

[19] 中华人民共和国国家知识产权局

[51] Int. Cl.
C12Q 1/04 (2006.01)



[12] 发明专利申请公布说明书

[21] 申请号 200810210886.7

[43] 公开日 2009 年 1 月 21 日

[11] 公开号 CN 101348826A

[22] 申请日 2008.8.25

[21] 申请号 200810210886.7

[71] 申请人 佛山市海天调味食品有限公司

地址 528000 广东省佛山市文沙路 16 号

[72] 发明人 严守雷 缪素娜 邹敏娟 黄文彪
潘思轶

[74] 专利代理机构 北京集佳知识产权代理有限公司

代理人 魏忠晖

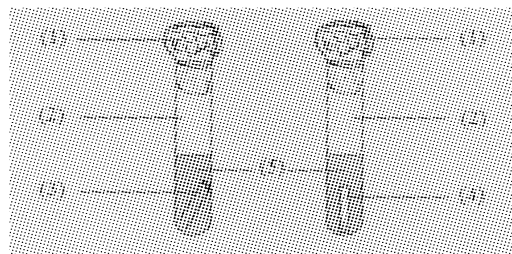
权利要求书 2 页 说明书 8 页 附图 1 页

[54] 发明名称

酱油等调味品中产气菌检测方法

[57] 摘要

本发明公开了一种酱油等调味品中产气菌检测方法。该检测方法将待测的调味品样品稀释，然后接种含有培养基的发酵管中，在 $36^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ 条件下培养 $48 \pm 2\text{h}$ 后，根据发酵管的产气管数和产气特征来检测产气菌。本发明还公开了一种用于产气菌检测的培养基。该产气菌检测方法可以方便地检测酱油调味品中产气菌的存在与否，并且具有良好的特异性。该检测方法检测结果与产品涨罐渗漏存在良好的相关性，为检测产品是否存在产气菌、成品是否渗漏提供良好的检测方法，为改善生产工艺、控制生产质量和提高产品质量提供了依据。该方法还具有步骤简单、成本低、易于推广的优点。



1. 一种调味品中产气菌检测方法，其特征在于，包含以下步骤：
将待测的调味品样品稀释，然后接种入含有培养基的发酵管中，
在 $36^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ 条件下培养 $48 \pm 2\text{h}$ 后，根据发酵管的产气管数和产气特征来检测产气菌；

所述的培养基由以下重量份的原料组成：葡萄糖 10—30 份，蛋白胨 5—15 份，牛肉膏 5—15 份，酵母膏 2—7 份，吐温—80 0.5—2.2 份，柠檬酸铵 1—3 份，磷酸氢二钾 1—3 份，七水硫酸镁 0.1—1 份，巯基乙酸钠 0.01—0.1 份，蒸馏水 1000 份。

2. 根据权利要求 1 所述的调味品中产气菌检测方法，其特征在于：所述的调味品是酱油。

3. 根据权利要求 1 所述的调味品中产气菌检测方法，其特征在于：所述的含有培养基的发酵管是在一硬质大试管中倒置一支杜氏小管，然后加入所述的培养基，并湿热灭菌。

4. 根据权利要求 3 所述的调味品中产气菌检测方法，其特征在于，选择原液、 10^{-1} 、 10^{-2} 三个稀释度进行稀释，每个稀释度接种 3 支发酵管，在 $36^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ 条件下培养 $48 \pm 2\text{h}$ 后，所述的杜氏小管无气泡或振动时发酵管无气泡时，则示出不存在产气菌或产气轻微的信息；所述的杜氏小管气泡满管或发酵管有大量气泡上冒，则示出产气严重或产气极严重的信息。

