

高效液相色谱法检测食品中 Nisin 的方法研究

朱明扬, 余莲芳, 黄谦, 高炜

(岳阳市食品质量监督检验中心, 湖南岳阳 414000)

摘要: 乳酸链球菌素(Nisin)是一种天然食品防腐剂。本文以乳制品、酱制品和熟肉制品共 14 种食品为研究对象, 采用高效液相色谱仪(HPLC)定性定量评价其 Nisin 的回收率, 优化提取溶剂、色谱条件, 进而验证 HPLC 的精密度、稳定性、重复性和检出限。结果表明: 当草莓味优酸乳、辣蒜酱和蜜汁鱼仔称样量为 20 g 时, 提取溶剂为乙腈+稀盐酸, 其中稀盐酸百分比分别为 60%、40%和 60%, 经超声、水浴提取; 在 HPLC 紫外检测波长 220 nm 下, 梯度洗脱 16 min, 得到回收率分别为 90.40%、93.51%和 104.50%; RSD 均小于 1.6%; 精密度高; 稳定性好; 重复性好; 检出限分别为 194 IU/mL、205 IU/mL 和 198 IU/mL。

关键词: 乳酸链球菌素; 高效液相色谱法; 乳制品; 酱制品; 熟肉制品

文章编号: 1673-9078(2018)06-230-236

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2018.6.032

Determination of Nisin in Food by High Performance Liquid Chromatography

ZHU Ming-yang, YU Lian-fang, HUANG Qian, GAO Wei

(Yueyang Supervision and Inspection Center of Food Quality and Safety, Yueyang 414000, China)

Abstract: Nisin is a kind of natural food preservative. In this study, a total of 14 kinds of foods including dairy products, soy sauce products and cooked meat products as the research objects. The recovery rate of nisin in foods was quantitatively evaluated by high performance liquid chromatography (HPLC). The extraction solvent and chromatography conditions were optimized, and then the precision, stability, repeatability and detection limit of the HPLC were validated. The results showed that nisin was extracted by ultrasonic and water bath from 20 g of R-3, J-1 and SR-3. The extraction solvent was acetonitrile and diluted hydrochloric acid with the diluted hydrochloric acid percentages of 60%, 40% and 60%. HPLC condition was as following: UV detection at 220 nm and gradient elution for 16 minutes. , , and. The recovery rate were 90.40%, 93.51% and 101.34%, respectively, and the RSD was less than 1.6%. This method had high precision, good stability and good repeatability. The detection limits were 194 IU/mL, 205 IU/mL and 198 IU/mL, respectively.

Key words: Nisin; High Performance Liquid Chromatography; dairy product; sauce products; cooked meat product

Nisin 是乳酸乳球菌乳酸亚种(*Lactococcus lactis* subsp. *lactis*)的一种多肽产物, 由 34 个氨基酸残基组成, 分子量约为 3500 u^[1]。它是一种世界公认的、无害的天然食品防腐剂和抗菌剂。目前已超过 60 个国家批注允许使用, 包括欧盟、英国、美国和中国等^[2]。我国食品安全最新颁布的《食品添加剂使用标准》(GB 2760-2014)中, Nisin 批准用于乳制品、酱制品和熟肉制品(包括熟制水产品)等领域, 并规定其使用限量。然而 GB 1886.231-2016 仅为现行乳酸链球菌素检验的

收稿日期: 2018-01-09

基金项目: 湖南省食品药品安全科技项目(湘食药科 R01718)

作者简介: 朱明扬(1975-), 男, 工程师, 主要从事食品微生物检测研究; 余莲芳(1984-), 女, 硕士, 工程师, 研究方向: 食品检测与仪器分析研究(并列第一作者)

通讯作者: 高炜(1992-), 男, 硕士, 工程师, 主要从事食品加工及检测研究

产品标准, 2017 年 1 月 1 日实施, 却未有关于 Nisin 作为一种食品添加剂的分析检测方法标准。

目前国内外关于 Nisin 的检测方法主要包括琼脂扩散法^[3]、生物荧光法^[4]、电泳法^[5]、比浊法^[6]和免疫吸附法^[7,8]等。随着近年高效液相色谱仪和气相色谱仪在科研院所和检测单位的普及, 仪器分析取代化学分析和生物分析的标准越来越多, 方便了大批次情况下的检测工作。关于 HPLC 检测 Nisin 的相关报道, 如高彩红等^[2]采用 HPLC 检测发酵食品中 Nisin 的含量, 分别对固体和液体样品前处理, 在紫外检测波长 220 nm 下, 梯度洗脱 70 min, 结果表明线性关系、回收率和相对标准偏差良好; 黄谦和高炜等^[9]以辣蒜酱为研究对象, HPLC 评价了 Nisin 的溶解度、稳定性和生物利用度; 同时优化了食品中 Nisin 的提取条件, 以乙腈和稀盐酸(pH=2)为提取溶剂, 经超声和水浴处理, 梯度洗脱 34 min, 结果表明回收率为 92.54%,

