

doi: 103969/j. issn. 0490-6756. 2017. 01. 035

郁金茎叶提取物抑杀植物病原 真菌活性研究与 GC/MS 分析

陈 琴, 刘庆亚, 陈次琼, 刘慧美, 龙章富

(四川大学生命科学学院教育部生物资源与生态环境重点实验室, 成都 610064)

摘要: 为探究郁金茎叶提取物抑制植物病原真菌抑制效果及活性成分, 以 95% 乙醇浸提的浸膏依次用正己烷、乙酸乙酯和甲醇萃取, 比较其抑菌活性。并采用 GC/MS 分析郁金茎叶正己烷萃取物和醇提物的化学组分。结果表明: 醇提物与正己烷萃取物对小麦赤霉菌、油菜菌核菌、山葵墨入菌和辣椒灰霉菌均有较强抑制效果; 正己烷萃取得率最高(64.68%)、抑菌活性最强; GC/MS 分析结果显示正己烷萃取物中的 11 种成分含量增加, 其中莪术烯醇(cucumenol)的含量最高(24.46%), 其次是棕榈酸甲酯(hexadecanoic acid, methyl ester; 13.84%); 醇提物含 28 种化合物, 正己烷萃取物含 23 种化合物。

关键词: 郁金茎叶; 提取物; 抑菌活性; GC/MS

中图分类号: S482.2+92 **文献标识码:** A **文章编号:** 0490-6756(2017)01-0209-06

Antifungal activity and GC/MS analysis of extracts from *Curcuma phaeocaulis* stems and leaves against plant pathogenic fungi

CHEN Qin, LIU Qing-Ya, CHEN Ci-Qiong, LIU Hui-Mei, LONG Zhang-Fu

(Key Laboratory of Bio-resources and Eco-environment of Ministry of Education,

College of Life Sciences, Sichuan University, Chengdu 610064)

Abstract: The ethanol extractum of the stems and leaves from *C. phaeocaulis* had been prepared, then it was not only extracted by n-Hexane, ethylacetate, and methanol, but also the ethanol and n-Hexane extracts were chemically analyzed by GC/MS. Results indicated that both the ethanol and n-Hexane extracts showed well antifungal activities against pathogenic fungi including *Fusarium graminearum*, *Phoma wasabiae*, *Sclerotinia sclerotiorum* and *Botrytis cinerea*. Relative antifungal activities of three extracts, were compared and the yield of n-Hexane was 64.68%, higher than those of others while its antifungal activity was also the highest. The GC/MS results showed that there were 11 components increased and the highest components were cucumenol (24.46%) and hexadecanoic acid, methyl ester (13.84%) in n-Hexane extract. There were 28 components in ethanol extractum and 23 ones in n-Hexane extractum identified by GC/MS analysis.

Keywords: *C. phaeocaulis* stems and leaves; Extractum; Antifungal activity; GC/MS

收稿日期: 2015-10-30

基金项目: 四川省科技支撑计划项目(2012ZZ0001)

作者简介: 陈琴(1989—), 女, 四川达州人, 硕士研究生, 主要研究方向: 天然产物及应用. E-mail: 499200824@qq.com

通讯作者: 龙章富. E-mail: lzf0028@163.com

1 引言

郁金为常用中药,具有行气化瘀、利胆退黄之功效,常用于胸腹胀痛、痛经经闭等^[1],《中国药典》2000 年版一部规定,中药郁金为姜科植物姜黄(*Curcuma longa L.*)、温郁金(*Curcuma wenyuji Y. H. Chen et C. Ling*)、广西莪术(*Curcuma kwangsiensis S. G. Lee et C. F. Liang*)或蓬莪术(*Curcuma phaeocaulis Val*)的干燥块根,商品市场分别称为黄丝郁金、温郁金、桂郁金和绿丝郁金^[2],四川则有黄丝郁金和绿丝郁金入药^[3]。

