

预测微生物学在乳品安全领域的研究进展

祁 岩, 游春苹*

(乳业生物技术国家重点实验室, 上海乳业生物工程技术研究中心,
光明乳业股份有限公司乳业研究院, 上海 200436)

摘 要: 乳品中含有丰富的营养物质, 易被有害微生物污染, 进而影响消费者身体健康。不同乳品由于自身属性、加工条件和所处环境的不同, 被微生物污染的状况也不一样。预测微生物学可以根据微生物在乳品储藏、运输和加工技术条件下的生长存活情况, 通过建立模型, 判断其动态变化趋势, 从而帮助科研人员和生产者有效评估和控制乳品安全, 也为加工工艺改进提供信息。本文介绍了预测微生物学模型的分类及乳品安全方面常用的预测微生物学模型和数据测定方法, 阐述了预测微生物学在控制乳品微生物风险中的应用, 并针对预测微生物学在乳品安全领域应用中存在的问题进行了探讨, 展望了其未来发展方向, 旨在为保障乳品安全提供参考。

关键词: 预测微生物学; 模型; 乳品安全

Research progress of predictive microbiology in the safety of dairy products

QI Yan, YOU Chun-Ping*

(State Key Laboratory of Dairy Biotechnology, Shanghai Engineering Research Center of Dairy Biotechnology,
Dairy Research Institute, Bright Dairy and Food Co., Ltd., Shanghai 200436, China)

ABSTRACT: Dairy products contain rich nutrients, which are likely to be contaminated by microorganisms, and then affect the health of consumers. Due to the differences in dairy properties, processing conditions, and environment, microbial contamination conditions of different milk and dairy products varies. Based on the growth and survival kinetics of microorganisms under storage, transportation, and processing conditions, predictive microbiological models can be established to determine the dynamic trends of microorganisms, hence assisting the industries and research scientists to effectively assess the safety of dairy products as well as offering the important information for dairy processing optimization. This paper introduced the classifications of predictive microbiological models, briefly summarized the commonly used predictive microbiological models and data measurement approaches for evaluating dairy products, expounded the applications of predictive microbiology in the control of microbial risks in dairy products, discussed the existing problems in the applications of predictive microbiology in the safety of dairy products, and prospected its future development direction, which provides references for ensuring dairy safety.

KEY WORDS: predictive microbiology; modeling; dairy safety

基金项目: 上海市优秀技术带头人计划项目(20XD1430100)、上海乳业生物工程技术研究中心项目(19DZ2281400)

Fund: Supported by the Program of Shanghai Academic Technology Research Leader (20XD1430100), and the Shanghai Engineering Research Center of Dairy Biotechnology (19DZ2281400)

*通信作者: 游春苹, 博士, 正高级工程师, 主要研究方向为乳品安全、益生菌等。E-mail: youchunping@brightdairy.com

*Corresponding author: YOU Chun-Ping, Ph.D, Professor, Dairy Research Institute, Bright Dairy and Food Co., Ltd., No.1518, West Jiangchang Road, Jingan District, Shanghai 200436, China. E-mail: youchunping@brightdairy.com

0 引言

随着居民膳食结构的改变和对健康的重视,乳品的消费需求逐年增长。2021年国内乳品的总需求达到6009万t,是2006年后消费需求增长最快的一年^[1]。另外,乳品的品类也在不断地增多,除了直接饮用的乳及乳饮料,还包括发酵乳制品(如奶酪和奶油)和干燥提炼乳制品(如奶粉和炼乳)^[2]。在乳品生产加工过程中,原料乳、半成品和成品都有可能受到微生物的污染,进而危害消费者的健康^[3]。因此,乳品中微生物研究对乳品安全具有重要意义。近年来,预测微生物学在乳品安全领域得到了广泛应用与研究,本文介绍预测微生物学在控制乳品微生物风险中的应用,并归纳总结乳品安全领域常用的预测微生物学模型和数据测定方法,为科研人员和生产者有效评估和控制乳品安全提供参考。

1 预测微生物学

预测微生物学是一门结合了微生物、数学、计算机科学和统计学的交叉学科,它可以借助数学模型预测微生物对环境的反应^[4-5]。预测微生物学模型有多种分类方法。根据预测模型的建立方式可分为动力学模型和概率模型,动力学模型通过研究环境条件对微生物生长的影响预测食品品质,概率模型通过分析食品中有害菌出现的概率,进行食品安全性风险评估;根据微生物的数量变化,可分为生长模型和失活模型,生长模型反映环境因素等对微生物的促进效果,失活模型反映抑菌技术等对微生物的抑制作用^[6];Buchanan将预测微生物学模型分为一级、二级和三级模型,目前此分类方式较为常用^[7],一级模型描述了微生物的数量与时间之间的关系,二级模型描述了不同环境对一级模型参数的影响,三级模型是在一级和二级模型的基础上生成的计算机预测软件^[7-8]。预测微生物学可以帮助食品学术界和工业界解决诸多问题,譬如预测微生物的生长趋势^[9]、优化灭菌工艺^[10]、预估产品货架期^[11]、评估致病菌在不同介质上的交叉污染情况^[12]等。目前,预测微生物学已被应用于肉类^[13-15]、果蔬^[12,16]、水产品^[17]、食物配料^[18]、乳制品^[19]等多个领域。

2 乳品安全领域常用的预测微生物学模型及其数据测定方法

乳品安全领域预测微生物学模型种类繁多且发展迅速。除了经典的预测微生物学模型,还有预测微生物学专家自己创建和修正完善的预测模型。例如,在早期Gompertz模型研究中,由于未考虑迟滞期的影响,预测模型的准确性存在问题,经过修正的Gompertz模型包含了肩区和尾区,引入了生长迟滞期,可更准确地拟合微生物生长^[6]。核心参

数模型最初是描述微生物生长速率和温度间的关系,随后经过完善,又增加了基于pH和水分活度的核心参数模型,使其成为食品加工储藏的重要工具^[20]。表1介绍了近年来乳品安全领域中常用的预测微生物模型及其特点。在表1中,一级模型包括了典型的生长模型、衰亡模型和竞争模型,二级模型大多描述微生物生长速率与环境的变化情况,三级模型包括了多国开发的预测微生物学平台,可评估不同乳品中微生物生长行为。研究人员可依据微生物在乳品中的不同生存状态、环境因素等选用适当的模型种类。

