

文章编号: 1674-7054(2015)03-0273-06

$^{60}\text{Co-}\gamma$ 射线辐照对苦丁茶冬青成叶样液 抗氧化活性与颜色的影响

郭燕², 赵峰¹, 刘国民², 罗志平³, 柳贤德⁴, 李丽辉³

(1. 海南广播电视大学, 海南海口 570208; 2. 海南大学 苦丁茶研究所, 海南海口 570228;

3. 湖南省核农学与航天育种研究所, 湖南长沙 421125; 4. 海南大学 农学院, 海南海口 570208)

摘要: 分别用 0, 10, 20, 30 kGy 剂量的 $^{60}\text{Co-}\gamma$ 射线对苦丁茶冬青成叶的 15 ℃ 水提取物、90 ℃ 热水提取物、70% 甲醇提取物、70% 乙醇提取物及 70% 丙酮提取物的样液进行辐照, 采用 ABTS 和 DPPH 法测定样液在辐照前后的抗氧化活性, 并观察、比较样液在辐照前后的颜色变化。结果表明: 苦丁茶冬青成叶的 15 ℃ 水提取物样液经过 $^{60}\text{Co-}\gamma$ 射线辐照后, 抗氧化活性有小幅提升; 而 90 ℃ 热水、70% 甲醇、70% 乙醇和 70% 丙酮的提取物样液的抗氧化活性则在辐照前后无明显差异。不同溶剂的苦丁茶冬青提取物样液在用不同剂量的 $^{60}\text{Co-}\gamma$ 射线辐照后, 其颜色在一定程度上均有所褪减。其中, 经 20 kGy 照射后的 70% 乙醇提取物的颜色最浅, 10 kGy 照射后的甲醇提取物颜色次之。苦丁茶冬青成叶的提取物作为抗氧化剂应用于肉食品保鲜防腐、保健品或化妆品生产时, 从食品和化妆品安全、抗氧化活性强弱以及颜色深浅等方面综合考虑, 宜选用甲醇提取, 辐照剂量以 10 kGy 较合适。

关键词: 苦丁茶冬青; $^{60}\text{Co-}\gamma$ 射线辐照; 抗氧化活性; 颜色

中图分类号: Q 949.754.6

文献标志码: A

DOI: 10.15886/j.cnki.rdswwb.2015.03.009

苦丁茶是我国民间常见的代茶饮料, 资源丰富, 距今已有 2 000 多年的历史, 涉及 12 个科 13 属, 至少有 30 余种(包括变种、变型)。苦丁茶冬青(*Ilex kudingcha* C. J. Tseng)^[1] 产品中含多种抗氧化成分, 具有非常明显的抗氧化作用, 而且对超氧自由基和羟基具有明显的清除能力, 可明显地抑制脂质过氧化终产物 MDA 的生成, 达到去皱美白的作用^[2-6]。目前, 在生产上主要是利用苦丁茶冬青的嫩芽来制备代茶饮品, 其余部分(尤其是成叶)由于深加工与综合利用等方面的研发工作滞后而尚未得到很好的利用。实际上, 苦丁茶冬青的成叶具备良好的抗氧化能力, 而且成叶的产量相对于嫩芽要高得多。苦丁茶冬青产品在应用到食品与化妆品上时, 必需考虑其颜色问题。应用合适剂量的 $^{60}\text{Co-}\gamma$ 射线辐照处理苦丁茶冬青萃取液, 可望在维持或提高某些特定生物活性的前提下褪减其颜色。辐照技术在去除植物色素方面有非常理想的效果, 一定剂量的辐照不仅不会破坏天然化合物的生理活性, 而且可使颜色变浅、增强抗氧化活性和提高络氨酸酶抑制能力^[7]。前人利用辐照技术对某些饮料或中药材进行处理并收到良好的效果。例如, 用 4.0×10^4 Gy 的高剂量放射线照射绿茶, 绿茶中的多酚物质的功能并不受影响, 甚至还可提升绿茶中所含有的多酚类物质的生物学功能^[8]; 高剂量放射线在不影响绿茶的抗氧化、抑制酪氨酸酶等生物功能的前提下, 可以改善绿茶和郁金(*Curcuma aromatic*) 的颜色, 从而可为化妆品工业提供天然物活性素材^[8-9]。本研究拟系统地探讨 $^{60}\text{Co-}\gamma$ 射线辐照对苦丁茶冬青成叶提取物样液的抗氧化活性及其颜色的影响, 以便明确苦丁茶冬青成叶的不同溶剂提取物的抗氧化活性及溶液颜色在辐照前后的差异, 为苦丁茶冬青的深加工与新产品研发提供科学依据。

