

# 甘薯叶片中多酚成分及其抗菌活性研究

张毅<sup>1,2</sup>, 刘锦秀<sup>2</sup>, 钮福祥<sup>1\*</sup>, 孙健<sup>1</sup>, 岳瑞雪<sup>1</sup>, 徐飞<sup>1</sup>,  
朱红<sup>1</sup>, 张文婷<sup>1</sup>, 马晨<sup>1</sup>

(1. 江苏徐淮地区徐州农业科学研究所/中国农业科学院甘薯研究所, 徐州 221131;  
2. 江苏师范大学生命科学学院, 徐州 221116)

**摘要:** **目的** 提取分离纯化甘薯叶片中多酚的成分, 并研究其抗菌活性。 **方法** 采用 Sephadex LH-20 羟丙基葡聚糖凝胶柱色谱、液相色谱等方法, 分离纯化甘薯叶片乙酸乙酯和正丁醇部位的多酚成分, 根据波谱数据和文献对其结构进行鉴定; 采用平板稀释法测定不同化合物对 3 种病原菌最小抗菌浓度; 采用肉汤二倍稀释法测量不同化合物对 3 种病原菌的抑制率, 并计算半数抗菌浓度。 **结果** 从甘薯叶提取物中分离并鉴定出 3 个酚酸类单体化合物、2 个黄酮类单体化合物, 分别为咖啡酸、3,5-二咖啡酰奎宁酸甲酯、3,4-二咖啡酰奎宁酸甲酯、槲皮素 3-O- $\beta$ -D-葡萄糖苷和山奈酚-3-O- $\beta$ -D-葡萄糖苷。5 种化合物均具有不同程度的抗菌活性, 其中咖啡酸对肺炎克雷伯菌抑制作用明显; 山奈酚-3-O- $\beta$ -D-吡喃葡萄糖苷对金黄色葡萄球菌抑制作用明显; 3,4-二咖啡酰奎宁酸甲酯和槲皮素-3-O- $\beta$ -吡喃葡萄糖苷对鲍曼不动杆菌抑制作用明显。 **结论** 多酚成分是甘薯叶片抗菌作用的有效成分之一, 具有作为天然抗菌剂应用于食品和医药领域的潜力。

**关键词:** 甘薯叶; 多酚; 成分; 抗菌活性

## Study on the constituents and antibacterial activities of polyphenols from sweetpotato leaves (*Ipomoea batatas* L.)

ZHANG Yi<sup>1,2</sup>, LIU Jin-Xiu<sup>2</sup>, NIU Fu-Xiang<sup>1\*</sup>, SUN Jian<sup>1</sup>, YUE Rui-Xue<sup>1</sup>,  
XU Fei<sup>1</sup>, ZHU Hong<sup>1</sup>, ZHANG Wen-Ting<sup>1</sup>, MA Chen<sup>1</sup>

(1. Xuzhou Institute of Agricultural Sciences in Jiangsu Xuhuai District/Sweetpotato Research Institute of Chinese Academy of Agricultural Sciences, Xuzhou 221131, China; 2. School of Life Sciences, Jiangsu Normal University, Xuzhou 221116, China)

**ABSTRACT: Objective** To extract and purify polyphenols from sweetpotato leaves and study their antibacterial activity. **Methods** The polyphenols compounds in the ethyl acetate fraction and N-butanol fraction were isolated and purified by Sephadex LH-20 hydroxypropyl glucan gel column chromatography and liquid chromatography. The structures were identified by various spectroscopic data and references. The minimal inhibitory concentrations of different compounds to three pathogens were determined by plate dilution method. The inhibitory rates of different compounds to three pathogens were measured by broth double dilution method, and the half inhibitory concentration

**基金项目:** 国家甘薯产业技术体系项目(CARS-10)、徐州市农业科学院科研基金项目(XK2020007)、江苏省研究生科研与实践创新计划项目(KYCX19\_2201)

**Fund:** Supported by the Earmarked Fund for CARS-10-Sweetpotato, the Research Fund of Xuzhou Academy of Agricultural Sciences (XK2020007), and the Postgraduate Research and Practice Innovation Program of Jiangsu (KYCX19\_2201)

\***通信作者:** 钮福祥, 硕士, 研究员, 主要研究方向为农产品加工。E-mail: niufuxiang@sina.com

\***Corresponding author:** NIU Fu-Xiang, Master, Professor, Xuzhou Institute of Agricultural Sciences in Jiangsu Xuhuai District, Xuzhou Xuhai Road High-speed Railway Station North Xuzhou Academy of Agricultural Sciences, Xuzhou 221131, China. E-mail: niufuxiang@sina.com

was calculated. **Results** Three kinds of phenolic acids and 2 kinds of flavonoids were isolated from the extracts of sweetpotato leaves and identified as caffeic acid, 3,5-dicaffeoylquinic acid methyl ester, 3,4-dicaffeoylquinic acid methyl ester, quercetin-3-O- $\beta$ -glucopyranoside and kaempferol-3-O- $\beta$ -D-glucopyranoside. All the 5 kinds of compounds showed different degree of antibacterial activity: Caffeic acid had obvious inhibitory effect on *Klebsiella pneumoniae*; Kaempferol-3-O- $\beta$ -D-glucopyranoside had obvious inhibitory effect on *Staphylococcus aureus*; 3,4-dicaffeoylquinic acid methyl ester and quercetin-3-O- $\beta$ -glucopyranoside had obvious inhibitory effect on *Acinetobacter baumannii*. **Conclusion** Polyphenols are one of the main antibacterial constituents from sweetpotato leaves, and have the potential to be used as natural antimicrobial agents in the field of food and medicine.

