

# 苦丁茶多糖活性成分动态累积及其抑菌活性

蔡 鹏<sup>1,2</sup>, 黄敏桃<sup>1,2</sup>, 黄云峰<sup>3</sup>, 赖茂祥<sup>3</sup>, 黄荣韶<sup>4</sup>, 刘华钢<sup>5</sup>, 黄庶识<sup>1,\*</sup>

(1.广西科学院生物物理实验室, 广西 南宁 530007; 2.赣州卫生学校药理学系, 江西 赣州 341000; 3.广西中医研究院, 广西 南宁 530022; 4.广西大学农学院, 广西 南宁 530004; 5.广西医科大学药学院, 广西 南宁 530021)

**摘 要:** 目的: 研究苦丁茶 (*Ilex kudingcha* C. J. Tseng.) 中主要抑菌活性成分多糖在不同采收月份的动态累积规律。方法: 将不同采收期的苦丁茶叶水浴回流提取3次, 用杯碟法分别测定其对大肠杆菌、金黄色葡萄球菌和绿脓杆菌3种菌的抑菌圈直径, 比较不同采收期苦丁茶水提取物抑菌圈直径大小, 确定最佳采收期。通过苯酚硫酸法测定不同采收期苦丁茶提取物中多糖含量, 分析多糖含量与苦丁茶抑菌能力之间相关性; 同时采集不同采收期红外光谱, 分析与多糖相关的特征峰强度变化规律及其与抑菌活性之间的相关性。结果: 在一年的不同月份生长期, 苦丁茶多糖含量在1—3月份逐渐增加, 4月份达到最大值96.6 mg/g, 然后呈缓慢下降的趋势, 7—10月变化不大, 11月份后含量显著降低, 12月达到全年最低值47.7 mg/g。苦丁茶水提取物对大肠杆菌、金黄色葡萄球菌和绿脓杆菌3种菌的抑制作用在4月份最大, 12月份最小, 与苦丁茶多糖含量的变化规律基本一致。结论: 苦丁茶抑菌活性多糖成分4月份含量最高, 为最佳采收期; 苷类和多糖为苦丁茶抑菌活性成分。

**关键词:** 苦丁茶; 采收期; 多糖活性成分; 红外光谱; 抑菌活性

## Dynamic Change in Bioactive Polysaccharides and Antimicrobial Activity of Kudingcha (*Ilex kudingcha* C. J. Tseng.)

CAI Juan<sup>1,2</sup>, HUANG Min-tao<sup>1,2</sup>, HUANG Yun-feng<sup>3</sup>, LAI Mao-xiang<sup>3</sup>, HUANG Rong-shao<sup>4</sup>, LIU Hua-gang<sup>5</sup>, HUANG Shu-shi<sup>1,\*</sup>  
(1. Biophysics Laboratory, Guangxi Academy of Sciences, Nanning 530007, China; 2. Department of Pharmacy, Ganzhou Health School, Ganzhou 341000, China; 3. Guangxi Academy of Traditional Chinese Medicine, Nanning 530022, China; 4. Department of Agronomy, Guangxi University, Nanning 530004, China; 5. College of Pharmaceutical Sciences, Guangxi Medical University, Nanning 530021, China)

**Abstract:** Purpose: To investigate the dynamic accumulation pattern of the main antibacterial constituent, polysaccharides in Kudingcha collected at different months. Methods: Kudingcha was subjected to reflux extraction on a hot water bath and the process was repeated for three times. The cylinder plate method was used to measure the antimicrobial capacity. The diameter of inhibition zone was used to determine the optimal harvest time for Kudingcha. The sugar content was determined by the phenol sulfuric acid method. The correlation between polysaccharides and antibacterial activity was evaluated. The fingerprint spectra of Kudingcha aqueous extract obtained by Fourier transform infrared spectroscopy (FTIR) were studied and the correlation between characteristic peaks and antibacterial activity was evaluated. Results: The polysaccharide content in Kudingcha increased gradually during the first three months, and reached the peak of 96.6 mg/g in April. Then, it declined gradually to the lowest level of 47.7 mg/g in December. The greatest diameters of inhibition zone of *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* Rosenbach, *Pseudomonas aeruginosa* were observed when exposed to aqueous extract of Kudingcha harvested in April, and the lowest level when exposed to Kudingcha harvested in December. This trend was similar to the observation for polysaccharide content. Conclusion: The content of antibacterial components is at the highest level in Kudingcha harvested in April, and the best harvest period is in April. Glycosides and polysaccharides are antibacterial components in Kudingcha.

