

波动温度下罗非鱼微生物生长动力学模型^{*}

邢少华¹ 张小栓² 马常阳² 傅泽田¹

(1. 中国农业大学工学院, 北京 100083; 2. 中国农业大学信息与电气工程学院, 北京 100083)

摘要: 构建了恒温下的冷链运输罗非鱼微生物生长动力学模型, 得出了温度变化对微生物生长状态的影响, 然后对所记录温度进行了处理, 并结合 Baranyi 模型得出了波动温度下微生物的生长动力学模型, 并且用模拟试验进行了验证, 决定系数为 0.956, 均方误差为 0.165, 偏差因子为 0.994, 准确因子为 1.134。结果表明, 所构建的微生物生长动力学模型能够拟合实际的冷链物流中罗非鱼微生物的变化情况。

关键词: 罗非鱼 微生物 波动温度 冷链物流 生长动力学模型

中图分类号: X954; S965.125 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-1298(2013)07-0194-05

Microbial Growth Kinetics Model of Tilapia under Variable Temperatures

Xing Shaohua¹ Zhang Xiaoshuan² Ma Changyang² Fu Zetian¹

(1. College of Engineering, China Agricultural University, Beijing 100083, China

2. College of Information and Electric Engineering, China Agricultural University, Beijing 100083, China)

Abstract: The microbial growth kinetics model at constant temperature was built up. The effect of variable temperature on microbial growth state was found. Then the recorded variable temperatures were processed. Microbial growth kinetics model combined with Baranyi model under variable temperatures was obtained. A simulation experiment was also carried out to validate the accuracy of model. The determination coefficient was 0.956, the root mean square error was 0.165, the deviation factor was 0.994, and the accuracy factor was 1.134. The results showed that the model was adaptive to predict the growth of microbiology in the actual cold chain logistics.

Key words: Tilapia Microorganism Variable temperatures Cold chain logistics Growth kinetics model

引言

罗非鱼是易腐败的一类食品原料, 在正常的物流情况下, 会在较短时间内发生微生物增殖引起的品质下降^[1]。冷链物流是保证水产品品质的重要手段。水产品冷链物流以水产品加工工艺为基础, 以人工制冷技术为手段, 以生产流通为衔接, 通过在物流技术中进行温度控制, 实现水产品全程处于规定低温环境, 以保证产品的品质, 减少损失^[2]。使罗非鱼始终处于冷链物流中, 可以增加其商业价值并延长货架期, 这主要是利用低温限制微生物和酶

的活性^[3]。但是实际的冷链物流中温度经常出现异常, 导致微生物大量增殖, 影响水产品品质。因此监测冷藏链中温度并且找出不同条件下微生物变化情况, 是水产品加工和流通业的重要任务^[4-7]。

微生物生长动力学模型可以描述不同条件下微生物变化情况, 客观评价食品在物流过程中各种影响因子对食品安全和品质的影响。同时, 运用数学模型可实现对微生物动态变化的快速有效预测和评价^[8-10]。但在实际的冷链过程中, 由于冷链本身和某些人为因素的影响使得冷链的温度往往是变化的, 因此研究波动温度下罗非鱼微生物生长动力学

收稿日期: 2012-07-04 修回日期: 2012-08-29

^{*} 国家自然科学基金资助项目(71072153)和中罗政府间合作项目(40-14)

作者简介: 邢少华, 博士生, 主要从事食品物流信息技术与追溯系统研究, E-mail: xshjob@163.com

通讯作者: 傅泽田, 教授, 博士生导师, 主要从事农(渔)业系统工程与信息化技术研究, E-mail: fzt@cau.edu.cn

模型具有实际意义^[11]。

本文以养殖罗非鱼为例,测定 0、5、10、15、20℃ 冷藏过程中菌体浓度变化情况,采用 Baranyi 模型拟合细菌生长增殖曲线,并对记录温度进行处理,结合改进的 Baranyi 模型拟合波动温度下生长模型,并模拟实际的冷链物流过程验证波动温度下微生物生长动力学模型,为有效监控冷链物流中罗非鱼货架期提供简单可靠的手段,同时为保证其安全性及贮藏性提供依据。

1 材料与方法

1.1 材料与设备

罗非鱼从北京四道口水产批发市场购得,立即放入冰水中冷休克。选用大小基本一致的个体(每尾 300~400 g)。加冰保持温度在 0~1℃,运送到实验室。

SP-TST-100 型温度记录仪:上海秀派电子科技有限公司生产。温度测量范围:-40~85℃;相对湿度测量范围:0~100%;采集间隔时间设置范围:5 s~190 d。为保证试验中温度记录的准确性,需将记录仪的探头插入鱼体表面。