RSD<3%; Efstathios 等^[6]研究比较了 HPLC 和浊度法定性定量检测乳酸链球菌素, 采用有机溶剂沉淀、离子交换色谱和固相萃取净化处理样品, 梯度洗脱 44 min, 并用外标法对吸收光谱分析和精确定量, 得出高效液相色谱法灵敏度和准确度比浊度分析法高。

一些学者也对 Nisin 净化处理过程进行了研究, 如 Borzenkov 等^[10]对比了疏水性膜、离子交换和疏水色谱法净化处理方式, 结果表明色谱法净化效果明显; 有学者也分析了净化处理乳酸菌细菌素的关键问题, 并提出净化效率的改善过程。因此, Nisin 的检测较多局限在产量、方法比对及纯化, 而少有关于作为添加剂针对食品的检测方法, 且关于我国食品安全标准中 Nisin 检测的研究非常少。

本文以 14 种食品为研究对象, 系统地对食品分类提取、优化色谱条件, 进而确定一种易操作、回收率

高、精确度高、稳定性好、重复性好、检出限低的 HPLC 检测方法。这既提高了食品中 Nisin 的安全性控制, 降低了食品安全隐患, 同时也对建立检测食品中 Nisin 的高效液相色谱法具有重要意义。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

依照《食品添加剂使用标准》(GB 2760-2014), 收集乳制品、酱制品和熟肉制品(包括熟制水产品、以鱼制品为重点)共三类 14 种食品(见表 1), 均在市场上购买。

其中熟肉制品的酱汁鱿鱼、鸭小腿、九卤酱辣脖已在市场流通的产品中, 标注添加乳酸链球菌素作为防腐剂。

表 1 样品收集

Table 1 Sample collection

食品分类	食品名称	样品编号	生产厂家
乳制品	发酵型干酪乳杆菌饮品	R-1	枣庄市蒙脉食品有限公司
	酸乳饮料	R-2	湖南长炼交通运输实业有限公司
	草莓味优酸乳	R-3	湖南长炼交通运输实业有限公司
	AD 味优酸乳	R-4	湖南长炼交通运输实业有限公司
	无蔗糖酸乳料	R-5	湖南长炼交通运输实业有限公司
酱制品	辣蒜酱	J-1	湖南金椒汇食品有限公司
	豆豉野山椒	J-2	湖南汇元食品科技有限公司
	豆豉酱	J-3	湖南金椒汇食品有限公司
熟肉制品 (包括熟制水产品 以鱼制品为重点)	酱汁鱿鱼	SR-1	岳阳市伟民食品有限公司
	鸭小腿	SR-2	岳阳靖园食品有限公司
	蜜汁鱼仔	SR-3	湖南省俊杰食品有限公司
	真肉串	SR-4	湖南喂你好食品有限公司
	野山椒鱼	SR-5	湖南渔米之湘食品有限公司
	九卤酱辣脖	SR-6	岳阳佳鑫食品有限公司

乳酸链球菌素标准品(纯度 98%以上, 生物试剂 900 IU/mg), 源叶生物科技有限公司; 乙腈(色谱级), Sigma-Aldrich 上海贸易有限公司; 三氟乙酸(分析纯), 天津市光复精细化工研究所; 浓盐酸(分析纯), 株洲市星空化玻有限责任公司。

Agilent 1100 高效液相色谱仪, 安捷伦科技有限公司; WH-2 微型漩涡混合仪, 上海沪西分析仪器厂有限公司; H1850R 台式高速冷冻离心机, 湖南湘仪实验室仪器开发有限公司;

Smart 2 Pure 超纯水机, 赛默飞世尔科技有限公司; PHS-3C pH 计, 上海精科有限公司; KQ-600E 数控超声波清洗器和 KQ-700DE 电子恒温不锈钢水浴锅, 昆山市超声仪器有限公司。

1.2 实验方法

1.2.1 乳酸链球菌素标准贮备液制备(20 mg/mL)

