

水培生菜培育、运输、贮存各环节微生物的动态变化研究

宋春宏¹, 顾文佳¹, 张懿翔¹, 刘 康², 赵 燕¹, 张样平², 葛 宇^{1*}

(1. 上海市质量监督检验技术研究院, 上海 200233; 2. 上海绿立方农业发展有限公司, 上海 201203)

摘 要: **目的** 探究水培生菜在培育、运输、贮存各环节中微生物数据的动态变化, 分析影响水培生菜微生物风险的环节因素。**方法** 对水培生菜在培育过程、运输阶段和贮存阶段的菌落总数、大肠菌群、霉菌等指示菌数据进行跟踪, 并于培育的第 1 周和第 7 周对其致病菌进行检测。**结果** 水培生菜在培育过程中菌落总数 lg 平均值为 6.52, 标准差 0.37, 大肠菌群 lg 平均值为 4.78, 标准差 0.61, 霉菌 lg 平均值为 4.01, 标准差 0.22, 基本维持稳定; 经常清洗运输工具能有效抑制微生物生长; 生菜贮存 1 d 后微生物指示菌数量显著增多 ($P<0.05$), 冷藏贮存生菜有助于减缓微生物指示菌的增长; 在第 1 周和第 7 周均未对水培生菜检出致病菌。**结论** 水培生菜在生长过程中更容易控制种植环境, 微生物污染风险较小。后续的运输环节和储存条件需要严格控制, 以降低蔬菜中微生物的污染风险。

关键词: 水培生菜; 微生物; 影响因素

Study on dynamic changes of microorganisms in hydroponic lettuce cultivation, transportation and storage

SONG Chun-Hong¹, GU Wen-Jia¹, ZHANG Yi-Xiang¹, LIU Kang², ZHAO Yan²,
ZHANG Yang-Ping², GE Yu^{1*}

(1. Shanghai Institute of Quality Inspection and Technical Research, Shanghai 200233, China;
2. Shanghai Leafa Agriculture Development Co., Ltd., Shanghai 201203, China)

ABSTRACT: Objective To explore the dynamic changes of microbial data in hydroponic lettuce cultivation, transportation, and storage, and analyze the factors that constitute the microbial risk of hydroponic lettuce. **Methods** The colonies number, coliform and mold of hydroponic lettuce during the cultivation, transportation and storage phases were tracked, and pathogenic bacteria were tested in the first week and the seventh week. **Results** During the cultivation of hydroponic lettuce, the average lg total number of colonies was 6.52, with the standard deviation of 0.37, the average coliform lg was 4.78, with the standard deviation of 0.61, mold lg average was 4.01, with the standard deviation of 0.22, and basically remained stable. Regular cleaning of transportation vehicles could effectively inhibit the growth of microorganisms. The number of microorganisms indicating bacteria increased significantly after one day of storage of lettuce ($P<0.05$), and refrigerated storage of lettuce could help slow down the

基金项目: 上海市科技兴农项目(2019-02-08-00-02-F01153)

Fund: Supported by the Shanghai Science and Technology Prosperity Agriculture Project (2019-02-08-00-02-F01153)

*通讯作者: 葛宇, 教授级高级工程师, 主要研究方向为食品检测。E-mail: geyu@sqi.org.cn

*Corresponding author: GE Yu, Professor, Shanghai Institute of Quality Inspection and Technical Research, 381 Cangwu Road, Shanghai 200233, China. E-mail: geyu@sqi.org.cn

microorganisms Indicator bacteria growth. No pathogenic bacteria were detected in hydroponic lettuce in the first and seventh weeks. **Conclusion** Hydroponic lettuce is easier to control the growing environment during the growth process, and the risk of microbial contamination is smaller. Subsequent transport links and storage conditions need to be strictly controlled to reduce the risk of microbial contamination in vegetables.

