

软烤贻贝中蜡样芽孢杆菌生长/非生长界面 模型建立与评价

Modeling and evaluating on growth/no growth boundaries of
Bacillus cereus on soft-baked mussels

渠飞翔^{1,2} 李学英¹ 杨宪时¹ 刘尊雷¹

QU Fei-xiang^{1,2} LI Xue-ying¹ YANG Xian-shi¹ LIU Zun-lei¹

(1. 中国水产科学研究院东海水产研究所, 上海 200090; 2. 上海海洋大学食品学院, 上海 201306)

(1. East China Sea Fisheries Research Institute, Chinese Academy of Fishery Sciences, Shanghai 200090, China;
2. College of Food Science and Technology, Shanghai Ocean University, Shanghai 201306, China)

摘要:建立软烤贻贝中蜡样芽孢杆菌标准菌株(ATCC49064与DSMZ 4312)在不同贮藏温度(T)、pH、水分活度(A_w)下生长/非生长界面模型,对其拟合情况和来自软烤贻贝蜡样芽孢杆菌(YB001)的验证情况进行分析和评价,并与已建立的脑心浸出液肉汤(BHI)中蜡样芽孢杆菌生长/非生长界面模型进行比较。所建模型总方程为 $Lopit(P) = -208.457 - 2.167 \cdot T + 35.304 \cdot pH + 705.573 \cdot B_w + 1.117 \cdot T \cdot pH - 7.072 \cdot T \cdot B_w - 174.946 \cdot pH \cdot B_w$, 其中 R^2 -Nagelkerke=0.979 和 $\chi^2=0.019(df=8, P=1)$ 显示拟合度较高,而且其预测一致率明显高于 BHI 培养基中建立的模型,表明该模型在预测软烤贻贝中蜡样芽孢杆菌的生长/非生长情况有很高的精确度和很好的适用性。此外,贮藏温度、水分活度、pH 及其交互作用显著影响蜡样芽孢杆菌的生长/非生长($P<0.05$)。因此可以通过所建生长/非生长界面模型量化温度、水分活度、pH 值等栅栏因子并结合其交互效应来确保软烤贻贝的高品质与安全性。

关键词: 贻贝; 蜡样芽孢杆菌; 生长/非生长界面模型; 预测能力; 栅栏因子

Abstract: The growth/no growth interface model of *Bacillus cereus* (ATCC49064 and DSMZ 4312) on soft-baked mussels was established based on storage temperature (T), water activity (A_w) and pH, and its fitting and the validation behavior of *Bacillus cereus* (YB001) from soft-baked mussels were analyzed and evaluated. And this model was compared with the established growth/no growth in-

terface model of *Bacillus cereus* in Brain Heart Infusion (BHI) media. The total equation of this model is $Lopit(P) = -208.457 - 2.167 \cdot T + 35.304 \cdot pH + 705.573 \cdot B_w + 1.117 \cdot T \cdot pH - 7.072 \cdot T \cdot B_w - 174.946 \cdot pH \cdot B_w$. It showed a reasonable goodness of fit of this model due to R^2 -Nagelkerke=0.979 and $\chi^2=0.019$ ($df=8, P=1$), and the predicted concordance rate of this model was significantly higher than that of the established model in BHI medium, which indicated that this model had a high accuracy and good applicability in predicting the growth probability of *Bacillus cereus* on soft-baked mussels. Besides, T , A_w , pH and their interaction had significant effects on the growth probability of *Bacillus cereus* ($P<0.05$). Therefore, this model can be used to quantify T , A_w , pH and combine with their interaction to ensure the top quality and safety of soft-baked mussels.

Keywords: mussels; *Bacillus cereus*; growth/no growth interface model; predictive ability; hurdle factors