称取 1.0 g(精确至 0.00001 g)标准品于 50 mL 容量瓶中, 加稀盐酸(pH=2)定容, 4 °C 冰箱保存, 有效期 1 个月。

1.2.2 乳制品、酱制品和熟肉制品提取液制备

称取搅拌均匀样品 20g(精确至 0.0001 g)于 50 mL 离心管中, 加入乙腈和稀盐酸, 稀盐酸百分比分别为 100%、80%、60%、40%、20%、0%(当稀盐酸百分比为 60%时, 先加入 6 mL 乙腈, 再加入 9 mL 的稀盐酸(pH=2)), 共 15 mL(熟肉制品 25 mL), 于 2000 r/min

下高速振荡混匀, 30 °C 超声 20 min, 再 50 °C 下水浴 40 min, 4 °C 10000 r/min 离心 20 min。取下层提取液过 0.22 μm 滤膜, 测定 Nisin 含量^[9]。做三个平行, 以标品为对照, 提取液中的 Nisin 含量以回收率表示, 公式如式 (1)。

$$X = \frac{m_1}{m_2} * 100 \quad (1)$$

其中 X 为 Nisin 含量的回收率(%); m₁ 为加标量(IU); m₂ 为检测量(IU)。

1.2.3 标准曲线的绘制

准确吸取标准储备液 12.5 mL 置于 50 mL 容量瓶中, 用乙腈稀释至刻度, 配置成浓度为 5 mg/mL 标准工作液。再准确吸取标准工作液 0.4 mL、0.8 mL、1.2 mL、1.6 mL、2.0 mL、4.0 mL、6.0 mL、8.0 mL 至 10 mL 容量瓶中。其乳酸链球菌素标准溶液的最终效价分别为 180 IU/mL、360 IU/mL、540 IU/mL、720 IU/mL、900 IU/mL、1800 IU/mL、2700 IU/mL、3600 IU/mL、4500 IU/mL, 经 0.45 μm 微孔滤膜过滤, 浓度由低到高进样, 以效价为横坐标, 以峰面积为纵坐标, 绘制标准曲线。

1.2.4 色谱条件

参考黄谦等^[9]、Efstathios 等^[6]报道的高效液相色谱法, 略作修改后对 Nisin 含量进行高效液相色谱法检测。通过对比标准物质的保留时间和光谱以及添加标准物质到样品中判定可疑峰, 并制作标准曲线, 采用外标法进行定量。

色谱条件: 色谱柱, TC-18 柱(4.6 mm×250 mm, 5 μm); 流动相, 0.1%三氟乙酸和 10%乙腈的水溶液(A)、0.07%三氟乙酸和 90%乙腈的水溶液(B); 梯度洗脱程序如表 2; 流速为 1.2 mL/min; 柱温为 30 °C; 进样体积为 10 μL; 检测波长为 220 nm。

表 2 流动相洗脱程序

Table 2 Gradient elution program

流动相 体积配比	洗脱时间/min						
	0	0.2	6	9	10	10.1	16
A	75	68.5	68.5	68	68	75	75
B	25	31.5	31.5	32	32	25	25

1.2.5 精密度试验

取样品提取液, 连续进样 6 针测定^[11]。

1.2.6 稳定性试验

取样品提取液 6 份, 分别在 4 °C 下保存 0 h、6 h、12 h、24 h、48 h、96 h 后测定^[11]。

1.2.7 重复性试验

样品提取液各制备 6 份待测定^[11]。

1.2.8 检出限

取样品提取液, 进样测定, 分析色谱图并计算信噪比和检出限^[11]。

2 结果与分析

2.1 乳制品中 Nisin 提取的回收率

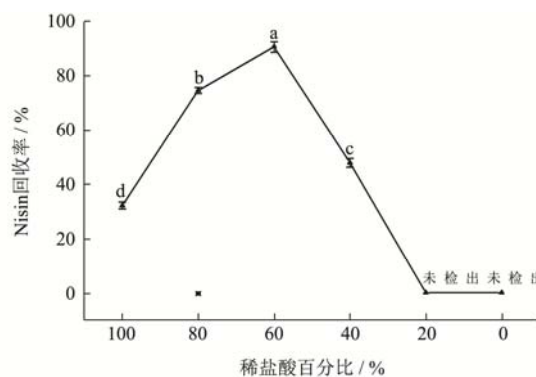


图 1 提取溶剂对 R-3 中 Nisin 回收率的影响

Fig.1 The effect of solvent extraction on the recovery rate of Nisin in R-3

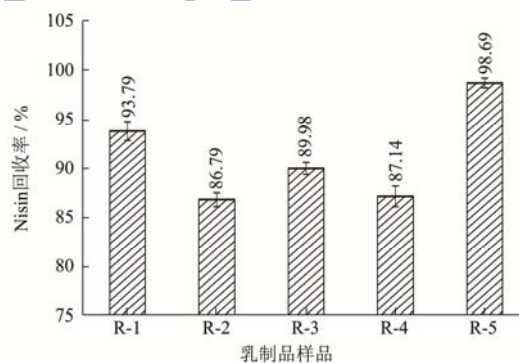


图 2 稀盐酸百分比为 60% 时, 乳制品中 Nisin 的回收率

Fig.2 The recovery rate of Nisin in dairy products in the percentage of diluted hydrochloric acid is 60%

