

# 植物源天然防腐剂来源及其抗菌物质基础

张海玲 (合肥师范学院生命科学学院, 安徽合肥 230601)

**摘要** 随着人们健康意识的提高,非化学合成的植物源天然防腐剂逐渐受到人们的关注。主要从防腐剂的植物来源及抗菌的物质基础两方面进行探讨,并指出其在开发利用中存在的问题,旨在为植物源天然防腐剂的研究提供参考。

**关键词** 植物源;天然防腐剂;抗菌;物质基础

**中图分类号** TS202.3 **文献标识码** A **文章编号** 0517-6611(2017)33-0076-03

## Botanical Natural Food Preservative and Their Antimicrobial Material Basis

ZHANG Hai-ling (School of Life Sciences, Hefei Normal University, Hefei, Anhui 230601)

**Abstract** With the rising awareness of health, non-chemosynthetic botanical natural food preservative draws public attention gradually. In this article, food preservative from natural resource and antimicrobial material basis are discussed. Meanwhile, the problems during the research and development are presented, regarded as the future reference for the research of botanical natural food preservative.

**Key words** Botanical; Natural food preservative; Antimicrobial; Material basis

食品在加工、保藏、储运过程中易受微生物侵染造成腐败,不仅使之丧失营养价值而产生损失浪费,还会引起食物中毒从而危害健康。延长食品保藏期限最为方便和经济的技术是添加食品防腐剂。过去人们大都使用合成防腐剂如苯甲酸、山梨酸及其盐类等,但经长期研究发现,这类化学合成防腐剂的过量使用会有致癌性、致畸性和易引起食物中毒等危害,还可能对人体造成积累性慢性伤害。例如日本全面禁止在食品、药品、化妆品中使用苯甲酸钠;也有相关对羟基苯甲酸酯类对人体不利影响的报道等<sup>[1-3]</sup>。

天然防腐剂因其抗菌谱广、性能稳定、安全性较高等优点,成为近年研究开发的热点。天然防腐剂主要来源于动植物提取物和微生物及其代谢产物。我国现有种子植物约25 700种,蕨类植物2 400余种,苔藓植物2 100多种,合计有高等植物30 000多种<sup>[4]</sup>,我国的植物多样性为开发天然防腐剂提供了宝贵的资源。

## 1 植物源天然防腐剂的植物来源

**1.1 中草药来源** 1994年出版的《中国中药资源志要》收录了分布于383科2 313属共11 020种的药用植物<sup>[5]</sup>。大量的试验证实了多数中草药对多种菌有抑制杀灭作用,同时在中草药中寻找天然防腐剂也是我国独有的研究领域。经大量试验证实,多数中草药均有较好的抑菌作用,目前中草药抑菌试验中发现黄连的抑菌能力最强,其次为大黄、黄芩、大青叶、艾叶、鱼腥草等,再其次为黄柏、玄参、连翘、知母、马鞭草、乌梅、白头翁、茵陈、蒲公英等<sup>[6]</sup>。

杨文侠等<sup>[7]</sup>采用70%乙醇为浸提剂,研究了7种药食同源植物对脐橙致腐霉菌的抑菌效果,发现脐橙经厚朴提取物处理后腐烂率减少了59.7%,防腐效果最好。高伦江<sup>[8]</sup>研究发现,余甘子果实70%乙醇提取物对细菌抑菌活性最强,其次为酵母,而对霉菌几乎没有抑菌活性,粗提物对热有较好的稳定性,抑菌效果随着食品基质pH的减小而增强,分离后

得到抑菌单体物质没食子酸、槲皮素和齐墩果酸,但发现抑菌活性并没有因单体纯度提高而增强,表明粗提物中可能存在具有协同抑菌作用的物质。张雁南等<sup>[9]</sup>研究发现,丁香和甘草复配液存在协同抑菌作用,对细菌最低抑菌浓度为3.125 mg/mL,对霉菌则为6.25 mg/mL,在较低质量浓度下便可达到较好的抑菌效果。但中草药复配也可能存在拮抗效应,王蝉<sup>[10]</sup>研究发现,单一中草药植物提取液的保鲜效果要强于复配提取液,可能是由于单一成分之间存在拮抗效应,使得各成分的相互作用小于单一组分加和的抑菌效果,进而降低了抑菌活性。

