

油橄榄叶提取物抗氧化及抑菌活性研究

田立鹏¹, 李春爱¹, 蔡梦¹, 金凤², 吴龚鹏², 蒲陆梅^{1*}

(1. 甘肃农业大学理学院, 兰州 730070; 2. 祥宇油橄榄开发有限责任公司, 陇南 742500)

摘要: **目的** 对油橄榄叶提取物的成分进行鉴定, 并探究其抗氧化及抑菌活性。**方法** 采用溶剂浸提法, 以蒸馏水、50%、70%、90%乙醇为溶剂提取油橄榄叶中的有效成分, 采用傅里叶变换红外光谱法(Fourier transform infrared spectrometry, FTIR)对所得提取物的结构特征进行表征, 气相色谱-质谱法(gas chromatography-mass spectrometry, GC-MS)对其组成成分进行分析, 通过DPPH·清除能力、还原力以及滤纸片法分别考查提取物的抗氧化及抑菌活性。**结果** 以90%乙醇为提取剂时, 提取率(30.37%)和提取物中总多酚(0.01068 mg/mL)含量最高, 提取物中酚类化合物以2,6-二叔丁基对甲酚和2,4-二叔丁基苯酚为主, 2者相对含量高达29.34%。提取物具有良好的抗氧化活性, 对灰葡萄孢(*Botrytis cinerea*)、扩展青霉(*Penicillium expansum*)表现出明显的抑菌活性。**结论** 本研究首次发现油橄榄叶提取物中主要酚类物质是2,6-二叔丁基对甲酚和2,4-二叔丁基苯酚, 油橄榄叶提取物具有较强的抗氧化和抑菌活性, 为油橄榄叶提取物作为抗氧化剂和抑菌剂提供了理论依据。

关键词: 油橄榄叶; 总多酚; 抗氧化活性; 抑菌活性

Study on antioxidant and antibacterial activity of *Olea europaea* leaves extract

TIAN Li-Peng¹, LI Chun-Ai¹, CAI Meng¹, JIN Feng², WU Gong-Peng², PU Lu-Mei^{1*}

(1. College of Science, Gansu Agricultural University, Lanzhou 730070, China;
2. Xiangyu Olive Development Limited Liability Company, Longnan 742500, China)

ABSTRACT: Objective To identify the active components of the *Olea europaea* leaves extract, and explore its antioxidant and antibacterial activities. **Methods** The effective components of *Olea europaea* leaves were extracted with distilled water, 50%, 70%, and 90% ethanol by solvent extraction, Fourier transform infrared spectroscopy (FTIR) was used to characterize the structural characteristics of the obtained extracts, the components of the extracts were analyzed by gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS), and the antioxidant and antibacterial activities of the extracts were evaluated by DPPH· scavenging activity, reducing power and filter paper method. **Results** When 90% ethanol was used as extraction solvent, the yield (30.37%) and total polyphenol content (0.01068 mg/mL) of the extracts were the highest, the phenolic compounds in the extract were mainly 2,6-di-tert-butyl-4-cresol and 2,4-di-tert-butylphenol, and the relative content of the 2 kinds of compounds was up to 29.34%. The extracts had good antioxidant activities and showed obvious antibacterial activities against *Botrytis cinerea* and *Penicillium*

基金项目: 国家自然科学基金项目(31860472)

Fund: Supported by the National Natural Science Foundation of China (31860472)

*通信作者: 蒲陆梅, 博士, 教授, 主要研究方向为天然产物、等离子体化学。E-mail: pulm@gsau.edu.cn

*Corresponding author: PU Lu-Mei, Ph.D, Professor, Gansu Agricultural University, No.1, Yintan Road, Anning District, Lanzhou 730070, China. E-mail: pulm@gsau.edu.cn

expansum. **Conclusion** This study finds for the first time that 2,6-di-tert-butyl-4-cresol and 2,4-di-tert-butylphenol was the main phenolic compounds in *Olea europaea* leaves extract, the extracts have strong antioxidant and antibacterial activities, which provides a theoretical basis for *Olea europaea* leaves extracts as antioxidant and antibacterial agents.

KEY WORDS: *Olea europaea* leaves; total polyphenols; antioxidant activity; antibacterial activity

0 引 言

油橄榄(*Olea europaea*)为木樨榄属的常绿乔木,是重要的经济作物^[1],主要分布在欧洲地中海沿岸国家和美国加州地区^[2]。我国从 1965 年开始陆续引进不同品种的油橄榄,在甘肃陇南和广西南宁分布广泛。目前,甘肃省油橄榄树种植面积超过 35000 hm²,占全国油橄榄种植面积的 55%以上^[3]。油橄榄浑身是宝,油橄榄叶也不例外。每年的油橄榄树修剪和油橄榄果采收过程中均会产生大量油橄榄叶。油橄榄叶在农场中通常被焚烧或堆肥,只有少量被用于生产动物饲料、燃料、造纸等^[4-6],这无疑造成了环境污染和资源浪费。

