

파프리카에서 병원성 대장균의 성장예측 모델 개발 및 검증

윤혜정 · 김주희 · 박경훈 · 류경열 · 김병석*

농촌진흥청 국립농업과학원 유해생물팀

Development and Validation of Predictive Models of *Esherichia coli* O157:H7 Growth in Paprika

Hyejeong Yun, Juhui Kim, Kyeonghun Park, Kyoung-Yul Ryu, and Byung Seok Kim*

Microbial Safety Team, National Academy of Agricultural Science, RDA, Suwon 441-707, Korea

(Received May 22, 2012/Revised January 10, 2013/Accepted May 27, 2013)

ABSTRACT - This study was carried out to develop and validate predictive models of *E. coli* O157:H7 growth. Growth data of *E. coli* O157:H7 in Paprika were collected at 12, 24, 30 and 36°C. The population increased into 3.0 to 3.8 log₁₀ CFU/g within 4 days, then continued to increase at a slower rate through 10 days of storage at 12°C. The lag time (LT) and maximum specific growth rate (SGR) obtained from each primary model was then modeled as a function of temperature using Davey and square root equations, respectively. For interpolation of performance evaluation, growth data for a mixture of *E. coli* O157:H7 were collected at time intervals in paprika incubated at the different temperatures, which was not used in model development. Results of model performance for interpolation data demonstrated that induced secondary models showed acceptable goodness of fit. Relative errors in the LT and SGR model for interpolation data (18 and 27°C) was 100%, which show acceptable goodness of fit and validated for interpolation. The primary and secondary models developed in this study can be used to establish tertiary models to quantify the effects of temperature on the growth of *E. coli* O157:H7 in paprika.

Key words: *E. coli* O157:H7, fresh produce, Paprika, growth model, validation

서 론

식중독균들은 토양, 오염된 관개수, 비위생적인 취급 등을 통해 농산물에 오염된다. 대부분의 신선식품은 일반적으로 병원체를 사멸시키거나 또는 그 수를 감소시키는 가공공정의 과정을 거치지 않기 때문에 병원성 미생물에 의한 업체류의 오염은 농산물 안전에 영향을 줄 수 있다^{1,2)}.

우리나라의 경우, 2010년도 세균성 식중독 원인 1위는 병원성대장균이었으며 병원성 대장균 중에는 *E. coli* O157:H7의 위험성이 가장 널리 알려져 있다. 신선편의식품을 비롯한 여러 식품에서 *E. coli* O157:H7은 음성 기준이 설정되어 있다. 국외의 경우, 독일에서 2011년 5월부터 7월 26일까지 941건의 식중독에 의해 3,910명의 환자가 발생하였고, 이 중 46명이 사망한 식중독사고가 발생한 바

있다³⁾.

파프리카는 매운맛이 덜하고 강한 단맛이 특징이며, 카로티노이드의 우수공급원인 동시에 발암억제 및 면역력 강화 등 다양한 효과가 있는 것으로 알려져 있다⁴⁾. 칼로리와 영양소만을 중시하던 예전과 달리 현대사회에서는 건강지향성과 편의성이 강조되고 있으며 이와 함께 파프리카의 소비도 증가하고 있다⁵⁾.

현재까지 우리나라에서 파프리카에 의한 식중독 사고의 보고 사례는 없으나, 과일과 야채 등의 과채류에서 비롯된 식중독 사례는 2006년 이후 매년 10건 내외로 꾸준히 발생하고 있어, 파프리카에 대한 식중독 관리가 필요하다⁶⁾. 또한 전 세계적으로 과일 및 채소류가 원인이 되는 식중독 사고가 증가하고 있는 추세로 신선채소에서 *E. coli* O157:H7에 의한 사고가 빈번히 보고 되고 있다⁷⁾.

대장균은 사람과 온혈동물의 장관 내에 있는 정상 상재 세균으로, 장관 외 감염에 있어 화농성질환 등의 원인이 될 수는 있으나 식중독을 일으키지는 않는다. 하지만 일부 대장균 중에는 유아의 전염성 설사증이나 성인의 급성장염을 일으키는 대장균이 있으며, 이러한 대장균을 병원성

*Correspondence to: Byung Seok Kim, Microbial Safety Team, National Academy of Agricultural Science, RDA, Suwon 441-707, Korea
Tel: 82-31-290-0445, Fax: 82-31-290-0407
E-mail: kbs2000@rda.go.kr

대장균이라 한다. 병원성 대장균 식중독은 사람에게 병원성을 나타내는 각종 외래성 대장균이 오염된 식품을 섭취함으로써 일어난다⁸⁾.

