

沙棘原浆的体外抗氧化、抑菌及免疫调节活性

安琪¹, 齐亭亭¹, 王青山¹, 李明哲², 麦锐杰¹, 任婧楠¹, 张智锋^{1,2}, 范刚^{1*}

(1. 华中农业大学食品科学技术学院, 环境食品学教育部重点实验室, 湖北武汉 430070)

(2. 宁夏灵犀万象健康产业发展有限公司, 宁夏银川 751400)

摘要: 为探究沙棘油质量分数及添加麦卢卡蜂蜜对沙棘原浆功能活性的影响, 该文测定了含不同质量分数沙棘油的醇见沙棘原浆和醇见麦卢卡沙棘原浆的体外抗氧化、抑菌及免疫调节作用。抗氧化实验采用 DPPH 和 ABTS 法测定; 抑菌实验选取大肠杆菌、金黄色葡萄球菌和枯草芽孢杆菌作为受试菌, 采用牛津杯法测定抑菌圈直径、琼脂扩散法测定最低抑菌浓度、微量肉汤稀释法测定最低杀菌浓度; 免疫调节实验选取小鼠巨噬细胞株系 RAW 264.7 作为靶细胞, 测定 IL-1 β 、TNF- α 和 IL-6 三种免疫因子的含量。结果表明含不同质量分数沙棘油的醇见沙棘原浆和醇见麦卢卡沙棘原浆的 ABTS⁺ 自由基清除率约为 10 100 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ Vc 当量, 对大肠杆菌、金黄色葡萄球菌和枯草芽孢杆菌的抑菌圈直径均在 9.00 mm 以上, 含 6.0 g/100 mL 沙棘油的醇见麦卢卡沙棘原浆能够抑制 LPS 诱导的 IL-1 β 和 IL-6 水平上升。另外, 随着沙棘油质量分数的增高, 其抗氧化能力和抑菌能力均增强。增高沙棘油质量分数可提高沙棘原浆体外抗氧化及抑菌作用, 添加麦卢卡蜂蜜使沙棘原浆具有免疫调节作用。

关键词: 沙棘; 沙棘油; 麦卢卡蜂蜜; 抗氧化; 抑菌圈; 细胞因子

文章编号: 1673-9078(2026)04-40-50

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2026.4.0221

In vitro Antioxidant, Antibacterial, and Immunomodulatory Activities of Sea-buckthorn Puree

AN Qi¹, QI Tingting¹, WANG Qingshan¹, LI Mingzhe², MAI Ruijie¹, REN Jingnan¹, ZHANG Zhifeng¹, FAN Gang^{1*}

(1. College of Food Science and Technology, Huazhong Agricultural University, Key Laboratory of Environment Correlative Dietology of Ministry of Education, Wuhan 430070, China)

(2. Ningxia Lingxi Wanxiang Health Industry Development Co. Ltd., Yinchuan 751400, China)

Abstract: To investigate the effects of sea-buckthorn oil content and manuka honey addition on the functional activities of sea-buckthorn puree, the *in vitro* antioxidant, antibacterial, and immunomodulatory effects of Chunjian sea-buckthorn puree with different oil contents and with or without manuka honey were determined. The antioxidant experiment was conducted using DPPH and ABTS methods. In the antibacterial experiment, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, and *Bacillus subtilis* were selected as the test strains. The Oxford cup method was used to determine the diameter of the antibacterial zone, the agar diffusion method was used to determine the minimum inhibitory concentration (MIC), and the micro-broth dilution method was used to determine the minimum bactericidal concentration (MBC). In the immune regulation experiment, the mouse macrophage strain RAW 264.7 was

引文格式:

安琪,齐亭亭,王青山,等.沙棘原浆的体外抗氧化、抑菌及免疫调节活性[J].现代食品科技,2026,42(4):40-50.

AN Qi, QI Tingting, WANG Qingshan, et al. *In vitro* antioxidant, antibacterial, and immunomodulatory activities of sea-buckthorn puree [J]. Modern Food Science and Technology, 2026, 42(4): 40-50.

收稿日期: 2025-02-19; 修回日期: 2025-03-20; 接受日期: 2025-03-29

基金项目: 银川市科技计划项目 (2024NYHZC006); 国家重点研发计划项目 (2024YFF1106605); 湖北省重点研发计划项目 (2024BBB036); 湖北省科技创新人才计划项目 (2023DJC116, 2024DJC029); 阳新县科技计划项目 (N202430)

作者简介: 安琪 (1998-), 女, 博士研究生, 研究方向: 果蔬加工技术理论, E-mail: an_qi@webmail.hzau.edu.cn

通讯作者: 范刚 (1982-), 男, 博士, 教授, 研究方向: 果蔬加工技术理论与风味化学, E-mail: fangang@mail.hzau.edu.cn

selected, and the levels of cytokines such as IL-1 β , TNF- α , and IL-6 were measured. The results showed that the ABTS free radical scavenging rates of Chunjian sea-buckthorn puree with different oil contents and with or without manuka honey were approximately 10 100 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ Vc equivalent. The inhibition zone diameters against *E. coli*, *S. aureus*, and *B. subtilis* were all more than 9 mm. The LPS-induced increase in IL-1 β and IL-6 levels was inhibited by Chunjian sea-buckthorn puree containing 6 g/100 mL oil and manuka honey. Moreover, with the increase in oil content, the antioxidant and antibacterial abilities of sea-buckthorn puree were enhanced. The *in vitro* antioxidant and antibacterial effects of sea-buckthorn puree were improved by increasing the oil content, and the immunomodulatory effects of sea-buckthorn puree increased with the addition of manuka honey.

Key words: sea buckthorn; sea buckthorn oil; manuka honey; antioxidant; inhibition zone; cytokine

沙棘 (*Hippophae fructus* L.) 又名醋柳、酸刺, 为胡颓子科 (Elaeagnaceae) 的灌木或小乔木, 主要分布于我国西北地区^[1,2]。我国是世界上天然沙棘资源最丰富的国家, 也是人工种植沙棘面积最大的国家^[3]。沙棘属于药食同源植物, 其果皮、果肉、叶和籽中富含多种营养物质和生物活性物质, 包括维生素、有机酸、氨基酸、脂肪酸、微量元素、多酚和黄酮等, 被广泛应用于食品、药品和保健品行业^[4,5]。沙棘原浆是一种常见的沙棘加工制品, 由沙棘果实压榨后得到, 可作为沙棘饮料、沙棘果醋等深加工产品的原料^[6]。沙棘油是一种来自沙棘籽和沙棘果肉的功能性油脂, 含有丰富的多不饱和脂肪酸、酚类、维生素和甾醇等生物活性成分, 具有抗氧化、抑菌、抗炎和提高免疫力等作用^[7,8]。麦卢卡蜂蜜是一种蜜源来自新西兰本土植物麦卢卡树 (*Leptospermum scoparium*) 的蜂蜜, 含有甲基乙二醛 (Methylglyoxal, MGO) 等生物活性成分, 具有抗氧化、抑菌、抗炎、免疫调节、抗肿瘤和抗病毒等作用^[9,10]。研究表明麦卢卡蜂蜜具有与其他抗菌药物的协同抗菌作用, 可降低细菌对抗菌药物的耐药性, 在联合抗菌方面具有广泛的应用潜力^[11]。

该研究以沙棘原浆为研究对象, 研究了不同沙棘油质量分数和是否添加麦卢卡蜂蜜对其体外抗氧化、抑菌及免疫调节作用的影响。在抗氧化方面, 采用 DPPH 和 ABTS 法测定其抗氧化能力; 在抑菌方面, 选取金黄色葡萄球菌、大肠杆菌和枯草芽孢杆菌作为供试菌, 采用牛津杯法测定沙棘原浆的抑菌圈, 并测定其最低抑菌浓度及最低杀菌浓度; 在免疫调节方面, 选取小鼠巨噬细胞株系 RAW 264.7 为靶细胞, 检测细胞存活率及相关细胞因子等免疫学指标。该研究旨在为充分利用沙棘资源、进一步开发沙棘相关功能性食品和扩大沙棘的应用场景提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 原料

