



小茴香等7种植物蒸馏提取物的抑霉菌效果

王建清, 杨 艳, 金政伟, 赵亚珠
(天津科技大学包装与印刷工程学院, 天津 300222)

摘要: 以存在于水果的常见霉菌中的灰霉、黑根霉、交链孢、青霉和黑曲霉为研究对象,采用滤纸片扩散法和对倍稀释法,对小茴香、柠檬草、孜然、广藿香、肉桂叶、桉树叶和鼠尾草这7种植物的蒸馏提取物有效抑菌成分(精油)进行抑菌筛选研究.结果表明:小茴香抑菌效果最好且得率高,为1.90%,对青霉、黑根霉最低抑菌浓度(MIC)均为3.2 μL/mL,灰霉、黑曲霉和交链孢MIC为6.4 μL/mL;其次为肉桂叶,对交链孢和灰霉有很强抑菌效果,9 d内抑菌率为100%.

关键词: 抑菌;小茴香;霉菌;精油

中图分类号: TS255 文献标志码: A 文章编号: 1672-6510(2011)01-0010-04

Inhibition Mould of Distillation Extracts from Seven Species of Natural Plants

WANG Jian-qing, YANG Yan, JIN Zheng-wei, ZHAO Ya-zhu

(College of Packaging and Printing Engineering, Tianjin University of Science & Technology, Tianjin 300222, China)

Abstract: By filter paper diffusion method and dilution method, the inhibition characters of *Foeniculum vulgare* Mill, *Cymbopogon citratus*, *Cuminum cyminum* L., *Pogostemon cablin* Benth, *Cinnamomum cassia* Presl., *Eucalyptus* leaves and *Salvia japonica* Thunb. essential oil extracted by steam distillation were studied. Common *Botrytis cinerea*, *Rhizopus nigricans*, *Alternaria*, *Penicillium citrinum*, *Aspergillus niger* in the mould existing in fruits were chosen as research objects. The results show that *Foeniculum vulgare* Mill is the most effective bacteriostatic agent and has the highest extraction productivity which is 1.90%. Minimal inhibitory concentration of *Foeniculum vulgare* Mill effect on *Penicillium citrinum* and *Rhizopus nigricans* is 3.2 μL/mL. Minimal inhibitory concentration of *Foeniculum vulgare* Mill effect on *Botrytis cinerea*, *Aspergillus niger*, *Alternaria* is 6.4 μL/mL. The latter is *Cinnamomum cassia* Presl, especially to *Botrytis cinerea* and *Alternaria* has the best effect. The Inhibitory rate was 100% in 9 d.

Keywords: inhibition; *Foeniculum vulgare* Mill; mould; essential oil

近年来很多科学家开始采用天然的具有抗氧化、杀菌作用的中草药植物和香辛料对果蔬进行保鲜^[1]. 国外已有不少天然植物抗菌剂且得到了商业化应用^[2]. 国内天然植物杀菌剂也取得了一定成果, 见姬等^[3]报道小茴香和肉桂叶提取物对汉逊德巴利酵母和耐盐酵母菌有很好抑菌效果; 郭松年等^[4]报道丁香肉桂叶可以抑制青霉和黑曲霉的生长; 张应焯等^[5]证实孜然提取物对苹果霉心病菌、白菜黑斑病抑菌率均为100%, 对黄瓜炭疽病菌为78.5%; 佟琴琴等^[6]和Tzortzakis^[7]分别证实柠檬草对表皮葡萄球菌、金黄色

葡萄球菌、灰葡萄孢菌和黑曲霉有很好抑制作用. 本研究对文献报道较多的7种天然植物的精油成分进行提取, 针对导致水果腐败变质的常见霉菌进行抑菌效果研究, 以选出抑菌效果好的天然抑菌剂, 为果蔬保鲜提供依据.

