

无花果干提取液抑菌活性的研究

郭紫娟, 张凤英, 董开发*, 陈沙

(江西农业大学 食品科学与工程学院, 江西 南昌 330045)

摘要: 研究不同提取条件下无花果中活性物质的抑菌作用。以常见致病菌和易污染食品的微生物为供试菌, 用抑菌圈直径来衡量抑菌效果, 二倍稀释法测最低抑菌浓度(MIC)。在单因素试验基础上进行均匀设计优化无花果干中抑菌活性物质的提取条件。在乙醇体积分数 55%、浸提温度 60 ℃、浸提时间 5 h、液固比 20 的提取条件下, 提取物的抑菌效果较好, 对金黄色葡萄球菌的 MIC 为 2.5 mg/mL, 对大肠杆菌、产气肠杆菌、酿酒酵母的 MIC 为 3.125 mg/mL, 对沙门氏菌、溶血性链球菌、志贺氏菌的 MIC 为 6.25 mg/mL; 无花果干水提液对黑曲霉有最大抑菌圈直径 16.0 mm。无花果干水提取物对真菌有较好的抑菌效果, 乙醇提取物具有明显的广谱抑菌效果。

关键词: 无花果干; 提取物; 抑菌; MIC

中图分类号: S482.2*92 文献标志码: A 文章编号: 1000-2286(2011)05-0999-07

Antimicrobial Activities of Fig Crude Extracts

GUO Zi-juan, ZHANG Feng-ying, DONG Kai-fa*, CHEN Sha

(College of Food Science and Engineering, Jiangxi Agricultural University, Nanchang 330045, China)

Abstract: Objective: To study the antimicrobial activities of dried fig crude extracts in different extracted conditions. Methods: Using universal bacteria and fungi as indicators in food, with oxford cup method the diameter of inhibition zone was measured and with double dilution method the minimum inhibitory concentration (MIC) was measured. And the optimal extraction conditions were obtained by uniform design. Results: the optimal technological parameters were at 55% ethanol volume fraction and at 60 ℃ for 5 h with liquid-solid ratio of 20, the MIC of extracts against *Staphylococcus aureus* was 2.5 mg/mL, the MIC of extracts against *Escherichia coli*, *Enterobacter aerogenes*, *Saccharomyces cerevisiae* was 3.125 mg/mL and the MIC of extracts against *Salmonella*, *Hemolytic Streptococcus*, *Shigella* was 6.25 mg/mL. The inhibition zone for *Aspergillus niger* reached 16.0 mm when water was taken as the extracting agent. Conclusion: water extracts of fig had an obvious inhibitory effect on fungi while ethanol extracts had a broad-spectrum effect on bacterium in vitro.

Key words: dried fig; extracts; inhibition; MIC

无花果系桑科植物, 落叶灌木或小乔木, 全国各地均有栽培。无花果干既是鲜食果品又是一种药材。果实含有丰富的糖类、蛋白质、氨基酸、有机酸、酶类以及微量元素, 可食率高达 92% 以上; 又具有健脾消食、润肠通便、降血脂、降血压、利咽消肿、补充营养、防癌抗癌等药食两用的功效^[1-9]。《本草纲目》载“无花果味甘平, 无毒, 主开胃, 止泻痢, 治五痔、咽喉痛。”目前, 国内外研究多集中在无花果的抗

收稿日期: 2011-05-05 修回日期: 2011-08-12

基金项目: 国家自然科学基金(31060226)

作者简介: 郭紫娟(1989—), 女, 硕士生, 主要从事食品化学与天然产物研究, E-mail: guozijuan89@126.com; * 通讯作者: 董开发, 副教授, E-mail: dkfdh@163.com。

