



(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 109371100 A

(43)申请公布日 2019.02.22

(21)申请号 201811383740.2

(22)申请日 2018.11.20

(71)申请人 四川农业大学

地址 611130 四川省成都市温江区惠民路
211号

申请人 四川保宁醋有限公司

(72)发明人 刘书亮 刘芳 王兴洁 杨勇
杜大钊 鲜滢麟

(74)专利代理机构 成都天汇致远知识产权代理
事务所(普通合伙) 51264

代理人 韩晓银

(51)Int.Cl.

C12Q 1/04(2006.01)

权利要求书1页 说明书5页

(54)发明名称

一种用于食醋产气菌检测的培养基及其方
法

(57)摘要

本发明提供一种用于食醋产气菌检测的培养基及方法,该培养基各成分在蒸馏水中的浓度为:葡萄糖0.02g/mL,复合氨基酸0.0005~0.005g/mL,复合维生素B 0.0003~0.003g/mL,核苷酸0.0002~0.001g/mL,复配生长因子0.001~0.005g/mL,蛋白胨0.01g/mL,牛肉膏0.01g/mL,酵母浸出粉0.005g/mL,磷酸氢二钾0.002g/mL,乙酸钠0.005g/mL,硫酸镁0.0002g/mL,硫酸锰0.00005g/mL,吐温-80 0.002g/mL,柠檬酸二铵0.002g/mL。检测方法包括:培养基调pH值并灭菌、将待测食醋样品培养及结果判定。

1. 一种用于食醋产气菌检测的培养基, 其特征在于, 该培养基包括葡萄糖、复合氨基酸、复合维生素B、核苷酸、复配生长因子、蛋白胨、牛肉膏、酵母浸出粉、磷酸氢二钾、乙酸钠、硫酸镁、硫酸锰、吐温-80、柠檬酸二铵和蒸馏水, 各成分在所述蒸馏水中的浓度为: 葡萄糖0.02g/mL, 复合氨基酸0.0005~0.005g/mL, 复合维生素B 0.0003~0.003g/mL, 核苷酸0.0002~0.001g/mL, 复配生长因子0.001~0.005g/mL, 蛋白胨0.01g/mL, 牛肉膏0.01g/mL, 酵母浸出粉0.005g/mL, 磷酸氢二钾0.002g/mL, 乙酸钠0.005g/mL, 硫酸镁0.0002g/mL, 硫酸锰0.00005g/mL, 吐温-80 0.002g/mL, 柠檬酸二铵0.002g/mL。

2. 根据权利要求1所述的一种用于食醋产气菌检测的培养基, 其特征在于, 所述复配生长因子按照质量份包括: 麦芽汁10-15份、麸皮浸出液20-30份、柠檬酸1-5份、丙酮酸1-5份、乳酸1-5份、乙酸1-5份、糠醇1-5份、苯甲醛1-5份, 水64-35份。

3. 一种用于食醋产气菌检测的方法, 是采用权利要求1所述培养基, 其特征在于, 包括:

(1) 按照权利要求1所述培养基的组成配料并混合均匀, 煮沸后冷至室温, 调pH至2.0~4.0, 然后分成若干份后灭菌, 选取无气泡生成的份数备用;

(2) 将待测食醋样品在无菌条件下过0.22 μ m滤膜, 然后将滤膜浸没于所述备用的培养基中于37℃培养3~5d, 每个食醋样品设多次平行;

(3) 结果判定: 若培养后的食醋样品中至少有1个样品观察到气泡, 则样品质量不合格; 若培养后的食醋样品均未观察到气泡, 则样品质量合格。

4. 一种用于食醋产气菌检测的方法, 是采用权利要求1所述培养基, 其特征在于, 包括:

(1) 按照权利要求1所述培养基的组成配料并混合均匀, 煮沸后冷至室温, 调pH至2.0~4.0, 然后分成若干份后灭菌, 选取无气泡生成的份数备用;

(2) 将待测食醋样品在无菌条件下于7000r/min离心10min, 弃去上清液后用所述备用的培养基重悬沉淀, 然后将混悬液继续加入该备用培养基于37℃培养3~5d, 每个食醋样品设多次平行;

(3) 结果判定: 若培养后的食醋样品中至少有1个样品观察到气泡, 则样品质量不合格; 若培养后的食醋样品均未观察到气泡, 则样品质量合格。

5. 根据权利要求3或4所述的一种用于食醋产气菌检测的方法, 其特征在于, 所述复配生长因子按照质量份包括: 麦芽汁10-15份、麸皮浸出液20-30份、柠檬酸1-5份、丙酮酸1-5份、乳酸1-5份、乙酸1-5份、糠醇1-5份、苯甲醛1-5份, 水64-35份。

