

阿拉尔市枸杞干果的污染菌相调查与防控措施

王洁茹, 喻文丽, 李颖, 郭东起

(塔里木大学 生命科学学院南疆特色农产品深加工兵团重点实验室, 阿拉尔 843300)

摘要: **目的** 对阿拉尔市枸杞干果的污染微生物进行调查和分析, 以期为新疆枸杞干果的产品质量评价标准提供参考。 **方法** 按照 GB 4789—2016《食品卫生微生物学检验标准》中的方法对其进行调查, 并进行初步杀菌的应用研究。 **结果** 在供试散装枸杞干果中的污染微生物中, 霉菌和酵母菌的菌落总数为 8.9×10^5 CFU/g, 细菌的菌落总数为 3.5×10^5 CFU/g, 大肠菌群的最可能数 (MPN 值) 为 1100; 在供试袋装枸杞干果的污染微生物中, 霉菌和酵母菌的菌落总数为 520 CFU/g, 细菌的菌落总数为 11000 CFU/g, 大肠菌群的 MPN 值为 150, 主要污染霉菌为黑曲霉和青霉属。 **结论** 紫外辐照 10 min 后, 霉菌和酵母菌的抑菌率达到 32.44%, 细菌的抑菌率达到 74.69%; 超声波处理 5 min 后, 对菌落总数的抑菌效果极为显著, 抑菌率达到 98.21%。通过紫外辐照和超声波处理均可杀灭枸杞干果表面的微生物, 其杀菌效果良好。

关键词: 枸杞; 污染菌相; 紫外辐照; 超声波杀菌

中图分类号: TS207.4; TS201.3 文献标识码: A 文章编号: 1001-3563(2019)13-0041-05

DOI: 10.19554/j.cnki.1001-3563.2019.13.006

Investigation and Control Measures of the Contaminated Bacterium of Chinese Wolfberry in Alar

WANG Jie-ru, YU Wen-li, LI Ying, GUO Dong-qi

(Xinjiang Production and Construction Group Key Laboratory of Agricultural Products Deep Processing in South Xinjiang, College of Life Science, Tarim University, Alar 843300, China)

ABSTRACT: The work aims to investigate and analyze the contaminated microorganism of dried fruit of Chinese wolfberry, in order to provide reference for the product quality evaluation standards of dried fruit of Chinese wolfberry in Xinjiang. It was investigated according to the methods in GB 4789—2016 Food Hygiene Microbiology Test Standard and preliminary sterilization application research was carried out. The total number of mold and yeast colonies was 8.9×10^5 CFU/g, the total number of bacteria colonies was 3.5×10^5 CFU/g, and the number of coliforms was 1100 MPN among the contaminated microorganisms in the dried fruits of Chinese wolfberry in bulk. Among the contaminated microorganisms of bagged dried Chinese wolfberry, the total number of mold and yeast colonies was 520 CFU/g, the total number of bacteria colonies was 11,000 CFU/g, and the number of coliforms was 150 MPN. The main contaminated molds were *Aspergillus niger* and *Penicillium*. After UV irradiation for 10 min, the antibacterial rate of mold and yeast reached 32.44%, and the antibacterial rate of bacteria reached 74.69%. After ultrasonic treatment for 5 min, the antibacterial effect on the total number of colonies was extremely significant, and the antibacterial rate reached 98.21%. Ultraviolet irradiation and

收稿日期: 2018-11-13

基金项目: 塔里木大学南疆特色农产品深加工兵团重点实验室项目 (AP1602)

作者简介: 王洁茹 (1995—), 女, 塔里木大学硕士生, 主攻食品安全及果蔬保鲜与加工技术。

通信作者: 郭东起 (1975—), 男, 硕士, 塔里木大学副教授, 主要研究方向为食品安全及果蔬保鲜与加工技术。

ultrasonic treatment can kill the microorganisms on the surface of dried fruit of Chinese wolfberry, and the sterilization effect is good.

