

线叶金雀花总黄酮提取工艺优化及 对大肠杆菌的抑菌作用

Optimization of extraction technology of total flavonoids from rooibos and the antibacterial effect on *Escherichia coli*

王振伟

郑黎静

WANG Zhen-wei ZHENG Li-jing

(黄河水利职业技术学院环境工程学院, 河南 开封 475000)

(College of Environmental Engineering, Yellow River Conservancy Technical
Institute, Kaifeng, Henan 475000, China)

摘要:目的:评估线叶金雀花总黄酮对大肠杆菌的抑菌活性,开拓线叶金雀花资源在食品领域的应用。方法:采用超声辅助乙醇提取法提取线叶金雀花总黄酮,利用响应面试验优化提取工艺;利用纸片扩散法、二倍稀释法、生长曲线变化和透射电子显微镜试验分析线叶金雀花总黄酮对大肠杆菌的抑菌作用。结果:线叶金雀花总黄酮的最佳提取工艺参数为乙醇体积分数 53%,料液比 1:27 (g/mL),超声温度 77 ℃,超声时间 68 min,该条件下线叶金雀花总黄酮提取率为 2.46%。线叶金雀花总黄酮对大肠杆菌的抑菌圈直径、最小抑菌浓度和最小杀菌浓度分别为 (11.40±0.21) mm、12.5 mg/mL 和 25 mg/mL。在线叶金雀花总黄酮的作用下,大肠杆菌的生长对数期消失,细胞形态出现明显损伤,包括细胞变形、塌陷和细胞液外泄。结论:最优提取条件下,线叶金雀花总黄酮的提取率较高,且对大肠杆菌具有良好的抑菌效果。

关键词:线叶金雀花;总黄酮;提取率;大肠杆菌;抑菌作用

Abstract: Objective: This study aimed to evaluate the antibacterial activity of total flavonoids from rooibos (TFR) against *E. coli* and explore the application of rooibos resources in food field. Methods: Total flavonoids were extracted by ultrasonic-assisted ethanol extraction, and the extraction process was optimized by response surface test. The antibacterial effects of TFR on *E. coli* were analyzed by disk diffusion method, double dilution method, growth curve change and transmission e-

lectron microscope test. Results: The optimal extraction conditions were as follows: ethanol volume fraction 53%, solid-liquid ratio 1:27 (g/mL), ultrasonic temperature 77 ℃, ultrasonic time 68 min. Under the control of these conditions, the extraction rate of total flavonoids was 2.46%. The inhibition zone diameter, minimum inhibitory concentration and minimum bactericidal concentration of total flavonoids against *E. coli* were (11.40±0.21) mm, 12.5 mg/mL and 25 mg/mL, respectively. The growth of *E. coli* disappeared in logarithmic phase, and the cell morphology was damaged, including cell deformation, collapse and cell fluid leakage. Conclusion: Under the control of the optimal extraction conditions, the extraction rate of TFR was higher, and it had good antibacterial effect on *E. coli*.

Keywords: rooibos; total flavonoid; extraction rate; *Escherichia coli*; antibacterial effect

线叶金雀花 [*Aspalathus Linearis* (Brum, f.) R. Dahlgren] 是来源于南非的豆科植物,又名南非茶、博士茶,经发酵后茶味道香甜,气味淡雅,已于 2014 年被国家卫生和计划生育委员会批准作为新食品资源^[1]。线叶金雀花中主要的化学成分包括黄酮类、酚类、花色苷、有机酸和多糖类物质^[2],具有强抗氧化活性^[2]、保护心脏^[3]、抗炎^[4]、抑菌^[5]、增加骨密度^[6]、降血糖^[7]、辅助治疗糖尿病^[8]和抗焦虑^[9]等作用。现有研究^[7,10]表明,线叶金雀花中主要的生物活性物质是黄酮类化合物,主要由阿司巴汀、荭草苷、异荭草苷、牡荆素、异牡荆素、异槲皮苷、芦丁、金丝桃苷等组成,具有较强的抗氧化活性,且阿司巴汀还具有降血糖、抗炎和抑菌作用。

大肠杆菌是常见的食源性条件致病菌之一,广泛分布在各种食物中,严重危害着人们的身体健康^[11]。目前,抑制食品贮藏期间大肠杆菌污染的主要方式是添加化学

基金项目:河南省高等学校青年骨干教师培养计划项目(编号:2018GGJS216)

作者简介:王振伟(1980—),男,黄河水利职业技术学院副教授,硕士。E-mail: wangzhenwei1980@163.com

收稿日期:2021-12-21 **改回日期:**2022-04-19

防腐剂,然而,随着人们健康意识的增加,消费者越来越倾向于利用天然提取物作为防腐剂抑制大肠杆菌的污染^[12]。研究^[13]发现,黄酮类化合物能够与受试细菌的细胞壁形成复合物,造成细菌生理功能障碍,从而起到抑菌的作用,同时由于天然黄酮类物质具有安全、绿色、高效等特点,更容易被消费者接受。目前,黄酮类化合物最常用的提取方法为超声辅助乙醇提取法,具有提取率高、提取时间短,操作简便、成本低、产物易纯化、设备要求低等优点,已被广泛应用于铁皮石斛花^[14]、红豆树叶^[15]、柠条锦鸡儿^[16]和橄榄叶^[17]等多种植物资源总黄酮的提取。然而,有关线叶金雀花总黄酮提取工艺的进一步优化及其对大肠杆菌抑菌活性的研究尚未见报道。

