

# 植物提取液对柑桔采后青霉、绿霉抑菌活性的研究

曾 荣<sup>1,2</sup>, 陈金印<sup>3\*</sup>, 张阿珊<sup>3</sup>

(1. 南昌大学 食品科学与技术国家重点实验室, 江西 南昌 330047; 2 佛山科学技术学院 食品科学系, 广东 佛山 528200 3 江西农业大学 农学院, 江西 南昌 330045)

摘要: 采用牛津杯管碟法, 对 40种植物丙酮提取液对指状青霉和意大利青霉的抑菌活性进行测定。通过试验, 分别筛选出 11种对指状青霉和 10种对意大利青霉有抑制作用的植物提取液, 其中凤仙透骨草、广藿香、青蒿、乌梅、赤芍、水菖蒲、甘草、羌活 8种提取液对指状青霉和意大利青霉都具有抑制作用。用二倍稀释法测定 8种提取液的最低抑菌浓度(MIC), 为柑桔类果实天然保鲜剂的开发提供理论依据。

关键词: 植物提取液; 抑菌活性; 柑桔青霉; 柑桔绿霉

中图分类号: S666.109 文献标志码: A 文章编号: 1000- 2286(2010)06- 1142- 04

## Screening of Plant Extracts for Fungitoxicity against *Penicillium digitatum* and *P. italicum* of Citrus Fruits

ZENG Rong<sup>1,2</sup>, CHEN Jin-yin<sup>3\*</sup>, ZHANG A-shan<sup>3</sup>

(1. The National Key Laboratory of Food Science, Nanchang University, Nanchang 330047, China; 2 Department of Food Science, Foshan University, Foshan 528200, China; 3. College of Agronomy, Jiangxi Agricultural University, Nanchang 330045, China)

**Abstract** Antifungal activity of 40 plant acetone extracts against blue and green mould of citric fruits caused by *P. digitatum* and *P. italicum* respectively were screened. The antifungal activity was determined by Oxford plate assay system. A total of 11 and 10 plant extracts showed antifungal effects on *P. digitatum* and *P. italicum*, respectively. The extracts of *Impatiens balsamina* L., *Prunus mume*, *Acorus calamus* L., *Glycyrrhiza uralensis*, *Paeonia lactiflora* Pall., *Pogostemon cablin* (Blanco) Benth., *Artemisia earuifolia* Buch. *Nopterygium incisum* Ting showed strong inhibition on both *Penicillium* species and the minimum inhibitory concentration(MIC) of them was determined with the double dilution method. Therefore, the 8 plants could be recommended as potential source of ecofriendly antistaling agents for citric fruits after long term and wide ranging trials.

**Key words** plant extracts; antifungal activity; *Penicillium digitatum*; *Penicillium italicum*

由于柑桔类果实组织柔嫩多汁并且富含糖分, 在采、贮、运环节当中容易发生机械损伤, 易发生多种侵染性病害, 造成果实腐烂变质, 腐烂率一般为 10% ~ 30%, 严重时可达 60% 以上, 经济损失严重。柑

收稿日期: 2010- 10- 11

基金项目: 国家“十一五”科技支撑计划项目(2007BAD61B07)和江西省主要学科学术和技术带头人培养计划项目(编号 050007)

作者简介: 曾荣(1978-), 女, 讲师, 博士生, 主要从事果蔬采后生理及保鲜技术研究; \* 通讯作者, 陈金印, 教授, 博士, E-mail jinyinchen@126.com.

果实实采收后,在贮藏运输过程中可发生 20 多种病害,其中最常见的是青霉病和绿霉病,约占腐烂率的 40%<sup>[1]</sup>。目前,柑桔采后病害的主要防治方法是使用化学杀菌剂。长期使用化学杀菌剂,容易使病原菌对其产生抗药性,降低了防病效果,污染环境;另外,果实表面的化学残留对消费者健康和安全造成危害。一些化学杀菌剂,如克菌丹 (Captan)、苯菌灵 (Benomyl) 和双胍盐类杀菌剂等,已被美国环保局明令禁止使用或在部分果实产品上限制使用;欧洲议会也通过决议,一旦条件成熟,将全面禁止在采后果蔬上使用化学杀菌剂;公众对大剂量使用化学杀菌剂对环境和健康的危害也日益关注。为了保证果实产品的卫生和安全,各国科学家都在积极探索能代替化学药物的保鲜新技术,使用非化学的、非选择性的杀菌剂控制果实采后病害将是以后的发展方向和研究热点<sup>[2-3]</sup>。