KEY WORDS: Chinese wolfberry; contaminated bacteria; ultraviolet irradiation; ultrasonic sterilization

新疆枸杞果实甘甜、颗粒饱满、色泽红润、品质极佳、营养丰富,具有特异和非特异性免疫调节的作用,以及抗氧化、抗衰老的功效^[1-2]。新疆枸杞的品种一般均由宁夏枸杞引入,由于新疆多地都属于盐碱地,适合枸杞的生长,以“精河枸杞”为代表,该产品远销国外,成为了新疆红色产业最主要的组成部分,是新疆特色经济的重要优势产业^[3]。目前,对新疆枸杞干果的污染菌相的调查还不够重视,研究并不广泛。由此,文中以新疆阿拉尔市市场上的枸杞干果为样品,对污染其的主要微生物菌相进行调查与分析,并对灭菌措施进行初步探讨,以期新疆枸杞干果的产品质量评价标准及贮藏提供参考。

1 实验

1.1 材料

1.1.1 供试样品

供试散装样品购买于新疆阿拉尔市不同农贸市场,含水率 $\leq 18\%$,果实色泽均匀,无病虫害。供试包装样品购买于新疆阿拉尔市塔里木超市,厂家为新疆精杞神枸杞开发有限责任公司,普通塑料袋包装,含水率 $\leq 18\%$ 。

1.1.2 主要仪器设备

主要仪器设备:HPX-9162 MBE 电热恒温培养箱、SW-CJ-2FD 超净工作台、LDZF-50KB-II立式压力蒸汽灭菌器、GZX-9240 MBE 电热鼓风干燥箱、XW-80A 微型涡旋振荡仪、KQ3200DB 型数控超声波清洗器、BL204-1C 分析天平等。

1.2 方法

1.2.1 霉菌和酵母菌的测定

称取枸杞样品各 25 g,置于盛有 225 mL 无菌水的三角瓶(500 mL)内,在涡旋振荡器中震荡 5 min;以 10 倍稀释法依次稀释,选取合适的稀释梯度,按照 GB/T 4789.15—2016《食品安全国家标准食品微生物学检验霉菌和酵母菌计数》中的方法进行培养计数^[4]。

1.2.2 菌相分析

选取马铃薯葡萄糖琼脂(PDA)平板上不同形态的菌落,分纯培养后根据菌落形态、镜检结果,按真菌学鉴定手册,参照真菌的形态描述及检索表确定菌群、菌种名称,除曲霉鉴定到群外,其余均只鉴定到

属^[5-7]。

1.2.3 大肠菌群计数与菌落总数的测定

大肠菌群的测定按 GB/T 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》中大肠菌群 MPN 记数法中所提供的方法进行发酵培养^[8]。大肠菌群最可能数(MPN)的报告:根据复发酵试验中检测到的大肠菌群阳性管数目情况,检索 MPN 表,记录每克供试样品中大肠菌群的 MPN 值。菌落总数的测定按 GB/T 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》中所提供方法进行菌落总数的培养和测定^[9]。菌落计数采用稀释平板记数法。

1.2.4 紫外辐照对枸杞干果杀菌效果的影响

将散装枸杞干果以单层平铺在超净工作台上,每隔 10 min 翻动 1 次,经 30 W 的紫外线照射,辐照距离为 0.4 m,分别照射 10, 20, 30 min,实验方法参照 1.2.1 和 1.2.3 进行霉菌、酵母菌菌落总数的测定,抑菌率=处理后菌落总数/处理前菌落总数 $\times 100\%$ 。

1.2.5 超声波对枸杞干果杀菌效果的影响

将 25 g 散装枸杞干果放于装有 225 mL 水的超声波清洗机中,在输出频率为 40 kHz,电功率为 150 W,温度为 40 °C 下,分别处理 5, 10, 15, 20, 25 min,然后进行风干,实验方法参照 1.2.1 和 1.2.3 进行霉菌、酵母菌菌落总数的测定。

