

• 综 述 •

植物精油及活性成分防控黄曲霉生长及其毒素产生的研究进展

张宁慧, 王 璘, 毛垣元, 田 俊*

江苏师范大学生命科学学院, 江苏 徐州 221116

摘 要: 黄曲霉 *Aspergillus flavus* 是一种病原性真菌, 极易污染中药材、食品和农作物等。黄曲霉次生代谢产生的黄曲霉毒素 (aflatoxins, AFT) 具有致癌性和剧毒性, 给动物和人类的健康带来严重的威胁。因此, 寻求黄曲霉及 AFT 产生的抑制剂受到各国科研工作者的广泛关注。植物精油是一种从高等植物中提取并高度浓缩的天然抑菌剂, 具有抑菌效果好、污染小、对人体相对安全等优点。目前, 已有研究报道具有抗真菌活性的植物精油主要包括百里香、牛至、紫苏、小茴香等多种精油, 其中醇、醛、酚类等活性成分抑真菌效果相对较好。对黄曲霉及 AFT 的致病性及精油防控的研究进展进行综述, 为进一步探究植物精油的抑菌机制以及开发天然、绿色的抑菌产品提供参考。

关键词: 黄曲霉; 黄曲霉毒素; 黄曲霉毒素 B₁; 黄曲霉毒素 B₂; 植物精油; 预防控制

中图分类号: R282.71 **文献标志码:** A **文章编号:** 0253-2670(2020)20-5348-12

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2020.20.029

Research progress on growth of *Aspergillus flavus* and its toxins production controlled by plant essential oils and its active ingredients

ZHANG Ning-hui, WANG Zhen, MAO Yuan-yuan, TIAN Jun

School of Life Science, Jiangsu Normal University, Xuzhou 221116, China

Abstract: *Aspergillus flavus* is a pathogenic fungus, which can easily contaminate Chinese herbal medicines, food, and agricultural commodities. Aflatoxin (AFT) produced by the secondary metabolism of *A. flavus* caused serious threats to the health of people and animals due to its carcinogenic and highly toxic characteristics. Therefore, the search for inhibitors to *A. flavus* and its toxins has been widely concerned in the world. Essential oil is a natural antifungal agent extracted and highly concentrated from higher plants. It has the advantages of good antifungal effect, low pollution, and relatively safe to human body. Some kinds of them, including *Thymus vulgaris*, *Origanum virens*, *Perilla frutescens*, *Foeniculum vulgare*, and so on, displayed their antifungal activities. Specifically, active ingredients such as alcohols, aldehydes, and phenols have relatively good antifungal effects. The research progress on pathogenicity of *A. flavus* and AFT and the prevention and control by essential oils are reviewed in this article, which provided a reference for further exploring the antifungal mechanism of essential oils and developing natural and green antifungal products.

Key words: *Aspergillus flavus*; aflatoxin; aflatoxin B₁; aflatoxin B₂; essential oils; prevention and control

黄曲霉 *Aspergillus flavus* 是一种丝状真菌, 其营养来源主要为腐殖质等有机质。最近研究表明, 黄曲霉含有有性繁殖的功能性基因, 使种群在形态、遗传特征等方面具有多样性^[1]。农作物如水稻、花生等在收获前后均易受到黄曲霉的污染, 导致作物受害而减产。同时, 作为一种病原真菌, 黄曲霉可以通过呼吸道以及伤口诱发人和动物的支气管哮

喘、过敏性肺炎、霉菌性角膜炎等疾病^[2-3], 甚至会导致全身神经麻木^[4]。

黄曲霉等曲霉属真菌在生长过程中产生次级代谢产物黄曲霉毒素 (aflatoxins, AFT), 在高温、紫外光照下结构稳定^[5-6]。现阶段, AFT 对国家经济和人类健康造成了极大的危害^[7], 国际癌症研究机构 (international agency for research on cancer, IARC)

收稿日期: 2020-05-30

基金项目: 国家自然科学基金面上基金项目 (31972171); 国家自然科学基金面上基金项目 (31671944); 江苏省高校“青蓝工程”中青年学术带头人; 江苏省“六大人才高峰”高层次人才; 江苏省“双创计划”科技副总; 江苏省青年科技人才托举工程

作者简介: 张宁慧 (1999—) 女, 本科在读, 研究方向为食品防腐与保鲜。E-mail: 846134310@qq.com

***通信作者** 田 俊 (1985—), 男, 教授, 博士, 研究方向为食品防腐与保鲜。E-mail: tj-085@163.com

已将其列为一级致癌物。肝脏是 AFT 作用于人体的靶器官^[8]。如果一次性接触大量 AFT 会引发“急性中毒”，其表现特征为严重的肝功能异常、肝区疼痛、肝水肿甚至导致死亡^[9]。如果少量摄入并持续一段时间会导致“慢性中毒”，其表现特征为肝硬化，最终也会导致死亡^[10]。不仅如此，AFT 还会抑制动物体内蛋白质的合成^[11]，导致胎儿流产、早产或孕妇产下畸形胎儿。

目前，有多种方法已被用于解决黄曲霉及 AFT 引起的污染问题。在前期，可以通过遗传育种、微生物间相互竞争来控制 AFT 的污染^[12]。在后期，目前人们常使用化学合成杀菌剂或非产毒菌株来抑制黄曲霉生长及 AFT 产生。

化学合成杀菌剂如咪唑类，抑菌效果显著，但由于其广泛的应用，黄曲霉产生了对唑类抗真菌药物的耐药性^[13]。除此之外，化学合成杀菌剂残留有毒性的化学物质^[14]、高昂的成本以及对环境造成极大的污染等问题也日益突显。在农业生产上，应用非产毒菌株也存在很大的风险。有研究显示，非产毒黄曲霉分离株也有可能产生其他次级代谢产物，而这些物质长期积累后的毒理作用未知^[15]。

在这种情况下，研究人员正寻找新型有效、绿色安全的抗真菌剂。植物精油是一类从高等植物体花、茎、叶、果实等不同部位提取的次生代谢产物^[16]，

油状液体，具有脂溶性、挥发性以及特殊的芳香气味^[17]，可以根据其组分在薄层板上的迁移距离及颜色外观检测植物精油的活性成分^[18]。植物精油源于自然，具有良好的抗菌活性，并且在病原微生物中产生耐药性的风险较低^[19]。近年来，国内外许多专家学者通过实验证明了植物精油对黄曲霉的生长及 AFT 的产生具有一定的抑制作用，是目前最有前景的抑真菌剂之一。本文通过调研国内外相关文献，对植物精油及其活性成分防控黄曲霉生长及其 AFT 产生进行综述，为抗真菌药物的研发提供一些思路。

1 植物精油防控黄曲霉的生长

在近 10 年里，植物精油的抗真菌活性成为国内外多位科研工作者研究的热点问题。科研工作者从天然植物中提取植物精油并测定其中的活性成分，进行抑菌试验，通过观察培养基中菌落生长直径、菌丝体和分生孢子梗形态等确定植物精油及其活性成分的抑菌效果。部分植物精油能够显著抑制黄曲霉的生长，见表 1。

1.1 抑制黄曲霉菌落生长直径

A. flavus 在培养基上生长时，能够产生肉眼可见的菌落，表面为黄绿色，背部略呈现深棕色，有辐射对称沟纹。未经任何处理的黄曲霉菌落生长直径为 65.67 mm，在 0.6 $\mu\text{L/mL}$ 柠檬醛处理后，直

表 1 抑制黄曲霉及 AFT 产生的常见精油及其抑制效果

Table 1 Common essential oils inhibiting production of *A. flavus* and AFT and their inhibitory effects

