

软烤扇贝蒸煮工艺的细菌学研究

陈舒^{1,2}, 许钟², 郭全友², 杨宪时^{2,*}

(1.上海海洋大学食品学院, 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:研究了软烤扇贝不同工艺及条件对样品理化 and 细菌特性的影响, 并定性和定量分析了其样品的细菌菌相, 对加工辅料、加工用水和包装材料的化学、细菌特性进行了分析。结果表明: 最佳工艺及条件为一次蒸处理 6min, 其样品水分含量较高, 为 $74.25\% \pm 2.36\%$, pH、菌落总数、耐热菌落总数较低, 分别为 6.58 ± 0.05 、 $(2.37 \pm 0.80) \times 10^3$ 、 $(1.70 \pm 0.30) \times 10^2$ cfu/g。山梨糖醇及其他混合辅料的菌落总数分别为 $(1.48 \pm 1.11) \times 10^3$ 、 $(3.03 \pm 1.46) \times 10^2$ cfu/g。加工用水和包装材料所带菌数低。经过不同工艺及条件处理后的样品细菌种类均为革兰氏阳性, 菌相也比较单一, 主要包括芽孢杆菌、葡萄球菌、微球菌。

关键词: 扇贝, 蒸煮, 细菌数量, 菌群组成

Study on bacteriology of lightly baked scallop in cooking process

CHEN Shu^{1,2}, XU Zhong², GUO Quan-you², YANG Xian-shi^{2,*}

(1. Food Science College of Shanghai Ocean University, Shanghai 200090, China;

2. East China Sea Fisheries Research Institute, Chinese Academy of Fishery Sciences, Shanghai 200090, China)

Abstract: Effect of cooking process and condition on chemical and bacteria characteristics of lightly baked scallop was carried out. Bacteria species and colonies were qualitatively and quantitatively analyzed. Chemical and bacteria characteristics of additives, water and wrapper were analyzed. The results indicated that steaming for 6min was the optimum treating method. The water content of samples steamed for 6min was $74.25\% \pm 2.36\%$, but its value of pH, total viable counts (TVC) and the heat-resistant bacteria counts were 6.58 ± 0.05 cfu/g, $(2.37 \pm 0.80) \times 10^3$ cfu/g, $(1.70 \pm 0.30) \times 10^2$ cfu/g respectively. TVC of D-sorbitol and other additives were $(1.48 \pm 1.11) \times 10^3$ cfu/g, $(3.03 \pm 1.46) \times 10^2$ cfu/g respectively. TVC of water and wrapper were low. The bacteria species of samples undergo different process were gram-positive. The bacterial flora were much simplex, mainly including *Bacillus* spp., *Staphylococcus* spp., *Micrococcus* spp..

Key words: scallop; cooking; bacteria number; composing of bacteria colonies

中图分类号: TS254.4

文献标识码: A

文章编号: 1002-0306(2009)01-0085-04

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、高真空包装等多个保质栅栏因子, 以保证产品水分含量 $> 45\%$, 水分活度为 0.92 ± 0.02 , 在 25°C 以下能安全贮藏达 6 个月^[1-4]。该类产品是只经过温和热处理而且不经过加热烹调直接食用的高风险食品, 对其细菌指标要求严格。然而, 实际生产的产品初期细菌总数、pH 时常不符合产品企业标准要求, 也难达到标称的保质期, 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^[5]。软烤扇贝加工工艺采用二次蒸煮工序, 即第一次蒸煮开口去壳和第二次盐水蒸煮煮熟^[2], 其工艺条件对产品质量影响甚大。为了保证产品质量和食用安全, 本文研究了软烤扇贝蒸煮工艺及条件对细菌数量和种类的变化影响, 旨在为实际生产进一步完善工艺条件提供依据, 并为评估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 实验材料

企业处理样品 2007 年 9 月, 从山东省荣成宏业水产食品有限公司生产现场取样, 鲜活栉孔扇贝经过漂洗浸泡、烫煮、筛壳、拣壳、鼓泡清洗、推筐清洗、冷却、去除内脏、鳃后, 无菌取样, 测定 pH、菌落总数、耐热菌落总数, 实验进行 3 次; 市售样品 2007 年 9 月, 从上海市铜川水产市场购冻煮栉孔扇贝肉, 经过冷冻→漂洗沥水→去内脏处理。用于测定水分含量、pH、菌落总数、耐热菌落总数、大肠菌群; 辅料、

