

# 果梅果实浸提液抑菌活性的研究

邵静<sup>1</sup>,高志红<sup>1,\*</sup>,章镇<sup>1</sup>,王丽平<sup>2</sup>,王培培<sup>1</sup>,罗晓燕<sup>1</sup>

(1.南京农业大学园艺学院,江苏南京 210095; 2.南京农业大学动物医学院,江苏南京 210095)

**摘要:**比较“小叶猪肝”和“软条红梅”两个梅品种果实不同浸提液的抑菌活性,结果表明:梅果实浸提液对大肠杆菌、枯草芽孢杆菌和猪链球菌三种待测细菌均有抑制作用,其中对大肠杆菌和枯草芽孢杆菌的抑制作用强于猪链球菌;以不同的浸提剂浸提,采用正己烷作浸提剂时的浸提成分抑菌活性最强,丙酮次之;采用不同的浸提方法浸提抑菌活性差异不显著;两个品种的梅果实抑菌活性差异不显著。

**关键词:**梅果实,浸提液,抑菌活性

## Study on antibacterial activity of the extracts from Japanese apricot fruit

SHAO Jing<sup>1</sup>, GAO Zhi-hong<sup>1,\*</sup>, ZHANG Zhen<sup>1</sup>, WANG Li-ping<sup>2</sup>, WANG Pei-pei<sup>1</sup>, LUO Xiao-yan<sup>1</sup>

(1.College of Horticulture, Nanjing Agricultural University, Nanjing 210095, China;

2.College of Veterinary Medicine, Nanjing Agricultural University, Nanjing 210095, China)

**Abstract:** The antibacterial activity of different extracts from the fruits of Japanese apricot cultivars ‘Xiaoyezhugan’ and ‘Ruantiaohongmei’ were investigated. The results showed that the extracts of Japanese apricot fruit significantly inhibited the activities of *E. coli*, *Bacillus subtilis* and *Streptococcus suis*. Especially, it had more efficient antibacterial activity on *E. coli* and *Bacillus subtilis*. The inhibition activity of the extract extracted with n-hexane showed the best, acetone was better. The inhibition activity of the extract extracted with different extraction methods and from the two cultivars was not significant.

**Key words:** Japanese apricot fruit; extract; antibacterial activity

中图分类号: TS255.1

文献标识码: A

文章编号: 1002-0306(2012)05-0105-03

梅(*Prunus mume* Sieb. et Zucc.),蔷薇科(*Rosaceae*)植物,目前主要分布在我国浙江、广东、江苏、云南、福建、湖南、台湾和日本,韩国和朝鲜也有少量栽培<sup>[1]</sup>。早在《神农本草》中就有记载,梅的花、果、枝、叶等均可入药;李时珍在《本草纲目》中记载,梅有下气、安心、止渴、止咳、止痛、止伤寒烦渴、冷热泻痢、消肿解毒之功效,可治32种疾病<sup>[2]</sup>。现代医学的研究表明,梅具有静血杀菌和抑制癌细胞的作用,如乌梅煎剂可以抑制艾氏腹水<sup>[3]</sup>,梅可以明目益气,煎服可治疗呼吸急促和气喘,晒干后可治疗便秘,也可制成乳剂再配制成饮料。“绿萼”梅的花苞入药,有消炎解毒的功效<sup>[4]</sup>。近年来的研究发现,乌梅具有广谱杀菌、抑菌作用,对金黄色葡萄球菌、大肠杆菌和枯草芽孢杆菌等细菌有较强的抑制作用<sup>[5]</sup>,后来的研究发现青梅原果对以上三种细菌也有较强的抑菌作用<sup>[6]</sup>,日本的研究发现果梅高温提取物对流感病毒有较强的抑制作用<sup>[7]</sup>,Xia等<sup>[8]</sup>的研究发现梅种子甲醇提取物对多