이러한 *E. coli* O157:H7 균주는 잠복기간이 다른 식중독균에 비해 길고 초기증세를 알기 어려우며 미량의 균으로도 감염되는 등 지금까지와 전혀 다른 양상의 식중독을 유발시키므로 이러한 위험의 예방에 대한 관심이 집중되고 있다⁹⁾.

최근 식품의 위해요소에 대한 평가방법으로 예측 미생물 분야의 연구가 활발히 진행되고 있으며 그 중요성이 크게 대두되고 있다¹⁰⁾.

예측미생물학은 수분활성도, pH, 항균적 특성 및 초기 미생물 분포 등의 내부적인 요인과 식품의 생산과 저장기간 동안 식품에 존재하는 미생물의 성장에 미치는 요인인 온도, 포장방법 및 습도 등의 외부적인 요인을 수식을 포함시켜 병원균의 증식, 성장, 사멸에 대해 수학적으로 모델을 제공하여 예측하는 것이다¹¹⁻¹²⁾.

본 연구는 파프리카에서 *E. coli* O157:H7의 성장예측 모델을 개발하고 검증하여 위해평가에 필요한 자료를 제공하고자 수행하였다.

재료 및 방법

시료 준비

본 실험의 재료인 파프리카는 수원시 대형마트에서 구입하였다. 시료는 10 g씩 자른 후 파프리카에 존재하는 미생물을 제거하기 위해 흐르는 물에 2회 세척하고 1시간 동안 UV등을 이용하여 조사하여 사용하였다. 준비된 시료는 2차 오염을 방지하기 위해 clean bench 내에서 취급하였다.

균액제조 및 접종

실험에 사용된 시험균주는 *E. coli* O157:H7 (ATCC43889)로 한국미생물보존센터에서 제공받았다. 균주는 Tryptic soy broth (TSB, Difco, USA)에 접종하여 36°C에 24시간 배양한 후 사용하였다. 이 균액은 0.1% 펩톤수로 단계적으로 희석하여 사용하였다. 균 접종은 일반적인 오염수준을 고려하여¹³⁾, 파프리카 표면에 희석한 균액 50 ul를 분주한 뒤, 균액이 표면에 부착되도록 clean bench에서 30분 건조하여 사용하였다. 초기 균수가 3 log CFU/g 가 되도록 조정하였다. 파프리카를 섭취하기 전까지 *E. coli* O157:H7의 성장과 관련된 중요한 환경인자는 보관 온도이므로 이를 주요 변수로 설정하였다. 온도는 파프리카에서 *E. coli* O157:H7 성장 가능한 최소온도와 최적온도를 고려하여, 12, 24, 30, 36°C로 결정하였다. 저장기간은 시간에 따른 온도별 균의 성장속도를 고려하여, 각 시간대별로 시료를 채취하여 분석하였다. 모든 실험은 3회 반복하였다.

균수 측정

온도별로 저장하면서 각 시간대별로 채취한 시료를 멸균 배에 넣고 10배의 0.1% 펩톤수로 희석 한 후, stomacher로 1분간 균질화하였다. 각각의 균질화된 시료를 EMB agar 표면에 200 ul 분주하여 spread 한 후, 37°C에서 24시간 배양하였다. 배양 후 녹색광택을 띠는 colony를 계수하였다.

성장에측모델 개발

GraphPad Prism (version 4.0, San Diego, USA)을 사용한 Gompertz model¹⁴⁾을 적용하여 *E. coli* O157:H7의 성장곡선을 작성하였으며, 배양 온도에 따른 *E. coli* O157:H7의 생육변수인 lag time (LT, h)과 specific growth rate (SGR, log CFU/h)을 산출하였다.

Gompertz 식은 다음과 같다.

$$Y_t = N_0 + C \times \exp\{-\exp[(2.718 \times \text{SGR}/C) \times (LT - t) + 1]\}$$

Y_t : the viable cell count (log CFU per gram)

N_0 : the initial log number of cells

C : the difference between the initial and final cell number

2차 모델로 온도의 영향에 따른 LT와 SGR을 예측하기 위하여 Davey model과 Square-root model¹⁵⁾을 사용하였다. Davey model식은 다음과 같다.

$$Y = a + (b/T) + (c/T^2)$$

Y : LT (day),

a , b , and c : regression coefficients without biological meaning

T : temperature.

