

蝙蝠葛茎叶石油醚提取物抗菌活性的研究

孔 阳¹,马养民²,李彦军¹,朱慧芳¹

(1 陕西科技大学生命科学与工程学院,陕西西安 710021;

2.陕西科技大学化学与化工学院,陕西西安 710021)

摘 要:目的:对蝙蝠葛茎叶石油醚提取物对3种细菌和12种植物病原菌的体外抗菌实验进行了研究。方法:生长速率法和纸片扩散法。结果:对12种植物病原菌有不同程度的抑制作用,对细菌的抑制作用不明显。结论:蝙蝠葛茎叶石油醚提取物总体抑制植物病原菌效果较好,对细菌抑制作用较差。

关键词:蝙蝠葛,抗菌活性,生长速率法,纸片扩散法

Study on antibacterial activity of the petroleum ether extract from leaves and stem of *Menispermum dahuricum* DC.KONG Yang¹, MA Yang-min², LI Yan-jun¹, ZHU Hui-fang¹

(1.College of Life Science and Engineering, Shaanxi University of Science & Technology, Xi'an 710021, China;

2.College of Chemistry & Chemical Engineering, Shaanxi University of Science & Technology, Xi'an 710021, China)

Abstract: Objective: the antimicrobial effects of the petroleum ether extract from leaves and stem of *M. dahuricum* DC. against 3 kinds of bacterial and 12 kinds of plant pathogenic bacteria were studied. Methods: growth rate method and Kirby-Bauer method. Results: the petroleum ether extract had the varying degree inhibitory action to 12 kinds of plant pathogenic bacteria, but was not obvious to the bacterium inhibitory action. Conclusion: The *Menispermum dahuricum* stem leaf petroleum ether extraction overall suppresses the plant pathogens effect was good, but bad to the bacterium inhibitory action.

Key words: *Menispermum dahuricum* DC.; antimicrobial activity; growth rate method; Kirby-Bauer method

中图分类号: TS201.2

文献标识码: A

文章编号: 1002-0306(2008)09-0154-02

蝙蝠葛(*Menispermum dahuricum* DC.) 为防己科传统药用植物,其干燥根茎称“北豆根”,具有抗心律失常、降压、解痉和抗癌等作用,其制剂已被广泛应用于临床治疗癌症、咽喉肿痛、风湿痹痛、心脑血管疾病、慢性支气管炎等病症。目前,从该植物中分离出的有效成分主要有蝙蝠葛碱、蝙蝠葛可林碱、蝙蝠葛新可林碱、蝙蝠葛苏林碱等^[1~4]。但目前人们只对其根部进行药用开发,而废弃了茎叶部分,对蝙蝠葛资源造成了极大的破坏和浪费。同时关于蝙蝠葛抗植物病原菌的研究报道也很少,因此本实验对蝙

蝠葛茎叶石油醚提取物对12种植物病原菌和3种细菌的抗菌活性进行了系统研究,以期合理开发利用蝙蝠葛资源和研制高效低毒的新型植物源抑菌剂提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

蝙蝠葛茎叶 于2007年7月采自西安市翠华山,由陕西科技大学药物制剂教研室杨文娟讲师鉴定为蝙蝠葛(*Menispermum dahuricum* DC.),置烘箱中60℃下迅速烘干后粉碎待用;金黄色葡萄球菌(*S. aureus*)、大肠杆菌(*Escherichia coli*)、枯草芽孢杆菌(*B. subtilis*) 由陕西科技大学生命科学与工程学院微生物实验室提供;假丝酵母菌(*Candida sp.*)、白菜黑斑病菌(*Alternaria brassicae*)、番茄灰霉病菌

的创新思路探讨[J]. 食品科学,2005(9):597~601.

[7] 常汝镇. 中国黑豆资源及其营养与药用价值[J]. 中国食物与营养,1998(5):38~39.

[8] 李里特. 大豆加工与利用[M]. 北京:化学工业出版社,2002,12:28~29.

