

浅析天然肠衣生物危害及控制措施

王霆, 王欣

(上海出入境检验检疫局)

摘要: 本文根据相关国内外法规, 结合我国国情, 对天然肠衣可能携带的生物危害进行分析, 并探索消除该危害的方法。分析认为天然肠衣可能携带的生物危害为病毒和致病菌两个方面, 当前国内肠衣企业广泛采用的氯化钠盐渍法, 须在 20 °C(或以上)盐渍 30 天才能较为有效的灭活肠衣中的病原体; 磷酸盐-氯化钠盐渍法虽比氯化钠盐渍法灭活病原体的效率更高, 但实际使用中需考虑成本和国内外对添加剂限量的要求。

关键词: 肠衣; 生物危害; 控制措施

健康牲畜(通常为牛、绵羊、山羊、猪、马)的肠或膀胱, 经清洗、刮制、盐渍或干燥处理, 即为天然肠衣。天然肠衣是我国传统的大宗出口畜产品, 在全国出口农产品贸易中占有重要的地位。我国出口肠衣品种主要包括盐渍猪肠衣、盐渍绵羊肠衣、盐渍山羊肠衣、盐渍猪大肠头、干制猪膀胱等, 主要销往欧盟、美国、日本、东南亚等国家和地区。因药物残留问题, 欧盟于 2002 年 1 月 31 日全面禁止从中国进口供人类消费或用作动物饲料的动物源性产品, 虽然肠衣未被列入禁止进口的产品名单, 但如何保证天然肠衣的安全性, 使其能继续保持传统产品出口优势, 是我们迫切需要研究的课题之一。从肠衣的原料、生产加工特点来看, 影响肠衣安全性的危害主要集中在化学危害(农兽药残留)和生物危害(动物疫病、致病菌)两个方面。目前关于肠衣化学危害分析、控制的资料较多^[1], 但系统分析肠衣中可能存在的生物危害及控制措施的资料较为缺乏。本文将对天然肠衣潜在的生物危害进行分析, 并探讨其控制措施。

1 天然肠衣生物危害识别

天然肠衣作为来自牛、山羊、绵羊、猪、马的动物源性产品, 有可能携带较多种类的病原体, 但目前没有专门的法律、规章及资料来识别肠衣中潜在的生物危害。欧盟理事会第 82/894/EEC 号指令: (关于欧

共体内动物疾病的通知)列出了需通报的 22 种陆生动物疾病, 并认为所列出的这些疾病不仅会严重影响动物健康, 同时会给贸易以及人的身体健康造成影响。但这 22 种疾病并不都会通过肠衣传播, 如: 禽病、寄生虫病等, 因此我们尚无法将欧盟理事会第 82/894/EEC 号指令作为识别危害的依据。欧盟第 206/2010 法规的附件 II 给出了从第三方国家、地区进口新鲜肉类的兽医证书模板, 其中识别出了可能由来自牛、绵羊、山羊、猪、马新鲜肉类传播的疫病(表 1), 并且这些疫病被认为可由肠衣传播。

表 1 可能由来自牛、绵羊、山羊、猪、马的新鲜肉类传播的疫病

Table 1 Potential animal health pathogens that might be present in fresh meat derived from animals of the bovine, ovine, caprine, porcine and equine species

种类	可能传播的疫病
牛、绵羊、山羊	口蹄疫、牛瘟、结核病、绵羊或山羊布鲁氏菌病
猪	口蹄疫、猪瘟、非洲猪瘟、牛瘟、猪水泡病、猪布鲁氏菌病
马	非洲马瘟、马鼻疽病

表 1 中所述的疫病是否都需识别为我国出口肠衣可能携带的生物危害, 我们还需结合我国的实际情况做进一步的判断: 牛瘟已于 2011 年在全球范围内被消除^[2], 因此我们不必考虑该疾病; 我国不为非洲猪瘟疫区, 并且我国也禁止从该病疫区进口肠衣,

