

食品微生物测试片的研究进展

王佳男¹, 肖茜文¹, 王艳蕊¹, 方洪帅¹, 何苗², 陈萍^{1*}

(1. 吉林农业大学食品科学与工程学院, 长春 130118; 2. 吉林省安信食品技术服务有限责任公司, 长春 130012)

摘要: 食品安全是人们赖以生存和发展的基础。食品微生物是影响食品安全的重要因素之一。传统的培养计数法主要依赖于微生物富集培养、选择性分离、生化鉴定, 存在操作步骤繁杂、检测周期长等缺点, 难以满足当今高速发展的现代化食品行业的检测要求。快速测试片作为一种新型微生物检测工具, 凭借操作简单、节省空间、成本低、便于现场检测等优点, 在多个领域得到了广泛应用。本文阐述了不同种类微生物测试片的作用原理和检测范围, 并对当前微生物快速检测卡的优缺点进行了比较和评述。我国微生物快速检测技术研究开始较晚, 对微生物测试片的研发和制作也处于初级阶段。因此, 研发具有我国自主知识产权、具有高灵敏度和高特异性的测定产品仍是今后的发展方向。

关键词: 培养计数法; 快速测试片; 微生物; 检测技术

Research progress of food microorganism test slip

WANG Jia-Nan¹, XIAO Qian-Wen¹, WANG Yan-Rui¹, FANG Hong-Shuai¹,
HE Miao², CHEN Ping^{1*}

(1. *Food Science and Engineering, Jilin Agricultural University, Changchun 130118, China;*
2. *Anxin Food Technology Services of Limited Liability Company, Changchun 130012, China*)

ABSTRACT: Food safety is the foundation of people's life and development. Food microbe is one of the important factors that affect food safety. Traditional culture counting methods rely on enrichment culture, selective separation and biochemical identification with disadvantages of complex operation steps, long detection cycle, and so on. It is also difficult to reach the testing requirements of the rapid development of modern food industry. As a new type of microorganism detection tool, quick test slip has been widely used in many fields due to the advantages of simple operation, space saving, low cost, facilitating on-site inspection, etc. In this paper, the function mechanism and detection range of different types of microorganism test slip were summarized, and advantages and disadvantages of the commercial microorganisms rapid detection cards were compared and reviewed. The research of microorganism rapid detection technologies started relatively late in China and the research of microorganism test slip was also at primary stage. Therefore, to research and develop highly sensitive and specific testing products by our own intellectual property is still to be the direction of future development.

KEY WORDS: culture counting methods; quick test slip; microorganism; detection technology

基金项目: 吉林省科技发展计划资助项目(20150204018SF)

Fund: Supported by Projects of Jilin Province Science and Technology Development Program (20150204018SF)

*通讯作者: 陈萍, 博士, 教授, 主要研究方向为食品质量与安全。E-mail: m15844050910_1@163.com

*Corresponding author: CHEN Ping, Professor, Jilin Agricultural University, Jilin Agricultural University, Changchun 130118, China. E-mail: m15844050910_1@163.com

1 引言

近年来,由致病微生物引起的食品安全事件不断发生,2004~2013年全国微生物性食物中毒人数比例最高,占历年总中毒人数的58%~72%^[1]。其主要原因是食品在生产、运输、贮存、销售等各个环节都有污染微生物的可能^[2]。为了杜绝此类恶性事件发生,就需要对食品从生产到销售进行全程检测^[3]。传统检测微生物方法通常具有较高准确性,但存在对操作环境、操作人员要求较高、耗时较长等缺点,难以满足微生物检测需求^[4,5]。随着生物技术飞速发展,测试片作为一种新型检测手段,凭借质轻、便于运输和成本低等优点在食品、医学、农业等多个领域得到了广泛应用^[6,7]。本文对国内外现有的微生物测试片研究成果和相关报道进行梳理,并对食品微生物测试片的原理和应用情况进行综述。

