

大豆发酵食品—酱油的微生物安全性检验

杨丹宏 韩北忠

(中国农业大学食品学院 北京 100083)

摘要 该文对从我国各地所收集到的 14 个酱油样品进行了理化指标测定和微生物安全性检验。理化测定的项目包括水分、pH 值、氨基酸态氮、盐分、总酸和还原糖；微生物检验的项目包括细菌总数、总芽孢菌、10%和 17.5%盐分的耐盐菌、肠道菌群、乳酸菌、真菌、蜡芽孢杆菌和金黄色葡萄球菌。根据实验结果，对酱油的卫生质量进行了评价。

关键词 酱油 理化指标 微生物安全性检验

中图分类号 TS264.2¹ **文献标识码** C

文章编号 0254-5071(2002)05-0029-03

酱油是我国一种传统大豆发酵食品，是家家户户必备的调味品，深受我国乃至世界人们的喜爱。酿造酱油的生产工艺大致可分为低盐固态发酵和高盐稀态发酵。目前大、中、小型酿造厂广泛采用的是低盐固态发酵。一般酱油的生产均需经过原料处理、制曲、发酵、浸出淋油及加热灭菌等。目前，国内多采用米曲霉或其变种作为酱油发酵的生产曲霉^[1]。

酱油的生产已实现纯种制曲发酵，但是由于酱油的生产是在开放的环境下进行的，无可避免地要受到杂菌的污染。我们知道，酱油的含盐量很高，一般在 12%以上，这在一定程度上抑制了杂菌的产生，但是，一些微生物是耐盐的，尤其芽孢菌耐受高盐、高温的能力很强。由此我们认为，酱油中必然存在着多种微生物，甚至还存在一些病原微生物。

随着生活水平的提高，人们对食品的安全性越来越关注。目前，国外曾有报道^[2]，对单贝等一些传统大豆发酵食品进行微生物检验并判断其安全性。而国内对酱油的生产工艺及菌种纯化研究报道较多，对酱油中的微生物安全性检验研究甚少。

因此，本文从微生物安全性角度，对市售酱油进行微生物安全性检验。希望对准确评价酱油的卫生质量和安全性具有一些指导意义。

1 材料和方法

1.1 样品的采集

从全国各地收集市场上出售的 14 个酱油样品，它

们的产地分别为北京、石家庄、天津、黑龙江、辽宁、四川、上海、江苏和广州。

1.2 样品的理化指标分析项目和方法

水分测定：采用常压干燥法。

pH 值测定：应用 pH 计 (PHS-25 型) 直接测定。

总酸测定：氢氧化钠标准溶液滴定、pH 计测定^[3]。

氨基酸态氮测定：甲醛滴定、pH 计测定法^[3]。

氯化钠测定：用 10%铬酸钾作为指示剂，硝酸银标准溶液滴定至刚显砖红色。

还原糖测定：斐林试剂法见《食品检验与分析》^[4]。

1.3 微生物检验的样品处理

以无菌操作，将 1mL 酱油样品加入 9mL 无菌生理盐水中，经搅拌仪充分振荡，制成 10^{-1} 的样品稀释液，在吸取 1mL 10^{-1} 稀释液注入 9mL 无菌生理盐水中，振摇试管，制成 10^{-2} 样品稀释液，以此类推，制成 10^{-3} 、 10^{-4} ……稀释液^[5]。取适宜的两个稀释度做检验。

1.4 微生物检验

细菌总数(TMAB)：平板计数法，用含 2.5%盐分的营养琼脂倾注平板，在 30℃培养 2 d ~ 3d，进行计数。并且进行革兰氏染色。

10%和 17.5%盐分的耐盐菌总数 (THB10 and THB17.5)：分别用含 10%和 17.5%盐分的营养琼脂倾注平板，30℃分别培养 7 d 和 14d^[2]。

