

野艾蒿提取物对金黄色葡萄球菌的抑制作用

毛跟年, 胡家欢, 刘艺秀

(陕西科技大学食品与生物工程学院, 陕西西安 710021)

摘要: 本文以 95% 的乙醇为溶剂, 采用超声辅助提取的方法对野艾蒿进行提取, 得到的粗提物干膏用石油醚、乙酸乙酯和正丁醇依次萃取, 得到不同的萃取组分。采用水蒸气蒸馏法提取野艾蒿中的挥发油。采用滤纸片法和二倍稀释法研究各个萃取组分和挥发油对金黄色葡萄球菌体外抑菌活性。并研究了野艾蒿提取物对金黄色葡萄球菌生长曲线的影响。以昆明小鼠为实验动物进行体内抑菌实验。体外抑菌实验表明各组分的抑菌能力大小为乙酸乙酯相>正丁醇相>石油醚相=挥发油。水相组分未检出抑菌活性。石油醚相、乙酸乙酯相、正丁醇相、挥发油的最小抑菌浓度 (MIC) 依次为 10.00, 2.50, 5.00, 10.00 mg/mL。乙酸乙酯相和正丁醇相对金黄色葡萄球菌的生长有显著的抑制作用 ($p<0.05$)。体内抑菌实验表明小鼠灌胃 0.50 g/kg 的野艾蒿提取物时, 体内抑菌活性最好。比模型组的死亡率降低了 77.78%。实验表明野艾蒿提取物对金黄色葡萄球菌具有抑菌活性。

关键词: 野艾蒿; 萃取组分; 抑菌活性; 体外; 体内

文章编号: 1673-9078(2018)11-89-94

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2018.11.015

Inhibitory Effect of *Artemisia Lavandulaefolia* Extract on *Staphylococcus Aureus*

MAO Gen-nian, HU Jia-huan, LIU Yi-xiu

(School of Food and Biological Engineering Shaanxi University of Science & Technology, Xi'an 710021, China)

Abstract: The ultrasonic-assisted extraction with 95% ethanol was used to generate a crude extract from *Artemisia lavandulaefolia*. Then the dried crude extract paste was treated sequentially with petroleum ether, ethyl acetate and n-butanol to obtain different extraction fractions. Steam distillation was used to extract the volatile oil from *Artemisia lavandulaefolia*. The *in vitro* antibacterial activity of each fraction of the crude extract and the volatile oil against *Staphylococcus aureus* was examined using the filter paper dilution system and double diluting method. The effect of *Artemisia vlavandulaefolia* extract on the growth curve of *Staphylococcus aureus* was studied. The *in vivo* antibacterial activity was investigated using Kunming mice. *In vitro* experiments revealed that the antibacterial ability of each fraction of the crude extract or volatile oil followed this order: ethyl acetate phase > n-butanol phase > petroleum ether phase = volatile oil. No antibacterial activity was detected for the aqueous fraction. The minimum inhibitory concentrations (MICs) of the petroleum ether phase, ethyl acetate phase, n-butanol phase, and volatile oil were 10.00, 2.50, 5.00, and 10.00 mg/mL respectively. The ethyl acetate and n-butanol fractions exhibited significant inhibitory effects on the growth of *Staphylococcus aureus* ($p<0.05$). The results of *in vivo* experiments showed that the highest *in vivo* antibacterial activity was detected when the mice were fed 0.50 g/kg of wild *Artemisia lavandulaefolia* extract, with the mortality rate being 77.78% lower than the model group. Thus, the extract of *Artemisia lavandulaefolia* has antibacterial activity against *Staphylococcus aureus*.

