

连翘果、连翘叶乙醇提取物的 抑菌活性及成分分析

王小敏¹, 陈乔¹, 郭丽丽¹, 秦楠¹, 杨钰昆^{2,*}

(1. 山西中医药大学中药与食品工程学院, 山西晋中 030619;

2. 山西大学生命科学学院, 山西太原 030006)

摘要:为研究连翘果和连翘叶的抑菌活性及其活性成分的差异,采用滤纸片法测定连翘果、连翘叶乙醇提取物对三种细菌的抑菌圈直径,倍比稀释法测定了两种样品对金黄色葡萄球菌的最低抑菌浓度,并分析了两种样品对金黄色葡萄球菌的生长曲线及培养液中高分子物质和碱性磷酸酶的影响。采用气质联用分析了连翘果、连翘叶乙醇提取物中的挥发性成分。结果表明,连翘果与连翘叶乙醇提取物对大肠杆菌、金黄色葡萄球菌、枯草芽孢杆菌均有抑制效果,其中连翘叶乙醇提取物对三种细菌的抑菌圈直径分别为 (12.7 ± 1.2) 、 (15.0 ± 0.8) 、 (14.7 ± 0.7) mm,均大于连翘果乙醇提取物;连翘果、连翘叶乙醇提取物对金黄色葡萄球菌的最低抑菌浓度分别为6.25、3.125 mg/mL;连翘果、连翘叶乙醇提取物可以破坏细胞壁、细胞膜的完整性,使培养液中核酸等大分子物质以及碱性磷酸酶含量增加,并抑制金黄色葡萄球菌的生长繁殖,且连翘叶乙醇提取物的抑制作用大于连翘果乙醇提取物。气质联用分析发现连翘果乙醇提取物中主要包括醇类(38.55%)、酚类(14.00%)、酮类(11.07%)等物质;连翘叶乙醇提取物中主要包括醇类(34.97%)、烯烃类(12.71%)、酚类(12.26%)、烷烃类(11.05%)等;连翘果、连翘叶乙醇提取物中醇类、酚类、酮类、醛类、烷烃类物质对其抑菌活性有较大贡献,且其抑菌活性的差异主要与这些物质的种类和含量有关。

关键词:连翘果,连翘叶,乙醇提取物,抑菌活性,气质联用,成分

Antimicrobial Activities and Component Analysis of Ethanol Extracts from *Forsythia suspensa* Fruit and *Forsythia suspensa* Leaves

WANG Xiao-min¹, CHEN Qiao¹, GUO Li-li¹, QIN Nan¹, YANG Yu-kun^{2,*}

(1. College of Traditional Chinese Medicine and Food Engineering, Shanxi University of Chinese Medicine, Jinzhong 030619, China;

2. School of Life Science, Shanxi University, Taiyuan 030006, China)

Abstract: To study the antimicrobial activities and the difference of active constituents of *Forsythia suspensa* fruit and *Forsythia suspensa* leaves, the diameter inhibition zone of *Forsythia suspensa* fruit and *Forsythia suspensa* leaves ethanol extract against bacteria was measured by K-B method, the minimum inhibitory concentration (MIC) was measured by double dilution method. The antibacterial mechanism of *Forsythia suspensa* fruit and *Forsythia suspensa* leaves ethanol extract against *Staphylococcus aureus* was studied by the growth curves and the leakage of cell contents and alkaline phosphatase (AKP). Gas chromatography-mass spectrometry was used to analyze the chemical composition of *Forsythia suspensa* fruit and *Forsythia suspensa* leaves ethanol extract. The results showed that ethanol extract from *Forsythia suspensa* fruit and *Forsythia suspensa* leaves had antimicrobial effects on *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* and *Bacillus subtilis*, the diameter inhibition zone of *Forsythia suspensa* leaves ethanol extract against these bacteria was (12.7 ± 1.2) , (15.0 ± 0.8) , (14.7 ± 0.7) mm, respectively. The MIC of *Forsythia suspensa* fruit and *Forsythia suspensa* leaves ethanol extract against *Staphylococcus aureus* was 6.25, 3.125 mg/mL, respectively. The experimental results of antimicrobial mechanism showed that the ethanol extract from *Forsythia suspensa* fruit and *Forsythia suspensa* leaves inhibited the growth of *Staphylococcus aureus*, damaged the cell wall and cell membrane, increased the content of macromolecules and AKP in the culture solution, and the antimicrobial activity of *Forsythia suspensa* leaves ethanol extract was better than *Forsythia suspensa* fruit ethanol extract. GC-MS analysis showed that, ethanol extract from *Forsythia suspensa* fruit mainly included alcohols (38.55%), phenols (14.00%), and ketones (11.07%). *Forsythia suspensa*

收稿日期: 2018-07-18

作者简介: 王小敏(1989-), 女, 博士, 讲师, 研究方向: 食品化学与食品营养学, E-mail: wangxiaomin061@126.com.

