

# 金黄色葡萄球菌生物被膜生长动力学分析

余铭<sup>1</sup>, 陈海强<sup>1</sup>, 张全凯<sup>2</sup>, 钱杨鹏<sup>3</sup>, 杨公明<sup>2</sup>

(1. 阳江职业技术学院, 广东阳江 529566) (2. 华南农业大学食品学院, 广东广州 510642)

(3. 华南理工大学轻工与食品学院, 广东广州 510640)

**摘要:** 利用优化的 Liu 动力学方程对金黄色葡萄球菌生物被膜的附着过程进行拟合得出: 培养温度、培养基 pH 值、细菌接种浓度都对金黄色葡萄球菌生物被膜的粘附过程有影响, 大约在 60 min 时, 金黄色葡萄球菌生物被膜达到粘附平衡。在温度为 35 °C, pH 值为 7 时, 附着的微生物量最大, 细菌接种浓度越高, 附着的微生物量越大。利用 Gompertz 模型对生物被膜生长、成熟过程进行拟合得出: 金黄色葡萄球菌生物被膜生长曲线呈现典型的 S 型, 具有明显的延滞期、指数期和稳定期; 生物被膜生长曲线表现出的 S 型有别于悬浮菌的生长曲线, 其指数期相对较短。金黄色葡萄球菌生物被膜粘附过程、生长和成熟过程的模型修正拟合度 R<sup>2</sup> (Adj) 均在 0.97 之上。表明 Liu 动力学方程以及 Gompertz 模型分别适用于描述外界环境与金黄色葡萄球菌生物被膜附着, 生长与成熟的关系。

**关键词:** 金黄色葡萄球菌; 生物被膜; 生长动力学; Gompertz 模型

文章编号: 1673-9078(2015)7-230-235

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2015.7.036

## Growth Kinetics of *Staphylococcus aureus* Biofilm

YU Ming<sup>1</sup>, CHEN Hai-qiang<sup>1</sup>, ZHANG Quan-kai<sup>2</sup>, QIAN Yang-peng<sup>3</sup>, YANG Gong-ming<sup>2</sup>

(1. Yangjiang Vocational and Technical College, Yangjiang 529566, China)

(2. College of Food Science, South China Agricultural University, Guangzhou 510642, China)

(3. College of Light Industry and Food Sciences, South China University of Technology, Guangzhou 510640, China)

**Abstract:** The optimized Liu kinetic equation was used to fit the adhesion process of *Staphylococcus aureus* biofilm. The results showed that culture temperature and pH as well as inoculum concentration influenced the adhesion process. The adhesion equilibrium of *S. aureus* biofilm was reached at approximately 60 min. Maximum microbial attachment was achieved at 35 °C and pH 7. Additionally, higher inoculum concentration led to increased microbial attachment. The Gompertz model was used to fit the growth and maturation process of the biofilm. The *S. aureus* biofilm growth curve showed a typical S type, with apparent lag, logarithmic, and stationary phases. This was different from the growth curve of suspended bacteria, which has a relatively short logarithmic phase. The adjusted coefficient of determination R<sup>2</sup> (Adj) for the *S. aureus* biofilm models for adhesion, growth, and maturity were > 0.97, indicating that the Liu kinetic equation and the Gompertz model were suitable to describe the relationship between the external environment and *S. aureus* biofilm attachment as well as between growth and maturity, respectively.

**Key words:** *Staphylococcus aureus*; biofilm; growth kinetics; Gompertz model

金黄色葡萄球菌是一种较为常见的, 易引起食物中毒的食源性致病菌, 常会导致产品腐败和疾病传染, 对食品安全都构成巨大的威胁<sup>[1]</sup>。生物被膜指的是附着于惰性或者活性固体表面的细菌细胞和包裹细菌的水合性基质所组成的结构性细菌群落<sup>[2-3]</sup>。金黄色葡萄球菌等易导致食源性疾病的病原菌常以生物被膜形式存在于人们日常生活环境中<sup>[4]</sup>。

