

引文格式: 温燕龙, 李文云, 张楠, 等. 紫云英苷对大肠杆菌的抑制作用及其机制研究[J]. 云南农业大学学报(自然科学), 2022, 37(3): 471–477. DOI: 10.12101/j.issn.1004-390X(n).202107037

紫云英苷对大肠杆菌的抑制作用及其机制研究*

温燕龙^{1,2}, 李文云^{1,2}, 张楠¹, 苏荣镇¹, 夏继蓉¹, 李凌飞^{1,2,3**}, 田洋^{1,2,3**}

(1. 云南农业大学 食品科学技术学院, 云南 昆明 650201;

2. 国家辣木加工技术研发专业中心, 云南农业大学, 云南 昆明 650201;

3. 教育部食药同源资源开发与利用工程中心, 云南农业大学, 云南 昆明 650201)

摘要:【目的】初步测定 4 种辣木多酚单体成分(紫云英苷、绿原酸、芦丁和金丝桃苷)对大肠杆菌(*Escherichia coli*)的抑制作用, 并以效果最好的紫云英苷为例, 进一步探究其作用机制, 以期紫云英苷应用于食品防腐提供理论依据。【方法】采用二倍稀释法测定 4 种辣木多酚单体对大肠杆菌的半数抑制浓度(half maximal inhibitory concentration, IC_{50}); 通过生长曲线测定、结晶紫染色、核酸泄漏、蛋白质泄漏及扫描电镜探究紫云英苷对大肠杆菌生长、生物被膜及壁膜损伤的影响。【结果】4 种辣木多酚单体对大肠杆菌均具有抑制作用, 且呈剂量依赖性; 其 IC_{50} 值大小依次为金丝桃苷($676 \mu\text{mol/L}$)>绿原酸($605 \mu\text{mol/L}$)>芦丁($588 \mu\text{mol/L}$)>紫云英苷($490 \mu\text{mol/L}$)。经紫云英苷处理后的大肠杆菌生长明显受到抑制, 生物膜形成及生物膜粘附性显著或极显著降低($P<0.05$ 或 $P<0.001$); 细胞膜通透性极显著增加($P<0.001$), 导致生物大分子物质核酸和蛋白质泄漏; 菌体出现表面褶皱、塌陷等严重变形现象。【结论】本研究初步揭示了紫云英苷对大肠杆菌的抑菌机制, 对植物源天然抑菌剂的开发具有一定的意义。

关键词: 紫云英苷; 大肠杆菌; 抑菌机制; 壁膜损伤

中图分类号: S432.23

文献标志码: A

文章编号: 1004-390X(2022)03-0471-07

The Inhibitory Effect of Astragalin on *Escherichia coli* and Its Mechanism

WEN Yanlong^{1,2}, LI Wenyun^{1,2}, ZHANG Nan¹, SU Rongzhen¹,
XIA Jirong¹, LI Lingfei^{1,2,3}, TIAN Yang^{1,2,3}

(1. College of Food Science and Technology, Yunnan Agricultural University, Kunming 650201, China; 2. National Research and Development Professional Center for Moringa Processing Technology, Yunnan Agricultural University, Kunming 650201, China; 3. Engineering Research Center of Development and Utilization of Food and Drug Homologous Resources, Ministry of Education, Yunnan Agricultural University, Kunming 650201, China)

Abstract: [Purpose] The inhibitory effects of four monomeric components of *Moringa oleifera* polyphenols (astragalin, chlorogenic acid, rutin and hyperoside) on *Escherichia coli* were initially de-

收稿日期: 2021-07-17

修回日期: 2021-09-13

网络首发日期: 2022-04-06

*基金项目: 国家木薯产业技术体系辣木产品加工岗位(CARS-11-YNSJ); 云南省重大科技专项(202002AA100005); 云南绿色食品国际合作研究中心项目(2019ZG00905); 云南农业大学第十三届学生科技创新创业行动基金项目(2020ZKX114)。

作者简介: 温燕龙(1997—), 男, 云南曲靖人, 在读硕士研究生, 主要从事食源性致病菌研究。

E-mail: 980967449@qq.com

**通信作者 Corresponding authors: 李凌飞(1979—), 女, 云南建水人, 博士, 教授, 主要从事食品微生物研究。E-mail: lingfeili@163.com; 田洋(1982—), 男, 辽宁锦州人, 博士, 教授, 主要从事功能食品研究。E-mail: tianyang1208@163.com

网络首发地址: <https://kns.cnki.net/kcms/detail/53.1044.S.20220401.1723.008.html>



terminated, and the most effective astragalín was used as an example to further investigated its mechanism, in order to provide a theoretical basis for the application of astragalín in food preservation.

