

一株产细菌素乳酸菌的筛选鉴定 及对金黄色葡萄球菌的抑菌作用

杨洋洋 徐云凤 郭卫平 罗磊 向进乐

(河南科技大学食品与生物工程学院, 河南 洛阳 471023)

摘要: [目的] 从泡菜中分离筛选出产细菌素的乳酸菌, 对菌株进行鉴定并研究其对金黄色葡萄球菌的抑菌作用。[方法] 以金黄色葡萄球菌为指示菌, 将分离得到的目标菌株进行抑菌初筛后, 通过酸排除、过氧化氢排除以及酶验证试验确定产细菌素菌株; 对菌株进行生理生化鉴定和 16S rDNA 序列分析; 通过最小抑菌质量浓度 (MIC) 测定、生长曲线测定、生物膜染色、扫描电子显微镜观察, 探究细菌素粗提物的抑菌特性。[结果] 筛选得到一株产细菌素菌株 N-11, 鉴定为植物乳杆菌; 细菌素粗提物对金黄色葡萄球菌的 MIC 为 (17.50 ± 0.25) mg/mL, 该粗提物能够明显抑制金黄色葡萄球菌的生长, 对金黄色葡萄球菌的生物膜形成具有抑制效果, 金黄色葡萄球菌经处理后细胞形态遭到不同程度破坏。[结论] 试验筛选得到的植物乳杆菌所产细菌素粗提物对金黄色葡萄球菌抑菌作用良好, 具有较高的开发利用价值。

关键词: 乳酸菌; 分离; 鉴定; 细菌素; 抑菌作用; 泡菜

Screening and identification of a bacteriocin-producing lactic acid bacterium and its antibacterial effect on *Staphylococcus aureus*

YANG Yangyang XU Yunfeng GUO Weiping LUO Lei XIANG Jinle

(College of Food and Bioengineering, Henan University of Science and Technology, Luoyang, Henan 471023, China)

Abstract: [Objective] This study aimed to isolate and screen bacteriocin-producing lactic acid bacteria from kimchi, identify the strains and investigate their antibacterial effects against *Staphylococcus aureus*. [Methods] *S. aureus* was employed as the indicator bacterium. Bacteriocin-producing strains were identified through acid elimination, hydrogen peroxide exclusion, and enzyme verification test. Physiological and biochemical identification, along with 16S rDNA sequencing, was conducted on the strains. The antibacterial properties of the bacteriocin extract were assessed using minimum inhibitory concentration (MIC) determination, growth curve analysis, biofilm staining, and scanning electron microscopy observations. [Results] A bacteriocin-producing strain, designated N-11, was successfully isolated and identified as *Lactobacillus plantarum*. The MIC of the crude bacteriocin extract against *S. aureus* was found to be (17.50 ± 0.25) mg/mL, demonstrating a significantly ability to inhibit both the growth and the biofilm formation of *S. aureus*. [Conclusion] The crude extract produced by *L. plantarum* N-11 exhibits strong antibacterial effects against *S. aureus*, indicating its potential for further development and utilization in food preservation and safety applications.

Keywords: lactic acid bacteria; separation; identification; bacteriocin; antibacterial activity; pickle

金黄色葡萄球菌污染是造成食品腐败变质、食源性疾病的主要原因之一。金黄色葡萄球菌能够产生一系列毒力因子并形成生物膜, 对大多数抗生素具有耐药性, 并有不断增强对环境的适应能力。通过呼吸道和表皮侵入人体可引起人体脓肿和皮肤感染、呼吸系统疾病以及包括恶心、呕吐和腹部绞痛、腹泻等在内的食源性疾病^[1]; 金

黄色葡萄球菌还可通过食品产业链各环节中污染食品原料, 污染生产环境, 给乳品、肉品行业的生产造成一系列安全问题和经济损失^[2]。化学防腐剂的使用可有效降低金黄色葡萄球菌的污染风险, 但化学防腐剂对人体带来的健康风险不容忽视^[3]。

乳酸菌代谢过程中分泌的细菌素多为具有抑菌活性

基金项目: 河南科技大学博士科研启动基金项目 (编号: 13480067); 河南省科技攻关项目 (编号: 242102111059)

