

昆虫中药五谷虫的养殖以及抗菌活性研究

薛雪¹, 汪金燕², 杨得坡^{2*}

(1. 广东食品药品职业学院, 广东广州 510520; 2. 中山大学, 广东广州 510006)

摘要 [目的]研究五谷虫油脂抗菌活性。[方法]用8种不同类型配比的饲料养殖得到不同五谷虫并烘干得到其干体,然后用索氏提取法分别提取得到不同种类五谷虫油脂,并用纸片扩散法对这8种油进行抗菌活性研究。[结果]用餐厨熟食饲养蝇蛆不仅成本低,且最终得到的油脂具有较好的抗菌作用,其对大肠杆菌有抑菌效果;而其余的油对大肠杆菌、枯草杆菌及金黄色葡萄球菌均无明显抑菌效果。[结论]用餐厨熟食饲养的五谷虫提取得到的油脂对大肠杆菌具有抑菌效果,从而为五谷虫的研究利用展示了新的方向。

关键词 五谷虫;大头金蝇;养殖;抗菌活性

中图分类号 R282.74 **文献标识码** A **文章编号** 0517-6611(2017)35-0119-03

Study on Cultivation and Antibacterial Activity of Traditional Chinese Medicine Wuguchong

XUE Xue¹, WANG Jin-yan², YANG De-po^{2*} (1. Guangdong Food and Drug Vocational College, Guangzhou, Guangdong 510520; 2. Sun Yat-Sen University, Guangzhou, Guangdong 510006)

Abstract [Objective] The research aimed to study the antibacterial activity of traditional Chinese medicine Wuguchong grease. [Method] Different kinds of Wuguchong were obtained and dried by 8 different kinds of different kinds of feed, different kinds of grease were extracted by soxhlet extraction, and the antibacterial activity of the eight kinds of grease was studied by disk diffusion method. [Result] The feeding of the cooked food was not only low cost, but also the final grease had good antibacterial effect, it had bacteriostatic effect on *Escherichia coli*, and the other grease had no obvious antibacterial effect to *Escherichia coli*, *Bacillus subtilis* and *Staphylococcus aureus*. [Conclusion] The grease which extracted from Wuguchong fed with kitchen waste had inhibitory effect on *Escherichia coli*. Thus, the research and utilization of Wuguchong showed a new direction.

Key words Wuguchong; *Chrysomya megacephala*; Cultivation; Antibacterial activity

在中药行业,药用昆虫范畴内,昆虫双翅目大头金蝇(*Chrysomya megacephala*,又名大头丽蝇、东方丽蝇)及其近缘昆虫(如家蝇 *Musca domestica*)的干燥幼虫(蝇蛆)是一味传统中药,名曰“五谷虫”,又名水仙子、罗仙子,俗名“蛆”^[1]。大头金蝇属全变态昆虫,包括卵、幼虫、蛹和成虫4个发育阶段^[2],各个时期的形态各不相同^[3]。《本草纲目》和《本草求真》表明,其具有清热解毒、消积滞的功能,干燥后研磨,可供搽敷外用,能治疗疔疮、唇疔病症^[4]。蝇蛆的养殖成本低,饲养操作方便,饲养场地要求相对较低,当温度及相对湿度在适宜的条件下,其幼虫的繁殖可以持续1年^[5],它的生存适应能力强,不受季节影响,从而被国际上列为新型蛋白质源昆虫之首^[6]。大头金蝇因其巨大的营养价值、药用价值和商用价值,在国内外都具有广阔的市场^[7]。

