

芽孢杆菌 *Bacillus sp.* X-98-2 对芒果保鲜作用

杨胜远, 陈桂光, 肖功年, 梁智群
(广西大学工业测试实验中心, 广西 南宁 530004)

摘 要: 对芒果病原菌的拮抗微生物芽孢杆菌 *Bacillus sp.* X-98-2 产抑菌活性物质的发酵条件, 及其对芒果保鲜作用进行了研究。结果表明该拮抗菌适宜发酵条件为: 葡萄糖 0.3%、蛋白胨 0.5%、牛肉浸膏 0.3%、NaCl 0.1%、 $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 0.1%、pH 7.0, 培养温度为 28℃, 时间 48h。其发酵液可防止芒果果柄脱落, 延缓果皮转黄, 抑制新陈代谢, 降低呼吸强度, 减少失重, 延长保存期。

关键词: 拮抗微生物; 芽孢杆菌; 芒果; 保鲜; 炭疽病菌

The Effect of *Bacillus sp.* X-98-2 on the Preservation of Mango

YANG Sheng-yuan, CHEN Gui-guang, XIAO Gong-nian, LIANG Zhi-qun
(Industrial Testing and Experimental Center of Guangxi University, Nanning 530004, China)

Abstract: The culture conditions for the production of antagonist by *Bacillus sp.* X-98-2 and the effect on preservation of mango were investigated. The results showed that the optimal culture conditions were 0.3% glucose, 0.5% peptone, 0.3% immersed beef cream, 0.1% NaCl and 0.1% $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, pH 7.0, at 28℃ for 48h. The leavening had a good effect on preservation of mango in many aspects, such as preventing fruit stem end falling off, postponing the seedcase to turn yellow, inhibiting the metabolism, reducing the respiratory intensity, keeping the weight, and so on.

Key words: Antagonistic microorganisms; *Bacillus*; mango; preservation; *Colletotrichum gloeosporioides*

中图分类号: S667.7

文献标识码: B

文章编号: 1002-6630 (2004) 03-0180-04

芒果是一种营养丰富, 色、香、味俱全的热带水果。芒果不耐贮藏, 易腐烂, 常温下放置 1 周左右, 缘由于果实后熟作用及病菌的侵染^[1~4]。在亚洲, 芒果炭疽病和蒂腐病是芒果的主要病害之一^[5]。炭疽病菌和蒂腐病菌在芒果幼果期潜伏、侵染, 在芒果采后贮藏、运输及后熟时开始发病腐烂, 造成严重的经济损失。目前, 多采用农药、杀菌剂、防腐剂等化学方法进行芒果的病害防治和采后常温保鲜处理, 常常会引入一些不安全因素, 随着经济的发展, 人们生活水平日益提高, 对绿色食品、有机食品的要求也越来越强烈, 因此开辟新的保鲜途径具有重要意义。本文进行了芒果病原菌拮抗微生物产抑菌活性物质的条件进行了优化, 并利用其发酵液进行了芒果保鲜研究。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 菌种

芽孢杆菌 *Bacillus sp.* X-98-2 为广西大学食品发酵工程

研究所保存。

1.1.2 原料

芒果实种为紫花芒, 购自广西大学芒果园; 化学试剂均为分析纯。

1.1.3 基本培养基

蛋白胨 0.5%, 牛肉浸膏 0.3%, NaCl 0.1%。

1.1.4 发酵培养基

葡萄糖 0.3%、蛋白胨 0.5%、牛肉浸膏 0.3%、NaCl 0.1%、 $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 0.1%、pH 7.0。

1.1.5 PDA 培养基

为马铃薯葡萄糖琼脂培养基, 配方为: 马铃薯 200g, 琼脂 20g, 葡萄糖 10g, 水 1000ml。

1.2 方法

1.2.1 芽孢杆菌 *Bacillus sp.* X-98-2 发酵条件的优化

1.2.1.1 发酵条件

将芽孢杆菌 *Bacillus sp.* X-98-2 制成菌悬液, 接入 1ml 于

收稿日期: 2003-07-28

基金项目: 国家自然科学基金资助 (29762001); 高等学校骨干教师资助计划资助 (GG-150-10593-1006)

