

王端好. 植物源抑菌剂荆芥的抑菌机制研究[J]. 江苏农业科学, 2019, 47(3): 98-99, 106.

doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2019.03.023

# 植物源抑菌剂荆芥的抑菌机制研究

王端好

(湖北工程学院生命科学技术学院, 湖北孝感 432000)

**摘要:**测定荆芥及其提取物对从酒曲中分离出的酵母菌和霉菌的抑菌效果,研究荆芥的抑菌机制。结果表明,荆芥原液及其提取物溶液对酵母菌和霉菌均有抑菌活性。荆芥处理后菌悬液的电导率和蛋白质质量浓度都有不同程度的提高,荆芥中的有效成分破坏细胞膜的结构,增大细胞膜的通透性或者使其破裂,从而使细胞内容物外泄,起到抑菌作用。

**关键词:**荆芥;霉菌;酵母菌;通透性;抑菌机制

**中图分类号:** TS201.3 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2019)03-0098-02

荆芥,别称香荆芥、假苏,是唇形科、荆芥属多年生植物<sup>[1]</sup>。茎坚,基部木质化,多分枝,叶黄绿色,穗稍黑紫黄绿色。味平,性温,无毒,清香气浓。荆芥中含有醇、酮、酯、萜烯、萜烷类化合物、有机酸、谷甾醇、脱氢枞油烯、3-亚胺基-N-氮代乙酰氨基丁内酰胺、苯骈咪唑类化合物等<sup>[2-4]</sup>。荆芥的叶和花穗可入药,荆芥有解热镇痛的作用,主要用来治疗感冒发热、头痛、咳嗽等疾病。有研究表明,荆芥具有抗炎、抗病原微生物、抗氧化等作用<sup>[5-9]</sup>。据资料报道,用从荆芥中提取的挥发油做抑菌试验,结果表明荆芥挥发油对金黄色葡萄球菌、大肠杆菌、枯草芽孢杆菌、酵母菌、黄曲霉、绿色木霉等均具有一定的抑制作用<sup>[10-13]</sup>。由植物产生的生物活性物质多种多样,是研制和生产无毒(或低毒)、无残留、高效、低成本抑菌剂的理想原料。因此,进行植物有效成分抑菌作用以及机制的研究,是开发新型治疗人类疾病的药物、新型植物农药以及新型食品防腐剂的理论基础。荆芥具有良好的抑菌作用,但是其抑菌活性物质以及抑菌机制尚未见报道。因此,本试验对荆芥的抑菌活性以及作用机制进行研究,以期能将荆芥用作生产酒曲的植物源抑菌剂和赋香剂或作为防腐剂等提供理论基础。

## 1 材料与与方法

### 1.1 菌株、试剂与培养基

试验用的霉菌和酵母菌均为笔者所在实验室从酒曲中分离筛选得到。荆芥和荆芥提取物粉末均为网上购买。牛血清蛋白、考马斯亮蓝 G-250、95%乙醇、85%磷酸均为国产分析纯。PDA培养基:蒸煮 200 g 马铃薯用滤布过滤后得到 1 000 mL 滤液,20 g 葡萄糖,20 g 琼脂;LB培养基:10 g 胰蛋白胨,5 g 酵母提取物,10 g NaCl,1 000 mL 水,pH 值调至 7,再加 20 g 琼脂<sup>[14]</sup>。

收稿日期:2017-11-28

基金项目:湖北省自然科学基金(编号:2016CFC722)。

作者简介:王端好(1969—),男,山东临沂人,博士,副教授,研究领域为发酵工程、食品工程。Tel:(0396)2853043;E-mail:wangdh1969@163.com。

### 1.2 主要仪器及设备

手提式蒸汽灭菌锅,购自上海精宏实验设备有限公司;HNY-211B 全温培养振荡器,购自天津市欧诺仪器仪表有限公司;SW-CJ-2D 超净工作台,购自上海乔跃电子有限公司;SPX-250B5H-11 生化培养箱,购自上海沪粤明科学仪器有限公司;BMM-50 电子显微镜,购自上海比目仪器有限公司;UV-2501PC 紫外-可见分光光度计,购自日本岛津仪器公司;DDS-11A 电导率仪,购自上海雷韵实验仪器制造有限公司。