通信作者: 向进乐 (1980—), 男, 河南科技大学教授, 博士。E-mail: xjl5013@haust.edu.cn

收稿日期: 2024-03-04 **改回日期:** 2024-08-10

的蛋白质或多肽类物质,因人体可降解、高效、无抗药性、无毒、无残留等优点,乳酸菌细菌素的资源开发与利用在食品保鲜、临床应用等诸多领域被广泛研究^[4]。Pato 等^[5]发现发酵水牛奶中的产细菌素菌株粪肠球菌 R-55 对金黄色葡萄球菌的抑菌圈直径达到 14.40 mm;孙海龙等^[6]采用牛津杯法从新疆特色果蔬中筛选出 4 株对金黄色葡萄球菌具有良好抑菌效果的乳酸菌,抑菌圈直径为 11~15 mm;Biki 等^[7]将发酵米中分离出的乳球菌 LL-HSTU-FPP 细菌素应用于虾的保鲜,结果证明该细菌素对金黄色葡萄球菌有较好的抑制效果;Garcia 等^[8]利用乳酸片球菌 RS 2 和乳酸乳球菌亚种的冻干粉显著降低了哈密瓜表面的腐败与致病菌污染。

研究旨在从自然发酵的泡菜中分离筛选得到产细菌素且对金黄色葡萄球菌具有良好抑菌作用的乳酸菌,探究其细菌素粗提物的抑菌效果,为乳酸菌的开发利用和金黄色葡萄球菌的控制提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

1.1.1 材料与试剂

家庭自制泡菜:制作地内蒙古包头;

金黄色葡萄球菌 ATCC 25923:河南科技大学食品与生物工程学院实验室;

HBI 乳酸菌生化鉴定条、MRS 肉汤、胰蛋白胍大豆肉汤(TSB)、MRS 琼脂、胰蛋白胍大豆琼脂(TSA):青岛海博生物技术有限公司;

DNA 抽提试剂盒:上海生工生物工程有限公司;

磷酸氢二钠、甘油、磷酸氢二钾、戊二醛、碳酸钙、乳酸:分析纯,天津市德恩化学试剂有限公司;

乙酸、盐酸、氢氧化钠:分析纯,江苏强盛功能化学股份有限公司;

胰蛋白酶:250 U/mg,上海蓝季生物科技有限公司;

胃蛋白酶:1 200 U/g,上海蓝季生物科技有限公司;

木瓜蛋白酶:800 U/mg,上海源叶生物科技有限公司;

结晶紫:分析纯,天津市科密欧化学试剂有限公司。

1.1.2 主要仪器设备

气浴振荡培养箱:THZ-S2A 型,常州朗越仪器制造有限公司;

生化培养箱:DHP9272 型,上海一恒科学仪器有限公司;

电子天平:FA2004 型,上海舜宇恒平科学仪器有限公司;

电热恒温水浴锅:HWS-12 型,上海舜宇恒平科学仪器有限公司;

紫外分光光度计:UV-1000 型,上海翱艺仪器有限公司;

超净工作台:SW-CJ-1D 型,浙江孚夏医疗科技有限公司;

高速冷冻离心机:H2050R 型,湖南湘仪实验室仪器开发有限公司;

高压灭菌锅:YXQ-LS-50S II 型,上海博迅实业有限公司;

多功能酶标仪:SPARK 型,帝肯奥地利责任有限公司;

光学显微镜:BA310D 型,麦克奥迪实业集团有限公司;

扫描电镜(SEM):JMS-IT200 型,日本电子光学实验室有限公司。

1.2 试验方法

1.2.1 菌株分离筛选

(1) 菌株分离纯化:从泡菜中取少量泡菜汤混匀于无菌生理盐水中,取 100 μ L 于含 2% 碳酸钙的 MRS 培养基上涂匀,37 $^{\circ}$ C 下培养 24~48 h。观察并反复挑板 2~3 次进行纯化,直至得到无其他干扰菌生长且形态学特征符合乳酸菌的菌落。将满足条件的菌株冻存备用。

(2) 发酵上清液制备:使用接种环将菌株接种于 MRS 肉汤中,培养 48~72 h,于高速冷冻离心机中离心(4 $^{\circ}$ C、10 000 r/min、10 min),上清液用 0.22 μ m 滤膜过滤。

(3) 金黄色葡萄球菌菌悬液制备:将冻存菌株(ATCC 25923)接种于 TSB 培养基,37 $^{\circ}$ C、100 r/min 条件下过夜培养,于 TSA 平板中划线,37 $^{\circ}$ C 下培养 24 h,挑取若干单菌落至无菌生理盐水中,最终调节菌液菌数约为 10⁶ CFU/mL,留存备用。

(4) 抑菌菌株筛选:采用牛津杯抑菌圈法。取金黄色葡萄球菌菌悬液 100 μ L 打入 TSA 培养基并涂匀,将牛津杯轻置表面并向杯内分别打入 200 μ L 发酵上清液,在 37 $^{\circ}$ C 下培养 24 h,测量抑菌圈直径。

