



## 丁香水提物的抑菌效应及对兔标本保存效果的研究

祖文轩, 侯文瀚, 王银燕, 林娜, 桂航, 张倩楠, 陈士文

引用本文:

祖文轩, 侯文瀚, 王银燕, 等. 丁香水提物的抑菌效应及对兔标本保存效果的研究[J]. 蚌埠医学院学报, 2021, 46(11): 1507–1509.

在线阅读 View online: <https://doi.org/10.13898/j.cnki.issn.1000-2200.2021.11.003>

---

## 您可能感兴趣的其他文章

Articles you may be interested in

### 不同温度处理后大蒜水提取液的抑菌效果研究

Study on the antibacterial effect of garlic water extract treated with different temperature

蚌埠医学院学报. 2019, 44(4): 434–436,441 <https://doi.org/10.13898/j.cnki.issn.1000-2200.2019.04.004>

### 改良金银花配方标本保存液对兔标本的固定效果

Fixation effect of modified Chinese medicine specimen preservation solution in rabbit specimens

蚌埠医学院学报. 2019, 44(6): 831–833 <https://doi.org/10.13898/j.cnki.issn.1000-2200.2019.06.040>

### 多种中药对泛耐药肺炎克雷伯菌体外抗菌活性筛选

Screening of the traditional Chinese medicine with antibacterial activity against pan–drug resistant *Klebsiella pneumoniae* in vitro

蚌埠医学院学报. 2020, 45(4): 515–518,522 <https://doi.org/10.13898/j.cnki.issn.1000-2200.2020.04.025>

### 某三甲医院常见多重耐药菌流行趋势分析

Analysis of epidemic trend of common multi–drug resistant bacteria in a tertiary hospital

蚌埠医学院学报. 2020, 45(1): 94–97 <https://doi.org/10.13898/j.cnki.issn.1000-2200.2020.01.024>

### 卒中相关性肺炎的病原学及耐药性分析

The etiology and antibacterial drug resistance analysis of stroke associated pneumonia

蚌埠医学院学报. 2020, 45(2): 219–222 <https://doi.org/10.13898/j.cnki.issn.1000-2200.2020.02.022>

# 丁香水提物的抑菌效应及对兔标本保存效果的研究

祖文轩<sup>1</sup>, 侯文瀚<sup>2</sup>, 王银燕<sup>2</sup>, 林娜<sup>2</sup>, 桂航<sup>3</sup>, 张倩楠<sup>3</sup>, 陈士文<sup>1</sup>

**[摘要]** **目的:**探讨丁香水提物的抑菌及组织保存作用。**方法:**用水提法提取丁香主要成分液体,以 10% 甲醛及蒸馏水作对照,测定 3 组液体对金黄色葡萄球菌及大肠杆菌的抑菌圈大小,和对兔皮组织保存效果,并采用二倍稀释法测定丁香水提抑菌液的最小抑菌浓度。**结果:**丁香水提液无刺激性气味,对金黄色葡萄球菌及大肠杆菌均有抑菌作用,最小抑菌浓度分别为 125 mg/mL 和 62.5 mg/mL。作为保存液在 12 周内未有细菌检出。**结论:**丁香水提物具有一定的抑菌作用,在一定时间内有较好的组织保存作用。

**[关键词]** 标本保存; 辛香料; 丁香; 保存液

**[中图分类号]** R 322.34 **[文献标志码]** A **DOI:** 10.13898/j.cnki.issn.1000-2200.2021.11.003

## Effect of the antimicrobial activities of water extracts from clove on rabbit specimen preservation

ZU Wen-xuan<sup>1</sup>, HOU Wen-han<sup>2</sup>, WANG Yin-yan<sup>2</sup>, LIN Na<sup>2</sup>, GUI Hang<sup>3</sup>, ZHANG Qian-nan<sup>3</sup>, CHEN Shi-wen<sup>1</sup>

(1. Department of Anatomy, School of Basic Medicine, 2. School of Clinical Medicine, 3. School of Public Foundation, Bengbu Medical College, Bengbu Anhui 233030, China)

**[Abstract]** **Objective:** To study the effects of water extracts from clove on the antimicrobial activities and the tissue preservation. **Methods:** The extraction products of clove were obtained by water extraction, then the bacteriostatic ring size and tissue preservation effect were compared with 10% formalin group and distilled water group. The minimum inhibitory concentration was determined by double dilution method. **Results:** Water extracts from clove has no obvious irritating odor which has an inhibitory effect on both *E. coli* and *Staphylococcus aureus*. The minimum inhibitory concentrations were 125 mg/mL and 62.5 mg/mL, respectively. No bacteria in the water extracts from clove as preservative solution were detected in 12 weeks. **Conclusions:** The water extracts from clove has the certain bacteriostatic effect, which exerts a better preservation influence on the tissue specimen in a certain time.

