基于荟萃分析的乳及乳制品中假单胞菌属的生长动力学研究

江春铃[1]，祁 兵[1]，朱华剑[2]，马颖清[1]，陈柔含[1]，杨晓君[1]，邓 波[1*]

1 上海市农产品质量安全中心，上海 201708
2 上海理工大学，上海 200093

摘 要：假单胞菌属是生乳中最常见的嗜冷菌属之一，为探讨影响假单胞菌属动力学参数的主要因素，本研究以定量整合微生物动力学参数并量化菌株变异性的方法开展荟萃分析。通过统计750 余条假单胞菌属在不同条件下的生长参数，并基于平方根模型预测其最低生长温度（T_{min}），结果表明，假单胞菌属整体T_{min}为–4.06 ℃，其中菌株1248和E52在培养基中的T_{min}分别为–5.38 ℃和–6.36 ℃。在低温环境下，UHT牛乳中高初始接菌量（Y_0）显著缩短了迟滞期（λ），使微生物即使在较低温度下也能更快进入对数生长期。在温度（T）、pH值、水分活度（Aw）和NaCl浓度的共同作用下，最大比生长速率（μ_{max}）分布范围为0.04 ~ 1.63 h^{-1}。此外，NaCl浓度（1.0% ~ 7.5%）对假单胞菌属的生长具有显著抑制作用。本研究可为乳及乳制品生产过程中的安全性、生产优化和质量控制提供重要参考依据。

关键词：假单胞菌属；荟萃分析；生长；失活；建模

文章编号：1671–4393（2025）06–0119–08 DOI:10.12377/1671–4393.25.06.20

0 引言

乳及乳制品营养丰富，是一种天然培养基，受微生物污染的乳制品若储存和运输不当，尤其温度控制不当容易促进微生物生长，影响后续加工品质量[1]。此外，在乳制品的加工过程中，通过调节温度和时间达到杀死菌体目的是最常用的灭菌

基金项目：上海市奶业优势特色产业集群科研类项目–都市奶业质量安全关键技术研究与集成应用（沪农委2024–74号）

作者简介：江春铃（1998–），女，江苏无锡人，硕士，助理畜牧师，研究方向为食用农产品微生物检测；
祁 兵（1982–），男，江苏宿迁人，硕士，助理兽医师，研究方向为农产品质量安全预测预警和风险评估；
朱华剑（1998–），男，江苏南通人，硕士，助理畜牧师，研究方向为食源性致病菌控制；
马颖清（1984–），女，江苏射阳人，硕士，畜牧师，研究方向为农产品质量安全和品质；
陈柔含（1996–），女，浙江天台人，硕士，助理畜牧师，研究方向为农产品质量安全及品质评价；
杨晓君（1989–），男，上海人，本科，畜牧师，研究方向为农产品质量安全风险评估和营养品质评价。
*通信作者：邓 波（1982–），男，湖北汉川人，硕士，高级兽医师，研究方向为农产品质量安全预测预警和风险评估。

中国乳业线上阅读

手段之一[2]。预测微生物学通常使用动力学模型，预测食品从生产加工到流通销售过程中假单胞菌属的菌落总数，得到如：迟滞期（λ）、最大比生长速率（μ_{max}）、最大种群数（Y_{max}）、D值[某热力致死温度条件下微生物的初始活菌数（或孢子数）减少90%所需的时间]和z值（灭菌时间减少至原来的1/10所需升高的温度）等，可表征菌体生长及热抗性的模型参数[3]。然而，关于影响微生物动力学的因素，不同研究间的结论往往不一致。

已有研究选用的不同菌株（单一或混合菌株）、培养基质（培养基或真实食品基质）和模型各异，单一研究所得预测结果未必适用其他类似场景[4]。因此，在特定条件下，各因素对微生物动力学影响的定量信息通常不充分，若能够通过科学方法筛选出真实有效的目标研究，以获取微生物动力学相关参数进行全局分析，有助于全面了解微生物的生长和失活特性。荟萃分析近年来被广泛应用于食品微生物学领域，以定量整合关于特定问题或关键模型动力学参数的个体研究结果[5]。荟萃分析可对目标参数进行全面估计并量化其变异性，找到影响目标参数的主要因素。荟萃分析的大致过程：（1）系统回顾。（2）选择适当的纳入和排除标准进行文章筛选。（3）数据提取，初步整理研究的定性或定量信息。（4）结合初步研究估计总体效应量。（5）评估研究之间的异质性。（6）荟萃分析结果展示。

