

花生壳分级提取物抑菌活性及其稳定性

戚馨月,曹 瑶,周建新*,汪海峰

(南京财经大学食品科学与工程学院,现代粮食流通与安全协同创新中心,
粮油质量控制与加工重点实验室,江苏南京 210023)

摘 要:本文采用溶剂浸提法分级提取花生壳中有效抑菌成分,通过滤纸片法研究不同提取物对食品中常见的腐败菌和致病菌的抑菌活性,并进一步探究 pH、温度、紫外辐射、金属离子对其稳定性的影响。结果表明:花生壳分级提取物对供试菌均有一定的抑制活性,其中乙酸乙酯提取物对金黄色葡萄球菌的抑制作用最强,对金黄色葡萄球菌、大肠杆菌的最低抑制浓度(Minimum inhibitory concentration, MIC)分别为 31.25、62.5 mg/mL。稳定性实验表明,花生壳乙酸乙酯提取物的抑菌活性在 $7 < \text{pH} < 10$ 明显降低;20~80 ℃ 处理后,其抑菌活性稳定,但过高或过低温度处理(0、100 ℃),其抑菌活性下降;随着紫外辐射时间的增加,抑菌活性呈下降趋势;金属离子对花生壳乙酸乙酯提取物抑菌作用有所差异, Cu^{2+} 、 Fe^{2+} 、 Al^{3+} 可增强其抑菌作用, Mg^{2+} 、 K^{+} 、 Mn^{2+} 可降低其抑菌作用。本实验可为花生壳提取物作为食品天然防腐剂的开发提供依据。

关键词:花生壳,分级提取物,抑菌活性,稳定性

Antibacterial Characteristics and Stability of Fractionated Extracts from Peanut Hull

QI Xin-yue, CAO Yao, ZHOU Jian-xin*, WANG Hai-feng

(College of Food Science and Engineering, Collaborative Innovation Centre for Modern Grain Circulation and Safety, Key Laboratory of Grains and Oils Quality Control and Processing, Nanjing University of Finance and Economics, Nanjing 210023, China)

Abstract: In this paper, the effective antibacterial components in peanut hull were extracted by solvent extraction method. The antibacterial activity of different extracts on common spoilage bacteria and pathogenic bacteria in food was studied by filter paper method, and the influence of pH, temperature, ultraviolet radiation and metal ions on its stability was explored. The results showed that the peanut hull fraction extract had certain inhibitory activity on the tested bacterias, and the ethyl acetate extract had the strongest inhibitory effect on *Staphylococcus aureus*, and the minimum inhibitory concentration (MIC) against *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli* were 31.25 and 62.5 mg/mL, respectively. The stability experiment showed that the antibacterial activity of the ethyl acetate extract of peanut hull decreased significantly at $7 < \text{pH} < 10$; after 20~80 ℃ treatment, the antibacterial activity was stable, but when the treatment was too high or too low (0, 100 ℃), the antibacterial activity decreased. With the increase of UV irradiation time, the antibacterial activity decreased. The antibacterial effect of metal ions on the ethyl acetate extract of peanut shell was different, Cu^{2+} , Fe^{2+} and Al^{3+} could enhance its inhibition, Mg^{2+} , K^{+} , Mn^{2+} could reduce its antibacterial effect. This experiment can provide a basis for the development of peanut shell extract as a natural preservative for food.

Key words: peanut hull; fractionated extract; antibacterial properties; stability

中图分类号: TS201.3

文献标识码: A

文章编号: 1002-0306(2020)03-0120-06

doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2020.03.022

引文格式: 戚馨月, 曹瑶, 周建新, 等. 花生壳分级提取物抑菌活性及其稳定性[J]. 食品工业科技, 2020, 41(3): 120-124, 130.

花生是我国主要的油料作物和经济作物^[1]。花生除少部分作为干果食用外, 大部分作为油料用于制取

花生油^[2]。花生壳占花生质量的 27%~33%, 其中主要成分是半纤维素和粗纤维素, 另有粗蛋白、粗脂肪、

收稿日期: 2019-05-13

作者简介: 戚馨月(1995-), 女, 硕士研究生, 研究方向: 食品微生物, E-mail: talktoqxy@163.com。

* 通讯作者: 周建新(1964-), 男, 硕士, 教授, 研究方向: 食品微生物, E-mail: zhoujx1964@163.com。

基金项目: 江苏省研究生科研与实践创新计划项目(KYCX18-1423); 江苏省高等学校自然科学研究重大项目资助(17KJA550003); 江苏高校优势学科建设工程资助(PAPD2014-124); 江苏高校品牌专业建设工程资助(PPZY2015B152)。

糖类和矿物质等成分^[3]。此外,还含有一些功能性成分,如黄酮类化合物、白藜芦醇、胡萝卜素、木糖、皂草苷等^[4],具有抗炎、降血糖^[5]、降血脂^[6]和增强免疫功能等药理作用^[7]。目前花生壳作为燃料使用,造成资源浪费和环境污染。若能通过有效的提取方法,将其分级提取物中的功能性成分进行开发利用,对于提高花生壳经济效益和保护环境具有重要意义^[8]。