**KEY WORDS:** sweetpotato leaf; polyphenols; constituent; antibacterial activity

## 0 引言

金黄色葡萄球菌(*Staphylococcus aureus*)在各种食物中产生热稳定肠毒素从而导致食物变质<sup>[1]</sup>, 严重威胁公共健康安全; 肺炎克雷伯菌(*Klebsiella pneumoniae*)和鲍曼不动杆菌(*Acinetobacter baumannii*)等病菌存在于自然界水和谷物中, 进入人的呼吸道和肠道中引起感染, 也给医疗卫生管理和人类生命健康带来极大挑战。广谱杀菌剂对金黄色葡萄球菌等多数革兰阴性杆菌具有较好的作用, 但对耐药性较强的肺炎克雷伯菌和鲍曼不动杆菌等革兰阳性杆菌效果仍存在争议<sup>[2]</sup>。同时, 滥用抗生素也加速了细菌耐药性的发展, 这一严峻形势迫使研究人员发现新的抗菌物质<sup>[3]</sup>。前人研究表明, 植物活性天然产物及其衍生物具有良好的抗菌等活性, 能够有效提高产品品种和延长货架期<sup>[4-5]</sup>, 这可能与含有羟基的多酚类物质有关<sup>[6-7]</sup>。含有羟基的化合物可通过氧化磷酸化解偶联优先进入膜内<sup>[8]</sup>, 损伤细胞膜完整性, 使细胞内主要成分流失<sup>[9-10]</sup>。不仅羟基的数量会影响多酚的抗菌活性, 芳香环上羟基的位置也会影响酚类化合物的抗菌效果<sup>[11]</sup>。同时羟基与磷酸基团、羰基相互作用形成氢键, 也会降低细胞膜的流动性, 从而抑制微生物<sup>[12]</sup>。天然抗菌剂的开发应用, 不仅可作为医用抗菌药物, 也能够代替存在安全风险的化学合成防腐剂, 提高产品的质量。

甘薯叶片含有丰富的营养物质<sup>[13]</sup>, 作为废弃物丢弃不仅会浪费资源, 还造成环境污染, 值得深入拓展潜在功能及开发系列大健康产品。多酚是植物体内的重要次生代谢物质, 在结构上以具有多个羟基取代的苯衍生物为代表, 主要包括酚酸类、黄酮类和其他化合物。不同品种甘薯茎叶的多酚含量和组分差异明显<sup>[14]</sup>, 而目前关于生物活性的研究主要集中在茎叶粗提物<sup>[15]</sup>。周中驰等<sup>[16]</sup>研究表明, 甘薯叶提取液对大肠杆菌、金黄色葡萄球菌和蜡样芽孢杆菌有良好的抗菌效果, 甘薯叶提取液和石榴叶提取液体积比为4:6时, 对大肠杆菌的抗菌效果最佳, 其体积比为2:8时, 对大肠杆菌、金黄色葡萄球菌、枯草芽孢杆菌和蜡样芽孢杆菌的抗菌效果最佳。王世宽等<sup>[17]</sup>研究表明, 乙醇提取的

甘薯叶绿原酸对植物乳杆菌、葡萄球菌、汉逊酵母、大肠杆菌、金黄色葡萄球菌均有抑制作用。目前针对甘薯叶抑菌效果的研究对象多为混合物, 但提取的混合物常常具有大量杂质, 直接应用存在不良风味, 因此有必要分离纯化甘薯叶片中的单体化合物并开展针对不同病原菌的抗菌活性研究, 以确定各单体的抑菌浓度和使用条件, 为甘薯叶多酚成分在食品工业中的商业化提供重要的理论依据。

基于此, 本研究从特定品种甘薯叶片中分离纯化多酚化合物单体, 分别以金黄色葡萄球菌、肺炎克雷伯菌及鲍曼不动杆菌为供试菌种, 旨在分析多酚单体的抗菌效果, 以期开发安全、高效的天然抗菌剂提供重要的理论依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 实验材料与试剂

本研究中使用的甘薯品种为西蒙一号, 叶片由江苏徐淮地区徐州农业科学研究所提供, 采收于2021年9月, 洗净晾干, 真空冷冻干燥后备用。本研究中使用的微生物菌株为: 金黄色葡萄球菌(ATCC29213), 肺炎克雷伯菌(ATCC43816)及鲍曼不动杆菌(ATCC19606), 均由江苏师范大学重点实验室提供。

乙醇、乙酸乙酯、正丁醇(分析纯, 上海麦克林公司); 甲醇(色谱纯, 德国Merck公司); MH肉汤培养基(青岛高科园海博公司); 胰蛋白胨、酵母浸膏(美国Thermo公司); 二甲基亚砜、氯化钠(分析纯, 国药集团化学试剂有限公司)。

### 1.2 仪器与设备

Sephadex LH-20柱色谱硅胶(美国Pharmacia公司); 25L GPF24DX48冷冻干燥仪(美国VIRTIS公司); ST16R冷冻离心机、905超低温冰箱、Multiskan FC酶标仪(美国Thermo公司); BCD-648冰箱(青岛海尔公司); N-1100D旋转蒸发器(上海拜澜公司); Alliance e2695半制备型高效液相色谱仪(美国WATERS公司); Bruker-400 MHz型核磁共振仪(德国Bruker公司); XPR404S/AC电子天平(感量0.1 mg, 瑞士METTLER TOLEDO公司)。

### 1.3 实验方法

#### 1.3.1 甘薯叶多酚成分的提取

甘薯叶的提取和分离纯化根据尹永芹等<sup>[18]</sup>的方法并加以改进: 甘薯叶冷冻干燥后粉碎过 100 目筛, 称取 10.0 kg 的样品, 以液料比 25:1 (mL:g) 加入 70% 的乙醇(pH 3.0), 50°C 水浴锅中加热回流提取 4 次, 每次 3 h, 并接入冷凝装置, 提取时间以冷凝管下方有冷凝水滴下开始计时。将 4 次提取液合并后过滤, 50°C 旋转蒸发去除乙醇, 并将回收的乙醇重复用于后续提取。将蒸发浓缩所得的乙醇浸膏混悬于等体积的去离子水中, 分别用等体积的乙酸乙酯和正丁醇对混悬液进行萃取, 直至溶剂颜色不再明显为止。提取液减压浓缩, 得乙酸乙酯部位浸膏和正丁醇部位浸膏。

