

食物和表面的微生物分析  
平板计数和**MBS (Fitlylab)** 微生物检测系统对比



Dr.ssa Francesca Losito

## 微生物食物分析



- 为了确保食品安全，需要进行微生物分析，例如病原体和有害微生物的检验。
- 通过这种方法就可以检测到在正常使用条件下的污染风险，可以防止食物中毒事件的爆发。食品和原料的检验在整个供应链中都非常重要。产品的缺陷可能出现在生产中的每一个环节。
- 食品和饮料的微生物检验流程已经被标准化，并有相关规定，但几乎每个国家都有自己的规范。

## 术语定义



- 样本：在每批中抽取用于分析的单位(附属样本)
- 批次：一个批次中生产的样本单位的数量，或是在一个特定的时期生产的，这样各个样品单位的质量几乎一样。
- 群体：对个体的有限或无限收集(样本或单位)，然后根据这些来做决定。
- 要取得真正有代表性的样本，有4个要求：
  - 1) 确定群体的关键抽样点位置。
  - 2) 制定代表群体特性的抽样法。
  - 3) 选择样本大小
  - 4) 指定抽样频率



## 抽样计划

抽样计划是对食品批次进行微生物质量评价的系统方法。

在抽样中，样本应该从整个批次中独立地，随机抽取。

制定抽样计划时，要考虑很多因素，包括：

- 食品的特性
- 生产流程
- 最终产品的储存条件
- 相关风险
- 目标消费者和实际限制

每种食品应该独立考虑。



按惯例，抽样后**36**小时内，要对样本进行检验。

样本必须清楚完整地包含以下信息：

- 1) 样本描述
- 2) 采集者姓名
- 2) 生产商名称和地址
- 3) 批次号
- 4) 经销商和分销商名称
- 5) 采集日期、采集地和采集



## 样本制备

食物样品类型:

### ■液体

- 无粘性的液体，可以通过移液管进行测量的
- 粘性液体需要称重量



### ■固体

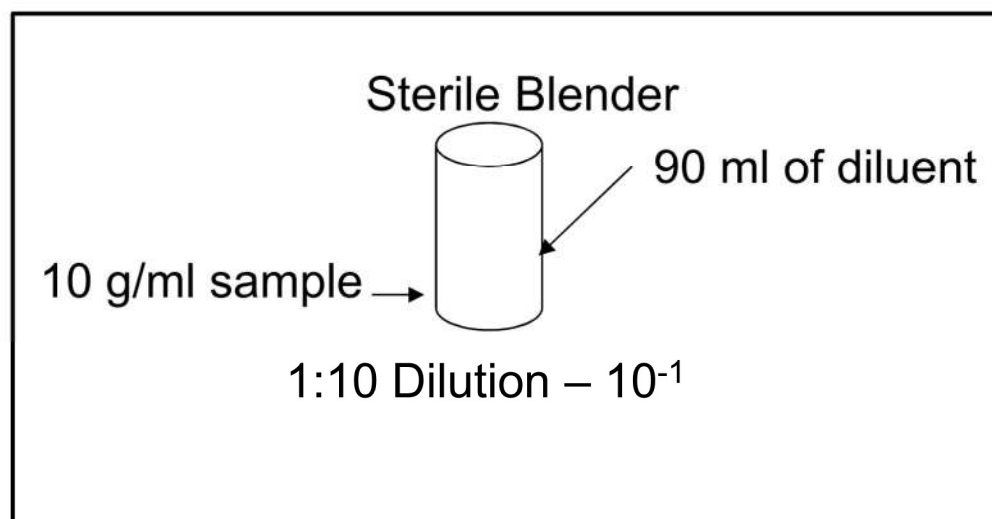
- 无菌称重样本



## 样本制备

### 制备样本匀浆

1) 用消毒的抹刀和有盖培养皿称10g的样本。添加样品到消毒过的混和器内，加入90ml的无菌稀释剂(磷酸盐缓冲液或蛋白胨缓冲液)。按1:10稀释。



无菌混和器



## 样本制备

### 制备样本匀浆:

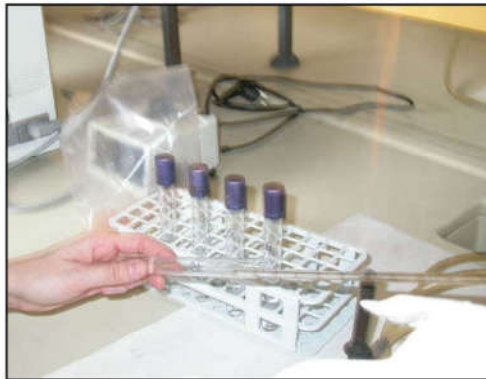
2) 使用一个兜摇匀2分钟(机器摇匀)。那样食物上或食物里的微生物就会全部释放到稀释液中。