除了确定预测模型的种类外,测定数据方法的选用也是研究中必不可少的一个环节。目前,预测微生物学模型在乳品安全领域的测定方法主要包括传统的平板计数法、比浊法、荧光定量聚合酶链式反应(polymerase chain reaction, PCR)方法和酶联免疫吸附测定法(enzyme-linked immuno-sorbent assay, ELISA)。表2介绍了4种方法及其各自的优点和不足。平板计数法虽然耗费人力物力,检测周期长,但操作简单,是目前使用最为广泛的数据测定方法。比浊法步骤简单,但针对低浓度细菌时,该方法无法准确测量,且利用菌悬液浓度代替活菌浓度存在较大误差。荧光定量PCR法操作简单、快速,但主要缺陷是无法区分活细菌和死细菌。随着研究的不断完善,荧光定量PCR的不足将逐渐被克服。例如牛犇等^[6]建议使用核酸染料叠氮碘化丙锭(propidium monoazide, PMA)、叠氮碘化乙锭(ethidium monoazide, EMA)结合死菌DNA,可有效阻止死菌DNA扩增,有效改善了使用荧光定量PCR可能出现的假阳性情况。ELISA通过抗原与抗体结合的方式进行数据测定,此方法对ELISA试剂盒中试剂的依赖性高,还可能对结构类似的化合物有交叉反应,与前3种数据测定方法相比,ELISA使用较少。未来可通过进一步优化ELISA试剂盒或结合其他数据测定方法如PCR技术来弥补其局限性。

3 预测微生物学在乳品安全方面的应用

3.1 液态奶

液态奶是由原料乳经过有效的杀菌处理后分装出的可食用乳品,其中有害物质的来源主要有微生物及其毒素污染、农兽药残留、重金属污染和人为添加剂^[2]。预测微生物学可以就有害微生物及其毒素展开研究,为液态奶微生物安全提供理论参考。于艳艳等^[33]利用“等效生长时间”理论,结合预测微生物模型,研究了波动温度下原料乳储藏和运输时金黄色葡萄球菌(*Staphylococcus aureus*)的生长状况,为控制此菌在原料乳中的生长提供了有效信息。HEIDINGER等^[34]建立了定量的微生物风险评估模型,预测原料乳中金黄色葡萄球菌超过 10^5 CFU/mL的概率为0.01%~0.1%时,可能有潜在的消费风险,同时发现在所有消费者年龄组中,暴露在第99.99百分位处代表会引发葡萄球菌肠毒素中毒的剂量。

表 1 乳品安全评估常用的预测微生物学模型
Table 1 Predictive microbiological models commonly used for the safety assessment for dairy products

分类	名称	特点	参考文献
一级模型	Baranyi & Roberts 模型	应用较为广泛, 应用于描述微生物生长情况, 动态环境可以使用, 模型中的各个参数都具有生理意义	[6]
	Logistic 模型	常用修正 Logistic 模型, 可描述适温状态下微生物的生长情况	[6]
	Huang 模型	源自于恒温状态下微生物生长的 3 个阶段(迟滞期、对数期、稳定期)	[6]
	Gompertz 模型	常用修正 Gompertz 模型, 可准确描述微生物生长情况	[6,21]
	指数模型	可用于生长和失活曲线的拟合	[11]
	Linear 模型	使用简单方便, 可应用于部分弱酸食品, 温度变化对微生物影响较为明显	[22]
	Weibull 模型	失活模型, 使用方便, 应用广泛	[23]
	Log-linear 模型	在细菌死亡速度较快的情况下可较好地拟合数据	[23]
	Log-logistic 模型	可描述微生物的失活情况, 使用较为广泛	[24]
	Bigelow 模型	利用对数线性描述微生物失活的模型	[25]
二级模型	Lotka-Volterra 模型	竞争模型, 描述竞争相同营养组分时, 两种菌的交互作用	[26]
	Jameson-effect 模型	竞争模型, 指在体系中存在优劣势菌群时, 优劣势菌群的生长与抑制作用	[26]
	平方根模型	由 Ratkowsky 提出, 比较常用的二级模型, 描述了微生物生长速率随单因素变化情况	[6,21]
	多项式模型	可囊括不同的环境参数, 但同时模型中包括较多无生物学意义的系数	[23]
	核心参数模型	通过定义基本环境参数和最适条件的最大生长率描述微生物的生长率	[20]
三级模型	Arrhenius 模型	可用于研究化学反应速率随温度变化, 现在常用于研究货架期预测	[27-28]
	IPMP	由美国农业部开发, 软件界面清晰, 使用简易, 软件下载网址为: https://www.ars.usda.gov/northeast-area/wyndmoor-pa/eastern-regional-research-center/docs/ipmp-global-fit/	[4]
	Combase	由英国、美国、澳大利亚合力开发的预测微生物学平台, 登录网址为: www.combase.cc	[6]
	FSSP	由丹麦科学家开发的预测腐败和致病微生物生长行为的平台, 可应用于乳品研究, 软件下载地址为: http://fssp.food.dtu.dk/	[29]

表 2 预测微生物学模型常用的数据测定方法
Table 2 Data measurement methods commonly used for predictive microbiological models

测定方法	测定方法概述	优点	缺点	参考文献
传统平板计数方法	将接种于乳品中的微生物稀释后均匀涂布于平板, 经过培养, 进行定量	操作简单、成本低, 对活菌进行测定	工作量大, 费时耗力, 测定周期长, 灵敏度较低	[30]
比浊法	通过培养液的吸光度(浊度)间接测定细胞的生长	操作简单、省时省力	检出限仅达到 $10^6 \sim 10^7$ CFU/mL, 仅能对液体基质测定, 菌悬液的浓度与活菌浓度有误差	[31]
荧光定量 PCR 方法	在反应体系中加入荧光物质, 通过荧光信号的实时积累监测 PCR 过程, 之后通过已知标准曲线对待测模板进行定量	特异性强、灵敏度高, 定量结果准确	无法区分活菌死菌, 进而无法准确预测微生物的失活情况, 染料试剂价格偏高	[21,30]
ELISA 法	通过酶的催化作用、抗原与抗体特异性结合进行定量	灵敏度高	可能存在抗原抗体的交叉反应	[32]

