



纳豆芽胞杆菌抑菌活性研究

宋军霞¹, 祁红兵², 苏晓盈²

(1. 岭南师范学院 地理科学学院, 广东 湛江 524048; 2. 岭南师范学院 生命科学与技术学院, 广东 湛江 524048)

摘要: 为了研究纳豆芽胞杆菌高抑菌活性的最佳发酵条件, 以苏云金芽孢杆菌和大肠杆菌为指示菌, 采用滤纸片法, 分别考察了培养时间、培养温度、培养基盐度、碳源、氮源及纳豆菌发酵粗提液浓度等因素对两种指示菌的抑制效果。结果表明: 随着培养时间和粗提液浓度的提高, 苏云金芽孢杆菌和大肠杆菌的抑菌圈直径先增后减; 培养温度为 37 ℃ 时苏云金芽孢杆菌的抑菌圈最大, 42 ℃ 时大肠杆菌的抑菌圈最大; 盐度为 1% 时, 粗提液对苏云金芽孢杆菌和大肠杆菌的抑菌效果最好; 碳源为牛肉膏时苏云金芽孢杆菌的抑菌圈最大, 碳源为乳糖时大肠杆菌的抑菌圈最大; 氮源为蛋白胨时苏云金芽孢杆菌的抑菌圈最大, 氮源为硫酸铵时大肠杆菌的抑菌圈最大。正交法考察纳豆菌抑菌物质粗提液抑制两株指示菌的最优条件为培养时间 36 h, 粗提液浓度为 100%, 培养基盐度为 1.5%。

关键词: 纳豆芽胞杆菌; 抑菌活性; 发酵条件; 正交优化

Antibacterial Activity of *Bacillus natto*

SONG Jun-xia¹, QI Hong-bing², SU Xiao-ying²

(1. School of Geographic Sciences, Lingnan Normal University, Zhanjiang 524048, China; 2. Life Sciences and Technology School, Lingnan Normal University, Zhanjiang 524048, China)

Abstract: In order to study the optimum fermentation conditions for the antibacterial activity of *Bacillus natto*, we took *Bacillus thuringiensis* and *Escherichia coli* as indicator bacteria and using filter paper method to study the inhibitory effect of antibacterial substance on two kinds of indicator bacteria about culture time, culture temperature, medium salinity, carbon source, nitrogen source and the concentration of the crude extract of natto antibacterial substance. The results showed that, With the increase of culture time and concentration of crude extract, the diameter of the inhibition zone of *B. thuringiensis* and *E. coli* increased firstly and then decreased. The incubation zone of *B. thuringiensis* was the largest at culture temperature of 37 ℃ and the inhibition zone of *E. coli* was the largest at 42 ℃. When the salinity was 1%, the inhibition zone of *B. thuringiensis* and *E. coli* were the largest. When the carbon source was beef extract, the inhibition zone of *B. thuringiensis* was the largest and when the carbon source was lactose, the largest inhibition zone of *E. coli* was the largest. The inhibition zone of *B. thuringiensis* was the largest when the nitrogen source was peptone, and the inhibition zone of *E. coli* was the largest when the nitrogen source was ammonium sulfate. The optimum conditions for the inhibition of crude extract of *Bacillus natto* to two indicator strains by orthogonal test were 36 h culture time, 100% concentration of crude extract and 1.5% salinity of medium.

Keywords: *Bacillus natto*; antibacterial activity; fermentation conditions; orthogonal optimization

纳豆是纳豆芽胞杆菌 (*Bacillus natto*) 以大豆作为原料, 经过发酵而成的食物。纳豆有着特别的滋味和粘性, 不仅有着丰富的营养^[1], 而且有多种生理功能, 诸如抗菌、预防骨质疏松与抗氧化等作用^[2-4]。纳豆芽胞杆菌属于细菌科芽孢杆菌属, 是枯草芽孢杆菌的一个亚种^[5], 为好氧的革兰氏阳性菌^[6]。纳豆菌在发酵过程会产生抑菌物质, 比如杆菌肽、2,6-吡啶二羧酸、多黏菌素等, 对多种菌有抑制作用^[7]。纳豆芽胞杆菌分泌的抑菌物质是通过微生物的发酵而形成的, 可通过生物纯化技术把抑菌物质分离提纯, 用以制备天然防腐剂, 将其应用于食物添加剂^[8-10], 其功能可与化学防腐剂媲美, 且