#### 1.3.2 分离与纯化

乙酸乙酯部位浸膏在甲醇中溶解并过滤, 滤液浓缩后经过硅胶柱层析, 以二氯甲烷-甲醇 (100:1、50:1、20:1、10:1、5:1、3:1、2:1、1:1, *V:V*, 下同) 梯度洗脱, 每 500 mL 收集 1 份, 洗脱至 68 份, 薄层色谱法(thin layer chromatography, TLC) 检识合并(55~57, 64~66, 67~68) 得到 3 个部位 Fr. 1~3, Fr.1 经过 Sephadex LH-20 柱层析, 在甲醇-水中结晶得到化合物 1 (59.4 mg)。正丁醇部位经过硅胶柱层析, 以二氯甲烷-甲醇(50:1、20:1、10:1、5:1、3:1、2:1、1:1) 梯度洗脱, 每 500 mL 收集 1 份, 洗脱至 94 份, TLC 检识合并(30~35、36~40、41~52、88~94) 得到 4 个部位 Fr.1~4, Fr.3 经过硅胶柱层析和 Sephadex LH-20 柱层析, 通过半制备型高效液相进一步分离。制备液相色谱条件: 样品溶解于甲醇并浓缩后通过 0.22  $\mu\text{m}$  滤膜过滤; 流动相 A 为甲醇(色谱级), 流动相 B 为蒸馏水; 洗脱条件: 流动相 A 为 47%, 流动相 B 为 53%; 洗脱流速 1.2 mL/min; 每次运行时间 65 min, 检测波长为 254 nm 和 365 nm。根据洗脱曲线收集样品, 对保留时间在 22~28 min 处物质进行收集, 得到化合物 2 (18.5 mg)。Fr.4 经过硅胶柱层析, 由二氯甲烷-甲醇洗脱至 16 份, 合并组分 15~16, 经过 Sephadex LH-20 柱层析, 洗脱后的组分 10~12 合并浓缩得到化合物 3 (36.3 mg); 合并组分 11~14, 经过 Sephadex LH-20 柱层析, 洗脱后的组分 7 析出化合物 4 (29.6 mg); 合并组分 5~6, 浓缩得到化合物 5 (21.8 mg)。

#### 1.3.3 结构鉴定

通过分析化合物的氢谱(<sup>1</sup>H NMR), 碳谱(<sup>13</sup>C NMR) 试验数据, 并与文献对照, 鉴定了化合物 1~5 的结构。

#### 1.3.4 抗菌活性实验

采用王桃云等<sup>[19]</sup>的方法活化 3 种供试菌种, 将细菌配制成  $1 \times 10^7$  CFU/mL 菌悬液备用, 使用二甲基亚砜(dimethyl sulfoxide, DMSO) 稀释各化合物浓度至 1000  $\mu\text{g/mL}$  并通过 0.22  $\mu\text{m}$  细菌滤器除菌备用, 以 DMSO 作为空白对照。

采用微量二倍稀释法测定化合物的最小抗菌浓度(minimum inhibitory concentration, MIC)<sup>[20]</sup>。96 孔板中每孔加入 100  $\mu\text{L}$  LB 培养基, 然后加入相应的化合物样品进行

梯度稀释(1000.0、500.0、250.0、125.0、62.5  $\mu\text{g/mL}$ ), 最后加入 100  $\mu\text{L}$  菌悬液接种。将 96 孔板置于 37°C 恒温箱内培养 24 h 后观察菌落生长情况, 以肉眼观测完全没有菌落生长的最低浓度作为 MIC 值, 重复实验 3 次。

配制 MH 肉汤培养基, 挑选 LB 培养基中的单个菌落转移至含 MH 培养基的离心管培养, 采用肉汤二倍稀释法测定化合物的细菌抑制率<sup>[21]</sup>。96 孔板中每孔加入 100  $\mu\text{L}$  MH 肉汤培养基, 同样加入相应的化合物样品进行对倍稀释(1000、500、250、125、62.5  $\mu\text{g/mL}$ ), 最后加入 100  $\mu\text{L}$  菌悬液接种, 37°C 培养 48 h 后酶标仪测定 OD<sub>600</sub>, 抑制率评估其抗菌活性, 并通过 Graphpad Prism 6 软件计算半数抗菌浓度(half inhibitory concentration, IC<sub>50</sub>)。

#### 1.3.5 统计分析

运用 Excel 2016 和 Graphpad Prism 6 软件进行数据统计处理和作图。

## 2 结果与分析

### 2.1 化合物的结构解析

本研究从甘薯叶片中共分离出 5 个化合物, 经过核磁共振波谱法(Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy, NMR) 分析和文献比对, 5 个化合物(3 个酚酸类单体化合物、2 个黄酮类单体化合物) 全部鉴定为已知化合物, 结果见表 1。

化合物 1, C<sub>9</sub>H<sub>8</sub>O<sub>4</sub>, <sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, methanol-d<sub>4</sub>)  $\delta_{\text{H}}$ : 7.54 (d, J=15.9 Hz, 1H), 7.04 (d, J=2.1 Hz, 1H), 6.93 (dd, J=8.2, 2.1 Hz, 1H), 6.78 (d, J=8.2 Hz, 1H), 6.22 (d, J=15.9 Hz, 1H)。<sup>13</sup>C-NMR (101 MHz, MeOD)  $\delta_{\text{C}}$ : 171.09, 149.37, 147.07, 146.69, 127.73, 122.88, 116.45, 115.42, 115.06。与文献 NMR 波谱数据一致<sup>[22]</sup>, 确定化合物 1 为咖啡酸(caffeic acid)。

化合物 2, C<sub>26</sub>H<sub>26</sub>O<sub>12</sub>, <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, methanol-d<sub>4</sub>)  $\delta_{\text{H}}$ : 7.58 (dd, J=15.9, 6.1 Hz, 2H), 7.06 (dd, J=4.7, 2.0 Hz, 2H), 6.92 (ddd, J=14.6, 8.2, 2.0 Hz, 2H), 6.78 (dd, J=12.3, 8.2 Hz, 2H), 6.29 (dd, J=15.8, 4.9 Hz, 2H), 5.66 (q, J=4.2 Hz, 1H), 5.07 (dd, J=8.4, 3.4 Hz, 1H), 4.37 (td, J=8.7, 4.2 Hz, 1H), 3.77 (s, 3H), 3.37 (d, J=1.0 Hz, 1H), 2.37 (dd, J=14.7, 3.9 Hz, 1H), 2.23 (m, 1H), 2.15 (dd, J=14.8, 7.0 Hz, 2H)。<sup>13</sup>C NMR (101 MHz, MeOD)  $\delta_{\text{C}}$ : 174.8, 167.2, 167.2, 148.2, 148.2, 146.1, 145.4, 145.4, 126.4, 126.3, 122.0, 121.8, 115.2, 115.1, 113.8, 113.8, 113.7, 113.5, 73.9, 68.6, 64.7, 52.1, 40.0, 35.4。与文献 NMR 波谱数据一致<sup>[23]</sup>, 确定化合物 2 为 3,5-二咖啡酰奎宁酸甲酯(3,5-dicaffeoylquinic acid methyl ester)。

