

# 枇杷花系统溶剂提取物抑菌作用研究

何 莲<sup>1</sup>, 张 宏<sup>2</sup>, 李 琪<sup>1</sup>, 杨必坤<sup>1</sup>, 张晓喻<sup>1,\*</sup>, 严 伟<sup>1</sup>

(1. 四川师范大学生命科学学院, 四川 成都 610068

2. 四川师范大学植物资源应用与开发研究所, 四川 成都 610068)

**摘 要:** 研究枇杷花系统溶剂提取物抑菌的作用。实验以苯甲酸钠为对照组, 分别研究了枇杷花石油醚、氯仿、乙酸乙酯、正丁醇、丙酮、95% 乙醇和水的提取物对大肠杆菌、金黄色葡萄球菌、白色念珠菌的抑菌效果, 并对不同提取物进行薄层色谱分析。结果表明, 枇杷花的提取液对细菌、真菌均有抑制作用, 并优于对照组。正丁醇、丙酮提取物对金黄色葡萄球菌抑制能力优于其他溶剂; 石油醚提取物对大肠杆菌抑制能力优于其他溶剂; 石油醚、乙酸乙酯提取物对白色念珠菌抑制能力优于其他溶剂。

**关键词:** 枇杷花; 次生代谢物; 系统溶剂; 抑菌; 薄层色谱

Study on Bacteriostasis of Extracts from Flowers of *Eriobotrya japonica* (Thunb.) Lindl.  
by Systematic Solvents

HE Lian<sup>1</sup>, ZHANG Hong<sup>2</sup>, LI Qi<sup>1</sup>, YANG Bi-kun<sup>1</sup>, ZHANG Xiao-yu<sup>1,\*</sup>, YAN Wei<sup>1</sup>

(1. College of Life Science, Sichuan Normal University, Chengdu 610068, China;

2. Institute of Phytochemistry, Sichuan Normal University, Chengdu 610068, China)

**Abstract:** The bacteriostasis of systematic solvents extracts from flowers of *Eriobotrya japonica* (Thunb.) Lindl was studied. Seven systematic solvents extracts were conducted for the inhibitory effects against *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* and *Candida albicans*, with calcium propionate as control group. The different extracts were tested by thin layer chromatography. The results indicated that the flower of *Eriobotrya japonica* was well at restraining bacillus and epiphyte. The average inhibitory effects of the flower of *Eriobotrya japonica* on bacteria and epiphyte were better than control groups. The butanol and acetone extracts had strong effect on *Staphylococcus aureus* than others. The petroleum ether extract had strong effect on *Escherichia coli*. The petroleum ether and ethyl acetate extract had strong effect on *Candida albicans*.

