

猪肉中单增李斯特菌与假单胞菌的竞争生长预测模型建立

陈尔凝, 白羽, 马凯, 刘清珺, 武会娟, 高丽娟*

(北京市理化分析测试中心, 北京 100089)

摘要: 为预测鲜猪肉的货架期, 将Baranyi模型与改良Lotka-Volterra结合, 建立猪肉中单增李斯特菌(*Listeria monocytogenes*)与假单胞菌(*Pseudomonads* spp.)的竞争生长预测模型。由改良Lotka-Volterra方程计算稳态拮抗系数(α)。结果表明: 在低温下单增李斯特菌对假单胞菌有一定抑制作用($\alpha > 0$), 且抑制效果在4℃最强; 假单胞菌对单增李斯特菌无明显抑制作用。采用ComBase数据库中猪肉中单增李斯特菌的生长数据, 计算模型的偏差因子和准确因子, 对模型进行数学检验, 4℃时偏差因子为1.207表明模型是失败-安全的, 准确因子为1.362表明模型预测结果较准确。

关键词: 猪肉; 单增李斯特菌; 假单胞菌; 竞争生长模型; 混合生长

Predictive Modeling of the Competitive Growth of *Listeria monocytogenes* and *Pseudomonads* spp. in Pork

CHEN Er-ning, BAI Yu, MA Kai, LIU Qing-jun, WU Hui-juan, GAO Li-juan*

(Beijing Centre for Physical and Chemical Analysis, Beijing 100089, China)

Abstract: To predict the shelf-life of pork, Baranyi model and Lotka-Volterra model were used to establish a model for the competitive growth of *Listeria monocytogenes* and *Pseudomonads* spp. in pork. Interaction coefficients (α) were calculated from the steady-state equation of a modified Lotka-Volterra model. The results indicated that at lower temperature, *L. monocytogenes* could inhibit the growth of *Pseudomonads* spp. ($\alpha > 0$), especially at 4 °C, which represents the strongest inhibitory effect, while *Pseudomonads* spp. showed no significant inhibitory effect on *L. monocytogenes*. To validate the model, the *L. monocytogenes* growth data of in pork acquired from the ComBase database were used to calculate bias and accuracy factors. At 4 °C, the bias factor was 1.207, indicating the model to be fail-safe, and the accuracy factor was 1.362, suggesting good prediction accuracy.

Key words: pork; *Listeria monocytogenes*; *Pseudomonads* spp.; competitive growth model; mixed growth

中图分类号: TS201.3

文献标志码: A

文章编号: 1002-6630(2013)23-0256-05

doi:10.7506/spkx1002-6630-201323052

在嗜冷菌中, 假单胞菌是导致肉类产品腐败、货架期缩短的主要腐败菌^[1-3]; 单增李斯特菌可以在4℃生长, 在冷鲜猪肉中的检出率高于常温猪肉, 并能引起急性食物中毒^[4-5]。在食品加工、运输、储藏及销售过程中, 为了保证食品的安全, 必须要对这些菌的潜在污染可能性及生长进行控制。研究低温下腐败菌与致病菌共同竞争生长的规律能为有效控制其生长提供依据。

冷却猪肉在切割过程中容易发生二次污染, 其表面微生物数量在 $10^2 \sim 10^4$ CFU/cm²^[6]。猪肉中天然存在的菌群较复杂, 不同的猪肉或猪肉制品在化学构成、物理性质以及

微生物组成上也存在一定差别。生长模型建立过程中, 使用肉汤进行纯培养, 不考虑微生物间的相互关系, 可以使得实验简化, 但由此得到的模型与实际情况往往存在差异; 使用猪肉或猪肉制品可以得出更接近实际情况的模型, 但是由于猪肉或猪肉制品间存在差异, 需要针对不同的样品建立不同模型, 一些研究竞争机理(如pH值降低、物质消耗、抑制物积累)的模型, 其方程往往过于复杂(例如含有4~5个变量20个参数的模型)^[7], 反而限制了模型的应用。为了更好地预测猪肉中致病菌与腐败菌的生长, 需要一种既具有普遍性、又能反映出猪肉中微生物间关系的模型^[8]。

