

连翘精油抑菌及抗氧化作用研究

顾仁勇, 李佑稷, 傅伟昌

(吉首大学化学化工学院食品科学与工程系, 湖南 吉首 416000)

摘要: 利用超临界 CO₂ 萃取法提取连翘精油, 研究测定了连翘精油对各种供试菌种的抑菌圈直径, 加热处理及 pH 值对连翘精油抑菌效果的影响, 同时研究了连翘精油的抗氧化效果。结果表明: 连翘精油对各供试菌种的抑菌圈直径在 12.5~26.0 mm 之间, 对 G⁺和 G⁻细菌、霉菌和酵母均有很强的抑制作用; 连翘精油的抑菌效果随 pH 值的降低而增强; 121 °C 加热处理 15 min 对连翘精油的抑菌效果无明显影响; 连翘精油还具有一定的抗氧化性能。

关键词: 连翘精油; 抑菌; 抗氧化; 天然防腐剂

中图分类号: TS201.2; 文献标识码: A; 文章编号: 1673-9078(2008)02-0120-03

Study on the Anti-oxidation and Bacteriostasis of *Forsythia suspense* Essential Oil

GU Ren-yong, LI You-ji, FU Wei-chang

(Food Science and Engineering Department, College of Chemistry and Chemical Engineering, Jishou University, Jishou 416000, China)

Abstract: The diameter of inhibition cycle of the *Forsythia suspense* essential oil, extracted by Supercritical carbon dioxide extraction (SCDE) technique, on various bacteria was studied. The effects of temperature and pH value on the bacteriostasis of this essential oil were also investigated. The results showed that, the inhibition cycle diameters of this essential oil on mold, yeast, G⁺ and G⁻ bacteria were range from 12.5 to 26.0 mm, i.e. the essential oil had strong bacteriostatic functions on the tested bacteria. The lower the pH value, the higher the bacteriostatic of the essential oil. Heating treatment (121 °C for 15 minutes) had little effect on its bacteriostasis. Results also showed that the oil had anti-oxidation effect.

Key words: *Forsythia suspense* essential oil; bacteriostasis; anti-oxidation; natural preservative

连翘为木犀科植物 (*Forsythia suspense*), 其果实又名早连子、大翘广、黄花瓣、落翘、黄花条。研究证明: 连翘果实和连翘叶中许多成分对革兰氏阳性及阴性菌均有抗菌作用, 还具有抗氧化功能^[1,2]。连翘的主要抑菌及抗氧化成分含于其精油中, 目前对连翘精油的提取方法主要包括: 超声法、热回流提取法、冷浸过滤法, 分子蒸馏法及超临界 CO₂ 萃取法等^[3]。

香辛料是天然防腐剂的重要来源之一, 从中提取出安全高效的防腐物质作为天然食品防腐剂, 具有广阔的应用前景。目前, 有关连翘精油用于食品防腐保鲜的研究报道尚少, 本实验利用超临界 CO₂ 法萃取连翘精油, 研究了连翘精油的抑菌效果、pH 值和加热对其抑菌效果的影响以及其抗氧化性能, 为连翘精油作为食品天然防腐剂的开发利用提供了一定的科学依据。

收稿日期: 2007-11-06

作者简介: 顾仁勇 (1972-), 男, 学士, 副教授, 主要从事食品保藏的研究

1 材料与方法

1.1 材料与设备

1.1.1 原材料

连翘, 购于本地市场; 新鲜猪油, 于本地市场购买肥猪肉, 经熬炼, 过滤而得; TBHQ (特丁基对苯二酚), 郑州金利食品科技有限公司生产。

1.1.2 供试菌种

白葡萄球菌 (*Staphylococcus cremoris*)、枯草杆菌 (*Bacillus subtilis*)、大肠杆菌 (*Escherichia coli*)、黑曲霉 (*Aspergillum niger*)、青霉 (*Penicillium sp.*)、酿酒酵母 (*Saccharomyces cerevisiae*), 以上菌种由吉首大学资源与环境科学学院微生物实验室提供。

