

新疆伊宁市部分售奶站生鲜乳中微生物污染的调查分析

陈霞^{1,2}, 比尔来西肯·赛都力², 张海兰², 韩春晓², 况玲^{1*}

(1. 新疆农业大学, 新疆乌鲁木齐 830052; 2. 伊犁职业技术学院, 新疆伊犁 835000)

摘要 [目的]研究伊宁市生鲜乳中主要微生物的含量,为散装生鲜乳销售环节的卫生质量安全检测研究提供参考。[方法]针对新疆伊宁市8个不同片区售奶站进行采样,研究不同季节生鲜乳中菌落总数、大肠菌群数、芽孢总数和耐热芽孢总数的含量变化。[结果]2014年6月~2015年5月期间,伊宁市8个售奶站的生鲜乳在感官方面色泽、滋味、气味均正常,且不存在凝块、沉淀、肉眼可见异物现象;主要微生物含量指标菌落总数、大肠菌群数、芽孢总数和耐热芽孢总数分别为: $3.08 \times 10^5 \sim 8.48 \times 10^5$ CFU/mL、 $1.5 \times 10^5 \sim 8.1 \times 10^5$ MPN/L、21~75 CFU/mL和3~8 CFU/mL,均符合国家标准。但散奶户所销售的生鲜乳中检查出微生物的含量要明显高于售奶站的鲜乳。[结论]新疆伊宁市部分奶站所售生鲜乳中主要微生物含量各项指标整体均符合国家标准,反映出伊宁市生鲜乳卫生管控整体水平较高。

关键词 售奶站生鲜乳;微生物污染;检测

中图分类号 TS252.7 **文献标识码** A **文章编号** 0517-6611(2016)25-048-03

Investigation and Analysis of Microbial Contamination of Raw Milk from Parts of Milk Station in Yining City, Xinjiang
CHEN Xia^{1,2}, Bierlaixiken Saidouli², ZHANG Hai-lan², KUANG Ling^{1*} et al (1. Xinjiang Agricultural University, Urumqi, Xinjiang 830052; 2. Yili Vocational and Technical College, Yili, Xinjiang 835000)
Abstract [Objective] The aim was to study major microorganism content in raw milk in Yining City, provide reference for quality detection in sales link of bulk raw milk. [Method] Collecting samples from milk stations in 8 districts of Yining City, the changes of total bacterial colonies, total coliform groups, total spores and heat-resistant spores were studied. [Result] During June 2014 – May 2015, color, taste and smell of raw milk from 8 milk stations in Yining were normal, and there was no block, precipitation and visible foreign matter phenomenon; The content of total bacterial colonies, total coliform groups, total spores and heat-resistant spores were $3.08 \times 10^5 - 8.48 \times 10^5$ CFU/mL, $1.5 \times 10^5 - 8.1 \times 10^5$ MPN/L, 21 – 75 CFU/mL and 3 – 8 CFU/mL, respectively. The content of microorganisms in fresh milk sold by the scattered milk households was obviously higher than that of the milk station. [Conclusion] The indicators of main microorganisms content in raw milk from some milk stations in Yining City are in line with national standards, reflecting the overall level of health management and control of fresh milk in Yining City is relative high.
Key words Raw milk in milk station; Microbiological contamination; Detection

散装生鲜乳消费在我国目前的畜产品质量安全监管体系下是一个特有的领域,在欧美发达国家和其他许多国家不存在散装生鲜乳销售环节。因此,现阶段如何做好散装生鲜乳销售环节的监管具有重要的现实意义。笔者以散装生鲜乳销售环节的卫生质量安全检测为主要研究内容开展相关研究,根据我国的相关检测方法对伊宁市当地部分售奶站所售的生鲜乳进行调查、取样并采用感官和微生物等多种检测、试验以及数据分析方法,对伊宁市生鲜乳的品质和微生物污染情况做出分析和评估。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 样品。样品来自伊宁市8个不同片区的售奶站,共12批次,384份生鲜乳样品。

