

18 种中草药对大肠杆菌抑菌效果的研究

赵鑫荟, 艾启俊 (北京农学院食品科学学院, 北京 102206)

摘要 [目的] 研究鹿蹄草(WINTERGREEN)、功劳叶(CHINESE HOLLY LEAF)、金樱子(CHEROKEE ROSE FRUIT)和大黄(RHEUM OFFICINALE)等 18 种中草药提取物的抑菌作用。[方法] 采用水煎法提取中草药的有效成分, 以大肠杆菌作为供试菌, 利用滤纸片法测定中草药提取物的抑菌作用, 并用 2 倍稀释法测定抑菌效果最好的 4 种中草药的最小抑菌浓度。[结果] 18 种中草药中有 15 种对大肠杆菌有抑制作用; 其中鹿蹄草的最小抑菌浓度为 31.25 mg/ml, 功劳叶、金樱子和大黄的最小抑菌浓度均为 62.50 mg/ml。[结论] 鹿蹄草对大肠杆菌具有较好的抑制效果。

关键词 大肠杆菌; 中草药; 抑菌作用

中图分类号 S567 文献标识码 A 文章编号 0517-6611(2013)02-00599-02

Studies on Inhibitory Effect of 18 Kinds of Chinese Herbal Medicine on *Escherichia coli*

ZHAO Xin-hui et al (Department of Food Science, Beijing University of Agriculture, Beijing 102206)

Abstract [Objective] The purpose was to investigate the inhibitory effects of 18 kinds of Chinese herbal medicine including WINTERGREEN, CHINESE HOLLY LEAF, CHEROKEE ROSE FRUIT, RHEUM OFFICINALE. [Method] Water decoction method was adopted to extract the active ingredients from Chinese herbal medicine, whose bacteriostatic effect was then determined by filter paper tablet method with *Escherichia coli* as the indicator bacteria. Double dilution method was used to determine the minimum inhibition concentrations of four kinds of Chinese herbal medicine, whose bacteriostatic effect was best. [Result] Among the 18 kinds of Chinese herbal medicine, the extracts from 15 kinds of medicine had inhibitory effect on *Escherichia coli*. The minimum inhibition concentration of *Wintergreen* was 31.25 mg/ml and Chinese holly leaf, Cherokee rose fruit, rheum officinale was all 62.50 mg/ml. [Conclusion] The *Wintergreen* had a good inhibition effect to *Escherichia coli*.

Key words *Escherichia coli*; Chinese herbal medicine; Bacteriostatic effect

相对于大部分的抗生素而言, 中草药具有来源广泛、价格便宜、毒副作用小和不易产生耐药性等优点。研究中草药的抑菌作用和机理, 将有利于开发中药制剂和天然的食品防腐剂^[1]。一些中药制剂已经得到了广泛应用, 大大改善了因细菌对抗生素的耐药性增强而导致的临床感染死亡率不断增高的现象; 在畜禽疾病的防治方面, 其不但能提高畜禽的成活率, 还能保障肉类的安全, 让人能够放心食用^[2-9]。

近年来, 天然的食品防腐剂越来越受到人们的关注和青睐。食品在生产、包装、储藏、运输、销售和消费等各个环节均易受到细菌的感染, 食品生产企业通常在食品中添加防腐剂来延长食品的保质期。这些防腐剂通常分为化学防腐剂和天然防腐剂 2 大类。随着人类生活水平的提高, 人们越来越关注食品的安全问题, 而经过科学研究发现, 化学合成的食品防腐剂对人体健康存在着巨大威胁, 如: 致癌性、致畸性和易引起食物中毒等。研究结果表明, 多数天然防腐剂不但能起到防止食品腐败和保鲜的作用, 而且还具有抗氧化和清热解毒等保健功能^[9]。试验研究鹿蹄草(WINTERGREEN)、功劳叶(CHINESE HOLLY LEAF)、金樱子(CHEROKEE ROSE FRUIT)和大黄(RHEUM OFFICINALE)等 18 种中草药提取物的抑菌作用, 以期为中草药的进一步开发利用提供依据。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 研究对象。菟丝子(SEMEN CUSCUTAE)、瓜蒌(TRICHOSANTHES KIRILOVII MAXIM)、山豆根(SUBPROS-