TEMI880 型高低温交变试验箱:天津苏瑞科技开发公司生产。温度范围:-30~80℃;相对湿度范围:0~100%;降温速率:0.7~1℃/min。用于变温试验。

DPJ-100 型低温培养箱:上海尤释机电设备发展有限公司生产。温控范围:-20~60℃,温控精度:±0.5℃。用于水产品储藏试验。

1.2 贮藏试验

到达实验室后,将鱼放在塑料托盘中,分别放入恒温培养箱中,控制贮藏温度在 0、5、10、15、20℃。每隔适当时间取出试样鱼进行细菌总数测定。

1.3 细菌总数计数

无菌操作称取罗非鱼 25 g,用经过灭菌的绞肉机绞碎后置于装有 225 mL 灭菌生理盐水的三角烧瓶中(瓶内预置适当数量的玻璃珠),放在震荡仪上并充分振摇,用 10 倍体积稀释,按 GB 4789.2—2010 用稀释平板法测定各组的细菌总数^[12]。

1.4 微生物生长曲线拟合

应用 Baranyi 模型描述微生物的生长动态^[13]。选择该模型主要有以下原因:模型比较容易应用;可以应用在波动温度下;模型中的参数都有实际意义^[14]。

Baranyi 模型的一般形式为

$$\frac{dx(t)}{x(t)dt} = \frac{q_0 e^{vt}}{1 + q_0 e^{vt}} \mu_{\max} u(x) \tag{1}$$

其中 $q_0 = \frac{P_0}{K_p}$
式中 P_0 ——细菌生长的关键物质的质量
 K_p ——米氏常数 t ——时间
 $x(t)$ —— t 时刻微生物量
 $u(x)$ ——抑制作用
 q_0 ——细胞在新环境中最初的生理学状态
 $\mu_{\max}$ ——微生物生长的最大比生长速率
在恒定温度下模型为

$$y(t) = y_0 + \mu_{\max} A(t) - \frac{1}{m} \ln \left(1 + \frac{e^m \mu_{\max} A(t) - 1}{e^{m(y_{\max} - y_0)}} \right) \tag{2}$$

其中 $A(t) = t - \lambda + \frac{\ln(1 - e^{-vt} + e^{-v(t-\lambda)})}{v}$
 $y_0 = \ln x(0)$
 $y_{\max} = \ln x_{\max}$
式中 λ ——微生物生长的迟滞期
 v 、 m 为调节参数,与细菌的生理状态有关。
波动温度下模型变为^[15]

$$y(t) = y_0 + A(t) - \ln \left(1 + \frac{\exp(A(t)) - 1}{\exp(y_{\max} - y_0)} \right) \tag{3}$$

其中 $A(t) = \int_0^t \mu_0(T(t)) \alpha(t) dt$
式中 μ_0 ——微生物的最初生长速率
 $T(t)$ ——温度随时间的变化情况
 α ——微生物生长的限制因素
温度对微生物生长状态的影响可由二级模型(平方根模型)表示,即

$$\sqrt{\mu_{\max}} = b(T - T_{\min}) \tag{4}$$

其中 $\mu_{\max} = \mu_0$
式中 b ——常数
 $T_{\min}$ ——微生物生长的最低温度
将一级模型中求得的 $\mu_{\max}$ 和对应的温度变量 T 代入上述公式,求出 $T_{\min}$ 、 b 的值。

试验数据用 SPSS 17.0 统计软件进行非线性回归分析。

1.5 模型验证

根据实际的冷链情况设计波动温度变化试验,如图 1 所示($S_1 \sim S_7$ 表示各阶段测定的细菌总数)。样品储存在高低温交变试验箱中,并按照图中温度变化进行模拟试验。

用以下指标评价模型的可靠性:

