

研究报告

市售小酥肉中沙门菌热失活模型的建立与验证

程慧敏^{1,2},赵格²,许育銜¹,王琳²,张喜悦²,徐莹¹,王君玮²

(1. 中国海洋大学食品科学与工程学院, 山东 青岛 266003; 2. 中国动物卫生与流行病学中心致病微生物监测室, 农业农村部畜禽产品质量安全风险评估实验室(青岛), 山东 青岛 266032)

摘要:目的 研究不同加热温度下小酥肉中沙门菌的热失活规律, 以为安全消费提供指导。方法 将接种 10^8 CFU/g 鼠伤寒沙门菌的小酥肉在 80 °C、90 °C、100 °C、110 °C 和 120 °C, 热处理一定时间后活菌计数, 使用线性模型、Logistic 模型和 Weibull 模型对小酥肉中沙门菌的热失活规律进行研究, 并通过外部实验对模型进行验证。结果 与线性模型和 Logistic 模型相比, Weibull 模型更适用于描述小酥肉中沙门菌热失活状况, 其一级模型判定系数 R^2 均在 0.992 1 以上, 二级模型 R^2 分别为 0.949 2、0.995 9, 用 95 °C 和 105 °C 温度对模型进行验证时的准确度 A_j 、偏差度 B_j 均在可接受范围内, 说明实验构建的模型可较好地描述 80 °C~120 °C 温度范围内小酥肉中沙门菌的失活规律。结论 本研究有望为小酥肉安全加热时间提供参考, 同时为小酥肉微生物相关风险评估提供模型支持。

关键词:小酥肉; 沙门菌; 热失活模型; 预测微生物学; Weibull 模型

中图分类号: R155 文献标识码: A 文章编号: 1004-8456(2023)11-1551-08

DOI: 10.13590/j.cjfh.2023.11.001

Establishment and validation of heat inactivation modeling of *Salmonella* in commercial crispy meat

CHENG Huimin^{1,2}, ZHAO Ge², XU Yuxian¹, WANG Lin², ZHANG Xiyue², XU Ying¹, WANG Junwei²

(1. College of Food Science and Engineering, Ocean University of China, Shandong Qingdao 266003, China; 2. Laboratory of Pathogenic Microorganisms Inspection, Livestock and Poultry Products Quality & Safety Risk Assessment Laboratory(Qingdao) of MARA, China Animal Health and Epidemiology Center, Shandong Qingdao 266032, China)

Abstract: Objective This study aimed to clarify the heat inactivation mechanics of *Salmonella* in commercial crispy meat and provide guidance for its safe consumption by studying the inactivation pattern of *Salmonella* in crispy meat at different heating temperatures. **Methods** The crispy meat inoculated with 10^8 CFU/g *Salmonella* typhimurium was heat treated at 80 °C, 90 °C, 100 °C, 110 °C, and 120 °C for a certain time. The thermal inactivation curves of *Salmonella* in crispy meat were fitted using a linear model, a Logistic model, and a Weibull model, and the optimal model was verified by external experiments. **Results** The results showed that compared with the linear model and the Logistic model, the Weibull model was more suitable to describe the thermal inactivation of *Salmonella* in crispy meat. The judgment coefficient R^2 of the primary model was more than 0.992 1, and the R^2 of the secondary model was 0.949 2 and 0.995 9, respectively. The accuracy A_j and deviation B_j of the model verified at 95 °C and 105 °C were within the acceptable range, which indicated that the model constructed in this experiment can better describe the inactivation pattern of *Salmonella* in crispy meat in the temperature range of 80 °C-120 °C. **Conclusion** This study is expected to guide the safe heating of crispy meat to reduce microbial risk during consumption.

Key words: Crispy meat; *Salmonella*; thermal inactivation model; predictive microbiology; Weibull model

收稿日期: 2022-07-14

基金项目: 国家重点研发计划(2018YFD0500505)

作者简介: 程慧敏 女 硕士研究生 研究方向为食品加工与安全 E-mail: chenghmxxn@163.com

通信作者: 赵格 女 副研究员 研究方向为动物源性病原微生物检测和风险评估 E-mail: cathyge2015@126.com

王君玮 男 研究员 研究方向为动物源食源菌风险监测、评估与预警技术研究 E-mail: yffs2000@sina.com

赵格和王君玮为共同通信作者

据世界卫生组织报告,全球每年有十分之一的人罹患食源性疾病,造成42万人死亡,儿童更是高危群体^[1]。沙门菌是导致人群食源性疾病的四大病因之一,全球每年因感染沙门菌死亡的人数高达15.5万人^[2]。据统计,在2006—2010年间,沙门菌是引起细菌性食物中毒的首要原因,其中90%以上的沙门菌污染来源于动物性食品^[3]。LIU等^[4]的研究表明,猪肉作为我国消费占比最高的肉类食品,是沙门菌引发的食源性感染最主要的归因食品。我国猪肉中沙门菌的检出率较高,2018—2019年中国南方零售猪肉沙门菌检出率为67%,部分地区检出率高达73.1%,其中鼠伤寒沙门菌是猪肉中最常见的沙门菌血清型之一^[5]。

