

金银花挥发油及残渣浸膏的抗菌活性研究

阮之阳, 王兆梅, 黎嘉嘉, 韦希琼

(华南理工大学食品科学与工程学院, 广东广州 510640)

摘要: 以山东和广东两地金银花为原料, 利用二氧化碳超临界萃取法从中分离挥发油, 并利用分离挥发油后的残渣制备浸膏。采用 GC-MS 联用分析挥发油组成, 采用高效液相色谱测定金银花浸膏中的绿原酸和木犀草苷含量, 通过琼脂片扩散法和最小抑菌浓度法(Minimum Inhibitory Concentration, MIC)检测金银花挥发油和浸膏的抗菌活性。分离得到的金银花挥发油主要成分为反丁烯二腈(61.5%)和乙酸戊酯(37.7%)。山东产地的金银花水溶相浸膏中绿原酸和木犀草苷的含量在四种浸膏中最多。金银花挥发油和浸膏对 6 种致病菌表现出不同程度的抑制作用, 两类提取物对革兰氏阳性菌的抗菌作用优于革兰氏阴性菌。山东产金银花的挥发油对金黄色葡萄球菌抑菌作用最强, 抑菌圈直径为 9.3 mm, MIC 值为 64 $\mu\text{L}/\text{mL}$; 广东产金银花水相浸膏对枯草芽孢杆菌抑菌作用最强, 抑菌圈直径达到 15 mm 以上, MIC 值为 16 $\mu\text{L}/\text{mL}$ 。两地金银花提取物的抗菌活性无明显差异。

关键词: 金银花; 挥发油; 浸膏; 抗菌活性

文章编号: 1673-9078(2017)10-77-82

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2017.10.012

Antibacterial Activity of Volatile Oil and Residue Extract from *Lonicera Japonica*

RUAN Zhi-yang, WANG Zhao-mei, LI Jia-jia, WEI Xi-qiong

(School of Food Science and Engineering, South China University of Technology, Guangzhou 510640, China)

Abstract: *Lonicera japonica*, obtained from Shandong and Guangdong, was used as the raw material in this study. The volatile oil was separated by CO₂ supercritical fluid extraction, and afterwards the water-soluble and the water-insoluble subfraction were prepared from the residue after volatile oil isolation. The chemical composition of volatile oil was analyzed by GC-MS and high performance liquid chromatography was used to determine the content of chlorogenic acid and galuteolin in residue extract of *Lonicera japonica*. The anti-bacterial activities of volatile oil and extract were investigated by disk diffusion assay and minimum inhibitory concentration (MIC). The main components of *Lonicera japonica* volatile oil were fumaronitrile (61.5%) and amyl acetate (37.7%), and the content of lorogenic acid and galuteolin in water-soluble residue extract from Shandong province was the highest among the 4 residue extracts. The *Lonicera japonica* volatile oil and subfractions of ethanol extract exhibited different inhibitory effects on the six pathogens. The antimicrobial effect of the two extracts on gram-positive bacteria was better than that of gram-negative bacteria. The antibacterial effect of the volatile oil in *Lonicera japonica* from Shandong was the strongest with the MIC of 64 $\mu\text{L}/\text{mL}$ and the diameter of inhibition zone of 9.3 mm. Meanwhile, the water-soluble subfraction of *Lonicera japonica* from Guangdong showed a significantly high antibacterial effect on bacillus subtilis with the diameter of inhibition zones above 15mm and MIC value of 16 $\mu\text{L}/\text{mL}$. There was no significant difference in the antibacterial activity of the extract in *Lonicera japonica* from Guangdong and Shandong.

Key words: *Lonicera japonica*; volatile oil; extract; antibacterial activity

细菌和真菌在宿主体内繁殖会造成感染, 引起感染性疾病, 因此, 抗菌治疗是针对感染性疾病的最主要手段, 临床上用于抗菌治疗的主要方式是使用各种

收稿日期: 2017-04-15

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (E8160440、B5130810)

