

## 烤鸭中金黄色葡萄球菌生长动力学比较与动态模拟

张子叶<sup>1</sup>, 刘丽敏<sup>1</sup>, 王晔茹<sup>2</sup>, 丁甜<sup>3</sup>, 方婷<sup>1</sup>, 李长城<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup> 福建农林大学食品科学学院 福州 350002

<sup>2</sup> 国家食品安全风险评估中心 北京 100022

<sup>3</sup> 浙江大学生物系统工程与食品科学学院 杭州 310030)

**摘要** 金黄色葡萄球菌是危害烤鸭等熟肉制品食用安全的常见病原菌之一。本研究旨在考察不同贮藏温度条件下烤鸭中金黄色葡萄球菌的生长特性,构建并比较相关动态生长预测模型。将含有两株金黄色葡萄球菌的混合菌液接种至烤鸭样品,然后分别置于 12,16,20,25,30 和 35℃条件下培养,测定其生长曲线。通过一步法对金黄色葡萄球菌的生长数据进行拟合分析,构建同时包含初级模型(Huang 模型或 Baranyi 模型或 Two Compartment 模型)与二级模型(Huang Square Root, HSR 模型)的组合生长模型。结果表明:Huang-HSR 模型、Baranyi-HSR 模型、Two Compartment-HSR 模型具有同等的拟合效果,由 3 个组合模型估计的金黄色葡萄球菌的最低生长温度和最大生长浓度分别为 8.29,8.74,8.74℃和 9.31,9.32,9.32 lg(CFU/g)。通过另设的 4 组波动温度状态下烤鸭中金黄色葡萄球菌的生长试验,对 Huang-HSR 模型及参数进行验证,其 RMSE 介于(0.28~0.40)lg(CFU/g)范围,表明所构建的预测模型具有较高的准确度。结合实际采集的烤鸭店环境温度和人为设置的波动温度,通过 Huang-HSR 模型模拟金黄色葡萄球菌的动态生长,以证明其潜在的应用性。本研究构建的模型可用于烤鸭中金黄色葡萄球菌的生长预测。

**关键词** 烤鸭;金黄色葡萄球菌;生长动力学;一步法;动态模拟

**文章编号** 1009-7848(2022)03-0246-10 **DOI:** 10.16429/j.1009-7848.2022.03.027

金黄色葡萄球菌是常见的食源性致病菌之一,广泛存在于自然界和食品加工环境中<sup>[1]</sup>。在适当的条件下,该菌可产生耐热性肠毒素<sup>[2-3]</sup>。人体摄入由金黄色葡萄球菌及其肠毒素污染的食品后,可引发恶心、呕吐、腹痛、虚脱、休克、体温过低等食物中毒症状<sup>[4-5]</sup>。近年来,我国由金黄色葡萄球菌引发的食物中毒报道层出不穷,其中,2017 年由该菌引起的食物中毒事件占细菌性食物中毒事件的 20%左右,仅次于沙门氏菌和副溶血性弧菌,且主要与肉制品等动物源食品相关<sup>[6-8]</sup>。此外,以烤鸭为代表的即食鸭肉制品是我国常见的熟肉食品之一,深受消费者青睐<sup>[9]</sup>。然而,同大部分熟肉食品一样,烤鸭制品通常在敞开或半敞开的环境中加工、贮藏或销售,极易遭受包括金黄色葡萄球菌在内的食源性致病菌的污染<sup>[10]</sup>。方太松等<sup>[11]</sup>报道,2003-2017 年期间,我国熟制鸭肉制品中金黄色葡萄球菌的检出率约 8.11%,置信区间 2.64%~22.32%。

探究包括烤鸭制品在内的熟肉食品中金黄色葡萄球菌的生长规律对促进该菌的防控、保障熟肉制品安全具有重要意义。

预测微生物学模型是描述食品中微生物生长或失活行为的有效工具,可以用于微生物定量风险评估或货架期预测<sup>[12-13]</sup>。传统的微生物预测模型构建采用“两步法”:第 1 步构建初级模型,描述恒定环境因子(比如温度、pH 值、水分活度)状态下微生物数量随时间的变化,通过非线性回归获得生长速率和迟滞期等参数;第 2 步构建二级模型,描述环境因子对生长速率或迟滞期的影响,通过非线性回归获得最低、最大生长温度或 pH 值等参数;因其涉及两次非线性回归,故数据分析过程中累积误差相对较大<sup>[14]</sup>。为减小建模过程中的累积误差,近年来,有文献报道使用“一步法”对数据进行整体分析,即通过一次非线性回归同步构建初级模型和二级模型<sup>[15]</sup>。目前,已有关于熟肉制品中金黄色葡萄球菌生长预测模型的文献报道<sup>[16-18]</sup>,然而,其建模过程均基于传统的两步法,缺乏波动温度条件下的预测建模,无法满足实际生产加工、运输、贮藏过程中的应用需求。

收稿日期:2021-03-19

基金项目:福建省自然科学基金面上项目(2021J01112)

作者简介:张子叶(1995—),女,硕士生

通信作者:李长城 E-mail: changcheng\_li@fafu.edu.cn

本文研究烤鸭中金黄色葡萄球菌的生长特性,构建基于一部法的动态预测模型,旨在为相关产品中金黄色葡萄球菌的生长模拟与风险评估提供参考。

## 1 材料与方 法

### 1.1 材料与试剂

烤鸭,福州山姆会员超市。

利福平(Rifampicin, Rif),北京索莱宝科技有限公司;蛋白胨粉,杭州微生物试剂有限公司;胰酪大豆胨琼脂培养基(Tryptose Soya Agar Medium, TSA)、脑-心浸出液肉汤(Brain Heart Infusion Broth, BHI),广东环凯微生物科技有限公司;Whirl-Pak-207 mL 无菌均质袋,美国 Nasco 公司。

### 1.2 设备

KB115 低温恒温箱,德国 BINDER 公司;Bag Mixer-400 均质拍打器,法国 Interscience 公司;SHP-250 细菌生化培养箱,上海精宏实验设备有限公司;LDZX-75KBS 立式压力蒸汽灭菌器,上海精宏实验设备有限公司;H-1850R 高速冷冻离心机,湖南相仪实验室仪器有限公司;VORTEX-5 漩涡混合器,上海习仁科学仪器有限公司;AIRTECH 生物安全柜,苏州安泰空气技术有限公司。

