

盐水鸭中单核细胞增生李斯特菌生长预测模型的建立

朱梦雅^{1,2}, 吴立婷², 徐光伟¹, 包红朵², 周艳², 庞茂达², 王冉², 张辉², 杨振泉¹

(1. 扬州大学食品科学与工程学院, 江苏扬州 225009) (2. 江苏省农业科学院农产品质量与安全营养研究所, 江苏省食品质量安全重点实验室-省部共建国家重点实验室培育基地, 江苏南京 210014)

摘要: 为研究盐水鸭中单核细胞增生李斯特菌 (*Listeria monocytogenes*, *Lm*) 的生长规律, 通过测定 4、10、16、25 °C 条件下的生长数据, 选用 4 种常用的一级模型 (Gompertz、Logistic、Richards 及 MMF 模型) 对数据进行拟合, 比较各模型决定系数 R^2 和均方误差 (MSE), 确定最适一级模型, 根据一级模型得到的最大比生长速率 (μ_{max}) 和迟滞期 (λ) 建立与温度相关的二级模型。结果表明: Gompertz 模型拟合的生长曲线 R^2 均达到 0.99 以上, 为最适一级模型, 在 25 °C 条件下, *Lm* 经 0.78 h 后即进入对数期, 从 4 °C 提高到 10 °C 时, 生长速率从 0.02 lg(cfu/g)·h⁻¹ 增至 0.05 lg(cfu/g)·h⁻¹, 说明温度对盐水鸭中 *Lm* 的生长影响较大。选用 Ratkowsky 平方根模型建立的与 μ_{max} 关系的二级模型 R^2 为 0.98, 偏差因子 (B_f)、准确因子 (A_f) 分别为 0.99、1.01, 二次多项式模型建立的与 λ 关系的 R^2 为 0.99, B_f 、 A_f 分别为 1.01、1.08, 表明所建两种模型均能较好地描述盐水鸭中 *Lm* 的生长情况。本研究建立的生长模型可为监控盐水鸭的食品安全和风险评估提供参考。

关键词: 盐水鸭; 单核细胞增生李斯特菌; 预测模型

文章编号: 1673-9078(2020)04-172-178

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2020.4.023

Establishment of Growth Predictive Model for *Listeria monocytogenes* in Salted-duck

ZHU Meng-ya^{1,2}, WU Li-ting², XU Guang-wei¹, BAO Hong-duo², ZHOU-Yan², PANG Mao-da², WANG Ran², ZHANG Hui², YANG Zhen-quan¹

(1. College of Food Science and Engineering, Yangzhou University, Yangzhou 225009, China)

(2. Laboratory for Food Quality and Safety-State Key Laboratory Cultivation Base of Ministry of Science and Technology, Institute of Food Safety and Nutrition, Jiangsu Academy of Agricultural Sciences, Nanjing 210014, China)

Abstract: To investigate the growth of *Listeria monocytogenes* in salted-duck, the four commonly used primary growth dynamics models (Gompertz model, Logistic model, Richards model and MMF model) were used to fit the growth curve of *Listeria monocytogenes* by determining the growth data at 4 °C, 10 °C, 16 °C and 25 °C, respectively. By comparing the determination coefficients (R^2) and mean square error (MSE) of each model, the optimal primary growth model was determined. The maximum specific growth rate (μ_{max}) and lag phase (λ) obtained by the primary model were used to establish a temperature-dependent secondary model. The results showed that the growth curve R^2 of the Gompertz model was above 0.99, which was the most suitable primary model for the growth of *Listeria monocytogenes*. At 25 °C, *Listeria monocytogenes* entered the logarithmic period after 0.78 h. When temperature increased from 4 °C to 10 °C, the growth rate of *Listeria monocytogenes* in salted duck increased from 0.02 lg(cfu/g)·h⁻¹ to 0.05 lg(cfu/g)·h⁻¹, indicating that temperature had a greater impact on the

引文格式:

朱梦雅, 吴立婷, 徐光伟, 等. 盐水鸭中单核细胞增生李斯特菌生长预测模型的建立[J]. 现代食品科技, 2020, 36(4): 172-178

ZHU Meng-ya, WU Li-ting, XU Guang-wei, et al. Establishment of growth predictive model for *Listeria monocytogenes* in salted-duck [J].

Modern Food Science and Technology, 2020, 36(4): 172-178

收稿日期: 2019-11-04

基金项目: 国家自然科学基金项目 (31671955); 国家重点研发计划项目 (2018YFE0101900); 江苏省农业科技自主创新资金项目 [cx (16) 1028]

作者简介: 朱梦雅 (1994-), 硕士研究生, 研究方向: 食源性病原菌预测模型分析及防控

通讯作者: 张辉 (1978-), 女, 博士, 研究员, 研究方向: 食源性病原菌监测及生物防控研究; 共同通讯作者: 杨振泉 (1975-), 男, 博士, 教授, 研究方向:

食品微生物控制与应用研究

growth of *Listeria monocytogenes* in salted ducks. The R^2 of the relationship between temperature and μ_{max} established by Ratkowsky square root model was 0.98, and the deviation factor (B_f) and accuracy factor (A_f) were 0.99 and 1.01, respectively. The R^2 of the relationship between temperature and λ established by the quadratic polynomial model was 0.99, and the B_f and A_f were 1.01 and 1.08, respectively. The results showed that the secondary model could describe the growth of *Listeria monocytogenes* in salted-duck with satisfaction. This study will provide a reference for the food safety and the risk assessment of *Listeria monocytogenes* in salted-duck.

