

活性乳酸菌制品中乳酸菌计数培养条件探讨

张华丽¹ 齐晋莲¹ 梁 艳¹ 孙 静¹ 龙 霞¹ 隋凌云¹ 苏敬武²

(1. 荣成市卫生防疫站, 山东 荣成 264300; 2. 威海市疾病预防控制中心, 山东 威海 264200)

摘 要:为快速、准确地计数活性乳酸菌制品中的乳酸菌,用 CO₂ 烛缸法代替现行国家标准 GB/T 16347—1996 活性乳酸菌饮料中乳酸菌微生物检验方法中的有氧培养法。CO₂ 烛缸法操作简便,计数准确可靠。在菌种对比实验中,CO₂ 烛缸法的乳酸菌计数结果是国家标准方法的 8 倍。在试样的对比实验中,CO₂ 烛缸法的乳酸菌计数结果是国家标准方法的 20 倍。CO₂ 烛缸法较目前国家标准方法更能真实地反映活性乳酸菌制品中乳酸菌的数量。

关键词:乳球菌属;乳杆菌科;细菌学技术

A method of lactic acid bacteria counting in living lactic acid bacteria products

Zhang Huali, et al.

(Health and Anti-epidemic station of Rongcheng city, Rongcheng Shandong 264300, China)

Abstract: In order to count lactic acid bacteria in living lactic acid bacteria products accurately, we substituted the aerobic culture method adopted in present national standard in China with CO₂ method (removing oxygen from an airtight container by burning of candle). In bacterial strain comparison experiments, the counting result of lactic acid bacteria by CO₂ method was 8 times more than that by aerobic culture method. In sample comparison experiments, the counting result of lactic acid bacteria by CO₂ method was 20 times more than that by aerobic culture method. The result suggested that the CO₂ method better than aerobic culture method with its simplicity, rapidity and accuracy.

Key Words: Lactococcus; Lactobacillaceae; Bacteriological Techniques

近年来,活性乳酸菌制品越来越受到广大消费者的欢迎。这些制品中的活性乳酸菌数量的多少直接影响到产品的内在质量。在假冒活性乳酸菌饮料充斥市场的情况下,用乳酸菌计数来评价活性乳酸菌制品的质量^[1]尤为重要。

目前用于活性乳酸菌制品的菌种多为乳酸杆菌和嗜热链球菌,多数为兼性厌氧菌,在常规有氧环境中不能很好生长。GB/T 16347—1996 活性乳酸菌饮料中乳酸菌的微生物检验方法^[2]的培养条件是普通的有氧环境(简称常规法),依照该方法进行乳酸菌计数,不能真实反映乳酸菌的实际情况。因此我们对乳酸菌计数的培养条件进行了探讨,选择 CO₂ 烛缸法^[3]进行培养,获得了良好的效果。现把结果报告如下。

1 材料和方法

1.1 仪器 恒温培养箱(37℃)、CO₂ 烛缸。

1.2 乳酸菌计数培养基 改良蕃茄琼脂培养基,购

于北京陆桥技术有限公司。

1.3 实验菌液 保加利亚乳杆菌、嗜热链球菌(干燥混合菌种)。山东荣成市恒盛乳业有限公司提供(CODE:75801 加拿大产品),经复活鉴定后,制成 4×10^6 /mL 乳酸菌菌悬液供试验用。

1.4 试验方法

1.4.1 菌种生长对比试验

将试验菌液用无菌生理盐水倍比稀释成: $1 \times 10^{-2} \sim 1 \times 10^{-6}$ 。每个平皿加 1 mL。每个稀释度的菌液各加 4 个平皿,再加入改良蕃茄琼脂培养基。其中 2 个平皿按常规法 37℃ 培养 72 h,另 2 个平皿按 CO₂ 烛缸法 37℃ 培养 48 h。

1.4.2 试样对比试验

取刚出厂的活性乳酸菌试样 3 份,按 1.4.1 所示方法,分别用 CO₂ 烛缸法和常规法进行乳酸菌计数。

2 结果与讨论

2.1 菌种对比试验见表 1、表 2。乳酸菌计数结果

作者简介:张华丽 女 主管检验师

CO₂ 烛缸法是国家标准方法结果的 8 倍。试样对比试验(见表 3),CO₂ 烛缸法是国家标准方法结果的 20 倍。CO₂ 烛缸法培养能更真实地反映试样中乳酸菌活菌数量,而且培养时间能缩短 24 h。目前国家标准规定的乳酸菌计数方法,未限定培养条件,对产品质量很难做出客观评价。因此,急需对有关标准进行补充修改,以适应经济发展的需要。

