

香茅醛对金黄色葡萄球菌的抑制作用

张卯¹, 张业辉², 李惠¹, 肖性龙¹, 余以刚^{1*}

(1. 华南理工大学食品科学与工程学院, 广东广州 510640) (2. 广东省农业科学院蚕业与农产品加工研究所, 农业农村部功能食品重点实验室, 广东省农产品加工重点实验室, 广东广州 510610)

摘要: 该研究探讨香茅醛 (Citronellal, CIT) 对金黄色葡萄球菌 (*Staphylococcus aureus*, *S. aureus*) 的抑菌作用。采用微量肉汤稀释法及时间-杀菌曲线确定了 CIT 对 *S. aureus* 的抑菌活性。CIT 对 *S. aureus* 最小抑菌浓度 (MIC) 及最小杀菌浓度 (MBC) 均为 0.80 mg/mL, 且具有快速杀菌作用, 1.60 mg/mL 的 CIT 处理 0.5 h 后, *S. aureus* 活菌数从 5.65 log CFU/mL 下降到 0.00。经 CIT 处理后, *S. aureus* 胞外 K⁺ 浓度显著升高至 2.63 mg/L, 碘化丙啶 (PI) 荧光强度与对照相比升高 5 326.83 A.U., 表明 CIT 会影响细胞膜通透性, 导致胞内小分子及大分子物质泄出。扫描电镜观察下发现, 高浓度 CIT 能严重破坏 *S. aureus* 细胞形态及结构。此外, 通过紫外可见光谱发现, CIT 在加入 *S. aureus* 的 DNA 后, 吸收峰发生明显的增色效应, 与对照组相比最大差值为 0.45 A.U., 表明 CIT 可能通过沟槽结合与 DNA 相互作用, 干扰 DNA 的正常生物功能, 抑制细胞生长。综上所述, CIT 可作为 *S. aureus* 生长的天然高效抑菌剂, 并通过破坏细胞膜完整性及影响 DNA 结构, 干扰细菌细胞的正常生理活动来发挥抑菌作用。该研究为 CIT 在食品工业中的应用提供理论基础。

关键词: 香茅醛; 金黄色葡萄球菌; 抑菌活性

文章编号: 1673-9078(2023)01-120-126

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2023.1.0207

Antibacterial Effect of Citronellal against *Staphylococcus aureus*

ZHANG Mao¹, ZHANG Yehui², LI Hui¹, XIAO Xinglong¹, YU Yigang^{1*}

(1.College of Food Science and Engineering, South China University of Technology, Guangzhou 510640, China)

(2.Sericulture & Agri-food Research Institute Guangdong Academy of Agricultural Sciences, Key Laboratory of Functional Foods, Ministry of Agriculture and Rural affairs, Guangdong Key Laboratory of Agricultural Products Processing, Guangzhou 510610, China)

Abstract: The minimal inhibitory concentration of Citronellal against *Staphylococcus aureus* was determined using broth dilution, and the results were analyzed using a time-kill curve. Citronellal showed a rapid bactericidal effect at a minimum concentration of 0.80 mg/mL. After treating *Staphylococcus aureus* with 1.60 mg/mL of Citronellal for 0.5 h, the live bacteria count decreased from 5.65 log CFU/mL to 0.00 CFU/mL. After Citronellal treatment, the extracellular potassium ion concentration of *Staphylococcus aureus* increased significantly to 2.63 mg/L, and the fluorescence intensity of propidium iodide was 5 326.83 A.U. greater than that of the control group. This demonstrated that Citronellal can affect the permeability of *Staphylococcus aureus* cell membranes, causing leakage of intracellular micro- and macromolecules. Scanning electron microscopy results showed that high concentrations of Citronellal could seriously damage the morphology and structure of *Staphylococcus aureus* cells. UV-visible spectrum analysis showed that after adding *Staphylococcus aureus* DNA to Citronellal, the absorption peak exhibited a clear enhancement effect, with a maximum difference of 0.45 A.U. compared with the control group. This suggested that Citronellal interacts with DNA via groove binding, interfering with the normal biological function of DNA, and inhibiting cell growth. In conclusion, Citronellal could be used as a natural and efficient bacteriostatic agent preventing the growth of *Staphylococcus aureus* by

引文格式:

张卯,张业辉,李惠,等.香茅醛对金黄色葡萄球菌的抑制作用[J].现代食品科技,2023,39(1):120-126

ZHANG Mao, ZHANG Yehui, LI Hui, et al. Antibacterial effect of citronellal against *Staphylococcus aureus* [J]. Modern Food Science and Technology, 2023, 39(1): 120-126

收稿日期: 2022-02-28

基金项目: 广东省重点研发计划项目 (2019B020212003); 广州市重点研发计划项目 (202206010177); 广东省农业科技创新推广项目 (粤财农〔2021〕170号)

作者简介: 张卯 (1997-), 女, 在读硕士, 研究方向: 食品质量与安全控制, E-mail: 2468596685@qq.com

通讯作者: 余以刚 (1968-), 男, 博士, 教授, 研究方向: 食品质量与安全控制, E-mail: yuyigang@scut.edu.cn

destroying cell membrane integrity, altering DNA structure, and interfering with normal physiological activities of the bacterial cells. This study provides a theoretical basis for the application of Citronellal in the food industry.

