

# 柚皮提取物的抑菌作用研究\*

林捷 吴锦铸 朱新贵 梅潜彪 郭志敏

(华南农业大学食品科学系,广州,510642)

**摘要** 研究了柚皮提取物(SPE)对细菌、酵母、霉菌的抑制作用。实验结果证明:柚皮提取物对苏云金芽孢杆菌、卵黄色八叠球菌和从酸泡菜中分离出的混合细菌群有较强的抑制作用,对大肠杆菌、沙门氏菌和黑曲霉的抑制作用较差,对啤酒酵母、红酵母和青霉无抑制作用;柚皮提取物的抑菌作用受pH值的影响不大。

**关键词** 柚皮;提取物;抑菌作用

**中图分类号** Q 939.9

食品在加工、运输、储藏和销售过程中,由于微生物的污染,常会腐败变质而造成直接经济损失。向食品中加入防腐剂是一种简单有效的方法。从这一目的出发,国内外都在大力开发低毒、高效、广谱和经济实用的防腐剂,其中,从生物天然产物中寻找有抑菌防腐作用的安全性高的活性物质,如微生物代谢产物、植物的有效成分,有着广阔的前景。不同种类植物中的挥发性物质常具有各种生物活性,如抗菌、杀菌作用,抗氧化作用,以及生物调节作用等。它们的生物活性是各种成分单独或协同作用的结果(王春生等,1996)。

芸香科木本植物柚(*Citrus grandis*)在我国已有大面积种植,其外果皮除极少数被利用外,大部分都被废弃了。外果皮中含有丰富的香精油、类黄酮、类胡萝卜素等,据研究证实,应具有抑菌活性(Lueck,1980)。但关于柚皮抑菌作用的研究,迄今少见报道。本研究用5种不同的方法提取柚皮中的生物活性物质,对其抑菌作用进行了初步的研究,为柚皮的综合利用及其提取物用于食品防腐提供了参考。

## 1 材料与方 法

### 1.1 材 料

1.1.1 柚皮提取物 1#、2#、3#、4#、5#。

1.1.2 供试菌种 细菌:苏云金杆菌(*Bacillus thuringiensis*);卵黄八叠球菌(*Staphylococcus aureus*);大肠杆菌(*Escherichia coli*);肠炎沙门氏菌(*Salmonella enteritidis*);从胡萝卜和豆角制的酸菜中分离出的混合细菌群(主要是醋酸菌和乳酸菌)。酵母菌:啤酒酵母(*Saccharomyces cerevisiae*);红酵母(*Rhodo torula*)。霉菌:黑曲霉(*Aspergillus niger*);青霉(*Penicillium glaucus*)。以上菌种由华南农业大学食品科学系微生物实验室提供。

1.1.3 培养基 肉汤培养基;豆芽汁培养基;PDA培养基。

### 1.2 实 验 方 法

1.2.1 柚皮提取物的制备 柚皮的外果皮(油胞层)分别用乙醇、乙酸乙酯、丙酮、石油醚、乙

1998-09-24收稿 林捷,女,32岁,工程师

\* 华南农业大学校长基金资助项目

醚室温浸提,然后在其沸点以下减压低温蒸馏,分别编号为1#、2#、3#、4#、5#,4℃以下保存备用。

1.2.2 菌悬液的制备 将已活化的菌种分别接入无菌生理盐水制成含活菌量约为  $1 \times 10^7$  个/mL的菌悬液。

1.2.3 抑菌试验 (1) 打孔法,取1 mL菌液加入  $d$  为90 mm 无菌培养皿后,倒入已灭菌的45℃的培养基15 mL,混匀,待凝固后,在培养基上打3个  $d$  为4 mm的孔,加入20  $\mu$ L SPE样品,置适宜温度下培养一定时间后量取抑菌圈直径,取其平均值进行比较。

(2) 平板稀释法(周邦靖,1987),将SPE样品用无菌水倍比稀释为12.5%、6.25%、3.125%、1.563%、0.782%、0.391%、0.195%后,分别定量加入无菌培养皿,倒入已灭菌的45℃的培养基15 mL与其充分混合,凝固后加入0.1 mL菌悬液,涂布。置适宜温度下培养一定时间后观察菌落生长情况。

(3) 生长抑制实验(比浊法)(张治琰,1987),各菌经液体培养基适当培养后,取定量加入新鲜培养基中,使其A560 nm净增值为0.05,然后加入1%的供试样品,在适宜条件下培养,定时测量其OD值;霉菌则是定时将培养液离心,测量其含菌量。