**1.2 香辛料来源** 香辛料为食品烹调中常见调味料,如姜、蒜、丁香、肉桂、花椒、茴香、薄荷、桂皮等,其中含有的挥发油使得大多数香辛料都具有天然的抗菌作用。Hernández等<sup>[11]</sup>研究发现,孜然、丁香挥发油对肉中常见的5种病原菌的抑菌浓度分别为500和750 mg/L,对肉的保鲜效果显著。刘瑜等<sup>[12]</sup>研究了3种不同部位姜挥发油对6种菌的抑菌活性,发现抑菌强弱顺序为姜皮挥发油、全姜挥发油、去皮姜挥发油,其中姜皮挥发油对6种菌的最低抑菌浓度均小于0.9 mg/mL。大蒜素是从大蒜鳞茎中分离出的具有广谱抗菌活性的硫醚化合物,也存在于洋葱和其他葱科植物中。研究发现,大蒜素对10种细菌的LD<sub>50</sub> ≤ 15 μg/mL<sup>[13-14]</sup>。Hussein等<sup>[15]</sup>研究了大蒜素对5种鱼类病原菌的抗菌作用,发现最低抑菌浓度仅为63~500 μg/mL。

利用纳米包埋的手段可克服香辛料提取物易挥发的缺陷,包埋后的缓释作用可有效地延长提取物的保鲜作用时间。刘占东等<sup>[16]</sup>采用离子凝胶法制备了一种壳聚糖纳米粒的肉桂精油,包埋质量分数1%的肉桂精油壳聚糖纳米粒试验组的冷却肉在(4.0 ± 0.5) °C时储藏期可达6 d,明显优于对照组3 d的储藏期。此外,不同香辛料复配以及香辛料提取物与其他天然防腐剂复配,可有效提高其抗菌强度,两者之间存在一定的协同抗菌作用。杨柳等<sup>[17]</sup>研究发现,丁香精油和肉桂精油按1:1比例复配时,对大肠杆菌的抑菌效果要优于单一精油;吕晓楠等<sup>[18]</sup>利用乳酸链球菌与黄芩、黄连、大黄按1:6、1:5、1:6复配后进行抑菌试验,结果表明复配

**基金项目** 合肥师范学院青年基金项目(2015QN17)。

**作者简介** 张海玲(1987—),女,安徽合肥人,助教,硕士,从事天然产物提取与研究。

**收稿日期** 2017-10-18

物效价分别是乳酸链球菌的 1.78、1.54、1.27 倍。

**1.3 果蔬来源** 果胶是一种水溶性天然聚合物,广泛存在于柠檬、橙、柚、柑橘、葡萄等果皮中或甜菜、苹果等废渣中,果胶的酶分解物在酸性条件下( $\text{pH} < 6$ )具有抗菌作用,主要的抗菌物质是聚半乳糖醛酸和半乳糖醛酸<sup>[19]</sup>。李拖平等<sup>[20]</sup>研究发现,在  $\text{pH} 5$  的条件下,10 mg/mL 乳酸钠与 5 mg/mL 的山楂果胶分解物——果胶寡糖的复配物即可完全抑制枯草芽孢杆菌的生长,防腐效果出色。李大峰等<sup>[21]</sup>发现,适度水解的柚皮果胶对大肠杆菌、枯草芽孢杆菌、金黄色葡萄球菌的最低杀菌浓度为 3.75、7.50、7.50 g/L,水解过度会使得具有较高抑菌活性的低聚半乳糖醛酸进一步水解为抑菌活性较弱的 D-半乳糖醛酸。邱蓉蓉<sup>[22]</sup>研究发现,石榴皮的乙醇提取物对常见的 9 种食品腐败菌均有抑制作用,且提取物经过高温处理及紫外线照射后抗菌活性依然没有减弱。

常见的瓜果蔬菜也具有一定抗菌活性,郭奇等<sup>[23]</sup>发现,黄瓜、南瓜、苦瓜、冬瓜和丝瓜 5 种瓜类蔬菜的有机溶剂提取物对大肠杆菌和金黄色葡萄球菌均有一定程度的抑菌效果,其中南瓜的乙酸乙酯提取物抑菌活性最强。Miceli 等<sup>[24]</sup>研究发现,琉璃苣、芥菜叶的水浸液对常见的 35 株食源性细菌均有抑制作用,其中芥菜叶对革兰氏阳性细菌的抗菌效果更强,琉璃苣叶对革兰氏阴性细菌的抗菌效果更强。