KEY WORDS: hydroponic lettuce; microorganism; influencing factors

1 引言

随着现代生活节奏加快和人们对健康、便利生活的追求,水培蔬菜行业近几年迅速发展。在亚洲,特别是在中国,蔬菜是人们日常饮食的主要组成部分^[1]。随着蔬菜的产量与消费量的持续增加,蔬菜的安全风险,尤其是微生物风险及其所带来的危害也在增加^[2-4],因此微生物污染问题也变成了消费者关注的热点问题。蔬菜的微生物风险可以发生在从种植到餐桌的每个环节^[5-8]。蔬菜的生产涉及整个生产链,种植与培育环境、运输车及配送车的清洁度、中转站和冷库的卫生情况均会带来蔬菜的污染。

微生物对新鲜蔬菜品质的影响主要表现在 2 个方面:(1)微生物的生长繁殖会消耗果蔬体内的营养物质,导致产品品质下降;(2)病原微生物的生长繁殖直接影响蔬菜的食用安全性^[9]。土壤作为一种传统的自然资源,尤其在耕种中,由于动物排泄物对土壤的滋养,致使致病菌寄居于其中。不清洁的农业灌溉用水也是导致微生物污染的主要原因^[10]。因此,蔬菜的种植环境包括土壤、灌溉水源、肥料(动物排泄物)、温度等是影响蔬菜中微生物风险的主要因素^[11]。

水培蔬菜较传统土培能够较好地控制种植环境,从而控制有害微生物对蔬菜的污染。要保证原初产品的食用安全性,应首先阻止田间的危险因素影响到原初产品,国外采用的最有效的措施是选用田间危险性分析和关键控制点方案^[12]。生菜营养丰富,属于低糖、低脂肪蔬菜,富含维生素、矿物质,该蔬菜以生食为主,对高血压和心脏病有一定的医疗作用^[13]。有研究发现,生菜表面的菌落总数约为 4.28~7.69 lg (CFU/g),大肠菌群约为 3.9~5.29 lg (MPN/100 g),乳酸菌、霉菌及酵母菌等未检出^[14]。但这些研究大多只局限于某个时间点对生菜的检测,忽视了生菜培育过程中整个时间段微生物的变化规律,以及后期运输、贮存等环节对生菜的影响。本研究分别对水培生菜在培育过程、运输阶段和贮存阶段的菌落总数、大肠菌群、霉菌等指示菌数据进行跟踪,并于培育的第 1 周和第 7 周对其致病菌进行检测,对比了物流车和配送车各环节的微生物数据,以此分析构成影响水培蔬菜微生物风险的环节因素,探究出整个过程中的风险关键控制点,以便后期指导水培生菜的安全生产。

2 材料与方法

2.1 实验材料

2.1.1 水培生菜

品名:花叶绿生菜,由上海绿立方农业发展有限公司提供。

2.1.2 培养基与仪器

平板计数琼脂培养基、结晶紫中性红胆盐琼脂、煌绿乳糖胆盐肉汤、孟加拉红琼脂、三糖铁(triple sugar iron, TSI)琼脂、李斯特菌选择性添加剂(*Listeria* selective additive, PALCAM)琼脂、李斯特氏菌显色培养基、改良 EC 肉汤培养基、改良山梨醇麦康凯琼脂、大肠埃希氏菌 O157 显色培养基、尿素琼脂(北京陆桥公司);缓冲蛋白胨水(buffered peptone water, BPW)、亚硒酸盐胱氨酸(selenite cystine, SC)增菌液、四硫磺酸钠煌绿(sodium tetrathionate brilliant green, TTB)、亚硫酸铋(sulfurous acid bismuth, BS)琼脂、木糖赖氨酸脱氧胆盐(xylose lysine deoxycholate, XLD)琼脂、李氏菌增菌肉汤(*Listeria* mushroom broth, LB, LB1, LB2)(赛微生物技术有限公司);BP 琼脂平板(广东环凯微生物科技有限公司)。

SMI12 生化培养箱(美国 Shellab 公司)。

2.2 实验方法

2.2.1 检验标准

菌落总数按照 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》^[15],大肠菌群按照 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》^[16],霉菌按照 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》^[17],沙门氏菌按照 GB 4789.4-2016《食品安全国家标准食品微生物学检验沙门氏菌检验》^[18],金黄色葡萄球菌按照 GB 4789.10-2016《食品安全国家标准食品微生物学检验金黄色葡萄球菌检验》^[19],单核细胞增生李斯特氏菌按照 GB 4789.30-2016《食品安全国家标准食品微生物学检验单核细胞增生李斯特氏菌检验》^[20],大肠埃希氏菌 O157:H7/NM 按照 GB 4789.36-2016《食品安全国家标准食品微生物学检验大肠埃希氏菌 O157:H7/NM 检验》^[21],物流车、运输车各环节涂抹采样检测按照 B31/410-2008《上海市地方标准餐饮业即食食品环节表面卫生要求》^[22]。

