

# 薄荷精油微乳体系的构建及其抑菌性

陈硕, 徐马俊坤, 张贇彬, 杨晓波, 陈连连, 王一非  
(上海应用技术学院香料香精技术与工程学院, 上海 201418)

**摘要:** 用 GC-MS 对薄荷精油成分进行定量分析, 通过拟三元相图, 研究乙醇、正丙醇和正丁醇分别作为助表面活性剂时, 对薄荷精油-吐温 80-水食品级微乳体系相行为的影响。实验测定微乳液的密度、粒径、pH 值等理化指标, 其在 NYDB 培养基和不同饮料中对酿酒酵母菌的抑菌活性, 通过大肠杆菌细胞膜通透性试验初步探究微乳液对细菌的抑菌机理。结果显示: 薄荷精油主要成分为薄荷醇 (30.67%)、薄荷酮 (26.89%) 等等。乙醇作为助表面活性剂增溶效果最好。配方 ME1 (精油:乙醇=1:1) 和 ME2 (精油:乙醇=1:3) 平均粒径分别为 66.57 nm 和 55.63 nm。ME1 的抑菌活性较强, 在苹果清汁中对酿酒酵母菌的抑制效果最佳, 28 °C 培养 48 h MIC 为 64  $\mu\text{L}/\text{mL}$ 。5 倍稀释 ME1 37 °C 培养 75 min 时大肠杆菌核酸泄漏率为 51.68%。微乳液能通过增加大肠杆菌细胞膜通透性, 使大肠杆菌由于释放核酸而死亡。

**关键词:** 薄荷精油; 微乳液; 果汁; 抑菌;

文章编号: 1673-9078(2014)11-139-144

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2014.11.025

## Construction of a Microemulsion System and the Antibacterial Performance of Peppermint Essential Oil

CHEN Shuo, XUMA Jun-kun, ZHANG Yun-bin, YANG Xiao-bo, CHEN Lian-lian, WANG Yi-fei  
(School of Perfume and Aroma Technology, Shanghai Institute of Technology, Shanghai 201418, China)

**Abstract:** The composition of peppermint essential oil was analyzed by gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS). Using pseudo-ternary phase diagrams, the effect of various cosurfactants (ethanol, *n*-propanol, and *n*-butanol) on the phase behavior of the food-grade microemulsion system for peppermint essential oil using Tween 80-water was studied. In this study, the density, particle size, and pH value of the microemulsion, as well as its antimicrobial activity against *Saccharomyces cerevisiae* in NYDB medium and various drinks, were determined. The mechanism of the antimicrobial action of the microemulsion against *Escherichia coli* was primarily evaluated based on a cell membrane permeability assay. The results showed that the major components of peppermint essential oil were menthol (30.67%), and menthone (26.89%). Ethanol had the best solubilizing effect as a cosurfactant. The average particle sizes for two formulations (ME1, oil/ethanol = 1:1 and ME2, oil/ethanol = 1:3) were 66.57 nm and 55.63 nm, respectively. ME1 had higher antimicrobial activity and a better suppression effect against *S. cerevisiae* in clear apple juice. The minimum bactericidal concentration (MBC) was 64  $\mu\text{L}/\text{mL}$  after cultures were grown at 28 °C for 48 h. When culturing with 5-fold diluted ME1 at 37 °C for 75 min, the leakage of *E. coli* nucleic acids was 51.68%. The microemulsion solution could kill *E. coli* by releasing nucleic acids and increasing the permeability of the *E. coli* cell membrane.

**Key words:** peppermint essential oil; microemulsion; juice; antibacterial

微乳液是一种热力学稳定、透明或者半透明、低粘度、各向同性的分散体系, 粒径在 1~100 nm 之间。微乳液的形成不需要外加功, 体系内各种成分达到匹配时自发形成。微乳液通常有油相、水相、表面活性剂三部分组成, 不仅是重要的微观反应介质<sup>[1]</sup>, 微乳

收稿日期: 2014-05-12

基金项目: 上海市教育委员会科研创新项目 (12YZ166), 上海市科学技术委员会项目 (13120503300)

