

肉桂精油香氛抗菌活性及成分分析

于泓鹏¹, 邹金池¹, 吴克刚^{1,2*}, 柴向华¹, 段雪娟¹, 何东^{1,2}

(1. 广东工业大学轻工化工学院, 广东广州 510006)

(2. 广东省植物资源生物炼制重点实验室, 广东广州 510006)

摘要: 为提高气相熏蒸肉桂精油的抗菌能力, 对四种肉桂精油香氛方式对白色葡萄球菌的抑杀效果进行了研究。研究发现香氛方式对抗菌效果的影响呈现出一定规律。其中, 最低抑菌浓度(MIC)大小规律为: 喷雾雾化>水浴加热>自然挥发>燃烧; 最低杀菌浓度(MBC)大小规律为: 水浴加热>喷雾雾化>自然挥发>燃烧。采用电子鼻对四种香氛方式最低杀菌浓度下的气体成分进行大类区分, 并进一步利用顶空固相微萃取(Headspace Solid Phase Microextraction, HS-SPME)结合气相色谱-质谱联用技术(Gas Chromatography-Mass Spectrometry, GC-MS)对其进行成分构成分析。结果表明不同香氛方式检测到的成分相对含量具有很大差异。其中水浴加热方式检测到的相对含量大于1%的成分种类数为15种, 各萜烯类相对含量占比达到了29.76%; 喷雾雾化强制性地熏蒸出相对含量更多的肉桂醛, 其相对含量占比达到74.26%。由此可见: 肉桂精油香氛方式改变时, 香氛气体的成分构成会发生变化, 进而影响对白色葡萄球菌的抗菌效果。其中喷雾雾化具有最佳的抑菌效果, 水浴加热具有最佳的杀菌效果。

关键词: 肉桂精油; 白色葡萄球菌; 香氛抗菌

文章编号: 1673-9078(2022)12-239-246

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2022.12.0060

Antibacterial Activity and Compositional Analysis of Aromatic Vapours from Cinnamon Essential Oil

YU Hongpeng¹, ZOU Jinchi¹, WU Kegang^{1,2*}, CHAI Xianghua¹, DUAN Xuejuan¹, HE Dong^{1,2}

(1. School of Chemical Engineering and Light Industry, Guangdong University of Technology, Guangzhou 510006, China)

(2. Guangdong Provincial Key Laboratory of Plant Resources Biorefinery, Guangzhou 510006, China)

Abstract: In order to improve the antibacterial ability of the vapour phase of cinnamon essential oil, the inhibitory effects of the aromatic vapours generated by four kinds of cinnamon essential oil vapour-producing methods against *Staphylococcus albicans* were investigated. It was found that the influences of the vapour-producing methods on the antibacterial effects followed a certain trend. Among them, the order of the minimum inhibitory concentration (MIC) was as follows: spray atomization > water bath heating > natural volatilization > combustion; and the order of the minimum bactericidal concentration (MBC) was: water bath heating > spray atomization > natural volatilization > combustion. The electronic nose technique was used to distinguish the gas components at the minimum bactericidal concentrations of the four kinds of vapour-producing methods. Headspace solid phase microextraction (HS-SPME) combined with gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS) was used to analyze further the compositions of the aromatic vapours. The results showed that the relative contents of the components detected in the vapours generated by different vapour-producing methods differed greatly. Among them, 15 kinds of components with their relative contents higher than 1% were detected in the vapour produced by the water bath heating method, with the relative contents of individual terpenes up to 29.76%; the spray atomization forced the generation of cinnamaldehyde at a higher relative content (up to 74.26%). It can be seen

引文格式:

于泓鹏, 邹金池, 吴克刚, 等. 肉桂精油香氛抗菌活性及成分分析[J]. 现代食品科技, 2022, 38(12): 239-246

YU Hongpeng, ZOU Jinchi, WU Kegang, et al. Antibacterial activity and compositional analysis of aromatic vapours from cinnamon essential oil [J]. Modern Food Science and Technology, 2022, 38(12): 239-246

收稿日期: 2022-01-17

基金项目: 广州市科技计划项目(202103000078); 广东省林业科技创新重点项目(2020KJCX010); 广东省农村科技特派员重点项目(19ZK0364); 广东省植物资源生物炼制重点实验室开放基金资助项目(2021GDKLPRB0X)

作者简介: 于泓鹏(1972-), 男, 博士, 副教授, 研究方向: 超临界萃取、分子蒸馏技术提取与分离天然产物的应用, E-mail: yuhpeng@163.com

通讯作者: 吴克刚(1969-), 男, 博士, 教授, 研究方向: 芳香植物及其提取物在健康领域的应用, E-mail: wukegang2003@163.com

that when the vapour-producing method applied to cinnamon essential oil was changed, the composition of the gas aromatic vapour was altered, which affected the subsequent antibacterial effect against *Staphylococcus albicans*. Among them, spray atomization exhibited the greatest inhibitory effect, whilst the water bath heating method led to the greatest bactericidal effect.