2 结果与分析

2.1 枸杞干果的霉菌和酵母菌污染测定

对抽样的枸杞干果进行霉菌和酵母菌的污染情况进行调查后,发现散装的样品污染比较严重,污染总菌数达到平均值(8.9×10^5 CFU/g)。其中,酵母的数量最多,达到 5.6×10^5 CFU/g,其次是青霉属的数量,达到 8.5×10^4 CFU/g,黑曲霉的数量最少,只有 2.5×10^4 CFU/g。袋装的新疆枸杞干果的霉菌和酵母菌数量都较少,霉菌和酵母菌的总数为 1.0×10^3 CFU/g,青霉属的总数为 2.3×10^2 CFU/g,酵母菌的总数为 8.2×10^2 CFU/g,无黑曲霉菌落,实验结果见表 1。

2.2 污染枸杞干果的主要霉菌形态学鉴定

黑曲霉在马铃薯葡萄糖培养基上生长比较缓慢,

表 1 新疆枸杞干果霉菌与酵母菌污染情况调查
Tab.1 Investigation on contaminated mould and yeast in the Chinese wolfberry of Xinjiang

调查类型	调查次数	平均总菌数 ($\times 10^3$) / (CFU·g ⁻¹)	菌落数 ($\times 10^4$) / (CFU·g ⁻¹)		
			黑曲霉	青霉	酵母
散称	4	890	2.5	8.5	56
袋装	4	1.0	0	0.023	0.082

菌丝初期为白色，后变成鲜黄色直至黑色厚绒状，背面无色或中央略带黄褐色。

采用显微镜观察黑曲霉的形态特征发现，黑曲霉菌丛颜色为黑褐色，顶囊呈球形，小梗双层，分生孢子为球形呈黑或黑褐色，分生孢子头状如“菊花”。根据真菌分类鉴定，确定此类病原菌为半知菌亚门，丝孢纲，丝孢目，丛梗科，曲菌属（见图 1）。

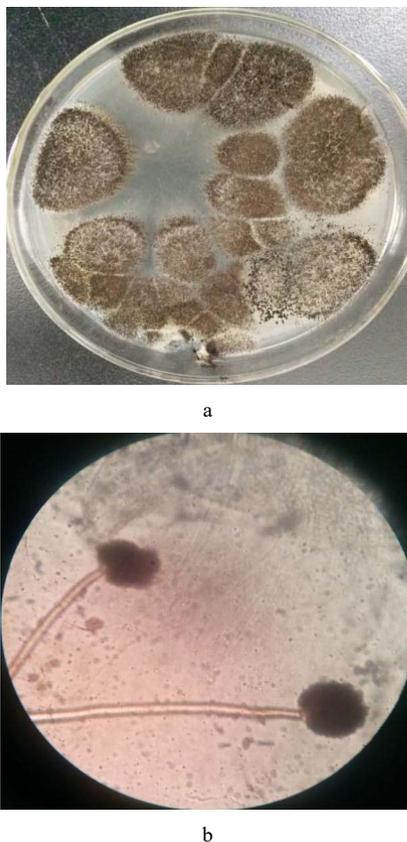


图 1 黑曲霉的形态及显微形态
Fig.1 Morphology and microscopic morphology of *Aspergillus niger*

青霉在马铃薯葡萄糖培养基上为灰绿、深绿色绒毛状或稍絮状，反面无色或黄色，有放射状沟纹，显微镜下分生孢子链为分散柱状。帚状枝由 3~4 个轮生而略散开的梗基构成，每个梗基上簇生有 6~10 个路密集而平行的小梗。分生孢子呈球形或近球形，淡绿色，光滑或近于光滑，根据真菌分类鉴定，可初步确定此类病原菌为半知菌亚门青霉属（见图 2）。

