

不同溶剂组成对一点红提取物抗菌性能的影响

李军生, 黄 慧, 阎柳娟

(广西工学院生物与化学工程系, 广西 柳州 545006)

摘 要: 本实验选用水、50% 乙醇-水、无水乙醇三种不同组成溶剂对一点红进行提取, 并采用滤纸片扩散法研究了一点红不同溶剂提取物对枯草芽孢杆菌(*Bacillus subtilis*)、大肠杆菌(*Escherichia coli*)、金黄色葡萄球菌(*Staphylococcus aureus*)的抗菌性能, 探讨不同组成溶剂对一点红抗菌有效成分提取的影响。实验结果表明水的提取物量最多, 对金黄色葡萄球菌的抗菌效果明显, 但对枯草芽孢杆菌和大肠杆菌的抗菌效果不明显; 50% 乙醇-水提取物的提取量紧次于水, 抗菌性能最强且具有抗菌广谱性; 无水乙醇提取物的提取量最低, 对枯草杆菌和金黄色葡萄球菌的抑菌作用较强, 但对大肠杆菌的抑菌作用较弱。50% 乙醇-水提取物的抗菌活性最强, 提取率也较高, 为最佳提取溶剂。

关键词: 一点红; 不同提取溶剂; 抗菌性能

Effects of Different Solvents on Antibacterial Activities of *Emilia sonchifolia* Extracts

LI Jun-sheng, HUANG Hui, YAN Liu-juan

(Department of Biological and Chemical Engineering, Guangxi University of Technology, Liuzhou 545006, China)

Abstract: In order to study effects on antibacterial activities of *Emilia sonchifolia* extracts by different solvents, the antibacterial ingredients against *Emilia sonchifolia* were extracted by water, 50% alcohol-water solvent and pure alcohol, respectively, and then

收稿日期: 2007-06-15

基金项目: 广西自然科学基金项目(桂科基 0575023)

作者简介: 李军生(1963-), 男, 教授, 博士, 主要从事生物分子的化学修饰与功能研究。

2.5 温度对保健食醋澄清效果的影响

在 2.4 的实验条件下, 分别在 25℃ 左右和 45℃ 左右的温度下进行实验, 得到保健食醋的透光率为 26.3% 和 26.8%。由此可见透光率随着温度升高而变化的幅度比较小, 约为 3%。因此, 选择在室温下澄清处理即可。

2.6 滤泥的综合利用

用壳聚糖-麦饭石澄清剂处理保健食醋后可得到约 2% (m/V) 的滤泥, 滤泥中含有大量无机物和蛋白质等有机成分。由于麦饭石、壳聚糖均为天然产物环境友好材料, 故这部分滤泥无毒无害, 不会污染环境, 对于滤泥的综合利用可以考虑作为农田肥料, 用以改良土壤, 也可以探讨其作为动物饲料添加剂的价值。

3 结 论

3.1 以壳聚糖、麦饭石等为原料制成壳聚糖-麦饭石澄清剂, 清除保健食醋中浑浊物、沉淀物。最佳工艺条件是: 80 目麦饭石与 90% 脱乙酰度壳聚糖的 0.5% 醋酸

溶液按 1:1.2 (m:V) 混合制成澄清剂, 保健食醋中澄清剂添加量 1.5%、作用时间 6min、作用温度为室温, 对保健食醋的澄清效果较好。

3.2 研制的壳聚糖-麦饭石澄清剂无毒、无害, 产生的滤泥作为农田肥料和动物饲料添加剂, 对环境无污染。

参考文献:

- [1] 李增新, 王彤. 天然沸石负载壳聚糖用于苦卤脱色的研究[J]. 无机盐工业, 2005, 37(5): 47-49.
- [2] 黄仲华, 殷小平. 食醋生产问答[M]. 北京: 中国轻工业出版社, 2000: 184-192.
- [3] 马勇, 王恩德, 邵悦, 等. 膨润土负载壳聚糖对保健食醋的澄清作用[J]. 中国酿造, 2004(1): 15-16.
- [4] 李小满, 赵晋府. 麦饭石的营养价值及其在食品工业中的应用[J]. 饮料工业, 2000, 3(2): 16-18.
- [5] 施安辉, 单宝龙, 徐启民, 等. 酸枣麦饭石醋的研制[J]. 中国调味品, 2006(5): 29-31.
- [6] 李增新, 段春生, 薛淑云. 天然沸石负载壳聚糖对陈醋的澄清作用[J]. 食品科学, 2006, 27(10): 126-128.