随着我国居民生活水平的提高和生活节奏加快,人们的饮食结构发生了很大的变化,速食类肉制品等食品逐渐走入人们的餐桌。小酥肉是一种经腌制、裹粉、油炸制成的猪肉制品之一,在我国广受儿童及青年人的喜爱。在小酥肉生产加工过程中,来自屠宰分割猪肉本身或其他原料携带的沙门菌,或者生产环境以及工人手部携带的沙门菌,均有进一步交叉污染小酥肉的可能,这也加大了消费时沙门菌的感染风险。据报道,大部分沙门菌导致的食源性感染是烹饪受污染的动物性产品时加热温度低或时间不足引起的^[6]。近年来,由速成肉制品引发的食品安全事件频发,2018年加拿大召回一批致多人感染沙门菌的面包屑冷冻鸡肉产品;2021年,美国疾病控制与预防中心报道一起多人食用面包屑冷冻鸡肉产品导致感染沙门菌的事件^[7]。小酥肉的加工方式与这些鸡肉制品的加工方式类似,其肉的表面都有一层较厚的保护层,从而降低烹饪过程中的热效应伤害。目前小酥肉建议的烹饪方式有油炸、水煮、烘烤等多种方式,当消费者烹饪处理不当时,就会有沙门菌感染的风险。因此,对小酥肉中沙门菌进行风险评估十分必要。

预测微生物学是开展微生物风险评估的重要手段,可对微生物随温度变化的生长或失活规律进行建模分析^[8]。小酥肉在生产后进入消费烹饪前一直以独立包装并冷冻保存,其沙门菌数量基本不受影响,因此在研究以小酥肉为对象的微生物风险评估中,随加热温度变化的失活模型的构建具有重要意义。目前,我国对猪肉中沙门菌的失活模型鲜少有人研究,对小酥肉等猪肉制品的失活模型更未见相关报道^[9],烹饪时间多借鉴国外或经验,因此有必要对其失活动力学进行研究。本研究利用预测微生物学方法,构建了小酥肉中鼠伤寒沙门菌在不同恒温加热条件下的热失活动力学模型并进行了验

证,以对小酥肉的烹饪消费提供科学指导,同时为小酥肉微生物相关风险评估提供支撑。

1 材料与方法

1.1 主要仪器与材料

主要仪器:HH-SS数显水浴锅(金坛市金城国胜实验仪器厂),MASTICATOR均质器[科瑞恩特(北京)科技有限公司],HVM1涡旋振荡器(上海珂淮仪器有限公司),恒温培养箱(上海艾朗仪器有限公司),AIRTECH生物安全柜(苏州安泰空气技术有限公司)。

标准菌株:鼠伤寒沙门菌(ATCC 14028),肠炎沙门菌(CICC 21513)(中国动物卫生与流行病学中心致病微生物监测室,国家兽医微生物菌(毒)种保藏动卫中心分中心);小酥肉(某食品有限公司,实验前,密封冷藏于-20℃保存)。

1.2 样品制备与菌液接种

实验前将冻存于-80℃的鼠伤寒沙门菌活化,挑取活化后的沙门菌单菌落于胰酪大豆胨液体培养基中振荡培养18~20h,所得菌液经高速离心并多次用无菌生理盐水洗脱,最终制成约 10^9 CFU/mL的细菌悬浮液,4℃冷藏备用。

无菌条件下,将小酥肉用无菌手术刀均匀分块,每块 (5 ± 0.20) g,将鼠伤寒沙门菌细菌悬浮液均匀的注射在样品内部,使每个样品中接种的沙门菌的浓度约 10^8 CFU/g(未接种沙门菌的样品作为空白对照组用于检测本底沙门菌),处理完成后放入无菌均质袋中,并用抽真空机除去内部空气密封保存于4℃备用。

1.3 温度设定与加热处理

样品中心温度测定:恒温油浴锅目标温度分别设置为80℃、90℃、100℃、110℃和120℃,待温度稳定后,将水银温度计插入未接种沙门菌的样品的几何中心,将样品袋完全浸没在油浴中,记录样品加热时间及内部温度,每组温度实验重复3次。

小酥肉中鼠伤寒沙门菌热失活实验:先将恒温油浴锅温度稳定在目标温度,再将接种过细菌悬浮液的样品完全浸没在油中,根据目标温度调整采样时间(表1),加热完成后迅速取出样品,将其浸没在冰水浴中停止反应,整个操作不超过1s,每个温度的热失活实验重复3次。

1.4 沙门菌计数

无菌条件下,将加热处理后的均质袋打开,加入10 mL缓冲蛋白胨水(Buffer peptone water, BPW)使样品完全浸没在液体中。用均质器以9 r/s的速度拍打3 min。对样品处理液用BPW进行10倍梯度稀

表1 不同温度下采样时间

Table 1 Sampling time at different temperatures

温度	采样时间/s
80 °C	0, 120, 180, 300, 480, 510, 540, 690
90 °C	0, 30, 60, 90, 165, 240, 330, 360
100 °C	0, 20, 40, 60, 90, 120, 180, 195, 210
110 °C	0, 20, 40, 80, 100, 120, 140, 150
120 °C	0, 20, 40, 60, 80, 100, 120, 125

释,取3个适宜梯度的稀释液,从中吸取20 μL稀释液滴加于XLT4平板中,倾斜放置让其缓缓散开。待干燥后,将平板在室温下放置2 h使热损伤的细胞复苏,再放入37 °C恒温培养箱倒置培养24 h。培养后计算沙门菌菌落数,并将所有细菌计数转换为lg CFU/g。该计数方法省时快速,但对菌落数小于3 lg CFU/g的样品并不适用。对加热时间长的样品仍使用平板涂布法计数。空白对照组中小酥肉的本底沙门菌检测方法参照GB 4789.4—2016。

1.5 小酥肉中沙门菌热失活模型的建立

1.5.1 一级模型的建立

采用Origin 9.0软件对实验所得数据进行统计和分析,所有数据均为多次平行实验的平均值。将实验所得数据分别应用线性模型、Logistic模型和Weibull模型在Origin 9.0软件中进行拟合,得到不同温度下鼠伤寒沙门菌在小酥肉中的热失活曲线,并得到模型的相应参数。