*作者简介: 王霆, 男, 副主任科员, 预防兽医学硕士, 研究方向: 进出口食品检验监管。E-mail: wangting@shciq.gov.cn

因此不必将非洲猪瘟列为我国出口肠衣可能携带的疫病; 目前我国并没有牛、马肠衣的生产、加工和出口, 这里就不将结核病、非洲马瘟、马鼻疽病列入讨论的范围; 此外, 为预防、控制和根除某些传染性海绵状脑病(transmissible spongiform encephalopathies, TSEs), 欧盟制定了 999/2001 法规, 该法规规定了可传播 TSEs 的特殊风险物质(specified risk material, SRM)包括: 绵羊、山羊的回肠以及牛的肠道从十二指肠至直肠段。我国不是疯牛病疫区, 并且 SRM 所包括的组织, 在我国并不用于肠衣的加工, 因此在这里可不考虑肠衣传播传染性海绵状脑病的风险。此外, 天然肠衣在获取、生产加工过程中还有可能受到其他一些致病菌的污染, 如大肠杆菌、沙门氏菌、李斯特菌、金黄色葡萄球菌、产气荚膜梭菌^[3,4]等。

综上所述, 我们最终识别出肠衣中可能携带的生物危害为: 口蹄疫、猪瘟、猪水泡病、布鲁氏菌病以及大肠杆菌、沙门氏菌、李斯特菌、金黄色葡萄球菌、产气荚膜梭菌。

2 天然肠衣中病原体控制措施研究进展

2.1 氯化钠盐渍法

目前, 世界范围内的肠衣加工企业都将氯化钠(干盐、饱和盐卤)盐渍肠衣 30 天, 作为加工肠衣的一个标准步骤, 该方法被认为可消除由肠衣携带的动物健康风险。2008 年, OIE 在陆生动物卫生法典(Terrestrial Animal Health Code)^[5]中推荐使用该方法灭活来自反刍动物, 猪肠衣中的口蹄疫病毒。大量研究发现, 使用氯化钠盐渍时的温度和盐渍时间对灭活病毒的效果起决定性的作用(见表 2), 并认为盐渍 30 天, 可将肠衣中所携带的大部分病毒灭活。Wijnker 等(2007, 2012)^[6,7]研究发现口蹄疫病毒在 4℃或 20℃下可被盐渍灭活, 但在 4℃时其他一些病毒如 CSFV 不能被完全灭活^[8]。目前没有在室温下灭活猪瘟病毒的研究, 但 AHAW(2012)^[9]根据相关研究数据以及猪瘟病毒的结构特性, 推测可通过 20℃盐渍 30 天灭活该病毒。McKercher 等(1975)^[10]研究发现, 猪水泡病毒能在 4℃下盐渍 200 天, 依然能够存活。Wieringa-Jelsma 等(2011)^[11]通过实验发现猪水泡病病毒的灭活效果与温度有关, 但在 25℃下 30 天, 未盐渍的肠衣中依然有病毒存活, 用氯化钠在 20℃盐渍肠衣 30 天也不能完全灭活该病毒。Houben^[12]研究发现, 布鲁

氏菌在浓度为 4%的盐溶液中即可被灭活, 该浓度远小于用于保存肠衣的盐浓度^[13]。Mitscherlich 等(1984)^[14]研究表明布鲁氏菌在灭菌的海水中只能存活 25 天。Wijnker(2009)^[15]研究发现大部分肠衣中存在的细菌, 在水活度小于 0.91 时不能存活, 美国《水产品 HACCP 指南》第四版中, 也给出了多种细菌相生长条件限制(见表 3)^[16]。盐渍肠衣时干盐水活度(Aw)为 0.75, 饱和盐卤水活度(Aw)为 0.75~0.80, 我们所识别出的细菌在盐渍环境下均可被灭活。

2.2 磷酸盐-氯化钠法

磷酸盐-氯化钠法是指将 86.5 % 的氯化钠(NaCl)、10.7 %磷酸氢二钠(Na₂HPO₄)和 2.8 %磷酸三钠(wt/wt/wt)按比率混合后, 对肠衣进行盐渍。OIE 在陆生动物卫生法典中, 推荐使用该方法在 12℃以上的环境中盐渍 30 天, 作为灭活肠衣中口蹄疫病毒的方法^[5]。Wijnker(2007,2008,20012)^[6,7,21]和 Wieringa-Jelsma 等(2011)^[11]对这种方法对肠衣中的口蹄疫和猪瘟病毒的灭活效果进行了研究(表 4)。在一定的温度及处理时间下, 使用磷酸盐-氯化钠法可很好的灭活肠衣中携带的病毒, 与传统的盐渍方法相比该方法在 4℃环境下对病毒的灭活率更高。

