DOI: 10.19812/j.cnki.jfsq11-5956/ts.20251226002
引用格式: 魏咏新, 赵晓娟, 汪琦, 等. Soleris 微生物快速检测法在食品霉菌和酵母检测中的等效性研究[J]. 食品安全质量检测学报, 2026, 17(8): 19–26.
WEI YX, ZHAO XJ, WANG Q, *et al*. Equivalence study of the Soleris rapid microbial detection method for mold and yeast detection in food products [J]. Journal of Food Safety & Quality, 2026, 17(8): 19–26. (in Chinese with English abstract).

Soleris 微生物快速检测法在食品霉菌和酵母检测中的等效性研究

魏咏新[1], 赵晓娟[1], 汪 琦[1], 于宝军[2], 马 丹[1], 王 航[2], 郝 欣[1], 赵现明[2], 张惠媛[1], 张晓龙[1], 魏海燕[1*]

[1. 中国海关科学技术研究中心, 北京 100026; 2. 纽勤生物科技(上海)有限公司, 上海 200060]

摘 要: 目的 评估 Soleris 微生物快速检测法在食品霉菌和酵母检测的适用性及与国家标准方法的等效性。**方法** 参考国内外标准, 开展包容性、排他性、灵敏度与相对检出限、耐变性、批间变异 5 项参数验证, 与 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》进行等效性对比。**结果** 30 株目标菌均检出, 包容性 100%; 31 株非目标菌均未检出, 排他性 100%。不同食品基质相对检出限均小于接受限 1.5。耐变性及试剂批次差异, 对检测结果无显著差异, 重复性良好。检测时间缩短至 48 h 内。**结论** 利用 Soleris 微生物快速检测法检测食品中霉菌和酵母的检测结果与 GB 4789.15—2016 方法具有等效性, 可用于食品中霉菌和酵母的快速检测, 为食品安全质控、监督抽检及应急筛查提供高效技术支撑。

关键词: Soleris 微生物快速检测法; 霉菌和酵母; 食品检测

Equivalence study of the Soleris rapid microbial detection method for mold and yeast detection in food products

WEI Yong-Xin[1], ZHAO Xiao-Juan[1], WANG Qi[1], YU Bao-Jun[2], MA Dan[1], WANG Hang[2], HAO Xin[1], ZHAO Xian-Ming[2], ZHANG Hui-Yuan[1], ZHANG Xiao-Long[1], WEI Hai-Yan[1*]

[1. *Science and Technology Research Center of China Customs*, *Beijing* 100026, *China*;
2. *Newqin Biotechnology* (*Shanghai*) *Co.*, *Ltd*., *Shanghai* 200060, *China*]

ABSTRACT: Objective To evaluate the applicability of the Soleris rapid microbial detection method for detecting molds and yeasts in food and its equivalence with the national standard method. **Methods** Validation experiments were performed in accordance with domestic and international standards, focusing on 5 core parameters: Inclusivity, exclusivity, sensitivity, relative limit of detection, robustness and inter-batch variability. A systematic equivalence comparison was conducted against the conventional reference method specified in GB 4789.15—2016 *National food*

收稿日期: 2025-12-26
基金项目: 政府间国际科技创新合作项目(2025YFE0115000)
第一作者: 魏咏新(1989—), 女, 硕士, 高级工程师, 主要研究方向为食品安全微生物检测。E-mail: 657799307@qq.com
***通信作者:** 魏海燕(1979—), 女, 博士, 研究员, 主要研究方向为食品安全检测与质量控制。E-mail: weihy_hgzs@163.com

safety standard-Microbiological examination of food-Enumeration of molds and yeasts. **Results** All 30 target mold and yeast strains were successfully detected, yielding an inclusivity rate of 100%; while none of the 31 non-target strains were detected, resulting in an exclusivity rate of 100%. The relative limit of detection values across diverse food matrices were consistently below the preset acceptance threshold of 1.5. Robustness and differences between reagent batches had no statistically significant impact on the detection results, demonstrating excellent repeatability. The detection time was shortened to within 48 hours. **Conclusion** The detection results of mold and yeast in food using the Soleris microbial rapid detection method are equivalent to the GB 4789.15—2016 method and can be used for the rapid detection of mold and yeast in food, providing efficient technical support for food safety quality control, supervision and sampling inspection, and emergency screening.

KEY WORDS: Soleris rapid microbial detection method; molds and yeast; food detection

0 引 言

霉菌和酵母是食品中常见的真菌微生物[1], 适宜温湿度条件下易生长繁殖[2]。部分真菌广泛应用在食品加工中[3−6], 但有些真菌会污染食物导致腐败变质, 甚至产生有毒代谢产物, 危害消费者的身体健康[7−9]。快速高效的检测食品中的霉菌和酵母菌是必要的。

目前国内外对霉菌和酵母菌的主要检测方法有传统培养方法[10]、快速纸片法[11−12]、三磷酸腺苷(adenosine triphosphate, ATP)生物发光技术检测[13−14]、分子生物学方法[15−18]、实时光电微生物检测[19−20]以及其他检测方法[21−25]。传统培养法即国家标准法, 我国用于食品霉菌和酵母检测的 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》是强制国家标准, 检测步骤为均质、稀释、孟加拉红培养基培养、平板计数等, 对操作人员的经验要求较高且所需检测周期时间较长[26]。为了更有效的提高检测效率, 更迅速的应对突发公共卫生事件应急筛查需求, 更便捷的用于食品快速周转场景, 亟需发展食品中霉菌和酵母菌的快速检测方法。

