

菝葜提取物抑菌作用研究

帅丽乔娃, 郑国栋*, 黎冬明, 张清峰

(江西农业大学江西省天然产物与功能食品重点实验室, 江西南昌 330045)

摘要:用石油醚、氯仿、乙酸乙酯、正丁醇分别萃取经50%乙醇超声处理后的菝葜提取液。用四种供试菌,采用滤纸片法、最小抑菌浓度、半数抑菌浓度比较各萃取物的抑菌活性。结果:各萃取物对实验菌均有抑制作用,萃取物抑菌活性大小为:乙酸乙酯相>正丁醇相>水相>醇提物>石油醚相>氯仿相,与萃取物中的总多酚、总黄酮含量有关。其中乙酸乙酯相的抑菌效果最好,当其浓度为80mg/mL时,对金黄色葡萄球菌、枯草芽孢杆菌、大肠杆菌和沙门氏菌抑菌圈分别为 13.6 ± 0.12 、 13.2 ± 0.10 、 12.9 ± 0.07 、 (12.5 ± 0.01) mm。乙酸乙酯相对四种菌的最小抑菌浓度分别为5、5、5、10mg/mL,其半数抑菌浓度分别为12.5、13.6、18.2、18.7mg/mL。结论:菝葜提取物有抑菌作用,特别是乙酸乙酯萃取物的抑菌效果最好。

关键词:菝葜,提取物,抑菌作用

Study on antibacterial effect of extraction from *Smilax China* L.

SHUAI Li-qiaowa, ZHENG Guo-dong*, LI Dong-ming, ZHANG Qing-feng

(Key Laboratory of Natural Product and Functional Food, Jiangxi Agricultural University, Nanchang 330045, China)

Abstract: The 50% ethanol extraction from *Smilax China* L. (SCL) by ultrasonic were further exacted with petroleum ether, chloroform, ethyl acetate, n-butanol, respectively. Antibacterial activities of extraction were tested by the filter paper method, the minimum inhibitory concentration and half bacteriostatic concentration of four G^+ and G^- strains. The results showed that the extractions of SCL had antibacterial effect on the test bacteria. The antibacterial activities of SCL's different polar extracts were in sequence of ethyl acetate, n-butanol phase, aqueous phase, ethanol extract, petroleum ether, chloroform phase. The results were associated with content of polyphenols and flavonoids in extraction. The activity of ethyl acetate extraction was the strongest, and suppressed zones of the *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli*, *Salmonella* and *Staphylococcus aureus* were 13.6 ± 0.12 , 13.2 ± 0.10 , 12.9 ± 0.07 , (12.5 ± 0.01) mm in 80mg/mL, respectively. The minimum bacteriostatic concentrations of ethyl acetate relative to the four strains were 5, 5, 5, 10mg/mL, respectively, half bacteriostatic concentrations were 12.5, 13.6, 18.2, 18.7mg/mL, respectively. The results showed that the extraction of SCL had antibacterial effects, and the effects of ethyl acetate extraction were the best.

Key words: *Smilax China* L.; extraction; bacteriostatic effect

中图分类号: TS201.2

文献标识码: A

文章编号: 1002-0306(2015)07-0049-05

doi:10.13386/j.issn1002-0306.2015.07.001

目前使用的防腐剂绝大多数都是人工合成的,虽然价格低廉,但是过量的添加对食品的口感及人们的身体健康有不良影响,美国、英国、日本等已立法禁止使用的防腐剂有硼砂、水杨酸、对苯二酚、五氯酚、福尔马林,我国颁布的食品卫生标准也严格控制山梨酸及其盐类、丙酸及其盐类、苯甲酸及其盐类、对羟基苯甲酸及其酯类等用量。因此,开发高效、安全、稳定且便宜的新型天然防腐剂具有重要的意义^[1]。由于天然提取物的安全优势,从植物中提取活性物质是天然物质研究的热门课题。很多中药具有清热解毒、抗菌等作用,能抑制病原微生物的生

