

不同极性柳叶蜡梅叶萃取物总酚含量及其 抗氧化、抑菌能力研究

Study on total polyphenol content and antioxidant, antimicrobial activities of
different polarity fractions of *Chimonanthus salicifolicus* Hu leaves

吴永祥 王 祥 江海涛

WU Yong-xiang WANG Xiang JIANG Hai-tao

丁康俊 赵成龙 胡长玉

DING Kang-jun ZHAO Cheng-long HU Chang-yu

(黄山学院生命与环境科学学院, 安徽 黄山 245041)

(College of Life and Environment Science, Huangshan University, Huangshan, Anhui 245041, China)

摘要:采用甲醇回流提取、梯度萃取得到正己烷萃取物、二氯甲烷萃取物、乙酸乙酯萃取物、正丁醇萃取物和水萃取物 5 个不同极性部分,以多酚含量、还原能力、对 1,1-二苯基-2-三硝基苯肼(DPPH)自由基的清除能力及抑制微生物生长为评价指标,研究其体外抗氧化和抑菌活性能力。结果表明:柳叶蜡梅叶多酚量较为丰富,乙酸乙酯萃取物含量最多,为 (309.5 ± 4.81) mg/g。柳叶蜡梅叶萃取物具有较强的抗氧化活性,其还原能力和对 DPPH 自由基清除能力随其浓度的增加而增强。甲醇、正己烷、二氯甲烷、乙酸乙酯、正丁醇和水萃取物对 DPPH 自由基清除能力的半数抑制浓度 (IC_{50}) 值分别为 1.24, 1.11, 0.61, 0.48, 0.98, 1.36 mg/mL。柳叶蜡梅叶萃取物对大肠杆菌、金黄葡萄球菌、枯草芽孢杆菌和绿脓杆菌均有抑制作用,二氯甲烷萃取物的抑菌活性最显著,其对 4 种受试菌的最低抑制浓度为 2 mg/mL。故柳叶蜡梅叶萃取物具有较好的抗氧化和抑菌特性,为进一步分离提取活性化合物提供依据。

关键词:柳叶蜡梅叶;极性;萃取物;抗氧化;抑菌

Abstract: *Chimonanthus salicifolicus* Hu leaves extracts were prepared by methanol circumfluence extraction. Five fractions were obtained by extraction with different polar solvents including n-hexane, dichloromethane, ethyl acetate, n-butanol and water. Then fractions

were detected by total polyphenol content, reducing power, scavenging DPPH free radical and antimicrobial activities. The results showed that all the fractions exhibited high content of total polyphenol, and ethyl acetate fraction had the highest phenolic compounds, with the content of (309.50 ± 4.81) mg/g. The fractions had strong antioxidative capacities such as reducing power and DPPH free radical scavenging ability. The fractions of methanol, n-hexane, dichloromethane, ethyl acetate, n-butanol and water had certain scavenging ability on DPPH free radical with IC_{50} of 1.24, 1.11, 0.61, 0.48, 0.98 and 1.36 mg/mL, respectively. The fractions also had the inhibiting effects on *E. coli*, *S. aureus*, *B. subtilis* and *P. aeruginosa*. Dichloromethane fraction presented the best antimicrobial effect than other fractions. Its MIC against four common bacterial strains was 2 mg/mL. In conclusion, the fractions have good antioxidant and antimicrobial activities, and this research was profitable for the further study of the separation of active compounds from *Chimonanthus salicifolicus* Hu leaves.

Keywords: *Chimonanthus salicifolicus* Hu leaves; different polarity fractions; antioxidant; antimicrobial activity

基金项目:安徽省高校自然科学研究重点项目(编号:KJ2017A398); 2016 年度安徽省大学生创新创业训练计划项目(编号: AH201610375055);博士人才引进启动基金项目(编号: 2016xkj004)

