



项目级别

省级

校级

# 惠州卫生职业技术学院

## 大学生创新创业训练计划

### 项目结题附件材料

项目名称： 植物源提取物的抑菌研究与产品开发

项目编号： \_\_\_\_\_

学生姓名： 陈玉婧、谢艳慧、梁嘉慧、姚彦羽、曾丽丹

所在学院： 药学与检验学院

项目实施时间： 2020.04 -2022.04

指导教师： 蔡天舒 陈嘉聪 (校外)

联系电话： 13553608871 (学生), 18503075676 (老师)

# 目 录

## 一、公开发表论文

香芹酚和月桂酰精氨酸乙酯盐酸盐联用对荧光假单胞菌抑菌作用的研究[J].  
食品研究与开发,2022,43(13):37-44. (中文核心, 谢艳慧)。

## 二、竞赛获奖证书

第八届全国大学生基础医学创新研究暨实验设计论坛(省际)获得三等奖:  
多酚类植物提取物与亚胺培南联用对铜绿假单胞菌抑菌机制研究。

## 三、专利证书

一种具有紫外杀菌功能的充电宝装置获得实用新型专利授权 ZL 2021 2  
2646023.8。

## 四、广东省“攀登计划”项目立项通知

2022年10月获得2023年广东省科技创新战略专项资金(“攀登计划”专项资金)项目立项:多酚类植物提取物对人——水产动物共患病病原菌的抑菌机制与应用研究[pdjh2023b1007]。

# 13

## 2022

第43卷 总第434期  
2022年7月(半月刊)

ISSN 1005-6521

CN 12-1231/TS

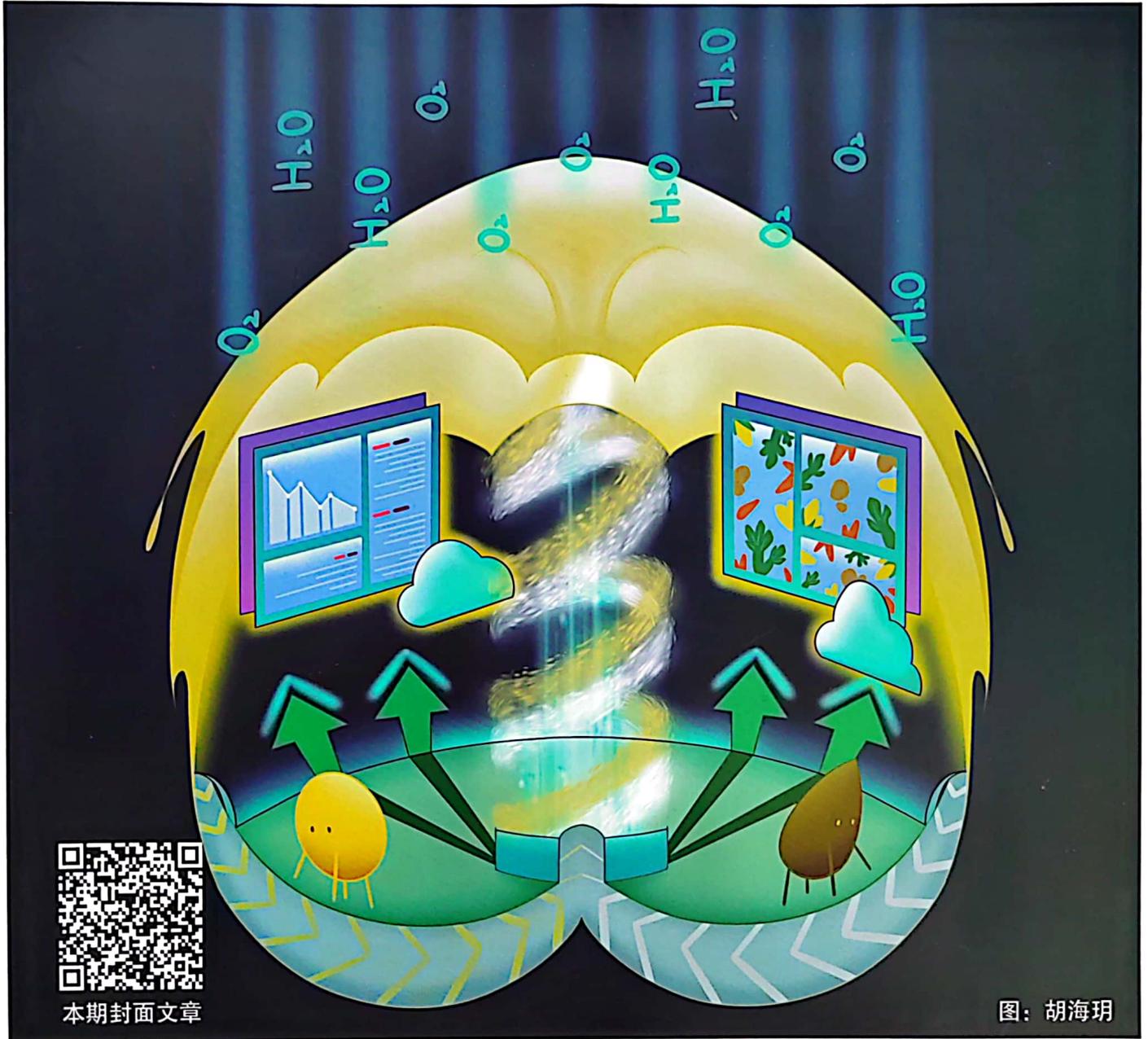
# 食品研究与开发<sup>®</sup>

## FOOD RESEARCH AND DEVELOPMENT

- ◆ 中文核心期刊
- ◆ 中国科技核心期刊(中国科技论文统计源期刊)
- ◆ RCCSE 中国核心学术期刊
- ◆ 中国农林核心期刊
- ◆ 美国《化学文摘》收录期刊

- ◆ 《中国核心期刊(遴选)数据库》收录期刊
- ◆ 万方数据—数字化期刊群全文上网
- ◆ 中文科技期刊数据库收录期刊
- ◆ 《中国期刊网》收录期刊
- ◆ 中国期刊全文数据库(CJFD)全文收录

- ◆ 英国《食品科技文摘》(FSTA)收录期刊
- ◆ 英国国际农业与生物科学研究中心(CABI)收录期刊
- ◆ 《乌利希期刊指南》收录期刊
- ◆ 日本科学技术振兴机构数据库(JST)
- ◆ EBSCO 数据库收录期刊



本期封面文章

图: 胡海玥

天津市食品研究所有限公司 主办



扫描全能王 创建

# 食品行业核心刊物

- ◆ 中文核心期刊
- ◆ 中国科技核心期刊 (中国科技论文统计源期刊)
- ◆ RCCSE中国核心学术期刊
- ◆ 中国农林核心期刊
- ◆ 中文科技期刊数据库收录期刊
- ◆ 万方数据-数字化期刊群全文上网
- ◆ 《中国核心期刊(遴选)数据库》收录期刊
- ◆ 《中国期刊网》收录期刊
- ◆ 中国期刊全文数据库(CJFD)全文收录
- ◆ 《乌利希期刊指南》收录期刊
- ◆ 美国《化学文摘》收录期刊
- ◆ 英国国际农业与生物科学研究中心(CABI)收录期刊
- ◆ 英国《食品科技文摘》(FSTA)收录期刊
- ◆ 日本科学技术振兴机构数据库(JST)
- ◆ EBSCO数据库收录期刊

## 《食品研究与开发》

Shipin Yanjiu yu Kaifa

主管: 天津食品集团有限公司

主办: 天津市食品研究所有限公司

主编: 王穆峰

编辑部主任: 王琦

编辑部副主任: 佟永薇

责任编辑: 郑琳琳

美术编辑: 张冠宇

编辑出版: 《食品研究与开发》编辑部

发行: 《食品研究与开发》编辑部

创刊年份: 1980年

出版日期: 每月10日、20日

地址: 天津市静海县静海经济开发区南区科技路9号

邮编: 301609

电话: 022-59525671

网址: <http://www.tjfrad.com.cn>

电子信箱: [tjfood@vip.163.com](mailto:tjfood@vip.163.com)

ISSN 1005-6521

CN 12-1231/TS

发行范围: 国内外公开发售

发行方式: 自办、邮发

国内发行: 中国邮政集团有限公司天津市分公司

邮发代号: 6-197

国外发行: 中国国际图书贸易集团有限公司

国外发行代号: M8089

广告发布登记编号: [2020]第0001号

印刷: 天津中铁物资印业有限公司

地址: 天津市河东区十四经路2号

国内定价: 30.00元/册

国外定价: 18.00美元/册

本刊已许可在中国知网、“万方数据——数字化期刊群”、中文科技期刊数据库、《中国核心期刊(遴选)数据库》、《中国期刊网》、中国期刊全文数据库(CJFD)、美国《化学文摘》、《乌利希期刊指南》等系列网络数据库中以数字化方式复制、汇编、发行、信息网络传播本刊全文。以上杂志社著作权使用费与本刊稿酬一并支付。所有署名作者向本刊提交文章发表之行为视为同意上述声明。如有异议,请在投稿时说明,本刊将做适当处理。