**Key words** flowers of *Eriobotrya japonica*; secondary chemicals; systematic solvents; bacteriostasis; TLC

中图分类号: Q946.838.4 Q935

文献标识码: A

文章编号: 1002-6630(2007)12-0109-04

收稿日期: 2007-07-26

\*通讯作者

基金项目: 四川省教育厅青年基金项目(2006B035); 四川师范大学校级重点课题

作者简介: 何莲(1984-), 女, 硕士研究生, 主要从事植物资源的开发与研究。

## 参考文献:

- [1] 叶春美, 林媚. 芦笋营养成分分析研究[J]. 中国果菜, 2005(2): 37.
- [2] 孙春艳, 赵伯涛, 郁志芳, 等. 芦笋的化学成分及药理作用的研究进展[J]. 中国野生植物资源, 2004, 23(5): 1-5.
- [3] 顾振新, 张建惠. 芦笋弃料的营养价值和开发利用研究[J]. 南京农业大学学报, 1994, 17(2): 111-113.
- [4] 周绩. 芦笋无公害高效栽培[M]. 北京: 金盾出版社, 2003.
- [5] 冯翠萍, 庞候英, 常明昌, 等. 酶法提取芦笋皮中高活性膳食纤维的研究[J]. 农业工程学报, 2004, 20(3): 188-191.
- [6] 冯翠萍, 程红艳, 刘喜文. 芦笋皮对小鼠抗疲劳作用的实验研究[J]. 营养学报, 2003, 25(3): 330.
- [7] 冯翠萍, 常霞, 卢耀环. 芦笋皮对实验性高脂血症大鼠血脂水平的影响[J]. 山西农业大学学报, 2001, 21(3): 265-267.
- [8] 李云雁, 宋光森. 板栗壳色素抑菌性的研究[J]. 湖北农业科技, 2004(5): 63-65.
- [9] 李春美, 邓明, 谢笔钧. 柚皮提取物对金黄色葡萄球菌抑制作用的初步研究[J]. 食品工业科技, 2004, 25(5): 64-66.
- [10] 郝林. 食品微生物学实验技术[M]. 北京: 中国农业出版社, 2001.
- [11] 杨凯, 段作营, 张建华, 等. 尼泊尔金庚酯对常见食品污染菌抑制作用的研究[J]. 食品工业科技, 2004, 25(2): 116-118.
- [12] 黄文, 王益, 胡筱波, 等. 竹叶提取物抑菌特性的研究[J]. 林产化学与工业, 2002(1): 68-70.
- [13] 周建新, 嵇美华, 汪海峰, 等. 花生壳乙醇提取物抗菌性研究[J]. 中国粮油学报, 2004, 19(1): 64-66.

枇杷原产我国,已有2200多年的栽培历史,我国是世界上最主要的枇杷生产国,栽培面积和产量占世界的2/3以上,主要分布于华东、中南、西南地区。枇杷具有极高的医疗价值,根据《本草纲目》记载,枇杷的果实、种子、花、叶子均可以入药,具有化痰止咳、和胃降气的功效。枇杷花味淡、性微温,用于伤风感冒、咳嗽、痰血<sup>[1]</sup>,枇杷花主要含有三萜皂甙类化合物,其中主要是齐墩果酸和熊果酸<sup>[2]</sup>。目前对其叶、果、果核的报道和利用较多,而有关枇杷花的研究报道较少。

本实验以枇杷花作为研究对象,采用系统溶剂提取法获得石油醚、氯仿、乙酸乙酯、正丁醇、丙酮、乙醇和水各种提取物,分别进行体外抑菌实验,并且对各提取物进行初步的薄层色谱分析。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

#### 1.1.1 植物材料

枇杷花,2006年10月采于四川蒲江,经本院植物教研室鉴定为枇杷 *Eriobotrya japonica* 的花。采后50℃烘干备用。

#### 1.1.2 供试菌种

大肠杆菌(*Escherichia coli*)、金黄色葡萄球菌(*Staphylococcus aureus*)、白色念珠菌(*Candida albicans*),以上菌种由四川省疾控中心提供。

#### 1.1.3 培养基与试剂

牛肉膏蛋白胨培养基、沙氏培养基。

二甲亚砜(DMSO)、0.9%生理盐水。

#### 1.1.4 仪器

KQ5200DE型数控超声波器、RE-52A旋转蒸发器、SHB-III循环水式真空泵、电子分析天平、电热恒温培养箱、恒温振荡培养箱、生物洁净工作台、Backman高速冷冻离心机、FDU1200冷冻干燥设备。

## 1.2 方法

### 1.2.1 实验受试物制备方法

原料→粉碎→提取→过滤→浓缩→备用

取400g枇杷花,粉碎过筛。用4000ml石油醚在60℃、300W、40kHz条件下超声提取30min,抽滤并浓缩滤液得到1#浸膏。将滤渣挥干溶剂后,用氯仿溶剂重复上述过程,得到2#号浸膏。同上,再分别用乙酸乙酯、正丁醇、丙酮、95%乙醇、蒸馏水作溶剂,分别得到3#、4#、5#、6#、7#浸膏。将上述各浸膏冻干后备用。

### 1.2.2 系统提取物薄层色谱条件

将1.2.1所得系统提取物用相对应的溶剂配制成相同浓度的溶液,分别精密吸取1μl点于同一个GF254硅胶板上,以展开系统(V乙酸乙酯:V甲醇:V水=8:1:1)为展开剂,展开,展距为8cm,取出晾干,在紫外灯365nm处观察。

