

孜然精油对产毒黄曲霉的抑制活性研究

徐丹,卫梦绮,李亚俊,薛海燕,宋宏新*

陕西科技大学食品与生物工程学院,西安 710021

摘要:为考察孜然精油对产毒黄曲霉的抑制效果,采用亚临界萃取法提取孜然精油,通过 GC-MS 分析精油的主要挥发性成分,并从黄曲霉生长、胞内氧化还原状态、产毒能力、菌体超微结构等方面综合研究孜然精油对黄曲霉的抑制作用。结果显示孜然精油的主要挥发性成分为苯基-1,2-乙二醇(34.76%)、 γ -松油烯(8.68%)、枯茗醛(8.15%)、 β -蒎烯(4.49%);该精油使黄曲霉生长、黄曲霉毒素 B₁(AFB₁)合成量、胞内总过氧化物含量分别下降了 81.90%、83.01%、33.75%,且黄曲霉菌丝体和孢子的超微结构受到严重破坏,说明孜然精油能有效抑制黄曲霉生长及产毒,可用于食品与饲料中真菌毒素的控制。

关键词:孜然精油;产毒黄曲霉;黄曲霉毒素 B₁;抑制

中图分类号:R284.1;R285.5

文献标识码:A

DOI:10.16333/j.1001-6880.2018.9.022

Inhibitory Activity of *Cumin* Essential Oil on Aflatoxigenic *Aspergillus flavus*

XU Dan, WEI Meng-qi, LI Ya-jun, XUE Hai-yan, SONG Hong-xin*

School of Food and Biological Engineering, Shaanxi University of Science and Technology, Xi'an 710021, China

Abstract: In order to study the inhibitory effect of *cumin* essential oil (EO) on aflatoxigenic *Aspergillus flavus*, the essential oil of *cumin* was extracted by subcritical extraction technology and its main volatile components were analyzed by GC-MS; then the inhibitory effect of essential oil on *Aspergillus flavus* was studied from the aspects of growth, intracellular redox status, aflatoxin B₁(AFB₁) biosynthesis and cell ultrastructure. The results showed that the main components of *cumin* EO were 1-phenyl-1,2-ethanediol (34.76%), γ -terpinolene (8.68%), cuminaldehyde (8.15%) and β -pinene (4.49%). In the presence of *cumin* EO, the growth of *Aspergillus flavus*, AFB₁ biosynthesis and intracellular total peroxide were decreased by 81.90%, 83.01% and 33.75%, respectively. At the same time, it was found that the cell ultrastructure of the mycelium and spores was serious damaged by EO. It is suggested that *cumin* EO can effectively inhibit the growth of aflatoxigenic *Aspergillus flavus*, and can be used for the control of mycotoxin in food and feed.

Key words: *Cumin* essential oil; aflatoxigenic *Aspergillus flavus*; aflatoxin B₁; inhibition

黄曲霉是发霉粮食及其制品中常见的腐生真菌,不仅降低食品的营养价值,而且能产生具有强致癌性的黄曲霉毒素(aflatoxin, AFT),严重危害人体健康^[1]。为保障公众健康,必须控制食品中黄曲霉及其毒素的污染,目前主要通过化学防腐剂来抑制霉菌生长,虽有较好效果,但对人体有潜在危害且污染环境,已逐渐被禁止使用,亟需开发天然、高效、经济的防腐剂。现已发现丁香、桂皮、花椒、天竺葵、茴香、藿香、牛至、薄荷等植物精油能有效抑制黄曲霉的生长及产毒^[2-6],大多数植物精油具有较高的生物安全性,已被美国食品药品监督管理局划定为“一

般认为安全(Generally recognized as safe, GRAS)”,并且在病原微生物中具有生物降解性和低风险抗性^[7]。孜然精油是从孜然种子中提取的一种具有特殊芳香气味的挥发性油状物质,具有抑菌、抗氧化、杀虫、预防癌症等多种功能,已被 FDA 批准用于食品(GRAS 2340 和 GRAS 2343)^[8]。因此,本研究选取孜然为原料,提取并分析孜然精油的主要挥发性成分,从黄曲霉的生长、超微结构、AFB₁合成量等方面多角度研究孜然精油对产毒黄曲霉的抑制效果,为天然食品防腐剂的开发提供理论依据。

