



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 116676241 A

(43) 申请公布日 2023.09.01

(21) 申请号 202310960209.1

(22) 申请日 2023.08.02

(71) 申请人 四川好培养生物工程有限公司

地址 611630 四川省成都市蒲江县寿安镇
博世路555号19栋

(72) 发明人 王军

(74) 专利代理机构 成都明涛智创专利代理有限
公司 51289

专利代理师 赵子珩

(51) Int. Cl.

C12N 1/20 (2006.01)

权利要求书1页 说明书8页

(54) 发明名称

一种中药组合物提取液、细菌培养基

(57) 摘要

本发明公开了一种中药组合物提取液、细菌培养基,涉及医疗技术领域,其技术方案要点是:一种中药组合物提取液,所述中药组合物的提取液用于制作细菌培养基;所述中药组合物提取液采用水浸提取法提取;所述中药组合物包括如下质量份中药:芦荟280~320份、大麦苗180~230份、山药90~100份、薏苡仁80~110份、桑叶190~200份、地龙80~130份。达到提高细菌检出效率的目的。

1. 一种中药组合物提取液,其特征是,所述中药组合物的提取液用于制作细菌培养基;所述中药组合物提取液采用水浸提取法提取;所述中药组合物包括如下质量份中药:

芦荟280~320份、大麦苗180~230份、山药90~100份、薏苡仁80~110份、桑叶190~200份、地龙80~130份。

2. 根据权利要求1所述的一种中药组合物提取液,其特征是:所述中药组合物提取液包括如下生产步骤:

将中药进行粉碎;

按照中药组合物配方称取相应质量的中药进行混合;

在中药组合物中加入1~2倍体积水进行浸泡;

将浸泡后的中药组合物送入提取装置进行提取,获取提取液;

将提取液进行超滤除菌。

3. 根据权利要求2所述的一种中药组合物提取液,其特征是:中药组合物浸泡至少8小时;提取温度小于60摄氏度。

4. 一种细菌培养基,其特征是:所述细菌培养基包括琼脂和如权利要求3所述的中药组合物提取液;所述琼脂用量为中药组合物提取液质量的0.5%~2%。

5. 根据权利要求4所述的一种细菌培养基,其特征是,所述培养基制备方法如下:

取中药组合物提取液,加入0.5~2%质量分数的琼脂粉;加热使琼脂粉溶化,灭菌,将溶解后的混合液倒入无菌平皿,冷却固化后获得培养基平板。

6. 根据权利要求4所述的一种细菌培养基,其特征是:所述细菌培养基平板还包括添加无菌动物血的血平板或巧克力平板,所述动物血的用量为中药组合物提取液质量的5%~10%。

7. 根据权利要求6所述的一种细菌培养基,其特征是,所述培养基制备方法如下:

取中药组合物提取液,加入0.5~2%质量分数的琼脂粉溶化、灭菌,80℃或冷却到45℃加入5%~10%质量分数的无菌动物血;将溶解后的混合液倒入无菌平皿,冷却固化后获得营养培养基平板。

8. 根据权利要求4所述的一种细菌培养基,其特征是:所述细菌培养基用于厌氧菌的培养。

一种中药组合物提取液、细菌培养基

技术领域

[0001] 本发明涉及一种细菌培养技术,更具体地说,它涉及一种中药组合物提取液、细菌培养基。

背景技术

[0002] 细菌检测是一种常规的医疗检测手段,需要将人体标本放置于专用的培养基进行培养,使菌群增值方便对细菌类型进行检测。常用的需氧菌或兼性厌氧菌培养基有胰酪大豆胨。制作上述培养基时,需要分别对原材料进行处理后混合,原料获取不易,制作步骤较为繁琐,且每种成分提供的营养物质较为单一。例如,现有技术培养基使用的蛋白胨用于提供培养所需的氨基酸,其制作过程包括了糊化、糖化(发酵),酶解,过滤,杀菌等步骤。

