

银杏叶提取工艺及其抑菌性能探讨

(江苏科技大学, 镇江 212005) 盛建国 黄东余

摘要:探讨从银杏叶中浸提银杏叶提取物(GBE)的简单、快捷的工艺流程,并计算银杏叶提取物的得率。进一步研究银杏叶提取物对一些常见污染菌的抑制作用,阐明了银杏叶提取物(GBE)的抑菌特点,为它在食品防腐剂、化妆品、消毒、止痒方面提供可靠依据。结果表明,银杏叶提取物(GBE)的抑菌效果显著,且随其浓度增高抑菌能力增强。

关键词:银杏叶, 抑菌性, GBE, 提取工艺

中图分类号: TS202.3 文献标识码: A

文章编号: 1002-0306(2005)01-0065-03

银杏叶是一种重要的药用、保健食品原料,主要

含有蛋白质、糖类、Vc、高分子单宁聚合物、香豆酸等。它的提取物(GBE)具有很强的抗氧化作用,清除生物体内多余的自由基,防止体内脂质过氧化,提高机体的免疫力,延缓衰老。GBE中的萜内酯均为血小板活化因子(PAF)拮抗剂,是银杏中特殊生理活性的关键成分^[1],具有阻止血小板聚集和形成血栓的神奇功能;聚异戊烯醇对维持肝功能,促进造血功能起到重要作用;有机酸类能降低脑缺氧,氨基酸也是银杏叶中一种重要的有机酸;香豆酸、咖啡酸有抗细菌和消炎的作用,还可促进胃液和胆汁的分泌。故银杏叶提取物能广泛用于食品、化妆品和医疗领域。

1 材料与方法

1.1 材料与设备

有相同的变化趋势,但对干燥速率的大小影响程度却存在差异。电镜扫描结果显示,微波干燥对板栗的组织结构有影响。微波干燥时,微波功率对色泽的影响差异不显著,切片厚度影响的差异显著。不同微波功率对板栗淀粉含量无显著影响,而切片厚度0.1cm板栗淀粉含量显著地高于切片厚度0.5cm和整粒。

参考文献:

- [1] 李里特.食品物性学[M].北京:中国农业出版社,1998.
[2] 韩雅珊.食品化学实验指导[M].北京:中国农业大学出版

收稿日期: 2004-06-08

作者简介: 盛建国(1964-),男,副教授,硕士,研究方向:应用化学。

2.2.3 微波干燥对板栗淀粉含量的影响 实验测定了微波干燥方法对板栗淀粉含量的影响,结果见表3。

表3 微波干燥板栗淀粉含量

厚度(cm)	微波功率(w)		
	800	640	160
整粒	1.7	0.31	0.93
0.5	2.32	1.27	1.89
0.1	3.28	2.94	5.38

方差分析结果表4表明,微波干燥中,切片厚度对板栗淀粉含量有显著影响,而不同功率对板栗淀

表4 微波干燥板栗淀粉含量多重差异比较表

切片厚度(cm)	计数	求和	平均	方差	0.05	0.01
0.1	3	11.6	3.867	1.746533	a	A
0.5	3	5.48	1.827	0.278633	b	AB
整粒	3	2.94	0.98	0.4849	b	B

粉含量无显著影响。在不同厚度上,切片厚度0.1cm板栗淀粉含量显著地高于切片厚度0.5cm,极显著地高于整粒。

3 结论

板栗微波干燥的失水特性主要表现为降速干燥过程,干燥动力学模型为: $MR=e^{-k^*r^n}$;不同切片厚度具

社.2004.

[3] D W Sun, J L Woods. Low temperature moisture transfer characteristics of wheat in thin Layers Transactions of the ASAE[J],1994,37(6):1919~1926.

[4] 肖旭霖.洋葱真空远红外薄层干燥模型[J].食品科学,2002,23(5):40~42.

银杏叶 2003年6月份采集于华东船院南校区新鲜银杏叶;纯银杏叶提取物粉末 江苏邳州爱博药业股份有限公司;乙醇(95%)分析纯;营养琼脂培养基,马铃薯培养基,察氏培养基,霉菌培养基,伊红美蓝培养基,细菌(36±1℃,24h),红酵母、白酵母(28±1℃,72h),黑曲霉、桔青霉、灰绿曲霉(28±1℃,12h),大肠杆菌(36±1℃,24h)。

电热鼓风干燥箱 上海实验仪器总厂;单相异步电动机(粉碎机) 上海微型电机厂;HH恒温水浴锅 江苏金坛中大仪器厂;ZFQ-5A真空干燥箱 天津玻璃仪器厂;CDZX-40型不锈钢立式电热蒸气压力消毒机 上海中安医疗器械厂;HH型电热恒温培养箱 上海跃进医疗器械厂;721分光光度计 上海第三分析仪器厂。

