

白花蛇舌草黄酮类化合物的提取及抑菌作用*

曾俊, 徐俊钰, 熊芮, 李梅
(重庆师范大学 生命科学学院, 重庆 401331)

摘要:【目的】测定在选定条件下白花蛇舌草(*Hedyotis diffusa*)的乙醇粗提取物干膏得率及其中黄酮类化合物的含量,探讨粗提取物和纯化后的黄酮类化合物的抑菌作用。【方法】将白花蛇舌草置于体积分数为70%的乙醇溶液中冷浸,对其中的黄酮类化合物进行粗提;再通过AB-8型大孔吸附树脂对粗提取物进行处理,获得纯化后的黄酮类化合物。通过测定粗提取物和纯化后的黄酮类化合物产生的抑菌圈直径比较两者对大肠杆菌(*Escherichia coli*)、枯草芽孢杆菌(*Bacillus subtilis*)和金黄色葡萄球菌(*Staphylococcus aureus*)的抑菌作用。【结果】粗提取物干膏得率为10.34%,干膏中黄酮类化合物含量为9.73%,纯化后的黄酮类化合物得率为5.98%。粗提取物对大肠杆菌、枯草芽孢杆菌和金黄色葡萄球菌的最小抑菌浓度分别为3.125, 1.562 5和50 mg·mL⁻¹。纯化后的黄酮类化合物对大肠杆菌、枯草芽孢杆菌和金黄色葡萄球菌的最小抑菌浓度分别为125, 62.5和1 000 μg·mL⁻¹。【结论】白花蛇舌草乙醇提取物对大肠杆菌、枯草芽孢杆菌和金黄色葡萄球菌均具有较强的抑菌作用,为新型食品防腐剂的开发提供了基础资料。

关键词: 白花蛇舌草; 黄酮类化合物; 抑菌作用

中图分类号: Q93-31

文献标志码: A

文章编号: 1672-6693(2021)02-0097-08

白花蛇舌草(*Hedyotis diffusa*)主要分布于中国南部,因叶片与蛇舌的形状相似且开白花而得名^[1]。白花蛇舌草是一种中国民间较为常见的中草药,性寒,味苦,具有较高的药用价值,有清热解毒、抗菌抗炎、利尿淋病等功效^[2]。白花蛇舌草在临床医学中有着广泛的应用,与适当的中药配伍可有效治疗肿瘤、肾炎、胃炎等^[3]。有研究表明,白花蛇舌草中主要的生物活性成分是黄酮类化合物、萜醌类、酚类、挥发油等^[4]。黄酮类化合物是白花蛇舌草中的高含量活性成分,具有抑制肿瘤细胞生长、清除自由基、免疫调节等生理功能^[5-6]。由于黄酮类化合物具有广泛的药理活性并且生理毒性较低^[7],已成为研究人员的关注热点。

随着中国经济的不断发展,人们对食品品质和新鲜程度的要求也越来越高。目前食品工业中广泛使用的化学防腐剂如果长期摄入,无疑会影响人们的身体健康;相较而言,天然防腐剂的安全性更高且毒性较低乃至无毒^[8]。由于拥有广泛的自然资源和较高的安全性、抗菌性能,天然食品防腐剂在食品工业中逐渐受到人们的关注,在食品加工储藏中具有潜在的市场前景。有研究表明,从白花蛇舌草中可提取出较多黄酮类化合物,且具有抗菌作用^[9]。为此,本研究通过乙醇浸提法制得白花蛇舌草粗提取物^[10-11],采用三氯化铝显色法测定了其中黄酮类化合物的含量,使用AB-8大孔吸附树脂提纯粗提取物中的黄酮类化合物^[12],再用粗提取物和纯化后的黄酮类化合物对大肠杆菌(*Escherichia coli*)、枯草芽孢杆菌(*Bacillus subtilis*)、金黄色葡萄球菌(*Staphylococcus aureus*)等几种常见病原菌进行了抑菌实验,有关结果可为白花蛇舌草总黄酮在天然抗菌剂及防腐剂的研发运用提供基础资料。

1 材料与方法

1.1 药材、主要试剂和仪器

研究所用药材和主要试剂的具体信息见表1,主要仪器的具体信息见表2。

1.2 实验菌种

实验用大肠杆菌、金黄色葡萄球菌和枯草芽孢杆菌均来自于重庆师范大学生命科学学院微生物实验室。

* 收稿日期:2020-06-15 修回日期:2020-09-29 网络出版时间:2021-04-07 16:54

资助项目:国家自然科学基金(No. 81502131);重庆市教育委员会科学技术研究项目(No. KJ202000541975044);重庆市自然科学基金(No. cstc2018jcyjAX0573)

