

抗猪链球菌戊糖乳杆菌素的纯化及特性研究

武朋朋 刘国荣 畅晓渊 张香美 李平兰*

(中国农业大学 食品科学与营养工程学院,北京 100083)

摘要 对分离自健康未断奶仔猪粪便的抗猪链球菌的戊糖乳杆菌 LPL1-5 所产细菌素进行提取、纯化,以及理化及生物学特性研究。戊糖乳杆菌 LPL1-5 所产细菌素经饱和度为 80% 的硫酸铵盐析、葡聚糖凝胶树脂 G-10 层析和 SP Sepharose Fast Flow 阳离子树脂交换层析可得到纯化的细菌素,其比活力为 1 732.16 AU/mg,纯度较发酵液提高了 26.37 倍;Tricine-SDS-PAGE 凝胶电泳及活性检测试验结果显示,3 313~5 856 u 范围内存在 1 条活性蛋白带;纯化后细菌素特性分析发现,该细菌素具有良好的热稳定性、酸耐受性及溶解性,并基本确定其等电点为 8.7;胃蛋白酶、胰蛋白酶、中性蛋白酶和蛋白酶 K 处理可使细菌素完全失活;该细菌素抑菌谱较广,不仅对猪链球菌 (*Streptococcus suis*)、单核细胞增生李斯特氏菌 (*Listeria monocytogenes*)、金黄色葡萄球菌 (*Staphylococcus aureus*) 等革兰氏阳性菌有明显抑制作用,同时对大肠杆菌 (*Escherichia coli*) 及假单胞菌 (*Pseudomonas* spp.) 等革兰氏阴性菌也表现出抑菌活性,具有作为食品防腐剂良好的应用前景。

关键词 细菌素; 戊糖乳杆菌; 纯化; 特性

中图分类号 Q 939.117.06

文章编号 1007-4333(2011)05-0121-06

文献标志码 A

Purification and characterization of pentocin against *streptococcus suis*

WU Peng-peng, LIU Guo-rong, CHANG Xiao-yuan, ZHANG Xiang-mei, LI Ping-lan*

(College of Food Science and Nutritional Engineering, China Agricultural University, Beijing 100083, China)

Abstract Purification and characterization of an anti-*streptococcus suis* bacteriocin produced by *Lactobacillus pentosus* LPL1-5, isolated from faeces of healthy piglets, were studied. The bacteriocin was purified by 80% ammonium sulphate precipitation, Sephadex G-10 gel filtration chromatography and SP Sepharose Fast Flow cation exchange chromatography. And the specific activity of purified bacteriocin reached 1 732.16 AU/mg and the purity was increased by 26.37 fold. Tricine-SDS-PAGE of the purified bacteriocin contained only one active protein band between 3.3 and 5.8 ku. Purified bacteriocin was heat resistant, active at pH values between 2.0 - 8.0 and inactivated by pepsin, trypsin, neutro-proteinase and proteinase K. It also could easily be dissolved in different media and its isoelectric point was 8.7. In addition, the bacteriocin had a broad inhibitory spectrum. It not only had a strong antimicrobial effect on gram-positive, such as *streptococcus suis*, *Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus aureus* and etc, but also could inhibited several gram-negative bacteria, such as *Escherichia coli*, *Pseudomonas* spp and etc. These results indicated that the bacteriocin has a potential application as food additives and bio-preservatives in food industry.

