

韭花精油主成分对单增李斯特氏菌的抑菌活性和抑菌机理

吴澄宇, 李迎秋

齐鲁工业大学(山东省科学院) 食品科学与工程学院, 山东 济南 250353

摘要:以韭花精油两种主成分(烯丙基甲基二硫醚和二甲基三硫醚)为研究对象,通过最小抑菌质量浓度(MIC)、最小杀菌质量浓度(MBC)、细菌细胞形态等研究其对单增李斯特氏菌的抑菌活性和抑菌机理。结果表明:两种主成分的MIC均为1.0 mg/mL, MBC均为2.0 mg/mL,且当其质量浓度为2.0 mg/mL时均会严重损坏单增李斯特氏菌的细胞形态和细胞膜结构;用质量浓度为4.0 mg/mL的烯丙基甲基二硫醚和二甲基三硫醚分别处理单增李斯特氏菌细胞,其 β -半乳糖苷酶和蛋白质泄露量均显著上升,ATP酶活性(0.52 U/mg prot和0.55 U/mg prot)均明显低于对照组(3.05 U/mg prot, $P < 0.05$);经两种主成分处理后,单增李斯特氏菌的DNA质量浓度均明显下降。由此可知,两种主成分主要通过破坏细胞膜结构、抑制ATP酶活性、降低DNA质量浓度等实现对单增李斯特氏菌活性的抑制。

关键词:细叶韭花;精油;烯丙基甲基二硫醚;二甲基三硫醚;单增李斯特氏菌;抑菌活性

中图分类号:TS201.3 **文献标识码:**A

0 引言

单增李斯特氏菌(*Listeria monocytogenes*)属革兰氏阳性短杆菌,是一种典型胞内寄生菌及人畜共患食源性致病菌^[1],其在侵入机体后可通过细胞复制、增殖和转移躲避宿主体内的免疫反应。因此,尽管人体感染单增李斯特氏菌后的患病率(0.1%)很低,但却有着较高的住院率(97%)和死亡率(13.4%)^[2-3]。此外,单增李斯特氏菌自身强大的

环境耐受性使其能够广泛分布于奶制品、生鲜肉、水产品、冰淇淋、蔬菜等食物中^[4],一旦误食被其污染的食物,容易引发脑膜炎、流产、败血症、肠胃炎等^[1]。目前,已有诸多抗生素被应用于食品中以预防单增李斯特氏菌的生长与繁殖,然而长期摄入抗生素对人体具有潜在危害,因此越来越多的研究者把目光放在天然抑菌剂的研究和开发上^[5]。

细叶韭花(*Allium tenuissimum* flower)是细叶韭的顶端花絮,具有独特的芳香性质,常被用于食品调

收稿日期:2023-04-21;修回日期:2023-05-19;出版日期:2023-10-15

基金项目:山东省重点研发计划项目(2021LYXZ018,2020CXGC010604);齐鲁工业大学(山东省科学院)科教产融合试点工程重大创新专项项目(2022JBZ01-08)

作者简介:吴澄宇(1998—),男,山东省烟台市人,齐鲁工业大学硕士研究生,主要研究方向为粮食、油脂及植物蛋白工程。E-mail:2248940579@qq.com

通信作者:李迎秋(1972—),女,山东省菏泽市人,齐鲁工业大学教授,博士,主要研究方向为食品生物技术。E-mail:lyq@qlu.edu.cn

味、腌制等^[6]。细叶韭花的挥发油也被称作韭花精油,是通过一定的精油提取方法从细叶韭花中提取制得,具有与细叶韭花挥发物相似的芳香气息,是一种植物天然产物^[7]。据报道,韭花精油具有明显的抑菌活性,对大肠杆菌、枯草芽孢杆菌、金黄色葡萄球菌等致病菌的生长繁殖具有显著的抑制作用^[8]。笔者前期研究^[9]发现,韭花精油中含量最高的两种主成分分别是二甲基三硫醚(35.06%)和烯丙基甲基二硫醚(19.68%),其对单增李斯特氏菌的抑菌圈直径分别为15.6 mm和15.1 mm,抑菌活性良好。但目前有关这两种主成分对单增李斯特氏菌抑菌机理的研究尚未见报道。