1 材料与amp;方法

1.1 菌株

Aspergillus flavus CGMCC 3.4408 购于中国普通微生物菌种保藏管理中心(China General Microbio-

收稿日期:2017-11-20 接受日期:2018-03-29

基金项目:陕西省农业科技创新与攻关项目(2015YN002);陕西科技大学科研启动基金(BJ12-19);国家自然科学基金(31801652)

*通信作者 Tel:86-29-86168589; E-mail:songhx@sust.edu.cn

logical Culture Collection Center, CGMCC), 4 °C 保存。

1.2 培养基

马铃薯葡萄糖琼脂培养基 (Potato Dextrose Agar, PDA): 马铃薯 200 g、葡萄糖 20 g、琼脂 20 g、蒸馏水 1 L, 自然 pH, 121 °C 高压灭菌 20 min。

马铃薯葡萄糖液体培养基 (Potato Dextrose Broth, PDB): 马铃薯 200 g、葡萄糖 20 g、蒸馏水 1 L、自然 pH, 121 °C 高压灭菌 20 min。

1.3 试剂

孜然种子购于西安市场; AFB₁ 标准品购于 Sigma 公司; 四氟乙烷 (分析纯) 购于海晶精细化工厂; 甲醇 (色谱纯)、乙腈 (色谱纯) 购于 Fisher 公司; 戊二醛、六甲基二硅胺烷、醋酸异戊酯、三苯基膦、2,6-二叔丁基对甲酚均为分析纯, 购于阿拉丁试剂上海有限公司; 其他试剂均为分析纯, 购于国药集团化学试剂有限公司。

1.4 试验仪器与设备

HA-131-2.5-2 亚临界工艺技术装置, 常州特威电气自动化系统有限公司; QP2010 气相-质谱联用仪, 日本岛津公司; LDZM-40kes 立式压力蒸汽灭菌锅, 上海申安医疗器械厂; BSC-1300A 生物安全柜, 上海博讯实业有限公司; MJPS 型霉菌培养箱, 上海精宏实验设备有限公司; HZQ-F160 型震荡培养箱, 苏州培英实验设备有限公司; 1200 高效液相色谱仪, 美国 Agilent 公司; JSM-6390 扫描电镜, 日本电子株式会社; 原子力显微镜, 美国 Agilent 公司。

1.5 试验方法

1.5.1 孜然精油的提取及分析

1.5.1.1 孜然精油的提取

孜然种子 60 °C 烘干、粉碎, 过 60 目筛, 称取 200 g, 采用亚临界萃取法提取孜然精油, 萃取剂为四氟乙烷、萃取温度 40 °C、萃取压力 1.0 MPa、萃取时间 60 min, 离心过滤, 收集精油, 并计算精油得率。

1.5.1.2 孜然精油的 GC-MS 分析

色谱条件: 色谱柱为 DB-5 (30 m × 0.25 mm, 0.25 μm), 柱初温 40 °C, 保持 3 min, 以 10 °C/min 升至 90 °C, 再以 8 °C/min 升至 250 °C, 保持 8 min; 载气为 He, 流速 1.0 mL/min; 进样口温度 250 °C, 进样量 0.1 μL; 分流比 60:1。

质谱条件: 电子轰击离子源; 电子能量 70 eV; 传输线温度 250 °C; 离子源温度 200 °C; 发射电流 50 μA; 质量扫描范围 m/z 35 ~ 450。

1.5.2 孜然精油对黄曲霉菌落生长的影响

将 20 mL PDA 培养基倒入培养皿中, 接入 10 μL 孢子悬浮液, 同时将吸有 200 μL 孜然精油的滤纸片贴于培养皿内盖上, 28 °C 倒置培养 5 天, 以不含孜然精油为对照。每天观察并测量菌落直径, 以菌落直径对时间作图, 得到线性回归方程, 其斜率为生长速率, 当菌落直径达到 10 mm 所需时间为延滞期^[9], 计算黄曲霉生长速率和延滞期, 分析孜然精油对黄曲霉生长的影响。

1.5.3 孜然精油对黄曲霉胞内总过氧化物和 AFB₁ 合成的影响

将孜然精油和 1 mL 黄曲霉孢子悬浮液接入 50 mL PDB 培养基中, 使孜然精油终浓度分别为 0.156 μL/mL、0.625 μL/mL, 同时加入几滴吐温。28 °C, 150 rpm, 培养 5 d, 以不加孜然精油为对照, 测定总过氧化物及 AFB₁ 的含量, 分析孜然精油对黄曲霉胞内氧化还原状态及产毒能力的影响。

