蒸煮米饭中蜡样芽孢杆菌的定量暴露评估

董庆利
(上海理工大学医疗器械与食品学院，上海 200093)

摘 要：对某市蒸煮米饭自销售至食用阶段中蜡样芽孢杆菌的风险水平开展暴露评估。蒸煮米饭的初始污染水平通过餐饮部门调研数据来确定，基于文献构建的蜡样芽孢杆菌生长模型并结合概率函数用来估计消费者食用蒸煮米饭时的蜡样芽孢杆菌摄入量。通过Monte Carlo分析表明，大约有3.07%的蒸煮米饭含有高于10^4CFU/g的蜡样芽孢杆菌量，由此带来消费者的食用风险。进一步的敏感性分析结果表明，米饭销售温度与蜡样芽孢杆菌量的相关性最高(r = －0.15)，为消费者和食品监管者需要重视的主要风险控制因素。本结果可为构建完整蜡样芽孢杆菌风险评估体系提供理论参考。

关键词：蒸煮米饭；暴露评估；蜡样芽孢杆菌

Quantitative Exposure Assessment of *Bacillus cereus* in Cooked Rice

DONG Qing-li
(School of Medical Instrument and Food Engineering, University of Shanghai for Science and Technology, Shanghai 200093, China)

Abstract: In this study, an exposure assessment, the most important part of risk assessment, was conducted for *Bacillus cereus* in cooked rice from retail stores to consumers in a certain city of China. A group of survey data was used to estimate the initial contamination level, and mathematical models from previous studies, combined with probability functions, were used to fit the growth kinetics of *B. cereus* in cooked rice under different conditions from retail stores to consumers. The results showed that approximately 3.07% of cooked rice had more than 10^4 CFU/g *B. cereus* by Monte Carlo analysis, indicating some potential risks for consumers. Moreover, according to sensitivity analysis, retail temperature (r = －0.15) was the major risk control factor for consumers and stakeholders. These results can provide a theoretical reference for complete establishment of *B. cereus* risk assessment.

Key words: cooked rice; exposure assessment; *B. cereus*
中图分类号：TS201.3 文献标志码：A 文章编号：1002-6630(2013)21-0306-05
doi:10.7506/spkx1002-6630-201321061

蜡样芽孢杆菌或蜡状芽孢杆菌(*Bacillus cereus*)为革兰氏阳性大杆菌，兼性需氧，形成芽孢，引起食物中毒的菌株多为周身鞭毛，有动力[1]。国内外报告的蜡样芽孢杆菌中毒事件近年来有增多趋势，特别是米饭、牛奶、蔬菜、肉类、水产品等，Budka等[2]报道部分国家由蜡样芽孢杆菌引起的食物中毒事件占全部的微生物引起食品中毒事件的比例，美国为1%～2%，英国为2%(1993—1999年)，挪威为33%(1988—1993年)，法国为4%～5%(1998—2000年)，荷兰为2%(1993～1998年)，刘秀梅等[3]报道我国为6.8%(1992—2001年)。国内的统计数据表明我国的蜡样芽孢杆菌中毒事件也较多，如吕荣[4]统计近10年来(1993—2002年)国内共报道蜡样芽孢杆菌食物中毒47起，主要以剩米饭(44.6%)，开水泡饭(17.0%)等食品为主，其次有甜点心、剩菜、海蛎干等，张磊[5]、宋富华[6]、杨翠英[7]、陆贞玉[8]等分别对近年来上海、云南、江苏苏州、广西桂林的食物中毒报告进行分析，表明蜡样芽孢杆菌的检出率都较高。

