

分类号：
学号：20222011004

密级：
单位代码：10759

石河子大学

硕士学位论文



乳酸链球菌素协同水杨酸对金黄色葡萄球菌和 大肠杆菌抑菌作用研究

学位申请人	李润泽
指导教师	张建 教授 邓小蓉 副教授
申请学位门类级别	工学 硕士
专业名称	食品科学与工程
研究方向	食品科学
所在学院	食品学院

中国·新疆
2025年06月

分类号：
学 号：20222011004

密 级：
单位代码：10759

石河子大学

硕 士 学 位 论 文



乳酸链球菌素协同水杨酸对金黄色葡萄球菌和 大肠杆菌抑菌作用研究

学 位 申 请 人	李润泽
指 导 教 师	张建 教授 邓小蓉 副教授
申请学位门类级别	工学 硕士
专 业 名 称	食品科学与工程
研 究 方 向	食品科学
所 在 学 院	食品学院

中国·新疆
2025 年 06 月

**The Synergistic Antibacterial Effects of Nisin Combined with Salicylic
Acid against *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli***

A Dissertation Submitted to

Shihezi University

In Partial Fulfillment of the Requirements

for the Degree of

Master of Engineering

By

Li runze

(Food Science)

Dissertation Supervisor: Prof. Zhang jian

Assoc. Prof Deng xiaorong

June, 2025

石河子大学学位论文独创性声明及使用授权声明

学位论文独创性声明

本人所提交的学位论文是在我导师的指导下进行的研究工作及取得的研究成果。据我所知，除文中已经注明引用的内容外，本论文不包含其他个人已经发表或撰写过的研究成果。对本文的研究做出重要贡献的个人和集体，均已在文中作了明确的说明并表示谢意。

研究生签名：李润译

时间：2025年5月23日

使用授权声明

本人完全了解石河子大学有关保留、使用学位论文的规定，学校有权保留学位论文并向国家主管部门或指定机构送交论文的电子版和纸质版。有权将学位论文在学校图书馆保存并允许被查阅。有权自行或许可他人将学位论文编入有关数据库提供检索服务。有权将学位论文的标题和摘要汇编出版。保密的学位论文在解密后适用本规定。

研究生签名：李润译

时间：2025年5月23日

导师签名：李润译

时间：2025年5月23日

摘要

食源性疾病是全球密切关注的重大公共卫生问题。金黄色葡萄球菌 (*Staphylococcus aureus*, *S. aureus*) 和大肠杆菌 (*Escherichia coli*, *E. coli*) 分别是革兰氏阳性菌和革兰氏阴性菌中与食源性疾病相关的最普遍、最危险的病原体之一, 它们可损害人体正常功能甚至导致死亡。随着人民日益增长的美好生活需要, 天然防腐剂因安全环保备受关注。乳酸链球菌素 (nisin) 是目前唯一允许使用的细菌素类食品添加剂, 但其抑菌谱窄、时效短且在复杂环境中易失活。因此, 开发能克服这些局限性的 nisin 复合抑菌体系具有重要意义。研究发现, 植物源酚类物质与 nisin 联用可产生协同效应, 既能克服 nisin 的局限性, 又能弥补酚类物质气味浓、易氧化等缺点。本文从协同抑菌的角度出发, 探究 nisin 和水杨酸组合对金黄色葡萄球菌和大肠杆菌的协同作用产生的原因, 从而提高抑菌性能, 降低成本。在此基础上制备了含有 nisin 和水杨酸的抑菌水凝胶。论文的主要研究包括三个部分:

第一部分, 本研究选取 nisin 和 10 种已报道的针对金黄色葡萄球菌和大肠杆菌具有较好抑菌效果的植物源酚类物质进行抑菌活性研究。通过微棋盘法筛选发现, 仅 nisin 与水杨酸的组合 (the combination of nisin and salicylic acid, 记为 C_{NS}) 对金黄色葡萄球菌和大肠杆菌具有协同抑菌作用。通过绘制时间杀菌动力学曲线, 进一步证明了 C_{NS} 具有显著的协同抑菌作用。通过确定 nisin 和水杨酸最佳配比 (optimal ratio of nisin and salicylic acid, 记为 OR_{NS}), 证明了 C_{NS} 在抑制金黄色葡萄球菌时 nisin 起主导作用, 而抑制大肠杆菌时, 水杨酸起主导作用。

