

四川省桶装饮用水回收桶中铜绿假单胞菌的污染状况调查

张建军, 唐轶君, 王 灿, 黄 瑛, 董 丽, 黄泽玮, 崔学文*

(四川省食品药品检验检测院, 成都 611731)

摘 要: 目的 研究桶装饮用水回收桶中铜绿假单胞菌的污染情况以及清洗消毒工序消除铜绿假单胞菌的有效性。**方法** 参考 GB 8538-2016《食品安全国家标准 饮用天然矿泉水检验方法》中铜绿假单胞菌滤膜过滤法, 对大中小型(各 2 家)桶装饮用水生产企业的清洗消毒工序前后的回收桶进行检测, 并对检出的微生物进行鉴定。

结果 大中小型生产企业的回收桶清洗消毒前的铜绿假单胞菌的检出率依次为 75%、80%、70% (平均 75%), 清洗消毒后的检出率依次为 0、20%、45% (平均 22%), 同时检出其他假单胞菌及不动杆菌。**结论** 桶装饮用水回收桶中铜绿假单胞菌的污染普遍比较严重, 中小企业的现有清洗消毒工序不足以清除铜绿假单胞菌。

关键词: 桶装饮用水; 回收桶; 铜绿假单胞菌; 清洗消毒工序; 有效性

Investigation on the contamination of *Pseudomonas aeruginosa* in recycling barrels of barreled drinking water in Sichuan province

ZHANG Jian-Jun, TANG Yi-Jun, WANG Can, HUANG Ying, HUANG Ze-Wei, CUI Xue-Wen*

(Sichuan Institute for Food and Drug Control, Chengdu 611731, China)

ABSTRACT: Objective To investigate the *Pseudomonas aeruginosa* pollution in recycling barrels of barreled drinking water and evaluate the efficiency of its cleaning and disinfection process. **Methods** According to the *Pseudomonas aeruginosa* filtration membrane filtration method in GB 8538-2016 *National Food Safety Standard-Drinking natural mineral water inspection method*, the recycling barrels before and after the cleaning and disinfection process of large, medium and small (each two) sized drinking water production enterprises were tested, and the detected microorganisms were identified. **Results** The detection rate of *Pseudomonas aeruginosa* before cleaning and disinfection process in the recycling barrels of large, medium and small production enterprises was 75%, 80% and 70%, respectively (the average value was 75%). After cleaning and disinfection process, the detection rate was 0, 20%, 45% (the average value was 22%), meanwhile other *Pseudomonas* and *Acinetobacter* were detected. **Conclusion** It is a prevalent severe pollution of *P. aeruginosa* in recycling barrels for these small and medium enterprises, and the prevailing process of cleaning and disinfection is not effective enough to disinfect *P. aeruginosa*.

KEY WORDS: barreled drinking water; recycling barrels; *Pseudomonas aeruginosa*; cleaning and disinfection process; effectiveness

基金项目: 国家重点研发计划食品安全关键技术研发重点专项(2018YFC1603900)、四川省食品药品监督管理局课题(2018-0203)

Fund: Supported by National Key R&D Program in Key Technologies of Food Safety (2018YFC1603900), and Project of Sichuan Food and Drug Administration (2018-0203)

*通讯作者: 崔学文, 副主任药师, 主要研究方向为微生物检验与研究。Email: ruixidddd@163.com

*Corresponding author: CUI Xue-Wen, Associate Chief Pharmacist, Sichuan Institute for Food and Drug Control, No.8 Xinwen Road, Gaoxin West District, Chengdu 611731, China. Email: ruixidddd@163.com

