

# 关于《微生物学》中微生物生长的控制 ——*Eutrema wasabi* 杀细菌作用的研究\*

胡尚勤

(重庆师范大学 生命科学院, 重庆 400047)

**摘要** :微生物学中微生物生长的控制是人们研究的重要内容。利用 *Eutrema wasabi* 提取物对几种细菌的致死作用进行了研究, *Eutrema wasabi* 处理细菌后, 用平板菌落计数法测定杀菌率。结果表明, *Eutrema wasabi* 对病原菌有明显的杀灭作用。在 *Eutrema wasabi* 提取物有效成分为 0.5% ~ 0.8%, 作用时间为 90 ~ 120min 的条件下, 对几种病原菌的杀菌率为 80% ~ 97%。这对控制微生物生长和杀灭有害病原菌找到了一条新途径, 对防治病原菌的传播、保证人类健康、丰富微生物学教学内容都有积极意义。

**关键词** :控制 ;微生物学 ;杀菌 ;作用 ;瓦莎草

中图分类号 :Q93 - 334

文献标识码 :A

文章编号 :1672-6693(2005)01-0047-03

## Research of the *Eutrema wasabi* to Several Pathogenic Bacteria Affects ——The Control Growth of the Microorganisms in the Microbiology

HU Shang-qin

( College of Life Sciences , Chongqing Normal University , Chongqing 400047 , China )

**Abstract** :The control growth of the microorganisms is an important research content in the microbiology. This paper reports an extract materials from the *Eutrema wasabi* to disinfect pathogenic bacteria affects ,and to test disinfection bacteria rate using plate colong counting method. The result shows that consistency of the extract materials from the *wasabi* is 0.5% ~ 0.8% , times is 90 ~ 120min , efficiency of *wasabi* to disinfect pathogenic bacteria is 80% ~ 97% . A new scientific method has been found to disinfect pathogenic bacteria. It has positive significance for the prevention about disease ,making a public health , defending people's health and enriching the teaching work in microbiology.

**Key words** :control ;microbiology ;disinfection ;affect ;*Eutrema wasabi*

本世纪初,人类经过 SARS 的灾难后,人们对微生物这一学科从反面得到了进一步的了解和认识。微生物学已经是一门树大根深的重要学科,面对新出现的和死灰复燃的病原微生物,面对爆炸性的人口增长和人类无法遏止的物质精神需求,微生物学必然更加兴旺发达。今天所知的微生物世界有许多谜底没有破解,还有成千上万的问题无法解决,对某些看来似乎简单的对象,实际上还一窍不通。例如,即使花费了数百亿美元也对付不了一个小小的爱滋病毒,这从一个侧面反映了微生物学家们今天的尴尬处境。微生物的生物量相对于占整个地球上生物

总量的 60%<sup>[1-3]</sup>。大部分微生物还不为人所知,微生物学家们实在没有理由志得意满。现在已知的微生物种类距离地球上实际存在的数量不到 10%,而被子植物的 93% 已经被人类记录,迄今所知的微生物种类远远没有达到动植物的数量。所以进一步研究开发和利用微生物资源有非常大的前景,继动植物两大产业后,微生物产业的产值在不断增长,年产值至少超过 2 000 亿美元。在新世纪,基因组学的成就快速体现在微生物产业中。另一方面,微生物学中微生物生长的控制也是人们研究的重要内容。因此,在微生物学研究或生产实践中,常常需要

\* 收稿日期 2003-08-21

资助项目 :重庆市教委重点课程建设项目,渝教高(2003)14 号

作者简介 :胡尚勤(1950-)男,重庆人,教授,主要研究方向为应用微生物。

控制所不期望的微生物的生长,任何杀死或抑制微生物生长的方法都可以达到控制微生物生长的目的,包括加热、低温、干燥、辐射、过滤等物理方法和消毒剂、防腐剂、化学治疗剂等化学方法两大类。由于需要和目的的不同,对微生物生长控制的要求和采用的方法也就有很大的不同,因而所产生的效果也不同。通过检索国内外有关文献数据库,在检索出的相关文献中,发现利用 *Eutrama wasabi* 控制微生物生长及其基础理论方面的研究报道尚少,本研究旨在将 *Eutrama wasabi* 提取物作用于细菌尤其是病原菌以检查其杀菌效果,以便控制微生物生长。同时,进一步开发利用 *Eutrama wasabi* 及其有关基础研究提供科学依据。同时丰富微生物学教学内容。