暴露评估为风险评估的核心内容，微生物的定量暴露评估对所消费食品中致病菌数量或是对致病菌的毒素含量进行定量估测，其假设是不考虑食品的初始带菌量，致病菌导致疾病的风险具有累积作用，即单一致病菌量造成食品摄入后消费者感染疾病的风险相同[9]。Notermans等[10]开展过巴氏杀菌乳、Bahk等[11]开展过韩国传统食品紫菜包饭(Kimbab)中蜡状芽孢杆菌的定量风险评估。国内的相关研究较少，仪淑敏等[12]开展过营养肉汤和维也纳香肠中蜡样芽孢杆菌的定性风险评估，褚

收稿日期：2012-12-18
基金项目：国家自然科学基金项目(31271896)；上海市自然科学基金项目(12ZR1420500)
作者简介：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

小菊等[13]开展过巴氏牛奶中蜡样芽孢杆菌的风险评估，针对蜡样芽孢杆菌污染较多的米饭类食品的研究几乎没有，特别是针对米饭、米粉等食物中蜡状芽孢杆菌的风险评估尚待开展。

本实验以某市监管部门2009—2011年期间的餐饮部门、批发市场等自制类米饭的抽检数据为来源，开展剩米饭中蜡样芽孢杆菌定量暴露评估，结合预测微生物学的方法建立某市米饭中蜡样芽孢杆菌在销售到消费环节的暴露评估模型，并为食品药品监管部门的风险管理和风险交流提供理论借鉴，为制定米饭中蜡样芽孢杆菌的控制准则提供参考。

1 材料与方法

1.1 蒸煮米饭中蜡样芽孢杆菌的检测

2009—2011年期间以随机抽样的方式从某市范围内的餐饮部门、批发市场中随机采集70件，取样后迅速运至实验室，根据GB4789.14—2003《食品微生物学检验蜡样芽孢杆菌》[14]开展定量检测，以此检出量作为蒸煮米饭中蜡样芽孢杆菌的初始污染水平。

1.2 暴露评估范围的确定

米饭从种植、采摘、加工、包装、配送、销售、运输、贮藏到消费的生产消费链较长，不确定性因素较多，本研究主要考察从销售到食用这一阶段，相当于消费者从餐饮部门购买到食用前这一阶段中蒸煮米饭中蜡样芽孢杆菌受时间和温度影响下的生长情况。虽然在此阶段其他致病菌仍会在米饭中增殖，本研究只考虑蜡样芽孢杆菌在蒸煮米饭销售领域的污染情况。

1.3 暴露评估模型的构建

以下暴露模型的构建均应用美国Palisade公司的@Risk 5.5软件，因其选用Monte Carlo取样方法具有强大的估计不确定性功能而选用。基于蒸煮米饭中蜡样芽孢杆菌的抽检结果及其他合理参考结果，检测限为10^2CFU/g，选择合适的概率函数构建蜡样芽孢杆菌的概率分布。

1.3.1 蒸煮米饭中蜡样芽孢杆菌的初始污染水平

蒸煮米饭销售时蜡样芽孢杆菌的初始污染水平(P_P)应用Beta函数进行描述如下：

$$P_P \sim \text{Beta}\ (s+1,\ n\text{-}s+1) \tag{1}$$

式(1)中：n为样品总数；s为阳性样品数。

阳性样品(L_P)和阴性样品(L_n)中蜡样芽孢杆菌的污染水平均采用Cumulative函数进行描述如下：

$$L_P\ (L_n) \sim \text{Cumulative}\ (\min, \max, \{x_1, x_2, .., x_n\}, \{p_1, p_2, .., p_n\}) \tag{2}$$

式(2)中：min和max分别为阳性样品检测量$x_1, x_2, .., x_n$的最小值和最大值；$p_1, p_2, .., p_n$为各检测量的累积概率。

由于米饭中的阴性样品检出量未定，本研究选用Jarvis等式[15]计算实际污染水平来估计阴性样品中的未检出浓度。公式如下：

$$M=-(2.303/m)\times\lg(Z/N) \tag{3}$$

式(3)中：M表示样品中的真实菌量(lg(CFU/g))；m表示检测时所用样品量/g；Z表示阴性样品的数量；N为检测样品的总数。将其计算值假设为阴性样品的菌落数平均值，并用反向偏斜累积概率分布描述阴性样品中的蜡样芽孢杆菌浓度。