收稿日期: 2012-11-13

基金项目: 北京市科技新星计划项目(2008B31)

作者简介: 陈尔凝(1986—), 男, 研究实习员, 学士, 研究方向为食品微生物学。E-mail: chen_erning@hotmail.com

*通信作者: 高丽娟(1978—), 女, 副研究员, 博士, 研究方向为食品微生物学。E-mail: aglj889@163.com

Baranyi模型^[9]包含有4个参数(最大生长速率 μ_{\max} 、迟滞期 λ 、最大菌浓度 y_{\max} 、初始菌浓度 y_0)，它描述了一种微生物生长过程中，菌体数随时间变化的规律。该模型对迟滞期的估计以及曲线的拟合较准确^[10]，在描述低温下猪肉上假单胞菌的生长情况时准确度较高^[11]。然而，这个模型并没有考虑不同种微生物之间可能存在的竞争关系。实际上，低温下假单胞菌比单增李斯特菌更容易形成生物膜^[12]，当这两种菌共同生长时，其生长规律、对有害物质的抗性都与单独生长时有差异^[13-14]。在猪肉中可能存在多种致病菌与腐败菌，这些不同微生物之间存在的竞争关系，对其生长速率产生影响。使用改良Lotka-Volterra模型^[8]可以有效地分析评估不同细菌之间的竞争关系，分析预测其在竞争条件下的生长规律。为了验证理论模型的可靠性，还需要使用实际猪肉中微生物的生长数据来进行验证，评估模型的准确因子与偏差因子^[15]。

本实验同时使用Baranyi模型与Lotka-Volterra模型，在保证模型简洁、准确的同时，又能反映出微生物之间的竞争关系。模型基于肉汤培养基中的生长数据建立，使用准确因子与偏差因子检验，同时用冷鲜猪肉上微生物的生长数据进行验证，既确保了实验的可重复性，又使模型可以用于预测低温下猪肉中微生物的生长情况，结合感官品质变化，进而预测其货架期。

1 材料与方法

1.1 培养基

营养肉汤(NB, g/L): 蛋白胨10.0、牛肉膏3.0、氯化钠5.0, pH值7.4; 胰酪胨大豆酵母浸膏肉汤培养基(TSB-YE, g/L): 胰酪胨17.0、多价胨3.0、酵母膏6.0、氯化钠5.0、磷酸氢二钾2.5、葡萄糖2.5; Palcam琼脂培养基(g/L): 蛋白胨23.0、可溶性淀粉1.0、酵母浸粉3.0、D-甘露醇10.0、七叶苷0.80、柠檬酸铁铵0.50、葡萄糖0.50、氯化锂15.0、琼脂13.0、氯化钠5.0、酚红0.080, pH值7.2; CFC琼脂培养基(g/L): 多价胨16.0、水解酪蛋白10.0、硫酸钾10.0、氯化镁1.4、琼脂11.0、甘油10.0(mL/L)、溴化十六烷基三甲胺0.010、梭链孢酸钠0.010、头孢菌素0.050, pH值7.1。以上培养基均购自北京陆桥技术有限责任公司。

1.2 菌株

单增李斯特菌ATCC 15173, 购自中国医学细菌保藏管理中心; 假单胞菌CICC 20071, 购自中国工业菌种保藏管理中心。以上菌种分别在TSB-YE、NB培养液中活化, 其后按照体积比1:4加入甘油, 混匀后于-80℃保存。保存的菌种按体积比1:50接种至10mL培养基(单增李斯特菌用TSB-YE, 假单胞菌用NB), 于37℃培养24h后, 再次按体积比1:50接种, 于37℃培养24h, 所得培养物直接用于后续实验。

1.3 仪器与设备

ZSD-1270型生化培养箱 上海智城分析仪器有限公司; BHC-1300II A2型生物安全柜 苏州安泰空气技术有限公司; S20 Seven Easy型pH计 瑞士Mettler-Toledo公司。

