

甘薯渣中去氢表雄酮抑菌活性研究

孙俊良¹, 杜寒梅¹, 梁新红¹, 冉军舰^{1,*}, 常冠红², 喻新玲¹

(1.河南科技学院食品学院, 河南新乡 453003;

2.东北农业大学食品学院, 黑龙江哈尔滨 150030)

摘要:为研究甘薯渣去氢表雄酮(DHEA)的抑菌活性,本研究以马克斯克鲁维酵母、酿酒酵母、鼠李糖乳杆菌、大肠杆菌、枯草芽孢杆菌、炭疽杆菌、沙门氏菌、金黄色葡萄球菌为供试菌,采用生长曲线、最小抑菌浓度(MIC)、最低杀菌浓度(MBC)、生长曲线、扫描电镜研究DHEA的抑菌作用。结果表明,DHEA对供试菌的抑菌效果依次为:马克斯克鲁维酵母>大肠杆菌>金黄色葡萄球菌>炭疽杆菌>沙门氏菌>枯草芽孢杆菌>酿酒酵母>鼠李糖乳杆菌。最低抑制浓度(MIC)结果为:马克斯克鲁维酵母 5.67 mg/mL,大肠杆菌 9.82 mg/mL,金黄色葡萄球菌 13.52 mg/mL,炭疽杆菌 16.46 mg/mL,沙门氏菌 17.68 mg/mL,枯草芽孢杆菌 17.87 mg/mL,酿酒酵母 20.82 mg/mL,鼠李糖乳杆菌无明显抑制作用。DHEA使供试菌生长周期缩短,并降低了菌体浓度;扫描电镜显示DHEA处理后菌体形态改变,细胞壁破裂,细胞内容物有溶出。研究表明,甘薯渣中DHEA对大部分细菌有抑制作用。

关键词:甘薯渣,去氢表雄酮,抑菌活性

Antimicrobial Activity of Dehydroepiandrosterone in Sweet Potato Residue

SUN Jun-liang¹, DU Han-mei¹, LIANG Xin-hong¹, RAN Jun-jian^{1,*}, CHANG Guan-hong², YU Xin-ling¹

(1.School of Food Science, Henan Institute of Science and Technology, Xinxing 453003, China;

2.School of Food Science, Northeast Agricultural University, Haerbin 150030, China)

Abstract:To study the antibacterial activity of Dehydroepiandrosterone (DHEA) in sweet potato residue, the antibacterial activity of DHEA was tested with *Kluyveromyces marxianus*, *Saccharomyces cerevisiae*, *L.rhamnosus*, *E.coli*, *Bacillus subtilis*, *Bacillus anthracis*, *Salmonella*, *Staphylococcus aureus*. *Bacillus subtilis*, *Salmonella*, *Staphylococcus aureus* and *Bifidobacterium* as the indicator bacteria. The antimicrobial activity of dehydroepiandrosterone was studied by turbidimetry, minimal inhibitory concentration (MIC), minimum bactericidal concentration (MBC), growth curve and scanning electron microscopy. The results showed that the bacteriostatic effect of DHEA on the tested bacteria was as follows: *Kluyveromyces marxianus* > *Escherichia coli* > *Staphylococcus aureus* > *Bacillus anthracis* > *Salmonella* > *Bacillus subtilis* > *Saccharomyces cerevisiae* > *Lactobacillus rhamnosus*. The minimum bactericidal concentration were as follows: *Kluyveromyces marxianus* 5.67 mg/mL, *Escherichia coli* 9.82 mg/mL, *Staphylococcus aureus* 13.52 mg/mL, *Bacillus anthracis* 16.46 mg/mL, *Salmonella* 17.68 mg/mL, *Bacillus subtilis* 17.87 mg/mL, *Saccharomyces cerevisiae* 20.82 mg/mL, *Lactobacillus rhamnosus* had no significant inhibitory effect. DHEA shortened the growth cycle of the test bacteria and reduced the cell concentration. Scanning electron microscopy showed that the morphology of the cells was changed after DHEA treatment, the cell wall ruptured and the cell contents were partially eluted. The research showed that DHEA in sweet potato residue had inhibitory effects on most bacteria.

Key words: sweet potato residue; dehydroepiandrosterone (DHEA); antimicrobial activity

中图分类号: TS215

文献标识码: A

文章编号: 1002-0306(2018)22-0006-07

doi:10.13386/j.issn1002-0306.2018.22.002

引文格式: 孙俊良, 杜寒梅, 梁新红, 等. 甘薯渣中去氢表雄酮抑菌活性研究[J]. 食品工业科技, 2018, 39(22): 6-11, 16.

甘薯是我国主要的粮食作物之一, 种植面积大总产量高, 加工产品种类多数量大。甘薯渣是经提取淀粉或其他加工处理后的副产物, 约占甘薯加工产量的20%~37%^[1]。甘薯渣水分含量高, 不易保

存, 既给生产带来负担, 又给环境带来压力。甘薯渣除富含膳食纤维之外, 还含有其他活性物质, 比如多酚、果胶、低聚麦芽糖等。去氢表雄酮(dehydroepiandrosterone, DHEA)是甘薯和山药里特

收稿日期: 2018-01-31

作者简介: 孙俊良(1964-), 男, 博士, 教授, 研究方向: 食品生物技术, E-mail: sjl338@163.com。

* 通讯作者: 冉军舰(1981-), 男, 博士, 副教授, 博士后, 研究方向: 食品生物技术, E-mail: ranjunjian@126.com。

基金项目: 河南省科技计划项目(182102110109); 中国农业科学院科技创新工程专项经费(CAAS-ASTIP-2015-ZFRI); 河南省高校重点科研项目(18A550006)。