以上述为依据, 相关研究人员可对原料乳的储藏和运输标准进行规范, 进而提高液态奶的安全性。预测微生物学还可以为新兴加工工艺的开发和配方的选用提供理论支持。PINA-PÉREZ 等^[35]运用一级 Gompertz 模型研究了肉桂浓度和脉冲电场强度对鼠伤寒沙门氏菌 (*Salmonella typhimurium*) 在脱脂牛奶中的生长的影响, 并用 Weibull 模型探究肉桂和脉冲电场的协同作用, 发现两者产生最

大的协同作用的条件是: 施加脉冲电场条件为 10 kV/cm、3000 μ s, 肉桂浓度为 5%。BUZRUL 等^[36]应用 Weibull 模型研究了全脂牛奶中英诺克李斯特菌 (*Listeria innocua*) 和大肠杆菌在不同超高压处理下的存活情况。SERMENT-MORENO 等^[37]用 Gompertz 模型拟合在不同高压强度处理下英诺克李斯特菌在牛奶中存活情况。上述研究表明, 预测微生物学对液态奶“冷”工艺灭菌条件参数及

抑菌物质浓度的制定具有重要意义。

表 3 列举了预测微生物学在液态奶中的应用。通过分析可知, 在原料乳阶段, 预测微生物学在金黄色葡萄球菌中的研究较多, 因为原料乳易受操作人员、加工环境、牛体本身所携带的金黄色葡萄球菌的污染, 即使巴氏杀菌或其他杀菌手段可以将菌体杀死, 其产生的肠毒素也未必可以被彻底清除, 残存的肠毒素可被带入乳品中危害人体健康^[56]。预测微生物学模型可评估金黄色葡萄球菌在原料乳中的生长情况, 预测出与金黄色葡萄球菌菌体相关联的肠毒素水平。在液态奶储藏和运输中, 常用的一级模型包括 Gompertz

模型和 Baranyi & Roberts 模型。二级平方根模型常作为优选模型研究乳品中微生物在不同环境下的生长变化规律。在液态奶加工期间, Weibull 模型和 Gompertz 模型可用来评价杀菌条件对不同微生物存活的影响。与 Weibull 模型不同的是, 在超高静压加工时, Gompertz 模型考虑了初始微生物菌量、启动时间对微生物的影响, 更加贴合生产实际。当然, 构建完成的预测模型产生的结果也可能与真实结果有差异, 这些差异可来源于菌株、乳品基质或环境条件(如温度的波动和乳品 pH 的改变)的不同。因此, 需要慎重选择目标菌株, 尽最大可能模拟真实生产过程, 同时多次验证^[57-58]。

表 3 预测微生物模型在乳品中的应用
Table 3 Applications of predictive microbiological models developed in dairy products

名称	模拟过程	微生物	优选模型	参考文献
原料乳	12~37℃储藏和运输	金黄色葡萄球菌	修正 Gompertz 和平方根模型	[19]
原料乳	10~37℃储藏和运输	金黄色葡萄球菌	修正 Gompertz 和平方根模型	[33]
原料乳	10~37℃储藏和运输	金黄色葡萄球菌	修正 Gompertz、平方根模型和 Combase 数据库	[38]
全脂牛奶	4~30℃波动温度储藏和运输	单增李斯特菌(<i>Listeria monocytogenes</i>)	Baranyi & Roberts 模型和平方根模型	[39]
脱脂牛奶	脉冲电 10~30 kV/cm 加工	鼠伤寒沙门氏菌	Gompertz 模型和 Weibull 模型	[35]
全脂牛奶	400~600 Mpa 超高静压加工	英诺克李斯特菌和大肠杆菌(<i>Escherichia coli</i>)	Weibull 模型	[36]
全脂牛奶	300~600 Mpa 超高静压加工	英诺克李斯特菌	Gompertz 模型	[37]
婴幼儿配方奶粉	5~35℃储藏	单增李斯特菌、大肠杆菌、沙门氏菌(<i>Salmonella</i>)和阪崎克罗诺杆菌(<i>Cronobacter sakazakii</i>)	Weibull 模型	[40]
脱脂奶粉和全脂奶粉	75~85℃加热	沙门氏菌	Log-linear 模型和修正 Bigelow 模型	[41]
脱脂奶粉和全脂奶粉	37℃储藏和 85~95℃加热	沙门氏菌和粪肠球菌(<i>Enterococcus faecium</i>)	Weibull 模型	[42]
婴幼儿配方奶粉	25~60℃奶粉复水	蜡样芽孢杆菌(<i>Bacillus cereus</i>)	修正 Gompertz 模型、Belehradek 模型和 Log-logistic 模型	[43]
婴幼儿配方奶粉溶液	37℃储藏	阪崎克罗诺杆菌	Huang 模型结合 IPMP2013 软件	[44]
Mascarpone 奶酪	3~15℃储藏	大肠杆菌	Gompertz 模型和多项式模型	[45]
Queso Fresco 奶酪	4~30℃储藏	单增李斯特菌	Baranyi & Roberts 模型和平方根模型	[46]
Coalho 奶酪	7.5 和 12℃储藏	大肠杆菌、单增李斯特菌、沙门氏菌、金黄色葡萄球菌	Baranyi & Roberts 模型和 Combase 数据库	[47]
	22℃奶酪成熟	单增李斯特菌	Huang 模型、Log-linear decay 模型、Huang-Cardinal 模型和 Jameson-effect 模型	[48]
Minas 奶酪	7 和 22℃奶酪成熟	单增李斯特菌	Baranyi & Roberts 模型, Log-linear 模型	[49]
	7℃储藏	单增李斯特菌	Huang-Cardinal 模型、Jameson-effect 模型和 Lotka-Volterra 模型	[50]
可磨碎作为菜肴辅料的奶酪	4 和 12℃储藏	单增李斯特菌	Log-linear 模型	[51]
质地很硬的成熟奶酪	5、15 和 25℃储藏	沙门氏菌	Weibull 模型和 Arrhenius 模型	[52]
饮用酸奶和普通酸奶	4~36℃储藏	大肠杆菌	Weibull 模型和多项式模型	[53]
无糖酸奶	5~25℃储藏	肠炎沙门氏菌	Linear 模型和多项式模型	[54]
羊奶酸奶	4~22℃储藏	金黄色葡萄球菌	Baranyi & Roberts 模型	[55]

