

气调保鲜冷却猪肉中假单胞菌最小检出 生长时间模型的构建

邱 静, 董庆利*, 胡孟晗
(上海理工大学医疗器械与食品学院, 上海 200093)

摘 要: 主要将气调保鲜冷却猪肉中的优势腐败菌之一的假单胞菌接种到灭菌肉上, 在 $(4 \pm 1)^\circ\text{C}$ 条件下, 通过运用线性回归方程构建不同气调比例下假单胞菌的最小检出生长时间(time-to-detection, TTD)模型。结果表明: 假单胞菌的最小检出生长时间在无 CO_2 的情况下, 会随着 O_2 体积分数的增加而减小; 但随着 CO_2 体积分数的增加而增大。初始接种量的增大也会减小最小检出生长时间, 但是当接种浓度大于 10^2CFU/mL , 减小并不明显。TTD模型的拟合度良好, 回归系数(r^2)高达0.959, 实际观测值与模型预测值的判定系数 R^2 均高于0.986, 模型的偏差因子(B_f)和准确因子(A_f), 分别为1.012和1.086, 均接近1。

关键词: 气调保鲜; 冷却猪肉; 最小检出生长时间; TTD模型; 假单胞菌

Establishment of Time-to-detection Model of *Pseudomonas* spp. in Atmosphere Modified Packaged Chilled Pork

QIU Jing, DONG Qing-li*, HU Meng-han
(School of Medical Instrument and Food Engineering, University of Shanghai for Science and Technology, Shanghai 200093, China)

Abstract: This study was to establish a growth probability model of *Pseudomonas* spp. in atmosphere modified packaged chilled pork at $(4 \pm 1)^\circ\text{C}$. Linear regression was used to establish TTD (time-to-detection) models of *Pseudomonas* spp. in different atmosphere conditions. Disinfected pock was inoculated with *Pseudomonas* spp., a specific spoilage organisms in chilled pock. The results showed that in the absence of CO_2 , the TTD decreased with increasing O_2 concentration, but increased as CO_2 concentration increased. TTD reduced sharply as initial inoculation increased. However, no apparent decrease in TTD was found when initial inoculation was over 10^2CFU/mL . The TTD models developed in this study showed a regression coefficient (r^2) higher than 0.959 and the coefficients of determination (R^2) for the observed versus predicted data were higher than 0.986. In addition, the B_f and A_f for the TTD models were 1.012 and 1.086, respectively. Both were close to 1.

Key words: modified atmosphere package; chilled pork; time-to-detection; TTD model; *Pseudomonas* spp.

中图分类号: TS251.51

文献标志码: A

文章编号: 1002-6630(2013)13-0152-05

doi:10.7506/spkx1002-6630-201313033

近年来国内冷却猪肉的消费量呈递增态势, 但是普通市售冷却猪肉的保存温度在 4°C 左右, 这导致冷却猪肉的货架期极短, 猪肉品质难以得到保证。气调包装(modified atmosphere packaging, MAP)是至今国际上公认的能够有效延长冷却猪肉货架期, 并能够赋予猪肉良好感官品质的包装之一^[2]。它是将包装内部的气体排空并置换其他气调, 后经高阻性包装材料密封而成^[3]。目前最常用并且最有效的气调包装气体为 $\text{CO}_2+\text{O}_2+\text{N}_2$ ^[4]。假单胞菌、大肠杆菌、乳酸菌、热死环丝菌为气调包装冷却猪

肉的优势腐败菌。但在含氧包装下, 假单胞菌则成为导致气调包装冷却猪肉腐败的最为主要的腐败菌, 它是一种好氧的革兰氏阴性菌。包装中的 CO_2 能够有效抑制其生长, O_2 的存在同时又能够起到护色的作用, 但是又促进假单胞菌生长^[4]。

运用预测微生物学可以在不进行任何检测的情况下, 通过已构建的数学模型预测微生物的生长^[5]。它提高了传统微生物检测的效率也为货架期的研究提供了便利^[6]。然而实验室基于营养肉汤所构建的模型应用于实际

