CHARM EPIC–PLUS商业无菌检测系统在乳饮料微生物检测中的应用

王丽丽，王 丹，解 鑫，邢燕霞，曹文燕*，侯晓锋，张娜娜，徐瑞贤，耿丹丹，苗佳佳，马建军

保定蒙牛饮料有限公司，河北省乳品智能化检测技术重点实验室，河北保定 072450

摘 要：[目的]CHARM EPIC–PLUS商业无菌检测系统是一种基于三磷酸腺苷（ATP）生物发光原理的快速微生物检测系统，该系统通过检测ATP含量来评估样品中的微生物活性，实现对商业无菌状态的高效判定。本研究为验证该系统在乳饮料检测中的灵敏度与准确性，并提升产品的出货时效。[方法] 添加枯草芽孢杆菌、大肠埃希氏菌、酿酒酵母至乳饮料，（36±1）℃培养48 h后，采用CHARM EPIC–PLUS商业无菌检测系统与传统国标平板计数法检测；同步（36±1）℃培养7 d后，采用CHARM EPIC–PLUS商业无菌检测系统与商业无菌国标方法检测，并对比分析结果。[结果]CHARM EPIC–PLUS商业无菌检测系统结果与传统国标平板计数法结果高度符合；该系统结果与商业无菌国标检测方法检测结果高度一致，且相较于传统商业无菌国标检测方法7 d的检测周期，CHARM EPIC–PLUS商业无菌检测系统显著缩短检测时间至48 h。[结论]CHARM EPIC–PLUS商业无菌检测系统的检测结果与商业无菌国标检测方法具有较好的一致性，是一种高效、准确，具有广阔应用前景的的检测方法。

关键词：三磷酸腺苷（ATP）生物荧光；商业无菌；快速检测技术

文章编号：1671–4393（2025）11–0137–10 DOI:10.12377/1671–4393.25.11.17

基金项目：河北省乳制品智能化检测技术重点实验室项目（SZQ2020018）

作者简介：王丽丽（1991–），女，黑龙江绥化人，本科，中级工程师，研究方向为食品检验检测；
王 丹（1983–），女，内蒙古呼和浩特人，硕士，副高级工程师，研究方向为发酵工程；
解 鑫（1983–），男，内蒙古呼和浩特人，硕士，副高级工程师，研究方向为食品质量安全检验技术；
邢燕霞（1988–），女，内蒙古乌兰察布人，本科，研究方向为食品质量与安全、食品检测和追溯系统；
侯晓锋（1987–），男，河北张家口人，本科，研究方向为食品质量与安全、食品检测追溯系统；
张娜娜（1993–），女，黑龙江绥化人，本科，中级工程师，研究方向为食品检验检测；
徐瑞贤（1980–），女，河北邢台人，本科，中级工程师，研究方向为食品检验检测；
耿丹丹（1988–），女，河北保定人，本科，中级工程师，研究方向为食品检验检测；
苗佳佳（1987–），女，内蒙古乌兰察布人，本科，中级工程师，研究方向为食品检验检测；
马建军（1984–），男，内蒙古呼和浩特人，本科，研究方向为行政管理。

*通信作者：曹文燕（1987–），女，山东济南人，本科，副高级工程师，研究方向为食品质量与安全、食品检测和追溯系统。

中国乳业线上阅读

0 引言

近年来，食品微生物污染问题时有发生，加强食品安全监管，保障食品质量安全已成为食品生产企业的首要任务。食品快速检测技术是常用的基层食品安全监管手段之一，快速、准确检测相关指标以确保食品质量安全，对食品行业发展具有重要意义[1, 2]。

《GB 4789.26—2023 食品安全国家标准 食品微生物学检验 商业无菌检验》[3]中规定，商业无菌是指乳及乳制品经适度热杀菌后，达到不含致病性微生物，且在常温下也不含再繁殖非致病性微生物的状态。美国联邦法规FDA 21 CFR Part 113—2011[4]中规定，食品“商业无菌”是指经热力杀菌后要达到在常温条件下储运分销，食品中不含再繁殖能力的微生物；也不含有害公众健康的微生物活细胞（包括芽孢），控制水分活度和加热后，食品中不含能够在常温储运分销条件下繁殖的微生物。中国在定义商业无菌时，主要从微生物种类的角度出发，包括致病性和非致病性微生物，强调食品经过适度热杀菌后不应含有特定微生物。而美国的定义除考虑微生物的生长潜力和对公众健康的影响之外，还特别提到水分活度以及加热处理在控制微生物方面的关键作用。商业无菌不合格的主要原因是生产过程中卫生不达标造成产品污染（食品或包装污染）或灭菌温度和时间未达到生产工艺要求[5, 6]。

《GB 7101—2022 食品安全国家标准 饮料》[7]中要求经商业无菌操作生产的产品，其微生物限量标准应符合商业无菌的要求。传统的商业无菌国标检测方法具有操作步骤繁琐、检测周期长、对检测人员技术要求高的弊端，严重影响检测效率并造成工厂对产品的延迟放行，而微生物快速检测技术具有操作简单、快速、准确性高的优势，为食品质量安全控制提供了有效的技术支撑[8]。

