

TÀI LIỆU KỸ THUẬT

DICHLORAN-GLYCEROL (DG 18) AGAR

ĐỊNH LƯỢNG NẤM MEN VÀ NẤM MỐC

1 MỤC ĐÍCH

Dichloran-glycerol (DG-18) agar được khuyến dùng để định lượng nấm men và nấm mốc phát triển trong các sản phẩm với hoạt độ nước thấp ($a_w < 0,95$). Môi trường cho thấy các ứng dụng cụ thể cho việc định lượng và phân lập nấm mốc xerophilic (được tìm thấy trong các sản phẩm khử nước hoặc cực kỳ khô như thực phẩm ngọt hoặc mặn, trái cây sấy khô, ngũ cốc, bánh ngọt và bánh quy, bột mì và thịt hoặc cá khô). Môi trường hỗ trợ cho sự tăng trưởng có kiểm soát kích thước và chiều rộng của khuẩn lạc nấm mốc và nấm men, vì thế đếm dễ dàng và chính xác hơn.

Thành phần điển hình của môi trường tương ứng với định nghĩa trong các tiêu chuẩn NF V08-036 & NF ISO 21527-2.

2 LỊCH SỬ

Thạch DG18 có nguồn gốc từ công thức được mô tả bởi Hocking và Pitt vào năm 1980 cho việc định lượng nấm mốc phát triển trong các sản phẩm có hàm lượng nước thấp. Năm 2001, Deak và cộng sự sử dụng một nghiên cứu so sánh để chứng minh rằng sự nuôi cấy *Brettanomyces anomalus*, *Cryptococcus albidus*, và *Rhodotorula mucilaginosa* đã giảm đáng kể hoặc thậm chí bị ức chế trên môi trường này. Ngược lại, các loại nấm men xerophilic như *Zygosaccharomyces rouxii* dễ dàng phát triển. Các nhà nghiên cứu kết luận rằng DG18 agar đặc biệt đáp ứng tốt với các sản phẩm có hàm lượng nước thấp và do đó không được xem là có những ứng dụng phổ biến cho việc định lượng một phạm vi rộng của việc nhiễm nấm men và nấm mốc trong tất cả các sản phẩm thực phẩm.

3 NGUYÊN TẮC

- Tryptone và glucose đảm bảo sự tăng trưởng của nấm men và nấm mốc.
- Nồng độ glycerol 18% làm hàm lượng nước giảm từ 0,999 đến 0,955.
- Dichloran ức chế sự xâm nhập của nấm mốc và làm giảm kích thước của các khuẩn lạc khác.
- Sự hiện diện của Chloramphenicol, một kháng kháng sinh chịu nhiệt, củng cố thêm sự chọn lọc của môi trường đối với phần lớn các chất gây ô nhiễm vi khuẩn.

4 THÀNH PHẦN

Có thể được điều chỉnh để có được hiệu suất tối ưu

Trong 1 lit môi trường:

- Tryptone 5,0 g

- Glucose	10,0 g
- Monopotassium phosphate.....	1,0 g
- Magnesium sulfate, H ₂ O	0,5 g
- Dichloran (dichloro-2,6-nitro-4-aniline).....	2,0 mg
- Chloramphenicol	0,1 g
- Glycerol	220,0 g
- Bacteriological agar.....	13,0 g

pH môi trường hoàn chỉnh ở 25 ° C: 5,6 ± 0,2

For 29,6 g of dehydrated base BK170

- Tryptone	5,0 g
- Glucose	10,0 g
- Monopotassium phosphate	1,0 g
- Magnesium sulfate, H ₂ O	0,5 g
- Dichloran (dichloro-2,6-nitro-4-aniline)	2,0 mg
- Chloramphenicol.....	0,1 g
- Bacteriological agar	13,0 g

Glycerol not included; must be added extemporaneously

For 1 liter of ready-to-melt (BM109)

- Tryptone	5,0 g
- Glucose	10,0 g
- Monopotassium phosphate	1,0 g
- Magnesium sulfate, H ₂ O	0,5 g
- Dichloran (dichloro-2,6-nitro-4-aniline).....	2,0 mg
- Chloramphenicol	0,1 g
- Glycerol	220,0 g
- Bacteriological agar.....	13,0 g

5 CHUẨN BỊ

- Hòa tan 29,6 g môi trường bột khô (BK170) trong 1 lit nước cất vô trùng hoặc nước khử ion.
- Thêm 220,0g glycerol
- Đun từ từ cho đến khi sôi, khuấy liên tục cho đến khi môi trường tan hoàn toàn.
- Phân vào các ống nghiệm hoặc lọ, 100 ml mỗi bình
- Hấp tiệt trùng ở 121°C trong 15 phút.
- Duy trì môi trường ở 44-47°C.

