

SN 标准法和 3M Petrifilm 法检测水产品中细菌总数的比较

刘莉萍*, 张宝丽

(深圳职业技术学院, 深圳 518055)

摘要: 目的 比较用 3M Petrifilm 法与用 SN 标准法对水产品中细菌总数的检测结果。**方法** 采用 3M Petrifilm 法和 SN 标准法同时对水产品(鲑鱼、螺肉、虾、蟹肉等)中细菌总数进行检测比对。**结果** 两种方法的检测结果比较, 差异无统计学意义($P>0.05$), 且 3M Petrifilm 法具有操作简便、灵敏度高的优点。**结论** 3M Petrifilm 法可作为水产品中细菌总数检测的新方法。

关键词: 3M Petrifilm 法; SN 标准法; 水产品; 细菌总数

Comparison SN standard method and 3M Petrifilm method for determination of bacterial count in aquatic products

LIU Li-Ping*, ZHANG Bao-Li

(Shenzhen Polytechnic, Shenzhen 518055, China)

ABSTRACT: Objective To compare the determination of bacterial count for aquatic products by 3M Petrifilm method and SN standard method. **Methods** Samples were taken and detected by 3M Petrifilm method and SN standard method. **Results** There was no significant difference($P>0.05$) in using these two methods to determine bacterial count in aquatic products. 3M Petrifilm method has higher sensitivity and simpler operation than SN standard method. **Conclusion** 3M Petrifilm method can be used to detect bacterial count in aquatic products as SN standard method.

KEY WORDS: 3M Petrifilm method; SN standard method; aquatic products; bacterial count

1 引言

食品安全已成为全球普遍关心的问题, 食品在生产、加工、储藏和运输等过程都可能受到环境中各种因素的影响或污染, 其中微生物污染尤为常见。菌落总数是反映食品被污染程度的重要指标之一。目前出口产品采用的检测方法是 SN 0168-1992^[1], 其准确度和灵敏度均较高, 但实验准备和收尾繁重、实验耗时长、操作繁琐, 不适于出口产品快速检测的要求。

近年来, 微生物的快速检测方法有了很大的发展, 相继出现生物发光法^[2]、免疫学法^[3]、PCR 法^[4]、细菌直接计数法^[5]和基因芯片技术^[6]等, 并得到了一定程度的应用。美国 3M 公司研制的试纸片是目前普遍采用的成熟的食物微生物快速检测方法, 并获得国际官方分析化学家协会 AOAC 的认可, 被国际上广泛应用。3M Petrifilm 法具有本身带有培养基, 不需灭菌, 样品可直接加入的优点。由于 3M Petrifilm 法在细菌总数检测纸片培养基成分中附加了着色剂,

*通讯作者: 刘莉萍, 高级工程师, 主要研究方向为食品安全检测技术。E-mail: maryliu@szpt.edu.cn

*Corresponding author: LIU Li-Ping, Senior Engineer, Shenzhen Polytechnic, Shenzhen, 518055 China. E-mail: maryliu@szpt.edu.cn

将菌落染成红色,比传统方法更易于判读,因此,在食品安全检测中广泛应用^[7-15]。

本研究采用 3M Petrifilm 法与 SN 标准法对水产品中细菌总数进行了对比实验与统分析。

2 材料与方法

2.1 样品来源

鱿鱼、海鲜杂锦、冻螺肉、虾、蟹肉等深圳出口水产品,冷冻保存。

2.2 培养基与试剂

磷酸盐缓冲溶液:称取 34 g 磷酸二氢钾(KH_2PO_4)溶于 500 mL 蒸馏水中,用 1 mol/L NaOH 溶液调节 pH 至 7.2,用蒸馏水稀释至 1000 mL,贮存于冰箱中。

