

莎能奶山羊初乳干粉的抑菌作用^{*}

杨晓宇, 冯 铸, 温焕斌, 刘温喜, 陈锦屏

(陕西师范大学 食品工程系, 陕西 西安 710062)

[摘 要] 研究了莎能奶山羊初乳干粉对大肠杆菌(*Escherichia coli*)、绿脓杆菌(*Pseudomonas aeruginosa*)、金黄色葡萄球菌(*Staphylococcus aureus*)和枯草芽孢杆菌(*Bacillus subtilis*)的抑菌作用。结果表明, 莎能奶山羊初乳干粉对大肠杆菌和金黄色葡萄球菌具有显著的抑菌作用, 其抑菌率分别为99.7%和78.6%, 对绿脓杆菌具有一定的抑菌作用, 其抑菌率为19.2%, 对枯草芽孢杆菌无抑菌作用。

[关键词] 莎能奶山羊; 初乳干粉; 免疫球蛋白; 抑菌作用

[中图分类号] S879.1

[文献标识码] A

[文章编号] 1671-9387(2007)03-0200-03

Studies on antibacterial activity of colostrum powder from Shaneng goat

YANG Xiao-yu, FENG Zhu, WEN Huan-bin, LIU Wen-xi, CHEN Jin-ping

(Department of Food Engineering, Shaanxi Normal University, Xi'an, Shaanxi 710062, China)

Abstract: The inhibition of goat colostrum powder on *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus* and *Bacillus subtilis* was studied respectively in this article. The results demonstrated that it showed great inhibitory activity against *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*, whose antibacterial rates were respectively 99.7% and 78.6% and inhibited *Pseudomonas aeruginosa* to some extent, whose antibacterial rate was 19.2%, but it didn't inhibit *Bacillus subtilis* in this experiment.

Key words: Shaneng goat; colostrum powder; immunoglobulin; antibacterial effect

初乳又叫血乳, 因其加热易凝固的特性又被称为胶奶, 它是所有雌性哺乳动物产后7 d内所分泌乳汁的统称^[1]。初乳所含营养物质极为丰富, 其干物质含量较常乳高1.5~2倍, 并含有大量的蛋白质、维生素和矿物质^[2]。据测定^[3], 羊乳中干物质、蛋白质、脂肪、矿物质的含量均超过人乳和牛乳, 维生素B₁、B₂和C的含量丰富, 钴含量较牛乳高6倍, 还含有脑磷脂、苷酸和上皮细胞生长因子(EGF); 羊乳的脂肪球小, 分布均匀, 干酪素含量低于牛乳, 在胃中能凝成细小嫩软的乳块, 比牛乳更容易消化吸收, 其消化率可达94%~98%, 蛋白质结构优于牛乳, 不会引起过敏, 且奶羊不患结核病, 喝羊乳比较安全。因此, 羊奶日益受到消费者的广泛关注, 喝羊奶的人也越来越多, 羊奶已成为老、弱、病、残人的首选

保健品^[4-5]。

初乳中还含有大量的免疫球蛋白(IgG), 它是一种受动物体外来大分子抗原刺激而产生的抗体, 在动物体内具有重要的免疫和生理调节作用, 是动物体内免疫系统最为关键的组成物质之一。研究表明, 免疫球蛋白对许多病原微生物和毒素有抑制作用, 如免疫球蛋白可抑制志贺氏菌(*Shigella*)、沙门氏菌(*Salmonella*)、大肠杆菌(*E. coli*)、肺炎链球菌(*Streptococcus pneumoniae*)、白喉毒素(diphtheria toxin)、破伤风毒素(Tetanus toxin)、链球菌溶血素(pneumolysin)等的生长^[6-8]。因此, 初乳在新生仔畜的营养及免疫等方面发挥着重要的生物学功能^[9]。

目前, 国内外对牛初乳中乳铁蛋白、免疫球蛋白

* [收稿日期] 2006-02-17

[作者简介] 杨晓宇(1974-), 男, 陕西扶风人, 讲师, 博士, 主要从事食品加工与保藏研究。E-mail: yangxy2002@snnu.edu.cn

