

酸性电解水结合超高压技术对虾仁中副溶血性弧菌 风险降低的研究

杜苏萍¹, 张昭寰¹, 娄阳¹, 肖莉莉¹, 潘迎捷^{1,2,3}, 赵勇^{1,2,3}

(1. 上海海洋大学食品学院, 上海 201306) (2. 上海水产品加工及贮藏工程技术研究中心, 上海 201306)

(3. 农业部水产品贮藏保鲜质量安全风险评估实验室, 上海 201306)

摘要: 本研究首次将酸性电解水与超高压技术相结合, 用于杀灭虾仁中的副溶血性弧菌, 并使用定量微生物风险评估模型对这项杀菌技术的风险降低能力进行了评价。结果表明, 这种新型的杀菌技术可显著地降低虾仁中副溶血性弧菌的患病风险, 与未经处理的虾仁相比, 处理后的虾仁中副溶血性弧菌的最终污染量从 1.98 Log CFU/g 降低到 -2.53 Log CFU/g, 平均患病概率从 1.28×10^{-1} 降低到 2.01×10^{-3} , 每万人中平均患病人数从 1280 人降低到 20 人, 风险降低率为 98%。敏感性分析显示, 该技术的处理压力、处理时间及制备电解水时所需的 NaCl 浓度均与患病概率呈负相关性。此外, 本研究还表明该技术可与冷链物流技术相结合, 服务于食品工业的生产链, 从而最大限度地降低副溶血性弧菌的患病风险, 为维护公共卫生提供强有力的技术支持。

关键词: 酸性电解水; 超高压; 副溶血性弧菌; 定量微生物风险评估

文章编号: 1673-9078(2016)11-146-154

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2016.11.023

Risk Reduction Assessment of Combined Acidic Electrolyzed Water and High Hydrostatic Pressure Effects on *Vibrio parahaemolyticus* in Shelled Shrimp

DU Su-ping¹, ZHANG Zhao-huan¹, LOU Yang¹, XIAO Li-li¹, PAN Ying-jie^{1,2,3}, ZHAO Yong^{1,2,3}

(1. College of Food Science and Technology, Shanghai Ocean University, Shanghai 201306, China)

(2. Shanghai Engineering Research Centre of Aquatic-Product Processing & Preservation, Shanghai 201306, China)

(3. Laboratory of Quality & Safety Risk Assessment for Aquatic Product on Storage and Preservation, Ministry of Agriculture, Shanghai 201306, China)

Abstract: Acidic electrolyzed water (AEW) was combined with high hydrostatic pressure (HHP) in this study to inactivate *Vibrio parahaemolyticus* in shelled shrimp, and the risk reduction of this technique was evaluated using a quantitative microbial risk assessment (QMRA) model. The results showed that the risk of *V. parahaemolyticus* infection could be significantly reduced using this novel sterilization technology. Compared with untreated shelled shrimp, the final contamination level of *V. parahaemolyticus* was decreased from 1.98 to -2.53 log CFU/g, and the mean infection risk was reduced from 1.28×10^{-1} to 2.01×10^{-3} after combined treatment with AEW and HHP. The average cases of *V. parahaemolyticus* infection were reduced from 1280 to 20 per 10,000 people, with a risk reduction rate of 98%. The sensitivity analysis showed that the treatment pressure, treatment time, and sodium chloride concentration required for electrolysis, all had a negative correlation with risk of *V. parahaemolyticus* infection. In addition, this study also indicated that the novel sterilization technique could be combined with cold chain logistics to be applied in the production chain of the food industry, thus minimizing the risk of *V. parahaemolyticus* infection and providing strong technical support to safeguard public health.

Key words: acidic electrolyzed water; high hydrostatic pressure; *Vibrio parahaemolyticus*; quantitative microbial risk assessment

收稿日期: 2015-11-26

基金项目: 国家自然科学基金面上项目 (31271870, 31571917); 上海市科委计划项目 (14DZ1205100, 14320502100); 上海市科技兴农重点攻关项目 (沪农科攻字 2014 第 3-5 号、2015 第 4-8 号); 上海水产品加工及贮藏工程技术研究中心 (11DZ2280300)

作者简介: 杜苏萍 (1991-), 女, 硕士研究生, 研究方向: 食品安全风险评估; 通讯作者: 赵勇 (1975-), 男, 博士, 教授, 研究方向: 食品安全学

副溶血性弧菌 (*Vibrio parahaemolyticus*, VP) 是我国最为重要的食源性致病菌, 由该菌引起的食物中毒事件数量居我国细菌性食物中毒事件的首位, 食用被该菌污染的水产品极易引起严重的急性胃肠炎和原发性败血症等疾病, 给公众健康造成了极大的安全隐患^[1]。研究表明^[2], 在食品加工过程中采取可靠的杀菌技术杀灭食品中致病菌可显著降低其风险, 因此, 研发一种新型杀菌技术对保护水产品安全, 降低副溶血性弧菌患病风险, 维护公共卫生健康具有至关重要的意义。

传统的热杀菌技术虽然能保证食品在微生物方面的安全, 但会破坏食品的营养成分, 影响其风味^[2]。非热杀菌技术则能满足消费者对食品安全与品质的双重要求^[2], 最为常见的有超高压、电解水、辐射和微波等。其中, 超高压 (High hydrostatic pressure, HHP) 技术是以高压手段使食品中微生物失活, 同时最大限度地维持食品原有味道和营养价值, 该技术已在食品工业中得到了广泛的应用, 可有效地保证食品安全与品质^[2]。而酸性电解水 (Acidic electrolyzed water, AEW) 则被视为一种环境友好型的杀菌剂, 具有低 pH 值、高氧化还原电位 (ORP) 和一定的有效氯 (ACC) 等特点, 可用于杀灭多种食源性致病微生物^[1]。研究证明, 更换超高压的液体介质是一种有效的手段提升其杀菌和保鲜作用^[2], 但尚未有研究报道将酸性电解水作为一种新的介质, 用于提升超高压的杀菌效率。

