

2016~2017年娄底市包装饮用水中铜绿假单胞菌检验结果分析

胡铮蓉*, 仇红萍, 陈启洪, 曾莹, 袁邦群

(娄底市食品药品检验检测所, 娄底 417000)

摘要: 目的 了解娄底市辖区内包装饮用水中铜绿假单胞菌污染状况, 为监管部门日常监管和安全饮水提供理论依据。**方法** 2016~2017年在娄底辖区内从生产、流通环节采集包装饮用水共计383份, 按照相应国家标准检测铜绿假单胞菌和大肠菌群。**结果** 水样微生物指标总合格率为85.12%。饮用纯净水微生物指标均符合GB19298-2014《食品安全国家标准 包装饮用水》标准要求。2016年和2017年桶装水中铜绿假单胞菌检出率分别为22.16%和13.64%, 年度铜绿假单胞菌检出率差异无统计学意义($\chi^2=1.310, P>0.05$); 大肠菌群的检出率为2.35%, 与铜绿假单胞菌检出率比较, 差异有统计学意义($\chi^2=52.712, P<0.01$); 所有检出阳性样品中, 具有蓝、绿色典型阳性菌特征菌落比例为87.72%; 样品采集来源与样品合格率之间无统计学意义, 2016年($\chi^2=0.060, P>0.05$), 2017年($\chi^2=0.839, P>0.05$)。**结论** 桶装水存在铜绿假单胞菌污染隐患, 监管部门应加大监督管理力度, 配合企业查找问题源头, 保证消费者饮水安全。

关键词: 包装饮用水; 铜绿假单胞菌; 大肠菌群; χ^2 检验

Analysis of test result of *Pseudomonas aeruginosa* in packaged drinking water in Loudi city in 2016~2017

HU Zheng-Rong*, QIU Hong-Ping, CHEN Qi-Hong, ZENG Ying, YUAN Bang-Qun

(Loudi Food and Drug Inspection and Testing Institute, Loudi 417000, China)

ABSTRACT: Objective To understand the pollution status of *Pseudomonas aeruginosa* (*P. aeruginosa*) in packaged drinking water in Loudi city, and provide theoretical basis for the daily supervision of the supervision department and safe drinking water. **Methods** 383 samples were collected from the production and circulation in Loudi in 2016~2017, and *P. aeruginosa* and coliform in water were detected according to the national standards methods. **Results** The total qualified rate was 85.12%. The microbiological indexes of purified drinking water were in accordance the standard requirements of GB 19298-2014 Food safety national standard packaged drinking water. The detection rates of *P. aeruginosa* in barreled drinking water were 22.16% and 13.64% in 2016 and 2017, respectively. There was no statistical significance between the detection rate of *P. aeruginosa* annually ($\chi^2=1.310, P>0.05$). The detection rate of coliform was 2.35%. There was statistical significance on the difference when it was compared to the detection rate of *P. aeruginosa* ($\chi^2=52.712, P<0.01$). The ratio of typical positive bacteria accounted for 87.72% of all the positive samples. There was no statistical significance between the collection source and the detection rate: 2016

*通讯作者: 胡铮蓉, 硕士, 工程师, 主要研究方向为食品微生物检验。E-mail: hzrtc2000@163.com

*Corresponding author: HU Zheng-Rong, Master, Engineer, Loudi Food and Drug Inspection and Testing Institute, Loudi 417000, China. E-mail: hzrtc2000@163.com

($\chi^2=0.060$, $P>0.05$) and 2017 ($\chi^2=0.839$, $P>0.05$)。 **Conclusion** *P. aeruginosa* in barreled drinking water is evaluated to be a risk factor of healthy. The supervision department should strengthen supervision and management, cooperate with enterprises to find the source of problems and ensure the safety of drinking water for consumers.

