# 凉皮中金黄色葡萄球菌生长预测模型的建立

孟云,马俊伟,廖超,张凯莉,田会丽,糜唯钰,姬华,王周平

(石河子大学食品学院,新疆石河子 832003)

摘要: 为了研究金黄色葡萄球菌在凉皮中的生长规律,通过测定  $5 \, \mathbb{C} \times 10 \, \mathbb{C} \times 25 \, \mathbb{C}$ 

关键词: 一级生长模型; 二级生长模型; 金黄色葡萄球菌; 凉皮

文章篇号: 1673-9078(2018)04-198-205

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2018.04.030

## **Establishment of Growth Predictive Model of**

# Staphylococcus aureus in Liangpi

MENG Yun, MA Jun-wei, LIAO Chao, ZHANG Kai-li, TIAN Hui-li, MI Wei-yu, JI Hua, WANG Zhou-ping

(College of Food, Shihezi University, Shihezi 832003, China)

**Abstract:** The growth curve of *Staphylococcus aureus* was fitted based on the Baranyi model, modified Gompertz model and Huang model to investigate the growth of *Staphylococcus aureus* in a traditional food Liangpi by determining the growth data at 5 °C, 10 °C, 15 °C, 20 °C and 25 °C. The correlation coefficients and parameters of the three models were compared, and the maximum specific growth rate ( $\mu_{max}$ ) and lag phase ( $\lambda$ ) obtained by the primary model were used to establish a temperature-dependent secondary model. The results showed that the bias factor ( $B_f$ ) and accuracy factor ( $A_f$ ) of the primary model established by the modified Gompertz model were within a reasonable range. The square root model of temperature was established by using  $\mu_{max}$  and  $\lambda$  fitted by the modified Gompertz model, and the fitting  $R^2$  is 0.80 and 0.88, indicating that the Modified Gompertz model was most suitable for fitting growth curve. In addition, the variance analysis of the secondary model showed that the model could effectively predict the growth of *S.aureus* in Liangpi. This study provided theoretical basis for the quantitative risk assessment of *S. aureus* in Liangpi.

Key words: primary growth model; secondary growth model; Staphylococcus aureus; Liangpi

金黄色葡萄球菌(Staphylococcus aureus)是一种革兰氏染色阳性球形细菌,对生长没有特殊的营养和环境要求<sup>[1]</sup>,在自然界中无处不在,广泛分布于肉制品、牛奶和蛋类等食品中<sup>[2]</sup>,是常见的食源性致病菌,不仅能够引起皮肤感染,还容易引起细菌性食物中毒。金黄色葡萄球菌可产生致病性肠毒素,最常见的是SEA~SEE 5 种血清型,该毒素是一种高温下很难消除收稿日期: 2017-10-24

基金项目:石河子大学重大科技攻关计划项目(gxjs2015-zdgg05);国家自然科学基金-新疆联合基金项目(U1703119)

作者简介: 孟云(1993-),女,硕士研究生,研究方向: 食品安全检测通讯作者: 姬华(1980-),女,工学博士,副教授,研究方向: 食品质量与安全; 王周平(1974-),男,理学博士,教授,研究方向: 食品营养与安全分析研究

的碱性蛋白, 能够引起严重的中毒症状。

凉皮是人们日常生活中常见的一类即食面制品,由于其水分活度高,营养丰富,且加工销售条件粗放,极适于金黄色葡萄球菌的滋生和繁殖,造成二次污染 <sup>[3]</sup>。微生物生长模型预测可以简便、快捷、高效的判断金黄色葡萄球菌生长的动态变化。目前,国内外对金黄色葡萄球菌的生长预测模型也做了大量的研究,Fujikawa 等<sup>[4]</sup>和 Juneja 等<sup>[5]</sup>分别建立了牛奶、鸡肉中金黄色葡萄球菌的生长预测模型,Valero 等<sup>[6]</sup>建立了金黄色葡萄球菌在不同温度、pH、水分活度条件下的生长预测模型,但这些微生物生长预测模型绝大部分只针对肉制品<sup>[7]</sup>和乳制品<sup>[8]</sup>等食品,对凉皮这类即食面制品的研究较少。

因而本研究选用 Baranyi 模型、Modified Gompertz

模型和Huang模型作为凉皮中金黄色葡萄球菌的一级 生长模型,应用 Origin 等软件分别拟合金黄色葡萄球 菌在5℃、10℃、15℃、20℃和25℃的生长数据, 并以此获得 μmax 和 λ。在此基础上,采用平方根模型 建立凉皮中金黄色葡萄球菌的二级生长模型,研究结 果可为凉皮中金黄色葡萄球菌的定量风险评估提供理 论依据。

#### 1 材料与方法

#### 1.1 材料

#### 1.1.1 菌种来源、培养基及试剂

金黄色葡萄球菌菌株(KX023357.1), 石河子大 学食品学院微生物实验室保存; 胰蛋白胨大豆肉汤、 胰蛋白胨大豆琼脂培养基,购自青岛高科技工业园海 博生物技术有限公司; 无菌均质袋, 购自青岛高科技 工业园海博生物技术有限公司; 氯化钠(分析纯试剂), 购自天津市致远化学试剂有限公司。