第二部分, 本研究探究了 C_{NS} 对金黄色葡萄球菌和大肠杆菌协同抑菌作用产生的原因。 OR_{NS} 较单组分能更显著破坏两种细菌的细胞膜完整性, 导致更多内容物泄漏, 引起菌体严重变形。其中, nisin 主导对金黄色葡萄球菌的膜损伤, 而水杨酸主导对大肠杆菌的膜损伤。 OR_{NS} 能够引起活性氧 (Reactive Oxygen Species, ROS) 的积累和降低 ATP 的含量, 其中水杨酸在引起 ROS 积累和 ATP 减少的作用中的贡献大于 nisin。 OR_{NS} 可以结合 DNA, 从而影响后续的转录翻译, 其中 nisin 结合 DNA 的能力大于水杨酸。 OR_{NS} 对金黄色葡萄球菌和大肠杆菌的生物膜的形成具有显著的抑制作用, 其中水杨酸在 OR_{NS} 对生物膜的抑制的贡献度大于 nisin。

第三部分, 以 nisin、水杨酸、乳清分离蛋白 (Whey Protein Isolation, WPI) 和 β 葡聚糖为基材开发了一种含 C_{NS} 的抑菌水凝胶。通过使用透射电子显微镜、流变仪、扫描电子显微镜和傅里叶变换红外光谱仪证明了 WPI- β 葡聚糖复合水凝胶具有良好的凝胶性能, 可以作为 C_{NS} 的载体。进一步的实验表明, 水凝胶能够有效的包埋 nisin 和水杨酸且含 C_{NS} 的水凝胶在 PBS、去离子水和 Mueller-Hinton 肉汤 (Mueller-Hinton broth, MHB) 中均具有缓释效果。抑菌实验表明 WPI- β 葡聚糖复合水凝胶不仅能够负载 C_{NS} 并保留其对金黄色葡萄球菌和大肠杆菌的协同抑菌作用, 还能延长 C_{NS} 抑菌时效。

关键词: 乳酸链球菌素; 水杨酸; 食源性致病菌; 协同抑菌; 抑菌水凝胶

Abstract

Foodborne diseases represent a globally significant public health concern. *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*) and *Escherichia coli* (*E. coli*) are among the most prevalent and hazardous pathogens associated with foodborne illnesses in Gram-positive and Gram-negative bacteria, respectively, capable of impairing normal bodily functions and even causing death. With the growing demand for a better quality of life, natural preservatives have gained attention due to their safety and environmental friendliness. Nisin, the only bacteriocin-based food additive currently approved for use, suffers from limitations such as a narrow antimicrobial spectrum, short duration of efficacy, and susceptibility to inactivation in complex environments. Studies have found that combining nisin with plant-derived phenolic compounds can produce a synergistic effect, overcoming nisin's drawbacks while mitigating the strong odor and oxidative instability of phenolic compounds. This study investigates the synergistic antibacterial mechanism of nisin and salicylic acid against *S. aureus* and *E. coli* to enhance antimicrobial efficacy and reduce costs. Furthermore, an antibacterial hydrogel incorporating nisin and salicylic acid was developed. The research consists of three main parts:

First, nisin and 10 previously reported plant-derived phenolic compounds with notable antibacterial activity against *S. aureus* and *E. coli* were screened. A checkerboard assay revealed only one synergistic combination—the combination of nisin and salicylic acid (denoted as C_{NS}). Time-kill kinetic curve further confirmed the significant synergistic effect of C_{NS} . The optimal ratio of nisin to salicylic acid (denoted as OR_{NS}) was determined, demonstrating that nisin played a dominant role in inhibiting *S. aureus*, whereas salicylic acid was more effective against *E. coli*.

