

## 海南槿果藤叶提取物的抗氧化及抑菌活性研究

李花<sup>1</sup>, 张鹏<sup>1,2</sup>, 邢梦玉<sup>1</sup>, 赵辉<sup>2</sup>, 骆焱平<sup>1\*</sup><sup>1</sup>海南大学热带农林学院, 海口 570228; <sup>2</sup>天津商业大学生物技术与食品科学学院, 天津 300134

**摘要:** 为了评价药用植物海南槿果藤的抗氧化活性及抑菌活性, 本实验通过气相色谱与质谱联用技术(Gas chromatography-mass spectrometry, GC-MS)分析鉴定了海南槿果藤叶片甲醇提取物的化学成分, 采用紫外-可见分光光度法测定了海南槿果藤甲醇提取物的总多酚、总黄酮含量、DPPH 自由基、ABTS 自由基、羟基自由基和超氧阴离子的清除作用; 以及槿果藤氯仿相萃取物对三种食源性致病细菌和六种植物病原真菌的抑制作用。实验结果表明: 海南槿果藤叶片甲醇提取物中含量最多的是酯类(45.03%)和杂环类(33.74%), 其中丁基-4-庚烷基-邻苯二甲酸酯(20.58%)为主要的单组物质。海南槿果藤甲醇提取物中总多酚含量为1.93%, 总黄酮含量为2.3%; 进一步研究表明海南槿果藤甲醇提取物对 DPPH 自由基和 ABTS 自由基有一定的清除能力, 其 IC<sub>50</sub> 分别为 0.454 mg/mL 和 0.297 mg/mL; 而对羟基自由基和超氧阴离子有较强的清除能力, IC<sub>50</sub> 分别为 0.937、2.261 mg/mL, 分别比芦丁和 TBHQ 标准品低。除此之外, 海南槿果藤氯仿相萃取物对三种食源性致病细菌和六种植物病原真菌均有一定的抑制作用, 其中对革兰氏阴性菌(大肠杆菌和铜绿假单胞菌)抑制效果较明显; 同时对葡萄溃疡病菌抑制作用最强, 抑制率为 43.97%, 其次是新暗色柱节孢, 抑制率为 37.5%。

**关键词:** 槿果藤; 抗氧化; 抑菌活性

中图分类号: R931.6

文献标识码: A

DOI: 10.16333/j.1001-6880.2017.11.017

Antioxidant and Antibacterial Activities of *Capparis zeylanica* Leaf ExtractLI Hua<sup>1</sup>, ZHANG Peng<sup>1,2</sup>, XING Meng-yu<sup>1</sup>, ZHAO Hui<sup>2</sup>, LUO Yan-ping<sup>1\*</sup><sup>1</sup>Institute of Tropical Agriculture and forestry of Hainan University, Haikou 570228, China;<sup>2</sup>Institute of Biotechnology and Food Science of Tianjin University of Commerce, Tianjin 300134, China

**Abstract:** In order to evaluate the antioxidant activity and antibacterial activity of the medicinal plants *Capparis zeylanica* Linn., the chemical constituents of the methanol extracts of *C. zeylanica* were determined by GC-MS. The total polyphenols and flavonoids components, as well as the clearance rate of DPPH radical, ABTS radical, hydroxyl radical and superoxide anion radical were detected with UV-Visible spectrophotometric methods. In addition, the inhibitory effect on three foodborne pathogenic bacteria and six plant pathogenic fungi were also determined. The results of GC-MS analysis showed that the major component of methanol extracts were esters (45.03%), followed by heterocyclic (33.74%) and butyl-4-heptyl-o-xylene acid ester (20.58%) was the main single component material. The total phenolics content of the methanol extracts was 1.93% and the total flavonoid content was 2.3%. Further studies showed that the methanol extracts of *C. zeylanica* had certain scavenging ability on DPPH and ABTS free radicals, the IC<sub>50</sub> were 0.454 mg/mL and 0.297 mg/mL, respectively, while the hydroxyl radical and superoxide anion were stronger and the IC<sub>50</sub> were 0.937 mg/mL and 2.261 mg/mL, respectively, which were lower than those of rutin and TBHQ. Furthermore, the chloroform phase extracts of *C. zeylanica* had certain inhibitory effect for three food-borne pathogenic bacteria and six plant pathogenic fungi. The inhibitory rate of the chloroform phase extracts of *C. zeylanica* to *Lasiodiplodia theobromae* was the highest with 43.97%, followed by *Neoscytalidium dimidiatum*, the inhibition rate was 37.5%.

**Key words:** *Capparis zeylanica* Linn.; antioxidation; antibacterial activity

海南槿果藤(*Capparis zeylanica* Linn., CZ)为白花菜科槿果藤属植物, 又名牛眼睛<sup>[1]</sup>, 主要分布于

亚热带及热带地区。槿果藤属植物在我国大约有30种, 广泛分布的新疆、西藏、广西、云南和海南等地; 槿果藤属植物多为藤本或藤状灌木, 具互生的单叶, 叶片常全缘, 叶柄基部有锐利钩刺一对, 果实圆球形, 果柄细长, 形似鼓褪, 故有槿果藤之称<sup>[2]</sup>。

收稿日期: 2017-07-04 接受日期: 2017-09-01

基金项目: 海南省自然科学基金(20163064)

\* 通信作者 Tel: 86-136-48634489; E-mail: yanpluo2012@hainu.edu.cn

印度和意大利等国的研究者对 CZ 进行了初步研究。将 CZ 的花蕊作为一种调味品,在地中海地区被人民广泛使用。药理作用表明,槌果藤有清热解毒、祛风止痛、润肺止咳等功效<sup>[3]</sup>。发现槌果藤果实乙醇提取物和水溶液对小鼠学习记忆功能有改善作用<sup>[4]</sup>,有助于提高智力和减缓智力衰退;CZ 叶片的乙醇提取物和水提取物在中性粒细胞粘附试验,对绵羊红细胞的体液反应和延迟型超敏反应实验中展现出较好的免疫调节作用,并且能够阻碍环磷酰胺药物诱导的骨髓抑制<sup>[5]</sup>;另有研究表明 CZ 叶片的甲醇提取物能够明显地改善盐酸-乙醇诱导的胃溃疡和阿司匹林加幽门结扎诱导的胃溃疡<sup>[6]</sup>。研究表明,免疫反应和胃溃疡与机体的氧化损伤有一定的关系<sup>[7]</sup>,而 CZ 提取物有可能是通过抗氧化途径发挥作用,而目前关于 CZ 抗氧化的研究相对匮乏;同时槌果藤提取物对食源性致病细菌和植物致病真菌的研究缺乏系统的报道。为此,我们用甲醇提取 CZ 活性成分,测定了 CZ 甲醇提取物中总多酚和总黄酮含量,采用清除 DPPH、ABTS 和羟基自由基等方法测定了 CZ 甲醇提取物的抗氧化活性,并且进一步探索了 CZ 氯仿相萃取物对于三种食源性致病细菌和六种热带植物致病真菌的抑制活性。这一研究结果丰富了海南槌果藤的生物活性研究,为海南槌果藤活性成分的进一步深入研究以及开发利用做铺垫。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

#### 1.1.1 供试植物

海南槌果藤 (*Capparis zeylanica* Linn.), 采自海南省三亚崖城中棉所 (N18°18'3.05", E109°31'54.13"), 经中国科学院棉花研究所陈弟鉴定。

