

# 湛江东海岛文蛤模拟加工的细菌学分析

聂芳红, 雷晓凌, 吴红棉, 吴晓萍, 叶茂, 邓火仙

(广东海洋大学食品科技学院, 广东 湛江 524088)

**摘要:** 用行业标准分别对文蛤原料、清洗并热烫后和冷冻 0.5 h 后等加工工序中文蛤细菌总数、大肠菌群数、粪大肠菌群数、副溶血性弧菌、金黄色葡萄球菌和沙门氏菌进行了检验。结果发现, 湛江东海岛近海文蛤原料的细菌总数为  $(4.0 \pm 0.1) \times 10^5$  cfu/g, 清洗并热烫和再冷冻 0.5 h 后对细菌总数的影响不明显。文蛤原料大肠菌群数为  $(790.7 \pm 21.3)$  MPN/g, 清洗并热烫后大肠菌群数明显降低至  $(19.4 \pm 1.3)$  MPN/g, 再冷冻 0.5 h 后大肠菌群数为  $(18.3 \pm 1.1)$  MPN/g。文蛤原料粪大肠菌群数为  $(817.5 \pm 19.8)$  MPN/g, 清洗并热烫后粪大肠菌群数明显降低至  $(194.2 \pm 10.2)$  MPN/g, 再冷冻 0.5 h 后粪大肠菌群数为  $(180.6 \pm 11.3)$  MPN/g。文蛤原料、清洗并热烫后和再冷冻 0.5 h 后副溶血性弧菌的检验结果均为  $< 3$  MPN/g; 均未检出凝固酶阳性的金黄色葡萄球菌和沙门氏菌。可见湛江东海岛近海文蛤的细菌污染主要是大肠菌群和粪大肠菌群, 经清洗并热烫和再冷冻 0.5 h 处理, 能明显降低大肠菌群和粪大肠菌群数量。

**关键词:** 文蛤; 细菌总数; 大肠菌群; 粪大肠菌群; 副溶血性弧菌

中图分类号: R155.1; 文献标识码: A; 文章编号: 1673-9078(2008)05-0483-04

## Bacteriological Analysis of Simulatively Processed *Meretrix Meretrix* Linnaeus in the Offing of Donghai Island (Zhanjiang)

NIE Fang-hong, LEI Xiao-ling, WU Hong-mian, WU Xiao-ping, YE Mao, DENG Huo-xian

(School of Food Science & Technology, Guangdong Ocean University, Zhangjiang 524088, China)

**Abstract:** The Most Probable Number Methods (MPN) of Food Trade Standards were employed to enumerate the total bacteria count, MPN, faecal coliforms, *Vibrio parahaemolyticus*, *Staphylococcus aureus* and *Salmonella* in the process simulation of *Meretrix meretrix* Linnaeus from the offing of Donghai Island (Zhanjiang, China). The results showed that the treatments of cleaning and scalding with hot water and freezing for 0.5 h showed a little effect on the total bacteria count of the raw material of *M. meretrix* which was  $(4.0 \pm 0.1) \times 10^5$  cfu/g. It was also found that cleaning and scalding with hot water markedly reduced the MPN of the raw material of *M. meretrix* from  $(790.7 \pm 21.3)$  MPN/g to  $(19.4 \pm 1.3)$  MPN/g, and a further freezing treatment (0.5 h) decreased the value to  $(18.3 \pm 1.1)$  MPN/g. Faecal coliform of the raw material of *M. meretrix* was  $(817.5 \pm 19.8)$  MPN/g, which markedly fell to  $(194.2 \pm 10.2)$  MPN/g by cleaning and dipping into thermal water and to  $(180.6 \pm 11.3)$  MPN/g by further freezing for 0.5 h. *V. parahaemolyticus* in the raw material and the processed *M. meretrix* was less than 3 MPN/g. Besides, no coagulase-positive *S. aureus* and *Salmonella* were found in every products of the simulatively processed *M. meretrix*. *M. meretrix* in the offing of DonghaiZhanjiang was mainly contaminated by coliform strains and faecal coliforms which can be significantly eliminated by cleaning and dipping into thermal water then freezing for 0.5 hours.