### 1.3 试验方法

**1.3.1 荆芥原液的配制** 将荆芥用水洗涤干净后,置烘箱内烘干,然后用研钵研成粉末。精确称取 50 g 荆芥粉末置于适量蒸馏水中,蒸煮 30 min 后用 3 层纱布过滤,弃去滤渣定容至 1 000 mL,即得 2% 荆芥原液。

**1.3.2 抑菌试验** 将 2% 荆芥原液以及 2% 荆芥提取物溶液分别加入接种霉菌和酵母菌后的液体培养基中至荆芥不同的浓度(0.02%、0.20%、0.40%、1.00%、2.00%),在 28 ℃、150 r/min 的条件下培养 15 h,用显微镜计数。

在配制 PDA 固态平板培养基时加入 2% 荆芥原液以及 2% 荆芥提取物溶液至荆芥不同的浓度(0.02%、0.20%、0.40%、1.00%、2.00%),用移液枪取出 0.1 mL 菌液涂布于灭菌后的固态平板培养基上,置于恒温培养箱中,在 30 ℃ 的条件下培养 48 h,计算菌落数。

**1.3.3 菌悬液电导率的测定** 将酵母菌及霉菌在液体培养基中培养到对数生长期,取适量菌液,分别加入适量的 2% 荆芥原液以及 2% 荆芥提取物溶液,并以蒸馏水作为对照,每隔 30 min 测量 1 次培养液的电导率<sup>[15]</sup>。

**1.3.4 菌悬液蛋白质质量浓度的测定** 菌悬液蛋白质质量浓度的测定参照文献[16]的方法。

## 2 结果与分析

### 2.1 荆芥的抑菌效果

通过在显微镜下观察液体培养基中 2 种菌体的浓度以及肉眼观察固态培养基菌落数,由表 1 可知,荆芥原液和荆芥提取物溶液对酵母菌和霉菌均有抑制作用,荆芥原液随着浓度

的增加,对酵母菌的抑制作用减弱,对霉菌的抑制作用增强;荆芥提取物溶液随着浓度的增加,对酵母菌的抑制作用增强,而对霉菌的抑制作用减弱;相同浓度的荆芥原液和荆芥提取物溶液对2种菌的抑制作用不同。0.20%的荆芥原液和荆芥提取物溶液对酵母菌和霉菌均具有较强的抑制作用。

表1 不同浓度荆芥原液和荆芥提取物溶液的抑菌结果

浓度 (%)	荆芥原液		荆芥提取物溶液	
	酵母菌	霉菌	酵母菌	霉菌
0.02	+++	-	++	+
0.20	+	+	+++	+
0.40	-	+	++	-
1.00	-	++	++	-
2.00	-	++	+++	-

注: +表示抑菌作用强, +越多抑菌作用越强; -表示抑菌作用弱。

## 2.2 荆芥对细胞膜通透性的影响

当微生物处于不利环境或受到药物毒害时,往往会导致其生物膜流动性降低和半透性丧失,此时细胞内钾离子等电解质大量外泄,培养液电导率的改变可以反映细胞膜渗透性的变化,这些离子的丢失导致多种代谢途径受阻,同时影响多种酶的活性以及膜的稳定性;另一方面膜流动性降低也影响细胞内外渗透压的调节,使细胞吸胀受损甚至死亡<sup>[17]</sup>。由图1、图2可知,加入2%荆芥原液时,菌悬液的电导率均高于对照组,可能是由于荆芥中的部分成分所带的电荷导致菌悬液的电导率上升,随着处理时间的延长,加了2%荆芥原液和2%荆芥提取物溶液的电导率均逐渐增大。因此推断荆芥中的有效成分破坏了酵母菌和霉菌细胞膜的完整性,使细胞膜的通透性增加,电解质外泄而导致电导率升高。细胞膜是细胞的保护屏障,当其造成破坏时,会打破细胞的保护屏障,使其内部的电解质外泄到培养液中,从而使培养液电导率上升,使细胞吸胀受损甚至死亡。