食品的腐败主要由微生物引起,因此可以通过抑制微生物的活性,延缓或阻止其生长,从而对食品进行防腐保鲜^[9]。添加防腐剂是一种方便、有效的食品防腐方法。有关花生壳中有效成分的提取^[10]和对食品中微生物抑制作用研究已取得一定进展。Zhang等^[11]应用微波辅助酶法提取花生壳多酚,通过牛津杯法实验证明其具有明显抗菌活性,可作为潜在抗氧化剂和防腐剂的来源。赵二劳等^[12]综述了近十年来对花生壳中黄酮类成分的提取工艺有溶剂提取、酶法提取、微波辅助、超声波辅助,纯化工艺有大孔树脂纯化、金属络合法、高速逆流色谱分离纯化、分子印迹分离纯化等。汪海峰等^[13]对花生壳甲醇粗提取物成分分析,其中主要的黄酮类化合物木犀草素的含量达12.6%。陈春涛等^[14]通过乙醇粗提、溶剂梯度萃取,配合抑菌活性跟踪检测,得到了抑菌活性较强、富含黄酮类的花生壳乙酸乙酯组分,并用酸碱沉淀、柱层析等法纯化得到三种化合物。以往的研究在溶剂浸取时只采用一种溶剂粗提后再进行后续的抑菌试验,但有关花生壳分级提取物抑菌活性及稳定性的研究鲜见报道。

本文采用不同极性溶剂对花生壳分级提取其中有效活性成分,研究提取物对食品中常见腐败菌和致病菌抑制活性及稳定性,为其开发成高效、低毒、稳定的食品天然防腐剂提供依据。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

花生壳 选取产自江苏省南通市的优质花生,手工剥壳并去除发黑、有虫洞的次品,将花生壳清洗沥干后置于50℃烘箱中烘干4h,粉碎过40目筛,密封袋保存;大肠杆菌(*Escherichia coli*)、金黄色葡萄球菌(*Staphylococcus aureus*)、枯草芽孢杆菌(*Bacillus subtilis*)、沙门氏菌(*Salmonella enteritidis*) 江苏省疾病预防控制中心微生物试剂厂;营养琼脂、营养肉汤(LB) 青岛高科园海博生物技术有限公司;牛肉膏、蛋白胨 北京奥博星生物技术有限公司;石油醚(沸点:30~60℃)、三氯甲烷、乙酸乙酯、无水乙醇(99%)、乙酸、氢氧化钠、氯化钠、氯化铜、氯化亚铁、氯化镁、氯化钾、氯化铝、蔗糖(均为分析纯) 国药集团化学试剂有限公司;去离子水 实验室自制。

ZQTY-70S型低温摇床 上海知楚仪器有限公司;FW100型高速粉碎机 天津市泰斯特仪器有限公司;BSC-1300IIA2型生物安全柜 上海博讯实业有限公司医疗设备厂;RE-2000型旋转蒸发仪 上海亚荣生化仪器厂;SHZ-DIII型循环水真空泵 巩义市予华仪器有限责任公司;DHP型电热恒温培养箱 金坛市医疗仪器厂;101-34S型电热鼓风干燥

箱 上海苏进仪器设备厂;LDZX-50FBS型立式高压蒸汽灭菌锅 上海申安医疗器械厂;镀铬游标卡尺(0~150 mm) 桂林量具厂;便携式pH计 爱德克斯;SCIENTZ-30UV型光源反应箱(紫外灯波长254 nm) 南京妙之仪电子科技有限公司;FA2004N型分析天平 常州市衡正电子仪器有限公司。

1.2 实验方法

1.2.1 花生壳分级提取物的制备 取50 g花生壳粉,用300目滤布进行包裹后,500 mL溶剂(依次采用极性由小到大的溶剂:石油醚、三氯甲烷、乙酸乙酯、无水乙醇、去离子水分级提取)浸泡24 h后,直接进行索氏抽提3 h,收集提取物,旋蒸浓缩,回收各溶剂,用无水乙醇定容至50 mL,得到1000 mg/mL浓度的提取物(由于提取物得率较小,提取物浓度为花生壳的质量/溶剂的体积)。采用倍数稀释法,配制500、250、125、62.5、31.25 mg/mL浓度的提取物,4℃储存备用。

1.2.2 菌种的活化及菌悬液的制备 将供试菌(金黄色葡萄球菌、大肠杆菌、枯草芽孢杆菌、沙门氏菌)分别接种于LB肉汤,36℃、120 r/min振荡培养至对数期(16~18 h),使用前,按10倍稀释法,稀释成菌浓度为 $10^6 \sim 10^7$ CFU/mL的菌悬液(采用平板计数法测定)^[15]。