**Key words:** *Ilex kudingcha* C. J. Tseng; harvest period; bioactive polysaccharides; Fourier transform infrared spectrometer (FT-IR); antibacterial activity

中图分类号: R285.5

文献标志码: A

文章编号: 1002-6630 (2014) 09-0043-05

doi:10.7506/spkx1002-6630-201409010

收稿日期: 2013-04-23

基金项目: “十二五”国家科技支撑计划项目 (2011BAI01B04); 广西科学研究与技术开发计划项目 (0992003A-20)

作者简介: 蔡鹏 (1988—), 女, 硕士研究生, 主要从事中药质量控制研究。E-mail: cjlz123@126.com

\*通信作者: 黄庶识 (1964—), 男, 研究员, 博士, 主要从事中药质量控制研究。E-mail: hshushi@gxas.cn

苦丁茶冬青 (*Ilex kudingcha* C. J. Tseng.) 作为一种广西道地特产的药用两用的大宗优势产品, 早已成为广西乃至我国华南地区的传统特色产品。研究表明, 饮用苦丁茶具有清热解毒、杀菌消炎、健胃消积、止咳化痰、生津止渴、提神醒脑、明目益智和抗辐射、抗衰老、活血脉、调节血脂等生理活性<sup>[1]</sup>, 民间应用历史悠久。利用苦丁茶的抑菌作用, 民间常在饲料中添加苦丁茶叶以预防鸡瘟, 且常饮用苦丁茶可达到清除口腔牙周病原菌<sup>[2]</sup>、抑制幽门螺旋杆菌生长, 治疗慢性胃炎等药理效果<sup>[3]</sup>。随着人类社会的发展, 抗生素、激素大量不合理的使用, 会对人体健康造成损害, 近年来科学工作者已经转向中草药中有效天然抑菌成分的研究, 从天然中草药中筛选食品添加剂也越来越受到国内外学者的广泛关注<sup>[4-5]</sup>。苦丁茶中含有多种药效成分和营养成分, 主要为皂苷、黄酮、多糖等化学成分, 如槲皮素、山奈素、熊果酸、齐墩果酸、苦丁茶多糖、多种微量元素等<sup>[6-9]</sup>。这些成分为苦丁茶中天然抑菌成分、天然食品添加剂的筛选提供了物质基础<sup>[10]</sup>, 且苦丁茶为日常饮品, 长期安全使用无毒副作用。林雄平等<sup>[11]</sup>以及本实验前期研究表明, 苦丁茶抑菌的抑菌活性与其茶多糖含量密切相关, 但尚未见有关苦丁茶抑菌活性和多糖含量随季节变化规律的报道。本研究采用杯碟法测定不同采收期苦丁茶提取物的抑菌能力, 比较不同采收期苦丁茶多糖含量和抑菌活性的相关性, 为确定苦丁茶原材料的适宜采收期, 并为更好地综合评价苦丁茶原材料的质量提供依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料、试剂与菌种

苦丁茶样品于2011年7月采自广西南宁市地委大院, 树龄25年, 经广西中医药研究院赖茂祥研究员鉴定为冬青科冬青属苦丁茶冬青 (*Ilex kudingcha* C. J. Tseng.), 采2年枝条成熟叶, 采回后阴干, 取其干燥叶片粉碎、烘干, 置于干燥器保存待用。

硫酸 (分析纯) 廉江市爱廉化试剂有限公司; MH琼脂培养基、MH肉汤、营养肉汤均为广东环凯公司; 牛津杯 河北新乡精密仪器厂; 0.22  $\mu\text{m}$ 微孔滤膜 天津津腾公司。

大肠杆菌 (*Escherichia coli*) (ATCC44102); 金黄色葡萄球菌 (*Staphylococcus aureus* Rosenbach) (ATCC26003); 绿脓杆菌 (*Pseudomonas aeruginosa*) (ATCC27583) 购自美国模式培养物集存库 (American Type Culture Collection)。

