

芜菁子挥发油、多糖的组成及挥发油抗菌活性的研究

王建玲¹, 刘素辉², 段 鑫³, 孙 莲^{3*}

(1. 新疆维吾尔自治区产品质量监督检验研究院, 830004; 2. 新疆医科大学基础学院形态中心, 乌鲁木齐 830011;
3. 新疆医科大学药学院化学教研室, 乌鲁木齐 830011)

摘要: 目的 用 3 种方法提取芜菁子挥发油, 对挥发油的抗菌作用进行定性和定量分析, 并对芜菁子挥发油及多糖的组成进行分析。**方法** 采用水蒸气蒸馏法、溶剂萃取法和同时蒸馏萃取法提取芜菁子挥发油, 气相色谱-质谱联用法分析挥发油的组成。运用滤纸片扩散法和二倍稀释法检验芜菁子挥发油对大肠杆菌、金黄色葡萄球菌和绿脓杆菌的抑菌作用。利用水提醇沉法提取残渣中的多糖, 酸水解后进行薄层分析。**结果** 3 种方法提取的挥发油分别鉴别出 21、7、14 种成分。水蒸气蒸馏法提取挥发油中异硫氰酸酯类化合物占 45.95%, 同时蒸馏萃取法的为 31.35%, 溶剂萃取法提取挥发油无异硫氰酸酯类化合物。定性定量的抑菌实验结果显示, 3 种方法所得的挥发油对大肠杆菌、金黄色葡萄球菌和绿脓杆菌均有良好的抑制作用, 水蒸气蒸馏法提取的挥发油的抑菌效果最好。在高效 G 板上, 以乙酸乙酯:异丙醇:水=26:14:7(V:V:V)为展开剂, 芜菁子多糖的分离效果较好, 可鉴别出芜菁子多糖中的果糖和半乳糖。**结论** 芜菁子挥发油对大肠杆菌、金黄色葡萄球菌、绿脓杆菌均有一定的抑制作用, 可能与其中含有异硫氰酸酯类和腈类化合物有关。

关键词: 芜菁子; 挥发油; 抗菌作用; 多糖; 薄层色谱

Study of composition of volatile oil, polysaccharide and antibacterial activity in *Brassica rapa* L. seed

WANG Jian-Ling¹, LIU Su-Hui², DUAN Chu³, SUN Lian^{3*}

(1. Product Quality Supervision and Inspection Institute of Xinjiang Uygur, Urumqi 830004, China; 2. Morphological Center of Basic College of Xinjiang Medical University, Urumqi 830011, China; 3. Department of Chemistry of Pharmacy College of Xinjiang Medical University, Urumqi 830011, China)

ABSTRACT: Objective To extract volatile oil by three methods from *Brassica rapa* L. seed, and analysis the antimicrobial activity of volatile oil qualitatively and quantitatively, the components of volatile oil and polysaccharides from *Brassica rapa* L. seed were identified. **Methods** The volatile oil of *Brassica rapa* L. seed was extracted by steam distillation, solvent extraction and simultaneous distillation extraction, and the components of volatile oil were analyzed by gas chromatography-mass spectrometry. The inhibitory effects of volatile oil on *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* and *Pseudomonas aeruginosa* were tested by filter paper diffusion method and double dilution method. The polysaccharide was extracted in residues by water extraction and alcohol

基金项目: 新疆维吾尔自治区“十三五”重点学科建设经费资助, 新教研[2016]7 号文

Fund: Supported by the Funding for the Construction of Key Disciplines in the 13th Five-Year Plan of Xinjiang Uygur Autonomous Region, New Teaching Research [2016] No.7

*通讯作者: 孙莲, 教授, 主要研究方向为药物分析。E-mail: sl_yxy@126.com

*Corresponding author: SUN Lian, Professor, Chemistry Department of Pharmacy College of Xinjiang Medical University, Urumqi 830011, China. E-mail: sl_yxy@126.com

precipitation, TLC was used to analyze its composition after acid hydrolysis. **Results** There were 21, 7 and 14 components respectively in the volatile oil extracted by three methods. Among them, the isothiocyanate compound accounted for 45.95% in the volatile oil extracted by steam distillation, 31.35% by simultaneous distillation extraction, and there were no isothiocyanates in volatile oil extracted by solvent extraction. The qualitative and quantitative antibacterial experiments showed that the volatile oils obtained by the three methods had good inhibitory effects on *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* and *Pseudomonas aeruginosa*. The volatile oil extracted by steam distillation had the best antibacterial effect. The polysaccharide was separated better with ethyl acetate: isopropanol: water= 26:14:7(V:V:V) as the developing agent on the high-efficiency G plate, fructose and galactose were identified in polysaccharide of *Brassica rapa* L. seed. **Conclusions** The volatile oil of *Brassica rapa* L. seed have certain inhibitory effects on *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* and *Pseudomonas aeruginosa*, and may be related to the inclusion of isothiocyanates and nitriles.

