

微生物 β -D-葡萄糖苷酶对玫瑰香 (Muscat) 葡萄结合态香气物质的影响

郭慧女, 康文怀, 徐岩*, 喻晓蔚

(江南大学生物工程学院酿造科学与酶技术中心, 教育部工业生物技术重点实验室, 江苏无锡 214122)

摘要 β -D-葡萄糖苷酶是风味修饰中的关键酶, 对葡萄酒香气的提升具有十分重要的作用。利用筛选的产 β -D-葡萄糖苷酶的黑曲霉、海藻曲霉、鲁氏毛霉, 结合固相微萃取、气质联用等技术, 对 β -D-葡萄糖苷酶促进玫瑰香葡萄结合态香气的释放进行了研究。研究表明, 不同微生物来源的 β -D-葡萄糖苷酶对糖苷类香气物质的水解能力不同, 产物也存在显著差异, 黑曲霉作用产生的香气物质含量远高于其他两种菌株, 其中萜烯类香气物质最为丰富, 占总香气含量的 85.91%。因此, 来源于黑曲霉的 β -D-葡萄糖苷酶对糖苷类风味物质的作用最显著, 可以改善葡萄酒的风味。

关键词 β -D-葡萄糖苷酶, 玫瑰香葡萄, 结合态香气

Effects of β -D-glucosidases from microorganism on the bound aroma compounds in Muscat grape

GUO Hui-nv, KANG Wen-huai, XU Yan*, YU Xiao-wei

(Key Laboratory of Industrial Biotechnology, Ministry of Education, Center of Brewing Science and Enzyme Technology, School of Biotechnology, Jiangnan University, Wuxi 214122, China)

Abstract β -D-glucosidases is the key enzyme in improvement mechanism of flavor, and it is important to improve the wine aroma. The purpose of this study was to verify the effects of β -D-glucosidases from different strains (*Aspergillus niger*, *Aspergillus phoenicis*, *Mucor rouxianus*) on the bound aroma in Muscat grape by gas chromatography-tradem mass spectrometry (GC-MS). The results showed that there were significantly differences in hydrolysing glucidically bound compounds and production among the different strains. β -D-glucosidases from *Aspergillus niger* had much more aroma compounds than others. Terpenoids were the most abundant, accounting for 85.91% of the total concentration. Therefore, β -D-glucosidases from *Aspergillus niger* may make the most significant improvement to hydrolyse glycoconjugated aroma compounds, and it can improve the flavor of wine.

Key words β -D-glucosidases, Muscat, bound aroma

中图分类号: TS262.6

文献标识码: A

文章编号: 1002-0306(2011)01-0081-05

葡萄酒的香气主要来自于葡萄的挥发性化合物^[1]。香气化合物的重要组成部分是来自葡萄浆果的结合态糖苷类物质, 此类结合态香气成分, 通过水解可释放出香气化合物或能产生香气化合物前体物质^[2]。葡萄果实中, 除可被感知的游离态香气外, 还有以葡萄糖苷键形式存在的结合态香气, 如单萜烯基- β -D-葡萄糖苷, 这些风味前体物的含量相对于挥发性的萜烯醇要丰富得多, 这些物质本身无香味、不挥发^[3]。糖苷类化合物通过酸解或酶解可以释放

挥发态化合物^[4], 在葡萄酒酿造条件下, 酸解发生缓慢, 对温度、pH 等有严格要求, 且会影响分解出的物质的性质及其香气, 不适于应用在葡萄酒酿造工业中^[5]。而酶解则是一种更接近于自然、温和的方法, 极具商业化应用前景, 因此一般采用酶解的方法来分解风味前体物^[6]。 β -D-葡萄糖苷酶是芳香成分水解作用最明显的关键酶^[7], 该酶与萜烯类前体有密切关系, 结合态香气物质在糖苷酶的作用下可释放配糖基, 产生游离态芳香成分, 即产生大量浓郁的具有天然特征香气的物质^[8]。Barbagallo^[11]等人对结合态香气水解后产生的萜烯类化合物对果汁增香的作用做了详细阐述。Pogorzelski^[8]对酶水解果汁中糖苷键前体物质的重要性及其在葡萄酒中的应用前景做了阐述。Belancic^[9]等人对来源于酵母的 β -D-葡萄

