

棘托竹荪菌托抑菌物质提取、分离及活性组分

林陈强,林戎斌*,陈济琛,张 慧,林新坚

福建省农业科学院土壤肥料研究所农业资源与环境研究中心,福州 350013

摘要:以棘托竹荪(*Dictyophora echinvolvata*)菌托为研究对象,提纯菌托提取物有效抑菌天然产物,分析其抑菌活性组成。选择最佳提取溶剂及指示菌,采用色谱层析法分离纯化,GC-MS检测分析活性组分。结果表明:乙酸乙酯提取物对金黄色葡萄球菌、枯草芽孢杆菌、大肠杆菌、蜡状芽孢杆菌、标准摩根氏菌、肠炎沙门氏菌均有较好的抑制效果;以金色葡萄球菌为指示菌,乙酸乙酯提取物的抑菌作用对温度、紫外线均有较好的稳定性;对提取物进行分离,获得2个有抑菌活性组分DEV I、DEV II,采用GC-MS分析DEV I、DEV II中的化学组分,DEV I中相对含量1%以上的成分有20个;DEV II中相对含量在1%以上成分6个,其中具有抑菌活性的成分为2-呋喃甲酸和肉桂酸,相对含量分别为25.6%和54.2%,推测可能为棘托竹荪菌托抑菌物质的主要组成成分。

关键词:棘托竹荪;菌托;抑菌活性物质;GC-MS

中图分类号:S646.8

文献标识码:A

DOI:10.16333/j.1001-6880.2015.11.014

Extraction, Separation and Composition Analysis of the Antibacterial Components from Volva of *Dictyophora echinvolvata*

LIN Chen-qiang, LIN Rong-bin*, CHEN Ji-chen, ZHANG hui, LIN Xin-jian

Institute of Soil and Fertilizer, Fujian Academy of Agricultural Sciences/Agricultural Resource and Environmental Centre, Fujian Academy of Agricultural Sciences, Fuzhou 350013, China

Abstract: Components from volva of *Dictyophora echinvolvata* were extracted by different extraction solvent and their antimicrobial effects were determined using *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli*, *Bacillus cereus*, *Morganella fulton*, *Salmonella enteritidis* as indicator bacteria. In addition, the components with highest antibacterial activity were separated by column chromatography and the purified fractions were determined by gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS). Results showed that the ethyl acetate extract from volva had highest antibacterial effect on the above pathogenic bacteria and was more stable for temperature and ultraviolet radiation. The ethyl acetate extract was then further purified to afford 2 antibacterial components, namely DEV I and DEV II. Through GC-MS analysis, twenty-six components with the relative content of more than 1% were identified in DEV I and DEV II, respectively. The major antibacterial components of DEV II were 2-furoic acid with relative contents of 25.6% and cinnamic acid with relative contents of 54.2%. These two components were possibly the major antibacterial components from volva of *D. echinvolvata*.

Key words: *Dictyophora echinvolvata*; volva; antibacterial components; GC-MS

竹荪 [*Dictyophora indusiata* (Vent. ex Pers) Fisch] 为鬼笔科 (*Phallaceae*) 竹荪属 (*Dictyophora*) 大型食用菌, 是一种产于亚洲热带地区的珍稀药用菌^[1]。

竹荪具有抑菌防腐的作用^[2,3]。民间发现竹荪与肉共煮, 可使肉汤保存较长时间而不致于腐败变

质。因此, 竹荪中的抑菌活性物质具有开发成天然防腐剂的潜在价值^[4,5]。目前对竹荪抑菌的研究主要以竹荪水提物^[6-8]和有机溶剂(如乙醇^[5,8,9]、乙酸乙酯^[2,3,10]、石油醚^[11,12]、正己烷^[13]、丙酮^[14]等)提取物为抑菌样液。通过抑菌研究发现, 竹荪提取物对霉菌、酵母及细菌具有广泛的抑菌效果。竹荪抑菌作用的报道多数建立在粗提物上, 对抑菌成分的化学基础研究较少。

竹荪成熟子实体可分为菌盖、菌体、菌托三大部分, 对竹荪的研究集中在其可食用的菌体部分, 而对

收稿日期:2015-06-25 接受日期:2015-09-09

基金项目:福建省科技厅重点项目(2013Y1003);福建省公益类科研院所项目(2014R1022-1)

