

蜆之衛生調查及醃蜆加工試驗

王文亮·駱秋燕

Sanitary Survey of Freshwater Clam and Seasoning Pickle Product Studies

Wen-Liang Wang and Chiu-Yen Lo

The sanitary condition of freshwater clam was found to be dissatisfactory in both cultural area and retail sales, concerning about the food borne pathogens especially. The use of UV sterilized tapwater recircular system is better than the natural flowing or the still water purification method, but not so significant.

Indicator bacteria increased together with clam mortality within 4 to 6 hours, when the pH of purification water was adjusted to 4.4-5.0 with acetic acid. Blanching treatment was most efficiency in reducing the bacteria, and 75°CX20 sec will be adequate, considering the flavor of this specialty.

The concentration of inhibiting effects on indicator bacteria for ethanol, NaCl and crushed raw garlic are found to be 6%, 12% and 8% respectively. The well known preservatives, such as propyl or butyl p-hydroxybenzoate and sorbate, had no effect in prevention of indicator bacteria. Acetic acid has the most inhibitory activity among the organic acids, and the pH of seasoning should be over 4.8 in consideration of the acceptability of taste.

前 言

蜆俗稱喇仔，本省在民國73年產量約8,500公噸⁽¹⁾，雲林及彰化兩縣產量約佔一半，幾乎全年都有生產，成長甚慢，由蜆苗至上市體型約3~5個月。

蜆為淡水產二枚貝，一般潛藏在沙泥中，與牡蠣一樣是靠過濾大量的水，攝食濾入外套膜之食物，因此養殖池水中之細菌也會隨之進入內臟而蓄積。雖然農漁牧綜合養殖曾盛行一時，但終因衛生問題，使政府由鼓勵轉而勸導放棄此種養殖方式，但目前仍有許多業者尚未採用化學肥料，所以醃漬蜆加工業者，因衛生細菌的問題，難以製成合乎衛生要求的製品，因為此種製品醃漬前，只能用相當於75°C熱水燙20秒鐘之加熱程度使貝殼微張，並使調味液易於均勻滲入肉中，但却不能燙熟過度，否則失去鮮醃蜆之風味，因此進行活蜆之淨化試驗，同時調查市售蜆之衛生細菌狀況，以做為淨化之參考，本試驗之主要目的乃探討醃漬加工靜菌之可行性。

材料與方法

一、採樣地與採樣方法：

以基隆市仁愛市場及雲林縣麥寮鄉許厝一帶養殖之活蜆為調查及淨化對象，以塑膠製提袋攜回

實驗室，隨即進行細菌學檢定，時間不超過 6 小時。

二、樣品處理：

活蜆原料用火焰滅菌過的小刀割斷韌帶，而熱水燙過的蜆則直接以滅菌過之螺絲刀將貝殼撐開。將貝肉（包括內臟）撥入無菌燒杯內，以均質機均質之。

三、指示菌部分：

取貝肉約 100g 均質之，稱取均質樣品 50g，加入 50 ml 之滅菌 0.85% (W/V) 食鹽水中，再以均質機均質之，是為稀釋原液。

(一) 好氣性菌數 (APC, Aerobic Plate Count)

取上述原液作成 10^{-1} 、 10^{-2} 、 10^{-3} 、 10^{-4} 之稀釋倍數，各取 0.1 ml 作塗抹平面 (spread plate) 4 重複，以 25°C 培養 2 天計數其菌落。培養基使用 plate count agar (Difco)。

(二) 大腸菌群 (Total coliform) 數

取上述稀釋原液 2 ml (含試料 1 g) 於 8 ml lauryl tryptose broth (Difco) 試管中，作為第 1 個稀釋倍數 (0.1g/ml)，由此取 1 ml 至 9 ml 相同培養液中，作為 10 倍稀釋濃度 (0.01g/ml)，稀釋至適當倍數，作 5 管發酵培養，以 $35 \pm 0.5^\circ\text{C}$ 水浴經 48 小時培養後，產生氣體者再接種 1 ml 至 9 ml brilliant-green lactose bile broth (Difco) 內同樣作 5 管發酵培養，以 $35 \pm 0.5^\circ\text{C}$ 經 48 小時培養，產氣者為大腸菌群，計算每 100g 檢體之最確數 (MPN)。