Soleris 微生物快速检测法基于微生物代谢导致培养基颜色变化的技术原理, 高效富集目标菌同时抑制细菌干扰, 通过光电系统进行实时监测, 人为误差引入少, 可明显缩短检测时间[27], 是一种实时快速、操作简单、简化传统培养的检测方法[28]。国内外研究表明, 该方法已在保健食品中霉菌酵母和伯克霍尔德氏菌检测[29−30]、糕点中肠杆菌科检测[31]、焙烤食品中菌落总数和大肠菌群检测[32]、食品中大肠埃希氏菌检测[33]以及冰淇淋、生乳[32]等食品微生物检测中, 取得了良好的效果。针对食品霉菌和酵母检测, 现有研究多聚焦单一食品基质, 缺乏对多类食品基质、方法特异性、快速高效可靠性及与国标方法等效性的完整数据。本研究主要参考国内标准 GB 4789.45—2023《食品安全国家标准 微生物检验方法验证通则》及国际标准美国药典<1223>设计方法验证方案, 选择包容性、排他性、灵敏度与相对检出限、耐变性、批间变异 5 项参数, 验证该快速检测方法在食品中检测霉菌和酵母的可靠性、特异性及与国家标准方法的等效性, 为其在口岸跨境食品即时监测、监督抽检、安全质控、公共事件应急筛查等食品微生物快速检测场景的应用提供技术依据和数据支撑。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

霉菌酵母检测试剂瓶 DYM-109C、补充物 YI-110C[纽勤生物科技(上海)有限公司]; 孟加拉红琼脂培养基、脑心浸液琼脂培养基、德氏乳杆菌琼脂培养基(man rogosa sharpe, MRS)(北京陆桥科技股份有限公司)。

食品样品均采购自线上京东超市作为实验食品基质。

实验用到 61 株菌(表 1), 30 株目标菌株包括 24 株霉菌/酵母标准菌株和 6 株实验室分离菌株, 31 株非目标菌株包括常见食源性致病菌、非致病菌、乳酸菌等标准菌株。标准菌株采购自中国工业微生物菌种保藏管理中心(China Center of Industrial Culture Collection, CICC)、中国普通微生物菌种保藏管理中心(China General Microbiological Culture Collection Center, CGMCC)和美国菌种保藏中心(American Type Culture Collection, ATCC), 实验室分离菌株均来自中国海关科学技术研究中心(Science and Technology Research Center of China Customs, STRC)。

1.2 仪器与设备

SNG-INS32CSSoleris®微生物快速检测仪[纽勤生物科技(上海)有限公司]; Fr-1iocell 恒温培养箱(德国 Münchener Medizin Mechanik GmbH 公司); ESCO Class II BSC 生物安全柜[益世科(上海)企业发展有限公司]。

1.3 实验方法

本研究以 Soleris 微生物快速检测方法作为待验证方法, GB 4789.15—2016 平板计数法为参考方法进行以下方法验证。

表 1　实验菌株列表

Table 1　List of experimental strains

菌株名称	菌株来源及编号	菌株名称	菌株来源及编号
巴西曲霉(*Aspergillus brasiliensis*)	CICC2463	大肠埃希氏菌 O157:H7 (*Escherichia coli* O157:H7)	CICC21530
土曲霉(*Aspergillus terreus*)	CICC41758	肠炎沙门氏菌(*Salmonella enteritidis*)	CMCC50041
黑曲霉(*Aspergillus niger*)	CICC2487	肠道沙门氏菌萨拉姆亚种(*Salmonella enterica* subsp. *salamae*)	ATCC700148
产黄青霉(*Penicillium chrysogenum*)	CICC41780	阪崎克洛诺斯杆菌(*Cronobacter sakazakii*)	ATCC29544
娄地青霉(*Penicillium roqueforti*)	CICC40663	肺炎克雷伯氏菌肺炎亚种(*Klebsiella pneumoniae* subsp. *pneumoniae*)	CGMCC1.1736
桔青霉(*Penicillium citrinum*)	CICC41779	副溶血性弧菌(*Vibrio parahaemolyticus*)	ATCC17802
宛氏拟青霉(*Paecilomyces variotii*)	CICC41447	创伤弧菌(*Vibrio vulnificus*)	ATCC27562
葡枝根霉(*Rhizopus stolonifer*)	CICC40317	福氏志贺氏菌(*Shigella flexneri*)	ATCC12022
米曲霉(*Aspergillus oryzae*)	CICC2066	宋内氏志贺氏菌(*Shigella sonnei*)	CMCC51334
出芽短梗霉(*Aureobasidium pullulans*)	CICC33464	阴沟肠杆菌(*Enterobacter cloacae*)	CGMCC1.57
球毛壳(*Chaetomium globosum*)	CICC2446	马红球菌(*Rhodococcus equi*)	ATCC6939
芽枝状枝孢(*Cladosporium cladosporioides*)	CICC41773	表皮葡萄球菌(*Staphylococcus epidermidis*)	ATCC12228
尖孢镰孢(*Fusarium oxysporum*)	CICC41029	粪链球菌(*Streptococcus faecalis*)	CMCC32223
林生地霉(*Geotrichum silvicola*)	CICC31204	粪肠球菌(*Enterococcus faecalis*)	CICC25019
纯黄丝衣霉(*Byssochlamys fulva*)	CICC2649	单核增生李斯特氏菌(*Listeria monocytogenes*)	ATCC13932
卷枝毛霉(*Mucor circinelloides*)	CICC2632	英诺克李斯特氏菌(*Listeria innocua*)	ATCC33090
亚膜威克汉姆酵母(*Wickerhamomyces subpelliculosus*)	CGMCC2.887	威氏李斯特氏菌(*Listeria welshimeri*)	ATCC35897
膜醭毕赤酵母(*Pichia membranifaciens*)	CGMCC2.1858	格氏李斯特氏菌(*Listeria grayi*)	ATCC700545
白假丝酵母(*Candida albicans*)	ATCC10231	铜绿假单胞菌(*Pseudomonas aeruginosa*)	ATCC15442
鲁氏接合酵母(*Zygosaccharomyces rouxii*)	CICC1239	施氏假单胞菌(*Pseudomonas stutzeri*)	ATCC17588
酿酒酵母(*Saccharomyces cerevisiae*)	CICC33482	金黄色葡萄球菌(*Staphylococcus aureus* subsp *aureus*)	ATCC25923
克鲁斯假丝酵母(*Candida krusei*)	CICC1376	藤黄微球菌(*Kocuria rhizophila*)	CMCC(B)28001
乳酒假丝酵母(*Candida kefyr*)	CICC32411	蜡样芽孢杆菌(*Bacillus cereus*)	ATCC11778
胶红酵母(*Rhodotorula mucilaginosa*)	CICC32140	产气荚膜梭菌(*Clostridium perfringens*)	ATCC13124
无名假丝酵母(*Candida dubliniensis*)	STRC, 实验室菌株	短小芽孢杆菌(*Bacillus pumilus*)	CMCC(B)63202
高里假丝酵母(*Candida guilliermondii*)	STRC, 实验室菌株	植物乳植杆菌(*Lactobacillus plantarum*)	ATCC8014
木兰假丝酵母(*Candida magnoliae*)	STRC, 实验室菌株	洋葱伯克霍尔德氏菌(*Burkholderia cepacia*)	CICC10857
酿酒酵母	STRC, 实验室菌株	嗜酸乳杆菌(*Lactobacillus acidophilus*)	CICC20248
胶红酵母	STRC, 实验室菌株	德式乳杆菌保加利亚亚种(*Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*)	CICC6045
诞沫假丝酵母(*Candida zeylanoides*)	STRC, 实验室菌株	产气克雷伯菌(*Klebsiella aerogenes*)	ATCC13048
大肠埃希氏菌(*Escherichia coli*)	ATCC25922		

