

# 柑橘汁中嗜酸耐热菌的分离、鉴定以及单宁酸对其抑菌作用研究

刘颖沙<sup>1,2</sup>, 李建科<sup>\*1</sup>, 张琳<sup>1</sup>, 刘美慧<sup>1</sup>, 宋兵兵<sup>1</sup>

(1. 陕西师范大学 食品工程与营养科学学院, 陕西 西安 710119; 2. 杨凌职业技术学院 生物工程分院, 陕西 杨凌 712100)

**摘要:** 采用酸化的凯氏培养基对柑橘中的嗜酸耐热菌进行分离、培养纯化和鉴定并与标准菌株进行对比,再用不同浓度的单宁酸对柑橘中的嗜酸耐热菌进行抑菌试验,确定最低的抑菌浓度。结果表明,分离得到的两株可疑菌可在 25~55 ℃ 温度范围以及 2.4~6.0 的 pH 值范围,符合嗜酸耐热菌的特点。与标准菌株在菌落形态、显微形态、生理生化特性以及 16S rDNA 等方面进行比较表明,2 株分离菌与标准菌株有明显的相似性。抑菌试验表明,单宁酸对嗜酸耐热菌有一定的抑菌作用,单宁酸的最低抑菌浓度为 1.25 mg/mL,分离菌与标准菌表现高度相似性。

**关键词:** 嗜酸耐热菌;柑橘;单宁酸;抑菌

**中图分类号:** S 666 **文献标志码:** A **文章编号:** 1673-1689(2017)07-0767-06

## Isolation, Identification and Antibacterial Effect by Tannic Acid of Thermoacidiphilic Bacteria From Citrus

LIU Yingsha<sup>1,2</sup>, LI Jianke<sup>\*1</sup>, ZHANG Lin<sup>1</sup>, LIU Meihui<sup>1</sup>, SONG Bingbing<sup>1</sup>

(1. College of Food Engineering and Nutritional Science, Shanxi Normal University, Xi'an 710119, China; 2. College of Biological Engineering, Yangling Vocational Technical College, Yangling 712100, China)

**Abstract:** In order to provide methods to prevent *Thermoacidiphilic Bacteria* From juice, we study the characteristics of *Thermoacidiphilic Bacteria* from citrus. The *Thermoacidiphilic Bacteria* which was isolated from the citrus was investigated by comparison with the standard strain using Kirin-medium acidified with malic acid. Different concentrations of tannic acid were tested in *Thermoacidiphilic Bacteria* from citrus. The minimal inhibitory concentration was measured through the agar dilution. The results shows the two polluted bacteria isolated from citrus can grow under the temperature of 25~55 ℃ and pH of 2.4~6.0, which was corresponded with the characteristics of the *Thermoacidiphilic Bacteria*. Further more, the cell morphology, colony morphology, cultural characteristics, physiological characteristics and 16S rDNA tests indicated the two isolated strains of *Thermoacidiphilic Bacteria* have obviously similar characteristics with the standard strain. The

收稿日期: 2015-07-07

作者简介: 刘颖沙(1990—),女,陕西西安人,工学硕士,助教,主要从事营养与食品卫生学研究。E-mail: 18709233612@163.com

\* 通信作者: 李建科(1960—),男,陕西西安人,教授,博士研究生导师,主要从事食品营养与安全研究。E-mail: jiankel@snnu.edu.cn

引用本文: 刘颖沙,李建科,张琳,等. 柑橘汁中嗜酸耐热菌的分离、鉴定以及单宁酸对其抑菌作用研究[J]. 食品与生物技术学报, 2017, 36(07): 767-772.

results showed that tannins had good antibacterial activities on thermoacidiphilic bacteria, MIC of which is 1.25 mg/mL. Isolates show a high degree of similarity with the standard strains.