等的抑菌作用研究较多,但对羊初乳的研究报道较少。本研究采用比浊法,研究了羊初乳中免疫球蛋白对大肠杆菌、绿脓杆菌、金黄色葡萄球菌和枯草芽孢杆菌的抑菌活性,以期对羊初乳的综合利用提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料与仪器

材料: 羊初乳干粉, 实验室自制; 大肠杆菌 (*Escherichia coli*)、绿脓杆菌 (*Pseudomonas aeruginosa*)、金黄色葡萄球菌 (*Staphylococcus aureus*) 和枯草芽孢杆菌 (*Bacillus subtilis*), 均由陕西省微生物研究所提供。

牛肉膏琼脂培养基(BPA)^[10]: 牛肉膏 5.0 g, 蛋白胨 10.0 g, 氯化钠 5.0 g, 琼脂 20.0 g, 加水 1 000 mL 溶解后, 用 0.5 mol/L 氢氧化钠溶液调节 pH 值至 7.2~7.4, 高压灭菌(103.4 kPa, 30 min)。

仪器: W FJ2000 型可见分光光度计, 尤尼柯(上海)仪器有限公司; FM GHX-9080B-1 型隔水式恒温培养箱, FM GHX-9073B-1 型电热鼓风干燥箱, 上海福玛实验设备有限公司; 恒宇 S SW-CJ 净化工作台, 上海跃进医疗器械厂; YXQ-SG46-280SA 不锈钢手提式压力消毒器, 上海佳腾实验设备有限公司; JA 2003N 型电子天平, 上海精密科学仪器有限公司。

1.2 试验方法

1.2.1 菌悬液的制备 将保存的菌种接种于营养琼脂斜面上(若干支), 于 37℃ 培养 24 h, 连续活化两次。经两次活化的试验菌种, 加无菌 PBS 洗涤后

转移至无菌试管, 振荡, 使菌悬液浓度为 $10^6 \sim 10^8$ mL⁻¹。

1.2.2 抑菌试验 准确称取无菌羊初乳干粉 8 g, 用无菌 PBS 40 mL 溶解, 即可得到 200 mg/mL 的羊初乳干粉溶液, 放入冰箱冷藏待用。

试验设对照组和试验组共 2 组, 试验组每支试管中均加入培养基 24 mL, 羊初乳干粉溶液 3 mL, 然后分别加入大肠杆菌、绿脓杆菌、金黄色葡萄球菌和枯草芽孢杆菌菌悬液各 3 mL; 对照组每支试管中均加入 PBS 溶液 3 mL, 加入的培养基和菌悬液与试验组相同。每支试管混匀后, 用 8 层纱布密封, 于 37℃ 恒温培养箱中培养, 于培养 3, 6, 9, 12, 24 h 后测定其 OD_{600 nm} 值, 每组重复 3 次, 最后作标准平板计数, 确定抑菌率, 抑菌率计算公式如下^[11]:

抑菌率/% = (对照组菌数 - 试验组菌数) / 对照组菌数 × 100%。

2 结果与分析

2.1 羊初乳干粉对大肠杆菌的抑菌作用

由图 1 可以看出, 羊初乳干粉对大肠杆菌具有较明显的抑菌作用, 培养 9 h 后其抑菌作用明显加强, 24 h 后稀释平板计数结果表明, 其对大肠杆菌的抑菌率达 99.7% (表 1)。

2.2 羊初乳干粉对绿脓杆菌的抑菌作用

由图 2 可以看出, 羊初乳干粉对绿脓杆菌具有一定的抑菌作用, 在前 6 h 内其抑菌作用不明显, 6 h 后抑菌作用加强, 24 h 后稀释平板计数结果表明, 其对绿脓杆菌的抑菌率为 19.2%。