#### 1.1.2 仪器与设备

SW-CJ-2D 型洁净工作台, 苏州苏洁净化设备有 限公司; LDZX-30KBS 立式压力灭菌锅,上海申安医 疗器械厂; 电热恒温鼓风干燥箱, 上海森信实验仪器 有限公司: SPX-150B 型恒温恒湿培养箱,绍兴市苏 珀仪器有限公司; ZWYR-D2403 型恒温培养振荡器, 上海智城分析仪器制造有限公司; BCD-216SDN 型冰 箱,青岛海尔股份有限公司; Bag Mixer 400 VW 型拍 打式均质器, 法国 INTERSCIENCE 公司: 电子天平 等。

#### 1.1.3 样品采集

实验所用凉皮均购自石河子市石河子大学北区小 四凉皮店,凉皮加工成成品后,立刻采集,无菌操作 采集样品,并于2h内对样品进行处理。

#### 样品制备与接种

将凉皮于灭菌锅中灭菌后(121 ℃, 20 min)置于无 菌操作台中冷却后,每份凉皮样品称取10g置于稀释 过的菌液中  $10 \,\mathrm{s}$ ,使初始接种量为  $10^2 \sim 10^3 \,\mathrm{CFU/g}$ ,将 接种后的凉皮样品置于无菌均质袋中,置于5℃、 10 ℃、15 ℃、20 ℃和 25 ℃的生化培养箱中培养不同 的时间。

#### 1.2.2 金黄色葡萄球菌计数

到达预设的培养时间后,从培养箱中取出无菌均 质袋,将90 mL 无菌生理盐水加入均质袋中并均质2 min。将均质液梯度稀释后,菌落总数测定按照 GB 4789.10-2016《食品安全国家标准食品微生物学检验 金黄色葡萄球菌检验》平板计数法[9]。

1.2.3 恒温下凉皮中金黄色葡萄球菌的生长模 型的建立

#### 1.2.3.1 一级生长模型的建立

根据实验得到的凉皮中金黄色葡萄球菌在不同温 度下的生长数据,本文采用美国农业部 IPMP2013 软 件进行数据拟合。

Baranyi 模型<sup>[10]</sup>:

$$Y(t) = Y_0 + \mu_{\text{max}} A(t) - \ln \left\{ 1 + \frac{\exp[\mu_{\text{max}} A(t)] - 1}{\exp(Y_{\text{max}} - Y_0)} \right\}$$
(1)  
$$A(t) = t + \frac{1}{\mu_{\text{max}}} \ln[\exp(-\mu_{\text{max}} t) + \exp(-h_0) - \exp(-\mu_{\text{max}} t - h_0)]$$
(2)

$$A(t) = t + \frac{1}{\mu_{\text{max}}} \ln[\exp(-\mu_{\text{max}}t) + \exp(-h_0) - \exp(-\mu_{\text{max}}t - h_0)]$$
 (2)

(1), (2)式中 Y(t)、Y<sub>0</sub>和 Y<sub>max</sub> 分别为 t 时刻的微生物数量 (lg(CFU/g)), 初始时的微生物数量(lg(CFU/g))和微生物达到稳 定时的最大数量(Ig(CFU/g)), μmax 为最大比生长速率 (lg(CFU/g)/h), h<sub>0</sub>为微生物的生理状态。

Modified Gompertz 模型[11]:

$$Y(t) = Y_0 + (Y_{\text{max}} - Y_0) \exp \left\{ -\exp \left[ \frac{\mu_{\text{max}} e}{Y_{\text{max}} - Y_0} (lag - t) + 1 \right] \right\}$$
 (3)

(3)式中 Y(t)、Y<sub>0</sub> 和 Y<sub>max</sub> 分别为 t 时刻的微生物数量 (lg(CFU/g)), 初始时的微生物数量(lg(CFU/g))和微生物达到稳 定时的最大数量(lg(CFU/g)), lag 为迟滞期(h), μmax 为最大比生 长速率(lg(CFU/g)/h)。e=2.72。

Huang 模型<sup>[12]</sup>:

$$Y(t) = Y_0 + Y_{\text{max}} - \ln \left\{ e^{Y_0} + \left[ e^{Y_{\text{max}}} - e^{Y_0} \right] e^{-\mu_{\text{max}} B(t)} \right\}$$
 (4)

$$B(t) = t + \frac{1}{\alpha} \ln \frac{1 + e^{-\alpha(t-\lambda)}}{1 + e^{\alpha\lambda}}$$
 (5)