1.5.3.1 总过氧化物的测定

过滤菌丝体, 菌丝体经冷冻干燥后用于总过氧化物含量的测定, 滤液用于 AFB₁ 含量的测定。称取 50 mg 经液氮研磨的菌丝体粉末, 加入 500 μL PBS 缓冲液, 4 °C, 10 000 rpm 离心 10 min, 收集上清液, 于 90 μL 上清液中加入 10 μL TPP/BHT 试剂, 再加入 900 μL Fox-1 试剂, 室温放置 30 min, 测定 560 nm 处的吸光值, 以 PBS 缓冲液做对照^[10]。

1.5.3.2 AFB₁ 的提取与测定

吸取 1 mL 滤液, 加入 3 倍体积的三氯甲烷提取 AFB₁, 静置分层, 收集三氯甲烷层, 氮气吹干, 加入 100 μL 三氟乙酸和 200 μL 正己烷, 40 °C 避光反应 15 min, 再次氮气吹干, 加入 1 mL 乙腈水溶液 (乙腈: 水 = 30:70), 0.22 μm 膜过滤, 保存于棕色瓶中待测。

采用 HPLC 法检测 AFB₁ 含量, 色谱柱: symmetry C₁₈ (250 × 4.6 mm, 5 μm); 流动相为乙腈: 水 = 30:70 (v/v); 柱温: 30 °C; 流速: 1 mL/min; 激发波长: 360 nm; 发射波长: 440 nm; 进样量: 20 μL^[11]。

1.5.4 孜然精油对黄曲霉超微结构的影响

1.5.4.1 孜然精油对黄曲霉菌丝体超微结构的影响

取 100 μL 黄曲霉孢子悬浮液接种于 PDA 培养基, 28 °C 培养 24 h 后, 将吸有 200 μL 孜然精油的滤纸片贴于培养皿盖上, 28 °C 倒置培养 5 天, 以不含

孜然精油为对照。切下 5 mm 大小的菌块,于 5% 的戊二醛溶液 4 ℃ 固定 24 h,再用 0.2 mol/L 的 pH 7.4 PBS 缓冲溶液清洗 3 次,每次 15 min;然后用 50%、70%、90%、100% 的乙醇溶液梯度脱水,每次 20 min,其中 100% 乙醇脱水两次;样品用醋酸异戊脂置换,最后于六甲基二硅胺烷中浸泡 30 min,取出,自然风干,喷金,扫描电镜(SEM)观察^[12]。

1.5.4.2 孜然精油对黄曲霉孢子形态的影响

将孜然精油和 100 μL 黄曲霉孢子悬浮液接入 50 mL PDB 培养基中,使孜然精油终浓度为 2.5 μL/mL,同时加入几滴吐温,28 ℃,150 rpm 培养。分别于 0、8 h 吸取 50 μL 培养物滴加到云母片上,去离子水清洗 2 遍,自然风干静置 20 min,用原子力显微镜(AFM)观察黄曲霉孢子的形态。

1.5.5 数据分析

实验重复 3 次,用 Origin 8.0 软件对数据进行分析处理。

2 结果与讨论

2.1 孜然精油组成成分分析

经亚临界萃取法提取的孜然精油为淡黄色油状液体,具有孜然特有的味道,得率为 2.2%,其总离子流谱图如图 1 所示。

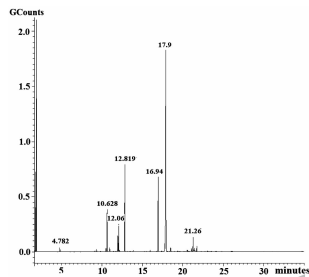


图 1 孜然精油的总离子流图

Fig. 1 Total ion current chromatogram of the *Cumin* essential oil

孜然精油的主要挥发性成分为萜烯类、醇类和醛类物质,如表 1 所示含量较高的单体物质为苯基-1,2-乙二醇(34.76%)、 γ -松油烯(8.68%)、枯茗醛(8.15%)、 β -蒎烯(4.49%)等,这与 Bettaieb^[13]的结果一致;而李伟^[14]采用水蒸馏法提取的孜然精油主要挥发性成分有枯茗醛、2-萜烯-10-醛、3-萜烯-10-醛、 γ -松油烯和 β -蒎烯,李大强^[15]分析甘肃与新疆孜然籽精油主要挥发性成分为 2-萜烯-10-醛、枯茗醛、3-萜烯-10-醛。虽然精油的成分会随着产地、收获期、提取方法的不同而有差异^[16],但研究发现枯茗醛在所有孜然精油中的含量均较高,且该物质具有孜然特有的香气,说明枯茗醛是孜然精油的主要挥发性成分之一。

