

文章编号: 1674-5566(2010)03-0415-06

软烤扇贝原料处理过程中的细菌学研究

陈舒^{1,2}, 许钟², 郭全友², 杨宪时²

(1. 中国水产科学研究院东海水产研究所, 上海 200090;

2. 上海海洋大学食品学院, 上海 201306)

摘要: 对软烤扇贝原料不同热处理的细菌特性和有关化学特性进行了研究, 并对细菌类别和菌相进行了定性和定量分析。结果表明, 鲜活扇贝经过蒸汽加热 4 min、6 min 和 8 min 后, 扇贝原料样品的 pH 值无明显差异, 均为 6.58 左右, 水分含量依次降低 1%, 菌落总数均为 10^3 cfu/g 耐热菌数均为 10^2 cfu/g 并呈依次降低的趋势, 大肠菌群均未检出。不同热处理原料样品的细菌种类均为耐热的革兰氏阳性杆菌和球菌, 菌相比较单一, 主要包括芽孢杆菌、葡萄球菌、微球菌和少量棒状杆菌。市售和企业处理样品水分含量分别为 77.67% 和 76.80%, pH 偏高, 接近中性, 市售样品菌落总数偏高, 为 10^6 cfu/g 耐热菌数为 10^3 cfu/g 企业处理样品菌落总数接近 10^4 cfu/g 耐热菌数为 10^2 cfu/g 市售和企业处理样品均检出大肠菌群, 表明加热不足, 处理过程不良, 有待改进。

关键词: 扇贝; 热处理; 冷却; 细菌群; 球菌

中图分类号: S 985.3 **文献标识码:** A

Bacteriology of lightly baked scallop in material treatment process

CHEN Shu^{1,2}, XU Zhong², GUO Quanyou², YANG Xian-shi²

(1. East China Sea Fisheries Research Institute Chinese Academy of Fishery Sciences Shanghai 200090, China;

2. College of Food Science Shanghai Ocean University, Shanghai 201306, China)

Abstract: Bacteria and chemical characteristics of lightly baked scallop during different material treatment process were studied. Bacteria species and colonies were qualitatively and quantitatively analyzed. The results indicated that the values of pH in samples steamed for 4min, 6min and 8min were about 6.58 and not significantly different. The water content of samples descended 1% in turn. Total viable counts(TVC) of samples were 10^3 cfu/g. The heat-resistant bacteria counts were 10^2 cfu/g and presented reduction tendency in turn. Coliforms were not detected. The bacteria species of samples that underwent different heat treatments were gram-positive coccus and bacillus. The bacterial flora were much simplex, mainly including *Bacillus* spp., *Staphylococcus* spp., *Micrococcus* spp. and *Corynebacterium* spp. The water contents in samples on sale and treated by plant were 77.67%, 76.80% respectively. The values of pH in samples on sale and treated by plant were about 7.0 and higher than samples treated by lab. TVC in samples on sale was 10^6 cfu/g and the heat-resistant bacteria counts was 10^3 cfu/g. TVC in samples treated by plant was about 10^4 cfu/g.

收稿日期: 2009-08-06

基金项目: 中央级公益性科研院所基本科研业务费专项资金(中国水产科学研究院东海水产研究所)资助项目(2007M05)

作者简介: 陈舒(1985-), 女, 硕士研究生, 专业方向为水产品微生物学安全。E-mail: suechen423@163.com

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

and the heat-resistant bacteria counts was 10^2 cfu/g. Coliforms were detected in samples on sale and treated by plant. The results revealed that heat treatment was not enough and treatment process was not under good control. Those needed to be improved.

Key words: scallop; heat treatment; cooling; bacteria colonies; coccus

扇贝含有丰富的蛋白质、维生素和微量元素等营养成分,并且含多种生物活性物质^[1],是国际上公认的高档水产品。传统的扇贝制品以冷冻品和干制品为主,缺少技术含量和经济价值高的产品。干制品能在常温下贮藏流通,但其质地粗硬,不能很好地体现扇贝原有的鲜美风味,考虑到消费者趋向口味柔软鲜美和营养成分容易消化的消费需求,高水分的即食制品逐渐受到重视。