发明内容

[0003] 第一方面,本发明提供一种中药组合物提取液,所述中药组合物的提取液用于制作细菌培养基;所述中药组合物提取液采用水浸提取法提取;所述中药组合物包括如下质量份中药:

芦荟280~320份、大麦苗180~230份、山药90~100份、薏苡仁80~110份、桑叶190~200份、地龙80~130份。

[0004] 芦荟:含75种元素,与细菌细胞所需物质几乎完全吻合

大麦苗:是营养物质含量最丰富、最均衡的单株物质,是营养细胞、修复细胞创伤的最佳物质

山药:含氨基酸类,如赖氨酸、甘氨酸、酪氨酸,维生素,如核黄素、烟酸、硫胺素、维生素C,蛋白质及多糖,微量元素锌、钡、铜、铁

薏苡仁:含多糖、脂肪、氨基酸、维生素B1

桑叶:含17种氨基酸,多种维生素

地龙:含多肽蛋白类、核黄素、维生素C、DNA、RNA,总还原糖、17种氨酸和11种无机元素(包括锌、铜、铁、硒、铬、锰、钙、钾、硅、砷、铅)

与现有技术相比,中药中的营养成分和矿物质更加丰富,与现有技术培养基所使用的原料相比,其营养成分丰富有利于细菌增殖。中药营养成分满足低耗、环保的培养基的生产需要。且中药在炮制时标准统一,使得不同产地之间的中药营养成分趋近于统一,满足标准化培养基的生产需要。

[0005] 进一步的,所述中药组合物提取液包括如下生产步骤:将中药进行粉碎;按照中药组合物配方称取相应质量的中药进行混合;在中药组合物中加入1~2倍体积水进行浸泡;将浸泡后的中药组合物送入提取装置进行提取,获取提取液;将提取液进行超滤除菌。

[0006] 进一步的,中药组合物浸泡至少8小时;提取温度小于60摄氏度。

[0007] 第二方面,本发明提供一种细菌培养基,所述细菌培养基包括琼脂和上述的中药组合物提取液;所述琼脂用量为中药组合物提取液质量的0.5%~2%。

[0008] 进一步的,所述培养基制备方法如下:取中药组合物提取液,加入0.5~2%质量分数的琼脂粉;加热使琼脂粉溶化,灭菌倒入无菌平皿,冷却固化后获得培养基。

[0009] 进一步的,所述细菌培养基还包括无菌动物血,所述无菌动物血的用量为中药组合物提取液质量的5%~10%。

[0010] 进一步的,所述培养基制备方法如下:取中药组合物提取液,加入0.5~2%质量分数的琼脂粉和/或5%~10%质量分数的无菌动物血;80℃加入无菌动物血分装,冷却固化后获得巧克力平板,45℃加入无菌动物血,分装,冷却固化后获得血平板培养基。

[0011] 进一步的,所述细菌培养基用于厌氧菌的培养。

[0012] 1、将中药组合物提取液作为营养成分用于细菌的培养,细菌检出时间优于现有技术。

[0013] 2、使用中药组合物提取液作为培养基的主要营养成分,其营养成分更加全面,有利于细菌培养。

[0014] 3、将中药组合物水浸提取,提取步骤简单,操作方便,有利于快速获得培养基所需的营养物质。

[0015] 4、中药组合物中的药材获取容易,成本低,中药炮制工艺耗能少,无废物排放,中药的营养成分稳定,使得中药组合物的配方相对稳定,满足培养技术要求,适用性好。

具体实施方式

[0016] 为了使本发明所要解决的技术问题、技术方案及有益效果更加清楚明白,以下实施例,对本发明进行进一步详细说明。

[0017] 首先,本实施例提供了一种采用水浸提取法制备中药组合物提取液的方法,包括如下步骤:

步骤1:将中药原材料整理好后,对原材料进行清洗。通过清洗可以洗去中药上附着的浮沉和污染物,便于在称量时控制中药的有效物质含量。

[0018] 根据中药的种类和特性可选如下清洗方式:

水洗法:将中药材放入清水中浸泡,然后用手轻轻搓洗或用水龙头冲洗,以去除表面的杂质和污染物。可以多次更换清水进行彻底清洗,特别是对于有泥土或较粘性的中药材。

[0019] 浸泡法:将中药材浸泡在清水中,时间根据中药材的特性和污染程度而定,通常为15分钟。浸泡过程中,定期搅拌或轻轻搓洗中药材,以促进污染物的溶解和脱落。并达到药材吸水溶胀的效果。

[0020] 砂浆研磨法:适用于坚硬的中药材,如根茎类或硬果类。将中药材放入砂浆中,加入少量水,用研钵和研杵研磨,使杂质和污染物脱离中药材表面。

[0021] 漂洗法:对于一些较小的中药材,如花瓣或叶片,可以使用漂洗法。将中药材放入细网袋中,浸泡在水中并轻轻摇晃,让杂质漂浮到水面,然后将水倒掉。

[0022] 步骤2:将原材料粉碎后,离心除去自由水。将中药原材料进行粉碎有助于提高中药材的表面积,便于后续提取。根据中药材的不同,粉碎的粒径控制在0.5~10毫米之间,方便后续的过滤操作。离心除去自由水,其目的避免水分影响中药计量。

[0023] 可选的粉碎方法如下:

辊式粉碎法:有利于浸提与渗滤工艺,避免粉尘污染环境。

[0024] 手工研磨:将中药材放入研钵中,使用研杵手工研磨,反复用力旋转和捣打,直至达到所需的粉碎程度。这种方法适用于少量中药材的粗粉碎,但需要一定的力量和耐力。

[0025] 机械研磨:使用粉碎机、研磨机或食品加工机等机械设备进行研磨。将中药材放入设备中,按照设备的操作指南进行操作,选择合适的设定参数和研磨时间,直至达到所需的粉碎程度。

[0026] 搅拌研磨:将中药材放入密闭容器中,添加适量的研磨介质(如球磨介质),通过搅拌装置进行搅拌研磨。这种方法适用于大批量的中药材粗粉碎,可以较为快速地达到一定的粉碎程度。

[0027] 步骤3:根据中药组合物的配方称取预处理好的中药,并进行混合,获得用于提取中药提取液的原料。

[0028] 步骤4:加入原料体积1.5倍纯水浸泡1小时。通过浸泡可以使原料充分吸收水份,便于有效成分析出。

[0029] 步骤5:对步骤4的混合物进行巴氏杀菌。

[0030] 步骤6:杀菌后,继续浸泡8小时。

[0031] 步骤7:将混合物送入提取装置,通过提取装置对中药组合物进行提取,获得中药组合物提取液。提取的温度小于60摄氏度。低温萃取可以防止中药材的有效成分被破坏,同时避免在高温下产生大量无效成分。

[0032] 步骤8:将中药组合物提取液进行超滤除菌,得到无菌的中药组合物提取液;在这一步同时除去沉淀和药渣。

[0033] 其次,本实施例提供了利用上述中药组合物提取液制作培养基的方法。常见的培养基及制备方法如下:

普通琼脂平板培养基:取上述中药组合物提取液,加入0.5~2%质量分数的琼脂粉,即每千克中药组合物提取液加入5~20克琼脂粉。加热使琼脂粉溶化,灭菌将溶解后的混合液倒入无菌平皿,冷却固化后获得普通琼脂平板培养基。

[0034] 巧克力或血琼脂平板培养基:取上述中药组合物提取液,加入0.5~2%质量分数的琼脂粉溶化、灭菌,再加入5%~10%质量分数的动物血。即每千克中药组合物提取液加入5~20克琼脂粉,溶化灭菌后,80℃或45℃加入50~100克无菌动物血液,倒入无菌平皿,冷却固化后获得巧克力琼脂平板培养基或血琼脂平板培养基。所述动物血为牛血、羊血、鸡血中的至少一种,其处理方式为本领域技术人员常规处理方式。