Key words: citronellal; *Staphylococcus aureus*; antibacterial activity

金黄色葡萄球菌 (*Staphylococcus aureus*, *S. aureus*) 是一种常见的食源性致病菌, 属于革兰氏阳性菌, 广泛分布于自然界中, 在水、空气、土壤、灰尘中都可发现, 约 20% 的健康人群持续携带^[1]。*S. aureus* 具有强致病性, 可引起肺炎、假膜性肠炎、心包炎、败血症等多种疾病^[2]。此外, *S. aureus* 具有耐高温性及耐盐性, 在食品中易生长繁殖, 消费者在食用被 *S. aureus* 污染的食物后容易引起以呕吐, 腹泻为主要症状的食物中毒反应^[3]。2020 年, 欧盟报告了由 *S. aureus* 导致的食源性疾病爆发共 43 次, 造成 402 人次感染^[4]。可见, 食品中的 *S. aureus* 污染已成为世界范围内食源性疾病爆发的重要原因之一^[5]。因此, 寻找有效抑制食品中 *S. aureus* 生长的方法, 从而提高食品货架期和食品质量是非常有意义的。

近年来, 天然抗菌剂如精油、酚类、醛类等天然化合物及其衍生物因其来源广泛和广谱抗菌的特性成为研究焦点。香茅醛 (Citronellal, CIT) 是一种含氧单帖醛类化合物, 其作为一种天然物质广泛存在于香辛料及植物精油中, 已被纳入我国《食品安全国家标准食品添加剂使用标准》(GB 2760-2014) 作为香辛料使用。CIT 具有杀虫、抗氧化、免疫调节等多种生物功能^[6]。且已有部分研究表明, CIT 具有抗菌活性。Choi 等^[7]研究发现 CIT 对蜡状芽孢杆菌、单核增生李斯特菌等具有良好的抗菌效应, 其对蜡状芽孢杆菌的最小抑菌浓度 (MIC) 仅为 1.25 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 。此外 CIT 还具有显著的抗真菌作用^[8]。虽然前人已经描述了 CIT 的活性功能, 但对 CIT 对 *S. aureus* 的抑菌活性及作用方式知之甚少。因此, 本文研究了 CIT 对 *S. aureus* 的抑菌活性及作用方式, 以期扩大 CIT 在食品工业中的应用, 保障食品安全提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料与主要试剂

S. aureus (ATCC 6538) 由华南理工大学食品科学与工程学院食品安全与检测实验室提供。胰酪大豆胨液体培养基 (TSB)、胰酪大豆胨琼脂培养基 (TSA), 购于广东环凯微生物科技有限公司; 细菌基因组 DNA 提取试剂盒购于天根生化科技有限公司。

1.2 主要仪器与设备

En Spire 酶标仪, 美国 Perkinelmer 公司; S-3700N 扫描电子显微镜, 德国蔡司公司; KDC-40 恒温培养箱, 科大创新股份有限公司中佳分公司; SHZ-88A 高温高压灭菌锅, 江苏太仓市实验设备厂; 超净工作台, 上海博讯实业有限公司; Z-2000 原子吸收分光光度计, 日本日立; GelDoc XR+凝胶成像仪, 美国伯乐 Bio-rad 公司。

1.3 实验方法

1.3.1 金黄色葡萄球菌菌悬液的制备

S. aureus 菌种在 TSA 平板上于 37 $^{\circ}\text{C}$ 培养 24 h 活化, 挑取单菌落于 TSB 中培养至稳定期, 无菌 TSB 调整菌悬液至合适浓度, 用于下述实验。

1.3.2 香茅醛对金黄色葡萄球菌的最小抑菌浓度及最小杀菌浓度的测定

采用微量肉汤梯度稀释法测定 CIT 对 *S. aureus* 的 MIC。在 96 孔板每孔中加入 100 μL 无菌 TSB 后, 在第一孔中加入 100 μL CIT 母液 (25.60 mg/mL), 充分吸打混匀, 移取 100 μL 混合液于下一孔中进行连续 2 倍稀释。稀释完成后, 加入 100 μL 菌悬液 ($\sim 6 \log \text{CFU}/\text{mL}$) 充分混匀, 得到 CIT 终浓度为 6.40、3.20、1.60、0.80、0.40、0.20、0.10、0.05 mg/mL 的系列培养体系。其中, 未加菌悬液的孔为阳性对照, 不含 CIT 的孔为阴性对照。上述混合物在 37 $^{\circ}\text{C}$ 下孵育 24 h, 无可见菌体生长的最小 CIT 浓度被定义为 MIC 值^[9]。分别从上述无肉眼可见菌体生长的孔中取 100 μL 混合菌液加入 20 mL TSB 培养基中, 摇床培养 24 h, 无肉眼可见菌体生长的最小 CIT 浓度为 MBC 值。