油橄榄叶含有三萜类、黄酮类、环烯醚萜类、游离醇、甾醇、烷烃类和查尔酮类等功效成分^[7-11],具有抗氧化^[12]、降血糖、抗炎^[13]、降低血压^[14]、预防心血管疾病和增进免疫系统^[15]等保健功效。近年来,国内外围绕油橄榄叶中多酚类物质、黄酮类、萜类等活性成分及其抗氧化活性进行的相关研究日趋增多。阮梅兰等^[16]发现油橄榄叶粗提物可以减缓食用调和油的氧化变质;赵艳霞等^[17]。研究得到油橄榄叶中提取羟基酪醇的最佳工艺,并通过体外抗氧化实验证明羟基酪醇具有较强的抗氧化活性;有研究表明,油橄榄叶中橄榄苦苷在 0.02~0.08 mg/mL 质量浓度范围内,表现出强的抗氧化能力和还原力^[18];MONICA 等^[19]。采用索氏提取法和微波辅助提取法获得的油橄榄叶提取物对 5 种食源性病原体(单增李斯特菌、鼠伤寒沙门氏菌、大肠杆菌、小肠结肠炎耶尔森氏菌和金黄色葡萄球菌)表现出强的抗菌活性,最低抑菌浓度值为 2.5~60 mg/mL;BAYSAL 等^[20]采用 DFT(密度泛函理论)进行理论计算,发现不同产地油橄榄叶提取物的抗氧化活性、抗菌活性存在显著差异;孔维宝等^[21]证明了油橄榄叶提取物对大肠杆菌、金黄色葡萄球菌等 8 种致病菌具有较强的抑菌活性,且病原菌对提取物的敏感程度存在较大的差异。综上所述,现有研究主要集中在油橄榄叶提取物或提取物中单一成分的抗氧化性、抗菌性,而对提取物成分组成的分析不足,且有关油橄榄叶提取物对真菌抑制活性的研究还鲜有报道。

基于此,本研究以甘肃陇南油橄榄叶(莱星)为原料,采用溶剂浸提法,以水和不同浓度的乙醇为提取剂提取油橄榄叶有效成分,采用傅里叶变换红外光谱法(Fourier transform infrared spectrometry, FTIR)和气相色谱-质谱法

(gas chromatography-mass spectrometry, GC-MS)对提取物成分进行鉴定,并分析比较油橄榄叶水提物和醇提物的活性成分,以及各提取物的抗氧化活性、抑菌活性的差异,旨在为有效开发利用油橄榄叶提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料和仪器

新鲜油橄榄叶采于甘肃省陇南市祥宇油橄榄开发有限责任公司生态产业园,品种为莱星;灰葡萄孢(*Botrytis cinerea*)、扩展青霉(*Penicillium expansum*)由甘肃农业大学食品科学与工程学院实验室提供。

没食子酸(分析纯,上海展云化工有限公司);1,1-二苯基-2-三硝基苯肼(1,1-diphenyl-2-trinitrophenyl hydrazine, DPPH)(上海麦克林生化科技有限公司);维生素 C (vitamin C, 分析纯,天津市巴斯夫化工有限公司);福林酚(分析纯,南京都莱生物技术有限公司);碳酸钠(分析纯,无锡市晶科化工有限公司)。

RE-2000B 型旋转蒸发仪(上海亚荣生化仪器厂);JC-UT2000 型紫外可见分光光度计(北京通用仪器有限公司);Nicolet iS5 型傅里叶变换红外光谱仪(天津港东科技发展有限公司);QP2020 NX 型气相色谱-质谱联用仪(日本岛津公司);1260 Infinity II 高效液相色谱仪[安捷伦科技(中国)有限公司];LGJ-12 型冷冻干燥机(北京松源华兴科技发展有限公司);OV-1701 色谱柱(30 mm×0.25 mm, 0.25 μm)(日本岛津公司)。

1.2 实验方法

1.2.1 提取物制备

新鲜的油橄榄叶自然风干,分别用蒸馏水、50%、70%、90%乙醇溶液,按料液比 1:10 (g:mL)浸泡 1 h。然后在 80 °C 的条件下溶剂热提取回流 1 h,相同条件下提取 2 次,合并滤液,减压蒸馏回收溶剂后,冷冻干燥,得到油橄榄叶提取物,存于 4 °C 冰箱备用^[22]。

1.2.2 总多酚含量的测定

参照王晓杰等^[1]的方法稍作修改,分别配制质量浓度为 0、0.002、0.004、0.006、0.008、0.100 mg/mL 的没食子酸标准溶液,依次加入 0.1 mL 福林酚试剂、2.0 mL 15%碳酸钠溶液,混匀加水定容至 10 mL,于 760 nm 处测吸光度。绘制标准曲线,计算总多酚含量。没食子酸对照品在 0.002~0.010 mg/mL 范围内,线性关系良好,标准曲线方程