5. 根据权利要求 4 所述的调味品中产气菌检测方法，其特征在于，所述的稀释采用以下步骤：

以无菌操作将待测的调味品样品放于灭菌生理盐水，做成 1：10

的均匀稀释液；

用灭菌吸管吸取 1：10 稀释液，注入含有灭菌生理盐水的试管内，振摇试管混匀，做成 1：100 的稀释液；

另取灭菌吸管，按上条操作依次做 10 倍递增稀释液，每递增稀释一次，换用 1 支灭菌吸管。

6. 一种用于产气菌检测的培养基，其特征在于，由以下重量份的原料组成：葡萄糖 10—30 份，蛋白胨 5—15 份，牛肉膏 5—15 份，酵母膏 2—7 份，吐温—80 0.5—2.2 份，柠檬酸铵 1—3 份，磷酸氢二钾 1—3 份，七水硫酸镁 0.1—1 份，巯基乙酸钠 0.01—0.1 份，蒸馏水 1000 份，所述的份为重量份。

酱油等调味品中产气菌检测方法

技术领域

本发明涉及调味品领域，具体地说，本发明涉及一种酱油等调味品中产气菌检测方法。

背景技术

酱油等调味品是人们的日常调味品，营养丰富味道鲜美。酱油等调味品是利用大豆小麦等原料在米曲霉等微生物经过发酵等工艺制备而成，在生产过程中存在大量有益微生物参与酱油风味的生成，发酵完成后经过抽油、配兑和巴氏杀菌等工艺，杀死了大部分不耐热微生物，如酵母等。然而酱油等调味品中偶尔存在特殊产气菌引起涨罐渗漏，严重影响产品质量。目前文献报道引起酱油等调味品产气渗漏主要原因是酵母产气和物理性原因，如罐装物料温度过高或过低。然而在酱油等调味品实际生产过程中仍然存在严重产气涨罐渗漏问题，在深入研究基础上查明了引起酱油等调味品产气涨罐渗漏的又一因素——芽孢菌产气。本发明就针对该类产气菌建立了特异的检测方法，为检测产品中是否存在该类产气菌提供了方法，为制定针对该菌防治措施提供了基础。

发明内容

本发明克服了上述缺点，提出了一种酱油等调味品中产气菌检测方法。

发明人的实验研究表明，引起涨罐渗漏的特殊产气菌为芽孢菌，具有耐热性，在普通培养平板上难于生长，目前方法难于检测该产气菌，因此必需建立针对产气菌的检验方法，确保酱油等调味品产品质

量。本发明优化适合该产气菌生长的选择性培养基，借鉴大肠菌群检测方法，利用杜氏小管中气泡存在，利用海绵块或棉团是否上浮来判断待测样品中是否存在产气菌，构建适合酱油等调味品中产气菌检验的方法。为快速准确判断酱油等调味品中是否存在该产气菌提供了检测新方法，确保产品质量。

基于上述的分析，本发明提出下述的技术方案：

一种酱油等调味品中产气菌检测方法，包含以下步骤：

将待测的调味品样品稀释，然后接种入含有培养基的发酵管中，在 $36^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ 条件下培养 $48 \pm 2\text{h}$ 后，根据发酵管的产气管数和产气特征来检测产气菌。

所述的培养基由以下重量份的原料组成：葡萄糖 10—30 份，蛋白胨 5—15 份，牛肉膏 5—15 份，酵母膏 2—7 份，吐温—80 0.5—2.2 份，柠檬酸铵 1—3 份，磷酸氢二钾 1—3 份，七水硫酸镁 0.1—1 份，巯基乙酸钠 0.01—0.1 份，蒸馏水 1000 份。

本发明所述的产气菌系指能产气、具有潜在引起酱油等调味品涨罐渗漏的一类耐热菌或芽孢菌总称，酱油等调味品经过巴氏消毒，只有耐热菌和芽孢菌存在。

含有培养基的发酵管，优选采用以下结构，在一硬质大试管中倒置一支杜氏小管。向发酵管加入上述的培养基，并灭菌，备用。

进行产气菌检测时，选择原液、 10^{-1} 、 10^{-2} 三个稀释度进行稀释，每个稀释度接种 3 支发酵管，在 $36^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ 条件下培养 $48 \pm 2\text{h}$ 后，所述的杜氏小管无气泡或振动时发酵管无气泡时，则示出不存在产气菌或产气轻微的信息；所述的杜氏小管气泡满管或发酵管有大量气泡上冒，则示出产气严重或产气极严重的信息。