## 1 材料和方法

### 1.1 材料

(1) *Eutrama wasabi* (一种原产于日本的十字花科的食用和药用植物,学名 *Eutrema wasabi*,译名瓦莎草)。由云南威信长绿有限公司提供。

(2) 菌种。大肠杆菌、金黄色葡萄球菌、白色念珠球菌、痢疾杆菌、变形杆菌、草绿色链球菌、溶血链球菌、产气杆菌等,均由重庆师范大学应用微生物研究所提供。

(3) 培养基及药品。牛肉膏蛋白胨培养基<sup>[4]</sup>、盐酸、氢氧化钠、丙酮、乙醚、乙醇、邻苯二甲酸氢钾、无水硫酸钠等。

(4) 仪器设备。恒温培养箱(12~40℃)、离心机(4000r/min)、恒温水浴锅、组织捣碎机、无菌室、超净工作台、钢管(高10mm,外径8mm,内径6mm)、蒸馏装置等。

### 1.2 方法

(1) *Eutrama wasabi* 有效成分提取与测定(主要成分是异硫氰酸酯<sup>[5]</sup>)。 *Eutrama wasabi* 茎洗净称取1kg,用组织捣碎机粉碎,装入烧瓶中,加入pH4.2的邻苯二甲酸氢钾-氢氧化钠缓冲溶液2000mL和0.1% Vc 20mL。密封水解2h,蒸汽蒸馏所得的馏出液加入少量乙醚萃取3次,再用无水硫酸钠干燥,在水浴中除去乙醚,用吡啶滴定法<sup>[5]</sup>测定其含量后,得到浅黄色油状成品。使用时用细菌过滤器过滤除菌。

(2) 把 *Eutrama wasabi* 提取物稀释成有效成分(主要成分是异硫氰酸酯)的质量分数为0.1%、

0.3%、0.5%、0.8%。分别取5mL于无菌试管中。

(3) 将大肠杆菌、枯草杆菌、产气杆菌、变形杆菌、金黄色葡萄球菌、白色念珠球菌、溶血链球菌、痢疾杆菌、乳酸链球菌、地衣芽孢杆菌、醋酸杆菌、保加利亚乳酸杆菌等,分别接种在牛肉膏蛋白胨斜面培养基上,37℃活化培养24h。然后用10mL无菌水洗下菌体,倒入装有无菌水90mL和无菌玻珠的三角瓶中,振荡10min,制成菌悬液,适当稀成 $10^4$ 个/mL。

(4) 在分别装有0.1%、0.3%、0.5%、0.8%不同质量分数的 *Eutrama wasabi* 提取物9mL的试管中,分别加入上述活化好的各种菌悬液1mL,每种菌做4个不同质量分数的处理,并分别在10、20、30、60、90、120min取样1mL进行平板菌落计数。

(5) 将牛肉膏蛋白胨培养基制成上下双层培养基进行灭菌。将 *Eutrama wasabi* 提取物质量分数分别为0.1%、0.3%、0.5%、0.8%进行抑菌圈大小的定性测定。无菌操作,将下层培养基倒入无菌培养皿中。待冷后,在上层培养基试管中分别加入上述活化菌种悬液,摇匀后倒入下层培养基上,冷后,每皿摆上4个无菌不锈钢管,在钢管中分别加入不同质量分数的 *Eutrama wasabi* 提取物。每种质量分数作2管,37℃培养24h,以测定其抑菌效果。

## 2 结果与分析

### 2.1 *Eutrema wasabi* 对细菌的杀菌作用

在同一时间内不同质量分数的 *Eutrama wasabi* 提取物对各细菌的杀菌作用,结果见表1。

从表1中数据可知, *Eutrama wasabi* 提取物对不同种细菌的作用不同,而且随着 *Eutrama wasabi* 提取物中有效成分含量增加,对细菌的杀菌作用随之增大。同时,可以看出, *Eutrama wasabi* 提取物对病原菌的作用更明显,如白色念珠球菌、溶血链球菌等最高杀死率为99%。对一般细菌如醋酸杆菌等的影响小些,杀死率为79%。这可能是由于这类细菌的代谢产物或结构上的差异所致。对芽孢杆菌如枯草芽孢杆菌作用更小些,杀死率为20%~60%,这可能是芽孢的抗性作用的缘故。抑菌圈直径最大为12mm。当然,为了杀死细菌可采用较高的 *Eutrama wasabi* 提取物,而且其中6-甲亚氨基硫氢酸酯具有抗肿瘤效果<sup>[2,3]</sup>。但是,如果食用时,质量分数太高,量太大,对人体不适宜,因为一方面质量分数过高,刺激性辣味亦重,使人有厌恶感;另一方面其中