1.1.3 主要实验设备及药品

半连续超临界 CO₂ 萃取装置 (HA121 50 01 型)、生化培养箱 (LRH-150-B)、电热恒温鼓风干燥箱 (G2X-P264MBE)、数显恒温水浴锅 (HH-2)、电子

分析天平(AEL-200)、光学显微镜(XS-213)、全自动立式电热压力蒸汽灭菌器(YXQ-2S-S II)。

三氯甲烷、冰乙酸、碘化钾、硫代硫酸钠等,以上药品均为分析纯。

1.2 实验方法

1.2.1 连翘精油的萃取

使用超临界 CO₂ 萃取技术萃取连翘精油,参考有关资料^[3]设计萃取条件是:萃取压力为 27 MPa,温度 60 °C, CO₂ 流量为 20 kg/h,萃取时间为 2.5 h。

1.2.2 连翘精油抑菌实验

1.2.2.1 培养基的制备

分别配置营养琼脂培养基、马铃薯培养基和豆芽汁培养基,待用^[4]。

1.2.2.2 菌悬液的制备

取少量已活化的待测菌于装有 9 mL 无菌水的试管中,充分混合,制成菌悬液,用无菌吸管取 1 mL 充分混合的菌悬液于试管中,加无菌水 9 mL,依次制成系列浓度的菌悬液。细菌采用平板计数法,霉菌和酵母采用显微镜直接计数法测菌体或孢子个数,调至浓度为含孢子或菌体 10⁶~10⁷ 个/mL 的菌悬液,备用^[5]。

1.2.2.3 抑菌圈的测定(滤纸片法)

制直径为 8.5 mm 的圆滤纸片,灭菌后放入连翘精油中浸泡 2 h。将各种待测菌悬液各取 0.15 mL 在相应的固体培养基上均匀涂布,制成含菌平板。取浸泡过精油的滤纸片贴在含菌平板上,每皿贴 3 片。细菌置培养箱中 37 °C 下培养 24 h,酵母置培养箱中 28 °C 下培养 48 h,霉菌置培养箱中 28 °C 下培养 1 周。选取抑菌圈比较明显的平板测定抑菌圈直径,结果取三次重复实验的平均值^[5]。

1.2.2.4 pH 值对连翘精油抑菌效果的影响

用 2% 的 NaOH 和 50% 的柠檬酸调节 pH 值,分别制成 pH 为 4、5、6、7、8 的系列培养基,然后测定连翘精油的抑菌圈大小(方法同 1.2.2.3),比较不同 pH 值对连翘精油抑菌效果的影响^[5,6]。

1.2.2.5 抑菌成分热稳定性实验

将连翘精油分别置于 80 °C、100 °C、121 °C 下热处理 15 min,选取相应待试菌,测定其抑菌圈大小(方法同 1.2.2.3)^[5,6]。

1.2.3 连翘精油的抗氧化作用实验

1.2.3.1 样品处理

分别取连翘精油 0.25 g、1.0 g、4.0 g 放入锥形瓶中,每瓶加入新鲜猪油 40 g,拌匀,另外取两份 40 g 相同的猪油,其中一份加入 60 mg 的 TBHQ(特丁基

对苯二酚)作对照样,另一份作空白样。将各试样在 70 °C 下搅拌 0.5 h,使加入物充分溶解,用棉塞塞好,置于恒温箱中 65 °C 恒温保存,每隔 24 h 搅拌 2 min,并交换它们在恒温箱中的位置,每 3 d 取样测定油脂过氧化值^[7]。

1.2.3.2 过氧化值的测定

按照 GB/T5009.37-2003(食用植物油卫生标准的分析方法)进行。

2 结果与分析

2.1 超临界 CO₂ 萃取连翘精油实验结果

在萃取压力为 27 MPa,温度 60 °C,CO₂ 流量为 20 kg/h,萃取时间为 2.5 h 的条件下,萃取所得连翘精油为棕黄色油状液体,萃取的得率为 5.1%。