1 引 言

铜绿假单胞菌是一种水源性和食源性致病菌,它在水、土壤、食品以及医院等环境中广泛存在,尤其喜欢在潮湿的环境中生长繁殖,因为水为该细菌提供了有利的生长条件。铜绿假单胞菌生长代谢过程中可以产生多种内毒素、外毒素等致病因子,人感染后可引起局部化脓性炎症等各种疾病,还可以引起新生儿较为严重的感染如腹泻等症状^[1]。随着人民生活水平的提高,包装饮用水在人们的生活中的需求量也日益增多。但是近几年我国食药系统对包装饮用水的监督抽检中发现其不合格率比较突出,其中桶装饮用水中铜绿假单胞菌检出率远高于其他包装形式的饮用水。四川省因水资源丰富、水质优良等优势,多年来一直是国内包装饮用水的生产大省,同样存在桶装饮用水中铜绿假单胞菌检出率远高于其他包装饮用水的问题^[2]。

目前国内市场销售的包装饮用水包装形式主要包括桶装、瓶装以及袋装。而国内包装饮用水中水处理工艺大体一致,即源水→初滤→精滤→去离子化[离子交换、反渗透(多为纯净水)及其他加工方法]→杀菌→灌装封盖[瓶(桶)及其盖的清洗消毒]→灯检→成品^[3]。国内现有文献均表明水处理过程中微生物的主要来源为源水、离子交换等过程的污染^[4],而经过滤、臭氧消毒等工艺后水的质量(灌装前)比较稳定,铜绿假单胞菌的检出率很低^[5]。其中瓶装及袋装饮用水的包装容器均采用的一次性高温吹塑成型,因其生产及灌装过程都是在全封闭高温环境下进行,故在此过程受到微生物污染风险较小^[6],从而此类包装形式饮用水中铜绿假单胞菌的检出率也很低。而桶装饮用水,因受到生产工艺及生产成本的限制,目前绝大部分生产企业均采用的是回收桶清洗消毒再利用,回收桶的清洗消毒工序在饮用水生产过程中较为复杂,风险点难以把控,给生产企业带来了不少的困扰^[7]。针对上述问题,本研究调研了四川省内 6 家桶装水生产企业,实地调研回收桶清洗消毒工艺及设备,并在回收桶清洗前后实地采样按照 GB 8538-2016《食品安全国家标准 饮用天然矿泉水检验方法》^[8]检测,分析污染原因并提出相应防控措施,以期有效提高回收桶的清洗消毒效果,减少铜绿假单胞菌的污染,从而提高生产企业的产品质量。

2 材料与方法

2.1 材 料

2.1.1 样品来源与采样方式

在省内共选取了 6 家桶装水生产企业对回收桶清洗工艺进行实地采样,其中包括大型企业 2 家(年产量 2000 万桶以上),中型企业 2 家(年产量 1000 万桶),小型企业 2 家(年产量小于 100 万桶);每家企业选取 10 个回收桶并标记编号,在清洗消毒前对已编号的回收桶用 250 mL 无菌生理盐水滴洗内壁后取出滴洗水,再将上述 10 个回收桶放入清洗设备进行清洗消毒,清洗消毒完毕后在灌封工序前对上述已编号的 10 个回收桶以上述方法再次取样。共计样本 120 份。

2.1.2 所用培养基与仪器

CN 琼脂培养基(批号: 20180524, 青岛海博生物技术有限公司); 乙酰胺肉汤(批号: 170601)、金氏 B 培养基(批号: 180709, 北京陆桥技术股份有限公司); 氧化酶试纸(6104223, 广东环凯微生物科技有限公司)。

BioSart16824 薄膜过滤装置(德国赛多利斯公司); autoflex speed 基质辅助激光解析电离飞行时间质谱(美国布鲁克公司)。

2.2 检测与鉴定方法

参照 GB 8538-2016《食品安全国家标准 饮用天然矿泉水检验方法》以 250mL 水样进行薄膜过滤,检测铜绿假单胞菌,并将 CN 培养基上分离出的非铜绿假单胞菌用基质辅助激光解吸电离飞行时间质谱法(matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight mass spectrometry)进行鉴定^[9]