长,属理想的天然抑菌防腐材料^[2]。这为植物源天然食品防腐剂、抑菌剂的研究和开发提供了宝贵资源。

菝葜是被子植物门百合科菝葜属植物菝葜的干燥根茎,俗称金刚藤、铁菱角,味甘、涩、微苦、性平,分布于我国长江以南及东南亚等地区。菝葜含有较多的黄酮、多酚、鞣质、有机酸、多糖及生物碱等活性物质^[3]。研究表明菝葜对胃肠炎、疮疖、抗癌、梅毒、腰腿痛、风湿性关节炎等疾病有明显效果^[4]。刘世旺等^[5]经实验发现菝葜乙醇提取物对金黄色葡萄球菌、苏云金芽孢杆菌、大肠杆菌和枯草芽孢杆菌的最低抑菌浓度分别为0.14、0.18、0.46、0.44g/12mL培养

收稿日期:2014-06-25

作者简介:帅丽乔娃(1989-),女,硕士研究生,研究方向:天然产物的分离提取。

*通讯作者:郑国栋(1969-),男,博士,副教授,研究方向:天然产物的分离提取、功能食品等。

基金项目:国家科技部863计划(2013BAD10B04);国家自然科学基金(31160320)。

基。邓家刚等经实验发现菝葜的6%水煎液和3%醇浸液对炭疽杆菌有抑菌作用^[6],前人大都是研究菝葜的醇提取物、水提取物的抑菌作用,本文除了研究醇提取物和水提取物外,还研究了石油醚层、氯仿层、乙酸乙酯层和正丁醇层的抑菌作用,提取物种类更多、更全面。实验以菝葜6种极性提取物为研究对象,以大肠杆菌、金黄色葡萄球菌、枯草芽孢杆菌和沙门氏菌为实验菌株,采用滤纸片扩散法考察其抑菌效果、半数抑菌浓度和最低抑菌浓度,为研究菝葜抗菌活性和机理奠定实验基础,也为进一步开发与利用菝葜提供了研究数据和理论基础。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

菝葜 江西南昌市药材店(产地:南昌),粉碎后过40目筛,得到样品,备用;乙醇、石油醚、氯仿、乙酸乙酯、正丁醇 均为分析纯,天津市永大化学试剂开发中心;琼脂粉、牛肉膏、蛋白胨 北京奥博星生物技术责任有限公司;大肠杆菌、金黄色葡萄球菌、枯草芽孢杆菌和沙门氏菌 江西农业大学食品学院微生物实验室冷藏保管。

LAC-5040S 高压灭菌锅、YLE-200 恒温培养箱、BYY-200 药品冷藏箱 上海申安医疗器械厂;KQ-500B型超声波清洗器 昆山市超声仪器有限公司。

1.2 实验方法

1.2.1 萃取物的制备 取菝葜粉末1kg,用50%的乙醇按料液比1:15浸泡,超声提取2次,每次25min,合并2次滤液,减压浓缩得到提取液。将该提取液依次用石油醚、氯仿、乙酸乙酯、正丁醇萃取,每种溶剂连续萃取3次,合并相同溶剂萃取液,分别减压浓缩,真空干燥后,得到五种萃取物,即水相物、乙酸乙酯萃取物、正丁醇萃取物、氯仿萃取物和石油醚萃取物^[7]。

1.2.2 总酚含量的测定 称取一定量没食子酸,配成0.1mg/mL的没食子酸标准溶液。吸取0.25、0.30、0.35、0.40、0.45mL标准溶液到10.0mL容量瓶中,分别加入1mL福林酚试剂后,摇匀放置5min,再分别加入2.00mL 7%碳酸钠溶液,混匀,定容,室温避光放置1h后,在765nm波长处测定吸光度。

准确吸取待测样液0.5mL于10mL容量瓶,加入福林酚试剂1.0mL,充分混匀后,加入2.00mL 7%碳酸钠溶液,用蒸馏水定容,避光放置1h,于765nm测定吸光度值。根据回归方程计算样品中多酚类化合物的含量 $= (C_1 \times 10) / (M \times V_1 \times 1000)$ 式中: C_1 为样品浓度值(mg); M 为样品质量(g); V_1 为量取样品体积,mL。

1.2.3 总黄酮含量的测定 称取一定量芦丁,用30%乙醇溶液配成0.124mg/mL的芦丁标准溶液。分别精密吸取标准溶液1.00、1.50、2.00、2.50、3.00、3.50mL放入10mL的容量瓶中,加5% NaNO₂溶液1.0mL,摇匀放置8min,再加10% Al(NO₃)₃溶液1.0mL,摇匀,再放置6min,加4% NaOH溶液4.0mL,摇匀,定容,放置10min,以30%乙醇溶液作参比,在