软烤贻贝是基于“量化栅栏技术”理论,在加工过程中通过设置温和热处理、控制水分活度、调节 pH、真空包装等多个温和保质栅栏因子的交互作用,较好地实现了产品高品质和安全贮藏的统一^[1-2],但处理条件温和,仍存在条件致病菌蜡样芽孢杆菌的潜在风险,当其污染食品且菌量达到 $10^3 \sim 10^4$ CFU/g 时,便可通过产生呕吐毒素和腹泻毒素引起食物中毒^[3-4]。因此建立蜡样芽孢杆菌生长/非生长模型,量化栅栏因子将蜡样芽孢杆菌限制在非生长区,对控制软烤贻贝食用安全至关重要^[1,3,5]。Chen 等^[6]以脑心浸出液肉汤(BHI)为培养基建立了蜡样芽孢杆菌在温度、水分活度和 pH 交互作用下生长/非生长模型。Daelman 等^[7]也建立了不同水分活度、温度和巴氏杀菌条件下胰大豆蛋白肉汤(TSB)培养基中蜡样芽孢杆菌的生长/非生长模型。BHI 和 TSB 均是液体培养基,可能没有直接以食品为基质建立的生

基金项目:上海市农业科技成果转化项目(编号:沪农科转字 2015 第 2-1 号);农业部 948 计划(编号:2011-Z12)

作者简介:渠飞翔,男,上海海洋大学在读硕士研究生。

通讯作者:杨宪时(1954-),男,中国水产科学研究院东海水产研究所研究员,硕士生导师。E-mail: xianshiyang@126.com

收稿日期:2015-11-06

长/非生长界面模型更有针对性和精确性,然而未见与软烤贻贝中蜡样芽孢杆菌生长/非生长界面模型的建立和评价有关报道。

本试验拟建立软烤贻贝中蜡样芽孢杆菌标准菌株(ATCC49064与DSMZ 4312)在不同贮藏温度、pH、水分活度下生长/非生长界面模型,通过拟合度检验分析其拟合情况,使用软烤贻贝中分离的蜡样芽孢杆菌 YB001 生长/非生长情况进行该模型预测能力的验证,同时与 Chen 等^[6]建立的 BHI 培养基中蜡样芽孢杆菌生长/非生长界面模型预测能力进行比较,旨在评价建立模型的精确度和适用性,也为突出以实际产品为基质建立模型的重要性和必要性。

1 材料与方 法

1.1 材料与试剂

蜡样芽孢杆菌标准菌株(ATCC49064和DSMZ 4312):无锡赛维科技有限公司;

蜡样芽孢杆菌 YB001:本实验室参照文献^[3],从软烤贻贝中分离,其常用菌株的保藏均采用斜面低温保藏法,每月移种一次;

单冻紫贻贝:约 4 g/只,东方国际水产中心。0.5 h 内运抵实验室,放入-25℃冰箱备用;

脑心浸液肉汤培养基(BHI):英国 OXOID 公司;

胰蛋白大豆琼脂(TSA):北京陆桥技术股份有限公司;

甘露醇卵黄多粘菌素琼脂(MYP):无锡赛维科技有限公司;

氯化钠、氢氧化钠、磷酸二氢钾等:分析纯,上海国药化学试剂公司。

1.2 仪器

高精度培养箱:MIR 153、253、553 型,日本三洋科研设备有限公司;

数显鼓风干燥箱:GZX-9240MBE 型,上海博正实业有限公司;

净化工作台:SA-960-II SHJ-系列,上海净化设备厂;

绞肉机:JYL-350 型,上海九阳股份有限公司;

均质器:IUL 型,上海德记行科技发展有限公司;

电热恒温水浴锅:DK-S24 型,上海精宏实验设备有限公司;

水分活度仪:LabMASTER-Aw 型,瑞士 Novasina 公司;

酸度计:pHS-2C 型,上海伟业仪器厂;

真空(充气)包装机:DZQ400-2D 型,上海余特包装机械制造有限公司。

1.3 试验方法

1.3.1 蜡样芽孢杆菌接种液准备 从斜面培养物无菌挑取一环各菌株,分别接种到 10 mL 无菌 BHI 肉汤培养基中通过 37℃ 培养和 10 倍稀释交替处理使菌株达到生长稳定期,得到各菌株菌悬液^[3]。

用无菌磷酸盐缓冲液将各菌株菌悬液分别稀释适当倍数到约 5×10^3 CFU/mL,蜡样芽孢杆菌标准菌株 ATCC49064 与 DSMZ 4312 菌悬液等量混匀作为试验接种液,而蜡样芽孢杆菌菌株 YB001 菌悬液作为验证接种液。

