

箭竹叶提取物的抗微生物作用

陈彦, 林晓艳

(西南科技大学生命科学与工程学院, 四川 绵阳 621000)

摘要: 对箭竹叶提取物的抗菌作用进行了初步研究, 结果表明: 箭竹叶提取液对供试的几种主要危害食品卫生、安全和对临床医学以及生物材料等具有重要影响的金黄色葡萄球菌、表皮葡萄球菌、黑曲霉、酿酒酵母和大肠杆菌等均有抑制效果, 以芦丁黄酮类物质计的箭竹叶提取物对各敏感供试菌的最低抑菌浓度分别是 7.50、7.50、7.50、7.50 和 15.00mg/100ml。

关键词: 箭竹叶; 提取物; 抑菌; 黄酮类

Antimicrobial Activity of Leaves Extracts from *Sinaraundinaria nitida*

CHEN Yan, LIN Xiao-yan

(School of Life Science and Engineering, Southwest University of Science and Technology,
Mianyang 621000, China)

Abstract: Antimicrobial effects of flavonoid extracts of *Sinaraundinaria nitida* leaves were investigated. The extracts of *S. nitida* leaves exhibited variable degrees of inhibitory effects against *Staphylococcus aureus*, *S. epidermidis*, *Aspergillus niger*, *Saccharomyces cerevisiae* and *Escherichia coli* which were all harmful to sanitation and safety of food. Clinical medicine and biomaterials. The minimal inhibitory concentration (MIC) of the extract, calculated to be rutin concentration, for each sensitive strain is respectively determined as 7.50, 7.50, 7.50, 7.50 and 15.00mg/100ml.

Key words *Sinaraundinaria nitida* leaves; extract; antibacterial; flavonoid

中图分类号: TS202.3; TQ464.3; TQ572.42

文献标识码: A

文章编号: 1002-6630(2006)05-0064-04

植物资源的综合利用是近年人们开发研究的重点, 植物中有效活性及功能物质的合理开发利用具有重要的意义^[1~8]。竹叶含有许多对人体具有重要作用的活性物质, 人们对竹叶中黄酮类化合物的存在及其生物活性、生物活性多糖等有效成分比较关注, 黄酮类化合物具有抑菌杀菌、消炎、消肿、降血脂以及清除氧自由基等功能已受到人们的广泛重视和研究^[4~8], 植物黄酮类提取物在食品、药品和化妆品中也已得到了一定的应用^[9~13]。

大肠杆菌、金黄色葡萄球菌、表皮葡萄球菌、鼠伤寒沙门氏菌、枯草芽孢杆菌、黑曲霉、黑根霉/匍匐根霉、酿酒酵母等对食品卫生、安全, 以及临床医学和生物材料具有严重的危害和影响, 其部分菌尤其是一些抗药性菌株的出现, 使人类面临很大的挑战和危险^[14]。本文就箭竹(*Sinaraundinaria nitida*)叶黄酮提取物对部分具有严重危害和影响的细菌、霉菌和酵母^[14~17]等的抗微生物作用进行了初步探讨, 以为竹叶资源的开发利用提供

一些有益的参考。

1 材料与方法

1.1 原料

采自成都的箭竹(*Sinaraundinaria nitida*)鲜叶。

1.2 药品与试剂

中国药品生物制品检定所的芦丁标准品, 以及乙醇、乙酸、丙酮、氯化钠, 琼脂、牛肉膏等。

1.3 仪器

F120 型组织捣碎机、SHA-B 型多功能水浴恒温振荡锅、RE-52A 旋转蒸发器、SPX-250 生化培养箱、YX-280B 高压蒸汽灭菌锅、SW-CJ-2F 型超净操作台、UV-2102PC 型紫外分光光度计等仪器设备。

1.4 菌种

大肠杆菌(*Escherichia coli*)、金黄色葡萄球菌(*Staphylococcus aureus*)、表皮葡萄球菌(*Staphylococcus*

收稿日期: 2005-03-31

基金项目: 四川省教育厅青年基金项目(2000KY-11-1); 西南科技大学农学基金项目

作者简介: 陈彦(1962-), 男, 副教授, 主要从事生物资源的开发利用研究。



epidermidis)、鼠伤寒沙门氏菌(*Salmonella typhimurium*)、枯草芽孢杆菌(*Bacillus subtilis*)、黑曲霉(*Aspergillus niger*)、匍匐根霉(*Rhizopus stolonifer*)、酿酒酵母(*Saccharomyces cerevisiae*)等。

