

DOI: 10.19812/j.cnki.jfsq11-5956/ts.20240930001

引用格式: 陆峥, 张晓媛, 董葵, 等. 马铃薯葡萄糖琼脂与孟加拉红琼脂培养基检测霉菌的效果比较[J]. 食品安全质量检测学报, 2025, 16(6): 59–65.

LU Z, ZHANG XAI, DONG K, *et al.* Comparison of the mold counting effects between potato dextrose agar and rose Bengal agar culture medium [J]. Journal of Food Safety & Quality, 2025, 16(6): 59–65. (in Chinese with English abstract).

马铃薯葡萄糖琼脂与孟加拉红琼脂培养基 检测霉菌的效果比较

陆 峥¹, 张晓媛¹, 董 葵¹, 王丽丽¹, 牟椿頔², 崔 霞^{1*}

(1. 北京市疾病预防控制中心/食物中毒诊断溯源技术北京市重点实验室, 北京 100013;
2. 北京农学院国际学院, 北京 100096)

摘要: **目的** 比较马铃薯葡萄糖琼脂与孟加拉红琼脂两种计数培养基的霉菌计数效果。**方法** 分别使用马铃薯葡萄糖琼脂培养基与孟加拉红琼脂培养基对 20 株霉菌标准菌株、15 株常见食源性致病菌标准菌株进行生长率、特异性及选择性比较, 并应用两种培养基对 36 件实际食品样品和 174 件食品接触环境冰箱涂抹样品进行计数效果对比。**结果** 测试的 20 种霉菌标准菌株在马铃薯葡萄糖琼脂与孟加拉红琼脂两种培养基的生长率 PR 值均大于 0.7, 选择性 G 值均小于 1, 但在马铃薯葡萄糖琼脂培养基上霉菌具有更为典型的菌落形态, 其特异性优于孟加拉红琼脂培养基。在实际样品检测中马铃薯葡萄糖琼脂培养基检出率较高, 与孟加拉红培养基相比差异性显著($\chi^2=13.551$, $P=0.001$), 特别是在低污染的样品检测中具有较高的检出率($\chi^2=9.929$, $P=0.001$), 但是对于高污染样品, 使用孟加拉红琼脂培养基更便于计数。**结论** 使用单一培养基会影响计数结果, 建议在食品样品进行霉菌计数时, 同时应用两种培养基或根据污染程度选择适当的计数培养基。

关键词: 霉菌; 孟加拉红琼脂培养基; 马铃薯葡萄糖琼脂培养基; 计数检测

Comparison of the mold counting effects between potato dextrose agar and rose Bengal agar culture medium

LU Zheng¹, ZHANG Xiao-Ai¹, DONG Kui¹, WANG Li-Li¹, MU Chun-Di², CUI Xia^{1*}

(1. Beijing Center for Disease Prevention and Control, Key Laboratory of Diagnostic and Traceability Technologies for Food Poisoning, Beijing 100013, China; 2. International College, Beijing University of Agriculture, Beijing 100096, China)

ABSTRACT: Objective To compare the mold counting effects of potato dextrose agar and rose Bengal agar as 2 types of counting culture medium. **Methods** Growth rate, specificity, and selectivity were compared between potato dextrose agar and rose Bengal agar culture medium using 20 kinds of standard mold strains and 15 kinds of common foodborne pathogen strains. Additionally, the counting effects of both culture medium were assessed using 36 actual

收稿日期: 2024-09-30

基金项目: 科技部“食品安全关键技术研发”重点专项(2017FYC1601400)

第一作者: 陆峥(1969—), 女, 副主任技师, 主要研究方向为食品微生物检测。E-mail: luzheng690715@163.com

*通信作者: 崔霞(1982—), 女, 副研究员, 主要研究方向为食品微生物。E-mail: cuixiastyle@163.com

food samples and 174 swab samples from food contact environments in refrigerators. **Results** The growth rate (PR value) of the 20 kinds of mold strains on both potato dextrose agar and rose Bengal agar culture medium was greater than 0.7, and the selectivity (*G* value) was less than 1. However, molds on potato dextrose agar culture medium exhibited more typical colony morphology, indicating better specificity than rose Bengal agar culture medium. In the detection of actual samples, the detection rate of potato dextrose agar culture medium was relatively high, showing a significant difference compared to rose Bengal agar culture medium ($\chi^2=13.551, P=0.001$). It exhibited a particularly higher detection rate in samples with low contamination ($\chi^2=9.929, P=0.001$). However, for highly contaminated samples, rose Bengal agar culture medium was more convenient for counting. **Conclusion** Using a single culture medium can affect counting results. It is recommended to apply 2 types of culture medium or select an appropriate counting medium based on the contamination level when conducting mold counting tests on food samples.