为 $Y=115.948X+0.1348, r^2=0.9989$ 。

总多酚提取率为提取物干重与油橄榄叶的比值。

1.2.3 红外光谱分析

将 4 种提取物分别置于玛瑙研钵中, 研磨为均匀的粉末, 压片待测。红外光谱条件: 光谱测量范围 $4000\sim 400\text{ cm}^{-1}$, 光谱分辨率为 4 cm^{-1} 。

1.2.4 气相色谱-质谱分析

参照高歌等^[23]的方法, 并稍作修改。

固相微萃取(solid phase micro extraction, SPME)条件: 萃取头: 50/30 μm DVB/Car/PDMS, 样品溶液约 5 mL 置于顶空瓶中, 萃取温度 $75\text{ }^{\circ}\text{C}$, 萃取时间 15 min;

GC 条件: OV-1701 色谱柱($30\text{ mm}\times 0.25\text{ mm}$, $0.25\text{ }\mu\text{m}$); 升温程序: 柱温 $40\text{ }^{\circ}\text{C}$ 保持 2 min, 以 $4\text{ }^{\circ}\text{C}/\text{min}$ 升至 $180\text{ }^{\circ}\text{C}$, 保持 1 min, 再以 $8\text{ }^{\circ}\text{C}/\text{min}$ 升至 $220\text{ }^{\circ}\text{C}$; 载气: 氦气, 柱流速为 $1.77\text{ mL}/\text{min}$, 溶剂延迟 2.5 min; 进样温度 $250\text{ }^{\circ}\text{C}$; 进样方式: 不分流进样。

MS 条件: 离子源为电子轰击离子源(electron impact ion source, EI), 接口温度 $250\text{ }^{\circ}\text{C}$, 离子源温度 $200\text{ }^{\circ}\text{C}$, 扫描质量范围 $35\sim 350\text{ m/z}$ 。

1.2.5 提取物的抗氧化活性测定

DPPH·清除能力参照刘以娟等^[24]方法进行测定, 还原力参照刘以娟等^[24]的铁氰化钾法进行测定, 并对提取物的总多酚含量、DPPH·清除率以及还原力进行皮尔逊相关系数分析。

1.2.6 抗菌活性

选择灰葡萄孢、扩展青霉作为实验菌。抗菌活性采用滤纸片法测定^[25]。配制 $1\times 10^6\text{ CFU}/\text{mL}$ 菌悬液, 吸取 $50\text{ }\mu\text{L}$ 菌悬液涂布于马铃薯葡萄糖琼脂(potato dextrose agar, PDA)培养基中, 静置 30 min 后, 将平板均分为 3 个区, 分别放置 3 个滤纸片(直径 6 mm), 每片滴加 $10\text{ }\mu\text{L}$ 质量浓度为 $10\text{ mg}/\text{mL}$ 的橄榄提取物, 无菌水作为对照, 置于 $23\text{ }^{\circ}\text{C}$ 培养箱培养 96 h, 用十字交叉法测得抑菌圈直径大小。

1.2.7 数据处理

采用 Microsoft Excel 进行数据统计处理, 采用 origin 9.0 软件进行绘图, 采用 SPSS 19.0 软件进行相关性分析, 所有实验重复测定 3 次, 结果以平均值 $\pm$ 标准偏差表示。

2 结果与分析

2.1 不同提取溶剂对油橄榄叶提取物中总多酚及其提取率的影响

由表 1 可知, 随着乙醇体积分数的增大, 溶液中的总多酚含量显著升高($P<0.05$), 90%乙醇的提取效率显著高于其他溶剂($P<0.05$), 这与文献报道相一致^[26-27], 水溶剂提取效果最差。乙醇/水溶液两相溶剂系统总多酚提取效率优于单一的水相溶剂, 这主要是因为乙醇/水溶液两相溶剂系统可以破坏多酚类物质与多糖等其他物质的结合键, 有

利于总多酚的提取^[28]。水的提取率最低, 而含有乙醇的两相溶剂系统的提取率随着乙醇体积分数的增大而增大, 乙醇/水溶液两相溶剂系统提取效率优于单一的水相溶剂, 这可能是油橄榄叶中的主要活性成分易溶于乙醇^[29]。

表 1 不同溶剂提取物的总多酚含量及提取率($n=3$)
Table 1 Total polyphenol content and extraction rates of different solvent extracts ($n=3$)

提取溶剂	总多酚/(mg/mL)	提取率/%
水	$0.00462\pm 0.00058^{\text{d}}$	$12.31\pm 0.0802^{\text{d}}$
50%乙醇	$0.00617\pm 0.00530^{\text{c}}$	$24.10\pm 0.1006^{\text{c}}$
70%乙醇	$0.00870\pm 0.00400^{\text{b}}$	$26.52\pm 0.0814^{\text{b}}$
90%乙醇	$0.01068\pm 0.00960^{\text{a}}$	$30.37\pm 0.0665^{\text{a}}$