6. 根据权利要求3或4所述的一种用于食醋产气菌检测的方法, 其特征在于, 所述步骤(1)中调pH至2.0~4.0采用20%乳酸。

7. 根据权利要求3或4所述的一种用于食醋产气菌检测的方法, 其特征在于, 所述步骤(1)中灭菌的控制条件为: 115℃灭菌20min。

8. 根据权利要求3或4所述的一种用于食醋产气菌检测的方法, 其特征在于, 所述步骤(2)中每个食醋样品设多次平行优选为3次。

一种用于食醋产气菌检测的培养基及其方法

技术领域

[0001] 本发明涉及食醋质量检测技术,具体涉及一种用于食醋产气菌检测的培养基及方法。

背景技术

[0002] 食醋是我国人民日常生活中不可缺少的传统酸性调味品,具有久放不坏越陈越香的特点。但近年来食醋在货架期内出现胀气变质的现象时有发生,不仅严重影响产品品质,还为企业造成了较大的经济损失。食醋胀气变质现象,主要表现为成品食醋依照国标方法检测菌落总数和霉菌酵母数均未检出或未超标情况下,在货架期内出现胀气、沉淀增多、返浑、淡腐等变质现象,这种变质现象以夏季尤为突出。目前食醋企业主要采用塑料软瓶恒温培养方法检测产品是否合格,但这种方法检测周期需要1-2月甚至100余天具有严重滞后性,影响产品的销售。有必要开发新的适用于食醋实际生产中应用的快速检测技术。

发明内容

[0003] 针对现有技术存在的问题,本发明提供一种用于食醋产气菌检测的培养基及方法,应用该培养基及方法,在实际生产中能对样品进行快速检测,预防出厂后产品在货架期内胀气变质现象的发生,有效保证产品质量。本发明的技术方案为:

[0004] 第一个方面,本发明提供一种用于食醋产气菌检测的培养基,该培养基包括葡萄糖、复合氨基酸、复合维生素B、核苷酸、复配生长因子、蛋白胨、牛肉膏、酵母浸出粉、磷酸氢二钾、乙酸钠、硫酸镁、硫酸锰、吐温-80、柠檬酸二铵和蒸馏水,各成分在所述蒸馏水中的浓度为:葡萄糖0.02g/mL,复合氨基酸0.0005~0.005g/mL,复合维生素B 0.0003~0.003g/mL,核苷酸0.0002~0.001g/mL,复配生长因子0.001~0.005g/mL,蛋白胨0.01g/mL,牛肉膏0.01g/mL,酵母浸出粉0.005g/mL,磷酸氢二钾0.002g/mL,乙酸钠0.005g/mL,硫酸镁0.0002g/mL,硫酸锰0.00005g/mL,吐温-800.002g/mL,柠檬酸二铵0.002g/mL。

[0005] 进一步地,所述复配生长因子按照质量份包括:麦芽汁10-15份、麸皮浸出液20-30份、柠檬酸1-5份、丙酮酸1-5份、乳酸1-5份、乙酸1-5份、糠醇1-5份、苯甲醛1-5份,水64-35份。

[0006] 第二个方面,本发明提供一种用于食醋产气菌检测的方法,包括:

[0007] (1) 按照上述培养基的组成配料并混合均匀,煮沸后冷至室温,调pH至2.0~4.0,然后分成若干份后灭菌,选取无气泡生成的份数备用;

[0008] (2) 将待测食醋样品在无菌条件下过0.22 μ m滤膜,然后将滤膜浸没于所述备用的培养基中于37℃培养3~5d,每个食醋样品设多次平行;

[0009] (3) 结果判定:若培养后的食醋样品中至少有1个样品观察到气泡,则样品质量不合格;若培养后的食醋样品均未观察到气泡,则样品质量合格。第三个方面,本发明还提供一种用于食醋产气菌检测的方法,包括:

[0010] (1) 按照上述培养基的组成配料并混合均匀,煮沸后冷至室温,调pH至2.0~4.0,

然后分成若干份后灭菌,选取无气泡生成的份数备用;

[0011] (2) 将待测食醋样品在无菌条件下于7000r/min离心10min,弃去上清液后用所述备用的培养基重悬沉淀,然后将混悬液继续加入该备用培养基于37℃培养3~5d,每个食醋样品设多次平行;

