

培养温度与时间对食品中细菌检出率的影响

杨宝兰 王淑贞 周桂莲

卫生部食品卫生监督检验所 (100021)

摘要 采用了各类有代表性的 **308** 件食品,对其不同培养温度与时间进行了检出率的比较,证明 **37℃48h** 培养比 **24h** 培养后的细菌数明显增高,多数样品差别极大。为使检验结果能正确反应各类食品的污染程度,并与国际检验方法统一,建议对各类食品细菌数的检验均应采取 **37℃48h**。

关键词 食品污染 细菌 培养

由食品卫生微生物常规检验工作中发现,在不同种类的食品中,各种细菌对培养条件的需要,存在着不同程度的差异。由于细菌生长的快慢不同,培养时间能影响到检验结果的准确性。为使检验结果能够正确反应出各类食品的污染程度,我们采**308**件有代表性的食品,对其细菌检验的培养时间等条件进行了观察。同时调查了各类食品的细菌污染情况,为食品卫生监督管理提供了参考数据。

1 材料与方法

1.1 材料 选择有代表性的市售食品,于不同零售点购买,共计 **308** 件。

生肉类 **20** 件(猪肉、猪肝、猪心、猪肉馅、牛肉、牛肉馅等)。

熟肉制品 **39** 件(香肠、小肚、牛肉、肉松、粉肠、蒜肠、腊肠、午餐肉、火腿肉、风干肉、肘子肉、猪头肉、烧鸡等)。

糖果 **33** 件(水果糖、奶糖、红糖、白糖、巧克力、软糖、酥糖等)。

糕点 **15** 件(蛋糕、裱花蛋糕、带馅点心等)。

海产品 **8** 件(鱼干、虾皮、鱼肠、虾松等)。

乳品类 **29** 件(鲜奶、奶粉、酸奶、奶油等)。

冷食类 **33** 件(冰激淋、雪糕、冰棍、冰霜、杏仁、冰砖等)。

调味品 **28** 件(酱油、醋、酱类、五香粉、胡椒粉、大料粉、汤料等)。

豆制品 **20** 件(豆腐、豆腐干、包、卷、丝、酱豆腐、素什锦花干)。

酒类 **15** 件(黄酒、啤酒、葡萄酒、山楂酒、猕猴桃酒)。

罐头 **6** 件(软包装方便熟食品一米粉肉、烧牛肉、回锅肉、果酱)。

代食品 **7** 件(米粉、糕干粉、代乳粉、杏仁霜、乳粉)。

固体饮料 **9** 件(花茶、红茶、可可茶、咖啡茶、桔粉)。

小食品 **15** 件(果脯、金糕、蜜枣、话李、果丹皮、瓜干、山楂饼)。

散装饮料、冷饮 **31** 件(雪碧、可乐、橙汁、七喜等)。

1.2 方法 按照食品卫生微生物标准检验方法的要求分别对上述样品进行下列研究。

培养 **24h** 和 **48h** 之后分别计算菌落总数比较差异。

观察不同条件对细菌相检出的影响。

测定各类食品中细菌的分布及污染情况。

2 结果

2.1 不同培养时间对细菌生长的影响

Messr 等^[1,2]介绍的菌落计数方法培养时间为 48±2h,本室测定了 308 件样品不同时间培养的菌落总数。结果表明,48h 比 24h 培养后的菌落总数有明显增高,多数样品差别很大。见表 1。