三磷酸腺苷（Adenosine Triphosphate，ATP）是一种广泛存在于生物体中的能量分子，其含量与微生物活细胞数量和活力密切相关。ATP荧光法是一种简便且高效的生物化学检测方法。食品中的ATP包括游离ATP和微生物ATP，ATP生物荧光法首先通过ATP降解酶酶解微生物细胞外的游离ATP；之后裂解微生物活细胞，释放出微生物活细胞内的ATP，在荧光素酶的作用下，ATP可与荧光素快速反应，发出荧光；最后通过ATP检测仪捕获ATP荧光反应的发光信号并报告结果，单位为相对发光单位（Relative Iuminescence Intensity，RLU）。ATP含量越高，荧光强度越强。ATP生物荧光法检测原理见图1。

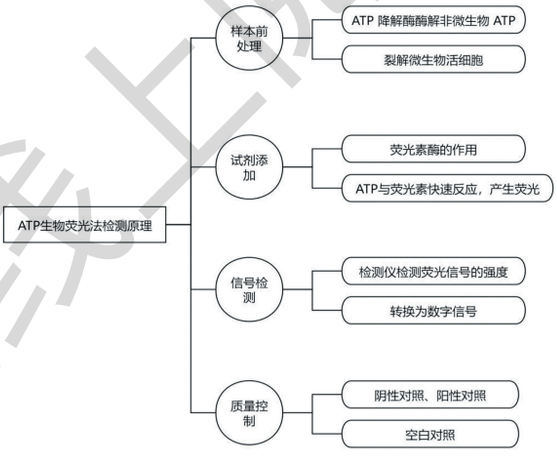


图 1 ATP 生物荧光法检测原理

吴慧清等[9]采用生物发光检测法和传统国标法对菌剂中活菌数量进行对比分析，结果显示，两种方法测定结果具有一致性，且生物发光法更快速、便捷。毛映丹[10]采用ATP生物发光法检测水中细菌数量，为未来水质监测的发展提供了新方向。张桐等[11]总结了ATP生物荧光技术在复杂样品细菌检测中的应用现状，为提高复杂样品细菌检测能力提供了参考。林玲等[12]针对部分食品微生物检测中的样品前处理，研究了糕点和饮料样品中细菌的快速检测方法，结果表明，ATP生物荧光法与传统培养法在检测结果上呈现良好的一致性，表明该法在食品微生物快速检测领域有较好的应用前景。

在《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》[13]的微生物平板计数

中国乳业线上阅读

法中，菌落形成单位（CFU）是指单个细菌或多个聚集的细菌在固体培养基上生长繁殖形成的可见菌落，用于表示活菌的数量。CFU值较高表明微生物代谢活跃、生长状况良好；而较低的CFU值则可能暗示微生物生长受到抑制或失去活性。因此，CFU是衡量微生物生长和活力的重要指标之一。它与ATP生物发光法中的RLU值高度相关，两者都能反映微生物的生长和繁殖情况。菌落形成单位在微生物学研究中应用广泛，尤其是在食品、医药和环境等领域的质量控制和检测方面。通过计算CFU，可以更精确地评估样品中的活菌数量，从而确保产品的安全性和有效性。

CHARM EPIC-PLUS 商业无菌检测系统是一种基于三磷酸腺苷（ATP）生物发光原理的快速微生物检测系统。本研究应用该系统对乳饮料中的商业无菌状态进行快速检测分析，并与传统国标平板计数法及GB 4789.26—2023 中商业无菌检测方法进行对比，评估CHARM EPIC-PLUS商业无菌检测系统在乳饮料商业无菌检测中的应用可行性与准确性进行研究。

1 材料与设备

1.1 试剂

商业无菌配套检测试剂、清洗试剂、质控套盒、微孔板，美国CHARM SCIENCES公司；平板计数琼脂（PCA）、孟加拉红琼脂、结晶紫中性红胆盐琼脂（VRBA）、煌绿乳糖胆盐肉汤（BGLB），北京陆桥技术股份有限公司；三级水符合《GB/T 6682—2008 分析试验室用水规格和试验方法》要求；NaOH、NaCL（AR级别），福晨（天津）化学试剂有限公司。1 moL/L NaOH溶液、无菌生理盐水，121 ℃高压灭菌15 min。

1.2 样品及菌株

评估菌落总数、大肠菌群、酵母菌为阴性的乳饮料，保定蒙牛饮料有限公司；大肠埃希氏菌商业派生菌株（CICC10305）、枯草芽孢杆菌商业派生菌株（CICC10285）、酿酒酵母商业派生菌株（CICC33033），以及商业派生菌株配套TSB培养液，中国工业微生物菌种保藏管理中心（CICC）。