有的活性物质,其化学名为 3 β -羟基雄甾-5 烯-17 酮,化学结构以甾体为母体外接一个芳杂环^[2],近年来国内外学者对其生理及药理作用进行了大量研究^[3],表明其具有抗衰老^[4]、抗肿瘤^[5]、抗菌^[6]、抑制肥胖^[7-9]、增强记忆^[10-11]、抗神经炎症^[12]、调节人体激素^[13-14]以及抑制卵细胞凋亡^[15]的作用。人体血浆中含有 DHEA,常以硫酸酯 DHEAS 的形式参与血液循环,在酶的作用下转化为雄性激素睾酮或雌酮^[15],但人体 DHEA 水平随着年龄的增长而下降,目前市面已有含 DHEA 的保健品或食品^[16]。

去氢表雄酮来源较少,多为化学合成,但有较大副作用和毒性,也可利用毛霉、白色链霉菌等经生物转化得到,但生物转化不仅过程复杂而且产物较多不易提纯,故不是最佳获得 DHEA 的途径。部分天然植物如山药、甘薯^[16]中发现含有去氢表雄酮,因此可考虑从植物中获取天然的 DHEA。目前关于去氢表雄酮对常见致病菌及物生物的抑菌活性的研究较少。

因此,本文以甘薯渣为原料,通过提取甘薯渣中去氢表雄酮,初步探讨去氢表雄酮对常见致病菌及其他微生物的抗菌活性,可为甘薯渣及去氢表雄酮的深度利用开发新途径。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

甘薯渣 由复元生物公司提供;硫酸、氯化钡、丙酮、二氯甲烷、无水硫酸钠、醋酸钠、碳酸钠等均为国产分析纯;马克斯克鲁维酵母、酿酒酵母、大肠杆菌、枯草芽孢杆菌、炭疽杆菌、沙门氏菌、金黄色葡萄球菌、鼠李糖乳杆菌 河南科技学院食品学院生物技术实验室;牛肉膏蛋白胨培养基^[17](用于培养枯草芽孢杆菌、金黄色葡萄球菌):0.5% 牛肉膏,1% 蛋白胨,0.5% 氯化钠,蒸馏水 1000 mL, pH7.0~7.2, 2% 琼脂;LB 培养基^[18](用于培养炭疽杆菌、沙门氏菌、大肠杆菌):1% 蛋白胨,0.5% 酵母浸粉,1% 氯化钠,蒸馏水 1000 mL, pH7.0~7.2, 2% 琼脂;MRS 培养基^[19](用于培养鼠李糖乳杆菌):0.5% 蛋白胨,0.5% 牛肉膏,1% 胰蛋白胨,0.5% 酵母浸粉,1% 葡萄糖,1 mL 吐温 80,0.2% 磷酸氢二钾,0.5% 乙酸钠;YPD 培养基^[20](用于培养马克斯克鲁维酵母、酿酒酵母):2% 葡萄糖,2% 蛋白胨,1% 酵母浸粉,蒸馏水 1000 mL, pH7.0~7.2, 2% 琼脂。

CW-2000 型超声波-微波协同萃取仪 上海新拓分析仪器科技有限公司;TU-1810 型紫外可见分光光度计 北京普析通用仪器有限责任公司;SHP-250 型生化培养箱 上海三发科学仪器有限公司;立式压力蒸汽灭菌锅 上海博讯仪器有限公司;SW-CJ-1D 型单人单面垂直净化工作台 苏州智华精密仪器有限公司;SIGMA3-30K 型离心机 德国 SIGMA 公司;ALPHA 2-4 LSC 型真空冷冻干燥箱 德国 CHRIST 公司;S-570 型扫描电镜 日本日立公司;SW22.SW23 型恒温振荡水浴锅 德国 JULABO 公司。

1.2 实验方法

1.2.1 甘薯渣中 DHEA 的提取 DHEA 的提取方法

参照文献[21-23]的方法,略有修改,提取工艺如下:甘薯渣在 45 °C 烘干磨粉后过 200 目筛备用,取 100 g 渣粉加 3 倍的水在 37 °C 下预发酵 24 h,用超声波-微波协同萃取仪萃取,萃取的微波功率为 300 W,萃取温度为 30 °C,萃取时间为 30 min;以 6:4 的比例向萃取后的甘薯渣中加入 30 mL 甲醇-丙酮混合液,放置在 45 °C 的水浴锅中水浴 30 min 后用孔径为 80~120 μm ,直径为 D 15 cm 的滤纸过滤,收集的滤液经真空冷冻干燥,收集干燥后的提取样,在 20 °C、300 W 下用 10 mL 甲醇超声波洗脱 30 min,向洗脱液里加 100 mL 醋酸钠缓冲溶液,再超声处理 15 min,加入二氯甲烷萃取(萃取 3 次,每次间隔 30 min,每次加入量为 25 mL),收集萃取液并向其中加 30 mL pH 为 6.8 的碳酸钠缓冲溶液,去水层,用无水硫酸钠脱水,在-80 °C 经真空冷冻干燥,收集干燥品。

1.2.2 甘薯渣 DHEA 的纯化和高效液相分析 冷冻干燥膜分离:冷冻干燥品溶于色谱甲醇,依次用 5、1.2 和 0.45 μm 微滤膜除去 DHEA 提取液中的固形物来降低对超滤膜的污染,再依次通过分子量截留值为 3000 Da 的聚醚砜滤膜,之后浓缩、冷冻干燥后用色谱甲醇溶解,再利用制备液相进行单体纯化:色谱柱 Diamonsil C₁₈柱(5 μm , 250 mm \times 4.6 mm);检测波长:218 nm;流动相配比:甲醇-水 = 80-20;柱温:30 °C;流速:0.8 mL/min。配制 DHEA 标准液的浓度分别为 0、0.2、0.4、0.6、0.8、1.0、1.2 mg/mL,进样量 20 μL ,绘制 DHEA 的标准曲线,横坐标为 DHEA 浓度,纵坐标为峰面积。收集纯化后的单体采用 HPLC 方法对甘薯渣中 DHEA 进行定性定量分析。具体检测方法为:Diamonsil C₁₈柱(5 μm , 250 mm \times 4.6 mm);检测波长 218 nm;流速 0.6 mL/min;柱温 25 °C;进样量 20 μL ;流动相 A(100% 色谱甲醇)和流动相 B(超纯水)。样品峰保留时间与标准品保留时间进行对比,按照峰面积计算 DHEA 含量,结果以($\mu\text{g}/100\text{g}$)甘薯渣干粉计。甘薯渣中 DHEA 含量计算公式:

$$X(\%) = \frac{S_1 \times C \times V}{M \times S_2} \times 100$$

式中:X:样品中 DHEA 含量($\mu\text{g}/100\text{g}$);S₁:样品峰面积;S₂:标准峰面积;C:标准品溶液浓度($\mu\text{g}/\text{mL}$);V:样品定容体积(μL);M:试样质量(g)。