**Keywords:** *Thermoacidiphilic Bacteria*, citrus, tannic acid, antibacterial

酸土环脂芽孢杆菌 (*Alicyclobacillus acidoterrestris*), 俗称为耐热菌、嗜酸耐热菌、耐热耐酸菌等。嗜酸耐热菌为非致病菌, 不产生任何已知的毒素。美国 NFPA (国家食品生产者联合会) 的专家 Walls 等作了嗜酸耐热菌的致病性试验, 结果表明嗜酸耐热菌及其次生代谢物(愈创木酚、卤酚等)对豚鼠在受试范围内无毒性作用。2000 年起, 国际贸易中严格要求每 10 mL 浓缩果汁中其含量小于 1 个, 美国及欧洲大部分国家从 2002 年起要求在浓缩果汁不得检出酸土环脂芽孢杆菌。目前, 国内外针对苹果汁、橙汁、橘汁等温带果蔬汁及混合果蔬汁中酸土环脂芽孢杆菌的研究有较多报道<sup>[1-7]</sup>。

作者以柑橘汁为材料, 在分离嗜酸耐热菌并对其形态、生理生化及 16S rDNA 区鉴定的基础上, 应用单宁酸对嗜酸耐热菌进行控制, 为提高橙汁加工安全性提供理论依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 菌种和培养基

**1.1.1 标准菌** *Alicyclobacillus acidoterrestris* DSM 3922; 购自德国菌种保藏中心。

**1.1.2 凯氏培养基 (K 氏培养基)** 0.2 g 吐温 80, 0.2 g 葡萄糖, 0.5 g 酵母粉, 1.0 g 蛋白胨, 3.0 g 琼脂粉, 溶于 200 mL 蒸馏水中, 混匀, 备用。加入 0.5 g 苹果酸溶于 4 mL 蒸馏水调酸。

**1.1.3 LB 培养基** 10 g 胰蛋白胨, 10 g 酵母粉, 5 g NaCl, 15 g 琼脂, 1 L 蒸馏水, 混匀, 备用。

**1.1.4 402 培养基** 0.2 g (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, 0.25 g CaCl<sub>2</sub>·2H<sub>2</sub>O, 0.5 g MgSO<sub>4</sub>, 2.0 g 酵母粉, 5.0 g 葡萄糖, 5.0 g KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, 溶于 1 000 mL 蒸馏水中, 混匀, 备用。用体积分数 10% H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 调 pH 值至 4.0。

### 1.2 柑橘汁中嗜酸耐热菌的分离、纯化和筛选

**1.2.1 分离及保藏培养基的制备** 嗜酸耐热菌的分离及保藏均采用酸化的凯氏培养基。1×10<sup>5</sup> Pa 高压灭菌 25 min, 冷却至 50~60 ℃, 混入苹果酸溶液进行酸化处理, 备用。

**1.2.2 柑橘汁中菌种的分离** 参照美国库克实验室的方法对嗜酸耐热菌进行分离<sup>[8]</sup>。

**1.2.3 嗜酸耐热菌的纯化** 将分离得到的嗜酸耐热菌菌株在 K 氏培养基上进行平板划线纯化, 45 ℃ 恒温条件下培养。按此方法连续划线, 直至单个平板上为形态单一的菌落。挑取平板上的单菌落进行纯培养, 得到纯菌株<sup>[9]</sup>。

**1.2.4 嗜酸耐热菌的筛选** 用嗜酸耐热菌的选择培养基(用于果汁中嗜酸耐热菌的检测)对分离菌进行筛选。

### 1.3 嗜酸耐热菌菌种鉴定

从嗜酸耐热菌的检测和筛选试验中筛选出的 2 株可疑嗜酸耐热菌的菌株。

**1.3.1 嗜酸耐热菌的耐酸耐热特性鉴定** 耐酸特性鉴定试验: 将纯培养的嗜酸耐热菌菌株划线接种于 LB 平板培养基 (pH 7.0), 45 ℃ 恒温培养箱中培养 48 h, 保留不能在 LB 平板生长的菌<sup>[10]</sup>。

耐热特性鉴定试验: 将镜检为纯培养的嗜酸耐热菌菌株制成菌悬液, 进行热休克处理, 再采用涂布法接种于 K 氏平板培养基上 45 ℃ 培养 24 h, 保留可以生长的菌落<sup>[11]</sup>。

