

# 纳米金属氧化物对食品污染菌的 杀、抑能力研究

高艳玲<sup>1</sup>, 刘 熙<sup>1</sup>, 王宗贤<sup>1</sup>, 杨雪梅<sup>2</sup>

(1. 中国人民解放军军需大学军需工程系, 吉林 长春 130062

2. 吉林大学朝阳校区环境与资源学院, 吉林 长春 130026)

**摘 要:** 本文选择 5 种纳米级金属氧化物, 针对 5 种常见的食品污染菌, 分别采用杯碟法和试管双倍稀释法进行抑菌效果研究, 检测出几种纳米金属氧化物对各种细菌的抑菌圈直径, 并检测出抑菌性能最好的纳米 ZnO 对各种细菌的 MIC 值。探讨了纳米氧化锌抗菌机理及在食品抗菌包装领域的应用前景。

**关键词:** 纳米金属氧化物; 食品污染菌; MIC

Antibacterial Effects Nano-structural Metal Oxide's on Bacterium Contaminated Food

GAO Yan-ling<sup>1</sup>, LIU Xi<sup>1</sup>, WANG Zong-xian<sup>1</sup>, YANG Xue-mei<sup>2</sup>

(1. Department of Quartermaster Engineering, Quartermaster University of PLA, Changchun 130062, China

2. College of Environment and Resource, Jilin University, Changchun 130026, China)

**Abstract:** Tests of five kinds of nano-structural metal oxide's antibacterial effects on five species of bacterium in contaminated food were made by cup-dish measure and tube dilution method. We have also measured the resistance diameter of five kinds of nano-structural materials against five kinds of bacteria. The results revealed that nano-ZnO was the most effective antibacterial agent. Then the MIC value (microbial inhibition concentration) to these 5 species of bacterium were redetected. We also discussed antibacterial mechanism of nano-ZnO and its further application in food antibacterial packaging field.

**Key words:** nano-structural metal oxide; food contamination; bacterium; MIC

中图分类号: TS201.6

文献标识码: A

文章编号: 1002-6630(2005)04-0045-04

食品中蛋白质丰富、水分含量高, 很容易滋生微生物而引起腐败变质, 大大缩短了食品的保质期。同时在食品流通过程中, 通过人与人、人与物、物与物交叉之间也容易使一些有害微生物在食品包装表面得以传播, 进而污染食品及人类。以往应用于食品的有机抗菌剂(有机酸及其盐、酶、抗菌素等)、可食性抗菌膜等都有其局限性, 如易产生耐药性、杀菌局限、安全性差等。无毒、广谱的抗菌剂是目前食品保藏领域研究和开发的热点。纳米抗菌材料是跨世纪的科技前沿领域, 主要是纳米级金属氧化物抗菌及纳米金属离子抗菌。纳米级氧化物的制备、改性技术及应用近年来受到广泛关注。我们详细研究了几种具有抗菌功能的纳米级金属氧化物的抗菌性能, 为其进一步应用提供了理论依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 主要仪器和试剂

(1) 大肠杆菌(产 LT 毒素的名为 E5798)、枯草芽孢杆菌、金黄色葡萄球菌(C56000)、伤寒沙门氏菌(C77-32)、李氏杆菌(单核细胞增多性李氏杆菌, C53004)、牛津杯(内径  $6 \pm 0.1$  mm, 外径  $7 \pm 0.1$  mm, 高  $10 \pm 0.1$  mm)、纳米氧化锌(贵州)、纳米二氧化钛(贵州)、纳米氧化银(吉林大学)、纳米二氧化硅(舟山)、纳米三氧化二铝(舟山)。

(2) 培养基 LB 固体培养基、LB 液体培养基<sup>[1]</sup>。

### 1.2 方法

#### 1.2.1 杯碟法测定抑菌圈直径

1.2.1.1 被测菌种悬液的制备 将接好的细菌在振荡摇

收稿日期: 2003-12-04

作者简介: 高艳玲(1978-), 女, 博士研究生, 研究方向为食品加工。

床上 37℃ 下振荡培养 12~18h, 取出, 在 4℃ 下放置约 30min, 检测活菌浓度, 将其稀释为  $10^6 \sim 10^7$  CFU/ml, 备用。

