

辐照对有机弱酸类防腐剂抑菌性的影响

李树锦^{1,2}, 高美须^{2*}, 崔承弼^{1*}, 刘超超², 牟慧², 赵鑫², 王志东²

(1. 延边大学农学院, 吉林 延吉 133002; 2. 中国农业科学院农产品加工研究所, 北京 100193)

摘要: 为研究辐照对有机弱酸类防腐剂抑菌性的影响, 实验以革兰氏阴性 (G^-) 菌肠炎沙门氏菌、福氏志贺氏菌、大肠杆菌和革兰氏阳性 (G^+) 菌单增李斯特菌、金黄色葡萄球菌、枯草芽孢杆菌、肠膜明串珠菌为目标菌株, 采用酶标比浊法测定山梨酸钾、双乙酸钠、丙酸钠、丙酸钙和脱氢醋酸钠在固态粉末和溶液状态下, 经0、5、10、15 kGy的⁶⁰Co γ 射线辐照后抑菌性的变化, 同时确立酶标比浊法的检测波长和防腐剂质量浓度。结果表明: 5 kGy以下的低剂量辐照对防腐剂的抑菌性基本不产生影响, 10~15 kGy辐照对防腐剂的抑菌性产生影响, 能使多数防腐剂的抑菌性增加, 且辐照剂量越高影响越大; 辐照对防腐剂溶液抑菌性的影响比固态防腐剂粉末大; G^+ 菌对辐照防腐剂抑菌性的变化比 G^- 菌更敏感。

关键词: 辐照; 防腐剂; 抑菌性影响; 酶标比浊法

Effects of Irradiation on Antimicrobial Activity of Weak Organic Acid Preservatives

LI Shu-jin^{1,2}, GAO Mei-xu^{2*}, CUI Cheng-bi^{1*}, LIU Chao-chao², MOU Hui², ZHAO Xin², WANG Zhi-dong²

(1. College of Agriculture, Yanbian University, Yanji 133002, China; 2. Institute of Agro-products Processing Science and Technology, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Beijing 100193, China)

Abstract: This study was intended to investigate the effect of ⁶⁰Co γ -ray irradiation on the antimicrobial activity of weak organic acid preservatives, potassium sorbate, sodium diacetate, sodium propionate, calcium propionate and sodium acetate dehydrogenation. Irradiation dosages were set as 0, 5, 10 and 15 kGy. The target strains were Gram-negative (G^-) bacteria including *Salmonella enteritidis*, *Shigella flexneri*, *Escherichia coli*, and Gram-positive (G^+) bacteria including *Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis* and *Leuconostoc mesenteroides*. Meanwhile, the detection wavelength and suitable preservative concentrations for microtiter plate assay were established. The results showed that low dose irradiation under 5 kGy had little effect on the antimicrobial activity of preservatives, but 10–15 kGy irradiation could increase the antimicrobial activity of most preservatives with a positive dose-effect relationship. Irradiation made the antimicrobial activity of preservatives more sensitive in solution than in the solid state. It was observed that the change in antimicrobial activity of preservatives to G^+ bacteria after irradiation was more sensitivity than to G^- bacteria.

Key words: irradiation; preservatives; antimicrobial activity; microtiter plate assay

中图分类号: TQ047.6

文献标志码: A

文章编号: 1002-6630 (2014) 17-0058-05

doi:10.7506/spkx1002-6630-201417012

防腐剂是能抑制微生物活动, 防止食品腐败变质的一类食品添加剂^[1]。实践证明, 防腐剂是目前食品加工中最常用的防止食品腐败变质的手段之一。但是防腐剂摄入过多会对人体健康产生危害, 超剂量的摄入一些化学防腐剂会引起食物中毒甚至癌症。目前, 我国超剂量使用或应用不合格的防腐剂不是个例, 不仅降低了食品的食用安全性也给食品加工的信誉带来了不良影响。因此, 降低防腐剂的使用量是目前食品加工中亟待解决的

问题。现阶段, 食品的防腐保鲜手段多样, 且往往是几种手段的综合作用。因此, 除了考虑各种手段的单一效应外, 还要考虑它们之间的相互影响效应。辐照作为一种有效的冷杀菌技术, 以其能耗低、无毒物残留、无污染、灭菌彻底、不破坏营养成分等独特优势成为食品加工技术的主要领域之一^[2]。食品辐照技术也常用于对加入防腐剂后的食品进行杀菌处理, 比如近年来因其麻辣有滋、皮韧肉香而深受消费者欢迎的泡椒凤爪就综合利

收稿日期: 2013-08-22

基金项目: “十二五” 国家科技支撑计划项目 (2014BAA03B05)