癌抗肿瘤方面,它的抗癌功效也得到世界各国公认^[9-10]。然而,有关无花果干的提取液抑菌活性及抑菌效果方面研究较少。

本文以常见致病菌大肠杆菌、金黄色葡萄球菌、沙门氏菌、溶血性链球菌、志贺氏菌、产气肠杆菌和易污染食品的枯草芽孢杆菌、酿酒酵母、黑曲霉等微生物为供试菌,通过单因素试验和均匀试验,以抑菌圈直径为指标,研究无花果干提取物的抑菌作用和抑菌活性物质的提取条件。可让人们进一步了解无花果干作为药食两用果品的开发应用前景,以及为直接开发利用新型环境友好型抑菌剂和安全健康的高端食品防腐剂和药食两用的食品提供一定的理论参考。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 无花果干 浙江安吉产,由鲜无花果晾晒而成,未放任何添加剂。

1.1.2 供试培养基 牛肉膏蛋白胨培养基、PDA培养基、黄豆芽培养基^[11]。

1.1.3 菌种 大肠杆菌(*Escherichia coli*)、金黄色葡萄球菌(*Staphylococcus aureus*)、产气肠杆菌(*Enterobacter aerogenes*)、沙门氏菌(*Salmonella*)、溶血性链球菌(*Streptococcus hemolyticus*)、志贺氏菌(*Shigella*)、酿酒酵母(*Saccharomyces cerevisiae*)和黑曲霉(*Aspergillus niger*)均由江西农业大学食品科学与工程学院微生物实验室提供。

1.2 试验方法

1.2.1 菌悬液的制备 菌种活化之后用接种环挑取适量菌体或孢子放入无菌水中制成含菌量大于 10^6 CFU/mL的菌悬液或孢子悬浮液备用。

1.2.2 无花果干提取液的制备 水提取液的制备:称无花果干适量,表面消毒,碾碎后加适量水,60℃水浴浸提3h,过滤,滤液即无花果水提取液,放冰箱保存备用。

乙醇提取液的制备:称适量果干,表面消毒,破碎,以一定体积比例加入不同浓度的乙醇溶液,一定温度下水浴浸提若干小时,过滤得滤液,于旋转蒸发仪上蒸发除乙醇,得果干醇提液,于冰箱中4℃保存备用。

1.2.3 抑菌实验方法 牛津杯法^[12-14]。将牛津杯、移液管等器皿灭菌后,于无菌室中用移液管吸取0.1 mL菌悬液涂平皿,每皿放置3个牛津杯,再吸取无花果干提取液注满牛津杯,以无菌水为对照,每种菌设置2个平行。然后将平皿置于36℃培养箱(真菌28℃)中培养1~2d,按时取出。十字交叉法测量抑菌圈直径,数据取平均值。

判断标准:牛津杯直径为9 mm,抑菌圈直径大于10 mm才被评价为有抑菌效果,直径为0 mm表示提取液可能对供试菌有促进生长的作用。

1.2.4 乙醇提取液提取条件的研究 在单因素的基础上,对乙醇体积分数、浸提温度、浸提时间、液固比四个因素进行均匀设计优化提取工艺。混合水平均匀试验因素水平见表1。

表1 混合均匀设计因素水平 $U_{10}(10^2 \times 5^2)$

Tab.1 Mixed-level uniform design factor and level table U_{10}

因素 Factors	水平 Level									
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
A 乙醇体积分数/% Ethanol volume fraction	80	75	70	65	60	55	50	45	40	35
B 浸提温度/℃ Extraction temperature	30	35	40	45	50	55	60	65	70	75
C 浸提时间/h Extraction time	5	6	7	8	9					
D 液固比 Liquid-solid ratio	5	10	15	20	25					

1.2.5 最低抑菌浓度(MIC)测定方法^[15-17] 二倍稀释法。取均匀试验最佳提取条件下的无花果干品醇提液,配成50 mg/mL固形物的原液。在7支小试管中加入液体培养基各2 mL,第1管中加入上述样品原液2 mL,混匀后取2 mL加入第2管,依次倍比稀释,自第5管吸2 mL弃去,第6管作为阳性空白对照,第7管作为阴性空白对照。然后在前6管中加入事先制备好的菌悬液0.1 mL,混匀后放在适宜

