnis, P. Bouvet,
- F.Grimont, A. Brisabois, F. Le Querrec, C. Hervy, E. Espie, H. de Valk. 2003. Two outbreaks of *Salmonella* Enteritidis phage type 8 linked to the consumption of Cantal cheese made with raw milk, France, 2001. Eurosurveillance 7:151-156.
- Hassan, L., H. O. Mohammed, P. L. McDonough, R. N. Gonzalez. 2000. A cross-sectional study on the prevalence of *Listeria monocytogens* and *Salmonella* in New York dairy herds. J. Dairy Sci. 83:2441-2447.
- Hein, I., H. J. Jørgensen, S. Loncarevic, M. Wagner. 2005. Quantification of *Staphylococcus* 214 *aureus* in unpasteurized bovine and caprine milk real-time PCR. Res. Microbiol.156:554-563.
- Jothikumar, N., X. Wang, M. W. Griffiths. 2003. Real-time multiplex SYBR Green I-based PCR assay for simultaneous detection of *Salmonella* serovars and *Listeria monocytogenes*. J. Food Prot. 66:2141-2145.
- Karns, J.S., J. S. Van Kessel, B. J. McClaskey, M. L. Perdue. 2005. Prevalence of *Salmonella enterica* in bulk tank milk from US dairies as determined by polymerase chain reaction. J. Dairy Sci. 88:3475-3479.
- Klerks, M. M., C. Zijlstra, A. H. C. van Bruggen. 2004. Comparison of real-time PCR methods for detection of *Salmonella enterica* and *Escherichia coli* O157:H7, and introduction of a general internal amplification control. J. Microbiol. Methods 59:337- 349.
- Lampel, K. A., P. A. Orlandi, L. Keonegay. 2000. Improved template preparation for PCRbased assays for detection of food-borne bacterial pathogens. Appl. Environ. Microbiol. 66:4539-4542.
- Li, Y., and A. Mustapha. 2002. Evaluation of four template preparation methods for polymerase chain reaction-based detection of *Salmonella* in ground beef and chicken. Lett. Appl. Microbiol. 35:508-512.