

西宝生物 KroVin300 防腐剂抑菌实验和效果

细菌篇

一、实验原理

利用抑菌剂不断溶解经琼脂扩散形成不同浓度梯度，已显示其抑菌作用。实验通过抑菌圈大小判断其是否具有抑菌能力。

二、实验器材

100mm 培养皿、离心管、移液器、超净台、计数板、生理盐水、生化培养箱、无菌蒸馏水、接种环、大豆酪蛋白琼脂培养基等。

菌种：

自然菌液：吸取西宝生物实验室水槽，卫生间下水池，一楼下水管，以及大门口的养鱼池的水，一共大约 20ml，进行自然沉降，取上清液部分。

防腐剂：

1. Seebio KroVin300 防腐剂（共四个批次，用 P1、P2、P3、P4 标识）
2. 某进口品牌的 P**300

三、实验步骤

1、实验工具准备及灭菌

2、培养基制备

称取 10.5g 培养基干粉，加入 300ml 纯化水，搅拌加热煮沸至完全溶解。再加入 6g 的葡萄糖，搅拌溶解。向各培养皿内注入约 20ml 的融化状琼脂培养基（约 45℃），待其冷却，备用。

3、防腐剂配制

用蒸馏水对不同类防腐剂分别按照 1:250、1:500、1:1000、1:2000 配制，做好标记。

4、菌悬液制备

取适量菌种加入生理盐水 1ml，稀释 10 倍，采用平板计数法，稀释，得到 10^6 CFU/ml 浓度菌悬液。

5、试验菌接种

用移液枪吸取浓度为 10^6 CFU/ml 试验菌悬液 0.2ml，将其接种到已经倒好培养基的培养皿内，用涂布棒涂布均匀（每次使用涂布棒前酒精灯下灭菌），盖好培养皿。

6、添加防腐剂

6.1 纸片法

用镊子将圆片约 5.5mm 滤纸平均放置在培养皿上，每个培养皿放置 4 个圆滤纸（4 个防腐剂浓度用）。吸取不同种类，不同浓度的防腐剂 3ul，加入到圆滤纸中，让防腐剂溶液分布满整个滤纸，但又不溢出，盖好培养皿。

6.2 打孔法

在培养皿里培养基上打 4 个孔，用 100ul 枪头打孔。各孔中心之间相距 25mm 左右，与培养皿边缘相距 15mm 以上。每个培养皿为一种防腐剂的 4 个浓度。用微量移液器吸取防