许多植物都具有抗菌能力,植物源防腐剂来源非常广泛,目前世界上大约存在 20 000 种植物具有抑菌作用<sup>[4]</sup>。为了寻找对柑桔果实采后致病菌具有抑菌活性的植物,本实验室前期已进行了 56 种植物提取液抑菌活性的筛选,在此基础上,本研究继续进行另外 40 种植物抑菌试验,旨在筛选出对柑桔采后病害有较强抑制作用的天然植物保鲜剂,为进一步研究柑桔类果实高效、安全的保鲜剂提供可靠的科学依据。

## 1 材料与方 法

### 1.1 供试菌种

指状青霉 (*Penicillium digitatum*)、意大利青霉 (*P. italicum*) 均购于中国农业微生物菌种保藏中心 (ACCC)。

### 1.2 供试植物及提取液的制备

供试植物共计 40 种 (表 1), 购于江西省樟树市华丰药业; 药用植物均由江西省中医学院药学院中

表 1 供试植物材料

Tab 1 Catalogue of tested plant

植物名称 Plant name	部位 Tested parts	植物名称 Plant name	部位 Tested parts
凤仙透骨草 <i>Impatiens balsamina</i> L	茎	射干 <i>Belamcanda chinensis</i>	根茎
乌梅 <i>Prunus mume</i>	果实	桔梗 <i>Platycodon grandiflorus</i>	根茎
赤芍 <i>Paeonia lactiflora</i> Pall	根	苍耳 <i>Xanthium sibiricum</i> Patr	果
水菖蒲 <i>Aconis calamus</i> L	根茎	青木香 <i>Aristolochia moupinensis</i>	根茎
瓜蒌 <i>Trichosanthes kirilowii</i> Maxim.	种子	蛇床 <i>Cnidium monnieri</i> (L.) Cuss	种子
甘草 <i>Glycyrrhiza uralensis</i>	根茎	防己 <i>Stephania tetrandra</i> S Moore	根茎
羌活 <i>Notopterygium incisum</i> Ting	根	白术 <i>Atractylodes macrocephala</i>	根茎
苍术 <i>Atractylodes lancea</i> (Thunb.) DC	根茎	蔓荆 <i>Vitex trifolia</i> L	种子
知母 <i>Anemarrhena asphodeloides</i> Bunge	根茎	茜草 <i>Rubia cordifolia</i>	全草
紫丹参 <i>Sabia yunnanensis</i> C. H. Wright	根	仙鹤草 <i>Agrimonia eupatoria</i>	根茎
肉豆蔻 <i>Samonmyristicae</i>	果实	银杏 <i>Ginkgo biloba</i>	叶
大青叶 <i>Geum alpinum</i>	叶	乌药 <i>Lindera aggregata</i>	块根
远志 <i>Polygala persicariifolia</i> DC	根	巴戟天 <i>Morinda officinalis</i> How	根茎
白头翁 <i>Pulsatilla chinensis</i> (Bunge) Regel	根	黄精 <i>Polygonatum sibiricum</i> Red	根茎
龙胆草 <i>Gentiana scabra</i> Bunge	根茎	木通 <i>Caulis akebiae</i>	茎
女贞 <i>Ligustrum lucidum</i> Ait	种子	茵陈蒿 <i>Artemisia capillaris</i>	全草
白茅 <i>Imperata cylindrica</i> (Linn.) Beauv	根茎	栀子 <i>Gardenia jasminoides</i>	果
荆芥 <i>Schizonepeta tenuifolia</i> Briq	茎叶	枳实 <i>Citrus aurantium</i> L	果实
白芍 <i>Paeonia stemiana</i> Fletcher in Journ	根茎	木贼 <i>Ephedra equisetina</i> Bunge	全草
广藿香 <i>Pogostemon cablin</i> (Blanco) Benth	全草	青蒿 <i>Artemisia earuifolia</i> Buch	全草

药资源学学科组鉴定。各材料分别取 25 g 60 °C 烘干, 粉碎, 过 40 目筛, 加入 10 倍体积的丙酮, 超声辅助提取。各提取液经减压浓缩, 制得原液 (1 g/mL), 4 °C 保存备用。

### 1.3 菌液的制备<sup>[5]</sup>

取供试菌接种于试管斜面培养基, 28 °C 培养 2~3 d 将供试菌用无菌水洗入三角瓶中, 过滤掉菌丝, 采用比浊法制备菌悬液, 浓度控制在  $10^5 \sim 10^6$  个/mL, 备用。

### 1.4 提取液抑菌活性和最低抑菌浓度 (MIC) 的测定<sup>[6]</sup>

采用琼脂扩散法测定提取液对供试病原菌的抑制作用, 用丙酮作为溶剂对照, 28 °C 恒温箱中培养 72 h 十字交叉法测量抑菌圈的大小, MIC 测定采用二倍稀释法。

