

# 不同时间段增菌对食品沙门氏菌分离生长影响

李嘉浴 樊锴媛 奈曼旗市场检验检测中心 内蒙古 通辽市 奈曼旗 028300

**摘要：**待检食品样品中添加肠沙门氏菌，按《GB 4789.4-2016》的常规定性方法进行检测，BPW 前增菌后接种 TTB 和 SC，经 42℃ 和 36℃ 分别增菌培养四个时间段后再接种选择性培养基，观察沙门氏菌的分离情况。结果表明，肠沙门氏菌经 TTB 增菌培养 14 ~ 24h 后生长繁殖旺盛，数量上有相对优势，在选择性培养基中分离效果好；经 SC 增菌培养 18 ~ 24h 后生长繁殖旺盛，数量上有相对优势，在选择性培养基中分离效果好；经过 TTB 增菌培养的沙门氏菌检出率高于经 SC 增菌培养的检出率，两种增菌液应同时配合使用，相互弥补。

**关键词：**沙门氏菌；TTB；SC；增菌时间；检出率

## 1 引言

目前，食品中沙门氏菌的国家标准检测方法仍以常规培养法为主，此方法需经过预增菌培养、选择性增菌培养、分离培养、生化鉴定和血清分型这几个步骤。实践发现，增菌液的增菌时间对能否分离出沙门氏菌十分重要<sup>[1]</sup>。为了避免由于增菌时间的掌握不当，引起漏检或者误检，本试验对 TTB 和 SC 这两种增菌液进行了不同时间段的增菌比较，观察沙门氏菌在用二者增菌后的分离培养效果，以提高检出率

## 2 材料与方法

### 2.1 试验样品

准备五份熟肉制品作为试验样品，试验前检测其大肠菌群和沙门氏菌，五份样品均为阴性；各加入等量的大肠

埃希氏菌后再检测，五份样品的检测结果均为大肠菌群阳性和沙门氏菌阴性。

### 2.2 培养基和试剂

缓冲蛋白胨水 (BPW)、四硫磺酸钠煌绿 (TTB)、亚硫酸盐胱氨酸 (SC)、亚硫酸铋琼脂 (BS)、木糖赖氨酸脱氧胆盐琼脂 (XLD)、营养肉汤、营养琼脂、沙门氏显色培养基、沙门氏菌生化鉴定试剂，均由北京陆桥技术有限责任公司生产，沙门氏菌属诊断血清由宁波天润生物药业有限公司生产。

### 2.3 试验用菌

试验用菌 (肠沙门氏菌肠亚种和大肠埃希氏菌) 购自中国工业微生物菌种保藏管理中心 (CICC)，在试验前经过菌种鉴定。



## 2.4 方法

按照《GB 4789.4-2016》的方法进行操作 [2], 为前增菌、增菌、分离培养、生化鉴定和血清学分型 5 个步骤。

### 2.4.1 沙门氏菌液制备

用营养肉汤复苏肠沙门氏菌肠亚种, 划线接种于营养琼脂平板, 挑取第 3 代琼脂培养基新鲜培养物制备标准菌悬液, 于菌种保藏冰箱中冷藏 (24h 内使用), 临用前将其稀释成含菌量为 10 ~ 100 CFU/mL 的菌悬液。同时挑取一环菌悬液分别划线 BS 平板和 XLD 平板, 培养后观察沙门氏菌在这两种选择性平板上的菌落特征, 其中 BS 平板上为黑色带金属光泽的菌落, XLD 平板上为全黑色菌落, 菌落特征跟菌种质量控制证明相符合。

### 2.4.2 试验样品制备

称取 25g 待测样品于一次性无菌菌质袋中, 加入 1mL 的沙门氏菌菌悬液, 室温下放置过夜。

### 2.4.3 增菌培养

前增菌: 每个试验样品加入 225mL BPW, 用拍击式菌质器拍打 2min, 36°C 培养 12h。

增菌: 吸取上述培养物 1mL, 转种于 10mL TTB 增菌管中, 42°C 条件下分别培养 14h、18h、24h 和 26h。同理吸取 1mL 培养物转种于 10mL SC 增菌管中, 36°C 条件下分别培养 14h、18h、24h 和 26h [3]。

分离培养: 取四个不同时间段增菌后的培养液, 分别 BS 板和 XLD 板, 36°C 培养 48h (BS 板) 和 24h (XLD 板), 观察这两种选择性培养基上的菌落分离生长情况, 并挑取单个特征菌落进行生化鉴定和血清学鉴定。

## 3 结果与分析

五份样品经过两种增菌液增菌后, 接种选择性平板进行分离培养, 全部检出肠沙门氏菌。

### 3.1 TTB 增菌后菌落生长情况

样品经过 TTB 增菌液四个不同时间段的增菌后继续

进行分离培养, 生长出的菌落具体情况如下: ①经过 14h 增菌后培养, BS 平板上均匀散布着 60 多个黑色带金属光泽菌落, XLD 平板上分离出的单个菌落有 1/3 是黄色, 2/3 是黑色, 很容易挑取特征菌; ②经过 18h 增菌后培养, BS 平板上的单个菌落全部为黑色带金属光泽的菌落, XLD 平板上生长出的菌落 1/4 是黄色的, 3/4 是黑色的, 容易挑取特征菌; ③经过 24h 增菌后的培养, BS 平板上的菌落全部为黑色带金属光泽菌落, XLD 平板上分离出 1/2 的黄色菌落和 1/2 的黑色菌落, 特征菌的挑取也相对容易; ④经过 26h 增菌后进行的选择性分离培养, 在两种平板分离出的单个菌落明显少于之前的时间段, 其中 BS 平板上长出很多灰黑色菌落, 而黑色带金属光泽的菌落却很少。在 XLD 平板上, 优势菌大肠埃希氏菌大量繁殖生长, 此时两种平板都不易挑取特征菌。