涂布于 TSA 琼脂培养基和 MYP 琼脂平板,37℃ 培养 24 h,计算初始菌量并记下菌落特征。

1.3.2 软烤贻贝中蜡样芽孢杆菌生长/非生长试验与验证

单冻紫贻贝→静水解冻→沥干水分→绞碎混匀→调味浸渍→沥干水分→摆盘→焙烤→冷却→平衡水分→真空包装→水浴杀菌(90℃,60 min)→冰水冷却→接种→真空包装→贮藏→菌量测定^[1-2]

将贻贝绞碎混匀,目的是消除因大小、雌雄等个体差异产生的影响和便于试验操作。绞碎混匀的贻贝分为 5 份后进行调味浸渍(5℃,12 h),各份调味品中包括水、食用盐、味精、白砂糖,且含有不同比例的柠檬酸,以调节贻贝的 pH 值,并用酸度计来监测控制。水分活度的调节,主要是通过焙烤过程实现,各份贻贝放入 65~70℃ 烘箱中焙烤以调节其水分活度,并用水分活度仪监测控制,将各份贻贝又分为 8 个不同的水分活度,冷却后装入自封袋中并放入冷藏冰箱中过夜以平衡水分。真空包装,每袋为 25 g,水浴杀菌后,各加入 1 mL 试验接种液或验证接种液,搅匀,由于接种前样品所测菌落总数小于 10 CFU/g(且绝大部分为蜡样芽孢杆菌),可以确保蜡样芽孢杆菌为优势菌。接种后在无菌室对样品进行真空包装,测定平行样品的水分活度和 pH 值,放到不同温度下贮藏,具体试验设计见表 1。

表 1 试验设计

Table 1 Experimental design

因素	试验水平	验证水平
T/℃	10,15,20,25,30,35	15,20,25,30
pH	4.50,5.01,5.50,	5.01,5.50,
	5.93,6.52,6.85	5.93,6.52
Aw	0.985,0.976,0.965,0.952,	0.976,0.952,
	0.940,0.931,0.925,0.912	0.931,0.912

贮藏 60 d 后,将各样品用无菌磷酸盐缓冲液稀释到适当比例并涂布在 TSA 琼脂培养基上,同时在 MYP 琼脂培养基涂布,37℃ 培养 48 h,以测定菌落总数,且根据菌落特征确定是否为蜡样芽孢杆菌。确定为蜡样芽孢杆菌,且所测菌落总数 $>0.5 \lg$ CFU/g 初始接种量时,则证明样品中蜡样芽孢杆菌已生长,否则证明不生长^[3,8]。试验选择生长概率 $P=0.5$ 为蜡样芽孢杆菌生长与非生长预测分界线,即生长概率高于 0.5,蜡样芽孢杆菌生长,记作 1,反之记作 0。

1.3.3 模型拟合分析与评价 通过 R 软件的 GLM 函数对软烤贻贝中蜡样芽孢杆菌的生长非生长数据用 logistic 回归模型进行拟合,并用逐步回归程序选择其最优模型,logistic 回归模型^[9]:

$$\text{Lopit}(P) = a_0 + a_1 \cdot T + a_2 \cdot pH + a_3 \cdot Bw + a_4 \cdot T \cdot pH + a_5 \cdot T \cdot Bw + a_6 \cdot pH \cdot Bw + a_7 \cdot T^2 + a_8 \cdot pH^2 + a_9 \cdot Bw^2, \quad (1)$$

式中:

$$\text{Lopit}(P) = \ln[P/(1-P)], Bw = (1-Aw)^{0.5};$$

P——蜡样芽孢杆菌的生长概率;

$a_0 \sim a_9$ ——模型系数估计值;

T ——样品的贮藏温度;

Aw ——样品的水分活度。

模型的拟合度检验主要包括 R^2 -Nagelkerke 和 Hosmer-Lemeshow 检验。预测一致率,是指预测值和实际值一致的样本占总样本的百分比率,可以用来评价预测精确度^[5-6]。假阳性和假阴性一定程度上也可反映模型的预测能力,反映了预测值和实际值的差异性^[5-6]。在预测错误的样本中,预测生长但实际非生长的为假阳性,其余归为假阴性。

