

## 姜产品乙醇提取物抗氧化及抑菌活性研究

李佳琪, 郑毅男\*, 王 昆, 丁传波, 王洲婷, 王 琬, 张 晶\*

吉林农业大学中药材学院, 长春 130118

**摘要:**对鲜姜、干姜、姜糖的乙醇提取物进行了抗氧化及抑菌活性研究。通过 DPPH、ABTS 自由基清除及还原力的测定, 比较 3 者的抗氧化活性; 通过体外抗菌实验, 比较 3 者对金黄色葡萄球菌、大肠杆菌、绿脓杆菌及枯草芽孢杆菌的抑制作用。结果表明, 3 种姜产品乙醇提取物均具有一定的抗氧化活性, 清除能力与浓度呈较明显的量效关系; 3 种姜产品对 4 种常见菌表现出不同的抑制作用, 其抑制作用由强到弱依次为干姜、鲜姜、姜糖。本实验结果为进一步研究姜产品的抗菌药效和开发安全的食品添加剂提供了科学依据。

**关键词:**姜; 姜辣素; 抗氧化; 抑菌

中图分类号: R285.5

文献标识码: A

DOI: 10.16333/j.1001-6880.2015.03.023

## Study on Antioxidant and Bacteriostasis Activity of Ethanol Extract of Ginger Products

LI Jia-qi, ZHENG Yi-nan\*, WANG Kun, DING Chuan-bo, WANG Zhou-ting, WANG Wan, ZHANG Jing\*

College of Chinese Medicinal Materials, Jilin Agricultural University, Changchun 130118, China

**Abstract:** To study the antioxidant and antimicrobial activities of the ethanol extracts of ginger, dried ginger and candied ginger. The antioxidant activities of the three extracts were compared by detecting the DPPH and ABTS radical scavenging activity and reducing power. The antimicrobial activities of the three extracts against *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* and *Bacillus subtilis* were compared through antimicrobial tests. The results showed that three ginger ethanol extracts had certain antioxidant activity in a dose-dependent relationship. These extracts presented different inhibitory effects against 4 common bacteria. The order of inhibitory effect was dried ginger > ginger > candied ginger. These results provided a scientific basis for further researching on the antibacterial effect of ginger products and developing safe food additives.

**Key words:** ginger; gingerol; antioxidant; bacteriostasis

资料研究表明, 很多慢性疾病与人体自由基代谢是否正常密切相关。自由基是生物大分子、细胞核生物组织的杀手, 清除体内多余自由基有利于人体健康<sup>[1]</sup>。因此, 开发新的、可安全有效的清除体内多余自由基的天然食物及药物成为现代研究的热点。

姜(*Zingiber officinale* Rosc.) 是姜科、姜属多年生草本植物, 又名地辛、百辣云, 自古被医学家视为药食兼用的常用中药。姜的化学成分主要包括挥发性油及辛辣成分, 辛辣成分中主要包括姜辣素(gingerol)、姜烯酚(shogaol)和姜酮(zingerone)等酚类成分<sup>[2,3]</sup>。医学研究表明, 姜具有明显的镇痛、解热、

抗炎、抗肿瘤、抗真菌、抗氧化、降脂、降血糖及抗胃溃疡等药用保健功能<sup>[4,5]</sup>。较传统化学抑制剂相比, 从姜中提取的抗氧化抑菌物质资源丰富, 加工低廉, 安全无毒, 这对药物临床及食品工业具有重要意义。本研究通过对比鲜姜、干姜及姜糖三种姜产品的抗氧化活性及抑菌效果, 为进一步研究及开发不同姜产品在食品及医学领域的应用奠定基础。

## 1 材料与amp;方法

### 1.1 材料、试剂与amp;仪器

UV-5100 紫外/可见分光光度计(上海元析仪器有限公司); YXQ-LS-50S II 型高压蒸汽灭菌器(上海博讯医疗设备厂); BCN-1360 超净工作台(北京东联哈尔仪器制造有限公司); HG303-4K 电热恒温培养箱(南京电器三厂); DHG-92438-2 型鼓风干燥箱(上海福马实验设备有限公司); 电子恒温水浴锅

