

百里香酚和肉桂醛联用对沙门氏菌的协同抑菌效应及其应用

胡心怡¹, 胡郁汉², 潘振辉², 李志成², 肖性龙¹, 余以刚^{1*}

(1. 华南理工大学食品科学与工程学院, 广东广州 510640)

(2. 广州酒家集团利口福食品有限公司, 广东广州 510641)

摘要: 研究了百里香酚和肉桂醛联用对沙门氏菌的抑菌效果, 并将两者作为复配抗菌剂应用于盐焗鸡中以探究其保鲜效果。采用微量稀释法确定了百里香酚和肉桂醛对沙门氏菌的最小抑菌浓度及联合抑菌效果, 结果显示百里香酚和肉桂醛的最小抑菌浓度均为 0.25 mg/mL、最小杀菌浓度均为 0.5 mg/mL; 此外, 两者联用时的分级抑菌浓度指数为 0.75, 表明百里香酚和肉桂醛具有较好的协同抑菌效应; 该结论同样被时间-杀菌曲线、扫描电子显微镜、PI 染色实验的结果所证实, 百里香酚和肉桂醛联用可以显著地破坏沙门氏菌细胞膜的完整性, 改变细菌形态, 从而导致胞内物质泄漏、最终菌体裂解死亡, 表明其具有一定的防腐保鲜应用潜力。因此, 该研究以盐焗鸡作为食品模型从微生物和脂质氧化两方面探究了百里香酚和肉桂醛的防腐保鲜效果, 结果显示百里香酚和肉桂醛联用可以显著地抑制盐焗鸡中细菌的增殖和脂质的氧化, 表明百里香酚和肉桂醛联用可以作为天然复配抗菌剂应用于盐焗鸡等熟肉制品的保鲜中。

关键词: 百里香酚; 肉桂醛; 抑菌效应; 盐焗鸡; 防腐保鲜

文章编号: 1673-9078(2021)12-112-119

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2021.12.0307

Synergistic Inhibitory Effect of Thymol and Cinnamaldehyde against *Salmonella* and Applications of the Combination

HU Xinyi¹, HU Yuhan², PAN Zhenhui², LI Zhicheng², XIAO Xinglong¹, YU Yigang^{1*}

(1. College of Food Science and Engineering, South China University of Technology, Guangzhou 510640, China)

(2. Guangzhou Restaurant Group Likoufu Food Co. Ltd., Guangzhou 510641, China)

Abstract: The antibacterial effect of the combined use of thymol and cinnamaldehyde against *Salmonella* was examined in this study, and the preservation effects of their combinations on salt-baked chickens were also evaluated. The minimum inhibitory concentrations (MICs) and the combined anti-bacterial effect of thymol and cinnamaldehyde against *Salmonella* were determined by the microdilution method. The results showed that the MICs and minimum bactericidal concentrations (MBCs) of thymol and cinnamaldehyde against *Salmonella* were 0.25 mg/mL and 0.5 mg/mL, respectively. In addition, the fractional inhibitory concentration index (FICI) of thymol and cinnamaldehyde in combination against *Salmonella* was 0.75, indicating that the combination of thymol and cinnamaldehyde exhibited a significant synergistic antibacterial effect. The above results were further confirmed by the time-kill curves, SEM analysis and PI staining experiments. That the combined use of thymol and cinnamaldehyde could destroy the integrity of the cell membranes of *Salmonella* and alter its morphology, causing the leakage of the cell contents and eventually cell lysis and death. These results indicated the potential of the combination as an antiseptic agent and preservative. Therefore, salt-baked chicken was used a model food to examine the antiseptic and preservation effects of thymol and

引文格式:

胡心怡, 胡郁汉, 潘振辉, 等. 百里香酚和肉桂醛联用对沙门氏菌的协同抑菌效应及其应用[J]. 现代食品科技, 2021, 37(12): 112-119

HU Xinyi, HU Yuhan, PAN Zhenhui, et al. Synergistic inhibitory effect of thymol and cinnamaldehyde against *Salmonella* and applications of the combination [J]. Modern Food Science and Technology, 2021, 37(12): 112-119

收稿日期: 2021-03-21

基金项目: 国家重点研发计划项目 (2018YFD0400805); 广东省科技计划项目 (2016B090918103)

作者简介: 胡心怡 (1995-), 女, 在读硕士, 研究方向: 食品质量与安全控制, Email: 465850511@qq.com

通讯作者: 余以刚 (1968-), 男, 博士, 教授, 研究方向: 食品质量与安全控制, Email: yuyigang@scut.edu.cn

cinnamaldehyde in combination from two aspects, microorganisms and lipid oxidation. The results showed that the combination of thymol and cinnamaldehyde could significantly inhibit the proliferation of bacteria and lipid oxidation in salt-baked chicken. Accordingly, thymol and cinnamaldehyde in combination can be used as a natural compound antibacterial agent for preserving salt-baked chicken and other cooked meat products.

