

國立臺灣海洋大學食品科學系碩士在職班
專題討論書面報告

寵物生食食品對沙門氏菌產大腸桿菌以及李斯特菌的失活研究

Inactivation of *Salmonella*, Shiga Toxin-producing *E. coli*, and
Listeria monocytogenes in Raw Diet Pet Foods Using
High-Pressure Processing

授課老師：方銘志老師

授課老師：顧皓翔老師

指導教授：張祐維老師

學號：41242003

學生：周宸安

報告日期：113年03月16日

內容 40%	時間掌控 10%	表達能力 30%	投影片 10%	書面資料 10%

指導教授：

1 以高壓處理滅活生食寵物食品中的沙門氏菌、產生志賀毒素的大腸桿

2 菌和單核細胞增生李斯特菌

3

4 大綱

5 一、前言

6 二、材料方法

7 三、生寵物食品樣本微生物之分析

8 四、結論

9

摘要

10 八種生食寵物食品，使用了三種配方類型，其條紋肉、內臟肉、骨頭、種子
11 和其他成分（水果、蔬菜和次要成分）的量不同，以 A、S、R 代稱三種不同組
12 別，包括三種牛肉配方（A-Beef、S-Beef 和 R-Beef）、三種雞肉配（A-Chicken、
13 S-Chicken 和 R-Chicken）以及兩種羊肉配方（A-Lamb 和 S-Lamb），以沙門氏
14 菌、大腸桿菌及李斯特菌 $7 \log \text{ CFU/g}$ 混合物使用高壓處理（High-Pressure
15 Processing, HPP）在 586 MPa 下處理 1-4 分鐘，分別在冷藏（4°C）與冷凍（-10
16 至 -18°C）下保存 21 天，並在不同的時間間隔進行微生物分析。各樣品組別接
17 種沙門氏菌後於 586 MPa 下進行處理，HPP 後 1 天減少 5 個對數級，並在
18 冷凍儲存期間維持滅活水準。接種大腸桿菌 STEC 並在 586 MPa 下處理至少 2
19 分鐘的 A 和 S 製劑比冷凍儲存第 6 天實現了 5 個對數的減少。經過評估，
20 高壓處理可將商業生寵物食品中的沙門氏菌、大腸桿菌 STEC 和李斯特菌減少
21 5 個對數。但與含有雞肉或牛肉的 A 配方相比，李斯特菌比沙門氏菌和大腸桿
22 菌 STEC 具有更強的 HPP 抗性。含有雞肉或牛肉並在 HPP 後冷凍保存的 S
23 配方對李斯特菌的滅活率較低。與雞肉 ($2.52 \pm 0.38 \log \text{ CFU/g}$) 或牛肉 ($2.36 \pm$
24 $0.48 \log \text{ CFU/g}$) 相比，S-Lamb 的冷凍儲存滅活率較高 ($5.95 \pm 0.20 \log \text{ CFU/g}$)。

25

1 一、前言

2 成長最快的寵物食品類別之一是生食寵物食品，主人相信生食餵養可以改
3 善寵物健康或糾正被認為是由高度加工寵物食品引起的疾病，據信，熱敏化合物
4 （例如生寵物食品中發現的植物化學物質）具有健康益處，並且與抗氧化活性、
5 癌症保護、抗炎和抗菌特性相關。生食寵物食品中使用的不同類型的肉類可能含
6 有肌肽、肌酸和穀胱甘肽等對熱敏感的化合物，並已證明具有降低血清膽固醇、
7 減輕疲勞、促進傷口癒合等健康益處。但是在生食寵物食品中使用生肉可能會對
8 寵物、主人和工人造成嚴重的健康風險。一項針對商業狗飼料中使用的生肉進行
9 的調查顯示，45% 的生肉沙門氏菌呈陽性。美國食品和藥物管理局 (FDA) 獸醫
10 中心 (CVM) 對市售生狗糧和貓糧進行的一項為期 2 年的研究，分別顯示有沙
11 門氏菌 8%、李斯特菌 16% 和大腸桿菌 (STEC) 4% 呈陽性。這些由碎肉製成的
12 生寵物食品以管狀包裝冷凍出售，需要寵物主人解凍和處理。因此，寵物主人感
13 染沙門氏菌或單核細胞增生李斯特菌的風險可能更高。然而這兩種細菌已被證明
14 會透過直接接觸寵物食品或透過身體接觸（例如在食用生寵物食品後親吻寵物）
15 而導致人類感染。根據需要冷凍和解凍後，寵物生食食品的保存期及為了減少生
16 食寵物食品對人類健康造成的風險，寵物食品產業使用高壓加工作為預防控制措
17 施，以滅活沙門氏菌、大腸桿菌 STEC 和李斯特菌，並實現 5 個對數的減少。
18 研究的目的是將不同蛋白質製成的各種商業生食寵物食品中的李斯特菌和大腸
19 桿菌 STEC、沙門氏菌使用高壓加工 (HPP) 進行評估。

20 二、材料與方法

21 高壓加工 (HPP) 是一種非熱食品保鮮技術，用於加工水果和蔬菜冷藏產品、
22 肉類和海鮮產品。將食品放入軟包裝中，裝入運載籃中，然後放入壓力容器中，
23 然後在低壓縮性液體（通常是飲用水）中加壓至 600 MPa。與熱處理不同，壓
24 力瞬間均勻地分佈在整個食品中，無論產品的尺寸或形狀如何，都能確保均勻處
25 理，同時保留熱敏化合物。HPP 可有效滅活腐敗微生物（如酵母菌和黴菌）和

1 營養病原體（如大腸桿菌 0157:H7 和沙門氏菌屬）。研究中使用了來自 Instinct
2 Pet Food 的生寵物食品，總共八種含有不同蛋白質（牛肉、雞肉和羊肉）的生食
3 寵物食品配方，以成分和配方特徵區分，表 1 中列出的並標記為 A-牛肉、S-牛
4 肉、R-牛肉、A-雞肉、S-雞肉、R-雞肉、A-羔羊肉和 S-羔羊肉。本研究中使用
5 的壓力是工業 HPP 機器可達到的最大壓力，通常用於食品業。製程和壓力容器
6 夾套水溫保持在 $4 \pm 1^{\circ}\text{C}$ 。雞肉生飼料配方 586 MPa (85,000 psi) 下進行 2、3 和
7 4 分鐘高壓處理(HPP)。然而雞生飼料配方進行 1、2 和 1 分鐘的高壓處理(HPP)。
8 牛肉和羊肉生食配方則需要 3 分鐘。使用的壓力和時間是基於先前的工作，其
9 中相同的病原體菌株則有不同的壓力和時間組合。

