

孙立春,吴璐璐,许剑锋.植物提取物对食源性致病菌的抑菌活性[J].江苏农业科学,2014,42(2):275-277.

植物提取物对食源性致病菌的抑菌活性

孙立春,吴璐璐,许剑锋

(上海海洋大学食品学院/上海水产品加工及贮藏工程技术研究中心,上海 201306)

摘要:用滤纸片法评价 14 种植物的水提取物和醇提取物对单增李斯特菌、副溶血性弧菌、金黄色葡萄球菌、蜡样芽孢杆菌、大肠杆菌 5 种食源性致病菌的抑菌效果。抑菌圈大小表明:植物醇提取物的抑菌效果较植物水提取物好,其中五倍子的醇提取物和石榴皮的醇提取物对 5 种食源性致病菌具有广谱抑制作用,并且它们的抑制作用强于同浓度的山梨酸钾;此外丁香醇提取物、甘草水提取物、黄芩醇提取物、五倍子水提取物、拳参醇提取物等都对 5 种致病菌具有较好的抑制作用。

关键词:植物提取物;致病菌;抑菌作用;抑菌圈

中图分类号: TS205 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2014)02-0275-03

近年来,由食源性致病菌引起的食物中毒事件屡见不鲜,轻则会引起食用者的不适,重则会导致食物中毒,甚至造成死亡。评定食品防腐剂抑菌活性的重要指标是看它们是否对食品中常见的致病菌具有抑制作用。在抑菌活性的检测方法中,滤纸片抑菌试验法是评价物质是否具有抑菌活性的常用方法。从天然植物中提取抑菌成分具有来源广泛、种类繁多、抗菌效果好、抑菌范围广、毒性相对低的特点^[1-5]。本研究选择 5 种常见的食源性致病菌,初步判定和比较 14 种天然植物水提取物和醇提取物的抑菌活性,为研究天然植物提取物对食品腐败菌的抑菌作用提供一定的理论基础。

1 材料与方法

1.1 试验材料

1.1.1 试验菌种 单增李斯特菌(*Listeria monocytogenes*, ATCC19115);大肠杆菌(*Escherichia coli*, ATCC25922);金黄色葡萄球菌(*Staphylococcus aureus*, ATCC25923);副溶血性弧菌(*Vibrio parahaemolyticus*, ATCC17802);蜡样芽孢杆菌(*Bacillus cereus*, 实验室分离)

1.1.2 植物材料 本研究以 14 种天然植物作为研究对象:白芍、拳参、大黄、黄连、黄芩、甘草、菊花、丁香、五倍子、乌梅、金银花、香附、肉桂、石榴皮。

1.1.3 培养基 TSB 培养基:15 g/L 胰蛋白胍,5 g/L 大豆胨,5 g/L 氯化钠。TSA 培养基:15 g/L 胰蛋白胍,5 g/L 大豆胨,5 g/L 氯化钠,13 g/L 琼脂。

1.1.4 试验试剂 氯化钠(分析纯)、95%乙醇均购自国药集团化学试剂有限公司;去离子水(上海海洋大学公共实验楼提供)。

1.1.5 试验仪器 RE-52A 旋转蒸发仪,上海青浦沪西仪器厂生产;DRT-TW(调温)电热套,巩义市予华仪器有限责

任公司生产;HH-S11.6 数显恒温水浴锅,上海博迅实业有限公司生产;Esco 垂直流超净工作台,新加坡 Esco 公司生产;MLS-3750 全自动高压蒸汽灭菌锅,日本三洋公司生产;DHG-9053A 电热恒温鼓风干燥箱,上海一恒科学仪器有限公司生产;GNP9080 隔水式培养箱,上海精宏实验设备有限公司生产。

1.2 试验方法

1.2.1 14 种天然植物水提取物和醇提取物的制备 分别称取 200 g 白芍、拳参、大黄、黄芩等 14 种天然植物材料,粉碎后分别放入 500 mL 回流瓶中;分别在 500 mL 回流瓶中加入 200 mL 95%乙醇,于 80 ℃回流煮沸 5 h;倒出提取液后,再分别向各个回流瓶中加入 200 mL 95%乙醇,回流煮沸 5 h 后合并提取液。将合并后的粗提取液进行减压抽滤后倒入旋转蒸发瓶中,在 65 ℃条件下进行减压旋转蒸发,除去溶剂后即得到提取的膏状物质。植物水提法与醇提法相同,但溶剂为 200 mL 去离子水。得到水提取物和醇提取物后,分别配置 14 种浓度为 0.001 g/mL 的植物醇提取物和植物水提取物,待用。以山梨酸钾为对照,浓度为 0.01 g/mL。

