

DOI: 10.13652/j.spjx.1003.5788.2024.80066

柑橘皮油胞层提取物的抗氧化活性与抑菌活性

谭雨心¹ 渡部由香² 廖明系³ 周 熠³ 李清明^{1,3}

(1. 湖南农业大学食品科学技术学院, 湖南 长沙 410128; 2. 鹿儿岛大学农学部, 日本 鹿儿岛 8900065;

3. 湖南省辣椒精深加工工程技术研究中心, 湖南 长沙 410128)

摘要: [目的] 提高柑橘皮的深加工和高值化利用。[方法] 利用不同溶剂提取酢橘、代代酸橙和河内晚柑果皮油胞层活性成分, 测定提取物的 DPPH 自由基和 ABTS 自由基清除率, 并通过抑菌圈、微量肉汤稀释法和抑菌动力学 3 个指标综合评价柑橘皮油胞层提取物的抑菌活性。[结果] 甲醇提取物的得率、活性物质含量、抗氧化活性和抑菌活性均优于石油醚提取物和正己烷提取物。提取物的抗氧化活性大小为酢橘>代代酸橙>河内晚柑, 酢橘皮油胞层甲醇提取物的 DPPH 自由基和 ABTS 自由基清除率分别为 83.86%, 69.14%。各提取物均能有效抑制 4 种食源性致病细菌生长, 其中对金黄色葡萄球菌的抑制作用最显著 ($P < 0.05$); 3 种柑橘皮油胞层的抑菌活性大小为酢橘>代代酸橙>河内晚柑, 酢橘皮油胞层甲醇提取物对大肠杆菌、沙门氏菌和金黄色葡萄球菌的抑菌圈为 10~15 mm, 属于中度敏感抑制作用。[结论] 柑橘皮油胞层中的活性物质具有较强的体外抗氧化活性和抑菌活性, 甲醇是柑橘皮油胞层活性物质提取的较优提取剂。

关键词: 柑橘; 油胞层; 有机溶剂; 抗氧化活性; 抑菌活性

Study on antioxidant and antibacterial activity of extracts from flavedo of citrus peel

TAN Yuxin¹ Yuka Watanabe² LIAO Mingxi³ ZHOU Yi³ LI Qingming^{1,3}

(1. College of Food Science and Technology, Hunan Agricultural University, Changsha, Hunan 410128, China;

2. Faculty of Agriculture, Kagoshima University, Kagoshima 8900065, Japan; 3. Engineering Research Center for Pepper Deep Processing of Hunan Province, Changsha, Hunan 410128, China)

Abstract: [Objective] To improve the deep processing and high-value utilization of citrus peels. [Methods] The active components of the peel flavedo (*C. aurantium* var. *daidai* Tanaka, *C. kawachiensis* and *C. sudachi*) were extracted with different solvents, the antioxidant activity was determined by DPPH and ABTS free radical scavenging rate, and the antibacterial activity was determined by inhibition zone, microbroth dilution method and antibacterial kinetics. [Results] It was showed that the yield, active substance content, antioxidant activity and antibacterial activity of methanol extract were better than those of petroleum ether and n-hexane. The order of antioxidant activity of the extracts was *C. sudachi* > *C. aurantium* var. *daidai* Tanaka > *C. kawachiensis*, and the DPPH and ABTS free radical scavenging rates of methanol extract of *C. sudachi* were 83.86% and 69.14%, respectively. Extracts could inhibit four foodborne pathogenic bacteria, among which had the most significant the inhibitory effect on *Staphylococcus aureus* ($P < 0.05$). The order of antibacterial activity of flavedos extracts was *C. sudachi* > *C. aurantium* var. *daidai* Tanaka > *C. kawachiensis*, and the methanol extracts of *C. sudachi* had the strongest antibacterial effects, of which the diameters of the inhibition zone against *Escherichia coli*, *Salmonella* and *Staphylococcus aureus* were 10~15 mm. [Conclusion] The flavedo of citrus peel has strong in vitro antioxidant activity and antibacterial activity, methanol is the best extraction agent for the extraction of the flavedo's active substances.

Keywords: citrus; flavedo; organic solvent; antioxidant activity; antimicrobial activity

柑橘 (*Citrus*), 芸香科柑橘属 (*Citrus reticulata* Blanco), 是世界最重要的经济作物之一, 中国柑橘种植总面积及生产总量均远超其他主要柑橘生产国^[1]。柑橘种群可分柑橘亚属和大翼橙亚属两大类, 常见的柑橘为柑

通信作者: 李清明 (1973—), 男, 湖南农业大学教授, 博士。E-mail: lqm@hunau.edu.cn

收稿日期: 2024-01-19 改回日期: 2024-04-09

橘亚属 (*Sub. Citrus*), 主要包括枸橼 (*C. medica*)、柠檬 (*C. limon*)、来檬 (*C. aurantifolia*)、酸橙 (*C. aurantifolia*)、甜橙 (*C. sinensis*)、葡萄柚 (*C. grandis*)、柚 (*C. grandis*)、宽皮柑橘 (*C. reticulata*)、台湾山橘 (*C. tachibana*) 及印度野橘 (*C. indica*) 十大类^[2]。

柑橘加工中会产生大量柑橘皮渣, 皮渣中富含生物活性物质, 如多酚、类黄酮、类柠檬苦素、精油、果胶和膳食纤维等^[3-5]。橘皮活性物质具有多种生理活性功能, 如抗氧化、抗菌、抗癌、降血脂等^[6]。赵宇洪等^[7]研究发现, 柑橘中的黄酮和酚酸类化合物都具备较强抗氧化活性, 酚酸类物质含量与抗氧化活性的相关性系数大于黄酮类。研究^[8-9]发现, 柑橘精油对食源性病原菌具有抑制作用, 大多数柑橘精油对革兰氏阳性菌的抑制作用更强。Kobayashi 等^[10]研究发现, 酢橘果皮提取物可抑制高脂肪饮食小鼠体重的增加, 并增强其体内的脂质代谢能力。2020 版《中国药典》中规定了陈皮为芸香科植物的成熟干燥果皮, 且严格限制了 4 种可入药的柑橘品种^[11]。有研究^[12-14]表明, 不同品种柑橘皮中黄酮含量存在明显差异。柑橘果皮可分为油胞层和白皮层两部分, 柚类果实白皮层中的黄酮类化合物含量最高^[15], 而油胞层中的多甲氧基黄酮类化合物含量最高^[16]。刘阳等^[17]研究发现, 柑类油胞层粗提取物具有最强的 DPPH 自由基清除率。果皮油胞层和白皮层的活性物质的组成及含量存在差异, 其生理活性能力也存在差异, 因此有必要对柑橘果皮不同部位的活性成分和生理活性进行进一步研究。