10 三、生寵物食品樣本微生物之分析

11 沙門氏菌屬接種到牛肉配方中，透過時間 3 分鐘高壓處理(HPP)方式滅活，
12 導致所有牛肉配方在第 1 天實現 5 個對數的減少，並保持這種減少冷藏保存時間
13 超過 8 天（圖 1）。但 A-牛肉在冷藏第 13 天和第 21 天出現異常失活減少。在
14 這兩種情況下，一項試驗中的同一天對照平板計數減少，導致第 13 天和第 21 天
15 的滅活水準低於 1-、4-、6- 組 ($1.88 \pm 1.12 \log \text{CFU/g}$)。，以及該試驗和重複
16 試驗的 8 天樣品 ($5.67 \pm 0.53 \log \text{CFU/g}$) ($6.27 \pm 0.02 \log \text{CFU/g}$)。減少的確切原
17 因尚不清楚，因為所有質量數據（時間、溫度、試劑等）均在既定的公差範圍內。
18 可能是培養物進入了死亡階段，成分或組成的某些差異影響了接種物的存活。
19 冷藏下的牛肉配方中沙門氏菌含量增加了 0.85–4.14 個對數。HPP 處理 1 至 3
20 分鐘停留時間後失活。然而 R-牛肉的沙門氏菌含量最低。在 586 MPa 下處理 1 分
21 鐘時，滅活（第 1 天減少 2.24 個對數），並保持與第 8 天類似的（ <3 個對數）
22 減少，第 13 天和第 21 天分別達到 3.16 和 3.46 個對數減少。A 牛肉冷凍加工 1、
23 2 和 3 分鐘，S 和 R 牛肉冷凍加工 1 和 2 分鐘，結果額外減少了 0.05-2.65
24 個對數。在第 4 天分析樣本時，A-牛肉和 S-牛肉在 586 MPa 下分別保持 2 或
25 3 分鐘，沙門氏菌屬減少了 5 個對數。並在整個 21 天的儲存過程中保持這種減

1 少(圖 2)。當 586 MPa 冷凍 3 分鐘後,所有三種牛肉配方均獲得大腸桿菌 STEC
2 減少。R-Beef 冷凍儲存的對數減少量最低,但其對數減少量比在 586 MPa 下類
3 似處理 1 分鐘的冷藏樣品高出 2.01 個對數。S-Beef 在冷藏條件下需要 3 分鐘
4 的 HPP 保存時間才能使沙門氏菌和大腸桿菌 STEC 少 5 個對數。同樣,與冷
5 藏樣本相比,HPP 後冷凍處理 2 分鐘和 3 分鐘的 S-牛肉可導致大腸桿菌
6 STEC 菌株額外減少 0.05-1.58 個對數。然而,只有 R-牛肉在 586 MPa 下冷凍
7 儲存處理 3 分鐘,導致沙門氏菌和大腸桿菌 STEC 兩種減少 5 個對數級。高壓
8 處理 HPP 2 或 3 分鐘的牛肉配方中滅活李斯特菌水平低於同樣接種沙門氏菌的配
9 方。HPP 冷凍後的 21 天儲存過程中,單核細胞增生李斯特菌維持滅活水準。第
10 6 天後,冷藏條件下李斯特菌的失活減少,這與該生物體確實在冷藏溫度下生長
11 的知識一致(圖 1、圖 2)。只有使用 HPP 在 586 MPa 下處理 3 分鐘並冷藏 4
12 天或在 HPP 處理後立即冷凍的 A-牛肉配方才能導致李斯特菌減少 5 個對數。
13 這表明 S-Beef 和 R-Beef 之間存在配方差異,影響整體李斯特菌滅活功效,
14 R-Beef 比 S-Beef 更具抵抗力。雞肉配方為使用 HPP 處理 1 分鐘,因為先前的
15 研究顯示 586 MPa 1 分鐘並沒有導致沙門氏菌屬、大腸桿菌 STEC 和李斯特菌
16 顯著減少(數據未顯示)。當 HPP 在 586 MPa 下處理 3 分鐘時,從第 1 天到
17 整個冷藏和冷凍儲存的 21 天,大腸桿菌 STEC (圖 3 和 4)。A-Chicken 和
18 S-Chicken 的沙門氏菌數量均減少了 5 個對數。R-Chicken 對沙門氏菌的滅活率
19 最低。第 1 天(2mindwelltime)的大腸桿菌 STEC (4.69 log)和大腸桿菌 STEC
20 (3.05 log)在冷藏期間分別在第 4 天和第 21 天增加至 5.18 和 3.26 log,這
21 表明沙門氏菌進一步死亡。和大腸桿菌 STEC 隨著時間的推移。HPP 處理參數
22 可使沙門氏菌減少 5 個對數。HPP 後,R-Chicken 的大腸桿菌 STEC 冷藏儲
23 存為 586 MPa,持續 4 分鐘,冷凍儲存為 586 MPa,持續 3 分鐘。大腸桿菌
24 STEC 菌株在 586 MPa 下持續 2 分鐘的滅活率比接種沙門氏菌屬的類似樣本
25 平均低 1.91 log。第一天(圖 3)。需要 586 MPa 的處理參數持續 3 分鐘才能

1 將沙門氏菌減少 5 個對數。A-Chicken 和 S-Chicken 需要冷藏或冷凍保存大腸
2 桿菌 STEC，而 R-Chicken 需要在 586 MPa 條件下冷藏 4 分鐘，或在 586 MPa
3 條件下冷凍保存 3 分鐘（圖 4）。與沙門氏菌和大腸桿菌 STEC 相比，李斯特菌
4 具有更強的抗壓性。在冷凍條件下儲存時，A 雞配方對李斯特菌的滅活效果始終
5 高於 S 和 R 雞。在冷藏至第 13 天期間，所有製劑中李斯特菌的失活均增加，
6 而在第 13 天和第 21 天之間失活平均減少 1.58 個對數（圖 3）。這表明亞致死損
7 傷的細胞死亡，存活的細胞能夠在冷藏期間在基質中生長。將 HPP 保持時間增
8 加到 4 分鐘並沒有使 A 雞中的李斯特菌在第 1 天產生 5 個對數級的滅活，但
9 在冷藏儲存的第 4 天到第 21 天卻產生了 5 個對數級的滅活。S-Chicken 和
10 R-Chicken 的一些樣本在儲存期間確實導致李斯特菌減少 5 個對數級，但滅活
11 程度差異很大。在 586 MPa 下處理 4 分鐘，三種配方中的李斯特菌減少最多 5
12 個對數。當沙門氏菌混合物接種到以羔羊為基礎的生飼料中時，586 MPa 處理 2
13 分鐘，冷藏保存長達八天後，A-Lamb 和 S-Lamb 的含量均減少了 5 個對數（圖
14 5），而 HPP 處理 2 分鐘冷凍儲存在整個儲存期間減少了 5 個對數（圖 6）。當
15 接種的產品在 586 MPa 下處理 1 分鐘時，A-Lamb 和 S-Lamb 在冷藏條件下均
16 未實現 5 個對數級減少，而 HPP 後冷凍導致 A-Lamb 在第 4 天出現 5 個對數
17 級減少 S-Lamb 的第 6 天。然而，沙門氏菌屬。A-Lamb 的減少與 S-Lamb 沒
18 有顯著差異 ($P > 0.05$)。儲存 4 天後，在 586 MPa 下，大腸桿菌 STEC 減少 5
19 個對數的最短時間對於冷藏 A-Lamb 為 2 分鐘，對於冷凍 A-Lamb 為 2 分鐘。
20 在所有三個 HPP 處理時間處理的冷藏 S-Lamb 在第一天都沒有使大腸桿菌
21 STEC 減少 5 個對數，並且需要至少四天的冷藏儲存來額外消滅 STEC，才能實
22 現 5 個對數減少。在 A-Lamb 和 S-Lamb 的 HPP 處理後冷凍樣本 2 或 3
23 分鐘確實導致所有樣本在 21 天的儲存期內實現了 5 個對數的減少。羔羊配方
24 中李斯特菌的失活與 HPP 維持時間成正比，維持時間越長，失活程度越高（圖
25 5、圖 6）。有趣的是，S-Lamb 往往比 A-Lamb 產生更高水平的李斯特菌滅活

