芳香植物精油对食品常见腐败微生物抗菌活性的研究

吴克刚，崔绮嫦，董艳，马海杰，魏浩

（广东工业大学轻工化工学院食品科学与工程系，广东广州 510006）

摘要：通过测定抑菌圈直径大小了解食品常见腐败微生物对12种芳香植物精油的抗菌敏感性，进一步测定最低抑菌浓度、最小杀菌浓度分析食用芳香植物精油抗菌活性。试验表明：食品常见腐败微生物对植物精油表现出不同的敏感性，特别是枯草芽孢杆菌对植物精油抗菌敏感性最强；综合抗菌活性最好的是牛至和百里香精油，浓度达到250 μL/L时表现出广谱抗菌性，但肉桂精油对真菌有更好的抗菌活性；采用棋盘稀释法进一步研究植物精油间协同增效效果，发现牛至-百里香复配表现出显著的相加效果；气-质联用仪分析了牛至、百里香和肉桂精油的主要抗菌成分香芹酚、百里香酚和反式肉桂醛等的含量。研究可为食用植物精油作为“高效、安全”的防腐保鲜剂应用于食品领域提供了理论依据。

关键词：精油；食品腐败微生物；抗菌活性；保鲜

文章篇号：1673-9078(2017)4-120-127 DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2017.4.019

Antimicrobial Effects of Edible Plant Essential Oils on Common Food Spoilage Microorganisms

WU Ke-gang, CUI Qi-chang, DONG Yan, MA Hai-jie, WEI Hao

(Department of Food Science and Engineering, Faculty of Chemical Engineering and Light Industry, Guangdong University of Technology, Guangzhou 510006, China)

Abstract: The antimicrobial susceptibilities of common food spoilage microorganisms to twelve edible plant essential oils were investigated by measuring zones of inhibition, and establishing a minimum inhibitory concentration (MIC) and minimum bactericidal concentration (MBC) for each oil. The results showed that the food spoilage microorganisms exhibited different susceptibilities to the twelve essential oils, and *Bacillus subtilis* was the most susceptible. Oregano oil and thyme oil had the highest overall antimicrobial activity and exhibited a broad spectrum of antibacterial activity at a concentration of 250 μL/L. However, cinnamon oil showed better antifungal activity. The checkerboard method was then used to investigate the synergistic effect between essential oils. The combination of oregano oil and thyme oil showed an additive effect against all selected microorganisms. In addition, gas chromatography-mass spectrometry (GC/MS) was used to investigate the contents of the main antimicrobial components, including carvacrol, thymol, and *trans*-cinnamaldehyde, in oregano oil, thyme oil, and cinnamon oil. The results from this study provide a theoretical basis for the application of edible plant essential oils in the food industry as a highly efficient and safe preservative.

Key words: essential oils; food spoilage microorganisms; antimicrobial activity; preservation

防腐保鲜在现代食品工业中的地位越来越重要，据估计，全世界每年因腐败而造成的食物损失高达20%，造成了巨大经济损失。其中，微生物导致的食品腐败变质最为严重，更为可怕的是许多腐败微生物同时也是食源性致病菌[1,2]。此外，腐败微生物还会产生有毒代谢产物。使用防腐保鲜剂已成为防止食品腐败变质、保持新鲜、延长货架期以及确保食品质量安全的一种最为方便、经济、有效的手段，特别是化学合成防腐剂以其使用方便、添加量少、成本低廉和效果显著等优点而被广泛应用。但是化学合成防腐剂的潜在毒性(诱癌性、致畸性和致突变)使其在防腐确保食品安全的同时带来了新的食品安全问题[2]。天然防腐剂虽然安全性高，但消费者依然理解为食品添加剂，特别是对非食源性天然防腐剂的安全性仍存疑虑。因此，发展“无防”（无添加防腐剂）食品防腐保鲜技术

收稿日期：2016-06-15

基金项目：广东省科技计划项目（2014B020205005、2015B020204002、2013B090600051）；国家科技支撑计划（2015BAD16B08）

作者简介：吴克刚（1967-），男，博士，教授，主要从事食药植物精油在健康卫生领域的应用研究

十分必要。许多食用安全的食物组分，如壳聚糖、溶菌酶、乳链菌肽和香辛料等具有抗菌活性，合理、巧妙利用食物抗菌成分是发展“无防”食品保鲜技术的一个重要方向。食用芳香植物精油常作为食用香辛料，是一般公认为安全的(Generally recognized as safe，GRAS)，大量研究表明，植物精油具有广谱的抗菌活性，多种植物精油联合使用不仅可提升抗菌活性，还可拓宽抗菌谱，使其食品中用量降低、减少对食品风味的影响[2,3]。本文研究了 12 种食用芳香植物精油对食品常见腐败微生物的抗菌活性，基于植物精油间协同效应复配，并进一步分析其抗菌活性成分，为植物精油作为食品“高效、安全、广谱”的“无防”防腐保鲜提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料

