

肉桂醛及其复配单离香料对食品有害微生物的抑制作用研究

吴克刚^{1,2}, 马海杰¹, 魏浩^{1,3}, 廖经飞⁴, 沈雪荣⁵

(1. 广东工业大学轻工化工学院, 广东广州 510006) (2. 广东香飘三创(产学研)众创平台, 广东广州 510006)
(3. 广州市香思馨情健康科技有限公司, 广东广州 510006) (4. 广州芬豪香精有限公司, 广东广州 510000)
(5. 罗定市荣兴香料有限公司, 广东罗定 527200)

摘要: 通过抑菌圈法测试肉桂醛、百里香酚、香芹酚、丁香酚、茴香脑和柠檬醛对几种常见有害微生物的抑菌敏感性。同时采用直接接触法测定最小抑菌浓度和最小杀菌浓度, 研究这六种单离香料及复合单离香料对常见的食品腐败菌及致病菌的抗菌能力, 并与常见防腐剂进行对比。研究表明: 相对于细菌而言, 肉桂醛对真菌抑菌能力更强, 尤其对黄曲霉的抑菌效果最好; 不同供试菌对不同单离香料的敏感度不同, 其中大肠杆菌对所选单离香料的敏感度最低; 百里香酚的综合抗菌能力最好, 肉桂醛和香芹酚次之; 但在试验浓度范围内, 仅肉桂醛能将枯草芽孢杆菌杀死; 复配精油对所有的供试菌(除了金黄色葡萄球菌)杀菌效果都有明显的提高, 不同配比的复配精油对不同菌种的抗菌效果有所不同, 肉桂醛-百里香酚复配精油对 7 种供试菌表现出了相加作用或者无关; 复配精油的抗菌效果远强于苯甲酸钠和山梨酸钾这两种食品防腐剂。

关键词: 肉桂醛; 食品有害微生物; 抗菌

文章编号: 1673-9078(2017)7-72-78

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2017.7.011

The Antibacterial Effect of Cinnamaldehyde and its Mixtures with Other Isolate Flavors against Foodborne Harmful Microorganisms

WU Ke-gang^{1,2}, MA Hai-jie¹, WEI Hao^{1,3}, LIAO Jing-fei⁴, SHEN Xue-rong⁵

(1. College of Chemical Engineering and Light Industry, Guangdong University of Technology, Guangzhou 510006, China)
(2. Guangdong Xiangpiaosanchuang (Produce-Study-Research) Public Platform, Guangzhou 510006, China)
(3. Guangzhou Xiangsixinqing Health Technology Co. Ltd, Guangzhou 510006, China) (4. Guangzhou Fenhao Flavour Co. Ltd, Guangzhou 510000, Guangdong, China) (5. Luoding Rongxin Flavour Co. Ltd, Luoding 527200, China)

Abstract: The antibacterial effects of cinnamic aldehyde, thymol, carvacrol, eugenol, anethole, and citral against several common harmful microorganisms affecting food quality were studied using the zone of inhibition test. Simultaneously, the minimum inhibitory concentration and minimum bactericidal concentration of these six isolate flavors and their mixtures were measured using the dilution method, to study their antibacterial ability against common food spoilage organisms and pathogenic bacteria, and finally compare them with those of the common preservatives. The results showed that cinnamaldehyde had a stronger antimicrobial ability against fungi than bacteria, particularly against *Aspergillus flavus*. Different test microorganisms showed differing sensitivities to the various isolate flavors, and *E. coli* exhibited the least sensitivity. Thymol showed the highest comprehensive antibacterial ability, followed by cinnamic aldehyde and carvacrol. However, in the test concentration range, only cinnamaldehyde could kill *Bacillus subtilis*; the sterilization effect of the compound essential oils on all the selected bacteria and fungi (except *Staphylococcus aureus*) were significantly improved, and compound essential oils prepared at differing ratios showed varying antimicrobial effects on different bacteria and fungi. Moreover, the mixture of cinnamaldehyde-thymol showed either an additive effect or no impact on the seven tested bacteria and fungus. The antimicrobial effect of essential oils was significantly stronger than those of sodium benzoate and potassium sorbate.