**1.4 野生植物及其他来源** 荸荠味甜多汁、清脆可口、营养丰富。Zhan 等<sup>[25]</sup>研究发现,荸荠皮的乙酸乙酯提取物对金黄色葡萄球菌、大肠埃希氏菌和李斯特菌均有抑制作用,通过检测发现活性物质为 10 种黄酮苷元。茶多酚为茶叶中多酚类物质总称,已被 GB2760—2011 收录作为抗氧化剂使用,但它也具有较弱的抗菌活性,其中的表没食子儿茶素没食子酸酯为其抗菌的主要活性成分<sup>[26]</sup>。甘蔗糖蜜为制糖工业副产品,Takara 等<sup>[27]</sup>从中分离出 2 种酚类物质,发现对引起龋齿的表兄链球菌最低抑菌浓度为 4 mg/mL。WANG 等<sup>[28]</sup>利用丙酮提取板栗壳中含有的单宁类物质,发现其对不同细菌均有抑制作用,对大肠杆菌的最低抑菌浓度仅为 97.65  $\mu\text{g}/\text{mL}$ 。松针的水提取物对大肠杆菌、普通变形杆菌、金黄色葡萄球菌、枯草芽孢杆菌和蜡状芽孢杆菌表现出较强抑菌活性,对 5 种菌的最低抑菌浓度为 0.78 ~ 12.50 mg/mL<sup>[29]</sup>;松针的精油提取物表现出更强的抑菌活性,对大肠杆菌、金黄色葡萄球菌、枯草芽孢杆菌、蜡状芽孢杆菌、酿酒酵母、黑曲霉、青霉等 9 种常见食品污染菌的最低抑菌浓度仅为 0.20 ~ 1.56  $\mu\text{g}/\text{mL}$ <sup>[30]</sup>。此外,荷叶、艾叶、花生壳、竹叶、银杏叶、蒲公英等均有不同程度的抗菌作用。

## 2 植物源天然防腐剂抗菌的物质基础

**2.1 简单酚类和酚酸** 中药材当归、川穹富含阿魏酸,通常以阿魏酸为有效成分来评价其优劣,阿魏酸具有抗炎作用,在欧美国家已被批准用做食品抗氧化剂<sup>[31]</sup>。常见的草本植物龙蒿叶和百里香含有的咖啡酸,对病毒、细菌、真菌均有较好的抑制作用<sup>[32]</sup>。Zeng 等<sup>[29]</sup>对松针水提取物进行分离纯化后发现,提取物中主要抑菌成分为莽草酸。

肉桂酸、儿茶酚和没食子酚都是常见的羟基取代酚,它

们的羟基取代位点及数目被认为对微生物的毒性有关,有研究表明,随着羟基化数目的增加对微生物的毒性也随之增加。另有研究发现,酚氧化程度越高,对微生物抑制越强<sup>[33]</sup>。酚类对微生物的毒性机制包括氧化物对酶的抑制作用,可能是通过与蛋白质的巯基反应或通过与蛋白质的非特异性相互作用而产生<sup>[34]</sup>。

**2.2 醌类** 在中药中以蒽醌及其衍生物为主,还有一部分不同程度的还原产物,如蒽酚、氧化蒽酚、蒽酮及其二聚体,主要存在于蓼科的大黄、何首乌、拳参、虎杖,豆科的番泻叶、决明子,百合科的芦荟,茜草科的鼠李、茜草等植物中<sup>[31]</sup>。田兵等<sup>[35]</sup>发现,从芦荟中得到的蒽醌化合物芦荟苷是主要抗菌成分,具有较强的抑制革兰氏阳性菌能力。Kazmi 等<sup>[36]</sup>研究发现,意大利番泻叶中含有的蒽醌类物质对炭疽杆菌、假白喉棒状杆菌、铜绿色假单胞菌有抑制作用,对类鼻疽伯克氏菌有杀菌作用。蒽醌类化合物对微生物的毒性机制为通过抑制菌体糖代谢中间产物的氧化及脱氢过程,并与 DNA 结合,抑制核酸及蛋白质合成<sup>[37]</sup>。