金黄色葡萄球菌生物被膜的形成是一个动态过

程, 对其进行大概分类, 可分为三个阶段: 细胞的粘附、生物被膜生长、生物被膜成熟。预测微生物模型可分为描述微生物生长和失活的两大类数学模型, 每个类别又分为一级、二级和三级模型三个水平<sup>[5]</sup>。一级模型描述微生物粘附、生长或失活与时间之间的关系, 在描述微生物粘附规律时, 最为普遍接受的可描述微生物在载体表面的可逆附着行的模型是 Liur 动力学体系<sup>[6-7]</sup>; 在描述微生物生长 S 型曲线时, Gompertz 模型则是被广泛认为是能够最为准确描述生长情况的一个模型<sup>[8]</sup>。食物中成分复杂, 各因素间互相影响, 如若通过构建数学模型概括这一复杂的过程须做出一些简化的假定。

收稿日期: 2015-05-11

基金项目: 广州市科技计划项目 (201354400095)

作者简介: 余铭 (1973-), 男, 博士, 高级工程师, 研究领域为食品高新技术与食品原料加工性能评价

国外,微生物预报技术被用于控制食品中微生物的污染以及乳酸菌发酵等,国内对该技术的研究和认识还较少,目前我国还未见到关于研究金黄色葡萄球菌生物被膜的生长动力学模型的相关文献。本实验中假定在96孔板中供给充足的培养基,用分段函数方程描述微生物被膜的生长过程中金黄色葡萄球菌活菌数的变化并以其作为生长阶段划分依据的方法,来研究金黄色葡萄球菌生物被膜的粘附、生长和成熟过程的生长动力学,利用一级动力学模型描述生物被膜的生长与时间之间的变化关系,研究环境对一级动力学模型参数的影响,建立金黄色葡萄球菌生物被膜形成动力学,这将为预防食品加工过程中的隐性生物危害提供理论支持。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料与仪器

#### 1.1.1 菌种与培养基

金黄色葡萄球菌 (*Staphylococcus aureus* ATCC 6538): 购于广东省微生物研究所。

营养琼脂培养基 (Nutrient agar, LB): 胰蛋白胨 10 g、酵母膏粉 10 g、氯化钠 5 g、葡萄糖 1 g、琼脂 15 g,用蒸馏水配制而成 1 L 溶液,调节 pH 为 7.0±0.2,经 121 °C 压力蒸汽灭菌 20 min。

胰蛋白酶大豆肉汤培养基 (Tryptone Soy Broth, TSB): 胰蛋白胨 17 g、大豆蛋白胨 3 g、氯化钠 5 g、磷酸氢二钾 2.5 g、葡萄糖 2.5 g,用蒸馏水配制而成 1 L 溶液,调节 pH 为 7.0±0.2,121 °C 灭菌 20 min。

胰蛋白胨大豆肉汤琼脂培养基 (Tryptone Soy Broth Agar, TSA): 胰蛋白胨 17 g、大豆蛋白胨 3 g、氯化钠 5 g、磷酸氢二钾 2.5 g、葡萄糖 2.5 g、琼脂 15 g,用蒸馏水配制而成 1 L 溶液,调节 pH 为 7.0±0.2,121 °C 灭菌 20 min。

#### 1.1.2 主要仪器设备

酶标仪 (ANTHOS-2010, 美国安图斯公司), 光学显微镜 (XSP-7CE, 上海长方光学仪器有限公司), 临界点干燥仪 (CPD 030, 瑞士 Bal-Tec 公司), 恒温水浴振荡锅 (SHZ-88, 哈尔滨市东联电子技术开发有限公司), 旋转式超声波聚焦处理器 (NP-Q2000B, 广州新栋力超声电子设备有限公司), 生化培养箱 (LRH-250A, 天津福元铭仪器设备有限公司), 手提式高压蒸汽灭菌锅 (YXQ-LS-18SI, 杭州汇尔仪器设备有限公司), 超净工作台 (AIR TECH, 苏净基团安泰公司), 电热鼓风干燥箱 (DGG-9070, 上海森信试验仪器有限公司), 数字型 pH 计 (DELTA320, 梅特

勒-托利多仪器 (上海) 有限公司), ORP 计 (PHS-3G, 上海雷磁仪器厂), 精密电子天平 (SETRA, 梅特勒-托利多仪器 (上海) 有限公司)。

#### 1.1.3 主要试剂

NaOH, HCl, NaCl, NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>, CaCl<sub>2</sub>, 琼脂, 胰蛋白胨, 大豆蛋白胨