软烤扇贝是一类新开发的具有高价值的温和加工贝类制品,其工艺技术建立在“栅栏效应”理论之上,通过加工工艺和配方,设置了多次热加工处理、控制水分活度、调节 pH 值、高真空包装等多个保质栅栏因子,保证产品水分含量 $\geq 42\%$,水分活度为 0.91 ± 0.01 ,在 25°C 以下能贮藏达 6 个月^[2-3]。该类制品是经过温和热处理,不经过加热烹调直接食用的高风险食品,对其质量安全控制指标要求严格。然而实际生产的产品初始细菌总数和 pH 值时常出现不符合企业标准要求,也达不到标称的保质期,而且变败产品可能伴随有病原菌的增殖,存在一定的潜在危害^[4-5]。

为了保证软烤扇贝产品质量和安全食用,本文研究了扇贝原料不同处理过程中细菌数量和种类的变化,旨在为实际生产进一步完善工艺条件提供依据,并为评估此类产品的品质和贮藏安全性,完善产品标准打下基础。

1 材料与方法

1.1 样品制备和采集

1.1.1 鲜活扇贝样品

2008 年 6 月,从上海市铜川水产市场购鲜活虾夷扇贝,先用自来水刷洗去除扇贝表面附着物,然后用 75% 酒精棉球将扇贝外壳反复擦拭消毒,再用灭菌小刀将壳剖开,取出软体部分,用无菌剪刀剪去鳃、胃袋、肠腺和性腺。鲜活扇贝样品用于测定水分含量、pH 值、细菌总数、耐热菌数和大肠菌群。实验平行进行 3 次。

1.1.2 不同热处理扇贝原料样品

2008 年 1—2 月,从上海市铜川水产市场购鲜活虾夷扇贝 15 kg 用 3 倍自来水清洗 3 次,至水略清;倒入盆中浸泡 2~3 h 以利于除去扇贝裙边表面黑褐色膜;将扇贝分为 3 组,待锅中水沸腾后,将扇贝摆放在蒸篦上,盖上锅盖,待锅边蒸汽满后,分别计时 4、6 和 8 min;将蒸开壳的扇贝取出,去壳取肉;将扇贝肉放入塑料筐中,边用自来水冲洗冷却边来回推筐,再用 3 倍自来水漂洗 2 次至水较清,沥水;摘去鳃、胃袋、肠腺和性腺;用 3 倍自来水清洗 2~3 次至水清,沥水。根据热处理时间的不同样品编号分别为蒸-4、蒸-6、蒸-8 用于测定水分含量、pH 值、细菌总数、耐热菌数和大肠菌群,另外对菌落总数进行细菌分类和细菌菌相鉴定。实验平行进行 3 次。

1.1.3 企业处理扇贝原料样品

2008 年 7 月,从山东省荣成宏业水产食品有限公司生产现场取样。鲜活栉孔扇贝经过浸泡、清洗、沸煮、筛壳、拣壳、鼓泡清洗、推筐清洗、冷却、摘去内脏和鳃后,用无菌镊子取扇贝肉样品 150 g 放入无菌取样瓶中,带回公司实验室。清洗和沥水过程同 1.1.2。用于测定水分含量、pH 值、细菌总数、耐热菌数和大肠菌群。实验平行进行 3 次。

1.1.4 市售原料样品

2007 年 9 月,从上海市铜川水产市场购冻煮栉孔扇贝肉,处理过程不详。流水解冻,沥水;摘去内脏、鳃、清洗和沥水过程同 1.1.2。用于测定水分含量、pH 值、细菌总数、耐热菌数和大肠菌群(样本数 $N=3$)。

1.2 水分含量测定

常压 (103 ± 2) $^\circ\text{C}$ 加热干燥法^[6],数据平行测定 2 次。

1.3 pH 值测定

取 10.0 g 剪碎样品,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。数据平行测定 2 次。

1.4 菌落总数测定

称取打碎样品 25.0 g 加入 225 mL 0.1% 蛋白胨无菌生理盐水,置均质器中均质后制成质量分数为 0.1 的混悬液,并依次 10 倍稀释。取 3 个浓度合适的稀释液 0.1 mL 涂布于营养琼脂培养基表面,每个稀释液涂布 2 个平皿。(36±1)°C 培养 48 h 计数菌落总数。

1.5 耐热菌数测定^[7]