注: a~d: 同列不同字母表示组间存在显著差异, $P<0.05$ 。

2.2 不同溶剂提取物的红外光谱分析

不同溶剂提取物红外光谱存在一定差异, 每个峰的吸收强度有较大变化。对主要红外吸收峰进行指认和归属: 3200 cm^{-1} 为糖苷类、酚类等化合物中羟基 O-H 键的伸缩振动吸收峰; 2930 cm^{-1} 附近为亚甲基 C-H 键的伸缩振动峰; 在 $1680\sim 620\text{ cm}^{-1}$ 间为 C=C 双键的伸缩振动, 在共轭体系中, C=C 键伸缩振动频率移向低频。 $1500\sim 1430\text{ cm}^{-1}$ 以及 1604 cm^{-1} 附近为芳环骨架振动吸收峰, 这些特征峰与提取物里面多酚类的结构相吻合。由图 1 可知, 与其他溶剂提取物相比, 90%乙醇提取物在 3200 cm^{-1} 处的特征峰宽而且强, 这与该组分中含有较多的酚类物质的结果相一致, 同时 1680 cm^{-1} 和 1600 cm^{-1} 处振动吸收峰也最强, 说明组分中存在较多的芳环结构, 这与 2.3 中的质谱分析所显示的 90%乙醇提取物中酚类物质主要是 2,6-二叔丁基对甲酚和 2,4-二叔丁基苯酚的结果相一致。

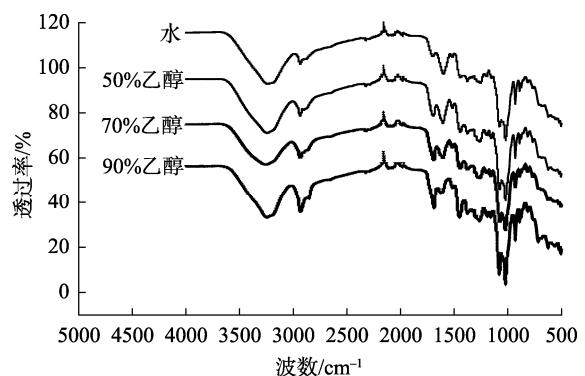


图 1 不同溶剂提取物的红外光谱图
Fig.1 Infrared spectrogram of different solvent extracts with different extraction solvents

2.3 不同溶剂提取物的气相色谱-质谱分析

通过固相微萃取和 GC-MS 分析, 得到 4 种提取物的总离子流图, 总离子流图中的各峰经质谱扫描后得到质谱图, 经过计算机数据系统检索图谱库, 确定提取物的主要成分组成。分析结果见表 2 和图 2。其中水、50%、70%、90%乙醇提取物分别鉴定出 28、24、22、28 个化合物, 包含 7 种类型的化合物: 酚类、烃类、醇类、醛类、酮类、酸类、酯类, 其中酚类、烃类、醇类、醛类是油橄榄叶中主要的物质, 相对含量明显高于酮类、酸类和酯类。4 种提取物中酚类物质占 9.36%~29.34%, 主要以 2,6-二叔丁基对甲酚、2,4-二叔丁基苯酚为主, 此 2 种物质在 90%乙醇提取物中相对含量最高(29.34%), 在水、50%、70%提取物中的相对含量在 9.36%~23.87%之间, 这种差别是由于其主要成分在乙醇相和水相中溶解度不同所致^[27]。

表 2 不同溶剂提取物的主要成分组成				
Table 2 Main components of different solvent extracts				
化合物名称	相对百分含量/%			
	水	50%乙醇	70%乙醇	90%乙醇
2-丁烯醛	-	0.24	-	0.11
己醛	-	0.40	-	0.14
反式-2-己烯醛	-	-	-	-
(E,E)-2,4-己二烯醛	-	0.18	-	-
正辛醛	0.14	0.79	0.66	0.75
反式-2,4-庚二烯醛	0.09	2.19	1.23	0.56
苯乙醛	0.05	0.38	-	0.09
壬醛	0.76	1.15	0.86	0.75
1-环己烯-1-甲醛	0.96	-	-	0.92
醛类小计	2.00	5.33	2.75	3.32
醋酸	0.96	-	-	0.92
糠酸	-	0.80	0.36	-
酸类小计	0.96	0.80	0.36	0.92
1-己醇	0.52	0.40	1.76	-
糠醇	0.09	-	-	-
2-乙基-1-己醇	0.97	0.62	0.41	0.47
苯甲醇	2.72	2.48	3.26	3.21
苯乙醇	-	3.28	3.45	2.86
1-癸醇	1.01	0.59	-	0.15
2,2,4-三甲基-1,3-戊二醇	1.01	-	-	-
香茅醇	-	-	0.37	0.44
α -松油醇	0.20	-	0.18	0.11