温度的培养箱中培养,观察效果。

结果判断:在阳性对照管中有菌生长和阴性对照管无菌生长的条件下,以试验组管无菌生长的样品最低稀释度为 MIC。

2 结果与分析

2.1 2种提取剂对无花果干提取液抑菌活性影响

无花果干水提液和乙醇提液对各种微生物的抑菌效果见表2。

表2 无花果干提取液抑菌活性

Tab.2 The antibacterial circle diameter of dried fig extracts against microorganisms

提取剂 Extraction agent	料液比 Liquid - solid ratio	抑菌圈直径/mm Antibacterial circle diameter			
		大肠杆菌 <i>E. coli</i>	金黄色葡萄球菌 <i>S. aureus</i>	酿酒酵母 <i>S. cerevisiae</i>	黑曲霉 <i>A. niger</i>
水 Water	1:15	9.0	9.0	12.0	16.0
乙醇 Ethanol	1:15	13.0	14.5	11.0	15.0

从表2可知:无花果干60℃水提液抑制细菌的效果不显著,但对真菌的抑菌效果相对较好:对酿酒酵母为12.0 mm,对黑曲霉为16.0 mm。无花果干50%乙醇提取液对大肠杆菌、金黄色葡萄球菌的抑菌圈直径明显大于水提液,对酵母和黑曲霉的抑菌效果也较好。结果表明无花果水提液对真菌有较强的活性,而乙醇提取液具有一定的广谱抑菌效果。所以以乙醇为提取剂研究无花果干抑菌物质的最佳提取条件。

2.2 不同体积分数的乙醇对无花果干提取液抑菌活性的影响

设定提取温度60℃,提取时间3 h,料液比1:15,探讨不同体积分数的乙醇对果干提取液抑菌效果(表3)。

表3 乙醇体积分数对无花果干提取液抑菌活性的影响

Tab.3 Effect of ethanol volume fraction on the antibacterial activity of dried fig extracts

乙醇体积分数/% Ethanol volume fraction	抑菌圈直径/mm Antibacterial circle diameter			
	大肠杆菌 <i>E. coli</i>	金黄色葡萄球菌 <i>S. aureus</i>	酿酒酵母 <i>S. cerevisiae</i>	黑曲霉 <i>A. niger</i>
30	9.0	9.0	9.0	9.0
35	10.0	10.5	10.0	9.0
40	12.0	12.0	16.0	9.0
45	11.5	12.5	16.5	9.0
50	12.5	12.5	17.0	15.0
55	15.5	12.5	18.0	12.0
60	15.5	12.5	18.0	13.0
65	15.0	12.0	18.0	0
70	16.5	12.0	17.0	0
75	16.5	12.0	16.5	0
80	19.0	12.0	17.0	0
90	10.0	10.0	14.0	0

从表3数据可知,乙醇体积分数在40%~80%时提取液对前3种菌具有明显的抑菌效果:对大肠杆菌的抑菌直径达12.0~19.0 mm,对金黄色葡萄球菌为12.0~12.5 mm,对酿酒酵母为16.0~18.0 mm。当乙醇体积分数为50%~60%时,浸提液对黑曲霉表现出较强的抑制作用,最大抑菌圈直径为12.0~

15.0 mm。60%的乙醇提取液对各种供试菌的抑菌效果均较好。

2.3 温度对无花果干乙醇提取液抑菌效果的影响

以60%乙醇为溶剂,设定浸提时间为3 h,料液比1:15,探讨不同温度对无花果干提取液抑菌效果的影响(表4)。

表4 温度对无花果干乙醇提取液抑菌效果的影响

Tab.4 Effect of temperature on the antibacterial activity of dried fig ethanol extracts

