

红花香椿树皮不同极性萃取液活性成分及其抑菌活性

俞毅^{1,2}, 郭晓燕³, 张露^{1,2*}, 廖凤琳³, 廖国祥^{1,2}, 彭大勇⁴, 廖圣良², 马际凯^{1,2}

(1. 亚热带森林资源培育江西省重点实验室, 江西 南昌 330045; 2. 江西农业大学林学院, 江西南昌 330045; 3. 江西农业大学生物科学与工程学院, 江西南昌 330045; 4. 江西农业大学化学与材料学院, 江西南昌, 330045)

摘要: 【目的】为促进红花香椿树皮资源的多元化开发与高值利用, 探讨不同极性溶剂萃取液的化学成分组成、相对丰度特征及其对纳地青霉的抑菌活性与环境稳定性。【方法】采用梯度回流提取法制备石油醚、二氯甲烷、乙酸乙酯和乙醇萃取液, 利用 UPLC-QTOF-MS/MS 分析其化学成分和相对丰度, 通过 UpSet 分析比较共有/特有成分。采用单因素试验评价温度、紫外~~线~~照射时间及 pH 的抑菌活性, 并以此开展三因素三水平正交试验, 运用 Design-expert 软件对试验因素进行优化, 获得最优组合。【结果】不同溶剂萃取液的化学成分组成存在明显差异。UPLC-QTOF-MS/MS 分析共鉴定出石油醚、二氯甲烷、乙酸乙酯和乙醇的萃取液中化学成分分别为 37、58、47 和 34 个, 四种萃取液共有 9 种化合物, 其中乙醇相和乙酸乙酯以黄酮/多酚类为主, 分别为 51.8%和 32.5%, 二氯甲烷相为脂肪酸/脂类 (20.7%)。抑菌结果显示, 乙酸乙酯和乙醇的萃取液在任何处理下均对青霉产生抑制作用, 但石油醚未有抑菌活性。各因素对抑菌活性的影响从高到低为温度、紫外~~线~~照射时间、pH。最优组合为温度 56℃、紫外~~线~~照射时间 40 min、pH4, 抑菌圈直径达 13.5 mm, 与预测值接近。【结论】红花香椿树皮不同极性溶剂萃取液在成分组成与抑菌活性方面存在差异, 乙酸乙酯和乙醇萃取液具有进一步开发为天然抑菌剂的潜力, ~~研究结果~~为后续活性物质分离鉴定提供参考。

关键词: 红花香椿; 树皮; 萃取液; 活性成分; 正交试验; 抑菌活性

中图分类号: R284

文献标志码:

开放科学 (资源服务) 标识码 (OSID):

文章编号:

Bioactive composition and antimicrobial active of different polarity extracts from the bark of *Toona fargesii*

YU Yi^{1,2}, GUO Xiaoyan³, ZHANG Lu^{1,2*}, LIAO Fenglin³, LIAO Guoxiang^{1,2}, PENG Dayong⁴, LIAO Shengliang², MA Jikai^{1,2}

(1. Jiangxi Provincial Key Laboratory of Subtropical Forest Resources Cultivation, Nanchang, 330045, China; 2. College of Forestry, Jiangxi Agricultural University, Nanchang, 330045, China; 3. College of Biological Science and Engineering, Jiangxi Agricultural University, Nanchang, 330045, China; 4. College of Chemistry and Materials, Jiangxi Agricultural University, Nanchang 330045, China;)

收稿日期: 2026-01

基金项目: 国家自然科学基金 (32460387)

Project supported by the National Natural Science Foundation of China (32460387)

作者简介: 俞毅 (1999 年—), 硕士研究生, 主要从事森林植物资源研究, orcid.org/0009-0002-7560-2762, aaaish99@163.com:

*通信作者: 张露, 教授, 博士, 主要从事森林植物资源培育研究, orcid.org/0000-0003-2168-0546, zhanglu856@mail.jxau.edu.cn.

Abstract: [Objective]To promote the diversified development and high-value utilization of bark resources from *Toona fargesii* A. Chevalier, this study systematically investigated the chemical composition, relative abundance characteristics, antifungal activity against *Penicillium nalgiovense*, and environmental stability of extracts obtained using solvents with different polarities. [Method] Gradient reflux extraction was employed to prepare petroleum ether, dichloromethane, ethyl acetate, and ethanol extracts. The chemical constituents and their relative abundances were analyzed using ultra-performance liquid chromatography coupled with quadrupole time-of-flight tandem mass spectrometry (UPLC–QTOF-MS/MS). UpSet analysis was further applied to compare shared and unique compounds among different extracts. The antimicrobial activity was evaluated through single-factor experiments examining the effects of temperature, ultraviolet (UV) irradiation time, and pH on inhibitory efficacy. Based on these results, a three-factor, three-level orthogonal experimental design was conducted. Design-Expert software was utilized to optimize the experimental factors and determine the optimal combination of conditions. [Result] Significant differences were observed in the chemical composition of extracts obtained with different solvents. A total of 37, 58, 47, and 34 compounds were identified in the petroleum ether, dichloromethane, ethyl acetate, and ethanol extracts, respectively, with nine compounds shared among all four extracts. The ethanol and ethyl acetate extracts were predominantly composed of flavonoids and polyphenols, accounting for 51.8% and 32.5% of their total constituents, respectively, whereas the dichloromethane extract was mainly composed of fatty acids and lipids (20.7%). Antifungal assays demonstrated that both ethyl acetate and ethanol extracts exhibited inhibitory effects against *Penicillium* under all tested conditions, while the petroleum ether extract showed no antifungal activity. Among the tested factors, their influence on antifungal activity ranked in descending order as temperature, UV irradiation time, and pH. The optimal conditions were determined to be a temperature of 56 °C, UV irradiation for 40 minutes, and pH 4, under which the inhibition zone diameter reached 13.5mm, closely matching the predicted value. [Conclusion] The extracts of *T. fargesii* bark obtained using solvents of different polarities exhibit notable differences in chemical composition and antifungal activity. The ethyl acetate and ethanol extracts, in particular, demonstrate promising potential for further development as natural antifungal agents. These findings provide a scientific basis for the subsequent isolation, identification, and functional evaluation of bioactive compounds, and contribute to the efficient utilization of plant-derived resources in the development of environmentally friendly antimicrobial products.

Keywords: *Toona fargesii*; Bark; Extract; Bioactive composition; orthogonal experiment; Antimicrobial activity

【研究意义】红花香椿 (*Toona fargesii* A. Chevalier) 为楝科香椿属, 具有生长迅速、适应性强等特点, 是亚热带乡土珍贵树种^[1]。目前, 相关研究主要集中于其材用性状和种质资源利用^[2,3], 而对其生物活性及应用潜力的研究相对较少。已有研究表明, 楝科植物树皮中富含柠檬苦素类、黄酮类及多酚类等活性成分^[4-6], 具有一定的抑菌、抗炎和抗氧化等生物活性^[4,6-8]。因此, 系统开展红花香椿树皮化学成分及其抑菌活性研究, 不仅有助于拓展该树种的高值化利用途径, 也可开发植物源绿色抑菌剂提供理论基础与物质来源。【前人研究进展】近年来, 国内外学者对香椿属植物的化学成分和生物活性开展了研究。刘舸舟等^[9]人运用硅胶柱层析、RP - 18 反相硅胶、Sephadex LH - 20 凝胶以及半制备高效液相色谱

(HPLC) 技术, 对毛红椿 (*T. ciliata* Roem. var. *pubescens* (Franch.) Hand. - Mazz.) 的枝叶开展分离纯化, 分离鉴定出 15 个化合物及其抗肿瘤活性。吴苇等^[6]对香椿 (*T. sinensis* (A. Juss.) Roem.) 树皮进行分离纯化, 得到 16 个化合物, 通过 RAW264.7 细胞模型评价其抗炎活性, 揭示了香椿树皮部分化学成分及其抗炎活性。在抑菌研究领域, 青霉属 (*Penicillium*) 隶属于半知菌亚门, 是一类能够产生多种真菌毒素的丝状真菌^[10], 如桔青霉 (*P. citrinum*) 产生的桔青霉毒素有很强的肾毒性, 黄绿青霉 (*P. citreoviride*) 产生的黄绿青霉毒素有神经毒性, 岛青霉 (*P. islandicum*) 所产生的黄天精与含氯肽具备非常强的肝毒性^[11]。各种青霉是造成果菜、粮食霉变、食物中毒的主要微生物^[12,13], 青霉还是食用菌栽培过程中为害大、传染性极高的一种竞争性丝状霉菌, 常造成巨大经济损失^[12,13]。现在很多报道反映植物天然化合物成分对致病真菌有抑制作用^[4,7,14,15], 而楝科植物树皮的多酚类、萜类化合物有较强抑菌生物活性^[6], 为防治青霉菌提供了途径。