[9] 张志健. 新型豆制品加工工艺与配方[M]. 北京:科学技术文献出版社,2000,1:6~7.

收稿日期:2008-01-09

作者简介:孔阳(1980-),女,讲师,硕士,主要从事天然药物化学的研究。

基金项目:陕西科技大学校级自然科学基金项目(ZX05-24)资助。

[3] 李里特. 食品物性学[M]. 北京:中国农业出版社,2001. 96~100.

[4] Malcolm C Bourne. Food Texture and Viscosity (2nd Ed.) [M]. Academic Press,2002,3. 325~344.

[5] 路学方. 青仁黑豆皖新秀[J]. 药膳食疗研究,2000(5):3~4.

[6] 张炳文,郝征红,王建军,等. 对药食两用生物资源研发

(*Botrytis cinerea*)、辣椒疫霉病菌(*Phytophthora capsici*)、棉花枯萎病菌(*Fusarium oxysporum f. sp. vasinfectum*)、苹果腐烂病菌(*Valsa mali*)、葡萄炭疽病菌(*Colletotrichum gloeosporioides*)、草莓镰刀菌(*A. laborator*)、西瓜枯萎病菌(*Fusarium oxysporum f. sp. niveum*)、黄瓜枯萎病菌(*Fusarium omysporumf. sp.*)、烟草赤星病菌(*Alternaria alternata*)、青霉菌(*Penicillium sp.*) 由西北农林科技大学资环学院微生物实验室提供;牛肉膏、蛋白胨 北京奥博星生物有限公司;琼脂 河南省琼海市青港琼脂厂;其余试剂 均为分析纯。

旋转薄膜蒸发仪 R502B 上海申生科技有限公司;高压灭菌锅 LB-50L 江阴滨江医疗设备厂;电热恒温培养箱 上海跃进医疗器械厂;SW-CJ-IB 型超净工作台 苏州净化设备有限公司。

1.2 实验方法

1.2.1 蝙蝠葛茎叶石油醚提取物的制备 取阴干粉碎的蝙蝠葛茎叶 10kg,用工业乙醇 80℃ 回流提取 3 次,合并提取液,回收溶剂得浸膏,将浸膏悬浮于蒸馏水中,然后依次用石油醚、乙酸乙酯和正丁醇萃取,得石油醚提取物。

1.2.2 培养基 细菌用牛肉膏蛋白胨培养基:牛肉膏 0.5g、蛋白胨 1g、氯化钠 0.5g、琼脂 1.5~2g、水 100mL,pH7.2;其余测试菌用 PDA 培养基:马铃薯 200g、葡萄糖 20g、琼脂 20g、水 1000mL,pH 自然。

1.2.3 抗菌活性的测定

1.2.3.1 生长速率法^[5] 12 种植物病原菌采用此法。按供试样品/培养基 = 20g/L(体积比)的比例准确量取供试样品加入到培养基中,混匀,制成带药平面培养基。待培养基凝固后,将供试菌饼(直径 6mm)平放于培养基表面,每个样品对每种测试菌做 3 个重复,用纯丙酮做空白对照,28℃ 恒温培养 3d,用十字交叉法测量菌落扩展直径,按下式计算菌丝生长抑制率:

菌丝生长抑制率 = (对照菌落直径 - 处理菌落直径) / 对照菌落直径 × 100%。

1.2.3.2 滤纸片法^[6] 3 种细菌采用此法。用丙酮将供试样品配制成 0.25、0.5、1.0g/L 3 种浓度的药液,将吸水性强的 102 型新华滤纸用打孔器打成直径为 6mm 的圆形纸片,160℃ 干热灭菌 2h 后备用。把已灭菌的纸片放入药液中充分浸透,挥发干待用。将供试细菌在 37℃ 培养 24h,用无菌生理盐水配制成 10⁶ 个/mL 的菌悬液,于 15min 内接种至平面培养基上,之后把上述挥发干溶剂的含药滤纸片放入培养基表面,每个样品对每种测试菌做 3 个重复,另取纯丙酮作空白实验,28℃ 恒温培养 1d,取出后用十字交叉法测量抑菌圈直径。