精油名称	植物来源	所属分类	抑制黄曲霉生长浓度	抑制率/%	文献
柠檬草精油	柠檬草 <i>Cymbopogon citratus</i> (DC.) Stapf	禾本科香茅属	1.0 $\mu\text{L}\cdot\text{mL}^{-1}$	65.00	20
柠檬精油	柠檬 <i>Citrus limon</i> L.	芸香科柑橘属	2.0 $\mu\text{L}\cdot\text{mL}^{-1}$	97.88	21
巴柑檬精油	巴柑檬 <i>Citrus bergamia</i> Risso.	芸香科柑橘属	2.0 $\mu\text{L}\cdot\text{mL}^{-1}$	97.04	21
酸橙精油	酸橙 <i>Citrus aurantium</i> L.	芸香科柑橘属	2.0 $\mu\text{L}\cdot\text{mL}^{-1}$	96.43	21
香芹精油	香芹 <i>Apium graveolens</i> Turcz.	伞形科欧芹属	5.5 $\mu\text{L}\cdot\text{mL}^{-1}$	>99.90	22
罗勒精油	罗勒 <i>Ocimum basilicum</i> L.	唇形科罗勒属	7.0 $\mu\text{L}\cdot\text{mL}^{-1}$	76.00	23
马郁兰精油	马郁兰 <i>Origanum majorana</i> L.	唇形科甘牛至属	10.0 $\mu\text{L}\cdot\text{mL}^{-1}$	>99.90	20
牛至精油	牛至 <i>Origanum virens</i> L.	唇形科牛至属	0.1 $\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$	>99.90	24
冬季香薄荷精油	风轮菜 <i>Satureja montana</i> L.	唇形科风轮菜属	0.1 $\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$	>99.90	24
百里香精油	百里香 <i>Thymus vulgaris</i> Ronn.	唇形科百里香属	0.5 $\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$	>95.00	24
迷迭香精油	迷迭香 <i>Rosmarinus officinalis</i> L.	唇形科迷迭香属	1.0 $\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$	>99.90	24
凹唇姜精油	凹唇姜 <i>Boesenbergia rotunda</i> L.	姜科凹唇姜属	2.0 $\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$	>99.90	25
松树精油	松 <i>Pinus pinaster</i> Ait.	松科松属	4.0 $\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$	41.30	25
安息香精油	安息香树 <i>Styrax tonkinensis</i> L.	安息香科安息香属	4.0 $\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$	11.70	25

径为 5.95 mm, 抑制率达到最高, 为 98.44%。相比较而言, 香叶醇对菌落生长直径的抑制效果要优于柠檬醛。在 0.4 $\mu\text{L/mL}$ 香叶醇处理后, 菌落直径仅为 5.52 mm, 抑制率最高可达 99.14%^[26], 且抑制率随着活性组分浓度的升高而升高。

在另一项研究中也发现相似的结论, 随着 0.1 $\mu\text{L/mL}$ 肉桂精油在黄曲霉附着时间的增加, 从第 1 天至第 7 天, 菌落直径由 75.22 mm 减少为 28.64 mm, 抑制效果显著, 且精油浓度越高, 抗真菌活性越持久^[27]。

1.2 改变黄曲霉菌丝体和孢子形态

植物精油及其活性成分能够破坏黄曲霉的超微结构。研究人员利用电子显微镜对黄曲霉菌丝体进行观察, 正常组中菌丝体粗壮, 表面粗糙且形态规则。细胞壁、细胞膜均匀, 原纤维层完整。在茴香精油处理下, 菌丝体发生不同程度的损伤, 细胞开始肿胀, 细胞质高度空泡化, 细胞器破裂, 并伴有液泡融合^[28]。

同时, 正常组中分生孢子梗松散度适中, 细胞壁光滑, 孢子规则均匀并呈现饱满的圆形。经肉桂精油、百里香精油、柠檬草精油处理后, 分生孢子梗破碎、干瘪, 细胞壁和细胞膜破损严重, 纤维层脱落, 细胞器被破坏内容物完全流失^[29]。

1.3 抑制黄曲霉菌丝体生长和孢子萌发

黄曲霉通过无性生殖产生孢子, 孢子萌发形成菌丝体, 进而扩大污染范围。学者滤过菌丝称量菌丝体干质量并在光学显微镜下通过胚芽管数量评估孢子萌发率。1 $\mu\text{L/mL}$ 香茅精油能够显著降低黄曲霉菌丝体干质量, 抑制菌丝体生长; 当同种精油浓度升高至 2 $\mu\text{L/mL}$ 时, 视野中无法观察到胚芽管, 完全抑制了孢子萌发^[18]。在浓度为 1 $\mu\text{L/mL}$ 毒芹精油处理下, 相比于对照组孢子产生率降低 23.2%, 当浓度提高至 4 $\mu\text{L/mL}$ 时, 孢子萌发抑制率可达 79.7%^[30]。在另一项实验中, 未经精油处理的菌丝干质量为 0.46 g, 0.5 $\mu\text{L/mL}$ 小茴香精油处理后, 菌丝干质量为 0.04 g, 抑制率高达 87.0%^[26]。

1.4 降低黄曲霉生长速率

植物精油可以延长黄曲霉菌丝体生长前的天数, 从而减少其代谢产生的真菌毒素。对照组中黄曲霉菌落的生长速率约为 19 mm/d, 滞后阶段约为 19 h。在百里香精油、迷迭香精油和冬季风轮菜精油最大浓度的处理下, 生长速率显著降低。值得注意的是, 0.5 mg/mL 百里香精油处理后, 滞后阶段

可延长至 58 h^[24]。进一步实验发现 0.1 $\mu\text{L/mL}$ 百里香精油对菌丝体生长速率的抑制效果即可达到 78.33%, 浓度为 0.5 $\mu\text{L/mL}$ 处理后, 抑制率可达 91.67%^[31]。也就是说, 百里香精油在较低浓度下对菌丝体生长也能够起到很好的抑制效果。

2 植物精油抑制 AFT 的产生

植物精油除了抑制黄曲霉生长外, 还可以抑制 AFT 的合成。Esper 等^[32]发现, 藿香精油和牛至精油均有较好的抑制毒素产生的活性。0.05 $\mu\text{L/mL}$ 藿香精油对玉米中 AFT 的抑制效果最好, 抑制率可达 93.7%; 同样浓度的牛至精油对大豆中的 AFT 的抑制率可达 88.68%。

另一项研究表明, 罗勒精油的最低抑菌浓度为 7.5 $\mu\text{L/mL}$, 但在 7.0 $\mu\text{L/mL}$ 时即可完全抑制 AFT 的产生^[40]。橙花醇在 0.6 $\mu\text{L/mL}$ 可完全抑制黄曲霉毒素 B₁ (AFB₁) 的产生, 但研究人员却可以观察到菌丝体的生长^[33]。在国内外多篇报道中都发现能够完全抑制 AFT 产生的精油浓度要略低于植物精油的最低抑菌浓度^[18,30,34-37], 这说明在菌丝体生长的过程中已经开始了 AFT 的合成代谢, 进一步研究证实植物精油抑制黄曲霉菌丝生长以及孢子萌发与抑制 AFT 的合成之间并没有必然联系, 在某些情况下添加植物精油的亚致死浓度可以促进黄曲霉代谢产生 AFT^[38]。

3 植物精油与活性成分的协同作用

植物精油的不同成分之间可以相互作用, 以提高抗黄曲霉的功效。当一种或两种化合物组合的效果大于各组分单独效果之和时, 称之为协同作用。已有多项研究表明植物精油及其活性成分之间组合的抗真菌活性显著优于单一组分, 可以应用于研发新型的抗真菌剂。

3.1 活性成分之间的协同作用

在香芹精油中, 起主要抗真菌活性的组分是乙酸芳樟酯和乙酸香叶酯, 含量分别为 37.5%、24.7%。研究人员分别检测两种活性成分以及香芹精油的抑菌效果, 发现乙酸芳樟醇与乙酸香叶酯抑制 AFT 的最低浓度分别为 5.5、5.0 $\mu\text{L/mL}$, 而精油能够以更低的浓度抑制 AFT 合成。作用于麦角固醇的合成与测定抗氧化活性中也得到类似的结论^[22]。另一项实验中, 0.5% 姜黄精油对 AFB₁ 和黄曲霉毒素 B₂ (AFB₂) 的抑制率分别为 99.9%、99.6%, 而相同剂量下的姜黄素标准品对 AFB₁ 和 AFB₂ 的抑制率分别为 96.0%、98.6%^[39]。相比较而言, 使用精油总体