早在20世纪90年代,西方曾有学者报道过五谷虫具有防止创口伤面感染和清创的作用^[8],运用五谷虫活体对感染的创口伤面进行治疗,也起到了很好的效果^[9]。赵泽旭^[10]研究五谷虫干粉对大鼠创面愈合及血管生成的影响表明,五谷虫干粉可以促进创面愈合,提高皮肤创面愈合率及质量。牛长缨等^[11]用气相色谱法对不同虫态的家蝇(包括蛹、幼虫、成虫)中的脂肪酸成分和含量进行了分析,共鉴定出10种脂肪酸。五谷虫油脂具有抗炎及烫伤治疗作用^[12],防止疤痕的形成等功效^[13]。有研究表明,五谷虫体内提取出的抗菌肽具有较好的抗菌效果,五谷虫油中所含成分对皮肤炎症及微生物感染也都有一定疗效^[14]。笔者采用索氏提取法

提取了不同饲料养殖的蝇蛆的油脂,对其进行性状评价和油脂提取率测定,并主要研究了五谷虫油脂的抗菌作用,以期五谷虫的开发利用提供依据。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 试材。大头金蝇蝇种(广东中山火炬开发区收集);奶粉、红糖、蛋清及各饲料(市售);枯草杆菌 ATCC9372(广东省微生物检测中心);金黄色葡萄球菌 ATCC25923(广东省微生物检测中心);大肠杆菌 ATCC8739(广东省微生物检测中心)。

1.1.2 试剂。正己烷(分析纯,天津市大茂化学试剂厂);氯化钠(天津市致远化学试剂有限公司);蛋白胨(北京奥博星生物技术有限责任公司);牛肉浸膏(广州环凯微生物科技有限公司);营养琼脂(广州环凯微生物科技有限公司)。

1.1.3 仪器。集热式恒温加热磁力搅拌器 DF-101S(巩义市予华仪器有限责任公司);循环水式多用真空泵 SH2-DCII(上海爱朗仪器有限公司);旋转蒸发器 N91100(上海爱朗仪器有限公司);水浴锅 SB-1100(上海爱朗仪器有限公司);冷却水循环装置 CA-1111(上海爱朗仪器有限公司);电子分析天平 BL-2200H(瑞士Mettler Toledo公司);MIX-805恒温培养箱(上海比朗仪器有限公司);LDZM-60KCS立式压力蒸汽灭菌器(上海申安医疗器械厂);HZS-HA水浴振荡器(中国哈尔滨市东联电子技术开发有限公司)。

1.2 方法

1.2.1 种蝇的培养及蝇卵的收集。将种蝇培养在纱笼中,养殖密度为2.8 cm³/只。每天给予红糖:奶粉:蛋清(2:2:1)作为食物,自来水为饮用水。养殖温度保持在25℃,自然光照12:12(L:D)培养。用布袋包裹引诱剂作为集卵器,收集蝇卵,称重,接种到不同配比培养基。

基金项目 广东食品药品职业学院校级大学生创新创业项目(201021G1707);广东省医学科研基金(B2017001)。

作者简介 薛雪(1986—),女,山东肥城人,讲师,博士,从事药理活性测试研究。*通讯作者,教授,博士,博士生导师,从事天然药物化学研究。

收稿日期 2017-10-25

1.2.2 组合培养基的制备。原料组成以及用料百分含量见表1饲料配比,组合培养基的制备其原料组成以及用料百分含量分别为麦麸40%~80%、玉米粉2%~20%、豆粕粉2%~20%、全株青玉米2%~20%。将饲料按比例混合均匀,加水搅拌,湿度控制在75%,pH控制在6。

1.2.3 蝇蛆的接种与培养。每1000g“1.2.2”组合培养基中接种0.5g蝇卵,将蝇卵在25℃下培养,待蝇卵孵化后应适当搅拌培养基使蝇蛆分布均匀,并给予充分的空气(每6h通风1次)。蝇蛆培养5d后,将培养基与蝇蛆一同放入烘箱中60℃干燥,得到干燥蝇蛆。

