

瓶装饮用纯净水霉菌菌相分析

马群飞 杨毓环 陈伟伟

(福建省卫生防疫站 福州 350001)

摘要: 对瓶装饮用纯净水霉菌菌相进行研究分析。对福建省 59 家企业生产的 58 个牌号的瓶装纯净水采样 91 件进行调查, 在 58 件样品中共检出霉菌 461 株, 阳性率 63.74%。优势菌群是土壤、空气和植物性材料中的常见菌。霉菌检出与产品的菌落总数等常规卫生细菌学指标无显著相关性, 而与产品包装方式密切相关。菌相分析表明, 加工后期的交叉污染是终产品被霉菌污染的主要原因。

关键词: 霉菌, 瓶装饮用纯净水, 菌相

中图分类号: TS275.1, Q939.5 **文献标识码:** A **文章编号:** 0253-2654 (2001) 04-0069-04

ANALYSIS ON MYCOFLORA IN BOTTLED PURIFIED DRINKING WATER

MA Qun-Fei YANG Yu-Huan CHEN Wei-Wei

(Fujian Province Health and Anti-epidemic Station, Fuzhou 350001)

Abstract: The study on mycoflora in bottled purified drinking water was carried out. 91 Samples of products were collected from 59 bottling factories in Fujian Province and were examined and identified. 461 Strains of fungi were isolated from 58 (63.74%) different samples. Fungi imperfecti was the eumycetes isolated most frequently. These fungi were not closely related to the aerobic bacterial count and coliform of the studied waters but was clearly associated with the packaging of the products. The result confirmed that the cross contaminations on the process of post-purification were the main source of fungi in the final products.

Key words: Fungus, Bottled purified drinking water, Mycoflora

霉菌分布广泛, 污染饮用水后, 可通过产生危险的霉菌毒素甚至直接侵袭造成人群健康危害。此外, 霉菌还可导致瓶装成品出现絮状沉淀等感官异常现象。近年来,

收稿日期: 2000-01-18, 修回日期: 2000-06-05

瓶装天然矿泉水霉菌污染情况日渐受到重视,报告霉菌检出率在41.3%~72.9%之间。在进行菌相调查和分析后,一致认为灌装加工是导致污染的主要环节^[1]。而对瓶装饮用纯净水的相应研究则不够透彻。查明瓶装纯净水常见污染霉菌种类,将有助于采取正确的工艺控制手段。为此,我们进行了采样调查。

1 材料与方法

1.1 采样与调查

样品采自福建省各地59个瓶装饮用纯净水厂家生产的58个品牌73种包装的91个批次产品。并对企业的工艺流程、生产状况进行调查。其中,水处理设备采用反渗透膜过滤技术企业56家,电热蒸馏技术1家,电渗析加离子交换树脂2家。产品包装规格为268~600mL聚酯塑料瓶装的27件,18.9L(5 USgal)大桶装的64件。所有样品均经生产厂家当场确认,贴封条后送实验室检验。

1.2 常规卫生学检验方法

按国家标准GB 17324-1998瓶装饮用纯净水卫生指标进行样品菌落总数、大肠菌群、沙门氏菌、金黄色葡萄球菌和酵母计数等项目的检验。

1.3 霉菌计数及分类鉴定

表1 瓶装饮用纯净水霉菌菌相

检出菌属 (种群)	检出 株数	构成 (%)
青霉 <i>Penicillium</i>	123	26.68
拟青霉 <i>Paecilomyces</i>	90	19.52
曲霉 <i>Aspergillus</i>	68	14.75
黄曲霉 <i>A. flavus</i>	39	8.46
杂色曲霉 <i>A. versicolor</i>	17	3.69
黑曲霉 <i>A. niger</i>	7	1.52
白曲霉 <i>A. candidus</i>	2	0.43
温特曲霉 <i>A. wentii</i>	2	0.43
黄柄曲霉 <i>A. flavipes</i>	1	0.22
枝孢霉 <i>Cladosporium</i>	67	14.53
镰刀菌 <i>Fusarium</i>	50	10.85
木霉 <i>Trichoderma</i>	23	5.00
脉孢霉 <i>Neurospora</i>	5	1.09
蠕孢霉 <i>Helminthosporium</i>	4	0.87
丝核菌 <i>Rhizoctonia</i>	3	0.65
交链孢霉 <i>Alternaria</i>	3	0.65
轮枝孢霉 <i>Verticillium</i>	2	0.43
头孢霉 <i>Cephalosporium</i>	2	0.43
短梗霉 <i>Aureobasidium</i>	2	0.43
弯孢霉 <i>Curvularia</i>	2	0.43
根霉 <i>Rhizopus</i>	2	0.43
毛霉 <i>Mucor</i>	2	0.43
毛壳菌 <i>Chaetomium</i>	1	0.22
链孢霉 <i>Neurospora</i>	1	0.22
漆斑菌 <i>Myrothecium</i>	1	0.22
白僵菌 <i>Beauveria</i>	1	0.22
未知 Unknown	9	1.95
合计	461	100.00

