

蔗糖癸酸酯对沙门氏菌的抗菌作用及其机理初探

赵磊, 张鹤龔, 郝添阳, 李思然

(北京工商大学食品学院, 北京市食品添加剂工程技术研究中心, 食品质量与安全北京实验室, 北京 100048)

摘要: 本文研究了蔗糖癸酸酯对沙门氏菌的体外抗菌作用及其机理。采用肉汤稀释法测定了不同 pH 值下蔗糖癸酸酯对沙门氏菌的最小抑菌浓度 (MIC) 和最小杀菌浓度 (MBC)。通过测定菌体渗漏物、SDS-聚丙烯酰胺凝胶电泳分析、扫描电镜观察、DNA 结合试验等, 初步研究了蔗糖癸酸酯对沙门氏菌的抗菌机理。结果表明: 蔗糖癸酸酯在 pH 7.0 时对沙门氏菌的 MIC 为 20 mM, 在酸性条件下抗菌效果更为显著。蔗糖癸酸酯能够使菌体细胞内核酸、蛋白质和还原糖等外泄, 影响细胞膜结构完整性和菌体正常形态; 对菌体细胞蛋白 (尤其是大分子量蛋白) 的合成与积累有干扰作用; 同时糖酯的亲水性头基可与 DNA 磷酸基团以氢键的方式结合, 使 DNA 骨架收缩。因此, 可将蔗糖癸酸酯作为兼具乳化和防腐作用的多功能食品添加剂, 应用于动物源性食品的加工和储藏过程中。

关键词: 蔗糖癸酸酯; 沙门氏菌; 抗菌机理; SDS-PAGE; 扫描电镜

文章编号: 1673-9078(2016)5-46-51

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2016.5.08

In Vitro Antibacterial Activity and Mechanism of Sucrose Monocaprato Action against *Salmonella* Typhimurium

ZHAO Lei, ZHANG He-yan, HAO Tian-yang, LI Si-ran

(School of Food and Chemical Engineering, Beijing Engineering and Technology Research Center of Food Additives, Beijing Laboratory for Food Quality and Safety, Beijing Technology and Business University, Beijing 100048, China)

Abstract: In this study, the *in vitro* antibacterial activity of sucrose monocaprato against *Salmonella* Typhimurium was investigated, along with its underlying mechanism. The minimum inhibitory concentrations (MICs) and minimum bactericidal concentrations (MBCs) of sucrose monocaprato against *S. Typhimurium* were evaluated under different pH conditions using a broth macrodilution assay. The possible antibacterial mechanism against *S. Typhimurium* was preliminarily determined by evaluation of the released cellular constituents, sodium dodecyl sulfate-polyacrylamide gel electrophoresis (SDS-PAGE), scanning electron microscopic observations, as well as a DNA-binding assay. The results showed that the MIC of sucrose monocaprato at pH 7.0 against *S. Typhimurium* was 20 mM, and the antibacterial activity was more significant under acidic conditions. Treating *S. Typhimurium* with sucrose monocaprato led to the leakage of nucleic acids, proteins, and reducing sugars, as well as damage to the integrity of cell membranes, but with a normal cell morphology. Sucrose monocaprato interfered with the synthesis and accumulation of bacterial proteins (especially for high-molecular-weight proteins). Moreover, the hydrophilic head group of sucrose monocaprato could bind to the phosphate group of DNA by hydrogen bonding, which increased the contraction of the DNA backbone. Therefore, sucrose monocaprato can serve as a safe multifunctional food additive with both emulsifying and antibacterial activities, and shows potential to be applied in the processing and storage of animal-derived foods.

