

生物抑菌剂对 4 种常见腐败菌抑制效果

郑瑞生, 庄端宁, 杨莹, 陈健伟, 吴晓菲

(泉州师范学院 海洋与食品学院,福建 泉州 362002)

摘要:枯草芽孢杆菌、蜡样芽孢杆菌、金黄色葡萄球菌和沙门氏菌是食品中常见的腐败菌。为减少其对食品的污染,研究不同生物抑菌剂对 4 种腐败菌的 MIC、MLC,以及在不同质量浓度、pH 和螯合剂作用下的抑菌效果。结果表明: ϵ -PL 对 4 种腐败菌的 MIC 均为 0.125 g/L, MLC 除沙门氏菌为 0.2 g/L, 其余均为 0.125 g/L; Nisin 对 4 种腐败菌的 MIC 依次分别为 0.125、0.25、0.25、0.5 g/L; MLC 分别为 2.5、3.0、2.5、3.0 g/L。CTS 对 4 种菌的 MIC 除沙门氏菌为 0.5 g/L, 其余均为 0.25 g/L, CTS 对 4 种菌的 MLC 除金黄色葡萄球菌为 4.0 g/L, 其余均为 5.0 g/L。3 种生物抑菌剂的抑菌效果随着质量浓度的增大而逐渐增强。 ϵ -PL 对革兰氏阳性及阴性菌均具有较好的的抑菌效果,在中性条件下(pH=7)抑菌效果最佳。而 Nisin 与 CTS 在酸性条件下(pH=3 左右)抑菌活性较高。生物抑菌剂与 EDTA 复配均有了一定的协同增效作用,其中 ϵ -PL 与 EDTA 复配的抑菌效果最佳。

关键词:生物抑菌剂;腐败菌;复配;抑菌效果

中图分类号:TS 251.54 文献标志码:A 文章编号:1673—1689(2018)05—0509—08

Study on Antibacterial Effects of Bio-Inhibitors on Four Kinds of Common Spoilage Bacteria

ZHENG Ruisheng, ZHUANG Duanning, YANG Ying, CHEN Jianwei, WU Xiaofei

(College of Oceanology and Food Science, Quanzhou Normal University, Quanzhou 362002, China)

Abstract: *Bacillus subtilis*, *Bacillus cereus*, *Staphylococcus aureus* and *Salmonella* are common residual spoilage bacteria in food. In order to reduce their pollution on food, MIC, MLC and antibacterial effects of these bio-inhibitors against these four kinds of spoilage bacteria were studied under different concentrations, pH, and with chelating agents in this paper. The results showed that MIC and MLC of ϵ -PL on these bacteria were all 0.125 g/L except MLC on *Salmonella* for 0.2 g/L. MIC of Nisin on these four kinds of bacteria were 0.125、0.25、0.25 g/L and 0.5 g/L respectively, MLC of Nisin were 2.5、3.0、2.5 g/L and 3.0 g/L respectively. MIC of CTS on these bacteria were all 0.25 g/L except *Salmonella* for 0.5 g/L. MLC were all 5.0 g/L except *Staphylococcus aureus* for 4.0 g/L. The antibacterial effects of bio-inhibitors on these spoilage bacteria were gradually enhanced with increase of concentration. ϵ -PL had the best antibacterial effects on gram positive and negative

收稿日期: 2015-09-27

基金项目: 福建省自然科学基金项目(2017J01646),福建省高校优秀学科带头人赴海外访学研修项目(闽教师[2016]44 号),国家级大学生创新创业训练计划项目(201613099012,201613099028),泉州师范学院第四批学科带头人培养项目(泉师人[2016]4 号),泉州师范学院青年博士预研基金项目(2015QBKJ03),泉州师范学院科研人员启动经费项目(201407)。

作者简介: 郑瑞生(1979-),男,福建永春人,工学博士,副教授,主要从事水产品加工与贮藏技术研究,E-mail:zrs6@163.com

引用本文: 郑瑞生,庄端宁,杨莹,等. 生物抑菌剂对 4 种常见腐败菌抑制效果[J]. 食品与生物技术学报,2018,37(05):509-516.

bacteria, especially under neutral condition ($\text{pH}=7$). While Nisin and CTS in acidic condition (pH was 3 or so) had higher antibacterial activity. The bio-inhibitors compounded with EDTA had obvious synergistic antibacterial effects, which was the best in ϵ -PL and EDTA.