天然无害、无不良后果, 因而可满足人们对理想防腐剂的要求。

现已被批准合法并在全球范围内广泛使用的生物防腐剂只有乳酸链球菌素、纳他霉素和 ϵ -聚赖氨酸等^[11-12]。目前, 食品工业更多的是使用化学防腐剂进行防腐, 如苯甲酸钠、山梨酸钙、双乙酸钠等, 然而化学防腐剂会对人体产生一定程度的毒副作用, 甚至有致癌的可能。相对于人工合成的化学防腐剂, 纳豆菌分泌的抑菌物质不仅有安全性高、抗菌谱广等优点^[13], 而且纳豆芽胞杆菌代谢产物还具有营养性和功能性, 有抗肿瘤、抗氧化、预防骨质疏松、溶血栓等作用^[14], 具有广泛的应用前景。

收稿日期: 2021-08-21

基金项目: 国家星火计划 (2015GA780051); 产业链协同创新类公共服务平台项目 (湛海创 2017CB82); 广东省岭南师范学院校内项目 (2019)。

第一作者: 宋军霞 (1971—), 女, 学士, 实验师, 主要从事特色保健食品的应用研究。E-mail: 2967028606@qq.com。

通讯作者: 祁红兵 (1971—), 男, 博士, 副教授, 主要从事微生物发酵研究。E-mail: qhbsjxqxy@126.com。

本研究以自然界中常见的两种细菌革兰氏阳性菌苏云金芽孢杆菌(*Bacillus thuringiensis*)和革兰氏阴性杆菌大肠杆菌(*Escherichia coli*)作为指示菌,考察不同培养条件下纳豆芽孢杆菌对其抑菌效果,探讨纳豆芽孢杆菌高抑菌效果的培养条件,为纳豆芽孢杆菌抑菌物质应用于食品与饲料提供参考。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 菌种 纳豆芽孢杆菌、大肠杆菌与苏云金芽孢杆菌由岭南师范学院生科院微生物实验室保存。

1.1.2 试剂 琼脂,Biosharp;葡萄糖,广州市丰衣足食食品有限公司;硫酸铵,广东光华科技股份有限公司;乳糖,上海伯奥生物科技有限公司;可溶性淀粉,天津市大茂化学试剂厂;蔗糖,广东光华科技股份有限公司;氯化钠,天津市大茂化学试剂厂,以上药品均为分析纯。蛋白胨:北京奥博星生物技术有限责任公司;牛肉膏:北京奥博星生物技术有限责任公司;纳豆发酵粉:食品级,北京川秀科技有限公司;纯大豆分离蛋白粉99%,莱州福客生物技术有限公司;营养肉汤,青岛高科园海博生物技术有限公司。

1.1.3 培养基 营养肉汤固体培养基:营养肉汤1.8%,琼脂2%,121℃高压灭菌20 min,制作斜面培养基,用于保存菌种及作为基本培养基。

营养肉汤半固体培养基:营养肉汤1.8%,琼脂0.8%,121℃灭菌20 min,用作基本培养基。

牛肉膏蛋白胨液体发酵培养基:蛋白胨1%,牛肉膏0.5%,氯化钠0.5%,pH7.0~7.2,121℃灭菌20 min,用于液体培养纳豆芽孢杆菌,大肠杆菌及苏云金芽孢杆菌。

1.1.4 仪器 THZ-100 恒温培养摇床,上海一恒科学仪器有限公司;SPL-250 生化培养箱,天津市莱玻特瑞仪器设备有限公司;TG16-WS 台式高速离心机,湖南湘仪实验室仪器开发有限公司。

1.2 试验设计

培养基成分与培养条件都会对纳豆菌的代谢活性产生影响,进而影响纳豆菌产生抗菌物质的多少。故在牛肉膏蛋白胨液体发酵培养基的基础上,分别考察碳源、氮源、盐浓度的合适添加量,并对粗提物浓度、发酵时间、发酵温度等因素进行研究。根据单因素试验结果,选择合适的因子作为影响因素,以大肠杆菌和苏云金芽孢杆菌为指示菌,进行正交试验和数据分析。

1.3 方法

1.3.1 纳豆芽孢杆菌的活化 将保藏的菌种接入液体培养基中,置于恒温培养摇床中,在37℃,160 r·min⁻¹的条件下培养24 h。

1.3.2 纳豆芽孢杆菌粗提液的制备 将活化的纳豆芽孢杆菌菌种接入50 mL牛肉膏蛋白胨液体培养基中,在37℃,160 r·min⁻¹条件下摇床振荡培养24 h。将得到的菌悬液在8 000 r·min⁻¹条件下离心25 min,除去菌体沉淀,得到的上清液即为纳豆芽孢杆菌粗提液,置于4℃冰箱中备用。