Key words: *Artemisia lavandulaefolia*; extract constituents; antibacterial activity; *in vitro*; *in vivo*

野艾蒿, 拉丁名是 *Artemisia lavandulaefolia*, 别名: 荫地蒿, 野艾, 小叶艾、狭叶艾, 艾叶, 苦艾, 陈艾, 多年生的草本植物。野艾蒿具有理气行血, 逐寒调经, 安胎, 祛风除湿, 消肿止血等功能。能治感冒, 头痛, 疟疾, 皮肤瘙痒, 痈肿, 跌打损伤, 外伤出血等症。金黄色葡萄球菌(*Staphylococcus aureus*)是

收稿日期: 2018-06-13

基金项目: 陕西省科技攻关项目 (2016NY-167)

作者简介: 毛跟年 (1962-), 男, 教授, 学士, 研究方向: 中药新资源开发

通讯作者: 胡家欢 (1993-), 女, 在读硕士, 研究方向: 中药新资源开发

人类的一种重要病原菌, 隶属于葡萄球菌属 (*Staphylococcus*), 有“嗜肉菌”的别称, 是革兰氏阳性菌的代表, 可引起许多严重感染。美国疾病控制中心报告, 由金黄色葡萄球菌引起的感染占第二位, 仅次于大肠杆菌。金黄色葡萄球菌是人类化脓感染中最常见的病原菌, 可引起局部化脓感染, 也可引起肺炎、伪膜性肠炎、心包炎等, 甚至败血症、脓毒症等全身感染。在医院里, 耐甲氧西林和其他抗生素的金黄色葡萄球菌广泛流行, 对万古霉素不敏感的菌株也有所增加, 给临床治疗带来了很大的困难。从单味中药或

复方制剂抑菌作用研究来看,相对于抗生素的抗菌作用显著,但其毒副作用、所引起的二重感染及细菌的耐药等问题,其具有不易产生耐药的特点与优势。目前对于野艾蒿研究比较多的是野艾蒿对其他物质的作用^[1],野艾蒿的化学组成^[2,3],野艾蒿黄酮的作用和挥发油的生物活性^[4,5]。对于野艾蒿抗菌作用的研究,目前还处于初步阶段。大部分的文献报道,都只对野艾蒿粗提物进行体外抗菌活性实验^[6,7],说明其具有抑菌活性。本文对野艾蒿粗提物做了初步的分离,研究了不同组分的体外抑菌活性,并且以体外抑菌最好的组分进行了体内抑菌活性的研究,为野艾蒿药用功能的进一步开发提供了依据。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

野艾蒿(*Artemisia lavandulaefolia*), 购买于河南洛阳。

酵母浸粉(生产批号: 20180110), 北京奥博星生物技术有限公司; 蛋白胨(生产批号: 20171016), 北京奥博星生物技术有限公司; 琼脂粉(生产批号: 20170920), 北京奥博星生物技术有限公司; 氯化钠(生产批号: 20170311), 天津市天力化学试剂有限公司; 硫酸链霉素(生产批号: S28D8Y51565), 上海源叶生物科技有限公司; 青霉素(生产批号: S28D8Y51565), 上海源叶生物科技有限公司。

1.2 仪器

KH5200DE 超声清洗器, 昆山禾创超声仪器有限公司; RE52CS 旋转蒸发仪, 上海亚荣生化仪器厂; UV5100 紫外分光光度计, 上海元析仪器有限公司; SW-CJ-1D 超净工作台, 苏州净化设备有限公司; DHP-9082B 恒温培养箱, 上海一恒科技有限公司; SHZ-82 气浴恒温振荡器, 金坛市荣华仪器制造有限公司; 灭菌锅, 上海博讯仪器有限公司等。

