

柠檬醛对黄曲霉质膜损伤机制的初步研究*

罗 曼^{1,2} 蒋立科^{1**} 吴子健¹

(¹ 安徽农业大学生物工程系 合肥 230036) (² 武汉大学生命科学学院 武汉 430072)

摘 要:与正常生长的黄曲霉对照,通过测定经柠檬醛毒化的菌丝体对还原糖和蛋白质利用率、 $[\text{Na}^+, \text{K}^+]\text{-ATPase}$ 分解 ATP 活性、细胞电解质渗出率,并结合扫描电镜和快速显微多道分光光度法观察菌丝体细胞及孢子形态变化,结果表明经该醛 MIC 毒化后,菌丝体细胞及孢子表面疏松而粗糙;隘痕缩小并关闭;电导率增加 52.8%;对还原糖和蛋白质的利用速率分别下降 61.5% 和 44.3%;孢子萌发率下降至 61.4%;该醛能明显改变细胞质膜的分子结构,使其失去选择通透性而抑制菌丝体生长和孢子萌发率。

关键词:柠檬醛, 黄曲霉, 质膜

中图分类号: Q939.11 **文献标识码:** A **文章编号:** 0001-6209 (2001) 06-0723-08

粮、油被黄曲霉毒素伤害而引起的霉烂和变质,不仅给粮油带来严重损失,而且随着食品和饮料加工给人类健康带来严重影响^[1]。人们从 80 年代开始寻找天然抗菌剂以代替化学抗菌剂,其中很大部分是研究香精油的抗菌性,但有关它们的抗菌机理的研究甚少,即使对通用杀菌剂磷化氢的作用机理有许多报道^[2-5],但均是从宏观的效果如剂量、抑制时间、方法、残留量等予以说明。周 坚、李沛涛^[6]报道了天然山苍籽油抗金黄色葡萄球菌的机理研究,但山苍籽油由近 30 种有机化合物组成,且大部分具挥发性,其中香叶醇,香茅醛等也颇具抗菌性,这种抗菌性是单一组份的作用,还是复合组分的综合作用所致尚无报道。尽管周坚、李沛涛推测山苍籽油抗菌作用主要成分是柠檬醛,但也无实验依据,周勇^[7]等将山苍籽油及其主要成分柠檬醛抗菌作用作了比较,除了杀菌效果的报道外,也无作用机理的叙述。本文采用单体柠檬醛处理黄曲霉,通过 Miller 方法^[8]和 Bradford 方法^[9]分别测定试验菌对还原糖和蛋白质吸收利用率 Hodge 等人方法^[10]纯化 $[\text{Na}^+, \text{K}^+]\text{-ATPase}$,并用 Liberg 方法^[11]测定其活性, Irwin 等人方法^[12]测定菌丝体细胞质膜通透性,结合扫描电镜、快速显微多道分光光度法观察柠檬醛作用于黄曲霉对细胞质膜产生的破坏作用。首次报道柠檬醛破坏黄曲霉细胞质膜选择通透性,降低电导率和对周围营养成份的吸收速率,初步揭示该醛通过损伤细胞质膜而抑制黄曲霉的分子机理。

1 材料和方法

1.1 实验菌种

黄曲霉 (*Aspergillus flavus*), 武汉大学中国典型培养物保藏中心提供。

* 项目来源: 国家档案局资助项目(903-保-02)

** 联系人: 蒋立科

作者简介: 罗 曼(1963-), 女, 安徽合肥市人, 副教授, 博士, 研究方向: 生物化学与分子生物学。

收稿日期: 2000-12-11, 修回日期: 2001-06-10

1.2 仪器与试剂

1.2.1 仪器: Beckman DU-7 分光光度计, OLYMPUS 显微镜, 日立 SCK-20BC 高速冷冻离心机, Philips XL-20 型扫描电子显微镜, 瑞士 MC226 电导率仪, 国产 HGL150B 摇床。

1.2.2 试剂: 柠檬醛、L-苹果酸、 NAD^+ 、 NADP^+ 、ATP、ADP、考马斯亮蓝 G-250 (Coomassie brilliant blue G-250)、HEPES 试剂均由 Sigma 公司进口分装, 牛血清蛋白 (bovine serum albumin, BSA) 系德国 Boringer 公司产品, 其他试剂为国产。