510nm波长处分别测定吸光度A。

样品的测定方法:取待测液0.5mL,用30%乙醇溶液稀释定容至25mL,准确移取V₂mL,按上述方法显色,在510nm测定其吸光度,根据回归方程计算总黄酮量。样品黄酮含量 $= C_2 \times 25 / (M_2 \times V_2 \times 1000)$ 。 C_2 为样品溶液中黄酮含量,mg; V_2 为量取样品体积,mL; M_2 为样品的质量(g)。

1.2.4 细菌培养基的制备 牛肉膏5g,蛋白胨10g,氯化钠5g,水1000mL,pH7.2(配制固体培养基需加入20g琼脂),在0.1MPa下高压灭菌20min,备用。

1.2.5 供试菌株活化及菌悬液制备 将供试菌种接入试管斜面培养基上,于37℃,120r/min摇床中培养24h,培养完成后,置于4℃冰箱中冷藏备用。将配制好的液体培养基于121℃灭菌20min,室温冷却,用接种环从斜面培养基上挑取一环置于50mL灭菌液体培养基中,于37℃摇床中培养24h作为种子液,然后用无菌生理盐水洗脱配制成含菌数约为10⁸个/mL的菌悬液备用^[8]。

1.2.6 菝葜不同极性提取物抑菌活性测定 将所得萃取物各取800mg,分别用10mL无菌水溶解得80mg/mL的药液,再以无菌水为溶剂对上述80mg/mL每种溶液分别进行两次稀释,每种萃取物得到80、40、20mg/mL三个浓度梯度的供试药液,用无菌水作对照,考虑到供试药液有限,本实验采用滤纸片法。选用优质滤纸直径为6mm圆形纸片,121℃高压灭菌30min,再经80℃烘干,置于干燥器中备用。取菌悬液0.2mL转移至之前倒好的平板培养基表面,均匀涂布,制成含菌平板。在制备好的纸片上滴加0.02mL不同浓度的供试液,待其干燥后贴入含菌平板中,每个平皿放三片,重复三次实验。在37℃的条件下培养24h后,用游标卡尺采用十字交叉法量取抑菌圈直径(mm)。通过测定抑菌圈直径大小评价不同组分对不同受试菌抑制作用^[9]。

1.2.7 最小抑菌浓度 将不同菝葜提取物配制成80、40、20、10、5、2.5mg/mL的提取液。吸取0.1mL各菌悬液于培养基中,涂布均匀后,再用无菌镊子夹取分别浸有不同浓度菝葜提取液和无菌水对照液的滤纸片(6mm)分别贴于涂布后的含菌平皿上。完成后,置于37℃下培养24h。观察抑菌现象,以不长菌(抑菌圈>6mm)的最低浓度为最小抑菌浓度。

1.2.8 半数抑菌浓度 不同浓度的菝葜提取液加入到已灭菌的培养基中,混匀,加入到培养皿内,吸取200μL细菌菌悬液于其表面,用无菌涂布器将菌液涂布均匀。细菌在37℃下培养24h,并进行平板菌落计数,计算抑菌率。以无菌水作为对照。每个浓度作3个平行样,运用Excel 2003处理数据,以样品浓度和抑制率作图,求出线性回归方程,抑制率为50%时的浓度即为半数抑菌浓度^[10]。抑菌率(%)=(对照实验菌落数-相应浓度的菌落数)/对照实验的菌落数×100。

1.2.9 数据分析 采用DPS7.5版分析软件中的Duncan新复极差法对总酚、总黄酮含量、抑菌作用、最小抑菌浓度中的数据进行差异显著性分析。

表1 不同极性提取物总酚和总黄酮含量($\bar{x} \pm s, n=3$)Table 1 Different phase extraction of total phenolic and flavonoids ($\bar{x} \pm s, n=3$)