目前对于植物病原真菌的防治主要采用化学防治,虽然其成本低、见效快、抗菌谱广、抑菌效果显著,使近代农作物的产量得到很大的提高^[4],但化学农药毒性大、易残留、病原真菌易产生抗药性和粗放而易造成严重的环境污染,能直接或间接影响人类的身体健康^[5]。因此,应用植物源生物农药来防治植物病害是较理想的方法,一方面植物资源丰富,可为开发提供巨大的物质基础;另一方面,植物源农药完全源于植物,化合物已形成了自有的循环代谢途径,无毒无害无残留,更不会对环境产生污染。

郁金在中药材中以块根入药^[6],作者所在课题组已报道郁金块根提取物的抑菌活性且效果显著^[7,8]。郁金茎叶相关报道仅有地上部分和地下部分的成分比较^[9];至于郁金茎叶提取物能否抑杀植物病原真菌目前尚无研究报道。本论文以郁金茎叶的提取物进行抑杀植物病原真菌活性研究,其研究结果在郁金秸秆的综合开发利用、降低其天然产物杀菌剂的生产成本等方面,均有重要的理论意义与潜在的应用价值。

2 材料与方法

2.1 试验材料

供试郁金茎叶采自四川成都崇州市,经阴干、粉碎后待用。受试真菌菌株包括小麦赤霉菌、油菜菌核菌、辣椒灰霉菌、山葵墨入菌共 4 种,均由作者所在实验室保存。

主要药品与试剂包括 95%乙醇、N,N-二甲基甲酰胺、正己烷、乙酸乙酯、甲醇、葡萄糖、琼脂粉等均为分析纯,咪鲜胺和马铃薯购自当地市场。

主要仪器包括 JL500g 型多功能轻便型粉碎机(上海佳锐牌);XFS-280 手提式压力蒸汽灭菌器(浙江新丰医疗器械有限公司);电子天平(北京塞多里斯天平有限公司);JC303 电热恒温培养箱(上海成

顺仪器仪表有限公司);DHZ-D(Ⅲ)型循环水真空泵(巩义市英峪华玉仪器厂);RE-52A 旋转蒸发器(上海亚荣生化仪器厂);岛津 GC/MS 2010 气质联用仪(岛津公司);KQ-250E 型超声波清洗器(上海百典仪器设备有限公司)。

2.2 试验方法

2.2.1 郁金茎叶粗提物的制备 取适量郁金茎叶粉,加入 10 倍比例 95%乙醇,40Hz 室温超声波提取 30min,再浸泡 6h。然后分别按 10 倍和 5 倍比例重复提取两次。合并三次提取液合并抽滤后所得滤液用旋转蒸发仪在 40°C 水浴下浓缩得浸膏。

2.2.2 抑菌活性测定 预先将山葵墨入菌,小麦赤霉菌、油菜菌核菌、辣椒灰霉菌等供试菌接入 PDA 斜面培养基进行活化,28°C 培养 4d 后转接到 PDA 平板上培养,得到活化后的菌种培养物。采用生长速率法测定郁金茎叶 95%乙醇提取物对 4 种病原真菌的抑菌活性。用适量 N,N-二甲基甲酰胺将所得浸膏溶解后,与熔解的 PDA 培养基配成含药浓度为 1.0、2.0、4.0、8.0 和 16.0 mg/mL 的培养基,并取等浓度的 N,N-二甲基甲酰胺与 PDA 混匀后作为对照(CK)。空白对照和药液处理均设置 3 个重复,采用打孔器截取直径 4mm 的新鲜菌丝块,接种于平板中央。根据不同菌种生长情况,在各菌种的空白对照组菌丝近长满平板时测量各处理受试菌的菌落直径,计算抑菌率^[10]。

2.2.3 不同溶剂萃取粗提物的抑菌活性测定 取浸膏适量,加入 10 倍体积的正己烷萃取,直到萃取液无色为止,将所得萃取液合并过滤,35°C 水浴旋转蒸发得正己烷部分浸膏^[11]。正己烷萃取后剩下的部分再照如上方法依次获得乙酸乙酯部分和甲醇部分浸膏;以小麦赤霉菌为指示菌,再按照 2.2.2 的方法将各个部分浸膏配制成药基浓度为 2.0mg/mL 的平板,不做任何处理培养基作为对照(CK),并以咪鲜胺(0.25mg/mL)为正对照。

