

软饮料中假单胞菌类污染的研究

邹国和 左一文 李文灵 甘启芦 徐萍

(南昌市卫生防疫站 南昌 330006)

假单胞菌可存在于水、生奶、水产品、卤肉制品、冷冻食品和软饮料中。当假单胞菌在食品中大量存在时,能引起食品风味的丧失和腐败变质。人食用被假单胞菌污染的食品后可引起呕吐、腹泻、肠道出血等症状,甚至引起食物中毒。软饮料具有清凉解暑、帮助消化等作用,夏季深受广大消费者的喜爱。由于这类饮料在加工制造、运输、贮藏等过程中,均易受微生物的污染,影响食用者的健康。本研究发现软饮料中假单胞菌污染严重,应引起重视,现将研究结果报告如下。

1 材料和方法

1.1 材料

样品采集于本站日常监测的南昌市地区生产的软饮料:389份,软饮料生产用水27份。

1.2 方法

1.2.1 增菌培养:各样品吸取1ml加至9ml普通牛肉汁中,置30℃培养24h。

1.2.2 分离培养:将上述增菌液分别经营养琼脂平板、血平板分离,于30℃培养48h,挑取单个菌落接种于双糖铁琼脂,结果符合产碱/一或一/一者纯培养后,进行菌种鉴定。

1.2.3 菌落总数测定:按文献[1]方法进行,分别用0.1%蛋白胨水和生理盐水作食品稀释剂,计数结果。并挑取表层单个菌落接种双糖铁琼脂,进行菌种鉴定。

表1 样品中假单胞菌出现的阳性率

| | 样品数 | 阳性样品数 | 阳性率(%) | 假单胞菌株数 |
|------|-----|-------|--------|--------|
| 送检样品 | 292 | 47 | 16.09 | 75 |
| 抽检样品 | 124 | 22 | 17.74 | 36 |

表2 合格样品与不合格样品检出假单胞菌的比较

| | 样品数 | 阳性样品数 | 阳性率(%) | 假单胞菌株数 |
|-------|-----|-------|--------|--------|
| 合格样品 | 254 | 17 | 6.73 | 29 |
| 不合格样品 | 162 | 52 | 32.09 | 82 |

$\chi^2=37.53$, $P<0.005$ 故两组阳性率有显著性差异。

表3 矿化饮料成品与生产用水检出假单胞菌的比较

| | 样品数 | 阳性件数 | 阳性率(%) | 假单胞菌株数 |
|--------|-----|------|--------|--------|
| 矿化饮料成品 | 141 | 24 | 17.02 | 32 |
| 生产用水 | 27 | 17 | 62.96 | 46 |