Key words: thymol; cinnamaldehyde; antibacterial effect; salt-baked chicken; preservation

近年来,食源性细菌感染是威胁公共卫生安全中的严重问题。沙门氏菌是革兰氏阴性菌,适宜在10~42℃的环境下生存,100℃下持续20~30 min才可被杀死,是鸡肉中常见致病菌之一。沙门氏菌感染能够引发败血症、肠胃炎等疾病,严重时甚至导致患者死亡^[1]。2019年美国报告了与受污染家禽相关的沙门氏菌病1134例^[2]。关于致病菌的减控近年来取得了较大发展,研究表明,植物精油可以有效抑制致病菌的生长,减少微生物对脂肪和蛋白质的氧化,可用于延长肉类制品的保质期^[3-5]。此外,随着消费者对食品质量要求提高,绿色、无危害的植物源天然抑菌剂也已成为了研究的焦点。

百里香酚(2-异丙基-5-甲基苯酚)是一种天然的单萜酚,具有抗氧化、抗菌活性,是牛至精油、百里香精油、冬香薄荷精油中的主要活性成分之一^[6-8]。肉桂醛是一种黄色粘稠状的醛类有机化合物,是肉桂精油、风信子油等中的主要活性成分之一,具有较强的抗氧化、抗菌活性^[9-10]。百里香酚和肉桂醛对人体无毒无害,已被美国联邦药品管理局(FDA)批准用于食品以及食品添加剂^[11],我国《食品安全国家标准食品添加剂使用标准》中也将百里香酚和肉桂醛批准为可在食品中使用的天然防腐剂^[12]。目前关于肉桂醛和百里香酚的理化性质,抑菌机理,生物活性,化学合成,包埋和传递等方面都取得了较大的进展,单一使用肉桂醛和百里香酚均可取得较好的抑菌效果,而针对低剂量百里香酚和肉桂醛的复配及其抑菌效果仍然较少。因此,本研究考察了百里香酚与肉桂醛联合处理沙门氏菌的抑菌效应,并将其应用于盐焗鸡保鲜中以探究相应的保鲜效果,以期对百里香酚和肉桂醛更好地应用于食品产业保鲜提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 原料与试剂

冻鲜鸡:广州酒家利口福食品有限公司提供;无水乙醇(分析纯)、百里香酚(分析纯)、肉桂醛(分析纯):购于阿拉丁(上海)有限公司。

1.1.2 培养基及菌种

胰酪大豆胨液体培养基(TSB)、胰酪大豆胨琼脂培养基(TSA),购于广东环凯微生物科技有限公司;肠炎沙门氏菌 CCTCC AB 94018 (*Salmonella enteritidis*)和鼠伤寒沙门氏菌 ATCC 14028 (*Salmonella typhimurium*),华南理工大学食品安全与控制实验室提供。

菌种均在 TSB 中活化,37℃,180 r/min 摇床培养 24 h,调整菌悬液浓度为 6 lg(CFU/mL)后备用。

1.1.3 主要仪器设备

DM IRB 型荧光倒置显微镜,德国 Leica 仪器有限公司;En Spire 酶标仪,美国 Perkinelmer 公司;S-3700N 扫描式电子显微镜,德国蔡司公司;KDC-40 恒温培养箱,科大创新股份有限公司中佳分公司;SHZ-88A 立式高压灭菌锅,江苏太仓市实验设备厂。

1.2 实验方法

1.2.1 百里香酚和肉桂醛最小抑菌浓度、最小杀菌浓度及联合抑菌指数的测定

采用微量梯度稀释法对百里香酚和肉桂醛对沙门氏菌的最小抑菌浓度(minimum inhibitory concentration, MIC)进行测定。用 50%乙醇将百里香酚和肉桂醛配制为 128 mg/mL 的储备液,然后用无菌水稀释成一系列双倍浓度梯度,加入 100 μL 备用菌液,充分混匀,使其最终浓度为 32 mg/mL、16 mg/mL、8 mg/mL、4 mg/mL、2 mg/mL、1 mg/mL、0.5 mg/mL、0.25 mg/mL、0.125 mg/mL、0.0625 mg/mL,加入等体积 TSB 的孔为阴性对照,以不加菌悬液的孔为阳性对照。将 96 孔板置于 37℃ 培养箱中培养 24 h。以 96 孔板中肉眼不可见浑浊的最低浓度即为 MIC。

取 100 μL 混合菌液于 20 mL TSB 培养基中,置于 37℃,180 r/min 摇床培养 24 h 后,取 100 μL 混合菌液于 TSA 培养皿中,均匀涂布,置于 37℃ 培养 24 h,无菌体生长的最低浓度即为最小杀菌浓度(minimal bactericidal concentration, MBC)。

根据 Fratini 等^[13]的方法测定百里香酚和肉桂醛的分级抑菌浓度指数(fractional inhibitory concentration index, FICI)。按下式计算 FICI 值。

$$FICI = \frac{\text{复配MIC}_A}{\text{单独MIC}_A} + \frac{\text{复配MIC}_B}{\text{单独MIC}_B} \quad (1)$$

式中:

单独 MIC_A ——单一组分 A 的 MIC;

单独 MIC_B ——单一组分 B 的 MIC;

复配 MIC_A ——A 在组合中的有效浓度;

复配 MIC_B ——B 在组合中的有效浓度。

结果判定标准: 当 $0.5 < FICI \leq 0.75$ 时, 表示 A 与 B 之间在抑菌作用中为协同作用; 当 $0.75 < FICI \leq 1.0$, 表示 A 与 B 之间存在相加作用; 当 $1 < FICI \leq 2$ 时, 表示 A 与 B 之间在抑菌作用中不相关; 当 $FICI \geq 2$ 时, 表示 A 与 B 之间在抑菌作用中为拮抗关系。

1.2.2 百里香酚和肉桂醛联合处理沙门氏菌时间-杀菌曲线的测定

将百里香酚和肉桂醛加入备用菌液中, 使其终浓度为 1/4 MIC 百里香酚+1/4 MIC 肉桂醛, 1/2 MIC 百里香酚+1/2 MIC 肉桂醛, 空白组加入等体积 0.85% 生理盐水, 然后置于 37 °C、180 r/min 摇床培养。在 0、0.5、1、2、4、6、8、12、24 h 取样并采用平板计数法测定培养活菌数。以时间为横坐标, 活菌数的对数值为纵坐标绘制时间-杀菌曲线。