基于此,本研究拟以上述两种韭花精油主成分为研究对象,通过测定最小抑菌质量浓度(Minimum Inhibitory Concentration, MIC)和最小杀菌质量浓度(Minimum Bactericidal Concentration, MBC)来确定二者对单增李斯特氏菌的抑菌活性,探究二者对单增李斯特氏菌的细胞形态、细胞膜、胞内生物大分子及胞内代谢酶的影响情况,明确二者对单增李斯特氏菌的抑菌机理,以更好发掘韭花精油主成分作为天然抑菌剂在抑制单增李斯特氏菌生长繁殖相关应用中的潜在价值。

1 材料与方法

1.1 主要材料与试剂

新鲜细叶韭花,潍坊市韭花种植基地;韭花精油,通过水蒸气蒸馏法从新鲜细叶韭花中提取,经无水乙醚萃取后,使用无水 Na_2SO_4 脱水干燥制得;单增李斯特氏菌(*L. monocytogenes*, ATCC 19115),广东环凯微生物科技有限公司;脑心浸出液肉汤(BHI),北京陆桥技术有限责任公司;琼脂粉,北京奥博星生物技术有限责任公司;烯丙基甲基二硫醚、二甲基三硫醚,上海阿拉丁生化科技股份有限公司;乳酸链球菌素(Nisin),浙江银象生物工程有限公司;邻硝基苯- β -D-吡喃半乳糖苷(ONPG)、戊二醛(25%),上海麦克林生化科技有限公司;总ATP酶测定试剂盒,南京建成科技有限公司;琼脂糖,北京酷来搏科技有限公司;细菌DNA提取试剂盒,无锡百泰克生物技术有限公司;二甲基亚砜(DMSO)、

NaCl、无水乙醚等,均为分析纯,国药集团化学试剂有限公司。

1.2 主要仪器与设备

YXQ-75S II型立式压力蒸汽灭菌器,上海博迅实业有限公司医疗设备厂;SHX150 III型生化培养箱,上海予卓仪器有限公司;HNY-2102C型智能恒温培养振荡器,天津欧诺仪器股份有限公司;5804R型高速台式离心机,艾本德生命科学公司;ME204型电子天平,上海梅特勒-托利多国际贸易有限公司;KQ5200E型超声波清洗器,昆山市超声仪器有限公司;DK-S24型电热恒温水浴锅,上海精宏实验设备有限公司;UV-9000型紫外可见分光光度计,上海元析仪器有限公司;Multimode8型原子力扫描探针显微镜,武汉瑞德仪科技有限公司;Nano-Drop2000C型超微量核酸检测仪,赛默飞世尔科技有限公司。

1.3 实验方法

1.3.1 培养基制备 BHI液体培养基:2.45 g BHI,100 mL蒸馏水,pH值为7.2~7.4。BHI固体培养基:2.45 g BHI,2.0 g琼脂粉,100 mL蒸馏水,pH值为7.2~7.4。两种培养基制备完毕后,经121℃灭菌20 min,备用。

1.3.2 菌悬液制备 将单增李斯特氏菌接种于BHI固体斜面培养基上,于37℃培养24 h后,用接种针挑取单个菌落接种于无菌BHI液体培养基中,并于37℃、150 r/min条件下培养8 h达到对数期($10^7 \sim 10^8$ CFU/mL),备用。

1.3.3 MIC和MBC测定 参照H. Q. Ning等^[3]的方法,并稍作修改。于超净工作台将20~30 mL BHI固体培养基倒入无菌培养皿中制成平板,待培养基凝固冷却后,于无菌环境保存,备用。取一定量的DMSO,分别将韭花精油、Nisin、烯丙基甲基二硫醚和二甲基三硫醚稀释至一定质量浓度,使其与培养基混合至终质量浓度分别为0.2 mg/mL、0.5 mg/mL、1.0 mg/mL、2.0 mg/mL、4.0 mg/mL和8.0 mg/mL,并分别置于不同试管中。其中含有Nisin的试管为阳性对照组。将各试管于37℃条件下培养24 h后进行观察,以肉眼可见的能使试管澄清透明的最低质量浓度为该物质的MIC。随后,从各

支澄清试管中分别取 200 μL 样液,用涂布棒均匀涂布于平板培养基表面,于 37 $^{\circ}\text{C}$ 条件下培养 24 h 后进行观察,以完全没有菌落生长的最小质量浓度为该物质的 *MBC*。

