

수학적 정량평가모델을 이용한 *Listeria monocytogenes*의 성장 예측모델의 개발

문성양 · 우건조¹ · 신일식*
강릉대학교 해양생명공학부, ¹식품의약품안전청

Development of Predictive Growth Model of *Listeria monocytogenes* Using Mathematical Quantitative Assessment Model

Sung-Yang Moon, Gun-Jo Woo¹, and Il-Shik Shin*
Faculty of Marine Bioscience & Technology, Kangnung National University
¹Korea Food and Drug Administration

Growth curves of *Listeria monocytogenes* in modified surimi-based imitation crab (MIC) broth were obtained by measuring cell concentration in MIC broth at different culture conditions [initial cell numbers, 1.0×10^2 , 1.0×10^3 and 1.0×10^4 colony forming unit (CFU)/mL; temperature, 15, 20, 25, 37, and 40°C] and applied to Gompertz model to determine microbial growth indicators, maximum specific growth rate constant (k), lag time (LT), and generation time (GT). Maximum specific growth rate of *L. monocytogenes* increased rapidly with increasing temperature and reached maximum at 37°C, whereas LT and GT decreased with increasing temperature and reached minimum at 37°C. Initial cell number had no effect on k , LT , and GT ($p > 0.05$). Polynomial and square root models were developed to express combined effects of temperature and initial cell number using Gauss-Newton Algorithm. Relative coefficients of experimental k and predicted k of polynomial and square root models were 0.92 and 0.95, respectively, based on response surface model. Results indicate *L. monocytogenes* growth was mainly affected by temperature, and square root model was more effective than polynomial model for growth prediction.

Key words: predictive growth model, *Listeria monocytogenes*, polynomial model, square root model, maximum specific growth rate constant (k)

서 론

20세기 후반의 경제 및 과학기술의 눈부신 발전에도 불구하고 식품 중의 대표적인 병원 미생물에 의한 건강피해는 아직까지도 세계적으로 심각한 문제가 되고 있다. 이에 식품의 품질과 안전성을 확보하기 위한 새로운 기술이 필요하게 되었으며, 그러한 기술의 하나로 "Predictive food microbiology(예측미생물학)"에 대한 관심이 높아지게 되었다. 최근 미국과 유럽을 중심으로 대단히 활발한 연구가 이루어지고 있는 예측미생물학은 상당한 시간과 인력 그리고 경비가 소요되는 지금까지의 미생물 접종시험·보존시험을 대체하여 식품의 원재료로부터 소비에 이르기까지의 전 과정에 있어서 병원미생물의 성장에 대하여 수학적 모델을 이용한 예측이 가능하기 때문에 저비용으로 식품 중의 병원 미생물의 정량적 위험도평가(quantitative risk assessment)를 할 수 있는 유효수단으로 인정되고 있다(1). 또한, 식품의 안전성을 확보하기 위해서는 지금까지의 일반적

위생관리 기준만으로는 부족하기 때문에 이를 보완하기 위한 국제적 기준으로서 HACCP 시스템이 도입되어 가장 유효한 종합적 위생관리 수단으로 인식되기에 이르렀다. 그러나 HACCP가 식품의 원재료에서 소비에 이르기까지의 전 과정에 내재된 모든 위해 요소의 파악을 필요로 하는 데에 비해, 예측미생물학은 식품의 안전성 문제에 있어 가장 중요하고도 큰 비중을 차지하는 위해 미생물만을 그 대상으로 하여, 이들의 성장을 수학적 모델에 의해 정량적으로 예측하고 평가하기 때문에 비교적 단순하면서도 효율이 높은 점에서 차별화되고 있다(2).