样品	石油醚相	氯仿相	乙酸乙酯相	正丁醇相	水相物	醇提取物
总酚(mg/g)	26.7 ± 0.1 ^{aA}	24.1 ± 0.2 ^{aA}	451.3 ± 3.7 ^{bB}	326.9 ± 2.2 ^{cC}	184.5 ± 1.3 ^{dD}	149.8 ± 3.2 ^{eE}
总黄酮(mg/g)	22.3 ± 0.2 ^{aA}	19.6 ± 0.3 ^{aA}	404.1 ± 1.5 ^{bB}	289.4 ± 0.6 ^{cC}	172.2 ± 2.8 ^{dD}	137.9 ± 3.6 ^{eE}

注:不同小写字母代表同行差异显著($p < 0.05$),不同大写字母代表同行差异极显著($p < 0.01$)。

表2 不同极性提取物对细菌的抑制作用(以抑菌圈直径表示, mm, $\bar{x} \pm s, n=3$)Table 2 Antibiotic function of extracts in different polarity (Diameters of inhibition zone, mm, $\bar{x} \pm s, n=3$)

供试样	浓度(mg/mL)	抑菌圈			
		金黄色芽孢杆菌	枯草芽孢杆菌	大肠杆菌	沙门氏菌
石油醚相	80	7.4 ± 0.02 ^{aA}	6.9 ± 0.01 ^{aA}	6.9 ± 0.06 ^{aA}	6.3 ± 0.06 ^{aA}
	40	-	-	-	-
	20	-	-	-	-
氯仿相	80	6.9 ± 0.04 ^{aA}	7.1 ± 0.13 ^{aA}	6.4 ± 0.03 ^{aA}	6.2 ± 0.15 ^{aA}
	40	-	-	-	-
	20	-	-	-	-
乙酸乙酯相	80	13.6 ± 0.12 ^{bB}	13.2 ± 0.10 ^{bB}	12.9 ± 0.07 ^{bB}	12.5 ± 0.01 ^{bB}
	40	13.1 ± 0.02 ^{aA}	12.6 ± 0.08 ^{aA}	12.3 ± 0.02 ^{aA}	11.9 ± 0.11 ^{aA}
	20	10.4 ± 0.03 ^{aA}	9.6 ± 0.05 ^{aA}	9.3 ± 0.14 ^{aA}	8.9 ± 0.04 ^{aA}
正丁醇相	80	13.5 ± 0.02 ^{bB}	12.8 ± 0.21 ^{bB}	12.4 ± 0.02 ^{bB}	12.1 ± 0.23 ^{bB}
	40	12.4 ± 0.02 ^{bB}	12.1 ± 0.04 ^{bB}	11.5 ± 0.18 ^{bB}	11.0 ± 0.28 ^{bB}
	20	9.1 ± 0.10 ^{bB}	8.8 ± 0.19 ^{aA}	8.9 ± 0.21 ^{aA}	8.7 ± 0.09 ^{aA}
水相	80	10.2 ± 0.23 ^{cC}	9.9 ± 0.13 ^{cC}	9.6 ± 0.07 ^{cC}	9.2 ± 0.17 ^{cC}
	40	8.8 ± 0.17 ^{cC}	8.3 ± 0.09 ^{cC}	8.0 ± 0.12 ^{cC}	7.9 ± 0.04 ^{cC}
	20	7.7 ± 0.01 ^{cC}	7.4 ± 0.03 ^{bB}	7.1 ± 0.25 ^{bB}	7.0 ± 0.01 ^{bB}
醇提取物	80	9.5 ± 0.16 ^{cC}	10.1 ± 0.24 ^{cC}	9.2 ± 0.28 ^{cC}	8.9 ± 0.01 ^{cC}
	40	8.6 ± 0.26 ^{cC}	8.1 ± 0.01 ^{cC}	8.1 ± 0.29 ^{cC}	7.4 ± 0.12 ^{cC}
	20	7.2 ± 0.11 ^{dD}	6.7 ± 0.03 ^{bB}	6.5 ± 0.02 ^{bB}	6.3 ± 0.05 ^{bB}
空白		-	-	-	-

注:“-”表示未观察到明显的抑菌圈,抑菌圈直径以平均值和标准误差表示,抑菌圈直径包含原孔洞初始直径6mm。

2 结果与分析

2.1 总酚和总黄酮的回归方程

以没食子酸浓度为横坐标,吸光度为纵坐标,得回归方程为 $y = 10.243x + 0.0021, r = 0.9991$ 。以芦丁浓度作横坐标,吸光度作纵坐标,得回归方程为 $y = 1.9373x + 0.0103, r = 0.9992$ 。