2.2.4 郁金茎叶正己烷萃取物对小麦赤霉菌的抑菌活性测定 按照 2.2.2 的方法配制含正己烷萃取物浓度为 0.5、1.0、2.0、4.0 和 8.0 mg/mL 的含药培养基,采用生长速率法测定郁金茎叶正己烷萃取物对小麦赤霉菌的抑菌活性。

2.2.5 郁金茎叶醇提取物及其正己烷萃取物的 GC/MS 分析 采用气相色谱-质谱方法对郁金茎叶醇提物及其正己烷萃取物化学成分进行分析。色谱柱采用 TG-5MS 弹性石英毛细管柱(30mm × 0.25mm × 0.25μm)。色谱条件为:初始温度为 60°C,

保持2min后,以10°C/min的速率升至100°C,然后以6°C/min的速率升至120°C,再以2°C/min的速率升至180°C,最后以20°C/min的速率升至230°C并保持10min。载气为氮气,分流比20:1,流量1.0mL/min,柱前压53.5kPa;质谱条件:分辨率1000,电离方式EI,间隔0.50sec,电子能量70eV,离子源温度200°C,接口温度290°C,扫描范围30~500amu;图谱库为NIST11和NIST11s。郁金茎叶醇提物及其正己烷萃取物进行GC/MS分析所得总离子图,采用面积归一法计算各组分相对百分含量。

2.3 数据处理

每个菌落直径按照十字交叉法测量两次,以平均数代表其菌落的大小,抑菌率的计算公式如下:菌落直径=菌落平均直径-菌饼直径(4.0mm),抑菌率=(对照菌落直径-处理菌落直径)/对照菌落直径×100%^[11],毒力回归方程等数据采用DPS v7.05软件进行分析。

表1 郁金茎叶95%乙醇提取物对四种病原菌的抑菌率

Tab. 1 Inhibition ratio of four pathogenic fungi which inhibit by the extract of *C. phaeocaulis* stems and leaves

抑菌率(%)	郁金茎叶95%乙醇提取物浓度(mg/mL)				
	1	2	4	8	16
辣椒灰霉菌(<i>B. cinerea</i>)	35.78	40.89	59.74	86.26	100%
小麦赤霉菌(<i>F. graminearum</i>)	21.74	28.26	52.17	86.96	100%
山葵墨入菌(<i>P. wasabiae</i>)	18.68	31.87	49.45	69.23	95.60
油菜菌核菌(<i>S. sclerotiorum</i>)	28.89	51.11	88.89	98.89	100%

表2 郁金茎叶95%乙醇提取物对四种病原菌的毒力回归方程

Tab. 2 Regression analyses of toxicity of crude extracts from *C. phaeocaulis* stems and leaves against four pathogenic fungi

受试菌	毒力回归方程(Y=a+bx)	相关系数(R)	EC ₅₀ (mg/mL)
辣椒灰霉菌(<i>B. cinerea</i>)	Y=4.4606+1.6078x	0.9497	2.1653
小麦赤霉菌(<i>F. graminearum</i>)	Y=4.0038+2.1081x	0.9566	2.9687
山葵墨入菌(<i>P. wasabiae</i>)	Y=3.9336+2.0481x	0.9702	3.3164
油菜菌核菌(<i>S. sclerotiorum</i>)	Y=4.2862+3.2301x	0.9911	1.6634

3.2 不同溶剂对郁金茎叶醇提物的萃取率

郁金茎叶不同溶剂萃取率(见表3)。以正己烷萃取的得率最高(64.68%),其次为甲醇(16.42%),乙酸乙酯萃取的得率最低(5.97%)。根据正己烷的极性推测郁金茎叶中含有较多的弱极性的活性化合物。