1.2.3 供试菌菌种活化及菌悬液的制备 无菌条件下,用接种环分别挑取斜面培养基上的供试菌菌落,置于已灭菌的固体培养基上划线(牛肉膏蛋白胨培养基用于培养枯草芽孢杆菌、金黄色葡萄球菌;LB 培养基用于培养炭疽杆菌、大肠杆菌、沙门氏菌;MRS 培养基用于培养鼠李糖乳杆菌;YPD 培养基用于培养马克斯克鲁维酵母、酿酒酵母),恒温培养箱培养 24 h(37 °C)后,用接种环挑取单菌落至相应的液体培养基中,置于 37 °C 双层空气恒温振荡器扩大培养到对数期(37 °C, 150 r/min),即得到活化的供试菌。利用麦氏比浊法^[24-25]将菌株制成一定浓度的菌悬液。

1.2.4 DHEA 抑菌活性研究 用硫酸和氯化钡按一定的比例配制溶液,生成的硫酸钡沉淀用漩涡振荡器混合均匀后,在 OD_{260 nm} 处测量吸光度值,用麦氏比

浊法绘制菌悬液标准曲线。菌悬液的标准曲线的公式为： $Y=4.1X-0.21338$ ，相关系数 R^2 为 0.9946，标准曲线相关性较好，可以使用标准曲线公式进行计算。本试验所用供试菌标准菌悬液浓度约为 2×10^8 cfu/mL。取供试菌各 100 μ L 涂布平板（牛肉膏蛋白胨培养基培养枯草芽孢杆菌、金黄色葡萄球菌；LB 培养基培养炭疽杆菌、大肠杆菌、沙门氏菌；MRS 培养基培养鼠李糖乳杆菌；YPD 培养基培养马克斯克鲁维酵母、酿酒酵母），用直径为 6 mm 的打孔器打孔，每孔加浓度为 100 mg/mL 的 DHEA 样品 50 μ L，37 $^{\circ}$ C 培养 24 h 后观察 DHEA 对不同菌的抑菌活性，并测量抑菌圈直径的大小。

1.2.5 DHEA 的 MIC 及 MBC 的测定 用二倍稀释法^[26]将 DHEA 样品稀释成 128、64、32、16、8、4、2、1、0.5、0.25、0.125 mg/mL 系列浓度稀释液，与供试菌振荡混合后，置于 37 $^{\circ}$ C 培养箱内培养 24 h 观察结果。液体培养基（牛肉膏蛋白胨培养基用于培养枯草芽孢杆菌、金黄色葡萄球菌；LB 培养基用于培养炭疽杆菌、大肠杆菌、沙门氏菌；MRS 培养基用于培养鼠李糖乳杆菌；YPD 培养基用于培养马克斯克鲁维酵母、酿酒酵母）中无浑浊为最低抑菌质量浓度（MIC）。取无浑浊的培养液接种于固体培养基平板上，37 $^{\circ}$ C 培养 24 h 后观察，没有细菌生长的为样品对供试菌的最低杀菌质量浓度（MBC）。

1.2.6 生长曲线的测定 抑菌物质加入到供试菌培养液中后，供试菌的耐受性不同，生长会受到不同程度的影响，表现出培养基中供试菌的浊度不同^[27]。故根据不同时间测定的培养基中指示菌的吸光度^[28]可测定抑菌物质 DHEA 对指示菌生长曲线的影响。在装有 100 mL 的液体培养基（牛肉膏蛋白胨培养基用于培养枯草芽孢杆菌、金黄色葡萄球菌；LB 培养基用于培养炭疽杆菌、大肠杆菌、沙门氏菌；MRS 培养基用于培养鼠李糖乳杆菌；YPD 培养基用于培养马克斯克鲁维酵母、酿酒酵母）的带侧臂的培养瓶中接种供试菌并调整指示菌菌体浓度为 2×10^8 cfu/mL，加入 DHEA 浓度为最小抑菌浓度的一半，在 37 $^{\circ}$ C 下培养，每隔 2 h 测定吸光值。以不加 DHEA 为对照，以培养时间为横坐标，吸光度（OD_{260 nm}）为纵坐标，绘制供试菌的生长曲线。

1.2.7 指示菌的电镜观察菌体形态 采用扫描电镜（Scanning electron microscopy, SEM）对 DHEA 处理和未处理的细菌进行菌体形态扫描观察^[29]，浓度设定为 EC₅₀（半最大效应浓度）。扫描电镜样品的制备方法：取培养一定时间的供试菌，无菌超纯水清洗 2~3 次，离心洗去残余培养基，水洗后加入用体积含量为 4% 的戊二醛重悬菌体，固定细胞形态（4 $^{\circ}$ C，2 h 以上），用 pH 为 6.8 的磷酸缓冲液冲洗 6 次洗去残余戊二醛（20 min/次，4 $^{\circ}$ C），用体积含量为 30%、50%、70%、80%、90% 和 100% 的乙醇梯度洗脱脱水（30 min/次，4 $^{\circ}$ C），用 100% 丙酮脱水 3 次，用乙酸异戊酯进行置换 2 次（30 min/次，4 $^{\circ}$ C），样品冷冻干燥，将样品粘台进行真空喷金，观察果胶的纵向表面和横截面的形状，并拍照。测定参数为：加速电压：30 kV；电流：20 mA；步长：0.05 $^{\circ}$ /2 θ ；扫描速度：