防腐剂 6ul 到孔内，让防腐剂刚好齐培养基面，盖好培养皿。

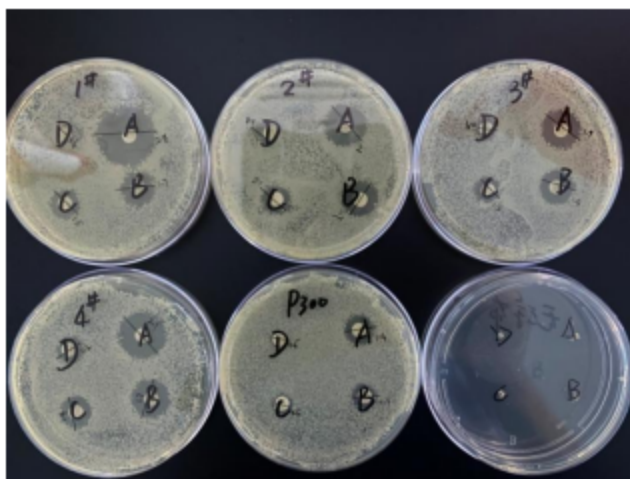
7、培养并观察抑菌效果

于 37℃ 生化培养箱中正置培养，培养 16-18 小时观察结果。测量抑菌圈并记录。

四、实验结果

1、纸片法实验数据和图片

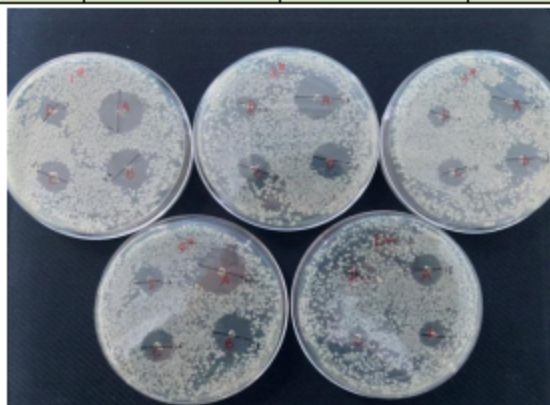
16h	防腐剂 1	防腐剂 2	防腐剂 3	防腐剂 4	PC300
1/250	2.2	2.0	1.9	2.1	1.4
1/500	1.7	1.7	1.5	1.7	1.1
1/1000	1.5	1.5	1.2	1.4	0.6
1/2000	0.6	0.8	0.9	1.2	0.5



2、打孔法实验数据和图片

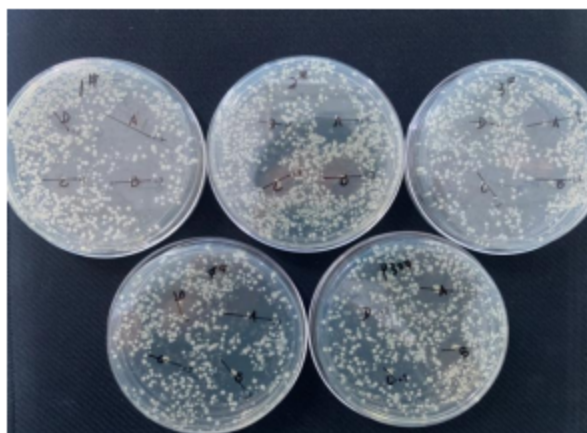
打孔法 (1/10)

16h	P1	P2	P3	P4	P**300
1/250	2.2	2.2	2.0	2.2	1.5
1/500	1.9	1.8	1.6	1.9	1.1
1/1000	1.5	1.5	1.4	1.5	0.9
1/2000	1.1	1.0	1.0	1.2	0.6



打孔法 (1/2)

16h	P1	P2	P3	P4	P**300
1/250	2.2	2.0	1.9	2.1	1.5
1/500	1.8	1.7	1.6	1.7	1.2
1/1000	1.5	1.4	1.3	1.5	0.9
1/2000	1.1	1.0	1.1	1.1	0.5



结论

从两次实验结果来看，防腐剂 1-4 的抑菌效果都是优于对照 P**300 的抑菌效果。
从抑菌浓度来看，防腐剂 1-4 的 1/1000 的效果跟对照 P**300 的 1/250 的效果相当。

霉菌篇

一、实验原理

表面接种菌的培养皿，在培养过程中，随着抑菌剂从原点向周围的辐射，会有圆形区域无法长出菌苔，从而显示其抑菌作用。实验通过抑菌圈大小判断其是否具有抑菌能力。

二、实验器材

100mm培养皿、离心管、移液器、超净台、计数板、生化培养箱、无菌蒸馏水、接种环、显微镜、孟加拉红琼脂培养基等。

三、菌种

霉菌：西宝生物院子土壤分离

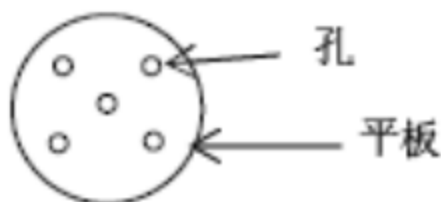
四、防腐剂

Seebio KroVin300 防腐剂（共四个批次，用 P1、P2、P3、P4 标识）

S**品牌的 P**300

五、实验步骤

- 1、配制300ml孟加拉红固体培养基，121℃灭菌15min，生物安全柜内冷却到50℃左右，倒入培养皿。
- 2、取5环霉菌孢子加入1.2ml无菌水制成孢子悬液。
- 3、取100ul孢子液接种孟加拉红平板涂布均匀，待表面干后，用一次性接种环底部在每个平板表面戳5个孔。如下