3.2 奶 粉

奶粉是乳制品的重要组成部分,它既可以直接被冲泡饮用也可以作为辅料加入其他食品中。奶粉的安全问题一直以来受到社会各界的高度关注,然而,食源性致病菌引发的国内外奶粉安全事件仍屡有发生。2016 年,有学者调查了温州市售奶粉,发现蜡样芽孢杆菌、阪崎克罗诺杆菌和金黄色葡萄球菌均有检出^[59];2018 年,爱他美婴幼儿配方奶粉被检出阪崎克罗诺杆菌阳性^[60]。预测微生物学可实现致病菌在干燥奶粉和奶粉溶液中的生长存活情况预测以指导奶粉中微生物的安全性评估。KOSEKI 等^[40]应用 Weibull 模型比较了单增李斯特菌、大肠杆菌、沙门氏菌和阪崎克罗诺杆菌在低水分活度的婴幼儿配方奶粉中的干燥耐受性,发现阪崎克罗诺杆菌在奶粉中的干燥耐受性最强,同时证明了干燥环境下贮藏温度显著影响各细菌的存活率。WEI 等^[41]通过 Log-linear 模型和修正 Bigelow 模型研究了脂肪含量、水分活度和加热温度对奶粉中沙门氏菌存活的影响,发现奶粉的水分活度越低,细菌的热耐受性越高,因而需要更高的杀菌温度或时间。魏奇等^[44]利用包括 Huang 模型在内的 4 个一级生长模型,结合 IPMP2013 软件,拟合了阪崎克罗诺杆菌在 37℃奶粉溶液中的生长情况,并通过模型拟合参数筛选出最优的生长预测模型。上述表明,为了预测奶粉的安全性,研究人员通常在不同环境因素下(如温度和水分活度)建立有害微生物在奶粉中的预测模型。可供选择的预测模型有很多,因此研究人员需选择应用多个方程对数据进行拟合,以减少预测值与实际值之间的误差。此外,还应考虑一些模型的应用是否符合生产实际,如为保留产品的口感和营养,一般加工技术不会使其完全灭菌,而 Weibull 模型或其他非线性模型容易导致失活曲线的“极端拖尾”,与实际不符,因此,研究人员需要不断地挖掘更合适的预测模型以达到最优拟合效果^[57]。从国内外研究(表 3)中不难发现,在奶粉处于脱水状态时,由于食物的水分活度很低($A_w=0.1$),一般会考虑衰减模型研究微生物的动态变化情况,当奶粉复水后,鉴于不同的冲水温度,考虑该温度是否促进或抑制微生物的生长,选用合理的预测微生物学模型以评估奶粉中可能存在的微生物风险,从而帮助企业更好地规范奶粉生产,给予消费者奶粉饮用安全温度和时间的科学指导建议。

3.3 奶 酪

奶酪又称干酪,是一种经过发酵而成的营养价值很高的乳制品^[61]。大多数的干酪本身不利于致病菌的存活,但是由于干酪的成分、pH 和水分活度不同,一些致病菌例如大肠杆菌、单增李斯特菌仍有可能存在,因而食品安全风险不能被完全规避^[2]。预测微生物模型可应用于不同奶酪品种,对评估奶酪的微生物安全具有重要意义。KOWALIK 等^[45]建立了大肠杆菌在 Mascarpone 奶酪低温

储藏时的生长模型,该模型可评估具有相似理化特性的奶酪中的大肠杆菌风险。THOMAS 等^[46]为 Queso Fresco 奶酪中单增李斯特菌的生长开发了一级、二级和三级预测模型,可有助于预估长期储存和温度波动情况下奶酪引起单增李斯特菌病的风险。CAMPAGNOLLO 等^[49]通过 Baranyi & Roberts 模型和 Log-linear 模型预测发现从手工 Minas 奶酪中分离出的具有抗李斯特菌活性的乳酸菌可以在软干酪低温储藏过程中为单增李斯特菌的生长提供了额外的屏障,保障了奶酪安全。通过研究在不同种类奶酪上有害微生物的生长风险可知,预测微生物学模型适用范围广,在评估奶酪安全性方面具有广阔的应用前景。表 3 列举了近年来学者们应用预测微生物学模型对不同品种的奶酪在制作、成熟及储藏期间的研究,分析可知,未完全成熟的奶酪(如 Mascarpone 奶酪和 Queso Fresco 奶酪)质地较软,其环境有利于微生物的生长,生长预测模型运用较多。已完全成熟的干酪(如某些可磨碎作为辅料的奶酪),质地较硬,水分活度偏低,不适于微生物的生长,衰亡预测模型使用较多。尽管关于奶酪的预测微生物学研究比较广泛,但基本是国外学者对当地奶酪中致病微生物的研究,笔者建议多开发符合我国消费者饮食习惯和口味的奶酪的预测微生物学模型,另外,大多数预测微生物学研究内容与奶酪制作和储藏过程中单增李斯特菌的生长情况有关,其他致病微生物的研究仍需完善。

