

# 桉叶精油包埋前后抑菌性能及成分比较研究

岳淑丽, 任小玲, 陈霞, 向红, 孙远明\*, 凌舒琦, 刘荟雅  
(华南农业大学食品学院, 广东 广州 510642)

**摘要:** 以包埋前后的桉叶精油为研究对象, 采用平板打孔法和气相扩散法分别测定了其对供试菌的抑菌活性和气相最低抑菌浓度(MIC)、气相最低杀菌浓度(MBC), 探讨桉叶精油包埋前后抑菌性能差异。并用气相色谱-质谱联用技术(GC-MS)对比分析了桉叶精油包埋前后的化学成分。结果表明: 桉叶精油包埋前后对供试细菌、酵母菌和霉菌均有一定的抑制作用。对酵母菌的抑制作用最强, 其次为细菌, 对霉菌的抑制效果稍差。桉叶精油包埋前后对供试菌的 MIC 和 MBC 未有太大差异。桉叶精油包埋前后主要成分大体相同, 均以萜烯类和醇类化合物为主。包埋后桉叶精油中萜烯类化合物含量的减少, 导致抑菌活性稍有下降, 但 MIC 不变, 仅对酿酒酵母和桔青霉的 MBC 稍有上升。

**关键词:** 桉叶精油; 包埋前后; 抑菌性能; 气相扩散; 化学成分

## Comparative Study on Antimicrobial Activities and Compositions of Eucalyptus Essential Oils Before and After Encapsulation

YUE shuli, REN Xiaoling, CHEN Xia, XIANG Hong, SUN Yuanming\*, LING Shuqi, LIU Huiya  
(College of Food Science, South China Agricultural University, Guangzhou 510642, China)

**Abstract:** The antibacterial activities were determined by punch method. The vapor minimum inhibitory concentrations (MIC) and the vapor minimum bactericidal concentrations (MBC) were studied by vapor diffusion method. Antibacterial properties of Eucalyptus essential oils before and after encapsulation were compared by measuring the antibacterial activities, MIC and MBC against the tested microorganisms. The composition variations of Eucalyptus essential oils before and after encapsulation were analyzed by gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS). The results showed that Eucalyptus essential oils before and after encapsulation both have certain antibacterial activities on the tested bacteria, yeast and mold. The antimicrobial activity of Eucalyptus essential oils against yeast was the strongest, that against bacteria was the secondary, and that against mold was weaker. The MIC and MBC of Eucalyptus essential oils before and after encapsulation had not a big difference. Eucalyptus essential oils before and after encapsulation had approximately the same main chemical compositions which were terpenes and alcohol components. The decreasing of terpenes components content in Eucalyptus essential oils after encapsulation caused the slightly setting of antibacterial activity and slightly rising of MBC of *saccharomyces cerevisiae* and *penicillium citrinum*, while MIC remaining unchanged.

**Key words:** Eucalyptus essential oil, before and after encapsulation, antibacterial properties, vapor diffusion, chemical compositions

中图分类号: TS201; O629.6

文献标志码: A

文章编号:

收稿日期: 2016-10-31

基金项目: 航天营养与食品工程重点实验室开放基金资助项目(h2015631)

作者简介: 岳淑丽(1979—), 女, 讲师, 在读博士, 研究方向为食品包装、功能性包装材料。

E-mail:ysl@scau.edu.cn

通讯作者: 孙远明(1956—), 男, 教授, 博士, 研究方向为食品质量与安全。E-mail:ymsun@scau.edu.cn

桉树是桃金娘科 (*Myrtaceae*) 桉树属 (*Eucalyptus*) 植物, 是世界上著名的速生树种, 原产于澳大利亚, 在我国广东、广西、海南、云南等地种植广泛<sup>[1-2]</sup>。从桉树枝叶中提取的桉叶精油对细菌、真菌、昆虫等均有不同程度的抑制作用, 被广泛应用于食品、化工、医药等各个行业, 具有较大的应用价值和开发前景<sup>[3-5]</sup>。但桉叶精油易挥发, 不易运输与贮藏, 且液态纯精油具有腐蚀性, 直接接触会对使用者造成一定的危害<sup>[6]</sup>。利用微胶囊技术对桉叶精油进行包埋, 可将液态的精油转变成固体粉末, 提高其稳定性<sup>[7]</sup>, 同时利用壁材的透气性实现桉叶精油的缓释抑菌性能<sup>[8]</sup>, 使其便于作为天然食品抑菌保鲜剂使用。但微胶囊化过程中的高温处理会对精油造成一定程度的破坏, 成分及各成分含量会发生变化<sup>[9-10]</sup>, 这些变化是否显著, 对精油的抑菌性能是否会太大影响, 国内目前还少有研究报道。国外 Leimann F V 等人<sup>[11]</sup>采用水蒸气蒸馏法提取了包埋后的柠檬香茅精油, 研究了其抑菌性能和成分并与包埋前的纯精油作对比, 发现包埋后柠檬香茅精油的主要抑菌成分含量变化不大, 对供试菌的 MIC 无影响。

