

# 竹醋液对食品污染菌的抗菌作用的研究



常雅宁, 俞建瑛, 倪炜, 沃袅平

(华东理工大学 应用生物学系, 上海 200237)

**摘要:** 首先确定大肠杆菌、金黄色葡萄球菌和黄曲霉菌的最佳稀释度, 分别为  $10^7$ 、 $10^5$  和  $10^6$  倍。探讨了在最佳稀释度下, 竹醋液的抑制与杀灭菌类的作用。通过最低抑菌浓度、最低杀菌浓度和抑菌圈的研究发现, 竹醋液对黄曲霉菌作用最强, 大肠杆菌次之, 金黄色葡萄球菌相对最差。最低抑菌浓度 3 者依次为 7.5、25 和  $30 \mu\text{L}/\text{mL}$ 。最低杀菌浓度 3 者依次为 10、30 和  $35 \mu\text{L}/\text{mL}$ 。

CHANG Y N

**关键词:** 竹醋液; 食品污染菌; 最低抑菌浓度; 最低杀菌浓度; 抑菌圈

中图分类号: TQ914.5795 文献标识码: A 文章编号: 0253-2417(2005)04-0083-03

## STUDY ON BACTERIOSTATIS OF BAMBOO VINEGAR AGAINST FOOD-POLLUTING BACTERIA

CHANG Ya-ning YU Jian-ying NI Wei WO Niao-ping

(Department of Biology, East China University of Science and Technology, Shanghai 200237, China)

**Abstract** At first optimum degree of dilution of *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* and *Aspergillus flavus* were determined which are  $10^7$ ,  $10^5$  and  $10^6$  times respectively. Then minimum inhibitory concentration (MIC) and minimum bactericidal concentration (MBC) of bamboo vinegar against food-polluting bacteria were studied. The experimental result indicated that the bacteriostatic action of bamboo vinegar is the strongest against *A. flavus*, then is *E. coli*, the weakest is against *S. aureus*. The MIC are 7.5, 25 and  $30 \mu\text{L}/\text{mL}$ , respectively. The MBC are 10, 30 and  $35 \mu\text{L}/\text{mL}$ , respectively.

**Key words** bamboo vinegar; food-polluting bacteria; minimum inhibitory concentration; minimum bactericidal concentration; bacteriostatic circle

竹醋液是竹炭烧制过程中的副产物, 成分复杂, 是一种有机混合物, 约含 80 余种成分, 其中主要组分是水, 占 80% 以上, 其次是酸类物质 (主要是乙酸), 占 6% (质量分数) 左右, 该混合液 pH 值 2.20~3.01, 相对密度约 1.02 左右。并且随着生产条件、收集方法、贮存运输条件等的不同而不断变化<sup>[1]</sup>。

竹醋液应用最广泛的国家是日本<sup>[2]</sup>, 其主要用在驱虫、除臭、杀菌、保健以及农业上的土壤改良等方面, 而在食品保鲜方面的应用尚待开发。为此, 作者探讨了竹醋液对污染食品的主要微生物的抗菌作用。

## 1 材料与方 法

### 1.1 材 料

竹醋液是利用 4 年生毛竹 (*Phyllostachys heterocycla* var *pubescens*) 在  $350^\circ\text{C}$  的土窑中烧制 48 h 后收集热分解的烟气的冷凝液所得。

试剂<sup>[3]</sup>采用肉汤琼脂培养基 (按 GB/T 4789.28-1994 中 4.7 规定配制) 和孟加拉红培养基 (按 GB/T 4789.28-1994 中 4.81 规定配制)。实验菌为大肠杆菌 *E. coli*, 金黄色葡萄球菌 *S. aureus*, 黄曲霉

菌 *A. flavus*

## 1.2 方法

选用了“菌落总数测定”作为是否存在抗菌性的判定标准,按照 GB 4789.2-94《食品卫生微生物学检验 菌落总数测定》<sup>[3-5]</sup>的方法进行测定。采用肉汤琼脂培养基,在 37℃ 培养 24 和 48 h 来测定最低抑菌浓度 (MIC)。采用孟加拉红培养基,在 28℃ 培养 48 和 96 h 来测定最低杀菌浓度 (MBC)。

## 2 结果与讨论

### 2.1 菌液最佳稀释度的确定

大肠杆菌不同稀释度的菌落生长情况见表 1。根据国标的规定应选择平均菌落数在 30~300 个之间的稀释度,乘以稀释倍数报告之。因此大肠杆菌菌液的最佳稀释度为  $10^7$  倍,同上,测得金黄色葡萄球菌菌液的为  $10^5$  倍,黄曲霉菌菌液的为  $10^5$  倍。

