

植物乳杆菌 SJ35 的抑菌特性及复合保鲜剂配制
Antibacterial property of *Lactobacillus plantarum* SJ35 and
preparation of compound preservative

罗佩文^{1,2} 刘书亮^{1,3} 朱永清² 高佳²
LUO Pei-wen^{1,2} LIU Shu-liang^{1,3} ZHU Yong-qing² GAO Jia²
李海霞¹ 陈姝娟^{1,3} 何利^{1,3} 周康^{1,3}
LI Hai-xia¹ CHEN Shu-juan^{1,3} HE Li^{1,3} ZHOU Kang^{1,3}

(1. 四川农业大学食品学院, 四川 雅安 625014; 2. 四川省农业科学院农产品加工研究所, 四川 成都 610066;
3. 农产品加工及贮藏工程四川省重点实验室, 四川 雅安 625014)

(1.College of Food Science, Sichuan Agricultural University, Ya'an, Sichuan 625014, China;

2. Institute of Agro., Sichuan Academy of Agricultural Sciences, Chengdu, Sichuan 610066, China;

3. Sichuan Provincial Key Laboratory, Processing and Storage of Agricultural Products, Ya'an, Sichuan 625014, China)

摘要:以藤黄微球菌、铜绿假单胞菌为指示菌,采用牛津杯双层琼脂扩散法测定植物乳杆菌 SJ35 代谢产物的抑菌特性,应用单因素试验选取最优的菌株发酵条件,选取亚氯酸钠与代谢产物复配制成复合保鲜剂并测定其抑菌效果。结果表明:菌株 SJ35 代谢产物的抑菌活性较强,热稳定性好,在酸性条件下稳定,对蛋白酶敏感,且具有细菌广谱抑菌性;最优发酵条件为 34℃ 静置培养 36 h,初始 pH 为 6.0,其对藤黄微球菌、铜绿假单胞菌的抑菌圈直径达到 25.68, 19.96 mm;将 80% 的 SJ35 代谢产物与 600 mg/L 亚氯酸钠复配制成复合保鲜剂,不仅能增强对细菌的抑制作用,而且对霉菌也有一定的抑制作用。

关键词:植物乳杆菌;代谢产物;抑菌特性;发酵条件;复合保鲜剂

Abstract: By using *Micrococcus luteus* and *Pseudomonas aeruginosa* as indicator bacteria, the antibacterial properties for metabolites of *Lactobacillus plantarum* SJ35 was determined by Oxford cup double agar diffusion method, and the fermentation conditions of strain were selected by single factor experiment. The antibacterial effect of compound preservative was determined which was prepared by the com-

bination of sodium chlorite and metabolites. Results indicated that metabolites of *Lactobacillus plantarum* SJ35 had good antibacterial activity; it was stable in high temperature, acid conditions, and sensitive to proteases; it also had a wide antibacterial spectrum. The optimal fermentation conditions were as followed: fermentation temperature 34℃, fermentation time 36 h and initial pH 6.0. The antibacterial circle diameter of metabolites was 25.68 mm and 19.96 mm for *Micrococcus luteus* and *Pseudomonas aeruginosa* respectively. The compound preservative which was prepared by the combination of 80% SJ35 metabolites and 600 mg/L sodium chlorite, could not only enhance inhibition of bacteria but also be antifungal.

Keywords: *Lactobacillus*; metabolites; antibacterial characteristics; fermentation conditions; compound preservative

乳酸菌是人和动物肠道的优势菌群,被广泛应用于食品行业中^[1]。益生菌的一个重要生理指标是对有害微生物的抑菌活性^[2],植物乳杆菌属于中国卫生部公布“可用于食品的菌种名单”中的一种益生菌,它可以通过代谢中产生的过氧化氢、有机酸、细菌素以及其他竞争营养物质达到抑菌作用^[3],延长食品保质期。由于 Nisin 及纳他霉素在食品行业的兴起,目前对于植物乳杆菌体外抑菌方面的研究主要集中在细菌素的提取、分离纯化^[4]及稳定性研究^[5],然而,乳酸菌中产细菌素菌株的检出率仅为 0.2%^[6],对于细菌素的分离筛选及新细菌素的获得较为困难。乳酸菌代谢产物的抑菌活性是多方面的,使用某一种单一代谢产物具有一定的局限性,在有机酸等代谢产物的协同作用下可增强细菌素的抑菌效果。培养条件会影响乳酸菌产代谢产物的能力及产量,而

基金项目:国家国际科技合作项目(编号:2013DFA31450-03);四川省科技支撑计划项目(编号:2011NZ0095);四川省财政创新能力提升工程项目(编号:2013XXXK-019);四川省农业科技成果转化资金项目(编号:14NZ0012)

作者简介:罗佩文,女,四川农业大学硕士研究生。
通讯作者:刘书亮(1968—),男,四川农业大学教授,博士。
E-mail: lsliang999@163.com

收稿日期:2016-04-17

代谢产物的抑菌性能及稳定性又决定了其在食品防腐中的应用价值^[7-8]。现阶段中国净菜加工厂大都采用有效氯浓度 50~200 mg/L 的次氯酸钠溶液进行即食蔬菜的杀菌消毒。含氯杀菌剂虽然杀菌效果较好,但存在一定的安全隐患^[9]。乳酸菌代谢产物单独使用抗菌谱较窄,杀菌不彻底,因此,将其代谢产物与某些食品添加剂或化学防腐剂复配可增强杀菌效果,既能保证食品的安全性,又能保证杀菌稳定性^[10]。