### 1.2.3 体外抑菌实验

#### 1.2.3.1 培养基的制备<sup>[3]</sup>

细菌培养基采用牛肉膏蛋白胨培养基,真菌培养基采用沙氏培养基。

配制牛肉膏蛋白胨液体、固体培养基各1000ml,沙氏液体、固体培养基各1000ml,前者121℃、后者115℃下,高压灭菌20min,备用。

#### 1.2.3.2 供试菌株的活化<sup>[3]</sup>

将所有供试菌种接入相对应的斜面培养基,细菌置于37℃培养18~24h,真菌于28℃培养44~48h后,置0~4℃冷藏。

#### 1.2.3.3 受试物的制备

将1#~8#号受试物(1#~7#号为系统溶剂提取所得,8#为苯甲酸钠阳性对照)用DMSO溶解配制成浓度为40、20、10mg/ml溶液<sup>[4]</sup>。

#### 1.2.3.4 抑菌实验<sup>[5-6]</sup>

分别挑取两环上述活化菌株接入相对应的培养基中,细菌在37℃下,150r/min振荡培养18~24h;真菌在28℃下,150r/min振荡培养44~48h。在超净工作台内,用无菌移液管分别吸取上述30ml菌液移入离心管中,在4℃、6000r/min条件下低温离心,弃去上清液,收集菌体,用相应液体培养基配制成0.05g/ml的菌液。

菌液按1:1000的比例与培养基混合后倒平板,待平板冷却后,在平板上打9mm的孔。每孔内分别加入50μl各受试物,每个浓度做三个重复。另取9#DMSO作空白对照。将含大肠杆菌和金黄色葡萄球菌的平板置37℃培养18~24h,白色念珠菌平板置28℃培养44~48h。观察菌落生长情况,用游标卡尺测定抑菌圈直径,结果取三次重复实验的平均值。

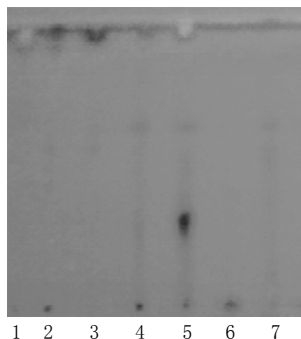
#### 1.2.3.5 最低抑菌浓度(MIC)的测定<sup>[7]</sup>

将初浓度为40mg/ml的1#~8#号受试物用相应的培养基,按梯度稀释法配成含不同浓度受试物的系列培养基。另取9#DMSO作空白对照。将上述活化的菌种用生理盐水稀释成 $10^{-3}$ 的菌悬液。

每一系列接种一种菌种(0.2ml),各系列的每个浓度做三个重复,另取一稀释系列,不接种任何菌作空白对照,置适宜条件培养(细菌37℃,18~24h;真菌28℃,44~48h),观察实验结果。以能抑制细菌和真菌生长的最低添加量为该提取物的最低抑菌浓度(MIC)。

## 2 结果与分析

### 2.1 薄层色谱结果



1. 1<sup>#</sup>; 2. 2<sup>#</sup>; 3. 3<sup>#</sup>; 4. 4<sup>#</sup>; 5. 5<sup>#</sup>; 6. 7<sup>#</sup>; 7. 6<sup>#</sup>。

图1 枇杷花系统溶剂提取物薄层分离图

Fig.1 TLC of extracts by systematic solvents

由图1可以看出,石油醚、氯仿、乙酸乙酯提取物无平行一致的点;正丁醇、丙酮、乙醇提取物有一点呈平行,  $R_f=0.66$ ,也有不相同的点;水层提取物由于极性过大,所用的展开剂不能使其展开,故在基线上呈一点。说明采用系统溶剂提取法所得到的各层物质有所差异。由于实验系统溶剂选用石油醚、氯仿、乙酸乙酯、正丁醇、丙酮、乙醇和水,溶剂极性依次增强,因此,每相所得提取物均具有一定的极性代表性。