2 结果与讨论

2.1 软烤贻贝中蜡样芽孢杆菌生长/非生长界面模型的拟合和数据分析

以软烤贻贝为基质,在不同温度、水分活度和 pH 条件下研究了蜡样芽孢杆菌(ATCC49064 与 DSMZ 4312)的生长/非生长情况,部分试验数据见表 2。

表 2 软烤贻贝中蜡样芽孢杆菌生长/非生长部分试验数据
Table 2 Some experimental data of the growth probability of *Bacillus cereus* on soft-baked mussels

温度/℃	水分活度	pH			
		5.01	5.50	5.93	6.52
15	0.976	0	0	0	1
	0.952	0	0	0	0
	0.931	0	0	0	0
	0.912	0	0	0	0
20	0.976	0	1	1	1
	0.952	0	0	0	0
	0.931	0	0	0	0
	0.912	0	0	0	0
25	0.976	0	1	1	1
	0.952	0	0	1	1
	0.931	0	0	0	0
	0.912	0	0	0	0
30	0.976	1	1	1	1
	0.952	0	1	1	1
	0.931	0	0	0	1
	0.912	0	0	0	0

比较表 2 中生长和非生长数据可以看出,一定范围内温度越低,水分活度越低,pH 值越低,越不利于蜡样芽孢杆菌的生长。温度、水分活度和 pH 均是影响蜡样芽孢杆菌生长的关键因素^[3,7,10],而且温度、水分活度和 pH 交互作用影响显著,例如当软烤贻贝的 pH 和水分活度分别是 5.50 和 0.952,贮藏温度为 25℃时,蜡样芽孢杆菌不生长,如果只将温度升高至 30℃,蜡样芽孢杆菌生长,同样只将 pH 升至 5.93 或者水分活度调到 0.976 蜡样芽孢杆菌也会生长。由表 2 还可以看出,单独调节一个因素来抑制蜡样芽孢杆菌的生长较困难,同时也会严重影响产品的感官品质^[1],故为了保证温和加工产品(软烤贻贝)的品质,必须调节温度、水分活度和 pH 等多个栅栏因子并利用其交互效应来控制。

通过 R 软件的 GLM 函数对软烤贻贝中蜡样芽孢杆菌(ATCC49064 与 DSMZ 4312)的生长/非生长数据用 logistic 回归模型进行拟合,得到所建模型总方程及预测参数(包括模型系数估计值及其标准误、P 值与拟合度检验即 R^2 -Nagelkerke 和 Hosmer-Lemeshow),见表 3。拟合度检验是对已建立的预测模型进行评价,比较其预测值和实际值的吻合程度^[6]。 R^2 -Nagelkerke,是评价模型拟合度的指标,即用来表示自变量对因变量的解释程度,取值范围为 0~1,一般值越大拟合度越好^[9]。Hosmer-Lemeshow 检验也可评价模型拟合度,而且 P 值越大和卡方值越小,拟合度越高^[9]。表 2 显示 R^2 -Nagelkerke=0.979 和 $\chi^2=0.019$, $P=1$,表明所建模型对生长/非生长数据的拟合度很高。将表 2 中数据代入软烤贻贝中蜡样芽孢杆菌生长/非生长界面模型的总方程进行内部验证,发现只有一个预测错误,即 pH 为 5.01,水分活度为 0.976,贮藏温度为 25℃时出现了假阳性,内部数据验证结果和很高的拟合度一致说明所建模型的精确度很高。表 3 中拟合系数的 $P<0.05$,说明温度、水分活度、pH 及其交互作用对软烤贻贝中的蜡样芽孢杆菌的生长/非生长情况影响显著。因此软烤贻贝加工中可以通过所建生长/非生长界面模型量化温度、水分活度、pH 值等栅栏因子,并利用其交互作用抑制蜡样芽孢杆菌的生长。

表 3 软烤贻贝中蜡样芽孢杆菌生长/非生长界面模型拟合结果

Table 3 Fitting results of the growth/no growth interface model for *Bacillus cereus* on soft-baked mussels

系数	估计值	标准误	P
a_0	-208.457	79.931	0.009
a_1	-2.167	1.040	0.037
a_2	35.304	13.670	0.010
a_3	705.573	269.585	0.009
a_4	1.117	0.444	0.012
a_5	-7.072	3.090	0.022
a_6	-174.946	65.784	0.008