1.2.2 抑菌物质确定

(1) 过氧化氢抑制作用排除:取发酵上清液 10 mL,置于 80 $^{\circ}$ C 的恒温水浴锅 10 min^[9],以未处理的上清液作对照,采用牛津杯法观察抑菌效果,测量抑菌圈直径。

(2) 有机酸排除试验:用氢氧化钠溶液将上清液 pH 调至 5.0,分别用乳酸、盐酸调节 MRS 肉汤 pH 为 5.0 作空白对照,采用牛津杯法,抑菌效果以抑菌圈直径表示^[10]。

(3) 酶验证试验:参考王朝等^[11]的方法略有改动,选取上述排除试验后抑菌作用较好的发酵上清液,分别将发酵上清液 pH 调至胃蛋白酶(pH 2.0)、胰蛋白酶(pH 7.4)、木瓜蛋白酶(pH 6.0)最适 pH 并加入 3 种酶(最终质量浓度 1.0 mg/mL),水浴锅中 37 $^{\circ}$ C 温育 2 h 后灭酶并调回原 pH,未处理的上清液滴加等量纯水作为空白对照,牛津杯法观察抑菌圈直径。

1.2.3 菌株的鉴定

(1) 形态学鉴定:将筛选得到的菌株划线于含有 1% 碳酸钙的 MRS 琼脂中,37 $^{\circ}$ C 培养 48 h,观察菌落形态并进行革兰氏染色,光学显微镜下观察染色结果。

(2) 生化特征鉴定:使用HBI乳酸菌生化鉴定条做种属初步鉴定。

(3) 16S rDNA测序:DNA提取参照DNA抽提试剂盒说明书。采用目标菌株基因组DNA为模板进行16S rDNA的PCR扩增,采用通用引物27F和1492R。PCR反应体系:基因组DNA 0.5 μ L, 10 $\times$ Buffer(含 Mg^{2+}) 2.5 μ L, dNTP 1 μ L, Tap 0.2 μ L, 引物27F 0.5 μ L, 引物1492R 0.5 μ L, 双蒸水 19.8 μ L。PCR反应条件:95 $^{\circ}$ C预变性4 min, 94 $^{\circ}$ C变性30 s, 55 $^{\circ}$ C退火20 s, 72 $^{\circ}$ C延伸40 s, 35个循环, 72 $^{\circ}$ C修复延伸6 min。测序工作由上海生工生物工程有限公司完成。将16S rDNA序列与NCBI数据库对比,系统发育树使用MegAlign构建^[12]。

1.2.4 乳酸菌细菌素粗提物抑菌探究

(1) 粗提物制备:对Dai等^[13]的方法稍作修改,采用硫酸铵沉淀法对N-11菌株发酵上清液中的细菌素进行提取。取25 mL上清液于50 mL离心管中,分别加入20%, 40%, 60%, 80%, 100%饱和度硫酸铵,溶解后4 $^{\circ}$ C下过夜12 h, 4 $^{\circ}$ C、13 000 r/min离心15 min,弃上清液得到沉淀,复溶于柠檬酸—磷酸盐缓冲液中,以金黄色葡萄球菌ATCC 25923作指示菌株,采用牛津杯法,根据抑菌圈大小确定最佳提取饱和度。以最适饱和度硫酸铵作为提取剂,按照上述方法对N-11菌株细菌素进行提取,离心获得沉淀,冻干后于-20 $^{\circ}$ C保存备用。

(2) 最小抑菌质量浓度(MIC)的测定:基于Qian等^[14]的方法并稍作修改。将含有不同浓度细菌素粗提物的TSA固体培养基充分混合并冷却至凝固。在每组固体培养基的表面滴加2 μ L稀释后的金黄色葡萄球菌菌悬液,以不添加细菌素的TSA作为对照组。待菌液干燥后将培养基转移至37 $^{\circ}$ C倒置培养24 h,以无细菌生长的最小稀释质量浓度作为MIC。

(3) 生长曲线测定:将活化后的金黄色葡萄球菌菌悬液调整最终菌数为 10^6 CFU/mL,接种于含有不同浓度细菌素粗提物(0, 1/16MIC, 1/8MIC, 1/4MIC, 1/2MIC, MIC, 2MIC)的TSB培养基中,以不含菌液的各组药物作为光密度校正点。于生化培养箱中37 $^{\circ}$ C培养24 h,每隔2 h多次测量600 nm处吸光度,记录数据后以时间为横坐标,吸光度为纵坐标绘图,即为细菌素粗提物作用下的金黄色葡萄球菌的生长曲线^[15]。