**2.3 黄酮类** 黄酮类化合物泛指 2 个苯环通过中央三碳相互连接而成的一系列化合物,广泛分布于植物界,花、叶、果中的黄酮类常以苷的形式存在,而木质部中多为游离的黄酮类,竹叶、银杏叶、槐米、荷叶、陈皮、黄芩、葛根等都含有黄酮类化合物<sup>[38]</sup>。黄酮类化合物如槲皮素、鼠李素、黄芩苷、木犀草素和石吊蓝苷表现出抗菌活性,二氢槲皮素、山奈酚有抗病毒活性。渡边和浩<sup>[39]</sup>发现,甘草查耳酮对 HIV 病毒有一定抑制作用。儿茶素是黄酮类化合物在 C3 单元的最简化形式,在体外表现出对霍乱弧菌 O1、变形链球菌、痢疾杆菌和其他细菌和微生物的抑制作用<sup>[40]</sup>。大量研究表明,黄酮类化合物对细菌的抑制效果明显,但对霉菌和酵母效果较弱。抗菌活性可能由于它们可以与细胞外可溶性蛋白、细胞膜形成复合物,许多亲脂类黄酮还可能破坏微生物细胞膜<sup>[41]</sup>。

**2.4 单宁类** 单宁又称鞣质,是一类水溶性多酚类化合物,分为水解鞣质和缩合鞣质两大类,分子量为 500 ~ 3 000,广泛存在植物的树皮、果皮、叶、果实、根茎上,对细菌、真菌和酵母菌有明显抑制作用,如柿子鞣质对破伤风杆菌、葡萄球菌、白喉杆菌有抗性,茶叶、槟榔中的缩合鞣质,丹皮、熊果、老鹳草中的水解鞣质对链球菌有抗性<sup>[37]</sup>。单宁具有抑菌作用的机制主要有以下几点:一是单宁与生物大分子(如蛋白质、纤维素、半纤维素、胶质等)的络合反应;二是单宁与金属离子的螯合作用(降低了含金属酶的活性);三是单宁可以降低细胞膜的流动性,抑制细胞膜合成<sup>[42]</sup>。

**2.5 萜类** 萜类是各类天然产物中种类最多的一类化合物,其中单萜、倍半萜及其含氧衍生物是植物挥发油的主要组成成分,富含挥发油的植物有菊科、木兰科、唇形科、芸香科、伞形科、姜科、樟科、禾本科等,例如菊、八角、薄荷、橙、当归、樟树、丁香等都含有挥发油,具有抗菌活性<sup>[37]</sup>。Knobloch 等<sup>[43]</sup>提出了植物挥发油在水中的溶解度直接影响挥发油有效成分透过细胞壁进入菌体的能力,而抗菌性则基于在菌体

细胞膜双磷脂层中的溶解度;挥发油中的类萜类降低了生物膜的稳定性,从而干扰了能量代谢的酶促反应的观点。

**2.6 生物碱类** 狭义地讲,植物中的含氮有机化合物(蛋白质、肽类、氨基酸及维生素 B 除外)称为生物碱。按化学结构类型可分为异喹啉类、喹啉类、吲哚类、哌啶类、萜类、甾体类、肽类生物碱等,大多数生物碱具有抗菌作用。李杨等<sup>[44]</sup>报道了 79 个具有抗菌活性的生物碱,其中最受关注的为传统民间药用植物中的异喹啉生物碱,但有关生物碱的抗菌作用是否与含氮官能团相关还有待进一步研究。通过对生物碱的结构修饰也可得到更强抗菌活性的物质, Park 等<sup>[45]</sup>通过对小檗碱和 9-去甲小檗碱的结构修饰,在 C-13 位上引入不同芳香基团,使得新的衍生物具有了更好的细胞膜渗透性,显著提高了抗真菌活性。

**2.7 多肽类** 植物抗菌肽主要为二硫键铰链多肽类,这些抗菌肽几乎都富含半胱氨酸,而且所有的半胱氨酸都具有分子内二硫键结构<sup>[46]</sup>。海洋生物为适应特殊生存环境和防御天敌,代谢出许多结构新颖、功能独特的活性肽、蛋白质和生物酶类,是寻找抗菌物质具有开发潜力的领域, Tan 等<sup>[47]</sup>从红海藻中分离出七环肽 ceratospongamide,其反式异构体具有很强的抗炎作用( $ED_{50} = 32 \text{ nmol/L}$ )。