异硫氰酸烯酯含量为 0.1% 左右时,其致死剂量为 600g/50kg 这样量大或质量分数大时,可能对机体细胞有损伤作用。因此,只有适量食用才能充分发挥其功能。

2.2 *Eutrama wasabi* 不同作用时间的杀菌作用  
采用 *Eutrama wasabi* 同一质量分数作用不同时间的杀菌效果,结果见表 2。

表 1 不同质量分数的 *Eutrama wasabi* 对各细菌的作用

菌种名称	wasabi 不同质量分数/(各处理 120min)				对照组 ( $\times 10^2$ /mL)	不同质量分数的 杀菌百分率/%			
	0.1	0.3	0.5	0.8		0.1	0.3	0.5	0.8
	菌落数( $\times 10^2$ 个/mL)								
大肠杆菌 ( <i>E. coli</i> )	3.71	2.2	0.5	0.1	10.0	63	82	95	99
金黄色葡萄球菌 ( <i>S. aureus</i> )	2.8	1.3	0.7	0.1	10.0	72	87	93	99
枯草芽孢杆菌 ( <i>B. subtilis</i> )	7.9	5.8	4.7	4.0	10.0	21	42	53	60
嗜热链球菌 ( <i>S. thermophilus</i> )	6.3	5.0	3.9	3.0	10.0	37	50	61	70
乳酸链球菌 ( <i>S. faecalis</i> )	5.9	5.1	3.5	2.8	10.0	41	49	65	72
地衣芽孢杆菌 ( <i>B. licheniformis</i> )	7.5	5.9	4.4	3.3	10.0	25	41	56	67
保加利亚乳酸杆菌 ( <i>L. bulgaricus</i> )	6.7	4.3	2.8	1.7	10.0	33	57	72	83
醋酸杆菌 ( <i>Acetobacter aceti</i> )	7.3	6.8	7.5	2.1	10.0	27	32	65	79
白色念珠球菌 ( <i>S. albus</i> )	2.5	1.3	0.4	0.1	10.0	75	87	96	99
溶血链球菌 ( <i>S. hemolyticus</i> )	2.2	1.4	1.0	1.0	10.0	78	86	90	99
草绿色链球菌 ( <i>S. viridans</i> )	2.7	1.6	1.1	0.2	10.0	73	84	89	98
痢疾杆菌 ( <i>Shigella dysenteriae</i> )	2.3	1.2	0.6	0.1	10.0	77	88	94	99
变形杆菌 ( <i>proteus vulgaris</i> )	6.5	2.1	1.3	0.8	10.0	35	79	87	92
产气杆菌 ( <i>A. aerogenes</i> )	6.1	1.9	1.2	0.8	10.0	39	81	88	92