Key words: salted-duck; *Listeria monocytogenes*; predictive model

盐水鸭又叫桂花鸭,是南京地区特有的地理标志性食品,也是中国历史上唯一一种低温畜禽肉制品^[1]。其制作历史悠久,迄今为止已有两千五百多年历史,因其风味独特、方便即食等特点,倍受广大消费者的喜爱。为了使盐水鸭的嫩度达到最佳程度,保持鸭肉的多汁性,传统盐水鸭的制作过程多采用低温熟煮的方式,可能会导致一些耐热微生物及芽孢不易被彻底杀死^[2],同时致病菌不断加剧的环境适应性,更加引起了人们对即食(read-to-eat, RTE)食品中食源性病原菌的广泛关注。盐水鸭在食用前不再需要任何形式的烹调加工,这使得其在储存、消费过程中易被食源性病原菌污染,从而增加了此类食品安全的风险。

单核细胞增生李斯特菌(*Listeria monocytogenes*, *Lm*)是一类能引起人畜共患病的食源性病原菌,能引发孕妇流产、新生儿脑膜炎、败血症等,死亡率高达30%~70%^[3]。该菌环境适应性强,能耐受高盐、高压、消毒剂等不良环境因素,特别是在低温环境(2~8℃)中仍可生长繁殖,是冷藏食品以及 RTE 食品中威胁人类健康重要的食源性病原菌^[4]。如今, *Lm* 已成为国际上公认的“冰箱杀手”,在冷鲜肉及肉制品、蔬菜沙拉、冷藏食品等无需加热处理的 RTE 食品中污染率很高^[5]。Adzitey F^[6]等人,为确定鸭产品及其环境样品中 *Lm* 的流行性,对马来西亚檳城的鸭市场及养殖场中采集到的 531 只鸭子以及环境样本进行了 *Lm* 的分离鉴定。结果发现,屠宰后和真空包装的鸭产品中鸭胸和肝脏中 *Lm* 的流行率为 2.9%,表明当地的鸭产品及其环境都不同程度的受到了 *Lm* 的污染。王凯^[7]等人运用半定量风险评估软件 Risk Ranger,对南京市散装盐水鸭中 *Lm* 的风险程度进行分级。结果表明,南京市散装盐水鸭中 *Lm* 的风险评分较高,属于高风险。说明了散装盐水鸭也是引发李斯特菌病的高危食品之一。

预测食品微生物学是建立于计算机基础上的对食品中微生物的生长、残存和死亡进行量化的一门新兴学科^[8]。它借助计算机微生物数据库,在确定相关温度、pH 值、水分活度等环境因素下,应用预测微生物学的数学模型,快速地对重要微生物的生长、存活和死亡情况进行预测,以保证食品安全稳定的进行生产、

运输和贮藏,可作为一种防止病原菌对食品污染有效的预警工具^[9]。近年来,大量研究表明,应用微生物生长预测模型可快速地对各类食品中微生物的存活情况做出较为科学的预测^[10]。本文通过拟合 4℃、10℃、16℃和 25℃下盐水鸭中 *Lm* 的生长情况,建立一级预测模型,同时建立温度对其生长参数影响的二级模型,研究结果可为盐水鸭的定量风险评估及 *Lm* 的环境耐盐性提供理论参考。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 样品、菌株与试剂

盐水鸭购于南京某超市,置于 4℃冰箱备用。

Lm 分离株(LM1)由江苏省畜产品污染监测与预防实验室鉴定并保存。

脑心浸出液肉汤(Brain Heart Infusion, BHI),购于美国 BD disco 公司;PALCAM 培养基、PALCAM 添加剂 1、2,购于北京陆桥技术有限公司;无菌均质袋,购于青岛高科园海博生物技术有限公司;琼脂粉、NaCl(分析纯),购于国药集团化学试剂有限公司。

1.1.2 仪器与设备

SM830 立式压力蒸汽灭菌器,日本 YAMATO 公司;SW-CJ-1F 超净台,苏州真田洁净设备有限公司;DHP-9052 电热恒温培养箱,上海一恒科技有限公司;HZL-F160 全温振荡培养箱,太仓市强乐实验设备有限公司;Bag Mixer 400 VW 型拍打式均质器,法国 INTERSCIENCE 公司;JN302N 电子天平,上海精天电子仪器有限公司。

1.2 方法

1.2.1 菌种的活化及菌悬液的制备

无菌条件下,用接种环蘸取 LM1 的冻存菌液,划线于 PALCAM 选择性培养基,置于 37℃条件下培养 24 h,挑取具有典型灰黑色特征的单菌落,接入 5 mL BHI 液体培养基中,37℃、200 r/min 振荡培养 6~8 h。再将菌液按 1:100 比例接入新鲜的 BHI 液体培养基中,培养至 OD 0.15 左右(菌浓度约 10^8 cfu/mL),进

