

响应面法优化麦麸中植酸的提取条件 及植酸抑菌效果分析研究

汪洋点点, 雷 宜, 张梦梅, 李 元, 李 智, 张志清*

(四川农业大学食品学院, 四川雅安 625014)

摘要:以麦麸为原料,采用盐酸提取麦麸中植酸。在单因素实验的基础上,选择提取时间、提取温度、酸浸液浓度和料液比为自变量,植酸含量为指标,通过响应面法优化植酸提取的工艺条件,建立了植酸提取的二次多项式数学模型,并得到最佳工艺条件。采用牛津杯法研究了其对大肠杆菌、金黄色葡萄球菌、枯草芽孢杆菌和沙门氏菌的抑菌谱及最小抑菌浓度;探讨了不同浓度、金属阳离子及浓度、温度和有机溶剂对其抑菌效果的影响。结果表明:麦麸中植酸提取的最佳工艺条件为:提取时间 2.2h,提取温度 40℃,酸浸液浓度 1.2mol/L,料液比 1:22(g/mL)。经验证在最佳提取工艺下,植酸的含量为 1.215%。植酸提取液对四种细菌均有较好的抑制效果,最小抑菌浓度依次为 2.17、2.89、3.61、3.61 μg/mL;随着植酸提取液浓度增大,抑菌效果增强;分别与 100、200、300mmol/L 的氯化钠、氯化钾、氯化镁、氯化钙溶液混合,抑菌效果减弱;与 10% (v/v) 乙醇、丙二醇、丙三醇等有机溶剂混合后,其抑菌效果明显下降;经 0、65、121℃ 处理后的植酸提取液的抑菌效果无明显变化。

关键词:麦麸,植酸,响应面法,提取,抑菌效果

Study on the optimization of extracting phytic acid from wheat bran by response surface methodology and its antimicrobial effect

WANG Yang-dian-dain, LEI Yi, ZHANG Meng-mei, LI Yuan, LI Zhi, ZHANG Zhi-qing*

(College of Food Science, Sichuan Agricultural University, Ya'an 625014, China)

Abstract: The phytic acid in wheat bran was extracted by solution of hydrochloric acid. Based on the single factor experiment test, the extract conditions, such as extraction time, temperature, hydrochloric acid concentration and ratio of solid to liquid were investigated and optimized by response surface methodology. Then a quadratic polynomial mathematical model of phytic acid extraction was established. The antimicrobial spectrum and the minimum inhibition concentration (MIC) of *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis* and *Salmonella* were studied by means of oxford-cup tests. Also the antimicrobial effect of phytic acid on different concentrations, metal cations and concentration, temperature and organic solvents were discussed. The results indicated that the optimal conditions were as follows: extraction time 2.2h, extraction temperature 40℃, 1.2mol/L hydrochloric acid solution, ratio of solid to liquid 1:22(g/mL). Based on the optimal conditions, the yield of phytic acid was 1.215%. The phytic acid of wheat bran could effectively inhibit the growth of bacteria. The MIC were 2.17, 2.89, 3.61, 3.61 μg/mL respectively. The antimicrobial effect becomes stronger with the concentration increasing. The antimicrobial effect of phytic acid was weakened by combination with 100, 200, 300mmol/L solution of NaCl, KCl, MgCl₂, CaCl₂ and 10% (v/v) ethyl alcohol, proplene glycol, glycerine, the antimicrobial effect of phytic acid was no difference when temperature was 0, 65, 121℃.

Key words: wheat bran; phytic acid; response surface methodology; extraction; antimicrobial effect

中图分类号: TS210.9

文献标识码: A

文章编号: 1002-0306(2015)11-0093-07

doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2015.11.011

植酸 (phytic acid) 又名肌醇六磷酸酯, 学名称为环己六醇六磷酸酯, 是淡黄色或黄褐色粘稠状液体, 呈强酸性, 易溶于水、乙醇、丙二醇和甘油等, 几乎不

溶于醚、苯、乙烷和氯仿等, 遇高温则分解^[1]。麦麸是制粉过程中提取小麦粉和胚芽后的残留部分, 主要用作饲料, 其经济附加值很低。因此, 如何利用麸皮

收稿日期: 2014-09-03

作者简介: 汪洋点点 (1992-), 女, 本科, 研究方向: 食品质量与安全。

* 通讯作者: 张志清 (1976-), 男, 博士, 教授, 研究方向: 粮食、油脂及植物蛋白质工程。

基金项目: 国家大学生创新性实验计划课题 (1310626042)。

中的功能性成分成为现代食品和粮油加工的研究热点。研究表明,麦麸中含有4%~5%的植酸^[2],是制取植酸的良好来源。植酸在医药、化工、纺织工业、食品等轻工业中均有广泛的用途^[3]。

生产中一般采用提取法制取植酸^[4-5],主要有菲丁法、萃取法和膜分离法。有关植酸含量的测定方法大致可分为酶法^[6]、分光光度法^[7]、现代仪器法^[8-9]、比色法^[10]等。近年来植酸在我国得以迅速发展,优化出经济、高效的植酸提取工艺条件,是提高产品质量及经济效益的重要环节。因此,本文以麦麸为原料,从麦麸中提取植酸,以植酸含量为指标,研究提取不同提取条件(提取时间、提取温度、酸浸液浓度、料液比)对植酸得率的影响。在单因素分析的基础上,以植酸含量为响应值,进行响应面实验优化麦麸中提取植酸的工艺条件。同时,在测定植酸提取液对食品中常见细菌最小抑菌浓度的同时,研究了其在不同条件下(浓度、金属阳离子、浓度、温度和有机溶剂)的抑菌效果,为麦麸功能的综合开发利用提供理论支持。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