KEY WORDS: packaged drinking water; *Pseudomonas aeruginosa*; coliform; χ^2 test

1 引言

随着人民物质生活需求的提高,包装饮用水在人们日常饮食扮演着不可或缺的角色^[1]。世界卫生组织制定的《饮用水水质准则》(guidelines for drinking-water quality)^[2]中明确提出,无论是在发达国家还是在发展中国家,微生物是引起饮用水有关安全问题的重要因素;准则同时还强调,优先确保充足供应在微生物方面安全的饮用水,并保证水的可接受性,以防止消费者饮用在微生物方面有潜在不安全因素的水。由此可见,饮水中微生物引起的危害被普遍认为是威胁饮水安全的首要问题,因此必须充分认识微生物污染的重要性。本文对娄底辖区内2016~2017年监督抽检和委托检验的包装饮用水进行铜绿假单胞菌检测,并研究铜绿假单胞菌和大肠菌群检出的相关性,为明晰辖区内包装饮用水的微生物污染状况和监管部门制定有效控制措施提供技术支持。

2 材料与方法

2.1 材料与仪器

2.1.1 样品来源

2016~2017年集中采集辖区内生产和流通环节各种品牌饮用纯净水和其他饮用水(桶装饮用水),共计383份,其中2016年采集236份(桶装饮用水176份,饮用纯净水60份),2017年采集147份(桶装饮用水132份,饮用纯净水15份)。

2.1.2 仪器与培养基

微生物限度仪 HTY-302G(杭州泰林生物技术股份有限公司);配套滤杯滤膜,自动菌落分析仪 G6(杭州迅数科技有限公司);三用紫外分析仪 ZF-2(上海安亭电子仪器厂)。

假单胞菌琼脂基础培养基/CN培养基、绿脓菌素测定用培养基、乙酰胺液体培养基、氧化酶试剂、金氏B(King's B)培养基、纳氏试剂、营养琼脂、结晶紫中性红胆盐琼脂培养基(VRBA)、煌绿乳糖胆盐肉汤培养基(BGLB),均采购自北京陆桥技术股份有限公司,经质控检测均确认为合格,均在有效期内使用。

2.1.3 标准菌株

铜绿假单胞菌(编号 ATCC27853)、大肠埃希氏菌(编号 ATCC25922),均采购于美国 Microbiologics 公司。

2.2 实验方法

2.2.1 检测方法

(1)铜绿假单胞菌检测

2017年6月23日前的样品依据 GB/T 8538-2008《饮用天然矿泉水检验方法》^[3]检测;2017年6月23日后的样品依据 GB 8538-2016《食品安全国家标准 饮用天然矿泉水检验方法》^[4]检测。

(2)大肠菌群检测

2017年6月23日前的样品依据 GB 4789.3-2010《食品安全国家标准 食品微生物学检验 大肠菌群计数》^[5]第二法检测;2017年6月23日后的样品依据 GB 4789.3-2016《食品安全国家标准 食品微生物学检验 大肠菌群计数》^[6]第二法检测。

2.2.2 评价标准

依据 GB19298-2014《食品安全国家标准 包装饮用水》^[7]进行结果判定。

2.3 统计学分析

使用 SPSS 19.0 软件(IBM, United States),采用 χ^2 检验, $P<0.05$ 为存在差异,有统计学意义。

3 结果与分析

3.1 包装饮用水检测结果

两年共检测水样 383 份,微生物参数总合格率为 85.12%(326/383)。其中 2016 年合格率为 83.47%(197/236);2017 年为 87.76%(129/147),连续两年饮用纯净水微生物指标检测均符合 GB19298-2014《食品安全国家标准 包装饮用水》标准要求;桶装饮用水铜绿假单胞菌检出率呈现下降趋势(22.16%→13.64%)。年度铜绿假单胞菌检出率之间差异无统计学意义($\chi^2=1.310$, $P>0.05$);年度大肠菌群检出率之间差异无统计学意义($\chi^2=0.143$, $P>0.05$)。包装饮用水微生物指标检测结果见表 1。

3.2 检出铜绿假单胞菌菌落形态分析结果

2016 年度 39 个检出样品中,34 个样品是典型的蓝、绿色菌落,均检出绿脓菌素,其中 5 个样品同时存在发荧光不产绿脓菌素的铜绿假单胞菌;剩余 5 个检出样品只存在荧光不产绿脓菌素的铜绿假单胞菌。2017 年度 18 个检出样品中,16 个样品均检出绿脓菌素,有典型的蓝、绿色菌落,其中 4 个样品同时存在发荧光不产绿脓菌素的铜绿假单胞菌;2 个样品只单独存在荧光不产绿脓菌素的铜绿