3 结果与分析

表 1 和图 1 表明,清洗消毒前大中小型生产企业的回收桶已被多种微生物污染,且均检出了铜绿假单胞菌(检出率分别为 75%、80%、70%)。清洗消毒后,大型企业的回收桶中未检出铜绿假单胞菌,而中小企业的回收桶仍然能够检出(检出率分别为 20%、45%)。图 1 和图 2 表明,清洗消毒前,回收桶除了铜绿假单胞菌以外,还大量存在其他假单胞菌、球菌和杆菌,且大型企业的检出数量明显少于中小型企业。清洗消毒后,回收桶中假单胞菌属和芽孢杆菌属微生物仍然有不同程度的存在^[10],虽然大型企业没有检出铜绿假单胞菌,但是非目标菌也有不同程度的检出^[11]。

表 1 6 家企业回收桶清洗消毒前后铜绿假单胞菌检测情况

Table 1 Detection of *Pseudomonas aeruginosa* in recycling barrels before and after cleaning and disinfection in 6 enterprises

	规模	企业编号	样本数/个	检出数/个	检出率/%	平均检出率/%	总平均检出率/%	
清洗消毒前	小型	A	10	8	80	70	75	
		B	10	6	60			
	中型	C	10	7	70	80		
		D	10	9	90			

续表 1

	规模	企业编号	样本数/个	检出数/个	检出率/%	平均检出率/%	总平均检出率/%
清洗消毒后	大型	E	10	8	80	75	22
		F	10	7	70		
	小型	A	10	4	40	45	
		B	10	5	50		
	中型	C	10	3	30	20	
		D	10	1	10		
	大型	E	10	0	0	0	
		F	10	0	0		

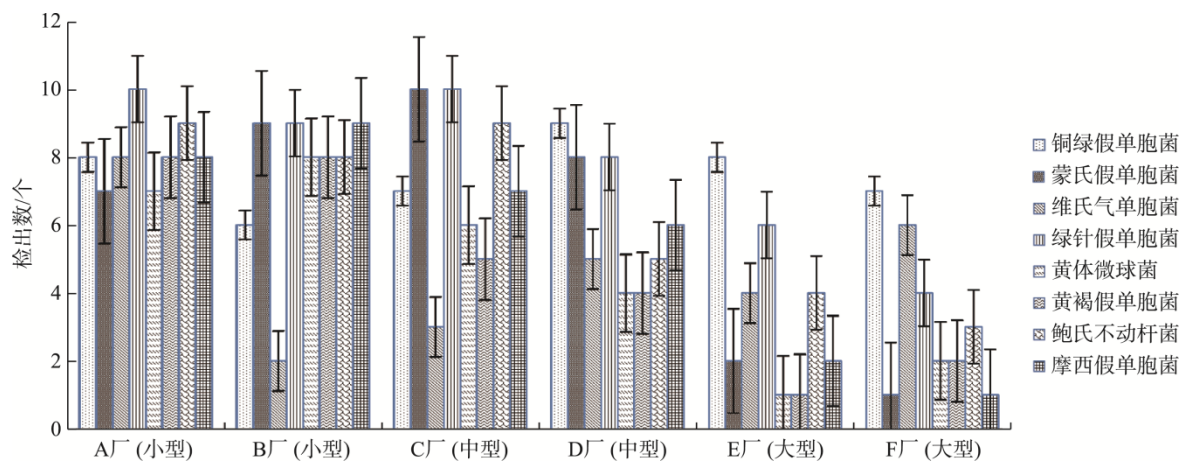


图 1 6 家企业各 10 个回收桶清洗消毒前微生物种类与检出数
Fig.1 Microbial species and detected numbers from 10 recycling barrels before cleaning and disinfection in 6 enterprises