### 1.2 试验方法

#### 1.2.1 菌种活化与菌悬液制备

冻干的金黄色葡萄球菌接种于 TSA 培养基上, 37 °C 条件下培养过夜, 取直径大于 1 mm 的菌落于无菌 TSB 培养基中 37 °C 震荡培养至对数生长期。复苏的菌种接种于 TSB 培养基中, 37 °C 下培养 24 h 后超声使菌团分散均匀, 参照麦氏比浊法, 用无菌磷酸盐缓冲液 (PBS, pH 7.3) 调整菌悬液细菌密度约为 10<sup>8</sup> CFU/mL。

#### 1.2.2 金黄色葡萄球菌生物被膜活菌量的测定

将一定量菌悬液接入 96 孔板中, 加入 TSB 培养基, 盖上盖子, 恒温恒湿培养。取出培养一定时间的 96 孔板, 磷酸盐缓冲溶液冲洗 3 次, 无菌棉球擦拭培养孔数次, 将棉球转入装有 10 mL PBS 溶液试管中, 50 Hz 超声 15 min。用磷酸盐缓冲溶液进行梯度稀释后, 在 TSA 平板上 37 °C 培养 24 h 后计数, 结果以 log (CFU/mL) 表示。

#### 1.2.3 金黄色葡萄球菌生物被膜的生长动力学研究

##### 1.2.3.1 细菌生物被膜粘附过程动力学模型

细菌粘附过程是微生物通过物理或化学作用力附着到固体表面, 是生物被膜形成的第一阶段和先决条件, 这个过程是一个吸附和脱落的可逆过程, 当粘附和脱落达到稳定时会在载体表面获得一个相对稳定的环境, 开始通过外界环境提供的底物进行增殖, 处于这个阶段微生物的抵抗力比浮游菌稍强, 相对较易清除。Liu 提出微生物在载体表面的可逆附着行为遵守一级可逆反应动力学准则并建立了相应的动力学体系来描述微生物在载体表面可逆附着过程<sup>[7]</sup>。即:

$$B = B_{\max} \frac{kt}{kt+1} \quad (1)$$

式中:  $t$ —微生物附着时间;  $k$ —微生物附着速率, T<sup>-1</sup>;  $B$ —在时间  $t$  时微生物在载体表面的粘附量, log(CFU/mL);  $B_{\max}$ —在时间  $t$  时微生物在载体表面最大粘附量, log(CFU/mL)。

##### 1.2.3.2 细菌生物被膜生长、成熟过程动力学模型

微生物在经过不可逆的附着过程后, 在载体表面获得一个相对较稳定的环境, 开始通过外界环境所提供的底物浓度进行生长繁殖。生物被膜的增长过程一

般认为与悬浮微生物的增长过程相似。在描述微生物生长 S 形曲线中, Gompertz 模型被广泛认可。90 年代初 Zwietering 等对细菌的生长建立一级模型, 比较了同为 S 形曲线的 Gompertz、Richards、Schnute 和

Stannard 方程, 认为 Gompertz 模型更加准确的描述了其生长情况<sup>[8]</sup>。

Gompertz 方程描述如下:

$$C(t) = B_{\max} + (C_{\max} - B_{\max}) \times \exp\{-\exp[\mu_{\max} \times 2.718 / (C_{\max} - B_{\max}) \times (\lambda - t) + 1]\} \quad (2)$$

式中,  $C(t)$  是时间  $t$  时微生物的数量, ( $\log(\text{CFU/mL})$ );  $B_{\max}$  在时间  $t$  时微生物在载体表面最大粘附量, ( $\log(\text{CFU/cm}^2)$ );  $C_{\max}$  增加到稳定期时最大的微生物数量, ( $\log(\text{CFU/mL})$ );  $\mu_{\max}$  微生物生长的最大比生长速率, ( $\text{h}^{-1}$ );  $\lambda$  微生物生长的延滞时间, ( $\text{h}$ );  $t$  时间, ( $\text{h}$ )。

微生物随着细菌接种浓度升高而升高, 这可能是因为悬浮微生物浓度上升导致悬浮菌与载体间接触的几率增大。同时有研究表明, 在一定范围内, 悬浮菌的浓度与微生物附着量存在正比例的关系<sup>[9-11]</sup>。