所述的稀释采用以下步骤：

以无菌操作将待测的调味品样品放于灭菌生理盐水，做成 1：10 的均匀稀释液；

用灭菌吸管吸取 1：10 稀释液，注入含有灭菌生理盐水的试管内，振摇试管混匀，做成 1：100 的稀释液；

另取灭菌吸管，按上条操作依次做 10 倍递增稀释液，每递增稀释一次，换用 1 支灭菌吸管。

本发明所用的培养基，是专门开发来用于产气菌检测的，它由以下重量份的原料组成：葡萄糖 10—30 份，蛋白胨 5—15 份，牛肉膏 5—15 份，酵母膏 2—7 份，吐温—80 0.5—2.2 份，柠檬酸铵 1—3 份，磷酸氢二钾 1—3 份，七水硫酸镁 0.1—1 份，巯基乙酸钠 0.01—0.1 份，蒸馏水 1000 份，所述的份为重量份。

本发明的优点在于：该产气菌检测方法可以方便地检测酱油调味品中产气菌的存在与否，并且具有良好的特异性。该检测方法检测结果与产品涨罐渗漏存在良好的相关性，为检测产品是否存在产气菌、成品是否渗漏提供良好的检测方法，为改善生产工艺、控制生产质量和提高产品质量提供了依据。该方法检测简单、成本低、易于推广。

附图说明

图 1 是本发明实施例 1 的发酵管和发酵管产气结果判读图。图 1 中，(1) 棉塞或硅胶塞，(2) 硬质大试管，(3) 杜氏小管，(4) 气泡，(5) 培养基。

图 2 是本发明实施例 2 和 3 的发酵管和发酵管产气结果判读图。图 2 中，(1) 棉塞或硅胶塞，(2) 硬质大试管，(3) 棉花或海绵，(4) 上浮的棉花或海绵，(5) 培养基。

具体实施方式

为了更好地理解发明的实质,下面用实施例来详细说明发明的技术内容,但本发明的内容并不局限于此。

实施例 1

培养基组成及发酵管制备:

1. 培养基组成成分: 葡萄糖 20g, 蛋白胨 10g, 牛肉膏 10g, 酵母粉 5g, 吐温-80 1mL, 柠檬酸铵 2g, 磷酸氢二钾 2g, 七水硫酸镁 0.58g, 巯基乙酸钠 0.1g, 蒸馏水 1000mL。

2. 发酵管制备方法:

制法: 将上述培养基成分溶入蒸馏水中, 加热溶解, 分装每管 10ml, 并放入一个倒置杜氏小倒管, 121℃ 高压灭菌 15—20min, 室温冷却, 置于冰箱 4℃ 供用。

3. 待测样稀释:

以无菌操作将检样 10mL 放于含有 90mL 灭菌生理盐水, 做成 1:10 的均匀稀释液。

用 1mL 灭菌吸管吸取 1:10 稀释液 1mL, 注入含有 9mL 灭菌生理盐水或其他稀释液的试管内, 振摇试管混匀, 做成 1:100 的稀释液。

另取 1mL 灭菌吸管, 按上条操作依次做 10 倍递增稀释液, 每递增稀释一次, 换用 1 支 1mL 灭菌吸管。

4. 接种:

选择三个稀释度 (通常选择原液、 10^{-1} 、 10^{-2}), 每个稀释度接种 3 管。老抽酱油在做原液时, 颜色深, 不易观察结果, 将原液作 10 倍稀释, 取 10mL 稀释液作为 1mL 原液。

5. 培养在 $36^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ 条件下培养 $48 \pm 2\text{h}$ 。

6. 结果判定根据发酵管产气管数及产气特征来判定。判定标准如下：

产气管数(X)	产气特征	报告
$X = 0$	杜氏小倒管无气泡，振动时发酵管无气泡上冒	-
$X = 0$	杜氏小倒管无气泡，振动时发酵管有大量气泡上冒	+
$X \geq 1$	杜氏小倒管气泡大于黄豆但不满管，振动时发酵管无气泡上冒	+
$X \geq 1$	杜氏小倒管气泡大于黄豆但不满管，发酵管有大量气泡上冒	++
$X \geq 1$	杜氏小倒管气泡满管，发酵管无气泡上冒	++
$1 \leq X < 3$	杜氏小倒管气泡满管，发酵管有大量气泡上冒	++
$X \geq 3$	杜氏小倒管气泡满管，发酵管有大量气泡上冒	+++