作者简介:吴永祥,男,黄山学院讲师,博士。

通信作者:胡长玉(1956—),男,黄山学院副教授,硕士。

E-mail: hcy@hsu.edu.cn

收稿日期:2017-04-01

柳叶蜡梅(*Chimonanthus salicifolicus* Hu)为蜡梅科蜡梅属半常绿灌木,是中国特有植物,主产于江浙皖南一带。柳叶蜡梅叶揉碎极芳香,可入药,是畲族民间常用的药材^[1],可用于治疗因感受风寒而引起的肚痛、腹胀、腹泻,或伤食所致的消化不良、腹部胀痛等^[2]。现代药理学表明:柳叶蜡梅叶中含有挥发油、生物碱、香豆素类、黄酮类、萜醌类等活性成分^[3-5],具有抗肿瘤、抗病毒、抗氧化、修复酒精性肝损伤及增强机体免疫等功效^[6-8]。目前国内外学者对柳叶蜡梅叶的研究主要集中在挥发油及其抗氧化方面^[3,9],对柳叶蜡

梅叶主要活性成分系统分离的研究仍然缺乏,比较全面的研究其抗氧化和抑菌性能尚未见报道。

现在抗氧化、抑菌的食品化学添加剂滥用又日趋严重,而柳叶蜡梅叶作为药食同源的天然植物,具有多种生物活性且无任何副作用,是研究开发新的抗氧化与抗菌药物的理想资源。本研究拟以柳叶腊梅叶为原料,采用甲醇回流提取、梯度萃取得到正己烷萃取物、二氯甲烷萃取物、乙酸乙酯萃取物、正丁醇萃取物和水萃取物 5 个不同极性部分,分析萃取物的多酚含量、还原能力、对 DPPH 自由基的清除能力及抑菌效果,为该植物活性成分的进一步分离及开发利用提供试验依据。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

1.1.1 材料与试剂

柳叶腊梅叶:2016 年 3 月于安徽省黄山市采集,新鲜,无病虫害;

大肠杆菌(*Escherichia coli*)、金黄色葡萄球菌(*Staphylococcus aureus*)、枯草杆菌(*Bacillus subtilis*)、绿脓杆菌(*Pseudomonas aeruginosa*):武汉大学微生物保藏中心;

二甲基亚砩、甲醇、正己烷、二氯甲烷、乙酸乙酯、正丁醇、三氯乙酸、三氯化铁、氯化钠、无水硫酸钠、铁氰化钾、苯酚、无水乙醇、无水碳酸钠等:分析纯,南京化学试剂有限公司;

蛋白胨、牛肉膏、琼脂:生物试剂,北京陆桥技术有限责任公司;

DPPH、V_c、丹宁酸、Folin-Ciocalteu 试剂、对羟基苯甲酸丙酯(Propylparaben, PP):美国 Sigma 公司。

1.1.2 主要仪器设备

全波长酶标仪:SpectraMax-190 型,美国 Molecular Devices 公司;

电子天平:FA2004N 型,上海精密科学仪器有限公司;

旋转蒸发仪:EV341 型,北京莱伯泰科仪器有限公司;

电热恒温水浴锅:HWS-24 型,上海一恒科学仪器有限公司;

鼓风干燥箱:GRX20 型,上海精宏实验设备有限公司;

台式高速微量离心机:TG16A 型,上海卢湘仪离心机仪器有限公司;

生物安全柜:BHC-1300IIB2 型,苏州安泰技术有限公司;

不锈钢立式电热蒸汽消毒器:YM50Z 型,上海三申医疗器械有限公司;

智能生化培养箱:SPT-P250A 型,安徽佳创医疗器械有限公司。

1.2 试验方法

1.2.1 柳叶腊梅叶不同极性萃取物的制备 新鲜柳叶腊梅叶清水洗净后,60 ℃烘干至恒重,粉碎成粉末。取柳叶腊梅叶粉末 80 g,加入甲醇 400 mL,60 ℃恒温回流提取 3 h,抽滤得甲醇提取液,滤渣用甲醇以同样方法重复提取 2 次。合并

