

26 种中草药对沙门氏菌的抑制作用研究

徐放¹, 赵鹏宇¹, 吴小虎², 谭香玉¹, 艾启俊^{1*}

(1. 北京农学院食品科学与工程学院, 北京 102206; 2. 莱伯泰科有限公司, 上海 200030)

摘要 [目的] 研究 26 种中草药对沙门氏菌的抑制作用。[方法] 用无水乙醇制备 26 种中草药提取液, 对沙门氏菌进行抑菌试验, 并筛选出抑菌效果好的中草药。[结果] 在 26 种中草药提取液中, 部分对沙门氏菌生长起抑制作用。其中, 山豆根提取液和山萸肉提取液对沙门氏菌的抑菌效果最好, MIC 值均为 62.5 mg/ml; 其次是地榆提取液, MIC 值为 250.0 mg/ml。[结论] 地榆、山萸肉和山豆根醇提液能够有效抑制沙门氏菌生长。

关键词 中草药; 沙门氏菌; MIC; MBC

中图分类号 S567 **文献标识码** A **文章编号** 0517-6611(2013)04-01547-03

Inhibitory Effects of the 26 Kinds of Chinese herbal medicines on Salmonella

XU Fang et al (Department of Food Science and Engineering, Beijing University of Agriculture, Beijing 102206)

Abstract [Objective] To research the inhibitory effects of 26 kinds of Chinese herbal medicines on salmonella. [Method] Extracting solutions of 26 kinds of Chinese herbal medicines were prepared by anhydrous ethanol. Bacteriostasis test on salmonella was conducted; and the Chinese herbal medicines having the optimal inhibitory effects were selected. [Result] In the 26 extracting solutions of Chinese herbal medicines, some had inhibitory effects on the growth of salmonella. Among them, extracting solutions of *Sophora tonkinensis* roots and cornus pulps showed the best inhibitory effects; and their MIC values were both 62.5 mg/ml. Extraction solution of sanguisorba took the second place, the MIC value of which was 250.0 mg/ml. [Conclusion] Extracting solutions of *Sophora tonkinensis* roots, cornus pulp and sanguisorba could effectively inhibit the growth of salmonella.

Key words Chinese herbal medicine; Salmonella; MIC; MBC

1900 年 Lignieres 为纪念 Salmon 首次从病猪中分离出猪霍乱沙门氏菌 (*Salmonella choleraesuis*) 而采用 *Salmonella* 命名该属。沙门菌属是一大群寄生于人类和动物肠道内生化反应和抗原构造相似的革兰氏阴性杆菌的统称^[1]。沙门氏菌引起的食物中毒有多种多样的表现, 其中胃肠炎最为多见。潜伏期一般 12~36 h, 短者 6 h, 长者 48~72 h。发病初期表现为恶心、寒颤、头痛和食欲不振等, 随后出现呕吐、腹绞痛、腹泻甚至发热等, 严重的会出现抽搐及昏迷等症状。病程一般 3~7 d, 愈后良好。最易感群体是年幼儿童、虚弱者、年长老人和免疫缺陷者等^[2]。笔者用无水乙醇制备 26 种中草药提取液, 对沙门氏菌进行抑菌试验, 筛选出抑菌效果好的中草药, 以期对沙门氏菌引起的临床反应的治疗提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 研究对象。1 号黄芩 (RADIX SCUTELLARIAE)、2 号黄芪 (RADIX ASTRAGALI)、3 号黄柏 (CORTEX PHELLODENDRI)、4 号黄连 (RHIZOMA COPTIDIS)、5 号大黄 (RADIX ET RHIZOMA RHEI)、6 号白术 (RHIZOMA ATRACTYLODIS MACROCEPHALAE)、7 号长青叶、8 号甘草 (RADIX RHIZOMA GLYCYRRHIZAE)、9 号香附 (RHIZOMA CYPER)、10 号功劳叶 (Folium Ilex)、11 号地榆 (Radix Sanguisorbae)、12 号半边莲 (Herba lobeliae chinensis)、13 号瞿麦 (Herba Dianthi)、14 号丁香 (FLOS CARYOPHYLLI)、15 号女贞子 (FRUCTUS LIGUSTRI LUCIDI)、16 号瓜蒌 (FRUCTUS TRI-