行二次活化。最后,用无菌生理盐水(0.85%, NaCl 溶液)稀释,控制初始菌液浓度在在 10^3 cfu/mL, 4 °C 保存备用。

1.2.2 盐水鸭的接种、培养与计数

无菌条件下,用刀剃去盐水鸭表面皮脂,取出鸭肉,切成 1 g 左右的肉块,置于无菌锡纸,紫外照射 30 min 后,翻转至另一面再照射 30 min,进行灭菌处理。将已灭菌的肉块置于提前制备好的菌悬液中浸泡 5 min,取出后沥去多余水分,使盐水鸭初始接种量约为在 $10^2\sim 10^3$ cfu/g,随机选取 2~3 个模拟污染肉块测定 *Lm* 的污染量(cfu/g)。

将经人工模拟污染的肉块分装入无菌培养皿中,分别置于 4、10、16、25 °C 下培养;其中 4 °C 条件下的样品培养 18 d,每 24 h 取样一次;10 °C 条件下的样品培养 10 d,每 12 h 取样一次;16 °C 条件下的样品培养 5 d,每 8 h 取样一次;25 °C 条件下的样品培养 4 d,前 16 h 每 4 h 取样一次,之后每 8 h 取样一次。每个温度设 3 组平行,每个取样点设 2 个重复样品。到达预设时间点,每次各取 10 g 肉样到无菌均质袋中,加入 90 mL 无菌生理盐水,用均质器均质 5 min,吸取 1 mL 均质液,经 10 倍系列稀释后,涂布 PALCAM 选择性平板,按照 GB 4789.2-2016 《食品微生物学检验 菌落总数测定》^[11]的方法进行细菌计数,每样品做 3 个平行试验,取平均数用于分析。

1.2.3 一级生长模型的建立

采用 Gompertz 公式(1)、Logistic 公式(2)、Richards 公式(3)及 MMF 模型公式(4)对 4~25 °C 下盐水鸭中 *Lm* 的生长数据进行拟合。通过比较决定系数 R^2 和 MSE 值,选出最适的一级生长模型,再根据一级模型拟合所得到的参数,计算出最大比生长速率($\mu_{\max}$) (公式(5)) 和迟滞期(λ) 公式(6)。方程表达式如下:

$$\lg(N_t/N_0)=a \times \exp[-\exp(b-c \times t)] \quad (1)$$

$$\lg(N_t/N_0)=a/[1+b \times \exp(-c \times t)] \quad (2)$$

$$\lg(N_t/N_0)=a/[1+\exp(b-c \times t)]^{1/d} \quad (3)$$

$$\lg(N_t/N_0)=(a \times b+c \times t^d)/(b+t^d) \quad (4)$$

$$\mu_{\max}=\frac{a \times c}{e} \quad (5)$$

$$\lambda=\frac{b-1}{c} \quad (6)$$

式中: N_0 、 N_t 分别表示初始菌数量和 t 时的菌数量 lg(cfu/g); t 表示生长时间(h); $\mu_{\max}$ 表示最大比生长速率 lg(cfu/g)/h; λ 表示迟滞期(h); a 、 b 、 c 、 d 表示模型参数。

通过比较决定系数 R^2 和均方误差(mean square error, MSE) 来判断模型的拟合效果。 R^2 越接近于 1,

说明预测值与实测值之间的符合程度越高;MSE 值是用来评价数据变化程度的参数,MSE 越小,说明模型的拟合度越高。

1.2.4 二级生长模型的建立

温度对微生物生长动力学的影响常用 Ratkowsky 平方根模型描述,平方根模型是 Ratkowsky^[12]等根据微生物在 0~40 °C 温度条件下,最大比生长速率和迟滞期倒数的平方根与温度之间存在线性关系,提出的一个数学模型。本文分别选取 Ratkowsky 平方根模型公式(7)、(8)和二次多项式模型(quadratic polynomial model) 公式(9) 对温度与 $\mu_{\max}$ 和 λ 之间的生长关系进行拟合,各方程表达式如下:

$$\sqrt{\mu_{\max}}=b(T-T_{\min}) \quad (7)$$

$$\sqrt{1/\lambda}=b(T-T_{\min}) \quad (8)$$

$$\mu_{\max} \text{ 或 } \lambda=a+bT+cT^2 \quad (9)$$

式中: T 为实验室中的生长温度(°C); $T_{\min}$ 为理论上 *Lm* 生长的最低温度; a 、 b 、 c 为模型参数。

1.2.5 模型的可靠性评价

通过比较 4 种一级生长模型的决定系数 R^2 和 MSE 值公式(10),来判断一级模型的拟合程度。选择偏差因子(bias factor, B_f) 公式(11)、准确因子(accuracy factor, A_f) 公式(12) 来对二级模型的拟合度和可靠性进行评价。公式如下:

$$MSE=\frac{\sum(\mu_{\text{obs}}-\mu_{\text{pre}})^2}{n} \quad (10)$$

$$B_f=10^{\sum(\lg(\mu_{\text{pre}}/\mu_{\text{obs}}))/n} \quad (11)$$

$$A_f=10^{\sum(|\lg(\mu_{\text{pre}}/\mu_{\text{obs}})|)/n} \quad (12)$$

式中: μ_{obs} 代表实测值; μ_{pre} 代表模型拟合得到的预测值; n 表示实测值的数量。

1.2.6 数据统计与图像绘制

实验数据结果为三次重复的平均值,采用 Excel 对数据进行统计,应用 Origin 9.4 统计软件进行模型拟合,获得不同温度条件下盐水鸭中 *Lm* 的生长曲线、生长动力学参数以及二级模型中温度与 $\mu_{\max}$ 和 λ 之间的拟合关系。

2 结果与分析

2.1 一级模型的建立

将实验数据导入 Origin 9.4 软件,使用 4 种方程分别对不同温度条件下盐水鸭中 *Lm* 的生长情况进行

非线性拟合,并由此得到相应模型的拟合参数(见表1)。

由表1可知,4种模型的决定系数 R^2 均在0.98以上,表明4种方程均能较好地描述4~25℃温度储存条件下盐水鸭中 Lm 的生长动态。通过比较4种模型 R^2 和MSE可知,Gompertz模型的 R^2 相对最接近于1,MSE相对较小,拟合性最好,说明Gompertz模型最适合用来拟合盐水鸭中 Lm 的生长情况,其次是Richards模型和Logistic模型,Gompertz模型拟合得到的生长曲线如图1所示,拟合得到的最适一级生长动力学模型及各温度下的生长参数见表2、表3。

表1 单核细胞增生李斯特菌在不同温度条件下盐水鸭中进行4种模型拟合的决定系数(R^2)和均方根误差(MSE)

Table 1 Decisive coefficient (R^2) and root mean square error (MSE) of four model fittings of *L. monocytogenes* in salted duck

		培养温度/℃			
模型名称	参数	4	10	16	25
Gompertz	R^2	0.99	0.99	0.99	0.99
	MSE	0.02	0.02	0.02	0.02
Logistic	R^2	0.98	0.99	0.99	0.98
	MSE	0.03	0.02	0.02	0.03
Richards	R^2	0.98	0.99	0.99	0.99
	MSE	0.02	0.02	0.01	0.02
MMF	R^2	0.98	0.99	0.98	0.98
	MSE	0.02	0.02	0.03	0.02

表2 盐水鸭中单核细胞增生李斯特菌的最适一级生长动力学模型

Table 2 Optimal primary growth kinetics model of *L. monocytogenes* in salted duck

温度/℃	Gompertz 模型
4	$\lg(N_t) = 3.65 + 3.66 \exp\{-\exp(-0.01(t-100.16))\}$
10	$\lg(N_t) = 3.69 + 4.58 \exp\{-\exp(-0.03(t-45.93))\}$
16	$\lg(N_t) = 3.69 + 4.60 \exp\{-\exp(-0.07(t-16.35))\}$
25	$\lg(N_t) = 3.47 + 4.71 \exp\{-\exp(-0.12(t-9.33))\}$

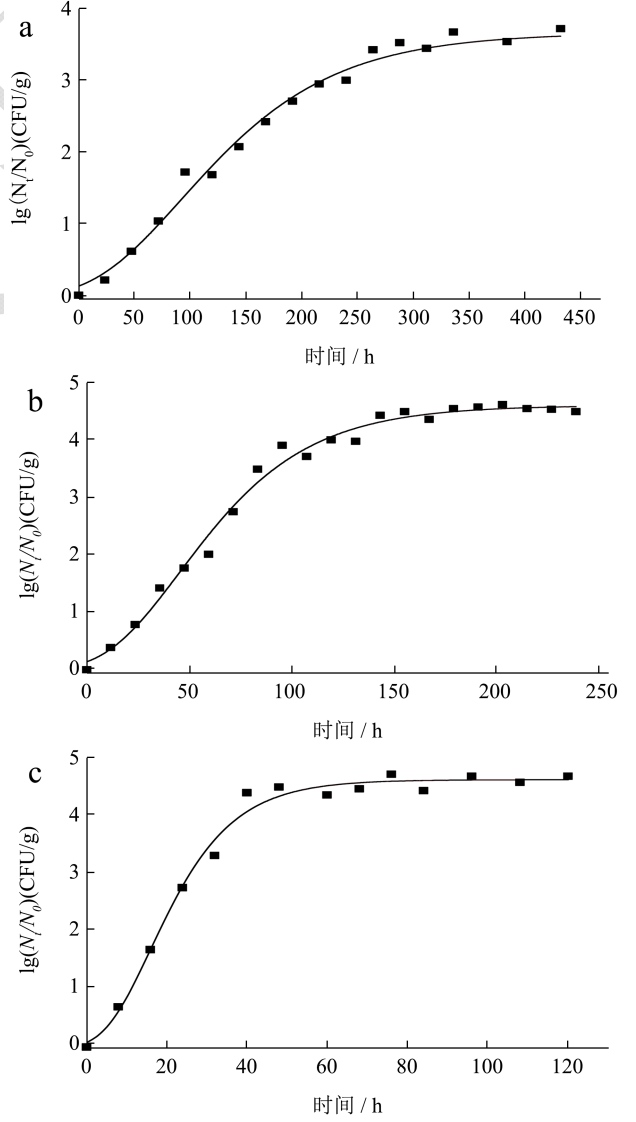
由表3和图1可以看出,在4℃储藏条件下盐水鸭中 Lm 的迟滞期为22.05 h,与其他温度相比迟滞期明显延长;当温度上升到10℃时,与4℃相比,迟滞期缩短了12.09 h;当温度达到16℃时,经过3.98 h后进入对数期,而在25℃下几乎无迟滞期。在4℃时,尽管 Lm 在盐水鸭中的迟滞期达到22.05 h之久,但其在4℃下的生长曲线仍可以很好的被Gompertz模型拟合,充分说明了 Lm 耐低温、耐高盐的生长特性。当储存温度为4℃、10℃、16℃、25℃时,盐水鸭中 Lm 的最大比生长速率分别达到0.02、0.05、0.12、0.20 $\lg(\text{cfu/g}) \cdot \text{h}^{-1}$ 。结果表明,随着温度的增加,