收稿日期: 2008-05-19 * 通讯联系人

作者简介: 陈舒(1985-), 女, 硕士研究生, 从事水产品微生物学安全的研究。

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)。

表1 样品处理方式

时间	处理类型	编号	处理工艺流程
2008 年 1~2 月	一次蒸 ^a	S-4	A→B→C→D→E→F→I→J, 其中蒸开壳所用时间为 4min
		S-6	A→B→C→D→E→F→I→J, 其中蒸开壳所用时间为 6min
		S-8	A→B→C→D→E→F→I→J, 其中蒸开壳所用时间为 8min
2007 年 9 月	一次煮 ^b	B-1	K→L→G→H→I→J, 原料为生冻栉孔扇贝肉
		B-2	K→L→G→H, 原料为生冻虾夷扇贝柱
		B-3	K→L→G→H, 原料为生冻海湾扇贝柱
		SB-0	A→B→C→D→E→F→G→H→I→J
2007 年 10~11 月	二次蒸煮 ^c	SB-3	A→B→C→D→E→F→G→H→I→J, 其中 H 后 30℃ 放置 3h
		SB-6	A→B→C→D→E→F→G→H→I→J, 其中 H 后 30℃ 放置 6h
		SB-48	A→B→C→D→E→F→G→H→I→J, 后立即冷冻 48h

注:a,c:实验进行3次重复;a,b,c 样品均购于上海市铜川水产市场,用于测定水分含量、pH、菌落总数、耐热菌落总数、大肠菌群。

包装材料、加工用水 2007 年 9 月,在生产现场将除山梨糖醇外的配料按照配方混合均匀后,无菌取样,另取山梨糖醇,用于 pH、菌落总数、耐热菌落总数测定。无菌剪取 156cm² 包装薄膜,测定菌落总数。以无菌广口瓶取加工用水,分析测定 pH、菌落总数。

1.2 实验方法

1.2.1 蒸煮工艺流程 鲜活扇贝(A)→清洗(B)→浸泡(C)→蒸开壳(D)→去壳取肉(E)→清洗沥水(F)→3% 盐水煮 4min(G)→漂洗沥水(H)→去内脏(I)→清洗沥水(J)↑冻扇贝肉(K)→解冻沥水(L)

不同工艺条件见表 1。

1.2.2 理化性质测定 水分含量:常压 103±2℃ 加热干燥法^[6]; pH: 取 10.0g 剪碎样品,加蒸馏水 100mL,浸泡 30min,过滤后取滤液,用酸度计(上海伟业 PHS-3C 型)测定。

1.2.3 细菌计数

1.2.3.1 菌落总数测定 称取打碎样品 25.0g,加入 225mL 0.1% 蛋白胨无菌生理盐水,置均质器中均质后制成 10⁻¹ 混悬液,并依次十倍稀释。取 3 种浓度合适的稀释液 0.1mL,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℃ 培养 48h。辅料、包装材料、加工用水进行无菌样品处理。

1.2.3.2 耐热菌落总数测定^[7] 取 1.2.3.1 中的 10⁻¹ 混悬液 10mL 于试管中,在 85℃ 水浴中保温 15min,在冰水混合物中冷却 1h 后,测定菌落总数。

1.2.3.3 大肠菌群测定 按照 GB/T 4789.3-2003^[6] 测定。

1.2.4 细菌鉴定 挑选 1.2.3.1 菌落总数测定中菌落数合适(菌落数 30~100)的平板,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),在琼脂培养基平板上划线,37℃ 纯化培养 24~48h,重复划线分离 2~3 次。根据细菌菌落形态、细胞形态和生理生化特征,参照《常见细菌系统鉴定手册》^[8]、海产鱼类细菌鉴定图^[9]、结合英国 Sensititre 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 一次蒸样品温度与时间的关系

采用红外线测温仪对一次蒸处理整个过程中各点的物料温度进行测定,温度与时间的关系见图 1。

由图 1 可见,从市场购得运回实验室的鲜活扇贝(A)温度为 3℃ 左右,清洗后(B)扇贝温度上升到约 9℃,浸泡 2h 后(C)扇贝温度接近 11℃,蒸 6min 开壳后(D)扇贝肉温度达到约 79℃,去壳后(E)扇贝肉温度下降到 40℃,放入水中清洗后(F)扇贝肉迅速下降到 15℃ 左右,去完内脏后(G)扇贝肉温度略有上升达到 20℃,清洗后(H)扇贝肉温度下降至 13℃ 左右。