醇见沙棘原浆 (沙棘油质量分数 4.5 g/100 mL)、

醇见麦卢卡沙棘原浆 (5.0 g/100 mL 沙棘油 +3.0 g/100 mL 麦卢卡蜂蜜, 6.0 g/100 mL (沙棘油质量分数 6.0~6.1 g/100 mL) 沙棘油 +3.0 g/100 mL 麦卢卡蜂蜜)、沙棘油、麦卢卡蜂蜜, 由宁夏灵犀万象健康产业发展有限公司提供; 金黄色葡萄球菌 (*Staphylococcus aureus*) ATCC 6538、大肠杆菌 (*Escherichia coli*) ATCC 35218、枯草芽孢杆菌 (*Bacillus subtilis*) 080204, 美国菌种保藏中心 (American Type Culture Collection, ATCC); LB 肉汤培养基、LB 营养琼脂培养基, 青岛高科园海博生物技术有限公司; 小鼠巨噬细胞株系 RAW 264.7, 武汉旗赛生物有限公司; 芦丁、维生素 C (Vitamin C, Vc)、1,1-二苯基-2-苦基肼 (1,1-Diphenyl-2-picrylhydrazyl, DPPH)、2,2'-联氨-双(3-乙基苯并噻唑啉-6-磺酸)二胺盐 (2,2'-Amino-di(2-ethyl-benzothiazoline sulphonic acid-6) ammonium salt, ABTS), 上海麦克林生化科技有限公司; 过硫酸钾 [Potassium Persulfate, $\text{K}_2(\text{SO}_4)_2$]、正己烷、氯化钠, 国药集团化学试剂有限公司; 氨苄西林钠盐 (Ampicillin, Amp), 赛国生物科技有限公司; DMEM (Dulbecco's Modified Eagle Medium) 高糖培养基, 美国 Thermo Fisher Scientific 公司; 胎牛血清, 浙江天杭生物科技股份有限公司; 青霉素-链霉素混合液、无血清细胞冻存液, 北京索莱宝科技有限公司; 细胞培养瓶 (25T, 75T)、6 孔细胞培养板, 广州洁特生物过滤股份有限公司; 脂多糖 (Lipopolysaccharide, LPS), 美国 Sigma-Aldrich 公司; 细胞计数试剂盒-8 (Cell Counting Kit-8, CCK-8) 试剂盒, 美伦生物科技有限公司; 白细胞介素-1 β (Interleukin-1 β , IL-1 β) 试剂盒、白细胞介素-6 (Interleukin-6, IL-6) 试剂盒、肿瘤坏死因子- α (Tumor Necrosis Factor- α , TNF- α) 试剂盒, 武汉贝因乐生物科技有限公司。

1.2 主要仪器设备

T18 高速分散机, 德国 IKA 集团; LDZX-50KBS 高压蒸汽灭菌锅, 上海申安医疗器械厂; SW-CJ-1FD 超净工作台, 苏州净化设备有限公司; DHZ-C 恒温培

养摇床, 苏州培英实验设备有限公司; HPX-9082MBE 电热恒温培养箱, 上海博迅实业有限公司医疗设备厂; Multiskan SkyHigh 全波长酶标仪, 美国 Thermo Fisher Scientific 公司; 7.8×6×10 mm 牛津杯, 台东市漆东镇昌吉仪器设备厂; 细胞三气培养箱, 美国 Thermo Fisher Scientific 公司。

1.3 试验方法

1.3.1 样品制备

该实验共有 6 个样品参与实验, 其中 3 个样品: 醇见沙棘原浆 (沙棘油质量分数 4.5 g/100 mL)、醇见麦卢卡沙棘原浆 (5.0 g/100 mL 沙棘油 +3.0 g/100 mL 麦卢卡蜂蜜, 6.0 g/100 mL 沙棘油 +3.0 g/100 mL 麦卢卡蜂蜜), 由宁夏灵犀万象健康产业发展有限公司提供; 另外 3 个样品按照以下方法制作, 向醇见沙棘原浆 (沙棘油质量分数 4.5 g/100 mL) 中加入不同质量分数的沙棘油, 置于高速分散机下均质 3 min, 得到含不同沙棘油质量分数的沙棘原浆样品 (5.0 g/100 mL 沙棘油 - 无麦卢卡蜂蜜、6.0 g/100 mL 沙棘油 - 无麦卢卡蜂蜜)。再向含不同沙棘油质量分数的沙棘原浆样品中加入 3% 质量分数的麦卢卡蜂蜜, 均质后得到含 4.5 g/100 mL 沙棘油 +3.0 g/100 mL 麦卢卡的沙棘原浆样品。以正己烷为溶剂溶解沙棘油, 得到含不同质量分数 (4.5 g/100 mL、5.0 g/100 mL、6.0 g/100 mL) 的沙棘油样品。

1.3.2 沙棘原浆和麦卢卡蜂蜜生物活性成分的测定

按照《功能性食品活性成分测定》、GB 5009.86-2016 第一法、GB 5009.168-2016 第一法、GB 5009.5-2016 第一法、《保健食品理化及卫生指标检验与评价技术指导原则 (2020 年版)》第一法和 GB/T 44349-2024^[12]中所述方法分别测定沙棘原浆中的多糖含量、抗坏血酸、总脂肪酸、蛋白质、总黄酮和总多酚含量。按照《功能性食品活性成分测定》、QDCH-TOP356-R01-Anti、《保健食品理化及卫生指标检验与评价技术指导原则 (2020 年版)》第一法和 GB/T 44349-2024^[12]中所述方法分别测定麦卢卡蜂蜜中的多糖、MGO、总黄酮和总多酚含量。

1.3.3 抗氧化实验

1.3.3.1 DPPH 自由基清除活性

准确称取 5 mg DPPH, 用无水乙醇避光超声溶解并定容至 100 mL 配制 DPPH 溶液, 现配现用。对于沙棘油, 在 96 孔板中加入 50 μL 样品与 150 μL DPPH 溶液, 每个样品 3 个平行, 在 517 nm 波长下测吸光度, 计为 A_s 。对于沙棘原浆样品, 由于沙棘原浆中含有黄色颗粒, 会影响吸光度, 所以在测定之前需要离

心除去黄色颗粒, 具体操作方法如下: 在 2 mL 离心管中以 1:3 的比例加入样品和 DPPH 溶液 (300 μL 样品与 900 μL DPPH 溶液), 室温避光反应 30 min 后, 放入离心机离心 (10 000 $\text{r}\cdot\text{min}^{-1}$) 3 min, 取澄清液加入 96 孔板中, 每孔 200 μL , 每个样品 3 个平行, 在 517 nm 波长下测吸光度, 计为 A_s 。然后以无水乙醇做参比, 测定样品与无水乙醇 (1:3) 混合后的吸光度, 计为 A_c 。同时测定样品溶剂 (沙棘油用正己烷, 沙棘原浆用蒸馏水) 与 DPPH 溶液 (1:3) 混合后的吸光度, 计为 A_b 。根据公式 (1) 计算 DPPH 清除率^[13]。以抗坏血酸 Vc 标准品作为阳性对照, 结果用 Vc 当量 ($\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ Vc) 表示: 以蒸馏水为溶剂制备 1 $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 的 Vc 溶液作为母液, 然后将母液稀释至不同的浓度 (20、40、60、80、100 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$), 测定不同浓度 Vc 标准品与 DPPH 溶液 (1:3) 混合后的吸光度, 以 Vc 浓度为横坐标、DPPH 清除率为纵坐标建立 Vc 标准曲线 ($y=0.0051x+0.0745$, $R^2=0.9892$), 将样品的 DPPH 清除率带入 Vc 标曲可获得样品的 Vc 当量。

$$P_{\text{DPPH}} = (1 - \frac{A_s - A_c}{A_b}) \times 100\% \quad (1)$$

式中:

P_{DPPH} ——DPPH 清除率, %;

A_s ——样品与 DPPH 溶液混合液在 517 nm 处的吸光度;

A_c ——样品与无水乙醇混合液在 517 nm 处的吸光度;

A_b ——DPPH 溶液与样品溶剂溶液混合液在 517 nm 处的吸光度。

1.3.3.2 ABTS⁺自由基清除活性

将 200 mg ABTS 和 34.4 mg $\text{K}_2(\text{SO}_4)_2$ 溶于 50 mL 蒸馏水, 在室温避光条件下静置过夜, 得到 ABTS⁺ 自由基储备液。使用前用无水乙醇稀释, 使用酶标仪测量溶液使其在波长 734 nm 处的吸光度值为 0.7 ± 0.02 , 得到工作液。将 20 μL 样品与 ABTS 溶液以 1:9 的比例混合, 室温避光反应 5 min, 测定波长 734 nm 处的吸光度 A_b 。取样品溶剂 (沙棘油用正己烷, 沙棘原浆用蒸馏水) 代替样品, 吸光度记为 A_s 。根据公式 (2) 计算 ABTS⁺ 清除率^[13]。以抗坏血酸 Vc 标准品作为阳性对照, 结果用 Vc 当量 ($\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ Vc) 表示, 将 Vc 浓度设置为 100、200、300、400、500 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$, Vc 标准曲线为: $y=0.0022x-0.1848$, $R^2=0.9976$, 其余步骤与 1.3.3.1 相同。

$$P_{\text{ABTS}} = (1 - \frac{A_b - A_s}{A_b}) \times 100\% \quad (2)$$

式中:

P_{ABTS} ——ABTS⁺ 清除率, %;

A_b ——ABTS 溶液与样品溶剂溶液混合液在 734 nm 处的吸

光度;

A_s ——样品与 ABTS 溶液混合液在 734 nm 处的吸光度。

1.3.4 抑菌实验

1.3.4.1 菌株的活化与菌悬液的制备

在超净工作台内分别沾取金黄色葡萄球菌、大肠杆菌和枯草芽孢杆菌分别于 LB 营养琼脂培养基上划线, 37 °C 培养后得活化复壮平板。从活化复壮平板上挑取单菌落, 加入含有 5 mL LB 肉汤培养基的试管中, 于 37 °C 恒温培养摇床中过夜培养, 得到菌悬液。

1.3.4.2 抑菌圈的测定

采用牛津杯琼脂板扩散法测定含不同质量分数沙棘油的沙棘原浆样品对金黄色葡萄球菌、大肠杆菌和枯草芽孢杆菌的抑制作用^[14]。在超净工作台中, 用 LB 肉汤培养基稀释菌悬液, 取 100 μ L 浓度为 1×10^8 CFU/mL 的菌悬液, 用涂布棒均匀地涂布在 LB 营养琼脂培养基表面, 将已灭菌的牛津杯轻置于平板表面, 并向牛津杯中加入 100 μ L 含不同质量分数沙棘油的醇见沙棘原浆样品和醇见麦卢卡沙棘原浆样品 (4.5 g/100 mL 沙棘油 + 无麦卢卡蜂蜜、5.0 g/100 mL 沙棘油 + 无麦卢卡蜂蜜、6.0 g/100 mL 沙棘油 + 无麦卢卡蜂蜜、4.5 g/100 mL 沙棘油 + 3.0 g/100 mL 麦卢卡蜂蜜、5.0 g/100 mL 沙棘油 + 3.0 g/100 mL 麦卢卡蜂蜜、6.0 g/100 mL 沙棘油 + 3.0 g/100 mL 麦卢卡蜂蜜)。置于恒温培养箱中 37 °C 正置培养, 16~24 h 后取出观察, 测量抑菌圈直径。另设蒸馏水作为阴性对照, 设 2.5 mg·mL⁻¹ 氨苄西林钠盐作为阳性对照, 各试验样品设置 3 个平行。

1.3.4.3 最低抑菌浓度的测定

采用琼脂稀释法测定沙棘原浆样品的最低抑菌浓度 (Minimum Inhibitory Concentration, MIC)^[15]。将不同剂量的醇见沙棘原浆和醇见麦卢卡沙棘原浆样品加入未固化的 LB 营养琼脂培养基中并混匀, 制成含不同质量浓度沙棘原浆的平板 (500、250、125、63、31 mg·mL⁻¹), 然后分别取 2 μ L 浓度为 1.0×10^7 CFU/mL 的菌悬液分别按点接种于平板上。于 37 °C 恒温培养 24 h 后, 将平板置于无反光暗色表面上观察细菌生长情况, 以无细菌生长痕迹的平板中所含最低沙棘原浆浓度为 MIC。另设不接种微生物且不含沙棘原浆的平板作为阴性对照, 以检查是否受到其他微生物污染; 设接种微生物且不含沙棘原浆的平板作为阳性对照, 以检查接种菌的活性和纯度。

1.3.4.4 最低杀菌浓度的测定

采用微量肉汤稀释法联合琼脂平板法, 测定沙棘原浆的最低杀菌浓度 (Minimum Bactericidal Concentration, MBC)^[16]。在无菌 96 孔板中, 每列 8 孔为一实验组, 向 A 行中加入样品 200 μ L, 向第 B~G

行中均加入 100 μ L 生理盐水, 从 A 列中吸取 100 μ L 样品, 依次二倍稀释至第 G 行, 最后从第 G 行中弃去 100 μ L 余液。A~G 行中分别为 0.500、0.250、0.125、0.062 5、0.031 3、0.015 6 和 0.007 8 g·mL⁻¹ 的沙棘原浆稀释液。在 A~G 行中均加入 100 μ L 浓度为 1.0×10^6 CFU/mL 的菌悬液并混匀, 使其最终接种量为 5×10^5 CFU/mL。向 H 行中加入 100 μ L 无菌水和 100 μ L LB 培养基, 作为阴性对照; 加入 100 μ L LB 培养基和 100 μ L 菌液, 作为阳性对照。加盖密封后 37 °C 恒温培养 24 h。从每孔中取 100 μ L 培养物涂布于 LB 营养琼脂培养基上, 置于 37 °C 培养箱培养 24 h, 以不生长菌落的最高药物稀释度为该药物对该种细菌的最低杀菌浓度。各试验样品设置 3 个平行。

1.3.5 体外细胞免疫调节实验

1.3.5.1 巨噬细胞 RAW 264.7 的培养

以巨噬细胞 RAW 264.7 为靶细胞, 检测沙棘原浆样品对其细胞存活率及相关细胞因子等免疫学指标。将冻存在液氮中的 RAW 264.7 小鼠巨噬细胞取出, 于 37 °C 水浴恢复活性, 随后移入装有 5.0 mL DMEM 培养基的无菌离心管中, 1 000 r·min⁻¹ 离心 4 min。清除上清液后注入新鲜的 DMEM 培养基 [83% DMEM 培养液、15% 胎牛血清、1% 链霉素 (100μ g·mL⁻¹)、1% 青霉素 (100 U·mL⁻¹)], 将细胞轻微振荡混匀, 转换至细胞培养皿中, 置于恒定条件为 5% CO₂、95% O₂、37 °C 的细胞三气培养箱中观察培养, 选取第 4~8 代处于对数生长期的细胞用于后续实验^[17]。

1.3.5.2 测定 RAW 264.7 细胞的存活率

按照 50 μ L 每孔体积浓度每毫升为 1×10^5 个的 RAW 264.7 小鼠巨噬细胞, 将其接种于 96 孔细胞培养板中。在恒定条件 37 °C 的细胞三气培养箱内培养 24 h 后, 移去上层原液, 将六组沙棘原浆样品按照 1%、5%、10%、25% 和 50% 的体积分数分别加入完全培养基中, 设置 DMEM 培养液替代沙棘原浆样品作空白对照组, 每组浓度重复设置 3 孔, 在相同条件的细胞三气培养箱中培养 24 h 后, 吸去上层培养液, 用 PBS 清洗 2 次, 每孔均加入含有体积分数 10% 的 CCK-8 试剂的完全培养基, 37 °C 孵育 2 h, 检测其在 450 nm 波长下的吸光度。按照公式 (3) 计算 RAW 264.7 巨噬细胞增殖率^[17]。

$$CV = \frac{OD_1}{OD_2} \times 100\% \quad (3)$$

式中:

CV——巨噬细胞相对存活率, %;

OD₁——给药组在 450 nm 处的吸光度;

OD₂——对照组在 450 nm 处的吸光度。

1.3.5.3 ELISA法测定细胞因子含量

选取处于对数生长期、密度为每毫升 1×10^5 个的巨噬细胞 RAW 264.7, 向 24 孔培养板每孔中加入 100 μL 细胞悬液, 置于 37 $^{\circ}\text{C}$ 培养箱中培养 24 h。原浆处理组每孔加入 50 μL 含不同质量分数沙棘油的沙棘原浆样品和 950 μL 质量浓度为 1 $\text{ng}\cdot\text{mL}^{-1}$ 的 LPS 完全培养基, 空白对照组每孔加入 1 mL 完全培养基, 阳性对照组每孔加入 1 mL 质量浓度为 1 $\text{ng}\cdot\text{mL}^{-1}$ 的 LPS 完全培养基, 相同条件下培养 24 h。每组设 6 个重复。离心后收集上清液, 依照 IL-1 β 、TNF- α 检测试剂盒和 IL-6 检测试剂盒的操作教程分别测定 RAW 264.7 小鼠巨噬细胞培养上清液中 IL-1 β 、TNF- α 和 IL-6 三种免疫因子的分泌量^[17]。