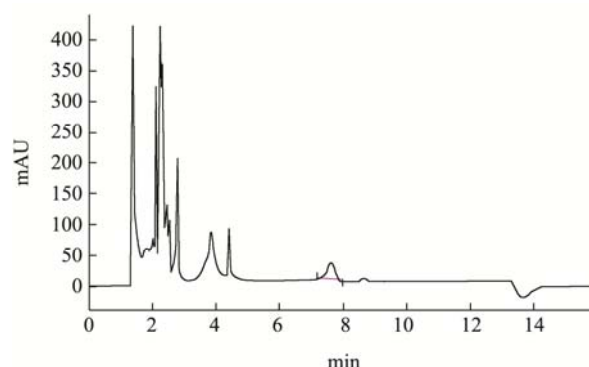


图 3 R-1 1800 IU/mL 提取液色谱图

Fig.3 Chromatogram of R-11800 IU/mL extract liquid

由图 1 可知, 以 R-3 为研究对象, 相同的 Nisin 添加量, 在稀盐酸百分比分别为 100%、80%、60%、40%、20%、0% 的溶剂提取下表现出极显著的差异 ($p < 0.01$)。其中, 当稀盐酸百分比为 60% 时, 回收率

最高为 90.40%，随着提取溶剂稀盐酸百分比增加或减少，回收率均下降。当提取溶剂稀盐酸百分比减少到 20% 时，Nisin 未检出。龚东磊^[12]等研究了 Nisin 对活性益生菌乳饮料的抑菌性，结果表明少量的 Nisin 添加量，可以显著性地延长产品的酸化变质。

以乳制品 R-1、R-2、R-3、R-4、R-5 为研究对象，相同的 Nisin 添加量，加入 6 mL 乙腈、再加入 9 mL 的稀盐酸(pH=2)作为提取溶剂的回收率，如图 2 所示。其中，R-5 回收率最高为 98.69%，R-1 回收率次之为 93.79%，再依次是 R-3、R-4、R-2，回收率均在 86%~100% 之间。样品色谱图如图 3 所示，在 5~12 min 内均实现了基线分离，且分型尖锐明显。

2.2 酱制品中 Nisin 提取的回收率

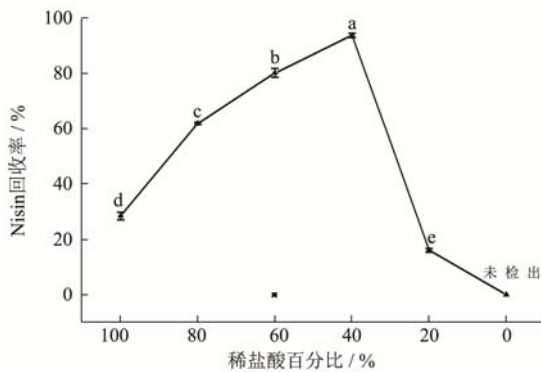


图 4 提取溶剂对 J-1 中 Nisin 回收率的影响

Fig.4 The effect of solvent extraction on the recovery rate of Nisin in J-1

由图 4 可知，以 J-1 为研究对象，相同的 Nisin 添加量，在稀盐酸百分比分别为 100%、80%、60%、40%、20%、0% 的溶剂提取下表现出极显著的差异 ($p < 0.01$)。

其中，当稀盐酸百分比为 40% 时，回收率最高为 93.51%，随着提取溶剂稀盐酸百分比增加或减少，回收率均下降。当提取溶剂稀盐酸百分比减少到 0% 时，Nisin 未检出。

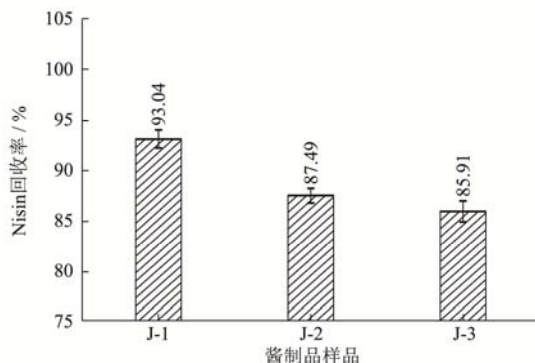


图 5 稀盐酸为 40% 时，酱制品中 Nisin 的回收率

Fig.5 The recovery rate of Nisin in sauce products with the percentage of diluted hydrochloric acid of 40%