作者简介: 杨胜远 (1972-), 男, 工程师, 主要从事水果保鲜及食品发酵方面研究工作。

实验设计的培养基中,特定条件下培养。

1.2.1.2 拮抗菌抑菌活性测定方法

用无菌水冲洗炭疽病原菌分生孢子制成分生孢子悬液,在50℃左右与培养基混合,制成PDA平板(每皿15ml),在平板中置放三个牛津杯。将拮抗菌芽孢杆菌*Bacillus sp. X-98-2*的培养液于6000r/min离心25min,得到上清液,然后分别吸取100μl该上清液于PDA平板的牛津杯中,测定抑菌圈直径。以无菌水作对照进行同样操作作对照。平行3组,取平均值。

1.2.2 芽孢杆菌*Bacillus sp. X-98-2*发酵液对芒果保鲜的研究

1.2.2.1 发酵液的制备

将拮抗菌芽孢杆菌*Bacillus sp. X-98-2*接种于250ml装有发酵培养基的三角瓶中,在120r/min、28℃下摇床发酵48h,稀释20倍待用。

1.2.2.2 芒果保鲜操作

取带柄(果柄平果肩)的芒果用洗洁精、清水洗干净,自然凉干。分组后浸入发酵液中,5min后取出,晾干,用纸包装后装箱,28~32℃下放置。同时以水作空白对照。测定失重情况(以轻耗量表示),观察果柄脱落情况、果皮颜色、腐烂程度等。

2 结果

2.1 芽孢杆菌*Bacillus sp. X-98-2*发酵条件的优化

2.1.1 不同碳源对*Bacillus sp. X-98-2*拮抗活性的影响

在基本培养基中分别加入葡萄糖、麸皮、蔗糖、生淀粉、

大米粉各0.1%、0.3%、0.5%,在28℃,120r/min下摇床发酵48h,测定其抑菌活性。结果如表1。实验结果采用Microsoft Excel软件进行单因素方差分析,结果葡萄糖、麸皮、蔗糖、大米粉、淀粉各组间存在极显著差异($p<0.01$),添加葡萄糖的培养基发酵液的抑菌圈直径最大,故以葡萄糖为碳源最好。对添加0.1%、0.3%、0.5%的葡萄糖各组间进行单因素方差分析,结果添加0.3%、0.5%的葡萄糖组间差异不显著($p>0.05$),添加0.1%的葡萄糖与0.3%、0.5%的葡萄糖各组间均存在显著差异($p<0.05$)。因此选择以添加0.3%的葡萄糖为宜。

2.1.2 不同氮源对*Bacillus sp. X-98-2*拮抗活性的影响

在基本培养基中分别加入豆饼粉、尿素、 $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 、 NaNO_3 各0.1%、0.3%、0.5%,在28℃,120r/min下摇床发酵48h,测定其抑菌活性。结果如表2。实验结果采用Microsoft Excel软件进行单因素方差分析,添加豆饼粉、 $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 、尿素、 NaNO_3 各组间存在极显著差异($p<0.01$),添加 $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 的培养基发酵液的抑菌圈直径最大,故以 $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 为氮源较好。对添加0.1%、0.3%、0.5%的 $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 各组间进行单因素方差分析,结果 $P<0.01$,为极显著差异。添加0.1% $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 的实验组抑菌圈直径最大,因此选择以添加0.1%的 $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 为宜。

2.1.3 初始pH值对*Bacillus sp. X-98-2*拮抗活性的影响

调节基本发酵培养基的pH值分别为3.0, 3.5, 4.0, 4.5, 5.0, 5.5, 6.0, 6.5, 7.0, 7.5, 8.0, 8.5, 9.0, 9.5, 10.0,在28℃,120r/min下摇床发酵48h,测定其抑菌活性,以3次实验值的平均值表示,结果如图1。在 $\text{pH}=6.0\sim 7.5$ 时抑菌活性较