* 通讯作者: 杨钰昆(1989-), 男, 博士, 讲师, 研究方向: 食品营养与安全, E-mail: yangyukun@sxu.edu.cn.

基金项目: 山西省应用基础研究项目面上青年基金项目(201601D021116); 国家自然科学基金青年科学基金项目(31701686); 山西中医学院博士科研启动基金(2016BK11)。

leaves ethanol extract contained alcohols (34.97%), olefins (12.71%), phenols (12.26%), and alkanes (11.05%). Alcohols, phenols, ketones, aldehydes and alkanes in the *Forsythia suspensa* fruit and *Forsythia suspensa* leaves ethanol extract had a significant contribution to their antibacterial activity, and the difference in their antibacterial activity was mainly related to the types and the content of these substances.

Key words: *Forsythia suspensa* fruit; *Forsythia suspensa* leaves; ethanol extract; antimicrobial activities; GC-MS; components

中图分类号: TS255.1

文献标识码: A

文章编号: 1002-0306(2019)06-0089-06

doi:10.13386/j.issn1002-0306.2019.06.015

引文格式: 王小敏, 陈乔, 郭丽丽, 等. 连翘果、连翘叶乙醇提取物的抑菌活性及成分分析[J]. 食品工业科技, 2019, 40(6): 89-94.

连翘(*Forsythia suspensa*)为木犀科连翘属植物,连翘的主要化学成分有苯乙醇苷类、木脂素类、五环三萜类、黄酮类、挥发油及酚酸类等^[1]。连翘果有抑菌、强心、利尿、镇吐等药理作用^[2],为双黄连口服液、双黄连粉针剂、银翘解毒冲剂等中药制剂的主要原料,对枯草芽孢杆菌、副伤寒杆菌、大肠杆菌、痢疾杆菌、白喉杆菌及霍乱弧菌、金黄色葡萄球菌、链球菌等具有抑制作用^[1]。连翘叶作为药材副产物,已入选新食品原料,其化学成分主要包括木脂素类、挥发油及其萜类、苯乙醇苷类、黄酮类、生物碱类、有机酸类及多糖类等^[3]。连翘叶具有抑菌、保肝、抗氧化、抗衰老、保护心脏、降血糖、抗疲劳、抗癌、降脂等药理作用^[4]。研究表明,连翘叶提取物对金黄色葡萄球菌、大肠杆菌、枯草芽孢杆菌、白色念珠菌有较强的抑制作用,且其抑菌活性强于连翘果实和连翘花^[5-6]。连翘叶的抑菌活性具有良好的热稳定性,在中性和弱酸性环境中抑菌活性较强,Ca²⁺、Cu²⁺、Fe³⁺能增强连翘叶抑菌能力^[7],具有开发为天然食品防腐剂的潜力。

大量研究表明,连翘果和连翘叶对多种细菌、真菌具有抑制作用,连翘苷、连翘脂素、熊果酸、芦丁为连翘中主要的抑菌活性成分^[8],也有实验表明,连翘酚才是连翘的有效抑菌成分^[9]。由此可见,目前对连翘中主要抑菌成分存在不同的认识。为了进一步研究连翘果、连翘叶乙醇提取物的抑菌活性及其组成成分的差异,本实验采用抑菌圈实验比较了连翘果与连翘叶乙醇提取物对大肠杆菌、金黄色葡萄球菌、枯草芽孢杆菌的抑制作用;分析了连翘果、连翘叶乙醇提取物对金黄色葡萄球菌生长曲线的影响,采用紫外分光光度法测定了金黄色葡萄球菌培养液中高分子物质及碱性磷酸酶含量的变化情况;进一步采用气质联用技术分析了连翘果、连翘叶乙醇提取物中的挥发性成分,并探讨了其组成成分与抑菌作用的关系。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

蛋白胨、牛肉膏、琼脂粉 分析纯,北京奥博星生物技术有限责任公司;氯化钠 分析纯,天津市光复科技发展有限公司;乙醇 分析纯,天津市天力化学试剂有限公司;甲醇 色谱纯,德国 Merck;碱性磷酸酶试剂盒 南京建成生物科技有限公司;连翘果(成熟果实)、连翘叶(六月份采摘) 山西省安泽县连翘 GAP 生产基地;大肠杆菌(*Escherichia coli* ATCC

25922)、金黄色葡萄球菌(*Staphylococcus aureus* ATCC 26112)、枯草芽孢杆菌(*Bacillus subtilis* ATCC 6051) 山西大学生命科学学院微生物学实验室提供。