### 1.3 试验方法

1.3.1 金黄色葡萄球菌接种菌液的制备 两株金黄色葡萄球菌(CICC10786、CICC10787)均采购于中国工业微生物菌种保藏管理中心(CICC),并保存于 $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ 、含 20%甘油的 BHI 冻藏管中。参照 Jia 等<sup>[9]</sup>的方法,利用利福平分别逐步诱导两株金黄色葡萄球菌,使其产生抗性菌株,当其利福平的耐受质量浓度达到 100 mg/L 时,划线于 TSA/Rif 平板,保存于 $8\text{ }^{\circ}\text{C}$ 培养箱中。为保证其菌株活性,每隔 7 d 转接至新制备的 TSA/Rif 平板。每次试验前,从 TSA/Rif 平板挑取 2 株金黄色葡萄球菌的单菌落,分别接种至 10 mL BHI 溶液(利福平添加质量浓度 100 mg/L)中,培养 18~20 h,使菌株浓度达 $10^{9.0}\sim 10^{9.5}$  CFU/mL,再于 $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ 条件下以 5 000 r/min 离心 15 min,去掉上清液,用无菌蛋白胨水(0.1 g/L)清洗菌体 2 次。将 2 株金黄色葡萄球菌悬浮液按 1:1 混合,经无菌蛋白胨水稀释至约 $10^{4.5}$

CFU/mL,备用。

1.3.2 烤鸭中金黄色葡萄球菌的生长试验 烤鸭去皮去骨后抽真空包装(2 kPa),并于 $115\text{ }^{\circ}\text{C}$ 杀菌 20 min,以消除背景微生物的影响。冷却后于无菌环境下将鸭肉切分为若干份,每份( $5\pm 0.05$ ) g,并装入无菌均质袋中。取上述已制备的菌悬浮液,接种 0.1 mL 至每份烤鸭样品中,并轻度揉捏,使菌液与样品充分混合。经平板涂布法,测得金黄色葡萄球菌的初始接菌浓度为 $10^{2.5}\sim 10^{3.0}$  CFU/g。将已接种的烤鸭样品分别置于 12,16,20,25,30,35 $^{\circ}\text{C}$ 培养箱,开展恒定温度条件下的生长试验,每个温度条件下的取样点独立重复两次。另外,于变温培养箱中分别设置 4 组温度任意波动的程序(TP1、TP2、TP3、TP4,见图 3),开展动态温度条件下的生长试验。

1.3.3 金黄色葡萄球菌计数 根据试验条件,按预设的时间间隔取出样品,向均质袋中加入 20 mL 无菌蛋白胨水(0.1 g/L),置于均质拍打器中正反面各拍打 2 min,然后取 1 mL 均质液添加至 9 mL 无菌蛋白胨水中,再进行梯度稀释。根据试验条件预设稀释倍数,取适量稀释或非稀释菌液(0.1 mL 或 1 mL)涂布于 TSA/Rif<sup>[20]</sup>培养基。涂布后的平板置于 $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ 条件下培养,24~48 h 后计数,单位为 Ln(CFU/g)或 lg(CFU/g)。

### 1.4 生长模型

1.4.1 初级模型 分别选取 Huang 模型<sup>[21]</sup>、Baranyi 模型<sup>[22]</sup>和 Two Compartment 模型<sup>[23]</sup>作为初级模型,用于描述烤鸭中金黄色葡萄球菌的生长随时间的变化,3 种初级模型的微分方程表达式分别如式(1)、式(2)、式(3)所示:

$$\left\{ \begin{array}{l} \frac{dY}{dt} = \frac{1}{1+\exp[-4(t-\lambda)]} \mu_{\max} [1-\exp(Y-Y_{\max})] \\ \lambda = A \times \mu_{\max}^{-m} \end{array} \right. \quad (1)$$

$$\left\{ \begin{array}{l} \frac{dY}{dt} = \frac{1}{1+\exp(-Q)} \mu_{\max} [1-\exp(Y-Y_{\max})] \\ \frac{dQ}{dt} = \mu_{\max} \end{array} \right. \quad (2)$$

$$\left\{ \begin{array}{l} \frac{dN_L}{dt} = -\gamma \mu_{\max} N_L \\ \frac{dN_D}{dt} = \mu_{\max} (\gamma N_L + N_D) \left(1 - \frac{N_L + N_D}{N_{\max}}\right) \\ N = N_L + N_D \end{array} \right. \quad (3)$$

式(1)中, $Y$ 、 $Y_{\max}$  分别是  $t$  时刻对应的细菌生长浓度和最大生长浓度( $\ln(\text{CFU/g})$ ); $\mu_{\max}$  为细菌最大比生长速率( $\text{h}^{-1}$ ); $\lambda$  是迟滞期; $A$  和  $m$  为回归系数。式(2)中, $Y$ 、 $Y_{\max}$ 、 $\mu_{\max}$  与式(1)相同,参数  $Q$  是描述细菌初始生理状态的物理量,当  $t=0$  时,有  $Q=Q_0$ 。式(3)中, $t$  时间细菌总量  $N(\text{CFU/g})$  为休眠期的细菌数  $N_L(\text{CFU/g})$  与分裂期的细菌数  $N_D(\text{CFU/g})$  之和; $N_{\max}$  为细菌最大生长浓度( $\text{CFU/g}$ ); $\gamma$  是与细菌迟滞期相关的参数,决定处于休眠状态的细胞向分裂状态的转化,其值在 0~1 之间。

1.4.2 二级模型 选择 Huang-Square-Root (HSR)模型<sup>[19]</sup>作为二级模型,用于评价温度对烤鸭中金黄色葡萄球菌生长速率的影响,其表达式如式(4)所示:

$$\sqrt{\mu_{\max}}=a(T-T_{\min})^{0.75} \quad (4)$$

式(4)中, $T$ 、 $T_{\min}$ ——分别是金黄色葡萄球菌的环境温度和最低生长温度, $^{\circ}\text{C}$ ; $\mu_{\max}$ ——细菌最大比生长速率, $\text{h}^{-1}$ 。