Key words: sucrose monocaprato; *Salmonella* Typhimurium; antibacterial mechanism; sodium dodecyl sulfate-polyacrylamide gel electrophoresis; scanning electron microscope

沙门氏菌 (*Salmonella*) 属肠道菌科, 广泛分布于自然界, 能引起伤寒、副伤寒和食物中毒, 导致肠

收稿日期: 2015-07-23

基金项目: 国家自然科学基金青年科学基金项目 (31201324); 北京市教育委员会科技计划面上项目 (KM201210011008); 北京市科技计划项目 (Z15110500120000)

作者简介: 赵磊 (1982-), 女, 博士, 副教授, 研究方向为功能性食品及食品安全

热症、败血症和胃肠炎三类疾病, 是引起食物中毒的重要病原菌。动物源性食品 (如肉、蛋及其相应制品等) 中常带有致病性沙门氏菌, 是食物中毒的主要来源^[1]。在各类细菌性的食物中毒中, 沙门氏菌引起的中毒病例在世界各国位居前三位, 已引起各界学者的广泛重视^[2]。

糖酯具有无毒、无臭、无刺激性及易生物降解等特点, 作为食品乳化剂、分散剂、质地改良剂等

品工业中被广泛使用^[3]。近年来研究表明,糖酯对微生物(如,蜡样芽孢杆菌、凝结芽孢杆菌、嗜热芽孢杆菌、枯草芽孢杆菌、大肠杆菌、金黄色葡萄球菌、酿酒酵母和镰刀菌等)具有较广泛的抑制作用^[4-8],对革兰氏阳性芽孢杆菌的抑菌作用尤为显著,因此在开发兼具防腐和乳化作用的多功能食品添加剂方面具有广阔的前景。本团队前期以蜡样芽孢杆菌、枯草芽孢杆菌、金黄色葡萄球菌、大肠杆菌和沙门氏菌为供试菌,研究了不同糖配基和脂配基对糖酯抑菌活性的影响,结果表明蔗糖癸酸酯的抗菌作用最强,抗菌效果与脂肪酸碳链长度成反比,且双糖脂肪酸酯的抗菌作用要优于单糖脂肪酸酯^[8]。然而,现有研究中有关糖酯对沙门氏菌的抑菌作用的报道较少,且尚无糖酯对沙门氏菌抑菌机理的系统研究。

本文采用肉汤稀释法研究了蔗糖癸酸酯对沙门氏菌的抗菌作用,并通过检测菌体渗漏物、扫描电镜观察细菌细胞膜、聚丙烯酰胺凝胶电泳(SDS-PAGE)分析菌体蛋白、DNA结合试验等,对蔗糖癸酸酯抗菌机理进行研究。本研究可为糖酯作为多功能食品添加剂的开发和利用提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 主要材料与仪器

蔗糖癸酸酯,本实验室制备^[8]; Mueller-Hinton 琼脂(MHA)、Mueller-Hinton 肉汤(MHB),北京奥博星生物技术有限责任公司;沙门氏菌(*Salmonella Typhimurium*) AS1.1174,中科院微生物所;醋酸异戊酯、六甲基二硅胺、丙烯酰胺,均为分析纯,国药集团化学试剂有限公司;十二烷基硫酸钠(SDS)、甲叉双丙烯酰胺、过硫酸铵、四甲基二乙胺,均为分析纯,美国 Sigma-Aldrich 公司;三羟甲基氨基甲烷、考马斯亮蓝 R-250、溴酚蓝、溴化乙锭,均为分析纯,美国 Amersco 公司;pBR322 质粒、10×DNA 上样缓冲液,日本 Takara 公司;琼脂糖, Bethesda Research Laboratories 公司。

HQ45 恒温摇床,中国科学院武汉科学仪器厂; TGL-10C 高速台式离心机,上海智城分析仪器制造有限公司;荧光/可见光凝胶成像系统,美国 Protein Simple 公司;SPECTRA MAX 190 连续波长酶标仪,美国 MD 公司;UV2450 紫外可见分光光度计,日本岛津株式会社;扫描电子显微镜,捷克 TESCAN 公司;Bio-Rad 型电泳仪,北京伯乐生命科学发展有限公司;SW-CJ-2FD 双人单面净化工作台,苏州净化设备有限公司;ZWP-A1230 恒温恒湿培养箱,上海智城分析

仪器制造有限公司。

1.2 试验方法

1.2.1 不同 pH 值下蔗糖癸酸酯对沙门氏菌的抗菌作用

1.2.1.1 菌悬液的制备

从菌种斜面上刮取少量沙门氏菌用 MHB 增菌,采用活菌计数法测定菌数,用 MHB 稀释制成 1×10^7 CFU/mL 浓度的细胞悬浮液,制备好的菌液放入 4 °C 冰箱保存备用。