Key words: cinnamon essential oil; *Staphylococcus albus*; sweet atmosphere of antimicrobial

精油是植物次级代谢产物,其含有的主要是挥发程度不同的各种液体有机物^[1],包括醛类(如柠檬醛)、酚类(如丁子酚、香芹酚)和醇类(如香叶醇)等^[2]。精油一直以来被认为是绿色安全的,精油中的一些成分也已经得到安全性评估,并被认为是安全的,如 α -蒎烯、芳樟醇及桉树醇等精油组分被 Api 等^[3-5]进行食品与化学毒理学评估并获得认可。

肉桂精油是一种黄色至红褐色的澄清液体,主要存在于肉桂的桂枝、桂皮、果实等部位,其有效成分主要有肉桂醛、蒎烯、邻甲氧基肉桂醛和杜松烯等。肉桂精油还具有良好的抑菌^[6]能力,对细菌^[7]及真菌^[8]均具有良好的抑制或杀灭作用。肉桂精油抗菌能力可应用于诸多领域,如 Chang 等^[9]发现,土肉桂具有良好的抗嗜肺乳杆菌活性,可应用到度假或家庭水浴设施中的抗菌。Rangsuwan 等^[10]发现肉桂精油可以抑制黄曲霉分生孢子及菌落的生长,在防治玉米发霉方面具有不错前景;Purkait 等^[11]研究发现肉桂和丁香的组合在食品和制药行业中作为抗菌、抗氧化剂具有可靠性和安全性。近年来,肉桂精油抗菌机理不断被报道,如 Bouhdid 等^[12]在肉桂精油诱导铜绿假单胞菌和金黄色葡萄球菌的实验中,发现肉桂精油先是显著降低细菌细胞的代谢活性和复制能力,而后才对细菌膜完整性产生影响;Felso 等^[13]研究发现,肉桂精油能够改变铜绿假单胞菌外膜蛋白,低浓度时,增加了铜绿假单胞菌的外膜蛋白量,高浓度时,其处理过的菌外膜分子量为 42.7 和 80.8 ku 的蛋白质消失,说明肉桂精油可以通过改变细菌生物膜的外膜蛋白成分,进而达到抑制细菌生长的能力。

目前报道的精油抑菌方式主要有直接接触法和气相熏蒸法,有研究表明,气相熏蒸方式下精油的抗菌活性可能更可靠,如 Goni 等^[14]认为,直接接触方式下,起抗菌作用的主要是亲水性更强和挥发性较小的物质,而气相实验中,顶空释放的挥发性化合物(亲水性和疏水性)和一部分在琼脂表面吸收的亲水性化合物之间达到了平衡,因此气相实验用来估计精油的抗菌活性可能更为可靠。本研究在气相熏蒸的基础上,通过改变肉桂精油气相香氛方式,采用自然挥发、水浴加热、燃烧、喷雾雾化四种香氛方式,讨论其对白色葡萄球菌抑制、杀灭作用的影响,并进一步利用电子鼻、HS-SPME-GC-MS,分析四种香氛方式具有相同

杀菌能力时,其香氛气体成分构成的变化。

1 材料与方法

1.1 材料、试剂

白色葡萄球菌(*Staphylococcus* 8032),广东省微生物研究所;真空干燥器(空间体积 6.5 L),广州广淘科技股份有限公司;培养皿(环球 60 mm),广州市天力达化玻有限公司;营养琼脂,广州环凯微生物科技有限公司;封口膜(14×14 cm,膜直径 30 mm),常德比曼客生物科技有限公司;肉桂精油(99%),香飘三众创平台提供;CAR/PDMS 萃取头(75 μ m),美国 SUPELCO 公司;实验用水为去离子水。

1.2 实验仪器

YX280/20 手提式不锈钢压力蒸汽灭菌锅,上海三申医疗器械有限公司;SW-CJ-2F 超净工作台,苏州安泰空气技术有限公司;SPX-25 生化培养箱,上海锐丰仪器仪表有限公司;(GC7890B-MS 5977B, Agilent)气相色谱-质谱联用仪,日本岛津;PEN3 电子鼻,德国 AIRSENSE 公司。

1.3 实验方法

1.3.1 香氛形成方式对肉桂精油抗菌活性实验

四种香氛方式中,水浴加热与自然挥发是将肉桂精油与丙二醇混合稀释,燃烧与喷雾雾化方式是将肉桂精油与乙醇混合稀释。本实验装置使用玻璃真空干燥器,在其内放置小铁架,用于倒置涂有菌液的小培养皿,底部可放置精油溶液或丙二醇,装置顶部包裹透气不透菌封口膜,具体装置如图 1。