2.2 连翘精油的抑菌效果

表 1 连翘精油对供试菌的抑菌圈直径

供试菌种	抑菌圈直径/mm	供试菌种	抑菌圈直径/mm
大肠杆菌	15.1	黑曲霉	26.0
白葡萄球菌	19.1	青霉	24.3
枯草杆菌	16.0	酿酒酵母	12.5

抗菌素抑菌圈实验结果的判定标准是:抑菌圈直径 >15 mm 为最敏感、10~15 mm 为中度敏感,7~9 mm 时为低度敏感,无抑菌者为不敏感^[8]。由表 1 的结果可见,连翘精油对酿酒酵母的抑菌圈直径为 12.5 mm,属中度敏感;对其余各菌的抑菌圈直径均大于 15.0 mm,属最敏感,其中对黑曲霉和青霉的抑菌圈直径更是分别达 26.0 mm 和 24.3 mm,抑制最为强烈。实验结果表明连翘精油对细菌、霉菌和酵母均有很强的抑制作用,相对而言对供试霉菌的抑制效果明显强于细菌和酵母。

2.3 pH 值对连翘精油抑菌的影响

以白葡萄球菌为对象,不同 pH 值条件下连翘精油抑菌圈直径测定结果见表 2。

表 2 不同 pH 值下连翘精油对白葡萄球菌的抑菌圈直径

pH 值	4.0	5.0	6.0	7.0	8.0
抑菌圈直径/mm	无菌生长	无菌生长	20.7	18.9	18.0

表 2 的结果显示:当 pH 值为 4.0 和 5.0 时,培养基上没有菌落的生长,表明供试菌受到完全的抑制;pH 值为 6.0、7.0 和 8.0 时,随 pH 值的增大抑菌圈有所减小,但减小的程度不大。实验结果表明连翘精油

的抑菌效果与 pH 值有关, 在 $\text{pH} < 5$ 时极为强烈, $\text{pH} > 5$ 时随 pH 值的增大而有所减弱。

2.4 热处理对连翘精油抑菌的影响

连翘精油分别经过 $80\text{ }^{\circ}\text{C}$ 、 $100\text{ }^{\circ}\text{C}$ 、 $121\text{ }^{\circ}\text{C}$ 热处理 15 min 后, 测定其对白葡萄球菌的抑菌圈大小, 结果见表 3。

表 3 不同温度处理后连翘精油对白葡萄球菌的抑菌圈直径

Table 3 Inhibition zone diameter of *Staphylococcus white* by *Forsythia suspense* Essential Oil with different temperature

温度/ $^{\circ}\text{C}$	80	100	121
抑菌圈直径/mm	17.6	17.1	18.1

由表 3 的结果可看出, 经过 $80\text{ }^{\circ}\text{C}$ 、 $100\text{ }^{\circ}\text{C}$ 、 $121\text{ }^{\circ}\text{C}$ 热处理 15 min, 连翘精油对白葡萄球菌的抑菌圈直径没有明显减弱, 且相互没有明显差异。这一结果表明 $121\text{ }^{\circ}\text{C}/15\text{ min}$ 的热处理对连翘精油的抑菌效果没有明显影响, 说明连翘精油中的抗菌成分具备良好的热稳定性。

2.5 连翘精油的抗氧化效果

添加不同量连翘精油及 TBHQ(特丁基对苯二酚)的猪油样品在贮藏期间的 POV 值(过氧化值)变化如图 1。

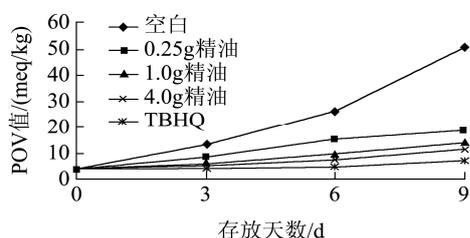


图 1 猪油样品的 POV 值变化图

Fig.1 Change of POV value of lard sample

由图 1 的结果可以看出, 添加连翘精油的猪油样品的 POV 值在整个贮藏期间均比空白样明显要低, 表明连翘精油对猪油的氧化产生了明显的抑制作用, 具有较好的抗氧化能力; 从不同的精油的用量比较来看, 其猪油样品 POV 值变化为 $4.0\text{ g 精油} < 1.0\text{ g 精油} < 0.25\text{ g 精油}$, 表明随连翘精油用量增大, 抗氧化能力有所增强; 与添加 60 mg TBHQ 的猪油样品相比较, 连翘精油的抗氧化能力弱于 TBHQ。