**Key words:** *Meretrix meretrix* Linnaeus; total count of bacterial colonies; coliform group; faecal coliform; *Vibrio parahaemolyticus*

文蛤 (*Meretrix meretrix* Linnaeus) 属软体动物门 (*Mollusca*) 双壳纲 (*Bivalvia*) 真瓣鳃目 (*Eulamellibranchia*) 帘蛤科 (*Veneridae*) 文蛤属 (*Meretrix*) 的海产贝类。一般生活在浅海区的细沙或泥沙滩中以及河

收稿日期: 2008-01-29

基金项目: 广东省海洋与渔业局项目“冷冻文蛤地方标准的制定”(粤财农[2003]247号)。

作者简介: 聂芳红(1969-), 女, 实验师, 从事食品质量与安全研究

通讯作者: 雷晓凌(1963-), 女, 教授, 博士, 主要从事海洋活性物质及水产品质量安全研究

口附近沿岸的潮间带。一般每只文蛤为 50 g 左右, 外壳由两扇呈三角形的硬质壳合成, 壳的表面色彩鲜艳, 花纹隽美。文蛤是海洋贝类中的上品, 素以“天下第一鲜”著称, 不但肉质鲜美可口, 而且营养价值高, 还有抗肿瘤、降血糖、免疫调节等作用<sup>[1-4]</sup>。湛江附近海域出产大量文蛤, 由于文蛤生长在近海, 易受环境的污染; 作为海鲜, 在烹制过程中不宜在高温下长时间加热, 否则影响其鲜味。但如果文蛤中细菌学指标过高, 食用过程中又加热不足, 将会危害消费者的身体健康。我们在制定广东省文蛤地方标准的过程中, 选择湛江

东海岛海域作为样品来源地,对文蛤细菌总数、大肠菌群数、粪大肠菌群数、副溶血性弧菌 (*Vibrio parahaemolyticus*)、金黄色葡萄球菌 (*Staphylococcus aureus*) 和沙门氏菌 (*Salmonella*) 等进行了检验,报道如下。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验时间、地点

试验所用文蛤的产地为湛江东海岛海域,室内试验于2006年8月在广东海洋大学广东省高等学校水产品深加工重点实验室进行。

### 1.2 仪器

生化培养箱 (SPX-250B 型,上海跃进医疗器械厂),电热恒温鼓风干燥箱 (101-3-BS-II,上海跃进医疗器械厂),双目电光生物显微镜 (YS100,日本尼康公司),洁净工作台 (SW-CJ-1F,上海博迅实业有限公司医疗设备厂),电冰箱 (SIEMENZ SCD-222,安徽博西华制冷有限公司),数显恒温水浴箱 (HH-6,上海博迅实业有限公司医疗设备厂),不锈钢手提压力蒸汽灭菌 (YXQ-SG46-280SA,上海博迅实业有限公司医疗设备厂)。

### 1.3 培养基和试剂

煌绿乳糖胆盐肉汤,营养肉汤,EC 肉汤,靛基质试验培养基,氨基酸脱羧酶试验培养基,糖类分解试验培养基,O/F 试验培养基。蛋白胨,胰蛋白胨,月桂基硫酸盐胰蛋白胨。蔗糖琼脂,大豆琼脂,三糖铁琼脂,V-P 半固体琼脂。硫代硫酸钠,柠檬酸钠,胆酸钠,氯化钠,革兰氏染色剂。所用培养基均购自北京陆桥技术有限责任公司。

### 1.4 样品采集及其模拟加工

试验所用文蛤由湛江市东风市场一个固定的销售点提供,产地为湛江东海岛海域,时间为8月份,气温为29~36.9℃,共采样4批。鲜活文蛤购买后2h内运回实验室。每批随机取3只无菌开壳,取出软组织,无菌保鲜袋密封,作为文蛤原料备用。