예측미생물학이란 다양한 실험조건에서 시간의 경과에 따른 미생물의 거동, 즉 증식 혹은 생산·사멸에 대하여 측정된 data로부터 구한 실험식을 근거로 미생물의 거동을 수학적으로 나타내는 모델을 작성하고, 여기에서 얻어진 정보를 식품의 품질관리 및 안전성 확보의 기술로서 응용하려고 하는 학제적 연구 분야이다. 미국과 유럽 그리고 일본과 같은 선진 국가들을 중심으로 식품의 안전성 확보와 자국 국민의 건강관리 그리고 관련 산업분야의 국제경쟁력 향상을 위한 수단으로 예측미생물학 분야에 대한 연구 및 투자가 강화되고 있는데 반하여, 국내의 경우에는 그 필요성이 절실히 강조됨에도 불구하고 현재까지 예측미생물에 관한 연구보고는 미미한 실정이다

*L. monocytogenes*는 일반적으로 흙, 하수, 담수, 위생곤충, 포유동물의 분변, 어패류 등에 분포하고 있으며, 유가공품, 육가

*Corresponding author: Il-Shik Shin, Faculty of Marine Bioscience & Technology, Kangnung National University, 120 Gangnung daehangno, Gangnung, Gangwon 210-702, Korea
Tel: 82-33-640-2346
Fax: 82-33-640-2346
E-mail: shinis@kangnung.ac.kr

공품, 수산가공식품 등 다양한 식품에서 검출되고 있는 저온세균이다. *L. monocytogenes*에 의한 식중독이 문제가 되기 시작한 것은 1980년대에 발생한 3대 식중독 사건이 시초이며(3-5), listeriosis의 발생과 연관이 있는 식품으로는 우유, 치즈, 야채, 샐러드, 육가공품 등이 있으며, 익히지 않고 섭취하는 수산물이나 저온 훈제 연어 같은 수산 가공 식품에서도 그 위해성이 주목되고 있다(6).

*L. monocytogenes*에 대한 예측모델에 관한 연구로는 다양한 환경 조건에서 균의 성장을 예측하기 위하여 온도, 수분활성, pH, 유기산, NaNO_2 , CO_2 농도 등이 균의 생육에 미치는 영향에 대해서 보고한 바 있지만(7-12), 대부분 일반 배지에서 성장이나 육류를 대상으로 한 결과들이며, 수산식품에 있어서 *L. monocytogenes*의 예측모델에 대한 연구는 거의 없는 실정이다.

따라서 본 연구에서는 수산식품의 대표적 식중독 세균인 *Vibrio parahaemolyticus*에 대한 균의 성장변화를 정량적으로 예측하는 수학적 모델의 개발을 보고한 전보(13)에 이어 수산 가공식품인 게맛살에서 또 하나의 미생물학적 위해 요소로 정해져 있는 *L. monocytogenes*에 대하여 제품에 균의 오염 시 균의 성장변화를 정량적으로 예측할 수 있는 수학적 모델의 개발을 위한 기초 자료를 제공하고자 온도, 초기균수의 변화에 따른 *L. monocytogenes*의 성장 예측모델을 개발하였다.

재료 및 방법

공시 균주

본 실험에 사용한 균주는 *Listeria monocytogenes* ATCC 19113으로 한국생명공학연구원 유전자은행(KCTC)으로부터 분양 받았으며 brain heart infusion broth(BHI, Difco Laboratories, Detroit, MI, USA)에 전 배양하여 1 mL의 vial tube에 15%의 glycerol를 첨가하여 -80°C 에 동결보관하면서 실험 전 Modified Imitation Crab(MIC) broth에서 37°C , 24시간 전 배양하여 사용하였다.

공시 균주의 배양

공시균주의 배양은 향후, 균의 성장 모델을 포장연제품인 게맛살에 적용하기 위해 게맛살 성분조성(조단백 7.8%, 조지방 0.2%, 탄수화물 16%, 회분 2.5%, 수분 73.5%)을 고려한 MIC broth를 제조하여 사용하였다(Table 1).

균의 성장 측정

균의 성장에 미치는 온도, 초기 균수의 영향을 알아보기 위하여 동결 보존한 균주를 45°C water bath에서 급속 해동한 후, 미리 준비한 멸균 MIC broth 50 mL에 접종하고 37°C incubator (Sanyo, Japan)에서 24시간 전 배양 하였다. 전 배양한 균주를 200 mL의 MIC broth에 초기 균수가 1.0×10^2 , 1.0×10^3 , 1.0×10^4 CFU/mL가 되도록 접종하고 온도 15, 20, 25, 37, 40°C 에서

각각 배양하였다.