真菌 (*Fungi*)：选用土霉素葡萄糖酵母膏琼脂培养基 (OGYE-Oxytetracycline Glucose-Yeast Extract Agar, CM545, Oxoid, England)，分别在含 0%和 2.5%盐分的 OGYE 培养基中加入 10%的土霉素，然后倾注平板，在 30℃条件下培养 5d。培养过程中观察记录菌落形态和特征。挑取不同的霉菌菌落和酵母菌落分别进行平板划线分离纯化，然后再镜检，根据培养特征和镜检结果，对霉菌和酵母菌进行分类鉴定。

肠道菌群 (*Enterobacteriaceae*)：分别选用含 0%和 2.5%盐分的紫红胆汁葡萄糖琼脂 (VRBG-Violet Red Bile Glucose Agar, Red Bile Glucose Agar, CM485, Oxoid, England)，在 30℃条件下，培养 24h ~ 36 h。

乳酸菌 (*Lactic acid bacteria*)：选用 MRS (de

Man,Rogosa and Sharpe medium,Cat.No.1.10661,Merck, Germany)培养基,按每升加 12 g 琼脂 (Agar Bacteriological,L11,Oxoid,England)、25gNaCl、1g 那它霉素的比例加入 MRS 培养基中,然后在 30℃条件下培养 5 d。

总芽孢菌 (*Bacterial endospores*): 酱油样品在 80℃水浴中预热 10 min 后,用含 2.5%盐分的营养琼脂倾注平板,30℃条件下培养 3d^[6]。

蜡样芽孢杆菌 (*Bacillus cereus*): 取 0.1mL10⁻¹ 浓度的样品稀释液涂布于选择性培养基甘露醇卵黄多粘菌素琼脂上 (MYP-Mannitol egg Yolk Polymyxin, Cereus selective agar, Cat. No. 1.05267, Merck, Germany), 在 30℃条件下培养 24 h 后选择适当菌落做进一步证实试验并计数。蜡状芽孢杆菌在此培养基上的菌落为粉红色,周围有粉红的晕。计数后,从中挑取 5 个这样的菌落做证实试验。根据证实为蜡状芽孢杆菌的菌落数计算出该皿内的蜡状芽孢杆菌数,然后乘其稀释倍数即得每毫升样品中所含此菌数。

然后做证实试验,革兰氏染色、芽孢染色、V-P 反应、明胶液化、过氧化氢酶试验、硝酸盐还原试验,试验参照《食品卫生国家标准汇编(3)》^[7]。

金黄色葡萄球菌 (*Staphylococcus aureus*): 选择 1mL10⁻¹ 浓度的样品稀释液,分别加入 3 块 Baird-Paker 平板上。每个平板接种量分别为 0.3、0.3、0.4mL,然后用灭菌 L 棒涂布于整个平板。再置 36℃培养。在 3 个平板上点数周围有浑浊带的黑色菌落,并从中任选 5 个菌落,分别接种在麦芽汁斜面培养基上,36℃培养

24 h 后,进行革兰氏染色镜检和血浆凝固酶试验。(MEA-Malt Extract Agar CM59, Oxoid, England)试验参照《食品微生物检验手册》^[8]。将 3 个平板中疑是金黄色葡萄球菌黑色菌落数相加,乘以血浆凝固酶阳性数,除以 5,再乘以稀释倍数,即可求得每克样品中的金黄色葡萄球菌数。

2 结果和讨论

2.1 酱油的理化检验分析

所有检测样品的理化测定数据见表 1。从表中,可以看到采用高盐稀态发酵方法生产的酱油的 NaCl 含量和氨基酸态氮含量高于采用低盐固态发酵生产的酱油。高盐稀态法发酵时间较长,这样微生物分泌的酶充分分解蛋白质,使得酱油具有更好的鲜味。所检测的 14 种样品的各项理化指标有很大的差距,用低盐固态发酵法酿造的酱油的水分为 64.43g/100mL ~ 75.71g/100mL、pH 为 3.90 ~ 4.41、氨基酸态氮为 0.36g/100mL ~ 0.76g/100mL、总酸为 0.61g/100mL ~ 2.54g/100mL、NaCl 为 12.59g/100mL ~ 20.37g/100mL、还原糖为 1.45g/100mL ~ 7.08g/100mL; 而高盐稀态法生产的酱油的各项指标水分为 50.10g/100mL ~ 72.23g/100mL、pH 为 3.76 ~ 4.70、氨基酸态氮为 0.84g/100mL ~ 0.99g/100mL、总酸为 0.84g/100mL ~ 1.62g/100mL、NaCl 为 14.72g/100mL ~ 22.13g/100mL、还原糖为 2.75g/100mL ~ 5.68 g/100mL; 有几个样品的理化指标低于国家规定的标准,这说明有些生产厂家在产品质量的控制上不是很严格。