按姓氏音序排序

## 特别顾问

曹小红 陈卫 孙宝国  
王静康 谢明勇 赵晋府  
朱蓓薇

## 学术顾问

陈复生 河南工业大学  
陈树生 天津市食品研究所  
杜明 大连工业大学  
范大明 江南大学  
韩北忠 中国农业大学  
黄和 南京师范大学  
孔保华 东北农业大学  
匡华 江南大学  
李从发 海南大学  
李大鹏 山东农业大学  
励建荣 渤海大学  
廖小军 中国农业大学  
林亲录 中南林业科技大学  
刘金福 天津农学院  
刘源 上海交通大学  
鲁晓翔 天津商业大学  
陆兆新 南京农业大学  
路福平 天津科技大学  
聂少平 南昌大学  
潘思轶 华中农业大学  
孙志宏 内蒙古农业大学  
万守朋 天津食品集团  
汪少芸 福州大学  
王昌禄 天津科技大学  
王颀 河北农业大学  
王静 北京工商大学  
王绍金 西北农林科技大学  
王硕 南开大学  
王晓闻 山西农业大学  
许勤虎 天津市工业微生物研究所  
叶兴乾 浙江大学  
岳田利 西北农林科技大学  
岳喜庆 沈阳农业大学  
张民 天津农学院  
张铁华 吉林大学  
赵伟 江南大学



扫描全能王 创建

# 目次

《食品研究与开发》

2022年 第43卷 第13期 总第434期

contents 2022.07.10

## 基础研究

- 鼠李糖乳杆菌 R9639 对小鼠肠道菌群及抗氧化能力的影响 ..... 任吴疆,张静,霍清,刘彦霞,郭豫,赵建,白海燕(1)
- 核桃青皮提取物对急性高脂血症小鼠的降脂作用及成分研究 ..... 张旭,陆秋,张希,牛若楠,陈朝银,赵声兰(9)
- 绿豆品种筛选及乙烯对绿豆芽生长形态的影响 ..... 赵天瑶,刘保全,薛文通(16)
- 两种螺旋藻剂型的体外模拟消化研究 ..... 秦欣,谭应宏,徐青山,陈再德,骆其君(23)
- 汽爆豆粕对小麦面团及饼干品质特性的影响 ..... 李悦,汲湘宇,周梦琦,郭兴峰,孔峰(31)
- 香芹酚和月桂酰精氨酸乙酯盐酸盐联用对荧光假单胞菌抑菌作用的研究  
..... 李玮玮,蔡天舒,冀霞,潘锐,黄晴,谢艳慧(37)
- 不同前处理方式对真空油炸香菇脆片品质的影响 ..... 吴丽萍,袁梦缘,徐江,王颖悦,胡长玉(45)

## 应用技术

- 亚麻籽胶-大豆分离蛋白复合膜的制备及表征 ..... 胡海玥,周彩莹,李海岭,李子来,袁哲,冯永莉,杨晨,汪建明(52)
- 黑果腺肋花楸花色苷微波辅助提取工艺优化 ..... 韩东,李建颖,孙怡,邢丽颖(59)
- 亚麻籽多肽制备工艺优化及生物活性研究 ..... 王艳红,张丽娜,牛思思,马振国,常乐,乔长晟(66)
- 响应面法优化黄秋葵热风干燥工艺 ..... 李子淳,耿文广,刘芳,员冬玲,苑绍迪,张潇,高玲(77)
- 低温烘焙桑葛无糖饼干的工艺研究 ..... 杨从发,邓翔,李祥,唐奔,秦祁(84)
- 甘蔗龙眼桂花梨百香果复合发酵饮品配方优化 ..... 陈永,方小丹,卢珍兰,王强(89)
- 响应面法优化大蒜油的提取工艺研究 ..... 王煜伟,李琳琳,王乐,尹卫,王永红,洒威,梁健(95)
- 辣木籽异硫氰酸酯柔性脂质体的制备工艺研究 ..... 王艺瑾,欧阳茜茜,盛军,田洋(101)
- 核桃青皮甲醇提取物的抗氧化活性研究 ..... 刘猛,吴伟源,章检明,王小佳(109)
- 米曲霉固体发酵核桃粕条件优化 ..... 贾晋茹,徐萌,韩军,裴家伟,田益玲,何俊萍(114)
- 基于臭氧技术的食品净化设备清洗对猪肉食用品质的影响 ..... 片美惠,张燕,沈选举,叶秀友,王硕(121)
- 乙醇梭菌蛋白的分级提取工艺优化 ..... 柳入铭,张朝辉(128)

## 检测分析

- 基于 BP 神经网络快速无损检测开阳枇杷糖度 ..... 孟庆龙,冯树南,谭涛,尚静,黄人帅,曹森(135)
- 两种消解方法对 ICP-MS 检测小麦粉中 Pb、As、Cd、Cr 的影响  
..... 谢会君,袁果,焦文静,闫桂丽,毛佳琦,郑允允,田卫环,刘兵戈(141)



扫描全能王 创建

两种高油花生油品质研究 ..... 李媛,刘玉珊,胡晓君,李颜,刘云国,孙钦彩,孙崇文,王旭光,刘军(147)

## 生物工程

益生尿肠球菌 RS3 的分离鉴定及增殖条件的优化 ..... 刘玮,曹威,刘浩,潘梅(156)

降解亚硝酸盐乳杆菌的筛选鉴定及其 NiRs 酶学性质 ..... 刘玮,邱崇顺,何宇星,段晓霞,其其日力格,乌云达来(164)

野生猕猴桃果醋发酵过程分析及动力学模型构建 ..... 张旭伟,高向阳,雷昌贵,马振兴,孟宇竹(172)

## 专题论述

酱香型白酒酿造微生态中酵母菌的研究进展 ..... 戎梓溢,白茹,闫学娇,李超,林良才,张翠英(180)

牡丹花深加工产品开发研究进展 ..... 张静林,张小燕,宋淑亚,刘德阳,屈展平(189)

白酒陈酿机理及催陈技术研究现状 ..... 吴知非,梁慧珍,刘正,卢延想,贾士儒(196)

啤酒中多酚和类黑精及其抗氧化功效研究进展 ..... 于嘉琪,夏婷,王涿邗,张小东,黄淑霞,余俊红(203)

褐藻胶寡糖的功能特性研究进展 ..... 曾斌芬,时瑞,吴曼铃,胡锦涛,陈丽娇,梁鹏,程文健(210)

螺旋藻生物活性肽的营养健康特性研究进展 ..... 刘晶,白新鹏,傅鹏程(217)

## —论坛—

### 业态信息

乡村振兴战略下灵宝苹果产业绿色发展策略 ..... 毛茛(I)

### 营销策略

文化旅游背景下开封旅游食品开发策略研究 ..... 赵利敏(III)

基于乡村振兴的新会小青柑营销策略及口碑建设 ..... 陈震寰(V)

### 膳食营养

牛磺酸营养补充剂对体育运动员运动能力的影响 ..... 王力伟(VII)

高蛋白营养食品对力量型运动员身体机能的影响 ..... 朱家驹,马国东(IX)

### 广告·书评

任务型教学法在大学英语教学中的应用与实践 ..... 后插十七

乡村振兴背景下当代高校思想政治教育理论与实践 ..... 后插十八

供应链视角下生鲜食品物流管理创新 ..... 后插十九

互联网+时代高校思想政治教育管理创新探索 ..... 后插二十

食品营养学的重要性及在体育运动中的应用 ..... 后插二十一

高校思政课实践路径研究 ..... 后插二十二

天津食品集团 ..... 封底



# 香芹酚和月桂酰精氨酸乙酯盐酸盐联用对 荧光假单胞菌抑菌作用的研究

李玮玮<sup>1</sup>, 蔡天舒<sup>1\*</sup>, 冀霞<sup>2</sup>, 潘锐<sup>1</sup>, 黄晴<sup>2</sup>, 谢艳慧<sup>1</sup>

(1. 惠州卫生职业技术学院, 广东 惠州 516025 2. 惠州学院, 广东 惠州 516007)

**摘要**: 为探究香芹酚和月桂酰精氨酸乙酯盐酸盐(ethyl-N<sup>α</sup>-lauroyl-L-arginate hydrochloride, LAE)联用对荧光假单胞菌的抑菌效果与机制, 通过最小抑菌浓度法(minimum inhibitory concentration, MIC)、棋盘法和生长曲线的测定研究抑菌效应, 利用蛋白质和核酸泄漏、透射电子显微镜观察和胞内蛋白质电泳的方法分析抑菌机制; 以生物被膜形成、群集和泳动为指标, 测定群体感应活性。结果显示, 香芹酚和 LAE 联用对荧光假单胞菌有相加抑菌作用。1/2 MIC 香芹酚+1/16 MIC LAE 抑菌效果最显著, 24 h 抑制率达 97.9%。以上组合联用可使荧光假单胞菌的细胞膜通透性显著增强, 蛋白质和核酸快速泄漏, 1 h 时 OD<sub>280</sub> 值和 OD<sub>260</sub> 值分别升高 31.2 倍和 17.5 倍; 处理 3 h 后, 菌体胞内电子密度下降, 蛋白质浓度下降 84.1%, 且条带丰富度减弱。联合作用下, 对生物膜形成、群集和泳动的抑制率分别达到 97.0%、92.5% 和 65.0%。综上表明, 香芹酚和 LAE 联用破坏荧光假单胞菌的细胞完整性, 引起胞内物质泄漏, 发挥强烈的抑菌作用。同时, 二者联用表现出抑制群体感应活性的能力。

