

调查研究

火腿肠加工过程中微生物风险研究

杨舒然^{1,2}, 杨大进², 闫琳², 裴晓燕², 朱海明³, 黄玉兰⁴, 梁辉³, 罗赞⁵, 刘起勇¹

(1. 中国疾病预防控制中心传染病预防控制所 传染病预防控制国家重点实验室 感染性疾病诊治协同创新中心 世界卫生组织媒介生物监测与管理合作中心, 北京 102206; 2. 国家食品安全风险评估中心, 北京 100022; 3. 广东省疾病预防控制中心, 广东 广州 511430; 4. 四川省疾病预防控制中心, 四川 成都 610041; 5. 绵阳市疾病预防控制中心, 四川 绵阳 621000)

摘要:目的 开展火腿肠加工过程中微生物污染风险研究, 掌握卫生指示菌、主要食源性致病菌的分布特征和污染途径, 为火腿肠加工过程中微生物污染风险控制提供依据。方法 2015—2017 年对 4 家企业的 712 份产品相关样品(原辅料、中间产品和终产品)和环境样品(包括生产用水、空气沉降菌、人员、工具等)进行监测, 选择传统分离培养方法对卫生指示菌和主要食源性致病菌进行检验, 并对沙门菌进行血清学鉴定。结果 原辅料中菌落总数 $>10^5$ CFU/g 和大肠菌群 $>10^3$ CFU/g 的样品比例分别为 33.00% (33/100) 和 29.00% (29/100); 中间产品中菌落总数 $>10^5$ CFU/g 和大肠菌群 $>10^3$ CFU/g 的样品比例分别为 62.86% (66/105) 和 36.19% (38/105); 终产品未检出菌落总数 $>10^4$ CFU/g 的样品, 大肠菌群均 <10 CFU/g。结论 火腿肠加工过程存在微生物污染风险, 本研究对掌握火腿肠加工过程的污染分布, 确定关键控制点, 为制定相关生产质量管理规范、确保终产品的食品安全具有重要意义。

关键词:火腿肠; 加工过程; 卫生指示菌; 食源性致病菌; 血清型

中图分类号: R155 文献标志码: A 文章编号: 1004-8456(2019)01-0059-05

DOI: 10.13590/j.cjfh.2019.01.013

Study on microbial contamination risk in sausage processing

YANG Shuran^{1,2}, YANG Dajin², YAN Lin², PEI Xiaoyan², ZHU Haiming³,
HUANG Yulan⁴, LIANG Hui³, LUO Yun⁵, LIU Qiyong¹

(1. State Key Laboratory of Infectious Disease Prevention and Control, National Institute for Communicable Disease Control and Prevention, Chinese Center for Disease Control and Prevention, Collaborative Innovation Center for Diagnosis and Treatment of Infectious Diseases, WHO Collaborating Centre for Vector Surveillance and Management, Beijing 102206, China;
2. China National Centre for Food Safety Risk Assessment, Beijing 100022, China;
3. Guangdong Provincial Center for Disease Control and Prevention, Guangdong Guangzhou 511430, China; 4. Sichuan Center for Disease Control and Prevention, Sichuan Chengdu 610041, China; 5. Mianyang Center for Disease Control and Prevention, Sichuan Mianyang 621000, China)

Abstract: Objective To study the risk of microbial contamination in sausage processing, and the distribution characteristics and contamination pathways of hygienic indicator bacteria and main foodborne pathogens, and to provide basis for risk control of microbial contamination during processing of sausage. **Methods** 712 meat product samples (raw materials, intermediate products and final products) and environment samples were collected from 4 enterprises from 2015 to 2017. Traditional isolation and culture method were used to detect hygienic indicator bacteria and main foodborne pathogens, and serological identification of *Salmonella* was carried out. **Results** The proportion of raw materials samples with aerobic plate count (APC) above 10^5 CFU/g and coliforms above 10^3 CFU/g was 33.00% (33/100) and 29.00% (29/100) respectively. The proportion of intermediate products samples with APC above 10^5 CFU/g and coliforms above 10^3 CFU/g was 62.86% (66/105) and 36.19% (38/105) respectively. There was no samples with APC above 10^4 CFU/g

收稿日期: 2019-01-18

基金项目: 气象敏感性传染病预测预警和干预技术研究(2017FY101202)

作者简介: 杨舒然 女 助理研究员 研究方向为食品安全与公共卫生 E-mail: yangshuran@cfsa.net.cn

通信作者: 刘起勇 男 研究员 研究方向为公共卫生 E-mail: liuqiyong@icdc.cn

and coliforms above 10 CFU/g in final products. **Conclusion** This study will help to understand the contamination distribution of sausage during processing, the key control points, the formulation of good manufacturing practices and the food safety of final products.

