实验室常见培养基成分对乳酸菌检测的影响

师倍倍[1]，徐佳荫[1]，王连凤[1]，孟庆红[1]，朱明娥[1]，王　丹[2]，李灿国[1*]

1 蒙牛乳业泰安有限责任公司检验管理处，山东泰安 271000
2 内蒙古蒙牛乳业（集团）股份有限公司质量管理部，内蒙古呼和浩特 010000

摘　要：[目的]乳酸菌对促进人体健康具有重要意义。作为良好载体，发酵乳和活菌型乳酸菌饮料是人体补充乳酸菌的重要来源。我国国家标准明确规定发酵乳、活菌型乳酸菌饮料中乳酸菌数量，对保证检测结果准确有重要意义。[方法]选择常见实验室培养基作为干扰成分，通过人为添加，探究各干扰成分对乳酸菌培养基、国标法检测结果的影响。[结果]双歧杆菌总数受孟加拉红培养基、BS培养基影响最大，VRBA培养基影响最小。嗜热链球菌总数受TTB培养基影响最大，VRBA培养基影响最弱。乳杆菌总数受SC培养基影响最大，受VRBA培养基、XLD培养基影响最小。MRS琼脂培养基感官受SC培养基成分影响最大，改良MRS琼脂培养基受SC培养基影响最大，MC琼脂培养基主要受高添加量BS培养基影响。[结论]本试验结果为通过培养基、菌落感官及菌落数量变化判断乳酸菌培养状态提供依据，为乳酸菌检测结果异常分析提供参考，对保证乳酸菌检测结果准确有一定的指导意义。

关键词：乳酸菌；乳酸菌总数；交叉污染

文章编号：1671–4393（2025）01–0080–07　　DOI:10.12377/1671–4393.25.01.13

0 引言

乳酸菌（*Lactic acid bacteria*，LAB）是指一类可利用碳水化合物产生大量乳酸的细菌统称[1~4]，通常厌氧或兼性厌氧，一般无芽孢，革兰氏染色呈阳性。研究表明，LAB至少包含18 个属[1, 5]，常见包括乳杆菌属、双歧杆菌属、链球菌属、肠球菌属等。

基金项目：山东省重点研发计划项目（2023CXGC010711）

作者简介：师倍倍（1988–），女，山东枣庄人，本科，中级工程师，研究方向为乳品微生物检测；
徐佳荫（1981–），女，山东泰安人，本科，中级工程师，研究方向为乳品质量控制；
王连凤（1984–），女，黑龙江哈尔滨人，本科，中级工程师，研究方向为乳品质量控制；
孟庆红（1975–），女，内蒙古通辽人，蒙古族，硕士，高级工程师，研究方向为食品质量安全；
朱明娥（1982–），女，山东泰安人，本科，中级工程师，研究方向为乳品微生物检测；
王　丹（1983–），女，内蒙古呼和浩特人，硕士，高级工程师，研究方向为质量检验管理。
*通信作者：李灿国（1995–），男，山东泰安人，硕士，研究方向为乳品质量安全。

中国乳业线上阅读

按照不同分类方式，乳酸菌可分为不同种类[4，6]。按照乳酸菌来源，可分为动物源乳酸菌、植物源乳酸菌；按照菌体形态，可分为杆菌、球菌等[7]。

作为益生菌家族重要菌株之一，乳酸菌对于促进人体健康具有重要意义。乳酸菌主要定植于人等哺乳动物胃肠道中，在维持肠道稳态、调节肠道菌群、增强免疫力等方面发挥着重要的作用[8~10]，被广泛应用于食品加工[11~14]、畜禽养殖[6，14~16]、医药[8，17]、农业[16]等领域。

乳制品是益生菌的良好载体，发酵乳和活菌型乳酸菌饮料是人体补充乳酸菌的重要来源[18，19]。乳基质能有效保护菌株免受外界不利环境的影响，使其被摄入人体后保持高活性，有利于人体健康的功效[18，19]。同时，在发酵过程中，LAB可为乳制品提供独特风味，提高乳制品营养含量，并降低乳糖不耐受以及蛋白质过敏的风险[3，9，12]。乳酸菌数量需达到一定标准，才能进入人体后发挥保健作用[10]。《GB 19302—2010 食品安全国家标准 发酵乳》[20]、《GB 7101—2022 食品安全国家标准 饮料》[21]规定，按照《GB 4789.35—2023 食品安全国家标准 食品微生物学检验 乳酸菌检验》规定方法进行检测，乳酸菌数量应≥1.0×10^6 CFU/g（mL）。