稀释剂:取 1.25 mL 磷酸盐缓冲溶液,用蒸馏水稀释至 1000 mL,分装于合适容器中,121 °C 高压灭菌 15 min。

平板计数琼脂、营养肉汤培养基:购自北京陆桥技术有限责任公司,按照产品说明书配制,并在有效期内使用。

标准菌株:大肠杆菌 ATCC 51813,购自上海北诺生物科技有限公司。

3M Petrifilm 试纸片(细菌总数测试片):购自 3M 中国有限公司。

2.3 实验方法

2.3.1 SN 标准法(SN 0168-1992)

称取 25 g 样品,加入 225 mL 稀释剂,制成 1:10 的样品稀释液。用 10 mL 灭菌吸管准确吸取 1:10 的样品稀释液 10 mL,加入 90 mL 稀释剂,制成 1:100 的样品稀释液。逐步稀释,制成稀释度适宜的样品稀释液。用灭菌吸管吸取稀释度适宜的样品稀释液 1 mL,加入灭菌平皿内,每个稀释度为两个平皿。将 45 °C 左右的平板计数琼脂倾注各个平皿内,转动平皿,使样品和培养基充分混匀。待培养基凝固后,翻转平皿置(36±1) °C 培养(48±2) h。同时将平板计数琼脂倾入加有 1 mL 稀释剂的另一灭菌平皿作空白对照。计数平板上的细菌总数。结果判断及报告方式按标准进行。

2.3.2 3M Petrifilm 法

称取 25 g 样品,加入 225 mL 稀释剂,均质后制

成 1:10 的样品稀释液。逐步稀释,制成稀释度适宜的样品稀释液。无菌操作取稀释度适宜的样品稀释液 1 mL,垂直滴加在已揭开了上层膜的 3M Petrifilm 菌落总数试纸片中央,盖上上层膜后,用压板轻轻压下,使样品稀释液均匀地覆盖于培养基上,静止 1 min,使培养基凝固,透明面朝上置于(36±1) °C 恒温箱内培养(48±2) h。每个稀释度接种 2 片,结果取平均值。另用一张测试片用稀释剂作空白对照实验。目视,计数红色菌落数为细菌总数。

2.3.3 最低检出限实验

以无菌操作方式用接种环挑取大肠杆菌的标准菌株至营养肉汤培养基,培养 24 h 后,用稀释剂配制成 0.5 个麦氏浓度的菌悬液备用。取上述备用菌悬液以 1:10 的比例逐级稀释,配制不同稀释度的菌悬液样品,最低稀释至 10^{-10} 。选择适宜稀释度的菌悬液接种于 3M Petrifilm 细菌总数测试片上,每个稀释度接种 2 片,结果取平均值。同时以 SN 标准法(平板计数法)测定相同稀释度的菌悬液的细菌数,每个稀释度平行测定 2 次,放置于(36±1) °C 恒温箱内培养(48±2) h,结果取平均值。

3 结果

3.1 最低检出限

分别采用 SN 标准法和 3M Petrifilm 法检测细菌总数最低检出限实验结果见表 1。

表 1 最低检出限试验结果(CFU/g)

Table 1	Results of detection limit testing(CFU/g)			
菌液稀释度	10^{-7}	10^{-8}	10^{-9}	10^{-10}
3M Petrifilm 法	35	4	1	0
SN 0169-1992 法	32	2	0	0

由上表可见,3M Petrifilm 法比 SN 0169-1992 法的最低检出量高一个稀释度。

3.2 水产品中细菌总数测定结果比较

分别采用 SN 标准法和 3M Petrifilm 法检测水产品中细菌总数,结果见表 2。

对上表两种方法的检测结果使用 t 检验,说明这两种方法的检验结果比较,无统计学差异($P>0.05$)。

表 2 细菌总数检测结果比对(log10^{CFU/g})
Table 2 Comparison of testing results of the bacterial count(log10^{CFU/g})

