

冷却肉中单核增生李斯特氏菌的抑菌研究

韩军¹ 于宏伟¹ 陈灿¹ 任远² 顾媛媛¹ 贾英民^{2*}

(¹河北农业大学食品科技学院 河北保定 071001 ²河北科技大学生物科学与工程学院 石家庄 050018)

摘要 紫外线对于单核增生李斯特氏菌悬液有较好的杀菌效果,照射 5 min 即可将全部菌体杀死。柠檬酸、乳酸抑菌效果好,其含量达到 2 mL/L,可抑制李斯特氏菌的生长。有机酸钠盐的抑菌效果较差。丁香、肉桂、大蒜、生姜精油对于李斯特氏菌有较好的抑菌作用,这 4 种精油复配后存在协同抑菌作用。

关键词 冷鲜肉;单核增生李斯特氏菌;抑菌作用

文章编号 1009-7848(2014)05-0098-08

肉类食品含有人体所需的优质蛋白和其它营养素,是人们日常饮食生活中非常重要的组成部分。目前,市场上销售的肉品主要有热鲜肉、冷却肉和冷冻肉 3 类。热鲜肉是指凌晨宰杀、清早上市的未经任何降温处理的生鲜肉。冷冻肉是指在-18℃以下冻结保存的生鲜肉。冷却肉是将宰杀后的畜胴体迅速冷却,排除体内的热量,使胴体温度(以后腿内部为测量点)在 24 h 内降到 0~4℃,并在后续的加工、流通和分销过程中始终保持在 0~4℃范围的生鲜肉。冷却肉经僵直、排酸,具有肉嫩味美,便于切割,营养价值高等优点,是国际生鲜肉生产和消费的主流,在我国也越来越赢得消费者,特别是较高收入人群的认同^[1-2]。

冷却肉虽然在整个生产、流通过程中始终处于低温环境下,大多数微生物的生长繁殖被抑制,但少数耐低温的微生物仍然可以缓慢的生长,引起肉类的腐败变质,甚至引发食物中毒。单核增生李斯特氏菌(*Listeria monocytogenes*, Lm)就是这样 1 种在低温条件下可缓慢生长(4℃下, Lm 的世代时间为 1.5 d^[3])的病原菌,广泛分布在环境中,土壤、河水、污水、粪便中都能分离出该菌,人感染后可引起败血症、脑膜炎等病症。美国、加拿大等国曾多次爆发由该菌引起的食物中毒,死亡率在 30%以上^[4]。在中国,李斯特菌病尚未列入法定报

告疾病名录,据发表的文献资料显示,我国半数省份已有李斯特菌病病例报告,平均病死率为 21%,其中新生儿病死率高达 56%^[5]。

人主要是由于食用了受到污染的乳及乳制品、肉及肉制品等动物性食品而患上李斯特菌病。Lm 对食品的污染可以是多环节和多途径的,从食品加工、运输、储存到销售的过程,都可能会受到该菌的污染。中国自 2000 年起开展食品中 Lm 的污染监测,该菌在各类食品中的阳性检出率以生畜、禽肉最高。本实验室工作人员曾对 97 份热鲜肉样品做过检测, Lm 的阳性检出率为 31%,而采集于同一地区的 11 份冷却肉样品的阳性检出率则更高,达到 45%。

要想降低 Lm 对公众健康的威胁,需注意两个方面:一是控制冷却肉中 Lm 的初始污染数量,二是选择有效的抑菌方法。在本试验中,选择紫外线照射、有机酸喷淋和植物香辛料精油浸泡这几种简便、易行的方法,研究它们对 Lm 的抑制作用,为冷却肉的安全生产提供理论依据。

1 材料和方法

1.1 样品来源

从超市、商场采集冷却肉样品。

1.2 培养基

李斯特氏菌增菌肉汤(EB)、胰酪胨大豆琼脂(TSA-YE)、胰酪胨大豆肉汤(TSB-YE)、PALCAM 培养基,购于青岛海博公司。

孜然精油、花椒精油、辣椒精油、八角茴香精

收稿日期: 2013-05-20

基金项目: 河北省自然科学基金项目(C2006000514)