1.1.2 主要仪器。冰箱、试管、钥匙、量筒、酒精灯、采样箱、温度计、均质器、振荡器、电炉、放大镜、显微镜、载玻片、(0.01 mL 刻度)1 mL 灭菌刻度吸管、(0.1 mL 刻度)10 mL 灭菌刻度吸管、250 mL、500 mL 灭菌锥形瓶、直径90 mm 灭菌培养皿、1~1 000 μ L 移液枪和枪头、灭菌毛细管、剪子、镊子、精密pH试纸、乳糖胆盐发酵管、乳糖发酵管等。

基金项目 伊犁哈萨克自治州科技计划项目(YZ201201026)。
作者简介 陈霞(1984-),女,江苏溧阳人,助教,在读硕士,从事动物产品质量安全研究。*通讯作者,教授,博士,从事兽医临床的教学和研究工作。
收稿日期 2016-08-03

1.1.3 培养基和试剂。月桂基硫酸盐胰蛋白胨肉汤,批号20130904等,青岛海博生物技术有限公司;煌绿乳糖胆盐肉汤,货号22767-49-3,上海盈公实业有限公司;伊红美兰琼脂平板,规格7 cm $\times$ 10 块/包,广州市迪景微生物科技有限公司;EC肉汤,批号20131002等,青岛海博生物技术有限公司;血平板,规格90 mm $\times$ 10 个/包,郑州安图生物工程有限公司;营养琼脂培养基,批号HB0108-4,青岛海博生物技术有限公司;结晶紫中性红胆盐琼脂,批号20140503等,青岛海博生物技术有限公司;磷酸盐缓冲液,货号mrgf-6235-12, Growcells。

另外,试验药品和试剂还包括0.85%灭菌生理盐水、75%乙醇、硫酸盐缓冲液、革兰氏染色液等。

1.2 方法

1.2.1 采样。针对伊宁市8个不同片区售奶站进行采样,包括①斯大林街三巷售奶屋、②都市田园售奶屋、③世纪家苑二期售奶屋、④农四师售奶屋、⑤滨河家园售奶屋、⑥南苑散奶点1、⑦南苑散奶户2和⑧汉人街散奶户。根据实际情况每次试验在各个奶站称取1 kg 生鲜牛乳,带一次性采样手套将乳样存放在无菌采样杯(无菌采样袋)中。

将称取好的生鲜乳以无菌采样袋形式放置于样品采集箱中,采样箱中放入一套冰盒,以控制样品温度在0~4 $^{\circ}$ C保存,减少贮运温度波动,尽快带回试验点(系无菌实验室或伊犁哈萨克自治州出入境检验检疫局)。

1.2.2 检测。该试验检测菌落总数和大肠菌群数的方法均

按中华人民共和国国家标准《食品卫生学检验》中 GB/T4789.2—2010 菌落总数测定^[1]和 GB/T4789.3—2010 大肠菌群计数程序^[2]方法进行。

1.2.2.1 菌落总数测定方法。以无菌操作将采样杯中的奶样 25 mL 放入 225 mL 无菌生理盐水中,用均质器拍打混匀,做 10 倍系列稀释,选择适度 3 个连续稀释液的样品,各取 1 mL 分别加入无菌培养皿中,每个平皿中加入 20 mL 左右营养琼脂培养基,混匀,待凝固后,放入(36±1)℃培养箱中培养(48±2)h。详细参见 GB/T4789.2—2010《食品卫生微生物学检验菌落总数测定》^[1]。

1.2.2.2 大肠菌群测定方法。以无菌操作将采样杯中奶样 25 mL 放入 225 mL 无菌生理盐水的灭菌玻璃杯中,做 10 倍系列稀释,选择 3 个连续稀释度的奶样均液接种 3 管,做乳糖发酵试验和分离培养试验。详细参见 GB/T4789.3—2010《食品卫生微生物学检验大肠菌群计数》^[2]。

1.2.2.3 芽孢总数测定方法。芽孢总数和耐热芽孢总数检测按照实验室要求标准操作规程,进行检验分析。量取采样杯奶样 10 mL 放入无菌试管,在另一个试管内放入 10 mL 蒸馏水,将 2 支试管放在 80℃恒温水浴锅中,将温度计放于试管中,计时 10 min 后,将试管取出,迅速冷却到室温,将调剂好的营养琼脂加入 40℃水浴锅中。用加热后的乳样制备稀释样品,做 10 倍系列稀释如菌落总数测定方法,将培养皿放入恒温培养箱中培养 72 h。