表 2(续)

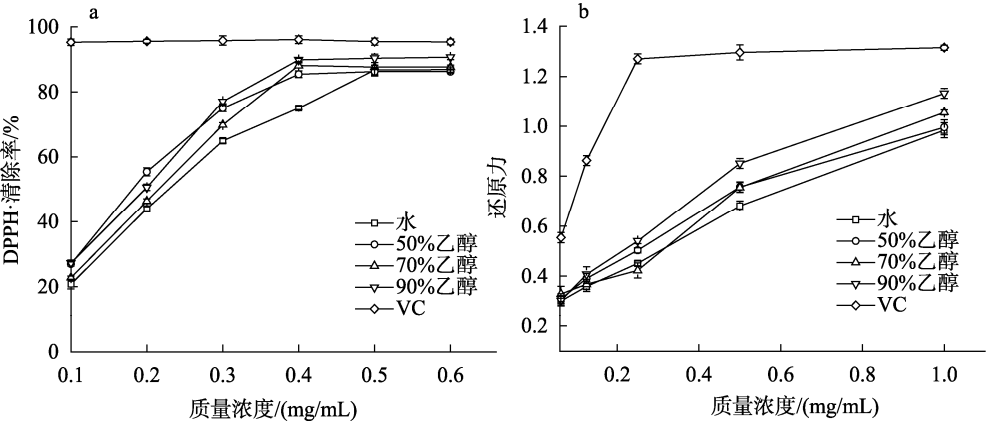
化合物名称	相对百分含量/%			
	水	50%乙醇	70%乙醇	90%乙醇
醇类小计	6.52	7.37	9.43	7.24
乙二醇-己二酸酯	-	-	-	0.14
己酸乙酯	0.26	-	-	-
己酸丁酯	0.35	-	-	-
2-乙基己酸乙酯	0.11	-	-	-
甲酸苯乙酯	-	0.57	0.16	-
酯类小计	0.72	0.57	0.16	0.14
苯乙烯	2.02	0.37	-	-
1-十六烯	-	-	0.14	-
1,2-丁二烯	0.19	0.07	-	-
壬烷	-	-	-	0.40
十二烷	1.57	1.29	0.75	0.27
3,3-二甲基辛烷	-	-	-	0.42
十四烷	10.09	6.47	1.87	0.63
二十烷	0.31	-	0.16	1.12
十七烷	-	1.20	0.39	0.36
甲苯	0.27	0.27	0.15	0.30
乙苯	-	-	-	-
对二甲苯	0.14	-	0.07	0.09
烃类小计	14.59	9.67	3.53	3.59
苯乙酮	2.54	-	-	-
6-甲基-3,5-庚二烯-2-酮	0.12	0.35	0.49	0.30
4-(2,6,6-三甲基-1-环己烯基)-3-丁烯-2-酮	-	-	-	0.20
5,6,7,7a-四氢-4,7,7a-三甲基-2-(4H)-苯并呋喃酮	1.56	2.47	1.01	1.77
酮类小计	4.22	2.82	1.50	2.27
2,4-二叔丁基苯酚	0.91	0.66	0.41	0.26
2,6-二叔丁基对甲酚	8.45	9.35	23.46	29.08
酚类小计	9.36	10.01	23.87	29.34

2.4 不同溶剂提取物的抗氧化活性

DPPH·清除能力是评估受试物抗氧化活性的最常用方法之一, 由图 3a 可知, 在 0.1~0.5 mg/mL 范围内, 4 种提取物对 DPPH·清除率均随提取物质量浓度的增大呈上升趋势, 但是 4 种提取物对 DPPH·清除率均小于 VC, 且在 0.1~0.3 mg/mL 范围内, DPPH·的清除率与提取物质量浓度

有良好的线性关系(r^2 分别为 0.9910、0.9889、1.0000、0.9986), 其中 90%乙醇提取物的清除率最大, 水提物的清除率最小, 当质量浓度超过 0.5 mg/mL 时, 4 种提取物的 DPPH·清除率开始趋于平缓。

还原力能够反映内源抗氧化活性的变化, 在一定程度上, 还原力越强, 抗氧化活性越高。当体系中存在还原性物质时, 铁氰化钾被还原为亚铁氰化钾, 在酸性条件下与三氯化铁反应, 生成普鲁士蓝, 吸光度越大, 则样品的还原力越强^[24]。由图 3b 可知, VC 的还原力最强, 其次为 90%乙醇提取物, 其对 DPPH·清除率可高达 90.7%; 随着提取物质量浓度的增大, 还原力基本呈现上升趋势, 最高达 1.132; 在 0.5~1.0 mg/mL 范围内还原力顺序: VC>90%乙醇提取物>70%乙醇提取物>50%乙醇提取物>水提物, 醇提物比水提物具有更强的抗氧化活性。结合表 1 结果, 提取物中总多酚含量是影响其抗氧化活性的重要因素。