作者简介: 陈硕 (1989-), 男, 在读研究生, 研究方向: 食品微生物

通讯作者: 王一非 (1981-), 女, 博士, 副教授, 研究方向: 食品微生物与食品保鲜技术研究

液的应用早已渗透到食品和医药等工业。Nokaly 等 1991 年将水溶性香精和增香剂增溶入豆油-水-亚油酸甘油酯微乳体系中, 得到味道好、泡沫少、高温煎炸不会飞溅的微乳食品。王刚等<sup>[2]</sup>用十六酸异丙酯溶解棕榈氯霉素作油相, 卵磷脂和吐温 80 混合作为表面活性剂, 乙醇为助表面活性剂, 制备医药上应用的 O/W 型微乳剂。短链醇作为助表面活性剂, 常用于提高微乳液的增溶能力。2013 年 Michael L 等<sup>[3]</sup>研究了不同的短链醇对脂肪酸甲酯菜籽油生物柴油-油酸钠-水微乳体系的影响, 证明乙醇与表面活性剂结合可以有效的扩展微乳液的单相区域。Hui Zhang 等<sup>[4]</sup>通过研

究短链醇对食品级月桂酸甘油酯-吐温 40 微乳体系相行为的影响,发现乙醇能显著提高该微乳液的增溶能力。

薄荷属是唇形科一年或多年生芳香草本植物。我国现有大约 12 种薄荷属植物,并是薄荷精油生产大国。薄荷精油凉味强,香气强烈而新鲜,香气透发,并且在美容、皮肤、身体、心理、生理等方面有很好的疗效。研究发现薄荷等精油因具有抑菌效果有作为食品防腐剂的可能, Tyagi A K (2012)<sup>[5]</sup>研究了薄荷、柠檬等精油在苹果汁、牛奶等饮料中对不同的酵母菌的抑菌活性,其中薄荷精油在 YPD 肉汤培养基中对 *S.cerevisiae*、*Z.bailii* 的最低抑菌浓度均为 1.13 mg/mL,最低杀菌浓度均为 2.25 mg/mL。Tserennadmid R 等<sup>[6]</sup>发现柠檬等四种纯精油在培养基、青苹果汁和牛奶中对 *Saccharomyces cerevisiae*、*Zygosaccharomyces bailii* 均有显著的抑菌效果。有报道 Espina L 等<sup>[7]</sup>通过研究柠檬、柑橘等精油在果汁中对大肠杆菌的抑菌活性,证实精油可以延长果汁保藏期。目前通过微乳化技术对精油微乳液抑菌活性的研究相对较少。

本文通过拟三元相图研究乙醇、正丙醇和正丁醇等短链醇助表面活性剂对薄荷精油微乳液相行为的影响,对密度和粒径等物理指标进行表征,并测定了薄荷精油微乳液在青苹果汁、红茶、和牛奶饮料中对 *S.cerevisiae* 的最低抑菌浓度 (MIC),并测定微乳液对大肠杆菌细胞膜通透性的影响,初步探究微乳液抑菌机理。为精油微乳液应用于饮料保鲜和食品防腐提供理论参考。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

#### 1.1.1 试剂

薄荷精油购自上海东氏香精香料有限公司;无水乙醇(分析纯)、正丙醇(分析纯)、正丁醇(分析纯)、吐温 80(化学纯)均购自国药集团化学试剂有限公司。

#### 1.1.2 设备与仪器

Agilent 7890A GC/5975C MS 气相色谱-质谱 (GC-MS) 联用仪。JA2003 电子天平,上海天平仪器厂;KQ-50DE 数控型超声波清洗器,昆山超声仪器有限公司;Nano-ZS 纳米粒度仪,英国马尔文仪器有限公司。

#### 1.1.3 微生物

酿酒酵母菌 (*S.cescerevisiae*): 购于中国工业微生物菌种保藏管理中心,在 NYDB 培养基中 28 °C 培

养 48 h, 待用。

菌悬液的制备: 取已活化的酿酒酵母菌悬液 1000  $\mu$ L 加入 9 mL 无菌水中,通过血球板计数法将稀释后的浓度控制在  $10^6\sim 10^7$  cells/mL。

NYDB 液体培养基: 称取酵母浸出物 5 g,葡萄糖 10 g,牛肉膏 8 g 加热溶解于 1000 mL 蒸馏水中,分装,121 °C 高压灭菌 20 min,备用。