1 (高達 2.83 log CFU/g 滅活), 並且需要在 586 MPa 下 2 分鐘才能實現 5- log
2 減少。當 HPP 處理 1 分鐘時, 在第 1 天觀察到 A-Lamb 和 S-Lamb 的減少量
3 為 2.21 log CFU/g 和 2.75 log CFU/g, 並且在第 1 天減少量增加至 4.70 log CFU/g
4 和 5.60 log CFU/g。分別冷藏第 4 天 (圖 5)。冷藏第 6 天後, 兩種製劑的失活
5 水平均下降, 顯示殘留的李斯特菌恢復和生長。然而, 在 HPP 後冷凍儲存的樣
6 本中沒有觀察到這種現象, 其中李斯特菌滅活在整個 21 天的儲存過程中保持恆
7 定。同樣, 將 HPP 保持時間增加到 2 分鐘會導致第 1 天的李斯特菌滅活率更
8 高, 而第 6 天冷藏後滅活水平下降。HPP 處理 3 分鐘導致兩種製劑之間的滅
9 活程度差異最大, 其中 A-Lamb 和 S-Lamb 在冷藏期間分別在第 4 天和第 1
10 天實現了 5 個對數的減少。HPP 後, S-Lamb 在 586 MPa 下冷凍 3 分鐘是導
11 致第 4 天減少 5 個對數的唯一製程條件, 並在整個 21 天的冷凍儲存過程中保
12 持了 5 個對數的減少 (圖 6)。如上所示, 病原體滅活受到配方的影響。由於
13 w 僅略有變化 (0.020 變化) (表 1), 因此其他因素似乎可能提供氣壓保護在複
14 雜的基質中, 例如肉類, 許多因素可能導致病原體失去活性。A 基配方的平均
15 水分含量為 66.3%, 高於 S 基和 R 基配方 (平均水分含量分別為 64.3% 和
16 56.7%), 並且所有三種配方具有相似的水分活度, 平均值為 0.98。A 配方的平
17 均蛋白質和脂肪含量最低, 分別為 13.7% 和 12.7%, 而 S 和 R 配方的蛋白質
18 和脂肪含量分別為 15.6% 和 14.1%; 分別含有 16.5% 蛋白質和 15.0% 脂肪。
19 A 基配方較高的水分和較低的蛋白質和脂肪含量可能導致沙門氏菌的較高滅活
20 率。和大腸桿菌 STEC 以類似劑量反應的方式。以 S 為基礎的配方在水分、蛋
21 白質和脂肪含量方面處於中間位置, 而基於 R 的配方具有最低的水分和最高的
22 蛋白質和脂肪, 顯示出較低的沙門氏菌含量。和大腸桿菌 STEC 滅活。脂肪和
23 油可能會產生局部低水溫避難所, 高壓導致的微生物滅活與水分和水溫直接相
24 關。與基於 S 和 R 的配方相比, 基於 A 的配方中脂肪含量較低且水分較高,
25 因此低 w 庇護所較少, 從而總體上能更好地滅活沙門氏菌。和大腸桿菌 STEC。

1 然而，李斯特菌的情況並非如此，李斯特菌滅活的反應似乎與沙門氏菌不同。這
2 些基質中含有大腸桿菌 STEC。

3 此外，A 基配方添加了有益的油(omega 脂肪酸)(0.5%) 和磨碎的亞麻籽 (0.9%)，
4 可能會產生更高含量的不飽和脂肪酸。透過在發酵的西班牙乾香腸中添加橄欖油
5 (Kruk 等，2014)或高油酸和亞麻油酸，不同肉類系統中存在高不飽和脂肪酸，
6 這與改善微生物滅活和 HPP 儲存後微生物仍維持不活躍狀態。與基於 S 和 R
7 的配方相比，A 基配方中使用的成分含有更多的水果、蔬菜、維生素和礦物質，
8 此外還含有可能產生額外微生物影響的肉蛋白。在目前的研究中，沙門氏菌屬和
9 大腸桿菌 STEC 滅活保持穩定，並且在某些情況下導致整個冷藏和冷凍儲存過程
10 中進一步減少，但李斯特菌沒有觀察到這種趨勢。冷藏 6-8 天後，李斯特菌滅
11 活程度下降，顯示樣本中殘留的李斯特菌可能生長，並進一步顯示影響沙門氏菌
12 屬的因素。和大腸桿菌 STEC 與單核細胞增生李斯特菌不同。HPP 後的產品冷凍
13 比冷藏更能保持 5 個對數的病原體減少。目前的 HPP 條件 (586 MPa，牛肉和
14 羊肉 3 分鐘；雞肉 4 分鐘) 與 HPP 處理後冷凍儲存相結合，使沙門氏菌屬、
15 大腸桿菌 STEC 和李斯特氏菌減少了 5 個對數級。大多數配方。李斯特菌可能
16 需要額外的障礙才能在冷藏期間保持 5 個對數的減少。觀察到，在 400 MPa 的
17 HPP 處理 10 分鐘後，碎牛肉中的大腸桿菌 O157:H7 減少了 3 個對數，冷凍儲
18 存進一步減少了 1.0-1.5 個對數。在目前的研究中，HPP 處理後的樣品冷凍儲
19 存始終導致沙門氏菌進一步滅活。和大腸桿菌 STEC 對冷藏保存的樣品進行了
20 檢測，雖然觀察到李斯特氏菌失活，但在基於 S 和 R 的製劑中幾乎沒有或沒有
21 額外的失活。這可能是由於配方差異造成的，正如之前討論的，基於 A 的配方
22 具有較高的水分含量，並且 HPP 在引起微生物的各種結構變化方面更有效，例
23 如改變細胞形態、細胞壁和細胞膜的蛋白質變性。李斯特菌滅活數據與沙門氏菌
24 和大腸桿菌 STEC 觀察到的數據不同。與沙門氏菌的 HPP 保持時間相比，實現
25 李斯特菌減少 5 個對數所需的額外 HPP 處理保持時間。和大腸桿菌 STEC 失