1.4 方法

1.4.1 模型的建立

考虑到初始接种量对竞争模型可能有影响^[16], 因此将约 1×10^3 CFU的假单胞菌、 1×10^2 CFU的单增李斯特菌以及这两种菌的混合液各1mL分别接种至100mL营养肉汤培养基中, 每组菌接种8瓶, 与空白对照一起置于4、8、15、37℃培养(每温度每种菌各2瓶, 1瓶空白对照)。每隔相同时间取出1mL培养物计数(假单胞菌使用CFC培养基、单增李斯特菌使用Palcam培养基计数^[17-18])。计数结果先代入Baranyi模型, 计算模型各参数。再将混合培养的数据代入改良Lotka-Volterra模型, 计算两种菌的拮抗系数^[19]。

Baranyi模型利用式(1)计算。

$$y(t) = y_0 + \mu_{\max} t + \frac{1}{\mu_{\max}} \ln(e^{-\mu_{\max} t} + e^{-\lambda \mu_{\max}} - e^{-\mu_{\max} t - \lambda \mu_{\max}}) - \frac{e^{\mu_{\max} t} + \frac{1}{\mu_{\max}} \ln(e^{-\mu_{\max} t} + e^{-\lambda \mu_{\max}} - e^{-\mu_{\max} t - \lambda \mu_{\max}}) - 1}{e^{y_{\max} - y_0}} \quad (1)$$

式中: μ_{\max} 表示最大生长速率/h⁻¹; λ 表示迟滞期/h; y_{\max} 表示最大菌浓度(lg(CFU/mL)); y_0 表示初始菌浓度(lg(CFU/mL)); t 表示时间/h; $y(t)$ 表示 t 时刻的菌浓度(lg(CFU/mL))。

改良Lotka-Volterra模型利用式(2)~(4)计算。

$$\ln N_{1i} - \ln N_{1i-1} = \mu_{\max 1}(t_i - t_{i-1}) - \frac{\mu_{\max 1}}{N_{\max 1}} A_{1i} - \frac{\mu_{\max 1} \alpha_{12}}{N_{\max 1}} A_{2i} \quad (2)$$

$$\ln N_{2i} - \ln N_{2i-1} = \mu_{\max 2}(t_i - t_{i-1}) - \frac{\mu_{\max 2}}{N_{\max 2}} A_{1i} - \frac{\mu_{\max 2} \alpha_{21}}{N_{\max 2}} A_{2i} \quad (3)$$

$$i=1, 2, \dots, m$$

$$A_{ki} = \int_{t_{i-1}}^{t_i} N(t) dt, i=1, 2, \dots, m, k=1, 2 \quad (4)$$

式中: μ_{\max} 表示最大生长速率/h⁻¹; λ 表示迟滞期/h; N_{1i} 、 N_{2i} 分别表示第 i 时刻菌种1、菌种2的浓度/(CFU/mL); $N_{\max 1}$ 、 $N_{\max 2}$ 分别表示菌种1、菌种2的最大菌浓度/(CFU/mL); t_i 表示第 i 时刻的时间/h; α_{12} 表示菌种1对菌种2的拮抗系数, 单位为1。

1.4.2 模型检验与验证

从ComBase数据库取得猪肉中单增李斯特菌的生长数据, 对模型进行验证。模型建立完成后, 使用准确因子和偏差因子对模型进行验证^[20]。

$$\text{偏差因子} = 10^{(\sum \lg(U_{\text{实测}}/U_{\text{预测}}))/n} \quad (5)$$

$$\text{准确因子} = 10^{(\sum |\lg(U_{\text{实测}}/U_{\text{预测}})|)/n} \quad (6)$$

式中： $U_{\text{实测}}$ 为实测猪肉中单增李斯特菌的生长速率/ h^{-1} ； $U_{\text{预测}}$ 为模型预测的生长速率/ h^{-1} 。