### 2.2 竹醋液的抗菌性

加入不同浓度的竹醋液后大肠杆菌的菌落总数测定结果见图 1。竹醋液对大肠杆菌有良好的抗菌抑菌效果,随着竹醋液浓度的增大菌落总数减少,当加入 80  $\mu\text{L}$  竹醋液后菌落总数为 0。由图 1 还可看出竹醋液对金黄色葡萄球菌及黄曲霉菌也有良好的抗菌抑菌效果。

判断竹醋液是否对受试菌具有抗菌性,菌落总数实验无疑是最直观的方法。因此本实验选用了菌落总数实验来进行抗菌性的初步判定。从实验的数据来看,加入竹醋液后,随着竹醋液浓度的增加,平板的菌落总数呈逐渐减少的趋势。而且 3 组平板的实验结果相互偏差不大,具有较好的重复性,因此认为竹醋液对这 3 种菌是具有抗菌性的。至于菌落总数的减少不呈绝对线性,原因可能是培养皿的培养空间、培养基的培养成分限制造成的。

### 2.3 竹醋液对 3 种菌的最低抑菌浓度 (MIC) 和最低杀菌浓度 (MBC) 的测定

按 1.2 节方法进行测定, MIC 是指能抑制培养基内细菌生长的最低浓度,而 MBC 是指能够杀灭培养基内细菌的最低浓度。如果试管内液体浑浊则为阳性管,管内液体澄清,肉眼未见有菌生长者为阴性管,具体: - 为澄清; + 为轻度浑浊; ++ 为中度浑浊; +++ 为重度浑浊。竹醋液对 3 种菌的 MIC 和 MBC 的结果见表 2。

表 2 竹醋液用量对 3 种菌的 MIC 和 MBC 的测定结果<sup>1)</sup>

Table 2 Effects of various dosages of bamboo vinegar on MIC and MBC against the three bacteria

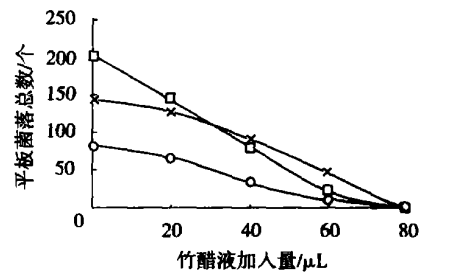
序号 No	竹醋液用量 / ( $\mu\text{L} \cdot \text{mL}^{-1}$ ) dosage of bamboo vinegar	最低抑菌浓度 MIC			最低杀菌浓度 MBC		
		大肠杆菌 <i>E. coli</i>	金黄色葡萄球菌 <i>S. aureus</i>	黄曲霉菌 <i>A. flavus</i>	大肠杆菌 <i>E. coli</i>	金黄色葡萄球菌 <i>S. aureus</i>	黄曲霉菌 <i>A. flavus</i>
1	40	-	-	-	-	-	-
2	35	-	-	-	-	-	-
3	30	-	-	-	-	+	-
4	25	-	+	-	+	+	-
5	20	+	+	-	+	+	-
6	15	++	+	-	+	++	-
7	10	++	+	-	++	++	-
空白 control	0	++	++	++	++	++	++

1) - 澄清 clear + 轻度浑浊 light muddy ++ 中度浑浊 middle muddy

表 1 大肠杆菌菌液 3 个稀释度的菌落计数情况

Table 1 Colony counts of *E. coli* at three dilutions

样品号 samples	$\times 10^6$	$\times 10^7$	$\times 10^8$
No 1	548	115	26
No 2	536	123	28
No 3	538	119	28
平均 average	541	119	27



—x— 大肠杆菌 *E. coli*; —□— 金黄色葡萄球菌 *S. aureus*;  
—○— 黄曲霉菌 *A. flavus*

图 1 竹醋液用量与平板菌落总数的关系

Fig. 1 Relationship between the dosage of bamboo vinegar and total colony counts

由表 2 可见, 竹醋液对大肠杆菌的 MIC 为  $25 \mu\text{L}/\text{mL}$  (指竹醋液用量, 下同), MBC 为  $30 \mu\text{L}/\text{mL}$ , 竹醋液对金黄色葡萄球菌的 MIC 为  $30 \mu\text{L}/\text{mL}$ , MBC 为  $35 \mu\text{L}/\text{mL}$ 。从表 2 还看到黄曲霉菌在实验范围内完全被杀死了, 调整竹醋液的浓度后发现该菌的 MIC 为  $7.5 \mu\text{L}/\text{mL}$ , MBC 为  $10 \mu\text{L}/\text{mL}$ 。