**关键词**: 香芹酚; 月桂酰精氨酸乙酯盐酸盐; 荧光假单胞菌; 联合; 抑菌作用

## Activity of Carvacrol and Ethyl-N<sup>α</sup>-lauroyl-L-arginate Hydrochloride Against *Pseudomonas fluorescens*

LI Wei-wei<sup>1</sup>, CAI Tian-shu<sup>1\*</sup>, JI Xia<sup>2</sup>, PAN Rui<sup>1</sup>, HUANG Qing<sup>2</sup>, XIE Yan-hui<sup>1</sup>

(1. Huizhou Health Sciences Polytechnic, Huizhou 516025, Guangdong, China; 2. Huizhou University, Huizhou 516007, Guangdong, China)

**Abstract**: This study aimed to explore the activity and mechanism of carvacrol combined with ethyl-N<sup>α</sup>-lauroyl-L-arginate hydrochloride (LAE) against *Pseudomonas fluorescens*. Specifically, the activity was evaluated based on the minimum inhibitory concentration (MIC), checkerboard microdilution assay, and growth curve analysis. The antibacterial mechanism was explored through protein and nucleotide leakage, transmission electron microscopy, and electrophoresis of intracellular proteins. The quorum-sensing activity was evaluated with the indexes of biofilm formation, and swarming and swimming motility. The results showed that carvacrol and LAE displayed synergic activity against *P. fluorescens*, particularly the combination of carvacrol at 1/2 MIC and LAE at 1/16 MIC which achieved the inhibition rate of 97.9% at 24 h. The above combination could significantly enhance the permeability of cell membrane, thus leading to the rapid leakage of proteins and nucleic acids. As a result, the OD<sub>280</sub> and OD<sub>260</sub> values were 31.2 and 17.5 folds higher at 1 h, respectively. At 3 h, the intracellular electron density decreased and protein concentration declined by 84.1%, with bands of proteins becoming obviously shallow or even disappearing. The inhibition rates of biofilm formation, swarming motility, and swimming motility were 97.0%, 92.5% and 65.0%, respectively. In conclusion, the combination of carvacrol and LAE can destroy *P. fluorescens* cells, leading to leakage of intracellular

基金项目: 广东省普通高校特色创新项目(2020KTSCX313); 广东省普通高校青年创新人才项目(2020KQNCX219); 广东省科技创新战略专项资金(“攀登计划”专项资金)(pdjh2021b0933)

作者简介: 李玮玮(1983—), 女(汉), 讲师, 博士, 研究方向: 食品微生物、微生物检验。

\* 通信作者: 蔡天舒(1988—), 女(汉), 讲师, 硕士, 研究方向: 食品微生物、食品安全与质量控制。

substances and thus exerting strong inhibitory effect on the bacteria. Moreover, the combination suppresses the quorum-sensing activity.

**Key words** : carvacrol ; ethyl-N<sup>α</sup>-lauroyl-L-arginate hydrochloride ; *Pseudomonas fluorescens* ; combination ; antibacterial activity

引文格式 :

李玮玮 蔡天舒 冀霞 等. 香芹酚和月桂酰精氨酸乙酯盐酸盐联用对荧光假单胞菌抑菌作用的研究[J]. 食品研究与开发 2022, 43(13) 37-44.

LI Weiwei, CAI Tianshu, JI Xia, et al. Activity of Carvacrol and Ethyl-N<sup>α</sup>-lauroyl-L-arginate Hydrochloride Against *Pseudomonas fluorescens*[J]. Food Research and Development 2022, 43(13) 37-44.

荧光假单胞菌(*Pseudomonas fluorescens*)是一种假单胞菌属的革兰氏阴性菌,易造成低温冷藏食品污染,是水产品<sup>[1]</sup>、乳制品<sup>[2]</sup>、肉制品<sup>[3]</sup>等产品中的优势腐败菌。该菌的生长迅速,所产生的胞外蛋白酶和脂肪酶会加速食品中蛋白质和脂肪的水解,造成食品腐败变质<sup>[2]</sup>,感官可接受度下降,甚至丧失可食用价值,导致严重的经济损失。此外,荧光假单胞菌还可引起败血症、感染性休克和血管内凝血等疾病,对人类健康造成威胁<sup>[4]</sup>。因此,有效抑制食品中的荧光假单胞菌,对延长食品货架期和提升食品质量安全具有重要意义。

天然防腐剂因具有安全、无毒、抗菌谱广等优势,已成为食品抑菌防腐领域研究的热点<sup>[5]</sup>。香芹酚作为一种良好的天然防腐剂,已被美国食品药品监督管理局(Food and Drug Administration, FDA)列为公认安全的食品成分(generally recognized as safe, GRAS)<sup>[6]</sup>。香芹酚生物学特性广泛,如抗菌、抗病毒、抗氧化、抗肿瘤、调节免疫反应和调节肠道微生物群<sup>[7]</sup>。研究发现香芹酚对金黄色葡萄球菌、大肠杆菌、单核增生李斯特菌、鼠伤寒沙门氏菌等食品中常见的食源性致病菌均具有抑制作用<sup>[7]</sup>。然而,其溶解性差的特点,则制约了其在食品抑菌防腐保鲜中的应用。

月桂酰精氨酸乙酯盐酸盐(ethyl-N<sup>α</sup>-lauroyl-L-arginate hydrochloride, LAE)是一种阳离子型表面活性剂,水溶性强,对霉菌、酵母菌、革兰氏阴性菌和革兰氏阳性菌等多种微生物表现出强烈的抗菌活性<sup>[8]</sup>。研究证实, LAE作为食品添加剂安全性较高,易在体内分解成月桂酸和L-精氨酸等天然成分<sup>[8]</sup>。2005年, LAE被FDA批准为GRAS类食品添加剂<sup>[8]</sup>。目前,已有学者将LAE应用于果蔬、肉制品、水产品等相关防腐保鲜研究中<sup>[8]</sup>。但香芹酚与LAE联合对荧光假单胞菌的抑菌效果与机制尚未被探索。

因此,本试验旨在探索一种基于香芹酚的新型复合食品抑菌剂,即建立香芹酚与LAE联用对荧光假单

胞菌的最佳抑菌浓度模式,增强其生物利用度、评估抑菌效果,探讨香芹酚与LAE联用潜在的抑菌作用机制,综合评价其作用模式,从而为扩展其在食品工业中抑菌、防腐领域的应用提供科学依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料与试剂

荧光假单胞菌 ATCC 13525 :广东环凯微生物科技有限公司。

营养琼脂、营养肉汤、琼脂 :北京陆桥技术有限公司 ;香芹酚(分析纯, 99.07%) :上海阿拉丁有限公司 ;月桂酰精氨酸乙酯盐酸盐(化学纯, ≥97%) :成都傲飞生物化学品有限责任公司 ;细菌蛋白质提取试剂盒、Bradford 蛋白浓度测定试剂盒、蛋白质 Marker、戊二醛、磷酸盐缓冲液(phosphate buffer saline, PBS)、葡萄糖、无水乙醇(分析纯)、考马斯亮蓝染色液、1%结晶紫染色液、冰乙酸(分析纯)、96孔板 :上海生工生物工程股份有限公司。

### 1.2 仪器与设备

YXQ-50SII 型立式压力蒸汽灭菌锅 :上海博迅医疗生物仪器股份有限公司 ;HR60-IIA2 生物安全柜 :青岛海尔特种电器有限公司 ;HZQ-F160 型振荡培养箱 :哈尔滨市东联电子技术开发有限公司 ;Infinite M200 Pro NanoQuant 多功能酶标仪 :瑞士 TECAN 公司 ;Nano-Drop2000 分光光度计 :美国赛默飞公司 ;JEM-1200EX 型透射电子显微镜 :日本 JEOL 公司 ;GelDoc XR+全自动凝胶成像系统 :美国 Bio-Rad 公司 ;Eppendorf 5418R 离心机 :德国艾本德股份公司。

### 1.3 方法

#### 1.3.1 最小抑菌浓度测定

采用二倍稀释法分别测定香芹酚和 LAE 的最小抑菌浓度(minimum inhibitory concentration, MIC)<sup>[9]</sup>。将荧光假单胞菌接种至无菌营养肉汤, 30 °C、120 r/min 条

