

文章编号:2095-7386(2020)02-0001-06
DOI:10.3969/j. issn. 2095-7386. 2020. 02. 001

生姜提取物对副溶血弧菌抑制作用研究

张 政¹,马更勤¹,王宏勋²,侯温甫²,周 敏²

(1. 武汉轻工大学 食品科学与工程学院,湖北 武汉 430023;2. 湖北省农产品加工与转化重点实验室,湖北 武汉 430023)

摘要:本文研究了以乙醇作为提取剂、提取温度 60 ℃、提取时间 60 min 的条件下,不同提取方法对提取生姜中活性成分提取率的影响。实验结果表明,超声波提取法的提取率最高。同时,本研究还测定了生姜提取物对副溶血弧菌的最低抑菌浓度(MIC)与最低杀菌浓度(MBC),以量化生姜提取物对副溶血弧菌的抑制作用。同时研究了 pH 值、浓度、紫外线照射处理、温度等条件对生姜提取物抑菌效果的影响。实验表明,生姜提取物对副溶血弧菌有明显的抑制作用,其 MIC、MBC 值均为 40 mg/mL,结果显示:pH 值、浓度、紫外线照射处理、温度对生姜提取物抑菌效果有显著的影响。

关键词:生姜提取物;副溶血弧菌;抑菌作用;超声波提取法

中图分类号:R 155.5

文献标识码:A

A study on the antibacterial activity of the extracts of *Zingiber officinale Roscoe* against *Vibro parahaemolyticus*

ZHANG Zheng¹, MA Geng-qin¹, WANG Hong-xun², HOU Wen-fu², ZHOU Min²

(1. School of Food Science and Engineering, Wuhan Polytechnic University, Wuhan 430023, China;

2. Hubei Provincial Key Laboratory for Agricultural Products Processing and Conversion, WuHan 430023, China)

Abstract: To study the effects of different extraction methods on the extraction rate of effective components from *Zingiber officinale Roscoe* under the conditions of ethanol as extraction agent, extraction temperature is 60 ℃ and extraction time is 60min. The results showed that The results the optimum method was ultrasonic extraction. At the same time, minimum inhibitory concentration(MIC) and minimum bactericidal concentration(MBC) of extraction of *Zingiber officinale Roscoe* to *vibrio parahaemolyticus* were also determined in this study to quantify the inhibitory effect of extraction of *Zingiber officinale Roscoe* to *vibrio parahaemolyticus*. Effects of pH, concentration, uv irradiation and temperature on bacteriostasis of extraction were studied. The results showed that extraction had a significant inhibitory effect on *vibrio parahaemolyticus*, and the MIC and MBC values were both 40 mg/mL. The results also showed that pH, concentration, uv irradiation and temperature had significant effects on the antibacterial effect of extraction.

Key words: the extracts of *Zingiber officinale Roscoe*; *vibrio parahaemolyticus*; the antibacterial activity; ultrasonic extraction

收稿日期:2019-12-26.

作者简介:张政(1994-),男,研究生,研究方向:农产品加工与安全,E-mail:zz396655827@gmail.com.

通信作者:周敏(1976-),女,博士,副教授,研究方向:农产品加工与安全,E-mail:mzhou268@163.com.

基金项目:湖北省教育厅科学技术研究项目重点项目(D20161702).

1 引言

副溶血弧菌为兼性厌氧的革兰氏阴性嗜盐菌，隶属于弧菌科弧菌属，是一种食源性的致病菌。自然环境中该菌主要存在于河口和沿海，通常通过侵染海蟹、海虾等常见水产品进入人体，使人体出现食物中毒的症状，轻者出现头晕、恶心等症状，重者出现败血症甚至可能危及生命^[1-5]，对水产品加工及食品安全领域造成了极大的安全隐患。