作者简介: 李树锦 (1989—), 女, 硕士研究生, 研究方向为农产品加工与贮藏工程。E-mail: lsj19870601@163.com

*通信作者: 高美须 (1965—), 女, 副研究员, 本科, 研究方向为食品辐照和致敏蛋白。E-mail: meixugao@263.net

崔承弼 (1968—), 男, 教授, 博士, 研究方向为功能性食品研究与开发。E-mail: cuichengbi@ybu.edu.cn

用了辐照和防腐剂的来处理来延长其货架期。有研究表明,辐照会造成一些分子的结构和功能的变化^[3-7]。杨桂霞等^[8]研究发现对大分子质量的海藻酸钠进行⁶⁰Co γ 辐照时,随着剂量的增加,海藻酸钠的分子质量减小,并产生少量新组分;Antônio等^[9]发现辐照可以使麦芽凝集素的构象产生变化,形成不容性非晶聚集物,降低其致敏活性。然而,虽然实际生产加工中经常综合利用辐照和防腐剂的方法对食品进行防腐,但目前为止辐照对防腐剂的影响还未有见过报道。

山梨酸钾、双乙酸钠、丙酸钠、丙酸钙、脱氢醋酸钠均属于有机弱酸类防腐剂,这些防腐剂安全性较高,是食品加工中最为普遍利用的防腐剂类型。本实验就辐照对这几种防腐剂抑菌性的影响进行了研究,以期合理有效的利用这两种防腐方式,为获得长货架期的安全食品提供技术支持。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 防腐剂、菌种与培养基

山梨酸钾、丙酸钙、双乙酸钠 上海源叶生物科技有限公司;丙酸钠 国药集团化学试剂有限公司;脱氢醋酸钠 美国Sigma公司。

肠炎沙门氏菌、金黄色葡萄球菌、大肠杆菌、枯草芽孢杆菌、单增李斯特菌、福氏志贺氏菌、肠膜明串珠菌 中国工业微生物菌种保藏中心。

营养肉汤、MRS肉汤、脑心浸萃液态培养基 北京陆桥技术有限公司。

1.1.2 仪器与设备

LX-C不锈钢立式压力蒸汽灭菌器 合肥华泰医疗设备有限公司;超净工作台 苏州安泰空气技术有限公司;BSD-100振荡培养箱 上海博讯实业有限公司;I-mark酶标仪 美国Bio-Rad公司。

1.2 方法

1.2.1 菌悬液的制备

挑取斜面菌种至含有20 mL相应无菌液态培养基的锥形瓶中,在适宜温度下培养22~24 h后,用无菌液态培养基稀释至 10^5 CFU/mL备用。

1.2.2 酶标比浊法实验条件的筛选^[10-11]

1.2.2.1 检测波长的筛选

分别精确称取0.8 g的山梨酸钾、双乙酸钠、丙酸钠和丙酸钙以及0.16 g的脱氢醋酸钠,溶于50 mL蒸馏水中得到16 mg/mL和3.2 mg/mL的溶液,再稀释至适宜的质量浓度。以蒸馏水做参比,用紫外-可见分光光度计在190~900 nm波长范围内分别对其进行扫描。

1.2.2.2 防腐剂质量浓度的筛选

分别配制32 mg/mL的山梨酸钾、双乙酸钠、丙酸钠和丙酸钙溶液和6.4 mg/mL的脱氢醋酸钠溶液。将96孔细胞培养板的1~2孔加入100 μ L所配防腐剂溶液,并加入100 μ L 2倍浓度的无菌营养肉汤(相应的无菌液态培养基)混匀,第3~12孔分别加入100 μ L 1倍浓度的无菌营养肉汤。分别从1~2孔中吸取100 μ L到3~4孔混匀,再从3~4孔吸取100 μ L到5~6孔……最后11~12孔中吸取100 μ L弃去。接着将各孔加入100 μ L培养24 h的菌悬液(以100 μ L无菌营养肉汤+100 μ L培养24 h的菌悬液做为空白对照)。混匀后立即置于酶标仪中测其OD_{630 nm}值。

1.2.3 防腐剂的辐照

分别将配制好的32 mg/mL的山梨酸钾、双乙酸钠、丙酸钠和丙酸钙溶液以及6.4 mg/mL的脱氢醋酸钠溶液,及其固态粉末在中国农业科学院农产品加工研究所辐照中心(⁶⁰Co源)进行辐照,设置辐照剂量为0、5、10、15 kGy,用重铬酸钾(银)剂量计进行剂量追踪,测得的实际吸收剂量分别为0、4.2、10.2、13.8 kGy,方便起见在实验中仍然用辐照剂量进行描述。