**[Key words]** specimen preservation; spices; clove; preservation solution

在解剖教学及各类动植物标本保存的过程中,保存液浸泡保存是最经济、便携的处理方式。而目前广泛应用的保存液成分主要是甲醛、乙醇、醋酸等化学试剂<sup>[1-2]</sup>。但这类保存液易挥发,伴有刺激性气味,长期使用甚至会损伤操作人员的呼吸系统及血液系统<sup>[3]</sup>。新型环保试剂已经成为业界研究的热点,研发一种兼顾组织保存和无毒无刺激气味的保存液对本学科的发展有着重要的贡献及意义。辛香料在食品保存产业中应用十分广泛,其中不乏一些具有防腐抗菌作用的品种。然而,辛香料作为主要成分的保存液研发及应用仍不多见,本研究选取丁香作为实验辛香料,与传统甲醛保存液相比较,探

究其提取液的抑菌和保存时间,为辛香料为主要成分保存液的开发提供实验基础。

### 1 材料与方法

1.1 材料与分组 将保存液分为阴性对照组(蒸馏水),实验组(丁香水提原液),阳性对照组(10% 甲醛)。实验组丁香药材购于蚌埠市丰原大药房中草药专柜,蒸馏水及 10% 甲醛由蚌埠医学院实验中心解剖教研室实验室提供。

1.2 水提法制备丁香水提物 称取 10 g 丁香放入三角烧瓶,加入 100 mL 蒸馏水,静置 2.5 h。用组装好的蒸馏仪器 80 °C 下蒸馏提取 6 h<sup>[4]</sup>,将蒸馏完毕的提取液进行旋转蒸发:将提取液放入旋转烧瓶内,调整旋转蒸发器转速为 50 r/min,将提取液蒸发至 10 mL,浓度为 1 g/mL,装入试管内保存待用。

1.3 体外抑菌实验 采用金黄色葡萄球菌及大肠埃希菌两种常见细菌,均由蚌埠医学院微生物实验室提供。分别取 100 μL 菌液加入 0.9% 氯化钠溶液,用麦氏比浊法确定两种菌的浓度,将菌液浓度调

[收稿日期] 2020-07-30 [修回日期] 2021-03-20

[基金项目] 蚌埠医学院自然科学基金重点项目(BYKY2019010ZD);国家级大学生创新创业训练计划项目(201910367022)

[作者单位] 蚌埠医学院 1. 解剖教研室, 2. 临床医学院, 3. 公共基础学院, 安徽蚌埠 233030

[作者简介] 祖文轩(1987-),男,实验师。

[通信作者] 陈士文,高级实验师. E-mail: chenshiwen1010@163.com

整为  $1.0 \times 10^7$  CFU/mL, 于琼脂板涂布。取打孔器将滤纸裁剪成直径 6 mm 的圆形滤纸片, 蒸汽灭菌烘干。将无菌滤纸片浸泡于 3 组保存液中, 1 h 后取出晾干。将含菌琼脂板等面划分 3 个区域, 再将各组滤纸片分别等距贴放于区域内, 标记, 每组重复 3 次。将琼脂板放置于 37 °C 恒温培养箱中培养 24 h, 测量各组抑菌圈直径。

**1.4 最小抑菌浓度测定** 采用双倍稀释法。(1) 细菌悬液的制备: 将 2 种细菌接种于冷凉肉汤培养基中, 放入 37 °C 温箱中培养 24 h, 使生长浊度达到  $9.0 \times 10^8$  CFU/mL。(2) 丁香水提抑菌液的稀释: 取 26 支无菌试管, 标记编号, 分成 2 组, 每组 13 支。将菌液作 1:10 000 倍稀释, 第一号试管中加入稀释后菌液 1.0 mL, 余下 12 支试管加入 1.0 mL。于第 1 号试管中加入 1 g/mL 丁香水提抑菌液 1.0 mL, 混合后吸出 1 mL 加入第 2 号试管, 以此类推直至第 12 号试管, 弃去 12 号试管中 1 mL 混合液, 此时每只试管中液体量相同, 第 13 号管为对照管。(3) 将 2 组试管放入 37 °C 温箱中培养 24 h 后送检, 无细菌生长管次中最高药物稀释度为最小抑菌浓度。