表1 五谷虫养殖数据

Table 1 Cultivation data of Wuguchong

批次 Batch	接卵日 Receive spawn date	饲料配比 Feed ratio	鲜 Maggots Fresh Maggots//g	Maggots 脱水 Maggots dehydration//g	剩料脱水 Remaining material dehydration//g	M 料比 M material ratio//%	干物质百分比 Dry matter percentage//%
1	2015-09-25	麦麸 100 g 餐厨熟食 1 kg	113	32.89	321	9.397	29.11
2	2015-09-30	麦麸 300 g 餐厨熟食 700 g	166	42.78	258	9.006	25.77
3	2015-10-01	小米糠 300 g 餐厨熟食 700 g	150	35.00	320	7.368	23.33
4	2015-10-02	麦麸 300 g 小米糠 200 g	302	58.80	880	3.920	19.47
5	2015-10-04	麦麸 300 g 豆粕 100 g	45	10.95	249	2.738	24.33
6	2015-10-08	麦麸 400 g 国产鱼粉 10 g	102	25.17	190	6.139	24.68
7	2015-10-09	麦麸 400 g 进口鱼粉 10 g	107	22.83	218	5.568	21.34
8	2015-10-10	麦麸 200 g 豆粕 100 g	84	19.91	168	6.636	23.70

1.2.4 主要营养成分的测定。新鲜幼虫放入沸水即时死亡,在60℃烤箱干24h后评估含水量;凯氏定氮法测定蛋白含量;在旋转蒸发器50℃真空条件下,正己烷索氏提取,提取油脂8h;酸碱消化法测量纤维和总灰分的含量。

1.2.5 五谷虫油脂提取。将所有批次五谷虫干体分别用粉碎机粉碎,精确称取3.0g粉末,用滤纸包好烘干,放入索氏提取器中,以100mL正己烷作为溶剂回流提取3h,提取液减压旋蒸后得到五谷虫油脂,称重(g),计算提取率:

$$\text{提取率} = \frac{\text{五谷虫油质量}}{\text{五谷粉末质量}} \times 100\%$$

1.2.6 抗菌活性研究。液体培养基配制:分别称取蛋白胨1.0g、牛肉浸膏0.3g、NaCl 0.5g,加入100mL蒸馏水溶解,调节pH至7.0后置于高压蒸汽灭菌,锅中温度为121℃高压灭菌0.5h。固体培养基:称取琼脂3.32g,加入100mL蒸馏水溶解后置于温度为121℃的灭菌锅中高压灭菌0.5h^[15]。

在超净工作台上,分别吸取金黄色葡萄球菌、枯草杆菌、大肠杆菌菌种30μL于液体培养基锥形瓶,放至振荡培养箱37℃培养过夜。在超净工作台内,吸取菌液100μL涂布于固体培养基上,用无菌镊子将灭菌后的滤纸片放入五谷虫油中浸泡后取出,将含样品的纸片贴于平板上,轻轻按压,使药片与培养基密切接触。完成后将培养皿放在37℃恒温培养箱,培养24h。观察含药纸片周围有无抑菌圈^[16]。

2 结果与分析

2.1 五谷虫油脂营养成分分析 各批次蛆虫所含营养成分没有显著性差异,在此选取其中一个批次蛆虫研究主要营养成分,具体结果如表2所示。由表2可知,在蝇蛆营养成分

中,水分占71.40%,是所占比重最大部分,而其中纤维与总灰分的比重最小,该研究后续试验中所用到的油脂仅占4.20%。

表2 鲜蛆虫营养成分分析

Table 2 Nutrition ingredient analysis of fresh maggots

编号 No.	成分 Ingredient	含量 Content//%
1	水分	71.40
2	蛋白质	15.51
3	油脂	4.20
4	总糖	2.87
5	纤维、总灰分	2.13

2.2 五谷虫油脂基本性状分析 根据“1.2.5”方法提取得到所有批次五谷虫油脂的基本性状及提取率如表3所示。从表1和表3可以看出,用饲料中含有餐厨熟食最终得到的油脂颜色较深,为红棕色,而其余为金黄色,且2015年9月25日的批次即用麦麸100g+餐厨熟食1kg饲养出来的五谷虫油脂提取率最高,这可能与饲料配比中含有较多餐厨熟食有关,餐厨熟食所含油脂较多导致蝇蛆养殖过程中虫体对其吸收较高所致。