U-3000 型紫外分光光度计 美国奥泰科技(中国)有限公司;SY-2000 型旋转蒸发器 上海亚荣生化仪器厂;DY04 型高压灭菌锅 上海东亚压力容器制造有限公司;HZC-250 型恒温振荡培养箱 北京乾明基因技术有限公司;7890B-5977B 型气相色谱质谱联用仪 美国安捷伦科技有限公司。

1.2 实验方法

1.2.1 连翘果、连翘叶乙醇提取物的制备 连翘果、连翘叶粉碎过筛后,分别以 1:10 (g/mL)料液比加入 70% 乙醇,80~82 °C 回流提取 2 h,提取两次,过滤后合并滤液,滤液旋转蒸发浓缩得到连翘果、连翘叶乙醇提取物。取连翘果、连翘叶乙醇提取物分别用蒸馏水稀释,制成 50 mg/mL 的分散液用于抑菌圈实验。

1.2.2 菌悬液的制备 分别将活化好的大肠杆菌、金黄色葡萄球菌、枯草芽孢杆菌在无菌环境下用接种环从试管斜面挑取一环于 10 mL 已灭菌的液体肉汤培养基中,充分震荡均匀后放入 37 °C 恒温培养 12 h,调整菌悬液浓度为 10⁵ CFU/mL 备用。

1.2.3 抑菌圈实验 细菌抑菌圈试验采用滤纸片法,将灭菌融化后的肉汤培养基冷却至 45 °C 后倾注于平板中,每皿约 20 mL。待平板充分凝固后,向平板上滴加 0.2 mL 已稀释至 10⁵ CFU/mL 的菌悬液,涂布均匀,静置至表层菌液充分干燥。将直径为 8 mm 的灭菌滤纸片放入已干燥的涂布菌液的平板上,每片滤纸片加样 20 μL,每种样品一片,使用生理盐水做空白,每个平板重复 3 个,37 °C 恒温倒置培养,根据预实验培养 16 h 时抑菌圈最大,本实验培养 16 h 后测定抑菌圈直径。

1.2.4 最小抑菌浓度的测定 采用试管倍比稀释法^[10]测定样品对金黄色葡萄球菌的最低抑菌浓度。取 11 支试管标记为 1~11 号,首先在每支试管中加入液体培养基 2 mL,高压灭菌后在 1 号试管中加入样品 2 mL 振荡均匀,然后吸取 2 mL 至 2 号试管,振荡均匀后再吸取 2 mL 至 3 号试管,如此连续倍比稀释至 10 号试管,并从 10 号试管中吸取 2 mL 弃去,11 号试管为不含样品的生长对照。在每管内加入浓度为 10⁵ CFU/mL 菌悬液各 0.1 mL,于 37 °C 中培养 12 h,用肉眼观察不发生浑浊、沉淀、表面生长任一现

象的最小的样品浓度为该样品的最低抑菌浓度。如培养液肉眼不易辨明菌体的生长情况,可从各管中各取0.1 mL 接于固体平板上,于37 °C 培养12 h 观察有无菌落生长,并加以判断。

1.2.5 连翘果、连翘叶乙醇提取物对金黄色葡萄球菌抑菌机理的研究

1.2.5.1 对生长曲线的影响

金黄色葡萄球菌活化后,接种于液体肉汤培养基,置于37 °C 培养箱中培养12 h,稀释为 10^5 CFU/mL 的菌悬液,取菌悬液与连翘果、连翘叶乙醇提取物分别混合,使连翘果、连翘叶乙醇提取物的终浓度分别为其最低抑菌浓度,37 °C,150 r/min 摇床培养,另外以无菌水代替样品做空白对照。每培养2 h 取样,采用分光光度计在600 nm 测菌液的OD 值^[11]。

1.2.5.2 对培养液中高分子物质的影响

取 10^5 CFU/mL 的菌悬液与连翘果、连翘叶乙醇提取物分别混合,使样品浓度分别为其最低抑菌浓度,37 °C,150 r/min 摇床培养,另外以无菌水代替样品做空白对照。每间隔2 h 取菌液3 mL,12000 r/min 离心5 min 取上清液,在260 nm 测定OD 值,该值可以代表细胞内DNA/RNA 的泄漏程度由此反映出细胞膜的受损情况^[12]。

1.2.5.3 对培养液中碱性磷酸酶(AKP)含量的影响

取稀释为 10^5 CFU/mL 的菌悬液与连翘果、连翘叶乙醇提取物分别混合,使样品浓度分别为其最低抑菌浓度,37 °C,150 r/min 摇床培养,另外以无菌水代替样品做空白对照。混合培养后取菌液1 mL,3500 r/min 离心10 min,取上清液用AKP 试剂盒方法测定,期间每2 h 测定一次。