2.3 其他控制措施

Wijnker 等(2008)^[21]分别在 4℃和 20℃下, 用 PH 值为 4.5 为含 89.2 %氯化钠, 8.9 % 柠檬酸三钠和 1.9 %柠檬酸(wt/wt/wt)溶液, 处理含有猪瘟病毒的肠衣 15 天和 30 天。实验结果表明仅在 20℃, 30 天后所有的 CSFV 被灭活。研究者用氯化钠在 4℃下盐渍由实验感染口蹄疫的山羊肠, 14 天后仍发现具有感染性的病毒。该研究者为进一步验证低酸环境对口蹄疫的灭活效果, 其在经 14 天盐渍后的肠衣中分别加入 2%的柠檬酸、0.5%的乳酸, 5min 后两个试验中的口蹄疫病毒都被没活。Benli 等(2008)^[22]将臭氧充入水中, 研究其对肠衣中含有细菌的灭活效果。处理 2h 后肠衣中的细菌数下降, 但长时间的处理使肠衣的品质受到影响; 伽马射线辐照也被用于研究是否能减少或消除猪、羔羊肠衣中的细菌。研究发现, 当辐射足够强时能显著降低肠衣中的细菌数^[23,24,25], 并且如果在前道工序中, 用蒸馏水来清洗肠衣, 辐照可完全消除肠衣中的细菌^[23]。该方法可以有效减少肠衣中的细菌含量, 也不会对其品质造成损害, 由于我国尚无国家层面上的食品辐照法律, 现有一些部门规

表2 氯化钠盐渍法对不同病毒的灭活效果

Table 2 Salting treatments for casings and their effect on the infectivity of relevant animal viruses

病毒	产品种类	处理方法	结果
FMDV ^[17]	牛、猪肠(未处理)	-30℃储存 2~4℃储存	120天时仍存活 48h后灭活
FMDV ^[18]	牛肠(未处理)	4℃储存	6天后被灭活
FMDV ^[19]	绵羊肠衣	4℃下干盐盐渍 14天	在14天时存活
FMDV	绵羊、猪、牛肠衣	4℃或20℃下干盐盐渍 30天	4℃环境下, 30天时仍存活 20℃环境下在30天时被灭活
SVDV	猪肠衣	4℃下饱和盐卤储存	200天后仍存活
SVDV ^[11]	猪肠衣(未处理)	25℃30天	30天后依然存活
SVDV ^[11]	猪肠衣	20℃下盐渍 30天	30天后有病毒存活
CSFV ^[20]	猪肠衣	4℃下盐水浸泡 20h, 44℃下清水浸泡, 4℃下干盐盐渍保存	12天后被灭活
		21℃下清水浸泡 3天, 4℃下干盐盐渍保存	86天时仍存活
		21℃下清水浸泡 23h, +42℃浸泡 1h, 4℃下干盐盐渍保存	9天后被灭活
CSFV	猪肠衣	4℃下饱和盐水, 保存 30天	30天时仍存活
CSFV	猪肠衣	20℃下饱和盐水保存 30天	30天后所有病毒被灭活

CSFV: 猪瘟病毒; FMDV: 口蹄疫病毒; SVDV: 猪水泡病病毒

表3 细菌生长条件限制

Table 3 Limiting conditions for pathogen growth

病原体	最小水分活度 (使用盐)	最低 pH	最高 pH	最大盐浓度%	最低温度	最高温度	需氧情况
产气荚膜梭菌	0.93	5	9	7	10℃	52℃	厌氧**
致病性大肠杆菌	0.95	4	10	6.5	6.5℃	49.4℃	兼性厌氧***
单增李斯特氏菌	0.92	4.4	9.4	10	-0.4℃	45℃	兼性厌氧***
沙门氏菌	0.94	3.7	9.5	8	5.2℃	46.2℃	兼性厌氧***
金黄色葡萄球菌生长	0.83	4	10	20	7℃	50℃	兼性厌氧***
金黄色葡萄球菌毒素	0.85	4	9.8	10	10℃	48℃	兼性厌氧***

* 要求少量的氧 ** 要求无氧 *** 有氧无氧都生长 **** 在 55℃, 生长明显减缓(>24 h)

表4 氯化钠盐渍法对不同病毒的灭活效果

Table 4 Salting-phosphate salt treatment of casings and effect on infectivity of relevant animal viruses