实验室检测乳酸菌数量的准确性不仅直接关系产品品质判定，也是对消费者权益的保障。同时，检测结果直接影响产品发酵阶段菌种投入量，进而影响食品生产企业的成本。一般食品企业微生物检测实验室往往同时检测多种微生物指标，存在交叉污染可能，例如重复使用耗材清洗不彻底、导致残留抑菌成分，盛装培养基的三角瓶、瓶塞清洗不彻底与培养基共同灭菌，残留干扰物污染培养基等。虽然现在市面存在一次性培养耗材，但往往成本较高，一般企业无法负担。因此，分析实验室常见培养基抑菌成分对乳酸菌检测结果的影响，不仅对指导乳酸菌检测有重要意义，同时对乳酸菌结果异常的分析有重要参考价值。

基于此，笔者选择实验室常见含抑菌成分培养基，包括四硫磺酸钠煌绿增菌液（TTB）、亚硫酸铋琼脂（BS）、亚硒酸盐胱氨酸增菌液（SC）、结晶紫中性红胆盐琼脂（VRBA）、孟加拉红培养基、木糖赖氨酸脱氧胆盐琼脂（XLD）作为干扰物质，以双歧杆菌、嗜热链球菌、乳杆菌为研究对象，添加不同体积上述干扰物质，进行乳酸菌培养试验，观察不同乳酸菌培养基状态、乳酸菌总数变化，分析各干扰因素对乳酸菌生长的影响。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 试剂

双歧杆菌、嗜热链球菌，某市售消健益生菌酸牛奶；乳杆菌，某市售原味活菌型乳酸菌饮品；MRS培养基：CM188A，MC培养基：CM156，莫匹罗星锂：P-109，半胱氨酸盐酸盐：P-03，胰蛋白胨：CM001，TTB培养基：CM203，BS培养基：CM207，SC培养基：CM202，VRBA培养基：CM115，孟加拉红培养基：CM164，XLD培养基：CM219，北京陆桥技术股份有限公司；氯化钠：分析纯，福晨（天津）化学试剂有限公司。

1.1.2 仪器与设备

1389生物安全柜，赛默飞世尔（苏州）仪器有限公司；HVA-85灭菌器，HIRAYAMA株式会社平山制作所；DH6000B Ⅱ电热恒温培养箱，天津市泰斯特仪器有限公司；FH-2000电子天平，西班牙GRAM公司；BILON-09均质器，上海比朗仪器制造有限公司；无菌均质袋，青岛海博生物技术有限公司；MS3BS25涡旋混匀仪，艾卡（广州）仪器设备有限公司；1 mL无菌吸管、10 mL无菌吸管，天津市天玻玻璃仪器有限公司；90 mm无菌一次性培养皿，江苏康健医疗用品有限公司；18 mm×180 mm无菌试管，盐城市盐都区龙冈镇丽晶玻璃仪器厂；500 mL无菌锥形瓶，四川蜀玻（集团）有限责任公司；厌氧盒、厌氧产气袋，三菱瓦斯化学株式会社；厌氧指示片，赛默飞世

中国乳业线上阅读

尔科技公司。

1.2 方法

针对不同类型乳酸菌（双歧杆菌、嗜热链球菌、乳杆菌），选择适合样品、稀释度，根据《GB 4789.35—2023 食品安全国家标准 食品微生物学检验 乳酸菌检验》[22]中6.3.2双歧杆菌计数、6.3.3嗜热链球菌计数、6.3.4乳杆菌计数方法，在培养基倾注入平皿后，分别添加一定量干扰物质至平皿中，转动平皿使混合均匀，添加量见表1。同步检测正常样品。参照GB 4789.35—2023统计试验结果。

表 1 干扰物质添加量

干扰物质	添加量（mL/ 约 20 mL 培养基）
TTB	0.10，0.20，0.30，0.40，0.50
BS	0.10，0.30，0.50，1.00，2.00
SC	0.10，0.15，0.20，0.25，0.30
VRBA	0.25，0.50，1.00，2.00，3.00
孟加拉红	0.10，0.20，0.50，1.00，2.00
XLD	0.50，1.00，1.50，2.00，3.00