1.2.6 气质联用(GC-MS)分析

取连翘果、连翘叶乙醇提取物以色谱级甲醇稀释后,过0.22 μ m 有机滤膜,采用安捷伦7890B-5977B 气相色谱质谱联用仪进行分析。

色谱条件:色谱柱为HP-5MS 毛细管色谱柱(0.25 mm \times 30 m,0.25 μ m);进样口温度250 °C,采用不分流进样,载气为高纯氮气,流速为1.2 mL/min;进样量1 μ L;离子源温度230 °C,EI 源电压70 eV,四级杆温度150 °C。程序升温:初始温度50 °C,以10 °C/min 的速率升至80 °C,保持3 min,再以15 °C/min 的速率升至300 °C,保持5 min。检索谱库:NIST14。

1.3 数据统计分析

所有数据以平均值(Mean) \pm 标准差(SD)表示(n=3),Origin 8.5 软件作图。

2 结果与分析

2.1 连翘果、连翘叶乙醇提取物的抑菌圈实验结果

连翘果、连翘叶乙醇提取物对3种供试细菌抑

菌圈结果见表1。由表1可以看出,两种提取物对3种供试细菌都具有一定的抑制效果,连翘果、连翘叶乙醇提取物对枯草芽孢杆菌的抑菌圈直径分别为(13.3 \pm 0.5)、(14.7 \pm 0.7) mm,对大肠杆菌的抑菌圈直径分别为(11.0 \pm 0.6)、(12.7 \pm 1.2) mm,对金黄色葡萄球菌的抑菌圈直径分别为(12.0 \pm 0.9)、(15.0 \pm 0.8) mm,表明连翘叶乙醇提取物的抑菌圈直径普遍大于连翘果乙醇提取物,该结果与前期研究结果一致^[5-6]。

表1 连翘果、连翘叶乙醇提取物对供试细菌的抑菌圈直径(mm)

Table 1 Diameter inhibition zone of ethanol extracts from *Forsythia suspensa* fruit

and *Forsythia suspensa* leaves against tested bacteria(mm)

样品	枯草芽孢杆菌	大肠杆菌	金黄色葡萄球菌
连翘果乙醇提取物	13.3 \pm 0.5	11.0 \pm 0.6	12.0 \pm 0.9
连翘叶乙醇提取物	14.7 \pm 0.7	12.7 \pm 1.2	15.0 \pm 0.8

2.2 连翘果、连翘叶乙醇提取物对金黄色葡萄球菌的最低抑菌浓度

采用倍比稀释法测定连翘果、连翘叶乙醇提取物对金黄色葡萄球菌的最低抑菌浓度,由于培养液肉眼不易辨明菌体的生长情况,从各管中取培养液接于固体平板上,于37 °C 培养12 h 观察有无菌落生长,具体实验结果见表2,连翘果、连翘叶乙醇提取物对金黄色葡萄球菌的最低抑菌浓度分别为6.250、3.125 mg/mL。

2.3 连翘果、连翘叶乙醇提取物对金黄色葡萄球菌的抑菌机理研究

2.3.1 对生长曲线的影响

连翘果、连翘叶乙醇提取物对金黄色葡萄球菌生长曲线的影响如图1所示。从图1可以看出,对照组具有典型的生长曲线特征。两种样品处理组在其最低抑菌浓度下抑制了金黄色葡萄球菌的生长,培养14 h 后,两个样品组的OD₆₀₀有一定程度的增加,但在整个生长过程中OD₆₀₀始终低于对照组,表明连翘果、连翘叶乙醇提取物对金黄色葡萄球菌的生长繁殖起到了明显的抑制作用,且连翘叶乙醇提取物对金黄色葡萄球菌生长繁殖的抑制作用大于连翘果乙醇提取物。

2.3.2 对培养液中高分子物质的影响

细胞膜的完整性是菌体正常生长代谢的一个主要影响因素,核酸等大分子物质的泄漏则表明细胞膜完整性遭到了破坏^[13]。连翘果、连翘叶乙醇提取物对金黄色葡萄球菌培养液中核酸等大分子物质的影响如图2所示。从图2可以看出,对照组在整个生长过程中的

表2 连翘果、连翘叶乙醇提取物对金黄色葡萄球菌的最低抑菌浓度

Table 2 The MIC of ethanol extracts from *Forsythia suspensa* fruit and *Forsythia suspensa* leaves against *Staphylococcus aureus*