1.3.3 指示菌浓度的制备 在斜面上挑取一环菌种分别接到50 mL的液体培养基中,将锥形瓶置于恒温培养摇床中,37℃,160 r·min⁻¹条件下培养12 h,即制得菌悬液。

用生理盐水将菌液进行10倍梯度稀释,浓度为10⁻¹、10⁻²、10⁻³、10⁻⁴、10⁻⁵、10⁻⁶。分别用移液枪取不同浓度的指示菌悬液150 μL,分别涂布于固体半固体培养基中。将在粗提液中浸泡过的滤纸片置于处理过的平板中,在生化培养箱中培养24 h后,取出并观察抑菌效果,测定并比较结果,确定抑菌效果最好的指示菌浓度进行单因素试验及正交试验。

1.3.4 滤纸片的制备 用打孔器将定性滤纸打成直径为6 mm的圆形纸片,置于121℃的烘箱中高温灭菌。将粗提液倒入装有滤纸片的培养皿中,放置在超净工作台上浸泡约30 min,然后风干备用。

1.3.5 抑菌活性的测定 用移液枪分别移取150 μL苏云金芽孢杆菌悬液和大肠杆菌悬液并涂布于半固体平板培养基上。每一平板置放4片处理过的滤纸片,3个重复,用无菌水作对照组。在37℃恒温培养箱中倒置培养24 h。以纸片的圆心作为抑菌圈的中心以测量抑菌圈直径,取平均值。以上步骤均在无菌室操作完成。

1.3.6 单因素试验 粗提液浓度对抑菌效果的影响:在基本条件下摇床培养纳豆菌,将粗提液的初始浓度设为原液,分别配制浓度为20%、40%、60%、80%的粗提液,将5种浓度的粗提液作用于指示菌,测量抑菌圈直径。

培养时间对抑菌效果的影响:设置摇床温度为37℃,分别培养纳豆菌12、24、36和48 h,测量并比较指示菌的抑菌圈大小。

培养温度对抑菌效果的影响:将摇床温度分别设置为27、32、37和42℃,培养纳豆菌24 h,测量并比较指示菌的抑菌圈大小。

培养基盐度对抑菌效果的影响:调节培养基中氯化钠的含量,分别为1.0%、1.5%、2.0%、2.5%、3.0%时,测定其对两种指示菌的抑菌作用。

培养基碳源对抑菌效果的影响:保持基础培养基的其他成分不变,只改变碳源,分别加入0.5%葡萄糖、0.5%牛肉膏、0.5%淀粉、0.5%蔗糖和0.5%乳糖,培养后测量并比较指示菌的抑菌圈大小。

培养基氮源对抑菌效果的影响:保持其他成分不变,只调整氮源的种类,分别加入 1% 硫酸铵,1% 牛肉膏,1% 蛋白胨和 1% 大豆分离蛋白粉,培养后比较指示菌的抑菌圈大小。

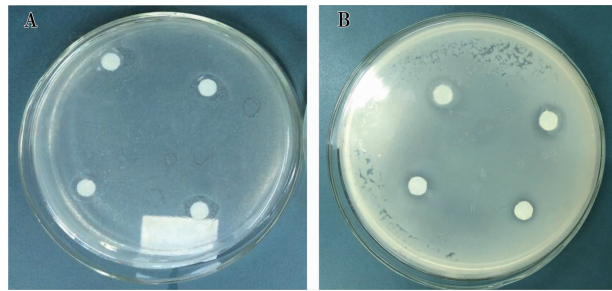
1.4 数据分析

使用 Excel 2007 处理各部分试验 3 个平行样的平均值数据,进行绘图和统计分析。

2 结果与分析

2.1 粗提液浓度对抑菌效果的影响

由图 1 可知,不同浓度粗提物的抑菌圈大小不同,对应图 2 可知,两种指示菌的抑菌圈直径的变化趋势为先增后减。粗提液浓度为 80% 时抑菌圈直径为最大值,抑菌作用最强。对比两种菌的抑菌圈直径,苏云金芽孢杆菌对粗提液浓度的变化更为敏感,纳豆芽孢杆菌对其的抑菌效果更好。相对于浓度为 80% 的粗提液,原液的抑菌效果较弱,可能是由于原液的浓度过大,黏度大,不利于抑菌物质扩散而导致抑菌效果不好。



注:A. 大肠杆菌;B. 苏云金芽孢杆菌。
Note: A. *Escherichia coli*; B. *Bacillus thuringiensis*.