作者简介: 阮之阳 (1992-), 男, 硕士研究生, 研究方向: 天然产物活性研究

通讯作者: 王兆梅 (1974-), 女, 博士, 副教授, 研究方向: 糖类物质制备与应用及天然产物活性研究

各样的抗生素, 而抗生素的滥用引发了极大的副作用, 我国每年有八万多人直接或间接死于抗生素滥用^[1], 由此造成的机体损伤和病原菌耐药性更是无法估量。相比于抗生素, 植物来源的天然抗菌活性物质具有高效、广谱、安全无毒和性能稳定等独特优点^[2]。近年来, 从各种来源的植物或植物不同部位中获取天然抗菌剂已受到广泛的关注。植物中的精油更是已经被证明有抗菌活性, 并且被用作食品防腐剂^[3,4], 有报道称萜类化合物是精油中的主要活性物质^[5]。而植物溶剂

提取物中同样含有许多活性化合物,如金丝桃苷、绿原酸和木犀草苷等,因而也有广泛的抑菌效果^[6]。

金银花是常用的传统中药,具有清热解毒和疏散风热的功效,并表现出抗炎、抗菌、抗病毒和抗氧化等多种药理学活性,被广泛应用于药品、食品、化妆品及保健品等行业^[7,8]。抗菌作用是金银花的主要生物活性,且是其它药物活性的基础。当前研究者对金银花抗菌组分的研究多集中在单一组分上,如从金银花中分离具有抗菌功能的挥发油;或者从金银花叶中分离具有广谱抗菌功效的绿原酸和木犀草苷等^[9,10]。金银花作为抗菌中草药,其抗菌组分种类多、且具有不同的极性特征,需要通过多步骤、连续萃取,才能充

分发掘原料的价值。本研究取山东和广东两地不同产地的金银花,采用多步提取的方法,获取金银花挥发油和绿原酸、木犀草苷富集组分,为金银花的抗菌应用提供参考。

1 实验部分

1.1 材料与仪器

广东产地的金银花,由广东清远市金银花种植专业合作社提供;山东产地的金银花,由山东九间棚公司提供。植株全部经过形态学的鉴定确定其为金银花。实验所用细菌全部来源于暨南大学附属医院。

表1 实验所用细菌

Table 1 Bacteria used in the experiment

编号	类别	菌种	拉丁文学名	编号
1	革兰氏阳性菌	金黄色葡萄球菌	<i>Staphylococcus aureus</i>	ATCC25925
2	革兰氏阳性菌	枯草芽胞杆菌	<i>Bacillus subtilis</i>	CMCC63501
3	革兰氏阳性菌	溶血葡萄球菌	<i>Staphylococcus haemolyticus</i>	ATCC29970
4	革兰氏阴性菌	大肠杆菌	<i>Escherichia coli</i>	ATCC25922
5	革兰氏阴性菌	伤寒沙门氏菌	<i>Salmonella typhi</i>	CMCC50127
6	革兰氏阴性菌	肺炎克雷伯菌	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	ATCC700603

中草药粉碎机:型号FW135,天津市泰斯特仪器有限公司;电热鼓风干燥箱:型号DHG-9140A,上海一恒科学仪器有限公司;超临界CO₂流体萃取设备:型号HA-9548,江苏南通华安超临界萃取有限公司;细菌培养箱:型号ZJP-A1230,上海福玛实验设备有限公司;立式压力蒸汽灭菌器:型号LDZX-50KBS,上海申安医疗器械厂;生物洁净工作台:型号BCN-1360B,广东半球仪器厂;超声波清洗器:型号KH-100E型,昆山市超声仪器有限公司;旋转蒸发器:型号RE-52A,上海亚荣生化仪器厂;循环水式真空泵:型号SHZ-D(III),巩义市予华仪器有限公司;气相色谱-质谱联用仪:型号HP 6890/5973MS气质联用系统,美国Agilent公司。

1.2 实验方法

1.2.1 金银花活性组分的制备

图1为本文制备金银花活性组分的具体技术路线,具体包括:超临界CO₂萃取金银花挥发油、残渣浸膏的制备。

(1) 超临界CO₂萃取金银花挥发油

金银花经阴干后,45℃低温烘干。当金银花变脆时,将金银花取出,用中草药粉碎机将金银花粉碎过20目,处理为干品,置于干燥器备用。超临界CO₂萃取时,将萃取条件设定为:萃取釜压力为32 MPa,

温度达35℃;分离I的压力为6 MPa,温度为40℃;分离II的压力为6 MPa,温度为35℃。夹带剂为95%无水乙醇,用量为1.5 mL/g,将其加入料筒,浸润物料。当萃取釜中达到某一超临界状态点,开始萃取,总时间为2 h,并收集萃取后残渣准备制备浸膏。