收稿日期: 2013-08-27 接受日期: 2013-12-21

基金项目: 吉林省科技发展计划(XYZX201135)

\* 通讯作者 Tel: 86-013086986620; E-mail: zhijing0701@163.com

(泰斯特天津仪器有限公司)等。

鲜姜由海南省三亚市琼州学院黄朝晖博士惠赠,经吉林农业大学中药材学院郑毅男教授鉴定为姜科姜属植物鲜姜(*Zingiber officinale* Rosc.);对照品香草醛,购于中国新兴化工试剂研究所;1-二苯基-2-三硝基苯腈(DPPH)、ABTS均购于Sigma公司;金黄色葡萄球菌(*Staphylococcus aureus*, SPA)、大肠杆菌(*Escherichia coli*, EC)、绿脓杆菌(*Pseudomonas aeruginosa*, PDA)、枯草芽孢杆菌(*Bacillus subtilis*, BS)由吉林农业大学食药菌教育部工程研究中心提供;牛肉膏、蛋白胨、琼脂、乙醇等均为北京化工厂分析纯。

## 1.2 姜辣素检测方法

依据文献方法<sup>[6]</sup>,准确称取10 mg香草醛,用无水乙醇稀释配制质量浓度为0.2 mg/mL的香草醛标准溶液。分别吸取此标准溶液0.1、0.2、0.3、0.4、0.5 mL于10 mL容量瓶中,无水乙醇定容,震荡摇匀。以无水乙醇为空白,在280 nm波长处测量吸光度,绘制标准曲线。线性回归得香草醛的标准曲线方程 $Y = 1.3937X + 0.0002$ ,相关系数 $R^2 = 0.9989$ ,表明香草醛浓度为2~12  $\mu\text{g/mL}$ 范围内该方法线性关系良好。

样品中姜辣素含量的测定:精密吸取样品液0.1 mL于10 mL容量瓶中,无水乙醇定容,震荡摇匀。无水乙醇为空白,在280 nm波长处测量吸光度,由回归方程得香草醛含量,再乘以换算系数2.003<sup>[6]</sup>即为姜辣素的含量。

## 1.3 抗氧化活性测定方法<sup>[7]</sup>

### 1.3.1 供试样品的制备

以干姜为基准,通过鲜姜含水量及姜糖的成分配比进行计算,准确称取鲜姜(Ginger, G)4.5 g、干姜(Dried ginger, DG)1 g、姜糖(Candied ginger, CG)11.5 g(姜:红糖:淀粉=1:8:3),60%乙醇为溶剂,料液比1:12.5(w:v)条件下超声处理30 min,抽滤,残渣加溶剂再次处理30 min,合并滤液放置于水浴锅上加热浓缩至蒸干后复配成质量浓度分别为0.05、0.1、0.3、0.5、0.8、1.5、10 mg/mL的供试液。

阳性药:准确称取一定量的BHT(对照品)配制质量浓度分别为0.05、0.1、0.3、0.5、0.8、1.5、10 mg/mL的溶液。

### 1.3.2 DPPH清除自由基活性测定

准确称取DPPH粉末,用无水乙醇配制2  $\times 10^4$  mg/mL的储备液。在反应体系中,于10 mL试

管中加入2 mL不同浓度的样品与对照品,再加入7.5 mL DPPH溶液,震荡摇匀。室温下避光反应1 h,于517 nm处,测定其吸光度值,记为 $A_1$ ,空白对照组用2 mL 60%乙醇代替样品,测得吸光度值,记为 $A_2$ 。实验重复三次,取平均值作图。

$$\text{DPPH 自由基清除率}(I\%) = (A_2 - A_1) / A_2 \times 100\%$$

### 1.3.3 ABTS清除自由基活性测定

去离子水配制成7 mmol/L的ABTS溶液及2.45 mmol/L的过硫酸钾溶液,取过硫酸钾溶液3 mL加入到9 mL ABTS溶液中,在室温下避光反应12~16 h,形成ABTS自由基储备液。于734 nm处,用体积分数为60%的乙醇将ABTS自由基储备液稀释至吸光度为 $0.7 \pm 0.05$ ,备用。在反应体系中,于10 mL试管中加入0.8 mL不同浓度的样品与对照品,再加入7 mL ABTS<sup>+</sup>溶液,震荡混匀。室温下避光反应30 min,于734 nm处,测定其吸光度值,记为 $A_1$ ,空白对照组用0.8 mL 60%乙醇代替样品,测得吸光度值,记为 $A_s$ 。实验重复三次。