Key words: Sausage; processing; hygiene indicator bacteria; foodborne pathogens; serotype

火腿肠,即高温肉灌肠,指以鲜或冻畜肉、禽肉为主要原料,经腌制、搅拌、斩拌(或乳化)、灌入塑料肠衣,经高温杀菌制成的肉类灌肠制品,是中国熟肉制品市场的主导产品之一。火腿肠的加工工艺流程主要包括:原料肉→解冻→绞肉→腌制→斩拌(或滚揉、真空搅拌)→灌装→杀菌→漂洗烘干→包装→检验→成品入库。其中杀菌步骤是关键控制点。

在我国,熟肉制品是引起食源性疾病的高风险食品^[1]。以往曾针对市售火腿肠开展过微生物污染研究,总体掌握了该产品的基本卫生状况,但难以确定生产加工过程中导致问题出现的关键环节^[2]。本次研究对我国火腿肠生产加工过程开展全面微生物污染研究,选择在国内有代表性的火腿肠企业对菌落总数、大肠菌群、单核细胞增生李斯特菌(以下简称单增)、沙门菌、金黄色葡萄球菌(以下简称金葡)指标开展连续三年的研究,以掌握生产加工过程中各个环节微生物指标的污染水平和变异规律,确定容易受到微生物污染的关键环节,确定关键风险因子。

1 材料与方法

1.1 采样

2015—2017年连续三年在国内选择有代表性的4家火腿肠企业,共采集样品712份,包括环境相关样品(生产用水、空气沉降菌、人员、工具等)455份、产品相关样品(原辅料、中间产品和终产品)257份,其中原辅料指用于制作火腿肠的成分,包括生肉、大豆蛋白、调味料等;中间产品指的是生产加工过程中所有阶段的混料、半成品等;终产品是指已经具有完整的零售包装、可以直接出厂销售的终产品。采样时间为每年2次,分别在第二、第三季度。采样区域覆盖各生产车间,所有采集的样品均为同一批次火腿肠加工过程的产品相关样品和环境相关样品。

产品相关样品采取随机抽样、多点采样,以保证样品代表性。环境相关样品优先选择最容易受微生物污染、卫生状况可能存在问题等风险较高的区域。环境相关样品中生产用水仅指加入到产品中的水,采取随机采集末梢水的方式,每份样品500 ml左右;其他环境样品大多采取海绵涂抹棒擦拭采样,采用“Z”形方法进行擦拭,针对地面、设备

外表面等面积较大区域,海绵擦拭面积一般为1 m²;针对门把手、开关机按钮等面积较小区域,选择同一加工区域的2~5个并涂抹整个表面作为1份样品,采样后以酒精擦拭表面,避免交叉污染^[3]。

1.2 方法

1.2.1 菌落总数测定

产品相关样品、环境相关样品中的生产用水,参考GB 4789.2—2016《食品安全国家标准 食品微生物学检验 菌落总数测定》^[4];环境相关样品中的空气沉降菌参考GB/T 16294—2010《医药工业洁净室(区)沉降菌的测试方法》^[5]。

1.2.2 大肠菌群计数

参考GB 4789.3—2016《食品安全国家标准 食品微生物学检验 大肠菌群计数》^[6]第二法。

1.2.3 食源性致病菌检测

肠杆菌科、单增、沙门菌、金葡检验分别参考GB 4789.41—2016《食品安全国家标准 食品微生物学检验 肠杆菌科检验》^[7]、GB 4789.30—2016《食品安全国家标准 食品微生物学检验 单核细胞增生李斯特氏菌检验》^[8]、GB 4789.4—2016《食品安全国家标准 食品微生物学检验 沙门氏菌检验》^[9]、GB 4789.10—2016《食品安全国家标准 食品微生物学检验 金黄色葡萄球菌检验》^[10]。