注: a. DPPH·清除能力; b. 还原力; VC 浓度梯度与提取物一致。
图 3 不同溶剂提取物的抗氧化活性($n=3$)

Fig.3 Antioxidant activities of different solvent extracts ($n=3$)

2.5 抗氧化活性与总多酚的相关性分析

为了评估和比较 4 种提取物抗氧化活性的差异, 对提取物的总多酚含量、DPPH·清除率以及还原力进行皮尔逊相关系数的分析。由表 3 可知, DPPH 清除率、还原力与总多酚含量存在显著的相关性($r>0.637$), 表明提取物中存在的酚类化合物是提取物具有抗氧化活性的主要原因。

表 3 抗氧化参数之间的皮尔逊相关系数			
Table 3 Pearson correlation coefficients (r) between antioxidant parameters			
项目	DPPH·清除率	总多酚	还原力
DPPH·清除率	1	0.637	0.854
总多酚	0.637	1	0.709
还原力	0.854	0.709	1

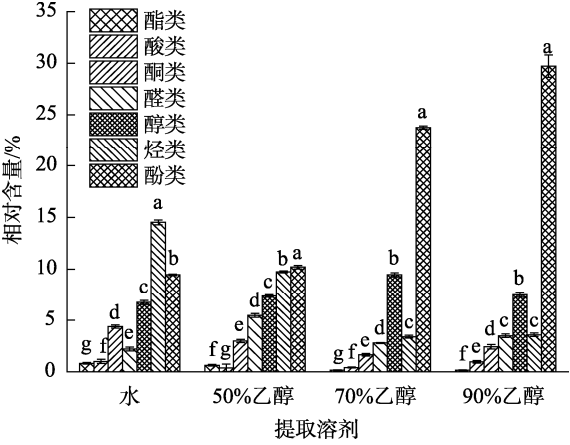


图 2 不同溶剂提取物主要化合物相对含量($n=3$)
Fig.2 Relative content of main compounds in different solvent extracts ($n=3$)

2.6 不同溶剂提取物的抑菌活性

如表 4 所示, 4 种提取物均能有效抑制灰葡萄孢和扩展青霉, 且 2 种菌对提取物表现出不同的敏感性, 其中灰葡萄孢对 90%醇提取物是最敏感的, 醇提物对灰葡萄孢具有强的抗菌活性; 扩展青霉相对灰葡萄孢对提取物敏感度较弱。结合 FTIR、GC-MS 结果分析, 推测为提取物中的酚类或环烯醚萜类(*D*-柠檬烯、 α -石竹烯、香茅醇等)通过作用于细胞的肽聚糖, 破坏了细胞壁结构或破坏了细胞膜, 进而达到抑菌作用^[30]。相比之下, 90%乙醇提取物对灰葡萄孢具有更强的抑制作用。

3 结论与讨论

本研究结果表明, 提取物中既存在相同的化学成分也存在差异成分, 其中水、50%、70%、90%乙醇提取物分别鉴定出 28、24、22、28 个化合物, 烃类、酚类、酯类、醇类、酸

类是主要的物质, 其中酚类物质占比最高, 本研究首次发现油橄榄叶提取物中酚类物质以 2,6-二叔丁基对甲酚和 2,4-二叔丁基苯酚为主, 两者在 90%乙醇提取物中相对含量高达 29.34%。90%乙醇提取物的多酚含量(0.01068 mg/mL)、提取率(30.37%)、对 DPPH·清除率(90.7%)、还原力(1.132)均高于其他提取物, 通过相关性分析, 发现提取物中存在的酚类化

合物是提取物具有抗氧化活性的主要原因, 抑菌活性方面, 油橄榄叶提取物对灰葡萄孢具有良好的抗菌活性, 其中灰葡萄孢对 90%乙醇提取物具有相对较高的敏感性, 90%乙醇提取物相较于其他提取物表现出较佳的抗菌活性。本研究为油橄榄叶在食品工业中抗氧化剂制备及抑菌等领域的应用提供了理论依据, 但是抑菌机制还有待进一步考察。

表 4 不同溶剂提取物的抑菌活性
Table 4 Antibacterial activities of different solvent extracts

菌种	抑菌圈/mm				
	对照组	水	50%乙醇	70%乙醇	90%乙醇
灰葡萄孢	—	7.7±0.10 ^d	8.3±0.05 ^c	9.0±0.11 ^b	11.7±0.06 ^a
扩展青霉	—	7.6±0.15 ^c	8.0±0.03 ^b	8.0±0.09 ^b	8.3±0.03 ^a

注: a~d: 同行不同字母表示组间存在显著差异, $P<0.05$; 对照组为无菌水, —表示没有抑菌圈。

参考文献

[1] 王晓杰, 黄立新, 张彩虹, 等. 微波辅助提取橄榄苦苷及其抗氧化性能研究[J]. 食品工业科技, 2018, 39(7): 140–145.
WANG XJ, HUANG LX, ZHANG CH, *et al.* Microwave-assisted extraction of oleuropein from olive leaves and its antioxidant properties [J]. Sci Technol Food Ind, 2018, 39(7): 140–145.