样品名称	SN 0169-1992 法			3 M Petrifilm 细菌总数检测纸片法		
	I	II	平均值	I	II	平均值
鱿鱼 I	4.968	4.987	4.978	5.017	4.973	4.996
鱿鱼 II	4.342	4.505	4.431	4.447	4.146	4.322
鱿鱼 III	3.000	2.954	2.978	2.964	2.892	2.929
鱿鱼 IV	0.146	0.000	0.079	0.000	0.079	0.041
鱿鱼 V	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
鱿鱼条	4.204	4.000	4.114	4.041	4.176	4.079
鱿鱼排	4.778	4.845	4.813	4.875	4.929	4.903
制作保藏去皮鱿鱼	4.653	4.740	4.699	4.740	4.813	4.778
冻去皮鱿鱼 I	4.079	4.146	4.114	4.204	4.000	4.114
冻去皮鱿鱼 II	4.740	4.633	4.690	4.681	4.623	4.653
沙尖鱼片	4.000	4.146	4.049	4.176	4.041	4.114
凤尾虾	4.799	4.740	4.771	4.845	4.778	4.813
虾仁	4.903	4.778	4.841	4.041	4.114	4.079
凤尾虾(熟)	3.447	3.204	3.342	3.462	3.398	3.431
蟹肉	3.623	3.505	3.568	3.477	3.415	3.447
烤鳗	1.477	1.602	1.544	<0	<0	<0
烤鳗片	1.255	1.342	1.301	0.903	1.079	1
海鲜杂锦 I	4.732	4.623	4.681	4.580	4.643	4.613
海鲜杂锦 II	4.806	4.857	4.833	4.857	4.806	4.833
制作保藏虾仁	4.580	4.643	4.613	4.602	4.681	4.643
冻熟海鲜杂锦	4.255	4.079	4.176	4.079	4.204	4.146
冻螺肉	2.740	2.653	2.699	2.380	2.556	2.477

4 讨 论

与 SN 标准法比较, 3M Petrifilm 法不需配制培养基、不需准备灭菌平皿, 检测过程简便、快速, 同时又因培养后细菌显示颜色, 既方便计数, 又可避免漏计而减少人工计数误差, 不足之处是成本略高。

实验结果表明, 3M Petrifilm 法的灵敏度高于传统的平皿计数法(SN 标准法); 用 SN 标准法和 3M Petrifilm 法检测水产品中细菌总数结果无统计学差异, 说明 3M Petrifilm 法不但可用于饮用水^[7-9]、奶产品^[12]、肉蛋制品^[15]的测定, 也同样可用于水产品的检测。

参考文献

[1] SN 0168-1992 出口食品平板菌落计数[S].
SN 0168-1992 Plate count for bacterial colonies in food for export[S]

[2] 唐倩倩, 叶尊忠, 王剑平, 等. ATP 生物发光法在微生物检测中的应用[J]. 食品科学, 2008, 29(6): 460-465.
Tang QQ, Ye ZZ, Wang JP, *et al.* Application of ATP bioluminescence in microbial detection [J]. Food Sci, 2008, 29(6): 460-465.

[3] 王中民, 李君文, 王新为, 等. 应用免疫层析法检测食品中的沙门菌[J]. 中国卫生检验, 2003, 12(5): 568.
Wang ZM, Li JW, Wang XW, *et al.* Detection of salmonella in food with gold-immunochromatography [J]. Chin J Health Lab