生姜(*Zingiber officinale Roscoe*)是姜科姜属多年生草本植物，因其典型的芳香风味和独特的辛辣口感，常以调味料的形式应用于食品生产加工中。此外，因生姜具有散寒解表，燥湿消痰等功效常被中医当作药材入药，是一种药食两用的食材^[6]。姜油酮是生姜中富含的一种活性物质，具有强烈的姜辣刺激气味及姜辛辣味道，是我国《食品添加剂使用卫生标准》(GB 2760—1996)规定容许可按生产需要适量添加的一种食用香料，同时药理实验证实^[7]，它有一定的抑菌作用。虽然中国是世界上生姜生产总量最多的国家之一，但是当下我国生姜的生产加工大部分还处于姜粉等初级产品形式，造成了生姜资源的严重浪费^[8]，目前，深度发掘生姜食用医用价值，开发生姜高附加值产品成为了热门的研究方向之一。近年来，关于生姜提取物的抑菌作用的研究报道较多，但针对于副溶血弧菌抑菌作用的研究报道并不多见。本实验通过研究生姜提取物对副溶血弧菌的抑制作用，旨在为开发天然高效的绿色抗菌药物提供参考，同时提高生姜的利用价值，为开发生姜高附加值产品提供科学依据。

2 实验材料与仪器

2.1 实验材料

实验用菌种副溶血弧菌 ATCC17802 由武汉轻工大学食品科学与工程学院实验室提供。

新鲜生姜(无虫变，无芽)购于武汉市一超市，产于山东莱芜市。

鲜姜清洗去皮，切成一定大小后放入电热恒温鼓风干燥箱中烘干，用均质机粉碎，过筛(筛孔尺寸 250 μm)，放入密封袋中保存，备用。

TCBS 选择性固体培养基、LB 液体培养基、LA 固体培养基按文献自制^[8]，由青岛海博生物技术公司供货。

NaCl、无水乙醇、盐酸羟胺、HCl、NaOH，以上试剂为 A. R 级试剂，由飞扬生物化学试剂公司供货。

2.2 主要仪器

YXQ-LS-75-01-00 型高压蒸汽灭菌锅：上海博讯实业有限公司；Min-1512 型高速离心机：珠海黑马医学仪器有限公司；Mili-Q 超纯水系统：美国 Mili-Q 公司；SW-CJ-2FD 型垂直层流洁净工作台：苏州净化设备有限公司；RE-5285A 型旋转蒸发仪：上海医疗器械厂；可调量程移液器：德国 Eppendorf 公司；全自动生长曲线分析仪：上海医疗器械厂；SPX-250B-Z 型恒温培养箱：上海博讯科技有限公司；DDHZ-300 型恒温摇床：上海博讯科技有限公司；电热恒温鼓风干燥箱：上海一恒科学仪器有限公司；自动菌落分析仪：杭州讯数科技有限公司。

3 实验方法

3.1 生姜提取物提取条件的确定

分别采用索氏提取法、超声波提取法、直接浸提法三种方法提取生姜中的姜油，具体步骤根据参考文献^[9]进行微调。

索氏提取法：称取 20 g 姜粉，放入抽提筒中，在 500 mL 的圆底烧瓶中，加入 300 mL 的无水乙醇，连接装置，60 °C 恒温水浴，提取 60 min，得到棕黄色的油状液体。

超声波提取法：称取 20 g 姜粉，装入厚塑料袋中，加入 300 mL 的无水乙醇，用封口机封口，放入超声波中，60 °C 恒温浸提 60 min，静置后取出上清液，得到棕黄色的油状液体。

直接浸提法：称取 20 g 姜粉，放入 500 mL 的烧杯中，然后加入 300 mL 的无水乙醇，60 °C 恒温水浴，提取 60 min，静置后取出上清液，得到棕黄色的油状液体。

3.2 生姜提取物主要抑菌成分的检测—姜油酮含量的测定

检测原理：生姜提取物中活性成分的主要成分为姜油酮，姜油酚，姜油醇。其中姜油酮中带甲基的羰基可与盐酸羟胺发生亲核加成反应。由于立体因素，姜油酚，姜油醇几乎不发生此反应。通过氢氧化钠滴定定量反应中生成的盐酸，即可确定姜油酮的含量。由于生姜提取物本身为棕黄色，若以指示剂判断滴定终点，误差很大，所以直接用 pH 值测定，利用 pH 值的变化判断滴定终点，使测定结果较为准确^[10]。