化合物 3, C<sub>26</sub>H<sub>26</sub>O<sub>12</sub>, <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, methanol-d<sub>4</sub>)  $\delta_{\text{H}}$ : 7.60 (d, J=15.9 Hz, 1H), 7.50 (d, J=15.9 Hz, 1H), 7.02 (dd, J=8.8, 2.1 Hz, 2H), 6.92 (ddd, J=8.3, 6.1, 2.1 Hz, 2H), 6.75 (d, J=8.2 Hz, 2H), 6.30 (d, J=15.9 Hz, 1H), 6.17 (d, J=15.9 Hz, 1H), 5.54 (td, J=7.9, 4.8 Hz, 1H), 5.11 (dd, J=8.1, 3.1 Hz, 1H), 4.35 (dt, J=6.6, 3.4 Hz, 1H), 3.72 (s, 3H), 3.35 (s, 2H), 2.37~2.14 (m, 3H)。<sup>13</sup>C NMR (101 MHz, MeOD)  $\delta_{\text{C}}$ : 36.98, 37.47, 51.69, 67.17, 67.67, 73.44, 74.37, 113.14, 113.31,

113.73, 113.76, 115.08, 115.12, 121.73, 121.76, 126.13, 126.30, 145.40, 145.43, 146.28, 146.32, 148.31, 148.39, 166.49, 167.07, 173.78。与文献 NMR 波谱数据一致<sup>[24]</sup>, 确定化合物 3 为 3,4-二咖啡酰奎宁酸甲酯(3,4-dicaffeoylquinic acid methyl ester)。

化合物 4,  $C_{21}H_{20}O_{12}$ ,  $^1H$  NMR (400 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta_H$ :12.65 (s, 1H), 10.88 (s, 1H), 9.73 (s, 1H), 9.25 (s, 1H), 7.59 (m, 2H), 6.85 (m, 1H), 6.41 (d,  $J=2.0$  Hz, 1H), 6.21 (d,  $J=2.0$  Hz, 1H), 5.47 (d,  $J=7.0$  Hz, 1H), 5.31 (s, 1H), 5.09 (s, 1H), 4.97 (s, 1H), 4.28 (t,  $J=5.3$  Hz, 1H), 3.59 (d,  $J=11.6$  Hz, 1H), 3.31 (s, 1H), 3.23 (q,  $J=9.0, 7.6$  Hz, 2H), 3.09 (t,  $J=3.2$  Hz, 2H)。 $^{13}C$  NMR (101 MHz, DMSO)  $\delta_C$ :177.9, 164.6, 161.7, 156.8, 156.6, 148.9, 145.3, 133.8, 122.1, 121.6, 116.6, 115.7, 104.4, 101.3, 99.1, 94.0, 78.0, 76.9, 74.5, 70.4, 61.4。与文献 NMR 波谱数据一致<sup>[25]</sup>, 确定化合物 4 为槲皮素-3-O- $\beta$ -吡喃葡萄糖苷(quercetin-3-O- $\beta$ -glucopyranoside)。

化合物 5,  $C_{21}H_{20}O_{11}$ ,  $^1H$  NMR (400 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta_H$ :12.63 (s, 1H), 10.85 (s, 1H), 10.20 (s, 1H), 8.08 (d,  $J=8.6$  Hz, 2H), 6.87 (d,  $J=8.6$  Hz, 2H), 6.45 (d,  $J=2.1$  Hz, 1H), 6.22 (d,  $J=2.1$  Hz, 1H), 5.42 (d,  $J=7.6$  Hz, 1H), 5.19 (d,  $J=4.7$  Hz, 1H), 4.87 (d,  $J=5.6$  Hz, 1H), 4.48 (dd,  $J=24.9, 4.8$  Hz, 2H), 3.67 (d,  $J=3.5$  Hz, 1H), 3.55 (td,  $J=8.8, 8.2, 3.6$  Hz, 1H), 3.38 (m, 5H)。 $^{13}C$  NMR (101 MHz, DMSO)  $\delta_C$ :178.0, 164.6, 161.7, 160.4, 156.8, 156.8, 133.7, 131.5, 121.3, 115.5, 104.4, 102.1, 99.2, 94.1, 76.2, 73.5, 71.7, 68.3, 60.7。与文献 NMR 波谱数据一致<sup>[26]</sup>, 确定化合物 5 为山奈酚-3-O- $\beta$ -D-吡喃葡萄糖苷(kaempferol-3-O- $\beta$ -D-glucopyranoside)。

## 2.2 单体化合物的抗菌能力

表 2 表明, 化合物 1(咖啡酸)对 3 种病原菌的最小抗菌浓度为: 肺炎克雷伯菌<金黄色葡萄球菌=鲍曼不动杆菌, 化合物 3 (3,4-二咖啡酰奎宁酸甲酯)对 3 种病原菌的最小抗菌浓度为: 鲍曼不动杆菌<金黄色葡萄球菌=肺炎克雷伯菌, 化合物 5(山奈酚-3-O- $\beta$ -D-吡喃葡萄糖苷)对 3 种病原菌的最小抗菌浓度为: 金黄色葡萄球菌<肺炎克雷伯菌=鲍曼不动杆菌, 化合物 2 (3,5-二咖啡酰奎宁酸甲酯)和化合物 4(槲皮素-3-O- $\beta$ -吡喃葡萄糖苷)对鲍曼不动杆菌的最小抗菌浓度相同, 但对金黄色葡萄球菌和肺炎克雷伯菌的抑制作用不明显。DMSO 对抗菌活性无影响。