2 大肠菌群测试片

大肠菌群是一种在适宜温度能分解乳糖产酸产气的革兰氏阴性无芽孢杆菌,常随粪便从动物体内排出,广泛分布于自然环境中^[8]。目前大肠菌群检测主要采用GB4789.3-2010食品安全国家标准食品微生物学检验大肠菌群计数的方法^[9]。该方法准确性、权威性无可质疑,但是操作步骤较为繁琐、需要时间较长。为了缩短检测时间、提高检测效率,大肠菌群快速检测技术的研究势在必行^[10]。

美国、欧盟等发达国家对微生物检测研究开始较早,发展迅速。20世纪50年代德国科学家Forg发明了大肠菌群快速检测纸片法^[11],该方法使操作流程得到了简化,检测时间从原来的72h缩短至15h,同时成本仅花费之前的1/4。20世纪80年代3M公司在研究开发大肠菌群测试片方面取得了突破性进展^[12]。3M大肠菌群测试片以可溶性冷水凝胶为载体,加入改良的VRB培养基和显色剂^[13]。大肠菌群经过培养后会产酸产气,菌落周围会产生粉红色菌晕,所以计数红色带有气泡的菌落为大肠菌群^[14,15]。目前3M测试片法已经通过AFNOR、AOAC等多个国际权威机构认证,在美国、法国、韩国、澳大利亚、等世界很多国家的检测机构采用并建立了相应标准^[16]。2007年国家质量监督检验检疫总局将食品中大肠菌群和大肠杆菌快速计数法Petrifilm™测试片法列入中国出入境检验检疫行业标准。

微生物测试片是我国近年来研究的热点,国内多家实验室和生物技术公司也致力于大肠菌群测试片研究,开发相关产品^[17]。随着商品化产品广泛应用,很多问题随之而来。龙浩宇等^[18]使用深圳市博卡生物技术有限公司生产的快速纸片和传统发酵法检测同一样品的大肠菌群,比较试验结果的一致性和假阳性率。纸片法观察结果时,除典型的阳性和阴性反应外,有时纸片出现不典型反应。这种

不典型反应不能直接判定检测结果是否为阳性,需要传统方法进一步确证。试验中纸片法出现的不典型性结果,经发酵法确认,阳性率只有51.2%。生产商和研发者应该针对实际检测中遇到的问题,进一步改善大肠菌群测试片质量,达到准确、灵敏的检测效果。同时,建议完善我国大肠菌群检测片制作和判读的相关标准,使测试片在今后研发和使用过程中向着标准化、规范化的方向发展。

3 菌落总数测试片

菌落总数是指食品检样经过处理,经过一定条件下培养后,所得到每g(mL)检样中形成的微生物菌落总数^[19]。目前菌落总数主要检测方法为琼脂平板计数法,该方法需耗时约2~3d^[20]。菌落总数测试片通常是以滤纸、可溶性冷水凝胶和无纺布做为培养基载体^[21]。这种新型检测手段克服了传统检测方法耗时较长、效率较低等缺点^[22],具有良好的应用价值。

3.1 以冷水凝胶为载体的测试片

3M™ Petrifilm™ 菌落总数测试片是第一款以冷水凝胶为载体的检测片,引领了食品微生物检测方法新方向^[23]。3M测试片由上下两层薄膜组成,下层的聚乙烯薄膜上印有网格并且覆盖有细菌繁殖所需的培养基,其中加入染色剂、显色剂,增强菌落的目视效果^[24];上层是聚丙烯薄膜并加入冷水可溶凝胶^[25]。阳性菌落在测试片上为红色或粉红色,与测试片底色有较大反差,容易判别计数。该测试片在单一计数的基础上,可以挑取目标菌做进一步验证工作,大大提高了实验室效率^[26]。2015年3M公司又推出了新一代菌落总数测试片,检测时间仅需24h^[27]。新一代菌落总数测试片在接种区的周围加有泡棉屏障,使接种更容易,近期该产品已在我国上市。目前,美国排名前100的食品生产企业中已有91家企业使用3M™ Petrifilm™ 测试片作为他们的日常检测方法^[28,29]。为了验证3M菌落总数测试片的准确性,卢兴安等^[30]将3M菌落总数测试片法与测定菌落总数国标方法进行比较,采集845份食品样品,经过上海疾病预防控制中心、内蒙古出入境检验检疫局检验检疫技术中心等20个试验单位进行对比实验。3M菌落总数测试片和国标方法具有很好的一致性,2种检测方法差异不显著。大量实验证明了3M测试片作为一种新的检测方法,可以替代传统方法应用于微生物检测^[31,32]。虽然3M公司的Petrifilm™ 测试片具有快速、方便、灵敏度高、特异性强等特点,但仍存在当细菌产气或样液中存在有机溶剂时会使菌落扩散,影响计数等问题,而且价格昂贵,目前尚不适合在食品生产企业及基层单位全面推广。