Key words bacteriocin; *Lactobacillus pentosus*; purification; characterization

乳酸菌细菌素是指乳酸菌在代谢过程中由核糖体合成的一类具有抑菌活性的蛋白或多肽类物

质^[1],可被人体降解,无残留,具有作为生物防腐剂应用于食品、饲料等领域的潜力,在食品添加剂、益

收稿日期: 2011-03-11

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(31071591; 30671482)

第一作者: 武朋朋,硕士研究生, E-mail: wu.peng1984@163.com

通讯作者: 李平兰,教授,博士生导师,主要从事食品微生物学和发酵工程研究, E-mail: lipinglan@cau.edu.cn

生素及开发新药等领域受到广泛关注^[2]。自1928年Rogers发现乳酸链球菌素(nisin)以来,新型细菌素的发现层出不穷,迄今已有70余种乳酸菌素,其分子结构、理化性质、抑菌谱及作用方式各不相同。国外对乳酸菌细菌素已进行了大量研究,随着新型细菌素的不断发现,对其研究已深入到分子及基因结构方面。我国是一个乳酸菌资源非常丰富的国家,但对乳酸菌细菌素的研究起步较晚,除nisin外^[3],对其他乳酸菌细菌素的研究尚处于起步阶段,因而广泛开展nisin以外其他新型、广谱、高效乳酸菌细菌素的研究,具有重要的理论和现实意义^[4]。

戊糖乳杆菌广泛用于青贮饲料、腊肠制品、干酪及蔬菜制品的发酵,是目前公认的安全菌。本课题组从健康未断奶仔猪的粪便中分离到一种产细菌素的戊糖乳杆菌LPL1-5^[5],前期研究发现该菌株分泌产生的细菌素对猪链球菌、单核细胞增生性李斯特氏菌等有强烈的抑制作用,显示了其作为天然食品生物防腐剂的发展潜力。本研究拟对戊糖乳杆菌LPL1-5所产细菌素进行提取纯化和理化特性分析,以为该细菌素的工业化生产及应用提供科学参考依据。

1 材料与方 法

1.1 材 料

1) 试验菌株。细菌素产生菌,戊糖乳杆菌LPL1-5,分离自健康未断奶仔猪粪便^[5];细菌素活性检测指示菌,猪链球菌560,购自中国兽医微生物菌种保藏管理中心(CVCC)。

2) 主要试剂。Nisin(10^6 IU/g),浙江银象生物工程有限公 司;葡聚糖凝胶树脂(Sephadex)G-10、阳离子树脂 SP Sepharose FF,均购自 Pharmacia 公司,丙烯酰胺、甲叉双丙烯酰胺、Tricine、SDS、超低相对分子质量蛋白质标准等进口分装;聚乙二醇(PEG)20 000、木瓜蛋白酶、胃蛋白酶、胰蛋白酶、蛋白酶 K、酸性蛋白酶、中性蛋白酶、溶菌酶、淀粉酶,均购自美国 Sigma 公司;其他试剂均为分析纯。

3) 培养基^[6]。MRS 固、液体培养基;TS 固、液体培养基;TSYE 固、液体培养基;营养琼脂(NA)培养基;LB 培养基。

1.2 方 法

1.2.1 细菌素效价和蛋白质浓度测定

1) 细菌素效价测定方法。以nisin为标准品,制作nisin-猪链球菌标准曲线,以标准曲线法测效价^[7]。

2) 蛋白质浓度测定方法^[8]。紫外分光光度法:于紫外分光光度计上检测 A_{280} 值,跟踪检测纯化过程中蛋白浓度。

1.2.2 戊糖乳杆菌素 LPL1-5 的纯化及相对分子质量的测定^[5,9-11]

1) 制备发酵上清液。将培养至对数期的戊糖乳杆菌LPL1-5,按 1.0×10^5 CFU/mL的接种量接入起始pH 6.5的MRS液体培养基,34℃静置发酵32 h,发酵液8 000 r/min离心10 min,收集发酵上清液。

2) 硫酸铵沉淀浓缩。向发酵上清液中缓慢添加经研磨过的硫酸铵粉末,至饱和度为80%,缓慢搅拌1 h,置于4℃冰箱中静置12 h。10 000 r/min,4℃低温离心10 min,将沉淀复溶于原体积1/10的磷酸盐缓冲液(pH 6.5)中,然后装于3 500 u的透析袋中对去离子水透析脱盐,用BaCl₂跟踪检测去离子水中的SO₄²⁻,没有白色沉淀出现则透析完毕。透析后的液体用聚乙二醇20 000浓缩至透析前体积,存放于4℃冰箱中待用。