供试菌种：枯草芽孢杆菌(*Bacillus subtilis* ATCC 6633)、大肠杆菌(*Escherichia coli* ATCC 25922)、金黄色葡萄球菌(*Staphylococcus aureus* ATCC 25923)、黑曲霉(*Aspergillus niger* ATCC 16404)、黄曲霉(*Aspergillus flavus* ATCC 9643)、桔青霉(*Penicillium citrinum* ATCC 9849)和酿酒酵母菌(*Saccharomyces cerevisiae* GIM 2.207)，均购自广东省微生物研究所。

牛至精油 XP-3I-NZ01、百里香精油 XP-3I-BLX01、肉桂精油 XP-3I-RG03、丁香精油 XP-3I-DX02、山苍子精油 XP-3I-SCZ04、迷迭香精油 XP-3I-MDX01、茴香精油 XP-3I-HX02、茶树精油 XP-3I-CS01、桉叶精油 XP-3I-AY01、香柠檬精油 XP-3I-XLM01、香紫苏精油 XP-3I-XZS01 和鼠尾草精油 XP-3I-SWC01 均为食用级，由香飘万里-三创联盟团队提供。

营养琼脂培养基、营养肉汤、孟加拉红培养基、霉菌液体培养基，购自广东环凯微生物科技有限公司；无水乙醇为分析纯。

1.2 实验方法

1.2.1 菌种活化和菌悬液/孢子悬液的制备

采用麦氏比浊法制备菌悬液(细菌 10^7 CFU/mL，酵母菌 10^5 CFU/mL)；采用活菌平板计数法统计孢子数以制备 10^5 CFU/mL 孢子悬液，4 ℃中保存不超过 7 d，备用。

1.2.2 食品腐败微生物对植物精油抗菌敏感性的研究

参考张忠等[4]的琼脂孔注入法测定抑菌圈直径。培养皿(d=9 cm)中加入 16 mL 培养基，凝固后加 100 μL 菌悬液/孢子悬液，涂布，在平板上等距离地打两个小孔(d=5 mm)，剔去孔内琼脂并用琼脂溶液封底。一个孔内加入 10 μL 纯精油，以等量的无菌水作空白对照。重复 2 次，以十字交叉法测量抑菌圈直径并求平均值。抑菌圈直径>20 mm 为最敏感，10 mm~20 mm 为中度敏感，5 mm~10 mm 为低度敏感，无抑制作用者(≤5 mm)为不敏感，结果以敏感性棋盘示意图表示。

1.2.3 植物精油对食品腐败微生物抗菌活性的研究

采用液体直接接触法测定最低抑菌浓度(Minimum inhibitory concentration，MIC)和最小杀菌浓度(Minimum bactericidal concentration，MBC)。在 5 mL 肉汤中加入 100 μL 菌悬液/孢子悬液，无水乙醇稀释制得 10%精油溶液，添加不同量的 10%精油溶液使其在肉汤中的浓度为 31.25 μL/L~2000 μL/L，以无水乙醇作空白对照，196 r/min 恒温振荡器中培养，观察肉汤浑浊情况；目测肉汤不变浑浊所对应的精油浓度为最低抑菌浓度(MIC 值)；最小杀菌浓度(MBC)为在 MIC 基础上吸取 100 μL 肉汤进行涂布，培养后完全无菌生长所对应的最低精油浓度。实验重复 3 次。

1.2.4 植物精油联合抗菌效果评价

参照 Fei Lv 等[5]的棋盘稀释法，根据抑菌圈直径及 MIC 的测定结果，对抗菌效果明显的植物精油进行联合抗菌实验。培养后，以测定 MBC 的方法进行检验。实验重复 3 次。以分级抑菌浓度(Fractional inhibitory concentration，FIC)指数作为联合抗菌效果判定依据。

1.2.5 植物精油 GC-MS 分析

参照 Martin Zabka 等[6]的方法进行检测。

2 结果与讨论

2.1 食品腐败微生物对植物精油抗菌敏感性的研究

采用抑菌圈大小评价 7 种食品常见腐败微生物对 12 种植物精油的抗菌敏感性，结果见表 1。根据敏感性棋盘示意图，供试菌种对 12 种植物精油表现出不同的敏感性，其中革兰氏阳性菌（枯草芽孢杆菌、金黄色葡萄球菌）对植物精油的敏感性要大于革兰氏阴性菌（大肠杆菌），这是因为革兰氏阴性菌细胞壁外侧的脂多糖能够阻止疏水性化合物进入菌体细胞体内，从而降低了植物精油的抗菌效果[5]；就真菌而言，酵母菌对精油较为敏感，其次是青霉，曲霉敏感性稍差一