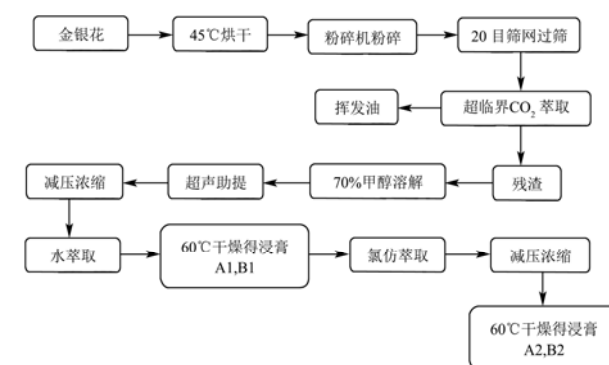


图1 金银花抗菌活性组分的制备工艺

Fig.1 Preparation process of *Lonicera japonica* active components

(2) 残渣浸膏的制备

将不同产地的金银花残渣样品,称取足量样品于锥形瓶中,按1:20的比例加入70%的甲醇,使样品充分湿润。在超声频率为40 kHz,功率为250 W的条件下进行超声波提取,超声助提共3次,每次30 min,合并3次滤液。将滤液旋转蒸发浓缩至10 mL左右,在电热恒温鼓风箱中以60℃干燥得到浸膏A和B。

之后加入水溶解浸膏,再加入氯仿进行萃取,分离水溶相和水不溶相。再分别放入电热恒温鼓风箱中进行干燥。其中用 A1 表示山东产地金银花的水溶相组分, A2 表示山东产地金银花的水不溶相组分;用 B1 表示广东清远产地金银花的水溶相组分, B2 表示广东清远产地金银花的水不溶相组分。

1.2.2 金银花挥发油 GC-MS 分析

气相色谱条件: HP-5MS 石英弹性毛细管柱; He; 流速 1.0 mL/min; 进样口温度 250 °C; 色谱柱初始温度 50 °C (保持 1 min), 以 3 °C/min 升温至 120 °C (保持 2 min), 最后以 4 °C/min 升至 210 °C (保持 10 min)。

质谱条件: 电离方式: EI 源, 电离电压 70 eV; 离子源温度为 230 °C; 四级杆温度 150 °C; 传输线温度 280 °C; 电子倍增器电压 1648 V, 质量扫描范围 30~440 u。

1.2.3 金银花浸膏中绿原酸和木犀草苷的检测方法

绿原酸检测方法: 取金银花浸膏 0.50 g, 精密称定, 置具塞锥形瓶中, 精密加入 50% 甲醇 50 mL, 称定重量, 超声处理 (功率 250 W, 频率 35 kHz) 30 min, 放冷, 再称定重量, 用 50% 甲醇补足减失的重量, 摇匀, 滤过。精密量取滤液 5 mL, 置 25 mL 棕色容量瓶中, 加 50% 甲醇至刻度, 摇匀, 即为测定绿原酸的供试品溶液。精密吸取 5 mL 供试溶液, 将其 50% 甲醇溶剂挥发至干, 用蒸馏水定容在 5 mL 棕色容量瓶中, 用 0.45 μm 的滤膜过滤。用高效液相色谱进行检测分析。重复测定三次。

色谱柱: Agilent Zorbax SB-Aq 柱(4.6 mm×250 mm, 5 μm); 流动相: 乙腈(A)-0.5%冰醋酸溶液(B), 等度洗脱 15 min, 使得流动相 VA:VB=15:85, 流速为 1 mL/min; 检测波长 327 nm; 柱温: 室温。首先制作标准曲线, 然后浸膏溶液进样 10 μL 进行定量分析。

木犀草苷检测方法: 取金银花浸膏 2.00 g, 精密称定, 置具塞锥形瓶中, 精密加入 70% 乙醇 50 mL, 称定重量, 超声处理 (功率 250 W, 频率 35 kHz) 1 h, 放冷, 再称定重量, 用 70% 乙醇补足减失的重量, 摇匀, 滤过。精密量取滤液 5 mL 至 5 mL 棕色容量瓶中, 摇匀, 即为测定木犀草苷的供试品溶液。精密吸取 5 mL 供试溶液, 将其 70% 乙醇溶剂挥发至干, 用蒸馏水定容在 5 mL 棕色容量瓶中, 用 0.45 μm 的滤膜过滤。用高效液相色谱进行检测分析。重复测定三次。