穆兴燕等^[18]探究了不同极性的溶剂提取对刺梨活性物质含量的影响。结果表明, 60% 乙醇提取物的总酚、黄酮和总三萜含量最高, 而乙酸乙酯提取物中总酚、总黄酮等含量最低。黄莉莉等^[19]采用 4 种不同极性溶剂对桑黄进行提取, 其中乙酸乙酯提取物中多酚、黄酮含量最高, 抗氧化活性最强, 而且不同溶剂提取物活性成分与抗氧化能力存在显著差异。意如乐等^[20]研究发现, 60% 乙醇为蒙早苦苣菜总酚和总黄酮的最佳提取溶剂。马学峰等^[21]研究表明, 石油醚为狮头柑精油的最佳提取溶剂。樊迎等^[22]优化得到石油醚为丑橘皮精油的最佳提取剂。金铮华等^[23]比较了甲醇、乙醇和乙酸乙酯等不同溶剂对柑橘果皮多甲氧基黄酮提取率的影响, 在超声、振荡和微波 3 种提取方法下, 甲醇溶剂的多甲氧基黄酮提取率均最高。研究拟以不同品种的柑橘皮油胞层为研究对象, 分析不同溶剂提取的橘皮油胞层提取物的抗氧化活性与抑菌性, 旨在为柑橘皮的深加工和高值化利用提供依据。

1 材料与方法

1.1 材料、试剂与菌株

代代酸橙 (*C. aurantium var. daidai Tanaka*): 2022 年

10 月采摘于日本鹿儿岛大学农场;

河内晚柑 (*C. Kawachiensis*)、酢橘 (*C. Sudachi*): 原产地日本德县, 市售;

甲醇、正己烷、石油醚、无水乙醇: 色谱纯, 关东株式会社;

抗坏血酸: 分析纯, 富士和光纯药株式会社;

1,1-二苯基-2-三硝基苯肼 (DPPH)、2'-联氨-双-3-乙基苯并噻唑啉-6-磺酸 (ABTS)、过硫酸钾、亚硝酸钠、硝酸铝、氢氧化钠: 分析纯, 东京化成工业株式会社;

芦丁标准品、没食子酸标准品: 日本 Nacalai-Tesque 公司;

标准琼脂培养基: 日水制药株式会社;

TSB 培养基: 美国 BD 公司;

大肠杆菌 NBRC3301、沙门氏菌 NBRC13245、假单胞菌 NBRC14160、金黄色葡萄球菌 NBRC13276: 鹿儿岛大学青果保藏实验室分离保存。

1.2 仪器与设备

真空冷冻干燥机: FDU-1200 型, 日本 EYELA 公司;

分析天平: AB54-S/FACT 型, 美国梅特勒-托利多国际公司;

超声波清洗器: AM361 型, 日本 SANYO 公司;

低温高速离心机: 3740 型, 日本 KUBOTA 公司;

垂直流超净工作台: KVM754 型, 日本 SANYO 公司;

高压灭菌锅: LSX-500 型, 日本 TOMY 公司;

恒温培养箱: FCI-280 型, 日本 AS ONE 公司;

紫外-可见分光光度计: U-2900 型, 日本 HITACHI 公司;

非接触振荡培养箱: ODBOX-C 型, 日本 TAITEC 公司。

1.3 试验方法

1.3.1 柑橘皮油胞层活性物质提取 将柑橘果皮油胞层真空冷冻干燥, 粉碎后于 -20 °C 贮藏备用。取 15 g 冻干粉, 按料液比 ($m_{\text{冻干粉}}:V_{\text{提取剂}}$) 1:20 (g/mL) 加入甲醇、石油醚和正己烷, 超声频率 60 kHz、温度 40 °C, 辅助提取 45 min, 5 000 r/min 离心 20 min, 收集上清液。残渣再重复提取两次直至提取液基本无色, 合并上清液, 旋转蒸发, 称量, 计算柑橘皮油胞层提取率。

1.3.2 柑橘皮油胞层活性物质测定

(1) 总酚含量: 参照 Ghafoor 等^[24]的方法并改进。于 760 nm 处测定吸光值, 以没食子酸为标准品绘制标准曲线, 总酚含量用没食子酸当量 mg (GAE)/g DW 表示, 按式(1)计算各样品总酚含量。

$$M = C \times N \times \frac{V_t}{V_s} \times \frac{0.001}{m}, \quad (1)$$

式中:

M——总酚或总黄酮含量, mg (GAE/RE)/g DW;

C ——标准曲线查得总酚含量, $\mu\text{g/mL}$;

N ——稀释倍数;

V_t ——提取物总体积, mL ;

V_s ——测定液体积, mL 。

(2) 总黄酮:参照万利秀等^[25]的方法略加修改。于 510 nm 处测定吸光值,以芦丁作标样制作标准曲线,总黄酮含量用芦丁当量 mg (RE)/g DW 表示,并按式(1)进行计算。

1.3.3 柑橘皮油胞层提取物抗氧化活性测定

(1) DPPH 自由基清除率:参照张思颖等^[26]的方法略加修改。向试管中加入 6.0 mL 浓度为 0.2 mmol/L 的 DPPH 溶液和 2 mL 不同质量浓度(10, 20, 40, 80, 100 $\mu\text{g/mL}$)样液,混匀,避光反应 30 min,测定 517 nm 处吸光值,以抗坏血酸(V_c)为对照组,按式(2)计算 DPPH 自由基清除率。

$$D = \frac{A_c - A_s}{A_c} \times 100\%, \quad (2)$$

式中:

D ——DPPH 或 ABTS 自由基清除率, %;

A_c ——对照组在 517nm 处吸光值;

A_s ——样品组在 517nm 处吸光值。

(2) ABTS 自由基清除率:参照 Floegel^[27]的方法适当改进。配制 ABTS 工作液,将 7 mmol/L ABTS 溶液与 2.6 mmol/L 的 $\text{K}_2\text{S}_2\text{O}_8$ 按体积比 1:1 混合,室温避光 12 h,用乙醇稀释 28 倍。向试管中加入 0.2 mL 不同质量浓度(10, 20, 40, 80, 100 $\mu\text{g/mL}$)样液和 2 mL ABTS (0.125 mmol/L)工作液,混匀,避光反应 6 min,测定 734 nm 处吸光值。以抗坏血酸(V_c)作为对照组,按式(2)计算 ABTS 自由基清除率。

1.3.4 柑橘皮油胞层提取物抑菌活性测定

(1) 抑菌圈:将灭菌干燥后的药敏片浸泡于 1:1 稀释的柑橘皮油胞层提取液,吸取 100 μL 校正的菌液($1\sim 2 \times 10^7$ CFU/mL)于琼脂平板上,并涂布均匀。接种平板后贴上药敏片,使之与培养基无空隙,30 $^\circ\text{C}$ 倒置培养 16~18 h,测量抑菌圈直径。

(2) 最小抑菌浓度(MIC)和最小杀菌浓度(MBC):采用二倍稀释法将橘皮提取物用液体培养基稀释,向 96 孔板上每孔加入 100 μL 不同质量浓度橘皮提取物和 100 μL 调整至 $1\sim 5 \times 10^5$ CFU/mL 的菌液,阳性对照为同浓度菌液,阴性对照为液体培养基,30 $^\circ\text{C}$ 培养 18~20 h,将肉眼可观察到的无微生物生长的最低提取浓度作为该柑橘提取物的 MIC,每个试验重复 3 次。在 MIC 试验基础上吸取 \geq MIC 浓度的菌悬液 10 μL 点涂于固体培养基上,30 $^\circ\text{C}$ 培养 18~20 h 后肉眼观察平板菌落生长状况,无菌落生长的平板呈现的最低浓度为提取物的 MBC,每个试验重复 3 次。

(3) 一级抑菌动力学分析:参照 Wen 等^[28]的方法稍有

修改,移取一定量的菌液至装有 10 mL 无菌 TSB 培养基的试管中,根据测得的 MIC 值测定结果,橘皮油胞层提取物添加浓度分别为 0, 0.125MIC, 0.250MIC, 0.500MIC, 于 37 $^\circ\text{C}$ 恒温培养箱中 200 r/min 摇速培养,每隔 1 h 测定 $\text{OD}_{600\text{nm}}$,观察细菌在不同质量浓度柑橘皮油胞层提取物的生长情况。使用 Modified Gompertz 方程对柑橘皮油胞层提取物的抗菌一级动力学进行拟合:

$$D_t = A_m \exp \left[- \exp \left(- \frac{t - t_m}{b} \right) \right], \quad (3)$$

式中:

D_t ——细菌不同时间下的光密度($\text{OD}_{600\text{nm}}$);

A_m ——最大光密度;

t_m ——达到最大生长速率的时间, h;

b ——培养时间为 t_m 时的相对生长速率。

其中,最大生长速率 $\mu = \frac{A_m}{be}$,迟滞期 $\lambda = t_m - b$,代时

$$T_g = \log \left(2 \times \frac{be}{A_m} \right)。$$

1.3.5 数据处理与分析 试验重复 3 次,结果以平均值 \pm 标准差表示。采用 SPSS Statistics 26 软件进行统计分析,采用 Duncan 检验进行显著性分析, $P < 0.05$ 表示差异显著,采用 OriginPro 2021、Excel 2016 软件作图。

2 结果与分析

2.1 有机溶剂对柑橘皮油胞层提取物性状和提取率的影响

由表 1 可知,不同有机溶剂的提取物性状差异较大,提取率也存在明显差异。石油醚提取物与正己烷提取物较纯净清澈,性状和质地接近柑橘精油;甲醇提取物存在少量杂质,甲醇作为极性更强的溶剂,能溶解并提取更多的油脂、树脂和蜡等成分,提取物轻微分层。当以甲醇为提取溶剂时,其提取率极显著高于石油醚和正己烷,此时代代酸橙、河内晚柑和酢橘的提取率分别为 13.31%, 16.18%, 9.87%。3 种有机溶剂的极性为甲醇 $>$ 石油醚/正己烷,多酚、黄酮和多糖类化合物的结构差异导致在不同极性的溶剂中溶解度不同,因此随着溶剂极性的降低,提取率下降,强极性溶剂还有无机盐和氨基酸盐^[29]。周香辉等^[30]研究显示桑叶在甲醇中的提取率大于正己烷的;马学峰等^[21]研究发现乙醇提取狮头柑精油得率高达 16.54%,而正己烷和石油醚的精油得率分别为 1.35% 和 1.64%。

2.2 有机溶剂对柑橘皮油胞层中总酚、总黄酮提取效果的影响

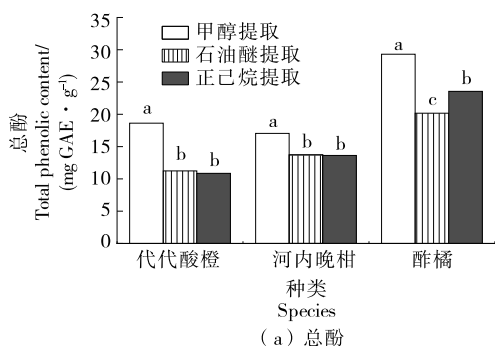
由图 1 可知,3 种柑橘皮油胞层甲醇提取物的总酚与总黄酮含量均极显著高于石油醚提取物与正己烷提取物 ($P < 0.01$)。代代酸橙与河内晚柑石油醚提取物中总黄酮含量略高于正己烷提取物 ($P < 0.05$),而总酚含量无明显