近年来复合保鲜剂的研究主要集中在壳聚糖、Nisin、纳他霉素等天然防腐剂的复配^[11-13],对生防菌与化学试剂的复配研究较少,然而最有希望用于实际生产的生物防治法即为拮抗微生物和化学杀菌剂进行复配。Lima^[14]将拮抗酵母与化学试剂苯菌灵结合使用明显优于酵母菌单独使用。乳酸菌发酵液一般是偏酸性,对大部分细菌及少部分霉菌有一定的拮抗效果,然而次氯酸钠溶液在 pH 较低的情况下会引起有效氯的挥发,不仅会产生刺鼻气味,同时会降低其杀菌效果。酸化亚氯酸钠(ASC)溶液在酸性环境中会释放出二氧化氯,从而达到对有害微生物的抑制,且 pH 越低,对致病菌的致死能力越强^[15]。袁东晓等^[16]采用乳酸、ASC、NaClO 配制的保鲜剂处理冷却猪肉,结果表明,1 000 mg/L 的 ASC 对猪肉有一定的保鲜作用。

本研究拟选取一株抑菌效果较好的植物乳杆菌 SJ35,通过研究该菌株代谢产物的抑菌特性,选择最佳发酵条件,并将该菌株代谢产物与酸化亚氯酸钠(ASC)复配制成复合保鲜剂,旨在为该菌株及其代谢产物应用于食品防腐保鲜提供数据参考,也为生防菌与化学试剂复合抑菌提供理论参考。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 菌种

植物乳杆菌 SJ35:分离于四川泡生姜;

抑制的对象菌:铜绿假单胞菌 ATCC27853、枯草芽孢杆菌 SC-5、藤黄微球菌 CICC10209、酿酒酵母 AY-1、黑曲霉 M-6、大肠杆菌 ATCC25922、金黄色葡萄球菌 ATCC29213、肠炎沙门氏菌 CICC21482、无害李斯特氏菌 CICC10297、灰葡萄孢 ACCC36448,四川农业大学食品微生物实验室提供。

1.1.2 主要试剂与培养基

浓盐酸、氢氧化钠:分析纯,成都市科龙化工试剂厂;

亚氯酸钠:分析纯,天津市鼎盛鑫化工有限公司;

胰蛋白酶(酶活≥250 USP U/mg)、木瓜蛋白酶(酶活≥800 U/mg):上海瑞永生物科技有限公司;

改良 MRS 液体培养基、改良 MRS 固体培养基、营养琼脂培养基:杭州微生物试剂有限公司;

琼脂粉:成都市科龙化工试剂厂。

1.1.3 仪器设备

电热恒温水浴锅:HWS24 型,上海一恒科技有限公司;

冷冻离心机:B4i-BR4i 型,美国 Thermo 公司;

酸度计:PHS-4C⁺ 型,成都世纪方舟科技有限公司;

精密电子天平:TE412-L 型,德国 Sartorius 公司。

1.2 方法

1.2.1 指示菌活化

以藤黄微球菌 CICC10209、铜绿假单

胞菌 ATCC27853 作为指示菌,于营养琼脂斜面培养 24 h,4 ℃ 保存备用。

1.2.2 植物乳杆菌 SJ35 活化

将植物乳杆菌 SJ35 在改良 MRS 平板上活化,挑取单菌落于 MRS 斜面 37 ℃ 培养 48 h,4 ℃ 保藏备用。

1.2.3 植物乳杆菌 SJ35 代谢产物制备

将菌株 SJ35 斜面培养物用 5 mL 无菌水冲洗,菌浓度调整为 10⁸ CFU/mL,以 1 mL/100 mL 的接种量接种于改良 MRS 液体培养基,30 ℃ 静置培养 48 h,10 000 r/min 离心 5 min,得到上清液即为 SJ35 代谢产物,4 ℃ 保藏备用。

1.2.4 植物乳杆菌 SJ35 代谢产物抑菌活性及抑菌谱测定

采用牛津杯双层琼脂扩散法测定菌株 SJ35 抑菌活性。在预先准备好的铺有 10 mL 素琼脂平板内放置外径 8 mm 的牛津杯,将活化的指示菌按照指定倍数稀释制成 10⁶ CFU/mL 的营养琼脂菌悬液,倾注平板,放置 15 min。向牛津杯内加入 100 μL SJ35 代谢产物,37 ℃ 正置培养 16~18 h,测量抑菌圈直径。分别测定代谢产物对铜绿假单胞菌 ATCC27853、藤黄微球菌 CICC10209、大肠杆菌 ATCC25922、枯草芽孢杆菌 SC-5、金黄色葡萄球菌 ATCC29213、肠炎沙门氏菌 CICC21482、无害李斯特氏菌 CICC10297、酿酒酵母 AY-1、黑曲霉 M-6、灰葡萄孢 ACC-CC36448 的抑菌圈直径,确定其抑菌谱。设 3 组平行试验。