1.3.1　包容性验证

将表 1 中 30 株霉菌和酵母菌株分别用 10 mL 生理盐水制备成 10^0~10^2 CFU/mL 的菌悬液, 取 1 mL 菌悬液至霉菌酵母检测试剂瓶, 28 ℃培养 48 h, 记录仪器检出情况。

同时另取 1 mL 菌悬液进行 10 倍梯度稀释, 按参考方法分别吸取 1 mL 原液、10^{-1}、10^{-2} 稀释液于 2 个无菌平皿内, 倾注孟加拉红琼脂培养基, 28 ℃培养 5 d 后进行菌落计数, 验证无漏检。

1.3.2　排他性验证

将 31 株非目标菌株制备成 10^0~10^2 CFU/mL 的菌悬液, 按照 1.3.1 的步骤分别用待验证方法、参考方法和适宜琼脂培养基平板进行检测和计数, 记录待确认方法的检出情况及菌落计数结果, 验证无假阳性。

1.3.3　灵敏度与相对检出限验证

选取经 GB 4789.15—2016 检测不含霉菌和酵母的 7 种市售食品基质(表 2), 人工污染黑曲霉(CICC2487)或酿酒酵母(CICC33482), 用生理盐水制备目标菌株菌悬液, 梯度稀释菌悬液并计数, 得到理论目标菌浓度。参考理论目标菌浓度, 选择合适的浓度水平作为待污染菌液。

固体样品的污染方式: 称取 25 g 样品, 加入特定体积的 10^3 CFU 待污染菌液和 225 mL 生理盐水, 充分均质, 制成样品与生理盐水稀释液 1:10 (g:mL, 下同)的样品匀液, 分别吸取 1 mL 1:10 样品匀液于 2 个无菌平皿内培养计数, 结果以 CFU 表示, 该 CFU 数值即为每毫升 1:10 样品匀液中实际添加目标菌的数值。空白对照平板应无菌落生长, 2 个样品平皿上有菌落生长记录为阳性。另取 1 mL 1:10 样品匀液添加至霉菌酵母检测试剂瓶中上机培养, 观察记录待确认方法的检出情况, 污染浓度可通过实际添加目标菌的 CFU 数值得知, 以 CFU/瓶表示。

液体样品的污染方式: 将特定体积 10^2 CFU 待污染菌

液加至 10 mL 液体样品中，充分均质，制成样品匀液，分别吸取 1 mL 样品匀液于 2 个无菌平皿内培养计数，结果以 CFU 表示，该 CFU 数值即为每毫升该样品匀液中实际添加目标菌的数值。空白对照平板应无菌落生长，2 个样品平皿上有菌落生长记录为阳性。另取 1 mL 样品匀液添加至霉菌酵母检测试剂瓶中上机培养，观察记录待确认方法的检出情况，污染浓度可通过实际添加目标菌的 CFU 数值得知，以 CFU/瓶表示。

污染水平及样品数量：参考方法和待验证方法的低浓度污染水平为小于 2 CFU/mL 和小于 2 CFU/瓶，均设置 20 个平行样品；各设置 1 个高浓度污染样品，高浓度污染水平为 10^1 CFU/mL 和 10^1 CFU/瓶；各设置 1 个空白对照样品，验证低浓度检出能力。

本次验证实验结果应按照配对分析，参照 GB 4789.45—2023 附录 B.2 公式计算相对检出限(relative limit of detection, RLOD)，RLOD 接受限为 1.5。计算见公式(1)。

$$\mathrm{RLOD}=\frac{\ln[n_{\mathrm{ref}}/(n_{\mathrm{ref}}-y_{\mathrm{ref}})]}{\ln[n_{\mathrm{val}}/(n_{\mathrm{val}}-y_{\mathrm{val}})]} \quad (1)$$

