

峨眉山四种菖蒲挥发油及水提取液的抑菌作用比较

黄 娇

(乐山师范学院 生命科学学院, 四川 乐山 614000)

摘 要:采用纸片扩散法测定抑菌圈直径, 试管二倍稀释法测定挥发油最低抑菌浓度(MIC), 研究了峨眉山 4 种菖蒲挥发油及水提取液对 3 种常见致病菌的抑菌作用, 以期合理使用峨眉山菖蒲植物提供试验依据。结果表明:挥发油提取液对 3 种致病菌抑菌作用表现为茴香菖蒲>石菖蒲>水菖蒲, 金钱菖蒲仅对大肠杆菌有弱抑菌作用。其中茴香菖蒲和石菖蒲挥发油对金黄色葡萄球菌有中等抑菌作用, 最小抑菌浓度(MIC)最低, 均为 31.25 $\mu\text{g/mL}$, 抑菌效果最强; 茴香菖蒲、石菖蒲、水菖蒲对枯草芽孢杆菌和大肠杆菌为弱抑菌作用, 最低抑菌浓度(MIC)各异。除石菖蒲水提取液对大肠杆菌有弱抑菌作用外, 其余水提取液均无抑菌作用。

关键词:菖蒲; 抑菌作用; 挥发油; 水提取液

中图分类号:S 567.9 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2014)21-0067-03

菖蒲为多年生草本植物, 原为天南星科菖蒲属, 中国植物志英文版《Flora of China》将菖蒲属植物独立划分为菖蒲科, 包括 1 属 2 类, 记载的一共有 7 种及 2 变种。菖蒲科植物历史上作为药用的有水菖蒲(*Acorus calamus* L.)和石菖蒲(*A. tatarinowii* Schott.), 其根茎入药, 具有镇静催眠、抗惊厥、镇咳平喘、抗肿瘤、开窍、化痰、健胃等功效^[1], 是我国重要的传统中药。目前国内外对菖蒲科植物的研究主要集中在石菖蒲、水菖蒲和茴香菖蒲(*A. macrospadiceus* F. N. Wei & Y. K. Li), 对药材石菖蒲和水菖蒲的化学成分、药理作用报道较多^[1-3], 对茴香菖蒲的食用价值、化学成分也有相应报道^[4-5], 但菖蒲科植物在抑菌杀虫活性方面的报道较少, 仅有零星报道, 且集中在 1~2 种菖蒲植物^[6-8]。

因此, 现以峨眉山自然分布的菖蒲科植物为主要研究对象, 对石菖蒲、水菖蒲、金钱菖蒲(*A. gramineus* Solander.)、茴香菖蒲 4 种植物的抑菌效果进行了初步研究, 考察了其挥发油及水提取液对常见致病菌的作用效果, 测定了其抑菌圈大小及挥发油最小抑菌浓度(MIC), 探讨峨眉山 4 种菖蒲的药理抑菌作用的异同, 以期更加合理的开发利用峨眉山菖蒲资源提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

供试植物材料为石菖蒲、水菖蒲、金钱菖蒲、茴香菖蒲, 采自峨眉山低海拔山区(表 1)。

供试菌株为大肠杆菌(G^-)(*Escherichia coli*)、金黄色葡萄球菌(G^+)(*Staphylococcus aureus*)、枯草芽孢杆菌(G^+)(*Bacillus subtilis*), 以上菌种均为乐山师范学院生命科学学院微生物实验室保存。

表 1 供试植物出油率

供试植物	学名	采集地	海拔/m	挥发油得率/%
水菖蒲	<i>A. calamus</i> L.	报国寺	461	2.26
石菖蒲	<i>A. tatarinowii</i> Schott.	报国寺	462	1.73
金钱菖蒲	<i>A. gramineus</i> Solander.	伏虎寺	479	1.07
茴香菖蒲	<i>A. macrospadiceus</i> F. N. Wei & Y. K. Li	中峰寺	722	2.64