**1.3.2 菌落形态** 将标准酸土环脂芽孢杆菌和分离得到的 2 株分离菌, 分别划线接种至 K 培养基平板上, 每株菌 3 个重复, 倒置平板, 于 45 ℃ 培养 2~4 d, 观察出现的单菌落的形态特征。

**1.3.3 显微形态** 将标准酸土环脂芽孢杆菌和分离得到的 2 株分离菌分别进行革兰氏染色, 然后显微镜下观察其细胞形态<sup>[12]</sup>。

**1.3.4 生理生化特征** 根据《伯杰细菌鉴定手册》<sup>[13]</sup>和《常见细菌系统鉴定手册》<sup>[14]</sup>等工具书将标准菌株和各分离菌分别进行接触酶试验、氧化酶试验、V-P 试验、明胶液化试验和淀粉水解试验等生理生化试验。为了保证耐热菌生长所需要的酸性条件, 一般采用苹果酸酸化的培养基进行以上生理生化试验。

**1.3.5 分子生物学鉴定** 采用 DNA 测序法来对耐热菌进行鉴定, 其具体操作如下

1) 基因组 DNA 提取 取 2 mL 菌液至 EP 管中,8 000 r/min 2 min, 去上清; 加 140  $\mu$ L LTE 混匀,加 60  $\mu$ L 溶菌酶(10 mg/mL),37  $^{\circ}$ C 孵育 10 min; 加 400  $\mu$ L Digestion buffer,混匀后,加 3  $\mu$ L 蛋白酶 k 混匀,55  $^{\circ}$ C 孵育 5 min; 加 260  $\mu$ L 乙醇混匀,全部转入 UNIQ-10 柱中,10 000 r/min 1 min, 弃收集管中的废液; 加 500  $\mu$ L Wash Solution,10 000 r/min 30 s, 重复 1 次;10 000 r/min 2 min 甩干柱中液体。将 UNIQ-10 柱转移至新的 EP 管中; 加 60  $^{\circ}$ C 预热的洗脱液 50  $\mu$ L,室温放置 3 min。12 000 r/min 2 min, EP 管中的液体即为 DNA 溶液;电泳:上样 3  $\mu$ L。

2)PCR 扩增 扩增使用引物:选用细菌 16S rDNA 通用引物 27F 与 1492R, 序列位于 *Escherichia coli* 的 16S rDNA 基因序列两端保守区域<sup>[15]</sup>。

27F:5'-AGAGTTTGATCCTGGCTCAG-3';

1492R:5'-GGTTACCTTGTACGACTT-3'。

委托北京爱普拜生物技术有限公司合成,并进行 PAGE 纯化。

PCR 反应体系见表 1。

表 1 PCR 反应体系

Table 1 PCR reaction system

| MM                                           | $\times 1(\mu\text{L})$                 |
|----------------------------------------------|-----------------------------------------|
| 16S-F                                        | 1 $\mu\text{L}$ (10 $\mu\text{mol/L}$ ) |
| 16S-R                                        | 1 $\mu\text{L}$ (10 $\mu\text{mol/L}$ ) |
| 10 $\times$ PCR Buffer                       | 5 $\mu\text{L}$                         |
| dNTPs                                        | 4 $\mu\text{L}$                         |
| Taq 酶                                        | 0.5 $\mu\text{L}$                       |
| 加 ddH <sub>2</sub> O 补充到 50 $\mu\text{L}$ 体系 |                                         |

PCR 扩增条件:94  $^{\circ}$ C 3 min 预变性;94  $^{\circ}$ C 30 s,50  $^{\circ}$ C 45 s,72  $^{\circ}$ C 100 s,35 循环;72  $^{\circ}$ C 延伸 7 min;4  $^{\circ}$ C 保存。

3)DNA 序列的测定 将 DNA 寄往英潍捷基(上海)贸易有限公司测序,然后将得到的 DNA 序列提交到 European Molecular Biology Laboratory (EMBL)核酸数据库。再将 DNA 序列通过 Blast 程序与 Genbank 中已有的核酸序列进行比较,确定菌株的分类地位。

## 1.4 菌株培养的生长条件确定

1.4.1 pH 值的确定 采用苹果酸溶液调整培养基的 pH 值,测定耐热菌生长的 pH 值范围。配制 pH 分别为 2.0~7.0 的培养基,将标准耐热菌和各分离

菌分别接种于不同 pH 值的培养基上,培养 2~5 d 观察其生长情况,初步确定菌株生长的 pH 值,再将其精确到 0.1,将菌接种于微调后的不同 pH 值培养基中,培养 2~5 d 观察各菌的生长情况,最终确定各菌适宜生长的 pH 值。