综上，销售阶段中米饭中蜡样芽孢杆菌的污染情况应用Diserete函数进行描述如下：

$$N_0 \sim \text{Discrete}\ (L_p: L_n, P_p: (1-P_p)) \tag{4}$$

1.3.2 销售至食用阶段中蜡样芽孢杆菌的时间和温度概率分布

米饭在销售阶段的时间(t_1)以Normal函数描述如下：

$$t_1 \sim \text{Normal}\ (\text{mean}, \text{std-dev}) \tag{5}$$

式(5)中：mean和std-dev分别为根据实际调研结果计算销售时间的平均值和标准差。

销售时米饭温度(T_1)以Pert函数描述如下：

$$T_1 \sim \text{Pert}\ (\min, \text{most}, \max) \tag{6}$$

式(6)中：min、most和max分别为参照Nauta等[16]对蜡样芽孢杆菌零售和消费阶段暴露评估中对英国、法国、荷兰和希腊的调研数据，获得的销售温度最小值、最可能值和最大值。以上参数设置详见表1。

表1 构建米饭中蜡样芽孢杆菌的暴露评估模型参数设置

Table 1 Parameter setting of exposure assessment models for *B. cereus* in cooked rice

阶段	变量	定义	公式
准备	P_p	蜡样芽孢杆菌的初始污染率/%	Beta (4, 68)
	$1-P_p$	蜡样芽孢杆菌的未检出率/%	
	L_p	阳性样品的污染水平(lg(CFU/g))	Cumulative (2, 4, {2.3, 2.6, 3.34}, {0.25, 0.50, 0.75})
	L_n	阴性样品的污染水平(lg(CFU/g))	Cumulative (−7.51, 2, {−7.51, −2.76, 2}, {0.01, 0.5, 0.99})
	N_0	蜡样芽孢杆菌初始污染水平(lg(CFU/g))	Discrete (L_p: L_n, P_p: (1− P_p))
销售至食用前	T_1	销售温度/℃	Pert (−1.4, 13.3, 27.5)
	t_1	销售时间/h	Normal (6.43, 0.75)
生长模型[19-20]	U	最大比生长速率/ h^{-1}	$\sqrt{U}$ = 0.1492(T+0.8566)
	LPD	迟滞期时间/h	$\sqrt{1/\text{LPD}}$ = 0.0248(T−2.7702)
	N_t	最终菌数(lg(CFU/g))	$N_t = N_0+\exp(-\text{LPD}\times U)[-1+\exp(\text{LPD}\times U)+\exp(U\times t)]$
风险阈值		菌数(lg(CFU/g))	4

1.3.3 蜡样芽孢杆菌预测模型的选用

应用预测微生物模型[17-18]评估米饭中蜡样芽孢杆菌从销售到食用阶段的增长情况，一级模型用来评估蜡样芽孢杆菌经过餐饮部门或批发部门销售至食用阶段贮藏时间下的生长，二级模型用来评估米饭在销售至食用阶段贮藏温度对蜡样芽孢杆菌生长的影响。本研究选用McElroy等[19]在1999年监测中式大米中蜡样芽孢杆菌

和2000年监测煮米饭中蜡样芽孢杆菌孢子[20]，以及Heo等[21]2009年监测蒸煮米饭中蜡样芽孢杆菌的生长数据，一级模型选用修正的Gompertz模型描述不同温度下中式蒸煮米中蜡样芽孢杆菌的生长，基于此选用Ratkowski平方根模型对不同温度对一级模型的生长参数(最大比生长速率(*U*)和迟滞期时间(LPD))进行模拟，以此估计消费者最终食用蜡样芽孢杆菌的量。表达式详见表1。