表3 五谷虫油脂性质

Table 3 Characteristics of Wuguchong grease

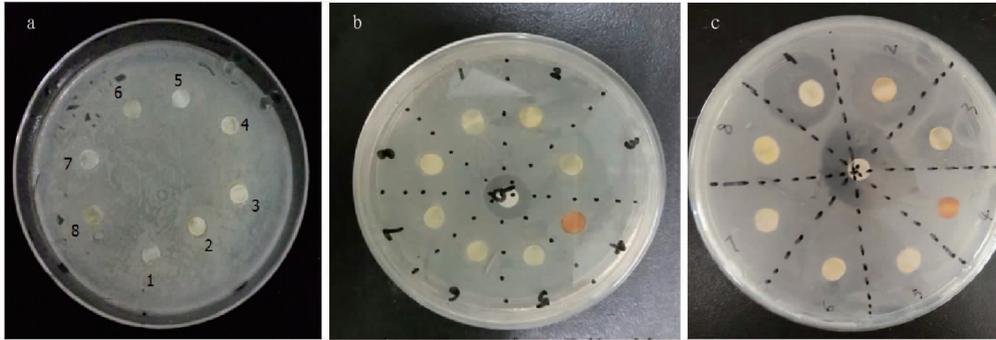
批次 Batch	色泽 Color	气味 Smell	提取率 Extraction ratio//%
09-25	红棕色	无异味	32.57
09-30	红棕色	无异味	20.63
10-01	红棕色	无异味	16.82
10-02	金黄色	无异味	30.43
10-04	金黄色	无异味	10.47
10-08	金黄色	无异味	13.99
10-09	金黄色	无异味	12.49
10-10	金黄色	无异味	17.11

2.3 抗菌活性 采用纸片扩散法考察8种不同批次五谷虫

油对金黄色葡萄球菌、枯草杆菌、大肠杆菌 3 种常见致病菌的抑制作用,结果如图 1 所示。结果发现,这 8 种批次的五谷虫油脂浸渍的圆纸片在金黄色葡萄球菌、枯草杆菌菌种培养基没有形成明显抑菌圈;而 1、2、3 号批次的油脂在大肠杆菌菌种培养基形成了较明显抑菌圈。表明这 8 种五谷虫油脂对金黄色葡萄球菌、枯草杆菌无明显抑制作用,而饲料配比为麦麸:餐厨熟食(1:10)、麦麸:餐厨熟食(3:7)及小米糠:餐厨熟食(3:7)饲养的五谷虫提取出来的油脂对大肠杆菌有

抑制效果,根据此推测这种效果可能与饲料中加入了餐厨熟食有关,同时也可能与饲料中成分转化有关。

目前研究从五谷虫体内提取出多种抗菌肽成分,试验证明其具有较好的抗菌杀菌效果。同时有研究表明,家蝇蝇蛆油对常见致病菌具有抑制活性,而且对动物烫伤有显著疗效,对动物皮肤也无刺激性和过敏性^[14]。从试验数据可以推断,不同饲料配比所得油脂抑菌活性不同,可能由于某一比例配比时利于蝇蛆体内生物转化所导致。



注:图中数字 1~8 分别为 9 月 25 日、9 月 30 日、10 月 1 日、4 日、8 日、9 日、10 日批次的油脂,9 为阳性对照丙二醇白柳提取液,每个批次试样及阳性对照剂量均相同

Note: Figures 1 to 8 in the figure are the grease of batches on September 25, September 30, October 1, October 4, October 8, October 9, October 10, respectively; 9 is the positive control propylene glycol white willow extract. Each batch of samples and positive control dose are the same