Square-root model 식은 다음과 같다¹⁶⁾.

$$Y = \{b(T - T_{\min})\}^2$$

Y : SGR (log CFU/ day)

B : regression coefficient

T : temperature,

T_{\min} : the notational minimum growth temperature.

모델의 적합성 평가

개발된 *E. coli* O157:H7 성장예측 모델의 적합성 평가는 coefficient of determination (R^2), bias factor (Bf), accuracy factor (Af) 값을 사용하였다. R^2 은 회귀분석식에서 종속변수 y 의 데이터 Y_i 에 대하여 y_i 의 총변동합에 대한 변동합의 비율을 구한 값으로서 0에서 1사이의 값을 나타낸다. 이 값이 1에 가까울수록 적합도가 높아진다¹⁷⁾.

Bf는 실험을 통해 얻어진 실험값과 유도된 2차 모델식에서 얻어진 평균 차이를 평가한 것으로 1에 가까울수록 정확할 것이다. 1보다 작은 경우는 과소 예측된 것이며, 1보다 크면 과대 예측된 것이다. 0.7보다 작거나 1.5보다 큰 값을 나타내면 모델이 적합하지 않아 사용이 불가능하다¹⁸⁾.

Af는 실험을 통해 얻어진 실험값과 유도된 2차 모델식

에서 얻어진 평균 차이의 절대값을 평가한 것으로 값이 커질수록 부정확하다. 이 값은 1.3-1.5일 때 가장 적합성이 높다¹⁹⁾.

$$Bf \text{ for LT} = 10 \sum \log(\text{predicted}/\text{observed})/n$$

$$Af \text{ for LT} = 10 \sum \log(\text{predicted}/\text{observed})/n$$

$$Bf \text{ for SGR} = 10 \sum \log(\text{observed}/\text{predicted})/n$$

$$Af \text{ for SGR} = 10 \sum \log(\text{observed}/\text{predicted})/n$$

N: the number of prediction cases used in the calculation.

개발된 모델의 범위 내에서 모델개발에 사용하지 않은 온도(18, 27°C)를 선정하여 위와 동일한 방법으로 실험하여 an acceptable prediction zone 방법을 이용하여 평가하였다. 24, 30°C에서 개발된 모델의 예측값과 실험값을 비교하여 모델의 적합성을 검증하였다.

상대적인 오차 값(RE)은 다음과 같다.

$$RE \text{ for LT} = [(\text{predicted} - \text{observed})/\text{predicted}]$$

$$RE \text{ for SGR} = [(\text{observed} - \text{predicted})/\text{predicted}]$$

상대적인 오차 값이 음수일 때에는 안전하게 예측된 것이며, 양수일 때에는 위험하게 예측된 것이다²⁰⁾. 상대적인 오차의 평균값과 절대값의 평균값은 성장예측 모델의 경향과 정확성 평가에 사용하였다. 허용 가능한 상대적인 오차의 범위는 -30% (안전 예측)에서 15% (위험 예측)이다. 각 온도의 상대적 오차 값이 허용 가능한 오차범위 내에 70%이상 포함 되는 경우에 개발된 성장 예측 모델이 적합하다고 판단하였다²¹⁾.

통계분석

모든 실험은 3회 반복 실시하며, 얻어진 결과들은 SAS software (1995)에서 프로그램화시킨 general linear model procedure을 수행하였고 분산분석 후 유의적인 차이가 보일 경우에 평균값 간 차이를 Student-Newman-Keul의 다중검정법을 사용하여, p < 0.05일 경우에 유의한 차이가 있는 것으로 평가하였다.

결과 및 고찰

온도에 따른 E. coli O157:H7 균수 변화

Fig. 1은 온도에 따른 파프리카에서 E. coli O157:H7 성장변화를 나타낸 것이다.

12°C 이하에서 E. coli O157:H7의 파프리카 초기오염농도는 3 log CFU/g를 유지하다가 3일 후 모두 사멸하였다. 김²²⁾은 학교급식의 고위험 식품에 Staphylococcus aureus (S. aureus) 접종을 통한 노출평가에서 10°C 냉장보관 시, 모든 식품에서 S. aureus는 처음에 접종한 수준을 유지하거나 감소하였다고 보고하였는데, 이는 본 연구에서 E. coli O157:H7의 결과와 같은 결과를 나타내었다.