$\chi^2=25.92$, $P<0.005$ 故两组阳性率有显著性差异。

1.2.4 菌种鉴定:用革兰氏染色、类脂粒染色、鞭毛染色和透射电镜观察菌体形态特征。生理生化特性

本文于1996年9月25日收到。

表 4 分离菌株的鉴别特征

| 特征 | 铜绿假单胞菌 | 荧光假单胞菌 | 恶臭假单胞菌 | 丁香假单胞菌 | 门多萨假单胞菌 | 产碱假单胞菌 | 类产碱假单胞菌 | 洋葱假单胞菌 | 青枯假单胞菌 | 拳丸菌假单胞菌 | 德氏假单胞菌 | 假推假单胞菌 | 黄假单胞菌 | 类黄假单胞菌 | 帕氏假单胞菌 | 盐敏假单胞菌 | 未定名? |
|------------|--------|--------|--------|--------|---------|--------|---------|--------|--------|---------|--------|--------|-------|--------|--------|--------|------|
| 试验菌株数 | 9 | 11 | 14 | 5 | 5 | 23 | 10 | 17 | 1 | 1 | 3 | 6 | 1 | 1 | 2 | 1 | 1 |
| 葡萄糖O/F测定** | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | K | K | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | - | K | 0 |
| 鞭毛数 | 1 | >1 | >1 | >1 | 1 | 1 | 1 | >1 | >1 | >1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | >1 |
| 积累PHB颗粒 | -* | -* | -* | -* | -* | -* | -* | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + |
| 荧光素 | + | + | 92.85 | + | -* | -* | -* | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| 40℃生长 | + | + | 71.42 | 80.00 | + | 86.96 | 70.00 | + | + | -* | -* | 1.0* | + | + | + | - | + |
| 41℃生长 | + | - | - | - | - | - | 10.00 | 41.18 | - | - | 33.33 | - | - | - | - | - | - |
| H中自养生长 | - | - | - | - | - | 4.35 | 20.00 | -* | -* | -* | -* | + | + | + | + | - | -* |
| 精氨酸双水解酶 | + | + | + | + | + | 4.35 | 30.00 | -* | -* | - | 66.67 | 16.67 | + | + | - | - | + |
| 氧化酶 | + | 90.90 | + | -* | + | 86.96 | 90.00 | -* | + | + | + | 66.67 | + | + | + | - | - |
| 明胶水解 | + | + | -* | - | 80.00 | 82.61 | 10.00 | 52.94 | - | - | - | + | -* | -* | -* | - | + |
| 淀粉水解 | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | -* | - | - | - | - | - |
| 反硝化 | 66.66 | + | - | - | - | - | - | -* | + | - | - | 16.67 | -* | + | - | - | - |
| 碳源利用: | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 酒石酸 | | -* | | | | | | | | | | | | | | | |
| 葡萄糖 | + | + | + | 60.00 | + | -* | -* | 70.59 | - | - | + | 66.67 | + | + | + | + | + |
| 果糖 | + | 54.54 | 92.85 | + | 33.33 | -* | + | 29.41 | - | - | 33.33 | 16.67 | + | + | -* | - | + |
| 甜菜碱 | | | | 60* | | | | | | | | | | | | | |
| 阿拉伯糖 | 33.33 | + | 50.00 | 20.00 | 11.11 | - | 7.14 | | | | | | | | | | + |
| 核糖 | | | | | | | | | | | | | | | | | + |
| 鼠李糖 | 33.33 | 27.27 | 57.14 | 11.11 | 11.11 | | 7.14 | | | | | | | | | | - |
| DNA中G+C | 66~67 | 59~61 | 60~62 | 59~61 | 62~64 | 64~68 | 62~64 | 66~67 | 67.5 | 61.5 | 65~66 | 61~64 | 67.2 | 67.5 | 66~67 | 65.15 | 69.2 |
| mol% | | | | | | | | | | | | | | | | | |

注: + 为全部阳性; - 为全部阴性; 表内数字为阳性率(%); * 为培养基内必被项目。
** 0 为氧化产酸; K 产碱; - 不产酸

试验按文献[2~5,9,10]的方法进行, DNA中G+C mol%含量测定按文献[6~8]的方法进行, 并经中国科学院微生物研究所鉴定及复核。

2 结果

1991~1992年日常监测的抽检、送检样品416份, 阳性者69份, 阳性率为16.59%。其中软饮料389份, 阳性者52份, 阳性率为13.37%。饮料生产用水27份, 阳性者17份, 阳性率为62.96%(见表1~3)。

菌种的检出: 对分离的112株假单胞菌, 按假单胞菌检索表程序进行了系统鉴定, 除1株尚未确定种外, 其余111株菌全部鉴定到种, 并发现1株为假单胞菌新种—盐敏假单胞菌(*Pseudomonas halosensibilis* Zou & Cai nov. sp.)^[11], 经中国科学院微生物研究所复核鉴定结果基本符合。