1.2 试验方法

1.2.1 挥发油及水提取液的制备 挥发油的提取: 将采集的植物去掉叶片, 只留根茎, 洗净后阴处晒干, 粉碎, 过筛。准确称取干粉各 200 g, 分别置于圆底烧瓶中, 加入沸石和 8 倍量蒸馏水, 浸泡 1 h 后, 连接挥发油提取器与回流冷凝管, 采用常压水蒸汽蒸馏法提取挥发油, 得淡黄色油状物, 无水 Na_2SO_4 干燥后 4℃ 冰箱保存备用, 各植物的出油率见表 1。水提取液的制备: 分别称取 4 种菖蒲根茎的干粉 60 g, 加蒸馏水 300 mL 浸泡 30 min 后加热煮沸 30 min, 过滤。滤渣再加蒸馏水 300 mL, 煮沸 30 min, 过滤, 合并 2 次滤液, 加热蒸发浓缩至 60 mL, 浓度为 1 g/mL, 4℃ 保存备用。

1.2.2 抑菌试验测定 菌悬液的制备: 将受试菌在斜面培养基上活化 2~3 代, 挑取活化的单个菌落分别放入无菌水中制备成菌悬液, 采用 10 倍稀释法^[9]调节菌液浓

作者简介:黄娇(1981-), 女, 四川峨眉人, 硕士, 副教授, 研究方向为植物资源及应用。E-mail: anyyke@sohu.com.

基金项目:四川省教育厅资助项目(12ZB241); 乐山师范学院校级课题资助项目(Z1323)。

收稿日期:2014-05-27

度,使菌体密度为 10^6 cfu/mL,备用。抑菌圈的测定:采用纸片扩散法测量抑菌圈的大小^[10]。取浓度 10^6 cfu/mL 的菌悬液 0.1 mL,将其均匀涂布于牛肉膏蛋白胨培养基平板表面,稍干后将经过灭菌并分别吸取了 4 种菖蒲挥发油及水提取液的圆滤纸片(直径 6 mm,每片吸取 10 μ L),贴于平板表面,每种提取液每板 3 片,每个菌种平行 2 组。以盐酸四环素作阳性对照,无菌水为阴性对照。置 37℃ 恒温箱中培养 24 h 后观察测量抑菌圈直径,计算平均值。

1.2.3 最低抑菌浓度(MIC)测定 挥发油最低抑菌浓度(MIC)的测定采用试管二倍稀释法^[10]。以吐温-80 为精油乳化剂,在各菖蒲挥发油中分别加入乳化剂乳化,并用未冷却的无菌肉汤培养基将挥发油稀释至 1 mg/mL。取灭菌有棉塞试管 8 支,编号,每管先加入无菌肉汤培养基 1.0 mL,然后于第 1 管中加入挥发油乳化原液 1.0 mL,混匀后取出 1.0 mL 放入第 2 管中,依次进行二倍稀释,第 7 支试管混匀后吸取 1.0 mL 弃去,使每支试管都含有 1.0 mL 的不同稀释度挥发油溶液,第 8 支试管中不添加挥发油为阳性对照,各管平行 3 份。各管挥发油的浓度依次为 500、250、125、62.5、31.25、15.625、7.8125、0 μ g/mL。取浓度 10^6 cfu/mL 的菌悬液 0.1 mL 分别加入上述 1~8 管中混匀,于 37℃ 混合培养 24 h,观察细菌生长情况,以肉眼未见细菌生长的最低挥发油浓度作为此菖蒲挥发油对该种菌株的最低抑菌浓度(MIC)。

1.3 数据分析

试验数据采用 SPSS 软件 LSD 法进行一维方差分析。

2 结果与分析

2.1 4 种菖蒲挥发油抑菌圈大小比较

由表 2 可知,峨眉山水菖蒲、石菖蒲、茴香菖蒲的挥发油提取液对 3 种致病菌均有不同程度的抑菌作用,金钱菖蒲的挥发油提取液抑菌效果相对较弱,只对大肠杆菌有弱抑菌作用,对金黄色葡萄球菌和枯草芽孢杆菌无抑菌作用。从对 3 种致病菌的抑菌作用大小来看,茴香菖蒲>石菖蒲>水菖蒲,其中茴香菖蒲和石菖蒲对金黄色