* 通讯作者 Tel:86-10-059187862406; E-mail:lrb16888@sina.com

占子实体鲜重一半以上的菌托研究较少,且主要分析菌托的营养物质^[15-17]。檀东飞等^[18]研究发现棘托竹荪菌托挥发油和石油醚提取物均有抑菌作用,并采用GC-MS进行分析,但未明确抑菌物质的具体成分。因此,本文以棘托竹荪菌托为研究对象,以金黄色葡萄球菌为指示菌,提取菌托中的抑菌活性物质,采用色谱法进行分离纯化、GC-MS分析分离得到的活性组分,以期探明菌托抑菌物质的主要成分,为利用竹荪菌托资源,开发竹荪天然防腐剂提供依据。

1 材料与仪器

1.1 实验材料

棘托竹荪(*Dictyophora. echinovolva*),采自福建顺昌。

指示菌:金黄色葡萄球菌 *Staphylococcus aureus*, 枯草芽孢杆菌 *Bacillus subtilis*, 大肠杆菌 *Escherichia coli*, 蜡状芽孢杆菌 *Bacillus cereus*, 标准摩根氏菌 *Morganella Fulton*, 肠炎沙门氏菌 *Salmonella enteritidis*。以上菌种由福建省疾病预防控制中心提供。

1.2 仪器试剂

1.2.1 主要仪器

N-1100 旋转蒸发仪(上海爱朗仪器有限公司); GHP-9080 隔水式恒温培养箱(上海一恒科技有限公司);中压液相制备色谱仪(Buchi, Pump Manager C-615, Pump Module C-605, RI DETECTOR, UV Photometer C-635);Agilent HP6890-5973N 气质联用仪。

1.2.2 试剂

石油醚、正丁醇、乙酸乙酯、甲醇、氯仿等试剂均为分析纯,中国医药(集团)上海化学试剂公司产品。

2 实验方法

2.1 抑菌物质的提取

取50 g棘托竹荪菌托干样,破碎,过60目筛,置于500 mL具塞三角瓶,分别加入石油醚、正丁醇、乙酸乙酯、甲醇4种提取试剂各250 mL,超声波震荡1 h,静置过夜后过滤,5000 rpm离心10 min,上清液用旋转蒸发仪在50℃下真空浓缩至恒重,称量(m),用5 mL原提取剂溶解,获得粗提物,检测抑菌活性,选择最佳试剂的粗提物进行下一步实验。

提取率(%) = $m/50 \times 100$

2.2 棘托竹荪菌托粗提物抑菌活性测定

棘托竹荪菌托乙酸乙酯提取物(Ethyl acetate extract, EAE)用少量甲醇溶解后,定量吸取梯度体积,110℃完全烘干,称量,确定浓度并稀释至20 mg/mL,以金黄色葡萄球菌、枯草芽孢杆菌、大肠杆菌、蜡状芽孢杆菌、标准摩根氏菌为指示菌,滤纸片法(d=5 mm)和打孔法(d=8 mm)比较各处理液的抑菌活性,以pH4.0,浓度为20 mg/mL的山梨酸钾溶液作为阳性对照,甲醇溶液为空白对照。

2.3 抑菌物质粗提物理化性质

2.3.1 抑菌物质耐热性能测定

棘托竹荪菌托乙酸乙酯提取物用少量的甲醇溶解后稀释至5 mg/mL,等量装入小试管,然后分别在100℃水浴中分别加热10、20、30、40、50、60、70 min,自然冷却后,以甲醇为对照,打孔法(d=8 mm)每孔加样0.3 mL,比较各处理液对金黄色葡萄球菌的抑菌活性。

2.3.2 抑菌物质抗紫外辐射耐性测定

棘托竹荪菌托乙酸乙酯提取物用少量的甲醇溶解后稀释至5 mg/mL,等量装入培养皿中,在无菌间15 W紫外灯下,距离25 cm,照射15、30、45、60、75 min,以甲醇为对照,打孔法(d=8 mm)每孔加样0.3 mL,比较各处理液对金黄色葡萄球菌的抑菌活性。

2.4 棘托竹荪菌托抑菌物质的提取、分离

2.4.1 棘托竹荪菌托乙酸乙酯提取物制备

1000 g棘托竹荪菌托干品剪碎,过60目筛,加4000 mL乙酸乙酯,置室温下(25~30℃)浸提48 h(不时摇动)。400目过滤,滤液低温4℃、5000 rpm离心5 min,收集提取液。滤渣再加乙酸乙酯2000 mL摇匀浸提24 h,过滤、离心(条件同上)。合并两次提取液,50℃减压薄膜浓缩至恒重,-18℃保存备用。