각 실험구별 시간의 경과에 따른 균의 성장은 일정시간 간격으로 Plate count agar(Difco Laboratories, Detroit, MI, USA)를 사용하여 표준평판배양법(14)으로 생균수를 측정하여 나타내었다.

Gompertz model의 적용

균의 sigmoid한 형태의 성장을 표현하기 위하여 사용하는 연속함수의 식은 Gompertz가 1825년에 인구동태의 조사결과를 경험식으로서 제시한 Gompertz model 식 (1)(15)을 사용하였으며, 1회의 배양실험에서 시간의 경과에 따른 12-16개의 생균수 값을 구하였고, 실험오차를 줄이기 위하여 15회 반복 실험을 하였다. 이 실험 결과치를 Gompertz model에 대입하여 균의 증식을 대표하는 균의 생육 지표로서 최대증식속도상수(k), 유도기(Lag time, LT), 세대시간(Generation time, GT)을 도출하였다.

$$\text{Log}(N_t) = A + C \cdot \exp(-\exp(-B(t-M))) \quad (1)$$

t: 배양시간(hr)

N(t): 배양시간에 따른 균수(CFU/mL)

A: 초기 균수의 log 값(CFU/mL)

C: 균수 증가량의 log 값 (CFU/mL)

M: 발육속도가 최대가 되는 시점의 시간

B: 시간 M에서의 발육 속도(최대 발육 속도)

$k(\text{hr}^{-1}) = BC/e$

$LT(\text{hr}) = M \cdot (1/B)$

$GT(\text{hr}) = (\log 2)/BC$

도출된 최대 증식속도 상수(k), 유도기(LT), 세대시간(GT)에 미치는 초기 균수와 온도의 영향을 각각 One-way ANOVA-test를 실시하여 Duncan's multiple range test(16)로 처리, 평균간의 유의성($p < 0.05$)을 SPSS(SPSS Inc., 2000) program(Ver. 10.0)으로 검정하였다.

Parameter들의 결정과 정량 평가 모델의 개발

최대증식속도상수(k)와 온도 및 초기균수와 상관관계를 규명하기 위하여 Gompertz model로부터 구한 최대증식속도상수(k)를 수학적 정량평가모델인 polynomial model 식 (2)과 square root model 식 (3)에 각각 적용하고(13), SPSS(SPSS Inc., 2000) program(Ver. 10.0)으로 각 식의 parameter를 결정 한 후, Sigma Plot(SPSS Inc., version 7.0)으로 도식화 하였으며 각 배양 조건을 대입하여 실제 실험으로부터 구한 최대증식속도상수(k)와 모델식으로부터 구한 최대 증식속도상수(k)와의 상관관계를 비교하였다.

$$f = a \cdot \exp(-0.5(((T - T_{\max})/b)^2 + ((A_0 - A_{0\max})/c)^2)) \quad (2)$$

$$\sqrt{k} = b(T - T_{\min}) [1 - \exp(c(T - T_{\max}))] \quad (3)$$

*L. monocytogenes*의 성장 예측

MIC broth에서 온도와 초기 균수에 따른 *L. monocytogenes*의 최대 증식속도 상수(k)를 예측할 수 있는 정량 평가 모델을 polynomial model과 square root model을 이용하여 개발하였으며, 개발된 정량 평가 모델에 의하여 예측된 최대증식속도상수(k)를 이용하여 온도와 초기균수의 변화에 따른 *L. monocytogenes*의 성장을 Gompertz model로 예측하여 증식 곡선으로 나타내었다.

Table 1. Composition of modified imitation crab (MIC) broth

Ingredients	Amount
Peptone	10.0 g
Disodium phosphate	2.5 g
Yeast extract	10.0 g
Dextrose	10.0 g
Sodium chloride	10.0 g
Distilled water	1000 mL

결과 및 고찰

환경 조건에 따른 균의 생육 지표치의 변화

*L. monocytogenes*의 최대증식속도 상수(*k*)에 미치는 온도와 초기균수의 영향을 Table 2에 나타내었다. 온도가 높아질수록 최대증식속도상수(*k*)는 증가하여 37°C에서 0.69 0.97로 가장 높은 값을 나타내었으며, 40°C에서는 감소하는 경향을 나타내었다. 그러나 동일한 온도 조건에서 초기균수에 따른 최대증식속도상수(*k*)의 유의적인 차이는 나타나지 않아(*p* > 0.05) 초기균수보다 온도가 균의 최대증식속도상수(*k*)에 지배적인 영향을 미치는 것으로 나타났다.