【本研究切入点】尽管前人已对香椿属部分植物的枝叶或树皮开展了分离纯化和抑菌研究, 但关于红花香椿树皮化学成分及其不同环境条件下抑菌活性的研究尚未见报道。本研究以红花香椿树皮为对象, 采用梯度溶剂提取与 UPLC-QTOF-MS/MS 鉴定相结合, 系统比较不同极性萃取液活性成分的化学组成与抑菌活性。【拟解决的关键问题】采用梯度回流提取法获取红花香椿不同极性萃取液, 通过 UPLC-QTOF-MS/MS 鉴定并分析其活性成分, 通过单因素试验、正交试验对抑菌活性的影响因子进行优化, 评价红花香椿树皮萃取液对青霉属真菌的抑菌活性 从而为红花香椿树皮资源开发及其天然抑菌成分应用提供理论依据与技术支持。

1 材料与方法

1.1 试验材料

试验材料来源于江西农业大学试验基地红花香椿成年植株伐倒木。剥取伐倒木树皮, 经自然风干后粉碎, 过 20 目筛, 分装于棕色广口瓶中密封, 常温保存备用。供试菌种为纳地青霉 (*Penicillium nalgiovense*), 由江西农业大学生物科学与工程学院提供。

1.2 试验方法

1.2.1 提取液制备

取过 1kg 20 目筛的红花香椿树皮粉末, 采用有机溶剂非极性至强极性梯度回流提取法分离: 依次加入 2 L 石油醚 (PE, 60 °C)、二氯甲烷 (DCM, 40 °C)、乙酸乙酯 (EtOAc, 90 °C) 及乙醇 (EtOH, 85 °C), 于相应温度下分别冷凝回流提取 5 h。每次提取后经减压抽滤收集滤液; 合并滤液后采用旋转蒸发仪于 40 °C 减压浓缩至恒重。残渣以色谱级乙腈溶解并转移至 50 mL 容量瓶中定容, 制得待测萃取液。

1.2.2 成分鉴定

采用超高效液相色谱 - 四极杆飞行时间串联质谱联用技术 (UPLC-QTOF-MS/MS) 进行分析。色谱系统为 Shimadzu LC-30, 质谱系统为 AB Sciex TripleTOF 5600+ 混合四极杆-飞行时间质谱仪。色谱分离采用 Shim-pack GIST C18 色谱柱 (2.1 mm × 75 mm, 2.0 μm), 流动相为 A (0.1% 甲酸-水) 和 B (乙腈), 梯度洗脱程序为: 0 ~ 20 min, 5% ~ 60% B; 20 ~ 21 min, 60% ~ 95% B; 21 ~ 27 min, 95% B; 27 ~ 27.1 min, 95% ~ 5% B; 27.1 ~ 30 min, 5% ~ 0% B。柱温设定为 30 °C, 流速 0.3 mL/min, 进样量 1 μL, 并进行 PDA 全波长扫描。质谱采用电喷雾离子化源 (ESI), 在正、负离子模式下采集数据, 扫描范围为 100 ~ 1000 m/z。离子源参数: 正离子模式下 ISVF +5500 V, 负离子模式下 ISVF -4500 V, 两种模式的 TEM 550 °C、CUR 30 psi、Gas1 55 psi、Gas2 55 psi 相同。一级质谱采用母离子全扫描, DP 80 eV, CE 10 eV; 二级质谱采用 IDA 触发方式, 子离子扫描范围 m/z 50-1000, DP 80 eV, 碰撞能量正离子模式为 +40 ± 20 eV, 负离子模式为 -40 ± 20 eV。综合精确质量数、MS/MS 碎片离子特征及文献/数据库比对结果进行化合物鉴定。

1.2.3 LC-MS/MS 数据分析

基于红花香椿树皮 PE、DCM、EtOAc、EtOH 四种萃取液在正/负离子模式下的化合物鉴定结果，计算相对丰度。同一化合物若在正/负离子模式均检出，则取该化合物在该萃取液中最大峰强度代表其相对贡献。

$$\text{相对丰度 (\%)} = \frac{\text{该化合物峰强度}}{\text{该萃取液全部化合物峰强度总和}} \times 100\%$$

1.2.4 抑菌单因素试验

抑菌活性采用牛津杯法评价。纳地青霉在 PDA 平板 28 °C 活化后制备菌悬液，按平板计数调整至约 10^6 CFU/mL；将菌悬液均匀涂布于 PDA 平板，置入牛津杯并加入不同溶剂部位提取液，28 °C 培养 24 h，测定抑菌圈直径。

分别设置温度、紫外线及 pH 不同梯度开展单因子试验。温度设置 25 °C（对照）、40 °C、60 °C、80 °C，处理 30 min；紫外线采用 10 W 紫外灯照射，时间为 0、10、30、60、90、120 min；将提取液与 pH 为 2、4、6、7、8、10 的缓冲溶液按 1:2 (v/v) 混合。处理后取样液注入牛津杯（温度/紫外处理分别添加 200 μL，pH 处理添加 100 μL），以 15% 乙醇（或与缓冲液按 1:2 混合）为对照。

1.2.5 抑菌正交试验

在单因素结果基础上，通过 Design Expert 13.0 软件，选取温度（A）、紫外照射时间（B）和 pH（C）为自变量，各因素设置三个水平（-1、0、+1），即三因素三水平 Box-Behnken 设计，且在设定因素水平范围后自动形成标准 BBD 设计矩阵，通过多元回归分析建立二次多项式模型，即： $Y = \beta_0 + \beta_1 A + \beta_2 B + \beta_3 C + \beta_{12} AB + \beta_{13} AC + \beta_{23} BC + \beta_{11} A^2 + \beta_{22} B^2 + \beta_{33} C^2$

其中 Y 为抑菌圈直径（mm），A、B、C 分别为温度、紫外照射时间及 pH。

1.3 数据处理与分析

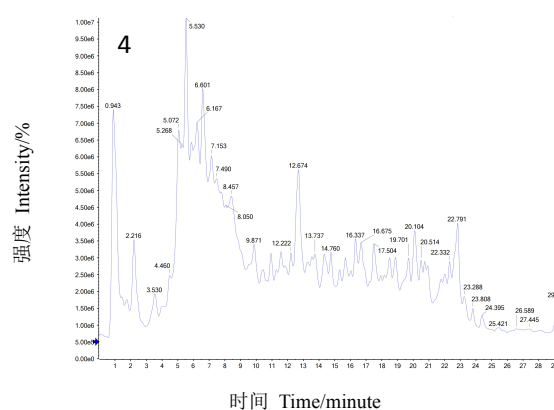
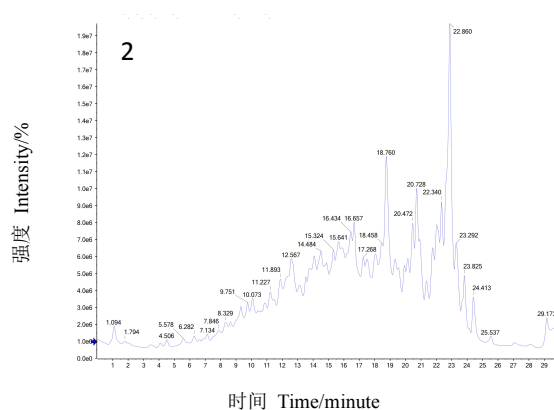
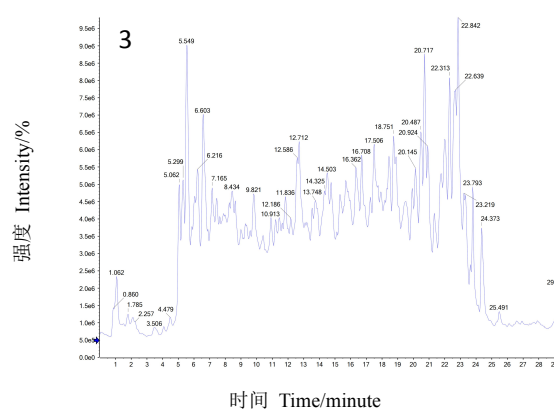
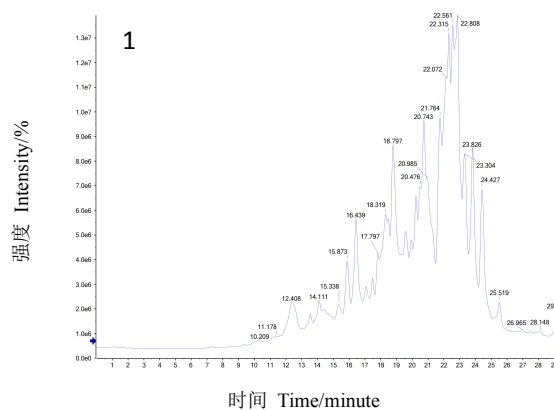
所有试验均重复 3 次，试验结果均以平均值±标准差（mean±SD）表示，采用 SPSS 25.0 软件进行方差分析，以 $P < 0.01$ 为极显著性差异，具有统计学意义。采用 Design Expert 13.0 进行多元回归分析及方差分析（ANOVA），检验模型显著性、失拟情况及各因素显著性水平。