式中：n_{ref}为参考方法的测试总数；y_{ref}为参考方法的阳性结果数；n_{val}为待验证方法的测试总数；y_{val}为待验证方法的阳性结果数。

表 2 食品基质
Table 2 Food matrices

编号	食品种类	食品子类	样品名称	人工污染菌株
1	乳及乳制品	发酵乳	原味发酵乳	CICC2487
2	乳及乳制品	发酵乳	纯净发酵乳	CICC33482
3	饮料	果蔬汁类及其饮料	苹果汁	CICC33482
4	坚果和籽类	熟制坚果和籽类	南瓜子仁	CICC2487
5	水果和蔬菜	果脯蜜饯	黄桃干	CICC2487
6	焙烤食品	饼干	黑巧克力饼干	CICC2487
7	调味品	番茄酱	番茄酱	CICC2487
8	粮食制品	冲调谷物制品	红豆薏米山药茯苓粉	CICC2487

1.3.4 耐变性验证

以发酵乳为基质，人工污染黑曲霉(CICC2487)和酿酒酵母(CICC33482)，对污染目标菌液进行平板计数，用 CFU/mL 来表示。污染浓度为 10^1~10^2 CFU/mL。

瓶内培养基体积 9.0 mL，正常加样体积 1.0 mL，培养温度 28 ℃。设置 3 组共 6 种变量：加样体积变量 0.9 mL 和 1.1 mL；培养基体积变量 8.5 mL 和 9.5 mL；温度变量 27.5 ℃和 28.5 ℃。每种变量分别进行 6 个平行测试，记录检出时间，计算变异系数(variable coefficient, CV)，验证操作参数容错性。

1.3.5 批间变异验证

对发酵乳基质进行黑曲霉(CICC2487)的人工污染，污染浓度为 10^1~10^2 CFU/瓶。选用 3 个不同批次的霉菌酵母检测试剂瓶，对污染黑曲霉的发酵乳样品进行 8 个平行样品测试，记录检出时间，计算批间的 CV，验证试剂稳定性。

1.4 数据处理

灵敏度结果以 RLOD 表示，耐变性和批间变异验证结果以 CV 表示，数据均用 Microsoft Excel 2021 进行计算。

2 结果与分析

2.1 包容性验证结果

由表 3 可知，30 株目标菌株的参考方法 GB 4789.15—2016 平板计数结果范围为 1~830 CFU/mL。30 株目标菌株的待验证方法均能检出，包容性为 100%。表明待验证方法对不同种类的霉菌和酵母检出能力优异，无漏检现象，包容性良好。

2.2 排他性验证结果

由表 4 可知，31 株非目标菌株的平板计数结果范围为

表 3 Soleris 包容性验证结果
Table 3 Results of Soleris inclusivity verification

目标菌株名称	待验证方法检测结果	参考方法检测结果/(CFU/mL)
巴西曲霉	检出	22
土曲霉	检出	27
黑曲霉	检出	23
产黄青霉	检出	400
娄地青霉	检出	640
桔青霉	检出	220
宛氏拟青霉	检出	56
葡枝根霉	检出	8
米曲霉	检出	40
出芽短梗霉	检出	40
球毛壳	检出	10
芽枝状枝孢	检出	14
尖孢镰孢	检出	48
林生地霉	检出	34
纯黄丝衣霉	检出	210
卷枝毛霉	检出	14
亚膜威克汉姆酵母	检出	36
膜醭毕赤酵母	检出	20
白假丝酵母	检出	25
鲁氏接合酵母	检出	1
酿酒酵母	检出	50
克鲁斯假丝酵母	检出	490
乳酒假丝酵母	检出	830
胶红酵母	检出	142
无名假丝酵母	检出	44
高里假丝酵母	检出	26
木兰假丝酵母	检出	66
酿酒酵母	检出	11
胶红酵母	检出	10
诞沫假丝酵母	检出	300

表 4　Soleris 排他性验证结果

Table 4　Results of Soleris exclusivity verification

目标菌株名称	待验证方法检测结果	参考方法检测结果/(CFU/mL)	平板计数结果/(CFU/mL)
大肠埃希氏菌	未检出	<1	52
大肠埃希氏菌 O157:H7	未检出	<1	75
肠炎沙门氏菌	未检出	<1	63
肠道沙门氏菌萨拉姆亚种	未检出	<1	110
阪崎克洛诺斯杆菌	未检出	<1	53
肺炎克雷伯氏菌肺炎亚种	未检出	<1	23
副溶血性弧菌	未检出	<1	10
创伤弧菌	未检出	<1	30
福氏志贺氏菌	未检出	<1	18
宋内氏志贺氏菌	未检出	<1	30
阴沟肠杆菌	未检出	<1	46
马红球菌	未检出	<1	54
表皮葡萄球菌	未检出	<1	41
粪链球菌	未检出	<1	91
粪肠球菌	未检出	<1	110
单核增生李斯特氏菌	未检出	<1	150
英诺克李斯特氏菌	未检出	<1	28
威氏李斯特氏菌	未检出	<1	53
格氏李斯特氏菌	未检出	<1	120
铜绿假单胞菌	未检出	<1	51
施氏假单胞菌	未检出	<1	69
金黄色葡萄球菌	未检出	<1	77
藤黄微球菌	未检出	<1	17
蜡样芽孢杆菌	未检出	<1	32
产气荚膜梭菌	未检出	<1	44
短小芽孢杆菌	未检出	<1	18
植物乳植杆菌	未检出	<1	32
洋葱伯克霍尔德氏菌	未检出	<1	6
嗜酸乳杆菌	未检出	<1	200
德式乳杆菌保加利亚亚种	未检出	<1	9
产气克雷伯菌	未检出	<1	54