作者简介: 韩军,女,1979 年出生,硕士,讲师

通讯作者: 贾英民

油、生姜精油、大蒜精油、肉桂精油、黑胡椒精油、胡椒精油、丁香花蕾精油、肉豆蔻精油,购自南阳张仲景现代中药发展有限公司。

乳酸(85%~90%分析纯)和乳酸钠($\geq 60\%$ 分析纯),购自天津市北方化玻购销中心;柠檬酸(99.8%分析纯),购自河北省保定化学试剂厂;冰乙酸(99.5%分析纯),购自天津市北方天医化学试剂厂;柠檬酸三钠(99%分析纯),购自福晨化学试剂厂;乙酸钠(99%分析纯),购自天津市天达净化材料精细化工厂。

1.3 菌株

单核增生李斯特氏菌 10403S、ScottA,浙江大学方维焕教授惠赠;蜡样芽孢杆菌(63301);英诺克李斯特氏菌 N86,本实验室分离。

1.4 抑菌试验

1.4.1 菌悬液的制备 用接种环挑取活化后的 Lm 10403S 菌苔 10 环于 25 mL 灭菌的蒸馏水中,在漩涡混合器上混匀,采用平板菌落计数法,可知菌悬液的浓度约为 10^8 CFU/mL。

1.4.2 紫外线抑菌试验 紫外线杀菌就是通过紫外线的照射,破坏及改变微生物的 DNA 结构,使细菌当即死亡或不能繁殖后代,达到杀菌的目的。紫外线杀菌属于纯物理消毒方法,具有简单便捷、广谱高效、无二次污染、便于管理的优点。此外,紫外灯安装、维修简单,特别是投资及运行、维修费用低。目前,紫外线主要用于对空气、水、薄层流体制品及包装容器表面的杀菌,在水处理及果品蔬菜保鲜方面得到广泛的应用。

将制备好的菌液倒入放有转子的培养皿中,放到磁力搅拌器上,打开紫外线灯,揭开皿盖,开始计时,分别取经紫外线照射 1,2,3,4,5,6,7 min 的菌液,进行平板菌落计数。

1.4.3 有机酸及其钠盐抑菌试验 有机酸及其钠盐是食品加工中常用的防腐保鲜剂,如乳酸钠,广泛用于肉制品保鲜,可降低肉制品的水分活度,延长食品的储藏期限。小相对分子质量的有机酸可以透过微生物的细胞膜,进入细胞内部电离,改变细胞内的电荷分布,引起菌体代谢紊乱或死亡^[6]。

1.4.3.1 最低抑菌浓度试验 取一定量的有机酸或其钠盐,加入 10 mL TSB-YE 中,121 °C 15 min 灭菌,接种 Lm 10 403s,35 °C 恒温培养,观察菌液

的澄清度。

1.4.3.2 复合有机酸及钠盐的抑菌效果试验

1) 取 0.02 mL 冰醋酸加入 10 mL TSB-YE 中,121 °C 15 min 灭菌,接种 Lm 10 403s,35 °C 恒温培养,菌落计数。

2) 取 0.02 mL 冰醋酸和 0.1 g 醋酸钠加入 10 mL TSB-YE 中,121 °C 15 min 灭菌,接种 Lm 10 403s,35 °C 恒温培养,菌落计数。

3) 取 0.1 g 柠檬酸加入 10 mL TSB-YE 中,121 °C 15 min 灭菌,接种 Lm 10 403s,35 °C 恒温培养,菌落计数。

4) 取 0.1 g 柠檬酸和 0.1 g 柠檬酸三钠加入 10 mL TSB-YE 中,121 °C 15 min 灭菌,接种 Lm 10 403s,35 °C 恒温培养,菌落计数。

1.4.4 植物香辛料精油抑菌试验 植物香辛料在我国种植广泛、种类繁多,用于食品不仅能改善风味,还能起到抗氧化、防腐的作用。香辛料的有效成分大多存在其精油中,如大蒜中的大蒜素,生姜中的姜油酮和姜油酚等,肉桂中的肉桂醛,丁香中的丁香酚和异丁香酚等都有较好的杀菌的性能^[7-9]。相对于化学防腐剂,植物香辛料精油最大的优势在于天然,对其使用量目前尚无限量规定,在不损害食品风味的前提下,可按需添加^[10]。

