

鹿蹄草浸提液抑菌活性研究及其在草莓保鲜中的应用

王储炎^{1,2}, 艾启俊^{2,*}, 杜牧英¹, 陈 颢¹

(1. 西南大学食品科学学院, 重庆 400715 2. 北京农学院食品科学系, 北京 102206)

摘 要: 为了揭示鹿蹄草浸提液具有抑制青霉、根霉等真菌的作用, 将其添加到涂膜液中对新鲜草莓进行处理, 草莓贮藏过程中对其品质指标的变化进行测定。结果表明: 该处理可明显减轻草莓中的可溶性固形物、VC 和总酸在贮藏过程中的降低幅度, 减缓果实的失重; 同时能显著抑制微生物的繁殖, 使得草莓的腐烂程度降低, 延长了草莓的货架期。

关键词: 鹿蹄草; 抑菌活性; 草莓保鲜

Study on Antimicrobial Properties of *Pyrola calliantha* Extracts and Application in Strawberry Preservation

WANG Chu-yan^{1,2}, AI Qi-jun^{2,*}, DU Mu-ying¹, CHEN Xie¹

(1. College of Food Science, Southwest University, Chongqing 400715, China;

2. Department of Food Science, Beijing Agricultural College, Beijing 102206, China)

Abstract: To indicate that *Pyrola calliantha* extracts could restrain penicillium and root mildew, etc activities. *Pyrola calliantha* extracts were added in coating solution to treat fresh strawberry. Some indexes were assayed during cold storage. The results suggested that this treatment can sustain the content of soluble solid substance, VC and titratable acid and cut down the weight loss. The microbial growth of treated fruit is inhibited, so the decay of treated strawberry is much less than the control, and shelf life is prolonged.

Key words *Pyrola calliantha* antimicrobial properties; strawberry preservation

中图分类号: TS255.4

文献标识码: A

文章编号: 1002-6630(2008)01-0325-04

鹿蹄草(*Pyrola calliantha*)为小型草本状半灌木,它内含多种生物活性物质,其中有酚醌类、甙类、有机酸类和糖类^[1]。对鹿蹄草的研究已有悠久的历史。中医学上早就将其作为中草药使用,其结果表明,鹿蹄草应用在医学上具有良好的效果。鹿蹄草浸提液及其提取分离出来的化学成分鹿蹄草素、没食子酸、原儿茶酚、槲皮素、梅笠草素等均有广谱的抗菌作用,对金黄色葡萄球菌、伤寒杆菌、志贺氏菌、福氏痢疾杆菌等固紫色染色阳性及阴性菌都有较强的抑制效果^[2-3]。艾启俊等证实鹿蹄草浸提液对霉菌具有明显的抑制效果,并将其应用在苹果贮藏中^[4]。

同时,草莓因其自身柔软多汁,果皮较薄,在采收与运输过程中极易遭受微生物的侵染,而导致质量下

降,失去商品价值^[5]。本研究通过鹿蹄草提取液对根霉、青霉等真菌的抑制实验,并将其添加到涂膜液中对新鲜草莓进行保鲜实验,并在贮藏过程中对其品质指标的变化进行测定,以求找出延长草莓保质期的办法,为草莓的保鲜提供一定的借鉴和参考。

1 材料与方法

1.1 材料、试剂与仪器

鹿蹄草产于陕西省太白县;草莓采自北京农学院周边农场,采后立即送回实验室,选择无病虫害、无机械损伤、大小相近、成熟度一致的果实。

根霉、青霉由本微生物实验室提供;可溶性淀粉、氯化钙、过氧化氢、木糖醇、甘油、营养琼脂

收稿日期: 2006-11-18

基金项目: 北京市自然科学基金资助项目(6042005)

作者简介: 王储炎(1982-),男,硕士研究生,主要从事食品化学与营养学研究。E-mail: honghuyan@sina.com

* 通讯作者: 艾启俊(1954-),男,副教授,硕士,主要从事农产品贮藏加工及中草药在食品中的应用研究。

E-mail: aiqj@sohu.com

培养基、察氏培养基。

GHP-9160 隔水式恒温培养箱; LS-B50L 型立式压力蒸汽灭菌器; HY-04A 小型高速粉碎机; RE52-99 旋转蒸发器; WYT-4 型手持糖量计; TD5A-WS 台式低速离心机; SW-CJ-IFD 洁净工作台。