取 1.4 中混悬液 10 mL 于试管中,在 85°C 水浴中保温 15 min,在冰水混合物中冷却 1 h 后,依次 10 倍稀释。取 3 个浓度合适的稀释液 0.1 mL 涂布于营养琼脂培养基表面,每个稀释液涂布 2 个平皿。(36±1)°C 培养 48 h 计数菌落总数。

1.6 大肠菌群测定

按照 GB/T 4789.3—2003^[8]测定。

1.7 细菌分类和菌群鉴定

1.7.1 细菌分类

从 1.4 中混悬液试管挑取菌液一环,在洁净的载玻片上做一均匀涂片,革兰氏染色后,镜检,每个样品观察 5 个视野。油镜观察呈蓝紫色、球状的为球菌。呈蓝紫色、杆状的为革兰氏阳性杆菌。呈红色、杆状的为革兰氏阴性杆菌;呈蓝紫色、杆状、中间有透明芽孢的为芽孢杆菌。

1.7.2 菌群鉴定

挑选 1.4 菌落总数测定合适的平板(菌落数 30~100),对整个平板的所有菌落,根据菌落形态分组,每组挑取所有菌落或若干菌落(至少 2~3 个菌落),在琼脂培养基平板划线分离,37°C 纯化培养 24~48 h,重复划线分离、纯化培养 2~3 次。参照《常见细菌系统鉴定手册》^[9]、海产鱼类细菌鉴定图^[10],根据菌落形态、细胞形态和生理生化特征,结合英国 Sensitire Automated Microbiology System 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、鉴定。

2 结果与讨论

2.1 扇贝原料处理过程的温度—时间履历

扇贝原料样品处理流程:鲜活扇贝→清洗→浸泡→蒸开壳→去壳→清洗冷却→去内脏、鳃→清洗→沥水,用红外线测温仪(宝安康电子有限公司 TN-400L 型)对处理过程各工序的物料温度进行测定,蒸—6 样品的温度—时间履历见图 1。由图 1 可见,整个处理过程中,热处理前物料温度较低,热处理 6 min 物料温度达到较高的 79°C,能杀死大部分细菌,随后物料迅速冷却到 20°C 以下,又能延缓细菌的生长、繁殖。整个处理过程的环境温度为 12°C,处理用水温度为 9°C。

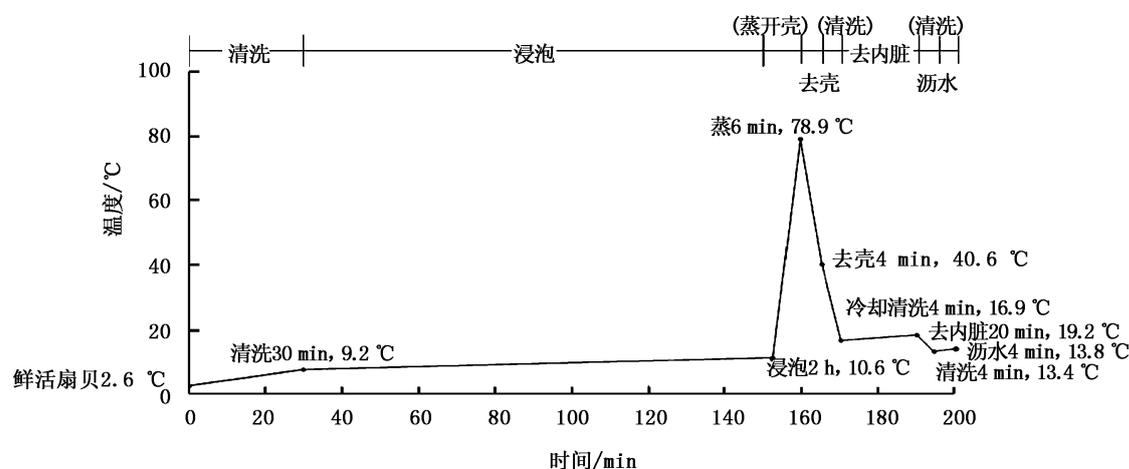


图 1 扇贝原料处理过程的温度—时间履历图

Fig 1 Time-temperature history of material undergoing one heat treatment

2.2 不同热处理方法处理扇贝原料的理化和细菌特性

不同热处理扇贝样品的理化、细菌特性见表1。由表1可见,经过不同热处理的蒸-4、蒸-6、蒸-8样品水分含量依次降低1%。企业样品水分含量为76.80%,市售样品水分含量高达77.67%,表明热处理强度不够。蒸-4、蒸-6、蒸-8样品pH值无明显差异,均为6.58左右。企业样品和市售样品pH偏高,接近中性,其原因有待进一步调查分析。