### 2.2 体外抑菌实验结果

从表1、2可以看出,各受试物对大肠杆菌、金黄色葡萄球菌、白色念珠菌平均抑菌效果均好于相同浓度的对照。枇杷花系统提取物对各种实验菌具有一定的抑制效果。对于金黄色葡萄球菌,抑菌效果较好的部位集中在乙醇之前的几层,其中又以正丁醇、丙酮层作用效果最为突出,表明各种极性的物质对金黄色葡萄球菌均有较强的抑制作用,其中活性最强的可能是中等极性的物质;对于大肠杆菌,抑制效果较好的主要在石油醚、氯仿、乙酸乙酯和正丁醇层,其中又以石油醚层作用效果最为突出,表明抑制大肠杆菌活性较强的可能是极性较弱和中等极性的物质;对于白色念珠菌,效果较好部位主要存在于石油醚、氯仿、乙酸乙酯层,其中又以石油醚层作用效果最为突出,表明抑制白色念珠菌活性较强的也可能是极性相对较弱的物质。

从表2可以看出,各受试物的MIC各有不同,金

表1 枇杷花系统溶剂提取物对不同菌种的抑菌作用

Table 1 Bacteriostasis of extracts from flower of *Eriobotrya japonica* by systematic solvents

受试物	浓度 (mg/ml)	抑菌圈直径(mm)		
		金黄色葡萄球菌	大肠杆菌	白色念珠菌
1 <sup>#</sup>	10	12.5	12.0	13.0
	20	13.5	12.5	15.2
	40	14.0	13.5	16.0
2 <sup>#</sup>	10	12.5	12.5	11.0
	20	12.5	12.5	13.0
	40	13.0	13.0	13.5
3 <sup>#</sup>	10	13.5	11.5	12.5
	20	14.5	12.0	13.0
	40	14.5	12.5	14.5
4 <sup>#</sup>	10	14.0	12.0	—
	20	15.5	12.5	12.0
	40	16.0	13.0	13.0
5 <sup>#</sup>	10	15.0	10.0	10.1
	20	16.5	11.0	11.2
	40	17.0	11.7	12.0
6 <sup>#</sup>	10	12.5	—	—
	20	14.0	10.0	—
	40	15.5	10.5	—
7 <sup>#</sup>	10	—	—	—
	20	—	10.5	—
	40	—	11.0	—
8 <sup>#</sup>	10	10.0	10.0	—
	20	11	10.5	10.0
	40	12.5	11.5	12.5
9 <sup>#</sup>	10	—	—	—
	20	—	—	—
	40	—	—	—

黄色葡萄球菌的MIC为1.25mg/ml,大肠杆菌的MIC为5.00mg/ml,白色念珠菌的MIC为2.50mg/ml,表明了受试物抑制金黄色葡萄球菌能力>抑制白色念珠菌能力>抑制大肠杆菌能力。

## 3 讨论

枇杷花系统提取物对金黄色葡萄球菌(革兰氏阳性菌)、大肠杆菌(革兰氏阴性菌)和白色念珠菌(真菌)具有不同的抑菌效果,相同的成分不同剂量抑菌效果也有所差异。现代研究表明,石油醚层所得到的物质常为油脂、蜡、叶绿素、萜类苷元等脂溶性成分;氯仿层常得到生物碱、大多数苷元、酚性物质等;乙酸乙酯

表2 枇杷花系统溶剂提取物最低抑菌浓度

Table 2 MIC of extracts from flowers of *Eriobotrya japonica* by systematic solvents

菌种	MIC(mg/ml)								
	1 <sup>#</sup>	2 <sup>#</sup>	3 <sup>#</sup>	4 <sup>#</sup>	5 <sup>#</sup>	6 <sup>#</sup>	7 <sup>#</sup>	8 <sup>#</sup>	9 <sup>#</sup>
金黄色葡萄球菌	2.50	2.50	2.50	1.25	1.25	5.00	—	10.00	—
大肠杆菌	2.50	5.00	5.00	5.00	10.00	20.00	20.00	10.00	—
白色念珠菌	2.50	5.00	2.50	20.00	10.00	—	—	20.00	—

# 离子交换树脂分离碱性溶液中橙皮苷的动力学和热力学

朱思明, 于淑娟, 扶 雄, 杨连生  
(华南理工大学轻工与食品学院, 广东 广州 510640)