KEY WORDS: *Brassica rapa* L. seed; volatile oil; antimicrobial activity; polysaccharide; thin layer chromatography

1 引言

芜菁(*Brassica rapa* L.)是生长在新疆天山南部,塔里木盆地西北,罕见的红色沙漠长寿区的一种药食同源、两年生十字花科草本植物,富含有机活性碱等多种有机营养物质。对芜菁的各个部位进行研究有助于更好发挥它的整体价值。芜菁子是芜菁干燥成熟的种子,味苦、辛、平,性温,无毒。其药用价值在《本草纲目》、《千金方》等中皆有收录,具有开胃消食、温和脾胃、理气宽中、止咳化痰、利湿解毒等多种功效。中医常以芜菁子油为药用。我们前期研究发现芜菁子挥发油中含有丰富的异硫氰酸酯类化合物。异硫氰酸酯类化合物具有显著的抗菌及抗癌活性,对一些致病菌如大肠杆菌、鼠伤寒沙门氏杆菌、绿脓杆菌、副溶血性弧菌、幽门螺旋杆菌、念珠菌属等具有较强的抑制作用^[1-7]。已有大量的动物实验资料表明,异硫氰酸酯对肺癌、膀胱癌、前列腺癌、食道癌等多种肿瘤有抑制作用^[8]。我们在前期工作的基础上,采取不同的方法对芜菁子挥发油进行提取^[9-13],气相色谱-质谱联用法(gas chromatography-mass spectrometry, GC-MS)分析挥发油的组成,并对挥发油进行抗菌实验,利用提取完挥发油的芜菁子残渣提取多糖,薄层色谱法分析多糖的组成^[14,15],以期新疆的营养物质资源的开发利用提供依据。

2 材料与方法

2.1 仪器与试剂

2.1.1 仪器设备

7890B 5977A 气相色谱-质谱联用仪 GC-MS(美国安捷伦公司); TDL-40B 型离心机(上海安亭科学仪器厂)。

2.1.2 试剂与药材

大肠杆菌(ATCC25922)、金黄色葡萄球菌(ATCC25923)、绿脓杆菌(ATCC25728)(中国药品生物制品鉴定所);琼脂平板培养基(杭州天河微生物试剂有限公司);

半乳糖、果糖、木糖、鼠李糖(纯度 99.4%,上海试剂二厂);硅胶 G 板、高效硅胶 G 板、硅胶 H 板、硅胶 GF254 板(青岛海洋公司);二氯甲烷、乙酸乙酯、二苯胺、苯胺、磷酸、丙酮、异丙醇、正丁醇、乙酸、吡啶(分析纯,国药集团化学试剂有限公司)。

芜菁子购于新疆维吾尔医院,经新疆医科大学药学院生药学教研室帕丽达·阿不力孜教授鉴定为芜菁(*Brassica rapa* L.)干燥成熟的种子。芜菁子残渣为芜菁子提取完挥发油的残渣。

2.2 实验方法

2.2.1 挥发油的提取

(1)水蒸气蒸馏法

称取芜菁子粉末 200 g,于 1000 mL 圆底烧瓶中,加蒸馏水 100 mL, pH=7.0 的缓冲溶液 400 mL, V_C 0.4 g, 40 °C 水浴水解 2 h 后,连续提取 8 h,得黄色的挥发油,冷冻备用。

(2)溶剂萃取法

称取芜菁子粉末 200 g 于 1000 mL 圆底烧瓶中,向其中加蒸馏水 100 mL, pH=7.0 的缓冲液 400 mL, V_C 0.4 g 及二氯甲烷 60 mL, 40 °C 水浴水解 2 h,离心分离水解液,取上清液,二氯甲烷萃取数次后,合并二氯甲烷相,浓缩至 5 mL(用旋转蒸发仪将萃取液浓缩至无溶剂二氯甲烷流出),冷冻备用。

(3)同时蒸馏萃取法

称取芜菁子粉末 200 g 于 1000 mL 圆底烧瓶中,加蒸馏水 100 mL, pH=7.0 的缓冲液 400 mL, V_C 0.4 g, 65 °C 水解 1 h,同时蒸馏萃取提取 8 h,待冷至室温后,合并装置中的二氯甲烷,浓缩至 5 mL 左右,冷冻备用。

2.2.2 GC-MS 分析挥发油的成分

(1)色谱条件

气相色谱条件: HP-5MS 毛细管柱 (30 m×0.25 mm, 0.25 μ m), 进样口温度: 270 °C, 以柱温 50 °C 开始, 以

5 °C/min 升温至 280 °C, 保持 4 min。进样量: 10 μL, 分流比: 600:1。

质谱条件: 电子能量 70 eV; 接口温 250 °C; 离子源温度 200 °C; 界面温度 250 °C。

(2) 挥发油成分的分析

取以上 3 种方法提取的芫菁子挥发油, 进样 10 μL, 进行 GC-MS 分析。

2.2.3 芫菁子挥发油的抗菌作用

(1) 菌种的活化与培养

将大肠杆菌、金黄色葡萄球菌、绿脓杆菌接种到琼脂平板培养基中 37 °C 恒温培养 24 h, 挑出培养基中茁壮、形态良好的单个菌落, 用生理盐水将菌种配成一定浓度的菌悬液, 配制成浓度为 1.9×10^6 CFU/mL 的菌液备用。

(2) 肉汤培养基的配制

称取脑心浸出液培养基 3.85 g, 加 100 mL 蒸馏水, 微波加热使其溶解, 精密吸取 900 μL 置于无菌具塞试管中, 于 103 kPa, 121 °C 时, 高压灭菌 15 min。

(3) 细菌计数培养

吸取 100 μL 倍比稀释菌液, 分别滴加至制备好的 M-H 琼脂平板中, 用 L 棒涂布均匀即可, 37 °C 恒温培养, 24 h 后观察, 根据培养出的菌落数, 计算出菌悬液中的活菌数。