1.3 方法

1.3.1 柠檬醛抗霉及药物敏感试验: (1) 柠檬醛抗霉试验: 在培养皿中加入豆芽汁琼脂培养基, 培养皿正中心加入 1.5mg 柠檬醛, 与丁香油、香叶醇、香茅醛、茴香油等香料比较, 以水为空白对照。在不同平皿中分别接入黑曲霉 (*Aspergillus niger*)、日本曲霉 (*Aspergillus japonicus*)、黄曲霉 (*Aspergillus flavus*)、杂色曲霉 (*Aspergillus versicolor*)、产黄青霉 (*Penicillium chrysogenum*)、枝孢霉 (*Cladosporium* sp.)、草酸青霉 (*Penicillium oxalicum*)、交链孢霉 (*Alternaria* sp.)、弯孢霉 (*Curvularia* sp.) 等 9 种霉菌于 28℃ 培养, 分别经 24、72、120h 培养后, 通过测定菌圈大小, 比较该药物对相应菌生长被抑制情况。(2) 药物敏感试验: 参考 Victor 方法^[13] 将该醛用甘油稀释成百分比体积浓度分别为 7.0、6.0、5.0、4.0、3.0、2.0 和 1.0, 调节同前培养基 pH 至 5.5, 并分装于试管中, 每支为 19mL, 高压 ($0.55 \times 10^5 \text{ Pa}$) 灭菌, 再分别取该醛稀释液 1mL 于相应试管中摇匀, 各试管药物浓度 (mg/L) 分别为 3.5、3.0、…、0.5 (依次相隔 0.5mg), 每种相同浓度的试管均为 3 支, 于 49~50℃ 倒入平皿 (9cm), 余下 3 支装有豆芽汁的琼脂培养液试管各加甘油 1mL 摇匀, 倒入平皿作对照。向各平皿分别均匀接种 100 μL 用生理盐水从斜面培养基洗脱下的黄曲霉分生孢子悬浮液, 于 28℃ 培养 48h, 观察各平皿上黄曲霉生长情况, 以确定柠檬醛的最低抑制浓度 (minimal inhibitory consistence, MIC)。(3) 该醛对试验菌孢子萌发率的影响: 用上述 MIC 的柠檬醛溶液制备黄曲霉孢子悬浮液, 取 6 个 50mL 三角瓶分二组, 每组 3 个, 其中一组每瓶加入 1% Tween20 的豆芽汁培养基作为对照, 另一组除加入 0.5mg 药物外, 其余与对照组相同。向二组瓶中分别接入所制备的黄曲霉孢子悬浮液, 其量为 $1.0 \times 10^4 \sim 1.5 \times 10^4$ 个/mL, 于 28℃ 在恒温摇床 (100~120r/min) 中温孵, 平均每 2h 从每瓶培养液中取样 0.15mL, 以抽出芽管、长出菌丝为依据, 用血球计数板计数, 在显微镜下观察萌发情况, 以三个三角瓶平均值计算萌发率。(4) 扫描电镜观察药物对黄曲霉孢子形态的影响: 取少量新鲜的黄曲霉孢子加入 1.5mg/L 柠檬醛 (内含 1% Tween 20), 振荡混匀, 静置 50~60min, 于 3000r/min 离心 10min, 取沉淀孢子与未经药物处理的孢子作对照, 两者分别先用 2.5% 戊二醛 (0.1mol/L pH7.2 磷酸缓冲溶液配制) 预固定, 然后用锇酸固定、滴膜、脱水、喷金, 置 XL-20 扫描电镜观察。(5) 快速显微多道分光光度系统^[14-16] 观察该醛对膜的损伤: 采用线阵电荷耦合器件结合数字信号处理技术构成显微多道分光光度检测装置代替显微分光光度技术, 观察药物对黄曲霉孢子质膜作用。