件下振荡培养 16 h, 6 000 r/min 离心 10 min, 弃上清液保留菌体沉淀。用新鲜无菌营养肉汤重悬菌体, 调整菌液浓度约为  $10^7$  CFU/mL 备用。将各质量浓度的香芹酚和 LAE 分别取 100  $\mu$ L 加入 96 孔板中, 取 100  $\mu$ L 菌液分别加入到已装有不同浓度的香芹酚和 LAE 溶液中, 使香芹酚的终浓度分别为 8.000、4.000、2.000、1.000、0.500、0.250、0.125、0.063 mg/mL, LAE 溶液的终浓度分别为 256、128、64、32、16、8、4、2  $\mu$ g/mL。对照组加入 100  $\mu$ L 营养肉汤和 100  $\mu$ L 菌液。将样品置于 30  $^{\circ}$ C 下培养 24 h, 在 600 nm 波长处测定 OD 值, 以细菌生长被抑制的最低抑菌浓度作为 MIC。

### 1.3.2 联合抑菌效应的测定

以“棋盘法”<sup>[9]</sup>确定香芹酚与 LAE 的最佳联合抑菌组合。将香芹酚与 LAE 分别用营养肉汤稀释至质量浓度为各自的 1/8 MIC、1/4 MIC、1/2 MIC、1 MIC、2 MIC、4 MIC 和 8 MIC。在 96 孔板中, 从左至右, 浓度由低至高依次加入 50  $\mu$ L 香芹酚溶液, 同列中香芹酚浓度相同。同时由上至下, 从低浓度至高浓度依次加入 50  $\mu$ L LAE 溶液。然后在每孔中均加入 100  $\mu$ L 浓度为  $10^7$  CFU/mL 的荧光假单胞菌悬液, 并充分混匀, 使试验组中每孔含有不同浓度的抑菌剂组合。对照组加入 100  $\mu$ L 营养肉汤和 100  $\mu$ L 菌液。将样品置于 30  $^{\circ}$ C 下培养 24 h, 检测  $OD_{600}$  值, 确定两种抑菌剂联用时的 MIC。以部分抑菌浓度指数(fractional inhibitory concentration index, FICI)判定两种抑菌剂的联用效果, 计算公式如下。

$$FICI = \frac{\text{甲药联用时 MIC}}{\text{甲药单独时 MIC}} + \frac{\text{乙药联用时 MIC}}{\text{乙药单独时 MIC}}$$

结果判定依据:  $FICI \leq 0.5$  为协同作用;  $0.5 < FICI \leq 1$  为相加作用;  $1 < FICI \leq 2$  为无关作用;  $FICI > 2$  为拮抗作用<sup>[9]</sup>。

### 1.3.3 生长曲线绘制

参考舒慧珍等<sup>[10]</sup>的方法绘制生长曲线。用营养肉汤将荧光假单胞菌培养并稀释至浓度约  $10^7$  CFU/mL, 备用。依据联合抑菌效应的测定结果, 在 96 孔板中, 每孔中加入菌液 100  $\mu$ L, 然后加入 100  $\mu$ L 的香芹酚和 LAE 溶液, 使终浓度分别为 1/2 MIC 香芹酚、1/16 MIC LAE、1/2 MIC 香芹酚+1/16 MIC LAE。以加入 100  $\mu$ L 营养肉汤和 100  $\mu$ L 菌液作为对照。将样品置于 30  $^{\circ}$ C 培养 24 h, 每 2 h 测定一次  $OD_{600}$  值, 并以时间为横坐标, 吸光值为纵坐标绘制生长曲线。

### 1.3.4 胞外蛋白质和核酸的测定

参照 Cao 等<sup>[11]</sup>的方法测定胞外蛋白质和核酸, 并

稍作修改。将荧光假单胞菌培养至对数期, 6 000 r/min 离心 10 min 后收集沉淀, 并以 1 $\times$ PBS 清洗、重悬和调整菌体浓度至  $OD_{600}=1.0$ 。向上述荧光假单胞菌悬液中加入抑菌剂, 使终浓度分别为 0(对照)、1/2 MIC 香芹酚、1/16 MIC LAE、1/2 MIC 香芹酚+1/16 MIC LAE, 于 30  $^{\circ}$ C、120 r/min 条件下振荡培养 3 h。期间分别于 0、30、60、90、120、150、180 min 收集培养液, 以 4  $^{\circ}$ C、8 000 r/min 离心 5 min, 吸取上清液并用分光光度计分别检测  $OD_{260}$  和  $OD_{280}$ 。

### 1.3.5 透射电子显微镜进行细菌形态观察

采用透射电子显微镜结合超薄切片技术<sup>[11]</sup>, 观察荧光假单胞菌细胞形态变化。向培养至对数期的菌悬液中分别加入终浓度为 1/2 MIC 香芹酚、1/16 MIC LAE、1/2 MIC 香芹酚+1/16 MIC LAE 的抑菌剂, 以未加抑菌剂处理组作为对照, 30  $^{\circ}$ C 下振荡培养 3 h, 取培养液 6 000 r/min 离心 10 min, 以 1 $\times$ PBS 清洗并调整至  $OD_{600}$  值为 1.0。向上述菌体处理液加入等体积的 5% 戊二醛溶液, 在 4  $^{\circ}$ C 条件下固定 16 h。样品经 1 $\times$ PBS 清洗 3 次, 去除固定液, 用乙醇溶液梯度逐级脱水、包埋、加温聚合、超薄切片机切片、醋酸铀-硝酸铅染色后, 以透射电子显微镜观察细菌形态。

### 1.3.6 细菌胞内蛋白质含量的测定

根据耿一鸣等<sup>[12]</sup>的方法并加以修改。将培养至对数期的荧光假单胞菌悬液, 离心后用 1 $\times$ PBS 清洗、重悬, 调节至  $OD_{600}=1.0$ 。加入香芹酚和 LAE, 使其在菌液中的终浓度分别为 0、1/2 MIC 香芹酚、1/16 MIC LAE、1/2 MIC 香芹酚+1/16 MIC LAE, 于 30  $^{\circ}$ C 振荡培养 3 h, 提取不同处理组中的菌体蛋白质, 并以 BCA 法于  $OD_{562}$  下测定蛋白质浓度。

菌体蛋白与 5 $\times$ 蛋白上样缓冲液混合, 100  $^{\circ}$ C 沸水浴 5 min, 瞬时离心, 取等体积上清液进行十二烷基苯磺酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳(sodium dodecyl sulfate-polyacrylamide gel electrophoresis, SDS-PAGE)。浓缩胶恒压 80 V、分离胶电压 120 V, 0.1% 考马斯亮蓝染色 30 min, 脱色液脱色至蛋白质条带清晰, 并拍照分析<sup>[13]</sup>。

### 1.3.7 生物被膜的形成

参照戴雨芸等<sup>[14]</sup>的方法, 将荧光假单胞菌接种至营养肉汤, 30  $^{\circ}$ C 培养 16 h, 6 000 r/min 离心 10 min 后, 弃上清液保留菌体沉淀。用无菌营养肉汤重悬菌体, 调整菌液浓度至  $OD_{600}=1.0$ , 再用含 0.2% 葡萄糖的营养肉汤将上述菌液稀释 100 倍。加入香芹酚和 LAE, 使其在菌液中的终浓度分别为 0、1/2 MIC 香芹酚、1/16 MIC LAE、1/2 MIC 香芹酚+1/16 MIC LAE。取上述菌液 160  $\mu$ L 加入圆底 96 孔板, 30  $^{\circ}$ C 培养 24 h。依次吸去 96

孔板中的菌液,用无菌水洗3次,吸干。加入170 μL 0.1%结晶紫染色15 min,以无菌水洗3次后吸干。最后加入180 μL 33%冰乙酸溶液充分溶解后,测定595 nm处OD值。

### 1.3.8 香芹酚和LAE对荧光假单胞菌群集与泳动的影响

参照刘楠<sup>[15]</sup>的方法,并稍作修改。配制群集琼脂基础培养基和泳动琼脂基础培养基,冷却至46℃,向上述两种基础培养基中分别加入不同浓度的香芹酚和LAE,充分混匀制备固体平板,使培养基内的抑菌物终浓度分别为0、1/2 MIC香芹酚、1/16 MIC LAE、1/2 MIC香芹酚+1/16 MIC LAE。将5 μL荧光假单胞菌液滴加于固体平板中央,无菌风吹干,30℃培养24 h,观察菌株的迁移情况。并分别测量荧光假单胞菌在群集培养基、泳动培养基中的面积。

### 1.4 数据统计与分析

每组试验平行进行3次,结果采用GraphPad Prism 8.0绘图,两组计量数据比较采用Student's t检验统计学分析, $P < 0.05$ 或 $P < 0.01$ 表示差异具有统计学意义。

## 2 结果与分析

### 2.1 香芹酚和LAE对荧光假单胞菌的抑菌效应

#### 2.1.1 香芹酚和LAE对荧光假单胞菌的MIC测定

不同浓度的香芹酚和LAE分别对荧光假单胞菌的生长抑制情况见表1。

表1 香芹酚与LAE对荧光假单胞菌的抑制作用

Table 1 Activity of carvacrol and LAE against *P. fluorescens*

抑菌物质	质量浓度/(mg/mL)	$\Delta OD_{600}$	生长情况	抑菌物质	质量浓度/(μg/mL)	$\Delta OD_{600}$	生长情况
香芹酚	8.000	0	-	LAE	256	0	-
	4.000	0	-		128	0	-
	2.000	0	-		64	0.001	-
	1.000	0	-		32	0.557	+
	0.500	0.002	-		16	0.687	+
	0.250	0.120	+		8	0.742	+
	0.125	0.550	+		4	0.758	+
	0.063	0.600	+		2	0.776	+