0.05 $^{\circ}$ /min。在 1000~3000 放大倍数范围内观察菌体形态。

1.3 数据分析

实验中涉及的每组试验均重复 3 次，所得数据以平均值 \pm 标准差表示。所得试验数据使用 SPSS 18.0 软件统计分析，利用 Origin 8.0 作图。

2 结果与分析

2.1 DHEA 标准曲线绘制

如图 1，横纵坐标为标准品的浓度 X (mg/mL)，纵坐标为峰面积值 Y (mAU) 绘制标准曲线，得出该色谱条件下的线性回归方程为 $Y=98.733X-874.89$ ， $R^2=0.9992$ 。

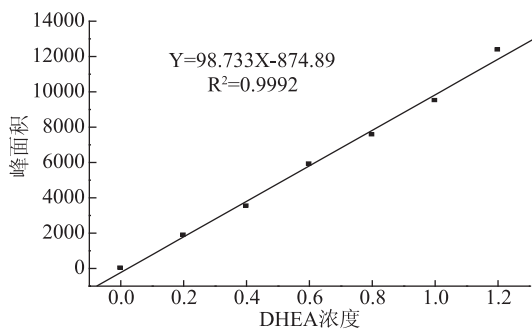


图 1 DHEA 标准曲线

Fig.1 Standard curve of DHEA

2.2 HPLC 测定甘薯中 DHEA 含量

由图 2 可得，标准品出峰时间为 7.195 min，样品峰出峰时间为 7.043 min，此外 14.27 min 时又出现一个峰，此种物质不明，可能是杂质，待进一步检测。经超声波微波协同提取甘薯渣中 DHEA，提取量为 117.25 μ g/100 g。提取得到的 DHEA 在制备液相上进一步纯化，DHEA 的纯度为 90%~98%，收集样品备用。

2.3 抑菌活性

由图 3 可知，去氢表雄酮对革兰氏阳性菌（金黄色葡萄球菌、炭疽杆菌、枯草芽孢杆菌、鼠李糖乳杆菌）、革兰氏阴性菌（大肠杆菌）、真菌（马克斯克鲁维酵母、酿酒酵母）均有抑制作用。对马克斯克鲁维酵母、大肠杆菌抑制最明显，对金黄色葡萄球菌、炭疽杆菌、沙门氏菌、酿酒酵母、枯草芽孢杆菌次之，但对鼠李糖乳杆菌抑制作用不明显。由表 1 可知，抑菌圈直径大小为：马克斯克鲁维酵母 > 大肠杆菌 > 金黄色葡萄球菌 > 炭疽杆菌 > 沙门氏菌 > 酿酒酵母 > 枯草芽孢杆菌 > 鼠李糖乳杆菌。

2.4 DHEA 抗菌效力 MIC、MBC 的测定

样品的 MIC 和 MBC 越小，其抑菌作用越明显。由表 2 可知，DHEA 对马克斯克鲁维酵母、大肠杆菌作用最为明显，其 MIC 分别为 (5.67 ± 0.21) 、 (9.82 ± 0.35) mg/mL，MBC 分别为 (9.79 ± 0.14) 、 (18.36 ± 0.18) mg/mL。研究中发现，在所选菌株中，除鼠李糖乳杆菌，DHEA 对其他菌株具有抑制作用。DHEA 对指示菌杀菌作用大小分别为：马克斯克鲁维酵母 > 大肠杆菌 > 金黄色葡萄球菌 > 炭疽杆菌 > 沙门氏菌 > 枯草芽孢杆菌 > 酿酒酵母 > 鼠李糖乳杆菌(-)。

表1 DHEA对供试菌的抑菌直径(mm)

Table 1 DHEA for bacteriostatic diameter of tested bacteria(mm)

供试菌	马克斯克鲁维酵母	大肠杆菌	金黄色葡萄球菌	炭疽杆菌	沙门氏菌	酿酒酵母	枯草芽孢杆菌	鼠李糖乳杆菌
抑菌圈直径	19.19 ± 0.03	19.03 ± 0.14	17.78 ± 0.17	15.32 ± 0.21	13.82 ± 0.13	13.65 ± 0.05	12.4 ± 0.07	6.00 ± 0

表2 DHEA对供试菌的MIC和MBC(mg/mL)

Table 2 DHEA for MIC and MBC of tested bacteria(mg/mL)

实验指示菌	DHEA	
	MIC	MBC
马克斯克鲁维酵母	5.67 ± 0.21	9.79 ± 0.14
酿酒酵母	20.82 ± 0.13	36.79 ± 0.22
鼠李糖乳杆菌	-	-
大肠杆菌	9.82 ± 0.35	18.36 ± 0.18
枯草芽孢杆菌	17.87 ± 0.27	33.25 ± 0.25
炭疽杆菌	16.46 ± 0.32	29.57 ± 0.11
沙门氏菌	17.68 ± 0.15	32.47 ± 0.17
金黄色葡萄球菌	13.52 ± 0.24	25.03 ± 0.29

注:-无作用。

体浓度下降。由图4G可知,DHEA使沙门氏菌菌落总数下降,生长期延长,对数期缩短,随着时间延长菌体浓度整体下降。由图4H可知,DHEA对金黄色葡萄球菌有抑制作用,菌落总数下降,生长期延长,对数期缩短,随着时间延长菌体浓度整体下降。