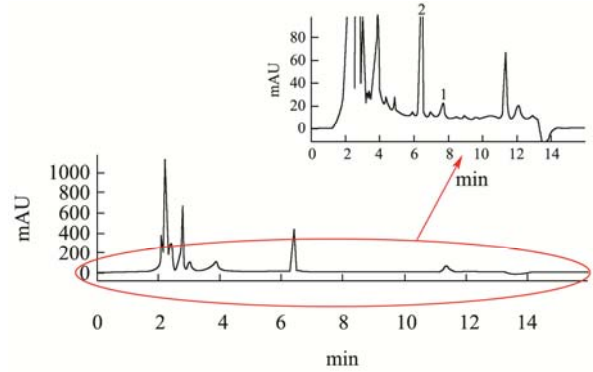


图 6 J-1 1800 IU/mL 提取液色谱图

Fig.6 Chromatogram of J-11800 IU/mL extract liquid

王莉嫦^[13]等研究了 Nisin 在鸡汁鲍鱼罐头中的应用，正交试验优化得到 Nisin 浓度为 300 mg/kg 时，产品口感好，成本低。Hsieh^[14]等研究了 Nisin 在豆浆、大蒜中的协同作用，结果表明抑制李斯特菌作用增强。

以酱制品 J-1、J-2、J-3 为研究对象，相同的 Nisin 添加量，加入 9 mL 乙腈、再加入 6 mL 的稀盐酸(pH=2)作为提取溶剂的回收率，如图 5 所示。其中，J-1 回收率最高为 93.04%，J-2 回收率次之为 87.49%，最低的是 J-3 为 85.91%。样品色谱图如图 6 所示，在 5~9 min 内均实现了基线分离，且分型尖锐明显。

2.3 熟肉制品中 Nisin 提取的回收率

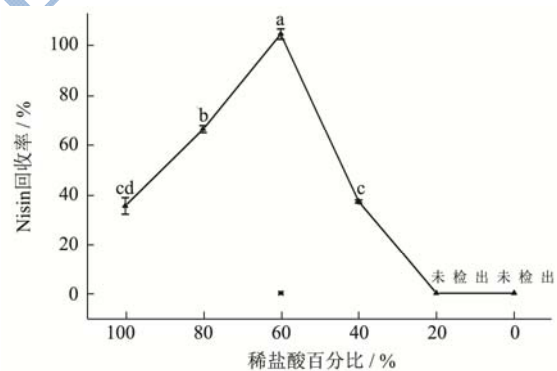


图 7 提取溶剂对 SR-3 中 Nisin 回收率的影响

Fig.7 The effect of solvent extraction on the recovery rate of Nisin in SR-3

由图 7 可知，以 SR-3 为研究对象，相同的 Nisin 添加量，在稀盐酸/乙腈百分比分别为 100%、80%、60%、40%、20%、0% 的溶剂提取下表现出极显著的差异 ($p < 0.01$)。其中，当稀盐酸/乙腈百分比为 60% 时，回收率最高为 104.5%，随着提取溶剂稀盐酸百分比增加或减少，回收率均下降。当提取溶剂稀盐酸百分比减少到 20% 时，Nisin 未检出。

贾晓云^[15]、Fernanda^[16]和温斯颖^[17]等分别研究了鲜肉、熟肉和火腿中 Nisin 的抗菌作用，结果表明菌的数量急剧降低。

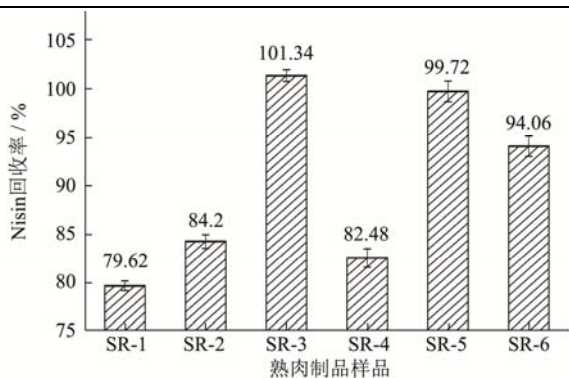


图8 稀盐酸为60%时, 熟肉制品中Nisin的回收率

Fig.8 The recovery rate of Nisin in cooked meat product with the percentage of diluted hydrochloric acid of 60%

