

黄酒米浆水中抗菌乳酸菌的 筛选及特性分析

刘彩琴, 陆胤, 王石磊, 王楠, 陈虹

(浙江树人大学生物与环境工程学院, 浙江杭州 310015)

摘要:为了筛选黄酒米浆水中具有抗菌特性的乳酸菌,通过初筛和复筛实验分离、纯化了具有抗菌特性的乳酸菌,通过形态学观察、生理生化反应对菌株进行分类,通过有机酸干扰排除试验对所产抑菌物质进行初步分析。结果表明,从黄酒米浆水中筛选出 36 株对蜡样芽孢杆菌和大肠杆菌具有抑菌作用的乳杆菌,根据生理生化特征初步判断为植物乳杆菌、微小乳杆菌、鸟乳杆菌不解棉籽糖亚种乳杆菌、鼠李糖乳杆菌、马乳酒样乳杆菌、卷曲乳杆菌、嗜酸乳杆菌等。这些乳酸菌产生的抑菌物质非乳酸菌发酵产生的乳酸、乙酸和盐酸。本研究结果为黄酒米浆水中抑菌物质的开发及研究提供了基础。

关键词:乳酸菌, 黄酒米浆水, 抑菌, 筛选

Screening and Characteristic Analysis of Antibacterial Lactic Acid Bacteria from Rice Pulp of Huangjiu

LIU Cai-qin, LU Yin, WANG Shi-lei, WANG Nan, CHEN Hong

(College of Biology and Environment Engineering, Zhejiang Shuren University, Hangzhou 310015, China)

Abstract: In order to screen the lactic acid bacteria (LAB) with antibacterial properties in rice pulp of Huangjiu, antibacterial LAB were isolated and purified by preliminary screening and re-screening experiments. Morphological observation, physiological and biochemical reaction were used to classify the strains. The antibacterial substances were preliminarily analyzed by excluding acid interference test. The results showed that the screened 36 lactobacillus inhibited the growth of *Bacillus cereus* and *Escherichia coli*. According to their physiological and biochemical characteristics, they were identified as *L. plantarum*, *L. minor*, *L. aviaris* subsp. *araffinosus*, *L. rhamnosus*, *L. kefirano*faciens, *L. crispatus*, *L. acidophilus*, etc. The antibacterial substances produced by these LAB were not lactic acid, acetic acid and hydrochloric acid. The results provided a basis for further research of antibacterial substances in rice pulp of Huangjiu.

Key words: lactic acid bacteria; rice pulp of Huangjiu; antibacterial; screening

中图分类号: TS261.1

文献标识码: A

文章编号: 1002-0306(2020)09-0114-05

doi:10.13386/j.issn1002-0306.2020.09.018

引文格式: 刘彩琴, 陆胤, 王石磊, 等. 黄酒米浆水中抗菌乳酸菌的筛选及特性分析[J]. 食品工业科技, 2020, 41(9): 114-118.

黄酒(Huangjiu)是我国民族特产和传统发酵食品之一,通常以糯米为原料,经浸米、蒸煮、加曲、糖化发酵、压榨、过滤、煎酒、贮存、勾兑而成^[1-2]。浸米是黄酒生产的第一个工艺,以生产用水对糯米进行浸泡,每生产 1 吨黄酒约产生 2 吨米浆水^[3]。米浆水富含淀粉、蛋白质、糖类、有机酸等营养物质^[3],还含有丰富的细菌,尤其是乳酸菌,含有少量酵母菌和霉菌等类群微生物^[4-6],鉴于环境保护和精深加工的需求,黄酒企业一直在探索米浆水的综合、高效利用途径。

近年来,乳酸菌在食品保藏、饲料行业、保健、医疗领域的应用价值被深入挖掘^[7-9],我国传统发酵食

品蕴含丰富的乳酸菌资源,黄酒米浆水中富含乳酸菌,其代谢产物对黄酒的发酵过程、风味产生及营养价值产生影响^[4,6,10]。已有我国传统发酵食品如泡(酱)菜、发酵乳制品中具有抑菌活性乳酸菌的研究报道^[11-12],鉴于乳酸菌基因组的多样性大多与其所在的环境有关,尤其与抗生素抗性、糖代谢、蛋白质水解和限制性修饰等功能相关的基因与环境特异性相关^[13],亟需深入认识黄酒米浆水中抑菌乳酸菌的类型及生理特性、抑菌物质的理化特性等。革兰氏阳性菌(G^+)和革兰氏阴性菌(G^-)的化学组成、生理生化特性不同,有些抑菌物质不能同时对 G^+ 和 G^- 有抑