图 1 气相熏蒸装置

Fig.1 Vapor phase fumigation device

1.3.1.1 自然挥发香氛方式

(1) 将需要用到的培养皿、培养基、涂布棒等材料包装好后在 121 °C 下, 高温高压灭菌处理 20 min, 烘干备用。

(2) 菌种活化: 取实验室斜面菌种划线活化并进行传代培养, 传至 2~3 代备用。

(3) 涂布: 将传代好的白色葡萄球菌稀释至 $10^6 \sim 10^7$ CFU/mL, 吸取 50 μ L 菌液在倒好的培养基上, 用涂布棒涂抹均匀^[15]。

(4) 将精油按空间浓度 0、10、20、30、40、50 μ L/L 依次添加到准备好的装置中, 并迅速放入涂布好菌液的培养基, 盖上盖子, 并用封口膜将缝隙封好, 装置上端圆孔使用透气不透菌封口膜封紧。

(5) 将上述装置摆放在相同的实验环境下, 记录每日温度、湿度, 培养 1~2 d, 直至有培养皿表面生长出均匀的菌落。

(6) 将装置中的菌板在无菌操作台内取出, 观察菌落生长情况并做记录; 每个培养皿挖取 3 个大小相同的 6 mm 圆孔转移到新的干净培养基, 并放入培养箱在 37 °C 下培养 24 h。

(7) 观察圆孔周围菌落生长情况并做记录。

步骤 (4)、(6) 均做三个平行。

1.3.1.2 燃烧香氛方式

将空间浓度为 0、10、30、50、100、200 μ L/L 的精油依次添加到准备好的装置中, 并迅速放入 3 个涂布好菌液的培养基, 盖上盖子, 并用封口膜将缝隙封好, 从装置上端伸入打火机点燃酒精-肉桂溶液, 点燃后将装置上端圆孔使用透气不透菌封口膜封紧。其余步骤与自然挥发相同。

1.3.1.3 水浴加热香氛方式

将空间浓度为 0、10、30、50、100、200 μ L/L 的精油依次添加到准备好的装置中, 并迅速放入 3 个涂布好菌液的培养基, 盖上盖子, 并用封口膜将缝隙封好, 装置上端圆孔使用透气不透菌封口膜封紧。将装置底部依次放入温水盆内, 并保持水温在 40 °C~50 °C 间, 放置时间为 1.5 h~2 h。其余步骤与自然挥发相同。

1.3.1.4 喷雾雾化香氛方式

将空间浓度为 0、5、10、15、200 μ L/L 的精油依次添加到准备好的喷雾器中, 并迅速放入 3 个涂布好菌液的培养基, 随后打开雾化器开关, 迅速放入装置内, 盖上盖子, 并用封口膜将缝隙封好, 装置上端圆孔使用透气不透菌封口膜封紧。其余步骤与自然挥发相同。

1.3.2 不同香氛形成方式下肉桂精油的成分分析

1.3.2.1 电子鼻

使用电子鼻采集四种香氛方式的气体成分: 25 °C 下, 取四种香氛方式在 1.3.1 抗菌实验中, 得到的最低杀菌浓度的肉桂精油溶液置于实验装置内 (干燥器) 顶空 40 min; 电子鼻洗气 80 s; 数据采集 100 s; 气体流量为 600 mL/min。

1.3.2.2 SPME-GC-MS

四种香氛方式 (水浴、自然挥发、雾化、明火燃烧) 均使用 1.3.1 得到的最低杀菌浓度, 气体成分采集使用 SUPELCO 固相微萃取 SPME 方法。水浴方法为: 取样品于蒸发皿中, 加入丙二醇稀释, 置于干燥器中水浴 40 °C 加热吸附萃取; 自然挥发取样品于蒸发皿中, 加入丙二醇稀释, 直接置于干燥器中吸附萃取; 雾化方法取样品于蒸发皿中, 加入乙醇稀释, 使用专用雾化器雾化完毕后吸附萃取; 明火燃烧取样品于蒸发皿中, 加入乙醇, 置于干燥器中点火燃烧完毕后吸附萃取; 吸附萃取将老化完成的 75 μ m CAR/PDMS 涂层萃取头插于干燥器中悬空吸附 40 min, 萃取完成后于进样口解吸 5 min。

气相色谱参数: 仪器型号: Agilent 7890B; 色谱柱: HP-5MS UI (60 m \times 0.25 mm, 0.25 μ m); 进样体积: 0.2 μ L (精油直接进样); 进样口温度: 250 °C; 进样模式: 直接进样分流比 120: 1; SPME 采集进样为不分流进样; 载气模式: 恒流 1 mL/min; 传输线温度: 300 °C; 升温程序: 50 °C (3 min) $_2$ °C/min $_180$ °C (0 min) $_20$ °C/min $_300$ °C (10 min)。