1 材料与方法

1.1 实验材料与供试菌种

小茴香(*Foeniculum vulgare* Mill, 产地甘肃)、柠

收稿日期: 2010-09-14; 修回日期: 2010-12-01

基金项目: 国家“十一五”科技支撑计划项目(2006BAD30B02)

作者简介: 王建清(1953—), 男, 湖南人, 教授, jianqw@tust.edu.cn.

檬草 (*Cymbopogon citratus*, 产地云南)、孜然 (*Cuminum cyminum* L., 产地新疆)、广藿香 (*Pogostemon cablin* Benth, 产地内蒙古), 安国市冷背药材有限公司. 肉桂叶 (*Cinnamomum cassia* Presl., 产地广西)、桉树叶 (*Eucalyptus leaves*, 产地安徽)、鼠尾草 (*Salvia japonica* Thunb., 产地安徽), 亳州市腾王药业有限公司.

灰霉 (*Botrytis cinerea*)、青霉 (*Penicillium citrinum*)、黑根霉 (*Rhizopus nigricans*)、交链孢 (*Alternaria*) 和黑曲霉 (*Aspergillus niger*), 天津科技大学食品与生物技术学院农产品产后病害研究室, 分离自发果实.

1.2 实验仪器

水蒸气蒸馏提取装置, 自制; 超洁净工作台, 苏州净化设备有限公司; 电热恒温培养箱, 上海一恒科学仪器有限公司; UB100i 型光学显微镜, 重庆市奥浦光电技术有限公司; 高压蒸汽灭菌锅, 山东新华医疗器械厂.

1.3 天然植物精油提取方法

将小茴香等 7 种天然植物分别粉碎至 30 目, 水蒸气蒸馏装置提取制得其精油, 无水硫酸钠干燥后备用.

精油得率的计算: 将提取到的精油收集至油水分离器中, 静置 30 min 后将精油倒出, 称其质量. 并按照式(1)计算得率

$$\text{精油得率} = \frac{m}{m_0} \times 100\% \quad (1)$$

式中: m 为精油的质量, g; m_0 为原料的质量, g.

1.4 抑菌活性的测定方法

1.4.1 菌悬液的制备

分别挑取少量霉菌孢子至无菌生理盐水中, 用玻璃珠打散制成菌悬液, 借助血球计数板调菌悬液浓度为 10^8 mL^{-1} 备用.

1.4.2 抑菌活性实验

按无菌操作的方式, 培养皿中倒入 15 mL 培养基, 待培养基冷却凝固后, 用移液管吸取 500 μL 菌悬液于培养基表面, 用无菌涂布棒涂布均匀. 将直径为 6 mm 的无菌滤纸放入培养皿中央, 在每个滤纸片上滴 10 μL 待测精油. 待精油被滤纸片吸收充分不再流动时, 将培养皿置于 28 $^{\circ}\text{C}$ 培养箱中培养 48 h, 交叉法测抑菌圈直径, 结果取平均值. 每个菌种分别作 3 组平行, 1 个空白对照. 以不加提取物精油的培养皿作为空白.

1.4.3 最低抑菌浓度(MIC)的确定

参照许志刚^[8]的方法, 略有改动. 用培养基将植物提取物对倍稀释成系列浓度, 其浓度梯度分别为 0.8、1.6、3.2、6.4、12.8 $\mu\text{L/mL}$, 每个浓度 3 次重复, 同时作空白对照, 然后加入 0.1 mL 菌悬液混匀, 28 $^{\circ}\text{C}$ 培养 48 h, 观察菌种的生长情况, 以完全没有菌生长的最低浓度作为该精油的最低抑菌浓度.

2 结果与讨论

2.1 小茴香等 7 种天然植物水蒸气蒸馏提取精油的结果

天然植物皆具有一定的气味, 实验采取水蒸气蒸馏法提取其精油. 不同香辛料提取精油的得率见表 1. 小茴香最高, 为 1.90% (100 g 小茴香可制得 1.9 g 精油), 桉树叶最低, 为 0.24% (每种天然植物精油提取 3 次计算得率, 结果取平均值). 小茴香和桉树叶提取得率不同, 可能是由于水溶性精油在植物不同部位的含量存在差异, 果实中含量与茎叶相比较. 对于小茴香和孜然同样属于茴香类果实, 差异可能是由于天然植物主要成分的种类不同, 决定其提取工艺的不同, 即不同提取工艺下同种物质的得率不同^[9]. 对于同种工艺某种物质表现出较高的得率.