收稿日期: 2019-07-15

作者简介: 刘彩琴(1975-),女,博士,副教授,研究方向:食品科学, E-mail: sailor603@126.com。

基金项目: 浙江省基础公益研究项目(GN20C200067);浙江树人大学黄酒学院项目,浙江树人大学“中青年学术团队”项目。

制作用,比如成潇龙等^[14]研究发现米浆水对金黄色葡萄球菌(G^+)有抑菌作用,故本文以致食品腐败菌蜡样芽胞杆菌(G^+)和大肠杆菌(G^-)为指示菌,对黄酒米浆水中具有抑制 G^+ 和 G^- 的乳酸菌进行筛选,并对其特性进行初步分析,为米浆水的开发和综合利用提供理论基础。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

黄酒米浆水 会稽山绍兴酒股份有限公司;大肠杆菌(*E. coli*, ATCC44102)、蜡样芽胞杆菌(*B. cereus*, AS1.2238) 浙江省微生物研究所;MRS培养基、胰酪大豆胨培养基、营养琼脂培养基、琼脂粉、微生物生化反应管 杭州微生物试剂有限公司;CaCO₃ 成都市科龙化工试剂厂;乳酸菌筛选培养基 含0.3% CaCO₃ MRS固体培养基;乳酸菌活化培养基 MRS液体培养基;乳酸菌保藏培养基 含2%琼脂粉的MRS固体培养基;大肠杆菌活化及培养培养基 营养琼脂培养基;蜡样芽胞杆菌活化及培养培养基 胰酪大豆胨培养基;2%素琼脂 琼脂粉20 g,蒸馏水1 L。

YM30Z 灭菌锅 上海三申医疗器械有限公司;SW-CJ-2FD 超净工作台 苏州净化设备有限公司;LRH-250 恒温培养箱 国华仪器有限公司;PHS-25 酸度计 上海理达仪器厂;PL303 电子分析天平 CX31 光学显微镜 日本奥林巴斯有限公司;梅特勒-托利多仪器(上海)有限公司;台式高速冷冻离心机 Biofuge Primo R。

1.2 实验方法

1.2.1 乳酸菌的初筛 采用溶钙圈法^[15],取100 μ L适当稀释的米浆水涂布于MRS培养基中,37 $^{\circ}$ C培养24~48 h,挑取具有透明溶钙圈、形状不同的单个菌落。

1.2.2 抑菌乳酸菌的筛选 参照王伟^[16]的方法,首先采用牛津杯法筛选对大肠杆菌和蜡样芽胞杆菌有抑菌活性的乳酸菌,接着通过过氧化氢酶实验筛选过氧化氢酶阴性菌株,所选菌株于MRS固体培养基上保藏,备用。

1.2.3 乳酸菌形态观察及生理生化鉴定

1.2.3.1 菌株形态 将纯化的有溶钙圈的菌株接种于MRS平板上,37 $^{\circ}$ C培养2 d,革兰氏染色后显微镜观察,挑取形态不一致菌株,编号,保藏。

1.2.3.2 生理生化鉴定 按半乳糖、乳糖、松三糖、棉子糖、麦芽糖、葡萄糖、七叶苷、马尿酸钠、葡萄糖产气、淀粉水解、精氨酸双水解、吲哚反应、明胶液化生化鉴定管的要求接种乳酸菌,考察乳酸菌的生理生化特性^[17-18]。

1.2.4 乳酸菌抑菌活性的测定 将大肠杆菌接种于营养琼脂基液体培养基,37 $^{\circ}$ C恒温培养24 h;蜡样芽胞杆菌接种于胰酪胨大豆液体培养基,30 $^{\circ}$ C恒温培养24 h;采用牛津杯法^[16]考察乳酸菌上清液对指示菌的抑菌性能。