表 2 峨眉山 4 种菖蒲挥发油对
不同菌种的抑菌圈大小

植物名称	抑菌圈直径/mm		
	金黄色葡萄球菌	枯草芽孢杆菌	大肠杆菌
水菖蒲	9.98±1.54c	9.03±2.13bc	10.23±1.01c
石菖蒲	13.57±1.92b	10.37±1.18b	10.77±1.09bc
金钱菖蒲	7.37±0.86cd	7.05±0.41cd	8.57±0.78cd
茴香菖蒲	16.27±3.01b	10.67±1.03b	13.30±1.49b
阳性对照	28.22±5.50a	23.65±3.64a	28.55±4.87a
阴性对照	6.00±0.00d	6.00±0.00d	6.00±0.00d

注:抑菌圈直径小于 8 mm 为无抑菌作用;8~13 mm 为弱抑菌作用;14~19 mm 为中等抑菌作用;20 mm 以上为强抑菌作用^[11]。下同。

色葡萄球菌有中等抑菌作用,显著大于水菖蒲对金黄色葡萄球菌的弱抑菌作用($P<0.05$);茴香菖蒲、石菖蒲、水菖蒲对枯草芽孢杆菌均为弱抑菌作用,大小间差异不显著;茴香菖蒲、石菖蒲、水菖蒲对大肠杆菌也为弱抑菌作用,其中茴香菖蒲的效果显著大于水菖蒲($P<0.05$)。

2.2 4 种菖蒲水提取液抑菌圈大小比较

峨眉山 4 种菖蒲水提取液对 3 种致病菌的抑菌效果见表 3。由表 3 可知,峨眉山 4 种菖蒲水提取液对 3 种致病菌的抑菌效果不明显,除石菖蒲对大肠杆菌有弱抑菌作用外,其余均为无抑菌作用。从抑菌圈大小来看,4 种植物对 3 种致病菌的抑菌圈均大于阴性对照,对金黄色葡萄球菌的效果为茴香菖蒲>石菖蒲>金钱菖蒲>水菖蒲;对枯草芽孢杆菌的效果为茴香菖蒲>水菖蒲>金钱菖蒲>石菖蒲;对大肠杆菌的效果为石菖蒲>茴香菖蒲>水菖蒲>金钱菖蒲。

表 3 峨眉山 4 种菖蒲水提取液对
不同菌种的抑菌圈大小

植物名称	抑菌圈直径/mm		
	金黄色葡萄球菌	枯草芽孢杆菌	大肠杆菌
水菖蒲	6.50±0.36b	7.50±1.54b	6.98±0.56b
石菖蒲	7.05±1.24b	6.95±0.53b	8.30±3.27b
金钱菖蒲	6.83±0.15b	7.03±0.63b	6.85±0.17b
茴香菖蒲	7.43±0.51b	7.63±0.94b	7.37±0.76b
阳性对照	28.22±5.50a	23.65±3.64a	28.55±4.87a
阴性对照	6.00±0.00b	6.00±0.00b	6.00±0.00b