第一作者简介:曾俊,女,副教授,博士,研究方向为生物毒素与药物研发, E-mail: 20141124@cqnu.edu.cn

网络出版地址: <https://kns.cnki.net/kcms/detail/50.1165.N.20210407.1634.022.html>

表 1 药材与主要试剂

Tab. 1 The medicinal materials and main reagents

名称	分子式	生产(供货)厂商	规格
白花蛇舌草		广东省普宁市仁草堂	全株
芦丁	$C_{27}H_{30}O_{16}$	索莱宝科技有限公司	HPLC 测定含量大于或等于 98%
无水乙醇	CH_3CH_2OH	重庆川东化工有限公司	分析纯
六水合三氯化铝	$AlCl_3 \cdot 6H_2O$	天津市大茂化学试剂厂	分析纯
AB-8 大孔吸附树脂		北京索莱宝科技有限公司	孔径:130~140 μm
胰蛋白胨		北京索莱宝科技有限公司	
酵母粉		北京索莱宝科技有限公司	
琼脂粉	$(C_{12}H_{18}O_9)_n$	北京索莱宝科技有限公司	相对分子质量:3 000~9 000
氯化钠	NaCl	北京索莱宝科技有限公司	分析纯

表 2 实验仪器

Tab. 2 Experimental instruments in the study

仪器名称	型号	生产厂家	仪器名称	型号	生产厂家
电子天平	FA1004	上海舜宇恒平科学仪器有限公司	高精度数控摇床	ATL-0329	上海堪鑫仪器设备有限公司
低速离心机	TD5A-WS	长沙湘仪离心机仪器有限公司	双人双面净化工作台	SW-CJ-2F	苏州净化设备有限公司
旋转蒸发器	RE-52	上海亚荣生化仪器厂	紫外可见分光光度计	UV-1800	上海美语达仪器有限公司
振荡培养箱	SHH-250Z	重庆市永生实验仪器厂	立式压力蒸汽灭菌锅	LDZX-75KBS	上海申安医疗器械厂
电热鼓风干燥箱	101-1AB	北京中兴伟业仪器有限公司			

1.3 实验方法

1.3.1 粗提物干膏的制备 将干燥的白花蛇舌草全草粉碎,收集通过 40 目筛的药材粉末,备用。称取粉末 25 g,加入 300 mL 体积分数为 70% 的乙醇溶液,摇匀加塞,避光冷浸 48 h。再将装有溶液的锥形瓶放入温度为 65 $^{\circ}C$ 的水浴锅中加热 30 min,抽滤,将滤液置于离心机,设置转速为 3 000 $r \cdot min^{-1}$,离心 5 min。将旋转蒸发仪设置为 65 $^{\circ}C$,并将上清液在此条件下减压蒸馏至 15 mL 左右,倒入干净平皿中,放入温度设置为 65 $^{\circ}C$ 的鼓风干燥箱中烘至黑褐色干膏状(图 1)。粗提物干膏得率由粗提物干膏质量除以制备它所用的白花蛇舌草质量再乘以 100% 计算而得。

1.3.2 粗提物中黄酮类化合物含量的测定 1) 标准曲线的制作^[13]。向装有 0.010 0 g 芦丁标准品的试管中加入 5 mL 体积分数为 95% 的乙醇溶液,超声波处理 30 min,待芦丁完全溶解后再用体积分数为 95% 的乙醇溶液配制成质量浓度为 0.1 $mg \cdot mL^{-1}$ 的标准液。分别吸取上述标准液 0,0.5,1,1.5,2,2.5,3,3.5 mL,均加入 4 mL 质量分数为 1% 的三氯化铝溶液,再用体积分数为 95% 的乙醇溶液定容至 10 mL,立即摇匀,静置 15 min,在入射光波长为 410 nm 处测定吸光度,由此得到标准曲线和回归方程如图 2 所示:在 0~0.035 $mg \cdot mL^{-1}$ 范围内,芦丁质量浓度(x)与吸光度(y)有着良好的线性关系。

2) 粗提物干膏中黄酮类化合物含量的测定。称取粗提物干膏 0.5 g,加入体积分数为 95% 的乙醇溶液定容至 100 mL。吸取样品液 1 mL,之后的步骤与标准曲线制作的操作步骤相同,并通过标准曲线求得样品液黄酮类化合物质量浓度。根据以下公式计算粗提物干膏中的黄酮类化合物含量:

$$\text{黄酮类化合物含量} = \frac{C \times A \times V}{m} \times 100\%。$$

式中: C 为样品液黄酮类化合物质量浓度(单位: $g \cdot mL^{-1}$), A 为稀释倍数, V 为样品液体积(单位:mL), m 为粗提物干膏质量(单位:g)。