KEY WORDS: mold; rose Bengal agar culture medium; potato dextrose agar culture medium; counting detection

0 引言

霉菌不是分类学的名词,是形成分枝菌丝真菌的统称,在分类上属于真菌门的各个亚门,在自然界中广泛存在。在酿造、工业发酵、抗生素和酶制剂中广泛应用,但同时也是水果、坚果、粮食及其制品等食品发霉变质的主要原因^[1-3]。目前我国已针对易受霉菌污染的糕点、果酱、坚果、乳与乳制品、熟制米面制品^[4-7]等制定了较为严格的限量标准,一般允许范围在 10~150 CFU/g 之间,因此一种灵敏性、特异性、选择性好的计数培养基不仅对于霉菌计数检测中具有重要意义,同时也是判定一种食品产品合格与否的关键^[8-10]。

目前可参考的食品中霉菌检测标准有美国 BAM Chapter 18-2001、澳大利亚 AS 5013.29—2009、国际标准化组织 ISO 21527—2008,在这些标准中多以氯硝胺玫瑰红氯霉素琼脂(改良孟加拉红培养基)作为计数培养基,而我国 GB 4789.15—2016《食品安全国家标准 食品微生物学检验 霉菌和酵母计数》则以孟加拉红琼脂(rose Bengal agar, RBA)培养基和葡萄糖马铃薯琼脂(potato dextrose agar, PDA)培养基作为食品中霉菌计数的推荐培养基,却未给出明确推荐或各自的适用性,为此本研究对 2 种培养基进行霉菌生长率、特异性、选择性以及在食品样品霉菌计数应用方面进行了系统对比分析。由于霉菌种类繁多,食品基质复杂、在实验室计数检测和实验室比对中发现^[11-13],任何一种单一的培养基的使用都不能适合所有霉菌的生长,可能出现计数结果不准确甚至漏检的问题,增加食品限量要求的误判风险,从而增加了由霉菌超标食品引起食源性疾患的发生风险。

鉴于此,本研究使用 RBA 和 PDA 两种培养基对 20 株霉菌的标准菌株、15 株其他食源性致病菌的标准菌株、36 件食品样品以及 174 件食品接触环境(冰箱)涂抹样品进行计数效果对比试验,以此了解 2 种霉菌计数培养基特点及其适用情况,以提高计数准确性,减少判读误差,同时

为今后相关标准的改进提出建议。

1 材料与方法

1.1 试验菌株

霉菌标准菌株 20 株,分别为杂色曲霉 CICC2474、赭曲霉 CICC24718、黑曲霉 CICC2487、黄曲霉 CICC2219 及 BNCC336156、杂色曲霉 CICC2474、炭黑曲霉 CICC41254、寄生曲霉 CICC41386、构巢曲霉 CICC2438、岛青霉 CICC4034、桔青霉 CICC2478、毒青霉 CICC4036、鲜绿青霉 CICC4029、金灰青霉 CICC4026、产黄青霉 BNCC336234、串珠镰孢 CICC2490、禾谷镰刀菌 BNCC113713、串珠镰刀菌 BNCC186247、互隔铰链孢霉 CICC123548、哈茨木霉 CICC41290。常见食源性致病细菌标准菌株 15 株,分别为蜡样芽孢杆菌 CICC21261、金黄色葡萄球菌 CMCC26003 及 CICC21600、无乳链球菌 ATCC19615、克罗诺阪崎肠杆菌 CICC21546、肺炎克雷伯氏菌 CICC10870、单核细胞增生李斯特氏菌 CICC21633 及 ATCC19115、大肠埃希氏菌 CICC10389 及 ATCC25922、鼠伤寒沙门氏菌 CICC21484、肠炎沙门氏菌 CMCC50041、副溶血性弧菌 CICC21617、福氏志贺氏菌 CICC21534、粪大肠杆菌 ATCC29212,以上菌株来源于中国工业微生物菌种保藏中心、美国模式培养物研究所、中国微生物菌种保藏中心和中国医学细菌菌种保藏管理中心,所有试验菌株均为有证标准物质。

1.2 样品来源

2024 年北京市售散装食品 36 件,包括糕点 8 件、坚果 5 件、蜜饯果干 6 件、乳与乳制品 6 件、米面制品 6 件、鲜切水果 5 件。北京西城区家用冰箱涂抹样品 174 件。

1.3 培养基和试剂

RBA、PDA、沙氏葡萄糖琼脂(sabouraud dextrose agar, SDA)、沙氏葡萄糖肉汤(sabouraud's dextrose broth, SDB)、脑心浸液琼脂(brain heart infusion agar, BHIA)、脑心浸液肉汤(brain heart infusion broth, BHI)等培养基(北京陆桥技术

股份有限公司); 乳酸酚棉蓝染液(南京森贝伽生物科技有限公司)。

1.4 仪器设备

ECLIPSE Ci 连续变倍体视显微镜(日本 Nikon 公司); Microflex LT 飞行时间质谱仪(德国 Bruker 公司); VITEK 浊度仪(法国 BioMerieux 公司); 实验用 Milli-Q 去离子水系统(美国 Millipore 公司); MSC-ADRANTAGE 生物安全柜(美国 Thermal 公司); KBF240 霉菌培养箱(德国 Binder 公司)。