1.4.4.1 精油最低抑菌浓度的测定 最低抑菌浓度(MIC)是指抑制微生物生长的最低抑菌物质浓度,常被作为 1 种检测手段来确定新型抑菌物质的体外活性^[11]。本试验中使用二倍稀释法来确定最小抑菌浓度,将精油用丙二醇(丙二醇在食品工业中常用作调味品和色素的溶剂)稀释,精油的浓度表示为单位体积培养基中含有的精油体积,即 mL/L 培养基。吸取不同浓度的精油稀释液各 0.1 mL,分别放入无菌的空白培养皿中,使培养皿内精油含量在 0.05~1 000 μ L/L 培养基,共 14 个系列浓度。在培养皿中加入 TSA-YE 培养基 10 mL,摇匀,待凝固后涂布 0.1 mL Lm 菌悬液,37 °C 培养 24~48 h,观察细菌的生长情况。

1.4.4.2 精油复配试验 用滤纸片法测定抑菌效果较好的 4 个因素——肉桂、大蒜、姜和丁香花蕾精油,以抑菌圈直径为抑菌指标,采用 $L_{16}(4^5)$ 型正交试验,确定复合抑菌效果较好的配方。

1.4.4.3 联合杀菌效果评价^[9] 复配精油联合杀

菌效果可用分级灭菌浓度指数(I_{FBC})加以评价。

$$I_{FBC} = MIC'_A / MIC_A + MIC'_B / MIC_B + MIC'_C / MIC_C + MIC'_D / MIC_D$$

式中, MIC——某一精油单独使用时的最低抑菌浓度 ($\mu\text{L}\cdot\text{L}^{-1}$ 培养基); MIC'——某一精油在联合使用时的最低抑菌浓度 ($\mu\text{L}\cdot\text{L}^{-1}$ 培养基)。

当 $I_{FBC} \leq 0.5$ 时, 各精油间表现为协同作用; 当 $0.5 < I_{FBC} \leq 1$ 时, 各精油间表现为相加作用; 当 $1 < I_{FBC} \leq 4$ 时, 各精油间无作用; 当 $I_{FBC} \geq 4$ 时, 各精油间表现为拮抗作用。

1.5 冷却肉应用试验

1.5.1 紫外线应用试验 取肉样 25 g 置于 10^8 CFU/mL Lm 菌悬液中 30 s, 取出沥干后, 用紫外线照射肉样 5 min, 在 $4\text{ }^\circ\text{C}$ 下保存 24 h, 用显色培养基检测 Lm 的生长情况。将空白对照组肉样直接用紫外线照射肉样 5 min, 在 $4\text{ }^\circ\text{C}$ 下保存 24 h, 用显色培养基检测 Lm 的生长情况。将阳性对照组肉样置于 10^8 CFU/mL 的 Lm 菌悬液中 30 s, 在 $4\text{ }^\circ\text{C}$ 下保存 24 h, 用显色培养基检测 Lm 的生长情况。

1.5.2 有机酸应用试验 取肉样 25 g 置于 10^8 CFU/mL 的 Lm 菌悬液中 30 s, 取出沥干后, 用 0.2% 的醋酸溶液喷淋 2 min, 在 $4\text{ }^\circ\text{C}$ 下保存 24 h, 用显色培养基检测 Lm 的生长情况。空白对照组肉样直接用 0.2% 的醋酸溶液喷淋 2 min, 在 $4\text{ }^\circ\text{C}$ 下

保存 24 h, 用显色培养基检测 Lm 的生长情况。将阳性对照组肉样置于 10^8 CFU/mL 的 Lm 菌悬液中 30 s, 在 $4\text{ }^\circ\text{C}$ 下保存 24 h, 用显色培养基检测 Lm 的生长情况。

1.5.3 复合精油应用试验 取肉样 25 g 置于 10^8 CFU/mL 的 Lm 菌悬液中 30 s, 取出沥干, 浸泡于 $80\text{ }\mu\text{L/L}$ 的复配精油中 30 s, 在 $4\text{ }^\circ\text{C}$ 下保存 24 h, 用显色培养基检测 Lm 的生长情况。将空白对照组肉样直接浸泡于 $80\text{ }\mu\text{L/L}$ 的复配精油中 30 s, 在 $4\text{ }^\circ\text{C}$ 下保存 24 h, 用显色培养基检测 Lm 的生长情况。将阳性对照组肉样置于 10^8 CFU/mL 的 Lm 菌悬液中 30 s, 在 $4\text{ }^\circ\text{C}$ 下保存 24 h, 用显色培养基检测 Lm 的生长情况。

