



## 온도와 시간을 주요 변수로한 훈제연어에서의 *Listeria monocytogenes* 성장예측모델

조준일 · 이순호 · 임지수 · 곽효선 · 황인균\*

식품의약품안전청 식품의약품안전평가원 식품위해평가부 미생물과

### Predictive mathematical model for the growth kinetics of *Listeria monocytogenes* on smoked salmon

Joon-Il Cho, Soon-Ho Lee, Ji-Su Lim, Hyo-Sun Kwak, and In-Gyun Hwang\*

Food Microbiology Division, Food Safety Evaluation Department, National Institute of Food and Drug Safety Evaluation,  
Food & Drug Administration, 643 Yeonje-ri, Gangoe-myeon, Cheongwon-gun, Chungcheongbuk-do 363-951, Korea

(Received August 18, 2010/Revised October 10, 2010/Accepted May 2, 2011)

**ABSTRACT** - Predictive mathematical models were developed for predicting the kinetics of growth of *Listeria monocytogenes* in smoked salmon, which is the popular ready-to-eat foods in the world, as a function of temperature (4, 10, 20 and 30°C). At these storage temperature, the primary growth curve fit well ( $r^2 = 0.989\sim 0.996$ ) to a Gompertz equation to obtain specific growth rate (SGR) and lag time (LT). The Polynomial model for natural logarithm transformation of the SGR and LT as a function of temperature was obtained by nonlinear regression (Prism, version 4.0, GraphPad Software). Results indicate *L. monocytogenes* growth was affected by temperature mainly, and SGR model equation is  $365.3 - 31.94 * \text{Temperature} + 0.6661 * \text{Temperature}^2$  and LT model equation is  $0.1162 - 0.01674 * \text{Temperature} + 0.0009303 * \text{Temperature}^2$ . As storage temperature decreased 30°C to 4°C, SGR decreased and LT increased respectively. Polynomial model was identified as appropriate secondary model for SGR and LT on the basis of most statistical indices such as bias factor (1.01 by SGR, 1.55 by LT) and accuracy factor (1.03 by SGR, 1.58 by LT).

**Key words:** *Listeria monocytogenes*, smoked salmon, predictive model, Gompertz model, Polynomial model

냉장 및 냉동 상태로 저장, 운반, 유통되는 수산물의 경우, 5°C 이하의 저온에서도 증식하고 냉동조건에서도 생존 가능한 것으로 알려진 *Listeria monocytogenes*는 수산물의 안전성을 위협하는 중요한 위해미생물로 알려져 있다<sup>1,2)</sup>.

*L. monocytogenes*는 그람 양성, 무아포 단간균으로, Catalase와 Voges-Proskauer test 양성, indole과 nitrate reduction test 음성의 생화학 특징을 나타내며 1~4개의 편모를 가지고 있고, 최적 성장 온도는 37°C, 성장가능 온도범위는 -0.4~45°C로, 냉장온도에서도 성장이 가능하므로 cold chain 이 잘 발달되어 있는 선진국에서 많이 발생하는 선진국형 식중독균 알려져 있다<sup>3-6)</sup>. *L. monocytogenes*는 1920년대 처음으로 인간과 동물의 병원체로서 인식되어 *Bacterium*

*monocytogenes*로 불려졌고, 1970년대 후반부에 들어 살균처리하지 않은 우유, 핫도그, 치즈, 아이스크림, 소시지 및 훈연 생선등 다양한 식품에서 검출된 것으로 보고되고 있다<sup>7,8)</sup>.

최근 생물학적 위해요소인 미생물에 의한 식중독 예방 대책으로, 국내·외적으로 정량적 미생물 위해평가의 중요성이 부각되고 있다. 정량적 미생물 위해평가(Quantitative microbiological risk assessment)는 어떤 특정 병원성 미생물에 의해 오염된 식품을 섭취한 경우, 그 병원균에 의해 감염이 일어날 확률, 즉 위해성(Risk)을 과학적으로 평가하는 과정으로, 식품의 Matrix 등 다양한 요인의 변화에 따라 미생물의 생존 및 사멸 등을 예측할 수 있는 예측모델의 개발 등 예측미생물학(predictive food microbiology, PFM)분야의 연구가 필수적으로 선행되어야 한다<sup>9-12)</sup>.