表 1 不同培养时间菌落总数的比较

品名	件数	平均菌落数 个/mL(g)		培养 48h 比 24h 增加的菌落数	%
		24h	48h		
糖果	33	7.2 × 10 ²	1.2 × 10 ³	4.8 × 10 ²	66.7
糕点	15	2.2 × 10 ⁴	2.5 × 10 ⁴	0.3 × 10 ⁴	13.6
鱼虾制品	8	3.1 × 10 ⁵	9.4 × 10 ⁵	6.3 × 10 ⁵	203.2
鲜奶	9	1.1 × 10 ⁴	2.1 × 10 ⁴	1.0 × 10 ⁴	90.9
奶粉	4	1.3 × 10 ³	1.9 × 10 ³	0.6 × 10 ³	46.2
黄油	1	9.0 × 10 ⁶	4.3 × 10 ⁷	3.4 × 10 ⁷	377.8
酸奶	15	—	—	—	—
熟肉制品	39	8.0 × 10 ⁶	2.9 × 10 ⁷	2.1 × 10 ⁷	262.5
生肉类	20	1.6 × 10 ⁷	1.8 × 10 ⁷	0.2 × 10 ⁷	12.5
罐头	6	1.0 × 10	1.9 × 10	9.0	90.0
小食品	15	4.6 × 10 ²	6.6 × 10 ²	2.0 × 10 ²	43.5
冷食	33	3.3 × 10 ⁴	4.7 × 10 ⁴	1.4 × 10 ⁴	42.4
冷饮	25	5.7 × 10 ²	6.7 × 10 ²	1.0 × 10 ²	17.5
散装饮料	6	2.8 × 10 ⁶	3.4 × 10 ⁶	0.6 × 10 ⁶	21.4
调味品(液)	9	2.6 × 10 ⁴	2.9 × 10 ⁴	0.3 × 10 ⁴	11.5
调味品(粉)	19	6.2 × 10 ⁵	6.3 × 10 ⁵	0.1 × 10 ⁵	1.6
豆制品	20	1.8 × 10 ⁶	2.0 × 10 ⁶	0.2 × 10 ⁶	11.1
代食品	7	9.9 × 10 ³	1.2 × 10 ⁴	2.1 × 10 ³	21.2
固体饮料	9	1.4 × 10 ³	1.6 × 10 ³	0.2 × 10 ³	14.3
酒类	15	2.0	1.1 × 10	9.0	45.0
共计	308				

2.2 不同温度与时间对细菌生长的影响

取 2 份样品分别于 37、25、5℃ 进行倾注培养,观察细菌的生长情况。见表 2。

表 2 温度与时间对细菌(倾注培养)生长的影响

培养温度 C	样品	培养时间				
		24h	48h	72h	4d	6d
37	1	2.2 × 10 ⁷	3.3 × 10 ⁷			
	2	6.1 × 10 ⁶	1.4 × 10 ⁷			
25	1			2.2 × 10 ⁷		
	2			5.2 × 10 ⁶		
5	1			9.1 × 10 ⁶	1.3 × 10 ⁷	
	2			4.9 × 10 ⁶	9.6 × 10 ⁶	

结果显示 5℃ 培养从第 4 天可计数,第 6 天时仍有明显增加;25℃ 培养 72h 可计数;37℃ 培养 48h 生长完全。

从 5℃ 培养的计数样品中挑取 100 个单个菌落接种于 2 份普通琼脂培养基中,分别于 37℃ 和 5℃ 培养比较生长情况。结果见表 3。

表 3 温度与时间对细菌(表面培养)生长的影响

菌落数 个	培养温度 C	生 长 情 况								
		24h			48h			72h		
		-	±	+	-	±	+	-	±	+
100	37	9	16	75			100			
100	5	41	52	7		2	98			100

注: —,不生长 ±,较少生长 +,完全生长良好

从表面培养的菌落来看,100 个菌落完全生长良好时 37℃ 培养需要 48h,5℃ 培养需要 72h。

将同一猪肉样品的倾注平板分别放在 37℃ 和 5℃ 二个不同温度下培养 48h 后,各挑取 200 个菌落进行涂片染色,观察菌相存在的比率。见表 4。

在 5℃ 中除革兰氏阴性球菌不易生长外,其它各菌均有生长,革兰氏阳性球菌占优势(74%)。

表 4 生肉在不同温度下 48h 菌相检出率

样 品	培养温度 ℃	菌落数	菌 相 检 出(%)				
			G ⁺ 杆菌	G ⁻ 杆菌	G ⁺ 球菌	G ⁻ 球菌	酵母菌
		37	200	13(6.5)	30(15)	116(58)	41(20.5)
生猪肉	5	200	38(19)	10(5)	148(74)	2(1)	2(1)

注：括号中为所占百分数,括号外为菌落数。

表 5 各类食品中的主要微生物分布情况

品 名	检出微生物种类						
	G ⁺ G ⁻	蜡杆	G ⁺ G ⁻	大产阴	霉	酵	
	杆杆	样芽	球菌	肠杆	黄色杆	母菌	
		胞菌		菌素菌	菌		
糖类	+	+	+	+	+	+	
糕点	+	+	+	+		+	+
肉及制品	+	+	+	+	+		+
奶及制品	+	+	+	+			
鱼类制品	+	+	+	+	+		
小食品	+	+				+	
调料	+	+	+	+	+		+
冷饮	+	+	+	+	+		
酒类		+				+	+
副食品	+			+		+	
豆制品	+	+		+		+	
固体饮料	+			+		+	
罐头	+						

注：+：为阳性结果

2.3 各类食品中细菌污染状况

对 308 件不同食品微生物检验结果表明,除罐头、酒类以外,其它各种食品均污染有大量的细菌,普遍存在革兰氏阳性杆菌、蜡样芽胞杆菌、大肠杆菌、革兰氏阳性球菌、霉菌等。见表 5。

