

文章编号:1003-8701(2013)01-0083-04

常用食品防腐剂的抑菌效果

胡春红, 乔琳, 古红梅, 李季平, 杨潇

(周口师范学院生命科学系, 河南 周口 466001)

摘要:取一定量大肠杆菌和金黄色葡萄球菌悬液分别接种在含不同质量浓度的苯甲酸钠和山梨酸钾的液体培养基中培养 18 h, 然后测定 OD 值, 研究两种防腐剂对大肠杆菌和金黄色葡萄球菌的抑菌效果。结果表明, 防腐剂苯甲酸钠(≥ 0.2 g/L)和山梨酸钾(≥ 0.3 g/L)对两种菌的生长都呈显著的抑制作用, 且随浓度增加抑菌作用逐渐增强, 相同浓度下苯甲酸钠的抑菌效果要好于山梨酸钾。

关键词:苯甲酸钠; 山梨酸钾; 大肠杆菌; 金黄色葡萄球菌; 抑菌效果

中图分类号: TS202.3

文献标识码: A

Antibacterial Effect of Commonly Used Food Preservatives

HU Chun-Hong, QIAO Lin, GU Hong-Mei, LI Ji-Ping, YANG Xiao

(Department of Life Science, Zhoukou Normal University, Zhoukou 466001, China)

Abstract: In order to study the antibacterial effect of Sodium Benzoate and Potassium Sorbate on *E. coli* and *Staphylococcus aureus*. Certain density bacterial suspension was added into the liquid culture medium included of different concentration of Sodium Benzoate and Potassium Sorbate to cultivate for 18 hours, and then the values of OD determined. The results showed that Sodium Benzoate (≥ 0.2 g/L) and Potassium Sorbate (≥ 0.3 g/L) had significant antibacterial effect on the two bacteria. The antibacterial effect gradually increased along with the increasing of concentration of Sodium Benzoate and Potassium Sorbate; The antibacterial effect of Sodium Benzoate was better than Potassium Sorbate at the same concentration.

Keywords: Sodium benzoate; Potassium sorbate; *E. coli*; *Staphylococcus aureus*; Antibacterial effect

苯甲酸钠和山梨酸钾因价格低廉和具有广谱的杀菌效果, 成为一些食品行业的首选防腐剂^[1]。据相关资料报道, 苯甲酸钠和山梨酸钾抑菌效果随着介质 pH 值酸度增加而增加, 在 pH 值接近中性环境下即丧失抑菌能力^[2]。这样一来严格限制了其应用范围和用量。本实验拟在符合 GB 2760-1996《食品添加剂使用卫生标准》规定的苯甲酸钠和山梨酸钾在食品中实用剂量标准的情况下, 研究苯甲酸钠和山梨酸钾在中性环境中的抗菌效力, 为扩大其应用范围提供一定参考资料。

大肠杆菌(*Escherichia coli*, *E.coli*)和金黄色

葡萄球菌(*Staphylococcus aureus*)是导致食品污染和人类感染的罪魁祸首, 又分别是 G⁻ 和 G⁺ 的代表菌。因此, 本实验选用这两种菌为供试菌种。

1 材料和方法

1.1 材料

苯甲酸钠、山梨酸钾购于天津市某化学试剂厂; 大肠杆菌、金黄色葡萄球菌, 均由周口师范学院生命科学系提供。

1.2 实验方法

1.2.1 试液制备

制备质量浓度分别为 50 g/L、30 g/L、10 g/L、5 g/L、3 g/L、2 g/L、0 g/L 的苯甲酸钠试液备用。由于据相关资料报道山梨酸钾的抑菌效果是苯甲酸钠的 5~10 倍^[3], 因此制备山梨酸钾的质量浓度分别为 30 g/L、10 g/L、5 g/L、3 g/L、2 g/L、1 g/L、0 g/L 的试液备用。

收稿日期: 2012-08-29

基金项目: 河南省教育厅科学技术研究重点项目(12A180029);

周口师范学院大学生创新基金项目(2012DXSO14)

作者简介: 胡春红(1978-), 女, 讲师, 硕士, 主要从事生物学教学与研究。

1.2.2 培养基制备

参照相关资料制备牛肉膏蛋白胨液体培养基,高压蒸汽灭菌备用^[4]。

1.2.3 菌悬液制备

无菌操作,将保存两菌种用接种环分别接入2个试管斜面上,置37℃恒温培养箱中活化培养24 h。活化好的大肠杆菌、金黄色葡萄球菌用2 mL、0.85%NaCl溶液进行洗脱,把洗脱液分别倒入2个含有一定量的液体培养基三角瓶中,置恒温振荡器中震荡培养2 h,即分别制得大肠杆菌和金黄色葡萄球菌菌悬液。