*L. monocytogenes*의 유도기(*LT*)에 미치는 온도와 초기균수의 영향을 Table 3에 나타내었다. *L. monocytogenes*의 유도기(*LT*)는 온도가 높아질수록 짧아져, 37°C에서 가장 짧았으며 40°C에서 다소 길어지는 경향을 나타내었다. 그러나 초기균수에 따른 유의적인 차이는 없었다(*p* > 0.05). 유도기(*LT*)가 초기균수의 영향을 받지 않는 이와 같은 결과는, Robinson 등(17)이 *L. monocytogenes*의 유도기(*LT*)는 최적 성장 조건에서 접종균수가 1.0 × 10² CFU/mL 이하일 때는, 초기균수에 따른 유도기(*LT*)의 차이는 없지만, 그 이상에서는 초기균수와 비례적인 관계에 있다고 보고한 것과 다소 상반 되는 결과이다. 한편, Augustin 등(18)은 *L. monocytogenes*의 유도기(*LT*)는 초기균수보다는 접종균의 전배양온도에 영향을 받는다고 보고하였고, Whiting and Bagi(19)는 대수증식기, 정지기 등과 같은 접종균의 성장시기에 영향을 받는다고 하였다.

세대시간(*GT*)의 경우도 유도기(*LT*)와 마찬가지로 온도가 높을수록 세대시간(*GT*)은 짧아져 37°C에서 가장 짧은 세대시간을 나타내었으며, 초기균수에 따른 유의적인 차이는 없었다(Table 4). 즉 유도기(*LT*), 세대시간(*GT*) 모두 최대 증식속도(*k*)와 같이 온도의 영향을 많이 받는 것으로 나타났다.

온도의 변화에 따른 최대증식속도상수(*k*)의 정량평가모델

온도와 초기균수에 따른 *L. monocytogenes*의 성장을 정량적으로 예측하기 위하여 square root model과 polynomial model을 이용하였다. 온도와 초기균수의 복합적인 영향을 표현하기 위해서는 sigmaplot 7.0(SPSS Inc.)의 Gauss-Newton 알고리즘을 사용하여 식 (2)와 같은 polynomial model을 통하여 모델화하였다.

식 (2)에서 a, b, c는 각 항의 상수이며, T_{max}와 A_{0max}는 증식속도상수가 최대가 되는 온도와 초기균수를 나타낸다. 식 (2)에 해당하는 각 parameter 값과 통계적 분석치를 Table 5에 나타내었으며, 식 (4)과 같은 온도와 초기균수에 관한 polynomial model을 개발하였다.

$$0.71 \cdot \exp(-0.5(((T - 36.05)/11.84)^2 + ((A_0 + 8.12)/21.59)^2)) \quad (4)$$

한편, Table 2에 나타난 바와 같이 초기균수에 따른 최대증식속도상수(*k*)의 유의적인 차이는 없었으므로(*p* > 0.05), Ratkowsky 등(20), Zwietering 등(21,22)이 정의한 초기균수를 고려하지 않은 온도와 최대증식속도상수(*k*)간의 상호작용을 표현하는 2차 모델인 square root model의 확장된 형태 식 (3)를 사용하여 식 (5)과 같이 정량화 하였으며 통계적 분석치를 Table 5에 나타내었다.

$$\sqrt{k} = 0.02(T - (-3.42)) [1 - \exp(0.36(T - 44.51))] \quad (5)$$

정량평가모델로부터 구한 최대증식속도상수(*k*)의 예측치와 실험치의 비교

Polynomial model 식 (3)으로부터 구한 *L. monocytogenes*의 최대증식속도상수(*k*)의 예측치와 실험치를 비교한 결과를 곡면응답 모델로 나타내었다(Fig. 1). 각 초기균수 조건에서 실험치와 예측치의 상관계수는 0.92로 나타났다.