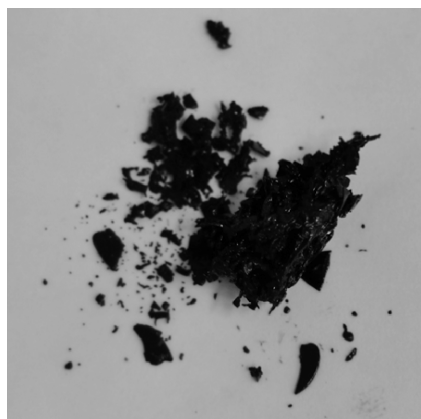


图 1 粗提物干膏

Fig. 1 Dry cream of crude extract

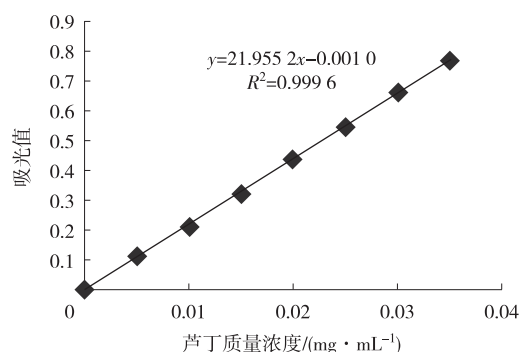


图 2 芦丁的标准曲线

Fig. 2 Standard curve of rutin

1.3.3 黄酮类化合物的纯化 有研究表明,相较于其他树脂,AB-8 大孔吸附树脂对黄酮类化合物的吸附能力更强,解吸效果更好^[14]。因此,本研究用 AB-8 型的大孔吸附树脂对白花蛇舌草粗提物进行纯化,具体步骤如下。

1) AB-8 大孔吸附树脂的预处理^[15]。将树脂放入体积分数为 95% 的乙醇溶液中,浸泡 24 h 后,仍用体积分数为 95% 的乙醇溶液洗涤大孔树脂,当流出的液滴滴入适量的水中没有白色混浊产生,停止洗涤。然后用蒸馏水冲洗树脂,直到流出液无乙醇味,备用。

2) 白花蛇舌草粗提物的纯化。称取粗提物干膏 0.5 g,用体积分数为 70% 的乙醇溶液溶解,定容至 100 mL,样品液上样流速为 $1 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$ 。上样完毕后,用 100 mL 蒸馏水洗涤大孔吸附树脂,冲洗掉溶于水的杂质,流速为 $3 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$ 。再用 100 mL 体积分数为 70% 的乙醇溶液对大孔吸附树脂进行解吸,解吸速度为 $1.5 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$ ^[16]。收集解吸液,将它于 65°C 温度条件下,减压蒸馏浓缩至 15 mL 左右,倒入平皿中,置于温度为 65°C 的鼓风干燥箱中烘干,得褐色晶体粉末(图 3)。纯化过程中的吸附量(单位: $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$)、吸附率、解吸率和黄酮类化合物得率的计算公式如下:

$$\text{吸附量} = \frac{(C_0 - C_1) \times V_1}{m_0},$$

$$\text{解吸率} = \frac{C_2 \times V_2}{(C_0 - C_1) \times V_1} \times 100\%,$$

$$\text{黄酮类化合物得率} = \frac{m_2}{m_1} \times 100\%.$$

其中: C_0, C_1, C_2 分别为样品液、吸附后流出液和解吸液的质量浓度(单位: $\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$); V_1 和 V_2 分别为吸附后流出液及解析液的体积(单位: mL); m_0, m_1 和 m_2 分别为大孔吸附树脂、粗提物干膏和纯化后的黄酮类化合物的质量(单位: g)。

1.3.4 抑菌实验 1) 菌液的制备。挑取 1 个单菌落,置于 100 mL LB 液体培养基中,在 37°C 下振荡培养 8 h 左右。如此制备多份菌液。然后测定各菌液在入射光波长为 600 nm 处的吸光度,空白对照为灭菌后的 LB 液体培养基,其中吸光度值在 0.6 左右的菌液可用于抑菌实验。

2) 粗提物溶液的配制。精确称取粗提物干膏 0.800 0 g,加 2 mL 体积分数为 60% 的乙醇溶液,放入温度为 65°C 的恒温水浴锅中加热 30 min,振荡溶解。样液过孔径为 $0.22 \mu\text{m}$ 的滤膜,得到质量浓度为 $400 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的样品溶液,采用二倍稀释法,依次稀释至粗提物质量浓度为 $1.562 5 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 为止。

