

DOI:10.12171/j.1000-1522.20220090

## 细叶小檗不同生长部位生物碱抑菌活性研究

赵海桃<sup>1</sup> 吴小杰<sup>1</sup> 钟明旭<sup>1</sup> 邱隽蒙<sup>1</sup> 石统帅<sup>1</sup> 符群<sup>1,2</sup>

(1. 东北林业大学林学院, 黑龙江 哈尔滨 150040; 2. 黑龙江省森林食品资源利用重点实验室, 黑龙江 哈尔滨 150040)

**摘要:**【目的】对细叶小檗不同生长部位(根、茎、叶、果)生物碱抑菌活性进行对比评价,旨在筛选细叶小檗抑菌有效部位和主要抑菌成分,为拓宽其全植株应用领域及研发新型天然食品防腐剂的提供理论依据。【方法】以抑菌圈直径、最低抑菌质量浓度和最低杀菌质量浓度为考查指标,采用牛津杯抑菌法,研究各生长部位生物碱对4种食源性致病菌(大肠杆菌、金黄色葡萄球菌、沙门氏菌、枯草芽孢杆菌)的抑制作用,采用高效液相色谱法测定生物碱的种类和含量。【结果】纯化前后细叶小檗4种不同生长部位生物碱对大肠杆菌、金黄色葡萄球菌、沙门氏菌、枯草芽孢杆菌这4种常见食源性致病菌均呈现正相关的剂效关系。其中,纯化前细叶小檗实生物碱的抑菌效果最佳,当其生物碱质量浓度为60 g/L时,抑菌圈直径大于20 mm。通过二倍稀释法研究表明:其大肠杆菌、沙门氏菌、枯草芽孢杆菌的最低抑菌质量浓度(MIC)均为1.25 g/L,最低杀菌质量浓度(MBC)均为2.50 g/L,对金黄色葡萄球菌的MIC为2.50 g/L, MBC为5.00 g/L。纯化后细叶小檗根生物碱的抑菌效果最佳,当其生物碱质量浓度为40 g/L时,抑菌圈直径大于20 mm。通过二倍稀释法研究表明:其大肠杆菌、金黄色葡萄球菌的MIC均为0.31 g/L, MBC均为0.63 g/L,对枯草芽孢杆菌、沙门氏菌的MIC为0.63 g/L, MBC为1.25 g/L。液相色谱检测结果显示:纯化后生物碱构成包括小檗碱(0.28~41.69 g)、药根碱(0.32~12.67 g)、巴马汀(0.25~17.09 g)。【结论】细叶小檗根、茎和果这3个部位对供试菌株有较强的抑菌作用,叶抑菌效果稍弱。4个不同生长部位基本生物碱单体种类相同,但含量存在显著差异。当生物碱质量浓度为60 g/L时,纯化前不同部位抑菌作用强弱次序为果>根>茎>叶;纯化后不同部位抑菌作用强弱次序为根>茎>实>叶。

**关键词:** 细叶小檗; 生物碱; 不同生长部位; 抑菌活性

**中图分类号:** Q949.746.8; R284 **文献标志码:** A **文章编号:** 1000-1522(2022)07-0126-09

**引文格式:** 赵海桃, 吴小杰, 钟明旭, 等. 细叶小檗不同生长部位生物碱抑菌活性研究[J]. 北京林业大学学报, 2022, 44(7): 126-134. Zhao Haitao, Wu Xiaojie, Zhong Mingxu, et al. Antibacterial activity of alkaloids from different growth parts of *Berberis poiretii*[J]. Journal of Beijing Forestry University, 2022, 44(7): 126-134.

### Antibacterial activity of alkaloids from different growth parts of *Berberis poiretii*

Zhao Haitao<sup>1</sup> Wu Xiaojie<sup>1</sup> Zhong Mingxu<sup>1</sup> Qiu Junmeng<sup>1</sup> Shi Tongshuai<sup>1</sup> Fu Qun<sup>1,2</sup>

(1. School of Forestry, Northeast Forestry University, Harbin 150040, Heilongjiang, China;

2. Key Laboratory of Forest Food Resources Utilization of Heilongjiang Province, Harbin 150040, Heilongjiang, China)

**Abstract:** [Objective] In this paper, the antibacterial activity of alkaloids from different parts (root, stem, leaf and fruit) of *Berberis poiretii* was evaluated to provide a theoretical basis for broadening the application fields of whole plant and developing new natural food preservatives. [Method] Taking the diameter of bacteriostatic zone, the lowest bacteriostatic concentration and the lowest bacteriostatic concentration as the examination index, the Oxford Cup bacteriostatic method was used to study the inhibitory effects of alkaloids from different growth sites on four food-borne pathogens (*Escherichia coli*, *Staphylococcus*

收稿日期: 2022-03-07 修回日期: 2022-06-04

基金项目: 国家重点研发计划(2016YFC0500307-07)。

第一作者: 赵海桃。主要研究方向: 食品安全与检测。Email: 1446025262@qq.com 地址: 150040 黑龙江省哈尔滨市香坊区和兴路26号东北林业大学林学院。

责任作者: 符群, 高级工程师。主要研究方向: 天然产物分离与制备及功能性质研究。Email: nefufuqun@163.com 地址: 150040 黑龙江省哈尔滨市香坊区和兴路26号东北林业大学林学院。

本刊网址: <http://j.bjfu.edu.cn>; <http://journal.bjfu.edu.cn>

*aureus*, *Salmonella* spp., *Bacillus subtilis*), the types and contents of alkaloids were determined by high-performance liquid chromatography method. [Result] Before and after purification, the alkaloids from 4 different parts of *Berberis poiretii* showed positive dose-effect relationship to four common food-borne pathogenic bacteria, i.e. *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella* spp., *Bacillus subtilis*. When the concentration of alkaloids was 60 g/L, the diameter of bacteriostatic zone was more than 20 mm. The minimum inhibitory concentration (MIC) to *Escherichia coli*, *Salmonella* spp. and *Bacillus subtilis* was 1.25 g/L, minimum bactericidal concentration (MBC) was 2.50 g/L, and the MIC to *Staphylococcus aureus* was 2.50 g/L, MBC was 5.00 g/L. When the concentration of alkaloid was 40 g/L, the diameter of bacteriostatic zone was more than 20 mm. The results showed that the MIC for *Escherichia coli* and *Salmonella* spp. was 0.31 g/L, MBC was 0.63 g/L, and the MIC for *Bacillus subtilis* and *Salmonella* spp. was 0.63 g/L, respectively, MBC was 1.25 g/L. The results of HPLC showed that the purified alkaloids were berberine (0.28–41.69 g), jatrorrhizine (0.32–12.67 g) and palmatine (0.25–17.09 g). [Conclusion] The root, stem and fruit of *Berberis poiretii* have stronger bacteriostatic effect on the tested strains, but the leaf has weaker bacteriostatic effect. The basic alkaloid monomers in 4 different growing parts are the same, but the content of the monomers is significantly different. When the concentration of alkaloid is 60 g/L, the order of bacteriostasis is fruit > root > stem > leaf, and the order of bacteriostasis is root > stem > fruit > leaf.