1.4 暴露评估模型的仿真运行

构建暴露评估模型后，以蜡样芽孢杆菌预测模型的最终菌数为输出变量，选用美国Palisade公司@Risk 5.5软件中的Monte Carlo取样方法运行迭代10000次。参照Notermans等[22]1998年完成的食源性蜡样芽孢杆菌风险评估报告，以蜡样芽孢杆菌导致食物中毒的经验值4(lg(CFU/g))为风险阈值。

2 结果与分析

2.1 米饭中蜡样芽孢杆菌的初始污染水平

表2 2009—2011年某市蒸煮米饭中蜡样芽孢杆菌的抽检结果

Table 2 Survey for the prevalence and levels of *B. cereus* in cooked rice in a certain city during 2009—2011

蜡样芽孢杆菌量(lg(CFU/g))	＜2.00	2.30	2.60	3.34
样本量	67	1	1	1

采集70份蒸煮米饭样品进行蜡样芽孢杆菌定量检测结果如表2所示，总体阳性检出率为4.29%，检测限为2.00(lg(CFU/g))。米饭在餐饮部门或批发市场中销售时的蜡样芽孢杆菌阳性污染平均值为2.81(lg(CFU/g))，未检出的阴性样品污染水平为(－2.76±2.80)(lg(CFU/g))。应用Diserete函数描述米饭中蜡样芽孢杆菌初始污染水平的概率分布见图1，表明米饭销售时蜡样芽孢杆菌量最低为－7.51(lg(CFU/g))，最高为3.96(lg(CFU/g))，平均值为－2.46(lg(CFU/g))。

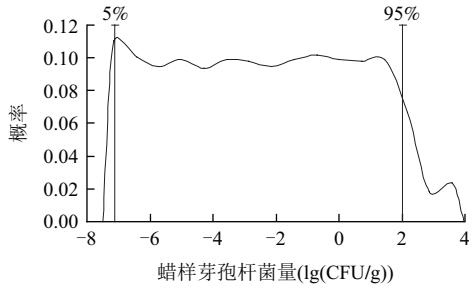
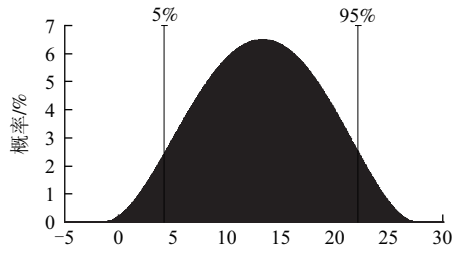


图1 米饭中蜡样芽孢杆菌的初始污染水平

Fig.1 Probability distribution of original *B. cereus* in cooked rice

2.2 米饭销售至食用阶段蜡样芽孢杆菌的概率分布

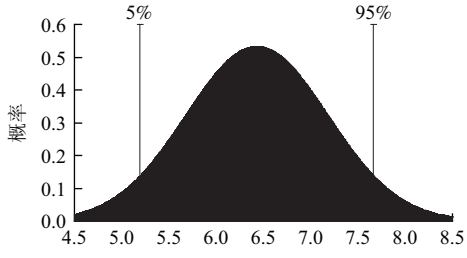
米饭销售至食用前的温度和时间分别应用Pert和Normal概率分布分别见图2和图3。米饭销售至食用前的销售温度和时间分别为4.20℃(5%置信区间)至22.16℃(95%置信区间)，5.20h(5%置信区间)至7.66h(95%置信区间)。



公式：Pert(－1.4,13.3,27.5)。

图2 米饭销售至食用前的温度概率分布

Fig.2 Probability distribution of temperatures from retail to consumption of cooked rice