Keywords: bio-inhibitors, spoilage bacteria, compound, antibacterial effects

随着食品安全意识的提高,民众对食品的防腐保鲜问题越来越重视。据估计,全世界每年约有10%~20%的食品由于腐败而废弃,由此造成巨大的经济损失^[1]。应对食物防腐保鲜,人们第一反应是使用化学防腐剂,但过量添加化学防腐剂可致癌,而使用物理防腐的方法对食品的破坏性大。为此,开发出抗菌性强、安全无毒害的天然防腐剂已成为新的研究热点^[2]。

ϵ -聚赖氨酸(ϵ -poly-L-lysine,简称 ϵ -PL)由单个赖氨酸分子在 α -羧基和 ϵ -氨基形成酰胺键而连接成的多聚体,有20~30个赖氨酸单体组成^[3]。 ϵ -PL抑菌谱广、pH值范围宽、安全性高,在高温下稳定,水溶性强,在人体内可分解为人体必需的L-赖氨酸^[4]。作为一种天然、营养、安全特性的防腐剂, ϵ -PL已被FDA批准为安全食品保鲜剂。乳酸链球菌素也称乳酸链球菌肽或尼生素(简称Nisin),是世界公认的一种高效、无毒、安全的天然防腐剂,它是由牛乳和乳酪中自然存在的乳酸链球菌发酵而产生^[5-7]。壳聚糖(chitosan,简写CTS)是甲壳素脱乙酰基后得到的产物,是自然界中唯一能够大量存在的碱性氨基多糖,具有抑菌的广谱性。正因为这种性质使得它作为一种天然的抗菌剂^[8-10]。

本文中以 ϵ -PL、Nisin、CTS 3种天然生物抑菌剂为材料,将食品中常见的腐败菌枯草芽孢杆菌(*Bacillus subtilis*)、蜡样芽孢杆菌(*Bacillus cereus*)、金黄色葡萄球菌(*Staphylococcus aureus*)和沙门氏菌(*Salmonella*)作为实验菌,通过控制生物抑菌剂质量浓度、pH值以及与螯合剂(甘氨酸(Gly)、乙二胺四乙酸二钠(EDTA))等复配进行抑菌效果研究,为获得较为安全,天然的生物保鲜技术,减少食品中腐败菌污染,延长食品保藏期提供实验依据。

1 材料与方法

1.1 材料

枯草芽孢杆菌、蜡样芽孢杆菌、金黄色葡萄球菌、沙门氏菌:均取自福建农林大学食品科学学院;

营养琼脂培养基、蛋白胨:杭州微生物有限公司产品;牛肉浸膏、NaCl、HCl、NaOH、乙酸、葡萄糖、柠檬酸、磷酸氢二钠、Gly、EDTA、CTS,均购自国药集团化学试剂有限公司产品。 ϵ -PL:产自兰州伟日生物工程有限公司产品;Nisin:产自浙江银象生物工程有限公司产品。

1.2 仪器与设备

YJ-875型洁净工作台:苏州三兴净化有限公司产品;UV-1200型紫外可见光光度计:上海美谱达仪器有限公司产品;DZF-6050型真空干燥箱:上海精宏实验设备有限公司产品;SPX-250B-Z型生化培养箱、BXM-30R压力蒸汽灭菌器:上海博迅实业有限公司产品;JM-B30002型电子天平,德国赛多利斯集团产品;电子万用炉:天津市泰斯特仪器有限公司产品;PHS-3C型pH计:上海雷磁仪器厂制造;SHA-B恒温振荡器:常州国华电器有限公司产品。

1.3 实验方法

1.3.1 菌种的活化与培养 将枯草芽孢杆菌、蜡样芽孢杆菌、金黄色葡萄球菌、沙门氏菌分别接种于营养肉汤培养基中,36℃摇床培养24 h,活化菌种。再用平板划线法分离单菌落,挑取单菌落接种于营养肉汤培养基进行培养。

1.3.2 不同的生物抑菌剂对四种腐败菌的最低抑菌浓度(MIC)的测定 含抑菌剂的液体培养基的配制:分别取1.0 g ϵ -PL溶解于200 mL无菌水中;取1.0 g Nisin溶解于50 mL 0.02 mol/L稀盐酸中,再用无菌水定容至200 mL;取1.0 g CTS溶解于50 mL 0.2 mol/L乙酸中,用无菌水定容至200 mL,调节pH值至中性,将上述3种生物抑菌剂配制成5 g/L ϵ -PL、Nisin、CTS的母液。接着用无菌水稀释为:0、0.156 25、0.312 5、0.625、1.25、2.5、5.0 g/L。分别取1 mL的稀释液于4 mL的营养肉汤培养基中,混匀,配制质量浓度分别为:0、0.031 25、0.062 5、0.125、0.25、0.5、1.0 g/L的含生物抑菌剂的液体培养基。

接种培养:分别接种经36℃恒温摇床培养18~24 h的4种腐败菌液0.1 mL于上述含不同质量浓

度生物抑菌剂的培养基中,使接种后培养基中菌液的细胞浓度控制在 $1.0\sim5.0\times10^4$ CFU/mL,在36℃条件下培养24 h后,取出菌液在600 nm波长比色,记录数据。