2 结果与分析

2.1 不同溶剂萃取液的化学成分鉴定与类型分布

采用 UPLC-QTOF-MS/MS 在正、负离子模式下对 PE、DCM、EtOAc 和 EtOH 不同极性溶剂萃取液的化学组成进行检测。以 $S/N \geq 10$ 为筛选标准，合并四种溶剂及两种离子模式数据，并对相同 m/z 值和保留时间的信号进行去重处理，获得 213 个具有较完整 MS² 信息的特征峰（图 1）。从图 1 可以看出，不同溶剂间峰分布差异明显，DCM 和 EtOAc 特征峰较多，成分相对复杂，而 PE 峰较少，以低极性成分为主，EtOH 在负离子模式下响应较强，富集极性较大的酚类物质。总体来看，随着溶剂极性从 PE → DCM → EtOAc → EtOH 增强，提取成分由疏水性物质逐渐向中高极性多酚类转变，呈现明显的极性分布规律。

负离子模式 Negative ion mode



正离子模式 Positive ion mode

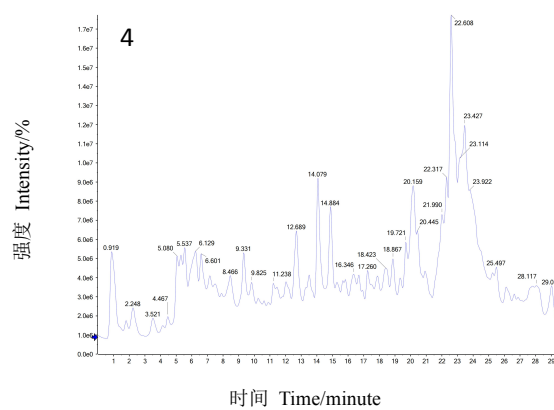
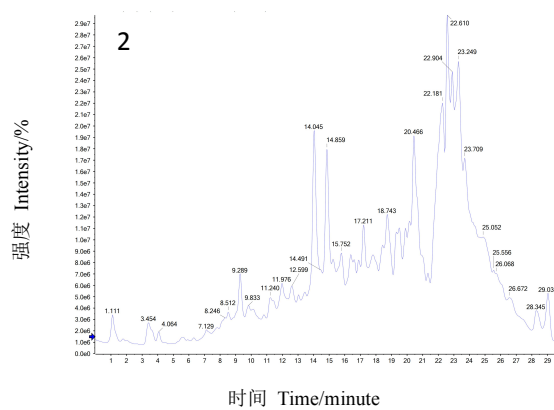
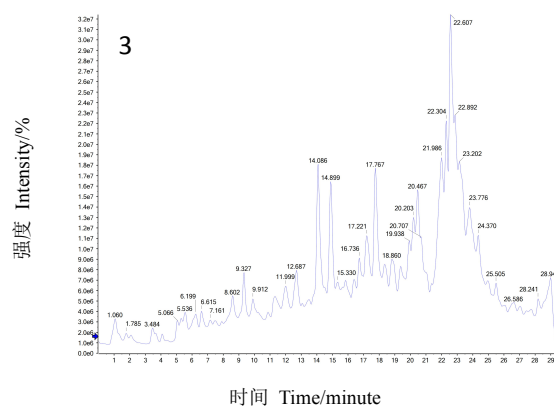
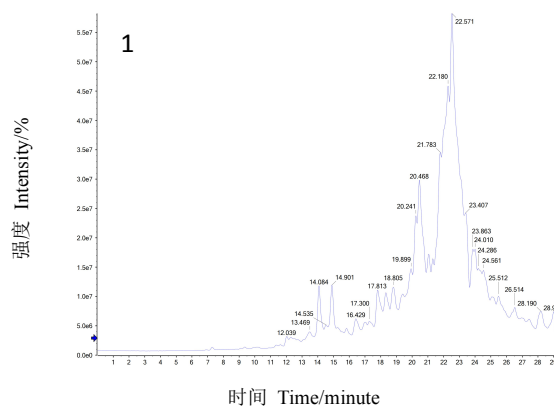


图 1 PE、DCM、EtOAc 和 EtOH 萃取液在正、负离子模式下的基峰图

Fig.1 BBPCs of extracts in positive/negative modes (PE, DCM, EtOAc, EtOH)

通过文献数据库比对并结合碎片离子裂解规律，鉴定出石油醚（PE）、二氯甲烷（DCM）、乙酸乙酯（EtOAc）和乙醇（EtOH）萃取液中的化合物分别为 25、35、37 和 40 个（表 1），且以多酚类化合物居多，但不同极性溶剂导致提取物成分谱有显著分化。

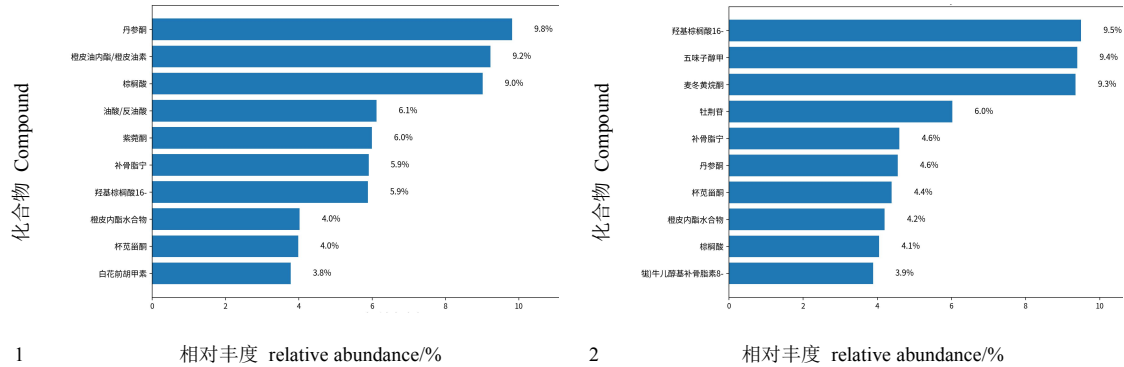
表 1 不同溶剂萃取液中的化合物总数

Table 1 Total compounds in various solvent extracts

分类 Classification	PE 萃取液 PE extract (个) Entity	DCM 萃取液 DCM extract (个) Entity	EtOAc 萃取液 DCM extract (个) Entity	EtOH 萃取液 EtOH extract (个) Entity	总计 Total (个) Entity
多酚类（黄酮 + 香豆素） Polyphenols (flavonoids + coumarins)	8	12	15	5	40
萜类及甾体类 Terpenoids and Steroids	6	9	8	4	27
木脂素/苯丙素类 Lignans/Phenylpropanoids	3	4	2	1	10
生物碱类 Alkaloids	0	1	1	0	2
其他伴随成分 Other excipients	8	9	11	5	33
总计 Total	25	35	37	40	112

2.2 LC-MS/MS 鉴定分析

基于红花香椿树皮 PE、DCM、EtOAc、EtOH 四种萃取液在正/负离子模式下的化合物鉴定结果，分析出四种萃取液 Top10 化合物的相对丰度。从四种萃取液前十化合物的相对丰度(图 2)结果可知，PE 萃取液前十化合物的相对丰度为 63.77%，以丹参酮 9.82%、橙皮油素 9.23%、棕榈酸 9.02%、油酸/反油酸 6.12%等低极性脂溶性成分与脂肪酸为主，体现其对疏水性组分的富集能力；DCM 萃取液前十化合物的相对丰度为 59.93%，呈现“桥接式”提取特征，既富集 9.50%的 16-羟基棕榈酸脂类衍生物，也富集五味子醇甲（9.39%）、麦冬黄烷酮（9.35%）、牡荆苷（6.03%）等木脂素/黄酮类；EtOAc 萃取液前十化合物的相对丰度为 53.37%，多酚/黄酮与部分脂类并存，表儿茶素（9.81%）与 16-羟基棕榈酸（8.55%）为主要贡献者，同时伴随儿茶素（6.25%）、野漆树苷（4.91%）和虎杖苷（4.73%）等中等极性成分；EtOH 萃取液优势成分最集中，前十化合物的相对丰度为 75.03%，其中表儿茶素（23.15%）与儿茶素（17.19%）占据主导（Top3 达 52.84%），表明高极性溶剂显著富集多酚类。



