

# 火棘果实浸提液的抑菌活性研究

李宇, 古小婷, 付鸣佳<sup>\*</sup> (江西师范大学生命科学院, 江西南昌 330022)

**摘要** [目的]为了获得更为安全有效的抗菌剂,并为开发利用火棘资源提供理论依据。[方法]分别以70%乙醇和1%盐酸+70%乙醇浸提获得火棘果实浸提液,并研究其抗菌性。[结果]1%盐酸+70%乙醇浸提获得的火棘果实浸提液对大肠杆菌(*Escherichia coli*)、金黄色葡萄球菌(*Staphylococcus aureus*)和一种未知的革兰氏阳性细菌有较强的抑制作用,但对枯草芽孢杆菌(*Bacillus subtilis*)无抑制作用;对青霉(*Penicillium* spp.)有较好的抑制作用,但对根霉(*Rhizopus stolonifer*)、毛霉(*Mucor* spp.)、胶胞炭疽菌(*Colletotrichum gloeosporioides*)和拟盘多毛孢菌(*Pestalotiopsis* spp.)无抑制作用。70%乙醇浸提获得的火棘果实浸提液对大肠杆菌、金黄色葡萄球菌、枯草芽孢杆菌和一种未知细菌及根霉、毛霉、青霉、胶胞炭疽菌和拟盘多毛孢菌均无抑制作用。[结论]火棘果实提取液中含有较多的花青素类物质。

**关键词** 火棘果实;浸提液;抗菌

**中图分类号** Q946.83 **文献标识码** A **文章编号** 0517-6611(2009)06-02559-02

## Antimicrobial Activity of the Extracted Fluid from Firethorn Fruit

LI Yu et al (College of Life Science, Jiangxi Normal University, Nanchang, Jiangxi 330022)

**Abstract** [Objective] The aim of the study was to obtain more safe and effective antimicrobial agents and supply theoretical foundation for developing and utilizing firethorn resources. [Method] The fluids were extracted with 70% ethanol and 1% hydrochloric acid + 70% ethanol resp. from firethorn fruit and their antimicrobial activities were studied. [Result] The fluid extracted with 1% hydrochloric acid + 70% ethanol from firethorn fruit had stronger inhibitory effect on *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* and an unknown gram-positive bacteria, but it had no inhibitory effect on *Bacillus subtilis*. It had better inhibitory effect on *Penicillium* spp., but it had no inhibitory effect on *Rhizopus stolonifer*, *Mucor* spp., *Colletotrichum gloeosporioides* and *Pestalotiopsis* spp.. The fluid extracted with 70% ethanol from firethorn fruit had no inhibitory effect on *E. coli*, *S. aureus*, *B. subtilis*, the unknown bacteria, *R. stolonifer*, *Mucor* spp., *Penicillium* spp., *C. gloeosporioides* and *Pestalotiopsis* spp.. [Conclusion] There was quite much anthocyanins in the extracted fluid from firethorn fruit.

**Key words** Firethorn fruit; Extracted fluid; Antimicrobial

火棘(*Pyracantha fortuneana*)属蔷薇科火棘属常绿小灌木,又名火把果、救命粮、赤阳子等<sup>[1]</sup>,主产于我国东南和西南各省的广大地区,主要生长在海拔500~2800m的山地、丘陵地阳坡灌丛、草地及沟河路旁<sup>[2]</sup>。火棘果为梨果,似扁圆球,果皮呈鲜红色,少数品种呈金黄色,平均单果鲜重0.08~0.23g,挂果期从当年6月持续至次年年初<sup>[3]</sup>。我国火棘资源极为丰富,且分布集中,便于采集利用。

研究表明,火棘果实具有很大的药用和食用开发价值<sup>[4-8]</sup>。火棘果实总提取物具有消除自由基、降血脂、增强免疫力、增强体力和促进消化等作用<sup>[9]</sup>,其中含有多种营养成分和药用成分,包括氨基酸、可溶性糖、维生素、矿物质和脂肪酸等<sup>[10]</sup>。此外,对火棘中的黄酮类化合物、色素等成分也有研究<sup>[11]</sup>。笔者主要对火棘果实的醇提取物进行了相关抗菌活性的研究,以期获得更为有效、安全的抗菌剂,为火棘资源的开发利用提供理论依据。同时,利用微乳薄层色谱法对火棘果实的黄酮类化合物进行分离鉴定,为该黄酮类物质的分离鉴定提供了准确、简便、有效的方法。

## 1 材料与方法

### 1.1 培养基与菌种

**1.1.1 牛肉膏蛋白胨培养基。**牛肉膏3g、蛋白胨10g、NaCl 5g、琼脂15~20g、水1000ml、pH7.0~7.2。液体培养时不加琼脂。

**1.1.2 马铃薯培养基。**马铃薯200g、蔗糖20g、琼脂20g、水1000ml、pH自然。液体培养时不加琼脂。

**1.1.3 细菌。**大肠杆菌(*Escherichia coli*)、金黄色葡萄球菌(*Staphylococcus aureus*)、枯草芽孢杆菌(*Bacillus subtilis*)和一种未知细菌(革兰氏阳性菌,江西师范大学生命科学院实验室分离)。