1.3.3 不同生物抑菌剂对4种腐败菌最小致死浓度(MLC)的测定 取1.2所述生物抑菌剂质量浓度为:0、0.031 25、0.062 5、0.125、0.25、0.5、1.0、2.0、3.0、4.0、5.0 g/L的带菌液体培养基,取0.1 mL于固体平板培养基中,混匀,放入36℃的培养箱中培养24 h后,取出观察记录平板上的菌落数。

1.3.4 不同生物抑菌剂浓度对4种腐败菌抑菌效果的测定 取经36℃恒温摇床培养18~24 h的4种腐败菌液,加到(55 ± 5)℃的固体培养基中,菌液浓度控制在 $1.0\sim5.0\times10^4$ CFU/mL,混匀倒入平皿,制成含菌平板。在平板上安放直径为8 mm的牛津杯,分别加入0.2 mL质量浓度为0、1、2、3、4、5 g/L的 ϵ -PL、Nisin、CTS溶液注入牛津杯。置于36℃培养箱中培养,待24 h后,取出并用游标卡尺测量抑菌圈的直径,进行3次平行实验。

1.3.5 不同pH值条件下生物抑菌剂对4种腐败菌的抑菌效果的测定 用0.1 mol/L,pH为3.0~8.0的磷酸氢二钠-柠檬酸缓冲液和0.1 mol/L,pH为9~10的甘氨酸-氢氧化钠缓冲液分别配置浓度为3 g/L的 ϵ -PL(pH为4、6、7、8、10)、3 g/L的Nisin(pH为3、4、5、6)溶液、3 g/L的CTS(pH为3、4、5、6)。分别

移取不同pH的生物抑菌液0.2 mL,按1.3.4的方法加入含菌平板的牛津杯中,置于36℃培养箱中培养,待24 h后,取出并用游标卡尺测量抑菌圈的直径,进行3次平行实验。

1.3.6 不同螯合剂与生物抑菌剂复配对4种腐败菌抑菌效果的测定 将表1配置好的复合抑菌剂分组分别加入牛津杯中进行抑菌实验,36℃培养24 h,取出并用游标卡尺测量抑菌圈的直径,进行3次平行实验。抑菌剂配方见表1。

表1 生物抑菌剂的螯合试验

Table 1 Chelating experiments of bio-inhibitor

处理号	生物抑菌剂配方
1	3 g/L 单一抑菌剂(ϵ -PL、Nisin、CTS)
2	0.3 g/L Gly
3	0.3 g/L EDTA
4	3 g/L 单一抑菌剂+0.3 g/L Gly
5	3 g/L 单一抑菌剂+0.3 g/L EDTA
6	3 g/L 单一抑菌剂+0.3 g/L Gly+0.3 g/L EDTA

1.3.7 数据分析与统计方法 采用DPS软件进行数据统计分析。

2 结果与分析

2.1 生物抑菌剂对4种腐败菌MIC、MLC的分析

生物抑菌剂对4种腐败菌的MIC实验结果见表2。

表2 不同生物抑菌剂的MIC
Table 2 MIC of different bio-inhibitors

生物 抑菌剂	供试菌种	生物抑菌剂的质量浓度/(g/L)						
		1	0.5	0.25	0.125	0.062 5	0.031 25	0
ϵ -PL	枯草芽孢杆菌	—	—	—	—	+	++	+++
	蜡样芽孢杆菌	—	—	—	—	+	++	+++
	金黄色葡萄球菌	—	—	—	—	+	++	+++
	沙门氏菌	—	—	—	—	+	++	+++
Nisin	枯草芽孢杆菌	—	—	—	+ -	+	++	+++
	蜡样芽孢杆菌	—	—	—	—	+	++	+++
	金黄色葡萄球菌	—	—	—	+ -	+	++	+++
	沙门氏菌	—	—	+ -	+	++	+++	+++
CTS	枯草芽孢杆菌	—	—	+ -	+	++	+++	+++
	蜡样芽孢杆菌	—	—	+ -	+	++	+++	+++
	金黄色葡萄球菌	—	—	—	+	++	+++	+++
	沙门氏菌	—	—	+ -	+	++	+++	+++

注:“—”表示菌体不生长,“+ -”表示菌体略有生长,“+”“++”“+++”分别表示菌体生长情况。

由表 2 可知, ϵ -PL、Nisin、CTS 对 4 种腐败菌的生长均有显著的抑制作用, 并且抑制作用随着生物抑菌剂质量浓度的增加而增大。 ϵ -PL 对 4 种腐败菌的 MIC 均为 0.125 g/L。Nisin 对蜡样芽孢杆菌的 MIC 为 0.125 g/L, 对枯草芽孢杆菌、金黄色葡萄球菌的 MIC 均为 0.25 g/L, 对沙门氏菌 MIC 为 0.5 g/L。除金黄色葡萄球菌 MIC 为 0.25 g/L, CTS 对其余 3 种腐败菌的 MIC 均为 0.5 g/L。