2 结果与分析

2.1 抑菌试验

2.1.1 紫外线抑菌试验 采用紫外线对菌液进行不同时间的照射处理, 菌落计数的结果见表 1。紫外线对 Lm 的杀菌效果很明显。初始菌液中, Lm 的活菌数量在 10^8 左右, 紫外线照射 1 min 后, 活菌数量下降 0.46 个对数值; 紫外线照射 2 min 后, 活菌数量下降 3.35 个对数值; 紫外线照射 3 min 后, 活菌数量下降 5.65 个对数值; 紫外线照射 4 min 后, 活菌数量下降 6.47 个对数值; 紫外线照射 5 min 后, 菌体全部被杀死了。

表 1 紫外线照射对 Lm 的影响

Table 1 The influence of UV irradiation to Lm

照射时间/min	稀释度						
	100	10^{-1}	10^{-2}	10^{-3}	10^{-4}	10^{-5}	10^{-6}
0	>300	>300	>300	>300	>300	>300	117
1	>300	>300	>300	>300	>300	>300	41
2	>300	>300	>300	52	<30	0	0
3	260	<30	<30	0	0	0	0
4	40	<30	0	0	0	0	0
5	0	0	0	0	0	0	0
6	0	0	0	0	0	0	0
7	0	0	0	0	0	0	0

2.1.2 有机酸及其钠盐抑菌试验

2.1.2.1 最低抑菌浓度试验 有机酸及其钠盐的最低抑菌浓度试验结果见表 2。这些酸或其钠盐在一定浓度下可抑制 Lm 的生长。通过换算为物

质的量, 按最低抑菌浓度由低到高的顺序: 冰醋酸 < 柠檬酸 < 柠檬酸钠 < 乳酸 < 乙酸钠 < 乳酸钠。乳酸及其钠盐的抑菌浓度均较高。

表 2 有机酸或其钠盐的最低抑菌浓度

Table 2 Minimal inhibitory concentration of organic acid and sodium salt

试剂	澄清度	试剂	澄清度	试剂	澄清度
柠檬酸 0.1g	混浊	柠檬酸 0.2g	澄清	柠檬酸 0.3g	澄清
乳酸 0.1mL	混浊	乳酸 0.2mL	澄清	乳酸 0.3mL	澄清
冰醋酸 0.01mL	混浊	冰醋酸 0.02mL	澄清	冰醋酸 0.03mL	澄清
柠檬酸三钠 0.6g	混浊	柠檬酸三钠 0.8g	澄清	柠檬酸三钠 1.0g	澄清
乳酸钠 1.0mL	混浊	乳酸钠 1.1mL	澄清	乳酸钠 1.2mL	澄清
醋酸钠 0.2g	混浊	醋酸钠 0.4g	澄清	醋酸钠 0.6g	澄清

2.1.2.2 复合有机酸及钠盐的抑菌效果试验 有机酸及其钠盐的简单复合处理结果见表 3。在冰醋酸和柠檬酸中加入少量的钠盐反而会使抑菌效果降低。可以考虑不同的酸或不同的盐之间复配,可能达到较好的抑菌效果。

2.1.2.3 植物香辛料精油抑菌试验

1) 最低抑菌浓度试验 不同精油的最低抑菌浓度试验结果见表 4。分析可知:孜然、花椒、辣椒、八角茴香、黑胡椒、肉豆蔻及胡椒精油在较高的浓度下仍然不能抑制 Lm 的生长, 抑菌效果较差; 剩余 4 种精油抑菌效果较好, 按最低抑菌浓度由低到高的依次为肉桂 (100 $\mu\text{L/L}$) < 大蒜 (200 $\mu\text{L/L}$) < 丁香花蕾 (400 $\mu\text{L/L}$) < 生姜精油 (800 $\mu\text{L/L}$)。

2) 精油复配试验 根据单因素试验的结果,

表 3 有机酸及其钠盐的复合处理效果

Table 3 The combined treatment effect of organic acid and sodium salt

试剂	菌落数/ cfu·mL ⁻¹
加蒸馏水的对照组	1.1×10 ⁸
0.02mL 冰醋酸	4.8×10 ⁶
0.02mL 冰醋酸 + 0.1g 醋酸钠	6.8×10 ⁷
0.2g 柠檬酸	5.3×10 ⁵
0.2g 柠檬酸+0.1g 柠檬酸三钠	8.8×10 ⁷