根据食品卫生标准的规定,就 308 件样品中目前有标准的 225 件参考卫生标准进行评定。符合卫生标准要求者菌落总数合格率为 68%,大肠菌群合格率为 67.6%;超出标准要求的菌落总数为 32%、大肠菌群为 32.4%,见表 6(第 12 页)。

3 讨论

3.1 为了正确反应食品的卫生质量,能够使我国的食品卫生标准微生物学检验中菌落总数测定方法尽快与国际检验方法接轨(AOAC、FDA 以及 APHA 的菌落计数亦采用 48h),促进我国在国际上与各国的经济贸易友好往来,建议我国食品卫生标准微生物学检验方法中菌落总数测定。由 24h 培养改为 48h 培养。

3.2 根据现有卫生标准的食品对 225 件食品进行卫生学评价,除酒类全部符合卫生标准外,均有不符合卫生标准者。超出卫生标准的依次为:熟肉制品 64.1%;豆制品 55%~ 60%;糕点 40%~ 46%;冷饮 29%~34%。糖、调料、奶类等均有部分不符合卫生要求,由此说明今后应对食品卫生质量加强管理,以确保消费者的健康。

4 参考文献

1 Meeser J. W et al. Aerobic plate count ,Bacteriological Analytical Manual, 6thEdition,1984 AOAC

2 Anderws W. Manual of food quality control 4Rev. 1, Microbiological Analysis, Food andAgriculture Organization of The UnitedNations, Rome 1992

3 中华人民共和国国家标准食品卫生检验方法(微生物学部分). 北京：中国标准出版社,1986,131

4 食品卫生国家标准汇编(1). (2). 第 2 版,北京：中国标准出版社,1992

表 6 各类食品的细菌污染状况

各类食品卫生标准				样 品 件 数	合格件数(%)		不合格件数(%)	
品	名	细菌数 (个/g,mL)	大肠菌群 (个/100g,mL)		细菌数 (个/g,mL)	大肠菌群 (个/100g,mL)	细菌数 (个/g,mL)	大肠菌群 (个/100g,mL)
冷饮	汽水、果汁	100	6	64	45 (70.3)	42 (65.6)	19 (29.7)	22 (34.4)
	散装饮料	3000	100					
	含豆乳在 10%以下	10000	250					
	含豆乳在 10%以上	30000	450					
乳品	鲜奶	3000	40	29	26 (89.7)	28 (96.6)	3 (10.3)	1 (3.4)
	奶粉	50000	90					
	黄油	50000	90					
	酸奶		90					
糕点 (不含乳)		1000	30	15	9(60.0)	8(53.3)	6(40.0)	7(46.7)
豆制品		100000	150	20	9(45.0)	8(40.0)	11(55.0)	12(60.0)
熟肉制品		80000	150	39	14(35.9)	14(35.9)	25(64.1)	25(64.1)
调味品	酱油	50000	30	10	7 (70.0)	10 (100.0)	3 (30.0)	0
	醋	5000	3					
	酱		30					
发酵酒	葡萄酒	50	3	15	15 (100.0)	15	0	0
	黄酒	50	3					
	熟啤酒	50	3					
糖	白糖	350	30	33	28 (84.8)	27 (81.8)	5 (15.2)	6 (18.2)
	糖	750	30					
	含淀粉糖	3000	30					
共计				225	153(68.0)	152(67.6)	72(32.0)	73(32.4)

注:括号中为所占百分数。

(上接第 5 页)

7 FAO/WHO. Evaluation of certain foodadditives and contaminants (Thirtieth Reportof the joint FAO/WHO Expert Commitee onfood Additives). WHO Technical Reportseries, No. 751. 1987

8 FAO/WHO. Evaluation of certain food additivesand contaminants (Thirty — third Report of thejoint FAO/WHO Expert Commitee on FoodAdditives). WHO Technical Report series. No. 776. 1989

9 Toxicologicalai evaluation of certain foodadditives and contaminants (prepared by the33rd meeting of the joint FAO/WHO ExpertCommitee on Food Addi-tives). WHO FoodAdditives series, No. 24. 1989

10 徐格晟,等. 天津市常用食物的铝含量及居民铝摄入量初探. 中华预防医学杂志,1992, 21(3):171

11 闻武,等. 铝器铝溶出影响因素的研究. 中华预防医学杂志, 1991,25(3):174

12 于守洋,金纪元主编. 营养学. 北京:中国古籍出版社出版,1988:68