表 1 有机提取剂对柑橘皮油胞层提取物的影响[†]

Table 1 Effects of different organic extractants on citrus flavedo extracts

柑橘品种	有机溶剂	提取物性状	提取率/%
代代酸橙	甲醇	深绿色、芳香浓郁、泥状	13.31±0.96 ^a
	石油醚	淡绿色、淡香、清澈	3.55±0.87 ^b
	正己烷	淡绿色、芳香浓郁、清澈	1.35±0.48 ^c
河内晚柑	甲醇	黄褐、芳香浓郁、微泥状	16.18±0.37 ^a
	石油醚	黄色、芳香浓郁、较清澈	4.25±0.28 ^b
	正己烷	淡黄色、芳香浓郁、较清澈	2.49±0.49 ^c
酢橘	甲醇	深绿色、芳香浓郁、微胶状	9.87±0.61 ^a
	石油醚	黄绿色、芳香浓郁、较清澈	2.66±0.75 ^b
	正己烷	淡绿色、芳香浓郁、清澈	1.09±0.32 ^c

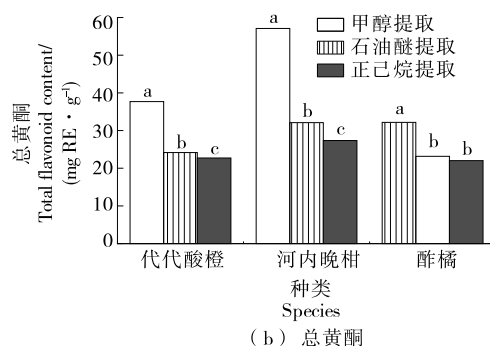
[†] 同列字母不同表示有显著性差异($P < 0.05$)。



差异。此外,同一提取剂中,不同品种柑橘果皮油胞层总酚与总黄酮含量存在显著性差异。甲醇提取物的总酚含量为 17.04~29.31 mg GAE/g,与张东锋等^[31]的结果相似;总黄酮含量为 32.18~57.10 mg RE/g,与王海帆等^[14]的结果相近。其中酢橘橘皮油胞层甲醇提取物的总酚含量最高,为 29.31 mg GAE/g,河内晚柑油胞层甲醇提取物的总黄酮含量最高,为 57.10 mg RE/g。

2.3 有机溶剂对柑橘皮油胞层提取物抗氧化活性的影响

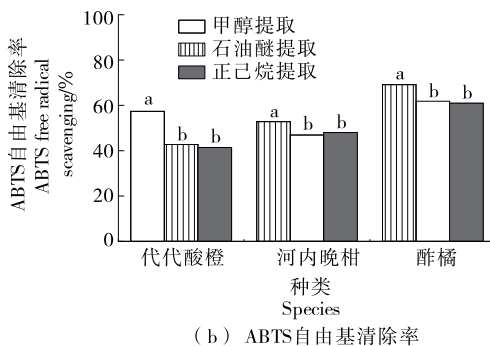
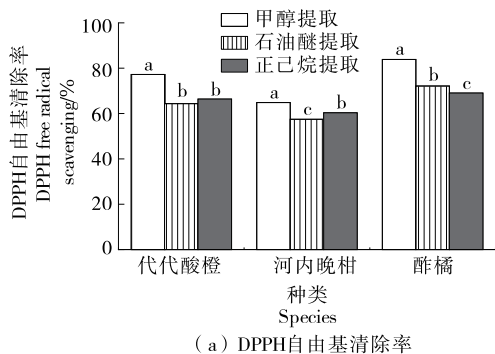
由图 2 可知,有机溶剂提取物的 DPPH 自由基和 ABTS 自由基清除率存在显著差异,其中甲醇提取物的抗氧化活性最高,石油醚提取物与正己烷提取物的 ABTS 自由基清除率无显著差异,这与甲醇提取物中总酚和总黄酮含量最高有关。黄莉莉等^[19]研究发现抗氧化活性与总酚、总黄酮含量具有较强的相关性。



小写字母不同表示差异显著($P < 0.05$)

图 1 有机溶剂对柑橘皮油胞层提取物中总酚、总黄酮含量的影响

Figure 1 Effects of different organic solvents on the extraction of total phenols and total flavonoids in citrus flavedo



小写字母不同表示差异显著($P < 0.05$)

图 2 有机溶剂对柑橘皮油胞层提取物抗氧化活性的影响

Figure 2 Effects of different organic solvent extracts on antioxidant activity of citrus flavedo

2.4 有机溶剂对柑橘皮油胞层提取物抑菌活性的影响

由表 2 可知,与对照组相比,柑橘皮油胞层提取物对 4 种食源性致病菌均存在抑制作用。对于大肠杆菌、沙门氏菌和金黄色葡萄球菌,甲醇提取物的抑菌活性强于石油醚提取物和正己烷提取物,石油醚提取物与正己烷提

取物的抑菌活性差异不显著。这可能与甲醇提取物中总酚、总黄酮等活性物质含量更多有关。

3 种柑橘皮油胞层的抑菌活性为酢橘 > 代代酸橙 > 河内晚柑,酢橘皮油胞层甲醇提取物对大肠杆菌、沙门氏菌和金黄色葡萄球菌的抑菌圈为 10~15 mm,属于中度敏

表2 柑橘皮油胞层提取物对食源性致病菌的抑菌圈[†]

Table 2 Determination of citrus flavedo extract against foodborne pathogenic bacteria and bacterial inhibition zone