1.3.3 香茅醛对金黄色葡萄球菌的杀菌曲线的测定

CIT 对 *S. aureus* 的时间-杀菌曲线参考 Pobiega 等^[10]的方法进行测定。将 CIT 溶液与 *S. aureus* 菌悬液 ($\sim 6 \log \text{CFU}/\text{mL}$) 混合均匀, 使 CIT 最终浓度为 1/2 MIC、1 MIC 和 2 MIC。未加 CIT 溶液的体系为对照组 (CK)。将上述混合物置于摇床中培养 24 h (37 $^{\circ}\text{C}$, 180 r/min)。分别在 0、0.5、1、2、4、6、8、12、24 h 时取样。生理盐水梯度稀释后, 取合适梯度样品接种于 TSA 平板上, 37 $^{\circ}\text{C}$ 培养 24 h 后计数。绘制时间-杀菌曲线。

1.3.4 胞外 K^+ 浓度测定

胞外 K^+ 浓度测定参考 Cao 等^[11]的方法进行适当修改。取 5 mL 菌悬液 ($\sim 8 \log \text{CFU/mL}$) 离心后收集菌体沉淀。用无菌生理盐水洗涤菌体 2 次后, 重悬于 50 mL 含有不同浓度 CIT 的生理盐水, 使 CIT 最终浓度为 1/8 MIC、1/4 MIC 和 3/8 MIC。未加 CIT 溶液的体系为对照组 (CK)。将上述混合物置于摇床中培养 8 h。分别在 0、0.5、1、2、4、6、8 h 时取样, 离心后取上清液过 0.22 μm 滤膜待测。使用原子吸收分光光度计测定样品中的 K^+ 浓度。

1.3.5 碘化丙啶 (PI) 染色实验

参照 Wu 等^[12]的方法进行碘化丙啶 (PI) 染色实验。取 5 mL 菌悬液 ($\sim 8 \log \text{CFU/mL}$) 离心后弃去上清液。菌体沉淀用等量生理盐水清洗 2 次后重悬于 5 mL 含有不同浓度 CIT 的 PBS 缓冲液 (0.1 mmol/L, pH 值 7.2), 混合均匀, 得到 CIT 终浓度为 1/4 MIC、1/2 MIC、1 MIC 和 2 MIC 的混合体系。未加 CIT 溶液的体系为对照组 (CK)。将上述混合物 37 $^{\circ}\text{C}$ 孵育 4 h。孵育后, 将样品离心, 菌体沉淀用生理盐水清洗 2 次, 重悬于 5 mL PBS 缓冲液中。随后, 加入 PI 染液 (1 mg/mL), 混合均匀, 37 $^{\circ}\text{C}$ 避光孵育 30 min。随后, 使用酶标仪在 495 nm 激发波长和 625 nm 发射波长下测定荧光光谱。

1.3.6 香茅醛对金黄色葡萄球菌细胞形态的影响

使用扫描电子显微镜观察 CIT 处理下 *S. aureus* 细胞形态的变化。参考 Wang 等^[13]的方法, 取 1 mL 菌液 ($\sim 8 \log \text{CFU/mL}$), 离心后弃去上清液, 加入 1 mL 含 CIT 的 PBS 缓冲液重悬菌体沉淀, 得到 CIT 终浓度为 1/2 MIC、1 MIC 和 2 MIC 的培养体系。不含 CIT 的体系为对照组。将上述混合物 37 $^{\circ}\text{C}$ 孵育 8 h。孵育后, 离心, 菌体沉淀用 PBS 缓冲液清洗 2 次。重悬于 1 mL 2.5% 戊二醛溶液, 4 $^{\circ}\text{C}$ 过夜固定。随后, 将固定后的菌悬液离心弃去上清液, PBS 缓冲液清洗 2 次。按 $\varphi=10\%$ 、30%、50%、70%、90% 的乙醇溶液浓度顺序梯度脱水, 最后用 1 mL 100% 乙醇重悬菌体沉淀。取扫描电子显微镜载物台, 贴导电胶, 将盖玻片贴于导电胶上, 取 5 μL 菌液于盖玻片上, 晾干, 喷金, 扫描电镜下观察。

1.3.7 香茅醛对金黄色葡萄球菌 DNA 的影响

使用细菌基因组 DNA 提取试剂盒提取 *S. aureus* 基因组 DNA。采用琼脂糖凝胶电泳及紫外可见光光谱的测定来探究 CIT 处理对 *S. aureus* 基因组 DNA 的影响。将 GelRed 荧光染料与琼脂糖溶液混合后制胶。*S. aureus* 基因组 DNA 溶液与不同浓度的 CIT 溶液等体积混合后, 避光孵育 30 min, 然后在琼脂糖凝胶上