**1.1.4 真菌。**根霉(*Rhizopus stolonifer*)、毛霉(*Mucor* spp.)、青霉(*Penicillium* spp.)、胶胞炭疽菌(*Colletotrichum gloeosporioides*)和拟盘多毛孢菌(*Pestalotiopsis* spp.)。

上述菌种为江西师范大学生命科学院实验室保存。

## 1.2 方法

**1.2.1 火棘果实抑菌成分的浸提与浓缩。**采集新鲜的火棘果实,45℃干燥箱中烘干,研碎。以1/10的固液质量/体积比将火棘果实的粉末加入70%乙醇和1%盐酸+70%乙醇溶液中。将混合物在常温下放置3d,然后将混合物在3500r/min条件下离心5min,分别取上清液。45℃水浴浓缩至原来的1/2体积。

**1.2.2 抑菌效果的测定。**将供试细菌和真菌分别在37和25℃恒温培养箱中固体培养基上培养活化。分别挑取已活化好的细菌菌落置生理盐水中,使菌悬液在600nm处OD值约为0.1,取0.1ml菌悬液涂布在无菌的细菌培养基平板上,37℃培养1h后备用。真菌活化好以后用生理盐水10ml冲洗菌种平板,收集真菌菌液,取0.1ml涂布无菌的真菌培养基平板上,25℃恒温培养8h后备用。

由打孔器获得大小均匀的直径6mm的滤纸片,滤纸片浸渍上述火棘果实提取液,45℃烘干,如此反复5次后即得有抑菌成分的滤纸片。同时用滤纸片按如此方法浸渍在无火棘果实成分空白溶剂(按前述方法同时处理的1%盐酸+70%乙醇)中,干燥后作为对照滤纸片备用。而后将含有抑菌成分的滤纸片与对照滤纸片分别放入上述涂布有细菌和真菌的平板上,24h后观察对细菌的抑菌情况,5d后观察对

**基金项目** 江西省教育厅科技项目(赣教技字[2005]85号)资助。

**作者简介** 李宇(1986-),男,江西吉安人,硕士研究生,研究方向:生物技术。\*通讯作者,硕士生导师,教授, E-mail: mingjiafu@yahoo.com.cn.

**收稿日期** 2009-01-09

真菌的抑菌情况。

1.2.3 火棘果实抑菌成分的薄层层析分析。薄层层析和黄酮类化合物染色测定参见徐任生等的方法<sup>[12]</sup>,用毛细管在硅胶 GF<sub>254</sub>的 TLC 薄板上点样,将火棘果实提取液点在硅胶板上进行展层,展开剂为氯仿-甲醇-水-乙酸溶液(体积比 70:30:10:1)。254 nm 紫外灯下观察以后,再用醋酸铅(饱和溶液)试剂染色,365 nm 紫外灯下观察颜色反应。

## 2 结果与分析

2.1 70%乙醇溶剂火棘提取物的抑菌效果 试验结果表明,火棘果实 70%乙醇的提取物通过一定的浓缩以后,对大肠杆菌、金黄色葡萄球菌、枯草芽孢杆菌和一种未知细菌无抑菌效果,对根霉、毛霉、青霉、胶胞炭疽菌和拟盘多毛孢菌检测也无抑菌效果。

2.2 1%盐酸+70%乙醇火棘提取物对细菌的抑菌效果 研究结果表明,火棘果实 1%盐酸+70%乙醇提取物对金黄色葡萄球菌、大肠杆菌和一种未知细菌有抑菌作用,其中对大肠杆菌和一种未知细菌的抑菌效果比较明显,对金黄色葡萄球菌抑菌效果相对差一点,而对枯草芽孢杆菌几乎没有任何作用。由表 1 可知,火棘果实 1%盐酸+70%乙醇提取物对大肠杆菌和一种未知的革兰氏阳性菌的抑菌效果基本相同,而且其抑菌圈直径远大于金黄色葡萄球菌的,而对枯草芽孢杆菌无抑菌作用。

表 1 火棘果实 1%盐酸+70%乙醇浸提液的抑菌作用

Table 1 The inhibiting effect of *Pyracantha fortuneana* fruit extract in 1% Hydrochloric acid +70% ethanol

细菌	革兰氏反应	抑菌圈相对直径//mm
Bacteria	Gram reaction	Relative diameter of inhibitory zone
大肠杆菌 <i>E. coli</i>	阴性	15.0
金黄色葡萄球菌 <i>S. aureus</i>	阳性	10.0
一种未知细菌 Unknown bacteria	阳性	15.0
枯草芽孢杆菌 <i>B. subtilis</i>	阳性	无抑菌圈

## 2.3 1%盐酸+70%乙醇火棘提取物对真菌的抑菌结果

火棘果实 1%盐酸+70%乙醇提取物同时对根霉、毛霉、青霉、胶胞炭疽菌和拟盘多毛孢菌 5 种真菌进行抑菌效果研究,结果表明,该火棘果实提取物只对青霉有一定的抑制作用,相对抑菌圈直径约 10.0 mm,对另外 4 种真菌无抑菌作用。