1.3.4 细胞形态观察 取两种主成分各 1 mL,分别与 4 mL 菌悬液混合,使其终质量浓度均达到 2.0 mg/mL。对照组用等量的 DMSO 代替两种主成分,下同。各组于 37 $^{\circ}\text{C}$ 、150 r/min 条件下培养 8 h 后,于 6000 r/min 条件下离心 10 min,收集沉淀,经 4 mL 无菌培养基冲洗 3 次后,用 4 mL 戊二醛 (2.5%) 重悬浮,并于 4 $^{\circ}\text{C}$ 冰箱中固定过夜。随后,将重悬液再次于 6000 r/min 条件下离心 10 min,收集沉淀,重悬浮于 4 mL 无菌生理盐水中,取 500 μL 滴在 2 cm \times 2 cm 玻璃片上,于 37 $^{\circ}\text{C}$ 条件下风干过夜后,通过原子力显微镜观察单增李斯特氏菌细胞形态^[10]。

1.3.5 β -半乳糖苷酶相对泄露量检测 ONPG 可被细胞内的 β -半乳糖苷酶水解为邻硝基苯酚 (ONP),而 ONP 在 415 nm 处有最大吸收峰,因此可根据 OD_{415} 的变化来表征 β -半乳糖苷酶含量的变化。根据 J. Yang 等^[11]的方法,在 9 mL 菌悬液中分别加入两种主成分,使主成分终质量浓度分别为 0.5 mg/mL、1.0 mg/mL、2.0 mg/mL 和 4.0 mg/mL。各组在 37 $^{\circ}\text{C}$ 条件下培养 1 h 后,于 4500 r/min 条件下离心 15 min,每组取 4.5 mL 上清液,与 0.5 mL ONPG (1.0 mg/mL) 混合并在 37 $^{\circ}\text{C}$ 条件下静置 5 h,通过紫外可见分光光度计检测 OD_{415} 并记为 OD_{α} 。同时,取 10 mL 未处理的菌悬液,经超声波 (600 W, 40 kHz) 破碎处理后,按照与处理组相同的步骤进行操作,并用紫外可见分光光度计检测 OD_{415} 并记为 OD_{β} 。 β -半乳糖苷酶相对泄露量根据下式计算:

$$\beta\text{-半乳糖苷酶相对泄露量} = \frac{OD_{\alpha}}{OD_{\beta}} \times 100\%$$

1.3.6 蛋白质泄露情况检测 细菌细胞膜受损会导致细胞膜通透性增大,引发细胞内核酸、蛋白质、离子等物质泄露。由于蛋白质在 280 nm 处有最大吸收峰,因此可通过检测细菌上清液的 OD_{280} 来表征细菌中蛋白质的泄露情况^[12]。在 18 mL 菌悬液中分别加入两种主成分至 20 mL,使主成分终质量

浓度分别为 1.0 mg/mL、2.0 mg/mL 和 4.0 mg/mL。各组于 37 $^{\circ}\text{C}$ 、150 r/min 条件下分别培养 0.5 h、1.0 h、1.5 h、2.0 h、3.0 h 和 4.0 h 后,每组取 3 mL 菌液,于 6000 r/min 条件下离心 5 min,取上清液,通过紫外可见分光光度计检测 OD_{280} ^[13]。

1.3.7 ATP 酶活性检测 参照宁厚齐^[2]的方法,取 10 mL 菌悬液,于 6500 r/min 条件下离心 5 min 后收集沉淀,并用 4 mL 无菌生理盐水重悬浮。在重悬液中分别加入 1 mL 主成分,使主成分终质量浓度分别为 0.5 mg/mL、1.0 mg/mL、2.0 mg/mL 和 4.0 mg/mL,随后于 37 $^{\circ}\text{C}$ 、150 r/min 条件下培养 4 h,并按照总 ATP 酶测定试剂盒所述步骤检测 ATP 酶活性。ATP 酶活单位为 U/mg prot (即每毫克蛋白质每分钟释放的无机磷含量)。