## 1.2 方法

### 1.2.1 薄荷精油成分 GC-MS 分析

色谱柱为 Agilent 19091N-136: 260 °C: 60 m  $\times$  250  $\mu$ m  $\times$  0.25  $\mu$ m 石英弹性毛细管柱。载气为高纯氦气,分流比 1:20。升温方式为: 初温 40 °C,保持 1 min; 然后以 4 °C/min 升温至 230 °C,保持 10 min。进样口温度 250 °C,接口温度 250 °C。进样量 1  $\mu$ L/mL。MS 条件为: E1 离子源温度 230 °C,电子轰击能量 70 eV,电子倍增器 1.929 kV; 扫描范围: 40~400 amu,全扫描。经 GC-MS 分析后,将精油各组分质谱数据于 NIST08 库中检索定性,用峰面积归一化法对各成分的含量进行测定。

### 1.2.2 不同短链醇对薄荷精油微乳液相行为的影响

参考 (Zhang 等 2008c)<sup>[8]</sup>,利用拟三元相图描述多组分微乳状液的行为,在食品材料范围内选取能增加表面活性剂的渗透性和降低水的极性的短链醇为助表面活性剂,以薄荷精油为油相,以吐温 80 为表面活性剂来构建食品级薄荷精油微乳体系。

微乳体系制备过程如下: 薄荷精油和不同的短链醇(乙醇、丙醇、丁醇)分别以 1:1 和 1:3 (*m/m*) 的比例混合作为油相,油相和表面活性剂再按不同的质量比混合(对照组的油相为纯精油),超声波处理 30 min 以上,混合均匀后逐滴滴加水相,绘出拟三元相图,选取较长无限稀释线上的点作为后续实验用到的薄荷精油微乳液的配方。

### 1.2.3 薄荷精油微乳液的密度、粒径和稳定性的测定

密度测定: 取微乳液于 10 mL 容量瓶中,通过测其增重并计算样品的密度<sup>[8]</sup>,该实验重复三次。

粒径测定: 用 Nano-ZS 纳米粒度仪测量所选微乳液配方的粒径,实验重复三次。

### 1.2.4 薄荷精油微乳液 pH 值测定

采用 pH 计测定分别添加不同重量比水时 pH 值。

稳定性实验: 将微乳液室温下 4000 g 离心 20 min 观察相态是否分离,28 °C 保存一个月后采用相同方法继续观察相态是否分离。

### 1.2.5 薄荷精油微乳液的最低抑菌浓度

参考 Tserennadmid R 等 (2011)<sup>[5]</sup>, 分别取 34 mL 培养基、红茶、牛奶和青苹果汁于锥形瓶内, 接种一定量的已活化的 *S.cerevisiae* 并调整最终浓度为  $2 \times 10^8$  cells/mL, 向其中加入 6 mL 不同含量的薄荷精油微乳液, 使得薄荷精油微乳液最终含量分别为 128、64、32、16、8、4、2  $\mu$ L/mL, 对照组添加 6 mL 无菌水。28  $^{\circ}$ C 220 r/min 转摇床培养 24 h 或者 48 h。MIC 即为锥形瓶中无肉眼可见的微生物生长的最小浓度。

### 1.2.6 薄荷精油微乳液抑菌机理研究

参照 Carson 等 (2002)<sup>[9]</sup>的方法测试微乳液对细菌细胞膜通透性的破坏程度。将活化的大肠杆菌悬浮于生理盐水, 洗涤两次, 调整菌液浓度为  $2 \times 10^8$  cells/mL, 一组分别与 5 倍稀释、10 倍稀释微乳液混合, 37  $^{\circ}$ C 培养 60 min。另一组与相同量的生理盐水混合作为对照。0.22  $\mu$ L 水膜过滤混合液, 260 nm 下测量吸光度 ( $A_1$ )。以 Triton X-100 代替微乳液, 37  $^{\circ}$ C 培养 60 min 后过滤, 在 260 nm 下测定光密度 ( $A_0$ )。细菌细胞膜通透性的破坏程度以  $A_1/A_0 \times 100\%$  表示。整个试验重复三次。

### 1.2.7 数据统计分析

所有数据都以平均值 (mean)  $\pm$  标准差 (sd) 表示, 应用 SPSS 18.0 统计软件进行数据处理。拟三元相图用 Origin 8.0 作图。