1.3.6 数据分析

所有指标测定至少进行三次重复实验, 数据以平均值 $\pm$ 标准差的形式表示。用 Origin 2023 进行方差分析 (Analysis of variance, ANOVA) 和 Tukey 检验, 在 5% 显著性水平上分析数据之间的统计学差异, 用 Origin 2023 绘图。

2 结果与讨论

2.1 沙棘原浆和麦卢卡蜂蜜生物活性成分测定结果

沙棘原浆的生物活性成分测定结果如表 1 所示, 结果表明沙棘原浆中含有 56.1 $\text{mg}/100\text{ g}$ 的 L(+)- 抗坏血酸、0.206 $\text{g}/100\text{ g}$ 的总黄酮和 1 489.74 $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$ 的总多酚, 这些生物活性成分具有抗氧化活性, 其中的总黄酮和总多酚具有抑菌活性^[18,19]。麦卢卡蜂蜜的生物活性成分测定结果如表 2 所示, 麦卢卡蜂蜜中含有 389 000 $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ 的 MGO, 具有抗氧化、抑菌和抗炎活性^[9]。沙棘原浆和麦卢卡蜂蜜中富含这些生物活性成分, 表明其可能具有抗氧化、抑菌和抗炎活性, 为沙棘原浆和麦卢卡蜂蜜的生物活性提供了化学物质基础。

表 1 醇见沙棘原浆的生物活性成分测定结果
Table 1 The determination results of the bioactive components in Chunjian sea-buckthorn puree

Chunjian sea-buckthorn puree	
生物活性成分	4.5 g/100 mL 沙棘油 + 无麦卢卡蜂蜜沙棘原浆
多糖 (以葡萄糖计)/%	<0.2
L(+)-抗坏血酸/(mg/100 g)	56.1 $\pm$ 2.2
D(-)-抗坏血酸/(mg/100 g)	—
总脂肪酸/(g/100 g)	6.06 $\pm$ 0.02
蛋白质/(g/100 g)	0.96 $\pm$ 0.00
总黄酮/(g/100 g)	0.206 $\pm$ 0.002
总多酚 (以没食子酸计)/(mg·g ⁻¹)	1 489.74 $\pm$ 40.38

注: “—” 表示未检出。

表 2 麦卢卡蜂蜜的生物活性成分测定结果
Table 2 The determination results of the bioactive components in manuka honey

生物活性成分	麦卢卡蜂蜜
多糖 (以葡萄糖计)/%	<0.2
总黄酮/(g/100 g)	<0.15
总多酚 (以没食子酸计)/(mg·g ⁻¹)	457.69 $\pm$ 34.97
MGO/($\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$)	389 000 $\pm$ 5 292

2.2 抗氧化实验结果

以 Vc 标准品为对照, 结果用 Vc 当量 ($\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ Vc) 表示, 考察沙棘油、添加不同质量分数沙棘油的醇见沙棘原浆样品、添加 3.0 $\text{g}/100\text{ mL}$ 麦卢卡蜂蜜的含沙棘油的醇见沙棘原浆样品对抗氧化能力的影响。

沙棘油质量分数对 DPPH、ABTS 抗氧化能力的影响见图 1。随沙棘油质量分数从 4.5 $\text{g}/100\text{ mL}$ 升高至 6.0 $\text{g}/100\text{ mL}$, 其 DPPH 自由基清除率对应的 Vc 当量从 250 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 升高至 314 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$, ABTS⁺ 自由基清除率对应的 Vc 当量从 308 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 升高至 405 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 。DPPH、ABTS⁺ 自由基清除率均随沙棘油质量分数的升高而增强, 且有显著性差异 ($P<0.05$), 表明沙棘油质量分数越高, 其抗氧化能力越强。先前的研究也表明沙棘油的抗氧化能力呈剂量依赖性^[20]。

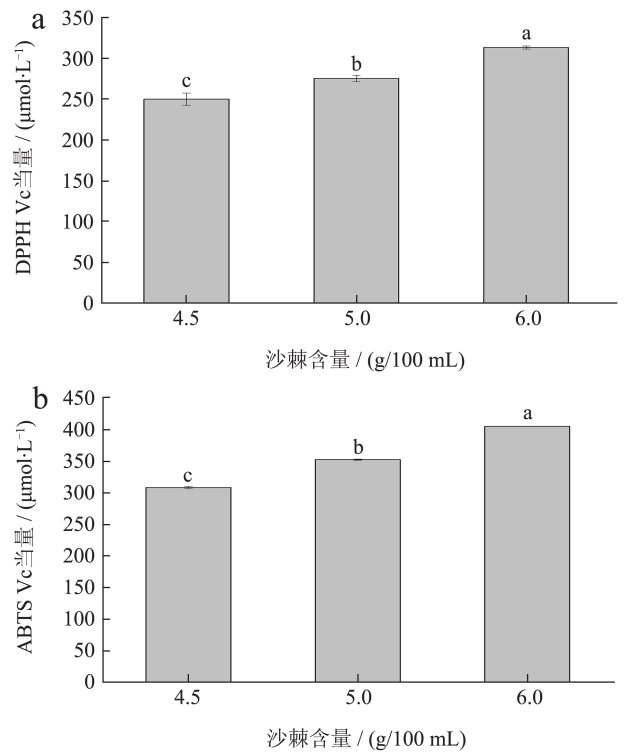


图 1 沙棘油质量分数对 DPPH、ABTS 抗氧化能力的影响
Fig.1 The effect of sea-buckthorn oil content on DPPH and ABTS antioxidant capacity

注: 不同的小写字母表示具有显著差异 ($P<0.05$)。

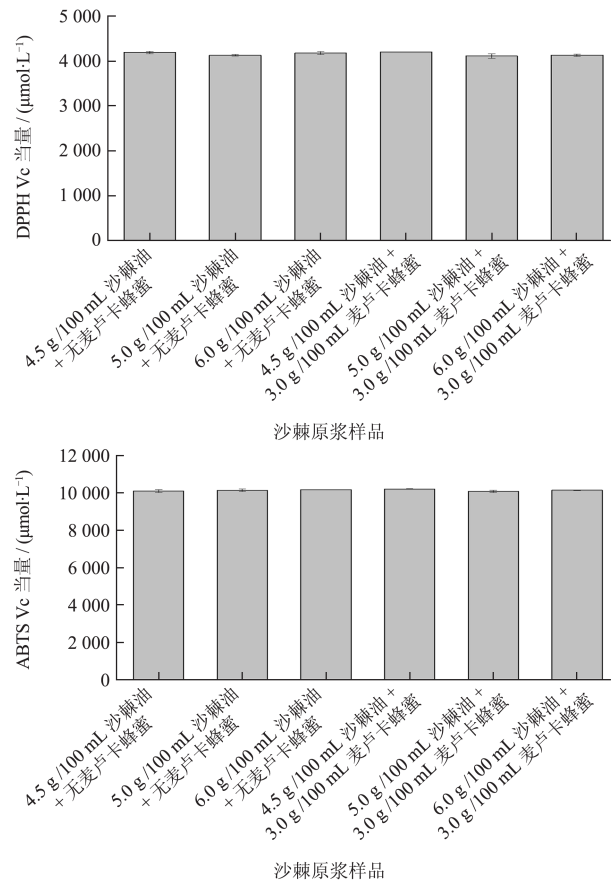


图 2 不同处理条件下醇见沙棘原浆样品对 DPPH、ABTS 抗氧化能力的影响

Fig.2 The effect of different processing conditions on the DPPH and ABTS antioxidant capacity of Chunjian sea-buckthorn puree

不同处理条件下沙棘原浆样品对 DPPH、ABTS 抗氧化能力的影响见图 2。由图可知，无论沙棘原浆样品中是否额外添加 4.5~6.0 g/100 mL 沙棘油及 3% 质量分数麦卢卡蜂蜜，其 DPPH 自由基清除率对应的 Vc 当量均在 4 200 μmol·L⁻¹ 左右，ABTS⁺ 自由基清除率对应的 Vc 当量均在 10 100 μmol·L⁻¹ 左右，这表明添加微量的沙棘油及麦卢卡蜂蜜都不影响沙棘原浆样品的总体抗氧化能力，这可能是因为沙棘原浆样品中含有其他抗氧化能力更强的物质，比如多酚、黄酮、维生素等^[2]，这些物质的强抗氧化能力足以掩盖沙棘油较弱的抗氧化活性。对比图 1 和图 2 的数据可以看出，醇见沙棘原浆样品的抗氧化能力大约是等质量沙棘油抗氧化能力的 15~30 倍，这也验证了上述推断。