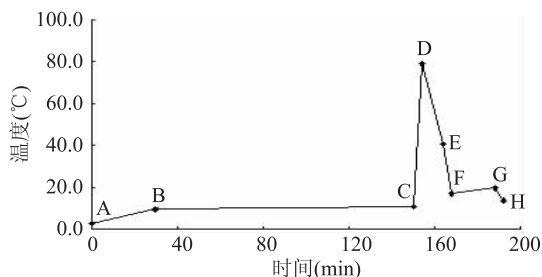


图1 一次蒸样品温度与时间的关系

2.2 蒸煮条件、工艺对样品理化和细菌特性的影响

经过不同蒸煮处理后,样品的理化、细菌特性见表 2。实验室蒸煮处理样品 pH 为 6.44~6.58,企业处理和市售样品 pH 偏高,可能是细菌含量高,代谢产生了一些碱性物质。一次蒸样品中,S-4、S-6、S-8 样品水分含量依次降低 1%;二次蒸煮样品水分含量最低;市售样品水分含量高达 77.67%,可能是热处理强度不够。

一次蒸处理样品中,随着时间的延长,菌落总数下降趋势逐渐减缓。一次煮处理样品中,B-2 个体较大,其次是 B-1、B-3 最小,经过煮 4min 后,B-2 菌落总数最高,B-3 最低。二次蒸煮样品放置 3、6h 后菌落总数略有增加,冷冻 48h 后菌落总数略有下降,说明在实际生产中,若物料堆放时间太长,得不到及时处理,细菌会增长繁殖。企业处理和市售样品的菌落总数比实验室处理样品高 10²~10³ cfu/g,笔者考察了企业蒸煮工序,发现原料清洗不足,烫煮水不及时更换和烫煮时间不够,是导致菌落总数偏高的原因。所有样品的耐热菌落总数相差不大,均为 10²~10³ cfu/g。实验室处理样品中均未检出大肠菌群,但市售样品大肠菌群 MPN 值高达 24000/100g,可能是蒸煮强度不够,细菌残留较高,也可能是处理过程中受到了污染,并且处理过程不良,细菌增殖较快,具体原因有待进一步跟踪调查。

表2 不同蒸煮处理扇贝样品的理化、细菌特性

样品	水分含量 (%)	pH	菌落总数 (cfu/g)	耐热菌落总数 (cfu/g)	大肠菌群 MPN(/100g)
S-4	75.50 ± 1.22	6.58 ± 0.09	(4.60 ± 1.25) × 10 ³	(2.83 ± 2.09) × 10 ²	< 30
S-6	74.25 ± 2.36	6.58 ± 0.05	(2.37 ± 0.80) × 10 ³	(1.70 ± 0.30) × 10 ²	< 30
S-8	73.14 ± 1.03	6.58 ± 0.04	(2.03 ± 0.91) × 10 ³	(1.05 ± 0.07) × 10 ²	< 30
B-1	67.92	6.53	7.20 × 10 ³	2.60 × 10 ³	< 30
B-2	68.07	6.44	1.30 × 10 ⁴	5.80 × 10 ²	< 30
B-3	74.31	6.49	1.50 × 10 ³	4.70 × 10 ²	< 30
SB-0	-	-	(6.83 ± 5.49) × 10 ³	(2.28 ± 2.57) × 10 ³	< 30
SB-3	-	-	(6.97 ± 1.40) × 10 ³	(2.13 ± 2.27) × 10 ³	< 30
SB-6	-	-	(1.17 ± 0.50) × 10 ⁴	(2.17 ± 2.24) × 10 ³	< 30
SB-48	67.80 ± 0.75	6.53 ± 0.27	(4.73 ± 3.26) × 10 ³	(2.61 ± 3.62) × 10 ³	< 30
企业	-	6.90 ± 0.06	(1.87 ± 0.81) × 10 ⁶	(7.67 ± 1.44) × 10 ²	-
市售	77.67	7.06	2.20 × 10 ⁶	1.40 × 10 ³	24000

表3 辅料、加工用水、包装材料的化学、细菌特性

样品	pH	细菌总数	耐热菌落总数(cfu/g)
混合辅料	4.61 ± 0.21	(3.03 ± 1.46) × 10 ² cfu/g	(1.54 ± 1.27) × 10 ²
山梨糖醇	6.04 ± 0.19	(1.48 ± 1.11) × 10 ³ cfu/g	(1.23 ± 0.75) × 10 ³
加工用水	6.67 ± 0.23	(8.3 ± 0.7) × 10 cfu/mL	-
包装材料	-	6.94cfu/cm ²	-