表 1 不同天然物水蒸气蒸馏提取精油得率

Tab.1 Extraction productivity of essential oil from natural plants by vapor distillation

原材料	小茴香	柠檬草	肉桂叶	广藿香	孜然	桉树叶	鼠尾草
精油得率/%	1.90	0.93	0.27	0.77	0.79	0.24	0.26

2.2 小茴香等 7 种天然植物精油抑菌活性筛选

不同天然植物精油对青霉的抑菌活性如图 1 所示. 实验中对青霉抑菌效果最好的为小茴香和柠檬草, 但柠檬草对青霉抑制效果长效性略差, 从第 6 天开始抑菌圈直径直线下降, 第 9 天时为 0 cm; 广藿香抑菌圈直径在实验记录的 9 d 中波动不大, 均值为 2 cm. 剩余的 4 种抑菌剂抑菌圈直径基本呈下降趋

势, 其中肉桂叶和孜然对青霉抑菌效果较好, 整体优于其余两种.

图 2 中对交链孢抑菌效果最好的为小茴香和肉桂叶, 其次是广藿香. 其中广藿香对交链孢抑菌效果存在和柠檬草对青霉同样的趋势, 前 6 d 抑菌效果较好, 之后抑菌圈开始直线下降. 再次为柠檬草, 但其波动趋势也较大, 其余抑菌效果较差.

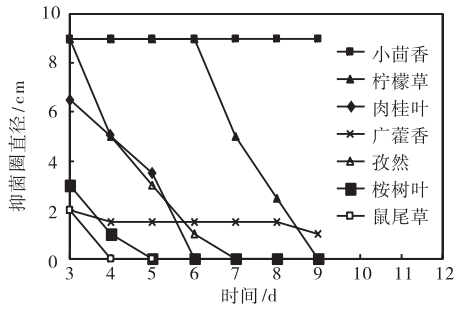


图1 不同植物提取精油对青霉抑菌活性的影响

Fig.1 Inhibition effect of different essential oil of natural plants against *Penicillium citrinum*

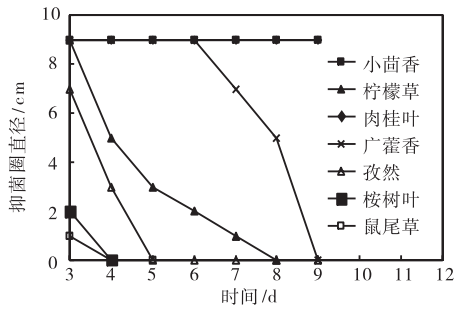


图2 不同植物提取精油对交链孢抑菌活性的影响

Fig.2 Inhibition effect of different essential oil of natural plants against *Alternaria*

图3 中肉桂叶对灰霉抑菌效果最好,抑菌圈稳定没有波动,具有长效的特点;广藜香抑菌圈也整体稳定,抑菌率为 60%. 小茴香对于灰霉的抑菌效果只在前 5 d 较好,第 6 天开始抑菌圈直径直线下降,说明长效性较差.

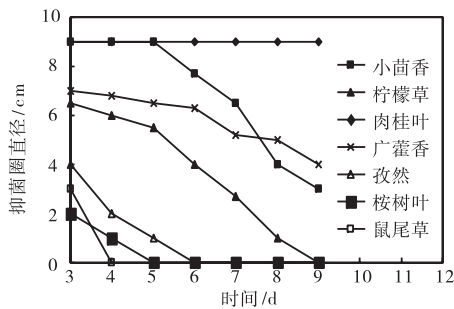


图3 不同植物提取精油对灰霉抑菌活性的影响

Fig.3 Inhibition effect of different essential oil of natural plants against *Botrytis cinerea*

图4 为不同植物精油对黑根霉的抑菌效果,所有抑菌剂的抑菌圈直径波动很小,但比较之,最好的为小茴香,其次是肉桂叶和广藜香.

