

预包装酱卤肉制品生产过程中微生物污染状况 及溯源分析

余琳, 夏商周, 陈媛, 贺巧玲, 陈学强, 李晶*

(四川省食品检验研究院, 成都 611731)

摘要: **目的** 调查分析四川省预包装酱卤肉制品生产加工过程中微生物污染状况。**方法** 采用国家标准方法四川省某预包装酱卤肉制品工厂 52 份样品进行菌落总数、大肠菌群、金黄色葡萄球菌、单核细胞增生李斯特氏菌、沙门氏菌和蜡样芽胞杆菌检测结果分析。**结果** 检测结果表明肉制品在腌制过程中被大肠杆菌、金黄色葡萄球菌、蜡样芽胞杆菌和单核细胞增生李斯特菌污染; 微生物的检出率随着加工进程逐渐降低, 高温灭菌对降低终产品微生物污染有显著作用; 经溯源分析, 发现生熟区环境、工器具均被相同血清型的单核细胞增生李斯特菌污染。**结论** 该工厂人员卫生存在较大问题, 生食区与熟食区存在交叉污染, 建议企业严格把控生产环境和人员卫生, 定期清洁消毒, 降低加工环境与设备的污染、车间操作人员与食品交叉污染以及生熟食品的交叉污染, 以降低产品微生物污染风险。**关键词:** 预包装酱卤肉制品; 微生物污染; 单核细胞增生李斯特氏菌

Microbial contamination status and traceability analysis during the production of prepackaged marinated meat products

YU Lin, XIA Shang-Zhou, CHEN Yuan, HE Qiao-Ling, CHEN Xue-Qiang, LI Jing*

(Sichuan Institute of Food Inspection, Chengdu 611731, China)

ABSTRACT: Objective To investigate and analyze the microbial contamination in the production and processing of pre-packaged sauced meat products in Sichuan Province. **Methods** The total number of bacterial colonies, coliform, *Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes*, *Salmonella* and *Bacillus cereus* were detected in 52 samples from a pre-packaged spiced meat factory in Sichuan province by national standard method. **Results** The results showed that the meat products were contaminated by *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus* and *Listeria monocytogenes* during the curing process. The detection rate of microorganisms gradually decreased with the process of processing, and high temperature sterilization had a significant effect on reducing the microbial pollution of the final product; By tracing analysis, it was found that the environment and equipment in the raw and cooked area were contaminated by *Listeria monocytogenes* of the same serotype. **Conclusion** The factory has a big problem of staff hygiene, raw food area and cooked food area cross-contamination, it is recommended that enterprises strictly control the production environment and personnel hygiene, regular cleaning and disinfection, reduce the pollution of processing environment and equipment, workshop operators and food cross-contamination and raw and cooked food cross-contamination, in order to reduce the risk of product microbial contamination. **KEY WORDS:** pre-packaged marinated meat products; microbial contamination; *Listeria monocytogenes*

基金项目: 四川省市场监督管理局科技计划项目 (SCSJS2022004)

Fund: Science and Technology Project of Sichuan Market Supervision Administration (SCSJS2022004)

*通信作者: 李晶, 硕士, 工程师, 研究方向为食品微生物检验与研究。E-mail: 317676684@qq.com

*Corresponding author: LI Jing, Master, Engineer, Sichuan Institute of Food Inspection, Chengdu 611731, China. E-mail: 317676684@qq.com

0 引言

酱卤肉制品是指畜禽肉加食盐、酱油（或不加）等调味料和香辛料，经腌制、预煮、腌卤、切割等工艺加工而成的酱卤系列肉制品^[1]。预包装酱卤肉制品具有味美、便于运输、保质期长、携带方便等特点^[2]，越来越受到年轻人的喜爱。正因营养丰富，此类食品在生产过程、运输及保存时都易受微生物污染^[3]，特别是单核细胞增生李斯特菌、沙门氏菌和金黄色葡萄球菌等致病菌^[4]，并随着储存时间和温度的变化大量增殖，造成食品变质，极易引发食品安全中毒事件。