3) 凝胶层析。采用Sephadex G-10,以0.02 mol/L磷酸盐缓冲液(pH 6.5)为洗脱液,0.5 mL/min流速,0.5 mL上样量进行洗脱。

4) 阳离子树脂层析。采用阳离子树脂 SP Sepharose FF 25 mL,用0.02 mol/L,pH 6.5磷酸盐缓冲液平衡层析柱,以1.5 mL/min的流速,1 mL的上样量,含0.1~0.5 mol/L NaCl的磷酸盐缓冲液进行梯度洗脱。

5) 相对分子质量的测定。采用Tricine-SDS-PAGE检测戊糖乳杆菌素LPL1-5相对分子质量及纯度。电泳结束后,将胶用灭菌超纯水洗涤1 h,剪下细菌素提取液电泳胶置于含猪链球菌的TSYEB培养基上,37℃培养14 h,观察抑菌区域。

1.2.3 戊糖乳杆菌素 LPL1-5 的稳定性^[12-13]

1) pH 稳定性。分别取0.3 mL的细菌素纯化液(1 191 AU/mL)于试管中。用1 mol/L HCl和1 mol/L NaOH调pH分别为2、3、…、11、12,保持最终容积为1.5 mL;以加双蒸水同比稀释的细菌素液为对照,37℃温育4 h,调pH回至中性(6.5~7.5),测其抑菌活性,进行效价分析。

2) 热稳定性。将细菌素纯化液分别取0.6 mL于小离心管中,水浴热处理60℃15 min、60℃30 min、80℃15 min、80℃30 min、100℃15 min、100℃30 min、121℃20 min,以未热处理的样品为对

照,测其抑菌活性。

3)溶解性。将 0.1 g 纯化后的细菌素冷冻干燥产物分别溶于 10 mL 的纯净水、异丙醇、鲜肉汁中,以等量细菌素溶于发酵上清液作为对照,测其抑菌活性。

4)等电点。取一支试管,加入 1 mL 细菌素纯化液和 2 滴溴酚兰指示剂,此时无沉淀形成。慢慢加入 0.2 mol/L 的盐酸,边加边摇直到有大量沉淀形成,继续滴加盐酸,沉淀逐渐减少直至消失,沉淀最大时的 pH 即为细菌素的等电点。

5)酶敏感性。将不同蛋白酶与细菌素纯化液混合,使酶的终质量浓度为 1 mg/mL,各酶均调之其最适 pH 范围内,同时以同比稀释的细菌素液作为对照,37 °C 温育 4 h,检测细菌素活性。

6)抑菌谱。以细菌素纯化液对各种细菌做抑菌试验。指示菌菌落数为 10⁵ 个/g,检测平板制备时细菌采用倾注法,病原细菌平板置于 37 °C 培养 24 h,乳酸菌平板置于 30 °C 培养 48 h,测量抑菌圈

直径。

2 结果与分析

2.1 戊糖乳杆菌素 LPL1-5 的分离纯化

戊糖乳杆菌 LPL1-5 发酵上清液经饱和度为 80% 的硫酸铵沉淀,3 500 u 透析袋透析后,透析液过 Sephadex G-10 层析柱,得到 2 个洗脱峰,其中第 2 个洗脱峰具有明显抑菌活性(图 1 (a)),将其收集浓缩;将浓缩产物稀释后过阳离子柱,得到 2 个峰,其中第 2 个洗脱峰具有明显的抑菌活性(图 1 (b))。戊糖乳杆菌素 LPL1-5 的分离纯化结果表明(表 1):经过 3 个步骤的分离提纯,细菌素的比活力大幅增加,最终戊糖乳杆菌素 LPL1-5 的比活力可达 1 732.16 AU/mg,纯度较发酵液提高了 26.37 倍,与吕燕妮^[10]对戊糖乳杆菌素 31-1 纯化 17 倍相比,该细菌素的纯度更高;本细菌素回收率为 22.18%,与同类报道的三步提纯细菌素的回收率相比,此回收率较高。