(4), (5)式中 Y(t)、 $Y_0$ 和  $Y_{max}$ 分别为 t 时刻的微生物数量 (lg(CFU/g)),初始时的微生物数量(lg(CFU/g))和微生物达到稳 定时的最大数量(lg(CFU/g)), μmax 为最大比生长速率 (lg(CFU/g)/h), λ 为延滞时间(h), α 为滞后相变系数: 4.00。

#### 1.2.3.2 二级生长模型的建立

二级模型描述了温度对一级模型中金黄色葡萄球 菌生长动力学参数的影响。

用平方根(Belehradek)方程描述效果简单并且有 效[13],模型方程式如下:

$$\sqrt{\mu_{\text{max}}} = b(T - T_{\text{min}}) \tag{6}$$

$$\sqrt{1/\lambda} = b(T - T_{\min}) \tag{7}$$

(6), (7)式中 T 是实验中的生长温度(℃); T<sub>min</sub>是理论上金 黄色葡萄球菌生长的最低温度; μmax 为最大比生长速率 (lg(CFU/g)/h); λ是迟滞期(h); b 为常数。

#### 1.2.4 模型的验证

根据相关系数  $R^2$ ,偏差因子  $B_f$ ,准确因子  $A_f$ ,标 准 差 (S) , AIC(Akaike Information Criterion) 和 RMSE(Root Mean Squared Error)可判断一级模型拟合程度的好坏。利用方差分析对二级模型预测效果进行验证和评价 $[^{14}]$ 。

$$B_f = 10^{\frac{\sum \log(predicted / observed)}{n}}$$
(8)

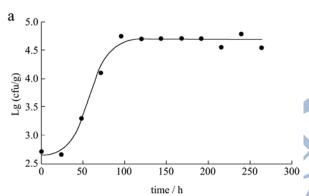
$$A_f = 10^{\frac{\sum |\log(predicted/observed)|}{n}}$$
 (9)

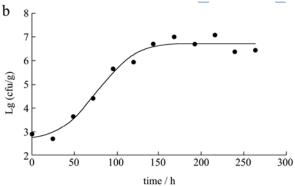
(8), (9)式中 predicted 为预测值, observed 为实测值, n 为实验次数。

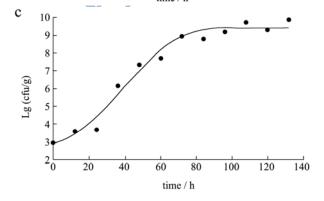
### 2 结果与讨论

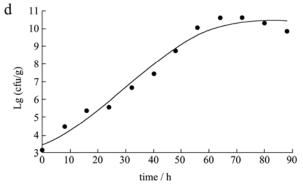
#### 2.1 凉皮中金黄色葡萄球菌的一级生长预测

#### 模型









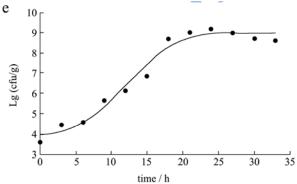
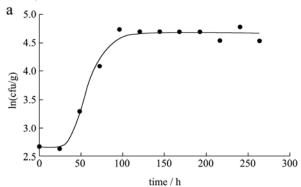
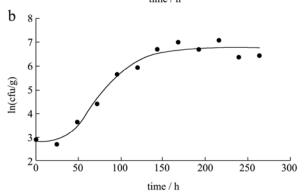


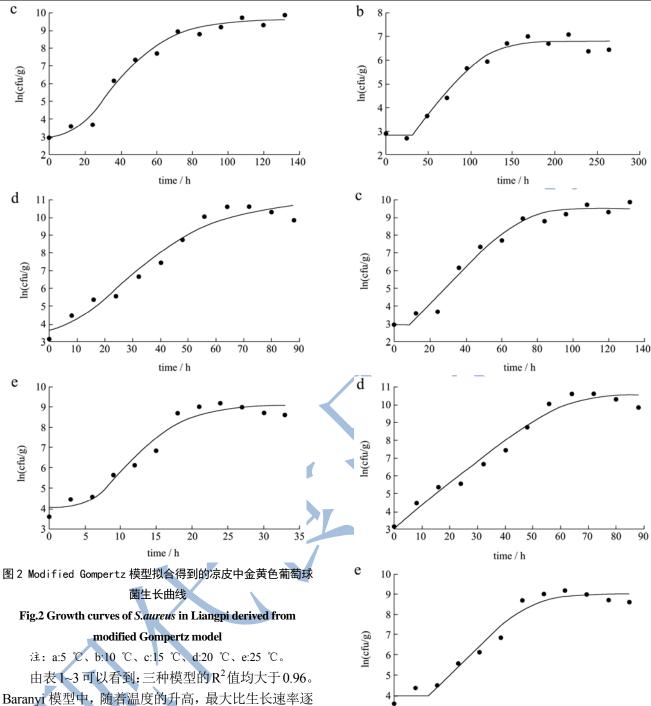
图 1 Baranyi 模型拟合得到的凉皮中金黄色葡萄球菌生长曲线 Fig.1 Growth curves of *S. aureus* in Liangpi derived from Baranyi model