### 1.5 动力学参数的确定与数值分析

将各个恒定温度条件下的 2 次独立重复试验数据合并,并通过一步法进行分析,求解模型参数,构建金黄色葡萄球菌的生长预测模型。本研究基于 Matlab 软件(美国 Math Works 公司,版本 2018)编程实现对模型参数的求解,若将待求参数记为  $\{P\}$ ,则 Huang-HSR 模型、Baranyi-HSR 模型和 Two Compartment-HSR 模型的待求参数可分别由式(5)、式(6)和式(7)表示。数值分析过程中,采用四阶龙格-库塔法结合最小二乘法,全局优化金黄色葡萄球菌生长浓度预测值  $\hat{Y}$  与观测值  $Y$  的最小残差平方和 RSS(式 8),其中  $n$  为观察值的总数。

$$\{P\}=\{T_{\min}, Y_{\max}, a, A, m\} \quad (5)$$

$$\{P\}=\{T_{\min}, Y_{\max}, a, Q_0\} \quad (6)$$

$$\{P\}=\{T_{\min}, Y_{\max}, \gamma, a\} \quad (7)$$

$$RSS=\sum_1^n (\hat{Y}-Y)^2 \quad (8)$$

### 1.6 模型评价

统计量均方根误差 (RMSE)(如式 9) 和 AIC 值<sup>[25]</sup>(如式 10)可用于模型评价。一般而言, RMSE 越小,表明模型拟合的准确度越高; AIC 反映模型拟合数据的优良性,可用于不同模型之间的比较

分析,其值越小,表明模型的拟合优度越高。

$$RMSE=\sqrt{\frac{RSS}{n-q}} \quad (9)$$

$$AIC=N \times \ln\left(\frac{RSS}{n}\right)+2(q+1)+\frac{2(q+1)(q+2)}{n-q-2} \quad (10)$$

式中, $n$ ——观测值总数; $q$ ——参数数量。

### 1.7 模型验证

通过 4 组任意波动温度条件下的动态生长试验对所构建的模型及其参数的准确性进行验证,比较模型预测值  $\hat{Y}$  和试验观测值  $Y$  之间的差异,计算均方根误差 (RMSE)。另外,通过 @Risk8.0 软件实现对误差的拟合分析。

## 2 结果与分析

### 2.1 数值分析与模型构建

本研究所用烤鸭样品均经灭菌处理,以便消除背景微生物对金黄色葡萄球菌生长的影响。样品中金黄色葡萄球菌的初始接菌量为  $10^{25} \sim 10^3$  CFU/g, 12, 16, 20, 25, 30 和  $35^{\circ}\text{C}$  条件下,金黄色葡萄球菌的生长曲线如图 1 所示。由图 1 可知,6 组不同的温度条件下,金黄色葡萄球菌在烤鸭样品中的生长状况均为良好,其生长曲线均包含迟滞期、对数期及稳定期 3 个阶段。此外,随着试验温度的升高,金黄色葡萄球菌的生长速率逐渐增大,达到稳定期所需时间也更短。

通过一步法对由上述 6 组恒温条件下金黄色葡萄球菌生长数据合并的新数据集(共计 182 个数据点)进行全局拟合分析,分别求解微分方程(1)、(2)、(3),计算金黄色葡萄球菌的生长动力学参数  $\{P\}$ (式 5、6、7),构建包含初级模型和二级模型的 3 种组合模型,即 Huang-HSR 模型、Baranyi-HSR 模型和 Two Compartment-HSR 模型,其统计分析和参数估计结果分别如表 1 和表 2 所示。 $F$  检验表明,3 种组合模型均可用于描述烤鸭样品中金黄色葡萄球菌的生长( $P<0.05$ ),其中 Huang-HSR 模型、Baranyi-HSR 模型、Two Compartment-HSR 模型的均方根误差 (RMSE) 分别为 0.50, 0.52, 0.52  $\lg(\text{CFU/g})$ , AIC 值分别为 -242.513, -229.829, -231.492(表 1)。由表 2 可知,通过一步法求解的 Huang-HSR 模型、Baranyi-HSR 模型及