1.3 设备

CHARM EPIC-PLUS商业无菌检测系统，美国CHARM SCIENCES公司；电热恒温培养箱，上海一恒科技有限公司；移液枪，芬兰Biohit百得公司；漩涡振荡器，德国艾卡IKA公司；电子天平，天津市德安特传感技术有限公司；灭菌器，日本HIRAYAMA公司。

2 试验方法

2.1 检验程序

CHARM EPIC-PLUS商业无菌检测系统检验程序主要包括样品标记孵育、样品取样准备、仪器自动检测、信号分析判读、结果复核验证（图2）。

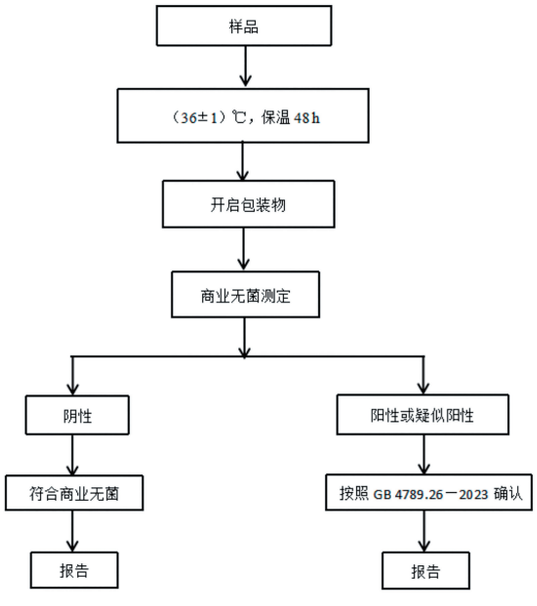


图 2 CHARM EPIC-PLUS 商业无菌检测系统检验程序

2.2 试验方法特异性

选择3 批乳饮料样品，即本底阴性样品，

中国乳业线上阅读

（36±1）℃培养（48±2）h，采用CHARM EPIC-PLUS商业无菌检测系统和GB 4789.2—2022 中平板计数法对比分析，每个样品重复6 次。

2.3 试验方法准确性

2.3.1 阳性样品制备

选择枯草芽孢杆菌、大肠埃希氏菌、酿酒酵母菌3 种常见的导致乳制品质量问题的商业派生菌株进行加标实验。

（1）大肠埃希氏菌商业派生菌株、枯草芽孢杆菌商业派生菌株：取1 支大肠埃希氏菌商业派生菌株和TSB培养液，在生物安全柜中打开铝盖和橡胶塞，将TSB培养液倒入商业派生菌株西林瓶，盖上胶塞，振荡混匀。放入（36±1）℃培养20~24 h，即可作为初始菌悬液；取1 支酿酒酵母商业派生菌株置于28~30 ℃水浴中，轻轻晃动至完全融化，在生物安全柜中打开铝盖和橡胶塞，即可作为初始菌悬液。

（2）乳饮料样品：选取3 个批次，每批次8 包为一组，共24 包用于加标。

（3）菌悬液：将活化后的商业派生菌株进行梯度稀释并预估浓度，将1 mL初始菌悬液加入9 mL稀释液中，逐级稀释，稀释液可选取无菌生理盐水，稀释至10^{-5}、10^{-6}、10^{-7}、10^{-8}、10^{-9}稀释度，稀释至指定浓度后进行平板计数，菌悬液浓度尽量选择1~10 CFU/mL和10~100 CFU/mL两个浓度点。

（4）加标方式：每组加标1 种菌株，每种菌株菌悬液选择2 个梯度（尽量接近1 CFU/mL），每个梯度4 个样品。用75%酒精棉球擦拭包装表面，尤其开口区域，静置30 s待酒精挥发，杀灭包装表面微生物。使用1 mL无菌注射器分别取1 mL浓度点为1~10 CFU/mL和10~100 CFU/mL的菌悬液注射于样品中，混匀后采用胶枪封住针孔。

（5）理论添加量确认：在加标的同时分别吸取对应稀释度的菌悬液1 mL至无菌平皿中，检测平行样，倾注培养基，依据菌种对应国标平板计数法要求同步于培养箱中培养，培养结束后计数，确保理论添加量符合1~10 CFU/mL和10~100 CFU/mL两个浓度点的添加要求。

2.3.2 样品检测

（1）CHARM EPIC-PLUS商业无菌检测系统与菌种对应国标平板计数法对比

取各组加标浓度的2 个样品，（36±1）℃保温48 h，若在48 h内出现明显胀包、坏包情况，可立即取出检测。保温后，每个样品同时用CHARM EPIC-PLUS商业无菌检测系统和传统国标平板计数法检测并记录结果。CHARM EPIC-PLUS商业无菌检测系统每个样品进行3 次平行检测并报出每个平行样结果。