3.2 以无纺布为载体的测试片

20世纪90年代出现了很多以无纺布为载体的检测片,如日本Chisso公司的Sanita-Kun和德国拜发公司的

RIDA COUNT。二者均获得了 AOAC 认证^[33]。此类测试片采用了无纺布和选择性显色培养基作为载体, 利用酶与底物发生特异性显色反应的原理, 使目标菌和非目标菌有明显的颜色区别^[34,35]。例如德国拜发公司的 RIDACOUNT 微生物菌落计数板选用的载体为硝酸纤维素型无纺布, 它是一种将脱水培养基附着于无纺布棉垫上的即用型检测产品^[36]。我国包括北京中卫生物科技发展公司、广东环凯微生物科技有限公司、广州绿洲生化科技有限公司在内的多家企业均有生产以无纺布为载体的测试片。截至目前仅北京陆桥公司的菌落总数测试片获得 AOAC 国际认证。此类产品计数较为准确, 但是无纺布在吸收样液容易出现褶皱, 为计数造成一定困难, 不能挑取菌落做进一步验证试验。陈春田等^[37]将广州绿洲生化科技有限公司和日本 NISSUI 公司生产细菌快速检测纸片与传统方法进行比较, 纸片在规定培养时间内有菌生长, 但菌落计数低于传统方法, 存在显著性差异。建议我们应该进一步解决检测片研发和生产方面存在的问题。

3.3 以滤纸为载体的测试片

20 世纪 80 年代天津卫生防疫站研发出一系列水中细菌检测纸片, 为我国微生物快检迈出了重要一步^[38]。在研究初期, 滤纸作为测试片载体, 因成本较低, 制作工艺简单, 受到很多研究人员青睐。测试片载体选用无毒、密度均匀、吸附力适中的中速定性滤纸^[39]。这类测试片制作原理是: 用灭菌滤纸吸附培养基和显色剂, 细菌通过滤纸纤维膨胀而被固定生长繁殖; 显色剂通常采用 TTC, 使菌落呈现红色, 计数红色菌落的多少为细菌总数^[40,41]。李铁牛^[42]在纸片法检测饮料中菌落总数研究中, 确定了培养基成分及添加量、浸渍温度、时间等。张丽丽等^[43]进一步对测试片的显色剂添加量、培养基 pH 值、样液浓度等方面进行了优化。以滤纸为载体的测试片制作工艺简单、成本低, 但滤纸具有较大间隙, 滤纸双面和纤维之间容易有菌落生长, 使肉眼无法准确判断, 测定结果一般比实际菌数要少。所以, 此类测试片尚处于研发阶段。

4 霉菌、酵母菌测试片

霉菌和酵母菌生长繁殖能力很强, 经常会引起食品霉变, 最终产生有毒代谢物, 通过食品引起食用者中毒^[44]。我国制定了糕点、蜜饯、纯净水的霉菌限量标准。传统方法检测过程较为繁琐, 检测流程需要 5~7 d^[45]。由于糕点等食物保质期较短, 不适合使用传统检测方法进行检测。所以开发便捷、快速霉菌测试片可以有效减少霉菌、酵母菌污染对消费者造成的损失。