图5 为不同天然植物精油对黑曲霉的抑菌效果. 小茴香抑菌效果最好,在实验记录时间内抑菌圈直径整体稳定,最小值为 8 cm,说明小茴香对黑曲霉

具有强效的抑菌效果. 其次为肉桂叶和柠檬草,且肉桂叶对黑曲霉抑菌效果强于柠檬草. 其他的几种植物提取物效果较差.

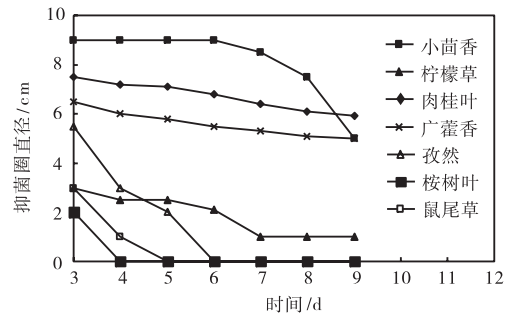


图4 不同植物提取精油对黑根霉抑菌活性的影响

Fig.4 Inhibition effect of different essential of natural plants against *Rhizopus nigricans*

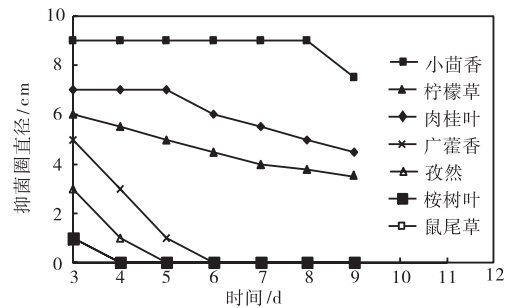


图5 不同植物提取精油对黑曲霉抑菌活性的影响

Fig.5 Inhibition effect of different essential oil of natural plants against *Aspergillus niger*

综合分析不同天然植物精油对霉菌的抑菌效果可知:小茴香抑菌效果最好,该抑菌剂可以很好地抑制青霉、交链孢和黑曲霉生长;小茴香对青霉的抑菌圈直径大于郭松年等^[4]报道的丁香对青霉(抑菌圈为 5 cm)的抑菌效果,从侧面说明小茴香对青霉有较强的抑制作用. 但小茴香对灰霉抑菌圈直径,前 6 d 为 9 cm,从第 7 天开始为 6 cm. 说明小茴香对灰霉的抑菌效果缺乏长效性. 若需长效抑菌剂,可以与对灰霉抑菌效果较好的抑菌剂复配,使其发挥协同作用,提高抑菌效果. 其次为肉桂叶,该抑菌剂对交链孢和灰霉抑菌效果较好,抑菌圈直径大于郭松年等^[4]报道的醇提法肉桂叶精油对于灰霉抑菌效果值,小于桂皮对于青霉的抑菌效果值,这可能是由于同种植物不同部位有效抑菌成分含量不同,而且提取方法对得率有一定的影响. 再次为广藜香,广藜香精油主要成分为广藜香酮和广藜香醇^[10],其精油对灰霉、黑根霉和交链孢均有一定的抑制作用. 对灰霉抑菌效果优于小茴香,可以与小茴香复合制备长效广谱抑菌剂. 柠檬草对黑曲霉也有一定的抑制作用,且与 Tzortzokis 等^[7]