3 次滤液,于 50 ℃下减压浓缩回收溶剂,得到甲醇提取物(methanol extract, MeOH)27.87 g。再依次用不同溶剂进行萃取^[10-12],分别减压浓缩回收溶剂,冷冻干燥得到柳叶蜡梅叶的正己烷萃取物(*n*-hexane fraction, Hexane)6.82 g、二氯甲烷萃取物(dichloromethane fraction, CH₂Cl₂)0.84 g、乙酸乙酯萃取物(ethyl acetate fraction, EtOAc)0.45 g、正丁醇萃取物(*n*-butanol fraction, BuOH)5.57 g 和水萃取物(water fraction, H₂O)13.6 g。按式(1)计算各萃取物的提取率。

$$T = \frac{W_s}{W_0} \times 100\% , \tag{1}$$

式中:

T——各萃取物的提取率,%;

W_s——各萃取物浓缩干燥后的重量,g;

W₀——甲醇提取物的重量,为 27.87 g。

1.2.2 总多酚含量测定 根据文献[13~15],采用 Folin-Ciocalteu 法修改如下:取 0.000,0.025,0.050,0.100,0.150,0.200 mL 单宁酸(1 mg/mL),将溶液定容至 1 mL,制成待测液。取 0.05 mL 各待测液和 0.05 mL Folin-Ciocalteu 试剂(0.25 mol/L),反应 3 min 后,加入 1 mL 0.7 mol/L 碳酸钠溶液,30 ℃静置 1 h 显色,精确吸取 0.2 mL 于酶标仪 750 nm 处测定吸光度。同时将 Folin-Ciocalteu 试剂换成去离子水作为空白对照组,绘制质量浓度—吸光值的标准曲线。按同法测定柳叶蜡梅叶不同萃取物的多酚含量,其中 1 g 萃取物中的多酚含量以单宁酸当量(tannic acid equivalent, TAE)计。

1.2.3 还原能力的测定 参考文献[16~17]修改如下:取 0.1 mL 不同浓度的柳叶蜡梅叶萃取物(0.0,0.2,0.4,0.6,0.8,1.0 mg/mL)与 0.1 mL pH 6.6 磷酸缓冲溶液、0.1 mL 1%铁氰化钾溶液混合,50 ℃水浴反应 20 min,冷却后加入 0.1 mL 10%三氯乙酸,3 000 r/min 离心 15 min,取上清液 0.1 mL,加入超纯水 0.1 mL 与 0.01 mL 0.1%三氯化铁,静置 10 min 后于酶标仪 700 nm 波长处测定吸光值。同时将铁氰化钾溶液替换成 0.1 mL 去离子水作为空白对照组。以 V_c为阳性对照,重复 3 次,取平均值。

1.2.4 DPPH 自由基清除能力的测定 参考文献[18~20]修改如下:取 0.1 mL 不同浓度的柳叶腊梅叶萃取物(0.00,0.05,0.10,0.20,0.40,0.60,0.80,1.00 mg/mL),加入 0.05 mL 2 mol/L 的 DPPH 溶液,混匀,避光反应 10 min,于 517 nm 处测定样品吸光值(A_s)。样品对照组为 99.9%乙醇与萃取物混合测定吸光值(A_{SB}),空白组为 DPPH 溶液与二甲基亚砩混合测定吸光值(A_C),空白对照组为 99.9%的乙醇与二甲基亚砩混合测定吸光值(A_{CB})。以 V_c为阳性对照,重复 3 次,取平均值。按式(2)计算 DPPH 自由基清除率。

$$I = \left(1 - \frac{A_s - A_{SB}}{A_C - A_{CB}}\right) \times 100\% , \tag{2}$$

式中:

I——DPPH 自由基清除率,%;

A_s——样品组吸光值;

A_{SB} ——样品对照组吸光值;
 A_C ——空白组吸光值;
 A_{CB} ——空白对照组吸光值。

1.2.5 抑菌特性研究

(1) 菌种活化及菌悬液制备:将大肠杆菌、金黄葡萄球菌、枯草芽孢杆菌和绿脓杆菌接种到试管培养基斜面进行活化,于 37℃ 恒温培养箱中培养 24 h。长出菌落后,在无菌操作台内各挑取已活化好的菌种接种到无菌生理盐水中,配置各菌悬液浓度约为 $10^6 \sim 10^7$ CFU/mL^[21-22]。