1.2.1.2 蔗糖癸酸酯原液的制备

配制 MHB 液体培养基,用 0.1 M 柠檬酸和 0.1 M NaOH 调整到 pH 4.0、5.0、6.0、7.0 和 8.0;然后 121 °C 灭菌 15 min,冷却(经测定,灭菌前后 pH 基本一致);用不同 pH 的培养基溶解蔗糖癸酸酯样品,制备得到不同浓度的蔗糖癸酸酯原液。

1.2.1.3 最小抑菌浓度(MIC)和最小杀菌浓度(MBC)的测定

在常量肉汤稀释法的基础上做出一些调整,根据需要的不同蔗糖癸酸酯浓度,加入其相应原液。将试管排成一排,向各个试管加入适量的不同 pH 值 MHB 和该 pH 值对应的蔗糖癸酸酯原液,依次获得系列浓度分别为 2.5、5、10、20 和 40 mM 的蔗糖癸酸酯溶液各 5 mL。每排试管都设置空白对照。吸取一定量的沙门氏菌悬液依次加入各试管中,使初始浓度控制在 5×10^5 CFU/mL 左右,置于 37 °C 培养箱培养。经过 24 h 后,吸取菌液,用 MHA 进行活菌计数。以蔗糖癸酸酯浓度为横坐标,培养后测得的平均菌落数的对数值作为纵坐标,作图。试验设置 3 个平行,2 次重复。MIC 为菌落计数等于或小于最初接种菌量的最低浓度;MBC 为菌落计数等于或小于 0.1% 最初接种菌量的最低浓度。

1.2.2 蔗糖癸酸酯对沙门氏菌菌体渗漏物的影响

采用 Zhao 等报道的方法进行测定^[8]。收集对数期菌液,5000 r/min 离心 10 min,用 0.1 M PBS (pH 7.2) 洗涤 3 次菌体细胞后,用等量的 PBS 溶液重悬菌体。向 25 mL 菌体细胞悬液中添加蔗糖癸酸酯使其终浓度达到 MIC,空白组加入等量的 PBS,将其放在 37 °C 恒温摇床振荡培养 6 h。随后取 2 mL 菌液于 10000 r/min 离心 10 min 分离菌体,检测上清液中紫外吸收物(260 nm)、蛋白质和还原糖的含量。蛋白质含量的测定采用考马斯亮蓝法,还原糖含量的测定采用 3,5-二硝基水杨酸(DNS)法。

1.2.3 SDS-聚丙烯酰胺凝胶电泳(SDS-PAGE)

分析菌体蛋白

将按照 1.2.2 处理后的菌体细胞重悬于 2 mL PBS 中, 将空白组和蔗糖癸酸酯处理组稀释至相同菌体浊度, 取相同体积的菌悬液, 离心收集菌体, 随后将菌体重悬于上样缓冲液中, 在沸水浴中加热 10 min, 再次离心, 去除沉淀。用 12% 分离胶, 20 μ L 上样量进行电泳, 用考马斯亮蓝 R-250 染色 20 min, 脱色 2 h 后。利用凝胶成像仪进行照相, 并用 Quantity one 软件定量分析沙门氏菌菌体内可溶性蛋白含量的变化。

1.2.4 扫描电镜分析

向培养至对数期的菌液中, 加入蔗糖癸酸酯溶液使其终浓度达到 MIC, 空白组加入等量的 PBS, 混合均匀后于 37 $^{\circ}$ C 培养 6 h。处理后的细菌细胞用 0.1 M pH 7.2 PBS (含 2.5% 的戊二醛, V/V) 置于 4 $^{\circ}$ C 过夜进行固定, 用 0.1 M PBS 洗涤并重悬细胞, 静置 3-5 min, 10000 r/min 离心。随后用不同浓度的乙醇溶液 (30%、50%、70%、80%、90% 和 100%) 逐级对细胞进行脱水。最后用六甲基二硅胺烷干燥细胞。通过扫描电子显微镜观察蔗糖癸酸酯对细菌壁膜的影响。