霉菌、酵母菌快速测试片是以凝胶或滤纸作为培养基载体^[46], 加入特定培养基。培养中含有维持霉菌、和酵母菌生长的营养成分和显色剂, 并添加氯四环素、氯霉素等抗生素抑制细菌生长。5-溴-4-氯-3 吡啶基-磷酸盐作为培养

基显色剂与酵母菌、霉菌在培养过程中发生特异性显色反应^[47]。再通过霉菌、酵母菌生长特征和颜色变化来判定霉菌和酵母菌的种类和数量^[48]。霉菌和酵母菌在测试片上生长后会显示蓝色斑点, 霉菌菌落显示的斑点略大呈放射状, 酵母菌落则较小而圆滑, 许多霉菌在培养后期会呈现其本身特有的颜色^[49]。日本智索研发的酵母菌及霉菌测试片 (Yeast&Mold Count) 已获 AOAC 国际机构认证, 根据 AOAC 的检测报告显示, 该测试片的敏感性为 100%, 而特异性为 92.9%。该产品的检测时间较短, 仅需 48 h, 同时具有操作方法简单, 质轻不占空间等优点。测试片法与国标法相比省去了消毒和培养皿的清洗处理等大量辅助性工作, 随时可以开始进行抽样检测, 操作简便, 特别适合基层实验室对大批量样品的快速检测。2010 年国家质量监督检验检疫总局已经将食品中霉菌和酵母菌快速计数法 Petrifilm™ 测试片法列入中国出入境检验检疫的行业标准^[50]。2013 年 3M™ Petrifilm™ 霉菌酵母菌快速检测片已经在全中国同步上市^[51]。

5 展 望

微生物检测包括前处理、增菌、富集、检测等环节。传统检测微生物的方式计数较为准确, 但采用传统方法进行微生物测定存在明显不足, 需要进行培养基制备、仪器清洗、灭菌等大量前期准备工作, 费时费力、耗时较长, 对实验室仪器及无菌条件要求较高, 不能进行现场监测。与传统检测方法相比, 测试片是一种预先制备好的一次性培养基制品, 含有微生物生长所需营养基质及脱氢酶指示剂, 具有操作简便、便于运输、成本低等优点, 有良好的研究价值和应用前景。

在欧美等发达国家商品化的微生物快速测试卡达到了方便、灵敏的目的。我国微生物快速测试片研究开始较晚, 发展比较滞后, 相关技术不成熟。测试片仍存在显色剂单一、营养物质分布不均匀、菌落易扩散等问题。这对我国食品检测技术的发展造成了一定的阻碍。因此, 今后对测试片的研究应该致力于载体和材料的选择、培养基的优化、新型显色剂和显色体系的研究, 努力扩大测试片的检测范围, 提高检测性能, 为检测片在食品快速检测领域的进一步发展提供更广阔的空间。

参考文献

- [1] 罗海波, 何来英, 叶伟杰, 等. 2004-2013 年中国大陆食物中毒情况分析[J]. 中国食品卫生杂志, 2015, 27(1): 45-49.
Luo HB, He LY, Ye W, et al. Analysis of food poisoning cases in China 2013-2014 [J]. Chin J Food Hyg, 2015, 27(1): 45-49.
- [2] 姜红如, 李凤琴, 于红霞, 等. 食品加工过程中交叉污染与微生物定量风险评估[J]. 卫生研究, 2013, 5: 875-878.
Jiang HR, Li FQ, Yu HX, et al. The quantitative risk assessment of cross-contamination during food processing and microbial [J]. Health Res,

