

# 氯化钠提高足球菌素 ISK-1活性的作用

陈洁明 高大维

(华南理工大学轻工食品学院轻化所 广州 510641)

木村宏和 园元谦二 石崎文彬

(九州大学农学部微生物工学实验室 日本 813)

**摘 要** 研究了足球菌 ISK-1 发酵中 NaCl 对足球菌素 ISK-1 活性的影响。在 MRS 培养基中添加 8% 的 NaCl, 发酵 21~24h, 足球菌素 ISK-1 活性达到最高, 比无 NaCl 时提高 25%。表明 NaCl 具有提高足球菌素 ISK-1 活性的作用。

**关键词** 足球菌素 ISK-1, 足球菌 ISK-1, 乳酸菌, 杆菌素

乳酸菌是食品工业中重要的细菌, 由于它在发酵中能产生杆菌素<sup>[1,2]</sup>, 近年来吸引了越来越多的研究兴趣。杆菌素是蛋白质类抑菌物质, 它对近缘的细菌具有抑菌作用, 有的可以抑制食品腐败菌和病原性细菌的滋生, 因此可用来作天然食品保鲜剂<sup>[3]</sup>。目前, 乳酸链球菌产生的乳酸链球菌素是唯一被 WHO 正式认可的可用作食品保鲜剂的杆菌素<sup>[4]</sup>, 但其它的杆菌

素如足球菌素等还处于研究阶段。

足球菌 ISK-1 是石崎先生的实验室从 Nukadoko 中分离出来的一种乳酸菌, 它在发酵中能产生杆菌素-足球菌素 ISK-1。该杆菌素属于羊毛硫胺杆菌素类<sup>[2,5]</sup>, 具有较广的抗菌谱和较宽的 pH 稳定性, 酸性条件下耐热。这些性质

---

1997-02-21 收稿

显示了它具有作为食品保鲜剂的潜力。

目前, 足球菌 ISK-1 产生足球菌素 ISK-1 的机理尚不清楚。本文研究了用足球菌 ISK-1 生产足球菌素 ISK-1 的最佳培养基及 NaCl 对足球菌素 ISK-1 活性的影响, 发现 NaCl 具有提高足球菌素 ISK-1 活性的作用, 而类似的结果尚未见报道。本文还初步探讨了 NaCl 提高足球菌素 ISK-1 活性的机理。

## 1 材料和方法

### 1.1 菌株

1.1.1 发酵菌株: 足球菌 (*Pediococcus* sp.) ISK-1, -80℃ 贮存于含 30% 甘油的 TGC 培养基中, 发酵前增殖两次。平时发酵用菌液保存在 4℃ TGC 培养基中, 每星期增值一次。

1.1.2 指示菌株: 足球酸性乳酸菌 JCM585<sup>T</sup>, 4℃ 保存于 TGC 培养基中。每两星期增殖一次。

### 1.2 培养基

1.2.1 TGC: Difco 实验室 (巯基乙酸培养基, 无葡萄糖)。

1.2.2 MRS: 日本关东化学株式会社, pH7.0。

1.2.3 TGE: 酵母膏 10mg / ml, 蛋白胨 10mg / ml, 葡萄糖 20mg / ml, 吐温 800.2%, MnSO<sub>4</sub> 0.008mg / ml, MgSO<sub>4</sub> · 7H<sub>2</sub>O 0.05mg / ml, pH7.0。

1.2.4 CMG: 酵母膏 5mg / ml, 葡萄糖 20mg / ml, 多聚胨 5mg / ml, NaCl 15mg / ml, pH7.0。

### 1.3 方法<sup>[6]</sup>

## 2 结果

### 2.1 培养基的选择

在不控制 pH 条件下比较 MRS、TGE 和 CMG 三种培养基 (培养基中添加 1%CaCO<sub>3</sub>) 对细胞生长和足球菌素 ISK-1 活性的影响。MRS 最有利于细胞生长, TGE 次之而 CMG 较不利于细胞生长。MRS 和 TGE 培养基中所产生的足球菌素 ISK-1 活性较高且相差不大, CMG 培养基中所产生的足球菌素活性较前两者约低一倍。从有利于细胞生长并产生较高的足球菌素活性两方面考虑, 选择 MRS 作为生产足球菌素 ISK-1 的发酵培养基。

### 2.2 NaCl 浓度对足球菌素 ISK-1 活性的影响

研究以 MRS 作为培养基, 不同浓度 NaCl 对足球菌素 ISK-1 活性的影响。所添加的 NaCl 浓度分别为 0, 4%, 8%, 12%, 细胞的生长情况以及足球菌素 ISK-1 抗菌活性如图 1 所示。