图 1 纳豆芽孢杆菌抑菌圈

Fig. 1 The inhibition zone of *Bacillus natto*

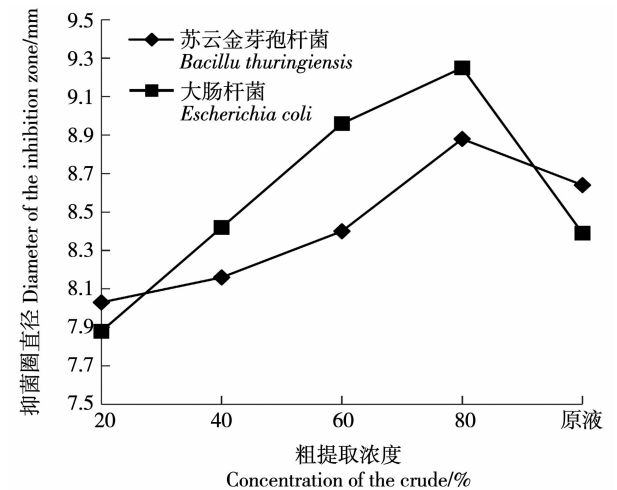


图 2 不同浓度粗提液的抑菌效果

Fig. 2 The effects of crude extract concentration on antibacterial activity

2.2 培养时间对抑菌效果的影响

由图 3 可知,两种指示菌的抑菌圈大小的变化趋势为先增大后减小。纳豆芽孢杆菌培养 36 h,两类菌种的抑菌圈直径同时达到最大值,此时的抑菌物质粗提液的抑菌作用最强。培养时间的长短影响纳豆芽孢杆菌的数量,根据王继伟等^[15]的研究可得,培养时间为 24 ~ 36 h 时,纳豆芽孢杆菌的发育正处于对数增长期和持续期,分泌抑菌物质的产量也维持在一定水平,因此具有较好的抑菌效果。36 h 后,纳豆芽孢杆菌进入衰亡期,逐渐发生自溶死亡,抑菌物质的产量下降,抑菌效果减弱。

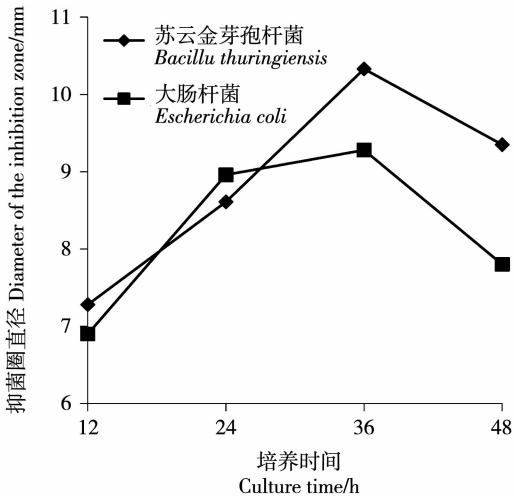


图 3 培养时间对抑菌效果的影响

Fig. 3 The effects of culture time on antibacterial activity

2.3 培养温度对抑菌效果的影响

由图 4 可知,在培养温度为 27 ~ 42 °C 时,苏云金芽孢杆菌的抑菌圈直径先增大后减小,在 37 °C 时达到最大值,粗提液的抑菌效果最佳,而后粗提液的抑菌作用开始减弱,抑菌圈开始变小。温度为 27 °C 时,大肠杆菌的抑菌圈不明显,在 32 ~ 42 °C 时,大肠杆菌的抑菌圈逐渐变大,抑菌作用逐步增强。

