

大豆膳食纤维酶解液抑菌性的研究

桂 玲¹, 黄象男², 朱怀梅¹, 常忠义¹, 高红亮¹

(1. 华东师范大学 生命科学院, 上海 200062; 2. 郑州大学 生物工程系, 河南 郑州 450001)

摘要: 用半纤维素酶对大豆膳食纤维进行水解, 研究其不同水解条件及水解液的抑菌活性。结果表明, 在 50℃ 下, pH 4.8 时, 大豆膳食纤维的酶水解液对大肠杆菌、假单孢菌、金黄色葡萄球菌具有明显的抑菌效果, 对乳酸菌的抑菌效果也较明显, 其最低抑菌浓度(MIC) 为 5.9%。由于大豆膳食纤维水解液来源丰富, 制备较易, 将是一种极具开发价值的新型天然食品防腐剂。

关键词: 大豆膳食纤维酶解液; 半纤维素酶; 抑菌作用

中图分类号: S144 文献标识码: A 文章编号: 1000-7091(2008)增刊-0286-03

Bacteriostatic Action of the Soybean Dietary Fiber Hydrolysate

GUI Ling¹, HUANG Xiang-nan², ZHU Huai-mei¹, CHANG Zhong-yi¹, GAO Hong-liang¹

(1. School of Life Sciences, East China Normal University, Shanghai 200062, China;

2. Bioengineering Department, Zhengzhou University, Zhengzhou 450001, China)

Abstract: Soybean dietary fiber hydrolysate was successfully prepared by hemicellulose enzyme. The hydrolysis reaction conditions and the bacteriostatic activity of the enzymatic hydrolysate were tested. The results showed that the hydrolysate had inhibitory activity on *Escherichia coli*, *Pseudomonas sp.*, *Staphylococcus aureus* and *Lactobacillus sp.*. When soybean dietary fiber hydrolysate was hydrolyzed by enzyme at 50℃, pH 4.8, its MIC was 5.9%. The hydrolysate of soybean dietary fiber can be gotten easily, and it was valuable to develop soybean dietary fiber hydrolysate as a new natural food preservative.

Key words: Soybean dietary fiber hydrolysate; Semicellulose enzyme; Bacteriostatic activity

大豆膳食纤维(Soybean dietary fiber)主要是指那些不能为人体消化酶所消化的大分子糖类的总称, 是由纤维素、果胶质、木聚糖和甘露糖等各种多糖组成的化合物, 是一种具有潜在应用价值的生理活性物质^[1,2]。在成熟大豆中的大豆膳食纤维约占全大豆总重量的5%~7%, 大豆饼粕含大豆膳食纤维为7%~10%^[3]。在以往大豆蛋白、大豆油及其他豆制品生产过程中, 人们常将豆渣和大豆油饼粕用作饲料或肥料, 而其中的大豆膳食纤维一直未得到应有的开发利用, 资源浪费很大。

研究表明, 许多高分子多糖本身没有抑菌活性, 但降解到一定分子量范围的片段时抑菌作用明显。日本山梨大学横土弘毅等^[4]在研究中发现果胶用果胶酶水解到一定分子量时水解物具有明显的抑菌活性, 并已确定抗菌性果胶分解物是一些平均重合

度为3~5的低聚半乳糖醛酸和半乳糖醛酸^[5], 从而开发了果胶水解物作为新型的天然食品防腐剂。琼脂、海藻酸等许多植物多糖本身无抑菌性, 但降解到一定分子量范围的低聚物时也具有明显的抑菌效果^[6]。由于大豆膳食纤维中含有果胶及其他的多糖类, 本研究用半纤维素酶对大豆膳食纤维进行水解, 在设计反应条件的同时还对其水解物的抑菌活性进行了研究, 不仅提出了大豆膳食纤维作为一种新的天然防腐剂的制备方法, 而且为大豆膳食纤维的开发利用提供了新思路。

1 材料和方法

1.1 材料

1.1.1 试验材料 实验室自制大豆膳食纤维, 市售半纤维素酶, 国产分析级的NaAc和HAc。

收稿日期: 2008-01-22

基金项目: 国家自然科学基金项目(30600079)