表4 不同方法处理后样品中细菌菌群组成

样品	芽孢杆菌		葡萄球菌		微球菌		棒状杆菌		未鉴定	
	菌株	比例(%)	菌株	比例(%)	菌株	比例(%)	菌株	比例(%)	菌株	比例(%)
S-4	34	59.0	18	31.4	3	5.8	2	3.7	1	0.1
S-6	45	59.7	23	30.5	4	5.3	2	2.7	1	1.8
S-8	35	60.3	17	29.3	3	5.2	3	5.2	0	0.0
B-1	45	60.8	22	29.7	3	4.1	2	2.7	2	2.7
B-2	52	60.5	26	30.2	6	7.0	1	1.2	1	1.2
B-3	47	64.4	20	27.4	3	4.1	2	2.7	1	1.4
SB-0	40	65.7	13	21.3	6	9.8	1	1.6	1	1.6
SB-3	43	67.2	14	21.9	5	7.8	0	0.0	2	3.1
SB-6	57	67.1	15	17.6	12	14.1	0	0.0	1	1.2
SB-48	38	63.3	18	30.0	3	5.0	0	0.0	1	1.7

冷冻煮熟面包扇贝产品的菌落总数为 10³ cfu/g, 大肠菌群 MPN 几何平均值为 2/g^[10]。经过水煮、冷却、去肠腺后冻煮淡水龙虾肉半成品的菌落总数为 10³~10⁵ cfu/g^[11,12]。冰岛即食煮熟剥壳虾中 93.6% 样品菌落总数 < 10⁴ cfu/g, 70.2% 的样品大肠菌群 MPN 值 < 1/g^[13]。这表明实验室蒸煮样品微生物质量是良好的, 菌落总数与即食制品的相接近。从表 2 中看出, 一次蒸处理 6min 样品水分含量较高, 菌落总数和耐热菌落总数均较低, 热杀菌效果比较明显, 为最佳处理方法。

2.3 辅料、加工用水、包装材料的化学和细菌特性

加工辅料、水的初始菌数和包装材料的卫生条件是保证产品质量和货架期容易忽视的因素。由表 3 可见, 山梨糖醇及其他混合辅料的菌落总数分别为 (1.48 ± 1.11) × 10³、(3.03 ± 1.46) × 10² cfu/g, 相对实验室处理后的样品菌落总数 10³~10⁴ cfu/g 来说较高, 对加工产品初始菌数的控制不利。辅料本身质量的好坏是影响其初始菌数的重要因素之一, 应该采购质量好的加工辅料。在进行辅料人工混合过程中, 会因为加工环境或操作人员等人为因素产生污染而使辅料初始菌数增多, 应该尽量减少和控制人工辅

料的操作环节及其卫生条件。加工用水水质符合《生活饮用水卫生标准》要求。包装材料所带的菌数较少。

2.4 不同方法处理样品中细菌菌群

从实验室一次蒸煮和二次蒸煮样品菌落总数中分离获得的所有菌株, 根据菌落形态和菌体形态观察分类后分析鉴定, 共得到四组主要的菌株, 都为革兰氏阳性菌, 显微镜油镜观察发现第 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。第 1~4 组分别为葡萄球菌 (*Staphylococcus* spp.)、微球菌 (*Micrococcus* spp.)、芽孢杆菌 (*Bacillus* spp.) 和棒状杆菌 (*Corynebacterium* spp.)。

不同方法处理的所有样品中, 芽孢杆菌占主要地位, 其次是葡萄球菌, 随着热强度的加大, 芽孢杆菌比例增加, 球菌比例减小。这与其他热处理水产制品的细菌相较接近。巴氏灭菌的真空包装模拟蟹肉片产品细菌相以葡萄球菌和微球菌为主^[14]。即食油炸鱼糜制品经过热处理后, 制品中心温度分别为 70℃ (81s) 和 87.1℃ (66s), 油炸后产品中残存腐败菌为芽孢杆菌、革兰氏阳性球菌, 球菌的出现是加工

(下转第 90 页)

响不大。

目前认为壳寡糖的抑菌机理是 $-\text{NH}_3^+$ 与细胞壁内的电负性物质结合后,改变了微生物细胞膜的流通性和通透性,而抑制微生物的生长^[9]。可能是因为原料乳中芽孢数量太少,并且芽孢有多层致密的壁保护,还有致密不透水的薄膜,可以阻止外界物质的渗入,因而导致芽孢及耐热芽孢数变化不显著。

2.5 壳寡糖对嗜冷菌的抑制作用

将添加不同浓度壳寡糖的原料乳在4℃的冰箱中放置8h后取出,稀释涂布于嗜冷菌计数培养基,21℃培养25h后菌落计数,结果如表5所示。

表5 壳寡糖对原料乳中嗜冷菌的抑制作用结果($\bar{x} \pm \text{SD}$)

