

# 食品微生物快速检验和无菌操作技术研究

刘婷 黄维

(湖北省阿克瑞德检验检测有限公司 430074)

摘要: 食品微生物检测主要通过微生物学的方法、原理, 检验食品中微生物的数量、种类、性质及对健康的影响, 以反映食品是否符合相关规定。现阶段, 我国卫生部颁布食品微生物指标存在大肠菌群、菌落总数、致病菌3项。而无菌技术则能够有效提高微生物检验结果的可靠性及准确性, 进而在无菌技术下, 确保食品的安全、可靠, 保障食品样本未受到材料、设备、环境微生物影响。

关键词: 食品微生物; 快速检验; 无菌操作; 食品安全

Study on rapid detection and aseptic operation of food microorganisms

[abstract] microbial detection in food is mainly based on the methods and principles of microbiology to examine the quantity, species, nature and health effects of microorganisms in food, so as to reflect whether the food meets the relevant regulations. At the present stage, our Country Ministry of Health promulgates the food microorganism index to have the coliform group, the colony total number, the pathogen 3 items. And the aseptic technology can effectively improve the reliability and accuracy of microbiological test results, and then under the aseptic technology, to ensure the safety and reliability of food, to ensure that food samples are not affected by materials, equipment or environmental microorganisms.

[key words] food microorganism; rapid inspection; aseptic operation; food safety

近年来, 随着我国人们经济条件不断完善, 人们对食品安全的关注程度逐渐上升, 也是国民身体健康的基本保障。相关研究发现, 食品微生物污染与机体健康存在密切联系, 而选择科学性、准确性、针对性检验技术, 能够有效保障人们机体健康<sup>[1]</sup>。既往临床微生物检验以生化鉴定、培养、染色为主要方案, 虽能够获得显著价值, 也属于食品微生物检验的“金标准”。但临床研究发现, 细菌生长繁殖延误一定时间, 需及时予以检测<sup>[2]</sup>。同时病原体培养与抗生素、营养使用以及病原体含量等因素存在一定联系<sup>[3]</sup>。近年来, 随着我国现代技术不断强化, 且分子生物、免疫学、物理化学等检验技术也在随之递增, 使微生物检验技术已在我国广泛应用, 该技术是食品管理中关键步骤之一, 能够合理、及时、准确规避生物超标不合格食品, 树立品牌形象, 进而规范不良风险发生, 确保食品安全性<sup>[4]</sup>。食品微生物检验包括送检、采集、处理、检验、结果报告等多个步骤, 且不同食品微生物种类存在一定差异, 加之食品中微生物种类较为复杂, 因此严格执行无菌技术属于食品微生物检验的核心步骤, 只有在无菌设备、无菌环境下, 严格执行无菌要求实施细胞传代及培养, 才可确保食品的安全性<sup>[5]</sup>。鉴于此, 本文深入分析食品微生物快速检验和无菌操作技术的作用及效果, 如下:

## 1 食品微生物快速检验技术

### 1.1 阻抗法

微生物在培养基过程中, 其繁殖可促进电特性异常, 而阻抗法主要通过电变化特性, 合理判断食品微生物含量的一种检测方案, 其能够有效检测食品内诸多微生物<sup>[6]</sup>。相关研究发现, 微生物可将培养基内的惰性大分子营养素, 逐渐分解为重组微电活性小分子物质, 且依据不同生长期微生物浓度, 与培养基电阻性之间的线性关系, 利用培养基电阻抗检测值, 评估出食品样本微生物浓度<sup>[7]</sup>。

### 1.2 多聚酶链式反应技术(PCR)

PCR 技术核心主要利用体外酶促反应高效合成, 而产生特异性双链 DNA 片段, 随后利用扩增方式, 掌握不同细菌种类, 且在体外完成 DNA 片段扩增, 进而又称为基因体外扩增法<sup>[8]</sup>。相关文献证实, PCR 技术受到诸多学者青睐, 该技术具有灵敏度高、耗费时间短等优势, 其能够反映出细胞的拷贝基因, 利用 PCR 技术在短时间扩增或未扩增均状况下, 即可筛选检测细胞<sup>[9]</sup>。但临床研究发现, PCR 技术也伴有不同程度的不足, (1) 出现假阴性结果, 因食物标本、增菌培养基及其微生物 DNA 可控制 Taq 酶活性<sup>[10]</sup>。(2) 诱发假阳性结果, PCR 操作期间较为严格, 微量外源性 DNA 混入食品样本, 可产生无限放大; (3) 感染检测结果的准确性, 由扩增过程装配异常所造成。

### 1.3 DNA 芯片技术

基因芯片技术的进展具有广阔空间, 而生物芯片属于尼龙膜、

玻片的载体, 其能够反映出多个生物活性分子<sup>[11]</sup>。而该类分子在单位面积密度较高, 于试验操作下, 即可判断多种食品样本, 掌握其多种病原微生物。相关研究发现, 依据芯片固定微生物活性分子的差异, 可将其分为蛋白芯片、基因芯片两类, 其中靶 DNA 属于基因芯片的活性分子<sup>[12]</sup>。与既往传统检测技术相比较, DNA 芯片效果显著, 其能够快速、准确反映病原体遗传信息, 且具有少样品需求。

### 1.4 酶联免疫吸附技术

酶联免疫吸附技术已得到诸多学者的认可, 其目的在于固相载体吸附抗原或抗体实施免疫酶染色, 在酶作用下产生显色反映, 随后通过定性、定量措施, 判断有色产物量, 进而掌握样品中待测物质含量, 属于一种敏感性高、特异性强食品微生物检测方案。其中双抗体夹心法、捕获法、间接法属于常用酶联免疫吸附技术, 其应用食品中大肠杆菌、沙门氏菌、金黄色葡萄球菌、弯曲杆菌等微生物, 检测食品标本数量可达到上千份, 具有反应灵敏、成本低、使用范围广、定量、检测速度等特点<sup>[13]</sup>。

