

食品检测即用型液体培养基产品的评价研究

高飞, 骆海朋, 任秀, 陈怡文, 刘娜, 余文, 谢冠东, 崔生辉*

(中国食品药品检定研究院, 北京 100050)

摘要: **目的** 对即用型缓冲蛋白胨水、3%氯化钠碱性蛋白胨水、月桂基硫酸盐胰蛋白胨肉汤培养基进行质量评价。**方法** 使用即用型培养基和新鲜配制的培养基对已完成生化确认的10株沙门氏菌、5株阪崎肠杆菌、15株副溶血性弧菌、15株肠杆菌科细菌共45株目标菌及5株干扰菌进行检测, 确定菌株的灵敏度和特异性; 平行培养0、6和24 h后对比即用型培养基增菌效果与新鲜配制的培养基是否存在差异。**结果** 使用即用型培养基与新鲜配制的培养基对全部目标菌与干扰菌的6 h、24 h细菌生长的检验结果未见显著差异(全部单因素方法分析结果均为 $P>0.05$)。**结论** 被测试目标菌及干扰菌在即用型培养基中的生长结果可满足GB 4789.28-2013对非选择性及选择性增菌培养基的质量要求。

关键词: 即用型培养基; 灵敏度; 特异性

Research and evaluation on the ready-to-use culture medium in food detection

GAO Fei, LUO Hai-Peng, REN Xiu, CHEN Yi-Wen, LIU Na, YU Wen, XIE Guan-Dong, CUI Sheng-Hui*

(National Institutes for Food and Drug Control, Beijing 100050, China)

ABSTRACT: Objective To conduct quality assessment of ready-to-use buffered peptone water, 3% sodium chloride alkaline peptone water and lauryl sulfate tryptone (LST) broth. **Method** Using ready-to-use culture medium and freshly prepared culture medium, the sensibility and specificity of 45 strains of target bacteria which had completed the biochemical confirmation, including 10 strains of *Salmonella*, 5 strains of *Enterobacter sakazakii*, 15 strains of *Vibrio parahaemolyticus* and 15 strains of enterobacteriaceae bacteria, and 5 strains of interfering bacteria were detected and confirmed. After parallel cultivation for 0, 6 and 24 h, ready-to-use culture medium and freshly prepared culture medium were contrasted to find whether there was a significant difference. **Results** There were no significant difference between ready-to-use culture medium and freshly prepared culture medium through cultivation of target bacteria and interfering bacteria for 6 h and 24 h, and P values were all greater than 0.05. **Conclusion** In ready-to-use culture medium, the growth rates of target bacteria and interfering bacteria can satisfy the requirements of GB 4789.28-2013 for nonselective and selective enrichment medium.

KEY WORDS: ready-to-use culture medium; sensibility; specificity

1 引言

目前, 全球范围内食品安全问题的社会关注度日益增

高, WHO 报告表明, 全球每年约有 180 万人死于食源性疾病^[1]。在我国, 微生物污染所导致的食品问题是人们关注的热点^[2], 根据 2014 年国家卫生和计划生育委员会办公厅关于

基金项目: 北京市科技计划项目(D161100002116003)

Fund: Supported by the Beijing Municipal Science and Technology Project (D161100002116003)

*通讯作者: 崔生辉, 研究员, 主要研究方向为食源性病原菌鉴定与追踪技术、食源性病原菌耐药机制分析。E-mail: cuishenghui@aliyun.com

*Corresponding author: CUI Sheng-Hui, Research Fellow, National Institutes for Food and Drug Control, No.2, Tiantan West, Doncheng District, Beijing 100050, China. E-mail: cuishenghui@aliyun.com

2014 年全国食物中毒事件情况的通报显示, 微生物性食物中毒事件数量及中毒人数最多, 分别占食物中毒事件总数和中毒总人数的 42.5% 和 67.7%^[3]。食品行业中, 原材料的种植、加工、包装、存储、运输及销售等多个环节均存在微生物污染的可能性^[4], 防控范围大、管控难度大^[5]。因此, 食品微生物检测是预防食品中物生物污染的重要手段和必要因素^[6], 如何准确快速地完成检测具有重要意义^[7]。食品快速检测是指包括前处理在内, 可以在短时间内取得检测结果的检测^[8]。食品检测中所使用的传统配置型培养基需称量后高温灭菌使用^[9], 而即用型培养基具备操作简单、便于现场检测的特点^[10], 在食品快速检测领域应用前景广泛。