2.4.2 棘托竹荪菌托抑菌物质的分离

2.4.2.1 硅胶柱层析

固定相按提取物(g):硅胶(g)=1:50称取硅胶(200~300目),根据硅胶量选择适当的层析柱;流动相选择氯仿-甲醇洗脱体系或石油醚-乙酸乙酯洗脱体系。每2倍保留体积收集于三角瓶中,每个梯度洗脱10倍保留体积。50℃下旋转蒸发仪浓缩干,用甲醇或氯仿溶解后移至小烧杯中。薄层层析(TLC)法检测合并相同组分。

2.4.2.2 反相中压液相制备色谱分离层析

固定相为 YMC-GEL, 流动相选择不同比例的甲醇-水梯度洗脱, 流速 5 mL/min, 最大压力为 3 MPa; 馏分收集器为 1 管/5 min, 每梯度收集 10 管, 50 °C 下旋转蒸发仪浓缩干, 用甲醇或氯仿溶解后移至小烧杯中。薄层层析(TLC)法检测合并相同组分。

2.5 抑菌活性成分 GC-MS 分析

气相色谱条件: 进样口温度为 250 °C, 检测器温度为 280 °C。柱温采用程序升温方式: 70 °C 3 min, 3 °C/min 至 100 °C, 100 °C 6 min, 5 °C/min 至 150 °C, 150 °C 6 min, 10 °C/min 至 250 °C, 250 °C 15 min, 分流比 30:1, 柱流量 1.2 mL/min, 柱头压 5.5 psi。进样量 1.0 μL。

质谱条件: 用 70 eV 的 EI 源 230 °C, 四级杆 150 °C, 溶剂延迟时间为 3 min 分子量范围为 25 ~ 500 amu。

通过计算机检索与 NIST 质谱库和 Wiley 质谱库提供的标准质谱图进行对照, 并参照已发表的质谱图, 从而鉴定; 同时将相对百分含量按峰面积归一化法计算, 根据色谱图保留峰面积计算各成分的相对百分含量。

2.6 数据统计分析

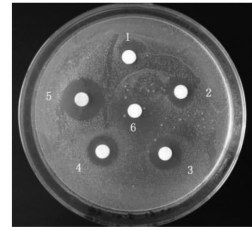
试验结果采用 SPSS16.0 统计软件, one-way ANOVA 进行方差分析, 均值比较用 LSD 和 Duncan

法。

3 结果与分析

3.1 不同试剂对抑菌物质提取效果

从图 1 和表 1 可以看出, 5 种试剂提取物抑菌能力依次为甲醇 > 乙酸乙酯 > 丙酮 > 正丁醇 > 石油醚。从表 1 可以看出甲醇提取时的得率最高, 为 7.81%, 用 5 mL 原提取试剂重新溶解后甲醇提取物浓度是乙酸乙酯提取物 7.8 倍左右, 但抑菌能力的增加并不明显, 说明用甲醇提取时杂质相对较多, 不利于分离抑菌活性物质, 从分离效率的角度考虑选用乙酸乙酯作为提取试剂。



1: 石油醚; 2: 正丁醇; 3: 乙酸乙酯; 4: 丙酮; 5: 甲醇; 6: 空白
1: petroleum ether, 2: n-butyl alcohol, 3: ethyl acetate, 4: acetone, 5: methanol, 6: Blank

图 1 不同试剂提取物抑菌效果(指示菌:金黄色葡萄球菌)

Fig. 1 The antibacterial ability of different extracts (indicator bacteria: *Staphylococcus aureus*)

表 1 不同试剂提取物抑菌效果

Table 1 The antibacterial ability of different extracts

溶剂 Solvent	石油醚 Petroleum ether	正丁醇 n-Butyl alcohol	乙酸乙酯 Ethyl acetate	丙酮 Acetone	甲醇 Methanol
提取率 Extraction yield (%)	0.07	0.30	1.08	1.22	7.81
浓度 Concentration (mg/mL)	7	30	108	122	781
抑菌圈直径 Antibacterial circle diameter (mm)	0 aA	7.4 ± 0.18 bB	14.9 ± 0.22 cCD	12.0 ± 0.18 cC	18.2 ± 0.12 dD

注: 数据为 3 次重复的平均值; 不同小写字母表示差异显著 ($P < 0.05$); 不同大写字母表示差异极显著 ($P < 0.01$); 下同。

Note: Values were means of 3 replicates ± s. d. Different lower case letters indicated significant different at $P < 0.05$, different capital letters indicated significant difference at $P < 0.01$. Same as below.

