

溪黄草提取物抑菌效果研究

(华南理工大学食品与生物工程学院, 广州 510641) 战宇 宁正祥

摘要: 对溪黄草水提取物和乙醇提取物的抑菌特性进行了研究, 分别测定了溪黄草提取物对供试细菌、酵母菌和霉菌的抑菌圈直径及其最低抑菌浓度和杀菌浓度, 并选择自然条件下变质的牛奶混合微生物菌群进行实际抑菌效果实验。实验结果表明, 溪黄草提取物对供试非芽孢细菌具有明显的抑制作用, 对供试酵母菌和霉菌也具有一定的抑制效果, 且醇提物的抑菌效果要优于水提物。低浓度溪黄草水提取物对牛奶混合微生物菌群的抑菌效果要优于高浓度溪黄草水提取物。

关键词: 溪黄草, 乙醇提取物, 水提取物, 抑菌效果

中图分类号: TS202.3 文献标识码: A

文章编号: 1002-0306(2003)10-0061-03

溪黄草为香茶菜属 *Rabdosia*(Bl.)Hassk. 植物, 因其喜生于山谷明溪旁, 新鲜叶片揉碎产生黄色汁液

收稿日期: 2003-02-11

作者简介: 战宇(1974-), 女, 在读博士研究生, 研究方向: 食品化学。

基金项目: 广东省自然科学基金资助项目, 项目编号: 20020842。

of β -cyclodextrin alone or in combination with phosphates[J]. *Agric Food Chem*, 1996,44: 2591~2594.

[3] Cindy B S Tong, Kevin B Hicks. Sulfated polysaccharides inhibit browning of apple juice and diced apples [J]. *Agric Food Chem*, 1991,39: 1719~1722.

[4] Jean-Sebastien Yronc, et al. Effect of pH variation by electro dialysis on the inhibition of enzymatic browning in cloudy apple juice[J]. *Agric Food Chem*, 1998,46:829~833.

[5] Anh Lam Quoc, et al. Acceleration of pH variation in cloudy apple juice using electro dialysis with bipolar membranes[J]. *Agric Food Chem*, 2000,48:2160~2166.

[6] Jean-Sebastien Yronc, et al. Enzymatic browning inhibition in cloudy apple juice by electro dialysis[J]. *Food Science*, 1997,62(1):75~78.

[7] Adelmo Monsalve -Gonzalez, et al. Control of browning during storage of apple slices preserved by combined methods. 4-hexylresorcinol as anti-browning agent [J]. *Food Science*, 1993,58(4):797~800.

而得名。我国民间主要将该草煎服, 治疗急性肝炎、胆囊炎, 跌打瘀肿等症, 具有悠久的历史。对溪黄草化学成分的研究表明, 该植物含有多种萜类和黄酮类物质^[1]。曾有文献报导, 从溪黄草中分离得到的两种二萜化合物对金黄色葡萄球菌有明显的抑制作用^[2], 但对其它微生物的作用一直无相关资料。本文报导了溪黄草提取物对常见食品微生物生长的影响。

1 材料与方法

1.1 实验材料

粉碎的干溪黄草 购于广州市清平中药材市场; 枯草芽孢杆菌、金黄色葡萄球菌、大肠杆菌、沙门氏菌、产气杆菌、酿酒酵母、粘红酵母、桔青霉、黄曲霉、黑曲霉、毛霉、根霉 以上菌种均由华南理工大学食品与生物工程学院微生物实验室提供; 采用肉汤培养基^[3]和营养琼脂培养基^[3]培养细菌、麦芽汁琼脂培养基^[3]培养真菌 以上培养基均在 112℃ 灭菌

[8] Cindy B S Tong, et al. Oxalic acid in commercial pectins inhibits browning of raw apple juice [J]. *Agric Food Chem*, 1995,43:592~597.

[9] 姚晓敏, 等. 控制苹果褐变的初步研究[J]. *上海农学院学报*, 1999,17(2):111~114,126.

[10] S M Son, et al. Kinetic study of oxalic acid inhibition on enzymatic browning [J]. *Agric Food Chem*, 2000,48:2071~2074.