3.4 发酵乳

发酵乳具备低 pH 和较高的乳酸浓度属性,其主要微生物污染来源于霉菌和酵母。理论上说,致病菌难以在其中生存^[2],事实上,有害微生物在发酵乳中引起的食品安全问题屡有发生。2014 年,Chobani 酸奶出现了霉菌污染,产生了胀包和酸奶变质现象,引起超过 200 人生病^[62];2021 年,美国一公司的有机酸奶由于可能被大肠杆菌 O157:H7 污染被紧急召回^[63]。由此可知,进行发酵乳中有害微生物研究对保证发酵乳的安全十分关键。YANG 等^[53]通过 Weibull 模型结合多项式模型研究阐明了酸奶在 4~36℃储藏温度下肠出血性大肠杆菌(enterohemorrhagic *E. coli*, EHEC)的存在风险高于单增李斯特菌,且较低温度更有利于细菌的存活。SZCZAWIŃSKI 等^[54]应用线性模型和多项式模型研究了温度对酸奶中的肠炎沙门氏菌(*Salmonella enteritidis*)的影响,结果表明相比于 25℃的储藏温度,5℃的储藏温度更有利于肠炎沙门氏菌在酸奶中存活,推测是由于温度升高促进发酵菌种产酸,从而进一步抑制致病细菌,因此需要考虑合适的温度储藏酸奶。然而,BEDNARKO-MŁYNARCZYK 等^[55]对比了 Baranyi & Roberts、Cole 和修正 Gompertz 生长模型,预测金黄色葡萄球菌在羊奶酸奶中的生长情况,发现在冷藏温度及室温下,细菌均出现较大幅度的衰减(2.5~3 lg CFU/g)。由此可见,进行致病细菌在发酵乳中的预测微生物学研究时,需要

考虑产品特点、储藏温度和致病细菌在酸性条件下的适应性等因素。

目前,国内外应用预测微生物模型评估发酵乳安全的研究仍相对较少(表3)。随着发酵乳品类的增多,发酵乳的安全风险应该加以重视。例如,近年来,一些低酸度发酵乳品逐渐流行,这类乳品有相对较高的pH,因而也加大了食源性致病菌污染的风险。另外,发酵乳中经常加入果干、坚果等配料,果干和坚果也有可能携带有害微生物,这些辅料也会提供额外的发酵基质供有害微生物生长。因此,后续可补充运用预测微生物学模型研究致病菌在中性或含配料发酵乳中的生长行为和存在风险的相关内容。

4 结束语

预测微生物学已在乳制品行业广泛应用,预测模型在乳品安全领域的应用研究还可以在以下4个方面进一步发展:(1)大部分的预测分析仍基于传统的平板计数法,建立预测模型比较费时费力,可以发展快速高通量的检测方法。另外,检测方法的灵敏度和准确度有待进一步提高。(2)模型建立后,模型在生产实际中的应用方法和可行性有待评估。(3)研究多数围绕微生物的生长情况展开,代谢产物预测模型的相关研究较少。(4)与乳制品安全相关的预测微生物学信息较为分散,难以整合利用。目前,预测微生物学解决乳制品安全问题的研究很多,有待进一步系统整理,构建相关公共数据库。针对上述4个方面,未来乳品安全方面预测模型的创建和应用展望如下:(1)可进一步完善现有的预测模型数据定量方法,同时开发多种微生物模型拟合方法以提高模型的灵敏度和准确性,例如,生物芯片技术、绿色荧光标记蛋白技术、系统生物学技术和生物光谱技术等。(2)结合实验和试生产,评价预测模型的准确性和应用性:例如,评价预测模型得出的最佳工艺参数在实际生产中是否可以达到。(3)用组学的方法构建预测微生物学模型:例如,将目的细菌代谢产物进行筛选,定位菌种在不同状态下此代谢产物情况,用代谢产物拟合预测模型。(4)建立和丰富关于乳品微生物安全信息的数据库:例如,开发乳品相关的预测模型数据库,将项目背景、研究数据、所得结论上传至数据库中,便于日后研究人员参考和借鉴,提高预测微生物模型的利用率。

预测微生物学在乳品行业得到了越来越多的重视。创建一个应用性好、可信度高的乳品微生物预测模型,可以帮助乳品工业界有效地进行风险评估、货架期预测及工艺判定等。随着预测模型研究的日趋深入和未来数据库的归纳整合,预测微生物学在乳品安全领域的作用和意义也将会被更多地挖掘。

参考文献

- [1] 刘长全. 2021年中国奶业经济形势回顾及2022年展望[J]. 中国畜牧杂志, 2022, 58(3): 232–238.