- 2013, 5: 875–878.
- [3] 洪炳财, 陈向标, 赖明河. 食品中微生物快速检测方法的研究进展[J]. 中国食物与营养, 2013, 19(6): 15–18.
- Hong BC, Chen XB, Lai MH. The research progress of rapid detection methods in food microorganisms [J]. Chin Food Nutr, 2013, 19(6): 15–18.
- [4] Bari ML. Center for advanced research in sciences, university of Dhaka, Dhaka, BangladeshS, Kawasaki, rapid methods for food hygiene inspection [J]. Food Sci, 2014, (8): 269–279.
- [5] Scallan E, Hoekstra RM, Angulo FJ, *et al.* Foodborne illness acquired in the United States—major pathogens [J]. Emerg Infect, 2011, 17(1): 7–15.
- [6] Hanson LA, Zahn EA, Wild SR, *et al.* Estimating global mortality from potentially foodborne diseases: an analysis using vital registration data [J]. Popul Health Metrics, 2012, 10: 5.
- [7] 井良义, 杨艳丽, 刘军. 大肠菌群快检纸片质量鉴定标准研究[J]. 中国公共卫生, 2002, 18(1): 98–99 .
- Jing LY, Yang YL, Liu J. Bacteria test quality evaluation standard research [J]. Chin J Pub Health, 2002, 18(1): 98–99 .
- [8] 潘慧华, 李晶晶, 刘坚真. 大肠菌群一步发酵法检测的研究[J]. 食品科学, 2007, 27(12): 637–641 .
- Fan HH, Li JJ, Liu JZ. Fecal coliform detection step fermentation research [J]. Food Sci, 2007, 27(12): 637–641 .
- [9] Gonzalez. Rapid method for detection of gram-positive and negative bacteria in milk from cows with moderate or severe clinical mastitis [J]. Clin Microbiol, 2005, 39: 3228–3233.
- [10] 张名爱, 李洁慧, 于翠芳, 等. 原料乳中菌落总数检测方法的比较研究[J]. 饲料工业, 2013, 23(5): 49–52 .
- Zhang MA, Li JH, Yu CF, *et al.* Comparative study on the total number of colonies detection method in raw milk [J]. Feed Ind, 2013, 23(5): 49–52 .
- [11] Morita H, Shiyama M, Aoyama S, *et al.* Evaluation of the sanita-kun coliforms, a dehydrated medium sheet for coliform detection-performance-tested method (SM) [J]. AOAC Int, 2006, 89(2): 399–416.
- [12] 段又容, 万昌秀, 吴刚. 干片法在食品微生物检测中的应用[J]. 食品研究与开发, 1999, 20(1): 40–42 .
- Duan YR, Wan CX, Wu G. The application of slice method in food microbiology [J]. Food Res Dev, 1999, 20(1): 40–42.
- [13] 邢业兰, 张维华. 食品用 TTC 纸片测定饮水大肠菌群初探[J]. 中国卫生检验, 1998, 8(5): 291–293 .
- Xing YL, Zhang WH. Food store water coliform bacteria was determined by TTC paper sheet [J]. Chin J Health Lab Technol, 1998, 8(5): 291–293 .
- [14] 张慧红, 陈国雄, 陈德云, 等. TTC 琼脂培养基在食品细菌菌落总数测定总的应用[J]. 广东卫生防疫, 2000, 26(2): 18–19.
- Zhang HH, Chen GX, Chen DY, *et al.* TTC AGAR medium in food determination of the total number of bacterial colonies general application [J]. Guangdong Health Epid, 2000, 26(2): 18–19.
- [15] Parolo C, Merkoci A. Paper-based nanobiosensors for diagnostics [J]. Chem Soc Rev, 2013, 42(2): 450–457.
- [16] Schoel NP, Ingham SC. Compdetection of the baird-parker agar and 3MTM PetrifilmTM rapid S. aureus count plare methods for detection and enumeration of Staphylococcus [J]. Food Microbiol, 2001, 18: 581–587.
- [17] Wang SM, Ge L, Song XR, *et al.* Paper-based chemiluminescence ELISA: lab-on-paper based on chitosan modified paper device and ax-screen-printing [J]. Biosens Bioelectron, 2012, 31(1): 212–218.