12°C에서 보관된 파프리카는 50시간까지 초기오염도를

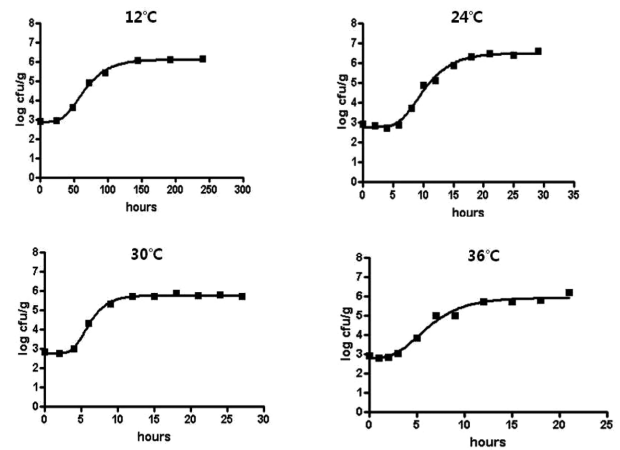


Fig. 1. First models of *E. coli* O157:H7 in paprika as a function of temperature (12 to 36°C).

유지하다가 50시간부터는 균수가 급격히 증가하다가 150시간 이후부터는 6 log CFU/g 수준으로 일정하게 유지되었다. 본 연구의 결과는 Mark 등 (2005)²³⁾의 연구에서 육류에서의 최대 농도가 9.57 log CFU/g 수준 이하였다는 연구결과와는 다소 차이를 보였는데, 이는 식품의 구성 성분의 차이에 따른 것으로 판단된다.

Khalci와 Frank²⁴⁾은 파슬리에서 E. coli O157:H7의 성장을 연구한 결과, 8°C에서 E. coli O157:H7이 성장하지 않았다고 보고하였다. 또한, 상치난 로메인에서 E. coli O157:H7은 8, 12°C에서 성장하지 않았으며, 15°C에서는 성장하는 경향을 보였다고 보고하였다.

Mark 등 (2005)²³⁾과 Khalci와 Frank²⁴⁾의 연구결과로부터 E. coli O157:H7의 최소 성장온도는 식품성분에 따라 다르게 나타나는 것을 확인할 수 있었다.

파프리카에 접종한 E. coli O157:H7은 25°C에서 5시간이 지나면서 증식이 빨라져 24시간에서는 최대수준인 6 log CFU/g으로 초기 접종농도에 비해 3 log CFU/g 증가하였다. 이러한 결과는, Oliveira²⁵⁾이 25°C 조건하에 조각 낸 로메인 상추 잎을 이용한 연구에서 E. coli O157:H7의 성장이 24시간 이내에 2.12~2.92 log CFU/g 증가하였다고 보고한 내용과 일치하는 경향성을 나타내었다.

전반적으로 24°C 이상의 조건에서는 접종 5시간 이내에 E. coli O157:H7의 균수가 증가하는 것으로 나타났는데, 이는 Strawn²⁶⁾ 등에 의한 망고와 파파야에서 온도별 E. coli O157:H7의 생장에 관한 연구 결과와 유사한 경향성을 나타내었다.

12, 24, 30, 36°C에서의 각 온도별 E. coli O157:H7 성장 결과로부터 온도와 균의 증식속도는 비례하여 나타난 것을 확인할 수 있었다. 따라서 파프리카를 안전하게 섭취하기 위해서는 적정 온도에서 보관 가능한 시간 관리를 통해 미생물 증식을 효과적으로 억제하는 것이 바람직하다.

Table 1. Growth kinetics values of primary models for *E. coli* O157:H7 in paprika

Temperature (°C)	Parameters ¹⁾		
	LT (h)	SGR (log CFU/h)	MPD
12	58.64 ^e	0.243 ^a	6.02 ^a
24	5.59 ^e	0.503 ^c	6.46 ^b
30	3.86 ^c	0.722 ^c	6.56 ^{cb}
36	2.66 ^a	0.878 ^f	6.20 ^c

¹⁾LT, lag time (h); SGR, specific growth rate (log CFU/h); MPD : maximum population density (log CFU/ml).

^{a-e)}Values in a column followed by the different letter are significantly different ($p < 0.05$).

