

Nisin 与山楂提取物复配的抑菌性能研究

吕晓楠, 吴兆亮*, 赵艳丽, 殷昊 (河北工业大学生物化工系, 天津300130)

摘要 [目的] 为开发新型天然防腐剂提供依据。[方法] 以山楂为材料, 枯草芽孢杆菌、酿酒酵母和大肠杆菌为供试菌种, 采用传统水煎法提取山楂中的有效成分, 并向10、20、30、40、50、60、70、80、90、100 μ 提取物中分别加入10 ng Nisin 制成复配物, 测定复配物对3种供试菌的抑菌效果。[结果] Nisin 的效价为994.5 IU/ng, 当山楂提取物加入量为50 μ 时, 效价达到1 531 IU/ng, 为Nisin 的1.53倍, 但提取物加入量超过50 μ 时, 效价下降。复配物对3种供试菌的抑菌效果好于单独使用山楂提取物和Nisin。[结论] 山楂提取物与Nisin 的复配物对3种供试菌均有较好的抑制效果, 且Nisin 与山楂提取物的最佳复配比例为1.5 (ng: μ)。

关键词 Nisin; 山楂; 抑菌性

中图分类号 TS202.3 文献标识码 A 文章编号 0517-6611(2009)15-06839-02

Study on Anti-microbial Activity of Nisin Combined with Hawthorn Extracts

LV Xiao-nan et al (Department of Bioengineering, Hebei University of Technology, Tianjin 300130)

Abstract [Objective] The aim was to provide the basis for developing new types of natural preservative. [Method] With hawthorn as the material and *Bacillus Subtilis*, *Saccharomyces cerevisiae* and *Escherichia coli* as the tested strains, the effective components in hawthorn were extracted with traditional decoction method. And then adding 10 ng Nisin into 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 100 μ extracts resp. to prepare the compound of nisin and hawthorn extracts. The anti-microbial activities of different compounds on 3 kinds of tested strains were measured. [Result] The titer of Nisin was 994.5 IU/ng. When 50 μ hawthorn extracts was added, the titer reached 1 531 IU/ng, being 1.53 times of that of Nisin. But when addition amount of the extracts was more than 50 μ , the titer decreased. The anti-microbial activities of compounds on 3 kinds of tested strains were better than those of single use of hawthorn extracts and Nisin. [Conclusion] The compounds of hawthorn extracts and Nisin had good anti-microbial activity on 3 kinds of tested strains and the optimal compound proportion of Nisin and hawthorn extracts was 1.5 (ng: μ).

Key words Nisin; Hawthorn; Anti-microbial activity

乳酸链球菌素(nisin)是由某些乳酸链球菌(*Lactococcus lactis* ssp. *lactis*)产生的具有较强杀菌作用的小肽^[1],是目前国际上唯一允许商业化生产的天然防腐剂。但其不抑制革兰氏阴性菌和真菌,在食品加工等行业中的应用受到限制。针对这一缺点,许多研究者使用苯甲酸及其盐等化学合成食品防腐剂与nisin复配以扩大其抑菌谱^[2],但该措施不符合消费者对绿色产品的追求。

山楂提取物成分复杂,是我国批准的药食兼用型中药,具有多种作用,集营养、保健、抗菌、防病于一体^[3]。笔者用山楂提取液与nisin复配。以期开发新型天然防腐剂提供依据。

1 材料与试验方法

1.1 材料

1.1.1 药品。山楂购于天津市当地药房,nisin由天津康益生物有限公司提供,nisin标准品由Sigma公司生产。

1.1.2 仪器。752型紫外分光光度计,旋转蒸发仪。

1.1.3 供试菌种。藤黄八叠微球菌(*Micrococcus luteus*),枯草芽孢杆菌(*Bacillus subtilis*),酿酒酵母(*Saccharomyces cerevisiae*),大肠杆菌(*Escherichia coli*),由河北工业大学微生物实验室提供。

1.2 方法

1.2.1 山楂有效成分的提取。采用传统水煎法^[4]提取山楂有效成分。将山楂称重去杂,用10倍蒸馏水浸泡30 min,先以大火熬至沸腾,后以文火煎煮20 min;用6层滤布过滤,滤渣加水再煎煮10 min,过滤。混合2次煎出液,用旋转蒸发仪(70℃)将其浓缩至1 g/ml,8磅灭菌20 min,-20℃冷冻备用。

1.2.2 复配物抑菌效力的测定。

1.2.2.1 复配样品液及检测菌悬液制备。吸取山楂提取液10、20、30、40、...、100 μ ,向10份样品中分别加入10 ng nisin制成复配物,再用0.02 mol/L HCl溶液定容至5 ml,备用。

将检测菌接种于生长培养基斜面,加入生理盐水6 ml,制成菌悬液。取此菌悬液用无菌生理盐水稀释至 10^7 cfu/ml。

1.2.2.2 琼脂扩散法测定复配物的抑菌效力。利用琼脂扩散法^[5]测定复配物的抑菌效力。将混有上述菌悬液的培养基倒入平板中,用打孔器在平板上打孔,再将配好的标准液、产品液、复配样品液加入孔中,水平移至37℃培养箱中培养20~24 h,测抑菌圈直径。