#### 1.1.2 供试菌种

食源性致病细菌:金黄色葡萄球菌 (*Staphylococcus aureus*, SA), 大肠杆菌 (*Escherichia coli*, *E. coli*) 和铜绿假单胞菌 (*Pseudomonas aeruginosa*, PA) 由天津商业大学生物技术与食品科学学院实验室提供。

芒果炭疽病菌 (*Colletotrichum gloeosporioides*, CG)、白菜黑斑病菌 (*Alternaria brassicae*, AB)、火龙果黑斑病菌 (*Bipolaris cactivora*, BC)、黄瓜枯萎病菌 (*Fusarium oxysporum* f. sp. *Cucumerinum*, FOC)、葡萄溃疡病菌 (*Lasiodiplodia theobromae*, LT) 和新暗色柱节孢 (*Neoscytalidium dimidiatum*, ND) 由海南大学热

带农林学院农药学实验室提供。

#### 1.1.3 试剂与仪器

试剂:1,1-二苯基-2-三硝基苯肼 (DPPH) 购于日本 TCI 公司;2,2-联氮-二(3-乙基-苯并噻唑-6-磺酸)二铵盐 (ABTS) 购于中国索莱宝公司;没食子酸标和芦丁准品购于上海麦克林生化科技有限公司;苯醚甲环唑和吡唑啉菌酯购于北京中保绿农业科技集团有限公司;叔丁基对苯二酚 (TBHQ)、福林酚试剂、亚硫酸铁等药剂为市售分析纯。

仪器:P300 超微量分光光度计 (德国 IMPLEN 公司);Legend micro 17R 离心机 (美国 Thermo 公司);RE100-Pro 旋转蒸发器 (美国 SCILOGEX 公司);HP-5ms 色谱柱,美国安捷伦公司。

### 1.2 实验方法

#### 1.2.1 海南槌果藤甲醇提取物制备

海南槌果藤叶片用清水冲洗 2 次后,在室内自然阴干,粉碎,称重后加入干粉 5 倍体积的甲醇于避光室温条件下浸提 3 d,反复浸提 3 次,使用旋蒸仪于 45 °C 减压浓缩,得到槌果藤甲醇提取物。将部分提取物悬于蒸馏水中,用氯仿萃取,回收溶剂,得到槌果藤氯仿萃取物。将上述提取物与萃取物真空干燥,密封保存于冰箱内备用。

#### 1.2.2 海南槌果藤甲醇提取物的 GC-MS 分析

海南槌果藤甲醇提取物用无水乙醇充分溶解,过滤,稀释至合适浓度后,采用 GC-MS (安捷伦 7890B-7000B) 技术对槌果藤甲醇提取物进行成分分析。气相色谱条件:安捷伦 HP-5ms (30 m × 0.25 mm, 0.25 μm) 色谱柱,程序升温:60 °C (保留 2 min), 6 °C/min 升至 300 °C (保留 10 min);载气:He, 进样口温度:250 °C,传输线温度:250 °C。

质谱条件:EI 源;电离电压:70 eV,离子源温度:250 °C,扫描范围:20 ~ 450 amu,进样量:1.0 μL。

#### 1.2.3 海南槌果藤甲醇提取物的总多酚含量测定

海南槌果藤甲醇提取物总多酚含量的测定参照文献<sup>[8]</sup>的方法。将没食子酸配制成 1 ~ 64 μg/mL 梯度浓度的标准溶液。移取 1 mL 的不同浓度的没食子酸溶液,加入 0.5 mL Folin-Ciocalteu 显色剂和 5 mL 蒸馏水,置于室温下反应 5 min 后加入 1 mL 碳酸钠 (5%, w/v) 溶液,混合均匀后,室温下避光放置 1 h;甲醇提取物用 50% 乙醇稀释,50% 无水乙醇作为空白对照,在 760 nm 波长处测定吸光度,每个处理重复三次,以没食子酸质量浓度为横坐标,吸光度

为纵坐标,绘制标准曲线。接着,配置 1 mg/mL 的槲果藤甲醇提取物溶液,进行上述实验,重复三次。根据标准曲线确定槲果藤甲醇提取物中总多酚含量(即每毫克干燥甲醇提取物中总多酚的百分比)。

#### 1.2.4 海南槲果藤甲醇提取物的总黄酮含量测定

海南槲果藤甲醇提取物总黄酮含量的测定参照文献<sup>[9]</sup>的方法。将标准品芦丁配制成质量浓度为 0.005、0.01、0.015、0.02、0.025 mg/mL 浓度梯度的标准溶液,取 0.5 mL 芦丁溶液,加入 0.1 mL 的氯化铝溶液(10%, w/v),再加入 0.1 mL 的乙酸钾溶液(1 mol/L),最后加入 4.3 mL 的蒸馏水定容至 5 mL。摇匀后置于室温下孵育 30 min,在 415 nm 的波长处测定吸光度,每个处理重复三次。以芦丁质量浓度为横坐标,吸光值为纵坐标,绘制标准曲线。将浓度为 1 mg/mL 的槲果藤甲醇提取物代入上述实验,测得对应的吸光度,根据测定芦丁标准曲线确定提取物总黄酮的含量。

#### 1.2.5 海南槲果藤甲醇提取物的清除 DPPH 自由基能力测定

海南槲果藤甲醇提取物对 DPPH 自由基清除能力的测定参照文献<sup>[10]</sup>的方法。称取 25.8 mg DPPH 至 100 mL 容量瓶中,用 98% 无水乙醇定容,得 258  $\mu\text{g}/\text{mL}$  的 DPPH 母液,再稀释成质量浓度为 51.5  $\mu\text{g}/\text{mL}$ 。将不同浓度的槲果藤甲醇提取物溶液分别取 2.0 mL 加入 10 mL 比色管中,再向每个比色管中平行加入 2.0 mL DPPH 溶液。轻轻振荡,使其充分混匀,将比色管避光反应 30 min,在波长 517 nm 处测定,记录最终吸光度 A 值。以无水乙醇作参比调零。同时设立对照组与空白组,再将芦丁标准品稀释成与甲醇提取物相同浓度的标准溶液作为阳性对照,代替甲醇提取物进行上述实验,每个处理重复 3 次。按以下公式计算各甲醇提取物对 DPPH 的清除率 I。

$$I/\% = \left(1 - \frac{A_i - A_j}{A_0}\right) \times 100$$

式中: $A_0$  为未加样的 DPPH(2.0 mL DPPH + 2.0 mL 无水乙醇)的吸光度; $A_i$  为甲醇提取物与 DPPH(2.0 mL DPPH + 2.0 mL 甲醇提取物)反应后的吸光度; $A_j$  为甲醇提取物空白(2.0 mL 无水乙醇 + 2.0 mL 甲醇提取物)的吸光度。