1.2.5 植物乳杆菌 SJ35 代谢产物特性测定

(1) 热稳定性:将菌株 SJ35 代谢产物分别于 40,60,80,100 ℃ 中水浴 30 min,常温处理的代谢产物作为对照,进行抑菌试验,设 3 组平行试验。

(2) pH 稳定性:测定菌株 SJ35 代谢产物的 pH,用 5 mol/L NaOH 和 5 mol/L HCl 溶液分别将其 pH 调至 3.0,3.5,4.0,4.5,5.0,6.0,进行抑菌试验,设 3 组平行试验。

(3) 细菌素粗提及蛋白酶敏感性:采用硫酸铵沉淀法将 SJ35 代谢产物用 70% 硫酸铵溶液沉淀,冰箱过夜后 10 000 r/min 离心 20 min,去除上清,沉淀用 1 mL 20 mmol/L pH 4.5 的柠檬酸缓冲液溶解,进行抑菌试验,用 70% 硫酸铵溶液及 20 mmol/L pH 4.5 柠檬酸缓冲液作为对照。用 5 mol/L NaOH 和 5 mol/L HCl 溶液分别将 SJ35 代谢产物的硫酸铵沉淀溶液 pH 调至胰蛋白酶和木瓜蛋白酶的最适 pH 7.0,按照 0.5 mg/mL 分别加入两种蛋白酶,37 ℃ 水浴 2 h,再调回对照 pH 4.5(排除有机酸干扰)^[17],进行抑菌试验,设 3 组平行试验。

1.2.6 植物乳杆菌 SJ35 的最佳发酵条件选取

(1) 适宜发酵温度:将 SJ35 以 1 mL/100 mL 的接种量接种于改良 MRS 液体培养基,分别在 26,30,34,37,42 ℃ 下静置培养 48 h,10 000 r/min 离心 5 min,制得 SJ35 代谢产物,进行抑菌试验,设 3 组平行试验,通过测量抑菌圈直径确定最适发酵温度。

(2) 适宜发酵时间:将 SJ35 以 1 mL/100 mL 的接种量接种于改良 MRS 液体培养基,在 1.3.1 确定的适宜培养温度下分别静置培养 24,30,36,42,48 h,10 000 r/min 离心 5 min,制得 SJ35 代谢产物,进行抑菌试验,设 3 组平行试

验,通过测量抑菌圈直径确定最适发酵时间。

(3) 适宜初始 pH:用 1 mol/L NaOH 和 1 mol/L HCl 溶液调整改良 MRS 液体培养基 pH 为 5.5,6.0,6.5,7.0,7.5,将 SJ35 以 1 mL/100 mL 的接种量分别接种于上述 pH 的 MRS 培养基,在确定的适宜温度和时间下静置培养,10 000 r/min 离心 5 min,制得 SJ35 代谢产物,进行抑菌试验,设 3 组平行试验,通过测量抑菌圈直径确定最适初始 pH。

1.2.7 复合保鲜剂制备及抑菌效果测定

(1) 植物乳杆菌 SJ35 代谢产物抑菌效价测定:分别配制 20%,40%,60%,80%及 100%植物乳杆菌 SJ35 代谢产物,以铜绿假单胞菌 ATCC27853 为指示菌,进行抑菌试验,设 3 组平行试验。

(2) 酸化亚氯酸钠(ASC)最小抑菌浓度测定:配制浓度为 200,400,600,800,1 000 mg/L 的亚氯酸钠溶液,用柠檬酸将其 pH 调至 3.5,以铜绿假单胞菌 ATCC27853、灰葡萄孢 ACCC36448 为指示菌,进行抑菌试验,设 3 组平行试验,获得最小抑菌浓度。

(3) 复合保鲜剂抑菌效果测定:将适宜浓度的 SJ35 代谢产物与最小抑菌浓度的亚氯酸钠复配,制成复合保鲜剂,测定该保鲜剂的 pH,进行抑菌试验,设 3 组平行试验。

2 结果与分析

2.1 植物乳杆菌 SJ35 代谢产物抑菌活性

菌株 SJ35 代谢产物对藤黄微球菌 CICC10209 的抑菌圈直径为(21.53±1.11) mm,对铜绿假单胞菌 ATCC27853 的抑菌圈直径为(15.45±0.93) mm,抑菌谱见表 1。由表 1 可知,植物乳杆菌 SJ35 代谢产物不仅对藤黄微球菌 CICC10209、金黄色葡萄球菌 ATCC29213 等革兰氏阳性细菌有抑制作用,对铜绿假单胞菌 ATCC27853、大肠杆菌 ATCC25922 等革兰氏阴性细菌也有一定的抑制作用,对酿酒酵母 AY-1 及黑曲霉 M-6、灰葡萄孢 ACCC36448 无抑制作用, SJ35 代谢产物抑菌活性良好且具有细菌广谱抑菌性。

表 1 SJ35 代谢产物抑菌谱[†]

Table 1 The antibacterial spectrum of the metabolites of strain SJ35

指示菌株	抑菌活性
金黄色葡萄球菌 ATCC29213	+++
大肠杆菌 ATCC25922	+
枯草芽孢杆菌 SC-5	++
无害李斯特氏菌 CICC10297	++
铜绿假单胞菌 ATCC27853	++
藤黄微球菌 CICC10209	+++
肠炎沙门氏菌 CICC21482	++
酿酒酵母 AY-1	—
黑曲霉 M-6	—
灰葡萄孢 ACCC36448	—