Key words: cinnamaldehyde; harmful microorganisms in food; antibacterial

收稿日期: 2016-12-07

基金项目: 广东省科技计划项目 (2016B010122054、2015B020204002、2014B020205005、2013B090600051)

作者简介: 吴克刚 (1969-), 男, 教授, 硕士生导师, 研究方向: 食药植物精油在健康领域的应用研究

通讯作者: 马海杰 (1992-), 男, 硕士研究生, 研究方向: 食药植物精油在健康领域的应用研

植物精油是一类植物源次生代谢物质,分子量小,可从植物的根、茎、叶、花和果实等不同部位提取并具有一定挥发性的油状液体物质,植物学上称为精油,商业上称为芳香油,化学和医药学上称为挥发油^[1]。从植物精油中探索抑菌活性物质,成为了国内外研发新型防腐保鲜剂的一大热点。目前已有国内外研究表明,天然植物精油对多种细菌和真菌等有害微生物具有明显的抑制作用^[2-5]。其中,肉桂醛(Cinnamaldehyde)被称为桂皮醛、桂醛、B-苯丙烯醛、丙烯醛,是醛类化合物,为黄色油状液体,具有强烈的烧焦芳香味,在肉桂等植物中含量较多,天然产物主要存于肉桂油、桂皮油、藿香油、风信子油和玫瑰油等中^[6]。肉桂醛被美国食品和药物管理局(FDA)公认为安全、无毒的物质;被美国香料和萃取物制造者协会(FEMA)认为是安全无毒的食品香料成分;食品添加剂联合专家委员会(JECFA)也认为肉桂醛作为食品添加剂是安全的^[7]。美国、日本已研究开发将肉桂醛列入食品添加剂中。2012年4月25日,经食品安全国家标准审评委员会审查通过,我国增添发布了71项食品安全国家标准,自2012年6月25日起实施,其中包括了《GB 28346-2012 食品安全国家标准 食品添加剂 肉桂醛》。肉桂醛的安全性及其抑菌性促使肉桂醛具备了可观的应用前景,目前肉桂醛在国际上已经被广泛的应用于香精香料、化工生产、医药中间体、食品工程、粮食生产、果蔬保鲜和牲畜饲料等多种领域^[8-12]。

本文采用直接接触法和抑菌圈法研究了肉桂醛对不同微生物的抑制作用,同时选用其他不同的单离香料与肉桂醛进行复配,探索肉桂醛与不同精油的协同作用。香辛料的抑菌成分主要有肉桂醛、丁香酚、松萘、丁香酚、乙酸酯、柠檬醛、月桂烯、百里酚、香芹酚、茴香脑和水杨醛等^[15];本文选取百里香酚、香芹酚、丁香酚、茴香脑和柠檬醛都是《GB 2760-2014 食品安全国家标准》食品允许食用添加的天然香料,研究表明,多种香料并用的效果比单一香料好,因为食用香料成分之间存在抗菌谱扩宽作用,而且在相互协同作用时用量可大为减少,不会对食品风味产生太大影响^[16]。本文旨在降低肉桂醛的使用量,提高其抑菌能力,扩大其抑菌范围,为肉桂醛在实际生产生活中的应用提供一定的理论基础。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

1.1.1 供试菌

细菌:大肠杆菌(*Escherichia coli*) ATCC 25922、

金黄色葡萄球菌(*Staphylococcus aureus*) ATCC 25923、福氏志贺菌(*Shigella flexneri*) ATCC12022、荧光假单胞菌(*Pseudomonas fluorescens*) ATCC13525、铜绿假单胞菌(*pseudomonas aeruginosa*) ATCC9027、腐败希瓦氏菌(*Shewanella putrefaciens*) NCIMB12202、肠道沙门氏菌(*Salmonella enterica*) ATCC14028、李斯特菌(*Listeria monocytogenes*) ATCC19115、蜡样芽孢杆菌(*Bacillus cereus*) ATCC11778、枯草芽孢杆菌(*Bacillus subtilis*) ATCC 6633。

真菌:白色念珠菌(*Canidia Albicans*) ATCC10231、黄曲霉(*Aspergillus flavus*) ATCC 9643、桔青霉(*Penicillium citrinum*) ATCC9849、黑曲霉(*Aspergillus niger*) ATCC 16404、毛霉(*Mucor racemosus*) GIM3.86、酿酒酵母菌(*Saccharomyces cerevisiae*) GIM2.207,均购于广东省微生物研究所。