以最低抑菌浓度为各因素的最高水平, 做正交试验。以培养皿上各种复配精油的抑菌圈直径为指标, 确定肉桂精油、丁香精油、大蒜精油和生姜精油的最佳组合。

表 4 不同精油的最低抑菌浓度

Table 4 Minimal inhibitory concentration of different essence oil

精油/ $\mu\text{L}\cdot\text{L}^{-1}$	800	400	200	100	50	25	12.5	6.25	3.175	1.58	0.79	0.40	0.20	0.10
孜然	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
花椒	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
辣椒	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
八角茴香	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
黑胡椒	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
肉豆蔻	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
生姜	-	+		+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
胡椒	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
肉桂	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
丁香花蕾	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
大蒜	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

注: 有菌生长用“+”表示, 无菌生长“-”表示。

表5 复配精油正交试验结果

Table 5 Result of orthogonal text of composite essence oil

处理	因素/ $\mu\text{L}\cdot\text{mL}^{-1}$					精油总浓度/ $\mu\text{L}\cdot\text{mL}^{-1}$	抑菌圈直径/cm	
	A(肉桂)	B(丁香花蕾)	C(大蒜)	D(生姜)	空列		重复1	重复2
1	1(25)	1(50)	1(50)	1(100)	1	250	1.145	1.235
2	1	2(100)	2(100)	2(200)	2	425	1.410	1.410
3	1	3(200)	3(150)	3(400)	3	775	1.095	1.685
4	1	4(400)	4(200)	4(800)	4	1425	1.550	1.550
5	2(50)	1	2	3	4	600	1.685	1.575
6	2	2	1	4	3	1000	1.260	1.750
7	2	3	4	1	2	550	1.105	1.205
8	2	4	3	2	1	800	1.700	1.700
9	3(75)	1	3	4	2	1075	1.575	1.375
10	3	2	4	3	1	775	1.400	1.560
11	3	3	1	1	4	425	1.365	1.435
12	3	4	2	2	3	775	1.650	1.300
13	4(100)	1	4	2	3	550	1.475	1.750
14	4	2	3	1	4	450	1.625	1.900
15	4	3	2	4	1	1150	1.725	1.750
16	4	4	1	3	2	950	1.300	1.205
K_1	5.34	5.91	5.53	5.59				
K_2	6.00	5.96	6.06	5.92				
K_3	5.84	5.69	6.33	5.75			$T=23.54$	
K_4	6.36	5.98	5.80	6.34				
k_1	1.34	1.48	1.34	1.40				
k_2	1.50	1.49	1.52	1.48				
k_3	1.46	1.42	1.58	1.44			$x=1.47125$	
k_4	1.59	1.50	1.45	1.57				
R	0.26	0.07	0.25	0.19				

表6 方差分析表

Table 6 Variance analyses of orthogonal text

误差来源	变异平方和 S	自由度 f	均方 M	F 值	$F_{0.05}(2, 11)$	$F_{0.01}(2, 11)$	差异显著性
A	0.134475	3	0.044825	3.426			显著
B	0.013325	3	0.004442	< 1	3.13	5.01	不显著
C	0.130525	3	0.04351	3.426			显著
D	0.065625	3	0.021875	< 1			不显著
试验误差	0.031925	19	0.00168				
总变异	0.565175	31					

根据方差分析可知,在肉桂精油、丁香花蕾精油、大蒜精油和生姜精油4个因素中,肉桂精油和大蒜精油为主要因素,对复配精油的抑菌效果影响大,丁香花蕾精油和生姜精油为次要因素。经整

体考虑,4种精油复配后, $A_4B_4C_3D_4$ 处理效果最佳,即 $V(\text{肉桂精油}):V(\text{丁香花蕾精油}):V(\text{大蒜精油}):V(\text{生姜精油})=2:8:3:16$,其抑菌圈平均直径达到1.800 cm。

按比例将精油复配, 稀释为 20, 40, 80, 160, 320 和 640 $\mu\text{L/L}$ 培养基, 测定最低抑菌浓度, 结果

见表 7。复配精油含量在培养基中达到 80 $\mu\text{L/L}$ 时起到抑制 *Lm* 生长的作用。

表 7 复配精油的最低抑菌浓度

Table 7 Minimal inhibitory concentration of composite essence oil

菌种	空白	丙二醇	复配精油含量/ $\mu\text{L}\cdot\text{L}^{-1}$					
			20	40	80	160	320	640
<i>Lm</i>	+	+	+	+	-	-	-	-