(4) 结晶紫染色测定细菌素粗提物对金黄色葡萄球菌生物膜形成的影响:参考徐云凤^[16]的方法稍加修改,将制备好的含有不同质量浓度细菌素粗提物(0, 1/16MIC, 1/8MIC, 1/4MIC, 1/2MIC, MIC, 2MIC)的金黄色葡萄球菌菌悬液分别注入200 μ L于96孔板,以对应浓度含有粗提物的无菌培养液作为阴性对照,置于培养箱中37 $^{\circ}$ C,培养24 h后测定OD_{630 nm}值。移除菌悬液,用PBS缓冲液轻柔漂洗3次,洗去浮游菌体,烘箱60 $^{\circ}$ C风干20 min,每孔加入200 μ L 1%的结晶紫溶液,37 $^{\circ}$ C培养箱中染色5 min。用

蒸馏水轻柔漂洗3次,洗去未结合的结晶紫,烘箱60 $^{\circ}$ C干燥20 min。加入200 μ L 33%的醋酸溶液,5 min后测定OD_{570 nm}值。以生物膜形成指数(biofilm formation index, BFI)表示生物膜形成能力。

(5) SEM观察细菌素粗提物对金黄色葡萄球菌的影响:在He等^[17]的方法的基础上稍作修改。将活化后的金黄色葡萄球菌加入新的培养基中,37 $^{\circ}$ C、120 r/min培养至对数期,将其菌数调整约为 1×10^8 CFU/mL。将细菌素粗提物加入菌悬液中分别调节其质量浓度为1/2MIC, MIC, 2MIC,于37 $^{\circ}$ C培养4 h,以添加PBS缓冲液的处理组为对照,8 000 r/min、4 $^{\circ}$ C离心10 min收集菌体,用PBS缓冲液洗涤3次后,2.5%戊二醛4 $^{\circ}$ C下过夜固定。用PBS缓冲液洗涤3次去除戊二醛,采用无水乙醇梯度脱水,各浓度下脱水20 min,喷金后用扫描电子显微镜观测菌体形态。

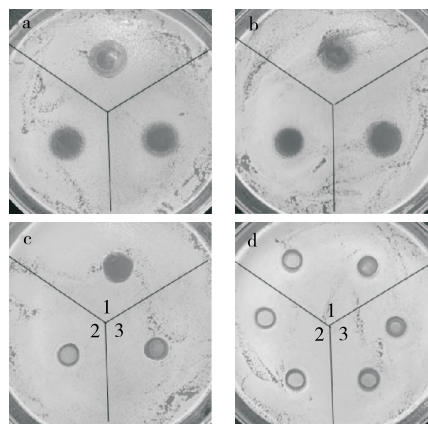
1.3 数据分析

采用Origin 2019、IBM SPSS Statistics 26软件对数据进行显著性差异分析并绘图,结果以平均数 $\pm$ 标准偏差表示。

2 结果与分析

2.1 产细菌素菌株筛选

N-11菌株经过氧化氢排除、酸排除以及蛋白酶验证试验,结果表明其对金黄色葡萄球菌具有良好抑菌效果。图1(a)为发酵上清液抑菌平行试验结果,其抑菌圈直径均值为(12.25 $\pm$ 0.54) mm,说明其发酵上清液具有良好的抑菌效果,乳酸菌发酵上清液的抑菌作用可能是在有机酸、过氧化氢、细菌素等物质单一或共同作用下的结果^[18],因此需要通过排除和验证试验进一步确定其主要



a. 发酵上清液抑菌圈3组平行;b. 排除H₂O₂后发酵上清液抑菌圈3组平行;c. c1、c2和c3分别为酸排除后发酵上清液、盐酸及乳酸对照抑菌圈;d. d1、d2和d3分别为酸、过氧化氢排除后胰蛋白酶、木瓜蛋白酶及胃蛋白酶处理后发酵上清液抑菌圈2组平行

图1 菌株N-11的H₂O₂、酸排除及酶验证试验结果

Figure 1 The results of H₂O₂, acid elimination and enzyme validation of strain N-11