### 1.2 仪器与设备

UV-2601双光束紫外-可见分光光度计 北京瑞利分析仪器公司; SW-CJ-1FD超净工作台 苏州净化设备

厂; DW-40L92药品保存箱 青岛海尔公司; RE-52AA旋转蒸发器 上海亚荣生化仪器厂; SHB-III型循环水式真空泵 郑州长城科工贸有限公司; HPX-9082MBE数显电热培养箱 上海博迅实业有限公司; SIGMA 1-15P离心机 德国Sigma公司; TS-100B恒温摇床 上海天呈科技有限公司; Nicolet 5700傅里叶变换红外光谱仪 (fourier transform infrared spectrometer, FT-IR) 美国Thermo公司; FW-4A型压片机 天津光学仪器厂; Mettler Toledo XS105DU超越型分析天平 瑞士梅特勒-托利多公司。

### 1.3 方法

#### 1.3.1 苦丁茶样品溶液的制备

精确称取不同采收期苦丁茶粉末5.00 g, 加入300 mL水, 于100  $^{\circ}\text{C}$ 水浴锅回流提取3次, 每次2.4 h。冷却, 过滤合并滤液, 浓缩, 挥干, 水定容于10 mL容量瓶备用, 过0.22  $\mu\text{m}$ 微孔滤膜, 得供试品, 此时质量浓度为0.5 g/mL的苦丁茶。每个采收期样品做3次重复, 结果取其平均值。

#### 1.3.2 杯碟法测定苦丁茶样品溶液对细菌的生长抑制作用

将3个菌株分别培养至对数生长期, 离心, 取下层, 用无菌生理盐水调至OD<sub>600 nm</sub>值为0.1。大肠杆菌菌液按照1:100 (V/V) 稀释, 吸取50  $\mu\text{L}$ ; 金黄色葡萄球菌1:1000倍稀释, 吸取30  $\mu\text{L}$ ; 绿脓杆菌1:100倍稀释, 吸取40  $\mu\text{L}$ 。将菌液均匀涂布于MH琼脂平板表面, 稍干后将3个牛津杯等距离放置于琼脂表面, 向牛津杯中定量加入200  $\mu\text{L}$  0.5 g/mL苦丁茶提取液, 4  $^{\circ}\text{C}$ 冰箱放置10 h使其扩散, 再置于35  $^{\circ}\text{C}$ 恒温箱培养18~20 h, 观察并测量抑菌圈直径, 每个药物抑菌实验重复3次, 结果取其平均值。

#### 1.3.3 苯酚硫酸法测定苦丁茶不同采收期多糖含量

##### 1.3.3.1 葡萄糖标准曲线的制备

精密称取无水葡萄糖纯品, 去离子水定容于100 mL容量瓶中, 分别吸取葡萄糖溶液0.4、0.6、0.8、1.0、1.2、1.4、1.6、1.8 mL, 去离子水补足至2.0 mL, 加入6%苯酚1.0 mL及浓硫酸5.0 mL, 静置10 min, 摇匀, 室温放置20 min后, 480 nm波长处测定吸光度, 以吸光度为纵坐标, 葡萄糖浓度为横坐标绘制标准曲线。

##### 1.3.3.2 换算因素的测定

称取苦丁茶10 g, 置圆底烧瓶中, 加水300 mL, 100  $^{\circ}\text{C}$ 水浴锅回流提取4次, 每次2.4 h。冷却, 过滤, 合并滤液, 浓缩至50 mL。95%乙醇沉淀多糖, 用乙醚-丙酮-无水乙醇溶剂系统反复冲洗, 真空低温干燥。得苦丁茶粗多糖。