目前我国对酱卤肉制品的监管侧重于终产品，缺乏对专项的熟肉制品生产、加工、包装等环节的卫生规范，忽略了生熟食品、环境与食品间在生产加工过程中可能产生的交叉污染^[5]。随着食品加工法规政策的完善^[6-9]，生产加工环境的监控越来越受到重视。开展酱卤肉制品生产加工过程监测，有助于了解酱卤肉制品在生产过程不同环节的卫生指示菌和食源性致病菌的分布及污染源^[10-14]，把控产品质量的关键控制点，提高产品质量，保障消费者食品安全。

本研究通过对四川省某中型预包装酱卤肉制品企业生产加工过程的采样分析，调查其微生物污染情况，寻找关键风险点，提出改进措施，完善其环境监测计划，降低成品微生物污染风险，规避食品安全事故的发生。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 样品来源

根据某预包装酱卤肉工厂环境监测计划共采集样品 52 份，其中加工环境样品 34 份；肉制品样品 12 份（包括辅料、中间产品、成品、终产品等）；手部卫生样品 6 份（包括消毒水、操作人员手部）。

1.1.2 主要仪器与试剂

KB 400 恒温培养箱（宾德有限责任公司）；GR 110 高温高压灭菌器（致微厦门仪器有限公司）；BAGMIXER 400 均质器（北京兰伯瑞生物技术有限责任公司）；VITEK2 compact 全自动生化鉴定仪（法国生物梅里埃）；AUTOF MS2000 全自动微生物质谱检测系统（安图实验仪器有限公司）。

平板计数琼脂培养基（PCA）、缓冲蛋白胨水（BPW）、四硫磺酸钠煌绿增菌培养基（TTB）、亚硒酸盐胱氨酸增菌培养基（SC）、木糖赖氨酸脱氧胆盐琼脂培养基（XLD）、沙门菌显色培养基、7.5% 氯化钠肉汤、李氏增菌肉汤（LB1, LB2）、脑心浸出液肉汤（BHI）、Baird-Parker 琼脂培养基、甘露醇卵黄多粘素琼脂培养基（MYP）、胰酪胨大豆琼脂培养基（TSA）购自广东环凯微生物科技有限公司；李斯特菌显色培养基、大肠杆菌显色培养基购自法国科玛嘉；无菌海绵拭子购自山东沃高实验仪器有限公司；无菌生理盐水管（内附采样棉签）购自青岛高科技工业园海博生物技术有限公司。

1.2 实验方法

1.2.1 加工过程环境样品采集方法

用海绵拭子对加工过程中的工器具、货架、围裙等环境样品进行采样，遵循从清洁区到非清洁区的原则；无菌操作取出海绵后，对取样区域进行“之”字形涂抹，翻转海绵用另外一面再次擦拭整个区域，取样面积大约 900 cm²；取完样后将海绵放回采样袋，将手接触部位折断弃去，密封采样袋。

1.2.2 加工过程原辅料、半成品及成品采样方法

用无菌工具（剪刀、镊子或勺子）对原辅料和肉制品进行无菌取样，每份样品约 300 g，至少从 5 个不同点位进行采样，样品放入无菌采样袋密封保存。

1.2.3 人员手部卫生采样

将无菌棉签用无菌生理盐水润湿后对人员手部或者手套进行来回两次的擦拭，将棉签前端剪入相应的培养基中。

1.2.4 检测方法

以上采集的样品在冷藏条件下 4 h 内到达实验室开展实验。环境样品主要检测项目为大肠杆菌、金黄色葡萄球菌、蜡样芽胞杆菌、沙门菌和单核细胞增生李斯特菌；原辅料和肉制品检验项目为菌落总数、大肠杆菌、金黄色葡萄球菌、蜡样芽胞杆菌、沙门氏菌和单核细胞增生李斯特菌；人员手部检验项目为菌落总数、大肠菌群（发酵法）^[15]、金黄色葡萄球菌（定性）和蜡样芽胞杆菌；以上项目均按照 GB 4789 系列标准进行检测，菌种鉴定主要用全自动微生物质谱检测系统和全自动生化鉴定仪。