2.1.1.2 样品溶液的双倍稀释 将纳米材料在 50~60℃ 下烘干 8~10h, 取 8 支 1.5ml 的离心管, 编号为 1、2、……8。称量纳米材料 0.08g 加入第 1 管中, 与其它 7 支离心管在 121℃ 灭菌 30min。然后在无菌条件下将第 2~6 管中分别加入 0.5ml 的灭菌水, 在第 1 管中加入灭菌水 1ml, 在快速液体混匀器上混匀后, 吸出 0.5ml 加入第 2 管, 用同样方法稀释至第 6 管。即制备出了浓度分别为 8%、4%、2%、1%、0.5%、0.25% 的纳米粉体水溶液。第 7 支试管为阴性对照, 加 1ml 上述的灭菌水, 看培养基是否适合菌种的生长。第 8 支试管为阳性对照, 加 0.1ml 浓度为 1 万单位/ml 的青霉素。

2.1.1.3 培养及观察 配制 LB 固体培养基, 待凉至 40~50℃ 时, 将制备的一定量的菌悬液与培养基混合, 摇均匀, 倒平板, 待培养基凝固后, 将牛津杯置于培养皿(牛津杯直径  $d=7$ mm, 而培养皿直径约为 9cm) 中, 每个皿中放置两个(为防止抑菌圈交差、相连, 不可放置过多), 将第 1~6 管中的纳米材料的悬液用快速液体混匀器混合均匀, 用微量加样器加入牛津杯 0.1ml, 每个配比做三个重复。将第 7 管中的对照液分别加入牛津杯 0.1ml 作为阴性对照, 第 8 管中加入事先配制好的 1 万单位/ml 的青霉素 0.1ml。放置 5min 后, 在 37℃ 下培养 24h, 最后分别测量各种配比的抑菌环直径。

## 2.1.2 纳米氧化锌 MIC 值的测定

纳米材料抗菌剂的最低抑菌浓度(MIC)指材料抑制和杀灭细菌等微生物的最小悬浊液浓度。纳米 ZnO 对各种常见食品污染菌的 MIC 值测定, 采用试管双倍稀释法<sup>[2]</sup>(略有改动)。

2.1.2.1 被测菌种悬液的制备 将菌种较多量移种于液体 LB 培养基中, 置 37℃ 恒温箱中培养 6h(生长缓慢者可培养过夜), 使生长浊度达  $9 \times 10^8$  CFU/ml(相当于麦氏比浊管第 3 管)。

2.1.2.2 纳米 ZnO 稀释液的制备 按表 2 中的纳米 ZnO 的浓度, 称量纳米 ZnO, 重量分别为  $20 \times$  浓度, 称量入 50ml 的三角烧瓶中, 在 121℃ 下, 灭菌 30min。凡最高稀释管中无菌生长者, 该管的浓度为 MIC。

2.1.2.3 培养及观察 在无菌条件下用移液管加入三角烧瓶中灭菌的液体 LB 培养基 20ml, 将上述菌悬液作 1:1000 倍稀释, 分别振荡培养 24h 和 48h。将三角烧瓶取出, 凡最高稀释管中无菌生长者, 该管的浓度为 MIC。

## 2 结果与分析

### 2.1 抑菌环直径

抑菌圈直径不小于 7mm 判定为有抑菌作用, 本实验测试的抑菌圈直径包括牛津杯的直径在内。

#### 2.1.1 各种纳米粉体对大肠杆菌的抑菌环直径(见表 1)。

表 1 各种纳米粉体对大肠杆菌的抑菌环直径(单位mm)  
Table 1 The resistance diagram of nano-structural materials against *Escherichia coilform*

| 纳米粉体悬浊液的浓度(%)                  | 8  | 4    | 2    | 1    | 0.5  | 0.25 |
|--------------------------------|----|------|------|------|------|------|
| ZnO                            | 19 | 19.5 | 17.5 | 11.5 | 12.5 | 12   |
| TiO <sub>2</sub>               | 27 | 30   | 25   | 21   | 19   | 9    |
| AgO                            | 27 | 26   | 24   | 24   | 15   | 11   |
| SiO <sub>2</sub>               | 26 | 24   | 20   | 20   | 12   | 11   |
| Al <sub>2</sub> O <sub>3</sub> | 30 | 28   | 26   | 28   | 10   | 8    |
| 阳性对照                           | 33 |      |      |      |      |      |