1.3.2 柠檬醛作用黄曲霉质膜的观察: (1) 影响黄曲霉生长过程中对营养物质的利用: 取三角烧瓶 6 只均分二组, 每组烧瓶分别加入含 1% Tween 20 的豆芽汁培养基 120mL 后, 一组添加柠檬醛使其液体中含 0.5mg/L, 另一组作对照。每组三角瓶分别接入 100 μL 孢子悬浮液 (其孢子量为 1×10^5 个/mL) 于 28℃ 摇床连续培养 70h。每隔 5h 分别取样液 1mL, 以

3000r/min 离心 10min, 取清液, 还原糖含量测定按文献[8]方法进行; 蛋白质含量测定按文献[9]方法进行。(2)柠檬醛对 $[Na^+, K^+]$ -ATPase 活性的影响; 该酶纯化制备按文献[10]方法进行, 检测酶活性参照文献[11]方法进行。酶液蛋白质含量测定采用方法参照文献[9]方法进行。

1.3.3 质膜通透性测定: 采用外渗电导法, 即文献[12]方法。

2 结果

2.1 柠檬醛抗黄曲霉效果

对六种受试药物 1mL 重复 6 次抗霉试验, 它们虽均有杀抑菌效果, 但以柠檬醛效果为好(表 1)。在柠檬醛敏感试验(28℃, 培养 48h)中, 当柠檬醛浓度小于 0.5mg/L 时, 平皿内布满黄曲霉菌落; 当该醛浓度为 0.5mg/L 时, 平皿内有黄曲霉菌落; 当该醛浓度在 0.5mg/L ~ 1.5mg/L 时, 平皿内只有菌斑痕迹; 当该醛浓度大于或等于 2.0mg/L 时, 无菌斑出现。故 0.5mg/L 浓度为抑制生长的最低致敏浓度, 2.0mg/L 为杀死孢子的最低浓度(表 2)。

表 1 六种挥发性药物的抑菌实验

Table 1 The experiment of six kinds of volatility drugs inhabiting fungi

Fungi	Drug/1mL																							
	Control			Citral			Clove oil			Geraniol			Citronellal			Alugosa oil			Rue extract					
	1d	3d	5d	1d	3d	5d	1d	3d	5d	1d	3d	5d	1d	3d	5d	1d	3d	5d	1d	3d	5d			
	/(ϕ /mm)			/(ϕ /mm)			/(ϕ /mm)			/(ϕ /mm)			/(ϕ /mm)			/(ϕ /mm)			/(ϕ /mm)					
<i>A. niger</i>	7	40	64	0	0	0	8	30	41	7	32	48	0	0	0	8	40	70	8	28	60			
<i>A. japonicus</i>	9	41	52	0	0	0	0	0	0	0	0	0	10	50	76	11	50	66	7	49	99			
<i>A. flavus</i>	6	32	50	0	0	0	0	0	0	3	16	25	0	0	0	6	31	50	6	36	52			
<i>A. versicolor</i>	0	11	15	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	5	8	0	5	10			
<i>P. chrysogenum</i>	3	15	22	0	0	0	0	4	5	0	5	10	0	0	0	0	9	14	0	11	16			
<i>Cladosporium</i> sp.	0	15	20	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	16	19	0	5	8			
<i>P. oxalicum</i>	6	20	40	0	0	0	7	14	40	0	0	0	5	15	32	0	0	0	0	18	25			
<i>Alternaria</i> sp.	5	25	35	0	0	0	0	0	0	5	14	20	5	27	32	5	18	25	5	13	23			
<i>Curvularia</i> sp.	11	36	70	0	0	0	5	16	22	0	0	0	0	0	0	9	37	60	6	26	55			
Average ratio of inhabiting fungi/%	0			100			56			56			67			11			0					

2.2 柠檬醛影响黄曲霉孢子萌发试验及扫描电镜观察

2.2.1 孢子萌发率: 对照组孢子萌发率为 97.5%, 萌发率上升较快; 而经该醛 0.5mg/L 处理的试验组萌发率为 61.4%, 萌发率无明显上升(表 3)。

表 2 柠檬醛对黄曲霉的最低抑制浓度(MIC)实验

Table 2 The experiment of determining the minimum antibiotic concentration of citral on *A. flavus*