抑菌物质。图 1(b)中,经过氧化氢排除处理后,其抑菌圈直径均值为 (11.92 ± 0.31) mm,抑菌圈大小仅略微降低,说明过氧化氢在发酵液中抑菌作用小,不是主要的抑菌物质。图 1(c)中,经酸排除后的发酵上清液(c1)抑菌圈直径均值为 (10.50 ± 0.29) mm,用乳酸(c2)、盐酸(c3)调节 MRS 肉汤的 pH 至 5.0 时无明显抑菌圈,说明有机酸在发酵上清液中起到一定抑菌作用,但仍存在其他抑菌物质。如图 1(d)所示,经酸排除、过氧化氢排除、胰蛋白酶(d1)、木瓜蛋白酶(d2)及胃蛋白酶(d3)处理后,发酵上清液对金黄色葡萄球菌的生长无明显的抑制作用,由此可判断发酵上清液中含有可抑制金黄色葡萄球菌生长的细菌素且对 3 种酶敏感。

2.2 菌株鉴定

2.2.1 菌落形态及生理生化鉴定结果 如图 2 所示,N-11 菌株菌落呈圆形,中等大小,凸起,微白色,湿润,边缘整齐;在含碳酸钙的 MRS 琼脂上出现溶钙圈;经革兰氏染色结果呈阳性,外形为杆状。表明该菌株符合乳酸菌菌落及细胞形态的基本特征。

如表 1 所示,将 N-11 菌株接种于 HBI 乳酸菌生化鉴定条培养 24 h 后,仅有棉子糖的生化反应结果呈阴性。培养 48 h 后,10 种生化反应的结果均呈阳性,初步判定 N-11 属于乳酸菌。

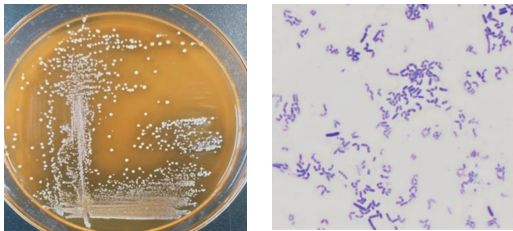


图 2 N-11 菌株的菌落和细胞形态学特征
Figure 2 Colony and cellular morphological characteristics of strain N-11

表 1 N-11 菌株的生化鉴定结果[†]

Table 1 Biochemical characteristics of strain N-11

鉴定项目	结果		鉴定项目	结果	
	24 h	48 h		24 h	48 h
七叶苷	+	+	山梨醇	+	+
纤维二糖	+	+	蔗糖	+	+
麦芽糖	+	+	棉子糖	—	+
甘露醇	+	+	菊糖	+	+
水杨苷	+	+	乳糖	+	+

[†] “+”表示阳性,“—”表示阴性。

2.2.2 菌株 16S rDNA 鉴定 N-11 菌株经 16S rDNA 测序,其碱基总量为 1 495 bp,通过发育树构建进一步确定

该菌株种属,结果如图 3 所示。试验菌株与 *Lactobacillus plantarum* YLL-03 亲缘关系最为接近,同源性达到 98%,且这两株菌与 *Lactiplantibacillus plantarum* C7M33_RS11 675 同源性达到 100%。故鉴定 N-11 为植物乳杆菌,核酸序列数据 NMDCN0002P 存储在国家微生物科学数据中心(MNDC),核酸序列编号为 NMDCN0002PGD。

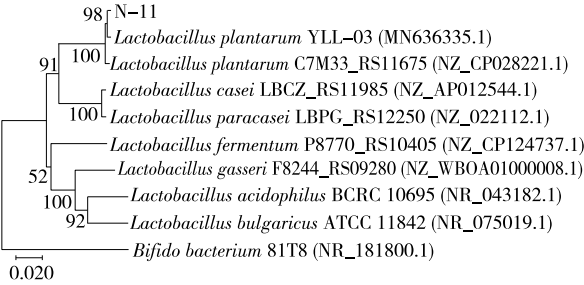


图 3 N-11 菌株的系统发育树
Figure 3 Phylogenetic tree of strain N-11

2.3 乳酸菌细菌素粗提物抑菌活性

2.3.1 最小抑菌质量浓度 使用 80% 饱和度硫酸铵提取得到 N-11 菌株细菌素粗提物。如图 4 所示,金黄色葡萄球菌在未添加细菌素粗提物的培养基上正常生长,随着细菌素粗提物质量浓度的逐渐增加,指示菌株的生长逐渐受到抑制,当细菌素粗提物质量浓度为 (17.50 ± 0.25) mg/mL 时,指示菌株的生长完全被抑制。该法测定 N-11 菌株细菌素粗提物 MIC 为 (17.50 ± 0.25) mg/mL。

2.3.2 生长曲线 如图 5 所示,金黄色葡萄球菌的生长在低剂量细菌素粗提物下并无明显变化,从 1/4MIC 开始,金黄色葡萄球菌生长随着质量浓度不断增加受到的抑制