1.2.5 有机酸干扰的排除 参照王伟^[16]的方法略有改动,用1 mol/L的NaOH将离心后的发酵液pH调节

至5.0,同时分别用乳酸、乙酸和盐酸调节MRS液体培养基pH至5.0作为对照;采用牛津杯法考察乳酸菌发酵上清液、乳酸、乙酸和盐酸对指示菌的抑制活性。

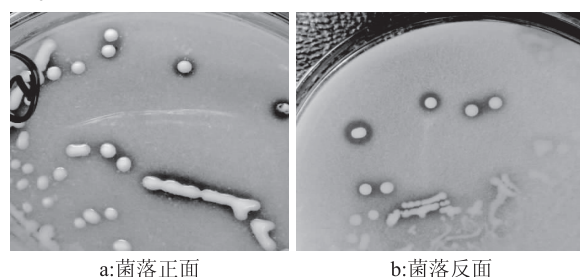
1.3 数据处理

每组实验进行3个平行,用SPSS进行统计分析。

2 结果与讨论

2.1 乳酸菌的分离及部分形态

从黄酒米浆水中筛选出具有抑菌活性的乳酸菌菌株36株,其菌落形态为圆形,乳白色,表面光滑,边缘齐整,不透明,质地均匀,菌体无鞭毛,无芽孢产生,菌落周围有融钙圈。显微镜下,均为杆菌,只是菌株的长宽不一;革兰氏染色后有些菌株呈紫色,有的菌株呈红紫色,说明细胞壁肽聚糖和类脂质含量有差异。菌落形态及显微镜下菌体形态见图1和图2。



a:菌落正面

b:菌落反面

图1 乳酸菌菌落及融钙圈

Fig.1 LAB colony and calcification ring

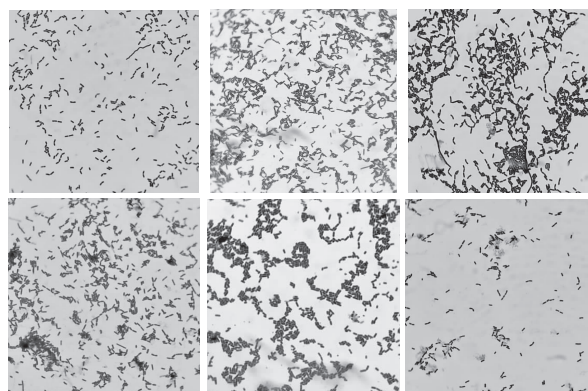


图2 几株乳酸菌在显微镜下的菌体状态(400 $\times$)

Fig.2 The shape of several strains of the lactic acid bacteria under the microscope(400 $\times$)

2.2 乳酸菌生理生化特性

对分离得到的36株菌进行生理生化鉴定,从表1可见,36株乳酸菌均能利用葡萄糖、七叶苷及麦芽糖,精氨酸双水解试验、吲哚反应、明胶试验、葡萄糖产气、淀粉水解都为阴性,由葡萄糖产气为阴性得出36株乳酸菌均为同型发酵乳酸菌,也就是说这些菌株发酵己糖几乎全生成乳酸^[16]。

参照《乳酸细菌分类鉴定及实验方法》^[17],36株乳酸菌均为乳杆菌属,R1、R6、R8与植物乳杆菌(*L. plantarum*)特征一致,R3与微小乳杆菌(*L. minor*)生化反应相似度极高,R4、R33与鸟乳杆菌不解棉籽糖亚种乳杆菌(*L. aviarius* subsp. *araffinosus*)特征一致,