浸提温度/℃ Extraction temperature	抑菌圈直径/mm Antibacterial circle diameter			
	大肠杆菌 <i>E. coli</i>	金黄色葡萄球菌 <i>S. aureus</i>	酿酒酵母 <i>S. cerevisiae</i>	黑曲霉 <i>A. niger</i>
25	9.0	10.5	10.5	0
35	19.0	12.5	13.5	0
45	19.5	13.5	15.0	10.0
55	18.5	14.0	16.5	13.0
60	18.5	14.5	13.0	13.0
65	14.0	14.0	11.5	11.0
70	11.0	15.5	10.0	10.0
75	9.0	15.0	10.0	9.0

从表4数据可知,当温度低于35℃,无花果干浸提液对4种菌的抑菌效果较差;当温度为35~60℃时,果干浸提液对各供试菌显示出良好的抑菌效果,对大肠杆菌的抑菌圈直径达18.5~19.5 mm,对金黄色葡萄球菌最大为15.5 mm;对酿酒酵母最大为16.5 mm。而提取液对黑曲霉的抑菌效果较差,仅在55~60℃时有13.0 mm的最大抑菌圈直径。

随温度的升高,无花果干中抑菌效果无明显的规律,笔者认为是由于抑菌活性物质的提取除了溶剂效应以外,虽有一定热效应,但同时也有部分活性物质受热而使活性降低,抑菌圈直径减小。尤其当温度超过75℃时,由于温度太高,乙醇挥发加剧,使整个溶剂系统极性过大,影响乙醇浸提效果,或者产生了挥发的物理变化,损失了部分抑菌活性物质,使得抑菌效果降低。

2.4 浸提时间对无花果干乙醇提取液抑菌活性的影响

以60%乙醇为提取剂,浸提温度55℃,设定液固比为15,探讨不同时间的无花果干提取液的抑菌效果(表5)。

表5 时间对无花果干提取液抑菌活性的影响

Tab.5 Effect of time on the antibacterial activity of dried fig ethanol extracts

浸提时间/h Extraction time	抑菌圈直径/mm Antibacterial circle diameter			
	大肠杆菌 <i>E. coli</i>	金黄色葡萄球菌 <i>S. aureus</i>	酿酒酵母 <i>S. cerevisiae</i>	黑曲霉 <i>A. niger</i>
2	15.0	10.5	12.5	16.0
3	16.5	15.5	12.5	14.0
4	16.5	15.5	14.5	14.0
5	17.5	14.5	14.5	9.0
6	18.5	14.0	15.0	9.0
7	20.0	16.5	14.6	9.0
8	19.5	16.5	14.5	9.0

从表5可知:随着浸提时间的延长,总体而言,在8 h内由于浸提时间相对较长时原料和溶剂之间的相互作用较彻底,使得抑菌活性物质溶出的较多,所以提取液对前3种菌的抑菌效果:浸提时间较长

时 抑菌圈直径相对更大。但对黑曲霉却是例外,在浸提时间为 2 h 提取液对黑曲霉有最大抑菌圈,直径达 16.0 mm,随后抑菌圈直径反儿随时间延长而变小。这有可能是因为对黑曲霉有抑制作用的活性物质需在相对较短的时间内提取,在 55 °C 下延长浸提时间会破坏抑制黑曲霉的活性物质从而导致抑菌效果的降低。由此可推测无花果干中含有多种有效的抑菌活性成分且提取条件各不相同。

2.5 液固比对无花果干提取液抑菌活性的影响

以 60% 的乙醇为提取剂,浸提温度为 55 °C,浸提时间为 7 h,探讨不同液固比对无花果干提取液抑菌活性的影响(表 6)。

表 6 液固比对无花果干提取液抑菌活性的影响

Tab.6 Effect of liquid – solid ratio on the antibacterial activity of dried fig ethanol extracts

液固比 Liquid – solid ratio	抑菌圈直径/mm Antibacterial circle diameter			
	大肠杆菌 <i>E. coli</i>	金黄色葡萄球菌 <i>S. aureus</i>	酿酒酵母 <i>S. cerevisiae</i>	黑曲霉 <i>A. niger</i>
2	14.5	16.5	12.0	13.0
5	15.0	15.0	14.5	15.0
10	16.5	15.0	14.0	12.5
15	19.0	20.0	15.5	9.0
20	14.5	15.5	13.0	9.0
25	13.0	14.0	13.5	9.0