Next, the mechanism underlying the synergistic antibacterial effect of C_{NS} was explored. OR_{NS} caused more severe damage to the membrane integrity of both bacteria than nisin or salicylic acid alone, leading to increased leakage of cellular contents. In the synergistic action, nisin primarily contributed to membrane disruption in *S. aureus*, while salicylic acid dominated in *E. coli*. OR_{NS} induced severe morphological deformation, collapse, and rupture in both bacteria, with nisin exerting a greater impact on *S. aureus* and salicylic acid on *E. coli*. OR_{NS} also triggered reactive oxygen species (ROS) accumulation and reduced ATP synthesis, with salicylic acid playing a more substantial role in these effects than nisin. Additionally, OR_{NS} bound to DNA, interfering with transcription and translation, where nisin exhibited stronger DNA-binding affinity than salicylic acid. Furthermore, OR_{NS} significantly inhibited biofilm formation in both bacteria, with salicylic acid contributing more to biofilm suppression than nisin.

Finally, an antibacterial hydrogel containing C_{NS} was developed using nisin, salicylic acid, whey protein isolation (WPI), and β -glucan as matrix materials. Transmission electron microscopy, rheometry, scanning electron microscopy, and Fourier-transform infrared spectroscopy confirmed that the WPI- β -glucan composite hydrogel possessed excellent gelation properties, making it a suitable carrier for

C_{NS}. Further experiments demonstrated that the hydrogel effectively encapsulated nisin and salicylic acid, with sustained release observed in PBS, deionized water, and Mueller-Hinton broth (MHB). Antibacterial assays confirmed that the WPI- β -glucan hydrogel not only retained the synergistic antibacterial activity of C_{NS} against *S. aureus* and *E. coli* but also prolonged its antimicrobial duration.

This study provides a scientific foundation for developing efficient natural antimicrobial agents and offers a methodological reference for extending antibacterial efficacy.

Key words: Nisin; Salicylic acid; Foodborne pathogens; Synergistic bacteriostatic; Bacteriostatic hydrogel

目录

摘要.....	I
Abstract.....	II
第 1 章 绪论.....	1
1.1 食源性致病菌概述.....	1
1.1.1 食源性致病菌的结构特征.....	1
1.1.2 食源性致病菌的危害.....	2
1.1.3 食源性致病菌防控技术概述.....	2
1.2 乳酸链球菌素概述.....	4
1.2.1 乳酸链球菌素的性质.....	4
1.2.2 乳酸链球菌素的抑菌机理.....	4
1.2.3 乳酸链球菌素的应用.....	4
1.3 植物源酚类物质概述.....	5
1.3.1 植物源酚类物质的分类.....	5
1.3.2 植物源酚类物质的抑菌活性.....	5
1.3.3 植物源酚类物质抑制食源性致病菌的应用研究.....	6
1.4 研究目的及意义.....	6
1.5 研究内容.....	7
1.5.1 筛选出对金黄色葡萄球菌和大肠杆菌具有协同抑菌效应的组合.....	7
1.5.2 探究抑菌组合对金黄色葡萄球菌和大肠杆菌的协同作用机理.....	7
1.5.3 制备含 CNS 的活性抑菌水凝胶以延长 CNS 的抑菌时效.....	7
1.6 技术路线.....	8
第 2 章 对金黄色葡萄球菌和大肠杆菌具有协同抑菌效应的组合筛选.....	9
2.1 引言.....	9
2.2 实验材料、试剂与仪器.....	10
2.2.1 实验材料.....	10
2.2.2 实验仪器设备.....	10
2.2.3 实验菌株及培养基.....	11
2.3 实验方法.....	11
2.3.1 菌悬液的制备.....	11
2.3.2 最低抑菌浓度的测定.....	11
2.3.3 分级抑菌浓度的测定.....	12
2.3.4 时间杀菌动力学曲线的测定.....	12
2.3.5 复配实验.....	12
2.3.6 数据统计分析.....	13
2.4 结果与分析.....	13
2.4.1 Nisin 与不同植物源酚类物质对金黄色葡萄球菌和大肠杆菌的 MIC 和联合抑菌效果.....	13
2.4.2 时间杀菌动力学曲线.....	15