Group	Citral/(mg/L)								
	3.5	3.0	2.5	2.0	1.5	1.0	0.5	0.25	0.1
1	-	-	-	-	+	+	+	++	+++
2	-	-	-	-	-	-	+	++	+++
3	-	-	-	-	-	+	+	++	+++

Note: "+" is positive, means there grows fungus; "-" is negative, means there no grows fungus

表 3 柠檬醛对黄曲霉孢子萌发率的影响

Table 3 The effects of citral on spore germination ratio of *A. flavus*

Group	0	2h	4h	6h	8h	10h	12h	14h	16h
Control/%	0	0	0.8	18.3	74.2	79.5	82.1	90.4	97.5
Citral/%	0	0	0.1	4.1	11.2	27.8	48.5	57.8	61.4

2.2.2 扫描电镜观察:对照组孢子能在培养基生长并扩延,孢子成熟较好,而试验组孢子能在培养基萌发生长。扫描电镜下,对照组孢子表面光滑,孢子外表隘痕深,无紧缩现象,孢子明显呈开放状态;而试验组孢子表面粗糙而疏松,隘痕变浅,有紧缩现象,孢子壁凹凸不平。因而细胞对周围物质吸收运输功能受到影响(图 1)。

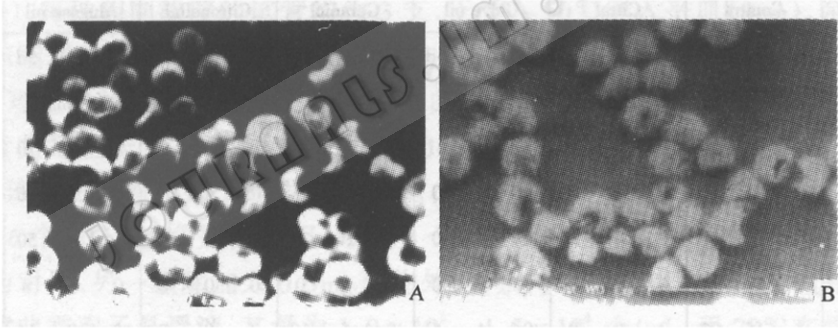


图 1 柠檬对黄曲霉孢子形态的影响

Fig.1 The effect of citral on the spore shape of *A. flavus*

A. Control; B. Citral.

2.2.3 快速显微多道分光光度系统的定位分析:当用缓冲液配成致敏浓度时,立即蘸取孢子于激光显微镜下选择不同波长激光观察,发现在 360nm ~ 410nm, 范围内吸收峰有明显改变,与此同时细胞壁和质膜上透光量不断增加(图 2),由不透光逐步明亮,随时间的延续,细胞壁及质膜上出现纤维细丝状编织网,进而细胞表面呈凹凸不平的干瘪状,网上充满瞳孔。表明壁和膜已被触蚀,而在电镜下无法观察到该现象的变化过程。

2.3 柠檬醛影响黄曲霉质膜对物质的吸收与利用

结果见表 4。

2.3.1 营养物质吸收与利用速率:表 4 表明当菌丝体培养 35h 后,对照组菌丝体培养基内还原糖浓度由开始时的 4.102mg/mL 降至 1.456mg/mL,其利用率为 64.5%;当培养时间

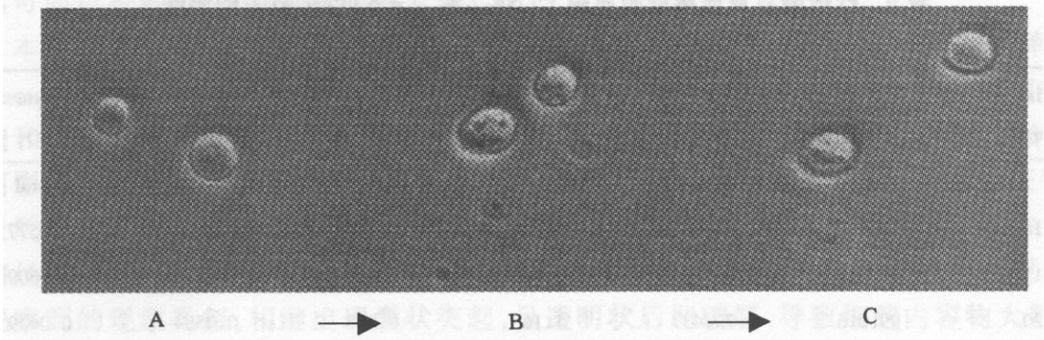


图 2 快速显微多道分光光度系统观察膜的损伤

Fig.2 The observation on the *A. flavus* membrane damaged by citral via fast multi-channel micro-spectrophotometer
A. Control; B. Cell on pupils; C. Cell out of shape.