[11] P Goupy, et al. Enzymatic browning of model solutions and apple phenolic extracts by apple polyphenoloxidase [J]. *Food Science*, 1995,60(3):197~501.505.

[12] Gerald M, Sapers, Frederic W Douglas Jr. Measurement of enzymatic browning at cut surfaces and in juice of raw apple and pear fruits[J]. *Food Science*, 1987,52(5):1258~1262.

[13] D B Genovese, M P Elustondo J E Lozano. Colour and cloud stabilization in cloudy apple juice by steam heating during crushing[J]. *Food Science*, 1997,62(6):1171~1175.

15min。

1.2 实验方法

1.2.1 抑菌物质的提取

1.2.1.1 水提取物 将干溪黄草茎叶用蒸馏水煮沸三次,提取液合并过滤除渣后真空浓缩干燥。

1.2.1.2 乙醇提取物 将干溪黄草茎叶用95%乙醇反复浸提,提取液合并过滤除渣后真空浓缩干燥。

1.2.2 供试菌株的准备及含菌平板的制备 无菌操作条件下,将供试菌种移接入相对应的试管斜面培养基上,细菌置于35~37℃恒温培养箱内培养18~24h,酵母菌、霉菌于28℃恒温培养箱内培养44~48h,然后置于0~4℃下冷藏备用。分别用接种环挑取少许菌体置于装有9mL无菌生理盐水的试管内,振荡均匀,制成菌悬液。酵母菌、霉菌用血球计数板计数,细菌用稀释倒平板法计数。调整菌悬液浓度,使其含孢子或菌体量为 10^6 ~ 10^7 个/mL。分别用无菌移液管向相应的固体平板上加0.1mL菌悬液,并用无菌三角刮铲涂布均匀。

1.2.3 抑菌圈直径的测定 采用滤纸圆片法。用打孔器将新华1号定性滤纸打成6mm的小圆片,置于小培养皿中,160℃干热灭菌0.5h备用;水提取物用无菌蒸馏水溶解,乙醇提取物用95%的乙醇溶解,分别配制成1%的溶液;无菌操作下将灭菌滤纸片分别浸于1%水提取物溶液、1%乙醇提取物溶液、无菌蒸馏水、95%的乙醇中;将浸泡好的滤纸片无菌操作贴在制备好的含菌平板上。每皿均匀分贴同种药液滤纸片3片,相应溶剂空白对照滤纸片2片,重复3次;贴好滤纸片的培养基置于恒温培养箱中培养,细菌于37℃培养18~24h,酵母菌、霉菌于28℃培养44~48h后,取出观察,测定抑菌圈直径。

1.2.4 最低抑菌浓度的测定

1.2.4.1 细菌 将提取物与肉汤培养基按不同比例混合,得到含不同浓度提取物的系列培养基。每一系列培养基接种一种菌悬液50 μ L(含菌量为 10^6 ~ 10^7 个/mL),每浓度重复三管,摇匀后置于37℃恒温培养箱中培养18~24h,观察实验结果。以能抑制细菌生长的最低添加量为该提取物的最低抑菌浓度(MIC)。

因含提取物的培养液肉眼不易辨别菌体的生长情况,可从各管中各取一环转接于固体平板上,经37℃培养后观察有无菌落生长加以判断。

1.2.4.2 霉菌 将提取物与真菌培养基作不同比例的混合,制成不同浓度的倾注平板。然后再接种实验菌,置于适宜温度培养,观察生长情况。以能抑制霉菌生长的最低添加量为该提取物的最低抑菌浓度。

1.2.5 最低杀菌浓度的测定 将提取物的浓度高于MIC(包括MIC)的各管继续培养24h,观察菌体生长情况。以仍无菌落生长的添加量为该提取物的最低杀菌浓度(MBC)。

1.2.6 对变质牛奶混合微生物菌群生长的影响 将变质鲜牛奶中的混合微生物菌群接种至肉汤培养基中,使其 A_{560nm} 净增值为0.05左右。加入一定量的溪黄草水提取物后,放入37℃水浴恒温振荡器中进行培养,以保存于4℃冰箱中不含提取物的无菌培养基作为空白对照,定时测定 A_{560nm} 值^[4]。

