

# 食品微生物检验用培养基过程控制的探讨

钟国庆\*, 魏金梅, 王磊, 胡阳, 李桂琴, 谢美珍

(赣州市综合检验检测院, 赣州 341000)

**摘要:** 随着人民生活水平的提高, 食品安全问题已成为万众瞩目的焦点, 食品微生物检验作为衡量食品卫生状况的重要手段, 对确保食品安全具有重要的作用, 而在食品微生物检验中, 培养基的质量在很大程度上决定检验结果的准确性。本文从培养基采购、验收、贮存、制备、使用、弃置等整个环节进行过程控制的研究与探讨, 阐述了提高培养基质量的措施手段, 旨在为实验室提供培养基和试剂管理的科学路径, 以期能够为食品微生物检验工作的有效开展提供一些参考。

**关键词:** 食品安全; 微生物检验; 培养基; 质量控制

## Discussion on Process Control of Culture Medium for Food Inspection

ZHONG Guo-Qing\*, WEI Jin-Mei, WANG Lei, HU Yang, LI Gui-Qin, XIE Mei-Zhen

(Ganzhou General Inspection and Testing Institute, Ganzhou 341000, China)

**ABSTRACT:** With the improvement of people's living standards, food safety issues have become the focus of attention. Food microorganisms as an important indicator of food hygiene, which has an important role in ensuring food safety. To a large extent, determine the accuracy of the test results. This article conducts research and discussion of process control from the entire link of the medium procurement, acceptance, storage, preparation, use, and abandonment of the medium, which explains the measures to improve the quality of the medium. It is expected to provide some references for the effective development of food microorganisms.

**KEY WORDS:** food safety; microbiological testing; culture medium; quality control

## 0 引言

培养基是微生物生长、繁殖以及积累代谢产物的重要营养来源, 也是合成生物化工产品所必需的营养基质, 微生物检验实验室日常检测工作的一个重要环节就是培养基的制备和使用。近些年随着商品化脱水干燥培养基的迅速发展, 暴露出来培养基生产中的一些薄弱环节, 生产工艺设备落后、质控手段不健全等都是影响培养基质量的重要因素。我国目前现行食品安全标准体系 GB 4789 系列标准都是以传统微生物学培养为基础的经典检验方法, 培养基及相关的生化试剂质量会直接影响到微

生物检验的结果<sup>[1]</sup>。大多数微生物检验机构对于培养基和试剂的相关标准和规定在理解上存在偏差, CANS 网站发布《现场评审不符合项案例集》在供应商评价环节列出的常见不符合项包括了以下几个方面, 一是未建立培养基和试剂质量控制程序; 二是不能提供关键培养基技术性验收评估记录; 三是不能提供实验室用水符合性评价记录<sup>[2]</sup>。本文对微生物实验室在培养基采购、验收、贮存、制备、使用、弃置等环节应采取的质控措施进行研究, 以使微生物检验实验室不断完善和提高质控水平, 在提升微生物检验的有效性, 保障人民群众饮食安全方面具有十分重要的意义<sup>[3]</sup>。

\* 通信作者: 钟国庆, 硕士, 高级工程师, 研究方向为食品药品微生物检验。E-mail: zhong101@163.com

\*Corresponding author: ZHONG Guo-Qing, Master, Senior Engineer, Ganzhou General Inspection and Testing Institute, Ganzhou 341000, China. E-mail: zhong101@163.com

## 1 采购与验收过程控制

### 1.1 采购

目前市面上培养基生产厂家众多,但是产品质量参差不齐,在挑选培养基生产厂家上我们可以从以下几方面考虑,一是考虑产品市场信誉度高;二是有质量保证能力和服务保障能力;三是通过了质量管理体系的认证。此外还应提供培养基或试剂的各种成分包括含添加成分名称及产品编号、批号、最终 pH、储存信息和有效期、标准要求和质量测试报告、必要的安全操作提示等信息。如果电子文本能确保的文件信息真实有效,供应商可提供电子文本。供应商应能保证并要求厂商在培养基发生任何配方的改变时,及时告知实验室<sup>[4]</sup>。除了对生产厂家的专业资质把控外,采购人员的专业水准和职业道德也是非常重要的环节。