注: a:5 °C、b:10 °C、c:15 °C、d:20 °C、e:25 °C。

采用 Baranyi 模型、Modified Gompertz 和 Huang 模型,应用美国农业部的 IPMP2013 软件分别对金黄色葡萄球菌在 5 个温度下的生长情况进行拟合(见图 1、图 2 和图 3),并由此得到相应的模型拟合参数(见表 1~6)。







Baranyi 模型中,随着温度的升高,最大比生长速率逐渐增大,但 10 ℃的最大比生长速率值小于 5 ℃的最大比生长速率值。

a 5.0 4.5 4.0 3.0 2.5 0 50 100 150 200 250 300 time / h

图 3 Huang 模型拟合得到的凉皮中金黄色葡萄球菌生长曲线

15

20

time / h

25

10

# Fig.3 Growth curves of S. aureus in Liangpi derived from Huang model

注: a:5 ℃、b:10 ℃、c:15 ℃、d:20 ℃、e:25 ℃。

Huang 模型中,10 ℃的最大比生长速率值小于 5 ℃的最大比生长速率值;随着温度的升高,迟滞期逐渐减小,Baranyi 模型中,20 ℃的迟滞期小于 25 ℃迟滞期,只有 Modified Gompertz 模型拟合的数据符合这

35

一生长规律。因此,综合考虑,最终我们选用 Modified

Gompertz 模型参数进行二级模型拟合。

表 1 Baranyi 模型拟合的凉皮中金黄色葡萄球菌一级生长模型拟合参数

Table 1 Fitting parameters of primary growth model of S. aureus in Liangpi derived from Baranyi model

| 温度/℃ | $Y_0$ | $Y_{\text{max}}$ | $h_0$ | $\mu_{\text{max}}$ | λ     | 标准差(S) | $B_{f}$ | $A_{\mathrm{f}}$ | $R^2$ |
|------|-------|------------------|-------|--------------------|-------|--------|---------|------------------|-------|
| 5    | 2.65  | 4.68             | 4.24  | 0.09               | 47.16 | 0.09   | 1.00    | 1.02             | 0.99  |
| 10   | 2.75  | 6.72             | 2.49  | 0.06               | 43.72 | 0.25   | 1.00    | 1.04             | 0.98  |
| 15   | 2.91  | 9.42             | 1.37  | 0.11               | 12.14 | 0.42   | 1.00    | 1.05             | 0.98  |
| 20   | 3.47  | 10.47            | 0.81  | 0.13               | 6.06  | 0.44   | 1.00    | 1.05             | 0.98  |
| 25   | 3.95  | 8.98             | 2.61  | 0.42               | 6.25  | 0.32   | 1.00    | 1.05             | 0.97  |

表 2 Modified Gompertz 模型拟合的凉皮中金黄色葡萄球菌一级生长模型拟合参数

Table 2 Fitting parameters of primary growth model of S.aureus in Liangpi derived from modified Gompertz model

| 温度/℃ | $Y_0$ | Y <sub>max</sub> | lag   | $\mu_{max}$ | 标准差(S) | $\mathrm{B_{f}}$ | A <sub>f</sub> | $\mathbb{R}^2$ |
|------|-------|------------------|-------|-------------|--------|------------------|----------------|----------------|
| 5    | 2.68  | 4.68             | 35.30 | 0.05        | 0.08   | 1.00             | 1.02           | 0.99           |
| 10   | 2.82  | 6.76             | 36.35 | 0.05        | 0.24   | 1.00             | 1.04           | 0.98           |
| 15   | 2.98  | 9.58             | 13.85 | 0.12        | 0.38   | 1.00             | 1.05           | 0.98           |
| 20   | 3.44  | 10.95            | 6.19  | 0.14        | 0.88   | 1.00             | 1.07           | 0.96           |
| 25   | 4.06  | 9.08             | 5.68  | 0.39        | 0.37   | 1.00             | 1.06           | 0.96           |

表 3 Huang 模型拟合的凉皮中金黄色葡萄球菌一级生长模型拟合参数

Table 3 Fitting parameters of primary growth model of S.aureus in Liangpi derived from Huang model

| 温度/℃ | $Y_0$ | $Y_{\text{max}}$ | lag   | $\mu_{\text{max}}$ | 标准差(S) | $\mathrm{B_{f}}$ | $A_{\mathrm{f}}$ | $R^2$ |
|------|-------|------------------|-------|--------------------|--------|------------------|------------------|-------|
| 5    | 2.68  | 4.68             | 37.12 | 0.07               | 0.08   | 1.01             | 1.00             | 0.99  |
| 10   | 2.80  | 6.75             | 31.76 | 0.05               | 0.20   | 1.04             | 1.00             | 0.98  |
| 15   | 2.95  | 9.47             | 8.45  | 0.10               | 0.46   | 1.05             | 1.00             | 0.98  |
| 20   | 3.18  | 10.51            | 0.28  | 0.12               | 0.49   | 1.05             | 1.00             | 0.97  |
| 25   | 4.03  | 8.97             | 5.04  | 0.37               | 0.32   | 1.06             | 1.00             | 0.97  |