1.2.4 辐照对防腐剂抑菌性的影响

将辐照后的固态以及高质量浓度的液态防腐剂用相应的液态培养基配成所需质量浓度。吸取100 μ L到细胞培养板的孔中,再将备用菌悬液吸取100 μ L到孔中混匀(每个样做3个平行)。立即用酶标仪测其光密度值,然后在所需培养温度下振荡培养24 h后再次用酶标仪测其光密度值。以两次光密度值的差值来表示每个孔中菌含量的变化。

1.3 数据分析

利用SAS软件进行数据分析。

2 结果与分析

2.1 酶标比浊法实验条件的确定

2.1.1 检测波长的确定

为了避开实验中防腐剂本身对菌液光密度值的影响,对防腐剂溶液进行了190~900 nm波长扫描以避开防腐剂的最大吸收波峰,结果如图1所示。

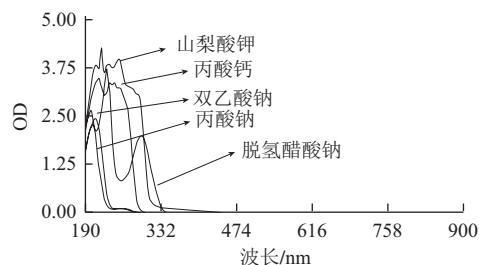


图1 不同防腐剂的全波段吸收曲线

Fig.1 Absorption spectra of different preservatives within the whole wavelength band

由图1可知,防腐剂的吸收峰波长处于190~332 nm之间,616 nm后趋于零。对于菌悬液,理论上测其光密度值时波长并没有严格限制。故为了避免防腐剂的干扰选择630 nm作为检测波长。

2.1.2 防腐剂质量浓度的选择

表1 防腐剂在不同质量浓度下大肠杆菌悬液的OD_{630 nm}值
Table 1 OD_{630 nm} values of *E. coli* suspension with preservatives at various concentrations

防腐剂	质量浓度/(mg/mL)					
	8	4	2	1	0.5	0.25
山梨酸钾	0.445±0.017	0.455±0.016	0.445±0.009	0.455±0.005	0.457±0.008	0.465±0.011
双乙酸钠	0.478±0.004	0.448±0.008	0.471±0.010	0.461±0.007	0.486±0.016	0.479±0.005
丙酸钠	0.524±0.011*	0.491±0.012	0.474±0.006	0.461±0.004	0.455±0.021	0.445±0.002
丙酸钙	0.547±0.006*	0.521±0.038	0.510±0.010	0.501±0.018	0.489±0.016	0.479±0.011

防腐剂	质量浓度/(mg/mL)					
	1.6	0.8	0.4	0.2	0.1	0.05
脱氢醋酸钠	0.521±0.016	0.510±0.002	0.506±0.013	0.509±0.026	0.443±0.016	0.489±0.019

注:空白对照的OD_{630 nm}值为0.477±0.009;*.与空白对照相比光密度值差异显著(P<0.05)。

表2 防腐剂在不同质量浓度下金黄色葡萄球菌悬液的OD_{630 nm}值
Table 2 OD_{630 nm} values of *S. aureus* suspension with preservatives at various concentrations

防腐剂	质量浓度/(mg/mL)					
	8	4	2	1	0.5	0.25
山梨酸钾	0.359±0.042	0.350±0.006	0.345±0.021	0.358±0.001	0.329±0.009	0.312±0.029
双乙酸钠	0.337±0.023	0.345±0.018	0.312±0.073	0.314±0.026	0.339±0.011	0.334±0.011
丙酸钠	0.348±0.017	0.367±0.016	0.363±0.020	0.388±0.023	0.374±0.013	0.353±0.024
丙酸钙	0.399±0.004*	0.392±0.012*	0.370±0.002	0.343±0.016	0.348±0.010	0.343±0.004

防腐剂	质量浓度/(mg/mL)					
	1.6	0.8	0.4	0.2	0.1	0.05
脱氢醋酸钠	0.394±0.014*	0.392±0.027*	0.368±0.005	0.337±0.012	0.363±0.006	0.367±0.010