1.2.4 接种培养

用移液管取9 mL培养基到50 mL的三角瓶中,并加入1 mL质量浓度为50 g/L的苯甲酸钠试液,充分摇匀。同法分别添加30 g/L、10 g/L、5 g/L、3 g/L、2 g/L、0 g/L(无菌水、对照组)苯甲酸钠试液(因此,苯甲酸钠的实际用量分别为5.0 g/L、3.0 g/L、1.0 g/L、0.5 g/L、0.3 g/L、0.2 g/L、0.0 g/L)。然后,在上述三角瓶中用移液器分别添加制备好

的菌悬液0.1 mL。各个质量浓度做3组重复,用细菌过滤膜包裹各瓶口,置恒温振荡器内37℃下震荡培养18 h。另取1.1 mL无菌水加入含9 mL培养基的三角瓶中,用作调零。

同法分别制备山梨酸钾的质量浓度为3.0 g/L、1.0 g/L、0.5 g/L、0.3 g/L、0.2 g/L、0.1 g/L、0.0 g/L的培养液,并同法进行接种培养。

1.2.5 测定OD值

培养好后,从各个三角瓶中取出1 mL培养液,用无菌水将培养液稀释10倍后,用分光光度计于550 nm波长处测定吸光值,每个样品测3次^[5-6]。将实验所得数据输入计算机,用SPSS16.0统计软件进行统计分析。

2 结果与分析

采用one-way ANOVA方法对实验所得数据进行统计分析并作图,结果见图1~2,表1~2。

由图1和表1知,与对照组相比,苯甲酸钠对大肠杆菌的抑菌效果随质量浓度增加而逐渐增

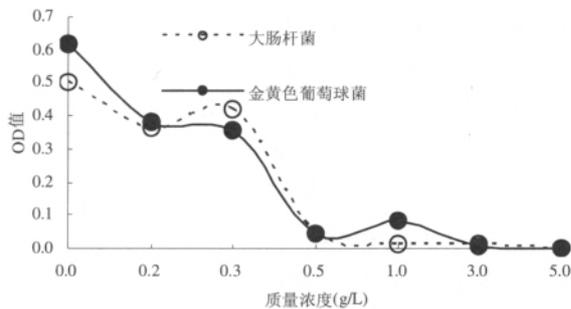


图1 苯甲酸钠对两菌的抑菌效果

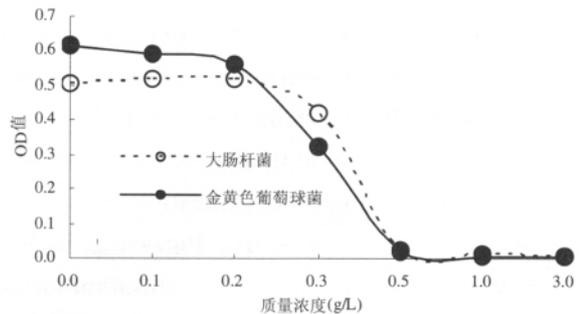


图2 山梨酸钾对两菌的抑菌效果

表1 苯甲酸钠对两菌的单因素方差分析结果

菌种	P 值	质量浓度(g/L)						
		0	0.2	0.3	0.5	1.0	3.0	5.0
大肠杆菌	P		0.000*	0.000*	0.000*	0.000*	0.000*	0.000*
金黄色葡萄球菌	P		0.000*	0.000*	0.000*	0.000*	0.000*	0.000*

注:*表示在0.01水平具有统计学意义,下同。

表2 山梨酸钾对两菌的单因素方差分析结果

菌种	P 值	质量浓度(g/L)						
		0	0.1	0.2	0.3	0.5	1.0	3.0
大肠杆菌	P		0.492	0.569	0.000*	0.000*	0.000*	0.000*
金黄色葡萄球菌	P		0.551	0.569	0.000*	0.000*	0.000*	0.000*

