

改良琼脂扩散法鉴定麦卢卡蜂蜜

马丽^{1*}, 栾军¹, 刘芸¹, 周俊¹, 吴斌¹, 张睿¹, 张常印¹, 祝长青¹,
邓晓军², 郭德华², 何宇平²

(1. 江苏出入境检验检疫局动植物与食品检测中心, 南京 210001; 2. 上海出入境检验检疫局动植物与食品检测中心, 上海 200135)

摘要: **目的** 改良 Allen 等提出的测定麦卢卡蜂蜜非过氧化氢抑菌活性的琼脂扩散法。 **方法** 参照 Allen 等提出的琼脂扩散法, 研究以下 3 个方面对琼脂扩散法的影响: 使用恒温箱或在杂交炉中混匀蜂蜜水溶液, 使用不同代的金黄色葡萄球菌菌株和培养基的倾斜程度。 **结果** 麦卢卡蜂蜜样品溶液使用恒温箱和杂交炉静置法混匀, 测得样品的独麦素(Unique Manuka Factor,)UMF 值没有显著差异; 随着金黄色葡萄球菌传代数的增加, 样品的 UMF 值也没有显著差异; 培养基倾斜后同一麦卢卡蜂蜜位于中间样孔的样品 UMF 值明显高于边缘样孔。 **结论** 杂交炉混匀蜂蜜的方法操作简单, 更有利于麦卢卡蜂蜜非过氧化氢活性的检测, 25 代以内的任何 1 代菌株均可用于测定麦卢卡蜂蜜样品的非过氧化氢活性, 培养基倾倒下时要尽量避免过度倾斜。

关键词: 麦卢卡蜂蜜; 非过氧化氢活性; 独麦素; 琼脂扩散法; 金黄色葡萄球菌

Identification of manuka honey by a modified agar well diffusion method

MA Li^{1*}, LUAN Jun¹, LIU Yun¹, ZHOU Jun¹, WU Bin¹, ZHANG Rui¹, ZHANG Chang-Yin¹,
ZHU Chang-Qing¹, DENG Xiao-Jun², GUO De-Hua², HE Yu-Ping²

(1. Testing Center for Animal Plant and Food, Jiangsu Entry-Exit Inspection and Quarantine Bureau, Nanjing 210001, China; 2. Testing Center for Animal Plant and Food, Shanghai Entry-Exit Inspection and Quarantine Bureau, Shanghai 200135, China)

ABSTRACT: Objective To improve the agar well diffusion method which be used to determine the non-peroxide activity (NPA) of manuka honey proposed by Allen *et al.* **Methods** The effects of the following 3 aspects on agar well diffusion method were studied referring to the method proposed by Allen *et al.*: mixed honey samples by thermostat or hybridization oven, the use of different generations of *Staphylococcus aureus* strains and inclination of medium. **Results** The UMF value (Unique Manuka Factor) of manuka honey solutions which mixed in thermostat and hybridization oven had no significant difference. With the increase of passages of *S. aureus*, the UMF value of samples had no significant difference. And the UMF value of samples located in the middle sample holes were significantly higher than that in the marginal holes on the same inclined medium. **Conclusion** The mixture of honey samples in hybridization oven is more convenient to operate, and be advantageous to determine non-peroxide activity of manuka honey. Any *S. aureus* within 25 generations can be used to determine non-peroxide activity of manuka

基金项目: 江苏出入境检验检疫局科技计划(2015KJ29, 2016KJ05)、上海长三角科技合作项目(15395810100)

Fund: Supported by the Science and Technology Program of Jiangsu Entry-Exit Inspection and Quarantine Bureau (2015KJ29, 2016KJ05), Science and Technology Cooperation Projects of Shanghai and Yangtze River Delta (15395810100)

*通讯作者: 马丽, 工程师, 主要研究方向为麦卢卡蜂蜜掺假。E-mail: mariejfr@163.com

*Corresponding author: MA Li, Engineer, Jiangsu Entry-Exit Inspection and Quarantine Bureau, Nanjing 210001, China. E-mail: mariejfr@163.com

honey samples. The excessive inclination of medium should be avoided when it is dumped.