2.2.2 实施方案

将生菜小苗在基质中培植一周后定植到栽培床上, 通过备风机、湿帘、天窗等环境管控设施, 根据外界气候与作物特点对棚内温湿度及光照环境进行控制, 以维持相对稳定的最佳生长环境条件, 并通过对营养液的二次过滤, 臭氧杀菌等措施来维持生菜生长环境的相对洁净, 在生菜于栽培床生长到成熟期(七周)的过程中每周对生菜进行无菌采样, 采样后立即检测。

1) 生菜生长过程中的微生物监测: 分别于生菜移栽到栽培床后的 1~7 周每周一无菌采样一次(用灭菌后的镊子和剪刀取生菜根、茎、叶共 200 g, 每个部位的分量保持平均, 均质), 并对生菜(带根)进行菌落总数、大肠菌群、霉菌的指示菌检测。

2) 生菜运输过程的环节微生物监测: 分别对物流车(每月清水清洗一次, 自然风干)和冷藏配送车(每周清水清洗一次, 自然风干)进行环节的无菌涂抹采样(取无菌的经生理盐水湿润的棉棒涂抹相应部位 50 cm², 重复 3 次, 剪去与手接触的部分, 将棉棒头置于 50 mL 的无菌生理盐水中, 混匀后制成原液), 做菌落总数、大肠菌群、霉菌的指示菌检测, 涂抹部位分别包括内壁、架子、底盒。

3) 生菜成熟后不同储存条件下微生物的监测: 于第七周生菜成熟后对生菜进行去根处理(A 点), 采集经冷藏配送车运输到实验室的生菜(B 点)、在中转站常温贮存一天后去根生菜(C 点)、去根后在实验室常温贮存一天生菜(D 点)、去根后在冷库贮存一天生菜(E 点)进行菌落总数、大肠菌群、霉菌的指示菌检测, B-E 点数据分别与 A 点对比, 统计方法采用 *t* 检验。

4) 生菜中致病菌的监测: 分别对生长一周的生菜(带根)和生长七周的成品生菜(去根)无菌采样(采样方法同上), 进行沙门氏菌、金黄色葡萄球菌、单核细胞增生李斯特氏菌、大肠埃希氏菌 O157:H7/NM 检测。

3 结果与分析

3.1 生菜生长过程中的菌落总数、大肠菌群、霉菌的动态变化

如图 1, 菌落总数 lg 平均值为 6.52, 标准差 0.37, 图 2 大肠菌群 lg 平均值为 4.78, 标准差 0.61, 图 3 霉菌 lg 平均值为 4.01, 标准差 0.22, 基本维持稳定; 由图 1~3 可以看出生菜在栽培床上从第 1 周到第 7 周成熟过程中, 其菌落总数、大肠菌群和霉菌数值虽然从第 3 周开始逐渐下降, 至第 6 周趋稳, 但变化趋势不大, 菌落总数在 10⁶~10⁷ CFU/g 之间, 大肠菌群在 10⁴~10⁶ CFU/g 之间, 霉菌菌落数在 10³~10⁵ CFU/g 之间。

3.2 物流车、配送车各环节点菌落总数、大肠菌群、霉菌的对比

由图 4~6 可以看出物流车的菌落总数、大肠菌群、霉菌的数量均大于配送车的数值, 说明每周清洗一次的配送车要比每月清洗一次的物流车干净, 所以经常清洗运输工具和配送工具也有助于抑制微生物生长。物流车的底盒是个清洁死角, 需引起运输企业重视。底盒是盛装蔬菜架子的托盘, 运输过程中会注入清水以保持蔬菜新鲜, 但底盒因潮湿容易滋生微生物, 应当及时清洗。

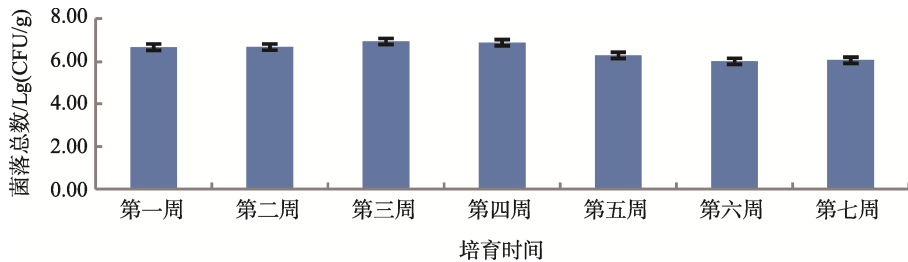


图 1 1~7 周菌落总数对数值柱形图(n=3)