质谱参数: 仪器型号: Agilent 5977B GC/MS; 离子化方式: EI, atune; 离子源温度: 230 °C; 四级杆温度: 150 °C; 扫描范围: 29~550 u; 溶剂延迟: 5 min (雾化挥发方式)。

1.3.3 数据处理

抗菌活性实验、电子鼻分析数据利用 Excel 处理, 图形绘制用 Origin 2021。HS-SPME-GC-MS 结果采用 Agilent 5977B 对样品进行分析, 结合 Nist14 和百花香料公司自建香料谱库进行定性检索, 并结合保留时间辅助定性。

2 结果与讨论

2.1 香氛形成方式对肉桂精油抗菌活性的影响

四种香氛形成方式均对白色葡萄球菌均具有良好的抑制、杀灭作用。四种香氛方式下的 MIC、MBC 如表 1。四种精油香氛方式的抑菌效果为: 喷雾雾化 > 水浴加热 > 自然挥发 > 燃烧; 杀菌效果为: 水浴加热 > 喷雾雾化 > 自然挥发 > 燃烧。

表1 四种香氛方式下的抗菌效果

Table 1 Bacteriostatic and bactericidal effects under four volatilization modes

精油香氛方式	MIC/($\mu\text{L/L}$)	MBC/($\mu\text{L/L}$)
自然挥发	30	40
水浴加热	10	10
燃烧	100	200
喷雾雾化	5	20

注：该表浓度为整个装置的空间浓度。

由表可知，水浴加热的MBC值最小，为10 $\mu\text{L/L}$ (0.01 $\mu\text{L/mL}$)，可能是水浴加热方式下，精油挥发出了更多有效抗菌活性成分，表现出显著杀菌效果；喷雾雾化方式的MIC值最小，为5 $\mu\text{L/L}$ ，可能是喷雾器可以强制性地雾化精油中不易挥的成分，增大空气中抗菌成分浓度，从而产生显著抑菌效果；燃烧方式下抗菌活性最差，MIC为100 $\mu\text{L/L}$ ，MBC为200 $\mu\text{L/L}$ ，可能是高温燃烧的方式，导致精油中具有抗菌活性的成分失活，从而降低了空间内精油的有效抗菌活性成分浓度，例如在高温下，可能加速萜烯类与空气中的氧发生氧化和聚合^[16]反应，生成 CO_2 、水，空间内有效成分浓度降低，抗菌活性相应也降低；自然挥发方式具有良好的抗菌活性，其最低抑菌浓度为30 $\mu\text{L/L}$ ，最低杀菌浓度为40 $\mu\text{L/L}$ ，此方式也是四种方式中最简单易操作的。与吴红影等^[17]利用肉桂精油气相熏蒸得到的MIC值0.006 25 $\mu\text{L/mL}$ 相比，喷雾雾化的MIC值5 $\mu\text{L/L}$ (0.005 $\mu\text{L/mL}$)更具有优势。与段雪娟等^[18]利用肉桂精油气相熏蒸的MIC值0.25 $\mu\text{L/mL}$ ，MBC值0.50 $\mu\text{L/mL}$ 相比，喷雾雾化和水浴加热两种香氛方式的MIC、MBC值都更小。从抗菌实验结果来看，水浴加热和喷雾雾化两种香氛方式都极大地提高了肉桂精油抑制、杀灭细菌的能力。

2.2 香氛形成方式对肉桂精油气体成分影响

2.2.1 电子鼻分析

四种香氛方式电子鼻指纹图谱如图2所示，传感器各序列号所对应代表化合物种类^[19]如表2。结合表2与图2a可知，燃烧方式对S7、S9传感器响应值均比较低，S7响应与精油中萜烯类有关，S9响应与精油内芳香成分有关，可能是燃烧的香氛方式温度过高，萜烯和芳香成分随溶剂在高温下迅速发生挥发、燃烧和反应，生成 CO_2 和 H_2O ，降低了空间内这两类物质的含量；喷雾雾化方式对所有有响应的传感器都响应值高，与前面抑菌实验中分析相符：在强制性雾化方式下，不易挥发成分通过雾化方式飘散在空气中，极大地提高了空间中精油成分浓度；与自然挥发相比，水

浴加热对S2、S6、S8、S9传感器都更灵敏，可能是水浴加热的方式，使精油的温度升高，一些具有挥发性的成分及小分子物质能更容易的随溶剂挥发到气相中，增大了空间内成分浓度。

