

基于 OD-TTD 法构建金黄色葡萄球菌生长模型的研究

汪玲玲¹, 钟武杰², 黄少鹏¹, 郝淑贤³

(1. 华南农业大学生命科学学院, 广东省农业生物蛋白质功能与调控重点实验室, 广东广州 510642)

(2. 华南农业大学食品学院, 广东广州 510642)

(3. 中国水产科学院南海水产研究所, 农业部水产品加工重点实验室, 广东广州 510300)

摘要: 本文应用 OD-TTD 法测定金黄色葡萄球菌的生长速率和迟滞期, 并在此基础上构建其生长模型。以金黄色葡萄球菌 CMCC(B)26003 为实验菌株, 将梯度稀释的菌液于 96 孔细胞培养板中培养, 实时测定各菌液的 OD 值。根据达到特定 OD 值所需的时间 (times to detection, TTD) 与起始菌数 (N_0) 的线性关系和 OD 达到特定值时的菌数 (N_d), 计算生长速率 (μ) 和迟滞期 (λ), 然后选择合适的模型拟合生长数据。结果得出: $TTD = -154.86N_0 + 1202.3$, $R^2 = 0.9997$ ($OD = 0.1$), 计算出 μ 为 $0.0064 \log [cfu/(mL \cdot min)]$, λ 为 7.8 min。根据 Gompertz、Baranyi、Logistic 和 3-phase linear (3PLM) 模型推算 TTD 值。结果表明 3PLM 模型推导结果与实测值基本吻合, 因此最适合构建生长模型。此外, 对比平板法和 OD-TTD 法, 发现生长速率值两者差别不大, 但迟滞期值则前者远比后者大。因此, 在 OD-TTD 法基础上采用 3PLM 模型可以快速简便地构建金黄色葡萄球菌生长模型, 但是迟滞期的测定结果仍存在不确定性。

关键词: 金黄色葡萄球菌; 构建微生物生长模型

文章编号: 1673-9078(2014)4-160-164

Establishment of Growth Model of *Staphylococcus aureus* Based on OD-TTD

WANG Ling-ling¹, ZHONG Wu-jie², HUANG Shao-peng¹, HAO Shu-xian³

(1. Guangdong Provincial Key Laboratory of Protein Function and Regulation in Agricultural Organisms, College of Life Sciences, South China Agricultural University, Guangzhou 510642, China) (2. College of food Sciences, South China Agricultural University, Guangzhou 510642, China) (3. South China Sea Fisheries Research Institute, Chinese Academy of Fishery Sciences, Key Laboratory of Aquatic Product Processing, Ministry of Agriculture, Guangzhou 510300, China)

Abstract: The growth model of *Staphylococcus aureus* CMCC (B) 26003 based on growth rates and lag time calculated by OD-TTD data was studied in this paper. The culture was serially diluted and statically cultivated in 96 pores micro-array plate at 37 °C. When the linear relationship between the initial inoculums (N_0) and the time to detection criterion of OD at specific value (TTD) was available, the growth rate could be calculated. If the viable count from well with OD at detection value (N_d) was known, the lag time could also be obtained. Then a suitable model was selected to fit the growth data. The linear relationship between TTD and N_0 as follows: $TTD = -154.86 N_0 + 1202.3$, $R^2 = 0.9997$ ($OD = 0.1$). The growth rate of $0.0064 \log [cfu/(mL \cdot min)]$ (μ) and lag time of 7.8 min (λ) were obtained by the formula. If the information of $\mu, \lambda, N_0, N_{max}$ and N_d were available, and TTD could be calculated by Gompertz, Baranyi, Logistic and 3-phase linear (3PLM) model. In addition, the calculated value by 3PLM was congruent with the observed value. The growth rate from OD-TTD was almost equal with that from viable plate count, and the lag time from viable plate count was bigger than that from OD-TTD. Therefore, 3PLM based on OD-TTD was suitable to construct the growth model of *Staphylococcus aureus*, but the lag time from OD-TTD was uncertain yet.