2.6 指示菌扫描电镜观察

以不加DHEA正常生长情况下的指示菌为对照,用扫描电镜观察DHEA对指示菌菌体形态的影响。由图5可知,DHEA对马克斯克鲁维酵母、酿酒酵母、大肠杆菌、枯草芽孢杆菌、炭疽杆菌、沙门氏菌、金黄色葡萄球菌细胞形态均有影响,空白对照下的以上指示菌菌体形态正常,细胞饱满,细胞内容物分布均匀,经DHEA处理后菌体形态一定程度上改变,菌体边缘有毛刺,细胞壁有破裂,细胞内容物有部分溶出。可见,DHEA对细菌的细胞壁有作用力,可通过破坏其细胞壁,使细胞内容物溶出致使菌体死亡。观察鼠李糖乳杆菌扫描电镜,发现对照和处理后形态无明显变化,这也从微观形态说明DHEA对其无影响。

3 讨论

甘薯渣提取物DHEA具有抑菌作用,不同生物体其生物免疫系统不同^[30],故对供试菌有不同的抑制作用,尤其对马克斯克鲁维酵母、大肠杆菌、枯草芽孢杆菌、沙门氏菌作用力敏感,对益生菌鼠李糖乳杆菌无抑制作用。这可能与去氢表雄酮本身的生物活性有关,其具体作用机制还不明确,有待进一步的研究论证。对甘薯渣中DHEA进行提取时,在提取后应用冷冻干燥,干燥后放入棕瓶中低温避光保存,以免失去活性。未经纯化的样品应及时进行纯化收集,避免放置时间久样品抑菌活性成分减弱。甘薯渣为农副产品加工副产物,从中提取活性物质成分能很好的提高甘薯的附加值^[24-25]。从中提取DHEA,有利于甘薯渣的回收利用对拓宽其在食品领域的用途具有一定意义。

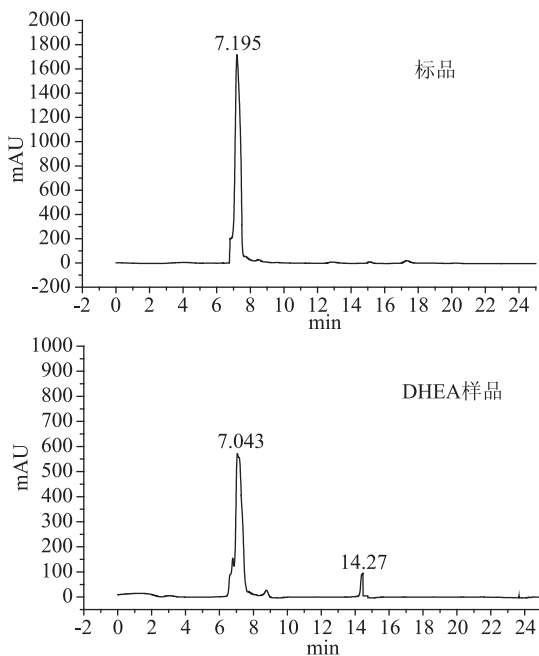


图2 DHEA标准品及甘薯渣中提取DHEA样品HPLC图

Fig.2 HPLC chromatogram of DHEA contrast and from sweet potato residues

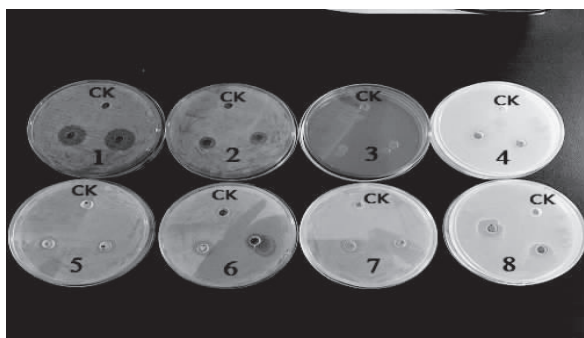


图3 DHEA的抑菌活性

Fig.3 Antibacterial activity of DHEA

注:CK:对照;1:马克斯克鲁维酵母;2:酿酒酵母;3:鼠李糖乳杆菌;4:大肠杆菌;5:枯草芽孢杆菌;6:炭疽杆菌;7:沙门氏菌;8:金黄色葡萄球菌。

2.5 DHEA对供试菌生长曲线的影响

由图4可知,DHEA对马克斯克鲁维酵母、酿酒酵母、大肠杆菌、枯草芽孢杆菌、炭疽杆菌、沙门氏菌、金黄色葡萄球菌生长曲线均有影响。由图4A、图4B可知,DHEA使马克斯克鲁维酵母、酿酒酵母生长曲线对数期缩短,稳定期延长。由图4C可知,DHEA对鼠李糖乳杆菌无抑制作用不明显,菌体生长曲线无明显变化。由图4D可知,DHEA使大肠杆菌对数期缩短稳定期延长,并使菌体浓度下降。由图4E可知DHEA对枯草芽孢杆菌生长也有影响。由图4F可知,DHEA对炭疽杆菌生长曲线有影响,对数期菌