定量微生物风险评估 (Quantitative microbial risk assessment, QMRA) 是指利用现有的科学资料, 结合预测微生物学模型, 对食品中致病微生物摄入量与其对人体产生不良作用的概率关系进行数学描述的过程, 可为政府制定食品安全标准、实施食品安全监管措施提供科学的理论支持^[3,4]。近年来, 为了满足食品

工业日益现代化、规范化的需求, 国外一些研究将 QMRA 模型应用于食品工业中杀菌技术效率的评价, 通过计算杀菌技术使用后致病微生物的残存数量, 评估其对致病微生物可能导致风险的降低作用^[5]。但是, 在国内尚未有相关的研究报道。

基于以上分析, 本研究创新地将酸性电解水与超高压技术相结合, 并根据国际食品法典委员会 (Codex Alimentarius Commission, CAC) 制定的原则, 运用 QMRA 模型, 计算这种杀菌技术对虾仁中副溶血性弧菌的风险降低作用。本研究试图构建一种全新的杀菌技术, 以服务于食品工业, 为降低致病微生物的患病风险, 维护公共卫生提供强有力的技术支持。

1 材料与方法

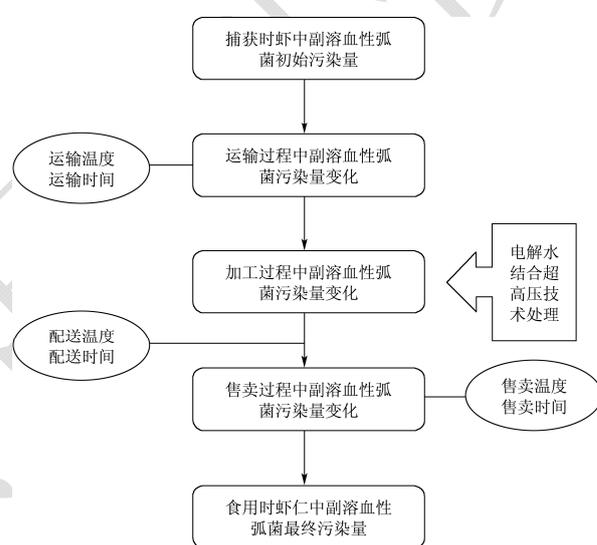


图 1 虾仁中副溶血性弧菌的定量微生物风险评估流程图

Fig.1 Flow chart of the quantitative microbial risk assessment of the initial *Vibrio parahaemolyticus* level in shelled shrimp

表 1 虾仁中副溶血性弧菌风险评估模型的参数设置

Table 1 Parameter settings of risk assessment models for *Vibrio parahaemolyticus* in shelled shrimp

阶段	变量	定义	值/公式/分布	单位	资料出处
	P_p	副溶血性弧菌阳性检出率	Beta (103, 784)	%	
	$1-P_p$	副溶血性弧菌的未检出率	1-Beta (103, 784)	%	
捕获	L_p	阳性样品的污染水平	Cumulative (0.48, 2.04, {0.48, 0.87, 1.18, 1.71, 2.38, 2.66, 2.87, 2.98, 3.02}), {0.08, 0.15, 0.35, 0.57, 0.68, 0.72, 0.89, 0.94, 0.97})	Log CFU/g	唐晓阳 ^[6] , 2013
	L_n	阴性样品的污染水平	Cumulative (-2.32, 0.48, {-2.32, -0.92, 0.48}), {0.01, 0.50, 0.99})	Log CFU/g	
	C_0	水产品中副溶血性弧菌初始污染量	Discrete ($L_p; L_n; P_p; (1-P_p)$)	Log CFU/g	
运输	T_l	运输温度	Uniform (18, 20)	°C	管羲等 ^[7] , 2015

转下页

接上页				
	t_1	运输时间	Pert (4, 6, 12)	h 何新龙等 ^[8] , 2006
	C_1	副溶血性弧菌生长	$C_0+Eq(5)$	Log CFU/g Wang et al. ^[1] , 2014
	X_1	制备电解水所用的 NaCl 浓度	Pert (1.0, 1.5, 2.0)	g/L 本研究
	X_2	处理压力	Pert (200, 300, 400)	MPa 本研究
	X_3	处理时间	Pert (5, 10, 15)	min 本研究
加工	R	电解水结合超高压技术可降低虾仁中副溶血性弧菌的数量	Eq(10)	Log CFU/g 本研究
	C_r	电解水结合超高压技术处理后虾仁中副溶血性弧菌的变化	$C_r+Eq(10)$	Log CFU/g 本研究
配送	t_2	配送时间	Pert (6, 36, 60)	h 汪雯 ^[9] , 2013 姬华等 ^[10] , 2013
	C_2	副溶血性弧菌在低温条件下的失活模型	$C_r+Eq(6)$	Log CFU/g Wang et al. ^[1] , 2014 本研究
售卖	t_3	销售时间	Pert (1, 24, 48)	h 汪雯 ^[9] , 2013 姬华等 ^[10] , 2013
	C_3	副溶血性弧菌在低温条件下的失活模型	$C_2+Eq(6)$	Log CFU/g Wang et al. ^[1] , 2014 本研究
消费	P_r	水产品中致病性副溶血性弧菌菌株的比例	Beta (2, 100)	% WHO/FAO ^[4] , 2011
	Q_y	上海市居民每天虾类水产品的消费量	Normal (10.85, 43.74, RiskTruncate (0, 200))	g 本研究
	C_f	上海市居民每年摄入虾中副溶血性弧菌的量	$C_3^*10 \times Q_y \times P_r \times 365$	CFU
	P_{ill}	居民每年食用虾仁可能患病概率	$1-(1+C_3(27 \times (1.31 \times 10^{-6})))^{(-0.6)}$	