1.2 方法

1.2.1 鹿蹄草提取液的制备^[4-6]

称取 100g 鹿蹄草, 用组织捣碎机破碎, 置于烧杯中加入 1000ml 70% 乙醇, 浸泡 24h, 常温超声波 30min, 待溶液颜色变为棕褐色之后真空过滤。取全部滤液蒸馏, 旋转蒸发除去乙醇, 加蒸馏水使体积达到 400ml, 得到鹿蹄草提取液, 即其浓度为 0.25g/ml。

1.2.2 抑菌活性的研究

1.2.2.1 滤纸片法^[7]

按照无菌操作方式将适量培养基(大约 15ml)倒入培养皿中, 待冷却、凝固后, 用无菌吸管分别加入 200 μ l 相应的待试菌悬液于其表面, 用无菌涂布器将菌液涂布均匀, 制成含菌平板, 置 20℃ 恒温箱中 15min 后取出, 使琼脂表面干燥, 待用。选择吸水性强的定性滤纸, 用打孔器打成若干直径为 6mm 的圆形滤纸片, 分装于洁净干燥的小培养皿内(50 张/皿), 干热灭菌后, 浸在提取液 24h, 烘干后取出备用。再用无菌镊子镊取滤纸片贴在含菌平板上, 每只含菌平板上间隔一定距离贴 3 片, 并用浸有灭菌水的滤纸片作对照, 放入培养箱恒温倒置培养, 在 28℃ 下培养 48h 后, 观察结果。

1.2.2.2 抑菌强度实验(等倍稀释法)

鹿蹄草提取液按照不同比例(20%、10%、5%、2.5%、1.25%、0.625%)加入到已灭菌的培养基中混匀, 并倒入培养皿内。活化的菌种用无菌生理盐水制成 $10^3 \sim 10^4$ 个/ml(或孢子)悬液, 然后吸取 200 μ l 菌悬液接到已凝固的培养基中心, 置于 28℃ 下培养 3d。以不加鹿蹄草提取液为对照。每个浓度做 3 个平行样, 然后测量其菌落直径, 再根据下面的公式算出其抑菌率^[8]。

纯生长量 = 菌落平均直径 - 菌饼直径

$$\text{抑菌率}(\%) = \frac{\text{对照纯生长量} - \text{相应浓度的生长量}}{\text{对照纯生长量}} \times 100^{[8]}$$

1.2.3 草莓保鲜实验

1.2.3.1 不同处理液的配制

A 液: 3% CaCl_2 + 1.0% 过氧化氢; B 液: 2% 可溶性淀粉 + 0.2% 木糖醇 + 0.15% 甘油; C 液: 2% 可溶性淀粉 + 0.2% 木糖醇 + 0.15% 甘油 + 5% 天然抑菌剂。将可溶性淀粉加水溶解后, 与其它成分混匀, 定容至 1000ml, 备用。

1.2.3.2 样品处理方法

草莓样品分成 0、A、B、C 四组, 其中 0 组不做任何处理, 作为空白组。A 组放在 A 液中浸泡 1min, 取出后强制通风晾干; B 和 C 组先于 A 液中浸泡 1min 取出, 再分别放入 B、C 液中浸泡 1min, 取出后通风晾干, 最后放入冰箱中(0~4℃)贮藏。

1.2.3.3 主要指标测定方法^[9-11]

腐烂指数的测定: 0 级: 无腐烂、无伤害的新鲜草莓; 1 级: 乱斑小于 1/4 草莓面积的果实; 2 级: 乱斑大于 1/4 但小于 1/2 草莓面积的果实; 3 级: 乱斑大于 1/2 但小于 3/4 草莓面积的果实; 4 级: 乱斑大于 3/4 草莓面积的果实。失重率的测定: 称重法。可溶性固形物的测定: 采用 WYT-4 型手持糖量计测定。VC 的测定: 2, 6-二氯酚酚滴定法。总酸的测定: 酸碱滴定法。

$$\text{腐烂指数} = \frac{\sum \text{级别数} \times \text{该级别草莓个数}}{\text{检测草莓总数}} \times 100\%$$

