

文章编号: 1004 - 7271(2008)02 - 0222 - 05

冷藏瓶装蟹糊微生物学品质安全特征研究

马超^{1,2}, 许钟², 杨宪时²

(1. 上海水产大学食品学院, 上海 200090;
2. 中国水产科学研究院东海水产研究所, 上海 200090)

摘要:对标称保质期内瓶装蟹糊感官、理化、微生物学品质安全及残存细菌菌群进行定性和定量研究, 结果表明产品感官品质良好; 水分含量(65.48 ± 0.99)%、盐分含量(8.26 ± 3.15)%、水分活度(A_w)(0.90 ± 0.03)、pH(8.18 ± 0.38)、T-VBN(48.02 ± 19.61) mg/100g; 菌落总数(5.60 ± 0.81) lgCFU/g, 大肠菌群 < 30 MPN/100g, 金黄色葡萄球菌未检出, 沙门氏菌未检出。分离获得 320 株细菌, 细菌菌群主要有葡萄球菌(29.1%)、玫瑰色库克菌(27.2%)、棒状杆菌(25.6%)、并检出少量的马红球菌(1.9%)。产品 pH 值、T-VBN 值、菌落总数较高的原因和残存细菌的潜在致病性危害有待进一步研究。

关键词:蟹糊; 冷藏; 细菌菌群; 潜在危害

中图分类号: S 984.2 文献标识码: A

Studies on microbiological quality and safety characteristics of bottled crab paste in cold storage

MA Chao^{1,2}, XU Zhong², YANG Xian-shi²

(1. Food Science College of Shanghai Fisheries University, Shanghai 200090, China;
2. East China Sea Fisheries Research Institute, Chinese Academy of Fishery Sciences, Shanghai 200090, China)

Abstract: Sensory, chemical, microbiological quality, safety and survival bacteria flora were qualitatively and quantitatively carried out on bottled crab paste. Results indicated that sensory quality was acceptable as a retail product; and its moisture salt concentration A_w pH T-VBN were (65.48 ± 0.99)%, (8.26 ± 3.15)%, (0.90 ± 0.03), (8.18 ± 0.38), (48.02 ± 19.61) mg/100 g, respectively. Microbiological indices showed that total viable counts (TVC) was (5.60 ± 0.81) lgCFU/g and coliform flora was less than 30 MPN/100 g, except that latent pathogens of *Salmonella* and *Staphylococcus aureus* were not detected. 320 strains of bacteria were isolated from products, in which predominant bacterial flora were composed of *Staphylococcus* spp. (29.1%), *Kocuria rose.* (27.2%), *Corynebacterium* spp. (25.6%). A few percentage of *Rhodococcus equi* (1.9%) were also found. The cause about high value of pH T-VBN TVC and the latent disease hazards of survival bacteria flora should be further surveyed.

Key words: crab paste; cold storage; bacterial flora; latent hazard

蟹糊是一种传统的腌制生食水产制品, 具有生产设备和加工过程简单, 能够充分保持原料本来的鲜

收稿日期: 2007-06-10

基金项目: 中央级公益性科研院所基本科研业务费专项(2007M05)

作者简介: 马超(1980-), 男, 山东潍坊人, 硕士研究生, 专业方向为水产品微生物学安全。

通讯作者: 杨宪时, Tel: 021 - 65678984, E-mail: xianshiyang@126.com

美风味和丰富营养,容易消化吸收,耗能少等诸多优点,是江浙沿海地区特色水产食品,居民食用非常普遍。但蟹糊加工工艺存在技术参数模糊和不尽合理的部分,难以确保产品的微生物学安全性和质量,影响了自身的发展。国内徐景野等对瓶装蟹糊加工经营卫生学曾做过分析^[1],但对其微生物学品质安全特征和细菌相的研究未见报道。本文对保质期内蟹糊产品的感官、理化和微生物学品质进行分析评价,着重分析产品的微生物生态和动态,对残存细菌进行分离鉴定,并作定性和定量分析,旨在评价加工过程中温度、时间、水分活度(A_w)、盐分含量等栅栏因子对产品品质与安全的影响,为进一步改进加工工艺流程和技术参数提供科学数据。