2.3 抑菌实验结果

2.3.1 抑菌圈实验结果

采用牛津杯法测定沙棘原浆对大肠杆菌、金黄色葡萄球菌和枯草芽孢杆菌的抑菌能力，抑菌圈试验结果如图 3。

由图 3 可知，醇见沙棘原浆对大肠杆菌、金黄色葡萄球菌和枯草芽孢杆菌均有不同程度的抑制作用。抑菌圈直径的结果如表 3，可知醇见沙棘原浆对 3 种微生物的抑菌圈直径均在 9.00 mm 以上。醇见沙棘原浆对金黄色葡萄球菌的抑菌圈直径显著大于其他菌种，对大肠杆菌的抑制效果次之，对枯草芽孢杆菌的抑制效果较弱。其中含 6.0 g/100 mL 沙棘油的醇见麦卢卡沙棘原浆对金黄色葡萄球菌的抑菌圈直径最大，为 25.33 mm；含 5.0 g/100 mL 沙棘油的醇见沙棘原浆对枯草芽孢杆菌的抑菌圈直径最小，为 9.20 mm。含同等沙棘油质量分数的醇见沙棘原浆样品中，添加了麦卢卡蜂蜜的醇见沙棘原浆样品对大肠杆菌、金黄色葡萄球菌和枯草芽孢杆菌的抑菌圈直径均大于没有添加麦卢卡蜂蜜的沙棘原浆样品，这在一定程度上说明添加麦卢卡蜂蜜能够提高醇见沙棘原浆的抑菌能力。这可能是由于麦卢卡蜂蜜含有丰富的 MGO，具有改变细菌细胞形态、抑制细菌细胞分裂和降低生物被膜形成的能力，从而通过非过氧化物途径起到抑菌的作用。此外，麦卢卡蜂蜜还含有高水平的酚类及黄酮类物质，有助于增强非过氧化物途径的抑菌作用^[11]。

另外，6.0 g/100 mL 沙棘油 +3.0 g/100 mL 麦卢卡蜂蜜对这三种微生物的抑菌圈直径均大于 5.0 g/100 mL 沙棘油 +3.0 g/100 mL 麦卢卡蜂蜜和 4.5 g/100 mL 沙棘油 +3.0 g/100 mL 麦卢卡蜂蜜的样品，也在一定程度上说明了随着沙棘油质量分数的增高，其对大肠杆菌、金黄色葡萄球菌和枯草芽孢杆菌的抑制能力会增强。装有无菌水的牛津杯周围均无抑菌圈，而装有氨苄西林钠盐抗生素的牛津杯周围均出现了明显的抑菌圈，表明试验结果有效。朱家莹等^[18]研究了发酵时间对沙棘酵素体外抑菌作用的印象，发现沙棘酵素对大肠埃希菌的抑菌圈直径在发酵过程中均 <10.00 mm，在发酵 60 d 时对金黄色葡萄球菌的抑菌圈直径为 30.69 mm。上述研究结果与该实验结果相似。

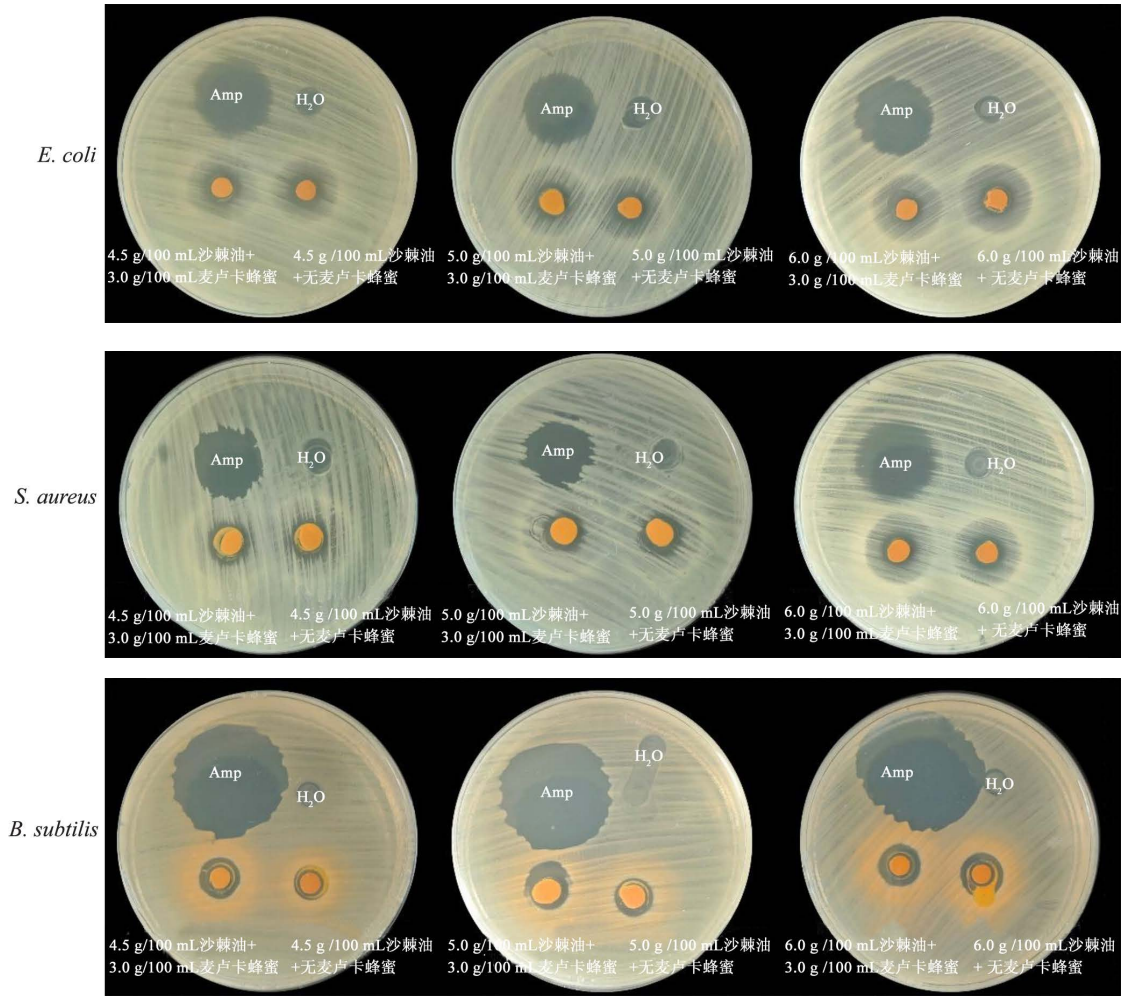


图 3 沙棘原浆对大肠杆菌、金黄色葡萄球菌和枯草芽孢杆菌的抑菌圈实验结果

Fig.3 The results of the inhibition zone of sea-buckthorn puree against *E. coli*, *S. aureus*, and *B. subtilis*

注: *E. coli* 为大肠杆菌, *S. aureus* 为金黄色葡萄球菌, *B. subtilis* 为枯草芽孢杆菌, Amp 为 2.5 mg·mL⁻¹ 的氨苄西林钠盐, H₂O 为无菌水。

2.3.2 最低抑菌浓度实验结果

为进一步探究醇见沙棘原浆的体外抑菌效果,测定了醇见沙棘原浆对大肠杆菌、金黄色葡萄球菌和枯草芽孢杆菌的 MIC 和 MBC。因为沙棘原浆颜色较深且浑浊,若采用肉汤稀释法以肉眼观察或测 OD(Optical Density) 值的方法测定 MIC 会影响实验结果,故该实验采取琼脂稀释法测定沙棘原浆的 MIC。与试管肉汤稀释法相比,琼脂稀释法具有实验结果可靠、重复性好、可同时测定多个菌株等优势^[22]。

沙棘原浆的 MIC 结果如表 4 所示,结果表明 4.5 g/100 mL 沙棘油 + 3.0 g/100 mL 麦卢卡蜂蜜和 5.0 g/100 mL 醇见沙棘原浆对大肠杆菌的 MIC 为 0.250 g·mL⁻¹, 其余组别沙棘原浆对大肠杆菌的 MIC 均为 0.125 g·mL⁻¹。4.5 g/100 mL 沙棘油 + 3.0 g/100 mL 麦卢卡蜂蜜和 6.0 g/100 mL 沙棘油 + 无麦卢卡蜂蜜沙棘原浆对金黄