注: 有菌生长用“+”表示, 无菌生长用“-”表示。

3) 精油联合杀菌效果评价 根据本文 1.4.4.3 节联合杀菌效果评价结果(表 8), 肉桂、丁香、大蒜和生姜精油间对抑制 *Lm* 的生长有协同作用。精油大多具有明显的气味, 使用时浓度过大会影响食品的风味。因肉桂、丁香、大蒜和生姜精油间存在协同作用, 故可大大降低精油保鲜时的使用

浓度, 减少对食品的不良影响。

2.2 冷却肉应用试验

冷却肉应用试验结果显示: 紫外线照射、醋酸喷淋及精油浸泡都可明显减少肉样中的 *Lm* 数量。

表 8 复配精油联合抑菌效果评价

Table 8 Evaluation of bactericidal activity of composite essence oil

项目	肉桂	丁香	大蒜	生姜	I_{FBC}	效果
MIC/ $\mu\text{L}\cdot\text{L}^{-1}$	5.52	22.07	8.28	44.14	0.24	协同
MIC/ $\mu\text{L}\cdot\text{L}^{-1}$	100	200	400	800		

表 9 应用试验结果

Table 9 Result of application test

项目	空白对照	阳性对照	紫外线	醋酸	复配精油
<i>Lm</i> 菌落数/ $\text{CFU}\cdot\text{g}^{-1}$	30	3.4×10^4	740	380	620

3 讨论

3.1 冷却肉中 *Lm* 的污染情况

1) 国内专门针对冷却肉中 *Lm* 的污染报道较少, 一般监测结果显示为生肉, 如 2010 年上海市的监测结果显示, 生畜肉中 *Lm* 的阳性检出率为 8.9%; 陕西省的监测结果显示, 2002—2008 年生猪肉中 *Lm* 的阳性检出率为 30%; 2006—2009 年江苏省生肉中 *Lm* 的阳性检出率为 11.67%^[12-14]。本采样结果显示, 与普通热鲜肉中相比, *Lm* 在冷却肉中的阳性检出率较高(45%)。

2) 根据黄金林等猪肉加工、流通过程中主要食源性病原细菌的监测结果显示: 单核增生李斯特氏菌在生猪整个屠宰过程至入冷库前, 污染率一直较低, 而进入流通环节后, 污染率直线上升,

至销售环节污染率达 6.9%^[15]。冷库环境、运输环节以及流通中二次加工的交叉污染是冷却肉中 *Lm* 污染率高的重要原因。要保证冷却肉的卫生质量, 必须加强对冷库、运输工具的清洗、消毒, 而且要及时、充分和制度化, 还要保证商场、超市在分割、剔骨、包装等环节的卫生管理^[16-17]。

3) *Lm* 对于温度的改变非常敏感。张春琳等研究温度对冷却肉中 *Lm* 生长的影响, 结果表明: 随着温度升高, *Lm* 数量明显增加。在 0 $^{\circ}\text{C}$ 和 4 $^{\circ}\text{C}$, 48 h 后, 最大菌体浓度比初始浓度增加 1 个数量级, 差异不显著 ($P>0.05$); 当环境温度 16 $^{\circ}\text{C}$ 时, 48 h 内菌落数接近 $10^6 \text{CFU}/\text{cm}^2$; 24 $^{\circ}\text{C}$ 时, 24 h 内菌落数已超过 $10^6 \text{CFU}/\text{cm}^2$ ^[18]。现在, 我国冷却肉生产还不能做到从屠宰、分割、流通、销售保持 0~4 $^{\circ}\text{C}$, 尤

其运输冷链中的温度失控情况经常发生。另外,销售时普遍使用的半开放式的销售柜台,不能保证严格恒定的低温环境。这种销售柜台内部温度不平衡,顶层温度高,底层温度低,再加上经常开合柜台门,使柜台内的产品温度发生较大波动,增加附着在胴体表面微生物(腐败菌和致病菌)的增殖机会,影响冷鲜肉的品质^[19]。

3.2 抑菌试验

1) 紫外线抑菌试验 水溶液中, *Lm* 对于紫外线较为敏感,随着照射时间的延长杀菌效果明显。将 *Lm* 接种到肉块上,经紫外线照射,可明显降低污染的活菌数。杨新磊等人研究紫外线处理对冷却猪肉品质的影响,结果显示,紫外线能降低冷却肉表面的初始菌数以及整个 4℃ 冷藏过程中的菌落总数;紫外线照射还能有效抑制肉样脂质的氧化,增强肉的持水力^[20]。在一定剂量范围内,胴体接受紫外线照射并不影响肉品的质量,能有效降低 *Lm* 的污染。考虑到紫外线的穿透能力,这种方法对于肉品组织内部的菌体,包括照射不到的部位表面的菌体杀菌效果有限。该方法可用于冷鲜肉加工车间内空气、地面和器械表面的杀菌以及商场、超市的冷藏柜、分割用具的表面杀菌。