### 1.2.3.3 动力学模型评价方法

参照 1.2.2, 分别选择细菌接种浓度 ( $10^5 \text{ CFU/mL}$ 、 $10^6 \text{ CFU/mL}$ 、 $10^7 \text{ CFU/mL}$ 、 $10^8 \text{ CFU/mL}$ 、 $10^9 \text{ CFU/mL}$ 、 $10^{10} \text{ CFU/mL}$ )、培养基 pH (5、6、7、8、9)、培养温度 ( $25 \text{ }^\circ\text{C}$ 、 $30 \text{ }^\circ\text{C}$ 、 $35 \text{ }^\circ\text{C}$ 、 $40 \text{ }^\circ\text{C}$ 、 $45 \text{ }^\circ\text{C}$ )、每隔 6 min 测定金黄色葡萄球菌生物被膜的活菌量, 建立生物被膜粘附过程的生长曲线。利用细菌生物被膜粘附过程动力学模型进行拟合得出相关参数并对模型进行评价。

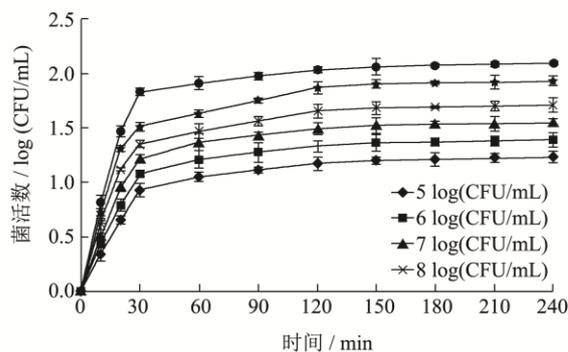


图 1 细菌接种浓度对生物被膜附着的影响

Fig.1 Effect of inoculum concentration on biofilm adhesion

参照 1.2.2, 分别选择培养基 pH (5、6、7、8、9)、培养温度 ( $25 \text{ }^\circ\text{C}$ 、 $30 \text{ }^\circ\text{C}$ 、 $35 \text{ }^\circ\text{C}$ 、 $40 \text{ }^\circ\text{C}$ 、 $45 \text{ }^\circ\text{C}$ )、每隔 6 h 测定金黄色葡萄球菌生物被膜的活菌量, 建立生物被膜生长、成熟过程的生长曲线。通过 Gompertz 模型进行拟合得出相关参数并对模型进行评价。

由图 2 和表 1 可发现, 方程与实验数据有较高的一致性, 细菌接种浓度为  $10^5 \text{ CFU/mL}$ 、 $10^6 \text{ CFU/mL}$ 、 $10^7 \text{ CFU/mL}$ 、 $10^8 \text{ CFU/mL}$ 、 $10^9 \text{ CFU/mL}$ 、 $10^{10} \text{ CFU/mL}$  时,  $R^2$  分别可达 0.9813、0.9842、0.98382、0.98842、0.9864 和 0.9773。随着细菌接种浓度的上升, 附着固定速率  $k$  呈线性增加。但是当接种浓度达到  $10^7 \text{ CFU/mL}$  时, 附着固定速率  $k$  增长变缓, 这表示在附着过程中存在某一临近悬浮微生物浓度, 超过此浓度后, 微生物的附着会受到有效表面积的限制, 而不再取决于悬浮微生物的浓度。

使用校正拟合度  $R^2(\text{Adj})$  和均方误差 MSE 两个参数对不同生长阶段的模型的拟合度进行分析。MSE 越小、 $R^2$  越接近于 1, 模型曲线拟合程度越高。