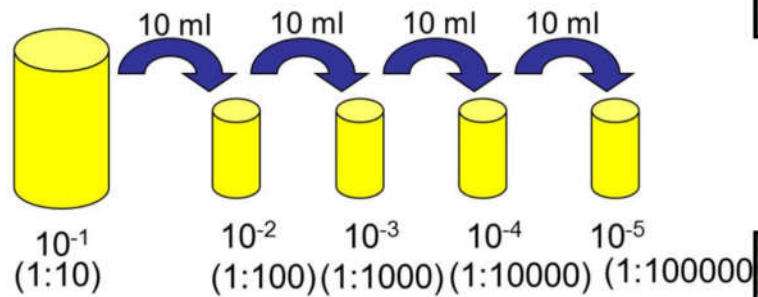


# 样本制备

如果计数要超过 $10^3$  CFU/g，那么可以对样本匀浆进一步稀释。



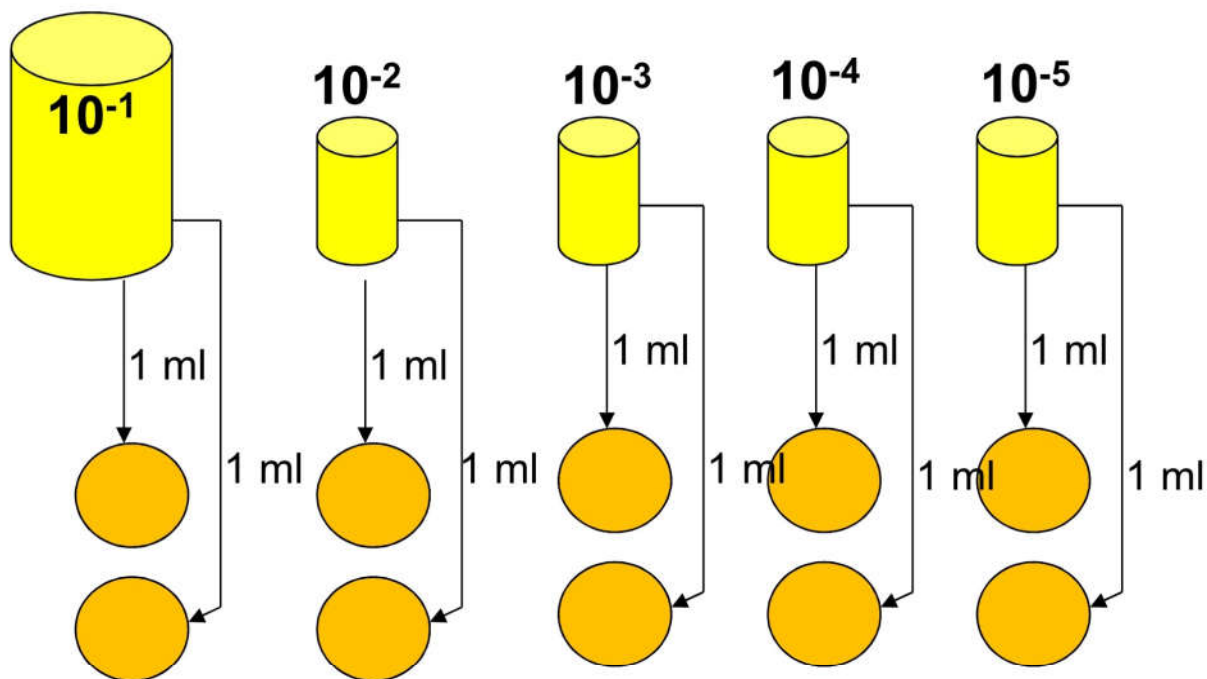
Sample Homogenate



# 参考方法： 倾注平皿法



1) 把1ml的稀释液导入空的有盖培养皿中



## 倾注平皿法

- 2) 加18-20ml的已加热融化(45-50 ° C)的平板计数琼脂到有盖培养皿中。
- 3) 沿各个方向摇10下
- 4) 然后使其凝固
- 5) 在35-37 ° C下，倒转培养48小时