2.3 4 种菖蒲挥发油最小抑菌浓度比较

峨眉山 4 种菖蒲挥发油对各受试菌的抑菌效果呈一定的量效关系,在低浓度时,抑菌活性较弱,细菌繁殖量大,生长明显;随着浓度升高,细菌繁殖量小,生长不明显,抑菌活性才逐渐显现出来。通过不同浓度梯度的挥发油与不同菌液之间的抑菌作用,可判断出 4 种菖蒲挥发油对不同菌种的最小抑菌浓度(MIC)。由表 4 可知,石菖蒲和茴香菖蒲对金黄色葡萄球菌的抑菌作用较强,最小抑菌浓度(MIC)均为 31.25 μ g/mL,水菖蒲对金黄色葡萄球菌的 MIC 为 62.50 μ g/mL,金钱菖蒲对金黄色葡萄球菌的抑菌作用不明显,在所设浓度梯度内均长菌,最小抑菌浓度(MIC)大于 500.00 μ g/mL;石菖蒲和茴香菖蒲对枯草芽孢杆菌有一定抑菌作用,最小抑菌浓度(MIC)均为 62.50 μ g/mL,水菖蒲对枯草芽孢杆菌的 MIC 值为 125.00 μ g/mL,金钱菖蒲对枯草芽孢杆菌的

表 4 峨眉山 4 种菖蒲挥发油对
不同菌种的最小抑菌浓度

植物名称	最小抑菌浓度 MIC/(μ g \cdot mL ⁻¹)		
	金黄色葡萄球菌	枯草芽孢杆菌	大肠杆菌
水菖蒲	62.50	125.00	125.00
石菖蒲	31.25	62.50	62.50
金钱菖蒲	>500.00	>500.00	250.00
茴香菖蒲	31.25	62.50	31.25

MIC 值为大于 500.00 $\mu\text{g/mL}$; 4 种菖蒲挥发油对大肠杆菌的 MIC 值不同, 表现为茴香菖蒲 < 石菖蒲 < 水菖蒲 < 金钱菖蒲, 说明对大肠杆菌的抑菌大小为茴香菖蒲 > 石菖蒲 > 水菖蒲 > 金钱菖蒲。4 种菖蒲挥发油对 3 种细菌的最低抑菌浓度(MIC)各异, 说明 4 种菖蒲挥发油对各受试菌的抑制作用不同, 与表 2 的抑菌圈结果相一致。

3 结论与讨论

该试验结果表明, 按照中草药抑菌效果等级划分^[11], 除金钱菖蒲外, 峨眉山 3 种菖蒲的挥发油对 3 种致病细菌均有不同程度的抑制作用, 其中茴香菖蒲和石菖蒲挥发油对金黄色葡萄球菌有中等抑菌作用, 最小抑菌浓度(MIC)最低, 抑菌效果最强; 茴香菖蒲、石菖蒲、水菖蒲对枯草芽孢杆菌为弱抑菌作用; 4 种菖蒲挥发油提取液对大肠杆菌均为弱抑菌作用, MIC 值表现为茴香菖蒲 < 石菖蒲 < 水菖蒲 < 金钱菖蒲。挥发油提取液对 3 种致病菌的抑菌作用表现为茴香菖蒲 > 石菖蒲 > 水菖蒲, 金钱菖蒲对金黄色葡萄球菌和枯草芽孢杆菌无抑菌作用。该试验结果为峨眉山菖蒲的抗菌效用提供了试验依据, 为合理使用峨眉山菖蒲药材奠定了基础。

从试验结果来看, 峨眉山 4 种菖蒲水提取液对 3 种致病菌的抑菌效果不明显, 除石菖蒲对大肠杆菌有弱抑菌作用外, 其余均为无抑菌作用, 与河池全等^[7]报道的石菖蒲抑菌效果略有不同。说明峨眉山菖蒲的抑菌活性成分主要存在于挥发油中, 有文献报道茴香菖蒲的挥发油主要成分为异茴香脑^[12], 具有生物活性, 可用于制杀虫剂^[5], 说明茴香菖蒲挥发油中的异茴香脑应该与抗菌作用有一定关系, 值得进一步深入研究。另外, 文献

报道, 水菖蒲和石菖蒲根茎挥发油的主要成分为 β -细辛醚, 而金钱菖蒲根茎挥发油中 β -细辛醚含量很少, 主要为甲基丁香酚、顺式-甲基异丁香酚和 γ -细辛醚^[2], 试验结果说明 β -细辛醚不仅具有药用, 同时应该与抗菌作用有一定关系, 也值得进一步深入研究。