미생물 성장예측모델은 식품의 원재료에서 제조, 유통, 보관, 판매, 소비까지의 전 과정에서 병원성 및 부패 미생물의 거동을 정량적으로 해석하여 움직임을 예측하며, 식품이 지니고 있는 고유의 특성으로 식품의 수분활성도(water activity), buffering power redox potential, pH, 항균적 특성

\*Correspondence to: In-Gyun Hwang, Food Microbiology Division, Food Safety Evaluation Department, National Institute of Food and Drug Safety Evaluation, Korea Food and Drug Administration, 643 Yeonje-ri, Gangoe-myeon, Cheongwon-gun, Chungcheongbuk-do 363-951, Korea  
Tel : 82-43-719-4301, Fax : 82-43-719-4300  
E-mail : kvoyou@korea.kr

및 초기 미생물 분포 등의 내부적인 요인(intrinsic factor)과 식품의 생산과 저장기간 동안 식품에 존재하는 미생물의 생장에 미치는 요인인 온도, 포장방법 및 습도 등의 외부적인 요인(extrinsic factor)을 수식에 포함시켜 미생물의 성장이나 사멸을 예측하고 그 결과를 토대로 식품에서 발생할 수 있는 위해요인을 사전에 차단하여 식품의 안전성 확보에 활용된다<sup>13-16)</sup>.

1980년대 이후 수학적 기법을 활용한 미생물 성장예측모델은 컴퓨터 기술과 결합하여 급속한 성장을 나타냈으나, 환경내 존재하는 요인의 다양성과 변이성을 설명할 수 있는 확률적 통계 모델의 활용 및 미생물의 생리적 특성을 완벽히 반영하는 데는 미흡한 수준이다<sup>17-20)</sup>. 미생물 성장예측모델의 이러한 한계점에도 불구하고 식품업계의 위생관리 강화, 정부의 미생물 관리기준 적합성 평가 등 현장에서의 활용이 점차 확대될 것으로 예상된다<sup>21)</sup>.

훈제연어는 전세계적으로 널리 섭취되며, 대부분이 냉장·냉동으로 유통되면서 샐러드 등으로 열처리를 하지 않고 바로 섭취하는 식품으로 알려져 있어, 저온성 세균인 *L. monocytogenes*에 의한 오염 및 오염 가능성이 상당히 높을 것으로 판단된다. 이에 본 연구에서는 훈제연어에서의 *L. monocytogenes* 성장을 예측할 수 있는 수학적 모델을 개발하여 식중독 예방을 위한 관리방안 마련과 위해평가 등에 활용하고자 하였다.

## 재료 및 방법

### 표준균주

본 연구에 사용된 표준균주는 *L. monocytogenes* ATCC 19113(isolated from human), 19115(isolated from human), 19116(isolated from chicken) 및 19117(isolated from sheep)으로 American Type Culture Collection(ATCC)에서 분양받았으며, 미생물 자동동정기 VITEK 2 compact system (Biomérieux, France)을 통해 확인 후 실험에 사용하였다. 또한 PCR을 이용한 hemolysin 생산 유전자(*hly*)와 internalin 생산 유전자(*inl*) 확인시험에도 *L. monocytogenes*로 판명되었다(data not shown). 최종 동정이 완료된 균주는 tryptic soy broth (TSB, Difco Laboratories, Detroit, MI, USA)에 전 배양하여 1 ml을 vial tube에 50% glycerol를 첨가하여 -70°C에 동결보관하면서 실험에 사용하였다.

### 시험 균액의 제조

동결 보존된 표준균주를 냉장온도에서 녹인 후 TSB에 접종하여 35°C에서 24시간 전배양한 후 Nutrient Agar (NA, Difco Laboratories, Detroit, MI, USA)에 도말하여 24시간 배양하였다. 평판배지 상에서 성장한 각각의 균을 백금이를 사용하여 멸균 생리식염수에 현탁하여 4°C에서 10,000 × g로 5분 동안 원심분리하여 균체를 얻고 이를 0.1% 펩톤수로

로 2회 세척한 후, 0.1% 펩톤수를 이용해 단계 희석한 각각의 균주를 합쳐 4 log CFU/ml 수준의 농도를 지닌 cocktail을 제조하고 이를 시험 균액으로 하였다.