收稿日期: 2012-03-05

基金项目: 国家自然科学基金面上项目(31271896); 上海市自然科学基金面上项目(12ZR1420500)

作者简介: 邱静(1986—), 女, 硕士研究生, 研究方向为畜产品安全与质量控制。E-mail: qiuqingcrab@yahoo.com.cn

*通信作者: 董庆利(1979—), 男, 副教授, 博士, 研究方向为畜产品安全与质量控制。E-mail: dongqingli@126.com

食品当中的效果仍旧受到质疑。一方面因为营养肉汤是较为局限的微生物培养基体,而实际食品更为复杂,经相关研究证明其更能促进微生物的生长^[7-8];另一方面是因为在实际的食品中,微生物的染菌率通常会很低,但实验室接种于营养肉汤中的微生物的初期接种量却非常高,所以使用通过高接种量所构建出的模型来预测实际染菌率极低食品,这势必会导致预测失效。

此外,目前的研究主要集中于应用营养肉汤研究假单胞菌的生长动力学模型,并没有关于气调包装情况下货架期内假单胞菌生长情况的相关报导。故本研究将不同初始接种浓度的假单胞菌直接接种于冷却猪肉中,经不同比例气调包装后,于4℃条件下贮藏7d,重点研究极低接种量下假单胞菌的最小检出时间,并运用线性回归方程构建最小检出生长时间(time-to-detection, TTD)模型即最小检出生长时间模型,为研究气调包装冷却猪肉的货架期提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 样品来源

五丰上食精腿猪肉购于上海卜蜂莲花超市,迅速置于0~4℃冰箱中冷藏备用。

1.2 仪器与设备

气调保鲜机MAP-KK480(其中CO₂、O₂、N₂为冲调气体,总和为100%) 苏州凯康包装机械有限公司;LS10A罗盛螺杆式空气压缩机 绍兴罗盛空压机厂。

1.3 菌悬液制备

取实验室保存的假单胞菌属进行平板划线在27℃条件下,活化3次,假单胞菌选择性培养基的配制参见文献[9]。经多次平板划线制得单一菌落假单胞菌,保存于(4±1)℃冰箱内。取一环菌苔接种于300mL的液体培养基中培养12~18h使菌液浓度达到10⁹CFU/mL,经无菌生理盐水稀释后分别制成不同浓度梯度的菌悬液用于接种^[10],使得后期肉块的初期接种量为10²、10⁴CFU/mL。

1.4 样品接种、计数和气调包装

将保鲜盒置于超净台紫外灯下照射20min,制得无菌保鲜盒。称取10g肉块浸没于80℃无菌水中烫漂15s进行灭菌。将灭菌肉块浸没于菌悬液中15s进行接种,分别制得初始接种量为10²、10⁴CFU/mL的染菌样品;用无菌牙签挑取单菌落假单胞菌于无菌肉块表面,为避免接种失败,每次挑取2~3个单一菌落,制得初始接种量为1CFU/mL的染菌肉块^[11],然后将其置于无菌保鲜盒内。将无菌保鲜盒置于气调保鲜包装机进行气调,包装后迅速将其置于(4±1)℃条件下的冰箱贮藏7d,接种完毕后记为0d。经前期实验证明以及马丽珍^[12]和Ravi Sankar^[13]等的研究指出,当O₂体积分数为0%,以及当CO₂体积分数高于

60%,假单胞菌在7d的货架期内不生长。故实验设计组分如上表所示气调包装的组分设计见表1。

表1 气调组分表
Table 1 Gas composition for different MAP conditions

| 建模数据 | | 验证数据 | |
|------------------------|-----------------------|------------------------|-----------------------|
| CO ₂ 体积分数/% | O ₂ 体积分数/% | CO ₂ 体积分数/% | O ₂ 体积分数/% |
| 0 | 20、40、60、80、100 | 10 | 10、30、50、70、90 |
| 20 | 20、40、60、80 | 30 | 10、30、50、70 |
| 40 | 20、40、60 | 50 | 10、30、50 |
| 60 | 20、40 | | |