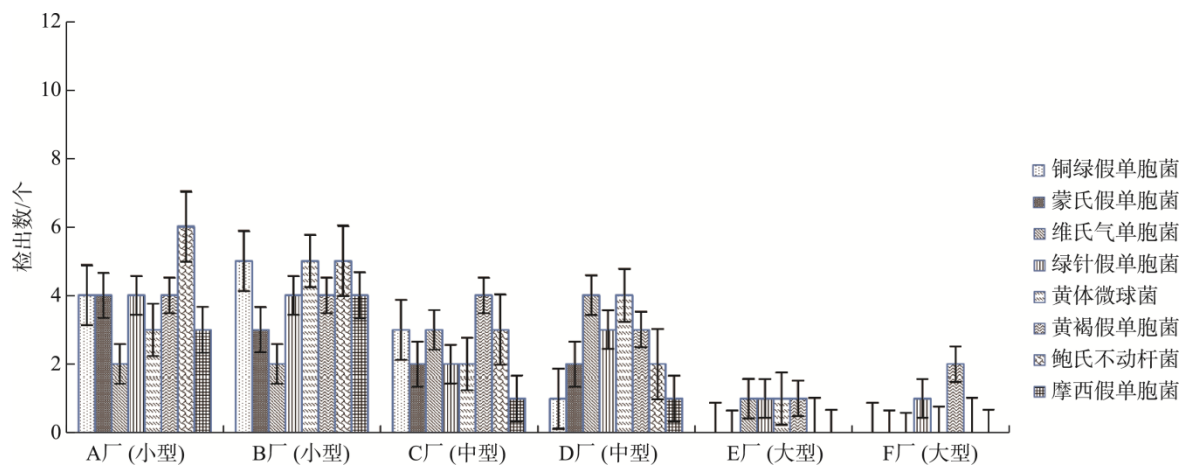


图 2 6 家企业各 10 个回收桶清洗消毒后微生物种类与检出数
Fig.2 Microbial species and number of detected numbers from 10 recycling barrels after cleaning and disinfection in 6 enterprises

综合以上结果可以看出,回收桶的清洗消毒效果并不彻底,清洗消毒后的回收桶不能保证 100%的没有微生物污染,甚至中小企业在清洗后的回收桶中仍然能够检出铜绿假单胞菌。这也可以解释不少企业成品水在灌封前铜绿假单胞菌检出率较低,而经过灌封包装后桶装水的铜绿假单胞菌检出率较高的“异常”现象,主要是由于回收桶中的铜绿假单胞菌残留,造成了二次污染。

4 讨 论

4.1 回收桶清洗前微生物污染分析

本次调研的 6 家企业回收桶在清洗前均检出铜绿假单胞菌及其他微生物,其原因是回收桶在运输、销售以及使用过程外界环境污染造成的。因在销售、运输以及使用的过程中不可控因素较多,故此类污染难以避免。

4.2 回收桶材质及清洗前的存放

本次调研的 6 家企业所使用的回收桶材料均符合 GB 19304-2018《食品安全国家标准 包装饮用水生产卫生规范》^[12]的要求使用聚碳酸酯(polycarbonate, PC)材料,其中大型企业包装桶为进口 PC 颗粒材料制作,不添加回收料,桶质量更好更耐用,不易损坏。企业均对回收桶设有外观检查人员,对过脏或破损的桶在初期会被筛除,大型企业还设置了桶检漏设备进行细小渗漏检测,在一定程度上提高了外观检查的质量;在回收桶存放方面,中小企业由于生产场地限制,回收桶在清洗前都是随意堆放,直接暴露于外界环境中,且在清洗前桶内有大量残留水,并未及时倾倒,直接放入清洗设备中清洗。而大型企业回收桶均在厂房内堆码放置,并在清洗前都将桶内剩余水全部倾倒在指定位置,并且设置了回收桶外洗机^[13],有效避免二次污染的同时也降低了后续消毒设备的消毒压力。