收稿日期: 2010-01-05 * 通讯联系人

作者简介: 郭慧女(1983-), 女, 硕士研究生, 主要从事工业微生物育种及其在酿酒科学、酶工程领域的研究。

基金项目: 教育部长江学者和创新团队发展计划(NCET04-0498)。

糖苷酶作用在麝香葡萄中萜烯类化合物香气物质影响进行了研究。Cabaroğlu^[10]等人对来源于黑曲霉的 β -D-葡萄糖苷酶作用于酿酒条件下水解糖苷类化合物的各种条件进行了报道研究。Arevalo-Villena^[11]等人对 β -D-葡萄糖苷酶对白葡萄酒中的增香作用做了详细阐述。国内的研究尚停留在游离态,而结合态香气比游离态香气成分丰富得多^[12],但 β -D-葡萄糖苷酶作用于葡萄结合态香气的研究国内还未见报道。来源于自然界的 β -D-葡萄糖苷酶存在着显著的生物多样性,而从各类微生物中分离得到的 β -D-葡萄糖苷酶之间也呈现多样性^[13],且不受季节气候的影响,生产周期短,价格低廉。本实验结合GC/MS对不同来源的 β -D-葡萄糖苷酶作用结合态香气物质后进行定性定量分析,为今后进一步研究 β -D-葡萄糖苷酶对结合态香气物质的影响和香气形成机理提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

葡萄 采自国内山东地区自建葡萄园,树龄五年以上,2009年8月于葡萄成熟期采收,其葡萄品种为浓香型玫瑰香葡萄(*Muscat*)。随机采摘2kg葡萄样品于-20℃下保存备用;分离筛选菌株的葡萄和土壤样品 采自山东烟台张裕葡萄酒股份有限公司的葡萄基地,依照Flachner B的方法^[14],以对硝基苯- β -D-葡萄糖苷(*p*-nitrophenyl- β -D-glucopyranoside, *p*-NPG)为底物进行初筛,并利用摇瓶发酵,通过测定酶活进行复筛,共筛选出了3株产 β -D-葡萄糖苷酶活力较高的菌株,经18S鉴定,分别为黑曲霉(*Aspergillus niger*)、海藻曲霉(*Aspergillus phoenicis*)、鲁氏毛霉(*Mucor rouxianus*);*p*-NPG、2-辛醇(纯度>99%) sigma公司;甲醇、戊烷 色谱纯, TEDIA试剂公司。

紫外分光光度计 尤尼科上海仪器有限公司;固相萃取小柱(SPE) Waters公司;气相色谱(Gas chromatograph, GC) 6890N与质谱5975 均购于Agilent公司;Beckman AVANTIJ-E离心机。

1.2 实验方法

1.2.1 酶活的测定 酶活的测定采用Belancic A的方法^[9],即以*p*-NPG为底物,在 β -D-葡萄糖苷酶作用下水解成对硝基苯酚和葡萄糖,利用对硝基苯酚在碱性条件下显色的原理,通过比色法来测定 β -D-葡萄糖苷酶的酶活。1mL酶液1min水解产生1 μ mol的对硝基苯酚的酶活力,定义为一个酶活力单位。

1.2.2 葡萄结合态香气的萃取 称取适量玫瑰香葡萄,除梗、破碎、离心,获取上清液,在-20℃下保存备用。

结合态香气成分(糖苷类物质)的萃取采用Mateo J J^[15]的方法,即取适量葡萄汁,利用C₁₈萃取小柱吸附糖苷类物质,再用甲醇进行洗脱,并冷冻干燥。获得的结合态香气成分用缓冲溶液(pH=5.0的柠檬酸-磷酸氢二钠缓冲液)复溶至样品原体积。