柑橘品种	组别	抑菌圈/mm			
		大肠杆菌	沙门氏菌	假单胞菌	金黄色葡萄球菌
对照组		6.00±0.00	6.00±0.00	6.00±0.00	6.00±0.00
代代酸橙	甲醇提取物	9.73±0.52 ^c	9.86±0.29 ^c	7.49±0.27 ^{cd}	10.74±0.44 ^c
	石油醚提取物	9.11±0.32 ^c	9.17±0.47 ^d	7.66±0.87 ^{cd}	9.96±0.72 ^d
	正己烷提取物	9.06±0.79 ^c	9.24±0.44 ^d	6.94±0.51 ^{de}	9.66±0.41 ^d
河内晚柑	甲醇提取物	8.17±0.32 ^d	8.46±0.23 ^e	6.68±0.28 ^e	9.84±0.28 ^d
	石油醚提取物	7.37±0.41 ^e	7.59±0.27 ^f	7.64±0.38 ^{cd}	8.61±0.36 ^e
	正己烷提取物	7.18±0.47 ^e	7.31±0.49 ^f	7.27±0.42 ^{de}	8.57±0.38 ^e
酢橘	甲醇提取物	12.16±0.77 ^a	13.67±0.56 ^a	8.02±0.23 ^{bc}	14.74±0.59 ^a
	石油醚提取物	11.41±0.62 ^b	12.51±0.71 ^b	8.47±0.43 ^{ab}	13.97±0.61 ^b
	正己烷提取物	11.29±0.71 ^b	12.26±0.43 ^b	9.03±0.68 ^a	13.66±0.91 ^b

[†] 同列字母不同表示有显著性差异($P<0.05$)。

感抑制作用。橘皮对4种食源性致病菌的抑制活性大致符合金黄色葡萄球菌>沙门氏菌>大肠杆菌>假单胞菌,推测是细胞壁结构组分的差异性导致,阳性菌一般比阴性菌更为敏感,因而受到的抑菌作用更明显^[32]。

由表3可知,3种柑橘皮油胞层甲醇提取物、石油醚提取物与正己烷提取物的MBC≤32%,均对金黄色葡萄球

菌有良好的杀菌效果。酢橘果皮油胞层甲醇提取物对大肠杆菌、沙门氏菌和金黄色葡萄球菌的杀菌效果最好,酢橘果皮油胞层正己烷提取物对铜绿假单胞菌的杀菌效果最好。柑橘黄酮已被证实可抑制金黄色葡萄球菌、大肠杆菌和黑曲霉菌等^[33],柑橘精油对大肠杆菌、变形杆菌和枯草芽孢杆菌等微生物也有较强抑制作用^[34]。

表3 柑橘皮油胞层对4种食源性致病菌的MIC与MBC

Table 3 Determination of the extract of *Citrus* peels flavedo on four foodborne pathogens, MIC and MBC %

柑橘品种	组别	大肠杆菌		沙门氏菌		铜绿假单胞菌		金黄色葡萄球菌	
		MIC	MBC	MIC	MBC	MIC	MBC	MIC	MBC
代代酸橙	甲醇	16	32	8	16	32	32	4	8
	石油醚	32	32	16	16	16	32	4	8
	正己烷	>32	>32	32	32	32	>32	4	16
河内晚柑	甲醇	32	32	16	32	32	>32	8	16
	石油醚	>32	>32	16	16	32	>32	16	32
	正己烷	>32	>32	32	32	>32	>32	16	16
酢橘	甲醇	8	8	4	16	16	>32	2	4
	石油醚	8	32	8	16	32	>32	4	4
	正己烷	8	16	8	16	16	16	4	8

2.5 生长曲线拟合与抑菌动力学

依据2.2~2.4可知,酢橘皮油胞层甲醇提取物具有高含量的活性化合物、强抗氧化活性和强抑菌潜能。因此,选用酢橘橘皮油胞层甲醇提取物对4种食源性致病菌进行抑菌动力学研究,结果见图3和表4。由图3可知,对照组中食源性致病菌生长正常,符合微生物生长曲线,具有明显的延滞期、生长对数期及稳定期。当提取物添加浓度为MIC时,酢橘皮油胞层甲醇提取物对4种食源性致病细菌均具有明显的抑制作用,4种食源性致病菌均已停止生长。当提取物添加浓度为0.125MIC,0.250MIC时,酢

橘皮油胞层甲醇提取物对4种食源性致病菌的生长总量无明显影响;当提取物添加浓度为0.500MIC时,酢橘皮油胞层甲醇提取物对沙门氏菌、金黄色葡萄球菌的生长总量有所减少。

由表4可知,酢橘皮油胞层甲醇提取物能引起4种食源性致病细菌的最大生长速率 μ 降低、延滞期 λ 和代时 T_g 显著延长。如对金黄色葡萄球菌的抑菌活性,随着酢橘皮油胞层甲醇提取物浓度的增加,最大生长速率 μ 从0.43 h⁻¹降至0.34 h⁻¹,延滞期 λ 和代时 T_g 分别从11.24,0.72 h延长至17.92,0.92 h。