1.1.2 单离香料

肉桂醛、百里香酚、香芹酚、丁香酚、茴香脑和柠檬醛,均由广东香飘三创(产学研)众创平台提供。

1.1.3 培养基

营养琼脂培养基、孟加拉红培养基,广东环凯微生物科技有限公司;其它试剂均为分析纯。

1.2 仪器与设备

SW-CJ-2F 超净工作台:苏州安泰空气技术有限公司; SPX-250 生化培养箱:上海锐丰仪器仪表有限公司; BK-FL 荧光显微镜:重庆奥特光学仪器有限公司; DHG-9240A 电热恒温鼓风干燥箱:上海申贤恒温设备厂; YX-280D (242) 型手提式压力蒸汽灭菌器:合肥华泰医疗设备有限公司; SHA-BA 恒温振荡器:常州澳华仪器有限公司。

1.3 实验方法

1.3.1 菌种活化和菌悬液/孢子悬液的制备

用接种针刮取适量菌种,划于培养基平板上,并将其置于生化培养箱中进行恒温培养(细菌 37 °C/24 h, 酵母 28 °C/48 h)后,从其上挑取单菌落,采用麦氏比浊法制成 10⁷ CFU/mL 的菌悬液。

用接种针刮取适量霉菌菌种,划于培养基平板上,在 28 °C 生化培养箱中培养 5~7 d,用无菌水反复冲洗,获得霉菌菌悬液。将菌悬液震荡摇匀后,取少量该霉菌菌悬液,使用血球计数板进行计数,最后用无菌水将霉菌菌悬液浓度控制为 10⁵ CFU/mL,保存在 4 °C 冰箱中不超过 7 d,备用。

1.3.2 溶液配制

单离香料溶液:取 1 体积的单离香料与 9 体积的

丙二醇混合均匀,配成体积分数为 10%的单离香料-丙二醇溶液,装于棕色试剂瓶中,立刻盖上瓶盖并用封口膜密封,保存在 4 °C 冰箱中备用。

1.3.3 抑菌圈法测抑菌敏感性

采用平板打孔法:在培养皿中注入 20 mL 的培养基,待培养基凝固后再注入 100 μ L 菌液,并用无菌涂布棒将菌液涂布均匀,待菌液被吸收后,用无菌小枪头($d=5$ mm)将该培养基等距打 3 个小孔,去除孔内培养基,试验组加入 10 μ L 相应的纯单离香料,对照组加入等量的丙二醇。置于恒温培养箱中培养(细菌 37 °C/24 h,酵母与霉菌 28 °C/72 h)。以十字交叉法测量抑菌圈直径,求其平均值。

抑菌圈试验的判定标准为:抑菌圈直径>20 mm 为极敏感,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。

1.3.4 直接接触法测最小抑菌浓度和最小杀菌浓度

在 5 mL 肉汤中加入 100 μ L 菌悬液,分别移取不同量的 10%单离香料溶液加入装有等量肉汤的试管中,并用等量无水丙二醇做空白对照,置于 196 r/min 的恒温(28 °C)振荡器中培养 72 h,观察生长情况。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 μ L 肉汤进行涂布培养,完全没有菌生长所对应的最低精油浓度。

1.3.5 复配单离香料抑菌效果评价

根据最小抑菌浓度(MIC)以及抑菌圈直径的测定结果,确定一种或两种最低 MIC 浓度的单离香料,然后与肉桂醛进行复配,肉桂醛与此种单离香料比例分别为 0%、50%、60%、70%、80%、90%和 100%。然后进行复配单离香料抑菌实验,操作方法同 1.3.4 中所述。

以分级抑菌浓度(Fractional inhibitory concentration, FIC)指数作为联合抗菌试验效果判定依据。FIC 指数计算公式为:FIC 指数= MIC_A 组分联合/ MIC_A 组分单用+ MIC_B 组分联合/ MIC_B 组分单用。

FIC 指数判定标准为:FIC 指数<0.5 时为协同作用;0.5 \leq FIC 指数<1 为相加作用;1 \leq FIC 指数<4 为无关;FIC 指数 ≥ 4 时为拮抗作用。