1.2.3 抑菌活性的测定 采用滤纸片法^[16]测定花生壳分级提取物的抑菌活性,将无菌的直径为6 mm的滤纸片分别浸泡于浓度为500 mg/mL的石油醚提取物、三氯甲烷提取物、乙酸乙酯提取物、无水乙醇提取物以及水提取物和无水乙醇(对照)中3 h,取出沥干。取0.1 mL 1.2.2中的菌悬液,用无菌涂布棒均匀涂布于营养琼脂平板上,将上述滤纸片三个为一组呈正三角形平铺皿中,倒置于36℃恒温培养箱中培养24 h。用游标卡尺采用十字交叉法测量抑菌圈直径。抑菌圈直径越大,表明抑菌效果越好。

1.2.4 最低抑菌浓度的测定 采用试管二倍稀释法^[15]测定花生壳分级提取物对金黄色葡萄球菌和大肠杆菌的最低抑菌浓度,在1~9号无菌试管各加营养肉汤2 mL,在1号试管中加入2 mL花生壳提取物原液(浓度1000 mg/mL),混匀,取出2 mL移入2号试管,依次操作,至10号管取2 mL,各管最终体积2 mL,使花生壳分级提取物依次稀释成500、250、125、62.5、31.25、15.63、7.81、3.91、1.95、0.98 mg/mL,各试管中加入50 μ L 1.2.2中菌悬液,同时做两支只加营养肉汤和菌液的阳性对照组和只加提取物和营养肉汤的阴性对照。置36℃恒温箱中培养24 h后观察结果。当阳性对照组试管内呈浑浊状,而阴性对照组试管内呈透明状时,观察1~10号试管的透明度情况;若实验组试管内出现浑浊状,则说明该稀释倍数下的培养基内有微生物生长;若试管内为透明,则说明该稀释倍数下没有微生物生长,将肉眼观察试管内液体澄清的最低花生壳提取物浓度记为花生壳提取物最低抑菌浓度。

1.2.5 花生壳乙酸乙酯提取物抑菌稳定性的测定 实验菌种:金黄色葡萄球菌和大肠杆菌。花生

表1 花生壳分级提取物对供试菌的抑菌圈直径(mm)

Table 1 The diameter of the inhibition zone of the fractionated extract from peanut hull against tested bacterias(mm)

花生壳提取物	金黄色葡萄球菌	枯草芽孢杆菌	大肠杆菌	沙门氏菌
石油醚提取物	7.13 ± 0.61	6.66 ± 0.22	7.07 ± 0.56	6.98 ± 0.21
三氯甲烷提取物	8.29 ± 0.93	7.98 ± 0.03	7.39 ± 0.63	7.72 ± 0.40
乙酸乙酯提取物	16.68 ± 1.48	15.48 ± 0.52	14.03 ± 1.28	12.3 ± 0.15
无水乙醇提取物	10.23 ± 0.77	11.48 ± 1.02	10.01 ± 0.28	9.4 ± 1.35
水提取物	6.89 ± 0.09	7.34 ± 0.67	6.60 ± 0.36	6.67 ± 0.16
对照组	6.19 ± 0.01	6.21 ± 0.12	6.30 ± 0.05	6.32 ± 0.03

表2 方差分析

Table 2 Analysis of variance

因素	平方和	自由度	均方	F 值	P 值
菌种	5.410	3	1.803	2.546	0.005
提取溶剂	171.045	4	42.761	60.384	0.003
菌种 × 提取溶剂	326.75	8	43.55	54.31	0.01
误差	8.498	12	0.708	-	-
校正总和	184.953	19	-	-	-

壳乙酸乙酯提取物浓度:250 mg/mL。滤纸片实验^[17-21]中以溶剂无水乙醇作为阴性对照,以 0.10 mg/mL 氨苄青霉素钠为阳性对照。

1.2.5.1 pH 对花生壳乙酸乙酯提取物抑菌稳定性的影响 分别用 1 mol/L 的乙酸和 1 mol/L 氢氧化钠溶液将花生壳乙酸乙酯提取物的 pH 调为 4.0、5.0、6.0、7.0、8.0、9.0、10.0,以未调 pH 的提取物为对照,采用 1.2.3 方法测定抑菌活性。

1.2.5.2 温度对花生壳乙酸乙酯提取物抑菌稳定性的影响 将花生壳乙酸乙酯提取物分别在 0(冰浴)、20、40、60、80、100 ℃ 的水浴中处理 30 min,以未处理为对照,采用 1.2.3 方法测定抑菌活性。

1.2.5.3 金属离子对花生壳乙酸乙酯提取物抑菌稳定性的影响 将花生壳乙酸乙酯提取物分别与含 0.5 g/mL K⁺、Cu²⁺、Mg²⁺、Fe²⁺、AL³⁺、Mn²⁺ 的盐溶液(含 0.5% 的 Tween-20)按 1:1 混合,以未加金属离子的提取物为对照,采用 1.2.3 方法测定抑菌活性。