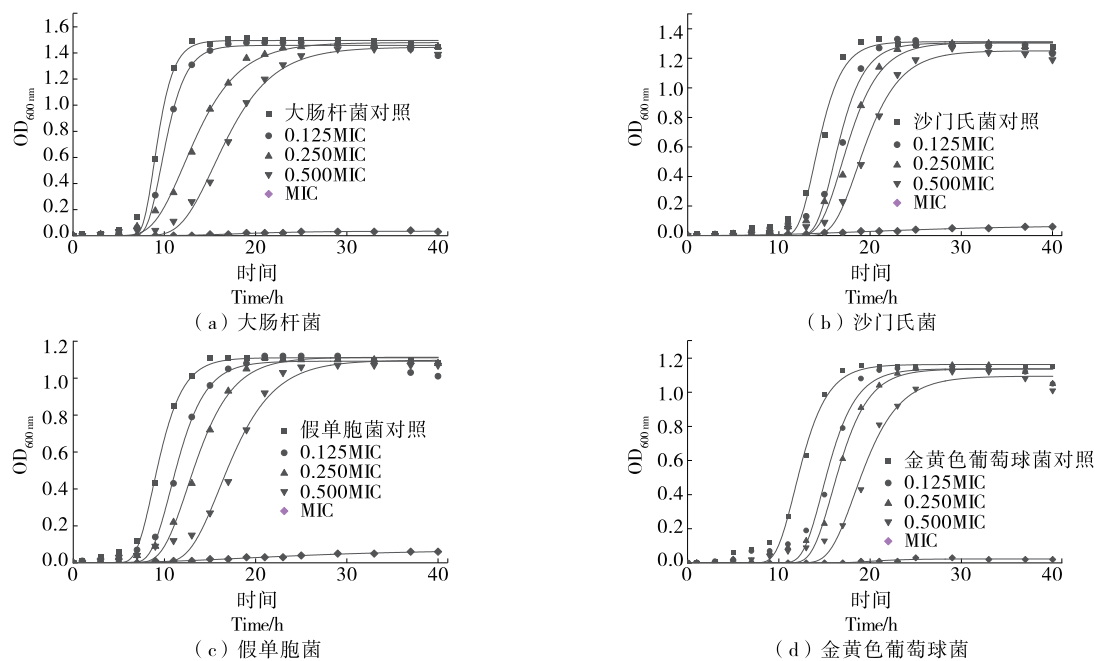


图 3 酢橘油胞层提取物对 4 种食源性致病菌生长曲线的影响

Figure 3 Effects of *C. Sudachi* flavedo extract on the growth curves of four foodborne pathogens

表 4 酢橘油胞层甲醇提取物对 4 种食源性致病菌的抑菌动力学

Table 4 Bacteriostatic kinetics of *C. Sudachi* flavedo extract against four foodborne pathogens

致病菌	添加浓度	拟合参数			Gompertz 方程	R ²
		μ	λ	T_g		
大肠杆菌	对照组	0.56	8.02	0.55	$y=1.49674\exp\{-\exp[-0.83973(x-8.3973)]\}$	0.9937
	0.125MIC	0.45	8.99	0.68	$y=1.45951\exp\{-\exp[-0.66382(x-9.64922)]\}$	0.9938
	0.250MIC	0.20	11.85	1.54	$y=1.48068\exp\{-\exp[-0.29851(x-12.14548)]\}$	0.9944
	0.500MIC	0.19	15.12	1.60	$y=1.44538\exp\{-\exp[-0.27939(x-15.4004)]\}$	0.9966
沙门氏菌	对照组	0.45	13.29	0.69	$y=1.31248\exp\{-\exp[-0.59053(x-13.87815)]\}$	0.9962
	0.125MIC	0.41	15.45	0.75	$y=1.3039\exp\{-\exp[-0.53555(x-15.98968)]\}$	0.9977
	0.250MIC	0.33	16.44	0.95	$y=1.30615\exp\{-\exp[-0.42715(x-16.8709)]\}$	0.9962
	0.500MIC	0.31	18.22	1.01	$y=1.25054\exp\{-\exp[-0.38515(x-18.60279)]\}$	0.9986
假单胞菌	对照组	0.50	8.20	0.62	$y=1.11036\exp\{-\exp[-0.55142(x-8.74711)]\}$	0.9976
	0.125MIC	0.43	10.22	0.72	$y=1.09196\exp\{-\exp[-0.47203(x-10.69659)]\}$	0.9972
	0.250MIC	0.33	12.18	0.95	$y=1.11311\exp\{-\exp[-0.36234(x-12.53821)]\}$	0.9942
	0.500MIC	0.28	15.74	1.12	$y=1.0972\exp\{-\exp[-0.30257(x-16.04391)]\}$	0.9940
金黄色葡萄球菌	对照组	0.43	11.24	0.72	$y=1.16279\exp\{-\exp[-0.49916(x-11.744)]\}$	0.9968
	0.125MIC	0.42	14.26	0.73	$y=1.13771\exp\{-\exp[-0.48336(x-14.7465)]\}$	0.9934
	0.250MIC	0.40	15.41	0.78	$y=1.13597\exp\{-\exp[-0.45155(x-15.85853)]\}$	0.9983
	0.500MIC	0.34	17.92	0.92	$y=1.09442\exp\{-\exp[-0.36679(x-18.28392)]\}$	0.9960

3 结论

柑橘皮油胞层提取物具备优良的抗氧化能力与抑菌能力。不同提取溶剂对柑橘皮油胞层中活性物质的提取效果存在显著差异,其中甲醇的提取率最高,且其提取物中活性成分含量、抗氧化活性和抑菌活性显著高于石油

醚提取物和正己烷提取物($P<0.01$)。不同品种柑橘皮油胞层提取物的抗氧化活性和抑菌活性存在显著差异,其中柑橘皮油胞层甲醇提取物 DPPH 自由基和 ABTS 自由基清除率分别为:代代酸橙 77.24%, 57.37%, 河内晚柑 64.84%, 52.84%, 酢橘 83.86%, 69.14%; 抑菌活性为酢

橘>代代酸橙>河内晚柑,其中酢橘皮油胞层甲醇提取物对大肠杆菌、沙门氏菌和金黄色葡萄球菌的抑制效果较好,表现为中度敏感状态(抑菌圈10~15 mm),其抑菌圈分别为12.16, 13.67, 14.74 mm,且最低抑制浓度MIC≤32%,表明柑橘皮油胞层甲醇提取物对食源致病细菌的抑制存在一定剂量效应,提取物可影响细菌的生长,导致总生物量减少、最大生长速率降低等。后续可进一步分析不同有机溶剂提取柑橘油胞层活性物质成分和含量的影响,如酚酸类、黄酮类及挥发性物质等,也可探究各活性成分与抗氧化活性及抑菌活性的量效关系。