（2）CHARM EPIC-PLUS商业无菌检测系统与GB 4789.26—2023 中商业无菌检测方法对比

按照GB 4789.26—2023 中商业无菌检测方法检测各加标浓度的一组平行样。1 个样品置于（36±1）℃培养箱保温，1 个样品置于2~5℃保鲜柜冷藏，培养7 d，保温过程中每天检查，如有膨胀或泄漏现象立即剔出，开启检查，同步对保温的样品进行CHARM EPIC-PLUS商业无菌检测系统检测，每组样品检测6 次平行样。

2.4 试验方法重复性

选择10 个商业无菌阴性的乳饮料样品及10 个使用原奶加标的商业无菌阳性乳饮料样品，采用CHARM EPIC-PLUS商业无菌检测系统和商业无菌国标检测方法进行对比分析，每个样品重复2次。

3 结果与分析

3.1 特异性试验结果

表1显示，经（36±1）℃保温48 h保温后，乳饮料阴性样品未发生微生物增殖现象，平板计数法检测结果显示，菌落总数＜1 CFU/mL，CHARM EPIC-PLUS商业无菌检测系统检测结果结果显示，RLU值均＜150，为商业无菌，且未出现假阳性结果，表明样品基质本身不会对检测结果造成干扰。CHARM EPIC-PLUS商业无菌检测系统在乳饮料检

中国乳业线上阅读

表 1 特异性试验结果（基质背景试验）

乳饮料	GB4789.2—2022 平板计法数检测结果（CFU/mL）						CHARM EPIC-PLUS 商业无菌检测系统检测结果（RLU）					
	平行 1	平行 2	平行 3	平行 4	平行 5	平行 6	平行 1	平行 2	平行 3	平行 4	平行 5	平行 6
a	均<1						商业无菌（47）	商业无菌（42）	商业无菌（43）	商业无菌（38）	商业无菌（48）	商业无菌（43）
b							商业无菌（53）	商业无菌（53）	商业无菌（55）	商业无菌（55）	商业无菌（61）	商业无菌（58）
c							商业无菌（54）	商业无菌（59）	商业无菌（52）	商业无菌（54）	商业无 菌（52）	商业无菌（55）

测中表现出良好的特异性。

3.2 准确性试验结果

菌株初始菌悬液浓度确认后，通过梯度稀释至目标稀释度，在加标的同时，采用菌株对应的国标平板计数法检测加标稀释度的菌落数，并汇总结果（表2）。结果显示，理论添加量符合1~10 CFU/mL和10~100 CFU/mL两个浓度点的添加要求。

表 2 初始菌悬液浓度和理论添加量的确认结果

菌株	初始菌悬液浓度（CFU/mL）	稀释度 / 理论添加量浓度（CFU/mL）	稀释度 / 理论添加量浓度（CFU/mL）
枯草芽孢杆菌	2.9×10^{7}	10^{-6}/25	10^{-7}/1
大肠埃希氏菌	2.4×10^{9}	10^{-8}/18	10^{-9}/1
酿酒酵母菌	8.8×10^{6}	10^{-5}/60	10^{-6}/7

表3~表6显示，在枯草芽孢杆菌 和大肠埃希氏菌1~10 CFU/mL和10~100 CFU/mL两个浓度点的加标试验中，经（36±1）℃培养48 h，CHARM EPIC-PLUS商业无菌检测系统检测结果显示，RLU值均＜150，报出商业无菌，菌种对应传统国标检测方法检测结果均＜1 CFU/mL，表明无目标菌增殖，两种检测方法结果一致；在（36±1）℃培养7 d后，CHARM EPIC-PLUS商业无菌检测系统检测结果显示，RLU值均＜150，报出商业无菌，而GB 4789.26—2023 中商业无菌法的检测结果显示，样品外观、感官检查、pH值测定结果均符合要求，报出商业无菌，两种方法检验结果符合率达100%。在理论添加量为1~10 CFU/mL和10~100 CFU/mL的加标试验中，因受乳饮料酸性基质（pH值3.9~4.5）影响，枯草芽孢杆菌和大肠埃希氏菌未发生增殖。

表 3 枯草芽孢杆菌加标试验 CHARM EPIC-PLUS 商业无菌检测系统与传统国标平板计数法检测结果（保温 48 h）

编号	理论接菌量（CFU/个）	GB4789.2—2022 平板计法数检测结果（CFU/mL）	CHARMEPIC-PLUS 商业无菌检测系统检测结果（CFU/mL）
平行 A1-1	1	<1	商业无菌（41）
平行 A1-2	1	<1	商业无菌（47）
平行 A1-3	1	<1	商业无菌（43）
平行 A1-4	1	<1	商业无菌（40）
平行 A1-5	1	<1	商业无菌（40）
平行 A1-6	1	<1	商业无菌（38）
平行 B1-1	25	<1	商业无菌（39）
平行 B1-2	25	<1	商业无菌（41）
平行 B1-3	25	<1	商业无菌（46）
平行 B1-4	25	<1	商业无菌（29）
平行 B1-5	25	<1	商业无菌（38）
平行 B1-6	25	<1	商业无菌（40）