1.5 生长率测试

根据 GB 4789.28—2024《食品安全国家标准 食品微生物学检验 培养基和试剂质量要求》, 将 20 株霉菌标准菌株, 经 SDA 平板纯培养后, 转种 SDB 肉汤中, 28 °C 培养 24~72 h, 将肉汤制成 0.5 个麦氏浊度菌悬液, 进行 10 倍梯度稀释, 选择 10^{-5} 、 10^{-6} 、 10^{-7} 、 10^{-8} 和 10^{-9} 5 个稀释度菌液, 每个稀释度吸取 1 mL 加入平皿, 分别倾入 RBA、PDA 及 SDA 培养基摇匀, 28 °C 培养 3~5 d 后选择稀释度适宜(10~150 CFU/皿)的平板进行计数, 计算每个稀释度的菌悬液在 2 种培养基上的菌落数与 SDA 培养基上菌落数的比值(PR 值), 即为霉菌的生长率^[9], $PR > 0.7$ 判定培养基具有良好的生长率。

1.6 特异性测试

根据 GB 4789.28—2024, 将 20 株霉菌标准菌株, 经 SDA 平板纯培养后, 分别分离 RBA 平板和 PDA 平板, 28 °C 培养 24~72 h; 同时将 15 种常见食源性致病菌标准菌株经 BHIA 平板纯培养后, 分别分离 RBA 平板和 PDA 平板, 28 °C 培养 3~5 d, 观察各菌株在 2 种平板的生长情况, 比较 2 种培养基对测试菌株的特异性。

1.7 选择性测试

根据 GB 4789.28—2024 非目标菌选择性半定量测试法, 将金黄色葡萄球菌、大肠埃希氏菌等 15 株常见食源性致病菌标准菌株经 BHIA 平板纯培养后, 转种 BHI 肉汤中, 30 °C 培养 18 h, 将肉汤制成 0.5 个麦氏浊度菌悬液, 用 10 μ L 接种环分别取一环菌悬液 6 段划线法划分离 RBA 平板和 PDA 平板, 每条线生长稠密的计为 1, 一半生长的计 0.5, 最高 G 值为 6, 生长量小于线的一半的计为 0, 通过计算生长指数 G 值, 来测试 2 种培养基的选择性, $G < 1$ 判定培养基具有良好选择性。

1.8 样品检测

36 件市售散装食品样品依照 GB 4789.15—2016《食品安全国家标准 食品微生物学检验 霉菌和酵母计数》第一法平板计数法进行检测, 174 件家用冰箱涂抹样品参照 GB 14934—2016《食品安全国家标准 消毒餐饮具》棉拭子涂抹法进行检测。食品样品称取 25 g 于 225 g 磷酸盐缓

冲液中均质, 涂抹棉拭子置于 10 mL 磷酸盐缓冲液中振荡混匀, 分别制成 1:10 (V:V) 稀释液, 选择 2~3 个适宜的稀释度, 每个稀释度吸取 1 mL 加入平皿, 分别倾入温度适宜的 RBA 培养基和 PDA 培养基摇匀, 28 °C 正置培养 3~5 d 后计数, 并挑取霉菌菌落进行鉴定。

1.9 菌株鉴定

观察 2 种培养基上的菌落形态、并挑取 2 种培养基上霉菌菌落进行乳酸苯酚涂片镜检^[14-18], 挑取新鲜的霉菌菌丝进行飞行质谱鉴定^[19-23], 部分通过形态学和质谱难以鉴定的霉菌菌株进行基因测序^[24-25]。

1.10 数据处理

采用 SPSS 21.0 对检测结果进行统计学分析。

2 结果与分析

2.1 生长率测试

20 株霉菌标准菌株在 PDA 培养基和 RBA 培养基上生长率(PR 值)如表 1, 除卷枝毛霉和哈茨木霉, 由于其生长迅速、菌丝生长旺盛, 蔓延生长, 造成参比培养基 SDA 无法计数, 从而无法计算 PR 值外, 其他 18 种霉菌生长率 PR 值均大于 0.7, 依据 GB 4789.28—2024 对于选择性计数培养基 $PR > 0.7$ 的评定规定, 2 种培养基均具有良好的生长率。

2.2 培养基特异性

20 株霉菌标准菌株, 在 PDA 与 RBA 两种培养基上均可见霉菌菌落形态, 15 株非霉菌的常见食源性致病菌标准菌株均未生长, 可以与霉菌有效区分, 特异性较好。但 PDA 上 20 株霉菌标准菌株无论菌丝和孢子均可见较为典型的霉菌菌落形态, 且生长较 RBA 迅速, 不但缩短培养时间还利于后续的菌相分析及鉴定试验。与 RBA 相比, PDA 在培养基的特异性上具有优势, 便于后续的霉菌鉴定。与 PDA 相比, 多数霉菌标准菌株在 RBA 培养基上均生长局限且菌丝和孢子特征不典型, 虽不利于后续的鉴定, 但并不影响霉菌的计数, 特别是对于污染严重或有一些例如毛霉、木霉以及一些生长迅速, 菌丝及孢子丰富、蔓延生长的霉菌存在时, RBA 培养基由于其含有孟加拉红成分使得霉菌局限生长, 避免了霉菌成片或满平皿生长, 反而较 PDA 更易于得到更为准确的计数结果。见表 2。

