

几种民间药用虫茶浸提液对微生物的影响研究*

文礼章^{1,2} 谭周进² 沈佐锐¹

(中国农业大学植保学院 北京 100094)¹ (湖南农业大学植保系 长沙 410128)²

摘要:研究了3种药用虫茶及虫茶原植物的水浸液对几种肠道和非肠道微生物的影响情况,结果表明:复合三叶虫茶对革兰阳性菌金黄色葡萄球菌和枯草杆菌具显著的抑制作用,对保加利亚乳杆菌具显著的促进作用;纯净三叶虫茶对保加利亚乳杆菌具显著的促进作用,对金黄色葡萄球菌具显著的抑制作用;化香虫茶、常规绿茶及虫茶原植物三叶海棠,对金黄色葡萄球菌和枯草芽胞杆菌具显著的抑制作用,但对保加利亚乳杆菌未表现出抑、促进作用;蚕沙对所有供试菌均无明显的抑制作用,但对保加利亚乳杆菌略有促进作用,蚕沙原植物桑叶对所有供试菌均无明显的抑、促进作用;另外,具有抑菌效果的样品其抑菌作用在一定范围内随浓度的提高而增强。

关键词:虫茶, 浸提物, 抑菌作用, 促菌作用

中图分类号: Q939.9 **文献标识码:** A **文章编号:** 0253-2654 (2002) 06-0038-05

THE STUDY ON EFFECT OF EXTRACTS FROM SEVERAL KINDS OF CHINESE CHONGCHA MADE FROM SOME INSECT EXCREMENTS ON SOME MICROORGANISMS

WEN Li-Zhang^{1,2} TAN Zhou-Jin² SHEN Zuo-Rui

(College of Plant Protection, China Agricultural University, Beijing 100094)¹

(College of Plant Science & Technology, HNAU, Changsha 410128)²

Abstract: It was studied on effect of extracts from three kinds of medical Chinese Chongcha (a drink similar tea made from some excrements of insects in China) and their original plants on some microorganisms. The results showed that: The extract from complicated Chinese Sanye Chongcha could inhibit *Staphylococcus aureus* and *Bacillus subtilis*, strongly, and could stimulate *Lactobacillus burglaricus*. The pure Sanye Chongcha could stimulate *Lactobacillus burglaricus*, and inhibit *Staphylococcus aureus* strongly. The extract from Huaxiang Chongcha, green tea and Sanye Haichang (the original plant of Sanye Chongcha, i.e. *Malus sieboldii*) could inhibit *Staphylococcus aureus* and *Bacillus subtilis*, but could not stimulate *Lactobacillus burglaricus*. That from Chansha (Chinese name of excrement of silkworm) could not inhibit the tested microbes, but could a little stimulate *Lactobacillus burglaricus*. The ability of antibacteria could increase with the concentration increasing.

Key words: Chongcha, Excrement, Extract, Antibacteria, Stibacteria

“虫茶”是中国部分地区的民间特产,它是由某些鳞翅目昆虫幼虫取食某些特定植物后产生的昆虫排泄物,经卫生处理后加工成的产品,被人们作茶泡饮,因而叫虫茶。因寄主植物种类及产虫茶昆虫的种类不同,形成了不同的虫茶种类^[1],我国目前应用较为普遍的是三叶虫茶(由米缟螟 *Aglossa dimidiata* 幼虫取食三叶海棠 *Malus sieboldii* 叶产生的排泄物)和化香虫茶^[2](由化香夜蛾 *Hydrillodes morosa* 幼虫取食化香树 *Plalycarga strobilacea* 叶产生的排泄物),此外,还有柞蚕虫茶^[3],蚕桑虫茶(蚕沙:常作药用),老鹰茶虫茶^[4]等。取虫茶作茶用或作药用,在我国已有悠久的历史,古今都有不少记载^[1,5]。特别是近年来,关于三叶虫茶、化香虫茶和蚕沙的药用功能或保健功能在许多

