

蒲公英植酸对沙门氏菌抑制作用及其抑菌机理研究

高飞雄,梁引库*,李云祥

陕西理工大学生物科学与工程学院,汉中 723000

摘要:为探究蒲公英植酸对沙门氏菌的抑制作用及其抑菌机理。本文利用沉淀法和离子交换法提取蒲公英植酸,滤纸片法分析蒲公英植酸对沙门氏菌(*Salmonella*)的抑菌作用,倍比稀释法研究蒲公英植酸的最低抑菌浓度。通过分析沙门氏菌的细胞通透性和生长动力学,结合扫描电镜和荧光显微镜研究了蒲公英植酸对沙门氏菌的抑菌机理,表明蒲公英植酸对沙门氏菌具有很好的抑菌能力,其最小抑菌浓度为0.2 mg/mL。而且植酸对沙门氏菌的抑制作用是通过破坏细胞膜达到抑菌的效果,并且植酸浓度越高,抑菌效果越显著。这表明蒲公英植酸可以有效地抑制沙门氏菌生长,其主要是通过破坏菌体细胞膜完整性,增加细胞薄膜的通透性,使细胞内容物外溢达到抑制细菌生长的目的。

关键词:蒲公英;植酸;沙门氏菌;抑菌作用;抑菌机制

中图分类号:R285

文献标识码:A

文章编号:1001-6880(2019)6-0975-07

DOI:10.16333/j.1001-6880.2019.6.008

Antibacterial effect and mechanism of dandelion phytic acid on *Salmonella*

GAO Fei-xiong, LIANG Yin-ku*, LI Yun-xiang

School of Biological Science and Engineering, Shaanxi University of Technology, Hanzhong, 723000, China

Abstract:To explore the antibacterial effect of dandelion phytic acid on *Salmonella* and its antibacterial mechanism. In this paper, the methods of precipitation and ion exchange were used to extract phytic acid from dandelion. The antibacterial effect of dandelion phytic acid on *Salmonella* was analyzed by filter paper method and the minimum inhibitory concentration of dandelion phytic acid was studied by dilution method. And the bacteriostatic mechanism of dandelion phytic acid against *Salmonella* was explored by analyzing the cell permeability and growth kinetics of *Salmonella*, combined with scanning electron microscopy and fluorescence microscopy. It indicated that dandelion phytic acid had good antibacterial ability against *Salmonella* and its minimum inhibitory concentration was 0.2 mg/mL. Moreover, the inhibitory effect of phytic acid on *Salmonella* was achieved by destroying cell membrane, and the higher the phytic acid concentration, the more significant the bacteriostatic effect. It is indicated that dandelion phytic acid can effectively inhibit the growth of *Salmonella*, mainly by destroying the cell membrane integrity of the cells, increasing the permeability of the cell membrane, and allowing the cell contents to overflow to inhibit the growth of bacteria.

Key words: dandelion; phytic acid; *Salmonella*; bacteriostatic characteristics; antibacterial mechanism

蒲公英(*Taraxacum mongolicum* Hand-Mazz)是一种药食两用的多年生草本植物,具有广谱抗菌、保肝利胆、抗内毒素、健胃和免疫促进作用。现代医药学研究确认,蒲公英同属植物中含有多种生物活性成分,主要包括黄酮类、倍半萜内酯类、香豆素类、三萜类、植物甾醇类、胡萝卜素类、色素类、挥发油

等^[1,2]。根据相关研究发现,蒲公英花中含有较丰富的酚酸类和黄酮类物质^[3,4],而这些物质在抗菌消炎、抗氧化、抗肿瘤等方面均具有较强的生物活性^[5]。目前,中国食品添加剂种类繁多,但多数为化学添加剂,具有一定的安全隐患,而安全性高、无毒副作用且具有一定保健功能的植物天然食品添加剂较少。因此开发无毒、天然、安全且具有保健作用的食物添加剂是当今食品添加剂发展的新趋势^[6,7]。植酸是从植物种子中提取的一种有机磷酸类化合物,广泛应用于食品、医药和日用化工等行

