

蔗糖和蛋白胨对冠突散囊菌发酵液及菌丝抑菌活性的影响

何思源, 余松林*, 欧阳, 刘缘, 陈哲恒, 彭琪, 刘石泉

湖南城市学院材料与化学工程学院黑茶金花湖南省重点实验室, 湖南 益阳

收稿日期: 2025年11月12日; 录用日期: 2025年12月8日; 发布日期: 2025年12月17日

摘要

为了探讨蔗糖和蛋白胨对冠突散囊菌(*Eurotium cristatum*)发酵液及菌丝抑菌活性的影响, 将不同浓度的蔗糖、蛋白胨分别添加到PDA培养基中, 以金黄色葡萄球菌、藤黄微球菌、枯草芽孢杆菌、大肠杆菌、白色念珠菌、白色链霉菌为供试菌, 采用滤纸片法对发酵液及菌丝的抑菌活性进行评价。在PDA培养基中添加6%的蛋白胨时, 金花菌发酵液对金黄色葡萄球菌的抑制效果最好, 抑菌圈半径达3.4 mm; 添加4%的蛋白胨时, 金花菌菌丝提取物对藤黄微球菌的抑菌效果最好, 抑菌圈半径可达12.8 mm。在PDA培养基中添加6%的蔗糖时, 金花菌发酵液对藤黄微球菌和大肠杆菌的抑制效果最好, 抑菌圈半径分别为2.8 mm、3.1 mm; 而菌丝提取物对金黄色葡萄球菌的抑制效果最好, 其抑菌圈半径为5.6 mm。本研究表明, 调节金花菌液体培养基中蛋白胨和蔗糖的浓度可以改变金花菌发酵液及菌丝提取物的抑菌谱, 为研制出可以定向抑制目标菌种的金花菌天然防腐剂提供了方向。

关键词

冠突散囊菌, 发酵液, 菌丝, 蔗糖, 蛋白胨, 抑菌圈

Effects of Sucrose and Peptone on Anti-Microbial Activity of Fermentation Broth and Mycelium of *Eurotium cristatum*

Siyuan He, Songlin Yu*, Yang Ou, Yuan Liu, Zheheng Chen, Qi Peng, Shiquan Liu

Hunan Provincial Key Lab of Dark Tea and Jin-Hua, Department of Materials and Chemical Engineering, Hunan City University, Yiyang Hunan

Received: November 12, 2025; accepted: December 8, 2025; published: December 17, 2025

*通讯作者。

文章引用: 何思源, 余松林, 欧阳, 刘缘, 陈哲恒, 彭琪, 刘石泉. 蔗糖和蛋白胨对冠突散囊菌发酵液及菌丝抑菌活性的影响[J]. 微生物前沿, 2025, 14(4): 171-179. DOI: 10.12677/amb.2025.144020

Abstract

To investigate the effects of sucrose and peptone on anti-microbial activity of fermentation broth and mycelium of *Eurotium cristatum* (*E. cristatum*), sucrose and peptone of different concentrations were added to PDA medium to cultivate *E. cristatum*, and the anti-microbial activity of fermentation broth and mycelium against *Staphylococcus aureus*, *Micrococcus garboeae*, *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli*, *Candida albicans* and *Streptomyces albicans* were determined by filter paper disc method. In PDA medium supplemented with 6% of peptone, the fermentation broth of *E. cristatum* showed best inhibitory effect on *Staphylococcus aureus*, the radius of the bacteriostatic ring is up to 3.4 mm; When 4% peptone was added, the mycelium extract of *E. cristatum* showed superior inhibitory effect on *Micrococcus gamboge* to other tested microorganisms, with a radius of 12.8 mm. When 6% sucrose was added to PDA medium, the fermentation broth showed better inhibitory effect on *Micrococcus garboeae* and *Escherichia coli* than other tested bacteria. The radius of the bacteriostatic ring were 2.8 mm and 3.1 mm respectively, and the mycelial extracts showed the best inhibition effect on *Staphylococcus aureus* with the bacteriostatic circle radius of 5.6 mm. This study demonstrates that adjusting the concentrations of peptone and sucrose in the liquid culture medium can alter the antibacterial spectrum of the fermentation broth and mycelial extract of *E. cristatum*, providing an important reference for the development of natural preservatives from *E. cristatum* that can specifically inhibit target microorganisms.