上比单独使用活性成分时表现出更有效的抗真菌活性,这表明精油成分中主要化合物之间具有协同作用,而次要化合物可能也具有重要的协同和加性作用。

3.2 植物精油与活性成分间的协同作用

5.0 $\mu\text{L/mL}$ 当归精油本身并不会抑制黄曲霉的生长,但当归精油、苯乙醇、 α -松油醇按照一定比例混合后,混合物在 2.25 $\mu\text{L/mL}$ 时能够抑制菌丝体生长,在 2.0 $\mu\text{L/mL}$ 时能够抑制 AFT 的产生^[40]。圣罗勒精油、罗勒精油、香菜精油的最低抑菌浓度分别为 0.75、1.5、3.0 $\mu\text{L/mL}$,而将这 3 种精油按照 4:1:1 混合后,在 0.6 $\mu\text{L/mL}$ 即可达到最低抑菌浓度。同时也发现暴露于混合精油中黄曲霉麦角固醇的含量呈现相关性降低,细胞膜被破坏,进而导致真菌细胞生长所需的重要离子外流^[41]。

植物精油及其活性成分之间协同作用的抗真菌机制仍不明确,但已有的研究表明可能是因为一种或多种成分作用于细胞膜,增加了细胞膜的通透性,从而使另一种成分更容易转运到细胞中,并且这些活性成分可能作用于黄曲霉不同的靶标,通过不同的机制抑制真菌生长^[42]。

4 植物精油及其活性成分抑制黄曲霉生长及 AFT 产生的作用机制

随着研究的逐渐深入,科研工作者开始对植物精油抑制黄曲霉及 AFT 产生的作用机制进行探索。植物精油中活性组分含量各不相同,黄曲霉的生理调节系统错综复杂,给科研进展带来了困难。从先前的研究报道中发现,植物精油抑制黄曲霉的生长及 AFT 的产生主要是依靠精油中的活性成分实现的,这些植物精油通过多条途径,实现对黄曲霉生长及 AFT 合成的调控。

4.1 破坏细胞壁和细胞膜

植物精油部分组分中含有大量的亲水基团,由于黄曲霉细胞壁的主要成分为葡聚糖、几丁质以及细胞壁合成相关的酶^[43],因此植物精油能够在细胞壁上建立膜电位并破坏 ATP 的装配,导致细胞壁损伤^[44]。

细胞膜能够选择性地控制物质运输和信息交流、维持细胞内正常的渗透压,具有十分重要的生理功能。利用 PI 单染色法检测茛苳精油对细胞膜的作用,发现茛苳精油能够破坏细胞膜上麦角固醇的合成^[45]。麦角固醇充当膜流动性调节剂,并能够调控膜蛋白的活性与分布^[46]。植物精油靶向作用于合

成麦角固醇所需的关键酶,进而破坏细胞膜的结构有序性,并导致黄曲霉生长和代谢所需的重要离子如 K^+ , Mg^{2+} 等物质大量流失^[47],细胞内外渗透失衡,最终导致细胞死亡。

4.2 损伤 DNA、蛋白质等大分子物质

DNA 是黄曲霉的遗传物质,而 DNA 损伤是细胞晚期凋亡的重要标志。用精油活性成分橙花醇处理黄曲霉细胞 12 h 后,在荧光显微镜下可以观察到,随着浓度的提高,标志 DNA 片段的绿色荧光强度也在不断增加,这说明细胞中 DNA 受损严重^[48]。在肉桂醛和柠檬醛处理后,菌核的形态、大小发生变化,可见多核细胞^[49]。

蛋白质是生命活动的主要承担者,而绝大多数酶的本质是蛋白质。植物精油会抑制 *A. flavus* 中起催化作用的酶的合成,进一步破坏了菌体内的代谢途径和生理生化反应,引起蛋白质变性^[50],最终阻碍黄曲霉的正常生长。

4.3 破坏菌丝和孢子

黄曲霉能够以菌丝或孢子的形式存在。研究发现香茅精油能够抑制分生孢子的形成,其作用机制可能是破坏与孢子萌发相关的氨基酸,进而使相关酶失活,或是植物精油中的挥发性成分干扰了黄曲霉从营养生长向生殖产孢过程中的信号转导^[51]。精油中酚类化合物处理后可能会引起菌丝发生退化性变化^[52],导致菌丝降解,分生孢子完全不存在。

4.4 抑制能量代谢途径

黄曲霉生命活动所需的能量主要来源于细胞的呼吸作用, Ca^{2+} 可调节多种生理反应,包括细胞凋亡^[53]。实验发现,在肉桂精油的作用下,黄曲霉细胞内 Ca^{2+} 浓度明显增高,导致线粒体功能破坏^[54]。橙花醇处理后,研究人员利用蛋白质印迹法检测黄曲霉中细胞色素 C 氧化酶的水平,发现其在线粒体内水平较低,而在细胞质中水平较高,说明橙花醇能够诱导细胞中调节蛋白的释放^[55],导致细胞凋亡。除了直接抑制线粒体的有氧呼吸外^[79],植物精油还能够降低线粒体脱氢酶的活性^[56],降低线粒体膜电位,进而破坏电子传递链,导致细胞动态平衡的紊乱并使细胞内 ATP 的含量低于正常生理代谢所需^[41]。

4.5 诱导氧化应激反应

多种植物精油及其活性成分能够诱导黄曲霉产生活性氧。同时,精油中的某些酚类物质能够与活性氧接触产生非常活泼的苯氧基,这些苯氧基会增加活性氧的进一步释放^[57],进而引起氧化应激反应。

一方面,活性氧能够直接导致黄曲霉中核酸降解,染色质凝结,DNA 呈现片段化;同时细胞组织肿胀,线粒体活性被抑制,最终导致细胞凋亡^[58]。另一方面,活性氧能够上调黄曲霉孢子中一氧化氮合成酶基因以及硝酸还原酶基因,诱导一氧化氮的生成,进一步造成细胞的氧化损伤,导致细胞死亡^[59]。

为了应对氧化应激反应,黄曲霉形成了由谷胱甘肽和硫氧还原蛋白组成的抗氧化系统^[60]。其中,氧化态的谷胱甘肽通过还原型辅酶依赖性的谷胱甘肽还原酶循环至还原态,而还原型辅酶依赖性的硫氧还原蛋白还原酶可催化硫氧还原蛋白的合成^[61]。因此,还原型辅酶在黄曲霉抗氧化过程中起重要作用。研究发现,在紫苏醛处理下,黄曲霉糖酵解途径中的己糖激酶与 6-磷酸果糖激酶的表达水平受到显著抑制,进而抑制了还原型辅酶的合成,诱导黄曲霉细胞凋亡^[62]。

4.6 抑制 AFT 合成

虽然有大量学者对于真菌合成毒素的路径进行了深入研究,但到目前为止,植物精油抑制 AFT 合成的作用机制尚未明确。尽管如此,从已报道的研究中可发现植物精油主要通过下调相关基因的表达、破坏相关信号通路等途径实现对毒素合成的抑制作用。*aflS* 基因是代谢途径中的调节因子,*aflR* 基因是代谢途径中的转录激活因子^[63],当黄曲霉处于适当的条件下,上述两种基因结合后形成复合物,启动 AFT 基因的合成^[64]。实验发现,植物精油中的活性成分柠檬醛和香叶醇均可以下调这两种基因的表达^[65]。除此之外,利用 RT-PCR 技术发现在百里香精油的处理下,与毒素合成相关的 DNA 中 *nor1*、*ver1* 和 *omtA* 基因的表达水平显著降低^[66],说明抑制可能发生在转录时期,从而破坏了 AFT 生物合成的途径。

甲基乙二醛(methylglyoxal, MG)是糖酵解途径中由 3-磷酸甘油醛和磷酸二羟丙酮形成的中间产物,主要存在于核酸中的精氨酸和赖氨酸,脂质过氧化反应以及碳水化合物的氧化降解均能够导致 MG 的合成。MG 通过上调 *aflR* 基因的表达水平来促进 AFB₁ 的分泌^[67]。百日草精油能够显著降低细胞中 MG 水平,从而降低 *aflR* 基因的表达,减少 AFT 的合成^[37]。