2.4.3 C _{NS} 对金黄色葡萄球菌和大肠杆菌最佳抑菌比例的确定	16
2.5 本章小结	18
第 3 章 C _{NS} 对金黄色葡萄球菌和大肠杆菌的协同作用机理	19
3.1 前言	19
3.2 实验材料、试剂与仪器	19
3.2.1 实验材料	19
3.2.2 主要仪器设备	20
3.3 实验方法	20
3.3.1 菌悬液的制备	20
3.3.2 细胞膜完整性的测定	21
3.3.3 细胞内容物泄露的测定	21
3.3.4 细菌微观形态	21
3.3.5 ROS 的积累	21
3.3.6 ATP 含量的测定	22
3.3.7 DNA 结合力分析	22
3.3.8 细菌生物膜形成的抑制	22
3.3.9 数据统计分析	22
3.4 结果与分析	22
3.4.1 Nisin 和水杨酸联用对金黄色葡萄球菌和大肠杆菌细胞膜完整性的影响 ..	22
3.4.2 Nisin 和水杨酸联用对金黄色葡萄球菌和大肠杆菌细胞内容物泄露量的影响 ..	23
3.4.3 Nisin 和水杨酸联用对金黄色葡萄球菌和大肠杆菌细菌微观形态的影响 ..	25
3.4.4 Nisin 和水杨酸联用对金黄色葡萄球菌和大肠杆菌细胞内 ROS 含量的影响 ..	27
3.4.5 Nisin 和水杨酸联用对金黄色葡萄球菌和大肠杆菌 ATP 合成的影响	28
3.4.6 Nisin 和水杨酸联用对金黄色葡萄球菌和大肠杆菌 DNA 结合力的影响	30
3.4.7 Nisin 和水杨酸联用对金黄色葡萄球菌和大肠杆菌生物膜形成的影响	30
3.5 本章小结	31
第 4 章 一种延长 C _{NS} 抑菌时效的新方法: 含 C _{NS} 的活性抑菌水凝胶	33
4.1 前言	33
4.2 实验材料、试剂与仪器	33
4.2.1 实验材料	33
4.2.2 主要仪器设备	34
4.3 实验方法	34
4.3.1 抑菌水凝胶的制备	34
4.3.2 水凝胶的表征	35
4.3.3 包埋率的测定	35
4.3.4 水凝胶中 nisin 和水杨酸的释放测试	36
4.3.5 抑菌水凝胶体外抑菌性能测试	36
4.3.6 数据统计分析	36
4.4 结果与分析	37
4.4.1 水凝胶的基本性能分析	37
4.4.2 WPI- β 葡聚糖复合水凝胶对 nisin 和水杨酸的包埋率	41
4.4.3 抑菌水凝胶中 nisin 和水杨酸的释放	41

4.4.4 抑菌水凝胶体外抑菌性能	42
4.5 本章小结	44
第 5 章 结论与展望	45
5.1 全文结论	45
5.2 创新点	46
5.3 展望	46
参考文献	48
致谢	56
作者简介	57

缩略词表
Abbreviations

缩略词	英文全称	中文全称
C _{NS}	The combination of nisin and salicylic acid	乳酸链球菌素与水杨酸的组合
OR _{NS}	Optimal ratio of nisin and salicylic acid	乳酸链球菌素和水杨酸的最佳配比
TEM	Transmission electron microscopy	透射电子显微镜
MHB	Mueller-Hinton broth	穆勒-欣顿肉汤
SEM	Scanning electron microscopy	扫描电子显微镜
PBS	Phosphate-Buffered Saline	磷酸盐缓冲液
FTIR	Fourier transform infrared spectroscopy	傅里叶红外光谱
WPI	Whey Protein Isolation	乳清分离蛋白
ROS	Reactive oxygen species	活性氧
PI	Propidium Iodide	碘化丙啶
pI	Isoelectric Point	等电点
PCA	Plate Count Agar	平板计数琼脂培养基