Keywords

Eurotium cristatum, Fermentation Broth, Mycelium, Sucrose, Peptone, Bacteriostatic Ring

Copyright © 2025 by author(s) and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY 4.0).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

1. 引言

天然防腐剂因其使用安全、毒副作用小而受到广泛的关注, 开发新的天然防腐剂是食品、药品研究领域的热点[1] [2]。冠突散囊菌(*E. cristatum*)俗称金花, 是茯砖茶中的优势菌, 也是决定茯砖茶独特品质和风味的重要因素。由于金花菌的作用, 成品茯砖茶中细菌和霉菌很少存在[3], 可能原因是金花菌在生长过程中产生不利于其他一种或多种微生物生长的代谢产物, 能够抑制杂菌生长[4]-[6]。茯砖茶属发酵茶, 具有抗菌消炎、抗腹泻等功能[7], 目前已有研究表明茯砖茶水提取物对大肠杆菌、沙门氏杆菌等有抑制作用[8] [9]。李佳莲等[10]研究了茯砖茶浸提液、PDA 原液和冠突散囊菌 PDA 发酵液对金黄色葡萄球菌、大肠杆菌、枯草芽孢杆菌等的抑菌作用。张芳芳等[11]测定了冠突散囊菌发酵液中不同溶剂提取物对枯草芽孢杆菌与白色链霉菌的抑菌作用。我们课题组对冠突散囊菌不同生长部位进行分析, 证明其有性繁殖体(子囊果和子囊孢子) [12] [13]以及无性繁殖体(菌丝) [14]中均有抑菌物质, 且抑菌物质在一定的 pH 值和温度范围内具有良好的稳定性。彭晓赟等[15]提取了冠突散囊菌发酵液中有效成分, 发现苔黑酚对大肠杆菌、金黄色葡萄球菌和普通变形杆菌以及霉菌具有显著的抑制作用。张雯等[16]优化了冠突散囊菌产抑菌活性物质的培养基配方, 并分离到两个抑菌活性组分 FS-IV、FS-VI。上述实验均为金花菌具有抑菌作用提供了一定依据, 但整体而言对于金花菌天然防腐剂的研究还不够深入。本文拟通过在 PDA 培养基中加入不同浓度的蔗糖和蛋白胨, 探究金花菌发酵液和菌丝提取物对白色念珠菌、白色链霉菌、藤黄微球

菌、大肠杆菌、枯草芽孢杆菌、金黄色葡萄球菌等 6 种常见供试菌的抑菌活性,为金花菌中天然抗菌物质的开发提供前期研究基础。

2. 实验材料

2.1. 菌株来源

金花菌(JH1205)由黑茶金花湖南省重点实验室提供。白色念珠菌、白色链霉菌、藤黄微球菌、大肠杆菌、枯草芽孢杆菌、金黄色葡萄球菌购自中国农业微生物菌种保藏管理中心(ACCC)。

2.2. 设备与试剂

设备:超净工作台、恒温培养箱、烘箱、台式恒温振荡器、紫外灯、立式压力蒸汽灭菌锅等。

试剂:琼脂(不含抗生素)、蔗糖、蛋白胨、土豆、葡萄糖、麦芽糖、乳糖、蔗糖、淀粉、牛肉膏、酵母浸膏、蛋白胨、 NH_4Cl 、 NaNO_3 等。

3. 实验方法

3.1. 培养基及金花菌种子液的制备

PDA 培养基:马铃薯(去皮) 200 g,切成约 2 cm^3 的小块,加入 1000 mL 蒸馏水煮沸 30 min,注意用玻璃棒搅拌以防糊底,然后用双层纱布过滤得滤液,用蒸馏水定容至 1000 mL,加入 2%蔗糖,2%琼脂(固体培养基中添加), 121°C 灭菌 20 min。

LB 固体培养基:牛肉膏 0.3%,蛋白胨 1%,氯化钠 0.5%,琼脂 2%, 121°C 灭菌 20 min。

金花菌种子液的制备:用灭菌后的接种环挑取保存良好的金花菌菌落在马铃薯琼脂(PDA)培养基上作平板划线,在 30°C 恒温培养箱培养。待培养 96 h (4 天)后,菌落在平板上生长进入旺盛期时,在空白 PDA 平板上重复上述步骤,连续活化两次。取出一个经活化并长满金花菌的 PDA 平板,在无菌操作条件下倒入 PDA 液体培养基 10 mL,用接种环将金花菌刮下,悬浮于 PDA 液体培养基中,再将悬浮液倒入盛有 100 mL PDA 液体培养基并带有玻璃珠的三角瓶内,150 r/min 振摇 20 min,制成均匀的孢子悬液,测定孢子数量,孢子浓度为 $5.0\sim 6.0 \times 10^8\text{ CFU/mL}$ 。