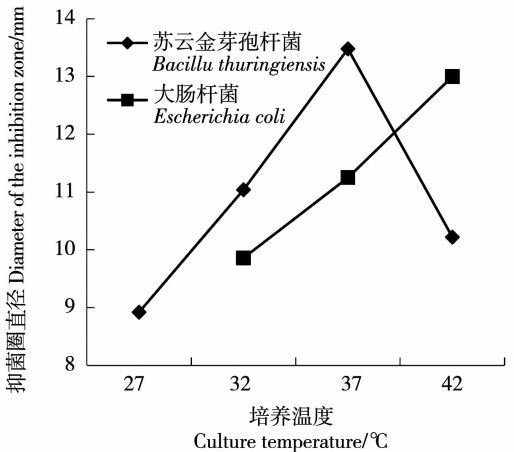


图 4 培养温度对抑菌效果的影响

Fig. 4 The effects of culture temperature on antibacterial activity

培养温度较低时,纳豆芽孢杆菌的代谢活动较弱;而培养温度过高对菌的生长及代谢活动也有负面影响,在适宜的培养温度下,纳豆菌生长代谢活跃^[16]。对于以上两种指示菌,纳豆芽孢杆菌分别在不同的培养温度条件下达到最佳的抑菌效果,可能是因为在温度逐渐上升的过程中,纳豆芽孢杆菌所分泌各成分的浓度发生变化,最终导致抑菌效果不同。

2.4 培养基盐浓度对抑菌效果的影响

由表 1 可知,纳豆芽孢杆菌培养基的盐度逐渐

增大,其粗提液的抑菌效果逐渐减弱,表现为两种指示菌的抑菌圈直径呈下降趋势。当纳豆菌培养基的盐质量分数为 1.00% 时,两种指示菌的抑菌圈为最大,抑菌作用最强。当盐的质量分数超过 2.00% 时,大肠杆菌的抑菌圈不明显,即在高盐浓度的条件影响了纳豆芽孢杆菌的繁殖,其分泌的抑菌物质减少,而且相对于苏云金芽孢杆菌,大肠杆菌对抑菌物质比较不敏感,粗提液的抑菌效果不大。

表 1 培养基盐度对抑菌圈直径的影响
Table 1 The effects of medium salinity on the diameter of the inhibition zone

指示菌 Indicator bacterias	盐度 Salinity/%				
	1.00	1.50	2.00	2.50	3.00
苏云金芽孢杆菌 <i>Bacillus thuringiensis</i>	9.36	8.38	8.05	8.48	7.58
大肠杆菌 <i>Escherichia coli</i>	8.87	7.40	—	—	—

注:—表示没有抑菌圈产生。
Note:—indicates that there is no bacteriostatic circle.

2.5 培养基碳源对抑菌效果的影响

由图 5 可知,对于苏云金芽孢杆菌,培养基碳源为牛肉膏时,粗提液的抑菌作用最强;而以乳糖为碳源时,抑菌作用最差。对于大肠杆菌,以乳糖为碳源时,其抑菌圈最大,粗提液的抑菌作用最佳;以淀粉为碳源时,其抑菌圈不明显,即粗提液抑制大肠杆菌生长的效果不大,可能因为培养基中加入不同的碳源时,抑菌物质浓度有所变化,抑菌作用的强弱会有差别。

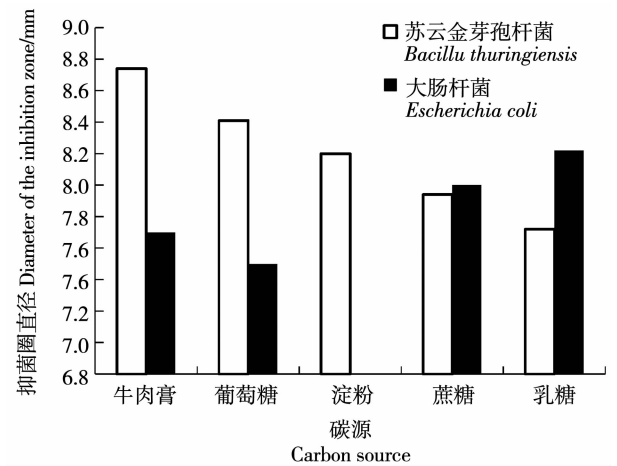


图 5 培养基碳源对抑菌效果的影响
Fig. 5 The effects of medium carbon source on antibacterial activity

2.6 培养基氮源对抑菌效果的影响

由图 6 可知,分别以硫酸铵和蛋白胨作为纳豆菌培养基的氮源时,大肠杆菌及苏云金芽孢杆菌的抑菌圈直径达到最大值,抑菌物质粗提液的抑菌作用最强。而氮源为大豆分离蛋白粉时,大肠杆菌的抑菌圈不明显。这可能与纳豆菌利用不同的氮源产生的抑菌物质多少有关。