1.5 箭竹叶提取物

1.5.1 鲜竹叶处理 参照文献[18]方法进行。

1.5.2 提取 参照文献[18]处理,经干热灭菌后备用。

1.6 提取物黄酮类化合物总量的测定

芦丁标准溶液的配制、工作曲线和提取物黄酮量测定、计算等参见文献[18]的方法进行。

1.7 固体培养基平板的制备

采用肉膏蛋白胨琼脂培养基、马铃薯葡萄糖琼脂培养基和麦芽汁琼脂培养基^[19],经0.1MPa 20min灭菌,冷至40~45℃后分别分装在Φ120培养皿中制成琼脂平板备用。

1.8 菌/孢子悬液的制备

将大肠杆菌(*E. coli*)等细菌斜面菌种接种2~3环于肉膏蛋白胨琼脂培养基斜面上,在37℃培养下24h,然后用无菌水洗脱配制成适当浓度的菌悬液备用^[20];将黑曲霉(*A. niger*)等霉菌斜面菌种接种于马铃薯葡萄糖琼脂培养基斜面上,在28℃培养下24h,然后采用前述方法洗脱配制成孢子悬液备用;将酿酒酵母菌(*S. cerevisiae*)斜面菌种接种于麦芽汁琼脂培养基斜面上,在28℃培养下24h,然后采用前述方法洗脱配制成特定浓度的菌悬液备用。

1.9 抗微生物活性水平测定

1.9.1 抑菌效果初步测定

将1.8所制备的各菌悬液或孢子悬液1ml分别均匀涂布在相应的琼脂平板培养基(肉膏蛋白胨琼脂培养基,或马铃薯葡萄糖琼脂培养基,或麦芽汁琼脂培养基)上;然后放入饱浸箭竹(*S. nitida*)叶提取物溶液(分别采用原液和1倍稀释液)的滤纸圆片6片(滤纸圆片Φ6,下同),以无菌水浸润滤纸圆片作对照,分别在37℃或28℃下培养24h后观察抑菌圈的有无。

1.9.2 最小抑菌浓度测定

每皿加20ml融化灭菌并冷至50℃的对应培养基,各皿分别单独加入0.2ml供试菌即细菌、霉菌和酵母的特定菌悬液或孢子悬液混匀,冷却凝固后,再加入2ml特定浓度的箭竹叶提取浓缩物稀释液,以加2ml无菌水的作对照,在37℃或28℃下培养24h后观察菌落的形成情况,并根据观测与1.6黄酮类化合物的测定结果计算出以芦丁计的提取物最小抑菌浓度(MIC, minimal inhibitory concentration)。

2 结果与分析

2.1 对细菌的抗性作用

2.1.1 抑菌效果

采用具有一定危害和有较大影响的主要细菌作为试验菌,以箭竹(*S. nitida*)叶提取物原液和1/2的稀释液进行平板扩散试验,结果见表1。

表1 箭竹叶提取物不同浓度对代表细菌的抑制作用
Table 1 Inhibitory effect of different concentrations of the extracts from leaves of *S. nitida* to representative bacteria

菌名称	活菌数(CFU/ml)	抑制作用(抑菌圈的有无)	
		原液 ^a	1/2原液浓度
大肠杆菌	18.5×10^{10}	+	+
金黄色葡萄球菌	26.4×10^{10}	+	+
表皮葡萄球菌	23.0×10^{10}	+	+
枯草芽孢杆菌	32.2×10^{10}	—	—
鼠伤寒沙门氏菌	35.3×10^{10}	—	—

注: a 以5g风干竹叶提取物定容至50ml计,以下同。

b + : 明显; ± : 不明显; — : 没有,后同。

由表1可以看出:一方面,两个不同的箭竹叶提取物浓度对大肠杆菌、金黄色葡萄球菌和表皮葡萄球菌均具有抑制作用;竹叶提取物对大肠杆菌和金黄色葡萄球菌的作用与已有的一些研究相同^{[3~5][13][17]},但对表皮葡萄球菌的作用则还是首次研究报道,对这几种菌的抗性作用,无论在食品卫生、安全还是在临床医学及生物材料方面均可能具有十分重要的意义^[14]。另一方面,两个不同的箭竹叶提取物浓度对枯草芽孢杆菌和鼠伤寒沙门氏菌,均没有表现出抑制作用,与已有的研究不同^[17~19];这是因供试菌浓度过高,或者是试验的竹叶提取物浓度还不够高;还是供试菌对箭竹叶提取物本身不敏感,或竹叶提取物本身不具有抗这些供试菌的明显作用等问题都需要作进一步的探讨。

