

凤仙花茎不同提取物对细菌的抑制作用

马红梅, 张耀辉, 陈小兰

(琼州学院 生物科学与技术学院, 海南 五指山 572200)

摘要: 为研究粉红色凤仙花茎的 3 种不同提取物对大肠埃希氏杆菌、金黄色葡萄球菌、枯草杆菌黑色变种 3 种细菌的抑制作用, 用水、75%乙醇和 75%丙酮分别提取凤仙花鲜花茎, 获得凤仙花茎的粗提物。采用平板稀释涂布法检测粗提物对大肠埃希氏杆菌、金黄色葡萄球菌、枯草杆菌黑色变种 3 种细菌的抑菌效果, 记录观察菌落数, 计算抑菌率。结果表明, 凤仙花茎的不同提取物对枯草杆菌黑色变种和金黄色葡萄球菌的抑制作用强于大肠埃希氏杆菌, 且质量浓度越高, 抑制作用越强。当凤仙花茎水提取物质量浓度为 0.2 g/mL 时, 水提取物对大肠埃希氏杆菌、金黄色葡萄球菌和枯草杆菌黑色变种 3 种细菌的抑菌率均达到最大, 分别为 99.95%、99.99%、99.98%; 75%乙醇提取物对 3 种细菌的抑菌率分别为 99.94%、100%、99.99%; 75%丙酮提取物对 3 种细菌的最低抑菌浓度(MIC)均为 0.1 g/mL。综上所述, 同一种提取物的不同质量浓度对同一种细菌的抑制作用存在明显的差异, 对 3 种不同细菌的抑制作用差异不明显。凤仙花茎不同提取物的抑菌效果表现为: 75%丙酮提取物 > 75%乙醇提取物 > 水提取物。

关键词: 凤仙花茎; 提取物; 抑菌作用; 细菌

中图分类号: S681.1 文献标志码: A 文章编号: 1004-3268(2012)01-0126-03

Bacteriostasis of Different Extracts from *Impatiens Balsamina* L. Stem on Bacteria

MA Hong-mei, ZHANG Yao-hui, CHEN Xiao-lan

(College of Bioscience and Technology, Qiongzhou college, Wuzhishan 572200, China)

Abstract: To observe the inhibition of different extracts from pink *Impatiens balsamina* L. stem on three bacteria, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* and *Bacillus subtilis* var. Niger, bacteriostatic effects of extracts of 75% ethanol, 75% acetone and the aqueous extracts from pink *Impatiens balsamina* L. stem on three bacteria were tested by gradient dilution coating, and the number of colony and antibacterial ratio were investigated. The results showed the antibacterial activity of the three different extracts from *Impatiens balsamina* stem to *Bacillus subtilis* var. Niger and *Staphylococcus aureus* was stronger than *Escherichia coli*, with the higher concentration of the extraction and the higher antimicrobial activity. Effects of extracts of the aqueous extracts from pink *Impatiens balsamina* stem on three bacteria of *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* and *Bacillus subtilis* var. Niger were 99.95%, 99.99% and 99.98%, respectively, with concentration of 0.2 g/mL; those of 75% acetone extracts were 99.94%, 100% and 99.99%, respectively. The minimal inhibition concentration(MIC) of 75% acetone extracts from pink *Impatiens balsamina* L. stem on three bacteria were 0.05 g/mL. In conclusion, the antimicrobial activity of different concentration of the same extract from *Impatiens balsamina* L. stem on the same bacteria was significantly different, and showed almost same effects on three bacteria. Antimicrobial activi-

收稿日期: 2011-07-02

基金项目: 三亚市院地科技专项资金(2011YD01)

作者简介: 马红梅(1976-), 女, 安徽芜湖人, 讲师, 硕士, 主要从事应用微生物研究。E-mail: mahongmei612@163.com

ties of three kinds of *Impatiens balsamina* L. stem extracts with different solvents were; the 75% acetone extracts > the 75% ethanol extracts > the aqueous extracts.