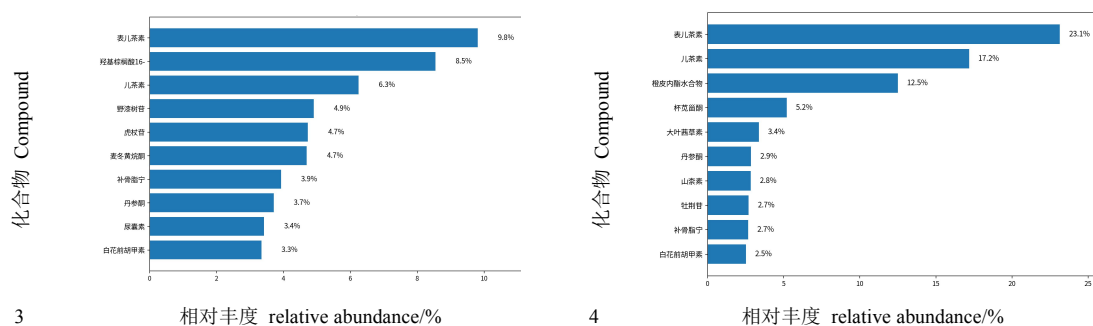


图2 四种萃取液前十化合物的相对丰度

Fig.2 Top 10 compounds with relative abundance in the four extracts

Note: 1: PE, 2: DCM, 3: EtOAc, 4: EtOH。

通过 Hybrid Quadrupole-TOF LC/MS/MS 分析，获得四种极性下的 88 个不重复化合物，其中 PE、DCM、EtOAc 和 EtOH 萃取液分别检出 32、57、45、33 个，四相检出的共同化合物为壬二酸、16-羟基棕榈酸、硬脂酸、芦荟苷、白桦脂酸、补骨脂宁、杯苋甾酮、橙皮内酯水合物和丹参酮 IIA 等 9 个（图 3）。

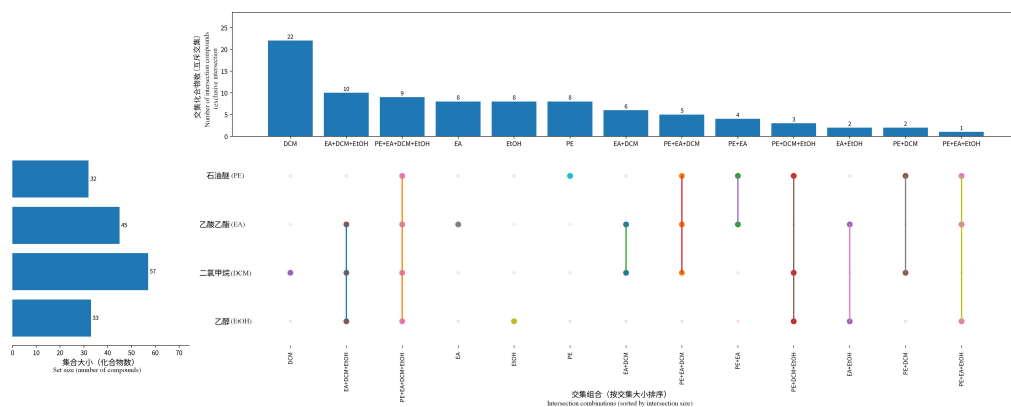


图3 四种萃取液共有/特有化合物UpSet图

Fig.3 UpSet plot of common/unique compounds among four extracts

从图 4 可以看出，四种萃取液的化学类别不同。PE 和 DCM 萃取液则主要富集脂肪酸/脂类，分别占 25.8%和 20.7%，而 EtOH 和 EtOAc 萃取液均以黄酮/多酚类占主导，分别为 51.8%和 32.5%。结果反映出低极性溶剂更倾向富集脂类与香豆素，中等极性溶剂覆盖的化学空间更宽，而作为高极性部位的 EtOH 和 EtOAc 萃取液中黄酮/多酚富集与其潜在抑菌贡献相一致。

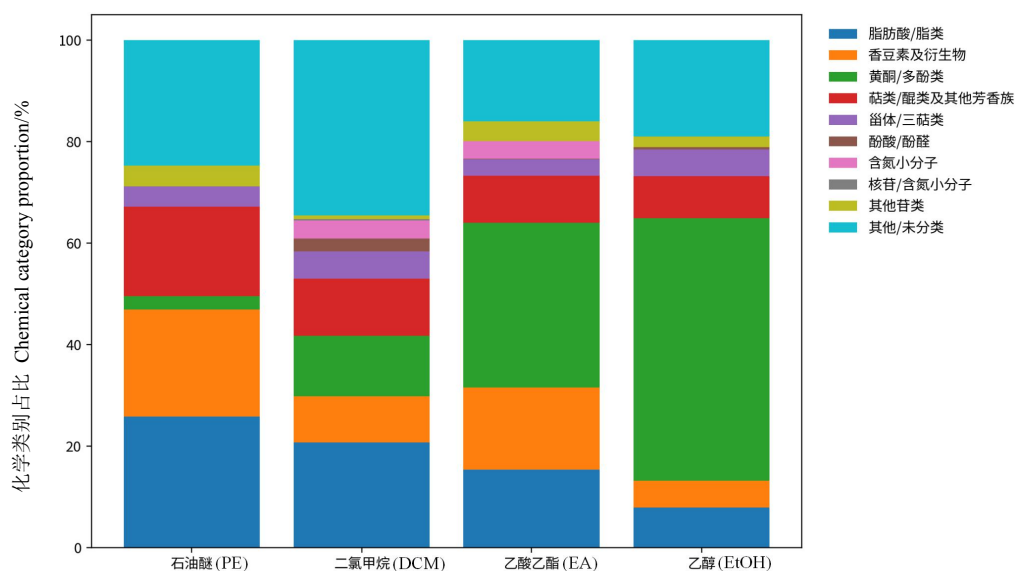


图4 四种萃取液化学类别组成

Fig.4 Chemical category composition of the four extracts

2.3 单因素对红花香椿提取液抑菌稳定性的影响

为了进一步探讨环境对抗菌活性的影响，本文从温度、紫外线照射时间与pH值等3个因素探讨其抑菌稳定性。方差分析表明，四种萃取液在不同温度、紫外线照射时间与pH值的条件下抑菌效果均达极显著差异 ($P < 0.01$)，PE萃取液在任何因子下均无抑菌作用，其余三种溶剂相均呈显著差异的环境响应特征（表2、表3、表4）。

当不同温度条件下，DCM 萃取液仅在 25℃下表现出一定抑菌作用 (7.64 ± 0.40 mm)，而 EtOH 和 EtOAc 萃取液在任何温度下均有抑菌作用，表现出一定的耐温性和稳定性(图 5)，EtOAc 萃取液在 40℃时抑菌效果最强，抑菌圈直径达到 12.82 ± 0.41 mm，EtOH 萃取液在 80℃时抑菌效果最好，抑菌圈直径为 12.45 ± 0.48 mm（表 2）。

表 2 不同温度下抑制青霉试验结果方差分析

Table 2 Analysis of variance of the results of *P.nalgiovense* inhibition at different temperatures

萃取液 Extract	温度 Temperature			
	25 °C (n=9)	40 °C (n=9)	60 °C (n=9)	80 °C (n=9)
石油醚 (PE)	-	-	-	-
二氯甲烷 (DCM)	7.64 ± 0.40 A	-	-	-
乙酸乙酯 (EtOAc)	9.74 ± 0.34 C	12.82 ± 0.41 A	11.16 ± 0.56 B	10.08 ± 0.22 C
乙醇 (EtOH)	12.16 ± 0.81 AB	11.71 ± 0.36 B	8.02 ± 0.25 C	12.45 ± 0.48 A

当紫外线照射时间不一时，DCM萃取液仅在0 min和60 min时表现出抑菌作用，其余照射时间下抑菌活性完全丧失。而EtOH和EtOAc萃取液在不同紫外线照射时间下，均有较强的抑菌效果（图5），EtOAc萃取液在紫外线照射30 min的抑菌效果最强，抑菌圈直径为 14.36 ± 0.36 mm，而EtOH萃取液在紫外线照射60 min时组抑菌效果好，抑菌圈直径为 13.57 ± 0.27 mm（表3）。

表 3 不同紫外照射时间下抑制青霉试验方差分析

Table3 Analysis of variance of inhibition of *P. nalgiovense* at different ultraviolet irradiation times