2.3 培养基选择性

15 株细菌标准菌株在 PDA 培养基与 RBA 培养基上均为 $G < 1$, 选择性均为 100%, 由于 2 种培养基均加入了抗菌素氯霉素作为抑菌剂, 可以有效的抑制食品中常见食源性致病菌的生长, 实验结果表明 PDA 培养基和 RBA 培养基均具有很好的选择性, 结果见表 3。

表1 2种培养基生长率测试结果
Table 1 Growth rate test results of 2 types of different culture medium

标准菌株 名称	SDA			PDA		RBA		标准菌株 名称	SDA			PDA		RBA	
	计数 /(CFU/g)	计数 /(CFU/g)	PR 值	计数 /(CFU/g)	PR 值	计数 /(CFU/g)	PR 值		计数 /(CFU/g)	计数 /(CFU/g)	PR 值	计数 /(CFU/g)	PR 值		
杂色曲霉 CICC2474	83	88	1.06	80	0.96	桔青霉 CICC2478	34	34	1.00	34	1.00				
赭曲霉 CICC24718	2	2	1.00	2	1.00	毒青霉 CICC4036	61	55	0.90	48	0.79				
黑曲霉 CICC2487	40	35	0.88	45	1.13	鲜绿青霉 CICC4029	25	26	1.18	22	0.88				
黄曲霉 CICC2219	55	50	0.91	60	1.09	金灰青霉 CICC4026	30	27	0.90	25	0.83				
黄曲霉 BNCC336156	32	31	0.97	41	1.28	串珠镰孢 CICC2490	70	67	0.96	66	0.94				
杂色曲霉 CICC2474	83	83	1.00	65	0.78	禾谷镰刀菌 BNCC113713	45	40	0.89	37	0.82				
炭黑曲霉 CICC41254	40	37	0.93	50	1.25	串珠镰刀菌 BNCC186247	33	33	1.00	31	0.94				
寄生曲霉 CICC41386	43	44	1.02	43	1.00	互隔铰链孢霉 CICC123548	45	38	0.84	37	0.82				
构巢曲霉 CICC2438	20	14	0.70	20	1.00	哈茨木霉 CICC41290	无法计数	无法计数	/	26	/				
岛青霉 CICC4034	16	15	0.93	16	1.00	卷枝毛霉 CICC2633	无法计数	无法计数	/	6	/				

注: /表示无此项。

表2 2种培养基特异性测试结果
Table 2 Specificity tests results of 2 types of culture medium

菌株名称	PDA 培养基	RBA 培养基
杂色曲霉 CICC2474	局限, 菌落稍厚, 孢子绿色	局限, 菌落稍厚, 孢子黄色
赭曲霉 CICC24718	平坦丝绒状, 疏松褐色孢子	稍局限, 平坦丝绒状, 白色孢子
黑曲霉 CICC2487	丝绒状, 黑色孢子	丝绒状, 褐色孢子
黄曲霉 CICC2219	细致丝绒状, 黄绿色孢子	稍局限, 细致丝绒状, 黄白色孢子
黄曲霉 BNCC336156	细致丝绒状, 黄绿色孢子	稍局限, 细致丝绒状, 黄白色孢子
杂色曲霉 CICC2474	局限, 菌落稍厚, 孢子绿色	局限, 菌落稍厚, 孢子黄色
炭黑曲霉 CICC41254	丝绒状, 黑色孢子	丝绒状, 黑褐色孢子
寄生曲霉 CICC41386	平坦丝绒状, 边缘白色, 孢子深绿色	平坦丝绒状, 边缘白色, 孢子淡绿色
构巢曲霉 CICC2438	平坦丝绒状, 边缘白色, 孢子灰绿色	稍局限, 平坦丝绒状, 孢子黄白色
岛青霉 CICC4034	局限, 同心圆纹, 绒状, 孢子黄绿色	局限, 同心圆纹, 绒状, 孢子橘色
桔青霉 CICC2478	局限, 放射皱纹, 绒状, 孢子蓝绿色	局限, 放射状纹, 绒状, 孢子白色
毒青霉 CICC4036	局限, 同心圆纹, 中间絮状, 孢子黄绿色	局限, 同心圆纹, 中间絮状, 孢子浅黄色
鲜绿青霉 CICC4029	局限, 放射皱纹, 绒状, 孢子黄绿色	局限, 放射状纹, 绒状, 孢子白色
金灰青霉 CICC4026	局限, 放射皱纹, 绒状, 孢子灰绿色	局限, 放射状纹, 绒状, 孢子白色
卷枝毛霉 CICC2633	生长迅速, 长毛, 产孢不良呈白色	生长迅速, 长毛, 产孢不良呈白色
串珠镰孢 CICC2490	棉絮状, 孢子淡粉紫色	稍局限, 絮状, 淡黄色孢子
禾谷镰刀菌 BNCC113713	棉絮状, 菌丝淡紫色, 产孢不良	棉絮状, 菌丝白色, 产孢不良
串珠镰刀菌 BNCC186247	棉絮状, 孢子淡粉紫色	稍局限, 絮状, 淡黄色孢子
互隔交链孢霉 CICC123548	絮状, 同心圆, 黑褐色	局限, 同心圆, 褐色
哈茨木霉 CICC41290	生长迅速, 棉絮状, 产孢不良呈白色	生长迅速, 棉絮状, 产孢不良呈白色
金黄色葡萄球菌 MCC26003	未生长	未生长
金黄色葡萄球菌 CICC21600	未生长	未生长
蜡样芽胞杆菌 CICC21261	未生长	未生长
无乳链球菌 ATCC19615	未生长	未生长
克罗诺阪崎肠杆菌 ICC21546	未生长	未生长
肺炎克雷伯氏菌 CICC10870	未生长	未生长
单核细胞增生李斯特氏菌	未生长	未生长