1 活可能是由於革蘭氏陽性單核細胞增生李斯特菌和革蘭氏陰性沙門氏菌之間的
2 細胞差異所致。和大腸桿菌 STEC。革蘭氏陽性細菌被肽聚醣層包圍，壁上的磷
3 壁酸與肽聚醣共價連接。革蘭氏陽性肽聚醣層厚 30-100 nm，具有多層，而革蘭
4 氏陰性肽聚醣只有幾奈米厚，可能更容易被 HPP 變性。羊肉產品中李斯特菌的
5 滅活也不同。採用 A 配方的牛肉和雞肉產品往往比基於 S 和 R 的配方在微生
6 物滅活方面表現更好。然而，羊肉產品中基於 S 的配方似乎比基於 A 的配方對
7 李斯特菌的滅活效果更好。雖然尚不清楚為什麼會出現這種情況，但雞肉/牛肉
8 和羊肉之間的配方差異可能提供線索（表 1）。在 S-雞肉和 S-牛肉配方中，添加
9 了骨頭，並且 S 基配方比 A 基配方含有更少的內臟肉。然而，在羊肉產品中情況
10 恰恰相反，A-Lamb 也使用羊肉和羊心，而 S-Lamb 不含羊肉，主要包含羊裙肉
11 （較便宜的切塊），並且羊心含量較高，導內臟肉。比例較高。目前的研究支持 HPP
12 後冷凍儲存生食寵物食品，作為保持透過 HPP 實現的微生物減少的最佳選擇
13 （586 MPa，牛肉和羊肉 3 分鐘；雞肉 4 分鐘），並支持當前消費者僅解凍的
14 建議使用前需要的量。整體而言，至少在本研究中李斯特菌是較難滅活的病原體，
15 其次是大腸桿菌 STEC 和沙門氏菌。

16 四、結論

17 配方和蛋白質類型在 586 MPa 下影響病原體減少 1-4 分鐘冷凍儲存比冷
18 藏儲存更好地保持病原體減少。只有 15% 的冷凍儲存的李斯特菌樣本實現了 5
19 個對數的減少。HPP 後冷凍儲存可使沙門氏菌和大腸桿菌 STEC 減少 5 個對數。
20
21
22
23
24
25

1 參考文獻

- 2 Adley, C., Dillon, C., Morris, C., Delappe, N., & Cormican, M. (2011). Prevalence of
3 Salmonella in pig ear pet treats. *Food Research International*, 44, 193–197.
- 4 American Pet Products Association (2020). Pet industry market size and ownership
5 statistics. http://americanpetproducts.org/pubs_survey.asp (Accessed 14
6 January2023).
- 7 Arihara, K., & Ohata, M. (2008). Bioactive compounds in meat. In F. Toldrá (Ed.),
8 *Meat*
9 *Biotechnology*. New York, USA: Springer.
- 10 Black, E. P., Hirneisen, K. A., Hoover, D. G., & Kniel, K. E. (2009). Fate of
11 *Escherichia*
12 *coli* 0157:H7 in ground beef following high-pressure processing and freezing.
13 *Journal of Applied Microbiology*, 108, 1352–1360.
- 14 Bover-Cid, S., Belletti, N., Aymerich, T., & Garriga, M. (2015). Modeling the
15 protective effect of aw and fat content on the high pressure resistance of *Listeria*
16 *monocytogenes*
17 in dry-cured ham. *Food Research International*, 75, 194–199.
- 18 Behravesh, C. B., Ferraro, A., Deasy, M., Dato, V., Moll, M., Sandt, C., Rea, N. K.,
19 Rickert,
20 R., Marriott, C., & Warren, K. (2010). Human *Salmonella* infections linked to
21 contaminated dry dog and cat food, 2006–2008. *Pediatrics*, 126, 477–483.
- 22 Bull, M. K., Zerdin, K., Howe, E., Goicoechea, D., Paramanandhan, P., Stockman, R.,
23 Sellaheewa, J., Szab, E., & Stewart, C. M. (2004). The effect of high pressure
24 processing on the microbial, physical, and chemical properties of Valencia and
25 Navel orange juice. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 5, 135–

1 149.

2 Cheftel, J. C. (1995). Review: High pressure microbial inactivation and food
3 preservation. *Food Science and Technology International*, 1, 75–90.

4 Chengappa, M. M., Staats, J., Oberst, R. D., Gabbert, N. H., & McVe, S. (1993).
5 Prevalence of Salmonella in raw meat used in diets of racing greyhounds. *Journal of*
6 *Veterinary Diagnostic Investigation*, 5, 372–377.

7 Davis, M. F., Iverson, S. A., Baron, P., Vasse, A., Silbergeld, E. K., Lautenbach, E., &
8 Morris, D. O. (2012). Household transmission of methicillin-resistant
9 *Staphylococcus aureus* and other staphylococci. *The Lancet Infectious Diseases*, 12,
10 703–716.

11 Davies, R. H., Lawes, J. R., & Wales, A. D. (2019). Raw diets for dogs and cats: A
12 review, with particular reference to microbiological hazards. *The Journal of Small*
13 *Animal*
14 *Practice*, 60, 329–339.

15 Donsi, G., Ferrari, G., di Matteo, M., & Bruno, M. C. (1998). High-pressure
16 stabilization of lemon juice. *Italian Food & Beverage Technology*, 14, 14–16.

17 Farr, D. (1990). High pressure technology in the food industry. *Trends in Food*
18 *Science and Technology*, 1, 14–16.

19 Food and Drug Administration (2018). Raws for Paws recalls turkey pet food
20 because of
21 Possible Salmonella health risk. Available at: [https://www.fda.gov/safety/recalls-market-](https://www.fda.gov/safety/recalls-market-withdrawals-safety-alerts/raws-paws-recalls-turkey-pet-food-because-possible-salmonella-health-risk)
22 [withdrawals-safety-alerts/raws-paws-recalls-turkey-pet-food-because-possible-](https://www.fda.gov/safety/recalls-market-withdrawals-safety-alerts/raws-paws-recalls-turkey-pet-food-because-possible-salmonella-health-risk)
23 [salmonella-health-risk](https://www.fda.gov/safety/recalls-market-withdrawals-safety-alerts/raws-paws-recalls-turkey-pet-food-because-possible-salmonella-health-risk) (Accessed 14 January 2023).

24 Georget, E., Sevenich, R., Mathys, A., & Russell, N. J. (2002). Bacterial membranes:
25 The
26 effects of chill storage and food processing. An overview. *International Journal*

1 of Food Microbiology, 79, 27–34.

2 Guan, Y., Wu, T., Lin, M., & Ye, J. (2006). Determination of pharmacologically active
3 ingredients in sweet potato (*Ipomoea batatas* L.) by capillary electrophoresis
4 with electrochemical detection. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 54, 24–
5 28.