表2 不同传感器序列号所代表的化合物种类

Table 2 Compounds represented by different sensor sequences

传感器序号	传感器名称	代表化合物种类
S1	W1C	苯类芳香成分
S2	W5S	灵敏度大，对氮氧化合物灵敏
S3	W3C	氨类，对芳香成分灵敏
S4	W6S	主要对硫化物有选择性
S5	W5C	短链烷烃和芳香成分
S6	W1S	对甲基类、广泛的化合物灵敏
S7	W1W	对无机硫化物、吡嗪、萜烯灵敏
S8	W2S	对醇类、醛酮、芳香族化合物灵敏
S9	W2W	芳香成分，对有机硫化物灵敏
S10	W3S	对长链烷烃灵敏

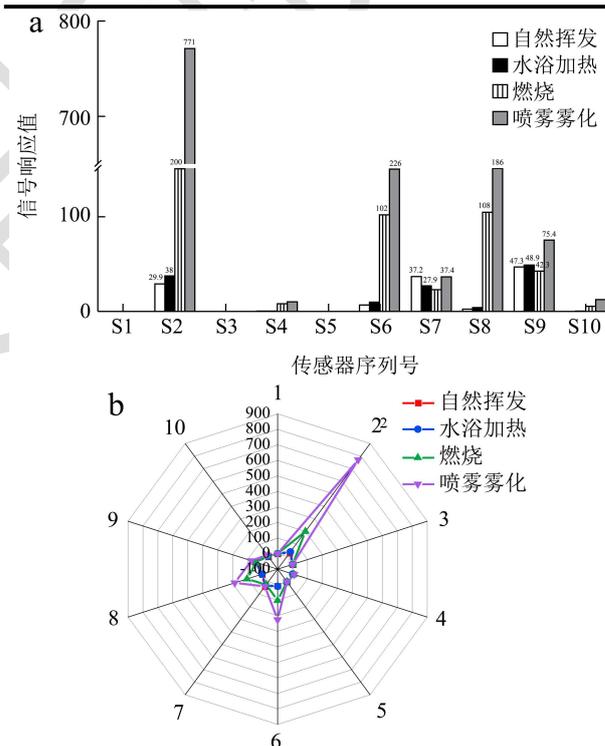


图2 四种香氛方式电子鼻传感器响应值指纹图谱
Fig.2 Fingerprint of the response value of the electronic nose sensor in four fragrance modes

由图2b雷达图可知，喷雾雾化和燃烧在雷达图中各序列号响应值存在较明显差异，能够被电子鼻很好的区分开。自然挥发与水浴加热方式在雷达图中重合性较好，电子鼻较难对这两种香氛方式加以区分。电子鼻对四种香氛方式气体成分分析实验中，只能对四种香氛方式的气体成分进行一个大类别的区分，其具体成分还需要进一步采用HS-SPME-GC-MS的方式才

能得到。

2.2.2 SPME-GC-MS 成分分析

四种香氛方式下气相成分 HS-SPME-GC-MS 部分分析结果如表 3, 由表可知, 四种香氛方式检测出的相对含量大于 1% 的化合物种类数具有显著差异, 其中水浴加热 (15 种) > 自然挥发 (6 种) > 燃烧 (4 种) 和喷雾雾化 (4 种)。四种香氛方式均使用 MBC 的情况下, 水浴加热明显挥发出更多种类相对含量大于 1% 的化合物。其中就包含多种萜烯, 如 α -蒎烯、 β -石竹烯和香柠檬烯等, 绝大多数的萜烯具有抗菌活性^[20,21]。如

Jin^[22]等利用挥发性有机化合物对 A549 和 HepG2 细胞的细胞活力、氧化应激影响等研究, 发现 α -蒎烯可以通过调节氧化应激相关的信号通路来诱导细胞死亡; Gwak^[23]等对热萃取柳杉时检测到的包括 δ -杜松烯在内的 32 种挥发性萜烯类进行抗菌活性研究, 发现这些萜烯对红毛癣菌、毛癣菌和石膏微孢子虫具有抗菌活性。表 3 列出的各香氛方式挥出相对含量在 1% 以上的组分存在差异, 可能正是这些组分差异导致了各香氛方式下肉桂精油不同的抗菌活性。

表 3 肉桂精油四种香氛方式相对含量 1% 以上的有机化合物

Table 3 Organic components with a relative content greater than 1% detected by four fragrance mode of cinnamon essential oil