#### 2.1.2 各种纳米粉体对枯草芽孢杆菌的抑菌环直径(见表 2)

表 2 各种纳米粉体对枯草芽孢杆菌的抑菌环直径(单位mm)  
Table 2 The resistance diagram of nano-structural materials against *Grass gemma bacillus*

| 纳米粉体悬浊液的浓度(%)                  | 8  | 4    | 2    | 1    | 0.5  | 0.25 |
|--------------------------------|----|------|------|------|------|------|
| ZnO                            | 28 | 27.5 | 27.5 | 27.5 | 27.5 | 24.5 |
| TiO <sub>2</sub>               | 8  | 7    | 8    | 0    | 0    | 0    |
| AgO                            | 0  | 0    | 0    | 0    | 0    | 0    |
| SiO <sub>2</sub>               | 0  | 0    | 0    | 0    | 0    | 0    |
| Al <sub>2</sub> O <sub>3</sub> | 11 | 13   | 8    | 0    | 0    | 0    |
| 阳性对照                           | 61 |      |      |      |      |      |

#### 2.1.3 纳米 ZnO 对金黄色葡萄球菌的抑菌环直径(见表 3)

表 3 纳米 ZnO 对金黄色葡萄球菌的抑菌环直径(单位mm)  
Table 3 The resistance diagram of nano-structural ZnO against *Golden yellow staphylococcus*

| 纳米 ZnO 悬浊液的浓度(%)  | 8    | 4    | 2  | 1    | 0.5 | 0.25 |
|-------------------|------|------|----|------|-----|------|
| 直径                | 18.5 | 16.5 | 14 | 11.5 | 11  | 9    |
| Masculinecontrast | 61   |      |    |      |     |      |

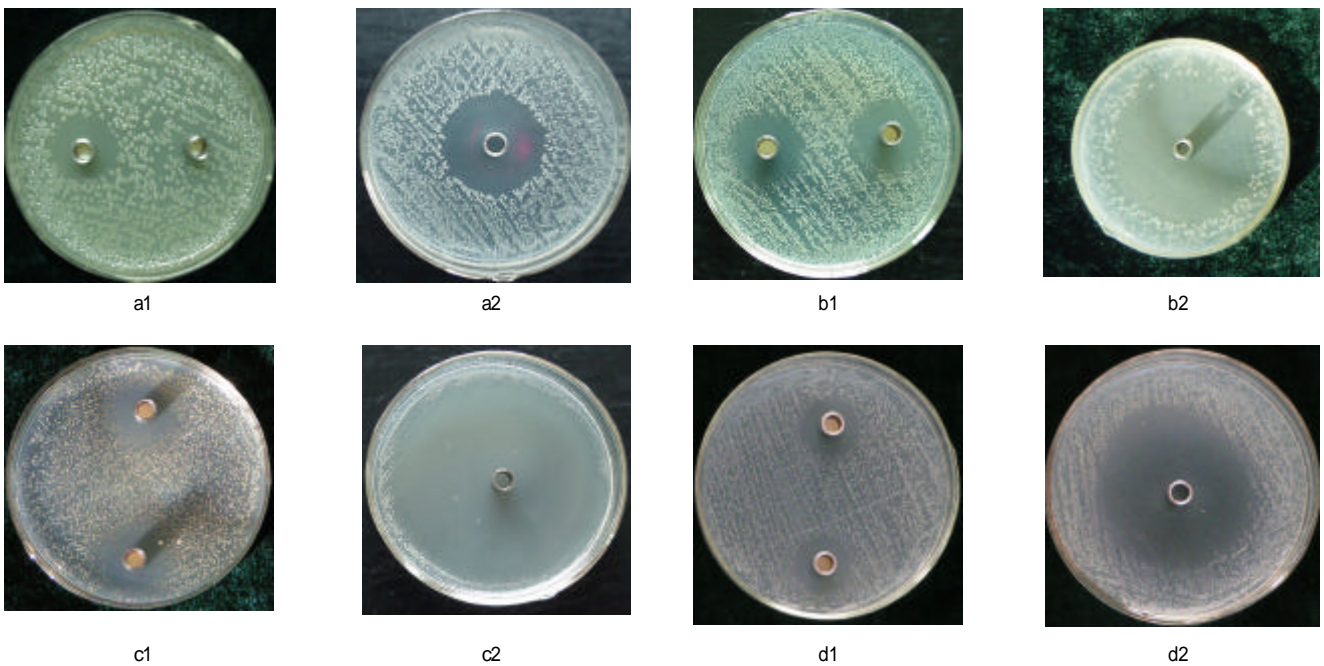
#### 2.1.4 纳米 ZnO 对伤寒沙门氏菌的抑菌环直径(见表 4)