1.2.5 分析方法

对采集到的致病菌单核细胞增生李斯特菌进行二代测序，测序后使用 SPAdes 进行拼接，采用 NCBI-Blast+ 进行基因组数据比对分析。

2 结果与分析

2.1 人员手部卫生及消毒水检测结果

对车间重要区域操作人员手部卫生进行监测，大肠菌群阳性率为 80%（4/5），金黄色葡萄球菌阳性率为 40%（2/5）；洗手池的二氧化氯消毒水中检出少量微生物，经鉴定为蜡样芽胞杆菌，见表 1。

2.2 原辅料及中间产品、成品检测结果

根据国家标准中对熟肉制品的规定 GB 2726-2016《食品安全国家标准 酱卤肉制品》和 GB 29921-2021《食品安全国家标准 食品中致病菌限量》、熟肉微生物滋生特点和我国食源性疾病的主要致病因子来确认熟肉制品中关键污染的种类，最终选取菌落总数、大肠菌群、金黄色葡萄球菌、单核细胞增生李斯特氏菌、沙门氏菌和蜡样芽胞杆菌^[16-17]。生肉制品腌制后在冷藏过程中有明显的微生物增殖，在 12 h 冷藏后开始出现蜡样芽胞杆菌的污染，在 24 h 后出现大肠杆菌的污染，在 48 h 冷藏的腌制肉和待灭菌的包装熟肉中检出致病菌单核细胞增生李斯特氏菌。原辅料的品质和符合性对后续生产的质量和安全性至关重要，原料肉在储藏过程中，微生物会大量繁殖，可能会使风险增加到不可接受的水平。肉制品在焯水和卤制后菌落总数有明显的降低，

致病菌也被杀灭,但在卤制后到包装的过程菌落总数回升至较高水平,同时受到大肠杆菌、金黄色葡萄球菌、蜡样芽胞杆菌和单核细胞增生李斯特菌的污染,经高温高压灭菌后均降低至未检出的水平。实验结果表明,酱卤肉制品加工工艺过程中的高温灭菌确实可以有效减少前序生产流程带来的微生物污染风

险。因此,高温灭菌为酱卤肉制品生产加工工艺流程中的关键控制点。如灭菌不彻底,则会导致产品在后续环节中出现微生物大量繁殖带来的安全隐患,灭菌时间可根据肉类品种、产品工艺及食用特点,个性化制定灭菌时间^[18]。辅料腌肉调料和油料指示菌染污水平较低,均未检出致病菌。见表2和图1。

表1 人员手部卫生及消毒水检测结果

Table 1 Test results of hand hygiene and disinfection water

采样点位	采样区域	检测项目			
		菌落总数	大肠菌群	金黄色葡萄球菌	蜡样芽胞杆菌
人员1手套	卤制间	64000	+	-	<10
人员2手部	卤制间	170000	+	+	<10
人员3手部	成型间	4700	+	-	<10
人员4手部	包装间	16000	+	+	<10
人员5手部	包装间	1200	-	-	<10
二氧化氯消毒水 CFU/mL	洗手池	2	<1	<1	/

注:“+”表示检出;“-”表示未检出;“/”表示未检测此项目;人员手部项目结果为“/手”。

表2 辅料、中间产品及成品检测结果

Table 2 Test results of excipients, intermediate products and finished products

采样点位	采样区域	检测项目					
		菌落总数	大肠杆菌	金黄色葡萄球菌	蜡样芽胞杆菌	沙门菌	单核细胞增生李斯特菌
洗净后生肉	生肉区	19000	<10	<10	<10	-	-
辅料(腌肉调料)	生肉区	120	<10	<10	<10	-	-
腌肉(刚腌制好)	生肉区	4000	<10	<10	<10	-	-
腌肉(12h)	腌制冷藏间	430000	<10	<10	1500	-	-
腌肉(24h)	腌制冷藏间	800000	800	<10	3000	-	-
腌肉(48h)	腌制冷藏间	1500000	2000	<10	7500	-	+
焯水后牛肉	预煮间	4600	<10	<10	100	-	-
卤制后熟肉	卤制间	6500	<10	<10	<10	-	-
卤制后切好的肉	成型间	6000	<10	50	<10	-	-
辅料(油料)	油料间	700	<10	<10	<10	-	-
待灭菌熟食	包装间	23000	1000	1500	200	-	+
成品(灭菌后)	仓库	<10	<10	<10	<10	-	-