色谱柱: Agilent Zorbax SB-Aq 柱(4.6 mm×250 mm, 5 μm); 流动相: 乙腈(A)-0.5%冰醋酸溶液(B), 梯度洗脱 0~15 min, 使得流动相 VA:VB=1:9→VA:VB=2:8, 15~30 min 时 VA:VB=2:8, 30~40 min 时 VA:VB=

2:8→VA:VB=3:7, 流速为 1 mL/min; 检测波长 350 nm; 柱温: 室温。首先制作标准曲线, 然后浸膏溶液进样 10 μL 进行定量分析。

1.2.4 抑菌圈测定方法

用稀释倒平板法计算出细菌总数后, 用 LB 液体培养基调整菌悬液浓度, 使其菌体含量为 $10^6\sim 10^7$ CFU/mL。

向培养皿加入 15~20 mL 的营养琼脂培养基, 待凝固后, 用无菌移液管向相应的固体平板分别滴加 0.1 mL 菌悬液, 并用无菌三角刮铲涂布均匀。抑菌圈直径的测定采用琼脂片扩散法: 用打孔器将新华 1 号定性滤纸打成 6 mm 的小圆片, 置于有盖空杯子中, 121 °C 高温灭菌 20 min。无菌操作下, 用移液枪取出 10 μL 挥发油或残渣浸膏药液样品沾湿圆滤纸片, 待滤纸片溶剂挥发干后, 每皿均匀分贴同种药液滤纸片 5 片, 相应溶剂空白对照滤纸片 1 片, 重复 3 次; 贴好滤纸片的培养基置于恒温培养箱中培养, 细菌于 37 °C 培养 24 h 后观察并统计结果。

1.2.5 挥发油和浸膏 MIC 值的测定

利用液体培养基微量稀释法在 96 孔板中测定金银花挥发油的最低抑菌浓度 (Minimum inhibitory concentration, MIC)。采用肉汤培养基配制菌落总数为 10^4 CFU/mL 的菌液, 备用。采用成倍连续稀释法: 每个待测的提取物组分安排 8 根高温灭菌的空试管, 在每一根试管中依次加入 1 mL 菌液。在第一根试管中加入抗菌样品 1 mL, 混匀后, 从中取出 1 mL 加入第二根试管, 用同样的方法稀释至第 8 根管, 弃去 1 mL, 各管的浓度为 250、125、62.5、32、16、8、4、2 μg/mL, 37 °C 孵育 24 h 后观察结果, 以无细菌生长的最低浓度为最低抑菌浓度, 即 MIC 值。

1.2.6 数据统计分析

以上数据均进行 3 次平行测定, 金银花活性组分的产率、浸膏中绿原酸和木犀草苷含量和抑菌圈直径的试验结果以平均值±标准差表示, 采用 Excel 和 Statistica 6.0 软件对所得数据进行统计分析。

2 结果与分析

2.1 金银花活性组分的制备结果

金银花经过超临界 CO₂ 萃取得到挥发油, 含量 10% 左右, 剩余残渣再以 70% 的甲醇为提取剂, 通过超声辅助提取, 再对提取液分步萃取, 得到水溶性的浸膏 A1 (山东产)、B1 (广东产) 和脂溶性浸膏 A2 (山东产)、B2 (广东产)。以下研究中将分别以以上组分为原料, 开展结构和抗菌活性的研究。

表 2 金银花中的活性组分的产率

Table 2 Yield of active components in *Lonicera japonica*

产率/%	山东产金银花			广东产金银花		
	挥发油	浸膏 A1	浸膏 A2	挥发油	浸膏 B1	浸膏 B2
	8.43±1.12	6.79±0.74	9.33±1.35	10.21±2.09	8.72±1.25	7.51±0.6