## 2 结果与讨论

### 2.1 薄荷精油化学成分

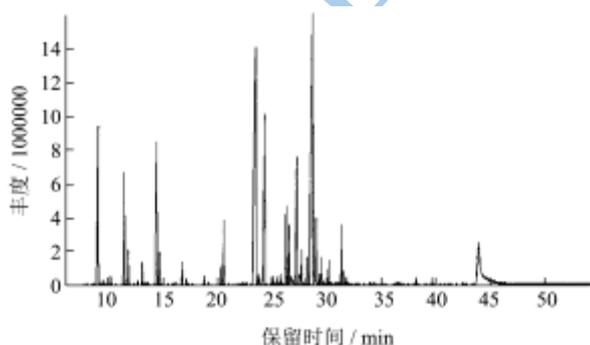


图1 薄荷精油化学成分的 GC-MS 分析

Fig.1 Chemical composition of peppermint essential oil analyzed by GC-MS

由表 1 可以看出, 已鉴定的 20 物质的含量占薄荷精油化学成分总量的 88.68%, 其中含量较高的为薄荷醇 (23.38%)、薄荷酮 (18.31%)、异薄荷醇 (8.58%)、柠檬烯 (6.22%)、 $\alpha$ -蒎烯 (5.95%)、桂皮酸 (5.99%)、 $\beta$ -蒎烯 (3.78%)、环己酮 (3.52%)。其中含氧类化合

物占 68.93%, 醇类物质占萜烯类物质占 17.81%, 相对含量高于 2% 的物质占 81.21%。

表 1 薄荷精油的化学成分

序号	保留时间/min	化合物名称	分子式	相对含量/%
1	28.736	薄荷醇	C <sub>10</sub> H <sub>20</sub> O	23.38
2	23.518	薄荷酮	C <sub>10</sub> H <sub>18</sub> O	18.31
3	24.354	异薄荷醇	C <sub>10</sub> H <sub>18</sub> O	8.58
4	14.455	柠檬烯	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub>	6.22
5	9.069	$\alpha$ -蒎烯	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub>	5.95
6	43.92	肉桂酸	C <sub>9</sub> H <sub>8</sub> O <sub>2</sub>	5.99
7	11.504	$\beta$ -蒎烯	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub>	3.78
8	27.266	(2R,5R)-5-甲基-2-(1-甲基乙基)环己醇	C <sub>10</sub> H <sub>20</sub> O	4.47
9	26.305	[1S,6 $\alpha$ ,(-)-3 $\beta$ ,7,7-trimethylbicyclo[4.1.0]heptane	C <sub>10</sub> H <sub>18</sub>	2.48
10	29.033	胡薄荷酮	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub> O	2.05
11	31.362	胡椒酮	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub> O	1.47
12	26.555	异薄荷醇	C <sub>10</sub> H <sub>18</sub> O	1.49
13	14.67	桉叶油醇	C <sub>10</sub> H <sub>18</sub> O	0.90
14	11.848	桉烯	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub>	0.84
15	29.502	薰衣草醇	C <sub>10</sub> H <sub>18</sub> O	0.63
16	13.126	月桂烯	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub>	0.54
17	30.19	$\alpha$ -松油醇	C <sub>10</sub> H <sub>18</sub> O	0.52
18	27.544	1-石竹烯	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub>	0.48
19	20.344	叶醇	C <sub>6</sub> H <sub>12</sub> O	0.41
20	25.519	芳樟醇	C <sub>10</sub> H <sub>18</sub> O	0.19

薄荷醇和薄荷酮的含量是衡量薄荷油质量的一个重要指标。其精油中薄荷醇的含量为 23.38%, 薄荷酮的含量为 18.31%, 而根据国际优质精油的主要品质指标: 薄荷酮 15%~20%, 薄荷醇 40%~46%, 本研究中薄荷精油的薄荷醇含量较低, 薄荷酮含量达到国际优质精油标准, 因此, 精油品质有待提高。

### 2.2 不同短链醇作为助表面活性剂对薄荷精油微乳液相行为的影响

当乙醇、丙醇和丁醇分别和薄荷精油以 1:1、1:3 混合时的微乳体系三元相图如图 2 所示。图中单相区面积用  $A_T$  来表示,<sup>[10]</sup>由图看出均形成了 U 型微乳液, 不添加助表面活性剂的对照组形成的无限稀释区域最小,  $A_T$  为 10%, 当油相中加入短链醇时, 微乳体系的相行为都发生很大变化,  $A_T$  最高达到 80%。同时, 当短链醇浓度增加时, 两相区均出现了不同程度的减小。