(2) 抑菌试验:滤纸片法。参考文献[23]修改如下:在超净工作台中,将灭菌好的培养基倒入已灭菌的培养皿中,约 15~20 mL,冷却凝固后,背面划线,编号,倒放在 37℃ 培养箱中培养 2 h 后,在超净工作台内取菌悬液 0.1 mL 于培养皿中,用涂布棒涂布均匀。吸取 0.01 mL 不同浓度的柳叶蜡梅叶萃取物 (0, 2, 4, 6, 8, 10 mg/mL) 加在滤纸片中央,37℃ 倒置培养 24 h 后测量抑菌圈直径,出现抑菌圈所对应的柳叶蜡梅萃取物浓度即为最小抑菌浓度。以萃取物的溶剂 (二甲基亚砜) 为空白对照,以 1 mg/mL 对羟基苯甲酸丙酯 (Propylparaben, PP) 为阳性对照,重复 3 次,取平均值。

1.3 统计学分析

所得数据以平均值±标准差表示,运用 SPSS 18.0 软件对试验结果进行统计分 (One-way ANOVA),利用邓肯氏多重比较对差异显著性进行比较分析, $P<0.05$ 表示差异显著。

2 结果与分析

2.1 不同极性萃取物的多酚含量

单宁酸的标准曲线回归方程为: $y=0.001\ 5x+0.012\ 8$ (其中 x 表示丹宁酸质量浓度 $\mu\text{g/mL}$, y 表示吸光值), $R^2=0.998\ 7$,在 0~0.2 mg/mL 时,丹宁酸质量浓度与其吸光度线性关系良好,该方程可用于柳叶蜡梅叶萃取物多酚含量测定。

由表 1 可知,由于溶剂极性不同对萃取物的得率、萃取物的成分组成有较大的影响,其中水相、正己烷相、正丁醇相的提取率较高 (分别为 48.80%, 24.47%, 19.99%)。多酚含量从大到小排序为 乙酸乙酯相>正丁醇相>甲醇相>水相>二氯甲烷相>正己烷相,其中乙酸乙酯相从甲醇提取物中分离的酚类高达 (309.5 ± 4.81) mg/g。

表 1 不同极性萃取物的提取率和多酚含量[†]
Table 1 The extraction yields and content of polyphenol compounds of different polarity fractions of *Chimonanthus salicifolicus* Hu leaves

萃取物	提取率/%	多酚含量/(mg·g ⁻¹)
MeOH	34.84	196.70±4.10 ^c
Hexane	24.47	132.05±4.17 ^f
CH ₂ Cl ₂	3.01	145.30±1.98 ^c
EtOAc	1.61	309.50±4.81 ^a
BuOH	19.99	233.60±3.96 ^b
H ₂ O	48.80	175.15±1.06 ^d

[†] 同列不同字母表示在统计学上具有显著差异 ($P<0.05$)。

2.2 不同极性萃取物的还原能力

由图 1 可知,柳叶蜡梅叶不同极性萃取物均表现出不同程度的还原能力,在 0.2~1.0 mg/mL 时,随着萃取物浓度的增加,其还原能力不断增强,且呈明显的计量依赖关系。还原力从大到小排序为 乙酸乙酯相>正丁醇相>水相>甲醇相>二氯甲烷相>正己烷相,当浓度为 1.0 mg/mL 时,还原能力吸光值分别为 0.91 ± 0.01 , 0.51 ± 0.04 , 0.46 ± 0.013 , 0.44 ± 0.01 , 0.31 ± 0.01 , 0.29 ± 0.02 , 在同浓度条件下 V_c 的吸光值为 1.39 ± 0.02 , 表明乙酸乙酯萃取物具有较强的还原能力。

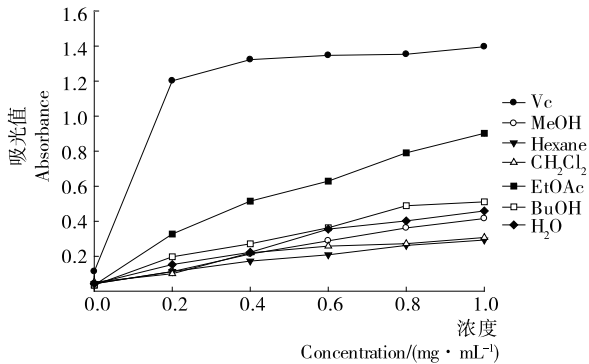


图 1 不同极性萃取物的还原能力
Figure 1 Reducing power of different polarity fractions of *Chimonanthus salicifolicus* Hu leaves