**Key words:** *Berberis poiretii*; alkaloids; different parts of growth; antibacterial activity

近年来,随着人们饮食结构的改变和食品种类的丰富,食品安全问题不断增加。据世界卫生组织估计,全球每年接近 70% 的食源性疾病是由食源性致病菌引起的<sup>[1]</sup>。其中,大肠杆菌(*Escherichia coli*)、金黄色葡萄球菌(*Staphylococcus aureus*)、沙门氏菌(*Salmonella* spp.)、枯草芽孢杆菌(*Bacillus subtilis*)等细菌性食物中毒引起的食品安全事件约占我国食品安全事件的 30%~90%,也是世界范围内公共卫生组织关注的重点课题<sup>[2-4]</sup>。因此,研究安全、天然及高效的抑菌剂,对抑制食源性致病菌的生长,延长食品保质期及预防食品安全事件具有重要意义。

细叶小檗(*Berberis poiretii*)为小檗科小檗属植物,俗称三颗针、狗奶子、针雀等,分布于东北、华北等地。其叶丛生于刺腋,上面鲜绿色,下面淡绿或灰绿色,羽状脉明显。浆果为长圆形,呈鲜红色<sup>[5]</sup>。根及根茎入药,含有生物碱等活性物质,具有抗心肌缺血、抑菌、镇痛、降血糖等药理活性<sup>[6-9]</sup>。Liu 等<sup>[10]</sup>以黄柏盐酸小檗碱对耐药性菌株进行体外抑菌试验, Xu 等<sup>[11]</sup>以黄连小檗碱对枯草芽孢杆菌、大肠杆菌、变形杆菌抑菌效果进行对比评价,结果均表明小檗碱具有不同程度的广谱抑菌作用。

传统研究主要针对细叶小檗的根、茎等单一部位<sup>[12-13]</sup>,对其他生长部位活性成分与功能的对比评价与综合研究鲜有报道。本研究以细叶小檗为试材,用牛津杯抑菌法评价分析细叶小檗根、茎、叶和果中生物碱提取物对食品中常见的大肠杆菌、枯草芽孢杆菌、沙门氏菌和金黄色葡萄球菌的抑菌活性,并确定其最低抑菌质量浓度(minimum inhibitory

mass concentration, MIC)和最低杀菌质量浓度(minimum bactericidal mass concentration, MBC),通过 HPLC 法对其典型生物碱成分进行分析,以期对细叶小檗全植株的开发利用及其在食品防腐方面的应用提供研究基础。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

野生细叶小檗 2021 年采集于黑龙江省鹤岗市。盐酸小檗碱标准品(纯度 ≥ 95%)、盐酸药根碱标准品(纯度 ≥ 95%)、盐酸巴马汀标准品(纯度 ≥ 95%)(上海源叶生物公司);其他化学试剂为分析纯;乙腈、甲醇为色谱纯;D101 大孔吸附树脂,郑州和成新材料科技有限公司。大肠杆菌、金黄色葡萄球菌、沙门氏菌、枯草芽孢杆菌,由东北林业大学微生物实验室提供。

### 1.2 方法

#### 1.2.1 细叶小檗总生物碱的提取与含量测定

分别将同植株细叶小檗的根、茎、叶和果烘干,粉碎过 100 目筛,冷藏备用。准确称取 10 g 细叶小檗不同生长部位粉末,以 15 倍体积分数为 75% 乙醇溶液,在功率 300 W、40 kHz 超声条件下提取 1 h。真空脱溶后冻干,得到总生物碱提取物。

生物碱提取物经 D101 大孔树脂进行纯化<sup>[14-15]</sup>。纯化条件为:上样液质量浓度 3.5 g/L、上样液体积 160 mL,静态吸附 12 h,先以 2 倍树脂体积水洗除杂,再用 30% 乙醇、50% 乙醇、70% 乙醇和 90% 乙醇进行梯度洗脱,每个浓度 3 倍树脂体积洗脱,脱溶

冻干后得到纯化后生物碱。

采用紫外分光光度法<sup>[16]</sup>测定盐酸小檗碱的标准曲线。精准称取 0.005 g 小檗碱标准品,以无水乙醇分别配置为质量浓度 0、0.002、0.004、0.006、0.008、0.010 g/L。在 345 nm 波长处测量吸光度,以小檗碱标准溶液的质量浓度为横坐标  $x$ ,吸光度为纵坐标  $y$ ,得到标准曲线方程为  $y = 48.8x - 0.003$ ,  $R^2 = 0.9993$ ,按式(1)计算细叶小檗各部位总生物碱含量,结果以每 100 g 细叶小檗对应的小檗碱等价质量表示总生物碱含量。

$$P = \frac{100xVN}{m} \quad (1)$$

式中: $P$ 为总生物碱含量,用 100 g 细叶小檗对应的小檗碱等价质量表示总生物碱含量, g;  $x$ 为小檗碱的质量浓度, g/L;  $V$ 为试样溶液的体积, L;  $N$ 为稀释倍数;  $m$ 为细叶小檗的质量, g。

### 1.2.2 菌种的活化和菌悬液的制备

分别将 4 种供试菌株接种于 LB 液体培养基,在 37 ℃ 培养箱中培养 24 h,将活化后的菌种在琼脂培养基中划线培养,37 ℃ 培养 24 h,挑取单菌落接于已灭菌的液体培养基中,37 ℃ 培养至对数生长期,制得实验用菌悬液。用无菌生理盐水(0.9%)调整菌悬液终含量约为  $1 \times 10^6 \sim 1 \times 10^5$  CFU/mL,冷藏备用。

### 1.2.3 抑菌圈试验

采用琼脂-孔洞扩散法(牛津杯法)<sup>[17]</sup>,测定不同部位细叶小檗生物碱提取物对 4 种食源性致病菌的抑制作用。取直径 90 mm 平皿,琼脂培养基加液量为 15 mL,菌液涂布量为 0.1 mL,采用平板涂布法制备含菌平板,每个平板放置 4 个牛津杯,用无菌移液枪分别加入 0.15 mL 不同质量浓度生物碱溶液,并以无菌蒸馏水作对照,每个浓度重复 3 次,于无菌操作间中预扩散 2 h,再放入 37 ℃ 恒温培养箱中培养 12 h,测量记录抑菌圈直径,取平均值。

评价指标:抑菌圈直径 > 20 mm 为最敏感,10 ~ 20 mm 为中度敏感,5 ~ 10 mm 为低度敏感,无抑制作用者( $\leq 5$  mm)为不敏感。

### 1.2.4 最低抑菌质量浓度和最低杀菌质量浓度的测定

采用二倍稀释法<sup>[18]</sup>。取 33 支试管,每支试管中均加入 1 mL 液体培养基,平均分为 3 组,分别编号 1 ~ 11,121 ℃ 高压灭菌 20 min。在无菌条件下,向 1 号试管加入 1 mL 细叶小檗样品溶液,混合均匀,吸取 1 mL 加到 2 号试管中,混匀后吸取 1 mL 到 3 号试管中,以此类推到 10 号试管,混匀后弃掉 1 mL,在 1 ~ 10 号试管间形成 2 倍倍比稀释。11 号试管为对照组,不加样品溶液。向 1 ~ 11 号试管中

各加入 1 mL 菌悬液,摇匀,在 37 ℃ 恒温振荡培养箱中培养 24 h。根据试管内液体的浑浊度判定生物碱的 MIC 值。向澄清的试管中取 0.5 mL 加入琼脂培养基中,于 37 ℃ 恒温培养 24 h。试管内液体澄清,则无细菌生长,此时生物碱质量浓度为对应的 MIC 值。

从 MIC 测定结果中无明显细菌生长的孔中吸取 100  $\mu$ L 涂布于培养基上,37 ℃ 培养 24 h 后观察平板菌落生长情况。MBC 值为培养 24 h 后细菌平板无菌落生长所对应的最小生物碱<sup>[19]</sup>质量浓度,即该浓度下 99.9% 的供试菌株都已经被杀死。