1.2.5.4 短波紫外线对花生壳乙酸乙酯提取物抑菌稳定性的影响 将花生壳乙酸乙酯提取物置于紫外灯下分别照射(波长 254 nm,紫外灯距样品 25 cm)5、10、15、20、25 min,以未照射的提取物为对照,采用 1.2.3 方法测定抑菌活性。

1.3 数据处理

每个实验三次平行,采用 Originpro 2016 进行图表处理,采用 SPSS 21.0 软件对所得数据进行统计处理,数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示。多组间比较采用单因素方差分析,两两比较采用 t 检验。

2 结果与分析

2.1 花生壳分级提取物的抑菌活性

花生壳分级提取物(浓度 500 mg/mL)对供试菌的抑菌圈直径如表 1 所示,表明花生壳分级提取物对供试菌均有一定的抑制作用,其抑制作用的强弱与提取溶剂和试验菌种有关。不同提取物对同一种供试菌的抑菌能力进行比较,提取物对于金黄色葡萄

球菌、大肠杆菌、沙门氏菌的抑菌作用大小排列为:乙酸乙酯提取物 > 无水乙醇提取物 > 三氯甲烷提取物 > 石油醚提取物 > 水提取物,对于枯草芽孢杆菌为乙酸乙酯提取物 > 无水乙醇提取物 > 三氯甲烷提取物 > 水提取物 > 石油醚提取物;不同供试菌对同一种提取物的敏感程度进行比较,对于乙酸乙酯提取物由强至弱排列为:金黄色葡萄球菌 > 枯草芽孢杆菌 > 大肠杆菌 > 沙门氏菌。方差分析如表 2 所示,表明不同溶剂提取物对抑菌圈大小的影响极显著($P < 0.01$)。相同提取物下,供试菌的种类对抑菌圈大小差异极显著($P < 0.01$),且菌种和提取溶剂交互作用与抑菌圈大小之间也具有显著性差异($P < 0.05$)。主要原因是花生壳分级提取物中抑菌成分和菌种敏感性存在差异。通过抑菌活性的测定发现,乙酸乙酯提取物抑菌作用最为明显,其对金黄色葡萄球菌的抑菌圈直径大于枯草芽孢杆菌,对大肠杆菌的抑菌圈直径大于沙门氏菌,初步判断供试菌对提取物的敏感程度:金黄色葡萄球菌 > 枯草芽孢杆菌;大肠杆菌 > 沙门氏菌,因此,在稳定性实验中选择金黄色葡萄球菌作为革兰氏阳性菌的代表,大肠杆菌作为革兰氏阴性菌的代表,一方面探究提取物在不同条件下的抑菌稳定性,另一方面还可以探究提取物对革兰氏阳性和革兰氏阴性菌影响的差别。

2.2 花生壳分级提取物最低抑菌浓度的测定

花生壳分级提取物最低抑菌浓度(MIC)的结果如表 3 和表 4 所示。石油醚提取物、三氯甲烷提取物、乙酸乙酯提取物、无水乙醇提取物、水提取物对金黄色葡萄球菌的 MIC 分别为 250、125、31.25、62.5、250 mg/mL,对大肠杆菌的 MIC 分别为 125、250、62.5、62.5、125 mg/mL。通过比较,乙酸乙酯提取物的抑菌活性最强;石油醚提取物与水提取物对供试菌的 MIC 较大且抑菌活性较差;花生壳分级提取物对金黄色葡萄球菌抑制作用优于大肠杆菌。因此可推测花生壳分级提取物对革兰氏阳性菌的抑菌作用更为明显。同时可得花生壳乙酸乙酯提取物对供试

表3 花生壳分级提取物对金黄色葡萄球菌的最低抑菌浓度 (mg/mL)

Table 3 The MIC of the fractionated extract from peanut hull against *Staphylococcus aureus* (mg/mL)

花生壳提取物	500	250	125	62.5	31.25	15.63	7.81	3.91	1.95	0.98
石油醚提取物	-	-	+	+	+	++	++	++	+++	+++
三氯甲烷提取物	-	-	-	+	++	++	++	+++	+++	+++
乙酸乙酯提取物	-	-	-	-	-	+	+	+	++	++
无水乙醇提取物	-	-	-	-	+	+	+	++	++	+++
水提取物	-	-	+	+	++	++	++	+++	+++	+++

注：“-”表示无菌生长，“+”表示菌体生长少，“++”表示菌体生长较多，“+++”表示菌体生长很多；表4同。

表4 花生壳分级提取物对大肠杆菌的最低抑菌浓度 (mg/mL)

Table 4 The MIC of the fractionated extract from peanut hull against *E.coli* (mg/mL)