#### 1.2.6 海南槲果藤甲醇提取物的清除 ABTS 自由基能力测定

海南槲果藤提取物清除 ABTS 自由基的测定参

照文献<sup>[11]</sup>的方法。取 10 mL ABTS 溶液(7 mM)加入 10 mL 过硫酸钾溶液(2.45 mM),混合均匀后,黑暗放置 16 h,95% 乙醇稀释至 734 nm 吸光度为  $0.7 \pm 0.02$ ,黑暗密封保存备用。取 0.1 mL 不同浓度的槲果藤甲醇提取物(配置成 256、128、64、32、16  $\mu\text{g}/\text{mL}$  浓度)或不同浓度的芦丁(配置成 16、8、4、2、1  $\mu\text{g}/\text{mL}$  浓度)加入 3.9 mL ABTS 自由基溶液,反应 6 min,混匀后 734 nm 处测定吸光度  $A_s$ ,0.1 mL 50% 乙醇代替甲醇提取物测吸光度  $A_b$ 。每组试验平行重复三次。ABTS 自由基清除率计算公式如下:

$$\text{清除率 } I/\% = \frac{A_b - A_s}{A_b} \times 100$$

#### 1.2.7 海南槲果藤甲醇提取物的清除羟基自由基能力测定

清除羟基自由基的测定方法参照 Thoo YY 等的 Fenton 法<sup>[12]</sup>。通过测定水杨酸捕获  $\cdot\text{OH}$  所得到的产物,确定槲果藤甲醇提取物对  $\cdot\text{OH}$  的清除率。在 20 mL 比色管中依次精确吸取 2.5 mL  $\text{FeSO}_4$  溶液(2 mmol/L)和 2.5 mL 双氧水溶液(6 mmol/L),混合均匀后,加入 7.5 mL 水杨酸溶液(6 mmol/L),于 37  $^{\circ}\text{C}$  的恒温水浴中反应 15 min,之后测定溶液在 510 nm 处的吸光度,即为  $A_0$  值。将槲果藤甲醇提取物液稀释成 162、54、18、6、2  $\mu\text{g}/\text{mL}$  浓度,并精确吸取 4.0 mL 不同浓度槲果藤甲醇提取物分别加入  $A_0$  测定体系中,在 37  $^{\circ}\text{C}$  的恒温水浴中继续反应 15 min 后,分别测其 510 nm 的吸光度,即为  $A_x$  值。以芦丁(浓度为 256、64、16、4、1  $\mu\text{g}/\text{mL}$ )做阳性对照,每个处理重复三次。清除率计算公式:

$$\text{清除率 } I/\% = \frac{A_0 - A_x}{A_0} \times 100$$

#### 1.2.8 海南槲果藤甲醇提取物的清除超氧阴离子能力测定

采用邻苯三酚法测定海南槲果藤提取物对于超氧阴离子自由基的清除能力参照文献<sup>[13]</sup>的方法。取 4.5 mL 的 0.05 mol/L 磷酸盐缓冲液(pH = 8)置于 25  $^{\circ}\text{C}$  水浴中加热 20 min,分别加入 1 mL 不同浓度的槲果藤甲醇提取物液和 0.4 mL 邻苯三酚(25 mmol/L)溶液,混合后于 25  $^{\circ}\text{C}$  水浴中反应 5 min,后加入 1 mL HCl 溶液(80 mmol/L)终止反应,并摇匀,反应 3 min,在波长 420 nm 处测定吸光度为  $A_1$ ,之后测得甲醇提取物背景对照  $A_2$  和除甲醇提取物外其他体系溶液的背景对照  $A_3$ 。以叔丁基对苯二酚(TBHQ)(浓度为 1、2、4、8、32  $\mu\text{g}/\text{mL}$ )做阳性对

照,每个处理三次重复。清除率按以下公式计算:

$$\text{清除率 } I/\% = \left(1 - \frac{A_1 - A_2}{A_3}\right) \times 100$$

式中: $A_1$  为不同浓度槌果藤甲醇提取物加入体系反应后的吸光度; $A_2$  为磷酸盐缓冲液 + 1 mL 甲醇提取物 + 1 mL HCl 体系的吸光度; $A_3$  为磷酸盐缓冲液 + 1 mL 无水乙醇 + 0.4 mL 邻苯三酚溶液 + 1 mL HCl 体系的吸光度。

### 1.3 海南槌果藤氯仿相萃取物对食源性致病菌的抑制作用

将金黄色葡萄球菌,大肠杆菌和铜绿假单胞菌分别接种于牛肉膏蛋白胨培养基中,在恒温培养箱 37 °C 条件下培养 24 h。取出无菌生理盐水,吸取 1 mL 加入到活化的牛肉膏蛋白胨培养基上,轻轻地将生长在斜面上的细菌菌落刮下,涡旋振荡混匀。然后,用移液枪将菌悬液全部吸出并加入到已经装有 9 mL 无菌生理盐水的试管中,涡旋振荡混匀,制成待用的菌悬液。

抑菌试验采用滤纸片法<sup>[14]</sup>,测定槌果藤氯仿相萃取物抑制菌圈直径大小。将已灭过菌的牛肉膏蛋白胨培养基倾注于直径为 9 cm 的玻璃培养皿中(每个培养皿中约 15 ~ 20 mL),待培养基凝固后,用移液枪分别吸取三种细菌的菌悬液 1 mL 滴加到培养基中,使用涂布棒涂布均匀,静置 15 min,待菌液被培养基吸收。配置系列浓度槌果藤氯仿相萃取物溶液,将已灭过菌的直径为 6 mm 滤纸片加入到不同浓度槌果藤氯仿相萃取物的溶液中,待滤纸片充分吸收氯仿相萃取物后,在小烧杯壁上沥干,然后将滤纸片贴到含菌的培养皿中。每个培养皿中按照十字形对称贴 4 张滤纸片,其中一个是无菌生理盐水处理过的,另外三个为氯仿相萃取物溶液处理。接着,将贴好滤纸片的培养皿至于恒温培养箱中(37 °C)培养 24 h。采用十字交叉法测量抑菌圈的直径,记录结果,每个处理 3 个平行。考虑到交叉污染的缘故,不同细菌的实验过程单独进行。

### 1.4 海南槌果藤氯仿相萃取物对植物病原真菌的抑制作用

将 PDA 培养基分装在 50 mL 小三角瓶中,每瓶装 19 mL,共装 50 瓶,灭菌,待用。接着配置供试浓度 200 mg/mL 海南槌果藤氯仿相萃取物,称取 1 g 的槌果藤氯仿相萃取物,2 mL 二甲基亚砜和 3 mL 无菌水到离心管中,摇匀,配制成 200 mg/mL 母液,离心管上标记为 A;配置溶剂对照,二甲基亚砜配

制,吸取 2 mL 二甲基亚砜和 3 mL 无菌水到离心管中,摇匀,离心管上标记为 B;然后配置药剂对照,苯醚甲环唑和吡唑啉菌酯配制成 15 份的量,称 0.025 g 的苯醚甲环唑加入到含 5 mL 无菌水的离心管中,摇匀,待用,离心管上标记为 C1;用移液枪吸取 0.025 mL 的吡唑啉菌酯和 5 mL 无菌水加入到离心管中,摇匀,待用,离心管上标记为 C2;最后空白对照,为 PDA 培养基。

采用生长速率法测试海南槌果藤氯仿相萃取物的抑菌活性<sup>[15]</sup>,具体方法如下:将装有培养基的三角瓶放到微波炉中加热溶解,待冷却至 45 °C 左右,从离心管 A 中吸取 1 mL 氯仿相萃取物加入到 19 mL 的三角瓶中,配制成 10 mg/mL 含药培养基,摇匀,倒入到准备好的培养皿中,等冷却待用,培养皿都标记为 A;在离心管 B 中吸取 1 mL 加入到 19 mL PDA 培养基中,倒入到准备好的培养皿中,冷却待用,培养皿都标记为 B;在离心管 C1 中吸取 1 mL 加入到 19 mL PDA 培养基中,配置成 0.25 mg/mL 含药培养基,摇匀倒入到准备好的培养皿中,等冷却待用,培养皿都标记为 C1;在离心管 C2 中吸取 1 mL 加入到 19 mL PDA 培养基中,配置成 0.25 mg/mL 含药培养基,摇匀倒入到准备好的培养皿中,等冷却待用,培养皿都标记为 C2;空白对照直接将三角瓶中的 PDA 培养基倒入培养皿中,培养皿都标记为 D。实验重复 3 次,置于 25 °C 恒温下培养,采用十字交叉法定期测量供试植物病原真菌菌落直径,并计算菌丝生长抑制率。抑制率公式计算下:

### 1.5 统计学处理

实验数据以均数 ± 标准差( $\bar{x} \pm s$ )表示。统计分析采用 Excel、SPSS 17.0 等统计分析软件进行处理,采用单因素方差分析法比较各组间数据差异,以  $P < 0.05$  差异有统计学意义。

## 2 结果与分析

### 2.1 海南槌果藤甲醇提取物的 GC-MS 分析

用 GC-MS 技术对海南槌果藤甲醇提取物进行成分分析,得到总离子流图(图 1)。对总离子流图中各峰进行质谱扫描,根据质量频谱值与 NIST98 标准质谱数据库的标准图谱比对,鉴定出槌果藤甲醇提取物中 36 种物质的化学成分;按峰面积归一化法计算各化合物在槌果藤甲醇提取物易挥发成分中的百分含量,结果见表 1。

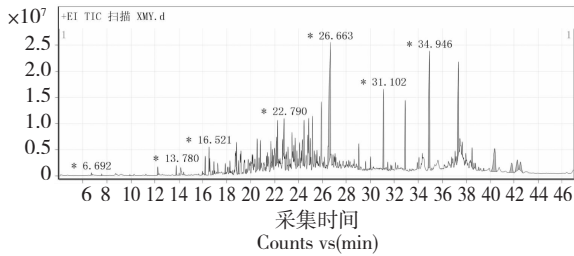


图1 海南槌果藤甲醇提取物的总离子流图

Fig. 1 Total ion chromatogram of *C. zeylanica* methanol extract

表中 GC-MS 数据匹配结果表明, 甲醇提取物中含量最多的是丁基-4-庚烷基-邻苯二甲酸酯(20.58%), 辛烷基-邻苯二甲酸酯和 2-辛烷基-对苯二甲酸酯含量次之, 分别为 14.43% 和 11.20%。由此可见海南槌果藤提取物中主要的易挥发成分为苯二甲酸酯类, 约占总量的 50%。此外, 乙酰柠檬酸三丁酯(6.02%) 和齐墩果烯-12-烯炔-3-醇-醋酸盐(5.70%) 的含量也超过 5%。根据化合物的类别划分, 槌果藤提取物中最多的是酯类和杂环类, 其次是羧酸类、酚类和醇类。

表1 海南槌果藤甲醇提取物的化学成分分析

Table 1 Chemical constituents of *C. zeylanica* methanol extract

序号 No.	保留时间 Retention time	化合物 Compound	分子式 Formula	分子量 Molecular mass	含量 Content (%)
1	6.692	(1S)-6,6-二甲基-2-亚甲基双环庚烷	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub>	136.23	0.21
2	7.551	4,5-二甲基-环戊烯-1-二丙醇	C <sub>10</sub> H <sub>18</sub> O	154.25	0.08
3	9.903	磷酸三乙酯	C <sub>6</sub> H <sub>15</sub> O <sub>4</sub> P	182.15	0.06
4	12.24	5-羟甲基糠醛	C <sub>6</sub> H <sub>6</sub> O <sub>3</sub>	126.11	0.53
5	13.78	2-甲基萘	C <sub>11</sub> H <sub>10</sub>	142.2	0.56
6	16.201	2,7-二甲基萘	C <sub>12</sub> H <sub>12</sub>	156.22	1.24
7	16.521	2,3-二甲基萘	C <sub>12</sub> H <sub>12</sub>	156.22	1.15
8	16.929	1,3-二甲基萘	C <sub>12</sub> H <sub>12</sub>	156.22	0.60
9	17.253	1,2-二甲基萘	C <sub>12</sub> H <sub>12</sub>	156.22	0.51
10	17.879	4-甲基-1,1'-联二苯	C <sub>13</sub> H <sub>12</sub>	168.23	0.52
11	18.268	1-异丙基-萘酚	C <sub>13</sub> H <sub>14</sub>	170.25	0.51
12	18.811	1,6,7-三甲基萘	C <sub>13</sub> H <sub>14</sub>	170.25	1.24
13	18.978	1-苯甲基-4-甲基苯	C <sub>14</sub> H <sub>14</sub>	182.26	0.80
14	20.176	2,4'-二甲基-1,1'-联二苯	C <sub>14</sub> H <sub>14</sub>	182.26	0.56
15	20.809	二甲苯基甲烷	C <sub>15</sub> H <sub>16</sub>	196.29	3.88
16	21.323	1-苯甲基-2,4-二甲苯	C <sub>15</sub> H <sub>16</sub>	196.29	0.59
17	22.149	3,5,3',5'-四甲基联苯	C <sub>16</sub> H <sub>18</sub>	210.31	1.78
18	22.244	2,2',5,5'-四甲基-1,1'-联二苯	C <sub>16</sub> H <sub>18</sub>	210.31	2.18
19	22.666	4-异丙基-1,1'-联二苯	C <sub>15</sub> H <sub>16</sub>	196.29	0.92
20	22.79	4-(3-羟丙氧基-1-烯炔基)-2-甲氧基苯酚	C <sub>10</sub> H <sub>12</sub> O <sub>3</sub>	180.2	3.07
21	23.609	1,5,6,7-四甲基-3-苯基环庚-2,6-二烯	C <sub>17</sub> H <sub>20</sub>	224.34	0.69
22	24.461	4,4'-丙烷基-2,2-二甲苯	C <sub>17</sub> H <sub>20</sub>	224.34	4.30
23	24.974	邻苯二甲酸二异丁酯	C <sub>16</sub> H <sub>22</sub> O <sub>4</sub>	278.34	1.34
24	25.539	3-甲基菲	C <sub>15</sub> H <sub>12</sub>	192.26	1.02
25	26.663	丁基-4-庚烷基-邻苯二甲酸酯	C <sub>19</sub> H <sub>28</sub> O <sub>4</sub>	320.42	20.58
26	29.03	硬脂酸甲酯	C <sub>19</sub> H <sub>38</sub> O <sub>2</sub>	298.5	1.35
27	31.102	乙酰柠檬酸三丁酯	C <sub>20</sub> H <sub>34</sub> O <sub>8</sub>	402.48	6.02
28	32.907	4-辛烷基-己二酸	C <sub>22</sub> H <sub>42</sub> O <sub>4</sub>	370.57	4.25
29	34.946	辛烷基-邻苯二甲酸酯	C <sub>19</sub> H <sub>28</sub> O <sub>4</sub>	390.56	14.43

续表 1 (Continued Tab. 1)

序号 No.	保留时间 Retention time	化合物 Compound	分子式 Formula	分子量 Molecular mass	含量 Content (%)
30	36.785	壬基-环己烷-1,2-二羧酸	$C_{26}H_{48}O_4$	424.66	1.01
31	37.364	2-辛烷基-对苯二酸酯	$C_{24}H_{38}O_4$	390.56	11.20
32	38.493	邻苯二甲酸酯	$C_{28}H_{46}O_4$	446.66	1.25
33	40.393	齐墩果烯-12-烯炔-3-醇-醋酸盐(3.β)-	$C_{32}H_{52}O_2$	468.75	5.70
34	41.81	羽扇豆醇	$C_{30}H_{50}O$	426.72	1.99
35	42.268	齐墩果烯-12-烯炔-3-醇-醋酸盐	$C_{32}H_{52}O_2$	468.75	2.28
36	42.527	20(29)-烯炔-3-羽扇豆醇,醋酸盐(3.β)	$C_{32}H_{52}O_2$	468.75	1.62