### 3 问题及展望

我国具有开发植物源天然防腐剂的资源优势,但在其研究与开发中仍存在以下问题:①植物源防腐剂的开发需要植物学、微生物学、食品科学、毒理学、中医药学和生物化学等多门学科的理论为基础,但目前各学科交叉合作较少,在探索中做了许多重复的工作,导致天然防腐剂开发缺乏系统的理论指导。②目前植物提取物的研究还大多集中在粗提物,防腐的作用机理、抗菌谱和可应用范围研究也不够清楚,甚至部分植物提取物中到底是何种物质起作用还不清楚,导致无法进行毒理学评价。③在对植物源防腐剂从各方面进行研究的同时,必须对其现有标准或规定等内容不断地进行补充、完善,为植物源防腐剂的开发提供指导。21 世纪是个“绿色”的世纪,绿色食品、有机食品的发展离不开植物源防腐剂的开发和应用,开发广谱、高效、安全、低成本的植物源防腐剂将会成为下一个食品工业中的热点。

### 参考文献

[1] 唐春红. 天然防腐剂与抗氧化剂[M]. 北京:中国轻工业出版社,2010.  
 [2] ISHIWATARI S, SUZUKI T, HITOMI T, et al. Effects of methyl paraben on skin keratinocytes[J]. Journal of applied toxicology, 2007, 27(1): 1-9.  
 [3] HANDA O, KOKURA S, ADACHI S, et al. Methylparaben potentiates UV-induced damage of skin keratinocytes[J]. Toxicology, 2006, 227(1/2): 62-72.  
 [4] 周立刚. 植物抗菌化合物[M]. 北京:中国农业科学技术出版社,2005.  
 [5] 中国药材公司. 中国中药资源志要[M]. 北京:科学出版社,1994.  
 [6] 钱昆,周涛. 植物源天然防腐剂应用和机理研究的最新进展[J]. 中国食品添加剂, 2006(5): 100-103.  
 [7] 杨文侠,邓利珍,周亮,等. 植物提取液对脐橙致腐青霉菌的抑菌研究[J]. 食品工业, 2013, 38(12): 238-241.  
 [8] 高伦江. 余甘子抑菌活性及防腐应用研究[D]. 重庆:西南大学,2008.  
 [9] 张雁南,宁志亮,陈长武,等. 丁香、甘草协同抑菌作用研究[J]. 食品科学, 2010, 31(21): 65-68.  
 [10] 王蝉. 中草药植物提取液对鸡蛋涂膜保鲜效果的应用研究[D]. 武汉:华中农业大学,2010.  
 [11] HERNÁNDEZ-OCHOA L, AGUIRRE-PRÍETO Y B, NEVÁREZ-MOOR-