假单胞菌。两年水样结果均未检出红褐色无荧光铜绿假单胞菌。阳性样品中,滤膜上含典型的蓝、绿色菌落比例为87.72%(50/57),结果见表2。

3.3 铜绿假单胞菌检出率与大肠菌群检测结果相关性结果

检测数据表明辖区内包装饮用水中大肠菌群的合格率为97.65%(374/383),在不合格的9份样品中,均检出铜绿假单胞菌。大肠与铜绿假单胞菌检出率相比较,差异有统计学意义($\chi^2=52.712, P < 0.01$),结果见表3。

3.4 采样渠道结果分析

通过比较结果显示生产环节抽样合格率处于上升趋势,从82.76%提高到88.98%,说明辖区内饮用水生产企业在不断提高产品的质量。2017年流通环节合格率相比2016年结果有所降低,表明产品在货架期期间,贮存、运输等因素对产品品质同样有重要影响,应加强流通环节的部门监管。2016年样品采集来源与样品合格率之间无统计学意义($\chi^2=0.060, P > 0.05$);2017年样品采集来源与样品合格率之间无统计学意义($\chi^2=0.839, P > 0.05$),结果见表4。

表1 2016~2017年包装饮用水中微生物指标检测结果
Table 1 Test results of microbial indicators in packaged drinking water from 2016 to 2017

年份	类型	样品数 (份)	铜绿假单胞菌		大肠菌群	
			检出 (份)	检出率 (%)	检出 (份)	检出率 (%)
2016	桶装饮用水	176	39	22.16	5	2.84
	饮用纯净水	60	0	0	0	0
2017	桶装饮用水	132	18	13.64	4	3.03
	饮用纯净水	15	0	0	0	0
合计		383	57	14.88	9	2.35

表2 阳性菌菌落形态比例分析结果
Table 2 Analysis results of the morphological proportion of positive bacteria

年份	检出 (份)	典型蓝/绿 色菌落(份)	发荧光不产绿 脓菌素菌落(份)	红褐色无荧光 菌落(份)
2016	39	34	10	0
2017	18	16	6	0
合计	57	50	16	0
比例(%)		87.72	28.07	0.00

表3 铜绿假单胞菌与大肠菌群检出率相关性结果
Table 3 The detection results of correlation between *P. aeruginosa* and coliform bacteria.

铜绿假单 胞菌	样品数	大肠菌群		
		不合格数(份)	合格数(份)	合格率(%)
检出	57	9	48	84.21
未检出	326	0	326	100.00
合计	383	9	374	97.65

表4 各渠道包装饮用水合格率结果

Table 4 Test results of qualified rate of packaged drinking water in difference channels

	2016年			2017年		
	样品数	合格数 (份)	合格率 (%)	样品数	合格数 (份)	合格率 (%)
生产环节	135	112	82.96	118	105	88.98
流通环节	101	85	84.16	29	24	82.76
合计	236	197	83.47	147	129	87.76

4 结论与讨论

铜绿假单胞菌属于非发酵革兰氏阴性杆菌,广泛分布于自然界中,是常见的环境微生物,是一种条件致病菌^[8]。大肠菌群作为肠道致病菌而被用于水质检测,是评价食品卫生质量的重要指标之一^[9]。GB19298-2014《食品安全国家标准 包装饮用水》中删除了菌落总数、霉菌和酵母计数、金黄色葡萄球菌等微生物限量指标,仅剩大肠菌群、铜绿假单胞菌的限量及检验方法规定。国内外关于包装饮用水铜绿假单胞菌的污染研究报告检出率在1.2%~23.6%^[10],本文铜绿假单胞菌检出率(14.88%)也在此区间内,低于李莉等^[11]报道的26.0%检出率和李红等^[12]报道的20.00%检出率,高于袁丹茅等^[13]报道的8.67%检出率和罗绍楠等^[14]报道的2.64%检出率;检出铜绿假单胞菌及大肠菌群的均为桶装水。所检得阳性菌菌落特征87.72%为典型的蓝/绿色,两年水样结果均未检出红褐色无荧光铜绿假单胞菌,与石文松等^[15]的研究结果类似。条件致病菌铜绿假单胞菌与卫生指示菌大肠菌群检出率有明显差异($P < 0.01$),这也与骆业巧^[16]的研究类似。抽检渠道对样品合格率的差异无统计学意义($\chi^2=0.839, P > 0.05$),与漯河市的结论一致^[17]。正常情况下,水源的选择,生产工艺的改进和完善,使得桶装水的产品出厂质量有了很大的提高;有文献指出刚出厂的瓶装水的铜绿假单胞菌含量极少,但在保质期内,可自行增殖至 1×10^4 CFU/mL^[18]。铜绿假单胞菌的繁殖除了会产生异味等感官异常现象外,还可以改变水的理化性质,如增加亚硝酸盐含量^[19]。出厂后的桶装水的贮藏、运输和销售过程中控制不当,处于货架期的水中微生物会迅速增殖,从而会公共健康构成潜在威胁,因此微生物的预防在生产环节和流通环节同等重要。