1.2.5 蔗糖癸酸酯对细菌 DNA 作用的研究

1.2.5.1 蔗糖癸酸酯与 EB 竞争性结合 DNA 的研究

取 0.5 mL 离心管数只, 每管中分别加入 100 μ g/mL 的 pBR322 质粒 DNA 溶液 80 μ L, 100 μ g/mL EB 溶液 1.5 μ L, 然后再加入不同浓度的蔗糖癸酸酯溶液, 使终体积补足至 100 μ L, 同时设置空白对照组。在 37 $^{\circ}$ C 孵育 10 min, 采用连续波长多功能酶标仪在 560~720 nm 范围内进行扫描, 激发波长 $\lambda=535$ nm^[9]。以荧光强度 I_0/I (不存在蔗糖癸酸酯/存在蔗糖癸酸酯) 对蔗糖癸酸酯的浓度 ([Q]) 作图。根据经典的荧光猝灭理论^[10], 单纯的动态猝灭或静态猝灭, I_0/I 对 [Q] 作图均将得到一条直线。

1.2.5.2 磷酸盐对 DNA-EB-蔗糖癸酸酯体系荧光的影响

向酶标板中加入 100 μ g/mL 的 pBR322 质粒 DNA 溶液, 再向其中加入蔗糖癸酸酯, 使其终浓度达到 20 mM, 形成 DNA-EB-蔗糖癸酸酯的复合体系 (100 μ L), 然后滴加 50 mM 磷酸二氢钠溶液, 使其终浓度分别达到 0.98~11.54 mM。采用连续波长多功能酶标仪在, 激发波长 $\lambda_{ex}=535$ nm, 发射波长 $\lambda_{em}=600$ nm, 测其荧光发射峰强度的变化。

1.2.6 数据分析

采用 SPSS13.0 统计软件进行数据处理, 实验结果以均值 \pm 标准偏差 (Mean \pm S.D.) 表示。数据分析采用单因素方差分析, $p < 0.05$ 具有显著性差异, $p < 0.01$ 具有极显著性差异。

2 结果与讨论

2.1 不同 pH 值下蔗糖癸酸酯对沙门氏菌的抗菌作用

如图1所示, 在 pH 7 和 8 的条件下, 蔗糖癸酸酯对沙门氏菌的 MIC 为 20 mM; 在酸性条件下, 达到相同抗菌效果所需要的蔗糖癸酸酯浓度有不同程度的下降。当 pH 值下降至 6、5 和 4 时, 在柠檬酸的辅助下, MIC 降低至 10 mM, 而且在 pH 4 和 5 时, 蔗糖癸酸酯表现出杀菌作用, 对沙门氏菌的 MBC 为 20 mM, 这表明蔗糖癸酸酯在酸性条件下更易于其发挥抗菌作用。

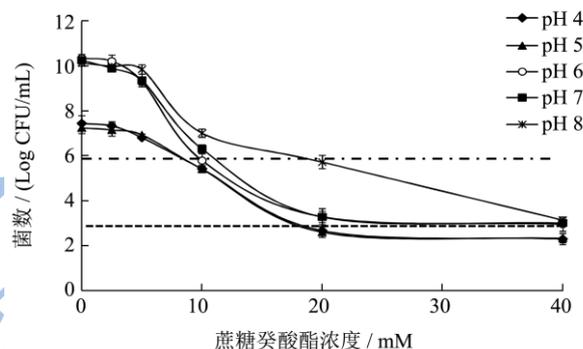


图1 不同 pH 值下蔗糖癸酸酯对沙门氏菌的抗菌效果

Fig.1 Antibacterial effects of sucrose monocaprate against *Salmonella Typhimurium* at different pH values

注: “- -”表示 MIC; “· · ·”表示 MBC。

2.2 蔗糖癸酸酯对沙门氏菌菌体渗漏物的影响

表 1 蔗糖癸酸酯对沙门氏菌菌体渗漏物的影响

Table 1 Effect of sucrose monocaprate on the release of cellular constituents of *Salmonella Typhimurium*