表 4 柠檬醛对黄曲霉吸收利用还原糖和蛋白质速率的影响

Table 4 The effectis of citral on *A. flavus* rate of absorbing and utilizing reducing sugar and protein

Group		0	5h	10h	15h	20h	25h	30h	35h	40h	45h	50h
Contrast	sugar	4.102	4.011	3.421	3.214	3.121	2.684	2.120	1.456	1.387	1.378	1.380
	protein	5.447	5.162	4.714	2.249	1.564	1.223	1.063	1.063	1.021	1.014	1.010
Test	sugar	4.102	4.033	3.876	3.843	3.791	3.741	3.611	2.513	2.214	2.103	1.851
	protein	5.447	5.202	5.019	4.836	4.734	4.265	3.715	2.921	2.514	2.412	2.330

延长至 45h 时,菌丝体生长达到顶峰,此时培养基内还原糖浓度降至 1.378mg/mL;而试验组的培养基中黄曲霉培养至 35h 时,培养基中还原糖浓度为 2.513mg/mL,其利用率仅为 38.7%;培养时间为 50h 时,培养基中剩余还原糖的浓度仍为 1.85mg/mL,较对照组到达峰值时剩余还原糖浓度高。

表 4 中还表明当菌丝体培养至 30h 时,对照组培养基中蛋白质剩余浓度由初始时 5.447mg/mL 降至 1.063mg/mL,而且随培养时间的延续,保持相对稳定,利用率为 80.5%;而试验组在此时的蛋白质剩余浓度却为 3.715mg/mL,较对照组高,直到 45h 后蛋白质剩余浓度降至 2.412mg/mL 才维持稳定,利用率为 55.7%。

2.3.2 对菌丝体质膜 $[Na^+, K^+] - ATPase$ 活力的影响:见表 5。

表 5 表明在相同时间内,等量蛋白质底物浓度条件下,当反应 30min 时,对照组 $[Na^+, K^+] - ATPase$ 每微克蛋白分解 ATP 生成无机磷的量为 1.506 μg ,而试验组每微克蛋白分解 ATP 生成无机磷的量为 1.177 μg ,比对照组降低 21.9%,通过数据对数回归分析所得两组回归趋势线的比较,对照组无机磷生成量比试验组增长快。当反应为 15min 时,两组酶(每微克)的酶促反应速率达到最高值,对照组为 0.0723 $\mu gPi \cdot (\mu g \text{ protein})^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$,而试验组为 0.0609 $\mu gPi \cdot (\mu g \text{ protein})^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$,比对照组降低 15.8%。

2.3.3 对菌丝体细胞质膜电导率的影响:见表 6。

表 6 表明试验组相对电解质渗出率为 18.8%,对照组为 12.3%,前者较后者透性增加 52.8%。这种变化表明试验组较对照组细胞选择通透性小。

表 5 柠檬醛对黄曲霉细胞质膜上 $[Na^+, K^+] - ATPase$ 活力的影响*Table 5 The effects of citral on membrane $[Na^+, K^+] - ATPase$ activation of *A. flavus* cell

Time /min	Phosphoric acid / ($\mu\text{g}/\text{mL}$ cell extract)		Phosphoric acid / ($\mu\text{g}/\mu\text{g}$ protein)		Reactional rate of enzyme / ($\mu\text{g}/\mu\text{g}$ protein \cdot min)	
	Control	Citral	Control	Citral	Control	Citral
10	58.320	47.304	0.688	0.571	0.0688	0.0577
15	92.016	75.648	1.085	0.913	0.0723	0.0609
20	99.016	79.437	1.168	0.958	0.0584	0.0479
25	114.696	89.013	1.353	1.074	0.0514	0.0430
30	127.656	97.512	1.506	1.177	0.0502	0.0392

* 1. The concentration of protein in control group is $84.8 \mu\text{g}/\text{mL}$, the concentration of protein in citral group is $82.8 \mu\text{g}/\text{mL}$; 2. Phosphoric acid comes from the decomposition of ATP.