Key words: *Impatiens balsamina* L. stem; extracts; bacteriostasis; bacteria

凤仙花茎别名透骨草、凤仙花梗、凤仙花秸、凤仙花杆,具有祛风湿,活血,解毒之功效。国内对凤仙花茎的研究多集中在临床^[1-2]及化学成分^[3-4]方面的研究,国外主要研究它的化学成分^[5-7]。John E Little^[8]报道,由凤仙花中离析得到 2-甲氧基-1,4-萘醌,并证明其对一些植物病原体和其他真菌有抗菌作用。Afzal 等^[9]从凤仙花中提取分离出 1,2-二羟基-4-葡萄糖氧基萘醌,并发现它具有抗菌活性。

上述研究结果表明,凤仙花全草对真菌具有不同程度的抑制作用,具有开发成植物源杀菌剂的基础,但对凤仙花茎的抑菌作用,特别是凤仙花茎对细菌的抑制作用还未曾见报道。为此,以广泛种植于海南的粉红色凤仙花的鲜茎为原料,采用 3 种不同溶剂提取其成分,测定其对细菌的抑制作用,以期为进一步研究开发凤仙花茎植物源生物杀菌剂提供依据。

1 材料和方法

1.1 植物材料

种植于琼州学院西校区的凤仙花全草,取其茎洗净并晾干。

1.2 主要仪器

SPX-150B 培养箱,SW-CJ-1F 型单人双面净化工作台,RE-2000 旋转蒸发仪,SYQ-DSX-280A 型手提式不锈钢压力蒸汽灭菌锅等。

1.3 主要菌种

大肠埃希氏菌(*Escherichia coli*)、金黄色葡萄球菌(*Staphylococcus aureus*)、枯草芽孢杆菌黑色变种(*Bacillus subtilis* var. Niger)是由广东环凯微生物科技生物有限公司生产的微生物检测冻干质控菌种。

1.4 培养基

牛肉膏蛋白胨琼脂培养基:牛肉膏 10 g、蛋白胨 10 g、氯化钠 5 g、琼脂 20 g、蒸馏水 1 000 mL、pH 值 7.0~7.2、高压灭菌 20 min。

1.5 试验方法

1.5.1 提取物制备 分别取 80 g 新鲜的凤仙花茎,研磨碾碎后分别加入 400 mL 的水、75%乙醇和 75%丙酮,水液加热煮沸 2 h,过滤后收集滤液,滤渣再加等量的水加热,重复 2 次,合并 3 次的滤液。新鲜的茎在 75%乙醇和 75%丙酮中各浸泡 5 h 后

取出滤渣,再按同样的方法重复浸泡滤渣 2 次,合并收集滤液,并将滤液各在 60 °C 条件下旋转蒸干,再用 80 mL 无菌水分别配成 1 g/mL 的溶液。

1.5.2 抑菌试验 分别取 3 种不同药液,趁热向 150 mL 的无菌牛肉膏蛋白胨培养基中各加入 37.5 mL、17 mL、7.9 mL、3.8 mL、1.9 mL 的药液,依次配成 0.200 0 g/mL、0.100 0 g/mL、0.050 0 g/mL、0.025 0 g/mL、0.012 5 g/mL 的混合液,摇匀后倒平板,凝固后备用。用一次性注射器从制备好的菌液中取 0.2 mL(菌液浓度控制在 10^8 cfu/mL)滴到平板的中央,用涂布器涂匀。每种提取物做 3 个重复,对照培养基中不加药液。将接种好的平板放在 37 °C 的培养箱中培养 28 h 后进行平板菌落计数,并计算其抑菌率,再利用 SPSS Statistics 17.0 统计软件进行多个独立样本差异显著性检验。