表 4 纳米 ZnO 和 TiO<sub>2</sub> 对伤寒沙门氏菌的抑菌环直径(单位mm)  
Table 4 The resistance diagram of nano-structural ZnO and TiO<sub>2</sub> against *Salmonella typhosa*

| 纳米粉体悬浊液的浓度(%)    | 8  | 4     | 2    | 1  | 0.5  | 0.25  |
|------------------|----|-------|------|----|------|-------|
| ZnO              | 16 | 17.25 | 17.5 | 17 | 17.5 | 17.25 |
| TiO <sub>2</sub> | 23 | 26    | 19   | 16 | 16   | 11    |
| 阳性对照             | 44 |       |      |    |      |       |

由表 1~4 可见: 只有纳米 ZnO 对常见的食品污染菌具有较广普的杀、抑能力。且在 0.25%~8% 悬浊液浓度范围内, 对大肠杆菌和金黄色葡萄球菌, 随着 ZnO 浓度增加, 抑菌环直径逐渐增大, 而对枯草芽孢杆菌和伤寒沙门氏菌却没有明显变化。

2.1.5 纳米 ZnO 对李氏杆菌不产生抑菌环, 即对其没有抑制能力。而且阳性对照所用的 1 万单位/ml 青霉素



a1: 大肠杆菌 (左2%, d=17.5mm; 右1%, d=11.5mm); a2: 大肠杆菌阳性对照 (d=33 mm)  
 a1: Escherichia coil form; a2: The contrast of penicillin against Escherichia coil form  
 b1: 枯草芽孢杆菌 (左2%, d=27.5mm; 右1%, d=27mm); b2: 枯草芽孢杆菌阳性对照 (d=61mm)  
 b1: Bacillus subtilis; b2: The contrast of penicillin against Bacillus subtilis;  
 c1: 金黄色葡萄球菌 (上1%, d=11.5mm; 下2%, d=14mm); c2: 金黄色葡萄球菌阳性对照 (d=69mm)  
 c1: Staphylococcus aureus; c2: The contrast of penicillin against Staphylococcus aureus;  
 d1: 伤寒沙门氏菌 (上2%, d=17.5mm; 下1%, d=17mm); d2: 伤寒沙门氏菌阳性对照 (d=44mm)  
 d1: Salmonella typhimurium; d2: The contrast of penicillin against Salmonella typhimurium

图1 纳米ZnO对四种细菌的抑菌环

Fig.1 The resistanced circle of nano-structural ZnO against four kinds of bacterium

对李氏杆菌也没有抑制作用。

2.1.6 纳米 ZnO 的悬浊液浓度为 1%、2% 时, 对大肠杆菌、枯草芽孢杆菌、金黄色葡萄球菌、伤寒沙氏菌的抑菌环直径直观图见图 1。

由图 1 可见纳米 ZnO 对枯草芽孢杆菌和伤寒沙门氏菌的抑菌环直径较大, 而对大肠杆菌和金黄色葡萄球菌的抑菌环较小, 而且不同悬浊液浓度的抑菌环大小有所不同, 但是都远远小于阳性对照 (1 万单位 /ml 青霉素) 的抑菌环。

## 2.2 MIC 值

纳米 ZnO 对各菌株的 MIC 值见表 5, 由于 MIC 值

表 5 纳米 ZnO 对各菌株的 MIC  
 Table 5 The MIC value of ZnO against six kinds of bacteria

| 细菌      | MIC(mg/ml) |        |
|---------|------------|--------|
|         | 24h        | 48h    |
| 大肠杆菌    | 0.940      | 0.625  |
| 金黄色葡萄球菌 | 1.250      | 0.940  |
| 枯草芽孢杆菌  | <0.078     | <0.078 |
| 伤寒沙门氏菌  | 0.234      | 0.156  |
| 李氏杆菌    | 无          | 无      |

越大则抑菌能力越强, 因此由表 5 中的数据可知对枯草芽孢杆菌的抑制能力最强, 其次是伤寒沙门氏菌、大肠杆菌、金黄色葡萄球菌, 对李氏杆菌没有抑制作用, 这与前面抑菌环直径的测试结果几乎一致。

