

表 2 不同国家冻鸡翅中沙门氏菌的检出情况

	英 国	西 德	美 国	法 国	荷 兰	比 利 时	巴 西	匈 牙 利	澳 洲	新 西 兰	印 度	阿 根 廷
样品数	34	41	72	22	13	13	3	2	2	6	8	6
阳性数	8	20	12	8	5	4	2	1	1	1	1	0
阳性率 %	23.5	48.8	16.7	36.4	38.5	30.8						

阜地酵母菌引起山楂浓缩汁酸败变质的研究

郝庆功¹ 王丰坤¹ 黄元臻² 孙国强² 李述明³

近年来以山楂汁为原料的多品种饮料有增多趋势,由于此饮料酸度较高,一般不适宜细菌生长繁殖,人们饮用比较安全;但有的饮料厂不重视生产卫生,如饮料污染酸败菌、会引起饮料变质。1992 年 5 月,我市某厂生产的山楂浓缩汁有几批 14d 左右时,陆续发生色泽变浅、液体混浊,色、香、味变化,随时间延长瓶内出现沉淀,并因瓶内饮料变质,气压增大而出现聚酯瓶胖听现象。该厂一度停产。经采样检查、工艺流程监测、微生物培养、分离鉴定等实验,证实为阜地酵母菌引起。

1 材料与方

1.1 样品 随机采取 3 批变色混浊、产气膨胀聚酯瓶装山楂浓缩汁 28 瓶,未变质浓缩汁 10 瓶。

1.2 培养基

my-20 琼脂培养基^[1]

样品培养基 山楂浓缩汁(新鲜配制) 50mL,麦芽膏 2g,酵母膏 0.5g,蔗糖 20g,加蒸馏水至 100mL,为液体增菌培养基;加入琼脂 2g,为固体培养基。以上成分溶于蒸馏水中,置 121℃ 15min 灭菌备用。

糖发酵培养基^[2]

碳源、氮源培养基^[3]

营养琼脂、血琼脂按常规配制。麦糠克与伊红美

兰琼脂,由山东省卫生防疫站供给。

1.3 方法 以无菌操作取变质饮料、未变质饮料各 1mL,分别接种于 10mL 富集培养基中,置 28℃、37℃,培养 48~ 72~ 96h,再分离各种不同琼脂平板(各 1 菌环)。在增菌同时,样品直接在不同琼脂平板分离,并直接吸取变质与未变质饮料原样各 1mL,加入以上各琼脂平板。分别放置 28℃和 37℃培养,做细菌计数。

2 结果

2.1 形态与培养特性 28 份变质饮料经多次直接分离平板和样品增菌分离,在 my-20,样本琼脂培养基上,均生长出了乳白色,圆形突起、边缘整齐、光滑、不透明、中等大小酵母菌菌落。常规培养基上菌落生长不良或无菌生长。未变质饮料未分离出细菌与酵母菌。说明该菌在有高糖、含麦芽汁成分培养基上生长良好。菌体涂片染色为 G⁺、卵圆形、部分菌体多端发芽、菌体大小为 4μm×3μm~8μm×5μm,子囊孢子 1~4 个。在样本和 my-20 液体培养基中,呈淡白色、混浊、无菌膜生长,随培养时间延长,出现沉淀。经山东省卫生防疫站鉴定为阜地酵母菌。

28 份变质饮料酵母计数,82.4% 菌落总数 22~149cfu/mL,多者可达 986cfu/mL。

生化、同化试验 将 20 株酵母菌分别接种 my-20 生化、同化和常规糖发酵反应管中,置 28℃培养 7d,结果该菌在常规糖发酵管中,生长不良,而在 my-20 及样本生化管中生长良好,结果见表 1。

耐糖耐盐量试验 将 16 株阜地酵母菌接种含不同蔗糖浓度 my 琼脂平板。置 28℃培养 96h 结果见表

1 山东省平度市卫生防疫站 (266700)
2 山东省平度市果汁厂 (266700)
3 青岛鸿达机电总厂 (266700)

表 1 酵母菌生化同化试验结果

菌号	生化试验								碳源同化试验								氮源同化试验		菌型
	葡萄糖	乳糖	麦芽糖	蔗糖	半乳糖	棉子糖	蜜二糖	木糖	葡萄糖	乳糖	麦芽糖	蔗糖	半乳糖	棉子糖	蜜二糖	木糖	硝酸钾	硫酸铵	
A6	⊕	-	-	⊕	-	⊕	-	⊕	+	-	-	+	+	+	-	+	-	+	阜地酵母菌
A16	⊕	-	-	⊕	-	⊕	-	⊕	+	-	-	+	+	+	-	+	-	+	阜地酵母菌
A26	⊕	-	-	⊕	-	⊕	-	⊕	+	-	-	+	+	+	-	+	-	+	阜地酵母菌

表 2 16 株阜地酵母菌在不同蔗糖量 my 培养基上生长状况

蔗糖量%	0	1	2	5	10	20	40	60	80
生长状况	-	±	+	2+	3+	4+	4+	4+	2+
菌株数	16	12	12	14	15	16	16	16	12