Key words: *Staphylococcus aureus*; modeling the growth of microorganisms

由细菌污染引起的食源性疾病是影响人类公共健康和食品安全的最大问题之一, 其中葡萄球菌特别是

收稿日期: 2013-11-05

基金项目: 广东省自然科学基金项目(S2013010011733); 农业部水产品加工重点实验室开放基金项目(NYJG201307)

通讯作者: 汪玲玲(1977-), 女, 博士, 讲师, 主要从事食品微生物研究

金黄色葡萄球菌引起的食物中毒已成为食品安全领域的突出问题^[1]。实时监测或预测金黄色葡萄球菌在食品中的数量, 以快速应对其中可能存在的问题, 是降低食物中毒风险的重要措施之一。建立微生物的生长模型, 就是在已有的实验数据基础上, 利用数学模型描述不同环境下的微生物生长规律。而以生长模型为

基础和核心的预测模型,则可以在不进行实际检测的情况下,方便快速地预测目标微生物在食品中的动态变化。目前该技术已成为食品加工过程的规范控制与食品货架期的评估的重要工具^[2]。

如何方便有效地获取细菌生长数据是构建微生物生长模型面临的首要问题。目前测定细菌生长数据的方法主要有平板计数法、光密度测定法即 OD 值法、核酸测定法、ATP 含量测定法、电阻测定法等^[3-5]。平板计数法是目前最常用的方法,此法要求在细菌生长过程中最少取 10 个时间点数据,且在对数生长期前后增加取样次数,才能够较准确地反映生长规律^[6],显然费时费力。另一种常见的方法为 OD 值测定法,是通过测定菌液光密度(通常测定 OD_{600nm} 值)间接反映细胞密度的方法,特点是方便快捷。但此法只有已知了 OD 值与菌数的换算关系后才能推算时间和菌数的对应关系^[7],然而 OD 值检测的最低细胞密度通常为 10⁶~10⁷ cfu/mL^[8-10],因此普通 OD 值法不适合描述低细胞浓度时的生长动态。

本文采用酶标仪连续监测倍比稀释的金黄色葡萄球菌菌液在培养期内的 OD_{600nm} 值变化情况,确定各菌液到达特定 OD 值所需的时间 TTD 建立 N₀ 与 TTD 的线性关系,推算生长速率和迟滞期。分别用 Gompertz、Baranyi、Logistic 和 3PLM 模型推导 TTD 与 N₀ 的函数关系式,选择吻合度最高的用于构建生长模型。本研究提供了基于 OD-TTD 值法构建金黄色葡萄球菌生长模型的具体方法,并探讨了其适用范围和不足之处。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

实验菌株:金黄色葡萄球菌 CMCC(B)26003 购自广东环凯生物有限公司。培养基:牛肉膏蛋白胨培养基购自普博欣生物有限公司。实验仪器: BIO-RAD Benchmark 酶标仪; HZQ-F160 全温振荡培养箱,太仓市实验设备厂; SHP-250 生化培养箱,上海精宏实验设备有限公司; SW-CJ-2FD 型超净工作台,苏州安泰空气技术有限公司; XW-80A 型旋涡混合器,上海精科实业有限公司; MP2002 电子天平,上海恒平科学仪器有限公司; 微波炉, Galanz; AMA440 全自动高压灭菌锅,英国 Astell; DHG-9146A 电热恒温鼓风干燥箱,上海精宏实验设备有限公司。

1.2 实验方法

1.2.1 OD-TTD 法测定金黄色葡萄球菌生长速

率和迟滞期

参考文献^[11]所述方法略做改动。将活化好的金黄色葡萄球菌斜面菌种接种至牛肉膏蛋白胨液体培养基中,37 °C 振荡培养至对数生长期(菌液浓度为 1.3×10⁸ cfu/mL),再用该液体培养基 10 倍比稀释后,得到不同起始浓度的菌液,取 300 μL 至 96 孔细胞培养板中,每个浓度做 8 个平行,37 °C 下恒温静置培养。OD_{600nm} 处每隔 20 min 测定一次吸光值。平板活菌计数法测定最大菌数(N_{max})和 OD 值为 0.1 时的菌数(N_d)。菌液 OD 值为除去培养液本底值后的结果。根据实验结果计算金黄色葡萄球菌的生长速率和迟滞期。