KEY WORDS: manuka honey; non-peroxide activity; Unique Manuka Factor; agar well diffusion method; *Staphylococcus aureus*

1 引 言

蜂蜜因其卓越的天然抗菌活性引起了世界范围的关注。研究表明, 蜂蜜中的内源生物活性和植物化学成分有助于其抑菌活性的产生, 包括渗透压^[1-3]、抗菌肽^[4]、抗氧化物^[5]、多酚类物质^[6]和过氧化氢^[7-9]等。对多数蜂蜜而言, 过氧化氢决定其主要抗菌活性^[10]。过氧化氢可以用于处理表面感染^[11], 例如由灼伤和伤口引起的溃疡和褥疮^[12], 但是进入人体后, 过氧化氢容易被体内组织中富含的过氧化氢酶降解, 从而导致过氧化氢含量降低, 抑菌活性减弱。

采自新西兰本土植物麦卢卡树 (*Leptospermum scoparium*) 的蜂蜜不仅具有一般蜂蜜的过氧化氢活性, 而且含有独特的能抵抗体内过氧化氢酶降解的成分, 这种独特的抑菌成分称为独麦素 (Unique Manuka Factor, UMF), 目前具体的成分还未知。市售麦卢卡蜂蜜的标签上以 UMF 来度量其抗菌活性, 这是以相同抑菌效果的苯酚浓度作为标识指数, 指数越高, 表明抑菌活性越强。由于麦卢卡蜂蜜鉴定实验的计算中常常有小数位, 一般取整数位再附加“+”标识^[13]。麦卢卡蜂蜜特有的非过氧化氢活性 (non-peroxide activity, NPA) 可以抑制大量革兰氏阴性菌和阳性菌的生长^[14], 能够降低病原微生物的感染概率、减轻炎症, 从而帮助伤口愈合^[11,15-19]。例如, 麦卢卡蜂蜜能有效抑制由金黄色葡萄球菌 (*Staphylococcus aureus*) 引起的鼻窦术后感染^[20]和外伤性肢体伤口感染^[21]。此外, 研究表明, 麦卢卡蜂蜜能在牙齿表面形成生物膜, 有效抵制牙菌斑, 且使用效果优于木糖醇^[22]。麦卢卡蜂蜜的 NPA 不受 γ 射线的影响, 因此蜂蜜可以灭菌后再食用^[23]。麦卢卡蜂蜜强大的治疗功效在新西兰和澳洲均已得到广泛的临床证实, 在澳大利亚、加拿大、欧洲、香港、新西兰和美国, 麦卢卡蜂蜜已经被作为伤口护理的药品使用^[24]。

麦卢卡蜂蜜比一般蜂蜜价格昂贵, 英国《星期日泰晤士报》报道称其年产量大约有 1700 吨, 但全球年销售量逾 10000 吨^[25], 为了防止大量人工伪造的麦卢卡蜂蜜通过进口流入中国市场, 鉴定它的真伪显得尤为重要。目前, 鉴定麦卢卡蜂蜜的主要方法有琼脂扩散微生物法和化学质谱法。1991 年 Waikato 大学的 Allen 等发现麦卢卡蜂蜜能有效抑制金黄色葡萄球菌的生长, 由此建立了基于琼脂样孔扩散的微生物方法, 此法能简单快速地鉴定大量蜂蜜样品的抑菌活性, 特别是通过添加过氧化氢酶来鉴定麦卢卡蜂蜜中的 NPA^[26]。本研究依据 Allen 等的方法鉴定, 并测定麦卢卡蜂蜜的 NPA, 实际操作时发现在培养同一麦卢卡蜂

蜜样品时, 边缘样孔中样品的 UMF 值低于中间样孔, 所以在倾倒培养基时需要借助水平仪, 在平稳的桌面上倾倒, 增加检测的准确性, 本研究还用杂交炉方式混匀蜂蜜溶液, 以期提高检测效率。

2 材料与方 法

2.1 供试菌株

金黄色葡萄球菌 ATCC 9144, 来自江苏出入境检验检疫局动植物检验实验室保存菌株。

2.2 样品及试剂

所有蜂蜜样品均购自南京 BHG 超市, 包括 3 种新西兰进口康维他麦卢卡蜂蜜: 15+、10+、5+; 6 种国内生产的蜂蜜: 山花蜜、洋槐蜂蜜、桂花蜜、野菊花蜜、枣花蜜和龙眼蜜, 每种蜂蜜购买 3 瓶。