(三) 糞便大腸菌群 (Fecal coliform) 數

如同大腸菌群取稀釋原液作 10 倍系列稀釋，以 EC broth (Difco) 為培養液，作 5 管發酵培養，以 $44.5 \pm 0.5^\circ\text{C}$ 經 48 小時培養後，以產氣者計算 100g 檢體之最確數 (MPN)。

(四) 硫化銻培養基菌落數 (BSC, Bismuth Sulfite Count)

如同好氣性菌數塗抹在 bismuth sulfite agar (Difco) 上，以 35°C 培養 24 小時，計數其黑色菌落數。

(五) 紫外線海水殺菌機：美國 Oliphant 公司出品，UF-1350 型。

(六) 蜆紫外線淨化方法：

取 140 l 自來水分裝於 2 桶 100 l 容量長方型塑膠水桶中在流速 19 l/min，水溫 25~28°C，採用前報⁽²⁾之設備，先循環流水一夜以消除殘氯，將盛有洗淨外殼之蜆的漏籃置入其中，以 $91,960 \mu\text{W-sec/cm}^2$ 線量實施淨化，在不同時間取出部分，作細菌學測定。

(七) 醃漬液基本配方：除特別說明外，本試驗所用的基本配方如下：

醬油：食醋：食鹽：蔗糖
60：2：1：2.5

醬油係採用不含防腐劑者，食鹽濃度為 17%。醃漬時蜆與醃漬液比例為 1：1。醃漬液之 pH 為 5.04。

結果與討論

自民國 74 年 10 月起至 75 年 7 月止共採取活蜆樣品 13 件，其中生產地 7 件，消費市場 6 件。其衛生指示菌含量如表 1，在本調查所用的 4 種細菌指標中，大腸菌群、糞便大腸菌群及硫化銻培養基菌落數，與好氣性菌數比均相當高，顯示淡水養殖蜆在產地已有嚴重之衛生細菌污染。

筆者等採用牡蠣淨化系統之模式⁽²⁾，以曝氣後之自來水淨化活蜆，但蜆均在 4 小時後逐漸死亡，淨化系統之水逐漸產生氣泡，好氣性菌數及硫化銻培養基菌落數也在 4 小時後逐漸回升 (圖 1)，蜆死亡的原因尚不明白，檢定溶氧量均在飽和左右，經檢查也非漏電致死，推測可能在中盤商及零售商手中

已冷藏數天，以致蜆的活力減弱，導致在淨化時短時間內即告死亡。

表 1 活蜆指示菌含量
Table 1 The condition of indicator bacteria in living fresh-water clam

採 樣 Sampling		好氣性菌數 APC CFU/g	硫化銻培養 基 菌 數 BSC * CFU/g	糞便大腸菌群數 Fecal coliform MPN/100g	大腸菌群數 Total coliform MPN/100g
Date 日期	Site 地點				
1985					
10/16	Keelung	2.5×10^5	1.4×10^4	5.1×10^4	1.8×10^5
10/24	May-Liao	7.5×10^5	7.9×10^3	1.2×10^4	6.9×10^4
10/29	Taipei	2.4×10^5	4.6×10^4	2.0×10^4	1.7×10^5
11/05	May-Liao	2.1×10^6	1.5×10^5	4.4×10^5	3.2×10^6
11/07	Keelung	5.8×10^5	3.4×10^3	5.6×10^4	2.5×10^5
11/10	May-Liao	8.6×10^5	2.3×10^5	5.4×10^4	1.6×10^5
11/18	May-Liao	4.7×10^5	2.4×10^5	4.5×10^4	2.4×10^5
11/26	May-Liao	9.2×10^5	3.6×10^5	9.2×10^5	2.4×10^6
12/03	May-Liao	2.8×10^6	4.4×10^5	1.6×10^6	2.4×10^6
12/14	Keelung	4.6×10^5	3.1×10^3	2.0×10^3	1.7×10^4
12/27	Keelung	6.3×10^6	5.8×10^4	3.9×10^4	4.1×10^5
1986					
6/04	May-Liao	—	1.1×10^3	$> 2.4 \times 10^6$	$> 2.4 \times 10^6$
7/07	Keelung	—	—	5.4×10^4	1.6×10^7