3) 纯化后的黄酮类化合物的溶液的配制。取纯化后的黄酮类化合物粉末适量,加入体积分数为 60% 的乙醇溶液,水浴加热 30 min,振荡溶解。样品液过孔径为 $0.22 \mu\text{m}$ 的滤膜后测定其中的黄酮类化合物质量浓度为 $2 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$,以此作为样品液的初始质量浓度。然后将上述样品液的质量浓度依次稀释成 1.5, 1 和 $0.5 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$,再以 $0.5 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 为起始浓度,采用二倍稀释法,依次稀释至 $15.625 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 为止。

4) 将每个无菌平皿平均划分为 6 个区,做好质量浓度标记。向每个平皿中倒入 15 mL LB 固体培养基,静



图 3 纯化后的黄酮类化合物粉末

Fig. 3 Purified powder of flavonoids

置凝固。然后待水琼脂温度为 40 ℃ 左右时,取 8 mL 水琼脂加入 100 μ L 菌液混合均匀,迅速倒入冷凝好的 LB 固体培养基上,混匀铺平,静置冷却。再用 1 mL 枪头钝端进行打孔,使用灭菌后的镊子夹出孔内的琼脂块。根据分区情况,向每个小孔内加入相应质量浓度的粗提物或纯化后的黄酮类化合物溶液 100 μ L,以体积分数为 60% 的乙醇作为空白对照。将平皿置于温度为 37 ℃ 的培养箱中培养,12 h 之后观察每个平皿是否有抑菌圈产生并用十字交叉法量取抑菌圈直径^[13]。

2 结果与分析

2.1 粗提物干膏得率

本研究采用 1 g : 12 mL 的质料比进行了 5 份白花蛇舌草样品的乙醇粗提物干膏的制备,在此工艺条件下,粗提物干膏得率的平均值为 10.34% (表 3)。

表 3 粗提物干膏得率

Tab. 3 The yield of dry cream of crude extract

样品序号	白花蛇舌草 样品质量/g	粗提物 干膏质量/g	粗提物干膏 得率/%	样品序号	白花蛇舌草 样品质量/g	粗提物 干膏质量/g	粗提物干膏 得率/%
1	10.031 3	0.999 7	9.97	4	40.107 0	4.014 7	10.01
2	20.052 5	2.179 7	10.87	5	50.106 8	4.970 6	9.92
3	30.044 0	3.277 8	10.91	平均值			10.34

2.2 粗提物中黄酮类化合物的含量

5 份粗提物干膏样品中黄酮类化合物含量如表 4 所示,从该表可知,白花蛇舌草乙醇粗提物干膏中黄酮类化合物含量平均值为 9.73%。

表 4 粗提物干膏中黄酮类化合物的含量

Tab. 4 The content of flavonoids in dry cream of crude extract

样品序号	粗提物 干膏质量/g	定容 体积/mL	吸光度	黄酮类化合物 含量/%	样品序号	粗提物 干膏质量/g	定容 体积/mL	吸光度	黄酮类化合物 含量/%
1	0.5	100	1.067	9.728 9	4	0.5	100	1.052	9.592 3
2	0.5	100	1.065	9.710 7	5	0.5	100	1.080	9.847 3
3	0.5	100	1.072	9.774 5	平均值				9.73

2.3 纯化后的黄酮类化合物得率

经 AB-8 大孔树脂处理白花蛇舌草粗提物而得的纯化后的黄酮类化合物得率如表 5 所示。从该表可知 4,5 号样品的黄酮类化合物得率与 1,2,3 号样品的该项指标相差较大。其中原因是前者为醇提液在旋转蒸发仪中减压浓缩后的浸膏,并非干膏。因此,由粗提物干膏纯化而来的黄酮类化合物得率平均值应为 5.98%。