2.1.2 提取物的最小抑菌浓度(MIC)

箭竹叶提取物对试验菌——大肠杆菌、金黄色葡萄球菌和表皮葡萄球菌具有明显的抗微生物作用,因此,采用适当的箭竹叶提取物稀释浓度对这几种菌单独地进行稀释敏感试验,所得结果分别见表2、表3和表4。

表2 箭竹叶提取物对大肠杆菌的最小抑制浓度(MIC)
Table 2 MIC of the extracts from leaves of *S. nitida* on *E. coli*

菌种	活菌数(CFU/ml)	相对提取物原液浓度(%)			
		50.00	25.00	12.50	6.25
大肠杆菌	3.7×10^{10}	+	+	±	—

表3 箭竹叶提取物对金黄色葡萄球菌的最小抑制浓度(MIC)
Table 3 MIC of the extracts from leaves of *S. nitida* on *S. aureus*

菌种	活菌数(CFU/ml)	相对提取物原液浓度(%)			
		50.00	25.00	12.50	6.25
金黄色葡萄球菌	5.28×10^{10}	+	+	±	—

表4 箭竹叶提取物对表皮葡萄球菌的最小抑制浓度(MIC)
Table 4 MIC of the extracts from leaves of *S. nitida* on *S. epidermidis*

菌种	活菌数 (CFU/ml)	相对提取物原液浓度 (%)			
		50.00	25.00	12.50	6.25
表皮葡萄球菌	4.60×10^{10}	+	+	±	—

由表2、表3和表4可以分别看出:50.00%、25.00%的箭竹叶提取物浓度均能够明显抑制大肠杆菌、金黄色葡萄球菌和表皮葡萄球菌的生长,而12.50%的箭竹叶提取物浓度对大肠杆菌、金黄色葡萄球菌和表皮葡萄球菌的效果均不明显,即箭/凤尾竹叶黄酮类提取物对这3个菌的最小抑菌浓度相同,大约为12.50%的箭竹叶提取物原液浓度;由于竹叶成分复杂,其抗菌成分及抗菌机制目前仍然不是很清楚,但一般认为竹叶防腐抗菌成分可能是对苯二醌及其衍生物、多糖类、黄酮及其酚类^{[9][12]},为方便起见,本文以芦丁计量黄酮类物质,故以芦丁黄酮计的最小抑菌浓度则大约是7.50mg/100ml。

2.2 对霉菌的抗性作用

2.2.1 抑菌效果

采用食品上常见的霉菌(黑曲霉和黑根霉/匍匐根霉)作试验菌,以箭竹叶提取物原液和1/2的稀释液进行平板扩散试验,结果见表5。

表5 箭竹叶提取物不同浓度对代表霉菌的抑制作用
Table 5 Inhibitory effect of different concentrations of the extracts from leaves of *S. nitida* to representative mold

菌名称	活菌数 (CFU/ml)	抑制作用(抑菌圈的有无)	
		原液	1/2原液浓度
黑曲霉	12.5×10^{10}	+	+
匍匐根霉	15.3×10^{10}	—	—

由表5可以看出:高低浓度的箭竹叶提取物溶液对黑曲霉均具有抑制作用,这与已有的一些研究相同^[3~5];对匍匐根霉而言,则无论高低浓度均没有抑制作用,箭竹叶提取物对不同霉菌具有不同的抗微生物作用,其作用机理是什么,产生差异的原因及本质又是什么等问题有待进一步的研究。

2.2.2 提取物的最小抑菌浓度

采用对试验菌——黑曲霉具有抗微生物作用的箭竹叶提取物进行稀释敏感试验,结果见表6。

表6 箭竹叶提取物对黑曲霉菌的最小抑制浓度(MIC)
Table 6 MIC of the extracts from leaves of *S. nitida* on *A. niger*

菌种	活菌数 (CFU/ml)	相对提取物原液浓度 (%)			
		50.00	25.00	12.50	6.25
黑曲霉	2.5×10^{10}	+	+	±	—

