

普洱茶提取物对金黄色葡萄球菌的影响

韩小溪¹, 薛桥丽², 杨华松³, 胡永金¹, 唐建美¹, 杨长峰¹

- (1. 云南农业大学 食品科学技术学院, 云南 昆明 650201;
2. 云南农业大学 图书馆, 云南 昆明 650201;
3. 云南农业大学 人事处, 云南 昆明 650201)

摘要:为考察不同溶剂普洱茶提取物的抑菌效应,以金黄色葡萄球菌(*S. aureus*)为供试菌,采用滤纸片扩散法分别探讨普洱茶水提取物、75%乙醇提取物和95%乙醇提取物的抑菌效果、最小抑菌浓度(MIC)和最低杀菌浓度(MBC)。研究表明:普洱茶提取物浓度在4~20 mg/mL范围内对*S. aureus*均有较强的抑制效应,且抑制效果与浓度呈正相关。3种提取物中95%乙醇提取物的抑菌效果最佳,其MIC与MBC均为0.63 mg/mL。

关键词:普洱茶提取物;抑菌圈;金黄色葡萄球菌

中图分类号:TS203.3;R284.1 **文献标志码:**A **DOI:**10.3969/j.issn.2095-476X.2014.01.006

Effect of Pu'er tea extracts on *Staphylococcus aureus*

HAN Xiao-xi¹, XUE Qiao-li², YANG Hua-song³, HU Yong-jin¹,
TANG Jian-mei¹, YANG Chang-feng¹

- (1. College of Food Science and Technology, Yunnan Agricultural University, Kunming 650201, China;
2. Library, Yunnan Agricultural University, Kunming 650201, China;
3. Department of Personnel, Yunnan Agricultural University, Kunming 650201, China)

Abstract: To investigate the inhibition effect of Pu'er tea extract, the *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*) was used as test bacteria. The inhibition effects of Pu'er tea extract from water, 75% ethanol and 95% ethanol on minimal inhibitory concentration (MIC) and minimum bactericidal concentration (MBC) were studied by paper diffusion methods. The results indicated that the Pu'er tea extract concentration within the range of 4~20 mg/mL had a strong inhibitory effect against *S. aureus* and the inhibitory effect increased with the concentration. 95% ethanol extract on *S. aureus* inhibitory effect was more obvious, and both its MIC and MBC were 0.63 mg/mL.

Key words: Pu'er tea extract; inhibition zone; *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*)

0 引言

普洱茶是以大叶茶晒青毛茶为原料,经发水、

渥堆、陈化及干燥等工艺加工制成^[1]。在渥堆过程中,普洱茶在微生物发酵、酶促反应和湿热共同作用下,发生氧化、缩合、降解等反应,使内含物形成

收稿日期:2013-11-17

基金项目:国家自然科学基金项目(31060270);云南省自然科学基金项目(2011FZ091)

作者简介:韩小溪(1987—),女,辽宁省大连市人,云南农业大学硕士研究生,主要研究方向为功能活性物质。

通信作者:胡永金(1972—),男,云南省永胜县人,云南农业大学教授,博士,主要研究方向为功能性食品与生物技术。

化学结构更为复杂的物质,其品质特征也发生很大的改变,而且产生许多具有特殊功效的物质^[2-5],其中含有一些特殊的抗菌类物质^[6]。

开发安全、高效、经济的天然食品抗菌剂已成为21世纪食品工业的热点.普洱茶独特的化学组成预示着其在食品工业和医药行业将具有非常广阔的应用前景.本研究拟对普洱茶不同提取物对金黄色葡萄球菌(*S. aureus*)的抑制效果进行比较分析,以期为其应用于食品、化工和医药行业,以及开发安全有效的食品保鲜剂提供一些理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

材料:普洱茶(散装熟茶),云南滇南古韵茶叶有限公司产;供试菌 *S. aureus* 为云南农大食品科技学院食品微生物实验室保藏菌种,活化培养基采用营养琼脂进行活化。

仪器:RE—52A型旋转蒸发仪,深圳市三利化学有限公司产;FD—1D—50真空冷冻干燥仪,北京博医康实验仪器有限公司产;S20K pH计,梅特勒-托利多公司产;LDZX—40B1型立式自动电热压力蒸汽灭菌器,上海申安医疗器械厂产;SHP—150恒温培养箱,上海福玛设备有限公司产;SW—CJ—1F超净工作台,苏州净化设备有限公司产;ESJ—A电子天平,沈阳龙腾电子有限公司产;BR704782微量移液枪,德国Brand公司产。