Logistic模型^[10]如公式(1):

$$N = A_2 + \frac{A_1 - A_2}{1 + \left(\frac{t}{B}\right)^p} \quad (1)$$

式中: N 为鼠伤寒沙门菌存活菌体的浓度(lg CFU/g); t 为样品热处理的时间(s); A_1 、 A_2 、 B 、 p 为模型参数。

Weibull模型^[11]如公式(2):

$$N = N_0 - \left(\frac{t}{\delta}\right)^p \quad (2)$$

式中: N 为鼠伤寒沙门菌存活菌体的浓度(lg CFU/g); t 为样品热处理的时间(s); δ 、 p 均为模型的参数。

1.5.2 二级模型的建立

应用Origin 9.0软件建立最优一级模型参数与温度之间的线性回归模型,如公式(3):

$$\ln X = a + bT \quad (3)$$

式中: X 代表模型参数, T 为热处理温度, a 、 b 为模型参数。

1.6 模型验证

参考1.2.2选取95和105 °C两个额外温度进行实验,应用预测模型得到不同温度下小酥肉中沙门菌残存菌体的预测值,通过准确度 A_f 、偏差度 B_f 、均方根误差 $RMSE$ 、 AIC 准则和 BIC 准则计算真实值与预测值的偏差,进而评估失活模型的可靠性,

A_f 、 B_f 、 $RMSE$ 、 AIC 和 BIC 的计算方法见公式(4)、(5)、(6)、(7)、(8):

$$A_f = 10^{\frac{\sum \ln(N_{\text{实测}} - N_{\text{预测}})}{n}} \quad (4)$$

$$B_f = 10^{\frac{\sum (N_{\text{实测}} - N_{\text{预测}})}{n}} \quad (5)$$

$$RMSE = \sqrt{\frac{1}{n} \sum (N_{\text{实测}} - N_{\text{预测}})^2} \quad (6)$$

$$AIC = 2k - 2\ln L \quad (7)$$

$$BIC = k \ln n - \ln L \quad (8)$$

式中: $N_{\text{实测}}$ 为实验实际测得的鼠伤寒沙门菌存活菌体的浓度/(lg CFU/g); $N_{\text{预测}}$ 为模型预测得到的同一时间点鼠伤寒沙门氏菌存活菌体的浓度/(lg CFU/g); n 为实验次数, L 为似然函数, k 为模型中参数数量。

同时实验还选择了肠炎沙门菌对所构建灭活模型进行验证,以确定模型在不同血清型沙门菌中的适用性。参考1.2.2选取95和105 °C两个温度进行热失活实验,对实验所得数据用Weibull模型进行拟合,将真实值与预测值进行比较。

2 结果

2.1 热处理后小酥肉沙门菌残余量

处理后未接种沙门菌的所有组别小酥肉均未检测到本底沙门菌,不同温度下热处理后不同时间所得小酥肉中残存沙门菌数结果详见表2~6。

表2 80 °C下小酥肉中沙门菌残存量

Table 2 *Salmonella* residues in crispy meats at 80 °C

温度	时间/s	沙门菌残存量/(lg CFU/g)
80 °C	0	8.01±0.039 1
	120	6.19±0.305 0
	180	3.61±0.441 9
	300	4.12±0.361 6
	480	3.03±0.622 3
	510	2.06±0.155 3
	540	1.46±0.226 3
	690	1.01±0.012 2

表3 90 °C下小酥肉中沙门菌残存量

Table 3 *Salmonella* residues in crispy meats at 90 °C

温度	时间/s	沙门菌残存量/(lg CFU/g)
90 °C	0	8.16±0.022 7
	30	7.90±0.134 6
	60	7.50±0.132 3
	90	6.05±0.020 4
	165	4.30±0.170 7
	240	2.69±0.032 7
	330	1.95±0.125 2
	360	1.03±0.014 3

2.2 小酥肉中沙门菌一级失活模型的建立和验证

2.2.1 一级失活模型的建立

将不同温度下小酥肉中沙门菌残存量通过线性模型、Logistic模型和Weibull模型进行回归分析,所得结果如表7。综合比较各模型拟合的相关

表4 100 °C下小酥肉中沙门菌残存量

Table 4 *Salmonella* residues in crispy meats at 100 °C

温度	时间/s	沙门菌残存量/(lg CFU/g)
100 °C	0	7.98±0.082 1
	20	7.64±0.018 7
	40	7.34±0.091 9
	60	6.90±0.040 2
	90	5.27±0.424 9
	120	3.82±0.369 5
	180	2.11±0.068 2
	195	1.95±0.053 2
	210	1.02±0.012 2

表5 110 °C下小酥肉中沙门菌残存量

Table 5 *Salmonella* residues in crispy meats at 110 °C

温度	时间/s	沙门菌残存量/(lg CFU/g)
110 °C	0	8.11±0.023 5
	20	7.97±0.025 1
	40	7.79±0.174 6
	80	6.82±0.232 7
	100	5.51±0.019 8
	120	3.50±0.123 9
	140	2.01±0.132 5
	150	1.01±0.004 1

表6 120 °C下小酥肉中沙门菌残存量

Table 6 *Salmonella* residues in crispy meats at 120 °C

温度	时间/s	沙门菌残存量/(lg CFU/g)
120 °C	0	8.20±0.053 2
	20	7.95±0.009 1
	40	7.80±0.132 3
	60	7.43±0.139 5
	80	6.90±0.134 4
	100	5.49±0.023 4
	120	2.92±0.132 4
	125	1.34±0.070 1

