

迷迭香酸对几株食品污染菌的抑菌作用

李永波, 邓功成, 李 静

(黔南民族师范学院 生命科学系, 都匀 贵州 558000)

摘 要:本文试验了迷迭香酸对食品中常见污染菌的抑菌作用。采用滤纸片扩散法测定迷迭香酸的抑菌活性, 试管二倍稀释法测定迷迭香酸的抑菌效力, 用单因素方差分析法来测定迷迭香酸的抑菌效力试验结果表明: 迷迭香酸的浓度为 0.25% 时, 对三种供试菌株就有一定的抑菌活性, 迷迭香酸的浓度为 $\geq 0.5\%$ 时, 对三种供试菌株都有明显的抑菌活性。经方差分析, 迷迭香酸具有广谱的抑菌作用, 可以作为食品中的天然防腐剂。

关键词:迷迭香酸; 方差; 防腐剂

中图分类号: TS202.3

文献标识码: A

文章编号: 1674-2389(2011)06-0010-04

The bacteriostasis function of Rosmary acid test on the corrupt microorganism of food

LI Yongbo, DENG Gongcheng, LI Jing

(Life Sciences Department, Qian Nan Normal College for Nationalities, Duyun 558000, China)

Abstract: This article experimented the bacteriostasis function of the rosemary acid to the putrefactive bacteria which is isolated from food. Using filter paper diffusion process determinates the bacteriostasis activeness of rosemary acid. By two times of dilution method of test tube determinates rosemary acid bacteriostasis potency, with the single factor variance analytic method determinates the bacteriostasis potency of rosemary acid to be whether remarkable. The test result indicated: When the rosemary acid's density is 0.25%, it has certain bacteriostasis activeness for the three testing strains. When the rosemary acid density is $\geq 0.5\%$, it has the obvious bacteriostasis activeness. After the variance analysis, the rosemary acid has widespread bacteriostasis function. So it can be used as natural antiseptic on food.

Key words: rosemary acid; variance analysis; Antiseptic

迷迭香(*Rosmarinus Officinalis* L.) 属唇形科(*Labiatae*), 迷迭香酸(*Rosmarinic acid*, *RosA*) 是从迷迭香植物中提取的一种天然抗氧化活性成份, 具有抗氧化、抗炎等多种药理作用。^[1] 最早是由 Ellis 从迷迭香这种植物中发现的具有多种生理活性的水溶性酚类化合物, 该酚类化合物在唇形科的多种植物中存在, 分子结构^[2] (见图 1)。是具有较高抗氧化作用油溶性天然产物。近 10 年来, 国际食品界利用其独特的抗氧化性能, 在防止食用油脂和富油食品中油脂氧化酸败及腐败变质上取得了重大成果。本研究测定迷迭香酸对几株食品污染菌的的抑菌效力, 探讨了迷迭香酸作为天然食品防腐剂的应用前景。

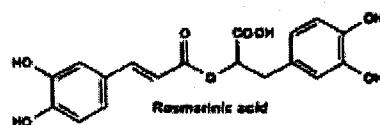


图 1 迷迭香酸结构图

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 药品与试剂

迷迭香酸初粉(纯度 3%, 由都匀市红星公司提供), 蛋白胨、牛肉膏、美蓝、氯化钠、氯化氢、氢氧化钠、琼脂、皂粉溶液等。

收稿日期: 2011-10-20

作者简介: 李永波(1976-), 男, 湖北孝感人, 副教授, 硕士, 研究方向: 应用微生物。

1.1.2 菌株

菌株 A: 金黄葡萄球菌; 菌株 B: 肠杆菌属; 菌株 C: 沙门氏菌。

1.1.3 培养基

牛肉汁琼脂培养基^[3] (牛肉膏 3g, 蛋白胨 10g, 氯化钠 5g, 琼脂 18g, 用水配制成 1000ml, 调 pH 值至 7.0-7.2, 在 121℃ 下灭菌 25min)。

蛋白胨美蓝培养基 (蛋白胨 2.5g, 美蓝 2.5ml, 葡萄糖 2.5g, 用水配制成 250ml, 在 121℃ 下灭菌 25min)。

1.2 方法

1.2.1 抑菌活性的测定——滤纸片扩散法^[3,4]

采用微量稀释法稀释迷迭香酸的浓度, 药液浓度成倍递减, 浸入滤纸片, 待用。将制备好的牛肉膏培养基倒入培养皿, 平置, 待凝固, 备用。取活化好的菌苔, 用无菌水制成 5×10^5 个/ml 的菌悬液。取菌悬液 0.2ml, 加入刚制作好的平板中, 涂布均匀, 再将用含不同浓度迷迭香酸浸泡过的滤纸片, 按预先制定的区域均匀贴在含菌平板上。在 37℃ 下培养 24h, 测定并记录抑菌圈直径大小, 抑菌圈越大, 抑菌活性越强 (每个抑菌圈十字交叉测量两次直径, 以其均数代表测得的抑菌圈大小)。