作者简介: 桂玲(1983-), 女, 河南信阳人, 硕士, 主要从事微生物和食品化学研究。

通讯作者: 高红亮(1973-), 男, 河北林州人, 副教授, 主要从事微生物和食品生化研究。

1.1.2 供试菌株 大肠杆菌(*Escherichia coli*)、假单胞菌(*Pseudomonads. sp*)、金黄色葡萄球菌(*Staphylococcus aureus*)、乳酸菌(*Lactobacillus. sp*) 由本实验室保存。

1.1.3 培养基 MRS 液体培养基^[7]、营养琼脂培养基^[8]、假单胞菌培养基^[8]。

1.1.4 仪器与设备 PAL-1 数字式折射仪, JA2003N 电子分析天平(购自上海精密科学仪器有限公司), 722 分光光度计(购自上海精密科学仪器有限公司), METTLER TOLEDO EDLTA 320pH 计(购于METTLER TOLEDO instrument Ltd)。

1.2 方法

1.2.1 大豆膳食纤维水解液的制备^[9, 10] 称取 3 g 大豆膳食纤维溶于 300 mL 0.1 mol/L pH 4.8 的 HAc-NaAc 缓冲液中, 搅拌溶解, 再称取 0.3 g 的半纤维素酶溶于 300 mL 上述缓冲液, 搅拌溶解预热 10 min, 将其加入到大豆膳食纤维溶解液中, 置 50℃ 恒温水浴锅中进行酶解反应。酶解过程中, 用 120 r/min 磁力搅拌器不停的搅拌, 分别在 60~ 320 min, 每隔 40 min 取样, 然后放入 105℃ 鼓风干燥箱中 15 min, 灭酶活, 用数字式折射仪测定固形物含量, 最后瓶装, 编号, 灭菌待用。

1.2.2 大豆膳食纤维水解液的抑菌试验 用涂布平板法测定水解液的抑菌性能, 在准备好的平板上加入 1 mL 不同水解时间的水解液, 涂布均匀, 将平板倒置 37℃ 的恒温培养箱中培养, 24 h 后观察试验结果。

1.2.3 水解液抑菌圈的测定^[11] 将直径为 6 mm

的干热灭菌的滤纸片分别放入不同时间的酶解液中浸泡 15 min, 取出无菌条件下晾干, 晾干后的滤纸片等距离地放在涂布菌液的培养基上, 做好标记, 每个平皿 4 片, 以浸在未水解的大豆膳食纤维溶液中的滤纸片为对照, 倒置于 37℃ 的恒温培养箱中培养, 24 h 后观察结果, 每处理 3 次重复。采用 SPSS11.0 统计软件对数据进行显著性分析。

1.2.4 水解液最低抑菌溶度(MIC)的测定^[12] 选浓度为 11.6% 的 240 min 的酶解液做此试验, 取 5 只无菌试管, 编号为 1~ 5, 向 1 支试管中加入 4 mL 的 240 min 的酶解液, 加 1 mL 的无菌水, 用移液枪吹打混匀。取 4 mL 的混合液加到第 2 支试管中, 加入 1 mL 的无菌水, 如此稀释后的浓度分别是 11.6%, 9.3%, 7.4%, 5.9%, 4.8%。吸取 1 mL 的稀释液加入混菌的培养基中。平板倒置于 37℃ 的恒温培养箱中培养, 24 h 后观察结果。每个处理 3 次重复。选用未水解的大豆膳食纤维为对照。

1.2.5 水解液对乳酸菌的抑菌试验 由于乳酸菌的菌落小, 计数不方便, 采用液体培养测定 OD 的方法来测定水解液对乳酸菌的抑菌效果。将实验室保存的乳酸菌菌种活化, 活化后按 1% 的接菌量, 将乳酸菌接种到加有 1 mL 水解液的 MRS 液体培养基中, 37℃ 的恒温培养箱中培养, 24 h 后在 540 nm 下测定乳酸菌的 OD 值。