本研究旨在选取完善且可用于提取已发表研究数据的数据库，搜索筛选后将符合要求的研究纳入最终结果，提取动力学模型参数。根据全球范围内的研究结果评估乳及乳制品中假单胞菌属的生长和失活特性，围绕不同因素如温度（T）、pH值、水分活度（Activity Water，Aw）、NaCl浓度、气体成分，乳及乳制品中常规添加剂等，分别探讨单因素、两因素和多因素作用下假单胞菌属的生长和失活参数规律，为乳及乳制品质量安全控制和生产工艺优化提供参考。

1 材料与方法

1.1 文献检索

基于PRISMA（Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-Analyses guidelines），选择乳及乳制品中报道假单胞菌属生长和失活动力学研究进行全面文献检索，包括中国知网（CNKI）（1915—2024年）和Web of Science（1950—2024年）两个电子数据库。同时，参考整理ComBase数据库（https：//www.combase.cc/）和Microbial Responses Viewer数据库（http：//mrviewer.info）相关信息。检索式如下：

TS=（milk） AND TS=（Pseudomonas） AND TS=（growth kinetics OR growth dynamic OR heat inactivation OR thermal inactivation）

SU=（'奶'+'乳'）*（'假单胞菌属'）*（'生长'+'失活'）

1.2 文献纳入与剔除标准

纳入标准：（1）研究内容为乳及乳制品中假单胞菌属的生长和失活动力学。（2）存在可提取定量数据的研究。

排除标准：（1）非乳及乳制品或非假单胞菌属的文献。（2）数据不完整、信息不全和内容重复。（3）会议性或综述性文献。（4）数据不可用或不完整。（5）Y_{max}、μ_{max}、λ、D值和z值不作为失活程度的指标的文献。（6）无模型拟合的文献。

对符合纳入标准的文献，详细记录每篇文献的基本信息[6]，包括发表年份、食品基质、菌株编号、温度、pH值、Aw、初始菌落数（Y_0）、Y_{max}、μ_{max}、λ、D值和z值等，文献未提供数据以“Not Available（NA）”，即“不可得到的、无法利用的”表示。所有数据按照荟萃分析的要求由两名试验员整理表格，建立数据库并核对数据，核对不一致的地方则通过讨论达成一致。

中国乳业线上阅读

1.3 单因素数据处理

将收集的假单胞菌属生长和失活动力学参数整理至不同食品基质类型下的分组，探究不同乳及乳制品中假单胞菌属的生长和失活规律以及温度对其参数的影响。筛选单因素条件时，由于同种乳及乳制品的体系和营养结构差异较小，pH值和Aw较稳定，因此过滤去除非T、pH值和Aw的其他因素，对数据进行归类。具体将单一温度（pH值和Aw均为NA）与生长参数分别为自变量和因变量；或将pH值或Aw作为分类变量，令除T外的pH值或Aw保持一致，并结合食品基质作为独立的分类名称。

此外，以培养基为对照组，将所有基质合并作为乳源整体情况考虑，再次探究乳源中假单胞菌属的生长和失活规律，以反映乳及乳制品中大致的平均水平。由于数据库中没有提供关于“牛奶”更加详细的信息，因此“牛奶”的数据暂不归于任何一种乳源基质，区别于原料乳或巴氏杀菌乳等，单独作为一类食品基质，暂时可作为液态乳的总体情况参考。

1.4 两因素数据处理

使用GraphPad Prism软件（9.5.0版本）对收集的Y_{max}进行线性回归，对μ_{max}、λ和D值分别进行二级平方根和z模型拟合，建立其与温度的关系。在MRV及ComBase数据库的补充数据中，纯培养基分组下，仅μ_{max}和T的数据较完整，满足探究两者关系的建模要求，故在建立μ_{max}和T的二级模型时以纯培养基作为对照组作图，以反映在实验室纯培养与实际乳及乳制品中假单胞菌属生长的不同规律。分析所用二级参考模型公式如下：