从表 6 可知:液固比为 2 ~25,无花果干粗提液对几种菌(除黑曲霉外)均显示出良好的抑菌效果。在液固比 15 时大肠杆菌有最大抑菌圈直径 19.0 mm,金黄色葡萄球菌为 20.0 mm,酿酒酵母 15.5 mm,黑曲霉在液固比 5 时为 15.0 mm。抑菌效果由大到小:金黄色葡萄球菌、大肠杆菌、酿酒酵母、黑曲霉。

液固比不宜太低,也不宜太高。太低时难以保证无花果干中的抑菌活性物质转移到提取溶剂中,而且乙醇是挥发性物质,造成物料黏度过大,过滤困难,提取不完全,从而导致抑菌活性较低;太高会使抑菌物质浓度降低,降低抑菌效果。

2.6 均匀设计优化无花果干中抑菌活性物质提取条件

单因素试验表明,乙醇浓度、浸提时间、浸提温度、液固比均对无花果干中的抑菌活性物质的提取具有不同程度的影响。由于试验因素对各种供试菌均有一定的抑菌效果但无明显的抑菌活性趋势,且各种抑菌活性物质的最佳提取条件不同,再加上试验因素水平较多,以及微生物实验的不确定性。本研究仍以抑菌圈直径为指标,增加沙门氏菌、溶血性链球菌、产气肠杆菌、志贺氏菌为供试细菌,探讨无花果干乙醇提取液的抑菌活性并采用均匀设计对提取条件进行优化(表 7)。

表 7 混合水平均匀设计因素结果 $U_{10}(10^2 \times 5^2)$

Tab.7 Mixed – level uniform design factors and results U_{10}

试验号 Test number	因素水平 Factor and level				抑菌圈直径/mm Antibacterial circle diameter							
	1 A	3 B	4 C	5 D	大肠杆菌 <i>E. coli</i>	金黄色葡萄球菌 <i>S. aureus</i>	沙门氏菌 <i>Salmonella</i>	溶血性链球菌 <i>S. hemolytic</i>	志贺氏菌 <i>Shigella</i>	产气肠杆菌 <i>E. aerogenes</i>	酿酒酵母 <i>S. cerevisiae</i>	黑曲霉 <i>A. niger</i>
1	1	3	2	3	10.0	21.5	13.0	9.5	14.0	9.0	11.0	9.0
2	2	6	4	5	10.0	12.0	9.0	11.5	9.0	11.5	9.0	9.0
3	3	9	1	2	12.0	14.0	9.0	9.0	9.0	9.5	9.0	9.0
4	4	1	3	5	13.5	13.0	9.5	9.0	9.0	11.8	10.0	9.0
5	5	4	5	2	11.5	14.0	9.5	13.0	9.0	14.5	10.0	9.0
6	6	7	1	4	17.5	22.0	11.0	14.2	14.0	12.6	14.0	9.0
7	7	10	3	1	15.5	15.0	9.5	14.0	0	15.4	9.0	9.0
8	8	2	5	4	12.0	13.0	9.0	14.0	9.0	11.0	10.0	9.0
9	9	5	2	1	12.5	13.0	11.0	11.0	10.5	13.0	12.0	9.0
10	10	8	4	3	14.0	20.0	11.0	13.5	13.0	17.1	10.0	9.0

通过 DPS 数据分析软件对表 7 中对乙醇体积分数、浸提温度、时间、液固比回归方程的建立,发现回归方程在统计学上不显著,以及对软件拟合出的较好提取条件进行试验验证发现不能达到预期效果。采用直观分析法,从表 7 中的数据可知,在第 6 号试验提取条件下即乙醇体积分数 55%,浸提温度 60 ℃,时间 5 h,液固比 20 时,所得提取液抑菌活性相对较好。8 种供试菌有 6 种菌(即大肠杆菌、金黄色葡萄球菌、溶血性链球菌、志贺氏菌、酿酒酵母)在此条件下有最大抑菌圈。其中,无花果干醇提取液对金黄色葡萄球菌的抑菌效果最好,抑菌圈直径达到最大值 22.0 mm;沙门氏菌在 1 号试验组中有最大抑菌圈直径 13.0 mm。产气肠杆菌在第 10 号试验条件下有最大抑菌圈直径 17.1 mm。

