

杜 琨. 西藏高原酸奶中乳酸菌产抑菌物质的抑菌活性及抑菌机制[J]. 江苏农业科学, 2018, 46(21): 208–212.
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2018.21.053

西藏高原酸奶中乳酸菌产抑菌物质的 抑菌活性及抑菌机制

杜 琨

(武警工程大学装备管理与保障学院, 陕西西安 710086)

摘要:以金黄色葡萄球菌为研究对象, 探讨西藏牧民酸奶中乳酸菌发酵产抑菌物质的抑菌活性及抑菌机制。结果显示, 乳酸菌产抑菌物质具有较强的抑菌活性, 随着浓度升高, 抑菌活性不断增强; 乳酸菌产抑菌物质对温度和紫外线的耐受力较强; NaCl 和蔗糖对乳酸菌产抑菌活性物质的影响不大; 当 pH 值降低时, 乳酸菌产抑菌活性物质的抑菌活性增强。乳酸菌产抑菌活性物质的抑菌机制主要是破坏菌体的细胞壁或膜的结构。

关键词: 西藏高原; 乳酸菌产抑菌物质; 抑菌机制; 抑菌活性

中图分类号: Q939.11⁺7; S182

文献标志码: A

文章编号: 1002-1302(2018)21-0208-05

目前, 影响人类公共健康和食品安全的最大食源性疾病是由细菌污染引起的, 其中引起食源性疾病的主要病原菌有金黄色葡萄球菌 (*Staphylococcus aureus*)、沙门氏菌 (*Salmonella*) 和大肠杆菌 (*Escherichia coli*)^[1-2]。细菌污染食品后不但降低了食品的营养价值和品质, 还会产生一些令人难以接受的感官性状和毒素。目前, 我国常用的传统食品防腐剂分为有机防腐剂和无机防腐剂 2 种, 有机防腐剂主要有山梨酸钾、苯甲酸钠、对羟基苯甲酸酯类等; 无机防腐剂主要有亚硫酸盐、硝酸盐、亚硝酸盐和二氧化硫等。传统防腐剂由于具有潜在的致癌性、致畸性、环保问题等, 其安全性正越来越受到人们的关注。随着人们生活水平的不断提高和对健康的日益关注, 人们对防腐剂类的食品添加剂在安全性能上提出了更高的要求, 所以, 人们开始把目光投向天然防腐剂。天然防腐剂和化学合成防腐剂相比具有无毒、无副作用并有一定

的保健作用等特性, 已经成为国内外研究的重要课题。此外, 天然防腐剂不仅为食品工业所需, 医药、化妆品、饲料等行业均需要天然防腐剂, 因此其市场前景非常好^[3-4]。

高原酸奶中含有多种天然抑菌物质, 具有维持肠道菌群平衡、提高机体免疫力、促进营养物质的吸收等功能^[5]。本试验拟从我国西藏地区高原自然发酵酸奶中定向筛选产抑菌物质的乳酸菌, 通过优化发酵条件, 生产抑菌物质, 并进行纯化、鉴定^[6-7]。目前, 关于酸奶中获得的抑菌物质对微生物作用机制的报道很少。本研究选取金黄色葡萄球菌为试验对象, 研究乳酸菌产抑菌物质抑制细菌生长的作用机制, 旨在为乳酸菌产抑菌物质在饲料、食品、药品等领域的应用提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

乳酸菌产抑菌物质: 由笔者所在实验室从高原酸奶中分离得到乳酸菌, 经添加营养物质、发酵优化、分离、纯化和冷冻干燥等制成乳酸菌产抑菌物质冻干粉^[6-7]。将乳酸菌产抑菌物质冻干粉配制浓度为 3.13 mg/mL 的水溶液, 于 4℃ 冷藏备用。指示菌: 金黄色葡萄球菌, 由陕西师范大学食品工程

收稿日期: 2017-09-20

基金项目: 武警部队后勤应用项目 (编号: wjhq2016-8)。

作者简介: 杜 琨 (1975—), 男, 陕西西安人, 博士, 副教授, 主要从事武警部队军用食品、军用食品添加剂的研制工作。E-mail: dukun8662@163.com。

spectrometric instruments; A review [J]. Vibrational Spectroscopy, 1996, 11(1): 3–15.

[9] Pereira C F, Pimentel M F, Galvão R K, et al. A comparative study of calibration transfer methods for determination of gasoline quality parameters in three different near infrared spectrometers [J]. Analytica Chimica Acta, 2008, 611(1): 41–47.