图 1 五谷虫油脂对金黄色葡萄球菌(a)、枯草杆菌(b)和大肠杆菌(c)的抑制试验结果

Fig. 1 Inhibitory activity of Wuguchong grease to *Staphylococcus aureus* (a), *Bacillus subtilis* (b) and *Escherichia coli* (c)

3 结论

该研究用 8 种不同类型配比的饲料养殖得到不同五谷虫并烘干得到其干体,然后用索氏提取法分别提取得到不同种类五谷虫油脂,其中饲料含有餐厨熟食得到的五谷虫干体及其提取出的油的颜色较其他批次饲料的深。用纸片扩散法对这 8 种油进行抗菌活性研究,结果发现,用餐厨熟食饲养蝇蛆不仅成本低,且最终得到的油脂具有较好的抗菌作用,其对大肠杆菌有抑菌效果,而其余的油对大肠杆菌、枯草杆菌及金黄色葡萄球菌均无明显抑菌效果。

该研究采用新鲜蛆虫作为原料,从源头养殖到成分提取,再到后期的抗菌活性测试,一方面保证了原料的品质,另一方面实现了餐厨垃圾的废物利用,使得蝇蛆养殖利用更加合理规范,蝇蛆作为新的药用能源具有很高的可行性与适用性,为昆虫资源的开发利用展示了新的方向。

参考文献

[1] 李锋,姜红. 苍蝇资源应用前景展望[J]. 宁夏农林科技,2001(1):49-50.
 [2] GOFF M L. Encyclopedia of insects[M]. Second Edition. Salt Lake City: Academic Press,2009:381-386.
 [3] GABRE R M,ADHAM F K,CHI H. Life table of *Chrysomya megacephala* (Fabricius) (Diptera: Calliphoridae)[J]. Acta Oecol,2005,27(3):179-183.

[4] 王寿宇. 中药五谷虫对感染创面抗菌作用的临床与分子机制研究[D]. 大连:大连医科大学,2008.
 [5] THEVAN K,AHMAD A H,RAWI C S, et al. Growth of *Chrysomya megacephala* (Fabricius) maggots in a morgue cooler[J]. Journal of forensic sciences,2010,55(6):1656-1658.
 [6] 吴青华,田河,苏立申,等. 家蝇幼虫及其产品开发利用研究进展[J]. 饲料工业,2006,27(16):63-64.
 [7] 杨满军,张彩映. 蝇蛆的开发利用[J]. 畜牧与饲料科学,2011,32(4):77-78.
 [8] SHERMAN R A,WYLE F,VULPE M. Maggot therapy for treating pressure ulcers in spinal cord injury patients[J]. J Spinal Cord Med,1995,18(2):71-74.
 [9] MUMCUOGLU K Y,INGHER A,GILEAD I, et al. Maggot therapy for the treatment of intractable wounds[J]. Int J Dermatol,1999,38(8):623-627.
 [10] 赵泽旭. 五谷虫干粉对大鼠皮肤创面愈合及血管生成影响的实验研究[D]. 大连:大连医科大学,2010.
 [11] 牛长缨,雷朝亮,宗良炳. 家蝇油脂脂肪酸的气相色谱分析[J]. 华中农业大学学报,1999,18(3):222-224.
 [12] 顾亚凤. 蝇蛆油对实验动物皮肤的刺激性、过敏性及烫伤治疗药效研究[J]. 中国兽药杂志,2004,38(10):16-17,38.
 [13] 陈淑媛. 蝇蛆油脂化学成分、理化特性及其对动物实验性烫伤治疗药效的研究[D]. 武汉:华中农业大学,2007.
 [14] 于学珍,马世平,李海涛,等. 植物甾醇凝胶促进烧伤创面愈合及抗炎作用[J]. 中国天然药物,2007,5(2):130-133.
 [15] 刘如运. 几种常用抑菌试验方法的评价及比较[J]. 现代企业教育,2013(14):341-342.
 [16] 宋磊,石治川,张杰,等. “红七星”大蒜油的抑菌活性研究[J]. 广州化学,2015,40(4):59-62.