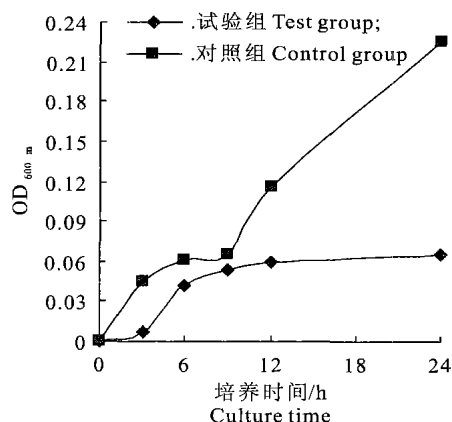


图1 羊初乳干粉溶液对大肠杆菌的生长抑制曲线

Fig. 1 Restrain curve of colostrum powder solution on *E. coli*

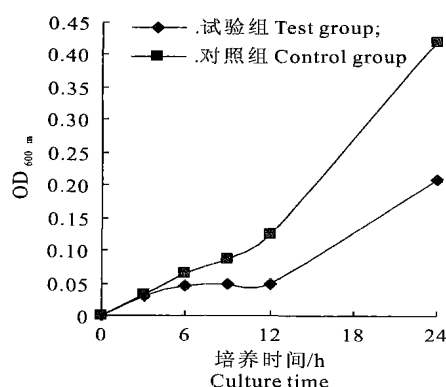


图2 羊初乳干粉溶液对绿脓杆菌的生长抑制曲线

Fig. 2 Restrain curve of colostrum powder solution on *Pseudomonas aeruginosa*

表 1 羊初乳干粉溶液的抑菌试验结果

Table 1 Antibacterial experiment result of Shaneng goat colostrum powder solution

菌种 Microbial strain	菌数 Microbial numbers		抑菌率/% Antibacterial rate
	试验组/ mL^{-1} Test group	对照组/ mL^{-1} Control group	
大肠杆菌 <i>Escherichia coli</i>	1.70×10^{12}	4.64×10^{14}	99.7
绿脓杆菌 <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	1.68×10^{16}	2.08×10^{17}	19.2
金黄色葡萄球菌 <i>Staphylococcus aureus</i>	5.90×10^{10}	2.76×10^{11}	78.6
枯草芽孢杆菌 <i>Bacillus subtilis</i>	8.36×10^{14}	7.97×10^{14}	0

2.3 羊初乳干粉对金黄色葡萄球菌的抑菌作用

由图 3 可以看出, 羊初乳干粉对金黄色葡萄球菌具有很强的抑菌作用, 培养 12 h 后对金黄色葡萄球菌的抑菌作用显著增强, 24 h 后稀释平板计数结

果表明, 其对金黄色葡萄球菌的抑菌率达 78.6%。

2.4 羊初乳干粉对枯草芽孢杆菌的抑菌作用

由图 4 可以看出, 羊初乳干粉对枯草芽孢杆菌无明显的抑菌作用。

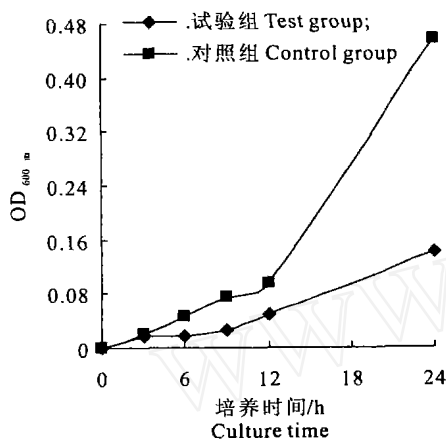


图 3 羊初乳干粉溶液对金黄色葡萄球菌的生长抑制曲线

Fig. 3 Restrain curve of colostrum powder solution on *Staphylococcus aureus*

2.5 羊初乳干粉对 4 种菌抑菌率的比较

由表 1 可以看出, 羊初乳干粉溶液对大肠杆菌和金黄色葡萄球菌具有显著的抑菌作用, 其抑菌率分别为 99.7% 和 78.6%, 对绿脓杆菌具有一定的抑菌作用, 其抑菌率为 19.2%, 对枯草芽孢杆菌无抑菌作用。

3 讨论

在抑菌试验过程中, 培养 6 h 后发现对照组都呈现均匀的混浊现象, 这可能属于细菌在液体培养基中的正常生长繁殖现象, 而大肠杆菌和金黄色葡萄球菌试验组则出现明显的凝集沉淀, 上清液较透明, 将培养物振荡后可见大量的凝集颗粒悬浮于液体中; 培养 12 h 后开始出现大量的 IgG-病原菌凝集物, 而对照组无此现象, 在电镜下观察发现, 上述 2 个试验组的菌体互相凝集成团块, 多者可见到几十