1.2.3 百里香酚和肉桂醛联合处理对沙门氏菌细胞膜完整性的测定

1.2.3.1 沙门氏菌细胞膜完整性观察

根据李建菲^[14]的方法适当的修改, 将沙门氏菌过夜培养至对数期备用。实验组为 1/4 MIC 百里香酚+1/4 MIC 肉桂醛、1/2 MIC 百里香酚+1/2 MIC 肉桂醛, 空白对照组为等体积生理盐水, 在恒温培养箱中进行孵育 (37 °C, 4 h) 后离心 (8000 r/min, 25 °C, 3 min)。收集菌体之后加入 100 μ L PI 染液涡旋混匀 30 s。在室温避光染色 15 min 后离心 (8000 r/min, 25 °C, 3 min)。将染液吸收, 加入等体积 PBS 涡旋混匀 30 s。吸取 5 μ L 菌液到载玻片上进行观察拍照。

1.2.3.2 沙门氏菌细胞膜完整性分析

将沙门氏菌过夜培养至对数期备用。取 1 mL 备用菌液离心 (8000 r/min, 25 °C, 3 min), 收集菌体, 并用 PBS 缓冲液洗涤 3 次后并重悬于 1 mL 含 1/4 MIC 百里香酚+1/4 MIC 肉桂醛, 1/2 MIC 百里香酚+1/2 MIC 肉桂醛的 PBS 缓冲液中, 空白组为等体积 PBS 缓冲液, 37 °C 孵育 8 h。然后离心 (8000 r/min, 25 °C, 3 min) 收集目标菌体。用 PBS 缓冲液洗涤 3 次后并重悬于 1 mL PBS 缓冲液中, 并加入 60 μ L 1 mg/mL PI 染液中, 置于恒温培养箱中避光孵育 (37 °C, 10 min) 后离心 (8000 r/min, 25 °C, 3 min)。PBS 缓冲液洗涤 3 次菌体后用酶标仪测荧光强度。

1.2.4 百里香酚和肉桂醛联合处理对沙门氏菌细胞形态的观察

采用扫描电子显微镜考察沙门氏菌外部形态的变化。将沙门氏菌过夜培养至对数期备用。取 1 mL 菌液清洗重悬于 1 mL 含 1/4 MIC 百里香酚+1/4 MIC 肉桂醛, 1/2 MIC 百里香酚+1/2 MIC 肉桂醛的 TSB 培养基中, 37 °C 孵育 4 h。然后取出样品洗涤 (8000 r/min, 25 °C, 3 min) 并收集, 加入 2.5% 戊二醛混匀, 4 °C 过夜固定。固定后清洗离心 (8000 r/min, 25 °C, 3 min), 按 30%、50%、70%、80%、90%、100% 的顺序梯度脱水。干燥后镀膜通过扫描电子显微镜观察。

1.2.5 百里香酚和肉桂醛联用在盐焗鸡中的应用

盐焗鸡工艺流程: 冻鲜鸡→解冻→清洗→腌制→烤制→抑菌剂处理→烘干→真空包装→成品。

抑菌剂处理: 将烤制后的盐焗鸡置于 0.125 mg/mL 百里香酚与 0.125 mg/mL 肉桂醛复配的溶液中浸泡 10 min, 以 6.25% (V/V) 酒精溶液作为空白组。

将各组样品置于 37 °C 贮藏, 每组样品各 3 个重复, 并分别每间隔 0、2、4、6、9、15 d 进行以下指标检验。

1.2.5.1 菌落总数的测定

参照 GB 4789.2-2016《食品安全国家标准食品微生物学检验菌落总数测定》的方法进行鸡肉样品中菌落总数的测定^[15]。

1.2.5.2 硫代巴比妥酸反应物 (TBARS) 的测定

硫代巴比妥酸值的测定参考文献^[16], 并略作修改。取 10 g 鸡肉样品剪碎, 加 50 mL 7.5% 的三氯乙酸混合液 (含 0.1% EDTA), 振摇 30 min, 双层滤纸过滤两次, 取 5 mL 上清液, 加入 5 mL 0.02 M TBA 溶液, 90 °C 水浴中保温 40 min, 取出冷却 1 h 后离心 5 min, 上清液中加 5 mL 氯仿摇匀, 静置分层后取上清液分别在 532 nm 比色, 记录吸光值, 并计算 TBA 值。

1.3 数据统计与分析

如无特殊说明, 所有样品各重复取 3 个, 所有实验重复 3 次取其平均值。采用 SPSS 19.0 和 Origin Pro 2017 软件对实验结果进行统计分析并作图, 应用单因素方差进行数据统计分析, 组间差异采用 S-N-K 法, 显著性水平 $p < 0.05$ 。

2 结果与讨论

2.1 百里香酚和肉桂醛联用对沙门氏菌的抑菌活性

通过微量梯度稀释法测定百里香酚和肉桂醛的抑

菌活性, 如表 1 所示, 百里香酚和肉桂醛对沙门氏菌的抑菌效果较为明显, 二者 MIC 均为 0.25 mg/mL, MBC 均为 0.5 mg/mL, 这与 Ozogul 等^[17]和 Wang 等^[18]研究的结果相似。百里香酚和肉桂醛对沙门氏菌的 FICI 指数为 0.75, 说明二者具有协同效应, 且两者的抑菌效果相当。当 0.09 mg/mL 百里香酚和 0.09 mg/mL 肉桂醛浓度复配时的抑菌效果与 0.25 mg/mL 百里香酚、0.25 mg/mL 肉桂醛单独使用时相似。