2 结果与讨论

选择样品稀释倍数1∶10 000 000，按前文所述方法开展试验，结果见表2、表3、表4。

表2为干扰物质对双歧杆菌培养的影响。随着TTB添加量升高，对双歧杆菌影响逐渐增大，添加量达到0.4 mL时双歧杆菌总数结果明显减小，但改良MRS琼脂培养基感官未受影响。BS添加量0.1 mL时，对双歧杆菌干扰不明显，增至0.3 mL时，培养基颜色、双歧杆菌数量明显异常。SC、VRBA添加对双歧杆菌检测数量影响不大，但添加SC对培养基感官影响明显。VRBA添加量1 mL造成菌落颜色异常；2 mL及以上时，培养基、菌落颜色呈异常红色。孟加拉红添加量0.1 mL时，双歧杆菌数量下降，增至0.2 mL时，双歧杆菌数量减至0，但是添加孟加拉红对培养基、菌落感官无影响。XLD对培养基感官影响不大，但添加量1.5 mL导致双歧杆菌菌落形态异常，随添加量增加，双歧杆菌数量下降。

表 2 干扰物质对双歧杆菌培养的影响

干扰物质	添加量（mL/ 约 20 mL 培养基）	验证结果（CFU/g）	培养基、菌落感官评价
/	/	331	正常
TTB	0.10	313	正常
	0.20	282	
	0.30	277	
	0.40	42	
	0.50	0	培养基颜色正常，无菌落生长
BS	0.10	250	正常
	0.30	0	
	0.50	0	培养基颜色异常，无菌落生长
	1.00	0	
	2.00	0	
SC	0.10	322	培养基颜色异常，菌落形态正常
	0.15	300	
	0.20	265	
	0.25	328	
	0.30	185	
VRBA	0.25	303	正常
	0.50	295	
	1.00	298	培养基颜色正常；菌落颜色异常，呈红色
	2.00	297	培养基、菌落颜色异常，呈红色
	3.00	291	
孟加拉红	0.10	295	正常
	0.20	0	
	0.50	0	培养基颜色正常，无菌落生长
	1.00	0	
	2.00	0	
XLD	0.50	234	正常
	1.00	202	
	1.50	269	培养基颜色正常；菌落形态异常，菌落小
	2.00	218	
	3.00	203	

干扰物质对嗜热链球菌培养的影响见表3所示。

中国乳业线上阅读

表 3 干扰物质对嗜热链球菌培养的影响

干扰物质	添加量（mL/ 约 20 mL 培养基）	验证结果（CFU/g）	培养基、菌落感官评价
/	/	92	正常
TTB	0.10	19	培养基颜色正常；菌落形态异常，菌落小
	0.20	0	培养基颜色正常，无菌落生长
	0.30	0	
	0.40	0	
	0.50	0	
BS	0.10	83	正常
	0.30	0	培养基颜色正常，无菌落生长
	0.50	0	
	1.00	0	
	2.00	0	培养基颜色异常，无菌落生长
SC	0.10	92	正常
	0.15	78	
	0.20	58	
	0.25	37	培养基颜色正常；菌落形态异常，菌落小
	0.30	0	培养基颜色正常，无菌落生长
VRBA	0.25	97	正常
	0.50	82	
	1.00	72	
	2.00	71	培养基颜色正常；菌落形态异常，菌落小
	3.00	11	
孟加拉红	0.10	82	正常
	0.20	79	
	0.50	34	培养基颜色正常；菌落形态异常，菌落小
	1.00	0	培养基颜色正常，无菌落生长
	2.00	0	
XLD	0.50	68	培养基颜色正常；菌落形态异常，菌落小
	1.00	52	
	1.50	50	
	2.00	3	
	3.00	0	培养基颜色正常，无菌落生长

表 4 干扰物质对乳杆菌培养的影响

干扰物质	添加量（mL/ 约 20 mL 培养基）	验证结果（CFU/mL）	培养基、菌落感官评价
/	/	95	正常
TTB	0.10	107	正常
	0.20	79	
	0.30	79	
	0.40	0	培养基颜色正常，无菌落生长
	0.50	0	
BS	0.10	107	正常
	0.30	98	
	0.50	115	
	1.00	50	培养基颜色异常，菌落正常
	2.00	0	培养基颜色异常，无菌落生长
SC	0.10	0	培养基颜色异常，无菌落生长
	0.15	0	
	0.20	0	
	0.25	0	
	0.30	0	
VRBA	0.25	118	正常
	0.50	98	
	1.00	97	培养基颜色异常，菌落正常
	2.00	110	
	3.00	106	
孟加拉红	0.10	110	正常
	0.20	99	
	0.50	28	培养基颜色正常；菌落形态异常，菌落小
	1.00	0	培养基颜色正常，无菌落生长
	2.00	0	
XLD	0.50	115	正常
	1.00	92	
	1.50	97	
	2.00	107	培养基颜色正常；菌落形态异常，长满小菌落
	3.00	112	

