

温州蜜柑叶片水提取液的抑菌效果

何冬兰, 陈新朝

(中南民族大学国家民委生物技术重点实验室, 湖北 武汉 430074)

Study on the antibacterial activity of water extract from leaf of *Citrus unshiu* Marc HE Dong-lan, CHEN Xin-chao (Key Laboratory of Biotechnology of the State Ethnic Affairs Commission of the People's Republic of China, South-Central University for Nationalities, Wuhan 430074, China), *J. Plant Resour. & Environ.* 2004, 13(2): 62-63

Abstract: The antibacterial activity of the water extract from leaf of *Citrus unshiu* Marc was studied. The results indicated that 0.17-0.50 g·mL⁻¹ leaf extract from *C. unshiu* had different antibacterial activities to *Escherichia coli* (Migula) Castellani et Chalmers, *Staphylococcus aureus* Rosenbach, *Candida albicans* (Robin) Berkhout and *Bacillus subtilis* (Ehrenberg) Cohn, diameters of antibacterial zone were 0.14-0.38 cm. The antibacterial activity to *E. coli* was the best with the water extract, the diameters of antibacterial zone were 0.22-0.38 cm. With the concentration of the leaf extract increased, the antibacterial activity to the tested bacteria and yeast gradually increased.

关键词: 温州蜜柑; 叶片; 水提取液; 抑菌活性

Key words: *Citrus unshiu* Marc; leaf; water extract; antibacterial activity

中图分类号: S666.9.9 文献标识码: A 文章编号: 1004-0978(2004)02-0062-02

柑橘除部分品种用于鲜食和加工外,许多品种的果实及下脚料未得到充分的综合利用^[1]。自20世纪60年代以来,国内外学者对不同柑橘品种中的60多种类黄酮的提取、纯化及结构测定、类黄酮的药理学及其他应用方面进行了研究^[2-4]。研究发现: 槲皮酮和橘皮苷能显著抑制脊髓灰质炎病毒、单纯性疱疹病毒、副流感病毒等病毒的感染和复制; 多甲基黄酮如橙黄酮、蜜橘黄素和柑橘黄酮具有抗病毒和抗菌的作用^[5-8]。但尚未见柑橘叶生理活性物质提取及其对常见细菌和真菌的抑菌实验的报道。本文初步研究了温州蜜柑叶片提取液对大肠杆菌、枯草芽孢杆菌、金黄色葡萄球菌、白色念珠菌的抑菌作用,旨在为进一步开发利用柑橘叶提供依据。

1 材料与方 法

1.1 研究材料

培养基: 牛肉膏蛋白胨培养基^[9]。

供试菌种: 大肠杆菌[*Escherichia coli* (Migula) Castellani et Chalmers], 金黄色葡萄球菌(*Staphylococcus aureus* Rosenbach), 白色念珠菌[*Candida albicans* (Robin) Berkhout], 枯草芽孢杆菌[*Bacillus subtilis* (Ehrenberg) Cohn], 均由中南民族大学微生物室提供。

样品于2002年3-6月采自中南民族大学柑橘园内,经鉴定为温州蜜柑(*Citrus unshiu* Marc)。

1.2 实验方法

1.2.1 叶片水提取液的制备 随机取树枝上、中、下部分一二年生叶片洗净,晾干,混合。取晾干叶片50 g剪成小片,加入少量水后用组织捣碎机捣碎,超声波破碎15 min,直至碎

片成为浆状,补足水分至100 mL,密封,4℃静置16 h,于4℃下4 000 r·min⁻¹离心15 min,取上清液,用细菌过滤器过滤,滤液即为叶片水提取液原液。

1.2.2 菌种培养 将斜面菌种在牛肉膏蛋白胨培养基上活化培养2次,然后取1环接种到50 mL牛肉膏蛋白胨液体培养基中,于37℃、225 r·min⁻¹振荡培养18 h,备用。

1.2.3 抑菌实验 菌种浓度: 菌种使用浓度为10⁵~10⁶个·mL⁻¹。

抑菌剂为30%、50%和80%温州蜜柑叶片水提取液及其原液,水和5%石炭酸(phenol)作为对照。

抑菌实验采用小圆形滤纸法^[9]: 分别加入各供试菌种0.5 mL于牛肉膏蛋白胨平板培养基上,涂布均匀,待菌种吸附后,每皿中分别放入5片直径为0.5 cm、浸透各抑菌剂的圆形滤纸,3个重复,37℃培养24 h,测量滤纸片周围形成的抑菌圈的直径,重复3次,取其平均值。