* BSC: Bismuth sulfite count 硫化銻培養基菌數

於是筆者直接到養殖戶取得第一手活蜆，以同法淨化，發現淨化3天後才逐漸有蜆死亡，其原因仍然不明，推測可能受紫外綫殺菌燈所產生臭氧的影響。同時，由圖2可知蜆體內指示菌數，隨淨化時間而下降甚為緩慢，再由表2紫外綫淨化系統之淨化效果，比一般傳統靜止吐沙要好，同時也可看出要將蜆淨化，至少需要3天以上。淨化時間越長，淨化槽之數量及面積相對增加，與其淨化不如改善養殖環境，對養殖池水徹底實施衛生管理，才能根本解決。

為縮短淨化時間，嘗試以醋酸調整淨化水之pH再放入活蜆，當淨化前之pH為4.4時淨化4小時後，蜆大量死亡；而當pH為5.0時，則在淨化6小時後大量死亡，由圖3、圖4也可看出好氣性菌數及硫化銻培養基菌落數，也是在蜆大量死亡後開始上昇，因此這種調整淨化用水pH的方法無法實際應用。

有鑑於醃蜆加工前需先殺菁，使蜆殼微張以便醃漬液能滲入肉中，遂考慮殺菁之條件，又因醃蜆之肉質越生鮮越能顯示出其特殊之風味，因此蜆肉不能過度燙熟，先以50°C（中心溫度）殺菁，發現在2分鐘內尚無法達到衛生標準（圖5），延長殺菁時間至10分鐘，雖然好氣性菌數及硫化銻菌落數均顯著下降（圖6），大腸菌群數僅稍降，糞便大腸菌群數則反而上昇（圖7），因此必需考慮提高殺菁溫度，並縮短殺菁時間。

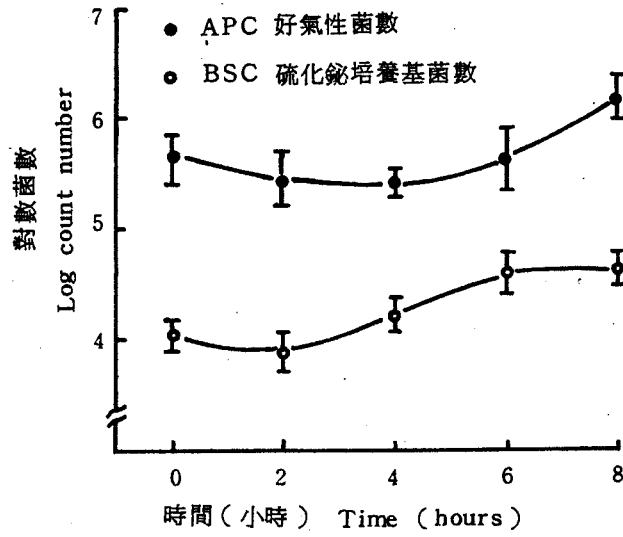


圖1 紫外線淨化系統之效果
條件：水溫 27.5°C，pH 7.2

Fig. 1 Effect of UV purification system.
Condition : water temperature 27.5°C, pH7.2