1.2.2 构建金黄色葡萄球菌生长模型

选择以下几种常用的生长模型,据文献^[12]略做修改得出公式(1~4)。

Logistic:

$$t = \lambda - \frac{A}{4\mu} \left[\ln \left(\frac{A}{\log N - \log N_0} - 1 \right) - 2 \right] \quad (1)$$

Gompertz:

$$t = \lambda - \frac{1}{\mu} \left(\frac{A}{e} \right) \left[\ln \left\{ \ln \left(\frac{A}{\log N - \log N_0} \right) \right\} - 1 \right] \quad (2)$$

Barranyi:

Barranyi 方程是微分方程,无法直接得到 t 的表达式,以下为近似表达式。

$$t \cong \lambda + \frac{1}{\mu} \ln \left\{ \frac{\frac{M}{N_0} - 1}{\frac{M}{N} - 1} \right\} \quad (3)$$

3 phase linear model:

$$t = \frac{\log N - \log N_0}{\mu} + t_2 \quad (N_0 \leq N \leq N_{\max}) \quad (4)$$

1.2.3 平板法与 OD-TTD 法的比较

OD-TTD 法:即 1.2.1。平板法:将培养至对数期的菌液,分别经适当稀释后接种至 100 mL 液体牛肉膏蛋白胨培养基中使得终浓度分别为 3.1、4.1 和 5.1 log(cfu/mL)。37 °C 下培养 12 h,定时取样,在牛肉膏蛋白胨固体培养基上测定样品细菌总数(具体参见 GB 4789.2-2010)。3PLM 法构建生长模型。

2 结果与讨论

2.1 OD-TTD 法测定金黄色葡萄球菌生长速

率和迟滞期

金黄色葡萄球菌在 37 °C 下起始菌液浓度为 13~1.3×10⁷ cfu/mL (10 倍梯度稀释)的生长曲线如图

1 所示。当起始菌液浓度为 13 cfu/mL 时培养期间内 OD 值无明显增加, 其他菌液随培养时间的延长均有不同程度增加。分别取 OD 值 0.05、0.07、0.1 和 0.15 作为设定值, 记录各菌液达到设定值时的时间 TTD, 得到 N_0 与 TTD 的线性关系和回归方程如图 2 和表 1 所示。当 OD=0.1 时 R^2 值最大为 0.9997, 当 OD 值设定低于或高于此值时回归系数都会降低, 直线斜率也略有不同, 因此, 取 OD 为 0.1 作为设定值, 此时的线性关系式为 $TTD = -154.86N_0 + 1202.3$, 取直线斜率的负倒数, 计算金黄色葡萄球菌生长速率为 $0.0064 \log [cfu/(mL \cdot min)]$, 即 $0.384 \log [cfu/(mL \cdot h)]$ 。根据回归方程, 当 $N_0 = 0$ 时 TTD 值为 1202.3, 表示金黄色葡萄球菌从一个细胞生长到 OD 等于 0.1 所需要的时间为 1202.3 min; 当 TTD=0 时 $N_0 = 7.76$, 表示当接种浓度为 $7.76 \log (cfu/mL)$ 时 OD 恰好为 0.1, 此时检测时间为 0 min。也就是当接种浓度为 $7.76 \log (cfu/mL)$ 时存在以下关系式: $N_t = 0.0064 \times (t - \lambda) + 7.76$ 。当 OD 为 0.1 时取样用平板法测定菌数等于 $7.71 \log (cfu/mL)$, 计算金黄色葡萄球菌生长迟滞期为 7.8 min。