表 1 乳酸菌生理生化鉴定结果
Table 1 Physiological and biochemical properties of the LAB

菌株	半乳糖	乳糖	松三糖	棉子糖	麦芽糖	葡萄糖	七叶苷	马尿酸钠	葡萄糖产气	淀粉水解	精氨酸双水解	吡啶反应	明胶液化
R1	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-
R2	+	-	+	-	+	+	+	+	-	-	-	-	-
R3	±	-	+	-	+	+	+	+	-	-	-	-	-
R4	-	-	+	-	+	+	+	+	-	-	-	-	-
R5	+	-	+	-	+	+	+	+	-	-	-	-	-
R6	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-
R7	+	+	+	-	+	+	+	+	-	-	-	-	-
R8	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-
R9	+	-	+	-	+	+	+	+	-	-	-	-	-
R10	+	+	-	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-
R11	+	+	-	-	+	+	+	+	-	-	-	-	-
R12	-	+	-	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-
R13	+	+	-	-	+	+	+	+	-	-	-	-	-
R14	+	-	-	±	+	+	+	+	-	-	-	-	-
R15	+	+	-	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-
R16	+	+	-	-	+	+	+	+	-	-	-	-	-
R17	+	+	-	±	+	+	+	+	-	-	-	-	-
R18	+	+	-	-	+	+	+	+	-	-	-	-	-
R19	+	+	-	-	+	+	+	+	-	-	-	-	-
R20	+	+	-	-	+	+	+	+	-	-	-	-	-
R21	+	+	-	±	+	+	+	+	-	-	-	-	-
R22	+	+	-	-	+	+	+	+	-	-	-	-	-
R23	+	+	-	±	+	+	+	+	-	-	-	-	-
R24	+	+	-	-	+	+	+	+	-	-	-	-	-
R25	+	+	-	-	+	+	+	+	-	-	-	-	-
R26	+	+	-	-	+	+	+	-	-	-	-	-	-
R27	+	+	-	-	+	+	+	+	-	-	-	-	-
R28	±	+	-	±	+	+	+	+	-	-	-	-	-
R29	±	-	-	-	+	+	+	+	-	-	-	-	-
R30	+	+	-	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-
R31	+	+	-	±	+	+	+	+	-	-	-	-	-
R32	-	+	-	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-
R33	-	-	+	-	+	+	+	+	-	-	-	-	-
R34	+	+	-	±	+	+	+	+	-	-	-	-	-
R35	+	+	+	-	+	+	+	+	-	-	-	-	-
R36	+	+	-	-	+	+	+	+	-	-	-	-	-

注：+ 表示生化管显示阳性；- 表示生化管显示阴性；± 表示生化管显示弱阳性。

R7、R35 与鼠李糖乳杆菌 (*L. rhamnosus*) 特征一致，R10、R15、R30 与马乳酒样乳杆菌 (*L. kefirifaciens*) 特征一致，R11、R13、R16、R18、R19、R20、R22、R24、R25、R27、R36 与卷曲乳杆菌 (*L. crispatus*) 特征一致，R17、R21、R23、R28、R31、R34 与嗜酸乳杆菌 (*L. acidophilus*) 特征一致。菌株 R2、R5、R9、R12、R14、R26、R29、R32 无法确定，其中 R2、R5、R9 三者特征一致，R12 与 R32 特征一致，R14、R29、R26 三者不相同，这 36 株菌中唯独 R26 不能使马尿酸钠产生沉淀。这 36 株菌均为乳杆菌属，与毛青钟等^[19]的报道相符合。

2.3 乳酸菌抑菌活性

以 G⁺ 菌株蜡样芽孢杆菌、G⁻ 菌株大肠杆菌为指示菌，36 株乳酸菌的抑菌活性见表 2。从表 2 可知，36 株乳酸菌均对蜡样芽孢杆菌和大肠杆菌有抑制作用，以蜡样芽孢杆菌为指示菌时，抑菌圈清晰，抑菌圈最大的菌株为 R2，其直径为 18.14 mm，抑菌圈最小的菌株为 R26，其直径为 13.72 mm；以大肠杆菌为指示菌时，抑菌圈不是很明显，边缘不清晰，抑菌圈最大的菌株为 R3，其直径为 16.50 mm，抑菌圈最小的菌株为 R15，其直径为 10.88 mm。

从目前报道来看，大部分乳酸菌所产抑菌物质

表2 乳酸菌抑菌活性
Table 2 Antibacterial activity of the LAB

菌株	抑菌圈直径(mm)		菌株	抑菌圈直径(mm)		菌株	抑菌圈直径(mm)	
	蜡样芽孢杆菌	大肠杆菌		蜡样芽孢杆菌	大肠杆菌		蜡样芽孢杆菌	大肠杆菌
R1	14.52	14.46	R13	15.60	14.52	R25	15.40	13.80
R2	18.14	12.40	R14	15.80	11.90	R26	13.72	11.52
R3	16.00	16.50	R15	15.06	10.88	R27	15.78	15.16
R4	15.40	16.20	R16	17.52	15.70	R28	15.80	12.42
R5	14.48	14.70	R17	15.88	15.22	R29	13.84	15.10
R6	14.52	11.78	R18	15.42	15.10	R30	15.22	12.40
R7	15.90	14.20	R19	15.86	13.42	R31	13.68	14.00
R8	15.40	13.30	R20	15.50	16.42	R32	14.98	12.32
R9	15.92	13.88	R21	15.60	11.30	R33	17.40	12.92
R10	14.80	15.64	R22	14.58	14.88	R34	16.22	14.10
R11	15.24	14.92	R23	16.28	14.12	R35	15.48	14.70
R12	15.20	13.88	R24	14.14	11.70	R36	17.42	15.54