## 2 食品微生物检验无菌操作技术

### 2.1 取样

食品微生物检验的无菌技术是确保样本质量的关键, 取样期间使用消毒天平、药匙、剪刀等检验用品, 均经 170 度 2h 干热灭菌, 取样期间需严格依据无菌操作技术, 严格确保样品的合理性。

### 2.2 样品前处理

取样后需实施样品前干预, 每个步骤均严格执行无菌操作原则。通常称取 25g 样本盛有 225ml 无菌稀释液中, 制备成 1:10 样品均液实施检验。对计数样品制备 10 倍系列稀释样品匀液, 依据食品安全国家标准食品微生物学检验菌落总数测定。

### 2.3 纯种分离

为严格判断食品标本微生物群体, 检验期间可混杂样品中分离出疑似目标菌, 继而获得纯培养物。为强化微生物生长繁殖, 依据微生物不同特性, 准确性采取培养基, 并提供适宜的培养条件。同时利用相应的抑制素, 控制除目标均以外的杂菌生长繁殖, 进而淘汰其他杂菌, 将培养物接种于固体培养基上, 形成目标菌的单菌落<sup>[14]</sup>。依据要求鉴定单菌落, 确保分离至纯菌株。

### 2.4 革兰氏染色

相关研究发现, 革兰氏染色属于食品微生物确定的重要方案, 选择疑似目标菌, 经纯化分离后染色, 在光学显微镜下观察微生物形态, 能够初步判断微生物是否为所检验目标菌<sup>[15]</sup>。涂片-初染-媒染-脱色-复染为革兰氏染色操作步骤, 涂片属于最重要步骤之一, 涂片期间需严格执行无菌操作, 规避混入杂菌, 干扰镜检结果。

(下转第 323 页)

(上接第 321 页)

3 小结

食品质量检验期间,需依据实际状况,合理选择阻抗法、DNA 芯片技术、多聚酶链式反应技术、酶联免疫吸附技术等实施食品微生物检验。同时在检验过程中,需严格执行无菌操作技术,强化无菌操作程序,在样品、取样前处理、纯种分离、革兰氏染色等操作中,循严格执行无菌操作技术,合理、准确完成食品微生物检验工作,确保人们饮食健康。

参考文献

[1]丁卫平,杨夕宇,朱可滢,等.分子生物学技术在检测机构食品微生物检测中的应用现状、技术制约因素与发展趋势[J].中国调味品,2021,46(3):198-200.

[2]党辉,张宝善,高贵田,等.基于混合式教学的食品微生物学课程教学模式创新研究[J].安徽农业科学,2020,48(2):275-277.

[3]方舒婷,刘舒芹,向章敏.微生物挥发性有机物检测及在食品安全监测中的应用[J].食品工业科技,2020,41(16):353-361.

[4]曾献春,郭莉娟,孙丰慧,等.“食品微生物学”与“食品微生物学检验”对接镶嵌式教学方式初探[J].微生物学通报,2020,47(4):1126-1132.

[5]曹艳娟,蔡伟江,蔡晓霞.微生物法测定全营养配方食品中生物素的不确定度评定[J].食品安全质量检测学报,2020,11(23):8662-8669.

[6]王伟杰,孙婷婷,魏彤竹,等.2017~2018年辽宁省食品中食源性致病微生物监测结果分析[J].食品安全质量检测学报,2020,11(22):8566-8571.

[7]颜佳,张立钊,熊香元,等.微生物原生质体融合育种技术及其在发酵食品生产中的应用[J].食品安全质量检测学报,2020,11(22):8455-8462.

[8]郭启新,张蕾,张妮妮,等.食品微生物定量检测内部质量

控制方法的应用[J].食品安全质量检测学报,2020,11(14):4933-4936.

[9]YULUN NIE, XIKE TIAN, ZHAOXIN ZHOU, et al. Impact of food to microorganism ratio and alcohol ethoxylate dosage on methane production in treatment of low-strength wastewater by a submerged anaerobic membrane bioreactor[J]. Frontier of environmental science and Engineering, 2017, 11(6): 44-54.

[10]朱英莲,郭丽萍,仇宏伟.与职业(行业)标准相衔接高校《食品微生物检验》实验课程教学改革与实践[J].食品与发酵科技,2019,55(5):134-138.

[11]韩伟,谭云,张云鹏,等.粮油加工副产物在微生物群导向型食品研发中的应用潜力[J].粮油食品科技,2019,27(4):30-35.

[12]刘筱雪,袁文娟,丁涛,等.基于高通量测序对四川怀远特色发酵食品微生物群落结构分析[J].四川大学学报(自然科学版),2019,56(3):537-543.

[13]DONG WANG, YUANYUAN ZUO, NANNAN LIU, et al. Stability of pure oxygen aeration-activated sludge system under non-steady food-to-microorganism ratio conditions during petrochemical wastewater treatment[J]. Journal of Environmental Science and Health, Part A, 2020, 56(1): 21-31.

[14]毛露甜,黄雁,王晓晗,等.基于多维度育人的食品微生物检验专题实验的教学探索与实践[J].微生物学通报,2019,46(12):3497-3506.

[15]CIZEIKIENE, D, JUODEIKIENE, G, BARTKIENE, E., et al. Antimicrobial activity of lactic acid bacteria against pathogenic and spoilage microorganism isolated from food and their control in wheat bread[J]. Food Control, 2013, 31(2): 539-545.

作者简介:刘婷,女,1989.08,大学专科,食品生物。