

棘托竹荪发酵液的抑菌作用研究

暴增海¹, 周超¹, 夏振强¹, 孔德平², 王增池³, 马桂珍¹

(1. 淮海工学院 食品工程学院, 江苏 连云港 222005; 2. 沧州农林科学院, 河北 沧州; 3. 沧州职业技术学院, 河北 沧州 060001)

摘要:研究了棘托竹荪发酵液对大肠杆菌等7种常见食品腐败菌的抑菌效力(抑菌圈直径)。结果表明:提取液都有一定的抑菌作用,预示棘托竹荪有作为药品和天然食品杀菌剂开发的潜力。

关键词:棘托竹荪;发酵液;抑菌作用

中图分类号:S 646.8 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2010)03-0171-03

棘托竹荪(*Dictyophora echinovolvata*)属担子菌亚门腹菌纲鬼笔科竹荪属真菌,分布于我国的湖南和贵州地区,现已推广到我国南方各省进行人工栽培^[1]。棘托竹荪是一种名贵的食用菌,香气浓郁,脆嫩爽口,又具有降低血液中脂肪、胆固醇和延缓食品腐败的功能。谭敬军等研究了长裙竹荪的乙酸乙酯、丙酮和乙醇等浸提浓缩液对细菌、酵母菌、霉菌的抑制作用^[2];檀东飞等研究了棘托竹荪子实体挥发油、乙酸乙酯提取物和正己烷等提取物的抑菌作用^[3],但对棘托竹荪发酵液抑菌作用研究甚少。现对棘托竹荪发酵液的抑菌进行试验,旨在为棘托竹荪在食品防腐方面开发利用奠定基础。

1 材料与方法

1.1 试验材料

棘托竹荪(*D. echinovolvata*)引自华中农业大学;金黄色葡萄球菌(*Staphylococcus aureus*)、大肠杆菌(*Escherichia coli*)、枯草芽孢杆菌(*Bacillus subtilis*)、蜡状芽孢杆菌(*Bacillus cereus*)、啤酒酵母(*Saccharomyces cerevisiae*)、黑曲霉(*Aspergillus niger*)、桔青霉(*Penicillium citrinum*)由淮海工学院微生物研究室保存。

1.2 培养基

1.2.1 种子培养基 液体种子培养基:20%土豆,2.0%蔗糖,0.2%酵母膏,0.1%硫酸镁,0.2%磷酸二氢钾,1.0 mgV-B₁,pH值自然。每瓶加30粒玻璃珠,500 mL三角瓶装量100 mL。

1.2.2 发酵培养基 1%玉米淀粉,2%葡萄糖,1%豆饼粉,0.1%硫酸镁,0.2%磷酸二氢钾,0.4%酵母膏,1.0 mgV-B₁,pH值自然。500 mL三角瓶装量100 mL。

1.2.3 活化用培养基 牛肉膏蛋白胨培养基,PDA培养基。

1.3 测定项目及方法

1.3.1 菌种活化培养 将试验所需棘托竹荪、细菌、霉菌、酵母菌接种于斜面培养基进行活化,细菌37℃恒温培养,棘托竹荪、霉菌、酵母菌28~30℃恒温培养。

1.3.2 受试菌的准备 将受试菌接入斜面培养基活化,然后制备受试菌株悬浮液。霉菌孢子、啤酒酵母用血球计数板计数,霉菌菌悬液孢子数为10⁵个/mL,啤酒酵母数为10⁶个/mL。对于细菌,在活化的斜面上勾取一环于5 mL液体培养基中37℃培养6~8 h,使菌数达到10⁶个/mL^[4]。

1.3.3 制备发酵液 棘托竹荪经过PDA培养基试管斜面活化后,分别用接种钩刮取3~4块0.5 cm²大小的菌丝块,接入到150 mL/500 mL三角瓶种子培养基中。放入恒温振荡培养箱,28℃、160 r/min培养5 d,待形成均匀的小米粒大小的菌丝球后将三角瓶取出。用可调式移液器以10%的比例接入到发酵培养基中进行培养,6 d后取出,4 000 r/min离心10 min,取发酵上清液用细菌过滤器(直径0.2 μm)过滤,得无菌发酵液。该发酵液用旋转蒸发仪适当浓缩,备用。