注:牛津杯内径 6 mm,外径 8 mm;表 3 同。

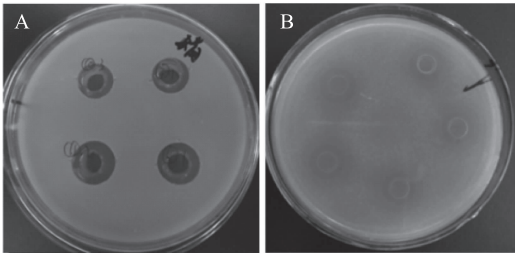


图3 乳酸菌对大肠杆菌和蜡样芽孢杆菌的抑制效果
Fig.3 Inhibitory effect of the LAB on *B.cereus* and *E.coli*

注:A:蜡样芽孢杆菌为指示菌;B:大肠杆菌为指示菌。
只对 G⁺ 或 G⁻ 有抑制效果,少部分乳酸菌如乳酸菌 SD-22^[20]、乳酸菌 Y13、X29 和 X30^[21]、植物乳杆菌 HLJ-174^[22] 等既抑制 G⁺, 也抑制 G⁻, 乳酸菌 SD-22 还对部分真菌有抑制作用^[20]。本研究分离出的 36 株乳酸菌既对 G⁺ 蜡样芽孢杆菌有抑制作用,也对 G⁻ 大肠杆菌未有抑制作用,说明这些乳酸菌生理特征与现有报道有区别;另外,这可能就是浸米时间长酿得的酒,入坛后能够久藏不坏的原因之一。

2.4 有机酸干扰的排除

目前发现乳酸菌的抑菌性主要依赖于其产生的代谢产物,这些物质主要有有机酸如乳酸、乙酸、苹果酸等,蛋白或小肽如 reuterin 和 bacteriocins^[23-24],以及新型抑菌物质如苯乳酸、4-羟基苯乳酸^[25-26] 等,为了验证该抑菌物质是乳酸、乙酸、盐酸,还是有机酸外的某类物质,用乳酸、乙酸和盐酸调节 MRS 液体培养基至 pH5.0 的抑菌效果见表 3。

表3 三种有机酸在 pH5.0 时的抑菌效果
Table 3 Bacteriostatic effect of three kinds of organic acids at pH5.0

指示菌	抑菌圈直径(mm)		
	乳酸	乙酸	盐酸
蜡样芽孢杆菌	8.00	8.00	8.00
大肠杆菌	8.00	8.00	8.00

从表 3 可见,乳酸、乙酸和盐酸调节 MRS 液体培养基至 pH5.0 时,对蜡样芽孢杆菌和大肠杆菌均无抑菌活性;该结果与王伟^[16] 的研究报道相似。这说明乳酸菌发酵产生的抑菌物质并非是乳酸、乙酸和盐酸等有机酸,而是由其它类型的抑菌物质组成的。

3 结论

本实验在黄酒米浆水中分离得到 36 株对蜡样芽孢杆菌和大肠杆菌同时有抑菌作用的乳杆菌,初步判断为植物乳杆菌、微小乳杆菌、鸟乳杆菌不解棉籽糖亚种乳杆菌、鼠李糖乳杆菌、马乳酒样乳杆菌、卷曲乳杆菌、嗜酸乳杆菌等。这 36 株乳杆菌产生的抑菌物质非乳酸菌发酵产生的乳酸、乙酸和盐酸。黄酒米浆水中乳酸菌资源丰富,但是其生理特性、发挥的功能及代谢通路仍不清楚,本研究仅筛选了具有抑制细菌生长的乳酸菌,为黄酒米浆水中抑菌物质的研究提供了思路,但是对乳酸菌的特性、抑菌物质的类型等仍需深入研究,因为其不仅影响黄酒的品质,而且可能在食品保鲜、生物医药等领域发挥更大的作用。