参数 R^2 和 $RMSE$ 的大小,其中,Weibull 模型的 R^2 更接近于 1, $RMSE$ 较小, AIC 较小, BIC 较小,拟合能力最好,因此本研究选取 Weibull 模型描述小酥肉中沙门菌的失活状况。

如图 1 所示,随着加热温度的升高,沙门菌的失活速率越来越快,杀灭相同菌量所需要的时间也越来越短。其中,80 和 90 °C 的热失活曲线均呈现凹状,带有“尾部”,即沙门菌失活速率随加热时间的推移逐渐变慢,样品中心温度稳定在目标温度后,样品中的沙门菌数减少至一个对数值左右;当温度上升到 100 °C 时,失活曲线呈“凸状”,带有“肩

部”,即沙门菌的失活速率随加热时间的推移变得越来越快,并且在样品中心温度没有达到目标温度时,样品中的沙门菌数已经减少至 1 个对数值左右。D 值指的是在某加热温度下,细菌数减少一个对数周期所需要的时间,D 值越大,细菌的耐热性就越强。Z 值指 D 值减少一个对数周期所需要上升的温度,是热失活过程的温度系数^[12]。利用线性模型拟合细菌数随时间变化的函数的斜率的负倒数即为 D 值,由此得到 80、90、100、110 和 120 °C 时小酥肉中沙门菌的 D 值分别为 98、51、30、20 和 11 s,通过不同温度下 D 值进一步测定出 Z 值为 43.3 °C,说明小酥肉中鼠伤寒沙门菌能够很好地抵抗温度变化。

2.2.2 一级模型的验证

为了定量评价实验构建的一级模型的可靠性,在实验温度 80~120 °C 范围内选取 95 °C 和 105 °C 两个额外温度对小酥肉中沙门菌进行加热实验,对实验所得数据利用 Weibull 模型进行拟合,通过 R^2 、 A_f 、 B_f 和 $RMSE$ 衡量沙门菌存活量的真实值与预测值之间的差异,运用公式(4)、(5)、(6)得到 R^2 、 A_f 、 B_f 和 $RMSE$ 的值如表 8 所示。

根据 Weibull 模型拟合 95 和 105 °C 温度下沙门菌失活曲线的 R^2 分别为 0.983 2 和 0.999 3,拟合效果好。 A_f 和 B_f 是 ROSS^[13] 提出用来评价预测模型预测能力的重要参数,若 B_f 为 0.9~1.05,说明该模型能够很好地预测微生物的失活速率及失活趋势,若 B_f 为 0.7~0.9 或者 1.06~1.15,则该模型拟合能力在可接受范围内; A_f 的值越接近 1,则证明预测值与真实值越吻合^[14]。95 °C 加热温度下, $A_f=1.131 6$ 、 $B_f=1.104 0$,105 °C 加热温度下, $A_f=1.083 5$ 、 $B_f=1.130 2$,均在可接受范围内,进一步说明 Weibull 模型能够准确描述小酥肉中沙门菌的失活情况。