第1章 绪论

1.1 食源性致病菌概述

世界卫生组织将食源性疾病定义为通过摄食进入人体的病原体引起的感染性或中毒性疾病，这些病原体包括细菌、真菌、病毒和寄生虫等^[1]。其中，食源性致病菌是最常见的食源性病原体，根据革兰氏染色特性可分为革兰氏阳性菌和革兰氏阴性菌。尽管革兰氏阳性菌与革兰氏阴性菌在细胞结构、传播途径及致病机制等方面存在显著差异，但它们均能通过产生毒力因子污染食品、分解食品成分导致腐败变质，以及侵袭宿主细胞引发免疫反应等多种途径对人类健康构成严重威胁^[2]。

1.1.1 食源性致病菌的结构特征

食源性致病菌可分为革兰氏阳性菌和革兰氏阴性菌，两类细菌在细胞壁结构上的差异决定了其染色特性（革兰氏阳性菌呈紫色，革兰氏阴性菌呈红色）^[3]，二者在细胞结构、致病机制和耐药性等方面存在显著差异。革兰氏阳性菌的细胞壁较厚（20-80 nm），由15-50层肽聚糖构成，并含有能够赋予细菌机械稳定性和环境耐受性的磷壁酸^[4]。相比之下，革兰氏阴性菌的细胞壁较薄（<10 nm），具有复杂的外膜结构，外膜由脂多糖、磷脂和蛋白质组成。脂多糖是革兰氏阴性菌内毒素的主要成分^[5]，能够引发宿主强烈的免疫反应，导致炎症和组织损伤^[6]。此外，革兰氏阴性菌的外膜上含有孔蛋白，能够调节物质进出并影响抗生素的渗透性，这使得其对多种抗生素具有较高的耐药性^[7]。

在非细胞壁结构方面，革兰氏阳性菌与革兰氏阴性菌的主要区别体现在是否能形成芽孢和鞭毛以及性菌毛的分布和功能上。革兰氏阳性菌中，部分种类（如芽孢杆菌属和梭菌属）能够形成芽孢，这是一种高度抗逆的结构，能够在极端环境中保护细菌的遗传物质^[8]；而革兰氏阴性菌通常不具备形成芽孢的能力^[9]。此外，革兰氏阳性菌的鞭毛结构相对简单，通常由单一类型的鞭毛蛋白组成^[10]，而革兰氏阴性菌的鞭毛结构更为复杂，其基体部分嵌入外膜和肽聚糖层之间^[11]。性菌毛在革兰氏阴性菌中较为常见，参与细菌间的遗传物质转移，而革兰氏阳性菌中此类结构较为罕见^[12]。金黄色葡萄球菌是典型的革兰氏阳性菌，它主要通过分泌外毒素引发食物中毒，可引起腹泻、呕吐和高热等反应^[13]。大肠杆菌是典型的革兰氏阴性菌，它依靠内毒素和多种毒力因子（如黏附素、侵袭素）致病，能够引起急性肠胃炎，败血症，脑膜炎等疾病^[14]。

尽管革兰氏阳性菌和革兰氏阴性菌在诸多方面存在显著差异，但在细胞结构的基本

组成上具有诸多相同点。两类细菌均具有典型的原核细胞结构，包括细胞膜、细胞质和遗传物质。细胞膜由磷脂双分子层和蛋白质组成，负责维持细胞内环境的稳定，并参与能量代谢和物质运输^[15]。细胞质中含有核糖体、DNA、RNA 和多种酶，是细菌进行代谢活动的主要场所，其中核糖体在蛋白质合成中起关键作用^[16]。此外，两类细菌的遗传物质均为环状 DNA，并可能携带质粒，质粒上常含有耐药基因或毒力因子，这为细菌的适应性和进化提供了遗传基础^[17]。