1.3.4 发酵原液类管碟法 将各种待试菌悬液各取0.5 mL于相应固体培养基制成含菌平板,待冷却后,于平板背面用记号笔在中心位置标记,然后用直尺在距中心2.5 cm远处平均作4处标记。再用无菌打孔器(直径8 mm),以无菌操作在周围4处标记打孔,用镊子夹取无菌滤纸片轻轻贴于打好的孔上。用移液枪小心滴加100 μL上清液于相应位置滤纸片上,待发酵液完全渗透后去掉滤纸片。以细菌作为指示菌的37℃恒温培养,以酵母、霉菌为指示菌的28~30℃恒温培养,24 h后观察平板,记录抑菌结果或拍照。

1.3.5 菌丝体丙酮提取液滤纸片法 首先用无菌水洗涤棘托竹荪发酵液离心后的菌丝球,然后用组织捣碎机捣碎2 min,加入等体积的丙酮在恒温摇床上浸提,2 d后离心去除菌体,上清液用细菌过滤器(直径0.2 μm)过

第一作者简介:暴增海(1962-),男,河北沧州人,硕士,教授,现主要从事抗菌微生物及其作用机理研究工作。

收稿日期:2009-10-28

滤,并用旋转蒸发仪适当浓缩,备用。测定方法:滤纸片法^[5]。

1.3.6 食物防腐试验 将猪肉(肥瘦各半)、豆腐、面条,分成若干份,做熟。分别加入棘托竹荪发酵原液和菌丝体丙酮提取液各 2.5 mL 置 35~37℃下保温 48 h,肉眼观察食品变化。食物防腐试验:将石膏水豆腐切块、猪肉切片,用发酵液涂于表面;面条熟后捞出冷却,置于 9 cm 培养皿一满皿,加发酵液拌匀,以加 2.5 mL 水为空白对照。

2 结果与分析

2.1 抑菌试验

表 1 棘托竹荪发酵液的抑菌活性(抑菌直径/mm)

供试菌种	空白对照	发酵原液	菌丝体丙酮提取物
金黄色葡萄球菌 <i>S. aureu</i>	0	21.5	17.6
大肠杆菌 <i>E. coli</i>	0	21.6	19.5
枯草芽孢杆菌 <i>B. subtilis</i>	0	17.8	15.5
蜡状芽孢杆菌 <i>B. cereus</i>	0	21.5	17.3
啤酒酵母 <i>S. cerevisiae</i>	0	22.7	16.7
黑曲霉 <i>A. niger</i>	0	24.4	13.4
桔青霉 <i>P. citrinum</i>	0	25.5	23.5

棘托竹荪发酵液对几种供试菌种的抑制作用见表 1。

棘托竹荪发酵原液对供试真菌——啤酒酵母(*S. cerevisiae*)、黑曲霉(*A. niger*)、桔青霉(*P. citrinum*)的结果表明,菌丝在发酵液渗透处出现停滞现象,形成了一定透明圈(见图 1)。