# 计数平板

计算菌落数

平板计数范围是30-300个菌落:

-超过300      数量太多，数不完

-少于30      太少了，数不了

计算

$$N = \frac{\Sigma C}{(N1 + 0,1N2) \cdot D}$$

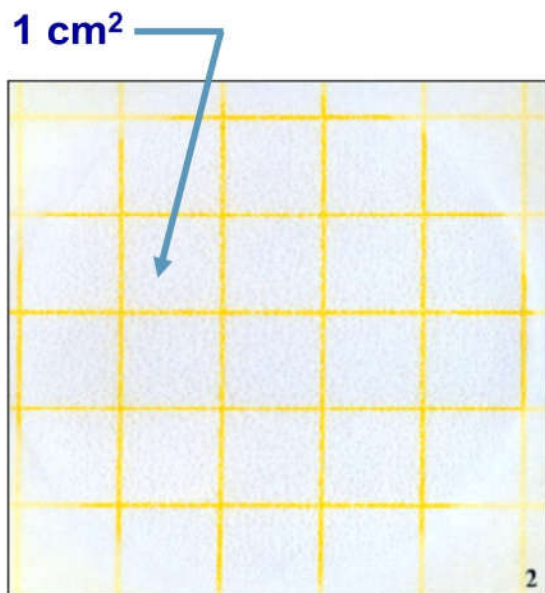
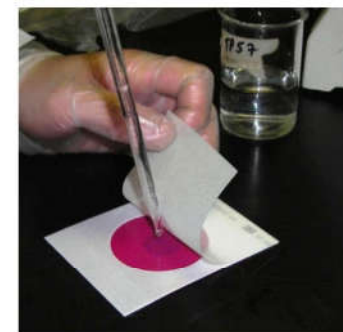
C=在所有保存的碟子上的菌落总数