their extracts were used to inhibit the growth of *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli* or *Staphylococcus aureus* in this research. The results showed that water is a good solvent for extracting more ingredients from the herb, and its extracts just only showed a good antibacterial activity against *Staphylococcus aureus*, but didn't show a strong antibacterial activity against *Bacillus subtilis* or *Escherichia coli*. 50% alcohol-water solvent is an excellent solvent for extracting more ingredients from the herb, and its extracts showed the strongest antibacterial activity against all of the three kinds of bacterium. The pure alcohol extracts is not a good solvent for extracting more ingredients from the herb, its extracts showed a stronger antibacterial activity against *Bacillus subtilis* or *Staphylococcus aureus*, and a weak antibacterial activity against *Escherichia coli*. It could be sure from the experimental results that 50% alcohol-water solvent is a best solvent for extracting more antibacterial ingredients from the herb.

Key words *Emilia sonchifolia* extracts; different solvents; antibacterial activities

中图分类号: R282.4

文献标识码: A

文章编号: 1002-6630(2007)07-0194-04

一点红, 别名野芥蓝、红背紫丁、羊蹄草、红背叶、叶下红、红背果等。菊科一点红属一年生或多年生草本植物, 学名 *Emilia sonchifolia* (Linn.) DC, 全草入药。味苦, 性微寒, 清热解毒, 凉血消肿。一点红是一味重要的传统中药药材。据《广西本草选编》介绍, 一点红可用于急性结膜炎, 急性扁桃体炎, 肺炎, 胆囊炎, 急性阑尾炎, 传染性肝炎, 钩端螺旋体病, 痢疾, 腹泻, 尿路感染等症的治疗^[1]。事实上, 一点红也是中国南方部分地区人们喜爱的野菜或消炎解暑的凉菜^[2]。广西花红药业股份有限公司生产的妇科药物花红片的主要药物成分之一就是点红提取物。本实验选用水、50% 乙醇-水、无水乙醇三种不同组成溶剂对一点红进行提取, 并采用滤纸片扩散法研究一点红不同溶剂提取物对枯草芽孢杆菌(*Bacillus subtilis*)、大肠杆菌(*Escherichia coli*)、金黄色葡萄球菌(*Staphylococcus aureus*)的抗菌性能, 探讨不同组成溶剂对一点红抗菌有效成分提取的影响, 为探讨一点红的抗菌活性成分, 同时也为一点红有效提取物的生产提供参考。

1 材料与方法

1.1 药材和菌种

一点红中药材 柳州花红药业股份有限公司。

所用的菌种均为水、空气和食品中的常见菌: 大肠杆菌(*Escherichia coli*)、枯草芽孢杆菌(*Bacillus subtilis*)、金黄色葡萄球菌(*Staphylococcus aureus*) 广西工学院生物与化学工程系微生物实验室。

1.2 方法

1.2.1 一点红不同溶剂提取物的制备

称取干燥粉碎后的一点红药粉 30 g, 分别加入水、50% 乙醇-水、无水乙醇溶剂 300 ml, 放入频率 50 kHz, 输出功率 80 W 的超声波清洗仪中, 室温下提取, 30 min 后取出, 抽滤, 取出滤渣再加入对应的溶剂平行做 3 次提取, 合并 3 次提取液后在旋转蒸发仪蒸发浓缩, 再放入 80 °C 烘箱烘干至干粉状, 放在干燥器内保存备用。

1.2.2 培养基与菌种液的准备

营养肉汤培养基的制作: 按照每 18 g 营养肉汤粉配制 1 L 培养基的比例配制, 搅拌加热煮沸至完全溶解, 调节 pH 7.4 ± 0.2, 分装试管或三角瓶, 121 °C 高温灭菌 20 min 备用。

营养琼脂培养基的制作: 按照每 33 g 营养琼脂粉配制 1 L 培养基的比例配制, 搅拌加热煮沸至完全溶解, 调节 pH 7.3 ± 0.2, 分装试管或三角瓶, 高压蒸汽灭菌 (121 °C, 20 min) 备用。

将菌种进行斜面活化 2~3 次后, 分别用接种环挑取一环纯化菌体于肉汤培养基中混匀(每种菌做三瓶), 置于摇床, 控温 37 °C, 培养 18~24 h (每次培养的时间力求一致), 也可采用固体斜面培养 18~24 h 再用适量生理盐水洗下, 做为菌种液, 备用。