注:表中拉丁文字名引自文献<sup>[6,7]</sup>。

表 2 *Eutrama wasabi* 提取物不同作用时间的杀菌作用

菌种名称	0.5% <i>Eutrama wasabi</i> 提取物不同作用时间 的杀菌作用( $\times 10^2$ 个/mL 活菌))						对照	<i>Eutrama wasabi</i> 提取物不同 时间杀菌率/%					
	10	20	30	60	90	120		10	20	30	60	90	120
	(min)							(min)					
大肠杆菌 ( <i>E. coli</i> )	8.0	7.3	6.4	4.3	1.1	0.4	10	20	27	36	57	89	96
金黄色葡萄球菌 ( <i>S. aureus</i> )	7.5	6.7	6.1	3.8	1.2	0.8	10	25	33	39	63	88	92
枯草芽孢杆菌 ( <i>B. subtilis</i> )	8.9	8.3	7.5	6.9	5.3	5.0	10	11	17	25	31	41	50
嗜热链球菌 ( <i>S. thermophilus</i> )	8.3	7.7	6.7	5.9	4.4	4.0	10	17	23	33	41	56	60
乳酸链球菌 ( <i>S. faecalis</i> )	8.4	8.0	7.3	5.0	4.0	3.6	10	16	20	27	50	60	64
地衣芽孢杆菌 ( <i>B. licheniformis</i> )	9.1	8.6	7.1	6.5	5.1	4.9	10	9	14	29	35	49	51
保加利亚乳酸杆菌 ( <i>L. bulgaricus</i> )	8.2	7.9	6.3	5.1	3.7	3.2	10	18	21	37	49	62	68
醋酸杆菌 ( <i>A. aceti</i> )	8.5	7.8	6.0	4.9	4.0	3.5	10	15	22	40	51	60	65
白色念珠球菌 ( <i>S. albus</i> )	7.0	4.9	2.6	1.3	0.7	0.3	10	30	51	74	87	93	97
溶血链球菌 ( <i>S. hemolyticus</i> )	7.4	5.3	3.1	2.7	1.2	0.8	10	26	47	69	73	88	92
草绿色链球菌 ( <i>S. viridans</i> )	7.9	6.1	4.0	2.9	1.5	1.0	10	21	39	60	71	85	90
痢疾杆菌 ( <i>Shigella dysenteriae</i> )	7.5	7.1	5.3	2.3	1.1	0.7	10	25	29	47	77	89	93
变形杆菌 ( <i>proteus vulgaris</i> )	8.2	7.6	6.2	4.4	2.1	1.5	10	18	24	38	56	79	85
产气杆菌 ( <i>A. aerogenes</i> )	8.5	8.1	6.5	4.2	1.9	1.4	10	15	19	35	58	81	86

注:表中拉丁文字名引自文献<sup>[6,7]</sup>。

从表 2 中数据可看出,在同样 *Eutrama wasabi* 质量分数和温度条件下,随着作用时间不同,其杀菌

率亦不同,随着时间的延长,其杀死细菌数越多,即杀 (下转 69 页)

(上接 49 页)

菌率越高。同样,可看出 *Eutrama wasabi* 对芽孢杆菌的杀菌作用较弱。作用时间为 120min 杀菌率最高为 50%~51%。而对病原菌杀菌效果较好,作用 120min 杀菌率最高为 97%。一般细菌因菌种不同而异,其作用机理有待进一步研究。这为微生物学中微生物生长的控制开辟了一条新途径,无疑也为微生物学教学增添了新的内容。

### 3 结论

(1)实验表明 *Eutrama wasabi* 提取物的杀菌作用是明显的,并且随质量分数增加其杀菌作用更强。选择使用质量分数时,一般应在 0.5% 左右为宜,对病原菌杀菌率在 80% 以上。既经济,效果亦不错。如果体内食用应在低剂量为宜。

(2)实验结果表明 *Eutrama wasabi* 提取物的杀菌作用,随处理时间不同而有不同,在 90~120min 杀菌效果较好,对病原菌杀菌率在 80%~97%。这对控制微生物的生长有重要作用,对控制微生物的生长找到了新方法。同时丰富了微生物学课程的教学内容。

(3)*Eutrama wasabi* 提取物对各种菌的作用随菌种,以及其它环境条件等不同而异。特别是作用

机制有待进一步研究。

#### 参考文献:

- [1] 胡尚勤. 建设有特色的市级重点微生物学课程[M]. 北京: 中国教育出版社, 2004. 297.
- [2] CHADWICK C I, LUMPKIN T A, ELBERSON L R. The botany, uses and production of *wasabi Japonica* (MIQ) [J]. *Cruciferae Matsum. Economic botany*, 1998, 47(2): 113-135.
- [3] MASUDA H, NAOHIDE K. Bactericidal activity of *wasabi* against *Helicobacter pylori* [J]. *International Journal of Food Microbiology* 2004, 94(3): 255-261.
- [4] 郝士海. 现代细菌学培养基和生化试验手册[M]. 北京: 中国科学技术出版社, 1992. 118.
- [5] 姜子涛, 罗辉. 调味芥末油中异硫氰酸酯含量的测定[J]. *食品研究与开发*, 1995, 16(1): 17-20.
- [6] BUCHANAN R E, GIBBONS N E. *Bergeys manual of determinative bacteriology* [M]. eighth edition. baltimore, 1974. 677.
- [7] 中国科学院微生物研究所细菌分类组. 细菌名称[M]. 北京: 科学出版社, 1980. 151-156.

(责任编辑 许文昌)