表 1 孜然精油挥发性成分分析

Table 1 Volatile components of the *Cumin* essential oil

序号 No.	保留时间 Retention time (min)	化合物 Compound	相对含量 Relative content (%)	分子式 Formula
1	9.124	α -侧柏烯(α -Thujene)	0.083	C ₁₅ H ₂₂
2	9.333	α -蒎烯(α -Thujene)	0.238	C ₁₀ H ₁₆
3	9.817	莰烯(Camphene)	0.035	C ₁₀ H ₁₆
4	10.628	β -蒎烯(β -Pinene)	4.491	C ₁₀ H ₁₆
5	10.945	β -月桂烯(β -Myrcene)	0.391	C ₁₀ H ₁₆
6	11.430	α -水芹烯(α -Phellandrene)	0.063	C ₁₀ H ₁₆
7	11.718	α -异松油烯(α -Terpinolene)	0.035	C ₁₀ H ₁₆
8	11.937	邻伞花烃(Benzene)	1.571	C ₁₀ H ₁₄
9	12.058	冰片(Bornylene)	2.686	C ₁₀ H ₁₈ O
10	12.111	β -水芹烯(β -Menthadiene)	0.010	C ₁₀ H ₁₆
11	12.149	桉叶素(Cineole)	0.043	C ₁₀ H ₁₈ O
12	12.819	γ -松油烯(γ -Terpinene)	8.676	C ₁₀ H ₁₆
13	13.128	反式桉水合物(trans-Sabinene hydrate)	0.032	C ₁₀ H ₁₈ O
14	13.468	2-萜烯(2-Carene)	0.033	C ₁₀ H ₁₆

续表 1 (Continued Tab. 1)

序号 No.	保留时间 Retention time (min)	化合物 Compound	相对含量 Relative content (%)	分子式 Formula
15	13.873	顺式- β -萜品醇 (Cyclohexanol)	0.100	C ₁₀ H ₁₈ O
16	15.491	内冰片 (Borneol)	0.036	C ₁₀ H ₁₈ O
17	15.956	春黄菊脑 (Anthemol)	0.210	C ₁₀ H ₁₆ O
18	16.788	橙花醛 (cis-Citral)	0.098	C ₁₀ H ₁₆ O
19	16.940	枯茗醛 (Cuminaldehyde)	8.152	C ₁₀ H ₁₂ O
20	17.347	香叶醛 (Geranaldehyde)	0.059	C ₁₀ H ₁₆ O
21	17.771	胡椒酚甲醚 (4-Allylanisole)	1.233	C ₁₀ H ₁₂ O
22	17.900	苯基-1,2-乙二醇 (Styrene glycol)	34.760	C ₈ H ₁₀ O ₂
23	18.493	1(7),2-对-孟二烯-4-醇 (1,4-p-Menthadien-7-ol)	0.410	C ₁₀ H ₁₆ O
24	19.393	γ -杜松烯 (γ -Cadinene)	0.080	C ₁₅ H ₂₄
25	20.534	顺式- β -金合欢烯 (β -cis-Farnesene)	0.143	C ₁₅ H ₂₄
26	21.045	姜黄烯 (Curcumene)	0.419	C ₁₅ H ₂₂
27	21.261	1-姜烯 (1-Zingiber)	1.189	C ₁₅ H ₂₄
28	21.364	α -金合欢烯 (α -Farnesene)	0.233	C ₁₅ H ₂₄
29	21.414	γ -衣兰油烯 (Gamma cloenolene)	0.079	C ₁₅ H ₂₄
30	21.467	L-红没药烯 (1-Bisabolene)	0.343	C ₁₅ H ₂₄
31	21.730	β -倍半水芹烯 (β -Sesquiphellandrene)	0.485	C ₁₅ H ₂₄
32	23.029	胡萝卜醇 (Carotol)	0.059	C ₄₀ H ₅₆ O ₂
33	23.514	姜酮 (Vanillylacetone)	0.030	C ₁₁ H ₁₄ O ₃
34	24.811	醋酸桉酯 (Sabinyl acetate)	0.045	C ₁₂ H ₁₈ O ₂
35	26.088	叶绿醇 (Phytol)	0.069	C ₂₀ H ₄₀ O
36	27.666	棕榈酸 (Cetyllic acid)	0.121	C ₁₆ H ₃₂ O ₂
37	28.054	棕榈酸乙酯 (Ethyl palmitate)	0.047	C ₁₈ H ₃₆ O ₂
38	29.714	顺式-11,14-二十碳二烯酸甲酯 (11,14-Eicosadienoic acid, methyl ester)	0.323	C ₂₁ H ₃₈ O ₂
39	29.791	油酸 (Oleic acid)	0.458	C ₁₈ H ₃₄ O ₂
40	30.020	亚油酸乙酯 (9,12-Octadecadienoic acid (Z,Z)-, ethyl ester)	0.044	C ₂₀ H ₃₆ O ₂
41	30.091	反油酸乙酯 (9-Octadecenoic acid, ethyl ester)	0.085	C ₂₀ H ₃₈ O ₂
42	34.761	篙属酮 (Isoartemisiam ketone)	0.102	C ₁₀ H ₁₆ O