注:空白对照的OD_{630 nm}值为0.348±0.005;*.与空白对照相比光密度值差异显著(P<0.05)。

表1、2为不同质量浓度的防腐剂对大肠杆菌和金黄色葡萄球菌悬液OD_{630 nm}值的影响。此外,还测定了不同防腐剂质量浓度下沙门氏菌、李斯特菌、志贺氏菌、明串珠菌、枯草芽孢杆菌悬液的OD_{630 nm}值(未列出)。山梨酸钾和双乙酸钠的质量浓度即使为8 mg/mL,对各个菌悬液OD_{630 nm}值的影响与空白对照相比差异也不显著;丙酸钠在4 mg/mL及其以下的质量浓度对各个菌悬液OD_{630 nm}值的影响与空白对照相比差异不显著;丙酸钙在2 mg/mL及其以下质量浓度对各个菌悬液OD_{630 nm}值的影响与空白对照相比差异不显著;脱氢醋酸钠在0.4 mg/mL及其以下质量浓度对各个菌悬液OD_{630 nm}值的影响与空白对照相比差异不显著。结合实际食品加工中几种防腐剂的用量标准^[12],以及翁佩芳^[10]、杨晓韬^[13]等的研究结果,并综合几次预实验所出的结果,选择丙酸钙2 mg/mL、丙酸钠4 mg/mL、山梨酸钾2 mg/mL、双乙酸钠1 mg/mL、脱氢醋酸钠0.4 mg/mL分别作为辐照对防腐剂抑菌性的影响实验中防腐剂的质量浓度。

2.2 辐照对防腐剂抑菌性的影响

本实验以培养前后菌液中含菌量的变化来表示防腐剂抑菌性的大小,含菌量变化越大则防腐剂抑菌性越小。表3~7显示了对各个防腐剂溶液及其固态粉末进行不同剂量辐照后其抑菌性的变化。

表3 丙酸钙辐照后的抑菌性
Table 3 Antibacterial activity of calcium propionate after irradiation

剂量/kGy	肠炎沙门氏菌	金黄色葡萄球菌	大肠杆菌	枯草芽孢杆菌	单增李斯特菌	福氏志贺氏菌	肠膜明串珠菌
0	0.942±0.059 ^a	0.821±0.080 ^a	0.934±0.131 ^a	0.906±0.040 ^a	0.312±0.135 ^a	0.691±0.089 ^a	0.234±0.067 ^a
固态	5	0.938±0.027 ^a	0.792±0.123 ^a	0.958±0.051 ^a	0.904±0.068 ^a	0.175±0.023 ^a	0.699±0.117 ^a
辐照	10	0.941±0.014 ^a	0.810±0.107 ^a	0.927±0.122 ^a	0.906±0.063 ^a	0.223±0.025 ^a	0.693±0.098 ^a
15	0.769±0.086 ^a	0.454±0.085 ^a	0.858±0.025 ^a	0.822±0.119 ^a	0.246±0.125 ^a	0.115±0.132 ^a	0.214±0.065 ^a
0	0.879±0.093 ^a	0.759±0.170 ^a	0.976±0.070 ^a	0.787±0.010 ^a	0.246±0.044 ^a	0.680±0.091 ^a	0.150±0.034 ^a
液态	5	0.920±0.075 ^a	0.116±0.078 ^a	1.067±0.081 ^a	0.257±0.015 ^a	0.117±0.041 ^a	0.578±0.047 ^a
辐照	10	0.908±0.015 ^a	0.065±0.041 ^a	1.042±0.114 ^a	0.212±0.128 ^a	0.201±0.036 ^a	0.535±0.038 ^a
15	0.785±0.072 ^a	0.025±0.013 ^a	1.006±0.061 ^a	0.138±0.039 ^a	0.174±0.097 ^a	0.144±0.167 ^a	0.158±0.015 ^a

注:同列小写字母不同表示差异显著(P<0.05)。

由表3可知,丙酸钙固态辐照时,剂量在10 kGy以内抑菌性没有显著变化,15 kGy时引起对沙门氏菌、金黄色葡萄球菌、志贺氏菌的抑菌性显著增强;液态辐照,在剂量为5 kGy时,对李斯特菌等几个革兰氏阳性(G⁺)菌的抑菌性显著增强(明串珠菌除外),而革兰氏阴性(G⁻)菌在10 kGy以内抑菌性变化不显著,15 kGy对沙门氏菌和志贺氏菌的抑制性增强。

表4 丙酸钠辐照后的抑菌性
Table 4 Antibacterial activity of sodium propionate after irradiation