2.2 菝葜不同萃取相总酚和总黄酮含量的比较

由表1可看出,菝葜不同提取物的总酚、总黄酮含量差异较大,乙酸乙酯相和正丁醇相中总酚、总黄酮含量高于其他萃取相,各萃取相中总多酚、总黄酮含量依次为:乙酸乙酯相 > 正丁醇相 > 水相 > 醇提取物 > 石油醚相 > 氯仿相。

2.3 菝葜不同极性提取物抑菌活性

由表2可知,6种极性提取物对四种供试菌均有一定的抑制效果,随着各极性提取物浓度上升,抑菌效果也加强,呈现剂量-效应关系。6种极性提取物对革兰氏阳性菌,如金黄色芽孢杆菌、枯草芽孢杆菌的抑菌效果强于革兰氏阴性菌,如大肠杆菌和沙门氏菌,说明菝葜提取物对革兰氏阳性菌的抑制效果更好。其中,乙酸乙酯相的抑菌效果最好,对实验用菌都有很好的抑菌效果,浓度为80mg/mL对金色葡

萄球菌和枯草芽孢杆菌的抑菌圈达13.6、13.2mm。不同萃取物的抑菌效果强弱依次为:乙酸乙酯相 > 正丁醇相 > 水相 > 醇提取物 > 石油醚相 > 氯仿相。Smullen等^[11]通过对多种植物多酚提取物的研究,发现多酚类化合物有明显抑菌作用。Pachaiyani等^[12]发现黄酮有抗菌、抗真菌功能。表1中不同萃取相的总酚、总黄酮含量与抑菌作用有明显相关性,说明其抑菌成分可能主要是黄酮与多酚类。

2.4 最小抑菌浓度

石油醚相,氯仿相的抑菌效果不明显,以下不进行最小抑菌浓度和半数抑菌浓度的研究。由表3可以看出,各萃取相对不同菌种的最小抑菌浓度都在4.83~20.11mg/mL。相对而言,乙酸乙酯萃取物最小抑菌浓度较低。

2.5 半数抑菌浓度

从图1~图4可以看出,随细菌种类的不同和极性提取物不同,对同种和不同种类的细菌的半数抑菌浓度也不相同。乙酸乙酯相、正丁醇相、水相和醇提取物对金黄色芽孢杆菌的半数抑菌浓度分别12.5、16.4、56.1、61.4mg/mL;对枯草芽孢杆菌的半数抑菌浓度分别13.6、18.3、62.6、65.8mg/mL;对大肠杆菌的

表3 不同极性提取物的最小抑菌浓度($\bar{x} \pm s, n=3$)Table 3 The minimum inhibitory concentration of extracts in different polarity($\bar{x} \pm s, n=3$)

供试样	最小抑菌浓度(mg/mL)			
	金黄色葡萄球菌	枯草芽孢杆菌	大肠杆菌	沙门氏菌
乙酸乙酯相	4.83 ± 0.17 ^{aA}	5.00 ± 0.02 ^{aA}	4.96 ± 0.05 ^{aA}	9.98 ± 0.04 ^{aA}
正丁醇相	5.02 ± 0.04 ^{aA}	4.95 ± 0.06 ^{aA}	10.22 ± 0.31 ^{bB}	10.13 ± 0.24 ^{aA}
水相	9.83 ± 0.25 ^{bB}	10.04 ± 0.03 ^{bB}	20.11 ± 0.17 ^{cC}	19.92 ± 0.18 ^{bB}
醇提取物	10.06 ± 0.13 ^{bB}	19.98 ± 0.08 ^{cC}	19.96 ± 0.07 ^{cC}	20.09 ± 0.11 ^{bB}