决定系数 R^2 用来作为预测水平的整体量度,其值越高($0 < R^2 < 1$),表示预测模型越准确。

均方误差

$$M_{SE} = \frac{\sum (\mu_{\text{obs}} - \mu_{\text{pre}})^2}{n} \tag{5}$$

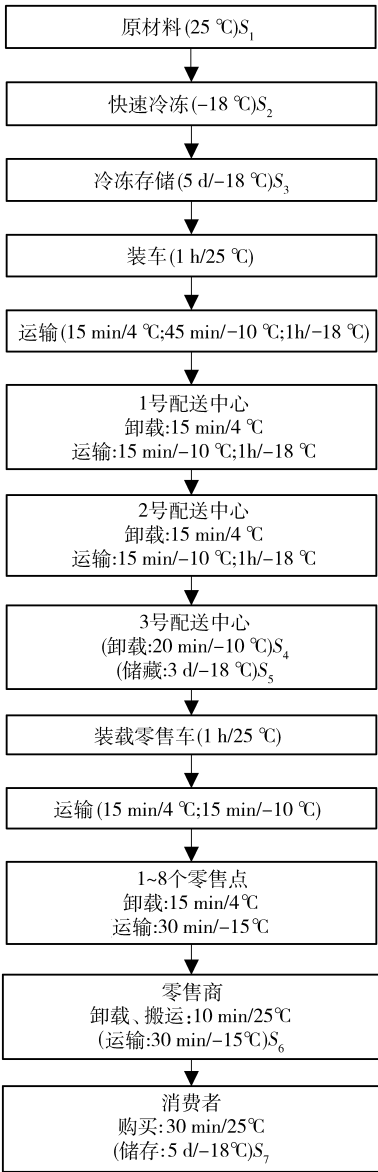


图 1 温度波动模拟试验流程图

Fig. 1 Simulation experiment of variable temperatures

式中 μ_{obs} ——实际的测量值
 μ_{pre} ——模型的预测值
 n ——测量的数值个数

M_{SE} 值大于 0,且值越低表示模型越准确。

偏差因子

$$B_f = 10^{\frac{\sum \lg \frac{\mu_{\text{obs}}}{\mu_{\text{pre}}}}{n}} \tag{6}$$

其值小于 1,且越接近 1 表示模型准确性越高。

准确因子

$$A_f = 10^{\frac{\sum \lg \left| \frac{\mu_{\text{pre}}}{\mu_{\text{obs}}} \right|}{n}} \tag{7}$$

其值大于 1,并且越接近 1 表示准确性越高。

2 结果与讨论

2.1 恒温下的生长动力学模型

由式(2)构建的恒定温度下微生物生长动力学

模型与储藏试验测定的菌体浓度如图 2 所示。从图中可以看出,构建的模型能够很好地预测恒温下微生物生长情况。

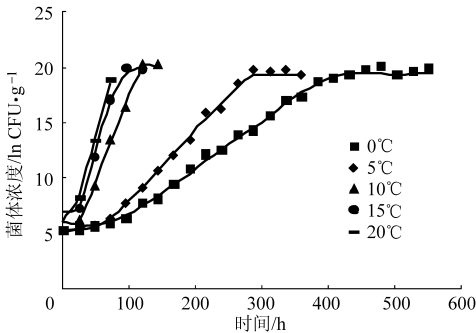


图 2 不同温度下细菌生长曲线

Fig. 2 Growth curves of microorganism under different temperatures

微生物量随储藏时间逐渐增加,不同温度下最大生长速率和迟滞期也不相同,温度越高,最大生长速率越大,迟滞期越短。最初的菌体浓度为 5. 12lnCFU/g,最大的菌体浓度为 20. 12 lnCFU/g。

从表 1 可以看出,各个温度条件的决定系数 $R^2 > 0. 97$,得到 5 种温度的 Baranyi 模型能很好地预测罗非鱼在贮藏过程中细菌总数的增殖动态,但是模型不能描述温度变化对细菌总数的影响。在实际物流过程中,温度往往在频繁地发生波动,因此需要建立二级模型描述温度对细菌生长状态的影响,从而准确地描述冷链过程中微生物影响。

表 1 不同温度下微生物生长动力学模型的分析比较

Tab. 1 Comparison of microbial growth kinetics model under different temperatures

温度/°C	决定系数 R^2	均方误差 M_{SE}	偏差因子 B_f	准确因子 A_f
0	0. 996	0. 018	0. 999	1. 008
5	0. 974	0. 059	0. 988	1. 014
10	0. 994	0. 169	0. 994	1. 018
15	0. 996	0. 237	0. 996	1. 022
20	0. 993	0. 096	0. 992	1. 017

通过拟合得到二级模型(平方根模型)

$$\sqrt{\mu_{\text{max}}} = 0. 008\ 9(T + 0. 112) \tag{8}$$

图 3 所示为平方根模型描述的温度与细菌生长动力学参数 μ_{max} 的关系,由图可见,在 0 ~ 20 °C 范围内,温度与 $\sqrt{\mu_{\text{max}}}$ 均呈现良好的线性关系,决定系数 $R^2 = 0. 994$,说明构建的二级模型能很好地反映温度对微生物生长状态的影响。由计算可得微生物生长的最低温度为 -0. 112 °C。