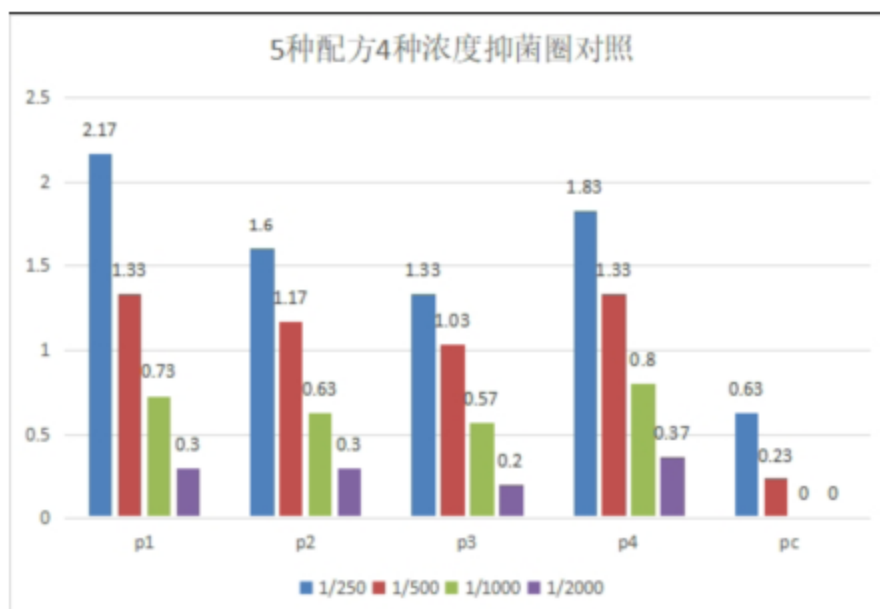
- 4、将不同配方不同浓度的配方液加入平板的孔洞中，加液量5ul。平板在28℃培养36h。
- 5、观察抑菌圈，测量抑菌圈大小并记录。

六、实验记录

1、抑菌圈大小

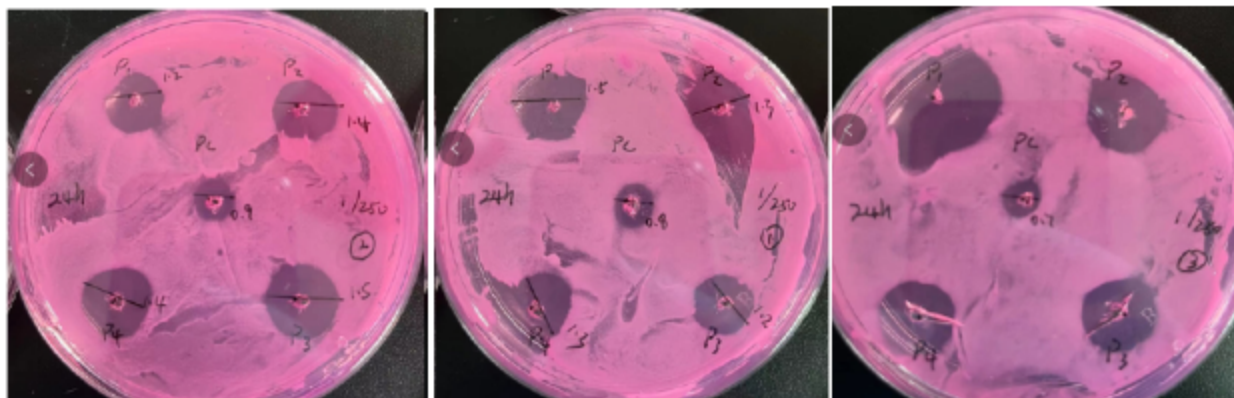
浓度		抑菌圈大小 (cm)				
		p1	p2	p3	p4	pc
1/250	平行 1	2	1.8	1.5	2	0.6
	平行 2	2.5	2.1	1.2	1.9	0.6
	平行 3	2	0.9	1.3	1.6	0.7
	均	2.17	1.6	1.33	1.83	0.63
1/500	平行 1	1.5	1.2	1.1	1.4	0.3
	平行 2	1.3	1.1	1	1.5	0.2
	平行 3	1.2	1.2	1	1.1	0.2
	均	1.33	1.17	1.03	1.33	0.23
1/1000	平行 1	0.8	0.8	0.6	1	0
	平行 2	0.9	0.5	0.5	0.7	0
	平行 3	0.5	0.6	0.6	0.7	0
	均	0.73	0.63	0.57	0.80	0
1/2000	平行 1	0.2	0.2	0.2	0.4	0
	平行 2	0.3	0.3	0.2	0.4	0
	平行 3	0.4	0.4	0.2	0.3	0
	均	0.30	0.30	0.20	0.37	0