研究拟以线叶金雀花为研究对象,采用超声辅助法对线叶金雀花总黄酮进行提取,利用单因素试验和响应面法优化提取工艺条件,在此基础上,评估线叶金雀花总黄酮对大肠杆菌的抑菌活性,并探讨其作用机制,旨在为开拓线叶金雀花资源在食品领域中的应用提供依据。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

1.1.1 材料与试剂

线叶金雀花:短切 Freshpak 系列产品(发酵红茶),产地为南非,生产日期为 2021 年 3 月 15 日,保质期 24 个月,扶风斯诺特生物科技有限公司;

大肠杆菌(*Escherichia coli* O157:H7):广东环凯生物科技有限公司;

芦丁标准品(纯度 $\geq 98\%$):南京杜莱生物技术有限公司;

亚硝酸钠、硝酸铝、无水乙醇:分析纯,河南拓弘化工有限公司;

胰蛋白胨大豆琼脂、营养肉汤培养基:河南瑞伦特生物科技有限公司。

1.1.2 主要仪器设备

电子天平:BCE323-1CCN 型,上海坤诚科学仪器有限公司;

高压蒸汽灭菌锅:YXQ-100SII 型,浙江明德仪器有限公司;

数控超声波清洗器:GT0303 型,深圳市冠博科技实业有限公司;

紫外分光光度计:T2602S 型,青岛精诚仪器仪表有限公司;

透射电子显微镜:JEM-1400Flash 型,日本电子株式会社。

1.2 方法

1.2.1 标准曲线的制作 参照钟尉方等^[18]的方法,所得标准曲线方程为 $y = 13.231x + 0.0484$ ($R^2 = 0.9877$)。

1.2.2 线叶金雀花总黄酮提取及含量测定 取 10 g 经干燥粉碎后的线叶金雀花粉末,按一定的乙醇体积分数、料

液比、超声温度、超声时间进行提取,抽滤后得到线叶金雀花提取液,将提取液与相应试剂进行反应后测定 510 nm 处溶液的吸光值,并按式(1)计算总黄酮提取率。

$$W = \frac{c \times v}{M} \times 100\%, \quad (1)$$

式中:

W ——总黄酮提取率,%;

c ——总黄酮质量浓度,mg/mL;

v ——滤液体积,mL;

M ——线叶金雀花质量,g。

1.2.3 单因素试验 以 10 g 线叶金雀花粉末为基准,在乙醇体积分数 50%,料液比 1:25 (g/mL),超声温度 70 °C,超声时间 60 min 的基础上,以总黄酮提取率为评价指标,考察乙醇体积分数(30%,40%,50%,60%,70%)、料液比[1:10,1:15,1:20,1:25,1:30 (g/mL)]、超声温度(40,50,60,70,80 °C)和超声时间(20,40,60,80,100 min)对总黄酮提取率的影响。

1.2.4 响应面试验优化 在单因素试验的基础上,以提取率为响应值,选用 Design-Expert 8.0.6.1 软件中的 Box-Behnken 模型构建四因素三水平的响应面试验,优化线叶金雀花总黄酮提取工艺。

1.2.5 大肠杆菌抑菌圈直径(DIZ)测定 采用纸片扩散法^[10]。

1.2.6 大肠杆菌最小抑菌浓度(MIC)和最小杀菌浓度(MBC)测定 根据 Fei 等^[19]的方法稍作修改。将线叶金雀花总黄酮与灭菌的胰蛋白胨大豆琼脂培养基(约 50 °C)在无菌 24 孔板中充分混合,使其终质量浓度分别达到 3.125,6.250,12.500,25.000,50.000,100.000 mg/mL,以 0.1 mg/mL 的氨苄青霉素为阳性对照。待培养基凝固后,向孔中央加入 2 μ L 大肠杆菌菌悬液(10^6 CFU/mL),37 °C 培养 24 h,以肉眼未见菌落长出的最小浓度定义为线叶金雀花总黄酮对大肠杆菌的 MIC。用浓度 ≥ 1 MIC 的线叶金雀花总黄酮处理大肠杆菌菌悬液 1 h,平板涂布,菌落无法生长的最低浓度被定义为 MBC。

1.2.7 生长曲线测定 取 25 μ L 大肠杆菌菌悬液($OD_{600\text{ nm}} = 0.2$),加入线叶金雀花总黄酮,使其终浓度分别为 0(对照组),0.5,1.0,1.5,2.0 MIC,并调整总体系达到 250 μ L,于 37 °C 下培养,并构建生长曲线^[10]。