1.2 普洱茶提取物的制备

普洱茶样品100 g粉碎,过80目筛.浸提的固液比为1:10 (*m/v*),溶剂分别为蒸馏水、75%乙醇、95%乙醇.以蒸馏水作为浸提溶剂时,80℃下浸泡4 h;其余2种溶剂浸提时,室温下浸泡4 h.浸提2次,经旋转蒸发再冷冻干燥至恒重,得到普洱茶浸提物,贮于4℃冰箱中备用。

1.3 抑菌效果的测定

1.3.1 菌悬液制备 将 *S. aureus* 接种于新鲜斜面培养基上,经37℃,24 h恒温培养活化后,用无菌生理盐水制备成菌悬液.吸取1.0 mL菌悬液加入到9.0 mL无菌生理盐水中,得到的菌悬液依次采用10倍稀释法进行梯度稀释.选择3个稀释度,各吸取0.2 mL,分别加入到含有营养琼脂平板培养基的培养皿,表面涂布均匀,于37℃下培养24 h,观察结果.选取能长满整个培养皿且分布均匀适宜的菌液浓度作为供试浓度。

1.3.2 滤纸片扩散法^[7] 将直径为9 mm的若干圆纸片经灭菌后分别置于不同浓度的普洱茶提取液中浸泡12 h,取出滤纸片逐个贴于含有 *S. aureus* 菌悬液的培养基表面,置于37℃恒温培养24 h后,分别测定抑菌圈直径(*R*)。

1.3.3 最小抑菌浓度(MIC)的测定 参照文献^[8]方法,配置10个浓度梯度的普洱茶提取物溶液,分别取0.1 mL与9.9 mL冷却到60℃的培养基混合均匀.待培养基凝固后,在培养基表面分别涂布0.2 mL *S. aureus* 菌悬液,于37℃下培养24 h.观察第1个没有菌落生长的培养皿,记录所添加的提取物浓度,即为提取物的MIC。

1.3.4 最低杀菌浓度(MBC)的测定 参照A. L. R. Spencer描述的方法^[9]测定普洱茶提取物对 *S. aureus* 的MBC。

2 结果与分析

2.1 普洱茶水浸提物对 *S. aureus* 的影响

不同浓度普洱茶水提取物对 *S. aureus* 的抑制效果见图1.由图1可见,除普洱茶水提取物浓度为2 mg/mL时对 *S. aureus* 无抑制效应外,其浓度为4~20 mg/mL均对 *S. aureus* 有较强的抑菌作用,且抑菌圈直径随浓度的增加而增大.浓度为20 mg/mL时,抑菌圈直径达到(14.17±0.23) mm。

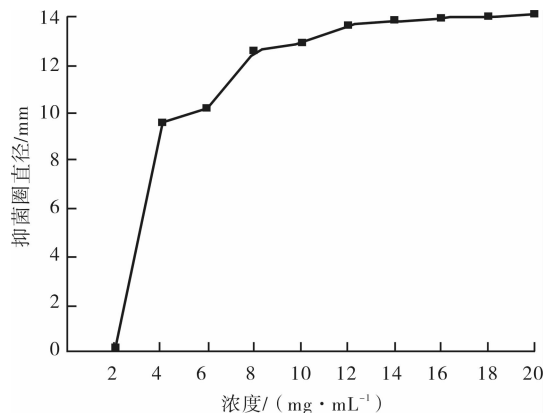


图1 不同浓度的普洱茶水浸提物对 *S. aureus* 的影响

2.2 普洱茶75%乙醇浸提物对 *S. aureus* 的影响

不同浓度普洱茶75%乙醇浸提物对 *S. aureus* 的抑制效果见图2.由图2可知,不同浓度浸提物均对 *S. aureus* 有抑制效应,且抑菌圈直径与浓度呈正相关.浓度为2 mg/mL时,抑菌圈直径为(8.05±0.29) mm;浓度为20 mg/mL时,抑菌圈直径为

(19.85 ± 0.33) mm.