本研究通过进行即用型培养基与配制型培养基的平行测试, 对即用型缓冲蛋白胨水、即用型 3% 氯化钠碱性蛋白胨水、即用型月桂基硫酸盐胰蛋白胨肉汤培养基进行质量评价研究。同时, 探讨即用型培养基应用于食品快速检测的优点及存在的问题。

2 材料与方 法

2.1 菌株来源

目标菌株共 45 株, 包括沙门氏菌 10 株、阪崎肠杆菌 5 株、副溶血性弧菌 15 株、肠杆菌科细菌 15 株; 非目标菌株共 5 株, 包括粪肠球菌、单增李斯特氏菌、金黄色葡萄球菌、铜绿假单胞菌及表皮葡萄球菌, 均由中国食品药品检定研究院提供。

2.2 仪器与试剂

传统配置型培养基, 购自北京陆桥公司; 即用型培养基, 购自北京君立康公司。

MLS-3780 型高压灭菌器(日本 SANYO 公司); DIGITAL400cc 拍击式均质器(美国 Interscience 公司); EDDY JET1 全自动微生物螺旋加样系统(西班牙 FIASH AND GO 公司)。

2.3 实验方法

2.3.1 缓冲蛋白胨水培养基

取沙门氏菌、阪崎肠杆菌及其他细菌的新鲜 TSA 平

板培养物, 用无菌生理盐水调成 1.0 MCF 菌悬液, 并对菌悬液进行 10 倍系列稀释, 取浓度约为 1.0×10^2 CFU/mL 的菌悬液 1 mL 加入 225 mL BPW 中作为待测液, 置于 36 °C 培养, 分别于 0、6 和 24 h 后取 1 mL 培养物进行活菌计数。

2.3.2 3% 氯化钠碱性蛋白胨水培养基

取副溶血性弧菌和其他非目的菌新鲜 TSA 平板培养物, 用无菌生理盐水调成 1.0 MCF 菌悬液, 并对菌悬液进行 10 倍系列稀释, 取浓度约为 1.0×10^2 CFU/mL 的菌悬液 0.5 mL 加入 10 mL 3% 氯化钠碱性蛋白胨水中作为待测液, 置于 36 °C 培养, 分别于 0、6 和 24 h 后取 1 mL 培养物进行活菌计数。

2.3.3 月桂基硫酸盐胰蛋白胨肉汤培养基(lauryl sulfate tryptone water, LST)

取肠杆菌和其他非目的菌新鲜 TSA 平板培养物, 用无菌生理盐水调成 1.0 MCF 菌悬液, 并对菌悬液进行 10 倍系列稀释, 取浓度约为 1.0×10^2 CFU/mL 的菌悬液 0.5 mL 加入 10 mL 月桂基硫酸盐胰蛋白胨肉汤中作为待测液, 置于 36 °C 培养, 分别于 0、6 和 24 h 后取 1 mL 培养物进行活菌计数。

2.4 统计分析方法

通过与新鲜配制培养基平行检测对比, 结合 GB 4789.28-2013《食品安全国家标准 食品微生物学检验 培养基和试剂的质量要求》^[11]判断即用型培养基的增菌效果, 用 SPSS 16.0 软件中单因素方差检验程序对培养后细菌浓度差异进行统计学分析。

3 结 果

3.1 缓冲蛋白胨水培养基评价结果

对批号 JLKD4A150511、JLKD4A150319 和新鲜配制的缓冲蛋白胨水进行了微生物生长测试。在新鲜配制和 2 个批次即用型缓冲蛋白胨水培养基中, 15 株沙门氏菌、5 株阪崎肠杆菌和 5 株其他细菌均呈现良好生长, 经单因素方差分析显示, 25 株细菌经 6 h 和 24 h 增菌后经不同批次培养基培养后比较, 细菌浓度未见显著差异($P > 0.05$)。详细结果见表 1。