总方程
$$\text{Lopit}(P) = -208.457 - 2.167 \cdot T + 35.304 \cdot pH + 705.573 \cdot Aw + 1.117 \cdot T \cdot pH - 7.072 \cdot T \cdot Aw - 174.946 \cdot pH \cdot Aw;$$

R^2 -Nagelkerke = 0.979, χ^2 (Hosmer-Lemeshow) = 0.019 ($df=8$, $P=1$)

2.2 软烤贻贝中蜡样芽孢杆菌生长/非生长界面模型的预测能力验证和评价

采集蜡样芽孢杆菌菌株 YB001 在软烤贻贝中不同贮藏温度下的生长/非生长数据,对已建立的软烤贻贝中蜡样芽孢杆菌的生长/非生长界面模型的预测能力进行了验证和评价。绘制不同贮藏温度下软烤贻贝中蜡样芽孢杆菌 YB001 的生长/非生长界面图(图 1),并根据该生长/非生长界面模型标出了 P 为 0.1,0.5,0.9 时的生长概率等高线,这 3 条线之间的区域为转换区域即 $P \in [0.1, 0.9]$,界面图右上为生长

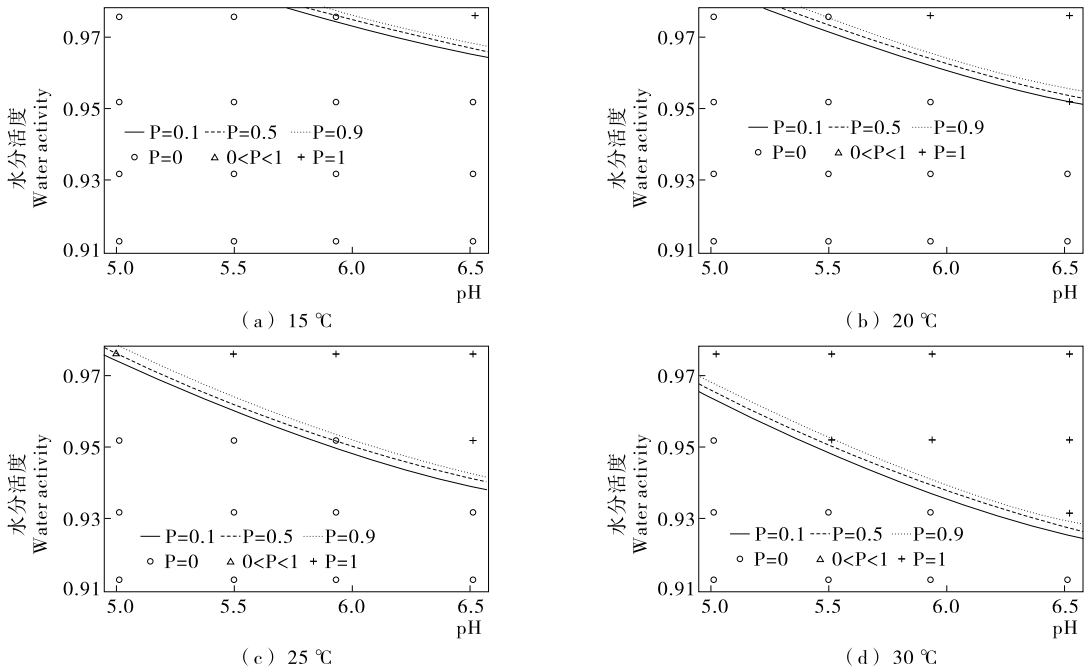


图1 不同贮藏温度下软烤贻贝中蜡样芽孢杆菌 YB001 的生长/非生长界面图

Figure 1 Growth/no growth boundaries at different storage temperatures for *Bacillus cereus* (YB001) on soft-baked mussels

区,左下为非生长区。

由图1可知,生长概率等高线将生长区和非生区基本准确分开,表明所建软烤贻贝中蜡样芽孢杆菌的生长/非生长界面模型的预测精确度高。由图1中非生长区大小变化可知,贮藏温度对蜡样芽孢杆菌的生长/非生长情况影响显著,温度较低时,贮藏温度是蜡样芽孢杆菌的主要影响因素,随着温度的升高,水分活度和pH交互作用的影响显著增大,而且随温度升高,生长概率等高线变陡,也说明水分活度和pH交互作用中水分活度的影响减小,pH的影响增大,同时也说明温度和水分活度协同效应减弱,温度和pH的协同效应增大。生长和非生长区的显著变化,总体上体现了这3个因素交互作用的显著影响,再次表明可以利用其交互作用来抑制软烤贻贝的生长,而不只是降低贮藏温度,可能带来额外的经济负担。