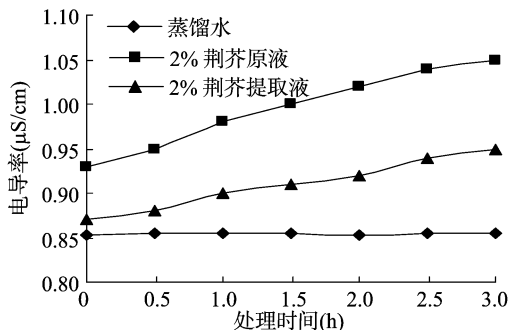


图1 荆芥对酵母菌液电导率的影响

## 2.3 荆芥对胞外蛋白质质量浓度的影响

由图3、图4可知,经2%荆芥原液和2%荆芥提取物溶液处理后,霉菌和酵母菌的菌悬液胞外蛋白的质量浓度均增加。蛋白质分子相对较大,当细胞膜破损到一定程度时,蛋白质就会外泄,导致溶液的蛋白质浓度增大。可以推断荆芥的一些有效成分使酵母和霉菌的细胞膜严重破损甚至破裂,造成细胞质中蛋白质的外泄从而导致蛋白质含量的提高。细胞膜破损后,细胞内容物外渗,细胞吸胀受损甚至死亡。

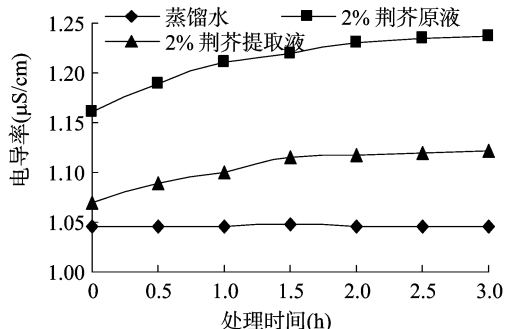


图2 荆芥对霉菌菌液电导率的影响

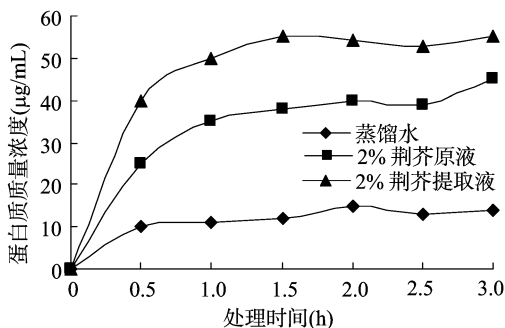


图3 荆芥对酵母菌液蛋白质浓度的影响

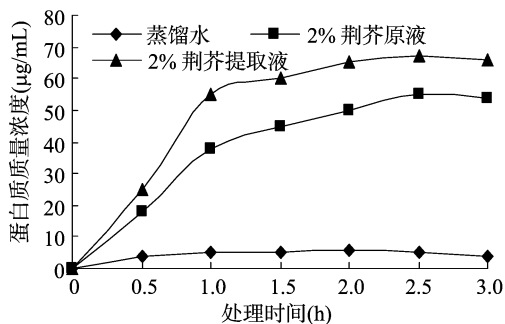


图4 荆芥对霉菌菌液蛋白质浓度的影响

## 3 结论

本试验研究了荆芥原液以及荆芥提取物溶液对酵母菌和霉菌2种菌的抑制活性,并对其抑菌机制进行探讨,得出了以下结论:(1)荆芥原液以及荆芥提取物溶液对酵母菌和霉菌均有一定程度的抑制作用;(2)不同浓度的荆芥原液及荆芥提取物溶液对2种菌的抑菌情况有明显差异;(3)荆芥原液及荆芥提取物溶液通过破坏细胞膜、增大菌体细胞膜的通透性以及完整性从而使细胞内容物外渗,细胞吸胀受损甚至死亡,达到抑菌目的。

## 参考文献:

- [1]杜成智,覃洁萍,陈玉萍,等.不同产地荆芥挥发油化学成分的GC-MS分析[J].湖北农业科学,2014,53(1):188-190.
- [2]张丽,冯有龙,丁安伟.荆芥化学成分的研究[J].中药材,2001,24(3):183-184.
- [3]张援虎,胡峻,石任兵,等.荆芥化学成分的研究[J].中国中药杂志,2006,31(13):1118-1119.