收稿日期:2018-12-25 接受日期:2019-05-21

基金项目:陕西理工大学人才启动项目(SLGQD1814);陕西省教育厅重点实验室项目(18JS018)

*通信作者 Tel:86-013892607820; E-mail:liangyinku26@163.com

业^[8],尤其是在食品行业中,植酸因其良好的抗氧化性能和高度络合金属离子的特性,常用于水产品、酒类、新鲜果蔬等的稳定剂和保鲜剂^[9,10]。

沙门氏菌(*Salmonella*)是一种常见食品污染源,是引起食物中毒和食源性疾病爆发的主要病原菌之一。据统计,沙门氏菌引起的食物中毒常居世界首位^[11]。研究表明,全世界每年因沙门氏菌感染而导致死亡的病例就达到了约300万起^[12]。因此开发对沙门氏菌具有一定抑制作用的天然食品添加剂就成为可能。

本研究从广谱抗菌植物蒲公英中提取了蒲公英植酸,分析了蒲公英植酸对沙门氏菌的抑制作用,并分析了蒲公英植酸对沙门氏菌的生长动力学、细胞通透性和细胞膜的影响,以期对沙门氏菌的防治提供理论基础以及为天然食品添加剂的研发提供参考。

1 实验材料

1.1 实验材料与试剂

蒲公英,购于汉中药材市场,经陕西理工大学李新生教授鉴定为菊科蒲公英(*Taraxacum mongolicum*)。植酸标品(纯度 $\geq 94\%$,购于上海源叶生物有限公司)。沙门氏菌(*Salmonella typhimurium*, ATCC14028)由中国药品生物制品检定所中国医学细菌保藏中心提供,-20℃低温冰箱冻存。实验前复苏传代使用。

蛋白胨、酵母浸粉、琼脂(购自北京奥博星生物技术有限责任公司);碘化丙啶(PI)(购自sigma公司);氯化钠(购自天津市盛奥化学试剂有限公司)

1.2 仪器与设备

ACQUITY 高效液相色谱仪(美国安捷伦公司);摇摆式粉碎机(永康市天祺盛世工贸有限公司);旋转蒸发仪(上海爱郎仪器有限公司);JD-150E型超声波清洗机(宁波金达超声波仪器厂);电热恒温鼓风干燥箱(上海跃进医疗器械有限公司);SHB-III型循环水式多用真空泵(郑州长城科工贸有限公司);HH-54型电热恒温水浴锅(北京科伟永兴仪器有限公司);THZ-82气浴恒温振荡器(常州市国立实验设备研究所)FA2204B型电子天平(上海精密科学仪器有限公司);TGL-20台式高速离心机(湖南湘仪实验室仪器开发有限公司);UV2550型分光光度计(日本岛津公司);DHP-9162型电热恒温培养箱(上海一恒科学仪器有限公司);SJ-CJ-2FD双人单面洁净工作台(苏州苏洁净化设备有限公司);

LDZX-50KBS立式压力蒸汽灭菌锅(上海申安医疗器械厂);VEGA3-XMU扫描电镜(沈阳华仪时代科技有限公司);倒置荧光显微镜XSP-63XDV(上海光学仪器一厂)。

2 实验方法

2.1 蒲公英植酸的提取与纯化

取粉碎后过筛蒲公英30g,加12倍量的水,调pH为2,于25℃下搅拌7~8h。过滤取滤液,用石灰水调节pH为4,然后加入10%NaOH,使最终pH值为6.5。静置1h后抽滤,弃滤液,用蒸馏水洗涤沉淀2~3次,得粗品蒲公英植酸钙。向提取的植酸钙中加少量水和稀盐酸,搅拌30min,过滤后取滤液。将上述所得的可溶性植酸盐上阳离子交换柱,流速12mL/min,收集过柱液即为蒲公英植酸,70~80℃条件下浓缩蒲公英植酸至瓶内溶液呈稀稠状,然后冷冻干燥48h,即为植酸干粉^[13]。