	空白	MIC
紫外吸收物(OD ₂₆₀)	1.30 \pm 0.09	1.90 \pm 0.11**
蛋白质/(μ g/mL)	2.36 \pm 0.12	40.51 \pm 3.53**
还原糖/(μ g/mL)	27.47 \pm 1.75	42.58 \pm 3.98**

注: ** $p < 0.01$ (与对照组比较)。

蔗糖癸酸酯对沙门氏菌菌体渗漏物的影响见表 1。经蔗糖癸酸酯处理后, 沙门氏菌的菌体渗漏物较空白对照组明显增多。其中, 蔗糖癸酸酯处理组的紫外吸收物 (OD₂₆₀)、蛋白质和还原糖的渗漏量分别为空白组的 1.46、17.17 和 1.55 倍。这表明沙门氏菌菌体细胞受到了一定程度的影响, 致使细胞内的紫外吸收物 (OD₂₆₀)、蛋白质和还原糖渗漏到体外的培养液中,

从而使培养液中细胞渗漏物的浓度增高。其中改变细胞膜结构的完整性、菌体生长代谢异常、诱导细胞凋亡等，均可能使沙门氏菌菌体渗漏物增多，具体作用机制还有待进一步研究。

2.3 蔗糖癸酸酯对沙门氏菌菌体蛋白表达的影响

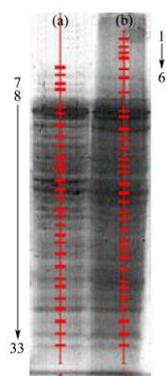


图2 蔗糖癸酸酯对沙门氏菌的 SDS-PAGE 图谱

Fig.2 SDS-PAGE images of *Salmonella* Typhimurium cells treated with sucrose monooctanoate

注: a.蔗糖癸酸酯处理组 (MIC, 6h); b.空白对照组。

由图2可知，经蔗糖癸酸酯处理后，沙门氏菌菌体蛋白电泳谱带与正常的菌体蛋白电泳谱带比较，呈现明显差别。空白对照组沙门氏菌菌体蛋白谱带颜色深且成分复杂(图2b)，而经蔗糖癸酸酯处理后，沙门氏菌菌体蛋白谱带明显变浅，大分子量区的蛋白谱带(谱带1-6)甚至消失(图2a)。采用凝胶成像分析软件Quantity One对处理前后的沙门氏菌菌体蛋白谱带进行定量分析，结果见表2。经蔗糖癸酸酯处理的沙门氏菌菌体蛋白含量明显下降。空白对照组的沙门氏菌菌体培养6h后总蛋白含量为11062.30(Int × mm)，而蔗糖癸酸酯处理6h后沙门氏菌菌体总蛋白含量为7209.18(Int × mm)，较空白对照组降低了34.83%。这说明蔗糖癸酸酯对沙门氏菌正常代谢过程中菌体蛋白(尤其是菌体内大分子蛋白)的表达与积累有一定的抑制作用，其可能的原因有：(1)损伤细菌细胞壁膜，使菌体内蛋白外漏；(2)干扰菌体蛋白合成，使菌体大多数蛋白的合成受到了抑制。具体原因将在后续研究中进行验证。

2.4 蔗糖癸酸酯对沙门氏菌外观结构的影响

通过扫描电镜能够清晰地观察到蔗糖癸酸酯对沙门氏菌细胞膜的影响，结果如图3所示。扫描电镜结果显示，空白对照组的菌株细胞壁膜结构完整，表面光滑，没有损伤；经过蔗糖癸酸酯(MIC)处理6h后，

沙门氏菌的细胞壁膜开始破裂，扭曲变形，表面粗糙，结构已经开始崩塌，并有菌体碎片出现。蔗糖癸酸酯属于非离子表面活性剂，为两亲性结构，沙门氏菌属于革兰氏阴性菌，表面存在脂多糖，脂多糖疏水的尾部在细胞膜外与蔗糖癸酸酯亲水部位结合，从而使蔗糖癸酸酯更容易的穿透细胞膜，从而发挥其抗菌作用。一般认为，表面活性剂可通过阻碍半透膜的正常作用以及渗进细胞内部，使酶钝化，阻碍核酸、蛋白质的合成，并引起蛋白质变性或细胞壁膜的破坏等来杀死细菌。蔗糖癸酸酯具体通过何种方式作用于沙门氏菌还需要深入研究。