1.3.8 DNA 提取和检测 参照 H. Q. Ning 等^[3]的方法,将 9 mL 菌悬液与 1 mL 主成分混合,使主成分终质量浓度分别为 0.5 mg/mL、1.0 mg/mL、2.0 mg/mL 和 4.0 mg/mL。各组于 37 $^{\circ}\text{C}$ 、150 r/min 条件下培养 4 h 后,根据细菌 DNA 提取试剂盒所述步骤提取菌体 DNA。从各组中取 1 μL DNA,通过超微量核酸检测仪测定 DNA 质量浓度。

1.4 统计方法

每个实验均进行 3 次平行。使用 WPS 2023 和 SPSS 13.0 软件对数据进行分析 and 处理, $P < 0.05$ 被定义为组间存在显著性差异。

2 结果与讨论

2.1 韭花精油及其主成分的抑菌活性分析

MIC 和 *MBC* 均是评估抑菌剂对致病菌抑菌活性强弱的常用指标,*MIC* 和 *MBC* 越低,表明抑菌剂的抑菌活性越强^[13]。韭花精油、Nisin、烯丙基甲基二硫醚和二甲基三硫醚对单增李斯特氏菌的 *MIC* 分别为 2.0 mg/mL、0.5 mg/mL、1.0 mg/mL 和 1.0 mg/mL,对单增李斯特氏菌的 *MBC* 分别为 4.0 mg/mL、1.0 mg/mL、2.0 mg/mL 和 2.0 mg/mL。其中,两种主成分对单增李斯特氏菌的 *MIC* 和 *MBC* 均相同,且明显低于韭花精油而高于天然抗菌剂 Nisin。这说明两种主成分对单增李斯特氏菌展现出良好且相似的抑菌活性,且这种抑菌活性明显强

于韭花精油但弱于 Nisin。

2.2 单增李斯特氏菌细胞形态变化分析

单增李斯特氏菌的原子力显微镜图如图 1 所示。由图 1a) 可知,对照组的单增李斯特氏菌细胞形态完整且表面光滑,呈现出标准的杆菌形态,表明用于稀释两种主成分的 DMSO 对单增李斯特氏菌的细胞形态没有影响。由图 1b) 可知,被烯丙基甲基二硫醚处理 8 h 后,单增李斯特氏菌细胞表面变得粗糙且出现明显褶皱,有些细胞失去杆状形态且相互黏附、聚集,有的细胞甚至出现破碎的现象。由图 1c) 可知,被二甲基三硫醚处理 8 h 后,单增李斯特氏菌细胞也出现细胞形态不规则且相互聚集的现象,大部分细胞表面出现严重的凹陷,有的细胞也出现破碎的现象。这表明,两种主成分可能是通过破坏单增李斯特氏菌细胞表面结构来改变细胞形态、降低细胞完整性,进而实现抑菌活性的。L. Lin 等^[14]研究发现,辣木精油处理可使单增李斯特氏菌细胞表面变皱、变粗糙,甚至表面破碎,导致细胞内容物渗漏,从而对单增李斯特氏菌造成不可逆的破坏。这与本研究结果类似。

2.3 单增李斯特氏菌 β-半乳糖苷酶泄露情况分析

一般情况下,细胞膜的保护作用使正常细胞中的 β-半乳糖苷酶总量几乎不发生变化,但当细胞膜结构被破坏时,细胞中的 β-半乳糖苷酶就会泄露出来^[15]。因此,β-半乳糖苷酶的相对泄露量可作为检测韭花精油主成分对单增李斯特氏菌细胞膜破坏作用的指标。两种主成分对单增李斯特氏菌 β-半乳糖苷酶相对泄露量的影响如图 2 所示,其中不同小写字母表示组间差异显著($P < 0.05$)。由图 2 可知,对照组的 β-半乳糖苷酶相对泄露量仅为 3.2%,而被 0.5 mg/mL、1.0 mg/mL、2.0 mg/mL 和 4.0 mg/mL 的