* 湖南省科技厅资助项目 (No. 199328915)

收稿日期: 2001-08-31, 修回日期: 2001-10-15

印刷出版物或电子出版物(因特网上)上都相继有报道(绝大部分为非研究报告)。特别是关于三叶虫茶助消化,治疗厌食、消化不良、溃疡性结肠炎(含腹泻,腹胀等),高血压等疾病已有临床试验报道^[6]。为了进一步探索我国几种主要虫茶在调理人体肠道微生态环境方面的功能特点及其作用机制,我们采用体外试验法,首次从抑、促人体肠道内微生物(含有益菌和有害菌)及部分真菌的作用效果来探讨这些虫茶的功能特点,并获得了较为理想的效果,现报道如下。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 供试菌种:大肠杆菌(*Escherichia coli*);产气杆菌(*Eubacterium aerofaciens*);枯草芽胞杆菌(*Bacillus subtilis*);金黄色葡萄球菌(*Staphylococcus aureus*);保加利亚乳杆菌(*Lactobacillus burglaricus*);青霉(*Penicillium sp.*);黄曲霉(*Asp. flavus*);根霉(*Rhizopus sp.*);啤酒酵母(*Saccharomyces cerevisiae*);粘红酵母(*Rhodotorula mucilaginosa*)。

以上均为湖南农业大学食品科技学院微生物学教研室保存的从中国科学院微生物研究所获取的标准菌株。

1.1.2 供试样品:1号—绿茶;2号—三叶海棠I(蒸热杀青处理干叶);3号—三叶海棠II(自然干叶);4号—桑树叶(自然干叶);5号—复合三叶虫茶(1号和6号混合物);6号—三叶虫茶I(米黑虫取食2号植物产生的排泄物);7号—三叶虫茶II(米黑虫取食3号植物产生的排泄物);8号—化香虫茶(化香夜蛾取食化香树叶产生的排泄物);9号—蚕沙(家蚕取食桑叶产生的排泄物)。

以上样品均为湖南农业大学昆虫学教研室虫茶课题组收集提供。

1.1.3 培养基:牛肉膏蛋白胨琼脂^[7],真菌培养基:PDA^[7],MRS培养液^[8]。

1.2 方法

1.2.1 供试菌液的制备:取活化好的菌种,用无菌生理盐水制成一定浓度(细菌与酵母菌约 $10^8 \sim 10^9$ cfu/mL;丝状真菌约 10^6 个/mL)的菌悬液或孢子悬液,备用。

1.2.2 浸提液的制备:称取一定质量的样品加入一定体积的开水,然后置室内自然温度下浸提12h,然后用滤纸过滤,取滤液 0.70×10^5 Pa灭菌20min,备用。

1.2.3 浸提液对供试菌的抑制作用:将新华1号滤纸用打孔器打成直径为6mm的纸片,高压湿热灭菌后烘干。然后将滤纸片用无菌镊子夹取放入不同的浸提液[样:水=1:9(W/V)]中浸泡1h,再夹出被浸过的滤纸备用。用涂抹法将各供试标准菌株菌液接种在相应的培养基上,再用无菌镊子夹取沾有浸提液的滤纸片放入皿中,在不同浓度浸提液中各设置3个重复。细菌置于36℃培养24h,量取抑菌圈直径,酵母菌于28℃培养24h,量取抑菌圈直径,丝状真菌置于28℃培养72h,量取抑菌圈直径。以水代替浸提液作为CK。

1.2.4 浸提液对保加利亚乳杆菌的影响:在9mL灭菌的MRS培养液中加入1mL灭菌浸提液[样:水=1:9(W/V)],然后将用牛奶活化的保加利亚乳杆菌标准菌株制成菌悬液,接种量为0.1mL/管,在不同浓度浸提液中各设置3个重复,置于40℃培养48h,用在60℃烘干至恒重并称重的双层滤纸过滤,将菌体连同滤纸在60℃烘至恒重,换算成菌体重。以加1mL水代替浸提液作CK。

