

2.3 生理生化反应

对分离所得4株菌进行生理生化试验,经过吲哚反应、硫化氢试验、明胶水解实验、硝酸盐还原实验,4株菌均为阴性反应。

2.4 乳酸菌的抗药性实验

在细菌的抗药性试验中,所用抗生素的浓度分别为1%四环素、1%土霉素、1%黄连素,链霉素为1 000 u/mL,青霉素钠盐为1 200 u/mL。在进行抗药性试验时,各取0.2 mL置于牛津杯中。抗药性试验结果表明,4株菌在5种药物中均能生长,但在青霉素中生长比较缓慢,可见,4株菌都具有较强的抗药性,故可作为饲料添加剂而不受药物的影响。

2.5 乳酸菌发酵产物的测定

将4株菌接种于产酸培养基中,测定其发酵产物,结果表明,4株菌均为同型乳酸发酵,产物主要为乳酸,总酸产量超过15 g/L(见表3),且4株菌都具有较强的耐酸性。

表3 乳酸菌的发酵产物测定结果

菌株	L ₆	L ₃₈	L ₆₈	L ₇₆
pH值	2.34	2.36	2.59	2.56
总酸 /g · L ⁻¹	17	16.5	19.9	18.5

3 结论

从酸败牛奶中经分离纯化得到菌株,对其进行初步细

菌学检验,实验结果表明,这4株菌均为乳酸菌,其产酸能力均较强,对酸和一些药物均有一定抗性,是较为理想的饲料添加剂,可望用于食品工业中。在今后的研究中,要进一步研究这些菌的生理、生化性质,确定其最佳培养条件及发酵条件并进行应用研究,进一步进行其16S rRNA分子生物学指征研究和分析,确定其分类地位。

参考文献:

- [1] Fuller R. The study on the fermentation of *Lactobacillus bulgaricus* [J]. J Appl Bacteriol, 1989, 66 (1): 365 - 378.
- [2] 王大. 细菌分类基础 [M]. 北京: 科学出版社, 1977: 121 - 132.
- [3] 范秀容, 沈萍. 微生物学实验 [M]. 北京: 人民教育出版社, 1980.
- [4] 中国科学院微生物研究所. 菌种保藏手册 [M]. 北京: 科学出版社, 1980: 141 - 168.
- [5] 王鑫, 马桂荣, 孔健. 几株乳酸菌的分离鉴定 [J]. 生物技术, 1994, 4 (1): 37 - 39.
- [6] 陈晓平, 刘华英, 魏小川, 等. 自然发酵酸菜汁中乳酸菌的分离筛选与鉴定研究 [J]. 食品科学, 2006, 27 (2): 91 - 94.
- [7] 汪红, 曹瑜, 罗时宇, 等. 四川泡菜乳酸菌的分离鉴定及其特性研究 [J]. 四川大学学报 (自然科学版), 2008, 45 (6): 1509 - 1512.
- [8] 吴蕊, 田洪涛, 孙纪录, 等. 泡菜中乳酸菌优良菌株的分离鉴定及发酵性能的研究 [J]. 食品研究与开发, 2009, 30 (2): 51 - 54.

HPLC 色谱法鉴别白头翁散

张璇¹, 仲晓宁¹, 邱健珉²

(1. 山东省烟台市动物疫病预防与控制中心, 山东烟台 264003; 2. 临沂市药品检验所)

中图分类号: S853.7

文献标识码: A

文章编号: 1000 - 6354 (2009) 06 - 0045 - 03

中药成分复杂,加之收获期和产地等不同,成分含量相差较大,使中药及成方制剂的质量控制十分困难。目前,中药的质量控制还普遍停留在显微鉴别与理化鉴别的水平上,已经远不能适应现代质控要求。为此,笔者以《中国兽药典》二〇〇五年版二部收录的成方制剂白头翁散为例,利用甲醇超声提取,测绘提取液 HPLC 色谱图,通过寻找各组方药材特征峰对白头翁散进行鉴别,为中药成方制剂的质量监控提供借鉴。

