

膜过滤器在微生物检测中的应用

李凌云

(哈尔滨啤酒(牡丹江镜泊)有限公司,黑龙江 哈尔滨 157009)

摘要: 膜过滤属于简单过滤,它采用小孔径过滤除去直径较大的杂质,膜过滤器使用于膜过滤微生物分析检测与膜过滤灭菌、澄清等。

关键词: 分析检测; 膜过滤器; 过滤膜; 富集; 灭菌

中图分类号: TS261.7; TQ028.8; O65 **文献标识码:** B **文章编号:** 1001-9286(2010)09-0059-02

Application of Membrane Filter in Microbial Detection

LI Ling-yun

(Harbin Beer Co.Ltd., Harbin, Heilongjiang 157009, China)

Abstract: Membrane filtration belongs to simple filtration and it could remove impurity of large diameter through small aperture filtering. Membrane filter is mainly used in microbial detection, membrane filtration sterilization, and clarification etc. (Tran. by YUE Yang)

Key words: analysis and determination; membrane filter; filtering membrane; enrichment; sterilization

膜过滤微生物分析检测是丢弃过滤液,保留滤膜上菌的检测;而膜过滤灭菌澄清是用过滤的方法对热敏性液体如一些糖类、放线菌酮、维生素等进行除菌、澄清;将微生物、大颗粒过滤除去,保存滤液。

膜过滤微生物检测分析,适用于少于1个菌体/mL的检测试样,这种方法能在微生物污染程度很低时进行预先分析。

1 膜过滤器使用前灭菌

实验室使用的膜过滤器多为不锈钢真空过滤器,一般可采用121℃、30 min 湿热或160℃、2 h 干热灭菌,也可在水中煮沸10 min 灭菌后使用。但由于膜过滤器与接收瓶间及膜过滤器与真空泵间连接胶管,且滤架及漏斗盖内有胶垫,使抽滤装置的拆装麻烦且多次采用高温灭菌会影响到垫圈与胶管的密封性,因此,不易频繁使用上述方法灭菌。

根据工作目的的不同,可采用70%vol~75%vol的乙醇溶液对膜过滤器进行灭菌,灭菌前应先用乙醇仔细地洗净支撑架的表面。

1.1 微生物分析检测前灭菌

由于保留的是滤膜,灭菌的重点在漏斗及盖子上(包括不锈钢烧结片)。灭菌的难度不大,可先将70%vol~75%vol的乙醇溶液倒入漏斗内抽滤1次,抽吸至干,然后对漏斗及盖子进行火焰灭菌后备用。

1.2 膜过滤灭菌

由于保留的是滤液,这就要求对膜以下各部位严格灭菌。首先将70%vol~75%vol的乙醇溶液倒入漏斗内抽滤2~3次,此过程要保证乙醇溶液能够彻底布满过滤器底座及连接管(可采用对过滤器底座左右倾斜的方式满足要求);接收瓶及连接胶塞可采用75%vol乙醇棉球擦拭灭菌或直接用抽滤的乙醇溶液倾斜灭菌。灭菌结束后,为防止在膜滤时乙醇的残留影响到滤液,可采用无菌水抽滤1~2次,以稀释可能残留在膜过滤器内的乙醇。

2 膜过滤器的使用

将已灭菌的膜过滤器漏斗取下,使用已用火焰灭菌的镊子将无菌滤膜夹放在支撑架上,此时过滤膜的格子面从表面凸起,将漏斗装在滤器底座上,用锁固定,注入试样于无菌的漏斗内。若是啤酒,要缓慢注入,防止起泡,过滤浓缩时,不使用消泡剂。