1.2.3 酶促水解 粗酶液的制备:以麸皮等为摇瓶

发酵培养基^[16]诱导产酶,8d后将发酵液离心,取上清液备用。

首先以未加酶的样品做对照,其次将黑曲霉、海藻曲霉、鲁氏毛霉产 β -D-葡萄糖苷酶的粗酶液以等酶活力单位的量(1U/mL)添加至经处理的含有结合态香气成分的8mL样品中,放入15mL顶空瓶中,40℃反应72h,72h后取出加2.4g NaCl,及5 μ L内标(2-辛醇,浓度为126.5mg/L),依次编号为CK(对照)、AN-L1(黑曲霉)、AP-L2(海藻曲霉)、A-L3(鲁氏毛霉),每个样品重复二次。

1.2.4 HS-SPME条件 顶空固相微萃取(Head-Space Solid Phase Extraction)的萃取条件为:45℃预热2min,萃取吸附45min,GC解析5min(250℃),用于GC-MS分析。

1.2.5 GC-MS分析

1.2.5.1 GC条件 样品经DB-WAX毛细管柱(60m \times 0.25mm \times 0.25 μ m, J&W Scientific)分离;进样口温度250℃,不分流;载气为氦气,流速为2mL/min;柱温升程序为:初始温度50℃,保持2min,以4℃/min升至230℃,保持15min。分离后的样品通过Agilent MSD 5975检测。

1.2.5.2 MS条件 EI电离源,电子能量70eV;离子源温度230℃;扫描范围30.00~500.00amu。

1.2.6 定性和半定量分析 物质定性通过与NIST05a.L Database(Agilent Technologies Inc.)进行检索比对,并通过计算相应的保留指数(RI)进行确认。

待测物质含量采用半定量分析方法进行,内标为2-辛醇(2-octanol)。其计算公式为 $X_i = (A_i/A_s) \times C_s$,其中 X_i 为待测物含量, C_s 为内标物的浓度, A_s 为内标物峰面积, A_i 为待测物峰面积。

2 结果与分析

2.1 不同微生物来源 β -D-葡萄糖苷酶酶活的比较

从大量的土壤及葡萄样品中筛选得到三株能产 β -D-葡萄糖苷酶且酶活较高的菌株。为研究不同菌株所产酶活的情况,选用麸皮诱导培养基,经摇瓶发酵培养8d后,发酵液经离心获得上清液以测定其酶活,结果见表1。

表1 不同菌株产 β -D-葡萄糖苷酶酶活的比较

	黑曲霉	海藻曲霉	鲁氏毛霉
相对酶活力(%)	100	54.6	64.7

由表1可知,不同菌株粗酶液中的酶活存在显著差异,酶活由高到低依次为黑曲霉、鲁氏毛霉、海藻曲霉。黑曲霉所产的酶活较高,且黑曲霉是公认的安全菌株。许多作者对黑曲霉产 β -D-葡萄糖苷酶的情况进行了研究,Barbagallo^[17]对黑曲霉和酵母产 β -D-葡萄糖苷酶的筛选、性质及其在酿酒工艺的应用进行了比较,研究结果表明,黑曲霉在适合酿酒的pH条件下,虽然受到糖的抑制作用,但仍表现出相对较高的酶活力。但该研究并未对 β -D-葡萄糖苷酶水解后香气物质的变化情况进行详细研究。

