



**读书报告：**

**阅读文献的题目：**

**微生物发酵对溪黄草抑菌效果的影响**

**报告人：王逸**



## 研究目的

- 目前关于溪黄草抑菌效果方面的研究,主要考虑将溪黄草的提取物作为一种健康的食品添加剂
- 用不同菌种发酵和用纤维素酶预处理溪黄草,初步探讨发酵对溪黄草抑菌效果影响的机制,为开发廉价的食品添加剂,抑菌药物和节约药材资源提供新的研究途径。



## 工艺流程

- 微生物发酵处理溪黄草：5 g溪黄草于100 ml的三角瓶内加入30 ml蒸馏水或培养基高压灭菌，按10%接种量（加入种子菌液3 ml）接种发酵菌种（枯草杆菌,乳酸芽孢杆菌,美乐多乳酸菌，干酵母菌）置于培养箱10d
- 提取抑菌物质：称取溪黄草加乙醇,恒温水浴,滤纸过滤,取滤液浓缩至稠膏状,定容至10 ml
- 检测抑菌活性：指示菌种活化后用无菌生理盐水制成菌悬液，涂布牛肉膏蛋白胨或PDA培养基上,用毛细管吸取滴于直径为5mm的滤纸片,每个平板上贴3片,分别做两个平行。将贴了滤纸片的平板放入恒温培养箱中,静置30 min后倒置培养,大肠杆菌和白葡萄球菌培养24 h取出,黑曲霉和青霉培养48h后取出,用游标卡尺测量其抑菌圈直径

## 结果分析

表 1 发酵溪黄草的抑菌效果

mm

实验组	对大肠杆菌抑菌直径				对白葡萄球菌抑菌直径			
	枯草杆菌	JY-LZ乳酸菌	美乐多乳酸菌	干酵母	枯草杆菌	JY-LZ乳酸菌	美乐多乳酸菌	干酵母
I	5.29	—	—	7.52	6.22	—	—	7.61
II	5.59	5.21	5.15	5.37	6.61	6.19	6.15	6.08
III	5.46	6.64	6.44	7.26	6.20	6.50	6.48	8.04
IV	5.57	5.20	5.23	5.47	6.65	6.18	6.21	6.07
V	—	7.51	6.78	—	—	7.04	6.84	—

表中“—”表示无抑菌圈,表中抑菌圈直径含滤纸直径 5mm

溪黄草对白葡萄球菌的抑制作用比大肠杆菌的抑制作用明显。

经枯草杆菌发酵和未经枯草杆菌发酵的溪黄草醇提物对细菌都具有一定的抑制作用,其中经枯草杆菌发酵后溪黄草的抑菌效果反而降低。

表 2 微生物发酵后的菌落数

cfu·ml<sup>-1</sup>

实验组	枯草杆菌	JY-LZ 乳酸芽孢杆菌	美乐多乳酸菌	酵母菌
I	$6.47 \times 10^7$	$3.68 \times 10^7$	$4.72 \times 10^7$	$2.70 \times 10^{10}$
III	$7.00 \times 10^7$	$5.82 \times 10^7$	$1.01 \times 10^8$	$2.83 \times 10^{10}$
V	$8.28 \times 10^7$	$1.08 \times 10^8$	$1.08 \times 10^8$	$3.55 \times 10^{10}$
发酵前	$2.63 \times 10^7$	$2.00 \times 10^7$	$3.87 \times 10^7$	$2.63 \times 10^{10}$

发酵过程中枯草杆菌的生长会受到溪黄草的抑制,另外用溪黄草提取物直接进行平板试验,对枯草杆菌的抑菌直径为5.50 mm,也证实溪黄草对枯草杆菌生长的抑制。但不添加其他营养时枯草杆菌仍然生长,证明枯草杆菌能利用溪黄草成分。枯草杆菌发酵会降低溪黄草的抑菌效果,可能是由于枯草杆菌在发酵过程中分解利用了抑菌有效成分或使抑菌有效成分降解

表 2 微生物发酵后的菌落数

cfu · ml<sup>-1</sup>

实验组	枯草杆菌	JY-LZ乳酸芽孢杆菌	美乐多乳酸菌	酵母菌
I	$6.47 \times 10^7$	$3.68 \times 10^7$	$4.72 \times 10^7$	$2.70 \times 10^{10}$
III	$7.00 \times 10^7$	$5.82 \times 10^7$	$1.01 \times 10^8$	$2.83 \times 10^{10}$
V	$8.28 \times 10^7$	$1.08 \times 10^8$	$1.08 \times 10^8$	$3.55 \times 10^{10}$
发酵前	$2.63 \times 10^7$	$2.00 \times 10^7$	$3.87 \times 10^7$	$2.63 \times 10^{10}$

采用JY-LZ乳酸芽孢杆菌和美乐多乳酸菌对溪黄草进行发酵,由于同属于产乳酸菌,其结果相似。不含溪黄草的V具有很强的抑菌作用,说明乳酸菌本身含有大量抑菌物质,其中JY-LZ乳酸芽孢杆菌的抑菌作用更强。平板试验证实溪黄草对JY-LZ乳酸芽孢杆菌和美乐多乳酸菌有一定抑制作用(抑菌直径分别为5.10 mm和5.21mm),结合发酵后的抑菌效果,认为发酵中乳酸菌难以利用溪黄草成分生长,但溪黄草抑菌成分可被乳酸菌分解或与其代谢产物反应成为无抑菌效果的物质,因此乳酸菌发酵使溪黄草的抑菌效果减弱。

## 微生物发酵对溪黄草抑制霉菌生长的影响

经枯草杆菌、乳酸菌和酵母菌发酵的溪黄草醇提物作用于黑曲霉和青霉菌都没有产生明显的抑菌圈,对霉菌抑制效果不明显

经乳酸菌发酵(包括乳酸芽孢杆菌和美乐多乳酸菌)的溪黄草醇提物对霉菌也有一定抑菌效果。

溪黄草对于细菌的抑制效果比较明显,对霉菌有一定的抑制效果。

枯草杆菌和乳酸菌不能提高溪黄草抑菌效果,反而会使其抑菌效果下降

酵母菌发酵溪黄草可使其抑菌作用得到明显提高

# 纤维素酶作用

表 3 纤维素酶处理后溪黄草的抑菌效果

加酶量 m/g	抑菌圈直径 / mm	
	大肠杆菌	白葡萄球菌
对照	5.31	6.65
0.0108	6.40	7.20
0.0310	6.99	7.75

溪黄草醇提先经过纤维素酶处理,其抑制细菌作用较未经酶处理的溪黄草醇提物有较大增强。当纤维素酶用量增加,溪黄草的醇提物的抑菌作用也随之增强。

添加纤维素酶对溪黄草进行预处理后,纤维素酶起到了破壁作用使得溪黄草的抑菌有效成分能够更容易地溶于乙醇中,从而增强了抑菌效果,这与其他应用纤维素酶提取中药时的效果致一致。根据结果,进一步推断上述酵母发酵溪黄草使其抑菌作用大大增强是由于酵母起到了破壁作用,使抑菌成分含量增加,同时酵母不会破坏抑菌成分



## 综上所述

- 微生物发酵对溪黄草抑菌效果存在一定的影响,酵母发酵能明显提高抑菌效果,与用纤维素酶处理的效果相似
- 纤维素酶是可以由真菌和细菌等微生物在特定的条件下产生,利用微生物直接处理中药就可以起到破壁的作用,在大生产中可以降低原料的成本和简化操作
- 利用合适菌种发酵提高药材有效成分的利用率是可行的

**谢谢**