1.2.8 透射电子显微镜观察 根据 Li 等^[20]的方法稍作修改。分别用 0,1,2 MIC 的线叶金雀花总黄酮处理大肠杆菌菌悬液($OD_{600\text{ nm}} = 0.5$)4 h,离心得到菌泥。将菌泥先后加入到 2.5%戊二醛和 1%锇酸中固定 2 h,每次固定后离心,并用磷酸缓冲液洗涤 2 次。用不同体积分数的乙醇(50%,70%,90%,100%)处理样品 10 min,包埋及双重染色处理后置于透射电子显微镜下观察。

1.2.9 数据分析 除透射电子显微镜外所有试验均重复 3 次,采用 Office 2019 处理单因素试验数据,利用 Design

Expert 8.0.6.1 软件进行响应面数据分析。

2 结果与分析

2.1 单因素试验

由图 1 可知,当乙醇体积分数>50%时,乙醇与线叶金雀花总黄酮之间的极性差不再增加,反而会导致其他溶性杂质的溶解,增加了与黄酮溶出的竞争,导致总黄酮提取率下降^[14]。当料液比<1:25 (g/mL)时,总黄酮提取率随料液比的增大而增加;当料液比>1:25 (g/mL),

超声波对线叶金雀花的破碎及空化作用减弱,提取率下降^[15]。当超声温度>70℃时,过高的温度会破坏黄酮类物质的结构稳定性,从而导致总黄酮提取率下降^[16]。当超声时间>60 min 时,长时间的超声作用也会破坏黄酮类物质的稳定性,并增加溶液黏度和传质阻力,不利于黄酮类物质的溶出^[17]。综上,超声辅助乙醇法提取线叶金雀花总黄酮的适宜工艺条件为乙醇体积分数 50%,料液比 1:25 (g/mL),超声温度 70℃,超声时间 60 min。

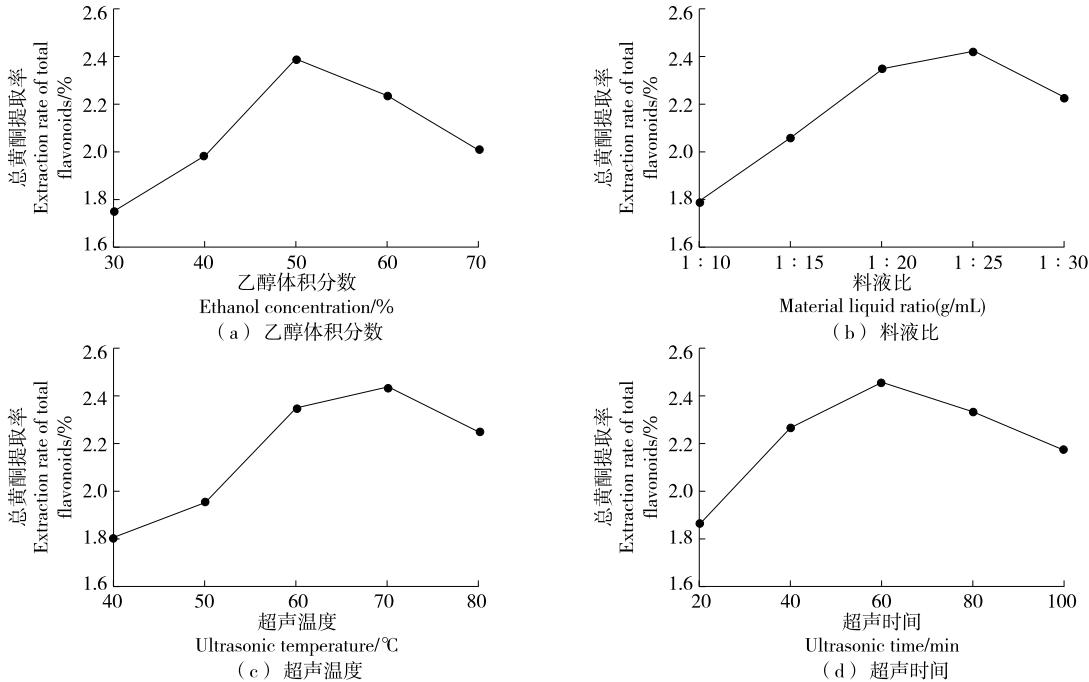


图 1 单因素试验结果

Figure 1 Single factor test results

2.2 响应面优化

2.2.1 响应面试验设计及结果 在单因素试验的基础上,以乙醇体积分数、料液比、超声温度和超声时间为因素,以总黄酮提取率为响应值,根据 Box-Behnken 模型构建四因素三水平的响应面试验,因素水平见表 1,试验设计及结果见表 2。

对响应面试验结果进行回归拟合,构建优化线叶金雀花总黄酮提取率的回归方程:

$$Y=2.42+0.091A+0.046B+0.10C+0.094D-$$

$$0.023AB+0.040AC+0.020AD+0.065BC+0.060BD+0.032CD-0.21A^2-0.14B^2-0.11C^2-0.18D^2.$$
 (2)