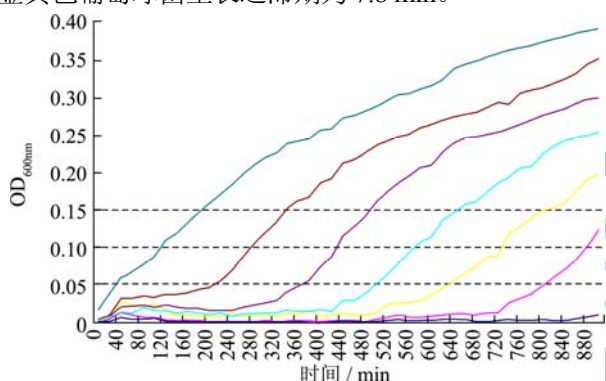


图 1 OD 值法测定金黄色葡萄球菌 37 °C 下不同起始接种量的生长曲线

Fig.1 Multiple initial inocula of *S. aureus* growth curve at 37°C

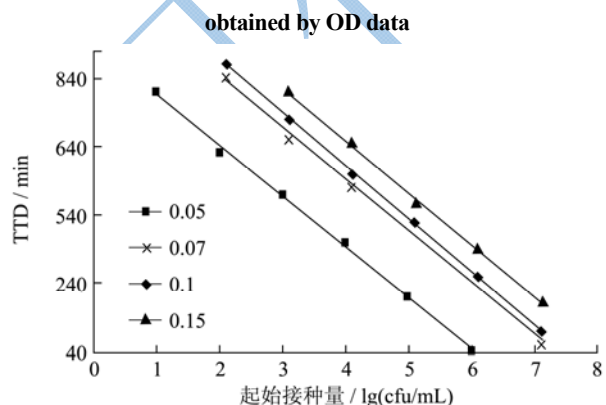


图 2 N_0 与 TTD 的线性关系

Fig.2 the relationship N_0 of and TTD

OD-TTD 法最早由 Baranyi 提出^[13], 文中测定了 *Pseudomonas putida* NCFB 754 等三种分离自食品中

的假单胞菌的生长速率, 并通过接种剂生理状态的差异分析了迟滞期的变异性。后有文献相继报道了此法分析李斯特菌等的生长参数^[11, 14~16]。此法计算生长速率的前提是在菌液达到设定值时, TTD 与 N_0 必须呈良好的直线回归关系, 否则无法计算。本文测定的金黄色葡萄球菌, 当 OD=0.1 时 R^2 值达到 0.9997, 适合用此法分析, 相关研究在国内外均未见报道。研究过程还发现经过紫外照射或加热处理后的菌液采用此法培养后, TTD 与 N_0 则不呈线性关系 (数据未发表), 因此无法计算生长参数。Robinson 等^[14]研究也发现当李斯特菌在高盐条件中培养时 TTD 与 N_0 不呈线性关系。因此, 推测细胞受损或环境胁迫等不利条件不适合采用 OD-TTD 法测定细胞的生长速率和迟滞期。

表 1 N_0 与 TTD 的线性回归方程

Table 1 The regression equations of the TTD for N_0

OD 设定值	回归方程	回归系数 R^2
0.05	$TTD = -148.57N_0 + 940$	$R^2 = 0.9976$
0.07	$TTD = -150.86N_0 + 1147.3$	$R^2 = 0.9963$
0.1	$TTD = -154.86N_0 + 1202.3$	$R^2 = 0.9997$
0.15	$TTD = -154N_0 + 1273.4$	$R^2 = 0.9995$

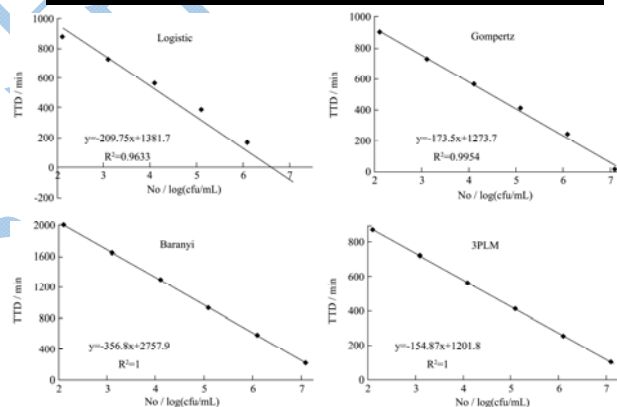


图 3 不同模型推导的 N_0 与 TTD 的线性关系

Fig.3 The linear relationship of N_0 and TTD reduced by several models

2.2 构建金黄色葡萄球菌生长模型

根据上述方法确定生长速率和迟滞期, 最大菌数 N_{max} 和 N_d (即 OD=0.1 时的菌液密度) 均由平板法取样测定, 分别为 $9.20 \log (cfu/mL)$ 和 $7.71 \log (cfu/mL)$ 。在已知 μ 、 λ 、 N_0 、 N_{max} 和 N_d 的情况下, 可以根据 1.2.2 中公式 (1~4) 推算出不同 N_0 的菌液达到 OD=0.1 所需要的时间 t 。由模型推导得到的 TTD 与 N_0 的关系如图 3 所示。由 Logistic、Gompertz、Baranyi 和 3PLM 模型推导的回归方程斜率分别为 -209.75、-173.5、-356.8 和 -154.87, 其中 3PLM 推导斜率与 OD-TTD 法检测得到斜率 -154.86 最接近, 回归方程也基本吻合。