***E. coli* O157:H7의 성장예측 모델 개발**

각 온도별 파프리카에 오염된 *E. coli* O157:H7의 생육 결과를 기초로 하여 온도에 따른 Gompertz model을 이용하여 증식속도(SGR)와 유도기(LT)를 산출하였다(Table 1). 1차 모델은 통계적 적합성을 나타내는 R² 값은 평균 0.98로 1에 근접하는 높은 적합성을 보였다^{17,27)}. 전반적으로 SGR값은 온도와 비례적으로 증가하였으며, LT 값은 온도와 반비례적으로 감소하는 경향을 나타냈다. SGR값은 온도에 따라 비례적으로 완만한 증가추세를 보였다. LT 값은 12°C에서 가장 높은 값을 나타내었고, 24°C까지 급격한 감소를 보이다가 생육최적조건인 36°C에서 최고 값을 보였다.

Table 2는 개발된 2차 모델의 식과 적합성을 나타낸 것이다. LT와 SGR model의 R²값은 각각 0.999, 0.994로 1에 근접하는 높은 적합성을 보였다. LT와 SGR model의 Bf값은 0.88, 1.00로 LT model의 예측값은 실험값보다 12% 빠르게 예측 되었으나 SGR은 실험값과 동일하게 예측되었다. LT와 SGR model의 Af 값은 1.13, 1.02로 1보다 크게 나타났다. LT와 SGR모델의 예측 값은 실험 값보다 느리게 예측되었으나, 모두 1.3-1.5 사이에 존재하기 때문에 개발된 모델은 허용 가능한 수준으로 예측되었다.

Model 적합성 평가

12, 24, 30, 36°C에서 실험하여 12-36°C 범위의 LT 및

Table 3. Model Performance of secondary models of *E. coli* O157:H7 in paprika for interpolation

Dataset	Model	Bf	Af	MRE	MARE	%RE
Interpolation	LT	0.98	1.18	-0.04	0.17	84
	SGR	1.00	1.04	-1.03	0.04	100

LT : Lag time, SGR: specific growth rate.

Bf : Bias factor.

Af: Accuracy factor.

MRE: The median relative error.

MARE : The mean absolute relative error.

% RE : The percentage of relative error.

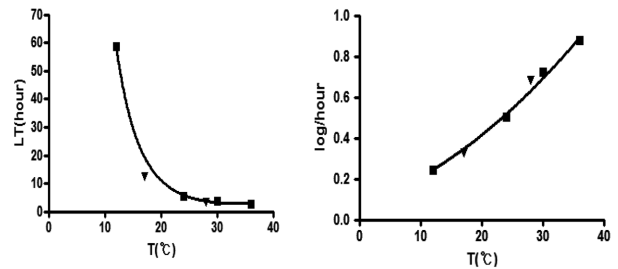


Fig. 2. Secondary LT and SGR models of *E. coli* O157:H7 in paprika as a function of temperature (12 to 36°C).

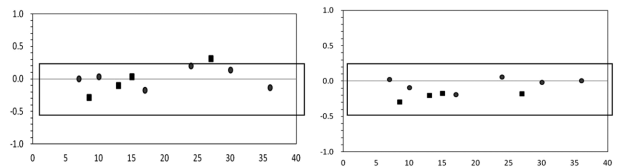


Fig. 3. Relative error plots with an acceptable prediction zone for lag time and specific growth rate.

SGR 의 2차 모델을 개발하였다. Table 3은 개발된 모델을 검증하기 위하여 모델 개발에 사용하지 않은 17, 28°C에서 실험하여 본 연구에서 개발된 모델의 예측 값과 비교하여 나타낸 것이다.

실험값과 예측 값이 정확하게 일치하지 않았으나 오차 범위 내에 존재하고 있어서, 개발된 모델은 적합하다고 평가하였다.

Table 2. Model Performance of secondary models of *E. coli* O157:H7 in paprika

Model	Goodness-of-fit R ^{2a}	Prediction bias		Prediction accuracy		Model equation
		Bf ^b	MRE ^c	Af ^d	MARE ^e	
LT ^f	0.999	0.88	-0.08	1.13	0.15	Y = 17.74 + (-1078/T) + (18821/T ²)
SGR ^g	0.994	1.00	-0.01	1.02	0.02	Y = (0.01874(T + 14.38)) ²

^aR² : Coefficient of determination.

^bBf : bias factor.

^cMRE : median relative error.

^dAf : Accuracy factor.

