

ATP 荧光微生物检测法在食品卫生监控领域中的应用与展望

王 茁

(北京市卫生监督所,北京 100020)

摘 要:介绍三磷酸腺苷荧光微生物检测法在食品卫生中的应用。该法可以依据检查结果,直接改善卫生环节的状况,防患于未然;现场确认污染状况并使其数值化,使从业者当场知道自身的问题,知道改善的必要性;使细菌检查的工作量大幅度减轻,实现简捷化、效率化;对于卫生监督员的现场应急处理提供快捷可靠的依据,提出具有说服力的行政指导;可应用于 HACCP 的关键环节监测^[4]。

关键词:腺苷三磷酸;微生物学技术;安全管理

Use of ATP fluorescence bioassay in surveillance of food safety

Wang Zhuo

(Beijing Municipal for Health Inspection and Supervision, Beijing 100020, China)

Abstract: The use of ATP fluorescence bioassay in the surveillance of food safety was introduced. Using this technique, microbial contamination on food and food-producing facilities can be detected immediately and quantitatively on the spot, although the species of the contamination organism can not be specifically identified as the plate culture in laboratory can do. The traders may clearly understand the problem of the foods they are selling and the necessity of correction. The workload of surveillance and laboratory analysis may also be greatly reduced and simplified. This technique may be used at the critical points of the HACCP system.

Key Words: Adenosine Triphosphate; Microbiological Techniques; Safety Management

ATP 是化学物质三磷酸腺苷(adenosine triphosphate)的简称。存在于所有的生物体中(从微生物到高等动植物),ATP 在细胞体内主要作用是提供能量。

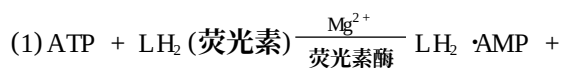
鉴于 ATP 存在于所有生物体中,所以通过检测 ATP,可以间接地证明生物体的存在。20 世纪 80 年代,英国人首先研制出 ATP 检测仪(检测系统),随后发展到欧洲、美国和日本。应用范围涉及食品加工、超市和饮食行业,检测内容包括微生物和食品残渣。1998 年,日本国会颁布了《关于食品制造过程管理高度化临时措施法》,其中即包含了应用 ATP 检测仪(检测系统)的内容。1999 年,日本还成立了 ATP 涂抹检查研究会,专门研究该方法的使用效率和应用领域,其内容之一就是在食品卫生监测领域中,解决现场微生物的检测问题。20 世纪末,一些 ATP 检测仪(检测系统)及技术被引进我国,到目前为止,除个别省级卫生监督检测单位装备外,主要是在一些外资或合资企业中自行检测使用。2002 年,我国卫生部颁发了食品加工企业的 HACCP 实施指南,鼓励食品加工企业引入 ATP 检测系统。

1 检测原理及其特征

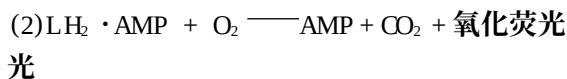
1.1 检测原理 ATP 的测定原理是通过荧光素酶

作者简介:王茁 男 助理研究员

进行 ATP 的测定。ATP 作为生物体内各种物质酶反应的基质,在分解的同时产生生物光,该光的强度与被测物质中所含 ATP 的量成正比,通过高灵敏度的仪器测定光的强度进行定量分析。



二氢吡咯酸



1.2 主要特征 灵敏度高 采用生物酶荧光光度法(简称 ATP 光度法)测定微生物体内微量的 ATP 降解产生的发光量,灵敏度可以达到 10^{-12} mol/L。如果能够控制住某些环节,灵敏度可提高到 10^{-18} mol/L,见表 1。

速度快 采用表面皿培养法测定细菌总数需要 48 h,测定霉菌、酵母菌等需要 7 d。而采用 ATP 光度法检测仪十多分钟即可完成一个样本的测定。

有相对的可行性 微生物的数量与微生物体内所含 ATP 的量之间有一定的相关关系。如图 1 所示,大肠菌悬浊液的 ATP 测定结果对应于培养法求得同一悬浊液的微生物数量,二者的相关系数可达 0.995,通过对 ATP 含量的测定,可以间接反应出细菌的数量。^[1]

表 1 微生物细胞中对应的 ATP 量^[1]

细菌类	mol/cell
<i>Escherichia coli</i> (埃希氏菌属大肠杆菌)	1.4×10^{-18}
<i>Staphylococcus xylois</i> (葡萄球菌)	2.0×10^{-18}
<i>Bacillus subtilis</i>	2.3×10^{-18}
<i>Lactobacillus brevis</i> (乳酸菌)	1.9×10^{-18}
真菌类	mol/cell
<i>Saccharomyces cerevisiae</i> (酵母菌)	1.2×10^{-16}
<i>Zygosaccharomyces rouxii</i>	2.2×10^{-15}
<i>Zygosaccharomyces bailii</i>	1.2×10^{-15}