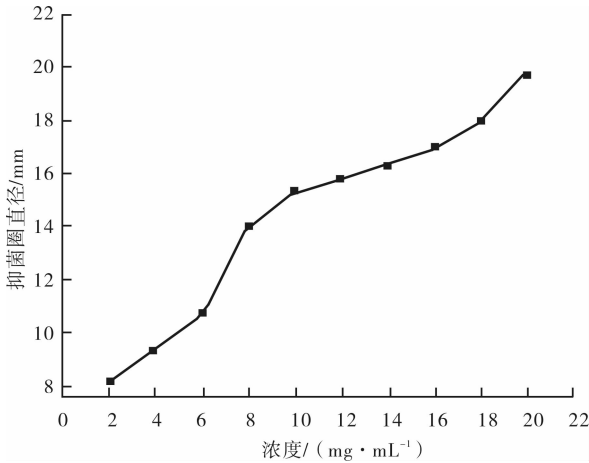


图2 不同浓度的普洱茶75%乙醇浸提物对 *S. aureus* 的影响

2.3 普洱茶95%乙醇浸提物对 *S. aureus* 的影响

不同浓度普洱茶95%乙醇浸提物对 *S. aureus* 的抑制效果见图3. 由图3可知,不同浓度浸提物均对 *S. aureus* 有较强的抑制作用,且抑菌圈直径与浓度呈正相关. 浓度为2 mg/mL时,抑菌圈直径为(8.25 ± 0.31) mm;当浓度达到20 mg/mL时,抑菌圈直径达到最大.

图4是不同浓度普洱茶95%乙醇溶剂浸提物对 *S. aureus* 的抑菌效果图,T3/1—T3/10的95%乙醇浸提物添加浓度分别为20 mg/mL,18 mg/mL,16 mg/mL,14 mg/mL,12 mg/mL,10 mg/mL,8 mg/mL,6 mg/mL,4 mg/mL,2 mg/mL. 由图4可见,随浸提物浓度的增加,其对 *S. aureus* 的抑制效果逐渐增强.

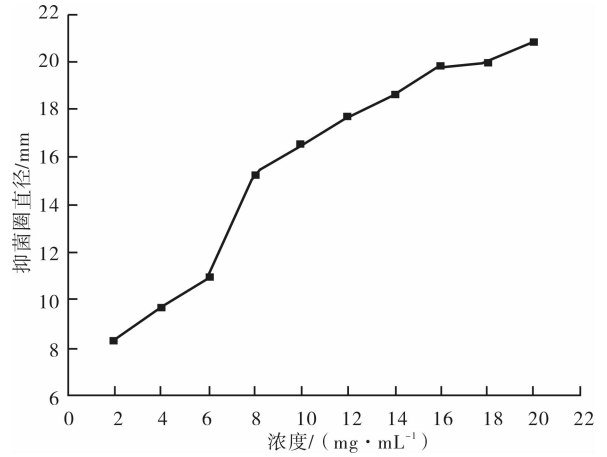


图3 不同浓度的普洱茶95%乙醇浸提物对 *S. aureus* 的影响

2.4 不同溶剂浸提物的MIC及MBC

普洱茶浸提物对 *S. aureus* 的MIC及MBC见表1. 从表1可见,相同浸提物对 *S. aureus* 的MIC及MBC相接近;不同浸提物对 *S. aureus* 的MIC及MBC的结果是:普洱茶水浸提物 > 普洱茶75%乙醇浸提物 > 普洱茶95%乙醇浸提物.

3 结论

为考察不同溶剂普洱茶浸提物的抑菌效应,本文以金黄色葡萄球菌(*S. aureus*)为供试菌,采用滤纸片扩散法分别探讨普洱茶水浸提物、75%乙醇浸提物和95%乙醇浸提物的抑菌效果、最小抑菌浓度(MIC)和最低杀菌浓度(MBC),得出如下结论:普洱茶水浸提物、75%乙醇浸提物和95%乙醇浸提物在4~20 mg/mL范围内均对 *S. aureus* 有抑制作用,

