

啤酒中大肠菌群检测法的探讨

马丽辉¹, 陈卫民²

(1.广东省酒类检测中心, 广东 广州 510410; 2.南海市嘉润食品饮料有限公司, 广东 南海 528220)

摘要: 大肠菌群是指能发酵乳糖、产酸产气、需氧和兼性厌氧的革兰氏阴性无芽孢杆菌。啤酒生产过程中可能会污染大肠菌群。因此, 国家规定发酵酒必须检测大肠菌群。为杜绝啤酒产品在生产流通过程中污染大肠菌群, 可采用菌落计数法直观、简易地检测啤酒中的大肠菌群, 效果良好。(孙悟)

关键词: 啤酒; 大肠菌群; 检测; 菌落计数法

中图分类号: TS262.5; TS261.7

文献标识码: B

文章编号: 1001-9286(2004)04-0089-02

Investigation on the Determination of Coliform Group in Beer

MA Li-hui¹ and CHEN Wei-min²

(1.Guangdong Provincial Wine Products Determination Center, Guangzhou, Guangdong 510410;

2. Jiarun Food & Beverage Co. Ltd., Nanhai, Guangdong 528220, China)

Abstract: Coliform group referred to aerobic or facultative anaerobic gram-negative budless bacillus which could ferment lactose and produce acids and CO₂. However, contamination of coliform group might occur during beer brewing. Accordingly, the government had formulated the provision that coliform group of fermented wine must be determined in the production to avoid the contamination of coliform group. And group-counting method, simple to operate, was applied to determine coliform group and better effects were achieved. (Tran. by YUE Yang)

Key words: beer; coliform group; determination; group-counting method

乳糖胆盐发酵法检测大肠菌群, 结果准确, 在食品微生物检测中广泛应用, 但此法要求检测人员必须积累丰富的实践经验才能准确判断大肠菌群初发酵时产生的生化反应、大肠菌群在伊红美蓝平板上的典型菌落形态及细菌形态。而啤酒呈酸性且含大量 CO₂ 气体, 用乳糖胆盐发酵法检测啤酒中的大肠菌群, 比较难以判断初发酵是否呈现产酸产气阳性反应; 且判断初发酵呈阳性反应后, 需经分离培养、革兰氏染色、复发酵、查大肠菌群最可能数 (MPN) 检索表, 最后才能求得大肠菌群最可能值, 步骤较多, 耗时较长, 最主要的是必须依靠检验人员丰富的经验来准确报告大肠菌群阳性与否。

笔者结合啤酒特性, 借鉴国外技术, 采用菌落计数法直观、简易地检测啤酒中的大肠菌群, 效果良好。下面简述该法, 与大家共同探讨。

1 材料与设备

1.1 主要仪器、设备

全自动立式高压灭菌器 HVE-50, 日本产。

生化培养箱 JLRH-250-A, 广东产。

单人单面水平超净工作台 SW-CJ-IBU, 江苏产。

菌落计数器, 江苏产。

1.2 培养基和试剂^[1]

紫红胆盐葡萄糖琼脂培养基 紫红胆盐葡萄糖琼脂 38.5 g(Oxoid), 蒸馏水 1000 ml, 加热溶解, 115℃下灭菌 15 min。

生理盐水: 氯化钠 8.5 g, 溶于 1000 ml 蒸馏水中, 分装试管, 121℃下灭菌 15 min。

2 检验方法

2.1 检样稀释^[1, 2]

2.1.1 以无菌操作将适量酒样倒入 100 ml 灭菌烧杯中, 上覆灭菌纱布, 轻轻摇动, 静置。

2.1.2 待酒样气泡完全消失, 用 1 ml 自动进样器吸取酒样 1 ml, 沿试管壁徐徐注入含有 9 ml 灭菌生理盐水的试管, 振摇试管混匀, 制成 1:10 的稀释液。