CHOSANTHIS)、17 号菟丝子 (SEMEN CUSCUTAE)、18 号射干 (RHIZOMA BELAMCANDAE)、19 号五倍子 (GALLA CHINENSIS)、20 号独活 (RADIX ANGELICAE PUBESCENS)、21 号山萸肉 (FRUCTUS CORNI)、22 号败酱草 (Herba patriniae)、23 号山豆根 (RADIX ET RHIZOMA SOPHORAE TONKINENSIS)、24 号连翘 (FRUCTUS FORSYTHIAE)、25 号金樱子 (FRUCTUS ROSAE LAEVIGATAE)、26 号鹿衔草 (HERBA PYROLAE)^[3], 以上中草药均由北京长菁大药房提供。

1.1.2 供试菌种。沙门氏菌 (*Salmonella*), 由中国科学院微生物研究所提供。

1.1.3 主要仪器。DHP-9162 型电热恒温培养箱, 购自上海一恒科学仪器有限公司; SHZ-88A 往复式水浴恒温振荡器, 购自太仓市实验设备厂; DDS-307A 电导率仪, 购自上海精密科学仪器有限公司; TU-1810 紫外可见分光光度计, 购自北京普析通用仪器有限责任公司; RE-2000B 旋转蒸发器, 购自上海亚荣生化仪器厂; FW135 中草药万能粉碎机, 购自天津市泰斯特仪器有限公司; FA1004 电子天平, 购自上海天平仪器厂; KQ-500DE 超声波清洗器, 购自昆山市超声仪器有限公司。

1.1.4 主要试剂。肉汤培养基和琼脂培养基, 均按常规方法制作^[4]; 无水乙醇 (分析纯), 购自国药集团化学试剂有限公司; 其他试剂均为分析纯, 市售。

1.2 方法

1.2.1 中草药醇提液的制备。将 26 种中草药分别用中草药万能粉碎机粉碎成粉末状, 备用。称取 10.000 g 药粉于具塞锥形瓶中, 加入 150 ml 无水乙醇, 摇匀, 静置过夜浸泡 10~12 h, 将泡好的中草药过滤, 滤液用旋转蒸发器浓缩, 温

作者简介 徐放 (1987-), 女, 天津人, 硕士研究生, 研究方向: 果蔬贮藏与保鲜, E-mail: xfnann@sina.com。

收稿日期 2012-12-04

度设定在 50 ℃ 并回收乙醇^[5], 浓缩至 10 ml (浓度为 1.0 g/ml), 分装在 2 个 5 ml 的离心管中, 备用。

1.2.2 沙门氏菌的活化、菌悬液与带药滤纸片的制备。(1) 沙门氏菌的活化。分别配制琼脂培养基、肉汤培养基和浓度 75% 乙醇, 灭菌后备用。先用砂轮将冻干菌种安瓶颈部挫出裂痕, 再将冻干菌种管外壁用浓度 75% 乙醇棉擦净, 待干。点燃酒精灯, 将菌种管的封口一端在火焰上烧灼红热, 用灭菌滴管吸取无菌水滴在灼热的菌种管封口一端, 使其骤冷而炸裂。吸取少量肉汤培养基加至菌种管底部, 将干菌搅动, 随机吸出管内菌液接种至灭菌平板中, 倒入琼脂培养基混合均匀, 然后置于 37 ℃ 电热恒温培养箱中培养 24 h, 连续接种培养 3 次。(2) 菌悬液的制备。挑取 2 个活化的沙门氏菌单个菌落, 接种于 2 ml 的肉汤试管中, 于 37 ℃ 电热恒温培养箱中培养 12 h, 取出, 调节菌浓度为 1×10^6 个/ml。(3) 带药滤纸片的制备。用轧孔器在定性滤纸上轧成直径为 6 mm 的小圆片, 于 120 ℃ 进行高压灭菌 20 min; 取 4~5 片灭菌滤纸片, 放入装有中草药醇提液的离心管中, 浸泡过夜 24 h (滤纸片必须是圆形的)。

1.2.3 抑菌试验。吸取 0.1 ml 沙门氏菌菌悬液, 加入灭菌平板中, 倒入琼脂培养基混合均匀。取 3 片制备的带药滤纸片贴在平板上, 距离不能太近, 呈三角形, 分别用无菌水和无水乙醇浸泡的滤纸片, 进行平行试验^[6]。将平板置于 37 ℃ 电热恒温培养箱培养 24 h, 取出平板, 观察是否有抑菌圈, 若有即该种中草药对沙门氏菌有抑菌效果, 反之无效果。测量抑菌圈直径大小, 取其平均值。以抑菌圈直径为评价中草药醇提液抑菌效果的指标^[7]。抑菌圈直径大于 2 cm 为抑菌效果好, 抑菌圈直径小于 2 cm 为有抑菌效果。