[10] Shao X G, Leung A K, Chau F T. Wavelet: a new trend in chemistry [J]. Accounts of Chemical Research, 2003, 36(4): 276–283.

[11] Abdi H, Williams L J. Principal component analysis [J]. Wiley Interdisciplinary Reviews (Computational Statistics), 2010, 2(4): 433–459.

[12] Nørgaard L. Direct standardization in multi wavelength fluorescence spectroscopy [J]. Chemometrics & Intelligent Laboratory Systems,

1995, 29(2): 283–293.

[13] Wang Y D, Veltkamp D J, Kowalski B R. Multivariate instrument standardization [J]. Analytical Chemistry, 1991, 63(23): 530–533.

[14] Wang Y D, Lysaght M J, Kowalski B R. Improvement of multivariate calibration through instrument standardization [J]. Analytical Chemistry, 2002, 64(5): 562–564.

[15] Wang Z Y, Dean T, Kowalski B R. Additive background correction in multivariate instrument standardization [J]. Analytical Chemistry, 1995, 67(14): 2379–2385.

[16] Bouveresse E, Massart D L, Dardenne P. Modified algorithm for standardization of Near-Infrared spectrometric instruments [J]. Analytical Chemistry, 1995, 67(8): 1381–1389.

与营养科学学院微生物发酵实验室提供;乳酸菌产抑菌活性物质的保加利亚乳杆菌(*Lactobacillus bulgaricus*)、溶血性链球菌(*Streptococcus*)、单增李斯特菌(*Listeria monocytogenes*)、枯草芽孢杆菌(*Bacillus subtilis*)、荧光假单胞菌(*Pseudomonas fluorescens*)、藤黄微球菌(*Micrococcus luteus*)、蜡样芽孢杆菌(*Bacillus cereus*)、乙醇酵母(*alcohol yeast*)、啤酒酵母(*Saccharomyces cerevisiae* Hansen)等由西北农林科技大学提供;小肠结肠炎耶尔森氏菌、番茄灰霉病菌、香蕉炭疽病菌、水稻纹枯病菌、油菜菌核病菌、嗜热链球菌、嗜酸乳杆菌、黑曲霉、黄曲霉等由陕西省微生物研究所提供。细菌培养采用牛肉膏蛋白胨琼脂培养基,酵母菌培养采用酵母浸出粉胨葡萄糖培养基(简称 YPG 培养基),霉菌培养采用马铃薯葡萄糖琼脂培养基(简称 PDA 培养基)^[8]。

TQHZ-2002A 恒温振荡培养箱,太仓市华美生化仪器厂;GHP-250 恒温培养箱,扬州市三发电子有限公司;SB-3S-1 无菌操作台,上海博迅实业有限公司;CL-32L 高压灭菌锅,上海医用核子仪器厂;CR21G 冷冻离心机,日本日立;DELTA-320 pH 计,Mettler-Tlelod 公司;调温电热器,通州市申通电热器厂;PL-2002 电子天平,Mettler-Tlelod 公司;SPM-9500J3 型原子力显微镜(atomic force microscope,简称 AFM),日本岛津公司。

本试验于 2013 年 9 月至 2015 年 6 月在陕西师范大学食品工程与营养科学学院微生物发酵实验室和畜产品实验室完成。

1.2 试验方法

1.2.1 原子力显微镜下观察乳酸菌产抑菌物质

原子力显微镜具有分辨率高、原位成像、不破坏样品、对材料的导电性无要求等特点,可以获得测量材料的微观形貌、表面粗糙度、表面电荷和微观力学性能等参数,是微观分析的常用工具之一。

(1)AFM 制样。将乳酸菌产抑菌物质加入双蒸水中溶解,配成 1 $\mu\text{g/mL}$ 溶液,取 5 μL 浓度为 1 $\mu\text{g/mL}$ 的溶液,滴在新剥离的云母表面上,于室温、空气中干燥后,用原子力显微镜观测^[9]。

(2)原子力显微镜观测。在室温大气环境中测量乳酸菌产抑菌物质的分子形态。采用轻敲模式,氧化硅探针材料为 Si_3N_4 (微悬臂长为 200 μm ,弹性系数为 0.12 N/m),所有力-距离曲线均采用同一探针在同一载荷速率下测量得到。

1.2.2 最小抑菌浓度(MIC)的测定^[10]

