



抗臭氧型微生物培养基研究 *

吴清平^{1,2} 蔡芷荷² 张菊梅² 周小燕² 姚汝华¹

(华南理工大学¹ 广州 510641, 广东省微生物研究所² 广州 510070)

摘要: 通常采用臭氧对水体进行灭菌,在臭氧与矿泉水混合后,当其浓度分别为 0.183、0.311 及 0.584mg/L 时,起始阶段臭氧分解速度较小,1.5~5.5h 内其分解速度加快,至 9.5h 后,在水中的臭氧浓度已降至 0.040~0.060mg/L,但要彻底分解则需 24h 以上。从抗消毒剂型微生物培养基基础上发展起来的抗臭氧型微生物培养基,在普通倾注平板法、大样倾注平板法、液体大样法和最小近似数法中,当检测含有臭氧的样品时,其细菌、真菌和大肠菌群的检出率大大高于普通微生物培养基。

关键词: 抗干扰,微生物培养基,臭氧

中图分类号: Q93335 **文献标识码:** A **文章编号:** 0253-2654(2000)-01-001-04

RESEARCHES ON ANTI- OZONE MICROBIAL MEDIA

WU Qing-Ping^{1,2} CHAI Zhi-He² ZHANG Ju-Mei² ZHOU Xiao-Yan² YAO Ru-Hua¹

(South China University of Technology¹ Guangzhou 510641,

Guangdong Institute of Microbiology² Guangzhou 510070)

Abstract: Usually ozone is applied to kill the microorganisms in the water. After ozone is mixed up with the mineral water in the test, its concentration is 0.183, 0.311 and 0.584mg/L respectively and its decomposition speed is low at the beginning, fast from 1.5 to 5.5 hours. Although the ozone concentration has decreased to 0.04~0.060mg/L after 9.5 hours, the thorough decomposition still needs 24 hours or more. The anti-ozone microbial media develop from the anti-disinfectant microbial media. In the general & the big sample pouring plate method, the liquid big sample method and the MPN method, the bacterial, fungous and coliform bacterial detectability of the anti-ozone microbial media is much higher than that of the general microbial media when the samples contain ozone.

Key words: Anti-disturbance; Microbial media; Ozone

臭氧(O₃)因无残留且易分解而有别于其它般消毒剂,其不但与水混合后对水体中的微生物起到杀灭作用,而且对包装容器中的微生物也能起到有效的杀灭作用,是当今流行的矿泉水、饮用纯水及食品饮料工业用水的有效灭菌手段,尤其对矿泉水与饮用纯水这类不能添加任何防腐剂的饮用水的杀菌作用及保质期起

到极其重要作用。

臭氧虽无残留易分解,但要彻底分解水中 0.5mg/L 的臭氧仍需约 20~30h,因此对采用臭氧消毒的成品水进行微生物检测,需在生产后 24h 左右才能进行,否则将受到臭氧的严重干

* 广东省重点科技攻关项目

收稿日期: 1999-05-11, 修回日期: 1999-08-15

© 中国科学院微生物研究所期刊联合编辑部 <http://journals.im.ac.cn>

扰。由于矿泉水及饮用纯水是大宗饮用水,生产量大,特别是在生产旺季,通常生产厂家为了等待产品的检测结果,往往比一般产品长 24h,这将严重影响工厂的仓容和产品的出厂时间,所以研制可以消除矿泉水、饮用纯水及食品饮料工艺水中臭氧干扰,提高微生物检测灵敏度的培养基就成为广大矿泉水、饮用纯水及食品饮料企业的迫切要求^[1~5]。本研究测定臭氧在水中的稳定时间后,参照抗消毒剂型微生物培养基研究方法,制备抗臭氧型微生物培养基,然后进行抗臭氧性能测试及检测实际样品中的细菌和真菌能力的测试,同时与普通微生物培养基进行分析对比。

1 材料与方法

1.1 干扰物质

臭氧(Ozone)。

1.2 测试菌株

1.2.1 细菌:大肠杆菌 HK1.1、MIG1.42、MIG1.45(*Escherichia coli*)。

1.2.2 真菌:绳状青霉 MIG3.104(*Penicillium funiculosum*);米曲霉 MIG3.30(*Aspergillus oryzae*)。

1.3 对照普通微生物培养基^[3]

1.4 抗臭氧型微生物培养基的研究方法

1.4.1 臭氧浓度的测定^[4]。

1.4.2 抗臭氧型微生物培养基的测试方法^[5]。

2 结果与讨论

2.1 臭氧在矿泉水中的稳定时间测定

为了了解臭氧在水中的稳定时间,本试验特设计出高、中、低 3 个初始水中臭氧浓度进行探讨。当矿泉水中加入臭氧混合后,初始浓度分别为 0.183、0.311 及 0.584mg/L,随着时间的延长,水中臭氧浓度在不断减少,开始时其分解速度较小,在 1.5~5.5h 内其分解速度加快,至 9.5h,3 个不同初始浓度的样品中的臭氧浓度均为 0.040~0.060mg/L 之间(表 1),以后虽采用 DPD 法^[4]对矿泉水中的低臭氧浓度不能有效测定,但臭氧在样品中的气味必须在 24h 后才能