报道的抑菌效果一致。

2.3 最低抑菌浓度

小茴香对不同霉菌的最低抑菌浓度见表 2。小茴香对青霉、黑根霉有很好的抑菌效果,最低抑菌浓度仅为 3.2 $\mu\text{L}/\text{mL}$,对灰霉、黑曲霉和交链孢霉稍差,为 6.4 $\mu\text{L}/\text{mL}$,与普通的抑菌剂相比具有良好抑菌效果,而且天然抑菌剂安全无毒^[11-12],可以达到小剂量抑菌的效果,符合人们对于低成本天然抑菌剂的要求。实验中小茴香对交链孢和黑曲霉在长效抑菌性研究中具有良好效果,但 MIC 值高于小茴香对青霉和黑根霉的值。这可能是由于活性效果研究是从长效性角度去分析,而 MIC 是从量化的指标去衡量,分析角度不同,不相冲突。同样说明小茴香对于黑曲霉和灰霉长效抑菌剂的量化要求较高。

表 2 小茴香对不同霉菌的最低抑菌浓度(MIC)

Tab.2 Minimal inhibitory concentration of *Foeniculum vulgare* Mill against different mould

霉菌	青霉	灰霉	交链孢	黑根霉	黑曲霉
MIC/ $(\mu\text{L}\cdot\text{mL}^{-1})$	3.2	6.4	6.4	3.2	6.4

3 结 论

7种植物提取物水蒸气蒸馏提取实验中,小茴香得率最高 1.90%,其次柠檬草 0.93%。7种植物提取物精油抑菌活性研究中,小茴香效果最好,尤其对青霉和交链孢;肉桂叶其次,对灰霉具有强抑制效果;再次为广藿香,对根霉和灰霉抑菌作用较好。MIC 研究中,小茴香对青霉和黑根霉均为 3.2 $\mu\text{L}/\text{mL}$,灰霉、黑曲霉和交链孢为 6.4 $\mu\text{L}/\text{mL}$ 。

参考文献:

- [1] Holley R A, Patel D. Improvement in shelf-life and safety of perishable foods by plant essential oils and smoke antimicrobials[J]. Food Microbiology, 2005, 22(4): 273-292.
- [2] Rodriguez A, Batlle R, Nerin C. The use of natural essential oils as antimicrobial solutions in paper packaging[J]. Progress in Organic Coating, 2007, 60(1): 33-38.
- [3] 见姬, 薛颖, 马洁. 二十四种植物提取物对耐盐酵母菌的抑制[J]. 食品科技, 2008, 33(3): 174-176.
- [4] 郭松年, 井泽良, 孙海燕, 等. 丁香提取物对三种果实致腐真菌的抑制作用研究[J]. 食品研究与开发, 2006, 27(3): 160-161.
- [5] 张应焯, 冯俊涛, 王汝贤, 等. 孜然提取物对几种病菌生物活性的初步研究[J]. 西北农林科技大学学报: 自然科学版, 2003, 31(5): 77-79.
- [6] 佟琴琴, 姚雷. 迷迭香和柠檬草的精油以及活体香气的抗抑郁作用的研究[J]. 上海交通大学学报: 农业科学版, 2009, 27(1): 82-85.
- [7] Tzortzakis N G, Economakis C D. Antifungal activity of lemongrass (*Cymbopogon citratus* L.) essential oil against key postharvest pathogens[J]. Innovative Food Science and Emerging Technology, 2007, 8(2): 253-258.
- [8] 许志刚. 普通植物病理学[M]. 北京: 中国农业出版社, 1997: 7.
- [9] 关文强, 李淑芬. 丁香精油对果蔬采后病原菌抑制效应研究[J]. 食品科学, 2005, 26(12): 227-230.
- [10] 张广文, 蓝文键, 苏镜娱, 等. 广藿香精油化学成分分析及其抗菌活性(II)[J]. 中草药, 2003, 33(3): 210-212.
- [11] 牟冠文, 李光浩. 食品防腐剂的使用安全[J]. 中国卫生检验杂志, 2007, 17(3): 528-530.
- [12] 尤新. 天然营养功能化发展趋向: 美国 FDA 公布 2001 年度公认安全食品(GRAS) 简析[J]. 中国食品添加剂, 2003(2): 1-4.