收稿日期: 2015-03-12

基金项目: 国家自然科学基金项目(39860048); 海南省自然科学基金项目(312099)

作者简介: 郭燕(1986-), 女, 硕士, 现在贵州省茶叶研究所工作。E-mail: 710191785@qq.com

通信作者: 赵峰(1981-), 女, 硕士, 讲师。E-mail: 928662418@qq.com

1 材料与方法

1.1 仪器 辐照装置(由湖南省核农学与航天育种研究所提供),Buchi 旋转蒸发仪,Sartorius 电子分析天平,EYELA 冷冻干燥机,可见分光光度计,离心机,超纯水机,水浴锅,鼓风干燥箱,高速粉碎机。

1.2 药品 1,1-二苯基-2-苦基肼(1,1-Diphenyl-2-picrylhydrazyl, DPPH) (Sigma) 2,2'-联氮-(3-乙基苯并噻唑啉-6-磺酸)二铵盐[2,2'-azinobis(3-ethylbenzothianoline-6-sulfonic acid)-(NH₄)₂], ABTS) (Sigma), Trolox(6-Hydroxy-2,5,7,8-tetramethylchroman-2-carboxylic Acid), 分析级无水乙醇,分析级甲醇,分析级丙酮,分析级无水乙醇,超纯水。

1.3 试剂的配制

1.3.1 ABTS 溶液的配制 称取 0.038 4 g ABTS,配成 14 mmol · L⁻¹ 溶液;称取 0.006 6 g 过硫酸钾,配成 4.9 mmol · L⁻¹ 溶液。各取 4 mL 等体积混合,12 ~ 16 h 后用乙醇进行稀释,使其在 734 nm 波长的吸光度为 0.70 ± 0.02。

1.3.2 DPPH 溶液的配制 称取 0.007 9 g 的 DPPH,用乙醇定容至 100 mL,配成 0.2 mmol · L⁻¹ 的 DPPH 溶液。

1.4 样品的制备 参照文献 [10] 的方法制备苦丁茶冬青成叶液体样品。

1.4.1 取样及样品处理 随机选取 5 份苦丁茶冬青种质材料(植株),摘取其无病虫害的健康成叶,于 40 ~ 50 °C 条件下烘干至恒重,并分别用植物样品粉碎机粉碎,40 目过筛,然后将 5 份不同种质材料叶片粉体样品等量混合备用。

1.4.2 热水浸提物样液制备 将混匀的叶片粉末按 $V_{\text{水}}: m_{\text{样品}} = 20: 1$ 的比例,用 90 °C 热水浸提 1 h,取上层液,用 No. 2 滤纸过滤取上清液,然后将上清液装入透明的容器中,做好标记备用。

1.4.3 溶剂萃取样液制备 分别以 15 °C 水(长沙冬季室内温度)、90 °C 热水、70% 甲醇、70% 乙醇和 70% 丙酮作为溶剂,将混匀的叶片粉末按 $V_{\text{溶剂}}: m_{\text{样品}} = 20: 1$ 的比例,对样品进行 72 h 萃取处理。经 2 次萃取后,取上层液,用 No. 2 滤纸过滤,然后取上清液装入透明的容器中,做好标记备用。

1.5 样品的辐照处理条件与处理方式 样品采用室温下静态定点辐照方式,辐照剂量为 0, 1.0×10^4 , 2.0×10^4 , 3.0×10^4 Gy。辐照源活度约为 500 kCi,辐照剂量率为 2×10^3 Gy · h⁻¹,室温。剂量测量采用化学方法进行:用重铬酸银剂量计测定实验样品的吸收剂量,该剂量计参加了 NDAS 计划,并经标准计校准,其测量范围为 0.4 ~ 40×10^3 Gy,总不确定度 ≤ 5%。

1.6 DPPH · 自由基清除活性的测定^[11] 按每 0.1 mL 样品提取液 + 0.9 mL 0.2 mmol · L⁻¹ DPPH 溶液的比例混合,混合 10 min 后,于可见光波长 517 nm 处测定其吸光度,其中 0 浓度的处理为空白对照组。计算公式为: $\text{DPPH}(\%) = [1 - (\text{样品吸光度} / \text{空白对照组吸光度})] \times 100$ 。