[0035] 选择性琼脂平板:在中药组合物提取液中加入抑制剂后,再制备平板。可以获得选择性琼脂平板培养基或选择性血琼脂平板培养基。

[0036] 液体培养基:将上述无菌中药组合物提取液,放入无菌培养瓶后杀菌,可以获得液体培养基。

[0037] 本实施例还提供了一种需氧菌/兼性厌氧菌培养基。采用本实施例所述的方法提取中药组合物提取液,并使用该中药组合物提取液制备培养基。

[0038] 所述用于制备需氧菌/兼性厌氧菌培养基中药组合物包括如下质量份中药:

松叶200~250份、全牡蛎210~240份、芦根240~280份、芡实100~150份、刺五加150~200份。

- [0039] 松叶:含多种氨基酸、胡萝卜素、维生素B1、B2、B6、C、E、K
全牡蛎:含多种糖、牛磺酸、微量元素、维生素
芦根:含蛋白质、维生素B1、B2、C、天冬酰胺、多糖及水溶性单糖类
芡实:含淀粉、蛋白质、脂肪、糖类、硫胺素、核黄素、尼克酸、胡萝卜素、维生素B1、B2、C、糖苷、微量元素磷、铁、钡、铝、铜
刺五加:含种糖苷、多糖、脂肪酸、绿原酸、抗氧化物。
- [0040] 本实施例还提供了一种厌氧菌培养基,采用本实施例所述的方法提取中药组合物提取液,并使用该中药组合物提取液制备培养基。
- [0041] 所述用于制备厌氧菌培养基中药组合物包括如下质量份中药:
芦荟280~320份、大麦苗180~230份、山药90~100份、薏苡仁80~110份、桑叶190~200份、地龙80~130份。
- [0042] 芦荟:含75种元素,与细菌细胞所需物质几乎完全吻合
大麦苗:是营养物质含量最丰富、最均衡的单株物质,是营养细胞、修复细胞创伤的最佳物质
山药:含氨基酸类,如赖氨酸、甘氨酸、酪氨酸,维生素,如核黄素、烟酸、硫胺素、维生素C,蛋白质及多糖,微量元素锌、钡、铜、铁
薏苡仁:含多糖、脂肪、氨基酸、维生素B1
桑叶:含17种氨基酸,多种维生素
地龙:含多肽蛋白类、核黄素、维生素C、DNA、RNA,总还原糖、17种氨酸和11种无机元素(包括锌、铜、铁、硒、铬、锰、钙、钾、硅、砷、铅)
为了验证本发明提供的中药组合物提取液制备的培养基,采用如下方法对培养基进行验证。
- [0043] 1、培养基验证依据
对照培养基:成分依据来源《中国药典2020版》1101无菌检查法,对比例1采用胰酪大豆胨液体培养基用于真菌和需氧菌的培养;对比例2硫乙醇酸盐流体培养基用于厌氧菌的培养。实施例依照相关要求制做成与对比例相同形态培养基。
- [0044] 验证方法:CNAS-GL028《临床微生物检验程序验证指南》4.4.1节
- 2、培养基验证使用仪器
全自动细菌培养仪
- 3、培养基验证使用测试菌株
需氧/兼性厌氧菌株:铜绿假单胞菌、鲍曼不动杆菌、无乳链球菌、大肠埃希氏菌、化脓性链球菌、金黄色葡萄球菌、粪肠球菌、沙门氏菌、肺炎克雷伯氏菌
厌氧菌株:产气荚膜梭菌、脆弱拟杆菌
真菌菌株:白色念珠菌、克柔念珠菌、近平滑念珠菌
苛氧菌株:流感嗜血杆菌、肺炎链球菌
- 4、培养基性能验证参数
检出菌株:需氧/兼性厌氧革兰阳性菌、需氧/兼性厌氧革兰阴性菌、苛养菌、真菌、专性厌氧菌等。
- [0045] 检出时间:72小时内呈现阳性。