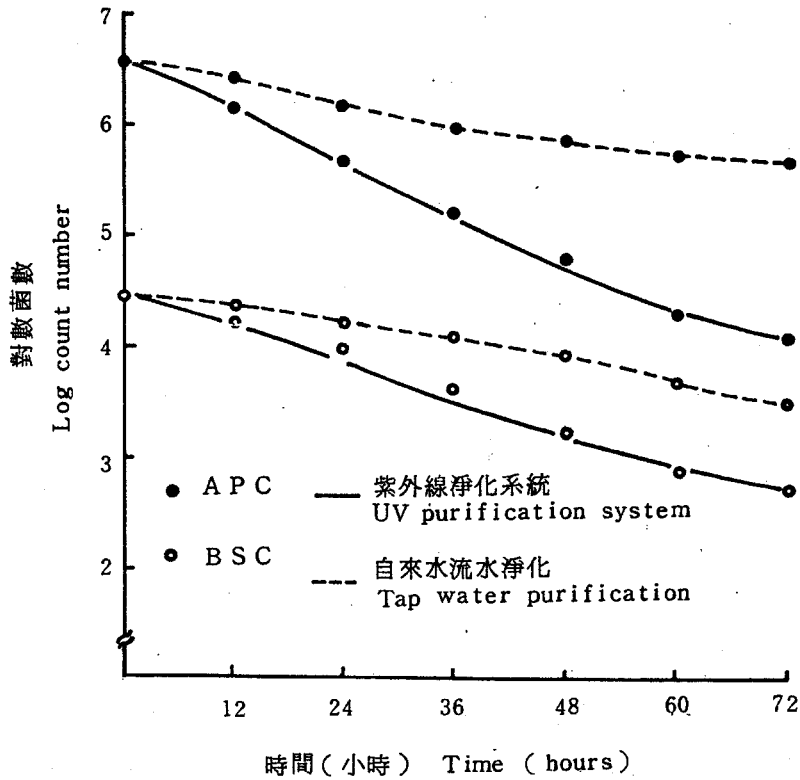


圖2 紫外線淨化與自然自來水流水淨化比較
條件：水溫 27.5°C，pH 7.2

Fig. 2 Comparison of UV purification and flowing tap water natural purification.

Condition : water temperature 27.5°C, pH7.2

表 2 紫外線淨化系統之效果
Table 2 Effect of UV purification system

處 理 Treatment		糞便大腸菌群數 Fecal coliform MPN/100g	大腸菌群數 Total coliform MPN/100g
紫外線淨化時間 UV purification time (hours)	靜止水脫沙時間* Still water desand time (hours)		
0**	0	1.6×10^6	2.4×10^6
12	8	4.1×10^4	1.2×10^4
8	12	6.2×10^4	4.8×10^4
4	16	2.4×10^5	2.4×10^5
0	20	2.4×10^5	2.4×10^5

靜止水脫沙時，每 4 小時換水 1 次。

* During still water desand, change water every 4 hours.

活蜆

** Living freshwater clam.

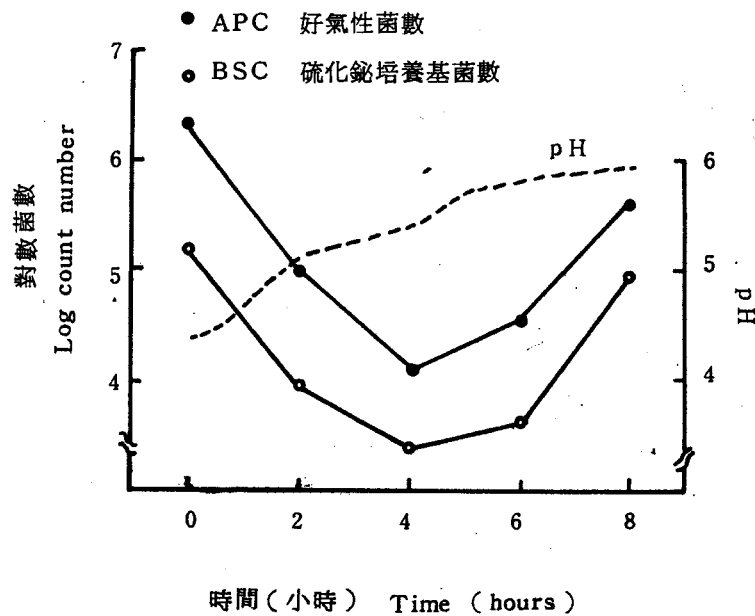


圖 3 淨化用水調整 pH 至 4.4 運用紫外線淨化系統之效果
條件：水溫 28°C

Fig. 3 Effect of water pH adjust to 4.4 combine with UV purification system.

Condition : water temperature 28°C.

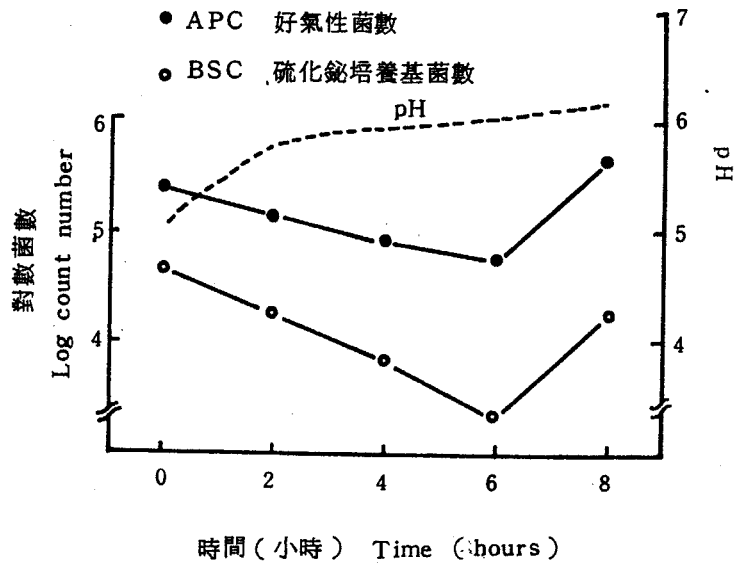


圖 4 淨化用水調整 pH 至 5.0，運用紫外線淨化系統之效果
條件：水溫 28°C

Fig. 4 Effect water adjust pH to 5.0 combine with UV purification system.
Condition : water temperature 28°C.