### 1.2.5 细叶小檗不同生长部位生物碱的 HPLC 分析

采用 HPLC 法<sup>[20]</sup>测定细叶小檗不同生长部位小檗碱、药根碱、巴马汀含量变化。色谱柱 Kromasil C18(4.6 mm  $\times$  150 mm, 3  $\mu$ m),柱温 30 ℃。紫外检测器检测波长 345 nm。流动相:A 为乙腈,B 为 0.1% 磷酸溶液,洗脱程序:体积分数为 25% 的 A 和 75% 的 B 等度洗脱;进样量 10  $\mu$ L、流速 1 mL/min。

在此条件下,取不同质量浓度小檗碱、药根碱、巴马汀标准液进行测定。以各标准溶液质量浓度为横坐标,峰面积为纵坐标,绘制标准曲线,得到线性回归方程:药根碱为  $Y_1 = 67.629X_1 - 0.5691$ ,  $R_1^2 = 0.9951$ ;小檗碱为  $Y_2 = 92.294X_2 - 0.8299$ ,  $R_2^2 = 0.9979$ ;巴马汀为  $Y_3 = 62.978X_3 - 0.58$ ,  $R_3^2 = 0.997$ 。结果表明:各生物碱标准溶液质量浓度在 0.01 ~ 0.05 g/L 范围内与峰面积均呈良好线性关系。

### 1.3 数据处理

采用 Excel 2016、Origin 8.6 进行数据分析和绘图,采用 SPSS 20.0 软件对数据进行处理。

## 2 结果与分析

### 2.1 细叶小檗不同生长部位总生物碱含量

由表 1 可知:不同生长部位中总生物碱含量和纯度均存在显著差异( $P < 0.05$ )。纯化前不同生长部位总生物碱含量次序为根 > 叶 > 茎 > 果。其中,细叶小檗根中生物碱含量最高,果中总生物碱最低,根中总生物碱含量是果的 2.54 倍;纯化后不同生长部位总生物碱含量次序为根 > 茎 > 果 > 叶。其中,细叶小檗根中生物碱含量最高,叶中总生物碱最低,根中总生物碱含量是叶的 1.61 倍。陈祥云等<sup>[21]</sup>、张琳等<sup>[22]</sup>在进行生物碱的相关研究中,亦使用醇提法进行生物碱提取,黎代余等<sup>[23]</sup>、向前胜等<sup>[24]</sup>对小檗不同部位生物碱含量进行测定,结果表明根中生物碱含量最高,与本文研究结果一致,也是传统医药中多采用根部入药的原因。

经过树脂纯化,根部、茎部、叶部、果中的总生

表 1 细叶小檗不同生长部位生物碱含量和纯度比较

| 部位 Part | 含量 Content/g             |                           | 纯度 Purity/%              |                            |
|---------|--------------------------|---------------------------|--------------------------|----------------------------|
|         | 纯化前 Before purification  | 纯化后 After purification    | 纯化前 Before purification  | 纯化后 After purification     |
| 根 Root  | 9.40 ± 0.32 <sup>a</sup> | 17.86 ± 0.26 <sup>a</sup> | 9.82 ± 0.44 <sup>a</sup> | 19.00 ± 0.23 <sup>a</sup>  |
| 茎 Stem  | 3.85 ± 0.50 <sup>c</sup> | 15.34 ± 0.34 <sup>b</sup> | 4.45 ± 0.36 <sup>b</sup> | 17.73 ± 0.43 <sup>ab</sup> |
| 叶 Leaf  | 4.50 ± 0.64 <sup>b</sup> | 11.08 ± 0.16 <sup>d</sup> | 4.52 ± 0.31 <sup>b</sup> | 11.13 ± 0.25 <sup>c</sup>  |
| 果 Fruit | 3.70 ± 0.28 <sup>c</sup> | 14.90 ± 0.32 <sup>c</sup> | 4.62 ± 0.44 <sup>b</sup> | 18.61 ± 0.17 <sup>bc</sup> |

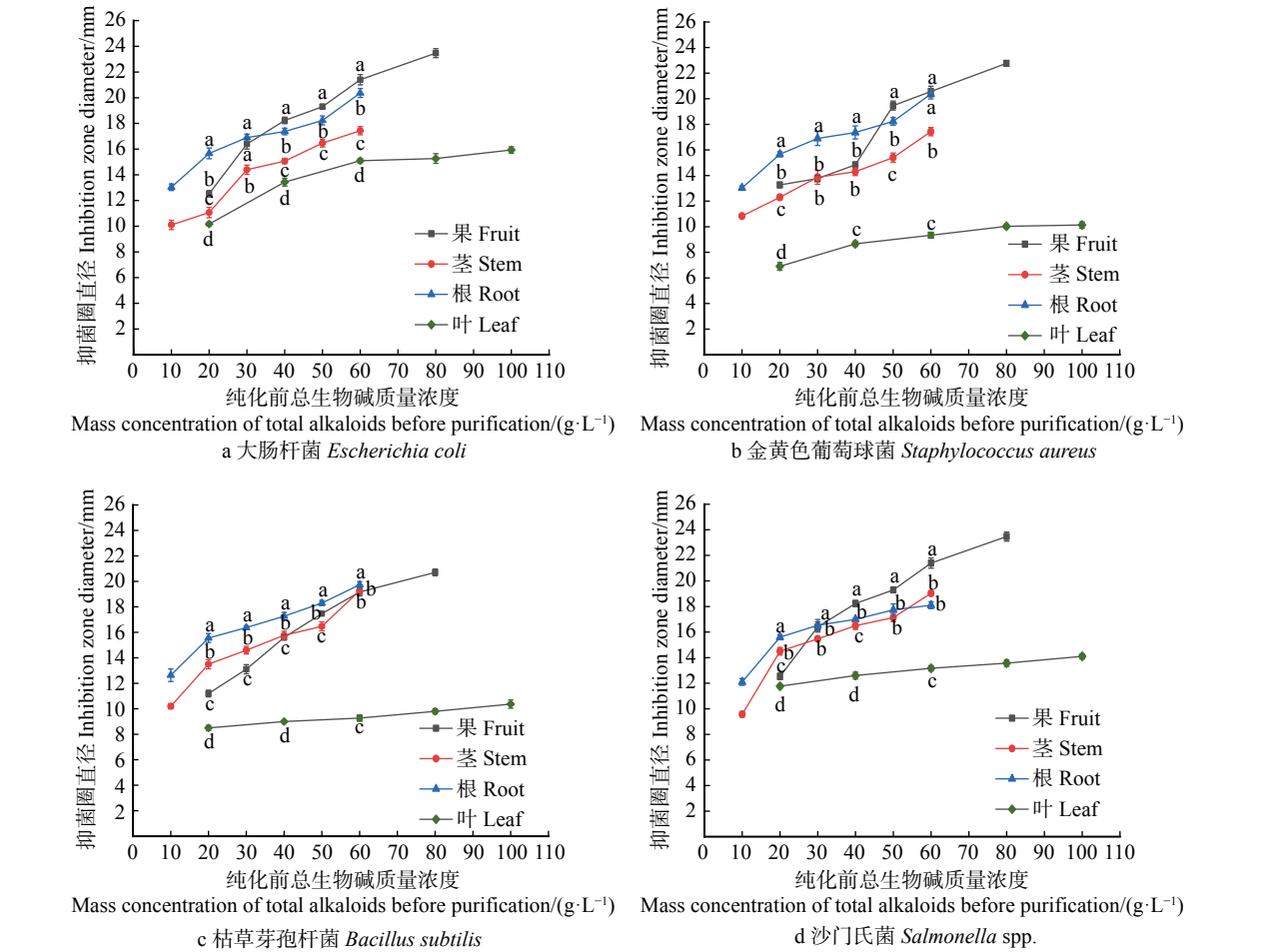
注：本研究以每100 g细叶小檗对应的小檗碱等价质量表示生物碱含量。表中数据为平均值±标准差。列字母相同表示各部位生物碱含量或纯度差异不显著( $P>0.05$ )，字母不相同表示各部位生物碱含量或纯度差异显著( $P<0.05$ )。下同。Notes: in this study, the alkaloid content is expressed by the equivalent mass of berberine per 100 g of *Berberis poirerii*. The data in the table are mean ± SD. The same column letters indicate that there is no significant difference in the content or purity of alkaloids in each part ( $P>0.05$ ), and different letters indicate that there is significant difference in the content or purity of alkaloids in each part ( $P<0.05$ ). The same below.