注: $\Delta OD_{600} = OD_{600, 24h} - OD_{600, 0h}$ ; -表示细菌无明显生长;+表示细菌明显生长。

由表1可知,当香芹酚浓度 $\geq 0.500$  mg/mL时,荧光假单胞菌未见生长,菌液呈澄清状态;且当香芹酚浓度=0.500 mg/mL时,光密度变化值( $\Delta OD_{600}$ ) $< 0.05$ ,说明香芹酚对荧光假单胞菌的MIC为0.500 mg/mL。这与Fang等<sup>[6]</sup>的研究结果一致。同时,表1结果显示LAE

对荧光假单胞菌的MIC为64 μg/mL。综上所述,香芹酚和LAE对荧光假单胞菌的生长均有抑制作用,且抑菌能力有浓度依赖性。

#### 2.1.2 香芹酚和LAE对荧光假单胞菌的联合抑菌作用

根据“棋盘法”进行联合抑菌效果的研究,找出最佳联合抑菌浓度。不同浓度的香芹酚与LAE组合对荧光假单胞菌生长的影响见图1。

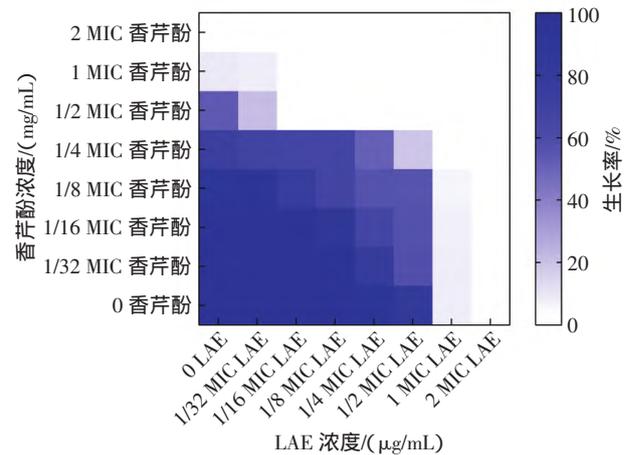


图1 香芹酚和LAE对荧光假单胞菌的联合抑菌作用

Fig.1 Synergy of carvacrol and LAE against *P. fluorescens*

由图1可知,当细菌培养液中香芹酚浓度为0.250 mg/mL(1/2 MIC)、LAE浓度为4 μg/mL(1/16 MIC)时,作用24 h后,菌液澄清,平板涂布无细菌生长,抑菌率为100%。通过FICI公式计算,1/2 MIC香芹酚+1/16 MIC LAE的FICI值为0.56,该组合具有相加作用,表明香芹酚与LAE的联合应用可以有效降低独立作用剂量。

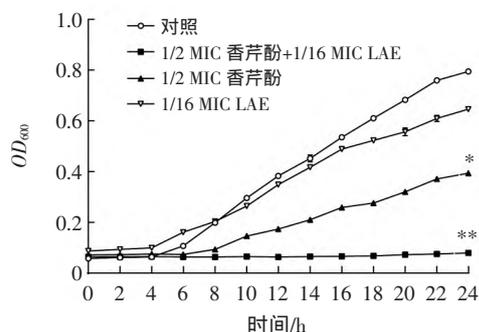
香芹酚水溶性差,国内外研究学者主要采用磷脂<sup>[6]</sup>、多糖<sup>[17]</sup>和β-环糊精<sup>[6]</sup>等物质将其包埋,以解决其溶解性差的问题。研究表明,LAE有助于增溶丁香酚,促进其与微生物表面的接触,使丁香酚能够更好地接触磷脂膜,具有协同抑菌活性<sup>[18]</sup>。LAE可以提高百里香酚纳米乳液的稳定性和抗菌功效<sup>[19]</sup>。本研究采用具有抑菌活性的阳离子表面活性剂LAE与香芹酚复配,利于抑菌生物活性的发挥,提高生物利用度,为双组分抗菌乳液拓展在食品中的应用范围提供参考。

此外,大鼠遗传毒性研究显示,香芹酚(81 mg/kg BW~810 mg/kg BW)不会诱导体内基因毒性或氧化性DNA损伤,且无组织病理学变化,其作为食品防腐剂的潜在应用具有良好的特征<sup>[20]</sup>。同时,欧盟食品安全局对LAE作为食品添加剂的每日允许摄入量为0.5 mg/kg BW<sup>[21]</sup>。而本研究中所采用的香芹酚和LAE联合抑菌剂量远低于上述限量标准,符合食品安全要求,将在不同食

品中发挥联合抑菌效果。

### 2.1.3 香芹酚和 LAE 联用对荧光假单胞菌生长曲线的影响

香芹酚和 LAE 联合使用对荧光假单胞菌生长曲线的影响见图 2。



在 24 h 时,与对照相比,\*表示组间差异显著( $P<0.05$ );\*\*表示组间差异极显著( $P<0.01$ )。

图 2 香芹酚和 LAE 联合对荧光假单胞菌生长曲线的影响

Fig.2 Effect of carvacrol and LAE on the growth of *P. fluorescens*

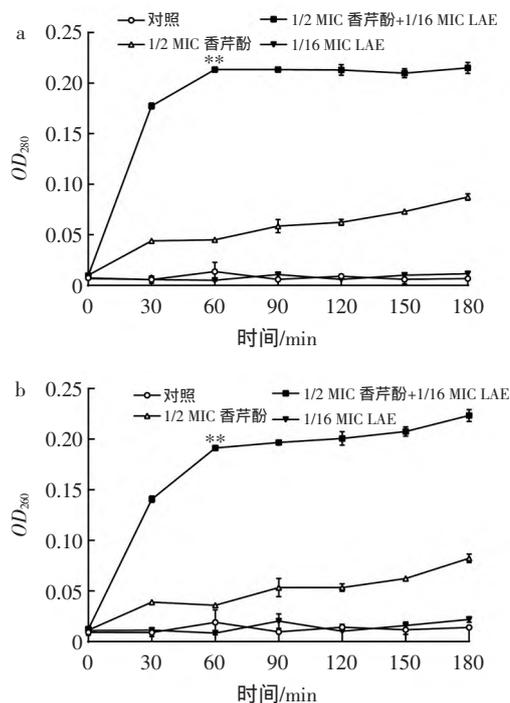
由图 2 可知,对照组的细菌生长旺盛,4 h 时进入对数生长期,细菌快速生长,24 h 时细菌浓度  $OD_{600}$  为 0.795,当培养基中分别加入终浓度为 1/2 MIC 香芹酚、1/16 MIC LAE 时,24 h 时细菌浓度  $OD_{600}$  分别为 0.394 和 0.646;当 1/2 MIC 香芹酚+1/16 MIC LAE 联用时,培养基未出现浑浊,菌体未见生长。与对照相比,24 h 处理后,1/2 MIC 香芹酚抑菌率为 56.3%( $P<0.05$ ),1/16 MIC LAE 抑菌率为 24.1%( $P>0.05$ ),1/2 MIC 香芹酚+1/16 MIC LAE 联合抑菌率达 97.9%( $P<0.01$ )。结果表明,香芹酚和 LAE 联合作用,对荧光假单胞菌的生长抑制能力最强,抑菌效果显著,表现出良好的联合抑菌效应。

## 2.2 香芹酚和 LAE 联用对荧光假单胞菌的抑菌机制

### 2.2.1 香芹酚和 LAE 联用对菌体蛋白质和核酸泄漏的影响

细菌细胞质膜完整是维持细菌生长的关键因素<sup>[22]</sup>。因此,本研究通过检测菌体蛋白质与核酸胞外泄漏,分析细胞质膜的完整性。香芹酚和 LAE 联用对菌体蛋白质和核酸泄漏的影响见图 3。

由图 3 可知,对照组和 1/16 MIC LAE 处理组中胞外蛋白质( $OD_{280}$ )和核酸( $OD_{260}$ )含量随时间变化不显著( $P>0.05$ );1/2 MIC 香芹酚组和 1/2 MIC 香芹酚+1/16 MIC LAE 联用组中,处理 1 h 内均出现菌体蛋白和核酸泄露。其中,与对照相比,1/2 MIC 香芹酚+1/16 MIC LAE 联用组细菌悬液中的蛋白质和核酸泄漏显著增加,吸光度  $OD_{280}$  和  $OD_{260}$  在 1 h 时分别升高 31.2 倍和 17.5 倍( $P<0.01$ ),之后吸光度趋于稳定。上述研究表明,



a. 蛋白质泄漏情况 b. 核酸泄漏情况。在 1 h 时,与对照相比,\*\*表示组间差异极显著( $P<0.01$ )。

图 3 香芹酚和 LAE 联用对荧光假单胞菌胞内蛋白质和核酸的泄漏的影响

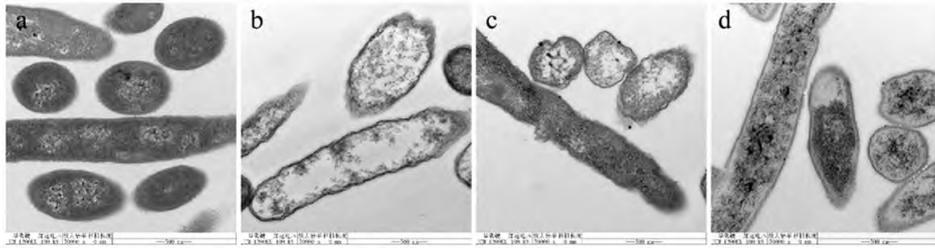
Fig.3 Effect of the combination of carvacrol and LAE on release of intracellular proteins and nucleic acids from *P. fluorescens*