2.2 高效液相测定蒲公英植酸

分别配制2mg/mL的植酸标品溶液和样品溶液,过0.22 μm 超滤膜,进行高效液相色谱分析,色谱条件如下:色谱柱为DiKMA Diamonsil C₁₈柱(250mm \times 4.6mm,5 μm),柱温30℃,等度洗脱,流动相5mmol/LNaAc,流速0.5mL/min,UV254nm^[14]。

2.3 蒲公英植酸对沙门氏菌的抑制作用

利用滤纸片法^[15,16]分析蒲公英植酸对沙门氏菌的抑制作用。配制2mg/mL的植酸样品溶液,将高压蒸汽灭菌的无菌滤纸片浸入其中,备用。将冻存的沙门氏菌菌种于室温时转涂LB固体培养基,37℃过夜活化,4℃冰箱保存备用。挑活化后单菌落于LB液体培养基中37℃、170rpm摇床中培养5h至OD_{600nm}为0.6,取100 μL 涂布于LB固体培养基上。然后用镊子将分别蘸有植酸和无菌水的无菌滤纸片贴于培养基平板表面,作为实验组和对照组。在37℃倒置培养24h后测定抑菌圈直径大小,以抑菌圈直径为指标评价提取液的抑菌效果。

2.4 蒲公英植酸最小抑菌浓度测定

实验采用倍比稀释法^[17]。按照2.3的方法,将活化后的单菌落在摇床中培养12h,用液体LB培养基将菌液浓度调到10⁷CFU/mL。分别向装有2mL LB培养基的10mL试管中加入蒲公英植酸样品,让植酸样品与一定量的LB液体培养基在试管中进行倍比稀释,最终使菌液中植酸浓度为0、0.1、0.2、0.4、0.6、0.8mg/mL,以0mg/mL作为对照,分别于37℃、170rpm培养24h,测OD_{600nm}值,与对照

比较, $OD_{600\text{ nm}}$ 下降一半及以上的第一个稀释浓度为蒲公英植酸的最低抑菌浓度, 设为 $MIC^{[18]}$ 。

2.5 蒲公英植酸对细胞通透性影响

按照 2.4 的方法培养沙门氏菌, 将浓度为 10^7 CFU/mL 的沙门氏菌菌液于 6 000 rpm 离心 10 min, 收集菌体, PBS (pH5.8) 洗三次。用含 0.01% Tween80 的 PBS 悬浮菌体, 使其浓度为 10^9 CFU/mL。分别向装有 2 mL 悬浮菌体的 10 mL 试管中加入蒲公英植酸提取物, 使溶液中蒲公英植酸提取物最终浓度为 $0 \times MIC$ 、 $0.5 \times MIC$ 、 $1 \times MIC$ 、 $2 \times MIC$ 。以 $0 \times MIC$ 作为空白对照, 再设不加菌液对照组, 其中无菌液但含有 $2 \times MIC$ 浓度的植酸, 37°C 、180 rpm 培养, 分别于 0、1、2、4、6 h 取样 200 μL , 8 000 rpm 离心 5 min 后测上清液 $OD_{260\text{ nm}}$ 值。

2.6 植酸对沙门氏菌生长曲线的影响

按照 2.4 的方法培养沙门氏菌。分别向装有 4 mL LB 液体培养基的 10 mL 试管中加入蒲公英植酸, 使培养基中植酸最终浓度为 0 、 1 、 $3 \times MIC$, 以 $0 \times MIC$ 作为对照, 按体积分数 4% (V/V) 接入备用菌液, 分别于 37°C 、200 rpm 培养, 每隔 3 h 取样 200 μL , 测其 $OD_{600\text{ nm}}$ 值。根据测量结果, 绘制生长动力学曲线。