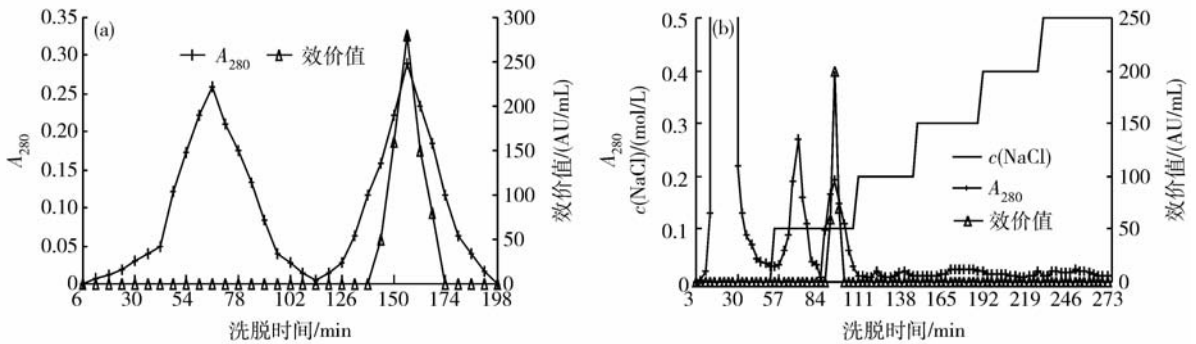


图 1 戊糖乳杆菌素 LPL1-5 凝胶树脂(a)和阳离子交换树脂(b)洗脱曲线

Fig. 1 Purification of pentocin LPL1-5 by gel filtration chromatography and cation-exchange chromatography

表 1 戊糖乳杆菌素 LPL1-5 的纯化效果

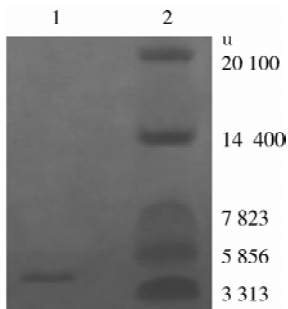
Table 1 Purification of pentocin LPL1-5

样品	体积/mL	总蛋白量/mg	总活力/AU	比活力/(AU/mg)	纯化倍数	回收率/%
中和发酵上清液	300	2 653	167 881.84	63.28	1.00	100
硫酸铵沉淀	10	527.80	119 145.57	225.74	3.56	70.97
凝胶柱层析	10	42.40	49 833.56	1 175.32	18.57	29.68
阳离子柱层析	10	21.50	37 241.44	1 732.16	27.37	22.18

Tricine-SDS-PAGE 电泳显示在 3 300~5 800 u 范围内存在 1 条蛋白质带(图 2)。细菌素提取液

电泳琼脂糖扩散试验表明,该蛋白条带对猪链球菌 CVCC 560 具有显著的抑制作用,基本确定为纯化

后的戊糖乳杆菌素 LPL1-5。



1. 纯化的 pentocin LPL1-5;
2. 超低相对分子质量蛋白(Marker)。

图2 戊糖乳杆菌素 LPL1-5 凝胶电泳图

Fig. 2 Tricine-SDS-PAGE of purified pentocin LPL1-5

2.2 热稳定性

在 80 °C, 15 min 的热处理条件下戊糖乳杆菌素 LPL1-5 活性基本不变, 100 °C 处理 30 min 时其活性仍保持在对照细菌素液活性的 60% 以上, 121 °C 20 min 处理后仍保持有部分活性, 说明本细菌素具有较好的热稳定性。食品加工中常用的巴氏杀菌条件为 65~80 °C, 15 min, 而此细菌素在此条件下活性几乎没有损失, 故可在食品中广泛应用。