1.3.6 肉桂醛复配单离香料与常见防腐剂抗菌性对比

先配制 10^7 CFU/mL 总细菌菌悬液(含有等量的大肠杆菌、金黄色葡萄球菌、铜绿假单胞菌和枯草芽孢杆菌)、 10^5 CFU/mL 总真菌菌悬液(含有等量的桔青霉、啤酒酵母和黑曲霉)和 10^7 CFU/mL 总菌悬

液(含有等量的所用七种供试菌),再将防腐剂用无菌水溶解稀释后配制成 10%溶液,将 5 mL 肉汤中加入 100 μ L 菌悬液,分别移取不同量的 10%防腐剂溶液加入到 pH 为 4 (利用 1 mol/L 盐酸和 pH 计进行调节)的肉汤的试管中,并用加了等量菌悬液 pH 为 4 的肉汤做空白对照,另外加入复配精油的肉汤试管是不调节 pH 的;置 196 r/min 恒温振荡器中下 28 °C 培养 72 h,观察生长情况,培养液不变浑浊的最小单离香料浓度为该单离香料的最小抑菌浓度(MIC)。

1.3.7 数据统计分析

所有实验均进行三次,并且数据以平均值(mean) \pm 标准差(sd)表示,利用 Excel 进行数据处理。

2 结果与讨论

2.1 肉桂醛对各种食品腐败菌和致病菌的

MIC、MBC 研究

表 1 肉桂醛对各种食品腐败菌和致病菌的最低抑菌浓度和最低杀菌浓度(μ L/L)

Table 1 MIC and MBC of cinnamaldehyde against food spoilage bacteria and pathogens

序号	供试菌	MIC	MBC
1	黄曲霉	63	125
2	桔青霉	125	1500
3	黑曲霉	125	500
4	白色念珠菌	210	500
5	毛霉	500	1500
6	福氏志贺菌(G-)	125	500
7	荧光假单胞菌(G-)	210	210
8	铜绿假单胞菌(G-)	210	500
9	腐败希瓦氏菌(G-)	210	2000
10	沙门氏菌(G-)	210	250
11	李斯特菌(G+)	250	500
12	金黄色葡萄球菌(G+)	250	1000
13	蜡样芽孢杆菌(G+)	250	1000
14	枯草芽孢杆菌(G+)	250	1000
15	大肠杆菌(G-)	250	700
16	酿酒酵母	250	250

注:“G+”代表革兰氏阳性菌;“G-”代表革兰氏阴性菌。

为了比较全面地研究肉桂醛的抗菌能力和抗菌广谱性,本文选取了表 1 中所示的 16 种常见的食品腐败菌和致病菌作为供试菌进行研究肉桂醛对各种食品腐败菌和致病菌的 MIC、MBC (其中,酿酒酵母虽然不是对人体有害的菌,但却是食品里面非常常见的腐败

菌,因此选其作为研究对象之一),实验结果如表 1 中所示。

表 1 中 MIC 和 MBC 值越小,说明肉桂醛对各类菌抗菌性能越强;总体上看,一方面,革兰氏阴性菌对肉桂醛的敏感性略微强于革兰氏阳性菌;另一方面,肉桂醛对细菌 MIC 值比真菌高,说明肉桂醛对真菌抑菌效果更明显,并且对黄曲霉的抑菌效果最好。戴向荣^[13]的研究表明,肉桂醛能够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。肉桂醛的醛基比较活跃,易于与生物分子中的羟基发生醇醛缩合反应和与氨基发生羟氨反应而被束缚,因而抗菌效果最好,但有效期很短。同时有研究表明,肉桂醛能够使大肠杆菌和金黄色葡萄球菌的 β -半乳糖苷酶活性呈现迅速上升,细胞膜变得粗糙、部分金黄色葡萄球菌由

于变形和褶皱的形成而产生破裂,细胞膜与细胞壁分离并溶解、细胞内物质泄漏并两级分化、原生质物质收缩^[14]。可见肉桂醛对不同菌的作用机制和作用效果都是有所差异的。

2.2 抑菌圈法研究不同单离香料对微生物的抑制作用

采用抑菌圈法,通过测试不同单离香料对供试菌的抑菌圈的大小,分别研究百里香酚、肉桂醛、香芹酚、丁香酚、茴香脑和柠檬醛对黑曲霉、桔青霉、酿酒酵母、大肠杆菌、金黄色葡萄球菌、铜绿假单胞菌和枯草芽孢杆菌的抑菌敏感性,实验结果如表 2 中所示。