姜油酮的滴定操作步骤参照文献方法^[11]，滴定曲线见图 1。

通过生姜提取物有效成分的检测滴定实验绘制

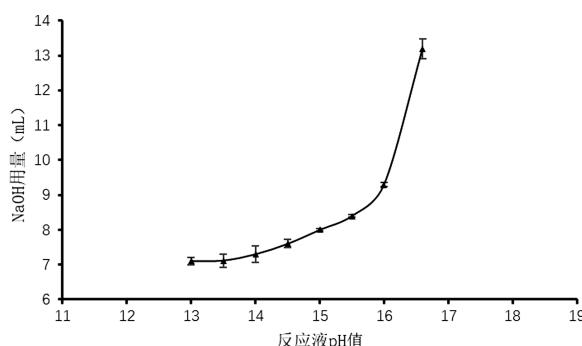


图1 姜油酮滴定曲线

姜油酮滴定曲线,该滴定曲线表明:其突跃点在 pH = 10.81 处,NaOH 用量为 16.22 mL。

3.3 生姜提取物对副溶血弧菌的 MIC 及 MBC 的测定

3.3.1 副溶血弧菌的纯化与培养

取 -80 ℃ 保藏的副溶血弧菌 ATCC17802,接种到 TCBS 培养基上 37 ℃ 活化培养 16 h。挑取单菌落用无菌生理盐水配制成悬浮液,并用麦氏比浊管进行比对,以 0.5 号麦氏比浊管为标准,将细菌浓度调整至 0.5 麦氏浊度(此时菌浓度约 1.5×10^8 CFU/mL)用于后续实验。

3.3.2 最低抑菌浓度(MIC)的测定

平皿法测最低抑菌浓度,用蒸馏水稀释生姜提取物,得到浓度梯度为 100 mg/mL、80 mg/mL、60 mg/mL、40 mg/mL、20 mg/mL、10 mg/mL、5 mg/mL、2.5 mg/mL 的生姜提取液。将逐个浓度梯度的生姜提取液分别倒入 LA 培养基中,混合均匀后倒入培养皿中,待其冷却凝固。将上述 0.5 麦氏浊度菌悬液稀释 15 倍至浓度为 107 CFU/mL 后,均匀涂布平板,以无菌水为阴性对照,20 μg/mL 的四环素为阳性对照,再移至 37 ℃ 恒温培养箱中培养 12~20 h,观察细菌的生长情况^[12-13]。

3.3.3 最低杀菌浓度(MBC)的测定

根据 MIC 的观察结果及操作步骤,增大生姜提取物浓度,使平皿内无细菌生长的最低浓度即为 MBC 值。

3.4 副溶血弧菌生长曲线及杀菌生长曲线的绘制

配制生姜提取物浓度为 20 mg/mL(1/2 MIC)、40 mg/mL(MIC)LB 培养基;将上述麦氏浊度为 0.5 的菌液稀释 15 倍至 1×10^7 CFU/mL,备用。

分别取 20 mg/mL、40 mg/mL、0 mg/mL 生姜提取物浓度的 LB 培养基 900 μL 加入 1.5 mL 的离心管中,在加入 100 μL 已稀释至 1×10^7 CFU/mL 的菌液,充分混匀。取 200 μL 上述混合液放入全自动生长曲线仪中,每隔 1 h 测定一次吸光值,共测 36 h。

以 0 mg/mL 生姜提取物浓度的 LB 培养基为阴性对照,每种生姜提取物浓度做三个平行,利用 excel 表格,对数据进行分析,三组数据取平均值。

3.5 不同处理条件对生姜提取物抑菌能力的影响

实验通过测定抑菌圈大小来确定生姜提取物抑菌能力,具体步骤参照文献^[14]进行微调,具体步骤如下:将经过高压灭菌(121 ℃,15 min)的 LA 培养基制成平板,将麦氏浊度 0.5 的菌液以无菌生理盐水稀释 150 倍,此时菌液浓度 1×10^6 CFU/mL,将稀释过的菌液均匀的涂抹到 LA 平板上。将浸渍过生姜提取物的滤纸圆片(直径约为 6 mm)风干后,平置在涂有菌液的 LA 平板上,每种生姜提取物滤纸圆片做 3 个平行,并用浸渍无菌水的滤纸原片做空白对照,测定抑菌圈大小,确定抑菌效果,以上操作均在无菌条件下进行。