[0012] (3) 结果判定:若培养后的食醋样品中至少有1个样品观察到气泡,则样品质量不合格;若培养后的食醋样品均未观察到气泡,则样品质量合格。

[0013] 进一步地,两种方法的步骤(1)中调pH至2.0~4.0采用20%乳酸。

[0014] 进一步地,两种方法的步骤(1)中灭菌的控制条件为:115℃灭菌20min。

[0015] 进一步地,两种方法的步骤(2)中每个食醋样品设多次平行优选为3次。

[0016] 本发明的有益效果在于:本发明根据食醋产气菌生长代谢特性,设计了一种检测培养基并提供一种产气菌检测方法,该检测培养基营养物质丰富,有利于产气菌生长繁殖,同时以较低pH做为限制条件,能够抑制食醋中其他不耐酸杂菌的生长繁殖,具有较高的特异性;在进行产气菌检测时,本发明采用膜过滤(或离心)的方法富集菌体,与传统检测方法中梯度稀释完全相反,其目的在于增大接种量,从而缩短检测时间。该方法具有专一性强、灵敏度高的特点,并且操作简便,成本低,为企业控制产品质量,检测污染源提供了一种简单有效的措施。

具体实施方式

[0017] 在本发明的描述中,需要说明的是,实施例中未注明具体条件者,按照常规条件或制造商建议的条件进行。所用试剂或仪器未注明生产厂商者,均为可以通过市售购买获得的常规产品。

[0018] 下面结合具体的实施例对本发明做进一步详细说明,所述是对本发明的解释而不是限定。

[0019] 实施例1

[0020] 本实施例提供一种用于食醋产气菌检测的培养基,该培养基包括:葡萄糖20.0g,复合氨基酸2.0g,复合维生素B 1.0g,核苷酸0.8g,复配生长因子4.0g,蛋白胨10.0g,牛肉膏10.0g,酵母浸出粉5.0g,磷酸氢二钾2.0g,乙酸钠5.0g,硫酸镁0.2g,硫酸锰0.05g,吐温-80 2.0g,柠檬酸二铵2.0g,蒸馏水1000mL,其中,复配生长因子包括麦芽汁10份、麸皮浸出液20份、柠檬酸1份、丙酮酸1份、乳酸1份、乙酸1份、糠醇1份、苯甲醛1份,水64份。具体制备过程如下:

[0021] 1.培养基的制备:按上述配方进行配料并混合均匀,煮沸后冷至室温,用20%乳酸调pH至3.0。将上述培养基分装于带杜氏发酵小管的试管中,每管5mL,塞紧试管塞,用牛皮纸包扎好,115℃灭菌20min。灭菌后选择杜氏发酵小管内无气泡的培养基试管作为检测培养基备用。

[0022] 2.样品前处理:取待测样品50mL,于无菌条件下过0.22μm孔径滤膜,每个样品设3个平行。待样品滤尽后,用灼烧冷却后的镊子取下滤膜。

[0023] 3.接种培养:将滤膜浸没于检测培养基中,塞紧试管塞后拍打试管,使滤膜上富集的菌体均匀分布于培养基中,接种后的试管置于37℃培养5d。

[0024] 4.结果判定:根据发酵小管产气情况判定,判定标准如下:

[0025]

现象	判定结果	报告
培养 5 d 后 1-3 支试管观察到产气现象	样品中含有产气菌	+
培养 5 d 后 3 支试管均未观察到产气现象	样品中不含产气菌	-

[0026] 注：“+”表示阳性，“-”表示阴性。

[0027] 实施例2

[0028] 将实施例1的检测培养基及方法应用于已知阳性和阴性样品检测，具体过程如下：提供30份已知胀气食醋样品为阳性样品，30份不胀气的正常食醋样品为阴性样品。采用此检测培养基及方法检测，结果表明，30份阳性样品的检出胀气菌30份，符合率100%；30份阴性样品都未检出，符合率100%。

[0029] 实施例3

[0030] 本实施例提供一种用于食醋产气菌检测的培养基，该培养基包括：葡萄糖20.0g，复合氨基酸3.0g，复合维生素B 1.5g，核苷酸1.5g，复配生长因子3.0g，蛋白胨10.0g，牛肉膏10.0g，酵母浸出粉5.0g，磷酸氢二钾2.0g，乙酸钠5.0g，硫酸镁0.2g，硫酸锰0.05g，吐温-80 2.0g，柠檬酸二铵2.0g，水1000mL；其中，复配生长因子包括麦芽汁10份、麸皮浸出液20份、柠檬酸2份、丙酮酸3份、乳酸2份、乙酸1份、糠醇2份、苯甲醛2份，水58份。

[0031] 1.培养基的制备：按上述配方进行配料并混合均匀，煮沸后冷至室温，用20%乳酸调pH至3.0。将上述培养基分装于带杜氏发酵小管的试管中，每管5mL，塞紧试管塞，用牛皮纸包扎好，115℃灭菌20min。灭菌后选择杜氏发酵小管内无气泡的培养基试管作为检测培养基备用。

