

## 复配抑菌剂对食源性致病菌的抑菌作用研究

罗娜<sup>1</sup>, 米其利<sup>2</sup>, 刘华银<sup>1</sup>, 徐晓鑫<sup>1</sup>, 高茜<sup>2</sup>, 邓亮<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>昆明医科大学药学院暨云南省天然药物药理重点实验室 云南昆明

<sup>2</sup>云南中烟工业股份有限公司 云南省烟草化学重点实验室 云南昆明

**【摘要】**从12种中药中筛选出分别对两种食源性致病菌抑制效果最强的三种中药,采用响应面优化法优化复配抑菌剂对两种食源性致病菌的抑菌效果。结果表明金黄色葡萄球菌抑制效果最优为:鱼腥草4.49份,夏枯草4.35份,五倍子1.96份,预测抑菌圈为14.7941mm。大肠杆菌抑制效果最优为:鱼腥草提4.53份,甘草4.43份,毛冬青2.44份,预测抑菌圈为14.2088mm;因此,采用响应面优化所得的复配抑菌剂对两种食源性致病菌有较好的抑制作用。

**【关键词】**复配抑菌剂;食源性致病菌;抑菌

**【基金项目】**国家自然科学基金地区科学基金项目(82160799);昆明医科大学研究生创新基金2021S123

### Antibacterial Effect of Compound Antibacterial Agent on the Foodborne pathogens

Na Luo<sup>1</sup>, Qili Mi<sup>2</sup>, Huayin Liu<sup>1</sup>, Xiaoxin Xu<sup>1</sup>, Qian Gao<sup>2</sup>, Liang Deng<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>School of Pharmacy & Yunnan Key Laboratory of Pharmacology for Natural Products, Kunming Medical University, Kunming, China

<sup>2</sup>Yunnan Key Laboratory of Tobacco Chemistry, China Tobacco Yunnan Industrial Co., LTD., Kunming, China

**【Abstract】** Three Chinese medicines with the strongest inhibitory effect on two foodborne pathogenic bacteria were screened out from 12 kinds of Chinese medicines. Response surface optimization method was used to optimize the antibacterial effect of compound antibacterial agent on two foodborne pathogenic bacteria. The results showed that the optimal inhibitory effect of *Staphylococcus aureus* was 4.49 houttuynia cordata, 4.35 *Prunella subtilis* and 1.96 *Galla chinensis*. The predicted inhibition zone was 14.7941mm. The best inhibitory effect was 4.53 houttuynia cordata extracts, 4.43 licorice extracts and 2.44 Holly extracts. The predicted inhibition zone was 14.2088mm. Therefore, the compound bacteriostatic agent obtained by response surface optimization has a good inhibitory effect on the two foodborne pathogenic bacteria.

**【Keywords】** Compound Antibacterial Agent; Foodborne Pathogens; Bacteriostatic

食品安全问题存在已久,但随着食品安全问题发生频率日益增加,人们对食品安全问题的关注程度也随之上升。据调查,从2010到2014年间,由食源性致病菌引起的食品性疾病和食物中毒占总案例的41.1%<sup>[1]</sup>,说明食源性致病菌是引起是食品安全问题的主要原因之一<sup>[2]</sup>,本实验通过研究12种中药提取物对大肠杆菌、金黄色葡萄球菌两种常见食源性致病菌<sup>[3]</sup>的作用,寻找有较强抑菌作用的中药提取物。

#### 1 材料与方法

##### 1.1 实验菌种

金黄色葡萄球菌,大肠埃希菌:广东省微生物菌种保藏中心

##### 1.2 中药

西青果、金银花、苏木、甘草、毛冬青、鱼腥草、牛蒡子、乌梅、夏枯草、黄莲、五倍子、三七:当地药房。

##### 1.3 培养基及试剂

脑心浸液培养基:北京陆桥;无水乙醇等试剂:国药集团化学试剂有限公司

##### 1.4 设备与仪器

\*通信作者:邓亮

低温恒温培养箱: 德国 MEMMERT 公司; 超净工作台: AIRTECH 苏州安泰空气技术有限公司; 高压蒸汽灭菌锅: 日本松下健康医疗器械株式会社; 超声仪: GRANYXUR26; 紫外-可见分光光度计: LAMBDA850