每皿加2 mL水样,倾注孟加拉红琼脂,置27℃生化培养箱培养5 d计数,观察时只计丝状菌数。计数平板继续培养观察2~10 d,直接按常规方法进行分类鉴定^[2]。少数暂时无法确定的菌株,转接马铃薯葡萄糖琼脂试管斜面,培养后再鉴定。对曲霉属菌株均鉴定至种群(Group),其他霉菌鉴定至属(Genes)。

2 结果

2.1 瓶装饮用纯净水霉菌检出情况

肉眼观察多数样品感官正常,少数(3件)水样中已可见轻微絮状物悬浮。用吸管吸取絮状物置载玻片上,酸性品红乳酸溶液染色后,在高倍显微镜下发现絮状物为相互纠缠的真菌菌丝体。91件样品中33件未检出霉菌,58件分离霉菌1株以上,霉菌数量最多的样品为57 cfu/mL,检出率为63.74%。检出的霉菌种类较多,共20属461株。除青霉、拟青霉、曲霉、枝孢霉、镰刀菌、木霉等菌属占检出菌株数90%以上比例外,其他属、种出现频率较低(表1)。

2.2 霉菌检出与瓶装纯净水菌落总数相关性

91件水样常规微生物学指标合格率为20.88% (表2)。其中,菌落总数不合格43件,霉菌数不合格58件,酵母数不合格3件,分别占47.25%、63.74%和3.30%。所有检样的大肠菌群指标均合格,沙门氏菌及金黄色葡萄球菌均未检出。用四格表卡方测验比较细菌学指标与霉菌检出情况, $\chi^2 = 0.484$ 。按 $P > 0.05$ 的水平,认为两组差异无显著意义,可认为霉菌检出与常规细菌学指标没有明确相关性。

2.3 霉菌检出与纯净水产品包装规格的相关性

91件样品按包装规格分为小瓶装(容量268~600mL)和大瓶装(容量18.9L)两类,与霉菌检出情况进行相关性分析,卡方测验 $\chi^2 = 5.241$ 。按 $P < 0.05$ 的水平,确定两组差异有显著性(表3),说明不同的产品包装方式对霉菌检出率有影响。

表2 霉菌与细菌学指标相关性

霉菌 检出	细菌学指标		总计	超标率 (%)
	超标	合格		
+	29	29	58	50.00
-	14	19	33	42.42
合计	43	48	91	47.25

表3 霉菌与产品包装规格相关性

产品 包装 规格	霉菌		总计	检出率 (%)
	检出	未检出		
小瓶装	13	15	28	46.43
大瓶装	45	18	63	71.43
合计	58	33	91	63.74

3 讨论

3.1 优势菌群

91件试样的霉菌菌相分析表明,瓶装饮用纯净水中的优势菌群,主要来自半知菌类(Fungi imperfecti)的丛梗孢科(Moniliaceae),部分来自暗色孢科(Dematiaceae)和瘤座孢科(Tuberculariaceae),无孢群(Mycelia sterilia)、藻状菌纲(Phycomycetes)和子囊菌纲(Ascomycetes)菌株所占比例均不足1%。各菌属在菌相中的排位,相对简单地表明其主次地位。它们均非水生种类,而是空气、土壤和植物性材料的常见腐生菌^[2],但其中部分种类确能在水中生长^[1]。就单个试样检出的霉菌种群而言,变化相当大。与已完成的瓶装天然矿泉水霉菌菌相相比^[1],瓶装饮用纯净水中嗜湿性的头孢霉和短梗霉数量明显下降。

