

三种红树植物醇提取物抗菌及抗氧化活性研究

李进强, 卢国洪, 邱建鹏, 温建立, 肖晓生, 范秀萍*, 章超桦
(广东海洋大学食品科技学院, 广东湛江 524088)

摘要:比较3种红树植物黄槿、白骨壤、桐花树不同溶剂萃取物体外对5种常见细菌的抑菌作用与清除自由基作用。利用乙醇浸提法和溶剂萃取法提取分离,得到4种不同溶剂萃取物。以5种常见的细菌作为供试菌,采用纸片扩散法、微孔板2倍稀释法比较3种红树植物萃取物的抑菌活性。采用硫酸亚铁-水杨酸法氧化法、DPPH反应法和邻苯三酚自氧化法比较体外清除自由基作用。结果显示:3种红树植物萃取物对5种供试细菌的抑菌活性的强弱顺序为黄槿>白骨壤>桐花树。水萃取物的抑菌效果较其他显著。3种红树植物水萃取物对金黄色葡萄球菌的MIC在11.2~15.6 mg/mL之间。清除自由基的强弱依次为DPPH自由基>超氧阴离子自由基>羟基自由基。桐花树具有较强的DPPH自由基清除作用,且乙酸乙酯萃取物>正丁醇萃取物>石油醚萃取物、水萃取物。结果表明黄槿水萃取物具有极强的抑菌作用,极性很强;而桐花树乙酸乙酯萃取物具有较强的清除DPPH自由基作用。

关键词:黄槿, 白骨壤, 桐花树, 抗菌活性, IC_{50}

Comparision on antibacterial and antioxidant activities of ethanol extracts from three mangrove species

LI Jin-qiang, LU Guo-hong, QIU Jian-peng, WEN Jian-li, XIAO Xiao-sheng,
FAN Xiu-ping*, ZHANG Chao-hua

(College of Food Science and Technology, Guangdong Ocean University, Zhanjiang 524088, China)

Abstract: To investigate the antibacterial and antioxidant activities *in vitro* of extracts from 3 mangroves including *Hibiscus tiliaceus*, *Avicennia marina*, *Aegiceras corniculatum*. Four kinds of different solvent extracts were extracted by ethanol extraction and then solvent separation. The inhibition zone and minimal inhibitory concentration (MIC), were used to detect the antibacterial activities, and determined by disk diffusion method and broth microdilution method. The scavenging effect to the hydroxyl radical, superoxide radical and DPPH was detected with the oxidation of ferrous sulfate-salicylic acid, self-oxidation of pyrogallol acid system and DPPH system, respectively. The results showed that the antibacterial effect on 5 species of common pathogens were *H. tiliaceus*>*A. marina*>*A. corniculatum*. Inhibitory effect of water extracts was higher than other extracts significantly. All of water extracts from 3 kinds of mangroves had good bacteriostatic effect on *Staphylococcus aureus* (for the MIC ranging in 11.2~15.6 mg/mL). The free radical scavenging effect was DPPH>superoxide free radical>hydroxyl radical. *A. corniculatum* had more stronger effect on DPPH free radical scavenging, four kinds of solvent extracts of *A. corniculatum* had strong scavenging effects, and the ethyl acetate extract>n-butanol extract>petroleum ether extract, water extract. The results showed that the antibacterial activity of extract from *H. tiliaceus* was mainly in the water extract, and the ethyl acetate extract from *A. corniculatum* had strong scavenging effect of DPPH free radical.

Key words: *Hibiscus tiliaceus*; *Avicennia marina*; *Aegiceras corniculatum*; antimicrobial activity; 50% inhibitory concentration