表 1 CO₂ 烛缸法试验结果(37 /48 h)

	1 ×10 ⁻²	1 ×10 ⁻³	1 ×10 ⁻⁴	1 ×10 ⁻⁵	1 ×10 ⁻⁶	报告结果
平皿 1 CFU/皿	无法 计数	无法 计数	66	7	0	
平皿 2 CFU/皿	无法 计数	无法 计数	60	6	1	
活菌计数 CFU/mL			6.3 ×10 ⁵			6.3 ×10 ⁵

表 2 常规法试验结果(37 /72 h)

	1 ×10 ⁻²	1 ×10 ⁻³	1 ×10 ⁻⁴	1 ×10 ⁻⁵	1 ×10 ⁻⁶	报告结果
平皿 1 CFU/皿	无法 计数	70	6	0	0	
平皿 2 CFU/皿	无法 计数	90	13	0	0	
活菌计数 CFU/mL		8.0 ×10 ⁴				8.0 ×10 ⁴

表 3 3 份试样对比试验乳酸菌计数结果 CFU/mL

试样编号	常规法(37 /72 h)		CO ₂ 烛缸法(37 /48 h)	
	计数结果	检验结论	计数结果	检验结论
1	1.2 ×10 ⁵	不合格	3.0 ×10 ⁶	合格
2	1.7 ×10 ⁵	不合格	3.6 ×10 ⁶	合格
3	1.8 ×10 ⁵	不合格	4.0 ×10 ⁶	合格

2.2 本文建立的 CO₂ 烛缸法,比常规有氧培养法更
适合乳酸菌生长,与汪川等^[3]的研究结果相一致。
在 CO₂ 烛缸环境中,乳酸菌生长速度快,而且方法
简便,适合基层实验室开展工作。

2.3 在常规有氧环境中的乳酸菌计数,平板培养基
的表面均无菌落生长,在进行革兰氏染色等乳酸菌
的鉴定时须拨开培养基,在培养基的里面找菌落,操
作非常困难。而 CO₂ 烛缸法中的乳酸菌计数,平板
培养基的表面乳酸菌的菌落生长良好,^[4]对进行乳
酸菌的染色及鉴定容易操作。

3 小结

3.1 本文建立的乳酸菌计数方法(CO₂ 烛缸法),方
法操作简便,乳酸菌生长速度快,计数平板表面有菌
落生长,适宜进行乳酸菌的活菌计数。

3.2 希望本文提出的活性乳酸菌制品中乳酸菌计
数方法问题,能引起有关部门注意,在修订相关标准
时加以参考。

参考文献:

[1] GB 16321—1996. 乳酸菌饮料卫生标准[S].
[2] GB/T 16347—1996. 乳酸菌饮料中乳酸菌的微生物检验
[S].
[3] 汪川,张朝武,余倩,等.酸奶中保加利亚乳杆菌分离条
件的优化[J]. 中国微生物学杂志,2001,13(3):73—74.
[4] R E 布坎南,N E 克本斯,编. 伯杰细菌鉴定手册[M].
第 8 版. 北京:科学出版社.

[收稿日期:2002 - 09 - 01]

中图分类号:R15;Q939. 117 文献标识码:B 文章编号:1004 - 8456(2003)01 - 0042 - 02

泉州市食品中单核细胞增生李斯特氏菌的定性、定量及耐药性分析

陈伟伟¹ 杨育红² 杨毓环¹ 马群飞¹

(1. 福建省卫生防疫站,福建 福州 350001;2. 泉州市卫生防疫站,福建 泉州 360000)

摘 要:为了解福建省泉州市食品中单增李斯特氏菌的污染状况,于 2000 年 12 月至 2001 年 12 月
对泉州市市售的 155 份生肉、熟肉制品、水产品中的单增李斯特氏菌进行了定性、定量及耐药性测
定。检出李斯特氏菌 47 株,总检出率为 35.48%,其中生肉类 68.12%,海产品类 12.5%,熟肉类
6.52%。检出单增李斯特氏菌 6 株,总检出率 3.87%,其中生肉类 8.7%,海产品和类熟肉类中未检
出。6 株单增李斯特氏菌均对氨苄西林、头孢噻吩、氯洁霉素、氧氟沙星、青霉素 G、四环素、万古霉
素敏感,对环丙沙星中度敏感,对呋喃妥因不敏感。根据测定结果,建议有关部门及早制定相应的
管理措施,加强监测,防止其引起的食物中毒爆发流行。

关键词:利斯特氏菌属;抗药性;微生物;食品

作者简介:陈伟伟 女 主管技师