不同热处理蒸-4、蒸-6、蒸-8样品,菌落总数均为 10^3 cfu/g并随着汽蒸时间的加长呈逐渐下降趋势。企业样品菌落总数稍高,接近 10^4 cfu/g,但市售样品的菌落总数为 10^6 cfu/g比实验室处理样品高很多。陈忘名等^[11]对出口即食冻煮淡水龙虾肉加工过程的细菌总数变动情况进行了分析,经过水煮、冷却、去壳去肠腺后龙虾肉菌落总数为 10^3 cfu/g。单衡明^[12]把该产品菌落总数控制指标规定为 $\leq 1.0 \times 10^4$ cfu/g。本实验处理的扇贝原料菌落总数与即食龙虾肉相近,表明处理过程是良好的。实验室不同热处理样品中,耐热菌数均为 10^2 cfu/g也随着汽蒸时间的加长呈逐渐下降趋势,耐热菌数占菌落总数的比例较高,表明热杀菌效果比较明显。企业样品耐热菌数也为 10^2 cfu/g市售样品的耐热菌数为 10^3 cfu/g但耐热菌数占菌落总数的比例较低,表明加热不足,杀菌效果较差。

实验室处理样品中均未检出大肠菌群,而企

业样品中检出了大肠菌群,这也表明热处理强度不够,所以残留有非耐热革兰氏阴性杆菌的大肠菌群,但菌落总数和耐热菌数不高,表明没有受到沸煮后处理过程的污染。通过考察企业原料处理过程,发现扇贝沸煮前清洗明显不足,沸煮水不及时更换和沸煮时间不够,这些都是导致大肠菌群残留的原因。原料质量直接决定成品质量,因此,扇贝清洗和热处理方法、热处理时间需要改进。市售原料样品也检出大量大肠菌群,并且菌落总数、耐热菌数偏高,水分含量和pH都相对较高,表明热处理强度不够,残留了大量细菌,并且可能沸煮后处理过程温度一时间控制不良,耐热细菌增殖较快,或处理过程中受到了污染,具体原因有待进一步跟踪调查。

Baer等^[13]对冷冻面包贝类制品的微生物质量进行了分析,发现冷冻煮熟面包扇贝产品的菌落总数为 1.7×10^3 cfu/g大肠菌群MPN几何平均值为2。Mohamed Hatha等^[14]报道在印度3个水产品加工厂中采集的冷冻即食煮熟剥壳带尾虾样品菌落总数为 $1.0 \times 10^2 \sim 6.4 \times 10^4$ cfu/g 2.9%的样品检出含有大肠菌群。Grimur等^[15]报道冰岛即食煮熟剥壳虾中93.6%样品菌落总数 $<10^4$ cfu/g 70.2%的样品大肠菌群MPN值 <1 。本实验处理的扇贝原料菌落总数和大肠菌群与即食制品相近,表明处理过程微生物质量是良好的。比较表1的数据可见,汽蒸6 min为较佳原料处理方法。

表1 不同热处理扇贝样品的理化、细菌特性

Tab. 1 Chemical microbiological quality characteristics of material undergoing different treatments

样品	水分含量 (%)	pH	菌落总数 (cfu/g)	耐热菌数 (cfu/g)	大肠菌群 MPN值
鲜活扇贝	78.39±1.15	6.44±0.03	$(7.60 \pm 0.60) \times 10^5$	$(1.50 \pm 0.50) \times 10^3$	24
蒸-4	75.50±1.22	6.58±0.09	$(4.60 \pm 1.25) \times 10^3$	$(2.83 \pm 2.09) \times 10^2$	<0.3
蒸-6	74.25±2.36	6.58±0.05	$(2.37 \pm 0.80) \times 10^3$	$(1.70 \pm 0.30) \times 10^2$	<0.3
蒸-8	73.14±1.03	6.58±0.04	$(2.03 \pm 0.91) \times 10^3$	$(1.05 \pm 0.07) \times 10^2$	<0.3
企业	76.80±1.03	6.90±0.06	$(9.08 \pm 0.20) \times 10^3$	$(1.60 \pm 0.40) \times 10^2$	4.3
市售	77.67±0.07	7.06±0.04	$(2.20 \pm 1.30) \times 10^6$	$(1.40 \pm 0.80) \times 10^3$	240