3.3 不同溶剂萃取物对小麦赤霉菌的抑菌活性

以小麦赤霉菌为指示菌,检测了郁金茎叶的不

3 结果与分析

3.1 郁金茎叶95%乙醇提取物对四种病原菌的抑制效果

从表1可以看出郁金茎叶提取物对四种植物病原真菌都有不同程度的抑制。试验结果表明当郁金茎叶95%乙醇提取物浸膏浓度在8 mg/mL时对各种病原菌都有较高的抑菌率且对油菜菌核菌的抑制达到98.89%。当浓度为16 mg/mL时,郁金茎叶95%乙醇提取物对辣椒灰霉菌、小麦赤霉菌和油菜菌核菌的抑菌率达到100%。通过建立各受试菌的毒力回归方程,结果(见表2)表明郁金茎叶醇提物对四种受试菌的EC₅₀分别是1.6634、2.1653、2.9687、3.3164 mg/mL(浸膏含量),其抑菌活性依次为油菜菌核菌>辣椒灰霉菌>小麦赤霉菌>山葵墨入菌。

同萃取物的抑菌活性,研究结果表明,当药基浓度为2.0mg/mL时,正己烷萃取物较甲醇萃取物,菌丝明显稀疏且抑菌效果更好;相对于乙酸乙酯萃取物,正己烷萃取物的活性略高,但其得率是乙酸乙酯萃取物的近10倍,故其正己烷萃取物为最佳活性部位(见图1-A);各部位抑菌率分别为:醇提物28.36%,甲醇萃取物53.73%,乙酸乙酯萃取物60.37%,正己烷萃取物60.37%,咪鲜胺84.86%。

表 3 不同溶剂对郁金茎叶 95% 乙醇提取物的萃取率

Tab. 3 The extraction rate of different solvents on the extracts of *C. phaeocaulis* stems and leaves

溶剂	萃取率(%)
正己烷(n-Hexane)	64.68
乙酸乙酯(Ethylacetate)	5.97
甲醇(Methanol)	16.42
残留(remained)	12.94

以小麦赤霉菌为指示菌,检测郁金茎叶正己烷萃取物的抑菌活性(见图 1-B). 通过建立毒力回归方程

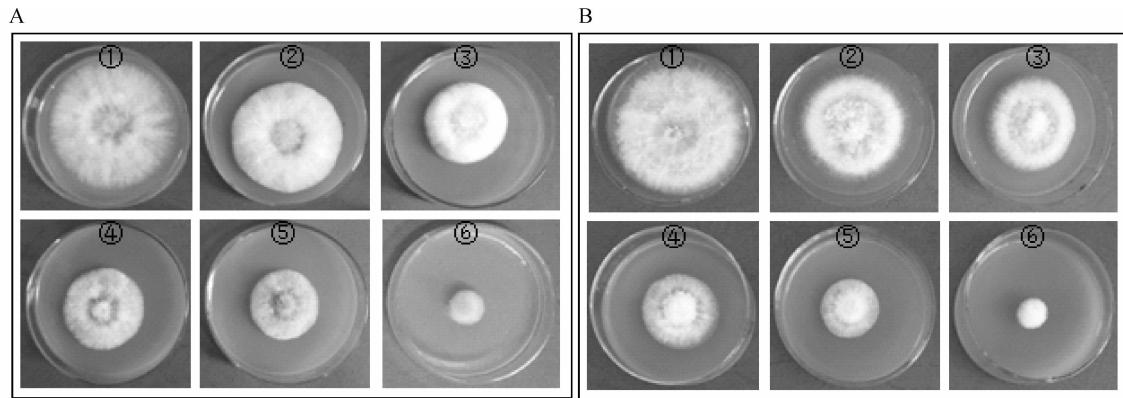


图 1 郁金茎叶不同萃取物对小麦赤霉菌的抑制作用

A 郁金茎叶提取物药基浓度为 2.0 mg/mL, 咪鲜胺浓度为 0.25 μg/mL. ①空白对照; ②郁金茎叶 95% 乙醇粗提物; ③甲醇萃取物; ④乙酸乙酯萃取物; ⑤正己烷萃取物; ⑥咪鲜胺). B 郁金茎叶正己烷萃取物对小麦赤霉菌的抑制效果((空白对照;(0.5mg/mL; (1.0 mg/mL; ④2.0 mg/mL; ⑤4.0 mg/mL; ⑥8.0 mg/mL)