物碱纯度分别提高了 2.11 倍、3.98 倍、2.46 倍、4.02 倍。陈晓斌等<sup>[25]</sup>亦采用大孔吸附树脂分离纯化生物碱，获得良好纯化效果，工艺简单可行。经树脂纯化后，提取物黏度和吸湿性均有明显降低，去除了较多的多糖、蛋白质等成分，有效提高了总生物碱的含量。

2.2 细叶小檗不同生长部位总生物碱的抑菌活性分析

2.2.1 细叶小檗不同生长部位总生物碱抑菌圈测定结果分析

菌株对细叶小檗不同生长部位生物碱提取物的敏感度可以根据其抑菌圈直径反映<sup>[26]</sup>。结果如图 1、



字母相同表示同质量浓度下各部位抑菌作用差异不显著( $P>0.05$ )，字母不相同表示同质量浓度下各部位抑菌作用差异显著( $P<0.05$ )。下同。The same letter indicates that there is no significant difference in bacteriostatic effect between different parts of the same concentration ( $P>0.05$ ), and different letters indicate that there is significant difference in antibacterial effect among different parts at the same concentration ( $P<0.05$ ). The same below.

图 1 纯化前细叶小檗不同生长部位生物碱对供试菌种的抑制结果  
Fig. 1 Inhibitory effects of alkaloids from different growth parts of *Berberis poirerii* on the tested strains before purification

图2所示。细叶小檗4个不同生长部位生物碱提取物对各测试菌种均表现出良好的抑制作用,抑菌直径在6.30~23.47 mm,金黄色葡萄球菌对革兰氏阳性菌的抑菌效果优于枯草芽孢杆菌,大肠杆菌对革兰氏阴性菌的抑菌效果优于沙门氏菌。不同部位生物碱的抑菌效果存在显著差异( $P < 0.05$ ),且在测定质量浓度范围内10~100 g/L,抑菌效果随着生物碱的质量浓度增大而增强,与生物碱含量呈正相关。纯化前抑菌作用大小次序为果>根>茎>叶;纯化后抑菌作用大小次序为根>茎>果>叶。由此可知不同部位生物碱抑菌效果不同,且纯化前后存在差异,可能是由于细叶小檗根、茎和叶纯化后生物碱纯度的提高,更好地阻碍了细菌的正常生长繁殖,破坏了菌体的形态,导致细胞内的蛋白质外泄,同时抑制细胞内蛋白的表达,使细胞总蛋白浓度减少,从而表现出更好的抑菌作用<sup>[27]</sup>。多糖可与细胞膜上卵磷脂结合,使细胞膜脂肪酸游离,细菌生物膜形成受阻<sup>[28]</sup>。黄酮类物质可通过破坏细胞膜结构,在胞内产生了大量的活性氧,致使细胞内发生明显的氧化应激而达到良好的抑菌效果<sup>[29]</sup>。因此,纯化前细叶

小檗果中生物碱可能与此类生物活性成分协同抑菌,使其抑菌效果更佳。

## 2.2.2 细叶小檗不同生长部位总生物碱 MIC 和 MBC 测定结果分析

由表2可知:纯化前细叶小檗果生物碱对大肠杆菌、沙门氏菌、枯草芽孢杆菌的 MIC 均为1.25 g/L, MBC 均为2.50 g/L,对金黄色葡萄球菌的 MIC 为2.50 g/L, MBC 为5.00 g/L;细叶小檗叶生物碱对大肠杆菌、沙门氏菌、金黄色葡萄球菌的 MIC 均为5.00 g/L, MBC 均为10.00 g/L,对枯草芽孢杆菌的 MIC 为10.00 g/L, MBC 为20.00 g/L;细叶小檗茎生物碱对大肠杆菌、沙门氏菌、金黄色葡萄球菌的 MIC 均为1.25 g/L, MBC 均为2.50 g/L,对枯草芽孢杆菌的 MIC 为2.50 g/L, MBC 为2.50 g/L;细叶小檗根生物碱对大肠杆菌、沙门氏菌、金黄色葡萄球菌的 MIC 均为0.63 g/L, MBC 均为1.25 g/L,对枯草芽孢杆菌的 MIC 为1.25 g/L, MBC 为2.50 g/L。

