

不同厂家MRS培养基质量比较

何志毅^{1,2*}, 李泽康¹, 卢勉飞^{1,2}, 蔡芷荷^{1,2}, 吴清平^{3#}, 徐环¹

¹广东环凯微生物科技有限公司, 广东 广州

²广东环凯生物科技有限公司, 广东 肇庆

³广东省微生物研究所, 广东 广州

收稿日期: 2021年8月26日; 录用日期: 2021年9月22日; 发布日期: 2021年9月29日

摘要

目的: 比较不同厂家的MRS培养基和莫匹罗星锂盐改良的MRS培养基的质量。方法: 分别对三个厂家的MRS培养基和莫匹罗星锂盐改良的MRS培养基的理化特性、菌株的生长能力及抑菌能力进行测试。结果: 三个厂家的MRS培养基、莫匹罗星锂盐改良的MRS培养基的pH值差异不大。在生长能力方面, 各测试菌株均能在厂家I和II的两种培养基上正常生长。但是对于厂家III, 在MRS培养基上嗜酸乳杆菌As1.1878在48 h内不能生长, 三个厂家的生长菌落数(除乳双歧杆菌ATCC11804外)的差异具有统计学意义($P < 0.05$); 在改良MRS培养基上, 有两株双歧杆菌48 h不能生长, 生物学效果差异有显著性($P < 0.05$)。在菌落大小方面, 厂家I优于厂家II和厂家III。在抑菌能力方面, 三个厂家的改良MRS培养基性能相当。结论: 综合考虑测试的结果, 厂家I的培养基质量优于厂家II和厂家III。

关键词

MRS培养基, 乳酸菌, 质量比较

Comparison Study on Quality of MRS Agar from Different Manufacturers

Zhiyi He^{1,2*}, Zekang Li¹, Mianfei Lu^{1,2}, Zhihe Cai^{1,2}, Qingping Wu^{3#}, Huan Xu¹

¹Guangdong Huankai Microbial Sci & Tech. Co. Ltd., Guangzhou Guangdong

²Guangdong Huankai Biologic Sci & Tech. Co. Ltd., Zhaoqing Guangdong

³Guangdong Institute of Microbiology, Guangzhou Guangdong

Received: Aug. 26th, 2021; accepted: Sep. 22nd, 2021; published: Sep. 29th, 2021

*第一作者。

#通讯作者。

文章引用: 何志毅, 李泽康, 卢勉飞, 蔡芷荷, 吴清平, 徐环. 不同厂家 MRS 培养基质量比较[J]. 食品与营养科学, 2021, 10(4): 282-287. DOI: 10.12677/hjfn.2021.104032

Abstract

Object: To compare the quality of MRS medium and mupiroxacin lithium modified MRS medium from different manufacturers. **Methods:** Testing the chemical properties, growth ability and selectivity of MRS medium and mupiroxacin lithium modified MRS medium. **Results:** There was no significant difference in the pH value of MRS medium and the modified MRS medium between the three manufacturers. In terms of growth ability, all tested strains could grow normally on two kinds of media of manufacturer I and II. However, for manufacturer III, *Lactobacillus acidophilus* As1.1878 could not grow within 48 hours on MRS medium, and the difference of colony count among the three manufacturers (except for *Bifidobacterium lactis* ATCC 118004) was statistically significant ($P < 0.05$); On the modified MRS medium, two *Bifidobacterium* strains could not grow for 48 hours, and the biological effects were significantly different ($P < 0.05$). The target colony size of manufacturer I is better than that of manufacturer II and III. In terms of selectivity, the performance of the modified MRS medium from the three manufacturers was comparable. **Conclusion:** Considering the test results, the quality of culture medium of manufacturer I is better than that of manufacturer II and III.