6 Heflin, M. (2019) Raw dog food continues to gain ground. *Pet Product News*, October
7 2019.
8 [https://www.petproductnews.com/trends/raw-dog-food-continues-to-gainground/
9 article_055d9d63-eac4-5a15-8ff9-d455e7c3d63d.html](https://www.petproductnews.com/trends/raw-dog-food-continues-to-gainground/article_055d9d63-eac4-5a15-8ff9-d455e7c3d63d.html) (Accessed 14
10 January 2023)

11 Hoover, D. G., Metrick, C., Papineau, A. M., Farkas, D. F., & Knorr, D. (1989).
12 Biological
13 effects of high hydrostatic pressure on food microorganisms. *Food Technology*, 43,
14 99–107.

15 Ioannou, I., & Mohamed, M. (2012). Biological activities and effects of food
16 processing on flavonoids as phenolic antioxidants. In M. Petre (Ed.), *Advances in
17 Applied
18 Biotechnology*. London, UK: IntechOpen.

19 Kruk, Z. A., Kim, H. J., Kim, U. J., Rutley, D. I., Jung, S., Lee, S. K., & Ju, C. (2014).
20 Combined effects of high pressure processing and addition of soy sauce and
21 olive oil
22 on safety and quality characteristics of chicken breast meat. *Asian-Australasian
23 Journal of Animal Sciences*, 27, 256–265.

24
25
26

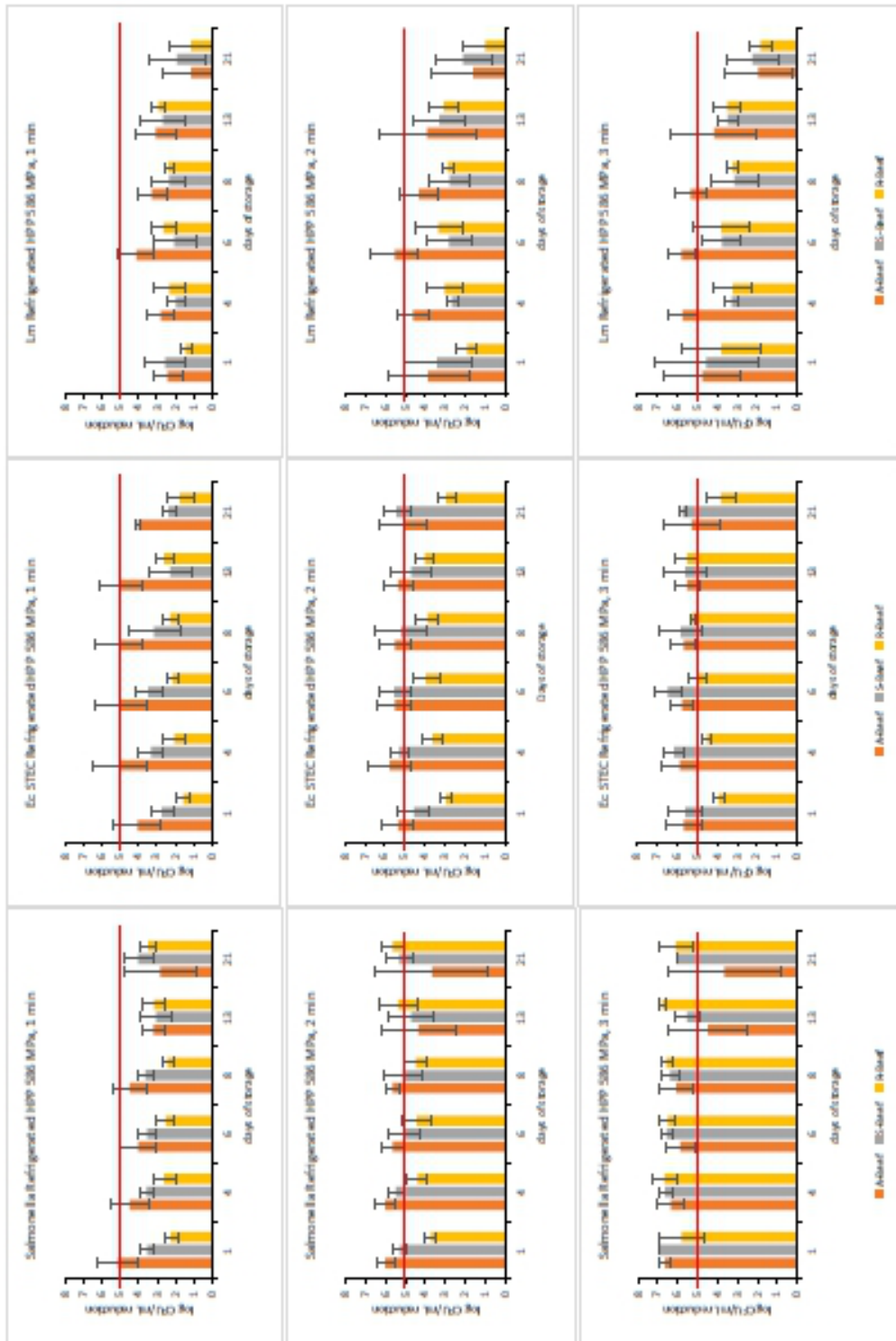


Figure 1. Microbiological analyses of beef diets inoculated with *Salmonella*, *E. coli* STEC, and *L. monocytogenes* cocktails and treated at 586 MPa for 1, 2, and 3 min at 4°C and stored at 4°C for 21 days. Red line indicates 5.4-log reduction.