1 材料与方法

1.1 实验样品

在上海市场选购 4 种名优品牌的蟹糊产品,各 1 批 4 瓶(表 1),带回实验室后 5 °C 贮藏,在标称保质期内对样品进行分析。

表 1 实验样品情况
Tab. 1 Source of ready-to-eat crab paste

样品号	生产企业	标称生产日期	标称保质期 ($\leq 10^\circ\text{C}$ 贮藏) (d)	标称内容物 质量 (g)	实验贮藏 温度 ($^\circ\text{C}$)	分析日期
1	上海 A 公司	2007-01-14	120	280	5	2007-03-22
2	上海 B 公司	2006-12-01	120	200	5	2007-03-23
3	上海 C 公司	2007-03-16	180	350	5	2007-03-24
4	宁波 A 公司	2007-04-11	120	320	5	2007-04-15

1.2 样品处理

将 2 瓶蟹糊倒于灭菌容器内,用灭菌药匙搅拌均匀,取出部分作感官评价,其余定量取样用于细菌菌落总数、大肠菌群、金黄色葡萄球菌、沙门氏菌、T-VBN, pH, A_w , 水分含量、盐分含量分析。各项指标平行测定 2 次,每次平行测定 2 个数据,取平均值。

1.3 感官质量评价

由本实验室 6 名经过训练的评价员组成感官评价小组,评价样品的外观、色泽、气味、风味和口感。采用 3 点标度法,“2.0”表示产品初期,为最好品质;“2.0 ~ 1.0”表示高品质期,产品没有明显变化;“0.5”表示产品品质出现明显变化,作为商品不良,即货架期终点;“0”表示感官拒绝,产品不可以食用。

1.4 水分含量测定

常压, $(103 \pm 2)^\circ\text{C}$ 加热干燥法^[2]。

1.5 pH 值测定

称取 10.0 g 切碎样,加蒸馏水 100 mL,浸泡 30 min,过滤后取滤液,用酸度计(上海伟业 PHS-3C 型)测定。

1.6 水分活度测定

康威氏皿微量扩散法^[3]。

1.7 NaCl 含量测定

按照 GB/T5009.44 - 2003^[4],采用炭化浸出法测定。

1.8 T-VBN 值测定

按照 GB/T5009.44 - 2003^[4],采用半微量定氮法测定。

1.9 菌落总数测定

称取样品 10 g,加入 90 mL 无菌生理盐水,混均后制成 10^{-1} 混悬液,并依次十倍稀释。取 $10^{-1} \sim 10^{-3}$

梯度的稀释液 0.1 mL,涂布于培养基表面。每个梯度稀释液涂布 2 个平皿,(25 ± 1) °C 培养 48 h。

1.10 大肠菌群测定

按照 GB/T 4789.3-2003^[5]测定。

1.11 潜在病原菌检测

根据 GB/T4789-2003^[5]进行测定,若出现疑似菌株通过微生物菌落形态学、细胞形态学、生理生化特征参照《常见细菌系统鉴定手册》^[6]、结合英国 Sensitire Automated Microbiology System 微生物鉴定和药敏分析仪进行鉴定和分析。

1.11.1 金黄色葡萄球菌检测

样品 10 g 以无菌操作制成 10^{-1} 混悬液,吸取 5 mL 10^{-1} 混悬液接种于 50 mL 的 7.5% 氯化钠肉汤培养基内,(36 ± 1) °C 培养 24 h。接种血平板、Baird-Parker 平板,(36 ± 1) °C 培养 24 h。对可疑菌落分离纯化培养,革兰氏染色镜检并鉴定。

1.11.2 沙门氏菌检测

以无菌操作取样品 20 g 加入灭菌生理盐水 20 mL,做成检样匀液;取 10 mL,接种于 40 mL 氯化镁孔雀绿增菌液内,于 42 °C 培养 24 h;另取 10 mL 接种于 40 mL 亚硒酸盐胱氨酸增菌液内,于(36 ± 1) °C 培养 24 h。分别接种亚硫酸铋琼脂平板(36 ± 1) °C 培养 48 h、DHL 琼脂平板(36 ± 1) °C 培养 24 h。对可疑菌落分离纯化培养,革兰氏染色镜检并鉴定。