文蛤的模拟加工工序如下:文蛤→简单清洗并热烫→冷冻 0.5 h 后包装。其中文蛤原料热烫条件为100℃、10 s。

### 1.5 检验方法

#### 1.5.1 样品制备

用无菌操作的方法取出未经加工的文蛤肉,在酒精灯旁剪碎,准确称量25.0 g 文蛤肉,然后用8.5 g/L 的生理盐水(已灭菌)分别稀释至100 mg/mL、10 mg/mL 和1 mg/mL。

用同样的方法将热烫、冷冻两个工序中文蛤肉分别稀释至100 mg/mL、10 mg/mL 和1 mg/mL。

将以上的稀释液用于测定细菌总数、大肠菌群、粪大肠菌群、金黄色葡萄球菌和沙门氏菌。

另外,在无菌操作的条件下将文蛤肉用30 g/L 的氯化钠分别稀释至100 mg/mL、10 mg/mL 和1 mg/mL,用于副溶血性弧菌的测定。

#### 1.5.2 细菌检验方法

在各工序步骤分别检验细菌总数、大肠菌群数、粪大肠菌群数、副溶血性弧菌、金黄色葡萄球菌和沙门氏菌。细菌总数用出口食品平板菌落计数 SN 0168-92 检测;大肠菌群数和粪大肠菌群数用 SN 0169-92 检测;采用 SN 0173-92 出口食品副溶血性弧菌检验方法进行,生化反应进行初筛和形态鉴定即查 MPN 表(The Most Probable Number Method);金黄色葡萄球菌用 SN 0172-92 中的平板表面计数法检测;沙门氏菌用 SN 0170-92 检测<sup>[5]</sup>。

#### 1.6 数据统计方法

各检测细菌学指标用 SPSS (Version 14.0) 统计软件处理,分别用所采样4个批次的  $\bar{X} \pm SD$  表示,并进行 t 检验。

## 2 结果与分析

### 2.1 文蛤细菌总数在不同月份的波动情况

对在4~12月份文蛤未加工样品细菌总数进行了检查,结果显示细菌总数在7~10月较高,最高值在8月份,达到  $(4.0 \pm 0.1) \times 10^5$  cfu/g。最低值在12月份,为  $(2.3 \pm 0.03) \times 10^5$  cfu/g。

### 2.2 主要加工环节文蛤的细菌学变化

供试文蛤在各加工环节的细菌学检测结果见表1。由表1可见,文蛤原料的细菌总数为  $(4.0 \pm 0.1) \times 10^5$  cfu/g,符合相关国内标准<sup>[6]</sup>和国际标准<sup>[5]</sup>的规定;同时也符合FDA及EPA安全水平规定和指南<sup>[5]</sup>的标准。清洗并热烫和再冷冻0.5 h后对细菌总数的影响并不明显,这可能是因为文蛤携带的耐热菌较多。

表1 东海岛近海文蛤各加工环节细菌学检测结果 (n=4)

Table 1 The bacterial test results of *Meretrix meretrix* Linnaeus from the offing of Donghai Island (n=4)

细菌学指标 Bacteriological indexes	文蛤原料 Raw material of <i>M. meretrix</i>	清洗并热烫 <i>M. meretrix</i> cleaned and dipped into hot water	再冷冻 0.5 h 后 More 0.5 hours of freezing
细菌总数( $\times 10^5$ cfu/g) Total count of bacterial ( $\times 10^5$ cfu/g)	4.0 $\pm$ 0.1	3.9 $\pm$ 0.2	3.7 $\pm$ 0.3
大肠菌群数 (MPN/g) Coliform group (MPN/g)	790.7 $\pm$ 21.3	19.4 $\pm$ 1.3*	18.3 $\pm$ 1.1*
粪大肠菌群数 (MPN/g) Faecal coliform (MPN/g)	817.5 $\pm$ 19.8	194.2 $\pm$ 10.2*	180.6 $\pm$ 11.3*
副溶血性弧菌 (MPN/g) <i>Vibrio parahaemolyticus</i> (MPN/g)	<3	<3	<3
金黄色葡萄球菌 (MPN/g) <i>Staphylococcus aureus</i> (MPN/g)	/	/	/
沙门氏菌 (MPN/g) <i>Salmonella</i> (MPN/g)	/	/	/

注：“\*”表示与文蛤原料相比，差异极显著 ( $p < 0.01$ )；“/”表示未检出。

Note: “\*” means significant difference from the raw material of *M. meretrix* ( $p < 0.01$ ); “/” means not found.