##### 1.3.3.3 苦丁茶多糖含量的计算

精确称取干燥至恒重的苦丁茶粗多糖3份, 定容于100 mL容量瓶, 得原始质量浓度为 $\rho_1$ 、 $\rho_2$ 、 $\rho_3$ 的苦丁茶多

糖。取2 mL按照苯酚硫酸法测定其吸光度 $A_1$ 、 $A_2$ 、 $A_3$ ，根据标准曲线将 $A_1$ 、 $A_2$ 、 $A_3$ 换算成苦丁茶多糖换算质量浓度 $\rho_1^*$ 、 $\rho_2^*$ 、 $\rho_3^*$ ，则：

$$\text{换算因素}(F) = \frac{\frac{\rho_1}{\rho_1^*} + \frac{\rho_2}{\rho_2^*} + \frac{\rho_3}{\rho_3^*}}{3} \quad (1)$$

$$\text{苦丁茶样品多糖含量}/(\text{g/mL}) = \frac{\rho^* \times F \times \text{稀释倍数}}{\text{苦丁茶样品质量浓度}} \quad (2)$$

式中： $\rho^*$ 为标准品中苦丁茶多糖含量。

#### 1.3.3.4 苦丁茶样品中多糖含量测定

吸取不同采收期提取液10  $\mu\text{L}$ ，水稀释至2 mL，然后按照1.3.3.3节方法测定苦丁茶样品中多糖含量。

#### 1.3.4 FT-IR法测定

采用湿法拌样，取1.3.1节制备的不同采收期苦丁茶供试品溶液10  $\mu\text{L}$ ，加入200 mg光谱纯KBr中搅拌均匀，再置于烘箱中，60  $^{\circ}\text{C}$ 恒温干燥24 h，备用。压片成厚度约1 mm的錠片，将錠片放入红外光谱仪测定，每个片随机扫3个不同的点，再取其平均谱图作为最后的样品谱图。实验测试条件：光谱范围4 000~400  $\text{cm}^{-1}$ ；光谱分辨率4  $\text{cm}^{-1}$ ；扫描次数32次，平行实验3次。红外实验室环境保持恒温恒湿，温度25  $^{\circ}\text{C}$ ，相对湿度30%，以保证实验环境的稳定性。

#### 1.3.5 红外光谱数据处理

采用OMNI E.S.P.51 智能操作软件进行红外谱图数据处理。每个样品测定前均对背景进行扫描，对得到的红外光谱进行基线校正和9点S-G平滑滤波，为了尽可能的消除人为因素的影响，还需对光谱数据做归一化处理，本实验采用了的归一化方法为标准正态变量，最后确定峰值和吸光度。

## 2 结果与分析

### 2.1 不同采收期苦丁茶多糖含量及其抗菌活性

由表1可知，苦丁茶多糖含量随着气温回升不断增加，4月份达到最高，平均达96.6 mg/g，然后呈缓慢下降的趋势，7—10月之间多糖含量差异不显著，11月份后，苦丁茶多糖含量显著降低，并于12月达到全年最低值，只有47.7 mg/g。在一年的不同月份生长期中，苦丁茶提取物对大肠杆菌的抑菌活性1月较大，2、3月份减小，4月显著增加，并达到全年最高值，之后逐月减小，11月略有增加，12月达到全年最低值；金黄色葡萄球菌和绿脓杆菌的抑菌活性与大肠杆菌的抑菌活性类似，4月份最大，之后逐月减小，12月份最低，与苦丁茶多糖含量的变化规律基本一致。对苦丁茶提取物的抗菌活性与多糖含量测定结果进行相关性分析，结果显示，苦丁茶提取

物多糖含量与大肠杆菌、金黄色葡萄球菌抑菌活性相关系数均大于0.836，与绿脓杆菌抑菌活性相关系数是0.726（表2），表明苦丁茶中的多糖与其抗大肠杆菌和抗金黄色葡萄球菌的能力密切相关，与抗绿脓杆菌的能力有较大的相关性，多糖是苦丁茶主要的抑菌活性成分。