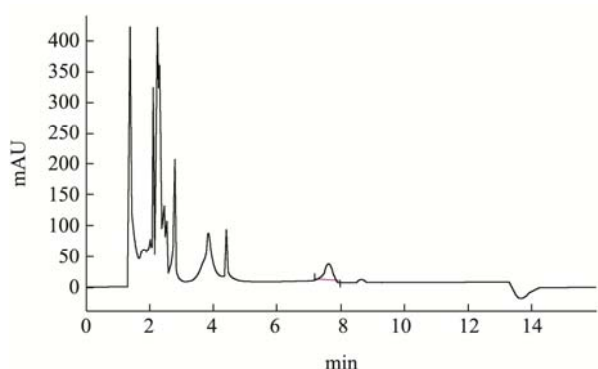


图9 SR-1 1800 IU/mL 提取液色谱图

Fig.9 Chromatogram of SR-11800 IU/mL extract liquid

以熟肉制品 SR-1、SR-2、SR-3、SR-4、SR-5、SR-6 为研究对象, 相同的 Nisin 添加量, 加入 10 mL 乙腈, 再加入 15 mL 的稀盐酸(pH=2)作为提取溶剂的回收率, 如图 8 所示。其中, SR-3 回收率最高为 101.34%, SR-5 回收率次之为 99.72%, 再依次是 SR-6、SR-2、SR-4、SR-1, 回收率均在 79%~100%之间。样品色谱图如图 9 所示, 在 5~12 min 内均实现了基线分离, 且分型尖锐明显。

2.4 标准曲线的绘制

表3 R-3、J-1、SR-3 样品高效液相色谱法的精密度、稳定性、重复性和检出限试验

Table 3 The precision, stability, repeatability and detection limit test of HPLC in R-3, J-1 and SR-3

编号	精密度		稳定性		重复性		检出线	
	时间 /min	峰面积 mAU	时间 /min	峰面积 mAU	时间 /min	峰面积 mAU	信噪比 N/S	检出限
乳制品	4500 IU/mL		R-3		R-3		R-3	
1	7.66	507.6	7.67(0 h)	196.5	7.67	196.5		
2	7.66	501.6	7.66(6 h)	195.4	7.62	197.4		
3	7.66	509.9	7.63(12 h)	190.0	7.63	199.0		
4	7.66	504.5	7.66(24 h)	184.2	7.60	201.9		194
5	7.66	511.8	7.61(48 h)	176.8	7.62	191.5	5.56	IU/mL

转下页

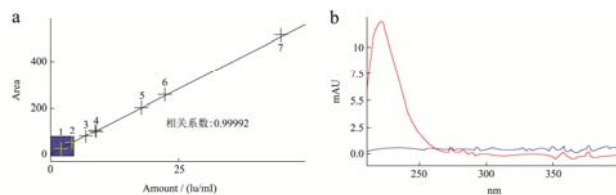


图10 220 nm 标准曲线(a)和光谱图(b)

Fig.10 220 nm standard curve (a) and spectrogram (b)

由图 10a 可知, 180 IU/mL、360 IU/mL、540 IU/mL、720 IU/mL、1800 IU/mL、2700 IU/mL、4500 IU/mL 共 7 个不同浓度的标准溶液制作标准曲线。结果表明: 以效价为横坐标, 以峰面积为纵坐标, 线性关系为 $Y=0.114X-5.725$, $r=0.99992$ 。图 10b 为乳酸链球菌素目标峰的光谱图, 最大吸收波长为 220 nm。图 11 为 1800 IU/mL 标液在吸收波长为 220 nm 下的色谱图。

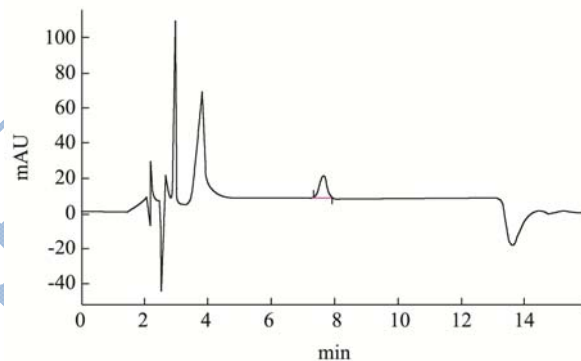


图11 标液(1800 IU/mL)色谱图

Fig.11 Chromatogram of standard liquid (1800 IU/mL)