1.3 统计学分析

应用R软件进行数据分析,进行卡方检验或Fisher精确检验,以 $\alpha = 0.05$ 为检验水准, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 产品相关样品

产品相关样品包括原辅料100份、中间产品105份、终产品52份。具体检测结果见表1。原辅料中菌落总数 $> 10^5$ CFU/g和大肠菌群 $> 10^3$ CFU/g的样品比例分别为33.00%(33/100)和29.00%(29/100),单增和沙门菌的检出率分别为36.07%(22/61)和14.00%(14/100);中间产品中菌落总数 $> 10^5$ CFU/g和大肠菌群 $> 10^3$ CFU/g的样品比例分别为62.86%(66/105)和36.19%(38/105),单增和沙门菌的检出率为49.28%(34/69)和19.05%(20/105)。中间产品中菌落总数 $> 10^5$ CFU/g、金葡 $> 10^3$ CFU/g的样品比例均高于原辅料,差异有统计学意义($P < 0.05$)。终产品未检出菌落总数

$>10^4$ CFU/g的样品,其中有 13 份样品菌落总数计数在 $10\sim 430$ CFU/g 之间;大肠菌群均 ≤ 10 CFU/g;仅

检出一份金葡阳性样品,为 130 CFU/g;未检出沙门菌阳性样品;单增检出率为 2.44% (1/41)。

表 1 不同种类产品相关样品的卫生指示菌和食源性致病菌的检测结果

Table 1 Results of hygienic indicators and foodborne pathogens of different kinds of products

样品种类		菌落总数样品份数		大肠菌群样品份数			金葡样品份数		沙门菌 阳性样 品份数	单增阳 性样品 份数
		$10^4 < n \leq 10^5$	$> 10^5$	$10 < n \leq 10^2$	$10^2 < n \leq 10^3$	$> 10^3$	$10^2 < n \leq 10^3$	$> 10^3$		
		CFU/g	CFU/g	CFU/g	CFU/g	CFU/g	CFU/g	CFU/g		
原辅料 (n=100)	解冻后(加工前)的原料 (n=46)	19	25	5	13	22	4	1	13	17
	调整后 (n=14)	5	8	2	4	7	1	1	1	5
	主要辅料 (n=40)	2	0	0	0	0	0	0	0	0
	小计	26	33	7	17	29	5	2	14	22
中间产品 (n=105)	绞肉后 (n=17)	4	13	3	4	10	4	1	7	5
	腌制前(腌制起始) (n=15)	6	9	1	10	4	2	2	1	6
	腌制中 (n=12)	3	9	1	2	5	3	3	3	7
	腌制后(腌制结束) (n=19)	8	11	2	10	5	5	2	4	4
	高温蒸煮(烤)前 (n=31)	7	24	3	13	14	6	1	5	12
	高温蒸煮(烤)后 (n=7)	0	0	0	0	0	0	0	0	—
	冷却后 (n=4)	0	0	0	0	0	0	0	0	—
小计	28	66	10	39	38	20	9	20	34	
终产品 (n=52)	0	0	0	0	0	1	0	0	1	
合计 (n=257)	54	99	17	56	67	26	11	34	57	

注:原辅料中金葡检测样品数为 97 份、单增检测样品数为 61 份,中间产品中单增检测样品数为 69 份,终产品中单增检测样品数为 41 份;—表示未检测

结果提示,原辅料本身就存在卫生状况较差的现状,风险较高,不仅可能造成终产品的食品安全问题,还有存在交叉污染的风险。

2.2 环境相关样品

455 份环境相关样品中 219 份采自生区环境,236 份采自熟区环境。环境相关样品中空气沉降菌的结果见表 2,生区环境中空气沉降菌 >10 CFU/皿样品比例为 98.00% (49/50),熟区为 93.62% (44/47),生区和熟区环境比较差异无统计学意义 ($P>0.05$)。环境相关样品中共检测 9 份生区环境的生产用水,其中 6 份样品菌落总数 <1 CFU/ml,3 份样品菌落总数在 $10\sim 24$ CFU/ml 之间;10 份生区环境的生产用水均未检出大肠菌群。其他环境