公式：Normal(6.43,0.75)。

图3 米饭销售至食用前的时间概率分布

Fig.3 Probability distribution of time from retail to consumption of cooked rice

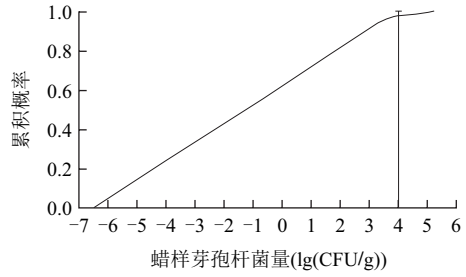


图4 米饭销售至食用阶段蜡样芽孢杆菌的概率分布

Fig.4 Probability distribution of *B. cereus* in cooked rice from retail to consumption

本研究中蜡样芽孢杆菌的风险阈值设定为4(lg(CFU/g))，为引起消费者食物中毒的最低浓度。由图4可知，米饭在销售至食用阶段末期蜡样芽孢杆菌增长超过风险阈值的概率较低，通过概率分布计算为3.07%，此即消费者在食用米饭时出现食物中毒的概率，同时表明蜡样芽孢杆菌在米饭销售过程中的风险随时间延长而逐渐增大。本实验暴露评估中假设蜡样芽孢杆菌导致疾病的风险具有累积作用，在米饭销售过程中随着蜡样芽孢杆菌的增长即产生一定的风险，这种假设在Notermans[10]和Bahk[11]等的研究中也曾用到。

2.3 米饭中蜡样芽孢杆菌的食用前最终污染水平

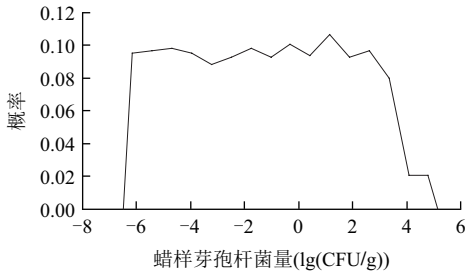


图5 米饭中蜡样芽孢杆菌的食用前最终污染水平

Fig.5 Probability distribution of final *B. cereus* levels in cooked rice

图5为米饭中蜡样芽孢杆菌的食用前最终污染水平概率累计分布，表明最终污染范围从−6.51(lg(CFU/g))(5%置信水平)至5.17(lg(CFU/g))(95%置信水平)，均值为−1.26(lg(CFU/g))。结合上述研究，消费者食用米饭超过蜡样芽孢杆菌风险阈值(4(lg(CFU/g)))的概率为3.07%，减少食用前贮藏时间有助于减少蜡样芽孢杆菌的潜在风险。应用类似的方法，Notermans等[23]估计消费者因食用荷兰的牛奶超过风险阈值(4(lg(CFU/g)))的概率为11%。

2.4 敏感性分析

评估模型的敏感性指的是哪些数据输入对最终结果影响最大，取决于数据中的不确定性，以获得降低风险的有效控制措施[24]。米饭中蜡样芽孢杆菌的食用前最终污染水平与各参数的相关系数和回归系数见表3，表明与销售温度绝对值最高相关系数为−0.15)，在$P<0.05$水平下显著，其次是初始污染水平和销售时间，采用必要的冷藏措施降低米饭销售时的贮藏温度有助于减少最终污染的风险。

表3 米饭中蜡样芽孢杆菌暴露评估的敏感性分析

Table 3 Sensitivity analysis of exposure assessment for *B. cereus* levels in cooked rice

项目	相关系数	回归系数	等级
销售温度	−0.15*	−0.04	1
初始污染水平	0.09	0	2
销售时间	−0.04	0	3

注：*.$P<0.05$ 水平下显著。

不确定性是因为缺乏所需的科学信息造成的，与数据本身以及选择的模型相关[25]。到现在为止，进行蜡样芽孢杆菌风险评估的资料非常缺乏，国内外都还没有较完善的米饭中蜡样芽孢杆菌定量风险评估。由于现有文献中缺少蜡样芽孢杆菌的剂量-反应模型的有关报道，本次评估选择4(lg(CFU/g))作为发生蜡样芽孢杆菌食物中毒的风险阈值，这是不确定性的重要来源。本次评估蜡样芽孢杆菌初始污染水平的检测从部分餐饮部门抽检样品，且样品中并没有包括所有类型的米饭，代表性存在局限。完善污染数据的统计有利于减少风险评估的不确定性。