1 仪器与材料

1.1 仪器

收稿日期: 2009 - 07 - 13

作者简介: 张璇 (1980 -), 女, 助理兽医师, 主要从事动物医学研究, E-mail: zhongxiaoning@sina.com。

Agilent 1200 型高效液相色谱仪 (四元泵, 柱温箱, 在线脱气机, 自动进样器, 紫外检测器, 美国安捷伦公司), Agilent ZORBAX SB - C₁₈ 色谱柱 (5 μm, 4.6 mm × 150 mm, 美国安捷伦公司), XS105 十万分之一电子分析天平 (瑞士梅特勒公司), SK8200H 超声清洗器 (上海科导超声仪器有限公司), CSM - 1 旋风式样品磨 (北京一轻研究所)。

1.2 药材

药材经执业药师仲晓宁鉴定, 白头翁为毛茛科植物白头翁 *Pulsatilla chinensis* (Bge.) Regel 的干燥根, 黄柏为芸香科植物黄皮树 *Phellodendron chinense* Schneid 的干燥树皮, 黄连为毛茛科植物黄连 *Coptis chinensis* Franch 的干燥根茎, 秦皮为木犀科植物苦枥白蜡树 *Fraxinus rhyrachophylla* Hance 的干

燥枝皮或干皮。

1.3 试剂

乙腈(色谱纯,天津市科密欧化学试剂开发中心),水为三蒸水,其余试剂为分析纯。

2 方法与结果

2.1 单味药材提取液的制备

分别称取 10 - 20 目白头翁、黄柏、黄连、秦皮粗粉 3、1.5、2.25、3 g,加甲醇 80 mL,超声提取 30 min,滤过,滤渣以甲醇淋洗,合并,定容为 100 mL,得白头翁、黄柏、黄连、秦皮单味药材提取液。

2.2 缺少一味药材的提取液的制备

分别称取 10 - 20 目白头翁、黄柏、黄连、秦皮粗粉 3、1.5、2.25、3 g 各 3 份,制备分别缺少白头翁、黄柏、黄连、秦皮的混合药材,按 2.1 项下方法操作,得缺少白头翁、缺少黄柏、缺少黄连、缺少秦皮的方药提取液。

2.3 白头翁散药材全方提取液的制备

称取 10 - 20 目白头翁、黄柏、黄连、秦皮粗粉 3、1.5、2.25、3 g,混合,按 2.1 项下方法制备,得白头翁散药材全方提取液。

2.4 HPLC 色谱条件

乙腈 0.1% 磷酸水溶液 12 88 - 50 50, 20 min 线性梯度洗脱,流速: 1.00 mL/min,柱温: 30.0,检测波长: 335.0 nm,进样量: 5 μ L。