3.2. 提取方法

3.2.1. 发酵液的处理

取培养后的金花菌培养液,用抽滤机抽滤,将其中的菌丝球与发酵液分离后取 300 μL 发酵液,置于 1.5 mL 小管中, 40°C 烘箱烘 12 h,利用差量法确定其中固体物质的浓度。后对发酵液进行浓缩,烘干得固体,将其浓度调节至 100 mg/mL,分别取浓缩液用 2.3 的方法做后续抑菌试验,测定其抑菌圈大小,得出金花菌发酵液抑菌效果最佳的培养时间、培养基氮源种类及氮源浓度、培养基碳源种类及碳源浓度。

3.2.2. 菌丝的处理

将抽滤所得的菌丝球加入到带有 50 mL 蒸馏水并且带有玻璃珠的锥形瓶中,放入 180 r/min 的条件下震荡 12 h,打碎菌丝球得到其中物质,4000 r/min 离心 10 min,取上清液于 45°C 烘箱中烘干,加水溶解调节其浓度为 100 mg/mL,得菌丝提取物。分别取菌丝提取物用 2.3 的方法做后续抑菌试验,测定其抑菌圈大小,得出菌丝抑菌效果最佳的培养时间、培养基氮源种类及氮源浓度、培养基碳源种类及碳源浓度。

3.3. 抑菌检测方法

滤纸片法:将灭菌后的滤纸片浸入浓缩后的金花菌发酵液和菌丝提取物(浓度为 100 mg/mL)中,浸泡

15 min, 沥干。将浸入金花菌发酵液中的滤纸片贴于涂布了 200 μL 供试菌菌液(在 LB 液体培养基中以 180 r/min 振荡培养 24 h, 其中金黄色葡萄球菌、藤黄微球菌、大肠杆菌、枯草芽孢杆菌 37 $^{\circ}\text{C}$ 培养; 白色念珠菌、白色链霉菌于 30 $^{\circ}\text{C}$ 培养, 用无菌 LB 液体培养基调节菌液至 $\text{OD}_{600}=0.4$)的平板上, 恒温培养 48 h, 测定各抑菌圈的大小, 平行测定 3 次。

3.4. 不同氮源对发酵液和菌丝提取物抑菌活性的影响

3.4.1. 培养基氮源种类的优化

参照 3.1 方法制备 PDA 液体培养基, 分装至 6 瓶, 每瓶 100 mL。其中 5 瓶分别加入牛肉膏、酵母浸膏、蛋白胨、 NH_4Cl 、 NaNO_3 , 调节其含量至 3%, 剩下一组不加多余氮源, 作为对照。将上述制备好的液体培养基置于高压灭菌锅中, 121 $^{\circ}\text{C}$ 灭菌 20 min。在无菌条件下, 取制备好的孢子悬液 3 mL 接种到灭菌后的液体培养基中, 30 $^{\circ}\text{C}$ 、180 r/min 振荡培养 7 d。分离发酵液和菌丝, 发酵液提取方法采用 3.2.1, 菌丝的提取方法采用 3.2.2, 以 3.3 的方法测定其抑菌活性, 获得最优氮源。

3.4.2. 培养基氮源浓度的优化

参照 3.1 方法制备 PDA 液体培养基, 分装至 8 瓶, 每瓶 100 mL。分别加入含量为 2%、3%、4%、5%、6%、7%、8%、9% 的最优氮源, 置于高压灭菌锅中, 121 $^{\circ}\text{C}$ 灭菌 20 min。在无菌条件下, 取制备好的孢子悬液 3 mL 接种到灭菌后的液体培养基中, 30 $^{\circ}\text{C}$ 、180 r/min 振荡培养 7 d。分离发酵液和菌丝, 发酵液提取方法采用 3.2.1, 菌丝的提取方法采用 3.2.2, 以 3.3 的方法测定其抑菌活性, 获得最优氮源浓度。