3 讨 论

风险评估是风险分析的科学基础，主要包括危害确认、危害特征描述、暴露评估和风险特征描述四部分。微生物与普通化学有害物的风险评估的最大区别是微生物是活体，在食品链中仍持续生长或失活[26]，定量风险评估需确定致病菌的摄入量及其对人体产生不良作用概率之间关系进行数学描述，这需要预测微生物模型为工具。在预测微生物学理论形成和发展的30余年期间，大量模拟微生物生长、残存或失活的动力学模型被推广应用[27]。本研究选用修正的Gompertz模型用于蜡样芽孢杆菌生长的描述，也被Valero[28]和Zwietering[29]等分别用于培养基和巴氏杀菌乳中蜡样芽孢杆菌生长模型的构建。事实上蜡样芽孢杆菌不仅受到温度影响，对pH值、水分活度等也较敏感，同时会受到其他致病菌的拮抗和竞争作用，即实际蜡样芽孢杆菌的生长环境更为“恶劣”，为简化评估程序而采用的二级温度模型(Ratkowski平方根模型)可能会过高估计其风险。

本研究的暴露评估基于2009—2011年期间某市范围内采集的70件样品，一般来说样品越多，越接近总体情况，但因取样难度和检测方法限制决定实际较难大规模实施。本研究按照某市餐饮部门、批发市场分布以随机抽样的方式采集，基本可代表全市现状。今后可在更大范围内采集数据完善暴露评估结果。

在本研究中选用的蜡样芽孢杆菌风险阈值为10^4CFU/g，未考虑其产毒素问题，主要基于致病菌本身导致的食源性疾病，也参考了前人研究结果。Kramer等[30]早在1989年总结过由于蜡样芽孢杆菌导致的各类食源性疾病，表明通过食品摄入导致呕吐症状的蜡样芽孢杆菌量为1.2×10^3～10^8CFU/g，中值约为1×10^7CFU/g，导致呕吐症状的浓度范围为10^4～10^{10}CFU/g，平均为10^7CFU/g。对1971—1985年间107起英国米饭中蜡样芽孢杆菌导致食物中毒的分析表明，蜡样芽孢杆菌含量为1.0×10^3～5.0×10^{10}CFU/g，中值约为1×10^7CFU/g。在上述数据基础上，Granum等[31]在1997年提出真实的蜡样芽孢杆菌感染量为1.0×10^5～1.0×10^8CFU/g，Notermans等[10]在1997年完成的巴氏灭菌奶中蜡样芽孢杆菌风险评估中也提到：欧盟大多数国家在食品保质期中将1.0×10^4～1.0×10^5CFU/g作为容许限值，综上可将1.0×10^4CFU/g作为风险阈值。

完整的定量风险评估需要结合危害特征描述中的剂量效应关系和暴露评估模型来预测个体或群体的发病率情况[32]。关于米饭中蜡样芽孢杆菌的风险评估，迄今尚无明确的剂量反应数据，早在1955年Hauge[33]召集人类志愿者进行摄入蜡样芽孢杆菌的实验，最近的志愿者实验是Langeveld等[34]1996年通过20～60岁的人员摄入贮存于

7.5℃、3～14d的巴氏灭菌奶，其中样品中含有天然存在的蜡样芽孢杆菌，发现人类摄入超过10^8CFU/g后的食物中毒症状不显著($P>0.1$)。不同研究中蜡样芽孢杆菌的感染剂量存在差别可能和菌种来源、受试人员体制、环境因素等有关。另外，通过食物中毒事件统计表明，蜡样芽孢杆菌没有特定的受众人群，普通消费者与妇女、婴幼儿、老年人及主要疾病患者对蜡样芽孢杆菌没有显著的特异性。因此补充和完善蜡样芽孢杆菌的剂量反应数据将有助于整个风险评估体系的构建。