最新的研究发现,氧化应激反应与真菌的次级代谢过程密切相关。黄曲霉能够利用活性氧自由基诱导其毒素的合成^[68]。利用 DPPH 自由基清除测定

法发现姜黄精油抑制 50% 自由基所需浓度仅为 21.56 $\mu\text{L}/\text{kg}$, 具有较好的抗氧化活性^[47]。随着精油浓度的增加,其自由基清除能力也在提升,呈指数增长^[69]。进一步的实验发现,在混合精油处理后,过氧化氢酶和谷胱甘肽还原酶的活性显著提高^[41],这两种酶分别构成了细胞防御的第一和第二道防线,导致黄曲霉无法利用活性氧自由基,进而抑制 AFT 的合成。

常见植物精油及其活性成分的作用机制见表 2。

5 影响植物精油抑制效果的因素

植物精油具有广谱的抗真菌作用,能够抑制黄曲霉生长以及 AFT 的产生,但植物精油的抑制作用受到多种因素的影响,包括植物精油的提取部位、方法、采集地点等,同时,黄曲霉在生长过程中水分的可利用性、植物精油与黄曲霉的接触面积以及植物精油的作用方式等也会影响植物精油的抑制效果。

5.1 黄曲霉生长环境中的水活度

水活度是指介质中水分的存在状态,也就是水分与介质的结合程度。在茴香精油处理下,当培养基中水分活度为 0.982 时,孢子萌发的速度较快,菌丝体生长滞后期为 1.6~3.7 h。当水分活度为 0.955 时,孢子萌发的速度显著降低,生长滞后期有所延长,且代谢产生的 AFB₁ 也有明显的下降^[94]。随着植物精油浓度的增加,可观察到孢子萌发的百分比降低,滞后时间延长。水分活度越高,水分与介质之间的结合程度越低,黄曲霉对水的利用率会有所提高,这不利于植物精油作用于黄曲霉,降低其抑制效果。

5.2 植物精油与黄曲霉的接触面积

分别采用 0.2 mg/mL 丁香精油、百里香精油作用于生长在马铃薯葡萄糖琼脂培养基(potato dextrose agar, PDA)和马铃薯葡萄糖肉汤培养基(potato dextrose broth, PDB)中的黄曲霉,发现植物精油在 PDB 中的抑制效果更好^[95]。原因之一如前所述,黄曲霉在 PDB 中的水利用率较高。除此之外,在 PDA 中,植物精油的抑制作用仅限于菌丝体表面与固体培养基相接触的位置,而菌丝体在 PDB 中可以自由运动,植物精油与菌丝体的接触面积更大,因此作用效果更加显著。

5.3 植物精油的作用方式

研究人员对植物精油在体内抑制黄曲霉及 AFT 时,常采用接触法和蒸气法。肉桂精油在最高浓度下,接触法和蒸气法均完全抑制了黄曲霉生长,

表 2 常见植物精油的活性成分及其抑制黄曲霉生长和 AFT 产生的作用机制

Table 2 Active ingredients of common essential oils and their mechanism of inhibiting growth of *A. flavus* and production of AFT

活性成分	精油来源	质量分数/%	作用机制	文献
柠檬醛	山苍子 <i>Litsea cubeba</i> L.	73.75	降低琥珀酸脱氢酶 SDH 和苹果酸脱氢酶 MDH	70-73
	柠檬草 <i>Cymbopogon citratus</i> (DC.) Stapf	18.70	的活性; 诱导 Ca^{2+} 、 K^{+} 、 Mg^{2+} 渗透量的	
	彼得薄松子木 <i>Leptospermum petersonii</i> F.M.Bailey	22.83	增加	
香叶醇	生姜 <i>Zingiber officinale</i> Roscoe	10.41	诱导细胞内活性氧自由基的积累; 诱导细胞电	47、65、75
	百里香 <i>Thymus vulgaris</i> Ronn.	10.80	解质渗透量的增加	
肉桂醛	肉桂 <i>Cinnamomum cassia</i> Presl.	35.81	使蛋白质、核酸等大分子物质空间结构发生变	47、75
			化; 影响麦角固醇的合成	
百里香酚	牛至 <i>Origanum virens</i> L.	59.30	激活重组蛋白 KCNAB 的醛酮还原酶活性, 进	47、74、76-77
	生姜	10.86	而诱导 K^{+} 外流, 促使细胞凋亡; 诱导活性	
	百里香	54.11	氧自由基的积累	
	罗勒精油 <i>Ocimum basilicum</i> L.	26.90		
芳樟醇	罗勒	10.83	与细胞膜相互作用, 破坏其结构有序性, 导致	73、47、78-79
	彼得薄松子木	3.25	细胞内容物流失	
	月桂 <i>Laurus nobilis</i> L.	10.20		
枯茗醛	小茴香 <i>Foeniculum vulgare</i> Mill.	65.98	下调 Erg24、Erg4 基因的表达, 抑制麦角固醇	80
			的合成	
橙花醇	酸橙 <i>Citrus aurantium</i> L.	10.37	诱导磷脂酰丝氨酸外排; 诱导线粒体中细胞色	48
			素 C 的释放; 显著增加半胱天冬氨酸酶的活性	
香芹酚	牛至	91.60	下调毒素合成基因 aflC、nor1、norA 的表达	81
丁香酚	肉桂	12.41	破坏细胞膜中蛋白质的结构, 使细胞膜通透性	
	罗勒	36.58	发生改变, 引发渗透失衡, 诱导细胞凋亡	67、78、82
	月桂	1.60		
α -松烯	迷迭香 <i>Rosmarinus officinalis</i> L.	52.20	破坏细胞膜的组成以及三维排列方式, 使细胞	25、83
	肉桂	35.41	内外稳态失	
桉树脑	香芹 <i>Apium graveolens</i> Turcz.	8.90	抑制黄曲霉细胞呼吸; 破坏细胞壁和	22、84
	艾叶 <i>Artemisia argyi</i> Levl. et Vant.	22.71	细胞膜结构, 引起 K^{+} 外流	
樟树脑	迷迭香	15.20	与可溶性细胞外蛋白形成复合物; 促进	25、84-85
	艾叶	4.86	细胞氧化损伤; 破坏电子传递链, 导致细胞	
			动态平衡的紊乱	
香茅醛	彼得薄松子木	16.72	破坏与孢子萌发相关的蛋白质结构, 使菌丝发	73、86
			生退行性变化	
香芹酮	葛缕子 <i>Carum carvi</i> L.	74.25	抑制麦角固醇的合成; 降低重要的毒力因子蛋	87-88
			白酶的分泌水平	
紫苏醛	紫苏 <i>Perilla frutescens</i> (L.) Britt.	72.07	抑制还原型辅酶的合成, 破坏黄曲霉自身的抗氧	62、89-91
			化系统, 诱导氧化应激反应; 破坏电子传递链,	
			释放细胞色素 C, 从而激活半胱天冬酶, 诱导	
			细胞凋亡	
柠檬烯	葛缕子	22.22	降低细胞膜电位, 破坏质子泵, 进而抑	41、87、92-93
	小茴香	21.70	制能量代谢途径, 加速细胞凋亡	
	甜橙	69.78		
	柑橘精油 <i>Citrus maxima</i> Burm.	31.83		

但用 0.2、0.3 mg/mL 肉桂精油处理时, 蒸气法对菌丝体生长以及孢子萌发具有更显著的活性^[96]。与接触法相比, 蒸气法能够实现较低剂量达到相同的抑制效果, 这可能是因为与水溶液或琼脂接触相比, 精油的挥发性导致其活性成分的抗菌活性较高, 能够抑制孢子萌发、菌丝体生长等多个重要阶段。

6 植物精油及其活性成分的应用

植物精油中含有多种天然生物活性化合物, 目前常采用气相色谱-质谱联用法 (GC-MS) 技术分析植物精油的组分^[97-100]。其中, 萜烯类在植物精油中含量较为丰富, 2 个异戊二烯单元偶联构成的单萜类化合物, 是植物精油中最具代表性的分子^[102]。植物精油及其活性成分能够有效抑制黄曲霉生长和 AFT 生成, 且毒性低, 无残留, 能够满足消费者对抗真菌剂绿色、安全的需求。因此植物精油可以应用于食品、医药等多个领域。