2.3 小酥肉中沙门菌二级失活模型的建立和验证

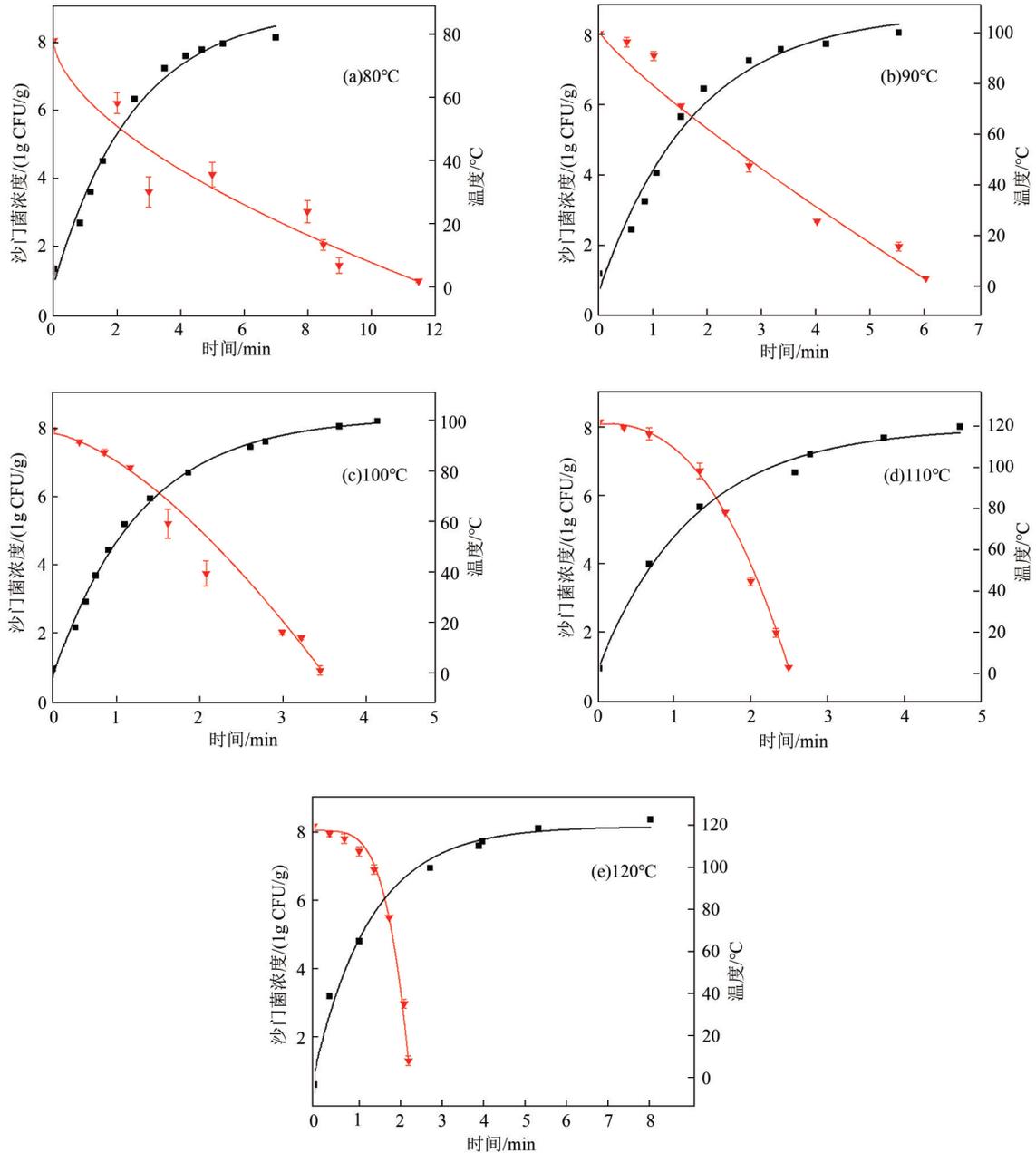
2.3.1 二级模型的建立

通过 Weibull 模型拟合小酥肉中沙门菌的一级失活模型,得到 80 °C、90 °C、100 °C、110 °C 和 120 °C 加热温度下一级模型参数 δ 分别为:0.420 9、0.581 6、0.967 1、1.133 6、1.330 9,参数 p 分别为:0.589 3、0.846 4、1.491 7、2.477 2、4.180 3。为提高参数 δ 、 p

表7 鼠伤寒沙门菌不同温度下各模型拟合参数

Table 7 Individual model fitting parameters for *Salmonella* typhimurium at different temperatures

模型参数	线性模型						Logistic 模型				Weibull 模型			
	D 值/s	RMSE	AIC	BIC	R^2	RMSE	AIC	BIC	R^2	RMSE	AIC	BIC	R^2	
80 °C	98	0.700 3	7.624 9	7.462 6	0.993 7	0.412 7	4.219 6	0.057 4	0.998 1	0.395 6	-6.817 2	-7.988 9	0.998 2	
90 °C	51	0.785 2	9.226 6	9.064 3	0.992 7	0.297 1	1.222 2	-2.940 2	0.996 1	0.212 7	-3.487 7	-3.649 9	0.999 1	
100 °C	30	0.252 7	-6.647 7	-6.810 0	0.983 9	0.316 8	-4.443 5	-8.605 8	0.995 6	0.222 2	-19.73	-19.892 3	0.996 6	
110 °C	20	0.649 6	10.571 0	6.408 7	0.915 9	0.128 7	-21.376 1	-21.538 4	0.999 5	0.088 2	-30.513 5	-30.675 7	0.999 6	
120 °C	11	1.351 4	15.302 0	11.139 7	0.890 3	—	—	—	不适用	0.222 2	-5.490 2	-5.652 5	0.992 1	



注:(a)80 °C、(b)90 °C、(c)100 °C、(d)110 °C、(e)120;黑色曲线代表样品中心温度变化趋势;红色曲线代表沙门菌残存菌体浓度变化趋势

图1 不同温度下小酥肉鼠伤寒沙门失活曲线与样品中心温度变化

Figure 1 Inactivation curves of *Salmonella typhimurium* and central temperature changes of commercial crispy meat at different temperatures

表8 95 °C和105 °C加热温度下小酥肉中鼠伤寒沙门菌存活菌体量预测值的准确度和偏差度

Table 8 Accuracy and deviation of predictive values of viable *Salmonella typhimurium* in crispy meats at 95 and 105 °C heating temperatures

温度/°C	实验次数	A_f	B_f	RMSE	R^2
95	5	1.131 6	1.104 0	0.166 5	0.983 2
105	7	1.083 5	1.130 2	0.083 8	0.999 3

与温度 T 之间的线性关系,对 δ 、 p 取自然对数,通过线性回归分别建立 $\text{Ln}\delta$ 、 $\text{Ln}p$ 与 T 之间的函数关系。如图 2 所示, $\text{Ln}\delta$ 、 $\text{Ln}p$ 与 T 显示良好的线性关系,当温度越高时, $\text{Ln}\delta$ 与 $\text{Ln}p$ 的值就越大,模型的拟合方

程为 $\text{Ln}\delta=0.029\ 7T-3.175\ 6$, R^2 为 0.949 2, $\text{RMSE}=0.108\ 9$, $\text{Ln}p=0.049\ 9T-4.584$, R^2 为 0.995 9, $\text{RMSE}=0.060\ 3$, 误差较小,说明该模型能够较好地描述不同加热温度对小酥肉中沙门菌热失活动力学的影响。

2.3.2 二级模型的验证

为验证二级模型的可靠性,基于 Weibull 模型拟合 95 °C 和 105 °C 加热温度下沙门菌的热失活曲线,得到模型的相应参数,通过 A_f 和 B_f 衡量真实值与预测值之间的差异。运用公式(4)、(5)得到 A_f 和 B_f 值如表 9 所示。结果表明,95 °C 和 105 °C 加热温