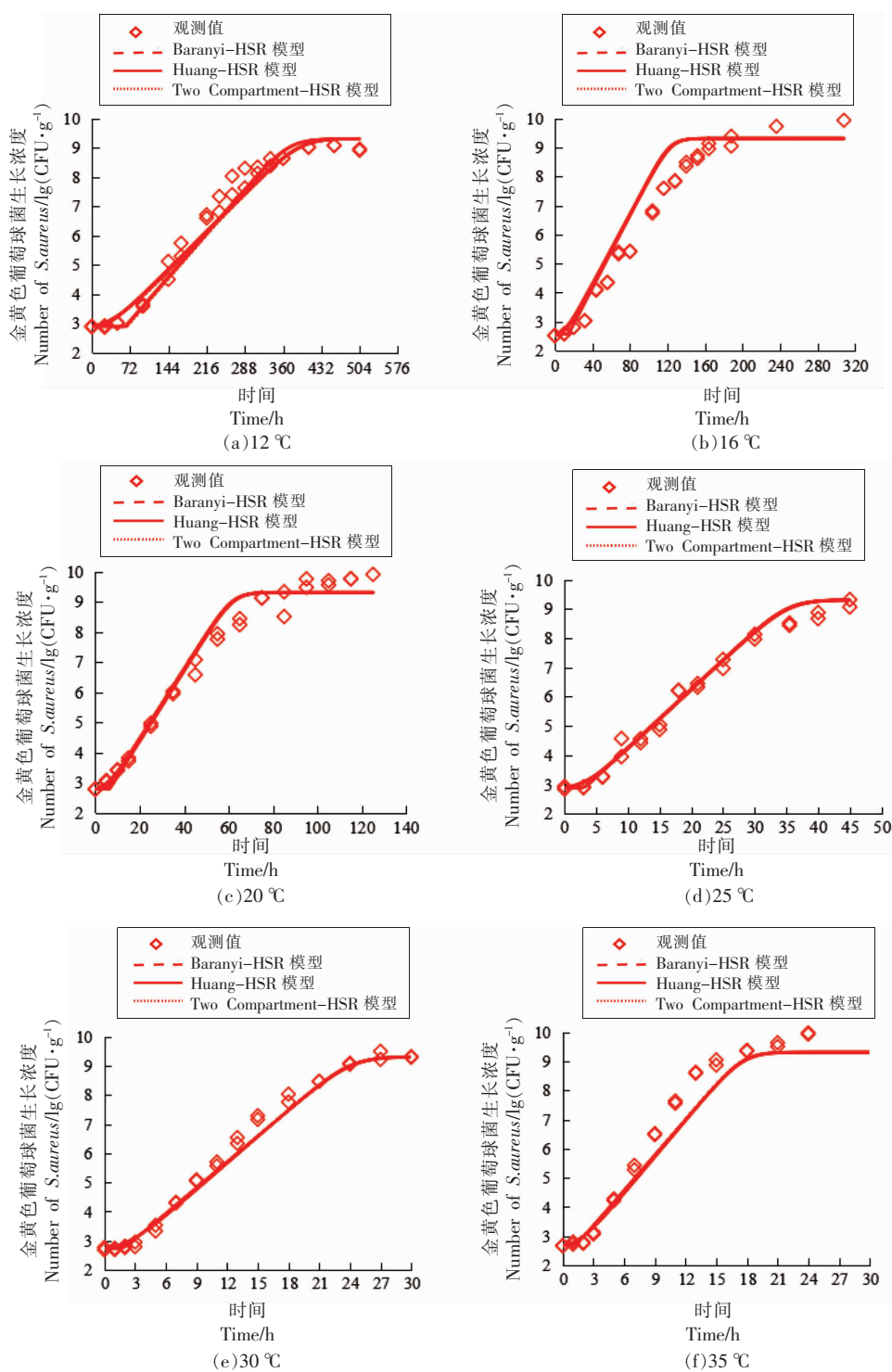


图 1 烤鸭中金黄色葡萄球菌生长曲线一步法拟合分析

Fig.1 One-step curve fitting of growth curves of *S. aureus* in roasted duck

Two Compartment-HSR 模型的生长参数或系数的估计值均达到显著水平 ( $P < 0.05$ ), 其中最大生长浓度的估计值分别为  $21.43 \ln(\text{CFU/g})$  [或  $9.31 \lg(\text{CFU/g})$ ],  $21.45 \ln(\text{CFU/g})$  [或  $9.31 \lg(\text{CFU/g})$ ]

和  $21.47 \ln(\text{CFU/g})$  (或  $9.32 \lg(\text{CFU/g})$ ), 三者之间最大差值仅为  $0.04 \ln(\text{CFU/g})$  (或  $0.01 \lg(\text{CFU/g})$ ), 无显著差异; 3 种组合模型估计的最低生长温度分别为  $8.29, 8.74$  和  $8.74 \text{ } ^\circ\text{C}$ , 与文献[26]

报道的金黄色葡萄球菌的最低生长温度较为接近。另外,需要指出的是,虽然3种组合模型具有相同的二级模型,且系数 $a$ 相近(分别为0.082,0.084,0.084),但其初级模型有所差异。Huang模型仅以一个微分方程描述细菌生长,且以显函数的形式明确定义了细菌的迟滞期( $\lambda$ ),并通过表达式 $\lambda=A \times \mu_{\max}^{-m}$ 描述了迟滞期( $\lambda$ )与最大比生长速率( $\mu_{\max}$ )之间的关系,即,由表2可知, $A$ 和 $m$ 分别为1.144和1.324;Baranyi模型以两个微分方程描述

细菌生长,并通过引入参数 $Q$ (其初值 $Q_0=-1.434$ ),以隐函数的形式定义细菌的迟滞期;Two Compartment模型将接种至样品中的细菌细胞分为处于休眠期细胞和分裂期细胞两类,通过参数 $\gamma(=0.286)$ 定义休眠细胞向分裂期细胞的转化过程,并通过两个微分方程分别描述休眠期和分裂期细菌的变化<sup>[27]</sup>。综合分析,本研究建议选择Huang-HSR模型作为描述烤鸭中金黄色葡萄球菌的组合模型。

表1 一步法分析结果

Table 1 Results of one-step approach analysis

模型	RMSE	AIC	F值	P值
Huang-HSR	0.50	-242.513	$6.80 \times 10^3$	$3.31 \times 10^{-200}$
Baranyi-HSR	0.52	-229.829	$7.87 \times 10^3$	$4.72 \times 10^{-199}$
Two Compartment-HSR	0.52	-231.492	$7.95 \times 10^3$	$2.09 \times 10^{-199}$

表2 烤鸭中3种模型的参数估计

Table 2 Estimated parameters of three models in roasted duck

模型	参数	估计值	标准差	t值	P值	95%置信区间	
						上区间	下区间
Huang-HSR	$a$	0.082	0.002	42.481	$9.030 \times 10^{-95}$	0.078	0.086
	$T_{\min}$	8.29	0.234	35.436	$2.702 \times 10^{-82}$	7.83	8.75
	$A$	1.144	0.346	3.305	$1.149 \times 10^{-3}$	0.461	1.826
	$m$	1.324	0.151	8.760	$1.544 \times 10^{-15}$	1.026	1.623
	$Y_{\max}$	21.43a	0.171	125.370	$8.245 \times 10^{-175}$	21.10	21.77
Baranyi-HSR	$a$	0.084	0.002	52.949	$7.094 \times 10^{-111}$	0.081	0.088
	$T_{\min}$	8.74	0.083	105.360	$2.603 \times 10^{-162}$	8.58	8.90
	$Q_0$	-1.434	0.396	-3.621	$3.821 \times 10^{-4}$	-2.215	-0.652
	$Y_{\max}$	21.45b	0.179	119.910	$3.569 \times 10^{-172}$	21.09	21.80
Two Compartment-HSR	$\gamma$	0.286	0.117	2.440	0.016	0.055	0.517
	$a$	0.084	0.002	52.896	$8.389 \times 10^{-111}$	0.081	0.087
	$T_{\min}$	8.74	0.083	105.190	$3.437 \times 10^{-162}$	8.57	8.90
	$Y_{\max}$	21.47c	0.180	119.450	$7.006 \times 10^{-172}$	21.11	21.82