3.5. 不同碳源对发酵液和菌丝提取物抑菌活性的影响

3.5.1. 培养基碳源种类的优化

参照 3.1 的方法制备土豆汁 500 mL, 分装至 5 瓶, 每瓶 100 mL。在 5 瓶液体培养基中分别加入葡萄糖、麦芽糖、乳糖、蔗糖、淀粉, 调节其含量至 3%。置于高压灭菌锅中, 121 $^{\circ}\text{C}$ 灭菌 20 min。在无菌条件下, 取制备好的孢子悬液 3 mL 接种到灭菌后的液体培养基中, 30 $^{\circ}\text{C}$ 、180 r/min 振荡培养 7 d。分离发酵液和菌丝, 发酵液提取方法采用 3.2.1, 菌丝的提取方法采用 3.2.2, 以 3.3 的方法测定其抑菌活性, 获得最优碳源。

3.5.2. 培养基碳源浓度的优化

参照 3.1 的方法制备土豆汁 1000 mL, 分装至 9 瓶, 每瓶 100 mL。分别加入含量为 2%、3%、4%、5%、6%、7%、8%、9%、10% 的最优碳源, 置于高压灭菌锅中, 121 $^{\circ}\text{C}$ 灭菌 20 min。在无菌条件下, 取制备好的孢子悬液 3 mL 接种到灭菌后的液体培养基中, 30 $^{\circ}\text{C}$ 、180 r/min 振荡培养 7 d。分离发酵液和菌丝, 发酵液提取方法采用 3.2.1, 菌丝的提取方法采用 3.2.2, 以 3.3 的方法测定其抑菌活性, 获得最优碳源浓度。

4. 实验结果

4.1. 培养基氮源种类的优化结果

4.1.1. 氮源种类对金花菌发酵液抑菌活性的影响

据表 1 可知, 未额外添加氮源的 PDA 基础培养基发酵液对 6 种供试菌均无抑制作用; 只有额外添加蛋白胨的发酵液才对金黄色葡萄球菌和藤黄微球菌表现出一定的抑制作用, 其中对金黄色葡萄球菌的抑制作用最大, 其抑菌圈半径为 2.6 mm, 对另外 4 种供试菌未表现出明显抑菌效果。综上, 蛋白胨即为金花菌发酵液抑菌效果最佳的氮源。

Table 1. The radius of inhibition zones of *E. cristatum* fermentation broth (cultivated with different nitrogen sources) against six tested bacteria

表 1. 不同氮源培养下金花菌发酵液对 6 种供试菌的抑菌圈半径

供试菌种	供试样品抑菌圈半径/mm (平均值 ± 标准差)					
	牛肉膏	酵母浸膏	蛋白胨	NH ₄ Cl	NaNO ₃	基础 PDA
金黄色葡萄球菌	-	-	2.6 ± 0.1	-	-	-
藤黄微球菌	-	-	1.8 ± 0.3	-	-	-
枯草芽孢杆菌	-	-	-	-	-	-
大肠杆菌	-	-	-	-	-	-
白色念珠菌	-	-	-	-	-	-
白色链霉菌	-	-	-	-	-	-

注：“-”表示该样品对此供试菌未表现出明显抑菌效果。

4.1.2. 氮源种类对金花菌菌丝提取物抑菌活性的影响

PDA 液体培养基中额外添加 3%的无机氮源和有机氮源并不能让金花菌菌丝表现出对 6 种供试菌的抑制作用。

4.2. 培养基蛋白胨含量的优化结果

4.2.1. 蛋白胨含量对金花菌发酵液抑菌效果的影响

据表 2 可知，含低浓度(2%~6%)蛋白胨的发酵液对金黄色葡萄球菌和藤黄微球菌有抑菌效果，其中发酵液中蛋白胨含量为 6%时抑菌效果最好，对金黄色葡萄球菌和藤黄微球菌的抑菌环半径分别为 2.9 和 3.4 mm。随着蛋白胨含量的继续增加，发酵液对金黄色葡萄球菌和藤黄微球菌的抑制活性显著降低。

Table 2. The radius of inhibition zones of *E. cristatum* fermentation broth (cultivated with different peptone contents) against six tested bacteria

表 2. 不同含量蛋白胨培养下金花菌发酵液对 6 种供试菌的抑菌圈半径

供试菌种	供试样品抑菌圈半径/mm (平均值 ± 标准差)								
	浓度(%)	2	3	4	5	6	7	8	9
金黄色葡萄球菌		0.8 ± 0.1	2.5 ± 0.2	1.3 ± 0.1	0.7 ± 0.1	2.9 ± 0.2	-	-	-
藤黄微球菌		3.1 ± 0.2	1.9 ± 0.2	0.8 ± 0.2	2.8 ± 0.1	3.4 ± 0.3	-	-	-
枯草芽孢杆菌		-	-	-	-	-	-	-	-
大肠杆菌		-	-	-	-	-	-	-	-
白色念珠菌		-	-	-	-	-	-	-	-
白色链霉菌		-	-	-	-	-	-	-	-