注:“+”表示检出;“-”表示未检出;定量检测单位为“CFU/g”;定性检测单位为“/25g”。

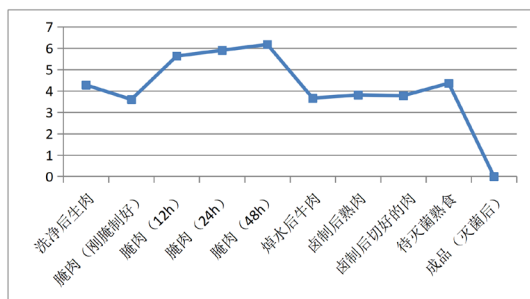


图1 肉制品在生产加工过程中的菌落总数变化趋势

Fig.1 The changing trend of the total colony count of meat products in the process of production and processing

2.3 加工过程环境样品检测结果

环境样品主要涉及到生产过程中可能引起终产品致病菌污

染的所有种类。根据酱卤肉生产流程,采集加工过程环境样本34份,均未检出沙门菌,但检出7株单核细胞增生李斯特菌,检出率为20.6%(7/34),3株来自生肉区,2株来自包装间,1株来自腌制间,1株来自二次挑选间,该企业生产加工过程单核细胞增生李斯特菌污染严重,提示企业环境消毒不彻底,消毒效果需进行合理评价。大肠杆菌检出率为29.4%(10/34),金黄色葡萄球菌检出率为2.9%(1/34),蜡样芽胞杆菌检出率为44.1%(15/34)。微生物污染比较严重的几个点为腌制间的货架、预煮间的生肉转运车、卤制间的冷却架和人员围裙、成型间的菜刀菜板、二次挑选间的台面、包装间的上料白盆和设备二层地面,其中菜刀菜板和上料白盆都是直接和中间产品接触的点。见表3。

表3 加工过程环境样品检测结果
Table 3 Results of environmental samples in processing

采样点位	采样区域	检测项目				
		大肠杆菌	金黄色葡萄球菌	蜡样芽胞杆菌	沙门菌	单核细胞增生李斯特菌
解冻池	生肉区	< 10	< 10	< 10	-	-
解冻池排水口	生肉区	< 10	< 10	< 10	-	-
地漏	生肉区	< 10	< 10	< 10	-	+
生肉转运箱	生肉区	< 10	< 10	< 10	-	+
清洗后滚肉机	生肉区	< 10	< 10	200	-	-
电子秤	生肉区	< 10	< 10	35000	-	+
清洁后切肉台面	生肉区	2000	< 10	< 10	-	-
清洁后解冻货架	解冻间	< 10	< 10	< 10	-	-
清洁后容器	解冻间	< 10	< 10	25000	-	-
生区周转箱	解冻间	< 10	< 10	< 10	-	-
腌制间货架	腌制间	8500	< 10	80000	-	+
栈板	预煮间	< 10	< 10	< 10	-	-
生肉转运车	预煮间	20000	< 10	50000	-	-
冷却架	卤制间	2500	< 10	400	-	-
围裙	卤制间	300	< 10	3000	-	-
货架	成型间	100	< 10	< 10	-	-
切肉机	成型间	< 10	< 10	7500	-	-
菜刀、菜板	成型间	50	< 10	300	-	-
操作台面	成型间	< 10	< 10	300	-	-
台面	二次挑选间	2500	< 10	4000	-	+
围裙	包装间	< 10	< 10	350	-	+
上料斗	包装间	< 10	< 10	< 10	-	-
上料白盆	包装间	2000	3000	4000	-	+
多头秤设备表面	包装间	< 10	< 10	< 10	-	-
进料口	包装间	< 10	< 10	< 10	-	-
设备二层工作地面	包装间	100	< 10	400	-	-
下料斗	包装间	< 10	< 10	< 10	-	-
真空仓	包装间	< 10	< 10	< 10	-	-
传送带	包装间	< 10	< 10	< 10	-	-
给袋式包装机料盘	包装间	< 10	< 10	< 10	-	-
包装袋	包装间	< 10	< 10	< 10	-	-
打磨机台面	油料间	< 10	< 10	2000	-	-
清洗池	清洗间	< 10	< 10	< 10	-	-
地漏	清洗间	< 10	< 10	< 10	-	-