1.2.5 不同浓度浸提液对供试菌的抑制作用:将样品按样:水(W/V)=1:9,1:14,

1: 19, 1: 24, 1: 29 浸提, 将浸提液于 0.7×10^5 Pa 灭菌 20min, 用滤纸圆片法做抑菌试验。

2 结果与分析

所试 9 种样品只有 6 种对革兰阳性菌金黄色葡萄球菌、枯草芽胞杆菌和保加利亚乳杆菌产生了抑菌或促菌作用, 而对 3 种革兰阴性大肠杆菌、沙门氏菌、产气杆菌以及供试的 5 种真菌(啤酒酵母, 粘红酵母, 青霉, 黄曲霉, 根霉) 没有表现出抑制作用。

2.1 浸提液对金黄色葡萄球菌的抑制作用

表 1 不同样品浸提液对金黄色葡萄球菌的抑制作用

供试样品号及 样品名称	平均抑菌圈 直径 (mm)	样品间差异显著性 (新复极差法) 检验结果*	
		5% 显著水平	1% 极显著水平
1 (绿茶)	23.5	a	A
5 (复合三叶虫茶)	18.2	b	A
8 (化香虫茶)	12.5	c	B
2 (三叶海棠 I)	12.3	c	B
6 (三叶虫茶 I)	11.3	c	BC
7 (三叶虫茶 II)	9.2	cd	BC
3 (三叶海棠 II)	6.0	d	C
4 (桑叶)	6.0	d	C
9 (蚕沙)	6.0	d	C
CK (清水)	6.0	d	C

* 不同样品间同一显著水平下若字母相同则表示在该水平下相互间抑菌作用无显著差异, 反之则表示差异显著, 且平均抑菌圈直径越大者其抑菌作用也越大

间于 2 号与对照 CK 之间, 略有抑菌效果。

2.2 浸提液对枯草芽胞杆菌的抑制作用

由表 2 可知, 按 5% 显著水准分析, 以 1, 2, 5 号样品的抑菌效果与 CK 对照有显著差异, 这说明前者对枯草芽胞杆菌有显著的抑菌效果, 尤以 1, 5 号效果最好, 2 号

表 2 不同样品浸提液对枯草芽胞杆菌的抑制作用

供试样品号及 样品名称	平均抑菌圈 直径 (mm)	样品间差异显著性 (新复极差法) 检验结果*	
		5% 显著水平	1% 极显著水平
1 (绿茶)	11.1	a	A
5 (复合三叶虫茶)	10.7	ab	A
2 (三叶海棠 I)	9.0	bc	AB
8 (化香虫茶)	8.0	cd	BC
7 (三叶虫茶 II)	7.1	d	BC
6 (三叶虫茶 I)	7.0	d	BC
3 (三叶海棠 II)	6.5	d	BC
4 (桑叶)	6.0	d	C
9 (蚕沙)	6.0	d	C
CK (清水)	6.0	d	C

* 不同样品间同一显著水平下若字母相同则表示在该水平下相互间抑菌作用无显著差异; 反之则表示差异显著, 且平均抑菌圈直径越大者其抑菌作用也越大

由表 1 可知, 按 5% 显著水准分析, 以 1, 2, 5, 6, 8 号与对照 CK 有显著差异, 这说明前者对金黄色葡萄球菌有显著的抑菌效果, 尤以 1, 5 号效果最好, 2, 6, 8 号次之, 7 号间于 6 号与对照 CK 之间, 略有抑菌效果; 而 3, 4, 9 号与对照 CK 无差异, 说明无抑菌效果。按 1% 显著水准分析, 6, 7 号

间于 2 号和对照之间, 略有抑菌效果; 而 3, 4, 6, 7, 9 号与对照 CK 无显著差异, 说明无抑菌效果。按 1% 显著水准分析, 3, 6, 7, 8 号间于 2 号与对照 CK 之间, 略有抑菌效果, 4, 9 号与对照 CK 平均值相同, 显然没有效果。