1.2.3 抑菌圈的测定

采用滤纸片法测定一点红不同溶剂提取物的抑菌作用。通过测定各种提取物的抑菌圈来判断其是否具有抗菌性以及比较不同提取物抗菌性能的强弱, 找出抗菌性能最佳的提取溶剂。其过程如下: 将吸水力较强而质地均匀的双层滤纸用打孔器打成直径 6 mm 的圆形滤纸片, 置洁净干燥的培养皿中, 121 °C 灭菌 20 min。把配制好的细菌 10⁸ 个/ml 左右菌悬液, 振荡均匀。在净化工作台上, 用无菌移液枪吸取菌液 0.2 ml, 将其均匀地涂布于平板表面, 正置在培养箱 1 h (37 °C)。1 h 后取到净化工作台上, 在每平皿中心放入 1 张滤纸片, 然后再用无菌移液枪吸取配制好的 100 mg/ml 的药液 10 μl 垂直滴加到滤纸片。在 37 °C 恒温正置培养 1 h 后倒置培养 24 h, 观察抑菌情况, 并测量抑菌环直径, 每种菌重复实验三个平板, 求其平均值, 以此评价其抑菌效果。以硫酸链霉素 (1000 单位/ml) 作为阳性对照。

2 结果与分析

2.1 不同溶剂对一点红提取物量的影响

一点红是肉质草本植物, 含有大量亲水性成分,

表1 不同溶剂对一点红提取物量的影响
Table 1 Effects of different solvents on amounts of *Emilia sonchifolia* extracts

溶剂	药材(g)	提取次数	溶剂量(ml)	提取物(g)	提取率(%)	外观状态
水	30	3	300	7.6354	25.451	提取液为红棕色, 且很难抽滤, 有很浓的草药味
50% 乙醇-水	30	3	300	6.9574	23.191	提取液呈棕绿色
无水乙醇	30	3	300	1.5366	5.1220	提取液呈深绿色

表2 不同溶剂提取物对枯草芽孢杆菌的抑制作用
Table 2 Effects of extracts by different solvents on inhibitions to *Bacillus subtilis*'s growth

提取溶剂	浓度(以原料药计, g/ml)	阳性对照(抑菌圈直径, mm)	空白(滤纸直径, mm)	提取物抑菌效果(抑菌圈直径, mm)
水	1.5	21	6.0	7.5
	1.25	21	6.0	7.3
	1	21	6.0	6.0
	0.75	20	6.0	6.0
50% 乙醇-水	1.5	20	6.0	8.0
	1.25	22	6.0	8.8
	1	21	6.0	9.0
	0.75	21	6.0	8.5
无水乙醇	1.5	25	7.5	8.0
	1.25	22	6.5	9.8
	1	22	6.0	9.5
	0.75	21	6.5	8.0

表3 不同溶剂提取物对大肠杆菌的抑制作用
Table 3 Effects of extracts by different solvents on inhibitions to *Escherichia coli*'s growth

提取溶剂	浓度(以原料药计, g/ml)	阳性对照(抑菌圈直径, mm)	空白(滤纸直径, mm)	提取物抑菌效果(抑菌圈直径, mm)
水	1.5	18	6.0	8.5
	1.25	19	6.0	8.3
	1	18	6.0	6.0
	0.75	19	6.0	6.0
50% 乙醇-水	1.5	18	6.0	8.8
	1.25	19	6.5	8.3
	1	18.5	6.0	8.0
	0.75	17	6.5	8.0
无水乙醇	1.5	20	6.5	7.0
	1.25	19	6.5	6.8
	1	18	6.0	7.0
	0.75	22	7.0	6.8

表4 不同溶剂提取物对金黄色葡萄球菌的抑制作用
Table 4 Effects of extracts by different solvents on inhibitions to *Staphylococcus aureus*'s growth

提取溶剂	浓度(以原料药计, g/ml)	阳性对照(抑菌圈直径, mm)	空白(滤纸直径, mm)	提取物抑菌效果(抑菌圈直径, mm)
水	1.5	11	7.5	12.5
	1.25	12.5	7.0	10
	1	12.5	8.5	9.5
	0.75	12	8.5	8.5
50% 乙醇-水	1.5	10.5	7.5	9.5
	1.25	12	7.0	8.5
	1	12	7.5	8.5
	0.75	12	8.0	8.3
无水乙醇	1.5	10.5	7.0	9.5
	1.25	12	7.0	11
	1	12	7.0	9.8
	0.75	12	7.5	9.5

