

波动温度下罗非鱼特定腐败菌生长动力学模型和货架期预测

许 钟 杨宪时 郭全友 肖琳琳

(中国水产科学研究院东海水产研究所 农业部海洋与河口渔业重点开放实验室 上海 200090)

摘 要 :研究了 0℃ ~ 15℃ 范围的波动温度条件下,有氧贮藏养殖罗非鱼的特定腐败菌-假单胞菌的生长动力学模型及其对剩余货架期预测的适用性。由 Belehradek 方程建立了温度对假单胞菌生长动力学影响的数学模型,在设计两种波动温度条件下假单胞菌生长动力学模型的预测值,与波动温度贮藏罗非鱼中假单胞菌生长的实测值比较,偏差度在 0.906 ~ 0.942 之间,准确度在 1.13 ~ 1.19 之间。以假单胞菌生长动力学模型预测的剩余货架期,与波动温度贮藏罗非鱼的感官、VBN 和假单胞菌数评价获得的实测剩余货架期相比较,相对误差分别为 5.9% 和 -9.1%。显示在贮藏温度波动的情况下,假单胞菌生长动力学模型同样可以快速可靠地实时预测 0℃ ~ 15℃ 贮藏的罗非鱼剩余货架期。

关键词 :波动温度,罗非鱼,剩余货架期预测,假单胞菌,生长动力学模型

中图分类号:Q93 文献标识码:A 文章编号:0001-6209(2005)05-0798-04

鲜鱼腐败主要是鱼在生活中带有的和捕获后处理过程中污染的微生物在贮藏流通期间一小部分生长繁殖造成的,这部分微生物就是这种产品在这种条件下的特定腐败菌(SSO)^[1]。温度是影响鲜鱼中微生物生长的最重要因子,以温度为参数建立的特定腐败菌生长动力学模型,可作为预测鲜鱼微生物品质和货架期的可靠而迅速的工具^[2]。已建立了养殖罗非鱼 0℃ ~ 15℃ 贮藏中特定腐败菌生长动力学的数学模型,并证明可以用于预测 0℃ ~ 15℃ 任何恒定温度贮藏的罗非鱼的微生物质量和剩余货架期^[3]。然而这些研究是在恒定温度条件下进行的,与影响微生物生长的其他因子(例如 pH 和水分活度)不同,在实际生产和流通过程中,温度往往频繁地发生很大的波动。

已发表一些预测波动温度下微生物生长的研究^[4,5],目的在于验证等温条件下建立的微生物生长动力学模型,是否可以预测波动温度条件下的微生物生长动态。这些实验结果表明,在延滞期和对数生长期,温度的变化会给微生物的生长造成影响,从较高温度向较低温度变化时,预测模型会产生很大的偏差。然而这些研究都是在液体培养基上进行的,显示预培养温度以及培养基的成分和结构等因素在向较低温度变化时可能对微生物起到重要作用^[6-8]。

本研究是从自然鱼获得实验数据建立模型,并验证模型对波动温度的预测适用性。使用 0、3、5、8、10、15℃ 恒温条件下有氧贮藏罗非鱼的特定腐败菌假单胞菌的生长动态数据,以 Belehradek 方程描述温度对假单胞菌的生长动力学的影响。以设计的波动温度下有氧贮藏罗非鱼获得的假单胞菌生长动态数据,使用偏差因子和准确因子与模型预测值进行对比,验证等温条件下建立的 0℃ ~ 15℃ 假单胞菌生长动力

学模型,预测 0℃ ~ 15℃ 波动温度条件下罗非鱼微生物质量和剩余货架期的可靠性。

1 材料和方法

1.1 恒温条件的贮藏实验

实验用淡水养殖罗非鱼(*Oreochromis niloticus*),由北极品水产(浙江)有限公司提供。活鱼送到实验室后立即放入冰水中致死,选用大小基本一致的鱼(尾重 500 ~ 650g),剖开腹腔去除内脏,洗净,装入下有篦子能沥水的塑料盆中,盖上有漏气孔的盖,放入高精度低温培养箱中,分别控制贮藏温度 0、3、5、8、10、15 ± 0.1℃。每隔适当时间取出试样鱼进行感官质量评价、假单胞菌(*Pseudomonas* spp.)计数、挥发性盐基氮(VBN)测定。