1
2

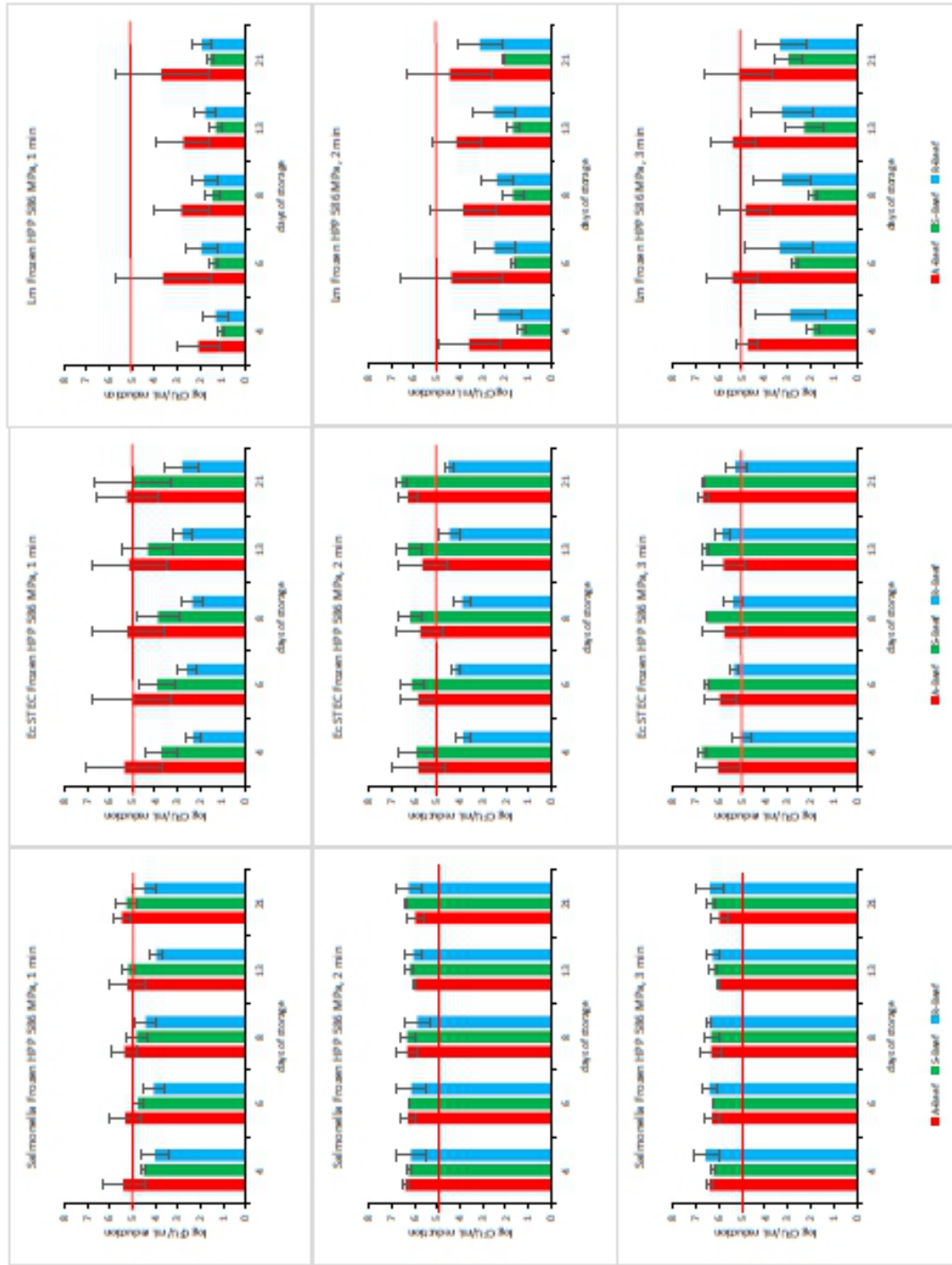


Figure 2. Beef diets inoculated with *Salmonella*, *E. coli* STEC, and *L. monocytogenes* cocktails and treated at 586 MPa for 1, 2, and 3 min at 4°C and stored at -16°C for 21 