- [0046] 验证指标:阳性检出率=仪器检出瓶数/总实验瓶数
结果及评价标准:根据CNAS-GL028 要求,3天时间应足以检测出至少95%的临床相关细菌,须具备苛养菌、真菌、厌氧菌等的检出能力。
- [0047] 实施例1~4为中药组合物提取液制备的需氧菌/兼性厌氧菌培养基;
实施例5~8为中药组合物提取液制备的厌氧菌培养基;
实施例1:
中药组合物包括如下质量份中药:
松叶240份、全牡蛎210份、芦根250份、芡实150份、刺五加150份。
- [0048] 实施例2:
所述中药组合物包括如下质量份中药:
松叶200份、全牡蛎220份、芦根240份、芡实100份、刺五加160份。
- [0049] 实施例3:
所述中药组合物包括如下质量份中药:
松叶230份、全牡蛎230份、芦根270份、芡实110份、刺五加180份。
- [0050] 实施例4:
所述中药组合物包括如下质量份中药:
松叶250份、全牡蛎240份、芦根280份、芡实150份、刺五加200份。
- [0051] 实施例5:
所述中药组合物包括如下质量份中药:
芦荟300份、大麦苗200份、山药100份、薏苡仁100份、桑叶200份、地龙100份。
- [0052] 实施例6:
所述中药组合物包括如下质量份中药:
芦荟280份、大麦苗180份、山药90份、薏苡仁80份、桑叶190份、地龙80份。
- [0053] 实施例7:
所述中药组合物包括如下质量份中药:
芦荟320份、大麦苗230份、山药100份、薏苡仁110份、桑叶200份、地龙130份。
- [0054] 实施例8:
所述中药组合物包括如下质量份中药:
芦荟290份、大麦苗210份、山药10份、薏苡仁90份、桑叶200份、地龙110份。
- [0055] 表1 验证结果汇总

菌株	培养基	检出时间	菌株	培养基	检出时间	菌株	培养基	检出时间
铜绿假单胞菌	实施例 1	14 小时 3 分	金黄色葡萄球菌	实施例 1	12 小时 8 分	白念珠菌	实施例 1	1 天 22 小时 3 分
	实施例 2	14 小时 1 分		实施例 2	12 小时 6 分		实施例 2	1 天 21 小时 19 分
	实施例 3	14 小时 12 分		实施例 3	12 小时 10 分		实施例 3	1 天 23 小时 13 分
	实施例 4	14 小时 8 分		实施例 4	12 小时 8 分		实施例 4	1 天 20 小时 20 分
	对比例 1	14 小时 21 分		实施例 5	12 小时 43 分		对比例 1	1 天 23 小时 13 分
鲍曼不动杆菌	实施例 1	9 小时 40 分		实施例 6	12 小时 58 分	克柔念珠菌	实施例 1	1 天 8 小时 22 分
	实施例 2	9 小时 43 分		实施例 7	12 小时 26 分		实施例 2	1 天 5 小时 28 分
	实施例 3	9 小时 49 分		实施例 8	13 小时 01 分		实施例 3	1 天 0 小时 12 分
	实施例 4	9 小时 45 分		对比例 1	13 小时 18 分		实施例 4	1 天 16 小时 32 分
	对比例 1	9 小时 52 分		对比例 2	12 小时 54 分		对比例 1	1 天 10 小时 30 分
无乳链球菌	实施例 1	10 小时 10 分	粪肠球菌	实施例 1	10 小时 4 分	近平滑念珠菌	实施例 1	1 天 7 小时 21 分
	实施例 2	9 小时 51 分		实施例 2	9 小时 54 分		实施例 2	1 天 6 小时 59 分
	实施例 3	10 小时 28 分		实施例 3	9 小时 58 分		实施例 3	1 天 6 小时 11 分
	实施例 4	10 小时 13 分		实施例 4	10 小时 1 分		实施例 4	1 天 8 小时 31 分