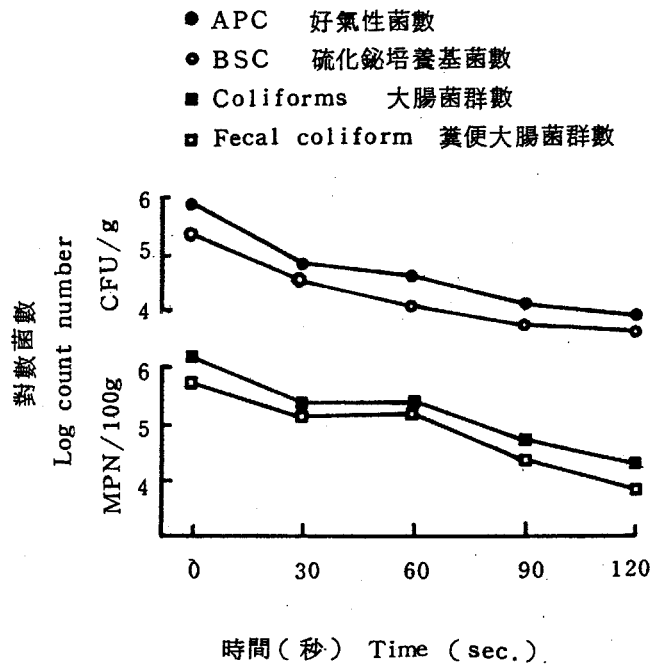


圖 5 50°C 處理對指示菌之影響

Fig. 5 Effect of 50°C treatment on indicator bacteria of homogenized clam.

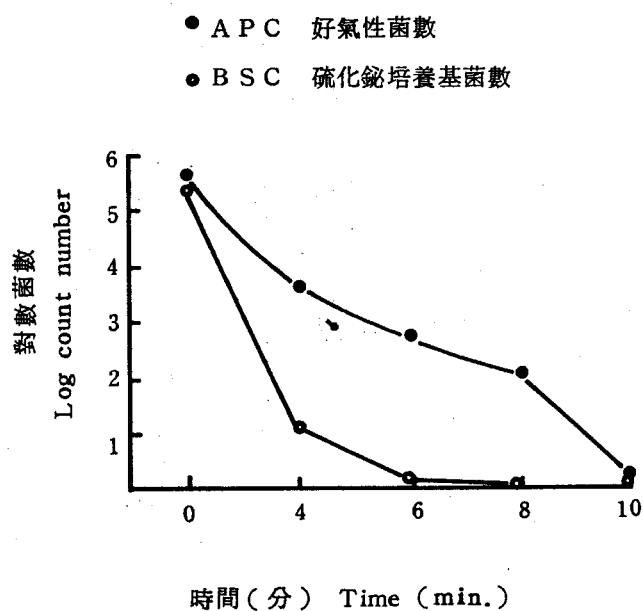


圖 6 50°C 處理對蜆肉中好氣性菌數與硫化鉍培養基菌數之影響
Fig. 6 Effect of 50°C treatment on aerobic plate count and bismuth sulfite count of whole clam.

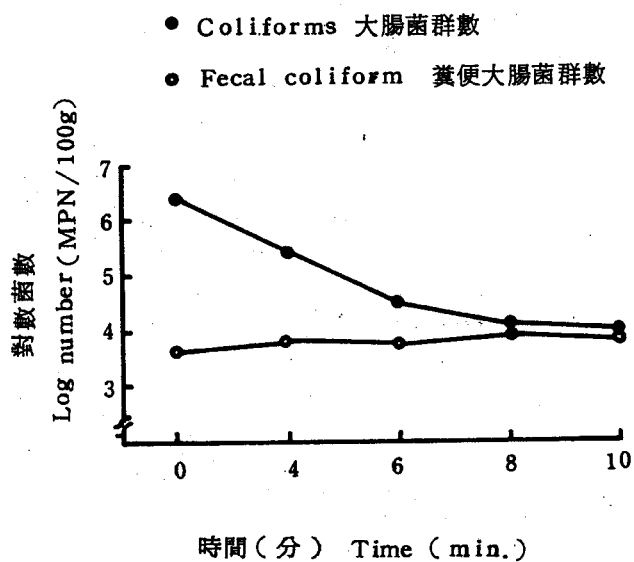


圖 7 50°C 處理對蜆肉中大腸菌群與糞便大腸菌群之影響
Fig. 7 Effect of 50°C treatment on coliforms and fecal coliform of whole clam.