麦麸 雅安市售;大肠杆菌(*Escherichia coli*):菌株编号 ATCC 25922、金黄色葡萄球菌(*Staphylococcus aureus*):菌株编号 ATCC 25923、枯草芽孢杆菌(*Bacillus subtilis*):菌株编号 CICC 21482、沙门氏菌(*Salmonella*):菌株编号 CTCC 21482 均由四川农业大学食品学院微生物实验室鉴定保存。

牛肉膏、蛋白胨 均购自北京奥博星生物技术有限责任公司;氯化钠、氯化钙、琼脂、氯化镁、氯化钾、氢氧化钠、盐酸、乙醇、丙二醇、丙三醇、植酸(50%高纯度植酸液体) 均购自成都科龙化学试剂厂;0.22 μm 水系微孔滤膜购自郑州市国达仪器设备有限公司;一次性注射器购自杭州绍峰科技有限公司;HD-542型牛津杯购自北京杰瑞恒达科技有限公司;游标卡尺购自广州市新徕测绘仪器有限公司。

CCP225D型电子天平 德国赛多利斯股份公司;UV-3100PC型紫外分光光度计 上海美谱达仪器有限公司;KH-50B型超声波破碎仪 昆山禾创超声仪器有限公司;HH-2数显恒温水浴锅 江苏省金坛市荣华仪器制造有限公司;Thermo BR4i冷冻离心机 美国 Thermo 公司;SYQ-DSX-280B型手提式不锈钢压力蒸汽灭菌器 上海申安医疗器械厂;SW-CJ型洁净工作台 苏州安泰空气技术有限公司;HZQ-A型恒温振荡培养箱 上海一恒科学仪器有限公司。

1.2 实验方法

1.2.1 麦麸中植酸提取方法的优化

1.2.1.1 植酸含量的测定方法 参考王国蓉^[11]的方法,并做一定修改。准确称取2g粉碎后的麦麸置于250mL烧杯中,采用盐酸浸提,超声破碎15min后,置于恒温水浴锅中保温酸浸一定时间,离心(4500r/min,10min),取2mL所得植酸粗提液,用蒸馏水定容至10mL,加入2滴10%的碘基水杨酸,用硫代

硫酸钠标样标定了浓度的三氯化铁溶液滴定至溶液呈紫色且30s内不褪色。植酸含量按下式进行计算。

$$\text{植酸含量}(\%) = \frac{\alpha \times c \times V \times 0.2357}{W} \times 100$$

式中: α 为稀释倍数; c 为三氯化铁溶液的浓度,mol/L; V 为消耗三氯化铁溶液的体积,mL;0.2375为每分子植酸可络合2.8个 Fe^{3+} ,1mol三氯化铁相当于0.2357g植酸; W 为样品干基质量,g。

1.2.1.2 提取方法的优化 参考罗仓学^[12]的方法,并做一定修改。以植酸含量为指标,分别选取提取时间、提取温度、酸浸液浓度与料液比进行麦麸中植酸提取的单因素优化实验。对每个单因素进行方差分析,验证该因素是否具有显著性,具有显著性的因素入选响应面分析的因素。在单因素基础上,采用Box-Behnken中心组合设计原理,进行四因素三水平的响应面实验对植酸提取的工艺条件进行优化。采用多元二次回归方程拟合因素与响应值之间的函数关系,通过回归方程优化工艺参数,预测响应值,并对影响实验过程的因子及其交互作用进行评价,确定最佳反应条件。实验因素及水平见表1。

表1 因素水平编码表

Table 1 Variables and levels in response surface design

因素	水平		
	-1	0	1
X_1 提取时间(h)	1	2	3
X_2 提取温度($^{\circ}\text{C}$)	30	40	50
X_3 酸浸液浓度(mol/L)	0.8	1.0	1.2
X_4 料液比(g/mL)	1:15	1:20	1:25

1.2.2 植酸粗提液对食品中主要致病菌的抑菌效果分析

1.2.2.1 植酸粗提液的制备 将一定量的麦麸按1:20的料液比加入1mol/L的HCl,超声15min后,在40 $^{\circ}\text{C}$ 的恒温水浴锅中保温2h,在4500r/min下离心10min得到的上清液经旋转蒸发仪浓缩,即得到植酸粗提液,其含量为0.1444g/mL。

1.2.2.2 抑菌谱的测定 参考倪清艳^[13]的方法,挑取活化后的供试菌,接种于营养肉汤培养基中,37 $^{\circ}\text{C}$ 培养24h,取其培养物稀释至含菌量 $10^6 \sim 10^7$ CFU/mL,用移液枪吸取100 μL 的菌悬液于凝固的培养基上涂布均匀。用无菌镊子安放牛津杯,轻轻加压,使其与培养基接触无间隙,将经0.22 μm 滤膜过滤除菌体积分数为4%的植酸粗提液100 μL 加入牛津杯里,设置三个平行实验,在37 $^{\circ}\text{C}$ 下培养24h,用直尺测量抑菌圈直径。用相同pH的盐酸和4%标准植酸溶液替代提取液作为对照。