中图分类号: TS201.1

文献标识码: A

文章编号: 1002-0306(2016)04-0173-05

doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2016.04.026

湛江市是我国大陆红树林种类最多的地区,其中分布最广、数量最多的为白骨壤、桐花树、红海榄、

黄槿、秋茄和木榄等^[1]。研究表明,红树植物的枝、叶及皮等含有萜类、苯醌、丁香醛、鞣质、多糖、黄铜、生

收稿日期: 2015-06-15

作者简介: 李进强(1991-),男,大学本科,研究方向:食品科学与工程, E-mail: woshilijinqiang@qq.com。

* 通讯作者: 范秀萍(1979-),女,硕士,讲师,研究方向:海洋生物活性物质, E-mail: fanxp08@163.com。

基金项目: 国家863计划项目子课题(2013AA092902); 2014年广东海洋大学大学生创新创业训练计划项目(CXXL2014034)。

物碱、单宁等多种活性化学成分,具有抗肿瘤、抗艾滋病、抗炎症等多方面的药理活性。

黄槿(*Hibiscus tiliaceus*)系锦葵科木槿属植物,我国主要产于台湾、广西、广东等地,且被《全国中草药汇编》收录,记为红树林药用植物。其叶、树皮和花均可入药。黄槿性甘、淡,微寒,有清热解毒,散瘀消肿的功效。民间用于医治木薯中毒,外用治疮疖肿毒。黄槿还可作为祛痰剂和利尿剂^[2-3]。白骨壤(*Avicennia marina*)系马鞭草科白骨壤属植物,主要分布于海南、广东、广西、福建等地,资源丰富,其味甘、微苦、性凉,具有清热、利尿、凉血败火的功效,为食药两用食品。在民间,白骨壤的叶捣烂外敷,可治脓肿。桐花树(*Aegiceras corniculatum*)系紫金牛科桐花树属植物,主要分布在广西、广东、福建和南海诸岛,是传统的中药,树叶和树皮可入药,有治疗糖尿病、风湿和哮喘等疾病的作用^[4-5]。

红树植物是一种特殊而且重要的海洋植物资源。黄槿、白骨壤、桐花树在湛江的资源都相当丰富,但是合理利用开发较少。本论文以采集湛江地区的黄槿、白骨壤、桐花树的枝、叶、花为原料,采用不同溶剂萃取,比较不同的萃取物的体外抗菌与抗氧化活性,为其活性成分的分离与开发利用提供依据。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

黄槿(*Hibiscus tiliaceus*)、白骨壤(*Avicennia marina*)、桐花树(*Aegiceras corniculatum*) 采自广东湛江麻章区湖光镇红树林保护区,采集枝、叶与花,切成2~3 cm小段、自然晒干后打粉;枯草芽孢杆菌(*Bacillus subtilis*)、大肠杆菌(*Escherichia coli*)、金黄色葡萄球菌(*Staphylococcus aureus*)、苏云金杆菌(*Bacillus thuringiensis*)、肠细菌(*Enteric bacteria*)以上菌种均由广东海洋大学微生物实验室提供;营养琼脂、营养肉汤 北京陆桥技术有限责任公司;TTC 广州环凯微生物试剂公司;乙醇、石油醚、乙酸乙酯、正丁醇 均为分析纯,天津市嘉宇精细化工有限公司。

Thermo全自动酶标仪 赛默飞世尔科技(中国)有限公司;R-1005旋转蒸发器 郑州长城科工贸有限公司;RT-34连续投料粉碎机 北京维博创机械有限公司;SW-CJ-2FD超净工作台、YXQ-LS-18SI手提式压力蒸汽灭菌锅 上海博迅实业有限公司医疗设备厂;SLI-700恒温培养箱 上海爱朗仪器有限公司。

1.2 实验方法

1.2.1 红树植物不同溶剂萃取物的制备 干燥粉碎的红树林样品用95%的乙醇溶液按料液比1:15(w/v)室温浸泡,滤渣依次再用1:10、1:5的95%乙醇溶液浸提,合并3次提取液减压浓缩得浸膏。将浸膏按1:5(w/v)悬于水中,分别用等体积的石油醚、乙酸乙酯和正丁醇萃取,获得石油醚萃取物、乙酸乙酯萃取物、正丁醇萃取物及水萃取物。