6.1 食品防腐

黄曲霉常见于食品中, 其代谢产生的 AFT 降低了食品的营养质量和存储时长。水果在贮藏期间极易受到黄曲霉的污染, 学者探究肉桂精油涂层对樱桃上黄曲霉的抑制作用发现, 未做任何防护措施的对照组在 25 d 后腐烂率高达 32.37%, 而包装中加入肉桂精油涂层的实验组在相同条件下腐烂率仅为 3.13%, 远低于对照组^[27]。

涂层上石竹精油质量浓度较高时, 能够有效地阻止开心果中黄曲霉的生长。与对照组相比, 涂布开心果放置 6 个月后未发现明显的菌落。同时, 石竹精油能够降低开心果的氧化速率, 进而使外界环境条件不利于黄曲霉的生长与繁殖^[102]。

除了直接作用于食品, 黄曲霉及 AFT 还能够增加食品中活性氧的含量, 诱导氧化损伤和脂质过氧化^[103]。研究显示, 肉豆蔻精油具有较强的自由基清除活性, 能够显著增加细胞中抗氧化酶如超氧化物歧化酶和过氧化氢酶活性, 甚至优于食品中某些有机防腐剂, 因而能够最大程度地减少食品中 AFT 污染的风险^[58]。

6.2 谷物贮存

谷物是许多亚洲国家餐桌上必不可少的食物, 能够补充人体所需的碳水化合物以及蛋白质等营养物质, 同时也是一个国家农业发展的核心。然而在谷物收获、贮藏等多个环节均易受到黄曲霉及 AFT 的污染, 造成谷物腐败而不可食用。

研究发现, 山苍子精油可应用于花生的贮藏。

实验人员模拟仓储环境, 对照组在第 5 天时霉变率便高达 80.3%^[104]。而 0.12 μ L/mL 山苍子精油处理后, 到第 20 天出现了少量的黄曲霉菌斑, 证明了山苍子精油能够有效地延长仓储时间, 防止营养损失。将黄曲霉接种至玉米, 经过包裹在脂质体中的冬季风轮菜精油处理后储存于编织袋中。75 d 后, 植物精油显著抑制了黄曲霉的生长, 抑制率可达 79%, 能够有效降低谷物贮存过程中黄曲霉污染的风险^[24]。

6.3 临床医药

AFT 具有毒性和致癌性^[105], AFT 经消化道、呼吸道等途径进入人体后, 会在肝脏中沉积, 诱导肝细胞的脂质过氧化反应, 生成大量的自由基^[106], 从而造成肝损伤, 导致肝癌的发生。据统计, 全球的原发性肝癌病例最高约有 28% 是由 AFT 引起的^[107]。

据报道, 姜黄精油在 1,1-二苯基-2-吡啶并胍基 (DPPH) 自由基清除活性测定、超氧阴离子自由基清除活性测定等多种抗氧化活性测定中表现出显著的抗氧化活性^[108], 并能够增强抗氧化酶的活性, 预防机体细胞出现氧化应激反应, 从而减少自由基的生成^[109], 起到保护肝脏的作用。同时, 小鼠体内试验表明姜黄精油能够有效地抑制肝癌细胞的增殖, 降低肝细胞癌的发生率^[110], 因此在医疗领域也具有广阔的应用前景。

7 结语

黄曲霉的存在及其有害毒素的产生不仅给消费者的健康带来了风险, 同时也给国家经济带来了重创。且次生代谢产物 AFT 结构稳定, 在染菌初期难以被人察觉, 当食物、谷物等外表产生肉眼可见的霉斑时, AFT 污染已非常严重, 因此从源头防止黄曲霉及 AFT 污染是最有效的途径。

植物精油具有许多明显的应用优势: (1) 植物精油能够抑制黄曲霉生长, 减小食品、农作物等的污染程度; (2) 植物精油能够抑制孢子萌发, 降低黄曲霉再繁殖、再污染的可能性; (3) 植物精油能够抑制 AFT 的产生, 一定程度上减少对人和动物的健康危害; (4) 植物精油低毒或无毒, 且具有挥发性, 不会对农作物及其制品造成二次污染。

同时也发现, 植物精油成分复杂, 其中包含多种化合物。但相比于碳氢化合物如 α -松烯、 β -松烯、 β -月桂烯等, 醛类、醇类和酚类化合物, 如肉桂醛、柠檬醛、香叶醛、香芹酚等具有更好的抗黄曲霉及 AFT 活性。除此之外, 两种或两种以上精油组分协同作用效果会比单独使用表现出更好的抗真菌活

性,这也为未来抗真菌药物的研发提供了新思路。

就目前而言,科研工作者对于植物精油的研究仍处于起步与发展阶段。但随着对植物精油的研究逐步深入,在未来,以植物精油及其活性成分为原料的天然抑菌剂一定会展现出巨大的开发潜力和广阔的应用前景,也必定会受到国内外市场的广泛青睐。

参考文献

- [1] Uka V, Moore G G, Arroyo-Manzanares N, et al. Secondary metabolite dereplication and phylogenetic analysis identify various emerging mycotoxins and reveal the high intra-species diversity in *Aspergillus flavus* [J]. *Front Microbiol*, 2019, 10: 667.
- [2] 刘青, 邹志飞, 余场扬, 等. 食品中真菌毒素法规限量标准概述 [J]. *中国酿造*, 2017, 36(1): 12-18.
- [3] Sarma U P, Bhetaria P J, Devi P, et al. Aflatoxins: Implications on health [J]. *Indian J Clin Biochem*, 2017, 32(2): 124-133.
- [4] 武栋梁. 浅析生活中的黄曲霉及黄曲霉毒素 [J]. *生物学教学*, 2012, 37(9): 63.
- [5] 赵萌, 高婧, 褚华硕, 等. 黄曲霉毒素 B1 的分子致毒机理及其微生物脱毒研究进展 [J]. *食品科学*, 2019, 40(11): 235-245.
- [6] 唐贤华, 张崇军, 隋明. 不同处理方式对黄曲霉毒素 B1 和呕吐毒素含量的影响 [J]. *粮食与食品工业*, 2019, 26(6): 38-41.
- [7] Hedayati M T, Pasqualotto A C, Warn P A, et al. *Aspergillus flavus*: Human pathogen, allergen and mycotoxin producer [J]. *Microbiol Read Engl*, 2007, 153(Pt 6): 1677-1692.
- [8] Meissonnier G M, Laffitte J, Loiseau N, et al. Selective impairment of drug-metabolizing enzymes in pig liver during subchronic dietary exposure to aflatoxin B1 [J]. *Food Chem Toxicol*, 2007, 45(11): 2145-2154.
- [9] 乔宏兴, 姜亚乐, 王永芬, 等. 黄曲霉毒素的危害及其脱毒方法研究进展 [J]. *动物医学进展*, 2017, 38(1): 89-93.
- [10] 朱辉. 黄曲霉毒素及其危害 [J]. *品牌与标准化*, 2012(12): 35.
- [11] Turner P C, Flannery B, Isitt C, et al. The role of biomarkers in evaluating human health concerns from fungal contaminants in food [J]. *Nutr Res Rev*, 2012, 25(1): 162-179.
- [12] 沈青山, 周威, 莫海珍, 等. 黄曲霉毒素污染控制的研究进展 [J]. *食品科学*, 2016, 37(9): 237-243.
- [13] Paul R A, Rudramurthy S M, Meis J F, et al. A novel Y319H substitution in CYP51C associated with azole resistance in *Aspergillus flavus* [J]. *Antimicrob Agents Chemother*, 2015, 59(10): 6615-6619.
- [14] Jardon-Xicotencatl S, Díaz-Torres R, Marroquín-Cardona A, et al. Detoxification of aflatoxin-contaminated maize by neutral electrolyzed oxidizing water [J]. *Toxins*, 2015, 7(10): 4294-4314.
- [15] Cary J W, Gilbert M K, Lebar M D, et al. *Aspergillus flavus* secondary metabolites: More than just aflatoxins [J]. *Food Saf*, 2018, 6(1): 7-32.
- [16] Sadgrove N J, Jones G L. A contemporary introduction to essential oils: Chemistry, bioactivity and prospects for Australian agriculture [J]. *Agriculture*, 2015, 5(1): 48-102.
- [17] 郑渝川, 陈方方, 成会如, 等. 植物精油抗菌机理及其在食品中的应用 [J]. *生物化工*, 2020, 6(1): 148-153.
- [18] Gameda N, Woldeamanuel Y, Asrat D, et al. Effect of essential oils on *Aspergillus* spore germination, growth and mycotoxin production: A potential source of botanical food preservative [J]. *Asian Pac J Trop Biomed*, 2014, 4: S373-S381.
- [19] Cardile V, Russo A, Formisano C, et al. Essential oils of *Salvia bracteata* and *Salvia rubifolia* from Lebanon: Chemical composition, antimicrobial activity and inhibitory effect on human melanoma cells [J]. *J Ethnopharmacol*, 2009, 126(2): 265-272.
- [20] Helal G A, Sarhan M M, Abu Shahla A N K, et al. Antimicrobial activity of some essential oils against microorganisms deteriorating fruit juices [J]. *Mycobiology*, 2006, 34(4): 219.
- [21] Restuccia C, Oliveri Conti G, Zuccarello P, et al. Efficacy of different *Citrus* essential oils to inhibit the growth and B1 aflatoxin biosynthesis of *Aspergillus flavus* [J]. *Environ Sci Pollut Res*, 2019, 26(30): 31263-31272.
- [22] Das S, Singh V K, Dwivedy A K, et al. Antimicrobial activity, antiaflatoxigenic potential and *in situ* efficacy of novel formulation comprising of *Apium graveolens* essential oil and its major component [J]. *Pestic Biochem Physiol*, 2019, 160: 102-111.
- [23] Adjou E S, Kouton S, Dahouenon-Ahoussi E, et al. Effect of essential oil from fresh leaves of *Ocimum gratissimum* L. on mycoflora during storage of peanuts in Benin [J]. *Mycotoxin Res*, 2013, 29(1): 29-38.
- [24] Garciadiaz M, Patino B, Vazquez C, et al. A novel niosome-encapsulated essential oil formulation to prevent *Aspergillus flavus* growth and aflatoxin contamination of maize grains during storage [J]. *Toxins*, 2019, 11(11): 646.
- [25] Jantapan K, Poapolathep A, Imsilp K, et al. Inhibitory effects of Thai essential oils on potentially aflatoxigenic *Aspergillus parasiticus* and *Aspergillus flavus* [J].