2 结果与分析

2.1 鹿蹄草提取液抑菌活性研究

2.1.1 滤纸片法

表 1 鹿蹄草提取液对真菌的抑菌效果

Table 1 Antibacterial effects of *Pyrola calliantha* extracts

真菌	青霉	根霉
抑菌圈直径(mm)	13	19

从表 1 可以看出, 鹿蹄草提取液对根霉和青霉具有明显的抑制作用, 其对根霉的抑制效果明显好于青霉。

2.1.2 抑菌强度实验结果

表 2 不同浓度的鹿蹄草提取液抑菌效果比较

Table 2 Effects of different concentrations of *Pyrola calliantha* extracts on inhibitory rate

供试菌种	鹿蹄草提取液浓度(%)						鹿蹄草提取液的 MIC 值(g/ml)
	0.625	1.25	2.5	5	10	20	
青霉	16	28.3	42.1	61.9	86.8	100	0.05(20%)
根霉	6.8	30	62.6	82.4	100	100	0.025(10%)

从表 2 可知, 鹿蹄草提取液对根霉和青霉有显著的抑制作用, 并且随着鹿蹄草提取液浓度的增加, 其抑菌率明显增高。在鹿蹄草提取液的浓度在 20%(0.05g/ml) 的时候, 能抑制此两种菌的生长。而且从表 2 鹿蹄草提取液对各供试菌抑制效果的比较来看, 鹿蹄草提取液对根霉最低抑制浓度(MIC)为 0.025g/ml; 对青霉的最小抑制浓度为 0.05g/ml。

2.2 草莓保鲜实验

2.2.1 腐烂指数

果实腐烂指数是判断贮藏效果的主要表现指标。草莓采后主要受微生物的侵软而发生腐烂,一般地说,首先由根霉、青霉和毛霉等霉菌引起,然后有细菌的参与,最后致使果实被分解利用发生溃烂^[12]。从图1可以看出,随着贮藏时间的延长,草莓的腐烂指数逐渐增大,但经过不同处理液处理的草莓在低温下,其腐烂指数的变化情况都明显弱于空白。

本实验A、B、C三组都经过过氧化氢短暂浸泡,果体表面的微生物尤其是霉菌可大部分被杀灭,因此和空白组相比,其腐烂指数大为减少。B组和C组在此基础上又经过涂膜处理。从图1可知,虽然B组涂膜后其理化品质得到改善,但腐烂指数基本与A组相同,说明该涂膜对微生物的抑制作用不很明显。而对于C组,由于涂膜液中添加具有抑制霉菌生长的鹿蹄草提取液,使得果实表面霉菌的生长受到抑制,因此该组腐烂指数最少。在低温贮藏8d后,当空白组腐烂指数达到3级时,C组只有少量草莓的表面发生腐烂。

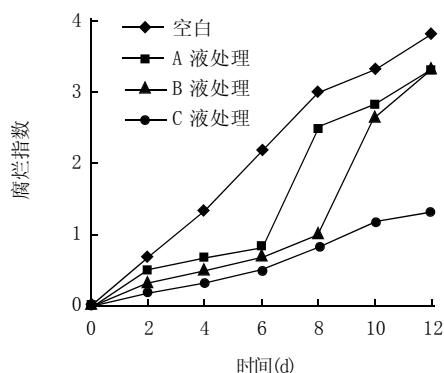


图1 草莓贮藏过程中腐烂指数的变化

Fig.1 Rot indexes changes during strawberry storage

2.2.2 失重率

草莓采后的呼吸作用和蒸腾作用会导致其失水、失重,影响其生理代谢和外观品质^[10]。从图2可以看出,随着贮藏期的延长,草莓的失重率增大,但经涂膜处理的草莓在贮藏期间失重率明显低于对照,尤其是C液