菌落直径(mm) = 测量菌落平均直径 - 药片直径

1.2.4 中草药提取物的制备。取抑菌圈直径排在前 4 位的中草药进行试验。称取 50.000 g 药粉, 按料液比 1:15 (g/ml) 加入无水乙醇, 浸泡 3 h, 过滤, 再按料液比 1:10 (g/ml) 加入无水乙醇, 过滤, 收集 2 次滤液, 合并, 浓缩至 50 ml, 进行抑菌试验。

1.2.5 最小抑菌浓度 (MIC) 的测定。取 11 支试管, 编号为 1~11, 每支均装入 1.0 ml 的肉汤培养基。在 1 号试管内加 1.0 ml 的药液, 混合后吸取 1.0 ml 至 2 号试管, 依次类推至 9 号试管吸取 1.0 ml 弃去。10 号管为不含药液的 1.0 ml 肉汤对照, 11 号管为不含肉汤的 1.0 ml 药液对照。1 号试管至 9 号试管药液浓度分别为 500.0、250.0、125.0、62.5、31.3、15.6、7.8、3.9、1.9 和 0.9 mg/ml, 然后向每管加入 0.1 ml 稀释成沙门氏菌菌悬液, 置 37 ℃ 摇床中, 于 120 r/min 培养 24 h, 以透明的最低药物浓度计为该药物对该种细菌的最小抑菌浓度 (MIC)^[8]。

1.2.6 最小杀菌浓度 (MBC) 的测定。吸取 0.1 ml 透明的菌液加入灭菌平板, 倒入琼脂培养基, 混合均匀, 再置于 37 ℃ 电热恒温培养箱中培养 24 h, 以没有菌生长的药物最小浓度计为该药对该种细菌的最小杀菌浓度 (MBC)^[9]。

1.2.7 中草药对沙门氏菌细胞膜的影响。将培养至对数生

长期的沙门氏菌接种于肉汤培养基中, 摇床培养 (120 r/min, 37 ℃) 14 h。取 2.0 ml 菌液加入灭菌的试管中, 分别加入有效抑菌中草药醇提液至 MIC 浓度 500.00、250.00、125.00、62.50 和 31.25 mg/ml 终浓度 (2 倍稀释法)。用 DDS-307A 型雷磁电导率仪测定电导率, 继续培养, 分别培养 0、2、4、8 和 10 h, 测定上清液的电导率, 记录测定结果, 试验重复 3 次。

2 结果与分析

2.1 6 种中草药抑菌圈筛选 试验结果表明, 21 号山萸肉的抑菌圈直径为 2.1 cm; 23 号山豆根的抑菌圈直径为 2.2 cm; 有抑菌效果的为 11 号地榆, 抑菌圈直径为 1.7 cm。其他各种中草药由于抑菌圈直径太小均判定为抑菌效果不明显。一些药片周围出现类似晕染的现象, 这种现象对抑菌效果的判定造成一定的影响, 这可能是造成抑菌中草药筛选结果不理想的原因。

2.2 供试中草药 MIC 值、MBC 值的测定 由表 1 可知, 3 种中草药的 MIC 值与 MBC 值均可测得, 这表明供试中草药其实具有一定的抑菌作用。其中 21 和 23 号中草药醇提液的抑菌效果最好, 对沙门氏菌的 MIC 值为 62.5 mg/ml, MBC 值为 125.0 mg/ml。

表 1 供试中草药 MIC 与 MBC 的测定

药品编号	MIC//mg/ml	MBC//mg/ml
11	250.0	500.0
21	62.5	125.0
23	62.5	125.0

2.3 中草药对沙门氏菌电导率的测定 图 1 表明, 试验组的电导曲线均在对照组之上, 这表明供试中草药其实具有一定的抑菌作用。其中 21 号中草药的电导曲线最高、最快, 说明 21 号中草药对沙门氏菌的细胞膜具有较强的破坏能力, 8 h 以后试验组的电导率均不再上升。因此, 可以判断抑菌效果从大到小为: 21 号中草药 > 23 号中草药 > 11 号中草药。