- Biocontrol Sci*, 2017, 22(1): 31-40.
- [26] Kedia A, Prakash B, Mishra P K, *et al.* Antifungal and antiaflatoxigenic properties of *Cuminum cyminum* (L.) seed essential oil and its efficacy as a preservative in stored commodities [J]. *Int J Food Microbiol*, 2014, 168/169: 1-7.
- [27] Xing Y G, Xu Q L, Yang S, *et al.* Preservation mechanism of chitosan-based coating with cinnamon oil for fruits storage based on sensor data [J]. *Sensors* (Basel), 2016, 16(7): 1111.
- [28] Khosravi A R, Minooeianhaghighi M H, Shokri H, *et al.* The potential inhibitory effect of *Cuminum cyminum*, *Ziziphora clinopodioides* and *Nigella sativa* essential oils on the growth of *Aspergillus fumigatus* and *Aspergillus* [J]. *Braz J Microbiol*, 2011, 42(1): 216-224.
- [29] 邓永飞, 何惠欢, 马瑞佳, 等. 植物精油在食品行业中的应用 [J]. *中国调味品*, 2020, 45(6): 181-184.
- [30] Tian J, Ban X Q, Zeng H, *et al.* Chemical composition and antifungal activity of essential oil from *Cicuta virosa* L. var. *latisecta* Celak [J]. *Int J Food Microbiol*, 2011, 145(2/3): 464-470.
- [31] Oliveira R C, Carvajal-Moreno M, Correa B, *et al.* Cellular, physiological and molecular approaches to investigate the antifungal and anti-aflatoxigenic effects of thyme essential oil on *Aspergillus flavus* [J]. *Food Chem*, 2020, 315: 126096.
- [32] Esper R H, Gonçalves E, Marques M O M, *et al.* Potential of essential oils for protection of grains contaminated by aflatoxin produced by *Aspergillus flavus* [J]. *Front Microbiol*, 2014, 5: 269.
- [33] Tian J, Zeng X B, Zeng H, *et al.* Investigations on the antifungal effect of nerol against *Aspergillus flavus* causing food spoilage [J]. *Sci World J*, 2013, 2013: 230795.
- [34] Kumar M, Sarma P, Dkhar M S, *et al.* Assessment of chemically characterised *Gaultheria fragrantissima* Wall. essential oil and its major component as safe plant based preservative for millets against fungal, aflatoxin contamination and lipid peroxidation during storage [J]. *J Food Sci Technol*, 2018, 55(1): 111-119.
- [35] Kohiyama C Y, Yamamoto Ribeiro M M, Mossini S A G, *et al.* Antifungal properties and inhibitory effects upon aflatoxin production of *Thymus vulgaris* L. by *Aspergillus flavus* Link [J]. *Food Chem*, 2015, 173: 1006-1010.
- [36] Kedia A, Dwivedy A K, Pandey A K, *et al.* Efficacy of chemically characterized *Foeniculum vulgare* Mill seed essential oil in protection of raw tobacco leaves during storage against fungal and aflatoxin contamination [J]. *J Appl Microbiol*, 2015, 119(4): 991-998.
- [37] Singh A, Deepika, Chaudhari A K, *et al.* Assessment of preservative potential of *Bunium persicum* (Boiss) essential oil against fungal and aflatoxin contamination of stored masticatories and improvement in efficacy through encapsulation into chitosan nanomatrix [J]. *Environ Sci Pollut Res Int*, 2020, 27(22): 27635-27650.
- [38] Morcia C, Tumino G, Ghizzoni R, *et al.* In vitro evaluation of sub-lethal concentrations of plant-derived antifungal compounds on FUSARIA growth and mycotoxin production [J]. *Molecules*, 2017, 22(8): 1271.
- [39] Ferreira F D, Kimmelmeier C, Arrotoia C C, *et al.* Inhibitory effect of the essential oil of *Curcuma longa* L. and curcumin on aflatoxin production by *Aspergillus flavus* Link [J]. *Food Chem*, 2013, 136(2): 789-793.
- [40] Prakash B, Singh P, Goni R, *et al.* Efficacy of *Angelica archangelica* essential oil, phenyl ethyl alcohol and α -terpineol against isolated molds from walnut and their antiaflatoxigenic and antioxidant activity [J]. *J Food Sci Technol*, 2015, 52(4): 2220-2228.
- [41] Kumar A, Singh P P, Gupta V, *et al.* Assessing the antifungal and aflatoxin B1 inhibitory efficacy of nanoencapsulated antifungal formulation based on combination of *Ocimum* spp. essential oils [J]. *Int J Food Microbiol*, 2020, 330: 108766.
- [42] Bassolé I H N, Juliani H R. Essential oils in combination and their antimicrobial properties [J]. *Molecules*, 2012, 17(4): 3989-4006.
- [43] 李亚茹, 周林燕, 李淑荣, 等. 植物精油对果蔬中微生物的抑菌效果及作用机理研究进展 [J]. *食品科学*, 2014, 35(11): 325-329.
- [44] Aleksic V, Knezevic P. Antimicrobial and antioxidative activity of extracts and essential oils of *Myrtus communis* L [J]. *Microbiol Res*, 2014, 169(4): 240-254.
- [45] Tian J, Ban X Q, Zeng H, *et al.* The mechanism of antifungal action of essential oil from dill (*Anethum graveolens* L.) on *Aspergillus flavus* [J]. *PLoS One*, 2012, 7(1): e30147.
- [46] 高露, 张驰, 陆玲. 条件致病真菌烟曲霉麦角甾醇合成通路遗传调控机制研究进展 [J]. *菌物研究*, 2019, 17(3): 180-186.
- [47] Kalagatur N K, Gurunathan S, Kamasani J R, *et al.* Inhibitory effect of *C. zeylanicum*, *C. longa*, *O. basilicum*, *Z. officinale*, and *C. martini* essential oils on growth and ochratoxin A content of *A. ochraceous* and *P. verrucosum* in maize grains [J]. *Biotechnol Rep*, 2020, 27: e00490.
- [48] Tian J, Gan Y Y, Pan C, *et al.* Nerol-induced apoptosis associated with the generation of ROS and Ca^{2+} overload in saprotrophic fungus *Aspergillus flavus* [J]. *Appl*

