

大肠杆菌快速检测原料 4- 甲基伞形酮葡萄糖酸苷 在食品检测中应用效果研究 *

Study on application effect of
4- Methylumbellifery- B- D- Glucuronide used in food safe analysis

李新章^{1**} 杭臣臣² 赵家龙³

¹(南通凯恒生物科技发展有限公司,江苏南通 226011) ²(中国科学技术大学纳米科学技术学院,江苏苏州 215123)

³(安徽省凤阳县动物疫病预防与控制中心,安徽凤阳 233100)

LI Xinzhang^{1*} HANG Chencheng² ZHAO Jialong³

¹(Nantong kaiheng biological technology development Co., Ltd., Jiangsu Nantong 226011, China)

²(College of nano science and technology in the university of science and technology of China, Jiangsu Suzhou 226011, China)

³(Center of animal disease control and prevention in fengyang city of anhui province, Anhui Fengyang 233100, China)

摘要 比较自制的 4- 甲基伞形酮葡萄糖酸苷 (MUG) 与国际品牌的 MUG 在检测食品中大肠杆菌活菌数的应用效果, 研究表明, 利用自制的 MUG 与品牌的 MUG 检测食品中的大肠杆菌活菌数所得结果, 对评价产品是否合格的具有相同效果, 表明自制的 MUG 完全能够替代国际品牌的 MUG 应用于检测食品中的大肠杆菌活菌数。

关键词 大肠杆菌; 快速检测原料; 4- 甲基伞形酮葡萄糖酸苷; 应用效果

Abstract The self made 4- Methylumbellifery- B- D- Glucuronide (MUG) and MUG of international brand were applied in checking the number of Escherichia coli in food. The results showed that the application effect has no significant difference in qualified inspection. The study suggest that self made MUG can completely replace MUG of international brand used in checking the number of Escherichia coli.

Keywords escherichia coli; rapid detection material; 4- Methylumbellifery- B- D- Glucuronide; application effect

中图分类号: TS207.4

文献标识码: A

文章编号: 1673- 6044(2017)01- 0058- 03

DOI: 10.3969/j.issn.1673- 6044.2017.01.017

食源性疾病已成为头号食品安全问题。导致食源性疾病的致病菌广泛存在于食物中。可以引起食物中毒或以食品为传播媒介的致病菌主要有痢疾杆菌、致病性大肠杆菌、沙门氏菌、霍乱弧菌、炭疽杆菌、鼻疽杆菌、结核菌、布氏杆菌、猪丹毒杆菌

* 基金项目: 南通市港闸区小微企业科技创新项目(项目编号 2015D121)

** 李新章, 男, 1985 年出生, 2010 年毕业于苏州大学药剂学专业, 工程师。

收稿日期: 2017- 02- 08

等。其中最为常见的食源性致病菌是大肠菌群, 因此大肠菌群的检测是食品安全评价中重要的微生物检测项目。近年来, 国内外关于大肠菌群检测做了大量研究工作。目前, 用于大肠菌群检测的方法主要有乳糖胆盐发酵法、纸片法、乳糖多管发酵法, 它们存在操作复杂, 检测时间长, 难以推广的问题。

4- 甲基伞形酮葡萄糖酸苷 (4- Methylumbellifery- B- D- Glucuronide, MUG) 是一种生物显色剂。MUG 可以被大肠杆菌的糖苷酶水解, 并产生一种强

荧光物质—4- 甲基伞形酮 (4- MU), 从而以蓝色荧光信号的形式直观的指示该物质已被大肠杆菌污染。由于其具有操作简单, 检测时间长, 结果准确等优点, 已在食品领域得到广泛应用。同时市场上对 MUG 培养基的需求量也日益增加, 但是长久以来, 国内 MUG 市场都被进口品牌占据, 且价格居高不下。为此公司前期开发出较高纯度和价格较低的 MUG 原料, 通过比较常用进口 Sigma 的 MUG 与本公司开发出的 MUG 在食品中检测大肠杆菌污染的效果, 以检验本公司的 MUG 实际使用效果。