用二倍稀释法对 100 mg/mL 乳酸菌产抑菌物质溶液进行稀释,吸取 2 mL 乳酸菌产抑菌物质溶液和 18 mL 融化的培养基同时放入灭菌的培养皿中,调节 pH 值为 2.5,充分混匀,使乳酸菌产抑菌物质的最终浓度为 0.79、1.57、3.13、6.25、12.50、25.00、50.00、100.00 mg/mL 8 个梯度。待冷却后,用接种针划线在培养基上涂上浓度为 10^6 CFU/mL 的金黄色葡萄球菌菌液,以无菌水作为空白对照组,每个浓度设 3 个重复。观察菌体的生长情况,培养皿中无菌生长的,此皿的乳酸菌产抑菌物质浓度即为其 MIC 值。

1.2.3 乳酸菌产抑菌物质抑菌谱测定^[11]

将供试菌种接种培养(细菌在 37 $^{\circ}\text{C}$ 培养 24 h,酵母菌和霉菌在 28 $^{\circ}\text{C}$ 培养 48~72 h)后,用血细胞计数板对活化的菌液进行计数,用无

菌水将菌液浓度调至 10^6 CFU/mL。

将配制好的培养基及培养皿、直径约为 6 mm 的滤纸片放入高压锅内进行灭菌(121 $^{\circ}\text{C}$, 25 min),灭菌后取出,放入无菌操作室内冷却至约 50 $^{\circ}\text{C}$ 时,点燃乙醇灯,在乙醇灯周围进行操作。将培养基倒入已灭菌培养皿中,在无菌条件下用移液枪吸取适量菌悬液于培养皿中,用刮铲均匀涂布;用镊子夹取浸过乳酸菌产抑菌物质的滤纸贴于接种了菌种的培养皿中,设 3 次重复,以无菌水作为空白对照。细菌在恒温 37 $^{\circ}\text{C}$ 条件下培养 24 h,酵母菌和霉菌在恒温 28 $^{\circ}\text{C}$ 条件下培养 48~72 h,采用十字交叉法测量抑菌圈的直径。

1.2.4 不同影响因素对乳酸菌产抑菌物质抑菌活性的影响

1.2.4.1 pH 值对抑菌作用的影响

以金黄色葡萄球菌作为供试菌种,用酸碱溶液调节待测乳酸菌产抑菌物质溶液的 pH 值分别为 2.0、3.0、4.0、5.0、6.0、7.0。以未调 pH 值的乳酸菌产抑菌物质作为对照(pH 值为 3.65),于 37 $^{\circ}\text{C}$ 培养箱中培养金黄色葡萄球菌 24 h,测量抑菌圈直径。

1.2.4.2 温度对乳酸菌产抑菌物质抑菌作用的影响

将待测乳酸菌产抑菌物质分为 2 组,A 组分别置于 70、80、90、100 $^{\circ}\text{C}$ 水浴及 121 $^{\circ}\text{C}$ 高压湿热条件下处理 30 min 后调节 pH 值为 2.5,以金黄色葡萄球菌作为供试菌种,测量抑菌圈直径;B 组先调 pH 值为 2.5,再分别置于 70、80、90、100 $^{\circ}\text{C}$ 水浴及 121 $^{\circ}\text{C}$ 高压湿热条件下处理 30 min,以室温下不经处理的乳酸菌产抑菌物质作为对照,于 37 $^{\circ}\text{C}$ 培养箱中培养金黄色葡萄球菌 24 h,以金黄色葡萄球菌作为指示菌,测量抑菌圈直径。

1.2.4.3 不同 NaCl、蔗糖浓度对抑菌作用的影响

在乳酸菌产抑菌物质水溶液中加入 NaCl 并分别调节其浓度为 0、0.1%、0.2%、0.3%、0.4%、0.5%、0.6%;加入蔗糖并分别调节其浓度为 0、1%、2%、3%、4%、5%,以金黄色葡萄球菌作为指示菌,以无菌水作为空白对照,于 37 $^{\circ}\text{C}$ 培养箱中培养金黄色葡萄球菌 24 h,测量抑菌圈直径。

1.2.4.4 紫外线照射对乳酸菌产抑菌物质抑菌作用的影响

将乳酸菌产抑菌物质水溶液分别在紫外线照射 5、10、15、20、25、30 min。以金黄色葡萄球菌作为指示菌,以无菌水作为空白对照,于 37 $^{\circ}\text{C}$ 培养箱中培养金黄色葡萄球菌 24 h,测量抑菌圈直径。