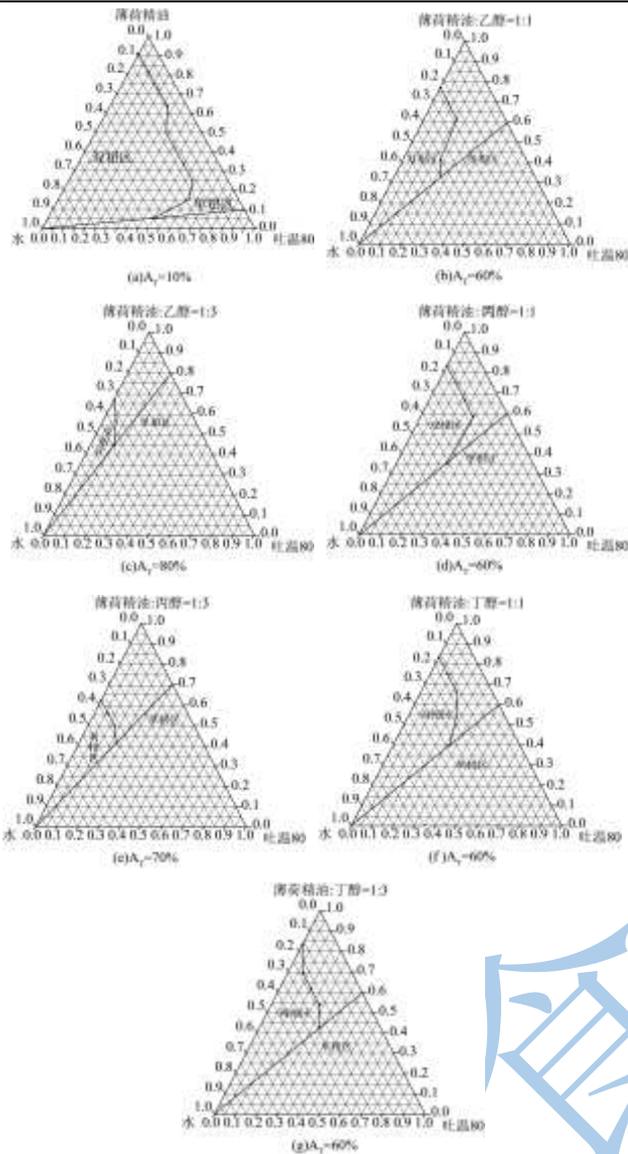


图2 不同短链醇对薄荷精油微乳体系相行为的影响

Fig.2 The effects of different short-chain alcohols on the phase behavior of microemulsion system of peppermint essential oil

Note: (a) peppermint essential oil, (b) peppermint essential oil/ethanol (1:1), (c) peppermint essential oil/ethanol (1:3), (d) peppermint essential oil/propanol (1:1), (e) peppermint essential oil/propanol (1:3), (f) peppermint essential oil/butanol (1:1), (f) peppermint essential oil/butanol (1:3).

乙醇、丙醇和丁醇与薄荷精油混合时，随着短链醇浓度的提高，薄荷精油微乳体系的单相区面积都随之扩大，当油醇比达到 1:3 时， $A_T$  值最高由 10% 达到 80%。短链醇能显著提高微乳体系的增溶能力。分析原因可能是加入适量的短链醇软化了油水两相的界面膜，使界面膜的流动性增强而易于弯曲，从而起到增溶的效果，促使微乳液的形成。根据 Gradzielski (1998) 报道，<sup>[11]</sup>在非离子型 O/W 型微乳液中加入短链醇能明显降低界面膜的弯曲系数，从而提高微乳液的增溶

能力。与本实验结果趋势一致。对照组可无限稀释区域仅为 10%，精油:醇=1:1 时三种短链醇作为助表面活性剂，均得到  $A_T=60%$ ，而当精油:醇=1:3 时，乙醇  $A_T=80%$ ，丙醇  $A_T=70%$ ，丁醇  $A_T=60%$ ，乙醇作为助表面活性剂增溶效果最好，丙醇次之，丁醇最差。Garti 等认为乙醇能够改变极性和非极性相的极性，提高界面的弹性以及破坏液晶相的稳定性来提高微乳体系的增溶能力。其原因可能由于乙醇相对分子量和摩尔体积都较小，分子更易于穿透微乳液滴的栅栏层，引起界面膜向油相凸起，有利于微乳液的形成。因此后续实验选用乙醇作为助表面活性剂来制备微乳液。

