

草鱼胆汁酸与细菌生长试验

刘玉芳 欧杰

(上海水产大学食品学院, 200090)

摘要 本文研究了草鱼结合胆汁酸盐及游离胆汁酸盐的抑菌作用。研究结果表明,草鱼结合胆汁酸盐和游离胆汁酸盐对三种革兰氏阳性菌,如金黄色葡萄球菌(*Staphylococcus aureus*)、藤黄八叠球菌(*Sarcina lutea*)和枯草芽孢杆菌(*Bacillus subtilis*)有抑菌作用,能够明显地抑制革兰氏阳性菌的生长。草鱼结合胆汁酸盐像乳糖培养基中的牛胆盐一样,能够抑制革兰氏阳性菌的生长,而有利于革兰氏阴性菌如大肠杆菌(*Bacillus coli*)的生长。草鱼游离胆汁酸盐像GN增菌液中的去氧胆酸钠一样,能够抑制革兰氏阳性菌的生长,而对革兰氏阴性菌痢疾志贺氏菌(*Shigella dysenteriae*)的生长则无影响。

关键词 草鱼,胆汁酸,结合胆汁酸盐,游离胆汁酸盐,抑菌

中图分类号 Q58;S917.1

草鱼胆汁酸盐是草鱼胆汁中的主要固体物质。动物胆盐如牛胆盐、猪胆盐、羊胆盐等在食品检测中是培养基的成分作为抑菌剂,抑制样品中的其它细菌生长,对于要检测的细菌生长则无影响[耿筱麟 1984]。本文研究了草鱼胆汁酸盐的抑菌作用,试图用草鱼胆汁酸盐作为微生物培养基中的一种成分,作为替代品,用于微生物培养试验,为草鱼胆的综合利用迈出新的第一步。

1 材料与方法

1.1 材料

实验用培养基有营养琼脂培养基,乳糖胆盐培养基,GN增菌液,SS琼脂培养基,伊红美兰琼脂培养基,试验细菌痢疾志贺氏菌等均购自上海市卫生防疫站。大肠杆菌、藤黄八叠球菌、枯草芽孢杆菌、金黄色葡萄球菌等均为本校微生物实验室保存菌种。胆酸和去氧胆酸为Fluka产品。牛胆盐为包头市生物化学制药厂生产。草鱼结合胆汁酸盐与草鱼游离胆汁酸盐由作者自制[刘玉芳 1995]。草鱼结合胆汁酸盐中含有牛磺脱氧胆酸,草鱼游离胆汁酸盐中含有胆酸钠和去氧胆酸钠。新鲜牛奶和豆奶为市场上购买。

1.2 草鱼胆盐对细菌的抑菌试验

抑菌试验采用管碟法测量胆盐抑菌圈直径。标准胆酸、标准去氧胆酸、牛胆盐、草鱼结合胆

汁酸盐及草鱼游离胆汁酸盐均用煮沸冷却蒸馏水配制成所需浓度。试验菌液为经活化后的纯菌液,浓度用十倍稀释表示,用生理盐水稀释10倍、100倍、1000倍后分别用 10^{-1} 、 10^{-2} 和 10^{-3} 表示。

1.3 草鱼结合胆汁酸盐对大肠杆菌生长的试验

自配乳糖草鱼胆盐培养基为用草鱼结合胆汁酸盐代替标准乳糖胆盐培养基中的牛胆盐配制而成[中华人民共和国卫生部 1995]。将 10^{-1} 、 10^{-2} 和 10^{-3} 不同浓度大肠杆菌液分别接种于自配乳糖草鱼结合胆汁酸盐培养基和标准乳糖胆盐培养基中,培养24小时后,观察产酸产气情况。新鲜牛奶及新鲜豆奶浓度用 10° 表示,均质稀释10倍、100倍后分别用 10^{-1} 和 10^{-2} 表示。将三种不同浓度的牛奶及豆奶各1毫升分别加到自配乳糖草鱼结合胆汁酸盐培养基和标准乳糖胆盐培养基中,培养24小时,观察产酸产气情况。

1.4 草鱼游离胆汁酸盐对痢疾志贺氏菌生长的试验

痢疾志贺氏菌的培养,安瓿瓶中的纯干粉状菌种用适量生理盐水稀释后,将菌液接种在营养琼脂斜面上,置培养箱中 $36\pm 1^{\circ}\text{C}$,培养24小时即为活化菌种的备用。将此斜面菌种分别接种到标准和自配的GN增菌液中, $36\pm 1^{\circ}\text{C}$ 培养8小时,然后再分别接种到SS琼脂和EMB琼脂培养基上, $36\pm 1^{\circ}\text{C}$,培养24小时,观察结果。

新鲜豆奶检测,分别取新鲜豆奶25mL加到盛有标准和自制的GN增菌液的瓶中, $36\pm 1^{\circ}\text{C}$,培养8小时,再接种到SS琼脂和EMB琼脂培养基上,操作同上,观察结果。