1.2.2 不同溶剂萃取物抑菌圈测定

1.2.2.1 制备受试的各药液 取不同溶剂提取的最

终膏状萃取物各12.5 g,以灭菌蒸馏水25 mL配制为浓度0.5 g/mL的药液,并在121 °C下高压灭菌20 min。4 °C保存备用。

1.2.2.2 制备药物纸片 在无菌工作台中,将直径为6 mm灭菌圆滤纸片浸于各种药液中10 min。铺于无菌培养皿中烘干制成药纸片。

1.2.2.3 制备实验菌液 将所得的菌种接种于营养肉汤中,于37 °C恒温箱中培养24 h,使其各菌株活化。将活化后的菌种,用平板划线法接种于营养琼脂培养基中,置于37 °C恒温箱中培养24 h。在无菌环境下,挑取多环菌台或者孢子,用无菌生理盐水稀释至浓度为10⁶ cfu/mL的菌悬液,保存于4 °C冰箱中备用。

1.2.2.4 纸片扩散法测定抑菌圈 在无菌环境下,用移液枪吸取1 mL实验菌液,置于灭菌后的培养皿中,再倒入无菌肉汤培养液,轻轻摇匀,制成含菌的肉汤琼脂培养基。将浸泡过药液的药纸片,贴在培养基表面上。并用少量无菌水固定纸片。置于37 °C恒温箱中培养24 h后,观察结果。抑菌圈实验判定标准^[6]:抑菌圈直径大于20 mm,极敏;15~20 mm,高敏;10~15 mm,中敏;7~9 mm,低敏;小于7 mm,不敏感。

1.2.3 微孔板2倍稀释法测定MIC 在无菌环境下,用移液枪吸取50 μL无菌营养肉汤于96孔板中的每个孔中。然后在吸取50 μL浓度0.5 g/mL的药液于第一排中,混匀后,吸走50 μL置于第二孔中,混匀后吸走50 μL置于第三孔中,重复该步骤。至最后一个孔吸50 μL弃掉。每个孔中体积大约有50 μL。取10⁶ cfu/mL的菌悬液和适量的5% TTC溶液于无菌离心管中,混匀后,用移液枪取50 μL混合液于96孔板的相应微孔中。保证每个孔的体积大概是100 μL。并且每个微孔板都必须设立对照,每个样品做2个平行。最后,将微孔板置于37 °C恒温箱中培养24 h后,观察结果。若微孔中有细菌生长,则显红色,不显红色则没有细菌生长。以第一个不出现红色的为最小杀菌浓度^[7]。

1.2.4 DPPH自由基清除活性测定 各样品配制系列质量浓度,根据文献[8]报道,设空白组(DPPH无水乙醇溶液+2 mL超纯水),试样组(DPPH无水乙醇溶液+2 mL不同质量浓度试样溶液)和参比组(无水乙醇溶液+2 mL不同质量浓度试样溶液),加样后暗处放置60 min,在波长517 nm处测定吸光度。V_c为阳性对照,根据式(1)计算清除率,并计算半数清除率质量浓度(IC₅₀)。

$$\text{DPPH自由基清除率}(\%) = \frac{A_0 - (A_x - A_{x_0})}{A_0} \times 100 \quad \text{式(1)}$$

式中:A₀为空白组吸光度,A_x为试样组吸光度,A_{x₀}为参比组吸光度。

1.2.5 超氧阴离子自由基清除活性测定 采用邻苯三酚自氧化法。根据文献[9]报道方法,取pH为8.2的Tris-HCl缓冲液100 μL和20 μL的待测物于干净的96孔板中,然后加入蒸馏水将溶液体积补充至194 μL,轻轻振荡摇匀,随后放入25 °C恒温箱中保温20 min,取出后立即加入6 μL在25 °C预热过的3 mmol/L邻苯三酚,快速摇匀后放入酶标仪测定吸光值,用10 mmol/L

HCL作为空白液。在波长为319.5 nm下,每间隔1 min测吸光值一次,重复九次用时长9 min,以吸光值A和与之对应的反应时间t作线性关系图,求出斜率为Vt,根据式(2)计算清除率。以V_c为阳性对照。并计算半数清除率质量浓度(IC₅₀)。

$$\text{清除率}(\%) = \left(1 - \frac{V_t - V_0}{V_0}\right) \times 100 \quad \text{式(2)}$$