1.3 菌种与动物

菌种: 金黄色葡萄球菌 ATCC6538 由陕西科技大学微生物实验室提供。

动物: 昆明小鼠, 体重为 18~22 g, 全部为雄性, SPF 级, 由西安交通大学医学院实验动物中心提供。许可证号: SCXK(陕)2018-001。

1.4 方法

1.4.1 野艾蒿的提取

1.4.1.1 提取方法

本实验采用超声辅助提取法对野艾蒿进行提取^[8]。所选溶剂为 95% 乙醇。具体操作步骤为取 50 g 粉碎好的野艾蒿于 1000 mL 的锥形瓶中加入相应体积的溶剂, 重复提取 3 次, 合并滤液于旋转蒸发器中浓缩到一定体积, 再在水浴锅上蒸干溶剂, 最后在烘箱中放置过夜, 得到野艾蒿粗提物干膏, 置于 4 °C 冰箱保存备用。得到的干膏依次用石油醚、乙酸乙酯和正丁醇萃取^[2,9], 得到的萃取组分用同样的方法得到干膏。

1.4.1.2 野艾蒿挥发油的提取^[10]

采用水蒸气蒸馏法提取。称取 100 g 粉碎好的野艾蒿, 加入 1200 mL 水, 浸泡 2.50 h, 提取 6 h。

1.4.2 各组分的抑菌圈测定

1.4.2.1 菌种的活化及菌悬液的配制^[11]

菌种的活化: 将细菌接种于 LB 液体培养基中, 37 °C, 121 r/min 摇床培养 20 h 后, 接种在平板上放入冰箱中备用。

菌悬液的配制: 挑取活化后的金黄色葡萄球菌于 5 mL LB 液体培养基中, 置于 37 °C 恒温培养箱中培养 20 h 后取出, 在超净工作台中, 移液枪吸取 0.50 mL 的培养液于 10 mL 的无菌离心管中, 加入 1 mL 的培养基备用。将稀释好的培养液, 在 600 nm 处以培养基为空白溶液测其吸光度, 并用培养基调整使其吸光度与 0.5 麦氏比浊液在 600 nm 处的吸光值相同, 再用新鲜灭菌的 LB 液体培养基将上述菌液按 1:10 稀释后备用(含菌量约为 1.5×10^7 CFU/mL)。

1.4.2.2 自制滤纸片及药敏片

自制滤纸片: 将化学分析滤纸用打孔器制成 6 mm 的纸片, 放入带盖子的瓶中, 121 °C 高温灭菌 20 min 即得。

自制药敏片: 除正丁醇组用水饱和的正丁醇溶解外, 其他的萃取组分均用各自的萃取剂溶解, 配成 40 mg/mL 的溶液, 并用 0.22 μm 的微孔滤膜过滤。吸取过滤后的溶液 5 μL 于自制滤纸片上, 在烘箱中 65 °C 除去溶剂后, 在吸取 5 μL 于相应纸片上并除去溶剂, 共重复 3 次。得到的干药敏片在紫外灯下杀菌后使用。

1.4.2.3 抑菌圈的测定

各萃取组分抑菌圈的测定: 向灭菌的培养皿加入 15~20 mL 的 LB 固体培养基。待凝固后, 用棉签蘸取适量的菌悬液均匀涂布在培养皿中, 贴上自制的药敏片, 以链霉素和青霉素作为阳性对照(链霉素和青霉素用无菌水配成 1 和 0.5 mg/mL 的溶液, 采用 1.4.2.2 的方法只吸取一次药液在室温下晾干做成干滤纸片)。在 37 °C 下恒温培养 24 h, 用直尺测量每种组分的抑菌

圈大小。每组实验重复3次取平均值。

挥发油抑菌圈的测定：用无水乙醇将挥发油配成40 mg/mL的溶液，以无水乙醇作为阴性对照，自制链霉素干药敏片做阳性对照。配好的溶液均采用0.22 μm的微孔滤膜过滤。将自制的滤纸片浸入相应的溶液中，使其充分吸收。在将含药的纸片贴在涂有金黄色葡萄球菌的平板上，每组做三个平行。培养24 h后用直尺测量抑菌圈直径，取三组的平均值。

1.4.2.4 抑菌指标判定^[12]