3.5.1 pH 值对生姜提取物抑菌能力的影响

在 37 ℃,生姜提取液浓度为 40 mg/mL 的条件下,用 1 mol/L 的 NaOH 溶液和 1 mol/L 的 HCl 溶液将生姜提取液的 pH 调为 3、4、5、6、7、8、9、10,静置 24 h 后,以副溶血弧菌 ATCC17802 为指示菌,测量抑菌圈直径的大小,重复试验三次。

3.5.2 生姜提取物浓度对生姜提取物抑菌能力的影响

在 37 ℃,生姜提取液 pH 为 6.0 的条件下,分别配制浓度为 120 mg/mL、100 mg/mL、80 mg/mL、60 mg/mL、40 mg/mL、20 mg/mL、0 mg/mL 的生姜提取液,以副溶血弧菌 ATCC17802 为指示菌,测量抑菌圈直径的大小,重复试验三次。

3.5.3 紫外线对生姜提取物抑菌能力的影响

在 37 ℃,生姜提取液浓度为 40 mg/mL, pH 为 6.0 的条件下,对生姜提取液进行紫外线照射处理,分别用紫外灯照射 0 min、5 min、10 min、15 min、20 min、25 min、30 min,以副溶血弧菌 ATCC17802 为指示菌,测量抑菌圈直径的大小,重复试验三次。

3.5.4 温度对生姜提取物抑菌能力的影响

在生姜提取液浓度为 40 mg/mL, pH 为 6.0 的条件下,对生姜提取液进行加热处理,分别把生姜提取液置于 60 ℃、70 ℃、80 ℃、90 ℃ 和实际工业生产中经常用到的 100 ℃、115 ℃、121 ℃ 的环境中,放置 30 min,以副溶血弧菌 ATCC17802 为指示菌,测量抑菌圈直径的大小,重复试验三次。

4 结果与分析

4.1 不同提取方法对生姜提取物有效成分提取效率的影响

通过生姜提取物有效成分的提取实验及提取

率的测定,实验结果得到索氏抽提法、超声波提取法、直接提取法的提取率分别为2.48%、2.69%、

2.13%,超声波提取法的提取效果最佳。

表1 不同提取方法浸提实验结果

提取方法	取样重(g)	消耗NaOH体积(mL)	乙醇油树脂产量(g)	油树脂产量(g)	油树脂提取(%)
索氏抽提法	20.0018	71.63	22.1063	0.4960	2.48
超声波提取法	20.0003	76.87	21.8694	0.5380	2.69
直接提取法	20.0021	68.59	23.0015	0.4261	2.13

4.2 最低抑菌浓度(MIC)

最低抑菌浓度实验结果见表2。当培养基中生姜提取物的浓度达到40 mg/mL以上时,副溶血弧菌的生长受到了明显抑制,最小抑菌浓度(MIC)为40 mg/mL。

表2 生姜提取物对副溶血弧菌的最低抑菌浓度(MIC)

提取物浓度(mg/mL)	细菌生长情况	四环素
100	—	—
80	—	—
60	—	—
40	+	—
20	+	—
10	+	—
5	+	—
2.5	+	—
0	+	—

注:“+”表示有细菌生长,“-”表示无细菌生长,四环素作为阳性对照无细菌生长

4.3 最低杀菌浓度(MBC)

通过最低杀菌浓度实验可知,当培养基中生姜提取物的浓度达到40 mg/mL时,副溶血弧菌无生长现象,结果见表3,最小杀菌浓度(MBC)为40 mg/mL。

表3 生姜提取物对副溶血弧菌的最低杀菌浓度(MBC)

提取物浓度(mg/mL)	细菌生长情况	四环素
100	—	—
80	—	—
60	—	—
40	+	—
20	+	—
10	+	—
5	+	—
2.5	+	—
0	+	—