启动真空泵,打开底座开关进行过滤。滤毕用无菌水对漏斗内壁冲洗(若为过滤除菌,则不需水冲,以免影响滤液浓度)。

过滤结束后,需在真空泵仍抽吸的情况下,取下漏斗。

停止真空泵。

使用已灭菌的镊子,将膜移到含有培养基的平皿内,保温培养或用显微镜观察。

收稿日期:2010-04-09

将漏斗与膜过滤器支撑架连接上,启动抽滤装置注入自来水,反复数次,保证各部位清洗彻底,无样液残留。

注入 70 %vol~75 %vol 的乙醇抽吸至干,以备下次使用。

3 过滤膜的培养

在无菌状态下取出过滤膜,格子面朝上,将膜放在培养基的表面。操作时,要注意膜下面不得进入空气。其适用于过滤啤酒,特别是对瞬时巴氏杀菌的啤酒是有用的。

4 膜过滤器操作注意事项

遵循预防控制与及时清洁并重的原则,不放过任何一个环节的微小污染。

以上操作必须在灭菌工作台或无菌室内进行。

操作中应注意手不要触及膜过滤器内测部位及不锈钢烧结片。

不锈钢烧结片不宜采用乙醇棉球火焰灭菌,以免棉球燃烧灰烬堵塞烧结片孔隙,影响抽率。

做微生物分析检测时注入的试样量,可根据需要进行抽滤。经验是熟啤酒样液用量 200 mL、清酒样液用量 50 mL、冷麦汁用量 100 mL、刷罐残水 100 mL,经培养计

算其中菌的数量。如果试样少于 5 mL,可预先与 10~20 mL 无菌水混合稀释。

若试样浑浊,应进行离心,以防堵塞滤膜。但要保证离心管灭菌彻底,防止二次污染,影响检测结果。

过滤膜通常选用黑色或蓝色,表面附有方格。过滤膜的规格选用:

①过滤除菌选用孔径为 0.2~0.4 μm 的膜;

②微生物培养选用孔径为 0.45 μm 的膜;

③酵母的培养或观察选用孔径为 0.8 μm 的膜。

滤膜可以是无菌密闭包装,一次性使用;若散装连续使用,可浸泡在 2 %甲醛溶液中保存。

灭菌用的 70 %vol~75 %vol 乙醇溶液可重复使用数次,但注意回收后应密封好,以免挥发,降低浓度。

膜过滤器经过一段时间的使用后,应进行彻底清洗。具体步骤如下:

①将滤器彻底分解拆卸;②用中性洗涤剂对滤器的部件进行清洗;③用热水漂洗后再蒸馏水冲洗。也可以用 70 %vol~75 %vol 乙醇溶液漂洗,以加速干燥;④在干燥箱中将各部件烘干,切勿用毛巾或布块去擦干,以免留下纤维。●

(上接第 58 页)

表3 苦味质的单样本T检验

项目	Test Value = 14					
	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	95 % Confidence Interval of the Difference	
					Lower	Upper
苦味质	-5.039	100	0.000	-0.30792	-0.4292	-0.1867

表示具体分析用到的变量有缺失值才除去该记录,点击“Continue”按钮。最后,点击“OK”,结果见表 3。

由表 3 可知,t 统计量的平均误差值 (Mean Difference) 为 -0.30792; 在 95 % 的置信区间内,误差值的范围是 (-0.4292, -0.1867); 此误差范围包括 -0.30792, 表示平均误差差值落在可信区间内; 因此可以断定,这 101 批糖化麦汁的苦味质符合质量分布要求。

3 结论

从麦汁苦味质这一实例分析可以看出,利用 SPSS 的质量控制相关的模块,可以全面、方便地对生产数据

进行分析,进而指导生产。随着 SPSS 版本的升级,将会提供更加强大的质量分析功能,它可以帮助广大从事质量管理的工作者改善质量管理的效率,协助管理者做出最优决策,从而提高产品和服务质量。

参考文献:

- [1] 范正绮.西方统计质量管理的操作手段[J].外国经济与管理, 1996,(5): 47-48.
- [2] 卢纹岱.SPSS for Windows 统计分析[M].北京:电子工业出版社, 2000.
- [3] 黄恒君,等.主成分回归分析的直接实现——基于 SPSS 二次开发[J].甘肃科学学报, 2007, 19(2): 107-109.
- [4] 王向飞,等.军品质量管理中的统计技术与 SPSS 软件的应用[J].火力与指挥控制, 2006, 31(8): 72-75.
- [5] 张祥云.基于 SPSS 的主成分分析在麦芽生产中的应用[J].啤酒科技, 2009,(2): 21-22.

洋河股份公司在江南大学开办进修班

本刊讯 2010年8月23日,江南大学洋河股份生物工程研究生课程进修班开班典礼在江南大学生物工程学院隆重举行,这是江苏洋河酒厂股份有限公司今年继南京大学洋河酒厂高级工商管理(EMBA)精选课程班、淮阴工学院洋河酒厂“酿酒技术”大专班等陆续开班以来的又一高规格培训活动,旨在加大企业各类人才培养力度,进一步夯实企业的人才队伍基础,为公司的跨越发展提供持久动力。(小小)