花生壳提取物	500	250	125	62.5	31.25	15.63	7.81	3.91	1.95	0.98
石油醚提取物	-	-	-	+	+	++	+++	+++	+++	+++
三氯甲烷提取物	-	-	+	+	+	++	++	++	+++	+++
乙酸乙酯提取物	-	-	-	-	+	+	++	++	++	+++
无水乙醇提取物	-	-	-	-	+	++	++	+++	+++	+++
水提取物	-	-	-	+	++	++	++	+++	+++	+++

菌的抑菌效果最为明显,因此选其用于进行后续稳定性实验。

2.3 花生壳乙酸乙酯提取物抑菌稳定性

花生壳乙酸乙酯提取物抑菌稳定性的测定,未处理的花生壳乙酸乙酯提取物对金黄色葡萄球菌和大肠杆菌的抑菌圈直径分别为:(11.43 ± 0.04)、(10.61 ± 0.12) mm。

2.3.1 pH对花生壳乙酸乙酯提取物抑菌活性的影响 pH对花生壳乙酸乙酯提取物抑菌作用的影响如图1所示,随着pH的增大,抑菌圈直径呈现先增大后减小的趋势,pH为4~7时,与未处理组相比,其抑菌活性较稳定,即花生壳乙酸乙酯提取物的抑菌活性在中性或者弱酸性环境中活性较强,对于金黄色葡萄球菌,pH在4~6时逐渐增强,当pH为6时,金黄色葡萄球菌的抑菌直径达到最大值为(10.65 ± 0.39) mm,pH大于6,抑菌作用逐渐减小。对于大肠杆菌,pH在4~5时抑菌作用略有增加,当pH为5时,大肠杆菌的抑菌圈达到最大值为(10.07 ± 0.19) mm,pH大于5,抑菌作用减小。碱性环境中,抑菌作用显著下降(P < 0.05)。说明花生壳乙酸乙酯提取物中的有效抑菌成分易受到碱的破坏^[22],生物系统中的pH和代谢产物也可使多酚类化合物的结构发生改变,从而影响其特性^[23]。Quan等^[24]研究发现,在碱性条件下绿茶儿茶酚类物质会分解或变为同分异构体,导致其活性下降。另一方面,外界环境pH也会影响着微生物的生长,不同pH下微生物细胞膜电位、物质电离程度及溶解度不同^[25]。

2.3.2 温度处理对花生壳乙酸乙酯提取物抑菌活性的影响 温度处理对花生壳乙酸乙酯提取物抑菌活性的影响如图2所示,20~80℃处理30 min,其抑菌作用与未处理组相比变化不明显,具有良好的热稳定性。60℃处理后抑菌圈达到最大值,金黄色葡萄球菌和大肠杆菌的抑菌圈直径分别为(10.22 ± 0.18)、(9.28 ± 0.58) mm。过高或过低温度处理(0和100℃)会明显降低花生壳乙酸乙酯提取物的

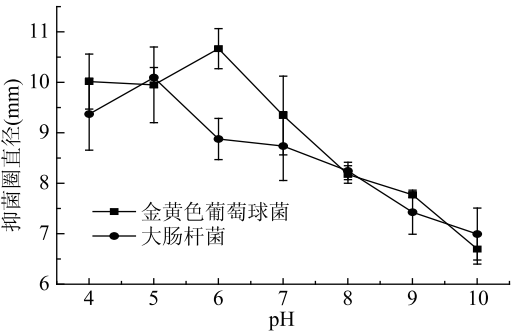


图1 pH对花生壳乙酸乙酯提取物抑菌活性的影响
Fig.1 Effect of pH on the antibacterial activity of ethyl acetate extract from peanut hull

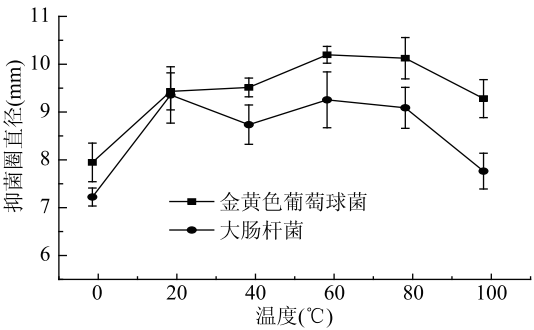


图2 温度对花生壳乙酸乙酯提取物抑菌活性的影响
Fig.2 Effect of temperature on the antibacterial activity of ethyl acetate extract from peanut hull

抑菌活性。

2.3.3 金属离子种类对花生壳乙酸乙酯提取物抑菌活性的影响 金属离子对花生壳乙酸乙酯提取物抑菌活性的影响如图3所示,与对照组相比,花生壳乙酸乙酯提取物中加入Cu²⁺、Fe²⁺、Al³⁺后,金黄色葡萄球菌和大肠杆菌的抑菌圈直径分别增长到(21.94 ± 1.12)、(20.195 ± 1.82)、(17.33 ± 1.75);(20.015 ± 0.58)、(21.43 ± 0.98)、(16.08 ± 1.06) mm,其抑菌活性明显增强;加入Mg²⁺、K⁺、Mn²⁺后,其抑菌活性明