Lm 在盐水鸭中的 λ 值呈下降趋势, $\mu_{\max}$ 值呈上升趋势,说明温度对RTE食品中 Lm 的 λ 和 $\mu_{\max}$ 影响较大。此外, Lm 能耐受低温,在4℃冷藏环境下仍然能够缓慢生长,周晏^[13]等人的研究表明,即使在冷藏环境下,单增李斯特菌在生鱼片中菌数的最大增长数量大约能达到7.5 $\lg \text{cfu/g}$,与本研究在冷藏环境中盐水鸭菌数的最大增长数量的结果相比(6.5 $\lg \text{cfu/g}$)稍有差异,分析其原因可能是因为盐水鸭中含有较高的盐浓度,抑制了部分菌的生长。

表3 Gompertz模型的拟合参数与盐水鸭中单核细胞增生李斯特菌的生长参数

Table 3 Fitting parameters of Gompertz model and growth parameters of *L. monocytogenes* in salted duck

温度/℃	a	b	c	$\mu_{\max}/\text{h}^{-1}$	λ/h
4	3.66	1.28	0.01	0.02	22.05
10	4.58	1.28	0.03	0.05	9.96
16	4.60	1.19	0.07	0.12	3.98
25	4.72	1.10	0.12	0.20	0.78



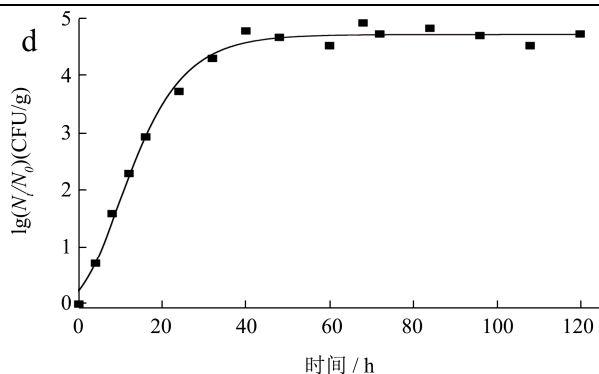


图1 Gompertz 模型拟合的不同温度条件下盐水鸭中单核细胞增生李斯特菌的生长曲线

Fig.1 Growth curves of *L. monocytogenes* in salted duck at different temperatures fitted by Gompertz model

注: a: 4 °C、b: 10 °C、c: 16 °C、d: 25 °C。

2.2 二级模型的建立

选用 Ratkowsky 平方根模型和二次多项式模型作为二级模型,根据 Gompertz 模型拟合得到的 μ_{max} 和 λ ,应用 Origin 9.4 软件分别对温度与 μ_{max} 和 λ 之间的关系进行拟合,拟合结果如图 2、3 所示。