表 5 AB-8 大孔吸附树脂分离纯化后的白花蛇舌草黄酮类化合物得率

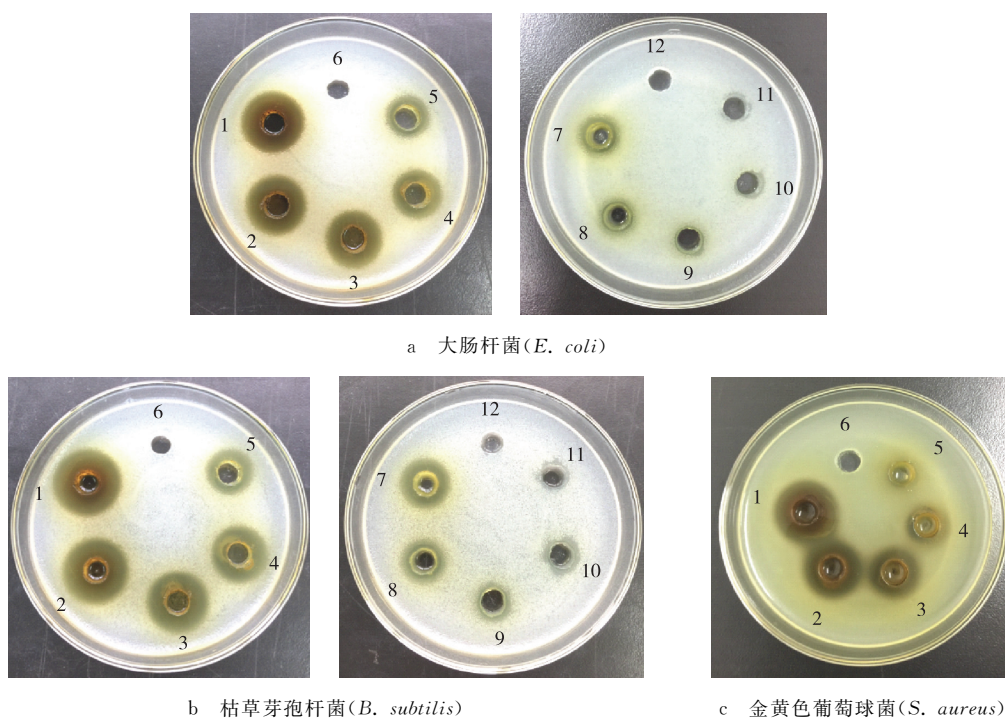
Tab. 5 The yield of flavonoids from *H. diffusa* by AB-8 macroporous resin

样品序号	粗提物质量/g	纯化后黄酮类 化合物质量/g	黄酮类 化合物得率/%	样品序号	粗提物质量/g	纯化后黄酮类 化合物质量/g	黄酮类 化合物得率/%
1	0.47	0.030 0	6.38	4	1.99	0.040 4	2.03
2	0.51	0.029 7	5.82	5	2.17	0.060 0	2.76
3	1.25	0.071 9	5.75				

2.4 抑菌实验结果

通过测量抑菌圈的直径来评估白花蛇舌草乙醇粗提物以及纯化后的黄酮类化合物对大肠杆菌、枯草芽孢杆

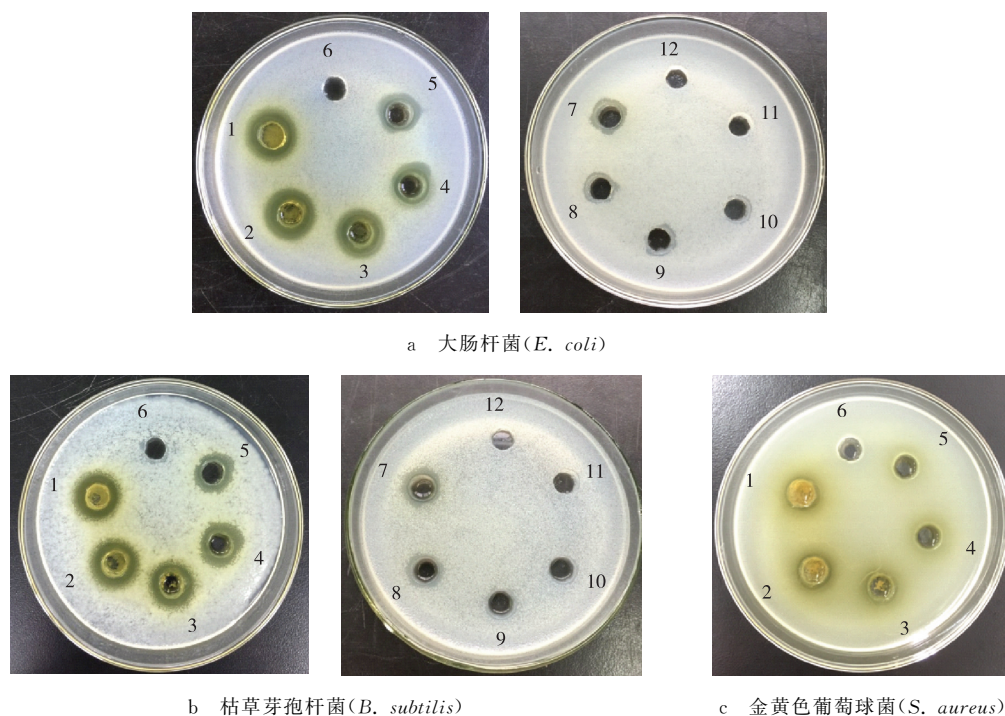
菌和金黄色葡萄球的抑菌效果;若抑菌圈直径越大,则表示抑菌作用越强。由图4和图5可以直观地看出,粗提物以及纯化后的黄酮类化合物对3种细菌均具有明显的抑菌效果。