N1=第一次稀释保存的碟子的数量

N2=第二次稀释保存的碟子的数量

D=与第一次稀释对应的稀释因子





Petrifilm area: 20 cm<sup>2</sup>

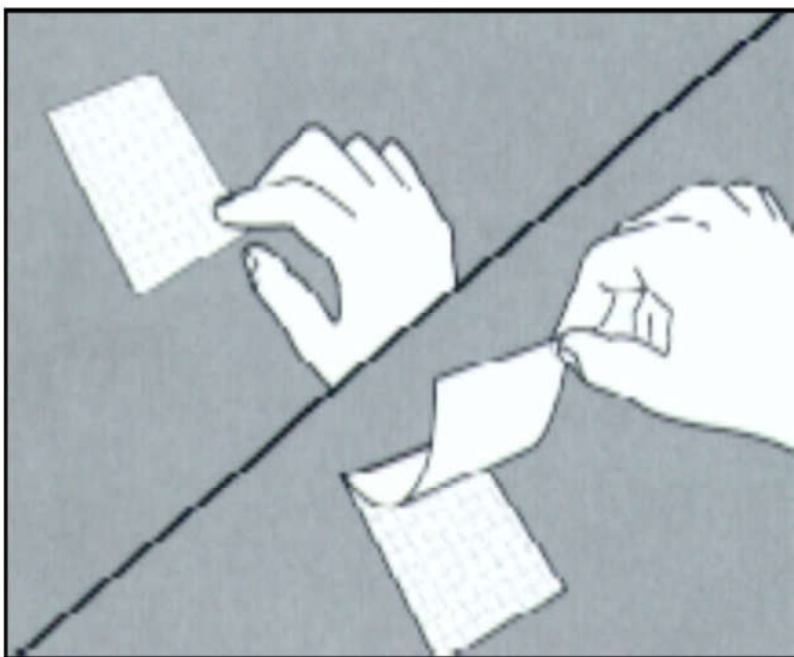
## 快速平板法

测试片的平板上有一块20cm<sup>2</sup>的圆形区域。  
测试片把介质吸收进膜中。

测试片平板介质因培养的有机体不同而不同，测试片一般包含冷水可溶的胶凝剂，营养物质和检测细菌活性和枚举的标志物。

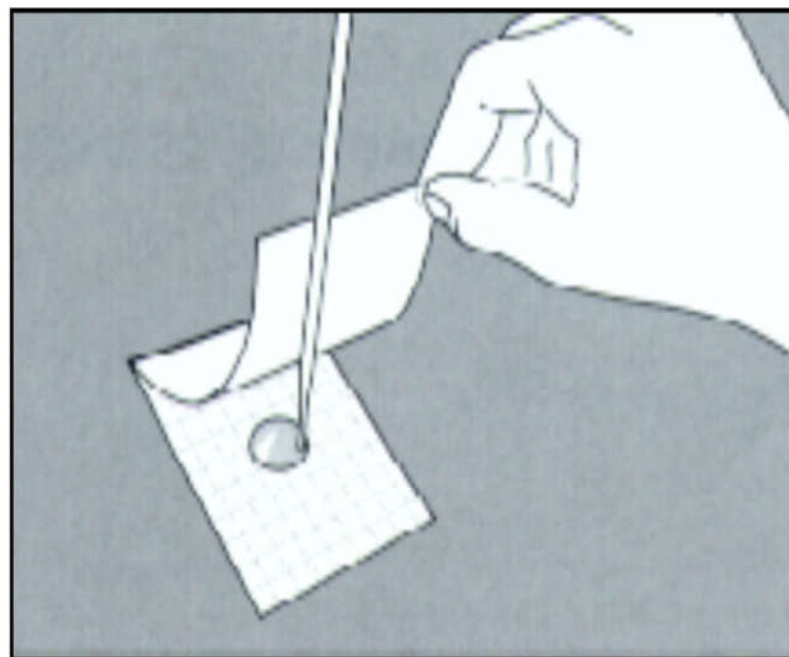
## 测试纸平板的使用方法

1