当pH值为3.0或8.0时，酿酒酵母菌的生长明显受到抑制；当培养基初始pH值在4.0～6.0时，酿酒酵母菌生长情况较好，其中pH值为4.0时最适合酵母菌生长[15]。表7、表8显示，酿酒酵母菌在乳饮料酸性基质（pH值3.9~4.5）中，经（36±1）℃培养48 h后，《GB 4789.15—2010 食品安全国家标准 食品微生物学检验 霉菌和酵母计数》[16]中方法检测结果＞10^{6}CFU/mL，表明酿酒酵母菌于乳饮料样品中大量

中国乳业线上阅读

表 4 大肠埃希氏菌加标试验 CHARM EPIC-PLUS 商业无菌检测系统与传统国标方法检测结果（保温 48 h）

编号	理论接菌量（CFU/个）	《GB4789.3—2016 食品安全国家标准 食品微生物学检验 大肠菌群计数》[14] 方法检测结果（CFU/mL）	CHARMEPIC-PLUS 商业无菌检测系统检测结果（RLU）
平行 C1-1	1	<1	商业无菌（98）
平行 C1-2	1	<1	商业无菌（94）
平行 C1-3	1	<1	商业无菌（93）
平行 C1-4	1	<1	商业无菌（93）
平行 C1-5	1	<1	商业无菌（92）
平行 C1-6	1	<1	商业无菌（92）
平行 D1-1	18	<1	商业无菌（91）
平行 D1-2	18	<1	商业无菌（83）
平行 D1-3	18	<1	商业无菌（84）
平行 D1-4	18	<1	商业无菌（90）
平行 D1-5	18	<1	商业无菌（91）
平行 D1-6	18	<1	商业无菌（119）

表 5 枯草芽孢杆菌加标试验 CHARM EPIC-PLUS 商业无菌检测系统与传统国标方法检测结果（保温 7 d）

编号	理论接菌量（CFU/个）	GB4789.26—2023 中商业无菌法检测结果（CFU/mL）	CHARMEPIC-PLUS 商业无菌检测系统检测结果（CFU/mL）
平行 A2-1	1	样品外观正常，感官检查正常，pH 值为 3.9~4.5，无需涂片镜检，报出商业无菌	商业无菌（40）
平行 A2-2	1		商业无菌（38）
平行 A2-3	1		商业无菌（39）
平行 A2-4	1		商业无菌（39）
平行 A2-5	1		商业无菌（35）
平行 A1-6	1		商业无菌（37）
平行 B2-1	25		商业无菌（38）
平行 B2-2	25		商业无菌（41）
平行 B2-3	25		商业无菌（34）
平行 B2-4	25		商业无菌（49）
平行 B2-5	25		商业无菌（33）
平行 B2-6	25		商业无菌（39）

繁殖；CHARM EPIC-PLUS商业无菌检测系统检测结果均>150 RLU，报出非商业无菌，两种检测方法结果一致。GB 4789.26—2023 中商业无菌法检测过程中，保温至第5天观察到明显胀包，感官异常，

表 6 大肠埃希氏菌加标试验 CHARM EPIC-PLUS 商业无菌检测系统与 GB4789.26—2023 中商业无菌法检测结果（保温 7 d）

编号	理论接菌量（CFU/个）	GB4789.26—2023 中商业无菌法检测结果（CFU/mL）	CHARMEPIC-PLUS 商业无菌检测系统检测结果（RLU）
平行C2-1	1	样品外观正常，感官检查正常，pH 值为 3.9~4.5，无需涂片镜检，报出商业无菌	商业无菌（76）
平行C2-2	1		商业无菌（86）
平行C2-3	1		商业无菌（84）
平行C2-4	1		商业无菌（84）
平行C2-5	1		商业无菌（76）
平行C2-6	1		商业无菌（84）
平行D2-1	18		商业无菌（75）
平行D2-2	18		商业无菌（62）
平行D2-3	18		商业无菌（65）
平行D2-4	18		商业无菌（55）
平行D2-5	18		商业无菌（54）
平行D2-6	18		商业无菌（73）

气味酒糟味、组织状态豆腐脑状，报出非商业无菌，CHARM EPIC-PLUS商业无菌检测系统检测结果均远>150 RLU，报出非商业无菌，两种方法检验结果符合率达100%。

3.3 重复性试验结果

阳性样品制备方式为将原奶添加至已知商业无菌的阴性样品中，由于原奶中各类菌含量未知，且制备各阳性样品时原奶添加量不同，导致各组结果存在差异；此外，由于培养后样品组织状态改变，不易混匀，导致平行样检测结果差距较大。

表9显示，阴性样品CHARM EPIC-PLUS商业无菌检测系统检测结果均<150 RLU，报出商业无菌；GB 4789.26—2023 中商业无菌法检测过程中，样品外观正常，感官检查正常，PH值为3.9~4.5，无需涂片镜检，报出商业无菌。阳性样品CHARM EPIC-PLUS商业无菌检测系统检测结果远>150 RLU，报出非商业无菌；GB 4789.26—2023 中商业无菌法检测过程中，样品外观、感官异常，胀包明显，气味酸臭味、组织状态豆腐脑状，报出