3 结论与讨论

试验结果表明, 26 种中草药中只有 11 号地榆、21 号山萸肉和 23 号山豆根对沙门氏菌的生长有抑制作用, 且山萸肉和山豆根的抑菌效果较好。地榆的 MIC 值为 250.0 mg/ml, MBC 值为 500.0 mg/ml; 山萸肉的 MIC 值为 62.5 mg/ml, MBC 值为 125.0 mg/ml; 山豆根的 MIC 值为 62.5 mg/ml, MBC 值为 125.0 mg/ml。山萸肉对沙门氏菌的抑菌作用只要表现为破坏其细胞膜, 山豆根和地榆在这方面的作用效果较差。

试验结果表明, 3 种中草药均有一定的抑菌效果, 但最小抑菌浓度 (MIC) 和最小杀菌浓度 (MBC) 的浓度偏高, 在日后对沙门氏菌抑菌药物的开发, 可尝试筛选其他抑菌效果明显的中草药, 或采用复配方法进行联合抑菌试验等^[10]。

试验结果表明, 21 号中草药主要以破坏沙门氏菌细胞膜达到抑菌效果, 这 3 种中草药的抑菌能力都是暂时的, 在 4 h 以前能够明显抑菌, 8 h 以后抑菌效果有所下降, 其原因可能是供试中草药可以破坏沙门氏菌的细胞膜, 但这种破坏不是永久性的, 沙门氏菌具有一定的自我修复能力^[11]。

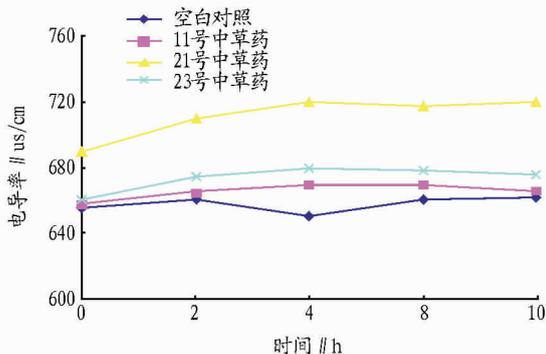


图1 不同中草药对沙门氏菌细胞膜影响

参考文献

[1] JANDA J M, ABBOTT S L. 肠杆菌科[M]. 北京:化学工业出版社,2008: 61-62.

- [2] 朱乐敏. 食品微生物学[M]. 北京:化学工业出版社,2010:136-137.
 [3] 沈萍,李广武. 微生物学试验[M]. 北京:高等教育出版社,1981:113.
 [4] 刘慧. 现代食品微生物学[M]. 北京:中国轻工业出版社,2010:109-116.
 [5] 张院民,李荣华,杨正亮. 几种中草药提取液的抑菌作用研究[J]. 安徽农业科学,2007,35(33):10594-10595.
 [6] 姜忠丽,王俊伟. 丁香、苦荞麦及蒲公英的复配抑菌作用[J]. 粮食与饲料工业,2001(8):39-40.
 [7] 赵启越,刘亚芹. 26 种中草药抑菌试验观察[J]. 牡丹江医学院学报,2000,21(3):35-37.
 [8] 郭苏晓,肖正中,李淑仪. 20 种中草药水提物的体外抑菌实验[J]. 安徽农业科学,2008,36(19):8104-8105.
 [9] 李丽,王捷,柳恩杰. 噬菌体体外抑真菌研究[J]. 农药,2004(9):410-411.
 [10] 任书青,杨继章,王长友. 黄连、大黄和苦参联合应用对金黄色葡萄球菌的体外抗菌活性研究[J]. 河北医药,2011,33(15):2253-2254.
 [11] 柳增善. 食品病原微生物学[M]. 北京:中国轻工业出版社,2007:13-15.

(上接第 1488 页)

表1 种子催芽处理对晚播小麦苗期性状的影响

测定时期	处理	叶片数	叶干重	根数	根干重
		株	mg/株	株	mg/株
越冬	S1S	1.8 a			
	S1D	1.2 b			
	S2S	1.1b			
	S2D	0.7c			
起身	S1S	5.1a	123.3a	8.0a	36.0a
	S1D	4.4b	80.0b	6.5bc	24.7b
	S2S	4.5b	83.3b	7.2b	18.7c
	S2D	3.9c	63.3c	6.1c	13.6d