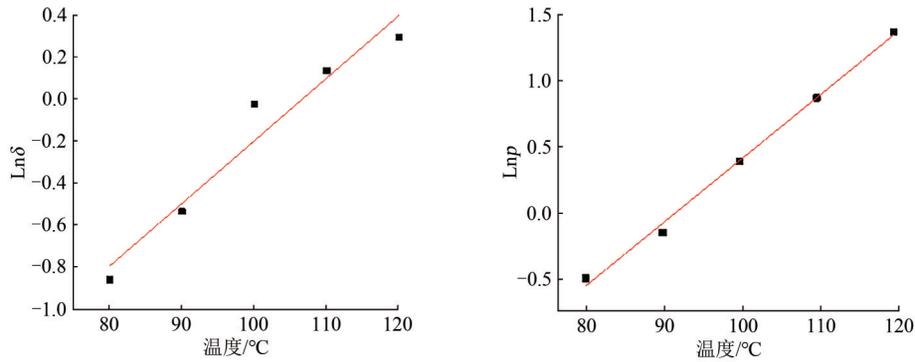


图2 $\text{Ln}\delta$ 、 Lnp 与 T 之间的关系
Figure 2 Relationship between $\text{Ln}\delta$, Lnp and T

度下 $\text{Ln}\delta$ 、 Lnp 的实测值与预测值基本吻合,预测值的波动幅度在 10% 左右,证明在 80 °C~120 °C 加热范围内本实验所构建的沙门菌的热失活模型是成功的。

表9 95 和 105 °C 加热温度下 $\text{Ln}\delta$ 和 Lnp 预测值的准确度和偏差度

参数	温度/°C	实验次数	A_f	B_f
$\text{Ln}\delta$	95	3	0.999 7	1.025 8
	105	3	1.128 9	1.131 6
Lnp	95	3	1.001 4	1.065 4
	105	3	1.065 7	1.075 2

2.3.3 所建模型适用性验证

为验证所构建模型在其他血清型沙门菌中的适用性,以肠炎沙门菌为研究对象,选取 95 °C 和 105 °C 两个温度进行热失活实验,对实验所得数据用 Weibull 模型进行拟合,所得模型参数如表 10、表 11 所示。结果表明,以鼠伤寒沙门菌为研究对象所构建的模型对肠炎沙门菌同样适用,为沙门菌以外的食源性微生物的热失活提供了理论基础。

表10 95 和 105 °C 加热温度下小酥肉中肠炎沙门菌存活菌体量预测值的准确度和偏差度

温度/°C	实验次数	A_f	B_f	RMSE	R^2
95	6	1.071 2	1.122 9	0.106 5	0.996 2
105	5	1.118 6	1.077 47	0.075 4	0.992 6

表11 95 °C 和 105 °C 加热温度下 $\text{Ln}\delta$ 和 Lnp 预测值的准确度和偏差度

参数	温度/°C	实验次数	A_f	B_f
$\text{Ln}\delta$	95	3	1.040 7	1.065 3
	105	3	1.108 5	1.134 7
Lnp	95	3	0.920 7	1.065 4
	105	3	0.943 3	1.060 1

3 讨论

本研究以无本底沙门菌的小酥肉为研究对象,人工接种鼠伤寒沙门菌进行污染模拟,探究小酥肉中沙门菌的热失活情况。为控制加热过程中样品的质量不发生改变,研究暂未考虑油炸过程中样品本身性质的改变对沙门菌的失活带来的影响,只考虑温度本身的影响。同时,模型验证过程中额外选择肠炎沙门菌进行替换,温度选择时,更多地考虑能够有效获得肉品中沙门菌载量的加热过程中的温度来开展实验,在模型验证时则纳入更能体现小酥肉实际烹饪的更高温度来研究失活模型的准确性和适用性。

本研究发现,通过 Weibull 模型拟合的小酥肉中沙门菌热失活模型并不遵循典型的线性关系,而出现了“肩部”和“尾部”现象,已有多名学者对此进行了研究与解释。在 80 °C 和 90 °C 加热温度下,沙门菌的失活曲线出现了“尾部”现象,这是沙门菌出现耐热性的体现,加热速率越慢,细菌所表现出的耐热性越强,越能抵御高温带来的影响,同时蛋白质也会为加热受损细菌的修复和繁殖提供营养^[15]。因此,较其他高温而言,目标温度为 80 °C 和 90 °C 时,沙门菌在加热后期出现失活更加缓慢的现象。但是当目标温度继续升高时,沙门菌的耐热性及食品基质的保护作用已无法抵御高温带来的影响,“尾部”现象逐渐消失。当目标温度高达 100 °C 后,沙门菌的失活曲线出现“肩部”现象,“肩部”的出现是由于本研究的样品具有一定的厚度,同时该样品富含脂肪,脂肪的缓冲作用同样延迟样品中心目标温度的到达,在加热初期,样品中心温度低不足以快速杀死大量细菌,并且加热取样的时间间隔短,加热时长不足以使沙门菌大量失活,因此在加热前期,失活速率表现出更加缓慢的现象,当样品中心温度达到一定阈值后,沙门菌大量失活。

D 值与 Z 值虽然被广泛用于描述微生物的热失活,但无法解释带有“肩部或尾部”的失活曲

线^[16]。目前有关肉制品中沙门菌高温热失活研究鲜少有人报道。已有的建模研究温度多集中在 55~75 °C 之间,且 D 值与 Z 值也明显低于本研究。这是因为研究者人工污染肉样时,多为肉样表面接种沙门菌或者将肉品搅碎与菌液混合制成小于 1 mm 的薄片^[15],所以沙门菌的死亡速率较快,受温度变化影响大。而本研究的样品内部肉和外部包裹材料均有潜在污染沙门菌的可能,所以采用内外均匀接种沙门菌的方法进行热失活实验。同时,为更好地模拟实际烹饪状态,研究既保留了样品食物的原有外观,还考虑了选择比常规预测失活微生物学研究更高的加热温度,当然,还需考虑不同时间获得建模所需的沙门菌有效计数,所以研究最终采用了 80 °C~120 °C 的温度范围开展研究。