病毒	产品种类	处理方法	结果
FMDV	绵羊、猪、牛肠衣	在4℃或20℃下, 用磷酸盐-氯化钠法盐渍 30天	在4℃或20℃下, 30天后都灭活
CSFV	猪肠衣	在4℃或20℃下, 用磷酸盐-氯化钠法盐渍 30天	在4℃或20℃下, 在15天时仍存活, 在30天后都灭活
SVDV	猪肠衣	25℃下, 用磷酸盐-氯化钠法干盐渍 30天	15天后病毒数减少至检出限

CSFV: 猪瘟病毒; FMDV: 口蹄疫病毒; SVDV: 猪水泡病病毒

定不能与欧盟法规(1999/2 和 852/2004)对等, 也没有相应的食品辐照管辖部门。因此, 我国的辐照企业不能向欧盟提出许可申请, 我国的辐照食品不能向欧盟出口。

3 结论

经分析, 我们认为肠衣中可能携带的生物危害

为: 口蹄疫、猪瘟、猪水泡病、布鲁氏菌病以及大肠杆菌、沙门氏菌、李斯特菌、金黄色葡萄球菌、产气荚膜梭菌。使用氯化钠在 20℃(或以上)盐渍(干盐、饱和盐卤)30天可以有效灭活天然肠衣中可能携带的病原体(除猪水泡病病毒外), 而当低于 20℃时不能对潜在病原体进行有效的灭活。通过盐渍并不能完全消除猪水泡病病毒, 我们还需探索在肠衣生产中能彻

底消除其影响的办法,目前只有通过控制原料来源于非感染动物来消除猪水泡病病毒可能带来的危害。据欧盟食品安全局(EFSA)网站消息,2012年7月6日欧盟动物健康与福利专家组(AHAW)就进口肠衣类产品的动物健康风险发布了意见,其建议肠衣应在20℃(或以上)盐渍(干盐、饱和盐卤)30天,才可有效灭活可能携带的影响动物健康的病原体。不排除欧盟可能根据此项建议修改输入欧肠衣兽医卫生证书评语,在盐渍30天的基础上加入对温度的要求。有研究^[26]及肠衣企业实际生产经验表明,将盐渍肠衣储存在20℃环境下不会对其品质造成影响;同时如果提高保存温度可以大幅降低企业的能源消耗。但目前我国天然肠衣标准(GB/T 7740-2006)7.3.1条款要求“盐渍肠衣类存放在0℃~10℃清洁卫生库内”以及国家认监委国认注函〔2003〕210号文“出口肠衣加工企业注册卫生规范”第9.3条款规定“肠衣需冷藏保存,温度控制在0~10℃”。基于消除肠衣病原体风险,以及减少能源消耗的目的,我们建议国家有关部门在对20℃条件下氯化钠法对肠衣病原体灭活效果以及对肠衣品质的影响进行系统性评估。

磷酸盐-氯化钠法虽然与氯化钠法相比灭活病原体的效率更高,但添加磷酸氢二钠和磷酸三钠会增加生产肠衣的成本;根据我国食品安全国家标准、食品添加剂使用标准(GB 2760-2011)中对可食用动物肠衣类中添加磷酸氢二钠和磷酸三钠的最大使用量规定为5.0 g/kg(可单独或混合使用,最大使用量以磷酸根(PO_4^{3-})计),经盐渍后的肠衣成品中所含有的磷酸氢二钠和磷酸三钠是否会超出限量要求,或出口肠衣中磷酸氢二钠和磷酸三钠含量是否符合进口国的要求,仍需实验进一步研究论证。

本文介绍的其它控制肠衣中病原体的方法,有的由于目前只针对部分病原体作了相关研究,数据并不充分,因此不推荐作为处理肠衣的方法;有的因为会影响肠衣的品质或不符合某些进口国相关法律规定,因此也不推荐作为消除肠衣中生物危害的方法。