1.12 菌相分析

1.12.1 菌株分离纯化

挑选菌落总数合适的平板,对整个平板或一定区域内的所有菌落(通常 30~150 个菌落),依据菌落形态特征分组^[7],每组挑取所有菌落或若干菌落(至少 2~3 个菌落),(36 ± 1) °C 培养 24~48 h,重复纯化培养 2~3 代。

1.12.2 菌株鉴定

参照《常见细菌系统鉴定手册》^[6]、海产鱼类细菌鉴定图^[8],综合菌落形态学、细胞形态学、生理生化等特征进行鉴定;生理生化等特征采用传统方法与 Sensitire 细菌鉴定系统(TREK Diagnostic Systems LTD,英国)结合进行鉴定。若同组出现相异鉴定结果,则对本组再次进行分组、分离和鉴定。

2 结果与讨论

2.1 蟹糊制品感官和理化品质特性

2.1.1 感官和理化品质指标

由表 2 可见,4 种蟹糊样品感官评价均属良好。样品 1、2 气味不是很新鲜,汤汁较稀,其中样品 2 口味偏甜。样品 3、4 气味新鲜,糊状均匀。样品水分含量 64.33%~66.66%,差别较小。盐分含量 5.58%~12.71%,差别较大,样品 2 属于低盐产品,样品 1、3、4 属于中盐产品,其中样品 3 盐分含量 10% 以上,口味偏咸。高盐可以抑制细菌的生长,但是近年来消费者更倾向于口味偏淡的低盐产品,本次实验样品盐分含量平均值 8% 左右,是企业综合了产品质量安全和消费倾向所得出的结果。T-VBN 含量 25.11~68.22 mg/100 g,差别较大,并且均超出了现有国家标准^[9]。样品 1、2 T-VBN 分别为 59.79 mg/100 g 和 68.22 mg/100 g,这与样品 1、2 气味不是很新鲜,汤汁较稀相吻合。样品 3、4 的分析时间距离生产时间较近,T-VBN 值较低,与样品 3、4 气味新鲜,糊状均匀相符。pH 值(8.18 ± 0.38),相对较高,其产生原因有待进一步研究探讨。

2.1.2 水分活度特性指标

由表 2 可见,本实验 4 种蟹糊样品的 A_w 在 0.86~0.94 之间,差别较大。不同微生物都有其最低生长水分活度(A_{w_s}),一般革兰氏阴性杆菌的 A_{w_s} 大于 0.95,大多数球菌、乳杆菌的 A_{w_s} 在 0.90~0.95 之

间,金黄色葡萄球菌的 A_w 在 0.86 左右^[10]。细菌生长繁殖和化学反应利用的水分主要是自由水,这就为生产水分含量较高又可以保质的蟹糊提供了理论依据。控制好蟹糊产品的水分活度可以在一定程度上抑制微生物的生长速度,因此产品可贮性和卫生安全性的栅栏之一是合理控制 A_w 。样品 1、4 A_w 控制得较好;样品 2 A_w 偏高,可以通过添加食盐、白砂糖,以及原料蟹冲洗后充分沥干等栅栏因子来控制,以降低其 A_w ;样品 3 A_w 为 0.86,是由较高的盐分含量和较低的水分含量引起的,可以较好地抑制细菌的生长,但是口味偏咸,对产品的风味有所影响。

表 2 蟹糊制品感官、化学品质
Tab.2 Sensory, chemical quality of crab paste

样品号	感官评分	水分含量 (%)	NaCl (%)	A_w	pH	T-VBN (mg/100 g)
1	1.51 ± 0.05	65.81 ± 0.11	6.61 ± 0.23	0.91 ± 0.01	7.63 ± 0.02	59.79 ± 0.07
2	1.37 ± 0.03	66.66 ± 0.19	5.58 ± 0.01	0.94 ± 0.01	8.38 ± 0.03	68.22 ± 0.13
3	1.68 ± 0.07	64.33 ± 0.34	12.71 ± 0.04	0.86 ± 0.01	8.46 ± 0.01	38.95 ± 0.01
4	1.83 ± 0.01	65.10 ± 0.21	8.13 ± 0.06	0.90 ± 0.01	8.24 ± 0.02	25.11 ± 0.05
平均值 ± 标准偏差	1.60 ± 0.20	65.48 ± 0.99	8.26 ± 3.15	0.90 ± 0.03	8.18 ± 0.38	48.02 ± 19.61