由表 3 可知,模型极显著($P<0.001$),失拟项不显著($P>0.05$),说明模型拟合度与置信度符合要求,可用于线叶金雀花总黄酮提取率的预测和分析。显著性分析检验结果显示,一次项 A、C、D,二次项 A^2 、 B^2 、 C^2 和 D^2 对总黄酮提取率影响极显著($P<0.01$),一次项 B,交互项 BC 和 BD 对总黄酮提取率影响显著($P<0.05$)。由 F 值可知,各因素对总黄酮提取率的影响顺序为超声温度>超声时间>乙醇体积分数>料液比。

2.2.2 各因素交互作用 由图 2 可知,料液比和超声温度、料液比和超声时间相互作用形成的响应面坡度陡峭,说明料液比和超声温度、料液比和超声时间的交互作用明显,对线叶金雀花总黄酮提取率影响显著($P<0.05$),与方差分析结果一致。

2.2.3 验证实验 根据响应面回归模型预测可知,线叶金雀花总黄酮的最佳提取工艺为乙醇体积分数 52.75%,

表 1 响应面试验因素与水平表

Table 1 Factors and levels of response surface test

水平	A 乙醇体积分数/%	B 料液比 (g/mL)	C 超声温度/°C	D 超声时间/min
1	40	1:20	60	40
2	50	1:25	70	60
3	60	1:30	80	80

料液比 1 : 27.01 (g/mL), 超声温度 77.12 ℃, 超声时间 68.15 min, 该条件下预测线叶金雀花总黄酮提取率为 2.50 %。为方便试验操作, 最终确定最佳提取条件为乙醇体积分数 53 %, 料液比 1 : 27 (g/mL), 超声温度 77 ℃, 超声时间 68 min, 此条件下实测线叶金雀花总黄酮提取率为 2.46 % ($n=3$), 与预测值相近, 且高于 Bramati 等^[21]的水提法(提取率为 0.55 %), 说明超声辅助乙醇提取法提取线叶金雀花总黄酮具有一定的优越性。

2.3 线叶金雀花总黄酮的抑菌活性

2.3.1 DIZ、MIC 和 MBC 由表 4 可知, 线叶金雀花总黄

表 2 响应面试验设计及结果

Table 2 Response surface test design and results

试验号	A	B	C	D	总黄酮提取率/%	试验号	A	B	C	D	总黄酮提取率/%
1	-1	0	0	1	2.03	16	-1	-1	0	0	1.92
2	0	1	1	0	2.51	17	0	-1	1	0	2.19
3	-1	0	-1	0	1.98	18	1	1	0	0	2.16
4	0	1	0	1	2.25	19	0	0	-1	-1	1.99
5	1	-1	0	0	2.14	20	0	-1	0	1	2.11
6	1	0	0	1	2.28	21	1	0	1	0	2.29
7	1	0	-1	0	2.06	22	0	0	-1	1	2.11
8	0	0	1	-1	2.08	23	0	1	-1	0	2.07
9	0	0	0	0	2.42	24	0	0	0	0	2.45
10	-1	1	0	0	2.03	25	0	0	0	0	2.41
11	-1	0	1	0	2.05	26	-1	0	0	-1	1.85
12	1	0	0	-1	2.02	27	0	0	0	0	2.46
13	0	-1	0	-1	2.07	28	0	-1	-1	0	2.01
14	0	0	0	0	2.38	29	0	0	1	1	2.33
15	0	1	0	-1	1.97						

表 3 方差分析[†]

Table 3 Analysis of variance

方差来源	平方和	自由度	均方	F 值	P 值	显著性
模型	0.880	14	0.063	20.75	< 0.000 1	* *
A	0.099	1	0.099	32.73	< 0.000 1	* *
B	0.025	1	0.025	8.33	0.012 0	*
C	0.130	1	0.130	41.67	< 0.000 1	* *
D	0.110	1	0.110	35.17	< 0.000 1	* *
AB	2.025E-003	1	2.025E-003	0.67	0.427 0	
AC	6.400E-003	1	6.400E-003	2.12	0.167 9	
AD	1.600E-003	1	1.600E-003	0.53	0.479 1	
BC	0.017	1	0.017	5.59	0.033 1	*
BD	0.014	1	0.014	4.76	0.046 7	*
CD	4.225E-003	1	4.225E-003	1.40	0.257 0	
A ²	0.300	1	0.300	99.04	< 0.000 1	* *
B ²	0.120	1	0.120	40.49	< 0.000 1	* *
C ²	0.075	1	0.075	24.74	0.000 2	* *
D ²	0.210	1	0.210	69.41	< 0.000 1	* *
残差	0.042	14	3.025E-003			
失拟项	0.038	10	3.823E-003	3.71	0.108 9	不显著
纯误差	4.120E-003	4	1.030E-003			
总和	0.920	28				