### 3.2 SC 增菌后菌落生长情况

表 1 SC 增菌后分离培养的菌落生长情况

增菌时间	亚硫酸铋琼脂 (BS)	木糖赖氨酸脱氧胆盐琼脂 (XLD)
14h	菌落数较少, 只有少数灰黑色菌落	少数黑色菌混杂在黄色菌落中, 无法挑取特征菌
18h	60 多个黑色带金属光泽菌落, 目标菌分离效果好	2/3 黄色菌落, 1/3 黑色菌落, 易挑取特征菌
24h	均匀分布 50 多个黑色带金属光泽菌落	1/2 黄色菌落, 1/2 黑色菌落, 易挑取特征菌
26h	10 多个灰黑色菌落	少数黑色菌混杂在大量黄色菌落当中, 无法挑取特征菌

样品经过 SC 增菌液四个不同时间段的增菌后继续进行分离培养。经过 18h 和 24h 增菌后的分离生长容易挑取特征菌, 而经过 14h 和 26h 增菌后进行的选择性培养, 在两种平板上生长出的单个菌落数明显比较少, XLD



平板上优势菌大肠埃希氏菌也大量繁殖生长,抑制和覆盖了沙门氏菌的生长,无法挑取特征菌落。具体生长情况见表1。

#### 4 结论

从试验结果来看:样品经过四个不同的时间段增菌后进行分离培养,沙门氏菌在经过14~24h的TTB增菌培养后,菌落生长繁殖旺盛,在数量上有相对的优势;经过18~24h的SC增菌后培养,菌落在数量上有相对的优势,且生长繁殖旺盛。同时,根据其生长情况表明:相对于SC增菌液来说,TTB增菌液对大肠埃希氏菌的抑制作用要更强,对沙门氏菌的选择性也更好,在平时的工作当中,两种增菌液应配合使用以提高检出率。选择培养基BS对沙门氏菌有很强的选择性,目标菌选择效果好[4],XLD对大肠埃希氏菌的抑制作用不强,是一种弱选择性培养基[5],由于大肠埃希氏菌在BS上的菌落颜色呈灰黑色,所以要特别注意跟沙门氏菌进行区分。■

#### （上接125页）3 结论

由本文的检测结果可知,在发酵初期,发酵乳酸度值明显增加,pH值明显降低,这与发酵初期菌种的乳糖代谢能力较强有关,致使酸度值和pH值变化较大,随着发酵时间的延长,发酵乳的酸度值和pH值无明显变化,这可能与发酵乳产生的酸性物质阻碍了菌种的代谢有关。

酸度值是影响酸奶保质期和口感的一个主要因素,由检测结果可以得出,在同样的发酵条件下,益生菌发酵乳的产酸能力明显弱于传统发酵乳,有利于维持酸奶口味的稳定,有效延长发酵乳的市场货架期。在发酵期内,动物双歧杆菌发酵乳黏度变化不明显,这可能与该菌种的稳定性和本身的代谢能力相关<sup>[4]</sup>。在发酵期内,6种发酵乳的持水力均下降,可能与在发酵期间菌种需要水来参与相关的代谢过程有关,也可能是由于发酵乳较低的pH值破坏了凝胶体的结构<sup>[4]</sup>。有研究表明,持水力可影响

#### 参考文献

- [1] 熊国强等.沙门氏菌增菌培养基增菌效果的探讨与分析研究[J].中国卫生检验杂志.2004.014(002):159-161.
- [2] GB4789.4-2016 食品安全国家标准 食品微生物学检验 沙门氏菌检验.中华人民共和国国家卫生和计划生育委员会.国家食品药品监督管理总局. <http://down.foodmate.net/standard/sort/3/50369.html>.
- [3] 姜彦芬,王建昌,陈志敏等.不同分离培养基检测食品中沙门氏菌效果的比较[J].食品安全质量检测学报.2017.8(003):1025-1029.
- [4] 王宇,刘洋,欧静堃等.食品中沙门氏菌分离、鉴别方法的比较研究[J].食品安全质量检测学报.2016.7(10):4163-4168.
- [5] 王忠东.沙门氏菌检验中不同培养基检出效果的比较[J].临床医药文献电子杂志.2015(6):1173-1174.

发酵乳制品的黏度和硬度,使发酵乳品质发生改变<sup>[5]</sup>,5种发酵乳在1~14天持水力均大于传统发酵乳,说明在保质期内,益生菌发酵乳的品质要优于传统发酵乳。■

#### 参考文献

- [1] 彭新颜,于海洋.乳酸菌抗氧化作用研究进展[J].食品科学.2012.33(23):370-374.
- [2] 李萍.乳酸菌发酵果蔬谷奶的研究[D].南昌:南昌大学,2013.
- [3] 杨吉雨.植物源添加剂对微生物生长的影响和益生菌微生物制剂的开发[D].长春:吉林大学,2015.
- [4] 严以兰.自然发酵乳中优良乳酸菌株的筛选及发酵条件研究[D].雅安:四川农业大学,2007.
- [5] 药璐.益生菌发酵乳发酵工艺优化与品质研究[D].长春:吉林农业大学,2013.