- 江苏农业科学,2018,46(20):165-167.
- [2] 王大群,赵仁全,刘 海,等. 白及的成分、药理作用和临床应用研究进展[J]. 中国药业,2017,26(2):93-96.
- [3] He X R, Wang X X, Fang J C, et al. *Bletilla striata*: medicinal uses, phytochemistry and pharmacological activities [J]. *Journal of Ethnopharmacology*, 2017, 195(2):20-38.
- [4] 陈颖潇,何 胥,施洁君,等. 黄瓜霜霉病生防菌株的筛选及防病促生研究[J]. 安徽农业科学,2015,43(23):121-124.
- [5] 李天来,杨丽娟. 作物连作障碍的克服——难解的问题[J]. 中国农业科学,2016,49(5):916-918.
- [6] 范志航,李 波,于侦云,等. 微生物肥“宁盾”对番茄青枯病的生防效果[J]. 安徽农业科学,2015,43(24):87-88,121
- [7] 李 勇,赵东岳,丁万隆,等. 人参内生细菌的分离及生防菌株的筛选[J]. 中国中药杂志,2012,37(11):1532-1535.
- [8] 刘利强,杨士玲,陈 强,等. 30亿个/g甲基营养型芽孢杆菌可湿性粉剂防治黄瓜灰霉病田间药效试验[J]. 现代农业科技,2014(9):130-133.
- [9] 刘兆迪,解修超,陈文强,等. 药用植物三尖杉内生真菌的分离鉴定及抗菌活性[J]. 中国实验方剂学杂志,2014,20(9):128-132.
- [10] 王瑞飞,康春晓,许圆圆,等. 怀地黄内生细菌的分离鉴定及抗菌活性[J]. 江苏农业科学,2017,45(13):82-86.
- [11] 梁 勤,乔登嫣,马小明,等. 甘肃道地中药大黄、黄芩对多重耐药菌的抑菌活性[J]. 西部中医药,2014,27(5):5-7.
- [12] 邹庆甲,王树桐,梁魁景,等. 河北省苹果园根际土壤中疑似致病镰孢菌种类[J]. 菌物学报,2014,33(5):976-983.
- [13] 丁万隆,程惠珍,陈 君. 应用木霉制剂防治几种药用植物病害的研究[J]. 中国中药杂志,2003,28(1):28-31.
- [14] 王 超,郭坚华,席运官,等. 拮抗细菌在植物病害生物防治中应用的研究进展[J]. 江苏农业科学,2017,45(18):1-6.
- [15] National Institute of Allergy and Infectious Diseases (US). NIAID global health research plan for HIV/AIDS, malaria, and tuberculosis [M]. National Institute of Allergy and Infectious Diseases, National Institutes of Health, US Department of Health and Human Services, 2001.
- [16] Jiang C M, Shi J L, Liu Y L, et al. Inhibition of *Aspergillus carbonarius* and fungal contamination in table grapes using *Bacillus subtilis* [J]. *Food Control*, 2014, 35(1):41-48.
- [17] Chen D, Liu X, Li C, et al. Isolation of *Bacillus amyloliquefaciens* S20 and its application in control of eggplant bacterial wilt [J]. *Journal of Environmental Management*, 2014, 137(4):120-127.
- [18] 贾 斌,赵贞丽,沈国娟,等. 人参黑斑病生防用内生拮抗菌分离鉴定及发酵浓缩液性质[J]. 中国森林病虫,2014,33(3):5-10.
- [19] 张德珍,李鹏昌,陈晓霞,等. 山东省小麦根腐病病原菌的分离鉴定[J]. 植物保护学报,2016,43(2):233-240.
- [20] 陈天祥,孙 权,顾 欣,等. 设施蔬菜连作障碍及调控措施研究进展[J]. 北方园艺,2016,40(10):193-197.
- [21] Xiang Z Y, Zhang L, Zhang Q F. Soil nutrients and microbial functional diversity of different stand types in Qinghai Province [J]. *Scientia Silvae Sinicae*, 2014, 50(4):22-31.
- [22] 魏 嵘,王伟威,李馨园,等. 大豆抗腐霉根腐病的生理差异研究[J]. 大豆科学,2017,36(3):425-429.
- [23] Mann J. Natural products as immunosuppressive agents [J]. *Natural Product Reports*, 2001, 18(4):417-430.
- [24] 翁远超,刘静雯,崔 璨,等. 秦皮中化学成分的分离鉴定及其体外抑菌活性[J]. 中国药物化学杂志,2014(1):40-47.
- [25] 彭 震,王春娟,陈庆河,等. 生物肥料“宁盾”对大豆疫霉病的防效及对毛豆的促生作用[J]. 上海农业学报,2014,30(6):95-98.
- [26] 刘 琴,刘 翼,何月秋,等. 我国植物病害生物防治综述[J]. 安徽农学通报,2012,18(7):67-69.
- [27] 王 琴,高 青,缪卫国,等. 3种生防细菌2种药剂剂型对芒果炭疽病菌的拮抗作用初探[J]. 广东农业科学,2014,41(11):82-88.
- [28] 郎多勇,张文晋,解植彩,等. 宁夏产甘草内生细菌分离纯化、拮抗植物病原菌菌株的筛选及鉴定[J]. 时珍国医国药,2017(9):184-186.
- [29] 陈志谊. 芽孢杆菌类生物杀菌剂的研发与应用[J]. 中国生物防治学报,2015,31(5):723-732.
- [30] 吴林坤,林向民,林文雄. 根系分泌物介导下植物-土壤-微生物互作关系研究进展与展望[J]. 植物生态学报,2014,38(3):298-310.
- [31] 周文杰,吕德国,秦嗣军. 植物与根际微生物相互作用关系研究进展[J]. 吉林农业大学学报,2016,38(3):253-260.

