

新型生物防霉剂纳他霉素在液体饲料中的应用

Application of new type of antiseptic natamycin in liquid feed

雷德柱

黄永健

LEI De-zhu HUANG Yong-jian

(广州大学生命科学学院, 广东 广州 510006)

(College of Life Science, Guangzhou University, Guangzhou, Guangdong 510006, China)

摘要:研究新型生物防霉剂纳他霉素对黑曲霉(*Aspergillus niger*)、雪白根霉(*Rhizopus niveus*)、总状毛霉(*Mucor corticola*)、灰绿青霉(*Penicillium glaucum*)等常见霉菌的抑制作用,并用化学防霉剂双乙酸钠与其作复配试验。结果表明:纳他霉素单独使用最低抑菌浓度为 3~6 mg/L,与双乙酸钠复配时抑菌浓度比例为 4 mg/L : 3 g/L。采用体积浓度为 10, 20, 30 mg/L 的纳他霉素对两种供试液体饲料进行破坏性存放防霉试验,平板计数统计结果表明其防霉效果差异不大。肉眼观察 10 mg/L 纳他霉素对奥利康宠物饲料和珊瑚成长粮破坏性存放 18 d 和 24 d 的抑菌率为 100%,计数统计 30 d 后的抑菌率分别为 96.3% 和 94.3%。

关键词:生物防霉剂;纳他霉素;双乙酸钠;防霉;液体饲料;破坏性试验

Abstract: Inhibition effects were investigated for new type of antiseptic natamycin and the combination of natamycin and sodium diacetate on common mildews, including *Aspergillus niger*, *Rhizopus niveus*, *Mucor corticola*, *Penicillium glaucum*. The results indicated that the minimal inhibition concentration of natamycin was 3~6 mg/L, while the optimized inhibition ratio was 4 mg/L to 3 g/L in the combination. Destructive storage test was also conducted at 10, 20 and 30 mg/L respectively in this paper, and little difference were observed according to the result by plate counting. 100% inhibition effect of natamycin at 10 mg/L could be expected to last for 18 days in liquid pet feed and 24 days in liquid coral feed respectively by eyes observation, while 96.3% and 94.3% inhibition effect of natamycin were observed at the same concentration after 30 days by plate counting. According to the results, the only natamycin at the tested condition was not able to 100% inhibit fungi in feed within 30 days.

Keywords: natural antimold; natamycin; sodium diacetate (SDA); mildew-proof; liquid feed; destructive test

基金项目:广东省科技计划项目(编号:2011B020305008)

作者简介:雷德柱(1964—),男,广州大学副教授,博士。

E-mail: dzlei@gzhu.edu.cn

收稿日期:2015-04-25

纳他霉素作为一种新型生物防霉剂,能够专一性地抑制酵母菌和霉菌,并有良好的理化稳定性,目前已经成为 30 多个国家广泛使用的天然生物食品添加剂^[1]。中国的 GB 2760—2007 也批准纳他霉素为食品添加剂,其商品名为霉克(Natamaxin™)。目前,国际上已许可使用的生物防腐剂仅为乳酸链球菌素(nisin)、纳他霉素(natamycin)及聚赖氨酸(s-poly-lysine)3 种^[2-4]。中国目前允许使用的仅为乳酸链球菌素和纳他霉素。研究^[5]表明,大多数霉菌可被质量浓度为 $1.0 \times 10^{-3} \sim 6.0 \times 10^{-3}$ g/L 的纳他霉素抑制,极个别的霉菌被质量浓度为 $1.0 \times 10^{-2} \sim 2.5 \times 10^{-2}$ g/L 的抑制。纳他霉素除了用作食品防腐剂外,还可作为饲料添加剂及生物农药在畜牧业与农业中应用。2004 年美国医药与食品管理局(FDA)批准在青贮饲料中添加纳他霉素以防治家禽真菌病^[4]。