注:“+”表示有细菌生长,“-”表示无细菌生长,四环素作为阳性对照无细菌生长

4.4 副溶血弧菌生长曲线绘制

结果显示,对照组的副溶血弧菌有典型的生长特征,加入不同浓度生姜提取物后副溶血弧菌的生长曲线与对照组有显著差别(图2)。随着培养时间的延长,不含生姜提取物的细菌进入正常的稳定期;在生姜提取物浓度为20 mg/mL(1/2 MIC)的实验组中,副溶血弧菌菌数在开始5 h内几乎不增长,表明生姜提取物对副溶血弧菌的抑制作用主要是通过延长细菌的延迟期来达到的。虽然5 h之后副溶血弧菌仍然可以进入对数生长期,但菌量却与对照组有较大差距;在生姜提取物浓度为40 mg/mL(MIC)的实验组中副溶血弧菌几乎不增长。

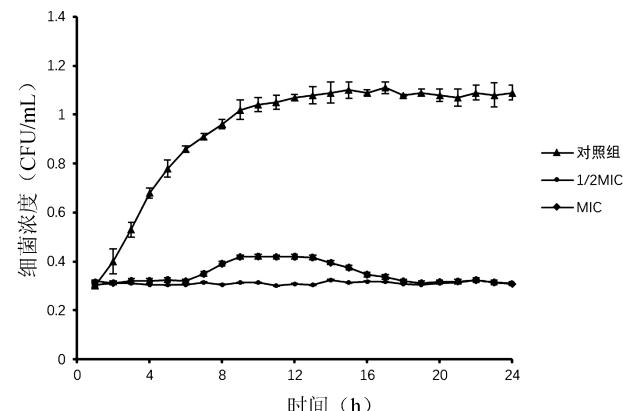


图2 副溶血弧菌生长曲线及杀菌生长曲线

注:对照组为不加生姜提取物的空白对照,1/2 MIC为生姜提取物浓度为1/2 MIC的实验组,MIC为生姜提取物浓度为MIC的实验组

4.5 pH值对生姜提取物抑菌能力的影响

测得生姜提取物的抑菌圈直径大小,结果如图3。从图3可知,在pH为6~7时,抑菌效果最佳;在酸性条件下,随着pH的降低,生姜提取物对副溶血弧菌的抑制能力明显减弱;在碱性条件下随pH值的升高,对菌体的抑制能力下降缓慢。可能的原因是:酸性条件下会加快生姜提取物中抑菌物质姜油酮的水解反应,从而使生姜提取物的抑菌效果减弱。由此可见,生姜提取物在碱性和中性的环境下相对稳定,在酸性环境下不稳定。

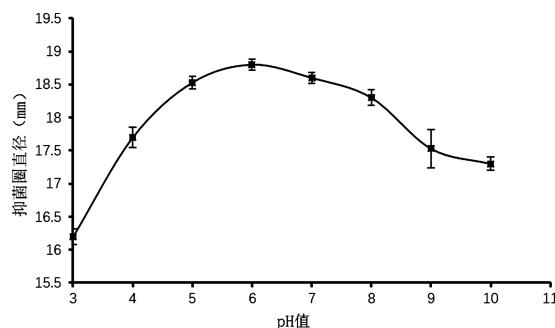


图 3 pH 值对生姜提取物抑菌作用的影响

4.6 生姜提取物浓度对抑菌能力的影响

测得生姜提取物抑菌圈直径大小,结果如图 4。从图 4 可知,在生姜提取物浓度为 0—40 mg/mL 时,不管浓度如何变化,没有明显的抑菌效果。当浓度高于 40 mg/mL 时,菌体的抑制能力呈现上升趋势,抑菌效果明显增加。由此可知,生姜提取物抑菌能力受生姜提取物浓度的影响,在一定范围内浓度越高,抑菌能力越强。