## 3 讨论

### 3.1 纳米氧化锌的抗菌机理

关于纳米氧化锌的抗菌机理<sup>[3~6]</sup>, 一般认为它属于一种光催化抗菌剂, 在阳光尤其是紫外光的照射下, 其表面发生光催化的氧化还原反应, 光催化吸收光子后在其表面产生电子(e)和空穴(h<sup>+</sup>)。空穴将光催化剂表面吸附的水氧化成强氧化性的羟基团(·OH)以及 H<sup>+</sup>, 吸附在 ZnO 表面的 O<sub>2</sub> 俘获电子, 将氧还原成过氧化负离子(·O<sub>2</sub><sup>-</sup>), ·O<sub>2</sub><sup>-</sup> 与 H<sup>+</sup> 反应生成 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 再进一步分解为 O<sub>2</sub> 和 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, O<sub>2</sub><sup>-</sup> 经过过氧化氢生成水; 羟基团与有机物发生反应, 从而使接触光催化剂的细菌、水分等有机成分被分解。从实验得出纳米氧化锌对细菌的杀、抑作用没有明显的革兰氏阳性菌和阴性菌的区别, 而且并不是能够杀灭所有细菌, 究竟是跟细菌体内的哪

# 鱼精蛋白对黑曲霉细胞内的琥珀酸脱氢酶和苹果酸脱氢酶的影响

徐明生<sup>1,2</sup>, 陈锦屏<sup>1</sup>, 上官新晨<sup>2</sup>

(1. 陕西师范大学食品工程系, 陕西 西安 710062)

2. 江西农业大学食品科学系, 江西 南昌 330045)

**摘要:** 鱼精蛋白是一种多聚阳离子天然肽类, 它是一种碱性蛋白质。为探讨其抑菌作用, 我们研究了鱼精蛋白对黑曲霉细胞内的琥珀酸脱氢酶和苹果酸脱氢酶的影响。结果表明, 鱼精蛋白具有抑制琥珀酸脱氢酶和苹果酸脱氢酶的活性( $p < 0.01$ ), 但效果低于纳他霉素。提示鱼精蛋白用作食品防腐剂具有很大的潜力。

**关键词:** 鱼精蛋白; 纳他霉素; 琥珀酸脱氢酶(SDH); 苹果酸脱氢酶(MDH); 黑曲霉

Effects of Protamine on Succinate Dehydrogenase and Malate Dehydrogenase in Cells of *Aspergillus niger*

XU Ming-sheng<sup>1,2</sup>, CHEN Jin-ping<sup>1</sup>, SHANGGUAN Xin-chen<sup>2</sup>

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

2. Department of Food Science, Jiangxi Agricultural University, Nanchang 330045, China)

**Abstract:** Protamine is a kind of natural peptide with polypositive ion, and is a kind of basic protein. In order to investigate its antibacterial action, the effects of protamine on succinate dehydrogenase and malate dehydrogenase in cells of *Aspergillus niger* were assayed. Results showed: protamine could significantly inhibit the activities of both succinate dehydrogenase and malate dehydrogenase ( $p < 0.01$ ). But the effect was less than that of the Natamycin. The results suggested that the protamine would have great potency to be used as food preservative.

**Key words:** protamine; Natamycin; succinate dehydrogenase; malate dehydrogenase; *Aspergillus niger*

中图分类号: Q512.8

文献标识码: A

文章编号: 1002-6630(2005)04-0048-04

收稿日期: 2004-04-21

基金项目: 江西省科技厅资助项目(赣科发计字[2003]188号)

作者简介: 徐明生(1963-), 男, 教授, 博士, 从事食品科学研究。

些有机物反应还没有人证实, 有待于进一步研究。

## 3.2 纳米氧化锌在抗菌包装材料中的应用

由本实验可以得出纳米氧化锌对常见的食品污染菌具有较广普的杀、抑能力。将其进行一定的表面改性, 通过共混、接枝等技术复合到高分子材料中, 作为食品的外包装或包装材料的外层, 减少食品包装材料表面的交叉污染, 减少通过表面污染到食品内的微生物, 从而提高食品的安全性。

参考文献:

[1] 中国微生物菌种保藏管理委员会农业微生物中心. 中国

农业菌种目录[M]. 北京: 中国农业科技出版社, 1991.

[2] 韩文瑜, 何昭阳, 刘玉斌. 病原细菌检验技术[M]. 长春: 吉林科技出版社, 1992.

[3] 马承银, 杨翠纯. 新型无机抗菌材料[J]. 化工新型材料, 1996, (4): 41-42.

[4] 曾维勇, 李秋珍. 纳米TiO<sub>2</sub>的应用[J]. 矿冶工程, 2000, 20(2): 52-53.

[5] 祖庸, 王训, 等. 新型无机抗菌剂-超细微氧化锌[J]. 化工时刊, 1999, 13(1): 7-9.

[6] 王芬, 朱建峰. 无机抗菌材料的应用与现状[J]. 陶瓷工程, 2001, (10): 39-43.