1.2.2.3 最小抑菌浓度(MIC)的测定 参考彭益强^[14],王放银^[15]的方法,取含菌量为 $10^6 \sim 10^7$ CFU/mL菌液100 μL ,用无菌的涂布棒在营养琼脂平板上均匀涂布。用无菌镊子插好牛津杯,将经0.22 μm 滤膜过滤除菌体积分数为1.00%、1.50%、2.00%、2.50%、3.00%的植酸粗提液100 μL 加入牛津杯里,设置三个平行实验,在37 $^{\circ}\text{C}$ 下培养24h,用直尺测量抑菌圈直径。

1.2.2.4 提取液浓度对植酸抑菌效果的影响 参考

谢勇^[16],付慧^[17]等方法,根据供试菌的最小抑菌浓度,配制不同浓度的植酸提取液,取含菌浓度为 $10^6 \sim 10^7$ CFU/mL菌液 $100 \mu\text{L}$,用无菌的涂布棒在营养琼脂平板上均匀涂布。用无菌镊子插好牛津杯,将经 $0.22 \mu\text{m}$ 滤膜过滤除菌体积分数为2.50%、3.00%、3.50%、4.00%、4.50%的植酸粗提液 $100 \mu\text{L}$ 加入牛津杯里,设置三个平行实验,在 37°C 下培养24h,用直尺测量抑菌圈直径。

1.2.2.5 金属阳离子及浓度对植酸提取液抑菌效果的影响 参考李淑彬^[18],廖爱琳^[19]等的做法,配制浓度为 $5.78 \mu\text{g/mL}$ 的植酸提取液,取 1mL 植酸提取液分别与 1mL 的100、200、300mmol/L的氯化钠、氯化钾、氯化镁、氯化钙溶液混合均匀。

取含菌量为 $10^6 \sim 10^7$ CFU/mL菌液 $100 \mu\text{L}$,用无菌的涂布棒在营养琼脂平板上均匀涂布。用无菌镊子插好牛津杯,将经 $0.22 \mu\text{m}$ 滤膜过滤除菌的各浓度溶液 $100 \mu\text{L}$ 加入牛津杯里,设置三个平行实验,在 37°C 下培养24h,用直尺测量抑菌圈直径,以未处理的植酸提取液作为对照。

1.2.2.6 温度对植酸提取液抑菌效果的影响 参考常丽欣^[20]等方法,并做一定修改。考虑到目前常用的灭菌温度,配制浓度为 $5.78 \mu\text{g/mL}$ 的植酸提取液,分别在 0 、 65 、 121°C 保持20min,在无菌环境中冷却至室温。

取含菌量为 $10^6 \sim 10^7$ CFU/mL菌液 $100 \mu\text{L}$,用无菌的涂布棒在营养琼脂平板上均匀涂布。用无菌镊子插好牛津杯,将经 $0.22 \mu\text{m}$ 滤膜过滤除菌的各溶液 $100 \mu\text{L}$ 加入牛津杯里,设置三个平行实验,在 37°C 下培养24h,用尺测量抑菌圈直径,以常温下未作处理的植酸提取液作为对照。

1.2.2.7 有机溶剂对植酸提取液抑菌效果的影响 参照秦慧民^[21],杨敏^[22]等方法,配制浓度为 $5.78 \mu\text{g/mL}$ 的植酸提取液,取 1mL 提取液分别与 1mL 的10% (v/v)的乙醇、丙二醇、丙三醇溶液混合。

取含菌量为 $10^6 \sim 10^7$ CFU/mL菌液 $100 \mu\text{L}$,用无菌的涂布棒在营养琼脂平板上均匀涂布。用无菌镊子插好牛津杯,将经 $0.22 \mu\text{m}$ 滤膜过滤除菌的各溶液 $100 \mu\text{L}$ 加入牛津杯里,设置三个平行实验,在 37°C 下培养24h,用直尺测量抑菌圈直径,以未处理的植酸提取液作为对照。

2 结果与分析

2.1 麦麸中植酸提取方法的优化

2.1.1 各单因素对植酸提取液中植酸含量的影响 由图1a可以看出,当提取时间从1h增加至2h时,植酸含量急剧增加,2h以后植酸含量随时间的增加呈现明显减少的趋势,可能是已提取出的植酸随着提取时间的延长发生了一定程度的氧化。因此,将2h作为最佳提取时间。由图1b可以看出,随着提取温度从 30°C 升高到 40°C ,植酸含量明显增加,温度高于 40°C 后植酸含量随提取温度的升高明显降低。并且在实验过程中发现,当提取温度过高时酸浸液有明显的异味,可能是麦麸在较长的提取时间内由于微生物作用而发生的发酵, 40°C 以后因温度