表2 蔗糖癸酸酯处理6h后沙门氏菌菌体蛋白含量变化(Int × mm)

Table 2 Changes of the protein content in *Salmonella typhimurium* treated with sucrose monooctanoate for 6 h (Int × mm)

蛋白谱带	蔗糖癸酸酯处理组	空白对照组	蛋白谱带	蔗糖癸酸酯处理组	空白对照组
1	-	130.35	18	369.17	536.72
2	-	84.71	19	318.90	437.29
3	-	70.89	20	251.86	223.21
4	-	134.07	21	239.33	219.05
5	20.69	97.13	22	263.86	507.08
6	54.89	194.64	23	107.93	159.03
7	43.95	-	24	299.00	382.81
8	56.19	299.87	25	307.25	400.41
9	486.50	761.88	26	254.91	302.47
10	402.19	357.50	27	288.81	1036.56
11	332.17	433.77	28	158.34	211.15
12	238.49	214.22	29	266.68	299.12
13	276.68	313.56	30	285.73	371.55
14	330.22	363.24	31	217.97	174.91
15	219.44	920.85	32	206.59	367.75
16	315.84	321.70	33	226.17	404.74
17	369.46	330.10	总和	7209.18	11062.30

2.5 蔗糖癸酸酯与 EB 竞争性结合 DNA 的荧光光谱分析

溴化乙锭(EB)一直被用来作为DNA的二级结构的探针，它可以嵌入到双链DNA并增强荧光的灵敏度^[11]。当DNA构象发生变化时，EB从DNA分子中游离出来从而引起荧光的猝灭^[12]。通过测定DNA-EB体系的荧光强度的变化能够确定蔗糖癸酸酯与菌体DNA的结合方式。

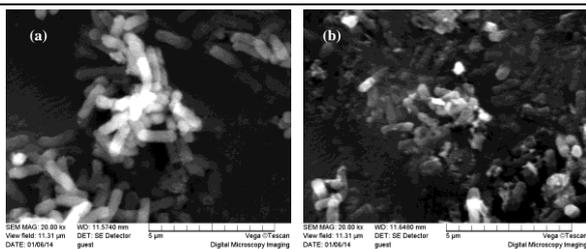


图3 蔗糖癸酸酯对沙门氏菌菌体外观结构的影响

Fig.3 Effect of sucrose monocaprato on the morphology of *Salmonella Typhimurium*

注: a.空白对照组; b.蔗糖癸酸酯处理组 (MIC, 6 h)。

如图4所示,蔗糖癸酸酯加入到DNA-EB体系后,可使其荧光强度明显降低。随着蔗糖癸酸酯浓度的增加,荧光强度逐渐降低。当蔗糖癸酸酯的浓度 ≥ 5 mM时,体系的最大吸收峰发生红移,由600 nm移向605 nm处,这是由于EB分子由疏水环境进入到亲水环境中造成的。这表明加入蔗糖癸酸酯后,一部分EB分子从DNA的疏水环境中游离出来,发生该现象的主要原因有:(1)蔗糖癸酸酯和DNA的磷酸基团相结合,从而造成DNA骨架的收缩,使一些EB分子脱离DNA;(2)蔗糖癸酸单酯与DNA发生嵌入作用,一部分嵌入到DNA碱基对(疏水性介质)的EB分子被蔗糖癸酸酯取代,并释放到亲水介质中。

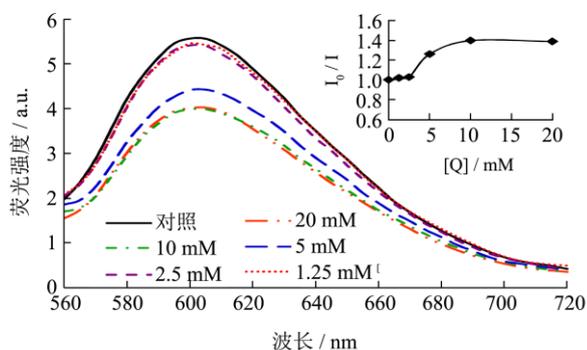


图4 蔗糖癸酸酯与EB竞争性结合DNA的荧光光谱

Fig.4 Fluorescence emission spectra of EB-DNA in the presence of sucrose monocaprato.