1.2.5 乳酸菌产抑菌物质的抑菌机制

1.2.5.1 乳酸菌产抑菌物质对金黄色葡萄球菌生长曲线的影响

将金黄色葡萄球菌接种到牛肉膏蛋白胨液体培养液中进行振荡培养,用血球计数板计数,取生长量为 10^6 CFU/mL 的金黄色葡萄球菌菌液作为指示菌悬液,向其中加入浓度为 MIC 的乳酸菌产抑菌物质,每隔 3 h 取样,然后用紫外-可见分光光度计在 650 nm 下测定 $D_{650\text{ nm}}$,连续测定 36 h。以时间为横坐标、以抑菌圈直径和 $D_{650\text{ nm}}$ 为纵坐标,分别绘制对照组和加药组的生长曲线。

1.2.5.2 乳酸菌产抑菌物质对金黄色葡萄球菌细胞形态的影响

用 2.5% 戊二醛固定细菌后,用 0.01 mol/L 磷酸盐缓冲液(pH 值为 7.2)洗涤 3 次,每次 10 min;然后依次用 30%、50%、70%、80%、90%、95%、100% 的乙醇梯度脱水各 1 次,每次 10 min;再用无水乙醇脱水 2 次,每次 10 min;用包埋剂 Epon 812 定向包埋,用超薄切片机进行超薄切片,厚度为 50 nm 左右;用醋酸铀-柠檬酸铅双染色各 30 min,再用蒸馏

水冲洗,于 37 ℃ 烘干,用 H-600 透射电子显微镜观察、拍照^[12]。

2 结果与分析

2.1 原子力显微镜观察分析

由图 1 可以看出,在室温下观测乳酸菌产抑菌物质的分子图像清晰、稳定,分子形貌呈现出大小不一的树状结构,支链直径在 6.01~21.46 nm 之间,键高为 65.19~77.35 nm。此外,从对乳酸菌产抑菌物质的 AFM 三维形貌观察可以看

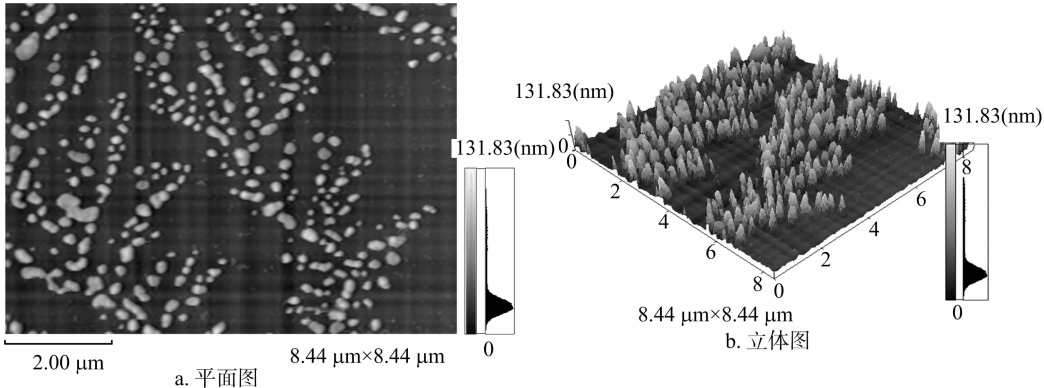


图1 乳酸菌产抑菌物质的 AFM 图像

表 1 乳酸菌产抑菌物质抑制金黄色葡萄球菌最小抑菌浓度 (MIC) 的测定结果

乳酸菌产抑菌物质浓度 (mg/mL)	金黄色葡萄球菌生长情况
100.00	-
50.00	-
25.00	-
12.50	-
6.25	-
3.13	-
1.57	+
0.79	+
0	+

注:“-”“+”分别表示无、有金黄色葡萄球菌生长。

2.2 乳酸菌产抑菌物质的抑菌谱测定结果

本试验选择革兰氏阳性菌(金黄色葡萄球菌、链球菌、保加利亚乳杆菌、单增李斯特菌、藤黄微球菌)、革兰氏阴性菌(大肠杆菌、荧光假单胞菌)、酵母菌和霉菌作为检测指示菌,测定乳酸菌产抑菌物质对各指示菌的抑菌活性。从表 2 可以看出,乳酸菌产抑菌物质具有较广的抑菌谱,对革兰氏阳性菌有很好的抑制作用,对部分革兰氏阴性菌有抑制作用,对酵母菌、霉菌没有抑制作用。从表 2 还可以看出,乳酸菌产抑菌物质对食源性致病菌,如金黄色葡萄球菌和小肠结肠炎耶尔森氏菌等具有很好的抑制作用;对食品腐败菌,如藤黄微球菌、蜡状芽孢杆菌、枯草芽孢杆菌、荧光假单胞菌等的抑制作用较好,显示其在食品防腐作用中的应用潜力。但是乳酸菌产抑菌物质对霉菌和酵母菌没有作用。此外,乳酸菌产抑菌物质对很多植物的致病菌如香蕉炭疽病病菌、番茄灰霉病病菌、水稻纹枯病病菌、油菜菌核病病菌等有很好的抑制作用,说明它在植物疾病的防治方面也有很好的作用。