2.7 扫描电镜 (SEM) 分析蒲公英植酸对沙门氏菌的抑制作用

按照 2.4 的方法培养沙门氏菌。分别取 2 mL 悬浮菌体, 加入蒲公英植酸, 使溶液中蒲公英植酸最终浓度为 0 、 0.5 、 1 、 $2 \times MIC$, 以 $0 \times MIC$ 作为对照, 37°C 、200 rpm 培养 5 h, 取 1 mL 的菌体样品, 8 000 rpm 离心 5 min, 用 PBS (pH5.8) 洗涤 2 次, 然后加入 2.5% 戊二醛 (以 25% 戊二醛、去离子水和 PBS 为 1

:4:5 的比例配制成体积分数为 2.5% 的戊二醛溶液) 固定 4 h, 使用呈梯度浓度的乙醇脱水 (50%、60%、70%、80%、90%、100% 乙醇, 重悬浸泡 10 min, 8 000 rpm 离心 5 min), 用真空冷冻干燥机干燥 12 h。镀金后上 SEM 观察^[19-21]。

2.8 荧光染色观察

按照 2.3 的方法培养活化后的沙门氏菌 3 h 至其 $OD_{600\text{ nm}}$ 为 0.4。分别将直径 15 mm 无菌盖玻片放入多孔细胞培养皿 4 孔中, 每孔加 0.5 mL 悬浮菌体和 1.5 mL LB 液体培养基, 37°C 下过夜培养 24 h 后, 更换培养基, 分别加入蒲公英活性成分植酸, 使溶液中蒲公英植酸最终浓度为 0 、 0.25 、 0.5 、 $1 \times MIC$, 以 $0 \times MIC$ 作为对照。培养至 5 h 时, 用 PBS 洗玻片 2 次。然后在黑暗条件下, 用 PI 染色 5 分钟, PBS 洗玻片 2 次去除残留染液, 使用荧光显微镜观察。

2.9 数据分析

利用 SPSS 22.0、Origin 8.0 软件进行数据的分析、图表的制作等, 数据进行统计学评估, 使用单因素方差分析比较差异组, * $P < 0.05$ 和 ** $P < 0.01$ 分别代表差异性显著和极显著, 抑菌机理实验重复三次, 实验结果取平均值。

3 结果与讨论

3.1 植酸的提纯与鉴定

高效液相色谱分析植酸标准品和蒲公英植酸样品, 如图 1 表明, 蒲公英植酸样品液相色谱图 (图 1A) 在 4.8 min 有一色谱峰, 与植酸标准品液相色谱图 (图 1B) 相同, 这表明提取的蒲公英样品为蒲公英植酸, 通过面积法计算蒲公英提取液中蒲公英植酸的纯度为 86.51%。

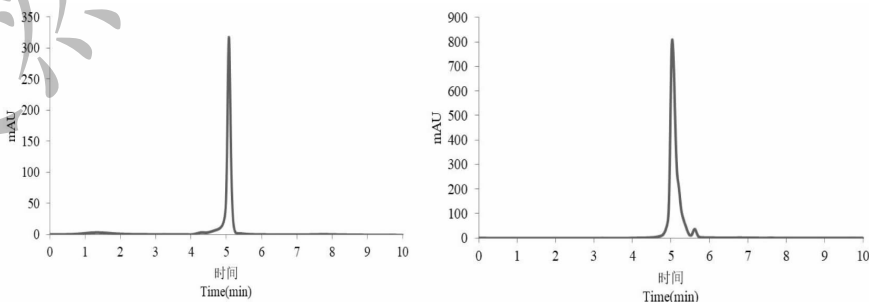


图 1 液相色谱分析蒲公英植酸

Fig. 1 Analysis of dandelion phytic acid by liquid chromatography

注: A 为植酸标准品液相色谱图, B 为植酸样品液相色谱图。

Note: A is the liquid chromatogram of phytic acid standard, B is the liquid chromatogram of phytic acid sample.