2.5 结果

取 2.1、2.2、2.3 项下各提取液,按 2.4 项下色谱条件测定,色谱图见图 1 - 9。

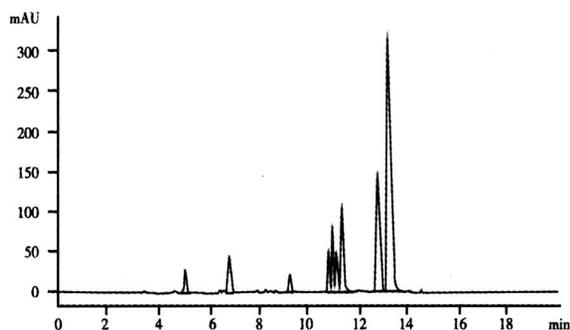


图 1 黄连提取液色谱图

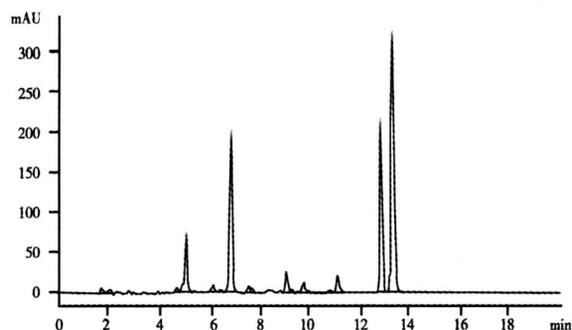


图 2 黄柏提取液色谱图

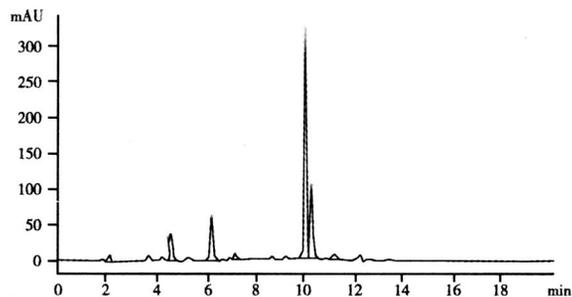


图 3 白头翁提取液色谱图

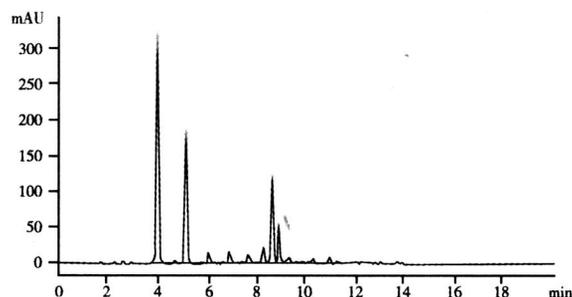


图 4 秦皮提取液色谱图

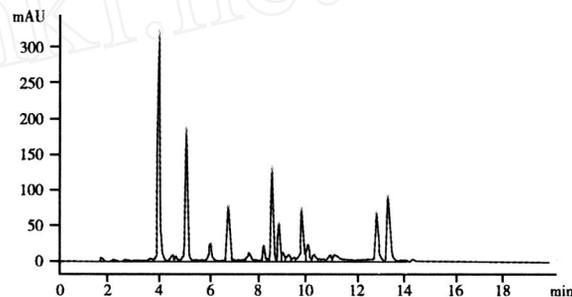


图 5 缺少黄连提取液色谱图

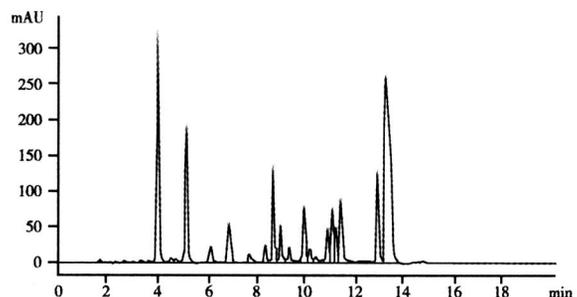


图 6 缺少黄柏提取液色谱图

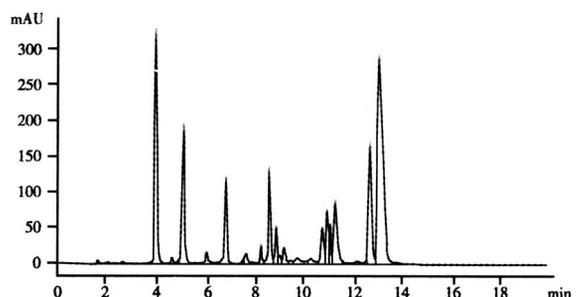


图 7 缺少白头翁提取液色谱图

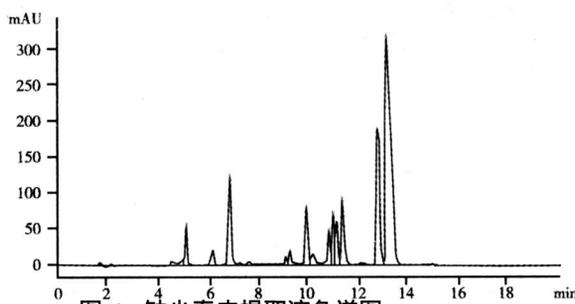


图 8 缺少秦皮提取液色谱图

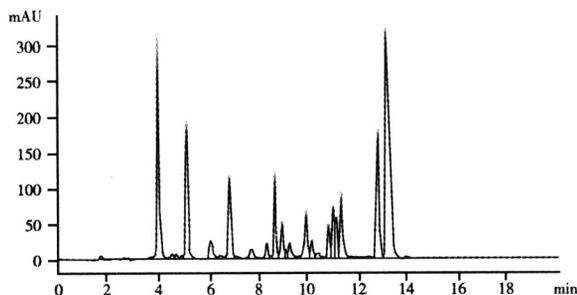


图 9 白头翁散全方提取液色谱图

表 1 白头翁散各药材特征峰保留时间

药材	保留时间 /min			
白头翁	9.8	10.0		
黄连				11.3
黄柏		9.0		
秦皮	4.0	7.7	8.3	8.6

由图 1 - 4 可见白头翁散各药材 HPLC 色谱峰, 由图 9 可见, HPLC 色谱峰包含各药材色谱峰。在保留时间约 4.0 min, 秦皮有特征峰, 另外, 秦皮还在保留时间 7.7、8.3、8.6 min 有特征峰; 保留时间为 9.8、10.0 min 的峰为白头翁独有; 黄连于保留时间 11.3 min 有特征峰; 9.0 min 的峰为黄柏特有。各药材特征峰保留时间见表 1。由图 5 - 8 可见, 当方药中缺少相应药材时, 该药材特征峰消失。

