

利用大肠杆菌生化代谢变异测定 研究辐照食品的安全性

吴 仲 樑

(上海进出口商品检验局, 上海)

摘要 本文以大肠杆菌为实验模型, 用营养培养基代替食品, 经一定剂量 ^{60}Co γ 射线辐照处理后, 观察在此培养基上的生长情况。用自动微生物鉴定系统观察其酶代谢的变化, 并以同一菌株在未经辐照的培养基上生长, 转种传代以作对照。无论从细菌形态学、染色特性、抗原结构(血清型)、还是生化代谢类型等指标看, 结果均与原菌株一致。说明具有多种营养成份的培养基, 经一定剂量 ^{60}Co 辐射后, 并不影响生物的正常生理代谢功能, 也没有发现诱发远期后代改变。

关键词 辐照食品, 生化代谢, 大肠埃希氏菌

目前在食品安全试验研究中, 绝大多数是在动物或人体上进行的, 少数是以营养缺陷型细菌为模型, 作回复突变试验。由于动物的摄食方式和摄食种类复杂, 以及繁殖世代周期较长, 故要观察一种物质对动物刺激的远期效应十分困难。因此, 利用大肠杆菌作研究对象、因它具有结构简单, 营养要求低, 培养方便, 生长繁殖快, 容易发生变异。从生物生理代谢角度上来说, 细菌和高等动物之间又有着高度的生物化学同一性。因此, 当前生物学界都公认微生物是研究生命活动基本规律的最理想对象。鉴于上述理由, 我们以一株大肠杆菌作为试验菌株, 通过这一菌株在辐照过的培养基上连续传代, 来观察菌细胞利用辐照过的营养物质后所产生的各种反应, 进一步补充和充实动物实验的可靠性, 以及对动物远期后代的各种代谢变异等方面的关系。

材 料 和 方 法

(1) 大肠埃希氏菌(*Escherichia Coli*) 抗原血清型为 O_{124} , 由本实验室保存。取单菌落增殖备用。

(2) 传代培养基 葡萄糖营养琼脂, 按国家标准 No. GB 3:7 配方, 加 0.2% 葡萄糖制成试管斜面。

(3) 辐照 用 ^{60}Co γ 射线照射培养基, 吸收剂量为 $0.4 \times 10 \text{ kGy}$, 每辐照一批培养基供转种 10 次用, 5°C 冰箱保存, 时间不超过一个月。

(4) 测试手段 用美国麦一道公司生产的“自动微生物鉴定系统”(Auto Microbio System)、A、M、S 以革兰氏阴性菌生化鉴定卡片测定, 共 30 个生化项目, 每次鉴定时间约为 4—6 h。

(5) 菌体抗原诊断血清 由兰州生物制品研究所生产。

(6) 染色及形态特征 用革兰氏染色法, 1000 倍油镜观察。

(7) 具体操作 用一株已知大肠埃希氏菌, 同时在经辐照(吸收剂量为 $0.4 \times 10 \text{ kGy}$)和正常的葡萄糖琼脂斜面上进行同步转种传代, 37°C 24 h 培养后置室温 24 h 进行第二次转种传代。供试菌种在试验前先以 A、M、S 测定其全部生化反应项目, 并种于半固体高层琼脂中室温保存。这

Tab 1. Contrast between biochemical metabolism reactions of cellular enzymic system after generation descent of Escherichia Coli on irradiated and regular mediam

Test items	Transfer times																	
	R	CK	R	CK	R	CK	R	CK	R	CK	R	CK	R	CK	R	CK	R	CK
	Strain (F)	(F)	(F)	(F)	(F)	(F)	(F)	(F)	(F)	(F)	(F)	(F)	(F)	(F)	(F)	(F)	(F)	(F)
	7	7	25	25	35	35	46	46	58	58	69	69	80	80	93	93	100	100
DP-300	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Gluopse	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
(Oxidative)	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Growth control	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Acetamide	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Bsoulin	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Plant indican	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Urea	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Citrate	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Malonate	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
TDA	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Polymyxin B	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
laotose/	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
10% Lactose	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Maltose	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Mannitol	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Xylose	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Reffinose	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Sorbitol	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Sucrose	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Ieoaitol	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Adonitol	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
P-Coumario	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
H ₂ S	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
ONPG	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Rhamnose	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Arabinose	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
glucose	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
(Fermentative)	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Arginie	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Lysine	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Base control	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Ornithins	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Code for oxidase reaction	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

(1) In the column of "Strain Transfer Times"

R—Indicating generations descended from strains which are cultured on irradiated mediums.

CK—Indicating strains descending generation on blank mediums.

F—Referring to the times of transferring strains.

(2) The present measurement is carried out means of "Auto Microbic Identification system" mad by the American McDonald-Dauglas Corporation.

Tab 2. Comparison of antigen "o" of bacterio-ells after escherichia coli descending generation on irradiated and normal mediums

Strain Tranfer Time	Original strain	R(F) 100	CK(F) 100
Measure antigen "o" on standard serum	124	124	124

R—Indicating strains descend generations on irradiated mediums.

CK—Indicating strains descend generations on blank mediums.

F—Referring to the times of transferring a single strain.

