

发酵豆粕中异黄酮(FSMI) 抗菌活性的研究

孙明, 周建新, 吴骏

(南京财经大学江苏省粮油品质控制及深加工技术重点实验室, 江苏南京 210003)

摘要:研究了发酵豆粕中异黄酮(FSMI)对食品中常见污染物的抗菌活性及热处理对其抗菌活性的影响。结果表明, FSMI具有较强的抗菌活性, 对食品中常见的细菌和真菌的最低抑制浓度分别为0.24%和0.56%, 优于豆粕中的异黄酮(SMI)和化学合成防腐剂苯甲酸钠。FSMI的抗菌活性具有热稳定性, 能忍受高温短时的热处理。本研究为FSMI开发成多功能天然食品防腐剂提供了实验依据。

关键词: FSMI, 抗菌活性, 热稳定性, 食品天然防腐剂

中图分类号: TS202.3 文献标识码: A

文章编号: 1002-0306(2005)11-0080-03

豆粕是豆油加工的副产品, 除了一部分用于酱油等发酵原料外, 大多直接作为饲料^[1], 而大豆中含有的微量生理活性物质异黄酮以糖苷的形式绝大部分留在豆粕中而未利用。Murakami^[2]和江汉湖等^[3]研究过丹贝发酵过程中异黄酮的变化, 表明发酵使异黄酮的存在形式发生了变化, 绝大部分异黄酮糖苷经少孢根霉分泌的 β -葡萄糖苷酶作用水解为异黄酮苷元, 而游离的苷元具有更广泛、更强烈的生物学活性。本文测定了从发酵豆粕中经提取或精制后的异黄酮(FSMI)的抗菌特性, 旨在为从发酵豆粕中提取的异黄酮作为多功能食品天然防腐剂提供依据, 也为综合利用豆粕和提高其经济附加值提供途径。

1 材料与方法

1.1 实验材料

豆粕 江苏溧阳正昌集团提供; 麸皮 南京海悦面粉厂提供; 大肠杆菌(*Escherichia coli*) 枯草芽孢杆菌(*Bacillus subtilis*) 金黄色葡萄球菌(*Staphylococcus aureus*) 鼠伤寒沙门氏菌(*Salmonella typhimurium*) 福氏痢疾杆菌(*Shigella flexneri*) 黄曲霉(*Aspergillus flavus*) 产黄青霉(*Penicillium chrysogenum*) 红酵母(*Rhodotorula sp.*)

收稿日期: 2005-04-05

作者简介: 孙明(1967-), 女, 实验师, 主要从事粮油深加工方面的研究。

基金项目: 江苏省教育厅自然科学基金课题(NO. 02KJD5500010)。

由本校食品微生物学实验室保存, 细菌、霉菌和酵母菌分别于营养琼脂、察氏和麦芽汁培养基^[8]上活化。

1.2 实验方法

1.2.1 豆粕和发酵豆粕中异黄酮的提取与精制 发酵豆粕按文献[4]制备, 豆粕和发酵豆粕用70%乙醇为提取剂, 得到乙醇提取液^[5,6], 经分离与精制过程^[7], 产品呈黄色粉末状, 异黄酮纯度可分别达67.2%和65.4%。

1.2.2 发酵豆粕和豆粕乙醇提取液抗菌活性的比较——滤纸片扩散法^[9] 用接种环挑取少许已活化的菌体或孢子于装有无菌水的试管内, 制成菌悬液, 向培养基平板上加0.1mL菌悬液, 用L型玻璃棒涂布均匀。新华1号定性滤纸制成直径6mm的小圆片, 干热灭菌后分别浸入豆粕乙醇提取液和发酵豆粕乙醇提取液中, 以醇提取空白对照, 浸透, 干燥后贴在上述平板上, 每个培养皿内均匀放入三片, 置恒温培养箱中培养: 细菌 $36\pm 1^\circ\text{C}$ 培养24h, 霉菌和酵母菌 $28\pm 1^\circ\text{C}$ 培养72h, 测量抑菌圈直径。

1.2.3 异黄酮最低抑菌浓度(MIC)的测定^[9] FSMI和SMI(分别从发酵豆粕和豆粕的乙醇提取液中经过精制的异黄酮)按不同比例加入到已灭菌的培养基中混匀, 倒入含1mL菌悬液的无菌培养皿中混匀, 按“1.2.2”项培养后观察, 没有菌生长时的异黄酮浓度即为对该菌的最低抑制浓度。

1.2.4 FSMI热处理对其抗菌活性的影响实验 FSMI置于不同加热条件下处理后, 以各供试菌的MIC的量(“1.2.3”项测出)加入灭菌培养基中, 混匀, 倒入含1mL菌悬液的无菌培养皿中混匀, 分别测定抑菌率, 以观察不同热处理条件下FSMI抗菌效果的变化。