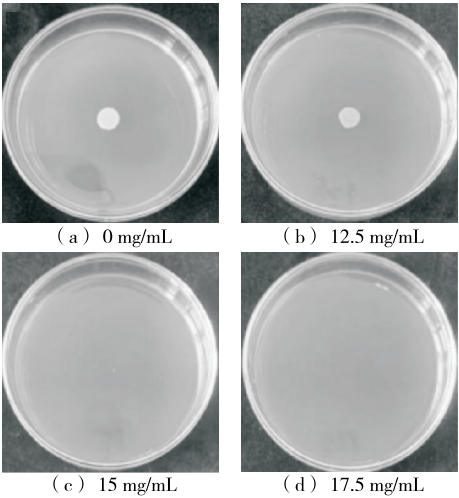


图 4 细菌素粗提物对金黄色葡萄球菌的最小抑菌质量浓度
Figure 4 MIC of crude extracts of bacteriocins against *S. aureus*

作用越来越明显,同时金黄色葡萄球菌对数期有延缓、推迟现象。当细菌素粗提物质量浓度为2MIC时能够明显抑制金黄色葡萄球菌的生长,该结果与乔柱^[19]通过异源表达得到的重组细菌素BMP32r处理下的金黄色葡萄球菌生长情况有相似性。

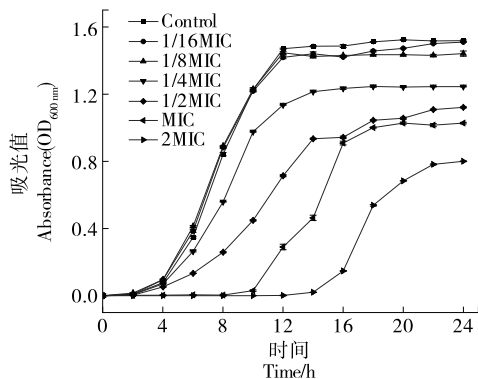


图5 细菌素粗提物处理金黄色葡萄球菌的生长曲线

Figure 5 Growth curves of *S. aureus* treated with crude extracts of bacteriocins

2.3.3 细菌素粗提物对金黄色葡萄球菌生物膜形成的影响 N-11菌株细菌素粗提物对金黄色葡萄球菌生物膜形成的抑制效果如图6所示,随着细菌素粗提物浓度的增加,生物膜形成指数由对照组的3.06逐渐降低。质量浓度达到1/8MIC时,生物膜形成指数显著降低,抑制率达到32%,在质量浓度达到MIC时,抑制率达到80%以上。要想达到对金黄色葡萄球菌较高的抑制率需要超过MIC的质量浓度,在Vasile等^[20]的报道中,也曾提出抗微生物浓度可能超过MIC,才能获得理想的杀灭效果并减少微生物污染。Islam等^[21]探究了发酵燕麦中植物乳杆菌DMR14发酵上清液对金黄色葡萄球菌的生物膜抑制率为

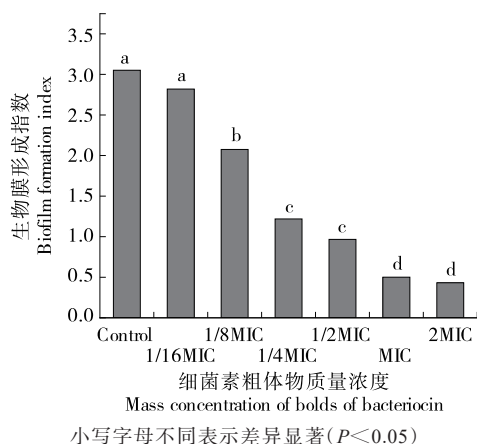


图6 细菌素粗提物对金黄色葡萄球菌生物膜形成的影响

Figure 6 The effect of crude extract of bacteriocins on biofilm formation of *S. aureus*