1.7 ABTS · ⁺ 自由基清除活性的测定^[12] ABTS 溶液 3 mL + 样品提取液 20 μL,在混合 6 min 后,于可见光波长 734 nm 下测定其吸光值,0 浓度的处理为空白对照。计算公式为: $\text{ABTS}(\%) = [1 - (\text{样品吸光度} / \text{空白对照组吸光度})] \times 100$ 。

2 结果与分析

2.1 苦丁茶冬青浸提液经⁶⁰Co-γ 照射前后的抗氧化活性 从表 1 可以看出,无论是否进行过⁶⁰Co-γ 射线辐照,15 °C 水提物样液清除 ABTS · ⁺ 自由基的能力均远小于分别用热水(90 °C)、70% 甲醇、70% 乙醇和 70% 丙酮作为溶剂的浸提物的 ABTS · ⁺ 自由基清除率。其中,在同样的辐照剂量条件下,90 °C 热水提取物样液清除 ABTS · ⁺ 自由基的能力,均比分别用 70% 甲醇、70% 乙醇和 70% 丙酮作为溶剂所得的提取物样液的略低;后三者相互之间差异不明显。15 °C 水提物样液经⁶⁰Co-γ 射线辐照后,对 ABTS · ⁺ 自由基的清除率有小幅提升,而 90 °C 热水、70% 甲醇、70% 乙醇和 70% 丙酮的浸提物样液,对 ABTS · ⁺ 自由基的清除率在辐照前后无明显差异。

表 1 苦丁茶冬青成叶不同溶剂提取物样液经⁶⁰Co-γ 射线处理前后的 ABTS 值

Tab. 1 The ABTS values of the liquid samples extracted with 5 different solvents , from the mature leaves in *Ilex kudingcha* , before and after treating with ⁶⁰Co-γ ray

辐照剂量/kGy Irradiation doses	15 ℃水提物 Water extract at 15 ℃	90 ℃热水提取物 Hot water extract at 90℃	70% 甲醇提取物 70% ethanol extract	70% 乙醇提取物 70% ethanol extract	70% 丙酮提取物 70% acetone extract	SEM ^b
0	60.66b	99.71a	100.00a	100.00a	100.00a	1.571
10	70.11b	99.76a	99.83a	100.00a	100.00a	1.052
20	73.96b	99.37a	99.94a	100.00a	100.00a	1.216
30	73.81b	99.33a	100.00a	99.94a	100.00a	1.069

注: 表中数字后不同小写英文字母表示差异显著 相同或不跟小写英文字母表示差异不显著(*P* < 0.05) 。下同

Note: The values in the same column followed by different lowercase letters show significant differences at 0.05 , and the values in the same column followed by the same letters or without letters show no significant difference at 0.05. Similarly hereinafter

从表 2 可以看出 ,15 ℃水提物样液在同样的辐照剂量下 ,对 DPPH · 自由基的清除率均高于 90 ℃热水、70% 甲醇、70% 乙醇和 70% 丙酮的提取物样液。90 ℃热水提取物样液无论是在用⁶⁰Co-γ 射线辐照前 ,还是分别用 10 20 30 kGy 等 3 种供试剂量辐照后 ,其对 DPPH · 自由基的清除率均最低。70% 甲醇、70% 乙醇和 70% 丙酮的提取物样液对 DPPH · 自由基清除率无明显差异。

表 2 苦丁茶冬青成叶不同溶剂提取物样液经⁶⁰Co-γ 射线处理前后的 DPPH 值

Tab. 2 The DPPH values of the liquid samples extracted with 5 different solvents from the mature leaves in *I. kudingcha* , before and after treating with ⁶⁰Co-γ ray

辐照剂量/kGy Irradiation doses	15 ℃水提物 Water extract at 15 ℃	90 ℃热水提取物 Hot water extract at 90℃	70% 甲醇提取物 70% ethanol extract	70% 乙醇提取物 70% ethanol extract	70% 丙酮提取物 70% acetone extract	SEM ^b
0	62.52c	78.06b	88.33a	87.48a	85.27a	1.081
10	72.13c	79.25b	87.81a	87.45a	85.85a	0.732
20	75.11d	77.06c	87.08 ab	87.64a	86.05b	0.433
30	76.03c	77.98b	88.27a	86.80a	88.45a	0.502