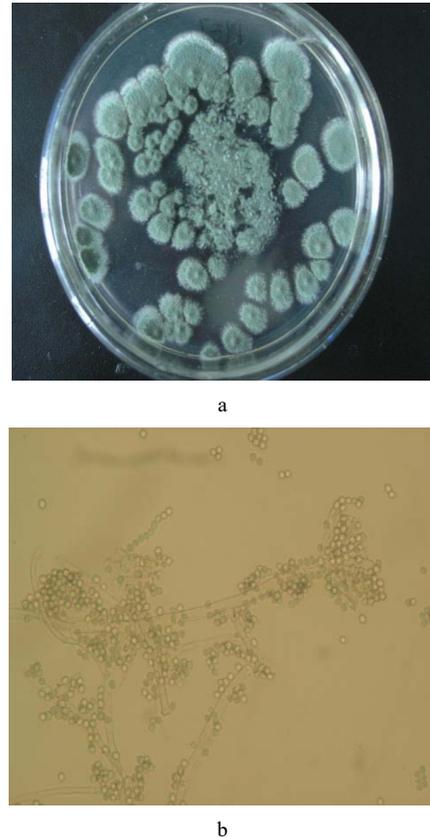


图 2 青霉的形态及显微形态
Fig.2 Morphology and microscopic morphology of *Penicillium*

2.3 细菌总数与大肠菌群污染情况的调查

对抽样的枸杞干果进行了菌落总数与大肠杆菌的测定，实验结果见表 2。此次散装的枸杞干果的菌落总数达到 3.5×10^5 CFU/g，大肠菌群的最可能数（MPN）超过 1100；袋装枸杞干果的细菌总数与大肠菌群的数量明显较少，大肠菌群的最可能数（MPN）为 150，细菌总数为 1.1×10^4 CFU/g。

表 2 新疆枸杞干果细菌总数与大肠菌群情况调查
Tab.2 Investigation on total bacterial count and coliforms in the Chinese wolfberry of Xinjiang

调查类型	调查次数	细菌总数 ($\times 10^5$) / (CFU·g ⁻¹)	大肠菌群的最可能数 (MPN)
散称	3	3.5	≥ 1100
袋装	3	0.11	150

2.4 紫外辐照对散装干果枸杞杀菌效果的影响

将抽样枸杞干果进行紫外辐照 10 min 后发现, 该处理对霉菌与酵母菌总数和菌落总数均有明显的抑菌效果, 抑菌率达到了 32.44%。紫外辐照 20 min 或 30 min 后的抑菌率均为 33.33%, 辐照 20 min 和辐照 30 min 其霉菌和酵母菌的总数几乎无变化。菌落总数随着辐照时间的增加, 抑菌效果显著, 紫外辐照 10 min 时, 抑菌效率达到 74.69%, 紫外辐照 30 min, 抑菌效率为 88.70% (见表 3)。

表 3 辐照时间对总菌数的影响

Tab.3 Effect of irradiation time on the total bacteria count

辐照时间/ min	霉菌和酵母菌 总数 ($\times 10^5$) / (CFU/g)	霉菌与酵母 菌抑菌率/%	细菌总数 ($\times 10^4$) / (CFU·g ⁻¹)	细菌抑菌率/%
10	1.6 ^a	32.44	8.9 ^a	74.69
20	1.5 ^a	33.33	8.4 ^a	76.27
30	1.5 ^a	33.33	4.1 ^b	88.70

注: 不同字母代表差异显著 ($P < 0.05$)

2.5 超声波清洗机对散装干果枸杞杀菌效果的影响

由表 4 可知, 样品经超声波处理 5 min 后, 对霉菌与酵母菌总数均有明显的抑菌效果, 抑菌率为 33.33%, 而对菌落总数的抑菌效果极为显著, 抑菌率达到 98.21%; 经超声波处理 15 min 时, 对霉菌与酵母菌总数的抑菌效果明显增加, 抑菌率为 63.29%; 对于菌落总数, 经超声波处理 25 min, 抑菌率并没有得到明显提高, 抑菌率为 98.98%。

表 4 超声波处理时间对总菌数的影响

Tab.4 Effect of ultrasonic treatment time on total bacteria count

处理时间/min	霉菌和酵母菌 总数 ($\times 10^4$) / (CFU·g ⁻¹)	霉菌与酵母 菌抑菌率/%	细菌总数 ($\times 10^3$) / (CFU·g ⁻¹)	细菌抑 菌率/%
5	15 ^a	33.33	6.3 ^b	98.21
10	15 ^a	32.89	5.0 ^b	98.58
15	8.2 ^b	63.29	3.9 ^b	98.87
20	7.5 ^b	66.49	3.3 ^b	99.05
25	7.3 ^b	67.29	3.5 ^b	98.98