表1 不同碳源对*Bacillus sp. X-98-2*拮抗活性的影响

碳源种类	浓度 (%)	抑菌圈直径(mm)					
		No.1	No.2	No.3	平均值	标准偏差	方差
葡萄糖	0.1	25.35	26.27	25.83	25.81	0.46	0.212
	0.3	26.74	27.18	27.15	27.02	0.25	0.060
	0.5	27.39	26.47	27.89	27.25	0.72	0.519
麸皮	0.1	16.72	16.45	15.92	16.36	0.41	0.166
	0.3	16.09	16.32	16.11	16.17	0.13	0.016
	0.5	16.23	16.27	16.15	16.21	0.06	0.004
蔗糖	0.1	18.27	18.36	18.74	18.45	0.25	0.062
	0.3	18.50	18.29	18.41	18.40	0.11	0.011
	0.5	18.65	18.78	18.80	18.74	0.08	0.007
大米粉	0.1	16.47	15.35	15.49	15.77	0.61	0.372
	0.3	16.49	16.20	16.31	16.33	0.15	0.021
	0.5	16.68	16.19	16.37	16.41	0.25	0.061
淀粉	0.1	16.47	16.23	16.82	16.51	0.30	0.088
	0.3	16.97	16.65	16.42	16.68	0.28	0.076
	0.5	15.43	16.72	16.67	16.27	0.73	0.534

表2 不同氮源对 *Bacillus* sp. X-98-2 拈抗活性的影响

氮源种类	浓度 (%)	抑菌圈直径 (mm)					
		No.1	No.2	No.3	平均值	标准偏差	方差
豆饼粉	0.1	16.74	16.25	16.17	16.39	0.31	0.10
	0.3	16.28	16.83	16.37	16.49	0.30	0.09
	0.5	16.45	17.24	16.36	16.68	0.48	0.23
(NH ₄) ₂ SO ₄	0.1	22.47	23.14	22.11	22.57	0.52	0.27
	0.3	18.64	18.47	19.25	18.79	0.41	0.17
	0.5	18.41	17.32	18.23	17.99	0.58	0.34
尿素	0.1	17.57	17.86	17.25	17.56	0.31	0.09
	0.3	16.64	17.16	16.47	16.76	0.36	0.13
	0.5	15.32	15.47	15.23	15.34	0.12	0.01
NaNO ₃	0.1	15.2	15.04	14.48	14.91	0.38	0.14
	0.3	15.71	15.34	14.87	15.31	0.42	0.18
	0.5	15.92	15.41	14.79	15.37	0.57	0.32

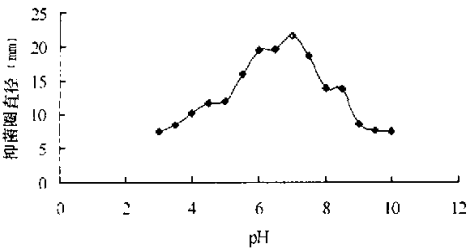


图1 初始 pH 值对 *Bacillus* sp. X-98-2 拈抗活性的影响

强,故可以选择 pH 值为 7.0。

2.1.4 发酵温度对 *Bacillus* sp. X-98-2 拈抗活性的影响

基本发酵培养基,分别在 24、26、28、30、32、34、36、38℃下,120r/min 下摇床发酵 48h,测定其抑菌活性,以 3 次实验值的平均值表示。结果如图 2 所示,在温度 26~30℃下发酵液抑菌圈直径较大,28℃时为宜。