图 1 为百里香酚和肉桂醛联用的时间-杀菌曲线。通过图 1 可以看出, 用 1/2 MIC 百里香酚+1/2 MIC 肉桂醛、1/4 MIC 百里香酚+1/4 MIC 肉桂醛处理沙门氏菌时, 菌落数比空白组分别减少了 1.51 lg(CFU/mL)、0.75 lg(CFU/mL)。而 0.5 h 后, 1/2 MIC 百里香酚+1/2 MIC 肉桂醛处理组菌落数减少至 0; 1/4 MIC 百里香酚+1/4 MIC 肉桂醛处理组活菌数上升缓慢, 在第 8 h 时逐渐趋于稳定, 和初始值相比增加了 1.08 lg(CFU/mL), 在 24 h 时与空白组差值最大为 4.2 lg(CFU/mL)。根据 Fratini 等^[13]及 Jacqueline 等^[19]的评估方法, 1/2 MIC 百里香酚+1/2 MIC 肉桂醛联用对沙门氏菌呈现出协同抑菌效应。多项研究表明, 不同植物精油联用可以表现出增效作用, 如香芹酚 (0.28 mg/mL) 与肉桂醛 (0.28 mg/mL) 联用时对大肠杆菌表现出协同抑菌作用^[20]; 茶多酚与肉桂精油联用对抑制金黄色葡萄球菌生长具有相加效应^[21]。

表 1 百里香酚和肉桂醛对沙门氏菌的 MIC、MBC 和 FICI

Table 1 The MICs, MBCs and FICI of thymol and cinnamaldehyde against *Salmonella*

菌种	物质名称	MIC/(mg/mL)		MBC/(mg/mL)	FICI
		单独	联合		
沙门氏菌	百里香酚	0.25	0.09	0.5	0.75
	肉桂醛	0.25	0.09		

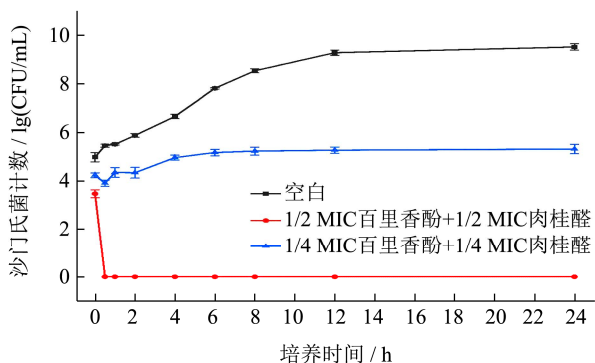


图 1 百里香酚和肉桂醛联用对沙门氏菌的时间-杀菌曲线

Fig.1 Time-killing curve of *Salmonella* exposed to combination of thymol and cinnamaldehyde

2.2 百里香酚和肉桂醛联用对沙门氏菌膜完

整性的影响

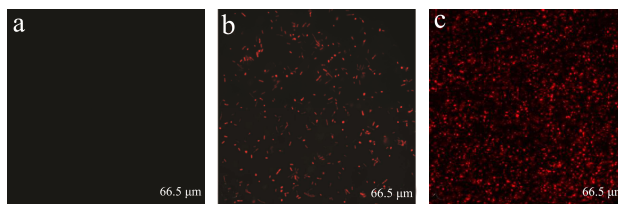


图 2 荧光倒置显微镜分析百里香酚和肉桂醛联用对沙门氏菌细胞膜完整性的影响

Fig.2 Effect of combination of thymol and cinnamaldehyde on cell membrane integrity of and *Salmonella* evaluated by fluorescence microscopy

注: a: 空白组; b: T1 组; c: T2 组。图中 T1 组表示 1/4 MIC 百里香酚+1/4 MIC 肉桂醛组; T2 组表示 1/2 MIC 百里香酚+1/2 MIC 肉桂醛组。

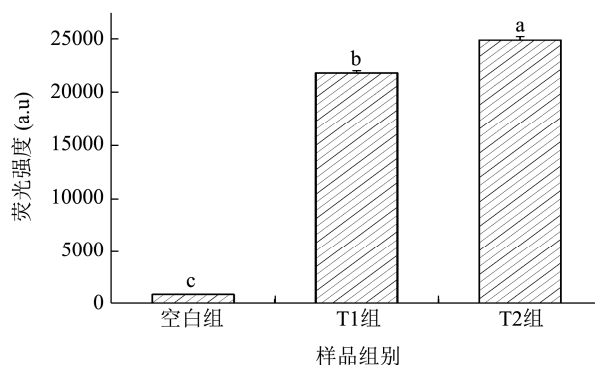


图 3 百里香酚和桂醛联用对沙门氏菌细胞膜完整性的影响

Fig.3 Effect of combination of thymol and cinnamaldehyde on cell membrane integrity of *Salmonella*

注: 图中 T1 组表示 1/4 MIC 百里香酚+1/4 MIC 肉桂醛组; T2 组表示 1/2 MIC 百里香酚+1/2 MIC 肉桂醛组; 图中不同字母表示数据差异性显著 ($p < 0.05$)。