1.2.2 试验准备 活化菌种:挑取斜面上的菌种,置于 5 mL TSB 无菌试管中,在摇床上于 180 r/min 条件下培养 18~22 h(革兰氏阳性菌的培养温度为 37 ℃,革兰氏阴性菌的培养温度为 30 ℃),活化 2~3 代后备用。

无菌滤纸片的制备:先用打孔器制作直径为 6 mm 的滤纸片,121 ℃高压灭菌 20 min,烘干 3~4 h 后备用。

平板的制备:取 30 g TSA 培养基并加热溶解于 1 L 水中,121 ℃高压灭菌 20 min 后,冷却至 50 ℃左右时倒入无菌培养皿中,每个培养皿中约 15~20 mL,置于无菌环境中备用。

1.2.3 天然植物水提取物和醇提取物的抗菌活性 测定抑菌圈直径参照 Ali 等的方法^[6-9],并略有改动。将均匀涂菌(菌浓度为 10^7 个/mL)后的平板置于 37 ℃或 30 ℃恒温培养箱中 5 min,使表面干燥;用无菌镊子将滤纸片贴在培养基表面,轻压纸片以确保接触良好,然后吸取 10 μ L 0.001 g/mL 的样品溶液于滤纸表面并作标记;37 ℃或 30 ℃恒温倒置培养 18~22 h,观察抑菌圈大小并测定提取物与溶剂的抑菌圈的净直径。滤纸片试验重复 3 次,取平均值。

收稿日期:2013-06-24

基金项目:上海市科委工程中心建设项目(编号:11DZ2280300)。

作者简介:孙立春(1965—),男,山东蓬莱人,硕士,工程师,研究方向为海洋生物制药和食品化学。E-mail: lcsun@shou.edu.cn。

通信作者:许剑锋,男,博士,副教授,研究方向为海洋药物和天然产物化学。Tel: (021)61900388; E-mail: jfxu@shou.edu.cn。

2 结果与分析

由表 1、表 2、图 1 至图 5 可知,对单增李斯特菌具有抗菌活性的植物水提物的抑菌圈净直径大小为:五倍子>乌梅>黄芩=甘草=丁香>金银花=香附;对单增李斯特菌具有抗菌活性的植物醇粗提物的抑菌圈净直径大小为:五倍子>丁香>香附>白芍=金银花=肉桂>黄连=菊花>黄芩=乌梅。对大肠杆菌具有抗菌活性的植物水提物抑菌圈净直径大小为:黄连>乌梅;对大肠杆菌具有抗菌活性的植物醇提物的抑菌圈净直径大小为:大黄=五倍子=乌梅>黄连>黄芩=丁香>白芍>菊花=香附=石榴皮>金银花。对金黄色葡萄球菌具有抗菌活性的植物水提物的抑菌圈净直径大小为甘草=丁香>黄连>拳参>黄芩>石榴皮=大黄>白芍>五倍

子>乌梅;对金黄色葡萄球菌具有抗菌活性的植物醇提物净直径大小为五倍子>丁香>拳参=石榴皮>大黄=黄芩>甘草>黄连>香附>白芍>菊花>金银花>乌梅。对副溶血性弧菌具有抗菌活性的植物水提物的抑菌圈净直径大小为丁香=五倍子>石榴皮>乌梅>拳参=黄连>甘草;对副溶血性弧菌具有抗菌活性的植物醇提物的抑菌圈直径大小为乌梅>五倍子>拳参=大黄>黄连>黄芩=香附>菊花=金银花=石榴皮>白芍>肉桂。对蜡样芽孢杆菌具有抗菌活性的植物水提物的抑菌圈直径大小为五倍子=肉桂>黄连>甘草>乌梅>石榴皮>丁香=金银花;对蜡样芽孢杆菌具有抗菌活性的植物醇提物的抑菌圈直径大小为五倍子>黄芩>大黄=丁香>白芍=菊花>甘草=乌梅>拳参=黄连=金银花>香附=石榴皮>肉桂。