2 结果与分析

不同浓度温州蜜柑叶片水提取液的抑菌圈直径的比较结果见表1。由表1可知,不同浓度的叶片水提取液对大肠杆菌[*Escherichia coli* (Migula) Castellani et Chalmers], 金黄色葡萄球菌(*Staphylococcus aureus* Rosenbach), 白色念珠菌[*Candida albicans* (Robin) Berkhout]和枯草芽孢杆菌[*Bacillus subtilis* (Ehrenberg) Cohn]有不同的抑菌作用,在30%~100%水提液

收稿日期: 2003-08-08

基金项目: 中南民族大学自然科学基金资助项目(YZY02009)

作者简介: 何冬兰(1964-),女,湖北孝感人,硕士,副教授,主要从事植物和微生物资源学和生物化学方面的研究工作。

表1 不同浓度温州蜜柑叶片水提取液的抑菌效果

Table 1 The antibacterial activities of different concentration of the water extract from leaf of *Citrus unshiu* Marc

供试菌种 Tested species	对照组抑菌圈直径/cm Diameter of antibacterial zone of controls		不同浓度叶片水提取液的抑菌圈直径/cm Diameter of antibacterial zone of different concentration of leaf extract			
	H ₂ O	5% phenol	30%	50%	80%	100%
大肠杆菌 <i>Escherichia coli</i>	0	0.36	0.22	0.24	0.35	0.38
金黄色葡萄球菌 <i>Staphylococcus aureus</i>	0	0.32	0.26	0.28	0.31	0.31
白色念珠菌 <i>Candida albicans</i>	0	0.30	0.16	0.19	0.20	0.22
枯草芽孢杆菌 <i>Bacillus subtilis</i>	0	0.24	0.14	0.18	0.18	0.21

浓度范围内浓度越高,抑菌效果越显著。水提取液原液和80%水提液即叶片含量分别为0.5和0.4 g·mL⁻¹的处理组对大肠杆菌、金黄色葡萄球菌的抑菌效果同5%石炭酸的抑菌效果基本持平,而对白色念珠菌和枯草芽孢杆菌的抑菌效果则略逊于5%石炭酸,但不同浓度叶水提取液对金黄色葡萄球菌抑菌效果的差异最小;30%、50%水提液对4种供试菌都有一定的抑菌效果,但低于5%石炭酸的抑菌率,特别是对白色念珠菌和枯草芽孢杆菌的抑菌效果较差。这可能与微生物细胞的细胞壁结构和成分有关。

柑橘叶内成分较复杂,其抗菌成分是橘皮油还是柑橘类黄酮类物质有待进一步研究^[12,13]。

参考文献:

- [1] 方修贵,黄振东,林媚,等.柑橘果皮功能性物质及其联产工艺[J].食品工业科技,2002,23(12):75-77.
- [2] 赵雪梅,朱大元,叶兴乾,等.柑橘属中类黄酮的研究进展[J].天然产物研究与开发,2002,14(1):89-92.
- [3] Oighe W C, Oighe S J. Characterization of orange juice (*Citrus sinensis*) by polymethoxylated flavones[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 1994, 42: 2191-2195.
- [4] Robbins R C. Regulatory action of phenyllenzoyl pyrone (PBP) derivation blood constituents affecting rheology in patients with coronary heart disease (CHD)[J]. Int J Vit Nutr Res, 1976, 46: 338-347.
- [5] Kupchan S M, Knox J R, Udayamurthy M S. Tumor inhibitors. 8. Eupatorin, a new cytotoxic flavone from *Eupatorium semiserratum* [J]. J Pharm Sci, 1965, 54(6): 929-930.
- [6] Aziz A. Nobiletin is main fungistat in tangerines resistant to Mal Secco [J]. Science, 1967, 155: 1026-1027.
- [7] Huet R. Constituents of citrus fruits with pharmacodynamic effect: citroflavonoids[J]. Fruits, 1982, 37: 267-271.
- [8] DelRio J A, Benavente-Garc'a O, Castillo J. Citrus polymethoxylated flavones can confer resistance against *Phytophthora citrophthora*, *Penicillium digitatum* and *Geotrichum* sp[J]. Journal Agricultural and Food Chemistry, 1998, 46: 4423-4428.
- [9] 许钢,张虹,俞国科.竹叶提取物抑菌效果探讨[J].山西食品工业,2000(3):21-23.
- [10] 范秀容,李广武,沈萍.微生物学实验[M].北京:高等教育出版社,1998.144-147.
- [11] 赵国华,陈宗道.柑橘类黄酮生物活性的研究进展[J].食品与发酵工业,2001,27(3):71-75.
- [12] 孙凌峰,刘秀娟,叶文峰,等.柑橘油和萜烯的性质及制取方法[J].林产化工通讯,2000,34(6):19-24.