2.2 金银花挥发油的化学组分分析

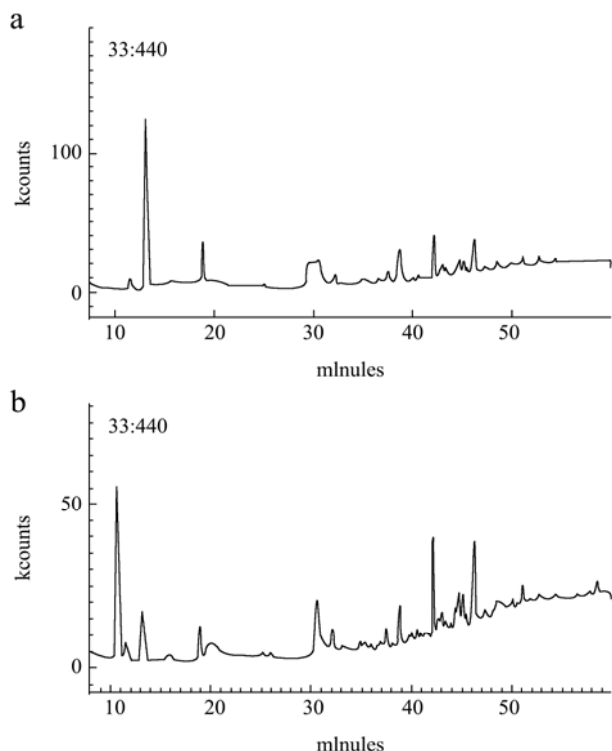


图 2 金银花挥发油的总离子流色谱图

Fig.2 Total ion chromatograms of *Lonicera* essential oil extracts

注: a, 山东产地金银花挥发油; b, 为广东产地金银花挥发油。

从图 2 可以看出, 通过 GC-MS 分析, 广东清远的金银花挥发油共分离出 9 种组分, 已鉴定物质的相对含量占总含量的 81.09%; 山东产地的金银花挥发油分离出 7 种组分, 已鉴定物质的相对含量占总含量的 91.61%。两种产地的金银花挥发油在化学成分及含量上均存在一定差异。

由气相色谱分析各组分的峰面积可知, 山东产地金银花挥发油的主要成分为反丁烯二腈 (61.5%)、十二碳烷 (13.1%) 和苯丁醚 (10.7%); 清远产地金银花挥发油主要为乙酸戊酯 (37.7%)、十二碳烷 (11.5%)、反丁烯二腈 (10.1) 和十七烷二酸 (7.8%)。与文献相比, 分离鉴定出的组分偏少。这可能与提取方法和提取条件有关, 本研究中采用超临界 CO₂ 流体萃取时, 加入的夹带剂是 95% 的无水乙醇, 含有一定量的水分, 导致萃取不完全且萃取物含水量高。此外, 由于金银花挥发油为粗油, 未进一步纯化为精油, 导致 GC-MS 图谱分辨率较低。

2.3 金银花挥发油抑菌活性

从表 3 可以看出, 金银花挥发油在实验浓度范围内表现出良好的抑菌活性。两种产地的金银花提取挥发油对金黄色葡萄球菌的抑制作用最为显著, 此外, 两者对革兰氏阳性菌的抑制效果优于对革兰氏阴性菌的抑制效果。

表 3 金银花挥发油的抑菌圈测定结果

Table 3 Inhibition zone of *Lonicera* essential oil extracts

金银花挥发油	革兰氏阳性菌			革兰氏阴性菌		
	金黄色葡萄球菌	枯草芽胞杆菌	溶血葡萄球菌	大肠杆菌	沙门氏菌	肺炎克雷伯菌
山东产地	9.3±0.7	7.8±0.5	7.0±0.1	6.4±0.4	<6.0	6.9±0.2
广东产地	8.6±0.7	<6.0	8.3±0.3	7.0±0.1	6.9±0.2	6.4±0.4

注: 抑菌圈表示单位: 毫米 (mm)。(<6.0 mm) 表示没有抑菌性; (6.0 mm ≤ X < 8.0 mm) 表示微弱抑菌性; (8.0 mm ≤ X ≤ 10.0 mm) 表示明显的抑菌性; (>10.0 mm) 表示强烈抑菌性。所有的数据包括纸片的 6.0 mm 直径。

表 4 金银花挥发油 MIC 值测定结果

Table 4 MIC of *Lonicera* essential oil

金银花挥发油	[MIC]/(μL/mL)					
	金黄色葡萄球菌	枯草芽胞杆菌	溶血葡萄球菌	大肠杆菌	沙门氏菌	肺炎克雷伯菌
山东产地	62.5	62.5	125	125	>250	125
广东产地	125	>250	62.5	62.5	125	125