2、柱形对比图

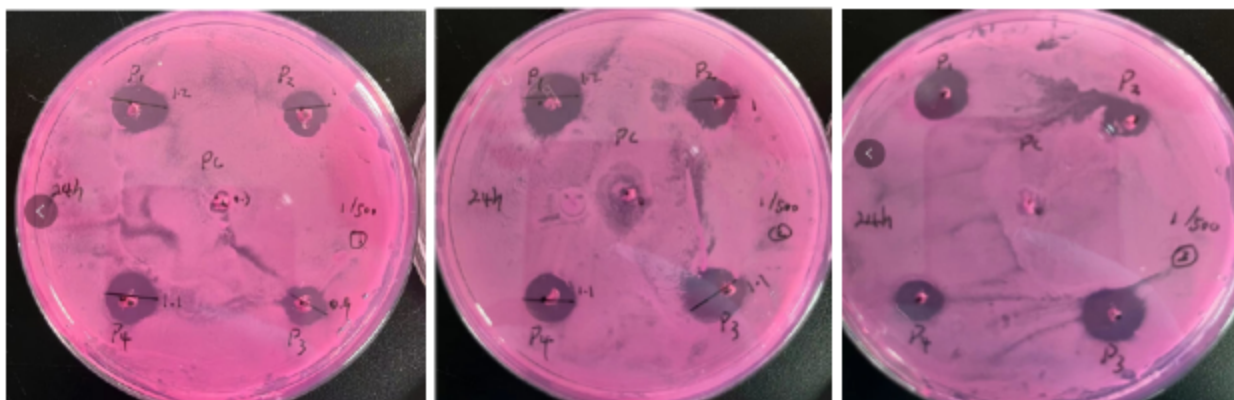


3、实验图片

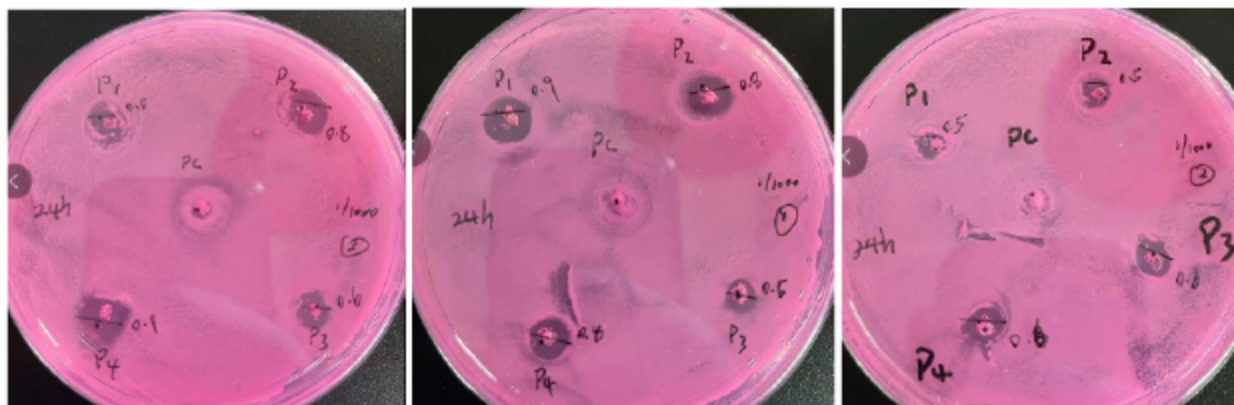
1/250



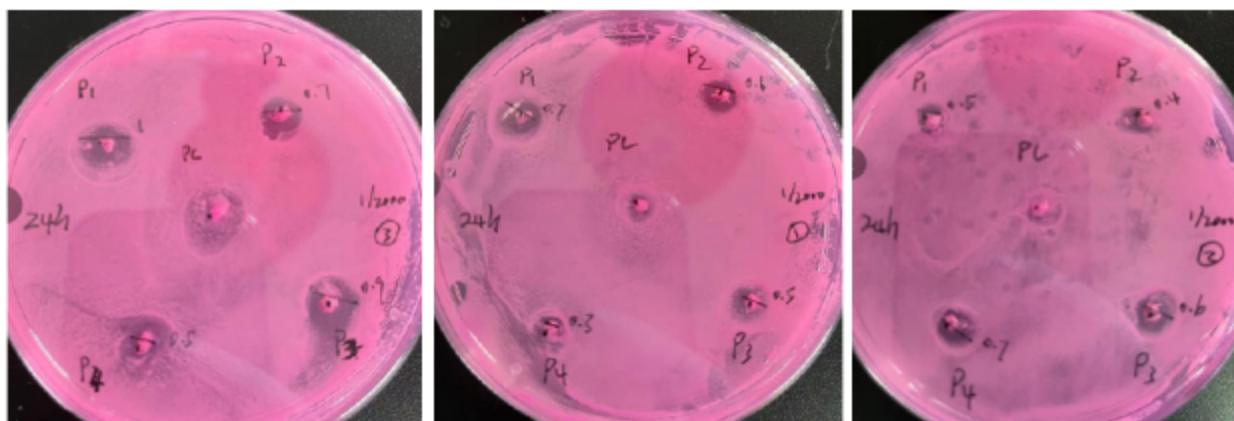
1/500



1/1000



1/2000



七、数据分析

1. 1/250 组, P1 的抑菌圈最大, 接下来大小依次是 p4、p2、p3、p**300
2. 1/500 组, P1、P4 的抑菌圈最大, 接下来大小依次是 p2、p3、p**300
3. 1/1000 组, P4 的抑菌圈最大, 接下来大小依次是 p1、p2、p3、p**300
4. 1/2000 组, P4 的抑菌圈最大, 接下来大小依次是 p1、p2、p3、p**300
5. p**300 的 1/1000、1/2000 组肉眼基本看不到抑菌圈

八、实验结果

总体来看, P1 和 P4 的抑菌效果好, 高稀释倍数的抑菌效果差。