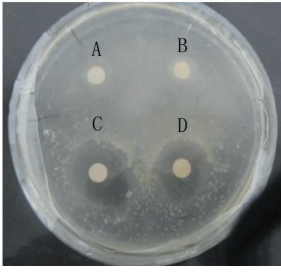


图2 植酸对沙门氏菌的抑菌效果

Fig. 2 Antibacterial effect of phytic acid on *Salmonella*

注:A和B为无菌水对照,C和D为植酸实验组。

Note:A and B are sterile water controls, and C and D are phytic acid experimental groups.

表1 蒲公英植酸对沙门氏菌的最小抑菌浓度测定(mg/mL)

Table 1 Determination of the minimum inhibitory concentration of dandelion phytic acid on *Salmonella*

名称	浓度 Concentrations					
	0	0.1	0.2	0.4	0.6	0.8
吸光度 Absorbance	-	-	+	+	+	+

注:“-”指与生长对照比较 $OD_{600\text{nm}}$ 下降 $<50\%$ ，“+”指与生长对照比较 $OD_{600\text{nm}}$ 下降 $\geq 50\%$ 。

Note:“-” refers to a decrease of $OD_{600\text{nm}}$ of $<50\%$ compared to the growth control,“+” means a decrease of $OD_{600\text{nm}}$ by $\geq 50\%$ compared to the growth control.

3.4 植酸对沙门氏菌细胞膜通透性的影响

细胞膜是细菌的重要组成部分,具有重要的屏障作用,但当菌体处于不利生长条件或者受到抑菌剂作用时,其细胞膜就会遭到破坏,使细胞内的大分子物质(如DNA、RNA等)通过细胞膜外泄到菌悬液中,而核酸物质在260nm处有吸收峰,导致菌悬液在260nm处的吸光度增大。因此,可以通过测定菌悬液在260nm处的吸光度值来判断菌体细胞膜的完整性^[22]。由图3可知,空白对照组的菌悬液在培养6h时间内,其在260nm波长的紫外吸收光度值变化较小。不加菌液对照组基本处于平稳状态,可排除植酸对吸光度的影响。实验组菌悬液在同一时间内与对照组相比在260nm波长的紫外吸收变化较大,差异达到显著水平,而且这一变化随着时间的推移而增大。这表明植酸使沙门氏菌细胞内容物外泄,导致培养液中细胞内容物浓度增加。因此可推测蒲公英植酸是破坏沙门氏菌细胞膜,使沙门氏菌内部的核酸等大分子物质外泄,进而导致沙门氏菌死亡而达到抑制沙门氏菌生长的作用。

3.5 植酸对沙门氏菌生长曲线的影响

蒲公英植酸对沙门氏菌生长影响(图4)表明,对照组沙门氏菌生长符合细菌的典型生长规律,即S型生长。在菌液中加入蒲公英植酸后,细菌的生

3.2 蒲公英植酸对沙门氏菌的抑制作用

由图2可知,对照组无菌水纸片周围没有抑菌圈,表明水对细菌的生长没有影响。实验组蒲公英植酸纸片周围出现抑菌圈,其抑菌圈直径可达13.38mm,表明蒲公英植酸对沙门氏菌是具有一定的抑菌效果。

3.3 最小抑菌浓度测定

浓度梯度分析沙门氏菌的最小抑菌浓度,由表1可知,随着蒲公英植酸浓度的增加,蒲公英植酸对沙门氏菌的生长抑制能力逐渐加大,当植酸的浓度为0.2mg/mL时,沙门氏菌 $OD_{600\text{nm}}$ 下降 $\geq 50\%$,可见,蒲公英植酸对沙门氏菌的最小抑菌浓度为0.2mg/mL。

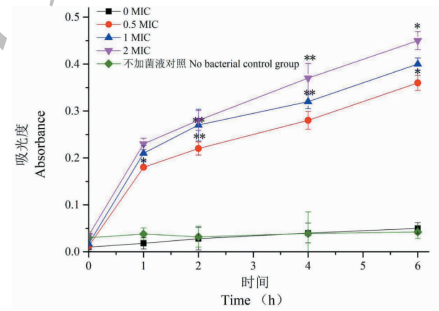


图3 植酸对沙门氏菌细胞膜通透性影响

Fig. 3 Effect of phytic acid on cell permeability of *Salmonella*

注:不加菌液对照组:无菌液,含有浓度为 $2 \times \text{MIC}$ 的植酸。

Note:No bacterial control group:sterile solution containing phytic acid at a concentration of 2 MIC.