2 结果与讨论

2.1 发酵豆粕和豆粕乙醇提取液抗菌活性的比较

供试菌是食品中常见的污染菌, 且危害性大, 作为研究对象具有一定的代表性, 表1结果表明, 发酵豆粕中的乙醇提取液明显比豆粕中的乙醇提取液对

表1 发酵豆粕和豆粕乙醇提取液对供试菌的抗菌活性比较(图中数据为抑菌圈直径/mm)

材料	大肠杆菌	枯草芽孢杆菌	金黄色葡萄球菌	鼠伤寒沙门氏菌	福氏痢疾杆菌	黄曲霉	产黄青霉	红酵母
发酵豆粕乙醇提取液	14.8	9.2	13.5	18.0	14.2	+	+	9.2
醇提取空白对照	-	-	-	-	-	-	-	-
豆粕乙醇提取液	8.6	7.6	10.3	12.2	11.3	-	-	+
醇提取空白对照	-	-	-	-	-	-	-	-

注:表中数据为六次平行实验平均值;“+”表示抑菌圈很小;“-”表示无抑菌圈。

表2 异黄酮的最低抑菌浓度(MIC)的测定

材料	供试菌种	异黄酮浓度(%)												MIC	
		0.08	0.12	0.16	0.20	0.24	0.28	0.40	0.44	0.48	0.52	0.56	0.60		0.64
FSMI	大肠杆菌	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.12
	枯草芽孢杆菌	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.24
	金黄色葡萄球菌	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.20
	鼠伤寒沙门氏菌	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.12
	福氏痢疾杆菌	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.20
	黄曲霉	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	0.52
	产黄青霉	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	0.56
	红酵母	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	0.44
	SMI	大肠杆菌	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-
枯草芽孢杆菌		+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	0.48
金黄色葡萄球菌		+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	0.40
鼠伤寒沙门氏菌		+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.24
福氏痢疾杆菌		+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	0.48
黄曲霉		+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
产黄青霉		+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
红酵母		+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	0.60

注:表中数据为四次平行实验平均值;“+”表示有菌生长;“-”表示无菌生长。

细菌的抑制效力强,如对大肠杆菌的抑菌圈直径分别为14.8mm和8.6mm,但对霉菌和酵母菌基本上无抑制作用,可能是乙醇提取液中异黄酮浓度太低的缘故。

2.2 FSMI的最低抑菌浓度(MIC)的测定

FSMI和SMI对于供试菌的抑制作用如表2所示,结果表明,一定浓度的异黄酮对于供试菌均有显著的抑菌作用,但最低抑制浓度随菌的种类而有差异,并且FSMI抑制效果优于SMI,如前者在0.24%和0.56%时能完全抑制细菌和真菌的生长;而后者对细菌的抑制浓度为0.48%,对黄曲霉和产黄青霉的最低抑制浓度在我们所测定的浓度范围内无法测到。根据周仁超^[10]的研究,目前食品工业中广泛使用的化学合成防腐剂苯甲酸钠的最低抑(杀)细菌的浓度为0.40%(大肠杆菌0.15%、金黄色葡萄球菌0.25%、福氏痢疾杆菌0.35%和绿脓杆菌0.40%),与表2比较,FSMI的抑(杀)细菌的作用明显优于苯甲酸钠。

2.3 FSMI热处理对其抗菌活性的影响实验

由表3可知,不同热处理条件对FSMI的抗菌活性有不同程度的影响,其中低温长时间热处理影响最大,而高温短时间处理,FSMI的抑菌率仍接近100%,说明FSMI的抗菌活性具有良好的热稳定性。

3 结论

3.1 通过滤纸片扩散法对发酵豆粕和豆粕乙醇提取液抗菌活性的测定,表明发酵豆粕乙醇提取液对食品中常见的污染菌具有较广泛的抗菌活性,对细菌的抑制作用优于霉菌和酵母菌,并且比豆粕乙醇提取液的抗菌活性强得多,因为在大豆异黄酮的各种成分中,一般而言,大豆苷元占30%~35%,而在发酵过程中,葡萄糖苷会转化为葡萄糖苷元,使得苷元成分大增,因此抗菌性能大大提高^[1,2]。

3.2 FSMI对细菌和真菌的最低抑制浓度(MIC)分别为0.24%和0.56%。而SMI对细菌的抑制浓度为0.48%,对霉菌的最低抑制浓度在我们所测定的浓度范围内无法测到,再次证明了异黄酮经过发酵后,其抗菌活性明显增强,甚至优于目前普遍使用的化学合成防腐剂苯甲酸钠。