接种完毕及每隔24h分别取出装有10g肉样的气调保鲜盒,用剪刀将肉样剪碎置于装有90mL无菌生理盐水的三角瓶中,充分振荡均匀,按10倍梯度稀释到所需稀释度,参照国标GB/T 4789.2—2008《食品卫生微生物学检验 菌落总数测定》用平板计数法测定活菌数^[14]。

1.5 TTD模型的构建

TTD判定如下:当微生物计数数值大于初始接种量一个数量级即判定为假单胞菌生长,则该日为最小检出生长时间/d。

根据表1分别对建模和验证的气调组分进行实验,应用SPSS16.0对数据进行多元回归,拟合TTD模型^[15-16]如下:

$$\ln(\text{TTD}) = a_0 + a_1 \text{Linoc} + a_2 F_1 + a_3 F_2 + a_4 \text{Linoc}^2 + a_5 F_1^2 + a_6 F_2^2 + a_7 \text{Linoc} F_1 + a_8 \text{Linoc} F_2 + a_9 \text{Linoc} F_1 F_2 \quad (1)$$

式中:TTD为最小检出生长时间/d; $\text{Linoc} = \lg f$, f 为假单胞菌的初始接种量/(CFU/mL); F_1 为CO₂的体积分数/%; F_2 为O₂的体积分数/%; a_i 为有待拟合的参数($i=0,1,2,\dots,9$)。

1.6 TTD模型的验证

应用实际观测值与模型的预测值的判定系数(R^2),偏差因子(B_i)以及准确因子(A_i)对模型的拟合效果进行评定^[15]。

$$B_i = 10^{\frac{\sum \left(\frac{\text{TTD}_{\text{pred}} - \text{TTD}_{\text{obs}}}{\text{TTD}_{\text{obs}}} \right)}{n}} \quad (2)$$

$$A_i = 10^{\frac{\sum \left| \frac{\text{TTD}_{\text{pred}} - \text{TTD}_{\text{obs}}}{\text{TTD}_{\text{obs}}} \right|}{n}} \quad (3)$$

式中: TTD_{pred} 为预测最小检出生长时间/d; TTD_{obs} 为实际观测最小检出生长时间/d; n 为预测个数。

2 结果与分析

2.1 TTD模型的构建与评价

采用多元回归方程拟合(4±1)℃条件下气调包装冷却猪肉中假单胞菌在7d内的最小检出生长时间,模型的参数与回归系数(r^2)如表2所示,TTD模型在拟合假单胞菌7d内的最小检出生长时间的 r^2 在0.959,模型的拟合效果良好。

表 2 TTD模型参数及判定系数表
Table 2 TTD model parameters and coefficients of determination

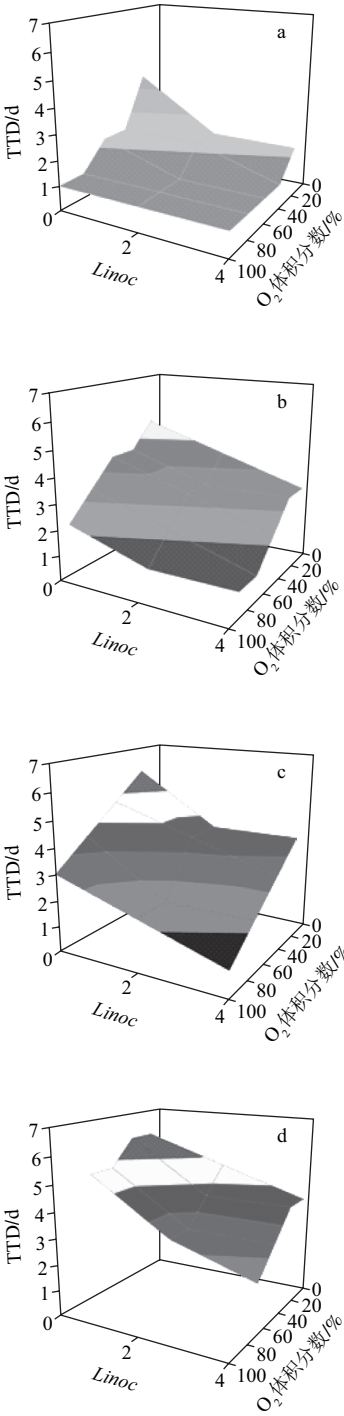
| 参数 | a_0 | a_1 | a_2 | a_3 | a_4 | a_5 | a_6 | a_7 | a_8 | a_9 | 回归系数(r^2) |
|----|-------------------|--------------------|-------------------|--------------------|-------------------|-------|------------------------------------|-------------------|-------------------|-------|---------------|
| 数值 | 1.464 ± 0.211 | -0.236 ± 0.094 | 0.041 ± 0.006 | -0.017 ± 0.007 | 0.012 ± 0.017 | NS | $(2.571 \pm 0.000) \times 10^{-5}$ | 0.002 ± 0.002 | 0.001 ± 0.001 | NS | 0.959 |