表1 不同采收期苦丁茶提取物多糖含量及其对3种菌的抑菌活性  
Table 1 Diameters of the inhibition zones of three bacteria when exposed to aqueous extract of Kudingcha harvested in different growth phases

| 采收时间 | 多糖含量/<br>(mg/g)   | 抑菌圈直径/mm         |                  |                  |
|------|-------------------|------------------|------------------|------------------|
|      |                   | 大肠杆菌             | 金黄色葡萄球菌          | 绿脓杆菌             |
| 1月   | 68.33 $\pm$ 5.46  | 22.00 $\pm$ 1.60 | 37.57 $\pm$ 1.01 | 18.20 $\pm$ 0.22 |
| 2月   | 60.84 $\pm$ 5.71  | 17.23 $\pm$ 1.49 | 38.23 $\pm$ 1.30 | 13.63 $\pm$ 3.72 |
| 3月   | 73.00 $\pm$ 10.17 | 18.03 $\pm$ 0.40 | 37.87 $\pm$ 0.86 | 24.46 $\pm$ 2.17 |
| 4月   | 96.60 $\pm$ 7.07  | 24.87 $\pm$ 0.23 | 43.09 $\pm$ 0.44 | 32.07 $\pm$ 1.86 |
| 5月   | 82.40 $\pm$ 11.35 | 23.23 $\pm$ 0.72 | 40.37 $\pm$ 1.39 | 29.02 $\pm$ 0.89 |
| 6月   | 76.70 $\pm$ 3.78  | 22.61 $\pm$ 1.07 | 40.23 $\pm$ 0.99 | 29.67 $\pm$ 1.46 |
| 7月   | 69.20 $\pm$ 6.92  | 21.27 $\pm$ 0.16 | 35.24 $\pm$ 1.14 | 23.65 $\pm$ 1.18 |
| 8月   | 67.40 $\pm$ 7.49  | 22.21 $\pm$ 0.94 | 34.88 $\pm$ 1.23 | 26.87 $\pm$ 1.33 |
| 9月   | 67.10 $\pm$ 11.58 | 21.03 $\pm$ 1.70 | 33.75 $\pm$ 1.76 | 20.48 $\pm$ 1.34 |
| 10月  | 56.90 $\pm$ 6.84  | 19.15 $\pm$ 0.86 | 35.65 $\pm$ 0.53 | 22.85 $\pm$ 1.30 |
| 11月  | 70.80 $\pm$ 8.64  | 21.96 $\pm$ 0.22 | 35.17 $\pm$ 0.50 | 22.62 $\pm$ 0.45 |
| 12月  | 47.70 $\pm$ 11.39 | 15.41 $\pm$ 1.01 | 31.21 $\pm$ 0.26 | 21.92 $\pm$ 1.49 |

表2 不同采收期苦丁茶提取物多糖含量及红外光谱特征峰与其抑菌作用的相关性分析

Table 2 Correlation of antibacterial activity with polysaccharide content as well as IR characteristic peaks for aqueous extract of Kudingcha harvested in different growth phases

| 项目                     | 大肠杆菌抑菌圈直径 | 金黄色葡萄球菌抑菌圈直径 | 绿脓杆菌抑菌圈直径 |
|------------------------|-----------|--------------|-----------|
| 多糖含量                   | 0.836**   | 0.856**      | 0.726**   |
| 806 $\text{cm}^{-1}$   | 0.195     | 0.627*       | 0.067     |
| 1 277 $\text{cm}^{-1}$ | 0.728**   | 0.896**      | 0.412     |
| 1 523 $\text{cm}^{-1}$ | 0.735**   | 0.915**      | 0.522     |
| 1 735 $\text{cm}^{-1}$ | 0.703*    | 0.765**      | 0.321     |

注：\*， $P < 0.05$  水平上显著相关；\*\*， $P < 0.01$  水平上显著相关。

### 2.2 苦丁茶不同采收期红外光谱分析

由于4 000~2 000  $\text{cm}^{-1}$ 波数范围内存在着明显的 $\text{H}_2\text{O}$ 和 $\text{CO}_2$ 的吸收峰，且在这区域内的吸收峰多为合频峰，特征性不强。按吸收峰的来源，可以将4 000~400  $\text{cm}^{-1}$ 的红外光谱图大体上分为特征频率区（4 000~1 300  $\text{cm}^{-1}$ ）以及指纹区（1 300~400  $\text{cm}^{-1}$ ）两个区域。其中特征频率区中的吸收峰基本是由基团的伸缩振动产生，数目不是很多，但具有很强的特征性，主要用于鉴定官能团。指纹区的情况不同，该区峰多而复杂，没有强的特征性。当分子结构稍有不同时，该区的吸收就有细微的差异。指纹区对于区别结构类似的化合物很有帮助。故本实验红外光谱数据分析时主要采用1 800~400  $\text{cm}^{-1}$ 区波段。由图1可知，根据相似相溶原理，水提物中所含物质极性比较大，根据红外光谱吸收峰的归属，1 735  $\text{cm}^{-1}$ 为羰基吸收峰<sup>[12]</sup>，1 601  $\text{cm}^{-1}$ 附近为芳环骨架振动吸收峰<sup>[13]</sup>，其中1 601  $\text{cm}^{-1}$ 的芳环为非极性结构，结合相似相容原理