2.5 高效液相色谱法的精密度、稳定性、重复性、检出限试验

由表 3 可知, 以 R-3、J-1、SR-3 为研究对象, 采用 1.2.4 高效液相色谱条件分别对其精密度、稳定性、重复性、检出限试验。

接上页

6	7.66	515.8	7.69(96 h)	159.2	7.61	192.0		
RSD/%	0	1.00	0.37	7.65	0.32	2.05		
酱制品	900 IU/mL		J-1		J-1		J-1	
1	7.87	89.5	7.81(0 h)	184.6	7.81	184.6		
2	7.87	91.0	7.84(6 h)	183.9	7.79	188.9		
3	7.87	92.2	7.90(12 h)	183.8	7.80	176.8		
4	7.87	88.8	7.74(24 h)	180.9	7.81	182.9	5.80	205
5	7.87	89.7	7.74(48 h)	177.1	7.79	177.1		IU/mL
6	7.87	91.9	7.68(96 h)	170.3	7.78	186.3		
RSD/%	0	1.53	1.03	3.08	0.15	2.69		
熟肉制品(包括熟制水产品)	1800 IU/mL		SR-3		SR-3		SR-3	
1	7.3	198.9	7.21(0 h)	201.4	7.20	201.4		
2	7.32	202.1	7.26(6 h)	199.2	7.19	210.8		
3	7.32	197.4	7.20(12 h)	196.6	7.18	192.6		
4	7.32	204.0	7.19(24 h)	191.0	7.19	198.2	5.67	198
5	7.32	200.5	7.08(48 h)	182.3	7.20	200.0		IU/mL
6	7.32	199.3	7.17(96 h)	164.9	7.19	186.7		
RSD/%	0	1.19	0.83	9.37	0.10	4.13		

表 4 高效液相色谱法检测 14 种食品中 Nisin 的试验结果

Table 4 The results of Nisin in 14 foods detected by HPLC

样品编号	R-1	R-2	R-3	R-4	R-5	J-1	J-2
添加量/(IU/mL)	1800	1800	1800	1800	1800	1800	1800
检出值/(IU/mL)	1688.22	1562.22	1627.20	1568.52	1776.42	1683.18	1574.82
回收率/%	93.79	86.79	90.4	87.14	98.69	93.51	87.49
样品编号	J-3	SR-1	SR-2	SR-3	SR-4	SR-5	SR-6
添加量/(IU/mL)	1800	1800	1800	1800	1800	1800	1800
检出值/(IU/mL)	1546.38	1433.16	1515.60	1881.00	1484.64	1794.96	1693.08
回收率/%	85.91	79.62	84.20	104.50	82.48	99.72	94.06

结果表明：精密度保留时间的 RSD 均为 0，峰面积的 RSD 均小于 1.6%，精密度高；稳定性保留时间的 RSD 均小于 1.1%，峰面积的 RSD 以 J-1 为最低，稳定性较好；重复性保留时间的 RSD 均小于 0.4%，峰面积的 RSD 以 R-3 为最低，重复性好，其次 J-1；检出限以 R-3 最低为 194 IU/mL，J-1 和 SR-3 分别是 205 IU/mL、198 IU/mL；表 4 为 14 种食品中 Nisin 的试验结果。

3 结论

3.1 乳制品、酱制品和熟肉制品中乳酸链球菌素提取表明：稀盐酸百分比分别为 60%、40%和 60%，经超声、水浴、离心，得到的回收率分别为 90.40%、93.51%和 104.50%。

3.2 高效液相色谱法得出：TC-18 色谱柱(4.6 mm×250 mm, 5 μm)；流动相，0.1%三氟乙酸和 10%乙腈的水

溶液(A)、0.07%三氟乙酸和 90%乙腈的水溶液(B)；梯度洗脱 16 min；检测波长为 220 nm。以 R-3、J-1、SR-3 为研究对象，该方法分别对其精密度、稳定性、重复性、检出限试验，结果表明：保留时间的 RSD 均小于 1.1%；精密度高；稳定性以 J-1 为最佳；重复性以 R-3 为最佳，其次 J-1；检出限以 R-3 最低为 194 IU/mL，J-1 和 SR-3 分别是 205 IU/mL、198 IU/mL。

参考文献

- [1] Nina I, Matti K. Bioluminescence-based bioassays for rapid detection of Nisin in food [J]. Biosensors and Bioelectronics, 2007, 22(9): 1982-1987
- [2] 高彩红,宋杰,崔倩,等.高效液相色谱法检测食品中防腐剂-乳酸链球菌素[J].农业科技与装备,2011,203(5):26-28
GAO Cai-hong, SONG Jie, CUI Qian, et al. Nisin detection of food antiseptic by HPLC [J]. Agricultural Science and