1.1.2 食源性致病菌的危害

随着全球食品贸易的快速发展和食品供应链的日益复杂化，食品安全问题愈发受到关注。食源性致病菌普遍存在于人类的日常生活当中，有报道指出，约 30% 的人类是金黄色葡萄球菌的无症状携带者^[18]。食源性致病菌的危害不仅限于食品安全问题，还涉及公共卫生和经济发展等多个领域。例如，根据美国疾病控制与预防中心的监测数据，2024 年 11 月，因麦当劳汉堡中使用的洋葱污染大肠杆菌，导致 14 个州超过 100 人感染，1 人死亡^[19]。食源性致病菌通过多种途径污染食品，包括原料污染、加工过程中的交叉污染以及储存和运输环节的不当操作。细菌在食品中繁殖并产生毒素，导致食品腐败变质，同时引发食源性疾病，严重者甚至危及生命。据报道，2011-2020 年期间，我国共报告食源性疾病暴发事件 34588 起，涉及病例 259481 例，其中细菌和病毒引起的事件占 16.42%，仅次于植物和动物毒素。在这些事件中，60.82% 的暴发集中在 6 月至 9 月，主要暴露场所为餐饮服务单位和家庭^[20]。在食品加工环节，食源性致病菌的污染风险贯穿整个供应链。研究表明，丝状形态的食源性致病菌在亚致死胁迫下可能形成，这种形态的细菌具有更强的生存能力和抗逆性，能够在不利环境条件下（如低温、高盐或酸性环境）中存活并持续繁殖，这一特性显著增加了食品加工过程中对致病菌防控的难度^[21]。

1.1.3 食源性致病菌防控技术概述

1.1.3.1 物理防控技术

物理防控技术可划分为三大类别：传统物理防控技术、新型物理防控技术以及气调保鲜技术。传统技术以热力杀菌、微波杀菌和紫外线杀菌等技术为代表，而新型技术则包括冷等离子体、光动力杀菌、脉冲强光杀菌和高压处理等技术。研究显示，这两类技术各具特点：传统技术因其发展时间长、应用领域广泛、杀菌效果显著且成本较低而备受青睐，但其也存在杀菌不彻底、可能破坏食品营养成分以及影响食品口感等缺陷；相比之下，新型技术在很大程度上解决了传统技术的不足，但同时也面临设备价格高昂、维护成本高以及操作条件严格等挑战^[22]。气调保鲜技术是一种基于物理原理的保鲜方法，其核心机制是通过调控包装内部氧气、二氧化碳及氮气的比例，抑制食品中微生物的繁

殖以及减缓其呼吸代谢速率,进而实现延长食品货架期的目标^[23]。气调保鲜技术展现出了保持食品色泽和口感、减少防腐剂添加等显著优势,但也无法掩盖其设备成本较高,一次性投资大,产学研结合有待加强等不足之处^[24]。

1.1.3.2 化学防控技术

除了物理防控技术外,化学防控技术是食源性致病菌防控的重要手段之一,主要通过向食品中添加化学防腐剂来抑制致病菌的生长、发育、繁殖及代谢活动。该技术的优势在于成本低廉、抑菌效果显著且适用场景广泛。然而,化学防腐剂在人体内的长期积累可能引发致癌、致畸及致突变等潜在风险,这一问题需引起高度重视且亟待解决^[25]。

近年来,天然植物源化学成分在抑菌保鲜领域的研究取得了显著进展。研究表明,植物源精油的抑菌机制包括但不限于破坏食源性致病菌细胞壁和细胞膜的完整性、与细菌细胞内靶点结合从而干扰能量代谢,以及破坏蛋白质和遗传物质结构等^[26]。在具体的应用方面,有研究人员利用喷雾干燥技术将肉桂精油和丁香精油包埋到 β -环糊精中,制备的微胶囊对五种常见食源性致病菌(如金黄色葡萄球菌、沙门氏菌、大肠杆菌、铜绿假单胞菌和枯草芽孢杆菌)表现出显著的抑制效果。进一步的实验表明,该微胶囊在低盐泡菜贮藏中的抑菌保鲜效果优于市售的苯甲酸钠^[27]。此外,研究还发现,原花青素与香芹酚按特定比例混合后,对金黄色葡萄球菌和大肠杆菌具有显著的协同抑菌作用。基于这一发现,研究人员将原花青素和香芹酚精油掺入壳聚糖-二醛纤维素复合膜中,成功开发出一种兼具抑菌和抗氧化功能的水果保鲜膜,为天然植物源化学成分在食品保鲜中的应用提供了新的思路^[28]。