2.3 不同极性萃取物的 DPPH 自由基清除能力

由图 2 可知,萃取物都有较强的抗氧化能力,在 0.05~1.0 mg/mL 时,柳叶蜡梅叶萃取物对 DPPH 自由基的清除能力与萃取物浓度呈显著正相关。当乙酸乙酯萃取物浓度为 1.0 mg/mL 时,对 DPPH 自由基的清除率可达 91.62%,在同浓度条件下 V_c 的清除能力为 94.20%,说明乙酸乙酯萃取物的抗氧化能力与 V_c 的相当。抗氧化活性从大到小排序为 乙酸乙酯相>二氯甲烷相>正丁醇相>正己烷相>甲醇相>水相,其 IC_{50} 值分别为 0.48, 0.61, 0.98, 1.11, 1.24, 1.36 mg/mL, 表明乙酸乙酯相的抗氧化能力最强。

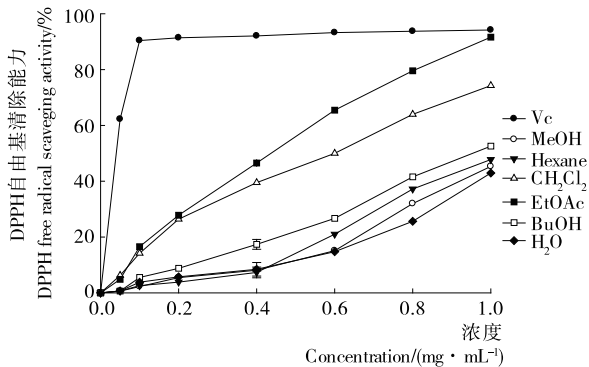


图 2 不同极性萃取物对 DPPH 自由基清除作用
Figure 2 Scavenging activity against DPPH free radicals of different polarity fractions of *Chimonanthus salicifolicus* Hu leaves

2.4 不同极性萃取物的抑菌作用

由表 2 可知,不同极性萃取物中二氯甲烷、正己烷、乙酸乙酯及甲醇提取物对大肠杆菌、金黄色葡萄球菌、枯草芽孢杆菌和绿脓杆菌均有一定的抑制作用,以二氯甲烷萃取物的抑菌活性最显著。当二氯甲烷萃取物浓度为 10 mg/mL 时,对大肠杆菌、金黄色葡萄球菌、枯草芽孢杆菌和绿脓杆菌的最大抑菌圈直径分别为(11.50±1.05),(11.33±0.82),(11.57±1.62),(11.25±1.04) mm,阳性对照 PP(终质量浓度为 1 mg/mL)的最大抑菌圈直径分别为(11.88±0.83),(12.17±0.98),(12.38±0.92),(11.88±0.64) mm。表明二

氯甲烷萃取物和对羟基苯甲酸丙酯对 4 种供试的革兰氏阳性细菌和革兰氏阴性细菌都有明显的抑制作用。

为了定量研究柳叶蜡梅叶萃取物对食品中常用菌的抑制活性,本试验进一步测定了其最小抑菌浓度(MIC),其中甲醇、正己烷、二氯甲烷、乙酸乙酯不同浓度萃取物对大肠杆菌、金黄色葡萄球菌、枯草芽孢杆菌和绿脓杆菌的抑制效果可见图 3。由图 3 可知,不同极性萃取物在一定浓度范围内对 4 种菌的抑制效果呈浓度依赖性增大。二氯甲烷和正己烷萃取物对 4 种菌的最低抑制浓度为 2 mg/mL;乙酸乙酯萃取物对大肠杆菌、金黄色葡萄球菌的最低抑制浓度为 6 mg/mL,