表 1 理化测定的数据

样品序号	样品产地	质量等级	酿造方法	检样时间	g/100mL					
					水分	pH 值	氨基酸态氮 (以氮计)	总酸 (以乙酸计)	NaCl	还原糖 (以葡萄糖计)
1	上海	三级	L	3	66.67	3.90	0.57	0.73	15.97	3.55
2	上海	三级		3	75.10	4.31	0.58	0.74	20.37	5.18
3	上海	三级		3	70.26	4.41	0.59	0.61	17.15	1.45
4	镇江	三级		4	70.46	4.19	0.62	0.92	15.38	3.08
5	哈尔滨	特级		4	70.26	4.19	0.76	2.54	16.13	6.55
6	四川	二级	H	3	64.43	4.17	0.61	2.41	17.89	7.08
7	哈尔滨	三级		5	75.71	4.20	0.36	0.95	17.40	3.70
8	黑龙江	二级		2	74.48	4.26	0.57	2.01	12.59	5.37
9	广东	一级		2	60.16	3.76	0.84	1.62	16.55	4.55
10	北京	特级		5	72.23	4.39	0.99	0.98	22.13	3.30
11	天津	一级		3	67.80	4.23	0.98	1.25	17.00	2.80
12	石家庄	一级		5	65.00	4.58	0.96	0.84	16.85	2.75
13	广东	一级		3	50.10	4.70	0.91	1.02	18.32	5.55
14	辽宁	二级	5	68.77	4.70	0.65	1.20	14.72	5.68	

注: (1) L- 采用低盐固态发酵方法生产, H- 采用高盐稀态发酵法生产。

(2) 检样时间: 检样时距离样品生产日期的时间 (以月计)。

2.2 酱油的微生物指标分析

微生物检验的数据见表 2。在 14 个样品中,有两个采用低盐固态发酵方法酿造的样品的细菌总数高于 10^5 个/mL。大多数样品(5、6、8、10 号样品除外)的细菌总数,随着质量等级的提高逐渐减少。经革兰氏检验,大约 70% 的细菌为棒状革兰氏阳性菌。这是因为,相比来说,革兰氏阳性菌比革兰氏阴性菌更加耐受高盐。除 2、9、10 号样品外,其他样品中的总芽孢菌数目与细菌总数很接近,这说明,细菌总数中主要含有芽孢菌。除 13 号样品外,10% 盐分的耐盐菌在所有样品中都检验到了,从 10% 盐分的耐盐菌分离出的细菌在无盐的培养基上全部生长,可以证明,这些都为耐盐菌。17.5% 盐分的耐盐菌只在 6、7、8 号样品中检测到,分离出的细菌在无盐培养基上生长,这可说明,这些都为嗜盐菌。

酱油的生产菌种为米曲霉,而且从酱醅中曾经分离出的酵母菌有 7 个属^[9],但在所有样品中检测到的

真菌数目很少,这是因为酱油中的盐含量很高,而且酱油经过了加热杀菌。对分离出的霉菌和酵母菌进行镜检,9 号样品中检验出的霉菌为毛霉属;1 号和 6 号样品中检测出的酵母菌主要为大豆结合酵母。