4 结 论

本实验基于某市2009—2011年期间蒸煮米饭中蜡样芽孢杆菌的检出情况进行定量暴露评估，引入预测微生物模型，构建了某市餐饮部门、批发市场等自制类米饭从销售至消费者食用阶段的暴露评估模型，消费者食用米饭超过蜡样芽孢杆菌风险阈值(10^4CFU/g)的概率为3.07%。敏感性分析表明米饭销售温度是影响蜡样芽孢杆菌最终污染水平的显著因素。监管部门可根据暴露评估结果完善蒸煮米饭的风险评估体系，制定相关监测措施。

参考文献：

[1] CHUNG K D, SUN H L. Distribution and characteristics of *Bacillus cereus* isolated from rice in Taiwan[J]. Journal of Food Science, 2006, 51(5): 1208-1212.

[2] BUDKA H, BUNCIC S, COLIN P, et al. Opinion of the scientific panel on biologieal hazards on *Bacillus cereus* and other *Bacillus* spp. infoodstuffs[J]. The EFSA Journal, 2005, 175: 1-48.

[3] 刘秀梅, 陈艳. 1992—2001年食源性疾病暴发资料分析[J]. 卫生研究, 2004, 33(6): 725-727.

[4] 吕荣. 蜡样芽孢杆菌食物中毒研究近况[J]. 中国乡村医药杂志, 2003, 10(1): 51.

[5] 张磊, 穆海振, 陆怡, 等. 上海地区细菌性食物中毒季节和气候特征分析[J]. 上海预防医学杂志, 2009, 21(7): 330-333.

[6] 宋福华, 李继华, 罗荆荣, 等. 1985—2005年曲靖市食物中毒资料分析[J]. 预防医学论坛, 2007, 13(3): 455-457.

[7] 杨翠英. 2000—2008年苏州市吴中区细菌性食物中毒事件分析[J]. 职业与健康, 2008, 24(2): 2290-2291.

[8] 陆贞玉. 2004—2006年桂林市细菌性食物中毒病原菌分析[J]. 中国公共卫生管理, 2009, 25(3): 260-262.

[9] FAO/WHO. Consultation: principles and guidelines for incorporating quantitative risk assessment in the development of microbiological food hygiene standards, guidelines and related texts (Country Experience-China)[R]. 2002.

[10] NOTERMANS S, DUFRENNE J, TEUNIS P, et al. A risk assessment study of *Bacillus cereuspresent* in pasteurized milk[J]. Food Microbiology, 1997, 14: 143-151.

[11] BAHK G J, TODD E C D, HONG C H, et al. Exposure assessment for *Bacillus cereus* in ready-to-eat Kimbab selling at stores[J]. Food Control, 2007, 18(3): 682-688.

[12] 仪淑敏, 李远钊, 张培正, 等. 蜡样芽孢杆菌在营养肉汤和维也纳香肠中的预测模型及其在生产中的应用[J]. 现代食品科技, 2007, 23(6): 11-14.

[13] 褚小菊, 冯力更, 张筠, 等. 巴氏牛奶中蜡样芽孢杆菌的风险评估[J]. 中国乳品工业, 2006, 34(6): 23-26.

[14] GB4789.14—2003食品微生物学检验 蜡样芽孢杆菌[S].

[15] JARVIS B. Sampling for microbiological analysis[M]// LUND B M, BAIRD-PARKER T C, GOULD G W. The microbiological safety and quality of food. Gaithersburg. Md: Aspen Publishers Inc, 2000: 1727-1728.