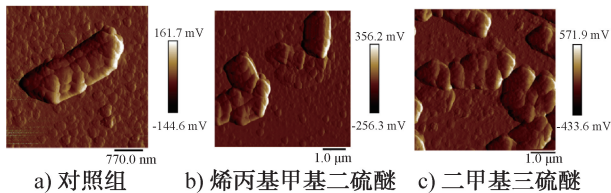


图 1 单增李斯特氏菌的原子力显微镜图
Fig. 1 Atomic force microscopy images of *L. monocytogenes*

烯丙基甲基二硫醚处理后,单增李斯特氏菌的 β-半乳糖苷酶相对泄露量分别为 24.8%、34.9%、38.5% 和 41.7%;被 0.5 mg/mL、1.0 mg/mL、2.0 mg/mL 和 4.0 mg/mL 的二甲基三硫醚处理后,单增李斯特氏菌的 β-半乳糖苷酶相对泄露量分别为 15.2%、18.7%、24.6% 和 30.5%,均明显高于对照组 ($P < 0.05$)。这表明两种主成分均能破坏单增李斯特氏菌的细胞膜结构,使单增李斯特氏菌的 β-半乳糖苷酶大量泄露,且其质量浓度越高,对细胞膜结构的破坏作用越强,β-半乳糖苷酶的相对泄露量越大。此外,在相同质量浓度下,二甲基三硫醚处理组的 β-半乳糖苷酶相对泄露量总低于烯丙基甲基二硫醚处理组,这表明二甲基三硫醚对单增李斯特氏菌细胞膜结构的破坏作用弱于烯丙基甲基二硫醚。

2.4 单增李斯特氏菌胞内蛋白质泄露情况分析

蛋白质是细菌细胞中极为重要的生物大分子,是细胞结构的重要组成部分,对细胞的生命活动有极其重要的作用^[16]。细菌细胞的蛋白质一旦流出,将导致一系列的细胞生理活动受阻,从而严重影响细菌的正常生长繁殖^[17]。两种主成分对单增李斯特氏菌胞内蛋白质泄露的影响如图 3 所示。由图 3 可知,被 1.0 mg/mL、2.0 mg/mL 和 4.0 mg/mL 的烯丙基甲基二硫醚处理后,单增李斯特氏菌的 OD_{280} 在 3.0 h 内从 0.012 5 分别上升到了 0.191 1、0.231 8 和 0.301 1;被 1.0 mg/mL、2.0 mg/mL 和

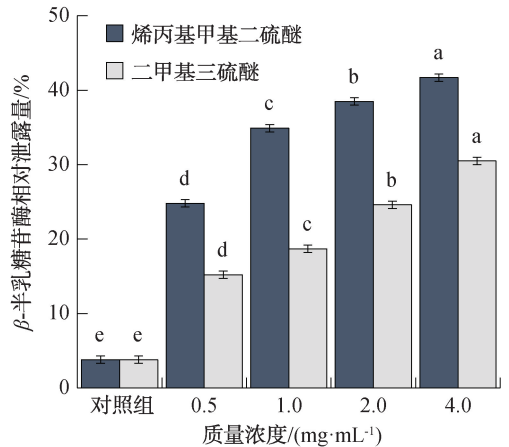


图 2 两种主成分对单增李斯特氏菌 β-半乳糖苷酶相对泄露量的影响

Fig. 2 Effects of two principal componentson the relative leakage of β-galactosidase of *L. monocytogenes*

4.0 mg/mL 的二甲基三硫醚处理后,单增李斯特氏菌的 OD_{280} 在 3.0 h 内从 0.012 5 分别上升到了 0.168 3、0.190 5 和 0.215 4。这表明在 3.0 h 内,两种主成分可有效破坏单增李斯特氏菌的细胞膜结构,使菌体内的蛋白质大量泄露,且泄露量随着培养时间的延长和质量浓度的增加而上升。而在 3 h 后,各处理组的 OD_{280} 几乎没有变化,这表明两种主成分可能在 3 h 左右已将单增李斯特氏菌的细胞膜结构完全破坏。综上可知,两种主成分可通过破坏单增李斯特氏菌细胞膜结构,使胞内蛋白质、酶等生物大分子泄露,从而实现对细菌正常生命活动的抑制。

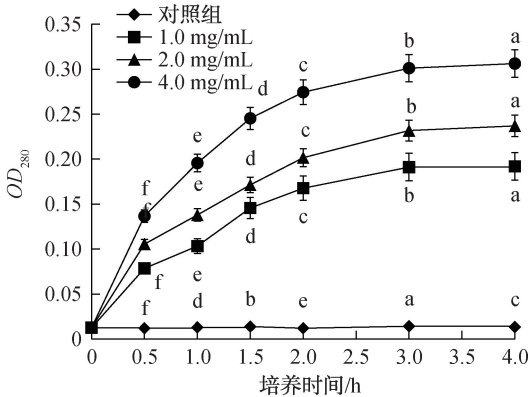
2.5 单增李斯特氏菌 ATP 酶活性变化分析

ATP 酶作为一种高能磷酸化合物,是细菌最直接的能量来源^[18]。ATP 酶可参与细菌细胞内物质的代谢及能量的储存利用,一旦 ATP 酶失活,便会严重影响细菌细胞的正常代谢活动^[19]。两种主成