出,其树状结构上具有很多峰状突起,推测乳酸菌产抑菌物质分子链可能具有较多分支。经综合分析,推测乳酸菌产抑菌物质可能通过肽键先形成双螺旋,后缠绕形成较大的聚集体。

2.2 乳酸菌产抑菌物质最小抑菌浓度的测定结果

由表 1 可以看出,当乳酸菌产抑菌物质的浓度为 3.13 mg/mL 时,金黄色葡萄球菌不能生长,而当乳酸菌产抑菌物质的浓度为 1.57 mg/mL 时,有金黄色葡萄球菌生长,因此可知,乳酸菌产抑菌物质对金黄色葡萄球菌的 MIC 为 3.13 mg/mL。

表 2 乳酸菌产抑菌物质的抑菌谱

供试菌种	抑菌圈直径	供试菌种	抑菌圈直径
金黄色葡萄球菌	+++	嗜热链球菌	++
大肠杆菌	-	嗜酸乳杆菌	++
保加利亚乳杆菌	+	蜡状芽孢杆菌	++
溶血链球菌	+	枯草芽孢杆菌	+++
单增李斯特菌	++	荧光假单胞菌	++
小肠结肠炎耶尔森氏菌	++	藤黄微球菌	++
番茄灰霉病病菌	+	酒精酵母	-
香蕉炭疽病病菌	+	啤酒酵母	-
水稻纹枯病病菌	+	黑曲霉	-
油菜菌核病病菌	+	黄曲霉	-

注:“-”表示抑菌圈直径<0.6 cm;“+”表示抑菌圈直径为 0.6~1.1 cm;“++”表示抑菌圈直径为 1.1~1.4 cm;“+++”表示抑菌圈直径>1.4 cm。

据报道,乳酸乳球菌菌株产生的抗菌物质主要对革兰氏阳性菌起作用^[13-14]。而本研究中的乳酸菌产抑菌物质不但对革兰氏阳性菌有效,而且对部分革兰氏阴性菌也有较强的抑制作用,显示其在食品保鲜防腐和植物疾病防治方面的应用潜力,也说明乳酸菌产抑菌物质具有较广谱的抗菌活性。

2.4 乳酸菌产抑菌物质抑菌活性影响因素研究

2.4.1 pH 值对乳酸菌产抑菌物质活性的影响 由图 2 可以看出,在 pH 值为 2~6 的范围内,随着 pH 值的上升,乳酸菌的抑菌活性逐渐降低,当 pH 值为 6.0~7.0 时,乳酸菌产抑菌物质活性很低,这与 Jiang 等报道的结果^[4,15]相似。因此可知,乳酸菌产抑菌物质适用于酸性食品或在酸性条件下食品的防腐保存。

2.4.2 不同温度处理对抑菌作用的影响 如图 3 所示,对于先经不同温度热处理,再将乳酸菌产抑菌物质溶液的 pH 值调回到 2.5 的试验组,随着温度升高,乳酸菌产抑菌物质的抑