注：“+”表示检出；“-”表示未检出；定量检测单位为“CFU/900 cm²”；定性检测单位为“/900 cm²”。

2.4 分子溯源分析

对9株单核细胞增生李斯特氏菌进行16S聚类分型，发现5生肉转运箱（生肉区）、9电子秤（生肉区）、14腌制间货架（腌制间）、32操作台面（二次挑选间）、33待灭菌熟食（包装间）、35围裙（包装间）、39上料白盆（包装间）点位之间亲源关系较近，存在交叉污染。MLST分析发现共有ST9、ST14和ST3三种分型结果，均出现在了生肉区，其中两种ST型（ST9和ST3）在后续生产加工过程中有出现，且ST3占比最高，为66.7%（6/9），覆盖了生肉区、腌制间、二次挑选间和包装间，ST9在腌制间检出。血清型分析也出现与MLST分析相同的趋势。见图2和表4。该企业生产环境存在较为严重的交叉污染，一些加工器具的缝隙难以充分清洁消毒，这也为单核细胞增生李斯特氏菌的滋生提供了条件，该菌也可通过食品加工环境和原材料中存

在污染各种食品。

表4 单核细胞增生李斯特菌 MLST 分型和血清型分析结果
Table 4 Results of MLST typing and serotyping of *Listeria monocytogenes*

菌株编号	采样点位	采样区域	ST 型	血清型
DZ-2023-4	地漏	生肉区	9	1/2c,3c
DZ-2023-5	生肉转运箱	生肉区	14	1/2a,3a
DZ-2023-9	电子秤	生肉区	3	1/2b,3b,7
DZ-2023-14	腌制间货架	腌制间	3	1/2b,3b,7
DZ-2023-15	腌肉（48 h）	腌制间	9	1/2c,3c
DZ-2023-32	操作台面	二次挑选间	3	1/2b,3b,7
DZ-2023-33	待灭菌熟食	包装间	3	1/2b,3b,7
DZ-2023-35	围裙	包装间	3	1/2b,3b,7
DZ-2023-39	上料白盆	包装间	3	1/2b,3b,7

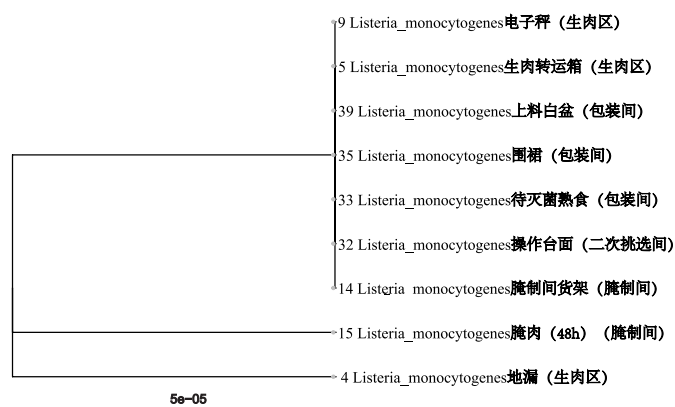


图2 9株单核细胞增生李斯特菌 16S 系统进化树
Fig.2 The 16S phylogenetic tree of 9 strains of *Listeria monocytogenes*

3 结论

本研究开展了四川省某代表性预包装酱卤肉制品生产企业加工工艺过程(解冻-切割-清洗-腌制-焯水-卤制-冷却-切割-筛选-拌料-包装-灭菌)中的微生物监测,为检测结果显示,加工过程中存在微生物污染风险,主要是大肠菌群、金黄色葡萄球菌、蜡样芽胞杆菌和单核细胞增生李斯特菌。这些细菌的检出率随着加工进程逐渐降低,高温灭菌的降低终产品微生物污染有显著作用。经溯源分析,发现生熟区环境、工器具均被相同血清型的单核细胞增生李斯特菌污染,提示存在较为严重的交叉污染。