注: 不同字母代表差异显著 ($P < 0.05$)

3 结果与讨论

此次测定了市售散称和袋装的新疆枸杞干果, 结果表明, 散称的枸杞干果的霉菌和酵母菌总数达到 8.9×10^5 CFU/g, 而菌落总数达到了 3.5×10^5 CFU/g, 大肠菌群的 MPN 值超过了 1100。说明散称枸杞干果受生长环境、采摘方法、运输、贮藏等因素的影响, 污染比较严重; 袋装的新疆枸杞干果, 污染程度较轻, 霉菌和酵母菌总数为 5.2×10^2 CFU/g, 菌落总数为 1.1×10^4 CFU/g, 大肠菌群的 MPN 值为 150, 因为袋装的枸杞干果在包装前进行了清洗及杀菌处理。新疆枸杞干果的酵母菌数量较多, 而污染的霉菌数量较少, 这与郭红莲等人^[10]研究的宁夏枸杞干果的实验结果不一致, 霉菌的污染与枸杞干果中的含水量有关, 新疆气候相对干燥, 故不容易使干果受到霉菌的污染。虽然我国现在的食品安全国家标准中对枸杞干果尚未明确限定大肠菌群及菌落总数, 但经过该实验检

测后, 发现微生物的污染情况还是比较严重, 应该引起足够重视。

紫外辐照杀菌技术通过抑制 DNA 复制导致微生物突变或者死亡, 来达到杀菌的目的, 常常用于生物表面的杀菌, 具有方便、经济、安全、无残留等优点^[11-13]。采用紫外辐射对枸杞干果进行杀菌, 是一种非常有效的杀菌手段, 紫外辐照 10 min 时, 对霉菌和酵母菌的抑菌率达到 32.44%, 对细菌的抑菌率达到 74.69%, 因此, 对于散称枸杞在晾晒后可采用紫外辐照来减少枸杞干果的污染菌。

超声波杀菌主要利用空穴效应, 导致细胞被破坏, 进而造成微生物死亡。采用超声波杀菌技术处理食品有许多不可替代的优点, 如能量消耗较低, 杀菌时间短, 能够保存食品营养成分和天然的色泽、香气、味道等, 并且应用领域较广泛^[14-16]。采用超声波杀菌处理技术对枸杞干果具有显著的杀菌成效, 经超声波处理 5 min 后, 对菌落总数的抑菌效果极为显著, 抑菌率达到 98.21%。

4 结语

实验对新疆阿拉尔市市售的枸杞干果的主要微生物的菌相进行了初步的调查与分析,发现微生物污染情况还是比较严重,散称的枸杞干果的霉菌和酵母菌总数达到 8.9×10^5 CFU/g,而菌落总数达到了 3.5×10^5 CFU/g,大肠菌群的MPN值超过了1100。这种现象应该引起足够重视,并进一步进行研究,应关注污染病原菌的种类、真菌毒素的生产等,评价其对人类健康危害的风险;同时对其污染的防控措施进行研究。

参考文献:

- [1] 龚灿. 新疆枸杞子的化学成分及其抗氧化作用的研究[D]. 乌鲁木齐: 新疆医科大学, 2006.
GONG Can. Studies of Chemical Compositions from Fructus Lycii in Xinjiang and Antioxidation of Different Fractions[D]. Urumqi: Xinjiang Medical University, 2006.
- [2] 卫裴, 梁杰, 吴志贤. 枸杞多糖药理学功效研究综述[J]. 辽宁中医药大学学报, 2012, 14(6): 247—249.
WEI Pei, LIANG Jie, WU Zhi-xian. Summary of Pharmacological Effects of Lycium Barbarum Polysaccharides[J]. Journal of Liaoning University of Traditional Chinese Medicine, 2012, 14(6): 247—249.
- [3] 吉仁塔. “一带一路”下精河县枸杞业发展的机遇与挑战[J]. 新疆林业, 2017(3): 27—29.
JI Renta. Opportunities and Challenges of Development of Lycium Barbarum Industry in Jinghe County under "One Belt And One Road"[J]. Xinjiang Forestry, 2017(3): 27—29.
- [4] GB 4789.15—2016, 食品安全国家标准 食品微生物学检验 霉菌和酵母计数[S].
GB 4789.15—2016, National Food Safety Standard Food Microbiological Examination Mold and Yeast Counts[S].
- [5] 戴芳澜. 中国真菌总汇[M]. 北京: 科学出版社, 1979.
DAI Fang-lan. China Fungi Society[M]. Beijing: Science Press, 1979.
- [6] 魏景超. 真菌鉴定手册[M]. 上海: 上海科学技术出版社, 1979.
WEI Jing-chao. Fungal Identification Manual [M]. Shanghai: Shanghai Science and Technology Press, 1979.
- [7] 孔华忠. 中国真菌志第(35 卷)[M]. 北京: 科学出版社, 2007.
KONG H Z. Fungi in China (Volume 35)[M]. Beijing: Science Press, 2007.
- [8] 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[S].
GB 4789.3—2016, National Food Safety Standard Food Microbiological Examination Coliform Count[S].
- [9] 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[S].
GB 4789.2—2016, Food Safety Standard Food Microbiological Examination Detection of the Total Bacterial Count[S].
- [10] 郭红莲, 宋巍, 颜国政, 等. 宁夏枸杞干果污染菌相调查与防控措施[J]. 食品研究与开发, 2011, 32(5): 153—155.
GUO Hong-lian, SONG Wei, YAN Guo-zheng, et al. Test and Control of Pollutant Microbes in Ningxia Dry Lyceum[J]. Food Research and Development, 2011, 32(5): 153—155.
- [11] 张甫生, 李蕾, 陈芳, 等. 非热加工在鲜切果蔬安全品质控制中的应用进展[J]. 食品科学, 2011, 32(9): 329—334.
ZHANG Fu-sheng, LI Lei, CHEN Fang. Progress in Applications of Non-thermal Processing Technologies in Ensuring Safety and Quality of Fresh-cut Fruits and Vegetables[J]. Food science, 2011, 32(9): 329—334.
- [12] 宋晓雪, 胡文忠, 毕阳, 等. 鲜切果蔬中致腐微生物污染及其非热杀菌的研究进展[J]. 食品工业科技, 2014, 35(10): 351—354.
SONG Xiao-xue, HU Wen-zhong, BI Yang, et al. Research Progress in Decay Microbial Infection and Safety Control of Fresh-cut Fruits and Vegetables[J]. Food Industry Technology, 2014, 35(10): 351—354.
- [13] 孔繁贞, 冯建萍, 魏绍振, 等. 紫外线对微生物消毒效果的影响因素及质控措施[J]. 青海畜牧兽医杂志, 2017, 47(2): 64—66.
KONG Fan-zhen, FENG Jian-ping, WEI Shao-zhen, et al. Factors Affecting the Effect of Ultraviolet Radiation on Microorganism Disinfection and Quality Control Measures[J]. Qinghai Animal Husbandry Veterinary Magazine, 2017, 47(2): 64—66.
- [14] 肖容雍, 赵鹤飞, 李铭. 常温即食食品的主要杀菌技术研究进展[J]. 农产品加工, 2018(12): 64—69.
XIAO Rong-yong, ZHAO He-fei, LI Ming. Advances in Main Sterilization Technologies for Ready-to-eat Food[J]. Processing of Agricultural Products, 2018(12): 64—69.
- [15] 郑云芳, 王晓雯, 钟丽琪. 冷杀菌技术在食品中的应用[J]. 现代食品, 2017(13): 67—68.
ZHENG Yun-fang, WANG Xiao-wen, ZHONG Li-qi. Application of Cold Sterilization Technology in Food[J]. Modern food, 2017(13): 67—68.
- [16] 马爽文, 王鲜艳, 李娟, 等. 超声波杀菌机理及其影响因素[J]. 西安邮电学院学报, 2011, 16(S2): 39—41.
MA Shi-wen, WANG Xian-yan, LI Juan, et al. The Mechanism and Influencing Factors of Ultrasonic Sterilization[J]. Journal of Xi'an University of Posts and Telecommunications, 2011, 16(S2): 39—41.