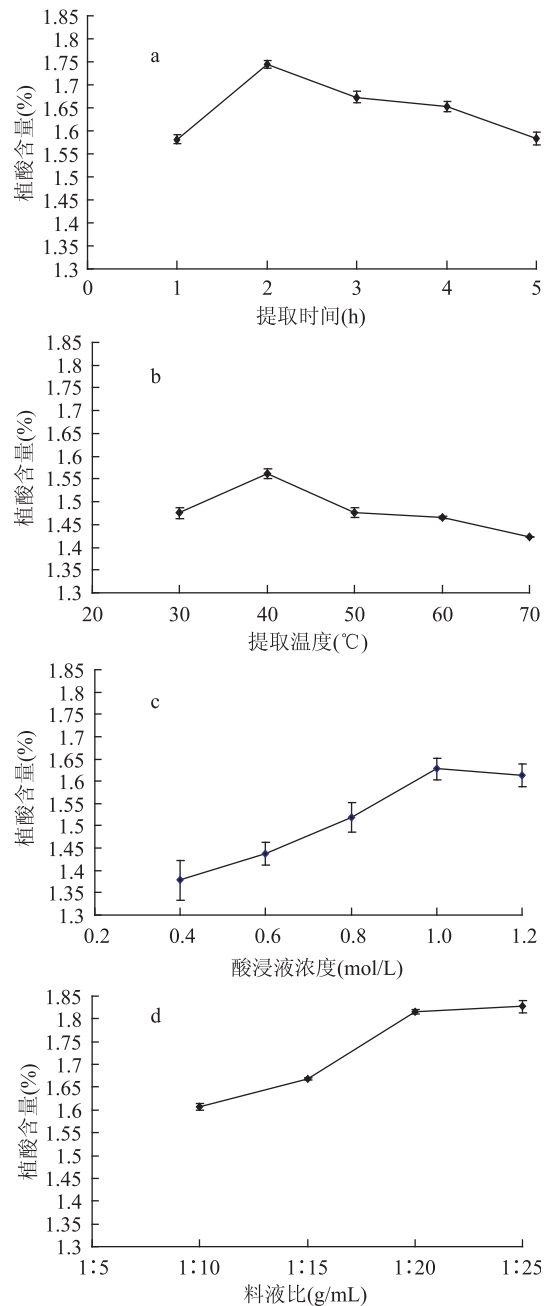


图1 单因素条件对植酸提取量的影响

Fig.1 Effect of extraction single factors on phytic acid yield from wheat bran

太高植酸发生了氧化因而含量下降。因此,将 40°C 选为最佳提取温度。由图1c可以看出,植酸含量随酸浸液浓度的增大而增大,当酸浸液浓度为 1.0mol/L 时植酸含量达到最大值,随后植酸含量有所下降。酸浸液浓度增大降低了植酸的螯合性,但当酸浸液浓度增大到一定程度后麦麸中的其他成分如蛋白质、多糖等也被溶解出,从而再次和植酸螯合,使植酸的含量降低。因此,确定提取植酸的酸浸液的最佳浓度为 1.0mol/L 。由图1d可以看出,当料液比在 $1:10 \sim 1:20$ (g/mL)的范围内,植酸含量随料液比的增加而明显增加,但料液比增加至 $1:25$ (g/mL)时,植酸含量增加趋势很小,随着料液比的增大植酸逐渐被完全提取出来后植酸含量不再增加。经实验表明料液

比太小,麦麸中的植酸不能完全提出,当植酸完全提出后料液比的增大对其没有影响,考虑工业中提取植酸的成本等因素,因此选取 1:20 (g/mL) 作为提取的最佳料液比。由实验结果可以看出,最佳提取时间和提取温度与罗仓学等^[12]以菜籽粕为原料的实验结果相一致,可能是因为在 40℃ 和酸浸 2h 的条件下,能较大程度上将植酸提取出来并保持其稳定性,故出现最高点。同时由于所选取的原料不同,所含的蛋白质不同以及在浸提液中的溶解性不同,植酸以不同形式的复合物存在,导致酸浸液浓度和料液比的结果不同。但其变化趋势仍相一致,植酸含量随酸浸浓度的增加呈现先增后减的趋势,随料液比的增加出现先增加后趋于平缓的趋势。

2.1.2 响应面实验优化植酸提取条件 在单因素基础上,本实验采用 Box-Behnken 中心组合设计原理,对影响植酸提取较大的 4 个因素: X_1 (提取时间)、 X_2 (提取温度)、 X_3 (酸浸液浓度)、 X_4 (料液比) 采用 Design Expert8.0.6 软件设计四因素三水平中心实验。因素水平编码表见表 1,响应面实验结果见表 2。

表 2 Box-Behnken 实验设计及结果

Table 2 Arrangement and experimental results of response surface Box-Behnken design

实验号	X_1	X_2	X_3	X_4	植酸含量 (%)
1	1	0	0	-1	0.889
2	0	1	0	-1	0.916
3	1	-1	0	0	1.052
4	-1	0	0	1	0.948
5	0	0	0	0	1.177
6	0	-1	0	-1	0.806
7	0	1	1	0	1.096
8	0	1	0	1	0.956
9	0	0	0	0	1.168
10	0	0	-1	1	0.976
11	-1	-1	0	0	0.936
12	0	-1	1	0	1.098
13	1	0	-1	0	0.981
14	0	0	1	-1	0.967
15	-1	0	-1	0	0.947
16	0	1	-1	0	0.982
17	-1	0	1	0	1.129
18	-1	1	0	0	1.032
19	1	0	1	0	1.107
20	0	-1	-1	0	0.911
21	0	0	0	0	1.192
22	1	1	0	0	1.070
23	0	0	0	0	1.197
24	-1	0	0	-1	0.919
25	0	0	0	0	1.156
26	0	-1	0	1	0.942
27	0	0	-1	-1	0.946
28	1	0	0	1	1.118
29	0	0	1	1	1.181

经 Design Expert8.0.6 软件对表 2 的结果进行分析,得到四因素与植酸含量的回归方程如下:

$$\begin{aligned} \text{植酸含量}(\%) = & 1.18 + 0.025X_1 + 0.026X_2 + 0.070X_3 + 0.057X_4 - 0.019X_1X_2 - 0.014X_1X_3 + 0.050X_1X_4 \\ & - 0.018X_2X_3 - 0.024X_2X_4 + 0.046X_3X_4 - 0.069X_1^2 - 0.11X_2^2 - 0.045X_3^2 - 0.14X_4^2 \end{aligned}$$