25.64%,与试验对金黄色葡萄球菌生物膜的抑制有相似结果。试验结果表明,N-11菌株细菌素粗提物能够较好地抑制金黄色葡萄球菌生物膜的形成。

2.3.4 细菌素粗提物对金黄色葡萄球菌微观结构的影响 细菌素是一种核糖体合成的抗菌肽,通过形成孔和破坏靶细胞膜的完整性发挥作用,可能伴随细胞裂解,最终导致细胞死亡。金黄色葡萄球菌经不同浓度N-11菌株细菌素粗提物处理4 h后,扫描电镜观察结果如图7所示,未处理的金黄色葡萄球菌外表光滑呈球状,经1/2MIC细菌素粗提物处理后,细菌表面出现褶皱,部分细菌结构不完整且细胞壁出现受损现象;当细菌素粗提物质量浓度为MIC时,菌体表面褶皱加剧,细胞结构不完整性及细胞壁受损现象加重,同时部分细菌出现变形及裂解现象;在2MIC细菌素粗提物处理下的金黄色葡萄球菌表面裂解及变形现象加重,部分细胞菌体完全受到破坏。Zhang等^[22]采用鼠李糖乳杆菌LS8细菌素处理金黄色葡萄球菌及大肠杆菌,扫描电镜观察下金黄色葡萄球菌的表面收缩、出现严重损伤,采用N-11菌株细菌素粗提物处理金黄色葡萄球菌时也出现了相同现象。

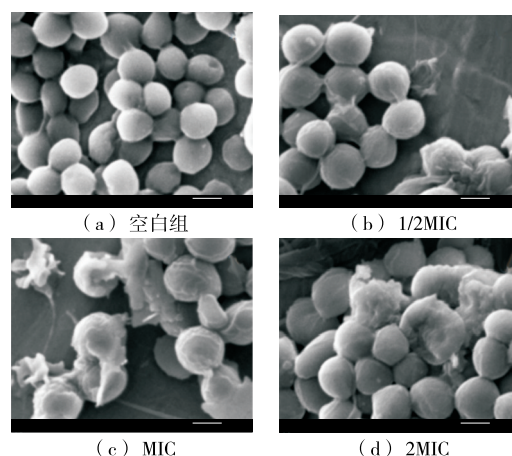


图7 金黄色葡萄球菌扫描电镜图

Figure 7 Scanning electron microscopy of *S. aureus*

3 结论

该研究从酸菜中分离得到一株对金黄色葡萄球菌具有良好抑菌作用的菌株N-11,在经过酸和过氧化氢排除后仍具有较好抑菌效果且对各种蛋白酶敏感,因此认为该菌株的发酵上清液中可能含有细菌素类物质。对该菌株进行形态学、生理生化鉴定以及16S rDNA测序分析,结果显示其为植物乳杆菌。使用80%饱和度硫酸铵对N-11菌株进行细菌素的初步提取后,测得其对金黄色葡萄球菌的最小抑菌质量浓度为 (17.50 ± 0.25) mg/mL,细菌素粗提物可抑制金黄色葡萄球菌的生长,推迟对数期的出现;经结晶紫染色法测定了不同浓度细菌素粗提物

对金黄色葡萄球菌生物膜形成的影响,当细菌素粗提物质量浓度大于 1/4MIC 时,抑制率可达 60% 以上;金黄色葡萄球菌经 N-11 菌株细菌素粗提物处理后,其细胞形态遭到破坏,细胞褶皱、裂解而造成细胞死亡。后续需要对细菌素做进一步纯化,并探究其在食品体系中的应用。