为进一步研究 β -D-葡萄糖苷酶对葡萄酒香气的影响,以等酶活力单位的量(1U/mL)分别将黑曲霉、鲁氏毛霉、海藻曲霉的酶液添加到含有结合态香

表2 四种样品中被检测并鉴定出的萜烯类化合物及其含量

序号	保留时间 (min)	物质名称	平均含量($\mu\text{g/L}$)				风味特征
			CK	AN-L1	AP-L2	A-L3	
1	16.68	rose oxide 玫瑰醚	/	6.98	2.08	2.76	有清甜的花香香气
2	19.62	cis-linaloloxide 顺式-氧化里哪醇	/	7.64	5.53	6.90	百合花香
3	20.40	nerol oxide 橙花醚	/	10.97	3.82	2.40	有橙花香味
4	22.69	linalool 里哪醇	/	20.76	8.00	8.13	浓青带甜的木青气息, 似玫瑰木
5	26.65	β -citral β -柠檬醛	/	2.83	1.16	6.03	带柠檬香气
6	27.18	cis-geraniol 顺-橙花醇	/	15.6	6.40	7.08	玫瑰和橙花的香气
7	28.06	α -citral α -柠檬醛	/	6.62	/	17.21	带柠檬香气
8	29.01	β -citronellol β -香茅醇	/	53.20	19.58	20.09	具有玫瑰甜香及香叶香
9	30.00	cis-geraniol 顺-香叶醇	/	324.26	55.40	11.34	有玫瑰的香气及桃子香
10	31.21	trans-geraniol 反-香叶醇	1.28	334.39	39.26	1.02	有玫瑰的香气及桃子香
11	36.25	nerolidol 橙花叔醇	/	/	126.03	/	呈玫瑰及苹果香气
总和			1.28	783.26	267.26	82.96	

气物质的溶液中,以研究不同微生物来源的 β -D-葡萄糖苷酶对玫瑰香葡萄结合态香气的影响。

2.2 β -D-葡萄糖苷酶对萜类物质的影响

2.2.1 检测并鉴定出的萜烯类化合物 葡萄中萜烯类物质主要包括单萜烯、倍半萜烯及二萜烯类化合物,在葡萄或葡萄酒中主要以结合态的形式存在。采用HS-SPME和GC-MS技术分析了 β -D-葡萄糖苷酶对结合态香气的影响,研究结果表明,经 β -D-葡萄糖苷酶酶促水解后被检测并鉴定出的萜烯类香气有玫瑰醚、顺式-氧化里那醇、橙花醚、里哪醇、 β -柠檬醛等11种(见表2),它们具有愉悦的风味特征,构成了玫瑰香葡萄品种的特征香气,如经来源于黑曲霉的 β -D-葡萄糖苷酶作用后,产生大量的顺、反-香叶醇,具有玫瑰香及桃子香。

CK(未添加酶)样品仅发现一种萜烯类香气物质,但其含量非常低,仅为 $1.28\mu\text{g/L}$,这可能是由于自然水解作用产生的。添加 β -D-葡萄糖苷酶后,各样品中萜烯类含量明显增加。如AN-L1样品(黑曲霉)中的含量为 $783.26\mu\text{g/L}$,是未加酶样品的612倍,这说明经酶促水解作用后,释放出了大量萜烯类物质。同时,AP-L2、A-L3样品中的萜烯类物质含量远低于AN-L1,其含量分别是AN-L1(黑曲霉)的34.12%和10.59%,这说明添加的不同 β -D-葡萄糖苷酶的酶活尽管相同,但酶促水解产生的萜类物质含量差异显著。

Gueguen^[12]研究了用固定化的 β -D-葡萄糖苷酶水解葡萄酒和果汁中的结合态香气物质,结果表明,经 β -D-葡萄糖苷酶水解后,产生了香叶醇、橙花醇、里哪醇等挥发性的萜烯类化合物,其结果与本论文的研究结果相近,表明这几种化合物在玫瑰香葡萄结合态香气中占有重要地位。

此外,不同 β -D-葡萄糖苷酶作用后,其释放出的萜类物质种类及含量也存在显著差异。AN-L1(黑曲霉)中萜类物质含量较高的依次是反-香叶醇、顺-香叶醇、 β -香茅醇,其中香叶醇占其总香气成分的84.09%;AP-L2(海藻曲霉)中含量较高的依次是橙花叔醇、顺-香叶醇、反-香叶醇,其中橙花叔醇占其总香气成分的47.15%;A-L3(鲁氏毛霉)含量较