^eMARE : mean absolute relative error.

^fLT : Lag time (h).

^gSGR : Specific growth rate (log CFU/h).

Fig. 2는 실험에 사용한 데이터와 사용하지 않은 데이터 모두 LT와 SGR model에 일치하여 파프리카에서 *E. coli* O157:H7의 LT와 SGR model의 적합성을 보여주고 있다.

파프리카에서 LT와 SGR model의 B_f 값은 각각 1.01, 0.89를 나타내어, LT model은 안전하게 예측되었으나, SGR model은 위험하게 예측되었다. 예측된 LT와 SGR 값은 실제 실험값보다 각각 1% 느리게 그리고 11% 빠르게 예측되었다.

Fig. 3은 LT와 SGR model에 대한 an acceptable prediction zone을 이용하여 상대적인 오차 값을 나타낸 것이다. Fig. 3의 결과로부터, 파프리카의 LT와 SGR의 상대적인 오차 값은 모두 허용 가능한 범위에 포함되어 있는 것으로 확인되었다(percentage of RE = 100%).

요약

본 연구는 신선편이 식품에서 오염 가능성이 있는 병원성 식중독 균 *E. coli* O157:H7에 대해 파프리카에서 성장 예측 모델을 적용하고, 본 연구에서 개발된 성장 예측 모델을 내부 검증하였다. 이를 비교하여 신선편이 식품을 안전하게 관리하기 위한 적절한 모델을 제시하고자 하였다. 파프리카에 *E. coli* O157:H7 접종하여 온도에 따라 12, 24, 30, 36°C에 보관하여 성장을 측정하였다. Gompertz 식을 이용하여 온도에 따른 성장곡선을 그리고 LT와 SGR을 산출하였다. 산출된 LT와 SGR은 각각 Davey model과 square-root model를 이용하여 2차 모델을 개발하였다.

개발된 2차 모델에 대하여 LT와 SGR model의 R²값은 각각 0.999, 0.994로 1에 근접하는 높은 적합성을 보였다. 또한 내부 검증 결과 LT와 SGR model의 B_f 값은 각각 1.01, 0.89, LT model은 안전하게 SGR model 위험하게 예측되었다. 파프리카의 LT와 SGR의 상대적인 오차 값은 모두 허용 가능한 오차 범위에 포함되었다.

따라서 개발된 모델을 이용하여 온도에 따른 *E. coli* O157:H7 성장을 추정할 수 있으며, 이를 위해평가 자료로 활용할 수 있을 것으로 보인다.

감사의 글

본 연구는 농촌진흥청 국립농업과학원 농업과학기술 연구개발사업인 농식품 중 유해미생물 안전관리기반기술 개발(과제번호: PJ007614)의 지원에 의해 이루어진 것임.

참고문헌

1. FDA: Guidance for industry, Guide to minimize microbial food safety hazard for fresh fruits and vegetables. Available from: <http://csan.fda.gov>. Accessed Apr. 10, (2005).

2. Burnett, S.L. and Beuchat, L.R.: Human pathogens associated with raw produce and unpasteurized juices and difficulties in decontamination. *J. Int. Microbiol.* **27**, 104-110 (2001).

3. 구민성, 김현정: 병원성 대장균과 식중독-시가지독소 생산성 대장균을 중심으로. *Safe food* **6**, 23-24 (2011).

4. 조명숙, 이진수, 홍진숙: 파프리카를 첨가한 설기떡의 품질특성. *한국식품조리과학회지*, **24**, 333-339 (2002).

5. 유용만, 윤용남, Quan Juan Hua, 차광호, 이영하: 유통중인 파프리카, 딸기 및 토마토의 생물학적 위해요소 분포 조사, *한국식품위생안전성학회지*, **24**, 174-181 (2009).

6. 정승혜, 허명재, 주정화, 김경애, 오성숙, 고종명, 김용희, 임정수: 비가열 섭취 채소류의 미생물 오염도 조사, *한국식품위생안전성학회지*, **21**, 250-257 (2006).

7. 식품위약품안전청, 식중독발생동향 (2011).

8. Choi, H.S., Cho, M.C., Noh, S., Kim, M.N. and Kim, K.M.: Case of Verotoxin-producing *Escherichia coli* O157:H7 with Hemorrhagic Colitis in an infant, Diagnosed by multiplex PCR, *Korean J. Clin. Microbiol.* **13**, 85-89 (2010).