6~200 CFU/mL, 31 株非目标菌株的参考方法检测结果均小于 1 CFU/mL, 待验证方法结果均为未检出, 排他性 100%。表明待验证方法对非目标菌无交叉反应, 有效避免假阳性, 排他性良好。

2.3　灵敏度验证与 RLOD 结果

在 7 种食品基质中分别污染低浓度和高浓度的黑曲霉/酿酒酵母, 同时进行空白对照, 待验证方法和参考方法检测结果及 RLOD 计算结果见表 5。结果表明, RLOD 范围为 0.31~1.45, 均小于接受限 1.5, 空白组均为阴性。表明在低浓度污染水平下, 待验证方法的检出能力与参考国家标准方法相当, 灵敏度良好。

2.4　耐变性验证结果

2.4.1　上样体积变量与培养基体积变量的影响

表 6 显示, 在 4 组体积变量条件下, 黑曲霉的检出时间为 32.6~37.8 h, CVs 在 1.4%~4.6%范围内, 均小于 10%; 酿酒酵母的检出时间为 11.9~14.9 h, CVs 在 2.3%~6.7%范围内, 均小于 10%[34], 重复性良好。当操作参数偏离标准条件(1.0/9.0 mL), 上样体积±10%波动(0.9~1.1 mL)或培养基体积±5.6%波动(8.5~9.5 mL)时, 待验证方法均能在 48 h 内检出, 体积波动耐受性良好。

2.4.2　培养温度变量的影响

由表 7 可知, 黑曲霉在 27.5 ℃时检测时间为 34.7~36.7 h, CV 为 2.1%; 28.5 ℃时检测时间为 20.6~26.4 h, CV 为 9.7%。酿酒酵母在 27.5 ℃时检测时间为 21.1~26.5 h, CV 为 8.0%; 28.5 ℃时为 16.0~16.8 h, CV 为 1.8%。两组温度变量条件下 CVs 均小于 10%, 表明结果的重复性良好。培养温度在 27.5~28.5 ℃范围内波动时, 目标菌株均能在 48 h 内检出, 表明待验证方法在(28.0±0.5) ℃培养温度范围内, 结果稳定可靠。温度升高, 检出时间提前, 可能的原因是在合适的生长温度范围内, 稍高的温度更有利于目标菌株的生长。

2.5　批间变异验证结果

对发酵乳进行黑曲霉人工污染后, 使用 3 个批次的霉菌酵母检测试剂瓶进行检测。由表 8 可知, 批内 CVs 分别为 3.4%、2.3%、1.5%, 批间 CV 为 3.4%, 均小于 10%, 3 个批次均在 48 h 内检出。表明批次差异对检出时间影响无显著差异, 霉菌酵母检测试剂瓶批内和批间重复性良好, 检测结果稳定可靠。

表 5　不同食品基质中待验证方法的灵敏度与 RLOD 结果

Table 5　Sensitivity and RLOD results of the method to be verified in different food matrices

食品基质	污染菌株	污染浓度/(CFU/瓶)	样品检测数量	待验证方法阳性结果	参考方法阳性结果	RLOD
原味发酵乳	黑曲霉 CICC2487	低浓度 0.7	20	5	3	0.63
		高浓度 14.0	1	1	1	
		空白对照 0	1	0	0	
纯净发酵乳	酿酒酵母 CICC33482	低浓度 0.6	20	11	8	0.67
		高浓度 24.0	1	1	1	
		空白对照 0	1	0	0	
苹果汁	酿酒酵母 CICC33482	低浓度 0.2	20	5	3	0.63
		高浓度 11.0	1	1	1	
		空白对照 0	1	0	0	

表 5(续)

食品基质	污染菌株	污染浓度/(CFU/瓶)	样品检测数量	待验证方法阳性结果	参考方法阳性结果	RLOD
南瓜子仁	黑曲霉 CICC2487	低浓度 0.7	20	13	13	1.00
		高浓度 14.0	1	1	1	
		空白对照 0	1	0	0	
黄桃干	黑曲霉 CICC2487	低浓度 1.0	20	11	14	1.45
		高浓度 23.0	1	1	1	
		空白对照 0	1	0	0	
黑巧克力饼干	黑曲霉 CICC2487	低浓度 1.0	20	12	13	1.13
		高浓度 19.0	1	1	1	
		空白对照 0	1	0	0	
番茄酱	黑曲霉 CICC2487	低浓度 1.0	20	13	11	0.78
		高浓度 32.0	1	1	1	
		空白对照 0	1	0	0	
红豆薏米山药茯苓粉	黑曲霉 CICC2487	低浓度 1.0	20	17	8	0.31
		高浓度 32.0	1	1	1	
		空白对照 0	1	0	0	

表 6 上样体积和培养基体积耐变性结果

Table 6 Robustness results of the sample loading volume and the medium volume

接种菌株	(上样体积/培养基体积)/mL	Soleris 检测时间/h						CVs/%	菌落含量/(CFU/mL)
		1	2	3	4	5	6		
黑曲霉 CICC2487	0.9/9.0	37.2	36.8	33.8	35.0	32.6	36.0	4.6	12
	1.1/9.0	35.0	35.8	34.8	37.8	37.0	35.8	2.9	
	1.0/8.5	35.0	36.4	36.0	36.6	35.8	36.0	1.4	
	1.0/9.5	36.0	36.2	35.2	33.8	35.4	36.2	2.4	
酿酒酵母 CICC33482	0.9/9.0	13.7	12.9	13.9	12.3	14.9	14.7	6.7	16
	1.1/9.0	13.5	13.7	11.9	12.5	13.7	13.1	5.1	
	1.0/8.5	14.5	13.5	13.3	13.3	13.3	12.5	4.4	
	1.0/9.5	13.5	12.9	13.7	12.9	13.3	13.1	2.3	