使用冷鲜猪肉样品，对建立的模型进行验证。于北京市海淀区某超市购入的猪后臀尖200g，放在无菌平皿中，使用无菌剪刀和镊子将其切成质量为1.0g的肉块，置于无菌试管中。向肉块上接种50 μL 菌液(含单增李斯特菌约 $1\times 10^3\text{CFU}$ 、假单胞菌约 $1\times 10^4\text{CFU}$)，试管加软塞保持透气。将全部试管置于4℃培养箱中培养，维持相对湿度为70%。同时设空白对照(不接种菌液，而接种50 μL 含氯化钠8.5g/L的无菌生理盐水)。每隔24h取出3支实验组试管及1支空白对照，适当稀释后分别用Palcam琼脂培养基(针对单增李斯特菌)与CFC琼脂培养基(针对假单胞菌)进行计数。计数结果取平均值绘制生长曲线，并与模型预测值进行比较。

2 结果与分析

2.1 Baranyi模型建立

在2周的培养过程中，空白对照均无菌生长，依据Baranyi模型，建立单增李斯特菌、假单胞菌单独生长模型以及单增李斯特菌和假单胞菌混合竞争生长模型，相应参数见表1。随着温度的降低，假单胞菌和单增李斯特菌的迟滞期延长、生长速率下降；混合培养与单独培养相比，4、8℃时假单胞菌的生长速率显著下降(4℃时 $P<0.01$ ，8℃时 $P<0.01$ ，15℃时 $P=0.57$)，单增李斯特菌的生长速率在混合培养过程中与单独培养相比无明显变化(4℃时 $P=0.29$ ，8℃时 $P=0.62$ ，15℃时 $P=0.46$)。实验中，不同实验组间的迟滞期变化较大，表明不同实验组中细菌的初始生理状态有差异，这可能与实验菌株准备过程中，在37℃的活化培养过程有关。通常细菌生理状态好，迟滞期就会相应缩短，生理状态差可能会导致迟滞期延长^[21]。

表1 Baranyi模型实验参数

Table 1 Experimental parameters of the Baranyi model

温度/℃	菌株	$\mu_{\text{max}}/\text{h}^{-1}$	λ/h	N_0 (lg(CFU/mL))	最大菌浓度 N_{max} (lg(CFU/mL))
4	单增李斯特菌	0.023	67.20	2.79	9.19
4	假单胞菌	0.012	118.91	4.22	7.54
4	单增李斯特菌(混合培养)	0.022	70.26	2.81	9.21
4	假单胞菌(混合培养)	0.007	130.48	4.16	6.69
8	单增李斯特菌	0.028	52.32	2.52	9.08
8	假单胞菌	0.023	125.04	4.12	7.50
8	单增李斯特菌(混合培养)	0.031	65.76	2.60	9.13
8	假单胞菌(混合培养)	0.016	106.56	3.76	5.21
15	单增李斯特菌	0.070	13.82	1.30	9.81
15	假单胞菌	0.077	14.95	3.05	8.23
15	单增李斯特菌(混合培养)	0.072	19.94	2.02	9.54
15	假单胞菌(混合培养)	0.076	19.08	3.32	8.35

单增李斯特菌在混合培养条件下的最大生长速率与单独培养时相比，并没有明显下降，这些结果表明假单

胞菌在4、8、15℃条件下对单增李斯特菌的生长并没有明显的抑制作用。而假单胞菌在混合培养条件下，最大生长速率显著降低，表明低温下假单胞菌的生长受到单增李斯特菌的抑制。实验中，控制单增李斯特菌的初始接种量在 $1\times 10^2\text{CFU}$ 左右、假单胞菌在 $1\times 10^3\text{CFU}$ 左右，以此来模拟实际猪肉中菌群的生长环境。实验所用菌株均经过了在37℃培养24h的活化过程，而这一过程对迟滞期的长短可能会产生一定影响。