1.2 波动温度条件的贮藏实验

设计了两种温度波动方案,方案一为 0℃ 24h → 5℃ 48h → 10℃ 24h → 5℃ 48h → 0℃ 24h..., 方案二为 3℃ 48h → 8℃ 24h → 12℃ 12h → 3℃ 48h...。使用可以温度编程的高精度低温培养箱(Sanyo MIR 153,日本)进行波动温度贮藏实验。罗非鱼采用上述同样处理。全部波动温度贮藏实验同样进行感官质量评价、假单胞菌计数和 VBN 测定。

1.3 测定方法

样品处理、感官质量评价、假单胞菌计数和 VBN 测定的方法参见参考文献[3]。

1.4 数据统计和参数计算

罗非鱼贮藏实验得到的假单胞菌生长数据,利用 Gompertz 方程^[9]计算求得假单胞菌生长动力学参数。Gompertz 方程式如下:

基金项目:农业部“948”项目(2001-478)

作者简介:许 钟(1955-),女,山东枣庄人,副研究员,从事水产品品质和微生物学安全的研究。Tel:86-21-65678984; Fax:86-21-65683926; E-mail: xuzhong@smmail.cn

收稿日期:2005-03-07,修回日期:2005-04-28

$$\log N(t) = \log N_0 + \log \frac{N_{\max}}{N_0} \times \exp \left\{ - \exp \left[\frac{\mu_{\max} \times 2.718}{\log(N_{\max}/N_0)} \times (\text{Lag} - t) + 1 \right] \right\} \quad (1)$$

式中 t 为时间(h), $N(t)$ 为 t 时的菌数, N_{\max} 、 N_0 为最大和初始菌数(cfu/g), μ_{\max} 为最大比生长速率(h^{-1}), Lag 为生长延滞时间(h)。实验数据用 Statistica (Release 5.5) 统计软件 (StatSoft, Inc.) 采用最小平方差法进行非线性回归。

温度对假单胞菌生长动力学参数的影响由 Belehradek 方程^[10]描述。Behlradek 方程式如下:

$$\sqrt{\mu_{\max}} = b_{\mu} \times (T - T_{\min_{\mu}}) \quad (2)$$

$$\sqrt{\frac{1}{\text{Lag}}} = b_L \times (T - T_{\min_L}) \quad (3)$$

式中 T 为摄氏温度($^{\circ}\text{C}$); $T_{\min_{\mu}}$ 和 T_{\min_L} 为假单胞菌的最低生长温度, 即在此温度时最大比生长速率或生长延滞时间为 0; b 是方程的常数。实验数据用 Statistica (Release 5.5) 统计软件进行回归并求得置信区间。

1.5 预测模型的可靠性评价

假单胞菌生长动力学模型求得的预测值, 与波动温度条件下罗非鱼贮藏实验所得的假单胞菌生长的数值比较, 依据偏差度和准确度^[11], 评价建立的假单胞菌生长动力学预测模型用于波动温度条件下的可靠性。偏差度和准确度用下式表示:

$$\text{偏差度} = 10 \frac{\sum \log(t_{\text{预测}}/t_{\text{实测}})}{n} \quad (4)$$

$$\text{准确度} = 10 \frac{\sum |\log(t_{\text{预测}}/t_{\text{实测}})|}{n} \quad (5)$$

式中 $t_{\text{实测}}$ 为贮藏实验中每次假单胞菌计数的时间(h), $t_{\text{预测}}$ 为假单胞菌预测值达到 $t_{\text{实测}}$ 时菌数的时间(h), n 为实验次数。

2 结果和讨论

2.1 恒定温度下假单胞菌生长动力学模型和参数

已确定假单胞菌是 $0^{\circ}\text{C} \sim 15^{\circ}\text{C}$ 贮藏罗非鱼的特定腐败菌^[3]。利用 Gompertz 方程求得罗非鱼在 0、3、5、8、10、15 $^{\circ}\text{C}$ 贮藏中的假单胞菌生长动力学参数见表 1。