中国乳业线上阅读

添加TTB对MC琼脂培养基感官影响不大，低添加量对嗜热链球菌产生明显影响，0.1 mL即导致验证结果偏小，菌落形态受影响；添加量继续升高至0.2 mL以及上时，嗜热链球菌检测数量降为0。BS添加量0.1 mL时，对嗜热链球菌干扰不明显；继续增大BS添加量，嗜热链球菌检测数量急剧减少；添加量0.3 mL时，嗜热链球菌菌落数量降至0；低添加量对培养基感官无影响，添加量2 mL时，培养基颜色异常。SC、VRBA、孟加拉红培养基和XLD添加对培养基感官影响不大，随着添加量升高，嗜热链球菌检出量降低。SC添加量0.25 mL时，培养基颜色正常，但菌落形态异常，菌落数量减少明显、形成菌落偏小；添加量0.3 mL时，嗜热链球菌无法检出。VRBA添加量2 mL时，培养基颜色正常，但菌落形态异常，菌落偏小；添加量3 mL时仍可检出，但数量下降明显。孟加拉红添加量0.1～0.2 mL时，嗜热链球菌数量略微下降；继续增大添加量，嗜热链球菌数量减少；添加量0.5 mL时，培养基颜色正常，嗜热链球菌总数明显偏少，菌落形态异常偏小；添加量1 mL时，检出量为0。XLD低添加量即造成菌落形态偏小，添加量2 mL时，嗜热链球菌数量接近0。

表4为干扰物质对乳杆菌培养的影响。添加TTB对MRS琼脂培养基感官影响不大，低添加量对乳杆菌影响不明显；添加量增至0.4 mL时，乳杆菌检测数量降为0。BS添加量1 mL时，对乳杆菌干扰明显，培养基颜色异常。SC低添加量即对乳杆菌产生影响，导致乳杆菌无法检出，培养基颜色明显变化。VRBA添加对乳杆菌数量无明显影响，但添加量1 mL以上时培养基颜色异常。孟加拉红对培养基颜色无影响，但添加量0.5 mL时对乳杆菌数量、菌落形态影响明显。XLD对培养基颜色、乳杆菌数量影响不大，但导致菌落变小等形态异常。

各干扰成分对乳酸菌总数的影响如图1所示。双歧杆菌受孟加拉红培养基、BS培养基影响最大，其次是SC培养基、TTB培养基和XLD培养基，VRBA培养基影响最小。嗜热链球菌主要受TTB培养基影响最大，BS和SC培养基影响次之，孟加拉红培养基、XLD培养基和VRBA培养基影响依次减弱。乳杆菌受SC培养基影响最大，其次为TTB培养基、孟加拉红培养基、BS培养基，VRBA培养基和XLD培