表 2(续)

菌株名称	PDA 培养基	RBA 培养基
单核细胞增生李斯特氏菌 ATCC191151	未生长	未生长
大肠埃希氏菌 CICC10389	未生长	未生长
大肠埃希氏菌 ATCC25922	未生长	未生长
鼠伤寒沙门氏菌 CICC21484	未生长	未生长
肠炎沙门氏菌 CMCC50041	未生长	未生长
副溶血性弧菌 CICC21617	未生长	未生长
福氏志贺氏菌 CICC21534	未生长	未生长
粪大肠杆菌 ATCC29212	未生长	未生长

表 3 2 种培养基选择性测试结果
Table 3 Selective test results for 2 types of culture medium

菌株名称	G 值	
	PDA 培养基	RBA 培养基
金黄色葡萄球菌 CMCC26003	<1	<1
金黄色葡萄球菌 CICC21600	<1	<1
蜡样芽胞杆菌 CICC21261	<1	<1
无乳链球菌 ATCC19615	<1	<1
克罗诺阪崎肠杆菌 CICC21546	<1	<1
肺炎克雷伯氏菌 CICC10870	<1	<1
单核细胞增生李斯特氏菌 CICC21633	<1	<1
单核细胞增生李斯特氏菌 ATCC191151	<1	<1
大肠埃希氏菌 CICC10389	<1	<1
大肠埃希氏菌 ATCC25922	<1	<1
鼠伤寒沙门氏菌 CICC21484	<1	<1
肠炎沙门氏菌 CMCC50041	<1	<1
副溶血性弧菌 CICC21617	<1	<1
福氏志贺氏菌 CICC21534	<1	<1
粪大肠杆菌 ATCC29212	<1	<1

2.4 食品样品的检出结果

用 2 种培养基对 36 件食品样品及 174 件食品接触环境(冰箱)涂抹样品共计 210 件进行检测。PDA 培养基 155 件检出霉菌, 检出率为 73.8%, RBA 培养基 134 件检出霉菌, 检出率为 63.8%, 采用 2×2 配对 χ^2 检验进行分析, $\chi^2=13.551$, $P=0.001$, 小于显著水平 0.05, 差异显著, 表明 RBA 与 PDA 两种培养基的检测效果有显著差异。参照糕点、果酱、坚果、乳与乳制品、熟制米面制品等国家霉菌限量标准 50~150 CFU/g, 将计数结果分为低污染(<150 CFU/g)、高污染(>150 CFU/g), PDA 培养基 210 件实际样品霉菌计数结果低污染 135 件, 低污染检出率为 64.3%, 高污染 20 件,

高污染检出率为 9.5%; 而 RBA 培养基低污染 107 件, 低污染检出率为 51.0%, 高污染 27 件, 高污染检出率为 12.9%。 χ^2 检验结果表明 PDA 和 RBA 两种培养基高污染检出率无显著差异($\chi^2=0.834$, $P=0.240$), PDA 培养基的低污染检出率显著高于 RBA 培养基($\chi^2=9.929$, $P=0.001$)。提示 PDA 具有更高的检出率, 且更加适合低污染样品的计数检测, 但由于食品样品基质及背景菌复杂, 在含有类似毛霉、木霉, 甚至是部分曲霉存在时, 由于这些霉菌在 PDA 上生长迅速、菌丝生长旺盛, 蔓延生长, 从而计数困难, 而 RBA 培养基虽然在检出率不及 PDA, 却由于其特殊的成分孟加拉红既可以作为选择性抑菌剂, 还可以使霉菌局限生长, 可以避免菌落蔓延从而掩蔽其他霉菌的生长与计数, 因此高污染背景的实际样品霉菌检测中 RBA 培养基具有优势, 另外即使平皿正面霉菌生长出现融合, 由于 RBA 培养基背面易形成红色等颜色反应, 从而更利于霉菌计数。结果见表 4。