Ratkowsky平方根模型：

$$\mu_{max}=[a(T-T_{min})]^2 \quad (1)$$

$$\lambda=1/[b(T-T_{min,})]^2 \quad (2)$$

式中：μ_{max}为微生物实际条件下的最大比生长速率（h^{-1}）；T_{min}、$T_{min,}$为微生物生长理论最低温度[7]（℃）；a和b为平方根模型系数。

线性回归模型：

$$Y_{max}=a+bT \quad (3)$$

式中：Y_{max}为微生物可达到的最大菌落综述对数值（log CFU/g）；a和b为T的线性模型系数。

z模型：

$$logD=logD_{ref}-(T-T_{ref})/z \quad (4)$$

式中：D为温度T下微生物的D值；D_{ref}为参考温度T_{ref}下微生物的参考D值；z为z值。

对于两因素共同作用下的失活参数分析，采用Origin 2021绘制3D colormap散点图，从图中散点位置和数值可直观对比D值的大小，以及相应两因素的范围。选择两因素时，以确定T为其中因素之一为前提，在其他因素中选择一项作为与T平行的因素，其余因素无论是否为NA，保持一致即可作为一个独立的分类名称，即两因素数据中的分类变量。例如假单胞菌属中分别以“T和pH值”“T和CO_2”及“T和压力”为散点图的两因素，再以CO_2%作为分类变量对“T和pH值”两因素组别的数据进行分类。

1.5 多因素数据处理

为探究不同分类变量下，多因素对假单胞菌属生长参数的共同影响，使用Origin 2021绘制μ_{max}、λ和Y_{max}的三元等高线相图（简称“三元图”，是一种重心图），3 个变量总和为恒定值，右侧热力条由红到蓝代表μ_{max}由大到小的变化。在等边三角形坐标系中，图1中某点的位置代表3 个变量间的比例关系，即为判断变量影响大小的依据。具体分别绘制三元图内由目标点为顶角的多个等边三角形，可得平行于外围三边的短平行线作为辅助线。如以图1的μ_{max1}为例，由目标O点向底边作两条平行线建立3 个小正三角形，将底边分成三段，中间段aa’、bb’和cc’对应顶部组占比，根据归一化后数值确定图中Aw占比约37.5%，pH值占比约40%，以及T占比约22.5%。详细解释：以pH值对应边BC为例，aa’为pH值影响参数μ_{max1}的占比40%，Cb=Oa’=aa’；Ba=Oc’=cc’，即37.5%的Aw占比；同理Ac=Ob‘=bb’，即22.5%的T占比。