注:<sup>a</sup>21.43 ln(CFU/g)=9.31 lg(CFU/g);<sup>b</sup>21.45 ln(CFU/g)=9.31 lg(CFU/g);<sup>c</sup>21.47 ln(CFU/g)=9.32 lg(CFU/g)。

温度对烤鸭中金黄色葡萄球菌生长速率的影响如图2所示,同时,图2还将本研究结果与相关文献报道结果进行了对比。宇盛好等<sup>[16]</sup>研究了温度对烤鸭中金黄色葡萄球菌生长的影响,通过两步法构建二级模型 $\sqrt{\mu_{\max}}=0.024T-0.0018$ ,估算的最低生长温度为0.075℃;张微等<sup>[18]</sup>研究了温度对盐水牛肉中金黄色葡萄球菌生长的影响,同样的,

通过两步法构建二级模型 $\sqrt{\mu_{\max}}=0.023(T-1.0513)$ ,估算的最低生长温度为1.051℃。上述文献报道的最低生长温度均小于本研究估算的最低生长温度,这种差异主要是由二级模型的不同而导致。上述文献均选择Ratkowsky平方根模型<sup>[28]</sup>作为二级模型,与HSR模型(式4)相比,该模型估算的最低生长温度为表观最低生长温度( $T_0$ ),一般而言, $T_0$

低于实际最低生长温度 ( $T_{\min}$ )<sup>[29]</sup>。另外,由图 2 可知,当温度大于 20 °C 时,本研究中金黄色葡萄球菌的生长速率约大于文献报道的生长速率,产生这种差异的一个原因可能是食品基质不同。值得注意的是,本研究所用的烤鸭样品均经过灭菌处理,金黄色葡萄球菌在此样品中的生长代表着无背景菌群干扰的极端情形(worst-case),其生长速率可能相对较大;反过来,当样品中存在背景菌群时,其生长速率可能因背景菌群的抑制而减小。

## 2.2 模型验证

模型构建过程仅选取了恒定温度条件下金黄色葡萄球菌的生长数据进行分析,因此,选取 4 组波动温度(TP1-4: 温度 3~33 °C, 储存时间 118~224 h)状态下的动态生长试验数据用于验证模型和参数的准确性。据前所述,以 Huang-HSR 为组合模型,将其参数代入,正向计算获得 4 组波动温度条件下金黄色葡萄球菌的预测曲线,由图 3 可知,烤鸭中金黄色葡萄球菌生长曲线的预测值与实际观测值相近,4 组验证试验的 RMSE 值分别为 0.28, 0.31, 0.33 和 0.40 lg (CFU/g);另外,由图 4 可知,其残差服从均值为 0.04 lg (CFU/g)、标准差为 0.44 lg (CFU/g)的正态分布,总体上,大约 74.2%的残差处于  $\pm 0.5$  lg (CFU/g) 范围内,表明 Huang-HSR 模型可用于波动温度条件下烤鸭中金黄色葡萄球菌的生长预测。

## 2.3 模型应用与动态生长数值模拟

在我国,除了城市地区的少数高端超市以外,大量的街边烤鸭店或卤味店是加工、售卖烤鸭的

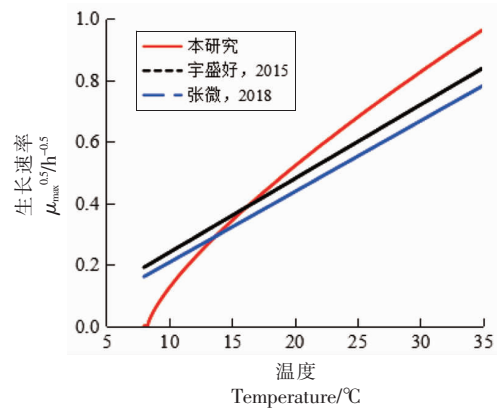
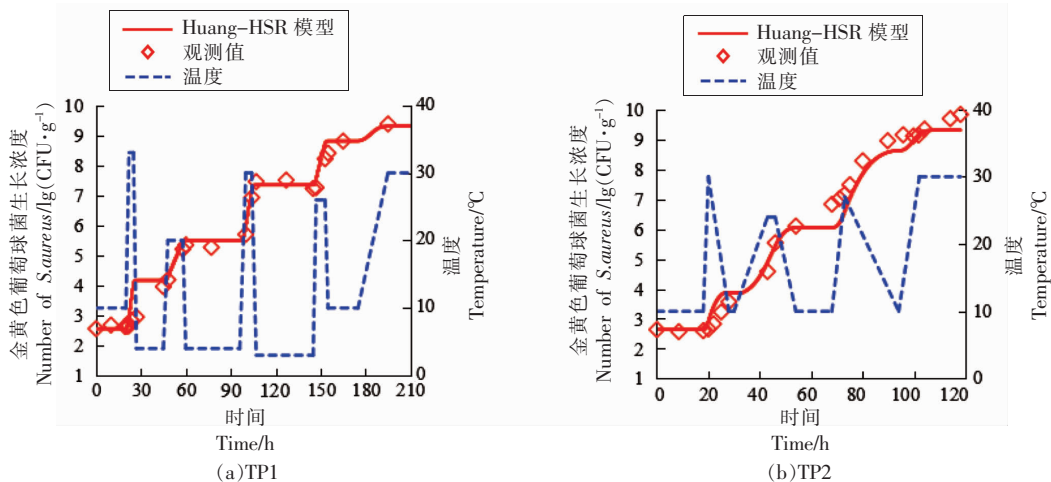


图 2 温度对熟肉制品中金黄色葡萄球菌生长速率的影响

Fig.2 Effect of temperature on growth rate of *S. aureus* in cooked meat products

主要场所。通常情况下,产品在烤制结束后往往未经任何形式的包装,而直接暴露于室温中挂卖,或贮存于半敞开式的柜台销售。然而,部分烤鸭店或卤味加工店的环境卫生状况较差,具有较高的交叉污染的风险。因此,当预测模型及其参数验证完成之后,继续将构建的模型应用于烤鸭实际生产销售或人工设置的波动温度状态,以模拟烤鸭中金黄色葡萄球菌的生长。本研究实地采集了某卤味店中产品的环境温度,时间从当日上午 9:00 持续至次日晚 10:00,共计约 37 h。由图 5 可知,采集开始至晚上打烊,产品平均温度约 25 °C(因空调制冷,中午温度稍微下降)左右,至当日晚上 10:00,部分卤味产品转移至冰柜中保存,次日