Fig. 1 The inhibition effects of the different extracts from *C. phaeocaulis* stems and leaves against *F. graminearum*

3.4 郁金茎叶醇提物与其正己烷萃取物 GC/MS 结果分析

采用 GC/MS 对郁金茎叶醇提物及其正己烷萃取物进行系统分析, 将总离子流色谱图中的各峰面积归一化, 得到各个组分的相对百分含量。根据需要初步确定郁金茎叶正己烷萃取物中对真菌表现出抑菌活性的物质, 因此将实验所得的各峰与已有文献对照, 结果见表 4。

郁金茎叶正己烷萃取物较其醇提物含量升高的有 11 种化合物, 其中莪术二酮(curdione)、石竹烯(caryophyllene)、4-甲基-6-氧代豆甾-7-烯-3-基苯甲酸酯(4-methyl-6-oxostigmast-7-en-3-yl benzoate)等; 7 种化合物的变化量在 1% 以上, 分别是植物醇(phytol)由 12.65% 降低至 5.29%, 其变化量为 7.36%; 其次为姜烯(zingiberene), 由 6.06% 降低至 2.54%, 变化量为 3.52%; α-姜黄烯(α-curcumene)由 3.68% 降低至 0.98%, 变化量 2.7%; 宝丹酮(boldenone)由 4.71% 降低至 2.08%, 变化量 2.63%; 正三十烷(n-Triacontane)由 3.94% 降低至 1.68%, 变化量为 2.26%; 反式-香叶基香叶醇(trans-Geranylgeraniol)由 2.46% 降低至 0.36%, 变化量为 2.1%; 豆固醇(stigmasterol)由 2.74% 降低至 1.07%, 变化量为 1.61%; 而正三十三烷(n-Tritriacontane)、吉马酮(germacrone)、柏木烯醇(cedrenol)、β-榄香烯(β-elemene)和 γ-谷甾醇(γ-sitosterol)等 5 种化合物的变化量均在 1% 之内。

分析了郁金茎叶正己烷萃取物对小麦赤霉菌的抑制活性, 当培养基含药浓度分别为 0.5、1.0、2.0、4.0 和 8.0 mg/mL 时, 抑菌率分别为 25.23%、37.38%、53.53%、67.68% 和 87.88%; 毒力回归方程为 $Y = 4.7001 + 1.4793x$, R^2 为 0.9889, EC₅₀ 是 1.5948 mg/mL, 相较与郁金茎叶醇提物对小麦赤霉菌的 EC₅₀: 2.9687 mg/mL, 抑菌活性明显增强。综合图 1 可得, 当正己烷萃取物浓度为 8.0 mg/mL 时, 其抑制效果与咪鲜胺相当。

表4 GC/MS分析郁金茎叶醇提物及其正己烷萃取物的主要成分及含量

Tab. 4 Main components and contents of the ethanol and n-Hexane extracts analyzed by GC/MS