较好地消失,这说明 0.183~0.584mg/L 的臭氧在水中要彻底分解需要 24h 以上。

表1 臭氧在矿泉水中的稳定时间测定

放置时间 (h)	水中臭氧含量(mg/L)		
	I	II	III
0	0.183±0.024	0.311±0.008	0.584±0.072
0.5	0.187±0.006	0.309±0.032	0.535±0.032
1.5	0.178±0.003	0.308±0.020	0.530±0.089
2.5	0.150±0.015	0.240±0.042	0.378±0.041
3.5	0.102±0.006	0.193±0.008	0.263±0.025
5.5	0.076±0.008	0.109±0.005	0.177±0.014
7.5	0.057±0.015	0.065±0.017	0.107±0.029
9.5	0.041±0.012	0.040±0.015	0.063±0.015

注:测定时pH=6.33,水温25℃~28℃

2.2 抗臭氧型微生物培养基的抗臭氧性能测试

在抗消毒剂型微生物培养基基础上,经过改良和优化制得抗臭氧型微生物培养基,它们分别为抗臭氧型细菌平板计数琼脂培养基(营养琼脂培养基)、细菌大样检测液体培养基(营养肉汤培养基)、真菌平板计数琼脂培养基(虎红琼脂培养基)、真菌大样检测液体培养基(霉菌液体培养基)及大肠菌群测定培养基(乳糖胆盐发酵培养基)等 5 种。

本试验的测试菌株为 MIG1.45、MIG3.104、MIG1.42 及 MIG3.30,在测试中,先将 6×10^5

表2 采用MIG1.45及MIG3.104测试抗臭氧型微生物培养基的抗臭氧性能(cells/mL)

处理时间 (min)	MIG1.45		MIG3.104	
	普通	抗臭氧型	普通	抗臭氧型
5	0,0,0	1,138,1	1,3,1	11,10,13
10	9,1,0	0,2,0	1,0,0	3,4,5
20	0,0,0	8,0,254	0,1,0	2,5,2
30	0,2,0	1,1,0	0,1,0	3,4,2
45	0,0,0	0,0,0	2,1,1	1,0,0
60	0,1,0	1,2,8	0,1,1	2,9,3
120	0,0,1	2,0,0	0,0,0	1,2,1
180	0,0,0	0,0,0	0,0,0	0,0,0
300	0,0,1	0,1,145	3,4,0	0,0,0
总数	15	565	21	83

注:处理时,在液体中菌液浓度为 10^3 cells/mL

cells/mL 的菌悬液 1mL 加入含 0.584mg/L 臭氧的 600mL 矿泉水中,按一定的处理时间取 1mL 样进行倾注平板法测定活菌数。从表 2、表 3 可以看出,从不同处理时间取样检出的活菌总数,抗臭氧型微生物培养基要大大多于普通微生物培养基。

表3 采用MIG1.42及MIG3.30测试抗臭氧型微生物培养基的抗臭氧性能(cells/mL)

处理时间 (min)	MIG1.42		MIG3.30	
	普通	抗臭氧型	普通	抗臭氧型
5	0,0,0	1,2,0	1,1,1	7,4,5
10	0,0,0	10,3,12	0,1,0	6,2,3
20	1,0,0	2,2,5	0,0,0	3,1,1
40	0,0,0	3,2,0	0,0,1	2,3,4
80	0,0,0	1,0,0	0,0,0	1,1,1
总数	1	43	5	44

注:处理时,在液体中菌液浓度为10³cells/mL

2.3 抗臭氧型微生物培养基与普通微生物培养基的抗臭氧干扰能力对比

在试验中,首先把含一定菌数的菌悬液加入到已冷却至 40℃ 左右的培养基中混匀,然后进行分析测试。

2.3.1 大样倾注平板法中不同培养基对含有臭氧的 5mL 样品中的细菌和真菌检出能力的测试:在测试过程中,矿泉水臭氧的初始浓度为 0.584mg/L,从表 4 可以看出,在大样倾注平板法中所有测试菌株 MIG1.45、MIG1.42、MIG3.104 及 MIG3.30,在北京、上海、浙江、环凯等普通培养基上的检出能力大大低于抗臭氧型培养基,对照的普通培养基的检出率与抗臭氧型培养基无明显差异。

表4 倾注平板法中不同培养基对含有臭氧的样品中的细菌和真菌检出能力的测试(cells/mL)

培养基	菌 株			
	MIG1.45	MIG1.42	MIG3.104	MIG3.30
北京	0	0.7±0.6	1.0±1.0	0.7±1.2
上海	0.3±0.6	1.0±1.0	1.3±1.5	0
浙江	1.0±1.0	1.3±2.3	0	1.3±1.5
环凯	1.0±1.7	1.0±0	1.0±1.0	1.7±2.1
抗臭氧型	128.3±7.6	227.3±2.5	196.3±11.8	240.7±9.1
对照	135.7±4.0	203.0±4.0	192.0±11.5	279.7±10.0