色葡萄球菌的 MIC 为 0.250 g·mL⁻¹, 其余组别沙棘原浆对金黄色葡萄球菌的 MIC 均为 0.125 g·mL⁻¹。醇见沙棘原浆对枯草芽孢杆菌表现出较强的抑菌效果,所有组别沙棘原浆对枯草芽孢杆菌 MIC 均为 0.125 g·mL⁻¹。阴性对照组中均无菌生长,阳性对照组中各菌种均正常生长且无杂菌生长,表明试验结果有效。研究表明,沙棘中的酚类化合物^[18]、黄酮类化合物和多糖^[19]等生物活性物质均具有一定的抑菌活性。王薇等^[19]研究了沙棘果渣中的多酚、多糖和黄酮三种提取物的抑菌活性,发现沙棘果渣多酚、多糖和黄酮提取物对大肠杆菌的 MIC 分别为 50、75 和 80 mg·mL⁻¹。沙棘提取物的 MIC 低于该研究中沙棘原浆的 MIC,可能是因为沙棘原浆中的多酚、黄酮和多糖等具有抑菌作用的活性物质的浓度低于对应的提取物。

表 3 醇见沙棘原浆对3种微生物的抑菌圈直径

Table 3 The diameter of the inhibition zone of Chunjian sea-buckthorn puree against three microorganisms

组别	抑菌圈直径/mm		
	大肠杆菌	金黄色葡萄球菌	枯草芽孢杆菌
4.5 g/100 mL 沙棘油 + 无麦卢卡蜂蜜	18.63 ± 0.32 ^b	20.73 ± 1.1 ^c	9.20 ± 0.26 ^c
5.0 g/100 mL 沙棘油 + 无麦卢卡蜂蜜	18.67 ± 0.58 ^b	22.33 ± 0.29 ^{bc}	9.43 ± 0.51 ^c
6.0 g/100 mL 沙棘油 + 无麦卢卡蜂蜜	19.50 ± 0.5 ^b	24.67 ± 0.76 ^a	12.33 ± 1.15 ^b
4.5 g/100 mL 沙棘油 + 3.0 g/100 mL 麦卢卡蜂蜜	19.30 ± 0.61 ^b	23.43 ± 0.51 ^{ab}	11.70 ± 0.75 ^b
5.0 g/100 mL 沙棘油 + 3.0 g/100 mL 麦卢卡蜂蜜	19.33 ± 0.58 ^b	24.83 ± 0.29 ^a	11.90 ± 0.53 ^b
6.0 g/100 mL 沙棘油 + 3.0 g/100 mL 麦卢卡蜂蜜	20.33 ± 0.76 ^b	25.33 ± 0.58 ^a	13.17 ± 0.29 ^b
无菌水	—	—	—
氨苄西林钠盐	22.83 ± 1.26 ^a	20.33 ± 1.53 ^c	30.75 ± 0.96 ^a

注：同列右肩不同的小写字母表示具有显著差异 ($P<0.05$)；“—”表示未产生抑菌圈。

表 4 醇见沙棘原浆对3种微生物的体外抑菌MIC实验结果

Table 4 *In vitro* MIC results of Chunjian sea-buckthorn puree against three microorganisms

组别	MIC/(g·mL ⁻¹)		
	大肠杆菌	金黄色葡萄球菌	枯草芽孢杆菌
4.5 g/100 mL 沙棘油 + 无麦卢卡蜂蜜	0.125	0.125	0.125
5.0 g/100 mL 沙棘油 + 无麦卢卡蜂蜜	0.250	0.125	0.125
6.0 g/100 mL 沙棘油 + 无麦卢卡蜂蜜	0.125	0.250	0.125
4.5 g/100 mL 沙棘油 + 3.0 g/100 mL 麦卢卡蜂蜜	0.250	0.250	0.125
5.0 g/100 mL 沙棘油 + 3.0 g/100 mL 麦卢卡蜂蜜	0.125	0.125	0.125
6.0 g/100 mL 沙棘油 + 3.0 g/100 mL 麦卢卡蜂蜜	0.125	0.125	0.125

注：MIC：最低抑菌浓度。

2.3.3 最低杀菌浓度实验结果

采用微量肉汤稀释法联合琼脂平板法，测定了醇

见沙棘原浆对金黄色葡萄球菌、大肠杆菌和枯草芽孢杆菌的 MBC，实验结果见表 5。结果表明沙棘原浆对三种菌的 MBC 均为 0.250 g·mL⁻¹。大肠杆菌、金黄色葡萄球菌和枯草芽孢杆菌分别为革兰氏阴性菌、革兰氏阳性菌和含芽孢革兰氏阳性菌的代表微生物。其中大肠杆菌和金黄色葡萄球菌是常见的食源性致病菌，目前治疗这些食源性致病菌引起的肠道感染性疾病的药物主要有氟喹诺酮类和 β -内酰胺类抗生素等^[23,24]。然而随着抗生素的长期广泛应用，这些食源性致病菌对常用抗菌药物产生了严重的耐药现象，给公共健康带来了严峻挑战^[25]。枯草芽孢杆菌可产生芽孢，芽孢具有抗逆性强、难以灭杀的特点，可作为消毒灭菌的生物指示剂。该试验结果表明醇见沙棘原浆对大肠杆菌、金黄色葡萄球菌和枯草芽孢杆菌具有较强的抑菌和杀菌效果。沙棘果实中含有丰富的生物活性物质，其中酚类和黄酮类化合物可通过破坏细胞壁和细胞膜完整性、引起微生物细胞胞内成分释放和抑制核苷酸合成等途径抑制微生物的生长繁殖^[21,26]。当黄酮类化合物与抗生素联用时，还可产生协同作用，增强细菌对抗生素的敏感性，降低抗生素的使用量。除了黄酮类化合物，沙棘果实中还含有丰富的有机酸，沙棘原浆的低 pH 值也抑制了这些细菌的生长繁殖。此外，沙棘原浆来源于药食同源植物，具有毒副作用小、来源经济、不易产生耐药性等优点，在联合抗生素抗菌方面具有广泛的应用潜力。

表 5 醇见沙棘原浆对3种微生物的体外抑菌MBC实验结果

Table 5 *In vitro* MBC results of Chunjian sea-buckthorn puree against three microorganisms

组别	MBC/(g·mL ⁻¹)		
	大肠杆菌	金黄色葡萄球菌	枯草芽孢杆菌
4.5 g/100 mL 沙棘油 + 无麦卢卡蜂蜜	0.250	0.250	0.250
5.0 g/100 mL 沙棘油 + 无麦卢卡蜂蜜	0.250	0.250	0.250
6.0 g/100 mL 沙棘油 + 无麦卢卡蜂蜜	0.250	0.250	0.250
4.5 g/100 mL 沙棘油 + 3.0 g/100 mL 麦卢卡蜂蜜	0.250	0.250	0.250
5.0 g/100 mL 沙棘油 + 3.0 g/100 mL 麦卢卡蜂蜜	0.250	0.250	0.250
6.0 g/100 mL 沙棘油 + 3.0 g/100 mL 麦卢卡蜂蜜	0.250	0.250	0.250

注：MBC：最低杀菌浓度。

2.4 免疫调节实验结果

2.4.1 细胞毒性实验结果

沙棘原浆对 RAW 264.7 巨噬细胞毒性试验如图 4 所示,含 4.5 g/100 mL 沙棘油的醇见沙棘原浆样品在 1% 和 5% 的低体积分数处理 RAW 264.7 细胞 24 h 的存活率为 83%~110%, 对照组为 90%~107%, 在统计学上无显著性差异 ($P>0.05$)。而添加麦卡卢蜂蜜的三个样品在 1%、5% 和 10% 的低体积分数处理 RAW 264.7 细胞 24 h 与对照组的存活率均在 90%~113% 之间, 在统计学上无显著性差异 ($P>0.05$)。而当样品体积分数提至 25% 及 50%, 六组样品处理的细胞存活率均显著下降, 仅有 4%~16%。结果表明, 高体积分数 (25% 和 50%) 的沙棘油原浆会抑制细胞的生长繁殖, 而低体积分数 (1%、5% 和 10%) 的沙棘油原浆和麦卢卡蜂蜜对细胞无毒性。低体积分数对细胞无毒性, 高体积分数抑制细胞生长繁殖现象在谢衣恒等^[27]的文献也有报道。