液体饲料在欧盟国家的生猪养殖中已被广泛使用,荷兰 50% 的猪都使用湿拌料,丹麦有 30% 以上的母猪使用发酵液体饲料,70% 以上的母猪在泌乳期也使用发酵液体饲料^[6-10]。近年中国也有一些液体饲料的应用报道^[11]。液体饲料使用中会遇到原料中不含有适于发酵的菌、饲喂系统含有大量的杂菌而导致饲料霉变等问题^[12]。双乙酸钠(SDA)是一种优良的饲料添加剂,既能防止饲料霉变保证饲料原料和饲料的质量,又能够提高动物的生长性能促进饲料营养物质消化吸收,而且在一定程度上可降低动物疾病的发生^[13,14]。本研究拟选用两种液体饲料作为研究对象,采用纳他霉素标准品作为饲料防霉剂,并尝试将其与双乙酸钠复配,避开上述障碍进行防霉试验,以期拓展纳他霉素在饲料防霉中的应用范围。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

1.1.1 培养基

虎红培养基、察氏培养基:广州环凯微生物科技有限公司。

1.1.2 试剂

纳他霉素标准品:生化试剂,钱江生化股份有限公司;
双乙酸钠:分析纯,阿拉丁化学试剂有限公司;
奥利康:宠物液体饲料,包头市康牧饲料有限公司;
Plankton-1:珊瑚成长粮,北京松涛恒业国际贸易有限公司;
纳他霉素:本实验室自制。

1.2 仪器与设备

霉菌培养箱: MJX-160B-Z 型,上海博迅仪器有限公司;
一次性细菌过滤器: JJJ50G 型,北京中西远大科技有限公司。

1.3 试验条件

1.3.1 固体培养基稀释法 抑菌谱和最低抑菌浓度试验采用。将不同浓度的防霉剂(已用细菌滤器过滤)加于 45℃ 的虎红培养基中,均匀混合,倾注平板。接种酿酒酵母、根霉、毛霉、黑曲霉、青霉、杂霉菌(根霉、毛霉、黑曲霉、青霉等浓度混合)于上述培养基中,于霉菌培养箱中 28℃ 培养 3 d,观察待测菌生长情况。

1.3.2 饲料存放破坏性试验 分别取 500 mL 样品于 5 个体积相同的锥形瓶里,标号为 1,2,3,4,5。其中 1 号为空白对照组,2,3 号为加入 10 mg/L 纳他霉素标准品的对照试验组,4,5 号为加入 10 mg/L 纳他霉素产品的对照试验组。将 5 个锥形瓶开口放置在 30℃ 的恒温水浴锅里。每 3 d 取样一次,用涂布法在察氏培养基上测液体饲料中的霉菌总数,并且观察液体饲料的表观霉变情况。

1.3.3 饲料存放破坏性浓度梯度试验 分别取 500 mL 样品于 4 个体积相同的锥形瓶里,标号为 1,2,3,4。其中 1 号为空白对照组,2、3、4 号为分别加入 10,20,30 mg/L 纳他霉素标准品的试验组。将 4 个锥形瓶开口放置在常温下。每 3 d 取样一次,用霉菌酵母测试片法测出每毫升液体饲料中的真菌总数。

2 结果与分析

2.1 抑菌谱和最低抑菌浓度试验

表 1、2 分别为纳他霉素最低抑菌浓度试验结果和双乙酸钠最低抑菌浓度试验结果。据报道^[1],绝大多数霉菌在 0.5~6.0 mg/L 的纳他霉素浓度下被抑制,极个别菌种在 10~25 mg/L 的纳他霉素浓度下被抑制;多数酵母在 1~5 mg/L 的纳他霉素浓度下被抑制。

由表 1 可知,纳他霉素对常见几种霉菌的最低抑菌浓度为 3~6 mg/L,与文献[11]报道的结果一致。而双乙酸钠的最低抑菌浓度是纳他霉素的近 1 000 倍。因此,在饲料防霉性能方面纳他霉素具有化学防霉剂不可比拟的优越性。但单纯使用纳他霉素成本太高,而且浓度较高时纳他霉素的溶解性不好,影响使用效果。

纳他霉素与双乙酸钠复配试验结果表明,适当的复配组合(表 3 中组合 5)能有效降低纳他霉素和双乙酸钠的使用浓度,既可降低防霉成本,又可减少双乙酸钠对饲料适口性的影响。

表 1 纳他霉素最低抑菌浓度试验结果[†]

Table 1 The minimal concentration of natamycin for fungi inhibition						
纳他霉素/ (mg·L ⁻¹)	酿酒酵母	根霉	毛霉	黑曲霉	青霉	混合霉菌
0	+	+	+	+	+	+
1	+	+	+	+	+	+
2	+	+	+	+	+	+
3	—	+	—	+	+	+
4	—	+	—	+	—	+
5	—	—	—	—	—	+
6	—	—	—	—	—	—
7	—	—	—	—	—	—