ILLÓN G V, et al. Use of essential oils and extracts from spices in meat protection[J]. Journal of food science and technology, 2014, 51(5): 957-963.  
 [12] 刘喻,张卫明,单承莺,等. 生姜挥发油抑菌活性研究[J]. 食品工业科技, 2008, 29(3): 88-90.  
 [13] 梅四卫,朱涵珍. 大蒜素的研究进展[J]. 中国农学通报, 2009, 25(9): 97-101.  
 [14] ANKRI S, MIRELMAN D. Antimicrobial properties of allicin from garlic[J]. Microbes and infection, 1999, 1(2): 125-129.  
 [15] HUSSEIN A H, HASSAN W H, MOUSSA I M I. Potential use of allicin (garlic, *Allium sativum* Linn, essential oil) against fish pathogenic bacteria and its safety for monosex Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) [J]. Journal of food agriculture and environment, 2013, 11(1): 696-699.  
 [16] 刘占东,李璐,全国芬,等. 肉桂精油壳聚糖纳米粒在冷却肉保藏中的应用[J]. 西北农林科技大学学报(自然科学版), 2016, 44(5): 193-199.  
 [17] 杨柳,张一,王磊,等. 香辛料精油复配抑菌效果研究[J]. 中国调味品, 2016, 41(4): 57-60.  
 [18] 吕晓楠,吴兆亮,赵艳丽,等. Nisin 与天然植物提取物复配的抑菌性能研究[J]. 食品研究与开发, 2009, 30(11): 171-173.  
 [19] 刘泽鑫. 植物源天然食品防腐剂的进展及前景[J]. 吕梁学院学报, 2013, 3(2): 40-42.  
 [20] 李拖平,李苏红,宋玉蓉,等. 山楂果胶寡糖及其复合物对枯草杆菌的抗菌作用[J]. 食品工业科技, 2012, 33(10): 154-156.  
 [21] 李大峰,贾冬英,陈潇,等. 柚皮果胶水解物的抗菌活性研究[J]. 氨基酸和生物资源, 2010, 32(2): 63-65.  
 [22] 邱蓉蓉. 石榴果皮提取物对食品腐败菌的抑菌活性及机理研究[D]. 杭州:杭州师范大学,2016  
 [23] 郭奇,魏玉西,殷邦忠,等. 五种瓜类蔬菜提取物的抑菌活性研究[J]. 食品科学, 2009, 30(13): 52-55.  
 [24] MICELI A, ALEO A, CORONA O, et al. Antibacterial activity of *Borago officinalis* and *Brassica juncea* aqueous extracts evaluated *in vitro* and *in situ* using different food model systems[J]. Food control, 2014, 40: 157-164.  
 [25] ZHAN G, PAN L Q, MAO S B, et al. Study on antibacterial properties and major bioactive constituents of Chinese water chestnut (*Eleocharis dulcis*) peel extracts/fractions[J]. European food research and technology, 2014, 238(5): 789-796.  
 [26] BANSAL S, CHOUDHARY S, SHARMA M, et al. Tea: A native source of antimicrobial agents[J]. Food research international, 2013, 53(2): 568-584.  
 [27] TAKARA K, USHIJIMA K, WADA K, et al. Phenolic compounds from sugarcane molasses possessing antibacterial activity against cariogenic bacteria[J]. Journal of oleo science, 2007, 56(11): 611-614.  
 [28] WANG L W, ZHAO B. Antibacterial activity of the vegetable extract from chestnut (*Castanea mollissima* Blume) shell[J]. Asian journal of chemistry, 2011, 23(9): 4243-4244.  
 [29] ZENG W C, ZHANG Z, GAO H, et al. Chemical composition, antioxidant, and antimicrobial activities of essential oil from pine needle (*Cedrus deodara*) [J]. Journal of food science, 2012, 77(7): 824-829.  
 [30] ZENG W C, HE Q, SUN Q, et al. Antibacterial activity of water-soluble extract from pine needles of *Cedrus deodara* [J]. International journal of food microbiology, 2012, 153(1/2): 78-84.  
 [31] 徐任生,赵维民,叶阳. 天然产物活性成分分离[M]. 北京:科学出版社, 2012: 343-345, 371.  
 [32] BRANTNER A, MALEŠ Ž, PEPELJNJK S, et al. Antimicrobial activity of *Paliurus spina-christi* mill. (Christ's thorn) [J]. Journal of ethnopharmacology, 1996, 52(2): 119-122.  
 [33] SCALBERT A. Antimicrobial properties of tannins[J]. Phytochemistry, 1991, 30(12): 3875-3883.  
 [34] MASON T L, WASSERMAN B P. Inactivation of red beet betaglucan synthase by native and oxidized phenolic compounds[J]. Phytochemistry, 1987, 26(8): 2197-2202.  
 [35] 田兵,华跃进,马小琼,等. 芦荟抗菌作用与蒽醌化合物的关系[J]. 中国中药杂志, 2003, 28(11): 1034-1037.  
 [36] KAZMI M H, MALIK A, HAMEED S, et al. An anthraquinone derivative from *Cassia italica* [J]. Phytochemistry, 1994, 36(3): 761-763.  
 [37] 郑言博,马卓. 蒽醌类化合物抗菌与抗肿瘤活性的研究进展[J]. 湖北中医杂志, 2012, 34(2): 74-76.