表 2 不同单离香料对供试菌的抑菌圈

Table 2 Inhibition zone diameter of the tested bacteria and fungus by different isolate flavors

纯单离香料	抑菌圈 (mean±SE mm)						
	黑曲霉	桔青霉	酿酒酵母	大肠杆菌	金黄色葡萄球菌	铜绿假单胞菌	枯草芽孢杆菌
百里香酚	32.67±0.58	32.33±1.53	-	31.00±2.65	-	-	32.67±0.58
肉桂醛	31.00±1.00	31.67±2.08	-	28.67±1.53	31.67±1.53	32.33±1.15	33.33±1.53
香芹酚	30.33±2.08	31.33±1.53	-	32.33±1.53	-	34.33±1.53	34.67±1.53
丁香酚	22.33±2.31	23.67±1.15	24.33±1.53	16.67±1.15	20.67±1.15	14.67±1.53	24.67±1.53
茴香脑	18.00±1.00	21.00±2.00	17.67±1.53	17.33±1.15	27.67±1.52	23.67±1.15	28.67±1.15
柠檬醛	13.00±1.00	14.00±1.00	20.67±1.15	13.33±1.53	16.33±1.53	17.33±1.15	15.33±1.53
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:孔径直径(5 mm)包含在测量结果中。“-”表示整个平皿均不长菌。

由表 2 可知,所有的单离香料对 7 种供试菌抑菌圈直径均>10 mm,均表现为极敏感和中度敏感。百里香酚、肉桂醛、香芹酚对 7 种供试菌种的抑菌圈直径均>20 mm,属于极敏感,丁香酚对真菌和金黄色葡萄球菌的抑菌圈直径均>20 mm,属于极敏感,但是对两种细菌为中度敏感;茴香脑除了对大肠杆菌表现出为中度敏感,对其他供试细菌均属于极敏感,但对真菌仅对桔青霉表现出极敏感;而柠檬醛仅对酿酒酵母表现出极敏感,其他均为中度敏感;空白对照组丙二醇对全部供试菌抑菌圈均为 5.0±0.10,属于无抑菌作用;总体而言,不同供试菌对不同单离香料的敏感度不同,大肠杆菌是所有供试菌中对这 6 种单体最不敏感的。

2.3 不同单离香料对食品腐败菌和致病菌的

MIC 和 MBC 研究

采用直接接触法测百里香酚、肉桂醛、香芹酚、丁香酚、茴香脑和柠檬醛对黑曲霉、桔青霉、酿酒酵

母、大肠杆菌、铜绿假单胞菌、金黄色葡萄球菌和枯草芽孢杆菌最小抑菌浓度和最小杀菌浓度,实验结果如表 3 中所示。

植物精油的 MIC 值和 MBC 值越低,其抗菌能力就越强。所以从综合抗菌能力来看,百里香酚的综合抗菌能力最好,抑菌浓度都在 250 μ L/L 以下肉桂醛和香芹酚次之,相比其他的供试菌,百里香酚对酿酒酵母的抗菌效果最好。而在试验浓度范围内,仅有肉桂醛在浓度为 1000 μ L/L 时能将枯草芽孢杆菌杀死。

总体的上看,各个单体的抗菌效果和表 2 结果相符;这 6 种单离香料对 7 种供试菌的抗菌效果比较是:百里香酚>肉桂醛、香芹酚>丁香酚>茴香脑>柠檬醛。

2.4 肉桂醛复配单离香料对各种食品腐败菌

和致病菌的 MIC、MBC 研究

选择百里香酚与肉桂醛进行复配,肉桂醛在复合单离香料中的比例分别为 0%、50%、60%、70%、80%、

90%和 100%，研究肉桂醛-百里香酚复合单离香料对供试菌的最低抑菌和杀菌浓度，实验结果如表 4 中所示；在通过 1.3.5 中所述方法计算出 FIC 指数，结果如表 5 中所述。

复配精油组合（肉桂醛-百里香酚）对 7 种供试菌均没有表现出协同增效作用，表现出了相加作用或者无关。

但是复配之后的精油对所有的供试菌（除了金黄色葡萄球菌）杀菌效果都有明显的提高，值得注意的是：460 μL/L肉桂醛含量为 50%的复配精油即可将枯草芽孢杆菌杀死，而枯草芽孢杆菌作为食品的热力指示菌，预示着这种复配精油或许可以作为非热杀菌的组合物。