萃取液 Extract	紫外线照射时间 Ultraviolet irradiation time					
	0min (n=9)	10min (n=9)	30min (n=9)	60min (n=9)	90min (n=9)	120min (n=9)
石油醚 (PE)	-	-	-	-	-	-

二氯甲烷 (DCM)	10.63±0.38 A	-	-	8.29±0.72 B	-	-
乙酸乙酯 (EtOAc)	11.32±0.77 D	12.43±0.25 C	14.36±0.36 A	13.39±0.49 B	8.99±0.38 E	8.49±0.38 F
乙醇 (EtOH)	11.99±0.27 B	10.82±0.41 D	9.51±0.22 E	13.57±0.27 A	11.50±0.34 C	9.51±0.16 E

但在不同酸碱度的影响下，除了石油醚无作用外，其它三相从pH 2.0~10.0的强酸性到强碱性均有较强的抑菌功效，反映出酸碱度对抑菌作用影响不敏感（图5）；DCM萃取液在pH 10.0时的抑菌效果最高，抑菌圈最大直径为10.14±1.04 mm（表4），但远低于温度和紫外照射时间的抑菌活性，反映出pH的线性影响弱于温度和紫外线照射时间。

表4 不同pH下抑制青霉试验方差分析

Table 4 Analysis of variance of *P. nalgioense* inhibition tests at different pH

萃取液 Extract	pH					
	2.0(n=9)	4.0(n=9)	6.0(n=9)	7.0(n=9)	8.0(n=9)	10.0(n=9)
石油醚 (PE)	-	-	-	-	-	-
二氯甲烷 (DCM)	8.10±0.13 CD	8.26±0.46 C	7.64±0.31 D	8.30±0.42 C	9.61±0.39 B	10.14±1.04 A
乙酸乙酯 (EtOAc)	7.99±0.28 B	8.15±0.26 B	8.58±0.45 A	7.52±0.28 C	7.44±0.21 C	8.02±0.44 B
乙醇 (EtOH)	8.39±0.17 A	8.21±0.23 AB	8.23±0.21 AB	8.02±0.43 BC	7.92±0.18 C	8.19±0.15 AB

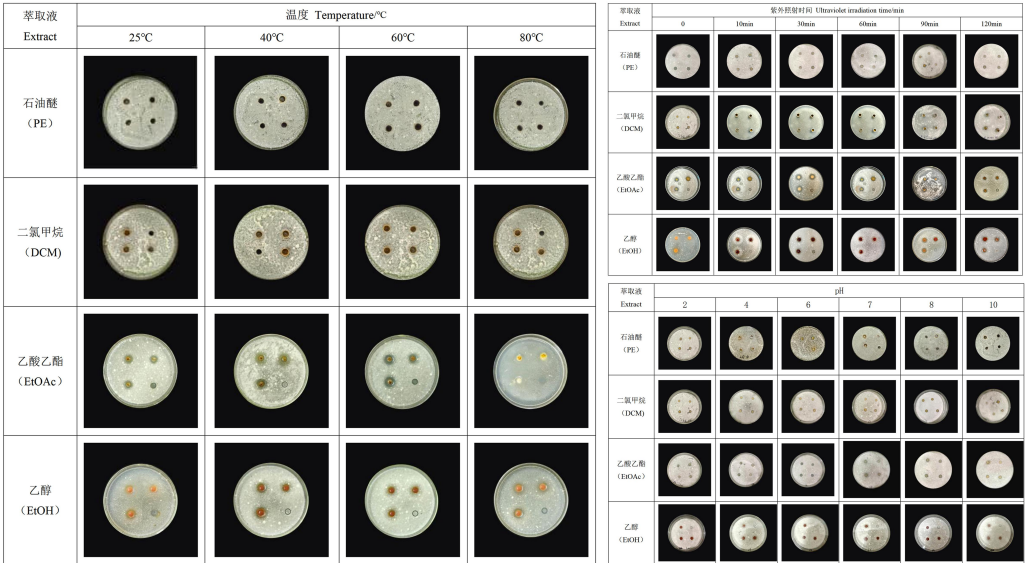


图 5 单因素对红花香椿萃取液抑菌图

Fig.5 Antibacterial activity of *T. fargesii* extracts against single factors

2.4 红花香椿 EtOH 萃取液的抑菌正交试验

单因素试验结果表明，在各单一因素影响下，EtOH 萃取液均表现出连续且相对稳定的抑菌活性。为此，采用三因素三水平 Box-behnken 试验设计原理进行正交试验，结合单因素取值范围，探讨 EtOH 萃取液在温度、紫外线照射时间和 pH 三因素及交互作用下的抑菌活性，正交试验因素与水平见表5。

表5 正交试验因素水平表

Table 5 Response surface test level

因素 Factor	-1	0	+1	固定条件 Fixed conditions	加样体积 Sample volume
A/(°C)	40	60	80	处理 30 min	100 μL
B/(min)	30	60	90	10 W 紫外灯	100 μL
C	2	4	6	提取液:缓冲液 = 1:2 (v/v)	100 μL

A 为温度, B 为紫外照射时间, C 为 pH

A is Temperature, B is ultraviolet irradiation time, C is pH

根据 BBD 原理, 三因素试验的理论组合数为 $2k(k-1) + C_0$ ($k=3$), 即12个边中心点与若干中心点, 中心点用于估计纯误差并检验模型失拟程度。本研究设置12个边中心试验点及5个中心点重复试验, 共17组试验, 设计矩阵见表6。

正交试验结果(表6)所示数据呈现出典型的“中心最优、边缘下降”的响应面特征, 为后续方差分析、显著性检验与最优条件预测提供了可靠的数据结构与统计基础。

表6 正交试验结果

Table 6 Orthogonal experimental results

试验号 Test number	A/(°C)	B/(min)	C	均值 Mean value(mm)
1	40	30	4	12.42
2	80	30	4	10.23
3	40	90	4	10.14
4	80	90	4	9.23
5	40	60	2	9.71
6	80	60	2	8.25
7	40	60	6	10.51
8	80	60	6	8.06
9	60	30	2	12.50
10	60	90	2	11.13
11	60	30	6	11.80
12	60	90	6	10.22
13	60	60	4	13.56
14	60	60	4	13.32
15	60	60	4	13.68
16	60	60	4	13.53
17	60	60	4	13.15

2.4.1 回归模型建立与分析

根据中心点分析可知, 抑菌圈均值集中在 13.15~13.68 mm, 波动较小, 可以用来进行模型拟合。由表 7 可知, 二次回归方程模型极显著($P<0.0001$), 失拟项不显著($P = 0.0699>0.05$), 模型决定系数 $R^2 = 0.7960$, 调整决定系数 $R^2_{adj} = 0.9644$, 说明该回归方程有较好的拟合度和相关性, 所得模型可靠, 其预测值可以较好地反映实际值。其中 F 值的大小可以判断单因素对抑菌效果的影响程度, F 值越大, 影响越大。由 F 值可知, 各因素对抑菌效果的影响顺序为温度、紫外照射时间、pH。模型中因素 A、B、 A^2 、 C^2 均对抑菌效果具有极显著影响, 而 C、AB、AC、BC、 B^2 对抑菌效果无显著影响。通过多元回归分析(表 7), 得到二次多项式回归方程。

Y=13.45-0.8758A-0.7779B-0.1229C+0.3175AB-0.2475AC-0.0517BC-2.61A²-0.331B²-1.71C²

表 7 回归模型方差分析

Table 7 Regression model analysis of variance						
方差来源 Source	平方和 Sum of Squares	自由度 df Freedom	均方和 Mean Square	F	P	显著性 Significance
模型 Model	56.21	9	6.25	49.22	<0.0001	**
A/(°C)	6.14	1	6.14	48.36	0.0002	**
B/(min)	4.84	1	4.84	38.15	0.0005	**
C	0.1209	1	0.1209	0.9525	0.3616	
AB	0.4032	1	0.4032	3.18	0.1178	
AC	0.245	1	0.245	1.93	0.2072	
BC	0.0107	1	0.0107	0.0842	0.7802	
A ²	28.72	1	28.72	226.36	<0.0001	**
B ²	0.4613	1	0.4613	3.64	0.0982	
C ²	12.25	1	12.25	96.58	<0.0001	**
残差 Residual	0.8882	7	0.1269			
失拟项 Lack of Fit	0.7105	3	0.2368	5.33	0.0699	
纯误差 Pure Error	0.1777	4	0.0444			
总和 CorTotal	57.1	16				

“***”表示极显著（P<0.01）。

“***” indicates extremely significant correlation（P<0.01）.