(4) 定性实验-滤纸片扩散法

用含庆大霉素的纸片为阳性对照组, 含灭菌生理盐水的纸片作为阴性对照, 夹取适量无菌滤纸片浸泡在芫菁子挥发油中, 冷藏 24 h 后, 无菌棉签蘸取适量菌悬液, 连续划线法涂布于平板培养基上, 夹取 3 片滤纸片等间距平铺, 37 °C 恒温培养 24 h, 观察抑菌圈直径的大小。

(5) 定量实验-二倍稀释法

取装有肉汤培养基的无菌试管 10 支, 编号, 精密吸取 900 μL 挥发油于 1 号试管, 混匀, 对倍稀释成 10 个浓度梯度的样液。另取 3 只无菌小试管加肉汤培养基 1 mL 作为菌液对照、空白对照、药物对照, 每个浓度做 3 个平行样。分别向上述样品中各加入 100 μL 大肠杆菌、金黄色葡萄球菌、绿脓杆菌菌液, 混匀, 37 °C 恒温培养 24 h 后, 观察结果。再将试管中的菌液逐一接种于平板培养基上, 37 °C 恒温培养 24 h 后, 观察细菌生长情况, 计算最小抑菌浓度 (minimum inhibitory concentration, MIC) 和最小杀菌浓度 (minimum bactericidal concentration, MBC)。

2.2.4 芫菁子多糖的组成分析

(1) 芫菁子多糖的提取

收集水蒸气蒸馏法提取过芫菁子挥发油的提取液, 再在芫菁子残渣中加入适量蒸馏水, 超声提取 30 min, 合并以上 2 种提取液, 浓缩至 10 mL, 加无水乙醇至含醇量为 80%, 4 °C 静置 24 h, 倒去上层醇液, 4000 r/min 离心分离

10 min, 收集沉淀, 用少量乙醇洗涤数次, 离心收集沉淀, seavage 法脱蛋白后, 自然干燥。

(2) 溶液的配制

① 供试品的配制

称取芫菁子多糖 0.5 g 于具塞试管中, 加 2 mol/L 的硫酸溶液 2 mL, 80 °C 水浴水解 2 h。用 2 mL 4 mol/L 的氢氧化钠中和过量的酸后, 转移至 10 mL 容量瓶中, 用蒸馏水定容至刻度, 得芫菁子多糖的水解液。

② 对照品的配制

精密称取半乳糖、果糖、木糖、鼠李糖各 100 mg 于 10 mL 容量瓶中, 用 5 mL 水溶解, 再加甲醇定容至刻度, 得 10 mg/mL 的单糖溶液。

③ 显色剂的配制

将 1 g 的二苯胺、1 mL 的苯胺及 5 mL 85% 的磷酸溶于 50 mL 丙酮中, 混匀, 于棕色试剂瓶中密封存放。

(3) 展开剂的选择

精密吸取供试品及对照品溶液各 4 μL 点于同一高效 G 板上, 分别放入乙酸乙酯:异丙醇:水=26:14:7(V:V:V)、正丁醇:丙酮:水=4:3:1(V:V:V)及正丁醇:乙酸乙酯:异丙醇:乙酸:吡啶:水=7:20:12:7:6:5(V:V:V:V:V)等不同展开剂中展开, 晾干, 喷显色剂, 置于 115 °C 烘箱中加热 20 min, 显色, 选择最佳展开剂。

(4) 薄层板的选择

精密吸取供试品、对照品溶液各 4 μL 分别点在硅胶 H 板、硅胶 G 板、高效硅胶 G 板上, 放入最佳展开剂中展开。晾干, 均匀地喷上显色剂, 置 115 °C 烘箱中加热 20 min, 确定最佳薄层板。

(5) 点样量的选择

精密吸取供试品、对照品溶液 2、4、6、8 μL 分别点于同一高效硅胶 G 板上, 置于选择的最佳展开剂中展开。晾干后, 均匀地喷上显色剂, 置 115 °C 烘箱中加热 20 min, 确定最佳点样量。

(6) 验证性实验

分别精密吸取供试品、对照品溶液各 4 μL 点于同一高效硅胶 G 板上, 将其置于选择的最佳展开剂中展开。晾干后, 均匀地喷上显色剂, 置 115 °C 烘箱 20 min, 确定单糖组成。

3 结果与分析

3.1 GC-MS 法分析挥发油成分

分别精密吸取 3 种方法提取的芫菁子挥发油各 10 μL 进样, 进行 GC-MS 分析, 得到总离子流程图见图 1、2、3。经质谱图库系统检索和人工谱图解析, 3 种方法所提挥发油分别鉴别出 21、7、14 种成分, 并运用面积归一化法确定各个成分的相对含量, 结果见表 1、2、3。

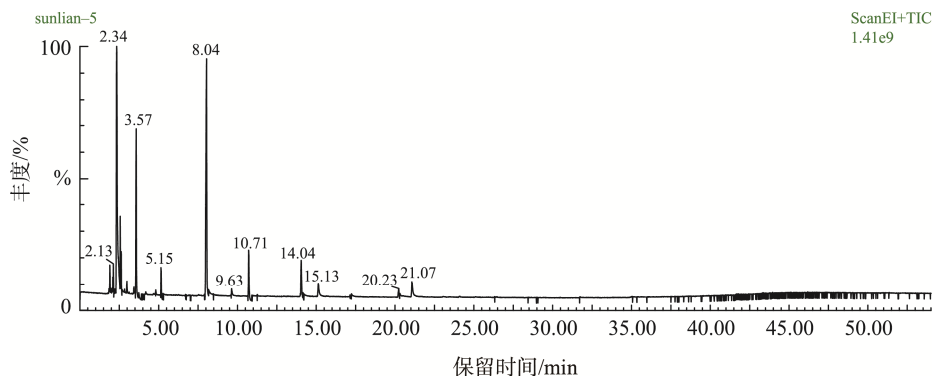


图 1 挥发油 GC-MS 分析的总离子流谱图(水蒸气蒸馏法)