2 结果与分析

2.1 不同时间的大豆膳食纤维水解液的抑菌作用

表 1 水解液对供试菌株生长的影响

Tab.1 Anti-bacterica activities of different soybean dietary fiber decomposition

供试菌株 Types of microbe	水解时间/min Hydrolysating time							
	0	60	100	140	160	200	240	280 320
大肠杆菌 <i>Escherichia coli</i>	3.64×10 ⁵	5.47×10 ⁵	5.1×10 ⁵	2.4×10 ⁴	1.44×10 ⁴	3.2×10 ⁴	2.6×10 ³	1.2×10 ³ 3.64×10 ⁴
金黄色葡萄球菌 <i>Staphylococcus aureus</i>	8.1×10 ⁵	7.3×10 ⁵	7.0×10 ⁵	4.5×10 ⁵	5.8×10 ⁴	4.0×10 ⁴	3.2×10 ³	2.6×10 ³ 3.8×10 ⁴
假单胞菌 <i>Pseudomonads sp</i>	7.0×10 ⁵	7.6×10 ⁵	6.4×10 ⁵	6.0×10 ⁵	5.0×10 ⁴	4.8×10 ⁴	4.0×10 ³	2.4×10 ³ 2.0×10 ⁴

由表 1 可以看出, 大豆膳食纤维在 50℃, pH4.8 时, 在半纤维素酶的作用下开始水解。水解发生的开始阶段, 水解液不具有抑菌效果。随着水解时间的延长, 其抑菌性也逐渐增强。水解到 160 min 后开始有抑菌效果, 到 240 min 后抑菌性开始趋于稳定。说明大豆膳食纤维水解液的抑菌性和其水解发生的程度有关。当大豆膳食纤维在酶的作用下降解到一定分子量大小的低聚物时, 水解液具有一定的

抑菌性, 并且一定水解时间的大豆膳食纤维水解液对试验所用的这几种细菌都有一定的抑菌作用。

2.2 大豆膳食纤维水解液抑菌圈的测定

由表 2 可以看出, 不同时间的大豆膳食纤维酶解液对供试菌株的抑菌圈直径在 9.7~ 11.3 mm 之间。经过 SPSS11.0 统计软件处理(t 检验), 水解液对 3 种菌株的抑菌性和空白相比, 均有极显著性差异(p< 0.01)。说明大豆膳食纤维水解液对供试菌

株具有抑菌作用。

表 2 大豆膳食纤维水解液对供试菌株的抑菌作用

Tab.2 Anti-bacteria activities of different soybean dietary fiber hydrolysate	
供试菌株 Types of microbe	抑菌圈直径/mm Diameter of inhibition zone
大肠杆菌 <i>Escherichia coli</i>	10.6
假单胞菌 <i>Pseudomonads sp</i>	11.3
金黄色葡萄球菌 <i>Staphylococcus aureus</i>	9.7

2.3 大豆膳食纤维水解液最低抑菌浓度的测定

由表 3 可以看出, 水解液对 3 种菌株的抑菌活性随着水解液的浓度的减小而降低。当浓度稀释至 5.9% 时, 在假单胞菌和金黄色葡萄球菌的培养基上开始有数量较少的菌落出现。当水解液浓度稀释到 4.8% 时, 3 种菌株的培养皿上均出现了菌落。以完全没有菌落生长的稀释液浓度为最低抑菌浓度, 故大豆膳食纤维水解液的最低抑菌浓度 (MIC) 为 5.9%。

表 3 大豆膳食纤维水解液最低抑菌浓度测定

Tab.3 Effect of lowest concentration of enzymatic hydrolysate on anti-bacteria activities			
水解液浓度/% Hydrolysate concentration	大肠杆菌 <i>Escherichia coli</i>	金黄色葡萄球菌 <i>Staphylococcus aureus</i>	假单胞菌 <i>Pseudomonads sp</i>
11.6	-	-	-
9.3	-	-	-
7.4	-	-	-
5.9	-	+	+
4.8	+	++	+