4.3 回收桶清洗消毒工序的有效性

6 家企业所使用的消毒剂主要是二氧化氯或过氧乙酸^[14],但是只有大型企业定期交替使用不同的消毒液对回收桶进行消毒,而中小企业长期只使用一种消毒液。曾晓琮等^[15]有研究显示,长期使用一种消毒剂消毒微生物容易产生耐药性,从而降低消毒效果;在消毒剂配制方面,不少中小企业没有结合实际情况(如配制用水 pH,水温等)单纯参照说明书方法配制,而大型企业则会根据实际情况来配制消毒液,从而保证消毒液的最大活化效果;另外,大型企业消毒液的配制都是临用现配,没用完的消毒液都会及时倾倒,而不少中小企业因过分考虑成本问题,消毒液没有保证现配现用,个别企业使用的消毒液甚至是一个星期前配制的,严重影响了消毒效果;清洗设备设计及运行维护方面,目前大多数企业回收桶消毒设备均采用的高压水枪对桶内壁冲洗方式消毒,本次调研的 6 家生产企业清洗消毒设备工位数均满足《饮料生产许可审查细则

(2017 版)》^[16]中包装饮用水审查细则的最低要求(不少于 10 个)^[17],但是大型企业的消毒工位远高于细则要求(一般在 20 个工位左右),并设立了消毒液在线浓度监控,整个过程都是全自动完成,研究发现较多中小企业消毒设备上没有消毒液在线浓度监控,且消毒液补液方式仍然采用的是人工添加,这极大可能会增加消毒过程二次污染的风险。消毒液浓度与消毒液浸泡时间过短,会影响回收桶的消毒效果,所以较多的工位数可以有效的延长消毒液对桶的冲洗时间,而装备消毒液浓度在线监控系统可以保证消毒液的有效浓度;在设备运行维护方面,大型生产企业定期检查并清理消毒喷头,在生产过程中,坚持巡查冲洗水的流量与压力,并检查喷头是否对正,是否能够覆盖桶内壁,而中小型企业较少维护措施,在调查中我们发现个别中小企业完全没有设备运行巡查意识,无法保证设备运行过程的正常性;在清洗消毒结束后所有企业虽都对生产环境及消毒设备进行清理消毒,但是对比发现大部分中小企业对设备清洗后,设备上仍然有大量水残留。因包装饮用水生产工艺流程的特殊性,设备容易积水导致空气中的微生物沉降在表面并形成生物膜,造成二次污染。

4.4 企业检验能力

本次所调研的企业均按照 GB 19304-2018 的相关要求设立了检验室,但是检验室设备及检测人员能力差别较大:大型生产企业不仅配备较全面的检验设备,所配套的检测人员也经过专业培训,能够独立完成包装饮用水微生物的相关检测项目,并且能够保障每一批生产的产品都是通过检验合格后才发出。相比个别中小型企业,检测设备简陋,不能满足检测要求,相关检测人员没有经过专业培训,生产的产品也不能保证每批次都进行检测。这样很难保证产品的出厂的产品质量。

4.5 成品的检验时间间隔

在本次调研过程中企业反映一个现象:在产品出厂检验时未检出铜绿假单胞菌,但是同批次产品间隔 3~5 d 再次检验却能够检出铜绿假单胞菌,而瓶装水却没有此种情况出现,企业调查桶装水包装完好没有破损。针对此种情况,结合之前调研回收桶的清洗消毒结论,在成品中检出的铜绿假单胞菌主要是由未清洗消毒彻底的回收桶所带入的,王灿等^[18]的研究结果也印证我们的结论,同时表明回收桶中的铜绿假单胞菌的污染水平为 3~10 CFU/桶,按照其研究回收桶的体积规格 18.9L 及国家标准检测铜绿假单胞菌的取样量 250 mL 计算,每 250 mL 中铜绿假单胞菌的理论数量为 0.04~0.13 CFU,低于方法的检出限所以检测不出目标菌。但是产品存放一段时间后目标菌得以生长繁殖,再取样时就能够检测出目标菌了。这个现象反映出桶装水检验还应考虑时间间隔,使检验更具代表性。

4.6 相关建议

针对以上回收桶清洗消毒的问题,我们提出5点建议;