些，这与吴慧清[7]的研究结果基本相符。值得注意的是，枯草芽孢杆菌(G^+)作为热力、高压和电离灭菌的指示菌，对 12 种植物精油均较为敏感，这为植物精油应用于食品非热杀菌领域提供了基础依据。

表 1 供试菌种对 12 种植物精油的抗菌敏感性

Table 1 Antimicrobial susceptibility of the tested microorganisms to twelve essential oils

纯精油/μL	抑菌圈直径/mm						
	革兰氏阴性	革兰氏阳性		真菌			
	大肠杆菌	枯草芽孢	金黄色葡萄球菌	酿酒酵母	黑曲霉	黄曲霉	桔青霉
牛至油	24.80±0.60	>80.00±0.30	30.30±0.60	>80.00±0.10	38.50±1.80	>80.00±1.40	>80.00±1.00
百里香油	25.00±0.80	>80.00±0.30	>80.00±1.00	>80.00±0.70	>80.00±0.10	>80.00±0.90	>80.00±0.90
肉桂油	23.00±1.00	35.00±0.80	30.00±0.10	>80.00±0.50	23.00±1.70	>80.00±1.00	>80.00±0.50
山苍子油	5.00±0.10	>80.00±0.20	11.50±0.60	18.50±1.00	18.00±1.60	>80.00±1.10	>80.00±0.30
丁香油	13.00±1.30	21.00±0.80	14.00±0.80	29.50±1.00	31.50±1.80	29.50±1.00	38.80±1.70
茴香油	5.00±0.10	11.00±0.80	5.00±0.10	10.30±1.00	9.30±1.80	16.50±1.70	>80.00±0.30
茶树油	16.30±1.40	23.50±1.70	21.30±1.70	23.00±1.80	5.00±0.10	6.00±0.10	10.00±1.40
鼠尾草油	8.00±1.00	14.50±1.70	10.50±0.60	17.30±1.30	5.00±0.10	6.00±1.40	5.00±0.10
香紫苏油	9.00±1.30	15.50±1.70	11.00±1.10	15.00±0.80	9.00±1.70	5.00±0.10	10.50±1.00
迷迭香油	19.00±1.00	30.00±0.20	15.00±0.10	12.50±1.30	6.50±1.00	8.30±1.00	14.30±1.00
桉叶油	17.00±1.60	26.50±1.80	20.00±0.80	13.80±1.60	5.00±0.10	5.00±0.10	6.50±1.00
香柠檬油	9.50±1.40	17.50±1.30	14.00±1.80	19.00±0.80	5.00±0.10	8.00±0.10	16.80±1.50
空白对照	5.00±0.10	5.00±0.10	5.00±0.10	5.00±0.10	5.00±0.10	5.00±0.10	5.00±0.10

注：实验结果表示为：抑菌圈直径平均值±标准偏差(3 次实验)，孔径直径(5 mm)包含在测量结果中。抑菌圈直径>20 mm 为最敏感(“■”)，10 mm~20 mm 为中度敏感(“■”)，5 mm~10 mm 为低度敏感(“■”)，≤5 mm 为不敏感(“□”)。

2.2 植物精油对食品腐败微生物抗菌活性研究

为了解各种精油对食品常见腐败微生物的抗菌效果，通过测定每种植物精油的 MIC 和 MBC 对其抗菌效果进行研究，结果见表 2。不同植物精油的抗菌活性差异明显。牛至和百里香对所有供试菌种都有较强的抑制效果，MIC 值均为 250 μL/L，表现出广谱的抗菌性。Martin Zabka[6]的研究也发现牛至和百里香具有广谱的抗菌活性。但就对真菌而言，肉桂表现出更为强烈的抗真菌活性。植物精油抗菌活性的差异性，与其主要抗菌成分及含量密切相关，如牛至、百里香、肉桂和丁香精油分别含 86.9%香芹酚[6]、60.2%百里香酚[6]、77.35%反式肉桂醛[3]及 80.35%丁香酚[3]，均为高抗菌活性物质。钟少枢等[1]研究表明，百里香酚、肉桂醛、丁香酚和柠檬醛的浓度为 500 μL/L 时，可完全抑制大部分供试菌的生长。

表 2 植物精油对供试菌种的最低抑菌浓度和最小杀菌浓度

Table 2 Minimal inhibitory concentrations and minimum bactericidal concentrations of twelve essential oils against the tested microorganisms (μL/L)

精油/(μL/L)	大肠杆菌		枯草芽孢杆菌		金黄葡萄球菌		酿酒酵母菌	
	MIC	MBC	MIC	MBC	MIC	MBC	MIC	MBC
牛至油	250	250	125	125	250	250	250	250
百里香油	250	500	125	125	250	250	250	250
肉桂油	250	500	250	500	250	700	62.5	125
山苍子油	1000	1500	125	500	250	1000	500	500
丁香油	700	1000	500	500	500	1000	500	700
茴香油	500	>2000	500	1000	>2000	>2000	250	1500
茶树油	>2000	>2000	2000	>2000	700	2000	1000	1000
鼠尾草油	>2000	>2000	500	700	1000	>2000	1000	1500