胰蛋白胨大豆肉汤 (TSB) 和营养琼脂购自碧迪医疗器械 (上海) 有限公司; 实验用水均为超纯水 (英国 Elga 公司); 过氧化氢酶 (Sigma 公司); 苯酚 (南京化学试剂股份有限公司)。

2.3 主要仪器

UV-1100 型紫外可见分光光度计 (上海美谱达仪器有限公司); Binder-KBF240 型恒温箱 (上海实维实验仪器技术有限公司); GEL-7601 型分子杂交炉 (德国 GFL 公司); ZEALWAY-GI54DWS 型高压灭菌锅 (上海名仪电子有限公司); MEMMERT-WNB22 型水浴锅 (美墨尔特 (上海) 贸易有限公司); 游标卡尺 (德国 MASTERPROOF 公司)。

2.4 实验方法

2.4.1 菌液制备

接种金黄色葡萄球菌 ATCC 9144 至胰蛋白胨大豆肉汤 (TSB) 中, 于 37 °C 下培养 18 h 后将 600~700 μ L 菌悬液用 2 mL TSB 稀释, 调整其 540 nm 处的吸光值为 0.5。

2.4.2 培养基制备

制备 150 mL 新鲜营养琼脂, 121 °C 高压灭菌 15 min, 50 °C 水浴 30 min 后加入 100 μ L 稀释的菌悬液 (吸光值=0.5) 至琼脂中, 充分混匀后, 倒入分析培养皿 (245 mm \times 245 mm), 待凝固后倒置放入 4 °C 冰箱, 18~24 h 后取出, 以近似拉丁方 (quasi-latin square) 为模板, 其中 1~12 个数字代表样品溶液, IS 代表空白对照, 跨越 25 mm 的格子, 用灭菌的 8 mm 木塞钻孔器切进培养基, 敲出 64 个任意分布的孔, 即为加样孔, 每个样品 4 个重复。

2.4.3 样品制备

5 g 麦卢卡蜂蜜样品中添加 5 mL 超纯水, 放入 37 °C 杂交炉直接混匀 30 min, 或者放入恒温箱 20 min 后取出, 用汤匙搅匀, 再放入恒温箱中静置 10 min。吸取 1 mL 蜂蜜水溶液分别和 1 mL 过氧化氢酶溶液(2 mg/mL)或 1 mL 去离子水混合, 用于测定麦卢卡蜂蜜的 NPA 和全能活性(total activity, TA)。

2.4.4 苯酚标准溶液制备

将苯酚与超纯水混合, 制备体积比分别为 2%、3%、4%、5%、6%和 7%的苯酚标准溶液, 于-20 °C 冰箱中避光保存, 使用前于 4 °C 解冻。

2.4.5 加样

将 100 μL 苯酚标准溶液或蜂蜜溶液加入培养基样孔, 取去离子水作为空白对照。加样后, 将培养皿放入 37 °C 培养 18 h。

2.4.6 数据分析

将游标卡尺沿着近似拉丁方模板水平或垂直方向测量抑菌圈直径, 以苯酚标准溶液的抑菌圈直径的平方值为横坐标, 苯酚浓度为纵坐标, 绘制标准曲线。测量蜂蜜样品溶液的抑菌圈直径, 从标准曲线查得相应的苯酚浓度, 再乘以稀释倍数 4, 即为样品的 UMF 值。

3 结果和分析

3.1 非过氧化氢活性和全能活性

依据 Allen 等的方法, 分别称取 15+的康维他麦卢卡蜂蜜、山花蜜及洋槐蜂蜜各 5 g, 分别与 5 mL 水混合后, 取 1 mL 蜂蜜水溶液与 1 mL 水混合, 依次加入样孔 9 号、4 号和 11 号, 如图 1A。同时做对照实验, 将这 3 种蜂蜜水溶液分别与过氧化氢酶溶液混合后, 取另一培养基平板, 依次加入相同编号的样孔 9 号、4 号和 11 号, 如图 1B。从图 1A 中可以明显地看出, 麦卢卡蜂蜜与洋槐蜂蜜有抑菌圈, 而山花蜜没有抑菌圈, 这是由于麦卢卡蜂蜜和洋槐蜂蜜具有全能活性, 即为过氧化氢活性。图 1B 与图 1A 的区别是, 图 1B 样孔中所加的蜂蜜水溶液中添加过氧化氢酶, 结果只有麦卢卡蜂蜜有抑菌圈, 另外 2 种蜂蜜均没有抑菌圈。为了证明 NPA 是麦卢卡蜂蜜特有的, 依据 Allen 等的方法, 又分别检测了桂花蜜、野菊花蜜、枣花蜜、龙眼蜜以及 10+康维他蜂蜜的 TA(图 1C)和 NPA(图 1D), 加样孔依次为 2 号、4 号、7 号、10 号及 1 号, 比较图 1C 和图 1D 中桂花蜜和龙眼蜜的 TA 和 NPA, 野菊花蜜和枣花蜜具有 TA 却没有 NPA, 只有 10+康维他麦卢卡蜂蜜具有 TA 和 NPA, 说明 NPA 是麦卢卡蜂蜜的特有活性。这是因为过氧化氢容易被过氧化氢酶催化分解, 导致抗菌活性被抑制, 而麦卢卡蜂蜜的独麦素不受过氧化氢酶影响, 使其仍然保有抑菌活性。

