

山丁子提取物的抑菌作用研究

付荣霞, 崔艳, 杨树成, 宋佳

(天津市农副产品深加工技术工程中心, 天津农学院 食品科学与生物工程学院, 天津 300384)

摘要:以山丁子果实粉末为原料, 水为提取剂, 选择不同的物质料液比、超声提取时间、微波提取功率、提取温度进行试验, 研究提取物对不同种菌(大肠杆菌、枯草芽孢杆菌、酿酒酵母)的抑菌效果。结果表明: 抑菌成分最佳提取工艺条件为物质料液比 0.16 g/mL, 超声时间 80 s, 微波功率 100 W, 提取温度 80℃。山丁子提取物中抑菌活性成分对大肠杆菌的抑制作用较明显, 其次是枯草芽孢杆菌, 对酿酒酵母的抑菌性较弱, 该研究为山丁子提取物作为天然防腐剂应用于食品提供了理论依据。

关键词:山丁子; 提取物; 抑菌活性

中图分类号:S 661.9 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2014)19-0131-03

山丁子(*Malus baccata* Borkh.)多生长于大兴安岭山区杂木林中, 在西南地区也有野生分布。喜光, 耐寒性极强, 耐贫瘠, 不耐盐碱, 寿命长。山丁子味甘酸、性凉、无毒, 营养成分高于苹果, 其中有机酸含量超过苹果 1 倍以上, 可用于加工蜜饯、果丹皮、罐头、果酱和酿酒等, 也可直接晒干, 捆成小捆常年食用。果实也可入药, 用于治疗肠疾患和各种感染^[1]。

根据山丁子的特点推断果实提取物中抑菌活性成分具有一定的抗氧化作用和抑菌效果并可作天然绿色

的食品添加剂^[2]。该文研究了山丁子提取物中抑菌活性成分的抑菌性, 探讨其作为天然防腐剂应用于食品的可能性。

1 材料与方法

1.1 试验材料

供试山丁子产自内蒙古根河市满归林业局。

试验试剂: 牛肉膏、蛋白胨、琼脂等。

供试菌种: 大肠杆菌、枯草芽孢杆菌、酿酒酵母, 均为天津农学院食品科学系生物工程教研室保藏菌种。

试验仪器: WG700CTL2011 型超声-微波协同萃取仪; HHSZ1-N14 型电热恒温水浴锅; YLE-2000 型电热恒温培养箱; SW-CJ-2FD 型净化工作台; LDZX-50KB 型立

第一作者简介:付荣霞(1972-), 女, 湖南汨罗人, 博士, 副教授, 研究方向为食品营养与生物技术。E-mail: furongxia@sina.com.

收稿日期:2014-06-24

[12] Nesrine Z, Karim H, Nadia B B, et al. Allelopathic effect of *Schinus molle* essential oils on wheat germination [J]. Acta Physiol Plant, 2010, 32: 1221-1227.

[13] 曹慕岚, 王亚男, 李洁, 等. 麻风树叶片化感作用对入侵植物紫茎泽兰幼苗生长的影响[J]. 西南农业学报, 2012, 25(6): 2300-2304.

Allelopathy of Effect Volatile Oil from *Pogostemon cablin* to Its Tissue Culture Seedlings

TANG Kun, LI Ming, ZHAO Pan, DONG Shan, HUANG Jie-wen, LI Long-ming, LI Yun-qi

(School of Traditional Chinese Medicine, Guangdong Pharmaceutical University, Guangzhou, Guangdong 510006)

Abstract: Taking volatile oil from *Pogostemon cablin* and its tissue culture seedlings as materials, using tissue culture method, the effect of volatile oil on growth of its tissue culture seedlings was studied. The results showed that volatile oil from *Pogostemon cablin* showed inhibiting effect on plant height, root length, fresh weight, dry weight and root number, and the degree of inhibition increased with increasing of extract concentration. Under the action of volatile oil, the contents of MDA increased, and the activities of POD and CAT increased too.

