

纸片法检测大肠菌群在啤酒生产中的应用

王彩虹, 赵鹏, 王芸, 毕德成
(青岛啤酒一厂, 山东 青岛 266023)

摘要: 乳糖胆盐发酵管法检测大肠菌群准确、可靠, 但24~36h才得结果。纸片法与标准法检测结果完全一致, 15h得检测结果。对啤酒生产过程中半成品和刷洗水进行监控检测非常可靠, 结果准确, 而且灵敏、快速, 使用简便, 有利于控制啤酒微生物污染和提高啤酒质量。(孙悟)

关键词: 纸片法; 检测; 大肠菌群; 啤酒生产

中图分类号: TS262.5; Q93-332; Q939.121 文献标识码: B 文章编号: 1001-9286(2001)03-0071-02

Detecting Coliform Group in Beer Production by Paper Method

WANG Cai-hong, ZHAO Peng, WANG Yun and BI De-cheng
(The 1st Brewery of Qingdao, Qingdao, Shandong 266023, China)

Abstract: Lactose and bilesalt fermentation method is a reliable and accurate method in detecting coliform group but the results are obtained 24~36h later. Besides, we could obtain the same results only 15h later by paper method as by standard method. Paper method is proved a convenient, rapid and simple way in detecting and monitoring semi-products and wash water in beer production and is helpful for controlling biological contamination in beer and improving the beer quality. (Tian. by YUE Yang)

Key words: paper method; detect; coliform group; beer production

大肠菌群是检测食品卫生质量的重要指标之一。国内外均有不少的检测方法, 乳糖胆盐发酵管法是大肠菌群标准检验方法, 也是大多数啤酒厂采用的方法。此法具有准确、可靠等优点。但是我们在实际工作中发现, 此法培养时间较长(接种后24~36h才能观察结果; 若肉眼观察不易判定时, 须做进一步的复发酵试验来验证, 又要培养24h左右才能准确测定试验结果), 不利于指导车间生产; 并且此法配制过程较复杂, 限制指导生产的微生物检测的力度和覆盖面。

对纸片法中培养基成分的选择与确定、纸片法与国标法的比较、纸片法的特异性与敏感性进行了试验, 并以国标法作为参照, 对啤酒酿造过程中的洗涤水、冷麦汁、清酒、回收酒及成品酒等进行了试验。结果表明, 纸片法与标准法检验结果完全一致, 用纸片法对啤酒生产过程中半成品和刷洗水进行监控检测是非常可靠和有效的。

纸片法具有灵敏、快速、培养基成本小、操作费用低、劳动强度低等优点。其结果容易判定, 而且使用方法简便, 其快速的特点更为指导生产赢得宝贵的时间, 通过提供准确的数据全面防止生产过程中的微生物污染, 保证啤酒的质量。大肠杆菌在条件适宜时平均20min繁殖一代, 一旦生产中污染此菌, 短时间就会剧增。用纸片法15h得到检测结果, 可以及时指导车间的刷洗工作, 将此类微生物污染杜绝在萌芽状态, 保证啤酒酿造中各个环节及包装车间装酒机的刷洗达到食品卫生要求, 为生产赢得宝贵的时间。采用纸片法后将以前的大肠菌群检测作为补救措施, 变为主动地指导生产, 实现了检测目的的根本性转变, 对啤酒生产过程的控制及产品销售具有重要的指导意义。

纸片法虽具有许多优点, 但因其是参考方法, 因此建议不用于成品啤酒的检验。为与其他检测机构保持一致, 在实际工作中, 成品啤酒仍采用国标法。

下面, 简单介绍纸片法配制、使用等方面的情况。

1 试验方案

1.1 纸片法(刷洗水检验用)

采用专用大肠菌群快速检验纸片法, 对该纸片的制作必须进行严格的质量控制, 确保纸片质量。

1.1.1 取样方法

取消毒刷洗后的水样约200ml, 每个样品需要大纸片2张, 每张纸片的面积是10cm×12cm(双层); 需要小纸片10张, 每张纸片的面积是5cm×6cm(双层)。

1.1.2 接种方法

分别吸取同一试样10ml的2个和1ml的10个, 分别涂布于2个大纸片和10个小纸片, 然后用手轻轻压平, 用夹子将装纸片的塑料袋夹紧, 置于恒温箱中36±1℃培养, 15h后观察结果。

1.1.3 结果判定

1.1.3.1 纸片蓝色不变, 出现紫红色斑点, 其周围有黄色或黄圈者为阳性。

1.1.3.2 纸片呈紫色, 有紫红色斑点, 其周围无黄圈者为阳性。

1.1.3.3 纸片变黄色, 有红色斑点为阳性。

1.1.3.4 纸片蓝色不变, 有红色斑点, 其周围变黄者为阳性。

1.1.3.5 纸片蓝色不变, 有两个以上红色斑点为阳性。

1.1.3.6 纸片蓝色不变者为阴性。

1.1.3.7 纸片为一种颜色, 无斑点者为阴性。

1.1.3.8 酸性食品, 如半成品酒及麦汁等接种后, 纸片变黄, 经培养无斑点者为阴性。

1.1.3.9 纸片变色不典型, 结果可疑者, 应做伊红美兰平板划线进行验证。

1.1.4 结果

根据纸片的阳性数和阴性数, 查大肠菌群检数表, 得知大肠菌群近似数(个/L), 见表1。

收稿日期: 2000-08-22

作者简介: 王彩虹(1967-), 女, 山东青岛人, 大学本科, 高级工程师, 副经理。

表1 大肠菌群检数 (菌数/L水样)