[†] “—”表示无抑菌圈;“+”表示抑菌圈直径为 8~13 mm;“++”表示抑菌圈直径为 13~18 mm;“+++”表示抑菌圈直径为 18~23 mm。

2.2 植物乳杆菌 SJ35 代谢产物抑菌特性

2.2.1 代谢产物热稳定性 由图 1 可知,分别在 40,60,80,100 ℃下处理 30 min 后,植物乳杆菌 SJ35 代谢产物在各温度下对藤黄微球菌 CICC10209 的抑菌活性同对照组相比没有显著性差异($P>0.05$);在 60,80 ℃下代谢产物对铜绿假单胞菌 ATCC27853 的抑菌活性同对照组相比没有显著性差异($P>0.05$)且 40,60,80,100 ℃各处理组之间差异不显著($P>0.05$),说明植物乳杆菌 SJ35 代谢产物热稳定性好^[18]。

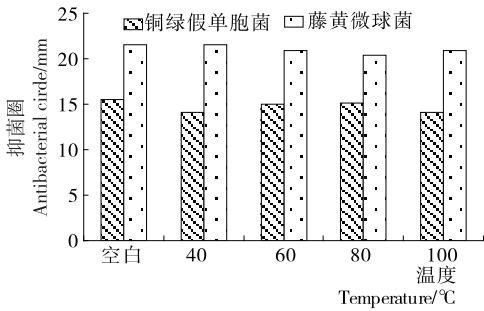


图 1 SJ35 代谢产物热稳定性

Figure 1 The thermal stability of the metabolites of strain SJ35

2.2.2 代谢产物 pH 稳定性 植物乳杆菌 SJ35 发酵液 pH 为 3.56,由图 2 可知,代谢产物在发酵液 pH 小于 5.0 时具有抑菌活性,pH 为 3.0 时抑菌活性最高,对铜绿假单胞菌 ATCC27853 及藤黄微球菌 CICC10209 的抑菌圈直径分别为(16.03±1.10) mm 和(22.17±0.67) mm,抑菌圈直径随 pH 增加而减小,在 pH 3.5~5.0 时抑菌活性下降明显($P<0.05$),当 $pH\geq 5.0$ 时抑菌活性消失,植物乳杆菌 SJ35 代谢产物在酸性条件下稳定性较好。这可能是在偏中性的环境中,细菌素或其他活性物质的结构或性质发生变化^[19],抑菌物质只能在较低 pH 下发挥抑菌效果,且与菌株产生的乳酸、乙酸等有机酸起到一定的协同作用,使代谢产物在酸性环境下的抑菌活性更高,这与曹珂珂^[20]、熊涛^[21]等对植物乳杆菌素 pH 稳定性的研究相一致。

2.2.3 细菌素粗提及蛋白酶敏感性 郭颖等^[22]从内蒙古传统发酵乳制品中分离得到的一株具有抑菌活性的植物乳杆菌 NDC75017 对胰蛋白酶和蛋白酶 K 敏感,对胃蛋白酶不敏感,说明该菌株产生的抑菌物质可能是一类蛋白类物质。由表 2 可知,用 70%硫酸铵沉淀法对 SJ35 代谢产物进行细

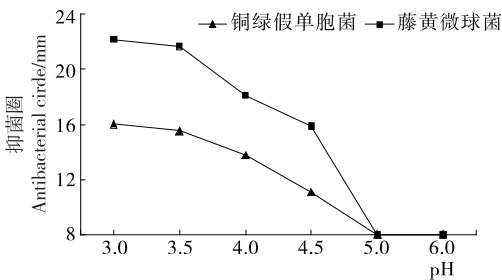


图 2 SJ35 代谢产物 pH 稳定性

Figure 2 The pH stability of the metabolites of strain SJ35

表 2 SJ35 代谢产物细菌素粗提结果[†]

Table 2 The results of the crude bacteriocin of strain SJ35

指示菌	抑菌圈直径/mm				
	沉淀	70%硫酸	柠檬酸	胰蛋	木瓜蛋
		铵溶液	缓冲液	白酶	白酶
铜绿假单胞菌	10.60	—	—	—	—
藤黄微球菌	14.28	—	—	—	—

[†] “—”表示无抑菌圈。

菌素粗提,沉淀仍有一定的抑菌活性,而对照组并无抑菌效果,沉淀物经过胰蛋白酶和木瓜蛋白酶处理后丧失抑菌活性,该沉淀对两种蛋白酶均具有敏感性,说明 SJ35 代谢产物中含有细菌素或其他蛋白类生物活性物质,对菌株产生一定的抑制效果。