1.1.3.3 生物防控技术

近年来,随着消费者对食品安全和环境保护的关注度不断提高,生物防控技术(利用自然界中的生物或其代谢产物来控制有害生物)因其天然、安全且高效的特性,逐渐成为各大领域的重要研究方向^[29]。具体到食源性致病菌防控领域,研究人员通过使用抑菌肽、细菌素、酶类及其代谢产物等微生物源抑菌成分来抑制食源性致病菌,它们可以通过多种机制发挥抑菌作用^[30]。例如 Sun 等人研究发现,一种源于辣木种子的抑菌肽对金黄色葡萄球菌具有显著抑菌作用。其机制包括对细胞膜造成不可逆的损伤、诱导活性氧积累、DNA 片段化及核破裂,并干扰肽聚糖合成、氨基酸代谢、甘油磷脂代谢、核苷酸代谢和能量代谢等多种生理过程^[31]。然而,该方法具有一定的局限性,微生物源抑菌成分普遍存在稳定性差、价格昂贵、对外部环境敏感等问题,需要与其他防控技术配合使用^[32-34]。

1.2 乳酸链球菌素概述

1.2.1 乳酸链球菌素的性质

Nisin 是一种由乳酸链球菌分泌的多肽类抑菌素，属于一类被称为细菌素的抑菌物质^[35]。Nisin 由 34 个氨基酸组成，分子量约为 3330.31，其分子结构中含有五种稀有氨基酸（ABA、DHA、DHB、ALA-S-ALA 和 ALA-S-ABA），这些氨基酸通过硫醚键形成内环结构，其中活性分子常以二聚体或四聚体形式存在^[36]。这些特点赋予了 nisin 优秀的理化性质：稀有氨基酸赋予 nisin 能够抑制细菌生长的能力；内环结构的存在使得 nisin 能够如高温和酸性环境保持活性^[37]；ninin 的活性分子常以二聚体或四聚体形式存在，使其更有效地与细菌细胞膜互动^[38]。然而，这些结构也导致 nisin 在碱性条件下稳定性下降，限制了其在某些应用中的广泛使用^[39]。

1.2.2 乳酸链球菌素的抑菌机理

尽管 nisin 作为一种抑菌肽已被广泛应用，但其抑菌机制至今尚未完全阐明，目前学术界普遍认可四种主要理论：首先，“孔道理论”认为 nisin 能够吸附到细菌细胞膜上，通过其氨基酸（如羊毛硫氨酸和甲基羊毛硫氨酸）的 N 端侵入细胞膜并形成孔道，导致细胞内小分子物质外流，从而破坏细胞的正常生理功能^[40]；其次，ninin 可通过结合细胞膜上的脂质体 II 来抑制细菌细胞壁的合成^[41]；此外，ninin 能够诱导细菌细胞内的氧化应激反应，导致活性氧水平升高，进而损伤细胞内的 DNA 和蛋白质^[42]，最终引发细胞凋亡；最后，ninin 还可能通过调控细菌的基因表达，抑制其关键代谢途径，从而实现抑菌效果^[43]。这些理论共同揭示了 nisin 多层次的抑菌机制，但其具体作用细节仍需进一步研究。