Logistic 模型和 Weibull 模型一般是用来描述沙门菌非线性失活的最常用的两种模型,但 Logistic 模型因在拟合细菌失活时没有将非零渐近线考虑在内,导致参数饱和无法解决,拟合情况不理想^[17]。本研究采用 Weibull 模型拟合鼠伤寒沙门菌的失活曲线, R^2 均在 0.992 1 以上,误差较小,结果表明 Weibull 模型能够很好地描述 80 °C~120 °C 加热范围内小酥肉中沙门菌的失活状况。依据实验所构建的模型可得到初始菌量、温度与一级模型参数之间的关系,在 80 °C~120 °C 温度范围内,可模拟任一温度下小酥肉中沙门菌的热失活曲线。在进行模型验证时发现,当温度高于 120 °C 之后,一级模型参数 δ 基本不随温度发生变化,而在 1~2 之间摆动,参数 p 与温度依旧有显著的线性关系,此时参数 δ 可视为常数(取中位数 1.5 为参数 δ 的值),据此构建初始菌量、温度与一级模型参数之间的关系,可对更高加热温度下的烹饪时间进行科学的指导。根据本研究所构建的模型,预测得到在 140 °C 高温下,9 s 即可杀死 8 个对数菌量的鼠伤寒沙门菌。

4 结论

本研究应用 Weibull 模型成功拟合了鼠伤寒沙门菌在不同温度下的热失活曲线,并在一级模型参数 δ 、 p 基础上构建了 $\ln\delta$ 、 $\ln p$ 与温度 T 之间关系的二级模型。通过外部实验对模型进行验证,发现真实值与预测值之间的差异及预测值的波动范围均在可接受范围内,表明本研究构建的模型的可信度较高。本研究结果对完善沙门菌热失活数据库,建立完整的沙门菌三级预测模型具有一定的参考价值,同时为小酥肉安全消费指导及其微生物污染相关风险评估提供了理论基础和数据支持。

参考文献

- [1] HAVELAAR A H, KIRK M D, TORGERSON P R, et al. World health organization global estimates and regional comparisons of the burden of foodborne disease in 2010 [J]. *PLoS Medicine*, 2015, 12(12): e1001923.
- [2] POPA G L, POPA M I. *Salmonella* spp. infection—a continuous threat worldwide [J]. *GERMS*, 2021, 11(1): 88-96.
- [3] 赵格, 刘娜, 赵建梅, 等. 生猪屠宰环节沙门菌污染的定量风险评估 [J]. *农产品质量与安全*, 2018, (2): 21-25.
ZHAO G, LIU N, ZHAO J M, et al. Quantitative risk assessment on *Salmonella* contamination during pig slaughtering [J]. *Quality and Safety of Agro-Products*, 2018, (2): 21-25.
- [4] LIU J K, BAI L, LI W W, et al. Trends of foodborne diseases in China: Lessons from laboratory-based surveillance since 2011 [J]. *Frontiers of Medicine*, 2018, 12(1): 48-57.
- [5] CHEN Z Q, BAI J, ZHANG X B, et al. Highly prevalent multidrug resistance and QRDR mutations in *Salmonella* isolated from chicken, pork and duck meat in Southern China, 2018-2019 [J]. *International Journal of Food Microbiology*, 2021, 340: 109055.
- [6] JUNEJA V K, GONZALES-BARRON U, BUTLER F, et al. Predictive thermal inactivation model for the combined effect of temperature, cinnamaldehyde and carvacrol on starvation-stressed multiple *Salmonella* serotypes in ground chicken [J]. *International Journal of Food Microbiology*, 2013, 165(2): 184-199.
- [7] SARAH D Y. *Salmonella* outbreak linked to frozen chicken products [Z/OL]. (2021-08-12)[2022-07-30]. <https://www.consumeraffairs.com/news/salmonella-outbreak-linked-to-frozen-chicken-products-081221.html>.
- [8] 汪雯. 虾仁中副溶血弧菌杀菌技术的微生物预测模型与定量风险评估 [D]. 杭州: 浙江大学, 2013.
WANG W. Microbial predictive model and quantitative risk analysis for evaluation of intervention technologies on reduction of *Vibrio parahaemolyticus* in peeled shrimp [D]. Hangzhou: Zhejiang University, 2013.
- [9] BOLTZ T P, MORITZ J S, AYRES V E, et al. Modeling thermal inactivation of *Salmonella* Typhimurium in mash broiler feed [J]. *Journal of Applied Poultry Research*, 2021, 30(4): 100208.
- [10] 张佩佩, 李苗云, 赵改名, 等. 熏煮火腿中志贺氏菌的热失活特性 [J]. *食品科学*, 2017, 38(2): 40-45.
ZHANG P P, LI M Y, ZHAO G M, et al. Thermal inactivation properties of *Shigella* in smoked cooked ham [J]. *Food Science*, 2017, 38(2): 40-45.
- [11] 董庆利. Weibull 模型拟合细菌非线性失活曲线的应用研究 [J]. *上海理工大学学报*, 2009, 31(4): 387-391.
DONG Q L. Study on Weibull model applied in fitting non-linear inactivation curve of bacteria [J]. *Journal of University of Shanghai for Science and Technology*, 2009, 31(4): 387-391.
- [12] GURMAN P M, ROSS T, HOLDS G L, et al. Thermal inactivation of *Salmonella* spp. in pork burger patties [J]. *International Journal of Food Microbiology*, 2016, 219: 12-21.
- [13] ROSS T. Indices for performance evaluation of predictive models in food microbiology [J]. *Journal of Applied Bacteriology*, 1996, 81(5): 501-508.