图 2 为荧光倒置显微镜下 PI 染料染色后的细胞。菌体在正常状态下细胞膜完整, PI 染料无法进入细胞, 菌核无法被染色; 而当菌体的细胞膜受损时, PI 染料能够较容易穿过细胞膜进而与细胞中的 DNA 相结合, 菌核可被染色。如图 2 所示, 空白组中无荧光, 菌膜没有被破坏。T1 组处理后出现部分红色荧光, 说明在百里香酚和肉桂醛处理下部分菌体着色, 部分沙门氏菌的菌膜被破坏, PI 进入细胞与 DNA 结合, 被激发荧光。T2 组处理后观察到荧光部分面积较大, 说明有大量的菌膜受到损伤。结果表明, 百里香酚和肉桂醛能够破坏细胞膜, 并呈浓度依赖性。

为了进一步明确百里香酚和肉桂醛联用对细胞膜完整性的破坏程度, 对抑菌组处理之后沙门氏菌的荧光强度进行测定。图 3 表示不同样品组的荧光强度, 不同样品组之间差异性显著 ($p < 0.05$)。由图 3 可以看

出。空白组的荧光强度为 952.67 A.U., T1 组与 T2 组处理沙门氏菌的荧光强度分别是空白组的 22.95 倍、26.18 倍。可以看出,空白组的荧光强度远小于处理组。该结果与上述荧光倒置显微镜的结果一致,百里香酚和肉桂醛联用对细胞膜完整性的破坏作用随着质量浓度的增加而增大,且显示出协同破坏性。

微生物细胞膜的完整性是保证其维持自身新陈代谢等正常生理活动的重要因素^[22]。PI 染料穿过细胞膜对 DNA 染色实验表明细胞膜完整性的破坏程度,百里香酚与肉桂醛通过破坏微生物细胞膜的完整,影响细胞的正常代谢活动,从而抑制了沙门氏菌的增殖。Wang 等^[23]认为,当百里香酚和肉桂醛复配时,可以与位于 β -葡萄糖苷酶疏水区附近的氨基酸残基相互作用,从而抑制微生物的正常生长,且浓度越高时,作用效果越明显。申莉莉^[24]研究发现百里香酚微胶囊可以破坏金黄色葡萄球菌细胞膜的完整性,从而引起胞内物质泄露。方天夫等^[25]研究发现肉桂醛对大肠杆菌细胞膜有着一定的破坏作用,并随着处理浓度增加,破坏效果也越强。

2.3 百里香酚和肉桂醛联合处理对沙门氏菌细胞形态结构的影响

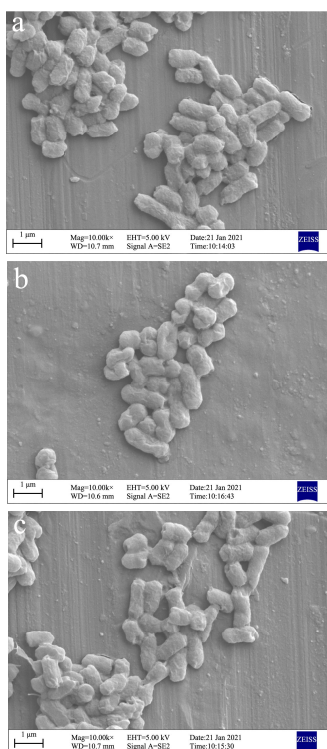


图 4 百里香酚和肉桂醛联用对沙门氏菌细胞膜微观结构的影响

Fig.4 Effect of combination of thymol and cinnamaldehyde on cell microstructure of *Salmonella*

注: a: 空白组; b: T1 组; c: T2 组。图中 T1 组表示 1/4 MIC 百里香酚+1/4 MIC 肉桂醛组; T2 组表示 1/2 MIC 百里香酚+1/2 MIC 肉桂醛组

通过扫描电子显微镜观察了百里香酚和肉桂醛联用沙门氏菌形态的影响,结果见图 4。从图 4 可以看出,未经处理的沙门氏菌表面圆润光滑,菌体结构饱满无褶皱,菌体形态正常;经 T1 组处理后,沙门氏菌出现黏连、皱缩、塌陷现象;经 T2 组处理后,沙门氏菌出现塌陷、表面轮廓不完整现象,且部分出现折断现象,菌体变形更加严重。上述结果表明,百里香酚和肉桂醛浓度增加,对沙门氏菌的破坏作用逐步增大,使菌体的细胞膜造成破坏和损伤,改变了菌体的正常形态。由此推测出百里香酚、肉桂醛通过破坏细胞膜的完整性,使菌体形态改变,内容物泄露,从而导致菌体死亡。Pasqua 等^[26]研究发现通过扫描电镜观察百里香酚、丁香酚、肉桂醛等天然抑菌物质在多种食源性致病菌培养基中细胞膜,可以明显看出细胞膜受到破坏,并出现结构坍塌等现象。