根据 3PLM 模型可对金黄色葡萄球菌在 37 °C 下的生长情况做如下预测：① $t < 7.8 \text{ min}$ 时， $N = N_0$ ；② $7.8 \text{ min} < t < t_{\text{max}}$ （指菌数达到最大所需要的时间）时， $N = N_0 + 0.0064 \times t$ ；③ $t \geq t_{\text{max}}$ 时， $N = 9.2 \log(\text{cfu/mL})$ 。

3PLM 模型最早由 Buchanan 提出^[17]，模型含有四个参数 N_0 、 N_{max} 、 t_{lag} 和 t_{max} 。当 $t \leq t_{\text{lag}}$ 和 $t \geq t_{\text{max}}$ 时，生长速率 μ 为零；当 $t_{\text{lag}} \leq t \leq t_{\text{max}}$ 时，生长速率 μ 为恒定值。由此可见，3PLM 模型是将细菌的复杂生长动态简单化，认为细胞在迟滞期和稳定期是不生长的，而在对数生长期则以恒定生长速率快速繁殖。本研究结果显示，OD 值法的实验结果与 3PLM 模型推导的结果基本吻合（前者为 $\text{TTD} = -154.86N_0 + 1202.3$ ，后者为 $\text{TTD} = -154.87N_0 + 1201.8$ ）。因此，金黄色葡萄球菌的生长模型可以用较为简单的 3PLM 模型构建，无需相对复杂的 Gompertz、Baranyi 模型构建。但是由于 3PLM 模型没有衰亡期，显然不适用于描述稳定期后的菌体生长情况。

2.3 OD-TTD 法与平板法的比较

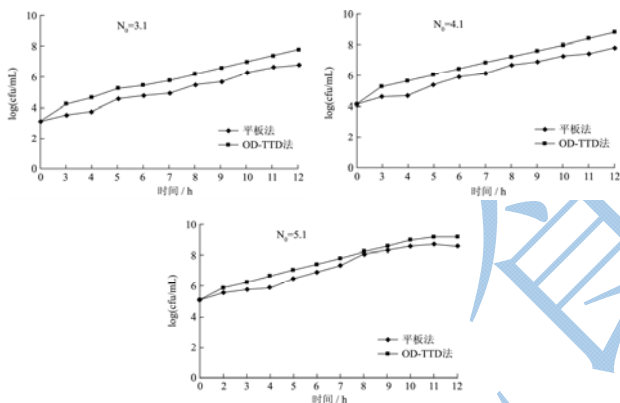


图 4 不同起始菌液浓度下 OD-TTD 计算值与平板实测值的比较

Fig.4 Comparison of calculated data (—■—) and observed data (-◆-) at different initial inocula level

表 2 平板法测定不同接种量时菌数与时间的回归方程

Table 2 The linear relationship of N and t by viable plate count at different initial inocula levels

N_0	回归方程	回归系数 R^2
3.1	$y = 0.0063x + 2.4158$	$R^2 = 0.99$
4.1	$y = 0.0061x + 3.5213$	$R^2 = 0.9807$
5.1	$y = 0.0060x + 4.7678$	$R^2 = 0.9503$

分别将起始菌液浓度 N_0 为 3.1、4.1 和 5.1 $\log(\text{cfu/mL})$ 的培养液，放入 37 °C 下培养，定时取样测定活菌数，得到 0~12 h 内的菌数变化情况。根据 3PLM 模型分别计算上述起始浓度下在 0~12 h 内的菌数预测值。平板法实验结果表明，三种起始浓度的培养液生长规律基本相同，从第二个取样时间点开始菌数均