由于酱油的盐含量很高,肠道菌群在所有样品中均未检测到。乳酸菌只在 4 个样品中检测到。根据资料介绍^[9],在发酵过程中,乳酸菌的含量是相当高的,乳酸菌的存在使酱醅的 pH 值下降很快,同时它也产生酶系分解蛋白质,使酱油形成一定的风味。对检测到的乳酸菌进行革兰氏染色,为链状革兰氏阳性;过氧化氢酶试验阳性。我们认为,在最终产品中未检测到乳酸菌,是因为生酱油经过了 $80^{\circ}\text{C}\sim 90^{\circ}\text{C}$ 、20 min 加热杀菌。

对于病原菌,蜡样芽孢杆菌在 4 号和 12 号样品中检测到,其中 4 号样品中的含量超过了 10^3 个/mL,这对消费者将产生潜在的危害。金黄色葡萄球菌在 4 个样品中检测到,但数目并不高。

表 2 微生物检验的结果

样品	log (个/mL)								
	细菌总数	总芽孢菌	10%耐盐菌	17.5%耐盐菌	真菌	肠道菌群	乳酸菌	蜡样芽孢杆菌	金黄色葡萄球菌
1	3.43	3.15	3.29	< 1	2.23	< 1	< 1	< 1	< 1
2	3.74	1.30	2.36	< 1	< 1	< 1	< 1	< 1	< 1
3	3.25	2.63	2.54	< 1	< 1	< 1	< 1	< 1	< 1
4	5.34	4.82	3.23	< 1	< 1	< 1	< 1	3.63	2.01
5	3.18	2.68	2.67	< 1	< 1	< 1	< 1	< 1	< 1
6	4.11	3.51	3.49	2.72	1.48	< 1	2.00	< 1	1.55
7	4.11	3.90	3.70	1.00	< 1	< 1	2.60	< 1	1.77
8	5.43	4.53	4.53	1.48	< 1	< 1	3.90	< 1	< 1
9	1.40	< 1	1.30	< 1	2.30	< 1	< 1	< 1	< 1
10	2.84	< 1	2.24	< 1	< 1	< 1	< 1	< 1	< 1
11	2.59	2.32	2.26	< 1	< 1	< 1	< 1	< 1	< 1
12	2.30	1.78	2.00	< 1	< 1	< 1	< 1	2.00	< 1
13	1.00	< 1	< 1	< 1	< 1	< 1	< 1	< 1	< 1
14	3.90	2.58	2.17	< 1	< 1	< 1	1.60	< 1	1.32

3 结论

对 14 种在保质期内的酱油进行了理化和微生物检验,在保质期内不同阶段的微生物变化有待进一步研究。根据检验数据,总体来看,采用高盐稀态方法生产的且质量等级高的酱油产品微生物数目较少,卫生情况较好。大部分产品的微生物指标是符合国家标准的,是安全的。而个别样品的微生物指标超标,并含有病原菌,这将给消费者带来潜在的危害。这表明,食品生产企业,只要加强生产过程中的卫生和质量控制,完全可以生产出安全、优质的产品。

参 考 文 献

1 顾立众,翟玮玮. 发酵食品工艺学. 中国轻工业出版社, 1998

2 Han, B.-z.; Beumer, R. R.; Rombouts F. M.; Nout M. J. R. Microbiological safety and quality of commercial sufu - a Chinese fermented soybean food. Food Control, 2001; (12): 541 ~ 547
 3 郑友军. 调味品生产工艺与配方. 中国轻工业出版社, 1998
 4 黄伟坤. 食品检验与分析. 轻工业出版社, 1989
 5 项琦. 粮油食品微生物学检验. 中国轻工业出版社, 2000
 6 韩北忠, 等. 大豆发酵食品 - 腐乳中芽孢杆菌的分离与鉴定. 中国农业大学学报, 2001; (4): 103 ~ 107
 7 中国预防医学科学院标准处编. 食品卫生国家标准汇编(3). 中国标准出版社, 1992
 8 苏世彦. 食品微生物检验手册. 中国轻工业出版社, 1998
 9 上海市酿造科学研究所. 发酵调味品生产技术. 中国轻工业出版社, 1998

(下转第 35 页)

The Effect of Maiqu on the Flavor and Ftability of Rice Wine

Wu Jian-xin Ding Guan-hai Dong Hai

(Center of Quality Control and Technology, Zhejiang Guyue Longsan Shaoxing Rice Wine Co.,Ltd.)