相关样品结果见表 3,肠杆菌科在生区和熟区环境的检出率分别为 51.09% (47/92) 和 45.59% (62/136),生区和熟区环境比较差异无统计学意义 ($P>0.05$),提示熟区环境清洁度有问题。

表 2 各企业不同区域空气沉降菌测试结果

Table 2 Results of air sedimentation bacteria in different areas of enterprises

环境区域	样品 份数	不同菌落数的样品份数		
		≤ 10 CFU/皿	$10 < n \leq 100$ CFU/皿	$100 < n \leq 500$ CFU/皿
生区	50	1	34	15
熟区	47	3	38	6
合计	97	4	72	21

表 3 不同种类环境样品卫生指示菌和食源性致病菌的检测结果

Table 3 Results of hygienic indicators and foodborne pathogens of different environmental samples

样品种类		肠杆菌科		单增		金葡		沙门菌	
		总样品 份数	检出 份数	总样品 份数	检出 份数	总样品 份数	检出 份数	总样品 份数	检出 份数
生区环境	人员	32	20	27	1	47	7	47	2
	设备	31	18	33	3	44	8	50	6
	工具(称量工具、刀具、清洁工具、维修工具)	7	2	12	0	13	0	15	1
	其他(地面、开关机按钮、门把手、排水口、墙壁)	22	7	29	3	29	3	39	4
	小计	92	47	101	7	133	18	151	13
熟区环境	人员	48	20	33	1	64	6	65	0
	设备	27	15	18	0	28	2	37	0
	工具(称量工具、刀具、清洁工具、维修工具)	16	6	9	0	13	1	21	0
	其他(地面、开关机按钮、门把手、排水口、墙壁)	45	21	27	2	25	2	56	0
	小计	136	62	87	3	130	11	179	0
合计	228	109	188	10	263	29	330	13	

2.3 沙门菌血清型

共对47株沙门菌进行血清学鉴定。分离自生区环境的13株沙门菌,主要包括肠炎沙门菌(3株)和鼠伤寒沙门菌(3株)等;分离自原辅料的14株沙

门菌,主要包括德尔卑沙门菌(6株)和肠炎沙门菌(4株)等;分离自中间产品的20株沙门菌,主要包括肠炎沙门菌(11株)、鼠伤寒沙门菌(3株)和德尔卑沙门菌(3株)等,见表4。

表4 不同样品检出的沙门菌血清型

Table 4 *Salmonella* serotype of different kinds of samples

具体样品	株数	沙门菌血清型(株数)
操作人员鞋底	1	鼠伤寒(1)
操作人员衣服前襟	1	鼠伤寒(1)
传送带或者传送器具(接触产品的表面)	2	肠炎(1)、阿贡纳(1)
地面(涂抹法)	3	肠炎(2)、火鸡(1)
生区环境	1	鼠伤寒(1)
开关机按钮	1	德尔卑(1)
可移动设备接触地面的部件	1	里森(1)、卢博莫(1)
设备外表面(包括角落)	2	里森(1)
与食品直接接触的设备内表面(包括角落)	1	印地安纳(1)
称量工具	1	—
原辅料	14	德尔卑(6)、肠炎(4)、吉韦(1)、鼠伤寒(1)、阿贡纳(1)、肯塔基(1)
中间产品	20	肠炎(11)、鼠伤寒(3)、德尔卑(3)、兰伯赫斯特(1)、肯塔基(1)、里森(1)
合计	47	—

注:—为该项不进行合计

3 讨论

3.1 产品相关样品

3.1.1 原辅料和中间产品

4家企业的原辅料中均检出菌落总数 $>10^5$ CFU/g和大肠菌群 $>10^3$ CFU/g的样品,食品中卫生指示菌的数量虽然不一定与人体健康成正相关,但可反映其卫生质量,以及食品在生产、贮存和销售过程中的卫生管理状况,细菌在繁殖过程中可分解食品成分,因此在食品中细菌的数量越多,食品腐败变质的可能性越大^[11],因此仍需关注。

中间产品中菌落总数 $>10^5$ CFU/g、金葡 $>10^3$ CFU/g的样品比例均高于原辅料,差异有统计学意义($P<0.05$)。分析原因可能与加工过程中的中间产品放置的温度、加入的原料和整个生产过程相关。且调查结果提示,各企业灌装车间的温度相对较高,为14.8~27.8℃,适宜菌群增殖,需对该环节的温度和时间进行控制。