3.2 特性

瓶装饮用纯净水中优势霉菌的生长特性都是中温性或接近低温性,水活度要求也以嗜湿性为主^[3]。菌相的形成与纯净水特定的生产环境及工艺有关。除在自然界分布广泛外,强烈的产孢能力也是优势形成的主要原因。这些丝状真菌多数能产生大量干性小分生孢子。因此,在通过空气传播时,它们具有显著优势。干性孢子自降落后即粘着基质,不为潮湿所移去^[4]。如仅对包装材料(聚酯瓶、桶、塑料盖)简单冲洗,无法彻底除去其中粘附的霉菌孢子。值得关注的是,已知产毒菌属在菌相中占有较大比例。霉菌在瓶装纯净水中生长,是否产生霉菌毒素,尚不得而知。防止产品中的霉菌繁殖,极为困难。有研究表明,在灭菌后的水中,霉菌孢子更容易萌发^[4]。所以,经臭氧等消毒后的瓶装水,一旦被霉菌再次污染,危害可能更大。

3.3 来源

关注瓶装水霉菌污染的研究报告不少^[1],但对于这些霉菌的来源,众说纷纭。产品中检出的均非水生霉菌,说明水源并非霉菌的主要污染来源,而且运转正常的水处理系统(过滤、纯化和消毒)可轻易地将霉菌从水中除去,所以霉菌必然来自水源以外。各试样中检出的种群变化不定,故这些霉菌系偶然污染的可能性很大。从菌相看,这些霉菌的直接来源是土壤或植物性材料^[2]。菌相中气传真菌所占比例较大,因此认定空气必然是这些霉菌的间接来源。此外,几乎所有研究者均报告了包装材料的霉菌污染问题^[1]。

3.4 传播途径

霉菌在自然界中普遍存在,对瓶装水生产常用的消毒手段,如紫外线或臭氧灭菌方式,抵抗力较强,导致污染的机会很多。本次调查,瓶装纯净水的霉菌检出率为63.74%,表明目前生产工艺中普遍存在不正常的过程。霉菌必然来自与产品直接接触的环节。而霉菌检出与产品细菌学指标无相关性,说明两者污染途径不同。我们曾反复检测几个厂家反渗透或电热蒸馏系统的出水,均未检出霉菌,证实处理后的水并不是霉菌的主要传播媒介。本次调查证实包装规格对霉菌检出率有影响,说明大桶装纯净水生产工艺中污染环节更多。我们多次在生产厂家消毒清洗后的包装物(瓶、盖,尤其是大桶)中检出霉菌,说明在避免包装材料本身成为霉菌的二次污染源方面还有很多工作要做。实际上,不被注意的灌装设备,很可能是霉菌的另一个重要传播媒介。因菌相中优势菌主要通过空气传播分生孢子,自然联想到多数企业空气净化能力仍很低下。单从检验合格率方面看,瓶装纯净水的微生物污染情况与瓶装天然矿泉水非常类似,都是菌落总数和霉菌问题突出,大肠菌群及致病菌阳性极少。是否提示我们:这些微生物学问题与灌装工艺密切相关,而与水质类型关系不大。

3.5 建议

在现有工艺条件下,控制霉菌污染是完全可能的。首先应落实空气净化,保证产品不受空气中的霉菌孢子污染。之后,应完善对生产设备及包装材料的消毒,全面控制灌装环节的二次污染。如能应用液体超高温瞬间灭菌技术,结合耐热聚酯瓶灌装工艺,控制瓶装饮用纯净水的卫生质量,可望在短期内出现质的飞跃。

参 考 文 献

- [1] 马群飞, 邹 红. 环境与健康杂志, 1998, 15 (4): 189~191.
- [2] 中国科学院微生物研究所编著. 常见与常用真菌. 北京: 科学出版社, 1973, 21~276.
- [3] 王鸣岐, 文永昌. 粮食微生物手册. 上海: 上海科学技术出版社, 1965, 16~93.
- [4] 沃尔克 N. 土壤微生物学. 北京: 科学出版社, 1983, 189~233.