- LIU CQ. Review of Chinese dairy industry economic situation in 2021 and outlook for 2022 [J]. Chin J Anim Sci, 2022, 58(3): 232–238.
- [2] 郭本恒. 乳品安全[M]. 北京: 化学工业出版社, 2015.
- GUO BH. Dairy safety [M]. Beijing: Chemical Industry Press, 2015.
- [3] 郭本恒. 液态奶[M]. 北京: 化学工业出版社, 2016.
- GUO BH. Liquid milk [M]. Beijing: Chemical Industry Press, 2016.
- [4] HUANG L. IPMP 2013-A comprehensive data analysis tool for predictive microbiology [J]. Int J Food Microbiol, 2014, 171: 100–107.
- [5] 陈仕佳, 马笋, 付晓焰, 等. 鱼肉中沙门氏菌生长预测模型的建立[J]. 食品安全质量检测学报, 2022, 13(8): 2474–2481.
- CHEN SJ, MA Z, FU XY, et al. Establishment of prediction model for the growth of *Salmonella* in fish meat [J]. J Food Saf Qual, 2022, 13(8): 2472–2481.
- [6] 牛犇, 洪斌, 穆丽丽, 等. 荧光定量 PCR 在预测微生物学中的应用[J]. 食品工业科技, 2019, 40(5): 275–282.
- NIU B, HONG B, MU LL, et al. Application of fluorescent quantitative PCR in predictive microbiology [J]. Sci Technol Food Ind, 2019, 40(5): 275–282.
- [7] BUCHANAN RL. Predictive food microbiology [J]. Trends Food Sci Technol, 1993, 4(1): 6–11.
- [8] 丁博群, 刘珊珊. 预测微生物学在益生菌研究中的应用[J]. 天津农学院学报, 2021, 28(1): 73–77.
- DING BQ, LIU SN. Application of predictive microbiology in probiotic studies [J]. J Tianjin Agric Univ, 2021, 28(1): 73–77.
- [9] XIE Z, PENG Y, LI C, et al. Growth kinetics of *Staphylococcus aureus* and background microorganisms in camel milk [J]. J Dairy Sci, 2020, 103(11): 9958–9968.
- [10] MENDES-OLIVEIRA G, DEERING AJ, SAN MARTIN-GONZALEZ MF, et al. Microwave pasteurization of apple juice: Modeling the inactivation of *Escherichia coli* O157:H7 and *Salmonella typhimurium* at 80–90°C [J]. Food Microbiol, 2020, 87: 103382.
- [11] CAUCHIE E, DELHALLE L, BARÉ G, et al. Modeling the growth and interaction between *Brochothrix thermosphacta*, *Pseudomonas* spp., and *Leuconostoc gelidum* in minced pork samples [J]. Front Microbiol, 2020, 11: 639.
- [12] QI Y, HE YS, BEUCHAT LR, et al. Glove-mediated transfer of *Listeria monocytogenes* on fresh-cut cantaloupe [J]. Food Microbiol, 2020, 88: 103396.
- [13] JUNEJA VK, PUROHIT AS, GOLDEN M, et al. A predictive growth model for *Clostridium botulinum* during cooling of cooked uncured ground beef [J]. Food Microbiol, 2021, 93: 103618.
- [14] WANG Y, LI X, LU Y, et al. Synergistic effect of cinnamaldehyde on the thermal inactivation of *Listeria monocytogenes* in ground pork [J]. Food Sci Technol Int, 2020, 26(1): 28–37.
- [15] 石娟, 陈芳, 胡小松, 等. 不同贮藏温度下鸡肉中大肠杆菌O157:H7生长预测模型的建立[J]. 食品安全质量检测学报, 2022, 13(12): 3787–3793.
- SHI M, CHEN F, HU XS, et al. Growth prediction model of *Escherichia coli* O157:H7 on chicken at different storage temperatures [J]. J Food Saf Qual, 2022, 13(12): 3787–3793.
- [16] SALAZAR JK, MEGAN F, QI Y, et al. Growth kinetics of *Listeria monocytogenes* on cut red cabbage [J]. J Food Prot, 2022, 85(8): 1128–1132.
- [17] 张子叶, 李晓婷, 刘丽敏, 等. 金枪鱼生鱼片中优势菌群生长预测模型构建与验证[J]. 食品安全质量检测学报, 2020, 11(24): 9320–9328.