## 2 结果与分析

### 2.1 提取方法对SPE抗菌效力的影响

对柚皮各提取样品用打孔法测量抑菌圈,可见用不同提取方法制备的SPE抗菌效力不同(见表1)。

表1 不同提取方法对SPE抗菌效力的影响

| 样品               | $d$ (抑菌圈)/mm |        |      |        |         |           |
|------------------|--------------|--------|------|--------|---------|-----------|
|                  | 苏云金芽孢杆菌      | 卵黄八叠球菌 | 大肠杆菌 | 肠炎沙门氏菌 | 啤酒酵母红酵母 | 霉菌(黑曲霉青霉) |
| 1#               | 6.5          | 6.1    | 0    | 0      | 0       | 0         |
| 2#               | 19.0         | 16.0   | 5.8  | 5.5    | 0       | 0         |
| 3#               | 4.8          | 4.9    | 0    | 0      | 0       | 0         |
| 4#               | 5.5          | 5.2    | 0    | 0      | 0       | 0         |
| 5#               | 4.5          | 4.2    | 0    | 0      | 0       | 0         |
| CK <sup>1)</sup> | 8.0          | 8.2    | 0    | 0      | 0       | 0         |

1):CK—— $\varphi$ (山梨酸钾)=58.2%

结果表明,用乙酸乙酯浸提的2#提取物抑菌效力最强,所有样品对酵母均无抑制作用,黑曲霉在培养皿上虽无抑菌圈,但皿内菌落明显减少,且菌落较小菌丝变细,可能是因为SPE对其有一定抗性,但不足以杀菌。

### 2.2 SPE的抗菌性能测定

将乙酸乙酯浸提的SPE(即2#)作为样品,测定其抗菌性能。

2.2.1 最低抑菌体积分数 $\varphi$ (SPE<sub>mic</sub>)的测定,用稀释成12.50%、6.25%、3.13%、1.56%、0.78%、0.39%、0.20%等7个体积分数的SPE测定MIC(最低抑菌浓度),以相应浓度的山梨酸钾为对照,结果见表2。

从表2可以看出,山梨酸钾对各种微生物均有抑制作用,而SPE则对啤酒酵母、红酵母和

青霉无抑制作用;对大肠杆菌、沙门氏菌和黑曲霉的抑制也很微弱,但对苏云金芽胞杆菌和卵黄八叠球菌等革兰氏阳性菌的抑制作用比山梨酸钾强。

表 2 SPE 的抗菌谱<sup>1)</sup>

| 样品   | $\varphi(\text{SPEmic})/\%$ |        |      |        |         |      |      |
|------|-----------------------------|--------|------|--------|---------|------|------|
|      | 苏云金芽胞杆菌                     | 卵黄八叠球菌 | 大肠杆菌 | 肠炎沙门氏菌 | 啤酒酵母红酵母 | 黑曲霉  | 青霉   |
| SPE  | 0.78                        | 1.56   | 6.25 | 6.25   | —       | 3.13 | —    |
| 山梨酸钾 | 6.25                        | 6.25   | 6.25 | 6.25   | 3.13    | 0.78 | 0.78 |

1)肉汤培养基的 pH 值为 7.5, 豆芽汁培养基的 pH 值为 7.0, PDA 的 pH 值为 5.7

2.2.2 pH 值对 SPE 抗菌效力的影响 将肉汤培养基和豆芽汁培养基 pH 值分别调为 4、5、6、7、8, PDA 培养基 pH 值为 3、4、5、6. 分别接种从酸菜中分离出的混合菌、啤酒酵母和黑曲霉, 按平板稀释法测定 SPE 在不同 pH 的环境下的 MIC. 以山梨酸钾为对照。

表 3 SPE 在不同 pH 下的 MIC

| pH 值 | $\varphi(\text{SPEmic})/\%$ |       |     |       |       |       |
|------|-----------------------------|-------|-----|-------|-------|-------|
|      | 细菌                          |       | 酵母  |       | 霉菌    |       |
|      | SPE                         | 山梨酸钾  | SPE | 山梨酸钾  | SPE   | 山梨酸钾  |
| 3    | —                           | —     | —   | —     | 1.563 | 0.196 |
| 4    | 0.391                       | 0.196 | —   | 0.196 | 1.563 | 0.196 |
| 5    | 0.782                       | 0.391 | —   | 0.391 | 3.125 | 0.782 |
| 6    | 0.782                       | 1.563 | —   | 0.782 | 3.125 | 0.782 |
| 7    | 0.782                       | 6.25  | —   | 3.125 | —     | —     |
| 8    | 0.782                       | —     | —   | —     | —     | —     |

实验结果表明, SPE 对微生物的抑制作用基本上不受 pH 值影响, 但培养基偏酸时抑菌效果更好. 以不加样品的各个 pH 培养基接种为对照, 可见偏酸的培养基对真菌的生长有一定影响, 菌落偏小, 但仍可正常生长繁殖. 而山梨酸钾的抑菌作用则明显受 pH 值影响。