3.1.2 终产品

终产品中单增的检出率为2.44%,与2012年意大利市售食品中单增的检出率(2.10%)^[12]和约旦市售即食鸡肉和牛肉中单增的检出率(2.00%)^[13]近似。虽然火腿肠在灌装后有超过120℃,不低于15 min的热处理过程,但仍有1份终产品检出单增,提示该企业生产工艺的灭菌效果及生产环境卫生状况存在问题,需要进行追溯研究,并提出风险控制措施,以保证终产品中微生物指标满足相应的国家标准。同时根据美国食品安全检验局(FSIS)对熟肉制品中单增的风险评估结果提示增加食品接

触表面检验和卫生措施的频率可适当降低李斯特菌病的风险,组合干预措施(如食品接触表面的检验和卫生措施、包装前和包装后干预、使用生长抑制剂等)与任何单一措施相比,更能有效地缓解即食食品中单增的潜在污染并降低疾病或死亡的风险^[14]。

3.2 环境相关样品

在生区环境中,从操作人员的手、衣服前襟、鞋底检出金葡、单增或沙门菌,尤其是在操作人员前襟上均检出三种食源性致病菌。由于操作人员前襟有可能直接接触原辅料,成为传染源,因此建议加强工作服的清洗消毒,同时设置允许穿着的区域,注意避免交叉污染。此外,无论是生区环境还是熟区环境的称量工具均分别检出沙门菌和金葡,说明器具在消毒方面存在忽视。

总体来说,火腿肠环境相关样品致病菌检出率相对较高,比如沙门菌,作为致病性较强的食源性致病菌在环境样品的人员、设备、工具、地面等均有检出,分析原因可能为火腿肠加工车间相互贯通,无严格物理隔离和环境消毒卫生措施等。

3.3 沙门菌血清型

47株沙门菌中,肠炎沙门菌占比最大(38.30%,18/47),其次是德尔卑沙门菌(21.28%,10/47)和鼠伤寒沙门菌(14.89%,7/47)。与其他国家的研究比较结果类似,约旦的研究显示,从鸡肉中也分离出鼠伤寒沙门菌^[13];马达加斯加的研究中显示,从街边熟肉制品中分离出鼠伤寒沙门菌和山夫登堡沙门菌^[15]。中国六省份零售整鸡中沙门菌血清型分布调查中也显示肠炎沙门菌是优势血

清型^[16]。

综上所述,本研究开展我国火腿肠加工过程风险分析,初步掌握了我国火腿肠加工过程中卫生指示菌和食源性致病菌的分布特征,结果提示需关注原辅料卫生状况,同时根据生产工艺分析,原辅料可能为整个生产加工过程污染的起点,并且伴随着整个生产加工过程。企业在加工过程中应加强加工环境和设备温度控制措施。火腿肠加工过程中生区和熟区环境未严格分离,环境相关样品致病菌检出率相对较高,容易造成交叉污染。另外,火腿肠的终产品不是无菌产品,部分产品仍存在一定量的细菌,虽然出厂时符合国家标准,但该产品水分充足,适宜微生物的增长繁殖,一旦肉温偏高,就会加速蛋白质等营养物质的分解,发生肉品腐败变质,因此,除保证出厂产品食品安全指标外,还应控制适宜的运输、销售、储存温度,对保证货架期产品卫生学质量至关重要^[17-19]。本研究对掌握火腿肠加工过程的污染分布,了解关键控制点,为制订相关生产质量管理规范、确保终产品的食品安全具有重要意义。