2.4 百里香酚和肉桂醛联合处理对盐焗鸡菌落总数的影响

微生物的增殖是引起盐焗鸡腐败变质的最主要因素,可以用来作为预测货架期的主要依据。由图 5 可知,空白组初始的菌落总数为 1.16 lg(CFU/g),抗菌剂处理组初始的菌落总数为 0.69 lg(CFU/g)。随着储藏时间的延长,空白组和抗菌剂处理组中的菌落总数不断增加。GB 2726-2016 规定,盐焗鸡中微生物限量为 5.00 lg(CFU/g)。在 37 °C 储藏条件下,空白组在第 6 d 时菌落总数低于国家食品安全标准限量值,添加抗菌剂组在第 14 d 时菌落总数低于国家食品安全标准限量值。空白组在储藏第 8 d 时菌落总数达到 6.03 lg(CFU/g)已超过了国家食品安全标准限量值,而添加抗菌剂组在储藏第 16 d 时菌落总数为 5.74 lg(CFU/g),超过国家食品安全标准限量值。空白组在 0~8 d 内菌落总数增长快速,与空白组相比,经抗菌剂处理之后的盐焗鸡在 0~12 d 菌落总数增长缓慢,12~16 d 菌落总数增长速度逐渐加快,这可能是因为 37 °C 适合微生物的增长。而随着储藏时间延长,抑菌剂效果逐渐减弱。上述结果表明,百里香酚和肉桂醛联合处理可以明显抑制微生物生长繁殖,从而达到保鲜效果。其他研究结果表明,百里香酚与肉桂醛在食品应用中能够较好地抑制微生物生长。如, Karam 等^[27]研究百里香酚、香芹酚对 4 °C 冷藏的腌制生鸡肉货架期的影响,结果表明 0.4% 香芹酚、0.4% 百里香酚可以抑制腌制生鸡肉中

腐败菌的生长,并延长其货架期。Anshul 等^[28]研究发现卡拉胶、肉桂油和柠檬酸的食用涂层可提高冷藏条件下鸡胸肉的货架期,且采用浸渍法效果较好。

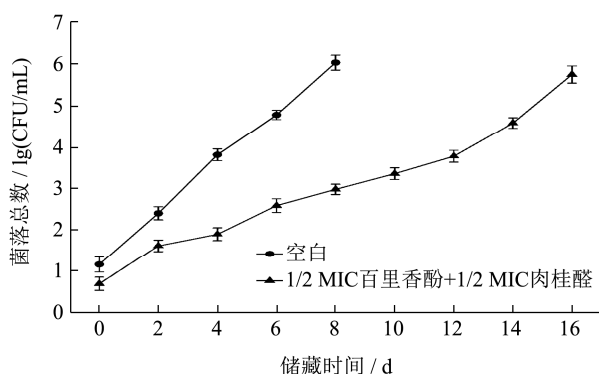


图5 37℃储藏条件下盐焗鸡中菌落总数变化

Fig.5 Changes of total number of bacterial colonies in salt-baked chicken under 37 °C storage conditions

2.5 百里香酚和肉桂醛联合处理对盐焗鸡

TBARS 值的变化影响

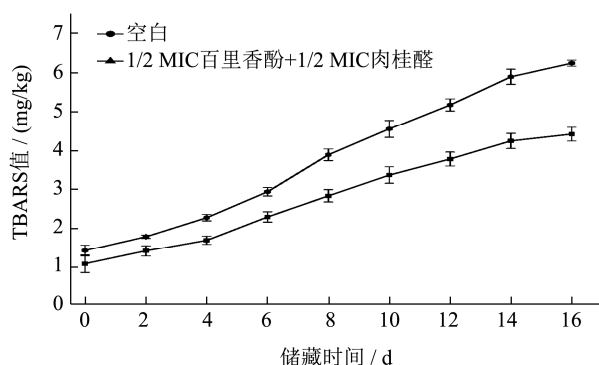


图6 37℃储藏条件下盐焗鸡中 TBARS 值变化

Fig.6 Changes of TBARS of bacterial colonies in salt-baked chicken under 37 °C storage conditions

TBARS 值是评估肉制品脂质氧化程度的重要指标, TBARS 值越大表明脂质氧化程度越大,从而导致肉质下降^[29]。盐焗鸡在 37 °C 储藏期间 TBARS 值的变化如图 6 所示。空白组与抗菌剂组的初始 TBARS 值分别为 1.42 mg/kg、1.08 mg/kg。随着储藏时间的延长,空白组和抗菌剂处理组的 TBARS 值均呈现上升趋势,但空白组的增长速率要高于抗菌剂处理组。由此可见,百里香酚和肉桂醛联合处理能够减缓盐焗鸡脂肪氧化程度,抑制储藏期间 TBARS 值的增长速率,从而达到较好的保鲜效果。研究表明,酚类化合物和具有烯醛式结构的物质具有较强的氧化还原性,可以通过清除自由基提高食品的抗氧化能力^[18]。因此百里香酚和肉桂醛作为抗氧化剂可减缓盐焗鸡的脂质氧化。在相关的研究中也发现百里香酚和肉桂醛可以减缓其他肉

类的脂质氧化程度, Saricaoglu 等^[30]研究发现含有百里香精油的蛋白质涂层比没有添加精油的涂层抑制牛肉切片脂质氧化效果更好,添加量为 1.0% 时具有较明显抗氧化作用。Hussain 等^[31]研究发现碎羊肉在 4 °C 条件储藏 16 d 时,添加 0.05% 肉桂皮油组 TBA 值比空白组降低了 1.01 mg/kg,表明肉桂皮油具有延迟脂质氧化的作用。与前述研究相比,百里香酚和肉桂醛联用时添加量明显降低且具有较好的抗氧化作用。

3 结论

3.1 本文选择了百里香酚和肉桂醛两种天然抑菌物质,研究了二者联用抑制沙门氏菌的效果。结果显示百里香酚、肉桂醛对沙门氏菌具有较好的抑菌效果,对沙门氏菌的 MIC 均为 0.25 mg/mL、MBC 均为 0.5 mg/mL;百里香酚和肉桂醛对沙门氏菌的 FICI 为 0.75,表明其对沙门氏菌的抑菌具有协同效应。

3.2 百里香酚和肉桂醛联用的抑菌效应原因:通过百里香酚和肉桂醛联用,加速破坏了沙门氏菌细胞膜的完整性,引起菌体形态结构的改变,使菌体出现塌陷、皱缩现象,扰乱沙门氏菌的正常新陈代谢活动,从而导致其死亡。