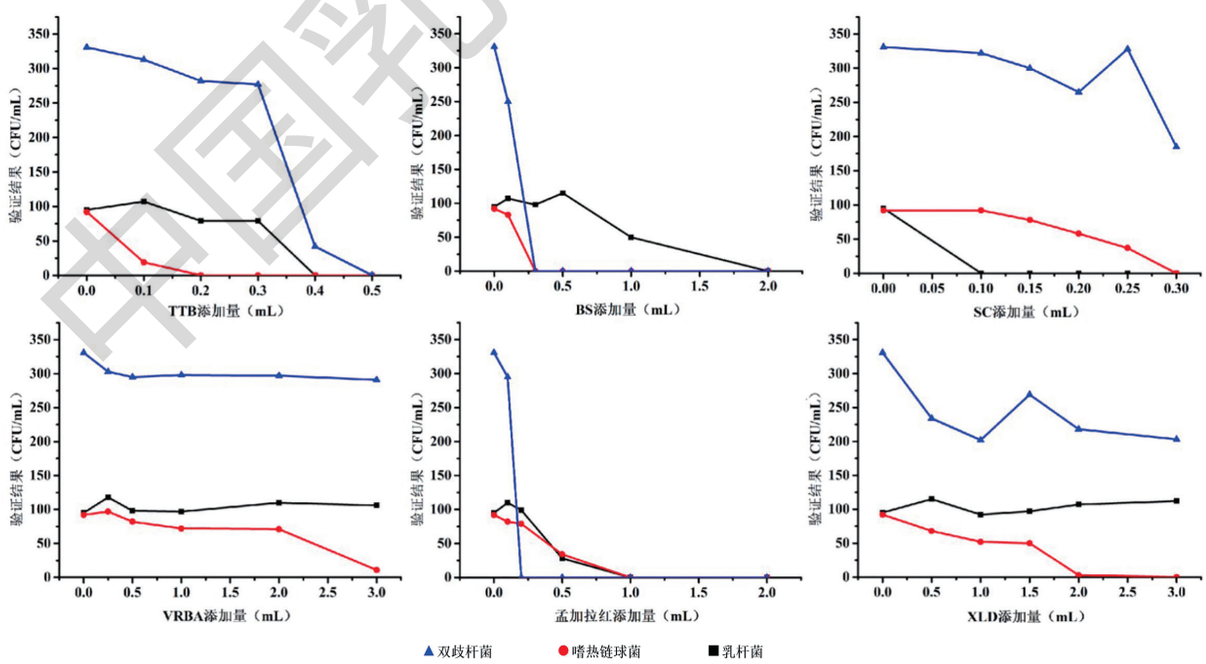


图 1 各干扰成分对乳酸菌总数的影响

中国乳业线上阅读

养基对乳杆菌影响最小。

3 结论

综上所述，研究以TTB、BS、SC、VRBA、孟加拉红、XLD作为干扰物质，以双歧杆菌、嗜热链球菌、乳杆菌为研究对象，探究各干扰物质对培养基感官状态以及乳酸菌生长的影响。结果表明，双歧杆菌受孟加拉红培养基、BS培养基影响最大，VRBA培养基影响最小。嗜热链球菌受TTB培养基影响最大，VRBA培养基影响最小。乳杆菌受SC培养基影响最大，VRBA培养基、XLD培养基对乳杆菌影响最小。MRS琼脂培养基感官受SC培养基成分影响最大，改良MRS琼脂培养基受SC培养基影响最大，MC琼脂培养基主要受高添加量BS培养基影响。目前包括国标在内各检测方法对乳酸菌结果是否异常未明确定义，本研究结果对通过感官指标判断乳酸菌培养状态提供依据，为乳酸菌检测结果异常分析及国家标准完善提供参考，对保证乳酸菌检测结果准确有指导意义。

参考文献

[1] 徐家菊，刘丽娜，杜仁鹏，等.乳酸菌合生元的研究进展[J].食品工业科技，2022，43（10）：458–465.

[2] 秦文飞，宋馨，夏永军，等.乳酸菌在肠道定植的影响因素及研究方法[J].食品科学，2021，42（23）：275–283.

[3] 王晨波.常用食品防腐剂以及酸性条件对乳酸菌的影响[J].化学与生物工程，2014，31（6）：67–69.

[4] 周莉，平洋，谭静，等.益生菌中乳酸菌概况及检测技术的研究进展[J].中国调味品，2019，44（10）：190–194.

[5] 宋洪宁，曾山，刘雪娇，等.常见饲用乳酸菌益生作用机理及应用[J].中国饲料，2023（9）：63–71.

[6] 许鑫，孟昆，蔡红英，等.乳酸菌在猪生产中的应用研究进展[J].中国农业科技导报，2023，25（2）：19–26.

[7] Xia L，Qian M，Cheng F，et al.The effect of lactic acid bacteria on lipid metabolism and flavor of fermented sausages[J].Food Bioscience，2023，56：103172.

[8] 韩雪冰，元香南，方俊，等.乳酸菌维持动物肠道健康的研究进展[J].中国科学：生命科学，2023，53（4）：464–479.

[9] Li Y，Liu G，Liao N，et al.Construction of walnut protein/tea polyphenol/alginate complex for enhancing heat and gastrointestinal tolerance of lactic acid bacteria[J].Food Hydrocolloids，2024，149：109523.

[10] 谢九艳，赵婷，高逸，等.发酵乳中乳酸菌的选择性计数及分离鉴定[J].食品与发酵工业，2022，48（10）：35–41.

[11] Jin H，Ma T，Chen L，et al.The iLABdb：A web–based integrated lactic acid bacteria database[J].Science Bulletin，2023，68（21）：2527–2530.

[12] Roberts A，Barrangou R.Applications of CRISPR–Cas systems in lactic acid bacteria[J].FEMS Microbiology Reviews，2020，44（5）：523–537.

[13] Nemati V，Hashempour–Baltork F，Mirza Alizadeh A，et al.Production of traditional torba yogurt using lactic acid bacteria isolated from fermented vegetables：Microbiological，physicochemical and sensory properties[J].Journal of Agriculture and Food Research，2023，14：100850.