注:以不长菌(抑菌圈 > 6mm)的最低浓度为最小抑菌浓度。

半数抑菌浓度分别 18.2、22.3、76.3、92.4 mg/mL; 对沙门氏菌的半数抑菌浓度分别 18.7、21.0、71.8、73.1 mg/mL。

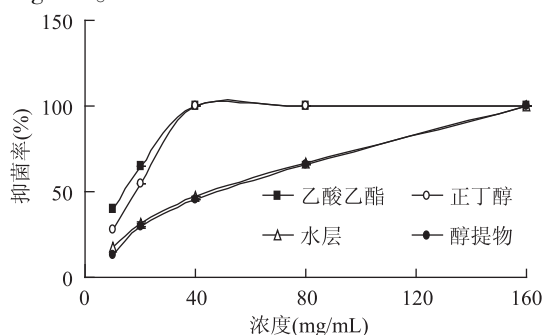
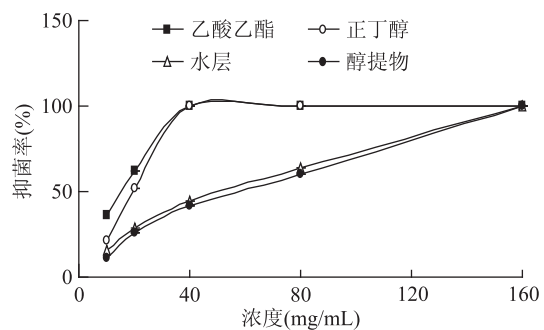
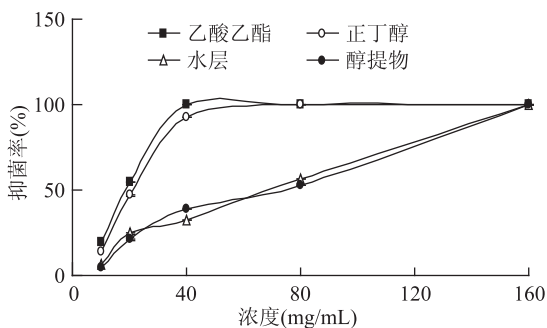
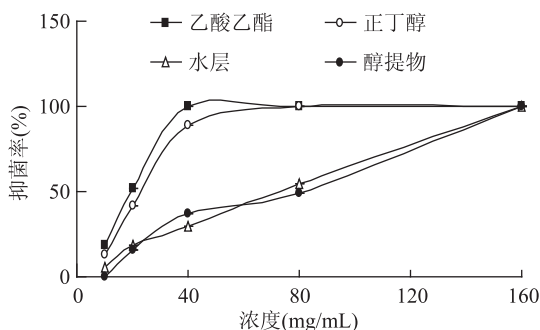
图1 不同极性提取物对金黄色葡萄球菌的抑菌率($n=3$)Fig.1 The antibacterial rate of different polar extracts on *Staphylococcus aureus* ($n=3$)图2 不同极性提取物对枯草芽孢杆菌的抑菌率($n=3$)Fig.2 The antibacterial rate of different polar extracts on *Bacillus subtilis* ($n=3$)图3 不同极性提取物对大肠杆菌的抑菌率($n=3$)

Fig.3 The antibacterial rate of

different polar extracts on *Escherichia coli* ($n=3$)

3 结论

3.1 菝葜不同极性提取物的抑菌活性实验表明,各

图4 不同极性提取物对沙门氏菌的抑菌率($n=3$)Fig.4 The antibacterial rate of different polar extracts on *Salmonella.Sp* ($n=3$)

极性提取物对4种致病菌均有一定的抑制作用,且呈剂量-效应关系。对革兰氏阳性菌的抑菌作用强于革兰氏阴性菌。抑菌活性大小为:乙酸乙酯相 > 正丁醇相 > 水相 > 醇提取物 > 石油醚相 > 氯仿相,抑菌作用与总酚和总黄酮的含量呈正相关性。其中乙酸乙酯相的抑菌效果最好,当其浓度为80 mg/mL时,对金黄色葡萄球菌、枯草芽孢杆菌、沙门氏菌和大肠杆菌抑菌圈分别为 13.6 ± 0.12 、 13.2 ± 0.10 、 12.9 ± 0.07 、 (12.5 ± 0.01) mm。

3.2 半数抑菌浓度实验和最小抑菌浓度实验表明,对同一供试菌,乙酸乙酯相比其它相的半数抑菌浓度和最小抑菌浓度都低,对金黄色葡萄球菌、枯草芽孢杆菌、大肠杆菌和沙门氏菌的最小抑菌浓度为5、5、5、10 mg/mL,半数抑菌浓度为12.5、13.6、18.2、18.7 mg/mL。