本研究采用 QMRA 模型, 评估酸性电解水结合超高压技术对虾仁中副溶血性弧菌患病风险的降低作用, 通过模拟虾仁中副溶血性弧菌从虾塘采收、活虾运输、生产加工(酸性电解水结合超高压技术的应用)、配送、售卖到消费环节的变化情况, 运用美国 Palisade 公司的@Risk 5.5 软件, 采用蒙特卡洛模拟方法, 对酸性电解水结合超高压技术使用前后虾仁中副溶血性弧菌可能导致的患病风险进行分析, 以评估这种技术的杀菌效率。整个虾仁产业链的模拟流程如图 1 所示, 风险评估所用的各个模型与参数均列于表 1。

1.1 虾中副溶血性弧菌的初始污染情况

虾中副溶血性弧菌初始污染量是 QMRA 模型的初始输入值。为了使 QMRA 模型更可靠和合理, 本研究选取唐晓阳^[6]所构建的 QMRA 模型中关于 2008~2010 年上海市市售水产品中副溶血性弧菌污染监测结果, 作为虾类水产品中副溶血性弧菌初始污染量模拟的原始数据。该研究共采集 855 份水产品样品进行副溶血性弧菌定量检测, 共有 753 份样品未检出副溶血性弧菌, 占 88.07%, 102 份样品呈现阳性, 检出率为 11.93%。

采用 beta 分布进行描述, 其中阳性样品 (L_p) 和

阴性样品 (L_n) 中副溶血性弧菌的污染水平均采用 Cumulative 函数进行描述。由于虾仁中的阴性样品检出量未定, 本研究选用 Jarvis 计算实际污染水平公式来估计阴性样品中的未检出浓度^[11]。公式如下:

$$D = -(2.303/V) \times \lg(Z/E) \quad (1)$$

式中: D 表示未检出样品中的真实浓度, Log CFU/g; V 表示检测时所用样品质量, 25 g; Z 表示阴性样品的数目, 753 件; E 为检测样品的总数目, 855 件。将其计算值假设为阴性样品中副溶血性弧菌菌量的平均值, 并用反向偏斜累积概率分布描述阴性样品中副溶血性弧菌的浓度。

捕获后虾类水产品中副溶血性弧菌的污染情况应用 Discrete 函数进行描述, 详细参数设置见表 1。

1.2 虾中副溶血性弧菌生长与死亡动力学模型

1.2.1 虾中副溶血性弧菌生长动力学模型

虾中副溶血性弧菌的污染水平与各环节的温度及暴露时间密切相关。目前有关副溶血性弧菌生长或死亡预测模型被广泛研究。其中, Wang 等^[1]对灭菌虾中副溶血性弧菌的生长与死亡情况建立了预测模型。该研究发现副溶血性弧菌在 15~30 °C 范围内可以生长,

在 4~7 °C 范围内发生死亡, 所建立的预测模型可较好的预测虾仁中副溶血性弧菌的数量变化。Wang 等^[3]建立的副溶血性弧菌预测模型中, 生长模型为修正的 Gompertz 模型, 如方程(2)所示:

$$N_t = N_0 + A \exp \left\{ - \exp \left[\frac{\mu_m e (\lambda - t)}{A} + 1 \right] \right\} \quad (2)$$

式中, t 为时间, h; N_t 为 t 时的细菌浓度, Log CFU/g; N_0 为细菌初始浓度, Log CFU/g; μ_m 为细菌最大比生长速率, Log CFU/g/h; A 为曲线渐进值; λ 为迟滞时间, h; e 为常数值 2.718。

$$N_t = N_0 + A \exp \left\{ - \exp \left[\frac{0.04455 \times (T - 1.31673)^2 \times 2.718 \times (-14.64131 + \frac{683.19733}{T} - \frac{5049.14057}{T^2} - t)}{A} + 1 \right] \right\} \quad (5)$$

式中, t 为时间, h; N_t 为 t 时的细菌浓度, Log CFU/g; N_0 为细菌初始浓度, Log CFU/g; A 为曲线渐进值。以此公式计算 15~30 °C 条件下副溶血性弧菌在虾仁中的生长变化情况。

1.2.2 虾中副溶血性弧菌失活动力学模型

本研究选用的低温条件下虾类水产品中副溶血性弧菌的失活模型为 Log-linear 模型^[1]:

$$\text{Log}(S_t) = \text{Log}(S_0) + K \times t / \ln(10) \quad (6)$$

式中, t 为时间, h; $\text{Log}(S_t)$ 为 t 时的细菌浓度, Log CFU/g; $\text{Log}(S_0)$ 为细菌初始浓度, Log CFU/g; K 为失活速率, Log

$$\sqrt{\mu_m} = b(T - T_{max}) \quad (3)$$

$$\lambda = A + \left(\frac{B}{T} \right) + \left(\frac{C}{T^2} \right) \quad (4)$$

式中, μ_m 为细菌最大比生长速率, Log CFU/g/h; b 为回归系数; T_{max} 为最大生长温度; λ 为迟滞时间, h; A 、 B 和 C 均为回归系数。

将二级模型代入一级模型, 得到副溶血性弧菌在虾类水产品中生长情况的数学表达式如式(5):

CFU/g/h。

据文献报道^[1,10]与本实验室研究, 在低温条件下 (-18~7 °C), 副溶血性弧菌在虾基质中的失活速率 (K) 如表 2 所示。本研究采用 Uniform (-5.44, -1.01) 分布来描述副溶血性弧菌的失活速率 (K)。