	浓度(g/L)	嗜冷菌总数(lg cfu/mL)
空白组	-	4.272 ± 0.037
	2	4.262 ± 0.026
	4	4.213 ± 0.019
	5	4.201 ± 0.021 ^(*)
	10	4.167 ± 0.043 ^(*)
壳寡糖组	20	4.140 ± 0.008 ^(*)
	40	4.114 ± 0.023 ^(*)
	50	4.079 ± 0.014 ^(*)

由表5可知,与空白组相比,壳寡糖组除了2g/L浓度外,嗜冷菌总数均显著降低($p < 0.05$);壳寡糖浓度大于5g/L后,嗜冷菌总数降低极显著($p < 0.01$),且随着壳寡糖浓度的升高,抑制嗜冷菌效果越显著。

3 结论

壳寡糖对原料乳中常见致病菌金黄色葡萄球菌

(上接第87页)

过程控制不当、二次污染导致的^[15]。

3 结论

山梨糖醇及其他混合辅料的菌落总数高,对加工产品初始菌数的控制不利。加工用水、包装材料所带菌数较少。经过不同蒸煮工艺和条件处理后的样品细菌种类均为革兰氏阳性,细菌相也比较单一,均主要包括芽孢杆菌、葡萄球菌、微球菌。所有不同蒸煮工艺及条件中,一次蒸处理6min样品水分含量较高,但菌落总数和耐热菌落总数均较低,热杀菌效果比较明显,为最佳处理方法。

参考文献:

- [1] 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.
- [2] 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.
- [3] 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.
- [4] 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.
- [5] 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.
- [6] 大连轻工业学院,等. 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

和大肠杆菌有显著的抑制作用($p < 0.05$),且浓度越高,作用越明显;对原料乳中细菌总数、嗜冷菌总数有显著抑制作用($P < 0.05$),且浓度越高,作用越明显;对原料乳美兰变色时间有影响,且浓度越高,变色时间越长;对原料乳中芽孢数、耐热芽孢数影响不显著。

参考文献:

- [1] 严钦,沈月新,等. 壳寡糖的制备及其抑菌性能研究[J]. 食品研究与开发,2003,4(2):26~29.
- [2] David A Zaharoff, et al. Chitosan solution enhances both humoral and cell mediated immune responses to subcutaneous vaccination[J]. Vaccine, 2007,19(6):2085~2094.
- [3] Rabea, et al. Chitosan as antimicrobial agent: applications and mode of action[J]. Biomacromolecules, 2003(4):1457~1465.
- [4] YANG T C, CHOU C C, LI C F. Antibacterial activity of N-alkylated disaccharide chitosan derivatives[J]. Int J Food Microbiol, 2005, 97:237~245.
- [5] 柴彤涛. 原料奶中芽孢、耐热芽孢、嗜冷菌及抗生素残留的测定[J]. 中国乳业,2002(3):28~30.
- [6] 王克新,房玉国,张丽宏. 液体乳中嗜冷菌的测定[J]. 中国乳品工业,2001,29(5):31~32.
- [7] 沈萍等. 微生物学实验[M]. 高等教育出版社,2004,7.
- [8] 刘芳,杜鹏,霍贵成. 壳寡糖对原料乳中微生物抑制作用的研究[J]. 中国乳品工业,2005,33(6):28~30.
- [9] 魏新林,夏文水. 甲壳低聚糖的生理活性研究[J]. 中国药理学通报,2003,19(6):164~167.
- [D]. 中国农业大学博士学位论文,2001.17.
- [8] 东秀珠,蔡妙英. 常见细菌系统鉴定手册(第一版)[M]. 北京:科学出版社,2001.
- [9] 須山三千三,鴻巢章二. 水産食品学[M]. 東京:恒星社厚生閣,1987.111~118.
- [10] E F Baer, A P Duran, H V Leininger, R B Read, et al. Microbiological Quality of Frozen Breaded Fish and Shellfish Products[J]. Applied And Environmental Microbiology, 1976(3):337~341.
- [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):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(4):14~17.
- [13] Grimur Valdimarsson, Hjörleifur Einarsson, Birna Gudbjörnsdóttir, Hannes Magnusson. Microbiological quality of Icelandic cooked - peeled shrimp (*Pandalus borealis*) [J]. International Journal of Food Microbiology, 1998, 45(2):157~161.
- [14] Hollingworth T A, J K, Kaysner C A, et al. Chemical and microbiological analysis of vacuum packed, pasteurized flaked imitation crabmeat[J]. Journal of Food Science, 1991,56(1):164~167.
- [15] 鶴木隆文,吉村浩三,下野かおり, et al. 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.