- [18] 龙浩宇, 龙歆孜, 龙智钢, 等. 不同样品中大肠菌群快速纸片法与传统发酵法检测结果分析[J]. 实用预防医学, 2010, 17(7): 1042–1043.
- Long HY, Long YZ, Long ZG, *et al.* Coliform different samples test slip and the test results were analyzed traditional fermentation [J]. Prac Prev Med, 2010, 17(7): 1042–1043.
- [19] GB/T47892-2010. 食品安全国家标准 菌落总数测定[S].
- GB/T47892-2010. National food safety standard-the total number of school inspection colonies [S].
- [20] 刘慧. 现代食品微生物学[M]. 北京: 中国轻工业出版社, 2006.
- Liu H. Modern food microbiology [M]. Beijing: China Light Industry Press, 2006.
- [21] 王静, 陈萍, 任常菲. 以冷水溶性凝胶为载体的细菌快速检测纸片的凝胶剂优化[J]. 卫生研究, 2012, 3(2): 300–302.
- Wang J, Chen P, Ren CF. The gels optimization of microorganism rapid test slip [J]. Health Res, 2012, 3(2): 300–302.
- [22] 王会娟, 王丽, 路琳, 等. 实验室常用的微生物快速检验技术[J]. 肉类工业, 2004, (9): 40–42 .
- Wang HJ, Wang L, Lu L, *et al.* Laboratory commonly used microorganism inspection technology [J]. Meat Ind, 2004, (9): 40–42 .
- [23] Ginn RE, Packard VS, Fox TL. Enumeration of total bacteria and coliforms in milk by dry rehydratable film methods: collaborative study [J]. J Assoc Off Anal Chem, 1986, 69(3): 527–31.
- [24] Heddeghem AV. Determination of total bacteria and the coliform bacteria in raw milk with the petrifilm method [J]. Rev Agricul, 1990, 43(5): 539–548.
- [25] Castilho, Vivian TO. Adequacy of Petrifilm™ aerobic count plates supplemented with de man, rogosa & sharpe broth and chlorophenol red for enumeration of lactic acid bacteria in salami [J]. Meat Sci, 2015, (12): 253–261.
- [26] 姚景慧. 菌落总数检测纸片的比较试验[J]. 中国食品工业, 2003, (5): 50–51.
- Yao JH. The total number of colonies test paper of the comparison test [J]. Chin Food Ind, 2003, (5): 50–51.
- [27] Nicole K, Jan P, Claudia Z, *et al.* A field study evaluation of Petrifilm™ plates as a 24 h rapid diagnostic test for clinical mastitis on a dairy farm [J]. Prev Vet Med, 2014, (3): 620–624.
- [28] Chow WHA, Mccloskey C, Tong Y, *et al.* Application of isothermal helicase-dependent amplification with a disposable detection device in a simple sensitive stool test for toxigenic clostridium difficile [J]. J Mol Diagn, 2008, 10(5): 452–458.
- [29] Rosa M, Norma L, De-Ann L. Efficacy of 3M™ Petrifilm™ aerobic count plates for enumerating *Bacillus sporothermodurans* and *Geobacillus stearothermophilus* in UHT milk [J]. Int Dairy J, 2012, (8): 147–149.
- [30] 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): 164–167.
- Lu XA, Gu QF, Yuan BJ, *et al.* AOAC Petrifilm™ comparative study of national standard method measured total number of colonies in food [J]. Chin Inst Food Sci, 2011, 11(3): 164–167.
- [31] Hou SY, Hsiao YL, Lin MS, *et al.* Micro RNA detection using lateral flow nucleic acid strips with gold nanoparticles [J]. Talanta, 2012, 99: 375–379.
- [32] Skjerve E, Olsvik O. Inununomagnetic separation of salmonella from foods [J]. Int J Food Microbiol, 1991, 14(1): 11–17.