表 2 低温条件下副溶血性弧菌在虾基质中失活速率

Table 2 Inactivation rate of *Vibrio parahaemolyticus* in shrimp at low temperature conditions

失活速率	温度/°C				资料出处
	-18	4	5	7	
	-1.01	-	-2.50	-	姬华等 ^[10] , 2013
	-	-4.43	-	-4.73	Wang et al. ^[1] 2014
$K (\times 10^{-2}, \text{Log CFU/g/h})$	-	-3.35	-	-1.83	本实验室研究
	-	-4.59	-	-1.34	本实验室研究
	-	-5.44	-	-3.48	本实验室研究
	-	-1.83	-	-4.41	本实验室研究

1.3 酸性电解水结合超高压技术降低虾仁中副溶血性弧菌

本研究选用多元响应面方程评价酸性电解水结合超高压技术降低虾仁中副溶血性弧菌的效率, 具体模型构建方法陈述如下:

将 4 株副溶血性弧菌(ATCC 17802; ATCC 33847; F 18; F 36) 混合接种于灭菌的虾仁中, 使虾仁中副溶血性弧菌最终接种量约为 10^7 CFU/g。根据中心组合实验设计原理, 构建酸性电解水结合超高压技术三个作用因素对虾仁中副溶血性弧菌失活响应面模型 (RSM), 实验因素编码表如表 3 所示, 响应值表示

为虾仁中初始接种副溶血性弧菌的浓度对数值 (Log CFU/g) 与酸性电解水结合超高压技术处理后存活的副溶血性弧菌浓度对数值 (Log CFU/g) 之差。

Design Expert 软件包 (Version 8.0.6, Stat-Ease Inc., Minneapolis, USA) 用于对响应面模型进行拟合。数据的显著性和模型的拟合度运用以下数学指标进行评价: ①相关系数 (R^2); ②F-检验及其概率值 (P -值)。响应面模型对响应值预测的准确性通过以下指标进行评价: ①准确因子 (Accuracy factor, A_f); ②偏差因子 (Bias factor, B_f); ③均方根误差 (Root mean square error, RMSE):

$$A_f = 10 \left(\frac{\sum |\text{Log}(\text{pred}/\text{obs})|}{n} \right) \quad (7)$$

$$B_f = 10 \left(\frac{\sum \text{Log}(\text{pred}/\text{obs})}{n} \right) \quad (8)$$

$$RSME = \sqrt{\frac{\sum (\text{obs} - \text{pred})^2}{n}} \quad (9)$$

其中, *obs* 为试验观测值, *pred* 为响应面模型预测值, *n* 为观测点个数。

所构建的响应面模型如方程(10)所示:

$$R = -3.8825 + 3.9955X_1 + 0.011527X_2 + 0.2397X_3 - 0.0016X_1X_2 - 0.011X_1X_3 - 0.000025X_2X_3 - 1.046X_1^2 + 0.00000835X_2^2 - 0.00836X_3^2 \quad (10)$$

式中, *R* 为响应值, log CFU/g; *X_i* 为制备电解水所需的

NaCl 浓度, g/L; *X₂* 为处理压力, MPa; *X₃* 为处理时间, min。经过方差分析, *R*² 为 0.994, *P* < 0.001 表明此模型拟合度较好, 回归方程能很好地描述各因素与响应值之间的关系。准确因子 *A_f* 为 1.01、偏差因子 *B_f* 为 1.03、均方根误差 RMSE 为 0.19, 证明该模型可较好地模拟酸性电解水结合超高压技术对虾仁中副溶血性弧菌的杀灭效果。

根据因素表 (表 3), 响应面方程中 *X₁*、*X₂* 和 *X₃* 的取值范围分别为 1.0~2.0 g/L、200~400 MPa 和 5~15 min。因此, 假设制备电解水所需 NaCl 浓度符合 Pert (1.0, 1.5, 2.0), 处理压力符合 Pert (200, 300, 400), 处理时间符合 Pert (5, 10, 15) 分布, 如表 1 所示。

表 3 响应面设计的因素水平及编码

Table 3 Corresponding actual values of variables and coded values in response surface design

水平	因素		
	<i>X₁</i> 制备电解水所需 NaCl 浓度/(g/L)	<i>X₂</i> 处理压力/MPa	<i>X₃</i> 处理时间/min
-1	1.0	200	5
0	1.5	300	10
1	2.0	400	15

1.4 采收至消费阶段虾仁中副溶血性弧菌的生长及死亡

1.4.1 虾塘至工厂运输阶段的温度和时间

为了保持虾的鲜活, 虾在采收后应置于 18~20 °C 环境中运输^[7], 并在 12 h 内进行加工^[8]。何新龙等^[8]报道虾在运输时间为 4、6 和 12 h 时均能保持高于 90% 的存活率, 从而保证鲜虾的品质。虾在虾塘至工厂运输阶段的温度 (*T_t*) 和时间 (*t_t*) 分别采用 Uniform(18, 20) 和 Pert(4, 6, 12) 进行描述, 见表 1。

1.4.2 工厂至零售市场配送阶段的时间

冷链物流是保证食品质量, 减少食品损耗的一项系统工程。汪雯^[9]研究发现水产品冷链配送时间范围 6~60 h, 一般配送时间为 36 h, 因此, 本研究采用 Pert(6, 36, 60) 来描述工厂至零售市场的配送时间 (*t₂*), 如表 1 所示。