Fig.1 Total ion flow spectrum of volatile oil by GC-MS analysis(steam distillation)

表 1 挥发油的化学成分(水蒸气蒸馏法)

Table 1 Chemical composition of volatile oil (steam distillation)

| 序号 | 名称 | 分子式 | 分子量 | t_R /min | 含量/% |
|----|--|----------------|-----|------------|-------|
| 1 | 草酸(Oxalic acid) | $C_2H_2O_4$ | 90 | 1.90 | 2.94 |
| 2 | 异硫氰酸乙酯(Isothiocyanato ethane) | C_3H_3NS | 87 | 2.12 | 22.34 |
| 3 | 甲硫基乙腈(Methylthio-acetonitrile) | C_3H_5NS | 87 | 2.34 | 12.89 |
| 4 | 2-异氰酸酯丁烷(2-Isocyanato-butane) | C_5H_9NO | 99 | 2.85 | 3.76 |
| 5 | 4-异硫氰酸基-1-甲硫基-1-丁烯(4-isoyhiocyanato-1-methylthio-1-butene) | $C_6H_9NS_2$ | 159 | 2.99 | 1.38 |
| 6 | 3-甲基戊醛(3-methyl-pentanal) | $C_6H_{12}O$ | 100 | 3.13 | 0.34 |
| 7 | N-亚甲基乙胺(N-methyl-ethenamine) | C_3H_5N | 55 | 3.27 | 0.23 |
| 8 | 呋喃甲醛(2-Furaldenhyde) | $C_5H_4O_2$ | 96 | 3.44 | 0.43 |
| 9 | 2-甲基丁腈(2-methyl-butanenitrile) | C_5H_9N | 83 | 3.57 | 15.37 |
| 10 | 乙腈(Acetonitrile) | C_2H_3N | 41 | 3.75 | 3.16 |
| 11 | 2-甲基-2-丙烯丙酸酯(Propanoic acid,2-methyl-2-propenyl ester) | $C_7H_{12}O_2$ | 128 | 4.19 | 2.62 |
| 12 | 乙硫基乙烯(Ethyl vinyl sulfide) | C_4H_8S | 88 | 4.82 | 0.15 |
| 13 | 甲基异氰酸酯(Methyl isocyanide) | C_2H_3N | 41 | 8.03 | 15.83 |
| 14 | 草酸二烯丙酯(Oxalic acid diallyl ester) | $C_8H_{10}O_4$ | 170 | 8.21 | 2.73 |
| 15 | 2-甲基苯甲腈(2-methyl-benzonitrile) | C_8H_7N | 117 | 9.64 | 2.75 |
| 16 | 2-巯基乙醇(2-mercapto-ethanol) | C_2H_6OS | 78 | 14.05 | 1.17 |
| 17 | 丁腈(Butanenitrile) | C_4H_7N | 69 | 14.18 | 3.63 |
| 18 | O-烯丙基羟胺(O-allylhydroxylamine) | C_3H_7NO | 73 | 14.25 | 0.39 |
| 19 | 4-叠氮苯甲腈(4-azido-benzonitrile) | $C_7H_4N_4$ | 144 | 15.13 | 3.87 |
| 20 | 4-甲硫基丁腈(4-methylthio-butanenitrile) | C_9H_9NS | 115 | 21.08 | 1.33 |
| 21 | 异硫氰酸苯乙基酯(Isothiocyanic acid,phenelthyl ester) | C_9H_9NS | 163 | 24.85 | 2.64 |

由表 1 可知,水蒸气蒸馏法提取的挥发油中主要含有异硫氰酸酯类化合物、腈类、酯类及羧酸类等,其中异硫氰酸酯类占 45.95%,腈类占 43.00%,酯占 5.35%,羧酸占 2.94%,醛类占 0.77%,其他成分占 1.07%。由此可见,异硫氰酸酯类化合物的相对含量较高,可能是因为提取时间

较长,提取温度平稳。

由表 2 可知,溶剂萃取法提取挥发油中,溶剂二氯甲烷占 32.63%,腈类化合物占 54.30%,羧酸酯占 10.70%,羧酸占 1.31%,醛类占 1.04%。可见,溶剂萃取法没有提取出异硫氰酸酯类化合物,但腈类化合物的相对含量较高。

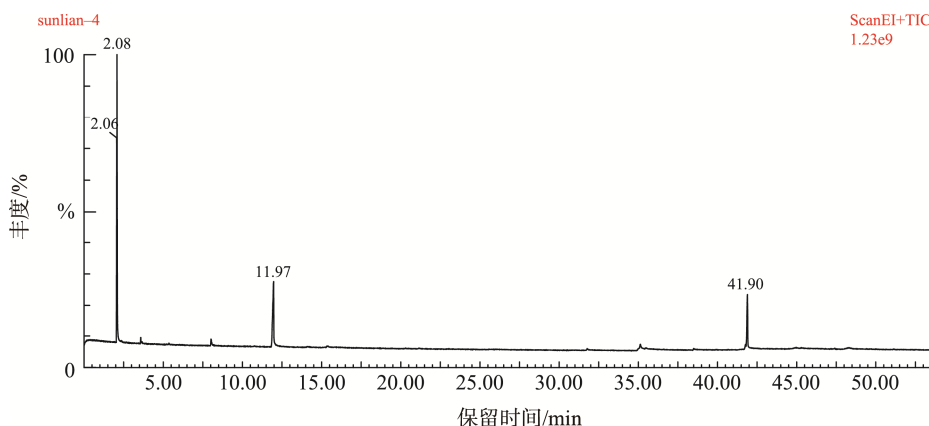


图 2 挥发油 GC-MS 分析的总离子流谱图(溶剂萃取法)
Fig.2 Total ion flow spectrum of volatile oil by GC-MS analysis (solvent extraction)