浓度(mg/mL)	25.000	12.500	6.250	3.125	1.560	0.780	0.390	0.195	0.098	0.049	0
连翘果乙醇提取物	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+
连翘叶乙醇提取物	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+

注:“+”代表有菌落生长,“-”代表无菌落生长。

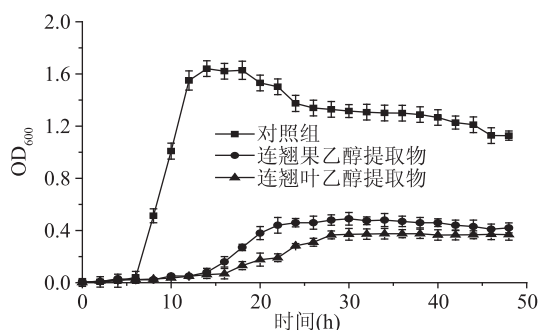


图1 连翘果、连翘叶乙醇提取物对金黄色葡萄球菌生长曲线的影响

Fig.1 Effects of ethanol extract from *Forsythia suspensa* fruits and *Forsythia suspensa* leaves on growth curve of *Staphylococcus aureus*

OD₂₆₀值非常稳定,表明无细胞内容物外溢;而样品组随着时间的推移,OD₂₆₀值快速上升后趋于稳定,说明样品组细胞内容物外溢,核酸等大分子物质流出;初步判断连翘果、连翘叶乙醇提取物能作用于金黄色葡萄球菌细胞膜,损坏了细胞膜的完整性,致使核酸泄漏,且16 h前连翘叶乙醇提取物的作用速度大于连翘果乙醇提取物,但16 h后连翘果乙醇提取物的作用强度大于连翘叶乙醇提取物。

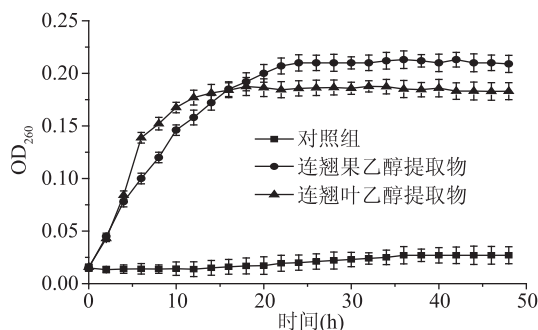


图2 连翘果、连翘叶乙醇提取物对金黄色葡萄球菌大分子物质泄漏的影响

Fig.2 Effects of ethanol extract from *Forsythia suspense* fruit and *Forsythia suspense* leaves on large molecules leakage of *Staphylococcus aureus*

2.3.3 对培养液中 AKP 含量的影响 AKP 是存在于细胞壁与细胞膜之间的一种酶,正常情况下在细胞外不能检测到其活性,但当细胞壁遭到破坏后,细胞壁通透性增加使 AKP 泄漏到细胞外,通过检测胞外 AKP 含量的变化可反映出细胞壁的破坏情况^[14]。连翘果、连翘叶乙醇提取物对金黄色葡萄球菌培养液中 AKP 的影响如图 3 所示。从图 3 可以看出,对照组培养液中 AKP 含量 0~6 h 缓慢增加,后趋于稳定,且一直处在较低的水平;连翘果、连翘叶乙醇提取物处理组 0~8 h AKP 含量快速增加,且在 0~8 h 内连翘叶乙醇提取物处理组培养液中 AKP 的含量高于连翘果乙醇提取物处理组,10 h 以后连翘果乙醇提取物处理组培养液中 AKP 的含量高于连翘叶乙醇提取物处理组。由此可知,连翘果、连翘叶乙醇提取物可破坏金黄色葡萄球菌细胞壁的完整性,造成菌体细胞壁通透性增加,且连翘叶乙醇提取物的作用速度大

于连翘果乙醇提取物。

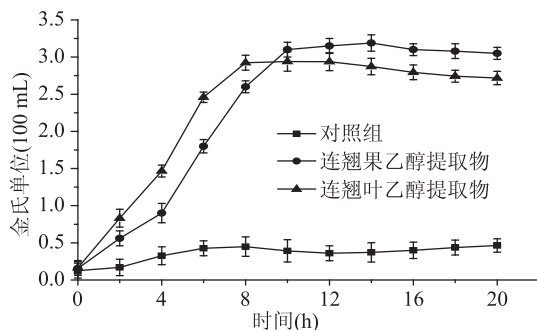


图3 连翘果、连翘叶乙醇提取物

对金黄色葡萄球菌培养液中碱性磷酸酶含量的影响
Fig.3 Effects of ethanol extract from *Forsythia suspensa* fruit and *Forsythia suspensa* leaves on the content of alkaline phosphatase of *Staphylococcus aureus*