表 2 不同极性萃取物对 4 种菌的抑菌圈直径[†]
Table 2 Diameter of inhibitory zone of different polarity fractions of *Chimonanthus salicifolicus* Hu leaves against four common bacterial strains

萃取物	抑菌圈直径/mm			
	大肠杆菌	金黄色葡萄球菌	枯草芽孢杆菌	绿脓杆菌
CK	—	—	—	—
MeOH	9.25±0.46 ^b	10.17±0.75 ^{bc}	9.00±0.76 ^b	8.50±1.20 ^d
Hexane	11.00±1.10 ^a	11.17±0.98 ^{ab}	11.38±1.41 ^a	10.50±0.53 ^{bc}
CH ₂ Cl ₂	11.50±1.05 ^a	11.33±0.82 ^a	11.57±1.62 ^a	11.25±1.04 ^{ab}
EtOAc	8.45±0.79 ^b	9.83±0.75 ^c	9.88±0.64 ^b	9.88±1.36 ^c
BuOH	—	—	—	—
H ₂ O	—	—	—	—
PP	11.88±0.83 ^a	12.17±0.98 ^a	12.38±0.92 ^a	11.88±0.64 ^a

[†] 萃取物浓度 10 mg/mL;同列不同字母表示在统计学上具有显著差异 (P<0.05)。

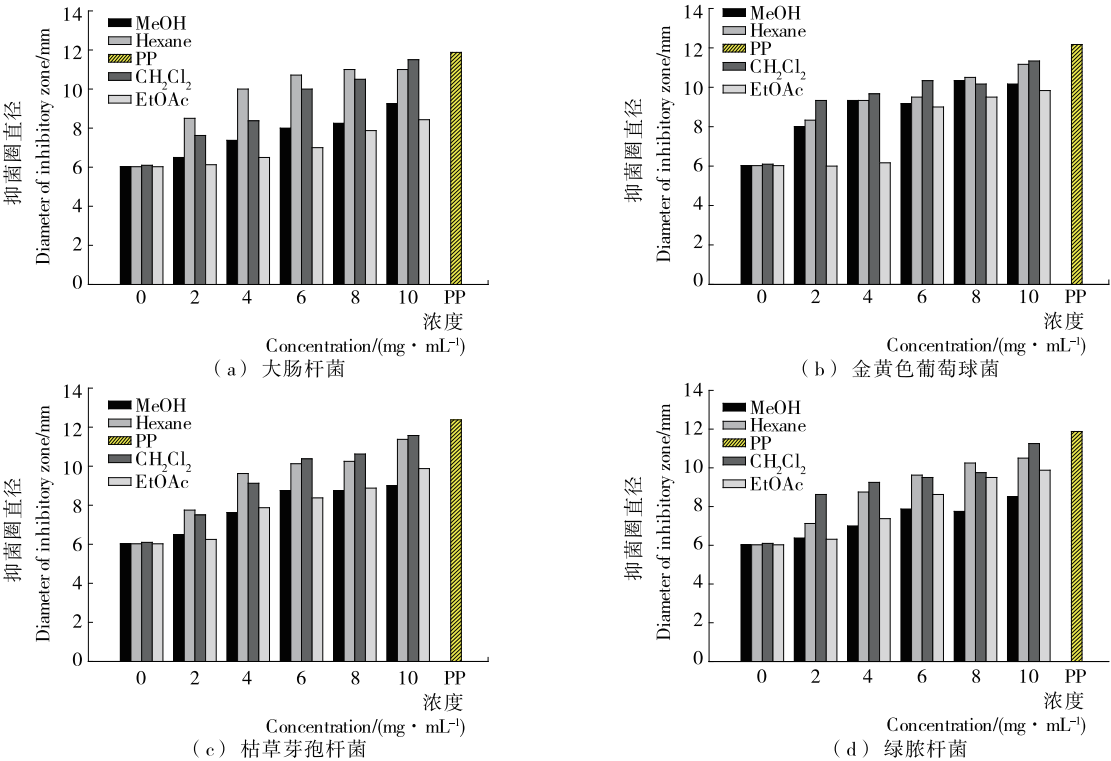


图 3 不同极性萃取物对 4 种菌的抑菌圈直径

Figure 3 Diameter of inhibitory zone of different polarity fractions of *Chimonanthus salicifolicus* Hu leaves against four common bacterial strains