如无机盐、可溶性糖类、氨基酸、蛋白质、有机酸盐、生物碱盐等,因此,利用水作为浸提溶剂,从一点红原料中溶出组分相对较多,而无水乙醇作为有机溶剂,提取物的主要组分为疏水成分,提取物相对量较少。50%乙醇-水作为溶剂,介于水与有机溶剂之间,因此,提取物的量少与水提物,但多于纯有机溶剂的提取量(见表1)。

2.2 不同溶剂提取物抑菌圈的测定

实验结果表明水的提取物量最多,对金黄色葡萄球菌的抗菌效果明显,但对枯草芽孢杆菌和大肠杆菌的抗菌效果不明显;50%乙醇-水提取物的提取量紧次于水,抗菌性能最强且具有抗菌广谱性;无水乙醇提取物的提取量最低,对枯草杆菌和金黄色葡萄球菌的抑菌作用较强,但对大肠杆菌的抑菌作用较弱(见表2~4)。

文献报道一点红含有生物碱^[3]、黄酮类物质^[4-5]、甾醇^[6]等成分。这些成分与一点红的抗菌性能密切相关,并且其水溶性或脂溶性性能各有不同。因此,寻找一种能将一点红抗菌有效成分尽可能溶出的溶剂是提高一

点红药用性能的关键,也是药厂提高药材使用效率的重要措施。

3 结 论

不同溶剂组成对一点红的提取率不同,其有效成分也不相同。50%乙醇-水提取物的抗菌活性最强,提取率也较高,为最佳提取溶剂。

参考文献:

- [1] 广西壮族自治区革命委员会卫生局. 广西本草选编:下册[M]. 南宁:广西人民出版社, 1974: 940-941.
- [2] 关佩聪, 罗冠英, 刘厚诚. 8种野菜的特征、生境、食法及保健作用[J]. 长江蔬菜, 1999(11): 28-30.
- [3] CHENG D, RÖDER E. Pyrrolizidin alkaloides aus *Emilia sonchifolia* [J]. Planta Medica, 1986(6): 484-486.
- [4] SRINIVASAN K K, SUBRAMANIAN S S. Phytochemical screening of *Emilia sonchifolia* [J]. Fitoterapia, 1980, 51: 241-242.
- [5] 李秀信, 王荣花, 杨秀萍. 一点红黄酮成分的分析及含量测定[J]. 西北植物学报, 2003, 23(4): 671-673.
- [6] 高建军, 程东亮, 刘小萍. 一点红化学成分的研究[J]. 中国中药杂志, 1993, 18(2): 102-103.

信 息

科学家找到癌症躲避免疫系统攻击的新途径

美国Southern California大学的科学家最近表示,肿瘤最基本特征之一:如何躲避免疫系统攻击将成为癌细胞最大弱点。研究小组针对乳腺癌和直肠癌的研究证实,一种寻找癌症“免疫签名”的技术能有助于某些特定癌症的诊断和治疗。

在7月1日的《Clinical Cancer Research》上,科学家描述了使用一种新技术来分析癌细胞中的基因变异,这使得它们可以躲避身体免疫系统的防御。科学家相信这一技术将成为癌症诊断和治疗的标准手段之一。

肿瘤细胞拥有多种基因和生物学变异。不同癌症之间这种差异非常明显,即使在同种癌症中也存在类似差别。但是尽管组成免疫签名的基因变异非常复杂,科学家还是发现了一小组基因在表达免疫学行为方面是完整的。

利用一种实时高速基因放大技术PCR,小组全面扫描了肿瘤,结果确认了肿瘤中14个促进免疫的基因和11个关键的对抗免疫的基因。小组还分析了老鼠中乳腺癌、白血病、肠癌、肺癌和肾癌中这些基因的表达。他们比较了其中2种免疫签名和相应的人类肿瘤的差异。

结果发现,人类乳腺癌的免疫签名和老鼠的符合得相当好。在所有病例中,科学家都发现了基因CD83和CD28被抑制,这是两个影响免疫细胞活性的基因。而基因B7-H4得到促进,它产生的蛋白能抑制免疫活性。而肠癌的免疫签名则有所变化,这意味着需要对每个病人进行分析。