转下页

接上页

香紫苏油	>2000	>2000	250	500	500	>2000	1000	1500
迷迭香油	>2000	>2000	1500	2000	500	2000	500	1000
桉叶油	>2000	>2000	2000	2000	500	700	1500	1500
香柠檬油	>2000	>2000	500	700	1000	>2000	700	1000
无水乙醇	>2000	>2000	>2000	>2000	>2000	>2000	>2000	>2000

精油/(μL/L)	黑曲菌		黄曲霉		桔青霉	
	MIC	MBC	MIC	MBC	MIC	MBC
牛至油	250	700	250	500	250	250
百里香油	250	700	250	500	250	250
肉桂油	125	500	125	700	125	250
山苍子油	500	700	500	1000	500	500
丁香油	500	2000	700	1500	500	1000
茴香油	125	>2000	250	>2000	125	2000
茶树油	>2000	>2000	>2000	>2000	1500	2000
鼠尾草油	>2000	>2000	>2000	>2000	2000	2000
香紫苏油	>2000	>2000	>2000	2000	1500	2000
迷迭香油	>2000	>2000	>2000	>2000	2000	2000
桉叶油	>2000	>2000	>2000	>2000	2000	2000
香柠檬油	>2000	>2000	>2000	>2000	1500	2000
无水乙醇	>2000	>2000	>2000	>2000	>2000	>2000

2.3 植物精油联合抑菌效果的研究

根据抑菌圈直径及 MIC，采用棋盘稀释法对 7 种供试菌种抑菌效果明显的牛至、百里香和肉桂精油进行联合抑菌效果研究，并以 FICI 值进行效果评价。结果见表 3。与单一精油相比，三种复配精油组合对部分菌种的 MIC 值均有所下降，其中牛至-百里香组合物对所有菌种的 FICI 值均≤1，表现出相加作用，这与香芹酚和百里香酚互为异构体，具有相似的抗菌性能有关[8]。对于枯草芽孢杆菌，作为高温灭菌的指示菌，牛至-百里香组合物表现为最优的相加作用，FICI 值为 0.5。Ultee A.[9]研究表明，牛至和百里香精油中的香芹酚，可使枯草芽孢杆菌细胞膜中脂肪酸的比例和结构发生改变，从而降低其细胞膜的流动性。复配精油联合抑菌的差异性可能与不同植物精油间主要成分含量和作用靶点(生物途径和酶系统等)不同有关[8]。

表 3 复配植物精油对供试菌种的 FIC 指数(FICI)

Table 3 FIC indices (FICI) of the mixed essential oils against the tested microorganisms

供试菌种	相关指数	牛至-百里香		牛至-肉桂		肉桂-百里香	
		牛至	百里香	牛至	肉桂	肉桂	百里香
大肠杆菌	MIC 单独	250	250	250	250	250	250
	MIC 联合	125	62.5	125	125	250	15.63
	FIC	0.5	0.25	0.5	0.5	1	0.06
	FICI	0.75(A)		1(A)		1.06(I)	
枯草芽孢杆菌	MIC 单独	125	125	125	250	250	125
	MIC 联合	31.25	31.25	31.25	125	125	62.5
	FIC	0.25	0.25	0.25	0.5	0.5	0.5
	FICI	0.5(A)		0.75(A)		1(A)	
金黄色葡萄球菌	MIC 单独	250	250	250	250	250	250
	MIC 联合	125	31.25	15.63	250	250	15.63
	FIC	0.5	0.125	0.06	1	1	0.06

转下页

接上页

	FICI	0.625(A)		1.06(I)		1.06(I)	
酿酒酵母	MIC 单独	250	250	250	62.5	62.5	250
	MIC 联合	125	62.5	15.63	62.5	62.5	15.63
	FIC	0.5	0.25	0.06	1	1	0.06
	FICI	0.75(A)		1.06(I)		1.06(I)	
黑曲霉	MIC 单独	250	250	250	125	125	250
	MIC 联合	125	62.5	15.63	125	125	15.63
	FIC	0.5	0.25	0.06	1	1	0.06
	FICI	0.75(A)		1.06(I)		1.06(I)	
黄曲霉	MIC 单独	250	250	250	125	125	250
	MIC 联合	125	125	15.63	125	125	15.63
	FIC	0.5	0.5	0.06	1	1	0.06
	FICI	1(A)		1.06(I)		1.06(I)	
桔青霉	MIC 单独	250	250	250	125	125	250
	MIC 联合	62.5	125	125	31.25	125	15.63
	FIC	0.25	0.5	0.5	0.25	1	0.06
	FICI	0.75(A)		0.75(A)		1.06(I)	