Keywords: *Pogostemon cablin* (Blanco) Benth.; allelopathy autotoxicity; volatile oil; tissue culture

式压力蒸汽灭菌器。

1.2 试验方法

1.2.1 抑菌成分提取的工艺流程 山丁子果实→粉碎→提取→离心→取上清提取液→保存备用,将一定量的山丁子粉末放于三角瓶中,加入一定量的蒸馏水,制成一定料液比的液体若干份,分别将三角瓶口覆盖保鲜膜。水浴提取:调整不同的水浴温度,将盛有液体的三角瓶置于水浴锅中,每份提取 2 h。超声提取:设置不同的超声时间。微波提取:选择不同的微波功率。提取后,4 300 r/min 离心 20 min。收取上清液,密封冷冻保存,备用。

1.2.2 山丁子提取液抑菌性的测定 培养基制备:细菌采用牛肉膏蛋白胨固体培养基,酵母菌用麦氏琼脂培养基。菌悬液制备:制备 $10^5 \sim 10^6$ CFU/mL 的菌悬液 10 mL,待用。采用牛津杯法测定山丁子抑菌性:测量抑菌圈的大小并记录,抑菌活性越高,抑菌圈越大^[3]。

1.2.3 山丁子抑菌成分提取试验 不同料液比:依次称取山丁子粉末 0.2、0.4、0.8、1.6、3.2 g,置于 100 mL 的三角瓶中,分别加入 20 mL 蒸馏水,使料液比分别为:0.01、0.02、0.04、0.08、0.16 g/mL,水浴提取温度 80℃,时间 2 h,得到不同料液比的提取液。分别利用牛津杯法测抑菌性,每组做平行试验,抑菌圈直径选 3 次试验的平均值,确定最佳料液比^[4]。不同的超声时间:称取山丁子粉末 1.6 g,置于 100 mL 的三角瓶中,加蒸馏水 20 mL 使料液比为 0.08 g/mL,超声提取时间分别为:20、40、60、80、100 s,频率、功率恒定为 40 kHz,180 W。分别利用牛津杯法测抑菌性,确定最佳超声时间^[5]。不同的微波功率:将料液比为 0.08 g/mL,超声提取 80 s 后的样品置于微波制样容器-PFA 杯中,提取功率分别为:100、200、300、400、500 W,时间均为 15 min^[6]。分别利用牛津杯法测抑菌性,确定最佳微波功率。不同的温度:将超声波、微波提取后的样品分别置于水浴锅中,提取温度分别为:60、70、80、90、100℃,时间恒定 2 h^[7-9]。分别利用牛津杯法测抑菌性,确定最佳提取温度。

1.2.4 山丁子果实提取物对不同菌种的抑菌性比较 采用牛津杯法研究山丁子提取液对大肠杆菌、枯草芽孢杆菌、酿酒酵母的抑菌效果。

2 结果与分析

2.1 山丁子抑菌成分提取试验

2.1.1 不同的提取料液比 由图 1 可知,料液比增加,抑菌圈也增大,抑菌效果增强,当料液比为 0.16 g/mL 时,抑菌圈最大。可见在一定范围内,加大物质料液比,传质推动力随之加强,提取效果相应增加^[10-13]。提取溶剂过少,传质动力小,有效成分不能提取完全;提取溶剂过多,不仅会提高成本,同时不利于成品浓缩和回收,也不适合工厂生产,故选择 0.16 g/mL 为最佳料液比。

2.1.2 不同的超声时间提取 由图 2 可知,在一定范围

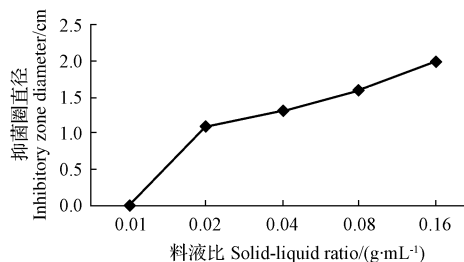


图 1 不同的料液比对抑菌活性的影响

Fig. 1 Effect of different solid-liquid ratio on antibacterial activity 内,抑菌圈随着超声时间增加而增大,但在 80~100 s 时抑菌圈没有明显变化,说明过长的时间不会萃取出更多的抑菌成分。因此选择 80 s 为最佳超声提取时间。