2.2 孜然精油对黄曲霉菌落生长的影响

黄曲霉菌落直径的变化如表 2 所示, 实验组中菌落直径明显小于对照组, 两组之间有显著性差异 ($P < 0.05$), 说明孜然精油对黄曲霉菌落生长具有显著的抑制作用, 与已有研究结果一致^[14,17]。同时发现培养前 4 天, 孜然精油对黄曲霉生长的抑制作用随时间延长而逐渐增强, 并在第 4 天达到了最大值, 之后趋于平稳, 抑制率可达 81.90%, 且实验组中黄曲霉的生长速率明显低于对照组, 降至 0.29 ± 0.01 mm/d, 菌体生长的延滞期延长至 5.96 ± 0.03 天 (表 3)。

2.3 孜然精油对黄曲霉胞内总过氧化物及产毒的影响

2.3.1 孜然精油对黄曲霉胞内总过氧化物的影响

孜然精油对黄曲霉胞内总过氧化物的影响如图 2 所示, 实验组中总过氧化物值明显低于对照组, 且随着孜然精油浓度的增大, 黄曲霉胞内总过氧化物含量逐渐下降, 说明孜然精油可以降低菌丝体内的氧化水平。脂质过氧化物和自由基所诱导的氧化应激反应是 AFB₁ 合成的先决条件, 并与真菌细胞的发育、分化有关^[18]。因此推测孜然精油可能通过降低黄曲霉胞内氧化压力, 干扰黄曲霉正常的代谢活动。

表2 孜然精油对黄曲霉生长的影响

Table 2 Effect of *Cumin* essential oil on radial growth of *Aspergillus flavus*

时间 Time (d)	菌落直径 Colony diameter (mm)		抑制率 Inhibition rate (%)
	对照组 Control	实验组 Test	
1	15.00 ± 0.87	8.20 ± 1.26 *	45.30
2	24.30 ± 0.29	9.20 ± 0.58 *	62.10
3	37.00 ± 0.87	9.30 ± 0.29 *	74.90
4	49.10 ± 6.01	9.50 ± 0.79 *	80.70
5	53.50 ± 2.54	9.50 ± 0.79 *	81.90

注:与对照组比较, (* $P < 0.05$)。

Note: Compared with control group, * means significant difference (* $P < 0.05$).

表3 孜然精油对黄曲霉菌落生长速率和延滞期的影响

Table 3 Effect of *Cumin* essential oil on growth rate and lag phase of *Aspergillus flavus*

组别 Group	生长速率 Growth rate (mm/d)	延滞期 Lag phase (d)
对照组 Control	10.18 ± 0.03	0.47 ± 0.04 *
实验组 Test	0.29 ± 0.01	5.96 ± 0.03 *

注:与对照组比较, (* $P < 0.05$)。

Note: Compared with control group, * means significant difference (* $P < 0.05$).