### 훈제연어 시료

훈제연어는 서울 소재의 대형마트에서 구입하여 ice box에 담아 4시간 이내에 실험실로 이동하였고, 식품공전의 미생물 확인 시험법으로 *L. monocytogenes* 오염 여부를 확인한 후, 비 오염 시료만을 성장예측모델 개발에 사용하였다<sup>22)</sup>.

### Sample 제조 및 균수측정

멸균팩에 *L. monocytogenes*가 오염되지 않은 사실이 확인된 훈제연어 25 g을 넣고 시험 균액 1 ml을 접종한 후 마사지를 통해 균질화하였다. 이렇게 제조된 시료는, 훈제연어의 주요 생산 및 유통 공정에서 *L. monocytogenes* 성장과 관련한 중요한 인자로 선택된 시간과 온도 변수에 따라 4, 10, 20 및 30°C에서 1, 2, 3, 4, 5, 7, 9, 12, 15, 24, 36, 48, 60, 72, 96, 120, 144, 168, 192, 216, 240, 288, 336시간 보관하며 실험에 사용되었다. 각각의 실험은 2회 반복하였고 각 시료는 duplicate 이상 채취하여 분석하였다.

각 조건별로 배양된 훈제연어가 담긴 멸균팩에 0.1% 펩톤수로 10배 희석하여 stomacher를 이용하여 균질화 하였다. 0.1% 펩톤수로 균질화된 시험용액을 단계 희석한 후 각 단계별 희석액 100 μl를 취하여 PALCAM Agar (Difco Laboratories, Detroit, MI, USA) 표면에 spreader를 이용하여 plating 한 다음 30°C에서 24시간 배양 후 갈색과 검정색을 띄는 전형적 집락의 colony를 계수하였다.

### Gompertz model의 적용

균의 sigmoid한 형태의 성장을 표현하기 위해 사용하는 연속 함수의 대표적인 식으로 Gompertz model equation, Logistic model equation 등이 있다. 이중 Gompertz가 인구 동태의 조사결과를 경험식으로 제시한 Gompertz model equation은 현재 상용화되고 있는 Pathogen Modeling Program 등의 개발과 본 연구에 사용되어 졌다<sup>23-27)</sup>. 시간 경과에 따른 생균수 값을 반복실험을 통해 구하고 *L. monocytogenes*의 최대증식속도(SGR)와 유도기(LT)를 Graphpad PRISM version 4 (Graphpad Software, San Diego, USA) 프로그램을 이용하여 도출하였다.

$$\log(N) = N_0 + C(\exp(-\exp((2.718 * \mu_{\max}/C) * (\text{Lag} - X) + 1)))$$

$\log(N, \log_{10} \text{ CFU.g})$  = Log count of bacteria at time (in hours)

$N_0(\log_{10} \text{ cfu/g})$  = Log count of bacteria at initial count

$C(\log_{10} \text{ cfu/g})$  = Difference between initial and final cell numbers

$\mu_{\max}(\log_{10} \text{ cfu/h})$  = Maximum Specific Growth Rate

Lag(h) = Lag Time

X(h) = time

**Parameter 산정 및 모델개발**

도출된 최대증식속도(SGR)와 유도기(LT)의 온도 및 초기 오염균수와 상관계 규명을 위해 Gompertz model equation 을 통해 구한 SGR과 LT 값을 수학적 정량평가모델인 Polynomial model equation에 적용하고 Gompertz model과 동일하게 Graphad PRISM version 4(Graphad Software. San diego. USA) 프로그램을 이용하여 도출된 매개변수를 Polynomial model equation에 대입하여 모델을 개발하였다<sup>28-31</sup>.

$$Y = A + B*Temp + C*Temp^2$$

A, B, C = Constant

Temp = Temperature

**성장에측모델의 적합성 평가**

개발된 *L. monocytogenes* 성장예측모델식을 평가하고자 통계적 지표인  $A_f$ (Accuracy factor)와  $B_f$ (Bias factor)를 산출하였다<sup>32-34</sup>.