2.1.3 用 1 ml 自动进样器吸取 1:10 稀释液 1 ml, 沿试管壁徐徐注入含有 9 ml 灭菌生理盐水的试管, 振摇试管混匀, 制成 1:100 的稀释液。

2.2 制备紫红胆盐葡萄糖琼脂平皿^[2]

以无菌操作将灭菌紫红胆盐葡萄糖琼脂培养基倾注平皿, 每皿约 15 ml, 冷却, 待培养基凝固。

2.3 涂布^[2, 4]

2.3.1 用 1 ml 自动进样器吸取 1 ml 酒样注入紫红胆盐葡萄糖琼脂培养基平皿, 每个稀释度做两个平皿, 用灭菌接种铲均匀涂布。

2.3.2 用 1 ml 自动进样器吸取 1:10 稀释液 1 ml 注入紫红胆盐葡萄糖琼脂培养基平皿, 每个稀释度做两个平皿, 用灭菌接种铲均匀涂布。

2.3.3 用 1 ml 自动进样器吸取 1:100 稀释液 1 ml 注入紫红胆盐葡萄糖琼脂培养基平皿, 每个稀释度做两个平皿, 用灭菌接种铲均匀涂布。

2.4 培养计数^[3, 4]

2.4.1 倒置平皿, 置于 37±1℃生化培养箱中培养 24±2 h。

收稿日期 2003-11-28

作者简介: 马丽辉(1970-), 女, 吉林人, 大专, 技术员。

表 1 菌落稀释度选择

例次	稀释液及菌落数			两稀释液之比	大肠菌群 (个/ml)	稀释倍数 (个/ml)
	10 ⁰	10 ⁻¹	10 ⁻²			
1	多不可计	164	20	—	1640	1.6×10 ³
2	多不可计	295	46	1.6	3775	3.8×10 ³
3	多不可计	271	60	2.2	2710	2.7×10 ³
4	多不可计	多不可计	313	—	31300	3.1×10 ⁴
5	27	11	5	—	27	2.7×10
6	0	0	0	—	<1	<1
7	多不可计	305	12	—	3050	3.1×10 ³

2.4.2 计数所有在紫红胆盐葡萄糖琼脂培养基上生长的带有紫色光环的红色或紫色大肠菌群特征菌群^[2]。

2.5 稀释度选择^[3 5]

2.5.1 选择平均菌落数在 30~300 之间的稀释度,乘以稀释倍数(见表 1 中例 1)。

2.5.2 若有两个稀释度其生长的菌落数均在 30~300 之间,则视两者之比来决定。若其比值小于或等于 2,应为平均数;若大于 2 则为其中较小的数字(见表 1 中例 2、例 3)。

2.5.3 若所有稀释度的平均菌落数均大于 300,则应按稀释度最高的平均菌落数乘以稀释倍数(见表 1 中例 4)。

2.5.4 若所有稀释度的平均菌落数均小于 30,则应按稀释度最低的平均菌落数乘以稀释倍数(见表 1 中例 5)。

2.5.5 若所有稀释度均无菌落生长,则以小于 1 乘以最低稀释倍数(见表 1 中例 6)。

2.5.6 若所有稀释度其生长的菌落数均不在 30~300 之间,其中一部分大于 300 或小于 30 时,则以最接近 30 或 300 的平均菌落数乘以稀释倍数(见表 1 中例 7)。

2.5.7 菌落数在 100 以内时,按其实有数报告;大于 100 时,采用

(上接第 88 页)

质,可以正常投入运行。

4.3 SBR 池的运行控制

4.3.1 每池每次进水量控制在 100 m³ 左右,根据 UASB 出水的浓度控制曝气时间,若进水浓度过高(大于 1000 mg/L),可以从进料时就开始曝气,若进水浓度过低(小于 500 mg/L),可以在结束进水后开始曝气。