荧光假单胞菌经 1/2 MIC 香芹酚+1/16 MIC LAE 处理后,细胞质膜快速发生不可逆损伤,导致膜通透性发生改变,菌体内大分子物质泄漏到培养液中,细胞膜完整性破坏。研究表明,萜类化合物可以通过破坏细菌细胞壁的脂质组装,造成细胞膜的崩解、细胞蛋白质的变性、细胞质物质的泄漏,最终导致细胞裂解和死亡<sup>[22]</sup>。LAE 主要通过革兰氏阴性菌外膜中的脂多糖相互作用,使膜去极化,破坏菌体渗透屏障和完整性,抑制细菌生长<sup>[18]</sup>。

### 2.2.2 透射电子显微镜观察香芹酚和 LAE 联用对细菌形态的影响

通过透射电子显微镜观察荧光假单胞菌经香芹酚和 LAE 联合处理后菌体超微结构的改变,结果见图 4。

由图 4 可知,对照组菌体结构完整,边界清晰,细胞质分布均匀,饱满。1/2 MIC 香芹酚处理组和 1/16 MIC LAE 处理组,菌体结构相对完整,部分菌体细胞质电子密度下降,不均匀。1/2 MIC 香芹酚+1/16 MIC LAE 联用组细菌形态不规则,边界褶皱,细胞质电子密度显著下降。有研究发现,柠檬烯<sup>[10]</sup>可促进荧光假单胞菌体裂解,细胞壁和细胞膜结构破坏,大分子物质泄漏,菌体形态发生改变。LAE 主要的抑菌机制是破坏细胞



a.对照(3 h) b.1/2 MIC 香芹酚+1/16 MIC LAE(3 h) c.1/2 MIC 香芹酚(3 h) d.1/16 MIC LAE(3 h)。

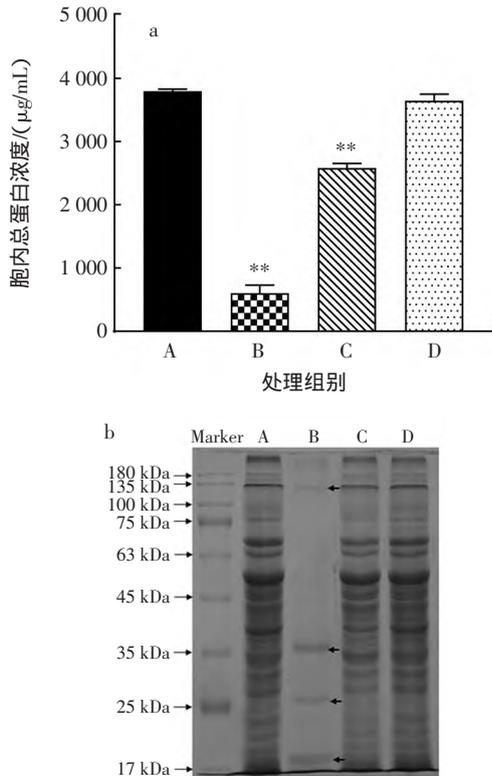
图4 荧光假单胞菌的透射电镜图(50 000×)

Fig.4 Transmission electron micrographs of *P. fluorescens* (50 000×)

膜,但未导致细胞裂解<sup>[8]</sup>。结合本试验结果表明,香芹酚和 LAE 联用促进荧光假单胞菌的菌体结构破损,导致细胞内容物泄漏,从而抑制细菌生长。

### 2.2.3 香芹酚和 LAE 联用对胞内蛋白质的影响

香芹酚和 LAE 联用对胞内蛋白质的影响见图 5。



a. 总蛋白质浓度的影响 b. SDS-PAGE 电泳图 ;Marker.标准蛋白 ;A. 对照 B.1/2 MIC 香芹酚+1/16 MIC LAE C.1/2 MIC 香芹酚 D.1/16 MIC LAE ;与对照相比,\*\*表示组间差异极显著( $P<0.01$ )。

图5 香芹酚与 LAE 联用对荧光假单胞菌胞内总蛋白质浓度的影响与 SDS-PAGE 电泳图

Fig.5 Effect of carvacrol combined with LAE on intracellular protein content and SDS-PAGE profile of *P. fluorescens*

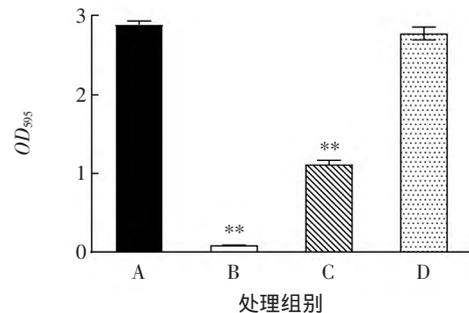
由图 5 可知,与上述胞外蛋白质和核酸泄漏测定结果,以及透射电子显微镜观察结果相一致,与对照组相比,1/2 MIC 香芹酚+1/16 MIC LAE 联用组中,荧光假单胞菌胞内蛋白浓度显著下降,降低了 84.1%( $P<$

0.01),1/2 MIC 香芹酚处理组降低了 32.1%( $P<0.01$ ),而 1/16 MIC LAE 处理组无显著变化 ( $P>0.05$ )。通过 SDS-PAGE 进一步分析胞内可溶性蛋白质含量的改变(图 5b) 对照组蛋白质电泳条带丰富且清晰(泳道 A);1/2 MIC 香芹酚+1/16 MIC LAE 联用组中,所有蛋白质条带亮度明显减弱,甚至消失,仅剩 4 条微弱的条带,主要位于 135、35、25 kDa 和 17 kDa(泳道 B)。

综合上述研究结果表明,在 1/2 MIC 香芹酚+1/16 MIC LAE 作用下,荧光假单胞菌所表达的蛋白质含量和类型减少,进一步揭示香芹酚和 LAE 联合作用破坏荧光假单胞菌细胞膜结构完整性,导致细菌体内蛋白质泄漏,使得胞内蛋白质合成受阻。研究表明,松油烯-4-醇<sup>[12]</sup>、柠檬烯<sup>[10]</sup>和苯乳酸<sup>[13]</sup>等抑菌剂也具有相似的抑菌机制,即通过改变荧光假单胞菌细胞膜的通透性,导致大分子蛋白泄漏。

### 2.3 香芹酚和 LAE 联用对荧光假单胞菌生物被膜形成的影响

生物被膜是细菌处于外界不利环境时,细菌以及其自身所分泌的聚合物所形成的一种聚集膜状物<sup>[23]</sup>。研究表明,生物被膜的形成将有效保护细菌,使其对抗菌剂以及机体免疫系统的抵抗性显著增强,加剧食品的污染<sup>[23]</sup>。香芹酚和 LAE 联用对荧光假单胞菌生物被膜形成的影响见图 6。



A.对照 B.1/2 MIC 香芹酚+1/16 MIC LAE C.1/2 MIC 香芹酚 D.1/16 MIC LAE ;与对照相比,\*\*表示组间差异极显著( $P<0.01$ )。

图6 香芹酚和 LAE 联用对荧光假单胞菌生物被膜形成能力的影响  
Fig.6 Effect of the combination of carvacrol and LAE on biofilm-forming ability of *P. fluorescens*

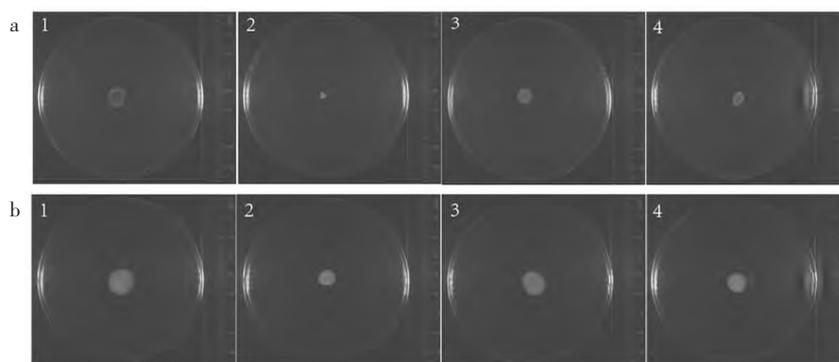
由图6可知,与对照相比,1/2 MIC 香芹酚+1/16 MIC LAE、1/2 MIC 香芹酚、1/16 MIC LAE 分别作用24 h后,荧光假单胞菌生物被膜总量分别减少97.0% ( $P < 0.01$ )、61.5% ( $P < 0.01$ )、3.9% ( $P > 0.05$ )。其中,香芹酚和LAE联用对荧光假单胞菌生物被膜的形成有显著抑制效果。戴雨芸等<sup>[14]</sup>研究发现,香芹酚对金黄色葡萄球菌生物被膜有明显的抑制和清除作用,主要通过抑制相关基因转录调控细胞间多糖黏附素的合成和胞外DNA的释放,减少生物被膜的形成。丁香酚破坏副溶血性弧菌细胞间连接,分离生物膜,并减少生物膜中