注:同列数据后无相同小写字母表示差异显著($P < 0.05$)。

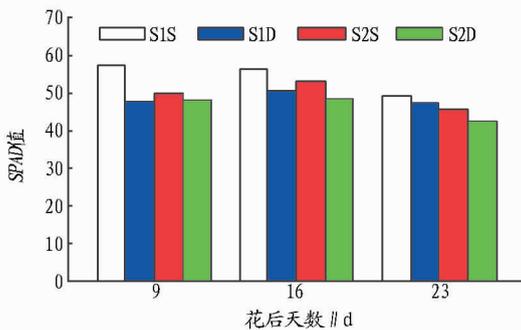


图1 种子催芽处理对小麦生育后期旗叶绿素含量的影响

还有利于延长旗叶功能期。

2.3 种子催芽对晚播小麦产量及其构成因素的影响 从表2可以看出,种子催芽处理小麦籽粒产量显著高于对照,其中S1(播期为11月27日)催芽处理较对照增产34.9%,S2(播期为12月11日)催芽处理产量较对照增产32.0%。催芽处理小麦穗数、穗粒数和粒重均显著高于对照,2个播期处理趋势一致。这说明对晚播小麦进行种子催芽处理有利于产量的提高。

表2 种子催芽处理对晚播小麦产量及构成因素的影响

处理	穗数	穗粒数	粒重	理论产量
	万穗/hm ²		mg	kg/hm ²
S1S	577.5a	33.3a	42.8b	8230.8a
S1D	486.3b	30.6b	41.0c	6101.1b
S2S	376.5c	27.6c	44.7a	4645.0c
S2D	327.2d	26.5d	40.6c	3519.8d

注:同列数据后无相同小写字母表示差异显著($P < 0.05$)。

3 讨论与结论

小麦在适宜季节播种,当土壤温度和水分适宜条件下,小麦种子经吸水萌动到发芽需7d左右,其中吸水萌动约需2~3d,发芽出苗约需3~4d^[6]。晚播小麦出苗迟、弱苗是稻茬麦低产的主要原因^[1,4]。如果播期过晚,如在沿淮地区可能会到11月中下旬,甚至12月份时,小麦可能就不能正常发芽出苗^[7]。对小麦进行浸种催芽播种,可以使种子吸足发芽所需水分,使种子提前发芽,充分利用冬前温光资源,弥补晚播小麦播种前所缺失的温度、光照资源,提高小麦冬前苗情。小麦种子催芽后播种减少了田间吸水萌动过程的同时,还可以节约播种量^[8]。

该研究表明,小麦种子浸种催芽处理后,晚播苗期单株生长势具有明显优势,单株叶片数、叶片干重、根数和根干重均显著提高;在小麦生育后期,提高叶片叶绿素含量,进而提高叶片光合生产能力和延长叶片功能期,具体原因有待于进一步研究。与对照相比,浸种催芽显著提高小麦产量,其中穗数、穗粒数和粒重均显著高于对照,说明催芽处理在提高小麦幼苗素质的基础上,还有利于小麦分蘖成穗、穗花发育和籽粒灌浆,进而提高晚播小麦的穗数,增加穗粒数和提高籽粒重。

参考文献

- [1] 曹承富,汪芝寿,孔令聪,等. 安徽沿淮地区稻茬小麦生产现状及技术对策[J]. 安徽农学通报,2001,7(5):30-31.
 [2] 魏凤珍,王成雨,李金才. 沿淮地区生态条件分析与稻茬麦应变抗逆栽培技术规程[J]. 安徽农业科学,2007,35(11):3196-3197.
 [3] 杨四军,顾克军,张恒敢,等. 影响稻茬麦出苗的关键因子与应对措施[J]. 江苏农业科学,2011,39(5):89-91.
 [4] 李广厚. 滁州市“百亿粮仓”建设及稻茬麦高产栽培技术[J]. 安徽农学通报,2012,18(1):36-38.
 [5] 潘永翠. 安徽省稻茬麦栽培存在的问题及对策[J]. 现代农业科技,2009(15):61-62.
 [6] 胡承霖. 安徽沿淮地区稻茬麦催芽免耕播种几配套技术[J]. 安徽农学通报,2001(5):18-20.
 [7] 张金帮,孙本普,孙雪梅,等. 晚播小麦的生育特点及高产栽培探析[J]. 安徽农业科学,2006,34(15):3634-3636.
 [8] 王汝利,张菊芳,谢成林. 里下河地区稻茬晚播小麦高产栽培技术[J]. 上海农业科技,2011(4):45-47.