### 1.2 验收

培养基到实验室后,应有专业技术人员做好接收和验收工作。首先应进行配套资料及外观性验收,包括核对生产企业提供的出厂检验报告书,核对培养基名称是否是采购所需,规格数量是否符合,外观特征有无破损,批号保质期是否在有效期内等<sup>[5]</sup>。同时还应对培养基进行质量检测验收,包括开瓶后培养基的颜色是否异常、有无潮湿板结、pH 值测试、凝胶稳定性及澄清度等也是培养基质量检测的关键内容,若培养基凝胶稳定性不足、pH 值过低或过高等都会造成实验结论产生偏差<sup>[6]</sup>。灭菌前可以用 1 mol/L NaOH 或 1 mol/L HCL 调整,注意不可反复调 pH,否则会影响培养基的渗透压<sup>[7]</sup>。笔者从事微生物检验多年,碰到有的生产企业包装的标签偶尔会用打印纸粘上去的,这样的标签遇水易造成字迹模糊,显得很严谨,因此在发现包装存在霉变或者损坏的情况,就要进行拒收处理。

## 2 贮存过程控制

培养基保存期限应按照生产厂家提供的信息执行,普通干粉培养基应保存在阴凉干燥处,避免阳光直射。培养基开瓶应做好开瓶标签,包括开瓶时间,开瓶人等信息,并把信息详细记录到档案<sup>[8]</sup>。一般情况下干粉培养基的保存时间常温为两年,开瓶后的干粉培养基应注意防潮,使用时应考虑近期先出的原则,避免浪费。大多数培养基配套试剂都有冷藏要求,储存温度应选择 2~8℃,冷藏柜应有温度记录,有些含有极易氧化变质的亚硒酸氢钠成分的培养基,一旦出现氧化情况,培养基的颜色就会变红,故在贮存此类培养基时,还应定期进行常规检查,如容器密闭性复查、首次开封日期、内容物的感官检查,若发生板结、颜色异常和其他变质迹象需要及时的处理掉,并做好销毁记录。

## 3 制备过程控制

### 3.1 配置用水

三级水或蒸馏水都可作为培养基配制用水,具体要求可参

照 GB/T 6682-2008《分析实验室用水规格和试验方法》,日常实验我们会遇到培养基出现颜色异常、凝胶强度下降或者产生沉淀等现象,很大原因是配置用水的 pH 值偏差,配置用水的 pH 值应控制在 5.5~7.5,同时,25℃ 时水中的电导率不应超过 25 μS/cm,重金属的含量控制在 0.05 mg/L 以下,菌落总数需控制在 1000 CFU/mL 以内,盛装配置用水的容器最好由中性材料制成,比如中性玻璃、聚乙烯,在初次使用前应确认不含任何抑菌因子<sup>[9]</sup>。此外还需要结合 GB 4789.2-2022《食品安全国家标准 食品微生物学检验 菌落总数测定》方法定期进行菌落总数的检测,检测周期应控制在一周左右。

### 3.2 称量和溶解

为避免引入重金属,称量时要用专用的角匙,不应用铁质或不锈钢材质的调羹,在称量时也要做到一物一匙,避免交叉污染而影响检验结果。如有条件,干粉培养基尽量在能控制温度和湿度的房间内称取,避免潮湿。干粉培养基应严格按照生产商提供的有关说明准确配制,在培养基的配制过程中为避免接触和吸入含有有毒物质的培养基粉末,应佩戴手套、口罩并在通风柜中操作,也可考虑购买颗粒型培养基。含有琼脂粉的培养基,在加热溶解之前可以浸泡数分钟,使其充分润湿,加热琼脂类培养基时一定要进行不间断搅拌,避免因烧焦和沸腾溢出造成培养基与水的配比不合理,从而出现计数平板不凝固的现象。