$$\text{ABTS 自由基清除率}(I\%) = (A_s - A_1) / A_s \times 100\%$$

### 1.3.4 还原力测定

在反应体系中,于10 mL试管中加入0.2 mL不同浓度的样品与对照品,再加入2.5 mL 0.2 M pH6.6的磷酸盐缓冲液和2.5 mL 1%铁氰化钾,剧烈震荡,混匀后50  $^{\circ}\text{C}$ 下水浴20 min。取出后,迅速制冷后体系中加入2.5 mL 10%的三氯乙酸,混匀后在4200 rpm下离心10 min。取上清液2 mL于10 mL的试管中,加入2.5 mL蒸馏水和0.5 mL 0.1%的三氯化铁,10 min后于700 nm处测定其吸光度值。体系的吸光度值越高表明还原力越强。实验重复三次。

## 1.4 抑菌作用测定方法

### 1.4.1 培养基配制

牛肉膏蛋白胨固体(液体)培养基:牛肉膏12 g,蛋白胨40 g,氯化钠20 g,琼脂80 g,水4000 mL。配置好的培养基经121  $^{\circ}\text{C}$ ,高温灭菌20 min。

### 1.4.2 供试样品的制备

将1.3.1得到的干品配制成质量浓度分别为10、30、50 mg/mL的供试液。阳性药:准确称取一定量的链霉素(Streptomycin, SM)对照品配制成3 mg/mL的溶液。

### 1.4.3 菌悬液的制备

在超净工作台无菌条件下,用接种环在装有指示菌(金黄色葡萄球菌*S. aureus*、大肠杆菌*E. coli*、

绿脓杆菌 *P. aeruginosa*、枯草芽孢杆菌 *B. subtilis* 的试管中取一环菌液,加入到牛肉膏蛋白胨液体培养基中,在恒温培养箱中,37 °C 静止培养 24 h。培养好的菌液用无菌水稀释成含有菌量为  $10^5 \sim 10^6$  cfu/mL(血细胞计数板计数)的混悬液。

#### 1.4.4 抑菌实验

本实验采用滤纸片扩散方法<sup>[8]</sup>。将滤纸用打孔器打成直径为 6 mm 的滤纸片,165 °C 干热灭菌备用。在超净工作台里,将灭菌后未凝固的牛肉膏蛋白胨固体培养基均匀的倒入培养皿中,待冷却后,用移液枪取 0.1 mL 菌悬液,将菌悬液打入培养皿中,放置 5 min 左右用三角涂布器,涂布均匀。再将分别浸有姜产品乙醇提取物溶液、阳性药溶液(链霉素溶液)、60% 乙醇对照溶液和空白对照溶液(无菌水)的无菌滤纸片晾干,用无菌镊子置于供试平板上,每个平板划分为 4 个区域,每个供试样品设置 3 次重复。封口膜封口,置于恒温培养箱中,37 °C 培养 24 h,准确测量抑菌圈直径(mm)。

## 2 结果与分析

### 2.1 不同姜产品乙醇提取物中姜辣素的含量

取鲜姜、干姜、姜糖的乙醇提取物,按照“1.2”的方法制备供试液进行姜辣素含量的检测,检测结果见表 1。

表 1 实验测得的姜辣素含量

Table 1 Content of gingerols detected in different ginger products

样品 Sample	鲜姜 G	干姜 DG	姜糖 CG
结果 Result	1.97%	3.02%	0.65%

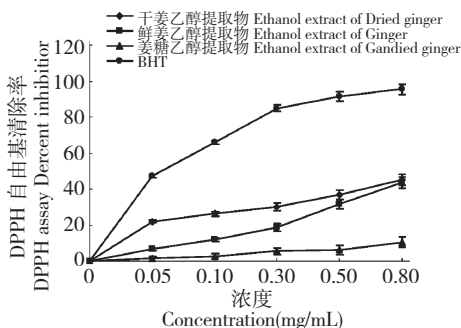


图 1 鲜姜、干姜、姜糖乙醇提取物及 BHT 的 DPPH 清除自由基活性

Fig. 1 The DPPH radical scavenging rate of ethanol extracts of ginger, dried ginger, candied ginger and BHT