注：S 代表协同作用(synergy，FICI<0.5)；A 代表相加作用(addition，0.5≤FICI≤1)；I 代表无关作用(indifference，1<FIC≤4)；AN 代表拮抗作用(antagonism，FIC>4)。

当肉桂与牛至或百里香精油复配时，对大部分菌种均无协同增效作用，与 J. Michiels[10]的研究相吻合，仅有香芹酚与百里香酚重组时具有相加效果。戴向荣[11]的研究表明，肉桂醛能通过损伤黄曲霉细胞质膜而进入细胞内，使胞内大分子空间结构改变和有序的新陈代谢被破坏，抑制黄曲霉的生长。Bhanu Prakash[12]认为香芹酚和百里香酚等酚类化合物能与细胞膜相互作用，消散 H^+和 K^+的离子梯度，渗漏细胞膜内的重要组成成分，导致水分失衡，胞内 ATP 浓度降低甚至耗尽，最终细胞死亡。因此，可能是肉桂醛与香芹酚或百里香酚的作用机理不同等因素，导致植物精油间未能出现协同抗菌效果。

2.4 植物精油抗菌成分分析

2.4.1 牛至精油的 GC/MS 分析

牛至精油的成分测定总离子图共显示出 22 个峰(图 1)，鉴定出 18 种挥发性化合物(表 4)，占该精油总相对含量的 96.80%。其中相对含量较高的化学成分有香芹酚(63.35%)、*ρ*-伞花烃(9.35%)、芳樟醇(4.70%)、*γ*-松油烯(3.88%)、癸酸乙酯(2.71%)、喇叭茶醇(2.05%)、*α*-蒎烯(1.80%)、*β*-甜没药烯(1.42%)、百里香酚(1.39%)和月桂烯(1.30%)，共占总化学成分含量的 91.95%。这实验结果与 Bozen B.[13]报道的存在较大差异，香芹酚和百里香酚的含量分别为 61.3%和 13.9%，这可能与品种、产地、萃取的植物部位及采集时间等不同有关。

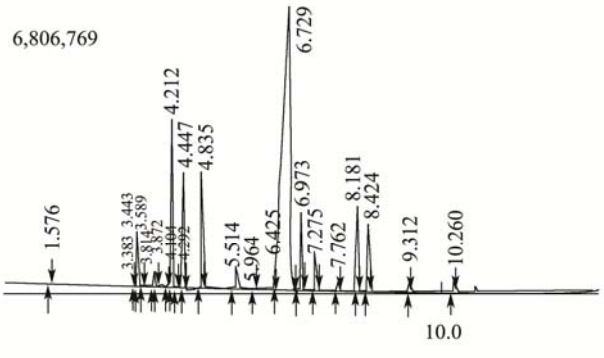


图 1 牛至精油化学成分的总离子流图

Fig.1 Total ion chromatogram of the chemical components of oregano oil

表 4 牛至精油化学成分分析

Table 4 Analysis of the chemical components of oregano oil

编号	保留时间/min	化合物	分子式	分子量 Mr	相对含量/%	相似度/%
1	3.383	*α*-水芹烯(*α*-Phellandrene)	$C_{10}H_{16}$	136	0.24	89
2	3.443	*α*-蒎烯(*α*-Pinene)	$C_{10}H_{16}$	136	1.80	93

转下页

接上页

3	3.589	莰烯(Camphene)	$C_{10}H_{16}$	136	0.45	91
4	3.814	β-蒎烯(β-Pinene)	$C_{10}H_{16}$	136	0.38	94
5	3.872	月桂烯(Myrcene)	$C_{10}H_{16}$	136	1.30	92
6	4.104	α-松油烯(α-Terpinene)	$C_{10}H_{16}$	136	0.69	92
7	4.212	ρ-伞花烃(ρ-Cymene)	$C_{10}H_{14}$	134	9.35	95
8	4.292	桉叶油醇(Cineole)	$C_{10}H_{18}O$	154	0.16	81
9	4.447	γ-松油烯(γ-Terpinene)	$C_{10}H_{16}$	136	3.88	95
10	4.835	芳樟醇(Linalool)	$C_{10}H_{18}O$	154	4.70	92
11	5.514	辛酸乙酯(Ethyl caprylate)	$C_{10}H_{20}O_2$	172	0.15	82
12	5.964	6-叔丁基间甲酚(6-tert-butyl-m-cresol)	$C_{11}H_{16}O$	164	0.14	78
13	6.425	百里香酚(Thymol)	$C_{10}H_{14}O$	150	1.39	86
14	6.729	香芹酚(Carvacrol)	$C_{10}H_{14}O$	150	63.35	94
15	6.973	癸酸乙酯(Ethyl caprate)	$C_{12}H_{24}O_2$	200	2.45	93
16	7.275	β-甜没药烯(β-Bisabolene)	$C_{15}H_{24}$	204	1.42	83
17	7.762	(E)-β-法呢烯 (E)-β-Farnesene	$C_{15}H_{24}$	204	0.19	83
18	8.181	癸酸乙酯(Ethyl caprate)	$C_{12}H_{24}O_2$	200	2.71	91
19	8.424	喇叭茶醇(Ledol)	$C_{15}H_{26}O$	222	2.05	82
	总计				96.80	