【注】：（1）“-”为不存在产气菌；“+”为产气菌存在，产气轻微；“++”产气菌存在，产气严重；“+++”产气菌存在，产气极严重。

（2）24 小时和 48 小时分别记录结果，如果 24 小时已经产气，表明产气菌存在；对于产气不明显的以 48 小时结果为准。

实施例 2

1. 培养基组成成分：葡萄糖 20g，蛋白胨 10g，牛肉膏 10g，酵母粉 5g，吐温-80 1mL，柠檬酸铵 2g，磷酸氢二钾 2g，七水硫酸镁 0.58g，巯基乙酸钠 0.1g，蒸馏水 1000mL。

2. 发酵管制备方法：将上述培养基成分溶入蒸馏水中，加热溶解，分装每管 10ml，并放入一小团棉花或一小块海绵， 121°C 高压灭菌 15—20min，室温冷却，此时海绵或棉团沉于试管底部，置于冰箱 4°C 供用。

3. 待测样稀释：

以无菌操作将检样 10mL 放于含有 90mL 灭菌生理盐水，做成 1：

10 的均匀稀释液。

用 1mL 灭菌吸管吸取 1:10 稀释液 1mL, 注入含有 9mL 灭菌生理盐水或其他稀释液的试管内, 振摇试管混匀, 做成 1:100 的稀释液。

另取 1mL 灭菌吸管, 按上条操作依次做 10 倍递增稀释液, 每递增稀释一次, 换用 1 支 1mL 灭菌吸管。

4. 接种: 选择三个稀释度 (通常选择原液、 10^{-1} 、 10^{-2}), 每个稀释度接种 3 管。老抽酱油在做原液时, 颜色深, 不易观察结果, 将原液作 10 倍稀释, 取 10mL 稀释液作为 1mL 原液。

5. 培养在 $36^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ 条件下培养 $48 \pm 2\text{h}$ 。

6. 结果判定根据发酵管产气管数及产气特征来判定。判定标准如下:

产气管数 (X)	产气特征	报告
$X = 0$	海绵(棉团)不上浮, 振动时发酵管无气泡上冒	-
$X = 0$	海绵(棉团)不上浮, 振动时发酵管有大量气泡上冒	+
$X \geq 1$	海绵(棉团)上浮, 振动时发酵管无气泡上冒	+
$X \geq 1$	海绵(棉团)上浮, 发酵管有大量气泡上冒	++
$X \geq 1$	海绵(棉团)上浮, 发酵管无气泡上冒	++
$1 \leq X < 3$	海绵(棉团)上浮, 发酵管有大量气泡上冒	++
$X \geq 3$	海绵(棉团)上浮, 发酵管有大量气泡上冒	+++

【注】: (1) “-” 为不存在产气菌; “+” 为产气菌存在, 产气轻微; “++” 产气菌存在, 产气严重; “+++” 产气菌存在, 产气极严重。

(2) 24 小时和 48 小时分别记录结果, 如果 24 小时已经产气, 表明产气菌存在; 对于产气不明显的以 48 小时结果为准。

实施例 3

1. 培养基组成成分: 葡萄糖 20g, 蛋白胨 10g, 牛肉膏 10g, 酵母粉 5g, 吐温-80 1mL, 柠檬酸铵 2g, 磷酸氢二钾 2g, 七水硫

酸镁 0.58g, 巯基乙酸钠 0.1g, 蒸馏水 1000mL。

2. 发酵管制备方法：将上述培养基成分溶入蒸馏水中，加热溶解，分装每管 10ml，并放入一小团棉花或一小块海绵，121℃ 高压灭菌 15—20min，室温冷却，此时海绵或棉团沉于试管底部，置于冰箱 4℃ 供用。

