

竹荪抑菌特性研究

谭敬军 湖南农业大学食品科技学院 长沙 410128

摘 要 本文对竹荪提取液的抑菌特性进行了研究,测试了竹荪对食品中主要致病致腐细菌的最低抑菌浓度和最低杀菌浓度、作用 pH 值范围,试验了提取成分对热和压力的稳定性,并选择有代表性的食品进行实物试验。结果发现:竹荪对 8 种受试菌均有较低的最低抑菌浓度和最低杀菌浓度,分别为:蜡样芽孢杆菌 MIC5.0%、MBC5.0%,枯草芽孢杆菌 MIC5.0%、MBC10.0%,金黄色葡萄球菌 MIC2.5%、MBC2.5%,白色葡萄球菌 MIC1.25%、MBC1.25%,大肠杆菌 MIC5.0%、MBC5.0%,沙门氏菌 MIC10.0%、MBC10.0%,志贺氏菌 MIC2.5%、MBC5.0% 和苏云金杆菌 MIC2.5%、MBC2.5%。竹荪提取液发挥抑菌作用的 pH 值范围为 5.0~8.5,抑菌成分对高温高压稳定,且实物试验效果良好。

关键词 竹荪 抑菌特性

Abstract This paper studied on antimicrobial characteristics of DIF. In another word, the MIC, MBC and pH range were tested. The extracted constituents showed stability against high temperature and pressure. Animal experiment fed on typical foods were experienced. The results showed: the MIC and MBC of the extract of DIF affecting 8 species of bacteria were low. That was: *Bacillus cereus*: MIC5.0%, MBC5.0%; *Bacillus subtilis*: MIC5.0%, MBC10.0%; *Staphylococcus aureus*: MIC2.5%, MBC2.5%; *Staphylococcus cremoris*: MIC1.25%, MBC1.25%; *Escherichia coli*: MIC5.0%, MBC5.0%; *Salmonella typhi*: MIC10.0%, MBC10.0%; *Shigella dysenteriae*: MIC2.5%, MBC5.0% and *Bacillus thuringiensis*: MIC2.5%, MBC2.5%. The obvious antimicrobial effects on pH value ranges of DIF's extract were from 5.0 to 8.5. Meanwhile, the antimicrobial activity under high temperature and strong pressure was stable with obvious antimicrobial effect on animal tests.

Key words *Dictyophora indusia fischer* Antimicrobial Characteristics

竹荪 [*Dictyophora indusia* (Vent expers) Fisscher] 属担子菌亚门、腹菌纲、鬼笔目、鬼笔科、竹荪属,是一种营养丰富的野生食用真菌,国家科委“七五”星火计划中的重点推广项目。竹荪除食用和药用外,还具有特殊的防腐效果,这在烹饪行业中使用已久,且已在我们的实验中首次得到验证^[1],可望获得一种极有开发前途的食用防腐剂。

本研究即在此基础上,进一步研究竹荪提取液的抑菌特性,为竹荪防腐剂的开发奠定基础,为食品保藏开辟一条新途径。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 竹荪干子实体粉 长裙竹荪干品于捣碎机中粉碎。

1.1.2 供试菌种

枯草芽孢杆菌	<i>Bacillus subtilis</i>
蜡样芽孢杆菌	<i>Bacillus cereus</i>
金黄色葡萄球菌	<i>Staphylococcus aureus</i>

白色葡萄球菌 *Staphylococcus cremoris*

大肠杆菌 *Escherichia coli*

沙门氏菌 *Salmonella typhi*

志贺氏菌 *Shigella dysenteriae*

苏云金杆菌 *Bacillus thuringiensis*^[2]

菌种均由湖南农业大学食品科技学院微生物教研室提供。因对酵母菌、霉菌无明显抑制,故而以细菌为主^[1]。

1.1.3 培养基

(1) 葡萄糖、牛肉膏、蛋白胨培养基 调 pH7.2~

1.1.4 用于细菌培养

(2) 马铃薯、蔗糖培养基 (PDA 培养基) pH 自然,用于酵母菌、霉菌培养

1.2 实验方法

1.2.1 竹荪抑菌成分的提取

竹荪干子实体粉→加试剂浸泡→组织捣碎机打浆→加热浸提→冷却后离心→取上清液浓缩^[1]。

1.2.2 供试菌株的准备

(1) 无菌室中将供试菌种移接入相对应的试管斜

面培养基上,细菌置 35~37℃ 恒温培养箱内培养 18~24h;霉菌酵母菌培养 44~48h, 0~4℃ 冷藏备用。

(2) 分别用接种环挑取少许菌体于装有 9ml 无菌水的试管内,振荡均匀,制成菌悬浮液。霉菌、酵母菌用血球计数板计数,细菌用比浊法计数。调整菌悬浮液的浓度,使其含孢子或菌体为 $10^6 \sim 10^7$ 个/ml,即得供试菌株悬浮液。