香氛方式	相对含量>1%种类数	相对含量/%	名称
燃烧	4	2.24	苯甲醛
		1.28	反式肉桂醛 (Z)
		72.46	反式肉桂醛 (E)
		3.09	α -蒎烯
喷雾雾化	4	74.26	反式肉桂醛 (E)
		1.37	反式肉桂醛 (Z)
		4.69	α -蒎烯
		3.52	2-氧基肉桂醛
自然挥发	6	1.97	苯甲醛
		63.55	反式肉桂醛 (E)
		8.57	α -蒎烯
		1.40	β -石竹烯
		1.06	γ -依兰油烯
		1.10	δ -杜松烯
水浴加热	15	50.19	肉桂醛
		8.93	α -蒎烯
		1.96	β -石竹烯
		1.16	香柠檬烯
		1.10	1-苯基-2-硝基丙烯
		1.03	香橙烯
		2.44	γ -依兰油烯
		1.61	α -姜黄烯
		1.21	CaryophylladieneA, 9,11- (萜类化合物)
		1.91	α -依兰油烯
		2.21	β -红没药烯
1.17	γ -杜松烯		
3.71	δ -杜松烯		
1.08	2-甲氧基肉桂醛		
1.32	(E)- γ -红没药烯		

表4 肉桂精油四种香气方式主要有机化合物结果

Table 4 The results of four perfuming methods of cinnamon essential oil

序号	名称	保留时间/min				相对含量/%			
		自然挥发	水浴加热	燃烧	喷雾雾化	自然挥发	水浴加热	燃烧	喷雾雾化
1	反式肉桂醛	43.08	43.21	43.05	42.75	63.55	50.19	72.46	74.26
2	(Z)-cinnamaldehyde	38.77	-	38.76	38.81	0.94	-	1.28	1.37
3	α -蒎烯	49.63	49.90	49.54	49.63	8.57	8.93	3.09	4.69
4	δ -杜松烯	58.71	58.83	58.68	58.72	1.10	3.71	0.37	0.97
5	β -石竹烯	53.42	52.49	-	52.43	1.40	1.96	-	0.84
6	γ -依兰油烯	55.89	55.98	55.86	55.90	1.06	2.44	0.41	0.90
7	苯甲醛	20.15	20.16	20.14	20.14	1.97	0.91	2.24	0.90
8	α -依兰油烯	57.32	57.40	57.29	57.32	0.67	1.91	0.24	0.58
9	α -姜黄烯	56.13	56.20	56.10	56.13	0.61	1.61	0.22	0.44
10	1-甲基-4-(6-甲基庚基-5-和2-亚基)环己烯	59.13	59.23	-	-	0.34	1.32	-	-
11	β -红没药烯	57.71	57.81	57.67	57.71	0.63	2.21	0.20	0.45
12	萜类化合物	-	57.15	-	-	-	1.200	-	-
13	γ -杜松烯	58.21	58.29	58.18	58.21	0.42	1.17	0.15	0.38
14	香柠檬烯	53.24	53.29	53.21	53.24	0.64	1.16	0.22	0.38
15	1-苯基-2-硝基丙烯	-	53.75	53.65	53.73	-	1.10	0.41	0.88
16	2-甲氧基肉桂醛	58.99	59.12	58.97	59.19	0.36	1.08	0.46	3.52
17	(\pm)香橙烯	50.52	55.07	-	50.53	0.17	1.03	-	0.18
18	水杨醛	25.99	26.01	25.98	25.99	0.41	0.25	0.63	0.34
19	α -红没药烯	59.70	59.76	-	59.70	0.17	0.79	-	0.15
20	Z-Cinnamicl Aldehyde 1,2-Propylene Glycol Acetal, P.2	60.55	60.13	-	-	0.77	0.75	-	-
21	Cinnamicl Aldehyde 1,2-Propylene Glycol Acetal, P.1	-	60.61	-	-	-	0.71	-	-
22	(+)-环苜蓿烯	49.01	48.94	48.88	48.92	0.13	0.66	0.27	0.39
23	苯乙烯	15.62	15.63	15.61	15.62	0.50	0.15	0.44	0.08
24	2-epi-trans- β -caryophyllene	55.02	-	54.99	55.02	0.57	-	0.31	0.50
25	(+)-喇叭烯	57.09	-	57.07	57.09	0.46	-	0.12	0.40
26	依兰油烯	49.23	-	49.21	49.24	0.43	-	0.13	0.23
27	邻甲氧基苯甲醛	40.36	40.39	40.35	40.38	0.72	0.46	0.82	0.73
28	Bicyclo [3.1.1] heptane	-	54.44	-	-	-	0.41	-	-
29	α -石竹烯	54.55	54.60	-	-	0.23	0.40	-	-
30	香豆素	53.36	54.41	53.34	53.44	0.11	0.20	0.11	0.45
31	苯丙醛	34.67	34.69	34.65	34.67	0.29	0.16	0.44	0.31
32	苯乙醇	31.08	31.11	31.04	31.07	0.10	0.05	0.24	0.27
33	氧化石竹烯	62.40	62.45	62.39	62.42	0.02	0.10	0.03	0.10
34	β -瑟林烯	56.59	56.65	56.56	56.60	0.13	0.28	0.05	0.11
35	茴香脑	43.51	-	43.67	43.49	0.26	-	0.16	0.10
合计						87.73	87.30	85.5	94.90