1.2 实验方法

1.2.1 银杏叶提取工艺

洗净 烘干 粉碎

新鲜银杏叶 → 银杏叶 → 银杏叶 → 银杏叶粉末

晾干 70℃,9h 60目

→ 60%乙醇浸提 → 过滤 → 蒸馏浓缩 → 真空干燥

→ GBE浸膏

1.2.2 操作要点

1.2.2.1 预处理 取新鲜银杏叶,洗净,晾干,于70℃烘箱中烘9h(时间视样品水分含量定,可以8~12h),取出置于干燥箱内冷却,用粉碎机粉碎过60目筛,粉末置于棕色广口瓶中存储。

1.2.2.2 浸提 配制60%乙醇溶液(取640mL95%乙醇,360mL纯净水配成60%乙醇溶液)。取100g银杏叶粉于700mL60%乙醇中,在水浴锅内加热到60~70℃,浸提2h,每10min搅拌一次,用纱布过滤,残渣中加入60%乙醇700mL,60~70℃继续浸提2h,每10min搅拌一次,纱布过滤,合并浸提液,同时做平行实验。

1.2.2.3 抽滤 先用纱布粗滤,去除大颗粒沉淀,以提高抽滤速度。安装抽滤仪器,往布氏漏斗中加入少量浸提液进行抽滤,由于银杏叶中含有胶状沉淀物,滤纸易造成堵塞,导致抽滤速度下降,故应经常更换滤纸。抽滤结束后,取滤液弃滤渣。

1.2.2.4 蒸馏、浓缩 安装蒸馏、浓缩仪器,抽滤液中含大量乙醇溶液,用蒸馏装置进行乙醇浓缩。一定量的乙醇也具有杀菌作用,在测定提取物抑菌作用时,应尽量排除乙醇溶剂的干扰,使乙醇完全挥发干净。为了不破坏提取物中有效成分,水浴温度控制在60~70℃,而95%乙醇的沸点在75℃左右,故蒸馏速度慢,时间长。可采取简单的方法,直接水浴加热,在空气中挥发乙醇,此法缺点是不能回收乙醇。最终得到的提取物为沉淀浸膏。

1.2.2.5 干燥 由于浓缩的浸提液中仍含有部分乙

醇和水分,采用真空干燥法,温度控制在60~70℃之间,利用增大真空度来减小沸点,去除最后的乙醇和残留的部分水分。如果条件允许还可以采用冰冻干燥法干燥,此时的提取物中除含有黄酮类和内酯外,还含有一定量的杂质,可以纯化得各物质。

1.2.2.6 计算得率 称取空表面皿 m ,干燥后称 m_1 ,为100g干燥的银杏叶粉末中提取物GBE含量。

$$\text{提取物得率} = \frac{(m_1 - m)}{100} \times 100\%$$

1.3 抑菌实验

1.3.1 菌种点接法测细菌、酵母 配制培养基,121℃湿热灭菌20min。取一定量的提取物浸膏溶于已灭菌的培养基中,混匀,倒3个平板,编号1-1、1-2、1-3;取一定量的纯GBE粉末加入已灭菌的培养基中,混匀,倒3个平板,编号A-1、A-2、A-3;倒两个空白实验平板,编号0-0、0-1;用接种针把每种供试菌种在每个平板上采用五点接种法(培养基上平均点五点),在28℃的培养箱中培养3d,观察菌落生长情况,根据其生长菌落的直径大小来判断,比较抑菌效果。

1.3.2 菌悬液吸光度法测霉菌 配制霉菌的液体培养基,121℃灭菌。在培养基中分别加入提取物浸膏和GBE粉末,做两次平行实验,(波长480nm)测其吸光度分别为 A_1 、 A_2 。用接种针在霉菌斜面上刮取少量的孢子,接入已灭菌的霉菌培养液中,充分振荡30min,制成孢子悬液,培养3d,测其吸光度 B_1 、 B_2 。

1.3.3 显微镜计数大肠杆菌 将大肠杆菌菌种活化,用无菌生理盐水配成 $10^5 \sim 10^6$ cfu/mL的菌液,用1mL的移液管移取1mL至伊红美蓝培养基中培养,3d后用显微镜观察计数。

1.3.4 最低抑菌浓度测定 配制细菌的液体培养基,按每管准确量取5mL分装试管,121℃湿热灭菌,准确量取不同体积的GBE溶液加入试管中,配制成2%、4%、5%、6%、8%、10%的GBE溶液浓度系列培养基,用接种针接种,每个浓度倒3个平板,置于适宜温度下培养,观察生长状态;另取一个稀释系列,不接种任何菌作为空白对照,将培养后的培养物与空白对照在721型分光光度计上进行比色测定,以两者光吸收完全相同,即培养基中完全没有菌生长的最低浓度作为GBE溶液最低抑菌浓度。实验表明,GBE对各菌种的最低抑制浓度一般都在8%以下^[2]。