## 2.2 海南槌果藤甲醇提取物中总多酚和总黄酮含量

没食子酸的拟合回归方程为  $Y = 0.0099X + 0.0096$ ,  $R^2 = 0.9993$ 。根据回归方程,利用槌果藤甲醇提取物(1 mg/mL)的吸光度计算得到每毫克槌果藤叶片甲醇提取物中总多酚含量相当于 19.33  $\mu\text{g}$  没食子酸,即槌果藤甲醇提取物中总多酚含量约为 1.93%。芦丁的拟合回归方程为  $Y = 0.02388X + 0.0220$ ,  $R^2 = 0.9932$ 。根据实验中每毫克槌果藤甲醇提取物(1 mg/mL)的吸光度计算出每毫克槌果藤叶片甲醇提取物总黄酮含量相当于 23.12  $\mu\text{g}$  芦丁,

即其总黄酮含量约为 2.3%。

## 2.3 海南槌果藤甲醇提取物对 DPPH 自由基清除作用

DPPH 在有机溶剂中能形成稳定的自由基体系,其在无水乙醇中呈紫色,在 517 nm 附近有强吸收峰<sup>[16]</sup>。当 DPPH 溶液中加入自由基清除剂时,DPPH 自由基中的孤对电子被配对,在最大吸收波长处的吸光度变小,颜色变浅,且这种颜色的变浅程度与配对电子数成剂量关系<sup>[17]</sup>。因此,可通过在此波长处吸光度的测定来评价自由基的清除作用。

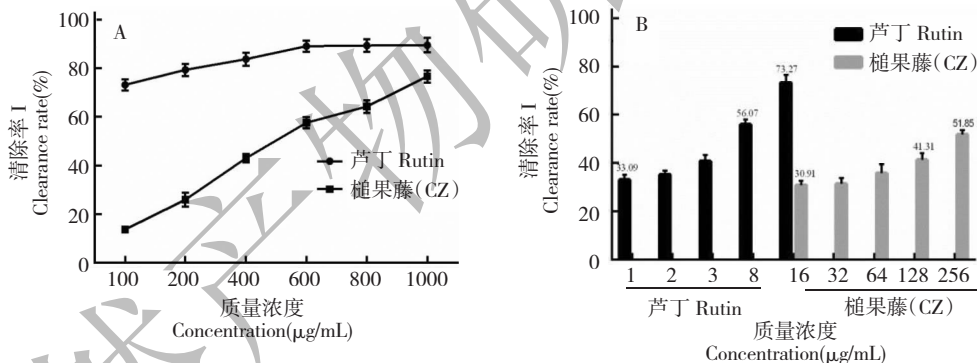


图 2 海南槌果藤甲醇提取物和芦丁对 DPPH 自由基 (A) 和 ABTS 自由基 (B) 的清除效果

Fig. 2 The scavenging effects of *C. zeylanica* extract and rutin on DPPH (A) and ABTS (B) free radicals

由图 2A 可以看出,海南槌果藤甲醇提取物和芦丁对 DPPH 均具有清除作用,且随着浓度的增加清除作用增大。当芦丁浓度为 100  $\mu\text{g}/\text{mL}$  时,其对 DPPH 自由基的清除率达到 73.17%;而相同浓度的槌果藤甲醇提取物对 DPPH 的清除率仅为 13.75%,随着浓度的提高,清除效果逐渐增强,呈现出较好的剂量依赖性。根据回归方程算出,槌果藤甲醇提取物浓度为 454  $\mu\text{g}/\text{mL}$  时对 DPPH 自由基的半清除率能到达 50%,而芦丁浓度为 1  $\mu\text{g}/\text{mL}$  对 DPPH 自由基达到半数清除率 ( $\text{IC}_{50}$ )。可知,槌果藤

甲醇提取物对 DPPH 自由基的清除作用低于芦丁标准品。

## 2.4 海南槌果藤甲醇提取物对 ABTS 自由基清除作用

ABTS 经氧化后生成稳定的蓝绿色阳离子自由基 ABTS,如果体系汇总含有抗氧化物质,则会与 ABTS 发生反应而使反应体系褪色,然后在 734nm 处检测 ABTS 自由基测吸光度的变化,即可测定并计算出甲醇提取物的总抗氧化能力<sup>[18]</sup>。

由图 2B 可以看出,槌果藤甲醇提取物和芦丁



对 ABTS 均具有清除作用,且随着浓度的增加清除作用增大。槲果藤甲醇提取物在浓度为 16  $\mu\text{g}/\text{mL}$  时对 ABTS 自由基的清除率仅为 30.91%,当浓度提升至 256  $\mu\text{g}/\text{mL}$  时,清除率达到 51.85%;而芦丁在浓度为 1  $\mu\text{g}/\text{mL}$  时,其对 ABTS 自由基的清除率达到 32.2%;当芦丁浓度提高至 16  $\mu\text{g}/\text{mL}$  时,清除率达到 73.27%。槲果藤甲醇提取物浓度为 256  $\mu\text{g}/\text{mL}$  时已经达到对 DPPH 自由基的半清除率( $\text{IC}_{50}$ ),根据回归方程算出,而芦丁对 ABTS 自由基的半清除率( $\text{IC}_{50}$ )为 5  $\mu\text{g}/\text{mL}$ 。因此,槲果藤甲醇提取物对 ABTS 自由基的清除作用低于芦丁标准品。

## 2.5 海南槲果藤甲醇提取物对羟基自由基清除作用

芳环羟基化反应是目前被广泛采用的一种羟基自由基的检测方法<sup>[19]</sup>。由于羟自由基易攻击芳环

化合物产生羟基化合物,因此可用水杨酸捕集 Fenton 反应体系(即硫酸亚铁与双氧水共同反应体系)中的  $\cdot\text{OH}$  并生成有色物质,此有色物质在 562 nm 下有最大吸收峰<sup>[20]</sup>。

由图 3A 可以看出,海南槲果藤甲醇提取物和芦丁对羟基自由基均有清除作用,且随着浓度的增加清除作用增大,槲果藤在浓度为 2 ~ 162  $\mu\text{g}/\text{mL}$  范围内,清除率为 19.17% ~ 38.72%,而芦丁在浓度为 1 ~ 256  $\mu\text{g}/\text{mL}$  范围内,抑制率为 18.15% ~ 35.19%。根据回归方程算出,槲果藤甲醇提取物浓度为 0.937 mg/mL 达到对羟自由基的半清除率( $\text{IC}_{50}$ ),而芦丁对羟自由基的半清除率( $\text{IC}_{50}$ )为 42.11 mg/mL,可知,槲果藤甲醇提取物对羟自由基的清除作用比芦丁标准品效果好。