(1) 建议生产企业结合 GB 19304-2018《食品安全国家标准 包装饮用水生产卫生规范》以及《饮料生产许可审查细则(2017版)》中生产环境的要求,合理设置生产区域,避免工作区域与非工作区域重合,规范摆放回收桶避免暴露于外界环境,及时倾倒桶内残留水,避免交叉污染。(2) 建议企业根据实际情况(如:配制用水的 pH、温度等)参照消毒剂使用说明配制消毒剂,以便使消毒剂达到最大活化效果。并结合生产频率,交替使用消毒剂,避免发生微生物耐药性。在消毒设备上建议装备在线监测消毒液浓度以及自动添加消毒液的装置,提高消毒效率,避免发生二次污染。(3) 建议企业制定完善的设备清洗程序,严格按照程序对仪器设备进行维护清洗,避免桶清洗水箱内部结垢或形成生物膜。(4) 建议企业对回收桶清洗消毒工序进行优化,增加工位至20个及以上,并增加消毒液冲洗时间,提高清洗消毒效率。(5) 建议企业完善检测设备,加强相关检测人员的检验能力,并制定完善的出厂检验制度,根据自身产品情况制定合理的出厂检验时间间隔。从而有效保证产品质量。

5 结 论

本研究表明,四川省内桶装饮用水回收桶中铜绿假单胞菌的污染普遍比较严重,大型企业的清洗消毒工序可有效清除回收桶中的铜绿假单胞菌,而中小企业的清洗消毒工序不足以清除回收桶中的铜绿假单胞菌。建议桶装饮用水生产企业重视回收桶的存放管理,优化清洗消毒工序,提高检验能力,合理设置检验时间间隔,从而降低桶装饮用水中铜绿假单胞菌的检出率。

参考文献

- [1] 陈松,李红,李德华,等.桶装饮用水中铜绿假单胞菌污染情况分析[J].现代预防医学,2015,42(6):1129-1130,1135.
Chen S, Li H, Li DH, et al. Analysis of *Pseudomonas aeruginosa* pollution in barreled drinking water [J]. Mod Prev Med, 2015, 42(6): 1129-1130, 1135.
- [2] 周浩,张洪伟,朱文斌,等.2015~2018年成都市包装饮用水中铜绿假单胞菌污染情况分析[J].食品安全质量检测学报,2018,9(24):6586-6589.
Zhou H, Zhang HW, Zhu WB, et al. Analysis of *Pseudomonas aeruginosa* contamination in packaged drinking water in Chengdu from 2015 to 2018 [J]. J Food Saf Qual, 2018, 9(24): 6586-6589.
- [3] 许晓云,陈倩,刘琦,等.包装饮用水生产线中铜绿假单胞菌的检测与防控[J].饮料工业,2018,(21):14-18.
Xu XY, Chen Q, Liu Q, et al. Detection and control of *Pseudomonas aeruginosa* in packaged drinking water production line [J]. Beverag Ind, 2018, (21): 14-18.
- [4] 张丽,张继红,言剑,等.包装饮用水中铜绿假单胞菌污染控制及生产加工工艺改进[J].食品安全导刊,2017,(36):151-153.
Zhang L, Zhang JH, Yan J, et al. Pollution control and production process improvement of *Pseudomonas aeruginosa* in drinking water packaging [J]. Chin Food Saf Magaz, 2017, (36): 151-153.
- [5] 邢文静.铜绿假单胞菌检测方法[J].食品安全导刊,2017,(9):114-115.
Xing WJ. Detection method of *Pseudomonas aeruginosa* [J]. Chin Food Saf Magaz, 2017, (9): 114-115.
- [6] 陈玲,杨小鹏,陆永成,等.包装饮用水生产工艺中微生物风险分析[J].现代食品科技,2018,34(9):277-282.
Chen L, Yang XJ, Lu YC, et al. Microbial risk analysis in the production process of packaged drinking water [J]. Mod Food Sci Technol, 2018, 34(9): 277-282.
- [7] 孙惠,李兴华,王有良,等.饮用纯净水生产工作原理及相关技术探究[J].价值工程,2015,(1):319-320.
Sun H, Li XH, Wang YL, et al. Working principle and related technologies of drinking pure water production [J]. Value Eng, 2015, (1): 319-320.
- [8] GB 8538-2016 食品安全国家标准 饮用天然矿泉水检验方法[S].
GB 8538-2016 National food safety standard-Drinking natural mineral water inspection method [S].
- [9] 崔学文,罗慧萍,李增婷,等.基质辅助激光解吸电离飞行时间质谱在铜绿假单胞菌鉴定中的应用[J].现代预防医学,2016,43(10):1862-1867.
Cui XW, Luo HP, Li ZT, et al. Application of matrix-assisted laser desorption ionization time-of-flight mass spectrometry in identification of *Pseudomonas aeruginosa* [J]. Mod Prev Med, 2016, 43(10): 1862-1867.
- [10] 罗绮珊,黄启红.包装饮用水生产工艺过程微生物污染的检测与评估[J].饮料工业,2011,14(9):46-48.
Luo QS, Huang QH. Detection and evaluation of microbial contamination in the production process of packaged drinking water [J]. Beverag Ind, 2011, 14(9): 46-48.
- [11] 魏磊,吴清平,张菊梅,等.矿泉水和山泉水中铜绿假单胞菌污染调查及分离菌株毒力基因与耐药性分析[J].微生物学通报,2015,42(1):125-132.
Wei L, Wu QP, Zhang JM, et al. The pollution survey of *Pseudomonas aeruginosa* in mineral water and spring water and the analyses of virulence genes and antibiotic resistance of the isolates [J]. Microbiol China, 2015, 42(1): 125-132.
- [12] GB 19304-2018 食品安全国家标准 包装饮用水生产卫生规范[S].
GB 19304-2018 National food safety standard-Hygienic code for production of packaged drinking water [S].
- [13] 董晓明.桶装水外洗机的优化设计及应用[J].机电技术,2018,6:8.
Dong XM. Optimum design and application of barreled water washer [J]. Electromechan Technol, 2018, 6: 8.
- [14] 张晓娜.二氧化氯消毒在饮用水处理中的应用[J].城镇供水,2019,(1-4):15-17.
Zhang XN. Application of chlorine dioxide disinfection in drinking water treatment [J]. Urban Water Supply, 2019, (1-4): 15-17.
- [15] 曾晓琮,苏妙贞,韩志杰,等.桶装水中铜绿假单胞菌耐药性分析及RAPD-PCR分型研究[J].现代食品科技,2017,33(4):114-119,314