2 结果与讨论

2.1 草鱼胆盐对细菌的抑菌作用

2.1.1 草鱼游离胆汁酸盐对细菌的抑菌作用

草鱼游离胆汁酸盐对某些细菌抑菌实验结果列于表1。表1表明,当菌液浓度为 10^{-2} 和 10^{-3} 时,草鱼游离胆汁酸盐及其对照品标准脱氧胆酸和标准胆酸都对藤黄八叠球菌和枯草芽孢杆菌都产生了基本相同大小的抑菌圈,显示了草鱼游离胆汁酸盐具有明显的抑菌效果,而对金黄色葡萄球菌来说,草鱼游离胆汁酸盐与其对照品标准脱氧胆酸和标准胆酸相比较,抑菌圈直径更大一些,抑菌效果显示更强一些。

2.1.2 草鱼结合胆汁酸盐对细菌的抑菌作用

草鱼结合胆汁酸盐对某些细菌的抑菌试验结果列于表2。表2表明,当菌液浓度为 10^{-2} 和 10^{-3} 时,草鱼结合胆汁酸盐对金黄色葡萄球菌和枯草芽孢杆菌都有相同大小的抑菌圈,与对照品牛胆盐相比较,抑菌圈大小也相同,其抑菌效果相当,在试验浓度范围内抑菌圈的大小与其浓度关系不大。草鱼结合胆汁酸盐对藤黄八叠球菌亦有明显的抑菌作用,和对照品牛胆盐一样,抑菌效果随着胆盐浓度增加而增加。

2.2 草鱼结合胆汁酸盐对大肠杆菌生长的作用

草鱼结合胆汁酸盐对大肠杆菌生长试验结果列于表3。大肠菌群是食品卫生检测中最常用

的指标之一,通过检测食品中有无大肠菌群及其含量来判断食品是否符合卫生标准。胆盐(牛胆盐或猪胆盐)作为培养基的一种成分起到抑菌作用,抑制样品中革兰氏阳性菌的生长而有利于大肠菌群的生长,这也是乳糖胆盐培养基的特征所在。表3表明,标准乳糖胆盐培养基与自配乳糖草鱼结合胆汁酸盐培养基里接入大肠杆菌菌液后,小倒管中产酸产气,对乳糖发酵,表明有大肠菌群存在。这说明自配培养基中的草鱼结合胆汁酸盐同标准胆盐培养基中的牛胆盐一样有利于大肠菌群的生长。从新鲜牛奶、豆奶的发酵培养中发现,小倒管中没有产酸产气,对乳糖不发酵,没有观察到大肠菌群的生长,从而检测出新鲜牛奶、豆奶是符合食品卫生标准的。由此表明,自配乳糖草鱼结合胆汁酸盐培养基与标准乳糖胆盐培养基一样可以用来检测样品,证明了草鱼结合胆汁酸盐像标准乳糖胆盐培养基中的牛胆盐一样可以用来检验食品中大肠菌群的存在与否。

表1 草鱼游离胆汁酸盐对细菌的抑菌作用(抑菌圈直径:mm)

Tab. 1 The effect of the inhibition of the growth of bacteria by the grass carp free bile salt (bacteriostatic circle diameter : mm)

细菌名称	药品名称	药品浓度					
		1mg/mL		2mg/mL		3mg/mL	
		10 ⁻²	10 ⁻³	菌液浓度 10 ⁻²	10 ⁻³	10 ⁻²	10 ⁻³
金黄色葡萄球菌	标准脱氧胆酸	5	5	5	8	5	9
	标准胆酸	8	8	8	8	—	—
	草鱼游离胆汁酸盐	—	—	10	10	10	10
藤黄八叠球菌	标准脱氧胆酸	5	5	5	5	5	5
	标准胆酸	5	5	5	5	5	5
	草鱼游离胆汁酸盐	5	5	5	5	5	5
枯草芽孢杆菌	标准脱氧胆酸	5	5	5	8	5	9
	标准胆酸	5	5	5	5	—	—
	草鱼游离胆汁酸盐	5	5	6	6	5	5

表2 草鱼结合胆汁酸盐对细菌的抑菌作用(抑菌圈直径:mm)

Tab. 2 The effect of the inhibition of the growth of bacteria by the grass carp combined bile salt (bacteriostatic circle diameter : mm)

细菌名称	药品名称	药品浓度					
		100mg/mL		150mg/mL		200mg/mL	
		10 ⁻²	10 ⁻³	菌液浓度 10 ⁻²	10 ⁻³	10 ⁻²	10 ⁻³
金黄色葡萄球菌	牛胆盐	5	5	5	5	5	5
	草鱼结合胆汁酸盐	5	5	5	5	5	5
藤黄八叠球菌	牛胆盐	5	11	12	12	15	15
	草鱼结合胆汁酸盐			5	5	10	10
枯草芽孢杆菌	牛胆盐	5	5	5	5	5	5
	草鱼结合胆汁酸盐	5	5	5	5	5	5