2017年6月,娄底市开展桶装水专项整治活动,在辖区水厂现场取样检测并进行生产车间环境监测,结果表明:(1)紫外杀菌系统开启30 min后,采用GB/T 16294-2010《医药工业洁净室(区)沉降菌的测试方法》^[20]对灌装车间的进行沉降菌检测,可达到局部百级;(2)在多个取样口径无菌取样生产用源水,均检出铜绿假单胞菌。生产企业应严格执行GB16330-1996《饮用天然矿泉水厂卫生规范》^[21]的水源卫生防护规定,封闭或隔离取水井,采取防护措施,

避免周围环境的污染。对源水池进行定期的排空和清洗消毒,除去矿物质沉淀和其他微生物营养源杂质,以杜绝微生物繁殖;(3)已消毒空桶内部经擦拭取样检测,未检出铜绿假单胞菌和大肠菌群;(4)已消毒空桶盖经擦拭取样检测,未检出铜绿假单胞菌和大肠菌群。

综上所述,有关生产企业严格按照生产规范要求作业,从生产人员、生产设备、水源水及包装物、生产工艺、生产环境、质量安全检测6个方面提升产品质量,把好产品源头质量关,同时监管机构加大抽查监督力度,才能确保人民群众饮水安全。

参考文献

- [1] 2015年包装饮用水销量为8766万吨[EB/OL]. [2016-06-06]. <http://www.askci.com/news/dxf/20160606/11492025597.shtml>. Packaged drinking water consumption in 2015 was 87.66 million tons [EB/OL]. [2016-06-06]. <http://www.askci.com/news/dxf/20160606/11492025597.shtml>.
- [2] World Health Organization. Guidelines for drinking-water quality [M]. Fourth edition. Geneva, 2011.
- [3] GB/T 8538-2008 饮用天然矿泉水检验方法[S]. GB/T 8538-2008 Methods for examination of drinking natural mineral water [S].
- [4] GB 8538-2016 食品安全国家标准 饮用天然矿泉水检验方法[S]. GB8538-2016 National food safety standard-Methods for examination of drinking natural mineral water [S].
- [5] GB 4789.3-2010 食品安全国家标准食品微生物学检验大肠菌群计数[S]. GB4789.3-2010 National food safety standard-Food microbiological examination Enumeration of coliforms [S].
- [6] GB 4789.3-2016 食品安全国家标准 食品微生物学检验大肠菌群计数[S]. GB4789.3-2016 National food safety standard-Food microbiological examination Enumeration of coliforms [S].
- [7] GB 19298-2014 食品安全国家标准 包装饮用水[S]. GB19298-2014 National food safety standard-packaging of drinking water [S].
- [8] Georgieva V, Dimitrova Y. Study of the microbiological quality of bulgarian bottled water in terms of its contamination with *pseudomonas aeruginosa* [J]. Cent Eur J Public Health, 2016, 24(4): 326-330.
- [9] 刘宏道. 大肠菌群作为食品粪便污染指标的卫生学意义[J]. 食品工业科技, 1980, (3): 33-39. Liu HD. Hygienic significance of coliforms as food poisoning indexes [J]. Sci Technol Food Ind, 1980, (3): 33-39.
- [10] 马群飞, 陈伟伟, 杨毓环, 等. 瓶装饮用纯净水铜绿假单胞菌污染情况调查[J]. 食品科学, 2000, 21(2): 50-52. Ma QF, Chen WW, Yang YH, et al. Investigation on the pollution of *Pseudomonas aeruginosa* in bottled purified drinking water [J]. Food Sci, 2000, 21(2): 50-52.
- [11] 李莉, 朱晓露, 马会会. 桶装饮用水中铜绿假单胞菌的检测分析[J]. 中国卫生检验杂志, 2016, (3): 409-410. Li L, Zhu XL, Ma HH. Detection and analysis of *Pseudomonas aeruginosa* in bottled drinking water [J]. Chin J Health Lab Technol, 2016, (3): 409-410.