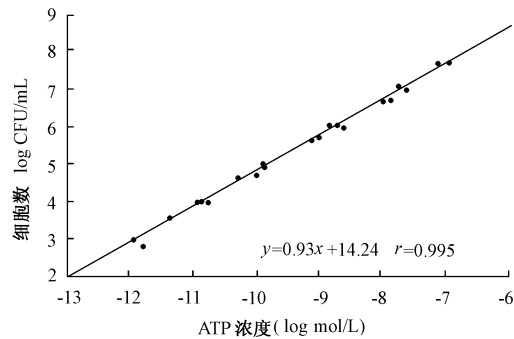


图 1 大肠菌悬浊液的 ATP 浓度和细菌数

可扩展性 ATP 光度法的检测对象不仅限于微生物,还适合于对食品生产设备或与食品密切接触设备清洁度的检测。虽然 ATP 光度法对活细胞体内 ATP 的检测有着更加灵敏的检测限,对死细胞体内 ATP 的检测灵敏度降低,然而,由于 ATP 是一种对热稳定的物质,在食品加工热处理条件下不会被分解,加工后的原料中或残渣中 ATP 仍然存在,从而给食品生产设备或与食品密切接触设备清洁度的检测提供了条件。表 2 汇总了多种食品中所残存的 ATP 量及用 ATP 检测仪测定其检出限的情况。

表 2 ATP 存在于各种食品残渣中的检出界限^[2]

食品	含有 ATP mol/g	残渣的 检出界限
烤鲑	10^{-7}	10 ng
生贝、谷类芽、猪肉、橘汁	10^{-8}	100 ng
豆腐	10^{-9}	1 μg
生菜、金枪鱼生鱼片、猪肉、生乳油	10^{-10}	10 μg
牛乳、海苔、面包	10^{-11}	100 μg
果酱、米饭	10^{-12}	1 mg

3 ATP 在食品卫生监控领域中的应用意义与探讨

3.1 在细菌性污染方面的应用 目前已有资料显示,ATP 的含量与微生物污染的数量是成正比的,用 ATP 光度法对食品中的细菌总数进行定量也是可行的,但怎样细分细菌种类有一定的难度,还需要做大量的工作。

另外,应用 ATP 光度法进行微生物测定时,需要区别来源于食品等的“游离 ATP”和来源于微生物的“微生物 ATP”,处理不好的话,两者是很难区分的。有些仪器生产企业或试剂公司研制开发出了“游离 ATP 去除剂”,据说可以大大提高“微生物 ATP”的检测灵敏度和特异性,但在国内有关这方面的文献报道很难见到,还需要做一些验证工作。

3.2 在清洁度管理上的应用 对 ATP 含量的检测是以相对发光值(Relative Light Unit,简称 RLU)表示的。随着 RLU 值的降低,微生物的检出几率也降低。实验证明:如果将 RLU 值以 100~1 000 作为界限,RLU 值不满 100 时,微生物检出几率为 0;RLU 值在 100~1 000 范围内时,微生物检出几率为 30%;RLU 值超过 1 000 时,微生物检出几率为 96%。根据这一结果,在日常对食品生产设备或与食品密切接触设备清洁度的检测时,可以将 RLU 值不满 100 时视为安全;RLU 值在 100~1 000 范围内时视为要引以重视和注意;RLU 值超过 1 000 时视为处于微生物污染的危险状态。

以往在进行食品卫生监督指导时,必须先采集样品带回实验室,进行常规细菌检查,数日后根据检测报告对被检单位提出整改意见。这在日常工作中存在一些弊病:①耗时、耗力、耗物。②样品采集后,需要约 2~7 d 的时间才能拿到结果,难以现场指导、监督。③对于同一个设施在短时间内运送两次样品进行检查,其工作效率低,指导效果不高,说服力小,难以提高从业者的改善意识。ATP 检测法,能够弥补这些不足,大大提高现场监督效率。

ATP 检测系统是一种主动控制污染事故发生的 有效方法,它的优点在于 ①可以依据检查结果,直接改善工作,防患于未然。②可现场确认污染状况并使其数值化,使从业者当场知道自身的问题,知道改善的必要性。③使细菌检查的工作量大幅度减轻,实现简捷化、效率化。④对于卫生监督员的现场应急处理提供快捷可靠的依据,提出具有说服力的行政指导。⑤可应用于 HACCP 的关键环节监测。

需要明确的是,就目前而言,常规微生物培养皿检查法虽然有着许多不足之处,但目前仍然是一种不可缺少的方法,与 ATP 检测法同时使用,可相得益彰,可用 ATP 检测法检测污染,而用培养皿检查法鉴定污染物的种类和污染源。

[收稿日期:2004 - 02 - 17]

中图分类号:R15;Q93 - 33 文献标识码:E 文章编号:1004 - 8456(2004)03 - 0266 - 02