注：“-”表示未检测出该物质。

四种香氛方式采用 HS-SPME-GC-MS 测得的主要有机化合物结果如表 4。由表可知,在 MBC 下,燃烧和喷雾雾化香氛方式下肉桂醛相对含量都较大,两种香氛方式下肉桂醛和 α -蒎烯相对含量差异小,说明这两种方式起杀菌作用的成分可能一致,主要是靠高空间浓度的肉桂醛达到杀菌效果。喷雾雾化的杀菌能力仅次于水浴加热香氛方式,为 20 $\mu\text{L/L}$ 的空间浓度,该方式能将肉桂精油组分以喷雾的形式挥出,覆盖到整个装置内,增大了精油组分的空间浓度,从而表现出较好的杀菌效果。四种方式均取 MBC,燃烧方式添加的肉桂精油空间浓度是水浴方式下的 20 倍,喷雾方式下的 10 倍,为 200 $\mu\text{L/L}$,但该方式检测到的有机挥发性化合物并不多,其检测到的肉桂醛相对含量还稍低于喷雾雾化香氛方式。这是由于燃烧方式产生明火,高温燃烧了部分肉桂精油组分,其抑菌能力也就是四种方式中最差的。

自然挥发和水浴加热香氛方式下,肉桂醛含量不及前两种方式,说明除了肉桂醛起作用外,可能还有其他挥发性有机化合物起作用,自然香氛方式下测得的相对含量大于 1%挥发性有机化合物为 6 种, α -蒎烯相对含量为前两种方式的将近两倍, β -石竹烯、 γ -依兰油烯、 δ -杜松烯 3 种萜烯相对含量也在 1%以上,故推测自然香氛方式下萜烯(如 α -蒎烯)增强了肉桂醛杀菌能力;水浴加热香氛方式下的肉桂醛相对含量最低,这是由于水浴加热方式下的 MBC 最小的,为 10 $\mu\text{L/L}$ 的空间浓度,在该测试中添加的肉桂精油量最少,其杀菌效果表现出众,是因为加热情况下,更多的萜烯成分受热挥出,与肉桂醛协同,起到杀菌效果。如 α -蒎烯、 δ -杜松烯、 β -红没药烯和 γ -依兰油烯相对含量都在 2%以上, α -依兰油烯等 10 种萜烯测得相对含量均在 1%以上,相对含量在 1%以上的各萜烯相对含量和达到了 29.76%。此时,其在肉桂精油水浴加热杀菌过程中,起到重要作用。故水浴加热杀菌能力强依赖于相对含量高的萜烯及肉桂醛共同作用。

上述成分分析结果与前面 2.1 抑菌实验结果中“水浴加热、喷雾雾化具有很好的抗菌效果”结论相符合。

3 结论

四种香氛方式对白色葡萄球菌的抗菌实验中,发现不同香氛方式抑菌效果存在明显差异,且存在一定的规律性。其中,四种香氛方式抑菌能力强弱大小:喷雾雾化>水浴加热>自然挥发>燃烧;四种香氛方式杀菌能力强弱大小:水浴加热>喷雾雾化>自然挥发>燃烧。

四种香氛方式 HS-SPME-GC-MS 数据采集实验

中,均使用的是最低抑菌浓度,水浴加热挥发的有萜烯类成分相对含量较其他方式种类更多、更高,相对含量达 29.76%,其中包括 α -蒎烯、 β -石竹烯和香柠檬烯等具有抗菌活性的萜烯化合物;喷雾方式雾化出相对含量达 74.26%的肉桂醛,这两种方式均能够在很低的肉桂精油浓度下,具有很好的抗菌能力,虽然达到效果的方式存在差异,但却能给人们在使用精油进行抑菌、杀菌时,提供更多的选择。自然挥发的方式抑菌、杀菌效果也表现良好,这可能与其挥发成分种类有一定关系,与水浴方式相比,其检测出的成分种类很相似,但各成分相对含量稍低。综合来看,水浴加热和喷雾雾化两种香氛方式的抗菌能力是最佳的。