的活菌细胞,具有显著的抗生物膜活性<sup>[24]</sup>。

#### 2.4 香芹酚和LAE联用对荧光假单胞菌群集运动和泳动的影响

荧光假单胞菌是一种具有鞭毛的革兰氏阴性菌,具有鞭毛介导的细菌群集、泳动两种迁移方式,分别代表细菌的群体行为与个体行为<sup>[25]</sup>。细菌的运动特性对细菌在宿主表面定植和后继生物膜的形成具有重要作用<sup>[25]</sup>。香芹酚和LAE联用对荧光假单胞菌群集与泳动的影响及运动抑制情况见图7和图8。

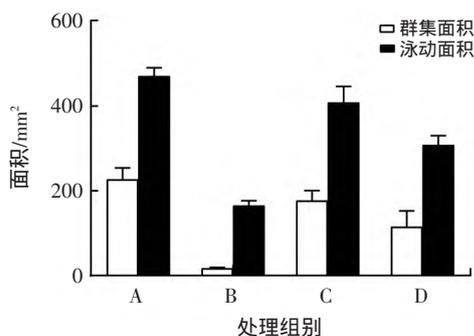
由图7和图8可知,与对照相比,1/2 MIC 香芹酚+



a 为荧光假单胞菌群集, b 为荧光假单胞菌泳动;1~4 分别为对照、1/2 MIC 香芹酚+1/16 MIC LAE、1/2 MIC 香芹酚、1/16 MIC LAE。

图7 香芹酚和LAE联用对荧光假单胞菌群集和泳动的影响

Fig.7 Effect of the combination of carvacrol and LAE on swarming and swimming of *P. fluorescens*



A.对照;B.1/2 MIC 香芹酚+1/16 MIC LAE;C.1/2 MIC 香芹酚;  
D.1/16 MIC LAE。

图8 香芹酚和LAE联用对荧光假单胞菌运动面积的影响

Fig.8 Effect of the combination of carvacrol and LAE on area of the motility zone of *P. fluorescens*

1/16 MIC LAE 联用对荧光假单胞菌群集和泳动的抑制率最大,分别为92.5%和65.0%。说明香芹酚和LAE联用能有效抑制荧光假单胞菌的迁移能力,且与上述抑制生物膜形成的结果相互验证。已有研究表明,香芹酚在转录水平调控荧光假单胞菌鞭毛形成和群体感应信号分子酰基-高丝氨酸内酯的产生,从而抑制群体感应系统,调节群集运动<sup>[15]</sup>。

### 3 结论

香芹酚和LAE对荧光假单胞菌均具有良好的抑菌活性,MIC分别为0.500 mg/mL和64 μg/mL。棋盘法试验结果表明,1/2 MIC 香芹酚+1/16 MIC LAE联用具有相加抑菌效果,FICI值为0.56,有效降低各自独立作用的剂量。1/2 MIC 香芹酚+1/16 MIC LAE联用使荧光假单胞菌的细胞膜通透性明显增强,主要表现为蛋白质和核酸泄漏、胞内电子密度下降及胞内蛋白质含量和类型减少。因此,香芹酚与LAE联用诱导荧光假单胞菌的细胞壁和细胞膜完整性受损、超微结构改变、膜功能异常,导致蛋白质、核酸等生物大分子物质泄漏,使细菌新陈代谢活性下降,菌体死亡。此外,香芹酚和LAE联用对荧光假单胞菌的生物膜形成、群集运动和泳动均有显著的抑制作用,具有抑制群体感应活性的作用。

#### 参考文献:

- [1] XU J X, LI Q Y, ZHANG J Y, et al. In silico structural and functional analysis of cold shock proteins in *Pseudomonas fluorescens* PF08 from marine fish[J]. Journal of Food Protection, 2021, 84(8): 1446-1454.

- [2] BELLASSI P, ROCCHETTI G, MORELLI L, et al. A milk foodomics investigation into the effect of *Pseudomonas fluorescens* growth under cold chain conditions[J]. Foods (Basel, Switzerland), 2021, 10(6): 1173.
- [3] WANG T J, GUO H Y, ZHANG H, et al. Dynamics of bacterial communities of lamb meat packaged in air and vacuum pouch during chilled storage[J]. Food Science of Animal Resources, 2019, 39(2): 209–221.
- [4] QUINTIERI L, FANELLI F, CAPUTO L. Antibiotic resistant *Pseudomonas spp.* spoilers in fresh dairy products: An underestimated risk and the control strategies[J]. Foods (Basel, Switzerland), 2019, 8(9): 372.
- [5] ANGANE M, SWIFT S, HUANG K, et al. Essential oils and their major components: An updated review on antimicrobial activities, mechanism of action and their potential application in the food industry[J]. Foods (Basel, Switzerland), 2022, 11(3): 464.
- [6] FANG S Y, ZHOU Q Q, HU Y, et al. Antimicrobial carvacrol incorporated in flaxseed gum–sodium alginate active films to improve the quality attributes of Chinese sea bass (*Lateolabrax maculatus*) during cold storage[J]. Molecules (Basel, Switzerland), 2019, 24(18): 3292.
- [7] SUNTRES Z E, COCCIMIGLIO J, ALIPOUR M. The bioactivity and toxicological actions of carvacrol[J]. Critical Reviews in Food Science and Nutrition, 2015, 55(3): 304–318.
- [8] MA Q M, DAVIDSON P M, ZHONG Q X. Properties and potential food applications of lauric arginate as a cationic antimicrobial[J]. International Journal of Food Microbiology, 2020, 315: 108417.
- [9] QU S Q, DAI C C, SHEN Z Q, et al. Mechanism of synergy between tetracycline and quercetin against antibiotic resistant *Escherichia coli*[J]. Frontiers in Microbiology, 2019, 10: 2536.
- [10] 舒慧珍, 唐志凌, 刘雪, 等. 柠檬烯对荧光假单胞菌抑菌活性及机理研究[J]. 食品工业科技, 2019, 40(12): 134–140.  
SHU Huizhen, TANG Zhiling, LIU Xue, et al. Antibacterial activity and mechanism of limonene against *Pseudomonas fluorescens*[J]. Science and Technology of Food Industry, 2019, 40(12): 134–140.
- [11] CAO J R, FU H J, GAO L H, et al. Antibacterial activity and mechanism of lactobionic acid against *Staphylococcus aureus*[J]. Folia Microbiologica, 2019, 64(6): 899–906.
- [12] 耿一鸣, 李婷婷, 励建荣, 等. 松油烯-4-醇对荧光假单胞菌抑菌能力及作用机理[J]. 食品科学, 2022, 43(1): 30–36.  
GENG Yiming, LI Tingting, LI Jianrong, et al. Antibacterial activity and mechanism of terpinene-4-ol against *Pseudomonas fluorescens*[J]. Food Science, 2022, 43(1): 30–36.
- [13] 宁亚维, 侯琳琳, 李明蕊, 等. 苯乳酸对荧光假单胞菌基于细胞膜损伤和 DNA 破坏的双靶位抑菌机制[J]. 食品科学, 2021, 42(7): 60–67.  
NING Yawei, HOU Linlin, LI Mingrui, et al. Dual-target antibacterial mechanism of phenyllactic acid against *Pseudomonas fluorescens* based on cell membrane and DNA damage[J]. Food Science, 2021, 42(7): 60–67.
- [14] 戴雨芸, 李超, 袁中伟, 等. 香芹酚抑制金黄色葡萄球菌生物被膜的形成[J]. 微生物学通报, 2020, 47(3): 813–820.  
DAI Yuyun, LI Chao, YUAN Zhongwei, et al. Inhibition of *Staphylococcus aureus* biofilm by carvacrol[J]. Microbiology China, 2020, 47(3): 813–820.
- [15] 刘楠. 香芹酚对荧光假单胞菌 PF-08 群体感应的抑制作用及其在保鲜中的应用[D]. 锦州: 渤海大学, 2018.  
LIU Nan. Study on inhibition of quorum sensing of *Pseudomonas fluorescens* PF-08 in chilled turbot by carvacrol and its preservation[D]. Jinzhou: Bohai University, 2018.
- [16] NASH J J, ERKKA. Stability and interfacial viscoelasticity of oil–water nanoemulsions stabilized by soy lecithin and tween 20 for the encapsulation of bioactive carvacrol[J]. Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects, 2017, 517: 1–11.
- [17] MARCHESI A, ARCIOLACR, COPPO E, et al. The natural plant compound carvacrol as an antimicrobial and anti-biofilm agent: Mechanisms, synergies and bio-inspired anti-infective materials[J]. Biofouling, 2018, 34(6): 630–656.
- [18] MANRIQUE Y, GIBIS M, SCHMIDT H, et al. Influence of application sequence and timing of eugenol and lauric arginate (LAE) on survival of spoilage organisms[J]. Food Microbiology, 2017, 64: 210–218.
- [19] CHANG Y H, MCLANDSBOROUGH L, MCCLEMENTS D J. Fabrication, stability and efficacy of dual-component antimicrobial nanoemulsions: Essential oil (thyme oil) and cationic surfactant (lauric arginate)[J]. Food Chemistry, 2015, 172: 298–304.
- [20] LLANA-RUIZ-CABELLO M, MAISANABA S, PUERTO M, et al. Genotoxicity evaluation of carvacrol in rats using a combined micronucleus and comet assay[J]. Food and Chemical Toxicology, 2016, 98: 240–250.
- [21] EFSA PANEL ON FOOD ADDITIVES AND FLAVOURINGS (EFSA FAF PANEL), YOUNES M, AQUILINA G, et al. Safety of ethyl lauroyl arginate (E 243) as a food additive in the light of the new information provided and the proposed extension of use[J]. EFSA Journal, 2019, 17(3): e05621.
- [22] FISHER K, PHILLIPS C. Potential antimicrobial uses of essential oils in food: Is citrus the answer?[J]. Trends in Food Science & Technology, 2008, 19(3): 156–164.
- [23] LAHIRI D, DASH S, DUTTA R, et al. Elucidating the effect of anti-biofilm activity of bioactive compounds extracted from plants[J]. Journal of Biosciences, 2019, 44(2): 52.
- [24] ASHRAFUDOULLA M, MIZANMFR, HAAJ W, et al. Antibacterial and antibiofilm mechanism of eugenol against antibiotic resistance *Vibrio parahaemolyticus*[J]. Food Microbiology, 2020, 91: 103500.
- [25] COLIN R, NI B, LAGANENKA L, et al. Multiple functions of flagellar motility and chemotaxis in bacterial physiology[J]. FEMS Microbiology Reviews, 2021, 45(6): fuab038.