高的依次是 β -香茅醇、 α -柠檬醛、顺-香叶醇,其中 β -香茅醇、 α -柠檬醛分别占其总香气成分的24.22%和20.74%。表明不同微生物中分离得到的 β -D-葡萄糖苷酶之间呈现多样性,其作用后产生的特征萜烯类香气是不同的,这为实现葡萄酒香气的定向修饰特征提供了依据。

2.2.2 挥发性萜烯物质的GC-MS总离子流色谱图

萜烯类物质的保留时间主要集中在16~36min,如图1所示。从图中可以明显看出,各个样品中的香气物质得到了较好地分离。各物质成分通过NIST05a质谱库检索,并比较文献中的保留指数(RI),共鉴定得到的萜烯类物质11种(详见图1),以及其他一些醇类、酯类、酸类、酮类、芳香族等化合物。

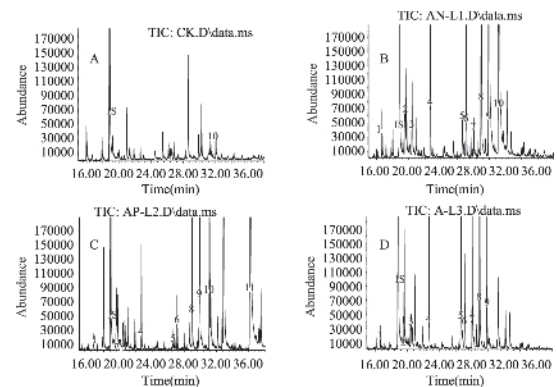


图1 四种样品挥发性萜烯物质的GC-MS总离子流色谱图

注:1# 玫瑰醚 2# 顺式-氧化里那醇 3# 橙花醚 4# 里哪醇;
5# β -柠檬醛 6# 顺-橙花醇 7# α -柠檬醛;
8# β -香茅醇 9# 顺-香叶醇 10# 反-香叶醇;
11# 橙花叔醇 ;S 2-辛醇(内标)。

2.3 β -D-葡萄糖苷酶对其他香气物质的影响

在葡萄或葡萄酒中,除萜类物质外,许多醇类、酯类等物质也以糖苷的形式存在。因此,利用 β -D-葡萄糖苷酶也可促进其水解,产生具有香味的物质。利用GC-MS技术检测到的化合物有醇类、酯类、酸类、酮类、芳香族化合物等。醇类物质是赋予葡萄酒香气的重要挥发性物质,酯类物质大多具有水果香气,其他化合物虽然相对含量较少,但考虑到这些化

合物的阈值,也可能是葡萄酒的重要风味物质。

各物质含量见图2所示。经不同的 β -D-葡萄糖苷酶水解后,样品香气特征存在显著差异。其中加入AP-L2(海藻曲霉)产 β -D-葡萄糖苷酶的样品产醇类物质较丰富,含量达579.32 μ g/L,是加入AN-L1(黑曲霉)产 β -D-葡萄糖苷酶的样品产醇类物质的10倍,是加入A-L3(鲁氏毛霉)产 β -D-葡萄糖苷酶的样品的19倍。另外,加入AP-L2(海藻曲霉)产 β -D-葡萄糖苷酶的样品产酯类物质也很丰富,含量达257.74 μ g/L,分别是AN-L1(黑曲霉)和A-L3(鲁氏毛霉)的16倍和90倍。