- [12] 李红, 陈松, 周汉洪, 等. 达州市售桶装水微生物污染比较分析[J]. 预防医学情报杂志, 2017, 33(2): 101-104. Li H, Chen S, Zhou HH, et al. Comparative analysis of microbiological contamination of commercially bottled water in Dazhou city [J]. J Prev Med Inf, 2017, 33(2): 101-104.
- [13] 袁丹茅, 金建潮, 张彦锋, 等. 2014-2016年龙岩市桶装饮用水中铜绿假单胞菌污染监测[J]. 河南预防医学杂志, 2017, 28(12): 960-961. Yuan DM, Jin JC, Zhang YF, et al. Monitoring of pollution of *Pseudomonas aeruginosa* bottled drinking water from 2014 to 2016 in Longyan [J]. Henan J Prev Med, 2017, 28(12): 960-961.
- [14] 罗绍楠, 戴奕杰, 孙端方. 贵州省包装饮用水中铜绿假单胞菌污染情况分析[J]. 食品安全导刊, 2017, (8): 72-73. Luo SN, Dai YJ, Sun DF. Survey of *Pseudomonas aeruginosa* contamination in packaged drinking water in Guizhou province [J]. Food Saf Guide, 2017, (8): 72-73.
- [15] 石文松, 胡卓, 罗雨阳, 等. 某市包装饮用水铜绿假单胞菌污染状况分析[J]. 食品安全质量检测学报, 2018, 9(4): 757-759. Shi WS, Hu Z, Luo YY, et al. Analysis of the contamination status of *Pseudomonas aeruginosa* in packed drinking water in some city [J]. J Food Saf Qual, 2018, 9(4): 757-759.
- [16] 骆业巧. 包装饮用纯净水微生物污染情况分析[J]. 食品安全质量检测学报, 2017, 8(1): 360-363. Luo YQ. Analysis of the microbial contaminations of packaged drinking purified water [J]. J Food Saf Qual, 2017, 8(1): 360-363.
- [17] 郭辽朴, 仁蕴慧, 牛世文. 2013-2014年漯河市桶装饮用水中铜绿假单胞菌污染状况调查[J]. 中国卫生工程学, 2017, (1): 33-35. Guo LP, Ren YH, Niu SW. Pollution investigation of *pseudomonas aeruginosa* in bottled drinking water of Luohe city between 2013 and 2014 [J]. Chin J Public Health Eng, 2017, (1): 33-35.
- [18] Balkwill DL, Fredrickson JK, Thomas JM. Vertical and horizontal variations in the physiological diversity of the aerobic chemoheterotrophic bacterial microflora in deep southeast coastal plain subsurface sediments [J]. Appl Environ Microbiol, 1989, 55(5): 1058-1065.
- [19] 张润生. 2012年某市桶装饮用水卫生质量调查分析[J]. 疾病监测与控制, 2013, 7(4): 203-205. Zhang RS. Investigated analyze one city Inner Mongolia beauty salon appliances survey of health [J]. J Dis Monitor Control, 2013, 7(4): 203-205.
- [20] GB/T 16294-2010 医药工业洁净室(区)沉降菌的测试方法[S]. GB/T16294-2010 Test method for settling microbe in clean room(zone) of the pharmaceutical industry [S].
- [21] GB16330-1996 饮用天然矿泉水厂卫生规范[S]. GB16330-1996 Hygienic specifications of factory for drinking natural mineral water [S].

(责任编辑: 杨翠娜)

作者简介



胡铮璐, 硕士, 工程师, 主要研究方向为食品微生物检测。

E-mail: hzrtc2000@163.com