苹果腐烂菌群分析

杨　坚　　江西大学生物系　330047

摘　要　对苹果的腐烂菌群初步进行了系统分析鉴定，分离纯化得到41株腐烂菌，并接种到完好苹果上鉴定其腐生性。其中霉菌10属24株，酵母菌6属8株，细菌4属9株。对研究苹果防腐保鲜有一定参考意义。

关键词　苹果　腐烂菌群　防腐

前　言

苹果属仁果类，有水果之王的美誉，经济价值和营养价值很高。由于缺乏保鲜技术，苹果在储存、加工、销售过程中因霉变腐烂损失率达20%。我国能源紧缺，资金贫乏，大型冷库、气调保藏等技术不易推广。故要求我们探索来源广泛、价廉、无毒副作用的常温保鲜技术甚为迫切。

虽然苹果病害的各病原多方资料已有表述，但对苹果腐烂菌群的系统分析，在国内尚属首次。本文对苹果腐烂菌群分析鉴定入手，来了解苹果腐烂原因，探讨适当的防腐保鲜方法。

1　材料和方法

1.1　材料

1.1.1　苹果：均取自江西省水果保鲜厂的冷藏国光、青蕉苹果，货源山东。分离菌群样品是10个腐烂情况不同的苹果。

1.1.2　分离培养基：马铃薯琼脂培养基(PDA)用于霉菌分离；肉膏蛋白胨琼脂培养基用于细菌分离；葡萄糖-酵母汁固体培养基用于酵母分离。各配方参见[2]。

1.2　接种

苹果的预处理：缓慢流水冲洗苹果表面，并用镊子取棉团擦洗。

苹果表面菌的分离：可见菌丝直接用接种针挑取点植PDA平板；可疑斑痕处用解剖刀切取小块薄片涂布PDA平板。

苹果内部腐烂菌分离：取软化果液用无菌水稀释，配成4个稀释度，分别用接种环取液划线及定量倾注肉膏蛋白胨平板与葡萄糖-酵母汁平板。

上述平板均28℃倒置培养。

1.3　分离纯化

依据形态学特征、Gram染色反应作初步分类。多次转平板，分离纯化。对霉菌主要以形态特征鉴定。对酵母、细菌除了形态学方面特征，还要依据其生理、生化特性进一步鉴定。

2　结　果

本实验共分离纯化得腐烂菌41株分属20个属，其中霉菌10属24株，细菌4属9株，酵母6属8株，现分述如下：

2.1　霉菌的鉴定：将分离到各种霉菌用插片法，解剖刀切片法及胶带粘沾法3法取菌丝制片镜检，以形态学观察为主，根据菌丝形态特征，孢子形态特征以及菌落外观特征进行鉴定。对于青霉菌用青霉菌有性世代培养基[1]25～28℃培养，制片镜检，观察其有性世代的产生而区分其各属。结果见表1：

2.2　细菌的鉴定：根据《Bergey's鉴定细菌学手册》及《微生物分类学》等资料所列方法，进行形态和Gram染色观察、接触酶反应、葡萄糖发酵、G^+菌抗酸性染色、G^+无芽孢菌纤维素分解试验、G^-菌乙醇酸化等试验。依据分离出的9株菌的形态染色特征，生理生化反应，对之鉴定，结果见表2：

表1　霉菌(*Mould*)

属　　名	分离菌株数
青霉属(*Penicillium*)	5
兰状菌属(*Talaromyces*)	5
正青霉属(*Eupenicillium*)	2
毛霉属(*Mucor*)	4
地霉属(*Geotrichum*)	1
根霉属(*Rhizopus*)	2
散囊菌属(*Eurotium*)	1
腐霉属(*Pythium*)	1
曲霉属(*Aspergillus*)	1
枝孢属(*Cladosporium*)	1

表2　细菌(*Bacterium*)

属　　名	分离株数
芽孢杆菌属(*Bacillus*)	3
醋酸杆菌属(*Acetebacter*)	2
微杆菌属(*Microbacterium*)	1
节杆菌属(*Arthrgacter*)	3

2.3　酵母的鉴定

分离到的8株酵母，参照 J. Lodder(1970)的酵母菌各属检索表[2]，主要以以下几方面进行鉴定。

2.3.1　形态特征

2.3.2　子囊孢子形成和形态：采用 Gorodkowa 生孢子培养基[2]28℃培养3～10天，中性红染色制片镜检。

2.3.3　糖发酵：0.6%酵母汁作基础液再加2%的糖、1%琼脂制成各种糖半固体培养基。测试的糖有葡萄糖、肌醇、麦芽糖等3种。

2.3.4　碳源同化：同化碳源基本培养基[2]倒平板。碳源有葡萄糖、肌醇、麦芽糖、半乳糖、蔗糖、蜜二糖等6种。各糖配成2%的溶液灭菌后定量点滴平板，定量接种，平板无糖处接种对照。先放置2～4 h 待糖液干后，倒置28℃，培养2～3天。

2.3.5　硝酸盐同化：无氮培养基[2]倒平板，氮源有：KNO_3、$(NH_4)_2SO_4$(对照)2种，方法同4。

2.3.6　类淀粉化合物的产生。

2.3.7　葡萄糖-蛋白胨液体培养。

鉴定结果见表3。

表3　酵母(*Yeast*)