使用所建 $Lopit(P) = -208.457 - 2.167 \cdot T + 35.304 \cdot pH + 705.573 \cdot Bw + 1.117 \cdot T \cdot pH - 7.072 \cdot T \cdot Bw - 174.946 \cdot pH \cdot Bw$ 蜡样芽孢杆菌的生长/非生长界面模型的总方程,对软烤贻贝中蜡样芽孢杆菌 YB001 的生长/非生长情况进行预测的同时比较预测值和真实值,预测结果统计见表4。64个数据样本中出现了5个预测错误,预测一致率高达92.19%,假阳性4.69%,假阴性3.12%,充分验证了所建模型对软烤贻贝中蜡样芽孢杆菌 YB001 的生长/非生长情况的预测精确度很高和适用性很好。试验以 $P=0.5$ 作为预测分界线,食品企业选择更为严格栅栏因子时也可选取 $P=0.01$ 或者更低值^[6]。

2.3 与已建立的BHI培养基中蜡样芽孢杆菌生长/非生长界面模型的比较

Chen等^[6]以脑心浸出液肉汤(BHI)为培养基建立了蜡样芽孢杆菌在温度、水分活度和pH交互作用下生长/非生长

表4 软烤贻贝中蜡样芽孢杆菌生长/非生长界面模型的预测结果统计

Table 4 Statistics of predictive results of the growth/no growth interface model for *Bacillus cereus* on soft-baked mussels

预测失败条件(pH, T/°C, Aw)	预测值(P)	实际值(P ₀)
5.01, 25, 0.976	1	0.5
5.50, 20, 0.976	1	0
5.50, 30, 0.952	0	1
5.93, 25, 0.952	1	0
6.52, 20, 0.952	0	1
一致率	假阳性	假阴性
92.19%	4.69%	3.12%

界面模型,相关拟合结果包括拟合 logistic 模型总方程及预测参数,见表5。 R^2 -Nagelkerke=0.954,说明此模型具有很高的拟合度,但是比软烤贻贝中所建模型的拟合度略低(R^2 -Nagelkerke=0.979),可能是建模中使用的5种蜡样芽孢杆菌生长/非生长情况比2种蜡样芽孢杆菌的更复杂。Hosmer-Lemeshow 检验中 $\chi^2 = 0.012$ ($df = 8, P = 1$) 同样也说明该模型的拟合度很高。根据拟合系数的P值 < 0.05 ,说明温度、水分活度、pH及其交互作用对蜡样芽孢杆菌的生长/非生长情况影响显著。使用该模型的总方程对软烤贻贝中蜡样芽孢杆菌 YB001 的生长/非生长情况进行预测同时比较预测值和实际值,预测结果统计见表6。64个数据样本中出现10个预测错误,预测一致率为84.38%,明显低于软烤贻贝中建立的蜡样芽孢杆菌的生长/非生长界面模型的预测一致率(92.19%),充分体现建立以食品为基质的生长/非生长模型的必要性和重要性。假阴性高达15.62%,未出现假阳性

表 5 BHI 培养基中蜡样芽孢杆菌生长/非生长界面模型拟合结果

Table 5 Fitting results of the growth/no growth interface model for *Bacillus cereus* in BHI media

系数	估计值	标准误	P 值
a_0	-148.658	36.415	<0.001
a_1	2.769	0.819	<0.001
a_2	33.909	8.261	<0.001
a_3	-327.115	135.509	0.016
a_4	-0.470	0.159	0.003
a_5	8.501	2.723	0.002
a_6	-36.199	14.566	0.013

$$\text{Lopit}(P) = -148.658 + 2.769 \cdot T + 33.909 \cdot pH - 327.115 \cdot Bw - 0.470 \cdot T \cdot pH + 8.501 \cdot T \cdot Bw - 36.199 \cdot pH \cdot Bw;$$

$$R^2\text{-Nagelkerke} = 0.954, \chi^2 \text{ (Hosmer-Lemeshow)} = 0.012 \text{ (} df=8, P=1 \text{)}$$