的结论推测该物质可能为芳环骨架与强极性物质结合,例如糖基,以苷类形式存在。故 $1\ 735$ 、 $1\ 601\ \text{cm}^{-1}$ 表征了苦丁茶水提取物中可能含有黄酮苷、皂苷等苷类物质。 $1\ 523$ 、 $1\ 454$ 、 $1\ 392\ \text{cm}^{-1}$ 是来甲基、亚甲基C—H弯曲振动的结果<sup>[14-16]</sup>, $1\ 277$ 、 $1\ 124\ \text{cm}^{-1}$ 部分来自C—C伸缩振动的吸收部分来自C—N伸缩振动的吸收<sup>[17]</sup>。 $1\ 083$ 、 $991\ \text{cm}^{-1}$ 的强吸收峰是C—O振动的吸收峰<sup>[16]</sup>, $900\ \text{cm}^{-1}$ 以下的吸收峰则是糖环骨架振动吸收峰<sup>[18]</sup>。综上所述,苦丁茶水提取物中主要含有多糖类、苷类物质,这与前人研究结果一致<sup>[14-16]</sup>。

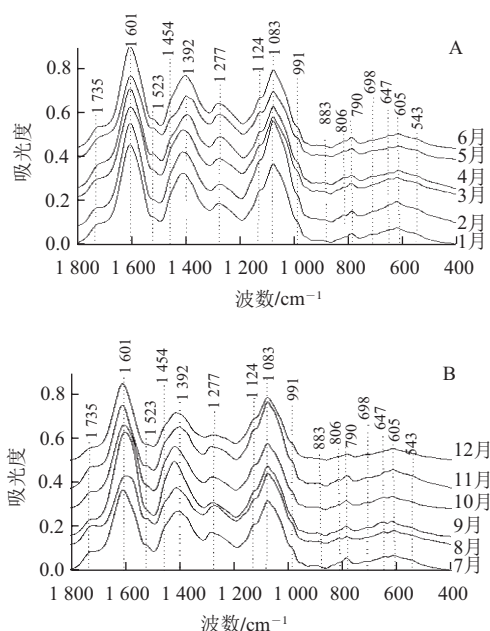


图1 1—12月苦丁茶水提取物的红外光谱图

Fig.1 FT-IR spectra of aqueous extract of Kudingcha

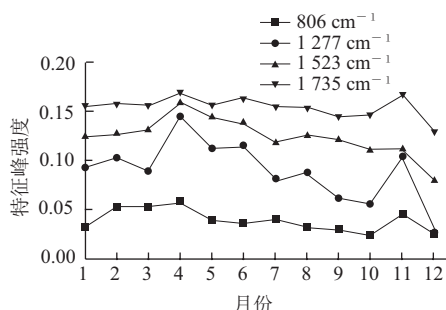


图2 1—12月苦丁茶水提取物红外光谱特征峰强度变化趋势

Fig.2 FT-IR characteristic peaks of aqueous extract of Kudingcha

$1\ 735\ \text{cm}^{-1}$ 为羰基吸收峰, $1\ 523\ \text{cm}^{-1}$ 为甲基、亚甲基弯曲振动吸收峰<sup>[19]</sup>, $1\ 277\ \text{cm}^{-1}$ 为C—C伸缩振动的吸收<sup>[20]</sup>,也可能有部分来源于C—N伸缩振动吸收<sup>[21]</sup>, $806\ \text{cm}^{-1}$ 为糖环骨架振动吸收峰<sup>[22]</sup>,这4个吸收峰均能指代多糖中的各特征基团,比较图2与表1中多糖含量的结