2.2 苦丁茶冬青成叶提取物经不同剂量⁶⁰Co-γ 射线辐照前后的颜色变化 当苦丁茶冬青成叶的不同溶剂提取物(15 ℃水提物 ,90 ℃热水提取物 ,70 % 甲醇提取物 ,70 % 乙醇提取物和 70 % 丙酮提取物) 分别用 10 ,20 ,30 kGy 的⁶⁰Co-γ 射线辐照后 ,其颜色均不同程度地褪减。从图 1 可知 ,在辐照剂量为 0 kGy 时 (即辐照之前) ,在所有的供试样液中以 70 % 甲醇提取物样液颜色最浅; 当用 10 kGy 剂量照射 5 种供试样液后 ,仍以 70 % 甲醇浸提物样液的颜色最浅; 但用 20 kGy 和 30 kGy 的剂量辐照后 ,则以 70 % 乙醇浸提物样液的颜色最浅。

2.3 不同溶剂提取物样液经不同剂量的⁶⁰Co-γ 射线辐照后储存 3 个月的颜色变化 苦丁茶冬青成叶不同溶剂提取物样液 ,经不同剂量的⁶⁰Co-γ 射线辐照后 ,再置于 4 ℃条件下避光储存 3 个月后 ,其颜色在一定程度上均有所变化 ,但不同溶剂浸提物样液 ,其颜色的变化程度有差异。其中 ,15 ℃水提物样液和 90 ℃热水提取物样液 ,经 4 ℃低温避光储存 3 个月后 ,颜色显著加深(图 1: A ,B) ; 而 70 % 甲醇、70% 乙醇和 70% 丙酮 3 种溶剂的提取物样液经⁶⁰Co-γ 射线辐照后 ,再置于 4 ℃低温避光储存 3 个月 ,3 种样液的颜色虽均有所加深 ,但依然保持相对较浅的颜色(图 1: C ,D ,E) 。由此可以推测 ,样品中抗氧化物质的分子结构在经⁶⁰Co-γ 射线辐照后所发生的变化 ,因溶剂的不同而表现出差异性: 70% 甲醇、70% 乙醇和 70% 丙酮作为溶剂 ,可以在较长时间内维持在一种相对稳定的状态; 而用水作为溶剂 ,则这种结构变化很难在较长的时间内维持相对稳定的状态 ,要么较快地重新回复到辐照前的化学结构形式 ,要么在储存过程中较快地转化成了其他深色的分子结构形式。