**결과 및 고찰**

**온도별 *L. monocytogenes* 성장패턴**

훈제연어에서 *L. monocytogenes*의 성장은 Fig. 1과 같고 30°C를 제외한 다른 온도에서는 모두 3시간 이내에 성장이 없는 것으로 나타났으며 4°C는 260시간, 10°C는 96시간, 및 20°C는 5시간 이후에 성장이 나타나기 시작했다. 온도별 최대 성장은 30°C 24시간, 20°C 72시간, 10°C 364시간, 4°C 384시간에서 8.57, 8.50, 7.58, 5.57 log CFU/g 수준으로 확인되었다. 본 연구를 비롯한 다른 연구에서도 *L. monocytogenes*는 10°C 이하의 냉장 온도에서도 성장하는 것으로 알려져 있어, 제조 가공 단계의 미생물학적 안전성 확보와 유통과정 중의 위생적 취급 및 관리온도 등의 중요성이 다시 한번 부각되었다.

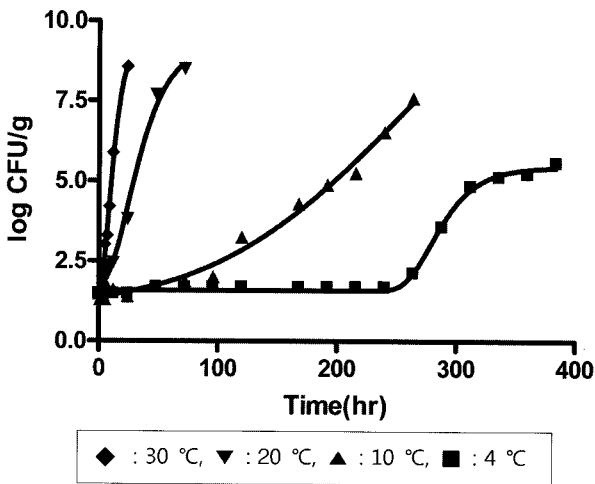


Fig. 1. Growth pattern of *L. monocytogenes* in smoked salmon during the storage.

**배양온도에 따른 *L. monocytogenes* 생육 지표의 변화**

훈제연어의 *L. monocytogenes* 최대증식속도(SGR)와 유도기(LT)에 미치는 온도 영향을 Table 1에 나타내었다. 온도가 높아질수록 최대증식속도(SGR)는 증가하여 30°C에서 0.450으로 최대값을 보였고 반대로 온도가 높아질수록 유도기(LT)는 짧아지는 것으로 나타났으며 4°C에서 최대 257.2 시간으로 나타나 훈제연어의 *L. monocytogenes* 최대증식속도(SGR)와 유도기(LT)는 모두 온도에 따라 유의적 차이가 있는 것으로 나타났다. 박 등<sup>35</sup>의 연구 결과인 김밥에서 *L. monocytogenes*의 최대성장속도(SGR)는 본 연구와 동일하게 10°C(0.142), 20°C(0.252), 30°C(0.527)로 온도에 비례하여 증가하였고, 최대성장속도 값을 가지고 단편적 비교를 실시할 경우 훈제연어의 최대성장속도(SGR) 보다 낮아 김밥보다는 훈제연어에서 *L. monocytogenes*의 증식속도가 빠른 것으로 확인되었다. 이러한 결과는 *L. monocytogenes*의 식품 이용능 차이, 식품 자체의 자연균총 오염도 및 종류 등의 차이에 의해 기인된 것으로 사료된다<sup>36</sup>.

**온도 변화에 따른 최대증식속도 및 유도기의 정량평가 모델**

온도 변화에 따른 훈제연어의 *L. monocytogenes* 성장을 정량적으로 예측하기 위하여 Polynomial model을 이용하였

Table 1. Observed specific growth rate (SGR), lag time (LT) and R<sup>2</sup> values of *L. monocytogenes* in smoked salmon by the Gompertz model

| Temperature | Gompertz model |       |                |
|-------------|----------------|-------|----------------|
|             | SGR            | LT    | R <sup>2</sup> |
| 4           | 0.067          | 257.2 | 0.994          |
| 10          | 0.040          | 111.4 | 0.989          |
| 20          | 0.158          | 6.918 | 0.989          |
| 30          | 0.450          | 2.195 | 0.993          |

Table 2. Dependent variables for Secondary model about specific growth rate (SGR) and lag time (LT) of *L. monocytogenes* in smoked salmon

| Parameter      | Polynomial model equation |        |
|----------------|---------------------------|--------|
|                | SGR                       | LT     |
| A              | 0.1162                    | 365.3  |
| B              | -0.01674                  | -31.94 |
| C              | 0.0009303                 | 0.6661 |
| R <sup>2</sup> | 0.999                     | 0.985  |