对植酸含量的方差分析及显著性结果见表 3。由表 3 可以看出, $p < 0.0001$, 表明二次多元回归模型的效果极显著, 失拟项 $p = 0.0669 > 0.05$ 即不显著。相关系数 $R^2 = 0.9533$, $R_{adj}^2 = 0.9067$, 说明模型与实验拟合度较好, 实验失拟小, 因此可以用此模型来进行植酸含量的分析和预测。结果表明, 各实验因素对响应值的影响不是单纯的线性关系, 响应值的变化相当复杂, 回归模型中显示了多项交互作用, 其中 X_3 、 X_4 、 X_1^2 、 X_2^2 、 X_4^2 作用极显著, X_1 、 X_2 、 X_1X_4 、 X_3X_4 、 X_3^2 作用显著。由表 3 可以看出, 对植酸含量影响的大小为酸浸液浓度 > 料液比 > 提取温度 > 提取时间。

2.1.3 响应面分析 由图 2a、图 2b 可以看出, 时间与料液比 (X_1 、 X_4)、酸浸液浓度与料液比 (X_3 、 X_4) 的交互作用对植酸含量影响显著, 曲线较陡, 且随着其数值的增加或者减少响应值降低, 响应值在中心有一个最大值。

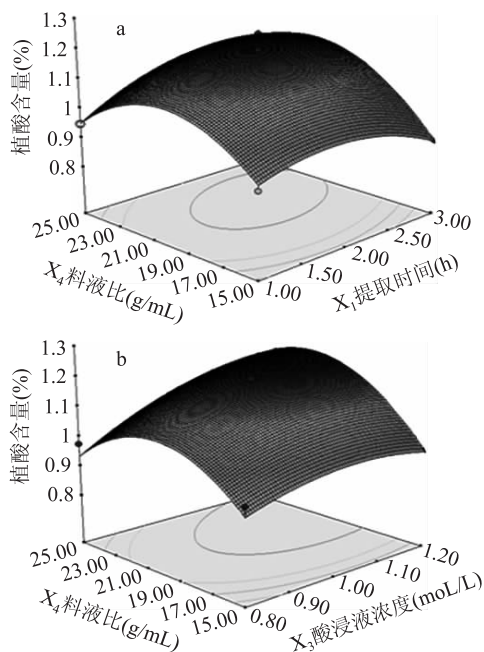


图 2 交互项显著的因素响应曲面图

Fig.2 Interactive significant factors of response surface figure

注: a.提取时间与料液比; b.酸浸液浓度与料液比。

对响应面和回归方程进行分析后, 得到的提取植酸的最优工艺条件是: 提取时间 2.24h, 提取温度 39.73℃, 酸浸液浓度 1.19mol/L, 料液比 1:22.02 (g/mL)。考虑到实际操作的可行情况, 将提取植酸的最优工艺条件修正为: 提取时间 2.2h, 提取温度 40℃, 酸浸液浓度 1.2mol/L, 料液比 1:22 (g/mL)。在此条件下进行三次验证实验, 得到的植酸含量的结果为 1.215%、1.177%、1.253%, 平均值为 1.215%, 与

表3 植酸含量的方差分析及显著性结果

Table 3 Variance analysis for yield of Phytic Acid with various extraction conditions

来源	平方和	自由度	方差	F 值	p	显著性
模型	0.32	14	0.023	20.45	<0.0001	**
X ₁	0.007803	1	0.007803	7.06	0.0188	*
X ₂	0.007854	1	0.007854	7.11	0.0185	*
X ₃	0.058	1	0.058	52.57	<0.0001	**
X ₄	0.038	1	0.038	34.66	<0.0001	**
X ₁ X ₂	0.001521	1	0.001521	1.38	0.2603	
X ₁ X ₃	0.007840	1	0.007840	0.71	0.4138	
X ₁ X ₄	0.01000	1	0.01000	9.05	0.0094	*
X ₂ X ₃	0.001332	1	0.001332	1.21	0.2908	
X ₂ X ₄	0.002304	1	0.002304	2.08	0.1708	
X ₃ X ₄	0.008464	1	0.008464	7.66	0.0151	*
X ₁ ²	0.031	1	0.031	27.97	0.0001	**
X ₂ ²	0.079	1	0.079	71.55	<0.0001	**
X ₃ ²	0.013	1	0.013	11.84	0.0040	*
X ₄ ²	0.13	1	0.13	114.27	<0.0001	**
剩余	0.015	14	0.001105			
失拟项	0.014	10	0.001433	5.02	0.0669	
纯误差	0.001142	4	0.002855			
总和	0.33	28				

注: * 代表在 $\alpha = 0.05$ 上差异显著; ** 代表在 $\alpha = 0.01$ 上差异极显著。

表4 植酸提取液浓度对抑菌效果的影响 (cm)

Table 4 The influence about concentration on antimicrobial effect of phytic acid extracting solution (cm)

菌种	植酸浓度 ($\mu\text{g}/\text{mL}$)							
	6.50	5.78	5.05	4.33	3.61	2.89	2.17	1.44
大肠杆菌	2.35 \pm 0.10	2.42 \pm 0.08	1.66 \pm 0.06	1.62 \pm 0.01	1.41 \pm 0.05	1.32 \pm 0.05	1.21 \pm 0.05	-
金黄色葡萄球菌	2.09 \pm 0.01	1.99 \pm 0.17	1.90 \pm 0.13	1.92 \pm 0.08	1.68 \pm 0.04	1.48 \pm 0.06	-	-
枯草芽孢杆菌	2.13 \pm 0.03	2.18 \pm 0.09	1.84 \pm 0.04	1.76 \pm 0.05	1.55 \pm 0.05	-	-	-
沙门氏菌	2.65 \pm 0.09	1.75 \pm 0.15	1.67 \pm 0.01	1.57 \pm 0.04	1.53 \pm 0.06	-	-	-