将 2 种培养基检出的霉菌通过形态学、飞行时间质谱、部分菌株进行基因测序进行鉴定及菌相分析。结果如表 5 所示, PDA 培养基检出 21 株曲霉、178 株青霉、4 株毛霉、其他霉菌 459 株; RBA 培养基检出 25 株曲霉、162 株青霉、20 株毛霉、其他霉菌 557 株。采用 χ^2 检验对 2 种培养基上各类霉菌检测相对频率进行差异分析, 检验结果显示在 PDA 和 RBA 培养基上曲霉($\chi^2=0.036$, $P=0.486$)和其他霉菌($\chi^2=2.207$, $P=0.078$)相对频率无显著差异, 青霉($\chi^2=6.311$, $P=0.007$)及毛霉($\chi^2=8.691$, $P=0.002$)相对频率差异显著, 提示 PDA 培养基对于青霉这一类生长较为缓慢, 生长局限的霉菌相比 RBA 培养基具有更好的检出结果, 但对于毛霉这一类蔓延生长、菌丝特别丰富的霉菌采用 PDA 培养基易造成叠加生长、边界不清、难以计数的问题, 相较 PDA 培养基 RBA 培养基则具有更好计数效果。

表 4 2 种培养基 210 件实际样品霉菌检出结果
Table 4 Molds detection results in 210 actual samples using 2 types of culture medium

培养基	检出霉菌 /件	检出率/%	计数结果		计数结果	
			<150 CFU/g(mL)/件	低污染[<150 CFU/g(mL)] 检出率/%	>150 CFU/g(mL)/件	高污染[>150 CFU/g(mL)] 检出率/%
PDA	155	73.8	135	64.3	20	9.5
RBA	134	63.8	107	51.0	27	12.9

表 5 实际样品霉菌菌相分析结果
Table 5 Analysis results of mold flora in actual samples

培养基	曲霉		青霉		毛霉		其他霉菌	
	菌株数	相对频率/%	菌株数	相对频率/%	菌株数	相对频率/%	菌株数	相对频率/%
PDA	21	3.2	178	26.9	4	0.6	459	69.3
RBA	25	3.3	162	21.2	20	2.6	557	72.9

3 结 论

霉菌是食品常见的卫生质量与安全性评价的指标菌,我国目前已有糕点、果酱、坚果、乳与乳制品、熟制米面制品等多个霉菌限量标准,因此计数培养基已成为食品中霉菌监测及判断食品卫生质量、与产品是否合格的关键。目前 PDA 培养基与 RBA 培养基作为 GB 4789.16—2016 以及《2024 年北京市食品微生物及其致病因子监测工作手册》中霉菌计数检测中的指定培养基,本研究通过实验表明 PDA 培养基与 RBA 培养基在生长率与选择性上无较大差异,在培养基的特异性以及实际样品检出率上,特别是低污染情况下 PDA 培养基与 RBA 培养基相比具有优势。在高污染的实际样品以及具有蔓延生长的霉菌存在时,RBA 培养基较 PDA 培养基更易于得到更为准确的计数结果。

产毒霉菌在一定条件下可产生真菌毒素,真菌毒素是一类真菌次生代谢产物,多种真菌毒素已被证实具有致癌、致畸、致突变的危害^[26-30],因此相比细菌菌落总数限量要求,霉菌限量要求更为严格,以 GB 7099—2003《食品安全国家标准 糕点、面包卫生标准》和 GB 19640—2016《食品安全国家标准 冲调谷物制品》为例,细菌总数限量均为小于 1×10^4 CFU/g,而霉菌限量则分别为 150 CFU/g 和 50 CFU/g,因此对于霉菌计数培养基的选择尤为重要,培养基的选择是否适宜,会直接影响计数结果,从而影响对食品卫生质量及合格与否的判定,但无论是 PDA 培养基还是 RBA 培养基都无法适用于所有霉菌的计数培养,因此建议在食品霉菌计数方法或标准中对于培养基的选择上给出明确推荐,对霉菌污染程度较高,菌丝丰富且生长迅速的样品进行霉菌计数时,建议使用 RBA 培养基,可局限霉菌的生长,有利于计数。如样品污染程度较低,且在计数后需要进行后续霉菌鉴定及菌相研究时建议使用 PDA 培养基。另外任何一种单一培养基的使用都有可能造成霉菌漏检,造成计数结果不准确,因此建议对于易受多种霉菌污染的食品在进行霉菌计数检测时,参照 GB 4789.35—2023《食品安全国家标准 食品微生物学检验 乳酸菌检验》和 GB 4789.15—2016 可以联合使用 PDA 与 RBA 两种培养基,选择相同稀释度下菌落数最接近 10~150 CFU 的平板进行计数,以降低培养基对计数结果的影响。