由表1可见，文蛤原料大肠菌群数为(790.7 $\pm$ 21.3) MPN/g，不符合相关国内标准和国际标准的规定；同时也不符合FDA及EPA安全水平规定和指南的标准。清洗并热烫后大肠菌群数明显降低至(19.4 $\pm$ 1.3) MPN/g，与文蛤原料相比差异极显著 ( $p < 0.01$ )，再冷冻0.5 h后大肠菌群数为(18.3 $\pm$ 1.1) MPN/g，与文蛤原料相比明显下降 ( $p < 0.01$ )。清洗并热烫、再冷冻0.5 h后大肠菌群数符合相关国内标准，但不符合国际标准及FDA和EPA安全水平规定和指南的标准。

文蛤原料粪大肠菌群数为(817.5 $\pm$ 19.8) MPN/g，不符合相关国内标准和国际标准的规定；同时也不符合FDA及EPA安全水平规定和指南的标准。清洗并热烫后大肠菌群数明显降低至(194.2 $\pm$ 10.2) MPN/g，与文蛤原料相比差异极显著 ( $p < 0.01$ )，再冷冻0.5 h后大肠菌群数为(180.6 $\pm$ 11.3) MPN/g，与文蛤原料相比明显下降 ( $p < 0.01$ )。清洗并热烫、再冷冻0.5 h后大肠菌群数符合相关国内标准，但不符合国际标准及FDA和EPA安全水平规定和指南的标准。

文蛤原料、清洗并热烫后和再冷冻0.5 h后副溶血性弧菌的检验结果均为<3 MPN/g，国际食品微生物规格委员会标准为副溶血性弧菌 $\leq 100$  MPN/g<sup>[5]</sup>，可见本试验所得MPN值并未超过该国际标准。未检出凝固酶阳性的金黄色葡萄球菌。未检出沙门氏菌。

### 3 讨论与结论

#### 3.1 本试验采样时间的确定

菌落总数是指食品经过处理，在一定条件下培养后，所得1 g或1 mL检样中所含细菌菌落总数。菌落总数主要作为判别食品被污染程度的标志，也可以应用这一方法观察细菌在食品中繁殖的动态，以便对被检样品进行卫生学评价时提供依据<sup>[6,7]</sup>。本试验对在4~12月份文蛤未加工样品细菌总数进行检查的结果显示，细菌总数最高值在8月，达到(4.0 $\pm$ 0.1) $\times 10^5$  cfu/g。所以本试验选择在8月份进行文蛤采样和有关细菌学分析。

#### 3.2 文蛤加工环节中大肠菌群数和粪大肠菌群数检测的意义

由于国内标准多用大肠菌群数，而国际标准则多用粪大肠菌群数。本试验同时检测这两个指标发现，文蛤原料大肠菌群数和粪大肠菌群数均不符合相关国内标准<sup>[6]</sup>和国际标准及FDA和EPA安全水平规定和指南<sup>[5]</sup>的标准。清洗并热烫后再冷冻0.5 h后大肠菌群数和粪大肠菌群数均明显降低，符合相关国内标准，但不符合国际标准及FDA和EPA安全水平规定和指南的标准。文蛤原料大肠菌群数和粪大肠菌群数明显超标，说明湛江城市快速发展导致城市生活污水特别是粪便对近海潮间带的污染较为严重，而即将投入使用的大型城市污水处理厂将有利于这一问题的解决。另一方面，清洗并热烫后再冷冻0.5 h后，文蛤大肠菌群数和粪大肠菌群数均明显降低，提示在文蛤的烹制和食用过程中，必要的清洗和加热有助于消除大肠菌群和粪大肠菌群对卫生健康的危害。