1.2.2.4 耐热芽孢总数测定方法。量取采样杯奶样 10 mL 加热到 100℃,保持 10 min,用恒温培养箱进行培养,方法等同芽孢总数的测定方法,培养温度为 30~35℃和 50~55℃。

1.2.3 数据处理。使用 Excel 软件绘制图表,导出表格,进行检测项目的数据分析。

1.2.4 评价标准。微生物评价按照 2010 年《食品卫生国家标准》进行评价,样品不合格认定标准为有 1 项或 1 项以上指标不符合国家标准,国家食品安全标准中规定,生鲜乳的菌落总数限量应当≤2.0×10⁶ CFU/mL,菌落总数≤5.0×10⁵ CFU/mL 为 1 级,大肠菌群数≤1.0×10⁶ MPN/L,芽孢总数≤100 CFU/mL 和耐热芽孢总数≤10 CFU/mL 均为正常。

2 结果与分析

2.1 菌落总数测定数据 根据图 1 和表 1 分析,对取自各售奶站的生鲜牛乳检测的数据进行分析,这 12 批次的奶样中菌落总数介于 3.08×10⁵~8.48×10⁵ CFU/mL,均低于国家对于牛奶中微生物的限量 2.0×10⁶ CFU/mL。售奶站①~⑤中微生物的含量小于 5.00×10⁵ CFU/mL,可以评定为 1 级,奶样中细菌总数达 1 级的占 62.5%,对比原国标,售奶站⑥、⑦和⑧中微生物的含量介于 5.00×10⁵~2.00×10⁶ CFU/mL,认定为 2 级。

2.2 大肠菌群测定数据 根据图 2 和表 2 分析,对取自各售奶站的生鲜乳检测的数据进行分析,这 12 批次的乳样中大肠菌群介于 1.5×10⁵~8.1×10⁵ MPN/L,均低于国家对于牛奶中的限量 1.0×10⁶ MPN/L。但是,售奶站⑥、⑦和⑧中的数值要较前 5 个售奶站稍高些。

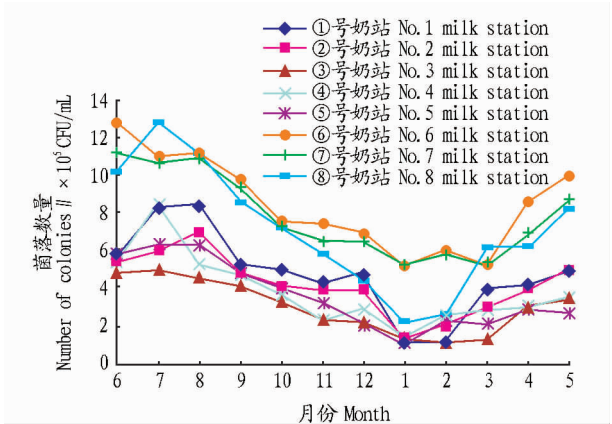


图 1 2014 年 6 月~2015 年 5 月伊宁市 8 个售奶站的样品菌落总数检测数据

Fig.1 Total number of colonies in raw milk from eight milk stations in Yining City from June 2014 to May 2015

表 1 伊宁市部分奶站生鲜乳样品 1 年内菌落总数的平均检测结果
Table 1 The average results of total number of colonies in raw milk from some milk stations in Yining City within a year

奶站序号 Milk station serial No.	菌落总数 Total number of colonies × 10 ⁵ CFU/mL	是否超标 Whether exceed standard
①	4.79	否
②	4.22	否
③	3.08	否
④	3.89	否
⑤	3.67	否
⑥	8.48	否
⑦	7.85	否
⑧	7.16	否

