

穿心莲提取物体外抗菌活性及稳定性的研究

刘志祥¹, 曾超珍¹, 张映辉²

(1. 中南林业科技大学 生命科学与技术学院 湖南 长沙 410004; 2. 浏阳市田家炳实验中学 湖南 浏阳 410300)

摘要: 采用杯碟法对穿心莲提取物进行体外抗菌作用以及 pH、温度因素对其抗菌活性的影响。结果表明: 穿心莲提取物对金色葡萄球菌、枯草杆菌、大肠杆菌、黑曲霉、青霉都有明显的抑菌效果, 最低抑菌浓度分别为 0.5、0.25、0.25、0.125、0.25 mg/mL; 最小杀菌浓度为 0.5、0.5、0.5、0.5、0.25 mg/mL。穿心莲提取物的抑菌活性对热稳定性较差, 在 pH 4~7 的条件下抑菌效果最佳。

关键词: 穿心莲提取物; 抗菌作用; 稳定性

中图分类号: S 567.23⁺9 **文献标识码:** A **文章编号:** 1001-0009(2009)01-0105-02

穿心莲的主要成分有内酯、甾醇、多种黄酮类化合物、生物碱, 还有少量蛋白质和维生素等^[1]。它具有抗菌消炎、抗病毒、抗肿瘤、解热、防治心血管疾病、抗肝损伤、增强免疫、抗生育等多种药理作用^[2]。其中抗菌作用特别显著, 穿心莲主要抗菌的化学成分是二萜内酯及黄酮类化合物^[3-4], 有文献指出穿心莲对革兰氏阳性菌和革兰氏阴性菌都表现出不同程度的敏感性^[5]。该试验用穿心莲的醇提取物对一些食品微生物进行体外抑菌活性及其稳定性的研究, 了解穿心莲提取液抑菌特性, 为其在食品防腐保鲜方面的应用提供理论依据。

1 材料与方

1.1 材料

穿心莲: 购于湖南长沙康尔佳药店, 粉碎过 40 目筛, 80℃烘干备用。供试菌种: 金色葡萄球菌、枯草杆菌、大肠杆菌、黑曲霉、青霉由中南林业科技大学生命科学与技术学院实验室保存并培养。

1.2 方法

1.2.1 药液提取 取穿心莲粗粉 100 g, 用 85%乙醇回流提取 2 次, 2 h/次, 料液比为 1:10, 合并提取液, 用旋转蒸发器将药液浓缩至 100 mL, 药液终浓度为 1 g/mL。回收乙醇, 提取液置 4℃冰箱中保存备用。

1.2.2 穿心莲的抑菌试验 采用杯碟法测定其抑菌作用, 取浓度 $10^6 \sim 10^7$ CFU/mL 的各种待试菌悬液 0.2 mL, 与相应灭菌培养基 15 mL 混合制成混菌平板, 凝固后, 在平板上等距离放入 4 个灭菌牛津杯, 每个菌

设置 3 个重复, 一个无菌生理盐水为对照, 取 0.1 mL 穿心莲提取液加入牛津杯中, 细菌 37℃、真菌 28℃培养 18~24 h 后, 移去牛津杯, 量取抑菌圈直径, 直径越大抗菌活性越强。

1.2.3 最低抑菌浓度(MIC)和最小杀菌浓度(MBC)的测定 用无菌水将穿心莲提取液稀释, 终浓度分别为 1、0.5、0.25、0.0625、0.0313、0.0078 mg/mL。取 2 mL 提取液稀释液至 15 mL 培养基, 混匀后, 倒入平板, 凝固后加入 $100 \mu\text{L}$ $10^6 \sim 10^7$ CFU/mL 的菌液, 涂布均匀, 细菌 37℃、真菌 28℃培养 24 h 后观察结果。菌落被完全抑制的最高稀释度提取物浓度即 MIC。培养 48 h 后, 菌落被完全抑制的最高稀释度提取物浓度为 MBC。

1.2.4 酸碱稳定性试验 用稀 HCl 和稀 NH₃ 溶液将穿心莲乙醇提取物提取液 pH 值分别调至 2、3、4、5、6、7、8、9, 保持药液生药浓度 1 g/mL, 杯碟法测定抑菌效果。

1.2.5 热稳定性试验 取穿心莲提取液 5 mL, 分别至于 60℃、100℃、121℃条件下处理 20 min。再加入到含有 45 mL 琼脂培养基的锥形瓶中, 混匀后各倾注 3 个平板, 凝固后, 用各待试菌点样, 置于 37℃生化培养箱中, 倒置培养 2 d 以上, 观察菌种生长情况。

2 结果与分析

2.1 穿心莲的抑菌效果

表 1 穿心莲提取物对供试菌的抑制效果

供试菌种	金色葡萄球菌	枯草杆菌	大肠杆菌	黑曲霉	青霉	CK
抑菌圈直径/mm	15.3	19.6	20.0	13.3	15.1	0

注: 以上结果均为 3 个重复试验的平均值。

由表 1 可知, 穿心莲提取物对金色葡萄球菌、枯草杆菌、大肠杆菌、黑曲霉、青霉都有较强的抑菌效果。而且对细菌的抑制效果强于真菌。

2.2 穿心莲的最低抑菌浓度(MIC)及最低杀菌浓度(MBC)

第一作者简介: 刘志祥(1978-), 男, 在读博士, 讲师, 研究方向为天然产物提取与植物生物技术。E-mail: liuzx0927@yahoo.com.cn。
基金项目: 中南林业科技大学引进高层次人才科研启动基金资助项目(101-0254); 中南林业科技大学青年科学基金资助项目(07002B)。