2.3 植物乳杆菌 SJ35 的最佳发酵条件选取

2.3.1 适宜的发酵温度 由图 3 可知,抑菌圈直径在 26~30 ℃ 时变化很小($P>0.05$),之后随温度升高呈现先增大后减小的趋势,在培养温度为 34 ℃ 时对两株菌的抑菌圈直径均达到最大,与其他组相比差异显著($P<0.05$)。Motta 等^[23]对扩展短杆菌 ATCC9175 进行发酵条件优化发现在 28 ℃ 时细菌素的产量最高;苏日娜等^[24]对戊塘乳杆菌 S1-4 的发酵温度进行优化得到最适温度为 30 ℃。研究^[25]证实对于不同的乳酸菌来说,菌体生长的最适培养时间、培养温度以及所需的初始 pH 不一定是生成抑菌活性物质的最适条件,菌株之间存在差异,抑菌物质的产生是一种复杂的生理代谢过程,与多种因素有关。因此,选择 34 ℃ 作为最适发酵温度。

2.3.2 适宜的发酵时间 由图 4 可知,在 24~36 h 内,抑菌圈直径随培养时间的增加而增大,高于 36 h 后抑菌圈直径变化很小($P>0.05$)。在 36 h 时该菌株的代谢产物抑菌活性最好,对两株菌的抑菌圈直径分别为 (16.42 ± 0.41) , (23.48 ± 0.72) mm,因此,选择 36 h 作为最适发酵时间。

2.3.3 适宜的初始 pH 由图 5 可知,抑菌圈直径随初始 pH 增大呈现先增大后减小的趋势,在 pH 为 6.0 时两株菌的抑菌圈直径均达到最大,与其他组相比差异显著($P<0.05$)。Nel 等^[26]得出细菌素等抑菌活性物质一般在弱酸性条件下生成且具有菌株特异性,谢英等^[27]对植物乳杆菌 LB-B1 进

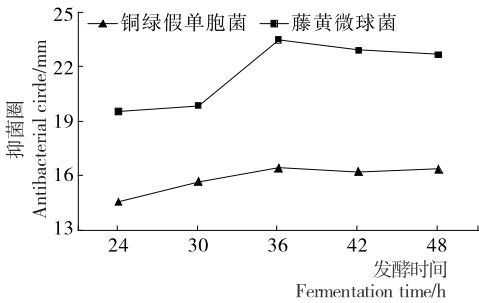


图 4 发酵时间对代谢产物抑菌效果的影响

Figure 4 Influence of fermentation time on antibacterial effects of the metabolites

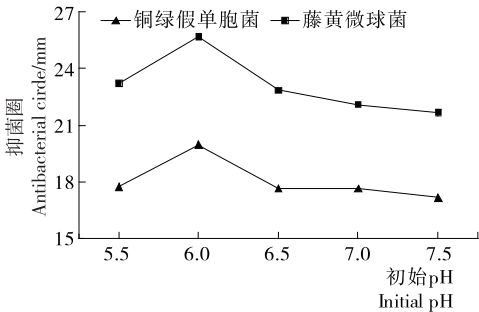
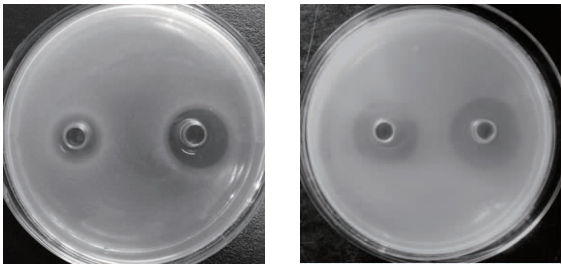


图 5 初始 pH 对代谢产物抑菌效果的影响

Figure 5 Influence of initial pH on antibacterial effects of the metabolites

行发酵条件优化,发现初始 pH 为 6 或 7 时,细菌素的产量均达到最大值。因此,选择 6.0 作为最适初始 pH。

图 6 为植物乳杆菌 SJ35 代谢产物在优化试验前后对铜绿假单胞菌 ATCC27853 及藤黄微球菌 CICC10209 的抑菌圈直径,试验后对两株菌的抑菌圈直径分别为 (19.96 ± 0.84) , (25.68 ± 0.48) mm,与之前相比均明显增大($P<0.01$)。



(a) 铜绿假单胞菌 ATCC27853 (b) 藤黄微球菌 CICC10209

图 6 SJ35 代谢产物在单因素试验前后抑菌效果

Figure 6 Antibacterial effects of the metabolites of strain SJ35 before and after single factor experiment

2.4 复合保鲜剂制备及抑菌效果

2.4.1 植物乳杆菌 SJ35 代谢产物抑菌效价 由图 7 可知,抑菌圈随 SJ35 代谢产物浓度增大而增大($P<0.05$),当浓度达到 80%~100%时,抑菌圈直径变化不明显($P>0.05$)。因此,选择浓度为 80%的 SJ35 代谢产物进行复配。

2.4.2 酸化亚氯酸钠(ASC)最小抑菌浓度 由表 3 可知,抑菌圈直径随 ASC 浓度增大而增大,对铜绿假单胞菌 ATCC27853、灰葡萄孢 ATCC27853 的最小抑菌浓度分别为

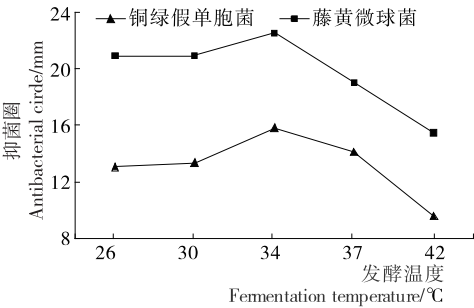


图 3 发酵温度对代谢产物抑菌效果的影响

Figure 3 Influence of fermentation temperature on antibacterial effects of the metabolites