参考文献

- [1] 陈峰. 菖蒲属植物的化学成分及药理作用[J]. 世界科学技术(中医药现代化), 2011, 13(6): 1013-1017.
- [2] 黄远征, 何宗英, 曹延怀, 等. 中国菖蒲属植物根茎挥发油成分分析及其资源的合理利用[J]. 色谱, 1993, 11(5): 267-270.
- [3] Rai R, Gupta A, Siddiqui I R, et al. Xanthone glycoside from rhizome of *Acorus calamus* [J]. Indian J Chem, Sect B; Org Chem Incl Med Chem, 1999, 38B(9): 1143.
- [4] 陆顺忠, 黎贵卿, 李秋庭, 等. 茴香菖蒲挥发油化学成分的研究[J]. 广西农学报, 2010, 25(5): 18-19, 23.
- [5] 梁忠云, 王国聪. 草菖脑资源及生物活性应用研究进展[J]. 广西林业科学, 2010, 39(1): 49-51.
- [6] 延静, 谢令德, 杨长举, 等. 水菖蒲提取物对 4 种储粮害虫的生物活性[J]. 华中农业大学学报, 2006, 25(5): 515-517.
- [7] 河池全, 陈少凤, 叶居新. 石菖蒲抑菌效应的研究[J]. 环境与开发, 1997, 12(3): 1-3, 6.
- [8] Deng Y C, Chen K L, Yu Y Z, et al. *In vitro* antifungal activity of the extract and compound from *Acorus tatarinowii* against seven plant pathogenic fungi [J]. Agricultural Sciences in China, 2010, 9(1): 71-76.
- [9] 范秀荣, 李光武, 沈萍. 微生物学实验[M]. 北京: 高等教育出版社, 1996.
- [10] 赵兵, 赵婷, 高昂, 等. 3 种秦艽药材提取物的抑菌作用比较[J]. 西北大学学报(自然科学版), 2012, 42(6): 971-974.
- [11] 侯文久, 杨凤影, 王维新. 中草药对刺参腐皮综合症病原菌的抑菌试验[J]. 中国农学通报, 2013, 29(5): 76-80.
- [12] 黄远征, 左尧凤, 何宗英, 等. 两种新的茴香脑资源植物[J]. 天然产物研究与开发, 1991, 3(3): 18-24.

The Antibacterial Activity of Volatile Oils and Water Extracts from Four Kinds of *Acorus* in Emei Mountain

HUANG Jiao

(College of Life Science, Leshan Normal University, Leshan, Sichuan 614000)

Abstract: The disc diffusion method was adopted to measure the antibacterial circle diameter, and the tube dilution method was used to determinate the minimum inhibitory concentration(MIC), the antibacterial activity of volatile oils and water extracts from four kinds of *Acorus* in Emei mountain to three common pathogenic bacteria were reported, in order to provide the experimental basis for the rational use of the calamus plants in Emei mountain. The results showed that the antibacterial activity of volatile oils from *A. macrospadiceus* F. N. Wei & Y. K. Li was stronger than *A. tatarinowii* Schott, which was stronger than *A. calamus* L. to three pathogenic bacteria, while the volatile oils from *A. gramineus* Solander, to *Escherichia coli* was weak. The volatile oils from *A. macrospadiceus* F. N. Wei & Y. K. Li and *A. tatarinowii* Schott, to *Staphylococcus aureus* were the strongest, had middle antibacterial effect and the MIC were both 31.25 $\mu\text{g/mL}$; the volatile oils from *A. macrospadiceus* F. N. Wei & Y. K. Li, *A. tatarinowii* Schott, *A. calamus* L. to *Bacillus subtilis* and *Escherichia coli* had weak effect and the MIC were different. The water extrats had not antibacterial effect except the water extrats from *A. tatarinowii* Schott, had the weak effect to *Escherichia coli*.

Keywords: *Acorus*; antibacterial effect; volatile oil; water extract