† +表示有霉菌菌落;—表示无霉菌菌落(第一次出现时表示该质量浓度为最低抑菌浓度)。

表 2 双乙酸钠对杂霉菌最低抑菌浓度的试验结果[†]

Table 2 The minimal concentration of sodium diacetate(SDA) for fungi inhibition							
双乙酸钠/(g·L ⁻¹)	0	1	2	3	4	5	6 7
混合霉菌	+	+	+	+	+	+	— —

† +表示有霉菌菌落;—表示无霉菌菌落(第一次出现时表示该质量浓度为最低抑菌浓度)。

表 3 纳他霉素与双乙酸钠复配抑菌的试验结果[†]

Table 3 The combinations of natamycin and sodium diacetate(SDA) for fungi inhibition			
编号	纳他霉素/ (mg·L ⁻¹)	双乙酸钠/ (g·L ⁻¹)	防霉效果
1	3	3	+
2	3	4	+
3	3	5	—
4	3	6	—
5	4	3	—
6	4	4	+
7	4	5	—
8	4	6	—
9	5	3	—
10	5	4	—
11	5	5	—
12	5	6	—
13	6	3	—
14	6	4	—
15	6	5	—
16	6	6	—
17	0	0	+

† +表示有霉菌菌落;—表示无霉菌菌落(第一次出现时表示该质量浓度为最低抑菌浓度)。

2.2 饲料破坏性存放试验

由图 1 可知,使用纳他霉素标准品作为液体饲料(奥利康)防霉剂时,能有效防霉,每毫升饲料中的菌落数比对照减少 3 个数量级以上。使用较高浓度的纳他霉素时,防霉效果比较低浓度的略好,但差异不显著。这与纳他霉素在溶液中的溶解度低,不利于扩散有关。对照从第 24 天以后菌落数

有所下降,可能是因为菌数过多,供试饲料中的养分被耗尽,部分菌体死亡。文献[1]中报道纳他霉素允许残留量为 10 mg/L,兼顾防霉效果和防霉成本以及允许残留量,以下试验中采用 10 mg/L 纳他霉素作为供试防霉剂。