中国乳业编辑部

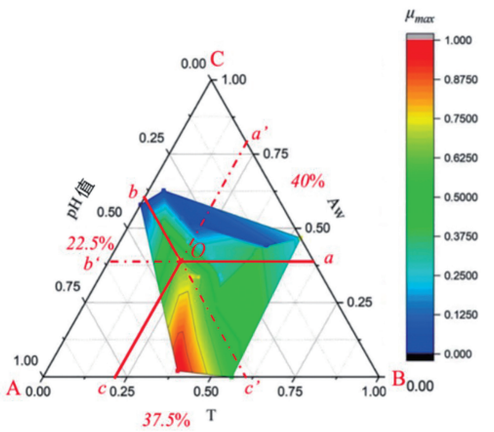


图 1 三元图示例

2 结果与分析

2.1 文献纳入与信息提取

根据数据文献的检索方法和纳入、排除标准，得到符合要求[8]的中文文献2 篇，英文文献尚在统计中，假单胞菌属荟萃分析的文献筛选流程如图2所示。

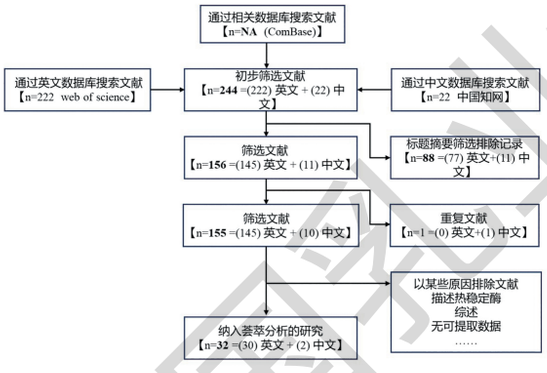


图 2 假单胞菌属荟萃分析的文献筛选流程

筛选出的文献研究报道了1950—2024年世界范围内以乳及乳制品为基质，不同温度影响下假单胞菌属的生长和失活参数。乳及乳制品涉及标准培养基、液态乳、乳酪等基质，假单胞菌属包括荧光假单胞菌、铜绿假单胞菌、耐冷假单胞菌等。

此外，如图3所示，从MRV数据库共统计750 余条假单胞菌属在不同温度、pH值、Aw、NaCl浓度下的生长参数（初始菌落数、最大菌落数、最大比生长速率）。

2.2 单因素影响下微生物动力学参数

采用Ratkowsky平方根模型（公式1）拟合 μ_{max} 与T的关系，建立两者间关系，得到T_{min}(即菌体生长的理论最低温度)，便于工厂参考T_{min}以调整储运及加工中的温度。假单胞菌属总体在培养基中预测得到T_{min}为−4.06 ℃。由图4可知，拟合线上方的数据点

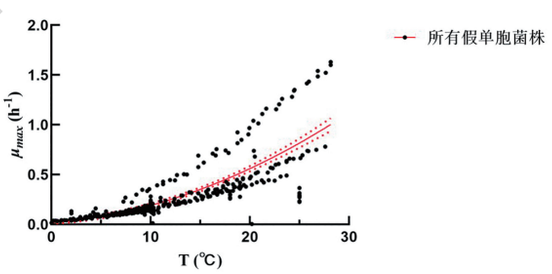


图 4 培养基中假单胞菌属 μ_{max} 与 T 的二级模型拟合图

序号	基质	温度（℃）	pH值	Aw	备注	初始菌落数Yo（log CFU/mL）	最大菌落数Ymax（log CFU/mL）	最大比生长速率μmax（1/h）	数据来源
1	牛奶	25.0	6.5	0.997		6.18	9.76	0.230	MRV
2	牛奶	25.0	6.5	0.997		3.39	9.72	0.334	MRV
3	培养基	25.0	5.0	0.993		4.53	9.42	0.226	MRV
4	培养基	11.3	4.6	0.986	NaCl:2%	3.74	8.21	0.077	MRV
5	培养基	11.3	5.0	0.986	NaCl:2.5%	3.73	6.85	0.150	MRV
6	培养基	14.4	4.6	0.986	NaCl:2.5%	3.42	8.53	0.242	MRV
7	培养基	19.6	4.5	0.986	NaCl:2.5%	3.64	8.51	0.408	MRV
8	培养基	19.6	4.5	0.974	NaCl:4.5%	3.47	8.11	0.064	MRV
9	培养基	0.0	5.5	0.995	NaCl:1%	3.10	8.71	0.018	MRV
10	培养基	0.0	5.8	0.995	NaCl:1%	3.10	8.41	0.049	MRV
⋮									
750	培养基	14.4	7.2	0.954	NaCl:7.5%	3.47	6.17	0.027	MRV
751	培养基	19.6	7.2	0.954	NaCl:7.5%	3.29	7.37	0.061	MRV
752	培养基	18.0	8.2	0.997		2.00	9.00	0.336	MRV
753	培养基	18.0	8.4	0.997		2.00	9.00	0.309	MRV
754	培养基	18.0	8.6	0.997		2.00	9.00	0.259	MRV