表 1 罗非鱼在 $0^{\circ}\text{C} \sim 15^{\circ}\text{C}$ 不同温度贮藏中的假单胞菌生长动力学参数

Table 1 Dynamics parameters of *Pseudomonas* growth on tilapia stored aerobically at different temperature from 0 to 15 $^{\circ}\text{C}$

$T/^{\circ}\text{C}$	N_0 (Log_{10} cfu/g)	μ_{\max}/h^{-1}	Lag/h	N_{\max} (Log_{10} cfu/g)	N_s (Log_{10} cfu/g)	Shelf life/h	VBN _s (mg/100g)
0	4.54	0.00788	84.5	9.08	7.58	490	19.7
3	3.96	0.0187	32.2	8.70	7.75	385	20.2
5	3.42	0.0223	17.9	8.91	7.67	229	20.7
8	3.56	0.0345	7.68	8.77	7.42	191	17.9
10	3.28	0.0450	5.71	8.74	7.77	124	22.3
15	3.84	0.0820	2.77	8.68	7.82	61	18.6

N_s and VBN_s are the number of *Pseudomonas* and VBN value at the point of sensory rejection.

由表 1 可见, 在实验温度下, 假单胞菌在货架期终点的菌数即最小腐败量 (N_s) 的平均值为 $7.67 \pm 0.15 \text{ Log}_{10}$ cfu/g, 货架期终点的 VBN 平均值为 $19.9 \pm 1.6 \text{ mg}/100\text{g}$ 。在 $0^{\circ}\text{C} \sim 15^{\circ}\text{C}$ 温度范围内, 假单胞菌最大比生长速率 (μ_{\max}) 和生长延滞时间 (Lag) 随贮藏温度不同发生显著变化, 而最大菌数 (N_{\max}) 受贮藏温度的影响不大, 平均值在 $8.81 \pm 0.15 \text{ Log}_{10}$ cfu/g。由 Belehradek 方程描述的罗非鱼贮藏温度与假单胞菌 μ_{\max} 和 Lag 的关系及其置信区间见图 1。

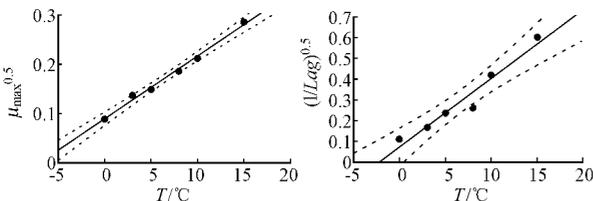


图 1 Belehradek 方程描述罗非鱼贮藏温度与假单胞菌 μ_{\max} 、 Lag 的关系

Fig. 1 Belehradek equation describing relation between storage temperature of tilapia and μ_{\max} and Lag of *Pseudomonas*

恒温条件下的贮藏实验结果表明, Belehradek 方程可以很好地描述在 $0^{\circ}\text{C} \sim 15^{\circ}\text{C}$ 范围内温度对假单胞菌生长的影

响。需要验证以这部分研究建立的模型是否可用来预测 $0^{\circ}\text{C} \sim 15^{\circ}\text{C}$ 范围内波动温度贮藏罗非鱼的假单胞菌生长动态和剩余货架期。

2.2 波动温度条件下假单胞菌生长动态的预测

由于鱼类在冷却链处理贮藏流通的整个过程中, 温度波动频繁发生, 无法直接用数学式来描述时间-温度的变化, 所以预测微生物的生长动态只能把时间-温度的变化分解成多个短的假设为恒温的时间间隔, 然后使用合适的数学模型来模拟微生物的生长^[12]。本研究采用 Gompertz 方程模拟罗非鱼 $0^{\circ}\text{C} \sim 15^{\circ}\text{C}$ 贮藏中假单胞菌的生长动态。