Keywords

MRS Medium, Lactic Acid Bacteria, Quality Comparison

Copyright © 2021 by author(s) and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY 4.0).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

1. 引言

乳酸菌是一类能利用发酵碳水化合物产生大量乳酸的细菌的统称。乳酸菌在自然界中分布广泛，主要分为乳杆菌属、链球菌属、明串珠菌属、双歧杆菌属和片球菌属。由于乳酸菌具有调节肠道菌群平衡、促进人体营养吸收、增强人体免疫力等益生作用，乳酸菌在食品发酵、医药等行业中应用越来越广泛[1][2]，而且有望在更多领域得到应用。目前对乳酸菌的检测出现了多种新型技术[3]，但大多沿用传统检测方法。因此选用一个合适的培养基非常重要。

MRS、莫匹罗星锂盐改良的 MRS 培养基(以下简称改良 MRS 培养基)是 GB4789.35-2016 中使用的分别检验乳酸菌、双歧杆菌的培养基[4]。MRS 是大多数工业发酵生产乳酸菌常用的基础培养基。由于不同种类的乳酸菌对营养的需求都不一样，国内对不同的乳酸菌的最佳生长因子已有大量的研究[5][6]。

由于每个厂家生产使用的原料不同，不同厂家的同一种培养基可能在感官、生物学上会存在差异。本研究通过对不同厂家来源的 MRS 培养基和改良 MRS 培养基的 pH 值、促生长能力以及抑菌能力进行质量评估，比较平板上多种乳酸菌的生物学差异，为广大检验工作者选择合适的培养基提供参考。

2. 材料与方法

2.1. 菌株及其来源

两歧双歧杆菌(*Bifidobacterium bifidum*) CICC6071、婴儿双歧杆菌(*B. infantis*) CICC6069、FC13644、乳双歧杆菌(*B. lactis*) FSCC 118004、德氏乳杆菌保加利亚亚种(*Lactobacillus delbrueckii*) CICC6032、

FC13657、FC13658、嗜热链球菌(*Streptococcus thermophilus*) IFFI 6038、嗜酸乳杆菌(*L. acidophilus*) As 1.1878、鼠李糖乳杆菌(*L. rhamnosus*) ATCC7469、植物乳杆菌(*L. plantarum*) ATCC8014。以上菌株均来自广东省食品微生物安全工程研究中心。

2.2. 仪器与试剂

WASP2 全自动螺旋接种仪(英国 Don Whitley 公司); Smartcounter 自动菌落计数仪(广东环凯微生物科技有限公司); DNP-9272 型恒温培养箱(广东环凯微生物科技有限公司);

培养基: MRS 培养基、改良 MRS 培养基分别来源于厂家 I(本实验室)、国内其它品牌: 厂家 II、厂家 III。

2.3. 方法

2.3.1. 培养基制备和 pH 值测定

MRS 琼脂、改良 MRS 培养基的配制均按生产厂家说明书进行, 制备成平板备用, 同时在 25℃ 恒温使用平头凝胶电极测定各培养基的 pH 值。使用前置于 20℃~50℃ 培养箱中, 直至培养基表面的水滴消失。

2.3.2. 目标菌生长情况及特征测试

将选用的目标菌的新鲜培养物制成一定浓度的菌悬液, 用全自动螺旋接种仪螺旋接种于 3 个厂家的 MRS 和改良 MRS 平板上, 于 37℃, 厌氧培养 72 ± 2 h, 计数并测量各株菌在 3 个厂家 MRS、改良 MRS 上的生长情况及菌落直径, 每个平板进行 3 个重复, 并进行统计。

2.3.3. 选择性试验

将非目标菌采用已验证的 MRS 平板复苏, 37℃ 培养 48 h 后, 分别用接种环挑取一环, 加入到 30 ml 8.5 g/L 生理盐水中配成原液($n \times 10^8$ cfu/ml), 分别用 1 μ L 接种环取选择性测试工作菌悬液 1 环, 在待测改良 MRS 培养基及对照 MRS 平板表面划六条平行直线(如图 1), 同时接种三个平板。37℃ 培养约 48 h。培养后按以下方法对培养基计算生长指数 G。每条有比较稠密菌落生长的划线则 G 为 1, 每个培养皿上最多为 6。如果仅一半的线有菌落生长, 则 G 为 0.5。如果划线上没有菌落生长或生长量少于划线的一半, 则 G 为 0。记录每个平板的得分总和便得到 G。选择性抑制菌在待测培养基上生长指数 G 应小于 1。