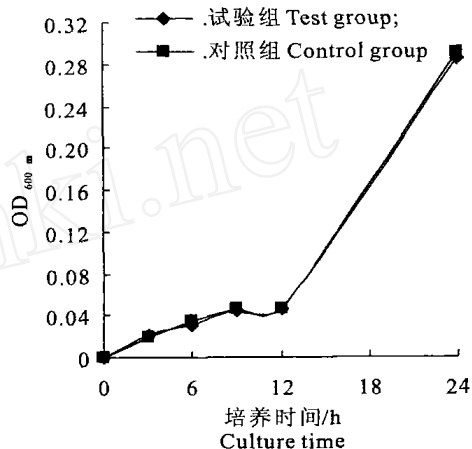


图 4 羊初乳干粉溶液对枯草芽孢杆菌的生长抑制曲线

Fig. 3 Restrain curve of colostrum powder solution on *Bacillus subtilis*

个菌体的凝集物, 散状菌体较少, 对照组中菌体则分散存在于视野中。此凝集现象与有关文献报道相符^[12]。绿脓杆菌试验组的凝集现象明显较大肠杆菌和金黄色葡萄球菌 2 个试验组差, 枯草芽孢杆菌试验组和对照组无明显差异。这进一步验证 OD 值和平板计数的结果是一致的, 即羊初乳干粉溶液对大肠杆菌和金黄色葡萄球菌的生长具有显著的抑制作用, 对绿脓杆菌的生长具有一定的抑制作用, 对枯草芽孢杆菌未表现抑菌作用。

4 结论

抑菌试验结果表明, 莎能奶山羊初乳干粉溶液对大肠杆菌、金黄色葡萄球菌具有显著的抑菌作用, 对绿脓杆菌有一定的抑菌作用, 对枯草芽孢杆菌未表现出抑菌活性。

(下转第 208 页)

缩短MLF的时间。在pH值较低情况下,甘露糖蛋白同样对葡萄酒MLF有很明显的促进作用。葡萄酒pH值调整到3.1后,在20℃的发酵条件下,向加入乳酸菌a、b、c的酒样中再添加甘露糖蛋白,其完成10%发酵分别比各自CK提前了2,4,0d;完成MLF分别比CK提前了6,8,4d。说明加入甘露糖蛋白可以有效加快酸度较高、pH值较低葡萄酒的MLF。葡萄酒中的酚类物质对乳酸菌有一定的抑制或杀菌作用,较高的酚类物质含量会抑制葡萄酒的MLF。由于甘露糖蛋白可以与葡萄酒中的酚类物质有效结合,所以甘露糖蛋白也可以有效促进酚类物质含量高的葡萄酒的MLF。在葡萄酒样中加入2g/L的五倍子酸调整其总酚含量后添加甘露糖蛋白,加入乳酸菌a、b、c的酒样完成10%的发酵分别比CK提前了2,2,0d;完成MLF分别比CK提前了4,4,2d,说明在酚类物质含量较高的情况下添加甘露糖蛋白,也可以加快葡萄酒MLF。

本研究结果表明,人为地向葡萄酒中添加一定量的甘露糖蛋白,可以有效加快葡萄酒MLF的启动,并促进MLF的进程。根据本试验结果,对由于温度较低、pH值较低、酚类物质含量较高等不利因素而导致的葡萄酒MLF启动困难、发酵进程缓慢,可以考虑添加一定量的甘露糖蛋白,以促进MLF。用添加甘露糖蛋白促进MLF,在世界葡萄酒酿造工艺研究中还是一个比较新的课题,在国内的研究更少。要将甘露糖蛋白用于红葡萄酒的实际酿造中,还需要对添加量、添加时机、作用机理等作进一步深入研究。

[参考文献]