2.2 蟹糊制品微生物学品质特征

由表 3 可见,本实验 4 种样品的菌落总数分别为 9.5×10^5 CFU/g, 3.4×10^6 CFU/g, 1.35×10^5 CFU/g, 5.6×10^4 CFU/g, 而国家标准中菌落总数指标为 $\leq 5\ 000$ CFU/g^[9], 样品菌落总数均超标。样品 1、2 超标严重,与分析时间距离生产时间较长有关。大肠菌群 < 30 MPN/100 g,金黄色葡萄球菌未检出,沙门氏菌未检出,均符合国家标准的要求^[9]。虽然未检出金黄色葡萄球菌,但是 Baird-Parker 平板上有菌落生长,经鉴定是表皮葡萄球菌,而非金黄色葡萄球菌。

表 3 蟹糊制品微生物学品质
Tab.3 Microbiological quality of crab paste

样品	菌落总数 (lgCFU/g)	大肠菌群 (MPN/100 g)	金黄色葡萄球菌 (CFU/g)	沙门氏菌 (CFU/g)
1	5.98 ± 0.09	<30	未检出	未检出
2	6.53 ± 0.17	<30	未检出	未检出
3	5.13 ± 0.06	<30	未检出	未检出
4	4.75 ± 0.02	<30	未检出	未检出
平均值 ± 标准偏差	5.60 ± 0.81	<30	未检出	未检出

菌落总数偏高是蟹糊产品普遍存在的问题,也是急需解决的问题。俄罗斯和伊朗生产的鱼子酱产品也主要存在菌落总数偏高的问题^[11]。通过对蟹糊生产企业的实地考察发现,一是原料不很新鲜;二是加工过程温度控制不够严格。整个加工过程的物料温度应控制在 $0 \sim 5$ °C,各加工工序的时间应控制在合理范围内,各环节紧密衔接,将整个加工过程尽量缩短。上述两个要点带有普遍意义,目前被企业和研究者忽略。蟹糊是未经热加工的直接入口食品,尤其有必要采用 HACCP 管理对原料和加工过程进行危害分析,实行关键控制点控制,合理设置栅栏因子、强度和作用次序^[12],以切实起到降低初始菌数和抑菌杀菌的效果,从而降低蟹糊的菌落总数,增加产品的安全性。

2.3 细菌菌群定性和定量组成

4 种样品的细菌菌群定性和定量综合分析结果见表 4,优势菌是葡萄球菌 (*Staphylococcus* spp.) (29.1%)、玫瑰色库克菌 (*Kocuria rose*) (27.2%)、棒状杆菌 (*Corynebacterium* spp.) (25.6%),并检出少量的马红球菌 (*Rhodococcus equi*) (1.9%),未鉴定菌占 16.3%。本实验样品的盐分含量 5.58% ~ 12.71%,平均值 (8.26 ± 3.15)%,葡萄球菌是耐盐性球菌^[13],这种程度的盐分含量不足以抑制其生长。葡萄球菌广泛存在于我们的生存环境中^[14],接触物料的环境因子越多,样品的初始菌数就会越高,因此应该严格控制原料和加工过程的卫生条件。玫瑰色库克菌^[14]为革兰氏阳性好氧菌,分解酪蛋白的能力很强,

一般情况下是非致病菌,但是对免疫能力较低的病人却是一种机会病原体。玫瑰色库克菌在海参中曾经发现^[14],是原料本身原有细菌,由于蟹糊加工过程简单,没有热加工灭菌处理,所以玫瑰色库克菌含量较高。由此可见,使用新鲜原料来加工蟹糊产品显得至关重要,应设置为关键控制点。棒状杆菌也是原料本身原有细菌^[14],耐碱耐冷,这与样品 pH 值(平均 8.18)较高,而其仍可以生长相一致。棒状杆菌对胶原蛋白有一定的分解能力,一般是条件致病菌,引起人类疾病的主要是白喉棒状杆菌,本实验样品中是否存在致病性棒状杆菌,有待进一步研究探讨。马红球菌被认为是人类机会致病菌,易感染免疫缺陷人群,常存在于土壤中,以在马粪中的数量较高^[15]。梭子蟹生长环境受此菌污染,从而引起原料携带,表明使用新鲜(鲜活)原料以及控制加工过程是蟹糊产业的重中之重。表 4 可见,未检出金黄色葡萄球菌,沙门氏菌,综合表 3、表 4 的结果可知,致病菌金黄色葡萄球菌、沙门氏菌很少残存。