1 材料

1.1 试验材料

试验用的材料均购自当地食品超市, 随机取未开包装的产品 11 种, 各 30 份。

1.2 主要试剂及仪器

水相滤膜, 孔径为 0.45 μm ; MUG, Sigma 科技有限公司; 胰蛋白酶, 上海生物工程有限公司; 真空泵、366 nm 紫外灯, 南通凯恒生物科技发展有限公司; 其它试剂, 分析纯, 南通凯恒生物科技发展有限公司。

1.3 试验方法

1.3.1 样品前处理

固体: 无菌操作称取样品 25 g, 置于装有 255 mL 灭菌的生理盐水的容器中, 充分振摇、混匀。

液体样品: 牛奶样品在室温 (23 $^{\circ}\text{C}$ ~27 $^{\circ}\text{C}$) 下经蛋白酶处理, 其他样品不做处理。以无菌吸管吸取样品 25 mL 置于装有 225 mL 灭菌生理盐水 (牛奶样品用灭菌的蛋白胍吐温 80 稀释液) 的容器中, 以 30 cm 幅度于 7 s 内振摇 25 次。制成 1:10 的样品稀释液备用。

1.3.2 分别用 1 mol/L 氢氧化钠或 1 mol/L 盐酸调节样品稀释液的 pH 值, 将上述制备好的稀释液用 9 mL 灭菌生理盐水进行 10 倍递增稀释, 直至最高稀释度的检测结果达到阴性终点。(每一稀释度换用 1 支 1 mL 无菌吸管或移液器吸头, 上一稀释度用的吸管或吸头不要触及下一稀释度的稀释液。) 从制备样品稀释液至稀释完毕, 全过程不超过 15 min (牛奶样品不超过 45 min)。

1.3.3 将灭菌过滤装置连接于真空抽滤瓶上, 无菌操作将无菌滤膜放在抽滤底座上并固定。无菌操作加入 10 mL~20 mL 无菌蒸馏水于滤器中, 打开真空

泵, 抽吸过滤, 再从 1.3.2 中选取适宜的三个连续稀释度的样品稀释液, 每个稀释度分别过滤, 每次 10 mL。最后再加入 10 mL~15 mL 无菌蒸馏水, 抽吸过滤后, 关闭真空泵, 用无菌镊子将滤膜取出于备用。

1.3.4 无菌操作将 1.3.3 样品过滤后的滤膜贴放于预先干燥的 BMA 琼脂平板表面上, 滤膜与琼脂表面之间应无气泡。放入 36 $^{\circ}\text{C}$ \pm 1 $^{\circ}\text{C}$ 培养箱中培养 2 h, 在暗室或紫外操作室内用波长 366 nm 紫外灯观察滤膜上的菌落是否有蓝白色荧光。选用菌落数范围在 25 个~250 个之间的平板, 计算蓝白色荧光的菌落数并相加, 再乘以其稀释倍数后, 计算样品中大肠菌群或大肠杆菌数 (cfu/g 或 cfu/mL)。

1.4 产品合格评价方法

根据产品卫生标准 (GB 8537-2008 饮用天然矿泉水、GB 17401-2014 膨化食品、GB 17400-2015 方便面、GB 7101-2015 饮料、GB 19645-2010 巴氏杀菌乳) 与检测结果评价产品是否合格。

2 结果与分析

自制 MUG 与进口品牌 MUG 在食品中检测大肠杆菌数量的检测结果评价食品合格情况见下页表 1。

由表 1 可知, 自制 MUG 与进口品牌 MUG 应用在食品检测中所得的大肠杆菌数, 用于评价食品样品合格与不合格结果均一致, 且两种 MUG 检测出的不合格食品均为同一份食品。本研究结果表明本公司自制的 MUG 可以替代进口 MUG 用于食品中大肠杆菌的检测中。