[2] BORJAN D, LEITGEB M, KNEZ Z, *et al.* Microbiological and antioxidant activity of phenolic compounds in olive leaf extract [J]. Molecules, 2020, 25(24): 5946–5973.

[3] 郭晓强, 曹敏, 梁立, 等. 油橄榄叶水提物的有效成分与抗氧化活性研究[J]. 食品研究与开发, 2019, 40(10): 26–31.
GUO XD, CAO M, LIANG L, *et al.* Study on the active components and antioxidant strength of water extract from olive leaves [J]. Food Res Dev, 2019, 40(10): 26–31.

[4] ANTONELLA D, ALESSANDRA A, GABRIELE A. Isolation of a hydroxytyrosol rich extract from olive leaves (*Olea Europaea* L.) and evaluation of its antioxidant properties and bioactivity [J]. Eur Food Res Technol, 2018, 226(4): 653–659.

[5] BANIAS G, ACHILLAS C, VLACHOKOSTAS C, *et al.* Environmental impacts in the life cycle of olive oil: A literature review [J]. J Sci Food Agric, 2017, 97(97): 1686–1697.

[6] MALAPERT A, REBOUL E, LOONIS M, *et al.* Direct and rapid profiling of biophenols in olive pomace by UHPLC-DAD-MS [J]. Food Anal Methods, 2018, 11(4): 1001–1010.

[7] BERRY EM, ARNONI Y, AVIRAM M. The middle eastern and biblical origins of the mediterranean diet [J]. Public Health Nutr, 2011, 14(12): 2288–2295.

[8] MELANSON EL, ASTRUP A, DONAHOO WT. The relationship between dietary fat and fatty acid intake and body weight, diabetes, and the metabolic syndrome [J]. Ann Nutr Metab, 2009, 55(1-3): 229–243.

[9] EI SN, KARAKAYA S. Olive tree (*Olea europaea*) leaves: Potential beneficial effects on human health [J]. Nutr Rev, 2009, 67(11): 632–638.

[10] NUNES MA, TEL FB, COSTA ASG, *et al.* Olive by-products for functional and food applications: Challenging opportunities to face environmental constraints [J]. Innov Food Sci Emerg, 2016, 35: 139–148.

[11] GALANAKIS CM. Recovery of high added-value components from food wastes: conventional, emerging technologies and commercialized applications [J]. Trends Food Sci Technol, 2012, 26(2): 68–87.

[12] 闫树军, 王远, 苏艳红, 等. 响应面法优化油橄榄叶中橄榄苦苷超声辅助提取工艺[J]. 食品科学, 2012, 33(18): 73–76.
YAN SJ, WANG Y, SU YH, *et al.* Optimization of ultrasound-assisted extraction process for oleuropein from *Olea europaea* leaves by response surface analysis [J]. Food Sci, 2012, 33(18): 73–76.

[13] 谢普军, 黄立新, 张彩虹, 等. 低温减压沸腾提取橄榄苦苷的工艺研究[J]. 中国中药杂志, 2012, 37(13): 1946–1951.
XIE PJ, HUANG LX, ZHANG CH, *et al.* Boiling extraction of oleuropein at low temperature and reduced pressure [J]. China J Chin Mater Med, 2012, 33(18): 73–76.

[14] 谢普军, 黄立新, 张彩虹, 等. 橄榄苦苷提取工艺的研究进展[J]. 生物质化学工程, 2012, 46(3): 33–38.
XIE PJ, HUANG LX, ZHANG CH, *et al.* Research progress of extraction technologies of oleuropein [J]. Biomass Chem Eng, 2012, 46(3): 33–38.

[15] SAHIN S, ILBAY Z, KIRBASLAR SI. Study on optimum extraction conditions for olive leaf extracts rich in polyphenol and flavonoid [J]. Sep Sci Technol, 2015, 50(8): 1181–1189.

[16] 阮梅兰, 邓艳, 王操, 等. 油橄榄叶粗提取物对油脂氧化稳定性的影响[J]. 新疆农垦科技, 2021, 44(2): 45–48.
RUAN ML, DENG Y, WANG C, *et al.* Effect of crude extract from olive leaves on oxidation stability of oil [J]. Xinjiang Agric Reclam Technol, 2021, 44(2): 45–48.

[17] 赵艳霞, 卜文文, 刘常金, 等. 油橄榄叶羟基酪醇提取工艺优化及抗氧化研究[J]. 食品工业, 2017, 38(4): 8–13.
ZHAO YX, BO WW, LIU CJ, *et al.* Study on extraction process optimization and antioxidation of hydroxytyrosol from olive leaves [J]. Food Ind, 2017, 38(4): 8–13.