图 3 MRV 数据库已收集的假单胞菌属参数图

中国乳业线上阅读

呈现明显趋势，风险较高。针对这些拟合线上方菌株的数据点进行单独拟合分析。

拟合线上方数据的菌株主要来源于澳大利亚食品安全卓越中心，分别为1248和E52。基于平方根模型的评价参数R^2分别为0.997 6和0.990 5，拟合度较高。研究预测假单胞菌属中1248和E52在培养基中的最低生长温度分别为−5.38 ℃和−6.36 ℃，低于整体水平（图5），表明这两株假单胞菌具有较强的低温适应性，在低温环境中存在更高的生长风险，需在食品安全控制中重点关注。

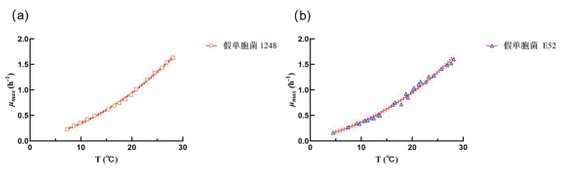


图 5 培养基中假单胞菌（a）1248 和（b）E52 μmax 与 T 的二级模型拟合图

λ 与T的关系采用Ratkowsky平方根模型（公式2）进行拟合。由图6可知，在UHT牛乳中，同一温度下荧光假单胞菌的 λ 数据点存在较大差异，导致模型拟合效果不佳，需进一步考虑其他影响因素。

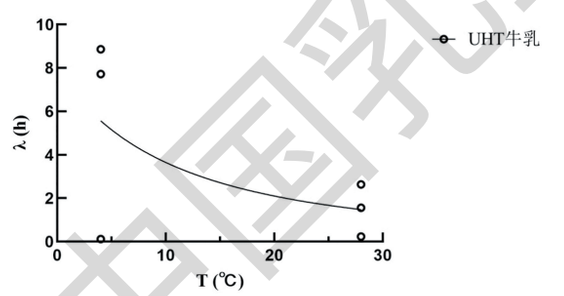


图 6 UHT 牛乳中荧光假单胞菌 λ 与 T 的二级模型拟合图

2.3 两因素影响下微生物动力学参数

3D散点图描述UHT牛乳中T和初始接菌量（Y_0，log CFU/mL）两因素对荧光假单胞菌 μmax 的影响（图7）。结果表明，当Y_0较低（< 4 log CFU/mL）时，T对 λ 的影响更显著；而在4 ℃时，高Y_0（> 5 log CFU/mL）对 λ 的影响大于低Y_0。低温条件下，高Y_0能够显著缩短 λ，使微生物即使在较低温度下也能更快进入对数生长期。

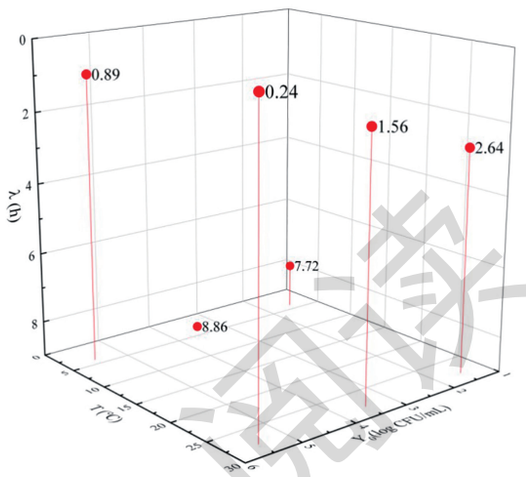


图 7 UHT 牛乳中荧光假单胞菌在 T 和 Y0 作用下 λ 的 3D 散点图

2.4 多因素影响下微生物动力学参数

采用三元图描述培养基中不同的3个因素对假单胞菌属 μ_{max}、Y_{max}的影响，并设置不同分类变量，具体信息见表1。

表 1 假单胞菌属多因素参数及分类变量信息

编号	参数名称	因素	分类变量
a	μ_{max1}	T、Aw、pH 值	无
b	μ_{max2}	T、Aw、pH 值	NaCl 浓度
c	μ_{max3}	T、Aw、NaCl 浓度	pH 值
d	μ_{max4}	T、pH、NaCl 浓度	Aw
e	Y_{max1}	T、Aw、pH 值	无
f	Y_{max2}	T、Aw、pH 值	NaCl 浓度
g	Y_{max3}	T、Aw、NaCl 浓度	pH 值
h	Y_{max4}	T、pH、NaCl 浓度	Aw