2.3 pH 稳定性

戊糖乳杆菌素 LPL1-5 在 pH 2~8 范围内活性都保持在对照细菌素液的 85% 以上, 当 pH > 8 时, 其活性逐渐降低(图 3)。大部分细菌素在酸性条件下稳定, 在中性或碱性条件下即会失活, 但该细菌素在酸性和中性条件下保持稳定, 说明其具有较宽泛的 pH 使用范围, 可在酸性和中性食品中使用。

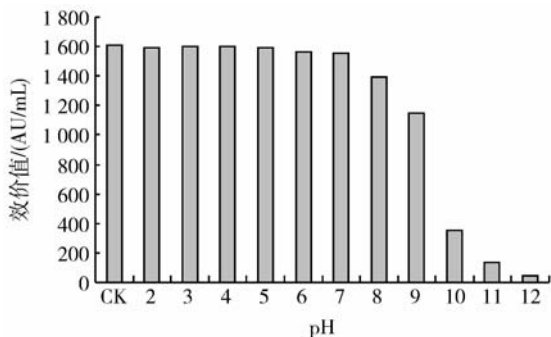


图3 戊糖乳杆菌素 LPL1-5 的 pH 稳定性

Fig. 3 Effect of pH on pentocin LPL1-5

2.4 溶解性

戊糖乳杆菌素 LPL1-5 在纯净水、异丙醇和鲜肉汁中都有良好的溶解性, 其在纯净水、异丙醇、鲜肉汁中的效价分别为对照的 90%、74% 和 71%。

2.5 等电点

戊糖乳杆菌素 LPL1-5 在 pH 8.7 时溶液的浑浊度最高, 可以初步判定该细菌素的等电点为 8.7。说明戊糖乳杆菌素 LPL1-5 在弱碱条件下溶解性较差, 因而不适合添加到弱碱性食品中。

2.6 蛋白酶敏感性

戊糖乳杆菌素 LPL1-5 可以被胃蛋白酶、胰蛋白酶、蛋白酶 K、中性蛋白酶完全失活, 可被酸性蛋白酶和木瓜蛋白酶部分失活, 溶菌酶、 α -淀粉酶不能使细菌素失活(表 2)。可见, 戊糖乳杆菌素 LPL1-5 是一种蛋白类物质, 且由于可被体内的胃蛋白酶、胰蛋白酶、蛋白酶 K 完全降解而不会在体内残留, 因而作为食品防腐剂使用具有较高的安全性。

表2 戊糖乳杆菌素 LPL1-5 的蛋白酶敏感性

Table 2 Effect of various enzymes on pentocin LPL1-5

蛋白酶	最适 pH	抑菌圈直径/mm	是否失活
胃蛋白酶	1.5~2.0	0	+
酸性蛋白酶	2.0~5.0	13.46	(+)
木瓜蛋白酶	3.0~9.0	12.32	(+)
溶菌酶	6.0~7.0	17.18	-
α -淀粉酶	6.0~7.0	17.20	-
胰蛋白酶	7.8~8.7	0	+
蛋白酶 K	5.0~9.0	0	+
中性蛋白酶	5.5~7.5	0	+
对照		17.24	

注: “+”、“(+)”、“-”分别表示完全失活、部分失活和完全不失活。

2.7 抑菌谱

戊糖乳杆菌素 LPL1-5 对试验所用的 2 株链球菌、4 株李斯特氏菌、1 株金黄色葡萄球菌、4 株大肠杆菌、5 株芽孢杆菌、2 株保加利亚乳酸杆菌、4 株植物乳杆菌、1 株弯曲乳杆菌、1 株德式乳杆菌亚种、1 株干酪乳杆菌、1 株副干酪乳杆菌、1 株屎肠球菌、和 1 株假单胞菌均有不同程度的抑制作用; 对 1 株嗜酸乳杆菌、1 株短乳杆菌和 2 株沙门氏菌没有抑制作用(表 3)。由抑菌谱可以看出, 戊糖乳杆菌素 LPL1-5 具有较宽的抑菌范围, 其对受试的猪链球菌、单核细胞增生性李斯特氏菌、金黄色葡萄球菌等革兰氏阳性菌有明显抑制作用, 同时对大肠杆菌及假单胞菌等革兰氏阴性菌也表现出抑菌活性, 故可广泛用于食品防腐抑菌处理。