注: - . 表示无菌落出现; + . 表示有较少菌落出现; ++ . 表示菌落较多。

2.4 大豆膳食纤维水解液对乳酸菌的抑菌试验

将活化的乳酸菌菌种接种到加有大豆膳食纤维

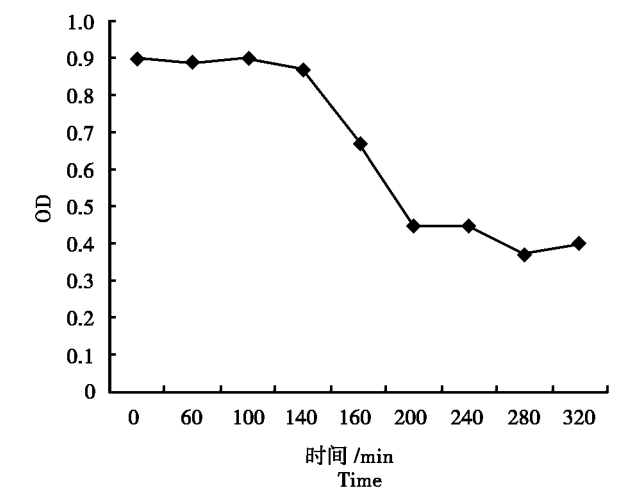


图 4 不同时间大豆膳食纤维的水解液对乳酸菌的抑菌性

Fig.4 Effect of different soybean dietary fiber hydrolysate on the growth of *Lactobacillus*

水解液的 MRS 液体培养基中, 放入 37℃ 恒温培养箱, 24 h 后用分光光度计在 540 nm 下测定菌液的 OD 值, 所得结果如图 4, 从图 4 可以看出, 大豆膳食纤维在开始水解时不具有抑制乳酸菌的活性, 但随着水解时间的延长, 逐渐表现出抑菌性。加有水解 280 min 的水解液的菌液测得其 OD 值和空白相比, 将近下降了 3 倍, 说明酶解液抑制乳酸菌的效果比较明显。

3 结论与讨论

大豆膳食纤维做为一种多糖, 在半纤维素酶的作用下水解到一定程度, 显示出一定的抑菌效果, 并且抑菌效果随着水解发生到一定程度而趋于稳定, 这说明大豆膳食纤维酶解产物的抑菌性与一定大小片段的物质有关; 大豆膳食纤维水解物的最适合的水解条件是在 50℃, pH 为 4.8 时在半纤维素酶的作用下, 水解到 160 min 时开始有抑菌效果, 随着水解的发生, 其抑菌性逐渐趋于稳定。而未水解的大豆膳食纤维不具有抑菌的活性; 选择抑菌活性最好的 240 min 的大豆膳食纤维水解液做最低抑菌浓度测试, 得 MIC 5.9% 大豆膳食纤维水解液对本试验所用的 4 种常见细菌都有一定的抑制作用。

参考文献:

[1] Redonodo-Cuenca A, Villanueva-Suarez M J, Rodriguez-Sevilla M D, et al. Chemical composition and dietary fiber of yellow and green commercial soybean (*Glycine max*) [J]. Food Chemistry, 2006, 102: 1216- 1222.

[2] 姜爱莉, 贺红军, 孙承锋. 大豆膳食纤维的提取工艺 [J]. 食品工业, 2004, 1: 46- 48.

[3] 张延坤. 膳食纤维在食品中的应用 [J]. 食品工业, 1997 (6): 30- 32.

[4] 吴西梅, 谢 霖, 陈永泉. 天然防腐剂的研究进展及应用前景 [J]. 广州食品工业科技, 2004, 4: 19- 22.

[5] 唐传核. 天然抗菌防腐剂 [J]. 四川食品与发酵, 1999 (4): 26- 28.

[6] 李学红, 马庆一, 张占营. 果胶酶解产物的制备和抑菌活性的研究 [J]. 食品科学, 2003, 24: 38- 42.

[7] 俞晓进, 胡 宏. 双歧杆菌对小鼠单核吞噬细胞功能的影响 [J]. 中国微生物学杂志, 1993, 5 (3): 45- 48.

[8] 程丽娟, 薛泉宏. 微生物学实验技术 [M]. 西安: 世界图书出版社, 1991.

[9] Akihito, Nakamura. Emulsifying properties of enzyme-digested soybean soluble polysaccharides [J]. Food Hydrocolloids, 2006, 20: 1029- 1038.

[10] Mark R, Wilkins Wilbur W, Widmer, et al. Hydrolysis of grapefruit peel waste with cellulose and pectinase enzymes [J]. Bioresource Technology, 1998, 1596- 1601.

[11] 赵良忠. 金银花水溶性抗菌物质的提取及其抑菌效果研究 [J]. 中国生物制品学杂志, 2006, 2: 201- 203.

[12] 马庆一. 果胶水解物抑菌性能的研究 [J]. 食品工业科技 2003 (1): 51- 53.