注：“-”表示该样品对此供试菌未表现出明显抑菌效果。

额外添加不同浓度蛋白胨的 PDA 液体发酵液未表现出对大肠杆菌、枯草芽孢杆菌、白色念珠菌和白色链霉菌的抑制作用(表 2)，即改变 PDA 发酵培养基中蛋白胨的含量，并不能改善其发酵液对大肠杆菌、枯草芽孢杆菌、白色念珠菌和白色链霉菌的抑制活性。综上，蛋白胨含量为 6%时金花菌发酵液抑菌效果最佳。

4.2.2. 蛋白胨含量对金花菌菌丝干重的影响

由表 3 可知：培养 7 天时，PDA 液体培养基中额外添加 4%的蛋白胨，更有利于金花菌菌丝的积累。

Table 3. The effects of peptone content on the dry weight of *E. cristatum* mycelia

表 3. 蛋白胨含量对金花菌菌丝干重的影响

蛋白胨的百分含量	干重(g)	干重差(g)
2%	1.77	0
3%	1.84	0.07
4%	2.58	0.81
5%	2.07	0.30
6%	1.89	0.12

4.2.3. 蛋白胨含量对金花菌菌丝提取物抑菌效果的影响

由表 4 可知，PDA 培养基中额外添加蛋白胨后，可让金花菌菌丝对金黄色葡萄球菌和藤黄微球菌产生抑制作用，其中蛋白胨含量为 4%的金花菌菌丝提取物抑菌效果最好，对藤黄微球菌的抑制效果强于金黄色葡萄球菌，其最大抑菌圈半径可达 12.8 mm。当蛋白胨含量为 2%时，金花菌开始表现出抑菌活性，而当含量增加到 3%时，抑菌活性消失，增加到 4%时，抑菌活性出现且达最大，故猜测蛋白胨含量为 3%时，并不适宜金花菌产生某种抑菌活性物质，从而不表现出抑菌活性。PDA 培养基中额外添加不同质量的蛋白胨后，其金花菌菌丝提取物对枯草芽孢杆菌、大肠杆菌、白色链霉菌和白色念珠菌无抑制作用。

Table 4. Effects of peptone content on the antibacterial activity of *E. cristatum* mycelial extracts

表 4. 蛋白胨含量对金花菌菌丝提取物抑菌活性的影响

供试菌种	供试样品抑菌圈半径/mm (平均值 ± 标准差)					
	浓度(%)	2	3	4	5	6
金黄色葡萄球菌		3.6 ± 0.1	-	3.2 ± 0.5	3.1 ± 0.2	-
藤黄微球菌		7.2 ± 0.2	-	12.8 ± 0.4	5.9 ± 0.2	3.2 ± 0.3
枯草芽孢杆菌		-	-	-	-	-
大肠杆菌		-	-	-	-	-
白色念珠菌		-	-	-	-	-
白色链霉菌		-	-	-	-	-

4.3. 培养基碳源种类的优化结果

4.3.1. 碳源种类对金花菌发酵液抑菌效果的影响

从表 5 可知，在 PDA 培养基中额外添加蔗糖的发酵液，其抑菌活性相比其他的碳源要更好。对金黄色葡萄球菌，藤黄微球菌，枯草芽孢杆菌，大肠杆菌四种供试菌均有显著的抑制效果。

Table 5. The radius of inhibition zones of *E. cristatum* fermentation broth (cultivated with different carbon sources) against six tested bacteria

表 5. 不同碳源培养下金花菌发酵液对 6 种供试菌的抑菌圈半径

供试菌种	供试样品抑菌圈半径/mm (平均值 ± 标准差)				
	葡萄糖	麦芽糖	乳糖	蔗糖	淀粉
金黄色葡萄球菌	1.2 ± 0.2	-	1.7 ± 0.3	1.7 ± 0.3	1.5 ± 0.2