[†] * * 表示 $P<0.01$, 差异极显著; * 表示 $P<0.05$, 差异显著。

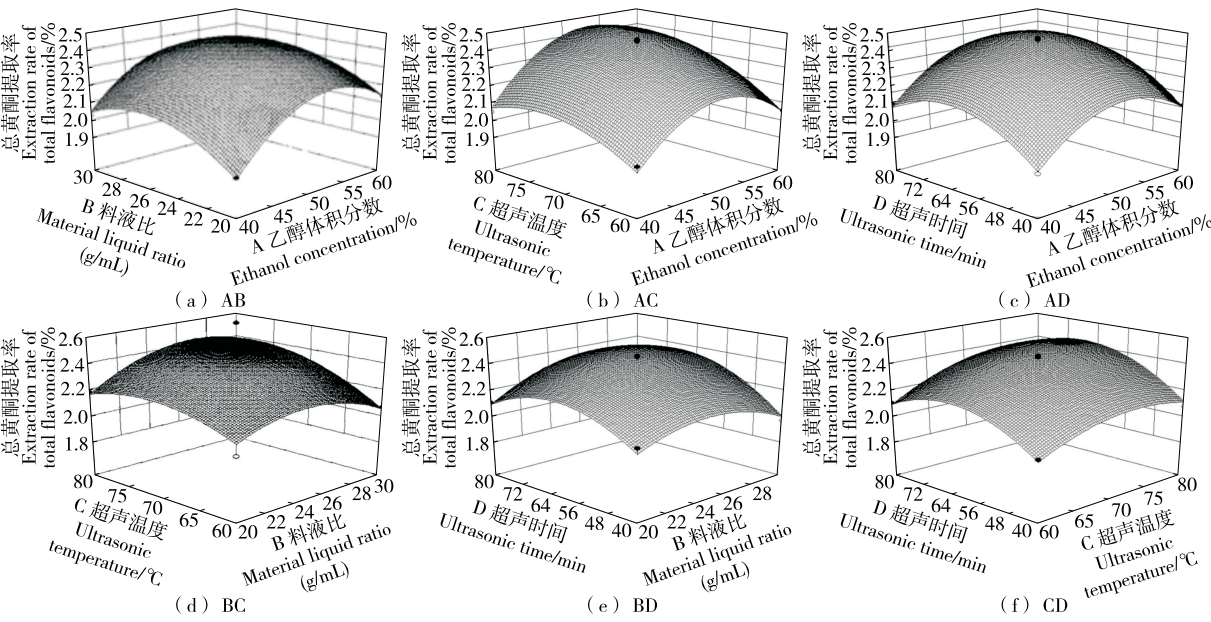


图 2 各因素交互作用对线叶金雀花总黄酮提取率影响的响应面图

Figure 2 Response surface plot of the influence of the interaction of various factors on the extraction rate of TFR

表 4 线叶金雀花总黄酮对大肠杆菌的抑菌试验[†]

Table 4 DIZ, MIC and MBC of TFR against *E. coli*

总黄酮质量浓度(mg/mL)对大肠杆菌抑制作用						抑菌试验		
3.125	6.250	12.500	25.000	50.000	100.000	DIZ/mm	MIC/(mg · mL ⁻¹)	MBC/(mg · mL ⁻¹)
—	—	+	+	+	+	11.4±0.21	12.5	25

[†] “—”表示无肉眼可见菌落生长,“+”表示有肉眼可见菌落生长。

酮对大肠杆菌的 DIZ、MIC 和 MBC 值分别为 (11.4 ± 0.21) mm、12.5 mg/mL 和 25 mg/mL。目前,黄酮类化合物已被证实对大肠杆菌具有明显的抑制作用,如:头花蓼中总黄酮对大肠杆菌的 MIC 和 MBC 值分别为 7.3, 7.9 mg/mL^[22];藜麦种子总黄酮对大肠杆菌的 MIC 值为 32 mg/mL^[23];紫叶李皮总黄酮对大肠杆菌的 MIC 和 MBC 分别为 12.6, 25.2 mg/mL^[24];苦荞麸皮黄酮提取物对大肠杆菌的 MIC 和 MBC 值分别为 25, 50 mg/mL^[25]。与上述黄酮类物质相比,线叶金雀花总黄酮对大肠杆菌的抑制效果处中上等水平,可用作天然防腐剂的开发。

2.3.2 对大肠杆菌生长曲线的影响 由图 3 可知,在线叶金雀花总黄酮的作用下,大肠杆菌的生长被显著抑制 ($P < 0.05$),对数生长期消失,且线叶金雀花总黄酮质量浓度越高,抑菌效果越好。当作用浓度为 2 MIC 时,大肠杆菌的生长被完全抑制,说明线叶金雀花总黄酮能够有效抑制大肠杆菌的生长繁殖,并呈浓度依赖效应,与胎菊水提取物抑制大肠杆菌^[11],苋菜粗提取物抑制金黄色葡萄球菌^[12]和丁香酸抑制阪崎克罗诺杆菌^[26]的生长曲线相似。