2.4.2 响应面与等高线分析

为直观揭示温度(A)、紫外照射时间(B)与 pH(C)及其交互作用对抑菌圈直径(inhibition zone, mm)的影响规律，依据回归模型绘制响应曲面及等高线图（图 6）。

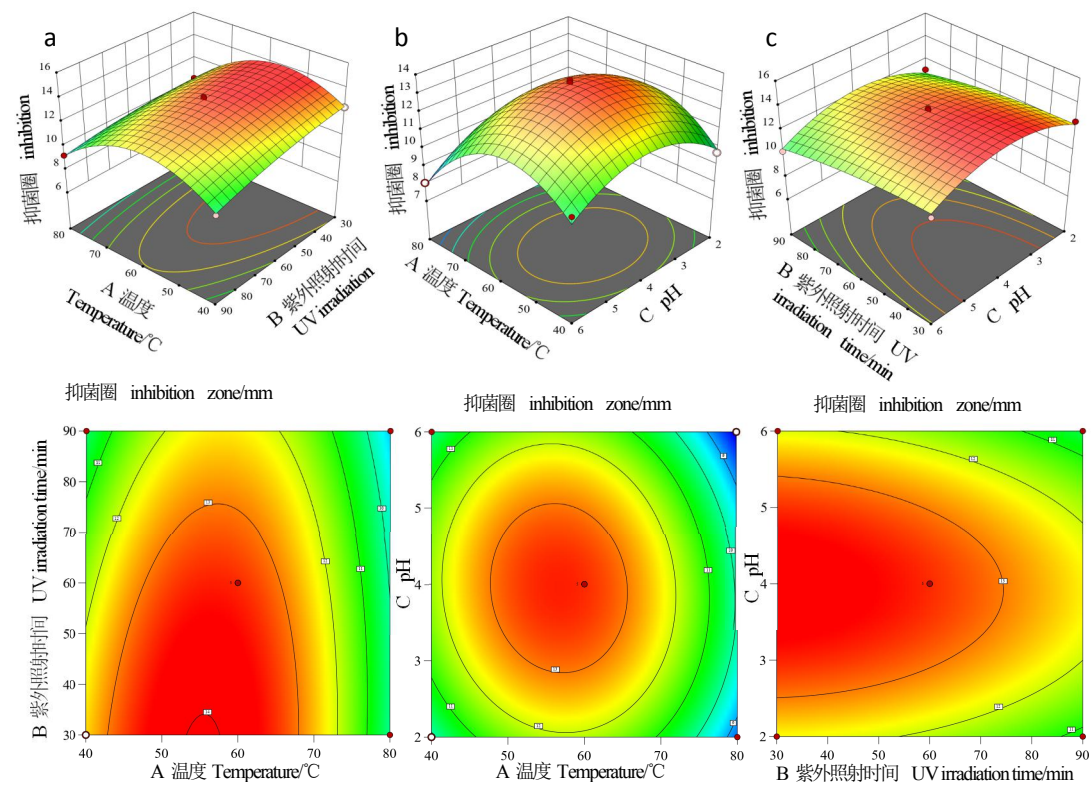


图6 交互效应响应面 and 等高线图

Fig.6 Interaction response surface and contour map

(1) A×B 交互作用响应曲面分析: 当 C 固定在 0 水平 (约 pH=4) 时, 温度与紫外照射时间的交互作用对抑菌圈直径的影响如图 6(a) 所示; 在紫外照射时间一定条件下, 抑菌圈直径随温度升高呈先增大后减小的变化, 在约 55 ~ 60 °C 附近出现最大值, 温度偏低或偏高均会使抑菌圈降低; 在温度一定条件下, 抑菌圈直径随紫外照射时间延长总体呈下降或增益迅速减弱的趋势, 高值区域主要分布在较短照射时间 (约 30 ~ 40 min) 附近, 照射时间继续增加抑菌圈逐步减小。由曲面坡度与等高线疏密可见, 在相同变化幅度下, 改变紫外照射时间引起的抑菌圈变化幅度更大, 改变温度引起的变化相对较小, 说明 B 对响应的影响强于 A; 同时 AB 等高线呈拉长的椭圆但基本不发生明显倾斜, 表明温度的最优范围不会因紫外时间改变而明显移动, 紫外时间的增加主要表现为整体降低抑菌圈的水平。

(2) A×C 交互作用响应曲面分析: 当 B 固定在 0 水平 (约 60 min) 时, A 与 C 的交互作用如图 6(b) 所示: 在 pH 一定时, 抑菌圈直径随温度变化同样表现为二次效应, 在约 55 ~ 60 °C 附近达到较大值; 在温度一定时, 抑菌圈直径随 pH 变化呈先增大后减小的趋势, 在 pH 约 4 附近出现最适区, 偏酸或偏碱均使抑菌圈下降。该平面等高线近同心圆且分布较对称, 说明温度与 pH 各自的最适区较为稳定, 二者相互影响主要体现在共同形成一个集中于 (中等温度、pH≈4) 附近的高值区, 而不是使彼此的最优点发生明显偏移。

(3) B×C 交互作用响应曲面分析: 当 A 固定在 0 水平 (约 60 °C) 时, B 与 C 的交互作用如图 6(c) 所示: 在 pH 一定时, 抑菌圈直径随紫外照射时间延长总体降低, 高值区集中在较短照射时间一侧; 在紫外照射时间一定时, 抑菌圈直径随 pH 变化仍在 pH 约 4 附近较大并向两侧递减。由等高线分布可见, 在相同变化幅度下, 紫外照射时间的变化对抑菌圈的影响更明显, 而 pH 的变化相对缓和, 说明 B 仍为主要影响因素, pH 对其具有一定调节作用; 同时 BC 等高线呈拉长椭圆/弓形且未见明显旋转, 表明在不同 pH 条件下延长紫外时间都会导致抑菌圈下降, 只是下降幅度存在一定差别。综合三组响应面可知, 抑菌圈直径的高值区域总体位于中等温度 (约 55 ~ 60 °C)、较短紫外照射时间 (约 30 ~ 40 min) 及 pH 约 4 附近, 不同交互平面等高线形态存在差异。

2.4.3 抑菌圈最佳条件的验证试验

为获得抑菌圈的环境因素的最优参数组合, 采用 Design Expert 软件对回归模型进行约束目标求解。得到抑菌活性的最佳优化条件为温度为 56.784 °C, 紫外照射时间为 40.63 min, pH 为 3.988, 抑菌圈预测值为 13.919 mm。实际测定时考虑到可行性, 条件调整为温度 56 °C, 紫外照射时长 40 min, pH 为 4.0, 冷却到室温后, 做 3 组平行试验取平均值, 得到抑菌圈为 13.5 mm, 试验结果与预测值接近, 证明该模型优化的条件具有可行性、有效性。

3 讨论

本研究以石油醚、二氯甲烷、乙酸乙酯和乙醇等四种溶剂对红花香椿树皮进行不同极性分级提取, 结合 UPLC-QTOF-MS/MS 对化学成分解析, 进一步从其在温度、紫外照射时间与 pH 条件下的抑菌表现差异, 构建“溶剂极性—成分分布—环境响应”的解释框架。结果显示, 乙酸乙酯和乙醇等中高极性萃取液在各环境因素扰动下更易保持稳定且具更显著的抑菌效应, 而石油醚萃取液在任何条件中均未有抑菌活性, 提示红花香椿树皮对纳地青霉的有效抑菌物质并非来自高度非极性组分, 而是集中在中高极性化合物体系中。与此一致的成分谱证据表明, 乙酸乙酯和乙醇萃取液中多酚类 (酚酸、黄酮/黄酮苷、香豆素等) 占比较高, 而石油醚相更多富集三萜、甾体及脂肪酸等非极性物质; 考虑到多酚和黄酮类被普遍认为是植物来源抑菌活性的关键贡献者, 而三萜、甾体虽具一定生物活性但对真菌抑制往往较弱或具有选择性, 这为石油醚无效而中高极性有效的总体趋势提供了合理的物质基础。该规律也与张晶等^[25]和 Liu 等^[26]关于植物萃取液抑菌活性与溶剂极性密切相关的结论相吻合。

已有研究表明,多酚、黄酮及其衍生物是植物来源抑菌活性的主要贡献成分^[27],而三萜和甾体类化合物虽具有一定生物活性,但其对真菌的抑制作用通常较弱或具有较强选择性,这可能是石油醚萃取液未表现出抑菌效果的重要原因。