采用三元图描述培养基中T、pH值和Aw3 个因素对假单胞菌 μ_{max}的影响，无分类变量。如图8（a）~（c）所示，从等高线的热力轮廓可见，随温度升高，μ_{max}整体呈上升趋势（0.04 ~ 1.63 h^{-1}）。最大 μ_{max}值为1.63 h^{-1}，出现于三元图中心位置，来自温度28.15 ℃、pH值7.2、Aw0.997组别，可视为培养基条件下较适宜的生长条件。这可能归因于假单胞菌属最适生长温度25 ~ 30 ℃。如图8（d）所示，由于NaCl的存在，μ_{max}整体呈较低水平。与

中国乳业线上阅读

μ_{max}中得到的最适生长条件下参数（温度28.15 ℃、pH值7.2、Aw0.997）相比，相近条件下μ_{max}范围在1.104～1.125 h^{-1}，说明NaCl浓度变化会降低假单胞菌属生长速率。这可能归因于两点：第一，NaCl的加入降低了培养基Aw，导致水分可用性下降，从而抑制细菌的正常生长；第二，高浓度的钠离子引起了高渗透压环境，导致细胞质失水，进一步引发质壁分离，细胞内稳态被破坏，进而抑制了生长速率甚至使其停止。。

在不同NaCl浓度（1.0%、7.5%）下，考虑T、pH值和Aw对Y_{max}的影响，可以观察到Y_{max}的范围相对较大。这表明NaCl浓度的变化对假单胞菌的生长