[**Methods**] The half-maximal inhibitory concentrations (IC_{50}) of four *M. oleifera* polyphenols on *E. coli* were determined by the two-fold dilution method. The effects of astragalín on the growth, biofilm, and wall membrane damage of *E. coli* were investigated by growth curve, crystalline violet staining, nucleic acid leakage, protein leakage, and scanning electron microscopy. [**Results**] The four *M. oleifera* polyphenols had inhibitory effects on *E. coli* in a dose-dependent manner. The IC_{50} values of hyperoside, chlorogenic acid, rutin and astragalín were 676, 605, 588 and 490 $\mu\text{mol/L}$, respectively. The growth of *E. coli* treated with astragalín was obviously inhibited, and biofilm formation and biofilm adhesion were significantly or extremely significantly reduced ($P<0.05$ or $P<0.001$); cell membrane permeability was extremely significantly increased ($P<0.001$), leading to leakage of biomolecules including nucleic acids and proteins, and *E. coli* showed serious deformation such as surface folding and collapse. [**Conclusion**] This study initially reveals the mechanism of inhibition of *E. coli* by astragalín, which has some significance for the development of natural antibacterial agents of plants.

Keywords: astragalín; *Escherichia coli*; antibacterial mechanism; wall membrane damage

大肠杆菌 (*Escherichia coli*) 为革兰氏阴性菌, 是食品中常见的腐败菌和致病菌, 在自然环境中广泛存在, 传播途径较广。大肠杆菌会引起腹泻、腹膜炎、结肠炎、菌血症和尿路感染等疾病, 严重者甚至发生肾衰竭和癌症^[1-2]。因此, 大肠杆菌已成为食品加工污染防控的一大难题。

生物膜是微生物为适应环境, 通过分泌大量胞外基质 (extracellular polymeric substance, EPS) 将菌体自身包裹在立体结构中而形成的菌体聚集体^[3]。生物膜是细菌为提高生存几率所产生的特有生命现象。形成生物被膜的细菌大多具有抵御抗生素杀伤和逃避宿主机体免疫系统清除的特性, 这些特性会造成机体感染反复发作和难以根治的后果^[4]。目前用于临床治疗的药物主要是抗生素, 但长期使用抗生素治疗易导致产生超级细菌, 人被感染后很难治愈甚至死亡。随着抗生素的滥用和全球耐药环境的不断恶化, 寻找抗生素的替代品已成为当前研究的热点。

辣木富含酚类物质, 辣木叶和辣木籽中均含有不同种类的多酚类物质^[5-6]。辣木叶中的酚类物质具有较好的抑菌^[7]、抗炎^[8]、抗氧化^[9-10]和降脂^[11]等生物学活性。植物多酚类物质主要通过影响菌体壁膜和细胞器的结构与功能^[12-15]、抑制大分子物质合成和干扰菌体能量代谢^[16]等方式抑制微生物生长。由于植物多酚抑菌机制与多酚种类及微

生物种类密切相关, 因此其作用机制仍未被完全探明。近年来, 随着“绿色食品”和“无化学添加”的流行, 对天然植物提取物安全性和抗菌活性的研究日益增多。紫云英苷又名山奈酚-3-葡萄糖苷, 是一种天然的黄酮类化合物, 广泛存在于多种植物和中草药中, 如辣木^[17]、荷叶^[18]、百蕊草^[19]和杜仲^[20]等。紫云英苷具有抑菌^[21]、抗炎^[22]、抗氧化^[23]和抗癌^[24]等生物活性, 但关于其对大肠杆菌的作用机制尚未见报道。

本研究以大肠杆菌为供试菌, 探讨 4 种辣木多酚单体成分 (紫云英苷、绿原酸、芦丁和金丝桃苷) 对大肠杆菌的抑制作用, 并以半数抑制浓度 (half maximal inhibitory concentration, IC_{50}) 效果最好的紫云英苷为例, 初步探讨其抑菌机制, 以期紫云英苷应用于食品防腐提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

1.1.1 试验菌株

大肠杆菌 (*E. coli* CICC20658) 购于中国工业微生物菌种保藏管理中心。

1.1.2 材料与试剂

紫云英苷购自成都德瑞克生物技术有限公司, 纯度大于 98%; 绿原酸、芦丁和金丝桃苷购自北京源叶生物科技有限公司, 纯度大于 98%;