果可知,这4个特征峰强度变化的趋势与苦丁茶水提取物对大肠杆菌、金黄色葡萄球菌和绿脓杆菌的抑菌活性的变化趋势基本一致,都是4月为全年最高,而12月为全年最低。其中 $1\ 735\ \text{cm}^{-1}$ 在6—10月变化较小,呈缓缓下降的趋势,与大肠杆菌的抑菌圈直径变化趋势一致。 $1\ 523\ \text{cm}^{-1}$ 在7月有较强减弱趋势,其余月份变化平缓,这与金黄色葡萄球菌的抑菌圈直径变化趋势相似。 $1\ 277\ \text{cm}^{-1}$ 在6、8月处于稳定期,但5、7月下降趋势明显,这与绿脓杆菌的抑菌圈直径变化趋势一致。 $806\ \text{cm}^{-1}$ 在5月有下降之后,直到10月变化都不明显,但与其他峰一致的是4月为全年最高值,12月为全年最低值,这与3种菌的抑菌圈直径结果一致。同时 $1\ 735$ 、 $1\ 523$ 、 $1\ 277$ 、 $806\ \text{cm}^{-1}$ 4个特征峰也是苦丁茶中苷类成分和多糖成分的特征峰。

通过SPSS17.0软件对不同采收期红外特征峰 $1\ 735$ 、 $1\ 523$ 、 $1\ 277$ 、 $806\ \text{cm}^{-1}$ 的峰强度与其对大肠杆菌、金黄色葡萄球菌和绿脓杆菌的抑菌圈直径进行双变量相关分析,结果显示(表2), $806\ \text{cm}^{-1}$ 特征峰与金黄色葡萄球菌的抑菌圈直径显著相关,与大肠杆菌抑菌圈直径低度相关,与绿脓杆菌的抑菌圈直径没有相关性。 $1\ 277$ 、 $1\ 523\ \text{cm}^{-1}$ 特征峰与金黄色葡萄球菌的抑菌圈直径极显著正相关,与大肠杆菌中度相关,与绿脓杆菌抑菌圈直径也具有弱相关性。 $1\ 735\ \text{cm}^{-1}$ 特征峰与大肠杆菌、金黄色葡萄球菌的抑菌圈直径相关性显著,与绿脓杆菌抑菌圈直径的相关性较弱。双变量相关分析结果表明多糖,或连接有多糖的苷类物质为苦丁茶的抑菌活性成分。

### 3 结论

通过不同采收期苦丁茶提取物对3种菌的抑菌圈直径比较可知,苦丁茶水提取物对大肠杆菌的抑菌圈直径在1、4、8、11月有显著增长,对金黄色葡萄球菌的抑菌圈直径在4、9月有显著增长,对绿脓杆菌的抑菌圈直径在3、4、8月有显著增长。虽然3种菌的抑菌圈直径全年增长月份不相同,但均为4月份为抑菌圈直径最高月,且对3种菌的抑菌圈直径全年最低值均为12月。

苦丁茶抑菌活性成分4月份含量最高,苦丁茶花期为4、5月份,这证明了中药叶类采收多在植物光合作用旺盛期,开花期采收的合理性。12月温度低,苦丁茶生长不活跃,植物代谢能力降低,故苦丁茶的抑菌能力为全年最低值。

虽然中药混合物中各种成分的叠加谱相互之间有干扰,但从总体变化趋势来看,苦丁茶多糖含量、苦丁茶水提取物红外光谱特征峰强度变化趋势与苦丁茶对3种菌抑菌圈直径的变化趋势基本一致,苦丁茶中抑菌活性成分可能为苷类成分和多糖,这与前人研究结果一致<sup>[10]</sup>。

综上,广西苦丁茶冬青中抑菌活性成分含量在春季

较高,在冬季较低。因此,苦丁茶的最佳采收期应该为春季。本实验初步揭示了不同生长季节苦丁茶中抑菌活性成分含量的变化规律,结果提示在苦丁茶的利用上,应重视其不同季节所含的成分变化,根据苦丁茶不同有效成分的功效,合理安排采收时间以利于苦丁茶资源开发及临床应用。