注:1~6 对应的粗提物质量浓度依次为 400,200,100,50,25,0 $\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$;7~12 对应的粗提物质量浓度依次为 25,12.5,6.25,3.125,1.5625,0 $\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$

图4 粗提物处理后3种细菌的抑菌圈

Fig. 4 Bacteriostatic circle of three kinds of bacteria after treatment with crude extract



注:1~6 对应的纯化后的黄酮类化合物质量浓度依次为 2000,1500,1000,500,250,0 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$;7~12 对应的纯化后的黄酮类化合物质量浓度依次为 250,125,62.5,31.25,15.625,0 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$

图5 纯化后的黄酮类化合物处理后3种细菌的抑菌圈

Fig. 5 Bacteriostatic circle of three bacteria after treatment with purified flavonoids

表 6 和表 7 分别显示了白花蛇舌草乙醇粗提物以及纯化后的黄酮类化合物对 3 种细菌抑菌圈直径。随着粗提物和纯化后的黄酮类化合物质量浓度的升高,它们对 3 种细菌的抑菌作用也明显增强,且均为对枯草芽孢杆菌的抑制效果最强,对大肠杆菌的抑制效果次之,对金黄色葡萄球菌的抑制效果最差。从表 6 和表 7 还可以看出,白花蛇舌草乙醇粗提物和纯化后的黄酮类化合物对大肠杆菌的最小抑菌浓度分别为 $3.125\text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ 和 $125\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$,对枯草芽孢杆菌的最小抑菌浓度分别为 $1.562\text{ }\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ 和 $62.5\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$,对金黄色葡萄球菌的最小抑菌浓度分别为 $50\text{ }\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ 和 $1\text{ }\text{000 }\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 。

表 6 白花蛇舌草粗提物对 3 种细菌的抑菌作用
Tab. 6 Bacteriostatic effect of crude extract from *H. diffusa* on three kinds of bacteria

粗提物质量浓度/ ($\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$)	抑菌圈直径/cm			粗提物质量浓度/ ($\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$)	抑菌圈直径/cm		
	大肠杆菌 (<i>E. coli</i>)	枯草芽孢杆菌 (<i>B. subtilis</i>)	金黄色葡萄球菌 (<i>S. aureus</i>)		大肠杆菌 (<i>E. coli</i>)	枯草芽孢杆菌 (<i>B. subtilis</i>)	金黄色葡萄球菌 (<i>S. aureus</i>)
400	2.21	2.36	2.05	12.5	1.11	1.21	—
200	2.09	2.26	1.89	6.25	1.01	1.00	—
100	1.97	2.00	1.62	3.125	0.92	0.98	—
50	1.69	1.90	1.29	1.562 5	—	0.92	—
25	1.34	1.45	—	阴性对照	—	—	—

注:阴性对照为体积分数为 60% 的乙醇溶液,抑菌圈直径大于 0.90 cm 则表明样品液有抑菌作用,下同

表 7 白花蛇舌草纯化后的黄酮类化合物对 3 种细菌的抑菌作用
Tab. 7 Bacteriostatic effect of purified flavonoids from *H. diffusa* on three kinds of bacteria

纯化后的黄酮类 化合物质量浓度/ ($\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$)	抑菌圈直径/cm			纯化后的黄酮类 化合物质量浓度/ ($\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$)	抑菌圈直径/cm		
	大肠杆菌 (<i>E. coli</i>)	枯草芽孢杆菌 (<i>B. subtilis</i>)	金黄色葡萄球菌 (<i>S. aureus</i>)		大肠杆菌 (<i>E. coli</i>)	枯草芽孢杆菌 (<i>B. subtilis</i>)	金黄色葡萄球菌 (<i>S. aureus</i>)
2 000	1.54	1.68	1.16	125	0.95	1.03	—
1 500	1.45	1.58	1.10	62.5	—	0.92	—
1 000	1.40	1.49	0.96	31.25	—	—	—
500	1.31	1.22	—	15.625	—	—	—
250	1.00	1.15	—	阴性对照	—	—	—

3 结束语

本研究用体积分数为 70% 的乙醇溶液从白花蛇舌草中提取黄酮类化合物,粗提物干膏得率为 10.34%,干膏中黄酮化合物含量为 9.73%,经纯化后的黄酮类化合物得率为 5.98%。以上数据表明白花蛇舌草中黄酮类化合物较为丰富。此外,本研究结果还显示白花蛇舌草粗提物和纯化后的黄酮类化合物对枯草芽孢杆菌、大肠杆菌和金黄色葡萄球菌均有明显的抑菌作用,且对大肠杆菌和枯草芽孢杆菌的抑菌效果强于金黄色葡萄球菌。有研究显示,将白花蛇舌草与甘草(*Glycyrrhiza*)等中药配伍也可提高对金黄色葡萄球菌的抑菌作用^[17]。