表1 牡丹籽油软胶囊 Ames 试验第1次试验结果( $\bar{x} \pm s$ )Table 1 Results of the first test of Ames test of peony seed oil soft capsule( $\bar{x} \pm s$ )

组别 Group	项目 Item	TA97		TA98		TA100		TA102	
		不加 S9	加 S9	不加 S9	加 S9	不加 S9	加 S9	不加 S9	加 S9
		Non-adding S9	Adding S9	Non-adding S9	Adding S9	Non-adding S9	Adding S9	Non-adding S9	Adding S9
样品溶液组 Sample solution group	5.0 mg/皿	90 ± 15.5	97 ± 13.0	26 ± 4.0	23 ± 4.0	120 ± 12.7	118 ± 7.6	344 ± 7.6	347 ± 71.8
	1.0 mg/皿	78 ± 1	84 ± 4.9	26 ± 6.8	24 ± 6.4	129 ± 2.9	101 ± 11.9	314 ± 72.2	351 ± 66.1
	2.0 mg/皿	87 ± 13.1	84 ± 5.0	25 ± 6.0	29 ± 7.6	99 ± 1.5	136 ± 4.0	290 ± 24.1	345 ± 40.0
	0.4 mg/皿	90 ± 11.4	89 ± 12.0	26 ± 1.5	25 ± 3.5	118 ± 1.5	107 ± 15.0	338 ± 43.6	355 ± 33.0
未处理对照组 Untreated control group	—	97 ± 9.0	91 ± 16.5	31 ± 3.5	26 ± 7.0	132 ± 9.6	135 ± 17.8	384 ± 56.1	355 ± 68.5
溶剂对照组 Solvent control group	蒸馏水	103 ± 3.6	95 ± 8.2	27 ± 4.2	25 ± 3.51	131 ± 13.0	126 ± 22.3	339 ± 17.6	367 ± 49.8
	二甲基亚砷	99 ± 13.3	95 ± 5.7	27 ± 7.8	24 ± 4.2	112 ± 12.8	104 ± 6.6	386 ± 33.4	330 ± 37.5
阳性对照组 Positive control group	敌克松	1 373 ± 88.1	—	1 053 ± 80.1	—	—	—	1 395 ± 311.5	—
	叠氮钠	—	—	—	—	1 296 ± 146.6	—	—	—
	2-氨基苄	—	1 101 ± 137.2	—	709 ± 60.0	—	952 ± 128.7	—	—

表2 牡丹籽油软胶囊 Ames 试验第2次试验结果( $\bar{x} \pm s$ )Table 2 Results of the second test of Ames test of peony seed oil soft capsule( $\bar{x} \pm s$ )

组别 Group	项目 Item	TA97		TA98		TA100		TA102	
		不加 S9	加 S9	不加 S9	加 S9	不加 S9	加 S9	不加 S9	加 S9
		Non-adding S9	Adding S9	Non-adding S9	Adding S9	Non-adding S9	Adding S9	Non-adding S9	Adding S9
样品溶液组 Sample solution group	50.0 mg/皿	84 ± 12.2	95 ± 9.0	26 ± 5.0	25 ± 1.5	101 ± 11.9	120 ± 12.7	333 ± 33.0	362 ± 26.6
	10.0 mg/皿	88 ± 15.5	78 ± 1.53	24 ± 7.6	26 ± 2.7	107 ± 21.0	106 ± 11.5	330 ± 22.1	354 ± 39.1
	2.0 mg/皿	82 ± 6.2	87 ± 6.6	27 ± 3.0	25 ± 6.0	122 ± 8.0	112 ± 11.7	330 ± 21.6	351 ± 11.4
	0.4 mg/皿	84 ± 10.5	83 ± 9.5	22 ± 5.0	27 ± 2.1	122 ± 9.1	127 ± 5.1	361 ± 34.3	331 ± 22.3
未处理对照组 Untreated control group	—	102 ± 9.5	94 ± 11.0	26 ± 3.2	24 ± 2.9	140 ± 7.5	136 ± 7.0	364 ± 12.7	335 ± 43.9
溶剂对照组 Solvent control group	蒸馏水	99 ± 2.7	94 ± 16.8	32 ± 4.5	25 ± 5.6	128 ± 2.7	123 ± 7.0	377 ± 12.0	358 ± 40.0
	二甲基亚砷	91 ± 5.9	93 ± 13.8	28 ± 2.5	25 ± 6.0	118 ± 18.4	103 ± 8.7	317 ± 17.8	317 ± 42.7
阳性对照 Positive control group	敌克松	1 352 ± 209.8	—	1 101 ± 216.1	—	—	—	1 237 ± 253.0	—
	叠氮钠	—	—	—	—	1 480 ± 136.7	—	—	—
	2-氨基苄	—	888 ± 112.9	—	565 ± 116.0	—	920 ± 102.1	—	—