由表3可知:纯化后细叶小檗果生物碱对大肠杆菌、枯草芽孢杆菌的 MIC 均为2.50 g/L, MBC 均为5.00 g/L,对金黄色葡萄球菌、沙门氏菌的 MIC

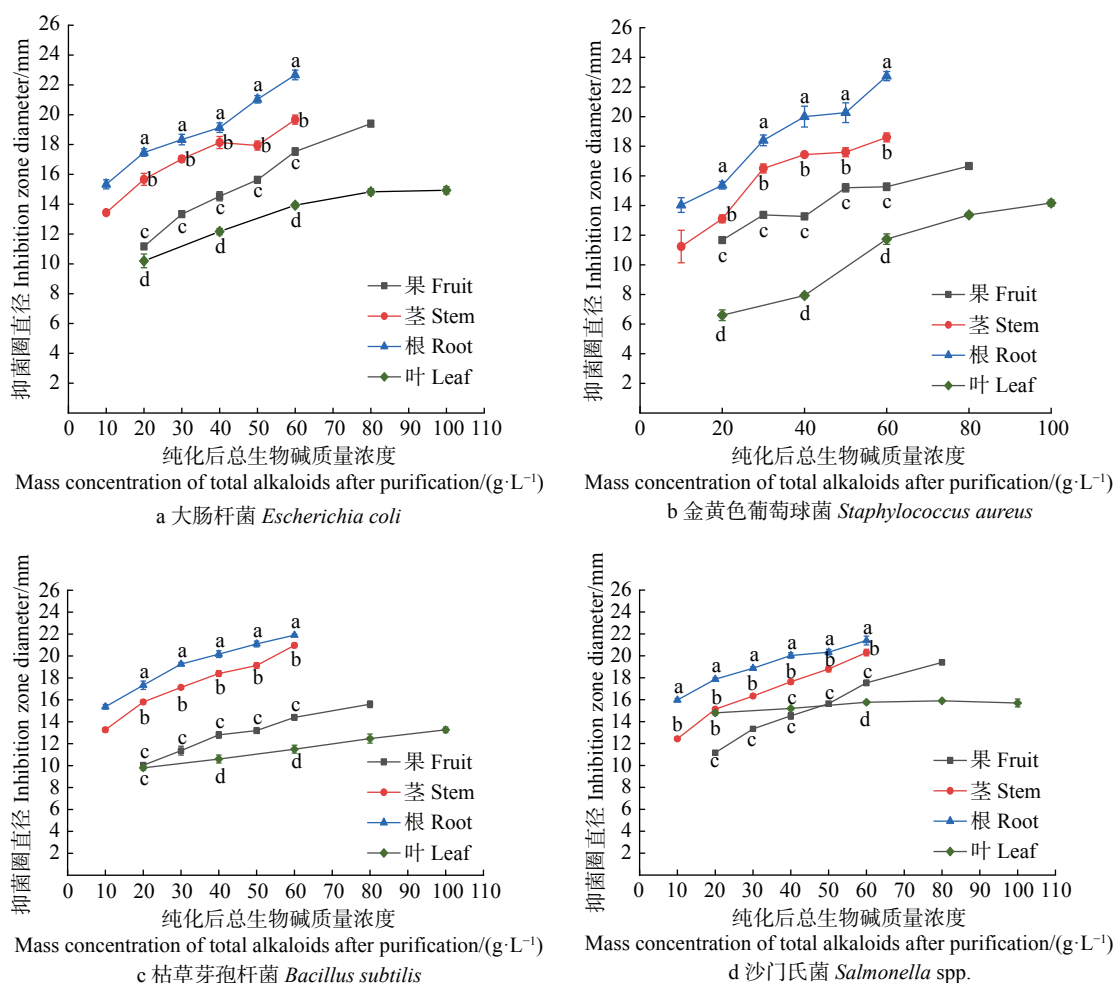


图2 纯化后细叶小檗不同生长部位生物碱对供试菌种的抑制结果

Fig. 2 Inhibitory effects of alkaloids from different growth parts of *Berberis poiretii* on the tested strains after purification

表 2 纯化前不同部位细叶小檗总生物碱对 4 种菌最低抑菌质量浓度 (MIC) 和最低杀菌质量浓度 (MBC) 的比较

| Tab. 2 Comparison of minimum inhibitory mass concentration (MIC) and minimum bactericidal mass concentration (MBC) of <i>Berberis poiretii</i> from different parts before purification g/L |                                 |       |                                         |       |                                |       |                                    |       |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------|-------|-----------------------------------------|-------|--------------------------------|-------|------------------------------------|-------|
| 部位 Part                                                                                                                                                                                     | 大肠杆菌<br><i>Escherichia coli</i> |       | 金黄色葡萄球菌<br><i>Staphylococcus aureus</i> |       | 沙门氏菌<br><i>Salmonella</i> spp. |       | 枯草芽孢杆菌<br><i>Bacillus subtilis</i> |       |
|                                                                                                                                                                                             | MIC                             | MBC   | MIC                                     | MBC   | MIC                            | MBC   | MIC                                | MBC   |
| 果 Fruit                                                                                                                                                                                     | 1.25                            | 2.50  | 2.50                                    | 5.00  | 1.25                           | 2.50  | 1.25                               | 2.50  |
| 叶 Leaf                                                                                                                                                                                      | 5.00                            | 10.00 | 5.00                                    | 10.00 | 5.00                           | 10.00 | 10.00                              | 20.00 |
| 茎 Stem                                                                                                                                                                                      | 1.25                            | 2.50  | 1.25                                    | 2.50  | 1.25                           | 2.50  | 2.50                               | 5.00  |
| 根 Root                                                                                                                                                                                      | 0.63                            | 1.25  | 0.63                                    | 1.25  | 0.63                           | 1.25  | 1.25                               | 2.50  |

表 3 纯化后不同部位细叶小檗总生物碱对 4 种菌 MIC 和 MBC 的比较

| Tab. 3 Comparison of MIC and MBC of <i>Berberis poiretii</i> from different parts after purification g/L |                                 |       |                                         |       |                                |       |                                    |       |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------|-------|-----------------------------------------|-------|--------------------------------|-------|------------------------------------|-------|
| 部位 Part                                                                                                  | 大肠杆菌<br><i>Escherichia coli</i> |       | 金黄色葡萄球菌<br><i>Staphylococcus aureus</i> |       | 沙门氏菌<br><i>Salmonella</i> spp. |       | 枯草芽孢杆菌<br><i>Bacillus subtilis</i> |       |
|                                                                                                          | MIC                             | MBC   | MIC                                     | MBC   | MIC                            | MBC   | MIC                                | MBC   |
| 果 Fruit                                                                                                  | 2.50                            | 5.00  | 5.00                                    | 10.00 | 5.00                           | 10.00 | 2.50                               | 5.00  |
| 叶 Leaf                                                                                                   | 5.00                            | 10.00 | 5.00                                    | 10.00 | 5.00                           | 10.00 | 5.00                               | 10.00 |
| 茎 Stem                                                                                                   | 0.63                            | 1.25  | 1.25                                    | 2.50  | 0.63                           | 1.25  | 1.25                               | 2.50  |
| 根 Root                                                                                                   | 0.31                            | 0.63  | 0.31                                    | 0.63  | 0.63                           | 1.25  | 0.63                               | 1.25  |

为 5.00 g/L, MBC 为 10.00 g/L; 细叶小檗叶生物碱对大肠杆菌、沙门氏菌、金黄色葡萄球菌、枯草芽孢杆菌的 MIC 均为 5.00 g/L, MBC 均为 10.00 g/L; 细叶小檗茎生物碱对革兰氏阳性菌(枯草芽孢杆菌和金黄色葡萄球菌)的 MIC 均为 1.25 g/L, MBC 均为 2.50 g/L, 对两种革兰氏阴性菌(沙门氏菌和大肠杆菌)MIC 均为 0.63 g/L, MBC 均为 1.25 g/L; 细叶小檗根生物碱对大肠杆菌、金黄色葡萄球菌的 MIC 均为 0.31 g/L, MBC 均为 0.63 g/L, 对枯草芽孢杆菌、沙门氏菌的 MIC 为 0.63 g/L, MBC 为 1.25 g/L。

综上所述, 细叶小檗果、根和茎这 3 个部位表现出良好的抑菌和杀菌作用, 细叶小檗叶的抑菌和杀菌效果稍弱, 该测定结果与 2.2.1 抑菌圈的结果基本一致。

2.3 细叶小檗不同生长部位典型生物碱 HPLC 分析

通过 HPLC 分析, 不同部位纯化前后典型生物碱含量见表 4。细叶小檗不同生长部位中均含有小

檗碱、药根碱和巴马汀。不同生长部位中各生物碱单体的含量均存在显著差异( $P < 0.05$ ), 总体上各部位间典型生物碱含量次序为根 > 茎 > 叶 > 果。其中, 纯化前后细叶小檗根中小檗碱含量最高为 20.19 g, 叶中小檗碱含量最低为 0.23 g, 根的小檗碱含量是叶的 89.83 倍; 纯化前后细叶小檗根中药根碱含量最高为 8.28 g, 果中药根碱含量最低为 0.24 g, 根的药根碱含量是果的 34.63 倍; 纯化前后细叶小檗根中巴马汀含量最高为 10.36 g, 果中巴马汀含量最低为 0.25 g, 根的巴马汀含量是果的 41.44 倍。

本研究 2.2.1 结果表明细叶小檗不同生长部位纯化前后体现出抑菌作用的差异, 原因可能与协同抑菌成分含量变化及典型单体生物碱抑菌作用的差异性相关。杨勇等<sup>[30]</sup>和鄢丹等<sup>[31]</sup>研究发现: 同质量浓度下小檗碱的抑菌活性最大, 巴马汀次之, 药根碱最小; 且构效关系表明位于 C-2 和 C-3 上的亚甲二氧基和甲氧基(图 3), 使小檗碱和巴马汀的抑菌活性