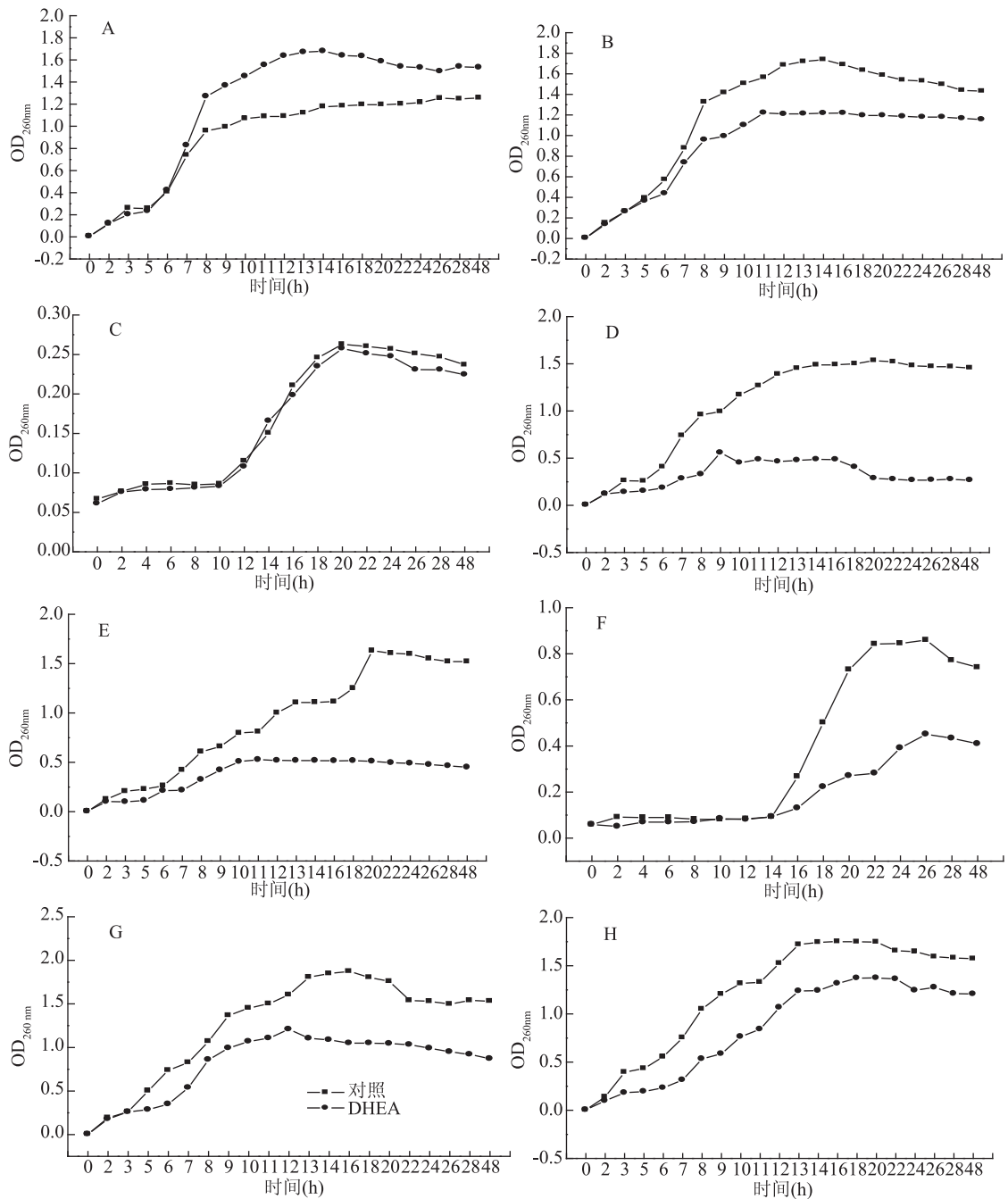


图4 DHEA对指示菌生长曲线的影响

Fig.4 Effects of DHEA on the growth curve of indicator

注:A:马克斯克鲁维酵母;B:酿酒酵母;C:鼠李糖乳杆菌;D:大肠杆菌;
E:枯草芽孢杆菌;F:炭疽杆菌;G:沙门氏菌;H:金黄色葡萄球菌。

4 结论

DHEA对供试菌的抑菌效果依次为:马克斯克鲁维酵母>大肠杆菌>金黄色葡萄球菌>炭疽杆菌>沙门氏菌>枯草芽孢杆菌>酿酒酵母>鼠李糖乳杆菌。最低抑制浓度(MIC)结果为:马克斯克鲁维酵母 5.67 mg/mL,大肠杆菌 9.82 mg/mL,金黄色葡萄球菌 13.52 mg/mL,炭疽杆菌 16.46 mg/mL,沙门氏菌 17.68 mg/mL,枯草芽孢杆菌 17.87 mg/mL,酿酒酵母 20.82 mg/mL,而对鼠李糖乳杆菌无明显抑制作用。DHEA使供试菌生长周期缩短,并降低了菌体浓度;扫描电镜显示DHEA处理后菌体形态改变,细胞壁

破裂,细胞内容物有溶出。甘薯渣中DHEA抑菌作用的研究,为去氢表雄酮及农副产品的综合利用提供新的思路和途径。

参考文献

- [1]曾小峰,曾志红,增顺德,等.甘薯渣的发酵利用进展[J].南方农业,2017,11(34):39-41.
- [2]何智鹏,金灿.去氢表雄酮合成研究进展[J].浙江化工,2016,47(9):7-9.
- [3] Prough R, Clark B J, Klinge C M. Novel mechanisms for DHEA action [J]. Journal of Molecular Endocrinology, 2016, 56