2.3.2 液体大样检测法中 50mL 三料不同培养

基对 100mL 含有臭氧的样品中的细菌和真菌检出能力的测试:在测试过程中,矿泉水臭氧的初始浓度为 0.557mg/L,从表 5 可以看出,在液体大样检测法中,检测含有臭氧的样品,在北京、上海、浙江及环凯等普通培养基中,测试菌株 MIG1.45 及 MIG1.42 在波长 650nm 下,其吸光度及 MIG3.104 和 MIG3.30 的菌数和大小均明显小于抗臭氧型培养基和对照的普通培养基,但后两者之间的吸光度和菌数及大小则无明显差异。

表5 液体大样检测法中不同培养基对含有臭氧的样品中的细菌和真菌检出能力的测试(ABS_λ=650)

培养基	菌 株			
	MIG1.45	MIG1.42	MIG3.104	MIG3.30
北京	0.035±0.008	0.018±0.005	7.7±4.5	2.7±3.8
上海	0.029±0.005	0.020±0.004	6.0±2.6	5.0±3.6
浙江	0.015±0.003	0.029±0.004	10.3±4.9	1.0±1.7
环凯	0.040±0.003	0.031±0.003	8.0±5.6	7.0±2.0
抗臭氧型	0.229±0.016	0.277±0.007	184.3±9.3	150.0±2.6
对照	0.242±0.008	0.283±0.009	191.3±6.7	156.0±6.2

注:MIG3.104及MIG3.30的数据为菌的个数

2.3.3 最小近似数法中不同培养基对含有臭氧的样品中的大肠菌群的检出能力测试:在测试过程中,矿泉水臭氧的初始浓度为 0.608mg/L,在 MPN 法中,测试菌株 MIG1.42 及 HK1.1 在北京、上海、浙江及环凯等普通培养基中检出的 MPN 值大大低于抗臭氧型培养基中所检出的 MPN 值,而对照普通培养基所检测的不含臭氧的样品的 MPN 值与抗臭氧型培养基无明显差异(表 6)。

表6 最小近似数法中不同培养基对含有臭氧的样品中的大肠菌群的检出能力测试(MPN/100mL)

培养基	菌 株			
	MIG1.42		HK1.1	
	对照	O ₃	对照	O ₃
北京	350	9	350	13
上海	350	15	540	11
浙江	350	13	540	19
环凯	540	15	350	17
抗臭氧型	350	350	350	540

2.4 抗臭氧型微生物培养基检测实际样品中的细菌和真菌能力的测试

通过检测几十个由广州、珠海、深圳、佛山、顺德、肇庆等生产厂家提供的含有臭氧的矿泉水及饮用纯水样品的测试表明,与普通培养基

相比,抗臭氧型培养基在样品含有臭氧时可大大提高细菌和真菌的检出率(表 7)。

表 7 抗臭氧型微生物培养基检测实际样品中的细菌和真菌能力的测试

产品名称	生产厂家	检测方法	普通培养基		抗臭氧型培养基	
			细菌	真菌	细菌	真菌
矿泉水	广州	液体大样法	-0.004	0	0.108	2.3
			(ABS650)	(cells/100mL)	(ABS650)	(cells/100mL)
		MPN法	0	0	4	2
			(MPN/100mL)	(MPN/100mL)	(MPN/100mL)	(MPN/100mL)
矿泉水	珠海	倾注平板法	0	0	2.6	1.5
			(cells/5mL)	(cells/5mL)	(cells/5mL)	(cells/5mL)
		液体大样法	0.013	0	0.746	3
			(ABS650)	(cells/100mL)	(ABS650)	(cells/100mL)
矿泉水	深圳	倾注平板法	1.3	0	11.4	0.5
			(cells/5mL)	(cells/5mL)	(cells/5mL)	(cells/5mL)
		液体大样法	0.000	0	0.237	1.3
			(ABS650)	(cells/100mL)	(ABS650)	(cells/100mL)
矿泉水	深圳	液体大样法	0.000	0	-0.002	7.4
			(ABS650)	(cells/100mL)	(ABS650)	(cells/100mL)
饮用纯水	顺德	液体大样法	0.014	0	0.542	2.7
			(ABS650)	(cells/100mL)	(ABS650)	(cells/100mL)
矿泉水	佛山	液体大样法	-0.000	0	0.000	5.0
			(ABS650)	(cells/100mL)	(ABS650)	(cells/100mL)
矿泉水	肇庆	液体大样法	0.003	0.3	0.214	9.8
			(ABS650)	(cells/100mL)	(ABS650)	(cells/100mL)

参 考 文 献

- [1] 陈天寿 主编. 微生物培养基的制造与应用, 北京: 中国农业出版社, 1995, 185~612.
- [2] Sigma Chemical Company. Biochemicals and Reagents for Life Science Research, 1997, 1585~1784.
- [3] 吴清平, 蔡芷荷, 张菊梅等. 微生物学通报, 1998 26(6): 412~417.
- [4] 丘藤良等编. 雷席珍译. 最新饮料工艺学, 广东: 广东科技出版社, 1985, 408~409.
- [5] 吴清平, 蔡芷荷, 张菊梅等. 微生物学通报, 1999, 26(2): 175~179.