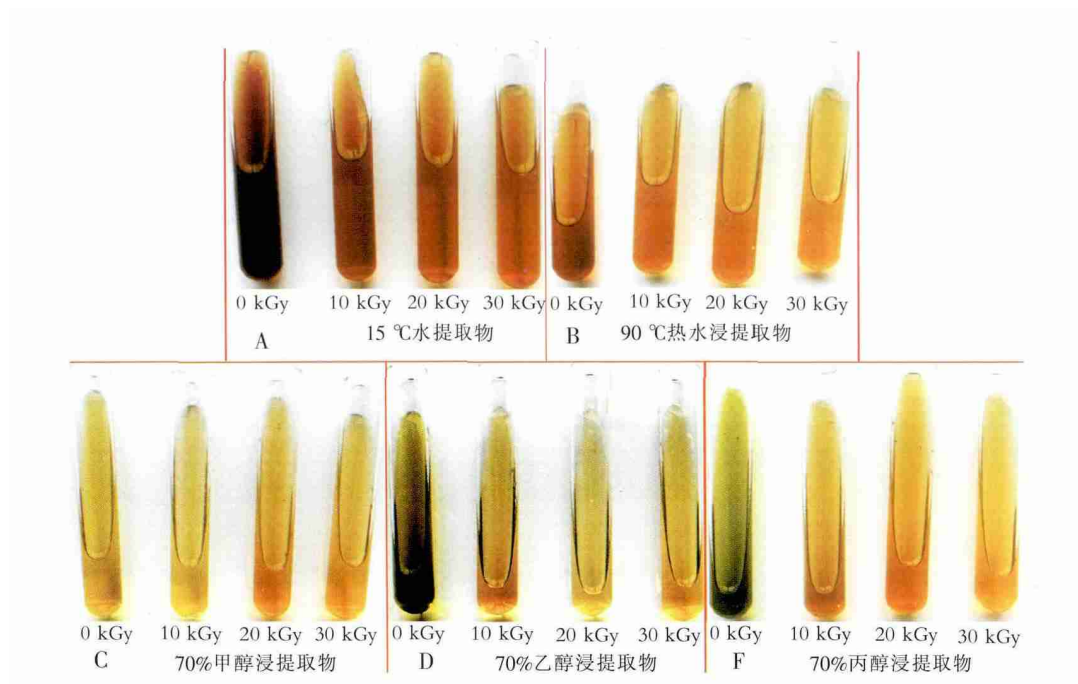


图 1 苦丁茶冬青成叶之 5 种不同溶剂提取物样液经不同剂量 $^{60}\text{Co-}\gamma$ 射线处理前后的颜色

Fig. 1 The colors of the liquid samples extracted with 5 different solvents, from the mature leaves in *I. kudingcha*, before and after treated with $^{60}\text{Co-}\gamma$ ray

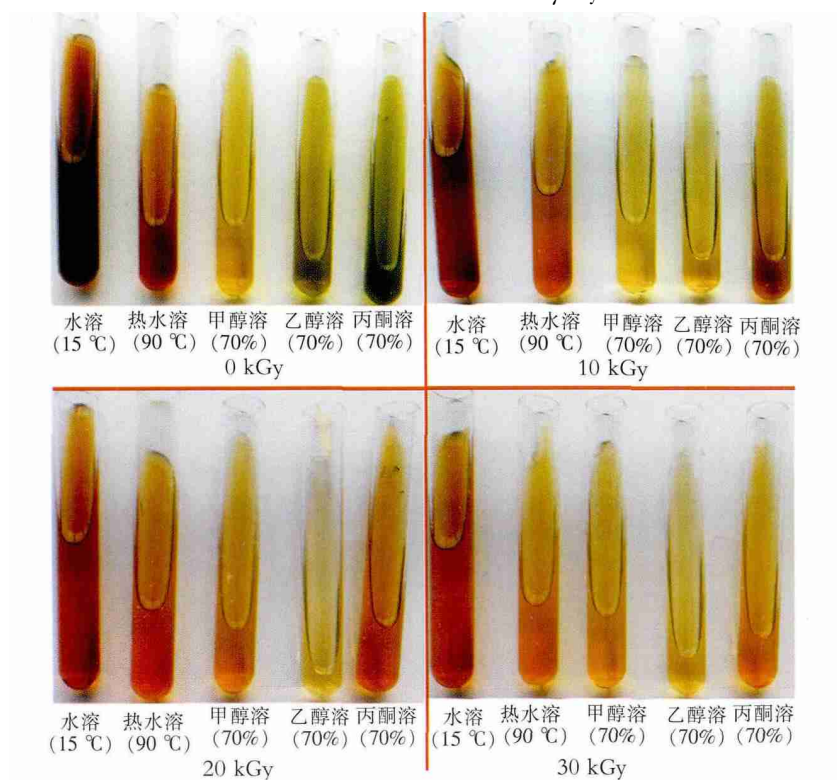


图 2 苦丁茶冬青成叶不同溶剂提取物样液经相同剂量的 $^{60}\text{Co-}\gamma$ 射线处理前后的颜色

Fig. 2 The colors of the liquid samples extracted with 5 different solvents, from the adult leaves in *I. kudingcha*, treated with $^{60}\text{Co-}\gamma$ ray at the same dose

从图 2 可知, 将不同溶剂提取物的样液在同样的辐照剂量条件下进行比较, 则可以发现, 以 70 % 甲醇提取物样液和 70 % 乙醇提取物样液的颜色最浅; 而将 10 kGy 和 20 kGy 辐照剂量条件下的 70 % 乙醇提取物样液的颜色进行比较时, 则以 20 kGy 辐照剂量下的 70 % 乙醇提取物样液的颜色较浅。