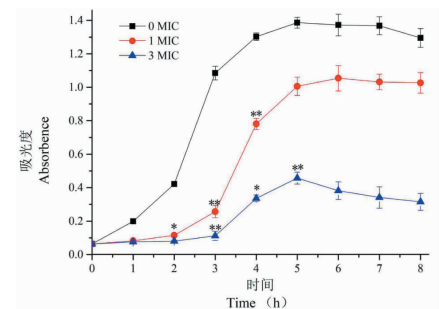


图4 不同浓度植酸作用下沙门氏菌的生长曲线

Fig. 4 Growth curve of *Salmonella* with different concentrations of phytic acid

长曲线呈现出明显的差别。在 1 倍和 3 倍 MIC 浓度植酸作用下, 2 h 后菌液在 600 nm 处的 OD 值显著低于对照组。这表明蒲公英植酸对沙门氏菌有抑制作用, 并且浓度不同, 抑制效果也不同, 较高浓度的植酸是可以极大地抑制沙门氏菌的生长, 因此其生长曲线始终处于较低的平稳状态。而低浓度的植酸虽然也能够有效抑制细菌活性, 但效果不如较高浓度, 从而导致其菌液 OD 值有所上升。

3.6 扫描电镜(SEM)

不同浓度植酸对沙门氏菌进行处理, 扫描电镜观察发现, 对照组沙门氏菌其结构比较完整, 形态饱满, 呈现典型的短杆状(图 5A)。而植酸处理后的沙门氏菌菌体欠饱满(图 5B), 部分细胞表面褶皱,

形态扭曲变形(图 5C), 并且在细胞表面出现孔洞(图 5D)。由此可见, 植酸对沙门氏菌的细胞膜具有损坏作用, 同时, 高浓度的植酸比低浓度的植酸对细胞更具有破坏力, 从而导致细胞膜受损, 造成细胞内容物的外泄, 这与沙门氏菌膜通透性分析一致。

3.7 荧光染色观察

PI 是一种细胞核染料, 可以对坏死细胞的 DNA 和 RNA 进行染色并呈现红色荧光^[23], 当细胞受损后细胞内 DNA 和 RNA 外泄可导致红色荧光出现。利用此原理, 通过 PI 对沙门氏菌进行单染后显微镜观察(图 6)。结果表明, 对照组无红色荧光(图 6A), 表明沙门氏菌菌液在没有加入植酸时, 无细胞坏死。图 6B、C 和 D 中有红色荧光出现, 并且随着

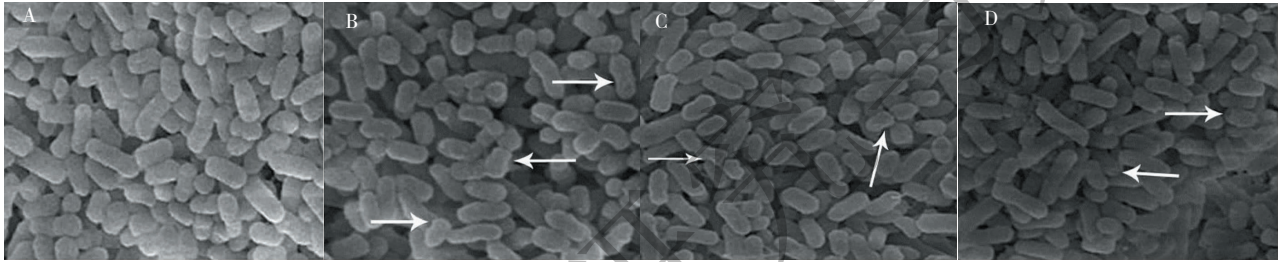


图 5 菌株扫描电镜图(10 000 ×)

Fig. 5 Scanning electron microscope image of strains(10 000 ×)

注: A 为空白对照组; B、C、D 实验组植酸浓度依次是 0.5 MIC、1 MIC、2 MIC。

Note: A is a blank control group; the phytic acid concentrations of the B, C, and D experimental groups are 0.5 MIC, 1 MIC, and 2 MIC.

