

PCR 技术在食品微生物检测中的运用及待解决问题

康婷 茂名市食品药品检验所 广东省 茂名市 525000

作者简介：康婷（1993-），女，汉族，助理工程师，本科，研究方向：食品微生物。

摘要：食品安全问题是事关民生的重要问题。研究将 PCR 技术应用到食品微生物检测中可以有效解决食品安全问题。本文通过对 PCR 技术及其在食品微生物检测中的运用分析，发现了 PCR 技术在推广亟需解决的问题，希望能对保障食品安全有所帮助。

关键词：PCR 技术；食品微生物；检测；

PCR 技术具有快速、灵敏和高效等特点。这些特点使食品微生物检测工作更加简单快捷，在保证食品安全的前提下，极大地缩短了食品检测时间，且操作非常简单。PCR 技术代替了传统的食品微生物检测方式，不仅安全便捷，也提高了工作效率。

1 PCR 技术原理

PCR 技术是一种运用于食品微生物检测的方法，是经变性、退火和延伸循环的一个过程。PCR 技术的变性阶段，就是让 DNA 双链可以得到打开的阶段；PCR 技术的退火阶段是将 DNA 单链与特性异物进行结合；PCR 技术的延伸阶段是以 DNA 单链为模板，并在 DNA 聚合酶的作用下合成 DNA。使用 PCR 技术时，能够获得大量的 DNA 分子从而对 DNA 进行分析，通过检测大量 DNA 序列和丰度，即可获得微生物的数量以及种类。对于少量微生物，通过 PCR 技术进行检测，能够提高检测结果的准确性^[1]。

2 PCR 技术在食品微生物检测中的运用

PCR 技术对食品微生物检测一直都表现得非常出色。PCR 技术可以检测出大肠杆菌、绿脓杆菌、金黄色葡萄球菌。每种微生物对食品产生的危害是不同的，其代谢出的有害物质对人体产生严重危害。比如，金黄色葡萄球菌非常容易在瓜果蔬菜中大量繁殖，人们食用后可能会出现食物中毒等不良反应。PCR 技术可以对金黄色葡萄球菌产生的有害物质进行检测，甚至可以精确到 1pg。绿脓杆菌的代谢产物、大肠杆菌的代谢产物、沙门氏菌的代谢产物等都可以通过 PCR 技术中特定蛋白有效标记或者特定基因扩增，达到有效检测食品中微生物的含量。在实际检测当中，PCR 技术主要可以分为以下几种测定方法。

最常用的是常规 PCR 检测法。测定目标物质的 DNA 模板和与之相对应的引物进行混合，然后向混合物中加入一定量的聚合酶。在特定温度和催



化剂的条件下，聚合酶会促使目标物质的 DNA 模板序列扩增，经历 DNA 复制的多个周期后便得到 DNA 片段。这一 DNA 片段可以作为循环 DNA 模板继续进行复制扩增。在放大目标物质后，对待测目标物质特定 DNA 进行标记测定，间接得到待测物的微生物含量。

多重 PCR 检测法也使用较多。多重 PCR 检测法的原理是在常规 PCR 技术的基础上采用多个 DNA 引物。比如在同一个 PCR 反应体系里引入两个或两个以上反应引物，在聚合酶的作用下，这些引物同时发生复制扩增，继而得到多个 DNA 片段。与常规 PCR 检测法不同的是，多重 PCR 检测法可以对微生物的多个致病因子进行检测，而常规 PCR 检测法用于微生物单一致病因子的测定。该方法除了具有常规 PCR 检测法的高效性和准确性以外，还具有良好的系统性，能够对成组的微生物病原体或致病基因进行检测，因此是一种经济高效的食品微生物检测方法。

PR-PCR 检测法也很精准。此种检测方法是 PCR 检测法的变形，其技术原理是将检测目标中的一条 RNA 先进行逆转录得到与之互补的 DNA，然后以得到的 DNA 链为模板再通过常规 PCR 技术进行 DNA 的复制扩增。此种检测方法的技术关键在于 RNA 的逆转录环节，必须确保 RNA 模板为完整且不含有蛋白质、DNA 等杂质的基因链。PR-PCR 检测法可以作为微生物检测的定性分析，还可以用于微生物检测定量分析。比如将荧光技术和数字技术与 PCR 技术相结合，可以对检测目标中的微生物进行定量，检测具有较好的灵敏性，检测结果更加精确^[1]。

3 PCR 技术应用于食品微生物检测需要解决的问题

PCR 技术应用在食品微生物检测中需要解决的问题主要有三个方面。一是，PCR 技术的准确

性还需要进一步提高。由于 PCR 技术的准确性主要依赖于 DNA 或 RNA 模板的纯度，所以要想让 PCR 技术的准确性得到进一步提高，未来在 DNA 或 RNA 的提取方法上需要花费更多精力去研究。二是，任何一种检测方法都会出现假阳性问题或者假阴性问题，影响检测准确性。例如在最新的新冠病毒检测中依然会出现假阴性的情况。食品微生物的种类较多具有不稳定性，而 PCR 技术其中一个特点就是灵敏度高，这就会造成假阳性的出现，未来在 PCR 技术识别假阳性方面，科研人员还需要进行深入研究，来进一步提高 PCR 技术检测的准确性。三是，芯片式数字 PCR 技术有待完善。随着技术的不断发展，很多开发商将数字和 PCR 技术相结合，开发数字 PCR 技术。芯片式数字 PCR 技术可以将微滴液体随机排布于芯片的阵列结构中，对于改善传统 PCR 技术中的热扩散造成的检测结果偏差十分有效。数字 PCR 技术突破了传统技术中检测结果受标准溶液及标准曲线的限制，而且在高背景下也可以获得精准检测结果，使基因定量检测结果的灵敏性和特异性大大提高。未来数字 PCR 技术在食品微生物检测中的应用前景将更加良好。

结语

PCR 技术应用于食品微生物检测非常安全，既有效地测量了食品中微生物的含量，也保证了食品食用者本身的健康，未来的发展前景非常好。当然仅仅靠 PCR 技术还远远不够，还需要建立完善的食品安全检测体系，不只是技术上的改变，而是整个体系的完善，只有这样才能真正有效解决食品安全问题。■

参考文献

- [1] 苗辉, 林静. PCR 技术及其在食品微生物检测中的运用研究 [J]. 食品安全导刊, 2020 (49): 80-81.
- [2] 王静怡, 牛会敏等. 探究 PCR 技术及其在食品微生物检测中的应用 [J]. 食品安全导刊, 2020 (132): 164.