2.4.2 百里香精油的 GC/MS 分析

百里香精油的成分测定总离子图共显示出 39 个峰(图 2)，鉴定出 26 种挥发性化合物(表 5)，其含量占该精油相对含量的 96.13%。其中相对含量较高的成分有百里香酚(54.57%)、ρ-伞花烃(14.55%)、γ-松油烯(12.78%)、癸酸乙酯(4.28%)、月桂酸乙酯(1.99%)、α-毕橙茄醇(1.73%)、辛酸乙酯(1.33%)，共占总化学成分含量的 91.23%。与 Arraiza[14]报道的大致相同，百里香主要成分为百里香酚(36.3~47.5%)、ρ-伞花烃(9.9~27.8%)和 γ-松油烯(5.3~16.2%)。

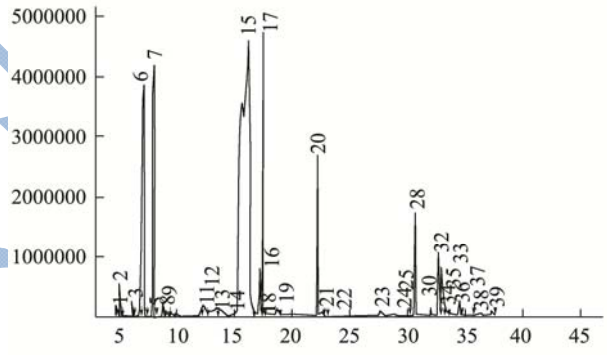


图 2 百里香精油化学成分的总离子流图

Fig.2 Total ion chromatogram of the chemical components of thyme oil

表 5 百里香精油化学成分分析

Table 5 Analysis of the chemical components of thyme oil

编号	保留时间/min	化合物	分子式	分子量 Mr	相对含量/%	相似度/%
1	4.767	α-蒎烯(α-Pinene)	$C_{10}H_{16}$	136	0.10	94
2	5.090	莰烯(Camphene)	$C_{10}H_{16}$	136	0.55	97
3	6.161	月桂烯(Myrcene)	$C_{10}H_{16}$	136	0.24	94
4	6.645	β-蒎烯(β-Pinene)	$C_{10}H_{16}$	136	0.04	91
5	6.775	α-松油烯(α-Terpinene)	$C_{10}H_{16}$	136	0.16	93
6	7.149	ρ-伞花烃(ρ-Cymene)	$C_{10}H_{14}$	134	14.55	95
7	8.114	γ-松油烯(γ-Terpinene)	$C_{10}H_{16}$	136	12.78	96
8	8.837	萜品油烯(Terpinolene)	$C_{10}H_{16}$	136	0.15	94
9	9.066	4-异丙烯基甲苯(4-Isopropenyltoluene)	$C_{10}H_{12}$	132	0.05	91
10	9.298	庚酸乙酯(ethyl heptanoate)	$C_9H_{18}O_2$	158	0.06	92

转下页

接上页

11	12.123	己酸乙酯(ethyl hexanoate)	$C_8H_{16}O_2$	144	0.30	84
12	12.351	4-烯丙基苯甲醚(4-Allylanisole)	$C_{10}H_{12}O$	148	0.61	89
13	13.428	辛酸乙酯(ethyl octanoate)	$C_{10}H_{20}O_2$	172	1.33	92
14	13.889	α-松油醇(α-Terpineol)	$C_{10}H_{18}O$	154	0.58	84
15	16.291	百里香酚(Thymol)	$C_{10}H_{14}O$	150	54.57	95
16	17.211	丁子香酚(Eugenol)	$C_{10}H_{12}O_2$	164	0.94	90
17	17.534	癸酸乙酯(ethyl caprate)	$C_{12}H_{24}O_2$	200	4.28	96
18	17.725	β-大马烯酮(β-Damascenone)	$C_{13}H_{18}O$	190	0.03	83
19	18.762	β-紫罗兰酮(β-Ionone)	$C_{13}H_{20}O$	192	0.21	79
20	22.162	月桂酸乙酯(ethyl laurate)	$C_{14}H_{28}O_2$	228	1.99	92
21	22.643	氧化石竹烯(-)-caryophyllene oxide	$C_{15}H_{24}O$	220	0.06	82
22	22.995	邻苯二甲酸二乙酯(Diethyl phthalate)	$C_{12}H_{14}O_4$	222	0.06	88
23	27.580	6,10-二甲基-2-十一烷酮(6,10-diethyl-2-undecanone)	$C_{13}H_{26}O$	198	0.08	92
24	32.880	α-毕橙茄醇(α-Cadinol)	$C_{15}H_{26}O$	222	1.73	85
25	33.175	反-长叶松香芹醇(trans-longipinocarveol)	$C_{15}H_{24}O$	220	0.45	63
26	37.271	2-异丙基-5-甲基茴香醚(2-isoproryl-5-methyl anisole)	$C_{11}H_{16}O$	164	0.23	72
	总计				96.13	