通过琼脂扩散方法判定 NPA 是鉴定麦卢卡蜂蜜的核

心技术。由于 UMF 值与蜂蜜价格呈正相关, 所以需进一步测定麦卢卡蜂蜜的 UMF 值, 与包装上的 UMF 值进行比对, 为消费者严格把关。

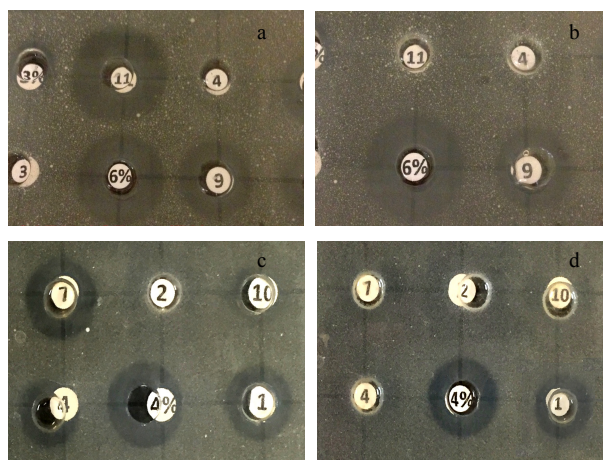


图 1 缺失(A, C)或添加(B, D)过氧化氢酶溶液的蜂蜜样品中 TA(A, C)和 NPA(B, D)的检测

Fig.1 Detection of TA (A, C) and NPA (B, D) in honey samples without (A, C) or with (B, D) catalase solution

3.2 Allen 等的方法改良

3.2.1 培养基倾斜

每个样品在培养皿上有 4 个重复孔, 测量其抑菌圈直径后发现, 同一稀释度下, 距离培养基边缘较远的样孔的抑菌圈直径与距离培养基边缘较近样孔的直径存在差异, 如图 2 所示, 2 个边缘样孔 1 和 2 的抑菌圈直径较中间样孔的直径小。此外, 若培养基表面不平, 出现倾斜, 则薄边的边缘样孔 2 的抑菌圈直径最小, 另一边缘样孔 1 的直径次之。15+康维他蜂蜜的最大与最小 UMF 值可相差 3, 已超出误差范围。上述结果表明, 虽然每次取值都选择 4 个样品重复的平均值, 但是 4 个取值的差异性太大, 仍会影响数据的可靠性。因此, 每次倒平板之前, 应用水平仪设置放置培养皿的水平位点, 减小培养基的倾斜度。

3.2.2 菌种传代

随着菌种的传代, 细菌菌株的活性会逐渐降低, 直至失去活性, 导致其不能在培养基表面形成菌落群, 无法出现清晰可见的抑菌圈, 从而无法鉴定麦卢卡蜂蜜的 NPA。Allen 等的方法中使用第 1 代菌株鉴定麦卢卡蜂蜜, 由于菌株较为昂贵, 加大了鉴定的成本, 本研究使用不同代菌株测量同一麦卢卡蜂蜜样品。结果表明, 随着菌株传代次数的增加, 3 种麦卢卡蜂蜜样品的 UMF 值几乎成一条直线, 说明传到第 25 代时菌株的活性还未减弱。而且在 25 代以内, 菌株的活性同第 1 代菌株一样活跃, 所以无需每次使用第 1 代菌株检测蜂蜜的 NPA(图 3)。