days. All frozen samples were frozen post-IHP and then thawed at 4°C the day before analysis. Red line indicates 5-log reduction.

3
4
5

1
2

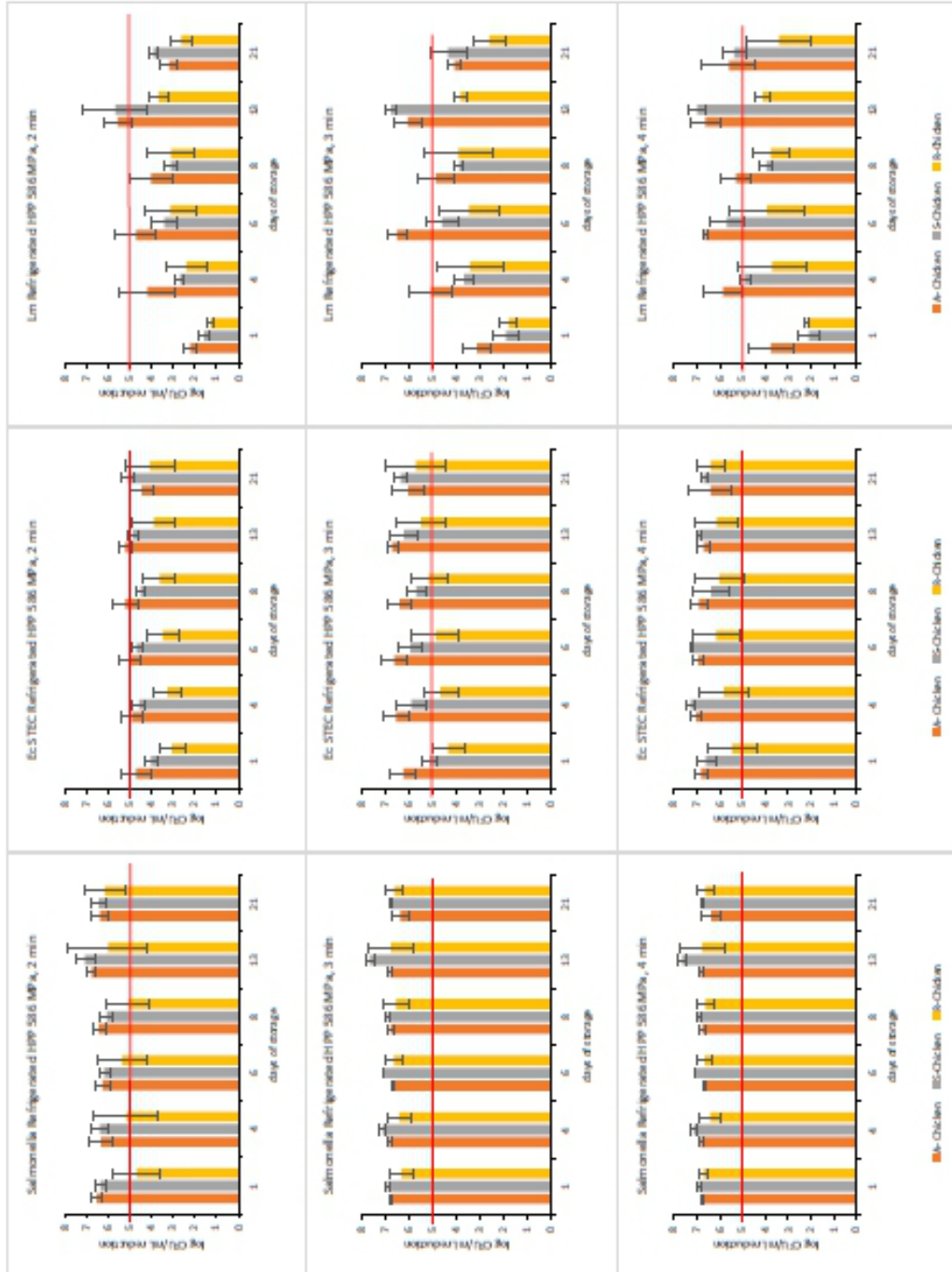
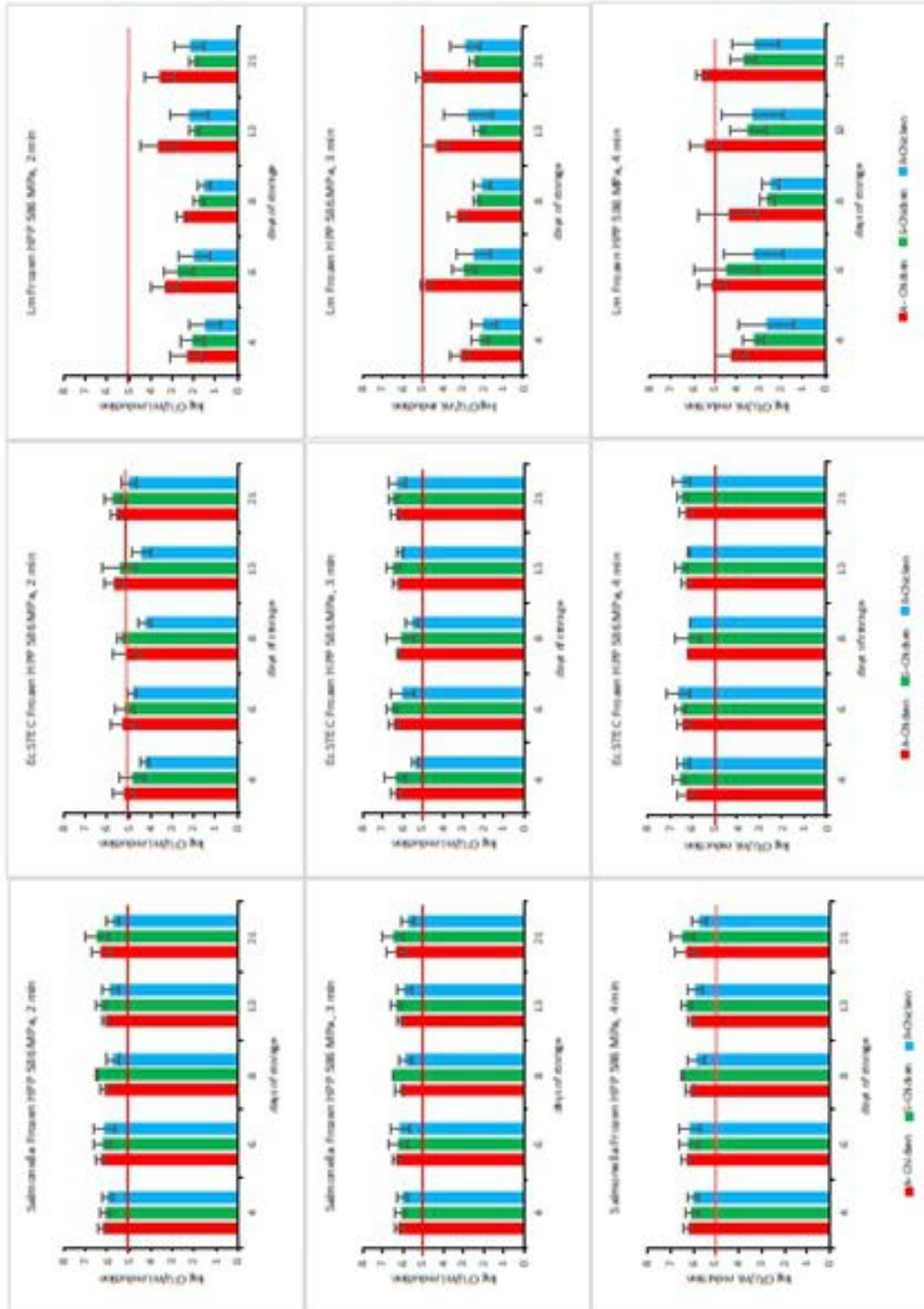