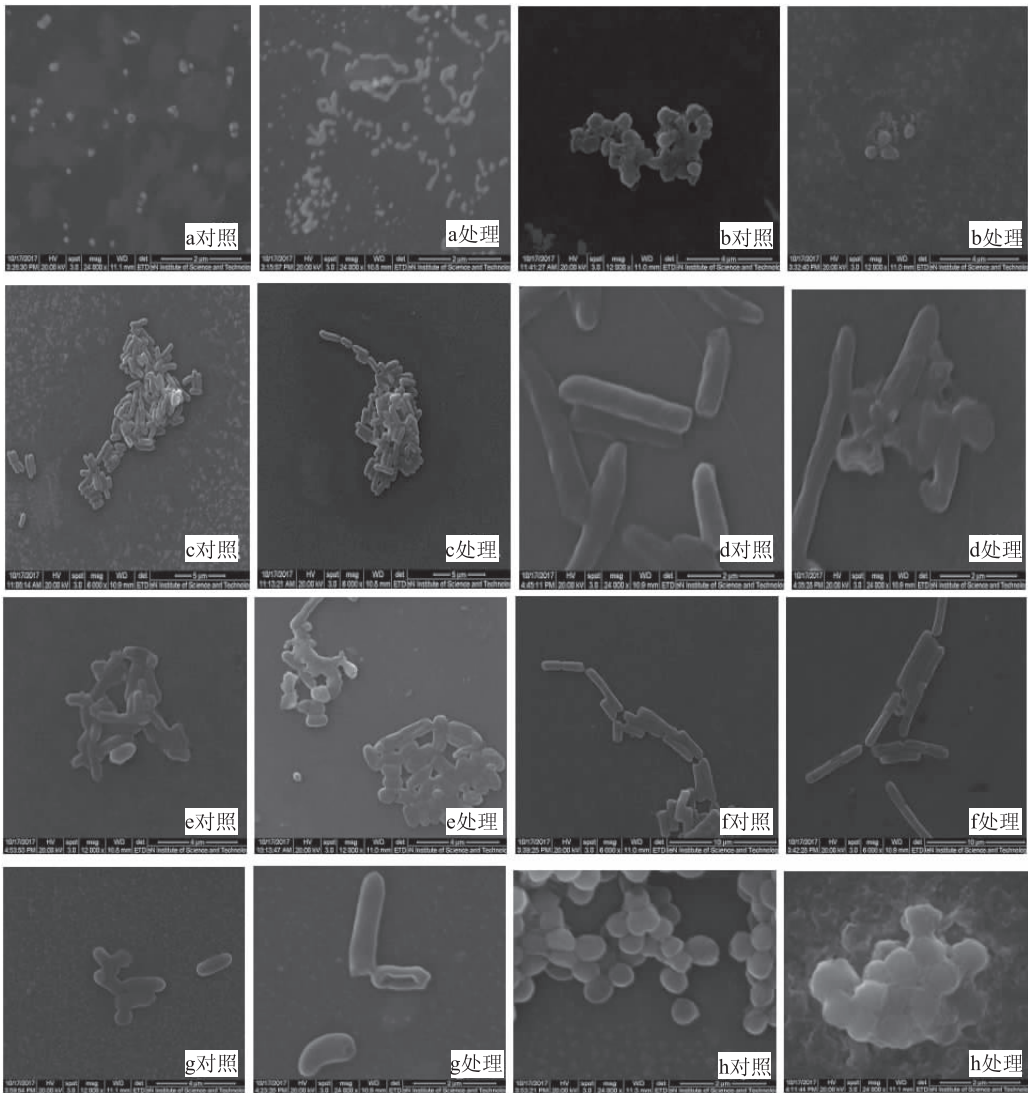


图5 DHEA对供试菌株细胞形态的影响

Fig.5 Effect of DHEA on cell morphology of tested strains

注:a:马克斯克鲁维酵母;b:酿酒酵母;c:鼠李糖乳杆菌;d:大肠杆菌;
e:枯草芽孢杆菌;f:炭疽杆菌;g:沙门氏菌;h:金黄色葡萄球菌。

(3):R139.

[4]杨红花,秦宏伟.去氢表雄酮生理活性及其提取纯化研究进展[J].粮食与油脂,2009(4):44-46.

[5]崔建国,赵丹丹,何冬梅,等.去氢表雄酮噻唑衍生物的合成及抗肿瘤活性评估[J].有机化学,2016,36(3):630-637.

[6]陶洪文,王江伟,彭可睿,等.去氢表雄酮结构修饰物的合成及其抗菌活性评价[J].湖南科技大学学报:自然科学版,2015,30(1):104-109.

[7]陈迪,康健,马海田.脱氢表雄酮对大鼠脂肪代谢的影响及机理[J].食品科学,2015,36(17):252-258.

[8] Horii N, Sato K, Mesaki N, et al. DHEA Administration activates transcription of muscular lipid metabolic enzymes via PPAR and PPAR in obese rats [J]. Hormone and Metabolic Research,2016,48(3):207-212.

[9]陈迪,康健,马海田.脱氢表雄酮(DHEA)对大鼠脂肪代谢的影响及其生物化学机制的研究[J].食品科学,2015,13(22):57-63.

[10]Soma K K,Rendon N M,Boonstra R, et al.DHEA effects on

brain and behavior:insights from comparative studies of aggression [J].Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology,2015,145(145):261-272.

[11]Shields G S,Lam J C W,Trainer B C, et al.Exposure to acute stress enhances decision-making competence:evidence for the role of DHEA [J]. Psychoneuroendocrinology, 2016, 67: 51-60.

[12]王友富,王荣,王均良,等.去氢表雄酮衍生物的合成及其抑制神经炎症活性研究[J].中国药物化学杂志,2016(5):353-360.

[13]Pinto A, Malacrida B, Oieni J, et al. Dhea modulates the effect of cortisol on rack1 expression via interference with the splicing of the glucocorticoid recepto [J]. British Journal of Pharmacology,2015,172(11):2918-2927.

[14]Zhou Y, Jian K, Di C, et al. Ample evidence: dehydroepiandrosterone(DHEA) conversion into activated steroid hormones occurs in adrenal and ovary in female rat [J]. Plos

(下转第16页)