- Microbiol Biotechnol*, 2018, 102(15): 6659-6672.
- [49] 谢小梅, 龙 凯, 许 杨, 等. 肉桂醛和柠檬醛对黄曲霉及烟曲霉细胞 DNA 与 RNA 的影响 [J]. 中草药, 2005, 36(4): 558-560.
- [50] Hazan R, Levine A, Abeliovich H. Benzoic acid, a weak organic acid food preservative, exerts specific effects on intracellular membrane trafficking pathways in *Saccharomyces cerevisiae* [J]. *Appl Environ Microbiol*, 2004, 70(8): 4449-4457.
- [51] Gameda N, Woldeamanuel Y, Asrat D, et al. Effect of essential oils on *Aspergillus* spore germination, growth and mycotoxin production: A potential source of botanical food preservative [J]. *Asian Pac J Trop Biomed*, 2014, 4: S373-S381.
- [52] Soylu E M, Kurt Ş, Soylu S. *In vitro* and *in vivo* antifungal activities of the essential oils of various plants against tomato grey mould disease agent *Botrytis cinerea* [J]. *Int J Food Microbiol*, 2010, 143(3): 183-189.
- [53] Zhang R J, Zhu Y, Dong X Q, et al. Celastrol attenuates cadmium-induced neuronal apoptosis via inhibiting Ca^{2+} -CaMKII-dependent Akt/mTOR pathway [J]. *J Cell Physiol*, 2017, 232(8): 2145-2157.
- [54] Qu S, Yang K L, Chen L, et al. Cinnamaldehyde, a promising natural preservative against *Aspergillus flavus* [J]. *Front Microbiol*, 2019, 10: 2895.
- [55] Zhang J Y, Yu Q L, Han L, et al. Study on the apoptosis mediated by cytochrome c and factors that affect the activation of bovine longissimus muscle during postmortem aging [J]. *Apoptosis*, 2017, 22(6): 777-785.
- [56] Hu Y C, Zhang J M, Kong W J, et al. Mechanisms of antifungal and anti-aflatoxigenic properties of essential oil derived from turmeric (*Curcuma longa* L.) on *Aspergillus flavus* [J]. *Food Chem*, 2017, 220: 1-8.
- [57] Jiménez del Río M, Vélez-Pardo C. Transition metal-induced apoptosis in lymphocytes via hydroxyl radical generation, mitochondria dysfunction, and caspase-3 activation: An *in vitro* model for neurodegeneration [J]. *Arch Med Res*, 2004, 35(3): 185-193.
- [58] Das S, Singh V K, Dwivedy A K, et al. *Myristica fragrans* essential oil nanoemulsion as novel green preservative against fungal and aflatoxin contamination of food commodities with emphasis on biochemical mode of action and molecular docking of major components [J]. *LWT*, 2020, 130: 109495.
- [59] Shen Q S, Zhou W, Li H B, et al. ROS involves the fungicidal actions of thymol against spores of *Aspergillus flavus* via the induction of nitric oxide [J]. *PLoS One*, 2016, 11(5): e0155647.
- [60] Toledano M B, Kumar C, Le Moan N, et al. The system biology of thiol redox system in *Escherichia coli* and yeast: Differential functions in oxidative stress, iron metabolism and DNA synthesis [J]. *FEBS Lett*, 2007, 581(19): 3598-3607.
- [61] Bauer H, Kanzok S M, Schirmer R H. Thioredoxin-2 but not thioredoxin-1 is a substrate of thioredoxin peroxidase-1 from *Drosophila melanogaster*: Isolation and characterization of a second thioredoxin in *D. Melanogaster* and evidence for distinct biological functions of Trx-1 and Trx-2 [J]. *J Biol Chem*, 2002, 277(20): 17457-17463.
- [62] Pan C, Li Y X, Yang K L, et al. The molecular mechanism of perillaldehyde inducing cell death in *Aspergillus flavus* by inhibiting energy metabolism revealed by transcriptome sequencing [J]. *Int J Mol Sci*, 2020, 21(4): 1518.
- [63] Chang P K. The *Aspergillus parasiticus* protein AFLJ interacts with the aflatoxin pathway-specific regulator AFLR [J]. *Mol Genet Genom*, 2003, 268(6): 711-719.
- [64] Kong Q, Chi C, Yu J J, et al. The inhibitory effect of *Bacillus megaterium* on aflatoxin and cyclopiazonic acid biosynthetic pathway gene expression in *Aspergillus flavus* [J]. *Appl Microbiol Biotechnol*, 2014, 98(11): 5161-5172.
- [65] Tang X, Shao Y L, Tang Y J, et al. Antifungal activity of essential oil compounds (geraniol and citral) and inhibitory mechanisms on grain pathogens (*Aspergillus flavus* and *Aspergillus ochraceus*) [J]. *Molecules*, 2018, 23(9): 2108.
- [66] Yahyaraeyat R, Khosravi A R, Shahbazzadeh D, et al. The potential effects of *Zataria multiflora* Boiss essential oil on growth, aflatoxin production and transcription of aflatoxin biosynthesis pathway genes of toxigenic *Aspergillus parasiticus* [J]. *Braz J Microbiol*, 2013, 44(2): 643-649.
- [67] Chen Z Y, Brown R L, Damann K E, et al. Identification of a maize kernel stress-related protein and its effect on aflatoxin accumulation [J]. *Phytopathology*, 2004, 94(9): 938-945.
- [68] Ponts N. Mycotoxins are a component of *Fusarium graminearum* stress-response system [J]. *Front Microbiol*, 2015, 6: 1234.
- [69] Seshadri V D, Balasubramanian B, Al-Dhabi N A, et al. Essential oils of *Cinnamomum loureirii* and *Evolvulus alsinoides* protect guava fruits from spoilage bacteria, fungi and insect (*Pseudococcus longispinus*) [J]. *Ind Crop Prod*, 2020, 154: 112629.
- [70] 张晶晶, 彭 锐, 杜春贵, 等. 柠檬醛抑制真菌作用的