Fig.1 Bar chart of logarithm of total colonies in 1-7 weeks(n=3)

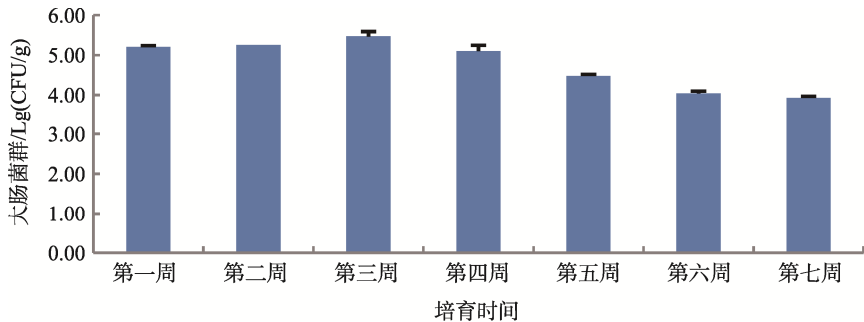


图 2 1~7 周大肠菌群对数值柱形图(n=3)

Fig.2 Bar chart of logarithm of coliform in 1-7 weeks(n=3)

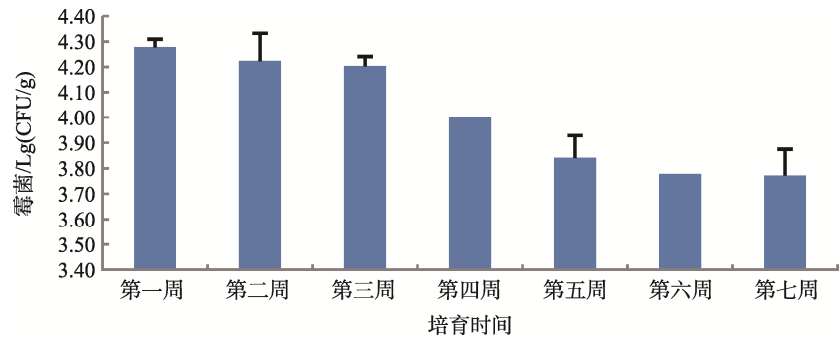


图 3 1~7 周霉菌对数值柱形图(n=3)

Fig.3 Bar chart of logarithm of mold colonies in 1-7 weeks(n=3)

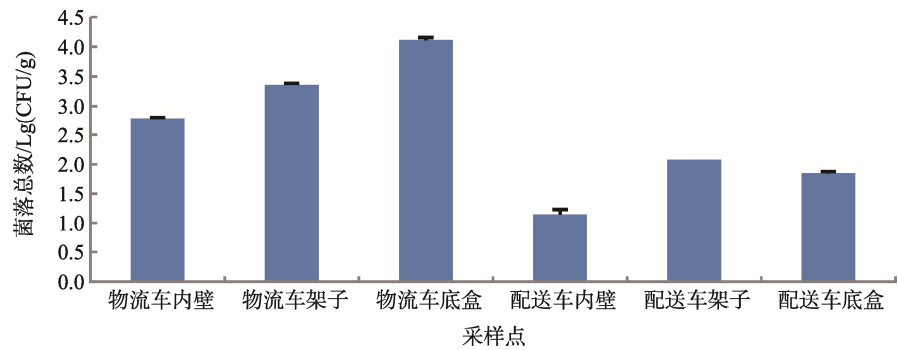


图 4 物流车、配送车各环节点菌落总数对数值柱形图

Fig.4 Bar chart of logarithm of total number of colonies at each node of logistics vehicle and the distribution vehicle