2.3 不同处理扇贝原料细菌类别

为了进一步分析评价扇贝原料处理过程,确定较佳原料处理方法,将样品混悬液制成玻片镜检。显微镜油镜观察发现,不同热处理样品中均没有残存非耐热的革兰氏阴性无芽孢杆菌,细菌

类群由耐热性依次较强的革兰氏阳性的无芽孢杆菌、球菌和芽孢杆菌组成,结果见表2。镜检结果显示 G^+ 无芽孢杆菌所占比例较高,达到60%左右,但菌相鉴定分析耐热性最强的芽孢杆菌占主要地位(表3),这是因为镜检时芽孢杆菌的芽

孢还没有萌发。蒸-4、蒸-6、蒸-8样品中,球菌所占比例均在1/3以上,并随着热处理强度的加大有所下降,表明经过一次热处理不能完全杀

灭球菌,而软烤扇贝产品要求完全杀灭球菌,因此在加工过程中采取降低物料pH值并多次热处理工艺是必要的^[16-17]。

表2 不同热处理方法处理扇贝原料样品中细菌类别

Tab. 2 Composition of bacteria species in materials after different treatments

样品	革兰氏阴性杆菌		革兰氏阳性杆菌		球菌		芽孢杆菌		总细菌数 (个)
	细菌数(个)	比例(%)	细菌数(个)	比例(%)	细菌数(个)	比例(%)	细菌数(个)	比例(%)	
鲜活扇贝	147	79.0	20	10.8	19	10.2	0	0	186
蒸-4	0	0	58	59.8	37	38.1	2	2.1	97
蒸-6	0	0	62	62.6	35	35.4	2	2.0	99
蒸-8	0	0	64	64.0	33	33.0	3	3.0	100

注:细菌数和总细菌数为显微镜5个视野下细菌数之和。

2.4 不同处理扇贝原料细菌菌群

为了更清楚地分析评价原料处理结果,从实验室处理样品菌落总数计数平板中分离191株菌株,根据菌落形态观察分组,共分出4组主要的菌株。经分离纯化培养,作革兰氏染色后,用显微镜观察菌体形态,油镜观察均为革兰氏阳性

菌,第1、2组呈球状,第3组呈杆状,有芽孢,位于菌体近端,第4组呈杆状,无芽孢。再经过生理生化分析鉴定,鉴定出第1~4组依次为葡萄球菌(*Staphylococcus spp.*)、微球菌(*Micrococcus spp.*)、芽孢杆菌(*Bacillus spp.*)和棒状杆菌(*Corynebacterium spp.*),鉴定结果见表3。

表3 不同热处理方法处理扇贝原料样品的细菌菌群组成

Tab. 3 Composition of bacteria colonies in materials after different treatments

细菌菌群	蒸-4		蒸-6		蒸-8		合计	
	菌株	比例(%)	菌株	比例(%)	菌株	比例(%)	菌株	比例(%)
芽孢杆菌	34	59.0	45	59.7	35	60.3	114	59.7
葡萄球菌	18	31.4	23	30.5	17	29.3	58	30.4
微球菌	3	5.8	4	5.3	3	5.2	10	5.2
棒状杆菌	2	3.7	2	2.7	3	5.2	7	3.7
未鉴定	1	0.1	1	1.8	0	0.0	2	1.0
合计	58	100.0	75	100.0	58	100.0	191	100.0

从表3可见,不同热处理样品中,芽孢杆菌占主要地位,比例为60%左右;其次是葡萄球菌,比例为30%左右;并随着热处理强度的加大芽孢杆菌所占比例增加,球菌所占比例减小;耐热性比球菌小的棒状杆菌尚有少量残存。