2.3 浸提液对保加利亚乳杆菌的影响

由表3可知,按5%显著水准分析,以5号促菌效果最好,3号次之,6号略有效果,而1,2,4,7,8,9号样品与CK对照没有显著差异;按1%显著水准分析,同样以5号效果最好,3号次之,6,7,9号略有效果,而1,2,4,8

表3 不同样品浸提液对保加利亚乳杆菌的影响

供试样品号及 样品名称	平均菌体重 (g/管)	样品间差异显著性(新复极差法)检验结果*	
		5%显著水平	1%极显著水平
5(复合三叶虫茶)	0.0553	a	A
3(三叶海棠II)	0.0477	ab	AB
6(三叶虫茶I)	0.0380	bc	BC
9(蚕沙)	0.0347	c	BC
7(三叶虫茶II)	0.0320	c	BC
8(化香虫茶)	0.0317	c	C
1(绿茶)	0.0300	c	C
4(桑叶)	0.0297	c	C
2(三叶海棠I)	0.0287	c	C
CK(清水)	0.0287	c	C

号样品与CK对照没有显著差异;反之则表示差异显著,且平均菌体重(g/管)越大者其促菌作用也越大的是,9种样品对保加利亚乳杆菌都没有表现出抑制作用。

2.4 不同浓度浸提液对供试菌的抑制作用

由表4可知,几种浸提液有抑菌效果的样品,其抑菌作用随浸提液浓度的提高而增强。

表4 不同浸提比*、浸提液对供试菌的抑制作用**

样品号	枯草芽胞杆菌						金黄色葡萄球菌					
	CK	1:9*	1:14	1:19	1:24	1:29	CK	1:9	1:14	1:19	1:24	1:29
1	6**	15.2	13.5	13.0	12.5	11.2	6	22.5	19.6	19.0	16.0	13.0
2	6	7.9	6.8	6.0	6.0	6.0	6	7.3	6.2	6.0	6.0	6.0
5	6	17.1	14.6	12.5	10.0	9.5	6	14.2	11.5	10.5	9.2	8.1
6	6	7.2	6.2	6.0	6.0	6.0	6	7.8	7.2	6.0	6.0	6.0
7	6	10.0	8.2	7.2	6.2	6.0	6	7.5	6.2	6.0	6.0	6.0
8	6	15.2	12.7	11.0	9.6	8.5	6	12.2	9.8	8.4	7.2	6.3

* 浸提比为“样品重(g):水量(mL)”,** 抑菌作用以平均抑菌圈直径(mm)表示,抑菌圈直径越大表示抑菌作用越强

2.5 浸提液中黄酮类化合物的定性鉴定

由表5可知,1,2,5号样品(植物类)的水提物中有黄酮类化合物,而6,7,8号样品(排泄物类)中无黄酮类化合物,其中1,2号为植物叶,6,7,8号为昆虫排泄物,5号则是植物叶与昆虫排泄物的混合样,而6号是昆虫取食2号植物所产生的排泄物,可见,植物经昆虫取食后形成的昆虫排泄物,其化学成分显著发生了变化,从而改变了原植物的功效

表5 不同样品浸提液中黄酮类化合物的检测结果

样品编号	1	2	5	6	7	8
氨显色法	深黄色	深黄色	深黄色	无色	无色	无色
盐酸-锌粉还原法	淡红	淡红	淡黄	无色	无色	无色

表6 3种药用虫茶与绿茶及虫茶原植物对3种细菌抑促反应效果比较

细菌	供试样品名称及编号								
	绿茶 (1)	三叶海棠 I (2)	三叶海棠 II (3)	蚕桑叶 (4)	复合三叶虫茶 (5)	三叶虫茶 I (6)	三叶虫茶 II (7)	化香虫茶 (8)	蚕沙虫茶 (9)
金黄色葡萄球菌	-	-	0	0	-	-	-	-	0
枯草芽胞杆菌	-	-	0	0	-	0	0	-	0
保加利亚乳杆菌	0	0	+	0	+	+	0	0	0