进行电泳分离 DNA 片段。使用凝胶成像仪观察 DNA 条带。使用 TE Buffer 对基因组 DNA 进行 2 倍梯度稀释。取 200 μL CIT 溶液 ($0.69 \times 10^{-2} \text{ mmol/L}$) 与等体积不同浓度的 DNA 溶液混合均匀。37 $^{\circ}\text{C}$ 孵育 30 min。不含 DNA 溶液的为对照组 (CK)。使用紫外可见分光光度计测定基因组 DNA 片段与 CIT 混合液的紫外吸收光谱。

1.4 数据处理

所有的实验均重复三次。使用 IBM SPSS Statistics 25 软件对数据进行统计学意义分析。数据的处理采用单因素方差分析和 Duncan 多重比较。 $p < 0.05$ 有统计学意义。

2 结果与讨论

2.1 香茅醛对金黄色葡萄球菌的抑菌活性

CIT 对 *S. aureus* 的 MIC 和 MBC 值均为 0.80 mg/mL。Srisukh 等^[14]报道, CIT 对 3 株 *S. aureus* 的 MIC 为 1.10 mg/mL, 与本研究的结果相似。抑菌物质的抑菌活性可能与其结构有关。含氧单萜被认为是精油中主要的抑菌活性成分之一, 抗菌活性较高的唇形科精油中含有大量的含氧单萜^[15,16]。此外, 菊科植物精油中包括 CIT 在内的非芳香单萜已被证明具有比精油更高的抑菌活性^[17]。

2.2 香茅醛对金黄色葡萄球菌的时间-杀菌曲线

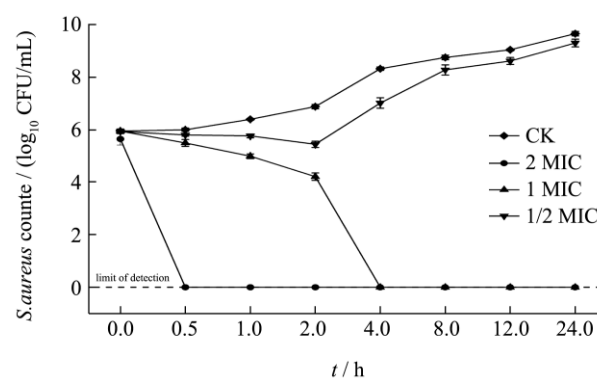


图 1 CIT 处理对 *S. aureus* 的时间-杀菌曲线

Fig.1 The time-kill curves of *S. aureus* treated with CIT

CIT 对 *S. aureus* 的抑菌效果可通过 CIT 对 *S. aureus* 的作用速度来反映。CIT 处理对 *S. aureus* 的时间-杀菌曲线如图 1 所示。在 24 h 内, CK 组的 *S. aureus* 活菌数随着培养时间的延长而持续增加, 在 24 h 后达到 9.66 log CFU/mL。在 1/2 MIC 浓度的 CIT 处理下, 随着培养时间的延长, *S. aureus* 的活细胞数量呈现先减少后增加的趋势, 且在处理 24 h 后,

S. aureus 活细胞数量达到 9.31 log CFU/mL, 与 CK 组相比, 没有明显差异, 说明 0.5 mg/mL 浓度的 CIT 不足以抑制 *S. aureus* 的生长。而在 1 MIC 浓度处理下, *S. aureus* 活菌数量随培养时间的延长而迅速下降, 2 h 后 *S. aureus* 活菌数量与初始值相比减少约 1.74 log CFU/mL, 与 CK 组的差值约为 2.66 log CFU/mL, 4 h 后检测不到活菌。CIT 在 2 MIC 浓度下, 在 0.5 h 内对 *S. aureus* 具有完全抑制作用。结果表明, CIT 对 *S. aureus* 有快速杀菌作用。郭丹^[18] 探究了包括 CIT 在内的 11 种天然化合物及其衍生物对四种食品腐败菌(大肠杆菌、*S. aureus*、表皮葡萄球菌、绿脓杆菌)的抑制作用, 发现 CIT 对四种食品腐败菌均具有良好的抑制效果, 与其他 10 种化合物相比, CIT 对 *S. aureus* 的抑制效果最好。因此, 有必要进一步探究 CIT 对 *S. aureus* 的作用方式。

2.3 香茅醛处理对金黄色葡萄球菌的膜损伤

作用

天然抑菌化合物可以通过非特异性结合膜或特异性靶点如膜蛋白和膜脂改变细胞膜的通透性, 导致胞内大分子及小分子的泄露, 进而导致细胞死亡^[19]。胞外 K^+ 浓度的变化可以反映出胞内小分子的泄露情况。PI 作为一种核酸染色剂, 只能穿透细胞膜受损的细胞与核酸结合, 导致荧光强度增加^[20], PI 与 DNA 相互作用引起的荧光强度的差异可以评估细胞内大分子的泄露情况。