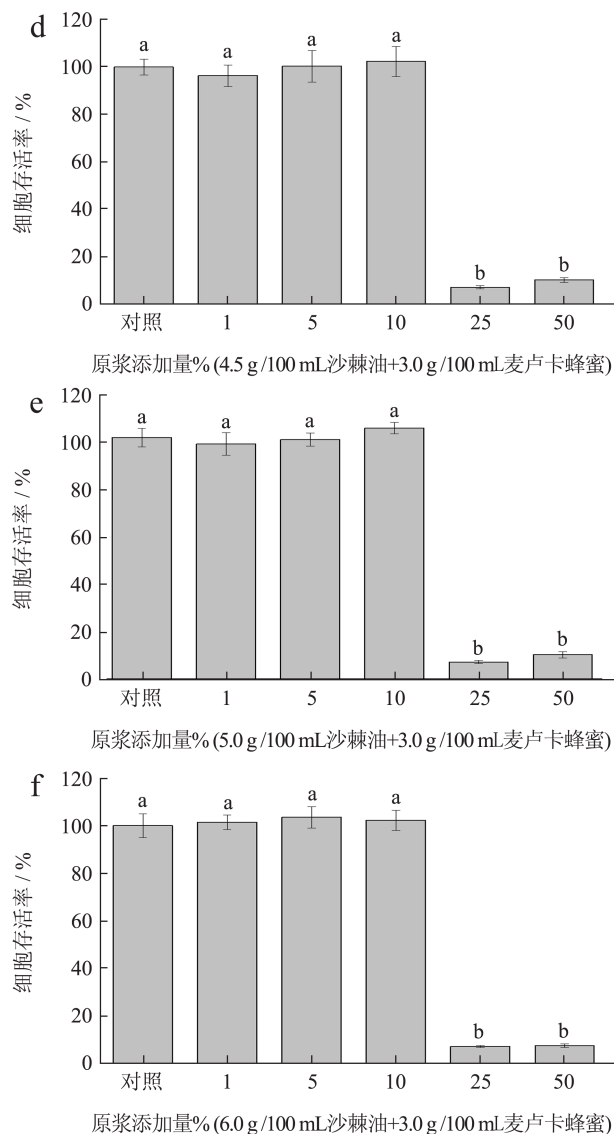
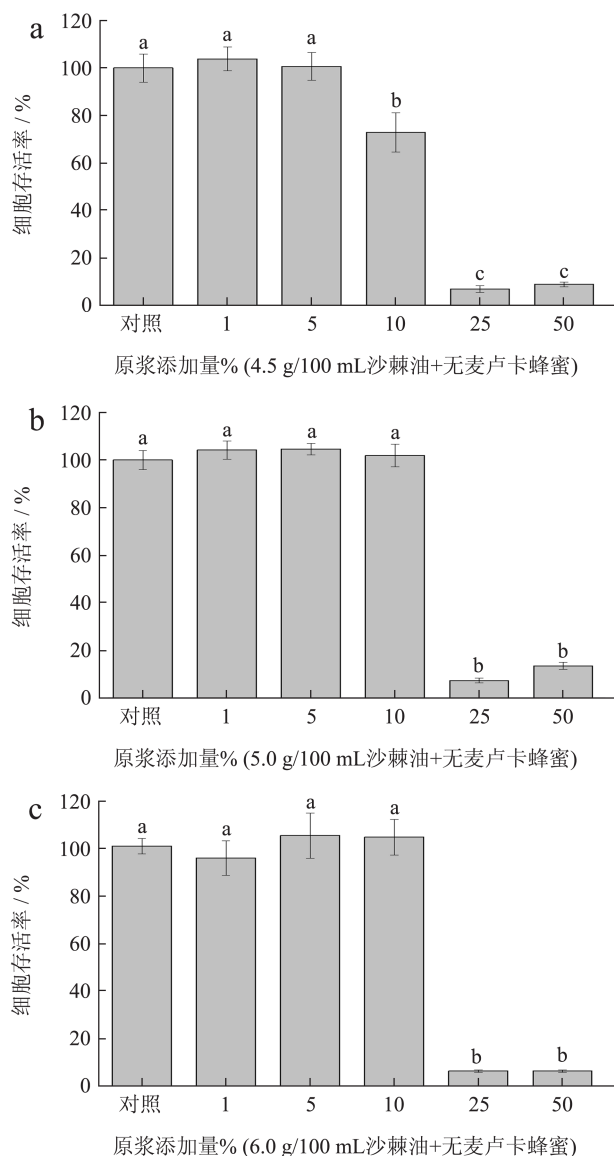


图 4 醇见沙棘原浆对 RAW 264.7 巨噬细胞毒性试验结果

Fig.4 Toxicity test results of Chunjian sea-buckthorn puree on RAW 264.7 macrophages

注: 不同的小写字母表示具有显著差异 ($P<0.05$)。

2.4.2 抗炎实验结果

巨噬细胞是人体重要的免疫细胞, 其跨膜识别受体 Toll 样受体 (Toll-like Receptors, TLRs) 的核心可以识别 LPS, 进而促进细胞产生炎症因子 ($IL-1\beta$ 、 $IL-6$ 和 $TNF-\alpha$)^[28,29]。如图 5 所示, 炎症因子 $IL-1\beta$ 、 $IL-6$ 和 $TNF-\alpha$ 分别从对照组的 83.54、59.52、和 205.966 $pg\cdot mL^{-1}$ 提升至 LPS 处理组的 111.39、84.73 和 260.25 $pg\cdot mL^{-1}$, 说明 LPS 成功诱导了炎症的发生。5.0 g/100 mL 和 6.0 g/100 mL 沙棘油加 3.0 g/100 mL 麦卢卡蜂蜜处理的细胞 $IL-1\beta$ 水平分别降至 98.09 和 98.12 $pg\cdot mL^{-1}$, 而 6.0 g/100 mL 沙棘油加 3.0 g/100 mL 麦卢卡蜂蜜处理的细胞 $TNF-\alpha$ 水平降至 242.05 $pg\cdot mL^{-1}$, 均显著低于 LPS 处理组, 其他样品处理与 LPS 处理组无显著差异。

抗炎实验结果说明低质量分数沙棘油并且不含麦卢卡蜂蜜的醇见沙棘原浆处理对 LPS 诱导的细胞炎症缓解能力有限, 而含 6.0 g/100 mL 沙棘油的醇见麦卢卡沙棘原浆能够抑制 IL-1 β 和 IL-6 水平上升, 具有抑制 LPS 诱导的细胞炎症的作用。这可能归功于沙棘油中的 β -谷甾醇等植物甾醇类物质和 n-3 多不饱和脂肪酸, 以及沙棘原浆中的多糖类和黄酮类物质, 据报道, 这些物质均有显著的抗炎效果^[30]。

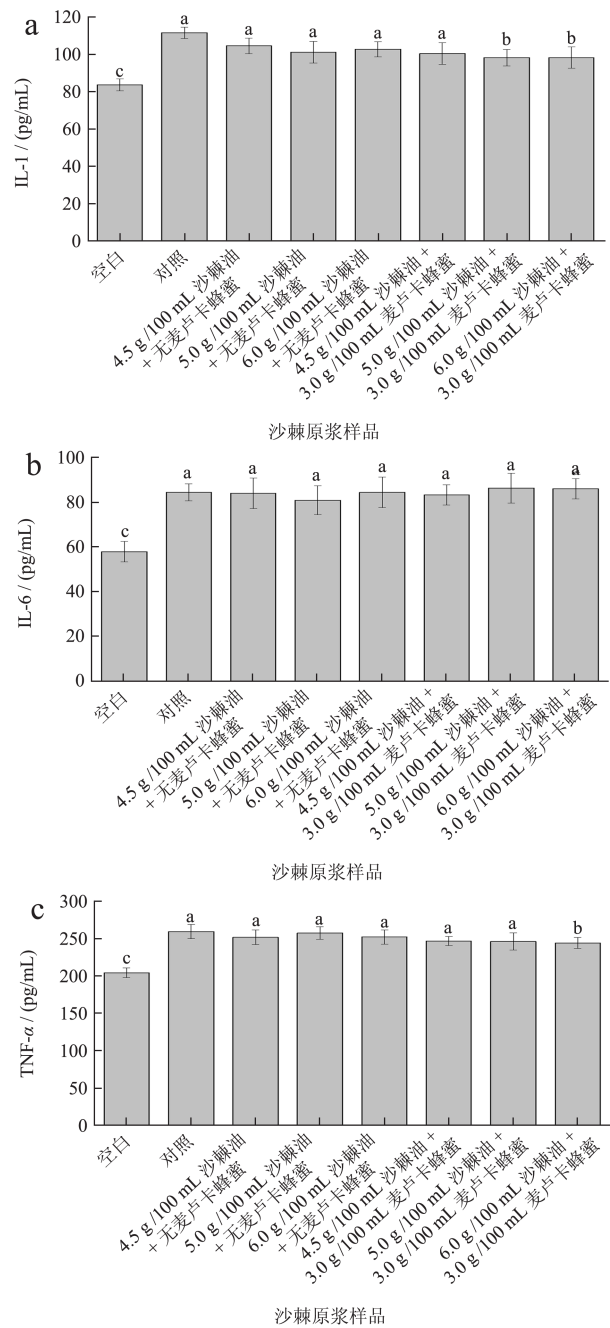


图 5 醇见沙棘原浆对 LPS 诱导的炎症因子 IL-1 β 、IL-6 和 TNF- α 抑制结果

Fig.5 Inhibition results of Chunjian sea-buckthorn puree on LPS-induced inflammatory factors including IL-1 β , IL-6, and TNF- α