2.4 连翘果、连翘叶乙醇提取物的 GC-MS 分析结果

对连翘果、连翘叶乙醇提取物进行气质联用分析,总离子流图如图 4。

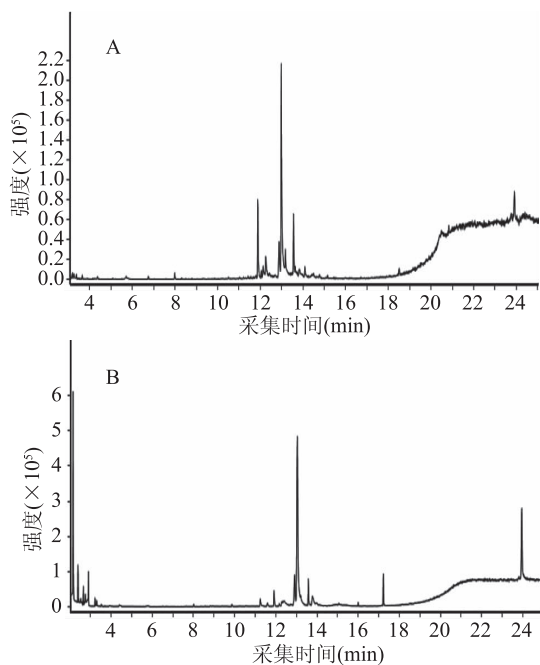


图4 连翘果(A)、连翘叶(B)乙醇提取物总离子流图

Fig.4 Total ionic chromatogram of ethanol extract from *Forsythia suspensa* fruit(A) and *Forsythia suspensa* leaves(B)

在保留时间 2~25 min 内,对各个峰经计算机系统检索,人工谱图解析得到多种物质,其名称、分子式、百分含量列于表 3 中。连翘果乙醇提取物中鉴定出 22 种物质,主要包括醇类(38.55%)、酚类(14.00%)、酮类(11.07%)、酯类(6.11%)、烯烃类(3.64%)、烷烃类(1.49%)、醛类(1.56%)等;连翘叶乙醇提取物中鉴定出 26 种物质,包括醇类(34.97%)、烯烃类(12.71%)、酚类(12.26%)、烷烃类(11.05%)、酯类(6.90%)、酮类(2.51%)等;连翘叶乙醇提取物中烯烃和烷烃类物质是主要的成分,

表3 连翘果与连翘叶乙醇提取物的化学成分

Table 3 Chemical compositions of *Forsythia suspense* fruit and *Forsythia suspensa* leaves extract

分类	名称	分子式	相对含量(%)	
			连翘果	连翘叶
醇类(5)			38.55	34.97
	3,4-二甲基-1-戊醇	C ₇ H ₁₆ O	0.62	-
	6-十二醇	C ₁₂ H ₂₆ O	37.37	31.83
	植物醇	C ₂₀ H ₄₀ O	-	2.98
	Venustanol	C ₂₀ H ₃₅ BrO ₃	0.56	-
	乙醇醛二聚体	C ₄ H ₈ O ₄	-	0.16
酚类(6)			14.00	12.26
	苯酚	C ₆ H ₆ O	-	1.20
	1,3-苯二醇单乙酸酯	C ₈ H ₈ O ₃	-	1.30
	对羟基苯乙醇	C ₈ H ₁₀ O ₂	2.73	1.73
	2-羟基-3-甲基苯甲醛	C ₈ H ₈ O ₂	-	0.82
	3-羟基-2-甲基苯甲醛	C ₈ H ₈ O ₂	4.00	0.11
	2,5,-二羟基苯乙酸	C ₈ H ₈ O ₄	7.27	7.10
酮类(5)			11.07	2.51
	2,3-二甲氧基-2-丁酮	C ₆ H ₁₂ O ₃	0.44	0.56
	2-羟基-环戊烯-1-酮	C ₅ H ₆ O ₂	0.54	-
	5-氨基-6-亚硝基-2,4(1H,3H)-嘧啶二酮	C ₄ H ₄ N ₄ O ₃	-	0.05
	3-甲基-2-环己烯-1-酮	C ₇ H ₁₀ O	10.09	-
	2-甲基-2-环己烯-1-酮	C ₇ H ₁₀ O	-	1.90
酯类(6)			6.11	6.90
	苯酸甲酯	C ₈ H ₈ O ₂	0.70	-
	2-甲氧基巴豆酸甲酯	C ₆ H ₁₀ O ₃	1.80	-
	一乙酸甘油酯	C ₅ H ₁₀ O ₄	-	0.12
	丙烯酸羟乙酯	C ₅ H ₈ O ₃	1.35	3.18
	邻苯二甲酸二异丁酯	C ₆ H ₂₂ O ₄	0.56	1.60
	棕榈酸甲酯	C ₁₇ H ₃₄ O ₂	1.7	2.00
烷烃(3)			1.49	11.05
	2,3-二羟基-1,4-二氧杂环己烷	C ₄ H ₈ O ₄	-	10.38
	新戊烷	C ₅ H ₁₂	1.49	-
	6-甲基-1,7-二氮杂双环[4.1.0]庚烷	C ₆ H ₁₂ N ₂	-	0.67
烯烃(3)			3.64	12.71
	丙烯酸辛酯	C ₁₁ H ₂₀ O ₂	3.10	-
	2,4,4-Trimethyl-3-hydroxymethyl-5a-(3-methyl-but-2-enyl)-cyclohexene	C ₁₅ H ₂₆ O	0.54	-
	5-甲酯基-2,3,3',4'-四甲氧基-α-甲基二苯乙烯	C ₂₁ H ₂₄ O ₆	-	12.71
醛类(2)			1.56	0.15
	L(-)-甘油醛	C ₃ H ₆ O ₃	1.56	-
	DL-阿拉伯糖	C ₅ H ₁₀ O ₅	-	0.15
其他(9)			8.09	5.96
	叔丁基氟化物	C ₆ H ₁₂ O ₃	0.56	-
	o-乙基羟胺	C ₂ H ₇ NO	-	0.63
	甲酰肼	CH ₄ N ₂ O	-	0.16
	苯甲酰肼	C ₇ H ₈ N ₂ O	-	0.28
	2,3-二氢苯并呋喃	C ₈ H ₈ O	-	0.29
	蔗糖	C ₁₂ H ₂₂ O ₁₁	-	0.31
	3,4-二氨基吡啶	C ₅ H ₇ N ₃	5.26	4.29
	1-甲基-1H-咪唑-2-胺	C ₄ H ₇ N ₃	1.33	-
	丙醚	C ₆ H ₁₄ O	0.94	-
合计			84.51	86.51