[14] Murindangabo Y T，Kopecký M，Pernú K，et al.Prominent use of lactic acid bacteria in soil–plant systems [J].Applied Soil Ecology，2023，189：104955.

[15] 刘敏，崔金娜，刘占英.乳酸菌生物发酵饲料研究进展[J].中国饲料，2023（9）：131–135.

[16] 何进，徐思杨，刘波，等.乳酸菌在农业和食品加工中的应用研究进展[J].微生物学杂志，2022，42（4）：1–11.

[17] Mgomi F C，Yang Y R，Cheng G，et al.Lactic acid bacteria biofilms and their antimicrobial potential against pathogenic microorganisms[J].Biofilm，2023，5：100118.

[18] 姜云芸，张健，杨贞耐.益生乳酸菌在乳制品中的应用研究进展[J].食品安全质量检测学报，2017，8（3）：808–813.

[19] 邓代君.益生乳酸菌在乳制品中的应用分析[J].食品安全导刊，2017（15）：123.

[20] GB 19302—2010.食品安全国家标准 发酵乳[S].

[21] GB 7101—2022.食品安全国家标准 饮料[S].

[22] GB 4789.35—2023.食品安全国家标准 食品微生物学检验 乳酸菌检验[S].

The Influence of Common Medium Components in Laboratory on the Detection of *Lactic Acid Bacteria*

SHI Beibei[1]，XU Jiayin[1]，WANG Lianfeng[1]，MENG Qinghong[1]，ZHU Minge[1]，WANG Dan[2]，LI Canguo[1*]

下转91页

中国乳业线上阅读

Analysis of Common Problems and Compliance Measures in Nutrition Label of Prepackaged Food ––Taking Dairy Products as Examples

HU Shiqi[1, 2], WANG Yali[1, 2], LI Qiming[1, 2], LIU Rongmei[1, 2], WEI Fengran[1, 2]

[1]Science and Technology Research Institute, New Hope Dairy Co., Ltd., Chengdu Sichuan 610063

[2]Dairy Nutrition and Function Key Laboratory of Sichuan Province, Chengdu Sichuan 610063

Abstract: Nutrition label of prepackaged food is important instructions for food nutrition information in prepackaged food label, which is of great significance to guide consumers to choose products reasonably. Dairy products are rich in nutrients, and it is more important to correctly label their nutritional information. Due to inadequate understanding or deviation of relevant standards by food production enterprises, there may be errors or defects in the labeling of nutrition information. This article takes dairy products as an example to summarize common problems in nutrition label of prepackaged food, propose correct label methods and compliance measures, and provide reference for dairy and food production enterprises.

Keywords: nutrition label of prepackaged food; dairy product; problem

▲上接85页

[1]Inspection and Management Office, Mengniu Dairy Tai'an Co., Ltd., Tai'an Shandong 271000

[2]Quality Inspection Department, Inner Mongolia Mengniu Dairy (Group) Co., Ltd., Hohhot Inner Mongolia 010000

Abstract: [Objective] *Lactic acid bacteria* are of great significance in promoting human health. As good carriers, fermented milk and live *lactic acid bacteria* beverage are important sources of lactobacillus supplementation for human body. The national standards clearly specifies the quantity of *lactic acid bacteria* in fermented milk and live probiotic beverages, so it is important to ensure the accuracy of detection results. [Method] Common laboratory medium are selected as the interference components, and the effects of various interfering components on *lactic acid bacteria* culture media and national standard test results are explored through artificial addition.[Result] The total number of bifidobacterium is the most affected by rose Bengal medium and BS medium, and the least affected by VRBA medium. The total number of *Streptococcus thermophilus* is the most affected by TTB medium and the least affected by VRBA medium. The total number of *Lactobacillus* is most affected by SC medium, VRBA medium and XLD medium have the least effect on *Lactobacillus*. MRS AGAR medium is most affected by SC medium composition, modified MRS AGAR medium is most affected by SC medium, MC AGAR medium is mainly affected by high supplemental BS medium. [Conclusion] The results provided a basis for judging the culture status of *lactic acid bacteria* through the medium, colony sense and colony number changes, and provided a reference for the abnormal analysis of *lactic acid bacteria* detection results, and have certain guiding significance for ensuring the accuracy of *lactic acid bacteria* detection results.

Keywords: *lactic acid bacteria*; total number of *lactic acid bacteria*; cross contamination

中国乳业线上阅读