注: 不同的小写字母表示具有显著差异 ($P < 0.05$)。

3 结论

该文对含不同质量分数沙棘油的醇见沙棘原浆和醇见麦卢卡沙棘原浆的体外抗氧化、抑菌和免疫调节作用进行了研究。抗氧化实验结果表明, 不同质量分数沙棘油的醇见沙棘原浆和醇见麦卢卡沙棘原浆均有较强的抗氧化作用, 另外, 随着沙棘油质量分数的增高, 其抗氧化能力增强。抑菌实验表明, 含不同质量分数沙棘油的醇见沙棘原浆和醇见麦卢卡沙棘原浆对大肠杆菌、金黄色葡萄球菌和枯草芽孢杆菌均有不同程度的抑制作用, 抑菌圈直径均在 9.00 mm 以上, 其中对金黄色葡萄球菌的抑制作用最强, 大肠杆菌次之, 对枯草芽孢杆菌的抑制作用较弱, MIC 为 0.125 g·mL⁻¹, MBC 均为 0.250 g·mL⁻¹。此外, 随着沙棘油质量分数的增高, 其在一定程度上对大肠杆菌、金黄色葡萄球菌和枯草芽孢杆菌的抑制能力会增强。免疫调节实验结果表明, 含 6.0 g/100 mL 沙棘油的醇见麦卢卡沙棘原浆较其他沙棘原浆更能够抑制由 LPS 诱导的 IL-1 β 和 TNF- α 水平上升, 具有更好免疫调节作用。

参考文献

[1] TRIVEDI V L, ATTRI D C, BAHUKHANDI A, et al. Seabuckthorn (*Hippophae salicifolia*) leaves, a good source of natural antioxidant compounds [J]. National Academy Science Letters, 2022, 45(2): 195-198.

[2] XU D J, YUAN L, MENG F D, et al. Research progress on antitumor effects of sea buckthorn, a traditional Chinese medicine homologous to food and medicine[J]. Frontiers in Nutrition, 2024, 11: 1430768.

[3] KHAN Z S, SODHI N S, DHILLON B, et al. Seabuckthorn (*Hippophae rhamnoides* L.), a novel seed protein concentrate: isolation and modification by high power ultrasound and characterization for its functional and structural properties [J]. Journal of Food Measurement and Characterization, 2021, 15(5): 4371-4379.

[4] 任婧楠,贾潇,张智锋,等.新鲜沙棘果汁和沙棘原浆的风味和营养品质分析[J].食品科学,2024,45(4):164-170.

[5] YANG X Y, LUO S J, YANG S H, et al. Chromosome-level genome assembly of *Hippophae rhamnoides* variety [J]. Scientific Data, 2024, 11(1): 776.

[6] 曾奥,许炳烨,王雪,等.新疆大果沙棘原浆、籽油和果油气味特征及产品间相关性[J].北京林业大学学报,2024,46(2):132-142.

[7] 黄俊恺.沙棘籽油、果油品质特性及贮藏稳定性研究[D].武汉:华中农业大学,2024.

[8] HUANG J T, TEH B M, XU Z Q, et al. The possible mechanism of *Hippophae fructus* oil applied in tympanic membrane repair identified based on network pharmacology and molecular docking [J]. Journal of Clinical Laboratory Analysis, 2022, 36(1): e24157.

[9] SCHMIDT C, EICHELBERGER K, ROHM H. New Zealand mānuka honey-A review on specific properties and possibilities

- to distinguish mānuka from kānuka honey [J]. LWT, 2021, 136: 110311.
- [10] ALICJA S, ANETA P, TERESA S. Quality of commercially available manuka honey expressed by pollen composition, diastase activity, and hydroxymethylfurfural content [J]. Foods, 2023, 12(15): 2930-2930.
- [11] 沙芳芳,赵瑞丽,张璐,等.麦卢卡蜂蜜促健康功能研究进展[J].食品与发酵工业,2023,49(19):348-359.
- [12] GB/T 44349-2024,中华人民共和国国家标准 蜂花粉总多酚的检测 福林酚试剂比色法[S].
- [13] GB/T 39100-2020,多酚抗氧化性测定 DPPH和ABTS法[S].
- [14] YANG Z P, WANG H X, QI G H, et al. Antimicrobial effects of a compound solution of three medicine food homology plants [J]. Food Bioscience, 2022, 49: 101845.
- [15] 田雪丽,宋志强,索宝军,等.比较Epsilonometer试验法和琼脂稀释法检测幽门螺杆菌对甲硝唑的敏感性[J].北京大学学报(医学版),2023,55(5):934-938.
- [16] RANA N, BANU A N, KUMAR B, et al. Phytofabrication, characterization of silver nanoparticles using *Hippophae rhamnoides* berries extract and their biological activities [J]. Frontiers in Microbiology, 2024, 15: 1-14.
- [17] 罗雨菲,黄秀壁,苏芬安,等.姑辽茶粗多糖提取工艺优化及其免疫调节活性评价[J].食品工业科技,2024,45(23):161-169.
- [18] 朱家莹,傅乐祎,赵倩,等.沙棘酵素发酵过程中主要酚类化合物含量及其抑菌活性变化[J].中国酿造,2024,43(11):144-150.
- [19] 王薇,曹雯.沙棘果渣多酚、多糖及黄酮抑菌性及对葡萄保鲜研究[J].中国食品添加剂,2023,34(11):12-18.
- [20] 刘美静,魏晓博,余君伟,等.沙棘籽油的超临界CO₂提取及抗氧化活性研究[J].中国粮油学报,2025,40(1):156-161.
- [21] 王颖,张智锋,任婧楠,等.沙棘活性成分及功能特性的研究进展[J].现代食品科技,2025,41(4):1-10.
- [22] 李菲菲,杨文迪,陈吕军,等.环境抗生素细菌耐药性风险评价中最小抑菌浓度的研究进展[J].微生物学通报,2025,51(12):4984-5005.
- [23] IDREES M, SAWANT S, KARODIA N, et al. *Staphylococcus aureus* biofilm: Morphology, genetics, pathogenesis and treatment strategies [J]. International Journal of Environmental Research and Public Health, 2021, 18(14): 7602.
- [24] MLYNARCZYK-BONIKOWSKA B, KOWALEWSKI C, KROLAK-ULINSKA A, et al. Molecular mechanisms of drug resistance in *Staphylococcus aureus* [J]. International Journal of Molecular Sciences, 2022, 23(15): 8088.
- [25] URUÉN C, CHOPO-ESCUIN G, TOMMASSEN J, et al. Biofilms as promoters of bacterial antibiotic resistance and tolerance [J]. Antibiotics, 2021, 10(1): 3.
- [26] MIHALCEA L, TURTURICĂ M, CUCOLEA E I, et al. CO₂ Supercritical fluid extraction of oleoresins from sea buckthorn pomace: Evidence of advanced bioactive profile and selected functionality [J]. Antioxidants, 2021, 10(11): 1681.
- [27] 谢衣恒,张芮,郭海洋,等.附子多糖的提取纯化、结构表征及其对RAW 264.7巨噬细胞免疫活性的影响[J].中国抗生素杂志,2024,49(12):1329-1337.
- [28] 田江榕,仲磊,纪阳,等.杏鲍菇多肽的分离纯化、结构表征及免疫活性[J].食品科学,2025,46(11):94-104.
- [29] LI M Z, HUANG X J, WEN J J, et al. Innate immune receptors co-recognition of polysaccharides initiates multi-pathway synergistic immune response [J]. Carbohydrate Polymers, 2023, 305: 120533.
- [30] OLAS B. The beneficial health aspects of sea buckthorn (*Elaeagnus rhamnoides* (L.) A.Nelson) oil [J]. Journal of Ethnopharmacology, 2018, 213: 183-190.