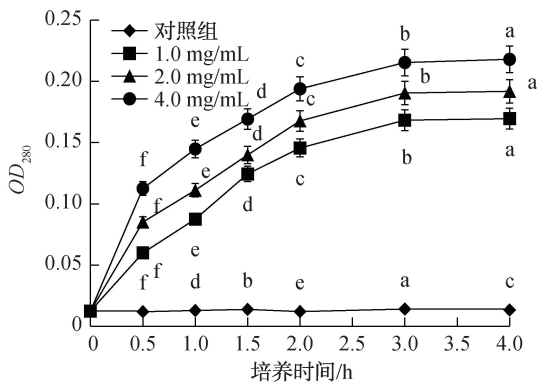
分对单增李斯特氏菌 ATP 酶活性的影响如图 4 所示。由图 4 可知,对照组具有最高的 ATP 酶活性(3.05 U/mg prot),而在处理组中,随着烯丙基甲基二硫醚质量浓度的增加,单增李斯特氏菌的 ATP 酶活性从 1.97 U/mg prot 下降到 0.52 U/mg prot;随着二甲基三硫醚质量浓度的增加,单增李斯特氏菌的 ATP 酶活性从 2.31 U/mg prot 下降到 0.55 U/mg prot。由此可知,处理组的 ATP 酶活性明显低于对照组($P < 0.05$),且质量浓度越高,ATP 酶活性越低。这表明两种主成分均可明显抑制单增李斯特氏菌的 ATP 酶活性,且其质量浓度越高,抑制作用越强。此外,在相同质量浓度下,烯丙基甲基二硫醚处理组的单增李斯特氏菌 ATP 酶活性均低于二甲基三硫醚处理组,这表明烯丙基甲基二硫醚对单增李斯特氏菌 ATP 酶活性的抑制作用强于二甲基三硫醚。综上可知,由两种主成分引起的单增李斯特氏菌 ATP 酶活性下降阻碍了其生理代谢活动,进而使其生长繁殖所必需的物质无法合成,因而导致其死亡。

2.6 单增李斯特氏菌 DNA 质量浓度变化分析

DNA 是细菌的主要遗传物质,控制着细菌的遗传和生长发育^[20],细菌 DNA 质量浓度下降,将会影响细菌的正常生理活动^[21]。两种主成分对单增李斯特氏菌 DNA 质量浓度的影响如图 6 所示。由图 6 可知,随着烯丙基甲基二硫醚质量浓度的增加,单增李斯特氏菌的 DNA 质量浓度从 36.41 ng/ μ L 下降到 13.63 ng/ μ L;随着二甲基三硫醚质量浓度的增加,单增李斯特氏菌的 DNA 质量浓度从 36.41 ng/ μ L 下降到 9.35 ng/ μ L。这表明两种主成



a) 烯丙基甲基二硫醚



b) 二甲基三硫醚

图 3 两种主成分对单增李斯特氏菌胞内蛋白质泄露的影响

Fig. 3 Effects of two principal componentson the leakage of proteins from *L. monocytogenes*

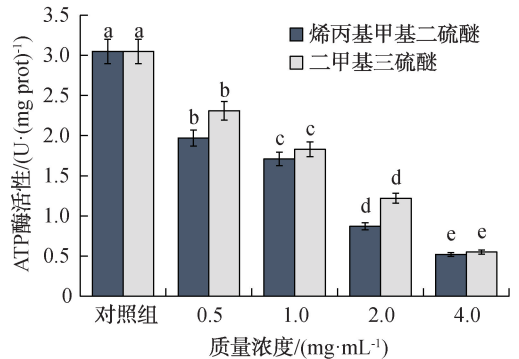


图 4 两种主成分对单增李斯特氏菌 ATP 酶活性的影响

Fig. 4 Effects of two principal componentson ATPase activity of *L. monocytogenes*