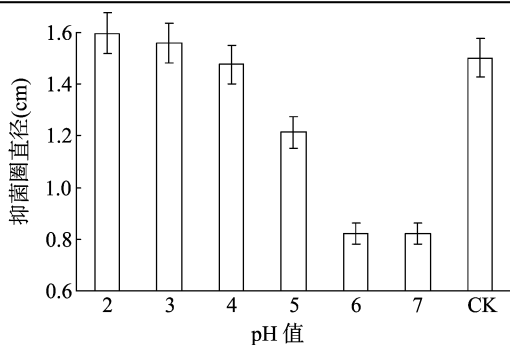


图2 不同 pH 值对乳酸菌产抑菌物质活性的影响

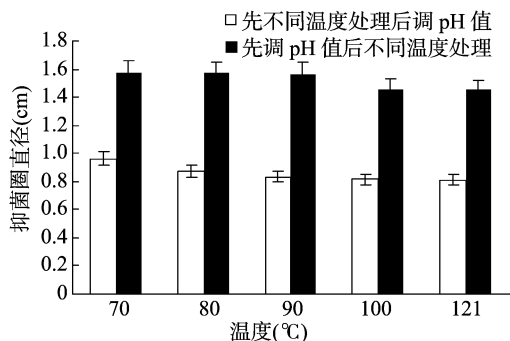


图3 不同温度处理对乳酸菌产抑菌物质活性的影响

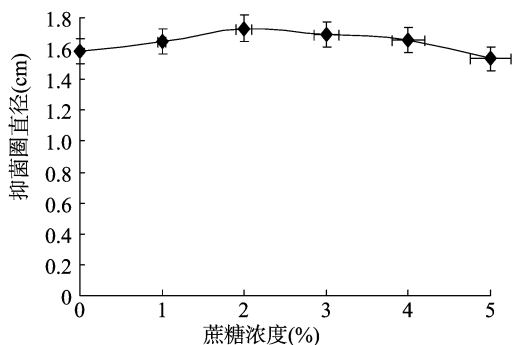


图5 蔗糖浓度对乳酸菌产抑菌物质活性的影响

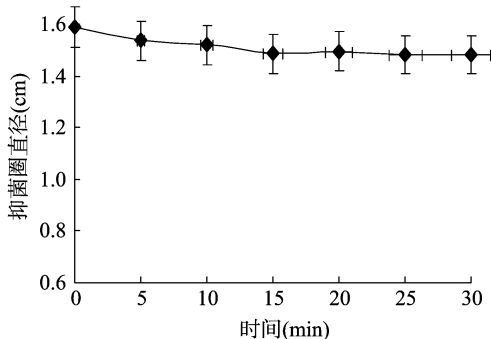


图6 不同紫外线照射时间对乳酸菌产抑菌物质活性的影响

菌活性迅速下降,当温度达到 100 ℃ 时基本失去活性。对于先调各组的 pH 值为 2.5,再经不同温度热处理的试验组,随着处理温度的升高,抑菌活性逐渐降低,整个变化过程缓慢,当处理温度达到 100 ℃ 时,其抑菌活性略有降低,这与许多关于乳酸菌产细菌素的理化特征报道相符,细菌素是蛋白质类物质,而一般高温会使蛋白质变性,使蛋白质类细菌素失活,但是由于小分子肽类物质的分子量要比蛋白质小,结构相对简单,因此其稳定性和抗热性比蛋白质强,由此推测乳酸菌产抑菌物质可能属于小分子肽类物质^[16]。

2.4.3 不同 NaCl、蔗糖浓度对抑菌作用的影响 从图 4、图 5 可以看出,在乳酸菌产抑菌物质溶液中添加盐、糖后,能提高其抑菌活性,添加 0.3% NaCl 或 2% 蔗糖时,其抑菌活性最强,抑菌能力最强,表明 0.3% NaCl 或 2% 蔗糖对乳酸菌产抑菌物质的活性具有一定的增强作用,这可能是由于盐、糖能够影响微生物生长的渗透压,从而抑制微生物的生长。

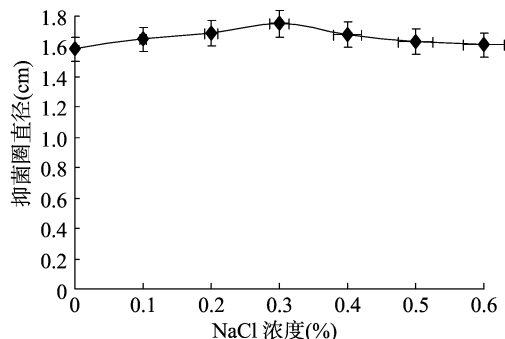


图4 NaCl 浓度对乳酸菌产抑菌物质活性的影响

2.4.4 紫外线照射对抑菌作用的影响 从图 6 可以看出,乳酸菌产抑菌物质水溶液在经过紫外线照射后,表现出较为稳定的抑菌活性,与未经紫外线照射的乳酸菌产抑菌物质抑菌

活性相比,经过紫外线照射 30 min 的乳酸菌产抑菌物质的抑菌圈直径仅仅缩小了 1.07 mm。说明紫外线照射对乳酸菌产抑菌物质的影响很小,乳酸菌产抑菌物质对紫外线的照射表现出较好的稳定性。可见在食品生产中,在使用乳酸菌产抑菌物质进行防腐的同时,可采用紫外线进行相应的杀菌处理。