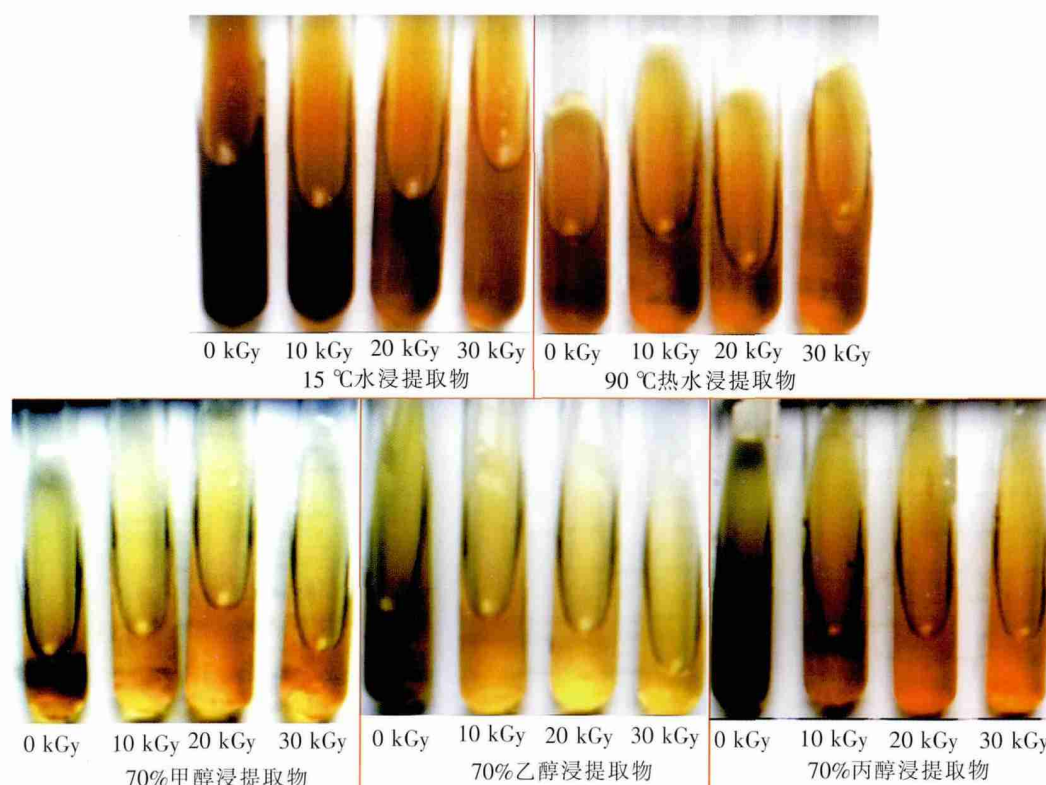


图3 苦丁茶冬青成叶不同溶剂提取物样液经不同剂量 ^{60}Co - γ 射线处理后在4℃存放3个月的颜色

Fig. 3 The colors of the liquid samples extracted with 5 different solvents, from the mature leaves in *I. kudingcha*, stored at 4℃ for 3 months after treated with different doses of ^{60}Co - γ ray

3 讨论

苦丁茶冬青成叶的各种供试溶剂提取物样液经 ^{60}Co - γ 射线进行辐照处理后,其颜色均有不同程度的减褪,但其抗氧化活性没有明显变化。从褪色程度与抗氧化活性2个方面考虑,利用20 kGy剂量辐照后的70%乙醇提取物样液的颜色和抗氧化活性均表现出最佳的效果;经用10 kGy剂量辐照后的70%甲醇提取物样液,其效果次之。但是根据我国《辐照食品卫生管理办法》第十四条规定:研制10 kGy以上的辐照食品新品种,研制单位需提供感官性状、营养、毒理及辐解产物、微生物等指标的卫生安全性评价资料。从食品安全的角度考虑20 kGy处理辐照剂量有可能引起争议,故建议选用10 kGy辐照剂量后的甲醇萃取物做深入研究。

在本研究中,经过辐照处理后,水提取物样液的抗氧化活性明显增加,与辐照剂量呈现正相关。其原因有可能是苯酚类化合物经过放射线辐照处理后,打破了液体中水的电离平衡,并产生了大量的羟基自由基,这些自由基使联苯酚化合物断裂形成单体,从而使抗氧化成分增加,使得抗氧化活性增强。其他溶剂的提取物样液在辐照剂量上升时其抗氧化活性并没有表现出明显的递增趋势。这可能与提取物样液中的成分种类不同,或与提取物样液浓度过大有关。经辐照后提取物样液的颜色表现出较明显的褪减,可能主要是由于辐照打破了样液中水的电离平衡,并产生了大量的羟基自由基,这些自由基打断了色素的分子结构,从而使样液得颜色变浅。经 ^{60}Co - γ 射线辐照处理后,苦丁茶冬青成叶的5种不同溶剂的提取物样液,在4℃条件下储存了3个月时,其颜色均有轻微的变深。这可能是由于多酚类化合物与氧发生反应产生邻醌,再进一步氧化聚合而成褐色素或黑色素,从而导致颜色变深。有研究表明,当储存温度为-20℃时,较4℃下可在一定程度上减缓颜色加深;在样液中加入一定比例的维生素C也可减缓颜色加深^[13-14]。从理论上说,冬青科苦丁茶成叶提取物也可以作类似处理,以解决辐照后因提取物溶液长时间储存而导致颜色加深的问题。在这方面还有待今后做进一步深入的研究。