1.4.3 零售市场售卖阶段的时间

低温陈列柜 (一般温度为 0~10 °C) 进行陈列销售是一种理想的低温销售方式。此销售方式操作简单且免去制冰、换冰等复杂繁琐的工作, 因此低温陈列柜在水产品销售中广泛应用。为了保证虾仁品质, 陈列销售时间不宜超过 48 h, 最可能陈列售卖时间在 24 h^[9]。虾仁在售卖阶段时间 (*t₃*) 用 Pert(1, 24, 48) 来描述, 见表 1。

1.5 消费

上海市居民虾类水产品的消费量以随机抽样的方式, 分别在社区人群、学生人群以及婴儿幼儿等特殊人群中开展问卷调查, 总共调查了 4334 人, 人群涵盖各个年龄段, 表 4 显示了上海市居民甲壳类水产品的消费情况: 平均消费量为 10.85 g/d, 标准差为 43.74 g/d 天。因此, 设定上海市居民每天虾类水产品的消费量为 Normal (10.85, 43.74)。

表 4 上海市居民甲壳类水产品消费量

Table 4 Shellfish consumption among Shanghai residents

类别	食用例数	消费率	均数/(g/d)	标准差	5%	90%	95%
淡水甲壳类	398	9.18	8.87	38.64	0	50.00	118.54
海洋甲壳类	71	1.64	1.98	20.39	0	0	0
甲壳类 (虾、蟹)	459	10.59	10.85	43.74	0	78.00	150.00

1.6 剂量反应模型

定量的剂量反应模型可根据病原菌摄入量预测人群发病概率。目前我国尚未针对我国居民体质建立副

溶血性弧菌剂量反应模型^[9]。因此, 本研究采用美国 WHO/FAO^[4]2011 年发布的关于海产品中副溶血性弧菌的风险评估报告中报告的 Beta-Poisson 模型进行评估。由于, 剂量反应模型预测结果与流行病学数据的

对比结果显示, 预测结果大于流行病学研究数据^[4], 原因可能为志愿者摄食细菌的基质为苏打盐类物质, 模型预测为最大似然估计, 海产品基质可能会对发病概率造成一定偏差, 需在最大估计方程中加入校正因子^[9]。加入校正因子后的 Beta-Poisson 模型如方程(11)所示:

$$P = 1 - \left(1 + \frac{D}{\gamma + \beta} \right)^{-\alpha} \quad (11)$$

式中, P 为 D 浓度的致病性副溶血性弧菌引起的患病概率; D 为致病性副溶血性弧菌的摄入量, CFU; α 和 β 分别为状况和位置参数, α 取 0.6, β 取 1.31×10^6 ; 校正因子, γ 取 27^[9]。

2 结果与讨论

2.1 虾仁中副溶血性弧菌的初始污染量

本研究选取 2008~2010 年上海市售海产品中副溶血性弧菌污染监测结果^[6], 用以模拟虾类水产品中副溶血性弧菌的初始污染量, 在研究报道的 855 份海产品中, 753 份样品为阴性 (88.07%), 102 份样品为阳性 (11.93%)。如图 2 所示, 应用 Discrete 函数描述虾类水产品中副溶血性弧菌初始污染量, 捕获时虾类水产品中副溶血性弧菌阳性样品平均污染水平为 1.73 Log CFU/g, 阴性样品的污染水平为 -2.35 Log CFU/g。虾类水产品中副溶血性弧菌的初始污染量从 -4.92 Log CFU/g (5%) 到 1.61 Log CFU/g (95%), 平均值为 -1.92 Log CFU/g。本研究选用上海市海产品中副溶血性弧菌污染的总体情况模拟虾类水产品中副溶血性弧菌初始污染量, 可能会导致 QMRA 模型的不确定性和变异性。但由于现有文献中缺少针对虾类水产品中副溶血性弧菌污染情况的报道, 这样的数据处理方式也属于可接受范围, 并且同类研究中有类似的数据处理方式^[6]。因此, 建议今后我国水产品中致病菌的普查应更加全面化和细致化, 以提供更加完备的数据服务于微生物风险评估。

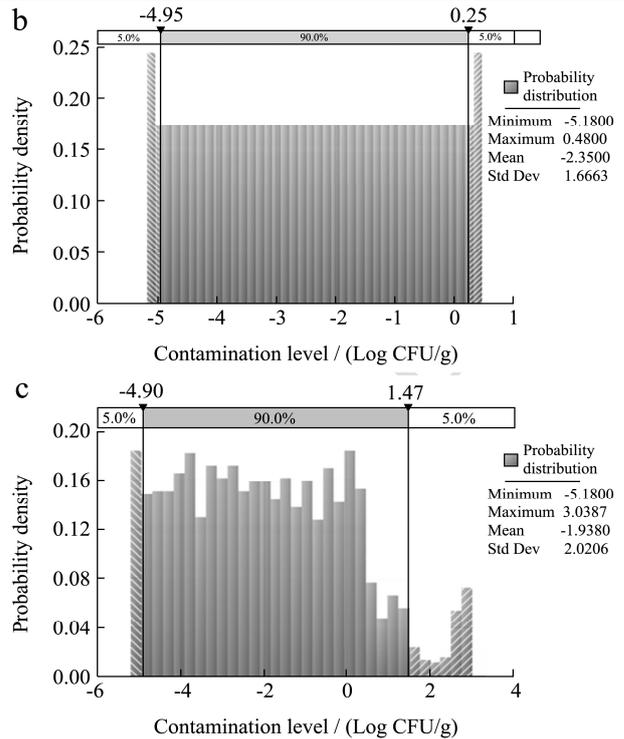
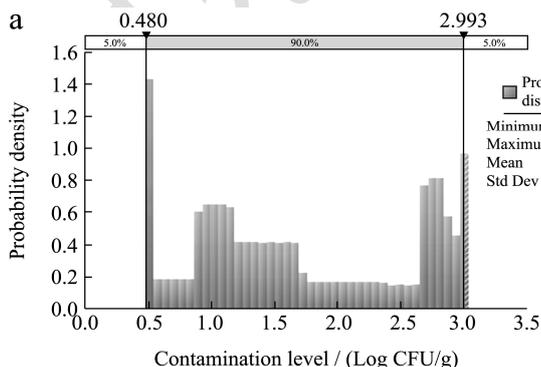