2 结果与分析

2.1 溪黄草提取物的抑菌效果

由表1的实验结果可知,溪黄草提取物对各种供试细菌,无论是球菌、杆菌,还是革兰氏阳性菌、革兰氏阴性菌均具有明显的抑制效果,对酵母菌、霉菌也有一定的抑制作用,其抗菌谱之广在植物界中十分罕见。

表1 溪黄草提取物对供试菌种的抑菌圈直径(mm)
($\bar{X} \pm SD, n=9$)

供试菌种	1%水 提取物	1%乙醇 提取物	无菌水	95%乙醇
枯草芽孢杆菌	7.8 \pm 0.9	10.3 \pm 0.5	-	-
金黄色葡萄球菌	8.5 \pm 0.5	12.9 \pm 0.8	-	-
沙门氏菌	8.2 \pm 0.6	12.6 \pm 0.9	-	-
大肠杆菌	8.3 \pm 0.5	10.3 \pm 0.9	-	-
产气杆菌	8.2 \pm 0.7	10.8 \pm 0.5	-	-
酿酒酵母	6.9 \pm 0.6	8.6 \pm 0.3	-	-
粘红酵母	6.3 \pm 0.2	9.1 \pm 0.3	-	-
青霉	6.7 \pm 0.4	7.7 \pm 0.8	-	-
黑曲霉	7.5 \pm 0.8	8.5 \pm 0.7	-	-
黄曲霉	6.6 \pm 0.3	9.0 \pm 0.9	-	-
毛霉	6.8 \pm 0.2	8.3 \pm 0.4	-	-
根霉	6.9 \pm 0.5	8.9 \pm 0.7	-	-

注:“-”表示无抑菌圈。

溪黄草水提取物的抑菌圈直径明显小于乙醇提取物,说明溪黄草水提取物对微生物的抑制作用小于乙醇提取物。此外,无菌水和95%乙醇对供试菌种不具有抑制作用。

2.2 溪黄草提取物的最低抑菌浓度和杀菌浓度

为了定量确定溪黄草提取物的抑菌效果,实验进一步测定了提取物对供试细菌和真菌的MIC值和MBC值,实验结果见表2和表3。

表2 溪黄草提取物对细菌的最低抑菌浓度和最低杀菌浓度(%)

供试菌种	水提取物		乙醇提取物	
	MIC	MBC	MIC	MBC
枯草芽孢杆菌	0.25	0.50	0.125	0.25
金黄色葡萄球菌	0.125	0.25	0.0625	0.0625
沙门氏菌	0.125	0.25	0.0625	0.125
大肠杆菌	0.125	0.25	0.0625	0.125
产气杆菌	0.25	0.50	0.0625	0.125

溪黄草醇提取物对供试细菌的MIC值和MBC值仅为水提取物MIC值和MBC值的1/4~1/2,说明溪黄草所含抑菌活性物质在95%乙醇中的溶解度要高于在水中的溶解度。溪黄草提取物对金黄色葡萄球

表3 溪黄草乙醇提取物对真菌的最低抑菌浓度(%)

供试菌种	酿酒酵母	粘红酵母	黄曲霉	青霉	黑曲霉	毛霉	根霉
MIC 值	0.5	0.5	0.4	0.3	0.3	0.3	0.3

菌、沙门氏菌、大肠杆菌、产气杆菌等革兰氏阳性菌和阴性菌均具有良好的抑制效果,醇提物的 MIC \leq 0.0625%, MBC \leq 0.125%,但对含芽孢细菌的抑制和杀灭作用稍差,醇提物对枯草芽孢杆菌的 MIC 值为 0.125%, MBC 值为 0.25%。