### 2.2 DPPH 清除自由基活性

由图 1 可知,姜产品乙醇提取物对 DPPH 自由基具有一定的清除效果,且随着浓度的增加,清除效果逐渐增强,当达到一定的浓度时,干姜与鲜姜的清除效果趋于一致。各样品清除 DPPH 自由基能力为 BHT > 0 干姜 > 鲜姜 > 姜糖。

### 2.3 ABTS 清除自由基活性

由图 2 可知,干姜、鲜姜乙醇提取物对 ABTS 自由基具有较强的清除效果,且随着浓度的增加,清除 ABTS 自由基能力越强,当达到一定的浓度时,干姜与鲜姜的清除效果趋于平行。当浓度为 0.8 mg/mL 时,干姜与鲜姜的清除率均在 90% 以上,略低于阳性药 BHT。各样品清除 ABTS 自由基能力为 BHT > 干姜 > 鲜姜 > 姜糖。

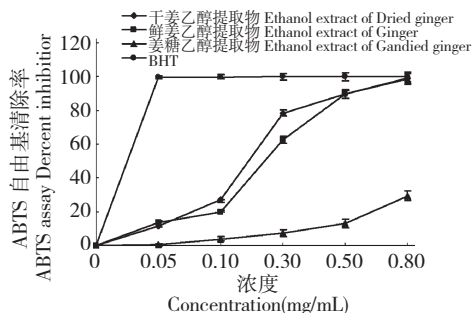


图 2 鲜姜、干姜、姜糖乙醇提取物及 BHT 的 ABTS 清除自由基活性

Fig. 2 The ABTS radical scavenging rate of ethanol extracts of ginger, dried ginger, candied ginger and BHT

### 2.4 还原力测定

在总还原力的测定中,还原力越大则样品的吸光度值越高,其抗氧化活性就越强。由图 3 可知,当浓度范围在 0 ~ 0.1 mg/mL 时,样品与 BHT 之间的抗氧化活性相差较小,但随着浓度的增加,二者之间

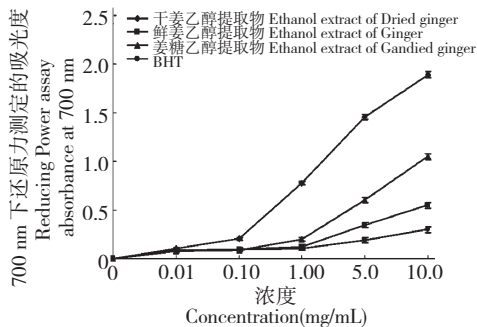


图 3 鲜姜、干姜、姜糖乙醇提取物及 BHT 的还原力

Fig. 3 The reducing power of ethanol extracts of ginger, dried ginger, candied ginger and BHT

的抗氧化活性差距逐渐明显;当浓度范围在 0 ~ 1.0 mg/mL 时,样品之间的抗氧化活性相差较小,但随着浓度的增加,各样品之间的抗氧化活性差距逐渐变大。各样品还原力能力为 BHT > 干姜 > 鲜姜 > 姜糖。

## 2.5 抑菌活性测定

3 种供试样品及阳性对照的抑菌活性见表 2。

表 2 各样品对细菌的抑制作用

Table 2 Inhibitory effect of samples against 4 common bacteria

供试菌 Tested bacterium	样品及浓度 Sample & Concentration (mg/mL)									
	鲜姜 Ginger			干姜 Dried ginger			姜糖 Candied ginger			链霉素 Streptomycin
	10	30	50	10	30	50	10	30	50	3
金黄色葡萄球菌 SP	+9.0	+10.0	+11.5	+10.0	+10.5	+12.5	~7.0	~8.0	~8.5	+15.0
大肠杆菌 EC	-6.0	-6.0	-6.0	~6.5	~6.5	~6.5	-6.0	-6.0	-6.0	+13.0
绿脓杆菌 PDA	+9.5	+10.0	+11.0	+11.0	+11.0	+12.5	~7.0	~8.0	~8.5	+15.0
枯草芽孢杆菌 BS	~7.5	~8.5	~9.0	~8.0	~9.0	~9.5	~7.0	~7.0	~7.5	+12.0