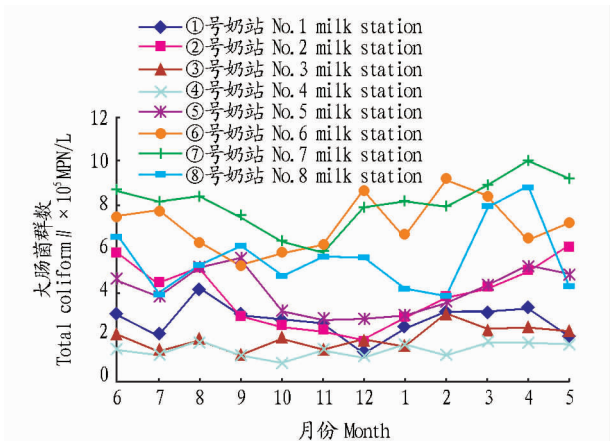


图 2 2014 年 6 月~2015 年 5 月伊宁市 8 个售奶站的样品大肠菌群数检测数据

Fig.2 The data of coliform test for raw milk from the eight milk stations in Yining City from June 2014 to May 2015

2.3 芽孢总数测定数据 根据图 3 和表 3 分析,对取自各售奶站的生鲜乳检测的数据进行分析,这 12 批次的乳样中芽孢总数介于 21~75 CFU/mL,均低于国家标准≤100 CFU/mL。但是售奶站⑦和⑧大于 60 CFU/mL。

表2 伊宁市部分奶站生鲜乳样品1年大肠菌群的平均检测结果

Table 2 The average results of coliform groups in raw milk from some milk stations

奶站序号 Milk station serial No	大肠菌群数 Coliform groups × 10 ⁵ MPN/mL	是否超标 Whether exceed standard
①	2.8	否
②	4.0	否
③	2.0	否
④	1.5	否
⑤	4.1	否
⑥	7.1	否
⑦	8.1	否
⑧	5.6	否

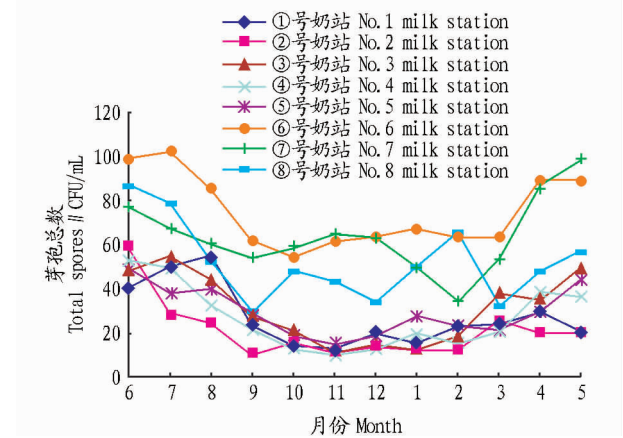


图3 2014年6月~2015年5月伊宁市8个售奶站的样品芽孢总数检测数据

Fig.3 The data of total spores in raw milk from eight milk stations in Yining City from June 2014 to May 2015

表3 伊宁市部分奶站生鲜乳样品1年芽孢总数的平均检测结果

Table 3 The average results of total spores in raw milk from some milk stations in Yining City within a year

奶站序号 Milk station serial No	芽孢总数 Total spores CFU/mL	是否超标 Whether exceeding standards
①	29	否
②	21	否
③	31	否
④	27	否
⑤	30	否
⑥	75	否
⑦	64	否
⑧	52	否

2.4 耐热芽孢总数测定数据 根据图4和表4分析,对取自各售奶站的生鲜乳检测的数据进行分析,这12批次的奶样中耐热芽孢总数介于3~8 CFU/mL,均低于国家标准≤10 CFU/mL。但是售奶站⑥、⑦和⑧的数值要较前5个售奶屋稍高些。

综合上述的图表和数据分析,奶站的生鲜乳样品中细菌菌落总数、大肠菌群数、芽孢总数和耐热芽孢数均未超标,符合国家标准,但通过平均检测结果可以看出,斯大林街三巷售奶屋、都市田园售奶屋、世纪家苑二期售奶屋、农四师售奶

屋、滨河家园售奶屋这5个政府奶业办管理下的固定售奶站的生鲜乳质量较南苑和汉人街的3家固定散户的乳样质量要高,但均在国家要求的范围之内,说明生鲜乳卫生管控整体水平较好。