3.3 将 0.125 mg/mL 百里香酚和 0.125 mg/mL 肉桂醛联合应用于盐焗鸡保鲜,较好地抑制了微生物的生长繁殖,在 37 °C 储藏条件下显著地抑制盐焗鸡中微生物的生长并延缓了其脂质氧化的速度。空白组和添加抗菌剂组的菌落总数分别在大于第 6 d 和第 14 d 后开始超过国家食品安全限量标准。

3.4 因此,百里香酚和肉桂醛联用对沙门氏菌具有良好的协同抑菌效应,用于盐焗鸡保鲜达到了较好的效果,百里香酚和肉桂醛联用作为天然复配抑菌剂在盐焗鸡等肉制品保鲜方面具有良好的应用前景。

参考文献

- [1] 廖兴广,王法云,朱海华,等.肉鸡养殖和屠宰加工过程中沙门氏菌污染状况及血清型分析[J].河南预防医学杂志,2017,28(9):718-720
- LIAO Xingguang, WANG Fayun, ZHU Haihua, et al. Analysis of *Salmonella* contamination and serotypes in broilers during breeding, slaughtering and processing [J]. Henan Journal of preventive Medicine, 2017, 28(9): 718-720
- [2] Ha Angelajie-won, Siberio Perez Lurdesg, Kim Tae-jo, et al. Research Note: Identification and characterization of *Salmonella* spp. in mechanically deboned chickens using pulsed-field gel electrophoresis [J]. Poultry Science, 2021, 100(3): 100961

- [3] Papuc Camelia, Goran Gheorghev, PredescuCorinan, et al. Plant polyphenols as antioxidant and antibacterial agents for shelf-life extension of meat and meat products: classification, structures, sources, and action mechanisms [J]. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 2017, 16(6): 1243-1268
- [4] Bouarab Chibanel, Degraeve P, Ferhout H, et al. Plant antimicrobial polyphenols as potential natural food preservatives [J]. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 2019, 99(4): 1457-1474
- [5] Hernández-Ochoa L, Aguirre-Prieto Yb, Nevárez-MoorillónGv, et al. Use of essential oils and extracts from spices in meat protection [J]. *Journal of Food Science and Technology*, 2014, 51(5): 957-963
- [6] Burt Sara. Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods-a review [J]. *International Journal of Food Microbiology*, 2004, 94(3): 223-253
- [7] Kachur Karina, Suntres Zacharias. The antibacterial properties of phenolic isomers, carvacrol and thymol [J]. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 2020, 60(18): 3042-3053
- [8] 张有林,张润光,钟玉.百里香精油的化学成分、抑菌作用、抗氧化活性及毒理学特性[J].*中国农业科学*,2011,44(9): 1888-1897
ZHANG Youlin, ZHANG Runguang, ZHONG Yu. Chemical component, antimicrobial effect, antioxidation activity and toxicological character of thyme essential oil [J]. *Scientia Agricultura Sinica*, 2011, 44(9): 1888-1897
- [9] Ravishankar S, Zhu L, Reyna-Granados J, et al. Carvacrol and cinnamaldehyde inactivate antibiotic-resistant *Salmonella entericain* buffer and on celery and oysters [J]. *Journal of Food Protection*, 2010, 73(2): 234-240
- [10] Shreaz Sheikh, Wani Waseema, Behbehani Jawadm, et al. Cinnamaldehyde and its derivatives, a novel class of antifungal agents [J]. *Fitoterapia*, 2016, 112: 116-131
- [11] Vasconcelos Ng, Croda J, Simionatto S. Antibacterial mechanisms of cinnamon and its constituents: a review [J]. *Microbial Pathogenesis*, 2018, 120: 198-203
- [12] GB 2760-2014,食品安全国家标准 食品添加剂使用标准 [S]
GB 2760-2014, National Standard for Food Safety, Standard for Use of Food Additives [S]
- [13] Fratini Filippo, Mancini Simone, Turchi Barbara, et al. A novel interpretation of the fractional inhibitory concentration index: the case *Origanum vulgare* L. and *Leptospermum scoparium* J. R. et G Forst essential oils against *Staphylococcus aureus* strains [J]. *Microbiological Research*, 2017, 195: 11-17
- [14] 李建菲.丁香酚与异丁香酚的抗氧化、抑菌活性及抑菌机理研究[D].临汾:山西师范大学,2017
LI Jianfei. Antioxidant activity, antibacterial activity and mechanism of action of the eugenol and isoeugenol [D]. Linfen: Shanxi Normal University, 2017
- [15] GB 4789.2-2010,食品安全国家标准 食品微生物学检验菌落总数测定[S]
GB 4789.2-2010, National Standard for Food Safety, Food Microbiological Inspection-Determination of Total Number of Colonies [S]
- [16] Hossein Haghighi, Anna Maria Belmonte, Francesca Masino, et al. Effect of time and temperature on physicochemical and microbiological properties of sous vide chicken breast fillets [J]. *Applied Sciences*, 2021, 111(3189): 3189
- [17] Ozogul Yesim, Kuley Boğa Esmeray, Akyol Ismail, et al. Antimicrobial activity of thyme essential oil nanoemulsions on spoilage bacteria of fish and food-borne pathogens [J]. *Food Bioscience*, 2020, 36: 100635
- [18] WANG Xingwei, CHENG Fangyuan, WANG Xuejiao, et al. Chitosan decoration improves the rapid and long-term antibacterial activities of cinnamaldehyde-loaded liposomes [J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2021, 168(31): 59-66
- [19] Jacqueline Cédric, Navas Dominique, Batard Eric, et al. *In vitro* and *in vivo* synergistic activities of linezolid combined with subinhibitory concentrations of imipenem against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* [J]. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 2005, 49(1): 45-51
- [20] Requena Raquel, Vargas María, Chiralt Amparo. Study of the potential synergistic antibacterial activity of essential oil components using the thiazolyl blue tetrazolium bromide (MTT) assay [J]. *LWT*, 2019, 101: 183-190
- [21] 余小亮,陈舜胜,袁三月,等.茶多酚-肉桂精油复合保鲜剂抗氧化活性及抑菌作用[J].*食品工业科技*,2017,38(22):226-230
YU Xiaoliang, CHEN Shunsheng, YUAN Sanyue, et al. Antioxidant activity and antimicrobial effect of tea polyphenols-cinnamon essential oil compound preservatives [J]. *Science and Technology of Food Industry*, 2017, 38(22): 226-230
- [22] Beales N. Adaptation of microorganisms to cold temperatures, weak acid preservatives, low pH, and osmotic stress: a review