已有研究^[8-9]表明,无花果干的果实含丰富的富马酸(Fumaric acid, C₄H₄O₄),具有较强的抗菌作用,与琥珀酸配合作用,对金黄色葡萄球菌、绿脓杆菌等有明显的抑制作用;对溶血性链球菌、肺炎双球菌有中敏至高敏的抑制作用,可减轻由上述病原菌感染所致的各种疾病。与本文中无花果干乙醇提取液对金黄色葡萄球菌和溶血性链球菌的抑菌试验效果(最大抑菌圈直径 22.0 mm 和 14.2 mm)相符合。

2.7 最低抑菌浓度(MIC)的测定

本试验采用均匀设计中的第 6 号试验所得乙醇提取液测定各供试菌的最低抑菌浓度(表 8)。

表 8 无花果干醇提取液最低抑菌浓度(MIC)试验

Tab. 8 Minimum inhibition concentration test of dried fig ethanol extracts against strains

供试菌 Test strains	样品浓度/(mg · mL ⁻¹) Sample concentration					阳性对照 Positive	阴性对照 Negative
	12.5	6.25	3.125	2.5	1.25		
金黄色葡萄球菌 <i>S. aureus</i>	-	-	-	-	+	+	-
大肠杆菌 <i>E. coli</i>	-	-	-	+	++	+	-
产气肠杆菌 <i>E. aerogenes</i>	-	-	-	+	++	+	-
酿酒酵母 <i>S. cerevisiae</i>	-	-	-	+	++	+	-
沙门氏菌 <i>Salmonella</i>	-	-	+	++	+++	+	-
志贺氏菌 <i>Shigella</i>	-	-	+	+	++	+	-
溶血性链球菌 <i>S. hemolyticus</i>	-	-	+	+	++	+	-
黑曲霉 <i>A. niger</i>	-	+	+	+	+	+	-

“-”表示无菌生长,“+”少量菌生长,“++”有较多菌生长,“+++”有大量的菌生长。阳性对照需有菌生长而阴性对照无菌生长,否则实验无效。

“-” indicated no growth of bacteria, “+” small amount of bacteria growth, “++” more growth, “+++” a large number of bacteria growth. The positive control should be bacterial growth and the negative control without growth, otherwise the sterile was invalid.

结果表明,以金黄色葡萄球菌对醇提取液最为敏感, MIC 为 2.5 mg/mL,大肠杆菌、产气肠杆菌、酿酒酵母的 MIC 为 3.125 mg/mL,对沙门氏菌、志贺氏菌、溶血性链球菌为 6.25 mg/mL。与表 7 均匀试验结果基本一致。

3 结论与讨论

(1) 无花果干水提液对常见病原菌未表现出明显的抑菌活性,仅对供试真菌有较好的抑菌效果;而以乙醇为提取介质时,对细菌、真菌均有抑菌活性。

(2) 无花果干抑菌物质的最佳提取条件:乙醇体积分数 55%、浸提温度 60 ℃、时间 5 h、液固比 20。

(3) 在最佳提取条件下对金黄色葡萄球菌的抑菌效果最好, MIC 为 2.5 mg/mL;对大肠杆菌、产气肠杆菌、酿酒酵母有较好抑菌效果, MIC 均为 3.125 mg/mL;对沙门氏菌、志贺氏菌、溶血性链球菌抑制效果一般, MIC 为 6.25 mg/mL。

本文探讨了无花果干提取物的广谱抑菌作用,在一定程度上阐明了我国民间采用水煎无花果汁直接涂于患处成功治疗寻常疣、痔疮等疾患^[3]的原理。无花果中含有的延胡索酸、琥珀酸、丙乙酸、草酸、