由表 4 的数据可以看出对于肺炎克雷伯菌, 山东产地的金银花挥发油与广东产地的金银花挥发油的 MIC 值一致, 说明其抑菌效果相当。山东产地的金银花挥发油对溶血葡萄球菌、大肠杆菌和肺炎克雷伯菌的抑菌效果相当; 广东产地的金银花挥发油对大肠杆菌与溶血葡萄球菌的抑菌效果相当。山东产地的金银花对金黄色葡萄球菌和枯草芽孢杆菌的抑制作用最强, 广东产地的金银花挥发油对溶血葡萄球菌和大肠杆菌的抑制作用最强。

2.4 金银花浸膏中绿原酸和木犀草苷含量

表 5 金银花浸膏中绿原酸和木犀草苷含量

Table 5 Content of chlorogenic acid and galuteolin in residue extracts from *Lonicera japonica*

样品	绿原酸/%	木犀草苷/%
A1	1.71±0.03	0.89±0.07
A2	0.05±0.01	0.13±0.02
B1	1.48±0.02	0.47±0.01
B2	0.02±0.01	0.09±0.03

注: A1 表示山东产地金银花的水溶相组分, A2 表示山东产地金银花的水不溶相组分; B1 表示广东产地金银花的水溶相组分; B2 表示广东产地金银花的水不溶相组分。

表 5 为金银花浸膏中绿原酸和木犀草苷含量。《中国药典》2010 年版中规定金银花中绿原酸的含量不得少于 1.5%; 木犀草苷的含量不得少于 0.05%。从实验结果中可以看出, 在提取了金银花挥发油后, 水溶性的金银花浸膏 (A1 和 B1) 基本达到该要求。其中 A1 组分的绿原酸和木犀草苷含量在四种浸膏中最多, 绿原酸达到 1.71%, 木犀草苷为 0.89%, 已经超过《中国药典》的要求。而氯仿萃取的浸膏 (A2 和 B2) 中绿原酸含量较低, 原因可能是因为绿原酸在氯仿中溶解度很低。

从表中还可以看出, 不论是水溶性浸膏还是油性浸膏, 山东产地的金银花浸膏中绿原酸和木犀草苷含量都较广东产地的金银花浸膏多。

表 6 金银花浸膏的 MIC 值测定结果 (单位: $\mu\text{L}/\text{mL}$)

Table 6 Determination of MIC in *Lonicera* residue extract

样品	金黄色葡萄球菌	枯草芽胞杆菌	溶血葡萄球菌	肺炎克雷伯菌
A1	62.5	32	32	>250
B1	62.5	16	32	>250
A2	125	62.5	62.5	125
B2	125	62.5	32	125

注: A1 表示山东产地金银花的水溶相组分, A2 表示山东产地金银花的水不溶相组分; B1 表示广东产地金银花的水溶相组分, B2 表示广东产地金银花的水不溶相组分。(>250 $\mu\text{L}/\text{mL}$)表示抑菌性未检出。

2.5 金银花残渣浸膏抑菌活性由

图 3 可知, 金银花浸膏对金黄色葡萄球菌、枯草芽孢杆菌和溶血葡萄球菌均有显著的抑菌效果, 而对大肠杆菌和沙门氏菌则无明显的抑菌作用 (数据未列出)。水溶性浸膏 A1 和 B1 对金黄色葡萄球菌抑菌作用突出, 而油性浸膏 A2 和 B2 对金黄色葡萄球菌的抑制作用略低; 四种浸膏对枯草芽孢杆菌抑制作用都十分显著。