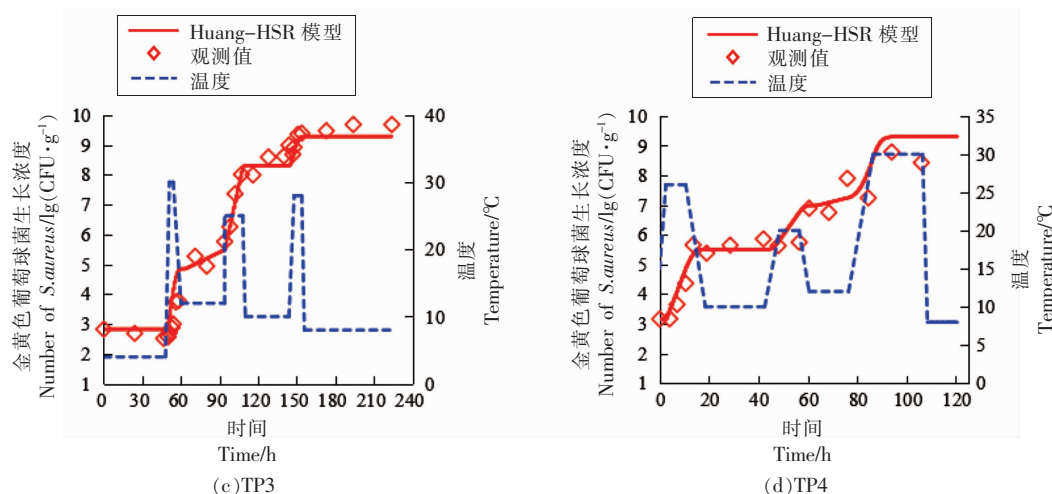


图3 波动温度条件下烤鸭中金黄色葡萄球菌的生长曲线

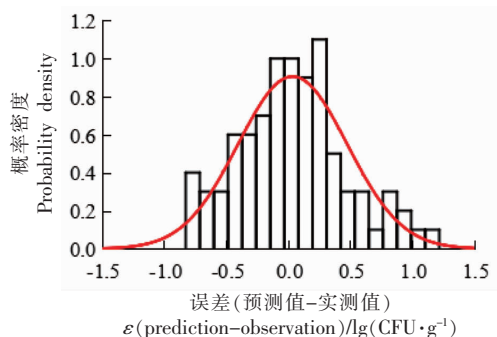
Fig.3 Growth curves of *S. aureus* in roasted duck at dynamic condition

图4 烤鸭中 Huang-HSR 模型的误差拟合分析

Fig.4 Error fitting analysis of Huang-HSR model in roasted duck

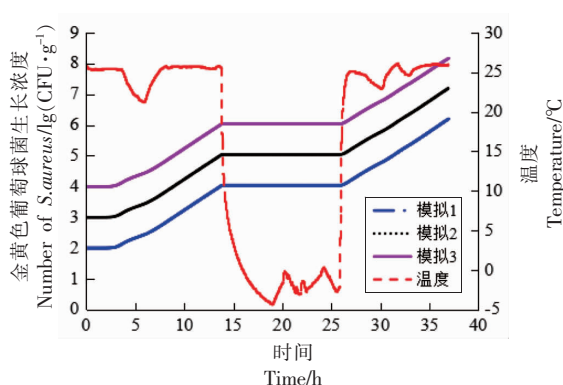


图5 烤鸭中金黄色葡萄球菌数值模拟

Fig.5 Numerical simulation of *S. aureus* in roasted duck

午 11:00 左右,冷藏产品取出再次销售。基于上述实测温度,图 6 模拟了不同初始污染浓度对烤鸭中金黄色葡萄球菌生长的影响,假设产品分别具有 2.0,3.0,4.0 lg (CFU/g)的初始污染浓度,经历当日上午 9:00 至晚上 10:00 的贮藏,其浓度可达 4.0,5.0,6.0 lg (CFU/g);倘若经过夜间冷藏后于次日再次销售,直到次日晚 10:00,其浓度可达 6.0,7.0,8.0 lg (CFU/g)。虽然几乎不可能发生从当日上午至次日晚上的产品积压的极端情形,但烤制当日出现产品积压的情形则相对普遍。由模拟结果可知,当日采集开始至晚上打样期间内金黄色葡萄球菌的增长可达 2 个数量级,仍有可能产生耐热的肠毒素。从此角度而言,被污染的烤鸭产品在食用前即使经过再次加热,仍有可能引发

食物中毒的风险。图 6 模拟了不同振荡范围(10~20,15~25,20~30,25~35 °C)和不同周期(图 6a:2 h 或图 6b:4 h)的正弦波动温度条件下,烤鸭中金黄色葡萄球菌的生长浓度随时间的变化。由图 6 可知,无论温度波动周期大小,25~35 °C 波动条件下金黄色葡萄球菌的生长最快,13 h 模拟时长中增长 3.0 lg (CFU/g);而 10~20 °C 波动条件下金黄色葡萄球菌的增长不显著,这表明温度是影响其生长的重要因素。因此,需要加强烤鸭生产加工和销售环境的卫生监测及温度控制管理,尽量降低感染的风险。