奎宁酸等物质,具有一定抗炎消肿之功;果实的乳浆中含有补骨脂素、佛柑内酯等活性成分及成熟果实中的苯甲醛,都具有防癌抗癌的作用,可以预防肝癌、肺癌、胃癌的发生^[18-20]。至于本文中无花果干提取液中的有效抑菌成分具体是什么还有待于进一步研究。植物果实中有许多化合物的结构和作用方式较为复杂,其对病原菌的细胞学作用(细胞壁、细胞膜、细胞质)以及对病原菌的分子生物学意义(抑制DNA合成还是呼吸作用)尚待进一步阐明。

参考文献:

- [1]李永刚,文景芝,郝中娜.植物源杀菌剂的研究现状与展望[J].东北农业大学学报,2002,33(2):198-202.
- [2]毛新伟,陈友地,杨伦,等.无花果干主要成分的提取分离及应用的研究[J].林产化工通讯,1998,6(1):22-25.
- [3]莫少红.无花果研究进展[J].基层中药杂志,1998,12(2):54-56.
- [4]Perz C.无花果干水提物对糖尿病大鼠血糖平衡的调节作用[J].国外医学中医分册,1997,19(2):52.
- [5]尹卫平,陈宏明,王天欣,等.无花果干抽提物抗肿瘤成分的分析[J].新乡医学院学报,1995,12(4):36.
- [6]李玉群,孟昭礼.无花果干叶中酚类物质的提取、分离及农用抑菌活性研究[J].枣庄学院学报,2006,23(5):52-53.
- [7]胡丽丽,李玉群,金玉兰,等.无花果干叶中抑菌活性成分—补骨脂素的研究[J].青岛农业大学学报,2007,24(4):264-266.
- [8]王桂亭.无花果干叶提取物抑菌作用的实验研究[J].中国消毒杂志,2005,22(4):374-376.
- [9]赵爱红,吴神怡.无花果叶提取物抑菌作用研究[J].食品工业科技,2005,26(11):87-92.
- [10]张雁,池建伟,唐小俊,等.苦瓜水提物的抑菌活性及热稳定性研究[J].食品科学,2008,29(4):121-123.
- [11]周德庆.微生物学实验教程[M].北京:高等教育出版社,2006:77-79.
- [12]董周永,胡青霞,郭松年,等.石榴皮中抑菌活性物质提取工艺优化[J].农业工程学报,2008,24(3):274-277.
- [13]张全军,王泽南,王翠,等.超声波提取荸荠皮抑菌物质的工艺研究[J].食品与机械,2007,23(6):23-26.
- [14]陈旭健,甘耀坤,罗应棉.红菇子实体提取液的抑菌作用研究[J].安徽农业科学,2008,36(10):4138-4139.
- [15]郝培应,肖家军,齐笑笑.紫竹叶提取物的抑菌效果研究[J].安徽农业科学,2008,36(7):2810-2812.
- [16]叶敏,周英.罗汉果叶和茎乙醇提取物的抑菌作用[J].山地农业生物学报,2008,27(11):42-46.
- [17]张丽杰,赵天涛,全学军,等.柑橘皮渣提取物的抑菌研究[J].食品研究与开发,2008,29(4):73-76.
- [18]Sakaguchi K, Miyakawa T R, Takeuchi S, et al. Interaction of benzaldehyde to the membrane protein of *Escherichia coli* [J]. Agric Biol Chem, 1979, 43(8):1775-1777.
- [19]Roukas T. Citric and gluconic acid production from fig by *Aspergillus niger* using solid - state fermentation [J]. Industrial Microbiology & Biotechnology, 2000, 25(2):98-304.
- [20]Gyana Ranjan Rout, Subhashree Aparajita. Genetic relationships among 23 *Ficus* accessions using inter - simple sequence repeat markers [J]. J Crop Sci Biotech, 2009, 12(2):91-96.