- ZHANG ZY, LI XT, LIU LM, *et al.* Predictive model development and validation of growth of dominant background microflora on raw tuna [J]. *J Food Saf Qual*, 2020, 11(24): 9320–9328.
- [18] NYHAN L, PRZYJALGOWSKI M, LEWIS L. Investigating the use of ultraviolet light emitting diodes (UV-LEDs) for the inactivation of bacteria in powdered food ingredients [J]. *Foods*, 2021, 10(4): 797.
- [19] 赵鑫, 鞠世颖, 周颖, 等. 基于 Matlab 的原料乳中金黄色葡萄球菌生长模型的分析[J]. *食品研究与开发*, 2014, 35(6): 99–104.
- ZHAO X, JU SY, ZHOU Y, *et al.* Analysis of *Staphylococcus aureus* growth model in raw milk base on Matlab [J]. *Food Res Dev*, 2014, 35(6): 99–104.
- [20] 沈雨婷, 栗绍文, 孟宪荣. 核心参数模型在食品微生物监控中的研究进展[J]. *食品工业科技*, 2022, 43(9): 477–484.
- SHEN YT, LI SW, MENG XR. Cardinal parameters model in food microbiological monitoring: A review [J]. *Sci Technol Food Ind*, 2022, 43(9): 477–484.
- [21] 张昭蓉, 姜阳, 杜苏萍, 等. 分子生物学技术在预测微生物学中的应用与展望[J]. *食品科学*, 2017, 38(9): 248–257.
- ZHANG ZH, LOU Y, DU SP, *et al.* Applications and prospects of molecular biology techniques in predictive microbiology: A review [J]. *Food Sci*, 2017, 38(9): 248–257.
- [22] 邓森荣, 向蓉, 魏琦麟, 等. 冷鲜肉微生物种类及微生物预测模型的研究进展[J]. *广东农业科学*, 2021, 48(3): 133–141.
- DENG SR, XIANG R, WEI QL, *et al.* Research progress in microbial species and microbial prediction model of chilled meat [J]. *Guangdong Agric Sci*, 2021, 48(3): 133–141.
- [23] 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(2): 309–318.
- XIONG XH, LIU RY, ZHANG S, *et al.* Research progress on inactivation modeling of *Salmonella* spp. in poultry meat and its derived products [J]. *Mod Food Sci Technol*, 2021, 37(2): 309–318.
- [24] 麦馨允, 黄江奇, 杨建波, 等. 短波紫外线对芒果黑曲霉、烟曲霉体外抑菌作用[J]. *食品研究与开发*, 2020, 41(17): 13–19.
- MAI XY, HUANG JQ, YANG JB, *et al.* Antibacterial effect *in vitro* and inactivation model of ultraviolet C radiation on *Aspergillus niger* and *Aspergillus fumigatus* from mango fruits [J]. *Food Res Dev*, 2020, 41(17): 13–19.
- [25] 马华威, 甘晖, 王园园, 等. 数学模拟动态低热处理罗非鱼皮诱导 *Listeria monocytogenes* 应激适应[J]. *食品科学*, 2021, 42(19): 97–105.
- MA HW, GAN H, WANG YY, *et al.* Mathematical modelling of the stress acclimation in response with inactivation of *Listeria monocytogenes* induced by dynamically and low-thermally processed tilapia skin [J]. *Food Sci*, 2021, 42(19): 97–105.
- [26] 董庆利, 张文敏, 宋筱瑜, 等. 应用改良的 Jameson-effect 模型建立植物乳杆菌对单增李斯特菌的抑制模型[J]. *现代食品科技*, 2016, 32(9): 135–140.
- DONG QL, ZHANG WM, SONG XY, *et al.* A model for the inhibition of *Listeria monocytogenes* by *Lactobacillus plantarum*, established using a modified Jameson-effect model [J]. *Mod Food Sci Technol*, 2016, 32(9): 135–140.
- [27] 王红丽, 王锡昌, 施文正, 等. 水产品贮藏过程中货架期预测的研究进展[J]. *食品科学*, 2021, 42(15): 261–268.
- WANG HL, WANG XC, SHI WZ, *et al.* Progress in shelf life prediction models for aquatic products [J]. *Food Sci*, 2021, 42(15): 261–268.
- [28] 刘亚兵, 雷志伟, 李露露, 等. 基于微生物和量纲模型对茶叶货架期的研究[J]. *食品研究与开发*, 2020, 41(6): 58–64.
- LIU YB, LEI ZW, LI LL, *et al.* Study on shelf life of tea based on microorganism and dimensional model [J]. *Food Res Dev*, 2020, 41(6): 58–64.
- [29] TENENHAUS-AZIZA F, ELLOUZE M. Software for predictive microbiology and risk assessment: A description and comparison of tools presented at the ICPMF8 software fair [J]. *Food Microbiol*, 2015, 45: 290–299.
- [30] 张亚红, 王娉, 杨海荣, 等. 预测微生物学在乳及乳制品中的应用[J]. *检验检疫学刊*, 2015, 25(6): 51, 62–65.
- ZHANG YH, WANG P, YANG HR, *et al.* Application of predictive microbiology in dairy products [J]. *J Inspect Quarant*, 2015, 25(6): 51, 62–65.
- [31] 方太松, 吴瑜凡, 石宁馨, 等. 食源性致病菌生长延滞期的研究进展[J]. *食品科学*, 2021, 42(11): 253–260.
- FANG TS, WU YF, SHI NX, *et al.* Recent understanding of the lag phase of foodborne pathogens [J]. *Food Sci*, 2021, 42(11): 253–260.
- [32] 陈嘉惠, 陈沁, 钮冰, 等. 乳品中有害微生物检测技术的研究进展[J]. *中国乳品工业*, 2019, 47(5): 32–36.
- CHEN JH, CHEN Q, NIU B, *et al.* Research progress on detection techniques of harmful microorganisms in dairy products [J]. *China Dairy Ind*, 2019, 47(5): 32–36.
- [33] 于艳艳, 丁甜, 刘东红. 波动温度下原料乳中金黄色葡萄球菌的生长动力学模型[J]. *中国食品学报*, 2016, 16(11): 35–41.
- YU YY, DING T, LIU DH. Growth kinetics models of *Staphylococcus aureus* in raw milk at variable temperatures [J]. *J Chin Inst Food Sci Technol*, 2016, 16(11): 35–41.
- [34] HEIDINGER JC, WINTER CK, CULLOR JS. Quantitative microbial risk assessment for *Staphylococcus aureus* and *Staphylococcus enterotoxin A* in raw milk [J]. *J Food Prot*, 2009, 72(8): 1641–1653.
- [35] PINA-PÉREZ MC, MARTÍNEZ-LÓPEZ A, RODRIGO D. Cinnamon antimicrobial effect against *Salmonella typhimurium* cells treated by pulsed electric fields (PEF) in pasteurized skim milk beverage [J]. *Food Res Int*, 2012, 48(2): 777–783.
- [36] BUZRUL S, ALPAS H, LARGETEAU A, *et al.* Modeling high pressure inactivation of *Escherichia coli* and *Listeria innocua* in whole milk [J]. *Eur Food Res Technol*, 2008, 227: 443–448.
- [37] SERMENT-MORENO V, FUENTES C, TORRES JA, *et al.* A Gompertz model approach to microbial inactivation kinetics by high-pressure processing (HPP): Model selection and experimental validation [J]. *Food Bioproc Technol*, 2017, 10(8): 1–14.
- [38] 黄欣悦, 陈娟, 马欣玥. 食品中金黄色葡萄球菌定量风险评估的研究进展[J]. *食品工业科技*, 2021, 42(22): 390–397.
- HUANG XY, CHEN J, MA XY. Research progress of quantitative risk assessment of *Staphylococcus aureus* in food [J]. *Sci Technol Food Ind*, 2021, 42(22): 390–397.
- [39] ZHEN J, HUANG L, WEI Z, *et al.* Dynamic kinetic analysis of growth of *Listeria monocytogenes* in pasteurized cow milk [J]. *J Dairy Sci*, 2021, 104(3): 2654–2667.
- [40] KOSEKI S, NAKAMURA N, SHINA T. Comparison of desiccation tolerance among *Listeria monocytogenes*, *Escherichia coli* O157:H7, *Salmonella enterica*, and *Cronobacter sakazakii* in powdered infant formula [J]. *J Food Prot*, 2015, 78(1): 104–110.
- [41] WEI X, LAU SK, CHAVES BD, *et al.* Effect of water activity on the thermal inactivation kinetics of *Salmonella* in milk powders [J]. *J Dairy*