把测试纸放在平坦的表面上，掀开表层的膜。

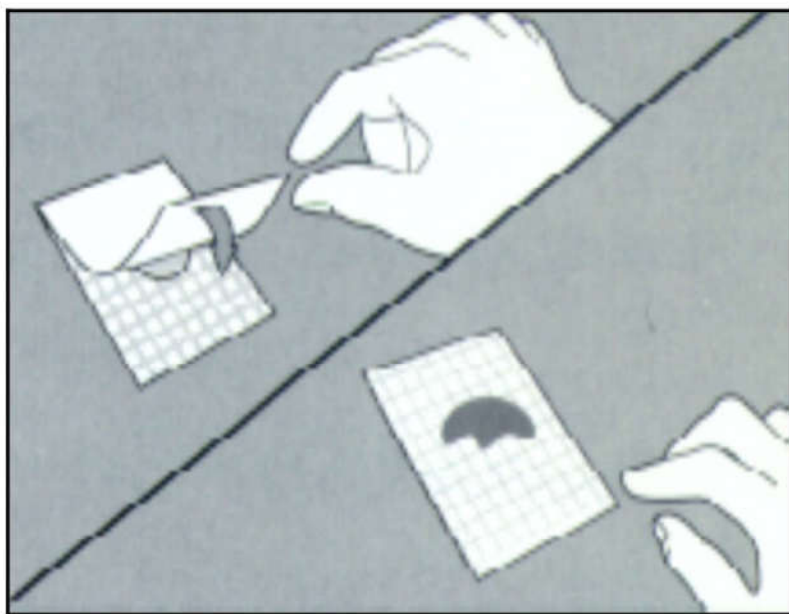
2



把**1ml**的样本放在试纸的中央。

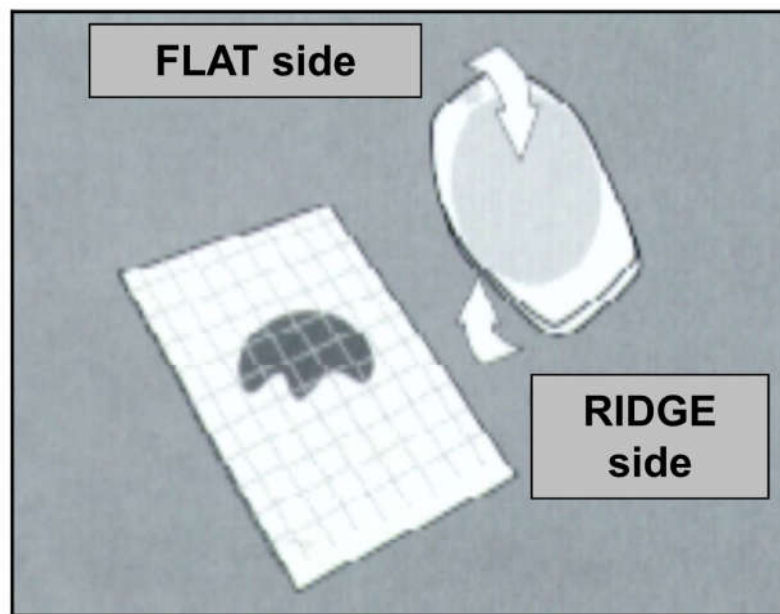
## 测试纸平板的使用方法

3



松开掀开的表层的膜，让其盖回来。  
不要把表层的膜弄掉。

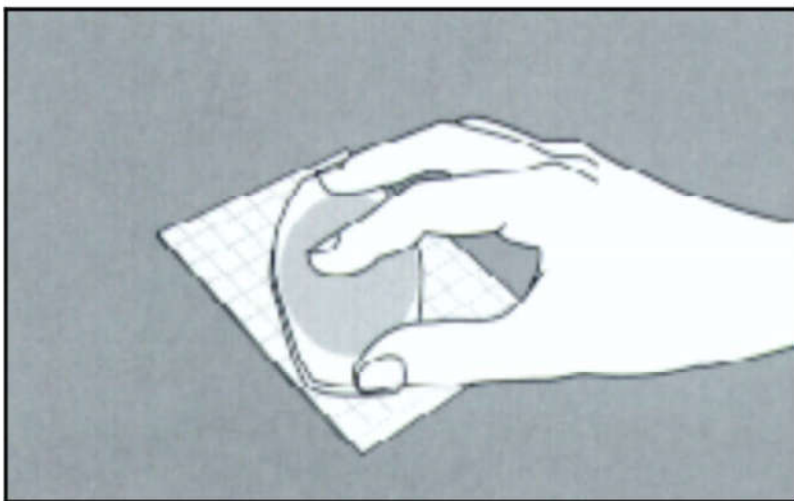
4



表层的膜盖回来后，用一个摊开装置放在培养液上的膜上，对培养液进行摊开操作。

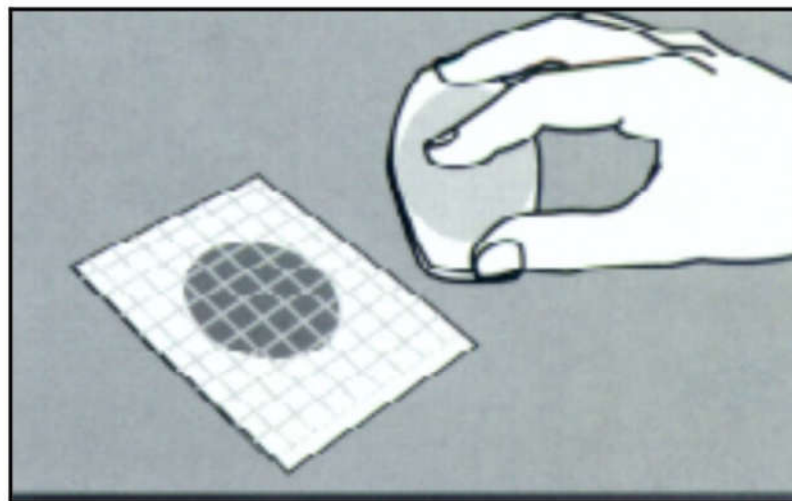
## 测试纸平板的使用方法

5