[18] 吴遵秋, 姜友军, 苏光灿, 等. 油橄榄叶中橄榄苦苷的体外抗氧化和抑菌活性[J]. 食品科学, 2014, 35(21): 94–99.
WU ZQ, JIANG YJ, SU GC, *et al.* *In vitro* antioxidant and antibacterial activities of olive glycosides in olive leaves [J]. Food Sci, 2014, 35(21): 94–99.

[19] MONICA SG, ISABEL BV, ALEJANDRO R. Valorisation of *olea*

- europaea* L. olive leaves through the evaluation of their extracts: Antioxidant and antimicrobial activity [J]. *J Anatol Environ Anim Sci*, 2021, 10(5): 966–985.
- [20] BAYSAL G, KASAPBA EE, YAVUZ N, *et al.* Determination of theoretical calculations by DFT method and investigation of antioxidant, antimicrobial properties of olive leaf extracts from different regions [J]. *J Food Sci Technol*, 2020, 58(5): 1909–1917.
- [21] 孔维宝, 杨树玲, 霍焕燃, 等. 油橄榄叶提取物的抑菌活性研究[J]. *中国油脂*, 2020, 45(2): 95–100.
- KONG WB, YANG SL, HUO HR, *et al.* Study on antibacterial activity of olive leaf extract [J]. *China Oils Fats*, 2020, 45(2): 95–100.
- [22] 王玉, 夏鹏飞, 杨雪, 等. 基于新型溶剂系统筛选的高速逆流色谱分离油橄榄叶中的多酚类化合物[J]. *北京中医药大学学报*, 2019, 42(9): 64–70.
- WANG Y, XIA PF, YANG X, *et al.* High-speed countercurrent chromatography based on screening of new solvent systems in separation of polyphenols compounds from olive leaves [J]. *J Beijing Univ Tradit Chin Med*, 2019, 42(9): 64–70.
- [23] 高歌, 庞雪莉, 刘海华, 等. 基于 GC-MS-O 香气成分分析和多元统计分析的柚子品种鉴别[J]. *中国食品学报*, 2020, 20(5): 289–298.
- GAO G, PANG XM, LIU HH, *et al.* Volatiles Identification of pomelo based on GC-MS-O and multivariate statistical analysis [J]. *Chin J Food*, 2020, 20(5): 289–298.
- [24] 刘以娟, 范方辉, 王芳兵, 等. 葡萄籽提取物体外抗氧化活性的研究[J]. *食品工业科技*, 2012, 33(18): 143–147.
- LIU YJ, FAN FH, WANG FB, *et al.* Study on antioxidant activity of grape seed extract *in vitro* [J]. *Technol Food Ind*, 2012, 33(18): 143–147.
- [25] VSM A, VNMD A, PP A, *et al.* Phytochemical screening, FTIR spectral analysis, antioxidant and antibacterial activity of leaf extract of *Pimenta dioica* Linn [J]. *Mater Today Proc*, 2020, 45(2): 2166–2170.
- [26] 王晓杰, 黄立新, 张彩虹, 等. 油橄榄叶提取物的制备及理化性质研究[J]. *林产化学与工业*, 2019, 39(4): 83–90.
- WANG XJ, HUANG LX, ZHANG CH, *et al.* Preparation and physicochemical properties of olive leaf extract [J]. *Chem Ind Forest Prod*, 2019, 39(4): 83–90.
- [27] ALIAKBARIAN B, CASAZZA AA, PEREGO P. Valorization of olive oil solid waste using high pressure high temperature reactor [J]. *Food Chem*, 2011, 128(3): 704–710.
- [28] AHIN S, BILGIN M. Study on oleuropein extraction from olive tree (*Olea europaea*) leaves by means of SFE: Comparison of water and ethanol as co-solvent [J]. *Sep Sci Technol*, 2012, 47(16): 2391–2398.
- [29] ZHENG LQ, ZHANG M, SUN JC, *et al.* Comparison study on the microwave and ultrasonic wave extraction polyphenol from bayberry Juice [J]. *Food Sci Biotechnol*, 2010, 29(4): 514–520.
- [30] PISTARINO E, ALIAKBARIAN B, CASAZZA AA, *et al.* Combined effect of starter culture and temperature on phenolic compounds during fermentation of Taggiasca black olives [J]. *Food Chem*, 2013, 138(2/3): 2043–2049.

(责任编辑: 郑丽于梦娇)

作者简介



田立鹏, 硕士研究生, 主要研究方向为粮油作物生物安全。
E-mail: tlp1350@163.com



蒲陆梅, 博士, 教授, 主要研究方向为天然产物、等离子体化学。
E-mail: pulm@gsau.edu.cn