表 4 凉皮中金黄色葡萄球菌 Baranyi 方程的一级生长模型

Table 4 Primary growth mode equation of S.aureus in Liangpi derived from Baranyi model

|      | 51  |
|------|---|
| 温度/℃ | Baranyi 方程  |
| 5    | $Y(t) = 2.65 + 0.09 A(t) - \ln \left\{ 1 + \frac{\exp(-0.09 A(t)) - 1}{7.61} \right\}$    |
|      | $A(t) = t + 11.11 \ln[\exp(-0.09t) + 0.01 - \exp(-0.09t - 4.24)]$                         |
| 10   | $Y(t) = 2.75 + 0.06 A(t) - \ln \left\{ 1 + \frac{\exp(-0.06 A(t)) - 1}{52.98} \right\}$   |
|      | $A(t) = t + 16.67 \ln[\exp(-0.06t) + 0.08 - \exp(-0.06t - 2.49)]$                         |
| 15   | $Y(t) = 2.91 + 0.11 A(t) - \ln \left\{ 1 + \frac{\exp(-0.11 A(t)) - 1}{671.83} \right\}$  |
|      | $A(t) = t + 9.09 \ln[\exp(-0.11t) + 0.25 - \exp(-0.11t - 1.37)]$                          |
| 20   | $Y(t) = 3.47 + 0.13 A(t) - \ln \left\{ 1 + \frac{\exp(-0.13 A(t)) - 1}{1096.63} \right\}$ |
|      | $A(t) = t + 7.69 \ln[\exp(-0.13t) + 0.44 - \exp(-0.13t - 0.81)]$                          |
| 25   | $Y(t) = 3.95 + 0.42 A(t) - \ln \left\{ 1 + \frac{\exp(-0.42 A(t) - 1)}{152.93} \right\}$  |
|      | $A(t) = t + 2.38 \ln[\exp(-0.42t) + 0.07 - \exp(-0.42t - 2.61)]$                          |

表 5 凉皮中金黄色葡萄球菌 Modified Gompertz 方程的一级生 长模型

Table 5 Primary growth mode equation of *S. aureus* in Liangpi derived from modified Gompertz model

| uerr | derived from modified Competite model      |  |  |  |  |  |  |  |  |
|------|--|--|--|--|--|--|--|--|--|
| 温度/℃ | Modified Gompertz 方程                       |  |  |  |  |  |  |  |  |
| 5    | $Y(t)=2.68+2.00\exp\{-\exp(-0.07t+3.41)\}$ |  |  |  |  |  |  |  |  |
| 10   | $Y(t)=2.82+3.94\exp\{-\exp(-0.03t+2.09)\}$ |  |  |  |  |  |  |  |  |
| 15   | $Y(t)=2.98+6.6\exp\{-\exp(-0.05t+1.69)\}$  |  |  |  |  |  |  |  |  |
| 20   | $Y(t)=3.44+7.51\exp\{-\exp(-0.05t+1.31)\}$ |  |  |  |  |  |  |  |  |
| 25   | $Y(t)=4.06+5.02\exp\{-\exp(-0.21t+2.19)\}$ |  |  |  |  |  |  |  |  |

表 6 凉皮中金黄色葡萄球菌 Huang 方程的一级生长模型

Table 6 The primary growth mode equation of S.aureus in

|      | Liangpi from Huang model  |
|------|---|
| 温度/℃ | Huang 方程  |
| 5    | $Y(t)=2.68+4.68-\ln\{e^{2.68}+[e^{4.68}-e^{2.68}]e^{-0.07B(t)}\}$   |
| 3    | $B(t)=t+0.25[\ln(1+e^{-4(t-37.12)})-148.48]$                        |
| 10   | $Y(t)=2.80+6.75-\ln\{e^{2.80}+[e^{6.75}-e^{2.80}]e^{-0.05B(t)}\}$   |
| 10   | $B(t) = t + 0.25 \left[ \ln(1 + e^{-4(t-31.76)} - 127.04) \right]$  |
| 1.5  | $Y(t)=2.95+9.47-\ln\{e^{2.95}+[e^{9.47}-e^{2.95}]e^{-0.10B(t)}\}$   |
| 15   | $B(t)=t+0.25[\ln(1+e^{-4(t-8.45)}-33.80)]$                          |
| 20   | $Y(t)=3.18+10.51-\ln\{e^{3.18}+[e^{10.51}-e^{3.18}]e^{-0.12B(t)}\}$ |
| 20   | $B(t)=t+0.25[\ln(1+e^{-4(t-0.28)}-1.40)]$                           |
|      | $Y(t)=4.03+8.97-\ln\{e^{4.03}+[e^{8.97}-e^{4.03}]e^{-0.37B(t)}\}$   |
| 25   | $B(t)=t+0.25[\ln(1+e^{-4(t-5.04)}-20.16)]$                          |