中国乳业线上阅读

表 7 酿酒酵母加标试验 CHARM EPIC–PLUS 商业无菌检测系统与传统国标方法检测结果（保温 48 h）

编号	理论接菌量（CFU/个）	GB 4789.15—2010 中方法检测结果（CFU/mL）	CHARMEPIC–PLUS 商业无菌检测系统检测结果（RLU）
平行 E1–1	7		非商业无菌（213294）
平行 E1–2	7	3100000	非商业无菌（200091）
平行 E1–3	7		非商业无菌（218111）
平行 E1–4	7		非商业无菌（256438）
平行 E1–5	7	4000000	非商业无菌（270311）
平行 E1–6	7		非商业无菌（256621）
平行 F1–1	60		非商业无菌（448816）
平行 F1–2	60	6700000	非商业无菌（452259）
平行 F1–3	60		非商业无菌（429275）
平行 F1–4	60		非商业无菌（417301）
平行 F1–5	60	7200000	非商业无菌（425711）
平行 F1–6	60		非商业无菌（443158）

表 8 酿酒酵母加标试验 CHARM EPIC–PLUS 商业无菌检测系统与 GB4789.26—2023 中商业无菌法检测结果（保温 5 d）

编号	理论接菌量（CFU/个）	GB 4789.26—2023 中商业无菌法检测结果（CFU/mL）	CHARMEPIC–PLUS 商业无菌检测系统检测结果（RLU）
平行 E2–1	7	保温至第 5 天胀包明显，感官检查不正常，气味酒糟味、组织状态豆腐脑状，报出非商业无菌	非商业无菌（172621）
平行 E2–2	7		非商业无菌（178567）
平行 E2–3	7		非商业无菌（178318）
平行 E2–4	7		非商业无菌（188857）
平行 E2–5	7		非商业无菌（171075）
平行 E2–6	7		非商业无菌（175914）
平行 F2–1	60		非商业无菌（140050）
平行 F2–2	60		非商业无菌（137870）
平行 F2–3	60		非商业无菌（141856）
平行 F2–4	60		非商业无菌（137907）
平行 F2–5	60		非商业无菌（142686）
平行 F2–6	60		非商业无菌（141993）

非商业无菌。

综上所述，阴性和阳性样品重复性良好，且CHARM EPIC–PLUS商业无菌检测系统稳定性较好。

4 讨论

CHARM EPIC–PLUS商业无菌检测系统的检测结果＜150 RLU时，为阴性，表明无微生物增殖，报告为商业无菌。RLU值为151～300时，为疑似阳性，表明可能存在微生物增殖。RLU＞300时，为阳性，表明存在微生物增殖。当结果为疑似阳性或阳性时，采用GB 4789.26—2023 中商业无菌法进一步确认。

枯草芽孢杆菌的最适生长PH值为7.0~7.5，大肠埃希氏菌的最适生长pH值为6.8~8.0，乳饮料的低pH值环境会加速菌体失活速率，并抑制其生长；随时间推移，活菌数量持续下降，最终降低至无法检出水平[17]。由于人工污染的菌株种类和乳制品基质类型等多因素影响，并非所有乳制品快速检测技术均能实现100%的检测率[18]。本研究中枯草芽孢杆菌接种量1 CFU/个、25 CFU/个及大肠埃希氏菌接种量

中国乳业线上阅读

表 9 阴性和阳性样品的重复性试验结果

编号	CHARMEPIC–PLUS 商业无菌检测系统检测结果（RLU）		GB 4789.26—2023 中商业无菌法检测结果（CFU/mL）	
	平行 1	平行 2	平行 1	平行 2
Y1	商业无菌（45）	商业无菌（43）		
Y2	商业无菌（45）	商业无菌（44）		
Y3	商业无菌（43）	商业无菌（45）		
Y4	商业无菌（41）	商业无菌（39）		
Y5	商业无菌（46）	商业无菌（48）	样品外观正常，感官检查正常，pH 值3.9~4.5，无需涂片镜检，报出商业无菌	
Y6	商业无菌（40）	商业无菌（45）		
Y7	商业无菌（39）	商业无菌（46）		
Y8	商业无菌（39）	商业无菌（44）		
Y9	商业无菌（52）	商业无菌（43）		
Y10	商业无菌（56）	商业无菌（51）		
Y11	非商业无菌（13350）	非商业无菌（14857）		
Y12	非商业无菌（14375）	非商业无菌（13609）		
Y13	非商业无菌（18778）	非商业无菌（15344）		
Y14	非商业无菌（16604）	非商业无菌（14012）		
Y15	非商业无菌（13389）	非商业无菌（14240）	保温至第 7 天，胀包明显，感官检查不正常，气味酸臭味、组织状态豆腐脑状，报出非商业无菌	
Y16	非商业无菌（13133）	非商业无菌（11474）		
Y17	非商业无菌（2647）	非商业无菌（3790）		
Y18	非商业无菌（3889）	非商业无菌（4166）		
Y19	非商业无菌（2083）	非商业无菌（4234）		
Y20	非商业无菌（4201）	非商业无菌（5789）		