ϵ -PL 对革兰氏阳性、阴性菌均有较好抑菌效果, 这是由于 ϵ -PL 是一种阳离子的聚合多肽, 正电

荷的存在有利于 ϵ -PL 与靶细胞表面上带负电的位点相结合, 阻止了细胞内外间物质的运输, 从而达到抑制细菌生长的效果^[11]。Nisin 中 DHA 和 DHB 能够和某些对应敏感菌株细胞膜中的某些酶的巯基发生反应, 进而造成敏感细胞裂解^[12]。CTS 对 4 种菌的抑菌效果相对较弱, 其主要是依靠 CTS 的阳离子吸附带有负电荷的细菌, 让细胞壁和细胞膜上负电荷的分布不均匀, 导致细胞膜不能承受渗透压的变化而变形破裂, 引发细菌溶解死亡^[16]。

表 3 不同生物抑菌剂的 MLC

Table 3 MLC results of different bio-inhibitors

供试菌种		生物抑菌剂质量浓度/(g/L)									
		5	4	3	2	1	0.5	0.25	0.125	0.0625	0.03125
ϵ -PL	枯草芽孢杆菌	—	—	—	—	—	—	—	—	+	+++
	蜡样芽孢杆菌	—	—	—	—	—	—	—	—	+	+++
	金黄色葡萄球菌	—	—	—	—	—	—	—	+	++	+++
	沙门氏菌	—	—	—	—	—	—	—	—	+	+++
Nisin	枯草芽孢杆菌	—	—	—	+	++	+++	+++	+++	+++	+++
	蜡样芽孢杆菌	—	—	—	+	++	+++	+++	+++	+++	+++
	金黄色葡萄球菌	—	—	—	+	++	+++	+++	+++	+++	+++
	沙门氏菌	—	—	—	+	++	+++	+++	+++	+++	+++
CTS	枯草芽孢杆菌	—	+	+	++	++	+++	+++	+++	+++	+++
	蜡样芽孢杆菌	—	+	+	+	++	+++	+++	+++	+++	+++
	金黄色葡萄球菌	—	—	+	+	++	+++	+++	+++	+++	+++
	沙门氏菌	—	+	+	++	++	+++	+++	+++	+++	+++

腐败菌在平板上均无菌落生长, 相应质量浓度作为其 MLC。由表 3 可知, ϵ -PL 对枯草芽孢杆菌、蜡样芽孢杆菌和沙门氏菌的 MLC 均为 0.125 g/L, 对金黄色葡萄球菌的 MLC 为 0.25 g/L。Nisin 对 4 种腐败菌的 MLC 均为 3 g/L。CTS 对金黄色葡萄球菌的最小致死浓度为 4.0 g/L, 其余 3 种均为 5 g/L。 ϵ -PL 表现出良好的抑菌性, 其次是 Nisin, 而相对 CTS 的抑菌效果最差。 ϵ -PL 具有多聚阳离子, 能破坏微生物细胞膜的结构, 引起微生物细胞内物质、能量和信息传递中断, 它还能与细胞内的核糖体结合从而影响生物大分子的合成, 最终导致细胞裂解死亡^[13]。

2.2 不同生物抑菌剂质量浓度对 4 种腐败菌的抑菌效果

由图 1~4 可知, 在 pH 值相同条件下, 随着抑菌剂的质量浓度增大, 对 4 种腐败菌的抑菌效果也逐

渐增强。 ϵ -PL 对 4 种腐败菌的抑菌效果最为明显, 生长趋势差异极显著($P<0.01$)。Nisin 其次, 差异也达到显著水平($P<0.05$)。CTS 的抑菌效果相对较差, 在质量浓度 3~5 g/L 时差异不显著($P>0.05$)。可见, ϵ -PL 对 4 种腐败菌均能起到很好的抑制作用。这是因为 ϵ -PL 是一种靠肽键连接羧基与氨基基团的多聚 L-赖氨酸, 具有广谱抗菌性, 对革兰氏阳性菌、革兰氏阴性菌均有抑制作用。据研究, ϵ -PL 可直接吸附到细胞膜上, 最终导致细胞死亡, 或者抑制细菌的呼吸作用, 同时作用于细胞膜和蛋白合成系统, 与核糖体结合抑制蛋白质和酶的合成, 从而达到杀菌目的^[14~15]。而 Nisin 是一种由乳酸乳球菌核糖体上合成的并经过一系列酶学修饰的以含有羊毛硫氨酸和 β -甲基羊毛硫氨酸等稀有氨基酸为特征的抗菌肽, Nisin 与细胞膜通过结合, 插入和孔道形成等多步过程形成孔道复合物, 从而引起细胞液渗漏。