#### 2.2 凉皮中金黄色葡萄球菌的二级生长模型

#### 预测

本文主要考虑的是温度对生长参数的影响,因此 采用平方根模型作为二级模型,应用 Origin 软件分别 对最大比生长速率、迟滞期与温度的关系进行拟合, 结果如图 4、5 所示。拟合得到的方程为方程(10~11)。

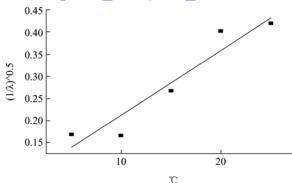


图 4 温度与最大比生长速率关系(Modified Gompertz)

Fig.4 Relationship between temperature and maximum ratio of growth rate (Modified Gompertz)

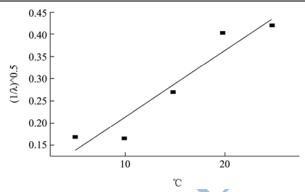


图 5 温度与迟滞期关系(Modified Gompertz)

Fig.5 Relationship between temperature and lag phase (modified Gompertz)

$$\sqrt{\mu_{\text{max}}} = 0.02T + 0.07$$

$$(R^2 = 0.80)$$

$$\sqrt{1/\lambda} = 0.01T + 0.06$$

$$(R^2 = 0.88)$$
(11)

由以上拟合结果来看,Modified Gompertz 模型参数拟合得到的二级模型的  $\mathbf{R}^2$  值为 0.80 和 0.88。且二级模型拟合的温度与最大比生长速率关系为:

$$\sqrt{\mu_{\text{max}}} = 0.02T + 0.07$$
  
迟滯期与温度的关系为:  $\sqrt{1/\lambda} = 0.01T + 0.06$ 

R<sup>2</sup> 均在 0.80 以上,说明二级模型能较好地描述 5~25 ℃范围内金黄色葡萄球菌的最大比生长速率与迟滞期与温度的关系。

#### 2.3 模型的验证

一级模型经 AIC(Akaike Information Criterion,AIC 是衡量统计模型拟合优良性的一种标准,AIC 值越小越好)和 RMSE (Root Mean Squared Error) 验证,结果如表 7 所示。综合来看 Modified Gompertz 模型优于 Baranyi 模型和 Huang 模型。

表 7 一级模型的 AIC 和 RMSE

Table 7 AIC and RMSE of primary model

|          | 汨庇  | Baranyi 模型 |       |   | Mod    | ified | TT       | Huang 模型 |  |
|----------|-----|------------|-------|---|--------|-------|----------|----------|--|
| 温度<br>/℃ |     | Baran      | yī 模型 |   | Gomper | tz 模型 | Huang 存至 |          |  |
|          | / C | AIC        | RMSE  | _ | AIC    | RMSE  | AIC      | RMSE     |  |
|          | 5   | -38.92     | 0.11  |   | -38.00 | 0.11  | -38.29   | 0.11     |  |
|          | 10  | -14.67     | 0.29  |   | -14.14 | 0.30  | -15.56   | 0.28     |  |
|          | 15  | -3.72      | 0.46  |   | -7.72  | 0.39  | -3.56    | 0.46     |  |
|          | 20  | -2.68      | 0.48  |   | 2.53   | 0.59  | -1.84    | 0.49     |  |
|          | 25  | -6.75      | 0.40  |   | -2.27  | 0.48  | -4.03    | 0.45     |  |

对建立的二级模型进行方差分析,结果如表 8 所示。

#### 表 8 二级模型方差分析结果

Table 8 Variance analysis of secondary model

| 模型                    | 来源     | 自由度 | 平方和  | 均方差  | F值       | P值   |
|-----------------------|--------|-----|------|------|----------|------|
|                       | 模型     | 1   | 0.09 | 0.09 | 17.81    | 0.02 |
| Modified Gompertz 模型中 | 误差     | 3   | 0.02 | 0.01 |          |      |
| 温度与最大比生长速率            | 总和     | 4   | 0.11 |      |          |      |
| 1. 1.0 1.0 Hrul-h     | <br>模型 | 1   | 0.06 | 0.06 | 30.83    | 0.01 |
| Modified Gompertz 模型中 | 误差     | 3   | 0.01 | 0.01 |          |      |
| 温度与迟滞期                | 总和     | 4   | 0.07 |      | <b>4</b> |      |

由表8可知,二级模型方程得到的P值均大于0.01 小于 0.05,说明方程显著,所建模型在 5~25 ℃范围 内能较好地预测金黄色葡萄球菌在凉皮中的生长情况。

通常情况下金黄色葡萄球菌> $10^5$  CFU/g产生的肠毒素,可引起食物中毒,由图 1~3 以及表 1~3 可知,凉皮在  $10^{\circ}$  C、 $15^{\circ}$  C、 $20^{\circ}$  C和  $25^{\circ}$  C下金黄色葡萄球菌达到  $10^5$  CFU/g 的时间分别为  $96^{\circ}$  h、 $36^{\circ}$  h、 $16^{\circ}$  和  $9^{\circ}$  h,而在  $5^{\circ}$  C下其最大值不超过  $10^{\circ}$  CFU/g,小于金黄色葡萄球菌引起食物中毒的量,因此建议凉皮等即食食品的储存或销售尽量控制在  $5^{\circ}$  C以内,避免温度过高使金黄色葡萄球菌产毒并引起食物中毒。