表 1 不同批次缓冲蛋白胨水中微生物生长结果
Table 1 Microbial growth results of different batches of buffered peptone water

缓冲蛋白胨水批次	菌株	菌株数量	浓度对数平均值(lgCFU/mL)	
			6 h	24 h
新配制	沙门氏菌	10	1.91±0.11	8.29±0.10
	阪崎肠杆菌	5	1.78±0.14	8.40±0.14
	非目标细菌	5	2.97±0.13	8.20±0.19
JLKD4A150511	沙门氏菌	10	1.84±0.09	8.37±0.12
	阪崎肠杆菌	5	1.86±0.11	8.44±0.09
	非目标细菌	5	2.83±0.16	8.23±0.20
JLKD4A150319	沙门氏菌	10	1.85±0.09	8.35±0.10
	阪崎肠杆菌	5	1.87±0.14	8.41±0.13
	非目标细菌	5	2.83±0.14	8.22±0.17

3.2 3%氯化钠碱性蛋白胨水评价结果

对批号 JLKG21A150402、JLKG21A150526、JLKG21A15040618 和新鲜配制的 3%氯化钠碱性蛋白胨水进行了微生物生长测试,在新鲜配制和 3 批次即用型 3%氯化钠碱性蛋白胨水培养基中,15 株副溶血弧菌均呈现良好生长,经单因素方差分析显示,经 6 h 和 24 h 增菌后,不同批次培养基间比较,副溶血弧菌浓度未见显著差异 ($P>0.05$);而非目的菌在 4 种培养基中经 6 h 与 24 h 增菌后均未见明显生长。结果见表 2。

3.3 月桂基硫酸盐胰蛋白胨水培养基评价

对批号 JLKG3A150321、JLKG3A150608、JLKG3A150617 和新鲜配制的 3%氯化钠碱性蛋白胨水进行了微生物生长测试,结果见表 3。在新鲜配制和三批次即用型月桂基硫酸盐胰蛋白胨水培养基中,15 株肠杆菌科细菌均呈现良好生长,经单因素方差分析显示,经 6 h 和 24 h 增菌后,不同批次培养基间比较,肠杆菌科细菌浓度未见显著差异 ($P>0.05$)。

表 2 不同批次 3%氯化钠碱性蛋白胨水中微生物生长结果
Table 2 Microbial growth results of different batches of 3% sodium chloride alkaline peptone water

培养基批次	菌株	菌株数量	浓度对数平均值(lgCFU/mL)	
			6 h	24 h
新配制	副溶血性弧菌	15	5.10±0.06	8.01±0.03
	非目标细菌	5	2.53±0.15	4.33±2.53
	混合菌*	5	5.38±0.94	/
JLKG21A150402	副溶血性弧菌	15	5.14±0.53	7.90±0.33
	非目标细菌	5	2.61±0.39	4.31±2.52
	混合菌	5	5.37±0.10	/
JLKG21A150526	副溶血性弧菌	15	5.10±0.06	8.01±0.07
	非目标细菌	5	2.62±0.38	4.26±2.52
	混合菌	5	5.25±0.11	/
JLKG21A15040618	副溶血性弧菌	15	5.10±0.06	7.03±0.25
	非目标细菌	5	2.63±0.38	4.32±2.52
	混合菌	5	5.19±0.11	/

注: /未进行测试; *为不同副溶血性弧菌+大肠埃希氏菌 ATCC25922 在 8 h 生长结果。

表 3 不同批次月桂基硫酸盐胰蛋白胨水培养基中微生物生长结果
Table 3 Microbial growth results of different batches of LST broth

培养基批次	菌株	菌株数量	浓度对数平均值(lgCFU/mL)	
			6 h	24 h
新配制	肠杆菌科细菌	15	4.42±0.30	8.65±0.48
	非目的菌	5	4.24±1.11	6.06±3.36
JLKG3A150321	肠杆菌科细菌	15	4.47±0.28	8.66±0.51
	非目的菌	5	4.26±1.08	6.08±3.49
JLKG3A150608	肠杆菌科细菌	15	4.47±0.27	8.67±0.50
	非目的菌	5	4.21±1.05	6.03±3.48
JLKG3A150617	肠杆菌科细菌	15	4.43±0.26	8.68±0.50
	非目的菌	5	4.20±1.06	5.93±3.47