表 3 戊糖乳杆菌素 LPL1-5 的抑菌谱
Table 3 Antimicrobial spectrum of pentocin LPL1-5

指示菌	抑菌活性	来源	指示菌	抑菌活性	来源
猪链球菌 (<i>Streptococcus suis</i> CVCC 560)	+++	CVCC	植物乳杆菌(<i>Lactobacillus plantarum</i> ATCC 6 538)	++	ATCC
乳酸链球菌 (<i>S. lactis</i> CICC 6 018)	++	CICC	植物乳杆菌(<i>L. plantarum</i> PL1)	++	本实验室
单核细胞增生李斯特氏菌 (<i>Listeria monocytogenes</i> 1/2a)	+++	本实验室	植物乳杆菌(<i>L. plantarum</i> PL2)	++	本实验室
单核细胞增生李斯特氏菌 (<i>L. monocytogenes</i> 54 002)	+++	NICBPB	植物乳杆菌 (<i>L. plantarum</i> L. 557)	++	本实验室
单核细胞增生李斯特氏菌 (<i>L. monocytogenes</i> 4b)	++	本实验室	保加利亚乳杆菌 (<i>L. bulgaricus</i> S-1)	++	本实验室
无害李斯特氏菌 (<i>L. innocua</i> LIN2)	++	本实验室	保加利亚乳杆菌 (<i>L. bulgaricus</i> S-2)	++	本实验室
金黄色葡萄球菌 (<i>Staphylococcus aureu</i> ATCC 6 538)	++	ATCC	德式乳杆菌亚种 (<i>L. delbrueckii</i> subsp <i>lactis</i>)	++	本实验室
大肠杆菌 (<i>Escherichia coli</i> K12)	++	本实验室	弯曲乳杆菌 (<i>L. curvatus</i> L17 120 528)	++	本实验室
大肠杆菌 (<i>E. coli</i> C83 695 O132:987p:H21)	++	NICBPB	干酪乳杆菌(<i>L. casei</i> 99 108)	++	本实验室
大肠杆菌 (<i>E. coli</i> K99 C83 529 O141:K99)	++	NICBPB	副干酪乳杆菌(<i>L. paracasei</i>)	++	本实验室
大肠杆菌(<i>E. coli</i> ATCC 80 739)	++	ATCC	嗜酸乳杆菌(<i>L. acidophilus</i> AL)	-	本实验室
解淀粉芽孢杆菌 (<i>Bacillus amylolique faciens</i>)	+	本实验室	短乳杆菌(<i>L. brevis</i>)	-	本实验室
巨大芽孢杆菌(<i>B. megalerium</i>)	+	本实验室	屎肠球菌 (<i>Enterococcus faecium</i> LM-2)	+	本实验室
蜡样芽孢杆菌(<i>B. cereus</i>)	+	本实验室	沙门氏菌(<i>Salmonella</i> C500)	-	CVCC
枯草芽孢杆菌(<i>B. subtilis</i>)	+	本实验室	肠炎沙门氏菌(<i>S. enteritidis</i>)	-	CGMCC
苏云金芽孢杆菌亚种 (<i>B. thuringiensis</i> subsp <i>ecies</i>)	+	本实验室	假单胞菌(<i>Pseudomonas</i>)	++	本实验室