对枯草芽孢杆菌和绿脓杆菌的最低抑制浓度为 4 mg/mL。通过各菌株抑制效果的比较可以看出,柳叶蜡梅叶不同极性萃取物对不同菌株的最小抑制浓度不同,其中二氯甲烷萃取物活性最强,可进一步通过柱层析分离二氯甲烷萃取物,能够筛选出针对不同菌株的有效活性成分,从而开发出有针对性的抑菌药物。

3 结论

经过以上试验,可知柳叶蜡梅叶不同极性萃取物的总酚含量丰富,均具有较强的还原能力和 DPPH 自由基清除能力。乙酸乙酯萃取物的抗氧化能力最为显著,可能与其高含量的总酚物质有关^[24-25]。体外抑菌试验显示,除正丁醇和水萃取物无明显抑制作用外,其它 3 种萃取物对大肠杆菌、金黄葡萄球菌、枯草芽孢杆菌和绿脓杆菌均具有显著的抑菌效果。本试验系统地探究了柳叶蜡梅叶萃取物的抗氧化和抑菌性能,填补了之前没有柳叶蜡梅叶主要活性成分分离及抗氧化、抑菌性能系列数据的空白,为该植物的进一步活性成分分离及开发利用提供试验依据。但柳叶蜡梅叶中总酚物质种类繁多,需更深入地分离纯化,以筛选出更加明确有效的抗氧化和抑菌活性成分。

参考文献

[1] 王丽, 鄢连和, 杨婷婷, 等. 畚药食凉茶研究进展[J]. 中国药师, 2015, 18(6): 1 004-1 006.

[2] 温慧萍, 雷伟敏, 吴宇锋, 等. 柳叶蜡梅茎叶水提物的“消导止泻”研究[J]. 中国现代中药, 2013, 15(11): 943-946.

[3] 陈向阳, 毕淑峰, 姚瑶, 等. 柳叶蜡梅叶挥发油体外抗氧化活性[J]. 光谱实验室, 2013, 30(3): 1 484-1 487.

[4] LI Dan, JIANG Yu-yan, JIN Zhi-min, et al. Isolation and absolute configurations of diastereomers of 8 α -hydroxy-T-murolol and (1 α , 6 β , 7 β)-cadinane-4-en-8 α , 10 α -diol from *Chimonanthus salicifolius* [J]. Phytochemistry, 2016, 122: 294-300.

[5] MA Guang-lei, YANG Guo-xun, XIONG Juan, et al. Salicifoxazines A and B new cytotoxic tetrahydro-1,2-oxazine-containing tryptamine-derived alkaloids from the leaves of *Chimonanthus salicifolius* [J]. Tetrahedron Letters, 2015, 56 (27): 4 071-4 075.

[6] 章瑶, 华金渭, 王秀艳, 等. 柳叶蜡梅叶氯仿部位化学成分的研究[J]. 中国中药杂志, 2013, 38(16): 2 661-2 664.

[7] 张健健, 陆天飞, 董彪, 等. 柳叶蜡梅提取物对小鼠急性酒精性肝损伤的保护作用[J]. 肝脏, 2014, 19(2): 112-114.

[8] 耿敬章. 柳叶腊梅叶总黄酮超声波协同复合酶提取及抗氧化活性的研究[J]. 食品工业科技, 2016, 37(21): 124-129.

[9] 周靖, 钱超, 宋莹莹, 等. 野生柳叶蜡梅叶挥发油成分的 GC-MS 分析及其抗氧化活性[J]. 华西药学杂志, 2013, 28(3): 238-240.

[10] 刘敏, 周茜, 郝红伟, 等. 复方中草药提取物抑菌活性成分研究[J]. 食品与机械, 2015, 31(4): 159-161.

[11] 马士巧, 马海乐, 潘忠礼, 等. 黑蜂蜂胶不同极性提取物的体外抗氧化活性[J]. 中国食品学报, 2016, 16(8): 53-58.