#### 3 讨论

金黄色葡萄球菌及其肠毒素造成的中毒事件已越来越受到重视,而影响金黄色葡萄球菌的生长和死亡因素有许多,温度是其中最重要的因素之一。且温度是最容易进行实时监测和及时调控的参数,因此通过建立金黄色葡萄球菌在凉皮中的生长预测模型进行安全评价不仅操作简单,预测及时,还能节约大量时间和费用。

本试验中 3 种模型拟合的 15  $\mathbb{C}$  、 20  $\mathbb{C}$  、 25  $\mathbb{C}$  的 生长曲线效果比较好,而 5  $\mathbb{C}$  、 10  $\mathbb{C}$  拟合的生长曲线效果稍差,且拟合得到的一级模型和二级模型的  $\mathbb{R}^2$  值均小于王亭亭,曹慧 [3] 等人报道的凉拌面中金黄色葡萄球菌生长预测模型的值,可能是由于低温条件下,金黄色葡萄球菌生长比较缓慢。

通常情况下金黄色葡萄球菌>10<sup>5</sup> CFU/g产生的肠毒素,可引起食物中毒,即食食品(凉皮、米皮和凉面)多在敞开或半敞开的环境下人工加工而成,且以散装形式销售,因此环境和加工人员对食品的污染为主要原因,且即食食品消费者购买后不食用多在冰箱冷藏储存,对 450 户家用冰箱调查显示,有 44.8%的家用冰箱存在金黄色葡萄球菌的污染<sup>[15]</sup>,所以即使冰箱冷藏贮存,仍有一定的污染风险,一旦污染,金黄色葡萄球菌易在其中生长繁殖并产生肠毒素,则易引

发食物中毒的发生。结合本文建立的预测模型,建议 凉皮等即食食品销售或储存尽量将温度控制在5℃以 内,避免引起食物中毒。

近年来随着经济水平的快速发展,食品服务行业 发展迅速,人们工作生活节奏越来越快,即食食品由 于其食用方便、风味独特受到消费者的广泛青睐,成 为居民日常生活的主要食品,而这类食品加工环境卫 生条件差,加工人员食品卫生意识薄弱,加之运输、 销售过程的不卫生加大了金黄色葡萄球菌污染食品的 机会,使得在冷藏温度下处于亚致死状态的病原体, 由于合适的生长条件而快速大量繁殖到危险水平,使 食用者感染的机会加大,因此即食食品是金黄色葡萄 球菌食物中毒的高危食品,食品卫生监管部门应当高 度重视此类食品的监管,加大主动监测力度的同时, 加强食品加工环境的卫生监管,加强食品销售环境的 卫生监督, 建立相对封闭的销售场所并配以严格的消 毒措施,对零售熟食制品以密封包装而不是散装形式 进行销售,加强食品从业人员的健康监管,加大消费 者的食品卫生知识宣传培训力度,可有效预防由金黄 色葡萄球菌引起的食物中毒的发生[16]。

今后可在恒温模型的基础上建立波动温度下凉皮中金黄色葡萄球菌的生长预测模型,以便能更好的预测波动温度下凉皮在实际生产,加工,储运,销售过程中金黄色葡萄球菌生长情况,本文旨在为凉皮中金黄色葡萄球菌的定量风险评估提供理论基础。

#### 4 结论

Modified Gompertz 模型拟合得到的一级模型,其 R<sup>2</sup> 值都在 0.96 以上。说明 Modified Gompertz 模型能 较好地拟合金黄色葡萄球菌的生长。采用一级模型参数进行二级模型拟合,模型拟合得到的最大比生长速率与温度的关系为:

 $\sqrt{\mu_{\rm max}} = 0.02T + 0.07$ 

 $R^2$ 为 0.80; 迟滞期与温度的关系为:

 $\sqrt{1/\lambda} = 0.01T + 0.06$ 

R<sup>2</sup>值为0.88,说明二级模型能较好地描述5~25℃

范围内金黄色葡萄球菌的最大比生长速率与迟滞期与温度的关系。一级模型经  $R^2$ ,  $B_f$ ,  $A_f$ , 标准差(S), AIC(Akaike Information Criterion)和 RMSE(Root Mean Squared Error)验证,均在合理范围内,二级模型经方差分析显示方程显著,说明所建模型在测试温度范围内有效。由图表可知凉皮中金黄色葡萄球菌产肠毒素的时间随着温度升高而逐渐减小,而在 5 飞下其最大值不超过  $10^5$  CFU/g,小于金黄色葡萄球菌引起食物中毒的量,因此建议凉皮等即食食品的储存或销售尽量控制在 5 飞以内,以免引起食物中毒。本实验为凉皮中金黄色葡萄球菌的定量风险评估提供理论依据。