注：-，表示没有抑制；+，抑菌圈直径<15 mm；++，抑菌圈直径 15~20 mm；+++，抑菌圈直径>20 mm。

ATCC, 美国典型微生物菌株保藏中心; CGMCC, 中国普通微生物菌种保藏中心; CVCC, 中国兽医微生物菌种保藏中心; CICC, 中国工业微生物菌种保藏中心; NICBPB, 中国药品生物制品检定所; 本实验室, 中国农业大学食品应用微生物实验室。

3 讨论与结论

乳酸菌细菌素是一类阳离子高度疏水性多肽，其相对分子质量通常都比较小。它的纯化也是建立在其所带电荷及相对分子质量大小等特征的基础上，通常采用盐析、酸沉、有机溶剂等方法粗提，然后透析或超滤除去盐类物质及杂蛋白，最后用层析的方法，如凝胶层析、离子交换层析和疏水作用层析

(反相色谱)进一步提纯细菌素^[14]。本研究首先用硫酸铵沉淀法进行粗提，此法经济简单，也从另一方面证明了该细菌素的蛋白质性质。凝胶层析研究结果表明，戊糖乳杆菌 LPL1-5 所产细菌素里面混有杂蛋白，杂蛋白和细菌素因相对分子质量大小不同而被凝胶柱分离开，细菌素得到进一步纯化。阳离子层析研究表明，戊糖乳杆菌素 LPL1-5 能被 Sepharose Fast Flow 阳离子交换层析柱吸附，并能

得到洗脱和回收。与熬灵^[15]纯化戊糖乳杆菌素 C50-6, 贡汉生^[16]纯化布氏乳杆菌产细菌素只用阳离子交换层析和张金兰^[17]纯化戊糖乳杆菌素 31-1 只用凝胶层析相比, 本研究纯化方法更为完善, 纯化效果也更为理想。

本研究还对纯化后的戊糖乳杆菌素 LPL1-5 进行了部分理化和生物性质的分析。细菌素应用在食品工业中, 首先要考虑到它的热稳定性, 因为热加工是食品加工中最常用的方法, 戊糖乳杆菌 LPL1-5 产生的细菌素对热稳定。不同的细菌素适用的 pH 范围不同, 大多数在酸性环境下稳定, 作用效果也较好, 但很多细菌素在中性或碱性条件下, 抑菌活性减弱或丧失。戊糖乳杆菌素 LPL1-5 在 pH 2~8 时均有 85% 以上的抑菌活性, 因而有更宽的 pH 适用范围。细菌素只有溶解到食品中才能更好地发挥抑菌作用, 而戊糖乳杆菌素 LPL1-5 在不同溶剂中均有很好的溶解性。对蛋白酶的稳定性是鉴定细菌素蛋白质特性的一个重要方面, 试验发现戊糖乳杆菌素 LPL1-5 能被胃蛋白酶、胰蛋白酶、蛋白酶 K、中性蛋白酶完全失活, 可被酸性蛋白酶和木瓜蛋白酶部分失活, 从而证明该细菌素的蛋白质特性, 人体内又含有胃蛋白酶、胰蛋白酶等能使戊糖乳杆菌素 LPL1-5 完全失活的酶, 故其应用在食品中可被人体消化达到安全无残留的效果。

细菌素抑菌谱是反映抑菌范围和能力大小的重要参数。常见的乳酸菌细菌素抑菌谱报道中, 吕燕妮等^[13]报道的戊糖乳杆菌素 31-1 对乳杆菌有较强的抑菌作用, 但对大肠杆菌没有抑菌作用。戊糖乳杆菌素 LPL1-5 对乳杆菌的抑制作用与其相一致, 但对大肠杆菌有强烈的抑制作用。刘国荣等^[9]报道的肠球菌素 LM-2 对单核细胞增生性李斯特氏菌 (*Listeria monocytogenes* 4b) 和金黄色葡萄球菌 (*Staphylococcus aureus* ATCC 6 538) 没有抑制作用, 而戊糖乳杆菌素 LPL1-5 对上述两株菌有强烈的抑制作用。可见, 戊糖乳杆菌素 LPL1-5 抑菌谱较广, 不仅对猪链球菌, 单核细胞增生性李斯特氏菌, 金黄色葡萄球菌等革兰氏阳性菌有明显抑制作用, 同时还对大肠杆菌及假单胞菌等革兰氏阴性菌也表现出抑菌活性, 有作为食品防腐剂的良好应用前景。初步的特性研究结果表明, 戊糖乳杆菌素 LPL1-5 具有作为天然防腐剂应用开发的潜力, 尤其作为防腐剂应用于肉制品、发酵食品、冷饮甚至奶制品都有良好的基础。

