

黄河三角洲 2 种菊科植物提取物及其复配的抑菌活性

姜翠凤, 王书平*, 赵永, 王淑娟, 董杰, 宿斌 (滨州学院生命科学系, 山东滨州 256603)

摘要 [目的]明确 2 种菊科植物的抑菌活性。[方法]以干苦菜、黄花蒿作为供试材料, 大肠杆菌、枯草芽孢杆菌、金黄色葡萄球菌作为供试细菌, 采用滤纸片法通过抑菌圈的大小研究干苦菜、黄花蒿及其复配提取液的抑菌活性。[结果]在供试浓度为 0.1 g/mL 时, 2 种植物的提取液及 2 种植物的复配混合液对枯草芽孢杆菌、大肠杆菌、金黄色葡萄球菌均有抑菌作用, 并且每 1 种植物提取液对至少 1 种菌的抑菌率大于 70%, 其中黄花蒿提取液对金黄色葡萄球菌的抑菌率大于 80%, 苦菜提取液对大肠杆菌的抑菌率大于 85%, 苦菜与黄花蒿提取液的复配混合液对大肠杆菌的抑菌率约为 100%。[结论]苦菜、黄花蒿有较好的抑菌活性, 可进一步研究开发。

关键词 苦菜; 黄花蒿; 复配; 抑菌效果

中图分类号 S482 文献标识码 A 文章编号 0517-6611(2016)24-121-02

The Antibacterial Activity of 2 Compositae Extracts and Compound in the Yellow River Delta

JIANG Cui-feng, WANG Shu-ping*, ZHAO Yong et al (Department of Life Science, Binzhou University, Binzhou, Shandong 256603)

Abstract [Objective] The aim was to determine the antibacterial activity of 2 Compositae plants. [Method] With maror, annua as test materials, *Escherichia coli*, *Bacillus subtilis* and *Staphylococcus aureus* as tested bacteria, using filter paper method, the antibacterial activity of maror and annua and their composite liquids were analyzed by observing the size of inhibition zone. [Result] The results showed that: when the concentration was 0.1 g/mL, the intermixtures and composite liquids of both plants inhibited three bacteria above, and the inhibitory rate of each plant's concentration was more than 70% at least, the rate of annua inhibiting *Staphylococcus aureus* was more than 80%, the rate of maror inhibiting *Escherichia coli* was more than 85%, the compound liquid of maror, annua can inhabit *Escherichia coli* thoroughly, which means the inhibitory rate was 100%. [Conclusion] Maror and annua have good antibacterial activity, which can be further studied and developed.

Key words Maror; Annua; Compound formulation; Bacteriostat

随着人类生活水平的提高, 人们对周边食物的健康问题日益关注, 植物农药也逐渐成为被关注的焦点。中国药学家屠呦呦通过从青蒿中提取的青蒿素真正意义上造福人类。杨顺义^[1]对 14 种植物的提取液进行了初步分析^[1]。刘利本等^[2]对蒲公英的抑菌作用进行了初步比较。近几年的生物仿制药逐步踏入高峰, 赵自叶^[3]对半胱氨酸蛋白酶 IdeS 进行了提高抗体结构的分辨能力研究。目前, 关于苦菜、黄花蒿活性成分的研究已有报道^[4]。笔者采用滤纸片法研究了干苦菜、黄花蒿对大肠杆菌、枯草芽孢杆菌、金黄色葡萄球菌 3 种细菌的抑菌活性, 旨在为植物源农药研究提供理论依据。

1 材料与与方法

1.1 材料

1.1.1 供试植物。苦菜、黄花蒿: 将采取的植物于烘箱内烘干, 将所采取的植物粉碎, 粉碎后采用水浴煮沸法获得提取液, 粉碎后密封保存备用。

1.1.2 供试菌种。大肠杆菌、金黄色葡萄球菌、枯草芽孢杆菌菌种均由滨州学院生命科学系保藏。

1.2 方法

1.2.1 提取方法。

1.2.1.1 苦菜(黄花蒿)水煮提取液的制备。称取干苦菜黄花蒿 100 g 于研钵中研磨至粉末状, 去部分根, 加入 200 mL 蒸馏水, 浸泡过夜, 微波低火煮沸 20~30 min, 滤纸过滤, 重复 2 次, 合并滤液, 浓缩至 100 mL, 干苦菜(黄花蒿)含量终浓度为 1 g/mL。过滤除菌, 4 °C 保存备用。