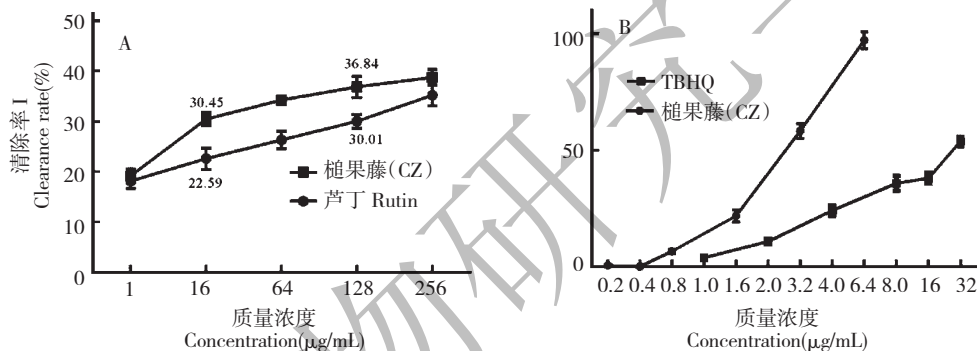


图 3 海南槲果藤甲醇提取物和芦丁对羟基自由基(A)和超氧阴离子(B)的清除效果

Fig. 3 The scavenging effects of *C. zeylanica* extract and rutin on hydroxyl radicals (A) and superoxide anion (B)

## 2.6 海南槲果藤甲醇提取物对超氧阴离子清除作用

采用邻苯三酚法测定超氧阴离子自由基体系<sup>[21]</sup>。槲果藤与 TBHQ 对超氧阴离子的清除作用如图 3B 所示,槲果藤甲醇提取物和 TBHQ 对超氧阴离子均有清除作用,且随着浓度的增加清除作用增大,槲果藤在浓度为 0.2 ~ 6.4  $\mu\text{g}/\text{mL}$  范围内,抑

制率为 0.65% ~ 97.09%,而 TBHQ 在浓度为 1 ~ 32  $\mu\text{g}/\text{mL}$  范围内,抑制率仅为 3.88% ~ 53.72%。根据回归方程算出,槲果藤甲醇提取物浓度为 2.261 mg/mL( $\text{IC}_{50}$ )时达到对超氧阴离子半数清除率,而 TBHQ 浓度为 6.822 mg/mL 达到对超氧阴离子的半数清除率。相比较而言,槲果藤甲醇提取物对超氧阴离子的清除作用比 TBHQ 标准品效果好。

表 2 海南槲果藤提取物及标准品的抗氧化活性比较

Table 2 Comparison of the antioxidant activity of *C. zeylanica* extracts and standards

测试指标 Test specification	槲果藤回归方程 Regression equation of CZ	槲果藤 $\text{IC}_{50}$ 值 $\text{IC}_{50}$ of CZ (mg/mL)	标准品回归方程 Standard regression equation	标准品 $\text{IC}_{50}$ 值 Standard $\text{IC}_{50}$ (mg/mL)
DPPH 自由基 DPPH radicals	$Y = 1.7456X + 5.5986$ ( $R^2 = 0.9864$ )	0.454	$Y = 0.6861X + 6.3037$ ( $R^2 = 0.9703$ )	0.001 (芦丁 rutin)
ABTS 自由基 ABTS radicals	$Y = 0.478X + 3.818$ ( $R^2 = 0.9105$ )	0.297	$Y = 0.8703X + 4.39$ ( $R^2 = 0.8937$ )	0.005 (芦丁 rutin)
羟基自由基 Hydroxyl radicals	$Y = 0.281X + 4.165$ ( $R^2 = 0.8298$ )	0.937	$Y = 0.205X + 4.052$ ( $R^2 = 0.9214$ )	42.11 (芦丁 rutin)
超氧阴离子 Superoxide anion	$Y = 3.0504x - 5.232$ ( $R^2 = 0.9196$ )	2.261	$Y = 1.1307X + 0.665$ ( $R^2 = 0.9601$ )	6.822 (TBHQ)

根据表 2 数据可以看出,海南槌果藤甲醇提取物达到对 DPPH 自由基和 ABTS 自由基半数清除率 (IC<sub>50</sub>) 的浓度分别为 0.454 mg/mL 和 0.297 mg/mL,高于芦丁对 DPPH 自由基和 ABTS 自由基的半数清除率的浓度(分别为 0.001 mg/mL 和 0.005 mg/mL),表明槌果藤甲醇提取物对两者的清除能力低于芦丁;而槌果藤甲醇提取物浓度为 0.012 mg/mL 达到对羟基自由基的半数清除率,低于芦丁 42.11 mg/mL,表明槌果藤对羟基自由基清除作用强于芦丁;槌果藤甲醇提取物浓度为 2.261 mg/mL 时达到对超氧阴离子自由基的半数清除率,低于 TBHQ 的 6.822 mg/mL,表明槌果藤对羟基自由基清除作用强于 TBHQ。

### 2.7 海南槌果藤氯仿相萃取物对食源性致病细菌的抑制作用

由表 3 可知,当海南槌果藤氯仿相萃取物的浓度为 10 mg/mL 时,对金黄色葡萄球菌没有形成抑菌圈,而对大肠杆菌和铜绿假单胞菌的抑菌圈直径分别为 9.7 ± 1.1 mm 和 9.3 ± 0.4 mm。当浓度提高到 50 mg/mL 时,萃取物才对金黄色葡萄球菌产生

明显的抑制作用,抑菌圈直径分别为 13.7 ± 0.3 mm;随着浓度逐渐提高,萃取物对于金黄色葡萄球菌的抑菌作用逐渐加强。山梨酸钾是常用的食物防腐剂,其对于食源性致病细菌有一定的抑制作用,表 3 表明 200 mg/mL 的山梨酸钾对于这 3 种菌展现出了较高的抑制活性,其对于金黄色葡萄球菌的抑菌圈直径分别为 22.6 ± 0.9 mm 和 21.4 ± 0.5 mm。

槌果藤氯仿相萃取物对于大肠杆菌的抑菌效果明显优于金黄色葡萄球菌,当浓度提高至 50 mg/mL 时,其对大肠杆菌的抑菌圈提高到了 17.6 ± 1.7 mm;随着萃取物浓度提高至 100、200 和 400 mg/mL,其对于大肠杆菌的抑菌圈直径分别提高至 18.4 ± 0.8 mm,20.6 ± 2.7 mm 和 22.7 ± 1.6 mm。相对于大肠杆菌,萃取物对于铜绿假单胞菌的抑制效果更好一些;随着萃取物浓度由 10 mg/mL 逐渐提高至 400 mg/mL,其对于铜绿假单胞菌的抑菌圈分别由 9.3 ± 0.4 mm 提升至 15.5 ± 0.7 mm,17.1 ± 1.0 mm,21.2 ± 0.9 mm 和 23.3 ± 1.1 mm。而对照品山梨酸钾对于大肠杆菌和铜绿假单胞菌的抑菌圈分别为 25.9 ± 2.3 mm 和 27.6 ± 0.5 mm。

表 3 海南槌果藤氯仿相萃取物对三种食源性细菌的抑制作用 (n = 3,  $\bar{x} \pm s$ )

Table 3 The inhibition rates of chloroform fraction of *C. zeylanica* on three food-borne pathogenic bacteria (n = 3,  $\bar{x} \pm s$ )

供试菌株 Tested strain	抑菌圈直径 inhibitory zone diameter (mm)					山梨酸钾 Potassium Sorbate (mg/mL)
	槌果藤氯仿相萃取物浓度 Concentration of chloroform extracts of CZ (mg/mL)					
	10	50	100	200	400	
金黄色葡萄球菌 (SA)	0	13.7 ± 0.3 e	14.7 ± 2.5 e	15.4 ± 2.5 e	17.3 ± 1.3 d	22.6 ± 0.9 b
大肠杆菌 ( <i>E. coli</i> )	9.7 ± 1.1 g	17.6 ± 1.7 d	18.4 ± 0.8 d	20.6 ± 2.7 c	22.7 ± 1.6 b	25.9 ± 2.3 a
铜绿假单胞菌 (PA)	9.3 ± 0.4 f	15.5 ± 0.7 e	17.1 ± 1.0 d	21.2 ± 0.9 b	23.3 ± 1.1 b	27.6 ± 0.5 a

注:不同字母代表存在显著性差异, P < 0.05。 Note: Different letters indicated significant difference, P < 0.05.