注:“-”代表该物质不存在。

含量在 10% 以上,而连翘果乙醇提取物中烯烴和烷烴类物质含量很少,酚酮类物质含量较多。醇类是连翘果和连翘叶乙醇提取物中最主要的挥发性成分,含量在 30% 以上,连翘果、连翘叶乙醇提取物中还含有醛类、酮类物质。研究发现,醇类、醛类、酮类物质可进入菌体细胞内,破坏细胞内蛋白质,抑制微生物的新陈代谢^[15]。连翘果乙醇提取物鉴定出 3 种酚类物质包括对羟基苯乙醇(2.73%)、3-羟基-2-甲基苯甲醛(4.00%)、2,5,-二羟基苯乙酸(7.27%);连翘叶乙醇提取物中鉴定出 6 种酚类物质,除了对羟基苯乙醇(1.73%)、3-羟基-2-甲基苯甲醛(0.11%)、2,5,-二羟基苯乙酸(7.10%),还包括苯酚(1.20%)、1,3-苯二酞单乙酸酯(1.30%)、2-羟基-3-甲基苯甲醛(0.82%),酚类物质具有杀菌效果是天然植物挥发性物质中主要的杀菌剂^[16]。连翘果、连翘叶乙醇提取物中分别鉴定出 1.49% 和 11.05% 的烯烴类物质,根据文献报道烯烴类也具有一定的抑菌效果^[17]。

3 结论

连翘果与连翘叶乙醇提取物对细菌具有抑制效果,连翘叶乙醇提取物对三种供试细菌的抑制作用大于连翘果乙醇提取物;连翘果和连翘叶乙醇提取物对金黄色葡萄球菌的最低抑菌浓度分别为 6.25、3.125 mg/mL。连翘果、连翘叶乙醇提取物可以影响金黄色葡萄球菌细胞壁、细胞膜的完整性,导致菌体中核酸等大分子物质及碱性磷酸酶的泄漏,从而抑制金黄色葡萄球菌的生长繁殖,且连翘叶乙醇提取物对金黄色葡萄球菌生长繁殖的抑制作用大于连翘果乙醇提取物。连翘果与连翘叶乙醇提取物中含有多种醇类、酚类、醛类、酮类、烯烴、烷烴类物质,这些物质对其抑菌活性有较大的贡献,而且其抑菌活性的差异主要与这些物质的种类和含量有关。

参考文献

- [1] 胡静,马琳,张坚,等.连翘的研究进展[J].中南药学,2012,10(10):760-763.
- [2] 陈瑾,谭丽媛,张淑蓉,等.不同产地连翘主要成分分析及