肉汤二倍稀释法测定各化合物对 3 种病原菌的抑制率(表 3), 并计算半数抑制浓度  $IC_{50}$ (表 4), 结果与最小抗菌浓度相同, 不同化合物的抗菌效果各不相同, 且各化合物随着浓度的增大抗菌效果增强。化合物 1(咖啡酸)对金黄色葡萄球菌、鲍曼不动杆菌、肺炎克雷伯菌均有抑制作用, 其中对肺炎克雷伯菌的抑制效果明显; 化合物 2 (3,5-二咖啡酰奎宁酸甲酯)对肺炎克雷伯菌和金黄色葡萄球菌几乎没有抑制效果, 对鲍曼不动杆菌的抑制效果仅体现在高浓度时; 化合物 3 (3,4-二咖啡酰奎宁酸甲酯)和化合物 4(槲皮素-3-O- $\beta$ -吡喃葡萄糖苷)对鲍曼不动杆菌的抑制效果最强。化合物 5 (山奈酚-3-O- $\beta$ -D-吡喃葡萄糖苷)对金黄色葡萄球菌的抑制效果最强。

表 1 来自甘薯叶的化合物中英文名称、分子式及结构式

Table 1 Nomenclature, molecular formula and structural formula of compounds from sweetpotato leaves

序号	化合物中文名称	化合物英文名称	分子式	结构式
1	咖啡酸	caffeic acid	$C_9H_8O_4$	
2	3,5-二咖啡酰奎宁酸甲酯	3,5-dicaffeoylquinic acid methyl ester	$C_{26}H_{26}O_{12}$	
3	3,4-二咖啡酰奎宁酸甲酯	3,4-dicaffeoylquinic acid methyl ester	$C_{26}H_{26}O_{12}$	
4	槲皮素-3-O- $\beta$ -吡喃葡萄糖苷	quercetin-3-O- $\beta$ -glucopyranoside	$C_{21}H_{20}O_{12}$	
5	山奈酚-3-O- $\beta$ -D-吡喃葡萄糖苷	kaempferol-3-O- $\beta$ -D-glucopyranoside	$C_{21}H_{20}O_{11}$	

表 2 甘薯叶中不同化合物对 3 种病原菌的 MIC (n=3, μg/mL)  
Table 2 MIC of different compounds from sweetpotato leaves to three pathogens (n=3, μg/mL)

化合物	质量浓度	金黄色葡萄球菌	肺炎克雷伯菌	鲍曼不动杆菌
1	1000	0.0±0.0 <sup>l</sup>	0.0±0.0 <sup>j</sup>	0.0±0.0 <sup>i</sup>
	500	0.0±0.0 <sup>l</sup>	0.0±0.0 <sup>j</sup>	0.0±0.0 <sup>i</sup>
	250	4.7±1.5 <sup>ijk</sup>	0.0±0.0 <sup>j</sup>	5.3±0.6
	125	10.7±1.5 <sup>h</sup>	6.7±1.5 <sup>i</sup>	15.3±2.1
	62.5	15.3±4.0 <sup>g</sup>	13.0±2.0 <sup>gh</sup>	20.7±2.5
2	1000	7.7±1.5 <sup>hi</sup>	6.0±1.0 <sup>i</sup>	0.0±0.0 <sup>j</sup>
	500	25.3±3.1 <sup>e</sup>	15.7±1.5 <sup>g</sup>	0.0±0.0 <sup>j</sup>
	250	37.7±3.5 <sup>d</sup>	24.7±2.1 <sup>f</sup>	11.3±2.1 <sup>g</sup>
	125	42.0±3.6 <sup>c</sup>	37.3±1.5 <sup>d</sup>	21.0±2.0 <sup>de</sup>
	62.5	51.7±4.7 <sup>b</sup>	47.3±3.8 <sup>b</sup>	32.3±2.1 <sup>b</sup>
3	1000	0.0±0.0 <sup>l</sup>	0.0±0.0 <sup>j</sup>	0.0±0.0 <sup>i</sup>
	500	0.0±0.0 <sup>l</sup>	0.0±0.0 <sup>j</sup>	0.0±0.0 <sup>i</sup>
	250	3.3±0.6 <sup>ijkl</sup>	5.3±0.6 <sup>i</sup>	0.0±0.0 <sup>i</sup>
	125	9.0±1.0 <sup>h</sup>	15.3±0.6 <sup>g</sup>	6.3±2.1 <sup>h</sup>
	62.5	19.3±2.1 <sup>fg</sup>	24.0±2.6 <sup>f</sup>	16.0±1.7 <sup>f</sup>
4	1000	7.3±1.5 <sup>hij</sup>	5.7±1.2 <sup>i</sup>	0.0±0.0 <sup>j</sup>
	500	16.7±2.1 <sup>fg</sup>	11.3±1.5 <sup>h</sup>	0.0±0.0 <sup>j</sup>
	250	20.0±2.0 <sup>f</sup>	14.3±2.5 <sup>gh</sup>	7.7±1.5 <sup>h</sup>
	125	24.3±3.8 <sup>e</sup>	33.0±2.6 <sup>e</sup>	19.7±1.5 <sup>e</sup>
	62.5	42.7±4.0 <sup>c</sup>	41.3±4.2 <sup>c</sup>	23.7±3.1 <sup>cd</sup>
5	1000	0.0±0.0 <sup>l</sup>	0.0±0.0 <sup>j</sup>	0.0±0.0 <sup>i</sup>
	500	0.0±0.0 <sup>l</sup>	0.0±0.0 <sup>j</sup>	0.0±0.0 <sup>i</sup>
	250	0.0±0.0 <sup>l</sup>	7.3±1.5 <sup>i</sup>	5.7±2.1 <sup>h</sup>
	125	3.0±1.0 <sup>kl</sup>	14.7±3.2 <sup>gh</sup>	18.3±3.1 <sup>ef</sup>
	62.5	9.3±1.5 <sup>h</sup>	25.7±2.5 <sup>f</sup>	25.3±2.5 <sup>e</sup>
DMSO	1000	77.7±6.1 <sup>a</sup>	84.3±5.1 <sup>a</sup>	79.3±7.1 <sup>a</sup>