图 2 虾仁中副溶血性弧菌阳性样品 (a)、阴性样品 (b) 和初始污染量 (c) 的概率分布

Fig.2 Probability distribution of *Vibrio parahaemolyticus* contamination level in shelled shrimp. Positive samples (a), negative sample (b), and initial contamination level (c)

2.2 酸性电解水结合超高压技术杀灭虾仁中副溶血性弧菌的数量

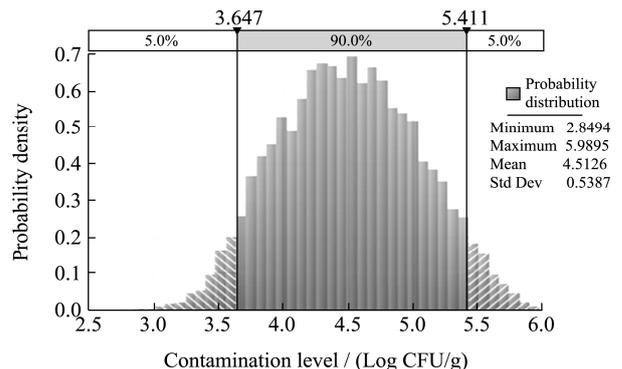


图 3 酸性电解水结合超高压技术杀灭虾仁中副溶血性弧菌数量的概率分布

Fig.3 Probability distribution of *Vibrio parahaemolyticus* in shelled shrimp treated using a combination of acidic electrolyzed water and high hydrostatic pressure

酸性电解水结合超高压技术杀灭虾仁中副溶血性弧菌数量的概率分布如图 3 所示。由图 3 可知, 通过控制超高压的处理压力、处理时间及制备电解水所需

的 NaCl 浓度，这项全新的技术可有效杀灭虾仁中副溶血性弧菌菌量的平均值为 4.51 Log CFU/g，最高杀灭致病菌的数量可达 5.99 Log CFU/g，这一研究结果显著性高于同类研究中仅用电解水杀菌的杀菌效果^[12]。研究表明，两种或两种以上的杀菌技术共同作用于靶标物质，可产生“协同效应”^[13]，这一结论与本研究结果保持一致，说明本研究所构建的电解水结合超高压技术是一种极具潜力的新型杀菌技术，在食品工业领域有一定的应用前景。

2.3 虾仁中副溶血性弧菌的最终污染量

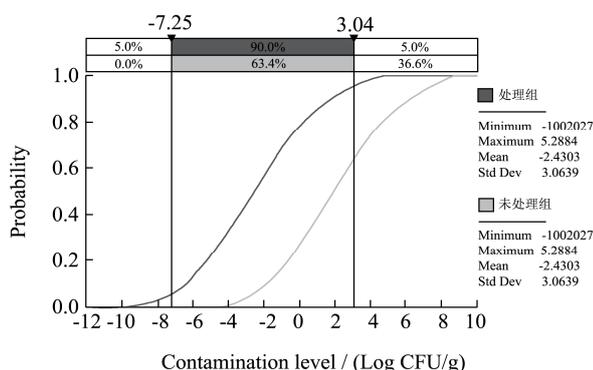


图4 酸性电解水结合超高压技术处理（黑）和未经处理（灰）的虾仁中副溶血性弧菌最终污染量的累积概率密度比较图

Fig.4 Cumulative distribution function of final *Vibrio parahaemolyticus* contamination level in shelled shrimp.

Treated (Black) and untreated (Gray)

按照表 1 中各项参数作为输入变量，模拟经过捕捞、运输、加工和售卖等环节后，虾仁中副溶血性弧菌的最终污染量如图 4 所示。经过酸性电解水结合超高压技术处理的虾仁中副溶血性弧菌的最终平均污染量为 -2.43 Log CFU/g，显著低于未经处理的虾仁中副溶血性弧菌平均污染量 (2.09 Log CFU/g)。从图 4 可知，工厂加工处理之后，尽管本研究所模拟的虾仁售卖环境为 0~10 °C，符合水产品售卖的安全温度范围^[1]，但是，未经处理的虾仁中副溶血性弧菌仍有可能生长至 9.04 Log CFU/g (拟合最大值)，而经过电解水结合超高压处理的虾仁中副溶血性弧菌可能的最大生长量仅为 5.28 Log CFU/g。根据美国 FDA 关于甲壳类产品中副溶血性弧菌的限量标准，可接受的最大污染水平为 4 Log CFU/g^[14]，迭代 10000 次的模拟结果显示，未经处理的虾仁中有 25.4% 的抽样样本超过副溶血性弧菌的限量标准，而经过处理的虾仁中仅有 1.4% 的样本超标，由此证明这种新型的杀菌技术不仅能够有效地杀灭水产品中的致病菌 (图 3)，而且在后续贮藏过程中可明显抑制致病菌的生长，限制其达到可能的最大生长密度 (图 4)。

2.4 酸性电解水结合超高压技术降低虾仁中副溶血性弧菌感染风险的预测结果

副溶血性弧菌患病风险的最终预测结果如表 5 所示，食用未经过酸性电解水结合超高压技术处理的虾仁可能导致居民感染副溶血性弧菌的平均患病概率为 1.28×10^{-1} ，即平均每年每 10000 人中有 1280 人因食用虾仁可能导致感染副溶血性弧菌而患病。而经过酸性电解水结合超高压技术处理后，居民食用虾仁可能导致副溶血性弧菌的平均患病概率降为 2.01×10^{-3} ，即平均每年每 10000 人中因感染副溶血性弧菌而患病的人数仅有 20 人。通过对比患病概率和患病人数的差异，酸性电解水结合超高压技术可降低副溶血性弧菌的患病风险达 98%。