1.3.5 温度对GBE抑菌的影响 GBE浸膏在121℃灭菌后,对细菌的平均抑菌圈直径与没灭菌前相同,说明高温作用后对GBE的抑菌能力没有影响,GBE具有良好的热稳定性。

2 结果与讨论

2.1 银杏叶提取结果

表1 银杏叶提取物得率

	m	m ₁	得率(%)
1	39.35	73.25	33.90
2	35.40	64.12	28.72
3	31.40	60.45	29.05

从表1可以看出,用60%乙醇浸提得到的粗GBE得率约在30%左右,其中含有杂质,若要用作医药或食品等领域,需进一步纯化。

2.2 银杏叶提取物对各种菌种的抑制结果

从表2可以看出,我们所提取的浸膏能抑制菌

表2 不同含量 GBE 对各菌种的抑制作用(以菌落直径表示,cm)

	浸膏			纯粉末			空白	
	1-1	1-2	1-3	A-1	A-2	A-3	0-0	0-1
黑曲霉	2.1	2.0	1.2	0.9	0.7	1.1	3.0	2.8
细菌	3.8	3.4	3.0	2.3	2.1	1.9	1.2	1.3
红酵母	0.45	0.55	0.70	0.35	0.35	0.30	0.65	0.75
白酵母	0.35	0.45	0.35	0.25	0.45	0.30	0.55	0.55

的生长,但其效果没有纯的 GBE 粉末明显,霉菌生长速度快,菌落直径大,酵母生长速度慢,菌落直径小,对霉菌的抑制效果要比其他菌来得显著。在一定浓度范围内,浓度越高,抑菌效果越好,但是,浓度高达0.008g/mL时,培养基中的提取物有凝块现象^[3],这是因为提取物在培养基中有一定的溶解度,所以提取物浓度不能任意提高。

表3 菌悬液吸光度测定表

	接种前吸光度		培养 3d 后的吸光度	
	A ₁	A ₂	B ₁	B ₂
浸膏	0.245	0.225	0.300	0.300
纯粉末	0.330	0.335	0.700	0.650
空白	0.235	0.235	0.400	0.450

从表3可以看出,由于纯的 GBE 粉末含有添加剂,故浓度大一点,吸光度不如浸膏的好,但和空白实验相比,可知其抑菌性显著。

2.3 浸提溶剂选择

采用水、甲醇、乙醇、丙酮等溶剂及这些溶剂的混合物做浸提实验,结果表明,用60%的乙醇作为提取剂最为适宜。

2.4 浸提时间选择

浸提溶剂为60%乙醇时,温度为70℃,实验表明,提取2h,提取率达83.5%,延长提取时间后提

表4 提取时间选择

浸提时间	15min	30min	1h	1.5h	2h	2.5h	3h
提取率(%)	21	45.1	18	79.4	83.5	84.1	84.3

取率提高幅度减小,故选择浸提时间2h基本达到要求。

2.5 干燥方法对产品质量的影响

干燥方法对产品质量影响大小依次为:冷冻干燥>真空干燥(60℃)>真空干燥(90℃)>直接干燥(80℃),故干燥方法以冷冻干燥质量最高,最差的是直接干燥。60℃不会破坏银杏叶中的有效成分,GBE生产多采用此法。采用真空干燥时应尽量提高真空度,以利于加快干燥进度,防止氧化,提高产品质量,最好在干燥前加入少量的保护剂^[4]。

2.6 GBE 抑菌性

GBE对常见污染菌种具有良好的抑制生长作用,且抑菌浓度较低,热稳定性强,它的强抑菌作用是因为其中含有多种苦味素,主要成分有长链酚类及内酯类、多豆酸、多草酸、咖啡酸等,这些物质具有抗细菌和消炎作用,其抑菌强度与其浓度大小有关^[5]。但需特别说明,GBE对人体有益的酵母菌也具有抑制生长作用,因此,人们服用食用酵母的同时,不能服用银杏叶提取物制成的产品。

3 结论

综上所述,用60%乙醇浸提得到的粗提取物,得率在30%左右,银杏叶提取物在抑菌方面效果显著,它对各种菌的最低抑制浓度一般都在8%以下,有较强的抗菌和消炎作用。因此,它在食品防腐、化妆品消毒、医药领域有广阔的发展前景。

参考文献:

- [1] 张迪清,何照范.银杏叶资源化学研究[M].北京:中国轻工业出版社,2000.6~7.
- [2] 李清如,姜永嘉.银杏叶乙醇提取物对霉菌抑制作用的研究(一)[J].郑州粮食学院学报,2000(6):16~20.
- [3] 宫霞,卢元芳.银杏叶提取物抑菌作用的研究[J].食品科学,1999(9):54~56.
- [4] 周建信,吴定.银杏叶提取物抗菌性的研究[J].食品科学,2002(9):119~121.
- [5] 雷天玺,高林.银杏提取工艺研究[J].中国医药工业杂志,2002(11):536~538.

全国中文核心期刊

轻工行业优秀期刊