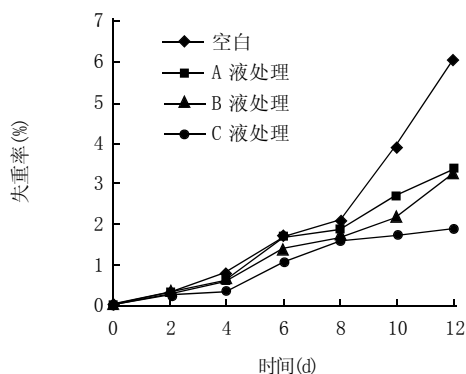


图2 草莓贮藏过程中失重率的变化

Fig.2 Weight loss changes during strawberry storage

处理的草莓失重率最低。这说明涂膜剂对减少果实中水分和重量起到一定的作用。

2.2.3 可溶性固形物含量的变化

可溶性固形物含量的高低,在一定程度上反映了贮藏过程中果实营养物质保留的多少。一般情况下,果实中可溶性固形物80%以上均为糖,其次是酸、可溶性色素、可溶性单宁、果胶等^[9]。由图3可知,草莓中的可溶性固形物含量在贮藏过程中都随着时间的延长而逐渐下降,而且发现涂膜组B液和C液处理对可溶性固形物的损失也有一定的保护作用。

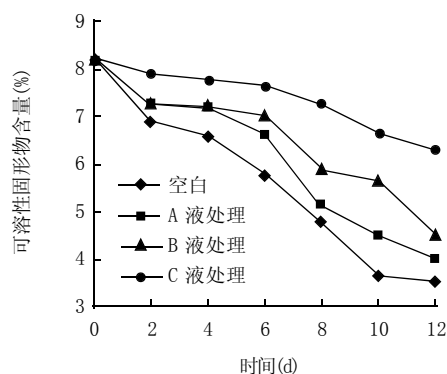


图3 草莓贮藏过程中可溶性固形物含量的变化

Fig.3 Soluble solids content changes during strawberry storage

2.2.4 VC的变化

VC是草莓果实中最重要的营养成分之一,它作为还原型物质在草莓贮藏过程中极易氧化损失,因此VC的含量是检测草莓果实品质的重要指标之一^[13]。从图4可以看出,草莓果实的VC含量在贮藏中随时间的延长而逐渐下降,其中对照组的草莓VC含量下降最多,同时发现B液和C液对草莓中VC含量的下降有明显的延缓作用。

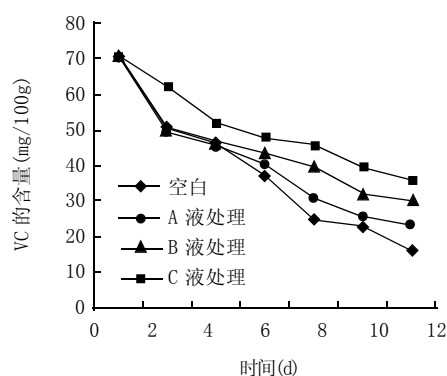


图4 草莓贮藏过程中VC变化

Fig.4 VC content changes during strawberry storage

2.2.5 总酸的变化

草莓中的酸度主要以有机酸为主,有机酸的种类也较多,有苹果酸、酒石酸、柠檬酸等,草莓在青果

时期,其酸度最大,随着成熟度增加,其酸度逐渐下期。而且草莓中的酸为其代谢活动中的呼吸物质,因此贮藏期间草莓中总酸的变化可反映出营养物质消耗的程度^[14]。

此外,由于草莓是非呼吸跃变型浆果,所以在计算总酸时以苹果酸为基准。在贮藏过程中,草莓的有机酸一部分用作呼吸底物被消耗,另一部分在体内被转化为糖分。因此,在贮藏过程中,草莓中的酸含量明显减少。如图5所示,随着贮藏时间的延长,各处理组草莓的总酸含量一直呈下降趋势。但经过不同处理液处理的草莓,其总酸含量明显高于对照组。其中以C液涂膜处理的总酸含量最高。

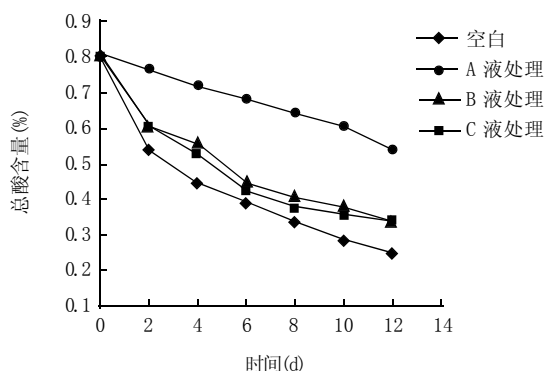


图5 草莓贮藏过程中可滴定酸的变化

Fig.5 Titratable acid content changes during strawberry storage

2.2.6 微生物的变化

草莓在贮藏过程中不断受到微生物的侵袭,微生物的繁殖速度很快,低温冷藏可以抑制微生物的生长。从表3和4可知,草莓中细菌和霉菌的菌落总数随着贮藏时间的延长而增大。而经过C液处理的草莓菌落总数增大没有对照组显著。事实证明,鹿蹄草提取液具有一