Nisin 的抑菌效率取决于其分子结构,受目标控制菌及其系统性质的影响,如 Nisin 抗性、膜干扰剂、亚致死伤害、阳离子、温度、pH、蛋白水解酶和其它防腐剂,能够抑制许多引起食品腐败的革兰阳性菌^[16]。而 CTS 的抑菌效果不稳定可能受其分子量和脱乙酰度的影响,随分子量的变化表现出不规则的变化,且不同的分子量段有不同的变化趋势,导致抑菌效果不尽相同。

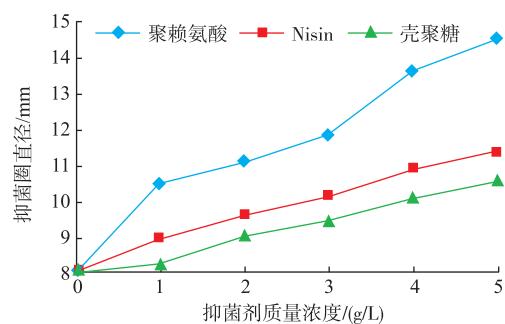


图 1 不同生物抑菌剂对枯草芽孢杆菌的抑菌效果

Fig. 1 Antibacterial effects of different bio-inhibitors against *Bacillus subtilis*

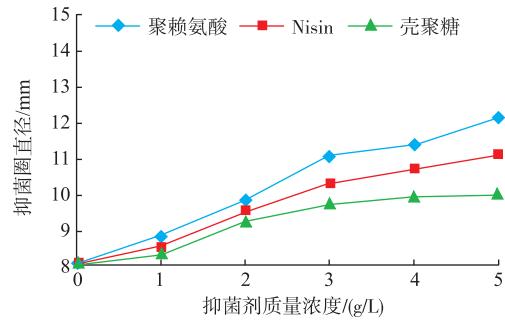


图 2 不同生物抑菌剂对蜡样芽孢杆菌的抑菌效果

Fig. 2 Antibacterial effects of different bio-inhibitors against *Bacillus cereus*

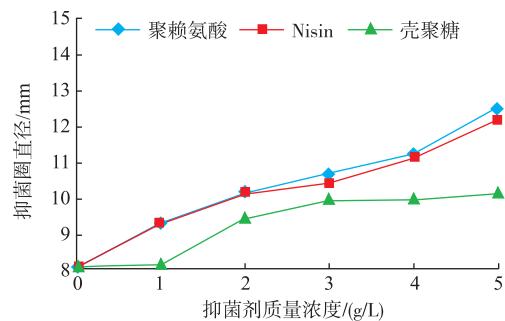


图 3 不同抑菌剂对金黄色葡萄球菌的抑菌效果

Fig. 3 Antibacterial effects of different bio-inhibitors against *Staphylococcus aureus*

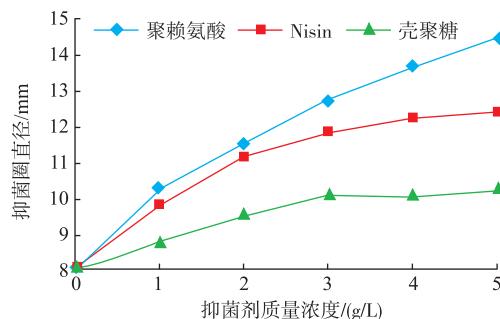


图 4 不同生物抑菌剂对沙门氏菌的抑菌效果

Fig. 4 Antibacterial effects of different bio-inhibitors against *Salmonella*

2.3 不同 pH 值对 4 种腐败菌的抑菌效果

由图 5~图 8 可知, ϵ -PL 对 4 种腐败菌的抑菌圈大小随着 pH 升高呈先上升后减少的趋势, 在中性条件下 (pH=7) 抑菌圈直径最大, 抑菌效果最好。而在酸性及碱性条件下, ϵ -PL 的抑菌活性较差, 差异达到显著水平 ($P<0.05$)。这可能是由于聚赖氨酸作为赖氨酸的聚合物在酸性和碱性条件下易分解的缘故。Nisin 和 CTS 在中性和碱性的情况下难溶, 在酸性情况下溶解度较大, 因此实验的 pH 值控制在 3~6。随着 pH 值降低, Nisin 和 CTS 对 4 种腐败菌的抑制作用越好, Nisin 和 CTS 在 pH 值 3~4 时抑制作用最好, 但随着 pH 值的增加, 抑制作用逐渐减弱。据研究表明, 酸性条件下 Nisin 的活性较强, 其对原生质的作用方式会使细胞质基质的失活, 导致细胞溶解, 细胞质如三磷酸腺苷的渗出, 最终导致细菌的死亡。而 CTS 是一种碱性聚合物电解质, pH 值的变化对 CTS 有效抑菌基团的数量及其抑菌效果的发挥有重要影响。当 pH 值高于 6 时, CTS 分子中的氨离子会被氢氧根所中和, 使得其分子中的有效抑菌基团的数量下降, 进而导致其抗菌效果降