表 1 植物水提物和醇提物对单增李斯特菌、大肠杆菌、金黄色葡萄球菌的抑菌圈净直径							cm
植物种类	对单增李斯特菌的抑菌圈直径		对大肠杆菌的抑菌圈直径		对金黄色葡萄球菌的抑菌圈直径		
	水提物	醇提物	水提物	醇提物	水提物	醇提物	
白芍	0.0	0.4	0.0	0.8	0.7	0.8	
拳参	0.0	0.0	0.0	0.0	1.1	1.4	
大黄	0.0	0.0	0.0	1.2	0.9	1.3	
黄连	0.0	0.2	0.4	1.1	1.4	1.1	
黄芩	0.2	0.1	0.0	1.0	1.0	1.3	
甘草	0.2	0.0	0.0	0.0	1.9	1.2	
菊花	0.0	0.2	0.0	0.5	0.0	0.7	
丁香	0.2	0.7	0.0	1.0	1.9	1.6	
五倍子	0.4	1.2	0.0	1.2	0.4	2.0	
乌梅	0.3	0.1	0.2	1.2	0.1	0.4	
金银花	0.1	0.4	0.0	0.2	0.0	0.6	
香附	0.1	0.5	0.0	0.5	0.0	1.0	
肉桂	0.0	0.4	0.0	0.0	0.0	0.0	
石榴皮	0.0	0.0	0.0	0.5	0.9	1.4	
对照(山梨酸钾)	0.5	0.5	0.8	0.8	0.7	0.7	

表 2 植物水提物和醇提物对副溶血性弧菌、蜡样芽孢杆菌的抑菌圈净直径					cm
植物种类	对副溶血性弧菌的抑菌圈净直径		对蜡样芽孢杆菌的抑菌圈净直径		
	水提物	醇提物	水提物	醇提物	
白芍	0.0	0.9	0.0	1.0	
拳参	0.4	1.4	0.0	0.8	
大黄	0.0	1.4	0.0	1.1	
黄连	0.4	1.3	0.7	0.8	
黄芩	0.0	1.2	0.0	1.2	
甘草	0.2	0.0	0.5	0.9	
菊花	0.0	1.0	0.0	1.0	
丁香	1.4	0.0	0.1	1.1	
五倍子	1.4	1.7	0.8	1.7	
乌梅	0.6	2.4	0.4	0.9	
金银花	0.0	1.0	0.1	0.8	
香附	0.0	1.2	0.0	0.7	
肉桂	0.0	0.7	0.8	0.4	
石榴皮	0.7	1.0	0.2	0.7	
对照(山梨酸钾)	1.2	1.2	0.5	0.5	

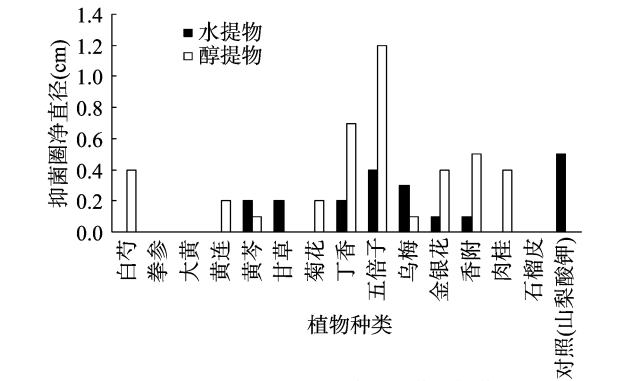


图1 植物提取物对单增李斯特菌的抑菌效果

3 讨论

由研究结果可知:五倍子、石榴皮的醇提物对 5 种食源性致病菌具有广谱的抑制作用,并且其抑制作用大都强于同浓度的山梨酸钾;丁香醇提物、甘草水提物、黄芩醇提物、五倍子水提物、拳参醇提物等都对 5 种致病菌具有较好的抑制作用。天然的植物提取物对食源性致病菌具有广泛的抑制作用,可能的原因是植物提取物中抑菌活性成分多样且复杂,许多食

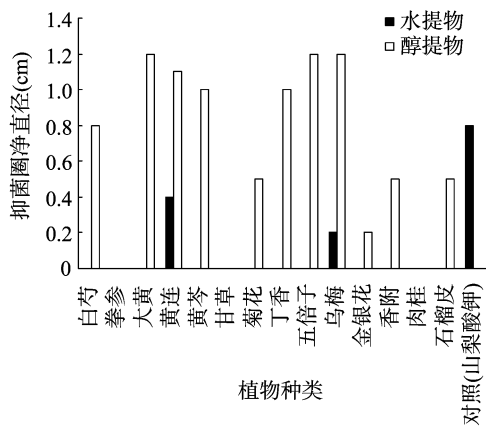


图2 植物提取物对大肠杆菌的抑菌效果

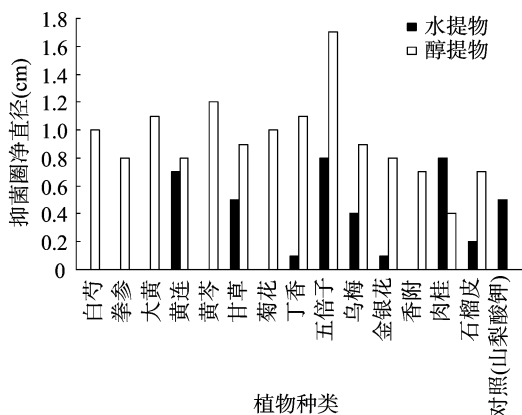


图5 植物提取物对蜡样芽孢杆菌的抑菌效果

血性弧菌和蜡样芽孢杆菌具有较好的抑制作用。整体看来,植物醇提取物的抑菌效果强于植物水提取物,其可能的原因是植物醇提取物中的抑菌活性成分较水提取物多,在后续的关于从天然食品中提取食品防腐剂的试验中,可选择植物醇提取物作为主要的试验对象。