注: 样品 10 倍稀释液中黑曲霉菌污染浓度。

表 7 培养温度耐变性结果

Table 7 Robustness results of the culture temperature

污染菌株	温度/℃	Soleris 检测时间/h						CVs/%	菌落含量/(CFU/mL)
		1	2	3	4	5	6		
黑曲霉 CICC2487	27.5	34.9	36.7	36.1	35.1	34.9	34.7	2.1	29
	28.5	26.4	25.2	23.6	26.0	21.0	20.6	9.7	
酿酒酵母 CICC33482	27.5	22.7	21.3	21.9	21.1	23.1	26.5	8.0	17
	28.5	16.4	16.0	16.0	16.6	16.2	16.8	1.8	

表 8 检测试剂瓶批间变异结果

Table 8 Results of the batch-to-batch variation of the test reagent bottles

试剂批次号	Soleris 检测时间/h								批内 CVs/%	批间 CV/%	菌落含量/(CFU/瓶)
	1	2	3	4	5	6	7	8			
3000023647	21.5	20.7	20.1	20.7	19.3	20.9	21.7	20.7	3.4	3.4	69
3000024005	21.7	21.1	21.5	22.1	22.3	22.3	20.9	22.1	2.3		
3000024006	22.5	21.3	21.9	21.9	21.7	21.7	21.7	21.7	1.5		

3 讨论与结论

为了评估待验证方法对目标微生物的检测能力和对非目标微生物的抗干扰能力, 进行包容性和排他性验证。本研究中, 待验证快速检测方法对 30 株目标霉菌、酵母的包容性为 100%, 对 31 株非目标菌的排他性为 100%, 表明

该仪器配套霉菌酵母检测试剂瓶的特异性良好, 可精准识别目标微生物, 避免漏检和假阳性。

为了评估待验证定性方法从样品中检测目标微生物的扰能力, 进行灵敏度验证。RLOD 是衡量待验证快速检测方法灵敏度的关键指标, 本研究中的待验证方法为定性方法, 与参考方法的前处理一致, 使用同一试样检测后进行数据分析, 按照 GB 4789.45—2023 要求应用配对分析计算 RLOD, 接受限为 1.5。根据产品标准中的检测需求, 本研究选择了 7 种有代表性的食品基质进行人工污染霉菌/酵母, 分别进行了灵敏度分析和计算, RLOD 均小于 1.5。在 0~1 CFU/瓶的低浓度污染下仍能稳定检出, 说明该快速检测方法灵敏度良好, 与国家标准参考方法检测能力相当。值得注意的是, 果脯蜜饯基质中 RLOD 为 1.45, 高于其他食品基质 RLOD, 可能因果脯的高糖环境抑制霉菌生长, 导致两种方法的阳性检出结果差异增大, 但仍在可接受范围内。

为了评估待验证方法在实际检测的正常操作参数波动范围内, 维持结果准确性和重复性的能力, 确保方法具备实用性、可靠性和替代性, 进行耐变性验证。本研究结果表明, 上样体积、培养基体积和培养温度在一定范围内的波动对检测结果影响无显著差异, 各组变量同条件下均可在 48 h 内稳定检出, 且 CVs 均小于 10%, 表明待验证方法具有良好的操作容错性, 结果稳定准确。

为了评估待验证方法不同批次培养基对检测结果的影响, 保障检测方法的稳定性与结果的可比性, 进行批间变异验证。本研究结果表明, 3 个试剂批次的 CVs 均小于 10%, 重复性良好, 表明待验证方法具有良好的试剂稳定性。

相比于国家标准的金标准方法, 待验证方法的检测周期显著缩短, 目标菌株酿酒酵母和黑曲霉的低浓度污染水平的检出时间均在 48 h 内, 酿酒酵母可以在 24 h 内稳定检出, 远快于国家标准方法的 5 d时间, 大大缩减了培养时间。

综上所述, 本研究主要依据 GB 4789.45—2023 对 Soleris 微生物快速检测方法验证, 结果表明: 该方法对食品中霉菌和酵母的特异性优异, 灵敏度、耐变性、批间稳定性良好, 检测时间缩短至 48 h 内, 显著提升检测效率。Soleris 微生物快速检测方法可作为食品中霉菌和酵母的快速检测方法, 为食品安全生产质控、监管抽检及应急筛查提供高效、可靠的数据支撑与技术支持。本研究的局限性在于仅验证 2 种标准菌株的人工污染样品, 后续可扩展更多种类的目标菌, 对更复杂的食品基质进行验证研究, 完善验证体系。Soleris 方法的优势在于快速、准确、自动化, 可根据生长信号检出时间进行过程监控, 实现定性检测为主、半定量检测为辅的快速检测。虽然方法的灵敏度非常好, 但是无法直接计数, 不能直接等同平板计数的精确定量方法。后续可尝试选择多种食品基质, 通过绘制“检出时间 h—菌浓度 lg 值”的标准曲线, 设计线性范围, 经过公式换算, 实现定量检测, 拓展应用场景。

参考文献

[1] 韩小敏, 徐文静, 张靖, 等. 食品中霉菌和酵母计数检验方法国内外标准的比较研究及启示[J]. 中国食品卫生杂志, 2023, 35(9): 1375–1382.
HAN XM, XU WJ, ZHANG J, *et al*. Implication and comparative study of Chinese and foreign examination method standards on mold and yeast enumeration in food [J]. Chinese Journal of Food Hygiene, 2023, 35(9): 1375–1382.