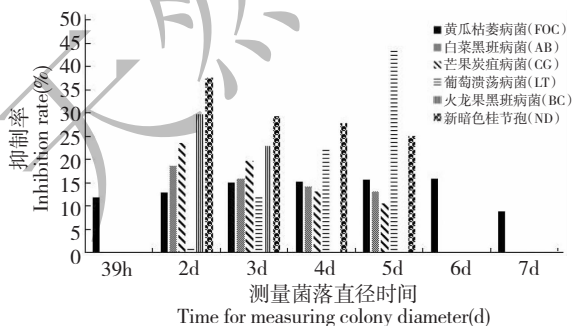


图 4 海南槌果藤氯仿相萃取物在不同时间对六种植物病原真菌的抑制作用

Fig. 4 The inhibitory effect of chloroform fraction of *C. zeylanica* on 6 plant pathogenic fungi in different times

### 2.8 海南槌果藤氯仿相萃取物对植物病原真菌的抑制作用

本实验中槌果藤甲醇提取物是粗提物,后经氯仿,乙酸乙酯等萃取后作为萃取物进行抑菌实验,但在其中发现氯仿效果是最佳,因此选择了槌果藤氯仿萃取物进行实验。采用生长速率法<sup>[16]</sup>测定海南槌果藤氯仿相萃取物对植物致病菌的抑制活性,其抑制率结果如图 4 所示:

由图 4 看出,海南槌果藤氯仿相萃取物对新暗色柱节孢、火龙果黑斑病菌、芒果炭疽病菌和白菜黑斑病菌的抑制作用在第 2 d 达到最大值,随后抑制率逐渐下降;而对葡萄溃疡病菌从第 2 d 开始表现出抑



制作用,第5 d 达到最大值。槲果藤氯仿相萃取物在第5 d 时抑制作用最强的是葡萄溃疡病菌,抑制率达43.97%,其次是新暗色柱节孢,抑制率达37.5%,但槲果

藤氯仿相萃取物对芒果炭疽菌、白菜黑斑病、火龙果黑斑病菌、和黄瓜枯萎病菌的抑制作用较差。

表4 海南槲果藤氯仿相萃取物对六种植物病原真菌的抑制率( $n=3, \bar{x} \pm s$ )

Table 4 Theinhibition rates of chloroform fraction of *C. zeylanicaon* 6 pathogenic fungi( $n=3, \bar{x} \pm s$ )

靶标菌 Target fungi	时间 Time (d)	槲果藤氯仿相 Chloroform fraction of CZ	二甲基亚砷 DMSO	苯醚甲环唑 Difenoconazole	吡唑啉菌酯 Zolpidem
黄瓜枯萎病菌(FOC)	3	15.06 ± 0.03 * * ▲▲	5.54 ± 0.07 ▲▲	61.45 ± 0.07 * *	48.17 ± 0.05 * * ▲▲
白菜黑斑病菌(AB)	3	15.82 ± 0.07 * * ▲▲	13.78 ± 0.04 ▲▲	59.95 ± 0.11 * *	59.58 ± 0.10 * *
芒果炭疽病菌(CG)	3	19.73 ± 0.09 ▲▲	19.61 ± 0.03 ▲▲	46.81 ± 0.07 * *	81.13 ± 0.06 * * ▲▲
葡萄溃疡病菌(LT)	3	12.43 ± 0.13 * * ▲▲	2.21 ± 0.08 ▲▲	66.37 ± 0.10 * *	74.21 ± 0.12 * * ▲▲
火龙果黑斑病菌(BC)	3	23.04 ± 0.07 * * ▲▲	10.6 ± 0.06 ▲▲	84.33 ± 0.06 * *	72.93 ± 0.09 * * ▲▲
新暗色柱节孢(ND)	3	29.43 ± 0.09 * * ▲▲	0.93 ± 0.09 ▲▲	90.33 ± 0.05 * *	90.33 ± 0.07 * *

注:与二甲基亚砷溶剂对照组比较,\*  $P < 0.05$ , \*\*  $P < 0.01$ ;与苯醚甲环唑药剂对照组比较,▲  $P < 0.05$ ,▲▲  $P < 0.01$ 。

Note: Compared with DMSO solvent group, \*  $P < 0.05$ , \*\*  $P < 0.01$ ; Compared with difenoconazole reagent group, ▲  $P < 0.05$ , ▲▲  $P < 0.01$ .

表4 数据表明槲果藤氯仿相萃取物在第三天对于六种植物病原真菌菌丝生长的抑制作用。孵育3 d 后,除了芒果炭疽病菌,氯仿相萃取物对另外5种病原真菌的抑制比二甲基亚砷溶剂对照组有极显著的作用,但抑制率都低于苯醚甲环唑和吡唑啉菌酯药剂对照组。而苯醚甲环唑与吡唑啉菌酯两者之间的抑制作用比较,除了对白菜黑斑病菌和新暗色柱节孢的抑制结果不显著之外,对其他的病原菌的抑制效果极为显著,且对黄瓜枯萎病菌和火龙果黑斑病,苯醚甲环唑要比吡唑啉菌酯的抑制率高,而对芒果炭疽病菌和葡萄溃疡病菌结果则相反。除此之外,可看到氯仿相萃取物对新暗色柱节孢的抑制作用最高,抑制率达29.4%,而对葡萄溃疡病菌抑制作用最小,抑制率仅为12.4%。

研究表明多酚和黄酮类化合物是植物中普遍存在的,具有重要生物意义的两类化合物。通常情况下,多酚和黄酮类化合物在植物体中与糖结合成苷类(小部分以游离态的形式存在)<sup>[22,23]</sup>。由于植物多酚类化合物结构中邻位酚羟基极易被氧化,并且拥有较强的自由基捕获能力,这使得多酚类化合物具有较强的自由基清除能力和抗氧化活性。另有研究表明,多酚类化合物能够阻断自由基链式反应,进而抑制机体脂质过氧化;并且多酚类化合物能够螯合金属离子( $Fe^{2+}$  和  $Cu^{2+}$  等)<sup>[24]</sup>,这使得此类化合物能够与蛋白相互作用,如能够与肠道中消化酶结合进而达到减肥的效果。槲果藤甲醇提取物对于羟基自由基和超氧阴离子展现出较强的抗氧化活性与其中多酚和黄酮类化合物成分有较高相关性。进一

步的实验表明,槲果藤叶片氯仿相萃取物对于三种食源性细菌和六种植物致病真菌有一定的抑制活性。有研究表明,槲果藤属植物干果水提物和醇提取物对大肠杆菌和绿脓杆菌有较强的抑制活性;提高甲醇提取物浓度能够杀死以上两种细菌<sup>[25]</sup>。