1.2.1.2 干苦菜(黄花蒿)醇提提取液的制备。称取干苦菜

(黄花蒿)100 g 于研钵中研磨至粉末状, 去部分根, 用 80% 乙醇 200 mL 浸泡过夜, 微波低火煮沸 20~30 min, 滤纸过滤, 重复 2 次, 合并滤液, 浓缩至 100 mL, 干苦菜(黄花蒿)含量终浓度为 1 g/mL。过滤除菌, 4 °C 保存备用。

1.2.1.3 复配溶液的制备。将抑菌效果较好的水提苦菜提取液和醇提黄花蒿提取液混合, 获取复配溶液。

1.2.2 最小抑菌浓度的检测。采用二倍稀释法。取带塞的试管, 每种提取药液 1 列, 每列 11 个试管, 除第 1 个试管外其他试管加入 2 mL 无菌蒸馏水, 第 1 的 24 管中药液加入 4 mL, 混匀后, 吸取 2 mL 混合液加入第 2 管中, 混匀后, 再吸取 2 mL 混合液加入到第 3 管中, 依次二倍稀释至第 9 管, 第 10 管弃去 2 mL; 第 10 管作为生长对照, 37 °C 培养 24~36 h, 以无细菌生长的最低浓度为最小抑菌浓度(MIC)。

1.2.3 抑菌圈测定试验。采用 6 mm 滤纸片法进行抑菌试验。配制普通琼脂培养基, 121 °C、0.1 kPa 条件下灭菌 20 min, 待其冷却至 80 °C 以下后, 倒 80 个平板, 每个浓度的 1 种提取方法的平板为 4 份, 每份培养基上呈三角状放 6 mm 滤纸片若干, 用移液枪移取每个浓度的药液提取液 2 mL 置上, 37 °C 培养 24 h 左右, 观察其结果, 测定抑菌圈的大小, 重复 2~3 次。

2 结果与分析

2.1 最小抑菌浓度的测定结果 由图 1 可知, 苦菜、黄花蒿提取液对大肠杆菌、枯草杆菌、金黄色葡萄球菌的最低抑菌浓度均在 10% 以下, 黄花蒿对大肠杆菌的抑菌效果较小, 达 2.5%, 而干苦菜的最小抑菌浓度则为 3.9%; 干苦菜对金黄色葡萄球菌的最小抑菌浓度较大, 达 7.8%。说明黄花蒿与干苦菜对大肠杆菌、枯草芽孢杆菌、金黄色葡萄球菌均有较强的抑菌作用。

2.2 抑菌浓度的测定结果^[5] 由表 1 可知, 苦菜与黄花蒿

基金项目 国家级大学生创新项目(201510449033); 滨州学院校内青年基金项目(BZXYL1307)。

作者简介 姜翠凤(1995-), 女, 山东寿光人, 本科生, 专业: 生物技术。
* 通讯作者, 硕士, 从事微生物学研究。

收稿日期 2016-07-01

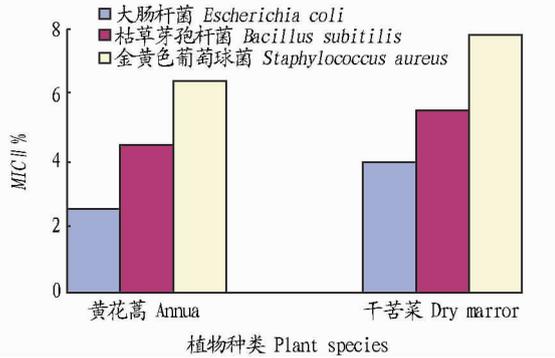


图1 2种菊科植物的MIC

Fig.1 MIC of two Compositae plants

表1 苦菜不同加工方法制备药液的抑菌效果

Table 1 The bacteriostatic effect of different processing methods for preparation of sowthistle liquor

mm

加工方法 Processing method	大肠杆菌 <i>Escherichia coli</i>	枯草杆菌 <i>Bacillus subtilis</i>	金黄色葡萄球菌 <i>Staphylococcus aureus</i>
黄花蒿 Annua	7.483	9.354	10.833
干苦菜 Dry marror	9.498	6.667	8.978
复配提取液 Compound extract	9.752	9.990	10.000