TRATE)、鹿蹄草(WINTERGREEN)、黄芪(ASTRAGALUS MEMBRANACEUS)、半边莲(CHINESE LOBELIA)、川贝母(FRITILLARIA CIRRHOSA)、山萸肉(PULP OF DOGWOOD FRUIT)、黄柏(GOLDEN CYPRESS)、功劳叶(CHINESE HOLLY LEAF)、白术(BIGHEAD ATRACTYLODES RHIZOME)、白芨(BLETILLA)、甘草(GLYCYRRHIZA)、金樱子(CHEROKEE ROSE FRUIT)、女贞子(FRUCTUS LIGUSTRI LUCIDI)、独活(RADIX ANGELICAE TUHUO)、败酱草(PATRINIA)和大黄(RHEUM OFFICINALE), 均购自回龙观大药房。

1.1.2 供试菌种。大肠杆菌 1187(*E. coli*), 购自中国科学院微生物研究所。

1.1.3 主要仪器。TU-1810 紫外可见分光光度计, 购自北京普析通用有限责任公司; KQ-500DB 型数控超声波清洗器, 购自昆山市超声仪器有限公司; YX-280 型手提式压力蒸汽灭菌锅, 购自江阴滨江医疗设备厂; SW-CJ-1FD 无菌操作台, 购自苏净集团安泰空气技术有限公司; RE-2000B 旋转蒸发器, 购自上海亚荣生化仪器厂。

1.1.4 主要试剂。营养肉汤培养基(NB)和营养琼脂培养基(NA), 购自北京蓝弋试剂有限公司; 其他试剂均为分析纯, 市售。

1.2 方法

1.2.1 中草药提取液的制备^[10]。将中草药于 60 °C 下烘干, 粉碎至 40 目, 称取 10.000 g 中草药, 加入 150 ml 蒸馏水, 常温浸泡 5 h, 文火煎煮 30 min, 过滤, 药渣加入 100 ml 蒸馏水, 文火煎煮 30 min, 过滤, 合并滤液并在 70 °C 进行旋转蒸发, 定容至 10 ml 容量瓶, 于 0~4 °C 冰箱中保存备用。

1.2.2 供试菌的保藏和活化。在无菌条件下, 将供试菌种接入营养琼脂的斜面培养基上, 置于 37 °C 恒温培养箱培养 24 h, 然后置于 0~4 °C 的冰箱中冷藏备用。试验前从斜面上

挑取菌种接种于培养皿中,置于37℃恒温培养箱培养24h,重复2次,即得。

1.2.3 菌悬液的准备。在无菌条件下,在活化好的供试菌中挑取单菌落,接种于营养肉汤培养基中,摇床培养过夜(37℃,120 r/min),调节菌种浓度到 $1 \times 10^6 \sim 1 \times 10^7$ cfu/ml。

1.2.4 含菌平板的制备。在无菌条件下,吸取0.1 ml的菌悬液加入灭菌好的培养皿中,倒入15 ml左右融化冷却至40℃的培养基,轻轻摇动使培养基与菌种混合均匀。

1.2.5 抑菌直径的测定。采用滤纸片法^[11]。用打孔器将定性滤纸打成直径为6 mm的滤纸片,10片滤纸片放入一个小瓶中,于160℃干热灭菌15 min,在无菌条件下加入1 ml灭菌的中草药提取液,充分浸泡5 h,晾干,每个含菌平板均匀贴上2~3片,每组作3个平行,于37℃恒温培养箱中培养24 h后,测量各种药品的抑菌圈直径,取其平均值。

1.2.6 最小抑菌浓度(MIC)的测定。筛选出4种抑菌效果最好的中草药测定其MIC值,采用2倍稀释法:将1 g/ml的中药提取液和营养肉汤培养基混合,配制不同浓度的带药培养基,接种过夜培养的大肠杆菌菌悬液使培养基的含菌量为 1×10^5 cfu/ml,摇床(37℃,120 r/min)培养24 h,若培养基透明,未出现浑浊的最低浓度即为MIC值;若培养基色泽较深,不易判定结果,则在培养结束后,取一定量的带菌药的培养基接种到固体培养基上,培养24 h后观察结果,以无菌生长的最低稀释度为各药的MIC值。以不加药的培养基做空白对照。