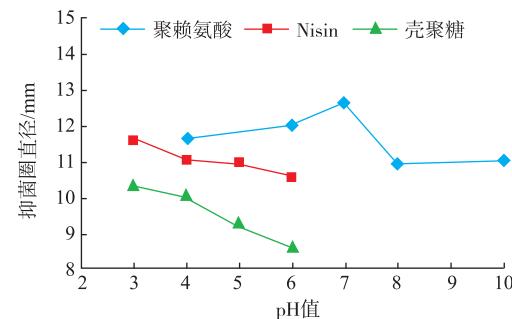


图 5 不同 pH 值对枯草芽孢杆菌的抑菌效果

Fig. 5 Antibacterial effects of different pH values on *Bacillus subtilis*

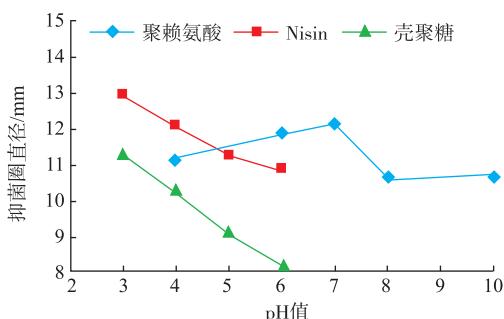


图 6 不同 pH 值对蜡样芽孢杆菌的抑菌效果

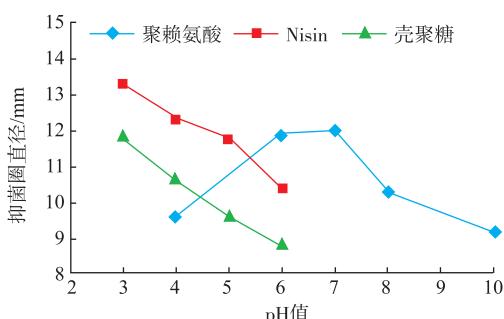
Fig. 6 Antibacterial effects of different pH values on *Bacillus cereus*

图 7 不同 pH 值对金黄色葡萄球菌的抑菌效果

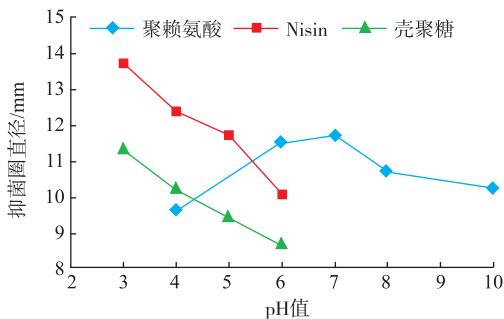
Fig. 7 Antibacterial effects of different pH values on *Staphylococcus aureus*

图 8 不同 pH 值对沙门氏菌的抑菌效果

Fig. 8 Antibacterial effects of different pH values on *Salmonella*

低;而当 pH 低于 6 时,CTS 所带的正电荷,会和带负电荷的微生物细胞膜上的阴离子相结合,影响微生物细胞壁的发育和细胞膜质代谢,增大细胞膜的通透性,引起细胞内物质的外泄,从而干扰微生物细胞正常的生理功能,达到抑制细菌生长的目的^[17]。

2.4 不同螯合剂与生物抑菌剂复配对 4 种腐败菌的抑菌效果

由图 9~图 11 可知,单独使用 ϵ -PL、Nisin、CTS

对四种腐败菌具有良好的抑菌效果,其中,尤以 ϵ -PL 的抑菌效果最佳。而单独使用 Gly 基本无抑制作用。单独使用 EDTA,虽能对 4 种腐败菌起到一定的抑制作用,但是抑制的效果不长,容易发生反复,即初期效果明显,培养一段时间后细菌有恢复生长的现象。Gly 与 3 种生物抑菌剂复配效果无明显的变化,但产生的抑菌圈有更为清晰持久,表明 Gly 对 3 种生物抑菌剂有一定的增效作用。将 3 种生物抑菌剂和 EDTA 复合使用抗菌作用显著增强,尤其以 ϵ -PL 最为显著, ϵ -PL 综合了 EDTA 的抑制作用,可以增大抑菌圈范围,起到良好的抑制作用。3 种生物抑菌剂与 Gly 和 EDTA 复配也能起到良好的协同增效作用,但效果不如生物抑菌剂与 EDTA 复配明显,表明 EDTA 的协同抗菌增效显著。