3 小结

结果表明, 本法操作简便, 可清晰显示白头翁散缺少的药材, 在一定程度上弥补中药显微鉴别法的不足。但是此方法仅适用于组方药味少且各味药材在同一色谱条件下均有 HPLC 特征峰的复方制剂。

新疆阿魏有效成分不同处理方法灭螺效果观察

钱 微, 赵红梅

(长江大学动物科学学院, 湖北荆州 434025)

中图分类号: S859.7

文献标识码: A

文章编号: 1000 - 6354(2009)06 - 0047 - 02

日本血吸虫病是由人或哺乳动物感染血吸虫后所引起的一种疾病, 钉螺为日本血吸虫的惟一中间宿主, 灭螺是阻止血吸虫病传播的有效途径。目前, 化学灭螺对环境污染较大, 提倡植物灭螺^[1-4]。新疆阿魏系伞形科阿魏属植物, 具有消积、杀虫、治疗疟疾等功效^[3]。笔者等利用阿魏倍半萜类化合物对钉螺进行浸泡、喷粉、投喂等方法处理, 并比较了这 3 种方法的灭螺效果。

1 材料与方法

1.1 材料

钉螺: 从湖北省荆州市长江大学西校区附近沟渠挑选活力强、螺龄相仿的成螺, 在温室 23℃ 中用清水饲养备用。新疆阿魏: 购于新疆乌鲁木齐齐中药店。主要仪器: NOVA - 500 和 MERCURY - 400 型核磁共振仪, AutoSpec Ultima - TOF 型质谱仪。柱色谱硅胶: 200 - 300 目 (青岛海洋化工厂), 薄层析硅胶: GF254 (青岛海洋化工厂), 由长江大学提供。

1.2 方法

收稿日期: 2009 - 06 - 19

基金项目: 长江大学大学生科研项目 (2009038) 资助

作者简介: 钱 微 (1988 -), 本科在读, 动物医学专业。通讯作者: 赵红梅

1.2.1 新疆阿魏有效成分的提取与不同剂型的制备, 按文献资料^[2,3]的方法进行。

1.2.2 灭螺药液处理 在室温 (25 ± 1)、水温 (23 ± 1) 的条件下, 将 0.325 g/L 7 种新疆阿魏倍半萜类化合物水溶液 100 mL 分别倾入 100 mL 烧杯中, 将 30 只钉螺放入尼龙纱网袋中并封口, 将其完全浸入水溶液中, 设太湖港水和无氯清水为对照组。实验组和对照组均设两组。每 24 h 检查一次, 每次将浸出液中的钉螺依次从各组中取出, 用无氯清水冲洗数次, 于清水中静置 1 d 后做存活检查, 统计其死亡率, 结果取其平均值, 并计算 LC₅₀ 进行统计学分析。

1.2.3 灭螺药液粉剂处理 在室温 (25 ± 1)、水温 (23 ± 1) 的条件下, 每 30 只钉螺为一组, 置于垫有 96 mm × 20 mm 湿纱布培养器中, 上覆盖铁纱网片。每器分别均匀撒入 4 种新疆阿魏倍半萜类化合物粉剂 0.1 g, 以喷入等量淀粉作为对照。实验组和对照组均设两组, 每 12 h 观察 1 次, 第 2 次观察时, 在培养器内钉螺所在位置做标记, 以观察钉螺是否移动。将移动位置的钉螺再做标记, 并去掉原标记, 没移动位置的钉螺保留原标记并记录时间。在 24、48、72 h 分别统计其中毒死亡率, 结果取平均值^[5]。

1.2.4 灭螺药液颗粒剂处理 处理与记录方法同粉剂, 以纯淀粉颗粒剂作为对照。