从实验结果看, 竹醋液对这 3 种菌的抗菌效果是不同的, 对黄曲霉菌的抗菌效果最好, 仅需要  $7.5$  和  $10 \mu\text{L}/\text{mL}$  就能达到抑制和杀灭菌的生长作用。这可能是由于霉菌独特的生长条件 ( $28^\circ\text{C}$  培养  $96 \text{ h}$ ) 所决定的。为了验证黄曲霉菌是否真的被杀灭, 用 2 种培养管进行对比试验。在  $96 \text{ h}$  培养结束后, 把培养管在室温下 (约  $25^\circ\text{C}$ ) 摆放一周时间, 发现没有被灭菌的培养管内的黄曲霉菌有很明显的继续生长并且聚集的现象, 而被灭菌的培养管内没有任何菌的生长, 这就证实了此浓度的竹醋液确实杀灭了黄曲霉菌。

#### 2.4 竹醋液对 3 种菌抑菌圈的测定<sup>[5]</sup>

大肠杆菌、金黄色葡萄球菌采用肉汤琼脂培养基, 黄曲霉菌采用孟加拉红培养基进行涂布培养, 采用的都是固体培养基。抑菌圈是判断抗菌性的一个重要指标, 尤其是该方法培养菌种采用的是固体培养基, 为竹醋液后续在固体食品中的应用提供了更直接的数据。实验结果为: 对大肠杆菌的抑菌圈直径为  $14.6$  和  $14.4 \text{ mm}$ , 平均值为  $14.5 \text{ mm}$ ; 对金黄色葡萄球菌的抑菌圈直径为  $14.0$  和  $13.6 \text{ mm}$ , 平均值为  $13.8 \text{ mm}$ ; 竹醋液对黄曲霉菌的抑菌圈直径为  $15.2$  和  $15.9 \text{ mm}$ , 平均值为  $15.5 \text{ mm}$ 。由此可见, 竹醋液对黄曲霉菌抑菌效果最好, 大肠杆菌次之, 金黄色葡萄球菌相对最差。

### 3 结论

3.1 大肠杆菌菌液的最佳稀释度为  $10^7$  倍, 金黄色葡萄球菌菌液的最佳稀释度为  $10^5$  倍, 黄曲霉菌菌液的最佳稀释度为  $10^5$  倍。

3.2 竹醋液用量达到  $25$  和  $30 \mu\text{L}/\text{mL}$  时就能抑制大肠杆菌和金黄色葡萄球菌的生长, 而用量达到  $30$  和  $35 \mu\text{L}/\text{mL}$  就能杀灭大肠杆菌和金黄色葡萄球菌。竹醋液对这两种菌的抗菌效果比较近似。对黄曲霉菌的最低抑菌浓度 (MIC) 和最低杀菌浓度 (MBC) 分别为  $7.5$  和  $10 \mu\text{L}/\text{mL}$ 。

3.3 在所有的 MIC 和 MBC 实验中, 空白对照管都长出了菌, 且长势优于加过竹醋液的培养管, 也从侧面证明了竹醋液的良好抗菌性。

3.4 抑菌圈也是抗菌性的一个重要的指标。通过竹醋液对这 3 种食品常见污染菌的抑菌圈实验, 同样发现竹醋液对 3 种菌的抗菌性的强弱是黄曲霉菌最强, 大肠杆菌次之, 金黄色葡萄球菌相对最差。

#### 参考文献:

- [1] 张文标, 叶良明, 刘力, 等. 竹醋液的组分分析 [J]. 竹子研究汇刊, 2001, 20(4): 72-77.
- [2] 胡永煌. 竹炭、竹醋液生产及应用开发研究进展 [J]. 林产化学与工业, 2002, 22(3): 79-83.
- [3] GB/T 4789.28-1994, 食品卫生微生物检验染色法、培养基和试剂 [S].
- [4] 郑均镛. 药品微生物学及检验技术 [M]. 北京: 人民卫生出版社, 1989.
- [5] 苍秀容. 微生物学实验 (2 版) [M]. 北京: 人民教育出版社, 1989.