剂量/kGy	肠炎沙门氏菌	金黄色葡萄球菌	大肠杆菌	枯草芽孢杆菌	单增李斯特菌	福氏志贺氏菌	肠膜明串珠菌
0	0.947±0.060 ^a	0.933±0.026 ^a	0.865±0.030 ^a	0.966±0.038 ^a	0.755±0.032 ^a	1.035±0.081 ^a	0.164±0.077 ^a
固态	5	0.943±0.014 ^a	0.884±0.077 ^a	0.786±0.058 ^a	1.066±0.086 ^a	1.105±0.290 ^a	1.063±0.104 ^a
辐照	10	0.953±0.013 ^a	0.885±0.047 ^a	0.901±0.093 ^a	1.081±0.063 ^a	0.742±0.032 ^a	1.010±0.114 ^a
15	0.854±0.019 ^a	0.911±0.027 ^a	0.816±0.080 ^a	1.060±0.009 ^a	0.898±0.266 ^a	0.895±0.153 ^a	0.333±0.020 ^a
0	1.036±0.077 ^a	0.923±0.126 ^a	0.875±0.039 ^a	0.666±0.064 ^a	0.779±0.106 ^a	0.843±0.095 ^a	0.213±0.041 ^a
液态	5	1.025±0.015 ^a	0.992±0.043 ^a	0.931±0.038 ^a	0.635±0.053 ^a	1.197±0.055 ^a	0.746±0.093 ^a
辐照	10	1.025±0.019 ^a	0.559±0.017 ^a	0.911±0.062 ^a	0.299±0.075 ^a	0.649±0.071 ^a	0.770±0.079 ^a
15	0.976±0.021 ^a	0.150±0.124 ^a	0.889±0.045 ^a	0.653±0.063 ^a	0.694±0.033 ^a	0.760±0.127 ^a	0.256±0.038 ^a

由表4可知,除明串珠菌和枯草芽孢杆菌外,固态辐照时,剂量在15 kGy以内基本不引起丙酸钠抑菌性变化;液态辐照时,10 kGy可引起丙酸钠对金黄色葡萄球菌、枯草芽孢杆菌、李斯特菌的抑菌性增强,对其他菌种抑菌性无显著性变化。

由表5可知,固态辐照,剂量在5 kGy时,山梨酸钾对志贺氏菌的抑菌性上升,而对明串珠菌抑菌性下降;15 kGy时对枯草芽孢杆菌的抑菌性下降,而对其他菌无变化。当液态辐照剂量达到5 kGy时对志贺氏菌的抑菌性显著上升,10 kGy可使金黄色葡萄球菌和福氏志贺氏菌的抑菌性显著上升,15 kGy引起大肠杆菌和枯草芽孢杆菌抑菌性的增强,而对其他菌的抑菌性没有显著变化。

表5 山梨酸钾辐照后的抑菌性

Table 5 Antibacterial activity of potassium sorbate after irradiation

剂量/kGy	肠炎沙门氏菌	金黄色葡萄球菌	大肠杆菌	枯草芽孢杆菌	单增李斯特菌	福氏志贺氏菌	肠膜明串珠菌
0	0.437±0.124 ^a	0.301±0.008 ^a	0.168±0.050 ^a	0.327±0.021 ^a	0.895±0.115 ^a	0.180±0.006 ^a	0.124±0.043 ^b
5	0.370±0.077 ^a	0.300±0.114 ^a	0.136±0.038 ^a	0.297±0.038 ^a	0.788±0.028 ^a	0.107±0.010 ^a	0.322±0.023 ^b
10	0.354±0.210 ^a	0.209±0.015 ^a	0.116±0.014 ^a	0.319±0.045 ^a	0.830±0.140 ^a	0.076±0.016 ^a	0.310±0.196 ^a
15	0.209±0.083 ^a	0.280±0.023 ^a	0.123±0.041 ^a	0.421±0.049 ^a	0.727±0.031 ^a	0.058±0.008 ^a	0.275±0.074 ^a
0	0.457±0.010 ^a	0.755±0.106	0.211±0.036 ^a	0.254±0.040 ^a	0.887±0.007 ^a	0.271±0.052 ^a	0.375±0.145 ^a
5	0.489±0.121 ^a	0.628±0.176 ^b	0.225±0.032 ^a	0.178±0.114 ^b	0.898±0.120 ^a	0.155±0.026 ^a	0.428±0.127 ^a
10	0.448±0.141 ^a	0.544±0.084 ^a	0.184±0.044 ^a	0.186±0.045 ^b	0.994±0.073 ^a	0.094±0.011 ^a	0.551±0.102 ^a
15	0.340±0.227 ^a	0.487±0.052 ^b	0.089±0.008 ^b	0.101±0.059 ^b	0.882±0.220 ^a	0.052±0.008 ^a	0.441±0.060 ^a