1 CFU/个、18 CFU/个时，经（36±1）℃培养48 h，检测结果为未检出，分析原因为接种细菌数量过少，未达到培养所需的最低浓度。针对上述问题可采取增加菌种接种量或调节乳饮料样品pH值至中性的处理方式，并进一步试验以探究酸性乳饮料基质中枯草芽孢杆菌和大肠埃希氏菌的生长情况和检出水平。

相较于传统国标检测方法，快速检测技术展现出了独特的优势。其中，ATP生物荧光法、PCR技术和流式细胞术都是具有代表性的快速检测技术，三者各有特点。其中，ATP生物荧光法原理直观，无需复杂的基因操作和细胞标记，对操作人员的专业知识储备要求相对较低。在检测速度方面，ATP生物荧光法通常仅需十几秒到几分钟即可完成检测，可满足即时检测需求，在餐饮卫生巡检、食品加工现场监控等场景中可快速反馈结果。在灵敏度方面，ATP生物荧光法、PCR技术和流式细胞术都具备较高水平，但ATP生物荧光法无需针对特定微生物，仅需存在活细胞即可实现检测，因而具备更广泛的应用范围。

在乳饮料生产过程中，利用ATP生物荧光法可对杀菌前后的乳饮料样品进行快速检测。在杀菌前，通过检测样品中的初始ATP含量，能够准确评估微生物污染程度，为杀菌参数的设定提供初始依据。在杀菌过程中，设定不同的杀菌温度、时间等参数组合进行试验，杀菌后立即采用ATP生物荧光法检测样品中的ATP含量。由于ATP含量与微生物数量呈正相关，因此可根据检测结果直观地判断杀菌效果。例如，当检测到杀菌后样品中ATP含量仍较高时，说明杀菌不彻底，可适当提高杀菌温度或延长杀菌时间；反之，若ATP含量过低且产品品质出现下降（如风味改变、营养成分损失等），则表明杀菌过度，需降低杀菌强度。通过这种方式，能够快速、精准地确定最佳杀菌参数，在保证有效杀灭微生物的同时，最大限度地保留乳饮料的营养成分和风味。

ATP生物荧光法还可用于乳饮料生产工艺的

中国乳业线上阅读

验证与改进。在引进新的生产工艺或设备时，通过对新工艺或新设备运行过程中的各环节进行ATP检测，能够评估工艺的稳定性和设备的清洁效果。例如，在验证新的灌装工艺时，检测灌装前后产品中的ATP含量，可判断灌装过程是否存在微生物污染风险；在评估新的清洗设备时，检测设备清洗前后表面的ATP含量，可确定清洗设备的清洁效果是否达到要求。通过对检测数据的分析和总结，可为生产工艺的改进和优化提供有力的数据支持，促进乳饮料生产工艺的不断完善。

然而，ATP生物荧光法仍存在局限性。首先，该法在检测特异性方面存在不足，其测定结果为样本中总ATP含量，无法区分微生物、动物细胞、植物细胞来源的ATP，因而缺乏微生物物种类鉴别能力。其次，该法难以精确区分死菌与活菌。虽然ATP的存在通常被视为细胞存活的指标，但细胞死亡后短期内ATP尚未完全降解，仍可产生荧光信号，导致活菌数量检测结果偏高。此外，检测准确性易受多种因素干扰，包括样品温度、湿度、pH值等环境条件，以及样品中某些化学物质对荧光素酶与ATP反应体系的潜在影响。最后，在设备与试剂成本方面，该法存在一定劣势。检测仪器购置成本较高，且荧光素酶试剂作为消耗品，使用频率高，长期累积的试剂费用显著增加了检测成本。

5 结论

CHARM EPIC-PLUS商业无菌检测系统与传统商业无菌国标方法在筛选目的方面具有一致性，但前者显著缩短了检测结果出具时间，由7 d缩短至48 h，检测周期缩短71.4%。该系统阴性符合率为100%，阳性检出率为100%，展现出较高的工作效率提升能力、人工成本控制优势以及操作便捷性，同时具备较高的检测精度与可靠性，可为企业乳饮料产品的快速放行提供有效决策依据。

参考文献

[1] 陈雅敏.浅析食品快速检测技术在基层食品安全监管中的运用[J].现代食品，2023，29（18）：136-138.

[2] 陈兆鑫，梁一帆，林文锋，等.快速检测技术在食品安全监管中的应用分析[J].中国食品，2024（20）：95-97.

[3] 中华人民共和国国家卫生健康委员会，国家市场监督管理总局. GB4789.26—2023，食品安全国家标准 食品微生物学检验 商业无菌检验[S].

[4] 21 CFR Part 113 -2011.Thermally processed low-acid foods packaged in hermetically sealed containers.