1.4.2 生长温度的确定 液体培养基以苹果酸溶液酸化后分装试管,分别接入标准耐热菌和各分离菌的菌悬液,置于 20~70  $^{\circ}$ C 不同温度条件下培养 2~5 d,观察培养液的浊度及液面产生的菌膜等生长特征,最初确定生长温度范围,再将此温度精确到 1  $^{\circ}$ C,再将菌置于微调后的不同温度下培养 2~5 d 观察各菌的生长情况,确定各菌的适宜生长温度。

## 1.5 标准耐热菌、分离菌生长曲线的确定

将标准菌和分离菌接入灭菌的液体培养基中,于 41  $^{\circ}$ C 温度下培养,每隔 2 h 取样 1 次,测定菌体的吸光度值,观察 30 h 后,分别建立标准耐热菌和各分离菌在 41  $^{\circ}$ C 温度下的生长曲线。

## 1.6 抑菌性的研究

1.6.1 单宁酸抑菌活性的测定 采用滤纸片法测定抑菌圈直径<sup>[16-17]</sup>;取直径为 6 mm 的灭菌滤纸片放入不同浓度的单宁酸溶液中浸泡过夜,另取滤纸片放入体积分数为 20%乙醇溶液中作对比空白试验,将嗜酸耐热菌的菌悬液取 100  $\mu$ L 与相应固体培养基制成含菌平板,再用无菌镊子夹取浸有各种浓度的单宁酸溶液的滤纸片,放入含菌平皿中,同一浓度每皿 3 片,做 3 个重复试验。按上述相应条件培养,量取抑菌圈直径,取平均值。观察结果确定单宁酸的抑菌效果。

1.6.2 最低抑菌质量浓度的测定 采用琼脂二倍稀释法<sup>[18-19]</sup>测定单宁酸对细菌的最低抑菌浓度(MIC);另取乙醇溶液作为对照,记为 0 mg/mL。每质量浓度样品各取 2 mL 放入不同平皿中,然后分别加入 18 mL 已灭菌并融化的固体培养基,立刻混匀,待培养基冷却凝固后,各加 100  $\mu$ L 调至一定菌浓的菌悬液于对应琼脂平板上,划线,细菌于 41  $^{\circ}$ C 恒温培养 24 h,肉眼观察无细菌菌落形成的最小单宁浓度为最小抑菌浓度,每组重复 3 次。

# 2 结果与讨论

## 2.1 菌种的分离、纯化结果

通过分离、筛选及纯化,得到了 2 株嗜酸耐热菌,即分离菌 1 和分离菌 2,分离获得到的这 2 株

菌,在酸性 K 氏培养基上生长良好,但无法在 LB 培养基上生长,表明这两株菌均具有嗜酸性。均可经过 80 ℃ 13 min 的热处理后可很好生长,表明这两株菌具有耐热性。初步确定两者为嗜酸耐热菌。

经过 3 次纯化后的分离菌肉眼可见形态,分离菌的菌落形态为圆形,大小为 1.5~3.3 mm,颜色为乳白色至浅黄色,表面光滑、有光泽、潮湿,无凸起,不透明,易挑取。两株分离菌的菌落形态特征与酸土环脂芽孢杆菌的标准菌落形态特性类似。

## 2.2 菌种的筛选结果

用 BSSA 培养基 (用于果汁中嗜酸耐热菌的检

测)对分离菌进行筛选,结果为两株菌均可较好生长,进一步表明两株分离菌为嗜酸耐热菌。

## 2.3 菌种的鉴定结果

**2.3.1 细胞形态鉴定结果** 按 1.3 方法分离培养可以得到大量的耐热菌,这些耐热菌用通常的细菌检测方法难以检出,在 41 ℃ 条件下常需 2~3 d 可形成明显的菌落。对分离得到的 2 株耐热菌进行革兰氏染色和光学显微镜观察,如图 1 和表 2 所示,标准耐热菌、分离菌 1 和分离菌 2 的细胞显微形态十分相似,为杆状。革兰氏染色结果表明,分离菌均为 G<sup>+</sup> 菌。