式中:V_t—加入待测物的邻苯三酚自氧化速率;V—加入待测物溶剂后的邻苯三酚自氧化速率;V₀—空白对照的邻苯三酚自氧化速率。

1.2.6 羟基自由基·OH清除作用测定 采用硫酸亚铁—水杨酸法^[10]。在10 mL比色管中依次加入7.5×10⁻³ mol/L的硫酸亚铁铵1 mL,7.5×10⁻³ mol/L的水杨酸1 mL,0.3%的过氧化氢1 mL后,同一浓度不同体积的提取液分别加入比色管中定容,同时在另外7个比色管中依次加入对应体积的提取液定容到10 mL扣除背景,静置30 min后,测定样品提取液在510 nm处的吸光度值,根据公式(3)计算自由基清除率,并计算半数清除率质量浓度(IC₅₀)。

$$\text{清除率}(\%) = (A_{\text{对}} - A_{\text{样}}) / A_{\text{对}} \times 100 = [(A_{\text{对}} - A_{\text{参}}) - (A_{\text{样}} - A_{\text{样参}})] / (A_{\text{对照}} - A_{\text{参比}}) \times 100 \quad \text{式(3)}$$

式中:A_{参比}—加入Fe²⁺,H₂O₂后的吸光度值;A_对—加入Fe²⁺,H₂O₂,水杨酸后的羟基自由基体系的吸光度值;A_{样参}—加入Fe²⁺,H₂O₂,不同提取液后的吸光度;A_样—加入Fe²⁺,H₂O₂,不同提取液,水杨酸后的羟基自由基体系的吸光度值。

1.3 数据处理

采用SPSS 17.0软件进行数据处理和分析。数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,不同数据间用t检验作统计学分析。

2 结果与分析

2.1 三种红树植物的提取率比较

由表1可知,三种红树植物中,乙醇提取率最高的是桐花树,其次为白骨壤,黄槿的乙醇提取率最低;但黄槿的各有机溶剂萃取率相对较高。

2.2 三种红树植物不同溶剂萃取物抑菌活性比较

2.2.1 三种红树植物不同溶剂萃取物对5种细菌的

表1 三种红树植物醇提取物有机溶剂萃取率(%)

Table 1 The extraction rate of three species of mangrove plants (%)

种类	黄槿	白骨壤	桐花树
乙醇浸提物 ^a	4.58	6.43	11.69
石油醚萃取物 ^b	12.4	3.3	5.1
乙酸乙酯萃取物 ^b	12.6	4.1	7.2
正丁醇萃取物 ^b	10.4	4.3	11.3
水萃取物 ^b	16.7	6.1	13.7

注:a:占原料的质量百分比;b:占乙醇浸膏的质量百分比。

抑菌圈 采用了纸片扩散法对石油醚、乙酸乙酯、正丁醇、水萃取物进行了抑菌实验,效果见表2。从表2中可以看出,各红树植物水萃取物和正丁醇萃取物的抑菌活性较明显。

黄槿石油醚萃取物对5种常见细菌抑菌圈低于7 mm,显示无明显抑菌作用;乙酸乙酯萃取物对金黄色葡萄球菌无明显抑制作用,对其他4种细菌显示低抑制作用(抑菌圈直径在7~8 mm之间);而正丁醇萃取物与水萃取物对5种细菌均显示中等到强的抑制作用(抑菌圈直径在10~21 mm之间);其中水萃取物对金黄色葡萄球菌与苏云金杆菌具有极强的抑制作用,抑菌圈直径分别达到20.47 mm和20.75 mm。

桐花树石油醚萃取物仅对金黄色葡萄球菌具有中等强度抑制作用,抑菌圈直径达到12.28 mm,对其他4种细菌抑菌圈直径均小于7 mm,无明显抑制作用;其他三种萃取物对5种细菌的抑菌圈直径在7~10 mm之间,显示低强度抑制作用。