参 考 文 献

- [1] Jack R W, Tagg J R, Ray B B. Bacteriocins of Gram-positive bacteria[J]. *Microbiol Rev*, 1995, 59(2): 171-200
- [2] Cleveland J, Montville T, Chikindas M. Bacteriocins: Safe, natural antimicrobials for food preservation[J]. *International Journal of Food Microbiology*, 2001, 71: 1-20
- [3] Delves-Broughton J. Nisin and its use as food preservative[J]. *Food Technology*, 1990, 40: 100-117
- [4] Sullivan L O, Ross R P, Hill C. Potential of bacteriocin-producing lactic acid bacteria for improvements in food safety and quality[J]. *Biochimie*, 2002, 84: 593-604
- [5] 畅晓渊. 抗猪链球菌产细菌素乳酸菌的筛选及发酵工艺研究[D]. 北京: 中国农业大学, 2010
- [6] 陈天寿. 微生物培养基的制造与应用[M]. 北京: 农业出版社, 1995
- [7] Delgado A, Brito D, Fevereiro P. Bioactivity quantification of crude bacteriocin solutions [J]. *Journal of Microbiological Methods*, 2005, 62: 121-124
- [8] 陆健. 蛋白质纯化技术及应用[M]. 北京: 化学工业出版社, 2005
- [9] Guorong L, Mansel W G, Pengpeng W. *Enterococcus faecium* LM-2, a multi-bacteriocinogenic strain naturally occurring in "Byaslag", a traditional cheese of Inner Mongolia in China[J]. *Food Control*, 2011, 22: 283-289
- [10] Carolissen M V, Arendse G, Hastings J W. Purification of bacteriocins of lactic acid bacteria: Problems and pointers[J]. *International Journal of Food Microbiology*, 1997, 34: 1-16
- [11] Sehaggar H, Jagow G. Tricine—sodium dodecyl sulfate-polyacrylamide gel electrophoresis for the separation of proteins in the range from 1 to 100 kDa [J]. *Analytical Biochemistry*, 1987, 166(2): 368-379
- [12] Gurusiddaiah S, Weller D M, Sarkar A. Characterization of an antibiotic produced by a strain of *Pseudomonas fluorescens* inhibitory to *Gaeumannomyces graminis* var *tritici* and *Pythium* spp[J]. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 1986, 29(3): 488-495
- [13] 吕燕妮, 李平兰, 孙成虎, 等. 戊糖乳杆菌 31-1 菌株所产细菌素的理化及生物学特性[J]. *中国农业大学学报*, 2006, 11(1): 39-43
- [14] Sahar F D, Eva N K, Martin H. Purification and characterisation of acidocin D20079, a bacteriocin produced by *Lactobacillus acidophilus* DSM20079 [J]. *Journal of Biotechnology*, 2005, 117: 343-354
- [15] 敖灵. 戊糖乳杆菌 C50-6 细菌素的纯化和特性研究[D]. 成都: 四川农业大学, 2008
- [16] 贡汉生, 孟祥晨, 刘红娟. 一株布氏乳杆菌所产类细菌素的初步纯化与部分特性[J]. *微生物学通报*, 2008, 35(2): 193-199
- [17] 张金兰. 戊糖乳杆菌素 31-1 的纯化鉴定及对托盘包装冷却肉的防腐保鲜效果研究[D]. 北京: 中国农业大学, 2009