表 3 不同单离香料对供试菌的 MIC 值和 MBC 值 (μL/L)

Table 3 MIC and MBC of different isolate flavors against the tested bacteria and fungus

精油	黑曲霉		桔青霉		酿酒酵母		大肠杆菌	
	MIC	MBC	MIC	MBC	MIC	MBC	MIC	MBC
百里香酚	125	210	125	210	62.5	62.5	250	500
肉桂醛	125	500	125	1500	210	250	250	700
香芹酚	125	500	125	250	125	210	125	1000
丁香酚	210	700	250	500	250	500	700	2000
茴香脑	500	>	250	>	500	1000	2000	>
柠檬醛	700	>	500	>	210	1000	1500	>

精油	铜绿假单胞菌		金黄色葡萄球菌		枯草芽孢杆菌	
	MIC	MBC	MIC	MBC	MIC	MBC
百里香酚	62.5	250	210	250	210	>
肉桂醛	210	500	250	1000	250	1000
香芹酚	210	>	210	500	250	>
丁香酚	1000	>	700	2000	1000	>
茴香脑	500	>	250	>	500	>
柠檬醛	1500	2000	500	500	1000	>

表 4 肉桂醛-百里香酚复合单离香料对供试菌的最低抑菌和杀菌浓度

Table 4 MIC of cinnamaldehyde and thymol combinations against the tested bacteria and fungus

肉桂醛的含量 单位(μL/L)%	黑曲霉		桔青霉		酿酒酵母		大肠杆菌	
	MIC	MBC	MIC	MBC	MIC	MBC	MIC	MBC
0	125	190	125	250	94	125	320	460
50	125	>190	125	>250	94	125	390	>460
60	125	>190	125	>250	94	125	390	>460
70	125	190	94	>250	62.5	125	320	460
80	94	190	62.5	250	62.5	94	250	460
90	94	190	94	>250	94	125	320	>460
100	190	>190	125	>250	125	190	320	>460

肉桂醛的含量 单位(μL/L)%	铜绿假单胞菌		金黄色葡萄球菌		枯草芽孢杆菌	
	MIC	MBC	MIC	MBC	MIC	MBC
0	125	390	190	250	250	>460
50	125	460	250	390	190	460
60	190	460	320	390	250	>460
70	190	460	320	390	250	>460
80	190	460	320	390	250	>460
90	190	460	320	390	320	>460
100	250	460	320	>460	320	>460

表5 肉桂醛-百里香酚复合单离香料对供试菌的 FIC 指数 (μL/L)

Table 5 FIC index of cinnamaldehyde-thymol combinations against the tested bacteria and fungus

肉桂醛的含量/%	桔青霉	啤酒酵母	黑曲霉	大肠杆菌	金黄葡萄球菌	铜绿假单胞菌	枯草芽孢杆菌
50	1.00	0.88	0.83	1.22	1.05	0.75	0.67
60	1.00	0.85	0.79	1.22	1.27	1.06	0.87
70	0.75	0.55	0.76	1.00	1.21	0.99	0.85
80	0.50	0.53	0.55	0.78	1.14	0.91	0.83
90	0.75	0.78	0.52	1.00	1.07	0.84	1.03

注: 1、FIC 指数计算: MICA 组分联合/MICA 组分单用+MICB 组分联合/MICB 组分单用; 2、FIC 指数判定标准为: FIC 指数 <0.5 时为协同作用; 0.5≤FIC 指数<1 为相加作用; 1≤FIC 指数<4 为无关; FIC 指数≥4 时为拮抗作用。

总体上看, 复配精油对真菌的抗菌效果明显优于细菌, 而肉桂醛含量为 80% 的精油对真菌和大肠杆菌抗菌效果最优; 而肉桂醛含量 50% 的复配精油对铜绿假单胞菌和枯草芽孢杆菌的抗菌效果最佳, 可见不同配比的复配精油对不同菌种的抗菌效果是不一样的。戴向荣^[13]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。Bhanu Prakash^[17]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, 可能是肉桂醛与百里香酚的作用机理不同等因素, 作用于细胞的点位不同使其杀菌效果更好。尽管百里香酚与肉桂醛没有协同增效作用, 但是可以通过肉桂醛的替代来减少百里香酚的使用量, 不仅降低了成本, 并且加强的复配精油的杀菌能力。