3.2 粗提物抑菌活性测定

菌托乙酸乙酯提取物抗菌活性测定实验结果如图 2 所示。提取物对 6 种常见的细菌均有抑制作用, 其抑菌效果依次为金黄色葡萄球菌 > 标准摩根氏菌 > 枯草芽孢杆菌 > 蜡芽孢杆菌和 > 大肠杆菌 > 肠炎沙门氏菌。提取物对金黄色葡萄球菌的抑菌效果最佳, 因此选择金黄色葡萄球菌作为下一步分离实验中检测分离组分抑菌活性的指示菌。

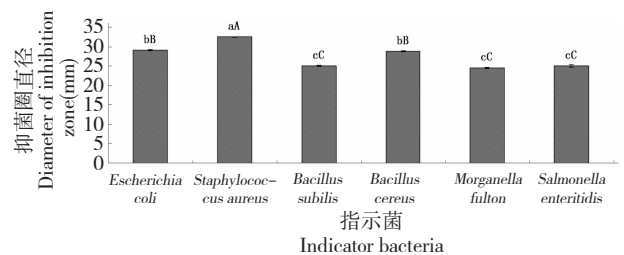


图 2 乙酸乙酯提取物抑菌试验

Fig. 2 The antibacterial ability of ethyl acetate extract against different indicator bacteria

3.3 提取物中抑菌成分的理化性质研究

3.3.1 抑菌成分热稳定性试验

菌托乙酸乙酯提取物 100 °C 沸水浴中处理不同时间后进行抑菌试验,以甲醇作为对照,结果如图 3 所示,可以看出提取物在 100 °C 沸水浴 70 min 过程中,其抑菌能力并未有较大的改变,说明提取物中的抑菌成分具有较好的热稳定性。

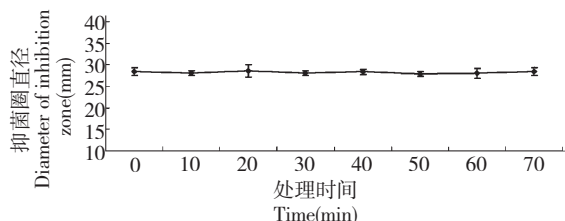


图 3 不同热处理时间对提取物抑菌能力的影响

Fig. 3 Effect of heat treatment on antibacterial activity of the ethyl acetate extract

3.3.2 UV 对抑菌成分稳定性的影响

菌托乙酸乙酯提取物经紫外线照射后的抑菌活性如图 4 所示,实验表明抑菌活性物质在紫外灯照射 15 ~ 75 min 过程中抑菌能力变化不明显,说明菌

托乙酸乙酯提取物中的抑菌活性物质不受紫外照射的影响或者影响很小。

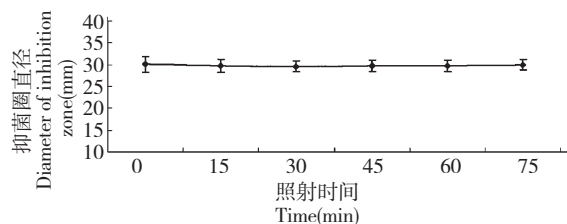


图 4 UV 对提取物抑菌能力的影响

Fig. 4 Effect of UV on antibacterial activity of the ethyl acetate extract

3.4 棘托竹荪菌托抑菌物质分离、纯化

3.4.1 乙酸乙酯提取物初次分离结果(氯仿-甲醇洗脱)

乙酸乙酯提取物初次分离共获得 40 个组分(编号 CM1-CM40),其中洗脱组分 CM15-CM18、CM34-CM37 对大肠杆菌有抑制作用。洗脱组分 CM14-CM24、CM26-CM29、CM31-CM37 对金黄色葡萄球菌均有抑菌作用。根据 TLC 结果将 CM14-CM24 合并为组分 DEV①,CM26-CM29 合并为 DEV②,CM31-CM37 合并为 DEV③。

表 2 洗脱组分的抑菌效果

Table 2 Antibacterial activity of different components after preliminary purification

组分 Component	编号 No.	氯仿(V):甲醇(V) Chloroform(V):Methanol(V)	重量(g) Weight(g)	抑菌效果 Antibacterial activity	
				大肠杆菌 <i>Escherichia coli</i>	金色葡萄球菌 <i>Staphylococcus aureus</i>
DEV①	CM14-CM24	60:1-50:1	0.428	++	++
DEV②	CM26-CM29	40:1-30:1	0.117	-	+
DEV③	CM31-CM37	20:1-10:1	0.783	+++	+++

注:“-”表示无抑菌效果;“+”表示有抑菌效果;随着“+”增加抑菌效果增强。

Note:“-” no antibacterial activity;“+” had antibacterial activity;“+”→“+++” showed from weak to strong activity.