2.5 乳酸菌产抑菌物质抑菌机制研究

2.5.1 乳酸菌产抑菌物质对金黄色葡萄球菌生长曲线的影响 从图 7 可以看出,对照组从 3 h 开始进入对数生长期,18~24 h 进入细菌稳定生长期,27 h 进入衰亡期。而加入 MIC 浓度的乳酸菌产抑菌物质后,其生长曲线发生明显改变,金黄色葡萄球菌的生长受到抑制,菌体的生长一直处于较低水平,未出现菌体大量生长的对数期,说明乳酸菌产抑菌物质能够抑制金黄色葡萄球菌对数生长期的菌体分裂。

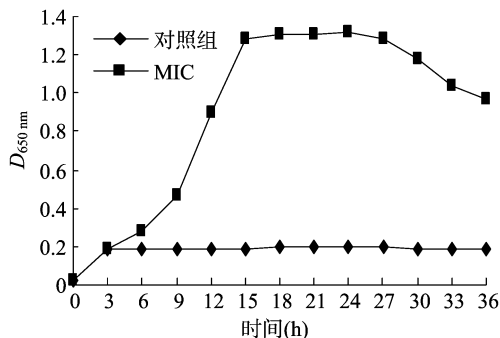


图7 乳酸菌产抑菌物质对金黄色葡萄球菌生长曲线的影响

2.5.2 乳酸菌产抑菌物质对金黄色葡萄球菌细胞形态的影响 由图 8-A 看出,在透射电镜下,正常的金黄色葡萄球菌细胞壁与细胞膜完整,结构紧密,细胞膜紧贴细胞壁,基本无空隙存在,胞质均匀,核区明显。由图 8-B 可以看出,经乳酸菌产抑菌物质作用 3 h 后,菌体有些变形、溶胀,位于细胞

膜区出现一些小的空泡。由图 8-C 可以看出,经乳酸菌产抑菌物质作用 9 h 后,细胞质皱缩,导致细胞壁与细胞膜间空隙明显增宽,质壁分离,细胞壁疏松并出现皱褶,部分细胞壁与隔膜模糊不清,细胞质内出现许多空腔,这可能是由于乳酸

菌产抑菌物质浸入细胞壁后使细胞膜蛋白遭到破坏,细胞膜收缩,从而导致细胞质固缩。可以看出,乳酸菌产抑菌物质能够导致金黄色葡萄球菌细胞质固缩,形成空洞,使细胞代谢无法正常进行,最终导致菌体死亡。

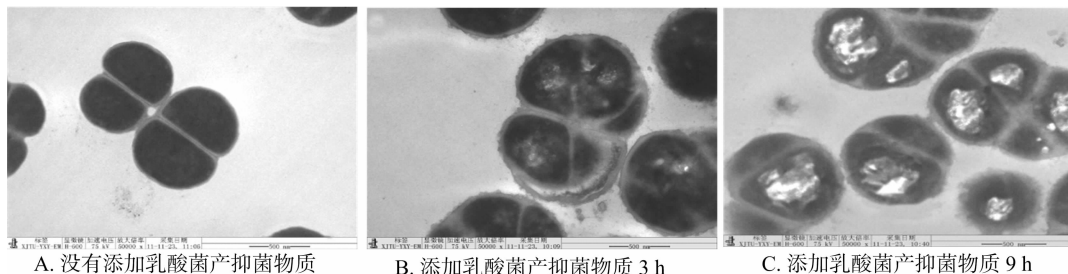


图8 乳酸菌产抑菌物质对金黄色葡萄球菌细胞形态的影响

3 结论

乳酸菌产抑菌物质抑菌或杀菌活性高,抑菌谱宽,对食源性致病菌,如金黄色葡萄球菌^[17-18]、小肠结肠炎耶尔森氏菌和溶血链球菌等具有很好的抑制作用,对食品腐败菌,如藤黄微球菌、蜡状芽孢杆菌、枯草芽孢杆菌、荧光假单胞菌等的抑制作用较好,显示其在食品防腐作用中的应用潜力。此外,乳酸菌产抑菌物质对很多植物的致病菌如香蕉炭疽病菌、番茄灰霉病菌、水稻纹枯病菌、油菜菌核病菌等有很好的抑制作用,说明它在植物疾病的防治方面也有很好的作用。