注:“-”表示无抑菌圈出现。

预测值 1.225% 基本相符。

2.2 植酸粗提液对食品中常见细菌的抑菌效果分析

2.2.1 植酸粗提液对食品常见细菌抑菌效果初测

采用抑菌圈法分析表明植酸提取液对大肠杆菌、金黄色葡萄球菌、枯草芽孢杆菌和沙门氏菌都有较好的抑制作用,通过与标准植酸和相同 pH 的盐酸溶液比较发现,盐酸的抑菌圈直径最大,标准植酸样品的抑菌圈直径最小。说明植酸有抑菌作用,植酸粗提液抑菌圈直径大于植酸标准品的原因可能是提取液中含有如酚类等其他水溶性物质,也具有一定的抑菌作用,故抑菌效果强于对照组。

2.2.2 最小抑菌浓度 (MIC) 的测定及不同植酸提取液浓度对抑菌效果的影响 由表 4 可知,植酸提取液对大肠杆菌、金黄色葡萄球菌、枯草芽孢杆菌和沙门氏菌的最小抑菌浓度依次为 2.17、2.89、3.61、3.61 $\mu\text{g}/\text{mL}$,故大肠杆菌对植酸最敏感。由于大肠杆菌和沙门氏菌是革兰氏阴性菌,金黄色葡萄球菌和枯草芽孢杆菌是革兰氏阳性菌,可推测植酸对革兰氏阴性菌和革兰氏阳性菌均有一定抑制作用。可以看出,在一定范围内随着植酸提取液浓度的增加,抑

菌圈直径呈现增大的趋势,抑菌效果增强。并且不同菌的最佳抑菌浓度不同,大肠杆菌和枯草芽孢杆菌在 5.78 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的浓度下抑菌效果最好,金黄色葡萄球菌和沙门氏菌在 6.05 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的浓度下抑菌效果最好。其原因可能是不同微生物的最适 pH 不同,呈强酸性的植酸提取液改变其生长环境的 pH,从而影响供试菌的生长。随植酸提取液浓度的增加,大肠杆菌和枯草芽孢杆菌生长环境的 pH 先降低后基本保持不变;金黄色葡萄球菌和沙门氏菌生长环境的 pH 降低。

2.2.3 金属离子及浓度对植酸提取液抑菌效果的影响 由表 5 可知,植酸提取液与不同金属离子混合后抑菌效果相较对照组均减弱。其中对大肠杆菌的抑菌效果是:含有 100mmol/L Na⁺ 的植酸提取液无抑菌圈出现, K⁺ 浓度的变化对抑菌圈直径影响不大,随 Mg²⁺ 浓度增大抑菌圈直径减小,随 Ca²⁺ 浓度增大抑菌圈直径增加;对金黄色葡萄球菌的抑菌效果是:含有 100、200mmol/L Na⁺、300mmol/L Mg²⁺ 和 100mmol/L Ca²⁺ 的植酸提取液无抑菌圈出现,随 K⁺ 浓度增大抑菌圈直径增加;对枯草芽孢杆菌的抑菌效果是:随

表5 金属离子及浓度对植酸提取液抑菌效果的影响(cm)

Table 5 The influence about metal cations & concentration on antimicrobial effect of phytic acid extracting solution(cm)

金属离子浓度 (mmol/L)	菌种				
	大肠杆菌	金黄色葡萄球菌	枯草芽孢杆菌	沙门氏菌	
NaCl	100	-	-	1.63 ± 0.11	-
	200	1.27 ± 0.03	-	1.34 ± 0.09	-
	300	1.18 ± 0.03	1.3 ± 0.07	1.30 ± 0.05	-
KCl	100	1.28 ± 0.04	1.34 ± 0.14	1.90 ± 0.10	-
	200	1.27 ± 0.08	1.50 ± 0.28	1.47 ± 0.03	-
	300	1.30 ± 0.08	1.54 ± 0.27	1.52 ± 0.03	-
MgCl ₂	100	1.33 ± 0.10	1.18 ± 0.08	1.43 ± 0.03	1.26 ± 0.05
	200	1.27 ± 0.03	1.36 ± 0.05	1.27 ± 0.08	1.33 ± 0.08
	300	1.18 ± 0.03	-	1.55 ± 0.09	1.52 ± 0.10
CaCl ₂	100	1.17 ± 0.08	-	1.52 ± 0.08	-
	200	1.24 ± 0.04	1.47 ± 0.10	1.30 ± 0.05	-
	300	1.31 ± 0.05	1.54 ± 0.05	1.23 ± 0.03	-
对照组	2.42 ± 0.08	1.99 ± 0.17	2.18 ± 0.09	1.75 ± 0.15	

注：“-”表示无抑菌圈出现。

表6 温度对植酸提取液抑菌效果的影响(cm)

Table 6 The influence about temperature on antimicrobial effect of phytic acid extracting solution(cm)

菌种	温度(℃)			
	0	65	121	对照组
大肠杆菌	1.71 ± 0.12	2.07 ± 0.06	1.97 ± 0.09	2.42 ± 0.08
金黄色葡萄球菌	1.97 ± 0.08	1.85 ± 0.15	2.04 ± 0.05	1.99 ± 0.17
枯草芽孢杆菌	2.16 ± 0.01	2.12 ± 0.10	2.13 ± 0.14	2.18 ± 0.09
沙门氏菌	1.98 ± 0.14	1.69 ± 0.14	1.76 ± 0.11	1.75 ± 0.15