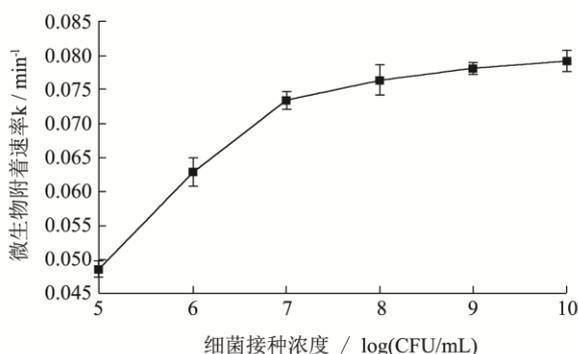


图 2 细菌接种浓度对生物被膜附着固定速率  $k$  值的影响

Fig.2 Effect of inoculum concentration on the  $k$  value of the biofilm

### 1.2.4 数据分析

所有测试重复进行平行试验 3 次, 用 SPSS 14.0 软件的统计分析软件对所有数据进行单因素方差分析。

## 2 结果与分析

### 2.1 生物被膜粘附过程动力学分析

#### 2.1.1 细菌接种浓度对生物被膜粘附过程的影响

根据方程 (1) 对不同细菌接种浓度对生物被膜粘附过程的活菌量进行拟合, 固定培养温度为  $37 \text{ }^\circ\text{C}$ , 培养基 pH 为 7, 所得结果如图 1 所示。可发现在培养的前 30 min, 微生物附着量呈线性增长, 培养时间超过 30 min 后, 附着速度减慢, 在培养 60 min 左右时, 生物被膜的附着过程达到动态平衡。载体表面附着的

#### 2.1.2 培养基 pH 对生物被膜附着过程的影响

根据方程 (1) 对不同培养基 pH 对生物被膜附着

粘附过程活菌量进行拟合, 固定培养基细菌接种浓度为  $10^{10}$  CFU/mL, 培养温度  $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ , 结果如图 3 所示。当 pH 值由 5 增加至 9 时, 载体表面的附着的微生物

量呈先迅速增加后增量减缓、增速下降的趋势。当 pH 在中性时, 载体表面附着的微生物量达到最大, 在 60 min 左右时, 生物被膜达到粘附平衡。

表 1 细菌接种浓度对生物被膜附着过程模型参数和统计分析结果

Table 1 Model parameters and statistical analysis of inoculum concentration on biofilm adhesion

细菌接种浓度 /[log(CFU/mL)]	$B_{\max}$ 值 /[log(CFU/mL)]	K 值 /min <sup>-1</sup>	均方误差 MSE	校正拟合度 R <sup>2</sup> (Adj)
5	1.35979	0.04845	0.00321	0.98132
6	1.51888	0.06283	0.00335	0.9842
7	1.68236	0.07336	0.00419	0.98382
8	1.8318	0.07639	0.00349	0.98842
9	2.06212	0.07812	0.00519	0.9864
10	2.23172	0.07914	0.0114	0.97473

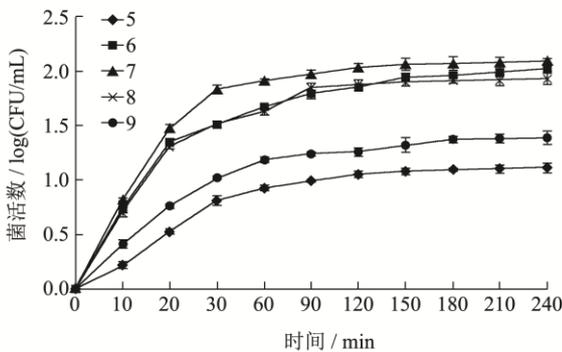


图3 培养基pH对生物被膜附着的影响

Fig.3 Effect of culture pH on biofilm adhesion

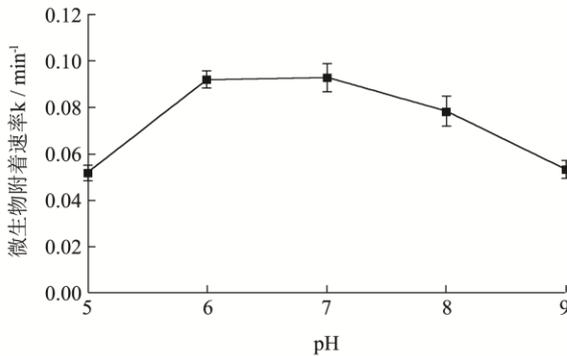


图4 培养基pH对生物被膜附着固定速率k值的影响

Fig.4 Effect of culture pH on the k value of the biofilm

由图 4 和表 2 可发现, 方程与实验数据有较高的一致性, 表明该方程可用于准确描述不同培养基 pH 对微生物附着过程的影响。在 pH 从 5 增长到 9 的过程中, 附着固定速率 k 值先增大后减小, 当培养基 pH 值为 7 时, 附着固定速率 k 值达到最大值, 该 pH 值也是金黄色葡萄球菌生长的最适酸碱度。

### 2.1.3 培养温度对生物被膜粘附过程的影响

根据方程 (1) 对不同培养温度对生物膜附着过程的活菌量进行拟合, 固定细菌接种浓度为  $10^{10}$ CFU/mL, 培养基 pH 值为 7, 结果如图 5 所示。