强;当苯甲酸钠质量浓度为0.2 g/L时,对大肠杆菌和金黄色葡萄球菌的抑菌效果已达极显著水平;当苯甲酸钠质量浓度为0.5%时,所测大肠杆

菌和金黄色葡萄球菌培养液的OD值骤然降低,且达极显著水平;当质量浓度为3.0 g/L和5.0 g/L时,所测培养液的OD值几乎为零。

由图 2 和表 2 知 ,与对照组相比 ,当山梨酸钾质量浓度为 0.1 g/L 和 0.2 g/L 时 ,对大肠杆菌无抑菌效果 ,甚至有促进大肠杆菌生长的作用 ,而对金黄色葡萄球菌的抑菌效果也不显著 ,不具有统计学意义 ;当质量浓度为 0.3 g/L 时 ,对大肠杆菌和金黄色葡萄球菌的抑菌效果已较明显达极显著水平 ;当山梨酸钾质量浓度为 0.5% 时 ,所测两种菌的培养液的 OD 值骤然降低且达极显著水平 ;

当质量浓度为 1.0 g/L 和 3.0 g/L 时 ,所测两种菌的培养液的 OD 值几乎为零。整体上 ,山梨酸钾对大肠杆菌和金黄色葡萄球菌的抑菌效果随质量浓度增加而逐渐增强。

实验前和实验后分别对培养液的 pH 值进行了检测 ,结果见表 3。

由表 3 知 ,随质量浓度的增加 ,两种菌培养液的 pH 值呈逐渐降低趋势。

表 3 培养液的 pH 值

酸碱度	菌种	防腐剂	实验前后	质量浓度(g/L)							
				0	0.2	0.3	0.5	1.0	3.0	5.0	
pH	大肠杆菌	苯甲酸钠	前				7-8				
			后	7-8	7-8	7-8	5	5	5	4-5	
		山梨酸钾	前				7-8				
			后	7-8	7-8	7-8	7-8	5	4-5	4-5	
	金黄色葡萄球菌	苯甲酸钠	前				7-8				
			后	7-8	7-8	7	6-7	5	5	4-5	
		山梨酸钾	前				7-8				
			后	7-8	7-8	7-8	6-7	5	4-5	4-5	

3 讨论与结论

实验结果表明 ,当苯甲酸钠质量浓度为 0.2 g/L 时 ,对大肠杆菌和金黄色葡萄球菌已有显著抑菌效果 ;当苯甲酸钠质量浓度为 0.5 g/L 时 ,大肠杆菌和金黄色葡萄球菌培养液的 OD 值骤然降低 ,即抑菌效果非常明显 ;当苯甲酸钠质量浓度为 3.0 g/L 时 ,两种菌培养液的 OD 值几乎为零 ,即两种菌几乎不再生长。当山梨酸钾质量浓度为 0.1 g/L、0.2 g/L 时 ,对大肠杆菌和金黄色葡萄球菌的抑菌效果均不显著 ,对大肠杆菌的生长甚至有促进作用 ,这可能是由于低浓度的山梨酸钾不仅没有抑菌效果 ,其组成元素反而作为营养物质被细菌所利用 ;当质量浓度为 0.5 g/L 时 ,大肠杆菌和金黄色葡萄球菌培养液的 OD 值骤然降低 ,即抑菌效果非常明显 ;质量浓度为 1.0 g/L 时 ,两种菌培养液的 OD 值几乎为零 ,即两种菌几乎不再生长。本实验中的苯甲酸钠和山梨酸钾的抑菌实验是在接近中性的条件下测定的 ,由表 3 可以看出 ,随着苯甲酸钠和山梨酸钾的质量浓度增大 ,大肠杆菌和金黄色葡萄球菌培养液的 pH 值逐渐减小 ,这可能是随着苯甲酸钠和山梨酸钾的质量浓度增大 ,抑菌效果愈明显 ,破坏了细菌细胞壁的结构 ,改变了细胞壁的通透性 ,使得细胞内代谢的酸性物质进入到了培养液中 ,改变了培养液的 pH

值。相关文献报道 ,苯甲酸钠和山梨酸钾在酸性条件下对细菌具有较强的抑制作用^[7-10] ,这也更验证了本实验中培养液的 pH 值越小 ,抑菌效果越明显这一实验结果。

综上所述 ,高浓度防腐剂苯甲酸钠(≥ 0.2 g/L)和山梨酸钾(≥ 0.3 g/L)对大肠杆菌和金黄色葡萄球菌都有显著的抑菌效果 ,且随着质量浓度的增大抑菌效果逐渐增强 ;整体上 ,苯甲酸钠的抑菌效果要明显好于山梨酸钾。山梨酸钾在低浓度下(≤ 0.2 g/L)有促进大肠杆菌生长的迹象 ,对金黄色葡萄球菌的抑菌效果也不具有统计学意义。考虑到防腐剂可能在人体的积累效应^[11]及苯甲酸钠的毒性可能大于山梨酸钾 ,结合本实验结果 ,苯甲酸钠对大肠杆菌和金黄色葡萄球菌的最佳抑菌浓度为 0.5 g/L ,而山梨酸钾的最佳抑菌浓度为 1.0 g/L。