参考文献

- [1] 聂扬眉. 乡村振兴下我国柑橘产业发展情况: 基于价值链模型的实证[J]. 中南民族大学学报(自然科学版), 2023, 42(2): 283-288.
NIE Y M. China's citrus industry under rural revitalization: empirical evidence based on the value chain model[J]. Journal of South-central Minzu University (Natural Science Edition), 2023, 42(2): 283-288.
- [2] 周开隆, 叶荫民. 中国果树志: 柑橘卷[M]. 北京: 中国林业出版社, 2009: 137.
ZHOU K L, YE Y M. Chinese fruit tree chronicles: citrus roll [M]. Beijing: China Forestry Press, 2009: 137.
- [3] 陈贵婷, 石凯欣, 张珮珮, 等. 不同品种柑橘皮渣膳食纤维构效关系比较[J]. 食品科学, 2023, 44(17): 20-28.
CHEN G T, SHI K X, ZHANG P P, et al. Comparative study on the structure-activity relationship of dietary fiber from different varieties of citrus peel and pomace[J]. Food Science, 2023, 44(17): 20-28.
- [4] RAFIQ S, KAUL R, SOFI S A, et al. Citrus peel as a source of functional ingredient: a review[J]. Journal of the Saudi Society of Agricultural Sciences, 2018, 17(4): 351-358.
- [5] 唐清苗, 王鲁峰. 柑橘皮渣的功能组分及加工应用现状[J]. 食品与机械, 2022, 38(6): 180-185, 218.
TANG Q M, WANG L F. Functional components of citrus peel and its processing and application status[J]. Food & Machinery, 2022, 38(6): 180-185, 218.
- [6] 刘丹, 郭欢, 吴笛, 等. 柑橘黄酮类化合物的提取新技术及生物活性研究进展[J]. 食品与机械, 2022, 38(11): 217-224.
LIU D, GUO H, WU D, et al. Research progress on new extraction technologies and bioactivities of flavonoids from orange[J]. Food & Machinery, 2022, 38(11): 217-224.
- [7] 赵宇洪, 何文, 李根, 等. 四川地区琯溪蜜柚及其芽变品种的果实品质[J]. 浙江农业学报, 2022, 34(5): 995-1004.
ZHAO Y H, HE W, LI G, et al. Fruit quality of *Citrus maxima* (Burm.) Merrill and its bud mutants varieties in Sichuan area[J]. Acta Agriculturae Zhejiangensis, 2022, 34(5): 995-1004.
- [8] 陈华铮, 朱凯. 两种柑橘类精油及其主要成分的抑菌和抗氧化活性[J]. 林产化学与工业, 2021, 41(4): 17-22.
CHEN H Z, ZHU K. Antibacterial and antioxidant activities of two essential oils and their main components[J]. Chemistry and Industry of Forest Products, 2021, 41(4): 17-22.
- [9] 陈彦, 潘晓薇, 陶红, 等. 三种柑橘类精油的GC-MS分析及抑菌活性对比[J]. 现代食品科技, 2024, 40(1): 84-91.
CHEN Y, PANG X W, TAO H, et al. GC-MS Analysis of the composition of three citrus essential oils and comparison of their microbiostatic activities[J]. Modern Food Science and Technology, 2024, 40(1): 84-91.
- [10] KOBAYASHI H, MITANI M, MINATOGAWA Y, et al. Extracts of *Citrus sudachi* peel attenuate body weight gain in C57BL/6 mice fed a high-fat diet[J]. Med Investig, 2017, 64(1/2): 20-23.
- [11] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典: 一部[M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2020: 146.
Chinese Pharmacopoeia Commission. Pharmacopoeia of the People's Republic of China[M]. Beijing: China Medical Science and Technology Press, 2020: 146.
- [12] 李娟, 牛泽宇, 岳湘齐, 等. 不同产地甜橙果皮提取物抗氧化活性成分及能力研究[J]. 食品与机械, 2019, 35(9): 156-162.
LI J, NIU Z Y, YUE X Q, et al. Study on antioxidant components and antioxidant activities of peels extracts from sweet orange in Hunan province[J]. Food & Machinery, 2019, 35(9): 156-162.
- [13] 白莉, 吴颖娴, 董浩, 等. 23个品种柑橘果皮黄酮类含量及抗氧化活性比对研究[J]. 食品安全质量检测学报, 2023, 14(19): 133-142.
BAI L, WU Y X, DONG H, et al. Comparative study on flavonoids content and antioxidant activity of 23 kinds of *Citrus reticulata* Blanco peels[J]. Journal of Food Safety & Quality, 2023, 14(19): 133-142.
- [14] 王海帆, 王鹏, 王福, 等. 不同栽培品种柑橘橘皮黄酮类成分含量及抗氧化活性比较研究[J]. 天然产物研究与开发, 2024, 36(1): 117-124.
WANG H F, WANG P, WANG F, et al. Comparative study on flavonoid content and antioxidant activity of different cultivars of citrus peel[J]. Natural Product Research and Development, 2024, 36(1): 117-124.
- [15] 邓梅, 张瑞芬, 董丽红, 等. 沙田柚不同组织部位酚类物质组成及其抗氧化活性研究[J]. 食品安全质量检测学报, 2021, 12(15): 6153-6159.
DENG M, ZHANG R F, DONG L H, et al. Phenolic compositions and antioxidant activity of different tissue parts of *Shatianyou* (*Citrus grandis* L. Osbeck)[J]. Journal of Food Safety & Quality, 2021, 12(15): 6153-6159.
- [16] 余丹丹, 吴家雄, 刘英, 等. 常山胡柚果实不同部位中主要功能性成分分析[J]. 浙江大学学报(农业与生命科学版), 2023, 49(6): 802-812.
YU D D, WU J X, LIU Y, et al. Analysis of main functional components in different parts of *Citrus aurantium* L. *Changshanhuoyou* fruits[J]. Journal of Zhejiang University (Agriculture and Life Sciences), 2023, 49(6): 802-812.