1.2.3 最低抑菌浓度 MIC 的测定

配制上述液体培养基,每试管 9.0ml 分装,121℃ 湿热灭菌。

以提取液作为 100% 原液,无菌水两倍法稀释,得不同浓度提取液系列。

准确吸取 1.0ml 提取液系列,加入液体培养基中,得到提取液的不同浓度系列培养基。

每一系列培养基接种一种菌,每浓度三管重复,另取一系列不接种任何菌作为空白对照,置适宜温度培养,观察生长情况。

将提取液的接种系列和空白系列在 721 分光光度计上比色测定,二者 OD 值相同即培养基中没有菌生长的最低浓度即为提取液的最低抑菌浓度 MIC^[3]。

1.2.4 最低杀菌浓度 MBC 的测定

将上述 MIC 各菌药混合管继续培养 24h,观察生长情况。

将提取液的接种系列和空白系列在 721 分光光度计上比色测定,二者 OD 值相同即培养中没有菌生长的最低浓度为提取液的最低杀菌浓度 MBC,应注意的是:最低抑菌浓度与最低杀菌浓度二者之间可能一致,也可能不同^[3]。

1.2.5 提取液对热和压力的稳定性

将提取液分别经不同温度、压力处理不同时间后,以金黄色葡萄球菌为代表,按 1.2.3 方法测定 MIC 值,以未处理过的提取液作对照^[4]。

1.2.6 作用 pH 值范围测定

配制细菌液体培养基,每试管 9.0ml,用 1mol/L 的 NaOH 或 HCl 调成 pH4.0~9.0 的 pH 系列培养基,121℃ 湿热灭菌。

双倍法无菌水稀释提取液后,取 0.5ml 加入到 pH 系列培养基中,得到试验系列,其中提取液浓度为 MIC。

另取一份 pH 系列,不加提取液作为对照系列。

每管接入 0.1ml 菌悬液,35~37℃ 培养 18~24h,取出后,在 721 分光光度计上测其 OD 值^[2]。

1.2.7 食物防腐试验

将猪肉(肥瘦各半)、豆腐、茄子切成小块,分成若干份,煮熟。分别加入竹荪湿子实体粉、提取液、冷开水,置 35~37℃ 下保温 48h,肉眼观察食品变化^[5,6]。

2 结果与分析

2.1 最低抑菌浓度和最低杀菌浓度

由表 1 可见,除沙门氏菌的 MIC 和 MBC 以及枯草芽孢杆菌的 MBC 稍高以外,竹荪提取液对各受试细菌均有较低的有效作用浓度。

从 MIC 和 MBC 可见,竹荪提取液对不同的细菌有不同的抑制能力,最低抑菌浓度和最低杀菌浓度的结果与以前试验中^[1]所得到的各细菌被抑制程度大小顺序相一致。

表 1 最低抑菌浓度 MIC 和最低杀菌浓度 MBC

供试菌	MIC (%)	MBC (%)
枯草芽孢杆菌	5.00	10.00
蜡状芽孢杆菌	5.00	5.00
金黄色葡萄球菌	2.50	2.50
白色葡萄球菌	1.25	1.25
大肠杆菌	5.00	5.00
沙门氏菌	10.00	10.00
志贺氏菌	2.50	5.00
苏云金杆菌	2.50	2.50

2.2 提取液对热和压力的稳定性

从表 2 的试验数据可以看出,经不同温度、压力处理提取液后所得的 MIC 没有变化,提取液中抑菌活性物质对高温、高压稳定,故而由此获得的防腐剂性质稳定,可在杀菌食品中使用,使用范围宽,条件简单。从现有文献看,多数认为植物类最有效的抗菌成分主要存于风味物质中^[6]。竹荪中香气的主要成分是雪松烯和雪松醇^[7],竹荪的柏木油气味由它们组成,但这两种物质并无抑菌能力,不是有效成分,这样抑菌物使用时不大会影响到食品风味。从竹荪的特性来看,其有效成分的耐热性能良好,甚至提取时取上清液浓缩这一步骤可直接置电炉上加热,可耐长时间高温,因而有效成分的挥发性不强,稳定性好。但提取温度对提取效果有影响,有可能是影响溶解度。而其中的有效成分可能是一种物质,也可能是几种物质的协同效应。