注: 同一列不同字母表示在 P<0.05 水平差异显著, 下同。

表 3 甘薯叶片中不同化合物对 3 种病原菌的抑制率(n=3, %)  
Table 3 Inhibitory rates of different compounds from sweetpotato leaves to three pathogens (n=3, %)

化合物	质量浓度/ (μg/mL)	金黄色葡萄球菌	肺炎克雷伯菌	鲍曼不动杆菌
1	1000	100.0±0.0 <sup>a</sup>	100.0±0.0 <sup>a</sup>	100.0±0.0 <sup>a</sup>
	500	100.0±0.0 <sup>a</sup>	100.0±0.0 <sup>a</sup>	100.0±0.0 <sup>a</sup>
	250	86.9±1.8 <sup>bc</sup>	100.0±0.0 <sup>a</sup>	88.8±3.1 <sup>bc</sup>
	125	71.6±1.5 <sup>c</sup>	90.9±2.7 <sup>b</sup>	56.2±5.0 <sup>g</sup>
	62.5	58.6±3.9 <sup>hi</sup>	79.6±2.2 <sup>d</sup>	36.9±3.0 <sup>i</sup>
2	1000	74.6±4.6 <sup>e</sup>	56.6±4.6 <sup>g</sup>	100.0±0.0 <sup>a</sup>
	500	64.2±3.7 <sup>fg</sup>	55.9±1.4 <sup>g</sup>	100.0±0.0 <sup>a</sup>
	250	56.9±2.7 <sup>ji</sup>	54.6±3.0 <sup>g</sup>	80.6±1.4 <sup>ef</sup>
	125	42.6±3.3 <sup>l</sup>	44.8±3.9 <sup>h</sup>	53.3±3.7 <sup>g</sup>
	62.5	37.1±3.6 <sup>m</sup>	34.8±1.3 <sup>i</sup>	31.6±6.1 <sup>j</sup>

表 3(续)

化合物	质量浓度/ (μg/mL)	金黄色葡萄球菌	肺炎克雷伯菌	鲍曼不动杆菌
3	1000	100.0±0.0 <sup>a</sup>	100.0±0.0 <sup>a</sup>	100.0±0.0 <sup>a</sup>
	500	100.0±0.0 <sup>a</sup>	100.0±0.0 <sup>a</sup>	100.0±0.0 <sup>a</sup>
	250	84.1±2.3 <sup>cd</sup>	87.2±2.7 <sup>bc</sup>	100.0±0.0 <sup>a</sup>
	125	72.2±2.1 <sup>e</sup>	77.5±4.4 <sup>de</sup>	84.3±3.7 <sup>de</sup>
	62.5	53.9±3.1 <sup>j</sup>	69.5±3.0 <sup>f</sup>	47.8±0.6 <sup>h</sup>
4	1000	89.9±3.9 <sup>b</sup>	67.0±4.1 <sup>f</sup>	100.0±0.0 <sup>a</sup>
	500	80.1±3.1 <sup>d</sup>	65.7±1.5 <sup>f</sup>	100.0±0.0 <sup>a</sup>
	250	67.1±2.9 <sup>f</sup>	58.6±4.8 <sup>g</sup>	92.2±1.5 <sup>b</sup>
	125	62.1±4.0 <sup>gh</sup>	46.6±1.0 <sup>h</sup>	77.4±3.6 <sup>f</sup>
	62.5	47.1±3.1 <sup>k</sup>	37.8±1.9 <sup>i</sup>	44.6±3.2 <sup>h</sup>
5	1000	100.0±0.0 <sup>a</sup>	100.0±0.0 <sup>a</sup>	100.0±0.0 <sup>a</sup>
	500	100.0±0.0 <sup>a</sup>	100.0±0.0 <sup>a</sup>	100.0±0.0 <sup>a</sup>
	250	100.0±0.0 <sup>a</sup>	84.9±3.0 <sup>c</sup>	85.9±4.0 <sup>cd</sup>
	125	89.5±3.9 <sup>b</sup>	74.9±4.0 <sup>c</sup>	53.9±1.9 <sup>g</sup>
	62.5	72.0±2.9 <sup>e</sup>	65.9±3.5 <sup>f</sup>	33.5±3.5 <sup>ij</sup>

表 4 甘薯叶中不同化合物对 3 种病原菌的 IC<sub>50</sub> (n=3, μg/mL)  
Table 4 IC<sub>50</sub> of different compounds from sweetpotato leaves to three pathogens (n=3, μg/mL)

化合物	IC <sub>50</sub> (μg/mL)		
	金黄色葡萄球菌	肺炎克雷伯菌	鲍曼不动杆菌
1	51.0	28.8	93.3
2	172.6	270.1	106.3
3	57.8	31.3	64.8
4	73.0	156.4	69.3
5	39.3	37.1	101.0

### 3 讨论与结论

绿原酸是通过咖啡酸与奎尼酸生成的缩酚酸, 是植物体在有氧呼吸过程中经过莽草酸途径产生的一种苯丙素类化合物, 绿原酸具有多种生物活性<sup>[27]</sup>。本研究从甘薯叶片分离出的酚酸主要为咖啡酸及绿原酸衍生物, 这与前人的研究<sup>[28-29]</sup>一致。研究发现<sup>[30-31]</sup>甘薯叶片黄酮类成分含量远低于酚酸, 其组成主要包括槲皮素、山奈酚及相应的黄酮苷, 也与本研究的分离鉴定结果保持一致。本研究只分离提取出 5 种单体化合物, 而目前的文献报道甘薯茎叶中已发现的酚酸类和黄酮类物质已多达 42 种<sup>[32]</sup>, 这主要是包括 3 方面的原因, 一是选用的甘薯品种不同导致; 二是分离纯化出来的单体一般是含量较高的化合物; 三是化合物的极性不同, 本研究仅从乙酸乙酯和正丁醇部位浸膏开展分离与纯化。后续将继续进行分离与纯化工作, 以期获得更多的单体化合物。