(上接第99页)

- [4] 胡丹丹,黄 山,李 斌,等. 藏荆芥与荆芥的挥发性成分比较[J]. 中成药,2016,38(5):1078-1082.
- [5] 臧林泉,胡 枫,韦 敏,等. 荆芥挥发油抗肿瘤作用的研究[J]. 广西中医药,2006,29(4):60-62.
- [6] 兰海梅,陈宝田,杨 柳. 荆芥连翘汤浸泡治疗小腿慢性溃疡临床观察[J]. 四川中医,2006,24(9):80-82.
- [7] 赵 蓉,陈大蓉. 中西医结合治疗成人水痘临床观察[J]. 实用中医药杂志,2008,24(1):36.
- [8] 何 婷,陈 恬,曾 南,等. 荆芥挥发油体外抗甲型流感病毒作用及机制的研究[J]. 中药药理与临床,2012,28(3):51-55.
- [9] 汤 奇,杨发龙,曾 南,等. 荆芥挥发油及其主要成分抗流感病毒作用研究[J]. 中药药理与临床,2012,28(2):29-32.
- [10] Kumar R, Mishra A K, Dube N K, et al. Evaluation of *Chenopodium ambrosioides* oil as a potential source of antifungal, antiaflatoxic and antioxidant activity [J]. *International Journal of Food Microbiology*, 2007, 115(2):159-164.
- [11] Jardim C M, Jham G N, Dhingra O D, et al. Composition and antifungal activity of the essential oil of the Brazilian *Chenopodium ambrosioides* L. [J]. *Journal of Chemical Ecology*, 2008, 34(9):1213-1218.
- [12] 聂小妮,梁宗锁,段琦梅,等. 土荆芥挥发油的化学成分及抗菌活性研究[J]. 西北农林科技大学学报(自然科学版),2010,38(11):151-155.
- [13] 李 元,廖 颖,严 伟,等. 四川土荆芥精油对植物病原真菌的抗菌活性[J]. 生态环境学报,2010,19(5):1176-1181.
- [14] 杨汝德. 现代工业微生物学实验技术[M]. 北京:科学出版社,2009:250-259.
- [15] 陈国妮,孙飞龙,闫亚茹,等. 马齿苋萜酮类化合物抑菌机理研究[J]. 化学与生物工程,2015,32(10):34-37.
- [16] 杨海清. 桃褐腐病菌致病性及拮抗细菌生防机制的研究[D]. 呼和浩特:内蒙古农业大学,2007.
- [17] 马迪根 M T, 马丁克 J M. 微生物生物学[M]. 李明春,杨文博,译. 11版. 北京:科学出版社,2009.