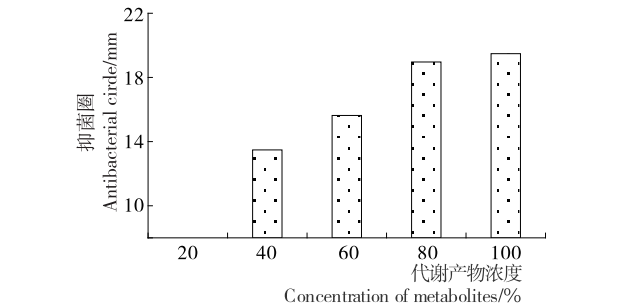


图 7 不同浓度代谢产物对抑菌效果的影响

Figure 7 Influence of different concentration of the metabolites on antibacterial effects

表 3 不同浓度 ASC 对抑菌效果的影响[†]

Table 3 Influence of different concentration of ASC on antibacterial effects

指示菌	抑菌圈直径/mm				
	200 mg/L	400 mg/L	600 mg/L	800 mg/L	1 000 mg/L
铜绿假单胞菌	—	—	13.94	16.46	21.92
灰葡萄孢	—	10.30	12.52	15.20	20.32

† “—”表示无抑菌圈。

600,400 mg/L。因此,选取 600 mg/L ASC 进行复配。

2.4.3 复合保鲜剂抑菌效果 将 80% SJ35 代谢产物与 600 mg/L 亚氯酸钠复配,保鲜剂 pH 为 3.96,对铜绿假单胞菌 ATCC27853 的抑菌圈直径达到(20.68±1.07) mm,对灰葡萄孢 ACCC36448 的抑菌圈直径达到(13.58±0.64) mm。与单一的 SJ35 代谢产物相比,对细菌的抑菌效果明显提高,对霉菌也产生一定的抑菌作用。

3 结论

随着人们对食品安全的重视,对乳酸菌抑菌活性物质的研究渐渐深入,特别是对于细菌素粗提及应用。研究^[28]证实,乳酸菌在代谢过程中产生的细菌素只是代谢产物中极少量的部分,还有大量的乳酸、乙酸等有机酸,以及部分特殊酶系、过氧化氢等其他抑菌活性物质,直接将混合的代谢产物应用于食品表面处理的保鲜贮藏,既能较好地抑制食品中有害菌的生长繁殖,且在应用中更加方便、有效。本试验结果表明,植物乳杆菌 SJ35 的代谢产物具有细菌广谱抑菌性,且对革兰氏阳性细菌的抑制作用强于阴性细菌,在食品保鲜应用中可针对细菌污染较严重的食品进行防腐抑菌;将 80% 的植物乳杆菌 SJ35 代谢产物与 600 mg/L ASC 复配制成复合保鲜剂,对霉菌产生一定的抑菌效果,抑菌范围增大,增加了该菌株的应用范围,且本试验的亚氯酸钠添加量较少,减少了含氯杀菌剂可能产生的有害物质,可适当用于净菜工厂代替次氯酸钠溶液,有效控制食品安全问题。SJ35 代谢产物热稳定性好,在食品加工过程中可耐受高温处理;代谢产物在酸性条件下稳定,其产生的细菌素在低 pH 下能保持较高的抑菌活性,同时积累了大量乳酸等有机酸,与细菌素协同作用,更大限度地抑制了有害微生物的生长,适合作为偏酸性食品的防腐剂;代谢产物对胰蛋白酶和木瓜蛋白酶均具有敏感性,易被人体胃肠道中分泌的部分蛋白酶降解,不会在体内

积蓄引起不良反应或产生抗药性^[29-30],提高了代谢物的安全性。本研究采用单因素试验,得到植物乳杆菌 SJ35 的最适发酵条件为 34 ℃ 静置培养 36 h,初始 pH 6.0,优化后对铜绿假单胞菌和藤黄微球菌的抑菌圈直径达到(19.96±0.84), (25.68±0.48) mm,与优化前相比显著提高了抑菌活性。

参考文献

[1] ANTARA N, SUJAYA I, YOKOTA A, et al. Identification and succession of lactic acid bacteria during fermentation of urutan, a balinese indigenous fermented sausage[J]. World Journal of Microbiology and Biotechnology, 2002, 18(3): 255-262.

[2] HOU Xi-lin, YU Li-yun, LIU Jian-zhu, et al. Surface displayed porcine epidemic diarrhea viral (PEDV) antigens on latic acid bacteria[J]. Vaccine, 2007(26): 24-31.

[3] 吴玲, 张敏. 发酵产品中乳酸菌抑菌研究[J]. 食品工业科技, 2011, 32(11): 181-182.

[4] 宋达峰. 新型植物乳杆菌细菌素 PZJ5 的分离纯化及特性研究[D]. 杭州: 浙江大学, 2013: 1-115.

[5] 陈沛, 王雪青, 阮海华. 产细菌素乳酸菌的筛选及其纯化和稳定性研究[J]. 天津师范大学学报: 自然科学版, 2011, 31(2): 82-85.