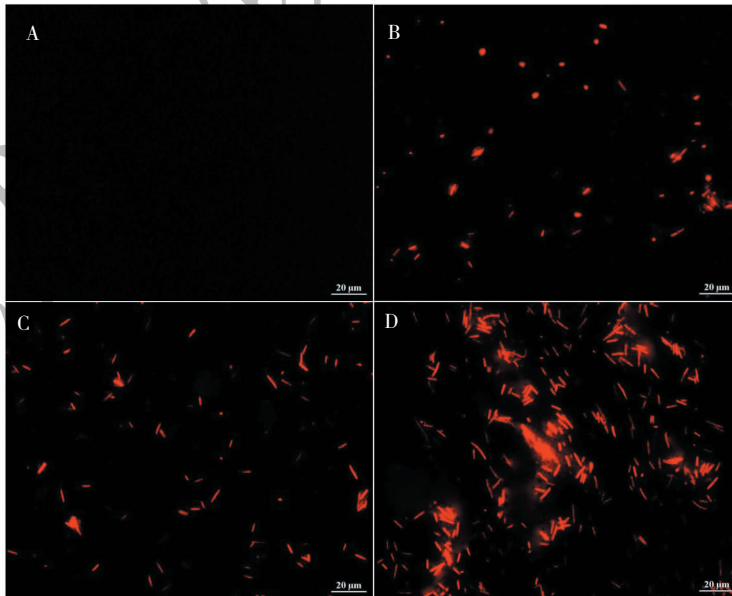


图 6 PI 染色荧光图(40 ×)

Fig. 6 PI staining fluorescence map(40 ×)

注: 图 A 为空白对照组; 图 B、C、D 实验组植酸浓度依次是 0.25 MIC、0.5 MIC、1 MIC。

Note: Fig. A is the blank control group; the phytic acid concentrations in the experimental groups B, C, and D are 0.25 MIC, 0.5 MIC, and 1 MIC.

植酸浓度的增加,红色荧光出现的范围也在增大,这表明植酸可以通过改变沙门氏菌膜通透性促使细胞凋亡,导致细胞内的核酸物质外流,从而被 PI 荧光染料染成红色,且植酸浓度越大,对细胞膜通透性影响越大。

4 结论

本研究表明,蒲公英植酸对沙门氏菌具有较强的抑制和杀灭作用,通过多组实验表明,蒲公英植酸浓度在 2 mg/mL 时对沙门氏菌的抑菌圈直径为 13.38 mm。通过对其抑菌机理研究发现,植酸通过破坏沙门氏菌细胞膜通透性从而达到抑菌甚至是灭菌的效果,并且浓度越高,其抑菌效果越好。最小抑菌浓度分析表明,植酸对沙门氏菌的最小抑菌浓度为 0.2 mg/mL。通透性影响和生长动力学实验证明植酸对沙门氏菌的抑制是通过破坏细胞膜的完整性,使细胞渗透性增加,导致菌体细胞质外渗,进而使细胞凋亡,而且植酸浓度越高,细胞膜破坏就越严重,菌体细胞质外渗也就越明显。扫描电镜和荧光染色进一步证明了植酸可以使细菌表面褶皱,甚至破裂,进而造成细胞凋亡以及内容物的外泄,并且这种现象随着植酸含量的增加变得越来越严重。本研究揭示了蒲公英植酸对沙门氏菌的抑菌性能及抑菌机理,以为沙门氏菌的防治提供理论基础以及为基于天然食品添加剂的研发提供参考。