从3种红树植物对5种常见细菌的抑菌圈直径比较,抑菌活性依次为:黄槿>白骨壤>桐花树。从5种常见细菌的抑菌圈看,革兰氏阳性菌的抑菌圈普遍比革兰氏阴性菌明显。

2.2.2 三种红树植物水萃取物对金黄色葡萄球菌的MIC 由表2可知,黄槿、桐花树、白骨壤的水萃取物对金黄色葡萄球菌的作用比较敏感,因此对3种红树植物水萃取物进行MIC测定。采用了微孔法测MIC,结果

表2 3种红树植物不同溶剂萃取物对5种常见细菌的抑菌圈直径(mm)

Table 2 Inhibition zone diameter of 3 mangrove species to 5 kinds of pathogenic bacteria (mm)

红树植物	萃取物	金黄色葡萄球菌	枯草芽孢杆菌	大肠杆菌	苏云金杆菌	肠细菌
黄槿	水萃取物	20.47±0.36	18.22±0.35	16.30±0.52	20.75±0.33	16.01±0.55
	正丁醇萃取物	18.78±0.33	15.4±0.23	10.55±0.32	15.3±0.24	14.03±0.23
	乙酸乙酯萃取物	-	7.43±0.14	7.4±0.21	7.9±0.3	7.01±0.14
	石油醚萃取物	-	-	-	-	-
白骨壤	水萃取物	12.50±0.22	10.73±0.30	8.4±0.73	12.45±0.55	9.2±0.23
	正丁醇萃取物	12.01±0.52	10.73±0.33	7.3±0.62	8.25±0.64	8.15±0.24
	乙酸乙酯萃取物	7.90±0.12	-	7.3±0.34	8.35±0.33	-
	石油醚萃取物	-	11.55±1.02	9.5±0.33	12.05±0.37	11.08±0.33
桐花树	水萃取物	8.73±0.80	9.6±0.36	7.4±0.56	9.9±0.36	10.03±0.25
	正丁醇萃取物	9.40±0.20	8.05±0.37	7.6±0.47	8.33±0.55	9.70±0.21
	乙酸乙酯萃取物	9.01±0.13	8.38±0.52	7.6±0.81	9.83±0.23	7.58±0.41
	石油醚萃取物	12.28±0.16	-	-	-	-

注:-:表示抑菌圈直径小于7 mm,无明显抑制作用。

见图1。由图1可知,3种红树植物水萃取物对金黄色葡萄球菌的MIC在11.2~15.6 mg/mL之间。从3种红树植物对金黄色葡萄球菌的效果来看,黄槿>白骨壤>桐花树。与纸片扩散法中所测得结果相符。其中黄槿抑菌效果较好, MIC为11.2 mg/mL。而白骨壤和桐花树对黄色葡萄球菌的抑菌效果相当,均为15.6 mg/mL。

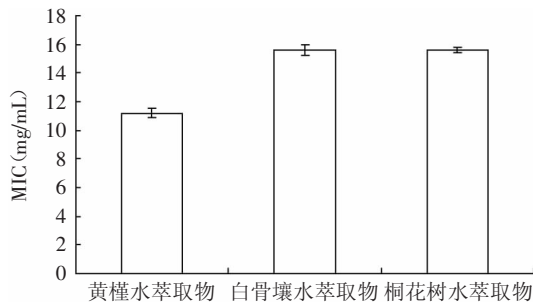


图1 3种红树植物水萃取物对金黄色葡萄球菌的MIC测定结果
Table 1 MIC of 3 mangrove species against *S.aureus*

2.2.3 黄槿水萃取物对5种细菌的抑制作用 由于黄槿水萃取物对5种细菌的抑菌效果明显,因此选择黄槿水萃取物对5种细菌采用了微孔法测MIC,结果见图2。黄槿水萃取物对5种细菌的MIC在11.2~62.5 mg/mL之间。黄槿水萃取物对枯草芽孢杆菌的MIC较大,抑菌效果不明显。