胞外 K^+ 泄露实验结果如图 2a 所示。*S. aureus* 培养上清液中 K^+ 初始浓度约为 0.41 mg/L。随着培养时间的延长, CK 组的 K^+ 浓度缓慢上升, 8 h 后达到 1.85 mg/L。而经 1/4 MIC 及 3/8 MIC 浓度的 CIT 处理后, 上清液中的 K^+ 浓度急剧增加, 8 h 后 1/4 MIC 及 3/8 MIC 处理组的 K^+ 浓度上升到 2.54 mg/L 和 2.63 mg/L, 与对照组相比, 分别升高 0.69 mg/L 和 0.78 mg/L, 具有显著性差异 ($p < 0.05$)。表明 CIT 处理会影响细胞膜通透性导致胞内小分子物质泄出量增加。不同浓度 CIT 处理下, PI 染色实验结果如图 2b 所示。PI 在 620 nm 处发射出最大荧光强度, CK 组的荧光强度为 1 049.48 A.U., 经 1 MIC 及 2 MIC 处理组的荧光强度分别为 1 446.40 A.U. 和 6 376.31 A.U., 与对照组相比, 分别升高了 396.92 A.U. 和 5 326.83 A.U.。可见经 2 MIC 浓度的 CIT 处理后, 荧光强度远高于 CK 组, 说明该处理组 *S. aureus* 的细胞膜遭到破坏, DNA 大量泄出并与 PI 结合, 导致荧光强度升高。枯茗醛处理 *S. aureus* 也会导致 PI 荧光强度显著增加^[21]。此外, Du 等^[22] 研究

发现, 在 2 MIC 植物乳杆菌素 GZ1-27 处理下, 耐甲氧西林 *S. aureus* 培养上清液中 K^+ 的渗漏量在 60 min 达到峰值并趋于稳定, 最大泄出量为 0.90 mg/mL, 比对照组升高 0.80 mg/mL, 说明 GZ1-27 可以增加细菌细胞膜的通透性, 从而导致 K^+ 的外泄。而该研究中 K^+ 泄出浓度远高于本研究, 可能是抑菌剂浓度不同导致的差异。实验结果表明 CIT 可以引起 *S. aureus* 膜损伤, 导致胞内小分子及大分子物质泄出。

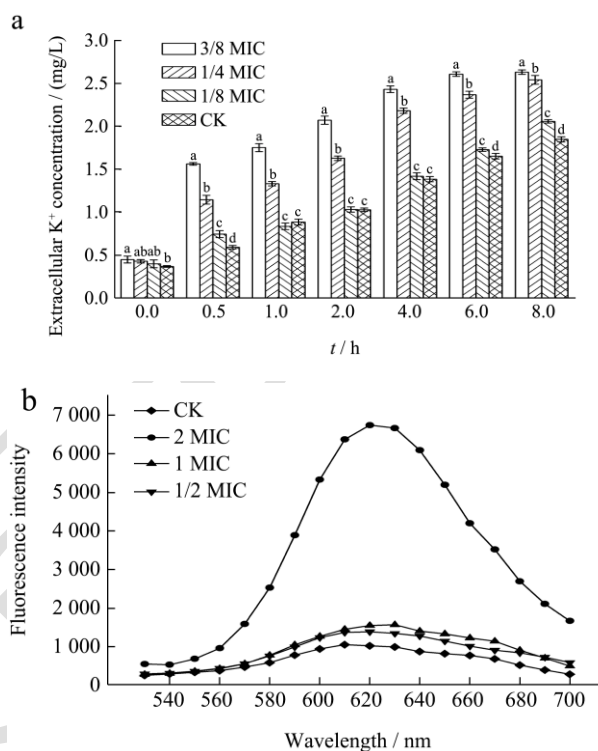


图 2 a: CIT 对 *S. aureus* 细胞上清液 K^+ 浓度的影响; b: CIT 处理下, PI 与 *S. aureus* 基因组 DNA 相互作用的荧光光谱
Fig.2 a: Effects of CIT on K^+ concentrations in supernatant of *S. aureus* cells; b: Fluorescence spectra of interaction between PI and *S. aureus* genomic DNA treated by CIT