1.2.2 抑菌效力的测定^[4]

1.2.2.1 每 8h 观察并测定抑菌圈的大小, 记录抑菌时间, 至菌株长满圈为止。

1.2.2.2 在试管中加入 15ml 蛋白胨美蓝培养基, 各处理加入定量系列浓度迷迭香酸, 再分别加入用无菌水制成 $108-109$ cfu/ml 的菌悬液 0.2ml, 留空白对照处理。在 37℃ 的恒温箱中进行培养, 每 8h 取样一次, 检测各处理菌悬液浓度。

1.2.3 用单因素方差分析法^[5] 进行显著性分析。

2 结果与分析

2.1 测定迷迭香酸对三种供试菌株生长抑菌活性的结果见表 1。

表 1: 迷迭香酸的抑菌活性

迷迭香酸的浓度 (%)	抑菌圈的直径 (mm)		
	菌株 A	菌株 B	菌株 C
1	19	16	17
0.5	13	11	12
0.25	9	8	8
0.125	-	-	-

注: “-” 表没有生成抑菌圈

从表 1 可知, 迷迭香酸的浓度为 0.125% 时, 对三种菌株都没有明显抑菌作用。当迷迭香酸的浓度为 0.25% 时, 对菌株都有一定的抑菌活性, 当迷迭香酸的浓度为 0.5% 和 1% 时, 对三种菌株都有明显的抑菌活性。

2.2 抑菌效力的测定

2.2.1 三种供试菌株抑菌效力的初步测定——滤纸片扩散法

抑菌效力的结果见表 2。

从迷迭香酸对三种供试菌抑菌圈的直径来看, 各处理都有一定的抑菌效力, 浓度在 0.5% 以上的迷迭香酸对三种供试菌即有显著抑菌效果。

2.2.3 方差检验

对三种试验菌株用浓度为 0.5% 的迷迭香酸处理后的实验结果和对照组进行单因素方差分析, 结果分别见表 3-表 8。

表 2:不同迷迭香酸的浓度(%)处理下的抑菌圈测定结果

时间	菌株 A 的直径				菌株 B 的直径				菌株 C 的直径			
	1	0.5	0.25	0.125	1	0.5	0.25	0.125	1	0.5	0.25	0.125
24	19	13	9	+++	16	11	8	+++	17	12	8	+++
32	17.6	10.5	+	+++	15.4	11	+	+++	16	12	+	+++
40	17.4	10.2	+	+++	15.4	9.5	+	+++	16	10.3	+	+++
48	17.4	10.2	+	+++	15.2	+	+	+++	16	8.4	++	+++
56	17.4	10.2	+	+++	15.2	+	++	+++	15	+	++	+++
64	16.4	10	+	+++	12.5	+	++	+++	13.2	+	++	+++
72	16.4	10	++	+++	9.6	+	++	+++	10.5	+	++	+++
80	15.6	+	++	+++	8.5	++	+++	+++	8.8	++	+++	+++
88	15.2	+	++	+++	+	++	+++	+++	8.8	++	+++	+++
96	14.8	++	++	+++	+	++	+++	+++	8.4	++	+++	+++
104	14.8	++	+++	+++	+	+++	+++	+++	+	++	+++	+++
112	+	++	+++	+++	++	+++	+++	+++	+	++	+++	+++
120	+	++	+++	+++	++	+++	+++	+++	++	++	+++	+++

注:“+”表示有零星菌落;“++”表菌落较多但可数;“+++”表菌落多至数不清

表 3:迷迭香酸对菌株 A 的抑菌作用的方差分析计算表($\times 10^8$ cfu/ml)

样本	迷迭香酸的浓度		总和
	0.5%	CK	
1	0.55	48	
2	0.45	44.5	
3	0.6	45.5	
X_i	1.6	138	139.6
X_i^2	2.56	19044	19046.56
$\sum X_{ij}^2$	0.865	6354.5	6354.365

将上述结果列成方差分析表 4。

表 4:迷迭香酸对菌株 A 的抑菌作用的方差分析表

变差来源	平方和	自由度	均方	F
浓度	3100.8266	1	3100.8266	2250.4003
误差	5.5117	4	1.3779	
总和	3106.3383	5		