天然植物醇提取物对 5 种食源性致病菌的抑菌效果优于水提取物,其中五倍子醇提取物、石榴皮醇提取物、丁香醇提取物、黄芩醇提取物、拳参醇提取物等具有相对较广的抑菌范围。

参考文献:

- [1] 陈冬梅,唐春红. 国外天然食品防腐剂的研究进展[J]. 中国食品添加剂,2008(2):73-77.
- [2] Masoodi M H, Ahmed B, Zargar I M, et al. Antibacterial activity of whole plant extract of *Marrubium vulgare*[J]. African Journal of Biotechnology, 2008, 7(2): 86-87.
- [3] 齐莉莉,王进波. 姜黄提取物的抗氧化及抗菌活性研究[J]. 中国调味品,2008(2):72-73,83.
- [4] 杨国峰,周建新,汪海峰,等. 花生壳提取物的制备及其抗氧化与抗菌活性的研究进展[J]. 食品与发酵工业,2007,33(2):97-101.
- [5] 吴传万,杜小凤,王伟中,等. 植物源抑菌活性成分研究进展[J]. 淮阴工学院学报,2004,13(3):28-35.
- [6] Ali S M, Khan A A, Ahmed I, et al. Antimicrobial activities of eugenol and cinnamaldehyde against the human gastric pathogen *Helicobacter pylori*[J]. Annals of Clinical Microbiology and Antimicrobials, 2005(4):20.
- [7] 张发明,李应超,董宝明,等. 乌梅中化合物 V 对鸡大肠杆菌的体内和体外杀灭作用研究[J]. 科技导报,2008,26(22):71-74.
- [8] 赵全民,于录,邓旭明,等. 中药单体化合物光甘草定的体外抗菌活性研究[J]. 中国预防兽医学报,2010,32(3):225-227.
- [9] 张英,李娜,张桂臻,等. 中药益母草中黄酮抑菌作用的微量热法研究[J]. 临沂师范学院学报,2006,28(3):56-57,61.

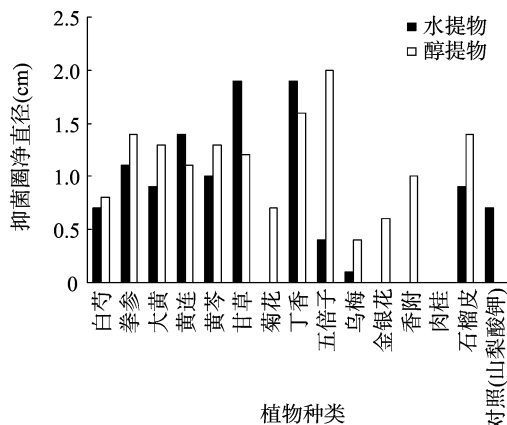


图3 植物提取物对金黄色葡萄球菌的抑菌效果

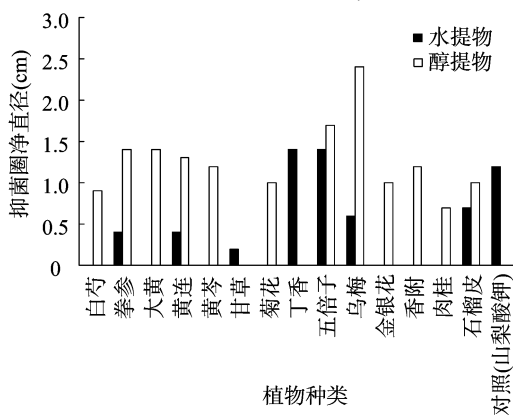


图4 植物提取物对副溶血性弧菌的抑菌效果

源性致病菌未对这些活性物质产生抗性,因此天然的植物提取物是筛选食品防腐剂的重要来源。

整体看来,14 种天然的植物水提取物对金黄色葡萄球菌具有一定的抑制作用,对其他致病菌没有较好的抑制作用;植物醇提取物对单增李斯特菌的抑制作用较弱,而对大肠杆菌、副溶