菌种生理生化特征: 见表4。

3 讨论

自1991~1992年调查假单胞菌污染检测软饮料及其生产用水样品共计416份, 获得阳性样品69份, 其中254份合格的样品中有17份检出假单胞菌, 阳性率为6.73%, 162份不合格的样品中有52份检出假单胞菌, 阳性率为32.09%。132份矿化饮料成品中有19份检出假单胞菌, 阳性率为14.39%, 27份生产用水中有17份检出假单胞菌, 阳性率为62.96%。有的一份样品中分离鉴定出5种不同的假单胞菌。研究表明, 软饮料及其生产用水中假单胞菌污染严重^[12], 应引起重视。《伯杰系统细菌学手册》(第一卷)中列入的假单胞菌为27个种。作者分离鉴定出其中的15个种, 并发现1个新种, 说明南昌市地区软饮料及其生产用水中假单胞菌的种群较广。

致谢 本研究工作得到中国科学院微生物研究所细菌室和江西省医科所莫拉氏菌实验室的老师指导和支持, 特此致谢。

参 考 文 献

- [1] 中华人民共和国卫生部. 食品卫生检验方法(微生物学部分). 北京: 标准出版社, 1994. 5~8.
- [2] Larsen H, Krieg N R, Holt J G. *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*. Vol 1. Baltimore: Williams and Wilkins Co, 1984. 141~218.
- [3] 何晓青, 宋元提. 卫生防疫细菌检验. 南昌: 新华出版社. 1989. 188~413.
- [4] 中国科学院微生物研究所细菌分类组. 一般细菌常用鉴定方法. 北京: 科学出版社, 1978. 98~193.
- [5] Oberhofer T R. *Manual of Nonfermenting Gram-negative Bacteria*. New York: John Wiley & Sons, 1985. 1~154.
- [6] Murmar J. *J Mol Biol*, 1961, 3: 208~218.
- [7] Murmar J, Doty P. *J Mol Biol*, 1962, 5: 109~118.
- [8] 林万明, 李银太, 郭兆彪. 微生物学通报. 1981, 8(5): 245.
- [9] Lennette E H, Spaulding E H. *Manual of Clinical Microbiology* (4th). 1985. 143~407.
- [10] 李 蓉, 徐迪诚, 阎逊初. 微生物分类和鉴定技术进展. 哈尔滨: 光明日报出版社, 1989. 199~203.
- [11] 邹国和, 李文灵, 甘启芦. 微生物学报. 1994. 34(2): 96~99.
- [12] 甘启芦, 邹国和, 李文灵. 中国公共卫生学报, 1996, 增刊: 16~17.

THE EXPERIMENTAL STUDY OF *PSEUDOMONAS* CONTAMINATION IN SOFT DRINKS

Zou Guohe Zuo Yiwen Li Wenling Gan Qilu Xu Ping

(Nanchang Sanitary & Anti-epidemic Station, Nanchang 330006)

Abstract By means of this study, we have found out about the situation of *Pseudomonas* contamination in the soft drinks which are manufactured and sold at the area of Nanchang City. In the course of this study, we examined total 416 specimens, in which we found that 69 specimens were positive reaction. The positive rate made up 16.59% of the total specimens. From these 69 positive specimens we separate isolated and identified the following *Pseudomonas* 111 strains including 16 different species: *P. aeruginosa*, 9; *P. fluorescens* biovars; 11; *P. putida* biovars, 14; *P. syringae* pathovars, 5; *P. mendocina*, 5; *P. alcaligenes*, 23; *P. pseudoalcaligenes*, 10; *P. cepacia*, 17; *P. solanacearum*, 1; *P. testosteroni*, 1; *P. delafieldii*, 3; *P. facilis*, 6; *P. flava* 1; *P. pseudoflava*, 2; *P. palleronii*, 1; and a new species of *Pseudomonas* — *P. halosensibilis*. The achievement of this study will provide scientific basis for working out the standards of food safety control and inspection, raising the level of food hygiene inspection, and directing the drinks manufacturers and selling units to strengthen the food safety control and inspection.

Key words *Pseudomonas*, Soft drinks