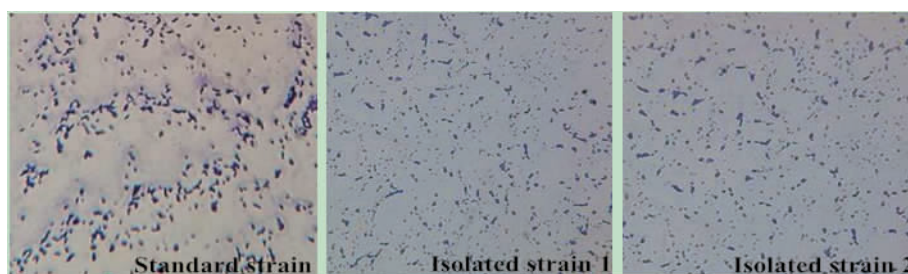


图 1 各菌株繁殖体显微镜形态的观察结果 (10×40)

Fig. 1 Micro-morphology of vegetative form (10×40)

表 2 标准菌与分离菌的菌落与细胞形态特征

Table 2 Colony and cell of standard strains and isolated strains

| 菌株    | 菌落大小/mm | 菌落形态 | 菌落颜色 | 细胞大小/μm             | 细胞形态 |
|-------|---------|------|------|---------------------|------|
| 标准菌   | 2.0~3.0 | 圆形   | 乳白色  | 0.5~0.7×<br>2.1~3.5 | 杆状   |
| 分离菌 1 | 1.5~3.0 | 圆形   | 微黄色  | 0.3~0.7×<br>1.8~3.2 | 杆状   |
| 分离菌 2 | 2.2~3.3 | 圆形   | 乳白色  | 0.6~0.8×<br>2.1~3.8 | 杆状   |

**2.3.2 生理生化反应结果** 标准菌、分离菌 1 和分离菌 2 的生理生化反应结果如表 3 所示,各项生理生化特性与标准相同。由此可见,这两株分离菌与标准菌株均由明显的相似性。

表 3 标准菌与分离菌生理生化反应分析

Table 3 Results of physiological characteristics

| 生理生化指标 | 标准菌 | 分离菌 1 | 分离菌 2 |
|--------|-----|-------|-------|
| 接触酶试验  | +   | +     | +     |
| 氧化酶试验  | -   | -     | -     |
| V-P 试验 | -   | -     | -     |
| 明胶液化试验 | +   | +     | +     |
| 淀粉水解试验 | +   | +     | +     |

注:+:阳性;-:阴性

通过对菌种的形态观察和生理生化鉴定,可以得知 2 株分离菌与标准菌的各项指标相似,初步认为 2 株分离菌均属于环脂芽孢杆菌属。对分离的 2 株菌进行分子生物学分类鉴定,进一步确定其分类地位。

**2.3.3 分子生物学鉴定** 利用细菌试剂盒提取 2 株分离菌的 DNA,电泳检测后进行 PCR 扩增,将 PCR 扩增产物进行测序。分离菌的 DNA 及 PCR 产物电泳图见图 2。由图可知,PCR 产物扩增之后得到的序列长度均在 1 200 bp 左右。

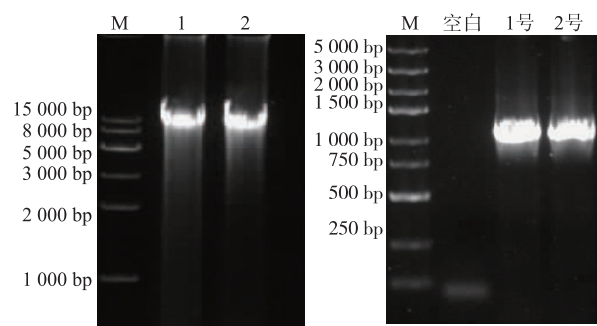


图 2 DNA 及 PCR 产物电泳图

Fig. 2 DNA electrophoresis and PCR product electrophoresis

将得到的 DNA 序列提交到 European Molecular Biology Laboratory (EMBL) 核酸数据库。再将 DNA 序列通过 Blast 程序与 Genbank 中已有的核酸序列进行比较,得到标准菌与分离菌 1,标准菌与分离菌 2 的序列同源性达到了 99%,确定 3 种菌为同一种菌,为 *Alicyclobacillus acidoterrestris*。(Alicyclobacillus acidoterrestris gene for 16S rRNA, strain: DSM 2 498 下比对)

## 2.4 培养条件的确定

标准菌、各分离菌的培养条件见下表,各菌在 25~55 ℃ 温度范围以及 2.4~6.0 的 pH 值范围内均能良好生长,且生长条件基本相同。均符合酸土环脂芽孢杆菌的特有嗜酸耐热的生长条件特性。