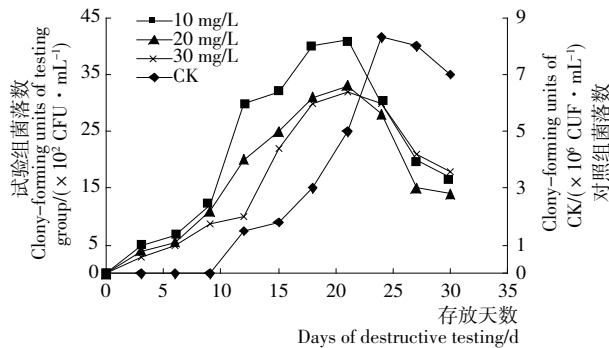


图 1 不同纳他霉素浓度下奥利康宠物饲料破坏性存放试验

Figure 1 Destructive test at different concentration of natamycin on pet feed

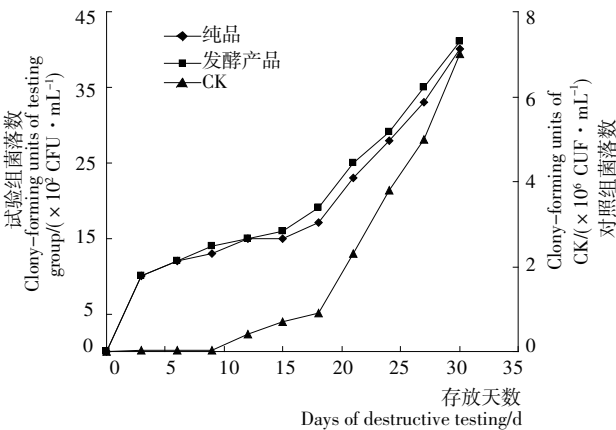


图 2 珊瑚饲料破坏性存放试验

Figure 2 Destructive test at 10 mg/L of natamycin on coral feed

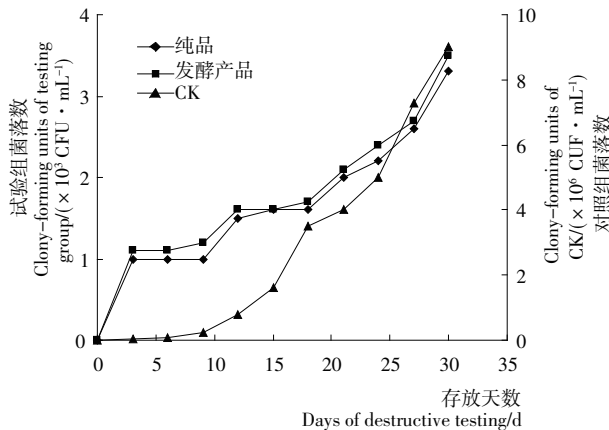


图 3 奥利康宠物饲料破坏性存放试验

Figure 3 Destructive test at 10 mg/L of natamycin on pet feed

由图 2、3 可知,10 mg/L 纳他霉素能够有效控制两种液体饲料存放过程中的霉菌生长,霉菌数量比对照低 3 个数量级。奥利康宠物饲料中的霉菌菌落数与珊瑚液体饲料略有差异,可能是由于两者所含的营养成分不同,也可能是由于奥利康宠物饲料中含有有益微生物,部分抑制了杂菌的生长。表 4、5 的两种饲料破坏性存放试验肉眼观察结果也证实了纳他霉素良好的防霉效果,控制无菌膜时间分别达到 18、24 d。

表 4 奥利康的宠物饲料破坏性存放试验肉眼观察结果(纳他霉素浓度 10 mg/L)[†]

Table 4 Eye observation result of destructive test on pet feed at 10 mg/L of natamycin

时间/d	纯品组	产品组	CK 组
3	—	—	+++
6	—	—	+++
9	—	—	+++
12	—	—	+++
15	—	—	+++
18	—	—	+++
21	+	+	+++
24	+	+	+++
27	+	+	+++
30	+	+	+++

[†] + 表示有霉菌菌落;—表示无霉菌菌落。

表 5 珊瑚成长粮的破坏性存放试验肉眼观察结果(纳他霉素浓度 10 mg/L)[†]

Table 5 Eye observation result of destructive test on coral feed at 10 mg/L of natamycin

时间/d	纯品组	产品组	CK 组
3	—	—	—
6	—	—	—
9	—	—	+
12	—	—	+
15	—	—	++
18	—	—	++
21	—	—	+++
24	—	—	+++
27	+	+	+++
30	+	+	+++

[†] + 表示有霉菌菌落;—表示无霉菌菌落。

3 结论

纳他霉素单独使用时最低抑菌浓度范围为 3~6 mg/L,与化学防霉剂双乙酸钠复配使用时,可降低防霉剂的最低抑菌浓度,从食品安全的角度应选择复配比例为 4 mg/L:3 g/L,既保证食品饲料的安全性,又可增加防霉剂的抑制效果。从破坏性试验中可看出,不同浓度的纳他霉素对液体饲料都有

(下转第 280 页)

贯彻食品安全法 服务食品制造业 ——本刊承办新食品安全法公益研修会

在 2015 版食品安全法出台后,作为食品安全责任主体的食品生产企业,如何正确解读,如何贯彻执行,如何克服传统产业弊端,进一步提高企业的食品安全防控能力,以适应新形势的发展,是一项迫在眉睫的工作。2015 年 5 月 29 日,湖南省食品行业联合会、湖南省食品科学技术学会、长沙理工大学共同主办了“新食品安全法下湖南食品制造业食品安全技术高级研修会”,对湖南省规模以上食品制造业的高级管理人员、技术人员进行专业培训。

本届研修会由《食品与机械》杂志社、《中国食品安全报》驻湖南记者站联合承办。湖南省食品行业联合会会长刘送保、长沙理工大学校长助理颜东煌教授、湖南省食品科学技术学会副理事长刘永乐教授,出席了开班仪式并致辞。

这是一场完全免费的公益性培训活动,研修会邀请了北京、上海及省内多位知名专家,从湖南省食品企业食品安全现状入手,剖析问题的症结;从食品加工过程中微生物污染监测出发,提出全程污染防控、冷杀菌等减菌化技术方案;并提出了食品标签风险控制、食品安全快检技术及其装备配置等技术应对措施;还从政策角度对食品企业如何贯彻执行新食品安全法进行了针对性的解读。