[2] 李厚金, 聂慧敏, 周晓瑜, 等. 长霉的食物可以吃吗? [J/OL]. 大学化学, 1–13. [2025-12-17]. https://link.cnki.net/urlid/11.1815.O6.20251216.1413.012
LI HJ, NIE HM, ZHOU XY, *et al*. Can moldy food be consumed? [J/OL]. University Chemistry, 1–13. [2025-12-17]. https://link.cnki.net/urlid/11.1815.O6.20251216.1413.012

[3] 周垒, 刘啟能, 李铃铃, 等. 微生物源食品防腐剂研究进展[J/OL]. 中国食品学报, 1-13. [2026-01-08]. https://link.cnki.net/urlid/11.4528.TS.20251229.0835.008
ZHOU L, LIU QN, LI LL, *et al*. Research progress on microbial-derived food preservatives [J/OL]. Journal of Chinese Institute of Food Science and Technology, 1-13. [2026-01-08]. https://link.cnki.net/urlid/11.4528.TS.20251229.0835.008

[4] 季鑫, 张宇航, 黄卫宁, 等. 马克斯克鲁维酵母的微生物学特性及其在发酵食品中的应用[J]. 食品与机械, 2025, 41(11): 184–191.
JI X, ZHANG YH, HUANG WN, *et al*. Microbiological characteristics of *Kluyveromyces marxianus* and its application in fermented foods [J]. Food & Machinery, 2025, 41(11): 184–191.

[5] YOO JS, KIM ED, SATYAWAN IL, *et al*. Genome-based exploration of volatile flavor diversity from food yeast species [J]. FEMS Yeast Research, 2025, 25. DOI: 10.1093/FEMSYR/FOAF067

[6] HUA S, WEI X, WANG L, *et al*. Application of *Pichia kudriavzevii* in solid-state fermentation of Zhenjiang aromatic vinegar: Microbial community structure and volatile flavor changes [J]. International Journal of Food Microbiology, 2025, 442111357. DOI: 10.1016/J.IJFOODMICRO.2025.111357

[7] 耿冬青, 韩莎莎. 霉菌和酵母计数能力验证结果分析及不确定度评定[J]. 质量安全与检验检测, 2024, 34(5): 46–53.
GENG DQ, HAN SS. Result analysis and uncertainty evaluation of capability verification for mold and yeast [J]. Quality Safety Inspection and Testing, 2024, 34(5): 46–53.

[8] 姜雪. 粮食中赭曲霉素 A 检验方法的研究进展[J]. 食品安全导刊, 2024(10): 169–171.
JIANG X. Research progress on the detection method of ochratoxin A in grain [J]. Journal of Food Safety Guide, 2024(10): 169–171.

[9] 张捷, 李献, 张瑞, 等. SYBR Green I染料-实时荧光定量聚合酶链式反应法检测发酵乳中的霉菌和酵母含量[J]. 食品安全质量检测学报, 2024, 15(16): 31–38.
ZHANG J, LI X, ZHANG R, *et al*. Determination of mold and yeast in fermented milk by SYBR Green I dye-real-time fluorescence quantitative polymerase chain reaction method [J]. Journal of Food Safety & Quality, 2024, 15(16): 31–38.

[10] 孙皖如, 马玉帅, 许向华, 等. 食源性霉菌和酵母菌检测技术进展[J]. 河北北方学院学报(自然科学版), 2019, 35(3): 48–52.
SUN WR, MA YS, XU XH, *et al*. Progress in detection techniques of foodborne molds and yeasts [J]. Journal of Hebei North University (Natural Science Edition), 2019, 35(3): 48–52.

[11] SCHUMACHER A, LINGLE C, SILBERNAGEL KM. 3M™ petrifilm yeast and mold count plate for the enumeration of yeasts and molds in

dried cannabis flower: AOAC Official MethodSM 997.02 [J]. Journal of AOAC International. 2023, 106(2): 412–419.

[12] 贾倩倩, 李宏铎, 白福军, 等. 霉菌酵母快速检测测试片的优化[J]. 食品安全导刊, 2021(31): 37–39.
JIA QQ, LI HD, BAI FJ, *et al*. Optimization of the count plate for rapid detection of mold and yeast [J]. Journal of Food Safety Guide, 2021(31): 37–39.

[13] KOVÁCS M, POMÁZI A, BRÜCKNER TA, *et al*. Detection and identification of food-borne yeasts: An overview of the relevant methods and their evolution [J]. Microorganisms, 2025, 13(5): 981–981.

[14] ELENA E, OLGA S, NIKOLAY S, *et al*. Luminescent analysis of ATP: Modern objects and processes for sensing [J]. Chemosensors, 2022, 10(11): 493–493.

[15] SAMART D, LAURA F, MANFRED G, *et al*. Cold-tolerant microorganisms causing spoilage of vacuum-packed beef under time-temperature abuse determined by culture and qPCR [J]. Food Microbiology, 2023, 109: 104147.

[16] 张捷, 陈勃旭, 杜海宽, 等. Taq Man 探针实时荧光定量聚合酶链式反应检测低温酸乳中常见的霉菌和酵母[J]. 乳业科学与技术, 2024, 47(5): 20–24.
ZHANG J, CHEN BX, DU HK, *et al*. Detection of common molds and yeasts in low-temperature yogurt by taq man probe real-time fluorescence quantitative polymerase chain reaction [J]. Journal of Dairy Science and Technology, 2024, 47(5): 20–24.

[17] 潘晓薇, 王予, 欧阳璐斯, 等. 烟叶中曲霉菌含量的荧光定量 PCR 检测方法的建立及应用[J]. 安徽大学学报(自然科学版), 2023, 47(3): 82–89.
PAN XW, WANG Y, OUYANG LS, *et al*. Development and application of a fluorogenic quantitative PCR assay for rapid detection and quantification of aspergillus in tobacco [J]. Journal of Anhui University (Natural Science Edition), 2023, 47(3): 82–89.