种细菌有抑制作用,但关于不同果梅品种的果实抑菌效果的差异以及采用不同浸提剂浸提等方面的研究未见报道。本研究主要对“软条红梅”和“小叶猪肝”两个梅品种的抑菌活性进行探究,研究不同浸提方法和不同浸提剂浸提对两个梅品种果实抑菌活性的影响,为今后更好地开发利用果梅、分析果梅果实的功能成分提供参考。

## 1 材料与方法

### 1.1 实验材料

样品 于青梅采收期,在南京农业大学国家梅种植资源圃采集两个果梅品种“小叶猪肝”和“软条红梅”的果实,贮存于-20℃冰箱内备用。

### 1.2 实验方法

1.2.1 梅果实浸提液的制备 将果梅果实去皮、去核、破碎,加入等量的浸提剂,室温下浸提24h,离心,取上清液;将剩余部分置于水浴锅内加热至90℃并保持10min,进一步离心取上清,实验所得浸提液浓度均为1g/mL(1mL浸提液中含有1g果肉),保存于4℃冰箱备用。

1.2.2 菌株及其菌悬液制备 本实验菌株为大肠杆菌、枯草芽孢杆菌及猪链球菌。大肠杆菌、枯草芽孢杆菌菌株接种到LB固体培养基上,猪链球菌接种到

收稿日期:2011-06-03 \* 通讯联系人

作者简介:邵静(1987-),女,在读硕士,研究方向:果树生理及分子生物学。

基金项目:农业部公益性行业专项(201003058)。

THB培养基上,37℃培养24h,用接种环从培养基上挑取单一菌落至MH培养基,37℃培养至菌液浓度达到所需浓度。

菌悬液的制备: 无菌操作下将上述培养的细菌调至0.5麦氏比浊单位,用于实验。

### 1.2.3 滤纸片扩散法测定梅果实浸提液的抑菌圈<sup>[8-9]</sup>

1.2.3.1 梅果实浸提液药敏纸片的制备 取定量滤纸,用打孔机制成直径为6mm的圆形纸片,高压灭菌后烘干备用。取10片滤纸片置于无菌管内,加入100μL待测果梅浸提液浸泡,待其全部吸收后用于纸片扩散实验。以浸提剂浸泡的滤纸片做空白对照。

1.2.3.2 接种培养 在无菌操作下,取200μL菌悬浮液置于无菌平皿中,用无菌三角玻璃棒涂布均匀,用无菌镊子将浸在果梅浸提液中的无菌滤纸片贴于涂布细菌的平皿中,一个平皿可以贴7个滤纸片,即在平皿中间贴一片对照,在周围等距离贴六片果梅浸提液的滤纸片,每个样品重复三次。放于37℃培养箱内培养24h,采用十字交叉法测定抑菌圈大小。

1.2.4 梅果实浸提液最小抑菌浓度的测定 采用CLSI推荐的微量两倍稀释法进行。将96孔平板置于超净工作台上,开紫外照射2~3h,将待测菌液稀释至0.5麦氏比浊单位,分别在第一排孔加入180μL,其余孔加入100μL,取20μL果梅浸提液加入第一孔,混匀后吸100μL加入第二孔,混匀,吸100μL加入第三孔,混匀,照此规律依次加样到第11孔,取100μL,弃去,第12孔不加待测浸提液,作为对照,以浸提剂作阴性对照,重复2~4次,将平板置于37℃培养箱内培养24h,观察结果。

### 1.3 数据处理

实验数据采用SPSS 17.0软件进行方差分析。

## 2 结果与分析

### 2.1 不同浸提剂提取对抑菌活性的影响

实验采用“软条红梅”果实为实验材料,测定不同浸提剂浸提对大肠杆菌、枯草芽孢杆菌和猪链球菌抑菌活性的影响。由表1结果可知,采用不同溶剂浸提,软条红梅对3种实验菌种的抑菌活性存在一定的差异。通过Duncan方法比较发现,不同的浸提液对大肠杆菌的抑菌活性不同,其中无菌水提取液与甲醇、乙醇、丙酮和正己烷提取液存在显著性差异。不同提取液对枯草芽孢杆菌的抑菌活性也存在显著性差异。其中丙酮提取液与正己烷提取液无显著性差异,与无菌水、甲醇和乙醇提取液存在显著性差异。不同浸提液对猪链球菌的抑菌活性存在一定的差异,其中无菌水、甲醇、乙醇和丙酮浸提液抑菌活性无显著性差异,正己烷浸提液与其他四种提取液抑菌活性存在显著性差异(表1)。综上所述,采用正己烷作为浸提剂抑菌效果最好。