轻轻地用摊开装置在培养液上施压。  
不要扭曲摊开装置。

6

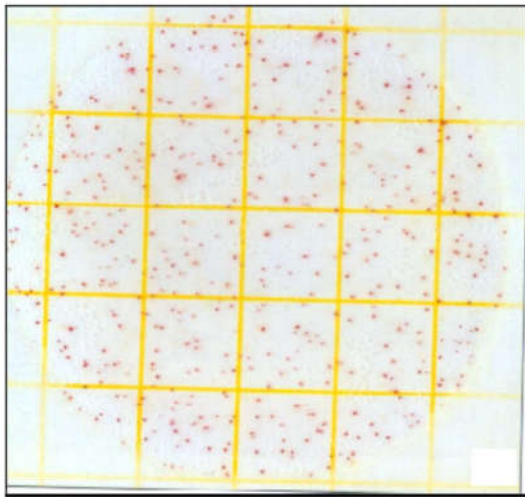


移开摊开装置。等待一分钟让凝胶  
凝固。培养

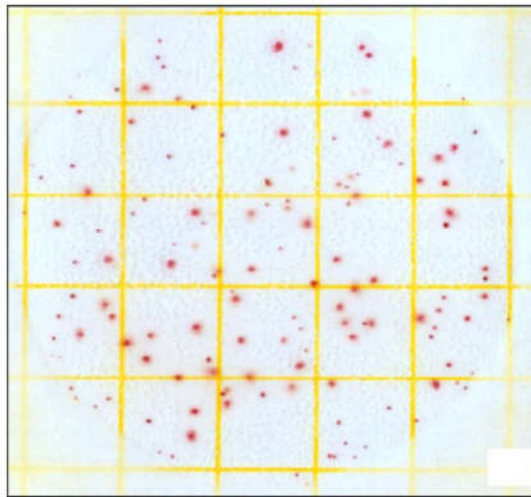


## 在试纸上的细菌菌落如图所示

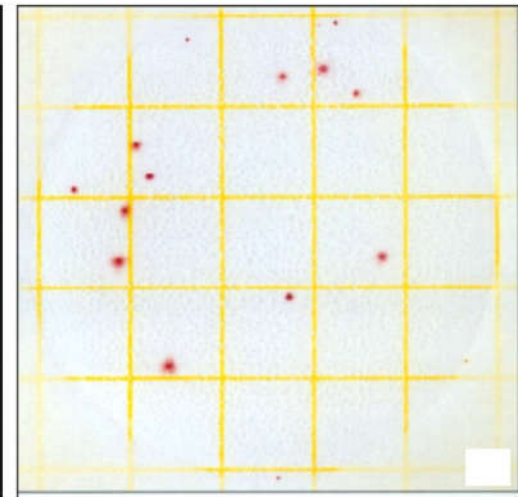
420 个菌落



143 个菌落



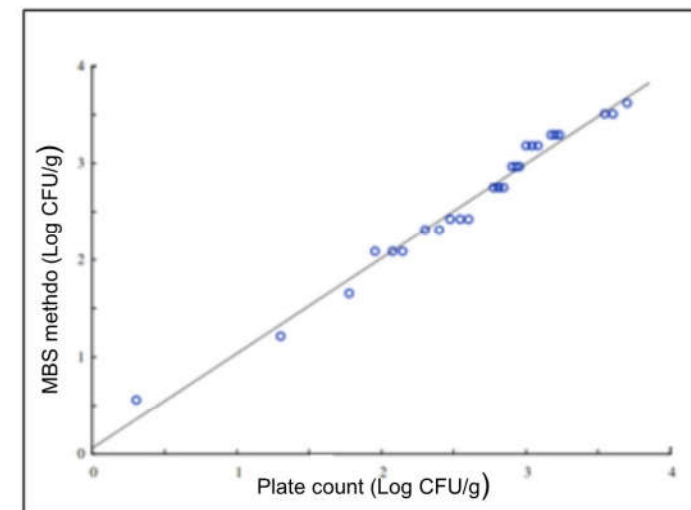
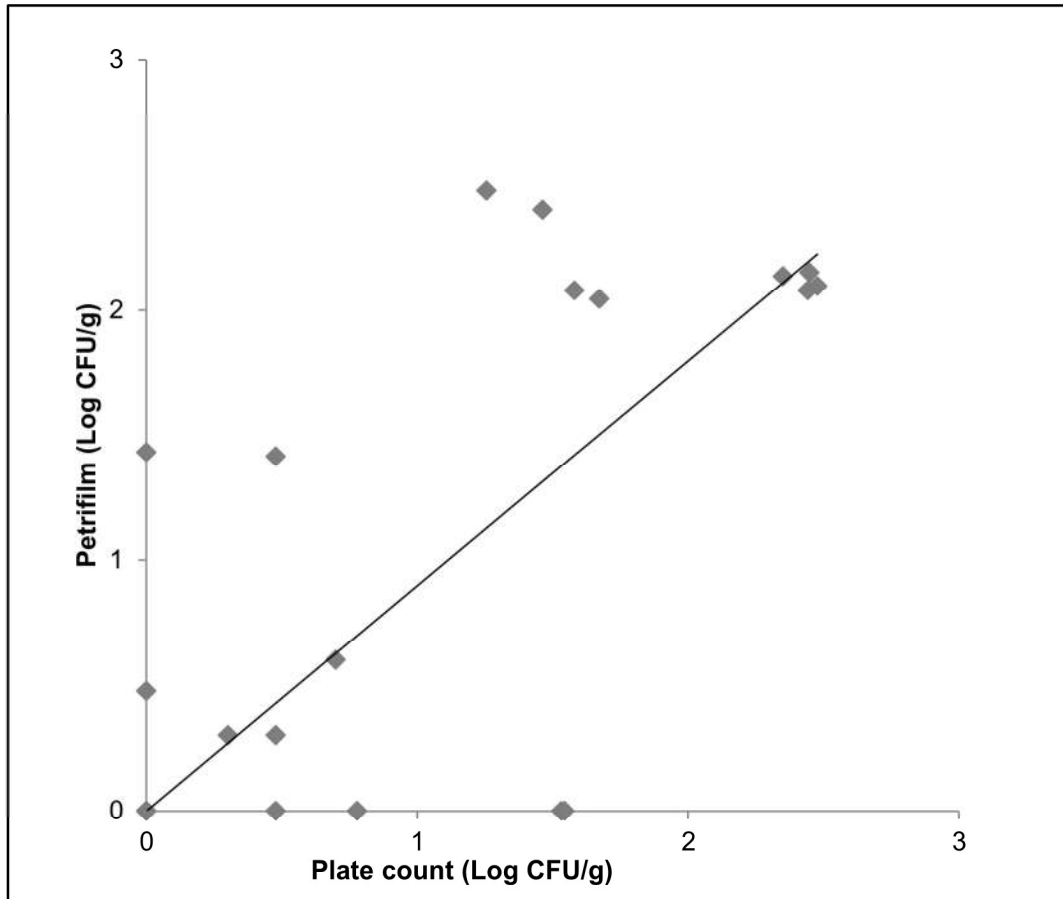
16 个菌落



