

原料乳中金黄色葡萄球菌

生长模型的建立

许晓曦,闫 军,甄 贞

(东北农业大学食品学院,黑龙江哈尔滨 150030)

摘 要:金黄色葡萄球菌是严重危害人类健康的致病菌之一。本实验研究了原料奶中该菌在不同温度下的生长繁殖规律,建立了金黄色葡萄球菌混合菌株在原料奶中的生长模型,为今后原料奶和乳制品特征性病原菌的风险评估奠定了一定的理论和科学基础。

关键词:金黄色葡萄球菌,预测生长模型,温度

Establish of growth model of *Staphylococcus aureus* in raw milk

XU Xiao-xi, YAN Jun, ZHEN Zhen

(Food College, Northeast Agriculture University, Harbin 150030, China)

Abstract: *Staphylococcus aureus* is one kind of the pathogenic microorganism that endangers the human health. This article studied the growth kinetics of *Staphylococcus aureus* on different temperatures in raw milk, and modeled mixed strains of *Staphylococcus aureus* growth in raw milk. This study can establish certain theoretical and scientific foundation for mark pathogenic microorganism risk assessment in raw milk and dairy products in the future.

Key words: *Staphylococcus aureus*; predictive growth model; temperature

中图分类号:TS201.6

文献标识码:A

文章编号:1002-0306(2008)08-0248-02

金黄色葡萄球菌广泛存在于自然界中,易被金黄色葡萄球菌污染的食品主要有奶、肉、蛋、鱼及其制品^[1]。许晓曦^[2](2005)对全年四个季节原料奶的调查采样结果表明,哈尔滨市西南部地区奶源基地提供的原料奶中主要的致病菌为金黄色葡萄球菌,检出率为100%。金黄色葡萄球菌肠毒素是个世界性卫生问题,据美国疾病控制中心报告,由金黄色葡萄球菌肠毒素引起的食物中毒仅次于大肠埃希菌,居第二位,占整个细菌性食物中毒的33%,加拿大则更多,占45%^[3],我国每年发生的此类中毒事件也非常多。由金黄色葡萄球菌所引起的食物中毒占整个细菌性食物中毒的50%^[4]。本实验研究了原料奶中金黄色葡萄球菌混合菌株在不同温度下的生长情况,建立了金黄色葡萄球菌的温度生长预测模型,为乳制品的安全生产提供了依据。国外曾对灭菌奶中金黄色葡萄球菌12057的生长模型进行了研究^[5],但是国内未见此方面报道。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

收稿日期:2008-03-03

作者简介:许晓曦(1968-),女,副教授,博士,研究方向:乳品科学与技术、食品安全与质量管理。

基金项目:东北农业大学科学研究启动基金项目资助。

原料奶,3M快速金黄色葡萄球菌测试片(美国3M公司)。

不锈钢手提式灭菌器省 上海申安医疗器械厂,DSX-280A1型;电热恒温培养箱 上海一恒科技有限公司,DHP-9162型;电热恒温鼓风干燥箱 上海一恒科技有限公司,DHG-9240A型;(实用垂直新颖)单人净化工作台 苏州净化设备有限公司,SW-CJ-1D型;温度计,电子天平,移液枪,三角瓶,移液管,试管等一般实验室常用玻璃仪器等。

1.2 实验方法

1.2.1 原料奶中金黄色葡萄球菌的培养及计数 用5个无菌300mL三角瓶采集新鲜原料奶样品各200mL左右,运输过程利用带有冰袋的保温箱低温冷藏。以无菌操作,于5个三角瓶中各取1mL原料奶用生理盐水稀释,利用3M快速金黄色葡萄球菌测试片进行初始菌落计数。然后将三个样品分别置于10、15、25、30、37℃培养箱中分别培养36h(10℃)、30h(15℃)和16h(25℃、30℃),每隔2h进行一次计数;37℃样品培养8h,每隔0.5h进行一次计数。每次计数用生理盐水做三个倍数稀释,同时做两个平行样。

1.2.2 生长模型的建立 用CurveExpert软件,分析不同温度下原料乳中金黄色葡萄球菌的生长数据,拟合S形曲线,建立生长模型。通过对Gompertz方

表 1 原料乳中金黄色葡萄球菌的温度生长模型

温度(℃)	模型	回归模型
10	Richards	$\ln N = 6.8150512 / (1 + \exp(425.05802 - 20.020663t)^{(1/7438.5566)})$
15	MMF	$\ln N = (6.5325522 * 150.37441 + 9.1844378 * t^{2.630975}) / (150.37441 + t^{2.630975})$
37	Richards	$\ln N = 13.489014 / (1 + \exp(14.39744 - 2.2879738 * t)^{(1/14.418225)})$