Table 3. Developed model for effect of temperature on the specific growth rate (SGR) and lag time (LT) of *L. monocytogenes* in smoked salmon by Polynomial model

| Polynomial model for | Equation                             |
|----------------------|--------------------------------------|
| SGR                  | = 0.1162 - 0.01674*T + 0.0009303*T*T |
| LT                   | = 365.3 - 31.94*T + 0.6661*T*T       |

**Table 4.** Observed and predicted data about specific growth rate (SGR) and lag time(LT)

| Temperature | SGR      |           | LT       |           |
|-------------|----------|-----------|----------|-----------|
|             | observed | predicted | observed | predicted |
| 4           | 0.067    | 0.064     | 257.2    | 248.198   |
| 10          | 0.040    | 0.042     | 111.4    | 112.51    |
| 20          | 0.158    | 0.154     | 6.918    | 13.56     |
| 30          | 0.450    | 0.451     | 2.195    | 6.59      |

**Table 5.** Statistical indices of the secondary modeling step for specific growth rate (SGR) and lag time (LT) of *L. monocytogenes* in smoked salmon

| Polynomial model for | $B_f$ | $A_f$ |
|----------------------|-------|-------|
| SGR                  | 1.01  | 1.03  |
| LT                   | 1.55  | 1.58  |

다. Polynomial model equation에서 A, B, C는 상수이며 이에 해당되는 parameter 값과 통계적 분석치를 Table 2에 나타내었다. 훈제연어의 *L. monocytogenes* 최대성장속도(SGR)와 유도기(LT)에 관한 모델 식은 Table 3와 같고 이들의 상관계수( $R^2$ )는 0.9995와 0.9856으로 나타났다.

**성장예측모델의 적합성 평가**

2차 모델을 통해 개발된 모델을 통해 Table 4와 같이 측정값과 예측값을 이용해  $B_f$ 와  $A_f$ 를 산출하여 모델의 통계적 적합성을 평가하였다(Table 5). 훈제연어의  $B_f$ 와  $A_f$ 는 최대성장속도(SGR)의 경우 0.98, 1.06, 유도기(LT)의 경우 1.60, 1.63으로 나타나 유도기(LT)에 비하여 최대성장속도(SGR)에 관한 모델의 적합성이 더 뛰어난 것으로 나타났다.

**요 약**

훈제연어의 *L. monocytogenes*에 대한 식중독 안전관리 방안 마련 및 위해평가 수행 등을 위하여 성장예측모델을 개발하였다. 미생물 성장예측모델 개발 방법은 대상 식품 및 환경 조건에 따라 다양하며 통계적으로 유용한 모델을 사용하여야 하기에 본 연구에서는 미생물 성장예측모델 개발에 널리 사용되어 그 적용성이 검토된 Gompertz model과 Polynomial model equation을 이용하여 훈제연어의 *L. monocytogenes* 최대성장속도(SGR) 및 유도기(LT)에 관한 예측모델을 개발하였다. 개발된 모델의 적합성 평가를 위해  $B_f$ 와  $A_f$  factor를 산출하였고 최대성장속도(SGR)의 경우 0.98, 1.06, 유도기(LT)의 경우 1.60, 1.63으로 나타나 유도기의 적합성이 최대성장속도에 비하여 떨어지는 것으로 확인되었다. 본 연구에서 개발된 훈제연어에서의 *L. monocytogenes* 성장속도에 관한 모델은, 수산업, 특히 훈제연어 생산, 가공, 보관 및 판매업에 다양한 방면으로 활용 가능할 것으로 판단되며, 더욱 정확한 예측모델 개발을 위해서는 다양한 변수에 따른

미생물의 성장패턴 변화 등에 관한 연구가 추가적으로 시행되어야 할 것으로 생각되어 진다.