参考文献

- Huang CJ, Lin XD, Li J, et al. Research progress in chemical constituents of dandelion[J]. Mod Chin Med(中国现代中药), 2006, 8(5): 32-33.
- Shi SY, Zhou HH, Zhang YP, et al. Chemical constituents from *Neo-Taraxacum siphonathum* [J]. Chin J Chin Mater Med(中国中药杂志), 2009, 34: 1002-1004.
- Weij JZ, Li HF, Qiao H, et al. Separation and purification of total flavonoids from taraxacum mongolicum inflorescences [J]. Chin Reme Clin(中国药物与临床), 2014, 14(1): 19-21.
- Yang L, Li HF, Diao HP, et al. Total phenolic acid content, total flavonoid content and antioxidant activity of dandelion flowers[J]. Food Sci(食品科学), 2011, 17: 160-163.
- Hu C, Kitts DD. Dandelion (*Taraxacum officinale*) flower extract suppresses both reactive oxygen species and nitric oxide and prevents lipid oxidation *in vitro* [J]. Phytomedicine, 2005, 12: 588-597.
- Chu YY. Application status and research progress on food additives[J]. Food and Drug(食品与药品), 2014, 16: 379-

- 380.
- Chen F. Problems and countermeasures in the application of food additives in China[J]. Chin Food Safety Magaz(食品安全导刊), 2017, 3: 33-33.
- Lee BJ, Hendricks DG. Phytic acid protective effect against beef round muscle lipid peroxidation[J]. J Food Sci, 2010, 60: 241-244.
- Zhao YS, Yu R. Food preservation mechanism and application of phytic acid[J]. Chin Cond(中国调味品), 2007, 3: 56-58.
- Ge XP. Advance in production and application research of phytase[J]. J Shanghai Ocean Univ(上海海洋大学学报), 2003, 12: 359-362.
- Liu H. Food safety problems caused by *Salmonella* and its prevention and treatment[J]. Graz Veter Sci(畜牧兽医学), 2017, 9: 29.
- Adzitey F, Huda N, Ali GR. Prevalence and antibiotic resistance of *Campylobacter*, *Salmonella*, and *L. monocytogenes* in ducks: A review[J]. Foodborne Pathog Dis, 2012, 9: 498-505.
- Jin QJ, Liu JS, Bao XC, et al. Study on the extraction of phytic acid from rice bran[J]. Shandong Chem Ind(山东化工), 2007, 1: 7-8.
- Chen JH. Determination of phytic acid in food by reversed phase high performance liquid chromatography[J]. Chromatogr(色谱), 1990, 8: 386-387.
- Duan JL, Xu JG. Study on antimicrobial effects of mulberry red pigment[J]. Food Sci(食品科学), 2007, 28(10): 87-89.
- Li CR, Yan ZK. Study on the antibacterial effect of cypress leaf extract on food [J]. J Anhui Agric Sci(安徽农业科学), 2005, 33: 294-299.
- Li YY, Song GS. Study on bacteriostasis of chestnut shell extract[J]. Chem Ind Forest Prod(林产化学与工业), 2004, 24(4): 61-64.
- Szczepaniak J, Cieslik W, Romanowicz A, et al. Blocking and dislocation of, *Candida albicans*, Cdr1p transporter by styrylquinolines[J]. Int J Antimicrob Agents, 2017, 50: 171-176.
- Ma Q, Zhongauthor Q. Antimicrobial activities of lauric arginate and cinnamon oil combination against foodborne pathogens; Improvement by ethylenediaminetetraacetate and possible mechanisms[J]. Lwt-food Sci Technol, 2016, 72: 9-18.
- Memariani H, Shahbazzadeh D, Sabatier JM, et al. Mechanism of action and *in vitro* activity of short hybrid antimicrobial peptide PV3 against *Pseudomonas aeruginosa* [J]. Biochem Bioph Res Co, 2016, 479: 103-108.