近年来，为了满足食品工业现代化、规范化的需求，QMRA 模型被更多地应用于食品杀菌技术效率的评估。Praveen 等^[5]研究了电子束辐射对牡蛎中鼠诺如病毒和甲肝病毒的杀灭作用，并量化了其降低潜在风险的能力。该研究指出用 5 kGy 辐射处理 10^2 PFU 鼠诺如病毒和甲肝病毒，可分别降低其 26% 和 91% 的患病风险。Espinosa 等^[5]评估了生菜中脊髓灰质炎病毒和菠菜中轮状病毒对电子束辐射的敏感性，表明 3 kGy 剂量的电子束辐射，可有效降低生菜中的脊髓灰质炎病毒 70% 的患病风险，降低菠菜中轮状病毒 83% 的患病风险。但是，这些研究仅涉及杀菌技术对病毒的风险降低作用，缺少针对食源性致病菌的研究。

表 5 酸性电解水结合超高压技术处理减少副溶血性弧菌感染风险的预测结果

Table 5 Predicted risk reduction of *Vibrio parahaemolyticus* in the shelled shrimp treated with a combination of acidic electrolyzed water and high hydrostatic pressure

组别	平均患病概率	每年每万人中平均患病人数/人	平均风险降低率
未处理	1.28×10^{-1}	1280	-
处理	2.01×10^{-3}	20	98%

病毒的定量风险评估仅需考虑最终的暴露剂量，是一个相对“静态”的过程，而细菌的定量风险评估则更为复杂，需要考虑其在整个“农田到餐桌”过程中的消长情况，是一个“动态”的过程，这增加了数据收集和风险评估的难度^[4]。本研究构建的用于评估杀菌效率的 QMRA 模型从服务食品生产链的角度出发，考虑了捕捞、运输、加工和售卖等环节，较为真实地重现了副溶血性弧菌在虾仁中生长的动态变化，并且量化了酸性电解水结合超高压技术对虾仁中副溶血性弧

菌的风险降低作用, 为其在食品工业中的应用提供了可靠的数据基础。

2.5 敏感性分析

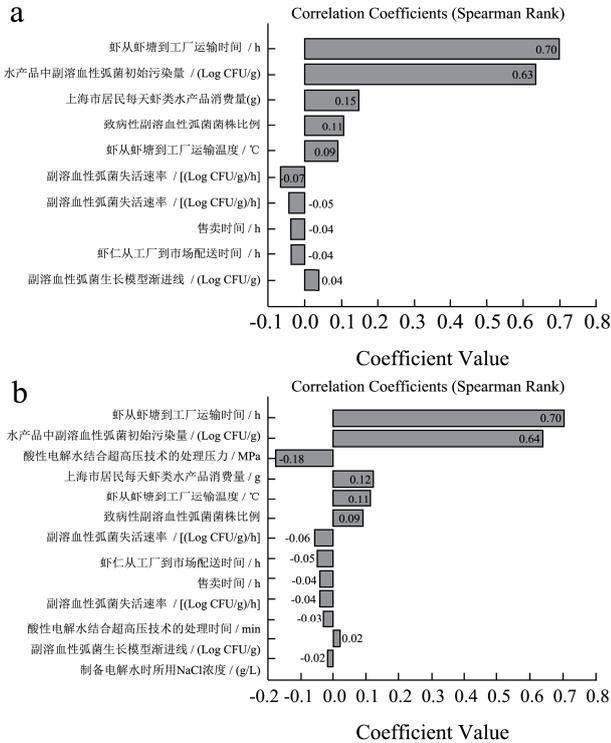


图5 未经酸性电解水结合超高压技术处理 (a) 和经过处理 (b) 的虾仁中副溶血性弧菌风险评估的敏感性分析

Fig.5 Sensitivity analysis of quantitative microbial risk assessment for *Vibrio parahaemolyticus* in shelled shrimp. Untreated (a) and treated (b)

敏感性分析是风险评估的重要组成部分, 主要用于识别和量化各参数引起患病概率的相对重要性^[6,9]。图5为居民食用患病概率与模型参数之间的敏感性分析, 以 Spearman 等级相关系数表示相关性大小, 相关系数在-1 和+1 之间, +1 表示正相关, -1 表示负相关, 相关系数越接近 1 表示这一因子与患病概率的相关性越高, 相反, 越接近 0 则相关性越低。

由图5可知, 影响居民因食用污染副溶血性弧菌的虾仁而患病的因素包括: 虾塘到工厂的运输时间、水产品中副溶血性弧菌初始污染量、酸性电解水结合超高压技术的处理压力、上海市居民每天虾类产品消费量、致病性副溶血性弧菌菌株比例以及虾塘到工厂的运输温度等。其中, 虾塘到工厂的运输时间与患病概率呈最大正相关性, 相关系数为 0.70。因此, 应严格控制鲜虾在捕获后虾塘到工厂的运输时间, 以减少运输过程中副溶血性弧菌的繁殖和增长, 从而最大限度地降低居民因感染副溶血性弧菌而患病的风险。其次, 水产品中副溶血性弧菌初始污染量为副溶血性