[0032] 2.样品前处理：取待测样品分装于无菌离心管中，每管50mL，每个样品设3个平行。7000r/min离心10min后，弃去上清液，沉淀用1mL该检测培养基重悬。

[0033] 3.接种培养：将每只离心管内的沉淀重悬液全部转入对应的检测培养基试管内，塞紧试管塞后拍打试管使沉淀均匀分布于培养基中，每个样品设3个平行。接种后的试管置于37℃培养5d。

[0034] 4.结果判定：根据发酵小管产气情况判定，判定标准如下：

[0035]

现象	判定结果	报告
培养 5 d 后 1-3 支试管观察到产气现象	样品中含有产气菌	+
培养 5 d 后 3 支试管均未观察到产气现象	样品中不含产气菌	-

[0036] 注：“+”表示阳性，“-”表示阴性。

[0037] 实施例4

[0038] 将实施例3的检测培养基及方法应用于已知阳性和阴性样品检测,具体过程如下:提供30份已知胀气食醋样品为阳性样品,30份不胀气的正常食醋样品为阴性样品。采用此检测培养基及方法检测,结果表明,30份阳性样品的检出胀气菌30份,符合率100%;30份阴性样品都未检出,符合率100%。

[0039] 对比例1

[0040] 将上述已知阳性和阴性样品用其他培养基进行检测,具体过程如下:提供30份已知胀气食醋样品为阳性样品,30份不胀气的正常食醋样品为阴性样品。1) 采用MRS培养基检测,MRS培养基配方:葡萄糖20.0g,蛋白胨10.0g,牛肉膏10.0g,酵母浸出粉5.0g,磷酸氢二钾2.0g,乙酸钠5.0g,硫酸镁0.2g,硫酸锰0.05g,吐温-80 2.0g,柠檬酸二铵2.0g,水1000mL。配料并混合均匀,煮沸后冷至室温,用10%盐酸或10%NaOH调pH6.0-6.2,121℃灭菌20min,其它条件同实施例1;结果表明,30份阳性样品的检出胀气菌5份,符合率16.7%;30份阴性样品检出胀气14份,与实际不符合。2) 采用改良MRS培养基检测,改良MRS培养基配方:复合氨基酸2.0g,复合维生素B 1.0g,核苷酸0.8g,葡萄糖20.0g,蛋白胨10.0g,牛肉膏10.0g,酵母浸出粉5.0g,磷酸氢二钾2.0g,乙酸钠5.0g,硫酸镁0.2g,硫酸锰0.05g,吐温-80 2.0g,柠檬酸二铵2.0g,水1000mL。配料并混合均匀,煮沸后冷至室温,用10%盐酸或10%NaOH调pH6.0-6.2,121℃灭菌20min,其它条件同实施例1;结果表明,30份阳性样品的检出胀气菌5份,符合率16.7%;30份阴性样品检出胀气16份,不符合。3) 采用改良MRS培养基和降低pH检测,改良MRS培养基和降低pH的配方:复合氨基酸2.0g,复合维生素B 1.0g,核苷酸0.8g,葡萄糖20.0g,蛋白胨10.0g,牛肉膏10.0g,酵母浸出粉5.0g,磷酸氢二钾2.0g,乙酸钠5.0g,硫酸镁0.2g,硫酸锰0.05g,吐温-80 2.0g,柠檬酸二铵2.0g,水1000mL。配料并混合均匀,煮沸后冷至室温,用10%盐酸调pH5.0-5.2,121℃灭菌20min,其它条件同实施例1;结果表明,30份阳性样品的检出胀气菌8份,符合率26.7%;30份阴性样品检出胀气10份,不符合。

[0041] 通过几种不同培养基及方法检测结果比较,说明本发明的培养基及检测方法与样品真实情况具有100%的符合率。

[0042] 综上,本发明具体实施例中,所采用的检测培养基营养物质丰富,有利于产气菌生长繁殖,同时以较低pH做为限制条件,能够抑制食醋中其他不耐酸杂菌的生长繁殖,具有较高的特异性。检测方法具有专一性强、灵敏度高的特点,并且操作简便,成本低,为企业控制

产品质量,检测成品食醋有无胀气菌及污染源提供了一种简单有效的措施。

[0043] 尽管上面已经示出和描述了本发明的实施例,可以理解的是,上述实施例是示例性的,不能理解为对本发明的限制,本领域的普通技术人员在本发明的范围内可以对上述实施例进行变化、修改、替换和变型。