属　　名	分离株数
酵母属(*Saccharomyces*)	2
毕赤酵母属(*Pichia*)	2
裂芽酵母属(*Schizoblastosporion*)	1
德克酵母属(*Dekkera*)	1
酒香酵母属(*Brettanomyces*)	1
假丝酵母属(*Candida*)	1

2.4　腐生性确定：为确定能分离到的菌株的腐生性，进行接种试验。

参照俞大绂(1959)所著方法[1]，流水洗净的完好苹果，0.1%升汞浸泡几分钟，取出后无菌水浸泡，然后用无菌棉蘸霉菌孢子悬浮液涂于果面，用0.3×0.8 cm 的接种器打洞，每果3洞，接种针取霉菌丝接种于洞中；酵母、细菌则制菌悬浮液涂于果面，每果4洞接种，10天后有稍许腐烂，细菌的再接种一次。候苹果腐烂(苹果不能堆置、接触)，取腐烂霉菌制片镜检是否原接种菌。

结果原分离到46株菌只有41株为腐烂菌。

3　小　结

3.1　实验表明：开始引起苹果腐烂变质的只能是酵母和霉菌，而后才是细菌。

从分离的菌群来看，其中霉菌种类较多，酵母次之，细菌则少，而且只有在腐烂到一定程度才有细菌出现。这是因为苹果是酸性食品，pH2.9～3.3，此 pH 范围只适于酵母和霉菌生长，酵母菌最适 pH4.0～4.5，霉菌最适 pH3.8～6.0[7]。当霉菌与酵母从苹果伤口进入，破坏细胞壁的果胶物质及纤维素后，改变了环境 pH，给细菌繁殖提供了养料和环境。这也即是在确定细菌为腐烂菌时二次接种的原因。

3.2　苹果表面有一层蜡质物质保护，腐烂菌即

使沾于其上，一般也难进入苹果，造成腐烂。菌一般是从苹果伤口处或蜡质剥落处进入而生长。因而要尽量减免苹果碰擦、机械损伤等。

3.3 因此苹果的防腐保鲜可采用针对真菌的抑制或杀死剂，以不影响苹果风味、质量、人体健康又对真菌有效的量渗入保鲜剂中，保鲜剂又以膜的形式包裹在苹果表面上，以避免果面损伤造成腐烂，也不减少苹果失水，有利储藏，再则提高苹果光泽度。

参 考 文 献

1 俞大绂. 植物病理学和真菌学技术汇编(卷一). 人民教育出版社，1959.

2 张纪忠. 微生物分类学. 复旦大学出版社，1990.

3 魏景超. 真菌鉴定手册. 上海科学技术出版社，1979.

4 刘波. 低等真菌分类与图解. 科学出版社，1984.

5 (美)H. L. 巴尼特著，沈学尧译. 半知菌属图解. 科学出版社，1977.

6 戴芳阑. 真菌的形态和分类. 科学出版社，1987.

7 赵美松. 微生物与食物保藏. 中国食品出版社，1987.

8 Buchanan, R. E. and N. E. Gibbons. bergey' s Manual of Determinative Bacteriology. sthed. The Williams and Wilkins Compamy Baltimore, 1974.

食品中金黄色葡萄球菌的快速检测

胡东良 吉林农业大学食品系 130118

品川邦汎 日本岩手大学农学部

摘 要 介绍一种检测食品中金黄色葡萄球菌的快速方法。用胶乳颗粒与人血浆制成试剂(PS胶乳)，分别与BP和MSY培养基中分离培养的菌落作平板凝集反应。在BP培养基中的金黄色葡萄球菌，98.1%以上为PS胶乳凝集阳性，在MSY培养基中95.9%为PS胶乳凝集阳性。用BP培养基和PS胶乳组合，其检出率和特异性均很高，并且可在数分钟内直接检出平板上的金黄色葡萄球菌。

金黄色葡萄球菌(Staphylococcus aureus)是引起食物中毒的重要细菌之一。从食品中检查金黄色葡萄球菌，通常是将其接种于血琼脂平板和选择分离平板中培养，然后根据镜检形态、菌落特征、卵黄反应和血浆凝固酶试验等，来鉴别培养基中的菌落是否是金黄色葡萄球菌[1]。进行这些检查，至少需要3～5天[2,3]。但是，在食品的品质管理和进出口食品检验中，尽早得知检查结果是十分重要的。如果能够快速确定培养基上的菌落是否是金黄色葡萄球菌，即能迅速得出结果。

因此，我们用吸附有人血浆的胶乳颗粒与葡萄球菌作平板胶乳凝集试验，探讨胶乳凝集试验在该菌检验中的应用。试验表明，该凝集反应可在数分钟内直接检出平板上的金黄色葡萄球菌。现将结果报告如下。

1 材料和方法

1.1 供试检样 从各奶牛场和乳品加工厂采集的132个牛乳检样和市售肉类15个检样。

1.2 分离培养 将各检样涂沫接种到甘露醇食盐卵黄琼脂(MSY)和Barid-Parker琼脂(BP)培养基上，37℃培养24 h后，观察菌落颜色、卵黄反应、甘露醇分解性等，并测定菌数。

1.3 胶乳试剂(PS)的配制 先将胶乳微粒悬浮液(Difco，美国)用甘氨酸-食盐缓冲液(pH8.0)做1:8稀释，再与经过EDTA处理并用甘氨酸食盐缓冲液稀释1000倍的人血浆做等体积混合，在56℃振荡状态下反应30 min，使胶乳微粒