高度敏感-抑菌圈直径 $D \geq 20$ mm，用“+++”表示；中度敏感-抑菌圈直径 $15 \leq D < 20$ mm，用“++”表示；低度敏感-抑菌圈直径 $8 \leq D < 15$ mm，用“+”表示；不敏感-抑菌圈直径 $D < 8$ mm，用“-”表示。

1.4.3 最小抑菌浓度(MIC)的测定^[13,14]

采用二倍稀释法测定各成分的最小抑菌浓度。将40 mg/mL的各组分溶液采用二倍稀释法配成40、20、10、5、2.50、1.25、0.63、0.31 mg/mL的溶液。除挥发油外，都采用1.4.2.2的方法制成相应的干药敏片。用2.2.3的方法测定各组分不同浓度下的抑菌圈。每个浓度的实验做3组平行试验。不出现抑菌圈的最小浓度为最低抑菌浓度。

1.4.4 对金黄色葡萄球菌生长曲线抑制作用的测定^[15,16]

将培养至对数期的金黄色葡萄球菌按2%的接种量接种到LB液体培养基中，加入野艾蒿组分，使其浓度达到最小抑菌浓度，37℃ 120 r/min摇床培养，在0、2、4、6、8、10、12、22、26、30 h取样，对照组不加入野艾蒿提取物，各组以不加入菌液的液体作为调零组。用紫外分光光度计测定在波长为600 nm处测吸光度A，每组实验重复3次取平均值，以时间为横坐标，吸光度为纵坐标绘制金黄色葡萄球菌的生长曲线。

1.4.5 体内抑菌实验^[17,18]

由体外抑菌实验可知乙酸乙酯相对金黄色葡萄球菌的抑菌活性最好，因此以乙酸乙酯相进行体内抑菌实验的研究。

1.4.5.1 体内抑菌实验预实验

将培养至对数生长期的金黄色葡萄球菌用生理盐水配制成 30×10^8 ， 30×10^7 ， 30×10^6 ， 30×10^5 ， 30×10^4 ，

30×10^3 CFU/mL的菌悬液，按0.5 mL每20 g的剂量将不同浓度的菌悬液注入到小鼠腹腔内，每组10只小鼠，观察4 d内小鼠的死亡情况，以小鼠死亡率80%以上作为实验所用的感染小鼠的细菌浓度。

1.4.5.2 体内抑菌实验

取小鼠60只，雌雄各半，随机分为空白组、模型组、野艾蒿萃取物高低中浓度组(0.2, 0.5, 1 g/kg)、青霉素阳性对照组(0.17 g/kg)每组10只，空白组、模型组灌入等体积20%的吐温80，野艾蒿萃取物不同浓度组按相应的量连续灌胃7天后，第8天灌胃30 min后，除空白组外，其余各组根据预实验得到的细菌感染浓度，按0.5 mL每20 g的剂量注射相应浓度的菌悬液。观察并统计四天内小鼠的死亡数。当有小鼠死亡时，无菌操作分别取出小鼠心、肺、肾、肝，分别放入30 mL的灭菌LB液体培养基中培养24 h，再将培养后的培养基涂在固体平板上，放置于37℃恒温培养箱中培养24 h，观察是否有菌生长，挑取培养出的菌落，通过革兰氏染色，在显微镜下观察形态，进行鉴定。非用药组小鼠全部死亡后，同时处死其余各组剩余小鼠，以同样的方法做各内脏的组织悬液培养。

1.4.6 统计学分析

采用SPSS 11软件进行统计学处理。抑菌圈的直径以 $\bar{x} \pm s$ 表示，生长曲线间比较采用t检验， $p < 0.05$ 表示有显著性差异。

2 结果与分析

2.1 野艾蒿各个提取组分对金黄色葡萄球菌的抑菌圈测定

由表1可以看出，野艾蒿各个组分对金黄色葡萄球菌的的抑菌圈大小顺序为乙酸乙酯相>正丁醇相>石油醚相=挥发油。水相组分无抑菌活性。乙酸乙酯相为中度敏感，正丁相、挥发油和石油醚相都为低度敏感。研究表明乙酸乙酯部位主要含有一些黄酮、有机酸、酯等^[2]。这些组分都具有一定的抑菌活性，也可能是乙酸乙酯部位抑菌活性最好的原因。具体是那种成分起主要的作用还有待进一步研究。