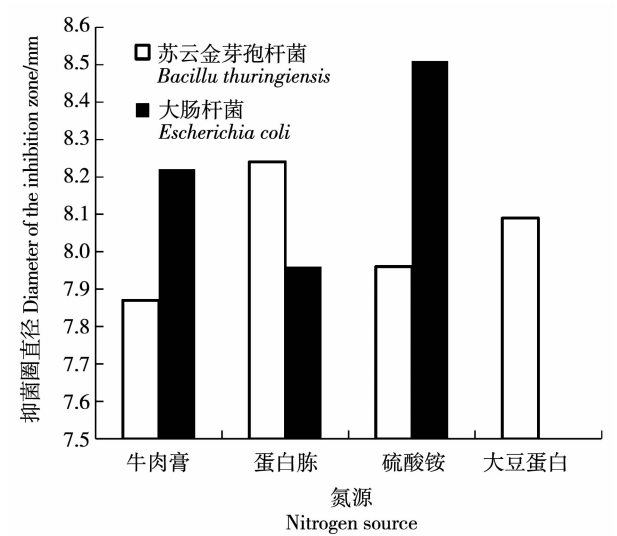


图 6 培养基氮源对抑菌效果的影响
Fig. 6 The effects of medium of nitrogen source on antibacterial activity

2.7 正交试验

2.7.1 正交试验设计 根据单因素试验结果,选择对抑菌效果影响较大的3个因素,培养时间、粗提液浓度及盐浓度,进行三水平三因素正交试验(表2)。

表 2 因素和水平
Table 2 The factors and levels

水平 Level	因素 Factor		
	A	B	C
	培养时间 Culture time/h	粗提液浓度 Crude extract content/%	盐浓度 Medium salinity/%
1	24	60	0.5
2	36	80	1.0
3	48	100	1.5

表 3 L₉(3³)正交试验结果
Table 3 The results of orthogonal test L₉(3³)

试验号 Test number	因素 Factor				
	A	B	C	抑菌圈直径	
	时间	粗提液浓度	盐浓度	Diameter of the inhibition zone/mm	
	Culture time	Crude extract content	Medium salinity	苏云金芽孢杆菌 <i>Bacillus thuringiensis</i>	大肠杆菌 <i>Escherichia coli</i>
1	1	1	1	9.53	8.35
2	1	2	2	10.13	9.43
3	1	3	3	11.18	9.68
4	2	1	2	9.98	9.37
5	2	2	3	10.88	10.19
6	2	3	1	10.63	10.05
7	3	1	3	9.63	9.88
8	3	2	1	10.30	9.52
9	3	3	2	9.69	9.72
k1	10.280	9.713	10.153		
k2	10.497	10.437	9.933		
k3	9.873	10.500	10.563		
k4	9.153	9.200	9.307		
k5	9.870	9.713	9.507		
k6	9.707	9.817	9.917		
极差 Range(R1)	0.624	0.787	0.630		
极差 Range(R2)	0.717	0.617	0.610		

3 讨论

纳豆芽孢杆菌在发酵过程能产生抑菌物质,对多种菌有抑制作用。钟青萍等^[17]研究表明,纳豆菌对革兰氏阳性菌、革兰氏阴性菌、霉菌和酵母菌都有一定的抑制效果。付志英等^[18]研究了纳豆芽孢杆菌对黄曲霉的拮抗作用,采用滤纸片法和点值法的抑菌圈大小分别为11.3和11.0 mm。纳豆芽孢杆菌的发酵过程产生的抑菌物质包含杆菌肽、多黏菌素、2,6-吡啶二羧酸等抑菌成分。其中杆菌肽对革兰阳性菌和

2.7.2 正交试验结果 由表3可看出,对于纳豆菌的培养时间k₂最大,粗提液浓度以水平3即原液为最佳,培养基盐度以水平3即1.5%为最佳,综合3个因素得到最佳搭配为A₂B₃C₃。分析极差,抑制苏云金杆菌的影响因素由大到小依次为粗提液浓度、培养基盐度和培养时间,分别为B(0.787)>C(0.630)>A(0.624);抑制大肠杆菌的影响因素由大到小依次为培养时间、粗提液浓度和培养基盐度,分别为A(0.717)>B(0.617)>C(0.610)。在此最佳条件下,即培养时间36 h、粗提液浓度为100%、培养基盐度为1.5%的条件,粗提液抑制两种指示菌生长的效果最好。