参考文献

- [1] FANG S Q, LIU X M, TANG D B, et al. Microbiological safety and control technology of cooked meat products in China [J]. *Modern Food Science and Technology*, 2012, 28(1): 99-103.
- [2] YANG S R, PEI X Y, WANG G, et al. Prevalence of food-borne pathogens in ready-to-eat meat products in seven different Chinese regions [J]. *Food Control*, 2016, 65(1): 92-98.
- [3] 裴晓燕, 李莹, 遇晓杰, 等. 婴儿配方粉干法加工过程肠杆菌科和克罗诺杆菌属监测 [J]. *中国食品卫生杂志*, 2017, 29(5): 610-615.
- [4] 中华人民共和国国家卫生和计划生育委员会, 国家食品药品监督管理总局. 食品安全国家标准 食品微生物学检验 菌落总数测定: GB 4789. 2—2016 [S]. 北京: 中国标准出版社, 2016.
- [5] 中华人民共和国国家质量监督检验检疫总局, 中国国家标准化管理委员会. 医药工业洁净室(区)沉降菌的测试方法: GB/T 16294—2010 [S]. 北京: 中国标准出版社, 2010.
- [6] 中华人民共和国国家卫生和计划生育委员会, 国家食品药品监督管理总局. 食品安全国家标准 食品微生物学检验 大肠菌群计数: GB 4789. 3—2016 [S]. 北京: 中国标准出版社, 2016.
- [7] 中华人民共和国国家卫生和计划生育委员会. 食品安全国家标准 食品微生物学检验 肠杆菌科检验: GB 4789. 41—2016 [S]. 北京: 中国标准出版社, 2016.
- [8] 中华人民共和国国家卫生和计划生育委员会, 国家食品药品监督管理总局. 食品安全国家标准 食品微生物学检验 单核细胞增生李斯特氏菌检验: GB 4789. 30—2016 [S]. 北京: 中国标准出版社, 2016.
- [9] 中华人民共和国国家卫生和计划生育委员会, 国家食品药品监督管理总局. 食品安全国家标准 食品微生物学检验 沙门氏菌检验: GB 4789. 4—2016 [S]. 北京: 中国标准出版社, 2016.
- [10] 中华人民共和国国家卫生和计划生育委员会, 国家食品药品监督管理总局. 食品安全国家标准 食品微生物学检验 金黄色葡萄球菌检验: GB 4789. 10—2016 [S]. 北京: 中国标准出版社, 2016.
- [11] 李勇. 营养与食品卫生学 [M]. 北京: 北京大学医学出版社, 2005.
- [12] LATORRE L, PARISI A, FRACCALVIERI R, et al. Low prevalence of *Listeria monocytogenes* in foods from Italy [J]. *J Food Prot*, 2007, 70(6): 1507-1512.
- [13] OSAILI T M, AL-NABULSI A A, SHAKER R R, et al. Prevalence of *Salmonella* serovars, *Listeria monocytogenes*, and *Escherichia coli* O157: H7 in Mediterranean ready-to-eat meat products in Jordan [J]. *J Food Prot*, 2014, 77(1): 106-111.
- [14] USDA/FSIS. FSIS risk assessment for *Listeria monocytogenes* in deli meats [EB/OL]. 2003 [2018-11-03] https://www.fsis.usda.gov/wps/wcm/connect/b5027918-ee69-475e-acc9-a07c642f13b6/Lm_Deli_Risk_Assess_Final_2003.pdf?MOD=AJPERES.
- [15] CARDINALE E, ABAT C, BÉNÉDICTE C, et al. *Salmonella* and *Campylobacter* contamination of ready-to-eat street-vended pork meat dishes in Antananarivo, Madagascar: a risk for the consumers? [J]. *Foodborne Pathog Dis*, 2015, 12(3): 197-202.
- [16] 胡豫杰, 赫英英, 王晔茹, 等. 中国六省份零售整鸡中沙门菌血清型分布和耐药性特征研究 [J]. *中华预防医学杂志*, 2018, 52(4): 372-376.
- [17] CHRISTISON C A, LINDSAY D, VON HOLY A. Microbiological survey of ready-to-eat foods and associated preparation surfaces in retail delicatessens, Johannesburg, South Africa [J]. *Food Control*, 2008, 19(7): 727-733.
- [18] GIBBONS I S, ADESIYUN A, SEEPERSAD SINGH N, et al. Investigation for possible source(s) of contamination of ready-to-eat meat products with *Listeria* spp. and other pathogens in a meat processing plant in Trinidad [J]. *Food Microbiol*, 2006, 23(4): 359-366.
- [19] THÉVENOT D, DERNBURG A, VERNOZY-ROZAND C. An updated review of *Listeria monocytogenes* in the pork meat industry and its products [J]. *J Appl Microbiol*, 2006, 101(1): 7-17.