**致谢:** 感谢美国农业部东部地区研究中心黄立汉博士及浙江大学丁甜博士对论文的指导。

#### 参考文献

- Marriott N G, Gravani R B. Review of principles of food sanitation [J]. Springer Science Business Media, Inc., 2006, 5:
- [2] Argud MIAA, Mendoza MIAC, Rodicio MIAR. Food poisoning and *Staphylococcus aureus* enterotoxins [J]. Toxins, 2010, 2(7): 1751-1773
- [3] 曹慧,王亭亭,徐斐,等.凉拌面中金黄色葡萄球菌生长预测模型的建立[J].食品与发酵科技,2016,52(5):23-30 CAO Hui, WANG Ting-ting, XU Fei, et al. Study on growth prediction model of *Staphylococcus aureus* in cold noodles [J]. Food and Fermentation Technology, 2016, 52(5): 23-30
- [4] Fujikawa H, Morozumi S. Modeling *Staphylococcus aureus* growth and enterotoxin production in milk [J]. Food Microbiology, 2006, 23(3): 260-267
- [5] Juneja V K, Valenzuela Melendres M, Huang L, et al. Modeling the effect of temperature on growth of *Salmonella* in chicken [J]. Food Microbiology, 2007, 24(4): 328-335
- [6] Valero A, Pérez-Rodríguez F, Carrasco E, et al. Modelling the growth boundaries of *Staphylococcus aureus*: Effect of temperature, pH and water activity [J]. International journal of Food Microbiology, 2009, 133(1): 186-194
- [7] 李苗云,田璐,赵改名,等.肉品微生物生长预测模型研究进展[J].肉类研究,2012,26(12):20-24
  LI Miao-yun, TIAN Lu, ZHAO Gai-ming, et al. Research progress of predicting model of microbial growth in meat [J]. Meat Research, 2012, 26(12): 20-24
- [8] 闫军,遇晓杰,汤岩,等.金黄色葡萄球菌在生乳中生长预测

- 模型的建立[J].中国食品卫生杂志,2010,22(6):502-505 YAN Jun, YU Xiao-jie, TANG Yan, et al. Establishment of prediction model for growth of *Staphylococcus aureus* in raw milk [J]. Chinese Journal of Food Hygiene, 2010, 22(6): 502-505
- [9] GB 4789.10-2016,食品安全国家标准食品微生物学检验金 黄色葡萄球菌检验[S]
  - GB 4789.10-2016, National Food Safety Standard Microbiological Examination of *Staphylococcus aureus* [S]
- [10] Baranyi J, Roberts T A. Mathematics of predictive food microbiology [J]. Int. J Food Microbiol, 1995, 26(2): 199-218
- [11] Gibson A M, Bratchell N, Roberts T A. The effect of sodium chloride and temperature on rate and extent of growth of *Clostridium botulinum* type A in pasteurized pork slurry [J]. Appl. Bacteriol, 1987, 62: 479-490
- [12] 牛会敏,李苗云,赵改名,等,低温条件下冷却猪肉中假单胞菌生长模型的比较分析[J].食品科学,2013,34(5):142-146 NIU Hui-min, LI Miao-yun, ZHAO Gai-ming, et al. Comparative analysis of growth model of *Pseudomonas* in pork under low temperature conditions [J]. Food Science, 2013, 34(5): 142-146
- [13] Ratkowsky D A, Olley J, MC Meekin T A, et al. Relationship between temperature and growth rate of bacterial cultures [J]. Journal of Bacterioloy, 1982, 149(1): 1-5
- [14] Ross T. Indices for performance evaluation of predictive model in food microbiology [J]. Journal of Applied Microbiology, 1996, 81(5): 501-508
- [15] 巢国祥,焦新安,周丽萍,等.食源性金黄色葡萄球菌流行特征、产肠毒素特性及耐药性研究[J].中国卫生检验杂志, 2006,8(8):904-907
  - CHAO Guo-xiang, JIAO Xin-an, ZHOU Li-ping, et al. Study on the epidemiological characteristics of food-borne *Staphylococcus aureus*, the characteristics of enterotoxin and its drug resistance [J]. Chinese Journal of Health Laboratory Technology, 2006, 8(8): 904-907
- [16] 权玉玲,胡晓宁,兰光,等.甘肃省即食食品及速冻米面食品 金黄色葡萄球菌污染调查分析[J].疾病预防控制通报, 2012,27(6):78-79
  - QUAN Yu-ling, HU Xiao-ning, LAN Guang, et al. Investigation and analysis of *Staphylococcus aureus* pollution in ready-to-eat food and frozen rice [J]. Prevention of Disease Prevention and Control, 2012, 27(6): 78-79