2.5 肉桂醛复配单离香料与常见防腐剂对各种食品腐败菌和致病菌抗菌性对比研究

采用 1.3.6 中所述方法测出肉桂醛-百里香酚复合单离香料和常见食品防腐剂对微生物的最低抑菌浓度和最低杀菌浓度, 实验结果如表 6 和表 7 中所示。

从表 6 可以发现山梨酸钾的抗菌效果明显优于苯甲酸钠, 并且在实验这两种食品防腐剂在最大添加量的情况下 (食品允许添加量的两倍) 依然没有杀菌效果; 而复配精油的抗菌效果远强于这两种食品防腐剂, 这可能是由于分子的亲疏水性导致的; 疏水基团的结构重心与反应活性中心的电荷中和系统要有适当的距离。否则, 产生的空间位阻效应降低反应活性中心的空间活动自由度而阻碍抗菌活性的发挥。如苯甲酸分子中含有不饱和羧基结构, 但由于其空间活动自由度极小, 其抗菌活性比肉桂醛低几个数量级。

表6 常见食品防腐剂对供试菌的最低抑菌和杀菌浓度 (μL/L)

Table 6 MBC of the common food preservatives against the tested bacteria and fungus

常见食品防腐剂	黑曲霉		桔青霉		酿酒酵母		大肠杆菌	
	MIC	MBC	MIC	MBC	MIC	MBC	MIC	MBC
苯甲酸钠	2000	>	1500	>	2000	>	2000	>
山梨酸钾	1000	>	1500	>	1000	>	1000	>
常见食品防腐剂	铜绿假单胞菌		金黄葡萄球菌		枯草芽孢杆菌			
	MIC	MBC	MIC	MBC	MIC	MBC	MIC	MBC
苯甲酸钠	1500	>	1500	>	1500	>		
山梨酸钾	500	>	800	>	1000	>		

注: “>”表示超过 4000; 空白对照组均为浑浊。

表7 肉桂醛-百里香酚复合单离香料和常见食品防腐剂对微生物的最低抑菌和杀菌浓度 (μL/L)

Table 7 MIC and MBC of cinnamaldehyde-thymol combinations against microorganisms

肉桂醛的含量/%	总菌		总细菌		总真菌	
	MIC	MBC	MIC	MBC	MIC	MBC
0	250	>530	320	>460	125	320
50	250	390	250	460	125	320

转下页

接上页

60	250	460	320	460	125	320
70	250	460	320	460	125	250
80	250	460	320	460	94	250
90	320	530	320	>460	94	320
100	320	530	390	>460	190	>320
苯甲酸钠	2000	>4000	2000	>4000	1500	>4000
山梨酸钾	1000	>4000	1000	>4000	1500	>4000

3 结论

本实验中通过抑菌圈法定性测试肉桂醛、百里香酚、香芹酚、丁香酚、茴香脑和柠檬醛对几种常见有害微生物的抑菌敏感性。同时采用直接接触法测定最小抑菌浓度和最小杀菌浓度,研究肉桂醛、复合单离香料对常见的食品腐败菌及致病菌的抗菌能力,并与常见防腐剂进行对比。实验结果表明:相对于细菌而言,肉桂醛对真菌抑菌能力更强,尤其对黄曲霉的抑菌效果最好;不同供试菌对不同单离香料的敏感度不同,其中大肠杆菌对所选单离香料的敏感度最低;百里香酚的综合抗菌能力最好,然而在试验浓度范围内,仅有肉桂醛能将枯草芽孢杆菌杀死;除了金黄色葡萄球菌,复配精油对其他供试菌的杀菌效果都有明显的提高,不同配比的复配精油对不同菌种的抗菌效果有所不同,肉桂醛-百里香酚复配精油对7种供试菌表现出了相加作用或者无关;复配精油的抗菌效果远强于苯甲酸钠和山梨酸钾这两种食品防腐剂。