Abstract Applying different dosage of maiqu on brewing rice win,we evaluated the flavor of the test samples of rice wine, did the stability experiment,and determined the optimum dosage of maiqu.

Key words maiqu; stability; rice wine flavor

(上接第 31 页)

Microbiological Safety Investigation of Soy Sauce-a Fermented Soybean Food

Yang Dan-hong Han Bei-zhong

(College of Food Science and Engineering, China Agricultural University)

Abstract In this paper, the chemical and microbiological analysis of 14 samples of soy sauce collected from all over the country were investigated. Chemical parameters analyses included moisture, pH, free amino N, NaCl, total acidity, and reducing sugar. Microbiological analyses were done for total count of mesophilic aerobic bacteria (TMBA), bacterial endospores, total count of halotolerant bacteria at 10% (THB10) and at 17.5% NaCl (THB17.5), *Enterobacteriaceae*, *Lactic acid bacteria* (LAB), *Fungi*, *Bacillus cereus* and *staphylococcus aureus*. According to the result of experimentation, the sanitary quality of commercial soy sauce was evaluated.

Key words soy sauce; chemical parameters; microbiological safety investigation

沧州鸿发包装技术研究所

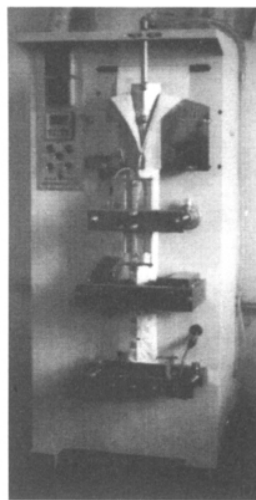
我所是专业研制液体包装机械的单位。现研制成功的全自动多功能液体包装机,专用于酱油、醋、酒、牛奶、饮料等各种液体的包装。并已获得国家专利(ZL 002030829),为实用新型,具有以下特点:

- ◇ 全机采用单凸轮,横竖封双杆回拉式控制热合。压力更平均,操作更简单,维修更方便。
- ◇ 使用多层复合膜,黑白阻氧膜,高温蒸煮膜等热合膜。
- ◇ 热合温度采用高精度微电脑控制。具有侧封(三边封),背封等功能。
- ◇ 走纸系统采用普通走纸方法和触摸电脑控制。光电跟踪,并能设定和显示自动调节所用长度,计数报警装置。因此图案更完整、更美观。
- ◇ 日期打印采用钢字和碳带两种自动打印方法。

技术参数: 电源: 380 / 220V 膜宽: 最宽 320mm 效率: 20~30 袋 / min

功率: 1kW 外形尺寸: 660mm×760mm×1660mm

业务部:河北省沧州市新华中路 46 号 邮编:061000 电话: 0317—3031948 联系人: 张经理 王经理



欢迎
选用
鸿发
设备

欲知海峡两岸轻纺行业动态 欢迎订阅《福建轻纺》杂志

邮发代号: 34-79

欢迎来本刊联系刊登广告

欲知明年新出台的有关轻工、纺织行业政策,了解海峡两岸轻纺行业最新发展状况及市场动态,请订阅《福建轻纺》。《福建轻纺》已全文入编《中国学术期刊(光盘版)》数据库,并荣获首届《CAJ-CD 规范》执行优秀奖。

主要栏目:轻纺要闻、展望与预测、港台之窗、新技术、新产品、新工艺、经营与管理、论文、轻纺大家谈、技术探讨、轻纺与生活、综合信息。

16 开本,进口铜版纸彩色精美封面,每月 8 日出版。需订者可随时到当地邮局办理订阅手续。每期订价 2.20 元,全年订价 26.4 元。

刊社地址:福州市白马中路 53 号

邮 编: 350005

联系电话: 0591-3338817

© 1994-2012 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. <http://www.cnki.net>

麦曲用量对黄酒风味和稳定性的影响——吴建新