参考文献

- [1] 韩小敏,张宏元,张靖,等. 中国 94 份玉米饲料原料中真菌及其毒素污染状况调查[J]. 中华预防医学杂志,2016,50(10): 907-911.
HAN XM, ZHANG HY, ZHANG J, *et al.* Survey on fungi contamination and natural occurrence of mycotoxins in 94 corn feed ingredients collected from China [J]. Chinese Journal of Preventive Medicine, 2016, 50(10): 907-911.
- [2] 黄彬红. 冲调谷物制品霉菌和黄曲霉毒素污染调查分析[J]. 质量技术监督研究,2020,68(2): 2-5.
HUANG BH. Investigation and analysis of molds and aflatoxins contamination in instant cereal products [J]. Market Regulation and Quality Technology Research, 2020, 68(2): 2-5.
- [3] 李雅静,秦曙,杨艳梅,等. 中国谷物真菌毒素污染研究现状[J]. 中国粮油学报,2020,35(3): 186-194.
LI YJ, QIN S, YANG YM, *et al.* Research status of mycotoxin contamination in grains in China [J]. Journal of the Chinese Cereals and Oils Association, 2020, 35(3): 186-194.
- [4] 姬莉莉,闫雪. 食品中微生物限量要求及检测技术发展趋势[J]. 食品安全质量检测学报,2021,12(2): 459-465.
JI LL, YAN X. Requirements of microbial limit and development trend of detection technology [J]. Journal of Food Safety & Quality, 2021, 12(2): 45-465.
- [5] 张祁,裴晓燕,黄小平. 发酵乳霉菌酵母污染和控制研究进展[J]. 食品安全质量检测学报,2019,10(5): 1133-1137.
ZHANG Q, PEI XY, HUANG XP. Research progress of contamination and control of moulds and yeasts in fermented milk [J]. Journal of Food Safety & Quality, 2019, 10(5): 1133-1137.
- [6] 李凤琴,李玉伟. 酸奶中霉菌和酵母菌污染水平及菌相分布检测研究[J]. 卫生研究,1998,4: 42-43.
LI FQ, LI YW. Study on the contamination level and the tolerable limit of mould and yeast in yoghurt [J]. Journal of Hygiene Research, 1998, 4: 42-43.
- [7] 赛丽诺,董立君,谭国杰. 糕点中霉菌产生原因及预防控制措施[J]. 食品安全导刊,2021(15): 31-32.
SAI LN, DONG LJ, TAN GJ. Causes and preventive control measures of mold production in pastries [J]. China Food Safety Magazine, 2021(15): 31-32.
- [8] 蔡亚洁,乌日娜,周津羽,等. 乳制品中有害微生物检测新技术研究进展[J]. 食品安全质量检测学报,2024,15(1): 41-47.
CAI YJ, WU RN, ZHOU JY, *et al.* Research progress in new technologies for detecting harmful microorganisms in dairy products [J]. Journal of Food Safety & Quality, 2024, 15(1): 41-47.
- [9] 闫晓宁,李承睿. 食品微生物检验菌落总数测定中不同检测方法的应用分析[J]. 食品安全导刊,2021(19): 185-186.