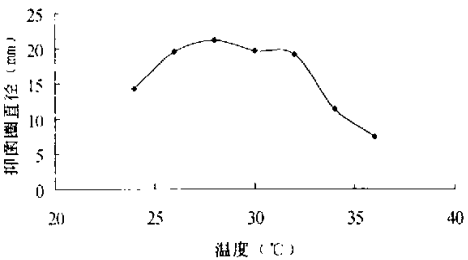


图2 发酵温度对 *Bacillus* sp. X-98-2 拈抗活性的影响

2.1.5 发酵时间对 *Bacillus* sp. X-98-2 拈抗活性的影响

基本发酵培养基,28℃,120r/min 下分别摇床发酵 12、24、

36、48、60、72h,测定其抑菌活性,以 3 次实验值的平均值表示。结果如图 3 所示,发酵 48h 以后,抑菌活性变化不大,较平缓,故选择发酵时间为 48h 为适宜。

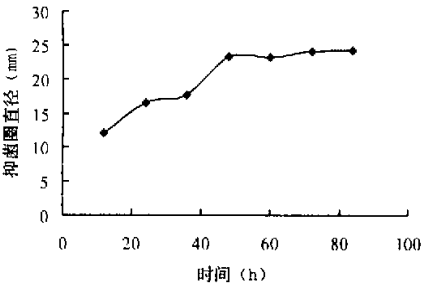


图3 发酵时间对 *Bacillus* sp. X-98-2 拈抗活性的影响

2.2 芽孢杆菌 *Bacillus* sp. X-98-2 发酵液对芒果保鲜的研究

2.2.1 芽孢杆菌 *Bacillus* sp. X-98-2 发酵液对芒果轻耗量的影响

果实贮藏随时间的延长其重量一般都会表现出程度不一的损失,贮藏果轻耗量即为表现果实重量损失的指标。以果实贮藏后总重量损失占贮藏前果实总重量的百分比表示。结果表 3,采用 Duncan 法^[6]将实验组与对照组进行多重比较,差异极显著 ($p<0.01$)。可见芽孢杆菌 *Bacillus* sp. X-98-2 发酵液处理实验组的轻耗量远低于对照组,说明其可以显著降低芒果重量损失。

2.2.2 芽孢杆菌 *Bacillus* sp. X-98-2 发酵液对芒果果皮颜色变化的影响

果皮颜色变化是芒果成熟的一个重要标志,将果皮颜色以果皮转黄面积的比例分成五级^[7]:1 级—未转黄;2 级—少于 1/4 果皮未转黄;3 级—1/4~1/2 果皮转黄;4 级—1/2~3/4 果皮转黄;5 级—3/4 以上果皮转黄。结果如表 4,芽

表3 芽孢杆菌 *Bacillus sp.* X-98-2 发酵液对芒果轻耗量的影响

保存期 (d)	轻耗量(%)					
	No.1	No.2	No.3	平均值 \bar{X}_1	对照(3组平均值) \bar{X}_2	X_2-X_1
8	0.23	0.19	0.22	0.21	6.61	6.40**
15	7.08	6.42	6.77	6.76	12.65	5.89**
17	8.76	9.67	9.03	9.15	15.17	6.02**

注: ** 表示差异极显著。

表4 芽孢杆菌 *Bacillus sp.* X-98-2 发酵液对
芒果果皮颜色变化的影响

保存期 (d)	8	15	17
实验组平均果级	1	2.2	2.3
对照组平均果级	1.8	4.3	4.7

孢杆菌*Bacillus sp.* X-98-2发酵液对芒果果皮转黄有阻碍作用,可能与降低芒果的呼吸作用有关。

2.2.3 芽孢杆菌*Bacillus sp.* X-98-2发酵液对芒果果柄脱落率的影响

果柄脱落使芒果病原菌更易于生长,因此,果柄脱落率是芒果贮藏效果的一个重要指标。以处理后果柄脱落果数占处理前果数的百分率表示。结果如表5,保藏15d后实验组果柄脱落率远低于对照组的脱落率,说明芽孢杆菌*Bacillus sp.* X-98-2发酵液对减少芒果果柄的脱落有显著作用。