$$\begin{aligned} \text{当 } t = dt_1 \text{ 时, } \log N(t_1) &= \log N_0 + \log \frac{N_{\max}}{N_0} \times \exp \left\{ - \exp \left[\frac{\mu_1 \times 2.718}{\log(N_{\max}/N_0)} \times (\text{Lag}_1 - dt_1) + 1 \right] \right\} \\ \text{当 } t = dt_1 + dt_2 \text{ 时, } \log N(t_2) &= \log N_1 + \log \frac{N_{\max}}{N_1} \times \exp \left\{ - \exp \left[\frac{\mu_2 \times 2.718}{\log(N_{\max}/N_1)} \times (\text{Lag}_2 - dt_2) + 1 \right] \right\} \\ \text{当 } t = dt_1 + dt_2 + \dots + dt_i \text{ 时, } \log N(t_i) &= \log N_{(i-1)} + \log \frac{N_{\max}}{N_{(i-1)}} \times \exp \left\{ - \exp \left[\frac{\mu_i \times 2.718}{\log(N_{\max}/N_{(i-1)})} \times (\text{Lag}_i - dt_i) + 1 \right] \right\} \end{aligned} \quad (6)$$

式中 dt_i ($i = 1, 2, 3, \dots$) 为一假设恒温的短时间间隔, $N(t_i)$ 为 dt_i 时的假单胞菌数, N_0 为初始的假单胞菌数, N_{max} 为假单胞菌最大菌数, μ_i 为 dt_i 时假单胞菌的最大比生长速率, 可以由 Belehradek 方程式(式 2)求得, Lag_i 为 dt_i 时假单胞菌的延滞时间, 可以由 Belehradek 方程式(式 3)求得。

依据 Belehradek 方程描述的温度对假单胞菌最大比生长速率和延滞时间的置信区间(图 1), 描述了假单胞菌预测生长曲线的 95% 置信区间。生长期预测生长曲线置信区间下限采用延滞时间置信区间上限和最大比生长速率置信区间下限描述, 生长期预测生长曲线置信区间上限采用延滞时间置信区间下限和最大比生长速率置信区间上限描述, 稳定期预测生长曲线的置信区间是由 13 条罗非鱼贮藏实验假单胞菌生长曲线的 N_{max} 求得。

2.3 波动温度条件下预测假单胞菌生长的可靠性验证

为了评价所建模型预测 0℃ ~ 15℃ 波动温度贮藏罗非鱼的假单胞菌生长动态的适合性, 将适合波动温度的 Gompertz 方程(式 6)求得的假单胞菌预测生长曲线与设计的波动温度下罗非鱼贮藏试验得到的生长实测值进行比较(图 2)。图 2

显示, 假单胞菌生长实测值基本在预测值置信区间内, 但贮藏初期实测值超出预测生长曲线置信区间下限, 推测是因为鱼体温度快速下降至 0℃ 或 3℃ 造成部分假单胞菌冷休克所致^[13]。

为进一步定量评价所建假单胞菌生长动力学预测模型的可靠性, 将罗非鱼贮藏二种波动温度下假单胞菌的每一点实测值与利用模型求得实测值相同菌数的时间进行比较, 由式 4、式 5 得到偏差度和准确度见表 2。

表 2 罗非鱼在二种波动温度贮藏中假单胞菌预测值的偏差度和准确度

Table 2 Bias and accuracy of predicted values of *Pseudomonas* on tilapia stored at two kinds of fluctuating temperature

Fluctuating temperature project	t/h	Bias	Accuracy
0℃24h→5℃48h→10℃24h→5℃48h...	12	0.906	1.19
3℃48h→8℃24h→12℃12h→3℃48h...	10	0.942	1.13

由表 2 可见, 建立的数学模型能较好地预测假单胞菌在这两种波动温度下的生长动态, 偏差度在 0.906 ~ 0.942 之间, 准确度在 1.13 ~ 1.19 之间。这个验证结果表明, 0℃ ~ 15℃ 范围恒温条件下建立的预测模型能快速准确地预测在该范围波动温度下罗非鱼的假单胞菌生长动态。