4 讨论

本研究通过对45株目标菌株、5株非目标菌的增菌对比,证明被测试目标菌及非目标菌在即用型培养基中的生长浓度对数值全部可满足标准GB4789.28-2013《食品安全国家标准 食品微生物学检验 培养基和试剂的质量要求》对非选择性及选择性增菌培养基的质量要求。使用即用型培养基与新鲜配制的培养基对全部目标菌与干扰菌的6h、24h细菌生长的检验结果均无显著差异(全部单因素方差分析结果均为 $P>0.05$)。

与传统同类型的配制型培养基相比,即用型缓冲蛋白胨水、即用型3%氯化钠碱性蛋白胨水、即用型月桂基硫酸盐胰蛋白胨肉汤培养基具备便利、省时的特点,在食品快速检验领域应用前景广泛。即用型培养基主要省去了培养基高温灭菌与平衡温度的时间,同时拥有便于携带与储存的特点^[12],这些特点符合食品快速检测特别是现场快检的要求^[13],具备应用价值,但必须严格筛选所使用的即用型培养基,注意质量控制^[14],保证无菌使用,必要时可进行无菌试验和性能测试^[15]。而且当样本量较大时,即用型培养基将为食品检验特别是现场食品检验提供更多便利性。建议在后续研究中,增加其他品种即用型培养基的对比试验^[16]。

参考文献

- [1] 总局全面部署打击保健食品“四非”专项行动[EB/OL]. <http://www.sda.gov.cn/WS01/CL1523/81960.html>.2013-05-20.
The special action of "four not" against health food was comprehensively deployed by Administration[EB/OL]. <http://www.sda.gov.cn/WS01/CL1523/81960.html>.2013-05-20
- [2] 李丹,王守伟,臧明伍,等.中国加工食品安全现状研究—基于国家质检总局2009~2012年抽查数据分析[J].食品工业科技,2015,36(13):275-281.
Li Dan, Wang SW, Zang MW, et al. Study on processed food safety situation in China-based on the GAQSIQ data from 2009 to 2012 [J]. Sci Technol Food Ind, 2015, 36(13): 275-281.
- [3] 孟雯.国家卫生计生委办公厅通报2014年第一季度全国食物中毒事件情况[J].食品安全导刊,2014,(11):14-14
Meng W. Bulletin of the national food poisoning cases in quarter 1th of 2014 issued from national health and family planning commission general office [J]. China Food Saf Magaz, 2014, (11): 14-14.
- [4] 李梓娴,速存芬,陈磊,等.即食凉拌食品中微生物污染情况及大肠菌群限量的调查分析[J].中国卫生产业,2015,(12):192-194.
Li ZX, Su CF, Chen L, et al. Investigation of instant cold foods and microbial contamination of coliform limit [J]. China Health Ind, 2015, (12): 192-194.
- [5] 温振东.流通环节食品快速检测技术应用现状与发展建议[J].食品安全导刊,2011,(12):24-25.
Wen ZD. Application status and development suggestions of the rapid detection technology of circulation link [J]. China Food Saf, 2011, (12): 24-25.
- [6] Zwietering MH, Ross T, Gorris LGM. Food safety assurance systems: microbiological testing, sampling plans, and microbiological criteria [M]. Waltham: Academic Press, 2014.
- [7] 郑天驰,王刚力,曹进,等.食品快速检测方法现状及建议[J].食品安全质量检测学报,2016,7(3):853-859.
Zheng TC, Wang GL, Cao J, et al. Current status and consideration of food rapid test method [J]. J Food Saf Qual, 2016, 7(3): 853-859.
- [8] 师邱毅,纪其雄,许莉勇.食品安全快速检测技术及应用[M].北京:化学工业出版社,2010.
Shi QY, Ji QX, Xu LY. The Application of rapid detection technology of food safety [M]. Beijing: Chemical Industry Press, 2010.
- [9] 李艳嫦,蔡芷荷,卢勉飞.2010年版《中国药典》中10种培养基灭菌参数的研究[J].中国药房,2015,26(31):4371-4374.
Li YC, Cai ZH, Lu MF. Study on the sterilization parameters for 10 kinds of culture media stated in Chinese Pharmacopoeia 2010 edition [J]. China Pharm, 2015, 26(31): 4371-4374.
- [10] 王佳男,肖茜文,王艳蕊,等.食品微生物测试片的研究进展[J].食品安全质量检测学报,2016,7(2):701-703.
Wang JN, Xiao QW, Wang YR, et al. Research progress of food microorganism test slip [J]. J Food Saf Qual, 2016, 7(2): 701-703.
- [11] GB4789.28-2013 食品安全国家标准 食品微生物学检验 培养基和试剂的质量要求[S].
GB4789.4-2010 National food safety standard-Food microbiological examination: Quality requirements for media and reagents [S].
- [12] 赵冬云.快速检测食品中微生物方法的进展[J].实用医技杂志,2007,14(16):2126-2128.
Zhao DY. Progress of the quick inspection methods of microorganisms in the food [J]. J Pract Med Tech, 2007, 14(16): 2126-2128.
- [13] 刘欢,李晋成,吴立冬,等.现场快速检测在水产品农药残留监管中的应用及发展建议[J].食品安全质量检测学报,2014,5(8):2302-2307.
Liu H, Li JC, Wu LD, et al. Application and development proposals of on-site fast detection for supervision drug residues in aquatic products [J]. J Food Saf Qual, 2014, 5(8): 2302-2307.
- [14] 戴桂勋.浅析培养基质量控制与标准检验方法及评审准则要求[J].中国职业医学,2011,(S1):43-47.
Dai GX. Analyze the methods of quality control and standard test of culture media and the requirements of assessment Criterion [J]. China Occup Med, 2011, (S1): 43-47.
- [15] 肖杨,罗健梅,龙芝美.微生物检验中培养基的质量控制[J].中国感染控制杂志,2010,09(5):364-365.
Xiao Y, Luo JM, Long ZM. Quality control of the media in microbiological test [J]. Chin J Infect Control, 2010, 09(5): 364-365.
- [16] 李超,陈晓璇,李莹,等.沙门氏菌快速检测显色培养基的研制[J].河南工业大学学报,2014,35(1):60-63.
Li C, Chen XL, Li Y, et al. Research on rapid detection of Salmonella chromogenic medium [J]. J Henan Univ Technol (Nat Sci Ed), 2014, 35(1): 60-63.