**1.5 保存效果的对比试验** 取新鲜新西兰兔标本, 备皮, 于深筋膜浅层完整剥离皮肤及皮下组织。用组织剪备制成 1 cm × 1 cm 大小组织方块。分别取 3 组液体 20 mL, 将组织方块完全浸泡于液体后, 封管, 每组重复 6 次。比较 3 组保存液液体颜色, 并取样送细菌培养, 检测有无细菌生长。

## 2 结果

**2.1 体外抑菌实验** 实验组及阳性对照组对革兰氏阳性金黄色葡萄球菌及革兰氏阴性大肠埃希菌均有抑菌作用, 其中丁香水提物对 2 种细菌的抑菌圈直径分别为  $(8.67 \pm 0.58)$  mm 和  $(10.27 \pm 0.83)$  mm (见表 1)。

表 1 3 组保存液的抑菌圈直径 ( $\bar{x} \pm s$ ; mm)

分组	n	金黄色葡萄球菌	大肠埃希菌
实验组(丁香水提抑菌液)	3	$8.67 \pm 0.58$	$10.27 \pm 0.83$
阴性对照组(蒸馏水)	3	-	-
阳性对照组(10% 甲醛)	3	$9.84 \pm 0.76$	$10.93 \pm 1.15$

“-”表示无抑菌圈

**2.2 丁香水提液的最小抑菌浓度** 记录 2 组菌落培养液中细菌生长的最大药物稀释倍数, 即最小药物浓度, 并计算丁香水提液的最小抑菌浓度, 金黄色葡萄球菌及大肠埃希菌的最小抑菌浓度分别

125 mg/mL 和 62.5 mg/mL (见表 2)。

表 2 丁香水提液的最小抑菌浓度测定

孔号	稀释倍数	金黄色葡萄球菌	大肠埃希菌
1	1:2	-	-
2	1:4	-	-
3	1:8	-	-
4	1:16	+	-
5	1:32	+	+
6	1:64	+	+
7	1:128	+	+
~	~	~	~
13		+	+

“+”代表有细菌生长;“-”代表无细菌生长

**2.3 保存效果的比较** 每周观察并取样一次, 阴性对照组于第 1 周即被检出细菌产生, 且兔皮肤组织软化, 溃烂, 试管内液体出现浑浊, 伴有气味。阳性对照组无细菌检出, 兔皮肤组织硬化, 弹性差, 试管内液体呈透明状, 无沉淀及霉菌孢子, 保存液刺激性强。实验组于第 12 周开始陆续检出细菌, 6 组重复试验中最长无细菌检出时间可达 15 周, 最短为 12 周。该段时间内, 兔皮肤组织弹性较阳性实验组佳, 无明显刺激性及异味, 随着细菌的检出, 试管内液体逐渐浑浊, 出现腐败气味 (见图 1)。



图 1 第 12 周时 3 组液体对兔皮肤组织保存效果对比

## 3 讨论

甲醛在室温时易挥发, 并且随着温度的上升会加快挥发速度, 产生很强的刺激性气味, 对人体皮肤和黏膜刺激性大, 眼结膜和呼吸道的刺激尤为强烈, 在我国有毒化学品优先控制名单上甲醛高居第二位, 并且已经被世界卫生组织确定为致癌和致畸形物质<sup>[5]</sup>, 危害人体健康。因此, 探求无刺激性保存液取代甲醛液, 长期以来为解剖学界所普遍关注, 并提出了很多改良方法。例如异噻唑啉酮类混合防腐

液、苯甲酸乙醇保存液等<sup>[6]</sup>,但效果并不满意,存在标本质地硬、易撕裂,液体易霉变、浑浊,消耗量大等问题。低温保存技术可以较好保存人体标本,但使用技术要求高,标本反复升降温会滋生细菌,且成本高昂<sup>[7]</sup>。生物塑化技术自二十世纪 80 年代发明以来,在人体解剖学标本制作中得到广泛应用,虽然其固定效果好,但固定后的标本理化性质完全改变,仅适用于标本陈列,并不适合实验教学和科学研究。国内关于离子保存液研究较少,且制作难度大,使用成本高<sup>[8]</sup>。近些年来,随着化学技术发展,将新型防腐组分引入人体标本保存技术已成为可能<sup>[1,9]</sup>。利用新型防腐组分用于人体标本保存,对于提高人体标本保存效果方面具有较乐观的前景。