2.3.3 透射电子显微镜分析 由图 4 可知,正常状态下大肠杆菌呈杆状,胞内细胞液饱满,细胞形态正常。经 1,

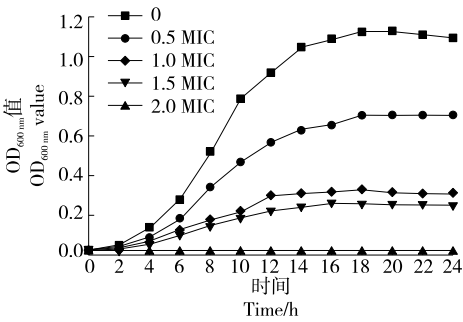


图 3 线叶金雀花总黄酮对大肠杆菌生长曲线的影响
Figure 3 Effects of TFR on growthcurve of *E. coli*

2 MIC 的线叶金雀花总黄酮处理后,大肠杆菌的细胞形态发生了严重损伤,包括细胞塌陷、细胞壁和细胞膜分离、细胞液外泄、细胞破碎等现象,且上述细胞形态学损伤会随线叶金雀花总黄酮作用浓度的增加而加剧,表明线叶金雀花总黄酮能够通过破坏大肠杆菌的细胞形态达到抑制其生长的目的。这与胎菊水提取物抑制大肠杆菌、茶多酚抑菌阪崎克罗诺杆菌、橄榄油多酚抑制蜡样芽孢杆菌的过程一致,且细胞液外泄是胞内蛋白质和核酸等生物大分子含量减少的重要原因之一^[11, 19-20]。此外,天

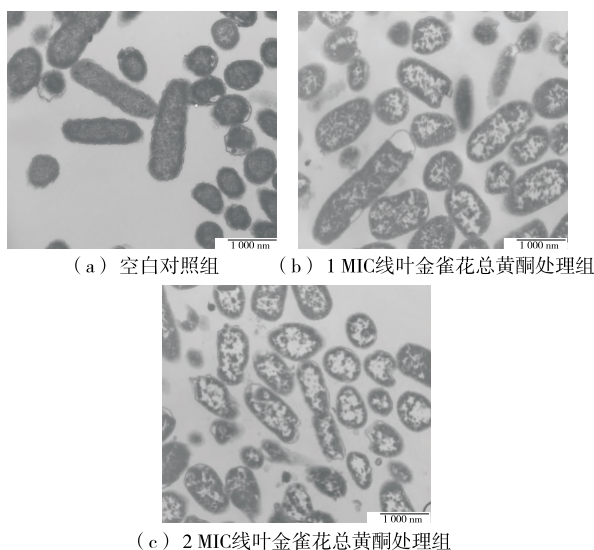


图 4 线叶金雀花总黄酮对大肠杆菌细胞形态的影响

Figure 4 Effects of TFR on cell morphology of *E. coli*

然产物对食源性致病菌的抑菌作用是否可逆与受试细菌的细胞形态受损程度有关,如果受试细菌只是细胞表面形成气孔或囊泡,则通过再培养,受试细胞仍能够正常生长繁殖,相比之下,如果受试细菌出现细胞液外泄,则再培养也无法使细菌正常生长^[20,27]。综上,在线叶金雀花总黄酮的作用下,大肠杆菌的细胞形态发生了不可逆的损伤。

3 结论

研究了线叶金雀花总黄酮的最佳超声提取工艺参数及其对大肠杆菌的抑制作用。结果表明,线叶金雀花总黄酮的最佳提取工艺参数为乙醇体积分数 53%,料液比 1:27 (g/mL),超声温度 77 °C,超声时间 68 min,此工艺条件下线叶金雀花总黄酮的提取率为 2.46%。抑菌试验结果显示,线叶金雀花总黄酮对大肠杆菌的抑菌圈直径、最小抑菌浓度和最小杀菌浓度分别为 (11.40 ± 0.21) mm、12.5 mg/mL 和 25 mg/mL。此外,不同质量浓度的线叶金雀花总黄酮对大肠杆菌具有良好的抑制作用,并可对受试细菌造成严重的细胞形态学损伤。后续将进一步对线叶金雀花总黄酮进行提纯,并分析其活性物质组成,以期能够应用于食品防腐中。

参考文献

- [1] 丁建英,朱颖越,毛广进,等. 线叶金雀花色素的超声辅助提取工艺研究[J]. 食品研究与开发, 2021, 42(18): 49-55.
DING J Y, ZHU Y Y, MAO G J, et al. Optimization of ultrasound-assisted extraction of natural pigments from rooibos[J]. Food Research and Development, 2021, 42(18): 49-55.
- [2] BROOKS J, MAKUNGA N P, HULL K L, et al. Resprouters versus reseeders: Are mild rooibos ecotypes genetically distinct? [J]. Frontiers in Genetics, 2021, 12: 761988.
- [3] SMIT S E, MANIRAFASHA C, MARAIS E, et al. Cardioprotective

function of greenrooibos (*Aspalathus linearis*) extract supplementation in ex vivo ischemic prediabetic rat hearts[J]. Planta Medica, 2022, 88(1): 62-78.