3.3 本实验结果表明菝葜提取物有较好抑菌效果,其中乙酸乙酯萃取物抑菌效果最好。但其抑菌成分还不清楚,今后需要进一步研究。

参考文献

- [1] 王玉,李政,吴疆.生物防腐剂的研究进展[J].食品研究与开发,2012(6):214-217.
- [2] 刘平,叶惠芬,陈惠玲,等.五种中药对产酶菌的抑菌作用[J].中国微生态学杂志,2006,18(1):39-40.
- [3] Wang Shiow T, Chen C T, Sciarappa W, et al. Fruit quality, antioxidant capacity, and flavonoid content of organically and conventionally grown blueberries[J]. Journal of Agricultural Food Chemistry, 2008, 56(14): 5788-5794.
- [4] 郝利君,冯芳,郝小芳.菝葜的研究进展[J].现代中药研究与实践,2010,24(1):70-72.

(下转第59页)

环境因子条件范围和实际产品中的污染严重程度提供一定的参考依据,对于有潜在单增李斯特菌污染的产品来说,这为加强产品的栅栏因子,优化工艺条件以提高其安全度也提供了重要的参考。但是由于实验中采用的基质是 TSB-YE 液体培养基,相对于实际产品来说,条件较为苛刻,而实际产品更利于微生物的生长,同时由于各企业的标准不一样,因此划定生长/非生长的界线标准也与本文中不一样,这样也会导致生长/非生长界面模型的差异。因此需要进一步以实际产品为基质,研究单增李斯特菌的生长情况并建立特定产品的生长/非生长界面模型。

参考文献

- [1] Gysemans K P M, Bernaerts K, Geeraerd A H, et al. Exploring the performance of logistic regression model types on growth/no growth data of *Listeria monocytogenes* [J]. International Journal of Food Microbiology, 2007, 114: 316-331.
- [2] Pascual C, Robinson T P, Ocio M J, et al. The effect of inoculum size and sublethal injury on the ability of *Listeria monocytogenes* to initiate growth under suboptimal conditions [J]. Letters in Applied Microbiology, 2001, 33: 257-361.
- [3] Ross T, Dalgaard P, Tienungoon S. Predictive modeling of the growth and survival of *Listeria* in fishery products [J]. International Journal of Food Microbiology, 2000, 62: 231-245.
- [4] 吕红线, 郭利美. 工业微生物菌种的保藏方法 [J]. 山东轻工学院学报, 2007, 21(1): 52-55.
- [5] 刘柳, 孙保华. 温度及气调包装对冷却猪肉中单核细胞增生性李斯特菌生长的影响 [J]. 食品科学, 2008, 29(1): 334-337.
- [6] 李燕杰, 朱小花, 阴冠秀, 等. 不同方法观察单增李斯特菌生物被膜的比较研究 [J]. 食品工业科技, 2010, 31(10): 241-246.
- [7] 周小红, 李学英, 杨究时, 等. 培养条件对单增李斯特菌生长的影响 [J]. 食品工业科技, 2013, 34(15): 140-148.
- [8] Koutsoumanis K, Sofos J N. A comparative study on growth limits of *Listeria monocytogenes* as affected by temperature, pH and aw when grown in suspension or on a solid surface [J]. Food Microbiology, 2004, 21: 415-422.
- [9] Skandamis P N, Stopforth J D, Kendall P A, et al. Modeling the effect of inoculum size and acid adaptation on growth/no growth interface of *Escherichia coli* O157:H7 [J]. International Journal of Food Microbiology, 2007, 120(3): 237-49.
- [10] Ratkowsky D. Some examples of, and some problems with, the use of nonlinear logistic regression in predictive Food Microbiology [J]. International Journal of Food Microbiology, 2002, 73: 119-125.
- [11] Lothar L. Basic aspects of food preservation by hurdle technology [J]. International Journal of Food Microbiology, 2000, 55(1-3): 181-186.
- [12] Presser K, Ross T, Ratkowsky D. Modelling the growth limits (growth/no growth interface) of *Escherichia coli* as a function of temperature, pH, lactic acid concentration, and water activity [J]. Applied and Environmental Microbiology, 1998, 64(5): 1773-1779.
- [13] Stewart C M, Cole M B, Legan J D, et al. *Staphylococcus aureus* growth boundaries: moving towards mechanistic predictive models based on solute-specific effects [J]. Applied and environmental microbiology, 2002, 68(4): 1864-1871.
- [14] Jeffery M, Farber. Present situation in Canada regarding *Listeria monocytogenes* and ready-to-eat seafood products [J]. International Journal of Food Microbiology, 2000, 62: 247-251.
- [15] 沈晓盛, 郑国兴, 李庆, 等. 食品中单核细胞增生性李斯特菌的危害及其检测 [J]. 食品与发酵工业, 2004, 30(8): 87-91.
- [16] Lanciotti R, Sinigaglia M, Gardini F, et al. Growth/no growth interfaces of *Bacillus cereus*, *Staphylococcus aureus* and *Salmonella enteritidis* in model systems based on water activity, pH, temperature and ethanol concentration [J]. Food microbiology, 2001, 18(6): 659-668.
- [17] Quintavallas, Parolari G. Effects of temperature, aw and pH on the growth of *Bacillus* cells and spores: a response surface methodology study [J]. International journal of food microbiology, 1993, 19(3): 207-216.
- [18] 陈琛, 杨究时, 李学英, 等. 蜡样芽胞杆菌生长/非生长界面模型的建立和评价 [J]. 食品与发酵工业, 2013, 39(5): 18-24.
- [9] Skandamis P N, Stopforth J D, Kendall P A, et al. Modeling the effect of inoculum size and acid adaptation on growth/no growth interface of *Escherichia coli* O157:H7 [J]. International Journal of Food Microbiology, 2007, 120(3): 237-49.
- [10] Katarzyna U, Anna M, Marta M, et al. Assessment of antibacterial effects of flavonoids by estimation of generation times in liquid bacterial cultures [J]. Biologia, 2007, 62(2): 132-135.
- [11] Smullen J, Koutsou GA, Foster HA, et al. The antibacterial activity of plant extracts containing polyphenols against *Streptococcus mutans* [J]. Caries Research, 2007, 41(5): 342-345.
- [12] Pachaikani R, Purushothaman M, Michal T. Dietary Flavonoids Modulate PCB-Induced Oxidative Stress, CYP1A1 Induction and AhR-DNA Binding Activity in Vascular Endothelial Cells [J]. Toxicological Sciences, 2003, 76(1): 212-219.