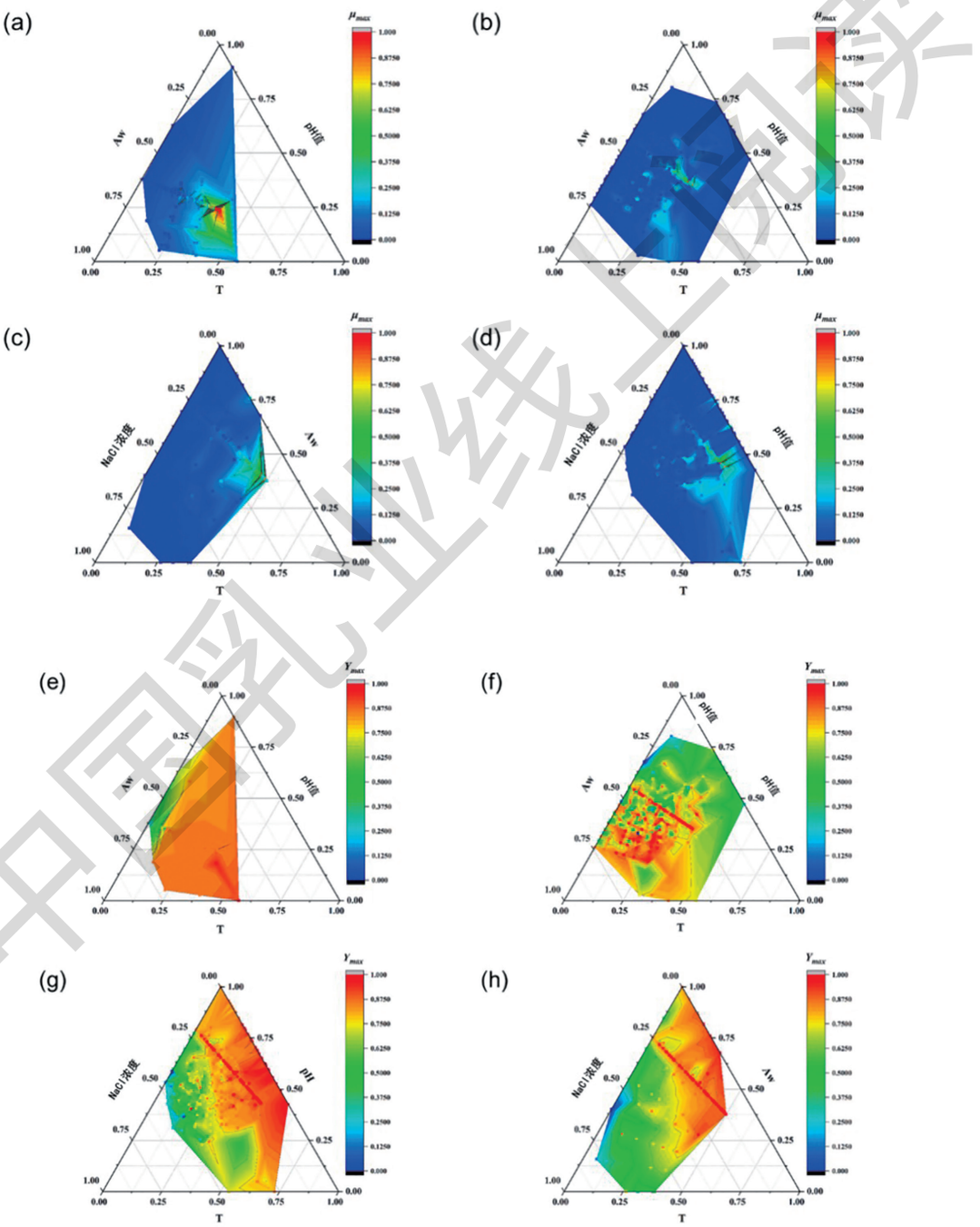


图 8 培养基中假单胞菌属 μ_{max}（a，b，c，d）、Y_{max}（e，f，g，h）的三元图

中国乳业线上阅读

量有显著影响。然而，从图8（e）~（h）中的散点整体位置来看，T是主要影响因素。一般情况下，假单胞菌属菌落总数多集中于8~9 log CFU/mL范围内[10]，这也验证了温度对假单胞菌生长的显著促进作用。

具体而言，在较高温度条件下，假单胞菌的代谢活性增强，其细胞分裂和菌落扩展的速度显著加快，最终菌落总数也较高。然而，当NaCl浓度增加时，高渗透压环境抑制了菌体细胞的增殖能力，导致Y_{max}值有所下降。此外，不同的pH值条件也对菌体的生长量产生了影响，过高或过低的pH值均可能对菌体的酶活性和膜通透性造成不利影响，从而间接抑制了细菌的生长。

3 讨论

本研究的荟萃分析从多个数据库中收集大量个体研究的动力学参数并进行系统性分析，全面估计工厂关注的核心生长和失活参数，以及这些参数的主要影响因素。

根据目前已收集的文献，得出如下结论：（1）假单胞菌属在乳源基质中的T_{min}为−4.06 ℃，因此，若要控制其生长，建议UHT乳储运温度≤−5 ℃，并监控初始菌量（Y_0≤3 log CFU/mL）。（2）在T、pH值和Aw的共同作用下，T对假单胞菌属生长的影响最大。（3）NaCl浓度是除T外显著影响菌体生长的另一关键因素，低浓度NaCl可有效抑制其生长。因此，部分乳制品（如奶酪）可考虑通过加入NaCl延长货架期。

在研究过程中，笔者发现菌株间差异较大，导致模型的拟合效果不佳。此外，收集的关于乳及乳制品的文献中数据点较少，相关研究相对匮乏，这些问题都为模型的构建和验证带来挑战。

为深入研究乳及乳制品基质中微生物的生长规律，本研究将继续收集Web of Science数据库中相关文献，建立乳及乳制品基质中微生物生长预测模型，并与其在培养基中的生长预测进行对比分析。此外，还将构建微生物在乳及乳制品基质中的失活模型。在现有研究基础上，进一步开展单因素、两因素及多因素的综合分析，更全面理解微生物的生长和失活规律。

参考文献

[1] 张凯文.烟台市食品生产企业加工环节的安全问题及对策研究[D].烟台：烟台大学，2024.

[2] 赵瑾德，张淑丽，贺凯茹，等.灭菌乳中枯草芽孢杆菌危害与控制研究进展[J].乳业科学与技术，2024，47（4）：59–65.

[3] 周彬静.基于高光谱信息的猪肉荧光假单胞菌和热杀索丝菌的生长模型构建研究[D].南京：南京农业大学，2022.