表 2 挥发油的化学成分(溶剂萃取法)
Table 2 Chemical composition of volatile oil(solvent extraction)

| 序号 | 名称 | 分子式 | 分子量 | t_R /min | 含量/% |
|----|-----------------------------------|-------------------|-----|------------|-------|
| 1 | 二氯甲烷(Methylene Chloride) | CH_2Cl_2 | 84 | 2.06 | 32.63 |
| 2 | 异丁腈(Isobutyronitrile) | C_4H_7N | 69 | 2.08 | 45.16 |
| 3 | 呋喃甲醛(2-Furaldenhyde) | $C_5H_4O_2$ | 96 | 3.60 | 1.04 |
| 4 | 2-吡咯烷酮酸(2-Pyrrolidineacetic acid) | $C_6H_{11}NO_2$ | 129 | 8.03 | 1.31 |
| 5 | 2-甲基苯甲腈(2-methyl-benzonitrile) | C_8H_7N | 117 | 11.95 | 9.14 |
| 6 | 亚油酸甘油三酯(Trilinolein) | $C_{57}H_{98}O_6$ | 878 | 35.50 | 1.43 |
| 7 | 异胆酸乙酯(Ethyl isoallocholate) | $C_{26}H_{44}O_5$ | 436 | 38.52 | 9.27 |

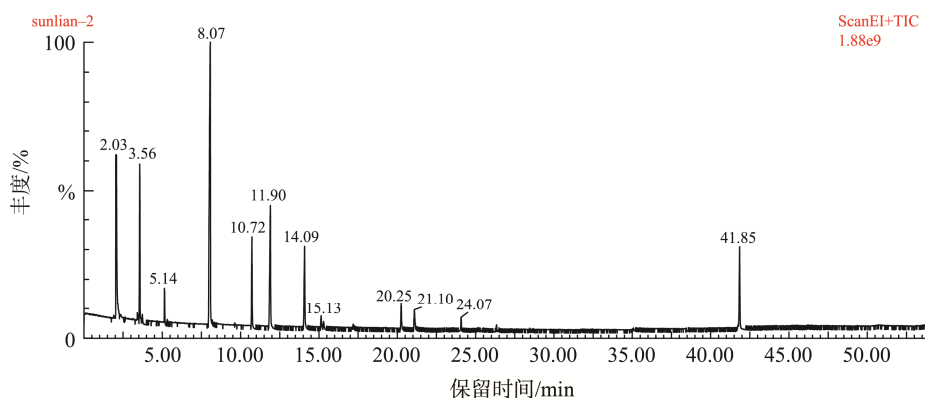


图 3 挥发油 GC-MS 分析的总离子流谱图(同时蒸馏萃取法)
Fig.3 Total ion flow spectrum of volatile oil by GC-MS analysis (simultaneous distillation extraction)

表 3 显示, 同时蒸馏萃取法提取挥发油中主要含有异硫氰酸酯类化合物、腈类化合物、醇、芳香族化合物、醛酮及其他成分。其中异硫氰酸酯类占 31.35%, 腈类占 45.43%, 醇占 8.18%, 芳香族化合物占 7.63%, 醛酮类占 4.42%, 其他成分占 2.91%。异硫氰酸酯类和腈类占到 76.78%。

在进行 GC-MS 检验前, 需用无水硫酸钠对芫菁子挥

发油进行脱水处理, 否则会影响检测结果, 出现干扰峰, 影响检测结果。

3.2 挥发油的抗菌作用

3.2.1 细菌的计数培养

将倍比稀释过的各浓度菌液接种于平板培养基上, 涂布均匀后, 37 °C 恒温培养 24 h, 逐一计数, 每个培养基上菌落数均小于 300 个。

3.2.2 定性实验的结果

在 37 °C 恒温培养 24 h 后, 培养基中出现了 4.2~14.2 mm 大小不等的抑菌圈, 结果见表 4 和图 4。由表 4 和图 4 可见, 3 种方法所得挥发油均有抑菌作用, 抑菌效果为: 金黄色葡萄球菌 > 大肠杆菌 > 绿脓杆菌。水蒸气蒸馏法所得挥发油对 3 种菌的抑制作用最显著, 抑菌圈直径分别为 10.2 mm、14.2 mm 及 6.5 mm。结果提示挥发油对革兰氏阳性菌作用效果大于革兰氏阴性菌作用效果。

3.2.3 定量实验结果

根据平板培养基的培养结果, 推算出 3 种方法所得茺菁子挥发油对 3 种菌的最小抑菌浓度(MIC)和最小杀菌浓

度(MBC), 结果见表 5~7。表 5~7 显示, 3 种方法所得的挥发油对大肠杆菌、金黄色葡萄球菌和绿脓杆菌均有良好的抑制作用, 定量的结果也是水蒸气蒸馏法提取挥发油的抑菌效果最好。由表 1 可知, 此法提取的挥发油中, 异硫氰酸酯类及腈类物质占到挥发油相对含量的 88.9%, 抑菌作用显著, 可能与硫氰酸酯类及腈类化合物的含量高有关。