如果用的是琼脂倾注平板，试纸计数平板上理想的菌落数是30-300。当菌落数超过300，只能通过估计。确定一个正方形(1cm<sup>2</sup>)上平均的菌落数，然后乘以20，就可以得到整块平板上菌落数了。试纸计数平板的培养区面积大约是20cm<sup>2</sup>。

# 试纸平板和标准方法的比较

不同食材上(肉类、牛奶和蔬菜)获得的TVC结果



MBS方法得出的结果



# 另一种方法 微生物鉴定法

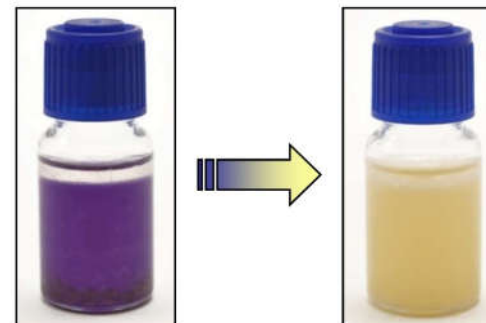
## MBS(Fitlylab) 微生物检测系统

这是由罗马大学第三大学，罗马生物研究所研发和申请了专利的快速比色测定法，用于对农产品、水和环境样本的快速检测和细菌的选择性计数。

**MBS**法就是以这种比色测定法为基础的，利用一次性使用的反应瓶，大多数的生物样本可以直接在里面进行培养，不需要预处理。

优点

- 速度：比传统方法快**2-5**倍
- 容易使用：任何人无论在哪里，在没有试剂和仪器的情况下，都可以进行分析。
- 成本低：每次分析的成本大约比传统分析法便宜**2-4**倍，传统分析法需要由专业的技术人员在设备完善的实验室中进行。
- 敏感度
- 选择性





# 用于食物分析的MBS

## HACCP&ACQUE简易检测

MBS工具包提供了采样工具，可以作为一种方便可靠的方法，来评价/列举零售食品操作表面的的细菌污染。这个工具包包括：

- 反应瓶
- 蒸馏水瓶



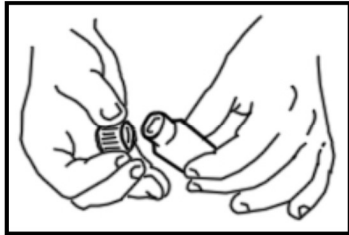
**MBS—MR主机：**是一种可自动进行分析的设备，同时可进行多个测试，并不用检查瓶子上的颜色变化。