显减低。原因一是 Cu^{2+} 、 Fe^{2+} 金属离子本身对菌体的生长存在抑制作用,金属离子能够使蛋白质(如酶)变性,破坏正常的生理活动,导致生命有机体中毒甚至死亡^[26];二是金属离子与抑菌成份发生螯合作用,从而提高其抑菌效力^[27]。叶倩等^[28]认为铁、锌等金属离子及其螯合物对鲍曼不动杆菌的抗菌活性具有一定的增强作用。铁、锌等金属离子通过与一系列酶的协同作用,调控外排泵或影响生物膜形成及其黏附性等来抑制细菌生长。

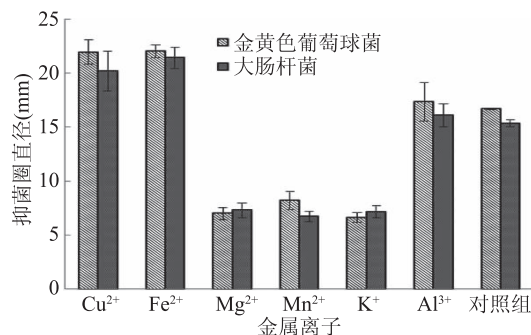


图3 金属离子对花生壳乙酸乙酯提取物抑菌活性的影响

Fig.3 Effect of metal ion on the antibacterial activity of ethyl acetate extract from peanut hull

2.3.4 紫外线照射对花生壳乙酸乙酯提取物抑菌活性的影响 紫外线照射对花生壳乙酸乙酯提取物抑菌活性的影响如图4所示,由图4可知,5~10 min 紫外线处理与未处理组相比,其抑菌活性比较稳定,但随着处理时间的增加,抑菌活性呈下降趋势,处理15 min 后,金黄色葡萄球菌和大肠杆菌的抑菌圈直径明显减小至 (9.04 ± 0.16) 、 (8.87 ± 0.44) mm。谢慧等^[29]研究表明随紫外辐射时间延长,辐射距离缩短,红枣色素中总多酚、花色苷和总黄酮含量明显降低。由此可推测花生壳乙酸乙酯提取物中的活性抑菌成分经紫外线处理后受到一定的破坏,从而影响了抑菌作用。

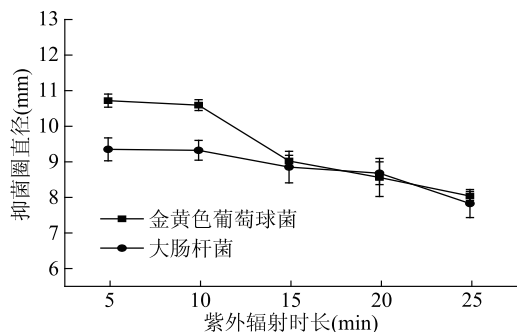


图4 紫外线对花生壳乙酸乙酯提取物抑菌活性的影响

Fig.4 Effect of UV on the antibacterial activity of ethyl acetate extract from peanut hull

3 结论

通过采用不同极性的有机溶剂分级提取,表明花生壳分级提取物对供试菌均有一定的抑制作用,其抑制作用的强弱与提取溶剂和试验菌种有关,提取物对于金黄色葡萄球菌、大肠杆菌、沙门氏菌的抑菌作用大小从大到小排列为:乙酸乙酯提取物 > 无

水乙醇提取物 > 三氯甲烷提取物 > 石油醚提取物 > 水提取物,对于枯草芽孢杆菌为乙酸乙酯提取物 > 无水乙醇提取物 > 三氯甲烷提取物 > 水提取物 > 石油醚提取物;不同供试菌对同一种提取物的敏感程度不同,对于乙酸乙酯提取物由强至弱排列为:金黄色葡萄球菌 > 枯草芽孢杆菌 > 大肠杆菌 > 沙门氏菌。通过比较抑菌圈直径和 MIC 值可知,花生壳乙酸乙酯提取物抑菌作用最为明显。

抑菌稳定性实验表明,随着 pH 的增大,抑菌圈的直径呈现先增大后减小的趋势,在中性或者弱酸性环境中活性较强,在碱性环境中抑菌作用明显降低。因此,在食品生产中,在 pH 较低的食品中能更好地发挥其抑菌作用。花生壳乙酸乙酯提取物在 20~80 °C 处理 30 min,具有良好的热稳定性;过高或过低温度处理(0 和 100 °C)会明显降低其抑菌活性,因此可应用于常温食品的防腐抑菌。5~10 min 紫外线处理,花生壳乙酸乙酯提取物的抑菌活性较稳定,但随着处理时间的延长其抑菌作用呈下降趋势。因此,在食品防腐过程中,在一定时间内可结合紫外共同杀菌处理。不同种类金属离子对花生壳乙酸乙酯提取物抑菌作用具有差异性, Cu^{2+} 、 Fe^{2+} 、 Al^{3+} 可增强其抑菌作用, Mg^{2+} 、 K^{+} 、 Mn^{2+} 可降低其抑菌作用。