本研究结果表明甘薯叶片多酚成分对 3 种致病菌均具有不同程度的抑制作用,进一步证实了多酚成分是甘薯叶片抗菌作用的有效成分之一。金黄色葡萄球菌属于革兰氏阳性菌,而肺炎克雷伯菌和鲍曼不动杆菌属于革兰氏阴性菌,革兰氏阴性菌因外膜具有一层脂多糖,比于革兰氏阳性菌更加复杂<sup>[33]</sup>。研究结果发现,甘薯叶片酚酸类各组分对革兰氏阴性菌抑制作用强于革兰氏阳性菌,而黄酮类组分山奈酚-3-O- $\beta$ -D-吡喃葡萄糖苷对革兰氏阳性菌抑制作用最强,槲皮素-3-O- $\beta$ -吡喃葡萄糖苷对鲍曼不动杆菌抑制作用明显,因此甘薯叶多酚适合开发成针对不同病菌的新型、安全、高效的天然抗菌剂。

### 参考文献

- [1] KRUK M, TRZSKOWSKA M. Analysis of biofilm formation on the surface of organic mung bean seeds, sprouts and in the germination environment [J]. *Foods*, 2021, 10: 542.
- [2] TOMCZYK S, ZANICHELLI V, GRAYSON ML, *et al.* Control of carbapenem-resistant Enterobacteriaceae, *Acinetobacter baumannii*, and *Pseudomonas aeruginosa* in healthcare facilities: A systematic review and reanalysis of quasi-experimental studies [J]. *Clin Infect Dis*, 2019, 68(5): 873–884.
- [3] EFENBERGER-SZMECHTYK M, NOWAK A, CZYZOWSKA A. Plant extracts rich in polyphenols: Antibacterial agents and natural preservatives for meat and meat products [J]. *Crit Rev Food Sci Nutr*, 2021, 61(1): 149–178.
- [4] 郝澜鹏, 李静, 杨瑞, 等. 芳香植物精油的抗菌性及在动物生产中的应用[J]. *植物学报*, 2020, 55(5): 644–657.  
HAO YP, LI J, YANG R, *et al.* Antimicrobial activity of aromatic plant essential oils and their application in animal production [J]. *Chin Bull Botany*, 2020, 55(5): 644–657.
- [5] BEYA MM, NETZEL ME, SULTANBAWA Y, *et al.* Plant-based phenolic molecules as natural preservatives in comminuted meats: A review [J]. *Antioxidants (Basel)*, 2021. DOI: 10.3390/antiox10020263
- [6] GYAWALI R, IBRAHIM SA. Natural products as antimicrobial agents [J]. *Food Control*, 2014, 46: 412–429.
- [7] BOUARAB CL, DEGRAEVE P, FERHOUT H, *et al.* Plant antimicrobial polyphenols as potential natural food preservatives [J]. *J Sci Food Agric*, 2019, 99(4): 1457–1474.
- [8] PAVÓN MÁ, LUNA A, CRUZ SDL, *et al.* PCR based assay for the detection of *Alternaria* species and correlation with HPLC determination of alternuene, alternariol and alternariol monomethyl ether production in tomato products [J]. *Food Control*, 2012, 25(1): 1–52.
- [9] XU J, ZHOU F, JI BP, *et al.* The antibacterial mechanism of carvacrol and thymol against *Escherichia coli* [J]. *Lett Appl Microbiol*, 2008, 47(3): 174–179.
- [10] XUE J, DAVIDSON PM, ZHONG Q, *et al.* Thymol nanoemulsified by whey protein-maltodextrin conjugates: The enhanced emulsifying capacity and antilisterial properties in milk by propylene glycol [J]. *J Agric Food Chem*, 2013, 61(51): 12720–12726.
- [11] 吴克刚, 赵欣欣, 段雪娟, 等. 芳樟醇气相抗菌活性与作用机制[J]. *食品科学*, 2020, 41(1): 61–67.  
WU KG, ZHAO XX, DUAN XJ, *et al.* Antibacterial activity and mechanism of action of vapor-phase linalool [J]. *Food Sci*, 2020, 41(1): 61–67.
- [12] 徐绚绚, 巩继贤, 张健飞, 等. 罗布麻抑菌物质及其作用机制的研究进展[J]. *纺织学报*, 2020, 41(9): 149–154.  
XU XX, GONG JX, ZHANG JF, *et al.* Research progress in antibacterial substances from *Apocynum venetum* and their antibacterial mechanism [J]. *J Text Res*, 2020, 41(9): 149–154.
- [13] 马代夫, 刘庆昌, 张立明. 中国甘薯[M]. 南京: 江苏凤凰科学技术出版社, 2021.  
MA DF, LIU QC, ZHANG LM. Chinese sweet potato [M]. Nanjing: Jiangsu Phoenix Science and Technology Press, 2021.
- [14] 邱俊凯, 隋伟策, 木泰华, 等. 58 个不同品种甘薯茎叶营养与功能成分的研究[J]. *核农学报*, 2021, 35(4): 911–922.  
QIU JK, SUI WC, MU TH, *et al.* Comparative study on the nutritional and functional components of sweet potato leaves from fifty-eight cultivars [J]. *Acta Agric Nucl Sin*, 2021, 35(4): 911–922.
- [15] 张子依, 陈锦瑞, 刘荣瑜, 等. 甘薯及其主要成分体内生物活性研究进展[J]. *中草药*, 2020, 51(12): 3308–3317.  
ZHANG ZY, CHEN JR, LIU RY, *et al.* Research progress of biological activity of *Ipomoea batatas* and its main components *in vivo* [J]. *Chin Herb Med*, 2020, 51(12): 3308–3317.
- [16] 周中驰, 徐志龙, 陈学红, 等. 石榴叶和甘薯叶提取物的抗菌活性研究[J]. *食品安全导刊*, 2022, 11: 142–144.  
ZHOU ZC, XU ZL, CHEN XH, *et al.* Study on antibacterial activity of extracts from pomegranate leaves and sweet potato leaves [J]. *China Food Saf Magaz*, 2022, 11: 142–144.
- [17] 王世宽, 谢仁有, 洪玉程. 甘薯叶绿原酸的抑菌作用及其复配型防腐剂对发酵香肠的影响[J]. *四川理工学院学报(自然科学版)*, 2012, 25(4): 21–25.  
WANG SK, XIE RY, HONG YC. Research on antibacterial efficiency of chlorogenic acid from sweet potato leaf and effect of compound preservatives on fermented sausages [J]. *J Sichuan Sci Eng*, 2012, 25(4): 21–25.
- [18] 尹永芹, 沈志滨, 孔令义. 巴西甘薯叶化学成分研究[J]. *中药材*, 2008, 31(10): 1501–1503.  
YIN YQ, SHEN ZB, KONG LY. Studies on chemical constituents from *Ipomoea batatas* [J]. *J Chin Med Mat*, 2008, 31(10): 1501–1503.
- [19] 王桃云, 蒋伟娜, 胡翠英, 等. 香青菜挥发油提取及化学成分和抑菌活性研究[J]. *中国粮油学报*, 2017, 32(3): 81–87.  
WANG TY, JIANG WN, HU CY, *et al.* Research on extraction, chemical composition and bacterial inhibition activity of volatile oils from *Brassica chinensis* [J]. *J Chin Cereals Oils Ass*, 2017, 32(3): 81–87.
- [20] WEI L, ZHANG W, YIN L, *et al.* Extraction optimization of total triterpenoids from *Jatropha curcas*, leaves using response surface methodology and evaluations of their antimicrobial and antioxidant