本实验结果表明,苦丁茶冬青成叶的室温水提物样液经 $^{60}\text{Co-}\gamma$ 射线辐照后,其抗氧化活性有小幅提升;而90℃热水、70%甲醇、70%乙醇和70%丙酮的提取物样液其抗氧化活性则在辐照前后无明显差异。成叶的不同溶剂提取物样液经不同剂量的 $^{60}\text{Co-}\gamma$ 射线辐照后,颜色均有不同程度的褪减。其中,经20 kGy的 $^{60}\text{Co-}\gamma$ 射线辐照后的70%乙醇提取物的颜色最浅,经10 kGy的 $^{60}\text{Co-}\gamma$ 射线辐照后的70%甲醇提取物颜色次之。苦丁茶冬青成叶的提取物作为抗氧化剂应用于肉食品保鲜防腐、保健品或化妆品生产时,从食品和化妆品安全、抗氧化活性强弱以及颜色深浅等方面综合考虑,宜选用70%甲醇萃取,辐照剂量以10 kGy较合适。

参考文献:

- [1] 刘国民. 用 RAPD 技术探讨冬青属苦丁茶的遗传差异、亲缘关系与分类地位[J]. 云南植物研究, 2004, 26(6): 637–644.
- [2] 李建法, 胡六江, 吕金红, 等. 苦丁茶黄酮类化合物的提取与分析[J]. 浙江林业科技, 2005, 25(1): 31–34.
- [3] 李宏杨, 刘飞, 张凤琴, 等. 6种冬青科苦丁茶总三萜类物质含量的比较研究[J]. 热带生物学报, 2010, 1(1): 17–20.
- [4] 朴香兰. 常见天然抗氧化物质研究[M]. 北京: 中央民族出版社, 2008.
- [5] 隋秀芳, 王玉株, 黄涛, 等. 紫鹃茶和苦丁茶中功效成分的提取分离[J]. 食品科学, 2011, 32(20): 72–78.
- [6] 熊波, 陆慧宁, 刘岚, 等. 苦丁茶冬青挥发油成分的 GC-MS 分析[J]. 分析测试学报, 2003, 22(4): 67–69.
- [7] LEE S C, JEONG S M, LEE J M. Effect of irradiation on total phenol and catechins contents and radical scavenging activity of green tea leaf and stem extract[J]. Journal of Food Biochemistry, 2008, 32: 782–794.
- [8] BONG-JEUN A, JAE-HOON K, JUN-HO S, et al. Physiological activity of irradiated green tea polyphenol on the human skin[J]. The American Journal of Chinese Medicine, 2005, 33(4): 535–546.
- [4] KIM J K, JO C, HWANG H J, et al. Color improvement by irradiation of curcuma aromatica extract for industrial application[J]. Radiation Physics and Chemistry, 2006, 75: 449–452.
- [10] LEE N Y, JO C, SOHN S H, et al. Effects of gamma irradiation on the biological activity of green tea byproduct extracts and a comparison with green tea leaf extracts[J]. Food Sci., 2006, 71: 269–274.
- [11] BLOIS M S. Antioxidant determination by the use of a stable free radical[J]. Nature, 1958, 181: 1199–1200.
- [12] EREL O. A novel automated direct measurement method for total antioxidant capacity using a new generation, more stable abts radical[J]. Clin. Biochem, 2004, 37: 277–285.
- [13] JO C, SON J H, SHIN M G, et al. Irradiation effect on color and functional properties of persimmon (*Diospyros kaki* L. folium) leaf extract and licorice (*Glycyrrhiza uralensis* Fischer) root extract during storage[J]. Radiat. Phys. Chem., 2003, 67: 143–148.
- [14] BYUN M W, JO C, LEE J W, et al. Irradiation application of color removal and purification of green tea leaf extract[J]. Radiat. Phys. Chem., 2003, 66: 179–184.
- [15] BYUN M W, JO C, JEON T W, et al. Effect of gamma irradiation on color characteristics and biological activities of extracts of *Lonicera japonica* with methanol and acetone[J]. Lebensm-Wiss. u. Technol., 2003, 37: 29–33.
- [16] JO C, AHN D U, BYUN M W. Irradiation induced oxidative changes and production of volatile compounds in sausage prepared with vitamin E-enriched commercial soybean oil[J]. Food Chem., 2002, 67: 261–268.
- [17] LEE S C, JEONG S M, JO S C, et al. Application of far-infrared irradiation in the manufacturing process of green tea[J]. J. Agric. Food Chem., 2006, 54: 9943–9947.
- [18] LEE S C, JEONG S M, KIM S Y, et al. Effect of far-infrared radiation and heat treatment on the antioxidant activity of water extracts from peanut hulls[J]. Food Chem., 2006, 64: 489–493.
- [19] LEE S C, KIM S Y, JEONG S M, et al. Effect of far-infrared irradiation on catechin and nitrite scavenging activity of green tea[J]. Agric. Food Chem., 2006, 54: 399–403.