酵母菌篇

一、实验原理

表面接种菌的培养皿，在培养过程中，随着抑菌剂从原点向周围的辐射，会有圆形区域无法长出菌苔，从而显示其抑菌作用。实验通过抑菌圈大小判断其是否具有抑菌能力。

二、实验器材

100mm 培养皿、离心管、移液器、超净台、计数板、生化培养箱、无菌蒸馏水、接种环、显微镜、孟加拉红琼脂培养基等

三、菌种

酵母菌：安琪酵母粉

四、防腐剂

Seebio KroVin300 防腐剂（共四个批次，用 P1、P2、P3、P4 标识）

S**品牌的 P**300

五、实验步骤

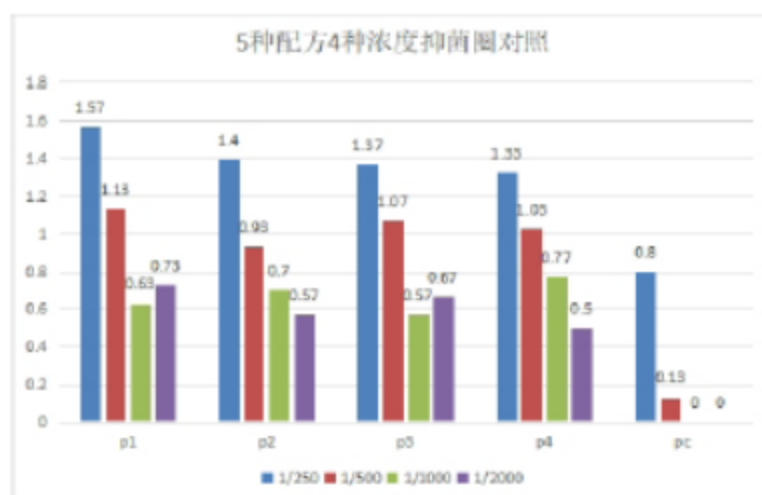
- 1、配制 300ml 孟加拉红固体培养基，121℃灭菌 15min，生物安全柜内冷却到 50℃左右，倒入培养皿。
- 2、取少量安琪酵母粉加入 1ml 无菌水制成菌悬液。
- 3、取 100ul 菌悬液接种孟加拉红平板涂布均匀，在 30℃培养 24h。
- 4、观察抑菌圈，测量抑菌圈大小并记录。