表 4 细叶小檗不同生长部位生物碱种类和含量比较

| Tab. 4 Comparison of alkaloid types and contents in different growth parts of <i>Berberis poiretii</i> g |                            |                           |                            |                           |                            |                           |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------|---------------------------|----------------------------|---------------------------|----------------------------|---------------------------|
| 部位 Part                                                                                                  | 小檗碱 Berberine              |                           | 药根碱 Jatrorrhizine          |                           | 巴马汀 Palmatine              |                           |
|                                                                                                          | 纯化前<br>Before purification | 纯化后<br>After purification | 纯化前<br>Before purification | 纯化后<br>After purification | 纯化前<br>Before purification | 纯化后<br>After purification |
| 根 Root                                                                                                   | 20.19 ± 0.68 <sup>a</sup>  | 41.69 ± 0.27 <sup>a</sup> | 8.28 ± 0.38 <sup>a</sup>   | 12.67 ± 0.32 <sup>a</sup> | 10.36 ± 0.42 <sup>a</sup>  | 17.09 ± 0.62 <sup>a</sup> |
| 茎 Stem                                                                                                   | 4.26 ± 0.31 <sup>b</sup>   | 10.18 ± 0.38 <sup>b</sup> | 4.34 ± 0.29 <sup>b</sup>   | 10.34 ± 0.33 <sup>b</sup> | 4.10 ± 0.63 <sup>b</sup>   | 10.44 ± 0.51 <sup>b</sup> |
| 叶 Leaf                                                                                                   | 0.23 ± 0.72 <sup>c</sup>   | 0.28 ± 0.19 <sup>c</sup>  | 1.11 ± 0.17 <sup>c</sup>   | 0.81 ± 0.42 <sup>c</sup>  | 0.32 ± 0.25 <sup>c</sup>   | 0.30 ± 0.42 <sup>c</sup>  |
| 果 Fruit                                                                                                  | 0.25 ± 0.44 <sup>c</sup>   | 0.30 ± 0.36 <sup>c</sup>  | 0.24 ± 0.38 <sup>d</sup>   | 0.32 ± 0.47 <sup>d</sup>  | 0.25 ± 0.61 <sup>c</sup>   | 0.25 ± 0.35 <sup>c</sup>  |

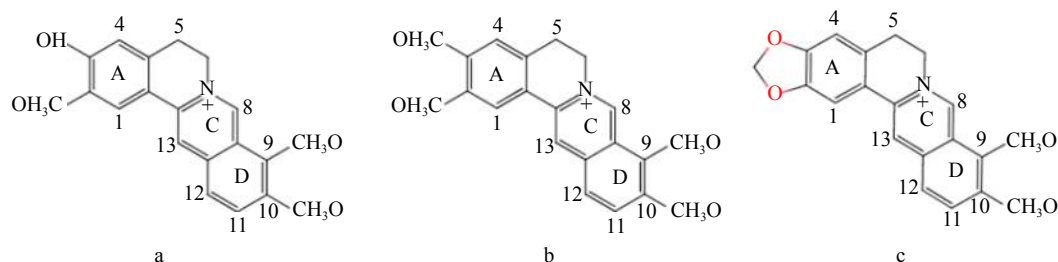


图3 药根碱(a)、巴马汀(b)和小檗碱(c)的化学结构式

Fig. 3 Chemical structural formulas of jatrorrhizine (a), palmatine (b) and berberine (c)

强于其他生物碱单体。因此,纯化后细叶小檗根、茎和叶的生物碱抑菌活性更好,可能由于细叶小檗根、茎部位纯化后总生物碱含量和典型生物碱含量均显著增加;叶中总生物碱和小檗碱含量增加较多,药根碱、巴马汀含量少量减少。而细叶小檗果生物碱纯化后巴马汀含量减少,小檗碱和药根碱含量虽增加,但增幅较小,且部分协同抑菌的活性成分可能被除去,因此呈现抑菌活性低于纯化前的实验现象。同时,其纯化后3种典型生物碱含量均显著低于根、茎,因此其抑菌活性整体低于细叶小檗根部和茎部。

## 2.4 抑菌性与成分相关性分析

由抑菌圈、MIC和MBC试验结果得出:纯化前细叶小檗果和纯化后细叶小檗根抑菌效果最好。因此对果、根两个部位进行相关性分析,筛选有效抑菌成分。

表5和表6显示:抑菌活性与各生物碱单体含量之间表现出较强的相关性,且达到了显著性差异水平( $P < 0.05$ )。其中,小檗碱对4种菌的抑菌活性均达到极显著性差异水平( $P < 0.01$ ),表明细叶小檗不同部位中主要抑菌成分为小檗碱,这与代春美<sup>[32]</sup>报道的小檗碱、药根碱、巴马汀对痢疾杆菌(*Shigella Castellani*)也分别有不同程度的抑制作用,其中小檗碱是抑菌最主要成分的研究结果相一致。

表5 纯化前细叶小檗果典型生物碱对4种菌抑菌活性的相关系数

Tab. 5 Correlation coefficients of antibacterial activity of typical alkaloids from *Berberis poiretii* fruit against four bacteria before purification

| 菌种 Strain                            | 小檗碱 Berberine | 巴马汀 Palmatine | 药根碱 Jatrorrhizine |
|--------------------------------------|---------------|---------------|-------------------|
| 大肠杆菌 <i>Escherichia coli</i>         | 0.972**       | 0.966**       | 0.974**           |
| 金黄色葡萄球菌 <i>Staphylococcus aureus</i> | 0.969**       | 0.945*        | 0.951*            |
| 沙门氏菌 <i>Salmonella spp.</i>          | 0.972**       | 0.967**       | 0.974**           |
| 枯草芽孢杆菌 <i>Bacillus subtilis</i>      | 0.972**       | 0.979**       | 0.974**           |

注:\*\*表示在0.01水平(双侧)上显著相关;\*表示在0.05水平(双侧)上显著相关。下同。Notes:\*\* is significantly correlated at 0.01 level (bilateral), and \* is significantly correlated at 0.05 level (bilateral)

表6 纯化后细叶小檗根典型生物碱对4种菌抑菌活性的相关系数

Tab. 6 Correlation coefficients of antibacterial activity of typical alkaloids from *Berberis tenuifolia* root against four kinds of bacteria after purification

| 菌种 Strain                            | 小檗碱 Berberine | 巴马汀 Palmatine | 药根碱 Jatrorrhizine |
|--------------------------------------|---------------|---------------|-------------------|
| 大肠杆菌 <i>Escherichia coli</i>         | 0.988**       | 0.985**       | 0.975**           |
| 金黄色葡萄球菌 <i>Staphylococcus aureus</i> | 0.976**       | 0.958*        | 0.977**           |
| 沙门氏菌 <i>Salmonella spp.</i>          | 0.988**       | 0.987**       | 0.988**           |
| 枯草芽孢杆菌 <i>Bacillus subtilis</i>      | 0.980**       | 0.943*        | 0.971**           |

## 3 结论与讨论

本研究通过抑菌试验和HPLC法对细叶小檗不同生长部位生物碱抑菌活性及含量进行了研究,研究表明:细叶小檗不同部位抑菌活性及典型生物碱含量差异显著;纯化前细叶小檗果表现出较好的抑菌效果,抑菌圈直径为12~23 mm,纯化后细叶小檗根表现出较好的抑菌效果,抑菌圈直径为15~22 mm;细叶小檗4个萃取部位中小檗碱含量均高于其他两种生物碱体的含量,是细叶小檗植株中的主要抑菌成分。本研究体现出纯化前后最佳抑菌部位存在差异,可能是由于纯化前细叶小檗果生物碱与其他活性成分存在协同抑菌,而纯化后一些成分被除去,且主要抑菌成分含量低于纯化后细叶小檗根部。因此纯化前最佳抑菌部位为细叶小檗果,纯化后最佳抑菌部位为细叶小檗根部。