通过比较不同环境条件下的稳定性可以发现,乙醇萃取液呈现出最强的稳健性,在 25~80℃加热、不同紫外照射时长以及 pH 2.0~10.0 的酸碱范围内,其抑菌效果波动较小,表现出良好的耐热、耐光与酸碱耐受能力。这种稳定性与乙醇相中富集的黄酮及其苷类、多酚类化合物结构相对稳定有关^[28];同时,部分多酚在适度加热或短时光照下可能发生有利于活性表达的结构调整或反应过程,从而在一定条件下呈现活性维持甚至轻微增强的现象,这与 Xiao 等^[29]关于多酚在适度处理下活性可能增强、而过度处理易引发降解的观察基本一致。相比之下,乙酸乙酯萃取液的抑菌活性对环境因子更为敏感,其在温度与紫外~~线照射~~处理中呈现中等温度或短时紫外~~线照射~~下效果更优^[30],而当温度继续升高/降低或紫外~~线照射~~时间延长时活性下降,提示部分中等极性活性物质可能更易发生热/光诱导的结构改变或降解,这一短时可能促进、长时导致衰减的模式与 Ebrahimi 等^[31]关于~~紫外线~~可改变酚类组成、短时~~紫外线照射~~处理增强而长时引起降解的结论高度一致。在 pH 条件下,乙酸乙酯萃取液在弱酸至中性环境中更有利于维持抑菌活性,而在碱性条件下活性减弱,可能与多酚和黄酮类在碱性环境中更易发生氧化或结构破坏有关^[32],从而导致功能性下降。

与乙酸乙酯和乙醇的多酚主导型环境响应不同,二氯甲烷萃取液呈现出更明显的条件依赖性,其热稳定性与紫外稳定性相对较弱,在较高温度或紫外照射后活性快速下降,说明其关键活性成分可能属于热/光稳定性较差的一类中等极性化合物,这与 Latos-Brozio 等^[30]关于部分中等极性抑菌物质耐热性不足的报道相符;但在 pH 条件上,二氯甲烷萃取液的抑菌活性随 pH 升高反而增强,在碱性条件下达到更高水平,其主要活性物质可能并非典型的易碱降解的多酚体系,而更可能包含在碱性环境中更稳定、或更易与真菌细胞结构发生作用的疏水性抑菌成分^[32-34]。此外,酸碱条件还可能通过改变真菌细胞膜通透性、关键酶活性与代谢状态,进而影响抑菌物质的进入效率与作用强度^[35,36],这一机制也可能参与了二氯甲烷萃取液在碱性条件下抑菌增强的过程。

总体而言,红花香椿树皮萃取液对纳地青霉的抑菌差异并非仅体现在“强弱”,更重要的是不同溶剂相呈现出可区分的环境响应模式,乙醇相以高稳定性与持续抑菌为特征,适合面对加工或储藏条件波动的应用场景;乙酸乙酯相具有一定条件窗口优势,但对热/光与碱性更敏感;二氯甲烷相则表现出热/光脆弱但碱性增强的特殊响应。上述结果在验证抑菌活性与溶剂极性密切相关这一普遍规律的同时,也进一步将成分分布与温度、紫外~~线照射~~时间及 pH 的差异化稳定性联系起来,为后续开展关键活性成分的精确定位、加工条件优化及作用机制阐释提供了依据。

4 结论

基于石油醚、二氯甲烷、乙酸乙酯和乙醇等四种溶剂对红花香椿树皮采用非极性至强极性的梯度回流提取法,获取了四种萃取液,其中乙醇相以黄酮/多酚类占主导(51.8%),乙酸乙酯相呈相对均衡的复合组成,黄酮/多酚类占32.5%,二氯甲烷相为脂肪酸/脂类(20.7%),低极性溶剂更易富集萜类/甾体等疏水性成分,中高级性溶剂对多酚类(特别是黄酮与香豆素类)具有更好的提取能力。四种萃取液均有壬二酸、16-羟基棕榈酸、硬脂酸、芦荟苷、白桦脂酸、补骨脂宁、杯萜甾酮、橙皮内酯水合物和丹参酮 IIA 等~~9种~~共同化合物。

分析了四种萃取液的抑菌活性分别受温度、紫外~~线照射~~时间及 pH 等单因素影响,其中 pH 弱于温度和紫外~~线照射~~时间对抑菌活性的影响。石油醚萃取液在各处理条件下均未有抑菌活性,而乙酸乙酯和乙醇的萃取液在不同因素下均有较好的抑菌活性,抑菌圈直径最大时可达14.36 mm,推测红花香椿树皮抑菌活性主要来源于中高级性部位富集的酚酸、黄酮/黄

酮苷及香豆素等多酚类化合物。

基于单因素结果,采用 Box - Behnken 正交试验,分析温度、紫外线照射时间及 pH 对乙醇萃取液的抑菌稳定性,建立了二次回归模型。通过参数优化和试验验证,抑菌的最佳条件为温度56℃、紫外线照射时间为40 min 和 pH 4,抑菌圈直径为13.5 mm,与预测值接近,表明该优化条件具有可行性和实际应用价值。

参考文献:

- [1] 周琳璿, 周美才, 贾婷, 等. 红花香椿苗木质量评价与生物量投资规律[J]. 江西农业大学学报, 2025, 47(4): 1013-1022.
- ZHOU L J, ZHOU M C, JIA T, et al. Quality evaluation of seedlings and biomass investment patterns of *Toona fargesii*[J]. Acta agriculturae universitatis Jiangxiensis, 2025, 47(4): 1013-1022.
- [2] 付方林, 张露, 杨清培, 等. 毛红椿天然林优势种群的种间联结性研究[J]. 江西农业大学学报, 2007(6): 982-987.
- FU F L, ZHANG L, YANG Q P, et al. A Study on the Interspecific Association of Dominant Species in *Toona ciliata* var. *Pubescens* Natural Forests Communities[J]. Acta agriculturae universitatis Jiangxiensis, 2007(6): 982-987.
- [3] 郭晓燕, 陶国峰, 张露, 等. 毛红椿凋落叶水浸液自毒作用研究[J]. 核农学报, 2019, 33(12): 2499-2508.
- GUO X Y, TAO G F, ZHANG L, et al. A Study on the Interspecific Association of Dominant Species in *Toona ciliata* var. *Pubescens* Natural Forests Communities[J]. Acta agriculturae universitatis Jiangxiensis, 2019, 33(12): 2499-2508.
- [4] 曾发古. 川楝柠檬苦素类化学成分及其细胞毒活性研究[J]. 中药材, 2023, 46(10): 2486-2491.
- ZHENG F G. Study on Chemical Constituents and Cytotoxic Activities of Limonins from *Melia toosendan*[J]. Journal of Chinese Medicinal Materials, 2023, 46(10): 2486-2491.
- [5] 董长明, 谢熠, 梁广鑫. 印楝素类柠檬苦素化合物 ABD 核心骨架的快速合成(英文)[J]. 有机化学, 2022, 42(9): 2857-2866.
- DONG C M, XIE Y, LIANG G X. A Feasible Route to Access the ABD Skeleton in Azadirachtin-Type Limonoids[J]. Chinese Journal of Organic Chemistry, 2022, 42(9): 2857-2866.
- [6] 吴苇, 沈寿茂, 王艳妮, 等. 香椿树皮化学成分及其抗炎活性研究[J]. 中成药, 2025, 47(9): 2950-2956.
- WU W, SHEN S M, WANG Y N, et al. Chemical constituents from the bark of *Toona sinensis* and their anti-inflammatory activity[J]. Chinese Traditional Patent Medicine, 2025, 47(9): 2950-2956.
- [7] 郑坤, 尕项卓玛, 王敏, 等. 西北沼委陵菜总黄酮提取工艺优化及其抑菌活性评价[J]. 中成药, 2025, 47(9): 2870-2875.
- ZHENG K, GA X Z M, WANG M, et al. Optimization of extraction process for total flavonoids from *Comarum salesovianum* and evaluation of their bacteriostatic activity[J]. Chinese Traditional Patent Medicine, 2025, 47(9): 2870-2875.
- [8] 李韶静, 汤建华. 木果楝属柠檬苦素类似物及其生物活性的研究进展[J]. 中草药, 2022, 53(10): 3178-3194.
- LI S J, TANG J H. Research progress on limonoids in *Xylocarpus* and their biological activities[J]. Chinese Traditional and Herbal Drugs, 2022, 53(10): 3178-3194.
- [9] 刘舸舟, 潘卫东, 李金玉, 等. 毛红椿枝叶化学成分及其抗肿瘤活性研究[J]. 中成药, 2024, 46(11): 3676-3682.
- LIU G Z, PAN W D, LI J Y, et al. Chemical constituents from the branches and leaves of *Toona ciliata* var. *pubescens* and their antitumor activities[J]. Chinese Traditional Patent Medicine, 2024, 46(11): 3676-3682.
- [10] Pal A, Tripathi A. Quercetin inhibits carbapenemase and efflux pump activities among carbapenem - resistant Gram - negative bacteria[J]. Apmis, 2020, 128(3): 251-259.