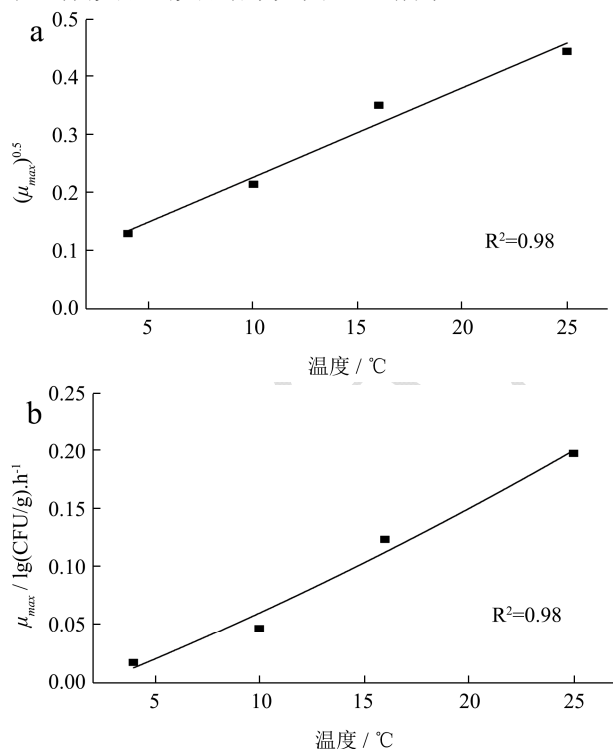


图2 平方根模型(a)和二次多项式模型(b)拟合的盐水鸭中 μ_{max} 与生长温度的关系曲线

Fig.2 The relationship between maximum specific growth rate and growth temperature in salted ducks fitted by square root model (a) and quadratic polynomial model (b)

由图 2、3 知,所选两种二级模型拟合的温度与 λ 和 μ_{max} 均呈现良好的线性关系,平方根模型拟合的温

度与 λ 和 μ_{max} 之间关系的 R^2 分别为 0.97、0.98;二次多项式模型拟合的温度与 λ 和 μ_{max} 之间关系的 R^2 分别为 0.99、0.98。由此可以看出,两种二级模型拟合的决定系数 R^2 均在 0.90 以上,可见选用的两种二级模型对温度与 λ 和 μ_{max} 之间的拟合度都较高。张微等人^[14]采用平方根模型和二次多项式模型建立了不同温度下盐水牛肉中金黄色葡萄球菌的 λ 和 μ_{max} 预测模型,平方根模型拟合的温度与 λ 关系的 R^2 为 0.98,二次多项式模型拟合的温度与 μ_{max} 关系的 R^2 为 0.97,拟合效果与本研究结果类似。

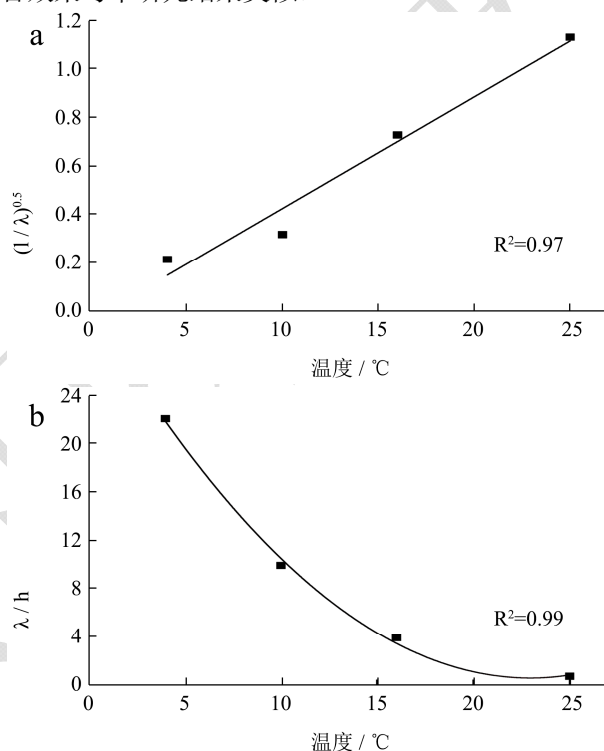


图3 平方根模型(a)和二次多项式模型(b)拟合的盐水鸭中 λ 与生长温度的关系曲线

Fig.3 The relationship between lag time and growth temperature in salted ducks fitted by square root model (a) and quadratic polynomial model (b)

2.3 二级模型的可靠性评价

对初步建立的微生物生长预测模型进行可靠性评价,是模型应用前十分必要且关键的一步。模型评价的方法主要有图形分析比较和对数学参数的直观评价^[15]。本实验采用的评价方法主要是对模型的数学参数进行评价,通常采用决定系数 R^2 、偏差因子 (B_f)、准确因子 (A_f) 三种参数来对二级模型的可靠性进行评价。根据 Ross^[16]对偏差因子的划分标准, B_f 在 0.90~1.05 之间,模型为最好; A_f 值在 1.01~1.15 的范围内,模型都是可被接受的。 B_f 和 A_f 值越接近于 1,模型越可靠; R^2 越趋近于 1,模型的拟合度就越好。

本文采用 B_f 和 A_f 值对所建的平方根模型和二次多项式模型进行评价, 结果见表 4。

表 4 二级模型的评价

Table 4 Evaluation of the secondary model

生长参数	模型类型	方程	R^2	B_f	A_f
μ_{max}	平方根模型	$\sqrt{\mu_{max}} = 0.02T + 0.07$	0.98	0.99	1.01
	二次多项式模型	$\mu_{max} = 6.64T^2 + 0.01T - 0.07$	0.98	0.96	1.18
λ	平方根模型	$\sqrt{1/\lambda} = 0.06T - 0.04$	0.97	0.97	1.12
	二次多项式模型	$\lambda = 0.06T^2 - 2.71T + 31.73$	0.99	1.01	1.08