Zeng XW, Su MZ, Han ZJ, *et al.* Drug resistance analysis and RAPD-PCR typing of *Pseudomonas aeruginosa* in barreled water [J]. *Mod Food Sci Technol*, 2017, 33(4): 114–119, 314.

- [16] 国家食品药品监督管理总局. 饮料生产许可审查细则(2017 版)[S].

State Food and Drug Administration. Rules for the examination of beverage production licensing (2017 Edition) [S].

- [17] 温金梅. 饮料(包装饮用水类)食品生产许可审查细则的解读[J]. *中国质量与标准导报*, 2018, (9): 57–60.

Jin WM. Interpretation of the detailed rules for the examination of the production license of beverage (packaged drinking water category) food [J]. *China Qual Standard Rev*, 2018, (9): 57–60.

- [18] 王灿, 张林, 张建军, 等. 四川省桶装饮用水铜绿假单胞菌污染情况调查及防控措施研究[J]. *食品安全质量检测学报*, 2019, 10(14): 4619–4623.

Wang C, Zhang L, Zhang JJ, *et al.* Investigation of *Pseudomonas aeruginosa* contamination in barreled drinking water in Sichuan province

and study on its prevention and control measures [J]. *J Food Saf Qual*, 2019, 10(14): 4619–4623.

(责任编辑: 武英华)

作者简介



张建军, 工程师, 主要研究方向为食品安全监测。

E-mail: 573025545@qq.com



崔学文, 副主任药师, 主要研究方向为微生物检验与研究。

E-mail: ruixidddd@163.com