- [4] LAWAL A O, OLUYEDE D M, ADEBIMPE M O, et al. The cardiovascular protective effects of rooibos (*Aspalathus linearis*) extract on diesel exhaust particles induced inflammation and oxidative stress involve NF-kappa B and Nrf2-dependent pathways modulation[J]. Heliyon, 2019, 5(3): e01426.
- [5] SIMPSON M J, HJELMQVIST D, LOPEZ-ALARCON C, et al. Anti-peroxyl radical quality and antibacterial properties of rooibos infusions and their pure glycosylated polyphenolic constituents[J]. Molecules, 2013, 18(9): 11 264-11 280.
- [6] MCALPINE M D, YUMOL J L, WARD W E. Pregnancy and lactation in sprague-dawley rats result in permanent reductions of tibia trabecular bone mineral density and structure but consumption of red rooibos herbal tea supports the partial recovery[J]. Frontiers in Nutrition, 2021, 8: 798936.
- [7] SAMODIEN S, DE KOCK M D, JOUBERT E, et al. Differential cytotoxicity of rooibos and green tea extracts against primary rat hepatocytes and human liver and colon cancer cells: causal role of major flavonoids[J]. Nutrition and Cancer-an International Journal, 2020, 73(10): 2 050-2 064.
- [8] PATEL O, MULLER C J F, JOUBERT E, et al. Therapeutic effects of an aspalathin-rich greenrooibos extract, pioglitazone and atorvastatin combination therapy in diabetic db/db mice[J]. PLoS One, 2021, 16(5): e0251069.
- [9] LOPEZ V, CASEDAS G, PETERSEN-ROSS K, et al. Neuroprotective and anxiolytic potential of greenrooibos (*Aspalathus linearis*) polyphenolic extract[J]. Food & Function, 2022, 13(1): 91-101.
- [10] MTHEMBU S X H, MULLER C J F, DLUDLA P V, et al. Rooibos flavonoids, aspalathin, isoorientin, and orientin ameliorate antimycin A-induced mitochondrial dysfunction by improving mitochondrial bioenergetics in cultured skeletal muscle cells[J]. Molecules, 2021, 26(20): 6 289.
- [11] 费鹏, 邢敏, 焦超芹, 等. 胎菊水提取物对大肠杆菌的抑制作用及应用[J]. 食品与机械, 2020, 36(11): 128-132.
FEI P, XING M, JIAO C Q, et al. Antimicrobial activity of Chrysanthemum buds aqueous extract on *Escherichia coli* and its application in the preservation of cooked pork[J]. Food & Machinery, 2020, 36(11): 128-132.
- [12] GUO L, WANG Y Y, BI X, et al. Antimicrobial activity and mechanism of action of the *Amaranthus tricolor* crude extract against *Staphylococcus aureus* and potential application in cooked meat[J]. Foods, 2020, 9(3): 359.
- [13] CHEN M S, ZHAO Z G, YU S J. The antibiotic activity and mechanisms of sugar beet (*Beta vulgaris*) molasses polyphenols against selected food-borne pathogens[J]. LWT-Food Science and Technology, 2017, 82: 354-360.
- [14] 缪园欣, 廖明星, 孙爱红, 等. 超声-乙醇法提取铁皮石斛花总黄酮及其体外抗氧化性的研究[J]. 中国酿造, 2019, 38(4): 155-159.