- [J].中国粮油学报,2005,20(3):77-82.
- [3]邹凤羽,王兰,周惠明.新收获小麦粉熟化作用对其品质影响的研究[J].郑州工程学院学报,2002,23(3):10-14.
- [4]陈淑娟.不同等级小麦粉在储存中脂肪酸值变化规律[J].粮食储藏,2010,39(5):33-35.
- [5]周显青,曹健,陈复生,等.法国小麦在中国馒头和面条中的应用初探[J].中国粮油学报,2001,16(1):46-50.
- [6]陈成,温纪平,王晓曦,等.不同面粉粗细度对馒头品质的影响[J].粮食与油脂,2015(10):39-43.
- [7]樊元元,刘长虹,屈凌波,等.研磨不同次数筛出的石磨面粉对馒头品质的影响[J].粮食加工,2016(2):7-9.
- [8]Liu C, Li L, Hong J, et al. Effect of mechanically damaged starch on wheat flour, noodle and steamed bread making quality [J]. International Journal of Food Science & Technology, 2014, 49(1):253-260.
- [9]李树高.面粉灰分含量对面制品的影响[J].粮食与食品工业,2008,15(5):11-11.
- [10]苏东民,李里特.面粉蛋白质含量与主食馒头品质关系的研究[J].粮食加工,2007,32(2):15-19.
- [11]徐天云.面粉熟化时间对馒头品质的影响[J].现代食品科技,2015(6):46-46.
- [12]Qin P, Cheng S H, Chuan-Xi M A. Effect of waxy wheat flour blends on the quality of Chinese steamed bread [J]. Agricultural Sciences in China, 2007, 6(10):1275-1282.
- [13]GB/T 20264-2006 粮食、油料水分两次烘干测定法[S].北京:中国标准出版社,2006.
- [14]GB/T 5511-2008 谷类和豆类氮含量测定和粗蛋白质含量计算凯氏法[S].北京:中国标准出版社,2008.
- [15]GBT 15684-2015 谷物碾磨制品脂肪酸值的测定[S].北京:中国标准出版社,2015.
- [16]GB/T 5506.1-2008 小麦和小麦粉面筋含量第2部分:仪器法测湿面筋[S].北京:中国标准出版社,2008.
- [17]刘长虹.蒸制面食生产技术(第三版)[M].北京:化学工业出版社,2017.
- [18]GB 5009.239-2016 食品安全国家标准食品酸度的测定[S].北京:中国标准出版社,2016.
- [19]刘长虹.馒头的品质评价体系及方法[J].粮食与食品工业,2008,15(1):4-6.
- [20]袁建,宋佳,鞠兴荣,等.小麦粉储藏期间水分变化规律的探讨[J].粮食储藏,2009,38(6):39-42.
- [21]张忠进,王金水.不同储藏条件下小麦蛋白质变化研究[J].河南工业大学学报(自然科学版),1997(4):72-76.
- [22]宋佳.小麦粉储藏品质评价指标的研究[D].南京:南京财经大学,2010.
- [23]陈淑娟.不同等级小麦粉在储存中脂肪酸值变化规律[J].粮食储藏,2010,39(5):33-35.
- [24]郑学玲,王娜,马森.小麦面粉熟化特性研究进展[J].河南工业大学学报(自然科学版),2016,37(3):46-46.
- [25]刘长虹.馒头生产技术[M].北京:化学工业出版社,2015.
- [26]刘长虹.馒头品质评价方法[J].食品工程,2010(3):16-18.
- [27]马秀玲,陈蕊君,王飞,等.吸光度法快速确定菌悬液浓度及其适用范围[J].微生物学杂志,2014,34(4):90-92.
- [28]Mazarei F, Jooyandeh H, Noshad M, et al. Polysaccharide of caper (*Capparis spinosa* L.) Leaf: Extraction optimization, antioxidant potential and antimicrobial activity [J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2016, 95(16):224-231.
- [29]Beristain - Bauza S C, Mani - Lopez E, Palou E, et al. Antimicrobial activity and physical properties of protein films added with cell-free supernatant of *Lactobacillus rhamnosus* [J]. Food Control, 2016, 62:44-51.
- [30]张婷婷,郭夏丽,黄学勇,等.辛夷挥发油 GC-MS 分析及其抗氧化抗菌活性[J].食品科学,2016,37(10):144-150.
- [31]Prado A C P D, Silva H S D, Silveira S M D, et al. Effect of the extraction process on the phenolic compounds profile and the antioxidant and antimicrobial activity of extracts of pecan nut [*Carya illinoensis*, (Wangenh) C. Koch] shell [J]. Industrial Crops & Products, 2014, 52(1):552-561.
- [32]朱春燕,王飞霞,李璐,等.大豆芽中异黄酮的超声波-微波协同提取及其抑菌活性分析[J].中国油料作物学报,2017,39(2):245-252.
- [33]Tabit F T, Komolafe N T, Tshikalange T E, et al. Phytochemical constituents and antioxidant and antimicrobial activity of selected plants used traditionally as a source of food [J]. Journal of Medicinal Food, 2016, 19(3):324-326.

(上接第 11 页)

One, 2015, 10(5):e0124511.

[15]Chu N, Gui Y, Qiu X, et al. The effect of DHEA on apoptosis and cohesin levels in oocytes in aged mice [J]. Bioscience Trends, 2017, 11(4):427-438.

[16]杨大进,方从容,王朱天.保健食品中 DHEA 含量测定研究方法[J].中国食品卫生杂志,1998,10(5):1-3.

[17]Xu Y, Shi C, Wu Q, et al. Antimicrobial activity of punicalagin against *Staphylococcus aureus* and its effect on biofilm formation [J]. Foodborne Pathogens and Disease, 2017, 14(5):282-287.

[18]陈凤清,张紫瑶,郑长新,等.丑橘皮总黄酮的提取工艺及抑菌活性研究[J].中国农机化学报,2017,38(1):68-73.

[19]Yi L, Dang J, Zhang L, et al. Purification, characterization and bactericidal mechanism of a broad spectrum bacteriocin with antimicrobial activity against multidrug-resistant strains produced by *Lactobacillus coryniformis*, XN8 [J]. Food Control, 2016, 67:53-62.

[20]王远微,张诚民,索化夷,等.传统发酵牦牛酸奶中马克斯克鲁维酵母菌的分离鉴定及系统发育分析[J].食品科学,2014,35(15):216-220.

[21]姚菊英,彭辉.红薯中 DHEA 的提取[J].南昌师范学院学报,2001,22(6):39-40.

[22]秦学孔.天然植物性激素 DHEA 的分离分析与提取工艺研究[D].大连:大连理工大学,2000.

[23]李晓倩,许春潮,贾艳青,等.红薯中 DHEA 提取工艺的