部分革兰氏阴性菌等均有抗菌作用,多黏菌素对大多数革兰氏阴性菌有抑菌作用,而2,6-吡啶二羧酸对各种类型的细菌普遍具有抑制作用,但其作用机理尚未明确^[19-21]。在日本,纳豆芽孢杆菌作为纳豆的发酵菌种已经被使用了近2 000年,尚未出现对人体有任何不良副作用的迹象,并且有着易于培养、耐受能力强、具有多种营养保健功能等特点,这使纳豆芽孢杆菌抑菌物质比其他防腐剂更有优势。优化后的纳豆芽孢杆菌高抑菌活性的发酵条件对于其在食品相关领域的应用具有较高实际意义。

4 结论

单因素试验结果表明,随着培养时间和粗提液浓度的提高,苏云金芽孢杆菌和大肠杆菌的抑菌圈直径先增后减;培养温度为 37 ℃时苏云金芽孢杆菌的抑菌圈最大,42 ℃时大肠杆菌的抑菌圈最大;盐度为 1%时,粗提液对苏云金芽孢杆菌和大肠杆菌的抑菌效果最好;碳源为牛肉膏时苏云金芽孢杆菌的抑菌圈最大,碳源为乳糖时大肠杆菌的抑菌圈最大;氮源为蛋白胨时苏云金芽孢杆菌的抑菌圈最大,氮源为硫酸铵时大肠杆菌的抑菌圈最大。正交试验确定了纳豆芽孢杆菌抑菌物质粗提液抑制苏云金芽孢杆菌和大肠杆菌生长的最优条件为:培养时间 36 h,粗提液浓度为 100%,培养基盐浓度为 1.5%。此条件下,纳豆芽孢杆菌的抑菌物质的抑菌作用最强。纳豆芽孢杆菌抑菌物质粗提液对以苏云金芽孢杆菌和大肠杆菌均有抑制作用,其中对苏云金芽孢杆菌的抑制作用更为显著以及稳定。

参考文献

[1] 王笙戌,任宇杰,苑宁. 纳豆及其功能性质研究进展[J]. 粮食与油脂,2020,33(6): 21-23. (WANG S X, REN Y J, YUAN N. Research progress on natto and its functional properties[J]. Cereals & Oils,2020,33(6): 21-23.)

[2] FUKUTAKE M. Quantification of genistein and genistin in beans and soybean products [J]. Food Chemical Toxicology, 1996, 34: 457-461.

[3] SUMI H. Accumulation of vitamin k(menaquinone-7) in plasma after ingestion of natto and natto bacilli (*B. subtilis* natto) [J]. Food Science and Technology Research, 1999, 5(1): 48-50.

[4] 高研,张远龙,陈宁,等. 益生菌纳豆芽孢杆菌在动物饲料中的应用研究[J]. 中国饲料添加剂,2018(3): 1-5. (GAO Y, ZHANG Y L, CHEN N, et al. Study on the application of probiotic *Bacillus natto* in animal feed[J]. China Feed Additive, 2018(3): 1-5.)

[5] 田海娟,张传智. 纳豆芽孢杆菌发酵食品的研究现状[J]. 食品安全导刊,2017(4): 63. (TIAN H J, ZHANG C Z. Research status of *Bacillus natto* fermented food [J]. China Food Safety Magazine,2017(4): 63.)

[6] 郭印,裴建菊,魏华,等. 饲料中添加纳豆芽孢杆菌对黄鳝生长的影响[J]. 安徽农学通报, 2019,25(14): 69-70,91. (GUO Y, CHANG J J, WEI H, et al. The effects of *Bacillus natto* on growth of rice field eel[J]. Anhui Agricultural Science Bulletin, 2019,25(14): 69-70,91.)

[7] 董小英,唐胜球. 饲用纳豆菌生物学功能的研究进展 [J]. 中国畜牧杂志, 2012, 48(3): 63-66. (DONG X Q, TANG S Q. Progress on biological function of feed *Bacillus natto*[J]. Chinese Journal of Animal Science,2012, 48(3): 63-66.)

[8] 易灿,蒋立文. 纳豆菌代谢产物抗菌作用的研究现状与展望 [J]. 农产品加工, 2008 (5): 64-67. (YI C, JIANG L W. Research status and prospect of antibacterial effect of natto metabolites [J]. Farm Products Processing, 2008 (5): 64-67.)

[9] 黄占旺,魏萍,刘海林,等. 纳豆菌生物学特性研究[J]. 江西农业大学学报, 2004, 6(1): 83-85. (HUANG Z W, WEI P, LIU

H L, et al. A study on biological properties of *Bacillus natto*[J]. Acta Agriculturae Universitatis Jiangxiensis, 2004, 6(1): 83-85.)