峰号	化合物名称	分子量(MW)	C*(%)	Z(%)
C-1,Z-1	正三十烷(n-Triacontane)	422	3.94	1.68
C-2,Z-2	正三十三烷(n-Tritriaccontane)	464	2.02	1.15
C-3	unkown	/	1.73	/
C-4	2,4,6-Tris(1-(2-methoxycarbonylpyrrolidin-1-yl)propen-2-yl)-1,3,5-triazine	582	1.45	/
C-5	石竹烯(Caryophyllene)	204	3.18	/
C-6,Z-3	γ-谷甾醇(γ-Sitosterol)	414	0.59	0.5
C-7,Z-4	豆固醇(Stigmasterol)	412	2.74	1.07
C-8,Z-5	姜烯(Zingiberene)	204	6.06	2.54
C-9,Z-6	α-姜黄烯(α-Curcumene)	204	3.68	0.98
C-10	β-倍半水芹烯(β-Sesquiphellandrene)	204	6.76	/
C-11,Z-7	吉马酮(Germacrone)	218	2.62	1.76
C-12,Z-8	宝丹酮(Boldenone)	286	4.71	2.08
C-13,Z-9	柏木烯醇(Cedren-13-ol)	220	6.04	5.39
C-14	4-甲基-6-氧代豆甾-7-烯-3-基苯甲酸酯 (4-Methyl-6-oxostigmast-7-en-3-yl benzoate)	546	1.78	/
C-15	Heptacosyl heptafluorobutyrate	592	1.95	/
C-16	2-Butenoic acid, 2-methyl-, 2-(acetoxy)-1,1a,2,3,4,6,7,10,11,11a-decahydro-7,10-dihydroxy-1,1,3,6,9-pentamethyl-4a,	480	6.83	/
C-17,Z-10	莪术烯醇(curcumenol)	204	3.96	24.46
C-18	莪术二酮(curdione)	236	5.91	/
C-19	脱水双氢青蒿素(Dihydroartemisinin, 5-deshydroxy-6-deshydro-)	266	1.32	/
C-20	delta-(Sup1,9)-2-Octalone	150	1.93	/
C-21,Z-21	β-榄香烯(β-Elemen)	204	7.92	7.4
C-22,Z-12	反式-香叶基香叶醇(trans-Geranylgeraniol)	290	2.46	0.36
C-23,Z-13	十九烷酸乙酯(Ethyl nonadecanoate)	326	1.04	1.85
Z-14	羊毛甾醇乙酸酯(Lanosteryl acetate)	468	/	0.33
C-24,Z-15	棕榈酸甲酯(Hexadecanoic acid, methyl ester)	270	2.92	13.84
Z-16	9-Octadecenoic acid, 2-(octadecyloxy)ethyl ester	578	/	0.2
C-25,Z-17	8,11-十八碳二烯酸甲酯(8,11-Octadecadienoic acid, methyl ester)	294	0.38	1.61
C-26,Z-18	油酸甲酯(Oleic acid, methyl ester)	296	1.89	2.93
C-27,Z-19	植物醇(Phytol)	296	12.65	5.29
C-28	Diethylmalonic acid, hexadecyl 2-methylthiophenyl ester	506	1.52	/
Z-20	亚油酸(Linoleic acid)	280	/	8.93
Z-21	亚油酸乙酯(Linolenic acid, ethyl ester)	306	/	11.72
Z-22	月桂酸丁酯(Undecyl laurate)	354	/	2.7
Z-23	unkown	/	/	1.24

注:C代表郁金茎叶醇提物,Z表示郁金正己烷萃取物

4 讨 论

通过测定郁金茎叶95%乙醇提取物的抑菌活性,发现其对辣椒灰霉菌、小麦赤霉菌、山葵墨入菌和油菜菌核菌的菌丝生长都有较好的抑制作用;再对醇提取物进行分步萃取,结果证实采用正己烷萃取的得率最高(64.68%),而且抑菌活性也最强,

对小麦赤霉菌的EC₅₀为1.5948 mg/mL。根据正己烷的极性,可推测郁金茎叶提取物中的主效成分属于非姜黄素类化合物(中等极性~弱极性)。咪鲜胺为一种应用广泛的化学杀菌剂,但有研究发现它的某些代谢物(如2,4,6-三氯苯氧基乙酸等)具有致癌性、致突变性、致癌性和有毒性,且为环境污染物^[12,13]。所以应用植物源农药来防治植物病原真