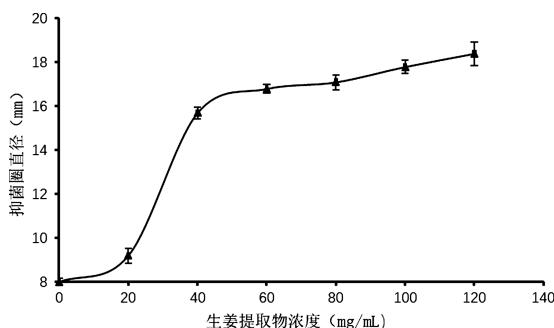


图 4 浓度对生姜提取物抑菌作用的影响

4.7 紫外线对生姜提取物抑菌能力的影响

通过牛津杯实验,测得抑菌圈直径大小,结果如图 5。从图 5 可知,对生姜提取物进行紫外线照射后,生姜提取物的抑菌能力随着紫外线照射时间的延长呈现下降的趋势。照射时间低于 15 min 时,随着照射时间的延长生姜提取物的抑菌效果下降缓慢,当照射时间高于 15 min 时,随着抑菌时间的延长生姜提取物的抑菌效果下降加快。

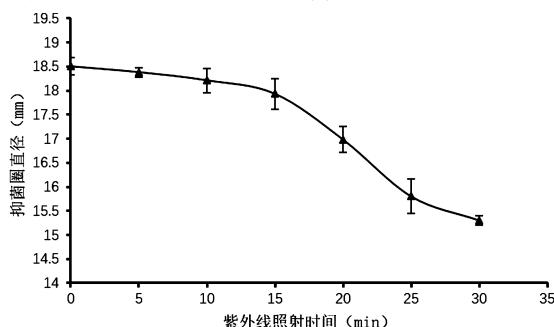


图 5 紫外线照射对生姜提取物抑菌作用的影响

4.8 温度对生姜提取物抑菌能力的影响

利用牛津杯方法测得生姜提取物抑菌圈直径大小,结果见图 6。从图 6 可知,通过不同温度处理生姜提取物 30 min 后,结果表明:温度低于 80 ℃ 时,抑菌活性没有显著变化;温度高于 80 ℃ 时,抑菌能力开始减弱。可知温度在 80 ℃ 以上时,随温度的升高生姜提取物被破坏的速率大大加快,由此可知生姜提取物在高温下不稳定。

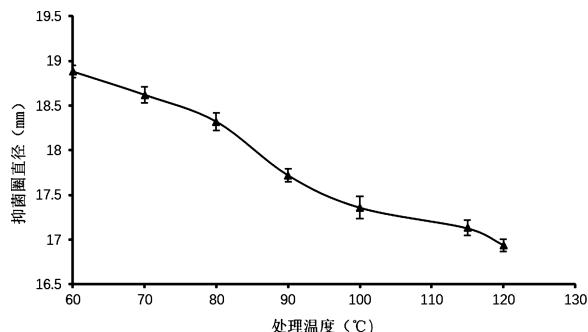


图 6 温度对生姜提取物抑菌作用的影响

5 讨论

近年来,由于抗生素在水产养殖中的滥用而引起的药物残留等一系列的食物安全性问题越来越严重,急切需要找到安全的绿色药物来代替抗生素。生姜是一种药食两用的植物,在我国的医用和食用历史上都很悠久。近年来发现生姜的提取物有一定的抑菌效果,对大肠杆菌、金黄色葡萄球菌、青霉、黑曲霉、酒精酵母、枯草芽孢杆菌有抑制作用^[16-17]。本研究希望能证实生姜提取物对致病性副溶血弧菌也有较好的抑制作用。

研究结果发现,不同的提取方法对生姜提取物的提取率有较大影响,三种方法中超声波提取法的效果最佳。本实验中只研究了不同提取方法对生姜提取率的影响,在提取过程中所涉及提取剂、温度、时间均完全相同。后续研究可以继续挖掘,在超声波提取法的基础上提取过程中所涉及的提取剂、温度、时间等条件对提取效率的影响,以及通过设计正交实验优选出最佳提取条件,使得生姜资源得到更加充分的利用^[18-19]。