随时间呈线性增长，线性相关系数 R^2 值均接近或大于 0.95。当 N_0 等于 3.1 $\log(\text{cfu/mL})$ 时，生长速率和迟滞期分别为 0.0063 $\log[\text{cfu}/(\text{mL} \cdot \text{min})]$ 和 108 min；4.1 $\log(\text{cfu/mL})$ 时，分别为 0.0061 $\log[\text{cfu}/(\text{mL} \cdot \text{min})]$ 和 95 min；5.1 $\log(\text{cfu/mL})$ 时，分别为 0.0060 $\log[\text{cfu}/(\text{mL} \cdot \text{min})]$ 和 55 min。由此可见，OD-TTD 法计算的生长速率为 0.0064 $\log[\text{cfu}/(\text{mL} \cdot \text{min})]$ 比平板法测定值略大，但误差均小于 10% (N_0 为 3.1、4.1 和 5.1 $\log(\text{cfu/mL})$ 时分别为 1.56、3.12 和 6.25%)，有实际参考价值。特定条件下菌株的生长速率大小通常较为恒定，但是会因菌数测定方法和所用模型的差异略有不同^[18-20]。OD-TTD 法测定金黄色葡萄球菌的迟滞期为 7.8 min，而平板法测定结果分别为 108、95、55 min [$N_0 = 3.1$ 、4.1 和 5.1 $\log(\text{cfu/mL})$] 远大于前者。分析两者差别较大的原因，平板法计算的迟滞期是细菌进入新环境后第一次分裂之前的一段时间，而 OD 值法则指细胞增大前的一段时间，前者显然大于后者。此外，接种量、接种时的生理状态等多种因素都会影响迟滞期的大小。食品中有害菌的迟滞期大小与产品的货架期长短直接相关，然而目前无论采用何种方法构建模型，迟滞期的测定都没有较理想的重新性^[10]，因此对该项生长参数的预测技术还亟待完善。

3 结论

3.1 OD-TTD 法构建金黄色葡萄球菌生长模型

本文以食品中常见的致病菌金黄色葡萄球菌为实验对象，通过检测系列稀释菌液的 OD 值在培养过程中的变化情况，计算出生长速率为 0.0064 $\log[\text{cfu}/(\text{mL} \cdot \text{min})]$ ，生长迟滞期为 7.8 min。并采用简便的 3PLM 法构建生长模型，具体为：① $t < 7.8 \text{ min}$ 时， $N = N_0$ ；② $7.8 \text{ min} < t < t_{\text{max}}$ （指菌数达到最大所需要的时间）时， $N = N_0 + 0.0064 \times t$ ；③ $t \geq t_{\text{max}}$ 时， $N = 9.2 \log(\text{cfu/mL})$ 。本文提供了快速简便的构建金黄色葡萄球菌生长模型的方法，对于实时监测该菌在食品中的生长动态具有重要意义，对于研究食品中其他致病菌或腐败菌的生长规律也同样具有借鉴意义。

3.2 平板法与 OD-TTD 法的比较

本文采用平板法测定金黄色葡萄球菌的生长速率和迟滞期，结果发现接种量不同时生长速率变化不大，分别为 0.0063 $\log[\text{cfu}/(\text{mL} \cdot \text{min})]$ [$N_0 = 3.1 \log(\text{cfu/mL})$]、0.0061 $\log[\text{cfu}/(\text{mL} \cdot \text{min})]$ [$N_0 = 4.1$ 、5.1 $\log(\text{cfu/mL})$]、

0.0060 log[cfu/(mL·min)] [$N_0=5.1 \log(\text{cfu}/\text{mL})$], 均接近 OD-TTD 法计算的 0.0064 log[cfu/(mL·min)]。说明此法可以较为准确地预测金黄色葡萄球菌的生长速率。OD-TTD 法测定金黄色葡萄球菌的迟滞期为 7.8 min, 而平板法测定结果分别为 108、95、55 min [$N_0=3.1$ 、4.1 和 5.1 log(cf u/mL)], 两者差别较大, 与其他方法一样 OD-TTD 法同样无法准确计算菌株迟滞期。食品中致病菌或腐败菌的生长速率和生长迟滞期是影响货架期内产品安全性的两个重要指标, OD-TTD 法对金黄色葡萄球菌生长速率的测定较为准确, 但是对迟滞期的测定方法则仍然需要完善和提高。