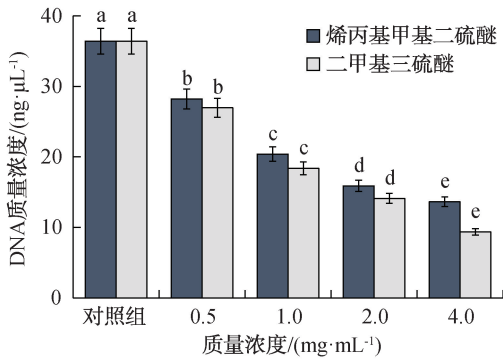


图 5 两种主成分对单增李斯特氏菌 DNA 质量浓度的影响

Fig. 5 Effects of two principal components on DNA concentration of *L. monocytogenes*

分均能有效降低单增李斯特氏菌的 DNA 质量浓度。根据前文的结果,推测造成这种现象的原因可能是两种主成分抑制了细菌 ATP 酶的活性,使得细菌细胞 DNA 的合成受阻,从而导致 DNA 质量浓度下降。综上可知,两种主成分引起的单增李斯特氏菌 DNA 质量浓度的下降严重阻碍了细胞中与 DNA 有关的生理活动,从而导致细菌无法正常生长繁殖。

3 结论

本文以韭花精油的两种主成分(烯丙基甲基二硫醚和二甲基三硫醚)为研究对象,通过检测 MIC、MBC、细菌细胞形态、细胞膜完整性等探究了其对单增李斯特氏菌的抑菌活性和抑菌机理,得到如下结论:两种主成分均对单增李斯特氏菌具有明显的抑菌活性,二者均严重破坏了细菌细胞的表面形态和细胞膜结构,使得细胞膜通透性增大,导致 β-半乳糖苷酶、蛋白质等物质泄露,也促使二者进一步渗透到细胞内部;进入细胞的两种主成分抑制了 ATP 酶活性,阻碍了细胞内的正常代谢活动,使细菌 DNA 合成受阻, DNA 质量浓度下降;由于缺少代谢能量和遗传物质,单增李斯特氏菌的生长繁殖被抑制,并最终死亡。本研究初步探究了韭花精油两种主成分的抑菌机理,为其在食品防腐领域的开发利用提供了理论依据。

参考文献:

[1] 白雯静,王艳炜,王海峰.单增李斯特氏菌能力验证结

果与分析[J].食品界,2022(10):75-77.

- [2] 宁厚齐.大豆球蛋白抗菌多肽对单增李斯特氏菌及金黄色葡萄球菌的抑制作用[D].济南:齐鲁工业大学,2019.
- [3] NING H Q, WANG S T, LI Y Q, et al. The cell structure damage and embden-meyerhof-parnas pathway inhibition of *Listeria monocytogenes* induced by glycinin basic peptide[J]. Microbial Pathogenesis, 2021, 152: 104635.
- [4] 王晓英.食品中单核细胞增生李斯特氏菌检测分析[J].福建轻纺,2021(12):21-23,26.
- [5] HOSSAIN M A, AL HARBI S R, WELI A M, et al. Comparison of chemical constituents and antimicrobial activities of three essential oils from three different brands/ clove samples collected from Gulf region [J]. Asian Pacific Journal of Tropical Disease, 2014, 4 (4): 262-268.
- [6] 邹熙,丁鹏霞,李美萍.不同萃取头及色谱柱对细叶韭花水提液易挥发性成分的影响[J].中国食品添加剂,2023,34(2):246-254.
- [7] 张小利,刘烈森.超临界 CO₂ 提取细叶韭花精油的工艺研究[J].中国调味品,2012,37(8):74-78.
- [8] LI M P, ZHAO X Y, XU M J. Chemical composition, antimicrobial and antioxidant activity of essential oil from *Allium tenuissimum* L. flowers [J]. Foods, 2022, 11 (23): 3876.
- [9] WU C Y, WANG C Y, SUN G J, et al. Antibacterial characteristics of allyl methyl disulfide and dimethyl trisulfide of *Allium tenuissimum* flower essential oil against *Escherichia coli* O157 : H7 [J]. Industrial Crops and Products, 2023, 202: 117058.
- [10] LI Y Q, SUN X X, FENG J L, et al. Antibacterial activities and membrane permeability actions of glycinin basic peptide against *Escherichia coli* [J]. Innovative Food Science and Emerging Technologies, 2015, 31: 170-176.
- [11] YANG J, SUN G J, LI Y Q, et al. Antibacterial characteristics of glycinin basic polypeptide against *Staphylococcus aureus* [J]. Food Science and Technology, 2016, 25 (5): 1477-1483.
- [12] 张鑫,李迎秋.两种天然防腐剂对单增李斯特菌抑菌性的研究[J].中国调味品,2021,46(2):37-39.
- [13] 王双童,张志毅,李迎秋.两种天然防腐剂对单增李斯特氏菌抑菌机制的研究[J].中国调味品,2020,45(10):14-16.
- [14] LIN L, GU Y L, CUI H Y. Moringa oil/chitosan nanoparticles embedded gelatin nanofibers for food packaging against *Listeria monocytogenes* and *Staphylococcus aureus* on cheese [J]. Food Packaging and Shelf Life, 2019, 19: 86-93.
- [15] HAN A, PAEK J, LEE S Y. Thermal resistance of *Escherichia coli* O157 : H7 in laboratory media, milk, and beef extracts during non-isothermal processing at various heat-