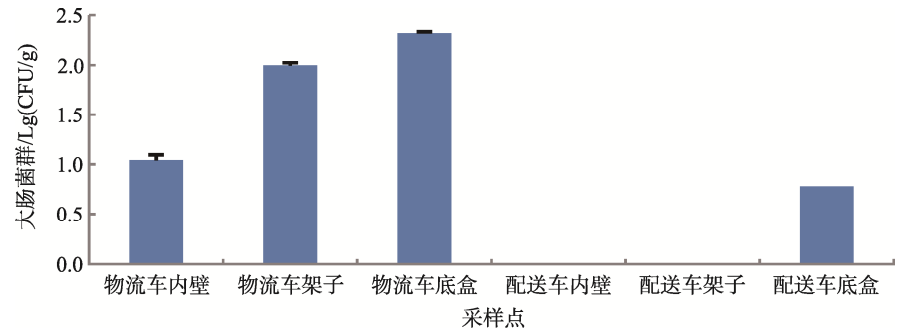


图 5 物流车、配送车各环节点大肠菌群对数值柱形图

Fig.5 Bar chart of logarithm of coliform in each node of the logistics vehicle and the distribution vehicle

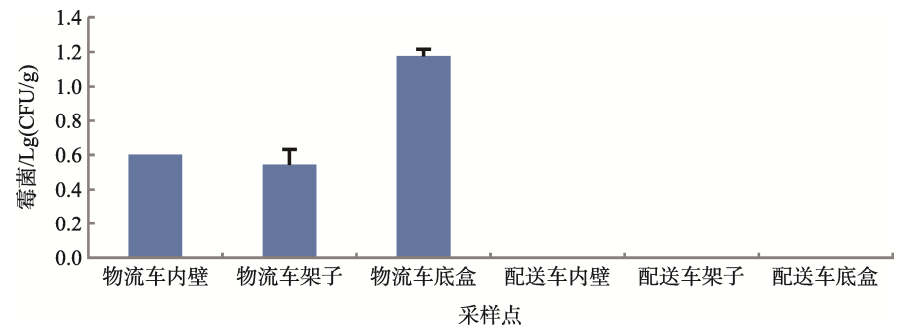


图 6 物流车、配送车各环节点霉菌对数值柱形图

Fig.6 Bar chart of logarithm of mold in each node of the logistics vehicle and the distribution vehicle

3.3 生菜成熟后不同储存条件下菌落总数、大肠菌群、霉菌的对比

由图 7 可以看出在中转站常温贮存 1 d 后去根生菜和去根后在实验室常温贮存 1 d 生菜菌落总数对数值明显高于未存放 1 d 的和冷库存放 1 d 的; 图 8 可以看出去根后在实验室常温贮存 1 d 生菜的大肠菌群对数值明显大于其他组的大肠菌群对数值; 图 9 霉菌各组之间数据无显著性差异。综合分析以上数据, 说明生菜及时食用和冷藏贮存都有利于抑制微生物生长。

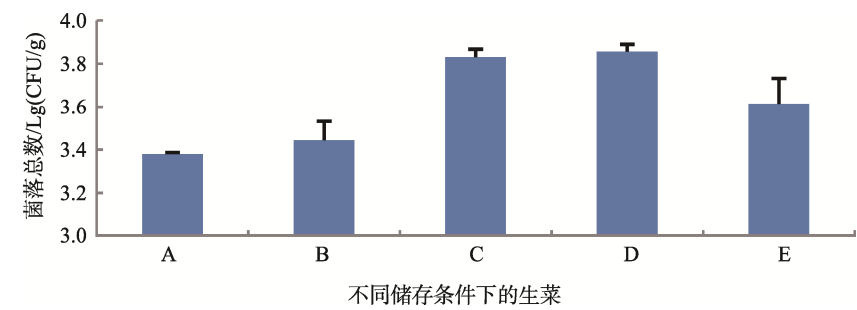
3.4 一周生菜(带根)和七周成品生菜(去根)的致病菌检测

分别对生长 1 周的生菜(带根)和生长 7 周的成品生菜(去根)进行沙门氏菌、金黄色葡萄球菌、单核细胞增生李

斯特氏菌、大肠埃希氏菌 O157:H7/NM 等致病菌的检测, 结果均未检出。

4 结论与讨论

近年来, 无土栽培的面积在中国不断增加, 利用营养液代替土壤直接向植物根系提供生长发育所必需的营养元素的栽培方式, 具有产量高、品质好、病虫害轻, 不受土壤资源限制, 易于工业化生产的优点, 且臭氧、紫外线已广泛应用于营养液的杀菌消毒, 更加有利于控制种植环境。有研究显示, 市售叶菜类鲜切蔬菜菌落总数的数量在 10^7 CFU/g 左右, 大肠菌群在 $10^4\sim10^7$ MPN/100 g^[23]。本研究中水培生菜未经消毒杀菌处理, 仅在栽培床的自然生产过程中菌落总数和大肠菌群即可控制在一定的数量范围内, 成熟后去根未清洗的状态下即可达到