发现培养温度从从  $25\text{ }^{\circ}\text{C}$  上升到  $45\text{ }^{\circ}\text{C}$  的过程中, 载体表面附着的微生物菌量呈先增加后减少的趋势, 培养温度为  $35\text{ }^{\circ}\text{C}$  时, 载体表面附着的微生物量达到最大。在培养 60 min 左右时, 微生物生物被膜达到附着平衡。

表 2 培养基 pH 对生物被膜附着过程模型参数的影响

Table 2 Effect of culture pH on model parameters of biofilm

adhesion				
pH 值	$B_{\max}$ 值 /[log(CFU/mL)]	K 值 /min <sup>-1</sup>	均方误差 MES	校正拟合度 R <sup>2</sup> (Adj)
5	1.2565	0.04477	0.00435	0.97124
6	2.11731	0.08758	0.00493	0.9877
7	2.23172	0.09732	0.0114	0.97473
8	2.07586	0.08657	0.0054	0.98606
9	1.50992	0.05720	0.00277	0.98677

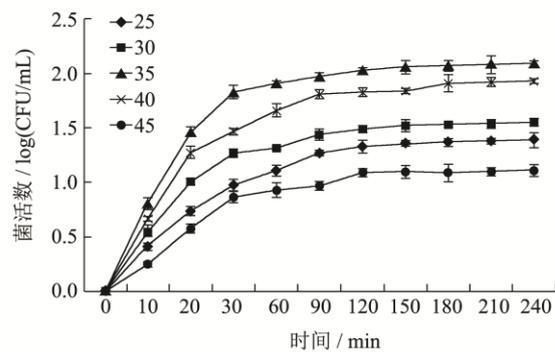


图 5 培养温度对生物被膜附着的影响

Fig.5 Effect of temperature on biofilm adhesion

从图 5 和表 2 中可以看出, 试验数据与方程的拟合的数值很接近, 说明该方程适用于描述培养温度变化与金黄色葡萄球菌附着过程的动态关系。如图 6 所示, 培养温度在  $25\sim 45\text{ }^{\circ}\text{C}$  时, 附着固定速率 k 先线性增大后快速减小; 培养温度  $35\text{ }^{\circ}\text{C}$  左右, 附着固定速率 k 达到最大值。此时的培养温度正是金黄色葡萄球

菌生长最适宜培养温度。

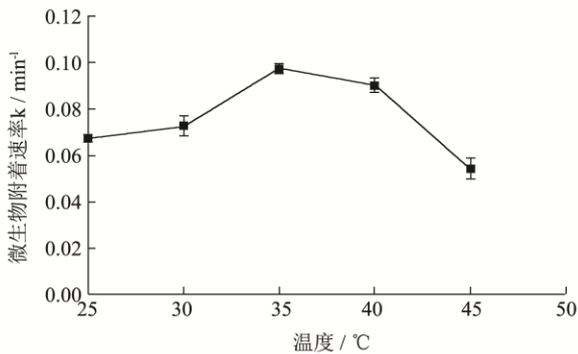


图 6 培养温度对生物被膜附着固定速率 k 值的影响

Fig.6 Effect of temperature on the k value of the biofilm

## 2.2 生物被膜生长、成熟过程动力学模型

### 2.2.1 培养基 pH 对生物被膜生长、成熟过程的影响

表 3 培养温度对生物被膜附着过程模型参数的影响

培养温度/°C	Bmax 值 / [log(CFU/mL)]	K 值 / min <sup>-1</sup>	均方误差 MES	校正拟合度 R <sup>2</sup> (Adj)
25	1.54057	0.06723	0.0016	0.99254
30	1.66068	0.07247	0.00433	0.98266
35	2.23172	0.09740	0.0114	0.97473
40	2.06714	0.09021	0.00511	0.98676
45	1.23923	0.05408	0.00496	0.96618