由表 3 可知 $70^{\circ}\text{C} \times 1 \text{ min}$ 、 $75^{\circ}\text{C} \times 40 \text{ sec}$ 、 $80^{\circ}\text{C} \times 30 \text{ sec}$ ，這 3 個殺青條件，都有良好的降低指示菌的效果，但在官感上却又稍失去生鮮的感覺，因此在下面的實驗一律以 75°C 殺青 20 秒的條件。

表 3 殺青對指示菌之影響
Table 3 Effect of blanching on indicator bacteria

處理 Treatment	好氣性菌數 APC CFU/g	硫化銻培養 基菌數 BSC CFU/g	糞便大腸菌群數 Fecal coliform MPN/100g	大腸菌群數 Total coliform MPN/100g
對照組 * Control	6.3×10^6	5.8×10^4	3.9×10^4	4.1×10^5
$50^{\circ}\text{C} \times 6 \text{ min}$	3.2×10^3	4.0×10^1	3.4×10^4	3.9×10^4
$60^{\circ}\text{C} \times 3 \text{ min}$	2.6×10^3	0	2.2×10^3	3.5×10^3
$70^{\circ}\text{C} \times 1 \text{ min}$	7.8×10^1	0	2.9×10^2	3.2×10^2
$75^{\circ}\text{C} \times 40 \text{ sec}$	8.2×10^1	0	2.2×10^2	2.2×10^2
$80^{\circ}\text{C} \times 30 \text{ sec}$	6.8×10^1	0	2.4×10^1	4.5×10^1

* 活蜆 Living freshwater clam.

山本等⁽³⁾指出酒精之最小抑制濃度，革蘭氏陽性菌為 8~11%，革蘭陰性菌為 9% 以下，而通性嫌氣性之腸內細菌則更低。本實驗以醃漬液 0~8% 酒精濃度進行探討，結果低濃度（0.5~2%）反而助長指示菌之增加（表 4），4% 雖有抑制效果，但不明顯；濃度在 6% 以上才有顯著抑制指示菌的效果。

表 4 酒精對指示菌之抑制效果 *
Table 4 Inhibitory effect of ethanol on indicator bacteria

酒精濃度 Concentration of ethanol %	糞便大腸菌群數 Fecal coliform MPN/100g	大腸菌群數 Total coliform MPN/100g
0	9.2×10^3	2.4×10^3
0.5	3.3×10^3	6.5×10^3
1.0	2.4×10^4	4.3×10^4
2.0	2.3×10^3	3.5×10^3
4.0	2.0×10^2	4.9×10^2
6.0	4.8×10^1	7.3×10^1
8.0	negative	1.8×10^1

*各組均經 $75^{\circ}\text{C} \times 20 \text{ sec}$ 殺青處理，醃漬後隔夜測定。

All of the treatments were through $75^{\circ}\text{C} \times 20 \text{ sec}$ blanching, and detection after overnight soaking in seasoning.

山本等⁽⁴⁾以食品利用之觀點，用各種有機酸調整 pH 為 5.0，來比較其抗菌力，發現醋酸最強，其次為琥珀酸及乳酸，而檸檬酸、酒石酸及蘋果酸則較弱。但林⁽⁵⁾則指出檸檬酸有抑制腐敗菌之效果。因此本實驗採用醋酸、琥珀酸及檸檬酸調整醃漬液之 pH 為 4.8，結果如表 5 仍以醋酸較為有效，檸檬酸則沒什麼效果。

表 5 有機酸* 對指示菌之抑制效果

Table 5 Inhibitory effect of some organic acids on indicator bacteria

處理** Treatment	糞便大腸菌群 Fecal coliform MPN/100g	大腸菌群 Total coliform MPN/100g
對照組 Control	9.2×10^2	2.4×10^3
醋酸 Acetic acid	1.8×10^1	3.6×10^2
檸檬酸 Citric acid	8.6×10^2	2.4×10^3
琥珀酸 Succinic acid	4.0×10^2	8.1×10^2

*以有機酸調整醃漬液之 pH 為 4.8，醃漬後隔夜測定。

The use of organic acid adjust pH of the soysauce seasoning to 4.8, and detection after overnight soaking in seasoning.