### 3 结论

本研究基于一法对恒定温度 (12~35 °C)条

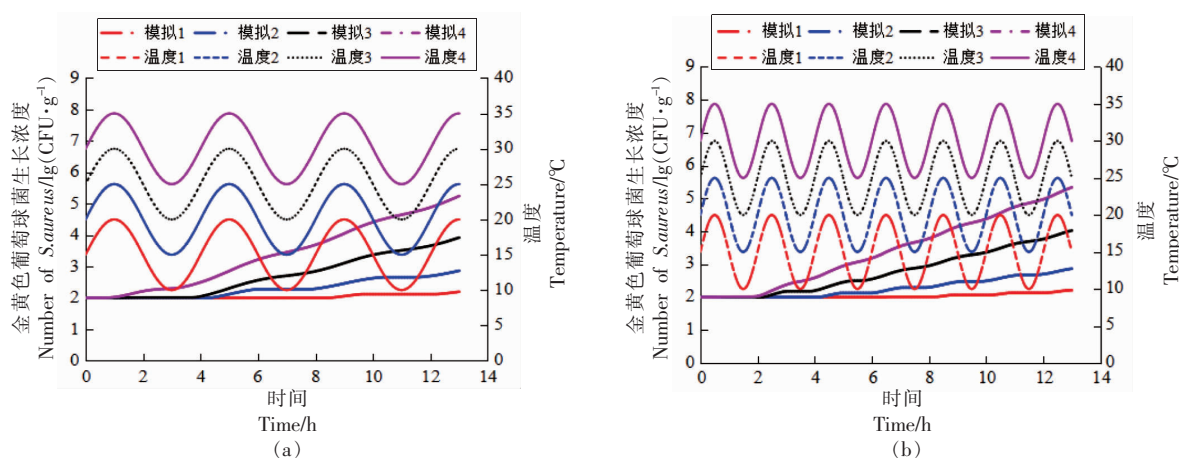


图 6 不同振荡范围和周期的正弦波动温度条件下,烤鸭中金黄色葡萄球菌生长数值模拟

Fig.6 The growth of *S. aureus* in roasted duck was numerically simulated under sinusoidal fluctuation temperature with different oscillation range and period

件下烤鸭中金黄色葡萄球菌的生长数据进行拟合分析,分别构建 Huang-HSR、Baranyi-HSR 和 Two Compartment-HSR 3 种组合模型,且各模型具有等同的拟合效果;3 种模型估计的金黄色葡萄球菌的最低生长温度分别为 8.29、8.74 和 8.74 °C,最大生长浓度分别 9.31 lg (CFU/g)、9.3 lg (CFU/g) 1 和 9.32 lg (CFU/g);初级模型中,Huang 模型比 Baranyi、Two Compartment 模型相对简洁,建议选用 Huang-HSR 组合模型;4 组波动温度验证试验的 RMSE 介于 0.28~0.40 lg (CFU/g) 之间,其残差服从均值为 0.04 lg (CFU/g)、标准差为 0.44 lg (CFU/g) 的正态分布,大约有 74.2% 的残差处于  $\pm 0.5$  lg (CFU/g) 范围内;结合实际采集的烤鸭店环境温度和人工设置的正弦波动温度,开展烤鸭中金黄色葡萄球菌的生长数值模拟,证明了模型的潜在应用性。

### 参 考 文 献

- [1] 章海通,邢家深,傅晓,等. 食源性金黄色葡萄球菌产肠毒素情况及耐药性分析[J]. 食品研究与开发, 2019, 40(20): 175-179.
- [2] ZHANG H T, XING J L, FU X, et al. Analysis on the enterotoxin production and drug resistance of foodborne *Staphylococcus aureus*[J]. Food Research and Development, 2019, 40(20): 175-179.
- [3] ALMUTAWIF Y, HARTMANN B, LLOYD M, et al. *Staphylococcus aureus* enterotoxin production in raw and pasteurized milk: the effect of selected different storage durations and temperatures[J]. Breastfeeding Medicine, 2019, 14(6): 256-261.
- [4] ZHANG X, HU X, RAO X. Apoptosis induced by *Staphylococcus aureus* toxins[J]. Microbiological Research, 2017, 205(12): 19-24.
- [5] PINCHUK I V, BESWICK E J, REYES V E. *Staphylococcal enterotoxins*[J]. Toxins, 2010, 2(8): 2177-2197.
- [6] MILLETTE M, TIEN C L, SMORAGIEWICZ W, et al. Inhibition of *Staphylococcus aureus* on beef by nisin-containing modified alginate films and beads[J]. Food Control, 2007, 18(7): 878-884.
- [7] 王霄晔,任婧寰,王哲,等. 2017 年全国食物中毒事件流行特征分析[J]. 疾病监测, 2018, 33(5): 359-364.
- [8] WANG X Y, REN J H, WANG Z, et al. Epidemiological characteristics of food poisoning events in China, 2017[J]. Disease Surveillance, 2018, 33(5): 359-364.
- [9] JI R, CAO H, XU F, et al. Risk ranking of main pathogenic bacteria in deft meat[J]. Food Science, 2015, 36(11): 197-201.
- [10] RODRIGUEZ C M Y, VALERO D A, VALLEJO J L R, et al. Effect of pre-incubation conditions on growth and survival of *Staphylococcus aureus* in sliced cooked chicken breast[J]. Meat Science, 2012, 92(4): 409-416.
- [11] CHEN X, ZHAO J, ZHU L, et al. Effect of modified atmosphere packaging on shelf life and bacterial