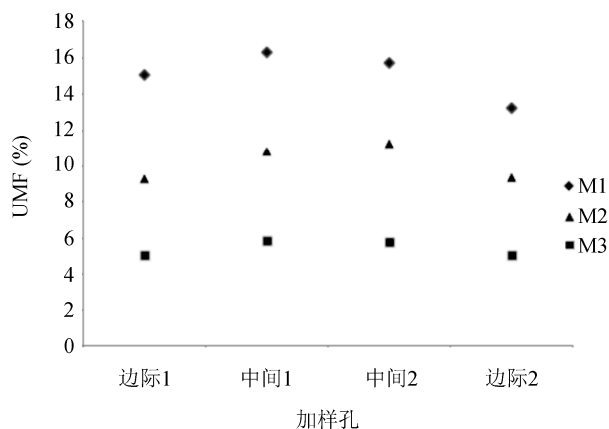


图 2 4 个不同位置加样孔内蜂蜜样品的 NPA 值

Fig. 2 UMF of honey samples placed in 4 sample holes at different positions

(M1: 15+康维他麦卢卡蜂蜜; M2: 10+康维他麦卢卡蜂蜜; M3: 5+康维他麦卢卡蜂蜜)

(M1: 15+ Comvita manuka honey; M2: 10+ Comvita manuka honey; M3: 5+ Comvita manuka honey)

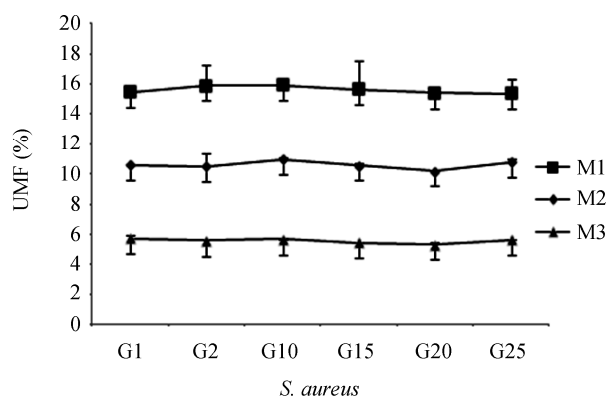
图 3 使用不同代的 *S. aureus* 菌株检测麦卢卡蜂蜜的 NPA 值

Fig. 3 UMF of manuka honey samples detected with *S. aureus* of different generations

(M1: 15+康维他麦卢卡蜂蜜; M2: 10+康维他麦卢卡蜂蜜; M3: 5+康维他麦卢卡蜂蜜)

(M1: 15+ Comvita manuka honey; M2: 10+ Comvita manuka honey; M3: 5+ Comvita manuka honey)

3.2.3 蜂蜜混匀方式

测定过程中, 蜂蜜样品必须与水或过氧化氢酶溶液充分混匀, Allen 等的方法建议将蜂蜜放入 37 °C 恒温箱 20 min, 取出后震荡混合, 然后用汤匙搅拌, 再放入恒温箱 10 min. 实际应用时发现, 此种混匀方式在多个蜂蜜样品同时测定时会延误操作时间, 导致过氧化氢酶活性降低, 而直接将蜂蜜混合溶液放入 37 °C 杂交炉 30 min 可以避免上述问题的产生。

比较这 2 种方式发现, 其测定结果没有显著差异(图 4), 说明杂交炉方法是切实可行的。此外, 温箱法混匀蜂蜜的 NPA 值略低于杂交炉方法, 很可能是由于操作过程中蜂

蜜溶液粘附在汤匙上, 造成样品溶液的损失, 因此杂交炉方法更为方便有效, 可以取代温箱法用于麦卢卡蜂蜜的 NPA 鉴定。

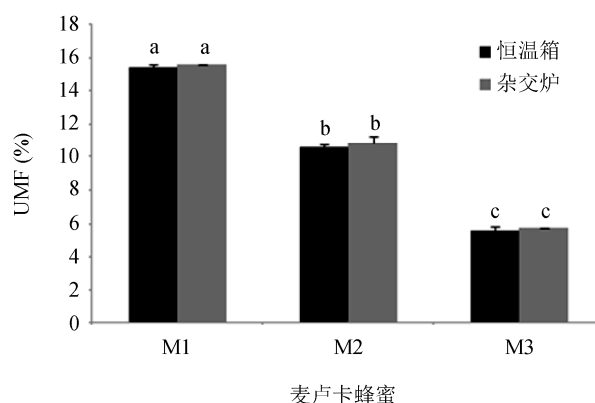
图 4 温箱法和杂交炉法混匀的麦卢卡蜂蜜样品的 NPA 值($n=3$)