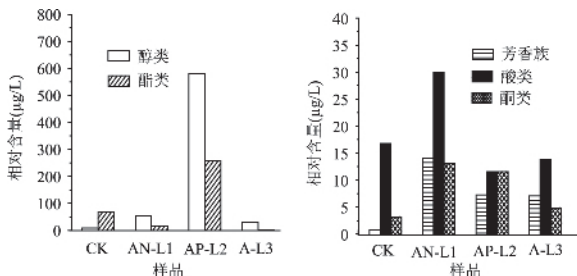


图2 不同来源 β -D-葡萄糖苷酶对香气物质的影响

上述结果表明,加入AP-L2(海藻曲霉)产 β -D-葡萄糖苷酶的样品中醇类、酯类的香气物质含量最为丰富。另外,检测到芳香族化合物、酸类、酮类等微量成分,其中加入AN-L1(黑曲霉)产 β -D-葡萄糖苷酶的样品中芳香族化合物、酸类、酮类物质最多,分别为14.06、29.96、13.12 μ g/L。综上所述,结合态的香气物质含量丰富,种类多样。

3 讨论与结论

β -D-葡萄糖苷酶来源非常广泛,其酶的特性也差异显著。许多植物材料中如杏仁、葡萄、木瓜等均含有 β -D-葡萄糖苷酶,但在葡萄酒环境中,基本不表现活性^[18-19]。霉菌、酵母菌、乳酸菌等也是 β -D-葡萄糖苷酶的重要来源^[19-20]。本论文首先通过酶活力的高低,自行筛选出了三株产 β -D-葡萄糖苷酶的菌株,并将其应用于玫瑰香葡萄的结合态,结合固相微萃取、气质联用等技术,经 β -D-葡萄糖苷酶作用发生水解断裂产生典型的萜烯、醇类、脂类等化合物,释放出令人愉快的香气物质。说明 β -D-葡萄糖苷酶对于增加葡萄结合态香气物质具有显著的作用。进一步的研究结果表明,葡萄中糖苷类风味物质经酶促水解作用后,其产生的萜烯类化合物种类和含量上差异显著,且香气特征存在差异。此类萜烯类化合物可以赋予葡萄酒特有的果香,而该差异性为实现葡萄酒香气的定向修饰特征提供了依据。

综上所述,来源于黑曲霉、海藻曲霉、鲁氏毛霉的 β -D-葡萄糖苷酶,其酶活力及其作用效果是不同的。研究结果表明,经三种酶作用后,其萜烯类物质及醇类、酯类等其他物质均有显著的增加,尤其以来源于黑曲霉的酶作用效果最为明显。黑曲霉作为一种安全菌株,其所产的 β -D-葡萄糖苷酶在葡萄酒环境中具有较好的稳定性,对修饰葡萄酒风味具有潜在的应用前景。

参考文献

- [1] Maicas S, Mateo J J. Hydrolysis of terpenyl glycosides in grape juice and other fruit juices: a review [J]. Applied Microbiology and Biotechnology 2005, 67(3): 322-335.
- [2] Mateo J J, Jimenez M. Monoterpenes in grape juice and wines [J]. Journal of Chromatography A 2000, 881(1-2): 557-567.
- [3] Cabrita M J, Freitas A M C, Laureano O, et al. Glycosidic aroma compounds of some Portuguese grape cultivars [J]. Journal of the Science of Food and Agriculture 2006, 86(6): 922-931.
- [4] Ugliano M, Bartowsky E J, McCarthy J, et al. Hydrolysis and transformation of grape glycosidically bound volatile compounds during fermentation with three Saccharomyces yeast strains [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2006, 54(17): 6322-6331.
- [5] Van Rensburg P, Stidwell T, Lambrechts M G, et al. Development and assessment of a recombinant Saccharomyces cerevisiae wine yeast producing two aroma-enhancing beta-glucosidases encoded by the Saccharomycopsis fibuligera BGL1 and BGL2 genes [J]. Annals of Microbiology, 2005, 55(1): 33-42.
- [6] Rusjan D, Strlic M, Kosmerl T, et al. The response of Monoterpenes to Different Enzyme Preparations in Gewurztraminer Wines [J]. South African Journal of Enology and Viticulture, 2009, 30(1): 56-64.
- [7] Villena M A, Iranzo J F U, Perez A I B. beta-Glucosidase activity in wine yeasts: Application in enology [J]. Enzyme and Microbial Technology 2007, 40(3): 420-425.
- [8] Pogorzelski E, Wilkowska A. Flavour enhancement through the enzymatic hydrolysis of glycosidic aroma precursors in juices and wine beverages: a review [J]. Flavour and Fragrance Journal, 2007, 22(4): 251-254.
- [9] Belancic A, Gunata Z, Vallier M J, et al. beta-glucosidase from the grape native yeast Debaryomyces hansenii: Purification, characterization and its effect on monoterpene content of a Muscat grape juice [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry 2003, 51(5): 1453-1459.
- [10] Cabaroglu T, Selli S, Canbas A, et al. Wine flavor enhancement through the use of exogenous fungal glycosidases [J]. Enzyme and Microbial Technology 2003, 33(5): 581-587.
- [11] Arevalo-Villena M, Ubeda Iranzo J, Briones Perez A. Enhancement of aroma in white wines using a beta-glucosidase preparation from Debaryomyces pseudopolymorphus (A-77) [J]. Food Biotechnology 2007, 21(1-2): 181-194.
- [12] Eugenia Rodriguez M, Lopes C, Valles S, et al. Selection and preliminary characterization of beta-glycosidases producer Patagonian wild yeasts [J]. Enzyme and Microbial Technology, 2007, 41(6-7).
- [13] Flachner B, Reczey K. beta-glucosidase production and characterization of some Aspergillus strains [J]. Chemical and Biochemical Engineering Quarterly 2004, 18(3): 303-307.
- [14] Mateo J J, Gentilini N, Huerta T, et al. Fractionation of