二甲基亚砜(DMSO)购自北京索莱宝科技有限公司;营养肉汤培养基购自广东环凯微生物科技有限公司。

1.2 试验方法

1.2.1 菌悬液的制备

参考姚志蕊^[25]的方法,将大肠杆菌菌株从甘油管中取出,营养肉汤活化2次后,采用细菌比浊测定法^[26]调整供试菌密度为 10^7 CFU/mL,4℃保存备用。

1.2.2 半数抑制浓度(IC₅₀)的测定

参考林震等^[27]和BISIGNANO等^[28]的方法并稍作改进,测定4种辣木多酚单体成分(紫云英苷、绿原酸、芦丁和金丝桃苷)对大肠杆菌的IC₅₀。将多酚单体分别加入大肠杆菌菌悬液中混匀,使其终浓度分别为25、50、100、200、400、800和1 600 μmol/L,以每孔载液量200 μL加入96孔板,37℃避光培养24 h后,采用多功能酶标仪(美国Molecular Devices)在OD₆₀₀处测定其吸光度值,空白对照组为等量无菌水代替多酚单体加入菌悬液中。通过SPSS 20软件中的Probit回归模型计算IC₅₀值。

1.2.3 紫云英苷对大肠杆菌生长曲线的影响

参考吴遵秋等^[29]的方法并稍作改进。将紫云英苷加入到大肠杆菌菌悬液中混匀,使其终浓度分别为400、800和1 600 μmol/L,以每孔载液量200 μL加入96孔板,空白对照组为等量无菌水代替紫云英苷加入菌悬液中。37℃避光培养24 h后,OD₆₀₀处测定其吸光度值,绘制生长曲线。

1.2.4 紫云英苷对大肠杆菌生物膜的影响

(1) 生物膜结晶紫染色

参考杜文芳^[30]和DJORDJEVIC等^[31]的方法并稍作改进。将紫云英苷加入到大肠杆菌菌悬液中混匀,使其终浓度分别为200、400和800 μmol/L,以每孔载液量200 μL加入96孔板,空白对照组为等量无菌水代替紫云英苷加入菌悬液中。37℃避光培养24 h后,弃菌液,PBS漂洗2次,37℃干燥30 min;然后取0.1%结晶紫染液150 μL于37℃染色15 min,弃染色液,PBS洗涤生物膜2次,直至阴性对照孔无过量染色;37℃干燥30 min,用200 μL 95%乙醇于37℃过夜脱色;最后在OD₅₉₅处测定其吸光度值,记录并分析数据。

(2) 菌体生物膜粘附性测定

参考WEI等^[32]的方法测定生物膜粘附性。将

不同浓度的紫云英苷与菌液混合后加入含有细胞爬片的12孔细胞培养板中。37℃避光培养24 h后,弃菌液,PBS漂洗2次;用2.5%戊二醛浸泡过夜,乙醇梯度脱水(30%、50%、70%、80%、90%和100%),镀金后用扫描电子显微镜进行拍摄。

1.2.5 紫云英苷对大肠杆菌细胞膜透性的影响

通过测定核酸和蛋白质泄漏量确定紫云英苷对大肠杆菌细胞膜透性的影响。参考CUI等^[33]的方法,取对数期菌液,用PBS离心洗涤后重悬菌体,将紫云英苷加入到菌悬液中使其终浓度为200和400 μmol/L,混匀后37℃避光培养4 h,离心收集上清加入到96孔UV紫外检测酶标板中^[34],分别于OD₂₆₀和OD₂₈₀处测定其吸光值,即为核酸和蛋白质的泄漏量。

1.2.6 紫云英苷对大肠杆菌菌体结构的影响

参考XU等^[35]的研究方法探究紫云英苷对大肠杆菌菌体结构的影响。取对数期菌液,用PBS离心洗涤后重悬菌体,加入紫云英苷使其终浓度为200和400 μmol/L,对照组加入无菌水,避光恒温培养12~18 h;然后收集菌体,加入2.5%戊二醛固定过夜,随后用PBS漂洗2次,乙醇梯度脱水(30%、50%、70%、80%、90%和100%);最后烘干,镀金并在FlexSEM1000扫描电镜下(日本日立高新公司)观察。