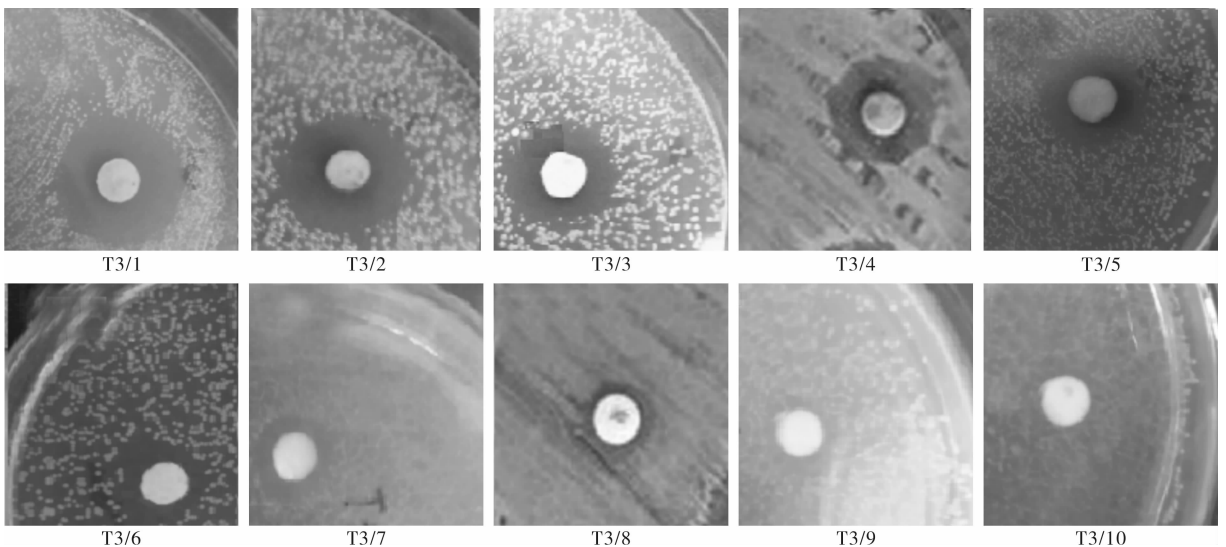


图4 不同浓度普洱茶95%乙醇浸提物对 *S. aureus* 的抑制效果

表1 普洱茶浸提物对 *S. aureus* 的 MIC 及 MBC (mg · mL⁻¹)

普洱茶浸提物	MIC	MBC
水浸提物	0.75	0.76
75%乙醇浸提物	0.69	0.69
95%乙醇浸提物	0.63	0.63

且抑制效果随浓度的增加而增大;95%乙醇浸提物对 *S. aureus* 的抑菌效果大于水浸提物和75%乙醇浸提物, MIC 及 MBC 均为 0.63 mg/mL.

参考文献:

- [1] 程启坤,姚国坤. 普洱茶的概念与所属茶类的探讨 [C]//中国云南普洱茶古茶山茶文化研究,昆明:云南科技出版社,2006:20-23.
- [2] Peterson J, Dwyer J, Bhagwat S, et al. Major flavonoids in dry tea [J]. *Journal of Food Composition and Analysis*, 2005, 18:487.
- [3] Xie G X, Ye M, Yang Y W, et al. Characterization of Pu-erh tea using chemical and metabolic profiling approaches

[J]. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 2009, 57(8):3046.

- [4] Wu S, Yen G, Wang B, et al. Antimutagenic and antimicrobial activities of Pu-erh tea [J]. *LWT-Food Science and Technology*, 2007, 40:506.
- [5] 何国藩,林月蝉. 普洱茶色素类物质及其在沱堆过程中的变化[J]. *中国茶叶*, 1987(4):6.
- [6] Hu Y J, Jia J J, Ge C R, et al. Antimicrobial activity of Pu-erh tea extracts in vitro and its effects on the preservation of cooled mutton [J]. *Journal of Food Safety*, 2010, 30(1):177.
- [7] 胡永金,乔金玲,葛长荣. 普洱茶与绿茶提取物体外抑菌效果的研究[J]. *食品科学*, 2009, 30(13):56.
- [8] 廖玉婷,曹光群. 两种天然植物提取物的抑菌效果的快速评价与比较[J]. *天然产物研究与开发*, 2007, 19:626.
- [9] Spencer A L R, Spencer J F T. *Public Health Microbiology: Methods and Protocols* [M]. New Jersey: Human Press Inc, 2004:325-327.

本刊数字网络传播声明

本刊已许可中国学术期刊(光盘版)电子杂志社在中国知网及其系列数据库产品、万方数据资源系统、维普网等中以数字化方式复制、汇编、发行、信息网络传播本刊全文。其相关著作权使用费与本刊稿酬一并支付。作者向本刊提交文章发表的行为即视为同意我刊上述声明。