续表

藤黄微球菌	1.5 ± 0.1	1.3 ± 0.2	1.6 ± 0.1	1.7 ± 0.3	-
枯草芽孢杆菌	0.7 ± 0.3	0.7 ± 0.3	0.9 ± 0.2	1.2 ± 0.1	-
大肠杆菌	-	0.7 ± 0.3	-	1.2 ± 0.3	1.2 ± 0.2
白色念珠菌	-	-	-	-	-
白色链霉菌	-	-	-	-	-

注：“-”表示该样品对此供试菌未表现出明显抑菌效果。

4.3.2. 碳源种类对金花菌菌丝抑菌效果的影响

在本实验所测试的 5 种碳源培养条件下，金花菌菌丝提取物对 66 种供试菌都没有明显的抑菌效果。

4.4. 培养基蔗糖含量的优化结果

4.4.1. 蔗糖含量对金花菌发酵液抑菌效果的影响

由表 6 可知，调节蔗糖的含量后，金花菌发酵液对金黄色葡萄球菌、藤黄微球菌、枯草芽孢杆菌和大肠杆菌有抑制效果，其中额外添加 6%的蔗糖抑菌效果最好。

Table 6. The radius of inhibition zones of *E. cristatum* fermentation broth (cultivated with different sucrose contents) against six tested bacteria

表 6. 不同蔗糖含量培养下金花菌发酵液对 6 种供试菌的抑菌圈半径

供试菌种	供试样品抑菌圈半径/mm (平均值 ± 标准差)								
	浓度(%)	2	3	4	5	6	7	8	9
金黄色葡萄球菌		1.1 ± 0.1	1.5 ± 0.3	1.8 ± 0.2	2.2 ± 0.1	2.3 ± 0.2	-	-	-
藤黄微球菌		1.5 ± 0.1	1.8 ± 0.2	2.0 ± 0.2	2.5 ± 0.1	2.8 ± 0.1	-	-	-
枯草芽孢杆菌		0.8 ± 0.1	1.1 ± 0.1	1.5 ± 0.2	1.7 ± 0.2	1.9 ± 0.2	-	-	-
大肠杆菌		0.9 ± 0.1	1.7 ± 0.1	2.3 ± 0.1	2.5 ± 0.2	3.1 ± 0.3	-	-	-
白色念珠菌		-	-	-	-	-	-	-	-
白色链霉菌		-	-	-	-	-	-	-	-

注：“-”表示该样品对此供试菌未表现出明显抑菌效果。

4.4.2. 蔗糖含量对金花菌菌丝抑菌效果的影响

由表 7 可知，在 PDA 液体培养基中额外添加蔗糖，可改善金花菌菌丝提取物的抑菌活性，当额外添加蔗糖的含量达到 4%时，本来无抑菌活性的菌丝提取物呈现出对大肠杆菌、金黄色葡萄球菌和藤黄微球菌的抑制作用，其中当额外添加蔗糖含量达到 6%时，抑菌活性最高，其抑菌圈半径分别为 0.5 mm、5.6 mm 和 3.7 mm。说明额外添加蔗糖含量为 6%时，金花菌菌丝提取物抑菌活性最强。

Table 7. Effects of sucrose content on the antibacterial activity of mycelial extracts from *E. cristatum*

表 7. 蔗糖含量对金花菌菌丝提取物抑菌活性的影响

供试菌种	供试样品抑菌圈半径/mm (平均值 ± 标准差)					
	浓度(%)	2	4	6	8	10
金黄色葡萄球菌		-	3.6 ± 0.1	5.6 ± 0.5	3.1 ± 0.2	-

续表

藤黄微球菌	-	2.6 ± 0.1	3.7 ± 0.4	0.9 ± 0.2	-
枯草芽孢杆菌	-	-	-	-	-
大肠杆菌	-	-	0.5 ± 0.1	-	-
白色念珠菌	-	-	-	-	-
白色链霉菌	-	-	-	-	-