本实验测定了生姜提取物对副溶血弧菌的最低抑菌浓度(MIC)和最低抑菌浓度(MBC),副溶血弧菌在添加一定浓度生姜提取液的 LB 培养基中的生长曲线以及 pH 值、浓度、紫外线照射处理、温度等条件对于生姜提取物对副溶血弧菌抑制作用的影响进行研究,研究结果表明:生姜提取物对致病性副溶

血弧菌有较好的抑制作用,最低抑菌浓度和最低杀菌浓度均为 40 mg/mL,与蒋挺玉^[20]等的研究中拐芹当归提取物对副溶血弧菌的 MIC、MBC 值相同的报道类似。通过图 2 可知生姜提取物对副溶血弧菌的生长有较大的影响,结果显示生姜提取物对副溶血性弧菌的抑制主要是通过延长细菌的延迟期来实现的,细菌度过延迟期生长曲线仍然是典型的 S 型,但进入稳定期后细菌数量远不及对照组,这与谢丽玲^[21]等的研究中黄岑醇提取物对副溶血性弧菌的杀菌曲线的实验结果类似。pH 值、生姜提取物浓度、紫外光照射、温度对生姜提取物抑菌效果都有较显著的影响,温度低于 80 ℃时,随着温度的升高抑菌效果显著下降,当温度超过 80 ℃时,随着温度的升高抑菌效果不再有较大的变化,可能是生姜提取物中的杀菌成分姜油酮的热稳定性较差,在高温处理的过程中被破坏。同时还说明,在工业生产中,巴氏杀菌(60~82 ℃)基本不破坏生姜提取物的抑菌效果,而 115 ℃、121 ℃的高温杀菌对生姜提取物的抑菌效果有较大的破坏作用,为生姜提取物在食品工业生产中的应用提供数据支撑。

参考文献:

- [1] 何德辉,孔波力,何伟鹏,韦梅霞,陆汉明.广西贵港市双壳贝类中副溶血性弧菌的分布情况[J].医学动物防制,2019,35(11):1081-1083.
- [2] 赵峰,周德庆,于维森,王伟栋,李毅财,刘帅帅.东部沿海贝类中副溶血弧菌的分布及特征[J].食品与生物技术学报,2011,30(05):711-715.
- [3] Kubota, Kunihiro, Iwasaki, Emiko, Inagaki, Shunichi, et al. The human health burden of foodborne infections caused by *Campylobacter*, *Salmonella*, and *Vibrio parahaemolyticus* in Miyagi Prefecture, Japan [J]. Foodborne Pathogens & Disease, 5(5):641-648.
- [4] Robert-Pillot A, Alain Guénolé, Lesne J, et al. Occurrence of the *tdh* and *trh* genes in *Vibrio parahaemolyticus* isolates from waters and raw shellfish collected in two French coastal areas and from seafood imported into France [J]. International Journal of Food Microbiology, 2004, 91(3):319-325.
- [5] 刘杰,曾令泽,贺晓晨,许飘尹,盛雪晴,梁静真,黄钧.广西凡纳滨对虾源副溶血弧菌的分离鉴定及其耐药性[J].广西畜牧兽医,2019,35(05):197-202.
- [6] 吴嘉斓,王笑园,王坤立,庞思成,何政宇,倪元颖.生姜营养价值及药理作用研究进展[J].食品工业,2019,40(02):237-240.
- [7] 周纷,杨文晶,冯叙桥,张骏龙,刘丹,邓亚军,刘欢.生姜提取物在食品贮藏保鲜中的应用[J].食品与发酵工业,2016,42(10):287-292.
- [8] 高海生.食用香料植物在食品工业中的开发与应用[J].中国食品添加剂,1998(02):48-51.
- [9] 全桂静,雷晓燕,李辉.微生物学实验指导[M].北京:化学工业出版社,2010.
- [10] Balladin D A, Headley O, Chang-Yen I, et al. Extraction and evaluation of the main pungent principles of solar dried West Indian ginger (*Zingiber officinale* ROSCOE) rhizome [J]. Renewable Energy, 1997, 12(2):125-130.
- [11] 熊华,马力,皮智梅.采用有机溶剂法提取生姜有效成分[J].中国酿造,2006(07):13-15.
- [12] 熊华.不同提取方法生姜提取物中成分的比较研究[D].成都:西华大学,2006.
- [13] 杨艾青,艾启俊,张德权.几种中草药乙醇提取物对沙门氏菌生长特性曲线的影响[J].中国农学通报,2011,27(14):73-76.
- [14] Jain I, Jain P, Bisht D, et al. Comparative Evaluation of Antibacterial Efficacy of Six Indian Plant Extracts against *Streptococcus Mutans* [J]. Journal of Clinical & Diagnostic Research Jcdr, 2015, 9(2):50-3.
- [15] 刘端,闫金萍.生姜提取物的体外抑菌效果研究[J].微量元素与健康研究,2010,27(02):33-34.
- [16] 陈燕,周希贵,李淑燕,蔡同一.生姜油树脂的抗菌性研究[J].食品与发酵工业,2001(04):30-34.
- [17] 范紫煊.生姜提取物对食品大肠菌群的抑制作用研究[D].秦皇岛:河北科技师范学院,2015.
- [18] 邓开野,周海钰,邢盼盼.生姜的抗菌及抗氧化作用的研究进展[J].中国调味品,2012,37(02):28-31.