抑菌率=(对照生长量-相应浓度生长量)/对照生长量 $\times 100\%$ 。

2 结果与分析

2.1 凤仙花茎水提取物对细菌的抑制作用

由表 1 可知,不同质量浓度的凤仙花茎水提取物对同一种细菌的抑制作用差异达到了极显著水平($P<0.01$);当凤仙花茎水提取物质量浓度为 0.050 0 g/mL 时,对 3 种细菌均表现出抑制作用,其中对金黄色葡萄球菌的抑制作用达到 60.19%,抑制率明显高于枯草芽孢杆菌黑色变种和大肠埃希氏菌;当凤仙花茎水提取物质量浓度为 0.100 0 g/mL 时,对 3 种细菌的抑制作用显著上升,当凤仙花茎水提取物质量浓度为 0.200 0 g/mL 时,抑制作用达到最大,对大肠埃希氏菌、金黄色葡萄球菌及枯草芽孢杆菌黑色变种的抑制率分别为 99.95%、99.99%、99.98%;对不同细菌的抑制效果为:金黄色葡萄球菌>枯草芽孢杆菌黑色变种>大肠埃希氏菌。

表 1 凤仙花茎水提取物对细菌的抑制作用

水提取物 质量浓度/ (g/mL)	抑菌率/%		
	大肠 埃希氏菌	金黄色 葡萄球菌	枯草芽孢杆菌 黑色变种
CK	0 \pm 0D	0 \pm 0D	0 \pm 0D
0.012 5	0 \pm 0D	0 \pm 0D	0 \pm 0D
0.025 0	0 \pm 0D	0 \pm 0D	0 \pm 0D
0.050 0	17.47 \pm 0.80C	60.19 \pm 0.87C	22.38 \pm 1.49C
0.100 0	97.51 \pm 0.07B	93.10 \pm 2.23B	98.39 \pm 0.20B
0.200 0	99.95 \pm 0.03A	99.99 \pm 0.01A	99.98 \pm 0.03A

2.2 凤仙花茎丙酮提取物对细菌的抑制作用

由表 2 可知,不同质量浓度的凤仙花茎丙酮提取物对同一种细菌的抑制作用差异达到了极显著水平($P<0.01$);当凤仙花茎丙酮提取物质量浓度为 0.0125 g/mL 时,仅对金黄色葡萄球菌表现出微弱的抑制作用;当凤仙花茎丙酮提取物质量浓度 $\geq 0.0250\text{ g/mL}$ 时,对 3 种细菌的抑制作用均表现出明显的上升趋势,且随着质量浓度的升高,抑制作用均增强;对不同细菌的抑制效果为:金黄色葡萄球菌 $>$ 枯草芽孢杆菌黑色变种 $>$ 大肠埃希氏菌;当凤仙花茎丙酮提取物质量浓度为 0.1000 g/mL 时,抑制作用达到最大,对大肠埃希氏菌、金黄色葡萄球菌及枯草芽孢杆菌黑色变种的抑制率均达到 100% 。

表 2 凤仙花茎丙酮提取物对细菌的抑制作用

丙酮提取物 质量浓度/ (g/mL)	抑菌率/%		
	大肠 埃希氏菌	金黄色 葡萄球菌	枯草芽孢杆菌 黑色变种
CK	$0\pm0\text{D}$	$0\pm0\text{D}$	$0\pm0\text{D}$
0.0125	$0\pm0\text{D}$	$5.35\pm3.16\text{C}$	$0\pm0\text{D}$
0.0250	$46.26\pm3.11\text{C}$	$51.18\pm4.81\text{B}$	$48.84\pm1.90\text{B}$
0.0500	$92.42\pm0.83\text{B}$	$99.34\pm0.59\text{A}$	$98.81\pm0.94\text{A}$
0.1000	$100\pm0\text{A}$	$100\pm0\text{A}$	$100\pm0\text{A}$
0.2000	$100\pm0\text{A}$	$100\pm0\text{A}$	$100\pm0\text{A}$

2.3 凤仙花茎乙醇提取物对细菌的抑制作用

由表 3 可知,不同质量浓度的凤仙花茎乙醇提取物对同一种细菌的抑制作用差异达到了极显著水平($P<0.01$);当凤仙花茎乙醇提取物质量浓度小于 0.05 g/mL 时,对 3 种细菌均没有抑制作用;当凤仙花茎乙醇提取物质量浓度 $\geq 0.0500\text{ g/mL}$ 时,随着质量浓度的升高,对 3 种的细菌的抑制作用均逐渐增强,对不同细菌的抑制效果为:枯草芽孢杆菌黑色变种 $>$ 金黄色葡萄球菌 $>$ 大肠埃希氏菌;当凤仙花茎乙醇提取物质量浓度为 0.2000 g/mL 时,抑制作用达到最大,对大肠埃希氏菌、金黄色葡萄球菌及枯草芽孢杆菌黑色变种的抑制率分别为 99.94% 、 100% 、 99.99% 。