注:*代表 B-E 点与 A 点数据比较有显著差异($P<0.05$);第 7 周生菜成熟后对生菜进行去根处理(A 点), 采集经冷藏配送车运输到实验室的生菜(B 点)、在中转站常温贮存 1 d 后去根生菜(C 点)、去根后在实验室常温贮存 1 d 生菜(D 点)、去根后在冷库贮存 1 d 生菜(E 点),下同。

图 7 菌落总数对数值柱形图
Fig.7 Bar chart of logarithmic in colonies number

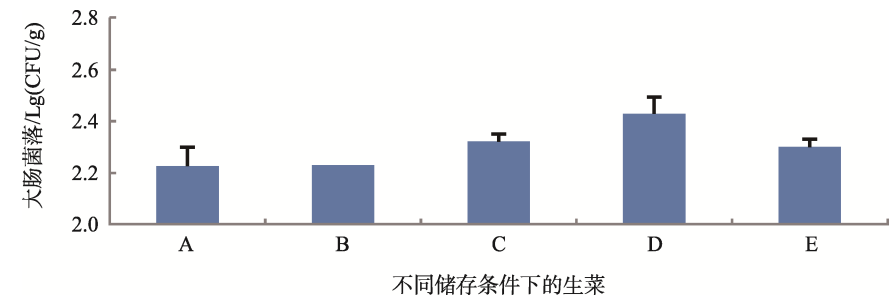


图 8 大肠菌群对数值柱形图
Fig.8 Bar chart of logarithmic in coliforms

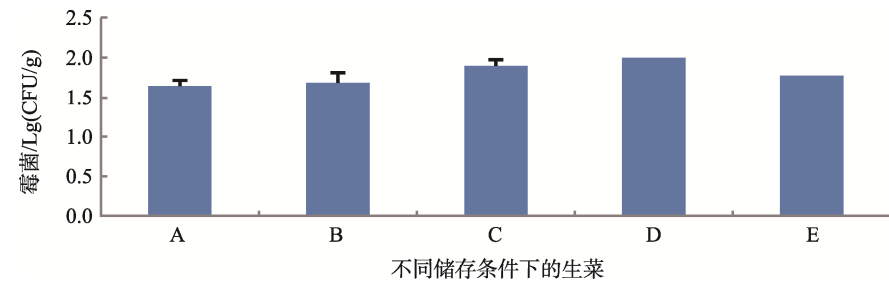


图 9 霉菌对数值柱形图
Fig.9 Bar chart of logarithmic in molds

DB31/2012-2013《上海市地方标准色拉》^[24]中关于色拉中即食果蔬的菌落总数小于 10^5 CFU/g 的限量要求。说明水培生菜较传统土培的确能够较好地控制种植环境,大大降低蔬菜种植过程中微生物污染风险。在运输环节,发现物流车的底盒是个清洁死角,很容易滋生微生物,需引起运输企业重视。在储存环节的比较试验中,发现生菜常温贮存 1 d 后,菌落总数和大肠菌群数量显著增长。因此,只有充分利用好水培蔬菜易于控制种植环境的优势,再加上对风险关键点的严格把控,才能降低蔬菜中微生物的污染风险。