注：NS 为在 95% 的置信区间内不显著。

由图1可知，当CO₂体积分数一定时，TTD随O₂体积分数的增大而减小。图1b中显示，初始接种量为10⁴CFU/mL，当O₂体积分数为0%时，需要4d的时间才能检出生长，但当O₂体积分数为80%时，只需要1d即可检出生长。这是由于假单胞菌是好氧菌，氧气的存在为其提供了极佳的生长环境。Balamatsia^[18]、Chouliara^[19]等的研究也表明，假单胞菌能够充分利用环境当中的O₂，使自身得到增殖。由图1a所知，当O₂体积分数高于60%时，各初始接种浓度的假单胞菌皆只需要1d的时间，即可达到检出时间。

当环境中存在CO₂时，假单胞菌的生长受到明显的抑制。由图1a~d所示，在相同初始接种量以及O₂体积分数的环境下假单胞菌的TTD随着CO₂体积分数的增大而增大。Koutsoumanis^[20]、Soldatou^[21]等所做的研究也指出，随着CO₂体积分数情况下，假单胞菌的生长会受到显著抑制。这是由于CO₂的存在降低了环境中O₂体积分数，使得假单胞菌没有足够的氧气可以生长；另一方面是由于CO₂能够溶解于水中，降低pH值，细胞膜内外的渗透压被改变，影响到其正常的酶法脱酸，阻碍了假单胞菌正常的新陈代谢^[22]，从而起到抑制作用。

由图1可知，将初始接种量作为反应变量所得到的反应面中，TTD随着初始接种量增大而整体减小。TTD的减小在初始接种量从1 Spore/g到10²CFU/mL时显得尤为明显。但是如图1a、c中所示，当初始接种量从10²~10⁴CFU/mL时，并没有出现显著的下降趋势，而是趋向缓和，如图1b中O₂体积分数为80%时，二者的最小检出生长时间都为1d，这与Augustin^[23]所做的研究一致。由表2中方程拟合的参数可知，初始接种量的对数值(Linoc)具有二次项，并且方程是关于Linoc在[0,9]内的单调递减函数，并且当Linoc属于[0,2]内的递减趋势更为明显，Linoc属于[2,9]内的递减趋势逐渐趋于缓和，这也证明初始接种量的减小会延长最小检出生长的时间。导致该情况产生首先是因为低接种量的假单胞菌需要更多的时间才能达到被检出的菌落浓度，其原因在于低接种量的假单胞菌的生长迟滞期较长，使得其进入对数生长期的时间延长，从而导致被检出的时间增加^[24-25]。其次是由于高接种量下的假单胞菌中所含有能够迅速增殖的菌落数多；Vermeulen等^[26]研究也指出，由于高接种量当中所含的优势菌种多，所以它们能够以更快的速度实现增殖。最后是由于菌落之间存在着联系，它们在增殖的过程中通过信号相互传导，即菌落与菌落之间存在“群体效应”^[27-28]。



a~d. CO₂体积分数分别为0%、10%、20%、30%。
图 1 (4±1)℃条件下不同CO₂体积分数的假单胞菌最小检出生长图
Fig.1 Time-to-detection of *Pseudomonas* spp. at (4 ± 1) °C at different CO₂ concentrations