Figure 3. Microbiological analyses of chicken diet pet food products inoculated with *Salmonella*, *E. coli* STEC, and *L. monocytogenes* cocktails and treated at 586 MPa for 2, 3, and 4 min followed by refrigerated storage at 4°C for up to 21 days post-HPP treatment.

3
4
5

1
2



3
4
5

Figure 4. Chicken diets inoculated with *Salmonella*, *E. coli* STEC, and *L. monocytogenes* cocktails and treated at 586 MPa for 2, 3, and 4 min at 4°C and stored at -10 to -16°C for 21 days. All frozen samples were frozen post-HPP and then thawed at 4°C the day before analysis. Red line indicates 5-log reduction.

1
2

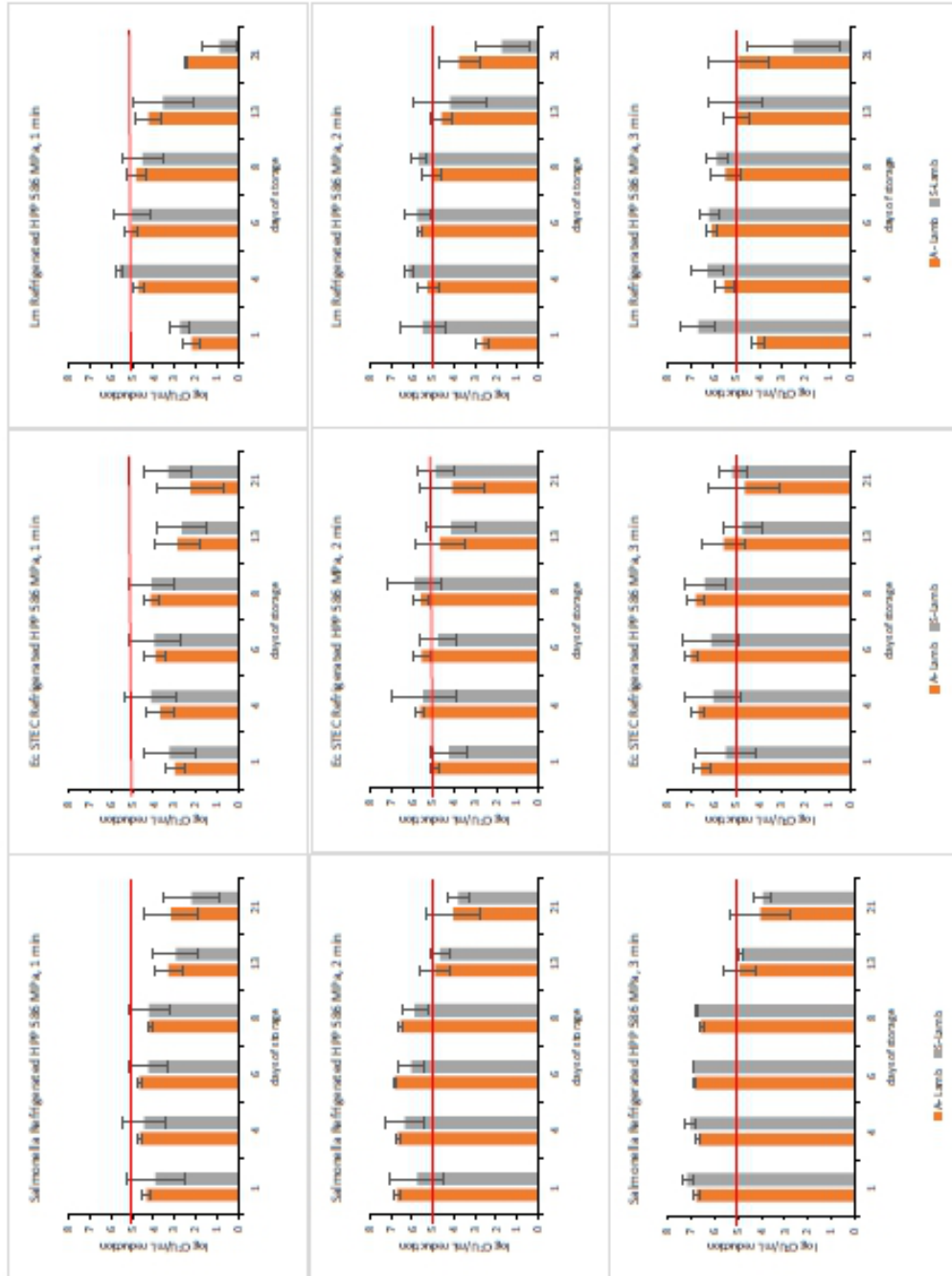


Figure 5. Microbiological analyses of lamb diet pet food products inoculated with *Salmonella*, *E. coli* STEC, and *L. monocytogenes* cockdais and treated at 586 MPa for 1, 2, and 3 min followed by refrigerated storage at 4°C for up to 21 days post-HPP treatment.

3
4
5
6

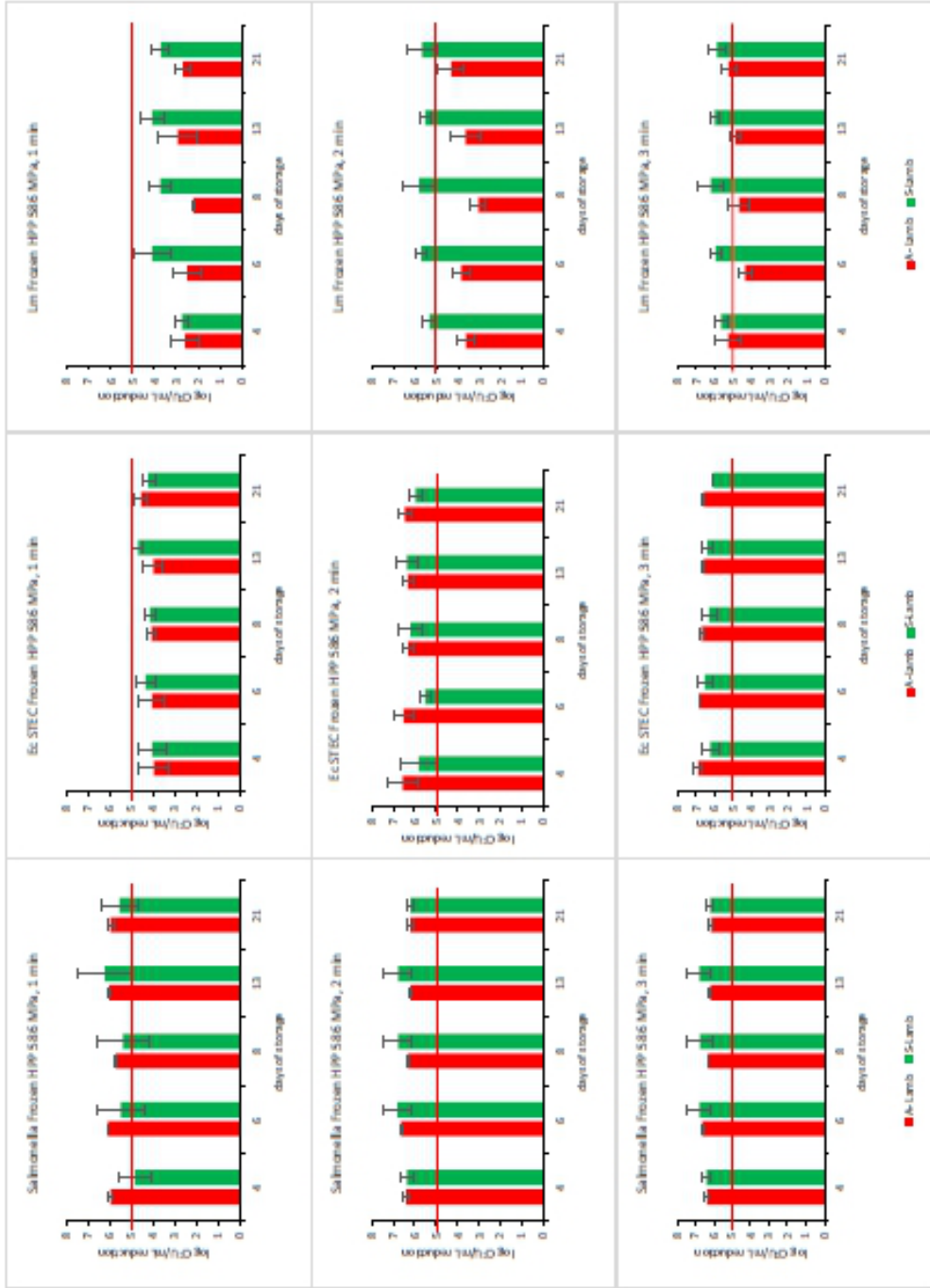


Figure 6. Lamb diets inoculated with *Salmonella*, *E. coli* STEC, and *L. monocytogenes* cocktails and treated at 586 MPa for 1, 2, and 3 min at 4°C and stored at -10 to -16°C for 21 days. All frozen samples were frozen post-HPP and then thawed at 4°C the day before analysis. Red line indicates 5-log reduction.

Table 1
 Characteristics of A-based, S-based, and R-based formulations

Formulation	Protein (%)	Fat (%)	Moisture (%)	pH	Water activity (a_w)
A-Chicken	13.80	12.00	66.2	6.56	0.983
S-Chicken	14.53	12.01	66.6	6.62	0.984
R-Chicken	16.94	12.30	59.1	6.69	0.990
A-Beef	13.88	13.20	64.2	6.68	0.970
S-Beef	16.32	13.02	62.3	6.35	0.981
R-Beef	16.04	17.76	54.2	6.73	0.978
A-Lamb	13.38	12.85	67.5	6.71	0.982
S-Lamb	15.47	17.34	64.6	6.60	0.983
Formulation	Meat (%)	Organs (%)	Bones (%)	Seeds (Fiber Source) (%)	Fruits, Vegetables, and Minor Ingredients (%)
A-Chicken	46.00	42.00	0.00	0.90	11.10
S-Chicken	40.00	41.00	14.00	0.50	4.50
R-Chicken	48.50	32.00	0.00	1.650	3.00
A-Beef	20.00	68.00	0.00	1.00	11.00
S-Beef	25.00	55.00	15.00	0.70	4.30
R-Beef	36.00	46.00	0.00	15.50	2.50
A-Lamb	34.00	54.00	0.00	1.30	10.70
S-Lamb	10.00	67.00	18.00	0.75	4.25