[18] MUYANLI BE, YILMAZ R. RT-qPCR based quantitative analysis of ARO and ADH genes in *Saccharomyces cerevisiae* and *Metschnikowia pulcherrima* strains growth white grape juice [J]. Molecular Biology Reports, 2024, 51(1): 547.

[19] 樊蕴秀, 李敏, 郑隽, 等. 实时光电微生物检测技术在乳品质控中的应用[J]. 乳业科学与技术, 2013, 36(5): 25–28.
FAN YX, LI M, ZHENG J, *et al*. Application of real-time optoelectronic microbiological assays in quality control of dairy products [J]. Journal of Dairy Science and Technology, 2013, 36(5): 25–28.

[20] AH P, SANDRA C, CAMILO JF. Efficacy comparison of an automated growth-based system and plate-count method on the detection of yeasts and molds in personal care products [J]. Journal of AOAC International, 2023, 106(6): 1564–1573.

[21] WU H, LIU S, LI M, *et al*. Isolation and purification of lactic acid bacteria and yeasts based on a multi-channel magnetic flow device and rapid qualitative and quantitative detection [J]. Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy, 2025, 327: 125296.

[22] PARK WH, EARLES MJ, NITIN N. Deep learning enabled rapid classification of yeast species in food by imaging of yeast microcolonies [J]. Food Research International, 2025, 201: 115604.

[23] 潘柯文. 坚果食品中霉菌的检测方法研究[D]. 无锡: 江南大学, 2023.
PAN KW. Research on detection method of mold in nuts food [D]. Wuxi: Jiangnan University, 2023.

[24] FERREIRA AM, CRUZ-MOREIRA D, CERQUEIRA L, *et al*. Yeasts identification in microfluidic devices using peptide nucleic acid fluorescence *in situ* hybridization (PNA-FISH) [J]. Biomedical Microdevices, 2017, 19(1): 11.

[25] 张诺, 邹纯, 余启明, 等. 现制饮料中腐败微生物及其检测与防控技术研究进展[J]. 食品安全质量检测学报, 2024, 15(9): 1–10.
ZHANG N, ZOU C, YU QM, *et al*. Research progress of spoilage microorganism and its detection and control technology in freshlymade beverages [J]. Journal of Food Safety & Quality, 2024, 15(9): 1–10.

[26] 曲连海, 许冉冉, 赵宇, 等. 快速测试片法在粮食制品霉菌和酵母菌检测中的应用研究[J]. 食品安全导刊, 2025(12): 77–80.
QU LH, XU RR, ZHAO Y, *et al*. Application of the count plate method in the detection of yeast and mold of grain products [J]. Journal of Food Safety Guide, 2025(12): 77–80.

[27] 富莉静, 薛志清, 韩立杰, 等. 冰淇淋菌落总数 Soleris 曲线的研究[J]. 食品安全质量检测学报, 2018, 9(20): 5452–5456.
FU LJ, XUE ZQ, HAN LJ, *et al*. Soleris curve of total bacterial colony of ice cream [J]. Journal of Food Safety & Quality, 2018, 9(20): 5452–5456.

[28] 李轲, 李可, 赵运胜, 等. 即时食品蜡样芽孢杆菌快速检测标准曲线模型的研究[J]. 粮食与食品工业, 2022, 29(1): 59–64.
LI K, LI K, ZHAO YS, *et al*. Study on a standard curve model for rapid detection of *Bacillus cereus* in ready-to-eat food [J]. Cereal & Food Industry, 2022, 29(1): 59–64.

[29] ALEXIS HRP, AÁ B, SANDRA C, *et al*. Performance equivalence and validation of a rapid microbiological method for detection and quantification of yeast and mold in an antacid oral suspension [J]. PDA Journal of Pharmaceutical Science and Technology, 2023, 77(4): 268–280.

[30] AH P, SANDRA C, CAMILO JF. Validation of a rapid microbiological method for the detection and quantification of the *Burkholderia cepacia* complex in an antacid oral suspension [J]. Journal of AOAC International, 2023, 106(5): 1288–1294.

[31] QUYNH-NHI LE, MARK MOZOLA, ALEXANDRA TUDOR, *et al*. Validation of the Soleris®*Enterobacteriaceae* method for detection of *Enterobacteriaceae* in dried cannabis flower: AOAC performance tested method SM121901 [J]. Journal of AOAC International, 2022, 105(6): 1671–1676.

[32] 张雪苍, 周国磊, 傅科涵, 等. Soleris 检测技术在焙烤食品微生物检测中的应用研究[J]. 食品科技, 2020, 45(4): 321–326.
ZHANG XC, ZHOU GL, FU KH, *et al*. Application of soleris system in the detection of microorganism in baked food [J]. Food Science and Technology, 2020, 45(4): 321–326.

[33] NANCY B, QUYNHNHI L, MARK M, *et al*. Validation of modifications to the Soleris® *E. coli* method for detection and threshold determination of *Escherichia coli* in select foods: Level 3 modification AOAC performance tested method SM 101101 [J]. Journal of AOAC International, 2021, 105(2): 483–491.

[34] 张熠帆, 韩笑, 张叶娜, 等. 禽痘病毒微滴数字 PCR 检测方法的建立及应用[J]. 畜牧兽医学报, 2026, 57(1): 337–348.
ZHANG YF, HAN X, ZHANG YN, *et al*. Establishment and application of a droplet digital PCR assay for fowlpox virus [J]. Acta Veterinaria et Zootechnica Sinica, 2026, 57(1): 337–348.

(责任编辑: 蔡世佳 安香玉)