本文对桉叶精油包埋前后的抑菌活性和最低气相抑菌浓度(minimum inhibitory concentration, MIC)、最低气相杀菌浓度(minimum bactericidal concentration, MBC)进行了研究, 并采用气相色谱-质谱联用技术(gas chromatography-mass spectrometry, GC-MS)测试了桉叶精油包埋前后的化学组成, 进而分析了桉叶精油包埋前后抑菌性能的差异。以期利用桉叶精油开发天然食品抑菌保鲜剂提供一定的实验依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料与试剂

桉叶精油 广州市帕塞佳香精香料有限公司;  $\beta$ -环糊精 生化试剂 上海博奥生物科技有限公司; 无水乙醇 分析纯 南京化学试剂股份有限公司; 营养琼脂培养基、马铃薯葡萄糖琼脂(PDA)培养基 广东环凯微生物科技有限公司; 牛肉浸膏 生化试剂 国药集团化学试剂有限公司; 蛋白胨 生化试剂 北京奥博星生物技术有限责任公司; 氯化钠 分析纯 南京化学试剂股份有限公司; 施保克(咪唑胺有效成分含量 250g/L) 美国富美实公司。

大肠杆菌(*Escherichia coli*)、金黄色葡萄球菌(*Staphylococcus aureus*)、桔青霉(*Penicillium citrinum*)、黑曲霉(*Aspergillus niger*)、酿酒酵母(*Saccharomyces cerevisiae*)均由华南农业大学食品学院生物工程实验室提供。

### 1.2 仪器与设备

GC-MS 7890B-5977A 气相色谱-质谱联用仪 安捷伦科技有限公司; SW-CJ-1F 超净工作台 苏州安泰空气技术有限公司; LRH-250-II 生化培养箱 广东省医疗器械厂; DHG-9055A 电热恒温鼓风干燥箱 上海一恒科学仪器有限公司; SB-100DT 超声波清洗机 宁波新芝生物科技股份有限公司; SYQ-DSX-280B 手提式不锈钢压力蒸气灭菌锅 上海申安医疗器械厂。

### 1.3 实验方法

#### 1.3.1 微胶囊中桉叶精油的提取

采用饱和水溶液法制备<sup>[12-13]</sup>桉叶精油  $\beta$ -环糊精微胶囊。参考 2010 版《中国药典》附录 XD 挥发油测定法(甲法)<sup>[12,14]</sup>蒸馏提取包埋后的桉叶精油。但为减少提取时长时间加热对精油成分的破坏, 对挥发油测定法(甲法)作如下修改: 将制备的桉叶精油微胶囊置于锥形瓶中, 在锥形瓶中加入适量去离子水, 加盖密封, 在超声波清洗机中于 40℃ 超声震荡 20 分钟。再将其转移至装有数粒玻璃珠的 500ml 圆底烧瓶中, 加水至圆底烧瓶中约含 300ml 去离子水, 连接挥发油测定器与回流冷凝管。自冷凝管上端加去离子水使充满挥发油测定器的刻度部分, 并刚好溢流入烧瓶时为止。用调温电热器加热至微沸, 此时烧瓶中震荡析出的桉叶精油很快冷凝至挥发油测定器中, 收集挥发油测定器中的桉叶精油备用。

#### 1.3.2 菌悬液的制备

在超净工作台上用接种环挑取适量已活化供试菌到装有 9 mL 无菌水的试管中, 充分混合, 用无

菌移液枪吸取 1 mL 混合后的菌悬液于另一只装有 9 mL 无菌水的试管中, 依次制成系列浓度的菌悬液。细菌采用平板计数法, 霉菌和酵母菌采用显微镜直接计数法。根据计数结果, 将菌悬液调至浓度为  $10^6 \sim 10^7$  CFU/mL, 备用<sup>[14-15]</sup>。

### 1.3.3 抑菌活性的测定

通过测定桉叶精油对供试菌的抑菌圈大小来考察桉叶精油的抑菌活性, 采用平板打孔法<sup>[16-17]</sup>。待培养基(细菌用营养琼脂培养基, 霉菌及酵母用 PDA 培养基)冷却至 45℃ 左右, 在直径为 12 cm 的玻璃培养皿内加入约 40 mL 培养基。待培养基凝固后, 用无菌移液枪吸取供试菌悬液 100  $\mu$ L 于相应培养基上, 并用无菌三角玻璃棒涂布均匀。待菌液被吸收后, 用直径为 9 mm 的无菌枪头在培养基上均匀打 4 个孔, 用无菌镊子剔去孔内培养基, 用无菌移液枪吸取一滴液体培养基封底。细菌及酵母菌在 4 个孔内分别注入 10  $\mu$ L 包埋前、后的桉叶精油、相同体积的施保克和无菌水; 桔青霉在 4 个孔内分别注入 50  $\mu$ L 包埋前、后的桉叶精油、相同体积 0.2% 的施保克和无菌水; 黑曲霉在 4 个孔内分别注入 100  $\mu$ L 包埋前、后的桉叶精油、相同体积 0.1% 的施保克和无菌水。其中施保克和无菌水分别作为阳性对照和阴性对照。每个菌种分别作 3 次重复。以上操作均在无菌条件下进行。然后将培养皿放入生化培养箱中培养(细菌在 37℃ 条件下恒温培养 20 h, 酵母菌在 28℃ 条件下恒温培养 48 h, 霉菌在 28℃ 条件下恒温培养 4~5d)。培养结束, 用十字交叉法测量各抑菌圈直径, 结果取平均值, 以抑菌圈大小来表示抑菌活性。