目前,人们利用白花蛇舌草已研制了多种含白花蛇舌草的药品^[18],如白花蛇舌草注射液、花红颗粒、肾炎康片等。由于白花蛇舌草含有丰富的黄酮类化合物,学者也进行了白花蛇舌草茶饮料^[19]和保健品的研究,但利用白花蛇舌草制成食品防腐剂的研究很少。本研究结果证实了白花蛇舌草有明显的抑菌效果,因此在开发天然食品防腐剂和天然食品抗菌剂上,白花蛇舌草具有良好的应用前景。

参考文献:

- [1] 叶颖晓,张朋展,王丽,等.不同提取方法对豫产白花蛇舌草多糖及抗氧化活性的影响[J].天然产物研究与开发,2019,31(7):1138-1146.
YE Y X,ZHANG P Z,WANG L,et al. Effects of different extraction methods on polysaccharide and antioxidant activity of *Hedyotis diffusa* produced in Henan[J]. Research and Development of Natural Products,2019,31(7):1138-1146.
- [2] 王骁,范焕芳,李德辉,等.白花蛇舌草的抗癌作用研究进展[J].中国药房,2019,30(10):1428-1431.
WANG X,FAN H F,LI D H,et al. Research progress on the anticancer effect of *Hedyotis diffusa*[J]. Chinese Pharmacy,2019,30(10):1428-1431.
- [3] 孙旭,李早慧,王翥,等.白花蛇舌草的研究进展[J].甘肃科技,2016,32(15):143-144.
SUN X,LI Z H,WANG X,et al. Research progress of *Hedyotis diffusa*[J]. Gansu Science and Technology,2016,32(15):143-144.
- [4] CHEN R,HE J Y,TONG X L,et al. The *Hedyotis diffusa* Willd. (Rubiaceae):a review on phytochemistry, pharmacology, quality control and pharmacokinetics[J]. Molecules,2016,21(6):710.
- [5] 陈梦楠,许颖,吴健,等.白花蛇舌草黄酮类化合物的研究[J].哈尔滨商业大学学报(自然科学版),2016,32(2):225-229.
CHEN M N,XU Y,WU J,et al. Studies on flavonoids of *Hedyotis diffusa* [J]. Journal of Harbin Commercial University (Natural Science Edition),2016,32(2):225-229.
- [6] MA C J,WEI Y L,LIU Q,et al. Polysaccharides from *Hedyotis diffusa* enhance the antitumor activities of cytokine-induced killer cells [EB/OL]. (2019-07-06)[2020-06-15]. <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0753332219316920>.
- [7] 杨新周,田孟华,杨子仙,等.白花蛇舌草中黄酮、多酚、多糖提取工艺及抗氧化研究[J].化学研究与应用,2019,31(1):22-30.
YANG X Z,TIAN M H,YANG Z X,et al. Study on extraction technology and antioxidation of flavonoids, polyphenols and polysaccharides from *Hedyotis diffusa* [J]. Chemical Research and Application,2019,31(1):22-30.
- [8] 肖素荣,李京东.天然食品防腐剂及其发展前景[J].中国食物与营养,2007(6):30-33.
XIAO S R,LI J D. Natural food preservatives and their development prospects[J]. Chinese Food and Nutrition,2007(6):30-33.
- [9] 边才苗.白花蛇舌草提取物的抑菌作用研究[J].时珍国医国药,2005(10):991-992.
BIAN C M. Study on the bacteriostasis of the extract of *Hedyotis diffusa* [J]. Lishizhen Medicine and Materia Medica Research,2005(10):991-992.
- [10] 刘军海.白花蛇舌草中总黄酮微波辅助提取工艺研究[J].化工科技,2013,21(3):23-26.
LIU J H. Microwave assisted extraction of total flavonoids from *Hedyotis diffusa* [J]. Chemical Technology,2013,21(3):23-26.
- [11] 耿亚,赵喜兰,张强.大孔树脂纯化黑骨藤总黄酮工艺研究[J].新中医,2019,51(11):9-12.
GENG Y,ZHAO X L,ZHANG Q. Study on the purification of total flavonoids from *Stephania nigrum* by macroporous resin [J]. New Chinese Medicine,2019,51(11):9-12.
- [12] 杨悠,许军,刘燕华,等.比色法测定白花蛇舌草中总黄酮含量的研究[J].中华中医药学刊,2011,29(2):313-316.
YANG Y,XU J,LIU Y H,et al. Determination of total flavonoids in *Hedyotis diffusa* by colorimetry[J]. Chinese Journal of Traditional Chinese Medicine,2011,29(2):313-316.
- [13] 李志辉,薛兆坤,马媛,等. AB-8 大孔吸附树脂富集新疆党参总黄酮工艺的研究[J].新疆医科大学学报,2017,40(8):1081-1083.
LI Z H,XUE Z K,MA Y,et al. Study on the technology of AB-8 macroporous adsorption resin to enrich the total flavonoids of *Codonopsis pilosula* in Xinjiang[J]. Journal of Xinjiang Medical University,2017,40(8):1081-1083.
- [14] 李超,王乃馨,郑义,等. AB-8 型大孔吸附树脂分离纯化大叶金花草总黄酮[J].食品科学,2011,32(16):31-35.
LI C,WANG N X,ZHENG Y,et al. Separation and purification of total flavonoids from *Flos macrophylla* by AB-8 macroporous adsorption resin[J]. Food Science,2011,32(16):31-35.
- [15] 凌育超,凌苑妮,贾冰涛.大孔吸附树脂分离纯化虎舌红总黄酮[J].仲恺农业工程学院学报,2012,25(1):44-47.
LING Y Z,LING Y N,JIA B T. Separation and purification of total flavonoids from tiger tongue red by macroporous adsorption resin[J]. Journal of Zhongkai College of Agricultural Engineering,2012,25(1):44-47.
- [16] 白羨钦,代光辉,陈佳,等.合欢皮提取物对黑曲霉抑菌活性的研究[J].食品工业科技,2014,35(12):133-136.
BAI X Q,DAI G H,CHEN J,et al. Study on the antibacterial activity of *Albizia* bark extract against *Aspergillus niger* [J].