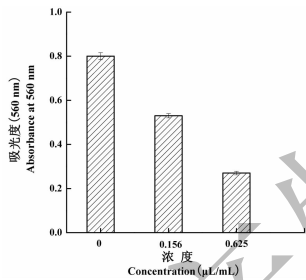
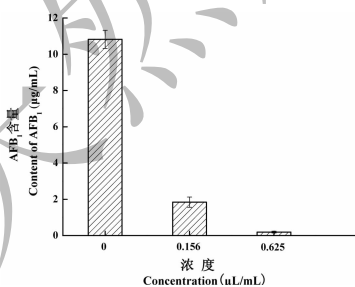


图2 孜然精油对总过氧化物含量的影响

Fig. 2 Effect of *Cumin* essential oil on ROOH in mycelia of *Aspergillus flavus*图3 孜然精油对 AFB₁ 含量的影响Fig. 3 Effect of the *Cumin* essential oil on AFB₁ biosynthesis by *Aspergillus flavus*

2.3.2 孜然精油对黄曲霉产毒的影响

孜然精油对黄曲霉产毒的影响如图3所示,实

验组中 AFB₁ 的含量明显低于对照组,实验组与对照组之间有显著性差异。随着孜然精油浓度的增大, AFB₁ 的含量逐渐降低,且当孜然精油浓度为 0.156 μL/mL 时, AFB₁ 含量从 10.82 ± 0.50 μg/mL 降至 1.84 ± 0.20 μg/mL, 抑制率为 83.01%, 说明孜然精油能显著抑制 AFB₁ 的生物合成。

2.4 孜然精油对黄曲霉超微结构的影响

2.4.1 孜然精油对黄曲霉菌丝体超微结构的影响

孜然精油对黄曲霉超微结构的影响如图4所示,对照组菌丝体生长旺盛,菌丝和孢子饱满,表面附着小刺突;而经孜然精油处理过的菌体表面较光滑无刺突,菌丝出现扭曲断裂,表面畸形,孢子明显破损。谢小梅^[19]发现肉桂醛、柠檬醛能使黄曲霉孢子及菌丝体的表面结构发生明显改变; Akash^[20]发现孜然精油能影响黄曲霉细胞膜中麦角甾醇的合成,因此推测孜然精油破坏了菌体的正常生理代谢活动,导致细胞膜和细胞壁严重破裂,促使菌丝体塌陷、坏死。

2.4.2 孜然精油对黄曲霉孢子形态的影响

孜然精油对黄曲霉孢子形态的影响如图5所示,孜然精油处理 0 h 时,黄曲霉孢子呈椭圆形,处理 8 h 后,孢子开始收缩,表面塌陷,孢子表面粗糙度下降,这与 SEM 结果一致。因此,推测孜然精油

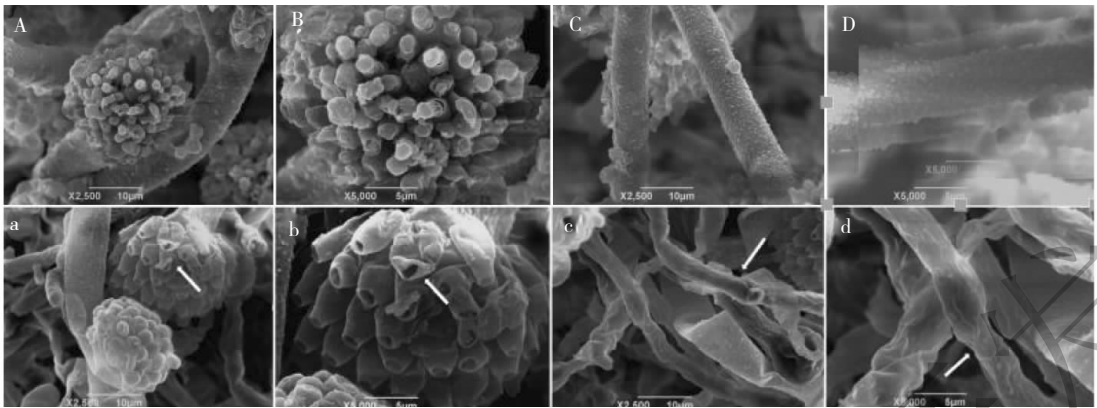


图4 黄曲霉孢子和黄曲霉菌丝体的扫描电镜图

Fig. 4 Scanning electron micrographs of *Aspergillus flavus* spore and mycelia

注:图 A、B、C、D 未经孜然精油处理,图 a、b、c、d 经孜然精油处理

Note: Fig. A、B、C、D are not treated with *Cumin* essential oil, Fig. a、b、c、d are treated with *Cumin* essential oil