注:内嵌图为荧光光谱数据的Stern-Volmer图, $[EB] = 1.5 \mu\text{g/mL}$, $[DNA] = 80 \mu\text{g/mL}$ 。

通常情况下,如果化合物与DNA的结合模式是嵌入模式,DNA-EB体系的荧光强度将下降超过50%,且化合物与DNA的浓度比小于 $100^{[13]}$ 。如图4内嵌图所示,当蔗糖癸酸酯浓度达到10 mM时,DNA-EB体系的荧光强度下降了27.90%,继续增大浓度荧光强度不再下降,且下降幅度远小于50%。这一结果表明,蔗糖癸酸酯与DNA的结合模式有别于EB的嵌入模式。因此,蔗糖癸酸酯很可能通过其亲水头基以其多羟基的糖类结构,通过氢键与菌体DNA骨架带负电的磷酸基

团结合,使DNA骨架收缩。同时说明,蔗糖癸酸酯对沙门氏菌作用时除了破坏其细胞膜,还可能透过细胞膜与细胞内DNA发生作用,进一步影响其复制、转录、表达等功能,达到抗菌的作用。

在荧光猝灭过程中,无论对于动态猝灭还是静态猝灭,猝灭剂加入前后,以其荧光变化对猝灭剂浓度作图均有良好的线性关系。实验结果表明, I_0/I 与蔗糖癸酸酯的浓度之间无明显的线性关系。蔗糖癸酸酯对DNA-EB体系的荧光猝灭并非单纯的静态或动态猝灭方式,属于混合型。

2.6 磷酸盐对DNA-EB-蔗糖癸酸酯体系荧光的影响

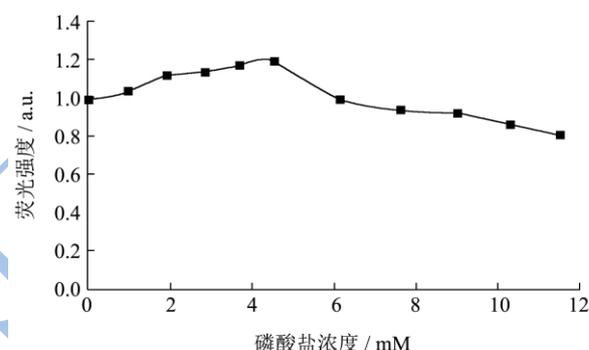


图5 磷酸盐浓度对DNA-EB-蔗糖癸酸单酯体系荧光强度的影响

Fig.5 Effect of phosphate concentration on the fluorescence intensity of DNA-EB-sucrose monocaprato.

如图5所示,加入磷酸盐(1.0~4.5 mM)后,蔗糖癸酸酯-EB-DNA体系的荧光强度逐渐升高,这说明加入的低浓度的磷酸根离子可以与蔗糖癸酸酯发生非特异性静电作用,在一定程度上阻碍了蔗糖癸酸酯与DNA骨架上磷酸基团的结合,从而减弱了蔗糖癸酸酯对DNA-EB体系的荧光猝灭作用。这说明DNA双螺旋骨架上的磷酸基团是蔗糖癸酸酯与DNA作用位点。当磷酸盐浓度增加至4.5~11.5 mM时,DNA-EB体系的荧光强度相对减小,这是由于高盐度对DNA-EB体系的荧光强度有猝灭作用所致^[14]。

3 结论

蔗糖癸酸酯对沙门氏菌具有较强的抗菌作用,在酸性条件下更为显著。蔗糖癸酸酯能够通过其两亲性结构干扰沙门氏菌细胞膜的正常功能,并促进菌体细胞内容物的泄露。蔗糖癸酸酯对沙门氏菌菌体蛋白的表达与积累也有一定的抑制作用。此外,蔗糖癸酸酯还可通过其亲水性头基通过氢键与DNA骨架的磷酸基团结合,造成菌体DNA构象的双螺旋结构收拢。