注：“-”表示该样品对此供试菌未表现出明显抑菌效果。

5. 讨论

本实验中对金花菌发酵培养基进行改良，发现当 PDA 培养基中额外添加 6%的蛋白胨和 6%的蔗糖时金花菌发酵液的抑菌效果最好；而菌丝在额外添加 4%的蛋白胨和 6%的蔗糖时抑菌效果最好。这说明培养基的不同成分对金花菌发酵液和菌丝的抑菌效果有较大影响，适宜的氮源、碳源种类及其浓度能够显著提高金花菌发酵液和菌丝的抑菌活性，与张月等[17]的研究结果一致。为使金花菌达到最佳的抑菌效果，金花菌的培养基成分还有待进一步优化。在 6 种供试菌中，金花菌发酵液和菌丝提取物对藤黄微球菌与金黄色葡萄球菌的抑制效果最好，其中金花菌发酵液对藤黄微球菌与金黄色葡萄球菌的抑菌圈最大可达 3.4 mm 和 2.9 mm，金花菌菌丝提取物对藤黄微球菌与金黄色葡萄球菌的抑菌圈最大可达 12.8 mm 和 3.6 mm，对白色链霉菌和白色念珠菌无明显抑制作用。由此可预测金花菌天然防腐剂一旦开发，可优先应用于对藤黄微球菌与金黄色葡萄球菌的抗菌作用。本研究为后续定向开发用于抑制金黄色葡萄球菌和藤黄微球菌的金花菌天然防腐剂提供了一定的理论依据和实验基础。

由本研究结果可知，改变金花菌液体培养基中的氮源种类及浓度，金花菌发酵液和菌丝提取物仅对所给的 6 种供试菌中的金黄色葡萄球菌和藤黄微球菌有明显抑制作用；而当改变培养基中的碳源种类及浓度时，金花菌发酵液与菌丝提取物除了对上述两种菌有明显抑制作用外，还表现出了对枯草芽孢杆菌和大肠杆菌的抑制作用。这说明金花菌的发酵液和菌丝提取物对 6 种供试菌的抑制具有选择作用，且随着培养基的成分不同抑制作用也存在差异，与张雯等[16]的实验结果一致。当改变培养基中碳源种类及浓度时，金花菌在生长过程中可能产生了某些特殊的代谢产物，使其在抑制金黄色葡萄球菌和藤黄微球菌的基础上选择性增加了对枯草芽孢杆菌和大肠杆菌的抑制作用。这种针对不同受试菌的选择性，与环境因素诱导冠突散囊菌代谢通路改变，产生差异系显著的抑菌物质谱密切相关[18]。本研究中碳氮源种类与浓度对金花菌抑菌谱的调控效应，亦可通过微生物代谢流分配理论得到合理解释。碳氮比(C/N 比)作为真菌代谢调控的核心参数，其变化直接影响初级代谢向次级代谢的转换效率：当仅调节氮源浓度时，金花菌碳代谢流主要用于菌丝生长等初级代谢，仅合成针对金黄色葡萄球菌与藤黄微球菌的特异性抑菌物质；而优化碳源比例后，过量碳源可为次级代谢提供充足前体物质(如乙酰-CoA、丙二酸单酰-CoA)，诱导聚酮合酶、非核糖体肽合成酶等关键酶基因表达，促使菌株合成新的抑菌代谢产物，从而拓展至对枯草芽孢杆菌与大肠杆菌的抑制作用。同时，根据文献中有关代谢组学分析可知[19]，适宜碳氮比可促进抑菌活性物质(如酚类、萜类化合物)的协同合成，这为解释本实验中抑菌效果的增强机制提供了直接理论支撑。后续可结合代谢流分析与基因表达谱检测，进一步揭示碳氮源调控抑菌谱的分子机制。

下一步，我们将分离纯化抑菌活性产物，通过微观结构观察、酶活性分析以及非靶向代谢组学分析，深入探讨冠突散囊菌如何响应不同培养条件发挥选择性抑菌作用，并阐明具体的抑菌作用机理。目前的实验数据表明金花菌的抑制效果是可以进行调节的，提示我们可以通过改变培养基的成分，研制出定向抑制目标菌种的金花菌天然防腐剂。金花菌常存在于黑茶类的茯砖茶中，而本研究所采用的基础培养基

为同样适宜金花菌生长的 PDA 培养基, 实验表明改变金花菌培养基的成分, 金花菌发酵液及菌丝提取物的抑制作用具有选择性。据此推测, 若以茯砖茶作为培养基对金花菌进行培养, 同时改变其氮源及碳源, 最终得到的金花菌发酵液与菌丝提取物的抑菌作用是否会更加显著, 而金花菌中起抑制作用的成分是否与茯砖茶中所产生的某种特殊成分有关[20][21], 从而导致了其抑菌作用的选择性, 这些还有待我们后续深入研究。

基金项目

湖南省自然科学基金(2025JJ50168), 益阳市科技创新计划项目(益财教指〔2023〕102 号), 湖南省大学生创新创业训练计划项目(S202411527072, S202411527029, S202511527045)。