表1 野艾蒿对各个组分对金黄色葡萄球菌的抑菌圈

Table 1 Antimicrobial circles of *Staphylococcus aureus* for various components

组分/(mg/mL)	石油醚相 40	乙酸乙酯相 40	正丁醇相 40	水相 40	挥发油 40	链霉素 1	青霉素 0.50
抑菌圈/(mm)	10.30±0.51	15.60±0.57	11.60±0.55	0	10.30±0.58	26.00±1.12	54.00±1.71
敏感程度	+	++	+	-	+	+++	+++

注：链霉素，青霉素为阳性对照。

2.2 野艾蒿各组分对金黄色葡萄球菌的最小

抑菌浓度 (MIC) 测定

表 2 不同浓度的各组分的抑菌圈

Table 2 Inhibitory circles of various components at different concentrations

浓度 (mg/mL)	组分			
	石油醚 相	乙酸乙酯 相	正丁醇萃 相	挥发 油
40.00	+	+	+	+
20.00	+	+	+	+
10.00	+	+	+	+
5.00	-	+	+	-
2.50	-	+	-	-
1.25	-	-	-	-
0.63	-	-	-	-
0.31	-	-	-	-

注：“+”表示有抑菌圈；“-”表示没有抑菌圈。

由表 2 可以看出石油醚相、乙酸乙酯相、正丁醇相、挥发油的最小抑菌浓度 (MIC) 依次为 10.00、2.50、5.0、10.00 mg/mL。

2.3 对金黄色葡萄球菌的生长曲线的影响结果

由抑菌圈的大小和最小抑菌浓度可以看出乙酸乙酯相和正丁醇相对金黄色葡萄球菌的抑菌效果较好，因此研究了乙酸乙酯相和正丁醇相对金黄色葡萄球菌生长曲线的影响。结果如图 1 所示，由图可以看出，加入提取物的实验组与空白组相比，金黄色葡萄球菌的生长明显受到抑制（乙酸乙酯相 $p=0.0123<0.05$ ，正丁醇性 $p=0.0240<0.05$ ）。空白组在 0~4 h 处于生长适应期，4~12 h 处于生长对数期，12~24 h 后处于稳定期 24 h 后处于衰亡期。实验组在较长的时间处于生长适应期，没有明显的对数生长期，一直都处于缓慢增

长。乙酸乙酯相比正丁醇相的抑制作用要更加明显，更进一步说明了乙酸乙酯相的抑菌效果更好。

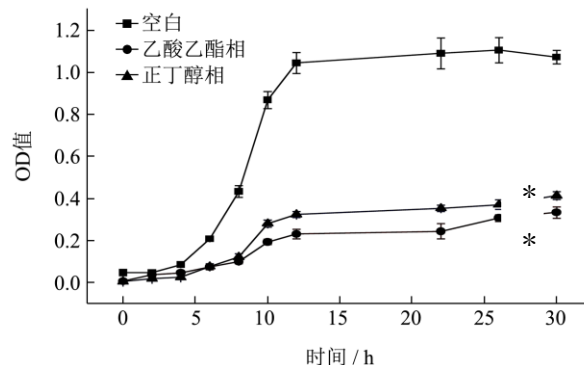


图 1 野艾蒿提取物对金黄色葡萄球菌生长曲线的影响

Fig.1 Effect of extract of Artemisia vulgaris on growth curve of *Staphylococcus aureus*