表 6 柠檬醛对黄曲霉菌体细胞电解质外渗率的影响*

Table 6 The effects of citral the seepage ratio of electrolyte of *A. flavus*

Test item	Control group			Control group		
	1	2	3	1	2	3
Electrical conductivity of fluid soaked/ ($\mu\text{S}/\text{cm}$)	39.4	36.9	37.8	55.7	55.9	56.7
Electrical conductivity of fluid boiled/ ($\mu\text{S}/\text{cm}$)	279	278	290	276	283	289
Relative seepage ratio of electrolyte/ %	13.0	12.1	11.9	19.1	18.7	18.6
Average of relative seepage ratio of electrolyte/ %		12.3			18.8	

* Note: Relative seepage ratio of electrolyte (%) = $\frac{[\text{Electrical conductivity of fluid soaked}] - [\text{Electrical conductivity of back ground}]}{[\text{Electrical conductivity of fluid boiled}] - [\text{Electrical conductivity of back ground}]} \times 100\%$
 Electrical conductivity of background = $3.67 \mu\text{S}/\text{cm}$

3 讨论

柠檬醛是小分子单萜类芳香醛(3,7-二甲基辛二烯-[2,6]-醛),有顺式(Citral-a)和反式(Citral-b)两个组份,结果表明,经分别进行抗菌试验,无论是反式还是顺式都失去抗菌功能^[17]。其抗菌作用除了文献[3]所叙述外,还具有改变质膜电导率、 $[Na^+, K^+] - ATPase$ 活性、阻碍菌丝体对营养物质吸收利用,而抑制菌丝体的生长。

供试物对药物敏感性测定表明,柠檬醛对黄曲霉菌的作用浓度分为抑制生长的 MIC_1 和杀死霉菌的 MIC_2 。 MIC_1 和 MIC_2 分别为 $0.5 \text{mg}/\text{L}$ 和 $2.0 \text{mg}/\text{L}$ 。经 MIC_1 的柠檬醛作用后黄曲霉菌孢子细胞壁和膜透光量渐增,由致密结构转变为疏松的网状,这可能与该醛与膜上活性脂质蛋白结合,而影响细胞壁和质膜上分子结构有关,导致细胞内容物外渗,说明该醛对黄曲霉的细胞壁、质膜具有较强损伤作用。

从对糖利用速率降低幅度大于对蛋白质利用幅度,提示该醛对黄曲霉利用糖有关酶类的抑制强于对蛋白质利用的酶类。在这两项试验中,底物浓度远大于细胞内相关酶的浓度,而对营养物质利用的速率并未随时间的延续而提高,则表明菌丝体细胞内 RNA、DNRA 和蛋白质的生物合成也受到控制,故柠檬醛既抑制有关酶的活性,对相关酶的基因

表达可能也有调节作用(其机制另发表)。

本项研究中发现柠檬醛明显降低质膜 $[Na^+, K^+] - ATPase$ 活性,与 Nomura^[18]和 Kashawayamagi^[19]所报道柠檬醛能改变细菌质膜流动性相吻合。与细菌相比,尽管真菌类的细胞壁和质膜的结构成分不完全相同,但柠檬醛能通过膜流动性而降低膜上酶蛋白的活性,从而影响到菌丝体对培养基中营养物质的吸收利用率。电导率的提高,进一步证明细胞壁及质膜选择通透性降低和内容物的外渗,随着柠檬醛浓度升高,将导致水和低渗溶液进入菌丝体内,造成细胞局部膨胀,与 Virginia G de Billerbeck^[20]等人报道香茅油作用黑曲霉所观察到的现象类似,相继出现囊状突起,呈透明状后即破裂,导致细胞内容物大量外渗,最终使菌丝体或孢子受损伤死亡或失去萌发力。