表7 有机溶剂对植酸提取液抑菌效果的影响(cm)

Table 7 The influence about organic solvents on antimicrobial effect of phytic acid extracting solution(cm)

菌种	有机溶剂			
	乙醇	丙二醇	丙三醇	对照组
大肠杆菌	-	1.50 ± 0.09	1.42 ± 0.08	2.42 ± 0.08
金黄色葡萄球菌	-	1.18 ± 0.13	1.53 ± 0.12	1.99 ± 0.17
枯草芽孢杆菌	1.30 ± 0.03	1.43 ± 0.03	1.53 ± 0.02	2.18 ± 0.09
沙门氏菌	-	1.18 ± 0.13	1.53 ± 0.12	1.75 ± 0.15

注：“-”表示无抑菌圈出现。

Na⁺、Ca²⁺浓度增大抑菌圈直径减小,随K⁺、Mg²⁺浓度增大抑菌圈直径先减后增;沙门氏菌对Na⁺、K⁺、Ca²⁺敏感,当加入这些离子后无抑菌圈出现,随Mg²⁺浓度增大抑菌圈直径增加。可能是因为植酸具有极强的螯合性,与金属离子螯合后,改变其原来的结构或影响微生物代谢酶的活性。因此植酸提取液作为防腐剂使用在含钠、钾、镁、钙离子丰富的食品中时,应考虑其抑菌效果下降的问题。

2.2.4 温度对植酸提取液抑菌效果的影响 由表6可知,相较对照组,经0、65、121℃处理后的植酸提取液对大肠杆菌的抑菌效果减弱,0℃处理对沙门氏菌的抑菌效果略有增强,65℃处理效果减弱,121℃处理几乎没有影响;经0、65、121℃处理后的植酸提取液对金黄色葡萄球菌和枯草芽孢杆菌的抑菌效果基本不变。说明不同处理温度对植酸抑菌效果的影响较小。

2.2.5 有机溶剂对植酸提取液抑菌效果的影响 由表7可知,乙醇与植酸提取液混合后对大肠杆菌、金黄色葡萄球菌和沙门氏菌基本没有抑制作用,丙二醇、丙三醇与植酸提取液混合后对大肠杆菌、金黄色葡萄球菌、枯草芽孢杆菌和沙门氏菌都有一定的抑制效果,但相较于对照组,植酸提取液与有机溶剂混合后,抑菌效果减弱。其原因可能是植酸虽易溶于这些有机溶剂,但两者混合后,对微生物生长环境的pH改变的能力减弱,且有机溶剂也可能作为微生物的碳源及能源,使得抑菌效果不如对照组。

3 结论与讨论

本实验在单因素实验的基础上,以麦麸为原料,从麦麸中提取植酸并测定植酸含量,以植酸含量为响应值,进行响应面实验优化麦麸中提取植酸的工艺条件。优化后的提取植酸的工艺条件为:提取时

间 2.2h, 提取温度 40℃, 酸浸液浓度 1.2mol/L, 料液比 1:22。在此优化条件下进行三次验证实验, 得到的植酸平均含量为 1.215%, 与预测值相符, 且重现性好, 说明响应面法优化提取植酸的工艺结果可靠。

研究发现, 麦麸植酸提取液对食品中常见的 4 种致病菌均有明显抑制作用, 其中对大肠杆菌的抑制效果最好; 植酸提取液对大肠杆菌、金黄色葡萄球菌、枯草芽孢杆菌和沙门氏菌的最小抑菌浓度依次为 2.17、2.89、3.61、3.61 μg/mL; 随植酸提取液浓度增加, 抑菌效果增强; 当将不同浓度的 Na⁺、K⁺、Mg²⁺ 和 Ca²⁺ 与植酸提取液混合后, 抑菌效果受到抑制; 经 0、65、121℃ 处理后的植酸提取液抑菌效果变化较小; 与乙醇、丙二醇、丙三醇混合后的植酸提取液抑菌效果也受到抑制。优化后植酸平均含量低于单因素结果可能是由于麦麸的吕种或批次差异。