目前对细叶小檗的研究利用主要集中在茎部和根部,而果和叶片均处于未被利用,偶被民间做驱蟑螂、红蚂蚁之用<sup>[33]</sup>,未能产生更多的利用价值。由本研究可知:细叶小檗的果和叶片总生物碱含量虽低于根和茎的,但仍体现出良好的抑菌效果。苏婷<sup>[34]</sup>在乌拉草(*Carex meyeriana*)抑菌活性物质研究中发现:乌拉草提取物具有良好的体内外抗白色念珠菌(*Monilia albican*)活性,其主要抑菌活性组分包含脂

肪酸、黄酮、生物碱等。因此本研究中细叶小檗的果和叶片呈现出较高的抑菌效果,可能是由于其他生物碱单体或多酚、黄酮等活性成分的存在,与生物碱产生共同抑菌作用。

本研究通过对比分析发现:细叶小檗不同生长部位提取物、同生长部位不同纯化工艺的提取物对于不同菌株的抑菌效果均存在不同程度的差异性。但是本研究仅对细叶小檗不同生长部位抑菌性进行了初步综合对比分析,对其提取物安全性和食品加工应用还有待进一步探究。后续将会开展细胞毒性试验、动物毒理性试验,采用 HPLC-MS 联用分析其主要单体成分,制备复合抑菌液,并进行果蔬保鲜的应用以及保鲜机理的研究。因此,可基于本研究结果,在细叶小檗的开发与利用过程中,根据实际应用目的来选择不同植株部位和提取工艺,进一步提高细叶小檗全植株的利用价值,促进林下资源产业链的发展,推动林业经济的发展。

### 参 考 文 献

- [1] 吴秋云, 黄琳, 皮真, 等. 中草药抑菌作用及其机制研究进展[J]. 中兽医医药杂志, 2018, 37(1): 25-29.  
Wu Q Y, Huang L, Pi Z, et al. Research progress of antibacterial activity and mechanism of Chinese herbal medicine[J]. Journal of Traditional Chinese Veterinary Medicine, 2018, 37(1): 25-29.
- [2] Authority E. Analysis of the baseline survey on the prevalence of *Listeria monocytogenes* in certain ready-to-eat foods in the EU, 2010-2011 part A: *Listeria monocytogenes* prevalence estimates [J]. EFSA Journal, 2013, 12(8): 38-110.
- [3] Ferreira V, Wiedmann M, Teixeira P, et al. *Listeria monocytogenes* persistence in food-associated environments: epidemiology, strain characteristics, and implications for public health[J]. Journal of Food Protection, 2014, 77(1): 150-170.
- [4] 王承瑞, 刘思思, 易有金, 等. 不同来源皂素对常见食源性致病菌的抑菌效果研究[J]. 食品工业科技, 2022, 43(3): 120-127.  
Wang C R, Liu S S, Yi Y J, et al. Study on the antibacterial effects of saponin from different sources on common food-borne pathogens[J]. Science and Technology of Food Industry, 2022, 43(3): 120-127.
- [5] 刘彦辰, 初天舒, 许亮, 等. 细叶小檗的组织构造与显微特征[J]. 辽宁中医药大学学报, 2015, 17(9): 46-49.  
Liu Y C, Chu T S, Xu L, et al. The organizational structure and the microscopic characteristics of *Berberis poiretii* schneid[J]. Journal of Liaoning University of Traditional Chinese Medicine, 2015, 17(9): 46-49.
- [6] 刘潇雯, 吕伟旗, 陈伟东, 等. 6省13个产地细叶小檗中盐酸小檗碱测定与相关性分析[J]. 中成药, 2021, 43(3): 713-716.  
Liu X W, Lü W Q, Chen W D, et al. Determination of berberine hydrochloride in *Berberis poiretii* from thirteen growing areas in six provinces and municipalities and correlation analysis[J]. Chinese Traditional Patent Medicine, 2021, 43(3): 713-716.
- [7] 符群, 张海婷. 半仿生法提取细叶小檗总生物碱及抑菌性研究[J]. 北京林业大学学报, 2018, 40(5): 117-123.  
Fu Q, Zhang H T. Using the method of semi-bionic to extract total alkaloids from *Berberis poiretii* and to study the antibacterial property[J]. Journal of Beijing Forestry University, 2018, 40(5): 117-123.
- [8] 李香, 汪巍, 邓莹, 等. 三颗针不同炮制、提取方法对糖尿病小鼠血糖、血脂的影响研究[J]. 天然产物研究与开发, 2019, 31(8): 1307-1316.  
Li X, Wang W, Deng Y, et al. Study the effect of *Berberis diaphana* maxim with different preparation and extraction methods on blood glucose and lipid lever in diabetic mice[J]. Natural Product Research and Development, 2019, 31(8): 1307-1316.
- [9] Ding Y P, Ye X L, Zhu J Y, et al. Structural modification of berberine alkaloid and their hypoglycemic activity[J]. Journal of Functional Foods, 2014, 7: 229-237.
- [10] 刘洋, 冉聪, 游桂香, 等. 川黄柏中盐酸小檗碱 HPLC 测定优化及其抑菌活性评价[J]. 中国农业科技导报, 2020, 22(2): 179-186.  
Liu Y, Ran C, You G X, et al. Determination of berberine hydrochloride in crystal of *Phellodendron chinensis* by HPLC and evaluation of bacteriostatic activity[J]. Journal of Agricultural Science and Technology, 2020, 22(2): 179-186.
- [11] 徐澜, 许朝花, 李婧茵. 忻州本地黄连小檗碱的提取及其抑菌性[J]. 分子植物育种, 2019, 17(24): 8271-8278.  
Xu L, Xu C H, Li J H. Extraction and bacteriostasis of berberine in Chinese rhizoma *Coptis chinensis* Franch in Xinzhou[J]. Molecular Plant Breeding, 2019, 17(24): 8271-8278.
- [12] Alam P, Parvez M K, Arbab A H, et al. Inter-species comparative antioxidant assay and HPTLC analysis of sakuranetin in the chloroform and ethanol extracts of aerial parts of *Rhus retinorrhoea* and *Rhus tripartita*[J]. Pharmaceutical Biology, 2017, 55(1): 1450-1457.
- [13] 吴莉莉, 白术杰, 王书红, 等. 细叶小檗叶中总黄酮含量测定[J]. 黑龙江医药科学, 2020, 43(5): 19-20.  
Wu L L, Bai S J, Wang S H, et al. Determination of total flavone content in barberry leaf[J]. Heilongjiang Medicine and Pharmacy, 2020, 43(5): 19-20.
- [14] 席国萍, 宋国斌. 大孔吸附树脂分离纯化黄连小檗碱研究[J]. 中国医药导报, 2011, 8(5): 44-46.  
Xi G P, Song G B. Study on separation and purification of berberine in *Coptis chinensis* by macroporous adsorption resin[J]. China Medical Herald, 2011, 8(5): 44-46.
- [15] 罗佳, 马若克, 符韵林, 等. 观光木果实黄酮类成分的初步鉴定及抗氧化活性分析[J]. 森林工程, 2021, 37(6): 53-61.  
Luo J, Ma R K, Fu Y L, et al. Preliminary identification and antioxidant activity analysis of flavonoids in the fruit of *Tsoongiodendron odorum*[J]. Forest Engineering, 2021, 37(6): 53-61.
- [16] 胡冬华, 袁绪富. 黄连素的提取及分子活性部位研究[J]. 长春中医学院学报, 2006, 22(1): 67.  
Hu D H, Yuan X F. Study on extraction and molecular active sites