从表 4 可知, 在对盐水鸭中 Lm 温度与 μ_{max} 之间的关系进行拟合时, 平方根模型的 B_f 为 0.99, A_f 为 1.01, 二次多项式模型的 B_f 为 0.96, A_f 为 1.18。相比较平方根模型的 B_f 和 A_f 值更接近于 1, 因此选择平方根模型来预测盐水鸭中 Lm 的最大比生长速率。在拟合温度与 λ 之间的关系曲线中, 平方根模型的 B_f 为 0.97, A_f 为 1.12, 二次多项式模型的 B_f 为 1.01, A_f 为 1.08, 相比较而言, 二次多项式模型的 B_f 、 A_f 值更接近 1。因此选择二次多项式模型来预测盐水鸭中 Lm 的生长迟滞期。宇盛好等人^[17]分别选用平方根模型和二次多项式模型建立烤鸭中金黄色葡萄球菌的二级模型, 通过对所建两种模型的数学参数进行评价, 结果表明, 平方根模型能更好地预测烤鸭中金黄色葡萄球菌的最大比生长速率, 其 B_f 为 1.02, A_f 为 1.18, 二次多项式模型能更好地预测迟滞期, B_f 为 1.00, A_f 为 1.06, 预测效果与本研究类似。

3 讨论

目前, 国内外针对冷鲜肉及肉制品、蔬菜沙拉等一些 RTE 食品中 Lm 生长预测模型的研究较为广泛^[18], 但对于高盐类 RTE 熟肉制品, 如盐水鸭中 Lm 生长预测模型的研究还相对较少。Sheen^[19]等人通过模拟氯暴露和温度研究对即食肉类(火腿)中 Lm 存活率造成的影响, 建立了 Lm 在含盐火腿中的生长预测模型。结果表明, 通过氯处理能够抑制 Lm 的生长, 使其迟滞期延长, 但仍可以在处理后一段时间内存活, 再次污染火腿, 所建立的预测模型可以很好的适用于高盐类 RTE 食品的风险评估, 提高此类 RTE 肉制品的安全性。

盐水鸭作为一种方便即食、口味独特的低温禽肉制品, 一直深受消费者的喜爱, 加之具有较强的地域特色, 与其相关的食源性致病菌生长预测模型的研究还鲜有报道。 Lm 是一种能耐受低温、高盐、酸等部分防腐剂的食源性致病菌, 极易引起冷藏 RTE 食物中毒的暴发和流行^[20]。此外, 伴随着 Lm 不断增强的耐

盐、耐消毒剂等环境适应性, 其在食品安全中的风险值不断升高。Wang^[21]等人对南京即食肉制品中分离到的 Lm 流行率进行调查, 发现其中盐水鸭的污染率达到 4.2%, 表明 Lm 依然能够在高盐食品中生长且造成安全隐患。而本研究中所选择的 LM1 来源 RTE 食品, 且在小鼠 LD₅₀ 测试中表现较高毒力(数据未发表), 从而在食品质量安全中存在潜在风险。

在食品安全风险评估中, 半定量风险评估可以以定性和定量风险评估数据为基础, 得到以数据表达的结果。其中, 定量暴露评估属于风险评估的核心内容, 即对所消费的食品中致病菌的数量进行定量估测^[22]。微生物生长预测模型作为一种被用于描述在不同环节如加工、销售、运输等过程中环境因素对微生物数量变化影响的工具, 已成为微生物定量暴露评估必不可少的重要组成部分。通过建立盐水鸭中 Lm 的生长预测模型, 能够清楚的了解在不同贮藏条件下盐水鸭中 Lm 的生长规律, 从而能够及时的对贮藏流通过程中盐水鸭的质量安全、微生物变化情况进行实时监控和预测, 再结合相应的化学或生物防控技术, 可进一步提高对 Lm 的防控效果, 减少由 Lm 引发的食品安全风险。本研究所建立的生长动力学模型, 只需测定盐水鸭中 Lm 的初始致病菌菌数, 就可以根据相应的动力学模型计算一定范围内任何培养温度(T)、任何培养时间(t)的 Lm 菌数, 从而可以快速、有效地实时预测 Lm 在盐水鸭中的生长动态。选用 Gompertz 模型作为一级模型, 分别拟合了 Lm 在 4℃、10℃、16℃、25℃下盐水鸭中的生长曲线, 并建立温度与迟滞期之间关系的二次多项式模型, 因此选择其预测盐水鸭中 Lm 在 4~25℃之间的生长迟滞期, 相应的二次多项式模型为 $\lambda = 0.06T^2 - 2.71T + 31.73$, 能够有效的预测 Lm 在盐水鸭中的污染水平。