[12] 邢利沙, 陈海霞, 王佳, 等. 大蒜不同极性萃取物的体外抗氧化性[J]. 食品与发酵工业, 2015, 41(4): 219-222.

[13] SINGLETON Vernon L, ORTHOFER Rudolf, LAMUELA-RAVENTOS Rosa M. Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-ciocalteu reagent[J]. Method in Enzymology, 1999, 299(2): 152-178.

[14] 宋丽军, 候旭杰, 李雅雯, 等. 核桃青皮中多酚的超高压提取工艺优化[J]. 食品与机械, 2015, 31(4): 178-182.

[15] 赵国建, 王向东, 王焕. 提取方法对核桃青皮多酚提取效果的影响[J]. 农业工程学报, 2012, 28(1): 351-355.

[16] 刘安, 王振, 刘林峰, 等. 辣椒碱体外抗氧化作用研究[J]. 食品与机械, 2015, 31(6): 179-181.

[17] ZENG Ling-bin, ZHANG Zhong-rong, LUO Zhu-hua, et al. Antioxidant activity and chemical constituents of essential oil and extracts of *Rhizoma Homalomenae* [J]. Food Chemistry, 2011, 125(2): 456-463.

[18] 郭晓青, 陈晓靓, 杨春梅, 等. 紫苏叶活性成分及抗氧化性研究[J]. 食品与机械, 2014, 30(4): 179-181, 185.

[19] 陆敏佳, 蒋玉蓉, 袁俊杰, 等. 藜麦叶片多酚最佳提取工艺及其抗氧化性研究[J]. 中国粮油学报, 2016, 31(1): 101-106.

[20] 曹清明, 邬靖宇, 钟海雁, 等. 油茶叶中黄酮的超声辅助提取及其抗氧化活性研究[J]. 食品与机械, 2015, 31(3): 162-166.

[21] 谭才邓, 朱美娟, 杜淑霞, 等. 抑菌试验中抑菌圈法的比较研究[J]. 食品工业, 2016, 37(11): 122-125.

[22] 李钟美, 黄和. 高良姜提取物抑菌活性及稳定性研究[J]. 食品与机械, 2016, 32(2): 55-59.

[23] WILKINSON Jenny M, HIPWELL Michael, RYAN Tracey, et al. Bioactivity of *Backhousia citriodora*: antibacterial and antifungal activity[J]. Journal of Agricultural & Food Chemistry, 2003, 51(1): 76-81.

[24] GUO Tan, WEI Lei, SUN Juan, et al. Antioxidant activities of extract and fractions from *Tuber indicum* Cooke & Massee[J]. Food Chemistry, 2011, 127(4): 1 634-1 640.

[25] 周凯, 胡泉炎, 周沫霖, 等. 龙眼核提取物的体外抗氧化及抑菌活性研究[J]. 食品与机械, 2015, 31(4): 167-171.

(上接第 26 页)

[14] 王迎辉, 卢晓霆, 常启龙. 啤酒废酵母制备 1,6-二磷酸果糖的研究[J]. 食品科技, 2008, 33(11): 231-233.

[15] STRATHEN J N, JONES E W, BROACH J R. The molecular biology of the yeast *Saccharomyces*: Life cycle and inheritance [M]. New York: Cold Spring Harbor Laboratory Press, 1981: 43-48.

[16] 严小琼, 黄思思, 覃香香, 等. 热带假丝酵母产生子囊孢子的条件及单倍体分离的研究[J]. 基因组学与应用生物学, 2013, 32(2): 201-206.

[17] 龚熠, 伍时华, 易弋, 等. 酿酒酵母子囊孢子单倍体形成和制备的研究[J]. 中国酿造, 2011(9): 80-84.

[18] 李祥, 彭莉, 王毅, 等. 酵母自溶研究[J]. 中国酿造, 2001(5): 17-19.

[19] 王镜岩, 朱圣更, 徐长法. 生物化学[M]. 北京: 高等教育出版社, 2002: 63-65.

[20] 冀照君, 孙波, 迟玉杰, 等. 方波脉冲电穿孔法提高酵母菌细胞通透性的条件优化[J]. 食品科学, 2010, 31(15): 50-54.