1.2.2.3 比浊法测定复配物的广谱性。将复配物、nisin分别加入含有大肠杆菌、枯草芽孢杆菌、酵母菌的培养基中。每隔1 h用紫外分光光度计测1次大肠杆菌和枯草芽孢杆菌的OD值,每隔2 h测1次酵母菌的OD值。

2 结果与分析

2.1 复配物增效结果 测得nisin的效价为994.5 IU/ng。当山楂提取物加入量为50 μ 时,效价达1 531 IU/ng,为nisin的1.53倍。单独使用10~100 μ 山楂提取物时无抑菌圈出现,说明山楂提取物的抑菌效果较差。山楂提取物与nisin复配后显示了较强的抑菌性能。但山楂提取物加入量超过50 μ 时,复配物效价下降,可能是提取物中过多的复杂成分与nisin产生了拮抗作用。

2.2 复配物广谱效果

2.2.1 复配物对枯草芽孢杆菌的抑制效果。由图2可知,nisin和山楂提取物对枯草芽孢杆菌均有一定的抑制作用。而复配物对其抑制作用较明显,前10 h内菌量几乎没有增长,10 h后菌体才进入指数生长期,18 h后进入稳定期,且菌量低于对照组。山楂提取物与nisin复配后,改变了枯草芽孢杆菌的生长规律,复配物的抑菌效果好于单独使用nisin或山楂提取物。

作者简介 吕晓楠(1983-),女,河北石家庄人,硕士研究生,研究方向:发酵工程。* 通讯作者。

收稿日期 2009-02-11

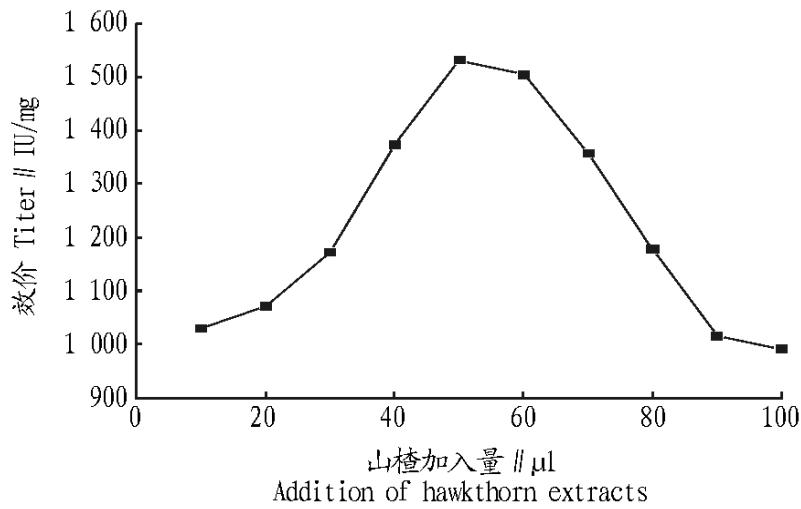


图1 复配物效价与山楂提取物加入量的关系

Fig.1 The relationship between the compound's titer and the addition of hawthorn extracts