## 2 结果与讨论

### 2.1 植物提取液对意大利青霉和指状青霉的抑制效果

从表 2 可看出, 11 种植物提取液对意大利青霉显现出不同程度的抑制效果, 其中以凤仙透骨草、广藿香、青蒿、水菖蒲等植物的提取液抑制作用较为明显。凤仙透骨草丙酮提取液对意大利青霉的抑菌圈直径达 35 mm, 其次是广藿香、青蒿和水菖蒲, 抑菌圈均达到 15 mm 以上。有 10 种植物提取液对指状青霉表现出不同程度的抑制效果, 其中凤仙透骨草、广藿香、青蒿、乌梅等植物的提取液对指状青霉抑菌圈直径均达 15 mm 以上, 凤仙透骨草的抑菌圈直径最大, 为 28 mm。以上结果表明: 在筛选出有抑菌作用的植物提取液中, 有些靶向性比较强, 仅对意大利青霉有抑制作用, 比如知母、紫丹参和肉豆蔻; 有些仅对意大利青霉有抑制作用, 比如瓜蒌子、苍术; 而凤仙透骨草、广藿香、青蒿、乌梅、赤芍、水菖蒲、甘草、羌活的丙酮提取物对 2 种青霉都表现出了较强的抑制作用。

表 2 植物丙酮提取液对意大利青霉和指状青霉的抑菌效果 (72 h)

Tab 2 Inhibitory effect of plant acetone extraction on *P. italicum* and *P. digitum* (72 h)

意大利青霉 <i>P. italicum</i>		指状青霉 <i>P. digitum</i>	
植物提取液 Plant extraction	抑菌直径 /mm Diameter of inhibitory zone	丙酮提取液 Acetone extraction	抑菌直径 /mm Diameter of inhibitory zone
凤仙透骨草 <i>I. balsamina</i> L.	35	凤仙透骨草 <i>I. balsamina</i> L.	28
广藿香 <i>P. cablin</i>	23	广藿香 <i>P. cablin</i>	21
青蒿 <i>A. canifolia</i> Buch	20	青蒿 <i>A. canifolia</i> Buch	25
乌梅 <i>P. mume</i>	9	乌梅 <i>P. mume</i>	20
赤芍 <i>P. lactiflora</i> Pall	10	赤芍 <i>P. lactiflora</i> Pall	12
水菖蒲 <i>A. calamus</i> L.	16	水菖蒲 <i>A. calamus</i> L.	12
甘草 <i>G. uralensis</i>	11	甘草 <i>G. uralensis</i>	9
羌活 <i>N. incisum</i> Ting	9	羌活 <i>N. incisum</i> Ting	10
知母 <i>A. asphodeloides</i> Bunge	12	瓜蒌 <i>T. kirilowii</i> Maxim.	12
紫丹参 <i>S. yunnanensis</i>	11	苍术 <i>A. lancea</i> (Thunb.) DC	9
肉豆蔻 <i>S. myristicae</i>	9		

①所有样品供试浓度均为质量浓度 1 g/mL; ②抑菌圈直径为 3 次重复之平均数; ③牛津杯直径为 8 mm。

The concentration all are 1.0 g/mL; ②The inhibitory diameter is the average of 3 replications; ③The Oxford cup diameter is 8 mm.

### 2.2 植物提取液对意大利青霉和指状青霉的 MIC

通过二倍稀释法测定了对 2 种青霉均具有抑制作用的 8 种植物提取物的 MIC (表 3)。由表 3 可知, 凤仙透骨草、广藿香和青蒿对 2 种菌的 MIC 值均较低, 对意大利青霉的 MIC 分别为 12.5 mg/mL、25 mg/mL、25 mg/mL; 对指状青霉的 MIC 分别为 25 mg/mL、50 mg/mL、25 mg/mL, 其他植物提取液的 MIC 值都在 50 mg/mL 以上。综合考虑抑菌效果和 MIC, 凤仙透骨草提取液效果比较突出。

### 3 讨 论

从植物中寻找抑菌活性物质, 是开发、研制新型果蔬杀菌剂和保鲜剂的热点之一, 国内外学者对许多植物的抑菌活性进行了大量筛选工作<sup>[7-9]</sup>。研究发现, 许多植物的粗提物、挥发油或萜类化合物等对果蔬采后致病菌具有抑制和杀灭作用<sup>[10-13]</sup>。柑桔青霉病、绿霉病是柑桔类果实在贮运过程中发生的主要采后病害, 病原菌分别为意大利青霉和指状青霉。本文在前期筛选工作的基础上, 再次选取 40 种具有抑菌活性的中草药植物, 测定其对病原菌的抑制效果。结果显示, 凤仙透骨草、广藿香和青蒿对 2 种青霉的抑制作用较强, 尤其是凤仙透骨草, 对 2 种青霉的抑菌圈直径都在 25 mm 以上, 可以作为对环境友好的柑橘类果实保鲜剂的来源。