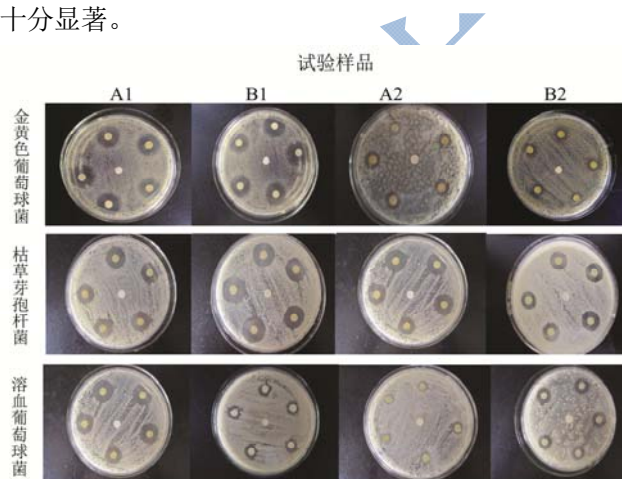


图 3 金银花残渣不同相浸膏的抑菌效果

Fig.3 Antimicrobial effect of different *Lonicera* residue extract

注: 从左至右, 试验样品依次为 A1, B1, A2, B2; 第一栏受试菌为金黄色葡萄球菌, 第二栏枯草芽孢杆菌, 第三栏溶血葡萄球菌。

表 6 金银花浸膏对受试菌 MIC 值的结果与图 3 滤纸法测得的抑菌结果基本一致, 即水溶性组分的抑菌作用更为显著, 且金银花浸膏对革兰氏阳性菌的抑菌效果要明显好于对革兰氏阴性菌的抑菌效果。四种浸膏的最低抑菌浓度全部低于 62.5 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 。溶血葡萄球菌同样对浸膏较为敏感, 其 MIC 值在 32~62.5 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 之间。不同产地的两种金银花浸膏的抑菌活性有一定的差异, 如 B1 对于枯草芽孢杆菌的抑制作用较 A1 突出, 这与两者中抗菌活性组分的含量有关, 值得进一步研究。

3 结论

金银花挥发油和残渣浸膏都有良好的抗菌活性,尤其是对革兰氏阳性菌有较好的抑菌效果,在食品工业中拥有作为食品防腐剂的潜力。不同产地的金银花所提取的精油化学成分及含量和残渣浸膏的抗菌活性均存在一定的差异,这可能与金银花的生长环境如气温和土壤等有关。后期的研究可开展金银花残渣浸膏中抗菌活性组分的分离纯化和结构鉴定,以获得纯度更高、结构明确的抗菌活性物质。

参考文献

- [1] 胡燕,白继庚,胡先明,等.我国抗生素滥用现状、原因及对策探讨[J].中国社会医学杂志,2013,30(2):128-129
HU Yan, BAI Ji-geng, HU Xian-ming, et al. Exploring on the status, reasons and countermeasures of antibiotics abuse [J]. Chinese Journal of Social Medicine, 2013, 30(2): 128-129
- [2] 吴京平.新型植物源天然食品防腐剂及其抑菌性能[J].中国食品添加剂,2009,3:61-64
WU Jing-ping. Reviews on natural plant food preservatives and their antibacterial abilities [J]. China Food Additives, 2009, 3: 61-64
- [3] Burt S. Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods-a review [J]. International Journal of Food Microbiology, 2004, 94(3): 223-253
- [4] Lopes-Lutz D, Alviano D S, Alviano C S, et al. Screening of chemical composition, antimicrobial and antioxidant activities of artemisia essential oils [J]. Phytochemistry, 2008, 69(8): 1732-1738
- [5] Shunying Z, Yang Y, Huaidong Y, et al. Chemical composition and antibacterial activity of the essential oils of *chrysanthemum indicum* [J]. Journal of Ethnopharmacology, 2005, 96(1-2): 151-158
- [6] Chaomei M, Norio N, Masao H, et al. Inhibitory effects on HIV protease of constituents from the wood of *Xanthoceras sorbifolia* [J]. Journal of Natural Products, 2000, 63(2): 238-242
- [7] Shang Xiaofei, Pan Hu, Li Maoxing, et al. *Lonicera japonica* Thunb. : ethnopharmacology, phytochemistry and pharmacology of an important traditional Chinese medicine [J]. Journal of Ethnopharmacology, 2011, 138(1): 1-21
- [8] Jelena Knežević-Vukčević, Branka Vuković-Gaćić, Tatjana Stević, et al. Antimutagenic effect of essential oil of sage (*Salvia officinalis* L.) and its fractions against uv-induced mutations in bacterial and yeast cells [J]. Archives of Biological Sciences, 2005, 57(3): 163-172
- [9] Rahman A, Sun C K. *In vitro* control of food-borne and food spoilage bacteria by essential oil and ethanol extracts of *Lonicera japonica* Thumb [J]. Food Chemistry, 2009, 116(3): 670-675
- [10] 乌兰,张泽生.金银花中绿原酸的提取及检测[J].食品科学,2005,26(6):130-134
WU Lan, ZHANG Ze-sheng. Extraction and examination of chlorogenic acid from *Flos Lonicerae* [J]. Food Science, 2005, 26(6): 130-134