参考文献

[1]冯浩,毛健,黄桂东,等.黄酒发酵过程中乳酸菌的分离、鉴定及生物学特性研究[J].食品工业科技,2013(16):185-188,205.
[2]陈历水,沈雪梅,刘蕾,等.黄酒生产过程中细菌群落结构与生物胺含量变化分析[J].食品研究与开发,2018,39(11):76-83
[3]李海霞.黄酒工业米浆水回收利用关键技术研究及其应用[D].杭州:浙江大学,2012.
[4]朱小芳,张凤杰,俞剑桑,等.黄酒浸米水中细菌群落结构及优势菌代谢分析[J].食品科学,2017,38(10):82-86.
[5]孙士勇,曹钰,陆健,等.适用于黄酒米浆水处理的酵母菌的筛选[J].食品与生物技术学报[J].2018,37(3):316-322.
[6]毛青钟.冬酿春榨绍兴黄酒[J].酿酒,2018,45(1):106-108.
[7]Titilayo A A,Oluwatosin A I.Characterization and antioxidant ability of potential probiotic lactic acid bacteria in ogi liquor and

lemon juice - ogi liquor [J]. *Annals of Microbiology*, 2019, 69: 777-786.

[8] Górska A, Przysupski D, Niemczura M J, et al. Probiotic bacteria: a promising tool in cancer prevention and therapy [J]. *Current Microbiology*, 2019, 76(8): 939-949.

[9] 尹雪. 抑制青贮饲料中黄曲霉菌的乳酸菌分离筛选及应用[D]. 阿拉尔: 塔里木大学, 2018.

[10] Wei X L, Liu S, Yu J S, et al. Innovation Chinese rice wine brewing technology by bi-acidification to exclude rice soaking process [J]. *Journal of Bioscience and Bioengineering*, 2017, 123(4): 460-465.

[11] 闫刘慧. 泡菜中乳酸菌特性分析及模拟肠道存活定殖作用研究[D]. 广州: 华南理工大学, 2014.

[12] 杨尚娇. 新疆地区干酪中产细菌素乳酸菌的筛选、系统发育及其抑菌活性研究[D]. 石河子: 石河子大学, 2015.

[13] Orla O, John O, Amaia S V, et al. Comparative genomics of lactic acid bacteria reveals a niche-specific gene set [J]. *BMC Microbiology*, 2009(9): 50.

[14] 成满龙, 杨海麟, 章升, 等. 黄酒酿造浸米水中抑菌物质的分离纯化鉴定及其活性的测定[J]. *中国酿造*, 2015, 34(5): 48-51.

[15] 张旭, 赵斌, 张香美, 等. 产细菌素乳酸菌的筛选及细菌素相关基因的分析[J]. *中国农业大学学报*, 2013, 18(4): 168-177.

[16] 王伟. 海参肠道中乳酸菌的分离鉴定及活性物质研究[D]. 大连: 大连工业大学, 2018.

[17] 凌代文, 东秀珠. 乳酸细菌分类鉴定及实验方法[M]. 北

京: 中国轻工业出版社, 1999: 8-14.

[18] 吴爱娟, 甄妮, 黄苓, 等. 广谱抑菌乳酸菌的筛选及其细菌素相关基因分析[OL]. *食品科学*, 2019, <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.2206.TS.20190520.1117.010.html>.

[19] 毛青钟, 俞关松. 黄酒浸米浆水中优势细菌的不同对发酵的影响[J]. *酿酒*, 2010, 37(5): 69-73.

[20] 张国强, 樊明涛, 师俊玲, 等. 一株从泡菜中分离的产细菌素乳杆菌的鉴定及细菌素特性研究[J]. *食品科学*, 2011, 32(3): 171-175.

[21] 杨吉霞, 贺稚非, 陈宗道. 牦牛奶酪中产细菌素乳酸菌菌株的筛选[J]. *食品科学*, 2015, 36(3): 122-126.

[22] 高鹏, 韩金志, 陆兆新, 等. 广谱抗菌乳酸菌的分离鉴定及细菌素的提取和纯化[J]. *食品科学*, 2016, 37(11): 160-166.