[5] 东思源，仇凯，孟镇，等.食品商业无菌国内外标准法规对比研究及标准化工作思考[J].食品与发酵工业，2022，48（22）：305-310.

[6] 涂宝峰.食品微生物检验中罐头食品商业无菌检验探讨[J].科技创新与生产力，2019（7）：38-39.

[7] 中华人民共和国国家卫生健康委员会，国家市场监督管理总局.GB7101-2022 食品安全国家标准 饮料[S].

[8] 梁好.食品快检技术在食品检测中的应用[J].食品安全导刊，2024（9）：161-163.

[9] 吴慧清，吴清平，张菊梅，等.生物发光检测法和国标法检测样品中活菌总数的比较研究[J].食品工业科技，2004（4）：134-135，85

[10] 毛映丹.ATP生物发光法检测水中细菌数的研究[D].上海：华东师范大学，2009.

[11] 张桐，谢茂梅，刘艺丹,等.三磷酸腺苷生物发光法在提高复杂样品细菌检测能力方面的应用研究进展[J].食品安全质量检测学报，2024，15（14）：1-8.

[12] 林玲，陈惠，郭广生.三磷酸腺苷生物发光法快速测定食品中细菌的含量[J].分析试验室，2009，28（7）：26-30.

[13] 中华人民共和国国家卫生健康委员会，国家市场监督管理总局. GB4789.2—2022，食品安全国家标准 食品微生物学检验 菌落总数测定[S].

[14] 中华人民共和国国家卫生和计划生育委员会，国家食品药品监督理蒽局. GB 4789.3—2016 食品安全国家标准 食品微生物学检验 大肠菌群计数[S].

[15] 刘龙海，李新圃，杨峰，等.酿酒酵母菌生长特性的研究[J].中国草食动物科学，2016，36（3）：38-41.

[16] 中华人民共和国卫生部. GB4789.15—2010 食品安全国家标准 食品微生物学检验 霉苗和酵母计数[S].

[17] 马静，骆敏，宋艳梅,等.酸奶及乳饮料中大肠杆菌变化趋势研究[J].中国乳业，2023（1）：64-69.

[18] 刘娜，王亚萍，李景云，等.基于流式细胞仪提高乳制品商业无菌检验时效性的研究[J].食品安全质量检测学报，2024，15（20）：131-139.

中国乳业线上阅读

The Application of CHARM EPIC–PLUS Commercial Sterility Detection System in Microbial Detection of Milk Beverages

WANG Lili，WANG Dan，XIE Xin，XING Yanxia，CAO Wenyan*，HOU Xiaofeng，ZHANG Nana，XU Ruixian，GENG Dandan，MIAO Jiajia，MA Jianjun
Baoding Mengniu Beverage Co.，Ltd.，Hebei Province Key Laboratory of Intelligent Dairy Testing Technology，Baoding Hebei 072450

Abstract：[Objective]The CHARM EPIC-PLUS commercial sterility detection system is a rapid microbial detection system based on the principle of adenosine triphosphate（ATP）bioluminescence. This system evaluates the microbial activity in samples by detecting the ATP content，achieving efficient determination of commercial sterility status. This study aims to verify the sensitivity and accuracy of the system in detection of milk beverages and improve the delivery time of the products.[Method]Bacillus subtilis，Escherichia coli and Saccharomyces cerevisiae were added to milk beverage. After incubation at（36±1）℃ for 48 hours，The CHARM EPIC-PLUS commercial sterility detection system and traditional national standard plate counting method were used for detection. After incubation at（36±1）℃ for 7 days simultaneously，the CHARM EPIC-PLUS commercial sterility detection system and the commercial sterility national standard method were used for detection, and the results were compared and analyzed.[Result]The results of the CHARM EPIC-PLUS commercial sterility detection system were highly consistent with the detection results of the commercial sterility national standard detection method. Moreover，compared with the 7-day detection cycle of the traditional commercial sterility national standard detection method，the CHARM EPIC-PLUS commercial sterility detection system significantly shortened the detection time to 48 hours.[Conclusion] The detection results of the CHARM EPIC-PLUS commercial sterility detection system were in good consistency with the national standard detection method of commercial sterility. It is an efficient，accurate detection method with broad application prospects.

Keywords：adenosine triphosphate（ATP）bioluminescence；commercial sterility；rapid detection technology

▲上接136页

developmental difficulties faced by third-party testing institutions，and systemic deficiencies in the accountability mechanism. In response to these issues，this paper proposed optimization paths，including strengthening the synergistic effectiveness of government supervision，promoting the quality and efficiency enhancement of third-party testing institutions，and improving the accountability mechanism and standard systems. The aim was to provide references for building a more efficient，precise，and resilient regulatory system for Inner Mongolia's dairy industry，thereby supporting the achievement of high-quality development in the dairy product sector.

Keywords: Inner Mongolia；dairy products；regulatory system；accountability mechanism；third-party testing institutions

中国乳业线上阅读