### 2.3 薄荷精油微乳液配方(ME)的确定

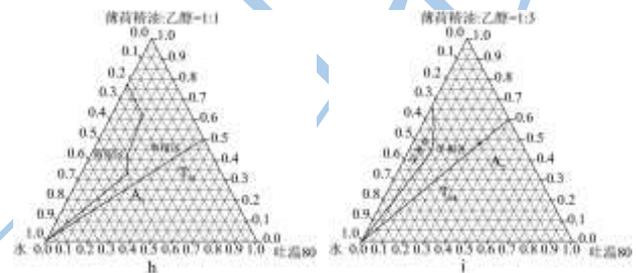


图3 不同比重的乙醇作为助表面活性剂时微乳体系相行为。

Fig.3 The phase behavior of microemulsion systems when using ethanol in different ratios as a cosurfactant

Note: (h) peppermint essential oil/ethanol (1:1); (i) peppermint essential oil/ethanol (1:3).

在三相图中选取薄荷精油所占比重较大有效稀释线即 T55 和 T64，线上任意一点所代表的溶液均为微乳状态，即该线上点所对应的微乳液配方可被水无限稀释，选取图 3 中  $A_1$  (ME1，薄荷精油:乙醇:吐温 80:水=1:1:2:4) 和  $A_2$  (ME2，薄荷精油:乙醇:吐温 80:水=3:9:8:4) 作为微乳液原液的配方。

### 2.4 薄荷精油微乳液密度、粒径和稳定性

表 2 薄荷精油-吐温 80-乙醇微乳体系平均密度

Table 2 Average densities of oil-Tween 80-ethanol microemulsion systems

组分(m/m)		平均密度/(g/mL)
ME1	薄荷精油:乙醇: 吐温 80:水=1:1:2:4	0.90
ME2	薄荷精油:乙醇: 吐温 80:水=3:9:8:4	0.85
薄荷精油	-	0.88
乙醇	-	0.80
吐温 80	-	1.10

由表 2 可知 ME1 和 ME2 的密度分别为 0.90 g/mL

和 0.85 g/mL, 略小于水的密度。ME1 和 ME2 的平均粒径分别是 66.57 nm 和 55.63 nm。ME1 和 ME2 平均粒径均介于微乳液定义中 1~100 nm 之间。比较发现乙醇比重大的 ME2 平均粒径略小, 原因是助表面活性剂增加界面膜的柔性和流动性, 减少微乳液由大液滴分散成小液滴所需的弯曲能, 进而减小微乳液的粒径。[10]

薄荷精油微乳液的物理稳定性实验结果显示, ME1 和 ME2 在室温下 4000 g 离心 20 min 未发生相分离, 25 °C 保存 30 d 也未发生相分离。这一结果说明薄荷精油微乳液在短期常温贮藏时具有一定的稳定性。

### 2.5 薄荷精油微乳液 pH

如图 4 所示, T64 在水的质量分数 0~55%, 微乳液 pH 值与水的质量分数成反比, 从 6.90 降到 5.94。在 55%~95%, pH 随水量的增加一直增大到 6.74。T55 的 pH 值则随着加入水量的增加从 7.15 一直下降到 4.79。根据 Spemath 在 2006 报道[2], 微乳液的 pH 值很大程度上受助表面活性剂的电离程度影响。分析 T64, 当水相量增加, 助表面活性剂的电离程度增大, 使得较多的氢离子被释放进去水相, 从而引起 pH 值

的下降。在高水相量时, 助表面活性剂完全电离, H<sup>+</sup> 已经全部进入水相中, 不能继续释放 H<sup>+</sup>, pH 值主要受水稀释的影响, 100% 水的 pH 为 6.74, 所以微乳液的 pH 值随着水相量的增加而升高。而 T55 是由于高水量氢离子完全电离后, 100% 水的 pH 为 5.81, 远小于 100% 微乳液的 pH 7.15, 因此随着水的稀释 pH 一直下降。

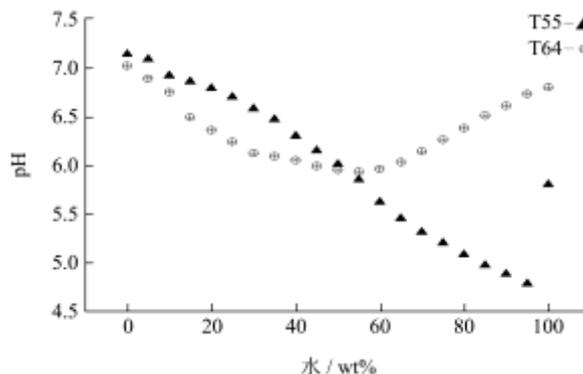


图 4 薄荷精油微乳液体系 pH 值的变化

Fig.4 pH values for the microemulsion system of peppermint essential oil

### 2.6 薄荷精油微乳液的最低抑菌浓度 (MIC)

表 3 薄荷精油微乳液在 NYDB、苹果清汁、柠檬红茶和牛奶中对 *S.cerevisiae* 的最低抑菌浓度

Table 3 Minimum inhibitory concentration (μL/mL) of peppermint essential oil microemulsions to *S. cerevisiae* in NYDB medium, clear apple juice, lemon tea, and milk