从表 2 可以看出,菌托乙酸乙酯提取物经过硅胶柱层析后分离得到的 3 个具有抑菌作用的组分 DEV①、DEV②、DEV③,其中 DEV①与 DEV③对大肠杆菌和金黄色葡萄球菌均有抑制作用,且抑菌效果较强;而 DEV②只对金黄色葡萄球菌有较弱抑制作用。3 个组分是以不同极性洗脱相洗脱出来,其中 DEV①和 DEV③洗脱极性相差较大,说明 DEV①和 DEV③是含不同抑菌化合物的组分,由此可以推测竹荪菌托抑菌成分中至少含有两个以上具有抑菌活性的化合物。

3.4.2 DEV①硅胶柱分离层析结果

称取 300 mg 分离下来的组分 DEV①进行层析柱(石油醚-乙酸乙酯洗脱),获得组分经 TLC 分析后合并为 DEV①-1 ~ DEV①-11。从图 5 可以看出,组分 DEV①-5 ~ DEV①-10 均有抑菌作用,随着洗脱剂极性增加抑菌作用减弱;将抑菌组分 DEV①-5 ~ DEV①-9 合并,待挥发干后继续进行柱层析(氯仿-甲醇洗脱),通过薄层层析结果将各个组分合并为 10 个组分(1 号-10 号),测定抑菌作用,如图 6 所示 7 号和 8 号有抑菌活性,合并为 DEV I。

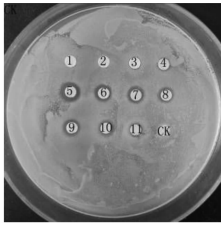


图5 DEV①分离组分抑菌检测(石油醚-乙酸乙酯洗脱)
(1-11;DEV①-1-DEV①-11)

Fig. 5 Antibacterial activity of different components separated from DEV① (Eluent: petroleum ether-ethyl acetate; 1-11; DEV①-1-DEV①-11)

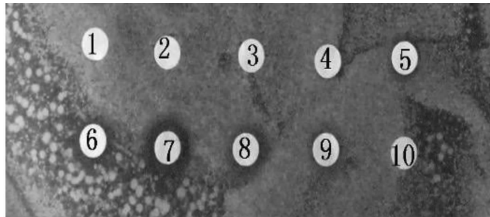


图6 DEV①二次分离组分抑菌检测(氯仿-甲醇洗脱)
(1-10;1号-10号)

Fig. 6 Antibacterial activity of different components further separated from DEV① (Eluent: chloroform-methanol; 1-10; No. 1-No. 10)

3.4.3 抑菌组分 DEV③中抑菌成分的分离纯化

称取 500 mg 分离下来的组分 DEV③进行反相中压液相制备色谱分离层析,获得组分经 TLC 分析后合并为 DEV③-1 ~ DEV③-30。从图 7 可以看出,组分 DEV③-1 和 DEV③-4 ~ DEV③-8 均有抑菌作用。将抑菌组分 DEV③-4 ~ DEV③-8 合并为 DEV II。

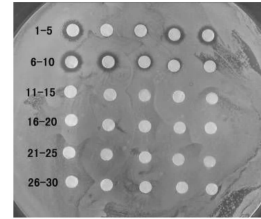


图7 DEV③分离组分抑菌检测

Fig. 7 Antibacterial activity of different components separated from DEV③

3.5 抑菌活性成分 GC-MS 分析

3.5.1 DEV I 化学成分分析

对 DEV I GC-MS 分析结果共鉴定出 57 种成分,其中相对含量在 1% 以上共 20 个,如表 3 所示。其中脂类 12 种,醇类 1 种,酸类 4 种,其他 3 种。20 种成分相对含量共占总体的 82.07%。