**各組均經 $75^\circ\text{C} \times 20\text{sec}$ 殺青處理。

All of the treatments were through $75^\circ\text{C} \times 20\text{sec}$ blanching.

食鹽濃度的增加，也可提高對指示菌的抑制效果（表 6），但因口味所限只能調整醃漬液的濃度至 9% 左右。醃漬的時間越長，則醃漬液滲透入蜆肉中亦越均勻且完全，一般約在 12 小時以上，醃漬 2 天以上則指示菌約可降低 10 倍（表 7）。

表 6 不同食鹽濃度之抗菌效果*

Table 6 Effect of NaCl content on antibacterial properties

食鹽濃度** Concentration of NaCl %	糞便大腸菌群 Fecal coliform MPN/100g	大腸菌群 Total coliform MPN/100g
17.0	2.0×10^1	6.8×10^1
12.0	1.2×10^2	1.8×10^2
9.0	1.8×10^2	1.7×10^3
7.5	4.5×10^2	2.0×10^3
6.0	3.5×10^3	4.5×10^4
5.0	2.7×10^3	1.3×10^4

* 醃漬後隔夜測定
Detection after overnight soaking in seasoning.

** 醃漬液含 8% 打碎生鮮蒜頭
Soysauce contains 8% crushed fresh garlic.

*** 各組均經 $75^\circ\text{C} \times 20\text{sec}$ 殺青處理
All of the treatments were through $75^\circ\text{C} \times 20\text{sec}$ blanching.

表7 醃漬時間對指示菌之影響 *
Table 7 Effect of soaking time on indicator bacteria

處理 Treatment		糞便大腸菌群數	大腸菌群數
食鹽濃度 NaCl concentration (%)	時間 Time 小時 hours	Fecal coliform MPN/100g	Total coliform MPN/100g
9	12	6.4×10^3	2.4×10^4
	24	1.4×10^3	9.8×10^3
	36	8.6×10^2	3.3×10^2
	48	4.3×10^2	7.5×10^2
8	12	7.6×10^3	2.4×10^4
	24	6.6×10^3	2.0×10^4
	36	4.2×10^3	1.8×10^4
	48	2.1×10^3	9.6×10^3
7	12	7.6×10^3	2.4×10^4
	24	5.8×10^3	2.4×10^4
	36	5.1×10^3	2.0×10^4
	48	4.8×10^3	1.2×10^4
6	12	8.4×10^3	3.6×10^4
	24	7.7×10^3	3.2×10^4
	36	7.2×10^3	3.2×10^4
	48	6.4×10^3	2.8×10^4

*醃漬液含8%打碎生鮮蒜頭，各組均經 $75^\circ\text{C} \times 20 \text{ sec}$ 殺菁處理。

Soysauce seasoning contains 8% crushed fresh garlic, all of the treatments were through $75^\circ\text{C} \times 20\text{sec}$ blanching.

陳等⁽⁶⁾對一般常用香辛料研究其抗菌性，認為生鮮蒜頭最佳，對所有10種試驗菌種，均有良好的抗菌性。野田等⁽⁷⁾則認為市售蒜頭粉及稀釋的蒜頭汁因含斯克寧素 (scordinine)，反而會促進大腸桿菌之發育。本實驗以一般市售醃蜆蒜頭的濃度約8%為基準，採用生鮮蒜頭加入醃漬液中，使成8%之濃度，如表8所示醃漬液含蒜頭者，比不含蒜頭者約少12~40倍，但殺菁則比未殺菁者少100倍以上，而活蜆未經殺菁直接浸漬在醃漬液中，無論是否再加熱至 50°C ，對指示菌均沒有明顯的抑制效果，其原因乃蜆殼未張開，醃漬液並未滲透到蜆肉中之故。