2.2 波动温度下的微生物生长动力学模型

2.2.1 记录温度的处理

实际的冷链过程中,通过温度记录仪记录温度

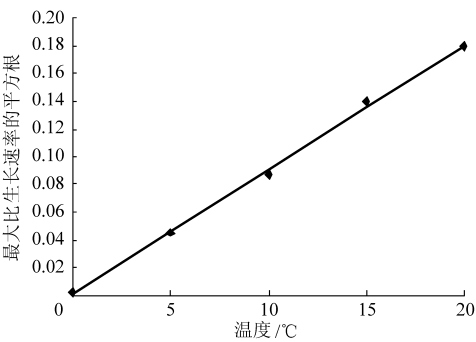


图 3 平方根模型
Fig. 3 Square root model

时,虽然记录的温度点比较密集,但也无法做到真正地连续。因此,可将记录的温度进行如下处理:从记录开始,对每次记录温度的时刻进行编号,由此可得任意时刻 t 的温度 $T(t)$ 为

$$T(t) = \frac{T_{i+1} - T_i}{t_{i+1} - t_i}(t - t_i) + T_i \tag{9}$$

其中 t_i 、 t_{i+1} 表示时刻, T_i 、 T_{i+1} 表示 t_i 、 t_{i+1} 时刻的温度。

2.2.2 模型的构建

通过式(8)得出温度对微生物生长情况的影响,结合式(9)得出冷链过程中连续温度的变化情况,代入式(3)即可构建波动温度下微生物的生长动力学模型。构建的模型为

$$\left\{ \begin{aligned} &y(t) = 5.12 + \int_0^t \mu_0(T(t)) \cdot \\ &\quad \frac{1.81 \exp\left(\int_0^t \mu_0(T(t)) dt\right)}{1 + 1.81 \exp\left(\int_0^t \mu_0(T(t)) dt\right)} dt - \\ &\quad \ln\left(1 + \frac{\exp\left(\mu_0(T(t)) \frac{1.81 \exp\left(\int_0^t \mu_0(T(t)) dt\right)}{1 + 1.81 \exp\left(\int_0^t \mu_0(T(t)) dt\right)}\right) - 1}{\exp(15)}\right) \\ &\sqrt{\mu_{\max}} = 0.0089(T(t) + 0.112) \end{aligned} \right. \tag{10}$$

其中 $T(t) = \frac{T_{i+1} - T_i}{t_{i+1} - t_i}(t - t_i) + T_i$

2.3 模型的验证

将式(3)、(8)、(9)结合构建波动温度下微生物的生长动力学模型经过 SPSS 17.0 拟合得到的结果如图 4 所示。

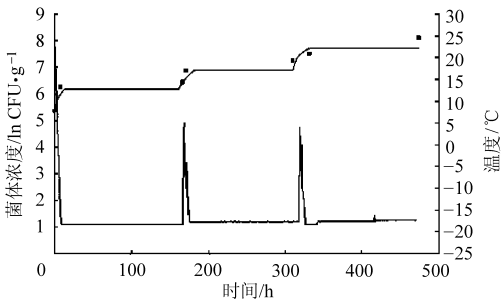


图 4 波动温度下微生物的生长动力学模型
Fig. 4 Microbial growth kinetics model under variable temperatures

从图 4 中可以看出,在正常的冷链条件下经过一定的时间微生物量也有一定的增长,但是通过二级模型计算的微生物生长的最低温度是 -0.112°C ,主要是因为嗜冷菌的原因。在正常的温度条件下,嗜冷菌的生长受到抑制。但在冷藏条件下,嗜冷菌活性增加。但是相对于常温细菌,嗜冷菌生长较为缓慢,对水产品的品质影响较小。模型的验证结果 $R^2 = 0.956$, $B_f = 0.994$, $A_f = 1.134$,都接近于 1,而均方误差为 0.165,接近于零,所以可以判断构建的波动温度下的微生物生长模型能够拟合实际情况下的微生物生长情况。

3 结束语

在恒温条件下建立的微生物生长动力学模型很难有效预测在实际物流过程水产品中微生物的生长变化情况。因为在实际物流过程中温度是随机波动的,无法直接用数学式来描述时间温度的变化规律。本文通过对温度记录仪记录的温度进行处理,使温度形成连续,基本能够描述温度随时间的变化情况。并且结合 Baranyi 模型,构建了罗非鱼细菌总数波动温度下的生长动力学模型,能够准确预测实际流通中水产品中微生物的生长情况,从而为预测水产品剩余货架期提供依据。

参 考 文 献

1 Ahmed H A, Naim U. Bacterial diversity of tilapia (*Oreochromis niloticus*) cultured in brackish water in Saudi Arabia [J]. Aquaculture, 2005, 250(3~4): 566~572.