[4] 全美淋，李飞，刘金燕，等.抗体技术在食源性致病菌快速检测中的研究进展[J].生物工程学报，2024，40（11）：3985–4005.

[5] 姜肇旭.沙门氏菌基因组分型及对秀丽隐杆线虫致病性研究[D].济南：齐鲁工业大学，2024.

[6] 方太松，王军，王晔茹，等.我国熟肉制品中金黄色葡萄球菌污染状况Meta分析[J].生物加工过程，2020，18（3）：386–391.

[7] 宋星霖.冷链猪肉环境信息检测及货架期预测研究[D].杭州：浙江大学，2015.

[8] 张莉.NICU早产儿医院感染相关危险因素的Meta分析[D].杭州：浙江大学，2017.

[9] 郭全友，朱彦祺，姜朝军，等.环境因子对轻腌大黄鱼中溶藻弧菌生长/非生长界面的影响[J].农业工程学报，2018，34（3）：292–299.

[10] 杜兵耀.生乳中微生物风险关键点分析及假单胞菌特征研究[D].兰州：兰州大学，2022.

Study on the Growth Kinetics of *Pseudomonas* spp. cryophilic bacteria in Raw Milk Based on Meta-analysis

JIANG Chunling[1]，QI Bing[1]，ZHU Huajian[2]，MA Yingqing[1]，CHEN Rouhan[1]，YANG Xiaojun[1]，DENG Bo[1*]

中国乳业线上阅读

[1]Shanghai Agricultural Products Quality and Safety Center，Shanghai 201708
[2]University of Shanghai for Science and Technology，Shanghai 200093

Abstract：*Pseudomonas* spp. is one of the most common genera of cryophilic bacteria in raw milk，and in order to explore the main factors affecting the kinetic parameters of *Pseudomonas* spp.，this study carried out a meta-analysis by quantitatively integrating the kinetic parameters of microorganisms and quantifying the variability of the strains. By statistically analyzing the growth parameters of more than 750 *Pseudomonas* spp. under different conditions and predicting their minimum growth temperatures（Tmin）based on the square root model，the results showed that the overall Tmin value of Pseudomonas spp. was -4.06 ℃，with the Tmin of strains 1248 and E52 in the culture medium being -5.38 ℃ and -6.36 ℃，respectively.In a low-temperature environment，the high initial inoculum size（Y_0，log CFU/mL）in UHT milk significantly shortened the growth retardation period，allowing the microorganisms to enter the logarithmic growth period（λ）more quickly even at lower temperatures.The distribution of maximum specific growth rate（μmax）under the combined effect of temperature，pH value，activity water（Aw）and NaCl concentration ranged from 0.04 h^{-1} to 1.63 h^{-1}.In addition，NaCl concentration（1.0% to 7.5%）had a significant inhibitory effect on the growth of *Pseudomonas* spp..This study provided important reference basis for the safety，production optimisation and quality control during the production of milk and dairy products.

Keywords：*Pseudomonas* spp.；meta-analysis；growth；inactivation；modelling

▲上接118页

Inner Mongolia Mengniu Dairy（Group）Co.，Ltd.，Hohhot Inner Mongolia 010000

Abstract：Cottonseed，as a high-quality protein source，has the advantages of wide availability，rich nutrition and low price，and its application in China's livestock and poultry production is becoming more and more widespread. However，if cottonseed（meal）is not used properly in the diet，it is easy to cause gossypol poisoning in animals. For dairy cows，the migration of gossypol into milk not only involves the metabolism of gossypol by ruminants but also the quality and safety of dairy products，thus it should be given due attention.Based on this，the paper conducted a safety assessment of gossypol residues in raw milk by adding cottonseed to the diet on raw milk. The amount of free gossypol ingested by the human body through drinking milk was 0.002 3 mg/kg·d，which is far below the limit value of 0.086 mg/kg·d for free gossypol intake through vegetable oil in the GB 2716-2018 National Food Safety Standard for Vegetable Oils.

Keywords：cottonseed；free gossypol；risk assessment

中国乳业线上阅读