Table 2. Effects of initial cell number and temperature on maximum specific growth rate constant (*k*) of *L. monocytogenes*

Initial cell number (CFU/mL)	<i>k</i> (h ⁻¹)				
	15°C	20°C	25°C	37°C	40°C
1.0 × 10 ²	0.16 ± 0.024	0.25 ± 0.037	0.39 ± 0.021	0.69 ± 0.07	0.56 ± 0.05
1.0 × 10 ³	0.15 ± 0.012	0.25 ± 0.014	0.35 ± 0.047	0.64 ± 0.06	0.57 ± 0.08
1.0 × 10 ⁴	0.17 ± 0.018	0.22 ± 0.029	0.40 ± 0.050	0.63 ± 0.07	0.54 ± 0.05

Table 3. Effects of initial cell number and temperature on lag time of *L. monocytogenes*¹⁾

Initial cell number (CFU/mL)	<i>LT</i> (h)				
	15°C	20°C	25°C	37°C	40°C
1.0 × 10 ²	10.44 ± 1.73	7.30 ± 0.71 ^a	3.78 ± 0.41	2.23 ± 1.28	2.44 ± 0.20
1.0 × 10 ³	11.37 ± 0.69	7.12 ± 0.87 ^{ab}	3.51 ± 1.24	2.23 ± 0.37	2.78 ± 0.39
1.0 × 10 ⁴	10.40 ± 0.72	5.69 ± 1.49 ^b	3.44 ± 0.72	2.09 ± 0.33	2.66 ± 0.55

¹⁾Values (Mean ± SD of 15 times replication) in the same column not sharing a common superscript are significantly different (*p* < 0.05).

Table 4. Effects of initial cell number and temperature on generation time of *L. monocytogenes*¹⁾

Initial cell number (CFU/mL)	<i>GT</i> (h)				
	15°C	20°C	25°C	37°C	40°C
1.0 × 10 ²	2.12 ± 0.32	0.91 ± 0.45	0.81 ± 0.12	0.66 ± 0.05	0.67 ± 0.03 ^{ab}
1.0 × 10 ³	2.03 ± 0.19	1.09 ± 0.12	0.89 ± 0.18	0.64 ± 0.07	0.68 ± 0.01 ^b
1.0 × 10 ⁴	1.93 ± 0.36	1.26 ± 0.21	0.76 ± 0.06	0.66 ± 0.05	0.68 ± 0.01 ^a

¹⁾Values (Mean ± SD of 15 times replication) in the same column not sharing a common superscript are significantly different (*p* < 0.05).

Table 5. Parameters of the polynomial model and square root model for the prediction of maximum specific growth rate constant (*k*) of *L. monocytogenes*

		Statistical analysis					R ²
		Coefficient	S. E.	t-value	P	S. E. of estimate	
Polynomial model	T _{max}	36.055	0.7489	48.143	<0.0001		0.92
	A _{0max}	-8.1194	10.019	-0.0262	0.9792		
	a	0.7103	2.6224	0.2708	0.7873	0.0575	
	b	11.849	0.7107	16.673	<0.0001		
	c	21.590	4.7555	0.0708	0.9437		
Square root model	T _{min}	-3.4170	1.5597	-2.1909	0.0317		0.95
	T _{max}	44.513	1.1393	39.069	<0.0001	0.0369	
	b	0.0215	0.0014	15.043	<0.0001		
	c	0.3600	0.1110	3.2448	0.0018		

A₀, initial cell number (Log CFU/mL).