注：“*”表示与空白组相比 $p<0.05$ 。

2.4 乙酸乙酯相体内抑菌实验结果

2.4.1 预实验结果

由表 3 可知细菌浓度为 30×10^8 CFU/mL 时小鼠死亡率为 80%；细菌浓度为 30×10^7 CFU/mL 时小鼠死亡率为 50%；

其他细菌浓度的组小鼠均未出现死亡，因此得出实验所用感染小鼠的金黄色葡萄球菌浓度为 30×10^8 CFU/mL。

2.4.2 体内实验结果

由表 4 可以看出模型组的死亡率为 90%，野艾蒿乙酸乙酯相低中高浓度组的死亡率分别为 40%、20%、30%。空白组死亡率为 0，排除了饲养环境以及溶剂等其他因素引起小鼠的死亡。野艾蒿提取物可以显著降低金黄色葡萄球菌感染引起的小鼠的死亡率。当灌胃浓度为 0.5 g/kg 时小鼠的死亡率（20%）比模型组的死亡率（90%）降低了 77.8%。

中剂量的比低剂量的效果更好，高剂量的与中剂量没有明显的区别，且高剂量比中剂量的死亡率高，这可能是由于小鼠个体的差异及实验操作不当造成的。

表 3 不同浓度的金黄色葡萄球菌对小鼠的致死情况

Table 3 Mortality of different concentrations of *Staphylococcus aureus* in mice

组别	细菌浓度/(CFU/mL)	动物数/只	死亡数/只	死亡率/%
1	30×10^3	10	0	0
2	30×10^4	10	0	0
3	30×10^5	10	0	0
4	30×10^6	10	0	0
5	30×10^7	10	5	50
6	30×10^8	10	8	80

表4 各实验组的小鼠死亡情况

Table 4 Deaths of mice in each experimental group

组别	剂量/(g/kg)	动物数/只	死亡数/只	死亡率/%
青霉素组	0.17	10	0	0
空白组	0	10	0	0
模型组	0	10	9	90
野艾蒿低浓度组	0.2	10	4	40
野艾蒿中浓度组	0.5	10	2	20
野艾蒿高浓度组	1	10	3	30

小鼠死亡后,取出心、肺、肝、肾培养,空白组各内脏培养无细菌生长,模型组和给药组的小鼠死亡后,各内脏培养均有细菌生长,且菌落形态一致,经过革兰氏染色在显微镜下观察菌体为球状被染成紫色,确定为金黄色葡萄球菌(如图2所示)。进一步说明小鼠的死亡是由于金黄色葡萄球菌感染引起的。心、肺、肝、肾培养后均有细菌生长,说明金黄色葡萄球菌可以感染小鼠的心、肺、肝、肾。

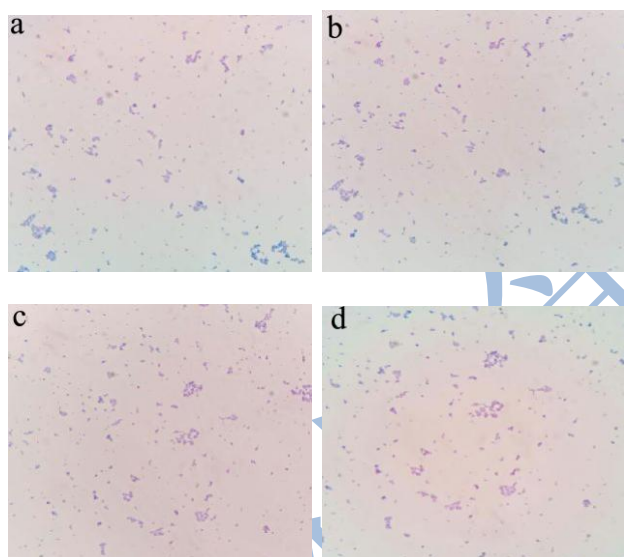


图2 死亡小鼠心肺肝肾培养后的细菌革兰氏染色照片

Fig.2 Bacterial Gram stain photo of dead mice after heart, lung, liver and kidney culture