由于 3 种方法提取的挥发油的成分及含量不同, 对不同菌种的抑制作用也有差别。以水蒸气蒸馏法提取的挥发油的抑菌效果最好, 可能与其中含有较多的异硫氰酸酯类和腈类化合物有关, 结果还需进一步研究考证。

表 3 挥发油的化学成分(同时蒸馏萃取法)
Table 3 Chemical composition of volatile oil(simultaneous distillation extraction)

| 序号 | 名称 | 分子式 | 分子量 | t_R /min | 含量/% |
|----|---|-----------------|-----|------------|-------|
| 1 | 异硫氰酸乙酯(Isothiocyanato ethane) | C_3H_5NS | 87 | 2.03 | 14.27 |
| 2 | 乙腈(Acetonitrile) | C_2H_3N | 41 | 3.56 | 13.67 |
| 3 | 3-甲基戊醛(3-methyl-pentanal) | $C_6H_{12}O$ | 100 | 5.14 | 3.08 |
| 4 | 1-哌啶乙腈(1-piperidineacetonitrile) | $C_7H_{12}N_2$ | 124 | 8.07 | 24.12 |
| 5 | 2-甲基苯甲腈(2-methyl-benzonitrile) | C_8H_7N | 117 | 10.72 | 7.64 |
| 6 | 2-巯基乙醇(2-mercapto-ethanol) | C_2H_6OS | 78 | 11.89 | 8.18 |
| 7 | 1,2-二甲酰基苯 (1,2-benzenedicarbonitrile) | $C_8H_4N_2$ | 128 | 14.08 | 6.83 |
| 8 | 1-氯甲基-2-硝基苯(1-chloromethyl-2-nitro benzene) | $C_7H_6ClNO_2$ | 171 | 15.15 | 0.80 |
| 9 | 3-乙酰硫环烷(3-acetylthianaphthene) | $C_{10}H_8OS$ | 176 | 17.19 | 0.23 |
| 10 | 对乙烯基苯基异硫氰酸酯(p-vinylphenyl isothiocyanate) | C_9H_7NS | 161 | 20.10 | 7.43 |
| 11 | 邻苯二甲酰亚胺(Homo phthalimide) | $C_9H_7NO_2$ | 161 | 20.25 | 2.68 |
| 12 | 异硫氰酸丁酯(Butyl isothiocyanate) | C_5H_9NS | 115 | 21.10 | 2.01 |
| 13 | 4-(4-甲基-1-哌嗪基)-1,5-二氢咪唑-2-酮(4-(4-Methyl-piperazin-1-yl)-1,5-dihydro-imidazol-2-one) | $C_8H_{14}N_4O$ | 182 | 24.07 | 1.34 |
| 14 | 异硫氰酸苯乙基酯(Isothiocyanic acid,phenethyl ester) | C_9H_9NS | 163 | 41.85 | 7.64 |

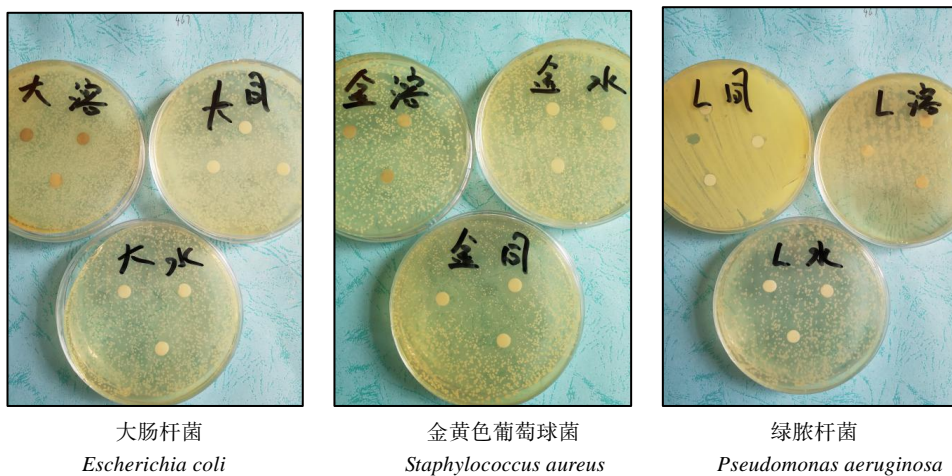


图 4 滤纸片扩散法
Fig.4 Method of filter paper diffusion

表 4 挥发油抑菌圈测定结果(n=3)
Table 4 Determination result of the inhibition zone of volatile oil (n=3)

| 供试菌 | 抑菌圈直径/mm | | |
|---------|----------|-------|---------|
| | 水蒸气蒸馏法 | 溶剂萃取法 | 同时蒸馏萃取法 |
| 大肠杆菌 | 10.2 | 9.5 | 9.8 |
| 金黄色葡萄球菌 | 14.2 | 10.5 | 12.2 |
| 绿脓杆菌 | 6.5 | 4.2 | 5.4 |

表 5 挥发油抑菌的 MIC 和 MBC(水蒸气蒸馏法)
Table 5 MIC and MBC of volatile oil bacteriostasis (steam distillation)

| 供试菌 | 阳性试管号 | 最小抑菌浓度 MIC(芫菁子挥发油原液的稀释倍数) | 最小杀菌浓度 MBC(芫菁子挥发油原液的稀释倍数) |
|---------|---------|---------------------------|---------------------------|
| 大肠杆菌 | 8、9 | 1:128 | 1:64 |
| 金黄色葡萄球菌 | 8、9 | 1:128 | 1:64 |
| 绿脓杆菌 | 6、7、8、9 | 1:32 | 1:16 |