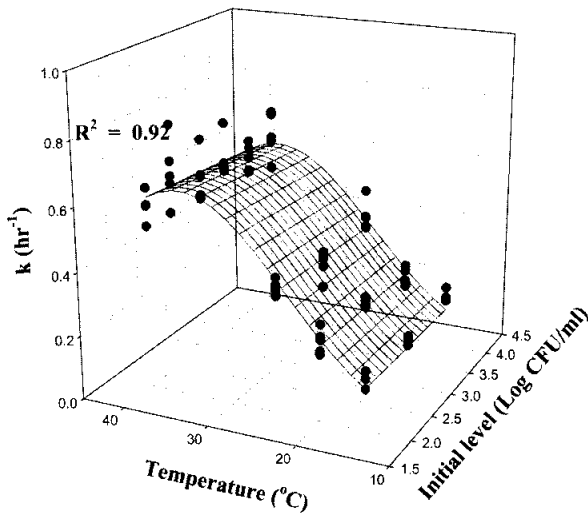


Fig. 1. Comparison of experimental *k* and predicted *k* of *L. monocytogenes* by the response surface model at different culture condition.

●: experimental *k*, ▤: predicted *k*.

한편, 초기균수를 고려하지 않은 square root model식의 확장된 형태인 식 (4)로부터 구한 최대증식속도상수(*k*)의 예측치와 실험치를 비교한 결과는 Fig. 2와 같으며 실험치와 예측치의 상관계수는 0.95로 polynomial model 식 (3)보다 다소 높은 상관관계를 나타내었다.

이러한 결과는 Giffel and Zwietering(23)이 square root model, square root model의 확장모델, modified Arrhenius model, polynomial model 등 4가지 형태의 실험치와 예측치 사이의 상관관계를 비교하였을 때, square root model이 보다 높은 상관관계를 나타내었다고 보고한 결과와 일치하였다.

2차 모델식과 Gompertz model에 의한 *L. monocytogenes*의 성장 예측

서로 다른 온도, 초기 균수 조건하에서 polynomial model과 square root model로 예측한 최대증식속도상수(*k*)를 균의 성장곡선을 표현하는 Gompertz model에 적용함으로써 각 조건에서 Gompertz model에 의한 균의 성장을 예측할 수 있었다.

초기 균수 1.0×10² CFU/mL, 온도 25°C에서의 반복실험을 통한 성장곡선(실험치)과, 같은 조건에서의 polynomial model과

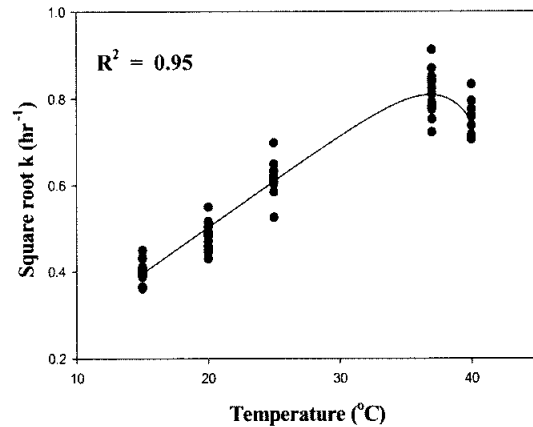


Fig. 2. Comparison of experimental *k* and predicted *k* of *L. monocytogenes* by the square root model at different culture conditions.

●: experimental \sqrt{k} , —: predicted \sqrt{k} .

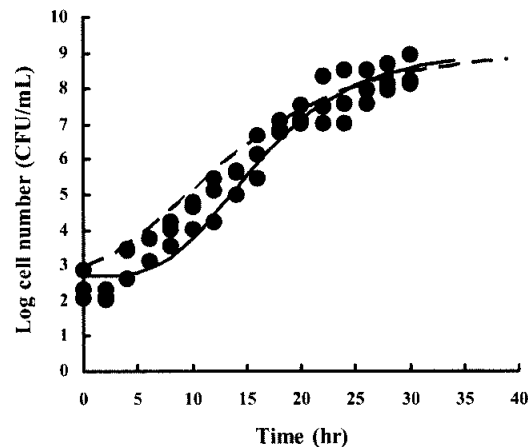


Fig. 3. Predictive growth curves of *L. monocytogenes* by the polynomial model and square root model (Initial cell number, 1.0×10² CFU/mL; Temperature, 25°C).

●: Experimental data, —: Growth curve by the polynomial model, - - -: Growth curve by the square root model.

square root model에 의한 예측 성장곡선(예측치)을 비교한 결과 직접적인 실험결과에 의한 균의 성장과 정량평가모델을 이용하여 예측한 균의 성장은 잘 일치하는 것으로 나타났다(Fig. 3).