2.4.3 肉桂精油的 GC/MS 分析

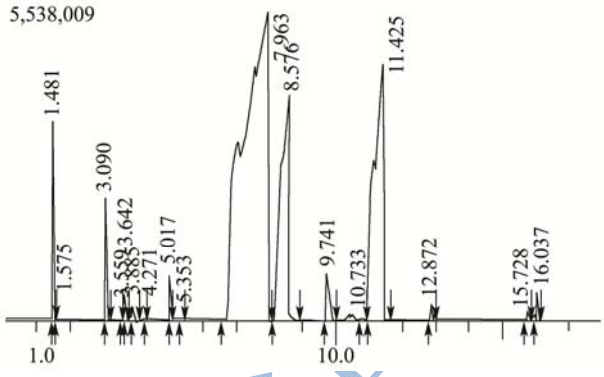


图 3 肉桂精油化学成分的总离子流图

Fig.3 Total ion chromatogram of the chemical components of cinnamon oil

肉桂精油的成分测定总离子图共显示出 17 个峰(图 3)，鉴定出 15 种挥发性化合物(表 6)，占该精油总相对含量的 98.73%。其中相对含量较高的成分有反式肉桂醛(60.42%)、邻苯二甲酸二乙酯(19.39%)、丁香酚(15.04%)、氧化石竹烯(1.16%)，占该精油总相对含量的 96.01%。与 LU Fei[3]的报道存在较大差别，主要成分为反式肉桂醛(77.348%)、肉桂酸肉桂酯(13.999%)和肉桂酸苄酯(1.377%)，这可能与品种及产地等不同有关。

经 GC-MS 分析鉴定的牛至、百里香和肉桂精油，主要化学成分均为酚类、醛类、萜烯类和醇酯类物质。酚、醛类物质是香辛料精油中最具有抗菌活性的成分，其中以百里香酚、香芹酚和丁香酚效果最佳，这三种化合物为具有抗菌活性苯酚的衍生物。

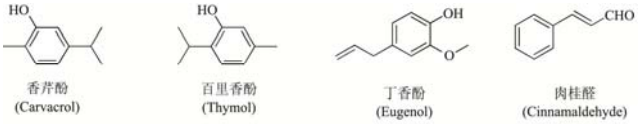


图 4 几种抗菌活性成分的结构示意图

Fig.4 Chemical structures of several antimicrobial components

表 6 肉桂精油化学成分分析

Table 6 Analysis of the chemical components of cinnamon oil

编号	保留时间	化合物	分子式	分子量 Mr	相对含量/%	相似度/%
1	1.575	乙酸乙酯(Ethyl acetate)	$C_4H_8O_2$	88	0.01	93
2	3.090	3-蒈烯(3-Carene)	$C_{10}H_{16}$	136	0.07	83
3	3.559	α-蒎烯(α-Pinene)	$C_{10}H_{16}$	136	0.25	83
4	3.642	苯甲醛(Benzaldehyde)	C_7H_6O	106	0.92	97
5	3.885	(-)-柠檬烯(-)-Limonene	$C_{10}H_{16}$	136	0.12	93
6	4.271	桉叶油醇(Cineole)	$C_{10}H_{18}O$	154	0.52	92
7	5.017	苯甲醇(Benzyl alcohol)	C_7H_8O	108	0.23	90

转下页

接上页

8	5.535	甲酸苯甲酯(Benzyl formate)	$C_8H_8O_2$	136	0.01	88
9	7.963	樟脑(L-Camphor)	$C_{10}H_{16}O$	152	0.38	97
10	8.576	苯甲酸乙酯(Ethyl benzoate)	$C_9H_{10}O_2$	150	0.04	84
11	9.741	反式肉桂醛(trans-Cinnamaldehyde)	C_9H_8O	132	60.42	95
12	10.733	丁香酚(Eugenol)	$C_{10}H_{12}O_2$	164	15.04	94
13	11.425	氧化石竹烯(-)-Caryophyllene oxide	$C_{15}H_{24}O$	220	1.16	88
14	12.872	邻苯二甲酸二乙酯(Diethyl phthalate)	$C_{12}H_{14}O_4$	222	19.39	96
15	15.728	苯甲酸苄酯(Benzyl benzoate)	$C_{14}H_{12}O_2$	212	0.17	94
总计					98.73	