- [1] 李 华. 多糖对葡萄酒香气及酒石稳定的作用[J]. 酿酒, 2000, (5): 64-66
- [2] Roger B B, Vernon L, Linda F B, 等. 葡萄酒酿造学——原理及应用[M]. 赵光鳌, 尹卓容, 张继民, 等译. 北京: 中国轻工业出版社, 2001.
- [3] 王 华, 魏冬梅, 张艳芳. 葡萄与葡萄酒实验技术操作规范[M]. 西安: 西安地图出版社, 1999
- [4] 朱宝镛. 葡萄酒工业手册[M]. 北京: 中国轻工业出版社, 1995
- [5] 李 华, 杨新元, 陈新军. 酵母甘露糖蛋白对葡萄酒酒石稳定性影响的研究[J]. 食品科学, 2003, 24(10): 104-107.
- [6] 李小全. 甘露糖蛋白——21世纪的葡萄酒工艺[J]. 中外葡萄与葡萄酒, 1999(4): 79-80
- [7] Ribereau-Gayon P, Glories Y. Handbook of enology [M]. Chichester: John Wiley and Sons Ltd, 2000
- [8] Doco T. Role of polysaccharides in wines [C]//Colloids and Mouthfeel in Wines Montreal: Lallemand & SA, 1999: 23-26
- [9] Feuillat M. The action of polysaccharides on the aromatic and tartaric stabilization in wines [J]. Revue Des Oenologues, 1999, 11(93): 23-28
- [10] Guilloux-Benatier M, Guerreau J, Feuillat M. Influence of initial colloid content on yeast macromolecule production and on the metabolism of wine microorganisms [J]. Am J Enol Vitic, 1995, 46(4): 486-492
- [11] Lauberes R M, Dubourdieu D, Villetaz J C. Exocellular polysaccharides from Saccharomyces in wine [J]. Sci Food Agric, 1987, 41: 277-286
- [12] Feuillat M, Charpentier C, Nguyen V L T. Yeasts, mannoproteins: a new possible oenological adjuvant [C]//Bulletin de l'OIV. Paris: Office international de la vigne et du vin, 1998: 944-967.
- [13] Izquierdo-Torres. Enzymatic preparations to improve the mouthfeel during sensory evaluation [C]//Colloids and Mouthfeel in Wines Montreal: Lallemand & SA, 1999: 27-29
- [14] Saucier C, Roux D, Glories Y. Stabilité colloïdale polymères cataniques influence des polysaccharides [C]//Oenologie 1995 5e Symposium International d'Oenologie Paris: Lavoisier TecDoc, 1996: 395-400

(上接第 202 页)

[参考文献]

- [1] 张丹凤, 陆东林, 徐臻荣, 等. 牛初乳粉生产工艺及其营养价值[J]. 中国乳业, 2002(4): 29-33
- [2] 邢攸荷. 初乳的营养价值与利用技术[J]. 中国饲料, 2004(1): 39-41
- [3] 李树珩, 杨松福. 略谈羊奶的营养价值[J]. 江西畜牧兽医杂志, 1998(4): 48
- [4] 曹斌云, 宋社果, 宋宇轩. 牛羊奶主要营养成分的比较研究[J]. 天津农学院学报, 1996(3): 17-21
- [5] Lidia E. Immunoglobulins, growth factors and growth hormone in bovine colostrum and the effects of processing [J]. International Dairy Journal, 2002, 12: 879-887.

- [6] 郭本恒, 骆承庠. 牛初乳免疫球蛋白变性动力学研究[J]. 食品科学, 1996, 17(7): 10-13
- [7] Clare D A, Catignani G L, Swaisgood H E, et al. Biodefense properties of milk: the role of antimicrobial proteins and peptides [J]. Current Pharmaceutical Design, 2003, 9: 1239-1255
- [8] 李彦峰, 庞广昌, 闫亚丽, 等. 酪蛋白来源新型抗菌肽抗菌活性的初步研究[J]. 食品科学, 2003, 24(12): 34-36
- [9] 杨玉芬, 乔建国. 初乳的重要性[J]. 畜禽业, 2002(3): 10-11
- [10] 王绍树. 食品微生物实验[M]. 天津: 天津大学出版社, 1996: 199
- [11] 杨严峻, 张亚辉, 周培江, 等. 几种免疫活性蛋白抑菌活性的测定[J]. 食品工业科技, 2003, 24(7): 24-25
- [12] 唐东平, 杨炳壮, 岳惠芬, 等. 水牛免疫乳抑菌试验[J]. 动物科学与动物医学, 2003, 20(1): 27-29