Activity Analysis of Growth-promoting Endophytic Bacteria Isolated from the Roots of *Phalaenopsis pulcherrima*

ZHANG Fangfang, SONG Xiqiang, DING Qiong, ZHU Guopeng

(College of Horticulture and Gardening, Hainan University/ Key Laboratory of Protection and Developmental Utilization of Tropical Crop Germplasm Resources, Ministry of Education (Hainan University), Haikou 570228, China)

Abstract: Endophytic bacteria of orchid plants play an important role in orchid life cycle. An attempt was made to inoculate 15 endophytic bacteria isolated from the root of wild plants *Phalaenopsis pulcherrima* into *Phalaenopsis pulcherrima* plantlets *in vitro* for co-culture to analyze their abilities of nitrogen fixation, phosphate solubilization and IAA production. Of the 15 endophytic bacteria, 11 strains were found to have a growth-promoting effect on *P. pulcherrima* plantlets, of which the strain *Paenibacillus graminis* produced best growth-promoting effect; 9 strains had a potential ability of nitrogen fixation; 10 strains were able to produce IAA, of which the strain *Bacillus cereus* produced the highest amount of IAA; 7 strains were able to dissolve phosphorus, of which *Bacillus megaterium* dissolved the highest amount of phosphorus. In addition, endophytic bacteria had a positive correlation between the ability of phosphate-solubilization and the ability of IAA production.

Key words: *Phalaenopsis*; endophytic bacteria; plant growth-promoting activity

(上接第 278 页)

Effect of ^{60}Co - γ Ray Irradiation on the Antioxidant Activities and the Colors of the Liquid Samples of Extracted Mature Leaves in *Ilex Kudingcha* C. J. Tseng

GUO Yan², ZHAO Feng¹, LIU Guomin², LUO Zhiping³, LIU Xiande³, LI Lihui⁴

(1. Hainan Radio and TV University, Haikou 570208, China;

2. The Kudingcha Research Institute, Hainan University, Haikou 570228, China;

3. Hunan Institute of Nuclear Agricultural Science and Space-induced Breeding, Changsha, Hunan 410125;

4. The College of Agronomy, Hainan University, Haikou 570228, China)

Abstract: The liquid samples of water-extract (15 °C), hot water extract (90 °C), methanol extract (70%), alcohol extract (70%) and acetone extract (70%) from the mature leaves of *Ilex kudingcha* C. J. Tseng were irradiated with ^{60}Co - γ ray at respective doses of 0 (CK), 10, 20 and 30 kGy. The antioxidant activities of the liquid samples were determined via ABTS and DPPH methods and the colors of the liquid samples before and after irradiation were observed and compared. The results showed that the antioxidant activity of the liquid sample of the water extract (room temperature) was slightly increased after irradiation of ^{60}Co - γ ray. There was, however, no significant difference in the liquid samples extracted with hot water (90 °C), 70% methanol, 70% alcohol and 70% acetone. The colors of all the liquid samples extracted with 5 different solvents from the mature leaves in *I. kudingcha* faded in some degrees, of which the color of the liquid sample extracted with 70% alcohol was the palest, followed by that of the liquid sample extracted with 70% methanol. When the extracts are used for food fresh-keeping and for food or cosmetics preparation, it is recommended to use the extract with 70% methanol as solvent and treat with ^{60}Co - γ ray at the dose of 10 kGy to ensure the security of food and cosmetics.

Key words: *Ilex kudingcha* C. J. Tseng; ^{60}Co - γ irradiation; antioxidant activity