弧菌引起患病的第二大正相关影响因素, 因此, 应该加强虾中副溶血性弧菌的监管力度, 从源头上遏制副溶血性弧菌可能导致的患病风险。

由图5b可知, 酸性电解水结合超高压技术的处理压力、处理时间和制备电解水时所需的 NaCl 浓度与患病概率均呈负相关性, 其中, 处理压力是影响患病概率的最大负相关因素, 处理时间和制备电解水所需的 NaCl 浓度则分列第六及第七位, 说明酸性电解水结合超高压技术可显著降低虾仁中副溶血性弧菌的潜在致病风险。此外, 副溶血性弧菌在低温条件下的失活速率与冷藏条件下的售卖时间以及在冷链车中的运输配送时间均对副溶血性弧菌的患病风险具有降低作用, 因此, 本研究所构建的杀菌技术可与冷链物流技术相结合, 服务于食品工业的生产链, 从而最大限度地降低致病菌的患病风险。

3 结论

综上所述, 本研究首次将酸性电解水与超高压技术相结合, 构建了一种全新的杀菌技术, 用于清除虾仁中副溶血性弧菌的污染。同时, 利用 QMRA 模型评价了这种新型杀菌技术对虾仁中副溶血性弧菌患病风险的降低作用。QMRA 模型基于蒙特卡洛模拟方法, 以多个概率分布为基础产生随机变量值, 可以很好地把握各个环节中的不确定性和变异性, 以此评价该杀菌技术的效率, 不仅可以输出其对患病风险、患病人数的降低作用, 而且可以清晰地展现出整个食品产业链中各因素与患病概率的相关性。结果表明, 酸性电解水结合超高压技术能显著降低副溶血性弧菌的致病风险, 降低率高达 98%, 敏感性分析显示, 这种新技术的处理压力、处理时间及制备电解水时所需的 NaCl 浓度均与患病概率呈负相关性。此外, 研究还表明该技术可与冷链物流技术相结合, 服务于食品工业的生产链, 从而最大限度地降低致病菌的患病风险。本研究提供了全面与系统的信息分析酸性电解水结合超高压技术的杀菌作用, 为采取有效措施来控制副溶血性弧菌引起的致病风险, 提供科学的理论依据。

参考文献

[1] Wang J J, Sun W S, Jin M T, et al. Fate of *Vibrio parahaemolyticus* on shrimp after acidic electrolyzed water treatment [J]. International Journal of Food Microbiology, 2014, 179(22): 50-56

[2] Balasubramanian S, Balasubramanian V M. Compression heating influence of pressure transmitting fluids on bacteria inactivation during high pressure processing [J]. Food

- Research International, 2003, 36(7): 661-668
- [3] Dong Q L, Barker G C, Gorris L G M, et al. Status and future of quantitative microbiological risk assessment in China [J]. Trends in Food Science & Technology, 2015, 42(1):70-80
- [4] World Health Organization/Food and Agriculture Organization of the United Nations. Risk assessment of *Vibrio parahaemolyticus* in seafood [R]. Geneva: WHO/FAO, 2011
- [5] Praveen C, Dancho B A, Kingsley David H, et al. Susceptibility of murine norovirus and hepatitis A virus to electron beam irradiation in oysters and quantifying the reduction in potential infection risks [J]. Applied and Environmental Microbiology, 2013, 79(12): 3796-3801
- [6] 唐晓阳.水产品中副溶血性弧菌风险评估基础研究[D].上海海洋大学,上海,2013
TANG Xiao-yang. Fundamental research on risk assessment of *Vibrio parahaemolyticus* in aquatic products [D]. Shanghai: Shanghai Ocean University, 2013
- [7] 管羲,陈树荣,洪刚,等.克氏原螯虾幼虾运输方法的探讨[J].渔业致富指南,2015,11:43-45
GUAN Xi, CHEN Shu-rong, HONG Gang, et al. Discussion of the way of transportation of *Procambarus clarkia* [J]. Fishery Guide to be Rich, 2015, 11: 43-45
- [8] 何新龙,傅洪拓,龚永生,等.2种青虾运输方法的比较试验[J].长江大学学报(自科版),2006,3(4):186-188
HE Xin-long, FU Hong-tuo, GONG Yong-sheng, et al. Comparative analysis of two methods of transporting *Macrobrachium nipponensis* [J]. Journal of Yangtze University, 2006, 3(4): 186-188
- [9] 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].浙江:浙江大学,2013
WANG Wen. Microbial predictive model and quantitative risk analysis for evaluation of intervention technologies on reduction of *Vibrio parahaemolyticus* in peeled shrimp [D]. Zhejiang: Zhejiang University, 2013
- [10] 姬华,陈艳,刘秀梅,等.低温贮藏条件下创伤弧菌和副溶血性弧菌失活模型的建立[J].中国食物与营养, 2013,19(2): 15-19
JI Hua, CHEN Yan, LIU Xiu-mei, et al. Inactivation kinetics of *Vibrio vulnificus* and *Vibrio parahaemolyticus* at low-temperature storage conditions [J]. Food and Nutrition in China, 2013, 19(2): 15-19
- [11] Ding T, Iwahori J, Kasuga F. Risk assessment for *Listeria monocytogenes* on lettuce from farm to table in Korea [J]. Food Control, 2013, 30: 190-199
- [12] Wang J J, Zhang Z H, Li J B, et al. Modeling *Vibrio parahaemolyticus* inactivation by acidic electrolyzed water on cooked shrimp using response surface methodology [J]. Food Control, 2014, 36(1): 273-279
- [13] Aouadhi C, Simonin H, Mejri S, et al. The combined effect of nisin, moderate heating and high hydrostatic pressure on the inactivation of *Bacillus sporothermodurans* spores [J]. Journal of Applied Microbiology, 2013, 115: 147-155
- [14] CFSA/FDA. Draft risk assessment on the public health impact of *Vibrio parahaemolyticus* in raw molluscan shellfish, 2001