1.2.7 中草药与庆大霉素的抑菌作用比较。选取抑菌效果最好的4种中草药与庆大霉素的抑菌效果作比较。

表1 18种中草药的抑菌作用结果

编号	中草药名称	抑菌直径//mm
1	菟丝子(SEMEN CUSCUTAE)	7
2	瓜蒌(TRICHOSANTHES KIRILOVII MAXIM)	9
3	山豆根(SUBPROSTRATE)	10
4	鹿蹄草(WINTERGREEN)	29
5	黄芪(ASTRAGALUS MEMBRANACEUS)	14
6	半边莲(CHINESE LOBELIA)	8
7	川贝母(FRITILLARIA CIRRHOSA)	-
8	山萸肉(PULP OF DOGWOOD FRUIT)	7
9	黄柏(GOLDEN CYPRESS)	7
10	功劳叶(CHINESE HOLLY LEAF)	20
11	白术(BIGHEAD ATTRACTYLODES RHIZOME)	-
12	白芨(BLETILLA)	-
13	甘草(GLYCYRRHIZA)	9
14	金樱子(CHEROKEE ROSE FRUIT)	19
15	女贞子(FRUCTUS LIGUSTRI LUCIDI)	15
16	独活(RADIX ANGELICAE TUHUO)	10
17	败酱草(PATRINIA)	12
18	大黄(RHEUM OFFICINALE)	19

注:“-”表示无抑菌作用。

2 结果与分析

2.1 中草药提取液的抑菌作用 由表1可知,不同的中草药对大肠杆菌的抑制作用也不相同,其中15种中草药对大

肠杆菌有抑制作用。鹿蹄草、功劳叶、金樱子和大黄的抑菌作用最为明显;黄芪、女贞子和败酱草的抑菌作用稍次;其他中草药的抑菌作用均不太明显。

2.2 最小抑菌浓度的测定 由表2可知,鹿蹄草的MIC值为31.25 mg/ml,功劳叶、金樱子和大黄的MIC值均为62.50 mg/ml。

表2 4种中草药MIC的测定结果

中草药	中草药的质量浓度//mg/ml								
	500	250	125	62.50	31.25	15.63	7.82	3.91	对照
鹿蹄草	-	-	-	-	-	+	+	+	+
功劳叶	-	-	-	-	+	+	+	+	+
金樱子	-	-	-	-	+	+	+	+	+
大黄	-	-	-	-	+	+	+	+	+

注:“+”表示有菌生长;“-”表示无菌生长。

2.3 中草药与抗生素的抑菌作用比较 选取鹿蹄草、功劳叶、金樱子和大黄4种中草药和庆大霉素进行抑菌效果比较。试验结果表明,鹿蹄草、功劳叶、金樱子和大黄4种中草药的抑菌效果均不及庆大霉素,其抑菌直径由大到小分别是41、29、20、19和19 mm。

3 结论与讨论

研究表明,在所选取的中草药中有15种中草药对大肠杆菌有抑制作用,不同的中草药在抑菌效果上也有很大差异。其中,鹿蹄草、功劳叶、金樱子和大黄具有良好的抑菌效果,但与庆大霉素相比还是有一定的差距。中草药成分复杂,其抑菌成分可能是单一的,也可能是多种的。因此,具体的抑菌成分和机理还有待于进一步研究,将中草药在抑菌成分进行提纯可能会达到更好的抑菌效果。

参考文献

- [1] 刘胜贵,彭斯文,闵丹. 18种抗炎症中草药的抑菌作用研究[J]. 现代中医药,2007,27(2):41-43.
- [2] 杨淑文. 32种中草药抑菌活性的比较研究[J]. 安徽农业科学,2011,39(3):1361-1362.
- [3] 邹苏晓,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.
- [4] 王嵩. 中草药抗细菌感染研究[J]. 北京中医杂志,2002,21(4):249-251.
- [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] 杜锐,韩文瑜,雷连戎. 金黄色葡萄球菌中草药抑菌剂的筛选研究[J]. 中国兽药杂志,2006,49(9):10-13.
- [7] 左围营,余巍,锋贵丽,等. 18种中草药提取物抗金葡萄菌作用的筛选研究[J]. 现代中医药,2005,8(7):606-608.
- [8] 马国福. 中草药防治鸡球虫病的研究进展[J]. 畜牧与饲料科学,2009,30(6):173-174.
- [9] 闵华,李青松. 中草药提取物对5种植物病原菌的抑菌活性研究[J]. 安徽农业科学,2009,37(21):10037-10039.
- [10] 任顺成,范永超,李翠翠,等. 30种中草药提取物对食品细菌的影响[J]. 安徽农业科学,2010,38(14):7529-7531.
- [11] 刘慧. 现代食品微生物学实验技术[M]. 北京:中国轻工业出版社,2006:19-122.
- [12] REN R, CHAI J H, JIN Z M, et al. Study on Antibacterial Activities of Crude Extracts from the Whole Herb of *Orostachys cartilaginosa* A. Bor in Vitro[J]. Medicinal Plant, 2011, 2(2): 23-25.
- [13] 刘畅,任艳芳,何俊瑜,等. 中草药提取物对3种柑橘病原菌的抑制作用[J]. 西南农业学报,2011(1):132-136.