

不同温度灭菌对培养基中糖类影响的初步试验

季盛勋 邱宜华
(济宁市卫生防疫站, 济宁)

糖类为许多细菌培养基中不可缺少的成分, 对多种细菌的生化反应试验具有重要的意义, 但灭菌时温度过高或时间过长对某些糖具有破坏作用, 这点已被许多研究者所证实。据彭海卿氏引证 P. Himmel Farb 等报告, 0.1%葡萄糖溶液经 121℃ 灭菌 15 分钟, 竟降解 49.5%^[1,2]。但不同时间对糖类特别是对国产糖类破坏程度以及对细菌生化反应的影响究竟怎样, 文献却见的不多; 一般书籍介绍多为低温间歇灭菌法, 对设备较差的单位说来是个困难。为了寻求一种较为简便、实用、含糖培养基的灭菌法, 我们曾以五种国产糖和三种细菌菌种作了试验, 今将结果初步总结如下以供参考:

一、材料来源

葡萄糖 (3 级) 为北京红星化工厂产。

乳糖 (CP) 为上海新中化学试剂厂出品。
麦芽糖 (CP) 为北京化学试剂厂出品。
甘露醇 (BDH 分装) 上海市化学试剂公司批号 59-12-24。
蔗糖 (三级) 为国营上海试剂厂出品。
伤寒杆菌、痢疾杆菌、副大肠杆菌、大肠杆菌, 本室培养保存菌种, 经系统鉴定者。

二、试验方法

- 1. 将葡、乳、麦、甘、蔗五种糖先分别配成 10% 溶液。按蔡氏法配制成童汉氏 (donhanis) 发酵管及谢氏双糖。
- 2. 糖类测定方法用旋光法, 用上海光学仪器厂 WXG 型圆盘旋光仪, 结果见表 1。
- 3. 灭菌后的培养基性能观察, 按常规接种伤寒杆菌 36 株, 痢疾杆菌 13 株, 副大肠杆菌 14 株、

表 1 糖类在不同温度下的破坏情况

分 析 法	糖 类	灭 菌 方 法							
		15 磅 (121℃)		10—12 磅 (115.6—118℃)		8—10 磅 (113—115.6℃)		100℃	
		15 分 钟		20 分 钟		20 分 钟		30 分 钟	
		含量(%)	破坏(%)	含量(%)	破坏(%)	含量(%)	破坏(%)	含量(%)	破坏(%)
旋光法	葡萄糖	76	24	81.85	18.15	99.4	0.6	91.98	8.02
	乳 糖	67.9	32.1	85.7	14.3	95.27	4.73	81.9	18.1
	麦芽糖	83.96	16.04	84.68	15.32	86.54	13.46	78.84	21.26
	蔗 糖	87.68	12.32	97.74	2.26	98.65	1.35	96.25	3.65

注: 甘露醇旋光度与葡萄糖、麦芽糖、蔗糖不同, 未列入。

大肠杆菌 6 株。表 1 说明高温高压下 15 磅 121℃ 15 分钟, 葡萄糖被破坏 24%, 乳糖 32.1%, 麦芽糖 16.04%, 蔗糖 12.32%。低压 8—10 磅 113—118℃ 20 分钟和 100℃ 30 分钟, 葡萄糖破坏 8.02—18.15%; 乳糖 14.3%—18.1%; 麦芽糖 13.46—21.26%; 蔗糖 1.35—3.65%。以上结果, 不同温度下糖类有不同程度的破坏(降解)。

糖类在不同温度下灭菌, 对伤寒杆菌, 痢疾杆菌, 副大肠杆菌, 大肠杆菌生化反应每天观察一次, 7 天结果见表 2。

本文承山东省站及济宁专区站, 提供宝贵意见。旋光测定系济宁医学院化学教研组管素秋同志协助解决, 特此致谢。
本文 1965 年 5 月 6 日收到。

表 2 乳糖、蔗糖对伤寒杆菌、副大肠杆菌的发酵反应

菌 种	总 数	15 磅 (121℃) 15 分钟		10—12 磅 (115.6—118℃) 20 分钟		8—10 磅 (113—115.6℃) 20 分钟		对 照 100℃	
		乳糖	蔗糖	乳糖	蔗糖	乳糖	蔗糖	乳糖	蔗糖
伤寒杆菌	36	0	0	1	2	0	2	0	0
副大肠杆菌	14	2	0	0	0	0	0	0	0