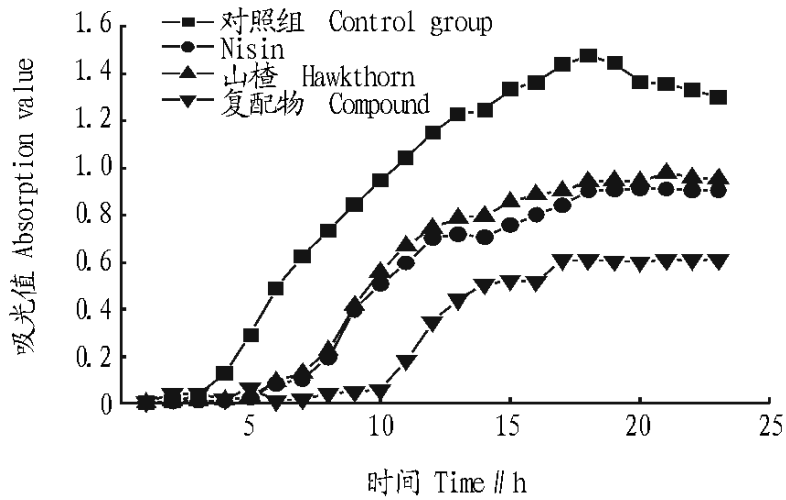


图2 复配物和Nisin对枯草芽孢杆菌的抑制作用

Fig.2 The inhibition of compound and Nisin product on *B. subtilis*

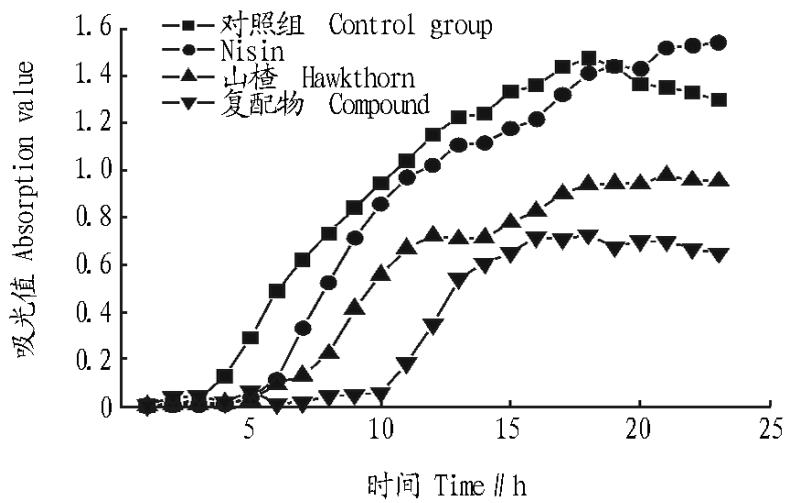


图3 复配物和Nisin对大肠杆菌的抑制作用

Fig.3 The inhibition of compound and Nisin product on *E. coli*

2.2.2 复配物对大肠杆菌的抑制效果。大肠杆菌G菌的细胞壁结构复杂,没有与nisin相结合的磷壁酸^[6],所以nisin不抑制大肠杆菌。由图3可知,山楂提取物对大肠杆菌有一定的抑制作用,但其抑制效果低于复配物。复配物延缓了大肠杆菌进入稳定期和对数生长期的时间,使菌量远低于对照组。

2.2.3 复配物对酿酒酵母的抑制效果。酿酒酵母为真菌,具有完整的细胞结构,且细胞结构较细菌复杂,所以该真菌不受nisin抑制^[6]。由图4可知,加入复配物的酵母菌在38 h后才进入稳定生长期,且菌量低于对照组。山楂提取物提高了nisin对酵母菌的敏感性,两者配合使用对酵母菌具有强烈的抑制作用。

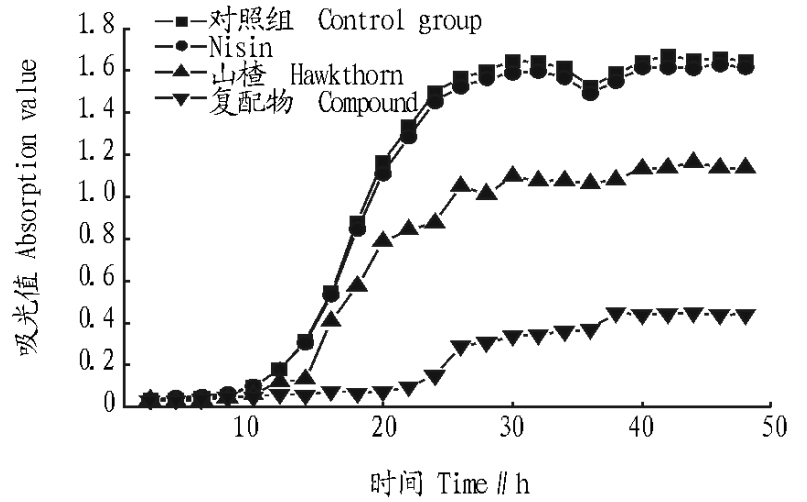


图4 复配物和Nisin产品对酿酒酵母菌的作用

Fig.4 The inhibition of compound and Nisin product on *S. cerevisiae*

3 讨论

天然食品防腐剂nisin目前主要应用于乳品和肉制品行业,其抑菌效率较高,但抑菌谱较窄,因此其在淀粉类食品及果品保鲜行业的应用受到限制。山楂是一种药食兼用型植物,具有广谱抑菌性,与nisin复配后具有较高的抑菌效率和抑菌谱,可应用于更多食品加工和保鲜行业。且山楂独特的风味在一些特定食品中具有较大的应用价值。

天然植物提取物与nisin复配是开发食品防腐剂的新的发展方向。但复配物的作用机理还需进一步研究。天然植物提取物与nisin复配防腐剂具有抗菌性强、安全无毒、作用范围广等优点,在食品工业中会受到越来越广泛关注和重视。

参考文献

- [1] BOZARSI S, ADAMS MR. Effect of chelators and nisin produced in situ on inhibition and inactivation of Gram negatives [J]. *International Journal of Food Microbiology*, 1999(53): 105-113.
- [2] 李书华. Nisin及其在果蔬制品中的应用 [J]. *食品研究与开发*, 2005(4): 22-25.
- [3] 丁克清. 中草药防腐剂 [J]. *长江大学学报: 自然科学版*, 2006(12): 350-353.
- [4] 周邦靖. 常用中药的抗菌作用及其测定方法 [M]. 重庆: 科技技术文献出版社重庆分社, 1987.
- [5] 张国只, 陈林海. 琼脂扩散法测定乳链菌肽效价的优化 [J]. *食品科学*, 2007(3): 175-179.
- [6] ARANHA C, GUPTA S, REDDY K V R. Contraceptive efficacy of antimicrobial peptide nisin: in vitro and in vivo studies [J]. *Contraception*, 2004, 69: 333-338.