表3 DEV I 中相对含量 1% 以上的化学成分

Table 3 The components with relative content more than 1% of total in DEV I

编号 No.	分子式 Molecular formula	分子量 Molecular weight	匹配度 Match Result	化学式 Chemical formula	相对含量 Relative contents
1	C ₁₇ H ₃₄ O ₂	270	98	14-甲基十五烷酸甲酯 Pentadecanoic acid, 14-methyl-, methyl ester	10.91%
2	C ₁₆ H ₃₂ O ₂	256	98	棕榈酸 <i>n</i> -Hexadecanoic acid	9.28%
3	C ₁₈ H ₃₄ O ₂	282	94	油酸 Oleic Acid	8.34%
4	C ₁₉ H ₃₆ O ₂	296	99	反-9-十八碳烯酸甲酯 9-Octadecenoic acid, methyl ester, (<i>E</i>)-	8.10%
5	C ₁₇ H ₃₂ O ₂	268	91	棕榈油酸甲酯 9-Hexadecenoic acid, methyl ester, (<i>Z</i>)-	7.39%
6	C ₁₀ H ₂₆ O ₆ P ₂ S ₄	433	99	田乐磷 DEMEPHION	5.54%
7	C ₁₀ H ₁₈ O ₃	186	99	9-氧代壬酸甲酯 Nonanoic acid, 9-oxo-, methyl ester	5.20%
8	C ₃₈ H ₆₈ O ₈	652	79	L-抗坏血酸-2,6-二棕榈酸酯 L-ASCORBYL DIPALMITATE	4.76%
9	C ₁₆ H ₁₀ Br ₂ O	378	96	2,5-Di[<i>p</i> -bromophenyl]furan	2.94%
10	C ₉ H ₁₆ O ₄	188	78	辛酸单甲酯 Suberic acid monomethyl ester	2.87%
11	C ₁₉ H ₃₈ O ₃	314	99	2-羟基十八烷酸甲酯 Octadecanoic acid, 2-hydroxy-, methyl ester	2.83%
12	C ₁₁ H ₁₄ ClO	197	80	2-[4-Chloro-2-(1-methylethyl)phenoxy]ethanol	2.07%
13	C ₁₆ H ₃₀ O ₂	254	99	11-Hexadecenoic acid, (11 <i>Z</i>)-	2.02%
14	C ₁₉ H ₃₆ O	280	64	2-Octylcyclopropanoic acid	1.96%
15	C ₁₆ H ₂₂ O ₄	278	86	邻苯二甲酸二异丁酯 Phthalic acid, isobutyl octyl ester	1.91%
16	C ₁₇ H ₃₄ O ₂	270	93	邻苯二甲酸二丁酯 Dibutyl phthalate	1.31%

17	C ₁₆ H ₃₂ O ₂	256	98	十五碳酸甲酯 Methyl pentadecanoate	1.23%
18	C ₁₈ H ₃₆ O ₂	284	91	硬脂酸 Octadecanoic acid	1.23%
19	C ₁₆ H ₂₂ O ₄	278	91	邻苯二甲酸单(2-乙基己基)酯 1,2-Benzenedicarboxylic acid, mono	1.13%
20	C ₁₉ H ₃₈ O ₂	299	99	硬脂酸甲酯 Octadecanoic acid, methyl ester	1.05%

3.5.2 DEV II 化学成分分析

对 DEV II GC-MS 分析结果共鉴定出 24 种成分,其中相对含量在 1% 以上共 6 个,如表 4 所示。6 种成分相对含量共占总体的 86.2%,其中相对含

量较高的为肉桂酸和 2-呋喃甲酸,二者均为已知具有抑菌作用的物质,因此推测为 DEV II 具有抑菌作用的主要功能成分。

表 4 DEV II 中相对含量 1% 以上的化学成分

Table 4 The components with relative content more than 1% of total in DEV II

编号 No.	分子式 Molecular formula	分子量 Molecular weight	匹配度 Match Result	化学式 Chemical formula	相对含量 Relative contents
1	C ₉ H ₈ O ₂	148	98	肉桂酸 Cinnamic acid	54.2%
2	C ₅ H ₄ O ₃	112	94	2-呋喃甲酸 2-Furancarboxylic acid	25.6%
3	C ₁₈ H ₃₄ O ₂	282	94	油酸 Oleic Acid	2.2%
4	C ₇ H ₆ O ₂	122	94	苯甲酸 Benzoic acid	1.6%
5	C ₁₆ H ₂₂ O ₄	278	95	邻苯二甲酸二丁酯 Dibutyl phthalate	1.4%
6	C ₁₀ H ₁₂ O ₃	180	95	2-羟基-3-苯基丙酸甲酯 2-Hydroxy-3-phenylpropanoic acid methyl ester	1.2%

4 讨论与结论

实验发现竹荪菌托提取物具有抑菌作用,且具有较广的抑菌菌谱、热稳定、耐紫外照射的特点。菌托作为竹荪生产过程产生的废弃物,开发成本低,从菌托中开发获得天然防腐剂具有巨大的潜在价值。

竹荪被发现具有抑菌作用已有较多报道。长裙竹荪提取液对细菌、病原菌具有广泛的抑制作用,在中性至碱性条件下可发挥抑菌作用,对高温、高压稳定,但对酵母菌、霉菌没有明显的抑制作用^[5,9,18];棘托竹荪挥发油对霉菌、酵母及细菌都有抑菌效果^[10-14,19],水提取物对常见有害菌具有一定的抑菌效果,对高温有一定的稳定性^[7],可见竹荪中的抑菌成分与竹荪种类及提取方法有关,这也说明了竹荪中具有多种的抑菌成分,如有报道竹荪多糖具有抑菌活性^[20-21]。