3 结论与讨论

国内 MUG 相关的试剂市场基本被 Sigma 公司占据, 国内几乎没有大规模的成品提供商。由于 Sigma 公司 MUG 已经被广泛用在食品检测中, 其已经成为行业的标准产品。如其它企业制备的 MUG 产品中性状、纯度、杂质种类与 Sigma 公司产品不一致, 可能会导致显色时间和显色效果更差, 甚至由于杂质的毒性导致大肠杆菌的死亡, 进而导致最终的检测效果比 Sigma 公司的 MUG 更差。本研究结果表明 Sigma 公司的 MUG 与自制的 MUG 应用于食品安全检测中具有相同效果, 此结果虽然并不能说明自制的最终 MUG 的性状、纯度、杂质、甚至

表1 自制MUG与进口品牌MUG在食品中检测大肠杆菌数量的检测结果评价食品合格情况

食品种类	自制MUG检测结果		进口品牌MUG检测结果		自制MUG和进口品牌MUG检测不合格产品为同份产品的数量数
	合格产品份数	不合格产品份数	合格产品份数	不合格产品份数	
全脱脂牛奶	29	1	29	1	1
纯牛奶	28	2	28	2	2
矿泉水1	26	4	26	4	4
矿泉水2	27	3	27	3	3
包装爆米花	25	5	25	5	5
包装薯片	27	3	27	3	3
麻辣味方便面	24	6	24	6	6
酸辣方便面	25	5	25	5	5
菠萝蜜饮料	28	2	28	2	2
多维运动饮料	26	4	26	4	4
冰糖	27	3	27	3	3

有毒杂质完全一致,但本研究直接说明两种MUG用在食品检测中的最终效果是一致的,所以自制的MUG能够替代Sigma公司MUG。未来笔者将对自制MUG的性状、杂质成分、结构等方面进行深入的分析,以获得更为全面的数据信息。

参考文献

- [1] 阮光锋.食源性疾病头号食品安全问题[J].饮食科学,2015(7):4-7.
- [2] 李平,彭金红,王国洪,等.食品中大肠菌群两种测定方法的比较[J].疾病监测与控制,2012,06(8):491-492.
- [3] 马延霞,吴清平,张菊梅,等.大肠菌群特异性检测荧光底物MUGal的合成及应用[J].现代食品科技,2014,30(8):251-257.
- [4] 陈胜华,林新顺.乳糖多管发酵法与酶底物法检测水中大肠埃希菌结果比较[J].中国热带医学,2015,15(2):173-175.
- [5] 邓永宏,毛伟.酶底物法和多管发酵法检测水中大肠菌群的比较[J].预防医学情报杂志,2016,32(3):254-257.
- [6] 朱佳玲,董纪昌.酶-底物快速检测试剂Mugal的合成及应用[J].化学试剂,1997,19(4):210-212.
- [7] 管晓,农卫良,曹慧,等.荧光光度法快速定量大肠杆菌的实验方法研究[J].食品工业科技,2011(9):403-406.
- [8] 汪礼庆.显色荧光方法检测牛奶或水中大肠杆菌[J].中外食品工业:下,2013(10):24-25.
- [9] 李平,甄宏太,方原民,等.应用4-甲基伞形酮-β-D-半乳糖苷快速检测食品中的大肠菌群[J].食品科学,2007,28(4):285-288.
- [10] 王鲁华.大肠埃希菌选择性培养基MUG在保健食品检验中的应用探讨[J].中外健康文摘,2012(33):175-176.
- [11] 吴清平,马延霞,张菊梅,等.一种4-甲基伞形酮基-β-D-吡喃半乳糖苷的制备方法[P].中国专利:CN201410105804.8,2014-07-02.

欢迎赐稿, 欢迎刊登广告

投稿邮箱: sxfood@126.com