“软条红梅”不同浸提液对3种实验菌种的最小抑菌浓度存在一定的差异,其中对大肠杆菌和枯草芽孢杆菌的最小抑菌浓度较小,而对猪链球菌的最小抑菌浓度较大。通过Duncan方法对MIC结果比较发现:梅果实不同浸提液对三种细菌的最小抑菌浓度存在差异,其中采用甲醇、乙醇、丙酮和正己烷浸提对大肠杆菌的抑菌活性无显著性差异,但与无菌水浸提液存

在显著性差异,梅果实不同浸提液对枯草芽孢杆菌和猪链球菌的抑菌活性存在差异,最小抑菌浓度最小的是正己烷浸提液。另在K-B纸片扩散实验中发现甲醇、乙醇、丙酮等溶液对三种细菌有抑制作用,但在培养基连续稀释实验中发现这三种溶剂对三种测试菌种没有抑制作用,这可能是因为这三种溶剂高浓度对细菌有抑制作用,低浓度没有抑制作用(表1)。综上所述,正己烷浸提液的最小抑菌浓度最小,抑菌效果最好,这与K-B纸片扩散所得结论一致。

表1 软条红梅不同浸提液抑菌圈直径及最小抑菌浓度

浸提剂	抑菌圈直径(mm)			MIC(g/mL)		
	<i>E. coli</i>	<i>B. subtilis</i>	<i>S. suis</i>	<i>E. coli</i>	<i>B. subtilis</i>	<i>S. suis</i>
无菌水	7.0a	7.0a	9.2a	0.075b	0.050bc	0.100b
甲醇	10.7b	7.0a	8.5a	0.038a	0.062c	0.100b
乙醇	10.3b	7.0a	8.7a	0.038a	0.025ab	0.100b
丙酮	10.3b	9.7b	9.7a	0.038a	0.025ab	0.100b
正己烷	11.0b	9.5b	12.3b	0.025a	0.005a	0.050a

注:不同小写字母表示LSD检验在5%水平上差异显著;表2同。

### 2.2 不同品种及不同浸提方法浸提抑菌活性的比较

实验比较了“软条红梅”和“小叶猪肝”两个品种梅果实常温浸提和高温浸提的抑菌活性,实验结果如表2所示。采用“软条红梅”和“小叶猪肝”两个品种对3种实验菌种的抑菌活性存在一定的差异,“软条红梅”对3种细菌的抑菌活性高于“小叶猪肝”,但方差分析的结果表明,两个品种果实浸提液对大肠杆菌的抑菌活性存在显著性差异,而对枯草芽孢杆菌和猪链球菌的抑菌活性无显著性差异(表2)。

采用常温浸提和高温浸提两种浸提方法所得的梅果实浸提液对3种实验菌种的抑菌活性存在一定的差异,但方差分析的结果表明这两者之间无显著性差异,这说明浸提方法对梅果实浸提液的抑菌效果无影响(表2)。

由表2可知,“软条红梅”和“小叶猪肝”两个品种梅果实常温和高温两种浸提条件下的最小抑菌浓度存在一定的差异,通过Duncan方法比较发现,相同浸提条件下两者对大肠杆菌的抑菌活性无显著性差异,同一品种梅果实不同浸提方法浸提所得浸提液其抑菌活性存在显著性差异;高温浸提时,两个品种梅果实对枯草芽孢杆菌的抑菌活性存在显著性差