表 4 各菌株培养的生长条件分析

Table 4 Results of cultural characteristics

| 菌株    | 温度/℃  | pH      |
|-------|-------|---------|
| 标准菌   | 26~60 | 2.6~6.4 |
| 分离菌 1 | 25~55 | 2.3~6.0 |
| 分离菌 2 | 20~55 | 2.2~5.9 |

## 2.5 各菌株生长曲线结果

标准菌、各个分离菌的生长曲线见下图所示。由下图可见标准菌和分离菌的生长趋势较为一致。均在 12 h 后由调整期进入对数期,20 h 时进入稳定生长期;当生长到 26 h 之后菌体浊度缓慢降低,步入衰亡期,三者有较高的类似性。

## 2.6 单宁酸的抑菌活性

单宁酸对嗜酸耐热菌有一定的抑菌作用,浓度越大,抑菌效果越明显。单宁酸产生抑制作用的主要原因有破坏细胞壁结构和改变细胞膜的通透性有关系<sup>[20]</sup>。

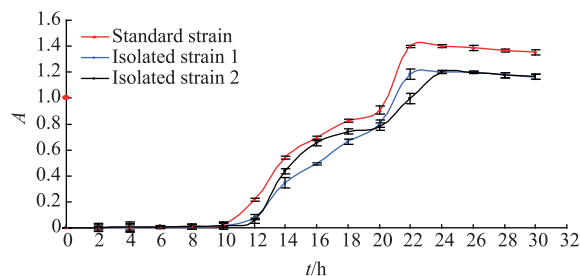


图 3 耐热菌的生长曲线

Fig. 3 Growth curve of standard and isolated thermotolerant bacteria

## 2.7 单宁酸对嗜酸耐热菌的最低抑菌浓度

试验表明:单宁酸对嗜酸耐热菌有明显的抑菌效果,最低抑菌质量浓度为 1.25 mg/mL。

# 3 结 语

1) 采用酸化的 K 氏培养基可以对柑橘中耐热菌进行有效地分离培养。各分离菌形态特征、生长及生理生化特性以及通过嗜酸耐热菌的选择培养基来看,初步鉴定分离菌为嗜酸耐热菌。经对所分离耐热菌的 16S rDNA 序列测定,鉴定出分离耐热菌为酸土环脂芽孢杆菌,且分离耐热菌与标准耐热菌的序列同源性达到了 99%,分离得到的 2 株嗜酸耐热菌与标准菌有明显的相似性。

2) 分离得到的两株可疑菌可在 25~55 ℃ 温度范围以及 2.4~6.0 的 pH 值范围,符合嗜酸耐热菌的特点。

3) 抑菌试验表明,单宁酸对嗜酸耐热菌有一定的抑菌作用,单宁酸的最低抑菌质量浓度为 1.25 mg/mL,单宁酸有望成为天然食品抑菌剂。

## 参考文献:

- [1] CERNY G, HENNLICH W, PORALLA K. Spoilage of fruit juice by Bacillus: isolation and characterisation of the spoiling microorganism[J]. *Z Lebensm Unters Forch*, 1984, 179(3): 224-227.
- [2] CHANG S, KANG D. Alicyclobacillus spp. in the fruit juice: history, characteristics and current isolation & detection procedures [J]. *Critical Review in Microbiology*, 2004, 30(2): 55-74.
- [3] SMIT Y, MICHELLE C, VENTER P, et al. Alicyclobacillus spoilage and isolation: A review [J]. *Food Microbio*, 2011, 28(3): 331-349.
- [4] WALLS I, CHUYATE R. Spoilage of fruit juice by Alicyclobacillus acidoterrestris[J]. *Food Australia*, 2000, 52(7): 286-291.
- [5] 王军堂. 浓缩苹果汁生产过程中嗜酸耐热菌的控制技术[D]. 杨凌: 西北农林科技大学, 2011.
- [6] 王梅. 橙汁与柑橘园中脂环酸芽孢杆菌的分离鉴定与检测研究[D]. 重庆: 西南大学, 2010.
- [7] SHI Shanshan, HE Guoqing. Tannic acid and the progress of its application[J]. *Science and Technology of Food Industry*, 2012,