3 讨论

本实验结果证明, 连翘精油对细菌、霉菌和酵母均有不同程度的抑制效果, 这与目前有关的报道结论基本一致, 但由于所选实验对象菌种类不同, 因此无法进行抑菌效果好坏的直接比较。本实验结果初步显示, 连翘精油对霉菌的抑制效果明显强于细菌和酵母,

但由于所选对象菌种类有限, 代表性不够强, 要得出明确的结论尚需更深入的研究。

本实验结果显示, 连翘精油在低 pH 值条件下抑菌能力强, 随 pH 值升高, 抑菌能力有所减弱。初步分析在低 pH 值条件下抑菌力增强有两方面的原因: 一方面是 H^+ 本身的作用, pH 降低, 细菌所处环境发生变化, 降低了细菌的活性; 另一方面, pH 降低引起非极性酚类化合物上所带的酚羟基的电离度变小, 疏水性增加, 酚类更易溶于细菌细胞膜的脂相及蛋白质的疏水区域, 和细胞膜上的蛋白质结合能力更强, 因而 pH 降低, 抑菌作用增大^[9]。在高 pH 条件下, 精油内含有的部分弱酸被 OH^- 分解, 使得抑菌作用减小。

4 结论

4.1 连翘精油对各供试菌均表现出一定的抑制效果, 其中对酿酒酵母属中度敏感, 对大肠杆菌、枯草杆菌、白葡萄球菌、黑曲霉、青霉均属最敏感, 并且对霉菌的抑制最为强烈, 效果明显强于细菌和酵母;

4.2 连翘精油的抑菌效果在酸性条件下极为强烈, 在中性和碱性范围内随 pH 值的增大而有所减弱;

4.3 连翘精油中的抗菌成分具备良好的热稳定性, 能耐受 $121\text{ }^{\circ}\text{C}$ 的高温处理 15 min;

4.4 连翘精油具有一定的抗氧化效果, 且随用量加大抗氧化能力增强, 但效果不及 TBHQ。

参考文献

- [1] 张恩户, 赵子剑, 张英, 等. 连翘及其制剂抗菌效价的生物测定法[J]. 中国中医基础医学杂志, 2005, 5(3): 782-784
- [2] 张立伟, 刘金, 杨频. 中草药连翘精油抗氧化活性研究[J]. 食品科学, 2003, (4): 122-125
- [3] 欧建能, 林秀仙, 梁卫萍, 等. 贯叶连翘精油的超临界 CO_2 萃取工艺研究[J]. 中药材, 2000, 5(2): 619-920
- [4] 刘书成, 李元瑞, 杨柏崇, 等. 香辛料的超临界 CO_2 提取[J]. 中国调味品, 2002, (4): 3-6
- [5] 沈萍, 范秀容, 李广武. 微生物学实验[M]. 北京: 高等教育出版社, 1999
- [6] 顾仁勇, 张丽, 傅伟昌, 等. 芭蕉汁的抑菌作用[J]. 食品与发酵工业, 2005, 31(3): 57-59
- [7] 何文珊, 李炎, 李琳, 等. 几种香辛料对油脂抗氧化效果的评价[J]. 中国调味品, 1998, (7): 12-15
- [8] 李春美, 杜靖, 谢笔钧. 柚皮提取物的抑菌作用[J]. 食品与发酵工业, 2004, (1): 38-41
- [9] 樊明涛, 李亚琴. 百里香提取物抑菌作用影响因素的研究[J]. 江苏理工大学学报(自然科学版), 2001, 22(3): 13-16