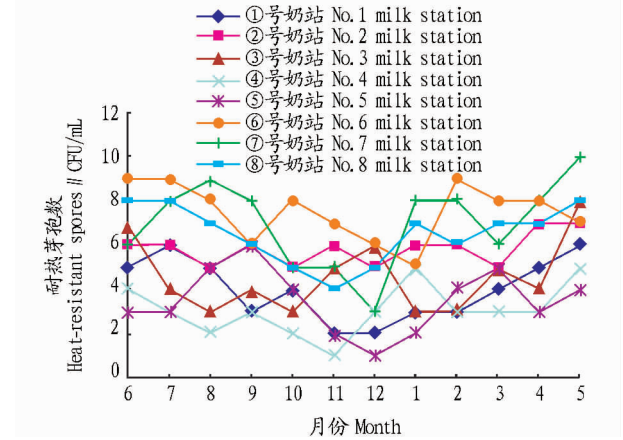


图4 2014年6月~2015年5月伊宁市8个售奶站的样品耐热芽孢总数检测数据

Fig.4 The data graph of total heat - resistant spores test for raw milk from the eight milk stations samples in Yining city from June 2014 to May 2015

表4 伊宁市部分奶站生鲜乳样品1年耐热芽孢总数的平均检测结果

Table 4 The average results of total heat-resistant spores in raw milk from some milk stations in Yining City within a year

奶站序号 Milk station serial No.	耐热芽孢总数 Total number of heat- resistant spores // CFU/mL	是否超标 Whether exceed standard
①	4	否
②	6	否
③	5	否
④	3	否
⑤	4	否
⑥	8	否
⑦	7	否
⑧	7	否

3 结论与讨论

该试验收集整理了2014年6月~2015年5月间伊宁市部分售奶站所售生鲜牛乳中微生物的检验情况。从数据分析图和表得出政府指定奶站的生鲜乳样品质量要优于散户的鲜乳质量,这些可能与奶源、生鲜乳储存环境、售奶点的污染状况、承装鲜奶的容器等因素有关,奶站都拥有固定的房屋、冰箱、相应承载生鲜乳的容器,以及定期质检部门的监督检查,而散奶户销售情况、鲜奶品质随天气变化大,尤其是冬季、夏季受温度、湿度影响大,且不易监管。固定奶站的奶源为企业或养殖合作社提供,质量控制较好,而散奶户的生鲜乳多源于自家奶牛生产出的,存在卫生意识差,贮奶装备不卫生等情况,也是造成散奶户大肠菌群数较严重的主要原因。其中个别数值较高的售奶点奶样,原因可能采奶时间为夏季,此夏季温度较高,比较利于微生物的繁殖。散户奶个别指标略高,接近限量,要作为参考,继续考察散奶户的卫

(下转第64页)