Fig. 4 NPA of manuka honey samples mixed in thermostat and hybridization oven ($n=3$)

注: 不同字母代表差异显著($P < 0.05$)。

4 讨论和结论

麦卢卡蜂蜜具有天然的抑菌成分 UMF, 不同于依赖过氧化氢抑菌的蜂蜜, 麦卢卡蜂蜜被人食用后, 在体内仍保有抑菌活性, 从而作为胃肠道损伤和手术伤口愈合的良药^[17]。

本研究采用微生物方法测定麦卢卡蜂蜜的 NPA, 结果表明, *S. aureus* 菌株传代和蜂蜜溶液的混匀方式对检测结果没有影响, 而培养基的倾斜度会影响检测结果, 由于培养基具有边缘效应, 当培养皿放入温箱时, 边缘样孔的湿度小于中间样孔, 导致扩散系数下降, 使抑菌的蜂蜜溶液无法完全扩散, 从而减小了抑菌圈的直径, 此外培养基的倾斜加大了边缘效应, 使得实验结果的重复性降低, 影响 NPA 的测定。通过改良实验发现, 在培养基置于恒温箱的过程中, 应尽量减少门的开关次数, 以避免边缘蜂蜜溶液蒸发的加剧。培养基每次高压灭菌后不宜在灭菌锅内放置过长时间, 否则会降低培养基的一致性, 可以待灭菌锅气压降到 0, 温度降到 100 °C 时取出培养基, 并立即放入 50 °C 水浴。每个样品测定 NPA 时, 还应增加重复次数来提高数值的可信度。

Allen 等建议苯酚标准溶液在 4 °C 避光保存, 并且每个月配制 1 次, 但本实验中的苯酚溶液在 -20 °C 避光保存, 每次使用前解冻, 发现即使经过半年以上, 仍可以做出精确的标准曲线($r^2 > 0.967$), 说明这种保存苯酚标准溶液的方法是切实可行的, 并且能够降低由多次接触高纯度苯酚而带来的安全隐患。

