

纳豆菌的抗菌作用及其培养基的优化

钟青萍 余世望 梁胜媛

(江西中德联合研究院, 南昌 330047)

摘要 考察了纳豆菌对常见的污染食品的微生物的拮抗作用, 并探讨了培养基的组成对纳豆菌抗菌作用及其生长的影响。结果表明, 纳豆菌具广谱抗菌作用, 对细菌、酵母菌和霉菌皆有一定的拮抗作用。其适宜的培养基组成为: 2%葡萄糖、0.5%蛋白胨及少量金属盐和氨基酸。

关键词 纳豆菌 抗菌作用 培养基

Abstract In this paper, the antimicrobial effects of *Bacillus natto* were studied, and the effects of medium composition were investigated. The results showed that *Bacillus natto* could inhibit not only some kinds of gram-positive and gram-negative bacteria, but also some kinds of yeasts and moulds. The suitable medium contained 2% glucose, 0.5% peptone, a few mineral substances and amino acids.

Key words *Bacillus natto*; antimicrobial effects; medium

近年来, 国外利用微生物来制取天然生物防腐剂的研究较多^[1-3], 而从传统发酵食品的微生物代谢产物中寻找天然生物防腐剂更是一个安全有效的方法。纳豆菌是日本传统发酵食品——纳豆的生产菌种, 在日本已被使用了 2000 多年^[4,5], 但目前对纳豆菌的抗菌作用的研究甚少, 国内未见报道。本研究考察了纳豆菌对常见的污染食品的微生物的拮抗作用, 并探讨了培养基的组成对纳豆菌抗菌作用及其生长的影响, 为纳豆菌的开发应用提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 实验材料

纳豆菌(*Bacillus natto*) 本实验室分离、保藏;

细菌 大肠杆菌、普通变形杆菌、沙门氏菌、志贺氏菌、金黄色葡萄球菌、金黄色微球菌、李斯特菌、蜡状芽孢杆菌、枯草芽孢杆菌 来源于中科院微生物研究所;

酵母菌 啤酒酵母、产朊假丝酵母、粟酒裂殖酵母、粘红酵母、异常汉逊酵母 来源于中科院微生物研究所;

霉菌 黄曲霉、总状毛霉、桔青霉、扩展青霉、黑根霉、尖镰孢 来源于中科院微生物研究所;

牛肉膏蛋白胨培养基 用于培养指示细菌; 合成培养基 用于培养纳豆菌, 由 2%葡萄糖、0.5%蛋白胨及少量金属盐和氨基酸组成; YEPD 培养基 用于培养酵母菌; 查氏培养基 用于培养霉菌。

1.2 方法

1.2.1 纳豆菌的培养 从斜面上挑取几环菌种接入装有 70ml 液体培养基的三角瓶中, 于 30℃、100r/min 摇床振荡培养 16~24h 得种子菌悬液。将种子菌悬液以 3%~5% 的接种量接于发酵培养基中, 同样条件下培养。

1.2.2 指示菌悬液的制备 从斜面上分别挑取少

3 结论

通过试验结果我们可以得出, 采用烘焙对黄瓜加工进行护色、保脆是一项有效的措施, 其中以 75℃ 的烘焙温度为优。而从大生产的角度出发, 为寻求耗能少、成本低、效率高、又能确保品质的最佳工艺途径, 我们又在烘焙前进行了盐脱水处理, 经过试验, 得出了最佳处理方法, 即先用 5% 的盐脱水 10h, 再以 75℃ 的温度烘焙 2h。经过此方法处理后的黄瓜色泽深绿, 口感脆, 带韧劲, 咸度适中, 有黄瓜清香, 符合人们的口味需求。当然, 由于季节、黄瓜品种、产地等因素, 在实际生产过程中加盐量、烘焙温度及处理时间会有一定的差异, 故今后还可以作进一步的探讨。

参考文献

- 1 宋元林主编. 黄瓜、佛手瓜、西葫芦. 科学技术文献出版社, 1998: 8
- 2 胡修领、管秀荣、唐卫红. 浅谈黄瓜腌制中的保绿工艺. 中国调味品, 1997, 2(2): 27~28
- 3 马金贵. 提高绿色蔬菜腌制品技术含量的方法及条件控制. 中国调味品, 1998, 7(7): 26~67
- 4 夏桂珍. 软塑料桶装出口咸黄瓜的腌制与加工. 中国调味品, 1997, 8(8)
- 5 卢大修、史美权. 试论我国目前腌酱小菜的色泽. 中国调味品, 1990(4): 23~24
- 6 韩雅珊主编. 食品化学. 北京农业出版社, 1992, 4