参考文献

- [1] 杨顺义, 苍耳、狼毒等植物提取物抑菌活性的初步研究[D]. 兰州: 甘肃农业大学, 2003.
- [2] 刘利本, 平家奇, 高海飞, 等. 蒲公英不同部位提取物体外抑菌作用的比较[J]. 延边大学农学学报, 2010(1): 65-68.
- [3] 赵白叶. 半胱氨酸蛋白酶 IdeS 的原核表达、纯化、活性鉴定及应用

- [D]. 聊城: 聊城大学, 2014.
- [4] 吴静. 黄花蒿的抑菌活性及有效成分的初步分离研究[D]. 重庆: 西南大学, 2008.
- [5] 史冬燕. 菏泽地区2种菊科植物的抑菌作用研究[J]. 安徽农业科学, 2009, 37(17): 7986-7987.

(上接第108页)

验。该试验中所分离的这些细菌来自不同的养殖场, 具有一定的代表性, 它们极有可能是这2种疾病的第一致病原或继发性病原。根据这些细菌的多样性推测, 它们也存在联合致病的可能性。腹水病是大菱鲆养殖过程中极为常见的一种细菌性疾病, 由于是内部器官的感染, 发病前期没有明显的症状, 给生产上及时发现和预防该病造成了一定的困难^[13]。因此, 选购健康的苗种、规范健康养殖工艺和加强卫生操作管理防治腹水病的有效措施。

参考文献

- [1] 雷霖霖, 刘新富. 大菱鲆 *Scophthalmus maximus* 引进养殖的初步研究[J]. 现代渔业信息, 1995, 10(11): 1-3.
- [2] 程开敏, 俞开康, 战文斌, 等. 大菱鲆疾病的研究进展[J]. 鱼类病害研究, 2001, 23(2): 33-38.
- [3] 王印庚, 张正, 秦蕾, 等. 养殖大菱鲆主要疾病及防治技术[J]. 海洋水产研究, 2004(6): 61-68.
- [4] 张正, 王印庚, 韩文君, 等. 养殖大菱鲆烂鳍病病原菌的鉴定及系统发育学研究[J]. 海洋科学进展, 2004(4): 193-197.
- [5] HOLT J G, KRIEG N R, SNEATH P H A, et al. Bergery's manual of deter-

- minative bacteriology [M]. Ath ed. Baltimore: Williams&Wilkins Press, 1994: 262-263, 193-194.
- [6] GAUGER E J, GOMEZ-CHIARRI M. 16S ribosomal DNA sequencing confirms the synonymy of *Vibrio harveyi* and *V. carchariae* [J]. Diseases of aquatic organisms, 2002, 52: 39-46.
- [7] 张正. 养殖大菱鲆流行病调查及主要细菌性疾病的病原学研究[D]. 青岛: 中国海洋大学, 2004.
- [8] 赵贵萍, 张璐, 汤陈坚. 大菱鲆和牙鲆腹水病的危害与防治[J]. 科学养鱼, 2008(6): 54-55.
- [9] DEVESA S, BARJA J L, TORANZO A E. Ulcerative skin and fin lesions in reared turbot, *Scophthalmus maximus* (L.) [J]. Journal of fish diseases, 2006, 12(4): 323-333.
- [10] 莫照兰, 茅云翔, 陈师勇, 等. 一株牙鲆出血症病原菌的分子生物学鉴定[J]. 高技术通讯, 2001(12): 12-17.
- [11] 史秀清, 张正, 王印庚, 等. 大菱鲆 (*Scophthalmus maximus*) 仔稚鱼发育期消化道可培养细菌的菌群特征分析[J]. 渔业科学进展, 2015(4): 73-82.
- [12] MONTES M, PEREZ M J, NIETO T P. Numerical taxonomy of gram-negative, facultative anaerobic bacteria isolated from skin of turbot *Scophthalmus maximus* and surrounding water [J]. Syst Appl Microbiol, 1999, 22(4): 604-618.
- [13] 丁春林, 李文全, 张健, 等. 工厂化养殖大菱鲆肠炎病、腹水病防治技术探讨[J]. 河北渔业, 2014(1): 46-47.