2) 有机酸及其钠盐抑菌试验 国外研究人员发现使用柠檬酸、乙酸和丙酸混合液短时间浸泡肉样,可抑制 *Lm* 的生长。本试验表明醋酸的抑菌效果优于柠檬酸和乳酸,而它们的钠盐抑菌效果较差。有机酸在实际使用时,浓度不宜太高(一般小于 1%),否则影响肉品的色泽和气味。用 0.2% (体积分数)的醋酸溶液喷淋肉块,可明显减少 *Lm* 的生长。在冷却肉生产时,可在去头、剥皮后的初冲淋,劈半后的复冲淋中使用低浓度醋酸,减少微生物的污染。

3) 植物香辛料精油抑菌试验 国内外对利

用植物香辛料精油抑制 *Lm* 生长已有研究。Menon 等研究发现丁香精油对肉制品和奶酪中的 *Lm* 有较好的抑菌效果^[21]。Singh 等研究发现丁香、百里香精油等用于食品模型,可抑制 *Lm* 生长^[22]。刘柳等人研究了迷迭香、丁香、肉桂和黑胡椒精油对 *Lm* 的抑制效果,发现精油复配使用可增加抑菌效果^[22-23]。段雪娟等研究发现百里香酚、丁香酚、肉桂醛、茴香脑、水杨醛和柠檬醛等精油成分对 *Lm* 有较好杀菌作用,复配精油对 *Lm* 表现出很强的协同增效作用^[9]。本试验表明,选用的 11 种精油中,孜然、花椒、辣椒、八角茴香、黑胡椒、肉豆蔻及胡椒精油抑菌效果较差,肉桂、大蒜、丁香花蕾和生姜精油抑菌效果较好。按 $V(\text{肉桂精油}):V(\text{丁香花蕾精油}):V(\text{大蒜精油}):V(\text{生姜精油})=2:8:3:16$ 的比例复配后,对 *Lm* 的抑制效果提高。将复配精油应用于肉块,在 24 h 内可明显抑制 *Lm* 的生长。分割后的胴体,尤其是销售过程中二次分割的小块肉,可用低浓度精油来保鲜,延长保质期,抑制 *Lm* 的生长。

4 结论

Lm 在冷却肉中的污染情况较为严重,冷库环境、运输环节以及流通中二次加工的交叉污染是冷却肉中 *Lm* 污染率高的重要原因之一。目前,我国的冷链系统还不够完善,尤其是运输冷链中的温度失控情况经常发生,而且销售时普遍使用的半开放式的销售柜台不能保证恒定的低温环境,温度波动较大,常给 *Lm* 提供大量繁殖的机会,影响肉品的品质。本研究发现紫外线照射、醋酸喷淋及精油浸泡都可以明显减少肉样中的 *Lm* 数量,这些方法简便、有效,可用于冷却肉的加工、流通和销售过程。

参 考 文 献

- [1] 庄俊杰. 冷却肉加工与贮藏技术[J]. 肉类工业, 2004, 7:11-13.
- [2] 陈克建. 冷鲜肉加工与管理[J]. 肉类工业, 2005, 7:11-15.
- [3] J.M. Farber, P.I. Peterkin. *Listeria monocytogenes*, a food-borne pathogen[J]. Microbiological Review, 1991, 55(3): 476-511.
- [4] James M. Jay. 现代食品微生物学[M]. 徐岩, 张继民, 汤丹剑, 等译. 北京: 中国轻工业出版社, 2001.
- [5] 冯延芳, 冉路, 张立实, 等. 2000-2009 年中国李斯特菌病文献报告病例分析[J]. 疾病监测, 2011, 26(8): 654-