表3 大肠杆菌在不同乳糖胆盐发酵培养基中的生长作用

Tab. 3 The effect of the growth of the *Bacillus coli* on different kinds of lactose bile salt medium

菌液浓度	大肠杆菌		牛奶(豆奶) 浓度	新鲜牛奶		新鲜豆奶	
	标准乳糖胆盐培养基	自配乳糖草鱼胆盐培养基		标准乳糖胆盐培养基	自配乳糖草鱼胆盐培养基	标准乳糖胆盐培养基	自配乳糖草鱼胆盐培养基
10 ⁻¹	+	+	10 ⁰	-	-	-	-
10 ⁻²	+	+	10 ⁻¹	-	-	-	-
10 ⁻³	+	+	10 ⁻²	-	-	-	-

注：“+”表明产酸产气，“-”表明不产酸不产气，即不发酵

2.3 草鱼游离胆汁酸盐对痢疾志贺氏菌生长的作用

草鱼游离胆汁酸盐对痢疾志贺氏菌生长试验结果列于表4。表4表明，自配GN增菌液和标准GN增菌液一样，对痢疾志贺氏菌能同样起到增菌的作用。通过划线接种法把痢疾志贺氏菌接种到SS琼脂培养基和EMB琼脂培养基上，观察到有生长良好的无色透明状痢疾志贺氏菌菌落。对新鲜豆奶检测中，从SS琼脂培养基和EMB琼脂培养基上没有观察到无色透明的痢疾志贺氏菌菌落存在，这说明新鲜豆奶中没有致病性的痢疾志贺氏菌，符合食品卫生标准。实验结果证明了自配GN增菌液和标准GN增菌液一样增菌效果完全相同，能够用来检测样品中的痢疾志贺氏菌的试验，从而证实了草鱼游离胆汁酸盐像标准GN增菌液中的去氧胆酸钠一样能作为增菌液培养基的成分作为去氧胆酸钠的替代品。

表4 草鱼游离胆汁酸盐对痢疾志贺氏菌生长的作用

Tab. 4 The effect of the growth of the shigella dysenteriae caused by the grass carp free bile salt

培养基	痢疾志贺氏菌		新鲜豆奶	
	标准GN增菌液	自配GN增菌液	标准GN增菌液	自配GN增菌液
SS琼脂培养基菌落生长	+	+	-	-
EMB琼脂培养基菌落生长	+	+	-	-

注：“+”表示有痢疾志贺氏菌菌落，菌落为无色透明状，“-”表示无痢疾志贺氏菌菌落

3 小结

草鱼胆汁酸盐即草鱼游离胆汁酸盐和草鱼结合胆汁酸盐对三种革兰氏阳性菌即金黄色葡萄球菌、藤黄八叠球菌和枯草芽孢杆菌都具有明显的抑菌作用，其抑菌效果的大小与多种因素有关，与试验菌的种类、试验菌液的浓度、胆汁酸盐的浓度等因素有关。

草鱼结合胆汁酸盐像标准乳糖胆盐培养基中的牛胆盐一样，能作为培养基的成分替代牛胆盐配制鉴别性培养基，用来检测样品中大肠菌群。

草鱼游离胆汁酸盐像标准GN增菌液中的去氧胆酸钠一样，能做为配制标准GN增菌液培养基中的成分检测样品中痢疾志贺氏菌的存在与否。从而表明草鱼游离胆汁酸盐能作为去氧胆酸钠的替代品。

参 考 文 献

- 刘玉芳. 1995. 薄层色谱扫描法测定草鱼胆汁酸的含量. 上海水产大学学报, 4(2):152~155.
- 耿筱麟. 1984. 胆盐对大肠菌群生长试验的观察. 中华预防医学杂志, 1(1):53.
- 中华人民共和国卫生部. 1995. 国家标准, 食品卫生微生物学检验, GB4789, 3~94, GB4789, 5~94. 北京: 中国标准出版社.

STUDY ON BILE ACID FROM GRASS CARP BILE AND ITS BACTERIOSTATIC EFFECT

LIU Yu-Fang, OU Jie

(College of Food Science, SFU, 200090)

ABSTRACT The bacteriostatic effect of both free and combined bile salts from grass carp bile was studied in this paper. The experimental results show that both salts remarkably exerted their bacteriostasis to three species of such Gram positive bacteria as *Staphylococcus aureus*, *Sarcina lutea* and *Bacillus subtilis*. The combined salt was quite similar to cow bile salt cultured in lactose bile medium, which showed bacteriostasis to Gram positive bacteria, but not to Gram negative ones like *Bacillus coli*. As to the free bile salt, it was similar to deoxycholic acid in GN-enriched medium and showed bacteriostasis to Gram positive bacteria, but no effect on the growth of *Shigella dysenteriae*.

KEYWORDS grass carp, bile acid, combined bile salt, free bile salt, bacteriostasis