	实施例 5	11 小时 15 分		实施例 5	10 小时 20 分		对比例 1	1 天 10 小时 3 分
	实施例 6	10 小时 52 分		实施例 6	10 小时 15 分		实施例 1	20 小时 17 分
	实施例 7	11 小时 08 分		实施例 7	10 小时 20 分		实施例 2	20 小时 20 分
	实施例 8	11 小时 20 分		实施例 8	10 小时 20 分		实施例 3	20 小时 8 分
	对比例 1	10 小时 31 分		对比例 1	10 小时 7 分		实施例 4	20 小时 26 分
	对比例 2	11 小时 18 分		对比例 2	10 小时 55 分		实施例 5	23 小时 48 分
大肠埃 希氏菌	实施例 1	9 小时 53 分	沙门氏 菌	实施例 1	11 小时 3 分	流感嗜 血杆菌	实施例 6	23 小时 26 分
	实施例 2	9 小时 49 分		实施例 2	11 小时 17 分		实施例 7	1 天 0 小 时 10 分
	实施例 3	10 小时 05 分		实施例 3	10 小时 49 分		实施例 8	23 小时 36 分
	实施例 4	9 小时 42 分		实施例 4	11 小时 19 分		对比例 1	1 天 0 小 时 36 分
	实施例 5	10 小时 25 分		实施例 5	11 小时 42 分		对比例 2	1 天 1 小 时 25 分
	实施例 6	10 小时 20 分		实施例 6	11 小时 39 分	肺炎链 球菌	实施例 1	16 小时 6 分
	实施例 7	10 小时 30 分		实施例 7	11 小时 45 分		实施例 2	16 小时 7 分
	实施例 8	10 小时 23 分		实施例 8	11 小时 35 分		实施例 3	16 小时 2 分
	对比例 1	11 小时 25 分		对比例 1	11 小时 53 分		实施例 4	16 小时 10 分
	对比例 2	13 小时 40 分		对比例 2	12 小时 12 分		实施例 5	17 小时 6 分

化脓性链球菌	实施例 1	18 小时 51 分	肺炎克雷伯氏菌	实施例 1	10 小时 27 分		实施例 6	16 小时 50 分
	实施例 2	19 小时 22 分		实施例 2	10 小时 17 分		实施例 7	16 小时 52 分
	实施例 3	18 小时 22 分		实施例 3	10 小时 48 分		实施例 8	17 小时 10 分
	实施例 4	18 小时 59 分		实施例 4	10 小时 06 分		对比例 1	18 小时 12 分
	实施例 5	20 小时 38 分		实施例 5	12 小时 25 分		对比例 2	17 小时 57 分
	实施例 6	20 小时 45 分		实施例 6	12 小时 15 分			
	实施例 7	20 小时 43 分		实施例 7	12 小时 30 分			
	实施例 8	20 小时 33 分		实施例 8	12 小时 20 分			
	对比例 1	19 小时 27 分		对比例 1	11 小时 3 分			
	对比例 2	21 小时 13 分		对比例 2	12 小时 57 分			
产气荚膜梭菌	实施例 5	19 小时 2 分	脆弱拟杆菌	实施例 5	1 天 7 小时 17 分			
	实施例 6	19 小时 22 分		实施例 6	1 天 7 小时 40 分			
	实施例 7	18 小时 51 分		实施例 7	1 天 7 小时 2 分			
	实施例 8	19 小时 12 分		实施例 8	1 天 7 小时 33 分			
	对比例 2	19 小时 56 分		对比例 2	1 天 12 小时 48 分			

结果分析：本次验证菌株共十六株，覆盖了需氧菌、真菌、兼性厌氧菌、厌氧菌、苛养菌组别。各菌株分别接种各菌株分别接种实施例和对比例所述的培养基，所有菌均检出。

[0056] 验证结论：实施例1~8平均检出时间优于对比例1和对比例3检出时间，满足临床检验质量要求。

[0057] 本具体实施例仅仅是对本发明的解释，其并不是对本发明的限制，本领域技术人员在阅读完本说明书后可以根据需要对本实施例做出没有创造性贡献的修改，但只要在本发明的权利要求范围内都受到专利法的保护。