参考文献 :

- [1] 陈 瑶 . 食品添加剂与食品安全 [J]. 江苏调味副食品 , 2007 ,24(3) :39- 41 .
- [2] 林祖申 . 防腐剂在调味品行业的应用研究及展望[J]. 中国酿造 ,2007(11) :4- 6 .
- [3] 肖燕清 ,白卫东 ,钱 敏 . 我国食品防腐剂的发展现状与对策[J]. 中国调味品 ,2010 ,35(11) :43- 45 .
- [4] 蔡信之 ,黄军红 . 微生物学 [M]. 北京 :高等教育出版社 ,2002 :394- 395 .
- [5] 李永飞 ,许敏艳 ,沈 良 ,等 . 关于尼泊金酯等防腐剂对 3 种细菌抑制作用的研究[J]. 中国酿造 ,2003 ,129(6) :18- 20 .
- [6] 李 涛 ,高 伟 . 利用正交法研究三种防腐剂对细菌的抑菌

- 效应[J]. 陕西师范大学学报(自然科学版), 2007(35): 27-30.
- [7] 孟庆国, 周建树, 赵杰, 等. 苯甲酸钠等防腐剂对平菇咸菜保质期的影响[J]. 中国食用菌, 2008, 27(2): 46-47.
- [8] 王春民, 周伶, 蒋建荣, 等. 苏州市食品中苯甲酸钠含量调查分析[J]. 微量元素与健康研究, 2008, 25(1): 37-38.
- [9] 曾正渝. 苯甲酸及其钠盐在食品和药品中的应用[J]. 中国药
- 业, 2007, 16(6): 64.
- [10] 蔡建文. 防腐剂与食品安全性[J]. 科技信息, 2007(30): 63.
- [11] J. E. O'Connor, M. Ribelles, S. Grisolia. Potentiation of Hyperammonemia by Sodium Benzoate in Animals. A Note of Caution[J]. Eur J Pediatr, 1982(138): 186-187.

(上接第 71 页)愈伤组织,说明配方中添加 NAA 激素有利于愈伤组织的形成,形成的优良状况取决于用量的多少,从愈伤组织诱导率及实际形成愈伤组织的质量看, J3 :MS+NAA 0.6 mg/L 配方最为理想;在不定芽诱导阶段,4 个配方也均诱导出不定芽,说明 6BA 和 KT 两种细胞分裂素均有利于芽的诱导,从分化率、形成不定芽的时间、分化芽的数量看, Y2 :MS+6BA 0.4 mg/L+NAA 0.2 mg/L 和 Y4 :MS+KT1.0 mg/L+NAA 0.2 mg/L 配方较为理想。但由于在实际的操作中,由于人为原因,成活的瓶数和转瓶的瓶数不一致,分化率是根据分化出不定芽瓶数和成活瓶数算出,而不是和转瓶

瓶数算出,至于究竟 Y2 和 Y4 哪个配方更好,有待于进一步验证。

参考文献:

- [1] 姚明华,王飞,卢秀英. 辣椒子叶离体培养及植株再生体系的建立[J]. 湖北省农业科技学院学报, 2007(12): 34-35.
- [2] 黄真池. 辣椒子叶高效再生体系的建立[J]. 湛江师范学院学报, 2007(30): 56-57.
- [3] 余小林,李乃坚,黄自然,等. 辣椒子叶离体培养和植株再生体系的建立[J]. 园艺学报, 2000, 27(1): 42-46.
- [4] 建德锋,潘蒙福. 龙椒 2 号大甜椒子叶离体培养中诱导不定芽的研究[J]. 安徽农业科学, 2010, 38(33): 18667-18668.
- [5] 周钟信,张宗江,刘艳军,等. 辣椒子叶离体培养再生植株[J]. 华北农学报, 1994, 19(2): 34-36.

著作权许可声明

本刊已许可中国学术期刊(光盘版)电子杂志社在中国知网及其系列数据库产品中以数字化方式复制、汇编、发行、信息网络传播本刊全文。其作者著作权使用费与本刊稿酬一并支付。作者向本刊提交文章发表的行为即视为同意本刊上述声明。

《吉林农业科学》编辑部