根据方程(2)对不同 pH 值环境下生物被膜生长、成熟过程中的活菌量进行拟合, 结果如图 7 所示。在

表 4 培养基 pH 对生物被膜 Gompertz 模型参数的影响

Table 4 Effect of culture pH on Gompertz model parameters for biofilm

pH	D / [log(CFU/mL)]	λ/h	μ <sub>max</sub> / h <sup>-1</sup>	均方误差 MSE	校正拟合度 R <sup>2</sup> (Adj)
5	0.79715	32.85936	0.08901	0.00175	0.98361
6	1.99489	28.60705	0.12108	0.00136	0.99805
7	2.01333	30.30857	0.15657	0.00367	0.99534
8	1.5516	30.51679	0.15754	0.00128	0.99728
9	1.24423	33.17922	0.06818	0.00646	0.97117

### 2.2.2 培养温度对生物被膜生长、成熟过程过程的影响

根据方程(2)对不同培养温度下生物被膜生长、成熟过程过程的活菌量进行拟合, 结果如图 8 所示。发现培养温度对金黄色葡萄球菌生物被膜具有明显的影响作用, 在培养温度为 35 °C 时, 金黄色葡萄球菌生物被膜生长最好。

从表 5 可知, 方程(2)与实验数据的拟合数值

pH 值为 6~8 的范围内, 金黄色葡萄球菌的生物被膜的生长具有明显的延滞期, 指数期和稳定期, 生长曲线呈典型的 S 型, pH 值为 5 和 9 的指数期和稳定期相对不明显, 其指数期也相对较短。生物被膜的生长曲线与悬浮菌典型的 S 型生长曲线有明显区别。这说明环境 pH 对金黄色葡萄球菌生物被膜的生长具有显著的影响。在 pH 值处于 6~8 的范围内时, 生物被膜的生长相对其他 pH 值生长较快, 在 pH 为 7 时, 金黄色葡萄球菌的生物被膜生长最好。

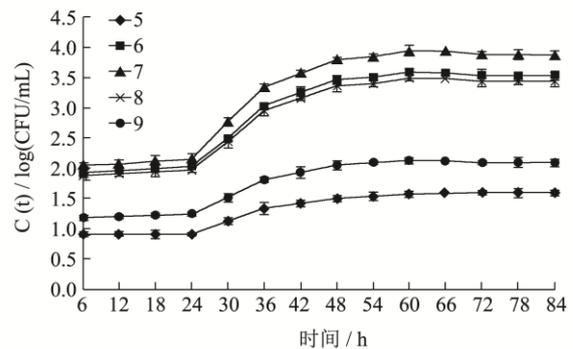


图 7 培养基 pH 对生物被膜生长拟合曲线的影响

Fig.7 Effect of culture pH on biofilm growth curve

由表 4 可知, 方程(2)与实验数据的拟合数据很接近, Gompertz 模型矫正拟合度 R<sup>2</sup> (Adj) 均处于 0.97~1 的范围内, 表明该方程可用于准确描述培养基 pH 对金黄色葡萄球菌生物被膜生长、成熟过程的影响。pH 为 5 和 9 的矫正拟合度 R<sup>2</sup> (Adj) 低于 0.99 可能是因为在这两种 pH 值条件下, 微生物数量在指数期波动较大, Gompertz 模型无法表述这种变化。

很接近, Gompertz 模型的矫正拟合度 R<sup>2</sup> (Adj) 均在 0.99 之上, 说明该方程适于描述培养温度变化与金黄色葡萄球菌生物被膜生长、成熟过程的关系。

## 3 结论

3.1 利用优化的 Liu 动力学方程对金黄色葡萄球菌生物被膜的附着过程进行拟合得到: 培养时间低于 30min 时, 微生物附着量呈线性增长, 高于 30 min 时,

附着速度降低, 大约在 60 min 时, 金黄色葡萄球菌生物被膜达到粘附平衡; 细菌接种浓度的升高, 载体表面附着的微生物增多; 培养基 pH 值从 5 到 9 上升的过程中, 载体表面附着的金黄色葡萄球菌量呈先增加后减少的趋势, 中性时载体表面附着的微生物最多; 培养温度从 25 °C 增加到 45 °C 时, 载体表面附着的金黄色葡萄球菌量呈先增加后下减少的趋势, 在培养温度在 35 °C 左右时, 载体表面附着的微生物最多;

3.2 利用 Gompertz 模型对生物被膜生长、成熟过程进行拟合得出: 金黄色葡萄球菌生物被膜在 pH 值为 6~8 范围内的生长曲线呈现典型的 S 型, 具有明显的延滞期、指数期和稳定期, pH 值为 5 和 pH 值为 9 的指数期、稳定期相比不显著; 生物被膜生长曲线表现出的 S 型有别于悬浮菌的生长曲线, 其指数期相对较短; pH 对金黄色葡萄球菌生物被膜具有明显的影响作