## 2 试验方法与结果

### 2.1 溶液的制备

将活化后的金黄色葡萄球菌、大肠杆菌接种于接种于脑心浸液培养基, 37℃培养 24h 后, 用无菌脑心浸液培养基稀释菌悬液浓度为  $2 \times 10^6$  CFU/ml 备用。并称取适量 12 种中药材料, 粉碎后过 40 目筛, 所得 12 种中药粉末分别精密称定 1g, 置于 50ml 离心管中, 按液料比 1:25 的比例精密加入 50%乙醇 50ml, 在 40℃ 下超声处理 40min, 备用。以浓度为 1mg/ml 青霉素-链霉素双抗为阳性对照, 50%乙醇为阴性对照。

### 2.2 抑菌圈的测定

参考张佳等的方法<sup>[4]</sup>采用滤纸片法进行 12 种中药提取物对金黄色葡萄球菌、大肠杆菌的抑菌圈进行测定。结果如表 1, 图 1、2 可得 12 种中药中有 5 种中药对金黄色葡萄球菌有抑菌作用, 抑菌圈直径大小夏枯草 > 五倍子 > 鱼腥草 > 黄连 > 甘草; 12 种中药中有 4 种中药对大肠杆菌有抑菌作用, 抑菌圈直径大小毛冬青 > 甘草 > 鱼腥草 > 黄连。

### 2.3 响应面优化

采用 Design Expert V8.06 进行响应面优化, 以抑菌圈大小作为响应值, 3 种中药提取物为 3 因素, 优化复合中药抑菌剂最优配比。

#### (1) 抑制金黄色葡萄球菌复配抑菌剂配比优化

该回归模型为高度显著 ( $P < 0.0001$ ), 且失拟项不显著 ( $P = 0.4184 > 0.05$ ); 回归系数  $R^2 = 0.9794$  说明该回归模型响应情况较好; 在 3 个因素对金黄色葡萄球菌抑菌圈大小影响显著, 其中鱼腥草提取液对抑菌圈的影响程度大于夏枯草提取液, 五倍子提取液对其影响不显著; 3 个因素之间的交互作用不显著, 二次项  $A^2$ 、 $B^2$ 、 $C^2$  对抑菌圈的影响极显著, 该回归模型的回归方程为抑菌圈  $Y = 14.64 + 0.84 * A + 0.61 * B + 0.10 * C + 0.40 * A * B - 0.63 * A * C - 0.18 * B * C - 1.90 * A^2 - 2.05 * B^2 - 1.87 * C^2$ 。由图 3 各因素对抑菌圈大小的影响, 可看出该模型存在抑菌圈极大值点, 此时鱼腥草 4.49 份, 夏枯草 4.35 份, 五倍子 1.96 份, 预测抑菌圈为 14.7941mm。

#### (2) 抑制大肠杆菌复配抑菌剂配比优化

该回归模型为中度显著 ( $P < 0.01$ ), 且失拟项不

显著 ( $P = 0.3396 > 0.05$ ); 回归系数  $R^2 = 0.9472$ , 说明该回归模型响应情况较好; 3 个因素对大肠杆菌抑菌圈大小影响显著, 其中鱼腥草 = 甘草 > 毛冬青 3 个因素之间的交互作用不显著, 二次项  $A^2$ 、 $B^2$ 、 $C^2$  对抑菌圈的影响极显著, 该回归模型的回归方程为抑菌圈  $Y = 14.00 + 0.63 * A + 0.63 * B + 0.53 * C + 0.55 * A * B + 0.20 * A * C + 0.35 * B * C - 1.48 * A^2 - 1.98 * B^2 - 1.47 * C^2$  由图 4 各因素对抑菌圈大小的影响, 可看出该模型存在抑菌圈极大值点, 此时鱼腥草 4.53 份, 甘草 4.43 份, 毛冬青 2.44 份, 预测抑菌圈为 14.2088mm。