- Technology and Equipment, 2011, 203(5): 26-28
- [3] Pongtharangkul T, Demirci A. Evaluation of agar diffusion bioassay for nisin quantification [J]. Microbiol Biotechnol, 2004, 65(3): 268-272
- [4] Nina V, Simone G, Stefania A, et al. Bioluminescence-based identification of nisin producers-A rapid and simple screening method for nisinogenic bacteria in food samples [J]. Food Microbiology, 2012, 158(2): 126-132
- [5] Rossano R, Fiore D A, Elia D A, et al. New procedure for the determination of nisin in milk [J]. Biotechnology Techniques, 1998, 10(12): 783-786
- [6] Efstathios K, Katerina T, Maria T. Monitoring of multiple bacteriocins through a developed dual extraction protocol and comparison of HPLC-DAD with turbidometry as their quantification system [J]. Microbiological Methods, 2016, 127(6): 123-131
- [7] 樊蕴秀.牛乳中 β -内酰胺酶快速筛选方法的研究[J].食品工业,2014,7(35):74-76
FAN Yun-xiu. A study on quickly determining β -lactamase in milk [J]. Food Industry, 2014, 7(35): 74-76
- [8] 张世伟,冯荣虎,王士峰,等.基于单克隆抗体的食品中乳酸链球菌素酶联免疫方法[J].中国食品添加剂,2017, 8:168-169
ZHANG Shi-wei, FENG Rong-hu, WANG Shi-feng, et al. Enzyme linked immunosorbent assay for quantitative detection of Nisin based on monoclonal antibody food [J]. China Food Additives, 2017, 8: 168-169
- [9] 黄谦,余莲芳,高炜,等.HPLC 评价 Nisin 物化特性及其在食品中提取研究[J].食品工业科技,2018,39(5):256-260
HUANG Qian, YU Lian-fang, GAO Wei, et al. The evaluation of the physical and chemical properties of Nisin with HPLC and its extraction in food [J]. Science and Technology of Food Industry, 2018, 39(5): 256-260
- [10] Borzenkov V, Surovtsev V, Dyatlov I. Obtaining bacteriocins by chromatographic methods [J]. Advances in Bioscience and Biotechnology, 2014, 5(5): 446-451
- [11] JJG 705-2014, 中华人民共和国国家计量检定规程[S]
JJG 705-2014, National metrological verification regulations of people's republic of China [S]
- [12] 龚东磊,王娇.乳酸链球菌素对益生菌乳饮料后酸化及活菌数的影响[J].现代食品,2017,4(7):126-128
GONG Dong-lei, WANG Jiao. Effects of Nisin on post acidification and viable count of probiotic milk drinks [J]. Modern Food, 2017, 4(7): 126-128
- [13] 王莉嫦.乳酸链球菌素在鸡汁鲍鱼罐头中的应用[J].食品与机械,2013,4(29):174-199
WANG Li-e. Nisin applied in chicken sauce canned abalone [J]. Food and Machinery, 2013, 4(29): 174-199
- [14] Hsieh Y H, Yan M, Liu J G, et al. The synergistic effect of Nisin and garlic shoot juice against *Listeria* spp. in soymilk [J]. Taiwan Institute of Chemical Engineers, 2011, 42(4): 576-579
- [15] 贾晓云,张顺亮,刘文营,等.乳酸链球菌素-普鲁兰多糖-海藻酸钠可食用抗菌共混膜的制备及其在生鲜肉保鲜中的应用[J].肉类研究,2017,4(31):17-21
JIA Xiao-yun, ZHANG Shun-liang, LIU Wen-ying, et al. Development and application of Nisin-Pullulan-Sodium alginate composite edible film in preserving the quality of fresh pork during chilled storage [J]. Meat Research, 2017, 4(31): 17-21
- [16] Fernanda G S, Layanne A M, Hilario C M. A central composite rotatable design (CCRD) approach to study the combined effect of antimicrobial agents against bacterial [J]. Microbiol Biotechnol, 2015, 31(9): 1361-1367
- [17] 温斯颖,韩衍青,方东路,等.超高压协同乳酸链球菌素抑制低温火腿中的耐压腐败菌[J].食品工业科技,2017,1(33): 59-62
WEN Si-ying, HAN Yan-qing, FANG Dong-lu, et al. Combined effect of ultra high pressure and Nisin on inactivation of spoilage pressure-resistant bacteria isolated from smoked cooked ham [J]. Science and Technology of Food Industry, 2017, 1(33): 59-62