表 6 BHI 培养基中蜡样芽孢杆菌生长/非生长界面模型的预测结果统计

Table 6 Statistics of predictive results of the growth/no growth interface model for *Bacillus cereus* in BHI media

预测失败条件(pH, T/°C, Aw)	预测值(P)	实际值(P ₀)
5.01, 25, 0.976	0	0.5
5.01, 30, 0.976	0	1
5.50, 25, 0.976	0	1
5.50, 30, 0.952	0	1
5.93, 20, 0.976	0	1
5.93, 30, 0.952	0	1
6.52, 20, 0.952	0	1
6.52, 25, 0.952	0	1
6.52, 30, 0.952	0	1
6.52, 30, 0.931	0	1
一致率	假阴性	假阳性
84.38%	15.62%	0.00%

情况,说明该模型不能直接用来预测食品中蜡样芽孢杆菌,可能是建模时所用培养基和培养时间不同。不过,预测一致率也能达到 84.38%,说明该模型适用性和通用性也较高^[6]。

3 结论

贮藏温度、水分活度、pH 及其交互作用对蜡样芽孢杆菌的生长/非生长情况影响显著,单一因素抑制其生长较困难,也会影响产品品质,因此加工中可以通过所建立的软烤贻贝中蜡样芽孢杆菌生长/非生长界面模型量化温度、水分活度、pH 值等栅栏因子,并利用其交互作用,较好地实现软烤贻贝

高品质与安全性的统一。

建立的软烤贻贝中蜡样芽孢杆菌生长/非生长界面模型对生长/非生长数据的拟合度很高,验证结果显示其预测一致率明显高于 BHI 培养基中建立的模型,表明所建模型对软烤贻贝中蜡样芽孢杆菌 YB001 的生长/非生长情况预测精确度很高和适用性很好。以 BHI 为培养基建立的蜡样芽孢杆菌的生长/非生长界面模型虽然适用性和通用性也不错,但是其预测一致率明显低于以软烤贻贝为基质建立的蜡样芽孢杆菌的生长/非生长界面模型,故有必要建立以食品为基质的致病菌生长/非生长界面模型。而且温和加工实际生产更复杂,可能会有更多的不安全因素,建模过程中除了水分活度、pH、温度等还需引入更多的栅栏因子以进一步协同保证温和加工产品安全。

参考文献

- [1] 杨宪时,许钟.高水分扇贝调味干制品品质栅栏的模式及其强度[J].水产学报,2000,24(1):67-71.
- [2] 王岳庆,陈迪丰.一种软烤贻贝的加工方法:中国,10291990.2A[P].2013-02-13.
- [3] 陈琛,杨宪时,李学英.蜡样芽孢杆菌生长/非生长界面模型的建立和评价[J].食品与发酵工业,2013,39(5):18-24.
- [4] 王焕庆,李学英,杨宪时,等.高水分烤虾贮藏过程中的品质变化和菌相分析[J].食品与机械,2012,28(2):165-169.
- [5] Valero A, Pérez-Rodríguez F, Carrasco E, et al. Modelling the growth boundaries of *Staphylococcus aureus*: effect of temperature, pH and water activity[J]. International Journal of Food Microbiology, 2009, 133(1): 186-194.
- [6] Chen C, Yang X S, Li X Y. Establishment of growth/no growth model for *Bacillus cereus* on different temperature, pH and water activity[J]. Advanced Materials Research, 2013, 781-784: 1558-1565.
- [7] Daelman J, Sharma A, An V, et al. Development of a time-to-detect growth model for heat-treated *Bacillus cereus* spores[J]. International Journal of Food Microbiology, 2013, 165(3): 231-240.
- [8] Skandamis P, Stopforth J, Kendall P, et al. Modeling the effect of inoculum size and acid adaptation on growth/no growth interface of *Escherichia coli* O157: H7[J]. International Journal of Food Microbiology, 2007, 120(3): 237-249.
- [9] Bewick V, Cheek L, Ball J. Statistics review 14: logistic regression[J]. Crit Care, 2005, 9(1): 112-118.
- [10] 范文教,孙俊秀,陈云川,等.环境因子对豆腐特定腐败菌生长特性的影响[J].食品与机械,2014,30(5):100-102.