1.2.3 乳酸链球菌素的应用

自 1928 年发现以来，ninin 经历了从科学研究到商业化应用的漫长历程。上世纪八十年代，ninin 被美国和欧洲正式批准作为食品添加剂使用，标志着其安全性和有效性得到了广泛认可^[44]。得益于其可生物降解、无毒、可食用以及独特的抑菌机制等优势，ninin 近年来在食品、医药和饲料等领域备受关注。在食品工业中，ninin 的应用尤为广泛，已被美国、欧盟、中国和日本等国家和地区批准用于乳及乳制品、奶酪及其制品以及罐头食品中^[44,45]。随着研究的深入和应用技术的进步，ninin 的使用范围进一步扩大。例如，欧盟食品安全局的食品添加剂和食品中添加营养来源小组建议，将 ninin 的应用扩展至未成熟奶酪和热处理肉制品中，为其在食品保鲜领域的应用开辟了新的方向^[46]。在医药领域，ninin 凭借其独特的抑菌机制，展现出作为抗生素替代品的巨大潜力。例如，Sefali

等人的研究表明, 奥利万星与 nisin 联合使用可有效抑制从土耳其住院患者体内分离出的耐万古霉素肠球菌^[47]。此外, 研究还发现, nisin 与盐酸小檗碱联用可显著改善耐甲氧西林金黄色葡萄球菌感染的皮肤创面愈合效果^[48]。Howell 等人通过构建比格犬模型, 评估了以 nisin 为主要成分的漱口水, 结果显示其能够有效预防牙菌斑的形成并减轻牙龈炎症, 进一步验证了 nisin 在口腔健康领域的应用价值^[49]。与此同时, nisin 在饲料行业中也展现出广泛的应用前景。研究表明, 在肉鸡饲料中添加 nisin 不仅能显著提高饲料转化率, 还可替代离子载体抗球虫药盐霉素, 有效减少菌类杆菌和肠杆菌科的数量, 从而调节肉鸡肠道菌群平衡^[50]。此外, nisin 在影响牛瘤胃发酵方面也表现出替代传统饲料添加剂莫能菌素的潜力, 为畜牧业提供了更加安全、绿色的饲料添加剂选择^[51]。

1.3 植物源酚类物质概述

1.3.1 植物源酚类物质的分类

植物源酚类物质是一类广泛存在于植物体内的次生代谢产物, 同时也是植物应对外界环境胁迫的重要化学防御物质。根据分子结构中所含酚基 (-OH) 的数量以及是否含有羧基 (-COOH), 植物源酚类物质可简单分为三类: 仅含有一个酚基团 (-OH) 的单酚类化合物、含有多个酚基团 (-OH) 的多酚类化合物, 以及同时含有酚基 (-OH) 和羧基 (-COOH) 的酚酸类化合物^[52-54]。单酚类化合物通常具有抗氧化、抑菌和抗炎等生物活性, 但由于其分子结构中仅含有一个酚羟基^[52]。多酚类化合物含有多个酚羟基, 能清除自由基、抑制氧化反应并保护细胞免受氧化损伤, 相比于单酚类化合物, 多酚类化合物通产展现出更广泛应用价值^[53]。酚酸类化合物则因其分子结构中同时含有酚羟基和羧基, 能够参与酸碱反应、离子交换以及与生物大分子之间的静电相互作用或氢键结合, 从而普遍具有显著的抗氧化和抗炎活性^[54]。

1.3.2 植物源酚类物质的抑菌活性

研究表明, 植物源酚类物质的抑菌活性主要通过多种机制协同实现。首先, 植物源酚类物质能够靶向作用于细胞壁的主要成分 (如葡聚糖、几丁质和甘露聚糖), 抑制细胞壁的合成, 从而削弱细胞壁的屏障功能, 显著提高食源性致病菌对抑菌剂的敏感性^[55]。其次, 当植物源酚类物质附着于细菌细胞膜表面后, 会与细胞膜发生相互作用, 破坏其完整性, 导致细胞内容物外泄, 进而引发细菌死亡^[56]。此外, 酚类物质还能够渗透进入食源性致病菌内部, 与细胞内关键靶点结合, 干扰细菌的正常代谢过程^[57]。例如, Li 等人研究发现, 丁香酚能够通过抑制金黄色葡萄球菌磷酸转移酶系统中的酶 I、糖酵解途径中的葡萄糖-6-磷酸异构酶、三羧酸循环中的琥珀酰-CoA 合成酶以及群体感应系统