Hollingworth等^[18]对巴氏灭菌的真空包装模拟蟹肉片进行了微生物学分析,贮藏初期产品菌落总数为 3.16×10^2 cfu/g,细菌相以葡萄球菌和微球菌为主。鵜木隆文等^[19]研究了即食油炸鱼糜制品残存的细菌,经过172℃ 81 s的油炸,制品中心温度达到70℃,又经过12 s沥油和181℃ 66 s的油炸后,制品中心温度87.1℃,油炸后产品中残存细菌为芽孢杆菌。与这些热处理水产制品的细菌菌群相比,扇贝原料经过较高温蒸汽短时间热处理,物料温度达到较高的79℃,残

存细菌主要为芽孢杆菌,球菌占1/3左右,还残存少量无芽孢杆菌中较耐热的革兰氏阳性棒状杆菌,表明这种原料处理方法达到温和热处理的理想效果,汽蒸6 min为其中最好的原料处理方法。

参考文献:

- [1] 倪学文. 扇贝综合利用的研究进展[J]. 中国食物与营养, 2006, (10): 19-21.
- [2] 杨宪时, 许钟. 高水分扇贝调味干制品保质栅栏的模式及其强度[J]. 水产学报, 2000, 24(1): 68-71.
- [3] 杨宪时, 许钟, 郭全有. 耐贮藏高水分水产调味干制品加工技术[J]. 海洋渔业, 2003, 25(4): 204-206.
- [4] 周彩华, 许钟, 郭全友, 等. 常温贮藏软烤扇贝品质及潜在病原菌分析[J]. 海洋渔业, 2006, 28(3): 222-227.
- [5] 周彩华, 许钟, 郭全友, 等. 软烤扇贝贮藏过程中的品质和细菌相变化[J]. 中国水产科学, 2007, 14(7): 103-

- 109.
- [6] 大连轻工业学院. 食品分析 [M]. 北京: 中国轻工业出版社, 1994.
- [7] 李博. GDL豆腐中的主要腐败菌的研究及 HACCP的建立 [D]. 北京: 中国农业大学, 2001: 17.
- [8] 刘宏道, 冉陆, 付萍, 等. GB/T 4789.3—2003食品卫生检验方法微生物部分 [S]. 北京: 中国标准出版社, 2003.
- [9] 东秀珠, 蔡妙英. 常见细菌系统鉴定手册 [M]. 1版. 北京: 科学出版社, 2001.
- [10] 須田三千三, 鴻巢章二. 水産食品学 [M]. 東京: 恒星社厚生閣, 1987: 111—118.
- [11] 陈忘名, 孙凤英, 吴红星. 出口冻煮熟淡水龙虾肉加工过程中微生物污染控制的研究 [J]. 食品工业科技, 1996, 2(4): 27—32.
- [12] 单衡明. 出口冻熟淡水蟹虾肉生产中细菌污染控制的探讨 [J]. 冷饮与速冻食品工业, 1996, 2(4): 14—17.
- [13] Baer E F, Duran A P, Leininger H V, et al. Microbiological Quality of Frozen Breaded Fish and Shellfish Products [J]. Applied And Environmental Microbiology, 1976, 31(3): 337—341.
- [14] Mohamed Hatha A A, Paul N, Rao B. Bacteriological quality of individually quick-frozen (IQF) raw and cooked ready-to-eat shrimp produced from farm raised black tiger shrimp (*Penaeus monodon*) [J]. Food Microbiology, 1998, 15(2): 177—183.
- [15] Grinur Valdimarsson Hjörleifur Einarsson Bina Gudbjörnsdóttir et al. Microbiological quality of Icelandic cooked—peeled shrimp (*Pandalus borealis*) [J]. International Journal of Food Microbiology, 1998, 45(2): 157—161.
- [16] 许钟, 杨宪时. 调味扇贝半干制品适宜水分含量的研究 [J]. 水产学报, 1998, 22(2): 190—192.
- [17] 杨宪时, 许钟, 郭全友. 提高扇贝制品安全水分含量的初步研究 [J]. 中国水产科学, 2003, 10(3): 258—261.
- [18] Hollingworth T A, Kaysner C A, Colbom K G, et al. Chemical and microbiological analysis of vacuum packed pasteurized flaked imitation crabmeat [J]. Journal of Food Science, 1991, 56(1): 164—167.
- [19] 鶴木隆文, 吉村浩三, 下野かおり. 魚肉ねり製品の品質保持に関する研究 [J]. 鹿児島県工業技術センター研究報告, 1998, (12): 23—28.