参考文献

- [1] 翟秀丽.两种植物精油对人抑郁情绪缓解的实验研究[D].浙江:浙江农林大学,2012
ZHAI Xiu-li. Two kinds of plant essential oil to alleviate depression of experiments [D]. Zhejiang: Zhejiang A & F University, 2012
- [2] 吴克刚,赵三娥,柴向华,等.植物精油对铜绿假单胞菌抗菌作用的研究[J].现代食品科技,2013,29(12):2830-2834
WU Ke-gang, ZHAO San-e, CHAI Xiang-hua, et al. Antibacterial effect of plant essential oils against *Pseudomonas aeruginosa* [J]. Modern Food Science & Technology, 2013, 29(12): 2830-2834
- [3] 李凤清.植物精油的抑菌评价及其应用[D].南京:南京师范大学,2014
LI Feng-qing. Bacteriostatic evaluation and application of plant essential oils [D]. Nanjing: Nanjing Normal University, 2014
- [4] Jun Tian, Yan-zhen Wang, Hong Zeng, et al. Efficacy and possible mechanisms of perillaldehyde in control of *Aspergillus niger* causing grape decay [J]. International Journal of Food Microbiology, 2015, 202: 27-34
- [5] Khan N, Sheikh S, Bhandia R, et al. Anticandidal activity of curcumin and methyl cinnamaldehyde [J]. Fitoterapia, 2012, 83(3): 434-440
- [6] 周明,陈征义,申书婷,等.肉桂醛的研究进展[J].经济动物学报,2015,19(1):1-5
ZHOU Ming, CHEN Zheng-yi, SHEN Shu-ting, et al. Recent advances on cinnamaldehyde [J]. Journal of Economic Animal, 2015, 19(1): 1-5
- [7] 孙罗关,邹胜龙.肉桂醛的研究与应用[J].广东饲料,2012, 21(12):29-32
SUN Luo-guan, ZOU Sheng-long. Research and application of cinnamic aldehyde [J]. Guangdong Feed, 2012, 21(12): 29-32
- [8] A Ishlak, M Günel, A A AbuGhazaleh. The effects of cinnamaldehyde, monensin and quebracho condensed tannin on rumenfermentation, biohydrogenation and bacteria in continuous culture system [J]. Animal Feed Science and Technology, 2015, 207: 31-40
- [9] 陈立平,张慧萍,陈光,等.肉桂油成分分析及肉桂醛体外抗肿瘤活性研究[J].中国微生态学杂志,2012,24(4):327-330
CHEN Li-ping, ZHANG Hui-ping, CHEN Guang, et al. Study on cinnamon oil composition analysis and cinnamic aldehyde antitumor activity *in vitro* [J]. Chinese Journal of Microecology, 2012, 24(4): 327-330
- [10] S A Kim, M S Rhee. Highly enhanced bactericidal effects of medium chain fatty acids (caprylic, capric, and lauric acid) combined with edible plant essential oils (carvacrol, eugenol, b-resorcylic acid, trans-cinnamaldehyde, thymol, and vanillin) against *Escherichia coli* O157:H7 [J]. Food Control, 2016, 60: 447-454
- [11] Caio G Otoni, Márcia R de Moura, Fauze A Aouada, et al. Antimicrobial and physical-mechanical properties of pectin/papayapuree/cinnamaldehyde nanoemulsion edible composite films [J]. Food Hydrocolloids, 2014, 41(41): 188-

- 194
- [12] Katrina A Rieger, Jessica D Schiffman. Electrospinning an essential oil: Cinnamaldehyde enhances the antimicrobial efficacy of chitosan/poly (ethylene oxide) nanofibers [J]. Carbohydrate Polymers, 2014, 113: 561-568
- [13] 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
- [14] Su-xia Shen, Tie-hua Zhang, Yuan Yuan, et al. Effects of cinnamaldehyde on *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus* membrane [J]. Food Control, 2015, 47(47): 196-202
- [15] 杨荣华,林家莲.香辛料的抗菌性[J].中国调味品,1999,12: 1-3
YANG Rong-hua, LIN Jia-lian. Antibacterial properties of spices [J]. China Condiment, 1999, 12: 1-3
- [16] 刘双柱,石长波,张培茵.香辛料特性及应用[J].中国调味品,1996,1:4-6
LIU Shuang-zhu, SHI Chang-bo, ZHANG Pei-yin. Characteristics and applications of spices [J]. China Condiment, 1996, 1: 4-6
- [17] 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 commodities potentials and challenges [J]. Food Control, 2015, 47(47): 381-391