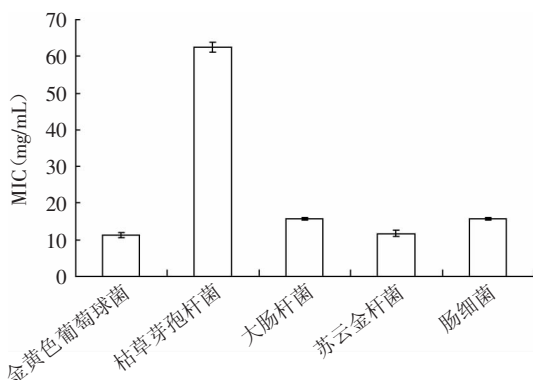


图2 黄槿水萃取物对5种细菌的MIC
Fig.2 MIC of water extracts from *H.tiliceus* against 5 species of pathogenic bacteria

由红树植物4种不同溶剂萃取物对5种细菌的抑菌圈直径来看,红树植物的水萃取物的抑菌圈较明显。对3种红树植物不同萃取物对5种细菌的抑菌圈直径进行比较,抑菌效果依次是黄槿、白骨壤、桐花树。而其中黄槿的水萃取物抑菌效果最明显。而且,3种红树植物水萃取物对金黄色葡萄球菌的MIC在11.2~15.6 mg/mL之间,均表现出较好的抑菌活性。另外,从3种红树植物对金黄色葡萄球菌的效果来看,黄槿>白骨壤>桐花树。黄槿水萃取物对5种细菌的MIC在11.2~62.5mg/mL之间,可知黄槿对金黄色葡萄球菌、苏云金杆菌的抑菌效果较好。因此,黄槿最具有作为抗菌药物植物的开发潜力。

目前,从桐花树中分离得到的化合物类为三萜

烯类、醌类、单宁、甾醇类、有机酸类、糖苷类^[4-5]。从白骨壤植物中分离得到的化合物类型主要为环烯醚萜苷、茶醌、甾体、黄酮和三萜类化合物^[11-12],黄槿中主要有三萜、甾醇、黄酮、木脂素等^[13-14]。三种红树植物中均含有萜类化合物。冯超等对黄槿中单体化合物的抗菌活性进行了检测,发现仅一种新的倍半萜类化合物(由乙酸乙酯相分离得到)表现微弱的抗金黄色葡萄球菌活性,抑菌圈直径为8 mm^[15]。在本实验中发现抑菌作用较强均在水萃取物中,乙酸乙酯相的抗菌作用较弱。

2.3 3种红树植物萃取物体外清除自由基作用的比较

黄槿、白骨壤和桐花树三种醇提物经不同有机溶剂萃取所得组分对DPPH、羟基和超氧阴离子自由基清除作用的IC₅₀值分别见表3~表5。

由表3可知,黄槿石油醚萃取物与乙酸乙酯萃取物对DPPH自由基和超氧阴离子自由基的清除作用IC₅₀值均小于1.0 mg/mL,显示较强的清除自由基作用,而对羟基自由基的清除作用IC₅₀值大于1.0 g/mL,清除作用较弱,对3种自由基清除作用的强弱依次为: DPPH自由基、超氧阴离子自由基和羟基自由基;正丁醇萃取物显示较强的清除羟基自由基作用, IC₅₀值为0.98 mg/mL,对3种自由基清除作用的强弱依次为:羟基自由基、DPPH自由基和超氧阴离子自由基;水萃取物对DPPH自由基的清除作用最强, IC₅₀值为1.98 mg/mL,其次为超氧阴离子自由基和羟基自由基。

表3 黄槿提取物对三种自由基清除作用的IC₅₀(mg/mL)
Table 3 IC₅₀ scavenging effects of the various extractions from *H. tiliceus* on free radicals(mg/mL)

	DPPH自由基	羟基自由基	超氧阴离子自由基
V _c	0.059	0.48	0.01
石油醚萃取物	0.13	2097.19	0.56
乙酸乙酯萃取物	0.44	1968.06	0.82
正丁醇萃取物	1.36	0.98	1.80
水萃取物	1.98	89.50	2.55

由表4可知,白骨壤乙酸乙酯、正丁醇和水萃取物对DPPH自由基具有极强的清除作用, IC₅₀值小于0.1 mg/mL,其中以正丁醇萃取物清除作用最强, IC₅₀值为0.01 mg/mL,而石油醚萃取物对DPPH自由基的清