2.2 Lotka-Volterra竞争模型的建立

本实验计算得到单增生李斯特氏菌与假单胞菌在不同温度下的拮抗系数见表2。如果菌种1对菌种2的拮抗系数(α_{12}) >0 ，表明菌种1被菌种2抑制；拮抗系数 <0 ，表明菌种1的生长受到菌种2的促进；拮抗系数=0表示两种菌既不互相促进也不互相抑制^[19]。在4、15℃条件下假单胞菌对单增生李斯特氏菌的拮抗系数 $\alpha_{21}<0$ ，8℃条件下 $\alpha_{21}=0.008$ 。在4、8、15℃条件下单增李斯特菌对假单胞菌的竞争系数较大，其中4℃时最大(1.022)。这些结果表明在4℃或8℃条件下，假单胞菌对单增李斯特菌没有明显的抑制作用，单增李斯特菌对假单胞菌有一定抑制效果；在15℃时，单增李斯特菌与假单胞菌没有明显的相互作用。这些结果表明在较低温下，当单增李斯特菌大量生长时，假单胞菌的生长可能会受到抑制。

表2 不同温度条件下单增李斯特菌与假单胞菌的竞争系数

Table 2 Competition coefficients between *Listeria monocytogenes* and *Pseudomonas* spp. at different temperatures

菌种1	菌种2	温度/℃	α_{12}	α_{21}
<i>Listeria monocytogenes</i>	<i>Pseudomonas</i> spp.	4	1.022	-1.368
<i>Listeria monocytogenes</i>	<i>Pseudomonas</i> spp.	8	0.369	0.008
<i>Listeria monocytogenes</i>	<i>Pseudomonas</i> spp.	15	0.559	-0.129
<i>Listeria monocytogenes</i>	<i>Pseudomonas</i> spp.	37	0.002	0.080

2.3 模型的检验与验证

2.3.1 偏差因子与准确因子检验

表3 ComBase数据库数据

Table 3 *L. monocytogenes* growth data from ComBase

数据库编号	温度/℃	$\mu_{\text{max}}/\text{h}^{-1}$
M126_22	8	0.032
M126_21	8	0.033
M126_20	8	0.020
M126_119	8	0.010
M126_118	8	0.021
M126_116	8	0.013
M126_115	8	0.014
M126_79	4	0.015
M126_80	4	0.015
M126_81	4	0.008
M126_82	4	0.009
M126_84	4	0.011
M128_33	4	0.007
M128_35	4	0.009

为验证模型的可靠性,从ComBase数据库中,选取4、8℃条件下,猪肉制品中单增李斯特菌的生长曲线数据,计算生长速率,结果见表3。将不同数据与模型预测数据进行偏差因子和准确因子验证。准确因子表示模型预测值与实际值之间的差异大小,准确因子越接近1,预测值与实际值就越接近。偏差因子大于1,即模型的预测生长速率值可能会比实际值偏高,表示模型是失败-安全的^[15]。计算得到,8℃时模型的偏差因子为1.656,准确因子为1.717;4℃时偏差因子为1.207,准确因子为1.362。相对于8℃,4℃时模型的偏差因子与准确因子更接近于1,表明4℃时预测值与实际值更为接近。本实验的生长模型的建立基于NB培养基上的生长数据,检验结果表明该模型适用于4℃条件下猪肉中单增李斯特菌的生长预测。

2.3.2 实验验证

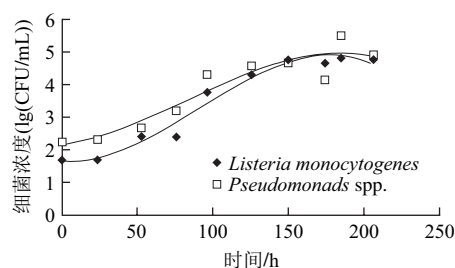


图1 实际样品中单增李斯特菌与假单胞菌生长曲线

Fig.1 Growth curves of *Listeria monocytogenes* and *Pseudomonas* spp. simultaneously inoculated in pork samples