(责任编辑:姚菲)

作者简介



高 飞, 硕士, 助理研究员, 主要研究方向为微生物检验与分析。
E-mail: cosmetic_detection@163.com



崔生辉, 研究员, 主要研究方向为食源性致病菌鉴定与追踪技术、食源性病原菌耐药机制分析。
E-mail: cuishenghui@aliyun.com

“食品包装材料”专题征稿函

食品包装材料, 以其化学稳定、制造成本低、重量轻、易于加工、装饰效果好、运输销售方便以及良好的食品保护作用而被广泛应用, 但由于与食品直接接触, 包装材料所含的有害物质会通过吸收、溶解、扩散等过程向食品发生迁移从而污染食品。食品包装材料的安全是食品安全的重要组成部分, 建立完善的食品包装材料保障体系是应对频发的由食品包装材料引起的食品安全事件的关键。

鉴于此, 本刊特别策划了“食品包装材料”专题, 主要围绕**食品包装材料法律法规、食品包装材料的安全标准、食品包装材料中有毒有害化学物质的检测、有害残留物质的迁移转化机理、新型食品包装材料(环保材料, 可食性材料)**等方面或者您认为在食品包装材料方面有意义的内容进行论述, 计划在**2016年10月**出版。

本刊主编**吴永宁**研究员及编辑部特邀请您为本专题撰写稿件, 以期进一步提升该专题的学术质量和影响力。综述、实验报告、研究论文均可, 请**2016年9月10日**通过网站或 E-mail 投稿。我们将快速处理并优先发表。

感谢您的参与和支持! 也欢迎您能帮忙转发! 祝好!

投稿方式:

网站: www.chinafoodj.com

E-mail: jfoodsq@126.com

《食品安全质量检测学报》编辑部