一菌株在两种培养基上同步转种传代后,每隔若干代次即以A、M、S检测一次生化反应,最终转种传代为100次。然后以原保存菌种和传代后的二株菌的全部生化项目及菌体抗原血清型,染色及形态特征来作比较,并作出评价。

结 果 和 讨 论

在辐照培养基及未经辐照的培养基上连续转种传代后所获得的二菌株与原保存菌株作比较。在染色及形态特征、生化代谢项目、菌体抗原类型等方面,证实三者均无显著差异(见表1和2)。

从上述结果看,大肠埃希氏菌在受 $0.4 \times 10 \text{ kGy}$ 剂量照射的培养基上长期传代,经100次转种移植,其本身的主要酶系统、生化代谢及抗原类型均与在未经照射的营养培养基上传代的同一菌株无差异。大肠埃希氏菌在 37°C 的营养培养基上生长,其分裂一次所需的时间(代时)仅12.5 min。如果以通常认为的20 min分裂一次,则一个细菌经24 h后即可产生 4.772×10^{21} 个后代。按实际测定大肠杆菌在合适的培养基上 37°C 下每天分裂次数为80次,每日增殖率,则为 1.2×10^{24} 。如果转种100次计,则原菌种分裂的后代将成为一个极大的几何级数。另外根据测试,一般大肠杆菌即使其变异频率极低(一般为 $10^{-5} \sim 10^{-10}$),也可在短时间内出现大量变异的后代,最常见的变异式是基因突变,它可涉及到任何性状,诸如形态构造、代谢途径、生理类型、各种抗原性以及代谢产物的质和量的变异。

在本实验中,大肠杆菌是在辐照过的培养基上生长的,在其整个生命活动过程中获取营养的唯一途径多来自这一培养基,甚至包括细菌需要的水份,因此,如果经辐照的培养基(某些辐解产物)对生物体确有影响而导致变异(即使是极微小的影响),那也必将在细菌众多的后代中反映出来。而这种机率将远远超过常规的动物试验。

用大肠杆菌为对象作为测试辐照食品安全性的研究,尽管这一结果只是在大肠杆菌细胞上的反映,由于生物界生化代谢的同一性,因此,在一定程度上相对地可以说明食品经过一定剂量辐照后,对动物和人体生长发育是无影响的,不会引起改变致畸致癌作用。

本研究结果进一步证实了国际原子能机构(IAEA)、世界粮农组织(F、A、O)和世界卫生组织(WHO)的联合专家组于1980年正式宣布的平均辐照剂量低于 $1 \times 10 \text{ kGy}$ 的任何辐照食品在其毒理学、营养学、微生物学方面完全没有问题,不会引起毒理学的危害,不需要进行毒理试验的事实。

参 考 文 献

- [1] 上海第二医学院主编, 医学微生物学, 人民卫生出版社, 20—68 页, 1979。
[2] 武汉大学、复旦大学合编, 微生物学, 人民教育出版社, 1979。
[3] 陈科文译, 食品科技, 29(1978)。
[4] 陈瑞霖译, 食品科技, 35 (1978)。
[5] 范云六编译, 微生物和分子遗传学 (专集), 科学技术文献出版社, 1980。
[6] 焦瑞身、丁正民, 周德庆, 陆德源, 诸志义编著, 今日的微生物学, 复旦大学出版社, 22—75 页, 1987。
[7] 国家商检局研究所情报室, 商检技术参考资料, 1—4, 1988。
[8] P. E. Joner, et al. Lebensmitt. -Wissenschaft. Und-Technologic, 11 (4) (1980).
[9] B. J. Phillips, et al. Food cosmect. Toxicol., 18(4), 371 (1980).
[10] B. J. Phillips, et al., Food Irradiat. Informat., (10), 8(1980).
[11] J. Farkas, et al., Acta Alimentaria, 10(3), 209 (1981).
[12] R. Munzer, et al., Food Sci., 46(4), 1269 (1981).
[13] P. A. Gibbs, et al., Scientific and Technical Surveys Leatheread Food R. A., 149, 22 (1985).
[14] G. W. Gould, I. F. S. T. Preceedings, 19(4), 175(1986).

(稿件收到日期, 1988 年 10 月 3 日)

TEST FOR THE SAFETY OF IRRADIATED FOOD BY ANALYSING THE VARIABILITY OF BIOCHEMICAL METABOLISM OF ESCHERICHIA COLI

Wu Zhongliang

(Micro-Biology Laboratory Shanghai, Imp. & Exp. Commodity Inspection Bureau)

ABSTRACT This article mainly deals with the observation of the growth of *Escherichia coli*, which was used as an experimental model on a nutritional medium, which is used as a food-substitute and pretreated with a certain dosage of ^{60}Co irradiation. In the meantime, an Automicrobio system can be used to observe the variations of enzymic metabolism in contrast with the growth and generation-transferrence of the same bacterial strain on a non-irradiated medium.

It is shown that either in terms of microbic morphology, strain character, antigenic structure (Serum type) or of biochemical metabolic type. The various results are all in perfect conformity with those of the original strain. This demonstrates that though given a certain dosage of ^{60}Co irradiation, the multi-nutritional medium does not affect the normal physiological metabolic function of the bacterial strain and induce mutagenesis in its further later generations.

KEY WORDS Food irradiation, Biochemical metabolism, *Escherichia Coli*, Transfer