表6 双乙酸钠辐照后的抑菌性

Table 6 Antibacterial activity of sodium diacetate after irradiation

剂量/kGy	肠炎沙门氏菌	金黄色葡萄球菌	大肠杆菌	枯草芽孢杆菌	单增李斯特菌	福氏志贺氏菌	肠膜明串珠菌
0	0.674±0.061 ^a	0.070±0.004 ^a	0.403±0.028 ^a	0.534±0.025 ^a	0.201±0.217 ^a	0.709±0.041 ^a	0.353±0.051 ^a
5	0.640±0.096 ^a	0.129±0.037 ^a	0.356±0.153 ^a	0.542±0.034 ^a	0.104±0.002 ^a	0.843±0.150 ^a	0.632±0.105 ^a
10	0.553±0.144 ^a	0.077±0.007 ^a	0.413±0.143 ^a	0.525±0.021 ^a	0.280±0.360 ^a	0.611±0.046 ^a	0.584±0.050 ^a
15	0.607±0.014 ^a	0.324±0.108 ^a	0.508±0.088 ^a	0.531±0.020 ^a	0.288±0.359 ^a	0.159±0.123 ^a	0.539±0.102 ^a
0	0.729±0.017 ^a	0.104±0.047 ^a	0.530±0.102 ^a	0.451±0.041 ^a	1.023±0.021 ^a	0.822±0.032 ^a	0.563±0.017 ^a
5	0.504±0.218 ^b	0.040±0.010 ^a	0.448±0.102 ^a	0.287±0.018 ^b	0.785±0.011 ^b	0.788±0.061 ^a	0.544±0.028 ^a
10	0.304±0.215 ^b	0.006±0.012 ^b	0.357±0.134 ^a	0.355±0.048 ^b	0.937±0.279 ^a	0.662±0.037 ^a	0.497±0.102 ^a
15	0.334±0.247 ^b	0.010±0.003 ^b	0.474±0.062 ^a	0.105±0.102 ^c	1.075±0.043 ^a	0.295±0.046 ^a	0.577±0.085 ^a

由表6可知, 固态辐照剂量为5 kGy时, 双乙酸钠对肠膜明串珠菌的抑菌性与对照组相比显著下降; 10 kGy时, 对志贺氏菌的抑菌性与对照组相比显著增强; 15 kGy时, 对金黄色葡萄球菌的抑菌性与对照相比显著下降, 对其他菌种的抑制性无变化; 液态辐照时除明串珠菌和大肠杆菌外, 10 kGy以内的剂量可引起双乙酸钠的抑菌性显著上升。

表7 脱氢醋酸钠辐照后的抑菌性

Table 7 Antibacterial activity of sodium dehydroacetate after irradiation

剂量/kGy	肠炎沙门氏菌	金黄色葡萄球菌	大肠杆菌	枯草芽孢杆菌	单增李斯特菌	福氏志贺氏菌	肠膜明串珠菌
0	0.957±0.033 ^a	0.776±0.035 ^a	0.999±0.087 ^a	1.087±0.029 ^a	1.062±0.125 ^a	0.972±0.088 ^a	0.597±0.008 ^a
5	0.960±0.019 ^a	0.692±0.110 ^a	0.747±0.027 ^b	1.078±0.018 ^b	0.836±0.083 ^a	0.856±0.019 ^a	0.583±0.001 ^a
10	0.952±0.001 ^a	0.444±0.141 ^a	1.026±0.023 ^a	1.064±0.011 ^b	0.909±0.040 ^b	0.879±0.075 ^a	0.565±0.015 ^a
15	0.937±0.004 ^a	0.473±0.063 ^a	0.972±0.077 ^a	1.044±0.017 ^b	0.825±0.121 ^a	0.878±0.035 ^a	0.597±0.014 ^a
0	0.881±0.008 ^a	0.594±0.011 ^a	0.788±0.107 ^b	1.042±0.021 ^b	1.137±0.032 ^a	0.859±0.035 ^a	0.615±0.050 ^a
5	0.828±0.031 ^a	0.710±0.012 ^a	0.737±0.060 ^b	1.080±0.035 ^a	0.817±0.093 ^a	0.917±0.062 ^a	0.586±0.051 ^a
10	0.785±0.101 ^a	0.896±0.047 ^a	0.879±0.136 ^b	1.048±0.017 ^b	0.857±0.018 ^a	0.839±0.110 ^a	0.563±0.016 ^a
15	0.560±0.034 ^a	0.867±0.023 ^a	1.020±0.053 ^a	1.099±0.025 ^a	0.896±0.017 ^a	0.557±0.012 ^a	0.344±0.015 ^b

由表7可知, 固态辐照时, 除肠炎沙门氏菌外, 10 kGy以内的剂量可引起脱氢醋酸钠的抑菌性与对照组相比显著上升; 液态辐照5 kGy时引起脱氢醋酸钠对金黄色葡萄球菌的抑菌性与对照组相比显著下降, 而对李斯特菌的抑菌性上升, 10 kGy以内的辐照对其他细菌的抑制性无变化, 15 kGy可引起对大多数细菌抑制性的变化。