施用防腐劑是最不得已的措施之一了，目前我國准許使用的防腐劑不多，其中能用在醃漬品的只有對羥苯甲酸烷酯類、己二烯酸鹽、苯甲酸及其鹽類，本實驗採用其准許使用濃度，結果都沒有效果，對羥基苯甲酸烷酯反而有促進指示菌發育之反效果(表9)

表 8 打碎生鮮蒜頭對指示菌之抑制效果
Table 8 Inhibitory effect of crushed fresh garlic on indicator bacteria

處理 Treatment			糞便大腸菌群 Fecal coliform MPN/100g	大腸菌群 Total coliform MPN/100g
殺青 Blanching 75°C×20sec	醃漬液含蒜頭 Garlic in seasoning	醃漬後加熱至50°C Soaking then heat to 50°C		
-	none *	-	9.5×10^5	2.4×10^6
-	+	-	2.2×10^4	1.3×10^5
-	-	-	8.6×10^5	1.8×10^6
+	+	-	2.0×10^2	2.0×10^2
+	-	-	2.4×10^3	3.6×10^3
-	+	+	6.2×10^3	7.1×10^3
-	-	+	7.8×10^4	1.2×10^5

*以活蜆為試樣 Living freshwater clam as sample.

表 9 防腐劑對指示劑之抑制效果 *
Table 9 Inhibitory effect of preservatives on indicator bacteria

處理 ** Treatment	糞便大腸菌群 Fecal coliform NPN/100g	大腸菌群 Total coliform NPN/100g
對照組 Control	9.2×10^2	2.4×10^3
0.025 % 對羥基苯甲酸丙酯 Propyl p-hydroxybenzoate	7.6×10^3	1.6×10^4
0.025 % 對羥基苯甲酸丁酯 Butyl p-hydroxybenzoate	2.4×10^3	6.2×10^3
0.2 % 己二烯酸鈉 Sodium sorbate	4.6×10^2	1.6×10^3

* 醃漬後隔夜測定

Detection after overnight soaking in seasoning.

** 各組均經 75°C × 20 sec 殺青處理。

All of the treatments were through 75°C × 20 sec blanching.

摘 要

一、養殖蜆之衛生指示菌，無論在產地或消費零售市場，其所含衛生細菌所佔生菌數比率均甚高（0.1 ~ 1%），顯示已受相當程度之污染。

- 二不論以紫外線淨化系統或自來水流動淨化，均需在3天以上，且指示菌降低甚為緩慢。
- 三紫外線淨化系統比自然流水淨化或靜止吐沙淨化，對降低指示菌效果稍佳，但效果不很顯著。
- 四淨化用水以醋酸調整pH至4.4~5.0，均在4~6小時造成蜆死亡。
- 五殺青處理以75°C×20秒較為適當。殺青可降低指示菌100倍左右。
- 六醃浸液中添加乙醇需6%以上才有降低指示菌之效果；在本試驗中有機酸以醋酸最佳，在味道上可接受的pH為4.8；食鹽濃度需在12%以上才有靜菌效果；8%生鮮蒜頭之抗菌性良好，可降低指示菌10倍以上；准許使用的防腐劑在其用量標準下則沒有效果。

謝 辭

本試驗承李所長燦然博士之關懷與鼓勵，賴前主任永順之提供意見，雲林縣麥寮鄉熊田水產行提供醃蜆加工試驗及討論，許擇寶老板並熱心提供養殖蜆做為試驗用，農委會提供部分經費，謹申謝忱。

參考文獻

1. 台灣省漁業局(1985)。中華民國台灣地區漁業年報。
2. 駱秋燕·王文亮(1985)。養殖貝類衛生調查及牡蠣淨化試驗。台灣省水產試驗所試驗報告, 39, 95 - 105.
3. 山本 泰、東 和男、好井久雄(1984)。エタノールの抗菌作用。日本食品工業學會誌, 31(8), 531 - 535.
4. 山本 泰、東 和男、好井久雄(1984)。有機酸類の抗菌性。日本食品工業學會誌, 31(8), 525 - 530.
5. 林 高塚(1985)。應用噴酸處理延長屠體保存期限。現代肉品半年刊, 4, 12 - 13.
6. 陳幸臣、張明達、張恬瑞(1985)。若干香辛植物熱處理前後之抗菌性, 中華免疫雜誌, 18(3), 34 - 39.
7. 野田克彥、磯崎さとみ、谷口春雄(1985)。スパイス類の大腸菌増殖抑制と促進效果。日本食品工業學會誌, 32(11), 791 - 796.