2.3 作用 pH 值范围测定

从表 3 的数据可以看出,试验系列的细菌生长浓度明显低于对照系列,尤以 pH5.0~8.5 更为明显,而 pH 值更低或更高可视为因酸碱度变化的抑菌作用。可见提取液可在中性至碱性条件下发挥作用。这一点

表4 竹荪及提取液食物防腐试验结果

食物	处理	质地	色泽	气味	长菌	悬液透明度
茄子	提取液	无变化	微黑	无异味	未长霉	青色透明
	湿子实体粉	无变化	无变化	微馊味	少量霉菌	青色较透明
	对照	腐烂变质	黄色	重馊味	长满菌	黄色浑浊
豆腐	提取液	无变化	微黑	微馊味	未长霉	乳白清亮
	湿子实体粉	无变化	无变化	微馊味	厚菌膜	乳白较清亮
	对照	腐烂变质	黄色	恶臭味	长满菌	黄色浑浊
猪肉	提取液	无变化	微黑	无异味	未长霉	微黑较清
	湿子实体粉	无变化	无变化	微馊味	厚菌膜	微黑较清
	对照	表面变粘滑	黄黑色	重馊味	长满菌	黄黑浑浊

表2 提取液对热和压力的稳定性(金黄色葡萄球菌)

处理条件	75℃ 30min	85℃ 15min	95℃ 5min	121℃ (0.098MPa)	对照
MIC%	2.5	2.5	2.5	2.5	2.5

意义重大。现有的防腐剂多数在中至酸性条件下使用,如苯甲酸钠就需要配合调酸使用,尼泊金酯类的水溶性不好^[8]。新近在研究的天然抗菌物料又少有作用 pH 值报道,竹荪若能突破调酸的限制,将会因使用方便而广泛。

表3 作用 pH 范围测定(OD 值)

pH 值	试验系列	对照系列	pH 值	试验系列	对照系列
4.0	0.03	0.03	7.0	0.20	1.12
4.5	0.03	0.08	7.5	0.19	1.21
5.0	0.08	0.28	8.0	0.09	1.75
5.5	0.12	0.64	8.5	0.06	0.30
6.0	0.16	0.85	9.0	0.03	0.08
6.5	0.18	1.05			

2.4 食物防腐试验

试验效果见表4中,对照系列明显变坏,加入竹荪湿子实体粉的系列有开始腐坏现象,加入提取液的则未坏。可见竹荪中确有抑菌成分存在,提取后效果更佳。

3 结论

3.1 竹荪提取液对8种受试致病腐败细菌均有较强的抑制作用,MIC和MBC均较低。

3.2 竹荪提取液可在中性至碱性条件下发挥抑菌作用(pH5.0~8.5)。

3.3 竹荪提取液中抑菌成分对高温、高压稳定,实际应用中可用于杀菌食品,具有广泛的使用范围,应用前景看好关于有效成分及抑菌机理有待进一步探讨。

参考文献

- 谭敬军,胡亚平,吴晗晗.竹荪抑菌作用研究.食品科学,2000,21(10):54~56.
- 杜秉海等.微生物学实验.北京农业大学出版社,1994.
- 马慕英.大蒜抗真菌作用研究.食品科学,1993(1):7~11.
- 纪丽莲.荷叶中抑菌成分的提取及其抑菌活性的研究.食品科学,1999,20(8):64~66.
- 邓芳席,黄祖法.林离叶抑菌作用研究.食品科学,1999,20(8):64~66.
- 郭爱莲,吴重华.几种香辛料防腐作用的初步研究.食品科学,1995,16(5):7~10.
- 车宗令,李青.竹荪干品中香气成份的测定.中国食用菌,1997,4(37).
- 天津轻工业学院食品工业教研室.食品添加剂.北京:轻工业出版社,1978.

显齿蛇葡萄部分营养及功能成分研究

张友胜 杨伟丽 熊皓平 湖南农业大学食品科技学院 长沙 410128

摘 要 对显齿蛇葡萄(*Ampelopsis grossedentata*)幼嫩茎叶中的粗蛋白、氨基酸组分、无机营养元素、水提取物、总黄酮以及其中的二氢杨梅素含量作了测定。结果表明:显齿蛇葡萄幼嫩茎叶中粗蛋白、氨基酸及无机营养元素含量丰富;水