2.2 TTD模型的验证

运用验证数据组所得到的观测值与TTD模型的预测值如表3所示。

表3 不同气调组分下假单胞菌实际观测TTD与模型预测值TTD
Table 3 Observed and predicted values of TTD (d) of *Pseudomonas* spp. under different MAP conditions

| CO ₂ 体积 分数/% | O ₂ 体积 分数/% | 1CFU/mL | | 10 ² CFU/mL | | 10 ⁴ CFU/mL | |
|----------------------------|---------------------------|-------------|-------------|------------------------|-------------|------------------------|-------------|
| | | 实际观 测值/d | 模型预 测值/d | 实际观 测值/d | 模型预 测值/d | 实际观 测值/d | 模型预 测值/d |
| 10 | 10 | 5 | 5.505 | 4 | 4.579 | 3 | 2.847 |
| | 30 | 4 | 3.999 | 3 | 2.842 | 3 | 2.060 |
| | 50 | 4 | 4.300 | 3 | 2.843 | 2 | 2.070 |
| | 70 | 3 | 2.246 | 2 | 2.845 | 1 | 1.079 |
| | 90 | 2 | 1.736 | 1 | 0.847 | 1 | 1.089 |
| 30 | 10 | 6 | 6.202 | 5 | 5.098 | 4 | 4.365 |
| | 30 | 6 | >7 | 4 | 4.321 | 4 | 4.321 |
| | 50 | 5 | 4.735 | 3 | 2.869 | 3 | 2.893 |
| | 70 | 5 | 5.098 | 2 | 2.071 | 2 | 2.100 |
| 50 | 10 | >7 | >7 | >7 | >7 | 6 | 6.202 |
| | 30 | >7 | >7 | 7 | >7 | 5 | 5.492 |
| | 50 | 7 | >7 | 5 | 5.098 | 5 | 5.202 |

表4 假单胞菌实际观测值与模型预测值判定系数(R²)、B_t、A_t结果
Fig.4 Determination of coefficient (R²), B_t, A_t of observed and predicted value for *Pseudomonas* spp.

| 初始接种量/(CFU/mL) | 判定系数(R ²) | B _t | A _t |
|-----------------|-----------------------|----------------|----------------|
| 1 | 0.990 | 0.997 | 1.081 |
| 10 ² | 0.995 | 1.030 | 1.087 |
| 10 ⁴ | 0.986 | 1.009 | 1.091 |
| 总体 | 0.987 | 1.012 | 1.086 |

假单胞菌的实际观测值与模型预测值的判定系数(R²)、B_t和A_t如表4所示。无论模型整体还是针对各个接种量,它们的判定系数(R²)均高于0.986,这说明预测值与实际观测值间具有极高的相关性,TTD模型的拟合效果良好。B_t和A_t是公认的评估模型拟合效果的有效工具之一^[20],二者越接近1,模型的预测效果就越好。Ross^[17]认为偏差因子在0.90~1.05范围内,模型能够很好地预测微生物的生长情况。Neumeyer等^[30]认为偏差因子在0.52~1.34范围内,模型的拟合效果良好。而本研究得出的偏差因子都能满足前二者的评判要求。准确因子的数值越接近1,说明模型的拟合精度越高,数值越高,拟合效果越差。Neumeyer等^[30]研究显示准确因子在1.06~1.81的范围内,模型具有良好的精度。本研究的准确因子在1.081~1.091范围内,同样属于Neumeyer所认定的范围,并且也非常接近1。图2中各点也靠近标准曲线。这些都进一步说明TTD模型能很好地预测(4±1)℃条件下,不同气调组分下假单胞菌在7d内的最小检出生长时间。

初始接种量为1CFU/mL时的B_t为0.997小于1,即该预测值落在失败-安全区域,而当初始接种浓度提高,B_t也

变大都大于1,即落在失败-危险区域。虽然这些失败是在允许的范围内,但是值得注意的是,构建模型之时,并没有针对不同浓度初始接种量的实验数据分别建模,而是统一建模,所以在之后的预测过程中会出现高浓度初始接种量的预测效果没有低浓度接种量的预测效果好的情况。同时这也说明菌落之间并非完全独立,它们通过相互联系,加快增殖速度,以达到被检出的菌落浓度。