[10] 满丽莉,向殿军. 纳豆菌培养条件的初步研究 [J]. 农产品加工, 2008 (8): 51-53. (MAN L L, XIANG D J. A preliminary study on cultural conditions of *Bacillus natto*[J]. Farm Products Processing, 2008 (8): 51-53.)

[11] 赵国萍,李迎秋,冯林慧,等. 天然防腐剂的应用研究进展 [J]. 中国调味品,2017(8): 155-159. (ZHAO G P, LI Y Q, FENG L H, et al. Research progress on application of natural preservatives[J]. China Condiment,2017(8): 155-159.)

[12] 邢海丽,辛嘉英,王艳,等. 微生物源天然食品防腐剂的研究进展[J]. 食品安全质量检测学报, 2015, 6(10): 3890-3894. (XING H L, XING J Y, WANG Y, et al. Research progress of natural food preservatives from microbial source[J]. Journal of Food Safety & Quality, 2015, 6(10): 3890-3894.)

[13] 张丽靖,杨郁. 纳豆菌作为食品防腐剂的研究进展 [J]. 食品研究与开发, 2008, 29(5): 188-190. (ZHANG L J, YANG Y. Progress to *Bacillus natto* as food preservative [J]. Food Reserch and Development, 2008, 29(5): 188-190.)

[14] 南芝润,侯磊,任莹,等. 纳豆及其产物的研究与应用 [J]. 山西农业科学, 2017, 45(10): 1721-1724,1736. (NAN Z R, HOU L, REN Y, et al. Study and application of natto and its products[J]. Journal of Shanxi Agricultural Sciences, 2017, 45(10): 1721-1724,1736.)

[15] 王继伟,葛英亮,于晋,等. 纳豆芽孢杆菌次生代谢产物抑菌功能的研究 [J]. 食品与机械, 2013, 29(3): 94-100. (WANG J W, GE Y L, YU J, et al. Study on bacteriostatic effect of *Bacillus natto* metabolic product [J]. Food & Machinery, 2013, 29(3): 94-100.)

[16] 祁红兵,宋军霞,张卫. 纳豆芽孢杆菌固体发酵麸皮的抗氧化功能研究 [J]. 粮食与饲料工业, 2014 (5): 51-56. (QI H B, SONG J X, ZHANG W. Antioxidant function of wheat bran solid fermentation by *Bacillus natto*[J]. Cereal & Feed Industry, 2014 (5): 51-56.)

[17] 钟青萍,谢俊杰,余世望. 纳豆菌的分离鉴定及其抗菌活性 [J]. 食品科学, 2002 (10): 109-112. (ZHONG Q P, XIE J J, YU S W. Isolation, identification and antimicrobial activity assay of *Bacillus natto*[J]. Food Science,2002(10): 109-112.)

[18] 付志英,刘彩珍,周红艳,等. 纳豆菌拮抗黄曲霉试验方法的研究[J]. 中国调味品,2019, 44(4):93-96. (FU Z Y, LIU C Z, ZHOU H Y, et al. Study on the method of antagonizing aspergillus flavus by *Bacillus natto* [J]. China Condiment, 2019, 44(4): 93-96.)

[19] 王青云,林亲录,彭宽,等. 纳豆芽孢杆菌 Bna05 菌株产抗霉脂肽的鉴定 [J]. 微生物学通报, 2017 (11): 2660-2668. (WANG Q Y, LIN Q L, PENG K, et al. Isolate and identify lipopeptides in metabolites of *Bacillus subtilis* subsp. natto Bna05 [J]. Microbiology, 2017 (11): 2660-2668.)

[20] 陈庆,咎航. 一种用于高效水处理的抗菌复合反渗透膜及制备方法:中国, CN201810192846. 8 [P]. 2018-03-09. (CHEN Q, MIAN H. The invention relates to an antibacterial composite reverse osmosis membrane for high efficiency water treatment and a preparation method thereof: China, CN201810192846. 8 [P]. 2018-3-9.)

[21] 李津津,王伟,陶乐仁,等. 枯草杆菌素 Subtillicin L 的纯化鉴定及抑菌性质[J]. 食品与发酵工业, 2020, 46 (18): 8-12. (LI J J, WANG W, TAO L R, et al. Purification, identification and antimicrobial characteristics of Subtillicin L produced by *Bacillus subtilis* DH8043 [J]. Food and Fermentation Industries, 2020, 46 (18): 8-12.)