收稿日期: 2008-09-26

表 2 穿心莲的最低抑菌浓度和最低杀菌浓度

试验号	提取物浓度 /mg · mL ⁻¹	金色葡萄球菌		枯草杆菌		大肠杆菌		黑曲霉		青霉	
		24 h	48 h	24 h	48 h	24 h	48 h	24 h	48 h	24 h	48 h
1	1	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
2	0.5	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
3	0.25	+	+	—	+	—	+	—	+	—	—
4	0.125	+	+	+	+	+	+	—	+	+	+
5	0.0625	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
6	0.03130	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
7	0.0156	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
8	0.0078	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

注“—”表示无菌生长;“+”表示有菌生长

由表 2 可知,穿心莲提取液对金色葡萄球菌、枯草杆菌、大肠杆菌、黑曲霉、青霉的最低抑菌浓度分别为 0.5、0.25、0.25、0.125、0.25 mg/mL;最小杀菌浓度为 0.5、0.5、0.5、0.5、0.25 mg/mL。

2.3 穿心莲提取物抑菌 pH 范围

由表 3 可知,酸碱处理对穿心莲提取物的抑菌效果有一定的影响,当 pH 在 4~7 时,穿心莲对供试菌的抑制能力最强。

表 3 穿心莲提取物在不同 pH 条件的抑菌活性 (抑菌圈直径 mm)

供试菌种	pH 值							
	2	3	4	5	6	7	8	9
金色葡萄球菌	—	—	15.2	15.9	16.0	15.2	10.2	9.0
枯草杆菌	—	—	19.0	20.4	20.8	18.0	15.0	9.3
大肠杆菌	—	—	19.5	21.3	21.9	20.4	12.4	8.5
黑曲霉	—	—	12.8	13.2	13.3	13.0	10.0	—
青霉	—	—	15.3	15.6	15.6	15.2	11.2	—

注“—”表示无抑菌圈。

表 4 热处理对穿心莲提取物抗菌活性的影响

处理温度/℃	大肠杆菌	金色葡萄球菌	枯草杆菌	黑曲霉	青霉
60	—	—	—	—	—
100	+	++	++	+	++
121	++	+++	+++	++	+++

注“—”表示抑菌;“+”表示长菌;“++”表示细菌生长较旺盛;“+++”表示细菌生长旺盛

2.4 穿心莲提取物抗热性测定

由表 4 可知,穿心莲乙醇提取物经过 100℃、121℃ 湿热处理后对各种供试菌的抑制能力明显下降,而只有

经过 60℃ 湿热处理后的药液对供试菌产生了抑制作用。这是由于穿心莲中的有效抑菌成分(穿心莲内酯)对热不稳定,在加热过程中容易脱水形成脱水穿心莲内酯,此外,长时间加热也会导致内酯环的结构破坏。

3 结论

穿心莲提取物对金色葡萄球菌、枯草杆菌、大肠杆菌、黑曲霉、青霉都有明显的抑菌效果,其中对大肠杆菌的抑菌效果最强。

穿心莲提取物在 pH 4~7 时保持较强的抑菌效果,当 pH>8 时,对供试菌的抑菌活性减弱,pH=9 时,对黑曲霉、青霉的抑菌活性消失,对金色葡萄球菌、枯草杆菌、大肠杆菌仍然有抑制活性。

穿心莲提取物具有强的抑菌活性,除可用于开发抗菌消炎药物外,还可探索用作食品抗菌防腐剂,有极高的药用价值和经济价值,具有很大的发展前景。

参考文献

- [1] 方桂友,陈艺娟,邓甲兴,等.穿心莲的药理作用及应用的研究进展[J].福建畜牧兽医,2007,29(6):22-25.
- [2] 郭蓓.穿心莲的研究及临床开发[J].药学进展,2004,28(12):542-546.
- [3] Gupta K K, Aneja S C, Dhar K L. Flavonoids of *Andrographis paniculata*[J]. *Phytochemistry*, 1983, 22(1): 314-315.
- [4] Koteswara Rao Y, Vimalamma G, Venkata Rao C. Flavonoids and andrographolides from *Andrographis paniculata*[J]. *Phytochemistry*, 2004, 65: 2317-2321.

Studies on Bacteriostatic Activity of *Andrographis paniculata* Extracts and its Stability

LIU Zhi-xiang¹, ZENG Chao-zhen¹, ZHANG Ying-hui²

(1. College of Life Science and Technology, Central South University of Forestry and Technology, Changsha, Hunan 410004, China; 2. Liuyang Tianjiabing Experimental Middle School, Liuyang, Hunan 410300, China)

Abstract: In this paper, bacteriostatic activity of *Andrographis paniculata* extracts and the effect of temperature, pH value on its antibacterial activities were studied by cylinder plate method. The results showed *Andrographis paniculata* extracts had strong inhibition effects on *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli*, *Aspergillus niger* and *Penicillium*, the minimum inhibitory concentration (MIC) was 0.5, 0.25, 0.25, 0.125, 0.25 mg/mL, and minimum bactericidal concentrations (MBC) was 0.5, 0.5, 0.5, 0.5, 0.25 mg/mL respectively. The antibacterial activity of *Andrographis paniculata* extracts was unstable under heating, and the antibacterial effects was best at pH 4~7.

Key words: *Andrographis paniculata* extracts; Antibacterial activity; Stability