注: 不同字母表示同一时间不同组间差异显著 ($p < 0.05$)。

2.4 香茅醛处理对金黄色葡萄球菌细胞形态的影响

经 CIT 处理后的 *S. aureus* 的细胞形态变化如图 3 所示。对照组的细胞表面完整光滑, 排列紧密成葡萄串状, 具有正常的细胞形态。经 CIT 处理后, 细胞形态发生明显的改变。1/2 MIC 处理下大部分细胞形态与对照组一致, 表面完整光滑, 少部分细胞表面完整但出现凹陷。随着 CIT 处理浓度的升高, 1 MIC 处理下, 细胞变形更严重, 大部分细胞出现皱缩及塌陷, 一部分细胞膜出现破损。而暴露于 2 MIC 浓度下的细胞出现大面积破损, 细胞呈现聚集粘连状态, 细胞周

围出现大量絮状物,细胞内容物完全泄出。研究表明,抑菌剂穿透细胞膜的难易程度与其亲脂性密切相关,如类黄酮的亲脂性是其抗革兰氏阳性菌的关键因素^[23]。CIT作为一种小分子天然醛,具有很强的亲脂性,更容易穿透细胞膜,增强其在生物体内的生物活性。肉桂醛处理 *S. aureus* 也出现了类似的情况,经肉桂醛处理后的 *S. aureus*,细胞形态因皱缩和变形而发生改变,部分 *S. aureus* 细胞还发生了分裂^[24]。此外,Cao等^[25]研究发现柠檬醛处理可导致副溶血性弧菌细胞破裂。上述实验结果及研究表明,CIT处理可以造成 *S. aureus* 的细胞形态改变,导致细胞破裂,且随着CIT浓度的增加,细胞膜损伤也越严重。这些结果也与之前的膜损伤实验结果一致,进一步证明CIT可通过影响细菌细胞膜的功能与结构发挥抑菌效果。

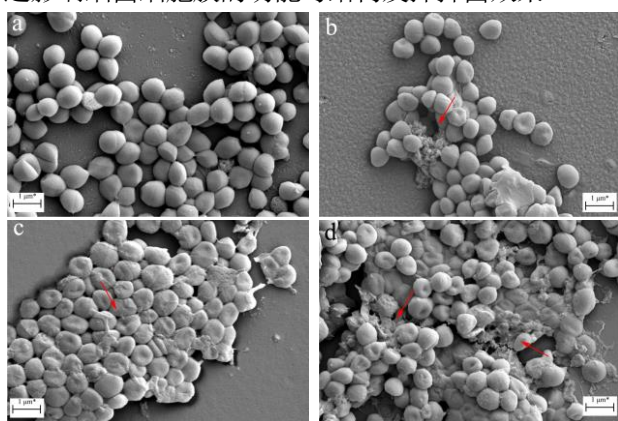


图3 不同浓度CIT处理对 *S. aureus* 细胞形态的影响

Fig.3 Effects on the morphology of *S. aureus* cells treated by different concentrations of CIT

注: a: 对照组; b: 1/2 MIC 处理组; c: 1 MIC 处理组; d: 2 MIC 处理组

2.5 香茅醛与金黄色葡萄球菌基因组DNA相互作用的方式

CIT除作用于细菌细胞膜外,还可能作用于细胞内大分子物质如DNA,通过改变DNA结构进而影响其生物活性,达到抑菌效果。如图4a所示,随着CIT浓度的增加,DNA条带无明显改变。表明CIT不能直接导致基因组DNA片段断裂。小分子化合物与DNA的非共价键结合主要分为两种主要模式,即嵌入模式和沟槽结合^[26]。图4b为CIT与 *S. aureus* 基因组DNA相互作用的紫外光谱图,如图所示,CIT在259 nm处有一吸收峰,随着体系中DNA的量逐渐增大,吸收峰也随之增大,分别为0.12 A.U.、0.16 A.U.、0.24 A.U.、0.35 A.U.和0.57 A.U.,最大差值为0.45 A.U.,没有明显的红移或者蓝移现象发生,但有明显的增色

现象。一般情况下,小分子化合物与DNA的相互作用会导致紫外吸收带出现红移或蓝移现象,产生减色或增色效果。研究表明,当小分子与DNA沟槽紧密结合时,会破坏DNA双螺旋结构,导致DNA双螺旋结构部分解旋,碱基暴露,紫外吸收带则会产生增色效应^[27]。由此推测,CIT可能通过沟槽结合模式与 *S. aureus* 基因组DNA相互作用,改变DNA结构。Wang等^[28]发现百里香酚也可与 *S. aureus* 基因组DNA的小沟结合并诱导DNA分子聚集。而Hu等^[29]的研究发现,柠檬醛与耐甲氧西林 *S. aureus* 基因组DNA作用后,添加2 μL和4 μL DNA的样品的相关峰强度分别下降了7.37%和22.20%,与本文实验结果相反,这可能是由于柠檬醛与DNA之间的结合方式不同。减色效应、吸收带红移现象被认为是小分子嵌插到DNA双螺旋结构中,并与碱基相互作用所导致的^[30]。