	NYDB		苹果清汁		柠檬红茶		牛奶	
	24 h	48 h						
ME1/(μL/mL)	64	64	64	64	64	64	>128	>128
ME2/(μL/mL)	128	64	128	128	>128	>128	>128	>128

由表 3 抑菌活性较强的 ME1 在 24 h 和 48 h 的 MIC 均为 64 μL/mL, 由于 ME1 中薄荷精油比重较大而致使 ME2 的抑菌活性弱于 ME1。ME1 在苹果汁中抑菌效果和和在 NYDB 培养基中相似, 在柠檬红茶和牛奶中抑菌效果均不如前两者。Tserennadmid R 等发现几种纯精油在牛奶中的 MIC 均高于其他果汁饮料。其结论与本实验结果相符。分析其原因由于牛奶中的蛋白质束缚精油中的疏水基团, 阻碍膜相互作用, 从而大大降低了精油的抑菌效果。因此选用抑菌较强的 ME1 配方进行后续实验。

### 2.7 细胞膜通透性

用 ME1 处理大肠杆菌细胞后测定其吸光度结果表明, 10 倍稀释微乳液使得核酸物质的泄露在 15 min 内迅速增长至 19.98%, 但是随后平稳增长, 75 min 时泄露率为 30.05%。明显 5 倍稀释微乳液杀菌效果较

好, 75 min 核酸泄露率稳定在 51.68%左右。

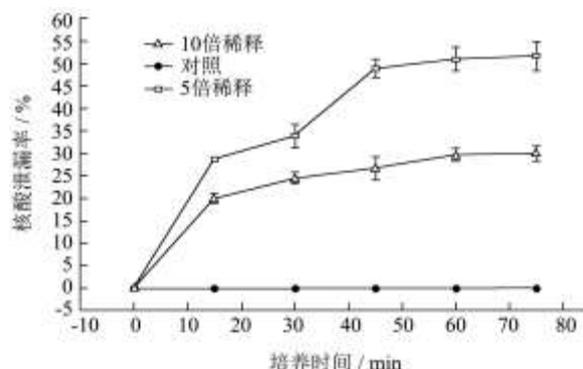


图 5 薄荷精油微乳液对大肠杆菌细胞膜通透性的影响

Fig.5 Effect of microemulsions of peppermint essential oil on the cell membrane permeability of *E. coli*

Note: Error bars are calculated from the standard error of the dataset (n=3).

Zhang Hui 等[13]研究 10 倍稀释月桂酸单甘脂微乳

液使大肠杆菌核酸释放率在 15 min 内释放率为 45% 左右, 60 min 达到 100%, 与本结果趋势相同。说明薄荷精油微乳液杀菌是由于首先与细菌细胞膜的相互作用导致膜结构和功能的根本性变化, 导致细菌破裂而死亡。Teixeira 等(2007)<sup>[14]</sup>发现微乳液对大肠杆菌、绿脓杆菌、金黄色葡萄球菌的细胞膜有破坏作用。

### 3 结论

3.1 薄荷在中国种植广泛, 来源丰富, 本文利用 GC-MS 对薄荷精油主要化学成分进行分析, 其主要物质为薄荷醇、薄荷酮、萜烯类化合物, 并且薄荷精油提取简便, 价格便宜。通过构建食品级薄荷精油微乳液体系, 加入乙醇、正丙醇和正丁醇等助表面活性剂, 扩大了相图中单相区的面积, 其中乙醇作为助表面活性剂时对薄荷精油微乳液的增溶效果最好。