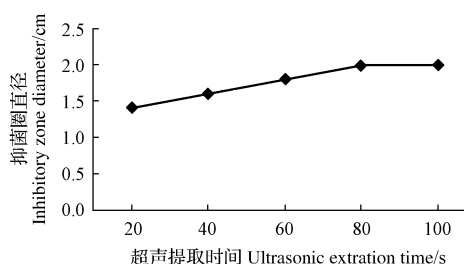


图 2 不同的超声提取时间对抑菌活性的影响

Fig. 2 Effect of different ultrasonic extraction time on antibacterial activity

2.1.3 不同的微波功率提取 由图 3 可知,在一定范围内,抑菌圈随着微波功率的增加而减小,当微波功率为 100 W 时抑菌圈最大。可见在一定范围内,功率过大时微波会产生瞬间高温,待提取物受热不均,不稳定的物质会发生分解,同时会增加能耗^[14-17],因此选择 100 W 为最佳微波提取功率。

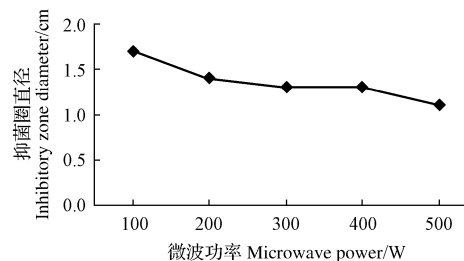


图 3 不同微波功率提取对抑菌活性的影响

Fig. 3 Effect of different microwave powers on antibacterial activity

2.1.4 不同的提取温度 由图 4 可知,在一定范围内,抑菌圈随着提取温度升高而增大,抑菌效果增强,温度为 80~90℃时抑菌性没有变化,温度为 100℃时抑菌圈减小,说明在一定范围内,升高温度,物质内分子运动剧烈,提取效果相应增强^[18-20],但温度过高也可能会破坏山丁子中的抑菌成分,因此选择 80℃为最佳提取温度。

2.2 提取物对不同菌种的抑菌性比较

由表 1 可知,山丁子提取物对大肠杆菌的抑制作用较明显,其次是枯草芽孢杆菌,对酿酒酵母的抑菌性较弱。

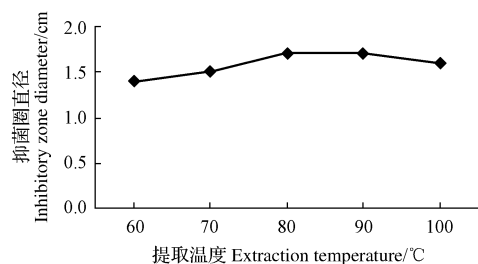


图4 不同的温度对抑菌活性的影响

Fig. 4 Effect of different temperatures on antibacterial activity

表1 提取物对不同菌种的抑菌性

Table 1 Effect of antibacterial activity of extracts on different strains

	料液比			
	Solid-liquid ratio/(g · mL ⁻¹)			
	0.04	0.08	0.16	0.32
大肠杆菌抑菌圈直径				
Inhibitory zone diameter of <i>Escherichia coli</i> /cm	1.3	1.6	2.0	2.3
枯草芽孢杆菌抑菌圈直径				
Inhibitory zone diameter of <i>Bacillus subtilis</i> /cm	—	1.3	1.5	2.0
酿酒酵母抑菌圈直径				
Inhibitory zone diameter of <i>Saccharomyces cerevisiae</i> /cm	—	1.2	1.5	1.9

3 结论

该试验结果表明,山丁子提取物中的抑菌活性成分对大肠杆菌、枯草芽孢杆菌具有一定程度的抑制作用,对酿酒酵母的抑菌性较弱。当料液比为 0.16 g/mL,微波功率为 100 W,提取温度为 80℃时,山丁子提取物中的抑菌活性成分对大肠杆菌等的抑制作用较明显。进一步分离纯化提取物,确定其具体有效的抑菌成分,将其开发成新型天然食品防腐剂用于延长食品的保质期,对此还需要进一步研究。

参考文献

- [1] 李殿波,张树宝. 山丁子的综合利用[J]. 中国林副特产,1992(8):30.
- [2] 刘建萍,由宝昌. 大叶胡颓子叶抑菌作用的研究[J]. 北方园艺,2011(1):144-145.