檀东飞等^[19]采用非极性至极性的 5 种溶剂浸提棘托竹荪中的抑菌物质,结果表明随着溶剂极性的增强,提取得率增大;同时对不同溶剂提取物分别做了抑菌试验,提取物的抑菌效果是:乙酸乙酯提取物 > 正己烷提取物 > 丙酮提取物 > 乙醇提取物 > 水提取物,这与本文对棘托竹荪菌托的实验结果相近。本文通过活性追踪法分离纯化棘托竹荪菌托乙酸乙酯提取物的抑菌成分,虽然未能得到单一抑菌成分,

但是极性较大的抑菌组分 DEV II 中肉桂酸及 2-呋喃甲酸的相对含量接近 80%,而二者均为已知具有抑菌活性的化学物质^[22-24],因此可以推测棘托竹荪菌托乙酸乙酯提取物起抑菌作用的主要物质为肉桂酸及 2-呋喃甲酸。分别采用液相色谱法和气象色谱法测得竹荪菌托乙酸乙酯粗提物中肉桂酸含量为 0.0153%, 2-呋喃甲酸含量为 0.0086%。分离获得的极性较小的组分 DEV I 中相对含量超过 1% 的占 82.07%,而相对含量超过 3% 的占 59.52%,但 这些已知物质中未见报道具有明显的抑菌作用成分,由此认为 DEV I 抑菌作用可能是多种小极性化合物协同作用的结果。Huang MQ 等^[25]从长裙竹荪子实体挥发性成分中分离鉴定一种抗生素 Albaflavenone,并通过定量分析出长裙竹荪中 Albaflavenone 含量为 0.0063%,推测该化合物是长裙竹荪具有抑菌活性的主要活性成分;黄明泉同时也在棘托竹荪子实体和棘托竹荪蛋的挥发性成分中检测发现 Albaflavenone^[26],棘托竹荪菌托中是否含有该成分,以及其他相关的抑菌活性物质和不同化学组分的比例对抑菌活性的影响还有待进一步研究。

参考文献

- 1 Bao ZH(暴增海), Ma GZ(马桂珍). The *Dictyophora* resource and its development and utilization in China. *Res Sci*