从表 2 看出, 该菌在 20% ~ 60% 糖浓度培养基上生长旺盛, 说明该菌具有在高渗透压培养基上生长的特性。本菌亦可在含 5% NaCl 培养基上生长。

在不同 pH 的生长状况 将阜地酵母菌分别接种于 pH1~ 10 不同样本液体培养管中, 结果该菌以 pH 2.5~ 6.5 生长为适宜。

低温生长、热力杀菌试验 将 10 株酵母菌分别接种在 my-20 与样本琼脂培养基上, 置 8~ 12℃ 环境中, 结果 8~ 12d 先后有原菌长出。说明该菌在较低温度可生长繁殖, 而在加热 65℃ 30min 和 70℃ 10min 后不能生长。

产气膨胀与复制试验 以 12 株酵母菌分别接种

10mL my-20 和样本液体培养管中, 每管接种 48h 培养物 0.5mL, 然后培养管液面用固体石蜡封口, 置 28℃ 培养观察 7d, 各管均因酵母菌的生长繁殖产生气体, 程度不同地将封口石蜡冲出(出现膨胀)。未变质饮料对照培养管则无产气、无膨胀。10 瓶未变质饮料(每瓶 250mL), 每瓶接种酵母菌液体培养物 3mL (10 亿/mL), 2 瓶接种无菌增菌液为对照, 培养基 72h 后, 饮料出现淡乳白色、混浊, 培养时间延长出现沉淀。复种样本培养基, 获得了原酵母菌。对照瓶饮料则无变化和无该菌检出。

饮料生产工艺流程及车间空气酵母菌监测结果见表 3。

表 3 饮料生产工序各部位及车间空气酵母菌监测结果

	车间空气 (沉降法 m ³)	配料	过滤	灌瓶	容器洗刷	排污管道	合计
采样份数	16	9	10	6	6	12	59
阳性份数	14	4	6	2	3	10	39
阳性率%	87.50	44.44	60.00	33.33	50.00	83.33	66.10

从表 3 可以看出, 饮料生产车间空气及生产工序各部位均有酵母菌检出。

消毒杀菌药物敏感试验 为选择对酵母菌有杀灭作用药物(对其它菌亦有杀灭作用), 确保饮料卫生质量, 对饮料生产常用消毒杀菌药物, 做了药物敏感试

验, 结果见表 4。

酵母菌对 14 种临床治疗用抗菌素无一敏感(纸片法)。

3 讨论

3.1 尽管酵母菌较细菌生长缓慢和竞争力不强,但也会引起饮料变质。^[4]据有关文献报道,液体糖样内的嗜渗压酵母菌数目超过 10/g,通常就表明用于生产的设备、用具已被污染。^[4]本次对饮料生产工序各部位与车间空气监测,均检出了酵母菌,说明该饮料生产车间空气、设备被该菌污染的程度,证实了该饮料的变质是因饮料生产过程中该菌污染造成的。

表 4 酵母菌对消毒防腐药物敏感试验(试管法)结果

药物名称	药 物 浓 度				
	10 ⁻²	10 ⁻³	2 × 10 ⁻³	5 × 10 ⁻³	10 ⁻⁴
过锰酸钾	-	-	-	-	-
苯甲酸钠	-	-	-	-	-
山梨酸	-	-	-	-	-
过氧乙酸	✓	✓	-	-	-
新洁尔灭	✓	✓	-	-	-
洗必泰	✓	✓	✓	✓	-
漂粉精	✓	✓	✓	✓	✓
氯胺 T	✓	✓	✓	✓	✓

注:“✓”表示药物敏感。“-”表示抗药。

3.2 目前酵母菌的培养分离,常用马铃薯葡萄糖琼脂,孟加拉红培养基,本次研究选用了样本琼脂和 my-20 琼脂培养基,用于变质饮料酵母菌培养分离,配制简便,实用较好。从酸败变质饮料(或高糖样食品)中培养分离酵母菌时,如用酵母菌检出有困难时,应注意加入足够的糖到培养基内,加入的糖量为被检样品糖量 2 倍为适宜。

3.3 药物敏感试验看出,酵母菌对饮料生产常用的过锰酸钾、山梨酸、苯甲酸钠等药物均具抗药性(表 4)。1/万浓度漂粉精和 1/万氯胺 T 液对该菌消毒效果好。臭氧(O₃)用于饮料车间空气、设备、容器的灭菌消毒有一定作用,若与漂粉精药物协同并用,消毒效果更佳。

近几年来,许多国家(日本、美国等)把酵母菌计数列入食品微生物学常规检验,我国 1985 年颁布了霉菌和酵母菌数检验标准方法,作为判定食品被霉菌和酵母菌污染程度标志。随着市场经济发展,山楂类饮料

品种增多,有关单位应尽快制订该类饮料霉菌和酵母菌卫生标准,这样广大食品饮料质检人员,食品卫生监督监测工作者也将有章可循,从而进一步促进我国饮料食品工业和食品卫生事业发展。

本文菌株承蒙山东省卫生防疫站梁玉贤、张玉芹副主任技师鉴定,一并致谢。

4 参考文献

1 郝庆功. 小香槟酸败的嗜渗压酵母菌分离鉴定. 食品科学, 1988, 1: 60

2 卫生部. 食品卫生检验方法(微生物学部分). 4789—94. 1994—05—18

3 魏景超. 真菌鉴定手册. 上海: 上海科学技术出版社, 1979

4 何晓青, 等译. 食品微生物检验方法提要. 人民卫生出版社, 1982