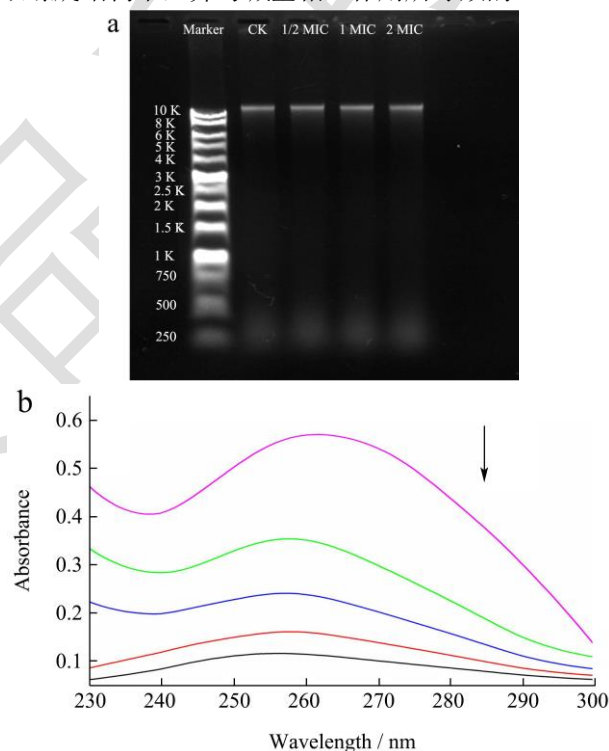


图4 CIT与 *S. aureus* 基因组DNA作用方式

Fig.4 Interaction between CIT and *S. aureus* genomic DNA

注: a 琼脂糖凝胶电泳实验; b 紫外可见光谱, c (CIT) = 0.69×10^{-2} mmol/L, 随箭头的方向, DNA 浓度为 8.5×10^{-2} 、 4.25×10^{-2} 、 2.13×10^{-2} 、 1.06×10^{-2} 、0 mmol/L。

3 结论

本文研究了CIT对 *S. aureus* 的抑菌效果。结果发现CIT对 *S. aureus* 有较强的快速杀菌作用。经CIT处理后, *S. aureus* 的细胞膜通透性显著降低,胞内小分子及大分子物质泄出量显著增加,细胞形态结构及细胞膜完整性遭到严重破坏,影响 *S. aureus* 的正常生理

代谢活动,进而导致其死亡。CIT 除作用于细菌细胞膜外,还可作用于细胞内大分子物质 DNA, CIT 可能通过沟槽结合,改变 DNA 结构,干扰 DNA 的正常生物功能,从而抑制细胞生长甚至导致细胞死亡。本研究为扩大 CIT 在食品工业中的应用提供了理论基础。