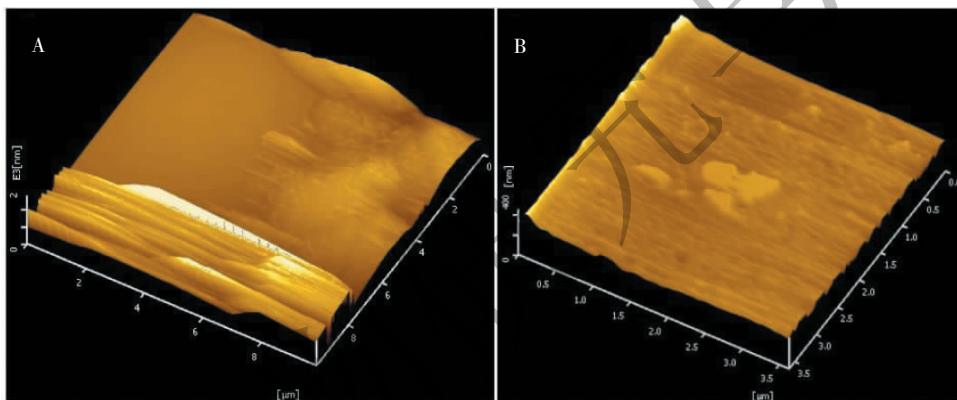


图5 黄曲霉孢子的原子力显微镜图

Fig. 5 Atomic force micrographs of *Aspergillus flavus* spore

注:A 为孜然精油处理 0 h, B 为孜然精油处理 8 h.

Note: A is treated with *Cumin* essential oil for 0 h, B is treated with *Cumin* essential oil for 8 h.

能影响黄曲霉细胞膜正常的生理功能,干扰细胞内外信号的传导,阻止孢子对营养物质的吸收,导致细胞的生长和繁殖受到抑制,引起细胞的凋亡。

3 结论

采用亚临界法提取的孜然精油主要含有苯基-1,2-乙二醇、 γ -松油烯、枯茗醛、 β -蒎烯等挥发性物质,该精油对黄曲霉生长及产毒有强抑制作用,同时显著改变黄曲霉孢子及菌丝体的微观结构,造成细胞形态严重破坏,导致细胞损伤、死亡。已研究发现柠檬醛和肉桂醛等醛类物质具有抑制黄曲霉生长的作用,且作用靶点在细胞膜上;而孜然精油的主要成分是枯茗醛,因此应以细胞膜为切入点,从分子层面深入研究枯茗醛对黄曲霉的抑制作用及抑制机理,

使孜然精油能够有效地应用于食品与饲料中真菌的防治。

参考文献

- 1 Abrunhosa L, Morales H, Soares C, *et al.* A review of mycotoxins in food and feed products in Portugal and estimation of probable daily intakes[J]. *Crit Rev Food Sci*, 2016, 56: 249-256.
- 2 Hu LF(胡林峰), Xu ML(许明录), Zhu HX(朱红霞). Advances in antifungal activity of plant essential oil[J]. *Nat Prod Res Dev*(天然产物研究与开发), 2011, 23: 384-391.
- 3 Liu XL(刘晓丽), Zhong SS(钟少枢), Wu KG(吴克刚), *et al.* Antimicrobial activity in the vapour phase of combination of cinnamon and clove essential oils[J]. *Food Fer Ind*(食品与发酵工业), 2010, 36: 21-24.