表2 两个品种浸提液的抑菌圈直径和最小抑菌浓度

浸提液种类	抑菌圈直径(mm)			MIC(g/mL)		
	<i>E. coli</i>	<i>B. subtilis</i>	<i>S. suis</i>	<i>E. coli</i>	<i>B. subtilis</i>	<i>S. suis</i>
常温+小叶猪肝	11.7ab	9.0a	9.0a	0.038b	0.025c	0.075b
高温+小叶猪肝	10.3a	9.7a	9.0a	0.025ab	0.019b	0.050a
常温+软条红梅	13.7b	10.5a	11.0a	0.038b	0.025c	0.100c
高温+软条红梅	13.7b	11.8a	12.2a	0.019a	0.013a	0.050a

异, 常温浸提时两者抑菌活性无显著性差异, 而对猪链球菌的抑菌活性刚好相反。

### 3 讨论

关于梅抑菌方面的研究大部分集中于梅的根、茎、叶、花和种子及其加工品乌梅, 对于梅果实的相关研究较少, 本实验主要针对“小叶猪肝”和“软条红梅”两个品种梅果实的不同浸提液的抑菌活性进行了研究, 研究结果表明梅果实浸提液对三种细菌均有抑制作用, 但不能说明其具有广谱杀菌作用。另外, 前人关于梅果实的抑菌作用的研究大多集中于青梅, 对于红梅的研究鲜有报道。

梅果实浸提液对供试的三种细菌均有抑制作用, 但对不同的细菌其抑制作用不同, 其中对大肠杆菌和枯草芽孢杆菌的抑制作用较强, 这与陈虹等<sup>[9]</sup>的研究一致, 对猪链球菌的抑制作用较小, 这方面的研究未见报道。

采用不同的浸提剂浸提, 其抑菌活性不同, 研究发现以正己烷作为浸提剂浸提抑菌活性较高, 丙酮次之, 在本研究中采用K-B纸片扩散法和培养基连续稀释法测定梅果实浸提液的抑菌活性, 以浸提剂为阴性对照。但研究发现在K-B纸片扩散实验中, 丙酮、乙醇和甲醇对细菌有抑菌作用, 但采用培养基连续稀释法测定最小抑菌浓度的实验中发现, 这三种溶液对三种细菌无抑制作用, 可能是因为这三种溶剂在高浓度下对细菌有抑制作用, 浓度过低则无抑制作用, 也可能是在培养基连续稀释培养过程中溶剂挥发, 因此无抑制作用。

本实验中采用常温浸提和90℃高温浸提, 通过分析发现两种浸提方法产生的梅果实浸提液抑菌活性在P=0.05时差异不显著, 但最小抑菌浓度差异显著, 且高温浸提最小抑菌浓度较常温浸提低, 其中含量最低的是0.013mg/mL。

在本实验中比较了生产上常用的“小叶猪肝”和“软条红梅”两个品种梅果实的丙酮浸提液的抑菌活性, 不同品种的梅果实的抑菌活性可能存在一定的差异, 但只在某些条件下差异显著, 袁晓红等<sup>[10]</sup>对不同品种杨梅的抑菌活性进行比较发现, 不同品种的杨梅对甲型副伤寒沙门氏菌的抑菌活性有一定的差异, 但没有显著性的差异, 目前在果梅上未见相关报道, 因此还需深入研究。

(上接第104页)

2003, 2(1): 1-6.

[10] BUTLERA R. The jaffe reaction: Identification of the colored species[J]. Clinica Chimica Acta, 1975, 59(2): 227-232.

[11] KOHASHI K, TSURUTAY, YAMAGUCHIM, et al. Mechanism of the color reaction of active methylene compounds with 1, 3, 5-trinitro-benzene derivatives. XI. the jaffe reaction[J]. Chem Pharm Bull, 1979, 27: 2122-2129.

[12] 曾佑林, 许满才, 朱爱玲, 等. 凝胶型交联聚苯乙烯-异氰尿酸树脂对酚类物质的吸附机理研究[J]. 离子交换与吸附, 2001, 17(2): 110-116.