表3 草莓贮藏过程中菌落总数的变化
($\bar{X} \pm S$, $\times 10^4$ CFU/g)

Table 3 Bacteria quantity changes during strawberry storage
($\bar{X} \pm S$, $\times 10^4$ CFU/g)

处理	贮藏天数(d)			
	0	4	8	12
空白	1.95±0.02	4.50±0.03	6.87±0.04	7.9±0.04
A液处理	1.95±0.02	3.13±0.08	4.40±0.04	6.27±0.05
B液处理	1.95±0.02	3.10±0.02	3.83±0.17	5.0±0.03
C液处理	1.95±0.02	2.20±0.03	2.63±0.04	5.20±0.04

表4 草莓贮藏中霉菌总数的变化($\bar{X} \pm S$, $\times 10^4$ CFU/g)

Table 4 Mould quantity changes during strawberry storage
($\bar{X} \pm S$, $\times 10^4$ CFU/g)

处理	贮藏天数(d)			
	0	4	8	12
空白	1.08±0.04	2.13±0.02	3.27±0.03	5.55±0.08
A液处理	1.08±0.04	1.77±0.02	2.90±0.01	4.42±0.04
B液处理	1.08±0.04	1.70±0.02	3.40±0.02	4.42±0.04
C液处理	1.08±0.04	1.23±0.03	2.13±0.02	2.87±0.02

定抑菌能力,对草莓保鲜起到一定的作用。

3 结论

3.1 鹿蹄草提取液对食品中常见腐败菌根霉和青霉都有显著的抑制作用。其对根霉的最低抑制浓度为0.025g/ml,对青霉为0.5g/ml。

3.2 鹿蹄草浸提液加入到涂膜液中,能够明显地减少可溶性固形物、VC和总酸的损耗,并且能显著地延缓果实在贮藏期间品质的降低;涂膜液中鹿蹄草提取液的添加,能明显减少草莓的腐败,延长草莓的保质期。

参考文献:

- [1] 郑虎占. 中药现代研究与应用[M]. 北京: 学苑出版社, 1999: 5844-5849.
- [2] 王储炎, 艾启俊, 陈颢, 等. 鹿蹄草的化学成分、生理功能及其在工业中的应用[J]. 中国食品添加剂, 2006(5): 127-131.
- [3] 田玉先. 鹿蹄草的研究与应用[J]. 陕西中医函授, 1998(5): 1-2.
- [4] 艾启俊. 苹果贮藏中鹿蹄草浸提物抗菌研究初探[J]. 西北园艺, 2003(12): 9-10.
- [5] 李家庆. 果蔬保鲜手册[M]. 北京: 中国轻工业出版社, 2003.
- [6] 李学红, 马庆一, 彭雪萍, 等. 香辛料抑菌活性研究及其在草莓保鲜中的应用[J]. 食品研究与开发, 2003, 24(1): 96-99.
- [7] 薛泉宏, 程丽娟. 微生物学实验教程[M]. 西安: 世界图书出版公司, 2000: 91-98.
- [8] 关文强, 李淑芳. 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.
- [9] 康明丽, 牟德华, 李艳. 壳聚糖涂膜常温保鲜草莓的试验研究[J]. 北方园艺, 2005(6): 66-67.
- [10] 李喜宏, 陈丽. 实用果蔬保鲜技术[M]. 北京: 科学技术文献出版社, 2000.
- [11] 张英. 食品理化与微生物检测实验[M]. 北京: 中国轻工业出版社, 2004.
- [12] 隆锐柏. 果品贮藏加工实验实习指导[M]. 北京: 中国农业出版社, 1998.
- [13] 曾文兵, 丁泉水, 林煜. 新型可食性复合涂膜保鲜剂对延长草莓货架期的研究[J]. 食品工业科技, 2005(10): 165-166.
- [14] 姚晓敏, 孙向军, 高慧. 草莓涂膜保鲜的研究[J]. 上海交通大学学报: 农业科学版, 2002, 20(2): 156-160.