- (4):410-412.(in Chinese)
- [ 8 ] <http://www.kfl.com/atb.html>.
- [ 9 ] MA Lida, CHEN Yilun, SUN Wenjing, et al. Preliminary study on growth characteristics of *Alicyclobacillus acidoterrestris* isolated from rotten apples[J]. **Food and Fermentation Industries**, 2014, 40(1):56-60.(in Chinese)
- [10] YUE Tianli, HU Yichun, YUAN Yahong, et al. Review on isolation and identification of *Alicyclobacillus* [J]. **Food Science**, 2008, 29(2):487-492.(in Chinese)
- [11] JIAO Zhonggao, WANG Sixin, DUAN Congmei, et al. Isolation and growth of heat-resistant bacteria in apple juice concentrate the preliminary study of the characteristics[J]. **Food Science**, 2003, 24(9):85-87.(in Chinese)
- [12] WANG Feng, LI Jianke, GUO Yurong, et al. Isolation and identification of thermoacidophilic bacteria from apple juice concentrate[J]. **Microbiology China**, 2008, 35(11):1755-1759.(in Chinese)
- [13] 布坎南 RE, 吉本斯 NE. 伯杰细菌鉴定手册[M]. 北京:科学出版社, 1984:752-758.
- [14] 东秀珠, 蔡妙英. 常见细菌系统鉴定手册[M]. 北京:科学出版社, 2001:353-384.
- [15] GOTO K, MOEHIDA K, ASAHARA M, et al. *Alicyclobacillus pomorum* sp.nov, a novel thermo-acidophilic, endospore-forming bacterium that does not possess w-alicyclic fatty acids and emended description of the genus *Alicyclobacillus* [J]. **Int J Sys Evo Microbiol**, 2003, 53(5):1537-1544.
- [16] LIU Kaihua, XING Shujie. Comparison on the antimicrobial activity of polyphenols extracts on some species of spoil organisms [J]. **Journal of Xinyang Agricultural College**, 2011, 9(21):105-108.(in Chinese)
- [17] LU Chunxia, WANG Hongxin, et al. Antimicrobial activity of plant extracts against *Aeromonas hydrophila* [J]. **Journal of Food Science and Biotechnology**, 2011, 9(2):178-184.(in Chinese)
- [18] ZHANG Yali, LI Jianke, LIU Liu, et al. Antimicrobial activities of Chinese *Gallotannins* against the common food spoilage and foodborne pathogens[J]. **Science and Technology of Food Industry**, 2013, 34(18):224-226.(in Chinese)
- [19] ZHU Yafang, ZHAO Haoru. Invitro antimicrobial activities of traditional Chinese medicine to *Propionibacterium acnes* [J]. **Pharmaceutical and Clinical Research**, 2009, 17(3):224-226.(in Chinese)
- [20] FANG Tian, BO Li, JI Baoping, et al. Antioxidant and antimicrobial activities of consecutive extracts from *Galla chinensis*: The polarity affects the bioactivities[J]. **Food Chemistry**, 2009, 113(1):173-179.

## 科 技 信 息

### 欧盟发布黄蓍胶作为食品添加剂的安全风险评估报告

2017年6月9日,欧盟委员会发布黄蓍胶作为食品添加剂的安全风险评估报告,根据“委员会条例(EU)”第257/2010号(EFSA ANS Panel, 2014)重新评估某些食品添加剂的风险,并得出以下结论:

1. 本评估仅限于报告的用途(70个食品类别中的5个)和使用量;
2. 黄蓍胶不太可能被完整的吸收,并被肠道微生物部分发酵;
3. 有充足的毒理数据可用;
4. 对黄蓍胶的遗传毒性没有任何担忧(E413);
5. 最高剂量分别为6120和9120mg/kg,雌雄小鼠均未发现致癌作用;
6. 口服每天摄入大量的黄蓍胶达2900mg(相当于每天141mg/kg体重)21天在人体中耐受性良好,没有任何不良影响报道。

综上,对于黄蓍胶(E413)作为报告中食品类别食品添加剂的用途和使用量评估,没有安全问题。

[信息来源]厦门 WTO 工作站. 欧盟发布黄蓍胶作为食品添加剂的安全风险评估报告 [EB/OL]. (2017-6-13). <http://www.xmtbt-sps.gov.cn/detail.asp?id=54603>