4 结论

本研究建立的生长预测模型经数学参数评价, 具有较高的可靠性, 可以为盐水鸭等其他高盐类 RTE 肉

制品中 *Lm* 的安全性进行评价, 也可为今后在盐水鸭定量风险评估中的暴露评估提供理论参考和科学依据。

参考文献

- [1] 马学仁.南京盐水鸭[J].江苏地方志,2017,2:63-64
MA Xue-ren. Nanjing salted duck [J]. Jiangsu Local Records, 2017, 2: 63-64
- [2] 段珊珊,陈丽芳,梁蜜,等.利用 HACCP 原理构建南京盐水鸭质量保障体系[J].中国食物与营养,2014,20(5):8-10
DUAN Shan-shan, CHEN Li-fang, LIANG Mi, et al. Construction of Nanjing salted duck quality assurance system by HACCP principle [J]. Chinese Food and Nutrition, 2014, 20(5): 8-10
- [3] 赵燕丽.肉中单增李斯特菌和金黄色葡萄球菌双重实时 PCR 法的建立[D].哈尔滨:东北农业大学,2012
ZHAO Yan-li. Establishment of double real-time PCR method for *Listeria monocytogenes* and *Staphylococcus aureus* in meat [D]. Harbin: Northeast Agricultural University, 2012
- [4] Lee S, Min G K, Lee H S, et al. Isolation and characterization of listeria phages for control of growth of *Listeria monocytogenes* in milk [J]. Korean Journal for Food Science of Animal Resources, 2017, 37(2): 320-328
- [5] Hereu A, Dalgaard P, Garriga M, et al. Analysing and modelling the growth behaviour of *Listeria monocytogenes* on RTE cooked meat products after a high pressure treatment at 400 Mpa [J]. International Journal of Food Microbiology, 2014, 186: 84-94
- [6] Adzitey F, Ali G R R, Huda N, et al. Prevalence, antibiotic resistance and genetic diversity of *Listeria monocytogenes* isolated from ducks, their rearing and processing environments in Penang, Malaysia [J]. Food Control, 2013, 32(2): 607-614
- [7] 王凯,王光宇,叶可萍,等.散装盐水鸭中单增李斯特菌的风险等级评估[J].湖北农业科学,2016,11:2852-2855
WANG Kai, WANG Guang-yu, YE Ke-ping, et al. Risk assessment of *Listeria monocytogenes* in bulk saline duck [J]. Hubei Agricultural Sciences, 2016, 11: 2852-2855
- [8] 李苗云,朱应举,赵改名.微生物预测模型研究及其在肉品工业中的应用[J].食品科技,2008, 33(2): 57-60
LI Miao-yun, ZHU Ying-ju, ZHAO Gai-ming. Study on microbial prediction model and its application in meat industry [J]. Food Science and Technology, 2008, 33(2): 57-60
- [9] Ferrer J, Prats C, Lopez D, et al. Mathematical modelling methodologies in predictive food microbiology: A SWOT analysis [J]. International Journal of Food Microbiology, 2009, 134(1): 2-8
- [10] 刘超群,王宏勋,侯温甫.低温肉制品微生物控制与预测模型应用研究进展[J].食品科学,2009,30(21):481-484
LIU Chao-qun, WANG Hong-xun, HOU Wen-fu. Research progress in microbial control and prediction model application of low temperature meat products [J]. Food Science, 2009, 30(21): 481-484
- [11] GB 4789.2-2016 食品微生物学检验菌落总数测定[S].北京:中国标准出版社
GB 4789.2-2016 Food microbiology inspection total number of colonies [S]. Beijing: China Standard Press
- [12] Ratkowsky D A, Olley J, Mc Meekin T A, et al. Relationship between temperature and growth rate of bacterial cultures [J]. Journal of Bacteriology, 1982, 149(1): 1-5
- [13] 周晏,周国燕,徐斐,等.单增李斯特菌在生食鱼片中生长模型的建立[J].食品科学,2015,15:183-188
ZHOU Yan, ZHOU Guo-yan, XU Fei, et al. Establishment of growth model of *Listeria monocytogenes* in raw fish fillets [J]. Food Science, 2015, 15: 183-188
- [14] 张微,宇盛好,曹慧,等.熟肉制品中金黄色葡萄球菌生长模型的建立[J].工业微生物,2018,48(3):40-45
ZHANG Wei, YU Sheng-hao, CAO Hui, et al. Establishment of growth model of *Staphylococcus aureus* in cooked meat products [J]. Industrial Microbiology, 2018, 48(3): 40-45
- [15] 王军,董庆利,丁甜.预测微生物模型的评价方法[J].食品科学,2011,32(21):268-272
WANG Jun, DONG Qing-li, DING Tian. Evaluation method of predicting microbial model [J]. Food Science, 2011, 32(21): 268-272
- [16] Ross T, Dalgaard P, Tienungoon S. Predictive modelling of the growth and survival of *Listeria* in fishery products [J]. International Journal of Food Microbiology, 2000, 62(3): 231-245
- [17] 宇盛好,曹慧,徐斐,等.烤鸭中金黄色葡萄球菌生长模型的建立[J].食品科学,2015,36(13):154-159
YU Sheng-hao, CAO Hui, XU Fei, et al. The establishment of growth model of *Staphylococcus aureus* in roast duck [J]. Food Science, 2015, 36(13): 154-159
- [18] Strydom A, Witthuhn C R. *Listeria monocytogenes*: A target for bacteriophage biocontrol [J]. Comprehensive Reviews in Food Science & Food Safety, 2015, 14(6): 694-704