4.3.2 每个池的处理周期为 8 h,每日为 3 个周期,时间分配为 2 h 进料,2~4 h 曝气,1~2 h 沉淀,0.5~1 h 排水,其余时间为闲置。

4.3.3 根据实际情况,也可两池并联运行,以减少操作次数。

4.3.4 运行中 SBR 内若出现泡沫,可在曝气时向池内投加少许废机械油,即可解决。

4.3.5 进水、曝气、溶解氧可自动控制,但手动操作更利于运行。

4.3.6 污泥浓度控制在 4000 mg/L 左右,SVI 30%~40%。

4.3.7 气水比 12:1

4.3.8 剩余污泥与冷却后的待处理污水一起进 UASB 处理。

4.4 运行效果

根据 2003 年 3~5 月 3 个月的稳定运行情况表明(见表 2):进水 COD_{Cr} 含量平均为 550 mg/L, BOD₅ 为 300 mg/L,经 SBR 反应处理后,出水 COD_{Cr} 平均为 50 mg/L,去除率 91%, BOD₅ 平均为 15 mg/L,去除率达 95%。

5 结论

两位有效数字,在两位有效数字后面的数值,以 4 舍 5 入方法计算。为了缩小数字后面的零数,可用 10 的指数来表示(见表 1 稀释倍数)。

3 结论

大肠菌群系指能发酵乳糖、产酸产气、需氧和兼性厌氧的革兰氏阴性无芽孢杆菌^[3 5]。该菌主要来源于人畜粪便,故以此作为粪便污染指标来评价食品的卫生质量,推断食品中有否污染肠道致病菌的可能。大肠菌群的存在会对人的生命安全造成危害,当老年人或婴幼儿从食品中食进大肠埃希氏杆菌致病菌时,会产生严重的腹泻性肠炎。为杜绝某些酒类产品在生产流通过程中污染大肠菌群,国家针对发酵酒,规定该酒必须检验大肠菌群。

以上所述的直接菌落计数法借鉴、引用国外先进检验方法,结合啤酒产品特征,讨论啤酒大肠菌群的检测方法,此法在同行中具有推广价值。

参考文献:

- [1] 全国食品发酵标准化中心. 中国食品工业标准汇编(饮料酒卷,第 2 版)[M]. 北京:中国标准出版社,2001.
- [2] Difco. IOCCC(第十版)USA. ADM. 1994.No.189
- [3] 中华人民共和国卫生部. 食品卫生检验方法(微生物学部分,第 1 版)[M]. 北京:中国标准出版社,1995.
- [4] Bartsh H. IARC Scientific Publications. 1991.No.105
- [5] 周同惠. 国际标准分析方法大全(第 1 版)[M]. 北京:科学出版社,1998.
- [6] WHO. WHO Technical Report Series. 1989.No.776

表 2 SBR 池运行效果

日期		3~5 月	
BOD ₅	进水(mg/L)	300	
	出水(mg/L)	15	
	去除率(%)	95	
COD	进水(mg/L)	550	
	出水(mg/L)	50	
	去除率(%)	91	
pH	进	6.7	
	出	6.8~7.0	
MISS(g/L)		3.5~4.0	
MIVSS(g/L)		2.5~3.0	
容积负荷		0.55kg COD/m ³ ·d	

该工程经 2 年多的运行表明, UASB+SBR 综合工艺具有工程占地面积小、运行稳定、可靠、运行费用省、维护简便等特点,其操作的灵活性、自由度、可靠性和对负荷的适应性都较传统的活性污泥法要好。即使是在处理高浓度难降解的废水时,本工艺也能使排水水质保持稳定。在全球水资源日益紧缺的今天,本工艺使处理后的水作为中水回用更具有其潜在的应用价值。

5.1 富余污泥经加工处理后,做肥料、水产饲料。

5.2 沼气:生活、取暖、民用。

5.3 处理后的水:经活性炭吸附处理后作中水使用。●