- MIAO Y X, LIAO M X, SUN A H, et al. Extraction of total flavonoids from *Dendrobium officinale* flowers by ultrasonic-ethanol synergistic and its antioxidant activity[J]. *China Brewing*, 2019, 38(4): 155-159.
- [15] 全颖莹, 黄冰冰, 贝佳炎, 等. 红豆树叶总黄酮提取工艺优化及抗氧化性研究[J]. *中国野生植物资源*, 2021, 40(8): 20-26.
- QUAN Y X, HUANG B B, BEI J Y, et al. Optimization of extracting process of total flavonoids from the leaves of *Ormosia hosiei* and the antioxidant activity [J]. *Chinese Wild Plant Resources*, 2021, 40(8): 20-26.
- [16] 寇亮, 李璐, 陆丽娜, 等. 响应面法优化柠条锦鸡儿总黄酮超声提取工艺及其体外抗氧化性研究[J]. *食品工业科技*, 2016, 37(17): 225-231.
- KOU L, LI L, LU L N, et al. Optimization of extraction of total flavonoids from *Caragana korshinskii* kom with ultrasound technology by response surface analysis and evaluation of its antioxidant activity in vitro[J]. *Science and Technology of Food Industry*, 2016, 37(17): 225-231.
- [17] 项昭保, 伍晓玲, 钟雪. 响应面优化超声波辅助乙醇提取橄榄叶总黄酮的工艺研究[J]. *食品工业科技*, 2018, 39(10): 211-215.
- XIANG Z B, WU X L, ZHONG X. Ultrasonic-assisted ethanol extraction techniques of the total flavonoids from the leaves of *Cannarium album* by response surface methodology [J]. *Science and Technology of Food Industry*, 2018, 39(10): 211-215.
- [18] 钟尉方, 王岳鸿, 刘红英. 响应面法优化盐地碱蓬草总黄酮提取工艺研究[J]. *核农学报*, 2015, 29(6): 1 135-1 141.
- ZHONG W F, WANG Y H, LIU H Y. Optimization of extraction process of total flavonoids from *Suaeda salsa* by response surface methodology [J]. *Journal of Nuclear Agricultural Sciences*, 2015, 29(6): 1 135-1 141.
- [19] FEI P, XU Y F, ZHAO S J, et al. Olive oil polyphenol extract inhibits vegetative cells of *Bacillus cereus* isolated from raw milk[J]. *Journal of Dairy Science*, 2019, 102(5): 3 894-3 902.
- [20] LI R, FEI P, MAN C X, et al. Tea polyphenols inactivate *Cronobacter sakazakii* isolated from powdered infant formula[J]. *Journal of Dairy Science*, 2016, 99(2): 1 019-1 028.
- [21] BRAMATI L, AQUILANO F, PIETTA P. Unfermented rooibos tea: Quantitative characterization of flavonoids by HPLC-UV and determination of the total antioxidant activity[J]. *Journal of Agricultural & Food Chemistry*, 2003, 51(25): 7 472-7 474.
- [22] 杨沛, 刘碧林, 杨洋, 等. 头花蓼中总黄酮的提取及对鸡脯肉的抑菌效果[J]. *食品工业*, 2021, 42(7): 142-145.
- YANG P, LIU B L, TANG Y, et al. The extraction of total flavonoids from *Polygonum capitatum* and its antibacterial effect on preserved chicken breast meat[J]. *The Food Industry*, 2021, 42(7): 142-145.
- [23] 董飞, 郭晓农. 藜麦种子总黄酮的提取及体外抑菌作用[J]. *甘肃农业科技*, 2018(4): 14-18.
- DONG F, GUO X N. Extraction and antimicrobial activity of total flavonoids from *Chenopodium quinoa* seeds[J]. *Gansu Agricultural Science and Technology*, 2018(4): 14-18.
- [24] 楚策, 刘小幸, 武春晓, 等. 紫叶李皮中总黄酮提取工艺优化及其抑菌作用的研究[J]. *现代预防医学*, 2018, 45(10): 1 850-1 854.
- CHU C, LIU X X, WU C X, et al. Optimization of extraction process of total flavonoids from *Prunus cerasifera* and its antibacterial effect[J]. *Modern Preventive Medicine*, 2018, 45(10): 1 850-1 854.
- [25] 吴萌萌, 刘怡, 严馨, 等. 苦荞麸皮黄酮提取物及有效成分的抑菌活性[J]. *食品与生物技术学报*, 2021, 40(11): 77-83.
- WU M M, LIU Y, YAN X, et al. Optimization of extraction process of total flavonoids from *Prunus cerasifera* and its antibacterial effect[J]. *Modern Preventive Medicine*, 2021, 40(11): 77-83.
- [26] 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: 100-106.
- [27] JOSHI S S, HOWELL A B, D'SOUZA D H. *Cronobacter sakazakii* reduction by blueberry proanthocyanidins[J]. *Food Microbiology*, 2014, 39(5): 127-131.
- (上接第 45 页)
- [21] SZYDŁOWSKA-CZERNIAK A, TROKOWSKI K, KARLOVITS G, et al. Determination of antioxidant capacity, phenolic acids, and fatty acid composition of rapeseed varieties[J]. *J Agr Food Chem*, 2010, 58(13): 7 502-7 509.
- [22] SZYDŁOWSKA-CZERNIAK A, DIANOCZKI C, RECSEG K, et al. Determination of antioxidant capacities of vegetable oils by ferric-ion spectrophotometric methods [J]. *Talanta*, 2008, 76(4): 899-905.
- [23] 王丽艳, 王鑫森, 荆瑞勇, 等. 不同品种亚麻籽营养成分分析与品质综合评价[J]. *食品与机械*, 2021, 37(7): 26-32.
- WANG L Y, WANG X M, JING R Y, et al. Comprehensive quality evaluation and analysis of nutrition components of various flaxseed[J]. *Food & Machinery*, 2021, 37(7): 26-32.
- [24] 王丽艳, 孙强, 王鑫森, 等. 不同亚麻籽品种氨基酸含量测定及品质综合评价[J]. *食品与机械*, 2021, 37(9): 53-59, 72.
- WANG L Y, SUN Q, WANG X M, et al. Measurement of amino acid and comprehensive quality assessment of different flaxseed variety[J]. *Food & Machinery*, 2021, 37(9): 53-59, 72.
- [25] 王丽艳, 王鑫森, 荆瑞勇, 等. 市售 15 个产区黑木耳营养品质综合评价[J]. *食品与机械*, 2021, 37(5): 227-232.
- WANG L Y, WANG X M, JING R Y, et al. Comprehensive evaluation of nutrition quality of commercial *Auricularia auricular* from 15 production area[J]. *Food & Machinery*, 2021, 37(5): 227-232.
- [26] OOMAH B D, MAZZA G, KENASUHU E O. Flavonoid content of flaxseed. Influence of cultivar and environment[J]. *Euphytica*, 1996, 90(2): 163-167.
- [27] QUEZADA N, CHERIAN G. Lipid characterization and antioxidant status of the seeds and meals of *Camelina sativa* and flax[J]. *Eur J Lipid Sci Tech*, 2012, 114(8): 974-982.