- of berberine[J]. Academic Periodical of Changchun College of Traditional Chinese Medicine, 2006, 22(1): 67.
- [17] 包怡红, 曹伟华, 符群, 等. 细叶小檗总生物碱的抑菌活性及热降解动力学[J]. 现代食品科技, 2020, 36(3): 29–37.
- Bao Y H, Cao W H, Fu Q, et al. Antimicrobial activity and thermal degradation kinetics of total alkaloids from *Berberis poiretii*[J]. Modern Food Science & Technology, 2020, 36(3): 29–37.
- [18] 樊梓鸾, 张艳东, 张华, 等. 红松松针精油抗氧化和抑菌活性研究[J]. 北京林业大学学报, 2017, 39(8): 98–103.
- Fan Z L, Zhang Y D, Zhang H, et al. Antioxidant and antibacterial activity of essential oil from *Pinus koraiensis* needles[J]. Journal of Beijing Forestry University, 2017, 39(8): 98–103.
- [19] 吴惠香, 杨华, 赵登奇, 等. 三甲胺柱 [5] 芳烃的合成及其抑菌性能[J/OL]. 食品科学 [2022-02-11]. <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.2206.TS.20220125.1901.014.html>
- Wu H X, Yang H, Zhao D Q, et al. Synthesis of trimethylamine based cationic pillar[5]arene and study on antibacterial properties [J/OL]. Food Science [2022-02-11]. <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.2206.TS.20220125.1901.014.html>
- [20] 刘颖, 李世颂, 刘娟. HPLC 测定关黄柏中生物碱的含量[J]. 中国实验方剂学杂志, 2013, 19(16): 88–91.
- Liu Y, Li S S, Liu J. Determination of alkaloids in *Phellodendri amurensis* cortex by HPLC[J]. Chinese Journal of Experimental Traditional Medical Formulae, 2013, 19(16): 88–91.
- [21] 陈祥云, 彭财英, 卢健, 等. 含小檗碱类中草药总生物碱的提取工艺及其药理研究进展[J]. 江西中医药, 2018, 49(9): 68–72.
- Chen X Y, Peng C Y, Lu J, et al. Research progress in extraction technology and pharmacology of total alkaloids from berberine-containing Chinese herbal medicines[J]. Jiangxi Journal of Traditional Chinese Medicine, 2018, 49(9): 68–72.
- [22] 张琳, 陈思含, 任小艳, 等. 不同部位镇坪黄连小檗碱、总生物碱提取与含量测定[J]. 山东化工, 2021, 50(4): 116–119.
- Zhang L, Chen S H, Ren X Y, et al. Extraction and determination of total alkaloids and berberine from different parts of Zhenping *Coptis chinensis*[J]. Shandong Chemical Industry, 2021, 50(4): 116–119.
- [23] 黎代余, 冯图, 陈志怡, 等. 毕节产小檗药材不同部位生物碱的含量差异[J]. 贵州农业科学, 2018, 46(12): 113–115.
- Li D Y, Feng T, Chen Z Y, et al. Study on the difference of alkaloids content in different parts of *Berberis thunbergii* in Bijie City[J]. Guizhou Agricultural Sciences, 2018, 46(12): 113–115.
- [24] 向前胜, 王宁, 赵越, 等. 青海省 3 种小檗不同地区、不同部位小檗碱含量的比较研究[J]. 西南农业学报, 2016, 29(1): 54–58.
- Xiang Q S, Wang N, Zhao Y, et al. Comparative study of berberine in various organs of three kinds of *Berberis* in different areas of Qinghai Province[J]. Southwest China Journal of Agricultural Sciences, 2016, 29(1): 54–58.
- [25] 陈晓斌, 周琴妹, 刘顺, 等. D101 型大孔树脂纯化山豆根总生物碱的工艺优选[J]. 中国实验方剂学杂志, 2015, 21(3): 21–23.
- Chen X B, Zhou Q M, Liu S, et al. Optimization of purification technology of total alkaloids from *Sophorae tonkinensis* radix et rhizoma by D101 macroporous resin[J]. Chinese Journal of Experimental Traditional Medical Formulae, 2015, 21(3): 21–23.
- [26] 扶雅芬. 工业大麻叶提取物的抑菌活性及其作用机理 [D]. 北京: 中国农业科学院, 2021.
- Fu Y F. The antibacterial activity and its principle of the leaf extract from industrial hemp[D]. Beijing: Chinese Academy of Agricultural Sciences, 2021.
- [27] 张俊顺, 高铭坤, 郭阳, 等. 细叶小檗碱的抑菌稳定性及其对细菌蛋白质的影响[J]. 中国食品学报, 2021, 21(12): 81–87.
- Zhang J S, Gao M K, Guo Y, et al. The antibacterial stability of *Berberis poiretii* and its effect on bacterial protein[J]. Journal of Chinese Institute of Food Science and Technology, 2021, 21(12): 81–87.
- [28] Yang C L, Li B, Ge M Y, et al. Inhibitory effect and mode of action of chitosan solution against rice bacterial brown stripe pathogen *Acidovorax avenae* subsp. *avenae* RS-1[J]. Carbohydrate Research, 2014, 391: 48–54.
- [29] 阚玉红, 谢笔钧, 孙智达. 胭脂红番石榴叶黄酮提取物的抑菌活性及其机理[J]. 中国调味品, 2021, 46(12): 159–166, 188.
- Kan Y H, Xie B Y, Sun Z D. Antibacterial activity and mechanism of flavonoids extracted from leaves of *Psidium guajava*[J]. China Condiment, 2021, 46(12): 159–166, 188.
- [30] 杨勇, 叶小利, 李学刚. 4 种黄连生物碱的抑菌作用[J]. 时珍国医国药, 2007, 18(12): 3013–3014.
- Yang Y, Ye X L, Li X G. Antimicrobial effect of four alkaloids from *Coptidis rhizome*[J]. Lishizhen Medicine and Materia Medica Research, 2007, 18(12): 3013–3014.
- [31] 鄢丹, 肖小河, 金城, 等. 微量量热法研究黄连中小檗碱类生物碱对金黄色葡萄球菌生长代谢的影响[J]. 中国科学: 化学, 2008, 38(6): 487–491.
- Yan D, Xiao X H, Jin C, et al. Effects of berberine alkaloids in *Coptis chinensis* on growth and metabolism of *Staphylococcus aureus* by microcalorimetry[J]. Scientia Sinica (Chimica), 2008, 38(6): 487–491.
- [32] 代春美, 彭成, 王伽伯, 等. 微量热法对小檗碱类生物碱抑菌作用的量效关系研究[J]. 中草药, 2010, 41(7): 1136–1139.
- Dai C M, Peng C, Wang J B, et al. Dose-effect relationship of berberine and analogues on antibacterial metabolism of *Bacillus shigae* by microcalorimetry[J]. Chinese Traditional and Herbal Drugs, 2010, 41(7): 1136–1139.
- [33] 陈巍, 武洲, 田原, 等. 细叶小檗果实的化学成分研究[J]. 亚太传统医药, 2012, 8(3): 23–24.
- Chen W, Wu Z, Tian Y, et al. Study on chemical constituents of the fruit of *Berberis poiretii* Schneid[J]. Asia-Pacific Traditional Medicine, 2012, 8(3): 23–24.
- [34] 苏婷. 乌拉草抑菌活性物质及作用机制研究 [D]. 长春: 长春中医药大学, 2021.
- Su T. Study on the antimicrobial active substance and its mechanism of action of *Carex meyeriana* Kunth [D]. Changchun: Changchun University of Chinese Medicine, 2021.

(责任编辑 吴娟  
责任编辑 许凤)