**참고문헌**

- Alexandros, T., Nikoleta, Z. and Antonia S. G.: Study of the effect of lethal and sublethal pH and  $a_w$  stresses on the inactivation or growth of *Listeria monocytogenes* and *Salmonella Typhimurium*, Food microbiology, **134**, 104-112 (2009).
- Boziaris, I.S., Skandamis, P.N., Anastasiadi, M. and Nychas, G.: Effect of NaCl and KCl on fate and growth/no growth interfaces of *Listeria monocytogenes* Scott A at different pH and nisin concentrations, Applied Microbiology, **102**, 796-805 (2006).
- FAO/WHO: Risk assessment of *Listeria monocytogenes* in ready-to-eat foods, Technical report, [FAO/WHO] Microbiological risk assessment series (No. 5, 307).
- FDA: *Listeria*. <http://www.fda.gov/womens/getthefacts/listeria.html>. (2005).
- Food Standards Agency: Increased incidence of listeriosis in the UK. <http://www.food.gov.uk/consultations/consulteng/2008/acmsflisteriosis> (2009).
- Cornelius, A.J., Hudson, J.A. and Wong, T.L.: Enumeration and growth of naturally occurring *Listeria* spp. in unpackaged ham, Food Microbiology, **25**, 407-412 (2008).
- Bahk, G.J., Kim, S.J., Sim, W.C., Chun, S.J., Choi, E.Y., Choi, W.S. and Hong CH: Estimation of contamination level of *Listeria monocytogenes* in meat and meat products using probability approaches, J. Fd Hyg. Safety **18**, 107-112 (2003).
- Lake, R., Hudson, A., Cressey, P. and Nortje, G.: Risk profile: *Listeria monocytogenes* in processed ready-to-eat meats. Institute of Environmental Science & Research, <http://www.nzfsa.govt.nz/science/riskprofiles/listeria-in-rte-meat.pdf>.
- Bahk, G.J., Oh, D.H., Ha, S.D., Park, K.H., Joung, M.S., Chun, S.J., Park, J.S., Woo, G.J. and Hong, C.H.: Quantitative microbial risk assessment model for staphylococcus aureus in Kimbab. *Korean J. Food Sci. Technol.*, **37**, 484-491 (2005).
- Afshin, A.B., Misaghi, A. and Khaschabi, D.: Growth response and modelling of the effects of *Zataria multiflora* Boiss. essential oil, pH and temperature on *Salmonella Typhimurium* and *Staphylococcus aureus*, Lebensmittel - Wissenschaft + Technologie, **40**, 973-981 (2006).
- Amit, P., Theodore, P.L. and Francisco, D.: Comparison of primary predictive models to study the growth of *Listeria monocytogenes* at low temperatures in liquid cultures and selection of fastest growing ribotypes in meat and turkey