综上所述,本文从分子水平讨论了柠檬醛高效、广谱、低毒的抗菌性,其机制不仅能破坏菌丝体、孢子质膜的分子结构,并改变其选择通透性,降低电导率,影响菌丝体对营养物质的吸收利用,使孢子失去萌发力而被杀死。对改变柠檬醛仅作为香精的单一用途,而扩展到医药和食品的贮运中有其重要的理论和应用价值。

参 考 文 献

- [1] 陈宪明. 粮食储藏, 1994, 23(2~3 增刊): 105~111.
- [2] 严以谨, 剪福记, 陆安邦. 郑州粮食学院学报, 1991, 3: 104~110.
- [3] 梁 权. 植物检疫, 1992, 6(4): 302~306.
- [4] 梁 权. 植物检疫, 1992, 6(5): 356~362.
- [5] 梁 权. 粮食储藏, 1994, 23(2): 24~34.
- [6] 周 坚, 李沛涛. 湖南医科大学学报, 1992, 17(4): 329~332.
- [7] 周 勇, 陶君娣, 张家俊. 中西医结合杂志, 1984, 11(8): 558~559.
- [8] Miller G L. *Anal Chem*, 1959, (31): 426.
- [9] Bradford M. *Anal Biochem*, 1976(72): 248~254.
- [10] Hodges T K, Leomand R T. *Methods in Enzyme*, 1974, 29: 392~397.
- [11] Liberg O, Ernster L. Determination of organic phosphorus compounds by phosphate analysis. In: Glick D. ed. *Methods of Biochemical Analysis*, Vol. III, New York, London: Interscience Publishers, Inc., 1956. 1~22.
- [12] Irwin F B, Hugh D S. *Phytopath*, 1960, 150: 830~839.
- [13] Victor L. *Antibiotics in Laboratory Medicine*. 1nd ed. Baltimore, USA: The Wilkis Company, 1981. 6~9.
- [14] Wojcik E M, Miller M C, O'Dowd G J, et al. *Anal Quant Cytol Histol*, 1998; 20(1): 69~76.
- [15] Yokoyama H, Hoyer P H, Hansen P M, et al. *Diabetes*, 1997, 46(11): 1875~1880.
- [16] Meyer B, Schaller C, Frenkel C, et al. *Stroke*, 1999, 30(12): 2623~2630.
- [17] Stsvenes K L. *Experiencia*, 1971, 27(5): 600~602.
- [18] Nomura T, Kurihara K. *Biochemistry*, 1987, 26(19): 6135~6140.
- [19] Kashawayamagi M. *Biophys J*, 1990, 58(4): 887~895.
- [20] Virginia G de Billerbeck, Christine G R, Jean M B, et al. *Canadian Journal of Microbiology*, 2001, 47(1): 9~17.

PRELIMINARY STUDY ON CITRAL IMPAIRES THE *ASPERGILLUS FLAVUS* MEMBRANE

Luo Man^{1,2} Jiang Like^{1*} Wu Zijian¹

(¹ Department of Biological Engineering, Anhui Agricultural University, Hefei 230036, China)

(² College of Life sciences, Wuhan University, Wuhan 430072, China)

Abstract: Compared with the normally growing *A. flavus*, the content as below was determined: the utilization ratio to protein and reducing sugar of hyphostroma poisoned by citral, the activity of $[Na^+, K^+] - ATPase$ capable of decomposition ATP, and the seepagevity ratio of electrolyte. In addition, the shape change in spore was observed via the scanning electron microscope (SEM) and the fast multi-channel micro-spectrophotomer (FCCM). The result above all suggested facts as following after it's poised by the citral in MIC. The surface of hyphostroma and spore turned into be porous and rough. The pass trace on spore shriveled and closed. The rate of conduct electricity increased by 52.8%. The utilization ratio to protein and reducing sugar respectively decreased 61.5% and 44.3%. The rate of spore's sprout dropped to 61.4%. The molecular structure of membrane was so distinctly changed that it lost the selective permeability. There was inhibition on hyphostroma growth and spore sprout.

Key words: Citral, *Aspergillus flavus*, Membrane

* Corresponding author