### 3 结论

本研究采用 GC-MS 分析技术对海南槲果藤叶片甲醇提取物进行成分分析,主要成分是丁基-4-庚烷基-邻苯二甲酸酯和辛烷基-邻苯二甲酸酯;槲果藤化学提取物中最多的是酯类(45.03%),其次是杂环类(33.74%)、羧酸类(14.86%)、酚类(3.58%)、醇类(2.07%)。

通过 DPPH 和 ABTS 自由基清除研究、Fenton 反应和邻苯三酚法测定了海南槲果藤甲醇提取物体外抗氧化活性,并与标准品芦丁及 TBHQ 的抗氧化活性进行比较。实验数据表明,槲果藤清除 DPPH 自由基的  $IC_{50}$  值为 0.454 mg/mL,高于芦丁的 0.001 mg/mL。槲果藤甲醇提取物清除 ABTS 自由基的  $IC_{50}$  值为 0.297 mg/mL,高于芦丁的 0.005 mg/mL。槲果藤甲醇提取物清除超氧阴离子的  $IC_{50}$  值为 2.261 mg/mL,低于 TBHQ 的  $IC_{50}$  值 6.822 mg/mL。通过分析数据得出,槲果藤甲醇提取物对羟基自由基和超氧阴离子清除效果明显,均分别优于标准品芦丁和 TBHQ,且量效关系更为明显,同时对 DPPH 自由基和 ABTS 自由基具有较高的清除效果。以上抗氧化实验数据表明,槲果藤具有潜在的抗氧化能力,为开发天然抗氧化剂提供理论基础。但其体内

抗氧化活性如何有待进一步研究。

海南槌果藤氯仿相萃取物对三种食源性致病细菌和六种植物病原真菌均有一定的抑制作用,其中槌果藤氯仿相萃取物对于大肠杆菌和铜绿假单胞杆菌有较好的抑制效果;对于植物病原真菌而言,抑制作用最高的是葡萄溃疡病菌,抑制率达 43.97%,其次是新暗色柱节孢,抑制率达 37.5%,但槌果藤氯仿相萃取物对芒果炭疽菌、白菜黑斑病、火龙果黑斑病菌、和黄瓜枯萎病菌的抑制作用较差。

#### 参考文献

- 1 Yang T(杨涛), Liu YQ(刘玉琴), Wang CH(王长虹), *et al.* Advances on investigation of chemical constituents, pharmacological activities and clinical applications of *Capparis spinosa*. *Chin J Chin Mat Med*(中国中药杂志), 2008, 33: 2453-2457.
- 2 South China Institute of Botany(华南植物研究所): Flora of Hainan (海南植物志), Beijing: Science Press, 1964. Vol I.
- 3 Amit L, Kumar C A, Vikas G, *et al.* Phytochemistry and pharmacological activities of *Capparis zeylanica*; an overview. *Int J Res Ayurv Pharm*, 2010, 1(2): 384-389.
- 4 Solanki R, Kumar CA, Singh R. Effect of leaf extract of *Capparis zeylanica* Linn. on spatial learning and memory in rats. *J Nat Med*, 2012, 66: 600-607.
- 5 Ghule BV, Murugananthan G, Nakhat PD, *et al.* Immunostimulant effects of *Capparis zeylanica* Linn. leaves. *J Ethnopharmacol*, 2006, 108: 311-315.
- 6 Sini KR, Sinha BN, Aiyolu R. Protective effects of *Capparis zeylanica* Linn. leaf extract on gastric lesions in experimental animals. *Avicenna J Med Biotechnol*, 2011, 3: 31-35.
- 7 Li CZ(李彩贞), Zhou YL(周元陵). Advance on relationship among oxidative stress, heat shock proteins, and immunity. *J Environ Occup Med*(环境与职业医学), 2014, 31: 570-573.
- 8 Ju AH(鞠爱华), Guo XF(郭晓凤). Determination of total flavonoids in *Vicia amoena* Fisch and *Vicia pseudo-orobus* Fisch. *et C. A. Mey. Tradit Chin Med Mater* (中药材), 1988, 11(6): 33-34.
- 9 Peng CL(彭长连), Chen SW(陈少薇), Lin ZF(林植芳). By scavenging organic free radical antioxidant capacity evaluation method of DPPH plant. *Prog Biochem Biophys*(生物化学与生物物理进展), 2000, 27: 658-661.
- 10 Yan J(颜军), Gou XJ(苟小军), Zhou QF(邹全付), *et al.* Determination of hydroxyl radical generating from Fenton reaction by spectrophotometry. *J Chengdu Univ, Nat Sci*(成都大学学报, 自科版), 2009, 28(2): 91-94.
- 11 Cheng LY(成兰英), Liang SF(梁书凤), Zhang ZQ(张志强). Antioxidant activity of *Ophiopogon japonicus* extracts by DPPH assay. *Fine Chem*(精细化工), 2012, 29: 871-874.
- 12 Thoo YY, Ho SK, Liang JY, *et al.* Effects of binary solvent extraction system, extraction time and extraction temperature on phenolic antioxidants and antioxidant capacity from mengkudu (*Morinda citrifolia*). *Food Chem*, 2010, 120: 290-295.
- 13 Zhang ZP(张自萍), Huang WB(黄文波), Liao GL(廖国玲), *et al.* Antioxidant activity of *Ophiopogon japonicus* extracts by DPPH assay. *Acta Bot Boreali-Occident Sin*(西北植物学报), 2007, 27: 859-863.
- 14 Shen XM(申晓慧). The study on inhibition of aloe extract to common food contamination microbiology. *J Agric*(农学学报), 2015, 5: 83-85.
- 15 Wang J(王静), Ye M(叶敏), Fan LM(范黎明), *et al.* Screening of cellulose degrading fungi by mycelium growth rate method. *Chin Agric Sci Bull*(中国农学通报), 2013, 29(33): 323-326.
- 16 Xiong SL(熊双丽), Lu F(卢飞), Shi MJ(史敏娟), *et al.* Advancement of evaluation methods about DPPH radical scavenging activity in screening antioxidant. *Sci Tech Food Ind*(食品工业科技), 2012, 33(8): 380-383.
- 17 Wen J(文镜), He SH(贺素华), Yang YY(杨育颖), *et al.* The *in vitro* experimental methods and principles for the elimination of free radicals by health functional foods. *Food Sci*(食品科学), 2004, 25: 190-195.
- 18 Yang YS(杨云舒), Jiang ZT(姜子涛), Li R(李荣). Evaluation of free radical scavenging ability and antioxidant activity of flavonoids from *Choerospondias axillaris* fruits using cell mode. *Food Sci*(食品科学), 2016, 37: 9-10.
- 19 Liu LM(刘立明), Liu LH(刘丽虹). Determination of hydroxyl radical in Fenton reaction by spectrophotometry. *J Hubei Univ, Nat Sci*(湖北大学学报, 自科版), 2002, 24(4): 326-328.
- 20 Zhu YC(朱玉昌), Jiao BN(焦必宁). Research progress on ABTS assay in determination of TAA in fruits and vegetables *in vitro*. *Food Ferment Ind*(食品与发酵工业), 2005, 31(8): 77-80.
- 21 Luo ZM(罗宗铭), Fang YX(方岩雄), Zhang H(张馄), *et al.* Comparison of antihydroxyl free radical for flavones and vitamin C. *Chin Grease*(中国油脂), 2003, 28(3): 58-60.
- 22 Liu XY(刘星雨), Zhou M(周敏), Sun TJ(孙体健). The pharmacological activity and separation and extraction of natural flavonoids. *Chin Reme Clin*(中国药物与临床), 2014, 5: 621-624.