(上接第 52 页)

- [5] 刘世旺, 徐艳霞, 吴中华, 等. 菝葜水煎液抗炎活性的实验研究 [J]. 资源开发与市场, 2006, 22(6): 534-535.
- [6] 邓家刚, 陈壮. 金刚藤活性成分与药理学及临床应用研究 [J]. 河南中医学院学报, 2005(3): 23-24.
- [7] Ji Z, Su Y. Study on anti microbial Activities of Extracts from *Eucommia ulmoides* Oliv. Leaves [J]. Chemistry and Industry of Forest Products, 2008, 8(1): 63-66.
- [8] Yan J K, Li L, Wu J Y, et al. Acidic degradation and enhanced antioxidant activities of exopolysaccharides from *Cordyceps sinensis* mycelial culture [J]. Food Chemistry, 2009, 117(8): 641-646.
- [9] Hu Y J, Qiao J L, Zhang X, et al. Antimicrobial activity of *magnolia officinalis* extracts *in vitro* and its effects on the

- preservation of chilled mutton [J]. Journal of Food Biochemistry, 2011, 35(2): 425-441.
- [10] Katarzyna U, Anna M, Marta M, et al. Assessment of antibacterial effects of flavonoids by estimation of generation times in liquid bacterial cultures [J]. Biologia, 2007, 62(2): 132-135.
- [11] Smullen J, Koutsou GA, Foster HA, et al. The antibacterial activity of plant extracts containing polyphenols against *Streptococcus mutans* [J]. Caries Research, 2007, 41(5): 342-345.
- [12] Pachaikani R, Purushothaman M, Michal T. Dietary Flavonoids Modulate PCB-Induced Oxidative Stress, CYP1A1 Induction and AhR-DNA Binding Activity in Vascular Endothelial Cells [J]. Toxicological Sciences, 2003, 76(1): 212-219.