六、实验记录

1、抑菌圈大小

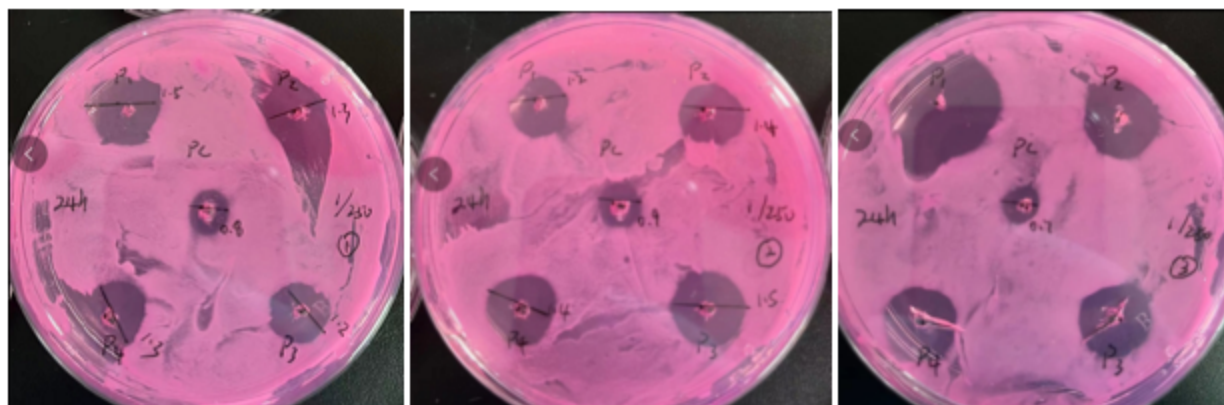
浓度		抑菌圈大小 (cm)				
		p1	p2	p3	p4	pc
1/250	平行 1	1.2	1.4	1.5	1.4	0.9
	平行 2	1.5	1.3	1.2	1.3	0.8
	平行 3	2	1.5	1.4	1.3	0.7
	均	1.57	1.40	1.37	1.33	0.80
1/500	平行 1	1.2	1	0.9	1.1	0.3
	平行 2	1.2	1	1.1	1.1	0.1
	平行 3	1	0.8	1.2	0.9	0
	均	1.13	0.93	1.07	1.03	0.13
1/1000	平行 1	0.5	0.8	0.6	0.9	0
	平行 2	0.9	0.8	0.5	0.8	0
	平行 3	0.5	0.5	0.6	0.6	0
	均	0.63	0.70	0.57	0.77	0.00
1/2000	平行 1	1	0.7	0.9	0.5	0
	平行 2	0.7	0.6	0.5	0.3	0
	平行 3	0.5	0.4	0.6	0.7	0
	均	0.73	0.57	0.67	0.50	0.00