表 3 凤仙花茎乙醇提取物对细菌的抑制作用

乙醇提取物 质量浓度/ (g/mL)	抑菌率/%		
	大肠 埃希氏菌	金黄色 葡萄球菌	枯草芽孢杆菌 黑色变种
CK	$0\pm0\text{D}$	$0\pm0\text{D}$	$0\pm0\text{D}$
0.0125	$0\pm0\text{D}$	$0\pm0\text{D}$	$0\pm0\text{D}$
0.0250	$0\pm0\text{D}$	$0\pm0\text{D}$	$0\pm0\text{D}$
0.0500	$20.06\pm7.74\text{C}$	$45.62\pm2.23\text{C}$	$57.62\pm2.31\text{C}$
0.1000	$86.65\pm1.09\text{B}$	$99.33\pm0.41\text{B}$	$97.00\pm2.27\text{B}$
0.2000	$99.94\pm0.10\text{A}$	$100\pm0.01\text{A}$	$99.99\pm0.02\text{A}$

3 讨论

本试验结果表明,3 种提取物对 3 种细菌均有很强的抑制作用,其抑菌效果显示:丙酮提取物 $>$ 乙醇提取物 $>$ 水提取物,原因可能一方面由于沸水提取时,抑菌化学成分不耐高温,导致水提取物抑菌作用下降,另一方面也有可能与凤仙茎中的抑菌成分易溶于有机溶剂有关;从抑制对象来看,3 种提取物均对革兰氏阳性菌金黄色葡萄球菌和枯草芽孢杆菌黑色变种的抑制效果强于革兰氏阴性菌大肠杆菌,因而推断凤仙花茎提取物可主要用于抗临床革兰氏阳性致病菌菌株所致的感染抑制作用。

本研究只对凤仙花茎的 3 种极性较强的粗提物的抑菌作用作了初步探索,这 3 种提取物中哪些物质具有抑菌作用以及其他非极性较强的凤仙花茎提取物的抑菌作用效果如何还需进一步研究。

参考文献:

- [1] 王璇,崔景荣,肖志平.透骨草类药材抗炎镇痛作用的比较[J].北京医科大学学报,1998,20(5):12-14.
- [2] 王庭兆.透骨草外敷治疗鹅掌风[J].陕西新医药,1974(3):46.
- [3] 马晶,王洋.透骨草类中药化学成分的研究进展[J].安徽农业科学,2009,37(10):25-28.
- [4] 陈秀梅,钱士辉,冯锋.凤仙透骨草的化学成分[J].药学与临床研究,2009,17(1):31.
- [5] Gupta S, Ali M, Alam M S. A naphthoquinone from *Lawsonia inermis* stem bark [J]. Phytochemistry, 1993,33(3):723-724.
- [6] Ali M, Grever M R. A cytotoxic naphthoquinone from *Lawsonia inermis* [J]. Fitoterapia, 1998,69(2):181-183.
- [7] Yang Xiao-long, Summerhurst D K, Kovals F, et al. Isolation of an antimicrobial compound from *Impatiens balsamina* L. using bioassay-guided fractionation [J]. Phytotherapy Research, 2001(15): 676-680.
- [8] John E Little. 天然产的 2-甲氧基-1,4-萘醌的离析和抗真菌作用[J]. Biol Chem, 1948(174):335.
- [9] Afzal M, Al-Oriquat G, Al-Hassan J M, et al. Isolation of 1,2-dihydroxy-4-glucosyloxynaphthalene from *Lawsonia inermis* [J]. Heterocycles, 1984,22(4): 813-816.