综上所述, 应用琼脂扩散法测定麦卢卡蜂蜜时, 可以

应用杂交炉混合蜂蜜样品,水平放置培养皿能更有效地测定麦卢卡蜂蜜的NPA,金黄色葡萄球菌也无需每次使用第1代菌株,25代以内都可以使用。

参考文献

- [1] Bose B. Honey or sugar in treatment of infected wounds? [J]. *Lancet*, 1982, 1(8278): 963.
- [2] White JW, Subers MH, Schepartz AI. The identification of inhibine, the antibacterial factor in honey, as hydrogen peroxide and its origin in a honey glucose-oxidase system [J]. *Biochem Biophys Acta*, 1963, 73(1): 57-70.
- [3] Wahdan HAL. Causes of the antimicrobial activity of honey [J]. *Infect*, 1998, 26(1): 26-31.
- [4] Kwakman PHS, Boer LD, Ruyter-Spira CP, *et al.* Medical-grade honey enriched with antimicrobial peptides has enhanced activity against antibiotic-resistant pathogens [J]. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*, 2011, 30(2): 251-257.
- [5] Brudzinski K, Miotto D. Honey melanoidins: Analysis of a composition of the high molecular weight melanoidin fractions exhibiting radical scavenging activity [J]. *Food Chem*, 2011, 127(3): 1023-1030.
- [6] Aljadi AM, Yusoff KM. Isolation and identification of phenolic acids in Malaysian honey with antibacterial properties [J]. *Turk J Med Sci*, 2003, 33(4): 229-236.
- [7] Brudzynski K. Effect of hydrogen peroxide on antibacterial activities of Canadian honeys [J]. *Can J Microbiol*, 2006, 52(12): 1228-1237.
- [8] Mundo MA, Padilla-Zakour OI, Worobo RW. Growth inhibition of foodborne pathogens and food spoilage organisms by select raw honeys [J]. *Int J Food Microbiol*, 2004, 97(1): 1-8.
- [9] Taormina PI, Niemira BA, Beuchat LR. Inhibitory activity of honey against foodborne pathogens as influenced by the presence of hydrogen peroxide and level of antioxidant power [J]. *Int J Food Microbiol*, 2005, 69(69): 217-225.
- [10] Katrina B, Kamal A, Danielle M. Unraveling a mechanism of honey antibacterial action: Polyphenol/H₂O₂-induced oxidative effect on bacterial cell growth and on DNA degradation [J]. *Food Chem*, 2012, 133(2): 329-336.
- [11] Robson V, Dodd S, Thomas S. Standardized antibacterial honey(Medihoney) with standard therapy in wound care: Randomized clinical trial [J]. *J Adv Nurs*, 2009, 65(3): 565-575.
- [12] Cooper RA, Jenkins L. A comparison between medical grade honey and table honeys in relation to antimicrobial efficacy [J]. *Wound*, 2009, 21(2): 29-36.
- [13] Kato Y, Umeda N, Maeda A, *et al.* Identification of a novel glycoside, Leptosin, as a chemical marker of manuka honey [J]. *J Agric Food Chem*, 2012, 60(10): 3418-3423.
- [14] Lusby PE, Coombes AL, Wilkinson JM. Bactericidal activity of different honeys against pathogenic bacteria [J]. *Arch Med Res*, 2005, 36(5): 464-467.
- [15] Gethin G, Cowman S. Manuka honey vs. hydrogen-a prospective, open label, multicentre, randomised controlled trial to compare desloughing efficacy and healing outcomes in venous ulcers [J]. *J Clin Nurs*, 2009, 18(3): 466-474.
- [16] Blair SE, Cokcetin N, Harry EJ, *et al.* The unusual antibacterial activity of medical-grade Leptospermum honey: antibacterial spectrum, resistance and transcriptome analysis [J]. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*, 2009, 28(1): 1199-1208.
- [17] Henriques AF, Jenkins RE, Burron NF, *et al.* The intracellular effects of manuka honey on *Staphylococcus aureus* [J]. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*, 2010, 29(1): 45-50.
- [18] Cooper RA, Jenkins L, Henriques AF, *et al.* Absence of bacterial resistance to medical-grade manuka honey [J]. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*, 2010, 29(10): 1237-1241.
- [19] Medhi B, Prakash A, Avti PK, *et al.* Effect of manuka honey and sulfasalazine in combination to promote antioxidant defense system in experimentally induced ulcerative colitis model in rats [J]. *Indian J Exp Biol*, 2008, 46(8): 583-590.
- [20] Jervis-Bardy J, MBBS, Foreman A, *et al.* Methylglyoxal-infused honey mimics the anti-*Staphylococcus aureus* biofilm activity of manuka honey: potential implication in chronic rhinosinusitis [J]. *Laryngoscope*, 2011, 121(10): 1104-1107.
- [21] Guthrie HC, Martin KR, Taylor C, *et al.* A pre-clinical evaluation of silver, iodine and manuka honey based dressings in a model of traumatic extremity wounds contaminated with *Staphylococcus aureus* [J]. *Injury-Int J Care Injured*, 2014, 45(8): 1171-1178.
- [22] Nayak PA, Nayak UA, Mythili R. Effect of manuka honey, chlorhexidine gluconate and xylitol on the clinical levels of dental plaque [J]. *Contemp Clin Dent*, 2010, 1(4): 214-217.
- [23] Molan PC, Allen KL. The effect of gamma-irradiation on the antibacterial activity of honey [J]. *J Pharm Pharmacol*, 1996, 48(11): 1206-1209.
- [24] Irish J, Blair S, Carter DA. The antibacterial activity of honey derived from Australian flora [J]. *PloS One*, 2011, 6(3): 1-8.
- [25] 震惊!你不得不知的麦卢卡蜂蜜秘密! [EB/OL]. <http://www.bjshjzx.com/a/anquan/2016/0418/15814.html>. 2016-04-18.
- Shock! The secret of manuka honey that you have to know! [EB/OL]. <http://www.bjshjzx.com/a/anquan/2016/0418/15814.html>. 2016-04-18.
- [26] Allen KL, Molan PC, Reid GM. A survey of the antibacterial activity of some New Zealand honeys [J]. *J Pharm Pharmacol*, 1991, 43(12): 817-822.

(责任编辑: 刘丹)

作者简介



马丽, 硕士, 工程师, 主要研究方向为麦卢卡蜂蜜掺假。

E-mail: mariejfr@163.com