[6] CONVENTRY M J, GORDON J B, WILCOCK A, et al. Detection of bacteriocin of LAB isolated from food and comparison with pediocin and nisin[J]. Applied Microbiology, 1997, 83(2): 248-258.

[7] LIU Guo-rong, LV Yan-ni, ZHOU Kang, et al. Anti-Listeria bacteriocin produced by *Lactobacillus pentosus* 31-1 isolated from Xu-an-Wei Ham, a traditional China fermented meat product[J]. Food Control, 2008, 19(4): 353-359.

[8] 刘书亮, 敖灵, 周佳, 等. 戊糖乳杆菌素 C50-6 的纯化及特性研究[J]. 食品与发酵工业, 2010, 36(5): 36-40.

[9] 吴政文, 王莉. 微酸性次氯酸钠杀菌水在净菜加工生产中的应用[J]. 农机化研究, 2011, (11): 161-164.

[10] 张化霜. 微生物农药研究进展[J]. 农药科学与管理, 2011, 32(11): 22-25.

[11] 高蓬明, 刘晓燕, 秦晋颖, 等. 天然抑菌剂在猕猴桃果浆保鲜中的应用[J]. 食品研究与开发, 2010, 31(7): 31-34.

[12] 张宁. 纳他霉素和乳酸链球菌素在即食海产品中的应用[J]. 山东食品发酵, 2012(1): 22-24.

[13] 韩永萍, 龚平, 李可意. 低聚壳聚糖芳香醛席夫碱中酚羟基的抑菌活性研究[J]. 食品与机械, 2015, 31(1): 127-131.

[14] LIMA G, DE CURTIS F, CASTORIA R, et al. Integrated control of apple postharvest pathogens and survival of biocontrol yeasts in semi-commercial conditions[J]. European Journal of Plant Pathology, 2003, 109(4): 341-349.

[15] 王虎虎, 董洋, 徐幸莲, 等. 酸化亚氯酸钠对鸡肉致病菌的致死模型研究[J]. 中国食品学报, 2013, 13(9): 33-38.

[16] 袁东晓, 常忠义, 高红亮, 等. 酸化亚氯酸钠、次氯酸钠与乳酸对冷却猪肉的保鲜作用[J]. 华中农业大学学报, 2006, 25(3): 323-325.

[17] 张艾青, 刘书亮, 敖灵. 产广谱细菌素乳酸菌的筛选和鉴定[J]. 微生物学通报, 2007, 34(4): 753-756.

(下转第 201 页)

wave inactivation of red beet (Beta vulgaris L. var. conditiva) peroxidase and polyphenoloxidase and the effect of radiation on vegetable tissue quality [J]. Journal of Food Engineering, 2012, 109(4): 676-684.

[6] ZIELINSKA M, SADOWSKI P, BLASZCZAK W. Freezing/thawing and microwave-assisted drying of blueberries (*Vaccinium corymbosum* L.) [J]. Lwt-Food Science and Technology, 2015, 61(1): 555-563.

[7] WRAY D, RAMASWAMY H S. Microwave-osmotic dehydration of cranberries under continuous flow medium spray conditions [J]. International Journal of Microwave Science and Technology, 2013, DOI: 10.1155/2013/207308.

[8] 祝美云, 魏征, 郭晓晖. 低糖猕猴桃果脯微波渗糖工艺研究[J]. 食品与机械, 2010, 26(3): 134-137.

[9] 魏征, 祝美云, 邵建峰. 低糖苹果果脯微波渗糖工艺影响因素研究[J]. 食品科学, 2010, 31(18): 37-40.

[10] 马艳弘, 周剑忠, 王英, 等. 低糖蓝莓果脯的微波渗糖工艺[J]. 食品科学, 2013, 34(10): 50-54.

[11] 王愈, 马世敏. 微波渗糖加工低糖橙皮果脯的工艺研究[J]. 中国食品学报, 2011, 11(1): 91-97.

[12] 祝美云, 魏征, 高峰. 不同微波渗糖工艺对低糖果脯维生素 C 保存的影响[J]. 果树学报, 2010, 27(2): 299-302.

[13] 赵希艳, 许瑞, 李润丰, 等. 微波姜脯渗糖工艺的研究[J]. 食品工业, 2013, 34(1): 60-62.

[14] 祝美云, 魏征, 郭祥永. 可食性胶体添加对低糖猕猴桃果脯微波渗糖效果的影响[J]. 果树学报, 2011, 28(4): 635-640.

[15] 谭红军, 杨勇, 吴振, 等. 枇杷果脯真空渗糖和微波真空干燥工艺参数优化[J]. 安徽农业科学, 2013(5): 2 254-2 256.

[16] 祝美云, 魏征, 陈广起. 低糖果脯生产工艺中护色与硬化效果的研究[J]. 食品科学, 2010, 31(4): 81-84.

[17] 朱海霞, 石瑛, 张庆娜, 等. 3,5-二硝基水杨酸(DNS)比色法测定马铃薯还原糖含量的研究[J]. 中国马铃薯, 2005, 19(5): 14-17.

[18] 韩永斌. 紫甘薯花色苷提取工艺与组分分析及其稳定性和抗氧化性研究[D]. 南京: 南京农业大学, 2007: 42.