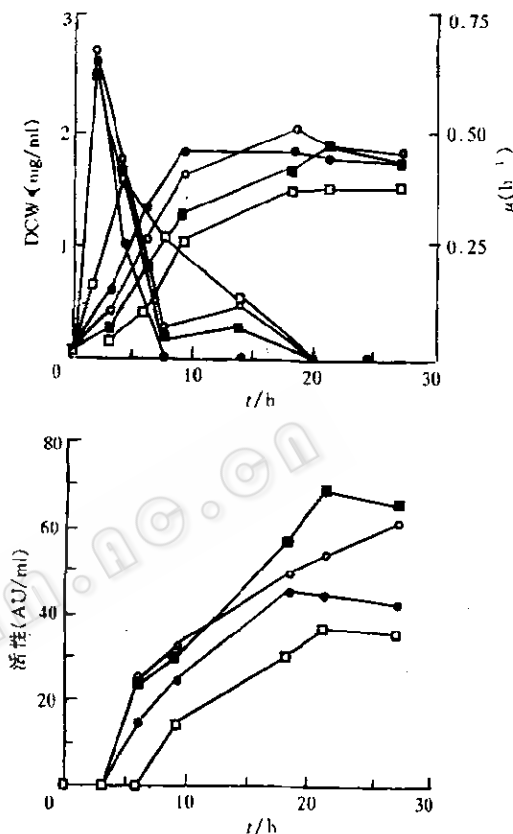


图1 NaCl 浓度对细胞生长和足球菌素 ISK-1 活性的影响

● NaCl 0% ○ NaCl 4% ■ NaCl 8% □ NaCl 12%

从上图可见, 在对数增殖期, 随着培养基中 NaCl 浓度的升高, 细胞的生长量和比生长速率降低, 说明 NaCl 在某种程度上延滞了细胞的生长; 当不加 NaCl 的培养基中细胞进入稳定生长期后 (比生长速率为 0), 含有 NaCl 的培养基中细胞继续生长, 含有 4% 和 8% NaCl 的培养基中的细胞生长量超过不含 NaCl 的培养基中的细胞生长量, 而含 12% NaCl 的培养基中的细胞生长情况不理想。细胞的比生长速率在培养 1.5h 左右达到最高, 但培养 3h 后才可以测到抗菌活性 (12% NaCl 的除外), 21h 左右达到最高, 大部分的足球菌素 ISK-1 产生于对数增长后期, 因而可

以说足球菌素 ISK-1 是次级代谢产物。添加 8% NaCl 的培养基中得到最大的抗菌活性。

### 2.3 控制 pH 条件下 NaCl 对足球菌素 ISK-1 活性的影响

pH 对细胞的生长和足球菌素 ISK-1 的产生有很大的作用。为了进一步了解在控制 pH 条件下 NaCl 对足球菌素 ISK-1 活性的影响, 选择促进足球菌素 ISK-1 产生的 NaCl 的最佳浓度 8%, 在控制 pH6.0 的条件下进一步研究。发现细胞生长量在控制 pH 时要在不控制 pH 时高得多; 而在控制 pH6.0 的条件下, 细胞在不含 NaCl 的培养基中的生长情况要比在含 8% NaCl 的培养基中的生长情况好, 但是 NaCl 提高足球菌素 ISK-1 活性的效果与不控制 pH 时大致相同, 使足球菌素 ISK-1 活性提高约 25%。

### 3 讨论

本文研究了 NaCl 对足球菌素 ISK-1 活性的影响。培养基中加入高浓度 NaCl 形成高渗环境, 对细胞产生胁迫作用, 不利于细胞的生长, 反而诱导了杆菌素的产生<sup>[7]</sup>。根据这种思路, 对细胞生长有毒害作用的乙醇也应能促进足球菌素 ISK-1 的产生。已有实验证明, 足球菌 ISK-1 培养基中加入 10% 的清酒可促进 L-乳酸的产生<sup>[8]</sup>。NaCl 对提高足球菌素 ISK-1 的活性可能还有以下作用:  
①足球菌素 ISK-1 易于吸附到细胞表面, 阻碍了

其进一步产生。NaCl 能够阻止足球菌素 ISK-1 吸附到细胞表面, 有利于提高足球菌素 ISK-1 的活性。此猜想已由有关实验证实(未发表)。②阻止足球菌素 ISK-1 的凝聚。③使树脂和足球菌素 ISK-1 的相互作用增强, 当用  $tC_{18}$  Sep-Pak 柱处理样品时, 可洗脱出较多的 pediocin ISK-1。

足球菌 ISK-1 可耐盐, 当盐浓度达到 12% 时, 仍能产生较高的足球菌素 ISK-1 活性, 可以用来抑制含盐食品中的腐败菌和病原性细菌。

### 参考文献

- [1] Piard J C, Desmazeaud M J, Lait, 1991, 71:525~541.
- [2] De Vuyst L, Vandamme E J. Bacteriocins of Lactic Acid bacteria: Microbiology, Genetics and Applications, 1994, 91~142. Edited by L. De Vuyst & E. J. Vandamme. London: Blackie, Academic & Professional.
- [3] Ray B, Daeschel M. Food Biopreservatives of Microbial Origin, Florida: CRC Press, 1992.
- [4] Matsusaki H, Endo N. J Fac Agr Kyushu Univ, 1995, 40 (1,2).
- [5] Klaernerhammer T R. FEMS Microbiol Rev, 1993, 12: 39~85.
- [6] 陈洁明, 高大维, 木村宏和等. 中国乳品工业. 1997, 3.
- [7] De Vuyst L, Callewaert R, Crabbe K *et al*. Microbiology, 1996, 142:817~827.
- [8] Etny H, Ishizaki A. J Fac Agr Kyushu Univ, 1996, 41:(1,2).

## EFFECT OF NaCl ON IMPROVING THE ACTIVITY OF PEDIOCIN ISK-1

Chen Jieming Gao Dawei

(Light Industry Institute, South China University of Technology, Guangzhou 510641)

Hirokazu Kimura Kenji Sonomoto Ayaaki Ishizaki

(Microbiology Laboratory, Department of Food Engineering, Faculty of Agriculture, Kyushu University, Fukuoka 813, Japan)

**Abstract** The effect of NaCl on the production of pediocin ISK-1 by *Pediococcus* sp. ISK-1 was studied. Considerable attention has been focussed on the relationship between the metabolite production of bacteriocin and cell growth. Supplement of 8% NaCl to MRS medium produced the highest antimicrobial activity, which can be more than 25% higher.

**Key words** Pediocin ISK-1, *Pediococcus* sp. ISK-1, Lactic acid bacteria, Bacteriocin