湖南省食品药品监督管理局食品三处处长刘秀兰博士

通过对新旧两版食品安全法的对比,提出了食品安全监控工作重点的调整方向,监管部门今后的防控重点,以及食品制造企业应该注意的问题。本届研修会特别之处在于,首次在食品行业专业会议中邀请到了来自公安系统的专家——湖南省公安厅治安总队食品案件侦查支队队长周君满,周队长现场说法,介绍了该支队近年来的努力和成绩,并以亲身办案经历为例,对食品安全案件涉及的专业剖析过程、新食品安全法的相关刑法定位问题等进行了深入浅出的法制宣讲。

来自全省的包括上市公司、国家级龙头企业、湖南特色食品企业,近 100 家规模以上食品企业的 140 余名高管、技术总监参加了研修会。与会学员纷纷表示,虽然一天的培训安排十分紧张,但是培训形式别开生面,培训内容新颖实用,受益匪浅。

作为食品行业的专业性权威期刊,《食品与机械》杂志社自创刊以来始终站在食品科研的前沿,以服务食品行业为宗旨,以促进中国食品产业发展为己任。通过承办本次公益性研修会,不仅为湖南省食品行业打造“食品湘军”提供了扎实的服务,也从面对面的沟通中了解到企业对科研和创新的渴望与需求,为更好地办好行业期刊获得了大量的第一手信息。

(本刊特约记者 陈赛)

(上接第 64 页)

显著的防霉作用,真菌总数都比空白对照组大大减少。从防霉效果和经济角度综合考虑,选择纳他霉素 10 mg/L。在破坏性表观试验中,添加了纳他霉素的液体饲料长期暴露在空气中表观上没有明显的变化,而空白对照组的液体饲料前 3 d 在液面会形成一层菌膜。综上所述,纳他霉素在液体饲料的应用中,有效解决了纳他霉素在固体饲料中难以扩散的问题,纳他霉素可溶解在液体饲料中并对其起到了很好的抑菌作用。

参考文献

- 1 岳昊博,岳喜庆,李靖,等. 纳他霉素(Natamycin)的特性、应用及生产和研究状况[J]. 食品科技,2007,32(3):162~166.
- 2 李东. 多烯大环抗真菌剂纳他霉素的研究[D]. 天津:天津科技大学,2005.
- 3 金丰秋,金其荣. 新型生物防腐剂——聚赖氨酸[J]. 中国食品添加剂,2003(5):87.
- 4 李勃,冯光利,王长晔. 纳他霉素产业发展现状及前景[J]. 保鲜与加工,2011,11(2):49~53.
- 5 李东,杜连祥,路福平,等. 纳他霉素的抑菌谱及最小抑菌浓度[J]. 食品工业科技,2004,25(7):143~144.
- 6 Scholten R H J, van der Peet-Schwering C M C, Verstegen M W A, et al. Fermented co-products and fermented compound diets for

pigs: a review[J]. Animal Feed Science and Technology, 1999, 82 (1): 1~19.

- 7 Brooks P H, Beal J D, Niven S. Liquid feeding of pigs: potential for reducing environmental impact and for improving productivity and food safety[J]. Recent Advance in Animal Nutrition in Australia, 2001(13): 49~63.
- 8 Garnsworthy P C, Wiseman J. Recent advances in animal nutrition [M]. Nottingham: Nottingham University Press, 1998: 107~126.
- 9 Canibe N, Jensen B B. Fermented and non fermented liquid feed to growing pigs: effect on aspects of gastrointestinal ecology and growth performance[J]. Journal of Animal Science, 2003, 81(8): 2019~2031.
- 10 Adams M R, Nicolaides L. Review of the sensitivity of different food borne pathogens to fermentation[J]. Food Control, 1997, 8 (5): 227~239.
- 11 李朕杰,余红心,卢跃红,等. 液体饲料在养牛生产中的配制及应用[J]. 乳业科学与技术, 2005, 27(3): 122~126.
- 12 李军,张日俊. 发酵液体饲料的研究进展[J]. 国外畜牧科技, 2011, 28(6): 21~23.
- 13 杨晓丽,韩克勤. 双乙酸钠对霉菌的抑制作用的研究[J]. 天津师范大学学报(自然科学版), 2003, 2(2): 26~28.
- 14 聂昌林,宋春阳. 双乙酸钠在畜禽生产中的应用[J]. 饲料广角, 2013(2): 45~46.