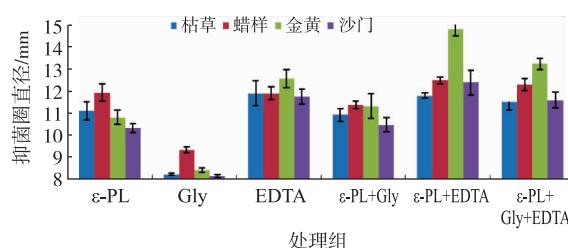


图 9 融合剂对聚赖氨酸抑菌效果影响

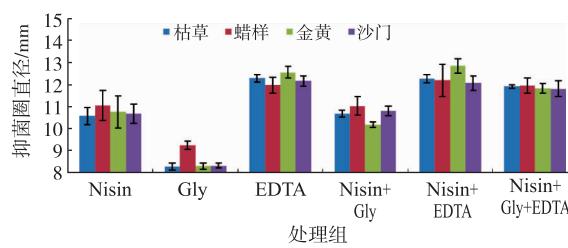
Fig. 9 Inhibitory effects of chelating agents with ϵ -PL

图 10 融合剂对 Nisin 抑菌效果影响

Fig. 10 Inhibitory effects of chelating agents with Nisin

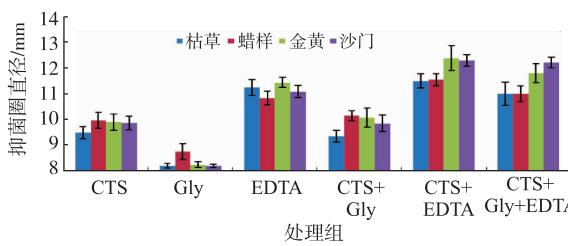


图 11 融合剂对 CTS 抑菌效果影响

Fig. 11 Inhibitory effects of chelating agents with chitosan

3 结语

以食品中4种常见腐败菌(枯草芽孢杆菌、蜡样芽孢杆菌、金黄色葡萄球菌、沙门氏菌)为实验菌,研究 ϵ -PL、Nisin、CTS在不同条件下对腐败菌的抑制效果。结果如下:

ϵ -PL、Nisin、CTS均能对4种腐败菌的生长起到抑制作用,其中以 ϵ -PL的效果最好,Nisin其次,CTS由于受溶解性及pH影响,抑菌效果不太理想。 ϵ -PL对枯草芽孢杆菌、蜡样芽孢杆菌、金黄色葡萄球菌、沙门氏菌的MIC,均为0.125 g/L,MLC除沙门氏菌为0.2 g/L,其余均为0.125 g/L;Nisin对4种腐败菌的MIC分别为依次分别为0.125、0.25、0.25、0.5 g/L;MLC分别为2.5、3.0、2.5、3.0 g/L。CTS对4种菌的MIC除沙门氏菌为0.5 g/L外,其余均为0.25 g/L,MLC除金黄色葡萄球菌为4.0 g/L,其余均

为5.0 g/L。 ϵ -PL、Nisin对4种腐败菌均有良好的抑菌效果,抑菌剂质量浓度1~5 g/L的范围内,抑菌效果随质量浓度的增大而增强;CTS的抑菌效果相对较差,在质量浓度3~5 g/L时对4种腐败菌抑制效果差异不显著($P>0.05$)。不同pH值对生物抑菌剂抑菌活性有着很大的影响。在pH值为7时, ϵ -PL对4种腐败菌的抑制效果最佳,随着酸性或碱性的增强, ϵ -PL的抑菌效果均有所下降。Nisin和CTS的抑菌效果随pH的降低而升高,表明酸性条件能够增强Nisin和CTS的抑菌能力。

3种生物抑菌剂与螯合剂复配的抑菌效果不尽相同:与Gly复配无明显的协同增效作用,但能提高抑菌效果的持久性;与EDTA的复配对腐败菌抑制具有较明显的增效作用,尤其是 ϵ -PL与EDTA复配抑菌效果显著且稳定。

参考文献:

- [1] SUN Baoguo, WANG Jing, SUN Jinyuan. Perspectives on China food safety problems[J]. **Journal of Chinese Institute of Food Science and Technology**, 2013, 13(5):1-5.(in Chinese)
- [2] LI Xingfeng, LIU Dou, XUE Jiangchao, et al. The Synergistic effects of natural food preservatives against microorganisms[J]. **Journal of Chinese Institute of Food Science and Technology**, 2014, 14(3):140-144.(in Chinese)
- [3] SHIMA S, SAKAI H. Poly-L-lysine produced by Streptomyces Part III chemical studies[J]. **Agrie Biol Chem**, 1981, 45:2503-2508.
- [4] SHIMA S, MATSUOKA H, IWAMOTO T, et al. Antimicrobial action of epsilon-poly-L-lysine[J]. **The Journal of Antibiotics**, 1984, 37(11):1449-1455.
- [5] YI Shouliang, XIAO Lin, GU Zhenghua, et al. Determination of nisin activity by oxford plate assay system[J]. **Journal of Wuxi University of Light Industry**, 2004, 23(4):41-45.(in Chinese)
- [6] MENG Ru, ZHAO Guiming, JIA Yu, et al. Method of nisin detection in food by enzyme-linked immunosorbent assay[J]. **Journal of Food Science and Biotechnology**, 2013, 32(5):509-515.(in Chinese)
- [7] REUNANEN J, SARIS P E J. Microplate bioassay for nisin in foods based on nisin-induced green fluorescent protein fluorescence [J]. **Appl Environ Microbiol**, 2003, 69:4214-4218.
- [8] CHEN Wei, WU Qingping, ZHANG Jumei, et al. Antibacterial mechanism of chitosan[J]. **Acta Microbiologica Sinica**, 2008, 48(2):164-168.(in Chinese)
- [9] FENG Yongwei, XIA Wenshui, SHEN Lili, et al. Synthesis of O-benzoyl chitosan and its antifungi activity[J]. **Journal of Food Science and Biotechnology**, 2011, 30(3):367-370.(in Chinese)
- [10] WANG Qingli, LI Jianrong, ZHU Junli, et al. Influence on quality of fish meatballs by the chitosan and phytic acid[J]. **Journal of Food Science and Biotechnology**, 2012, 31(12):98-101.(in Chinese)
- [11] ZHANG Dongrong, ZHANG Chao, DUAN Zuoying, et al. Study on the antimicrobial activity of ϵ -poly-L-lysine[J]. **Journal of Henan University of Technology(Natural Science Edition)**, 2006, 27(3):75-80.(in Chinese)
- [12] LIU Wei, QIN Yunhua, ZHOU Tao. Review on biosynthetic mechanism of ϵ -poly-L-lysine[J]. **Food Science**, 2007, 28(8):549-554.(in Chinese)
- [13] MARIA T S, CESARE C, PIETRO L I, et al. Polysine induces changes in membrane electrical properties of K562 cells [J].

- Journal of Biomedical Materials Research**, 1997, 35(2):165-174.
- [14] MITSUAKI K, RIIKA T, TOYOKAZU Y, et al. Purification and characterization of an ϵ -poly-L-lysine-degrading enzyme from an ϵ -poly-L-lysine-producing strain of *Streptomyces albulus*[J]. **Arch Microbiol**, 2002, 178:325-330.
 - [15] SHIMA S, MATSUOKA H, IWAMOTO T, et al. Antimicrobial action of epsilon poly-L-lysine[J]. **Antibiot**, 1984, 37(11):1449-1455.
 - [16] LI Zengli. Antibiotic action mechanism and antibiotic efficacy of nisin[J]. **Food Science and Technology**, 2004, (10):59-62.(in Chinese)
 - [17] WU Xiaoyong, ZENG Qingxiao, MO Shaofang, et al. A study on the antibacterial activities of chitosans[J]. **Food and Fermentation Industries**, 2005, 31(2):18-21.(in Chinese)

科 技 信 息

澳新拟批准一蛋白酶作为加工助剂用于相关产品生产

2018年4月12日,澳新食品标准局发布43-18号公告,内容如下:FSANZ邀请对以下草案的书面意见,A1146号-嗜热菌蛋白酶(蛋白酶)作为加工助剂(酶):允许从无氧芽孢杆菌(*Anoxybacilluscaldiproteolyticus*)中提取的嗜热菌蛋白酶(蛋白酶)用于蛋白质、乳制品、蛋类、肉类和鱼类加工和香精生产过程。

[信息来源] 厦门 WTO 工作站. 澳新拟批准一蛋白酶作为加工助剂用于相关产品生产 [EB/OL]. (2018-4-19). <http://www.xmtbt-sps.gov.cn/show.asp?id=56998>

加拿大批准黄金大米用于食品

2018年3月16日,加拿大卫生部发布公告,批准黄金大米GR2E用于食品。

公告称该黄金大米和加拿大市场上现有的水稻品种相比,除了维生素A含量较高外,在营养价值方面并无差异,不会对人体健康产生不良影响。

[信息来源] 厦门 WTO 工作站. 加拿大批准黄金大米用于食品 [EB/OL]. (2018-3-16). <http://www.xmtbt-sps.gov.cn/show.asp?id=56877>