参考文献

- [1] Huang Z, Pan XD, Wu PG, *et al.* Heavy metals in vegetables and the health risk to population in Zhejiang, China [J]. Food Control, 2014, 36: 248–252.
- [2] Lynch MF, Tauxe RV, Hedberg CW. The growing burden of foodborne outbreaks due to contaminated fresh produce: Risks and opportunities [J]. Epidemiol Infect, 2009, 137(3): 307–315.
- [3] Strawn LK, Schneider KR, Danyluk MD. Microbial safety of tropical fruits [J]. Crit Rev Food Sci Nutr, 2011, 51(2): 132–145.
- [4] Boxstael S, Habib I, Jaccsens L, *et al.* Food safety issues in fresh produce: Bacterial pathogens, viruses and pesticide residues indicated as major concerns by stakeholders in the fresh produce chain [J]. Food Control, 2013, 32(1): 190–197.
- [5] Little CL, Gillespie IA. Prepared salads and public health [J]. J Appl Microbiol, 2018, 105(6): 1729–1743.
- [6] Martinez-Tomé M, Vera AM, Murcia MA. Improving the control of food production in catering establishments with particular reference to the safety of salads [J]. Food Control, 2000, 11(6): 437–445.
- [7] Danelon MS, Salay E. Perceived physical risk and risk-reducing strategies in the consumption of raw vegetable salads in restaurants [J]. Food Control, 2012, 28(2): 412–419.
- [8] Olaimat AN, Holley RA. Factors influencing the microbial safety of fresh produce: A review [J]. Food Microbiol, 2012, 32(1): 1–19.
- [9] 卫辉. 鲜切蔬菜褐变及微生物的控制[J]. 致富之友, 2001, (7): 45. Wei H. Browning of fresh-cut vegetables and microbial control [J]. Friends Wealth, 2001, (7): 45.
- [10] Sánchez G, Elizaguibel P, Aznar R. A single method for recovery and concentration of enteric viruses and bacteria from freshcut vegetables [J]. Int J Food Microbiol, 2012, 152(1): 9–13.
- [11] Beuchat LR. Ecological factors influencing survival and growth of human pathogens on raw fruits and vegetables [J]. Microbes Infect, 2002, 4(4): 413–423.
- [12] 王宏. 我国鲜切蔬菜行业的发展现状[J]. 北京农业: 实用技术, 2008, (4): 1–2. Wang H. Development status of China's fresh-cut vegetable industry [J]. Beijing Agric Pract Technol, 2008, (4): 1–2.
- [13] Chen Z, Zhu C, Zhang Y, *et al.* Effects of aqueous chlorine dioxide treatment on enzymatic browning and shelf-life of fresh-cut asparagus lettuce (*Lactuca sativa*L.) [J]. Postharvest Biol Technol, 2010, 58(3): 232–238.
- [14] 李泮生, 郑雯, 张晓银, 等. 清洗条件对整叶生菜大肠菌群数及菌落总数的影响[J]. 现代食品科技, 2013, 29(7): 1658–1663. Li BS, Zheng W, Zhang XY, *et al.* Effects of washing methods and conditions on coliform group and total bacterial count of whole leaf romaine lettuce [J]. Mod Food Sci Technol, 2013, 29(7): 1658–1663.
- [15] 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 National food safety standard-Food microbiology inspection-Detection of aerobic bacterial count [S].
- [16] 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 microbiology inspection-Enumeration of coliforms [S].
- [17] 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 4789.3-2016 National food safety standard-Food microbiology inspection-Mold and yeast counts [S].
- [18] GB 4789.4-2016 食品安全国家标准 食品微生物学检验 沙门氏菌检验[S]. GB 4789.3-2016 National food safety standard-Food microbiology inspection- Detection of *Salmonella* [S].
- [19] GB 4789.10-2016 食品安全国家标准 食品微生物学检验 金黄色葡萄球菌检验[S]. GB 4789.3-2016 National food safety standard-Food microbiology inspection-Detection of *Staphylococcus aureus*[S].
- [20] GB 4789.30-2016 食品安全国家标准 食品微生物学检验 单核细胞增生李斯特氏菌检验[S]. GB 4789.3-2016 National food safety standard-Food microbiology inspection-Detection of *Listeria monocytogenes*[S].
- [21] GB 4789.36-2016 食品安全国家标准 食品微生物学检验 大肠埃希氏菌 O157:H7/NM 检验[S]. GB 4789.3-2016 National food safety standard-Food microbiology inspection-Detection of *Escherichia coli* O157:H7/NM [S].
- [22] B31/410-2008 上海市地方标准 餐饮业即食食品环节表面卫生要求[S]. B31/410-2008 Shanghai local standard-Catering industry ready-to-eat food link surface hygiene requirements [S].
- [23] 曹娜. 鲜切蔬菜加工流通期间微生物和化学危险因子的评价[D]. 南京: 南京农业大学, 2016. Cao N. Evaluation of microbial and chemical risk factors during processing and distribution of fresh-cut vegetables [D]. Nanjing: Nanjing Agricultural University, 2016.
- [24] DB 31/2012-2013 上海市地方标准色拉[S]. DB 31/2012-2013 Shanghai local standard-Salad [S].

(责任编辑: 韩晓红)

作者简介



宋春宏, 硕士, 助理工程师, 主要研究方向为食品微生物学。
E-mail: 13262800205@163.com



葛宇, 博士, 教授级高工, 主要研究方向为食品检测。
E-mail: geyu@sqi.org.cn