[13] Dai Xiaofeng, Fang Guizhen. Preparation of

在本实验中采用了微量两倍稀释法测定最小抑菌浓度, 这之前陈虹等<sup>[9]</sup>、李跃等<sup>[11]</sup>所采用的方法不同, 这种方法具有简便、快捷、便于操作等优点。

### 4 结论

实验结果表明, 梅果实浸提液对大肠杆菌、枯草芽孢杆菌和猪链球菌有抑制作用, 综合比较发现以正己烷作浸提剂浸提抑菌活性最好, 丙酮次之, 在今后的研究中可以选用这两种溶剂浸提。采用不同的浸提方法对三种待测菌的抑菌活性相差不大, 在今后的研究中可以不予考虑。本研究中比较了“小叶猪肝”和“软条红梅”两个品种梅果实的抑菌活性, 但对于其他品种抑菌活性是否一致还需进一步的研究。

### 参考文献

[1] 褚孟娜. 中国果树志[M]. 北京: 中国林业出版社, 1999.

[2] 刘琼, 张跃廷. 青梅资源及其综合利用[J]. 酿酒, 2001, 28(6): 68-69.

[3] 沈红梅, 程涛, 桥传卓. 乌梅的体外抗肿瘤活性及免疫调节作用初探[J]. 中国中药杂志, 1995(6): 365-368.

[4] 吴传茂, 吴周和, 陈士英. 乌梅提取液的抑菌作用研究[J]. 食品工业, 2000(3): 11-13.

[5] 陈虹, 王晓芳, 陈鑫, 等. 青梅抑菌作用及其抑菌成分的分

离鉴定[J]. 食品科技, 2008, 33(12): 223-228.

[6] Sriwilaijaroen N, Kadowaki A, Onishi Y, et al. Mumeferul and related HMF derivatives from Japanese apricot fruit juice concentrate show multiple inhibitory effects on pandemic influenza A(H1N1) virus[J]. Food Chemistry, 2011, 127(1): 1-9.

[7] Xia DZ, Wu XQ, Shi JY, et al. Phenolic compounds from the edible seeds extract of Chinese Mei (Prunus mume Sieb. et Zucc) and their antimicrobial activity[J]. LWT-Food Science and Technology, 2011, 44: 347-349.

[8] 李天东, 罗英, 李俊刚. 芦荟等7种常见药食两用中药对蜡状芽孢杆菌杀伤能力的研究[J]. 安徽农业科学, 2008, 36(35): 15514-15515.

[9] 曾祥吉, 李东霞. 中药抑菌实验方法的研究[J]. 现代中西医结合杂志, 2011, 20(4): 518-520.

[10] 袁晓红, 姚卫蓉. 不同品种和成熟度的杨梅抑菌活性研究[J]. 食品科技, 2010, 35(6): 207-209.

[11] 李跃, 侯滨滨, 静宝元. 葡萄柚精油抑菌活性的研究[J]. 食品研究与开发, 2010, 31(11): 237-240.

Carboxymethylcellulose Picric Acid Ester and Adsorption Property for Creatinine[C]. Environment Materials and Environment Management. Harbin, 2010, 6: 1955-1958.

[14] 楼书聪, 杨玉玲. 化学试剂配制手册[M]. 南京: 江苏科学技术出版社, 2002: 1279-1283.

[15] 王献玲. 3, 5-二硝基苯甲酸氧化纤维素酯的制备及其对尿毒症毒素的吸附性能研究[D]. 哈尔滨: 东北林业大学, 2007.

[16] 杨冬芝, 于九皋. 3, 5-二硝基苯甲酸淀粉酯对肌酐的吸附机理[J]. 天津大学学报, 2004, 37(10): 857-862.

[17] 肖玉梅, 李楠, 傅滨. 维生素B<sub>6</sub>-人体“建筑师”[J]. 大学化学, 2010, 25(1): 57-61.