L. monocytogenes 는 listeriosis를 일으키는 중요한 식중독 세균으로 pH, NaCl, organic acid, 등 다양한 환경요인에 대한 여러 가지 종류의 예측모델이 발표된 바 있다(24). 하지만 surimi를 기본으로 하는 어육 연제품에 대한 예측모델은 개발되어 있지 않다. 따라서 게맛살 성분조성을 고려한 배지에서의 *L. monocytogenes* 성장을 모델화한 본 연구를 통하여 게맛살의 HACCP system에 있어서 critical control point 중의 하나인 *L. monocytogenes*의 온도에 따른 성장의 손쉬운 모니터링과 정량적인 위해도 평가가 가능할 것으로 기대되며, 수분활성이나 좀 더 넓은 pH 범위, 여러 첨가물의 농도, 포장시 충전하는 N₂ 또는 CO₂ 농도나 이러한 조건들 간의 상호 작용 등, 물리 화학적인 요인에 관한 추가적인 연구를 계속한다면, 보다 다양한 환경 조건하에서 보다 정확하게 *L. monocytogenes*의 성장을 정량적으로 예측할 수 있을 것으로 기대된다.

요 약

게맛살의 HACCP system에 있어서 critical control point 중의 하나인 *L. monocytogenes*가 오염된 제품에서 균의 성장변화를 정량적으로 예측할 수 있는 수학적 모델의 개발을 위한 기초 자료를 제공하고자 게맛살 성분조성을 고려한 modified imitation crab(MIC) broth에서 온도와 초기균수에 따른 *L. monocytogenes*의 성장 실험 결과를 데이터베이스화하여 이를 바탕으로 균의 성장을 정량적으로 평가할 수 있는 수학적 모델을 개발하였다. 균의 증식 지표인 최대증식속도상수(k), 유도기(LT), 세대시간(GT)은 온도에 지배적인 영향을 받았으며, 초기균수에 따른 유의적인 차이는 없었다($p > 0.05$). 최대증식속도상수(k)와 온도 및 초기균수의 상관관계를 나타내는 수학적 정량평가모델인 polynomial model과 square root model을 이용하여 *L. monocytogenes*의 성장을 정량적으로 예측할 수 있는 모델인 polynomial model($k = 0.71 \cdot \exp(-0.5((T - 36.05)/11.84)^2 + ((A_0 + 8.12)/21.59)^2)$)과 square root model($\sqrt{k} = 0.02(T - (-3.42)) [1 - \exp(0.36(T - 44.51))]$)을 개발하였으며 실험치와 예측치의 상관관계는 각각 0.92, 0.95로 polynomial model보다 square root model의 예측치가 실험치와 상관관계가 더 높은 것으로 나타났다.

감사의 글

본 연구는 2000년도 수산특정연구개발사업의 일환으로 해양수산부의 연구비 지원에 의해 수행된 연구 결과이며, 이에 깊이 감사드립니다.