- 研究进展及其在食品防霉中的应用前景 [J]. 中国调味品, 2020, 45(7): 186-190.
- [71] 陈韵如, 孙俊颖, 陈心瑜, 等. 山苍子精油的提取方法、组成成分及抗菌活性的研究进展 [J]. 现代牧业, 2020, 4(1): 38-41.
- [72] Plata-Rueda A, Rolim G D S, Wilcken C F, *et al.* Acute toxicity and sublethal effects of lemongrass essential oil and their components against the granary weevil, *Sitophilus granarius* [J]. *Insects*, 2020, 11(6): 379.
- [73] Kim E, Park I K. Fumigant antifungal activity of Myrtaceae essential oils and constituents from *Leptospermum petersonii* against three *Aspergillus* species [J]. *Mol Basel Switz*, 2012, 17(9): 10459-10469.
- [74] Alizadeh A, Sharaifi R, Javan-Nikkhah M, *et al.* Survey of *Thymus migricus* essential oil on aflatoxin inhibition in *Aspergillus flavus* [J]. *Commun Agric Appl Biol Sci*, 2010, 75(4): 769-776.
- [75] 谢小梅, 龙 凯, 方建茹, 等. 肉桂醛、柠檬醛抑制黄曲霉生长机制研究 [J]. 中国公共卫生, 2007, 23(3): 301.
- [76] Othman M, Saada H, Matsuda Y. Antifungal activity of some plant extracts and essential oils against fungi-infested organic archaeological artefacts [J]. *Archaeometry*, 2020, 62(1): 187-199.
- [77] Hu L B, Ban F F, Li H B, *et al.* Thymol induces conidial apoptosis in *Aspergillus flavus* via stimulating K^+ eruption [J]. *J Agric Food Chem*, 2018, 66(32): 8530-8536.
- [78] Caputo L, Nazzaro F, Souza L I F, *et al.* *Laurus nobilis*: Composition of essential oil and its biological activities [J]. *Molecules*, 2017, 22(6): 930.
- [79] 李燕君, 孔维军, 李梦华, 等. 植物精油抑制真菌及真菌毒素的研究进展 [J]. 中草药, 2016, 47(11): 2011-2018.
- [80] 梦 绮. 桔萆醛对黄曲霉生长的抑制作用及机理初探 [D]. 西安: 陕西科技大学, 2019.
- [81] Wijesundara N M, Rupasinghe H P V. Essential oils from *Origanum vulgare* and *Salvia officinalis* exhibit antibacterial and anti-biofilm activities against *Streptococcus pyogenes* [J]. *Microb Pathog*, 2018, 117: 118-127.
- [82] Ben Jemaa M, Falleh H, Saada M, *et al.* *Thymus capitatus* essential oil ameliorates pasteurization efficiency [J]. *J Food Sci Technol*, 2018, 55(9): 3446-3452.
- [83] Andrade M A, Cardoso M D G, Gomes M D S, *et al.* Biological activity of the essential oils from *Cinnamodendron dinisii* and *Siparuna guianensis* [J]. *Braz J Microbiol*, 2015, 46(1): 189-194.
- [84] 努尔比耶·奥布力喀斯木, 热娜·卡斯木, 杨 璐, 等. 艾叶挥发油化学成分分析和抗真菌活性的研究 [J]. 新疆医科大学学报, 2017, 40(9): 1196-1198.
- [85] Rao J J, Chen B C, McClements D J. Improving the efficacy of essential oils as antimicrobials in foods: Mechanisms of action [J]. *Annu Rev Food Sci Technol*, 2019, 10: 365-387.
- [86] Aguiar R W D S, Ootani M A, Ascencio S D, *et al.* Fumigant antifungal activity of *Corymbia citriodora* and *Cymbopogon nardus* essential oils and citronellal against three fungal species [J]. *Sci World J*, 2014, 2014: 492138.
- [87] Salha B, Díaz H, Lengliz, *et al.* Effect of the chemical composition of free-terpene hydrocarbons essential oils on antifungal activity [J]. *Molecules*, 2019, 24(19): 3532.
- [88] Yamawaki C, Oyama M, Yamaguchi Y, *et al.* Curcumin potentiates the fungicidal effect of dodecanol by inhibiting drug efflux in wild-type budding yeast [J]. *Lett Appl Microbiol*, 2019, 68(1): 17-23.
- [89] Bumblauskiene L, Jakstas, Janulis, *et al.* Preliminary analysis on essential oil composition of *Perilla* L. cultivated in Lithuania [J]. *Acta Poloniae Pharm*, 2009, 66(4): 409.
- [90] Tian J, Wang Y Z, Lu Z Q, *et al.* Perillaldehyde, a promising antifungal agent used in food preservation, triggers apoptosis through a metacaspase-dependent pathway in *Aspergillus flavus* [J]. *J Agric Food Chem*, 2016, 64(39): 7404-7413.
- [91] Kagan V E, Tyurin V A, Jiang J F, *et al.* Cytochrome c Acts as a cardiolipin oxygenase required for release of proapoptotic factors [J]. *Nat Chem Biol*, 2005, 1(4): 223.
- [92] Mohammadpour H, Moghimipour E, Rasooli I, *et al.* Chemical composition and antifungal activity of *Cuminum cyminum* L. essential oil from alborz mountain against *Aspergillus* species [J]. *Jundishapur J Nat Pharm Prod*, 2012, 7(2): 50-55.
- [93] Singh P, Shukla R, Prakash B, *et al.* Chemical profile, antifungal, antiaflatoxic and antioxidant activity of *Citrus maxima* Burm. and *Citrus sinensis* (L.) Osbeck essential oils and their cyclic monoterpene, dl-limonene [J]. *Food Chem Toxicol*, 2010, 48(6): 1734-1740.
- [94] Bluma R, Amaiden M R, Daghero J, *et al.* Control of *Aspergillus* section *Flavi* growth and aflatoxin accumulation by plant essential oils [J]. *J Appl Microbiol*, 2008, 105(1): 203-214.
- [95] Moosavi-Nasab M, Jamalian J, Heshmati H, *et al.* The inhibitory potential of *Zataria multiflora* and *Syzygium aromaticum* essential oil on growth and aflatoxin production by *Aspergillus flavus* in culture media and Iranian white cheese [J]. *Food Sci Nutr*, 2018, 6(2): 318-324.
- [96] Sukcharoen O, Sirirote P, Thanaboripat D. Control of

- aflatoxigenic strains by *Cinnamomum porrectum* essential oil [J]. *J Food Sci Technol*, 2017, 54(9): 2929-2935.
- [97] 齐芬芳, 张金霞, 牛 熙. 一株毒死蜱降解菌的分离与鉴定 [J]. 河南农业, 2020, 15: 47-49.
- [98] Li Y X, Zhang C, Pan S Y, *et al.* Analysis of chemical components and biological activities of essential oils from black and white pepper (*Piper nigrum* L.) in five provinces of southern China [J]. *LWT*, 2020, 117: 108644.
- [99] Tian J, Zeng X B, Zhang S, *et al.* Regional variation in components and antioxidant and antifungal activities of *Perilla frutescens* essential oils in China [J]. *Ind Crop Prod*, 2014, 59: 69-79
- [100] Tian J, Huang B, Luo X L, *et al.* The control of *Aspergillus flavus* with *Cinnamomum jensenianum* Hand.-Mazz essential oil and its potential use as a food preservative [J]. *Food Chem*, 2012, 130(3): 520-527.
- [101] Bakkali F, Averbeck S, Averbeck D, *et al.* Biological effects of essential oils - A review [J]. *Food Chem Toxicol*, 2008, 46(2): 446-475.
- [102] Mohammadi M, Azizi M H, Zoghi A. Antimicrobial activity of carboxymethyl cellulose-gelatin film containing *Dianthus barbatus* essential oil against aflatoxin-producing molds [J]. *Food Sci Nutr*, 2020, 8(2): 1244-1253.
- [103] Ali Rajput S, Sun L, Zhang N Y, *et al.* Ameliorative effects of grape seed proanthocyanidin extract on growth performance, immune function, antioxidant capacity, biochemical constituents, liver histopathology and aflatoxin residues in broilers exposed to aflatoxin B₁ [J]. *Toxins*, 2017, 9(11): 371.
- [104] 赵 阔, 王 涛, 陈 艳, 等. 山苍子精油熏蒸花生仁防霉效果的研究 [J]. 粮食与食品工业, 2016, 23(6): 34-37, 42.
- [105] 涂 青, 邓秀娟, 伍贤学, 等. 普洱茶黄曲霉毒素污染风险及其抑制研究进展 [J]. 食品安全质量检测学报, 2019, 10(13): 4180-4186.
- [106] Yuan S B, Wu B Y, Yu Z Q, *et al.* The mitochondrial and endoplasmic Reticulum pathways involved in the apoptosis of Bursa of Fabricius cells in broilers exposed to dietary aflatoxin B₁ [J]. *Oncotarget*, 2016, 7(40): 65295-65306.
- [107] Wu F. Perspective: Time to face the fungal threat [J]. *Nature*, 2014, 516(7529): S7.
- [108] Zhang L Y, Yang Z W, Chen F, *et al.* Composition and bioactivity assessment of essential oils of *Curcuma longa* L. collected in China [J]. *Ind Crop Prod*, 2017, 109: 60-73.
- [109] Saccol E M H, Londero É P, Bressan C A, *et al.* Oxidative and biochemical responses in *Brycon amazonicus* anesthetized and sedated with *Myrcia sylvatica* (G. Mey.) DC. and *Curcuma longa* L. essential oils [J]. *Vet Anaesth Analg*, 2017, 44(3): 555-566.
- [110] Wu W Y, Xu Q, Shi L C, *et al.* Inhibitory effects of *Curcuma aromatica* oil on proliferation of hepatoma in mice [J]. *World J Gastroenterol*, 2000, 6(2): 216-219.