[19] 张建威, 卢千慧, 祝美云. 低糖雪莲果果脯微波烫漂护色和渗糖工艺优化[J]. 江苏农业科学, 2012, 40(8): 249-252.

[20] 邓茹月, 曾海英, 叶双全, 等. 真空糖渍对刺梨果脯品质及风味的影响[J]. 食品与机械, 2014, 30(4): 220-223.

[21] 艾启俊, 郭洋. 苹果脯真空渗糖技术影响因素的研究[J]. 北京农学院学报, 2004, 19(1): 42-44, 57.

(上接第 71 页)

[4] 姜朝军. 我国贝类加工产业存在的主要问题与发展对策[J]. 渔业信息与战略, 2012, 27(2): 87-93.

[5] 徐文其, 沈建. 中国贝类前处理加工技术研究进展[J]. 南方水产科学, 2013, 9(2): 76-80.

[6] VAN L L, HART A J, SLOCUM A H, et al. Suspended heated silicon platform for rapid thermal control of surface reactions with application to carbon nanotube synthesis[J]. Review of Scientific Instruments, 2007, 78(8): 1-9.

[7] 陆彭飞, 黄华, 周福昌, 等. 基于 CFD 仿真的洗衣机波轮设计方法[C]//王统帅. 2013 年中国清洁器具技术论坛论文集. 北京: 家电科技, 2013: 141-144.

[8] XU Guang-ming, GU Xing-wen, REN Guo-feng, et al. Centrifuging for penetration of ellipse suction bucket of breakwater into clay ground[C]// Advances in Soil Dynamics and Foundation Engineering, 2014 Geo-shanghai International Congress, May, 26-28, 2014, Shanghai, China. Shanghai: [s. n.], 2014: 291-300.

[9] 尚久浩. 自动机械设计[M]. 北京: 中国轻工业出版, 2013: 17-23.

[10] 苏妍颖. 螺母旋转驱动型滚珠丝杠副热特性分析[D]. 济南: 山东大学, 2012: 2-4.

[11] 卢政. 立式蒸饭机出饭机构设计方案[J]. 食品与机械, 2001(2): 37-38.

[12] LIMARENKO G N. Synthesis of gear-rack transmissions for linear drives in machine tools [J]. Russian Engineering Research, 2010, 30(7): 725-727.

[13] 朱蓓薇. 海珍品加工理论与技术的研究[M]. 北京: 科学出版社, 2010: 187-188.

[14] 肖桂华, 朱蓓薇, 董秀萍, 等. 鲍鱼腹足不同部位的质构特性及组织结构研究[J]. 食品科技, 2010, 35(11): 155-159.

(上接第 116 页)

[18] 武运, 李远, 王冰峰, 等. 新疆酸驼乳中细菌素乳酸菌的筛选及其抑菌性[J]. 食品与机械, 2011, 27(3): 25-28, 62.

[19] 刘书亮, 张艾青, 田刚, 等. 植物乳杆菌 P158 的生长曲线及其细菌素的特性[J]. 核农学报, 2009, 23(6): 1 021-1 025, 1 035.

[20] 曹珂珂, 王娣, 李妍. 1 株产广谱细菌素乳酸菌的筛选及其抑菌物质的特性[J]. 食品与发酵工业, 2012, 38(11): 88-91.

[21] 熊涛, 宋苏华, 黄涛, 等. 植物乳杆菌 NCU116 抑菌性能的研究[J]. 食品与发酵工业, 2012, 38(6): 97-101.

[22] 郭颖, 杨相宜, 单艺, 等. 一株植物乳杆菌的鉴定及其抑菌特性研究[J]. 中国乳品工业, 2013, 41(8): 12-16.

[23] MOTTA A S, BRANDELLI A. Influence of growth conditions on bacteriocin product on by *Brevibacterium linens*[J]. Applied Microbiology and Biotechnology, 2003, 62(2): 163-167.

[24] 苏日娜, 双全. 戊糖乳杆菌 S1-4 产抑菌物质发酵条件的优化及其抑菌谱[J]. 食品科学, 2016, 37(3): 109-116.

[25] 张国强, 师俊玲, 杨自文. 乳酸杆菌 SD-22 产类细菌素发酵条件的优化[J]. 中国食品学报, 2009, 9(1): 137-142.

[26] NEL H A, BAUER R, VANDAMME E J, et al. Growth optimization of *Pediococcus damnosus* NCFB1832 and the influence of pH and nutrients on the production of pediocin PD-1[J]. Applied Microbiology, 2001, 91(6): 1 131-1 138.

[27] 谢英, 覃倩倩, 张京声, 等. 植物乳杆菌 LB-B1 产细菌素发酵条件的优化[J]. 中国酿造, 2010(10): 22-25.

[28] 柴明艳. 乳酸菌发酵液在豆浆保鲜中的应用研究[J]. 食品科技, 2014, 39(10): 284-288.

[39] 滕志利, 钱方, 姜淑娟, 等. 产广谱细菌素乳酸菌的筛选及分类鉴定[J]. 食品与机械, 2013, 29(6): 45-48.

[30] 吴玲, 张敏. 发酵产品中乳酸菌抑菌效果研究[J]. 食品工业科技, 2011, 32(11): 181-182.