蔗糖癸酸酯通过上述几种方式共同作用于沙门氏菌,抑制了菌体正常的生长和代谢,最终发挥其抗菌作用,但有关蔗糖癸酸酯的分子抗菌机制还有待进一步深入研究。

参考文献

- [1] 游勇来.沙门氏菌的分离鉴定及 PCR 快速分型的研究[D].广州:华南理工大学,2013
YOU Yong-lai. Isolation, identification and rapid molecular typing of Salmonella by PCR [D]. Guangzhou: South China University of Technology, 2013
- [2] 王鑫,闫磊,曾庆祝.沙门氏菌的检测技术与方法[J].现代食品科技,2007,23(5):82-85
WANG Cui, YAN Lei, ZENG Qing-zhu. Detection technologies and methods of salmonella [J]. Modern Food Science and Technology, 2007, 23(5): 82-85
- [3] Gumel A M, Annuar M S M, Heidelberg T, et al. Lipase mediated synthesis of sugar fatty acid esters [J]. Process Biochemistry, 2011, 46(11): 2079-2090
- [4] Karlová T, Poláková L, Šmidrkal J, et al. Antimicrobial effects of fatty acid fructose esters [J]. Czech Journal of Food Science, 2010, 28(2): 146-149
- [5] Xiao D, Ye R, Davidson P M, et al. Sucrose monolaurate improves the efficacy of sodium hypochlorite against Escherichia coli O157: H7 on spinach [J]. International Journal of Food Microbiology, 2011, 145(1): 64-68
- [6] Habulin M, Sabeder S, Knez Z. Enzymatic synthesis of sugar fatty acid esters in organic solvent and in supercritical carbon dioxide and their antimicrobial activity [J]. Journal of Supercritical Fluids, 2008, 45(3): 338-345
- [7] 刘巧瑜,张晓鸣.麦芽糖单酯和蔗糖单酯的抑菌性研究[J].食品工业科技,2010,31(7):313-315
LIU Qiao-yu, ZHANG Xiao-ming. Study on antibacterial capacities of maltose and sucrose monoesters [J]. Science and Technology of Food Industry, 2010, 31(7): 313-315
- [8] Zhao L, Zhang H, Hao T, et al. In vitro antibacterial activities and mechanism of sugar fatty acid esters against five food-related bacteria [J]. Food Chemistry, 2015, 187: 370-377
- [9] Tang Y L, Shi Y H, Zhao W, et al. Interaction of MDpep9, a novel antimicrobial peptide from Chinese traditional edible larvae of housefly, with Escherichia coli genomic DNA [J]. Food Chemistry, 2009, 115(3): 867-872
- [10] Wang Q, Wang X, Yu Z, et al. Spectroscopic and electrochemical studies on the binding mechanism of DNA with an anthraquinone biological dye, nuclear fast red [J]. International Journal of Electrochemical Science, 2011, 6: 5470-5481
- [11] Yang P, Guo M. Interactions of organometallic anticancer agents with nucleotides and DNA [J]. Coordination Chemistry Reviews, 1999, 185: 189-211
- [12] Guo M, Yang P, Yang B, et al. Ethidium bromide as a fluorescent probe for the interaction mode between titanocene dichloride and DNA [J]. Chinese Science Bulletin, 1996, 41(13): 1098-1103
- [13] Ling X, Zhong W, Huang Q, et al. Spectroscopic studies on the interaction of pazufloxacin with calf thymus DNA [J]. Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology, 2008, 93(3): 172-176
- [14] 马婧,孟庆翔,任丽萍,等.荧光探针技术研究阿特拉津与 ct-DNA 的相互作用[J].光谱学与光谱分析, 2008, 28(9): 2122-2125
MA Jing, MENG Qing-xiang, REN Li-ping, et al. Study on the interaction of atrazine and ct-DNA by fluorescence probe technique [J]. Spectroscopy and Spectral Analysis, 2008, 28(9): 2122-2125