1.2.7 数据统计与分析

使用GraphPad Prism 5.0和WPS软件进行数据分析,两组间比较采用独立 t 检验(两尾法),以 $P<0.05$ 为显著性检验标准。

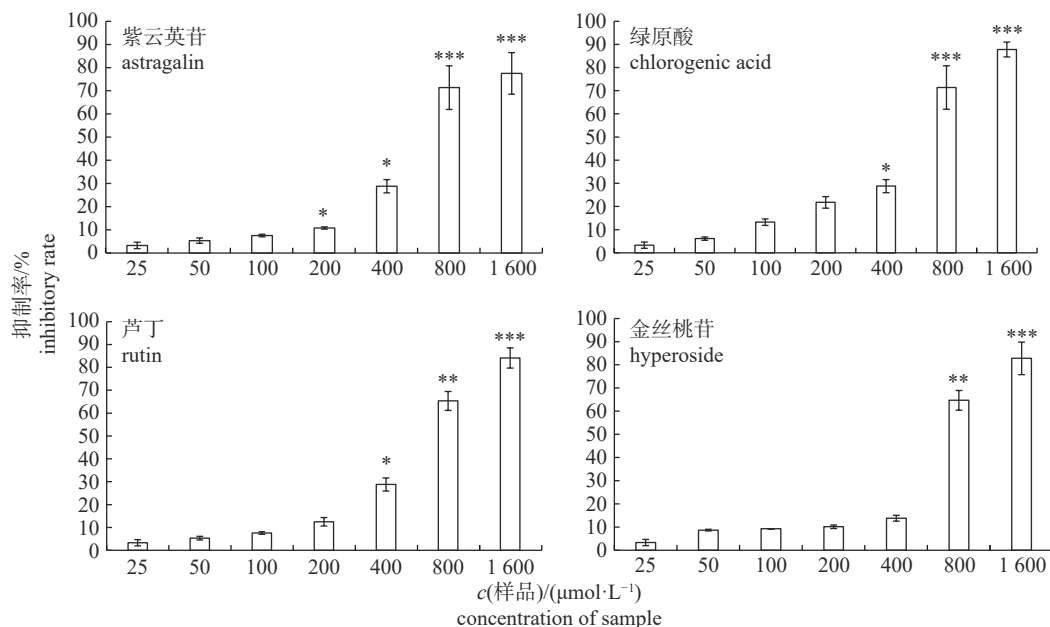
2 结果与分析

2.1 4种辣木多酚单体的半数抑制浓度(IC₅₀)

由图1可知:与对照组相比,4种单体对大肠杆菌都具有一定的抑制作用,且呈剂量依赖性。4种辣木多酚单体的IC₅₀值大小依次为:金丝桃苷(676 μmol/L)>绿原酸(605 μmol/L)>芦丁(588 μmol/L)>紫云英苷(490 μmol/L)。因此,筛选抑制效果最好的紫云英苷进一步探究其作用机制。

2.2 紫云英苷对大肠杆菌生长曲线的影响

由图2可知:与对照组相比,400 μmol/L紫云英苷对大肠杆菌生长曲线的抑制作用不明显,800和1 600 μmol/L紫云英苷对大肠杆菌的生长



注：“*” “**”和“***”分别表示在 0.05、0.01 和 0.001 水平上差异显著；下同。

Note: “*” “**” and “***” indicates significant difference at 0.05, 0.01, and 0.001 level, respectively; the same as below.

图 1 4 种辣木多酚单体对大肠杆菌的抑菌效果

Fig. 1 Antibacterial effect of four *Moringa oleifera* polyphenol monomers on *Escherichia coli*

都具有明显的抑制作用，且随着紫云英苷浓度的增大，抑制作用逐渐增强。

紫云英苷处理后的大肠杆菌数量明显减少，生物膜的粘附性也有所下降。

2.4 紫云英苷对大肠杆菌细胞膜通透性的影响

由图 5 可知：经 200 和 400 μmol/L 紫云英苷

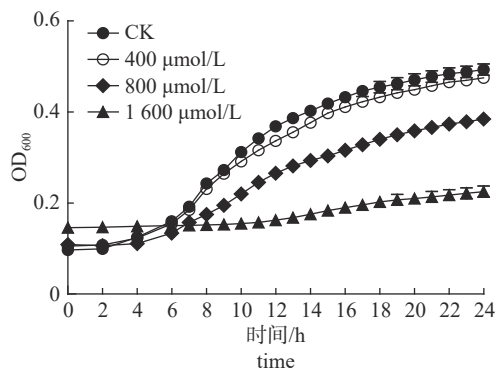


图 2 紫云英苷对大肠杆菌生长曲线的影响

Fig. 2 Effect of astragaloside on the growth curve of *E. coli*

2.3 紫云英苷对大肠杆菌生物膜的影响

2.3.1 紫云英苷抑制大肠杆菌生物被膜的形成

由图 3 可知：与对照组相比，经过 200、400 和 800 μmol/L 紫云英苷处理后的大肠杆菌生物膜形成均有所降低，其中 800 μmol/L 紫云英苷处理时大肠杆菌生物膜形成极显著降低 ($P < 0.001$)，表明紫云英苷能显著抑制大肠杆菌生物膜的形成。