参考文献

- [1] 张彤, 杨忠仁, 张凤兰. 食品天然防腐剂及其应用研究进展[J]. 中国调味品, 2024, 49(4): 206-211, 220.
- [2] 杨连战, 李言, 钱海峰, 等. 植物源天然防腐剂应用及抑菌机理研究现状[J]. 食品与发酵工业, 2021, 47(1): 303-308.
- [3] 温琼英, 刘素纯. 茯砖茶发花中优势菌的演变规律[J]. 茶叶科学, 1991, 11(S1): 56-62.
- [4] 赵楠楠, 石琳琳, 罗娟, 等. 冠突散囊菌及其次级代谢产物研究进展[J]. 食品研究与开发, 2024, 45(3): 208-212.
- [5] Keller, A.C., Weir, T.L., Broeckling, C.D. and Ryan, E.P. (2013) Antibacterial Activity and Phytochemical Profile of Fermented *Camellia sinensis* (Fuzhuan Tea). *Food Research International*, **53**, 945-949. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2013.04.023>
- [6] Du, F., Li, X., Li, X., Zhu, L. and Wang, B. (2017) Indole diketopiperazine Alkaloids from *Eurotium cristatum* EN-220, an Endophytic Fungus Isolated from the Marine Alga *Sargassum thunbergii*. *Marine Drugs*, **15**, Article 24. <https://doi.org/10.3390/md15020024>
- [7] 覃金球, 罗美玲, 张旋, 等. 冠突散囊菌医药价值研究进展[J]. 食品工业科技, 2018, 39(24): 336-339.
- [8] 张浩, 李华, 莫海珍. 天然发酵茯砖茶微生物菌群及抗菌特性研究(英文) [J]. 食品科学, 2010, 31(21): 293-297.
- [9] 鲁晓晴, 王斌, 阎志勇. 茶叶水浸液对口腔致病菌抑菌效果的研究[J]. 中国消毒学杂志. 2009, 26(1): 25-27.
- [10] 李佳莲, 胡博涵, 赵勇彪, 等. 冠突散囊菌发酵液的抑菌作用[J]. 食品科学, 2011, 32(11): 157-160.
- [11] 张芳芳, 刘飞, 袁超, 等. 冠突散囊菌发酵产物的抑菌作用及特性研究[J]. 食品与药品, 2019, 21(1): 62-65.
- [12] 肖晗汕, 李滔滔, 汤涵, 等. 冠突散囊菌繁殖体提取物抑菌活性研究[J]. 食品与发酵工业, 2020, 46(14): 65-69.
- [13] 汤涵, 李滔滔, 汪无忌, 等. 破壁方式对冠突散囊菌有性繁殖体提取物抑菌活性的影响[J]. 食品与生物技术学报, 2021, 40(9): 26-32.
- [14] 张来, 曾云燕, 李倩, 等. 冠突散囊菌菌丝提取物抑菌活性研究[J]. 食品安全导刊, 2023(2): 107-110.
- [15] 彭晓赟, 梁法亮, 李冬利, 等. 茯砖茶中冠突散囊菌的次级代谢产物及其生物活性研究[J]. 中草药, 2013, 44(14): 1881-1886.
- [16] 张雯, 王明钰, 尤静观, 等. 冠突散囊菌抑菌产物培养基优化及分离鉴定[J]. 中国食品学报, 2022, 22(2): 345-356.
- [17] 张月, 崔旋旋, 刘英学, 等. 茯砖茶中冠突散囊菌的分离鉴定及其发酵工艺和生物活性研究[J]. 食品与发酵工业, 2020, 46(22): 202-207.
- [18] 张雯, 王梅婷, 王明钰, 等. 冠突散囊菌胞内提取物抑制恶臭假单胞菌的作用机制[J]. 食品科学, 2023, 44(7): 57-64.
- [19] Spégel, P. and Mulder, H. (2020) Metabolomics Analysis of Nutrient Metabolism in β -Cells. *Journal of Molecular Biology*, **432**, 1429-1445. <https://doi.org/10.1016/j.jmb.2019.07.020>
- [20] 傅冬和, 刘仲华, 黄建安, 等. 茯砖茶加工过程中主要化学成分的变化[J]. 食品科学, 2008(2): 64-67.
- [21] 段洁, 孙敏, 付玉婷, 等. 基于非靶向代谢组学分析茯砖茶发花过程代谢产物变化[J]. 现代食品科技, 2022, 38(12): 212-222.