- [J]. Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety, 2004, 3(1): 1-20
- [23] WANG Langhong, WANG Mansheng, ZENG Xinan, et al. An *in vitro* investigation of the inhibitory mechanism of β -galactosidase by cinnamaldehyde alone and in combination with carvacrol and thymol [J]. Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - General Subjects, 2017, 1861(1, Part A): 3189-3198
- [24] 申莉莉.百里香微胶囊制备及抑菌效果和机理研究[D].武汉:华中农业大学,2015
SHEN Lili. Preparation of thyme oil microencapsulation and its antibacterial activity and mechanism study [D]. Wuhan: Huazhong Agricultural University, 2015
- [25] 何天夫.肉桂醛对大肠杆菌抑菌机理及与脉冲电场协同灭菌效果研究[D].广州:华南理工大学,2019
HE Tianfu. Study on sterilization mechanism of cinnamaldehyde to *Escherichia coli* and its synergistic effect with pulsed electric field [D]. Guangzhou: South China University of Technology, 2019
- [26] Di Pasqua Rosangela, Hoskins Nikki, Betts Gail, et al. Changes in membrane fatty acids composition of microbial cells induced by addition of thymol, carvacrol, limonene, cinnamaldehyde, and eugenol in the growing media [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2006, 54(7): 2745-2749
- [27] Karam Layal, Roustom Rayan, Abiad Mohamadg, et al. Combined effects of thymol, carvacrol and packaging on the shelf-life of marinated chicken [J]. International Journal of Food Microbiology, 2019, 291: 42-47
- [28] Khare Anshulkumar, Abraham Robinsonjj, Rao Vappa, et al. Utilization of carrageenan, citric acid and cinnamon oil as an edible coating of chicken fillets to prolong its shelf life under refrigeration conditions [J]. Veterinary World, 2016, 9(2): 166-175
- [29] 王婷.鸡肉热处理后肌内脂质氧化及影响因素的研究[D].南京:南京师范大学,2019
WANG Ting. Study on intramuscular lipid oxidation and influencing factors in chicken after heat treatment [D]. Nanjing: Nanjing Normal University, 2019
- [30] 李佳,张富新,张拥军.百里香提取物在中式香肠中的抗菌及抗氧化性能的研究[J].中国食品学报,2007,3:107-111
LI Jia, ZHANG Fuxin, ZHANG Yongjun. Studies on the antibiotic and antioxidant properties of thymus extraction applied in Chinese sausage [J]. Journal of Chinese Institute of Food Science and Technology, 2007, 3: 107-111
- [31] Saricaoglu Furkanturker, Turhan Sadettin. Performance of mechanically deboned chicken meat protein coatings containing thyme or clove essential oil for storage quality improvement of beef sucuks [J]. Meat Science, 2019, 158: 107912.1-107912.8

(上接第 186 页)

- [24] 王柳,许一鸣,牟贺,等.黑果腺肋花楸功效及药用食用研究进展[J].现代食品,2018,7:53-56
WANG Liu, XU Yiming, MOU He, et al. Research progress on the efficacy and medicinal edibility of *Aronia melanocarpa* Elliot [J]. Modern Food, 2018, 7: 53-56
- [25] 储大可,黄莹偲,陈冠林,等.14 种市售果汁抗氧化活性的比较研究[J].食品工业,2013,34(10):178-181
CHU Dake, HUANG Yingsi, CHEN Guanlin, et al. Comparison of antioxidant activities of 14 kinds of commercial juices [J]. Food Industry, 2013, 34(10): 178-181
- [26] Gao B Y, Lu Y J, Sheng Y. Differentiating organic and conventional sage by chromatographic and mass spectrometry flow injection fingerprints combined with principal component analysis [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2013, 61(12): 957-2963
- [27] 王益民,张珂,许飞华,等.不同品种枸杞子营养成分分析及评价[J].食品科学,2014,35(1):34-38
WANG Yimin, ZHANG Ke, XU Feihua, et al. Chemical analysis and nutritional evaluation of different varieties of goji berries (*Lycium barbarum* L.) [J]. Food Science, 2014, 35(1): 34-38
- [28] 赵国群,赵一凡,张晓腾,等.基于主成分与聚类分析的梨酒品质分析与综合评价[J].中国酿造,2018,37(2):111-116
ZHAO Guoqun, ZHAO Yifan, ZHANG Xiaoteng, et al. Quality analysis and comprehensive evaluation of pear wine based on principal components and cluster analysis [J]. China Brewing, 2018, 37(2): 111-116