- [3] 曾亮,黄建安. 儿茶素的抑菌效果及机理研究[J]. 食品工业科技,2009(4):89-92.
- [4] 李建,王旭. 绿豆提取物的抑菌作用研究[J]. 哈尔滨商业大学学报,2010,26(6):80-84.
- [5] 曾晓芳,黄显. 木芙蓉根提取物的体外抑菌作用研究[J]. 药物研究,2011(2):29-30.
- [6] 赖京菁,陈炳华. 红花寄生叶 3 种溶剂提取物清除自由基活性[J]. 天然产物研究与开发,2011(23):27-32.
- [7] Amit K, Ajay K. Antibacterial activity of green tea extracts against various bacteria isolated from environmental source[J]. Recent Research in Science and Technology, 2012, 4(1):19-23.
- [8] 林春梅,刘云鹤,周鸣谦. 山楂叶、果和籽提取物抑菌作用研究[J]. 安徽农业科学,2011,39(36):82-83.
- [9] Dorman H J D, Deans S G. Antimicrobial agents from plants; antibacterial activity of plant volatile oils[J]. Journal of Applied Microbiology, 2000, 88:308-316.
- [10] 曲中堂,项昭保. 橄榄总黄酮抑菌作用研究[J]. 中国酿造,2010(4):62-64.
- [11] 吴士筠,邱品琼. 荸荠皮和荸荠肉的提取液抑菌作用研究[J]. 食品科学,2009,30(19):82-84.
- [12] 张慧,林海萍,盛恩浩,等. 箬竹提取物抑菌活性研究[J]. 浙江林业科技,2010,30(3):38-41.
- [13] 熊俐,周健. 桂圆总黄酮的超声波提取工艺优化及其抑菌效果的研究[J]. 食品发酵与科技,2011,47(4):30-33.
- [14] 王立江,蒋玥. 微波法提取长白山野菊花类黄酮最佳工艺研究[J]. 北方园艺,2013(13):159-162.
- [15] 刘中华,胡春红,田珊珊. 微波提取低温豆粕中大豆皂甙[J]. 粮油食品科技,2013,21(2):26-28.
- [16] 聂小伟,何粉霞,杨芙莲. 微波提取滩枣总黄酮工艺研究[J]. 食品研究与开发,2013,34(5):27-30.
- [17] 李涛,赵云,陈增洁. 龙眼核黄酮的微波提取工艺[J]. 食品研究与开发,2013(2):37-39.
- [18] 邹锋扬,岳鹏翔,王淑凤,等. 高 γ-氨基丁酸茶鲜叶提取温度的工艺研究[J]. 食品工业科技,2012,33(23):292-294.
- [19] 王琴,董文宾,王顺民,等. 甘草渣中黄酮类成分提取工艺的研究[J]. 食品工业,2005,26(3):20-22.
- [20] 蔡健,华景清,王薇,等. 利用茶叶下脚料提取黄酮的工艺[J]. 食品工业,2004,25(3):9-11.

Study on Antimicrobial Activity of *Malus baccata* Borkh. Extracts

FU Rong-xia, CUI Yan, YANG Shu-cheng, SONG Jia

(Tianjin Engineering and Technology Research Center of Agricultural Products Processing, Food Science and Biological Engineering Department, Tianjin Agricultural University, Tianjin 300384)

Abstract: Dry powder of *Malus baccata* Borkh. fruits were used as raw materials, sterile distilled water was used as extracting agent, solid-liquid ratio, ultrasonic extraction time, microwave extraction power, extraction temperature were investigated for the effect of different extraction conditions on antimicrobial (*Escherichia coli*, *Bacillus subtilis*, *Saccharomyces cerevisiae*) activity. The results showed that the optimal extraction conditions were: solid-liquid ratio 0.16 g/mL, ultrasonic extraction time 80 seconds, microwave extraction power 100 W, extraction temperature 80℃. The activity of antibacterial compounds in extracts against *E. coli* was the most remarkable, followed by *B. subtilis*, the weakest was *S. cerevisiae*. The outcome provided the fundamental basis for *Malus baccata* Borkh. using as a natural antiseptic in foods.

Keywords: *Malus baccata* Borkh.; extracts; antibacterial activity