- [17] 刘阳, 臧文静, 梁潇, 等. 23 个柑橘品种果实油胞层类黄酮组分鉴定与抗氧化活性研究[J]. 中国食品学报, 2022, 22(12): 234-246.
LIU Y, ZANG W J, LIANG X, et al. Identification of flavonoids from the flavedo of 23 citrus cultivars fruit and their antioxidant activity[J]. Journal of Chinese Institute of Food Science and Technology, 2022, 22(12): 234-246.
- [18] 穆兴燕, 吴胜, 郭银萍, 等. 不同溶剂提取对刺梨物质含量变化及抗氧化活性的影响[J]. 食品研究与开发, 2023, 44(17): 68-75.
MU X Y, WU S, GUO Y P, et al. Effects of different solvents on active component content and antioxidant activity of *Rosa roxburghii* Tratt extract[J]. Food Research and Development, 2023, 44(17): 68-75.
- [19] 黄莉莉, 巫永华, 徐朝渝, 等. 桑黄不同极性溶剂分步提取物功能成分与生物活性及相关性分析[J]. 粮食与油脂, 2023, 36(6): 148-152.
HUANG L L, WU Y H, XU C Y, et al. Functional components and biological activities of stepwise extracts of *Phellinus igniarius* with different polar solvents and their correlation analysis[J]. Cereals & Oils, 2023, 36(6): 148-152.
- [20] 意如乐, 格根图, 贾玉山, 等. 不同溶剂对蒙早苦苣菜活性物质提取的影响[J]. 饲料研究, 2023, 46(8): 54-58.
YI R L, GE G T, JIA Y S, et al. Effect of different solvents on extraction of active substances from *Veronica indica*[J]. Feed Research, 2023, 46(8): 54-58.
- [21] 马学峰, 茹超, 刘雨晴, 等. 超声辅助溶剂萃取狮头柑精油及其主要成分研究[J]. 食品研究与开发, 2021, 42(22): 117-124.
MA X F, RU C, LIU Y Q, et al. Ultrasonic-assisted solvent extraction of essential oil and main components of citrus *reticulata* Blanco cv. *Manau Gan*[J]. Food Research and Development, 2021, 42(22): 117-124.
- [22] 樊迎, 王雪婷, 郭雅娴, 等. 响应面优化丑橘皮精油提取及其抑菌性[J]. 食品工业, 2020, 41(5): 134-138.
FANG Y, WANG X T, GUO Y X, et al. The process optimization of extraction essential oil from *Citrus dekopon* peel by response surface methodology and its bacteriostasis[J]. The Food Industry, 2020, 41(5): 134-138.
- [23] 金铮华, 黄泽浩, 毕晓艺, 等. 5 种晚熟柑橘多甲氧基黄酮提取方法比较及应用[J]. 四川农业大学学报, 2022, 40(6): 820-825.
JIN Z H, HUANG Z H, BI Y X, et al. Comparison and application of extraction methods of polymethoxy flavonoids from five late-maturing citrus pericarp[J]. Journal of Sichuan Agricultural University, 2022, 40(6): 820-825.
- [24] GHAFOR K, PARK J, YHCHOI. Optimization of supercritical fluid extraction of bioactive compounds from grape (*Vitis labrusca* B.) peel by using response surface methodology[J]. Innovative Food Science and Emerging Technologies, 2010, 11(3): 485-490.
- [25] 万利秀, 肖更生. 不同品种柑橘皮中黄酮化合物含量及抗氧化性分析[J]. 食品与发酵工业, 2011, 37(4): 73-77.
WAN L X, XIAO G S. Analysis of flavonoid compounds and antioxidant activity in different varieties of citrus peel[J]. Food and Fermentation Industries, 2011, 37(4): 73-77.
- [26] 张思颖, 李梓旋, 宋汶亭, 等. 襄荷中黄酮类化合物的抗氧化性研究[J]. 食品科技, 2020, 45(7): 230-234.
ZHANG S J, LI Z X, SONG W T, et al. Study on antioxidant activity of flavonoids in Xianghe[J]. Food Science and Technology, 2020, 45(7): 230-234.
- [27] FLOEGEL A, KIM D O, CHUNG S J, et al. Comparison of ABTS/DPPH assays to measure antioxidant capacity in popular antioxidant-rich US foods[J]. Journal of Food Composition and Analysis, 2011, 24(7): 1 043-1 048.
- [28] WEN Q H, WANG R, ZHAO S Q, et al. Inhibition of biofilm formation of foodborne *Staphylococcus aureus* by the citrus flavonoid *Naringenin*[J]. Foods, 2021, 10: 2 614.
- [29] 李伟, 张小英, 叶嘉宜, 等. 余甘子不同溶剂提取物体外抗氧化活性及对 H₂O₂ 诱导 RAW264.7 细胞损伤的保护作用[J]. 食品与发酵工业, 2020, 46(16): 62-69.
LI W, ZHANG X Y, YE J Y, et al. Antioxidant activity and protective effect of different solvents extracts from *Phyllanthus emblica* on H₂O₂-induced toxicity in RAW264.7 cells[J]. Food and Fermentation Industries, 2020, 46(16): 62-69.
- [30] 周香辉, 莫晓宁, 凌楠, 等. 广西产‘桂桑优’桑叶不同溶剂提取物的抗氧化及降糖活性分析[J]. 食品科技, 2022, 47(12): 193-199.
ZHOU X H, MUO X N, LIN N, et al. Analysis of antioxidant and hypoglycemic activities of different solvent extracts from Guangxi ‘*GuiSangyou*’ mulberry leaf[J]. Food Science and Technology, 2022, 47(12): 193-199.
- [31] 张东峰, 陈家豪, 郭静, 等. 7 种柑橘多酚、黄酮含量及其抗氧化活性比较研究[J]. 食品研究与开发, 2019, 40(6): 69-74.
ZHANG D F, CHEN J H, GUO J, et al. Comparative study on the contents of polyphenols and flavonoids in seven citrus fruits and their antioxidant activities[J]. Food Research and Development, 2019, 40(6): 69-74.
- [32] GUO J, GAO Z, XIA J, et al. Comparative analysis of chemical composition, antimicrobial and antioxidant activity of citrus essential oils from the main cultivated varieties in China[J]. LWT, 2018, 97: 825-839.
- [33] 张天竹, 李嘉豪, 申奥, 等. 柑橘皮多甲氧基黄酮提取物抑菌及对红提葡萄的保鲜作用[J]. 食品工业科技, 2023, 44(15): 143-150.
ZHANG T Z, LI J H, SHEN A, et al. Effect of polymethoxy flavones from citrus peels on antibacterial and fresh-keeping of red grape[J]. Science and Technology of Food Industry, 2023, 44(15): 143-150.
- [34] 刘如楠, 黄凯, 管骁, 等. 褚橙精油纳米乳的制备及抑菌性[J]. 食品与生物技术学报, 2020, 39(5): 59-67.
LIU R N, HUANG K, GUAN X, et al. Preparation and antibacterial activity of Chu Orange essential oil nanoemulsion [J]. Journal of Food Science and Biotechnology, 2020, 39(5): 59-67.