3 结论

12 种食用芳香植物精油对食品常见腐败微生物均有不同程度的抑菌活性。牛至和百里香精油表现出广谱的抗菌性，而肉桂精油表现出更为强烈的抗真菌活性；枯草芽孢杆菌作为高温高压电离的指示菌，对植物精油具有较强的敏感性，且牛至-百里香组合物对其具有强烈的抗菌活性，这为植物精油应用于食品非热杀菌领域提供了基础依据。通过气相色谱-质谱联用仪分析鉴定出牛至和百里香、肉桂精油的主要成分分别为香芹酚、百里香酚、反式肉桂醛，是香辛料精油中最具有抗菌活性的成分。几种植物精油间进行重组能有效减少用量，降低成本，降低对食品感官品质的影响，提高对食品腐败微生物的抗菌活性，进一步研究不同植物精油在食品体系中抗菌作用，可为植物精油作为“高效、安全、广谱”的无防保鲜剂应用于食品领域中。

参考文献

[1] 钟少枢,吴克刚,柴向华,等.七种单离食用香料对食品腐败菌抑菌活性的研究[J].食品工业科技,2009,5(30):68-71
ZHONG Shao-shu, WU Ke-gang, CHAI Xiang-hua, et al. Study on bacteriostasis of seven isolate spices to food spoilage organisms [J]. Science and Technology of Food Industry, 2009, 5(30): 68-71

[2] Bruin S, Jongen Th R G. Food process engineering: the last 25 years and challenges ahead [J]. *Comprehens* Rev. Food Sci. Food Safety, 2003, 2(2): 42-54

[3] LU Fei, DING Yi-cheng, YE Xing-qian, et al. Antibacterial effect of cinnamon oil combined with thyme or clove oil [J]. Agricultural Sciences in China, 2011, 10(9): 1482-1487

[4] 张忠,李科伟,毕阳,等.两种兔耳草提取物的体外抑菌作用[J].食品工业科技,2012,33(9):62-68
ZHANG Zhong, LI Ke-wei, BI Yang, et al. Activity of extracts from two kinds of Lagotises against microorganisms *in vitro* [J]. Science and Technology of Food Industry, 2012, 33(9): 62-68

[5] Fei Lv, Hao Liang, Qi-peng Yuan, et al. *In vitro* antimicrobial effects and mechanism of action of selected plant essential oil combinations against four food-related microorganisms [J]. Food Research International, 2011, 44(9): 3057-3064

[6] Martin Zabka, Roman Pavela, Evzenie Prokinova. Antifungal activity and chemical composition of twenty essential oils against significant indoor and outdoor toxigenic and aeroallergenic fungi [J]. Chemosphere, 2014, 112(112): 443-448

[7] 吴慧清,吴清平,石立三,等.植物精油对微生物的抑菌效果评估研究[J].食品科学,2008,29(12):83-86
WU Hui-qing, WU Qing-ping, SHI Li-san, et al. Study on inhibitory effects of plant essential oils against microorganisms [J]. Food Science, 2008, 29(12): 83-86

[8] Santiesteban-Lopez A, Palou E, Lopez-Malo A. Susceptibility of food-borne bacteria to binary combinations of antimicrobials at selected a_w and pH [J]. Journal of Applied Microbiology, 2007, 102(2): 486-497

[9] Ultee A. Adaptation of the food-borne pathogen *Bacillus cereus* to carvacrol [J]. Arch. Microbiol, 2000, 174(4): 233-238

[10] J Michiels, J Missotten, D Fremaut, et al. In vitro dose-response of carvacrol, thymol, eugenol and trans-cinnamaldehyde and interaction of combinations for the antimicrobial activity against the pig gut flora [J]. Livestock Science, 2007, 109(1-3): 157-160

[11] 戴向荣,蒋立科,罗曼.肉桂醛抑制黄曲霉机理初探[J].食品科学,2008,29(1):36-40
DAI Xiang-rong, JIANG Li-ke, LUO Man. Preliminary study of cinnamaldehyde inhibition on *Aspergillus* flavous [J]. Food Science, 2008, 29(1): 36-40

[12] Bhanu Prakash, Akash Kedia, Prashant Kumar Mishra, et al. Plant essential oils as food preservatives to control moulds,

mycotoxin contamination and oxidative deterioration of agri-food commoditiese potentials and challenges [J]. Food Control, 2015, 47(47): 381-391

[13] Bozen B, Dukic N M, Simin N, et al. Characterization of the volatile composition of essential oils of some *Lamiaceae spices* and the antimicrobial and antioxidant activities of the entire oils [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2006, 54(5): 1822-1828

[14] Arraiza M P, Andres M P, Arrabal C, et al. Seasonal variation of essential oil yield and composition of Thyme (*Thymus vulgaris* L.) grown in castilla-la mancha (Central Spain) [J]. Journal of Essential Oil Research, 2009, 21(4): 360-362

现代食品科技