2 叶海燕. 我国农产品冷链物流现状分析及优化研究[J]. 商品储运与养护, 2007, 29(3): 38~42.

Ye Haiyan. Analysis and research in Chinese agricultural cold chain logistics [J]. Storage Transportation & Preservation of Commodities, 2007, 29(3): 38~42. (in Chiense)

3 Alvarez M D, Canet W. Effect of temperature fluctuations during frozen storage on the quality of potato tissue (cv. Monalisa) [J]. European Food Research and Technology, 1998, 206(1): 52~57.

4 宋亮, 罗永康, 沈慧星. 水产品安全生产的现状和对策[J]. 中国食品卫生杂志, 2006, 18(5): 445~448.

- Song Liang, Luo Yongkang, Shen Huixing. Discussion on problem of food safety of aquatic products[J]. Journal of China Food and Hygiene, 2006, 18(5): 445 ~ 448. (in Chinese)
- 5 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[J]. 水产学报, 2005, 29(4): 540 ~ 546.
Xu Zhong, Xiao Linlin, Yang Xianshi. Microbial growth kinetics model of specific spoilage organisms and shelf life prediction for tilapia[J]. Journal of Fisheries of China, 2005, 29(4): 540 ~ 546. (in Chinese)
- 6 Boonsumrej S, Chaiwanichsiri S, Tantratian S, et al. Effects of freezing and thawing on the quality changes of tiger shrimp (*Penaeus monodon*) frozen by air-blast and cryogenic freezing[J]. Journal of Food Engineering, 2007, 80(1): 292 ~ 299.
- 7 齐林, 韩玉冰, 张小栓, 等. 基于 WSN 的水产品冷链物流实时监测系统[J]. 农业机械学报, 2012, 43(8): 134 ~ 140.
Qi Lin, Han Yubing, Zhang Xiaoshuan, et al. Real time monitoring system for aquatic cold-chain logistics based on WSN[J]. Transactions of the Chinese Society for Agricultural Machinery, 2012, 43(8): 134 ~ 140. (in Chinese)
- 8 许钟, 杨宪时, 郭全友, 等. 冷藏大黄鱼货架期预测模型的建立和评价[J]. 中国水产科学, 2005, 12(6): 779 ~ 785.
Xu Zhong, Yang Xianshi, Guo Quanyou, et al. Assessment and development of shelf life prediction model for *Pseudosciaena crocea* [J]. Journal of Fishery Sciences of China, 2005, 12(6): 779 ~ 785. (in Chinese)
- 9 Daniela F O, Viviana O S. Kinetic modeling of quality changes of chilled ready to serve lasagna[J]. Journal of Food Engineering, 2012, 110(3): 487 ~ 492.
- 10 Shamshad S, Kher-Un-Nisa M, Riaz M, et al. Shelf life of shrimp (*Penaeus merguensis*) stored at different temperatures[J]. Journal of Food Science, 1990, 55(5): 169 ~ 175.
- 11 Theofania T, Efimia D, Maria G, et al. Shelf life modelling of frozen shrimp at variable temperature conditions[J]. LWT-Food Science and Technology, 2009, 42(2): 664 ~ 671.
- 12 李苗云, 孙灵霞, 周光宏, 等. 冷却猪肉不同贮藏温度的货架期预测模型[J]. 农业工程学报, 2008, 24(4): 235 ~ 239.
Li Miaoyun, Sun Lingxia, Zhou Guanghong, et al. Prediction model for the shelf-life of chilled pork stored at different temperatures [J]. Transactions of the CSAE, 2008, 24(4): 235 ~ 239. (in Chinese)
- 13 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.
- 14 Antonios N P, George-John N, Serkos A H, et al. Development and validation of a tertiary simulation model for predicting the growth of the food microorganisms under dynamic and static temperature conditions [J]. Computers and Electronics in Agriculture, 2011, 76(1): 119 ~ 129.
- 15 Radovan G, Judith K, Stefanie B, et al. Mathematical modelling for predicting the growth of *Pseudomonas* spp. in poultry under variable temperature conditions [J]. International Journal of Food Microbiology, 2008, 127(3): 290 ~ 297.