2.3.2 紫云英苷降低大肠杆菌生物膜粘附性

由图 4 可知：37 °C 培养时，生物膜上附着致密的大肠杆菌聚集体；与对照组相比，400 μmol/L

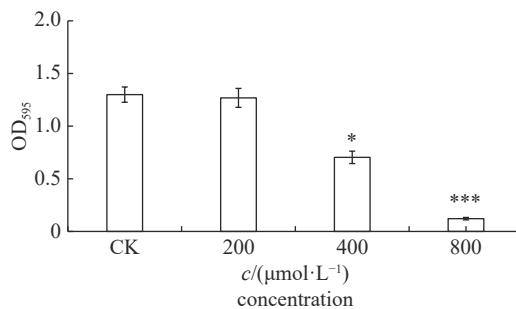


图 3 紫云英苷对大肠杆菌生物膜形成的影响

Fig. 3 The effect of astragaloside on *E. coli* biofilm

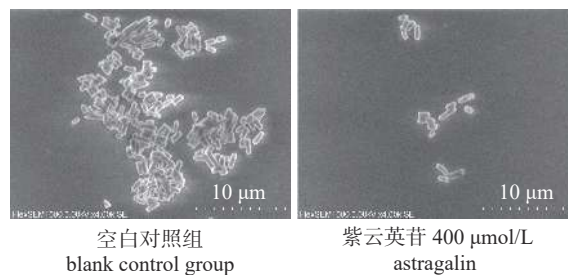


图 4 紫云英苷对大肠杆菌生物膜粘附性的影响

Fig. 4 Effect of astragaloside on the biofilm adhesion of *E. coli*

处理过的大肠杆菌,其核酸和蛋白质泄漏极显著上升($P<0.001$),表明紫云英苷处理后,大肠杆菌

的细胞膜通透性增大,导致大分子的核酸和蛋白质泄漏到胞外。

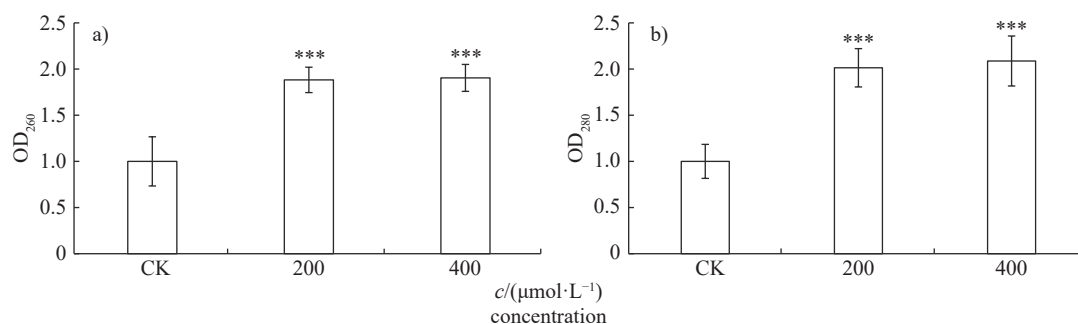


图5 紫云英苷对大肠杆菌核酸泄漏(a)和蛋白质泄漏(b)的影响

Fig. 5 Effect of astragaloside on the nucleic acid leakage (a) and protein leakage (b) from *E. coli*

2.5 紫云英苷对大肠杆菌菌体结构的影响

由图6可知:与正常对照组相比,400 $\mu\text{mol/L}$ 紫云英苷处理过的大肠杆菌,其菌体结构遭到了破坏。正常大肠杆菌菌体呈杆状,圆润饱满。400 $\mu\text{mol/L}$ 紫云英苷作用于大肠杆菌后,菌体表面较为粗糙,出现了褶皱和塌陷。