## 3.3 湛江东海岛文蛤几乎无副溶血性弧菌污染

副溶血性弧菌 (*V. parahaemolyticus*) 是一种耐盐性细菌, 是导致文蛤 (*M. meretrix*) 肠道传染病的主要致病菌, 患病文蛤表现为不能潜入沙中, 双壳不能紧闭, 壳边缘有许多粘液, 消化道和肝细菌大量繁殖, 甚至导致文蛤死亡<sup>[8]</sup>。该菌在夏秋季容易引起感染人群的食物中毒<sup>[9,10]</sup>。本试验检测结果显示, 无论是文蛤原料, 还是清洗并热烫后再冷冻 0.5 h, 湛江东海岛文蛤的副溶血性弧菌均为 <3 MPN/g, 远远低于国际食品微生物规格委员会关于副溶血性弧菌 ≤100 MPN/g 的标准<sup>[5]</sup>。

## 3.4 金黄色葡萄球菌和沙门氏菌检测情况

湛江东海岛文蛤金黄色葡萄球菌采用 SN 0172-92 中的平板表面计数法检测, 虽然出现典型菌落较多, 镜检个体形态也符合, 但经凝固酶试验均为阴性, 因此没有检出凝固酶阳性的金黄色葡萄球菌<sup>[5]</sup>。沙门氏菌用 SN 0170-92 检测, 检验结果为阴性。

## 参考文献

- [1] 张安国,李太武,苏秀榕,等.不同地理种群文蛤的营养成分研究[J].水产科学,2006,25(2):79-81
- [2] Leng B, Liu X D, Chen Q X. Inhibitory effects of anticancer peptide from *Mercenaria* on the BGC-823 cells and several enzymes [J]. FEBS Lett, 2005, 579(5): 1187-1190

- [3] 雷晓凌,吴晓萍,张海花,等.南海八种贝类营养成分和限量元素含量的研究[J].中国海洋药物,2001,2:48
- [4] Vuddhakul V, Soboon S, Sunghiran W, et al. Distribution of virulent and pandemic strains of *Vibrio parahaemolyticus* in three molluscan shellfish species (*Meretrix meretrix*, *Perna viridis*, and *Anadara granosa*) and their association with foodborne disease in southern Thailand [J]. J Food Prot, 2006, 69(11): 2615-2620
- [5] 中华人民共和国广东出入境检验检疫局.国内外技术法规和标准中食品微生物限量[M].北京:中国标准出版社,2002, 111:378-379
- [6] 罗雪云,刘宏道.食品卫生微生物检验标准手册[M].北京:中国标准出版社,1995:432
- [7] 程远超,刘康乐,徐庆阳.尿苷产生菌的选育[J].现代食品科技,2007,23(1):20-22
- [8] 王斌,王翔,王莉明.我国主要养殖贝类微生物性疾病研究进展[J].海洋环境科学,2002,21(3):76-80
- [9] Sagoo S K, Little C L, Greenwood M. Microbiological study of cooked crustaceans and molluscan shellfish from UK production and retail establishments [J]. Int J Environ Health Res, 2007, 17(3): 219-230
- [10] Su Y C, Liu C. *Vibrio parahaemolyticus*: A concern of seafood safety [J]. Food Microbiol, 2007, 24(6): 549-558

(上接第 489 页)

低检出限为 0.03~0.1 μg/kg。

本研究所建立的方法准确、经济, 具有良好的灵敏度、精密度和准确度。可以满足干制鱼肉中 OCLs 和 PCBs 多残留检测要求, 同时对其他样品中的 OCLs 和 PCBs 多残留分析具有一定的参考价值。

## 参考文献

- [1] 朱坚,郑晓军.食品安全监测技术[M].化学工业出版社, 2007,24

- [2] GB/T 5009.162-2003.动物性食品中有机氯农药和拟除虫菊酯农药多组分残留量的测定[S].中国标准出版社.2003
- [3] GB/5009.190-2006.食品中指示性多氯联苯含量的测定[S].中国标准出版社.2006
- [4] SN 0201-1993.出口水产品中多氯联苯残留量检验方法[S].中国标准出版社.1993
- [5] SN 0598-1996.出口水产品中多种有机氯农药残留量检验方法[S].中国标准出版社.1996