菌是最为理想的方法,不仅无毒害无残留,更不会对环境产生影响。

本文报道了郁金茎叶提取物抑杀病原真菌活性成分的提取流程:首先用体积分数 95% 乙醇进行超声波浸提,经减压浓缩后,再用正己烷进行萃取、分离并浓缩。通过这一流程可初步达到提取和初步分离郁金茎叶抑杀植物真菌活性组分目的,为后期鉴定郁金茎叶的抑菌成分打下基础。郁金茎叶正己烷萃取物经 GC/MS 分析结果表明其化学组分十分复杂,但含量大于百分之二十的物质仅有一种,为莪术烯醇(*curcumeneol*),含量为 24.46%,属于郁金茎叶中主要成分。陈子柱等应用红外光谱、质谱、C 谱,H 谱解析,并结合元素测定以及文献比对确定莪术烯醇属于郁金块根提取物中的一种有效的抑杀植物病原真菌的活性化合物^[7]。秦坤良等分析了郁金茎叶与郁金块根中化合物的差异^[9],得出茎叶中有四种抗肿瘤的有效成分为 β -榄香烯、莪术二酮、新莪术二酮和莪术烯醇,还有大量的长链烷烃和长直链脂肪酸如:二十烷、二十一烷、油酸和硬脂酸等^[15]。因此可以初步确定郁金正己烷萃取物中,莪术烯醇为其中一种有效活性成分;作者在进一步研究中也已证实莪术二酮与 β -榄香烯也均有不同程度的抑菌活性(另文发表)。但郁金茎叶正己烷萃取物抑杀植物病原真菌的其他活性成分还需进一步深入研究分析,其最佳提取工艺也需进一步的优化。

从郁金茎叶中提取分离出的抑杀植物病原真菌活性组分,其粗提物的提取率达 7%,对 4 种受试病原真菌均具较好的抑菌效果,显示其有很好的生物农药的研发与应用潜力。对于郁金的综合利用,目前多着眼于其块根部分,而对地上部分的茎叶关注极少,未见相关文献进行过生物农药或医药等的研究报道。因此,利用郁金茎叶制备植物源农药,不但在农业生态环境保护方面具重要意义,而且可以扩大对郁金资源的综合利用,使这一产业具有更广阔的发展前景。

参考文献:

[1] 高学敏. 中药学(下册) [M]. 北京: 人民卫生出版

- [2] 刘海华, 尉研, 崔佳, 等. 郁金提取物对山葵墨入菌(*Phoma wasabiae*)的抑菌活性研究 [J]. 四川大学学报: 自然科学版, 2008, 45(5): 1235.
- [3] 李敏, 王琦, 付福友. 不同品种郁金的 sRAP 研究 [J]. 中草药, 2006, 27(8): 1255.
- [4] Swain T. Secondary compounds as Protective agents [J]. Am Rev Plant Physiol, 1977, 28: 479.
- [5] 董周永. 石榴果皮提取物抑菌活性研究 [D]. 陕西咸阳: 西北农林科技大学, 2008.
- [6] 余成浩, 彭成, 余葱葱. 川产道地中药材蓬莪术的研究进展 [J]. 时代国医国药, 2008, 19(2): 388.
- [7] Chen Z Z, Wei Y, Li X, et al. Antifungal activity and mechanism of major compound isolated from Hexane extract of *Curcuma zedoaria* [J]. Asian Journal of chemistry, 2013, 25(12): 6597.
- [8] 龙章富, 尉研, 崔佳, 等. 抑杀植物病原真菌的郁金活性成分及其制备与应用: CN Patent, 100571518 C [P]. 2007-10-17.
- [9] 秦坤良, 汤淙淙, 黄可新. 温郁金茎叶与块根中挥发油成分的比较研究 [J]. 温州医学院学报 2006, 36(02): 95.
- [10] 帕孜来提·拜合提, 文雪梅, 阿不都拉·阿巴斯. 新疆红景天总黄酮及多糖的分离提取及抑菌活性初探 [J]. 食品科学, 2006, 27(07): 114.
- [11] 陈子柱. 郁金抑杀植物病原真菌活性成分的分离鉴定及抑菌机理的初步研究 [D]. 四川成都: 四川大学, 2013.
- [12] 李慧芬, 尉研, 龙章富, 等. 郁金正己烷萃取物的抑杀真菌活性与成分分析 [J]. 四川大学学报: 自然科学版, 2011, 48(1): 191.
- [13] 戴树桂. 环境化学 [M]. 北京: 高等教育出版社, 1997, 118.
- [14] Wiese F W. Peroxidase-catalyzed oxidation of 2,4,6-trichlorophenol, Arch. Environ. Contam. Toxicol, 1998, 34(3): 217.
- [15] 刘小波, 张扬, 王丽. 见血清总生物碱的气相色谱-质谱分析 [J]. 四川大学学报: 自然科学版, 2015, 52(4): 579.