2.4 波动温度条件下的货架期预测和可靠性验证

由表 1 已知在 0℃ ~ 15℃ 温度范围, 假单胞菌在货架期终点的菌数即最小腐败量(N_s)的平均值为 7.67 Log_{10} cfu/g, 因此就可以根据图 2 的假单胞菌预测生长曲线, 预测罗非鱼在 0℃ ~ 15℃ 波动温度贮藏中的货架期。表 3 为货架期预测值与二种波动温度贮藏实验感官评价结合假单胞菌数、VBN 值所得的罗非鱼货架期实测值的比较。货架期 95% 置信度区间的预测是以预测的假单胞菌生长置信区间达到 7.67 Log_{10} cfu/g 所需要的时间确定的。预测值和实测值的相对误差分别为 5.9% 和 -9.1%。验证结果显示, 在贮藏温度波动的情况下, 本研究开发的假单胞菌生长动力学数学模型同样可以快速可靠地实时预测 0℃ ~ 15℃ 贮藏罗非鱼的剩余货架期。

3 结论

在延滞期和对数生长期, 温度变化会给微生物生长造成影响, 因此预测在波动温度下微生物的生长相对困难。本研究通过波动温度罗非鱼贮藏试验对恒温贮藏试验建立的罗非鱼 0℃ ~ 15℃ 低温贮藏特定腐败菌假单胞菌生长动力学模型的验证, 建立了有效的罗非鱼在 0℃ ~ 15℃ 波动温度贮藏

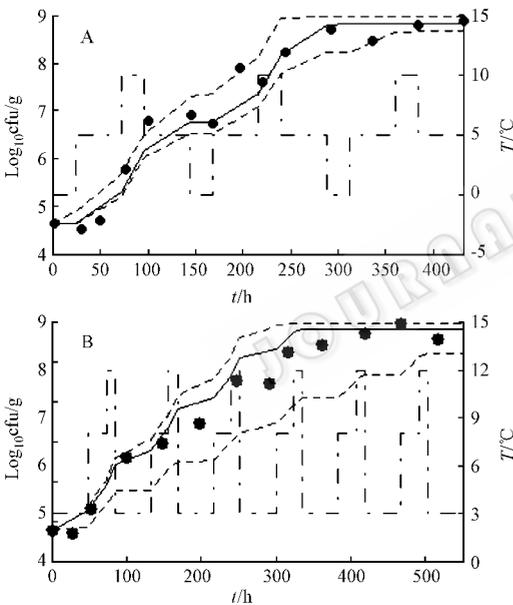


图 2 波动温度方案一(0→5→10→5℃)(A)和波动温度方案二(3→8→12→3℃)(B)的假单胞菌生长实测值和预测生长曲线

Fig.2 Predicted growth curves and observed values of *Pseudomonas* growth on tilapia stored at a fluctuating temperature(0→5→10→5℃) (A) and at fluctuating temperature(3→8→12→3℃)(B)
● Observed values ; — Predicted growth curve ; - - 95% confidence limits of predicted growth ; ··· Storage temperature.

表 3 罗非鱼在两种波动温度贮藏中货架期(SL)的预测值(prd)和实测值(obs)

Table 3 Predicted(prd) and observed(obs) shelf live(SL) of tilapia stored at two kinds of fluctuating temperature

Fluctuating temperature project	SL _{prd} /h	SL _{obs} /h	95% confidence limits/h		Basic error/%
			Lower limit	Upper limit	
0℃24h→5℃48h→10℃24h→5℃48h...	216	204	152	236	5.9
3℃48h→8℃24h→12℃12h→3℃48h...	240	264	222	420	-9.1

Relative error = [(SL_{prd} - SL_{obs}) / SL_{obs}] × 100%

假单胞菌生长动力学模型和剩余货架期预测模型,为使用者提供了精确预测实际冷却链处理流通条件下罗非鱼特定腐败菌生长动态和剩余货架期的工具。下一步的工作是为用户开发出友好界面的专家系统软件,使人们简便地应用这个模型而无需具备精深的数学知识。这种软件作为冷却链鱼产品质量保证的有效工具,将为罗非鱼冷却链物流产业的发展起到作用。