3. 待测样稀释：

以无菌操作将检样 10g 放于含有 90mL 灭菌生理盐水，做成 1：10 的均匀稀释液。

用 1mL 灭菌吸管吸取 1：10 稀释液 1mL，注入含有 9mL 灭菌生理盐水或其他稀释液的试管内，振摇试管混匀，做成 1：100 的稀释液。

另取 1mL 灭菌吸管，按上条操作依次做 10 倍递增稀释液，每递增稀释一次，换用 1 支 1mL 灭菌吸管。

4. 接种：

选择三个稀释度（通常选择原液、 10^{-1} 、 10^{-2} ），每个稀释度接种 3 管。老抽酱油在做原液时，颜色深，不易观察结果，将原液作 10 倍稀释，取 10mL 稀释液作为 1mL 原液。

5. 培养在 $36^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ 条件下培养 $48 \pm 2\text{h}$ 。

6. 结果判定根据发酵管产气管数及产气特征来判定。判定标准如下：

产气管数 (X)	产气特征	报告
$X = 0$	海绵(棉团)不上浮，振动时发酵管无气泡上冒	—
$X = 0$	海绵(棉团)不上浮，振动时发酵管有大量气泡上冒	+
$X \geq 1$	海绵(棉团)上浮，振动时发酵管无气泡上冒	+
$X \geq 1$	海绵(棉团)上浮，发酵管有大量气泡上冒	++
$X \geq 1$	海绵(棉团)上浮，发酵管无气泡上冒	++

$1 \leq X < 3$	海绵(棉团)上浮, 发酵管有大量气泡上冒	++
$X \geq 3$	海绵(棉团)上浮, 发酵管有大量气泡上冒	+++

【注】：(1) “-”为不存在产气菌；“+”为产气菌存在，产气轻微；“++”产气菌存在，产气严重；“+++”产气菌存在，产气极严重。

(2) 24 小时和 48 小时分别记录结果，如果 24 小时已经产气，表明产气菌存在；对于产气不明显的以 48 小时结果为准。

以上对本发明所提供的酱油等调味品中产气菌检测方法进行了详细介绍，本文中应用了具体个例对本发明的原理及实施方式进行了阐述，以上实施例的说明只是用于帮助理解本发明的方法及其核心思想；同时，对于本领域的一般技术人员，依据本发明的思想，在具体实施方式及应用范围上均会有改变之处，综上所述，本说明书内容不应理解为对本发明的限制。

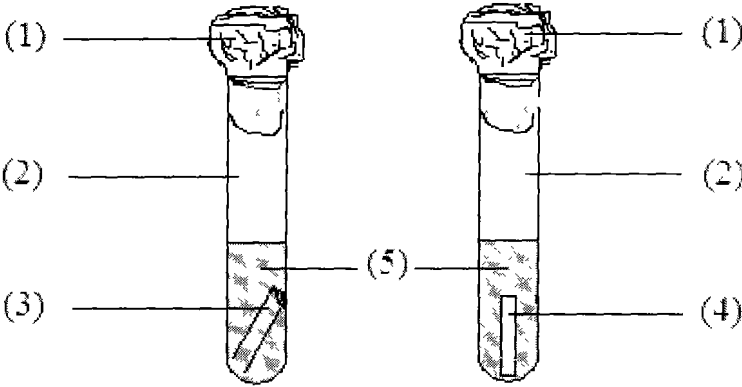


图 1

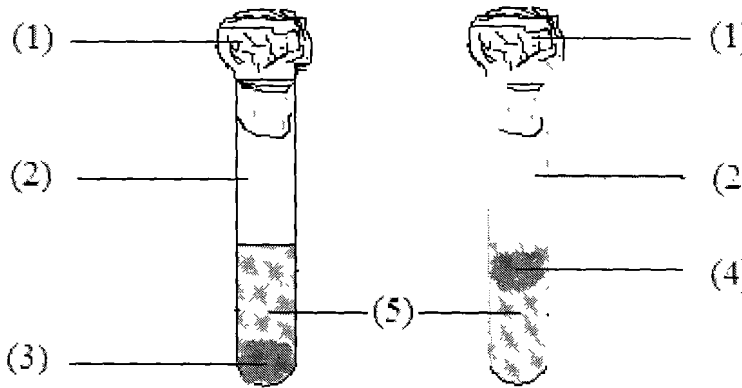


图 2