注:“-”表示抑制作用,“0”表示无作用,“+”表示促进作用

(如表6中2号与6号或3号与7号相比)。

3 结果与讨论

将表1至表3的结果综合为表6进行比较,可分析出如下特点:(1)三叶虫茶和复合三叶虫茶既对保加利亚乳杆菌有促进作用,又对肠道有害菌金黄色葡萄球菌有抑制作用(表5中的6号5号);因保加利亚乳杆菌是乳酸菌之一,有改善肠道微生态环境的作用,金黄色葡萄球菌在肠道中繁殖会引起假膜性肠炎,可见饮用三叶虫茶对肠道是有益的,这为临床报道^[6]三叶虫茶具有治疗厌食、消化不良、溃疡性结肠炎(含腹泻、腹胀等)等功能特点提供了可能的机制依据。(2)从表3中的平均菌体重可以看出,由三叶虫茶与绿茶混合的复合三叶虫茶,对保加利亚乳杆菌的促菌作用显著高于单一的三叶虫茶或绿茶,可见饮用复合三叶虫茶更可能增加保加利亚乳杆菌在肠道内的生长量。(3)三叶海棠I,化香虫茶和绿茶,对金黄色葡萄球菌和枯草芽胞杆菌有显著的抑制作用,但对保加利亚乳杆菌无显著的促菌作用;而蚕沙和桑叶对3种菌均无明显的抑制或促进作用;所试3种虫茶及绿茶和虫茶原植物对肠道有益菌——保加利亚乳杆菌都没有抑制作用。(4)三叶海棠I与三叶海棠II比较,以及三叶虫茶I和三叶虫茶II比较(表5中的2号与3号或6号与7号比较),都表现出了相反的作用特征,这说明采用蒸热处理加工和自然处理加工出来的三叶虫茶原植物叶分别饲喂同种产虫茶昆虫,生产出来的三叶虫茶具有不同的特性(表5中的6号与7号比较),而且以前者方法为优。(5)三叶海棠I与三叶虫茶I,三叶海棠II与三叶虫茶II两两比较表明,虫茶原植物三叶海棠叶与经昆虫取食后形成的排泄物对微生物的影响特性是有差别的(表6中的2号与6号或3号与7号比较),这是因为原植物经昆虫取食后形成的排泄物,其化学成分发生了变化(表5)所致。对此值得进一步研究。(6)据报道^[10],人的肠道内存在着大量微生物菌种,数量达一百多亿个构成肠道菌群,本试验仅观察了其中的极少数菌种对所试样品的反应效果,而且只采用了各菌种的标准菌株,未作同菌种不同菌株的反应差异试验,因此还难以全面评价所试3种虫茶及其虫茶原植物对人体肠道微生物的整体效应。

参 考 文 献

- [1] 文礼章,郭海明.茶叶通讯,1997(3):29~31.
- [2] 尤其敬,赵章保.昆虫知识,1979,16(3):122~124.
- [3] 阎明真.吉林林学院学报,1998,14(2):112~114.
- [4] 黄友谊.茶叶机械,1999(2):22~24.
- [5] 李时珍(明代).茶蛀虫纲.本草纲目(下册).北京:人民卫生出版社,1982.2306.
- [6] 伍菊英.湖南中医学院学报,1997,17(3):27~28.
- [7] 李阜棣,喻子中,何绍江.农业微生物学实验技术.北京:中国农业出版社,1996.5:305.
- [8] 凌代文,东秀珠.乳酸细菌分类鉴定及实验方法.北京:中国轻工业出版社,1999.3:85.
- [9] 谭周进,谢达平.食品与机械,1998,(5):16~17.
- [10] 范小兵,宋士良,殷庆元,等.中成药,2000,22(8):572~575.