- Technol, 2003, 12(5): 568.
- [4] 金明兰, 尹军. 饮用水中致病性微生物 PCR 快速检测技术研究进展[J]. 吉林建筑工程学院学报, 2010, 27(4): 57-60.
- Jin ML, Yin J. Research advances on polymer chain reaction detection microbe in drink water [J]. J Jilin Ins Architecture Civil Eng, 2010, 27(4): 57-60.
- [5] Gunasekera TS, Attfield PV, Veal DA. A flow cytometry method for rapid detection and enumeration of total bacteria in milk[J]. Appl Environ Microbiol, 2000, 66(3): 1228-1232.
- [6] 高兴, 王景林. 基因芯片技术在病原细菌检测中的应用[J]. 中国生物工程, 2010, 30(2): 100-104.
- Gao X, Wang JL. The application of gene microarray in detecting pathogenic bacteria [J]. China Biotechnol, 2010, 30(2): 100-104.
- [7] 王菊丛. GB 标准和 3M Petrifilm 法检测生活饮用水中菌落总数的比较[J]. 中国卫生检验, 2010, 20(12): 3513.
- Wang JC. Comparison GB standard method and 3M petrifilm method for determination of bacterial count in drinking water [J]. Chin J Health Lab Technol, 2010, 20(12): 3513.
- [8] 王中民, 田葆萍, 曾巧玲, 等. 国标法和 3M Petrifilm 法检测饮用水中菌落总数的比较[J]. 实用预防医学, 2011, 18(2): 549-550.
- Wang ZM, Tian BP, Zeng QL, *et al.* Comparison GB method and 3M petrifilm method for detection of aerobic count in drinking water [J]. Practical Preventive Med, 2011, 18(2): 549-350.
- [9] 嵇志远. 3M Petrifilm 测试片法检测水中菌落总数[J]. 中国给水排水, 2010, 26(14): 119-121.
- Ji ZY. 3M petrifilm plate method for determination of bacterial count in water [J]. China Water Wastewater, 2010, 26(14): 119-121.
- [10] 顿玉慧, 郑启伟, 徐建设, 等. 3M Petrifilm 纸片法与 SN 方法检测肠杆菌的比较[J]. 检验检疫科学, 2007, 17(6): 40-41.
- Dun YH, Zheng QW, Xu JS, *et al.* Comparison 3M petrifilm method and SN method for detection of enterobacteriaceae[J]. Inspection Quarantine Sci, 2007, 17(6): 40-41.
- [11] 戴岚, 宋白薇. 3M 测试片法与 SN 方法检测食品大肠菌群结果的比较[J]. 中国热带医学, 2009, 9(3): 548-549.
- Dai L, Song BW. Comparison of results detection of coliform in food by 3M petrifilm method and SN method. [J]. China Tropical Med, 2009, 9(3): 548-549.
- [12] 唐漪灵, 郭奕芳, 吴翊, 等. Petrifilm 纸片法和国标法检测奶制品细菌总数和大肠菌群数的结果比较[J]. 中国卫生检验, 2000, 10(3): 525-327.
- Tang YL, Guo YF, Wu Y, *et al.* Comparison of results determination of total bacteria and coliform in milk by petrifilm plate method and GB method. [J]. Chin J Health Lab Technol, 2000, 10(3): 525-327.
- [13] 高延玲, 刘宏伟, 刘金娥, 等. 无公害畜禽产品中大肠菌群快速计数法-Petrifilm™ 测试片法[J]. 畜牧鱼饲料科学, 2009, 30(9): 52-54.
- Gao YL, Liu HW, Liu JE, *et al.* Coliform counting method and -petrifilm™ plate method in pollution-free animal products [J]. Animal Husbandry Feed Sci, 2009, 30(9): 52-54.
- [14] 龚正礼, 张芳, 蒋作明, 等. 酱卤肉制品中大肠菌群快检纸片法的应用研究[J]. 食品与发酵工业, 2000, 27(12): 35-38.
- Gong ZL, Zhang F, Jiang ZM, *et al.* Study on petrifilm detection of coliforms in pot-stewed meat [J]. Food Ferment Ind, 2000, 27(12): 35-38.
- [15] 卢行安, 顾其芳, 袁宝君, 等. AOAC Petrifilm™ 菌落总数测试片法与食品中菌落总数测定国标方法的比较研究[J]. 中国食品学报, 2011, 11(3): 64-67.
- Lu XA, Gu QF, Yuan BJ, *et al.* The comparing study of AOAC petrifilm™ aerobic count plate methods with GB aerobic plate count in foods [J]. J Chin Ins Food Sci Technol, 2011, 11(3): 64-67.

(责任编辑: 邓伟)

作者简介



刘莉萍, 高级工程师, 主要研究方向为食品安全检测技术。
E-mail: maryliu@szpt.edu.cn