문 헌

- Swerdlow DL, Altekruze SF. Food-borne Diseases in the Global Village. Emerging Infections 2. Scheld WM, Craig WA, Hughes JM (eds), American Society for Microbiology, Washington, DC, USA. pp. 273-294 (1998)
- Shin IS, Kim JS, Woo GJ. Application of predictive microbiology for microbiological safety in food. Food Sci. Ind. 36: 18-24 (2003)
- Schlech WF, Lavigne PM, Bortolussi RA, Allen AC, Haldane EV, Wort AJ, Hightower AW, Johnson SE, King SH, Nicholas ES, Broome CV. Epidemic listeriosis-evidence for transmission by food. New England J. Med. 308: 203-206 (1983)
- Fleming DW, Cochi, SL, McDonald KL, Brondrum J, Hayes PS, Plikaytis BD, Holmes MB, Audurier A, Broome CV, Reingold AL. Pasteurized milk as a vehicle of infection in an outbreak of listeriosis. New England J. Med. 312: 404-407 (1985)
- Linnan MJ, Mascola L, Lou XD, Goulet V, May P, Weaver R, Audurier A, Plikaytis BD, Fannin SL, Kleeks A, Broome CV. Epidemic listeriosis associated with Mexican-style cheese. New England J. Med. 319: 823-828 (1988)
- Ross T, Dalgaard P, Tienungoon S. Predictive modelling of the growth and survival of *Listeria* in fishery products. Int. J. Food Microbiol. 62: 231-245 (2000)
- Nerbrink E, Borch E, Blom H, Nesbakken T. A model based on absorbance data on the growth of *Listeria monocytogenes* and including the effects of pH, NaCl, Na-lactate and Na-acetate. Int. J. Food Microbiol. 47: 99-109 (1999)
- Razavilar V, Genigeorgis C. Prediction of *Listeria* spp. growth as affected by various levels of chemicals, pH, temperature and storage time in a model broth. Int. J. Food Microbiol. 40: 149-157 (1998)
- Lebert I, Begot C, Lebert A. Development of two *Listeria monocytogenes* growth models in a meat broth and their application to beef meat. Food Microbiol. 15: 499-509 (1998)
- Fernandez PS, George SM, Sills CC, Peck MW. Predictive model of the effect of CO₂, pH, temperature and NaCl on the growth of *Listeria monocytogenes*. Int. J. Food Microbiol. 37: 73-85 (1997)
- McClure PJ, Beaumont AL, Sutherland JP, Roberts TA. Predictive modelling of growth of *Listeria monocytogenes*. The effects on growth of NaCl, pH, storage temperature and NaNO₂. Int. J. Food Microbiol. 34: 221-232 (1997)
- Farber JM, Cai Y, Ross WH. Predictive modeling of the growth of *Listeria monocytogenes* in CO₂ environments. Int. J. Food Microbiol. 32: 133-144 (1996)
- Moon SY, Chang TE, Woo GJ, Shin IS. Development of predictive growth model *Vibrio parahaemolyticus* using mathematical quantitative model. Food Sci. Tech. 36: 349-354 (2004)
- AOAC. Official Method of Analysis of AOAC Intl. Method 940.36. Association of Official Analytical Chemists, Arlington, VA, USA (2000)
- Ratkowsky DA, Ross T. Modelling the bacterial growth/no growth interface. Lett. Appl. Microbiol. 20: 29-33 (1995)
- Dunacn DB. Multiple-range and multiple F test. Biometrics 11: 1-42 (1955)
- Robinson TP, Aboaba OO, Kaloti A, Ocio MJ, Baranyi J, Mackey BM. The effect of inoculum size on the lag phase of *Listeria monocytogenes*. Int. J. Food Microbiol. 70: 163-173 (2001)
- Augustin JC, Rosso L, Carlier V. A model describing the effect of temperature history on lag time for *Listeria monocytogenes*. Int. J. Food Microbiol. 57: 169-181 (2000)
- Whiting RC, Bagi LK. Modeling the lag phase of *Listeria monocytogenes*. Int. J. Food Microbiol. 73: 291-295 (2002)
- Ratkowsky DA, Lowry RK, Mcmeekin TA, Stokes AN, Chandler RE. Model for bacterial culture growth rate through the entire biokinetic temperature range. J. Bacteriol. 154: 1222-1226 (1983)
- Zwietering MH, de Koos JT, Hasenack BE, de Wit, JC, van 'T Riet K. Modeling of bacterial growth as a function of temperature. Appl. Environ. Microbiol. 57: 1094-1101 (1991)
- Zwietering MH, Cuppers HGAH, de Wit, JC, van 'T Riet, K. Evaluation of data transformations and validation of a model for the effect of temperature on bacterial growth. Appl. Environ. Microbiol. 60: 195-203 (1994)
- Giffel MC, Zwietering MH. Validation of predictive models describing the growth of *Listeria monocytogenes*. Int. J. Food Microbiol. 46: 135-149 (1999)
- Augustin JC, Vincent C. Modelling the growth rate of *Listeria monocytogenes* with a multiplicative type model including interactions between environmental factors. Int. J. Food Microbiol. 56: 53-70 (2000)