在接种培养过程中,单增李斯特菌和假单胞菌的空白对照均无菌落生长。单增李斯特菌与假单胞菌的生长曲线数据见图1。将数据带入Baranyi模型计算得到单增李斯特菌的最大生长速率为 0.030h^{-1} ,略高于预测值 0.023h^{-1} ;假单胞菌的最大生长速率为 0.021h^{-1} ,高于预测值 0.0069h^{-1} 。这可能是由于本次实验使用的菌种是在营养肉汤中活化的。细菌在培养基中纯培养的生长规律与其在存在其他细菌的固态食品中的生长规律的区别,是预测微生物学需要解决的问题^[22]。有报道指出在肉汤中活化的单增李斯特菌相对于固体培养基上活化的能够更好地适应肉制品的环境^[23]。有研究发现用培养基上的生长数据预测单增李斯特菌与乳酸菌混合培养时,如使用Baranyi模型会导致预测值比实际值偏高;如使用Lotka-Volterra竞争模型则会导致预测值偏低^[8]。有研究使用牛肉制品上的生长数据建立了单增李斯特菌和假单胞菌的混和生长模型。该模型在灭菌处理过的牛肉上所得结果与本研究类似,但是在未灭菌处理的牛肉上,单增李斯特菌的迟滞期大幅延长,会导致模型预测值明显偏高^[24]。Logistic模型和Gompertz模型,由于无法描述迟滞期,预测低温下微生物的生长时会出现问题^[25]。本研究中的模型在实际猪后臀尖上验证未发现类似现象,单增李斯特

菌的生长速率反而明显提升。这可能与本实验选用的猪肉上存在的细菌对单增李斯特菌没有明显的抑制作用有关。此外,验证实验中无法区分额外添加的和样品本身的假单胞菌,后者在猪肉上的生长速率可能更快,因而导致预测值低于实际值。

3 结论

本研究基于肉汤中的混合培养数据,建立了单增李斯特菌与假单胞菌的竞争模型,该模型经验证与猪肉制品中单增李斯特菌的生长规律比较符合,且该模型是失败-安全的(模型预测偏差时,可能会高估李斯特氏菌的生长速率)。通过比较拮抗系数,发现低温猪肉中,假单胞菌的生长受到单增李斯特菌的抑制,而假单胞菌对单增李斯特菌无明显的抑制作用。由此可知单增李斯特菌快速生长时,腐败菌的生长会减缓,这意味着菌落总数的高低可能无法准确反映单增李斯特菌的生长情况。本模型通过研究细菌间的竞争关系,在一定程度上解决了如何将细菌在培养基中的生长规律用于食品研究的问题,可以用于冷鲜猪肉中单增李斯特菌的生长预测,为评估产品货架期提供依据。

参考文献:

- [1] COATES K J, BEATTIE J C, MORGAN I R, et al. The contribution of carcass contamination and the boning process to microbial spoilage of aerobically stored pork[J]. Food Microbiology, 1995, 12: 49-54.
- [2] WIDDERS P R, COATES K J, WARNER S, et al. Controlling microbial contamination on beef and lamb meat during processing[J]. Australian Veterinary Journal, 1995, 72: 208-211.
- [3] 黄林, 陈全胜, 张燕华, 等. 冷却猪肉优势腐败菌分离鉴定及腐败能力测定[J]. 食品科学, 2013, 34(1): 205-209.
- [4] TIENUNGOON S, RATKOWSKY D A, MCMEEKIN T A, et al. Growth limits of *Listeria monocytogenes* as a function of temperature, pH, NaCl and lactic acid[J]. Applied and Environmental Microbiology, 2000, 66(11): 4979-4987.
- [5] 张培培, 刘媛, 方春, 等. 主要食源性致病菌的PCR检测方法优化及在冷鲜猪肉病原污染调查中的应用[J]. 中国食品学报, 2012, 12(6): 141-147.
- [6] 赵光辉, 李苗云, 王玉芬, 等. 冷却猪肉分割过程中微生物污染状况的研究[J]. 食品科学, 2011, 32(7): 87-91.
- [7] BREIDT F, FLEMING H P. Modeling of the competitive growth of *Listeria monocytogenes* and *Lactococcus lactis* in vegetable broth[J]. Applied and Environmental Microbiology, 1998, 64: 3159-3165.
- [8] CORNU M, BILLOIR E, BERGIS H, et al. Modeling microbial competition in food: application to the behavior of *Listeria monocytogenes* and lactic acid flora in pork meat products[J]. Food Microbiology, 2011, 28(4): 639-647.
- [9] BARANYI J, ROBERTS T A. A dynamic approach to predicting microbial growth in food[J]. International Journal of Food Microbiology, 1994, 23: 277-294.
- [10] BATY F, DELIGNETTE-MULLER M L. Estimating the bacterial lag time which model, which precision?[J]. International Journal of Food Microbiology, 2004, 91: 261-277.