加工编辑 刘艳美

收稿日期 2022-02-22



高等学校国家级实验教学示范中心  
—— 联席会 ——  
NATIONAL DEMONSTRATION CENTER FOR EXPERIMENTAL EDUCATION

# 证书

为表彰第八届全国大学生基础医学创新研究暨实验设计论坛（高职高专组）预选赛（省际）优秀成果奖获得者，特发此证书。

获奖项目：多酚类植物提取物与亚胺培南联用对铜绿假单胞菌抑菌机制研究

奖励等级：三等奖

获奖团队：梁嘉慧、农珏、张惠华、周润、陈玉婧

指导教师：李玮玮、蔡天舒

所在高校：惠州卫生职业技术学院

高等学校国家级实验教学示范中心联席会



2022年7月

证书编号：NDC22A110000057

证书号第 16196315 号



## 实用新型专利证书

实用新型名称：一种具有紫外线杀菌功能的充电宝装置

发明人：李玮玮;蔡天舒;黄霞;王宇鹏;梁慕慧;马欣仪;姚彦羽

专利号：ZL 2021 2 2646023.8

专利申请日：2021 年 11 月 01 日

专利权人：惠州卫生职业技术学院

地址：516025 广东省惠州市惠城区惠南大道 69 号

授权公告日：2022 年 04 月 05 日

授权公告号：CN 216215998 U

国家知识产权局依照中华人民共和国专利法经过初步审查，决定授予专利权，颁发实用新型专利证书并在专利登记簿上予以登记。专利权自授权公告之日起生效，专利保护期限为十年，自申请日起算。

专利证书记载专利权登记时的法律状况，专利权的转移、质押、无效、终止、恢复和专利权利人的姓名或名称、国籍、地址变更等事项记载在专利登记簿上。



局长  
申长雨

申长雨



第 1 页 (共 2 页)

其他事项参见续页

证书号第 16196315 号



专利权人应当依照专利法及其实施细则规定缴纳年费。本专利的年费应当在每年 11 月 01 日前缴纳，未按规定缴纳年费的，专利权自应当缴纳年费期满之日起终止。

申请日时本专利记载的申请人、发明人信息如下：

申请人：

惠州卫生职业技术学院

发明人：

李玮玮;蔡天舒;黄霞;王宇鹏;梁慕慧;马欣仪;姚彦羽

第 2 页 (共 2 页)

# 共青团广东省委员会

---

## 关于 2023 年广东省科技创新战略专项 资金（“攀登计划”专项资金） 拟资助立项项目的公示

根据《广东省科技创新战略专项资金(大学生科技创新培育)管理办法》有关要求,按照 2023 年度“攀登计划”立项工作安排,经过省、校两级审核、评选,拟确定中山大学《基于鱼眼相机的实时全景环境感知系统》等 1141 个项目为拟立项项目(详见附件 1)。现对拟立项项目进行公示,公示期从 10 月 12 日至 10 月 18 日(共 7 天)。

请各高校核对公示名单中本校的拟立项项目信息,其中项目名称、项目成员(含负责人)和指导老师姓名、顺序以“攀登计划”申报平台(网址:<http://gd.kejichuangxin.net/>)的信息为准,本次公示信息仅作校对使用,指导老师及项目成员只可进行删减,不可添加人员或调整顺序。若相关信息存在错误,则由校团委负责老师根据要求填写好拟立项项目信息勘误表(附件 2),扫描信息勘误统计问卷二维码(附件 3)上传 Word 和盖章 PDF 扫描版勘误表等佐证材料,并将纸质版盖章勘误表于 10 月 18 日前寄送至团省委学校部。

如对公示内容有异议,请在公示期内以书面形式向团省委反映,并提供相关证明材料。以个人名义反映的,需提供真实姓名、联系方式;以单位名义反映的,需提供单位名称(加盖公章)、联系人、联系方式。公示期内未报送勘误信息或异议的,视为对公示内容无异议。

- 附件:1.2023年广东省科技创新战略专项资金(“攀登计划”专项资金)拟立项项目名单  
2.拟立项项目信息勘误表  
3.信息勘误统计问卷

联系人:陈柱飞、李炫志

联系方式:020—87185614

工作邮箱:tsw\_xxb@gd.gov.cn

联系地址:广州市越秀区寺贝通津一号大院学校部

共青团广东省委办公室

2022年10月12日

项目编号	学校	一级分类	二级分类	评审结果	资助金额 (单位: 万)	项目名称	项目负责人	项目成员	指导教师
pdjh2023 b1005	惠州卫生职业技术学院	科技发明制作类	生命科学	一般项目	2	肤好吃——一种清咽保健枇杷花豌豆肽口含片的研制	吴春娇	阮巧 黄宝欣 黄钰俸 瞿钰涵 古智林	卓秀英 张伟爱 梁可
pdjh2023 b1006	惠州卫生职业技术学院	科技发明制作类	生命科学	一般项目	2	多功能婴儿椅	张嘉琪	陈艺珩 蔡浩纯 杨琼琛 张惠华 郑幸贤	李娇 刘柯婷 何晓平
pdjh2023 b1007	惠州卫生职业技术学院	自然科学类学术论文	生命科学	一般项目	1.5	多酚类植物提取物对人——水产动物共患病病原菌的抑菌机制与应用研究	郑晓婷	马欣仪 曾丽丹 梁嘉慧 李锦仕 黄小聪 谢晓娜	李玮玮 蔡天舒 樊兴
pdjh2023 b1008	惠州卫生职业技术学院	哲学社会科学类社会调查报告和学术论文	社会	一般项目	1	母爱之托——促进人口长期均衡发展背景下托育模式的探索与研究	陈高俊	李敏 郑康玲 商红鑫 梁骏辉	苏小燕 吴慧 刘柯婷
pdjh2023 b1009	惠州城市职业学院	科技发明制作类	机械与控制	一般项目	2	基于 STEAM 教育的编程无人机科普教具开发与实践研究	李政良	车向前 胡逢龙 黄锦锐 李榕容 邓郁宗 徐炜杭 姚铭涛 林衍楠 陈金明	谭嘉祺 丘德志 赵延杰
pdjh2023 b1010	惠州城市职业学院	哲学社会科学类社会调查报告和学术论文	社会	一般项目	1	涂抹振兴乡村农业绿底色，促进种养结合生态循环农业发展	林浩然	林凯杰 叶慧芬 黄海鸿	李墨 谭嘉祺 徐晓雯
pdjh2023 b1011	惠州工程职业学院	哲学社会科学类社会调查报告和学术论文	教育	一般项目	1	乡村振兴背景下新型职业农民电商培训及服务需求调研分析——以广东省惠州市博罗县为例	刘晓芳	沈佳航 赖研玲 林美妍 肖晏愉	吴小婷 杨洋