表 4 蟹糊细菌菌群定性和定量组成
Tab. 4 Composition of bacterial flora on crab paste

组别	细菌	样品 1		样品 2		样品 3		样品 4		综合分析	
		菌株	%	菌株	%	菌株	%	菌株	%	菌株	%
1	马红球菌	-	-	-	-	5	3.7	1	1.8	6	1.9
2	葡萄球菌	52	54.7	16	47.1	21	15.6	4	7.1	93	29.1
3	玫瑰色库克菌	3	3.2	1	2.9	71	52.6	12	21.4	87	27.2
4	棒状杆菌	22	23.2	11	32.4	18	13.3	31	55.4	82	25.6
	未鉴定	18	18.9	6	17.6	20	14.8	8	14.3	52	16.3
	合计	95	100	34	100	135	100	56	100	320	100

注: - 表示未检出

3 结论

对标保质期 4 种代表性品牌冷藏瓶装蟹糊产品的品质特征及细菌菌群分析结果表明,此类产品感官品质良好、产品水分含量(65.48 ± 0.99)%、盐分含量(8.26 ± 3.15)%、 $A_w(0.90 \pm 0.03)$,属于高水分、中等盐分产品。T-VBN(48.02 ± 19.61)、pH(8.18 ± 0.38),偏高,菌落总数为(5.60 ± 0.8) lgCFU/g,超出国家标准,需要作进一步研究。大肠菌群 < 30 MPN/100 g,沙门氏菌未检出,金黄色葡萄球菌未检出,符合国家标准,但是仍需要对病原菌包括条件致病菌作进一步的研究。根据研究结果,笔者认为生产者应该严把原料质量关,进一步改善控制加工过程的温度和时间,切实加强生产环境、加工器具和从业人员的卫生管理,实行 HACCP 体系管理来规范生产,使整个行业实现产品感官、营养性、可贮性和安全性的统一。

参考文献:

- [1] 徐景野,秦品章,陈晓红,等. 瓶装蟹糊腌泥螺加工经营卫生学研究[J]. 中国食品卫生杂志,1999,11(1):34.
- [2] 大连轻工业学院,华南理工大学. 食品分析[M]. 北京:中国轻工业出版社,1994.
- [3] 黄伟坤,唐英昌,黄焕昌,等. 食品检验与分析[M]. 北京:中国轻工业出版社,2000:14-17.
- [4] 中华人民共和国卫生部. 食品卫生检验方法理化部分[S]. 北京:中国标准出版社,2003.
- [5] 中华人民共和国卫生部. 食品卫生检验方法微生物部分[S]. 北京:中国标准出版社,2003.
- [6] 东秀珠,蔡妙英. 常见细菌系统鉴定手册[M]. 北京:科学出版社,2001.
- [7] 郭全友,许 钟,杨宪时. 冷藏养殖大黄鱼品质变化特征及细菌相分析[J]. 上海水产大学学报,2006,15(2):216-221.
- [8] 須田三千三,鴻巢章二. 水産食品学[M]. 東京:恒星社厚生閣,1987:241-242.
- [9] 中华人民共和国卫生部. 腌制生食动物性水产品卫生标准[S]. 北京:中国标准出版社,2005.
- [10] 阚建全. 食品化学[M]. 北京:中国农业大学出版社,2002:30-31.
- [11] Altuga G, Bayrak Y. Microbiological analysis of caviar from Russia and Iran[J]. Food Microbiology, 2003, 20:83-86.
- [12] Leistner L. Further developments in the utilization of hurdle technology for food preservation[J]. J Food Engineering. 1994, 22(4):421-432.
- [13] 矢野信禮,小林登史夫,藤川浩. 食品への予測微生物学の適用[M]. 東京:サイエンスフホーラム株式会社,2001:100-104.
- [14] 向怡卉,苏秀榕,董明敏,等. 海参细菌的分离鉴定和生长特性研究[J]. 中国食品学报,2006,6(1):25-29.
- [15] 胡越凯. 马红球菌感染的研究进展[J]. 国外医学(微生物学分册),2003,26(2):15-17.