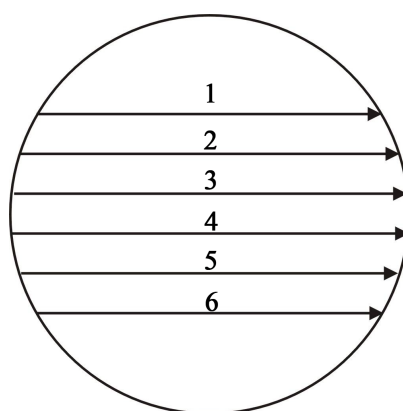


Figure 1. Inoculation pattern of non target bacteria by semi-quantitative scribing method
图 1. 非目标菌半定量划线法接种模式图

2.3.4. 数据分析方法

数据分析采用 SPSS18.0 软件, 以 $P < 0.05$ 表示差异有统计学意义。

3. 结果

3.1. MRS 培养基 pH 值比较

在 GB 4789.35-2016 中给出了 MRS 培养基的配方,其中规定了 MRS 培养基 pH 值的范围为 6.2 ± 0.2 。三个厂家培养基的 pH 值(25°C)如表 1 所示,测试结果显示三个厂家培养基的 pH 均在合格范围内。

Table 1. pH value of test medium (25°C)

表 1. 测试培养基 pH 值(25°C)

培养基	标准值	厂家 I	厂家 II	厂家 III
MRS 培养基	6.20 ± 0.2	6.23 ± 0.01	6.25 ± 0.02	6.18 ± 0.01
改良 MRS 培养基	6.20 ± 0.2	6.22 ± 0.01	6.24 ± 0.01	6.16 ± 0.01

3.2. MRS 培养基生长情况比较

三个厂家的 MRS 培养基对不同乳酸菌的生长菌落数与菌落大小如表 2、表 3 所示。结果显示三个厂家的 MRS 培养基生长菌落数(除乳双歧杆菌 FSCC 118004)的差异有统计学意义($P < 0.05$)。大多数目标菌在厂家 I 的 MRS 培养基上比厂家 II 和 III 的更大,有利于菌落计数。厂家 III 的 MRS 培养基上的嗜酸乳杆菌 As 1.1878 在 48 h 内不能生长,有 5 株乳酸菌的菌落较小。

Table 2. The colony number of the tested strains on MRS agar for 48 h

表 2. 测试菌株在 MRS 琼脂上 48 h 的菌落数

菌株	厂家 I	厂家 II	厂家 III	P
婴儿双歧杆菌 CICC6069	74 ± 3.6	67 ± 1	62 ± 4.2	0.002
两歧双歧杆菌 CICC6071	37 ± 1.0	43 ± 0.4	41 ± 4.0	0.028
乳双歧杆菌 FSCC 118004	43 ± 2.4	45 ± 3.6	42.3 ± 3.2	0.422
德氏乳杆菌保加利亚亚种 CICC 6032	47 ± 3.6	39.3 ± 3.6	49 ± 3.6	0.039
德氏乳杆菌保加利亚亚种 FC13657	58.7 ± 3.2	44 ± 3.6	46 ± 4.8	0.004
德氏乳杆菌保加利亚亚种 FC13658	77 ± 3.6	82 ± 1.0	52 ± 3.6	0.003
嗜热链球菌 IFFI 6038	118 ± 5.0	87.3 ± 3.6	113 ± 3.6	0.000
嗜酸乳杆菌 As 1.1878	29.7 ± 1.0	28 ± 3.6	0 ± 0.0	0.000
鼠李糖乳杆菌 ATCC 7469	45 ± 2.7	33.3 ± 3.0	47 ± 1.0	0.001
植物乳杆菌 ATCC 8014	68 ± 1.2	66 ± 0.8	62 ± 3.6	0.020