- ing rates[J]. Food Microbiology, 2023, 110:104187.
- [16] CUI H Y, ZHANG C H, LI C Z, et al. Antimicrobial mechanism of clove oil on *Listeria monocytogenes* [J]. Food Control, 2018, 94:140-146.
- [17] 孙杨, 王晓迪, 朱军莉, 等. 柠檬草精油对副溶血性弧菌的抑菌活性及机制[J]. 中国食品学报, 2023, 23(3):157-167.
- [18] PATEL A, MALINOVSKA L, SAHA S, et al. ATP as a biological hydrotrope [J]. Science, 2017, 356(6339):753-756.
- [19] SUN X H, ZHOU T T, WEI C H, et al. Antibacterial effect and mechanism of anthocyanin rich Chinese wild blueberry extract on various foodborne pathogens[J]. Food Control, 2018, 94:155-161.
- [20] 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]. International Journal of Food Microbiology, 2019, 130:34-41.
- [21] DAI J M, LI C Z, CUI H Y, et al. Unraveling the antibacterial mechanism of *Litsea cubeba* essential oil against *E. coli* O157:H7 and its application in vegetable juices [J]. International Journal of Food Microbiology, 2021, 338(1):108989.

Antibacterial activities and mechanisms of the major compositions of *Allium tenuissimum* flower essential oil against *Listeria monocytogenes*

WU Chengyu, LI Yingqiu

College of Food Science and Engineering, Qilu University of Technology (Shandong Academy of Sciences), Jinan 250353, China

Abstract: This study investigated the antibacterial activities and mechanisms of the major compositions (allyl methyl disulfide and dimethyl trisulfide) of *Allium tenuissimum* flower essential oil against *Listeria monocytogenes*. The antibacterial activities and mechanisms of these two compositions against *L. monocytogenes* were evaluated by minimum inhibitory concentration (MIC), minimum bactericidal concentration (MBC), cellular morphologies, etc. These results showed that MICs of these two compositions were both 1.0 mg/mL, and MBCs were both 2.0 mg/mL. The 2.0 mg/mL of allyl methyl disulfide and dimethyl trisulfide rigorously impaired cellular morphologies and cytomembrane structures of *L. monocytogenes*. The leakage of β -galactosidases and proteins significantly increased when bacterial cells were treated with these two compositions at 4.0 mg/mL. ATPase activities (0.52 U/mg prot and 0.55 U/mg prot) of the cells treated with allyl methyl disulfide (4.0 mg/mL) and dimethyl trisulfide (4.0 mg/mL) were distinctly lower than the activity of control (3.05 U/mg prot, $P < 0.05$), respectively. Furthermore, the contents of DNA for bacterial cells were remarkably decreased after treated with these two compositions. Thus, allyl methyl disulfide and dimethyl trisulfide inhibited activities of *L. monocytogenes* via destruction of cytomembrane structures, inactivation of ATPase and reduction of DNA contents in bacterial cells.

Key words: *Allium tenuissimum* flower; essential oil; allyl methyl disulfide; dimethyl trisulfide; *Listeria monocytogenes*; antibacterial activity

(责任编辑:杨晓娟)