(下转第88页)

表5 酸碱处理对山毛豆提取物抑菌活性的影响

抑菌圈直径 (mm)	pH													
	3		4		5		6		7		8		9	
	提取液	CK	提取液	CK	提取液	CK	提取液	CK	提取液	CK	提取液	CK	提取液	CK
大肠杆菌	17.33	13.22	15.7	-	15.71	-	13.35	-	12.36	-	11.93	-	11.02	-
金黄色葡萄球菌	23.69	16.18	21.51	-	15.39	-	16.10	-	15.72	-	15.67	-	14.65	-
沙门氏菌	20.50	17.11	19.22	11.51	16.07	-	15.38	-	15.69	-	14.34	-	12.48	-

较强的抑菌活性,这可能是由于提取物中的某些活性物质与酸性缓冲液有协同增效抑菌作用。在六种不同的 pH 下,山毛豆提取液都显示了较佳的抑菌能力,说明山毛豆 30% 乙醇提取液在实验范围内具有较好的酸碱稳定性,且在酸性条件下抑菌效力更高。

3 结论

山毛豆的水提物、70% 醇提物、30% 醇提物对大肠杆菌、金黄色葡萄球菌、沙门氏菌有一定的抑菌效果,对黑曲霉、荔枝炭疽、尖孢镰刀菌几乎没有抑制作用,相同浓度的三种山毛豆提取液对供试细菌的抑菌效力相差不大。

当体积浓度介于 100% 与 6.25% 之间时,山毛豆的水提液与 30% 醇提液的浓度越大,对三种供试细菌的抑制作用越强。

山毛豆提取物在高浓度下有较好的抑菌效果。山毛豆水提物对大肠杆菌、金黄色葡萄球菌、沙门氏菌的 MIC 均为 50%; 山毛豆 30% 乙醇提取物对大肠杆菌、金黄色葡萄球菌的 MIC 为 25%, 对沙门氏菌的 MIC 为 50%。在供试菌的生长 pH 范围内,山毛豆提取物都表现良好的抑菌效力。