- [14] 田康明, 段威, 王正祥, 等. 毕赤酵母热致死动力学模型的建立与检验[J]. 天津科技大学学报, 2017, 32(2): 24-29.
TIAN K M, DUAN W, WANG Z X, et al. Construction and verification of a model for the lethal thermal kinetics of *Pichia pastoris*[J]. Journal of Tianjin University of Science & Technology, 2017, 32(2): 24-29.
- [15] 张佩佩, 牛会敏, 李苗云, 等. 不同介质中甲型副伤寒沙门氏菌的热失活特性[J]. 食品科学, 2017, 38(14): 58-63.
ZHANG P P, NIU H M, LI M Y, et al. Thermal inactivation properties of *Salmonella paratyphi* A in different media[J]. Food Science, 2017, 38(14): 58-63.
- [16] 熊晓辉, 刘若雨, 张帅, 等. 肉禽及其制品中沙门氏菌失活建模的研究进展[J]. 现代食品科技, 2021, 37(12): 309-318.
XIONG X H, LIU R Y, ZHANG S, et al. Research progress on inactivation modeling of *Salmonella* spp. in poultry meat and its derived products[J]. Modern Food Science and Technology, 2021, 37(12): 309-318.
- [17] LAMBERT R J W. A model for the thermal inactivation of microorganisms[J]. Journal of Applied Microbiology, 2003, 95(3): 500-507.

《中国食品卫生杂志》投稿须知

《中国食品卫生杂志》是中华预防医学会、中国卫生信息与健康医疗大数据学会共同主办的国家级食品卫生学术期刊,为中文核心期刊、中国科技核心期刊。《中国食品卫生杂志》的办刊方针是普及与提高并重。设专家述评、论著、研究报告、实验技术与方法、监督管理、调查研究、风险监测、风险评估、食品安全标准、食物中毒、综述等栏目。《中国食品卫生杂志》既报道食品安全领域的重大科研成果,也交流产生、发现于实际工作的研究结论;既涉足实验室,又深入监督管理现场;全方位报道国内外食品安全的政策、理论、实践、动态。

1 投稿的基本要求

文稿应具有创新性、科学性、实用性,文字精练,数据准确,逻辑性强。文章一般不超过5000字,如遇特殊情况请与编辑部联系。投稿时邮寄单位推荐信,介绍该文的作者、单位,文章的真实性,是否一稿两投,是否属于机密,是否受各类基金资助。如为基金资助项目,应附带资助的合同文本封面和课题参加者名单页复印件或获奖证书复印件。

2 文稿中应注意的问题

投稿前最好先阅读本刊,以便对本刊有基本的了解。尤其要注意以下问题。

- 2.1 作者和单位的中英文名字、所在地、邮编分别列于中英文题目之下,单位的英文名称应是系统内认可的、符合规范的。
- 2.2 个人署名作者在2人(含2人)以上以及集体作者,应指定一位通信作者(corresponding author)。第一作者及通信作者应有简短的中文自传:姓名、性别、学位、职称、主攻研究方向,放在文稿第一页的左下方。副高职称以上的作者应有亲笔签名。
- 2.3 受资助的情况(资助单位、项目名称、合同号)用中英文分别列于文稿左下方。
- 2.4 所有稿件都应有中英文摘要。一般科技论文的摘要包括:目的、方法、结果、结论。作者应能使读者通过阅读摘要就能掌握该文的主要内容或数据。为便于国际读者检索并了解文章的基本信息,英文摘要应比中文摘要更详细。
- 2.5 每篇文章应标注中英文关键词各3~8个。
- 2.6 缩略语、简称、代号除了相邻专业的读者清楚的以外,在首次出现处必须写出全称并注明以下所用的简称。如新术语尚无合适的中文术语译名可使用原文或译名后加括号注明原文。
- 2.7 用于表示科学计量和具有统计意义的数字要使用阿拉伯数字。
- 2.8 研究对象为人时,须注明试验组、对照组受试者的来源、选择标准及一般情况等。研究对象为试验动物时需注明动物的名称、种系、等级、数量、来源、性别、年龄、体重、饲养条件和健康状况等。动物试验和人体试验均需伦理审查文件。
- 2.9 药品、试剂使用化学名,并注明主要试剂的剂量、单位、纯度、批号、生产单位和日期。
- 2.10 主要仪器、设备应注明名称、型号、生产单位、精密度或误差范围。
- 2.11 图、文字和表格的内容不要重复,图、表应有自明性,即不看正文就能理解图意、表意。
- 2.12 所引的参考文献仅限于作者亲自阅读过的。未公开发表或在非正式出版物上发表的著作如确有必要引用,可用圆括号插入正文或在当页地脚加注释说明。原文作者若不超过3人应将作者姓名依次列出,中间用“,”隔开,3位以上作者则列出前3位,逗号后加“等”。参考文献格式如下:

期刊文章:[序号] 主要责任者(外文人名首字母缩写,缩写名后不加缩写点). 文献题名[文献类型标志]. 刊名, 年,卷(期): 起页-止页.

举例 [1] 汪国华,马进,季适东,等. 急性出血坏死性胰腺炎的手术治疗[J]. 中级医刊,1995,30(8):22-25.