诱变剂的菌落回变数明显增加,试验重复性好,系统可信。

### 3 讨论

菌株制备对于试验非常重要。菌株制备该试验采用了过夜振动摇晃与静置培养2种方法。过夜振动摇晃13~15 h后,菌株的浓度可以达到试验需要浓度 $1 \times 10^9 \sim 2 \times 10^9$  CFU/mL,而静置培养15 h的菌株浓度达不到试验要求,所以在试验中需要采用振动摇晃的方式进行菌株制备。在平板掺入法试验中,TA97菌株对于葡萄糖的浓度比较敏感。根据购买菌株的MOLTOX公司的指导意见,在标准培养基配方中,TA97的生长往往会受到葡萄糖水平的抑制(2%的葡萄糖),在0.4%葡萄糖的标准培养基上生长得更好。所以在配置底层培养基平皿时,分别制备了2.0%和0.4%2个葡萄糖浓度的平皿,但是试验结果发现没有出现显著差异。

牡丹籽油作为新兴的油类保健食品,对于其的质量控制

非常关键<sup>[5]</sup>。TA97、TA98、TA100可用于检测移码突变,TA102可用于检测碱基对置换,由于TA系的菌株回复突变的特异性高,所以有些致突变物可能难以检出。通过对Ames试验的改进,或寻求一种更加简便的方法用来检测牡丹籽油保健食品的安全性是今后的研究目标<sup>[6]</sup>。

### 参考文献

- [1] 翟文婷,朱献标,李艳丽,等.牡丹籽油成分分析及其抗氧化活性研究[J].烟台大学学报(自然科学与工程版),2013,26(2):147-150.
- [2] 王心如.毒理学基础[M].北京:人民卫生出版社,2003.
- [3] 钱星文,刘凡,彭菊,等.当归双参蛤蟆油片的遗传毒性实验研究[J].光明中医,2015(3):499-500.
- [4] 石爱华,李卫东,翟鹏贵,等.西洋参提取物的毒理学试验研究[J].中华中医药学刊,2014(8):2002-2004.
- [5] 王伟伟.牡丹籽油中脂肪酸的构成及生理功能[J].中国卫生产业,2011(36):8-9.
- [6] 张伟清,曹进,丁宏,等.对保健食品理化质量标准建立的思考[J].中国药师,2016,19(7):1352-1354.
- [38] 陈业高.植物化学成分[M].北京:化学工业出版社,2004:223,245,158.
- [39] 渡边和浩.抗病毒药用组合物:平1-175942[P].1989-07-12.
- [40] VIJAYA K,ANANTHAN S,NALINI R. Antibacterial effect of theaflavin, polyphenon 60(*Camellia sinensis*) and *Euphorbia hirta* on *Shigella* spp.: A cell culture study[J]. Journal of ethnopharmacology,1995,49(2):115-118.
- [41] TSUCHIYA H,SATO M,MIYAZAKI T,et al. Comparative study on the antibacterial activity of phytochemical flavanones against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*[J]. Journal of ethnopharmacology,1996,50(1):27-34.
- [42] 徐进,赵声兰,陈朝银,等.细菌抗单宁作用机制及其意义[J].生物学杂志,2008,25(4):4-6.
- [43] KNOBLOCH K,PAULI P,IBERL B,et al. Antibacterial and antifungal properties of essential oil components [J]. Journal essential oil research,1989,1(3):119-128.
- [44] 李杨,左国营.生物碱类化合物抗菌活性研究进展[J].中草药,2010,41(6):1006-1014.
- [45] PARK K D,LEE J H,KIM S H,et al. Synthesis of 13-(substituted benzyl)berberine and berberrubine derivatives as antifungal agents [J]. Bioorganic and medicinal chemistry letters,2006,16(15):3913-3916.
- [46] 王琼,何清君.植物抗菌肽研究进展[J].四川师范学院学报(自然科学版),2000,21(2):141-145.
- [47] TAN L T,THOMAS W R,GERWICK W H,et al. Cis,cis-and trans-ceratospongamide,new bioactive cyclic heptapeptides from the Indonesian red alga *Ceratodictyon spongiosum* and symbiotic sponge *Sigmadocia symbiotica*[J]. Journal of organic chemistry,2000,65(2):419-425.

(上接第78页)