Science and technology of food industry, 2014, 35(12):133-136.

- [17] 朱文娟, 林铁豪, 肖建光. 白花蛇舌草、金钱草、丹参和甘草的配伍抑菌效应研究[J]. 今日药学, 2012, 22(5):264-266.

ZHU W J, LIN T H, XIAO J G. Study on antibacterial efficacy of *Hedyotis diffusa*, loosestrife, salvia and licorice for compatibility [J]. Pharmacy Today, 2012, 22(5):264-266.

- [18] 韦胤寰. 白花蛇舌草研究进展[J]. 山西中医, 2018, 34(12):53-56.

WEI Y H. Research progress of *Hedyotis diffusa* [J]. Shanxi Traditional Chinese Medicine, 2018, 34(12):53-56.

- [19] 詹少芸, 曹藩荣. 白花蛇舌草茶饮料的研究与展望[J]. 广东茶业, 2019(2):2-4.

ZHAN S Y, CAO P R. Research and prospect of *Hedyotis diffusa* tea beverage [J]. Guangdong Tea Industry, 2019(2):2-4.

The Extraction and Bacteriostasis of Flavonoids from *Hedyotis diffusa*

ZENG Jun, XU Junyu, XIONG Rui, LI Mei

(College of Life Sciences, Chongqing Normal University, Chongqing 401331, China)

Abstract: [Purposes] To determine the dry extract yield of ethanol crude extract of *Hedyotis diffusa* and the content of flavonoids in the extract under selected conditions, and to investigate the bacteriostatic effects of crude extract and purified flavonoids. [Methods] The flavonoids from *H. diffusa* were extracted by cold immersion in 70% ethanol. Then the crude extract was treated by AB-8 macroporous adsorption resin to obtain the purified flavonoids. The bacteriostatic effect of crude extract and purified flavonoids against *Escherichia coli*, *Bacillus subtilis* and *Staphylococcus aureus* was compared by measuring the diameters of the bacteriostatic circle produced by the two compounds. [Findings] The yield of dry cream of crude extract was 10.34%, the content of flavonoids in dry cream of crude extract was 9.73%, and the yield of purified flavonoids was 5.98%. The minimum inhibitory concentrations of crude extract against *E. coli*, *B. subtilis* and *S. aureus* were 3.125, 1.562 5, and 50 mg · mL⁻¹, respectively. The minimum inhibitory concentrations of the purified flavonoids against *E. coli*, *B. subtilis*, and *S. aureus* were 125, 62.5, and 1 000 μg · mL⁻¹, respectively. [Conclusions] The ethanol extract of *H. diffusa* showed strong bacteriostatic effect against *E. coli*, *B. subtilis*, and *S. aureus*, which provided basic information for the development of new food preservatives.

Keywords: *Hedyotis diffusa*; flavonoids; bacteriostatic action

(责任编辑 方 兴)