山毛豆 30% 乙醇提取液的抑菌活性成分呈现较好的热稳定性和酸碱稳定性,且在酸性条件下抑菌效果有所提高。

理想的抗菌剂应即效、广谱、长效、稳定及安全,从植物中寻找生物活性物质一直是我国医药领域研究的重要内容之一。目前,从抑菌植物中分离的抑菌物质主要类型有:萜类化合物、芳香族化合物、脂肪族化合物和含氮化合物,而实际上具有抑菌活性的植物有效成分结构类型较多,如生物碱、萜类、黄酮、酚、醇、酯等,几乎涉及各类植物成分。在不同的植物中,含有不同或相同的抗菌化合物,本实验中使用的山毛豆提取物尚属粗提物,仅能证实其高浓度提取液有一定的抑菌效力,今后有必要对其抑菌活性物质进行分离纯化和结构分析,其抑菌机理、生物活性有待进行深入研究。

(上接第 84 页)

glycoside precursors of aroma in grapes and wine[J].Chromatogr A,1997,778(1-2):219-224.

[15] Hu J,Zhu X, Lee K, et al. Optimization of ginsenosides hydrolyzing beta-glucosidase production from *Aspergillus niger* using response surface methodology[J]. Biological & Pharmaceutical Bulletin 2008, 31(10):1870-1874.

[16] Barbagallo R N, Spagna G, Palmeri R, et al. Selection, characterization and comparison of beta-glucosidase from mould and yeasts employable for enological applications[J]. Enzyme and Microbial Technology 2004, 35(1):58-66.

参考文献

- [1] Manson A. The action of certain assamese plant as larvicides [J]. Journal of the Malaria Institute of India, 1939, 2(1):85-93.
- [2] C K K Gachene, C S Wortmann. Green Manure/Cover Crop Technology in Eastern and Central Uganda: Development and Dissemination[M]. Springer Netherlands, 2004, 219-236.
- [3] F Kwesiga, F K Akinnifesi, P L Mafongoya, et al. Agroforestry research and development in southern Africa during the 1990s: Review and challenges ahead[J]. Agroforestry Systems, 2003, 59(3):173-186.
- [4] F S Arant. Relative effectiveness of several rotenone-containing insecticides against various insect[J]. Journal of Economic Entomology, 1942, 35(6):873-878.
- [5] R Worsley, R LeG. The insecticidal properties of some east African plants[J]. Journal of Annual Applied Biology, 1934, 21(4):649-669.
- [6] S Rangaswami. Crystallin components of the root of *Tephrosia maxima*[J]. Current Science, 1954, 23:397.
- [7] 邓辅唐, 喻正富, 杨自全, 等. 山毛豆、木豆、猪屎豆在高速公路边坡生态恢复工程中的应用[J]. 中国水土保持, 2006(4):21-24.
- [8] 于新, 严卓勤, 李小华, 等. 非洲山毛豆种子物理特征、成分分析与油脂组成的研究[J]. 中山大学学报:自然科学版, 2009, 48(1):37-41.
- [9] 张业光, 徐汉虹, 黄继光, 等. 非洲山毛豆的主要杀虫活性成分研究[J]. 天然产物研究与开发, 2000, 12(6):6-11.
- [10] 索菲娅, 苟萍, 生光, 等. 维药孜然不同提取物抑菌作用的研究[J]. 食品科学, 2006, 27(4):99-102.
- [11] 陈庆敏. 凤尾兰提取物抑菌活性研究[D]. 山东:山东农业大学硕士论文, 2007:21-25.
- [12] 李云雁, 宋光森. 板栗壳提取物抑菌作用研究[J]. 林产化学与工业, 2004, 24(4):61-64.
- [13] 郑钧镛. 药物微生物及检验技术[M]. 北京:人民卫生出版社, 1985:351-352.
- [17] Williams P J, Sefton M A, Marinos V A. Hydrolytic flavor release from non-volatile precursors in fruits, wines and some other plant-derived foods[J]. Recent Developments in Flavor and Fragrance Chemistry, 1993:283-290.
- [18] Berger R G. Advances in biochemical engineering biotechnology[J]. //Biotechnology of aroma compounds[M]. Berlin:Springer, 1997.
- [19] Himmel M E. Isolation and characterization of two forms of beta-D-glucosidase from *Aspergillus niger*[J]. Appl Biochem Biotech, 1993, 39-40:213-225.