- [33] General referee reports [J]. J AOAC Int, 2006, 89 (1).
- [34] Mcdaniels AE, Bordner RH, Menkedick JR, *et al.* Comparison of the hydrophobic-grid membrane filter procedure and standard methods for coliform analysis of water [J]. Appl Environ Microbiol, 1987; 53(5): 1003–1009.
- [35] Watts HJ, Lowe CR, Pollare-Knight DV. Optical biosensor for monitoring microbial cells [J]. Anal Chem, 1994, 6: 2465–2470.
- [36] Berhanu A, Amare. Production of microbial medium from defatted brebra (*Milletia ferruginea*) seed flour to substitute commercial peptone agar [J]. Asian Pac J Trop Biomed, 2013, (10): 790–797.
- [37] 陈春田, 李金有, 王林, 等. 细菌快速检测试纸片法与传统方法培养结果的比较[J]. 中国消毒学杂志, 2010, 27(5): 547–548.
Chen CT, Li JY, Wang L, *et al.* Rapid bacterial detection test comparison of the results with traditional methods of cultivation [J]. Chin J Disin, 2010, 27(5): 547–548.
- [38] 罗海英, 罗东辉. 食品微生物学实验技术[M]. 北京: 中国轻工业出版社, 2008.
Luo HY, Luo DH. Food microbiology experiment technology [M]. Beijing: China Light Industry Press, 2008.
- [39] Manafi M. New developments in chromogenic and fluorogenic culture media [J]. Food Microbiol, 2000, 60: 205
- [40] Aloni B. Dehydrogenase activity in dehydrated parenchyma slices: Probing with 2,3,5-triphenyl tetrazolium chloride [J]. Plant Sci Lett, 1998(4): 74–75, 218.
- [41] Berg JD, Fiksdal L. Rapid detection of total and fecal coliforms in water by enzymatic hydrolysis of 4-methylumbelliferone-D-galactoside [J]. Appl Environ Microbiol, 1988, 54(8): 2118–2122.
- [42] 李铁牛. 纸片法检测饮料中菌落总数的研究[D]. 重庆: 西南农业大学, 2004.
Li TN, The total number of colonies beverages disk diffusion method detection [D]. Chongqing: Southwest Agriculture University, 2004.
- [43] 张莉莉, 赖卫华, 涂祖新, 等. 大肠菌群快速检测试纸片的研制[J]. 食品科学, 2009, 30(24): 299–302.
Zhang LL, Lai WH, Xu ZX, *et al.* Development of rapid detection of coliform bacteria slip test [J]. Food Sci, 2009, 30(24): 299–302.
- [44] 江汉湖. 食品安全性与质量控制[M]. 北京: 中国轻工业出版社, 2002.
Jiang HH. Food safety and quality control [M]. Beijing: China Light Industry Press, 2002
- [45] Diez-Gonzalez F. Reference module in food science [J]. Encyclopedia Microbiol, 2014: 630–635.
- [46] Jain R, Babbar SB. Guar gum and isubgol as cost-effective alternative gelling agents for in vitro multiplication of an orchid, dendrobium chrysoxum [J]. Curr Sci, 2005, 88(2): 292–295.
- [47] Rodrigo, Antonio F, August N. Development of a selective culture medium for bifidobacteria, Raffinose-Propionate Lithium Mupirocin (RP-MUP) and assessment of its usage with Petrifilm™ aerobic count plates [J]. Food Microbiol, 2014, (5): 96–102.
- [48] Vicky J, Liesbeth J. Alternative microbial methods: An overview and selection criteria [J]. Food Microbiol, 2010, (27): 710–730.
- [49] Victor M, Robin G, Susan H. Interactions of 2,3,5-triphenyl-2H-tetrazolium chloride with poly(sodium 4-styrenesulfonate) studied by diafiltration and UV-vis spectroscopy[J]. J Memb Sci, 2007, 34(1): 126–127.
- [50] SN/T 2566-2010. 食品中霉菌和酵母菌的计数 Petrifilm 测试片法[S]. SN/T 2566-2010. Foods mold and yeast counts Petrifilm test slip [S].
- [51] PR Newswire. 3M Petrifilm 推出 48 小时快速霉菌酵母测试片[N]. 美通, 2013-9-18.
PR Newswire. 3M Petrifilm release 48 hours yeast fungi rapid test piece [N]. PR Newswire, 2013-9-18.

(责任编辑: 金延秋)

作者简介



王佳男, 硕士, 主要研究方向为农产品加工及贮藏工程。
E-mail: 363964667@qq.com

陈萍, 博士, 教授, 主要研究方向为食品质量与安全。
E-mail: ccchenping@sina.com