表 6 挥发油的 MIC 和 MBC(同时蒸馏萃取法)
Table 6 MIC and MBC of volatile oil bacteriostasis(simultaneous distillation extraction)

| 供试菌 | 阳性试管号 | 最小抑菌浓度 MIC (芫菁子挥发油原液的稀释倍数) | 最小杀菌浓度 MBC (芫菁子挥发油原液的稀释倍数) |
|---------|-----------|-------------------------------|-------------------------------|
| 大肠杆菌 | 6、7、8、9 | 1:32 | 1:16 |
| 金黄色葡萄球菌 | 5、6、7、8、9 | 1:16 | 1:8 |
| 绿脓杆菌 | 6、7、8、9 | 1:32 | 1:16 |

表 7 挥发油的 MIC 和 MBC(溶剂萃取法)
Table 7 MIC and MBC of volatile oil bacteriostasis(solvent extraction)

| 供试菌 | 阳性试管号 | 最小抑菌浓度 MIC(芫菁子挥发油原液的稀释倍数) | 最小杀菌浓度 MBC (芫菁子挥发油原液的稀释倍数) |
|---------|---------|---------------------------|-------------------------------|
| 大肠杆菌 | 6、7、8、9 | 1:32 | 1:16 |
| 金黄色葡萄球菌 | 7、8、9 | 1:64 | 1:32 |
| 绿脓杆菌 | 7、8、9 | 1:64 | 1:32 |

3.3 多糖的薄层层析

3.3.1 展开剂的选择

芫菁子多糖的水解液在乙酸乙酯:异丙醇:水=26:14:7(V:V:V)、正丁醇:丙酮:水=4:3:1(V:V:V)及正丁醇:乙酸乙酯:异丙醇:乙酸:吡啶:水=7:20:12:7:6:5(V:V:V:V:V)等展开剂中展开的结果表明,以乙酸乙酯:异丙醇:水=26:14:7(V:V:V)为展开剂时,斑点清晰园整,色彩鲜明,分离度好,故本研究选择乙酸乙酯:异丙醇:水=26:14:7(V:V:V)为展开剂。

3.3.2 薄层板及点样量的选择

当样品及标准单糖溶液的点样量为 4 μL,在高效硅胶 G 板上展开时,斑点较清晰,分离度较好,故选择点样量为 4 μL,在高效硅胶 G 板上展开。

3.3.3 验证性实验

以上述选出的最佳薄层条件进行验证性实验,在芫菁子多糖水解液的薄层色谱中,在与半乳糖和果糖对照品相应的位置上,出现颜色及比移值(rate of flow, R_f)值基本

相同的斑点,如图 5 所示,可初步判断芫菁子多糖中含有果糖和半乳糖。

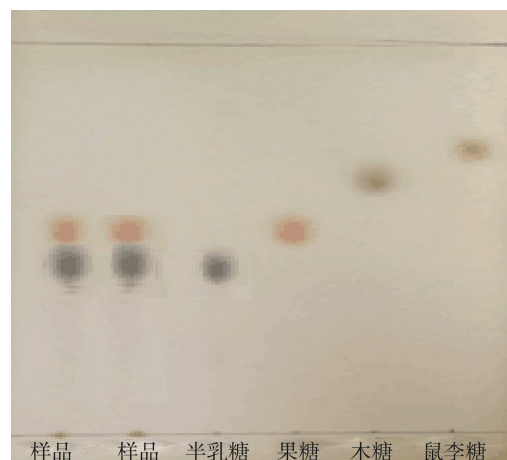


图 5 验证性实验的色谱图

Fig.5 Chromatogram of confirmatory experiments

4 结 论

用水蒸气蒸馏法、溶剂萃取法及同时蒸馏萃取法 3 种方法提取了芜菁子中的挥发油, GC-MS 法分析了挥发油的化学成分, 发现水蒸气蒸馏法提取的挥发油中主要含有异硫氰酸酯类化合物、腈类、羧酸酯、羧酸等。溶剂萃取法提取的挥发油中主要含有腈类、羧酸酯、羧酸及醛。同时蒸馏萃取法提取的挥发油中主要含有异硫氰酸酯类化合物、腈类、醇、芳香族化合物及醛酮等。对提取的挥发油进行了抗菌作用的研究, 结果表明芜菁子挥发油对大肠杆菌、金黄色葡萄球菌和绿脓杆菌均有抑菌作用。利用提取完挥发油的残渣提取芜菁子多糖, TLC 法分析了芜菁子多糖的组成, 发现芜菁子多糖中含有果糖和半乳糖。为新疆的营养物质资源的进一步开发利用提供了一定的参考。