2、柱形对比图

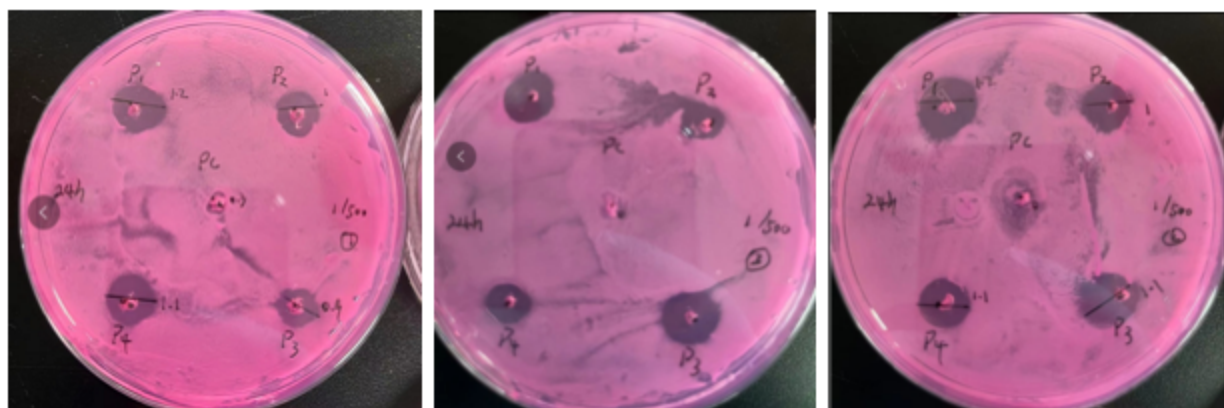


3、实验照片

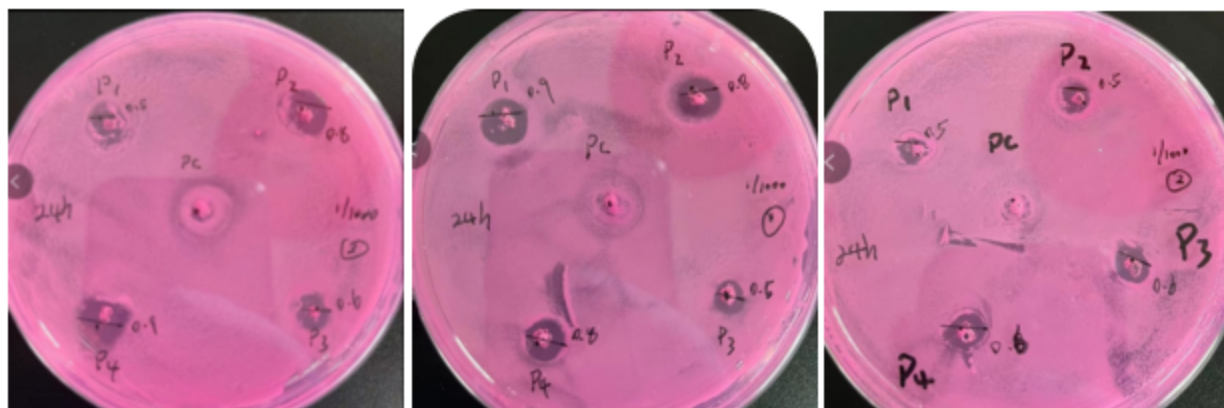
1/250



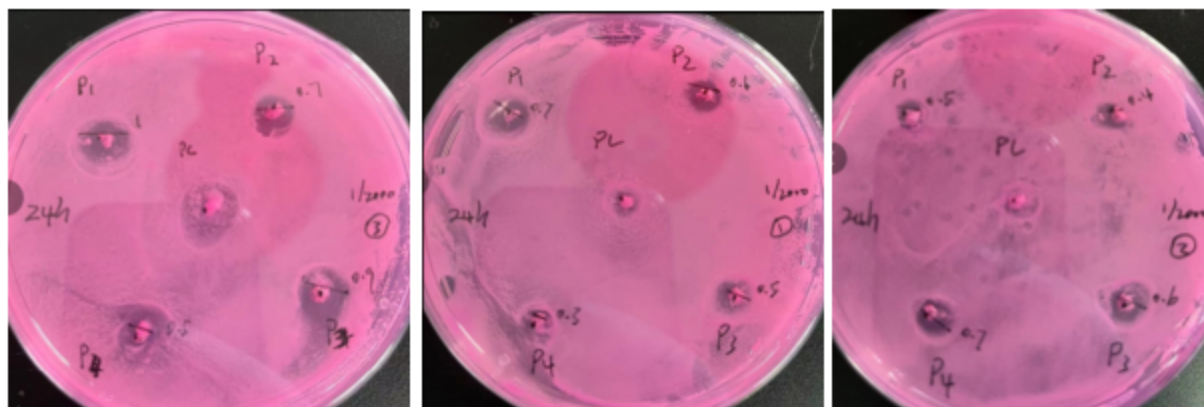
1/500



1/1000



1/2000



七、数据分析

1. 1/250 组, P1 的抑菌圈最大, 接下来大小依次是 p2、p3、p4、p**300
2. 1/500 组, P1 的抑菌圈最大, 接下来大小依次是 p3、p4、p2、p**300
3. 1/1000 组, P4 的抑菌圈最大, 接下来大小依次是 p2、p1、p3、p**300
4. 1/2000 组, P1 的抑菌圈最大, 接下来大小依次是 p3、p2、p4、p**300
5. p**300 的 1/500、1/1000、1/2000 组肉眼基本看不到抑菌圈

八、实验结果

总体来看, P1 的抑菌效果最好

总结

实验显示西宝 KroVin300 在细菌、霉菌、酵母菌的杀菌抑菌效果上明显优于某进口品牌的 p**300。