花生壳提取物具有较高的抑菌活性,且在食品常规加工条件下,抑菌活性具有稳定性。因此,花生壳提取物用于食品天然防腐剂的开发具有良好的前景。但由于提取物中成分复杂,对于究竟是其中的哪些成分起到了抑菌作用及其抑菌机理还需要进一步的探讨与研究。

参考文献

- [1] 石亚中,伍亚华.花生壳综合利用研究现状[J].花生学报,2008,37(2):41-44.
- [2] 沈达,周晓燕,韩书广.花生壳综合利用研究进展[J].木材加工机械,2017,28(1):43-46.
- [3] 徐涛,刘晓勤.花生壳活性炭研究进展[J].花生学报,2007(3):1-4.
- [4] 岳青.花生壳综合利用研究进展[J].粮油食品科技,2013,21(5):40-42.
- [5] Sun X M, Ye H Q, Liu J B, et al. Evaluation of anti-diabetic activity of peanut shell polyphenol extract[J]. Journal of Zhejiang University-Science B (Biomedicine & Biotechnology), 2018, 19(10):764-775.
- [6] 伍阳阳,胡剑勇,邓仕英.花生壳中多酚的提取及其含量测定[J].化学工程与装备,2018,10(10):9-10.
- [7] Francisco, Resurreccion. Functional components in peanuts[J]. Critical Reviews in Food Science and Nutrition, 2008, 48(8):715-746.
- [8] 杨国峰,周建新,汪海峰,等.花生壳提取物的制备及其抗氧化与抗菌活性的研究进展[J].食品与发酵工业,2007(2):97-101.
- [9] 周建新.植物源天然食品防腐剂的研究现状、存在问题及前景[J].食品科学,2006(1):263-268.
- [10] 丁爱凤,汪海峰,杨晓蓉,等.不同品种、类型花生壳中木

(下转第130页)

参考文献

- [1] 杨锁成. 中药鉴别精要[M]. 郑州: 河南科学技术出版社, 2006: 139.
- [2] 徐宁, 谭兴和, 王锋, 等. 减压蒸馏分离柑桔皮精油中柠檬烯的研究[J]. 食品工业科技, 2014, 35(2): 222-225.
- [3] Zhou Y M, Chen Y P, Guo J S, et al. Recycling of orange waste for single cell protein production and the synergistic and antagonistic effects on production quality [J]. Journal of Cleaner Production, 2019, 213: 384-392.
- [4] Dosoky N S, Setzer W N. Biological activities and safety of *Citrus* spp. essential oils [J]. International Journal of Molecular Sciences, 2018, 19(7): 1966.
- [5] Tisserand R, Young R. Essential oil safety (second edition) [M]. New York: Elsevier, 2014: 371-372.
- [6] Zahi M R, Liang H, Yuan Q P. Improving the antimicrobial activity of D - limonene using a novel organogel - based nanoemulsion [J]. Food Control, 2015, 50: 554-559.
- [7] Roberto D, Micucci P, Sebastian T, et al. Antioxidant activity of limonene on normal murine lymphocytes: Relation to H₂O₂ modulation and cell proliferation [J]. Basic & Clinical Pharmacology & Toxicology, 2010, 106: 38-44.
- [8] 黄巧娟, 孙志高, 龙勇, 等. D-柠檬烯抗癌机制的研究进展[J]. 食品科学, 2015, 36(7): 240-244.
- [9] Nogueira J, Vinturelle R, Mattos C, et al. Acaricidal properties of the essential oil from *Zanthoxylum caribaeum* against *Rhipicephalus microplus* [J]. Journal of Medical Entomology, 2014,

犀草素含量的初探[J].中国油脂,2005(5):51-54.

- [11] Zhang G W, Hu M M, Li H, et al. Optimization of microwave-assisted enzymatic extraction of polyphenols from waste peanut shells and evaluation of its antioxidant and antibacterial activities *in vitro* [J]. Food and Bio Products Processing, 2012, 9 (3): 158-168.
- [12] 赵二劳, 杨洁, 赵三虎. 花生壳中黄酮类成分提取纯化工艺研究进展[J]. 中国粮油学报, 2018, 33(5): 128-134.
- [13] 汪海峰, 曹锡忠, 杨慧萍, 等. 花生壳甲醇提取物中木犀草素的分离与鉴定研究[J]. 中国粮油学报, 1997(3): 50-54.
- [14] 陈春涛, 马庆一, 高玉美, 等. 花生壳中木犀草素等抑菌活性成分的提取、纯化与研究[J]. 食品科学, 2003(5): 84-88.
- [15] 刁明明, 齐丹萍, 张充, 等. 半乳糖基甘油月桂酸单酯的抑菌活性和稳定性[J]. 食品科学, 2016, 37(15): 1-6.
- [16] 陈佳佳, 刘凡, 廖森泰, 等. 桑叶提取物抑菌活性及抑菌稳定性研究[J]. 食品工业科技, 2012, 33(9): 88-91.
- [17] 徐亚超, 盛杰, 刘安军. 白酒发酵副产物黄水抑菌特性及稳定性研究[J]. 食品科学, 2017, 38(15): 122-126.
- [18] 李军, 李平兰, 王顺, 等. 萝卜籽蛋白提取物对鲟鱼腐败菌抑制作用及其理化性质的研究[J]. 食品科学, 2018, 39(13): 41-46.
- [19] Alisa mamaeva, Arash tahmasebi, Yu J L. The effects of mineral salt catalysts on selectivity of phenolic compounds in bio-oil during microwave pyrolysis of peanut shell [J]. Korean Journal of Chemical Engineering, 2017, 34(3): 672-680.
- [20] Bishnu adhikari, Sanjeev kumar dhungana, Muhammad waqas Ali, et al. Antioxidant activities, polyphenol, flavonoid, and