乳酸菌产抑菌物质对紫外线和温度耐受力较强,表明乳酸菌产抑菌物质所含活性较为稳定;抑菌活性受 pH 值影响较大,在一定范围内,酸性越强,抑菌效果越好;NaCl 和蔗糖对乳酸菌产抑菌物质的活性有一定的增强作用。出现以上结果,可能是由于盐、糖能够影响微生物生长的渗透压,从而抑制微生物的生长。

抑菌机制研究显示,经过乳酸菌产抑菌物质处理后的菌体细胞膜通透性、细胞壁及内容物均受到损害,导致细菌生长曲线发生变化。

参考文献:

- [1] Xu Z B, Liu X C, Li L, et al. Development of staphylococcus aureus enterotoxin in food-borne bacteria[J]. Modern Food Science and Technology, 2013, 29(9): 2317-2324.
- [2] 李 婷, 杨舒然, 陈 敏, 等. 姜厚朴水提物对大肠杆菌和金黄色葡萄球菌的抑菌机理研究[J]. 现代食品科技, 2016, 32(2): 84-92.
- [3] 刘国荣, 李平兰, 王成涛. 乳酸菌细菌素作为天然生物防腐剂在食品工业中的应用进展[J]. 北京工商大学学报(自然科学版), 2012, 30(2): 64-69.
- [4] Jiang J, Shi B, Zhu D Q, et al. Characterization of a novel bacteriocin produced by *Lactobacillus sakei* LSJ618 isolated from traditional Chinese fermented radish[J]. Food Control, 2012, 23(2): 338-344.
- [5] Dal Bello B, Coccolin L, Zeppa G, et al. Technological characterization of bacteriocin producing *Lactococcus lactis* strains employed to control *Listeria monocytogenes* in cottage cheese[J]. International Journal of

- Food Microbiology, 2012, 153(1/2): 58-65.
- [6] 杜 琨, 陈锦屏, 苏凤贤. 采用原子力显微镜分析乳酸链球菌素结构的研究[J]. 食品工业科技, 2012, 33(5): 156-158.
- [7] 杜 琨, 陈锦屏, 苏凤贤, 等. 高原酸奶中乳酸链球菌产生的乳酸链球菌素纯化鉴定研究[J]. 食品工业科技, 2012, 33(7): 169-171.
- [8] 程丽娟, 薛泉宏. 微生物学试验技术[M]. 西安: 世界图书出版公司, 2000: 128.
- [9] Wilkinson K J, Balnois E, Leppard G G, et al. Characteristic features of the major components of freshwater colloidal organic matter revealed by transmission electro and atomic force microscopy[J]. Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects, 1999, 155(2/3): 287-310.
- [10] 贾瑞秀, 邱 苗, 黄建颖, 等. 壳聚糖及其衍生物对镰孢菌的抑菌机理[J]. 中国食品学报, 2016, 16(11): 70-75.
- [11] 刘 珊, 高玉荣. 格氏乳球菌素 LG34 生物稳定性的研究[J]. 黑龙江八一农垦大学学报, 2013, 25(3): 67-70.
- [12] 赵瑞香, 段改丽, 杨天佑, 等. 嗜酸乳杆菌细菌素 Lactobacillin XH2 抑制大肠杆菌作用机理的探讨[J]. 食品科学, 2015, 36(3): 75-79.
- [13] Schneider J, Taraz K, Budzikiewicz H, et al. The structure of two fengycins from *Bacillus subtilis* S499 [J]. Zeitschrift Für Naturforschung, 1999, 54(11): 859-865.
- [14] Stein T. *Bacillus subtilis* antibiotics: structures, syntheses and specific functions[J]. Molecular Microbiology, 2005, 56(4): 845-857.
- [15] Kumar M, Tiwari S K, Srivastava S, et al. Purification and characterization of enterocin LR/6, a bacteriocin from *Enterococcus faecium* LR/6[J]. Applied Biochemistry and Biotechnology, 2010, 160(1): 40-49.
- [16] 李 莉. 戊糖乳杆菌 WH12-2-1 产细菌素的条件优化及其抑菌特性研究[D]. 呼和浩特: 内蒙古农业大学, 2009.
- [17] 张添菊, 李春阳, 吴 寒, 等. 盐蒿提取液抗食源性致病菌活性及其抑菌机理[J]. 江苏农业学报, 2017, 33(4): 932-937.
- [18] 李晓霞, 贾 森, 金君华, 等. 原料乳中金黄色葡萄球菌环介导等温扩增(LAMP)检测方法的建立及应用[J]. 江苏农业学报, 2017, 33(5): 1171-1175.