3.2 本文配制微乳液配方 ME1 薄荷精油:乙醇:吐温 80:水=1:1:2:4 和 ME2 薄荷精油:乙醇:吐温 80:水=3:9:8:4 有性质稳定, 其平均密度分别为 0.90 g/mL 和 0.85 g/mL, 平均粒径分别为 66.57 nm (ME1) 和 55.63 nm (ME2)。ME1 和 ME2 添加到 NYDB 培养基、苹果汁、柠檬红茶和牛奶等基质中均对 *S.cerevisiae* 具有抑菌活性, ME1 的抑菌活性较强, 28 °C 培养 48 h 后, ME1 在上述培养基中的 MIC 为 64~128  $\mu\text{L}/\text{mL}$ 。微乳液能通过增加大肠杆菌细胞膜通透性, 使大肠杆菌由于释放核酸而导致死亡。

3.3 本课题通过构建薄荷精油微乳体系, 解决了精油在应用中水溶性差等问题, 并研究其在不同饮料中的抑菌效果。为薄荷精油微乳液尽早的应用到实际食品工业中提供理论参考。下一步应扩大研究范围, 对不同表面活性剂等成分物质对微乳体系的影响进行研究。

### 参考文献

- [1] 张辉. 食品级月桂酸单甘油酯微乳体系的构建及其抑菌研究[D]. 杭州: 浙江大学, 2009  
ZHANG Hui. Construction and antibacterial performance of glycerol monolaurate microemulsion [D]. Hang Zhou: Zhejiang University, 2009
- [2] 王刚, 尤静, 王玉东, 等. 棕榈氯霉素卵磷脂O/W型微乳制剂的研究[J]. 江苏药学与临床研究, 2006, 14(4): 223-225  
WANG Gang, YOU Jing, WANG Yu-dong, et al. Research of the chloramphenicol palmitate in phosphatidylcholine O/W microemulsions [J]. Jiangsu Pharmaceutcal and Clinical Research, 2006, 14(4): 223-225
- [3] Michael L, Klossek, Julien Marcus, et al. The extension of

microemulsion regions by combining ethanol with other cosurfactants [J]. Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects, 2013, 427: 95-100

- [4] Hui Zhang, Yinan Cui, Songming Zhu, et al. Characterization and antimicrobial activity of a pharmaceutical microemulsion [J]. International Journal of Pharmaceutics, 2010, 395(1-2): 154-160
- [5] Tyagi A K, Gottardi D, Malik A, et al. Anti-yeast activity of mentha oil and vapours through in vitro and in vivo (real fruit juices) assays [J]. Food chemistry. 2013, 137(1-4): 108-114
- [6] Tserennadmid R, Takó M, Galgóczy L, et al. Anti-yeast activities of some essential oils in growth medium, fruit juices and milk [J]. International journal of food microbiology, 2011, 144(3): 480-486
- [7] Espina L, García-Gonzalo D, Laglaoui A, et al. Synergistic combinations of high hydrostatic pressure and essential oils or their constituents and their use in preservation of fruit juices [J]. International journal of food microbiology, 2013, 161(1): 23-30
- [8] Hui Zhang, Yan Shen, Yin Bao, et al. Characterization and synergistic antimicrobial activities of food-grade dilution-stable microemulsions against *Bacillus subtilis* [J]. Food Research International, 2008, 41(5): 495-499
- [9] Carson C F, Mee B J, Riley T V. Mechanism of action of melaleuca altemifolia (tea tree) oil on *Staphylococcus aureus* determined by time-kill, lysis, leakage, and salt tolerance assays and electron microscopy [J]. Antimicrobial agents and chemotherapy, 2002, 46 (6): 1914-1920
- [10] Yaghmur A, Aserin A, Garti N. Phase behavior of microemulsions based on food-grade nonionic surfactants: Effect of polyols and short-chain alcohols [J]. Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects, 2002, 209(1): 71-81
- [11] Gradzielski M. Effect of the cosurfactant structure on the bending elasticity in nonionic oil-in-water microemulsions [J]. Langmuir, 1998, 14(21): 6037-6044
- [12] Spemath A, Aserin A, Garti N. Fully dilutable microemulsions embedded with phospholipids and stabilized by short-chain organic acids and polyols [J]. Journal of Colloid and Interface Science, 2006b, 299(2): 900-909
- [13] Hui Zhang, Yan Shen, Peifang Weng, et al. Antimicrobial activity of a food-grade fully dilutable microemulsion against *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus* [J]. International Journal of Food Microbiology, 2009, 135(3): 211-215
- [14] Teixeira P C, Leite G M, Domingues R J, et al. Antimicrobial

effects of a microemulsion and a nanoemulsion on enteric and other pathogens and biofilms [J]. International Journal of Food

Microbiology, 2007, 118(1): 15-19