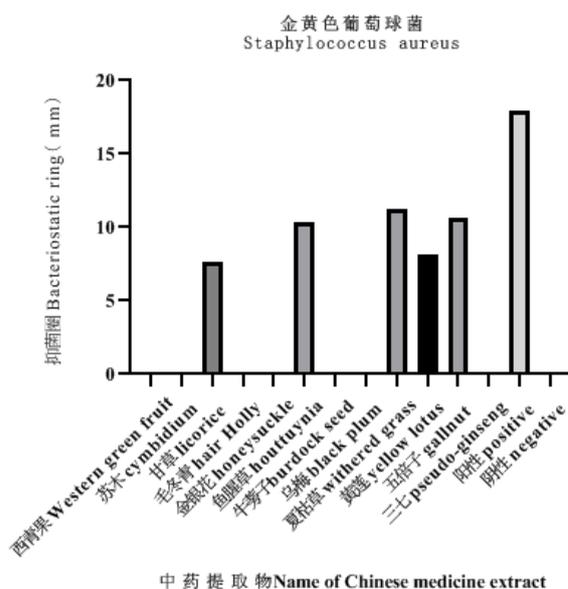


图 1 中药提取液对金黄色葡萄球菌抑菌圈的大小

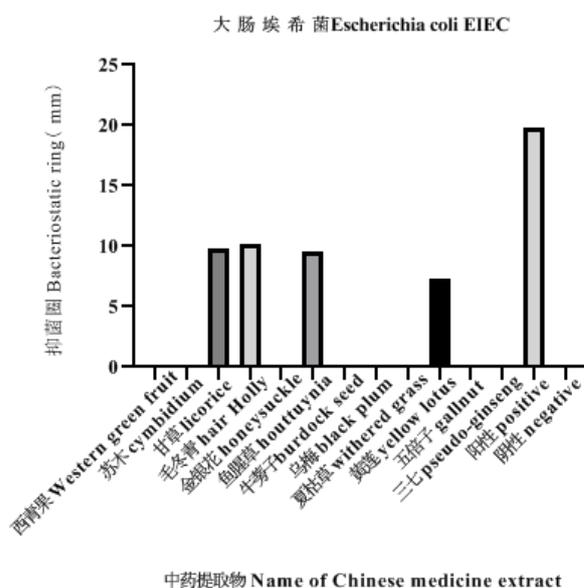


图 2 中药提取液对大肠杆菌抑菌圈的大小

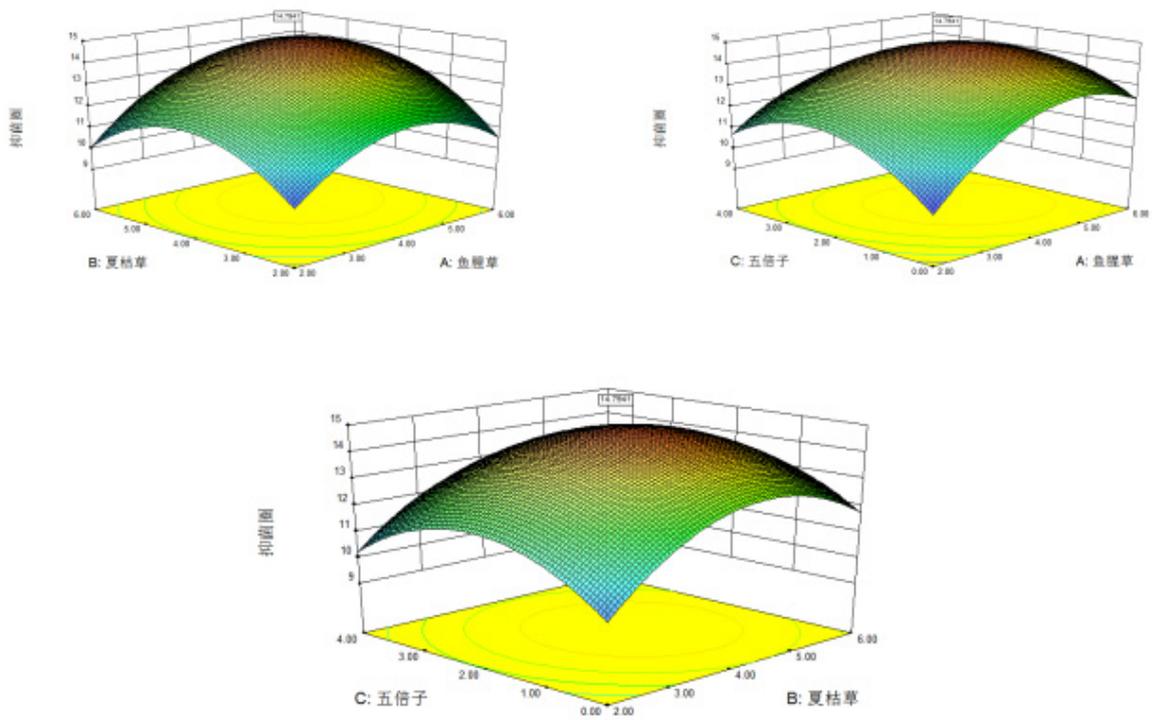


图 3 三因素含量对金黄色葡萄球菌抑菌圈大小的影响

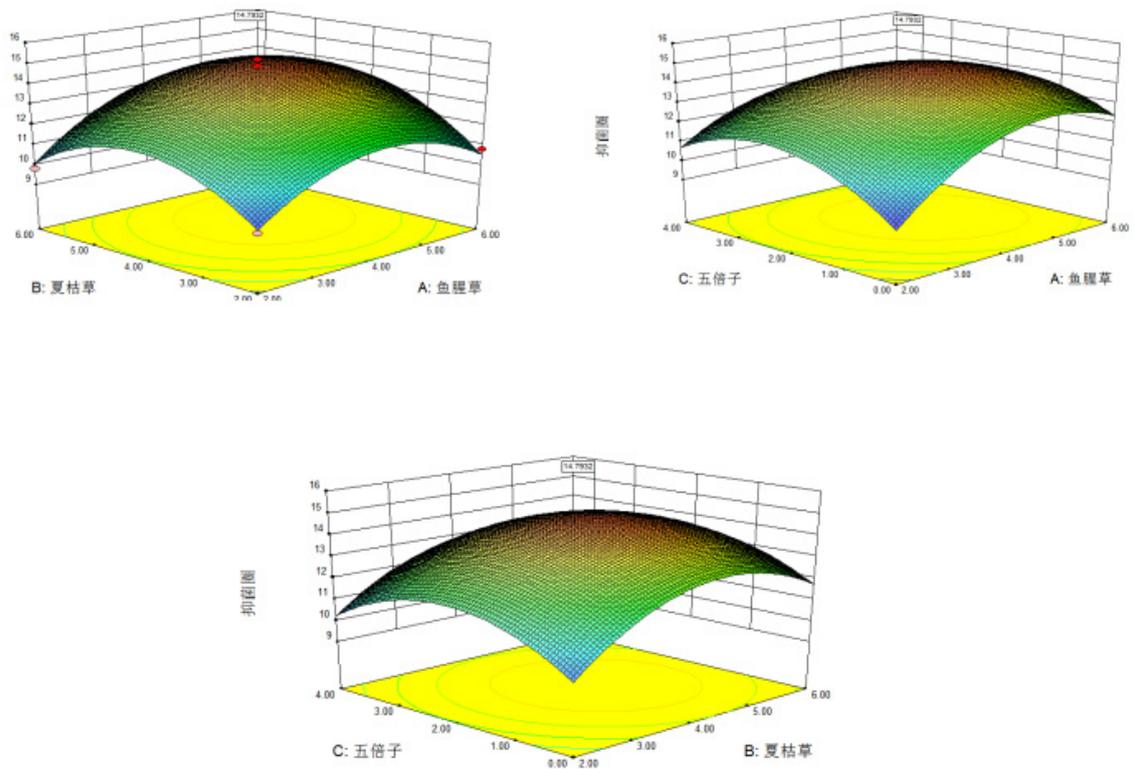


图 4 三因素含量大肠杆菌抑菌圈大小的影响

### 3 讨论

本实验通过测试 12 种中药中筛选出分别对两种食源性致病菌抑制效果最强的三种中药, 采用响应面优化法优化复合抑菌剂对两种食源性致病菌的抑菌效果。最终确定出对金黄色葡萄球菌复配抑菌剂最优抑菌配比为鱼腥草为 4.49 份, 夏枯草为 4.35 份, 五倍子为 1.96 份, 此时预测抑菌圈为 14.7941mm。对大肠杆菌抑制效果最优的配比为: 鱼腥草提取液 4.53 份, 甘草提取液 4.43 份, 毛冬青提取液 2.44 份, 此时预测抑菌圈为 14.2088mm; 经过验证实验与响应面预测值基本一致, 能为天然抑菌剂的利用与开发提供一定的参考价值。

#### 参考文献

- [1] 李茂军. 食品中食源性致病菌污染状况分析[J]. 科技创新导报, 2015(10):2.
- [2] 吴圣彬, 谢晶. 植物性天然食品防腐剂的研究进展[J].

广东农业科学, 2013, 40(23):4.

- [3] 谭才邓, 朱美娟, 杜淑霞, 等. 抑菌试验中抑菌圈法的比较研究[J]. 食品工业, 2016(11):4.

**收稿日期:** 2022 年 5 月 12 日

**出刊日期:** 2022 年 7 月 18 日

**引用本文:** 罗娜, 米其林, 刘华银, 徐晓鑫, 高茜, 邓亮, 复配抑菌剂对食源性致病菌的抑菌作用研究[J]. 国际临床研究杂志, 2022, 6(5): 120-123.  
DOI: 10.12208/j.ijcr.20220229

**检索信息:** RCCSE 权威核心学术期刊数据库、中国知网 (CNKI Scholar)、万方数据 (WANFANG DATA)、Google Scholar 等数据库收录期刊

**版权声明:** ©2022 作者与开放获取期刊研究中心 (OAJRC) 所有。本文章按照知识共享署名许可条款发表。<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



**OPEN ACCESS**