参考文献

- [1] 赵玉生, 于然. 植酸的食品保鲜机理及应用[J]. 中国食品添加剂, 2007(1): 147-150.
- [2] 欧仕益, 陈喜德, 符莉, 等. 利用黑曲霉发酵麦麸制备阿魏酸、肌醇和低聚糖的研究[J]. 粮食与饲料工业, 2003, (5): 31-32.
- [3] Beom J L, Deloy G H. Phytic acid protective effect against beef round muscle lipid peroxidation [J]. Journal of Food Science, 1995, 2: 241-244.
- [4] 杨文玉. 植酸制取工艺研究现状与展望[J]. 中国油脂, 2003, 28(4): 46-48.
- [5] 戴传波, 李建桥, 李建秀. 植酸制取的研究进展[J]. 食品工业科技, 2007, 28(2): 293-241.
- [6] 张清华, 郭沛荣, 许光映. 酶法测定亚麻籽中的植酸含量[J]. 农产品加工学刊, 2012, (10): 59-61.
- [7] 时侯清, 沙超, 姚维东, 等. 双吡啶分光光度法测定小麦植酸含量研究[J]. 安徽科技学院学报, 2009, 23(6): 10-14.
- [8] 曾雪灵, 陈永欣, 叶明立, 等. 加速溶剂萃取-离子色谱测定油菜籽饼中的植酸[J]. 浙江大学学报(理学版), 2006, 33(6): 667-670.
- [9] 贾鹏禹, 申书昌, 郑连忠. 离子色谱法测定米糠中植酸含量[J]. 齐齐哈尔大学学报, 2009, 25(1): 82-84.
- [10] 李丽, 吴波, 李庆龙. 磷钼黄比色法测定小麦麸中的植酸[J]. 粮食与饲料工业, 2008, (4): 11-12.
- [11] 王国蓉, 万文贵, 王丽. 三氯化铁滴定法测定植酸含量方法的优化及改进研究[J]. 食品科学, 2009, 30(10): 188-190.
- [12] 罗仓学, 史兰, 李振尧. 响应面法优化菜籽粕中植酸提取工艺研究[J]. 食品与发酵工业, 2013, 49(5): 51-55.
- [13] 倪清艳, 李燕, 张海涛. ε-聚赖氨酸的抑菌作用及在保鲜中的应用[J]. 食品科学, 2008, 29(9): 102-105.
- [14] 彭益强, 方柏山. 植酸抑菌保鲜作用的研究[J]. 福建化工, 2002(4): 39-41.
- [15] 王放银, 段林东, 赵良忠. 夏枯草抗菌成分的提取及其抑菌效果研究[J]. 西南农业大学学报, 2004, 26(6): 773-775.
- [16] 谢永, 周南进, 李弼民, 等. 不同浓度和 pH 的壳聚糖对幽门螺杆菌抑菌作用的影响[J]. 中华微生物和免疫学志, 2002, 22(1): 13-14.
- [17] 付慧, 杨萍, 汪秋宽. 茶多酚的制备及其抑菌活性的研究[J]. 食品科技, 2012, 37(6): 273-276.
- [18] 李淑彬, 周仁超, 钟英长. 金属离子对黄柄曲霉生长和抗真菌抗生素合成的影响[J]. 微生物学通报, 2002, 29(3): 20-24.
- [19] 廖爱琳, 吴晓萍, 易蜀婷, 等. 壳聚糖对金黄色葡萄球菌抑菌活性的研究[J]. 中国食物与营养, 2011, 17(4): 40-43.
- [20] 常丽新, 贾长红, 高曼, 等. 丁香叶黄酮的抑菌作用研究[J]. 食品工业科技, 2010(10): 126-128.
- [21] 秦慧民, 朱思明, 于淑娟. 橙皮苷及铜配合物的抑菌抗氧化活性研究[J]. 食品科技, 2006(6): 81-83.
- [22] 杨敏, 袁佳依, 陈文学. 胡椒提取物抑菌活性研究[J]. 食品工业科技, 2013, 24(4): 125-129.
- [14] 张海容. 修饰多糖的抗氧化自由基活性及其与 DNA 结合机理的荧光法研究[D]. 广州: 华南理工大学, 2003: 54.
- [15] 彭永华. 茶多糖的化学修饰及其衍生物的降血糖活性研究[D]. 无锡: 江南大学, 2006: 35.
- [16] 焦中高, 刘杰超, 周红平, 等. 硫酸化修饰对红枣多糖自由基和亚硝基清除活性的影响[J]. 中国食品学报, 2007, 7(2): 17-21.
- [17] Macdonald J, Galley H F, Webster N R. Oxidative stress and gene expression in sepsis [J]. British journal of anaesthesia, 2003, 90(2): 221-232.
- [18] 林桂兰, 许学书, 连文思. 食用菇多糖提取物体外抗氧化性能研究[J]. 华东理工大学学报: 自然科学版, 2006, 32(3): 278-281.
- [19] Frazier C E, Wendler S L, Glasser W. Long chain branched celluloses by mild trans-glycosidation [J]. Carbohydrate Polymers, 1996, 31(1-2): 11-18.
- [20] 张难, 吴远根, 周剑丽, 等. 多糖的分子修饰及其在功能性食品中的应用展望[J]. 食品研究与开发, 2007, 28(8): 159-163.

(上接第 87 页)

的研究[J]. 安徽农学通报, 2013(17): 17-18, 38.

[7] 魏玉, 王元兰, 何新建. 低分子量 k_卡拉胶的制备、分子修饰及其生物活性研究进展[J]. 食品工业科技, 2009, 30(4): 344-348.

[8] 梁进, 张剑韵, 崔莹莹, 等. 茶多糖的化学修饰及体外抗凝血作用研究[J]. 茶叶科学, 2008, 28(3): 166-171.

[9] 刘阿娟, 张静, 张化朋, 等. 虎奶菇菌核多糖的化学修饰及活性研究[J]. 陕西师范大学学报: 自然科学版, 2014, 42(1): 105-108.

[10] 倪德江, 陈玉琼, 谢笔钧, 等. 绿茶、乌龙茶、红茶的茶多糖组成抗氧化及降血糖作用研究[J]. 营养学报, 2004, 26(1): 57-60.

[11] 余志, 石玉涛, 倪德江. 酶法修饰绿茶多糖对免疫低下模型小鼠免疫活性的影响[J]. 茶叶科学, 2010, 30(1): 567-572.

[12] 郭晓强, 何钢, 姚倩, 等. 乙酰化银耳多糖的制备及其取代度测定[J]. 食品工业科技, 2013, 34(12): 255-257.

[13] 宋道, 张丽华, 赵鹏, 等. 响应面法优选款冬花多糖的乙酰化工艺研究[J]. 中成药, 2013, 35(9): 2030-2033.