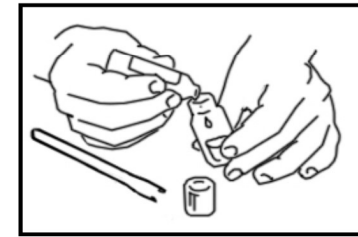


## MBS (Fitlylab) 食物分析法的主要步骤可归结为:

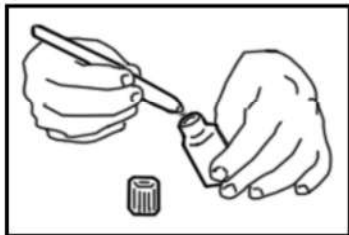
1. 打开反应瓶



2. 把全部的蒸馏水倒进反应瓶，摇反应瓶，直到试剂完全溶解为止(20秒)。



3. 把样本(1g的固体或1ml的液体)放进瓶里。



4. 把反应瓶放到MBS-MR主机上，可以自动得出样本中存在的微生物数量。(电脑安装了MBS(Fitlylab)操作软件 )



## 微生物表面分析

微生物表面采样过程可以让操作人员发现食品制作/食品生产环境中污染源的量级和污染源。

1. 确定卫生程序和卫生周期的有效性。
2. 发现腐败菌生物的环境源，这些腐败菌可以缩短食品的冷藏保存期。
3. 食品生产设备的卫生设计和卫生条件。

## 琼脂接触法

琼脂接触法- 简易的可繁殖表面微生物测试，在平坦的表面上使用：

- 平板上的介质有胰蛋白酶大豆琼脂、卵磷脂和聚山梨醇酯80，加入到不活跃的残余消毒剂中。
- 介质把各个面顶起来，形成一个凸面。
- 平板的样本面积为**25cm<sup>2</sup>**

已消毒的琼脂介质压在表面上进行采样。



# 表面棉签采样法

表面棉签采样法 – 用于非规则的表面，接触板不适用。

这是一个简单的装置，一支硬棒，一头有柔软的棉花或纤维合成物。

棉签浸有中和溶液，在 $10\text{cm}^2$ 的表面来回擦，然后放到培养介质里，在一定的温度下培养所需的时间。







# 用于表面分析的MBS- HACCP&ACQUE简易测试

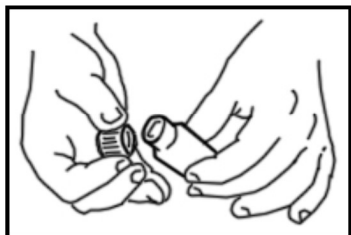
MBS工具包提供了采样工具，可以作为一种方便可靠的方法，来评价/列举零售食品操作表面的细菌污染。这个工具包包括：

- 棉签反应瓶，浸油中和溶液
- 反应瓶
- 蒸馏水瓶
- MBS-MR主机配合电脑及MBS(Fitlyalb) 操作软件：是一种可自动进行分析的设备，同时可进行多个测试，并不用检查瓶子上的颜色变化。

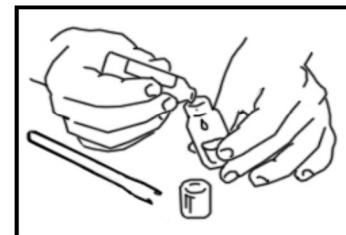


## MBS(Fitlylab) 表面分析法的主要步骤可以归结为:

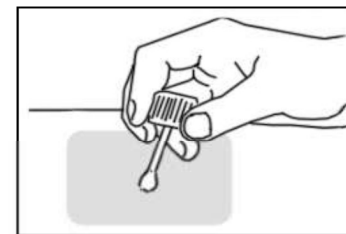
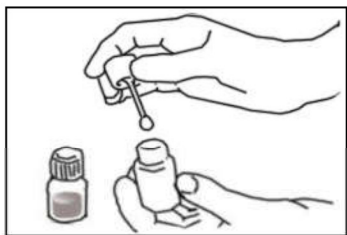
1. 打开反应瓶



2. 把全部的蒸馏水倒进反应瓶里，充分摇晃，使溶剂全部溶化(20秒)。



3. 打开棉签反应瓶，瓶里有中和溶液，用棉签在表面上刮，各面的接触面积大约是10cm<sup>2</sup>.





## MBS（Fitlylab）表面分析法的主要步骤可以归结为：

4. 打开预先准备好的反应瓶，插入棉签到反应瓶里。



5. 把装有棉签的反应瓶放MBS-MR主机对应的孔位上，MBS(Fitlylab)系统自动给出样本中生物体的数量。



深圳菲特立科技有限公司

[www.szfitly.com](http://www.szfitly.com)

联系：0755-25928978 高经理



深圳菲特立科技有限公司

[www.szfitly.com](http://www.szfitly.com)

[szfitly@163.com](mailto:szfitly@163.com)

联系人：高经理

电话：0755-25928978 18902479711