综上,本研究为预包装酱卤肉企业加工生产过程中的风险关键点控制提供了数据支持。生产环境和人员卫生都与熟肉制品的卫生质量密切相关,需严格把控生产环境和人员卫生,定期清洁消毒,降低加工环境与设备的污染、车间操作人员与食品交叉污染以及生熟食品的交叉污染,同时根据环境监控调查结果及时调整环境监控计划,以期从源头降低食源性疾病爆发的风险。

参考文献

- [1] 国家质量监督检验检疫总局,国家标准化技术委员会. GB/T 23586-2009 酱卤肉制品 [S]. 北京:中国标准出版社,2009.
- [2] 炊慧霞,戚浩彧,张秀丽,等. 预包装熟肉制品生产过程微生物污染状况监测及分子溯源分析 [J]. 中国食品卫生杂志, 2020, 32(06): 686-691.
- [3] ALEGBELEYE OO, SINGLETON I, SANT'ANA AS. Sources and contamination routes of microbial pathogens to fresh produce during field cultivation: a review [J]. Food Microbiol, 2018, 73: 177-208.
- [4] 李笑曼,臧明伍,赵洪静,等. 基于监督抽检数据的肉类食品安全风险分析及预测 [J]. 肉类研究, 2019, 33(01): 42-49.
- [5] 李小成,李成国,金迪,等. 南京市某食品厂酱卤熟肉制品

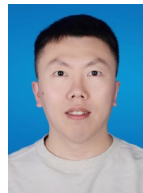
生产加工过程微生物污染状况分析 [J]. 中国食品卫生杂志, 2019, 31(05): 465-469.

- [6] 付文丽,陶婉亭,李宁,等. 借鉴国际经验完善我国食品安全风险监测制度的探讨 [J]. 中国食品卫生杂志, 2015, 27(03): 271-276.
- [7] FAO, WHO. Official report of the Asia and Pacific regional food safety conference [EB/OL]. [2014-12-05]. <http://www.fao.org/docrep/meeting/008/y5871e/y5871e0n.htm> [2020-07-20].
- [8] 刘皓. ISO22000 食品安全管理体系在熟肉制品生产中的应用 [J]. 食品安全导刊, 2015, (06): 50-51.
- [9] 刘阳,唐莉娟,王凌云,等. 即食肉制品产业发展现状与市场前景 [J]. 食品工业, 2017, 38(02): 275-279.
- [10] 兰光,孙建云,吕卫民,等. 婴儿配方奶粉生产加工过程污染调查分析 [J]. 中国卫生检验杂志, 2017, 27(15): 2264-2265,2280.
- [11] 朱恒文,方艳红,王元兰,等. 肉鸡屠宰加工产业链中沙门氏菌的污染调查及 ERIC-PCR 溯源 [J]. 食品科学, 2012, 33(17): 48-53.
- [12] 黄淑华,陈磊,刘杰,等. 开封市 2014 年水产品养殖和销售加工过程中致病性弧菌污染状况调查 [J]. 医学动物防制, 2015, 31(09): 980-982,985.
- [13] 杨舒然,杨大进,闫琳,等. 火腿肠加工过程中微生物风险研究 [J]. 中国食品卫生杂志, 2019, 31(01): 59-63.
- [14] 武晓军,朱小燕,陈珺,等. 南京市部分散装熟肉制品微生物污染状况调查 [J]. 上海预防医学杂志, 2008, (11): 551-552,554.
- [15] GB 14934-2016 食品安全国家标准 消毒餐(饮)具 [S]. 北京:中国标准出版社,2016.
- [16] GB 19303-2023 食品安全国家标准 熟肉制品生产卫生规范 [S]. 北京:中国标准出版社,2023.
- [17] GB 29921-2021 食品安全国家标准 预包装食品中致病菌限量 [S]. 北京:中国标准出版社,2021.
- [18] 姜惠. 新形势下 HACCP 体系在酱卤肉制品中的应用 [J]. 肉类工业, 2022, (03): 33-38.

作者简介



余琳, 硕士, 助理工程师, 研究方向为食品微生物检验。



李晶, 硕士, 工程师, 研究方向为食品微生物检验与研究。