[23] Cintas L M, Casaus M P, Herranz C, et al. Review: bacteriocins of lactic acid bacteria [J]. *Food Science and Technology International*, 2001(7): 281-305.

[24] Reis J A, Paula A T, Casarotti S N, et al. Lactic acid bacteria antimicrobial compounds: characteristics and applications [J]. *Food Engineering Reviews*, 2012, 4: 124-140.

[25] Jung S, Hwang H, Lee J H. Effect of lactic acid bacteria on phenyllactic acid production in kimchi [OL]. *Food Control*, <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2019.06.027>.

[26] Zhou X H, Zhou J, Xin F X, et al. Heterologous expression of a novel d-lactate dehydrogenase from *Lactobacillus* sp. ZX1 and its application for d-phenyllactic acid production [J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2018, 119: 1171-1178.

(上接第 113 页)

53(38): 5975-5977.

[18] Schulze C J, Bray W M, Loganzo F, et al. Borrelidin b: Isolation, biological activity, and implications for nitrile biosynthesis [J]. *Journal of Natural Products*, 2014, 77(11): 2570-2574.

[19] Jemal A, Siegel R, Xu J, et al. Cancer statistics, 2010 [J]. *CA: A Cancer Journal for Clinicians*, 2010, 60(5): 277-300.

[20] Zheng X, Meng W D, Xu Y Y, et al. Synthesis and anticancer effect of chrysin derivatives [J]. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 2003, 13(5): 881-884.

[21] Liu C X, Zhang J, Wang X J, et al. Antifungal activity of borrelidin a produced by a *Streptomyces* strain isolated from soybean [J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2012, 60(5): 1251-1257.

[22] Gao Y M, Wang X J, Zhang J, et al. Borrelidin a, a potent antifungal agent: insight into the antifungal mechanism against *Phytophthora sojae* [J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2012, 60(39): 9874-9881.

[23] Lumb M, Macey P E, Spyvee J, et al. Isolation of vivomycin and borrelidin a, two antibiotics with anti-viral activity, from a species of *Streptomyces* (c 2989) [J]. *Nature*, 1965, 206(981): 263-265.

[24] Sugawara A, Tanaka T, Hirose T, et al. Borrelidin analogues with antimalarial activity: Design, synthesis and biological evaluation against *Plasmodium falciparum* parasites [J]. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 2013, 23(8): 2302-2305.

[25] Otoguro K, Ui H, Ishiyama A, et al. *In vitro* and *in vivo* antimalarial activities of a non-glycosidic 18-membered macrolide antibiotic, borrelidin a, against drug-resistant strains of plasmodia [J]. *The Journal of Antibiotics*, 2003, 56(8): 727-729.

[26] Ishiyama A, Iwatsuki M, Namatame M, et al. Borrelidin a, a potent antimalarial: Stage-specific inhibition profile of synchronized cultures of *plasmodium falciparum* [J]. *Journal of Antibiotics*, 2011, 64(5): 381-384.

[27] Azcarate I G, Marin-Garcia P, Camacho N, et al. Design of antimalarial drugs with immunoprotective activity: The borrelidin a model [J]. *Tropical Medicine & International Health*, 2011, 16(1): 141-141.

[28] Feng J, Zhang J C, Tao J S, et al. Hypermethylation of tumor suppressor genes *brca1*, *p16* and *14-3-3s* in serum of sporadic breast cancer patients [J]. *Onkologie*, 2007, 30(1-2): 14-19.

[29] Shahana M, Dar A A, Varahram S, et al. Genistein reverses hypermethylation and induces active histone modifications in tumor suppressor gene *b-cell translocation gene 3* in prostate cancer [J]. *Cancer*, 2010, 116(1): 66-76.

[30] Tsuchiya E, Yukawa M, Miyakawa T, et al. Borrelidin a inhibits a cyclin-dependent kinase (*cdk*), *cdc28/cln2*, of *Saccharomyces cerevisiae* [J]. *Journal of Antibiotics*, 2001, 54(1): 84-90.

[31] Kim J, Shin D, Kim S, et al. Borrelidins c-e: New antibacterial macrolides from a saltern-derived *Halophilic nocardioopsis* sp. [J]. *Marine Drugs*, 2017, 15(6): 166-176.