- 659.
- [6] 卢杰, 陈韬. 冷却肉生长中胴体减菌技术的研究进展[J]. 食品研究与开发, 2009, 30(2): 145-148.
- [7] 陈洪生, 刁静静, 杨健, 等. 大蒜提取物对冷却肉抑菌保鲜作用的研究进展[J]. 肉类研究, 2009, (4): 39-42.
- [8] 黄玉玲. 生姜提取物的抗菌特性及其在冷却肉保藏中的应用[J]. 中国调味品, 2011, 36(7): 33-37.
- [9] 段雪娟, 吴克刚, 柴向华, 等. 香辛料精油成分对生鲜食品中有害菌杀灭活性研究[J]. 林产化学与工业, 2012, 32(3): 87-91.
- [10] 贺红军, 蒋竹茂, 孙承锋, 等. Nisin 与香辛料提取液在五香牛肉保鲜中的应用研究[J]. 食品工业科技, 2004, 25(9): 59-61.
- [11] Jennifer MA. Determination of minimum inhibitory concentration[J]. Journal of Antimicrobial Chemotherapy, 2001, 48(1): 5-16.
- [12] 雷军, 王颖, 彭少杰. 2010年上海市市售食品中食源性致病菌监测结果分析[J]. 中国食品卫生杂志, 2012, 24(3): 264-267.
- [13] 王安礼, 马国柱, 李雪梅, 等. 陕西省市售肉与肉制品中食源性致病菌污染监测与分析[J]. 中国卫生检验杂志, 2010, 20(9): 2278-2280.
- [14] 王燕梅, 乔昕, 袁宝, 等. 2006-2009年江苏省食品中食源性致病菌的监测分析[J]. 中国食品卫生杂志, 2010, 22(5): 431-434.
- [15] 黄金林, 何蕊, 许海燕, 等. 猪肉加工、流通过程中主要食源性病原细菌的监测[J]. 中国食品学报, 2006, 6(4): 121-125.
- [16] 穆同娜. 肉制品中微生物的来源及其预防措施[J]. 中国食品工业, 2005, 8: 28-29.
- [17] 孙京新, 周光宏, 徐幸莲. 冷却猪肉加工过程卫生标准操作程序[J]. 肉类工业, 2003, 3: 34-41.
- [18] 张春琳, 张家国. 单增李斯特菌增殖的影响因素研究[J]. 食品研究与开发, 2011, 32(7): 48-53.
- [19] 金鑫, 周光宏, 徐幸莲, 等. 冷却肉微生物腐败与冷链系统[J]. 食品工业科技, 2012, 33(6): 417-420.
- [20] 杨心磊, 丁武. 紫外线处理对冷却猪肉品质的影响[J]. 肉类研究, 2012, 26(4): 8-11.
- [21] Menon MV, Gaga SR. Inhibitory effect of clove oil on *Listeria monocytogenes* in mear and cheese[J]. Food microbiology, 2001, (18): 647-650.
- [22] Botsoglou NA, Christakia E, Fletourisb DJ, et al. The effect of dietary oregano essential oil on lipid oxidation in raw and cooked chicken during refrigerated storage[J]. Meat Science, 2002, (62): 259-265.
- [23] 刘柳, 孔宝华, 刘骞, 等. 香辛料提取物在培养基及冷却猪肉中对单核细胞增生性李斯特氏菌的抑制作用[J]. 食品工业科技, 2008, 29(9): 87-90.
- [24] 刘晓丽, 莫伟轩, 吴克刚, 等. 复合香辛料精油对冷区猪肉中单核增生性李斯特氏菌的抑制作用[J]. 中国调味品, 2010, 35(1): 42-49.

Study on the Inhibiting for *Listeria monocytogenes* in the Chilled Meat

Han Jun¹ Yu Hongwei¹ Chen Can¹ Ren Yuan² Gu Yuanyuan¹ Jia Yingmin^{2*}

¹College of Food Science and Technology, Agricultural University of Hebei, Baoding 071001, Hebei

²College of Biology Science and Engineering, Hebei University of Science and Technology, Shijiazhuang 050018)

Abstract Ultraviolet could sterilize the growth of *Listeria monocytogenes* (Lm) effectively. All of Lm cells was dead irradiated with ultraviolet for 5 minues. Acetic acid was better antibacterial effect than lactic acid and citric acid. 2 mL/L acetic acid could inhibite the growth of Lm. Sodium salt of these organic acid was bad antibacterial effect. Essential oil of cinnamon, clove, garlic and ginger could better inhibite the growth of Lm. The combinations of four essention oil would produce collaborative microbial inhibitons.

Key words chilled meat; *Listeria monocytogenes*; antibacterial effect