### 3.3 复水

为防止有离子混入培养基中,影响微生物的生长,复水时不得用铜锅或铁锅<sup>[10]</sup>。在加热溶解过程中避免培养基溢出,容器的大小需大于复水后培养基总体积的 2 倍以上。对于少量的培养基最好使用沸水浴进行加热,避免用直火加热,烧糊的培养基中的营养物质被破坏,并可产生有毒物质,如发现焦化,或未溶解均匀前培养基有溢出的情况,则该培养基即不能使用,应重新制备。对于琼脂类培养基进行再融化时应使用沸水浴或流动蒸汽进行加热,最多只能加热两次,第二次再融化后仍未用完的培养基应弃去。

### 3.4 灭菌

为避免微生物生长繁殖而消耗养分,改变培养基的酸碱度,培养基配置完后应按培养基配方中规定的条件及时进行灭菌,为保证灭菌效果和不损伤培养基的有效成份,灭菌方式通常有湿热灭菌法、过滤除菌法和煮沸除菌法,灭菌温度和时间通常是 121℃ 15 min 或 115℃ 15 min,含糖或特殊培养基,比如 SC 肉汤中含有对光和热敏感的物质,应按照国家标准或生产商提供的说明灭菌<sup>[11]</sup>。使用高压蒸汽灭菌锅时,应减少内置物品,避免死角堆积,保证冷空气排尽,对于单个包装,培养基体积不应超过 1000 mL,否则灭菌时可能会造成过度加热。高压蒸汽灭菌锅的压力表要定期进行检定,并定期采用生物指示菌法或化学变色纸片对灭菌效果进行验证。灭菌后培养基应立即冷却至所需温度,采用水浴锅保温,水温控制在 45~55℃,采用烘箱保温时时间不宜过长,以免水分流失,倾注平板时自然降温

至40~45℃,一般手感不烫手为宜<sup>[12]</sup>。采用过滤除菌时通常使用孔径0.2 μm的无菌设备或滤膜,可在真空或加压的条件下进行,如果滤膜上附着有蛋白质抗生素,应事先用无菌水润湿。

### 3.5 性能测试

实际上,任何质量控制体系都没有规定必须对所有培养基进行性能测试,用于菌种保存、实验室内部环境监控的那些辅助检验用的培养基,并不强制进行性能测试,只需对直接影响检验结果的关键性培养基和试剂进行性能测试即可。制备好的不同培养基首先考虑感观检测,观察其颜色、形态与质感,有无干裂。良好的培养基主要表现出颜色清晰、透明、无脱水、无干裂并且质感均匀等特点。若出现培养基不能有效凝固,可能是在制备过程中过度加热、称量不准确、琼脂未完全溶解或培养基成分未充分混合等原因。在性能测试的菌株选择上可参考卫生行业标准WS/T 232-2002《商业性微生物培养基质量检验规程》,应选择能有效证明实验室特定培养基的最佳性能,来自国际或国家标准菌种保藏中心如American Type Culture Collection(简称ATCC)或National Center of Medical Culture Collections(简称CMCC)的可溯源标准菌株<sup>[13]</sup>。采用定量测试方法时,非选择性培养基上目标菌的生长率应不低于0.7,选择性培养基上目标菌的生长率应不低于0.1(生长率=待测培养基平板上得到的菌落总数/参考培养基平板上获得的菌落总数)。采用半定量划线接种法时,目标菌在培养基上应呈现典型的生长,而非目标菌的生长应部分或完全被抑制,目标菌的生长指数G大于6时,培养基可接受<sup>[4]</sup>。在定性平板接种观察法时目标菌应呈现良好生长,并有典型的菌落外观、大小和形态,非目标菌应是微弱生长或无生长。