为了方便操作, 本次筛选工作在样品提取、定容和抑菌活性测定整个过程均只用丙酮作为溶剂, 这样不一定能将极性和非极性较强的物质抽提出来; 同时本研究是用粗提物进行测试, 但有些植物样品中活性成分甚微, 因而在供试浓度下未表现出较强的活性; 另外筛选过程仅进行了离体试验, 未进行活体抑制试验, 因此肯定存在漏筛现象。对初筛出来的抑菌效果较强的植物提取液将作进一步的研究, 如抑菌活性物质提取工艺的优化、抑菌谱调查、提取液抑菌稳定性研究、抑菌活性物质分离纯化、作用方式和机制等。

#### 参考文献:

- [1] 吕庆, 徐志德, 夏金初. 柑桔贮藏期病害及药剂防腐保鲜技术研究 [J]. 湖南农业科学, 2000(4): 44-45.
- [2] Lee SH, Chang K S, Min-Sheng Su, et al. Effects of some Chinese medicinal plant extracts on five different fungi [J]. Food Control 2007, 18: 1547-1554.
- [3] Jiang H, Hu J R, Zhan W Q, et al. Screening for fractions of *Oxytropis falcata* Bunge with antibacterial activity [J]. Nat Prod Res 2009, 23(10): 953-959.
- [4] 王燕, 车振明. 食品防腐剂的研究进展 [J]. 食品研究与开发, 2005 26(5): 167-170.
- [5] 苏世彦. 食品微生物检验手册 [M]. 北京: 中国轻工业出版社, 1998: 303-365.
- [6] 周德庆. 微生物学实验教程 [M]. 北京: 高等教育出版社, 2006: 196-204.
- [7] 冯俊涛, 石勇强, 张兴. 56 种植物抑菌活性筛选试验 [J]. 西北农林科技大学学报: 自然科学版, 2001, 29(2): 65-68.
- [8] 陈娇, 代光辉, 顾振芳, 等. 58 种植物提取液对葡萄霜霉病菌的抑菌活性筛选研究 [J]. 天然产物研究与开发, 2002, 14(5): 9-13.
- [9] 王树桐, 胡同乐, 王晓燕, 等. 对番茄灰霉病菌有抗菌活性的植物提取物的室内筛选 [J]. 河北农业大学学报, 2003, 26(1): 61-64.
- [10] Wen-Tao Xu, Xiao-Li Peng, Yun-Bo Luo, et al. Physiological and biochemical responses of grapefruit seed extract dip on 'Redglobe' grape [J]. Food Science and Technology 2009 42: 471-476.
- [11] Bautista-Banós, Hernández-López M, Díaz-Pérez J C. Evaluation of the fungicidal properties of plant extracts to reduce *Rhizopus stolonifer* of 'citrula' fruit (*Spondias purpurea* L.) during storage [J]. Postharvest Biology and Technology 2000 20: 99-106.
- [12] Bautista-Banós S, García-Domínguez E, Barrena-Necha, et al. Seasonal evaluation of the postharvest fungicidal activity of powders and extracts of huamuchil (*Pithecellobium dulce*): action against *Botrytis cinerea*, *Penicillium digitatum* and *Rhizopus stolonifer* of strawberry fruit [J]. Postharvest Biology and Technology, 2003 29: 81-92.
- [13] Thierry Regnier S C, Wilhelm du Plooy. Evaluation of *Lippia scaberrima* essential oil and some pure terpenoid constituents as postharvest mycobiocides for avocado fruit [J]. Postharvest Biology and Technology, 2010 57: 176-182.

表 3 植物丙酮提取液对意大利青霉和指状青霉的 MIC  
Tab 3 Minimum inhibitory concentration of plant acetone extraction on *P. italicum* and *P. digitum*

提取液	MIC/(mg·mL <sup>-1</sup> )	
	意大利青霉 <i>P. italicum</i>	指状青霉 <i>P. digitum</i>
凤仙透骨草 <i>I. balsamina</i> L.	12.5	25
广藿香 <i>P. cablin</i>	25	50
青蒿 <i>A. earuifolia</i> Buch	25	25
乌梅 <i>P. mume</i>	100	50
赤芍 <i>P. lactiflora</i> Pall	50	100
水菖蒲 <i>A. calamus</i> L.	50	100
甘草 <i>G. uralensis</i>	100	100
羌活 <i>N. incisum</i> Ting	100	100