当分子的自由度为 1,分母的自由度为 4 时,经查表得, $F_{1,4,0.05} = 7.709$, $F_{1,4,0.01} = 21.20$, $F > F_{0.01}$ 即 $P < 0.01$,拒绝 H_0 。因此,经迷迭香酸处理与未经迷迭香酸处理的菌株 A 在数量上有显著差异,说明迷迭香酸对菌株 A 有显著的抑菌作用。

表 5:迷迭香酸对菌株 B 的抑菌作用的方差分析计算表($\times 10^8$ cfu/ml)

样本	迷迭香酸的浓度		总和
	0.5%	CK	
1	0.95	61	
2	1.1	58	
3	0.85	61	
X_i	2.9	180	182.9
X_i^2	8.41	32400	32408.41
$\sum X_{ij}^2$	2.835	10806	10808.835

将上述结果列成方差分析表 6。

表 6: 迷迭香酸对菌株 B 的抑菌作用的方差分析表

变差来源	平方和	自由度	均方	F
浓度	5648.9766	1	5648.9766	3746.2541
误差	6.0317	4	1.5079	
总和	5655.0083	5		

当分子的自由度为 1, 分母的自由度为 4 时, 经查表得, $F_{1,4,0.05} = 7.709$, $F_{1,4,0.01} = 21.20$, $F > F_{0.01}$ 即 $P < 0.01$, 拒绝 H_0 。因此, 经迷迭香酸处理与未经迷迭香酸处理的菌株 B 在数量上有显著差异, 说明迷迭香酸对菌株 B 有显著的抑菌作用。

表 7: 迷迭香酸对菌株 C 的抑菌作用的方差分析计算表 ($\times 10^8$ cfu/ml)

序号	迷迭香酸的浓度		总和
	0.5%	CK	
1	0.7	75	
2	0.8	76	
3	0.7	75	
X_i	2.2	226	228.2
X_i^2	4.84	51076	51080.84
$\sum X_{ij}^2$	1.62	17026	17027.62

将上述结果列成方差分析表 8

表 8: 迷迭香酸对菌株 C 的抑菌作用的方差分析表

变差来源	平方和	自由度	均方	F
浓度	8678.5334	1	8678.5334	105.1561
误差	330.1201	4	82.53	
总和	8348.4133	5		

当分子的自由度为 1, 分母的自由度为 4 时, 经查表得, $F_{1,4,0.05} = 7.709$, $F_{1,4,0.01} = 21.20$, $F > F_{0.01}$ 即 $P < 0.01$, 拒绝 H_0 。因此, 经迷迭香酸处理与未经迷迭香酸处理的菌株 C 在数量上有显著差异, 说明迷迭香酸对菌株 C 有显著的抑菌作用。

3 结论与讨论

对实验数据分析表明, 当浓度超过 0.5% 时, 迷迭香酸对供试菌株都有显著的的抑菌效力。迷迭香酸对常见的革兰氏阳性菌和革兰氏阴性菌^[7] 都有广谱的生长抑菌作用, 尤其是对革兰氏阳性菌的抑菌作用很强。大量报道表明: 化学防腐剂多具有诱癌性、致畸形和易引起食物中毒等问题。迷迭香酸作为天然防腐剂, 不仅可取代对人体健康有一定影响的化学合成防腐剂, 同时还赋予食品独特的香味。特别是在饮料或腌制食品中加迷迭香酸作为天然防腐剂, 不仅能起到抑菌防腐和抗氧化作用, 还能调节口感。本试验所用的迷迭香酸浓度稍嫌偏高, 主要是考虑在开放的实验环境中其挥发性较强。针对不同口感需求, 到底密闭包装食品中加迷迭香酸的量是多少为适, 有待于进一步研究。

参考文献:

- [1] 李伟光, 梁敬钰. 迷迭香酸的研究进展. 海峡药学, 2004(1): 1-4.
- [2] 陈蕙芳, 马永华, 卞学伟. 植物活性成分辞典(第二册)[M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2001: 888.
- [3] 沈萍, 范秀容, 李广武. 微生物学实验(第三版)[M]. 北京: 高等教育出版社, 1999: 6.
- [4] 荣贵, 腾大为, 杜贵彩, 等. 紫苏愈伤组织迷迭香酸的纯化及抗菌活性研究. 微生物通报, 2000(5): 324-32.
- [5] 杜荣骞. 生物统计学(第二版)[M]. 北京: 高等教育出版社, 2003: 4.
- [6] 乃海燕, 严奉祥. 迷迭香酸的研究进展[J]. AmJchin clin med, mar 2005(1).
- [7] 东秀珠, 蔡妙英. 常见细菌系统鉴定手册[M]. 北京: 科学技术出版社, 2001: 2.