参考文献

- [1] Chmielowiec-Korzeniowska A, Tymczyna L, Wlazlo L, et al. *Staphylococcus aureus* carriage state in healthy adult population and phenotypic and genotypic properties of isolated strains [J]. *Postepy Dermatologii I Alergologii*, 2020, 37(2): 184-189
- [2] Cheung G Y C, Bae J S, Otto M. Pathogenicity and virulence of *Staphylococcus aureus* [J]. *Virulence*, 2021, 12(1): 547-569
- [3] Yehia H M, Al-Masoud A H, Alarjani K M, et al. Prevalence of methicillin-resistant (*mecA* gene) and heat-resistant *Staphylococcus aureus* strains in pasteurized camel milk [J]. *J Dairy Sci*, 2020, 103(7): 5947-5963
- [4] European Food Safety Authority, European Ctr Dis Prevention Contro. The European Union One Health 2020 Zoonoses Report [J]. *EFSA Journal*, 2021, 19(12): e06971
- [5] Sihto H-M, Tasara T, Stephan R, et al. Growth behavior and temporal enterotoxin D expression of *Staphylococcus aureus* strains under glucose and lactic acid stress [J]. *Food Control*, 2016, 62: 69-73
- [6] 曾桃花,李文茹,谢小保,等.香茅醛对铜绿假单胞菌 PAO1 群体感应的抑制活性研究[J].*生态科学*,2021,40(4):27-35
- [7] Choi S I, Chang K M, Lee Y S, et al. Antibacterial activity of essential oils from *Zanthoxylum piperitum* AP DC. and *Zanthoxylum schinifolium* [J]. *Food Science and Biotechnology*, 2008, 17(1): 195-198
- [8] Wu Y, Ouyang Q, Tao N. Plasma membrane damage contributes to antifungal activity of citronellal against *Penicillium digitatum* [J]. *J Food Sci Technol*, 2016, 53(10): 3853-3858
- [9] Guo Y R, Liu Y, Zhang Z H, et al. The antibacterial activity and mechanism of action of luteolin against *Trueperella pyogenes* [J]. *Infection and Drug Resistance*, 2020, 13: 1697-1711
- [10] Pobięga K, Krasniewska K, Przybył J L, et al. Growth biocontrol of foodborne pathogens and spoilage microorganisms of food by polish propolis extracts [J]. *Molecules*, 2019, 24(16): 2965
- [11] Cao S, Du R P, Zhao F K, et al. The mode of action of bacteriocin CHQS, a high antibacterial activity bacteriocin produced by *Enterococcus faecalis* TG2 [J]. *Food Control*, 2019, 96: 470-478
- [12] Wu Y, Shi Y G, Zeng L Y, et al. Evaluation of antibacterial and anti-biofilm properties of kojic acid against five food-related bacteria and related subcellular mechanisms of bacterial inactivation [J]. *Food Sci Technol Int*, 2019, 25(1): 3-15
- [13] Wang Y, Qin Y, Zhang Y, et al. Antibacterial mechanism of plantaricin LPL-1, a novel class IIa bacteriocin against *Listeria monocytogenes* [J]. *Food Control*, 2019, 97: 87-93
- [14] Srisukh V, Tribuddharat C, Nukoolkarn V, et al. Antibacterial activity of essential oils from *Citrus hystrix* (makrut lime) against respiratory tract pathogens [J]. *ScienceAsia*, 2012, 38(2): 212-217
- [15] Hussain A I, Anwar F, Nigam P S, et al. Antibacterial activity of some *Lamiaceae* essential oils using resazurin as an indicator of cell growth [J]. *LWT - Food Science and Technology*, 2011, 44(4): 1199-1206
- [16] Kotan R, Kordali S, Cakir A. Screening of antibacterial activities of twenty-one oxygenated monoterpenes [J]. *Zeitschrift Fur Naturforschung C-a Journal of Biosciences*, 2007, 62(7-8): 507-513
- [17] Carrillo-Hormaza L, Mora C, Alvarez R, et al. Chemical composition and antibacterial activity against *Enterobacter cloacae* of essential oils from *Asteraceae* species growing in the Páramos of Colombia [J]. *Industrial Crops and Products*, 2015, 77: 108-115
- [18] 郭丹.柠檬醛及其衍生物的抑菌活性与机理研究[D].南昌:江西农业大学,2016
- [19] Wu Y, Bai J, Zhong K, et al. Antibacterial activity and membrane disruptive mechanism of 3-p-trans-coumaroyl-2-hydroxyquinic acid, a novel phenolic compound from pine needles of *Cedrus deodara*, against *Staphylococcus aureus* [J]. *Molecules*, 2016, 21(8): 1084
- [20] Ning Y, Yan A, Yang K, et al. Antibacterial activity of phenyllactic acid against *Listeria monocytogenes* and *Escherichia coli* by dual mechanisms [J]. *Food Chem*, 2017, 228: 533-540
- [21] Li H, Zhang M, Addo K A, et al. Action mode of cuminaldehyde against *Staphylococcus aureus* and its application in sauced beef [J]. *LWT*, 2022, 155: 112924
- [22] Du H, Chi H, Yao H, et al. The antibacterial activity of plantaricin GZ1-27 against MRSA and its bio-preservative effect on chilled pork in combination with chitosan [J]. *Int J*

- Food Microbiol, 2022, 365: 109539
- [23] Yuan G J, Guan Y Y, Yi H Q, et al. Antibacterial activity and mechanism of plant flavonoids to gram-positive bacteria predicted from their lipophilicities [J]. Scientific Reports, 2021, 11(1): 10471
- [24] Shen S, Zhang T, Yuan Y, et al. Effects of cinnamaldehyde on *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus* membrane [J]. Food Control, 2015, 47: 196-202
- [25] Cao J, Liu H, Wang Y, et al. Antimicrobial and antivirulence efficacies of citral against foodborne pathogen *Vibrio parahaemolyticus* RIMD2210633 [J]. Food Control, 2021, 120: 107507
- [26] Wu Y, Bai J, Zhong K, et al. A dual antibacterial mechanism involved in membrane disruption and DNA binding of 2R, 3R-dihydromyricetin from pine needles of *Cedrus deodara* against *Staphylococcus aureus* [J]. Food Chem, 2017, 218: 463-470
- [27] 王平石. 莱克多巴胺与小牛胸腺 DNA 相互作用测定新方法研究[D]. 重庆: 西南大学, 2018
- [28] Wang L H, Zhang Z H, Zeng X A, et al. Combination of microbiological, spectroscopic and molecular docking techniques to study the antibacterial mechanism of thymol against *Staphylococcus aureus*: membrane damage and genomic DNA binding [J]. Anal Bioanal Chem, 2017, 409(6): 1615-1625
- [29] Hu W, Li C Z, Dai J M, et al. Antibacterial activity and mechanism of *Litsea cubeba* essential oil against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) [J]. Industrial Crops and Products, 2019, 130: 34-41
- [30] 申炳俊. 植物活性成分与人血清白蛋白及核酸相互作用的光谱特性研究[D]. 长春: 长春理工大学, 2017