- 4 Kahkha MR, Amanloo S, Kaykhaii M. Antiaflatoxicogenic activity of *Carum copticum* essential oil [J]. *Environ Chem Lett*, 2014, 12:231-234.
- 5 Esper RH, Gonzalez E, Marcia MO, et al. Potential of essential oils for protection of grains contaminated by aflatoxin produced by *Aspergillus flavus* [J]. *Front Microbiol*, 2014, 5:269.
- 6 Kedia A, Dwivedy AK, Jha DK, et al. Efficacy of *Mentha spicata* essential oil in suppression of *Aspergillus flavus* and aflatoxin contamination in chickpea with particular emphasis to mode of antifungal action [J]. *Protoplasma*, 2016, 253:647-653.
- 7 Kedia A, Prakash B, Mishra PK, et al. Antifungal and antiaflatoxicogenic 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.
- 8 Parthasarathy VA, Chempakam B, Zachariah TJ, et al. Chemistry of Spices [M]. Pondicherry: CABI, 2008:211-224.
- 9 Bluma R, Amaiden MR, Etcheverry M. Screening of Argentine plant extracts; impact on growth parameters and aflatoxin B₁ accumulation by *Aspergillus section Flavi* [J]. *Int J Food Microbiol*, 2008, 122:114-125.
- 10 Reverberi M, Gazzetti K, Punelli F, et al. Aoyap1 regulates OTA synthesis by controlling cell redoxbalance in *Aspergillus ochraceus* [J]. *Appl Microbiol Biotechnol*, 2012, 95:1293-1304.
- 11 Xu D, Wang HX, Zhang YZ, et al. Inhibition of non-toxicogenic *Aspergillus niger* FS10 isolated from Chinese fermented soybean on growth and aflatoxin B₁ production by *Aspergillus flavus* [J]. *Food Control*, 2013, 32:359-365.
- 12 Lee JT, Chow KL. SEM sample preparation for cells on 3D scaffolds by freeze-drying and HMDS [J]. *Scanning*, 2012, 34:12-25.
- 13 Bettaieb I, Bourgo S, Sriti J, et al. Essential oils and fatty acids composition of Tunisian and Indian cumin (*Cuminum cyminum* L.) seeds; a comparative study [J]. *J Sci Food Agri*, 2010, 91:2100-2107.
- 14 Li W(李伟), Feng D(封丹), Lu ZG(陆占国). The chemical components and antibacterial activity of cumin essential oil [J]. *Food Sci Tech*(食品科技), 2008, 33:182-186.
- 15 Li DQ(李大强), Zhang Z(张忠), Bi Y(毕阳). Comparison of essential oil of cumin components between Gansu and Xinjiang production areas [J]. *Sci Tech Food Ind*(食品工业科技), 2012, 33:141-143.
- 16 Dong LH(董丽华), Guo J(郭娟), Zhang HX(张红霞), et al. Chemical composition and anti-inflammatory effects of essential oil of Maqian (*Zanthoxylum myriacanthum* var. *pubesces* Huang) collected in three locations of Xishuangbanna, Yunnan [J]. *Nat Prod Res Dev*(天然产物研究与开发), 2017, 29:425-430.
- 17 Liu Q, Meng X, Li Y, et al. Antibacterial and antifungal activities of spices [J]. *Int J Mol Sci*, 2017, 18:1283.
- 18 Hong SY, Roze LV, Wee J, et al. Evidence that a transcription factor regulatory network coordinates oxidative stress response and secondary metabolism in *Aspergillus* [J]. *Microbiologyopen*, 2013, 2:144-160.
- 19 Xie XM(谢小梅), Fang JR(方建茹), Xu Y(许杨). Study of antifungal effect of cinnamyl aldehyde and geranial on *Aspergillus flavus* [J]. *Food Sci*(食品科学), 2004, 25:32-34.
- 20 Kedia A, Prakash B, Mishra PK, et al. Antifungal and antiaflatoxicogenic properties of *Cuminum cyminum* (L.) seed essential oil and its efficacy as a preservative in stored commodities [J]. *Int J Food Microbiol*, 2015, 168-169:1-7.
- its glycosides [J]. *Chem Nat Compd*, 2012, 48:477-479.
- 17 Yang MZ(杨明珠), Tian XY(田新雁), Xiao CJ(肖朝江), et al. Chemical constituents and bioactivity studies of *Diospyros kaki* [J]. *Chin Med Mat*(中药材), 2016, 39:2513-2517.
- 18 Li SL, Liu YH. Chemical constituents with antioxidative activity from the flower buds of *Lonicera serreana* [J]. *Guihua*, 2015, 35:586-589.
- 19 Huang JQ(黄敬群), Sun WJ(孙文娟), Wang SW(王四旺), et al. Studies on the anti-inflammatory and antioxidant activity of quercetin in rats with gouty arthritis [J]. *Chin J Exper Tradit Med Formulae*(中国实验方剂学杂志), 2012, 18:169-173.
- (上接第 1553 页)
- 13 Qiao JW(乔金为), Huang SH(黄顺旺), Song SJ(宋少江), et al. Study on chemical constituents of the leaves of *Diospyros kaki* [J]. *Chin Med Mat*(中药材), 2016, 39:2513-2517.
- 14 Li L, Seeram NP. Maple syrup phytochemicals include lignans, coumarins, a stilbene, and other previously unreported antioxidant phenolic compounds [J]. *J Agr Food Chem*, 2010, 58:11673-11679.
- 15 Shang XY(尚小雅), Li S(李帅), Wang SJ(王素娟), et al. The flavonoids of *Bauhinia aurea* Levl [J]. *Chin Tradit Herb Drugs*(中草药), 2009, 40:196-199.
- 16 Byoung-Jae P, Tomohiko M, Tsutomu K, et al. Phenolic compounds from the leaves of *Psidium guajava* II. Quercetin and