表4 白骨壤提取物对三种自由基清除作用的IC₅₀(mg/mL)
Table 4 IC₅₀ scavenging effects of the various extracts from *A. marina* on free radicals(mg/mL)

	DPPH自由基	羟基自由基	超氧阴离子自由基
V _c	0.059	0.48	0.01
石油醚萃取物	-	1451.00	1.85
乙酸乙酯萃取物	0.06	2.71	0.69
正丁醇萃取物	0.01	1.63	1.74
水萃取物	0.07	2.25	161.40

注:-:表示清除作用较弱,不能计算IC₅₀值;表5同。

除作用较弱。对超氧阴离子自由基的清除作用中乙酸乙酯萃取物清除效果最强, IC_{50} 值为 0.69 mg/mL, 其次分别为正丁醇萃取物、石油醚萃取物和水萃取物。对羟基自由基的清除作用中也以石油醚萃取物的清除作用最弱, 其他 3 种萃取物均显示一定的清除作用。

由表 5 可知, 桐花树 4 种萃取物均显示较强的清除 DPPH 自由基作用, IC_{50} 值均为小于 0.1 mg/mL, 其中乙酸乙酯萃取物与正丁醇萃取物的 IC_{50} 值均低于对照 V_c 。对羟基自由基的清除自由中以石油醚萃取物清除作用最强, IC_{50} 值为 0.043 mg/mL, 其次为正丁醇萃取物。桐花树的水萃取物对超氧阴离子自由基的清除作用较弱, 清除作用最强的是正丁醇萃取物, IC_{50} 值为 0.84 mg/mL。

表 5 桐花树提取物对三种自由基清除作用的 IC_{50} (mg/mL)
Table 5 IC_{50} scavenging effects of the various extracts from *A.corniculatum* on free radicals (mg/mL)

	DPPH 自由基	羟基自由基	超氧阴离子 自由基
V_c	0.059	0.48	0.01
石油醚萃取物	0.059	0.043	10.25
乙酸乙酯萃取物	0.012	3.36	3.33
正丁醇萃取物	0.035	0.59	0.84
水萃取物	0.059	6.53	-

由 3 种红树植物 4 种溶剂萃取物对 3 种自由基清除作用的 IC_{50} 值可以看出, 桐花树提取物清除自由基作用最强。而对 3 种自由基清除作用的强弱依次为 DPPH 自由基 > 超氧阴离子自由基 > 羟基自由基。

对 DPPH 自由基清除作用中, 桐花树 4 种溶剂萃取物和白骨壤除石油醚之外的 3 种溶剂萃取物均显示极强的清除作用, 其清除效果接近或超过 V_c 对照, 表明桐花树与白骨壤提取物中含有较多的抗氧化活性物质, 且分布较广泛。对超氧阴离子自由基的清除作用中, 黄槿石油醚萃取物和乙酸乙酯萃取物、白骨壤乙酸乙酯萃取物、桐花树正丁醇萃取物显示较强的清除作用, IC_{50} 值在 0.1~1.0 mg/mL 之间, 但均不能超过对照 V_c 。而对羟基自由基的清除作用中, 仅黄槿和桐花树的正丁醇萃取物显示较强的清除作用。结果表明, 在黄槿与桐花树的正丁醇萃取物中可能含有一些特殊的抗氧化物质, 有待进一步的研究。谭银丰等对黄槿抗炎活性部位进行检测发现其乙酸乙酯部位表现出较显著的抗炎作用^[16]。在本实验中黄槿乙酸乙酯萃取的也显示较好的体外清除自由基作用。对其作用的化学成分还需要进一步的分析与鉴定。

3 结论

本文采用 3 种溶剂对黄槿、白骨壤和桐花树 3 种红树植物乙醇提取物进行萃取, 对不同萃取物的体外抑菌活性与清除自由基作用进行了比较分析。结果表明:

3.1 黄槿提取物显示较强的抑菌作用, 黄槿水萃取物对金黄色葡萄球菌与苏云金杆菌具有极强的抑制作用, 抑菌圈直径分别达到 20.47 mm 和 20.75 mm。正

丁醇萃取物对金黄色葡萄球菌、枯草芽孢杆菌与苏云金杆菌具有较强的抑制作用。

3.2 3 种红树植物水萃取物对金黄色葡萄球菌的 MIC 在 11.2~15.6 mg/mL 之间, 黄槿水萃取物对 5 种细菌的 MIC 在 11.2~62.5 mg/mL 之间, 可能含有较强的抑菌物质。

3.3 桐花树 4 种溶剂萃取物和白骨壤除石油醚之外的 3 种溶剂萃取物均显示极强的清除 DPPH 自由基作用, 其清除效果接近或超过 V_c 对照, 表明其含有较多的清除自由基成分。

通过对不同萃取物的体外抗菌与抗氧化活性的比较分析, 可为进一步研究红树植物中具有抗菌与抗氧化活性的天然产物提供一定的基础。下一步对具有较强活性的萃取物进行系统的分离与分析, 同时进行活性检测。

参考文献

- [1] 王燕, 吴晓东. 湛江市红树林资源状况及其保护成效[J]. 林业科技管理, 2004(2): 33-36.
- [2] 冯超. 两种红树林植物黄槿和长梗肖槿化学成分研究[D]. 青岛: 中科院海洋研究所, 2008.
- [3] 张小坡, 张俊清, 刘明生, 等. 黄槿化学成分研究[J]. 中草药, 2012, 43(3): 440-443.
- [4] 徐佳佳, 龙盛京. 桐花树化学成分及其生物活性作用的研究进展[J]. 时珍国医国药, 2006, 17(12): 2393-2395.
- [5] 徐佳佳. (广西北海)红树林植物桐花树化学成分及生物活性研究[D]. 广西医科大学, 2007.
- [6] 蔡一鸣, 任荣清, 文正常. 中药方剂的抗菌实验[J]. 贵州畜牧兽医, 1995, 19(4): 4-5.
- [7] 邓业成, 骆海玉, 张丽珍, 等. 14 种红树林植物对动物病原菌的抗菌活性[J]. 海洋科学, 2012, 36(3): 37-41.
- [8] 王茜, 苟学梅, 高刚, 等. 蓬莪术干叶和鲜叶精油化学成分分析与抗氧化、抑菌活性研究[J]. 食品工业科技, 2015, 36(8): 97-102.
- [9] Barreira JCM, Ferreira ICFR, Oliveira MBPP, et al. Antioxidant activities of the extracts from chestnut flower, leaf, skins and fruit[J]. Food Chemistry, 2008, 107(45): 1106-1113.
- [10] Wang, H., Gao XD, Zhou GC. et al. *In vitro* and *in vivo* antioxidant activity of aqueous extract from *Choerospondias axillaris* fruit[J]. Food Chemistry. 2008, 106(3): 888-895.
- [11] 赵丰丽, 也日娜, 孙国强. 白骨壤萃取物抑菌活性研究[J]. 食品科技, 2010, 35(4): 1821-1825.
- [12] 孙煜, 丁怡, 林文翰. 红树植物白骨壤化学成分的分鉴定[J]. 北京大学学报: 医学版, 2009, 41(2): 221-225.
- [13] Li L, Huang X, Sattler I, et al. Structure elucidation of a new friedelane triterpene from the mangrove plant *Hibiscus tiliaceus* [J]. Magn Reson Chem, 2006, 44(6): 624-628.
- [14] 张小坡, 张俊清, 裴月湖, 等. 黄槿化学成分的研究[J]. 中草药, 2012, 43(3): 440-443.
- [15] Feng C, Li XM, Ji NY, Wang BG. Triterpenoids from the mangrove plant *Hibiscus tiliaceus* [J]. Helvetica Chimica Acta, 2008, 91(5): 850-855.
- [16] 谭银丰, 李志锋, 张彩云, 等. 黄槿抗炎活性部位的初探[J]. 中国医药指南, 2012, 10(27): 77-78.