**摘 要:** 橙皮苷是有着许多生理活性的生物类黄酮。本研究通过静态吸附实验, 对 D296 树脂分离碱性水溶液中高浓度橙皮苷的工艺条件、吸附性能、反应动力学和热力学进行了探讨。结果表明, pH 为 11.5、浓度为 2.43g/L 的橙皮苷水溶液适于用小粒径的 D296 树脂在 60℃ 下浓缩; 吸附过程符合 Freundish 等温吸附式; 60℃ 时树脂与橙皮苷反应的速率常数  $k$  为  $0.5167\text{h}^{-1}$ , 且随温度的降低而降低, 反应活化能  $E_a$  为 23.45 kJ/mol; 在 60℃ 反应平衡时, 吸附过程的表现交换反应平衡常数  $K_e$ 、自由能变化  $\Delta G^0$ 、反应热  $\Delta H_m^0$  和熵值  $\Delta S^0$  分别为  $7336.15\text{g}^2/\text{L}^2$ 、 $-24.63\text{kJ/mol}$ ,  $69.69\text{kJ/mol}$  和  $0.28\text{kJ/mol}$ 。因此, 交换反应能自发进行, 是吸热和熵增加的反应。

**关键词:** 橙皮苷; 离子交换树脂; 吸附; 动力学; 热力学

Kinetics and Thermodynamics of Adsorption of Hesperidin in Alkaline Solution on Ion-exchange Resin

ZHU Si-ming, YU Shu-juan, FU Xiong, YANG Lian-sheng  
(College of Light Chemistry and Food Science, South China University of Technology, Guangzhou 510640, China)

**Abstract:** Hesperidin is a bioflavonoid with many biological activities. The adsorption conditions, exchange reaction behavior, reaction kinetics and thermodynamics were investigated by batch ion-exchange method. The results showed that the optimum adsorption condition is at 60 °C, pH 11.5 and hesperidin concentration 2.43 mg/ml, and the resin with little diameter is adaptable

收稿日期: 2006-11-02

基金项目: 广州市自然科学基金项目(2003J1-C0011)

作者简介: 朱思明(1976-), 男, 讲师, 博士, 主要从事食品化学、糖化学和糖生物学研究。

常得到亲脂性苷类、酚性成分等; 正丁醇常得到苷、有机酸; 丙酮常得到氨基酸、鞣质、水溶性生物碱等物质; 而乙醇和水则分别可得糖类、氨基酸、小分子肽和蛋白质、多糖、多肽物质<sup>[8-9]</sup>。因此, 不同作用差异应该是各有效部位所含不同成分, 以及对各种菌的作用原理不同所致。但总体来看, 枇杷花的提取物对革兰氏阳性菌、真菌的抑制效果优于革兰氏阴性菌的抑制效果。

两种实验方法, 所得的结果能较好地吻合, 可看出试管法比打孔法更灵敏, 相同受试物在作用时, 试管法中能够更清晰地反映出实验结果, 这是两种方法在部分地方产生差异的原因。同时, 采用系统溶剂提取法获得枇杷花提取物可以实现对其中具有抑菌作用的成份的初步分离。而具体的有效物质, 还需要进一步分离。

## 参考文献:

- [1] 全国中草药汇编编写组. 全国中草药汇编[M]. 北京: 人民卫生出版社, 1996: 504.
- [2] 成丽, 刘燕, 陈凌亚, 等. 枇杷花三萜皂甙成分的研究[J]. 华西医科大学报, 2001, 32(2): 283.
- [3] 杜连祥, 路福平. 微生物学实验技术[M]. 北京: 中国轻工业出版社, 2005: 349.
- [4] 周邦靖. 常用中药的抗菌作用及其测定方法[M]. 重庆: 科学技术文献出版社, 1987.
- [5] 高荫榆, 张戎, 季玲. 红薯叶茎系统溶剂提取物抑菌作用研究[J]. 食品科学, 2006, 27(11): 174-176.
- [6] 顾仁勇, 刘莹莹. 山苍子精油抑菌及抗氧化作用的研究[J]. 食品科学, 2006, 27(11): 86-89.
- [7] 陈奇. 中药药理研究方法学[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2006: 276-277.
- [8] 张戎, 高荫榆, 季玲. 红薯叶大孔树脂分离物的抑菌作用[J]. 食品科学, 2006, 27(11): 188-191.
- [9] 宋晓凯. 天然药物化学[M]. 北京: 化学工业出版社, 2004: 189.