#### 参考文献:

- [1] 江苏新医学院编. 中药大辞典(上册)[M]. 上海: 上海科学技术出版社, 1985: 1288.
- [2] 王茜, 樊明文, 边专, 等. 熊果酸的提取及其对牙周病原菌的作用[J]. 中华口腔医学杂志, 2002, 37(5): 388-390.
- [3] 张煜, 王彦峰. 广西常用中草药、壮药抗幽门螺杆菌作用的筛选研究[J]. 中国民族民间医药: 药物研究, 2008(8): 19-20.
- [4] 王嵩. 中草药抗细菌感染研究[J]. 北京中医杂志, 2002, 21(4): 249-241.
- [5] 王关林, 蒋丹. 22种中草药抑菌活性的研究[J]. 辽宁高职学报, 2003, 4(5): 140-141.
- [6] 蒙大平, 黄雪梅, 邓玉庄. 苦丁茶老叶中槲皮素和山柰素的含量测定[J]. 中国医院药学杂志, 2006, 26(2): 135-137.
- [7] 杨新河, 刘仲华, 黄建安, 等. HPLC法测定苦丁茶中的熊果酸和齐墩果酸的含量[J]. 药物分析杂志, 2007, 27(10): 1627-1629.
- [8] 林琼, 许旋. 不同季节苦丁茶叶的微量元素和黄酮含量的测定[J]. 中国民族民间医药杂志, 2005(4): 240-242.
- [9] 赵天湖, 范嘉龙, 闫冬. 大叶冬青苦丁茶多糖提取、纯化与抗氧化活性研究[J]. 作物研究, 2011, 25(1): 56-60.
- [10] 刘爱华, 罗永明, 林燕华. 苦丁茶的研究概述[J]. 中药材, 2002, 25(2): 148-150.
- [11] 林雄平, 陈晓清, 苏育才. 金银花和苦丁茶多糖提取物抗菌活性研究[J]. 亚热带植物科学, 2008, 37(1): 51-53.
- [12] 黄昊, 李静, 秦竹, 等. 中药配方颗粒红外指纹图谱研究[J]. 分析化学, 2003, 31(7): 828-832.
- [13] 毛晓丽, 郑娟梅, 李自达, 等. 基于FTIR的两种模式识别方法在两面针产地鉴别中的应用[J]. 光谱学与光谱分析, 2011, 31(10): 2697-2701.
- [14] 黄昊, 孙素琴, 许锦文, 等. 药用植物化学分类法与红外指纹图谱的相关性研究[J]. 光谱学与光谱分析, 2003, 23(2): 253-257.
- [15] 路玫, 蒙大平, 荣延平. 广西苦丁茶嫩叶和老叶中熊果酸含量的比较[J]. 中国实验方剂学杂志, 2008, 14(10): 14-15.
- [16] 黄昊, 孙素琴, 许锦文, 等. 药用植物化学分类法与红外指纹图谱的相关性研究[J]. 光谱学与光谱分析, 2003(2): 253-257.
- [17] 潘彦斌, 张福义. 红外指纹区特点及解析[J]. 现代仪器, 2000(1): 1-13.
- [18] 黄雪梅, 蒙大平, 荣延平. 广西苦丁茶嫩叶和老叶中槲皮素和山柰素的含量测定[J]. 中国现代应用药学杂志, 2005, 22(5): 383-385.
- [19] LERMA-GARCÍA M J, RAMIS-RAMOS G, HERRERO-MARTÍNEZ J M, et al. Authentication of extra virgin olive oils by Fourier-transform infrared spectroscopy[J]. Food Chemistry, 2010, 118(1): 78-83.
- [20] 李湘南, 刘小平. 复方中药红外指纹图谱鉴定[J]. 时珍国医国药, 2007, 18(6): 1469-1470.
- [21] 辜燕飞, 刘红, 徐伟霞. 西番莲叶红外指纹图谱研究[J]. 安徽农业科学, 2010, 38(14): 7316-7317.
- [22] 张石楠, 张桂芝, 张立. 中药饮片挥发油的红外指纹图谱研究[J]. 现代中药研究与实践, 2009, 23(1): 25-27.