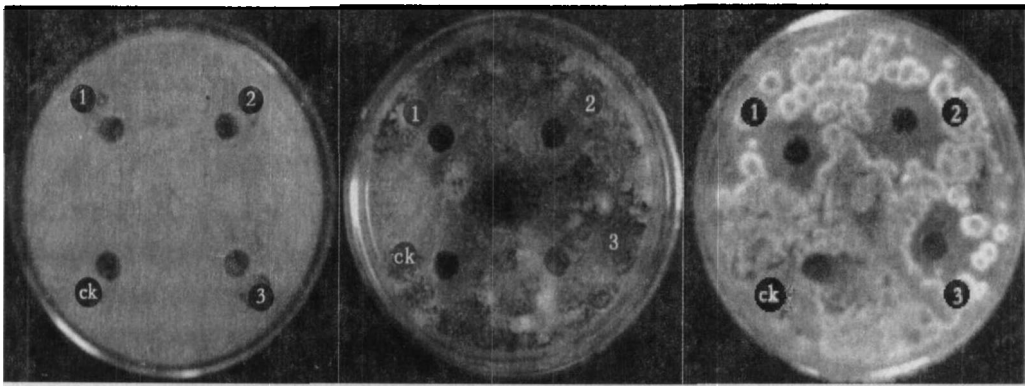


图 1 棘托竹荪发酵原液对啤酒酵母、黑曲霉、桔青霉的抑菌作用

注:图中,孔 1、2、3 注发酵原液,CK 注无菌水。

从表 1 和图 1 明显的看出,棘托竹荪发酵原液中含有抑菌成分,对 7 类受试菌的生长均有抑制作用,但是对不同的菌拮抗作用差异明显,其中对桔青霉、黑曲霉、啤酒酵母和大肠杆菌的抑菌效力最为显著,对枯草芽孢杆菌的抑制作用相对较弱。菌丝体丙酮提取液也都有

较宽的抑菌活性,对大肠杆菌、金黄色葡萄球菌、蜡状芽孢杆菌有较强的抑制,而对黑曲霉作用较弱。同时也说明抗菌活性物质不但分泌到胞外,而且在胞内也有大量留存且抑菌效果比较明显。

表 2

棘托竹荪发酵液食物防腐试验结果

食物	空白对照	发酵原液处理	菌丝体丙酮提取物处理
豆腐	长霉	馥味较淡,未长霉,质地无明显变化	馥味较淡,未长霉,质地无明显变化
面条	霉味浓	稍有异味,未长霉,质地无明显变化	稍有异味,未长霉,质地无明显变化
猪肉	表面粘滑,馥味浓,长菌多	无异昧,未长霉,质地无明显变化	无异昧,未长霉,质地无明显变化

2.2 竹荪发酵液食物防腐试验结果

从表 2 可知,对照系列明显变坏,而加入发酵原液和丙酮提取物的食物基本保持不变,可见棘托竹荪发酵液的确有抑菌成分存在,具有延缓食品腐败的功能。

3 结论

采用滤纸片法和发酵液管碟法测定了供试棘托竹荪菌株抗菌活性,发现该菌株能产生活性较高、抗菌谱较广的抗菌物质。由于棘托竹荪是一类美味珍稀的食用真菌,从各方面的报道来看,越来越多的研究者认为食(药)用真菌中所产生的活性物质是天然无毒的。因此,以棘托竹荪为材料进行医药、食品防腐剂等项目的开发不但意义重大而且前景广阔。关于其有效成分和

抑菌机理有待进一步探讨。

参考文献

[1] 暴增海,马桂珍.我国的竹荪资源及其开发利用[J].自然资源,1994(3):68-71.
[2] 谭敬军,胡亚平,吴哈哈.竹荪抑菌作用研究[J].食品科学,2000,21(10):54-56.
[3] 檀东飞,黄儒珠 卢真,等.棘托竹荪菌托的化学成分及抑菌活性研究[J].菌物学报,2006.25(4):603-610.
[4] 祖若夫,胡宝龙,周德庆.微生物学实验教程[M].上海:复旦大学出版社,1993(1):296.
[5] 郭爱莲,吴重华.几种香辛料防腐作用的初步研究[J].食品科学,1995,16(5):7-10.
[6] 白喜婷,朱文学,罗磊,等.牡丹籽提取物的抑菌特性研究[J].中国酿造,2009(3):59-62.