表3表明,溪黄草醇提物对各种真菌均表现一定的抑制效果,最低抑菌浓度 \leq 0.5%,显示该植物在食品、饲料防霉保鲜方面具有广阔的应用前景。

2.3 溪黄草提取物对变质牛奶混合微生物菌群生长的影响

微生物在无菌条件下经逐代培养,对周围环境的适应和变异能力会逐渐降低。为获得溪黄草提取物对实际食品中微生物生长的抑制效果,以便为生产使用提供参考,我们选用自然条件下变质的牛奶混合微生物菌群作为供检测的微生物系统。一般情况下,微生物对抑菌物质的抗代谢性依种类而异,以霉菌抗性最小,细菌和酵母菌的抗性较高,适应和变异能力相对较强。经检测证实,变质牛奶中所含的微生物主要是细菌和酵母菌。

0.025%~0.2%溪黄草水提取物对牛奶混合微生物菌群生长曲线的影响如图1所示。实验结果表明,随溪黄草水提取物浓度的成倍增加,混合微生物菌群生长量(光密度值)也随之相应增大。说明低浓度溪黄草水提取物对牛奶混合微生物菌群的抑菌效果要优于高浓度溪黄草水提取物。苯甲酸是目前国内实际大量使用的一种食品保鲜剂,添加 0.05%苯甲酸的混合微生物生长量是添加 0.025%和 0.05%溪黄草水提取物混合微生物生长量的 2 倍和 1.6 倍,表明溪黄草提取物中的抑菌成分具有良好的防腐保鲜效果。

3 结论

溪黄草 95%乙醇提取物对供试微生物的抑制效

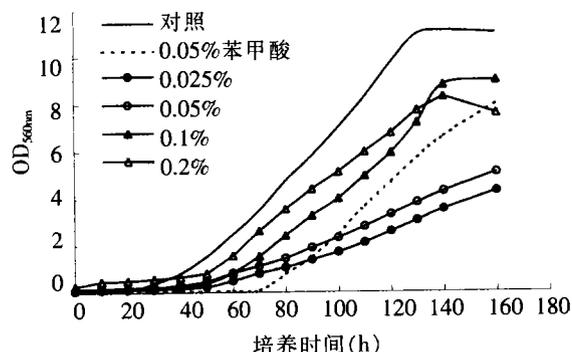


图1 溪黄草水提取物对牛奶混合微生物菌群生长曲线的影响

果优于水提取物。提取物对金黄色葡萄球菌、沙门氏菌、大肠杆菌、产气杆菌等革兰氏阳性菌和阴性菌均具有良好的抑制作用,但对含芽孢细菌的抑制和杀灭作用稍差。此外,提取物对供试酵母菌和霉菌也具有一定的抑制效果。在研究溪黄草水提取物对变质牛奶混合微生物菌群生长曲线的影响中发现,低浓度溪黄草水提取物的抑菌效果要优于高浓度溪黄草水提取物,其原因和抑菌活性物质的分子结构还有待于进一步探讨。

参考文献:

- [1] 肖树雄,黄诺嘉,林伟忠,等.溪黄草研究进展[J].中草药,2000,31(12):950-951.
- [2] 李广义,宋万志,季庆义.溪黄草二萜成分的研究[J].中药通报,1984,9(5):29-32.
- [3] 黄伟坤,等编著.食品检验与分析[M].轻工业出版社,1989.819-830.
- [4] 高建华,宁正祥,秦燕,等.非对称富马酸酯类的合成及对西式火腿肠保鲜效果的研究[J].食品科学,1997,18(10):25-28.

Stainless Steel Sanitary Centrifugal Pump & Liquid-Ring Pump
不锈钢卫生离心泵、自吸泵
 世界 一 流 品 质
 international quality

名牌未必昂贵

We offer a hundred different models of sanitary or sterile centrifugal pumps, liquid-ring pumps and rotary pumps.
 提供一百多种规格的各种卫生级、无菌级离心泵、自吸泵及转子泵

仅在中国的部分用户: 燕京啤酒、汇源果汁、青岛啤酒、可口可乐、健力宝、宁波乳品等

日新流体设备(惠州)有限公司(外商独资)
 NISSIN FLOW EQUIPMENT(HUIZHOU) CO., LTD.
 电话 Tel: 0752-3323038 3324304
 传真 Fax: 0752-3321055
 电子邮件 E-mail: huizhou@nissin.net.cn

NISSIN
 日新流体
 www.nissin.net.cn