- [11] 牛会敏, 李苗云, 赵改名, 等. 低温条件下冷却猪肉中假单胞菌生长模型的比较分析[J]. 食品科学, 2013, 34(5): 142-146.
- [12] LEBERT I, ROBLES-OLVERA V, LEBERT A. Bacteria on meat abattoir process surfaces after sanitation: characterisation of survival properties of *Listeria monocytogenes* and the commensal bacterial flora [J]. Advances in Microbiology, 2013, 3: 255-264.
- [13] GIAOURIS E, CHORIANOPOULOS N, DOULGERAKI A, et al. Co-culture with *Listeria monocytogenes* within a dual- species biofilm community strongly increases resistance of *Pseudomonas putida* to benzalkonium chloride[J]. PLoS One, 2013, 8(10): e77276.
- [14] LOURENÇO A, MACHADO H, BRITO L. Biofilms of *Listeria monocytogenes* produced at 12 °C either in pure culture or in co-culture with *Pseudomonas aeruginosa* showed reduced susceptibility to sanitizers[J]. Journal of Food Science, 2011, 76(2): M143-M148.
- [15] ROSS T. Indices for performance evaluation of predictive models in food microbiology[J]. Journal of Applied Microbiology, 1996, 81: 501-508.
- [16] POWELL M, SCHLOSSER W, EBEL E. Considering the complexity of microbial community dynamics in food safety risk assessment[J]. International Journal of Food Microbiology, 2004, 90: 171-179.
- [17] de JONGHE V, COOREVITS A, van HOORDE K, et al. Influence of storage conditions on the growth of *Pseudomonas* species in refrigerated raw milk[J]. Applied and Environmental Microbiology, 2011, 77(2): 460-470.
- [18] YOON Y, GEORNARAS I, SCANGA J, et al. Probabilistic models for the prediction of target growth interfaces of *Listeria monocytogenes* on ham and turkey breast products[J]. Journal of Food Science, 2011, 76(6): 450-455.
- [19] MOUNIER J, MONNET C, VALLAEYS T, et al. Microbial interactions within a cheese microbial community[J]. Applied and Environmental Microbiology, 2008, 74(1): 172-181.
- [20] 王军, 董庆利, 丁甜. 预测微生物模型的评价方法[J]. 食品科学, 2011, 32(21): 268-272.
- [21] GRIJSPEERDT K, VANROLLEGHEM P. Estimating the parameters of the Baranyi-model for bacterial growth[J]. Food Microbiology, 1999, 16(6): 593-605.
- [22] MICONNETA N, GEERAERDB A H, van IMPEB J F, et al. Reflections on the use of robust and least-squares non-linear regression to model challenge tests conducted in/on food products[J]. International Journal of Food Microbiology, 2005, 104(2): 161-177.
- [23] DYKES G A. Influence of the adaptation of *Listeria monocytogenes* populations to structured or homogeneous habitats on subsequent growth on chilled processed meat[J]. International Journal of Food Microbiology, 2003, 85: 301-306.
- [24] LEBERT I, ROBLES-OLVERA V, LEBERT A. Application of polynomial models to predict growth of mixed cultures of *Pseudomonas* spp. and *Listeria* in meat[J]. International Journal of Food Microbiology, 2000, 61(1): 27-39.
- [25] 周康, 刘寿春, 李平兰, 等. 食品微生物生长预测模型研究新进展[J]. 微生物学通报, 2008, 35(4): 589-594.