- product slurries: *Food microbiology*, **25**, 460-470 (2008).
12. Baranyi, J. and Roverts, T.A.: A dynamic approach to predicting bacterial growth in food, *Food microbiology*, **23**, 277-294 (1994).
  13. Hong, C.H., Sim, W.C., Chun, S.J., Kim, Y.S., Oh, D.H., Ha, S.D., Choi, W.S. and Bahk, G.J.: Predictive growth model of native isolated *Listeria monocytogenes* on raw pork as a function of temperature and time. *Korean J. Food Sci. Technol.*, **37**, 850-855 (2005).
  14. Moon, S.Y., Woo, G.J. and Shin, I.S.: Development of predictive growth model *Listeria monocytogenes* using mathematical quantitative assessment model. *Korean J. Food Sci. Technol.*, **37**, 194-198 (2005).
  15. Chen H: Use of linear, Weibull, and log-logistic functions to model pressure inactivation of seven foodborne pathogens in milk, *Food Microbiology*, **24**, 197-204 (2007).
  16. Delignette-Muller, M.L., Cornu, M., Pouillot, R. and Denis, J.B.: Use of Bayesian modelling in risk assessment: Application to growth of *Listeria monocytogenes* and food flora in cold-smoked salmon, *Food microbiology*, **106**, 195-208 (2006).
  17. Oh, D.H., Rahman, S.M.E., Kim, J.M. and Park, G.J.: The statistics probability analysis of pork-cutting processing conditions for microbial risk assessment. *J. Food Hyg. Safety.*, **24**, 63-68 (2009).
  18. Grijspeerdt, K., Kreft, J.U. and Messens, W.: Individual-based modelling of growth and migration of *Salmonella enteritidis* in hens' eggs, *International Journal of Food Microbiology*, **100**, 323-333 (2005).
  19. Hajmeer, M., Basheer, I., Hew, C. and Clive DO: Modeling the survival of *Salmonella* spp. in chorizos, *International Journal of Food Microbiology*, **107**, 59-67 (2006).
  20. Heo, C., Choi, Y.S., Kim, C.J. and Paik HD: Estimation of shelf-life of frankfurter using predictive models of spoilage bacterial growth, *Korean J. Food Sci. Ani. Resour.*, **28**, 289-295 (2009).
  21. Heo, C., Kim, H.W., Choi, Y.S., Kim, C.J. and Paik, H.D.: Application of predictive microbiology for shelf-life estimation of Teokgalbi containing dietary fiber from rice bran, *Korean J. Food Sci. Ani. Resour.*, **28**, 232-239 (2008).
  22. KOREA Food and Drug Administration, Food Code. (2008).
  23. FAO/WHO: Principles and guidelines for incorporating microbiological risk assessment in the development of food safety standards, guidelines and related textes, Report of a Joint FAO/WHO Consultation, Kiel, Germany, 18-22 (2002).
  24. Gimenez, B. and Dalgaard, P.: Modelling and predicting the simultaneous growth of *Listeria monocytogenes* and spoilage micro-organisms in cold-smoked salmon, *Journal of applied microbiology* **96**, 96-109 (2004).
  25. Isabel, W. and Virginia, N.S.: Use of predictive microbiology in microbial food safety risk assessment. *International Journal of Food Microbiology*, **36**, 97-102 (1997).
  26. Jagannath, A., Nakamura, I. and Tsuchido, T.: Modelling the combined effects of pH, temperature and sodium chloride stresses on the thermal inactivation of *Bacillus subtilis* spores in a buffer systems, *Journal of applied microbiology*, **95**, 135-141.
  27. Juneja, V.K., Eblen, B.S. and Marks, H.M.: Modeling non-linear survival curves to calculate thermal inactivation of *Salmonella* in poultry of different fat levels, *International journal of food microbiology*, **70**, 37-51 (2001).
  28. Kim, S.R., Rhee, M.S., Kim, B.C., Lee, H. and Kim, K.H.: Modeling of the inactivation of *Salmonella typhimurium* by supercritical carbon dioxide in physiological saline and phosphate-buffered saline, *J Microbiol Methods*, **70**, 132-141 (2007).
  29. Koseki, S. and Isobe, S.: Prediction of pathogen growth on iceberg lettuce under real temperature history during distribution from farm to table, *International Journal of Food Microbiology*, **104**, 239-248 (2005).
  30. Koseki, S., Mizuno, Y. and Yamamoto, K.: Predictive modelling of the recovery of *Listeria monocytogenes* on sliced cooked ham after high pressure processing, *International Journal of Food Microbiology*, **119**, 300-307 (2007).
  31. López, S., Prieto, M., Dijkstra, J., Dhanoa, M.S. and France, J.: Statistical evaluation of mathematical models for microbial growth, *International journal of food microbiology*, **96**, 289-300 (2004).
  32. Miles, D.W., Ross, T., Olley, J. and Mcmeekin, T.A.: Development and evaluation of a predictive model for the effect of temperature and water activity on the growth rate of *Vibrio parahaemolyticus*, *International Journal of Food Microbiology* **38**, 133-142 (1997).
  33. Moon, S.Y., Woo, G.J. and Shin, I.S.: Development of predictive growth model of *Listeria monocytogenes* using mathematical quantitative assessment model, *Korean J. food sci. technol.*, **37**, 194-198 (2005).
  34. Pal, A., Labuza, T.P. and Diez-Gonzalez, F.: Comparison of primary predictive models to study the growth of *Listeria monocytogenes* at low temperatures in liquid cultures and selection of fastest growing ribotypes in meat and turkey product slurries, *Food Microbiology*, **25**, 460-470 (2008).
  35. Park, S.Y., Choi, J.W., Yeon, H.J., Lee, M.J., Chung, D.W., Kim, M.G., Lee, K.H., Kim, K.S., Lee, D.H. and Bahk, G.J.: Predictive Modeling for the Growth of *Listeria monocytogenes* as a Function of Temperature, NaCl, and pH, *Journal of Microbiology and Biotechnology* **15**, 1323-1330 (2005).
  36. Zuliani, V., Lebert, I., Augustin, J.C., Garry, P. and Lebert, A.: Modelling the behaviour of *Listeria monocytogenes* in ground pork as a function of pH, water activity, nature and concentration of organic acid salts, *Applied Microbiology*, **103**, 536-550 (2006).