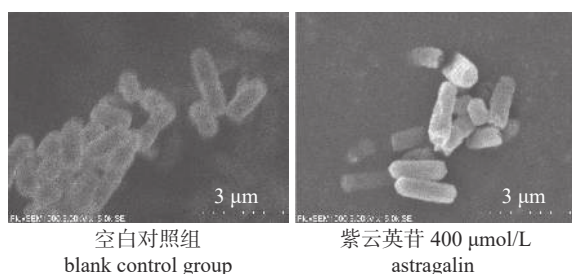


图6 紫云英苷对大肠杆菌菌体结构的影响

Fig. 6 Effect of astragaloside on the structure of *E. coli*

3 讨论

本研究检测了4种辣木多酚单体(紫云英苷、绿原酸、芦丁、金丝桃苷)对大肠杆菌的抑制作用。结果表明:4种多酚单体对大肠杆菌均具有抑制作用,且抑菌作用具有浓度依赖性。孙洲悦等^[7]研究发现:经过工艺优化提取的辣木叶总多酚能够抑制曲霉菌、毕赤酵母、大肠杆菌和枯草芽孢杆菌的生长,这与本研究结果相似,但上述研究未进行辣木多酚单体抑菌活性的研究。李美萍等^[36]和纪晓花^[37]的研究发现:从细叶韭花和荷叶中提取的紫云英苷对金黄色葡萄球菌具有一定的抑制作用,但目前关于紫云英苷对大肠杆菌的抑制作用及其机制研究尚未见报道。本研究

生长曲线研究结果表明:400、800和1600 $\mu\text{mol/L}$ 紫云英苷对大肠杆菌的生长具有抑制作用,且随浓度增加,抑菌效果越明显。

生物膜是由外泌蛋白、胞外多糖和胞外DNA等多种成分组成的胞外聚合物,是细菌生长过程中形成的自我保护屏障。王心磊^[38]研究发现:超声技术能够有效清除大肠杆菌 O157:H7 的生物膜,并降低大肠杆菌 O157:H7 生物膜的粘附性。刘亚文^[39]研究发现:浓度为200和400 $\mu\text{mol/L}$ 的苯乳酸、乳酸和柠檬酸可普遍抑制大肠杆菌生物膜的形成,并使菌株生物膜的厚度大大降低。有机酸通过未解离的分子在细胞膜上扩散,然后在细胞内解离和释放质子以抑制微生物生长或导致其死亡^[40]。本研究表明:200、400和800 $\mu\text{mol/L}$ 紫云英苷能显著抑制大肠杆菌生物膜形成,其中800 $\mu\text{mol/L}$ 紫云英苷可明显降低大肠杆菌生物膜的粘附性。

细胞膜是保护细胞的重要屏障,当细胞膜被破坏时,胞内大分子物质会泄漏到胞外^[36]。因此,胞外物质的泄漏量是评价细胞膜完整性的重要指标。200和400 $\mu\text{mol/L}$ 紫云英苷作用于大肠杆菌后,上清液中的OD值显著上升,表明紫云英苷破坏了大肠杆菌细胞膜的通透性,导致大分子核酸和蛋白质的泄漏。DIAO等^[41]研究发现:细胞内容物大量渗出,细胞质膜可能发生不可逆的损伤,导致细胞成分如DNA和RNA等一些必需分子丢失,导致细胞死亡。本研究中,扫描电镜结果表明:400 $\mu\text{mol/L}$ 紫云英苷作用于大肠杆菌菌体后,使菌体表面变得粗糙,出现褶皱和塌陷。

4 结论

紫云英苷能够抑制大肠杆菌生长, 通过改变大肠杆菌细胞膜通透性、增加核酸和蛋白质泄漏、抑制生物被膜合成以及改变细菌形态结构来影响大肠杆菌新陈代谢, 从而起到抑菌作用。本研究为紫云英苷应用于食品防腐奠定了理论基础。

[参考文献]