由表3~7可知, 当辐照剂量为5 kGy时, 除了引起防腐剂对极个别的几个细菌抑制性的变化外, 其他基本不变; 10 kGy时, 液态辐照可引起一些防腐剂部分抑菌性

的变化, 固态辐照的抑菌性变化依然很小; 相比之下, 15 kGy的辐照可引起多数防腐剂抑菌性的变化。即低剂量辐照对防腐剂的抑菌性不产生影响, 高剂量的辐照影响防腐剂的抑菌性, 可使大部分防腐剂的抑菌性增强, 且剂量越高影响越大。另外, 辐照可以使大部分防腐剂的抑菌性增强而只有少数抑菌性减弱。

3 讨论

3.1 G⁺和G⁻菌对防腐剂抑菌性变化的敏感性

实验选择了多种不同种类的细菌来研究辐照对防腐剂抑菌性的影响, 其中金黄色葡萄球菌、枯草芽孢杆菌、明串珠菌和李斯特菌为G⁺菌, 而沙门氏菌、志贺氏菌和大肠杆菌为G⁻菌。从结果来看, 辐照后, 丙酸钙、丙酸钠、山梨酸钾对G⁺菌的抑制性变化显著, 而双乙酸钠、脱氢醋酸钠抑菌性的变化与G⁺菌或G⁻菌的关系不大。由此可见, G⁺菌对防腐剂抑菌性的变化较为敏感, 而G⁻菌则不敏感。

这可能与食品防腐剂的抑菌机理有关, 本实验所用的防腐剂均为有机弱酸类防腐剂, 这些弱酸在未解离时是亲脂性的, 可透过原生质膜而进入细胞, 进入细胞后在高pH值环境中分解成离子, 对细胞中有代谢作用的酶、蛋白质合成系统、遗传物质、营养吸收以及细胞壁、细胞膜等亚结构和功能产生影响和破坏而具有抑菌作用^[1,14-15]。G⁺菌和G⁻菌的细胞壁有显著的不同, 造成这两类细菌对抑菌剂的敏感性有很大差异, G⁺菌细胞壁只有肽聚糖层, 防腐剂极易进入这些细胞内部, 而G⁻菌细胞壁包括内外壁, 外层为脂多糖层, 它在控制细胞对防腐剂或其他小分子物质的亲和性方面有很大作用, 因而对防腐剂的适应性较强^[16-17]。因此, 当辐照使防腐剂的抑菌性产生变化时, G⁺菌对这种变化也表现的较为敏感。

3.2 不同状态下辐照对防腐剂抑菌性的影响

对表3~7进行分析对比可知, 液态辐照时, 辐照5~10 kGy的剂量后, 山梨酸钾、双乙酸钠、丙酸钠和丙酸钙对大部分细菌的抑制性增强, 脱氢醋酸钠对金黄色葡萄球菌的抑制性下降, 对李斯特菌的抑制性上升; 15 kGy时可引起多数防腐剂抑菌性的变化。而固态辐照时, 辐照5~10 kGy的剂量后, 脱氢醋酸钠对部分细菌的抑菌性上升; 15 kGy以内山梨酸钾、双乙酸钠、丙酸钠和丙酸钙只对个别菌的抑制性有变化, 大部分无显著变化。总体来说, 液态辐照更易引起防腐剂抑菌性的变化。

这可能与防腐剂接受辐照时的状态有关, γ辐照的基本原理是原子或分子获得γ射线传递的能量后破坏分子的化学键, 并使水分子电离形成短寿命自由基, 从而破坏物质的分子结构, 也会使之与其他分子和离子相互作用, 形成新的分子^[2,18-19]。当防腐剂在溶液状态辐照时,

防腐剂分子处于舒展状态甚至是电离状态更易遭到结构的破坏,且易与辐照水分子分解产生的自由基产物相互作用产生间接影响,因而其功能和性质更易产生变化。

3.3 辐照对防腐剂产生作用的部位

从前面的分析中可以看出,辐照后丙酸钠与丙酸钙的抑菌稳定性均较强,双乙酸钠、山梨酸钾的抑菌稳定性稍弱些,脱氢醋酸钠的抑菌稳定性最弱。这可能与分子构成有关,丙酸钠与丙酸钙辐照后的抑菌性变化基本一致,而与其他的不一致,说明辐照起作用的部分不是金属离子而是有机酸集团。许多研究证明^[20-22]含有双键的多官能团单体更易受辐射影响,本实验中丙酸是这几种防腐剂的有机酸集团中结构最简单的,且饱和度最大的,比较耐辐照,稳定性较强;而山梨酸和脱氢醋酸均含有碳碳双键,对辐照较敏感,稳定性较弱,可能有这方面的原因。