2 结果与分析

2.1 蝙蝠葛茎叶石油醚提取物对 12 种病原菌的抑制作用

从表 1 可知,蝙蝠葛茎叶石油醚提取物对 12 种测试菌均具有不同程度的抑制作用,其中对苹果腐烂菌、番茄灰霉和青霉的抑菌活性较强,相对抑制率均达到了 50% 以上;对青霉的抑制率达到 63.5%;对

假丝酵母、黄瓜枯萎病菌、白菜黑斑病菌、烟草赤星、西瓜枯萎病菌、棉花枯萎病菌和辣椒疫霉的抑制率为 20.5%~49.3%,有抑制作用;对草莓镰刀菌和葡萄炭疽的抑制率较低。

表 1 蝙蝠葛茎叶石油醚提取物对 12 种病原菌的抑制效果

测试菌株	相对抑制率(%)
假丝酵母 <i>Candia sp.</i>	23.2
白菜黑斑病菌 <i>Alternaria brassicae</i>	28.9
草莓镰刀菌 <i>A.laborator</i>	17.7
棉花枯萎病菌 <i>F.oxysporm f.sp vasinfectum</i>	25.0
西瓜枯萎病菌 <i>F.oxysporum f.sp.Niveum</i>	39.1
苹果腐烂病菌 <i>Valsa mail</i>	53.4
番茄灰霉 <i>Botrytis cinerea</i>	50.8
黄瓜枯萎病菌 <i>F.f.sp.cucumerinum</i>	32.3
葡萄炭疽 <i>Colletotrichum gloeosporioides</i>	13.6
辣椒疫霉 <i>Phytop hthoracapsic</i>	20.5
烟草赤星 <i>Alternaria alternat</i>	49.3
青霉 <i>Penicillium sp.</i>	63.5

2.2 蝙蝠葛茎叶石油醚提取物对 3 种细菌的抑制作用

从表 2 可以看出,蝙蝠葛茎叶石油醚提取物在浓度较低时,对三种细菌的抑制作用不明显;在浓度较高时,对三种细菌有弱抑制作用。

表 2 不同浓度蝙蝠葛茎叶石油醚提取物对 3 种细菌的抑制效果

石油醚提取物浓度 (g/L)	金黄色葡萄球菌 <i>S.aureus</i>	大肠杆菌 <i>E.coli</i>	枯草芽孢杆菌 <i>B.subtilis</i>
0.25	-	-	-
0.5	-	-	-
1.0	+	+	+

注:“-”表示平均抑菌圈直径为 0~6mm;“+”表示平均抑菌圈直径为 6~10mm。

3 结论

本研究结果表明,蝙蝠葛茎叶石油醚提取物对常见植物病原菌,如苹果腐烂菌、番茄灰霉和青霉有较强抑菌活性;对假丝酵母、黄瓜枯萎病菌、白菜黑斑病菌、烟草赤星、西瓜枯萎病菌、棉花枯萎病菌和辣椒疫霉也有不同程度的抑制作用。因此,还可以对蝙蝠葛茎叶石油醚提取物作系统的提取分离,以进一步确定其中的抗菌活性成分。

参考文献:

[1] 龚宁. 马养民. 付建熙. 蝙蝠葛茎叶化学成分的研究[J]. 陕西林业科技, 2001(1): 8~11.
[2] 肖培根. 连文琰. 中药植物原色图鉴[M]. 北京:中国农业出版社, 1999.
[3] 中国医学科学院药物研究所. 中药志[M]. 北京:人民卫生出版社, 1979.
[4] Kuppenban SM, Liepa A J, Baxter R L, et al. New alkaloids and related artifacts from *Cyclea peltata* [J]. Jorg Chem, 1973, 38: 1846.
[5] 吴文君. 植物化学保护实验技术导论[M]. 西安:陕西科学技术出版社, 1988. 43~73.
[6] 程丽娟. 薛泉宏. 微生物学实验技术[M]. 西安:世界图书出版公司, 2000. 108.