- 51(5):971-975.
- [10] Gerchman D, Bones B, Pereira M B, et al. Thin film deposition by plasma polymerization using D - limonene as a renewable precursor[J]. Progress in Organic Coatings, 2019, 129:133-139.
- [11] Shukla P, Pant A, Pandey R. Limonene attenuates oxidative stress and extends longevity in *Caenorhabditis elegans*[J]. Current Science, 2019, 116(6):959-965.
- [12] 徐宁, 谭兴和, 张喻, 等. 柑橘精油中柠檬烯提取方法研究进展[J]. 粮油食品科技, 2013, 21(4):41-44.
- [13] 牛放, 高俊明, 段雪薇, 等. 响应面法优化野菊花多糖的水解工艺[J]. 食品工业科技, 2019, 40(1):156-161.
- [14] Zahi M R. 一种新型 D-柠檬烯纳米系统的制备以及其抗菌活性的测定[D]. 北京: 北京化工大学, 2015.
- [15] 梁奇峰, 吴慧苹, 彭梦侠. 衰减全反射-傅里叶变换红外光谱法测定橙子油中柠檬烯的含量[J]. 理化检验-化学分册, 2014, 50(9):1121-1123.
- [16] 戴建英, 刘春娇, 孙亚琴, 等. 盐析萃取生物基化学品的研究进展[J]. 生物工程学报, 2013, 29(10):1441-1449.
- [17] 马娜, 孙伟鹏, 包玲, 等. 响应面优化盐析萃取万寿菊中叶黄素的研究[J]. 中国食品添加剂, 2017(6):57-64.
- [18] 贾继朝, 杨国恩, 昌星, 等. 固体超强酸 $\text{SO}_4^{2-}/\text{ZrO}_2$ 的制备及催化合成异松油烯的研究[J], 化学世界, 2018, 59(10):679-685.
- [19] 吉喆. 稀酸碱预处理过程中植物细胞壁解构研究[D]. 北京: 北京林业大学, 2016.
- [20] 葛华才, 袁高清, 彭程. 物理化学(多媒体版)[M]. 北京: 高等教育出版社, 2008:107-109.

- amino acid contents in peanut shell [J]. Journal of the Saudi Society of Agricultural Sciences, 2018, 53(5): 1120-1130.
- [21] 张贝, 白卫东, 冯卫华, 等. 柠檬皮中柠檬苦素的提取及其抑菌稳定性研究[J]. 安徽农业科学, 2018, 46(10): 150-152.
- [22] 林姣. 花生壳木犀草素的提取分离及抗菌作用的研究[D]. 南京: 南京财经大学, 2013.
- [23] Huang D, Ou B, Prior R L. The chemistry behind antioxidant capacity assays[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2005, 53(6): 1841-1856.
- [24] Quan V V, John B G, Costas E S, et al. Effects of aqueous brewing solution pH on the extraction of the major green tea constituents [J]. Food Research International, 2013, 53(2): 713-719.
- [25] 刘成荣. pH 对桑黄 TH021 菌株液体发酵抗氧化能力的影响[J]. 西北农林科技大学学报: 自然科学版, 2016, 44(9): 214-220.
- [26] Vuong Q V, Golding J B, Stathopoulos C E, et al. Effects of aqueous brewing solution pH on the extraction of the major green tea constituents [J]. Food Research International, 2013, 53(2): 713-719.
- [27] 赵雪淞, 王冬旭, 刘鑫, 等. 金属离子对中等嗜热混合菌活性的影响[J]. 生物技术通报, 2017, 33(12): 151-155.
- [28] 叶倩, 郑以山, 黄和. 金属离子铁和锌对鲍曼不动杆菌的抗菌作用机制研究进展[J]. 微生物与感染, 2018, 13(5): 313-318.
- [29] 谢惠, 张丽芬, 邵佩兰, 等. 紫外辐射对红枣色素抗氧化活性的影响[J]. 食品工业科技, 2017, 38(23): 44-48.