参考文献

- [1] 高永生,金斐,朱丽云,等.植物精油及其活性成分的抗菌机理[J].中国食品学报,2022,22(1):376-388
- [2] Jureviciute R, Loziene K, Bruno M, et al. Composition of essential oil of lemon thyme (*Thymus x citriodorus*) at different hydrodistillation times [J]. Natural Product Research, 2019, 33(1): 80-88
- [3] Api A M, Belsito D, Botelho D, et al. RIFM fragrance ingredient safety assessment, alpha-pinene, casregistry number 80-56-8 [J]. Food and Chemical Toxicology : an International Journal Published for the British Industrial Biological Research Association, 2022, 159: 112702
- [4] Api A M, Belsito D, Botelho D, et al. Update to RIFM fragrance ingredient safety assessment, linalool, casregistry number 78-70-6 [J]. Food and Chemical Toxicology : an International Journal Published for the British Industrial Biological Research Association, 2022, 159: 112687
- [5] Api A M, Belsito D, Botelho D, et al. RIFM fragrance ingredient safety assessment, eucalyptol, cas registry number 470-82-6 [J]. Food and Chemical Toxicology : an International Journal Published for the British Industrial Biological Research Association, 2022, 159: 112720
- [6] Rao P, Gan S. Cinnamon: amultifaceted medicinal plant [J]. Evidence-based Complementary and Alternative Medicine, 2014, 4: 642942
- [7] Ginting E V, Retaningrum E, Widilasih I A, et al. Antibacterial activity of clove (*Syzygium aromaticum*) and cinnamon (*Cinnamomum burmannii*) essential oil against extended-spectrum beta-lactamase-producing bacteria [J]. Veterinary world, 2021, 14(8): 2206-2211
- [8] Ju J, X X M, Xie Y F, et al. Inhibitory effects of cinnamon and clove essential oils on mold growth on baked foods [J]. Food

- Chemistry, 2018, 240: 850-855
- [9] Chang C W, C W, Chang S T, et al. Antibacterial activities of plant essential oils against *Legionella pneumophila* [J]. Waterresearch, 2008, 42(1-2): 278-286
- [10] Sansern, Ranguwan C R, Ratiya Pongpisutta. Competency of clove and cinnamon essential oil fumigation against toxigenic and atoxigenic *Aspergillus flavus* isolates [J]. J Pure Appl Microbiol, 2021, 15(3): 1325-1337
- [11] S Purkait, A B, A Bag. Synergistic antibacterial, antifungal and antioxidant efficacy of cinnamon and clove essential oils in combination [J]. Archives of Microbiology, 2020, 202(6): 1439-1448
- [12] Bouhdid S, Abrini J, Amensour M, et al. Functional and ultrastructural changes in *Pseudomonas aeruginosa* and *Staphylococcus aureus* cells induced by cinnamomum verum essential oil [J]. Journal of Applied Microbiology, 2010, 109(4): 1139-1149
- [13] Felso P, Horvath G, Bencsik T, et al. Detection of the antibacterial effect of essential oils on outer membrane proteins of *Pseudomonas aeruginosa* by lab-on-a-chip and MALDI-TOF/MS [J]. Flavour and Fragrance Journal, 2013, 28(6): 367-372
- [14] Goni P, Lopez P, Sanchez C, et al. Antimicrobial activity in the vapour phase of a combination of cinnamon and clove essential oils [J]. Food Chemistry, 2009, 116(4): 982-989
- [15] 吴克刚,林雅慧,柴向华,等.香辛植物精油对常见呼吸道致病菌气相抗菌作用的研究[J].天然产物研究与开发,2014,26(10):1669-1672
- [16] Ahmat Y M, Madadi S, Charbonneau L, et al. Epoxidation of terpenes [J]. Catalysts, 2021, 11(7): 847
- [17] 吴红影,王光宇,徐圆程,等.气态植物精油对黑曲霉生长及代谢活性的影响[J].中国粮油学报,2021,36(11):137-143
- [18] 段雪娟,韩雅莉,刘泽璇,等.肉桂精油气相熏蒸金黄色葡萄球菌的抗菌机理[J].现代食品科技,2021,37(9):50-58
- [19] Da D, Nian Y, Shi J, et al. Characterization of specific volatile components in braised pork with different tastes by SPME-GC/MS and electronic nose [J]. Journal of Food Processing and Preservation, 2021, 45(5): 15492
- [20] Olga E, Melkina V A P, Inessa A, et al. The mode of action of cyclic monoterpenes (-)-limonene and (+)- α -pinene on bacterial cells [J]. Biomolecules, 2021, 11(6): 806
- [21] Hilgers F, Habash S, Loeschcke A, et al. Heterologous production of β -caryophyllene and evaluation of its activity against plant pathogenic fungi [J]. Microorganisms, 2021, 9(1): 168
- [22] Jin K-S, Bak M-J, Jun M, et al. Alpha-pinene triggers oxidative stress and related signaling pathways in A549 and HepG2 cells [J]. Food Science and Biotechnology, 2010, 19(5): 1325-1332
- [23] Gwak K-S, Jae L J, Yeo H, et al. Analysis of terpenoids as volatile compound released during the drying process of *Cryptomeria japonica* [J]. Journal of the Korean Wood Science and Technology, 2010, 38(3): 2420-2450