[16] NAUTA M J, LITMAN S, BARKER G C, et al. A retail and consumer phase model for exposure assessment of *Bacillus cereus*[J]. International Journal of Food Microbiology, 2003, 83: 205-218.

[17] 李敏. 巴氏杀菌奶中优势微生物预测模型的建立及风险评估[D]. 北京: 中国农业大学, 2006: 20-25.

[18] 仪淑敏, 李远钊, 张培正, 等. 食品中蜡样芽孢杆菌的预测模型及风险评估[J]. 食品科技, 2007(7): 25-29.

[19] McELROY D M, JAYKUS L A, FOEGEDING P M. A quantitative risk assessment for *Bacillus cereus* emetic disease associated with the consumption of Chinese-style rice[J]. Journal of Food Safety, 1999, 19(3): 209-229.

[20] McELROY D M, JAYKUS L A, FOEGEDING P M. Validation and analysis of modeled predictions of growth of *Bacillus cereus* spores in boiled rice[J]. Journal of Food Protection, 2000, 63(2): 268-272.

[21] HEO S K, LEE J Y, BAEK S B, et al. A response surface model to describe the effect of temperature and pH on the growth of *Bacillus cereus* in cooked rice[J]. Journal of Food Protection, 2009, 72(6): 1296-1300.

[22] NOTERMANS S, BATT C A. A risk assessment approach for food-borne *Bacillus cereus* and its toxins[J]. Journal of Applied Microbiology Symposium Supplement, 1998, 54: 51S-61S.

[23] NOTERMANS S, DUFRENNE J, te GIFFEL P R, et al. A risk assessment study of *Bacillus cereus* present in pasteurized milk[J]. Food Microbiology, 1997, 14: 143-151.

[24] PERKINS N, STEVENSON M. 动物及动物产品风险分析培训手册[M]. 王承芳, 译. 北京: 中国农业出版社, 2004: 7-15.

[25] ZWIETERING M H, van GERWEN S J C. Sensitivity analysis in quantitative microbial risk assessment[J]. International Journal of Food Microbiology, 2000, 58: 213-221.

[26] COLEMAN M E, MARKS H M. Qualitative and quantitative risk assessment[J]. Food Control, 1999, 10: 289-297.

[27] TRYSTRAM G. Modelling of food and food processes[J]. Journal of Food Engineering, 2012, 110(2): 269-277.

[28] VALERO M, FERNANDEZ P S, SALMERON M C. Influence of pH and temperature on growth of *Bacillus cereus* in vegetable substrates[J]. International Journal of Food Microbiology, 2003, 82: 71-79.

[29] ZWIETERING M H, de WIT J C, NOTERMANS S. Application of predictive microbiology to estimate the number of *Bacillus cereus* in pasteurized milk at the point of consumption[J]. International Journal of Food Microbiology, 1996, 30: 55-70.

[30] KRAMER J M, GILBERT R J. *Bacillus cereus* and other *Bacillus* species[M]// DOYLE M P. Foodborne bacterial pathogens. New York: Marcel Dekker: 21-70.

[31] GRANUM P E. *Bacillus cereus*[M]// DOYEL M P, BEUCHAT L R, MONTVILLE T J. Food microbiology fundamentals and frontieres. Washington DC: ASM Press: 327-336.

[32] WILLIAMS M S, EBEL E D, VOSE D. Methodology for determining the appropriateness of a linear dose-response function[J]. Risk Analysis, 2011, 31(3): 345-350.

[33] HAUGE S. Food poisoning caused by aerobic spore forming bacilli[J]. Journal of Applied Bacteriology, 1955, 18: 591-595.

[34] LAGERVELD L P M, van SPONSEN W A, van BERESTEIJN E C H, et al. Consumption by healthy adults of pasteurised milk with a high concentration of *Bacillus cereus*: a double-blind study[J]. Journal of Food Protection, 1996, 59: 723-726.