Table 3. The colony diameter of the tested strains on the MRS agar for 48 h

表 3. 测试菌株在 MRS 琼脂上 48 h 的菌落大小

菌株	菌落直径(mm)			菌落大小比较
	厂家 I	厂家 II	厂家 III	
婴儿双歧杆菌 CICC6069	1.32 ± 0.06	1.22 ± 0.03	0.95 ± 0.02	厂家 I \geq 厂家 II $>$ 厂家 III
两歧双歧杆菌 CICC6071	0.44 ± 0.02	0.31 ± 0.02	0.27 ± 0.01	厂家 I \geq 厂家 II \geq 厂家 III
乳双歧杆菌 FSCC 118004	1.22 ± 0.03	1.20 ± 0.05	1.27 ± 0.03	厂家 I \approx 厂家 II \approx 厂家 III
德氏乳杆菌保加利亚亚种 CICC 6032	2.20 ± 0.07	1.78 ± 0.05	2.16 ± 0.06	厂家 I \approx 厂家 III $>$ 厂家 II

Continued

德氏乳杆菌保加利亚亚种 FC13657	1.41 ± 0.03	0.95 ± 0.02	0.98 ± 0.03	厂家 I > 厂家 II ≈ 厂家 III
德氏乳杆菌保加利亚亚种 FC13658	1.27 ± 0.06	1.10 ± 0.04	0.99 ± 0.04	厂家 I ≥ 厂家 II ≥ 厂家 III
嗜热链球菌 IFFI 6038	1.06 ± 0.02	1.09 ± 0.03	0.92 ± 0.02	厂家 I ≈ 厂家 II > 厂家 III
嗜酸乳杆菌 As 1.1878	1.42 ± 0.07	1.20 ± 0.08	0	厂家 I > 厂家 II
鼠李糖乳杆菌 ATCC 7469	3.41 ± 0.08	2.81 ± 0.06	2.80 ± 0.08	厂家 I > 厂家 II ≈ 厂家 III
植物乳杆菌 ATCC 8014	0.86 ± 0.02	0.83 ± 0.01	0.85 ± 0.02	厂家 I ≈ 厂家 II ≈ 厂家 III

三个厂家的改良 MRS 培养基对不同双歧杆菌的生长菌落数如表 4 所示。厂家 III 的改良 MRS 上有两株双歧杆菌 48 h 不能生长，三个厂家培养基的生物学效果差异有显著性($P < 0.05$)。

Table 4. The colony number of the tested strains on the modified MRS agar for 48 h
表 4. 测试菌株在改良 MRS 琼脂上 48 h 的菌落数

菌株	厂家 I	厂家 II	厂家 III	P
婴儿双歧杆菌 CICC6069	148 ± 6.2	138 ± 2.2	0 ± 0.0	0.000
两歧双歧杆菌 CICC6071	126 ± 2.4	118 ± 3.6	0 ± 0.0	0.000
乳双歧杆菌 FSCC 118004	86 ± 1.2	80 ± 1.4	87 ± 3.4	0.005

3.3. 抑菌能力比较

三个厂家的改良 MRS 培养基对 7 株非目标菌的抑菌能力结果如表 5 所示，三个厂家的改良 MRS 培养基都能抑制所选的非目标菌($G \leq 1$)，三个厂家的培养基抑菌能力相当。

Table 5. The selectivity of tested strains on modified MRS agar
表 5. 测试菌株在改良 MRS 琼脂上的选择性(G)

菌株	厂家 I	厂家 II	厂家 III
德氏乳杆菌保加利亚亚种 CICC 6032	0	0	0
德氏乳杆菌保加利亚亚种 FC13657	0	0	0
德氏乳杆菌保加利亚亚种 FC13658	0	0	0
嗜热链球菌 IFFI 6038	0	0	0
嗜酸乳杆菌 As 1.1878	0	0	0
鼠李糖乳杆菌 ATCC 7469	0	0	0
植物乳杆菌 ATCC 8014	0	0	0
总株数	7	7	7
可抑制的株数	7	7	7
抑菌率(%)	100%	100%	100%

4. 讨论

培养基的质量直接影响了实验结果，实验室不得使用不符合要求的培养基[7]。培养基的质量包括了感官、理化及生物学等方面。感官的好坏会影响对实验结果的评定。理化包括了培养基的水分、凝胶强