参考文献

- [1] 徐振波, 刘晓晨, 李琳, 等. 金黄色葡萄球菌肠毒素在食源性微生物中的研究进展[J]. 现代食品科技, 2013, 29(9): 2317-2324
XU Zhen-bo, LIU XIAO-chen, LI Lin. Development of *Staphylococcus aureus* Enterotoxin in Food-borne Bacteria [J]. Modern Food Science and Technology, 2013, 29(9): 2317-2324
- [2] 迟海, 李学英, 杨宪时. 微生物预测模型技术研究进展及其在食品工业中的应用[J]. 现代食品科技, 2013, 29(3): 678-682
CHI Hai, LI Xue-Ying, YANG Xian-Shi. Researches of Microbiological Predictive Model and its Application on Food Industry [J]. Modern Food Science and Technology, 2013, 29(3): 678-682
- [3] 杜连祥, 路福平. 微生物学实验技术[M]. 北京: 中国轻工业出版社, 2006
- [4] Harrigan WF, 李卫华等译. 食品微生物实验室手册 (第三版) [M]. 北京: 中国轻工业出版社, 2004
- [5] McDonald K, Sun DW. Predictive food microbiology for the meat industry: a review [J]. International Journal of Food Microbiology, 1999, 52: 1-27
- [6] Walker S J, Jones J E. Protocols for data generation for predictive modeling [J]. Journal of Industrial Microbiology, 1993, 12(3-5): 273-276
- [7] Baranyi J, Roberts TA. Mathematics of predictive food microbiology [J]. International Journal of Food Microbiology, 1995, 26: 199-218
- [8] Begot C, Desnier I, Daudin J D, et al. Recommendations for calculating growth parameters by optical density measurements [J]. Journal of Microbiological Methods, 1996, 25: 225-232
- [9] Baty F, Flandrois J P, Delignette-Muller M L. Modeling the lag time of *Listeria monocytogenes* from biable count enumeration and optical density data [J]. Applied and Environmental Microbiology, 2002, 68: 5816-5825
- [10] Swinnen I A M, Bernaerts K, Dens E J J, et al. Predictive modelling of the microbial lag phase: a review [J]. International Journal of Food Microbiology, 2004, 94: 137-159
- [11] McKellar R C, Lu X, Knight K P. Growth pH does not affect the initial physiological state parameter (p_0) of *Listeria monocytogenes* [J]. International Journal of Food Microbiology, 2002, 73: 137-144
- [12] Mytilinaios I, Salih M, Schofield H K, et al. Growth curve prediction from optical density data [J]. International Journal of Food Microbiology, 2012, 154: 169-176
- [13] Baranyi J, Pin C. Estimating bacterial growth parameters by means of detection times [J]. Appl. Environ. Microbiol., 1999, 65: 732-736
- [14] Robinson T P, Aboaba O O, Kaloti A. The effect of inoculum size on the lag phase of *Listeria monocytogenes* [J]. International Journal of Food Microbiology, 2001, 70: 163-173
- [15] Salih M, Mytilinaios I, Schofield H K, et al. Modelling of bacterial growth with shifts in temperature using automated methods with *Listeria monocytogenes* and *Pseudomonas aeruginosa* as examples [J]. International Journal of Food Microbiology, 2012, 155: 29-35
- [16] Cuppers H G A M, Smelt J P P M. Time to turbidity measurements as a tool for modeling spoilage by *Lactobacillus* [J]. Journal of Industrial Microbiology, 1993, 12: 168-171
- [17] Buchanan R L, Whiting R C, Damert W C. When is simple good enough: a comparison of the Gompertz, Baranyi, and three-phase linear models for fitting bacterial growth curves [J]. Food Microbiology, 1997, 14: 313-326
- [18] Garthright W E. The three phase linear model of bacterial growth: a response [J]. Food Microbiology, 1997, 14: 193-195
- [19] Dalgaard P, Ross T, Kamperman L, et al. Estimation of bacterial growth rates from turbidometric and viable count data [J]. International Journal of Food Microbiology, 1994, 23: 391-404
- [20] Dalgaard P, Koutsoumanis K. Comparison of maximum specific growth rates and lag times estimated from absorbance and viable count data by different mathematical models [J]. Journal of Microbiological Methods, 2001, 43: 183-196