参考文献

- [1] KADARIYA J, SMITH T C, THAPALIYA D. *Staphylococcus aureus* and Staphylococcal food-borne disease: an ongoing challenge in public health[J]. Biomed Research International, 2014, 2 014: 827965.
- [2] MOKOENA M. Lactic acid bacteria and their bacteriocins: classification, biosynthesis and applications against uropathogens: a mini-review[J]. Molecules, 2017, 22(8): 1 255.
- [3] ZAPASNIK A, SOKOLOWSKA B, BRYLA M. Role of lactic acid bacteria in food preservation and safety[J]. Foods, 2022, 11 (9): 1 283.
- [4] CLEVELAND J, MONTVILLE T J, NES I F, et al. Bacteriocins: safe, natural antimicrobials for food preservation [J]. International Journal of Food Microbiology, 2001, 71: 1-20.
- [5] PATO U, RIFTYAN E, AYU D F, et al. Antibacterial efficacy of lactic acid bacteria and bacteriocin isolated from Dadih's against *Staphylococcus aureus*[J]. Food Science and Technology, 2022, 42: e27121.
- [6] 孙海龙, 李佳益, 张敏, 等. 新疆特色果蔬中乳酸菌分离鉴定及其抑菌活性[J]. 食品与生物技术学报, 2018, 37(11): 1 201-1 206.
SUN H L, LI Y J, ZHANG M, et al. Isolation and identification of lactic acid bacteria in characteristic fruits and vegetables of Xinjiang and their antibacterial activity[J]. Journal of Food Science and Biotechnology, 2018, 37(11): 1 201-1 206.
- [7] BIKI S P, MAHMUD S, AKHTER S, et al. Bacteriocin production by *Lactococcus lactis* LL-HSTU-FPP strain isolated from fermented rice and evaluation of the biopreservation potentiality of bacteriocin on shrimp[J]. Journal of Food Safety, 2023, 43(3): e13042.
- [8] GARCIA A, BONILLA F, VILLASMIL E, et al. Antilisterial activity of freeze-dried bacteriocin-containing powders produced by lactic acid bacteria against *Listeria innocua* NRRL B-33016 on cantaloupe (*Cucumis melo*) surface[J]. LWT-Food Science and Technology, 2022, 154: 112440.
- [9] 李俊霞. 产细菌素乳酸菌的筛选、鉴定及培养基的优化[D]. 郑州: 河南工业大学, 2010: 18.
LI J X. The isolation, identification of lactic acid bacteria producing bacteriocin and the optimization of medium[D]. Zhengzhou: Henan University of Technology, 2010: 18.
- [10] 王娜, 李慧, 戴伶俐, 等. 产细菌素乳酸菌的筛选与鉴定[J]. 中国食品学报, 2020, 20(12): 248-255.
WANG N, LI H, DAI L L, et al. Screening and identification of bacteriocin-producing lactic acid bacteria[J]. Journal of Chinese Institute of Food Science and Technology, 2020, 20 (12): 248-255.
- [11] 王朝, 冉旋, 雷江英, 等. 牦牛源产细菌素屎肠球菌的分离鉴定和益生特性[J]. 微生物学通报, 2023, 50(8): 3 454-3 466.
WANG C, RAN X, LEI J Y, et al. Isolation, identification and probiotic properties of bacteriocin-producing *Enterococcus faecium* from yak[J]. Microbiology China, 2023, 50(8): 3 454-3 466.
- [12] 王娜娜, 梁宏彰, 李婉, 等. 产细菌素乳酸菌的筛选及相关基因分析[J]. 中国乳品工业, 2016(7): 4-7.
WANG N N, LIANG H Z, LI W, et al. Screening of bacteriocin-producing lactic acid bacteria and related genetic analysis[J]. China Dairy Industry, 2016(7): 4-7.
- [13] DAI J Y, FANG L M, ZHANG M M, et al. Isolation and identification of new source of bacteriocin-producing *Lactobacillus plantarum* C010 and growth kinetics of its batch fermentation[J]. World Journal of Microbiology and Biotechnology, 2022, 38(4): 67.
- [14] QIAN W D, LIU M, FU Y T, et al. Antimicrobial mechanism of luteolin against *Staphylococcus aureus* and *Listeria monocytogenes* and its antibiofilm properties[J]. Microbial Pathogenesis, 2020, 142: 104056.
- [15] LIU M M, YANG K, WANG J, et al. Young astringent persimmon tannin inhibits methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* isolated from pork[J]. LWT-Food Science and Technology, 2019, 100: 48-55.
- [16] 徐云凤. 安石榴苷对金黄色葡萄球菌的抑菌作用及机制研究[D]. 咸阳: 西北农林科技大学, 2017: 49.
XU Y F. Antimicrobial activities and mechanisms of punicalagin against *Staphylococcus aureus*[D]. Xianyang: Northwest A & F University, 2017: 49.
- [17] HE J F, LUO X G, JIN D X, et al. Identification, recombinant expression, and characterization of LGH2, a novel antimicrobial peptide of *Lactobacillus casei* HZ1[J]. Molecules, 2018, 23(9): 2 246.
- [18] MANCUSKOVA T, MEDVEDOVA A, VALIK L. Production of antimicrobial substances by lactic acid bacteria[J]. Chemické Listy, 2016, 110(3): 179-184.
- [19] 乔柱. 异源表达细菌素 BMP32r 杀菌和抑制生物膜作用机制研究[D]. 咸阳: 西北农林科技大学, 2021: 58-59.
QIAO Z. The mechanism of heterologous expression of bacteriocin BMP32r against bacteria and biofilm[D]. Xianyang: Northwest A & F University, 2021: 58-59.
- [20] VASILE C, BAICAN M. Progresses in food packaging, food quality, and safety-controlled-release antioxidant and/or antimicrobial packaging[J]. Molecules, 2021, 26(5): 1 263.
- [21] ISLAM S, BISWAS S, JABIN T, et al. Probiotic potential of *Lactobacillus plantarum* DMR14 for preserving and extending shelf life of fruits and fruit juice[J]. Heliyon, 2023, 9(6): e17382.
- [22] ZHANG L H, WANG L, YI L H, et al. A novel antimicrobial substance produced by *Lactobacillus rhamnosus* LS8[J]. Food Control, 2017, 73: 754-760.