2.4 薄层层析分析 在薄层层析板上,火棘果实 1%盐酸+70%乙醇提取物经氯仿-甲醇-水-乙酸展层后,直接在 254 nm 紫外灯下可见有明显有机物存在,而后再喷饱和醋酸铅进行染色,在 365 nm 紫外灯下观察可见有明显的斑点(图 1)。由图 1 可见,有 2 个主要的醋酸铅染色斑点 a 和 b,表明有两类主要的成分可以在此层析液中分离,根据现有的报道,火棘果实经酸性乙醇溶液抽提以后主要可以得到矢车菊素的苷和苷元<sup>[13]</sup>。此外,在起点部分还存在一定量的无法展层的物质,表明除了可提取到矢车菊素外还有一些未知成分存在。

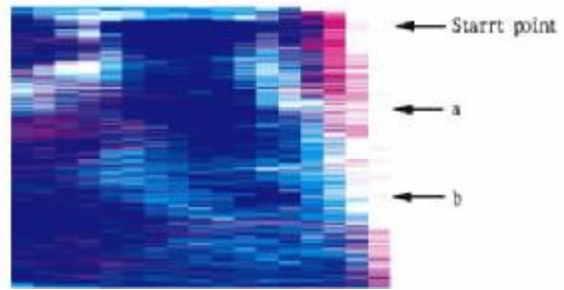


图 1 火棘果实 1%盐酸+70%乙醇提取物的薄层层析

Fig. 1 Thin layer chromatography of the extract of firethorn fruit in 1% muriatic acid +70% ethanol

## 3 结论

(1) 火棘果实 0.1%盐酸乙醇提取物对金黄色葡萄球菌、大肠杆菌和一种未知细菌有抑菌作用,而对枯草芽孢杆菌几乎没有任何作用。

(2) 检测还发现,该火棘提取物对真菌中的青霉菌有一定的抑菌作用,而对根霉、毛霉、胶胞炭疽菌和拟盘多毛孢菌的生长无任何抑制作用。

(3) 薄层层析表明,提取液中含有较多的花青素类物质。

## 参考文献

- [1] 蒋利华,熊远福,李霞,等.野生火棘果中红色素的提取研究[J].中国食品添加剂,2007(1):58-61.
- [2] 蒋利华,熊远福,李霞,等.野生火棘果有效成分研究进展[J].中国野生植物资源,2007(4):84-86.
- [3] 刘芳,巢强,王磊.火棘的开发利用价值[J].河北林业科技,2006(2):51,57.
- [4] 侯建军,刘希林,魏文科,等.火棘消食健脾的动物试验[J].湖北农业科学,2003(4):84-86.
- [5] 袁瑾,李风起,钟惠民.野生植物青刺尖和火棘果实的营养成分[J].植物资源与环境学报,2002,11(2):63-64.
- [6] 王三根,邓如福.火棘果发育与贮藏期间营养成分和色素的变化研究[J].营养学报,1996,18(3):371-373.
- [7] 梁淑芳,马绒利,马柏林.火棘黄酮类化合物的提取及微乳薄层色谱分离鉴定[J].西北林学院学报,2003,18(3):60-62.
- [8] 周先玉,陈渭萍.火棘果实中油、色素及果胶的联产工艺研究[J].食品科学,2004,25(2):211-213.
- [9] 侯建军,刘希林,武模戈.野生植物火棘抗疲劳的功效研究[J].武汉科技学院学报,2002,15(5):66-68.
- [10] 程超,莫开菊,汪兴平.天然水溶性火棘色素在不同环境条件下的稳定性研究[J].食品科学,2005,26(3):72-74.
- [11] 黄祖良,韦国锋,何有成,等.桂西火棘果实特性和营养成分的研究[J].食品研究与开发,2004,25(2):75-76.
- [12] 徐任生,陈仲良.中草药有效成分提取与分离[M].2版.上海:上海科学技术出版社,1983:319-329.
- [13] 马柏林,梁淑芳,谢远芳.火棘中矢车菊素的分离及稳定性研究[J].西北林学院学报,2006,21(6):162-165.
- [14] QI L Y, LIU L L, YU P R, et al. Preliminary studies on antifungal activity of *Xanthium sibiricum* and the endophytic fungi [J]. Agricultural Science & Technology, 2008, 9(4): 144-148.
- [15] 文冰,吕巡贤,程路明,等.新疆两种野生葱浸提液对几种植物病原真菌的抑制作用[J].中国生物防治,2001,17(4):170-174.
- [16] 胡乔木,王伟,仰晓莉,等.核桃嫩和博落回粗提物对不同植物病原真菌的抑制作用研究[J].湖北植保,2006(2):31.
- [17] YIN L G, WEI Q, ZHANG C, et al. Antifungal activity of extracts from *Clerodendrum bungei* leaves against two species of phytopathogens [J]. Agricultural Science & Technology, 2008, 9(1): 143-145.