参考文献

- [1] 邓群, 许晓曦, 卓志国, 等. 异硫氰酸苄酯对产气荚膜梭菌抑菌作用的研究[J]. 食品工业科技, 2011, (4): 125-128.
Deng Q, Xu XY, Zhuo ZG, *et al.* Study on antimicrobial action of benzyl isothiocyanate against *Clostridium perfringens* [J]. *Sci Technol Food Ind*, 2011, (4): 125-128.
- [2] 王岩, 周倩倩, 万锈琳, 等. 异硫氰酸酯类香料对两种革兰氏阳性致病菌的抑制作用[J]. 食品科学, 2017, 38(21): 15-20.
Wang Y, Zhou QQ, Wan XL, *et al.* Inhibitory effect of isothiocyanate flavors on two gram-positive pathogenic bacteria [J]. *Food Sci*, 2017, 38(21): 15-20.
- [3] 彭超. 山葵和芥子中异硫氰酸酯的抑菌活性成分与微胶囊研究[D]. 广州: 广东工业大学, 2014.
Peng C. The study of antimicrobial active ingredients and microencapsulation obtained from Wasabi and Mustard seed [D]. Guangzhou: Guangdong University of Technology, 2014.
- [4] 国佳鑫, 王艺萌, 孟铭, 等. 荔枝草提取物抗菌作用研究及其软膏的制备[J]. 哈尔滨商业大学学报(自然科学版), 2018, 34(5): 528-532.
Guo JX, Wang YM, Meng M, *et al.* Study on antimicrobial effect of salvia blebeia extract and its preparation of cream [J]. *J Harbin Com Univ (Nat Sci Ed)*, 2018, 34(5): 528-532.
- [5] 傅若秋, 孟德胜, 胡大强, 等. 牡丹皮水提取物及乙醇提取物的抗菌作用研究[J]. 中国药业, 2010, 19(18): 29.
Fu RQ, Meng DS, Hu DQ, *et al.* Antibacterial effect of aqueous extract and ethanol extract of cortex moutan [J]. *Chin Pharm Ind*, 2010, 19(18): 29.
- [6] 赵波, 朱红. 基于芳基胍咪唑鎓盐的合成及其抗菌活性[J]. 化学研究与应用, 2018, 30(12): 2021-2024.
Zhao B, Zhu H. Synthesis and antimicrobial activities of imidazolium based on aromatic iltrile [J]. *Chem Res Appl*, 2018, 30(12): 2021-2024.
- [7] 郭丹, 雷潇, 王鹏, 等. 山苍子油主成分及其衍生物对植物病原菌的抑制作用[J]. 江西农业大学学报, 2016, 38(2): 283-289.
Guo D, Lei X, Wang P, *et al.* Antifungal activity of essential oil from litsea cubeba and derivatives on plant pathogens [J]. *J Jiangxi Agric Univ*, 2016, 38(2): 283-289.
- [8] 侯杰, 刘雪冰, 操凤, 等. 芥子中甲代烯丙基异硫氰酸酯对 k562 细胞

的抑制与诱导[J]. 热带生物学报, 2013, 4(4): 335-341.

Hou J, Liu XB, Cao F, *et al.* Inhibition and inducing of k562 cells by methallyl isothiocyanate extracted from Mustard seeds [J]. *J Trop Biol Sin*, 2013, 4(4): 335-341.

- [9] 王家平, 李宝红, 田圆. 异硫氰酸酯的剂型研究新进展[J]. 海峡药学, 2015, 27(1): 1-4.
Wang JP, Li BH, Tian Y. New progress of studies on dosage forms of isothiocyanates [J]. *Strait Pharm J*, 2015, 27(1): 1-4.
- [10] 尹雨芳, 林强, 周海涛, 等. 超声波辅助西兰花种苗中硫代葡萄糖苷水解生成异硫氰酸酯工艺的优化[J]. 化学世界, 2016, 57(4): 200-204, 208.
Yin YF, Lin Q, Zhou HT, *et al.* Optimization of ultrasonic assisted hydrolysis of glucosinolates in broccoli seedlings to isothiocyanate [J]. *Chem World*, 2016, 57(4): 200-204, 208.
- [11] 桑鲁燕, 路川, 王亚文, 等. 异硫氰酸酯新型萃取工艺研究[J]. 食品安全质量检测学报, 2017, 8(11): 4202-4207.
Sang LY, Lu C, Wang YW, *et al.* Study on novel extraction technology of isothiocyanate [J]. *J Food Saf Qual*, 2017, 8(11): 4202-4207.
- [12] 郭强晖. 西兰花芽苗异硫氰酸酯富集与调控技术研究[D]. 南京: 南京农业大学, 2014.
Guo QH. Study on isothiocyanate accumulation and regulation techniques in germinated broccoli [D]. Nanjing: Nanjing Agricultural University, 2014.
- [13] 郭时印, 彭宇佳, 张家诚. 芥菜籽中异硫氰酸酯提取工艺的优化[J]. 湖南农业大学学报(自然科学版), 2017, 43(2): 226-228.
Guo SY, Peng YJ, Zhang JC. Optimization of isothiocyanate extraction from mustard seed [J]. *J Hunan Agric Univ (Nat Sci Ed)*, 2017, 43(2): 226-228.
- [14] 孙小童, 代翠红, 崔杰, 等. 食用红甜菜多糖的提取及纯化[J]. 中国甜菜糖业, 2018, (4): 1-6.
Sun XT, Dai CH, Cui J, *et al.* Extraction and purification of polysaccharide from edible red beets [J]. *Chin Beet Sugar Ind*, 2018, (4): 1-6.
- [15] 秦令祥, 崔胜文, 周婧琦, 等. 香菇多糖的提取技术研究进展[J]. 食品研究与开发, 2018, 39(18): 214-218.
Qin LX, Cui SW, Zhou JQ, *et al.* Research progress of extraction technology of lentinan [J]. *Food Res Dev*, 2018, 39(18): 214-218.

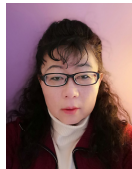
(责任编辑: 于梦娇)

作者简介



王建玲, 工程师, 主要研究方向为食品检测。

E-mail: 254770035@qq.com



孙 莲, 教授, 主要研究方向为药物分析。

E-mail: sl_yxy@126.com