- Sci, 2020, 103(8): 6904–6917.
- [42] WEI X, AGARWAL S, SUBBIAH J, *et al.* Evaluation of *Enterococcus faecium* NRRL B-2354 as a surrogate for *Salmonella enterica* in milk powders at different storage times and temperatures [J]. J Dairy Sci, 2020, 104(1): 198–210.
- [43] 张亚红. 蜡样芽孢杆菌在婴幼儿配方奶粉储存期及复水后消长规律的研究[D]. 南京: 南京农业大学, 2015.
- ZHANG YH. The population dynamic changes of *Bacillus cereus* in infant formula and dissolving infant formula [D]. Nanjing: Nanjing Agricultural University, 2015.
- [44] 魏奇, 龚小丽, 林佳扬, 等. 阪崎肠杆菌的生物学特性及其在婴幼儿配方奶粉中的预测模型[J]. 中国食品学报, 2017, 17(4): 58–64.
- WEI Q, GONG XL, LIN JY, *et al.* The biological characteristics of *C. sakazakii* and its predictive models in infant formula [J]. J Chin Inst Food Sci Technol, 2017, 17(4): 58–64.
- [45] KOWALIK J, LOBACZ A, ZULEWSKA J, *et al.* Analysis and mathematical modeling of the behavior of *Escherichia coli* in the mascarpone cheese during cold storage [J]. Int J Food Sci Technol, 2018, 53(6): 1–8.
- [46] THOMAS M, TIWARI R, MISHRA A, *et al.* Predictive model of *Listeria monocytogenes* growth in Queso Fresco [J]. J Food Prot, 2019, 82(12): 2071–2079.
- [47] ARAUJO VG, ARRUDA MD, DUARTE FND, *et al.* Predicting and modelling the growth of potentially pathogenic bacteria in Coalho cheese [J]. J Food Prot, 2017, 80(7): 1172–1181.
- [48] GONZALES-BARRON U, CAMPAGNOLLO FB, SCHAFFNER DW, *et al.* Behavior of *Listeria monocytogenes* in the presence or not of intentionally-added lactic acid bacteria during ripening of artisanal Minas semi-hard cheese [J]. Food Microbiol, 2020, 91: 103545.
- [49] CAMPAGNOLLO FB, MARGALHO LP, KAMIMURA BA, *et al.* Selection of indigenous lactic acid bacteria presenting anti-listerial activity, and their role in reducing the maturation period and assuring the safety of traditional Brazilian cheeses [J]. Food Microbiol, 2018, 73: 288–297.
- [50] CADAVEZ VAP, CAMPAGNOLLO FB, SILVA RA, *et al.* A comparison of dynamic tertiary and competition models for describing the fate of *Listeria monocytogenes* in Minas fresh cheese during refrigerated storage [J]. Food Microbiol, 2019, 79: 48–60.
- [51] VALERO A, HERNÁNDEZ M, ESTEBAN-CARBONERO O, *et al.* Modelling the fate and serogroup variability of persistent *Listeria monocytogenes* strains on grated cheese at different storage temperatures [J]. Int J Food Microbiol, 2018, 286: 48–54.
- [52] LOBACZ A, KOWALIK J, ZULEWSKA J. Determination of the survival kinetics of *Salmonella* spp. on the surface of ripened raw milk cheese during storage at different temperatures [J]. Int J Food Sci Technol, 2020, 55(2): 610–618.
- [53] YANG SY, YOON KS. Quantitative microbial risk assessment of *Listeria monocytogenes* and enterohemorrhagic *Escherichia coli* in yogurt [J]. Foods, 2022, 11(7): 971.
- [54] SZCZAWIŃSKI J, SZCZAWIŃSKA ME, LOBACZ A, *et al.* Modeling the effect of temperature on survival rate of *Salmonella enteritidis* in yogurt [J]. Pol J Vet Sci, 2014, 17(3): 479–485.
- [55] BEDNARKO-MŁYNARCZYK E, SZTEYN J, BIAŁOBRZEWSKI I, *et al.* Modeling the kinetics of survival of *Staphylococcus aureus* in regional yogurt from goat's milk [J]. Pol J Vet Sci, 2015, 18 (1): 39–45.
- [56] 于艳艳, 丁甜, 刘东红. 基于不同样本容量构建原料乳中金黄色葡萄球菌的预测生长模型[J]. 中国食品学报, 2016, 16(5): 155–160.
- YU YY, DING T, LIU DH. Establishment and verification of predictive models for *Staphylococcus aureus* in raw milk at different sample capacity [J]. J Chin Inst Food Sci Technol, 2016, 16(5): 155–160.
- [57] 牛洪梅, 戚成, 王翔, 等. 奶粉中阪崎克罗诺杆菌生长与失活建模的研究进展[J]. 食品科学, 2019, 40(9): 325–331.
- NIU HM, QI C, WANG X, *et al.* Progress in growth and inactivation modelling of *Cronobacter sakazakii* in powdered formula [J]. Food Sci, 2019, 40(9): 325–331.
- [58] 刘珊珊. 李斯特菌生长预测模型的研究进展[J]. 天津农学院学报, 2018, 25(3): 92–95.
- LIU SN. Research progress in predictive models for *Listeria* growth [J]. J Tianjin Agric Univ, 2018, 25(3): 92–95.
- [59] 谢爱蓉, 洪程基, 李毅, 等. 温州市售奶粉微生物污染状况调查[J]. 中国卫生检验杂志, 2016, 26(20): 3013–3015.
- XIE AIR, HONG CJ, LI Y, *et al.* Surveillance of microbial contamination in milk powder in Wenzhou [J]. Chin J Health Lab Technol, 2016, 26(20): 3013–3015.
- [60] WHITWORTH J. Company, governments investigate contaminated infant formula powder [EB/OL]. [2018-08-22]. <https://www.foodsafetynews.com/2018/08/company-governments-investigate-contaminated-infant-formula-powder/> [2021-12-28].
- [61] 顾春华, 刘煜, 王建军, 等. 奶酪的营养价值及奶酪中生物活性肽的研究进展[J]. 食品安全导刊, 2021, (20): 186–189.
- GU CH, LIU Y, WANG JJ, *et al.* Research on nutritional value of cheese and bioactive peptides in cheese [J]. Chin Food Saf Magaz, 2021, (20): 186–189.
- [62] ZURAW L. Research finds recalled Chobani yogurt contained fungal pathogen [EB/OL]. [2014-07-8] <https://www.foodsafetynews.com/2014/07/chobani-yogurt-contained-fungal-pathogen/> [2021-12-28].
- [63] BEACH C. Dairy recalls yogurt because of likely connection to *E. coli* outbreak [EB/OL]. [2021-05-15] <https://www.foodsafetynews.com/2021/05/dairy-recalls-yogurt-because-of-likely-connection-to-outbreak/> [2021-12-28].

(责任编辑: 郑丽于梦娇)

作者简介



祁岩, 博士, 主要研究方向为乳品安全。

E-mail: adele0422@126.com



游春苹, 博士, 正高级工程师, 主要研究方向为乳品安全、益生菌等。

E-mail: youchunping@brightdairy.com