表 2 说明 36 株伤寒杆菌在四种不同温度灭菌之糖类培养基中 10—12 磅压力下,发酵乳糖者 1 株,发酵蔗糖者 2 株;8—10 磅压力下,发酵蔗糖者 2 株,其余结果一致。14 株副大肠杆菌在 15 磅压力下灭菌,乳糖发酵者 2 株,其余 12 株对各种温度灭菌之乳、蔗糖均不发酵。

13 株痢疾杆菌,于不同温度下之糖类生化结果,福氏痢疾杆菌 4 株,宋耐氏 5 株,其他 4 株。葡萄糖产酸 13 株,甘露醇产酸 8 株,麦芽糖产酸 3 株,2 株缓慢,其余各株均不利用麦芽糖及甘露糖。13 株中无一株利用乳糖和蔗糖,四种不同温度灭菌发酵管,观察 7 天效果全都一致。以上各菌株在谢氏双糖上观察 7 天结果也完全一致。大肠杆菌 6 株均于 16—18 小时内产酸产气。

根据表 1,10% 糖经高压 15 磅 15 分钟、低压 8—10 磅 20 分钟与 100℃ 煮沸 30 分钟有不同程度的破坏,但较 0.1% 葡萄糖 49.5% 之降率^[1]相差较大,可能是我们所试之糖溶液浓度较大(10%)之故。从表 2 中看出,不同温度处理下的含糖培养基,虽然在糖的含量上有所降低,但经含量分析,和菌种生化反应实用后,初步观察影响不大。在制作糖类培养基时可以高压灭菌。

糖类灭菌 8—10 磅 20 分钟可以达到目的,糖于中性蒸馏水中虽然煮沸不至降解,但试管必须预先高压灭菌分装,更为妥善。

发酵管的制造是 12—15 磅 20 分钟灭菌,葡萄糖以蒸馏水配成 10% 浓度,高压 15 磅 15 分钟旋光法测定降解 24%。麦芽糖由于加热后变为黄色,旋光测定经过稀释降解 16.4%,而多糖分

解后成为两种旋光不同的糖,旋光测定结果可能有误差,尚待研究。

伤寒杆菌 36 株,副大肠杆菌 14 株,痢疾杆菌 13 株,大肠杆菌 6 株,五糖生化反应理论上所利用之糖均于 16—18 小时分解,不利用者 1—4 天变化全部一致,观察 7 天,只有极个别菌株例外。在谢氏双糖上致病菌株下层利用,上层 7 天无变化,大肠杆菌 16—18 小时上层产酸,下层产酸产气。

总之,糖类灭菌 8—10 磅 20 分钟可以达到消毒目的。但试管应先加塞灭菌,以免杂菌污染。

糖经加热部分降解,用于一般细菌生化反应,观察 4 天之结果,虽经 121℃ 15 分钟仍无影响,5—7 天 36 株伤寒杆菌,14 株副大肠杆菌中两株在 15 磅 15 分钟灭菌之乳糖发酵管中产酸。故工作量少,糖类灭菌可用随高压 12—15 磅 15—20 分钟以节约人力物力。多数单位糖的灭菌采用 100℃ 30 分钟,或 113℃—115.6℃ 20 分钟,一次灭菌多次使用,保存不妥有污染的可能。再次灭菌如蒸馏水偏酸或加温多次,促使糖的水解易造成错误结果,并不利于工作。

研究单位一般均用低温灭菌,糖的灭菌时间短,温度低有好处,但要确保灭菌。

参 考 文 献

- [1] 彭海卿:化学世界,5,213,1963。
- [2] 蔡宏道:实用临床检验学,三册,801、961。上海卫生出版社,1957。