- [1] KAPER J B. Pathogenic *Escherichia coli*[J]. International Journal of Medical Microbiology, 2005, 295(6/7): 355. DOI: 10.1016/j.ijmm.2005.06.008.
- [2] ARTHUR J C, PEREZ-CHANONA E, MUIHLBAUER M, et al. Intestinal inflammation target cancer-inducing activity of the microbiota[J]. Science, 2012, 338(6103): 120. DOI: 10.1126/science.1224820.
- [3] 郭泽宇. 黄芩苷抑制大肠杆菌生物被膜形成的机制研究[D]. 郑州: 河南农业大学, 2020.
- [4] WOLCOTT R D, EHRLICH G D. Biofilms and chronic infections[J]. JAMA, 2008, 299(22): 2682. DOI: 10.1001/jama.299.22.2682.
- [5] 董乐, 王芳, 李小琴, 等. 辣木叶多酚的超声辅助双水相提取工艺优化及其抗氧化活性评价[J]. 内蒙古民族大学学报(自然科学版), 2020, 35(5): 387. DOI: 10.14045/j.cnki.15-1220.2020.05.005.
- [6] 杨迎. 辣木籽营养成分分析及其生物活性研究[D]. 上海: 上海交通大学, 2018.
- [7] 孙洲悦, 陈思远, 陈永雄, 等. 辣木叶多酚提取条件的优化及其抑菌性能研究[J]. 食品工业, 2018, 39(5): 70.
- [8] COPPIN J P, XU Y P, CHEN H, et al. Determination of flavonoids by LC/MS and anti-inflammatory activity in *Moringa oleifera*[J]. Journal of Functional Foods, 2013, 5(4): 1892. DOI: 10.1016/j.jff.2013.09.010.
- [9] WANG Y Q, GAO Y J, DING H, et al. Subcritical ethanol extraction of flavonoids from *Moringa oleifera* leaf and evaluation of antioxidant activity[J]. Food Chemistry, 2017, 218: 152. DOI: 10.1016/j.foodchem.2016.09.058.
- [10] 曾昭成, 张祖兵, 雷福红, 等. 辣木茎叶营养成分及多酚提取物体外抗氧化研究[J]. 西南林业大学学报(自然科学), 2020, 40(2): 179. DOI: 10.11929/j.swfu.201905037.
- [11] MABROUKI L, RJEIBI I, TALEB J, et al. Cardiac ameliorative effect of *Moringa oleifera* leaf extract in high-fat diet-induced obesity in rat model[J]. BioMed Research International, 2020, 2020: 1. DOI: 10.1155/2020/6583603.
- [12] LYNDIA B C, VALÉRIAN F, PIERRE L, et al. Antibacterial properties of polyphenols: characterization and QSAR (quantitative structure activity relationship) models[J]. Frontiers in Microbiology, 2019, 10: 829. DOI: 10.3389/fmicb.2019.00829.
- [13] SHI C, SUN Y, ZHENG Z W, et al. Antimicrobial activity of syringic acid against *Cronobacter sakazakii* and its effect on cell membrane[J]. Food Chemistry, 2016, 197: 100. DOI: 10.1016/j.foodchem.2015.10.100.
- [14] FEI P, ALI M A, GONG S Y, et al. Antimicrobial activity and mechanism of action of olive oil polyphenols extract against *Cronobacter sakazakii*[J]. Food Control, 2018, 94: 289. DOI: 10.1016/j.foodcont.2018.07.022.
- [15] YANG X P, JIANG X D. Antifungal activity and mechanism of tea polyphenols against *Rhizopus stolonifera*[J]. Biotechnology Letters, 2015, 37(7): 1463. DOI: 10.1007/s10529-015-1820-6.
- [16] 费鹏, 赵胜娟, 陈曦, 等. 植物多酚抑菌活性、作用机理及应用研究进展[J]. 食品与机械, 2019, 35(7): 226. DOI: 10.13652/j.issn.1003-5788.2019.07.043.
- [17] 刘梦娇, 臧琛, 田纪祥, 等. HPLC-DAD同时测定辣木叶6种酚类成分含量[J]. 中国中医药信息杂志, 2020, 27(6): 61. DOI: 10.3969/j.issn.1005-5304.201906378.
- [18] 邓胜国. 荷叶黄酮苷的分离纯化、化学结构表征及其生物活性研究[D]. 南昌: 南昌大学, 2009.
- [19] 刘洋, 邓玉林, 禹玉洪, 等. RP-HPLC测定百蕊草中紫云英苷的含量[J]. 中国中药杂志, 2006, 31(21): 1766. DOI: 10.3321/j.issn:1001-5302.2006.21.005.
- [20] 张留记, 李宁, 屠万倩, 等. HPLC法同时测定杜仲叶中8种成分的含量[J]. 中国药房, 2019, 30(24): 3383. DOI: 10.6039/j.issn.1001-0408.2019.24.12.
- [21] 刘燕. 细叶韭花醇提取物抑菌、抗氧化及抑制 α -葡萄糖苷酶研究[D]. 太原: 山西大学, 2020.
- [22] 聂龙, 彭磊, 张皓, 等. 紫云英苷对LPS诱发的大鼠小肠上皮细胞(IEC-6)的抗炎作用[J]. 现代食品科技, 2020, 36(6): 17. DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2020.6.1201.
- [23] 屠万倩, 李宁, 张留记, 等. 不同加工方式生产的杜仲叶中8种化学成分的含量及抗氧化活性研究[J]. 中国新药杂志, 2020, 29(16): 1863. DOI: 10.3969/j.issn.1003-3734.2020.16.013.
- [24] 张翼. 紫云英苷诱导人胃癌细胞凋亡、周期阻滞及迁移抑制作用的分子机制研究[D]. 大庆: 黑龙江八一农垦大学, 2020.
- [25] 姚志蕊. 毛竹叶中抑菌活性成分的提取及其分析[D]. 无锡: 江南大学, 2008.
- [26] 周倩倩. 含硫香料对革兰氏阴性致病菌的抑制及毒力基因的调控[D]. 大连: 大连工业大学, 2017.
- [27] 林震, 林玉彬, 谢华杰, 等. 蛤蒻叶提取物对口腔细菌和大肠杆菌的抑菌活性研究[J]. 食品安全质量检测学报, 2018, 9(13): 3321. DOI: 10.3969/j.issn.2095-0381.2018.13.018.
- [28] BISIGNANO G, TOMAINO A, CASCIO R L, et al. On the *in-vitro* antimicrobial activity of oleuropein and hydroxytyrosol[J]. Journal of Pharmacy & Pharmacology, 1999, 51(8): 971. DOI: 10.1211/0022357991773258.
- [29] 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. DOI: 10.7506/spkx1002-6630-201421019.
- [30] 杜文芳. EGCG抑制单增李斯特菌的机理研究[D]. 武汉: 武汉轻工大学, 2018.
- [31] DJORDJEVIC D, WIEDMANN M, MC LANDSBOROUGH L A. Microtiter plate assay for assessment of *Listeria monocytogenes* biofilm formation[J]. Applied and Environmental Microbiology, 2002, 68(6): 2950. DOI:

- 10.1128/AEM.68.6.2950-2958.2002.
- [32] WEI L N, C SHI C Z, LUO C X, et al. Phloretin inhibits biofilm formation by affecting quorum sensing under different temperature[J]. LWT-Food Science and Technology, 2020, 131: 109668. DOI: [10.1016/j.lwt.2020.109668](https://doi.org/10.1016/j.lwt.2020.109668).
- [33] CUI H Y, ZHANG X J, ZHOU H, et al. Antimicrobial activity and mechanisms of *Salvia sclarea* essential oil[J]. Botanical Studies, 2015, 56: 16. DOI: [10.1186/s40529-015-0096-4](https://doi.org/10.1186/s40529-015-0096-4).
- [34] 陆丰荣, 曾玉梨, 李国樑, 等. 不同酶标板与加样量对多功能酶标仪测定结果影响[J]. 中国职业医学, 2019, 46(2): 215. DOI: [10.11763/j.issn.2095-2619.2019.02.016](https://doi.org/10.11763/j.issn.2095-2619.2019.02.016).
- [35] XU J G, LIU T, HU Q P, et al. Chemical composition, antibacterial properties and mechanism of action of essential oil from clove buds against *Staphylococcus aureus*[J]. Molecules, 2016, 21(9): 1194. DOI: [10.3390/molecules21091194](https://doi.org/10.3390/molecules21091194).
- [36] 李美萍, 刘燕, 张生万, 等. 细叶韭花醇提取物化学成分及抑菌作用研究[J]. 中国调味品, 2020, 45(8): 35. DOI: [10.3969/j.issn.1000-9973.2020.08.008](https://doi.org/10.3969/j.issn.1000-9973.2020.08.008).
- [37] 纪晓花. 荷叶紫云英苷的超声辅助提取及其抑菌活性研究[J]. 食品工业, 2014, 35(10): 112.
- [38] 王心磊. 超声杀菌技术对大肠杆菌O157:H7及其生物膜的杀菌机制研究[D]. 镇江: 江苏大学, 2020.
- [39] 刘亚文. 有机酸处理对阴沟肠杆菌和大肠杆菌生物膜形成的抑制作用研究[D]. 哈尔滨: 东北农业大学, 2020.
- [40] BARNES R H, KARATZAS K A G. Investigation into the antimicrobial activity of fumarate against *Listeria monocytogenes* and its mode of action under acidic conditions[J]. International Journal of Food Microbiology, 2020, 324: 108614. DOI: [10.1016/j.ijfoodmicro.2020.108614](https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2020.108614).
- [41] DIAO W H, HU Q P, ZHANG H, et al. Chemical composition, antibacterial activity and mechanism of action of essential oil from seeds of fennel (*Foeniculum vulgare* Mill.)[J]. Food Control, 2014, 35(1): 109. DOI: [10.1016/j.foodcont.2013.06.056](https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2013.06.056).

责任编辑: 何承刚