1ml水量的阳性管数	10ml水量的阳性管数		
	0	1	2
0	< 3	4	11
1	3	8	18
2	7	13	27
3	11	16	38
4	14	24	52
5	18	30	76
6	22	36	92
7	27	43	120
8	31	51	160
9	36	60	230
10	40	61	> 230

1.1.5 注意事项

1.1.5.1 用该处方制备的纸片, 应避免光保存, 并注意防潮, 可放冰箱中保存备用。

1.1.5.2 若发现纸片变为粉红色即为失效。

1.1.6 纸片的制作方法

1.1.6.1 培养基配方(略)

1.1.6.2 纸片

新华中速定性滤纸, 切成面积为 10cm×12cm(双层)和 5cm×6cm(双层)大小, 经干烤或高压灭菌(高压后放 37℃温箱烘干)后备用。

1.1.6.3 塑料袋

耐高温的聚丙烯塑料膜袋压成一定规格, 116℃、15min 灭菌后备用。

1.2 B 纸片法(半成品及食品检验用)

1.2.1 样品处理

各类样品的处理与接种量均按发酵法要求进行。液体样品按国家标准进行; 固体样品取 25g 样品, 研碎后加入 25ml 灭菌生理盐水或无菌水混匀。

1.2.2 接种方法

1.2.2.1 液体样品

试样量为 10ml×3、1ml×3、0.1ml×3, 分别注入灭菌塑料袋中 3 张大纸片和灭菌塑料袋中 6 张小纸片上。

1.2.2.2 固体样品

吸取 1:10 混悬液 10ml 3 份(1g 样品), 分别注入灭菌塑料袋中 3 张大纸片上; 再吸取 1:10 稀释度样品 1ml 3 份和 1:100 稀释度样品 1ml 3 份, 分别注入灭菌塑料袋中 6 张小纸片, 然后用手轻轻压平, 用夹子将装纸片的塑料袋夹紧, 置于恒温箱中 36±1℃培养, 15h 后观察结果。

1.2.3 结果判定

同水样品检测。

1.2.4 报告结果

根据纸片的阳性片数, 查阅大肠菌群 MPN 检索表报告之。

1.2.5 注意事项

同水样品纸片。

2 结论

经大量试验证实, 纸片法与乳糖胆盐发酵管法检验结果完全一致, 用纸片法代替发酵法对啤酒生产过程进行检测监控是可行的。

3 纸片法快速检测大肠菌群的经济技术价值

3.1 检测每一样品与发酵法的成本比较, 每个样品节约 1.4 元; 同时可降低工作强度, 提高工作效率 50%, 提高仪器设备利用率 200%。

3.2 缩短了检测时间, 15h 可得结果。

3.3 可扩大检测面, 加强检测力度。纸片法具有方便快捷的特点, 便于加强整个酿酒过程微生物污染的控制, 从而全面保证啤酒质量。

3.4 提高反应的灵敏度。纸片法的灵敏度很高, 便于用肉眼观察, 需做伊红美兰平板划线的可疑情况极少。而标准老方法需做复发酵试验的可疑情况较多, 延长报告结果时间。

4 纸片法在饮料行业的应用前景

纸片法用于啤酒生产中微生物检测非常有效, 它具有灵敏、快速、简易等优点, 其结果易判定, 使用简便, 结果准确, 可以为生产赢得宝贵的时间, 为有效控制微生物的污染、保证啤酒质量提供了可靠的手段。但纸片法用于矿泉水、葡萄酒等其他饮料行业的效果如何, 有待于进一步的试验研究。●

(上接第 74 页)

由于新国标中对酒的质量进行了分级, 分为优级、一级、二级共三级。根据 GB10344-89《饮料酒标签标准》规定: 凡产品标准中已分等分级的, 必须标明产品的质量等级。所以, 在执行新标准以后, 瓶装酒标签上应注明酒的质量等级。

5 新国标存在的不足

黄酒新国标尚有部分地方存在不足之处, 有待完善。

5.1 标准的适用范围有待扩大

新标准不能适用于一些新品种黄酒和保健类黄酒。由于标准中规定, 黄酒中不得添加任何非自身发酵产生的物质, 这虽然对打击配制类黄酒起了较大的作用, 但同时也限制了一些添加有呈香、呈味、营养类物质的加香黄酒和营养保健黄酒生产, 将这些类型的酒排除在黄酒的范畴之外。

同样, 标准中对生产黄酒的原料作了限定, 黄酒是以稻米、黍米、玉米、小米、小麦等谷类为原料发酵而成的, 原料范围中并未包含薯干等非谷类的代用品。这些如薯干等非谷类为原料生产的

酒(如以薯干为原料生产的即墨黄酒)是否还能继续称为黄酒产生了争议。

标准对目前市场上比较流行的白糯米酒、黑糯米酒、老白酒等品种黄酒, 也缺乏规范和要求。

因此, 建议在标准中应增加有关加香黄酒和营养保健类黄酒的定义及相关规定, 以利于黄酒向多品种、保健型方向发展。

同时, 标准对酒精度指标降低幅度太大, 对传统名优黄酒的产销产生较大的冲击, 所以建议应对低度黄酒作单独标准规定。

5.2 部分检测方法有待改进

标准中提供的 β-苯乙醇(气相色谱法)检测方法有待改进。标准中采用酒样直接进样的方法, 对毛细管色谱柱寿命影响较大, 应改为酒样经溶剂萃取后再进样才比较科学(用溶剂萃取后测定 β-苯乙醇方法详见本人与其他同事合作撰写的发表在《中国黄酒》杂志 2000 第 3 期上的论文)。

以上仅代表个人肤浅的看法, 有不妥之处, 敬请黄酒界同行批评指正。●