2.3 SPE 对微生物生长抑制的测定

用比浊法测定 SPE 对微生物的生长抑制, 其中细菌为酸菜中的混合细菌群, 霉菌为黑曲霉. 结果见图 1、图 2。

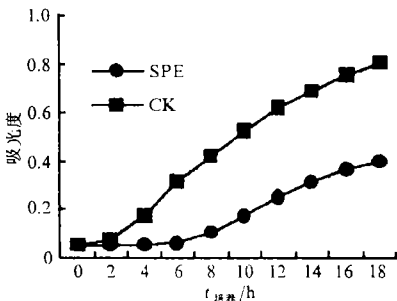


图 1 pH=5 时 SPE 对细菌的抑菌作用

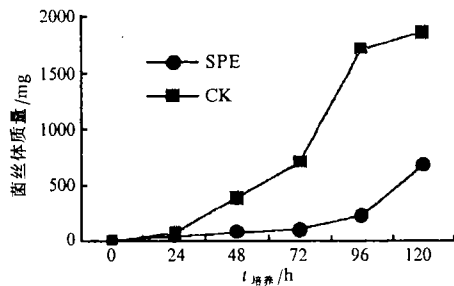


图 2 pH=5 时 SPE 对霉菌的抑菌作用

结果表明,(1)SPE可延长微生物生长的迟滞期,其中细菌的迟滞期由CK的2h延至8h,霉菌则由24h延至72h。(2)降低微生物的绝对生长量,其中细菌18h的绝对生长量为CK的49%,霉菌120h的绝对生长量为CK的39%。

在测定吸光度时A值有时会上下波动,这是因为(1)微生物细胞的大小随菌龄而异,(2)当防腐剂或抗菌素存在时细胞形态也常发生变异,因而影响培养液的浑浊度。

### 3 讨论

抑菌剂主要是通过抑制微生物细胞的膜透性或某些酶作用从而抑制代谢过程发挥作用的。具体来说,是抑制新陈代谢中某些酶或蛋白质的合成或活性发挥,或者抑制核酸的合成,也有的是通过改变细胞透性,如干扰细胞壁的组成物质合成等,也有许多抑菌剂则是作为代谢拮抗物影响代谢的进行而发挥抑菌作用的。一般说来抑菌剂的分子结构特征与生物膜脂分子结构特征愈相似,则愈易进入菌体从而更易发挥抑菌作用(宁正祥,1997)。许多植物组织尤其是柑橘类组织中存在一类称为精油类物质,具有杀菌或抑菌作用,这类物质是由多种可挥发性物质组成,如单萜、倍半萜、醛类、酯类、酸类、酮类、醇类和一些芳香类物质。它们几种或多种共同作用使得植物组织具有较强抵御病菌侵入能力(凌关庭,1995)。

在本实验的几种提取方法中,柚皮经乙酸乙酯浸提而得的SPE抑菌效果最好,而乙醇、石油醚、丙酮、乙醚浸提的样品次之。SPE中含醛、醇、酚、酯等多种有机物,其中所含的百里香酚、紫苏醛、乙酸芳樟酯等均有较强的抑菌作用,这几种物质在乙酸乙酯、乙醇、乙醚和石油醚等有机溶剂中都是可溶的,而其抑菌作用却有所差异。这可能是不同溶剂对其结构造成了影响,而使得其柚皮抽提物的抑菌作用有所不同,这其中的抑菌机理还有待进一步研究。

#### 参 考 文 献

- 王春生, Ducio C. 1996. 柑桔类果实中精油类成分对青霉菌的抵御作用. 中国果品研究, (3):4~5  
 宁正祥, 高建华, 秦燕, 等. 1997. 荔枝精油对西式火腿肠的保鲜效果. 食品与发酵工业, 23(4):34~36  
 张治球. 1987. 抗生素药品检验. 北京: 人民卫生出版社, 134~137  
 周邦靖. 1987. 常用中药的抗菌作用及其测定方法. 重庆: 科学技术文献出版社重庆分社, 93~101,  
 凌关庭, 王亦芸, 唐述潮. 1995. 食品添加剂手册:上册. 北京: 化学工业出版社, 223~224  
 董金甫, 李瑶卿, 洪绍梅. 1995. 茶多酚(TPP)对8种致病菌最低抑菌浓度的研究. 食品科学, 16(1):6~12  
 Lueck E. 1980. Anti-microbial food additives characteristics uses effects. New York; Springer-Verlag Berlin Heidelberg, 58~75

### Studies on Anti-Microbial Activities of Shaddock Peel Extract

Lin Jie Wu Jinzhu Zhu Xingui Mei Qianbiao Guo Zhimin

(Dept. of Food Science, South China Agric. Univ. Guangzhou, 510642)

**Abstract** The inhabitant activities of shaddock peel extracts (SPE) against bacteria, yeasts and molds were studied. The results showed that SPE had strong inhabitant activities against *Bacillus thurrgiensis*, *Staphylococcus aureus* and bacteria from pickle, but weak against *Escherichia coli*, *Salmonella enteritidis*, *Aspergillus niger* and no inhabitant effects against *Saccharomyces cerevisiae*, *Rhodo torula*, *Penicillium glauus*. The variation of pH did not significantly affect the functions of SPE on microorganisms.

**Key words** shaddock peel extract; anti-microbial activities

【责任编辑 李玲】