量菌接种于液体培养基中, 37℃培养 18~24h。酵母菌悬液和霉菌孢子悬液皆以生理盐水配制。

1.2.3 纳豆菌生长量的测定 分别测定纳豆菌培养初始及培养最终的 OD_{600nm}, 计算菌体增长倍数。

增长倍数 = 最终 OD_{600nm} / 初始 OD_{600nm}。

1.2.4 纳豆菌抗菌粗提液的制备 将培养的纳豆菌悬液于 10000r/min 离心 10min 以除去菌体, 收集上清液备用。

1.2.5 抗菌实验方法 取 10⁶~10⁷CFU/ml 的指示菌悬液 0.1ml 涂平板。分别将样品点样于滤纸片上(直径 5.5mm 的双层滤纸, 点样 10⁴l), 待晾干后放于已涂布指示菌的平板上, 培养 24h 后测抑菌圈直径。

2 结果与讨论

2.1 纳豆菌对常见污染食品的微生物的拮抗作用

表 1 结果显示, 纳豆菌具有广谱抗菌作用, 对革兰氏阳性菌、革兰氏阴性菌、酵母菌和霉菌皆有一定的拮抗作用, 特别是对志贺氏菌、金黄色葡萄球菌和异常汉逊酵母具有较强的抗菌作用。因此, 以志贺氏菌为指示菌进行进一步的实验。

表 1 纳豆菌的抗菌作用

微生物	抑菌圈直径(mm)
志贺氏菌	26.0
大肠杆菌	9.0
沙门氏菌	9.0
普通变形杆菌	7.0
金黄色葡萄球菌	20.0
金黄色微球菌	13.0
巨大芽孢杆菌	8.5
李氏特菌	9.5
枯草芽孢杆菌	—
蜡状芽孢杆菌	—
异常汉逊酵母	20.0
啤酒酵母	15.5
产朊假丝酵母	16.5
桔青霉	9.5
尖镰孢	9.0
扩展青霉	9.5
镰刀霉	8.5
黑根霉	8.0
黄曲霉	7.0

2.2 不同发酵培养基的比较

分别将纳豆菌接种于基础肉汤培养基、LB 培养基、YPGA 培养基、NYDA 培养基和本实验室设计的合成培养基中, 30℃、100r/min 摇床振荡培养 48h, 然后分别测定纳豆菌生长量及抗菌活性, 结果如表 2 所示。

表 2 不同培养基中纳豆菌的生长及抗菌活性

培养基	肉汤培养基	LB	YPGA	NYDA	合成培养基
增长倍数	6.18	5.32	6.70	5.47	8.40
抑菌圈直径(mm)	11.0	9.0	7.0	7.5	21.0

可见, 培养基的组成对纳豆菌的抗菌作用有较大的影响, 在本实验室设计的合成培养基中, 纳豆菌生长最好, 且抗菌作用最强, 因此, 以此培养基作为纳豆菌的基础培养基。

2.3 培养基中碳源的种类及浓度的确定

培养基中加入不同种类和浓度的碳源, 结果如表 3 所示, 以甘油为碳源不利于纳豆菌生物量的积累和抗菌物质的产生; 而以葡萄糖、蔗糖和可溶性淀粉为碳源皆可获得较高的生物量, 且抗菌活性较高, 其中, 以 2% 的葡萄糖为碳源时, 抑菌圈直径最大, 达 21.0mm。

2.4 氮源对纳豆菌发酵的影响

在培养基中加入 0.5% 的不同种类的氮源, 结果见表 4, 无机氮源不利于纳豆菌生长及抗菌物质的产生; 有机氮源促进纳豆菌生长, 但其中蛋白胨和胰蛋白胨更有利于抗菌物质产生, 蛋白胨稍优于胰蛋白胨, 且蛋白胨的成本低于胰蛋白胨, 因此选择蛋白胨作为氮源。

表 3 不同的碳源对纳豆菌的生长及抗菌物质产生的影响

碳源	增长倍数	抑菌圈直径(mm)
葡萄糖 1%	6.18	17.0
葡萄糖 2%	9.23	21.0
蔗糖 1%	6.42	15.0
蔗糖 2%	7.14	17.5
可溶性淀粉 1%	6.21	14.0
可溶性淀粉 2%	6.94	17.5
甘油 1%	4.63	7.0
甘油 2%	6.30	10.5

表 4 氮源种类对纳豆菌发酵的影响

氮源	NaNO ₃	(NH ₄) ₂ SO ₄	蛋白胨	胰蛋白胨	牛肉膏	酵母膏
增长倍数	4.25	3.76	8.47	9.76	6.50	9.31
抑菌圈直径(mm)	8.5	8.5	21.0	18.0	9.0	7.5

表 5 培养基中添加氨基酸对纳豆菌发酵的影响

	对照	Glu	His	Ala	Lys	Tyr	Cys
增长倍数	7.35	9.01	8.70	16.95	9.93	12.55	9.43
抑菌圈直径(mm)	15.5	26.0	26.0	25.5	20.0	18.5	8.0

培养基中蛋白胨的浓度对纳豆菌生长及抗菌物质产生的影响如图 1、图 2 所示, 随着蛋白胨浓度的提高, 纳豆菌生长加快, 但蛋白胨浓度大于 0.5% 时, 抗菌活性有所下降, 因此, 蛋白胨的最佳浓度为 0.5%。