壳寡糖在黑木耳生产中的应用

袁建平¹, 高永阔¹, 刘小杰², 马立芝¹

(1. 廊坊师范学院, 河北 廊坊 065000; 2. 廊坊市农业科学院, 河北 廊坊 065000)

摘要:研究了壳寡糖对黑木耳生产的影响。结果表明:适当低浓度的壳寡糖对黑木耳的菌丝生长具有促进作用,可明显缩短菌丝萌发及满袋时间,同时可显著提高黑木耳菌丝生长过程中纤维素酶的活力。

关键词:壳寡糖;黑木耳;纤维素酶;应用

中图分类号:S 646.6 **文献标识码:**B **文章编号:**1001-0009(2010)03-0173-02

壳寡糖也称几丁寡糖,其水溶性好、生物活性高,在诸多领域应用广泛^[1-2]。黑木耳是一种食药兼用、经济价值很高的食用菌^[3]。该研究将壳寡糖应用于黑木耳生产的多个环节,探讨壳寡糖对黑木耳菌丝生长的影响,为改良黑木耳生产工艺、提高经济效益提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

壳寡糖:由廊坊师范学院生科院微生物实验室制备提供;黑木耳母种“黑 29”菌种,购于黑龙江省科学院微生物研究所;培养基:①黑木耳液体菌种培养基^[4]:葡萄糖 3%,麦麸汁 8%, KH_2PO_4 0.1%, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.15%,土豆汁 20%, VB_1 0.01%,pH5.0。②黑木耳固

体栽培料^[5]:棉皮 92%,麦麸 3%,石灰 5%, KH_2PO_4 0.2%, MgSO_4 0.2%。③ PDA 培养基^[5]。

1.2 试验方法

1.2.1 黑木耳液体菌种的制备 将黑木耳母种于 PDA 斜面 28℃活化培养 7 d,后转接于黑木耳液体菌种培养基中,28℃静置 48 h 后,于恒温振荡器中,28℃,180 r/min,振荡培养 7 d,制得黑木耳液体菌种^[4,6]。

1.2.2 壳寡糖对黑木耳菌丝生长的影响 将壳寡糖按照 0.01、0.001、0.0001 mg/mL 的浓度添加于 PDA 培养基中,同时设空白对照,而后从黑木耳液体菌种中取一菌丝球接种于 PDA 平板中央,每组 20 重复,28℃恒温培养,每 1 h 观察 1 次菌丝球的萌发情况,出现萌发后改为每 0.5 h 观察 1 次,记录各试验组的菌丝萌发时间。各试验组萌发后的菌丝球继续培养,并每隔 24 h 测量 1 次菌落直径,计算各试验组菌丝的生长速度^[7]。

1.2.3 壳寡糖在黑木耳栽培中的作用 将壳寡糖按照 0.01、0.001、0.0001 mg/g 的比例添加于黑木耳固体栽培料中,同时设空白对照,每个处理 20 重复。将黑木耳

第一作者简介:袁建平(1971-),男,硕士,副教授,研究方向为微生物育种与应用。

基金项目:河北省教育厅科学研究计划资助项目(2008323);廊坊师范学院科研资助项目(LSZ200604)。

收稿日期:2009-11-06

Study on Bacteriostatic Action of *Dictyophora echinovolvata* Fermentation Broth

BAO Zeng-hai¹, ZHOU Chao¹, XIA Zhen-qiang¹, KONG De-ping², WANG Zeng-chi³, MA Gui-zhen¹

(1. School of Food Engineering, Huaihai Institute of Technology, Lianyungang Jiangsu 222005; 2. Agricultural and Forestry Academy of Cangzhou, Cangzhou, Hebei 060001, China; 3. Cangzhou Vocational Technology College, Cangzhou, Hebei 060001)

Abstract: The bacteriostatic action (inhibition zone diameter) of fermentation broth on the Eicoli ect seven kinds of common food spoilage organisms was studied on kinds of common food spoilage organisms antibacterial effect (inhibition zone diameter). The results showed that the extract of the tested strains had certain bacteriostasis that *Dictyophora echinovolvata* had as drugs and natural foods to develop the potential of fungicides.

Key words: *Dictyophora echinovolvata*; fermentation broth; antimicrobial activity