由表6可以看出:从50.00%、25.00%的提取物浓

度看,均能够明显抑制黑曲霉的生长,而在12.50%则效果不明显,因此,箭竹叶黄酮类提取物最小抑菌浓度约为12.50%的箭竹叶提取物原液浓度,以芦丁黄酮计的最小抑菌浓度则大约是7.50mg/100ml。

2.3 对酵母的抗性作用

2.3.1 抑菌效果

采用对食品保存有重要影响的酿酒酵母菌作为试验菌,以箭竹叶提取物原液和1/2的稀释液进行平板扩散试验,结果见表7。

表7 箭竹叶提取物不同浓度对酵母菌的抑制作用
Table 7 Inhibitory effect of different concentrations of the extracts from leaves of *S. nitida* to yeast

菌名称	活菌数 (CFU/ml)	抑制作用(抑菌圈的有无)	
		原液	1/2原液
酿酒酵母	8.0×10^{10}	+	+

由表7可看出:无论是较高浓度的、还是稍低浓度的箭竹叶提取物溶液,对供试酿酒酵母菌均具有抑制作用,与已有的一些研究相同^[3~5]。

2.3.2 提取物的最小抑菌浓度

采用对试验菌——酵母具有抗微生物作用的箭竹叶提取物进行稀释敏感试验,结果见表8。

表8 箭竹叶提取物对酵母的最小抑制浓度(MIC)
Table 8 MIC of the extracts from leaves of *S. nitida* on yeast

菌种	活菌数 (CFU/ml)	提取物相对浓度 (%)			
		50.00	25.00	12.50	6.25
酿酒酵母	1.6×10^{10}	+	±	—	—

由表8可以看出:50.00%、25.00%的竹叶提取物浓度均能够明显抑制酵母菌的生长,而在6.25%则出现效果不明显特征,因此,25.00%箭竹叶提取物具有抑制酵母菌生长的作用,即最小抑菌浓度约为25.00%的箭竹叶提取物原液浓度,以芦丁黄酮计的最小抑菌浓度则大约是15.00mg/100ml。

对比以前报道情况看:本研究采用的箭竹叶提取物对不同的供试菌对象的作用与已有研究报道之间存一些差异和变化^[3~5],造成这种结果的原因可能与原料、菌种(活性、浓度)、提取技术与方法、培养基和培养条件等的差异有关。今后还应在竹叶提取物抗微生物机理方面开展更深入的研究。

3 结 论

箭竹叶提取物具有较为广泛的抗微生物作用,但在不同微生物种类间存在一定的差异。

在特定的箭竹叶黄酮类化合物量范围内,提取物对各敏感供试菌的抗微生物作用表现有强弱的差异变化。

箭竹叶提取物对大肠杆菌、金黄色葡萄球菌、表皮葡萄球菌、黑曲霉和酿酒酵母以芦丁黄酮类物质计的最小抑菌浓度分别是: 7.50、7.50、7.50、7.50 和 15.00mg/100ml。

不同浓度的箭竹叶提取物溶液对供试的枯草芽孢杆菌、鼠伤寒沙门氏菌和根霉菌没有表现出抗微生物作用。

供试菌浓度、供试菌本身对箭竹叶提取物和浓度的敏感性之间是否存在某种特定的关系还有待后续研究予以进一步揭示。

参考文献:

- [1] Atalay Somen, Gulhan Vardar-unlu, Moschos Polissiou, et al. Antimicrobial activity of essential oil and methanol extracts of *Achillea sintenisii* Hub Mor (Asteraceae) [J]. *Phytother Res*, 2003, 17: 1005-1010.
- [2] Atalay Somen, Munevver Somen, Dimitra Daferera, et al. The *in vitro* antioxidant and antimicrobial activities of the essential oil and methanol extracts of *Achillea biebersteini* Afan (Asteraceae) [J]. *Phytother Res*, 2004, 18: 451-456.
- [3] M Lis-Balchin, H Steyrl, E Krenn. The comparative effect of novel *Pelargonium essential* oils and their corresponding hydrosols as antimicrobial agents in a model food system [J]. *Phytother Res*, 2003, 17: 60-65.
- [4] Carmen Tamayo, M A Richardson, Suzanne Diamond, et al. The chemistry and biological activity of herbs used in Flor-Essence™ herbal tonic and Essiac™ [J]. *Phytother Res*, 2000, 14: 1-14.
- [5] 杨洋. 生姜黄酮的提取及其抗氧化活性的研究 [J]. *食品科学*, 2002, 23(4): 45-50.
- [6] 杨校生. 国内外竹子化学利用及其研究概况(续) [J]. *林业科技通讯*, 1997, (7): 34-35.
- [7] 黄通旺, 林豪, 李美兴. 30种中草药新抗菌作用的筛选研究 [J]. *新中医*, 1996, 28(12): 46-47.
- [8] Brett Shand, Chris Strey, Russell Scott, et al. Pilot study on the clinical effects of dietary supplementation with Enzogenol®, a flavonoid extract of pine bark and vitamin C [J]. *Phytother Res*, 2003, 17: 490-494.
- [9] Talal Aburjai, Feda M Natsheh. Plants used in cosmetics [J]. *Phytother Res*, 2003, 17: 987-1000.
- [10] 陆志科, 谢碧霞. 竹叶化学成分的分析与资源的开发利用 [J]. *林业科技开发*, 2003, 17(1): 6-9.
- [11] 肖崇厚, 陆蕴如. 中药化学 [M]. 上海: 上海科学技术出版社, 1987. 191-250.
- [12] 凌关庭. 天然食品添加剂 [M]. 北京: 化学工业出版社, 2000. 214-308, 600-601.
- [13] 黄文, 王益, 胡筱波, 等. 竹叶提取物抑菌特性的研究 [J]. *林产化学与工业*, 2002, (22): 68-70.
- [14] Lansing M Prescott, John P Harley, Donald A Klein. 微生物学(第5版) [M]. 沈萍, 彭珍荣, 等译. 北京: 高等教育出版社, 2003. 7.
- [15] 张伟, 檀建新, 贾英明, 等. 竹叶对食品致病菌的抑菌作用 [J]. *食品科学*, 1998, 19(4): 37-39.
- [16] 王世强, 徐亚君, 蒋立科, 等. 中草药防腐剂的杀菌作用 [J]. *微生物学通报*, 1994, 21(1): 30-33.
- [17] 余杰, 陈美珍. 亮叶杨桐中黄酮提取及其抗氧化、抑菌作用的研究 [J]. *汕头大学学报(自然科学版)*, 1997, 12(2): 52-58.
- [18] 陈彦, 林晓艳, 杨志荣. 箭竹叶黄酮类物质提取条件的优化 [J]. *食品科学*, 2003, 24(1): 80-83.
- [19] 钱存柔, 黄仪秀. 微生物学实验教程 [M]. 北京: 北京大学出版社, 1999. 205.
- [20] 黄秀梨. 微生物学实验指导 [M]. 北京: 高等教育出版社, 1999. 62-63.



信息

助荧光法数秒查水质 英开发出有机水污染探测器

英国研究人员开发出一种在河边使用的装置, 能够在数秒钟之内探测出水污染。这种检验一般需要在实验室进行, 通常要费时 5 天才能完成。

该装置是由伯明翰大学地理、地球与环境学院与一家从事仪器仪表生产的名为安全训练系统有限公司(STS)一道开发出的。

其原理是利用荧光的方法, 探测出包括下水道污水和进行垃圾填埋造成的有机水污染。而荧光是利用某种特殊物质吸收并发出光线的自然现象。利用这种方法还能够发现农业废水, 并确定其成分。

伯明翰大学的课题带头人安迪·贝克博士说:“起初, 我研究的是洞穴中地表水的荧光现象, 但是后来, 我发现河水中出现了不同类型的荧光。随后又分析出, 河水中所含物质的荧光指纹, 据此便能够分析出水中的污染物质。”他补充说,“一般意义上的检验要在实验室进行, 需要花费 5 天时间。重要的是, 要确保水样在从河边送到实验室的过程中水质不会发生变化。所以我们希望能够开发出一种可以放置在河边, 并能够立即对水样进行检测的设备。现在, 我们能够抽取水样、检测荧光并鉴别污染物类型, 我们成功地将实验室搬到了河边。”

这一设备将有很多用途, 其一是有望成为一种减灾方面的救生设备, 特别是对于那些人口众多、水源又相对紧张的地区, 可用于探测水源是否符合饮用条件。此外, 环境保护组织和商务团体同样可以从中获益,