此在第 1 次翻曲时添加酶制剂,可有效将制曲时间由 44 h 缩短至 36 h,提高生产效率,降低生产成本。

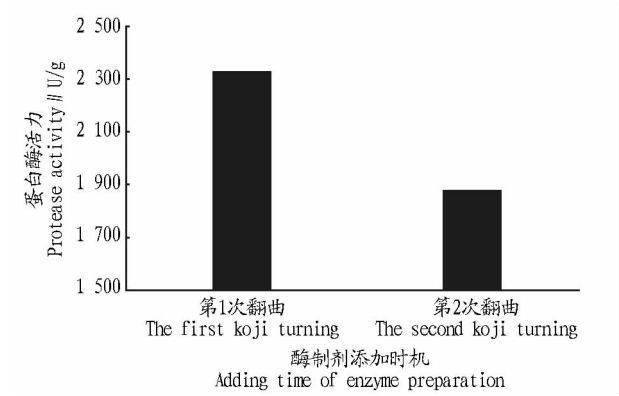


图 5 酶制剂添加时机对大曲酶活的影响

Fig. 5 Effects of adding time of enzyme preparation on the enzyme activity

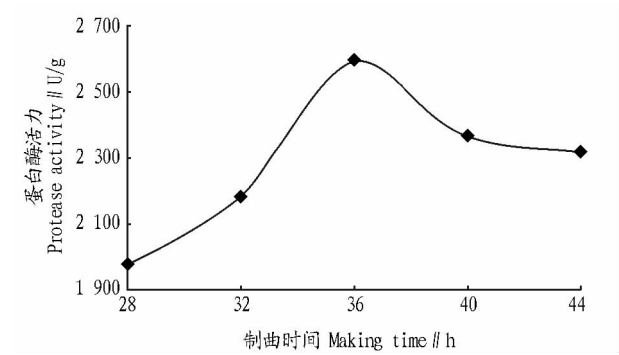


图 6 不同时间的大曲蛋白酶活力

Fig. 6 Effects of making time on the protease activity

2.7 酶制剂在传统广式酱油酿造工艺中的应用试验 由表 1 可知,在第 1 次松曲时添加 5% 的酶制剂,制曲时间为 36 h 时,大曲酶活比对照组提升 61%,所得的大曲进行天然油酿造时,蛋白质利用率比对照组高 4.38 个百分点。

3 结论

以腐乳制作过程中的副产物为原料制作酶制剂,通过对
(上接第 50 页)
生管理状况,也能得出固定售奶屋比散户奶生产管理更加规范,因为奶源多为固定奶源提供^[3-4],所以奶样的 4 项指标均能符合我国现在的标准。

参考文献

[1] 中华人民共和国卫生部. 食品卫生微生物学检验 菌落总数测定:

表 1 酶制剂在传统广式酱油酿造工艺中的应用试验
Table 1 Application test of enzyme preparation in the traditional soy sauce brewing process

批号 Batch number	对照组 Control group		试验组 Test group	
	蛋白酶活力 Protease activity U/g	蛋白质利用率 Protein utilization ratio// %	蛋白酶活力 Protease activity U/g	蛋白质利用率 Protein utilization ratio// %
1	1 533	75.31	2 489	79.29
2	1 608	76.80	2 563	80.94
3	1 558	75.85	2 478	79.42
4	1 567	75.76	2 503	80.53
5	1 604	76.40	2 612	81.28
6	1 612	76.51	2 534	80.37
7	1 512	75.32	2 558	80.85
8	1 579	75.82	2 496	79.49
9	1 608	76.20	2 588	80.88
10	1 633	76.36	2 601	81.02
平均值 Mean	1 581	76.03	2 542	80.41

不同辅料进行试验,确定了适合酶制剂培养的辅料为麸皮,添加比例为 45%;制备酶制剂时最适合的菌种接种量为 5‰。以黄豆、面粉为原料的制曲工艺中,在第 1 次松曲时添加原料量 5% 的酶制剂,可明显提升大曲酶活,同时制曲时间可缩短至 36 h;在第 1 次松曲时加入大曲中,所得的大曲酶活较对照组提升 61%,天然油的蛋白质利用率比对照组高 4.38 个百分点。该研究结论可明显降低企业的原料成本,经济效益显著。

参考文献

[1] 上海酿造科学研究所. 发酵调味品生产技术[M]. 北京:中国轻工业出版社,1999.
[2] 姜锡瑞. 酶制剂应用手册[K]. 北京:中国轻工业出版社,1999.
[3] 林祖申. 不同制曲时间与酱油质量关系试验[J]. 上海调味品,1981(3):7-10.
[4] 林祖申. 采用双菌种制曲提高酿造鲜酱油谷氨酸含量的研究[J]. 上海调味品,1981(4):1-9.
[5] 李大锦,王汝珍. 低盐固态发酵法酱油技术进步现状和发展[J]. 江苏调味副食品,2002(5):1-3.

GB/T4789.2—2010[S]. 北京:中国标准出版社,2010.
[2] 中华人民共和国卫生部. 食品卫生微生物学检验 大肠菌群计数: GB/T4789.3—2010[S]. 北京:中国标准出版社,2010.
[3] 比尔来西肯·赛都丽,王小明,阿曼土尔,等. 伊宁市区生鲜乳中微生物污染程度检测与分析[J]. 黑龙江畜牧兽医,2014(7):209-210.
[4] 夏冬. 如何控制原料奶中微生物污染[J]. 中国乳业,2003(9):25-26.