注: a: 心; b: 肺; c: 肝; d: 肾。

3 结论

野艾蒿是一种重要的天然药用植物,在我国有很长的使用历史。本文对野艾蒿提取物的体外及体内抑菌活性进行了研究。体外抑菌实验表明各个组分对金黄色葡萄球菌的抑菌能力大小为:乙酸乙酯相>正丁醇相>石油醚相=挥发油萃取物。水相组分无抑菌活性。石油醚相、乙酸乙酯相、正丁醇相、挥发油的最小抑菌浓度(MIC)依次为10.00, 2.50, 5.00, 10.00 mg/mL。乙酸乙酯相与正丁醇相对金黄色葡萄球菌的

生长曲线有明显的影响($p<0.05$),使金黄色葡萄球菌的生长缓慢,无明显的生长对数期。体内抑菌实验表明野艾蒿乙酸乙酯相高低中浓度组均具体内抑菌活性,当灌胃浓度为0.5 g/kg时效果最好,小鼠的死亡率(20%)比模型组的死亡率(90%)降低了77.8%。

参考文献

- [1] Yi Eui-Yeun, Han Kyung-Suk, Kim Yung-Jin. Extract of *Artemisia lavandulaefolia* inhibits *in vitro* angiogenesis in human umbilical vein endothelial cells [J]. Journal of cancer prevention, 2014, 19(4): 247-52
- [2] 马麟,韦炳华,胡黎.野艾蒿的化学成分研究[J].广州中医药大学学报,2012,29(4):450-453
MA Lin, WEI Bing-hua, HU Li. Study on chemical composition of *Artemisia vulgaris* [J]. Journal of Guangzhou University of Traditional Chinese Medicine, 2012, 29(4): 450-453
- [3] Pandey Bishnu Prasad, Thapa Rupak, Upreti Anil. Chemical composition, antioxidant and antibacterial activities of essential oil and methanol extract of *Artemisia vulgaris* and *Gaultheria fragrantissima* collected from Nepal [J]. Asian Pacific journal of tropical medicine, 2017, 10(10)
- [4] 文荣,周成江,贾彦彬,等.野艾蒿中4种黄酮类化合物对HepG2细胞AMPK和LPIN1表达的影响[J].药物分析杂志,2017,37(1):74-82
WEN Rong, ZHOU Cheng-jiang, JIA Yan-bin, et al. Effect of 4 flavonoids from *Artemisia vulgaris* on expression of AMPK and LPIN1 in HepG2 cells [J]. Drug Analysis Magazine, 2017, 37(1): 74-82
- [5] Li Feng, Tao Ya, Qiao Yan, et al. Eupatilin inhibits EGF-induced JB6 cell transformation by targeting PI3K [J]. International journal of oncology, 2016, 49(3)
- [6] 徐亚军.野生艾蒿乙醇浸提物对枯草芽孢杆菌的抑制作用[J].湖北农业科学,2012,51(9):1786-1788
XU Ya-jun. Inhibitory effect of wild *Artemisia* ethanol extracts on *Bacillus subtilis* [J]. Hubei Agricultural Sciences,