2.5 添加氨基酸对纳豆菌发酵的影响

在培养基中分别添加 0.05% 的不同氨基酸, 结

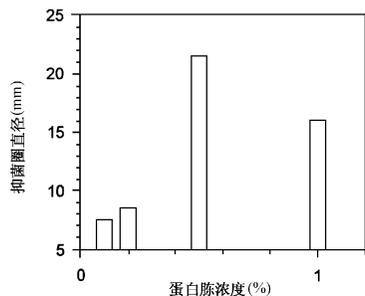


图1 蛋白胨浓度对纳豆菌抗菌作用的影响

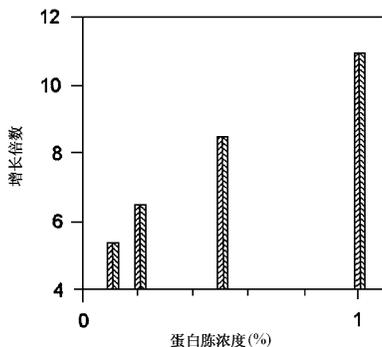


图2 蛋白胨浓度对纳豆菌生长的影响

果表明, Glu、His 和 Ala 能大幅度提高纳豆菌的抗菌活性, 可能这些氨基酸是抗菌物质合成所需求的, 其

促进抗菌物质合成所需酶的大量产生, 或者对酶的活性中心产生影响。

综上所述, 纳豆菌具有广谱抗菌作用, 对革兰氏阳性菌、革兰氏阴性菌、酵母菌和霉菌皆有一定的拮抗作用。培养基的组成对其生长及抗菌作用有较大影响, 其适宜的培养基为本实验室设计的合成培养基, 碳源为 2% 的葡萄糖, 氮源为 0.5% 的蛋白胨, 另含少量金属盐及氨基酸。

参考文献

- Owen Fields, F. Use of bacteriocins in food; regulatory considerations. Food Protection, 1996 Supplement; 72
- 王吉彬. 食品生物防腐剂——细菌素之介绍. 食品工业月刊(台), 1996 5; 23
- 李平兰, 张虎, 江汉湖. 细菌素研究概况. 中国畜产与食品, 1998 5(2); 82
- 谢秋玲, 郭勇. 纳豆——一种多功能食品. 食品工业科技, 1999, 20(1): 71
- 江晓, 董明盛. 纳豆与保健食品. 中国畜产与食品, 1998 5(6); 279
- Schillinger, U., Stiles M. E. and Holzapfel, W. H., Bacteriocin production by *Carnobacterium piscicola* LV 61, Int. Food Microbiol, 20; 131

- 中文核心期刊 ● 学位与研究生教育中文重要期刊
- 食品行业权威杂志 ● 科研、生产的良师益友
- 权威机构认定轻工行业科技期刊检索率第一

欢迎订阅 2002 年《食品科学》杂志

2002 年页码由 128 增至 200 页, 定价 15 元/册, 印刷更精美, 容量更大, 内容更丰富。在保持原有老栏目的基础上应读者要求增加信息快递栏目, 内容包括: 政策法规、行业大事、国内外最新科研成果、企业和科研院所动态、新书介绍、国内外展会信息等。

优惠 150 元/全年·份

为答谢多年来支持《食品科学》的读者, 凡于 2001 年 11 月 25 日之前(以邮戳为准)在本编辑部订阅 2002 年全年《食品科学》杂志的订户可享受上述优惠。

- 订阅方法: 1. 现金订阅: 直接通过邮局汇款至北京市东城区东四礼士胡同 161 号中国食品杂志社《食品科学》发行部收
邮政编码: 100010
2. 银行汇票: 请汇至: 开户行北京工商银行东南分理处, 户名 北京市食品研究所
帐号 0200001009014412474

欢迎订阅 2002 年《中外食品》月刊

(原《中外食品工业信息》)

《中外食品工业信息》2002 年更名为《中外食品》, 是由中国食品工业(集团)公司和中国食品科学技术学会共同主办的一本关注食品工业发展最新信息动向的杂志, 具有资深的行业背景, 为企业提供拓展发展的全新视野, 搭建食品业与新经济的互动平台, 解读市场与科技的最新动向, 透析业界发展方向, 架构业界交流之桥。本刊为国际流行大 16 开版本, 全彩色精美印刷, 版面风格设计清新, 内容丰富, 视角独特, 是食品业人士的良师益友。

欲订请到当地邮局办理征订手续, 邮发代号: 82-968, 全年订价: 96 元。也可直接向本编辑部办理邮购:

邮购地址: 北京西城区宣武门西大街甲 129 号金隅大厦 1610 室

邮政编码: 100031

订阅热线: 010-66414748、66414749

联系人: 韦锦宁

欢迎免费索取样刊