注:“+”有显著抑制作用;“~”无显著抑制作用;“-”无抑制作用;数值为抑菌圈大小(直径,mm)。

Note:“+” significant inhibitory effect;“~” indistinctive inhibitory effect;“-” no inhibitory effect; Values implied the size of bacteriostatic ring (Diameter, mm).

## 3 讨论

医学研究表明,生物体内多余的自由基是多种疾病的诱因之一,除诱导对人类威胁最大的心脑血管疾病和肿瘤外,还可导致衰老、突变及炎症<sup>[1]</sup>等。因此,开发高效、低毒、价廉的抗氧化活性药品或食品是当下的一个研究重点。目前被广泛应用的食物防腐剂山梨酸钾,虽然其使用相对安全有效,但其用量难以严格控制、用量过大时会影响食品风味,且对细菌作用较差<sup>[9]</sup>。因此,安全、有效、低毒的天然食品添加剂是目前研究的热门课题。

姜是药食同源、资源丰富的天然植物,是一种极具潜力的食品添加剂资源。现有对姜的抗氧化及抑菌活性研究多集中于同种姜的单一化学成分,本文就 3 种不同姜产品的体外抗氧化及抑菌活性进行测定,比对了其抗氧化及抑菌活性作用的强弱,为 3 者在药效差异上提供一定的实验依据。由于体外实验主要用于供试样品抗氧化及抑菌活性的初步测定,因此对姜的抗氧化食品、抗菌药品的研发,还应展开其对体内作用的观察,加强作用机理与临床用药联系的研究。本文采用紫外分光光度法,以香草醛为标准品测定了 3 种姜产品中姜辣素的含量,其中干姜与鲜姜的姜辣素含量差异较明显,姜糖中姜辣素

由表 2 可知,3 种供试样品对金黄色葡萄球菌的抑制作用最强,其次为绿脓杆菌、枯草芽孢杆菌,其中仅干姜对大肠杆菌具有较微弱的抑制作用;各样品总体抑菌效果由强到弱依次为:链霉素 > 干姜 > 鲜姜 > 姜糖。

含量甚微;通过 DPPH、ABTS 和还原力比较了 3 者的抗氧化活性,结果显示,三者均具有一定的抗氧化活性,且呈量效关系;通过体外抗菌实验得出,其抑制作用由强到弱依次为干姜、鲜姜、姜糖。本研究结果显示,鲜姜姜辣素含量明显低于干姜,这与文献<sup>[10]</sup>报道一致。文献指出,这主要是由于鲜姜在炮制的过程中,5 种姜辣素类成分的含量在质和量上均发生了变化,除姜酮外其它 4 种均有显著增加;干姜具有较强的抗氧化及抑菌效果可能与其较高的姜辣素含量相关。

综上所述,姜产品具有较明显的抗氧化及抑菌作用,其中干姜的抗氧化及抑菌效果均明显优于鲜姜,且易于运输和保存,更有利于食品、化妆品及药品等行业新产品的开发,具有较大的潜力和应用价值。

### 参考文献

- Ling GT (凌关庭). Oxidation, diseases, and antioxidation. *Cereals Oils* (粮食与油脂), 2003, 9:50-53.
- Jiang H, Solyom AM, Timmermann BN, et al. Characterization of gingerol-related compounds in ginger rhizome by high-performance liquid chromatography/electrospray ionization mass spectrometry. *Rapid Commun Mass Spectrom*, 2005, 19:2957-