程、Logistic 方程、Richards 方程和 MMF 方程 4 种模型标准差 S 和相关系数 R 的比较,确定最适用的模型。

2 结果与分析

通过比较用 4 个方程拟合的曲线,确定不同温度条件下金黄色葡萄球菌混合菌株在原料奶中生长的最佳拟合曲线和方程。

从图 1~图 3 可以看出,10℃时,曲线生长比较平缓,趋于线性,说明金黄色葡萄球菌在此温度下生长很缓慢;15℃和 30℃时,可以明显看到迟滞期提前,菌落生长速度明显增大。表 1 为原料乳中金黄色葡萄球菌的温度生长模型,10、15、37℃时最适生长模型分别为 Richards、MMF 和 Richards,并且观测值与预测值的拟合度逐渐增大。

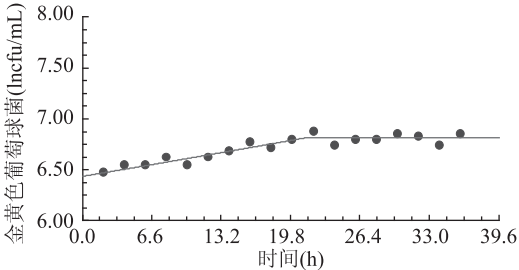


图 1 Richards 方程拟合的 10℃原料奶中金黄色葡萄球菌的生长曲线

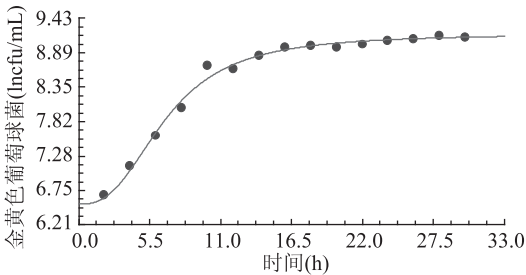


图 2 MMF 方程拟合的 15℃原料奶中金黄色葡萄球菌的生长曲线

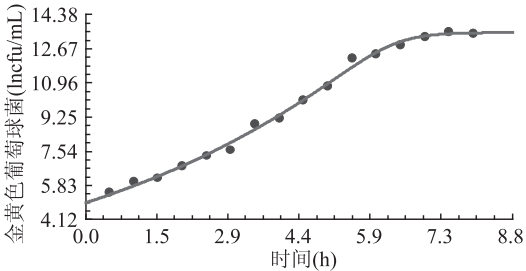


图 3 Richards 方程拟合的 37℃原料奶中金黄色葡萄球菌的生长曲线

3 结论与讨论

从曲线拟合情况可以看出,15℃和 37℃的生长

曲线用 S 曲线拟合效果比较好,10℃曲线拟合效果稍差,一方面是由于低温条件下,金黄色葡萄球菌生长比较缓慢;另一方面是由于嗜冷菌大量繁殖,因此就给结果判读带来了很大的影响,增大了检测结果的误差。前者居于主要原因。

预测微生物模型是微生物风险评估的重要工具,可以通过预测模型来预测微生物的复杂生长过程。本文经比较,选择对金黄色葡萄球菌污染水平比较具有代表性的某个体奶户的原料奶,来建立温度生长模型。因此,对于哈尔滨地区更具有实际的指导意义。

本模型具有很大的不确定度。由于研究的是原料奶,所以不同来源的原料奶中的微生物组成和金黄色葡萄球菌菌株组成会有一定的差别,生长所形成的曲线也会有所差别,这就形成了模型的局限性,但是这个局限性是不可避免的。本模型就是对实际生产中的情况进行了初步的估计预测,虽然不能精确计算,但是还是具有很大的应用价值。本实验的不足之处就是研究的温度比较少,虽然能够预测大概趋势,但是没有建立起各个温度条件下金黄色葡萄球菌生长的模型,这也是以后的研究方向之一。

本实验所建立的生长模型,可以在不进行检测的情况下,预测原料奶中金黄色葡萄球菌的生长情况,进而控制和判断原料奶的安全性和危害程度。原料奶中金黄色葡萄球菌的生长预测模型在现实中具有重要的指导意义。在原料奶的收购、储存和运输过程中可以通过模型的预测,确定安全生产的温度和时间的组合,进而从源头上控制金黄色葡萄球菌对乳制品的危害,避免其引起食物中毒。本文预测模型的建立,可以为金黄色葡萄球菌在原料乳中的风险评估奠定坚实的基础。

参考文献:

[1] 杨红,刘桂华,龚云伟,等. 食品中金黄色葡萄球菌的污染状况及检测方法[J]. 中国卫生工程学,2006,5(2):107~108.

[2] 许晓曦. 液态奶(UHT)加工全程质量保证体系的研究与验证[D]. 博士学位论文,2004.

[3] 张严峻,张俊彦,梅玲玲,等. 金黄色葡萄球菌肠毒素基因的分型和分布[J]. 中国卫生检验杂志,2005,15(6):682~684.

[4] 萨日娜. 一起由金黄色葡萄球菌引起的奶粉食物中毒[J]. 中国卫生检验杂志,2005,15(5):636.

[5] Hiroshi Fujikawa, Satoshi Morozumi. Modeling Staphylococcus aureus growth and enterotoxin production in milk[J]. Food Microbiology, 2006(23):260~267.