6 HƯỚNG DẪN SỬ DỤNG

Cấy đồ đĩa (NF V08-036)

- Chuyển 1ml mẫu cần phân tích và các mẫu đã pha loãng của nó vào đĩa petri đã tiệt trùng
- Đổ khoảng 15ml môi trường lỏng vào đĩa.
- Đồng nhất bằng cách xoay đều và để đông lại trên bề mặt phẳng
- Ủ trong 25±1 °C trong 5 ngày.

Cấy bề mặt (NF ISO 21527-2)

- Đổ môi trường vào đĩa Petri tiệt trùng.
- Làm khô các đĩa trong một tủ ẩm.
- Chuyển 0.1 mL mẫu cần phân tích và mẫu pha loãng của nó lên bề mặt của đĩa thạch
- Cấy mẫu bằng cách cấy ria trên bề mặt.
- Ủ các đĩa, đặt petri theo hướng nắp ở trên, ở 25 ± 1 °C trong 5 đến 7 ngày.

7 KẾT QUẢ

Đếm những đĩa có chứa dưới 150 khuẩn lạc hoặc tạo thành bào tử

8 KIỂM SOÁT CHẤT LƯỢNG

- Môi trường dạng bột: bột màu kem, chảy tự do, đồng nhất.
- Môi trường chuẩn bị sẵn: thạch màu vàng
- Phản ứng nuôi cấy đặc trưng của môi trường sau 5 ngày ủ ở 25 ° C (NF EN ISO 11133):

VI SINH VẬT	TĂNG TRƯỞNG (TỈ SUẤT: P _R)
<i>Saccharomyces cerevisiae</i> WDCM 00058	P _R ≥ 50%
<i>Wallemia sebi</i> WDCM 00182	P _R ≥ 50%
<i>Escherichia coli</i> WDCM 00013	ức chế
<i>Bacillus subtilis</i> ssp. <i>spizizenii</i> WDCM 00003	ức chế

9 BẢO QUẢN

Môi trường dạng bột (không có glycerol): 2-20 °C

Môi trường chuẩn bị sẵn ready-to-melt (không có glycerol), trong chai: 2-8 °C

- Hạn sử dụng được ghi trên nhãn.

Môi trường chuẩn bị sẵn trong lọ: 90 ngày ở 2-8 °C

Môi trường hoàn chỉnh đã được trong đĩa (*): 8 ngày ở 2-8 °C

(*): Giá trị chuẩn được xác định trong các điều kiện chuẩn bị tiêu chuẩn, theo hướng dẫn của nhà sản xuất.

10 ĐÓNG GÓI

Môi trường bột khô (không có Glycerol) :

Chai 500 g..... BK170HA

Môi trường pha sẵn ready-to-melt (có Glycerol) :

10 chai x 100ml BM10908

11 THAM KHẢO

Hocking, A.D., and Pitt, J.I. 1980. Dichloran-glycerol medium for enumeration of xerophilic fungi from low moisture foods. *App. Environ. Microbiol.*,39: 488-492.

Deak, T., Chen, J., Golden, D.A., Tapia, M.S., Tornai-Lehoczki, J., Viljoen, B. C., Wyder, M.T., and Beuchat, L.R. 2001. Comparison of dichloran 18% glycerol (DG18) agar with general purpose mycological media for enumerating food spoilage yeasts. *Inter. Jour. of Food Microb.* 67: 49-53.

NF V 08-036. Mai 2003. Microbiologie des aliments. Méthode horizontale pour le dénombrement des levures et moisissures se développant sur un milieu à faible aw.

NF ISO 21527-2. Novembre 2008. Microbiologie des Aliments. Méthode horizontale pour le dénombrement

des levures et des moisissures. Partie 2 : Technique par comptage des colonies dans les produits à activité d'eau inférieure ou égale à 0,95.

NF EN ISO 11133. Juillet 2014. Microbiologie des aliments, des aliments pour animaux et de l'eau. Préparation, production, stockage et essais de performance des milieux de culture.

12 THÔNG TIN BỔ SUNG

Thông tin được cung cấp trên nhãn được ưu tiên hơn so với các công thức hoặc hướng dẫn được mô tả trong tài liệu này và có thể dễ bị sửa đổi bất cứ lúc nào mà không cần cảnh báo.

Mã tài liệu: DG18_ENv9

Ngày tạo: 04-2003

Cập nhật: 03-2017

Nguyên nhân cập nhật: sửa đổi nhiệt độ bảo quản