- 2964.
- 3 Wei QY, Ma JP, Cai YJ, *et al.* Cytotoxic and apoptotic activities of diaryheptanocds and gingerol-related compounds from the rhizome of Chinese ginger. *J Ethnopharmacol*, 2005, 102:177-180.
  - 4 Ficker C, Smith ML, Akpagana K, *et al.* Bioassay-guided isolation and identification of antifungal compounds from ginger. *Phytother Res*, 2003, 17:897-898.
  - 5 Chrubasika S, Pittlerc MH, Roufogalis BD. *Zingiberis rhizoma*: A comprehensive review on the ginger effect and efficacy profiles. *Phytomed*, 2005, 12:684-701.
  - 6 Tang SR (唐仕荣), Song H (宋慧), Liu QD (刘全德), *et al.* Ultrasonic-assisted extraction and antioxidant activity of gingerol. *Food Sci* (食品科学), 2009, 30:138-139.
  - 7 He JS, Huang B, Ban XQ, *et al.* *In vitro* and *in vivo* antioxidant activity of the ethanolic extract from *Meconopsis quintuplinervia*. *J Ethnopharmacol*, 2012, 141:104-110.
  - 8 Policegoudra RS, biraj KA, Channe GD, *et al.* Isolation and characterization of antioxidant and antibacterial compound from mango ginger rhizome. *J Chromatogr B*, 2007, 852(2):40-48.
  - 9 Zeng T (曾婷), Xie YX (谢逸欣), Ma L (马丽). Toxicological evaluation of potassium sorbate. *Hainan Med J* (海南医学), 2012, 23(19):19-21.
  - 10 Wang WH (王维皓), Li J (李娟), Gao HM (高慧敏), *et al.* Chemical ingredients change of ginger processing with HPLC specific chromatogram. *Chin J Pharm Anal* (药物分析杂志), 2009, 9:1248-1249.
- 
- (上接第 474 页)
- 9 Han JH (韩建华). Research in Natural Antibacterial Substances from Plant Origin. Xian: Northwest A&F University, MSc. 2002-06.
  - 10 Meng JY (孟晶岩), Wang XP (王贤萍), An M (安鸣). Effect of fungicides extracted form 10 plants tissue to *Valsa Mali Miyabe et Yamada*. *Acta Agric Boreali-Sin* (华北农学报), 2005, 20(5):85-88.
  - 11 Sun W (孙伟), Jiang HY (蒋红云), Zhang YN (张燕宁), *et al.* Antifungal activities of 55 kinds of Chinese herbal extracts against two kinds of plant pathogens. *Plant Protect* (植物保护), 2011, 37:124-127.
  - 12 Lin XZ (林学政), Liu CY (柳春燕), He PQ (何培青), *et al.* Study on the inhibitory effects of chlorogenic acid originated from the leaves of *Arctium lappa* L. on pathogenic fungi. *Plant Protect* (植物保护), 2005, 31(3):35-38.
  - 13 Hu SQ (胡尚勤). Research of the nicotine to disinfect pathogenic bacteria affects. *Biol Tech* (生物技术), 2009, 19(5):73-75.
  - 14 Liu W (刘伟), Cao YB (曹永兵), Jiang YY (姜远英). Advances in research on antifungal effect of natural plant components. *Pharm Care Res* (药学服务与研究), 2011, 11:161-165.
  - 15 Hu LF (胡林峰), Yang JH (杨靖华), Zhou L (周琳), *et al.* Advances in botanical antifungal constituents. *Plant Protect* (植物保护), 2011, 37(2):5-13.
  - 16 Yan HY (闫海燕), Feng RH (冯瑞红), Chen LB (陈利标), *et al.* Isolation identification and insecticidal activities of six terpenoids in *Sabina vulgaris*. *Acta Bot Bor-Occid Sin* (西北植物学报), 2007, 27:163-167.
  - 17 Zheng WF (郑维发). Study on *in vivo* antiviral activity of four diterpenoids from ethanol extracts of *Euphorbia kansui*. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 2004, 35:65-68.
  - 18 Han JF (韩锦峰), Zhang ZY (张志勇), Liu HS (刘华山), *et al.* Research advance in tobacco glandular trichomes and their secretion substance cembranoids. *Acta Tab Sin* (中国烟草学报), 2013, 19:118-124.