- [11] 徐一玮, 廖陞, 邓丽莉. 壳寡糖与乳酸壳聚糖对柑橘采后四种主要病原菌的抑菌活性及作用机制[J]. 食品工业科技, 2025, 46(21): 375-384..
- XU Y W, LIAO B, DENG L L, et al. Antifungal Activity and Mechanism of Chitosan Oligosaccharides and Chitosan Lactate against Four Major Postharvest Pathogenic Fungi of Citrus Fruit[J]. Science and Technology of Food Industry, 2025, 46(21): 375-384..
- [12] 李博强, 陈勇, 邢孟阳, 等. 食品中展青霉素的产生机制及污染防控策略[J]. 食品科学技术学报, 2023, 41(4): 16-25.
- LIB Q, CHEN Y, XING M Y, et al. Production Mechanisms and Control Strategies of Patulin in Food, 2023, 41(4): 16-25.
- [13] 邢福国, 刘一冰, 王刚. 食品中赭曲霉毒素 A 的产生机制及污染防控策略[J]. 食品科学技术学报, 2023, 41(04): 26-37.
- XING F G, LIU Y B, WANG G. Production Mechanisms and Control Strategies of Ochratoxin A in Food[J]. Journal of Food Science and Technology, 2023, 41(04): 26-37.
- [14] 韩娜, 陶宗娅, 代文秀, 等. 淡紫拟青霉 A10 的促生特性及其发酵液对印度芥菜幼苗蓄积 Cs⁺ 的影响[J]. 农业环境科学学报, 2019, 38(3): 485-493.
- HAN N, TAO Z Y, DAI W X, et al. Plant growth-promoting characteristics of A10 (*Paecilomyces lilacinus*) and effects of its fermentation broth on Cs⁺ accumulation in *Brassica juncea* L. seedlings[J]. Journal of Agro-Environment Science, 2019, 38(3): 485-493.
- [15] 李燕, 许耀军, 祖雪丹, 等. 华南吴茱萸的化学成分及抗炎活性研究[J]. 天然产物研究与开发, 2023, 35(1): 54-61.
- LI Y, XU Y J, ZU X D, et al. Study on chemical constituents of *Euodia austrosinensis* Hand-Mazz and their anti-inflammatory activity[J]. Natural Product Research and Development, 2023, 35(1): 54-61.
- [16] 姚依乐, 唐建立, 黄子珂, 等. 微生物降解抗生素的机理、影响因素及研究展望[J]. 中南大学学报(自然科学版), 2025, 56(10): 4086-4101.
- YAO Y L, TANG J L, HUANG Z K, et al. Mechanism, influencing factors and research prospects of microbial degradation of antibiotics[J]. Journal of Central South University(Science and Technology), 2025, 56(10): 4086-4101.
- [17] 刘舒婷, 刘佳明, 高兆麒, 等. 苯并(a)芘降解菌的筛选及其降解特性研究[J]. 生态与农村环境学报, 2025, 41(8): 1057-1065.
- LIU S T, LIU J M, GAO Z Q, et al. Screening and Characterization of Benzo(a)pyrene Degrading Bacteria and Their Degradation Properties[J]. Journal of Ecology and Rural Environment, 2025, 41(8): 1057-1065.
- [18] 林晓龙, 佳木泰, 郭海燕, 等. 副干酪乳杆菌 Q-1-4 的筛选鉴定及抗菌物质特性分析[J]. 食品科学, 2017, 38(4): 13-19.
- LIN X L, JIA M T, GUO H Y, et al. Screening and Identification of *Lactobacillus paracasei* Q-1-4 and Analysis of Antimicrobial Substances Produced by It[J]. Food Science, 2017, 38(4): 13-19.
- [19] 韩启灿, 霍光华, 罗桂祥, 等. 野生冬菇产病原拮抗物的工艺参数确定[J]. 中国预防兽医学报, 2014, 36(3): 208-213.
- HAN Q C, HUO G H, LUO G X, et al. The fermentation process of anti-pathogenic bacteria substances produced by a wild *Flammulina ssp*[J]. Chinese Journal of Preventive Veterinary Medicine, 2014, 36(3): 208-213.
- [20] 查碧晴, 彭紫怡, 令狐晨曦, 等. 紫外线消毒前后大肠埃希菌光复活及影响因素研究[J]. 现代预防医学, 2023, 50(21): 3985-3990.
- ZHA B Q, PENG Z Y, LINGHU C X, et al. Study on photoreactivation of *Escherichia coli* before and after ultraviolet disinfection and its influencing factors[J]. Modern Preventive Medicine, 2023, 50(21): 3985-3990.
- [21] Zhu Y, Zhang S. Antibacterial activity and mechanism of lacidophilin from *Lactobacillus pentosus* against *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*[J]. Frontiers in Microbiology, 2020, 11.
- [22] Wiegand C, Abel M, Ruth P, et al. pH influence on antibacterial efficacy of common antiseptic substances[J].

Skin Pharmacology and Physiology, 2015, 28(3): 147-158.

[23] Cheng H, Chen J, Yu H, et al. Environmental factors and antimicrobial efficacy: the impact of temperature and humidity on material surfaces[J]. Microbiology Spectrum, 2025, 13(11).

[24] Mohsin M S, Fitzpatrick K, Avdic M, et al. Low-irradiance inactivation kinetics of *escherichia coli* during prolonged exposure to ultraviolet-C radiation[J]. Environmental Science: Water Research & Technology, 2023, 9(6): 1654-1662.

[25] 张晶, 邢媛媛, 徐元庆, 等. 植物提取物活性成分的提取工艺及抑菌活性研究进展[J]. 动物营养学报, 2019, 31(12): 5461-5467.

ZHANG J, XING Y Y, XU Y Q, et al. Research Progress on Extraction Technology and Bacteriostatic Activity of Active Ingredients in Plant Extracts[J]. Chinese Journal of Animal Nutrition, 2019, 31(12): 5461-5467.

[26] Liu H, Wu H, Wang Y, et al. Enhancement on antioxidant and antibacterial activities of Brightwell blueberry by extraction and purification[J]. Applied Biological Chemistry, 2021, 64.

[27] Wang J, Zhou L, Wang Z, et al. Effects of natural deep eutectic solvent on the extraction efficiency and antioxidant activities of *toona sinensis* seed polyphenols: composition and mechanism[J]. Food Bioscience, 2023, 56: 103151.

[28] 张敏, 范丹娜, 王文君, 等. 山蜡梅叶黄酮和多糖同步提取工艺优化及其体外抗氧化活性研究 [J]. 江西农业大学学报, 2025, 47 (4) : 1093-1106.

ZHANG M, FAN D N, WANG W J, et al. Optimization of synchronous extraction technology of flavonoids and polysaccharides from *Chimonanthus nitens* Oliv. leaves and their *in vitro* antioxidant activity[J]. Acta agriculturae universitatis Jiangxiensis, 2025, 47(4): 1093-1106.

[29] Xiao J. Recent advances on the stability of dietary polyphenols[J]. eFood, 2022, 3(3): e21.

[30] Latos-Brozio M, Masek A, Piotrowska M. Effect of enzymatic polymerization on the thermal stability of flavonoids[J]. Journal of Thermal Analysis and Calorimetry, 2023, 148(12): 5357-5374.

[31] Ebrahimi P, Hoxha L, Mihaylova D, et al. UV-a treatment of phenolic extracts impacts colour, bioactive compounds and antioxidant activity[J]. Journal of the Science of Food and Agriculture, 2024, 104(15): 9559-9568.

[32] Honda S, Ishida R, Hidaka K, et al. Stability of polyphenols under alkaline conditions and the formation of a xanthine oxidase inhibitor from gallic acid in a solution at pH 7.4[J]. Food Science and Technology Research, 2019, 25(1): 123-129.

[33] Pasquet P L, Julien-David D, Zhao M, et al. Stability and preservation of phenolic compounds and related antioxidant capacity from agro-food matrix: effect of pH and atmosphere[J]. Food Bioscience, 2024, 57: 103586.

[34] Ait-Ouazzou A, Cherrat L, Espina L, et al. The antimicrobial activity of hydrophobic essential oil constituents acting alone or in combined processes of food preservation[J]. Innovative Food Science & Emerging Technologies, 2011, 12(3): 320-329.

[35] Fernandes T R, Segorbe D, Prusky D, et al. How alkalinization drives fungal pathogenicity[J]. PLOS Pathogens, 2017, 13(11): e1006621.

[36] Brown H E, Telzrow C L, Saelens J W, et al. Sterol-response pathways mediate alkaline survival in diverse fungi[J]. American Society for Microbiology, 2020, 11(3): e00719-20.