- 2012, 51(9): 1786-1788
- [7] 徐亚军,赵龙飞.野生艾蒿浸提物对大肠杆菌的抑制作用[J].江苏农业科学,2012,40(4):306-308
XU Ya-jun, ZHAO Long-fei. Inhibitory effect of wild *Artemisia* extract on *Escherichia coli* [J]. Jiangsu Agricultural Sciences, 2012, 40(4): 306-308
- [8] 宋庆燕,杨相,张鲁,等.响应面法优化黄芪总多糖超声提取工艺[J].辽宁中医药大学学报,2018,20(2):44-47
SONG Qing-yan, YANG Xiang, ZHANG Lu, et al. Response surface methodology to optimize ultrasonic extraction of total polysaccharides from *Astragalus* [J]. Journal of Liaoning University of Traditional Chinese Medicine, 2018, 20(2): 44-47
- [9] 张金霞.中药当归丙酮提取物抗菌活性及成分鉴定[D].兰州:兰州理工大学,2014
ZHANG Jin-xia. Antibacterial activity and composition identification of acetone extract from *Angelica sinensis* [D]. Lanzhou: Lanzhou University of Technology, 2014
- [10] 彭静,仇洪芳,李彩虹,等.乳香挥发油水蒸气蒸馏法提取工艺优化研究[J].辽宁中医杂志,2018,2:352-355
PENG Jing, QIU Hong-fang, LI Cai-hong, et al. Study on optimization of extraction process of volatile oil from *Boswellia sinensis* by steam distillation [J]. Liaoning Journal of Traditional Chinese Medicine, 2018, 2: 352-355
- [11] 李书明,陈雅婷,王奇志.入侵植物假臭草和胜红蓟提取物的抑菌活性研究[J].核农学报,2017,31(9):1717-1722
LI Shu-ming, CHEN Ya-ting, WANG Qi-zhi. Studies on antimicrobial activity of invasive plant extracts of *Herba odoratum* and *Scutellaria barbata* [J]. Journal of Nuclear Agriculture, 2017, 31(9): 1717-1722
- [12] 汪业菊.秦皮素对金黄色葡萄球菌的抑菌活性及其机制研究[D].辽宁:辽宁师范大学,2012
WANG Ye-ju. Antibacterial activity and mechanism of desperxin on *Staphylococcus aureus* [D]. Liaoning: Liaoning Normal University, 2012
- [13] 李钟美,黄和,高良.姜提取物抑菌活性及稳定性研究[J].食品与机械,2016,32(2):55-59
LI Zhong-mei, HUANG He, GAO Liang. Study on antimicrobial activity and stability of *Ginger* extract [J]. Food and Machinery, 2016, 32(2): 55-59
- [14] 万力,郭志君,闵卓,等.野生葡萄枝条多酚粗提物抑菌活性研究[J].西北林学院学报,2014,29(1):122-126,154
WAN Li, GUO Zhi-jun, ZHUO Zhuo, et al. Study on antimicrobial activity of crude extracts of wild grape polyphenols [J]. Journal of Northwest Forestry University, 2014, 29(1): 122-126,154
- [15] 刘俊义,赵茜茜,张志宇,等.文冠果种仁油中甾醇的抑菌活性及其机理初探[J].中国油脂,2016,41(10):29-33
LIU Jun-yi, ZHAO Xi-xi, ZHANG Zhi-yu, et al. Antibacterial activity and mechanism of sterols in seed oil of *Xanthoceras sorbifolia* [J]. Chinese fat, 2016, 41(10): 29-33
- [16] 王亚丽,李颖畅,马春颖,等.蓝莓叶多酚提取物对3种细菌的抑菌活性[J].食品与发酵工业,2015,41(3):163-167
WANG Ya-li, LI Ying-chang, MA Chun-ying, et al. Antibacterial activity of *Blueberry* leaf polyphenol extracts against three bacteria [J]. Food and Fermentation Industry, 2015, 41(3): 163-167
- [17] 辛颖,白玉花.蒙药玉簪花乙醇提取物体外和体内的抑菌活性研究[J].中成药,2015,37(3):653-656
XIN Ying, BAI Yu-hua. Study on antibacterial activities of ethanol extracts from hosts of *Euphorbia pulcherrima* flower *in vitro* and *in vivo* [J]. Chinese patent medicine, 2015, 37(3): 653-656
- [18] 罗宇东,张强,蒋林,等.常春卫矛提取物体外及体内抑菌作用的试验研究[J].中国当代医药,2014,21(18):9-11,15
LUO Yu-dong, ZHANG Qiang, JIANG Lin, et al. Experimental study on bacteriostasis of external and *in vivo* extraction of *Euonymus formosanus* [J]. Chinese contemporary medicine, 2014, 21(18): 9-11, 15