表5 芽孢杆菌 *Bacillus sp.* X-98-2 发酵液
对果柄脱落率影响

保存期 (d)	8	15	17
实验组脱落率 (%)	0	16.7	16.7
对照组脱落率 (%)	0	83.3	83.3

2.2.4 芽孢杆菌*Bacillus sp.* X-98-2发酵液对芒果好果率的影响

以果实病斑面积占整个果实面积的大小将贮藏的芒果发病程度分为五级^[7],分级标准为:1级-无病斑;2级-果皮病斑≤2%;3级-果皮病斑2%~15%;4级-果皮病斑15%~25%;5级-果皮病斑≥25%。1、2级为优秀果;3级果为可食用果;4、5级果已不能食用,为腐烂果。1、2级的果数占

表6 芽孢杆菌 *Bacillus sp.* X-98-2 发酵液对
芒果好果率的影响

保存期 (d)		8	15	17
实验组	优秀果率 (%)	97.3	83.3	66.7
	可食用果率 (%)	100	100.0	83.3
对照组	优秀果率 (%)	43.1	16.7	0
	可食用果率 (%)	85.3	33.3	16.7

总处理果数的百分率为优秀果率;1、2、3级果数占总处理果数的百分率为可食用果率。结果如表6, *Bacillus sp.* X-98-2 发酵液处理组的优秀果率和可食用果率都远高于对照组,因此该发酵液可以延长保存期,大大提高好果率。

3 讨论

芽孢杆菌*Bacillus sp.* X-98-2发酵液对芒果炭疽病原菌和蒂腐病原菌都有抑制作用,其防止果柄脱落的作用主要可能是其抑制了蒂腐病原菌生长的结果,同时由于防止了果柄脱落,可以切断病原菌入侵的通道,因此可有效地防止由于芒果病原菌引起的腐烂。芽孢杆菌*Bacillus sp.* X-98-2 发酵液阻止果皮转黄和减少重量损失的原因可能与其抑制芒果的新陈代谢,降低呼吸强度有关。作者对该拮抗菌发酵液进行了初步分析,结果表明其抑菌活性物质主要是氨基糖苷类抗生素。

芽孢杆菌*Bacillus sp.* X-98-2 发酵液对芒果的后熟有推迟作用,很可能是通过减少了病原菌的生长刺激或芽孢杆菌*Bacillus sp.* X-98-2分泌了某些或某种可以延缓芒果生理成熟的化学成分。其机理有待从*Bacillus sp.* X-98-2菌株的生理生化学、芒果生理学角度深入探讨。

本文主要涉及芒果采后保鲜,作者认为采用拮抗微生物在采前对芒果进行生物防治,采后再与其他保鲜方法相结合,可能会取得更好的保鲜效果,有待进一步探讨。

参 考 文 献:

[1] 陈大成. 芒果现代实用栽培与贮藏加工技术[M]. 北京: 农业出版社,1992.21.

[2] 刘秀娟,李继勇,杨业铜. 海南岛芒果真菌潜伏侵染的研究[J]. 植物病理学报,1986,16(1): 47-51.

[3] 冯双庆,陈雨新,吴海宗,等. 延缓芒果后熟和控制采后病害的方法[J]. 北京农业大学学报, 1991,17(4):61-65.

[4] 王壁生,刘朝祯,戚佩坤. 芒果蒂腐病病原菌的鉴定及采后药剂实验[J]. 华南农业大学学报, 1994,15(3):55-60.

[5] Johnson G, Cooke T, Mead A, et al. Infection and quiescence of mango stem end rot pathogens[J]. Acta Horticulturac.1993. 341:329.

[6] 李松岗. 实用生物统计[M]. 北京: 北京大学出版社, 2002.135.

[7] 罗先群,林明德,李杰. 新型芒果保鲜剂的保鲜试验[J]. 食品科学, 1996,17(6):61-63.