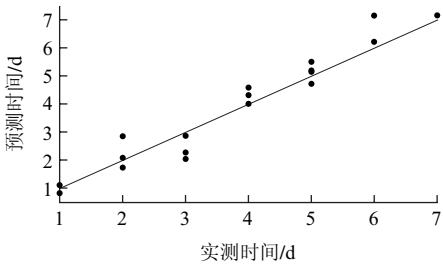


图2 假单胞菌实际观测TTD与模型预测TTD的对比
Fig.2 Plot of observed versus predicted time-to detection from the TTD model

3 结 论

假单胞菌的最小检出生长时间受到CO₂、O₂体积分数和初始接种量的共同影响。O₂体积分数的增加会减小被检出时间,在没有CO₂的情况下,高O₂体积分数的假单胞菌的最小检出生长时间为1d。包装中CO₂体积分数的增加会延长假单胞菌被检出的时间。同时,假单胞菌的最小检出生长时间在低接种量的情况下,减小极为明显,但是当假单胞菌的初始接种浓度高于10²CFU/mL,最小检出生长时间的减小量就不明显。

本研究建立了气调保鲜冷却猪肉中假单胞菌的最小检出生长时间模型即TTD模型,表明模型具有良好的拟合度,决定系数(r²)为0.959。实际观测值与模型的判定系数(R²)均在0.986以上。模型预测的B_t为1.012、A_t为1.086皆接近1。这些都说明TTD模型是在该情况下,针对假单胞菌最小检出生长时间的有效模型之一。

参考文献:

[1] BÓRNEZ R, LINARES M B, VERGARA H. Effect of different gas stunning methods on Manchega suckling lamb meat packed under different modified atmospheres[J]. Meat Science, 2010, 84(4): 727-734.

[2] McMILLIN K W. Where is MAP going? A review and future potential of modified atmosphere packaging for meat[J]. Meat Science, 2008, 80(1): 43-65.

[3] ENFORS S O, MOLIN G, TERNSTORM A. Effect of packaging under carbon dioxide, nitrogen or air on the microbial flora of pock stored at 4 °C [J]. Journal of Applied Bacteriology, 1979, 47: 197-208.