- community of roast duck meat[J]. Food Research International, 2020, 137: 109645.
- [10] HU S K, LIU S Y, HU W F, et al. Molecular biological characteristics of *Staphylococcus aureus* isolated from food[J]. European Food Research and Technology, 2013, 236(2): 285-291.
- [11] 方太松, 王军, 王晔茹, 等. 我国熟肉制品中金黄色葡萄球菌污染状况 Meta 分析[J]. 生物加工过程, 2020, 18(3): 386-391.
- FANG T S, WANG J, WANG Y R, et al. Cooked meat products contamination with *Staphylococcus aureus* in China: a Meta-analysis Chinese[J]. Journal of Bioprocess Engineering, 2020, 18(3): 386-391.
- [12] STAVROPOULOU E, BEZIRTZOGLU E. Predictive modeling of microbial behavior in food[J]. Foods, 2019, 8(12): 654-669.
- [13] 张文敏, 方太松, 王翔, 等. 食品中微生物间交互模型的研究进展[J]. 食品科学, 2020, 41(1): 277-283.
- ZHANG W M, FANG T S, WANG X, et al. Microbial interaction modeling in foods: A review[J]. Food Science, 2020, 41(1): 277-283.
- [14] HUANG L H. IPMP Global Fit - A one-step direct data analysis tool for predictive microbiology[J]. International Journal of Food Microbiology, 2017, 262(4): 38-48.
- [15] HUANG L H. Mathematical modeling and validation of growth of *Salmonella Enteritidis* and background microorganisms in potato salad - One-step kinetic analysis and model development[J]. Food Control, 2016, 68(10): 69-76.
- [16] 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 S H, CAO H, XU F, et al. Predictive models for the growth of *Staphylococcus aureus* in roast duck[J]. Food Science, 2015, 36(13): 154-159.
- [17] 胡洁云, 林露, 王彤, 等. 熟鸡肉中金黄色葡萄球菌生长预测模型的建立[J]. 微生物学通报, 2016, 43(9): 1999-2009.
- HU J Y, LIN L, WANG T, et al. Model for predicting *Staphylococcus aureus* growth in cooked chicken[J]. Microbiology China, 2016, 43(9): 1999-2009.
- [18] 张微, 宇胜好, 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 W, YU S H, CAO H, et al. Establishment of *Staphylococcus aureus* growth model in cooked meat products[J]. Industrial Microbiology, 2018, 48(3): 40-45.
- [19] JIA Z, BAI W J, LIX T, et al. Assessing the growth of *Listeria monocytogenes* in salmon with or without the competition of background microflora—A one-step kinetic analysis[J]. Food Control, 2020, 114: 107139.
- [20] FANG T, HUANG L H, LIU L, et al. Mathematical modeling of growth of *Salmonella* spp. and spoilage microorganisms in raw oysters[J]. Food Control, 2015, 53(7): 140-146.
- [21] HUANG L H. Growth of non-toxicogenic *Clostridium botulinum* mutant LNT01 in cooked beef: One-step kinetic analysis and comparison with *C. sporogenes* and *C. perfringens*[J]. Food Research International, 2018, 107(4): 248-256.
- [22] BARANYI J, ROBERTS T A. A dynamic approach to predicting bacterial growth in food[J]. International Journal of Food Microbiology, 1994, 23(3/4): 277-294.
- [23] LI M, HUANG L H, YUAN Q. Growth and survival of *Salmonella* Paratyphi A in roasted marinated chicken during refrigerated storage: Effect of temperature abuse and computer simulation for cold chain management[J]. Food Control, 2016, 74(4): 17-24.
- [24] 李晓婷, 李长城, 刘丽敏, 等. 基于一歩法的金枪鱼生鱼片沙门氏菌生长数值模拟[J]. 中国食品学报, 2020, 20(4): 197-205.
- LI X T, LI C C, LIU L M, et al. Numerical simulation of growth of *Salmonella* in tuna sashimi - One-step kinetic analysis[J]. Journal of Chinese Institute of Food Science and Technology, 2020, 20(4): 197-205.
- [25] FENG C H, DRUMMOND L, SUN D W, et al. Modeling the growth parameters of lactic acid bacteria and total viable count in vacuum packaged Irish cooked sausages cooled by different methods[J]. International Journal of Food Science and Technology, 2014, 49(12): 2659-2667.
- [26] HUANG L H. Growth of *Staphylococcus aureus* in

- cooked potato and potato salad—A one - step kinetic analysis[J]. *Journal of Food Science*, 2015, 80(12): 2837–2844.
- [27] HUANG L H. Dynamic analysis of growth of *Salmonella* spp. in raw ground beef – estimation of kinetic parameters, sensitivity analysis, and Markov Chain Monte Carlo simulation[J]. *Food Control*, 2020, 108: 106845.
- [28] RATKOWSKY D A, LOWRY R K, MCMEEKIN T A, et al. Model for bacterial culture growth rate through the entire biokinetic temperature range [J]. *Journal of Bacteriology*, 1983, 154(3): 1222–1226.
- [29] HUANG L H, HWANG C A, PHILLIPS J. Evaluating the effect of temperature on microbial growth rate—the Ratkowsky and a Bělehrádek–type models[J]. *Journal of Food Science*, 2011, 76(8): 547–557.
- [30] LINDQVIST R, SYLVEN S. Quantitative microbial risk assessment exemplified by *Staphylococcus aureus* in unripened cheese made from raw milk [J]. *Food Microbiology*, 2002, 78(1/2): 155–170.

### Kinetic Comparison and Dynamic Simulation of the Growth of *Staphylococcus aureus* in Roasted Duck

Zhang Ziyue<sup>1</sup>, Liu Limin<sup>1</sup>, Wang Yeru<sup>2</sup>, Ding Tian<sup>3</sup>, Fang Ting<sup>1</sup>, Li Changcheng<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>College of Food Science, Fujian Agriculture and Forestry University, Fuzhou 350002

<sup>2</sup>China National Center for Food Safety Risk Assessment, Beijing 100022

<sup>3</sup>College of Biosystems Engineering and Food Science, Zhejiang University, Hangzhou 310030

**Abstract** *Staphylococcus aureus* is one of the common pathogens that threaten the food safety of roasted duck and other cooked meat products. The objective of this study was to investigate the growth characteristics of *Staphylococcus aureus* in roasted duck under different storage temperatures, then to develop and evaluate relevant dynamic models. The roasted duck samples inoculated with a 2–strain cocktail of *Staphylococcus aureus* were stored at 12, 16, 20, 25, 30 and 35 °C, respectively, to observe the growth during storage. The one–step approach was used analyze the growth data of *Staphylococcus aureus*, and then to construct a combined growth model including the primary model (Huang model, Baranyi model, or Two Compartment model) and the secondary model (Huang Square Root (HSR) model). The results showed that Huang–HSR model, Baranyi–HSR model and Two Compartment–HSR model had an equal fitting effect. The minimum growth temperature and maximum cell density of *Staphylococcus aureus* estimated by the three combined models were 8.29, 8.74, 8.74 °C, and 9.31, 9.32, and 9.32 lg (CFU/g), respectively. The Huang–HSR model and its parameters were verified by the growth experiment of *Staphylococcus aureus* in roasted duck under another 4 groups of dynamic temperature profiles. The RMSE of the predicted value was between 0.28 and 0.40 lg (CFU/g), indicating that the prediction model constructed has high accuracy. The model was then used to simulate the dynamic growth of *Staphylococcus aureus* under real environmental temperature of roast duck restaurant and artificially set fluctuating temperatures to demonstrate its potential application. The models developed in this study can be used to predict the growth of *Staphylococcus aureus* in roasted duck.

**Keywords** roasted duck; *Staphylococcus aureus*; growth kinetics; one–step analysis; dynamic simulation