4 结 论

辐照可以影响防腐剂的抑菌性,低剂量的辐照对防腐剂抑菌性产生影响较小,中高剂量的辐照可使大部分防腐剂抑菌性增强,且剂量越高对防腐剂抑菌性的影响越大;防腐剂在溶液状态下辐照时其抑菌性的变化比在固态粉末状态下辐照时更为明显; G^+ 菌对抑菌性的变化比 G^- 菌更为敏感。

参考文献:

- [1] 冯凤琴,叶立扬.食品化学[M].北京:化学工业出版社,2005:195-199.
- [2] 汪勋清,哈益明,高美须.食品辐照加工技术[M].北京:化学工业出版社,2005:1-18.
- [3] CZECHOWSKA-BISKUP R, ROKITA B, ULANSKI P. Radiation induced and sonochemical degradation of chitosan as a way to increase its fat-binding capacity[J]. Nuclear Instruments and Methods in Physics Research, 2005, 236: 383-390.
- [4] ABUJ O, DUODUK G, MINNAAR A. Effect of γ -irradiation on some physicochemical and thermal properties of cowpea (*Vigna unguiculata* L. Walp) starch[J]. Food Chemistry, 2006, 95(3): 386-393.
- [5] 陈惠元,丁钟敏,彭志刚,等.辐射变性淀粉的制备及浆液性能的研究[J].核农学报,2007,21(3):264-267.
- [6] RELLEVE L, NAGASAWA N, LUANL Q, et al. Degradation of carrageenan by radiation[J]. Polymer Degradation and Stability, 2005, 87(3): 403-410.
- [7] EI-MOHDYH L, EI-REHIM H A. Radiation-induced kappa carrageenan/ acrylic acid graft-copolymers and their application as catalytic reagent for sucrose hydrolysis[J]. Chemical Engineering Journal, 2008, 145(1): 154-159.
- [8] 杨桂霞,李晓燕.多糖类高分子材料海藻酸钠的辐照降解[J].原子能科学技术,2013,47(5):730-734.
- [9] ANTÔNIO F M V, MARTHYNA P S, MARIA G C, et al. Molecular fragmentation of wheat-germ agglutinin induced by food irradiation reduces its allergenicity in sensitised mice[J]. Food Chemistry, 2011, 132(2): 1033-1039.
- [10] 翁佩芳,江华珍,冯凤琴,等.酶标比浊法评价月桂酸单甘油酯对肉葡萄球菌的抑菌活性[J].中国食品学报,2012,12(5):188-194.
- [11] 陈默,王志伟,胡长鹰,等.酶标仪法快速评价香兰素的抑菌活性[J].食品与发酵工业,2009,35(5):63-66.
- [12] GB 2760—2011 食品安全国家标准 食品添加剂使用标准[S].
- [13] 杨晓韬,李春,周晓宏.7种食品防腐剂对肉制品污染微生物的抑菌效果比较研究[J].食品科学,2012,33(11):12-16.
- [14] 陈葆新.食品防腐剂的使用及其作用原理[J].食品科学,1981,2(12):5-8.
- [15] 孟哲,刘荣琴,于玲.食品防腐剂及其作用机理的研究进展[J].邢台学院学报,2009,24(2):120-122.
- [16] REITH J, MAYER C. Peptidoglycan turnover and recycling in Gram-positive bacteria[J]. Applied Microbiology and Biotechnology, 2011, 92(1): 1-11.
- [17] 王静华,赵洪涛,汪以真.细菌细胞壁肽聚糖的研究进展[J].中国兽药杂志,2004,38(1):38-40;37.
- [18] 宋卫东,张宏娜,陈海军,等. γ 辐照在食品中加工中的作用及应用[J].食品工业科技,2011(9):454-457.
- [19] STEFANOVA R, VASILEV V N, SPASSOV L S. Irradiation of food, current legislation framework, and detection of irradiated foods[J]. Food Analytical Methods, 2010, 3(3): 225-252.
- [20] 翟茂林,伊敏,哈鸿飞.高分子材料辐射加工技术及进展[M].北京:化学工业出版社,2004:71-90.
- [21] 刘长海,杨慧丽,徐俊.聚合物强化辐射交联研究进展[J].高分子通报,1996,3(1):129-136.
- [22] ZHU Yicai, ZHANG Xiaohong. A study on radiation cross linking of poly dimethylsiloxane (PDMS) rubber latex[J]. Chinese Journal of Polymer Science, 2004, 22(2): 147-154.