3.3 FSMI的抗菌活性基本不受高温短时热处理的影响,使它可以与食品热处理并用,提高加工食品的保存性。

3.4 我国是大豆资源比较丰富的国家,榨油后的豆粕资源量大但未能有效地利用,大豆异黄酮作为天然物质,具有广泛的生物学活性^[1,2],豆粕经过发酵后,其生物学活性包括抗菌性能得到增强,因此可以作为功能性食品天然防腐剂,无疑是开发豆粕资源的有效途径。

(下转第84页)

表5 黑莓出汁率的正交实验设计及结果

实验号	A 反应温度(℃)	B 加酶量(%)	C pH	D 作用时间(h)	出汁率(%)
1	1(25)	1(0.15)	1(3.5)	1(1.5)	87.85±0.76
2	1	2(0.20)	2(4.0)	2(2.0)	88.09±0.07
3	1	3(0.25)	3(4.5)	3(2.5)	86.37±0.87
4	2(30)	1	2	3	87.31±0.30
5	2	2	3	1	88.52±0.42
6	2	3	1	2	86.94±0.18
7	3(35)	1	3	2	87.16±0.78
8	3	2	1	3	87.98±0.97
9	3	3	2	1	86.46±0.67
K ₁	262.31	262.32	262.77	262.83	
K ₂	262.77	264.59	261.86	262.19	
K ₃	262.60	259.77	262.05	261.66	
R	0.46	4.82	0.91	1.17	

其色泽加深,这主要是由于黑莓汁中的氨基酸与还原糖发生美拉德反应所致,生产上可以考虑适当缩短酶作用时间,减轻非酶褐变,从而生产出营养丰富、色泽宜人、风味独特的黑莓汁。

参考文献:

- [1] 李维林,孙醉君,郑海燕. 黑莓鲜果及其加工品的营养成分[J]. 天然产物研究与开发,1997,10(1):55~60.
 [2] 徐怀德,史清华,侯东丽. 黑莓饮料加工技术研究[J]. 西北农业学报,2004,13(1):98~100.
 [3] Kemal Sarioglu, Nilay Demir, Jale Acar. The use of

commercial pectinase in the fruit juice industry, part 2: Determination of the kinetic behavior of immobilized commercial pectinase[J]. Journal of Food Engineering,2001,47: 271~274.

- [4] Grampp E. Hot clarification process improves production of apple juice concentrates[J]. Food Technology, 1977,31(1):38~42.
 [5] 王素雅,王璋. 酶法生产澄清型香蕉汁的研究[J]. 食品科技,2002(7):44~47.
 [6] 王鸿飞,李元瑞,师俊玲. 果胶酶在猕猴桃果汁澄清中的应用研究[J]. 西北农业大学学报,1999,27(3):107~110.
 [7] 俞中. 新型果浆酶[J]. 食品工业科技,2000,21(6):56~57.

(上接第81页)

表3 FSMI 热处理对其抗菌活性的影响实验(表中数据为抑菌率/%)

供试菌种	热处理温度与时间				
	未热处理	75℃, 30min	85℃, 20min	95℃, 15min	121℃, 5min
大肠杆菌	100	81	92	94	98
枯草芽孢杆菌	100	85	88	97	100
金黄色葡萄球菌	100	85	91	95	99
鼠伤寒沙门氏菌	100	82	89	95	98
黄曲霉	100	78	92	93	98
产黄青霉	100	77	85	92	100
红酵母	100	79	89	96	98

参考文献:

- [1] 李小满. 大豆异黄酮分子结构、生物活性及其市场现状[J]. 中国食品添加剂,2002(2):12~15.
 [2] Murakami H, Asakawa T, Terao J et al. Antioxidative stability of tempe and liberation of isoflavones by fermentation[J]. Agricultural and Biological chemistry,1984,48(9):2971~2975.
 [3] 吴定,江汉湖. 高蛋白发酵食品丹贝研究进展[J]. 食品与发酵工业,1997(3):72~74.
 [4] 吴定,袁建,周建新,等. 固态发酵豆粕生产大豆异黄酮研究[J]. 中国粮油学报,2004(2):72~74.
 [5] 鞠兴荣,袁建,汪海峰. 大豆异黄酮提取工艺的优化[J]. 中国

粮油学报,2001,16(6):17~20.

- [6] 周建新,王明洁,袁建,等. 发酵豆粕中大豆异黄酮提取工艺条件的优化[J]. 中国油脂,2004(2):38~40.
 [7] 袁建,鞠兴荣. 大豆异黄酮分离与精制工艺研究[J]. 食品科学,2002,23(8):118~121.
 [8] 项琦,万慕麟,周建新. 粮油食品微生物学检验[M]. 北京:中国轻工业出版社,2002.175~176,202~260.
 [9] 周邦靖. 常用中药的抗菌作用及其测定方法[M]. 重庆:科学技术出版社重庆分社,1987.7.189~306.
 [10] 周仁超,李彬. 阔类植物抗菌作用的初步研究[J]. 天然产物的研究与开发,1999(4):53~57.