- [4] MANINI R A, SUMAN S P, KONDA M K R, et al. Effect of carbon monoxide packaging and lactate enhancement on the color stability of beef steaks stored at 1 °C for 9 days[J]. Meat Science, 2009, 81(1): 71-76.
- [5] ROSS T, McMEEKIN T A. Predictive microbiology[J]. International Journal of Food Microbiology, 1994, 23: 241-264.
- [6] BARANYI J, ROBERS T A. Mathematics of predictive food microbiology[J]. International Journal of Food Microbiology, 1995, 26: 199-218.
- [7] GENIGEORGIS C, MARTIN S, FRANTTI C E, et al. Initiation of staphylococcal growth in laboratory media[J]. Journal of Applied Microbiology, 1971, 21: 934-939.
- [8] RAEVUORI M, GENIGEORGIS C. Effect of pH and NaCl on growth of *Bacillus cereus* in laboratory media and certain foods[J]. Journal of Applied Microbiology, 1975, 29: 68-73.
- [9] 陈天寿. 微生物培养基的制造与应用[M]. 北京: 中国农业出版社, 1995: 250-579.
- [10] 李学英, 杨宪时, 郭全友, 等. 大黄鱼腐败菌腐败能力的初步分析[J]. 食品工业科技, 2009, 30(6): 316-319.
- [11] ZHAO L, MONTVILLE T J, SCHAFFNER D W. Inoculum size of *Clostridium botulinum* 56A spores influence time-to-detection and percent growth-positive sample[J]. Food Science, 2000, 65: 1360-1375.
- [12] 马丽珍, 南庆贤, 戴瑞彤. 不同气调包装方式的冷却猪肉在冷藏过程中的微生物变化[J]. 农业工程学报, 2004, 20(4): 160-164.
- [13] RAVI SANKAR C N, LALITHA K V, JOSE L, et al. Effect of packaging atmosphere on the microbial attributes of pearlspot (*Etroplus suratensis* Bloch) stored at 0—2 °C[J]. Food Microbiology, 2009, 25(3): 518-528.
- [14] GB/T 4789.2—2008 食品卫生微生物学检验菌落总数测定[S]. 北京: 中国标准出版社, 2009.
- [15] BASTI A A, RAZAVILAR V. Growth response and modeling of the effects of selected factors on the time-to-detection and probability of growth initiation of *Salmonella typhimurium*[J]. Food Microbiology, 2004, 21: 431-438.
- [16] ZHAO L, MONTVILLE T J, SCHAFFNER D W. Time-to-detection, percent-growth-positive and maximum growth rate models for *Clostridium botulinum* 56A at multiple temperatures[J]. International Journal of Food Microbiology, 2002, 77: 187-197.
- [17] ROSS T. Indices for performance evaluation of predictive models in food microbiology[J]. Journal of Applied Bacteriology, 1996, 81(5): 501-508.
- [18] BALAMATSIA C C, PATSIAS A, KONTOMINAS M G, et al. Possible role of volatile amines as quality indicating metabolites in MAP packaged chicken fillets: correlation with microbiological and sensory attributes[J]. Food Chemistry, 2007, 104: 1622-1628.
- [19] CHOULIARA E, BADEKA A, SAVVAIDIS I, et al. Combined effect of irradiation and modified atmosphere packaging on shelf life extension of chicken breast meat: microbiological, chemical and sensory changes[J]. European Food Research and Technology, 2008, 226: 877-888.
- [20] KOUTSOUMANIS K P, STAMATIOU A P, DROSINOS E H. Control of spoilage microorganisms in minced pork by a self developed modified atmosphere induced by the respiratory activity of meat flora[J]. Food Microbiology, 2008, 25: 915-921.
- [21] SOLDATOU N, NERANTZAKI A, KONTOMINAS M G, et al. Physicochemical and microbiological changes of 'Souvlaki'-A Greek delicacy lamb meat product: evaluation of shelf-life using microbial, color and lipid oxidation parameters[J]. Food Chemistry, 2009, 113: 36-42.
- [22] JAMES M J. Modern food microbiology[M]. 北京: 中国轻工业出版社, 2001: 46-49.
- [23] AUGUSTIN J C, CARLIER V. Mathematical modeling of the growth rate and lag time for *Listeria monocytogenes*[J]. International Journal of Food Microbiology, 2000, 56: 29-51.
- [24] DANTIGNY P, MARIN S, BEYER M, et al. Mould germination: data treatment and modelling[J]. International Journal of Food Microbiology, 2007, 114: 17-24.
- [25] VALERO A, RODRIGUEZ M, CARRASCO E, et al. Studying the growth boundary and subsequent time to growth of pathogenic *Escherichia coli* serotypes by turbidity measurements[J]. Food Microbiology, 2010, 27: 819-828.
- [26] VERMEULEN A, GYSEMANS K P M, BERNAERTS K, et al. Modelling the influence of the inoculation level on the growth/no growth interface of *Listeria monocytogenes* as a function of pH, a_w and acetic acid[J]. International Journal of Food Microbiology, 2009, 135: 83-89.
- [27] MILLER M B, BASSLER B L. Quorum sensing in bacteria[J]. Annual Review of Microbiology, 2001, 55: 165-199.
- [28] MARCH J C, BENTLEY W E. Quorum sensing and bacterial cross-talk in biotechnology[J]. Current Opinion in Biotechnology, 2004, 15: 495-502.
- [29] TE GIFFEL M C, ZWIETERING M H. Validation of predictive models describing the growth of *Listeria monocytogenes*[J]. Int J Food Microbiol, 1999, 46: 135-149.
- [30] NEUMEYER K, ROSS T, THOMSON G, et al. Validation of a model describing the effects of temperature and water activity on the growth of psychrotrophic *Pseudomonads*[J]. International Journal of Food Microbiology, 1997, 38: 55-63.