参考文献

- [1] 葛勇,周启生. 浅谈出口肠衣的药物残留控制[J]. 中国动物检疫, 2004, 21(11): 41-42.
- [2] <http://www.oie.int/en/for-the-media/rinderpest/>
- [3] Wijnker JJ, Koop G, Lipman LJA. Antimicrobial properties of salt (NaCl) used for the preservation of natural casings [J]. Food Microbiol, 2006, 23(7): 657-662.
- [4] ENSCA. Community Guide to Good Practice for hygiene and the application of the HACCP principles in the production of natural sausage casings[R]. European Natural Sausage Casings Association, 2012, Brussels.
- [5] OIE Terrestrial Animal Health Code, Chapter 8.5-Foot-and-mouth disease, Article 8.5.41
- [6] Wijnker JJ, Haas B, Berends BR. Removal of foot-and-mouth disease virus infectivity in salted natural casings by minor adaptation of standardized industrial procedures[J]. Int J Food Microbiol, 2007, 115(2): 214-219.
- [7] Wijnker JJ, Haas B, Berends BR. Inactivation of foot-and-mouth disease virus in various bovine tissues used for the production of natural sausage casings[J]. Int J Food Microbiol, 2012, 153(1-2): 237-240.
- [8] Depner K, Bauer T, Liess B. Thermal and pH stability of pestiviruses[J]. Revue Scientifique et Technique de l'Office International Des Epizooties, 1992, 11(3): 885-893.
- [9] EFSA. Opinion on animal health risk mitigation treatments as regards imports of animal casings[J]. EFSA J, 2012, 10(7): 2820.
- [10] McKercher P, Hess W, Hamdy F. Residual viruses in pork products[J]. Appl Environ Microbiol, 1978, 35(1): 142-145.
- [11] Wieringa-Jelsma T, Wijnker JJ, Zijlstra-Willems EM, et al. Virus inactivation by salt (NaCl) and phosphate supplemented salt in a 3D collagen matrix model for natural sausage casings[J]. Int J Food Microbiol, 2011, 148(2): 128-134.
- [12] Houben JH. A survey of dry-salted natural casings for the presence of *Salmonella* spp., *Listeria monocytogenes* and sulphite-reducing *Clostridium* spores[J]. Food Microbiol, 2005, 22(2-3): 221-225.
- [13] Weast, Astle. Handbook of Chemistry and Physics[M]. 63rd edition, 1982-1983.
- [14] Mitscherlich E, Marth EH. Microbial Survival in the Environment. Bacteria and Rickettsiae Important in Human and Animal Health. Springer-Verlag, 1984, Berlin.
- [15] Wijnker JJ. Aspects of quality assurance during manufacture of natural casings-Review Part 2[J]. Fleischwirtschaft, 2009, 89(8): 32-34.
- [16] HACCP Implementation Guide For Seafood[M]. 4th ed. U.S.A: FDA & SHA. 2011
- [17] Savi P, Baldelli B, Morozzi A. Tissue culture test for foot and mouth disease virus in meat and meat products. I. In tissues and organs of pigs[J]. Atti della Società Italiana delle Scienze Veterinarie, 1961, 15: 736-741
- [18] Cottral GE. Persistence of foot-and-mouth disease virus in animals, their products and the environment[J]. Bulletin de l'Office International des Epizooties, 1969, 71: 549-568.

- [19] Bohm HO, Krebs H. Isolation of foot-and-mouth-disease virus from organs of infected, slaughtered sheep. *Berliner und Munchener tierarztliche Wochenschrift*, 1974, 87, 410–412.
- [20] Helwig DM and Keast JC. Viability of virulent swine fever virus in cooked and uncooked ham and sausage casings[J]. *Aust Veter J*, 1996, 42(4): 131–135.
- [21] Wijnker JJ, Depner KR, Berends BR. Inactivation of classical swine fever virus in porcine casing preserved in salt[J]. *Int J Food Microbiol*, 2008, 128(2), 411–413.
- [22] Benli H, Hafley BS, Keeton JT, *et al.* Biomechanical and microbiological changes in natural hog casings treated with ozone[J]. *Meat Sci*, 2008, 79(1): 155–162.
- [23] Byun MW, Lee JW, Jo C, *et al.* Quality properties of sausage made with gamma-irradiated natural pork and lamb casing [J]. *Meat Sci*, 2001, 59(3): 223–228.
- [24] Jo CR, Lee JW, Cho KH *et al.* Quality properties of sausage made with gamma irradiated natural casing from intestine of pork or lamb[J]. *Radiat Phys Chem*, 2002, 63(3–6): 365–367.
- [25] Chawla SP, Chander R, Sharma A. Safe and shelf-stable natural casing using hurdle technology [J]. *Food Control*, 2006, 17(2): 127–131.
- [26] Bakker, W.A.M., Houben, J.H. *et al.* Effect of initial mildcuring, with additives, of hog and sheep sausage casings on their microbial quality and mechanical properties after storage at difference temperatures[J]. *Meat Sci* 1999, 51 (2): 163–174.