参 考 文 献

- [1] 杨宪时,许 钟,肖琳琳. 水产食品特定腐败菌与货架期的预测和延长. 水产学报, 2004, **28**(1): 106 - 111.
- [2] Dalgaard P, Mejholm O, Huss H H. Application of the iterative approach for development of a microbiological spoilage model for packed cod. *Int J Food Microbiol*, 1997, **38**: 169 - 179.
- [3] 许 钟,肖琳琳,杨宪时. 罗非鱼特定腐败菌生长动力学模型和货架期预测. 水产学报, 2005, **29**(4).
- [4] Baranyi J, Robinson T A, Kaloti A, et al. Predicting growth of *Brochothrix thermosphacta* at changing temperature. *Food Microbiol*, 1995, **27**: 61 - 75.
- [5] Zwietering H M, Wit C J M, Cuppers A G H, et al. Modeling of bacterial growth with shifts in temperature. *Appl Environ Microbiol*, 1994, **60**: 204 - 213.
- [6] Dufrenne J, Delfgou E, Ritmeester W, et al. The effect of previous growth conditions on the lag phase time of some foodborne pathogenic microorganisms. *Int J Food Microbiol*, 1997, **34**: 89 - 94.
- [7] Membre J-M, Ross T, McMeekin T. Behaviour of *Listeria monocytogenes* under combined chilling processes. *Lett Appl Microbiol*, 1999, **28**: 216 - 220.
- [8] Walker S J, Archer P, Banks J G. Growth of *Listeria monocytogenes* at refrigeration temperatures. *J Appl Bacteriol*, 1990, **68**: 157 - 162.
- [9] Zwietering M H, Jongenburger I, Rombouts F M, et al. Modeling of the bacterial growth curve. *Appl Environ Microbiol*, 1990, **56**: 1875 - 1881.
- [10] Davey K R. A predictive model for combined temperature and water activity on microbial growth during the growth phase. *J Appl Bacteriol*, 1989, **67**: 483 - 488.
- [11] Ross T. Indices for performance evaluation of predictive models in food microbiology. *J Appl Microbiol*, 1996, **81**: 501 - 508.
- [12] Robinson T P, Ocio J M, Kaloti A, et al. The effect of the growth environment on the lag phase of *Listeria monocytogenes*. *Int J Microbiol*, 1998, **44**: 83 - 92.
- [13] Farrell J, Rose A H. Cold shock in a mesophilic and psychrophilic *Pseudomonas*. *J Gen Microbiol*, 1968, **50**: 429 - 439.

Microbial growth kinetics model of specific spoilage organisms and shelf life prediction for tilapia at fluctuating temperatures

XU Zhong* YANG Xian-shi GUO Quan-you XIAO Lin-lin

(Key and Open Laboratory of Marine Estuarine Fisheries, Ministry of Agriculture, East China Sea Fisheries Research Institute, Chinese Academy of Fishery Sciences, Shanghai 200090, China)

Abstract: It was studied on the growth kinetics model of specific spoilage organisms *Pseudomonas* spp. for cultured tilapia during aerobic storage at fluctuating temperatures from 0°C to 15°C and the applicability of the model in predicting the remaining shelf life. The mathematical model based on the effect of temperature on *Pseudomonas* spp. growth kinetics was developed by a Belehradek type equation. Bias and accuracy factors range from 0.906 to 0.942 and from 1.13 to 1.19, respectively, by comparing predicted value using *Pseudomonas* spp. growth kinetics model with observed value of *Pseudomonas* spp. growth for cultured tilapia stored at fluctuating temperatures under two kinds of fluctuating temperature designed. Relative errors by comparing remaining shelf life predicted based on growth model of *Pseudomonas* spp. with remaining shelf life experimentally determined by analyzing organoleptic, VBN and the number of *Pseudomonas* spp. on tilapia are 5.9% and -9.1%, respectively. It shows that the growth kinetics model of *Pseudomonas* spp. is valuable for rapid and realistic remaining shelf life prediction of cultured tilapia stored aerobically at fluctuating temperatures from 0 ~ 15°C.

Key words: Fluctuating temperature, Tilapia, Remaining shelf life prediction, *Pseudomonas* spp., Growth kinetics model

Foundation item: "948" Project of the Chinese Agricultural Ministry(2001-478)

* Corresponding author. Tel: 86-21-65678984; Fax: 86-21-65683926; E-mail: xuzhong@smmail.cn

Received date: 03-07-2005