度、pH 值等方面。通常在培养基配制后都需要烘干后备用，水分含量取决于平板烘干时间。只要保持平板的烘干时间在合适的范围内，水分对培养基的影响不大；凝胶强度则取决于各厂家添加的凝固剂用量，通常培养基厂家都会把凝胶强度控制在合适的范围内；pH 值对于部分微生物的生长影响较大。在配制过程中，所使用干粉的保存状态，灭菌时间与灭菌后的保温时间等，都会对 pH 值产生较大影响。因此在培养基配制过程中，需严格按照各厂家的配制方法进行配制[8]。在本实验中，三个厂家的 MRS 平板的 pH 值都在标准要求的范围内，符合要求。

由于不同厂家使用的培养基原料来源不同，导致培养基的生物学效果出现细微的差异。实验中发现厂家 III 的嗜酸乳杆菌 As 1.1878 不能生长，部分乳酸菌的菌落也较小，可能会对后续实验造成影响。厂家 I 和厂家 II 的目标菌生长菌落数相当，但厂家 I 的菌落大小均大于或等于厂家 II，有利于目标菌的计数或培养。

改良的 MRS 培养基中，莫匹罗星锂盐可抑制大部分非双歧杆菌乳酸菌的生长。但用量过大时，也会对双歧杆菌的生长产生一定的抑制作用。蔡芷荷等[9]研究表明，莫匹罗星锂盐添加量为 5~7.5 mg/L 时，不同的双歧杆菌菌株均生长良好。对于非目标菌，莫匹罗星锂盐为 5 mg/L 时，对嗜酸乳杆菌、嗜热链球菌等非目标菌抑制良好。半胱氨酸盐酸盐是抗氧化剂，可以去除培养基中残存的氧，对于严格厌氧的双歧杆菌生长起到促进作用。本研究也发现添加了半胱氨酸盐酸盐的改良 MRS 相比无半胱氨酸盐酸盐的 MRS 培养基，双歧杆菌菌株的生长会更优。三个厂家的改良 MRS 都能抑制所选的非目标菌，符合 GB4789.28-2013 中对选择性培养基的要求($G \leq 1$) [10]。但厂家 III 有两株目标菌不能生长，可能与其配套试剂中的莫匹罗星锂盐用量较大有关。

5. 结论

综上所述，厂家 I 的 MRS 和改良 MRS 培养基的目标菌生长情况总体上优于厂家 II 和厂家 III，对非目标菌的抑制能力三个厂家的性能相当。由于本次研究所选用的菌株有限，如需对这两款培养基进行更全面的评价，后续还需使用更多不同种类的乳酸菌或实际样品来验证。当购买某一种培养基或换用培养基的厂家时，对购买的培养基进行适用性检查，有利于保证实验的准确性。

基金项目

国家重点研发计划(2018YFC1604201)；肇庆市引进西江创新团队项目(肇人才领 2018-8)。

参考文献

- [1] 唐贤华, 张崇军, 隋明. 乳酸菌在食品发酵中的应用综述[J]. 粮食与食品工业, 2018, 25(6): 44-46+50.
- [2] 王立芳. 乳酸菌的益生特性及应用研究进展[J]. 农产品加工, 2019(6): 86-88.
- [3] 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.
- [4] 食品安全国家标准食品微生物学检验——乳酸菌检验 GB4789.35-2016 [M]. 北京: 中国标准出版社, 2013: 1-8.
- [5] 王月因. 保加利亚乳杆菌增殖培养基的优化研究[J]. 农产品加工, 2016(5): 7-10+15.
- [6] 于亭, 王振雷. 双歧杆菌 MRS 培养基优化研究[J]. 现代食品, 2019(22): 151-154.
- [7] 陈润生, 郭维植, 周天喜, 等. 微生物培养基实验室质量控制的重要性[J]. 海峡预防医学杂志, 2006, 12(1): 69-70.
- [8] 刘春梅, 蔡芷荷, 吴清平, 等. 食品卫生微生物检验中培养基的质量控制[J]. 中国卫生检验杂志, 2007, 17(4): 700-701.
- [9] 蔡芷荷, 宋曼丹, 周蔼怡, 等. 莫匹罗星锂盐改良 MRS 检测双歧杆菌的应用研究[J]. 中国卫生检验杂志, 2011, 21(6): 1409-1412.
- [10] 食品安全国家标准食品微生物学检验——培养基和试剂的质量要求 GB4789.28-2013 [M]. 北京: 中国标准出版社, 2013: 1-51.