- 抗菌作用研究[J].时珍国医国药,2018,29(2):427-430.
- [3] 房信胜,魏蕾,付欣欣,等.连翘长花柱与短花柱植株叶和果成分代谢研究[J].中药材,2018,41(3):567-572.
- [4] 梅雪,周安琴,李静,等.连翘叶的化学成分、药理学与毒理学研究概况[J].中国药房,2015,26(22):3143-3146.
- [5] 段飞,张双民,杨建雄,等.连翘叶提取物抑菌作用的研究[J].西北药学杂志,2005,20(2):66-67.
- [6] 秦臻,徐军,张立伟.连翘及连翘叶体外抑菌作用研究[J].食品工程,2013(2):49-52.
- [7] 原江锋,王大红,何灵美,等.连翘叶提取物抑菌作用以及稳定性研究[J].食品工业科技,2013,34(5):57-65.
- [8] 胡庭俊,温日清,赵灵颖.连翘不同极性段提取物制备及体外抑菌作用[J].江苏农业科学,2009(3):268-269.
- [9] 王浴生,邓文龙,薛春生.中药药理与应用[M].北京:人民卫生出版社,1983,516.
- [10] 葛康康,姚翰文,潘佳亮.山核桃干腐病拮抗细菌的鉴定及其抑菌效果[J].东北林业大学学报,2018,46(1):95-100.
- [11] Filippini M, Ortelli C, Svercel M, et al. Interspecies variation in survival and growth of filamentous heterotrophic bacteria in response to UVC radiation [J]. Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology, 2011, 103(3):234-242.
- [12] Paul S, Dubey R C, Maheswari D K, et al. *Trachyspermum ammi* (L.) fruit essential oil influencing on membrane permeability and surface characteristics in inhibiting food-borne pathogens [J]. Food Control, 2011, 22(5):725-731.
- [13] 张媛媛,冯亚净,李书国.五味子乙醇提取物的抑菌稳定性及抑菌机理研究[J].粮油食品科技,2016,24(1):55-60.
- [14] 孙京新,王文娟.多酚对假单胞菌抑菌机理研究[J].肉类研究,2009(10):48-51.
- [15] Di Pasqua R, Betts G, Hoskins N, et al. Membrane toxicity of antimicrobial compounds from essential oils [J]. Journal of agricultural and food chemistry, 2007, 55(12):4863-4870.
- [16] 张立华,王丹,宫文哲,等.枣核木醋液化学成分分析及其抑菌活性[J].食品科学,2016,37(14):123-127.
- [17] 秦娇.毛竹叶挥发油的提取及抑菌作用的研究[D].北京:北京林业大学,2010.

(上接第 88 页)

Willd grains[J].Food Chemistry,2016,209:139-143.

- [25] 高立新.HPLC-UV 法测定商陆中商陆皂苷甲的含量[J].中国临床药理学杂志,2015(20):2052-2054.
- [26] 魏娜,王琪,官杰,等.藜药角花胡颓子提取物不同极性部位抗菌活性研究[J].中国医药导报,2012,09(14):35-36.
- [27] 安惠霞,斯拉甫·艾白,古力娜·达吾提,等.地锦草不同萃取部位体外抗真菌作用研究[J].中国中医药信息杂志,2010,17(1):40-42.
- [28] 刘计权,谢树莲,李洋洋,等.绵马贯众不同萃取部位的抑菌活性[J].中国实验方剂学杂志,2016(3):137-142.
- [29] 韩毅丽,张娟娟,张淑蓉.米口袋不同萃取部位体外抑菌活性研究[J].山西中医学院学报,2015,16(6):21-23.
- [30] 黄梦姣,卢添林,王瑶,等.粗壮女贞不同萃取部位抑菌

- 活性成分研究[J].现代预防医学,2016,43(5):864-866,902
- [31] 杜静婷.藜麦种皮皂苷的提取、纯化、抗氧化、抑菌及皂苷元成分鉴定[D].太原:山西大学,2017.
- [32] 徐晓敏.藜麦皂苷的提取、分离纯化以及生物活性研究[D].呼和浩特:内蒙古农业大学,2015.
- [33] 王建华,雷帆.20 种中药对酪氨酸酶抑制作用的研究[J].中国药学杂志,2000,35(4):232-234.
- [34] 李俊强,李星辰,刘晓静.甘草总皂苷生物转化与抑制酪氨酸酶活性研究[J].中国药事,2018(2):234-241.
- [35] Madl T, Sterk H, Mittelbach M, et al. Tandem mass spectrometric analysis of a complex triterpene saponin mixture of *Chenopodium quinoa* [J]. Journal of the American Society for Mass Spectrometry, 2006, 17(6):795-806.