- capacities [J]. *Electron J Biotech*, 2015, 18(2): 88–95.
- [21] WU Z, XIE Z, WU M, *et al.* New antimicrobial cyclopentenones from *Nigrospora sphaerica* ZMT05, a fungus derived from *Oxya chinensis* Thunber [J]. *J Agric Food Chem*, 2018, 66(21): 5368–5372.
- [22] 谭桂山, 徐平声, 戴智勇. 引种巴西甘薯叶化学成分研究(I)[J]. *天然产物研究与开发*, 1995, 7(4): 44–46.
- TAN GS, XU PS, DAI ZY. Studies on the chemical compounds of *Ipomoea Batatas* Lam [J]. *Nat Prod Res Dev*, 1995, 7(4): 44–46.
- [23] 李小军, 金官佑, 张晓丹, 等. 糙叶五加果实乙酸乙酯萃取部位化学成分及抗炎活性研究[J]. *天然产物研究与开发*, 2020, 32(3): 427–434.
- LI XJ, JIN GY, ZHANG XD, *et al.* Study on chemical constituents and their anti-inflammatory activity from ethyl acetate extract of fruits of *Acanthopanax henryi* (Oliv.) Harms [J]. *Nat Prod Res Dev*, 2020, 32(3): 427–434.
- [24] 李小军, 吴贤哲, 金伦喆, 等. 糙叶五加花化学成分及其抗炎活性[J]. *中成药*, 2019, 41(8): 1856–1862.
- LI XJ, WU XZ, JIN LZ, *et al.* Chemical constituents from the flowers of *Acanthopanax henryi* and their anti-inflammatory activities [J]. *Chin Tradit Pat Med*, 2019, 41(8): 1856–1862.
- [25] 周志宏, 张颖君, 杨崇仁. 怒茶素—怒江山茶的一个新黄酮甙[J]. *云南植物研究*, 2000, 22(1): 90–96.
- ZHOU ZH, ZHANG YJ, YANG CR. Saluenin, a new flavonol glycoside from *Camellia saluenensis* [J]. *Acta Bot Bras*, 2000, 22(1): 90–96.
- [26] 周光雄, 彭旦明, 马珠, 等. 乌柏叶化学成分的研究[J]. *中草药*, 1996, 27(11): 652.
- ZHOU GX, PENG DM, MA Z, *et al.* Study on chemical constituents of *Sapium sebiferum* leaves [J]. *Chin Herb Med*, 1996, 27(11): 652.
- [27] CHUKWUMA CI, MATSABISA MG, IBRAHIM MA, *et al.* Medicinal plants with concomitant anti-diabetic and anti-hypertensive effects as potential sources of dual acting therapies against diabetes and hypertension: A review [J]. *J Ethnopharmacol*, 2019, 235: 329–360.
- [28] ISLAM MS, YOSHIMOTO M, YAHARA S, *et al.* Identification and characterization of foliar polyphenolic composition in sweetpotato (*Ipomoea batatas* L.) genotypes [J]. *J Agric Food Chem*, 2002, 50(13): 3718–3722.
- [29] SASAKI K, OKI T, KAI YM, *et al.* Effect of repeated harvesting on the content of caffeic acid and seven species of caffeoylquinic acids in sweet potato leaves [J]. *Biosci Biotechnol Biochem*, 2015, 79(8): 1308–1314.
- [30] LUO CY, WANG XX, GAO G, *et al.* Identification and quantification of free, conjugate and total phenolic compounds in leaves of 20 sweetpotato cultivars by HPLC-DAD and HPLC-ESI-MS/MS [J]. *Food Chem*, 2013, 141(3): 2697–2706.
- [31] HUANG Z, WANG B, EAVES DH, *et al.* Phenolic compound profile of selected vegetables frequently consumed by African Americans in the southeast United States [J]. *Food Chem*, 2007, 103(4): 1395–1402.
- [32] 罗丹, 木泰华, 孙红男. 甘薯茎叶多酚分离纯化及降血糖活性研究进展[J]. *核农学报*, 2021, 35(2): 424–437.
- LUO D, MU TH, SUN HN. Research progress in separation, purification and antihyperglycemic activity of sweet potato leaf polyphenols [J]. *Acta Agric Nucl Sin*, 2021, 35(2): 424–437.
- [33] VODNAR DC, CALINOIU LF, DULF FV, *et al.* Identification of the bioactive compounds and antioxidant, antimutagenic and antimicrobial activities of thermally processed agro-industrial waste [J]. *Food Chem*, 2017, 231(8): 131–140.

(责任编辑: 韩晓红 于梦娇)

## 作者简介



张 毅, 硕士, 助理研究员, 主要研究方向为甘薯功能成分活性及营养评价。  
E-mail: zhangyisnu@163.com



钮福祥, 硕士, 研究员, 主要研究方向为农产品加工。  
E-mail: niufuxiang@sina.com