- (自然资源), 1994, 3: 68-71.
- 2 Tan JJ(谭敬军), Hu YP(胡亚平). Antimicrobial actions of *Dictyophora indusia* Fisscher. *J Hunan Agric Univ, Nat Sci* (湖南农业大学学报, 自科版) 1999, 25: 479-482.
 - 3 Tan JJ(谭敬军). Studies on antimicrobial characteristics of *Dictyophora indusia* Fisscher extract. *Food Sci* (食品科学), 2001, 22(9): 73-75.
 - 4 He XS(贺新生), Huang QQ(黄倩倩), Pan JL(潘家莲), et al. Study on extracting natural antiseptic from the mycelia and fruity-bodies of *Phallales*. *Sichuan Food Ferment* (四川食品与发酵), 2004, 40(4): 40-42.
 - 5 Han H(韩慧), Zhang G(张刚), Hao JW(郝景雯), et al. Studies on a kind of biopreservative from *Dictyophora gown*. *Food Res Dev* (食品研究与开发), 2008, 29(5): 62-64.
 - 6 Lu HN(卢惠妮), Pan YJ(潘迎捷), Zhao Y(赵勇), et al. Antimicrobial effect of *Dictyophora indusiata* Fisscher fruit-body. *Nat Prod Res Dev* (天然产物研究与开发), 2011, 23: 324-327.
 - 7 Lu HN(卢惠妮), Pan YJ(潘迎捷), Sun XH(孙晓红), et al. Antibacterial activity of water extract of *Dictyophora echinvolvata* fruitbody. *Food Sci* (食品科学), 2009, 30: 120-123.
 - 8 Hao JW(郝景雯), Jia SR(贾士儒), Zhang G(张刚), et al. Comparison on the antimicrobial activity of ethanol and water extracts of *Dictyophora indusia* Fisscher. *Food Res and Dev* (食品研究与开发), 2010, 31(10): 8-10.
 - 9 Hao JW(郝景雯), Zhang G(张刚), Han H(韩慧), et al. Study on the extracted method of *Dictyophora indusia* Fisscher and its antimicrobial action. *Sci Tech Food Ind* (食品工业科技), 2008, 29: 123-124.
 - 10 Tan DF(檀东飞), Su YQ(苏燕卿), Wu RQ(吴若菁), et al. Studies on antimicrobial activity of *Dictyophora Echinvolvata* extracted with ethyl acetate. *J Strait Pharm* (海峡药理学), 2002, 14: 101-103.
 - 11 Tan DF(檀东飞), Wu RJ(吴若菁), Liang M(梁鸣), et al. Studies on chemical compositions and antimicrobial activity of volatile oil of *Dictyophora Echinvolvata*. *Mycosystema* (菌物系统), 2002, 21: 228-233.
 - 12 Tan DF(檀东飞), Huang RZ(黄儒珠), Lu Z(卢真), et al. Chemical compositions and antimicrobial activity of the volatile oil and petroleum ether extract from the fresh carpophore of *Dictyophora echinvolvata*. *J Fujian Normal Univ, Nat Sci* (福建师范大学学报, 自科版), 2010, 26: 100-105.
 - 13 Tan DF(檀东飞), Du ZH(杜峥辉), Wu RQ(吴若菁), et al. Studies on antimicrobial activity of *Dictyophora Echinvolvata* extracted with N-hexane. *J Strait Pharm* (海峡药理学), 2003, 15: 61-63.
 - 14 Liang M(梁鸣), Tan DF(檀东飞), Li HZ(李惠珍), et al. Chemical compositions of *Dictyophora echinvolvata* extracted with acetone and antimicrobial activity of its extracts with acetone, ethyl alcohol, water. *Mycosystema* (菌物学报), 2005, 24: 197-201.
 - 15 Lin CQ(林陈强), Chen JC(陈济琛), Lin RB(林戎斌), et al. Study on the development of the comprehensive utilization about the *Dictyophora* resource. *Edible Fungi Chin* (中国食用菌), 2011, 30(2): 8-11.
 - 16 Chang JJ(常佳驹), Zhuang YL(庄永亮), Shang XL(尚小丽), et al. Study on nutritional characteristics of the volva of *Dictyophora rubrovolvata*. *Sci Tech Food Ind* (食品工业科技), 2011, 32: 408-410.
 - 17 Zhuang YL, Sun LP. Nutritional characteristics of proteins from the volva and pileus in cultivated mushroom *Dictyophora rubrovolvata*. *Int J Food Sci Nutri*, 2011, 62: 392-396.
 - 18 Tan JJ(谭敬军), Hu YP(胡亚平), Wu HH(吴晗晗). Studies on antimicrobial activity of *Dictyophora Indusia* Fisscher. *Food Sci* (食品科学), 2000, 21(10): 54-56.
 - 19 Tan DF(檀东飞), Huang RZ(黄儒珠), Lu Z(卢真), et al. Chemical compositions and antimicrobial activity of the volva of *Dictyophora echinvolvata* (I). *Mycosystema* (菌物学报), 2006, 25: 603-610.
 - 20 Wang WX(王宪伟). Study on bacteriostasis activity of polysaccharides from *Dictyophora*. *J Anhui Agric Sci* (安徽农业科学), 2013, 41: 1414.
 - 21 He H(何慧). Extraction and bacteriostasis of polysaccharide extracted from *Dictyophora indusiata* mycelium. *J Guizhou Agric Sci* (贵州农业科学), 2010, 38(9): 93-95.
 - 22 Zhang CL(张春乐), Song KK(宋康康), Chen XR(陈祥仁) et al. The antibacterial and antifungal activity studies of cinnamic acid and its derivatives. *J Xiamen Univ, Nat Sci* (厦门大学学报, 自科版), 2006, 45: 16-18.
 - 23 Liang SN(梁盛年), Duan ZF(段志芳), Fu L(付莉) et al. Comparative research on the antibacterial action of several types of cinnamic acid derivative and cinnamic acid. *Food Sci Tech* (食品科技), 2005, 9: 71-73.
 - 24 Sun DX(孙道兴), Gao H(高华). New prepared method of 2-furoic acid. *J Qingdao Univ* (青岛大学学报), 2001, 16(3): 60-61.
 - 25 Huang MQ, Chen X, Tian HY, et al. Isolation and identification of antibiotic albaflavenone from *Dictyophora indusiata* (Vent; Pers.) Fischer. *J Chem Res*, 2011, 35: 659-660.
 - 26 Huang MQ(黄明泉). Study on chloropropanediol formation in thermo-reaction meat flavours and development of new meat flavours. Xi'an: Shaanxi University of Science & Technology (陕西科技大学), PhD. 2012.