用, 当 pH 值为 7 时, 金黄色葡萄球菌生物被膜生长最好; 培养温度对金黄色葡萄球菌生物被膜具有显著影响作用, 培养温度为 35 °C 时, 金黄色葡萄球菌生物被膜生长最好。

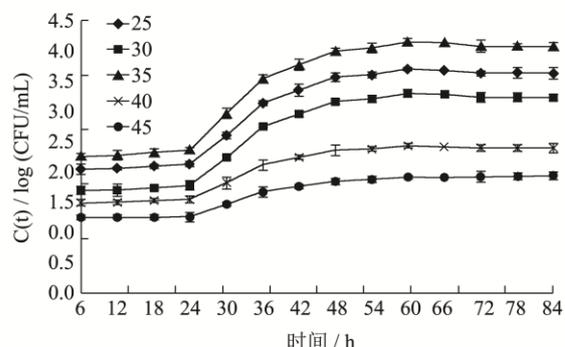


图 8 培养基 pH 对生物被膜生长拟合曲线的影响

Fig.8 Effect of culture pH on biofilm growth curve

表 5 温度对生物被膜 Gompertz 模型参数的影响

Table 5 Effect of temperature on Gompertz model parameters for biofilm

温度 / °C	D / [log(CFU/mL)]	$\lambda/h$	$\mu_{max}/h^{-1}$	均方误差 MSE	校正拟合度 $R^2$ (Adj)
25	0.90283	30.47725	0.15697	4.47E-04	0.99719
30	1.55163	30.51571	0.15753	0.00128	0.99728
35	1.82166	30.02127	0.16027	0.00191	0.99703
40	1.60002	30.50744	0.15741	0.00137	0.99727
45	0.67828	31.28261	0.13473	3.83E-04	0.99563

3.3 金黄色葡萄球菌生物被膜粘附过程、生长和成熟过程的模型校正拟合度  $R^2$  (Adj) 均在 0.97 之上, 说明优化的 Liu 动力学方程以及 Gompertz 模型分别适用于描述外界环境与金黄色葡萄球菌生物被膜附着, 生长与成熟的关系。

参考文献

[1] Izano E A, Amarante M A, Kher W B, et al. Differential roles of poly-N-acetylglucosamine surface polysaccharide and extracellular DNA in Staphylococcus aureus and Staphylococcus epidermidis biofilms [J]. Appl. Environ. Microbiol., 2008, 74: 470-476

[2] Ganesh K C, Anand S K. Significance of microbial biofilms in food industry [J]. International Journal of Food Microbiology, 1998, 42: 9-27

[3] Gluten T G, Gunnur T. Biofilm Formation in an ice cream plant [J]. International Journal of Food Microbiology, 2006, 89: 329-336

[4] Paul N D, Leslie A P, Roberto K. Exopolysaccharide production is required for development of Escherichia coli K-12 biofilm architecture [J]. Microbiol, 2000, 182: 3593-

3596

[5] Whiting R C, Buchanan R L. A classification of models for predictive microbiology [J]. International Journal of Food Microbiology, 1993, 10: 175-177

[6] Liu Y. Dynamique de croissance de biofilm nitrifiant appliqué au traitement des eaux [J]. In: France, 1994: 269

[7] Liu Y. Adhesion kinetics of nitrifying bacteria on various thermoplastic supports [J]. Colloids and Surfaces B: Biointerfaces, 1995, (5): 213-219

[8] Zwietering M H, Rombouts F M. Comparison of definitions of the lag phase and the exponential phase in bacterial growth [J]. Journal of Applied Microbiology, 1992, 72(2): 139-145

[9] Byers J, Choracklis W. Early fouling biofilm formation in a turbulent flow system [J]. Wat. Res, 1981, (15): 483-491

[10] Daniels S L. Mechanisms involved in adsorption of microorganisms to solid surface [J]. John Wiley and Sons Inc, 1980: 8-58

[11] Escher A, and Characklis W. Modeling the initial event in biofilm accumulation [J]. John Wiley and Son Inc, 1990: 445-485

现代食品科技