9. Nataro, J. P. and Kaper, J. B.: Diarrheagenic *Escherichia coli*. *Clinical Microbiol. Rev.* **11**, 132-201 (1998).

10. Koseki, S. and Isobe, S.: Prediction of pathogen growth on iceberg lettuce under real temperature history during distribution from farm to table. *J. Microbiol.* **119**, 300-307 (2007).

11. Bemarah, N., Sanaa, M., Cassin, M.H., Griffiths, M.W. and Cerf, O.: Quantitative risk assessment of human listeriosis from consumption of soft cheese made from raw milk. *Prev. Vet. Med.* **37**, 129-145 (1998).

12. Whiting, R.C.: Microbial modeling in foods. *Critical Rev. Food Sci. Nutr.* **35**, 467-494 (1995).

13. Yang, S.E., Yu, R.C. and Chou, C.C.: Influence of holding temperature on the growth and survival of *Salmonella* spp. and *Staphylococcus aureus* and the production of staphylococcus enterotoxin in egg products. *Int. J. food Microbiol.* **63**, 99-107 (2001).

14. Buchanan, R.L., Bagi, L.K., Goins, R.V. and Phillips, J.G.: Response surface models for the growth kinetics of *Escherichia coli* O157:H7. *Food Microbiol.* **10**, 303-315 (1993).

15. Baranyi, T., Robinson, T.P., Kaloti, A. and Mackey, B.M.: Predicting growth of *Brochothrix thermosphacta* at changing temperature. *Int. J. Food microbial.* **27**, 61-75 (1995).

16. Ratkowsky, D.A., Lowry, R.K., McMeekin, T.A., Stokes, A.N. and Chandler, R.E.: Model for bacterial culture growth rate through the entire biokinetic temperature range. *J. Bacteriol.* **154**, 1222-1226 (1983).

17. Duffy, L.L., Vanderline, P.B. and Grau, F.H.: Growth of *Listeria monocytogens* on vacuum-packed cooked meats: effects of pH, Aw, nitrite and sodium ascorbate. *Int. J. Food microbial.* **23**, 377-390 (1994).

18. Ross, R.: Predictive food microbiology models in the meat industry. Meat and Livestock Australia, Sydney, Australia, p. 196 (1999).

19. Ross, T: Indices for performance evaluation of predictive model in food microbiology. *J. Appl. Bacteriol.* **81**, 201-508 (1996).

20. Delignette-Muller, M.L., Rosso, L., Flandrois, J.P.: Accuracy

- of microbial growth predictions with square root and polynomial models. *Int. J. Food Microbiol.* **27**, 139-146 (1995).
21. Oscar, T.P.: Validation of Lag Time and Growth Rate Models for *Salmonella* Typhimurium: Acceptable Prediction Zone Method. *J. Food Sci.* **70**, 129-137 (2005).
 22. Kim, E.J.: Analysis of microbiological hazards and quantitative microbial risk assessment of *staphylococcus aureus* inoculated onto potentially hazardous foods in school service operations. MS thesis, Yonsei Univ., Seoul, Korea (2004).
 23. Mark L.T., Greg Paolib, B.S. and Marmera, J.P.: Models of the behavior of *Escherichia coli* O157:H7 in raw sterile groundbeef stored at 5 to 46°C. *Int. J. Food Microbiol.* **100**, 335-344 (2005).
 24. Khalil, R.K. and Frank, J.F.: Behavior of *Escherichia coli* O157:H7 on damaged leaves of spinach, lettuce, cilantro, and parsley stored at abusive temperatures. *J. Food Prot.* **73**, 212-220 (2010).
 25. Oliveira, M., Usall, J., Solsona, C., Alegre, I., Viñas, I. and Abadias, M.: Effects of packaging type and storage temperature on the growth of foodborne pathogens on shredded 'Romaine' lettuce. *Food Microbiol.* **27**, 375-380 (2010).
 26. Strawn, L.K. and Danyluk, M.D.: Fate of *Escherichia coli* O157:H7 and *Salmonella* spp. on fresh and frozen cut mangoes and papayas. *Food Microbiol.* **138**, 78-84 (2010)
 27. Sutherland, J.P., Bayliss, A.J., Braxton, D.S.: Predictive modelling of growth of *Escherichia coli* O157:H7: the effects of temperature, pH and sodium chloride. *Int. J. Food Microbiol.* **25**, 29-49 (1995).