## 4 使用与弃置过程控制

使用前,应先取培养基或试剂使其平衡至室温,观察是否有颜色变化,脱水或有微生物生长的情况应禁止使用。培养时考虑到空气流通要求,通常每垛堆放不超过6个平板,厌氧培养时可以超过6个。培养基融化后应尽快使用,放置时间一般不应超过4h,一次未用完的培养基不能重新凝固留用。部分培养基在使用前需添加试剂,热不稳定的添加成分应在培养基冷却至45~50℃时添加,无菌的添加成分在加入前应先放置到室温,避免造成琼脂凝结或形成片状物。对于冷藏后平板的使用,可采用揭开平皿盖,将平板倒扣于烘箱或培养箱中,温度设置为25~50℃,或放在有对流的无菌净化台中,直到培养基表面的水滴消失,这两种方式对琼脂表面进行干燥。部分性能已不能满足检验需要的培养基应采用符合相关法律法规的安全方式弃置,处理的时间、方式都要有记录。

## 5 结束语

食品微生物检验是对食品卫生质量进行衡量的关键性指标,

在食品安全中发挥着不可忽视的作用。而培养基的质量是微生物检测工作中的基础,事关检测工作的准确性、可靠性,在微生物实验室检测工作中举足轻重,如果在工作中忽视任何一个环节的质量问题,都将导致检验结果科学性、客观性的偏离。因此,唯有加强培养基的实验室质量控制,认真做好培养基的质控工作,提高实验室的管理水平,提升培养基安全质量,进而为微生物检测实验室提供高质量的培养基,确保其满足实验需求<sup>[14]</sup>。

## 参考文献

- [1] 马群飞. 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》应用现状[J]. 中国卫生标准管理, 2019, (16): 1-3.
- [2] 中国合格评定国家认可委员会. 提升服务效率增强认可效果——CNAS发布《现场评审不符合项案例集》[EB/OL]. [2016-01-29]. <https://www.cnas.org.cn/tpxw/874587.shtml> [2019-04-03].
- [3] 杲莉芬. 食品卫生微生物检验中培养基的质量控制[J]. 大家健康旬刊, 2017, 11(07): 56.
- [4] DB 51/T 2165-2016 微生物检测领域培养基和试剂管理指南. 四川: 四川省质量技术监督局, 2016.
- [5] 杨云斌, 杜斐颖, 牛涛. 食品中微生物检验用培养基的使用及质量控制探讨[J]. 食品安全质量检测学报, 2018, 5(09): 1055-1058.
- [6] 叶磊. 食品微生物检验用培养基的质量控制[J]. 食品安全, 2020, (02): 122.
- [7] 游静. 微生物检验中培养基的质量控制要素浅析[J]. 生物化工, 2019, 5(06): 154-155, 158.
- [8] 黄迪, 祁来芳, 尹丽雪. 食品微生物检验的方法及质量控制探讨[J]. 食品安全导刊, 2021, (08): 54-55.
- [9] 杨淑宏, 聂春丽. 关于食品微生物检验中培养基的质量控制分析[J]. 分析, 2020, (15): 188-204.
- [10] 魏金梅. 食品微生物检验中培养基的质量控制[J]. 食品安全导刊, 2019, (09): 143-144.
- [11] 李芬. 食品卫生微生物检验中培养基的质量控制[J]. 世界最新医学信息文摘, 2018, 18(89): 161, 164.
- [12] 李天蓉. 食品卫生微生物检验中培养基的质量控制分析[J]. 医药卫生, 2016, 8(05): 255.
- [13] 曹凤娥, 赵丹. 微生物检验培养基质量控制方法研究[J]. 基层医学论坛, 2022, 3(26): 118.
- [14] 路伦. 微生物检测技术在食品检验中的应用[J]. 中国食品工业, 2021, (12): 64-65.

## 作者简介

钟国庆, 硕士, 高级工程师, 研究方向为食品药品微生物检验。