(下转第 21 页)

- [J]. 当代医药论丛,2013,11(12):134-135.
- [2] 潘耀荣. 中草药在猪场的合理应用 [J]. 兽医导刊,2014,(4):48-50.
- [3] 中国兽药典委员会. 中华人民共和国兽药典 [S]. 北京:中国农业出版社,2015:709.
- [4] Dou S, Liu L, Jiang P, et al. LC-DAD and LC-ESI-MS chromatographic fingerprinting and quantitative analysis for evaluation of the quality of Huang-Lian-Jie-Du-Tang [J]. Chromatographia, 2009, 69(7-8):659-664.
- [5] 孙健. 黄连解毒汤各成分的 HPLC-UV/MS 定性与定量测定方法研究 [J]. 药学学报, 2006, 41(4):380-384.
- [6] Yang Y, Zhao H, Wang H, et al. Qualitative and quantitative analysis of four different polarity fractions from huanglianjiedu decoction by HPLC-DAD-ESI-MS/MS and their related neu-
- roprotective effects [J]. Journal of Chinese Pharmaceutical Sciences, 2013, 22(4):334-341.
- [7] Kim S G, Poudel A, Kim Y K, et al. Development of simultaneous analysis for marker constituents in Hwangryunhaedok-tang and its application in commercial herbal formulas [J]. Journal of Natural Medicines, 2013, 67(2):390-398.
- [8] 刘娟, 冯芮, 蒲忠慧, 等. 指纹图谱结合 HPLC 定量分析在中药川芎质量评价中的应用研究 [J]. 中药材, 2019, (2):353-357.
- [9] 林艳, 刘月新, 李春, 等. 生制何首乌 HPLC 指纹图谱结合模式识别与含量测定的质量控制研究 [J]. 中国中医药信息杂志, 2018, 25(12):67-71.
- [10] 陈巧华, 范世明, 许春芳, 等. 白芍配方颗粒指纹图谱及 7 种主要成分含量测定研究 [J]. 中外医学研究, 2017, 15(36):1-4.

(上接第 6 页)

- [19] 周红, 李疆, 刘袁, 张晓丽, 王芳. 不同提取条件对生姜提取物抑菌效果的影响 [J]. 四川食品与发酵, 2008(02):60-62.
- [20] 唐仕荣, 宋慧, 苗敬芝, 施春花. 超声波技术提取姜辣素的工艺研究 [J]. 中国调味品, 2009, 34(01):46-49.
- [21] 蒋庭玉, 杨亚, 孟祥贤, 孟凡君, 崔红, 张雪君. 桃仁当归提取物抗菌活性的研究 [J]. 时珍国医国药, 2010, 21(08):1878-1879.
- [22] 谢丽玲, 彭齐, 蔡链纯, 周亮, 朱炎坤, 韩光耀. 黄芩醇提物对副溶血性弧菌抑制机制的研究 [J]. 生物技术通报, 2015, 31(08):159-165.