- YAN XN, LI CR. Application analysis of different detection methods in the determination of total number of colonies in food microbiological examination [J]. *China Food Safety Magazine*, 2021(19): 185–186.
- [10] 詹艺舒, 陈薪旭, 魏源. 微生物测试片的组成及在食品检测中的应用研究进展[J]. *食品安全质量检测学报*, 2025, 16(1): 250–257.
- ZHAN YS, CHEN XX, WEI Y. Research progress on the composition and application of microbiological test tablets in food detection [J]. *Journal of Food Safety & Quality*, 2025, 16(1): 250–257.
- [11] 钱维清, 王依婷, 杨美成. 浅谈如何开展药品微生物限度检测的实验室间比对[J]. *现代质量*, 2005, 2: 61–62.
- QIAN WQ, WANG YT, YANG MC. Discussion about how to conduct inter laboratory comparison of microbial limit testing for drugs [J]. *Modern Quality*, 2005, 2: 61–62.
- [12] 刘坚真, 钟青萍, 方祥, 等. 霉菌总数测定培养基的改进研究[J]. *生物学杂志*, 2004, 21(4): 17–20.
- LIU JZ, ZHONG QP, FANG X, *et al.* A modified medium for fungi counting [J]. *Journal of Biology*, 2004, 21(4): 17–20.
- [13] 覃晓, 罗秋敏, 王玲. 食品中霉菌、酵母菌检验能力验证的影响因素探讨[J]. *现代食品*, 2018(11): 114–117.
- QIN X, LUO QM, WANG L. Study on the influencing factors of proficiency test for fungi and yeasts in food [J]. *Modern Food*, 2018(11): 114–117.
- [14] 王深垒, 马盼盼, 江天河, 等. 食源性病原微生物分子鉴定的研究进展[J]. *河南工业大学学报(自然科学版)*, 2021, 42(2): 129–135.
- WANG SL, MA PP, JIANG TK, *et al.* Molecular identification and research progress of three foodborne pathogenic microorganisms [J]. *Journal of Henan University of Technology (Natural Science Edition)*, 2021, 42(2): 129–135.
- [15] 邵力平, 沈瑞祥, 张素轩, 等. 真菌分类学[M]. 北京: 中国林业出版社, 1984.
- SHAO LP, SHEN RX, ZHANG SX, *et al.* *Fungal taxonomy* [M]. Beijing: China Forestry Press, 1984.
- [16] DUBOIS D, GRARE M, PRERE MF, *et al.* Performances of the VITEK MS matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight mass spectrometry system for rapid identification of bacteria in routine clinical microbiology [J]. *Journal of Clinical Microbiology*, 2012, 50(8): 2568–2576.
- [17] SENG P, DRANCOURT M, GOURIET F, *et al.* Ongoing revolution in bacteriology: Routine identification of bacteria by matrix assisted laser desorption ionization time-of-flight mass spectrometry [J]. *Clinical Infectious Diseases*, 2009, 49(4): 543–551.
- [18] 魏景超. 真菌鉴定手册[M]. 上海: 上海科学技术出版社, 1979.
- WEI JC. *Handbook of identification of fungi* [M]. Shanghai: Shanghai Science and Technology Press, 1979.
- [19] 曹敬荣, 王岩, 谢威, 等. 质谱技术快速鉴定临床分离丝状真菌的应用[J]. *中华实验和临床感染病杂志*, 2020, 14(5): 374–379.
- CAO JR, WANG Y, XIE W, *et al.* Application value of matrix-assisted laser desorption ionization time-of-flight mass spectrometry in rapid identification of clinical filamentous fungi [J]. *Chinese Journal of Experimental and Clinical Infectious Diseases (Electronic Edition)*, 2020, 14(5): 374–379.
- [20] ALMOGBEL MS. Matrix assisted laser desorption/ionization time of flight mass spectrometry for identification of *Clostridium* species isolated from Saudi Arabia [J]. *Brazilian Journal of Microbiology*, 2016, 47: 410–413.
- [21] CASSAGNE C, NORMAND AC, L'OLLIVER C, *et al.* Performance of MALDI-TOF-MS platforms for fungal identification [J]. *Mycoses*, 2016, 59: 678–690.
- [22] REEVE MA, CAINE TS, BUDDIE AG. Spectral grouping of nominally *aspergillus versicolor* microbial-collection deposits by MALDI-TOF MS [J]. *Microorganisms*, 2019, 7(1): 235–248.
- [23] 邓穗燕, 郭旭光, 林丽英, 等. 丝状真菌 MALDI-TOF MS 鉴定中三种样品前处理方法比较[J]. *现代预防医学*, 2020, 47(22): 4144–4147.
- DENG SY, GUO XG, LIN LY, *et al.* Comparison of three sample pretreatment methods in MALDI-TOF MS identification of filamentous fungi [J]. *Modern Preventive Medicine*, 2020, 47(22): 4144–4147.
- [24] 何郁菲, 刘淑娟, 黄浩, 等. 杨梅贮藏期真菌的分离鉴定及基于 ITS 序列的聚类分析[J]. *食品安全质量检测学报*, 2018, 9(18): 4846–4850.
- HE YF, LIU SJ, HUANG H, *et al.* Separation and identification of fungi from bayberry in storage period and its clustering analysis based on ITS sequence [J]. *Journal of Food Safety & Quality*, 2018, 9(18): 4846–4850.
- [25] 罗海莉, 李洁, 严守雷, 等. 莲藕贮藏期主要致病真菌分离鉴定及其致病相关酶学特性研究[J]. *长江蔬菜*, 2011(16): 68–72.
- LUO HL, LI J, YAN SL, *et al.* Research on isolation and identification of pathogens from lotus root during storage and properties of pathogenic-related enzymes [J]. *Journal of Changjiang Vegetables*, 2011(16): 68–72.
- [26] 张维蔚, 何洁仪, 李迎月, 等. 2009—2013年广州市市售粮油食品黄曲霉毒素 B₁ 调查[J]. *中国食品卫生杂志*, 2015, 27(3): 291–294.
- ZHANG WW, HE JY, LI YY, *et al.* Analysis on contamination of aflatoxin B₁ in food and oil in Guangzhou from 2009 to 2013 [J]. *Chinese Journal of Food Hygiene*, 2015, 27(3): 291–294.
- [27] 朱燕, 姚香澳, 官智勇. 稻谷中真菌毒素的暴露污染、检测技术及防控研究进展[J]. *食品安全质量检测学报*, 2024, 15(15): 264–274.
- ZHU Y, YAO XAO, GONG ZY. Research progress on exposure, detection and control of mycotoxins in rice grains [J]. *Journal of Food Safety & Quality*, 2024, 15(15): 264–274.
- [28] 黄天培, 何佩茹, 潘洁茹, 等. 食品常见真菌毒素的危害及其防止措施[J]. *生物安全学报*, 2011, 20(2): 108–112.
- HUANG TP, HE PR, PAN JR, *et al.* Health hazard to humans and prevention strategies of food-borne mycotoxins [J]. *Journal of Biosafety*, 2011, 20(2): 108–112.
- [29] 罗自生, 秦雨, 徐艳群, 等. 黄曲霉毒素的生物合成、代谢和毒性研究进展[J]. *食品科学*, 2015, 36(3): 250–257.
- LUO ZS, QIN Y, XU YQ, *et al.* Recent progress in the biosynthesis, metabolism and toxicity of aflatoxins [J]. *Food Science*, 2015, 36(3): 250–257.
- [30] 刘东璞, 卢凤美, 姚海涛, 等. 黄曲霉毒素 B₁ 诱导大鼠肝癌模型的建立[J]. *黑龙江医药科学*, 2012, 35(6): 47–48.
- LIU DP, LU FM, YAO HT, *et al.* Establishment of a rat model of liver cancer induced by aflatoxin B₁ [J]. *Heilongjiang Medicine and Pharmacy*, 2012, 35(6): 47–48.

(责任编辑: 韩晓红 安香玉)