辛香料作为防腐制品最早可以追溯到原始时代,当时人们发现剩余的食物如果和一些植物的茎叶一起储藏,可以抑制食品的腐败,遮盖异味。而我国辛香料作为防腐增味剂在食品加工储藏运输中已经广泛应用<sup>[3,10]</sup>。本课题组在前期预实验中筛选了 26 种辛香料,采用水提法得到提取液,初次实验观察到丁香有较好的防霉作用,在本研究中进行了进一步的验证。

植物的提纯方法包括水提法、盐提法、醇提法和碱提法<sup>[11]</sup>等。本实验主要检测提取物的抑菌作用,为了排除溶剂本身对细菌的抑制作用,降低实验结果的偏移,本实验采用水提法提取丁香活性液。丁香属木樨科植物,含紫丁香醇、苯乙醇、芳樟醇、大茴香醛等,在我国华北、东北、西北、华东等地区有着广泛的种植与栽培,购置成本低,提取物无明显的刺激性气味。进一步的实验发现,丁香水提取物对金黄色葡萄球菌及大肠埃希菌的抑菌圈大小相较于 10%

甲醛无明显差异。且在 12 周内对兔皮肤组织有着较好的保存作用。

综上,丁香水提取物具有一定的抑菌作用,在一定时间内有较好的组织保存作用,为新型环保保存液的研究提供一定的实验基础。但其有效抑菌成分的纯化及长效保存能力的保证仍需进一步的探索。

#### [参 考 文 献]

- [1] 祖文轩,蒋邦红,杨俊松,等.改良保存液对兔标本固定效果的观察[J].泰山医学院学报,2017,38(8):856.
- [2] 祖文轩,杨俊松,蒋邦红,等.以冰醋酸和丙三醇为主要成分的改良标本保存液[J].牡丹江医学院学报,2017,38(4):6.
- [3] 雒江茜,于瑞洪,王巍.大蒜水提取物抑菌作用的研究[J].化学工程师,2017,31(3):75.
- [4] 罗国平,闫梦茹,孟会宁,等.复方丁香挥发油的提取和包合工艺研究[J].中国食品添加剂,2019,30(5):70.
- [5] 蒋学之,张瑞稳,王蓂兰,等.甲醛接触工人肿瘤死亡流行病学[J].中华劳动卫生职业病杂志,1990,8(5):261.
- [6] 熊艾君.人体标本保存液的实验观察[J].解剖学研究,2000,22(1):76.
- [7] JING L, ZHENG G, QIANZI Y, *et al.* Adjuvant argon-based cryoablation for joint-preserving tumor resection in patients with juxta-articular osteosarcoma around the knee [J]. Cryobiology, 2015, 71(2):236.
- [8] MAJEWSKI P, PERNAK A, GRZYMIS? AWSKI M, *et al.* Ionic liquids in embalming and tissue preservation [J]. Acta Histochemica, 2003, 105(2):135.
- [9] 赵晨,张浩轩,房田园,等.改良金银花配方标本保存液对兔标本的固定效果[J].蚌埠医学院学报,2019,44(6):831.
- [10] 张雁南,宁志亮,陈长武,等.丁香、甘草协同抑菌作用研究[J].食品科学,2010,31(21):65.
- [11] 褚夫江,金小宝,刘文彬,等.不同提取方法对中药罗仙子体外抑菌活性的影响[J].时珍国医国药,2014,25(8):1806.

(本文编辑 刘畅)

## 入 网 声 明

为了实现科技期刊编辑、出版行业工作电子化,推进科技信息交流的网络化进程,本刊已入“中国知网”“万方数据知识服务平台”“维普网”“教育阅读网”“中国科技论文在线”等。故向本刊投稿并录用的稿件,将一律由编辑部统一纳入上述数据资源系统,进入因特网提供信息服务。凡有不同意见者,请在投稿时说明,本刊将进行适当处理。本刊所付稿酬(已在版面费中扣除)包含刊物内容上网服务报酬,不再另付。特此声明!