抑菌圈的判定标准: 直径 > 20 mm, 极敏; 15~20mm, 高敏; 10~14 mm, 中敏; 7-9 mm, 低敏; 直径 < 7 mm, 不敏感<sup>[18-19]</sup>。

### 1.3.4 气相 MIC 及 MBC 的测定

采用气相扩散法<sup>[20-21]</sup>, 在直径为 9 cm 的玻璃培养皿内加入 15 mL 冷却至 45℃ 左右的培养基, 待其完全冷却凝固后, 将 100  $\mu$ L  $10^6 \sim 10^7$  CFU/mL 的菌悬液均匀涂抹其上。菌液被吸收后倒置放置, 用移液枪吸取不同量的桉叶精油到皿盖中央, 使细菌及酵母菌培养皿中精油空间浓度分别为 12.5、25、50、100、200  $\mu$ L/L, 霉菌培养皿中精油空间浓度分别为 50、100、200、400、800  $\mu$ L/L (9 cm 培养皿去除培养基后的空间体积约为 100 mL), 以不添加桉叶精油的培养皿为空白对照。迅速盖好培养皿并用封口膜密封, 置于生化培养箱中培养(细菌 37℃/20 h, 酵母菌 28℃/48 h, 霉菌 28℃/4~5 d), 每组 3 个平行。以完全不长菌的培养皿所对应的浓度为桉叶精油对该菌的最低气相 MIC。在无菌条件下, 用灭菌过的皿盖替换完全不长菌的培养皿皿盖继续培养相同的时间, 以完全不长菌的培养皿所对应的浓度为桉叶精油对该菌的最低气相 MBC。

### 1.3.5 桉叶精油包埋前后成分分析

采用气相色谱-质谱(GC-MS)联用技术对桉叶精油包埋前后的成分进行对比分析。

气相色谱条件<sup>[22]</sup>: HP-5MS (30 m $\times$ 250  $\mu$ m, 0.25  $\mu$ m) 石英毛细管色谱柱; 初始柱温 60℃, 以 5℃/min 的速率升至 150℃, 再以 4℃/min 的速率升至 230℃ (保持 1min); 载气为高纯氮气, 流速为 1.0 mL/min, 进样量 0.2  $\mu$ L, 进样口温度 250℃; 分流比 50:1。

质谱条件<sup>[22]</sup>: EI 离子源, 离子源温度 230℃, 电子能量 70 eV, 接口温度 250℃, 质量扫描范围 30~400 u, 采用全扫描方式。

采用标准 NIST14 谱库进行相似度比对, 参考标准图谱和相关文献确认各组分, 利用峰面积归一化法计算各组分的相对含量。

## 2 结果与分析

### 2.1 桉叶精油包埋前后抑菌活性的测定结果

为了比较桉叶精油包埋前后的抑菌活性, 通过测定桉叶精油包埋前后对大肠杆菌、金黄色葡萄球菌、桔青霉、黑曲霉和酿酒酵母的抑菌圈直径大小进行研究。结果见表 1。

表 1 桉叶精油包埋前后对供试菌的抑菌圈直径

Table 1 Inhibition zone diameters of tested microorganisms by Eucalyptus essential oils before and after encapsulation

| 样品        | 抑菌圈直径/(mm) |          |          |          |          |
|-----------|------------|----------|----------|----------|----------|
|           | 大肠杆菌       | 金黄色葡萄球菌  | 桔青霉      | 黑曲霉      | 酿酒酵母     |
| 桉叶精油(包埋前) | 37.5±1.7   | 25.7±1.8 | 34.2±1.6 | 29.6±1.6 | 38.9±0.2 |
| 桉叶精油(包埋后) | 27.2±2.6   | 16.3±0.7 | 21.9±2.5 | 22.7±2.0 | 24.9±1.0 |
| 施保克       | 29.5±1.0   | 23.6±1.0 | 36.9±2.1 | 47.0±2.3 | 34.2±2.0 |
| 无菌水       | 0          | 0        | 0        | 0        | 0        |

注:表中数据表示为抑菌圈直径平均值±标准偏差,孔径(9 mm)包含在测量结果中,0表示无抑菌圈形成。

由表1可知,桉叶精油包埋前后对供试菌均有一定程度的抑菌活性。包埋前的桉叶精油在10 μL时对大肠杆菌、金黄色葡萄球菌和酿酒酵母的抑菌圈直径均>20 mm,属极敏感;在50 μL时对桔青霉的抑菌圈直径为34.2 mm,达到极敏感水平;在100 μL时对黑曲霉的抑菌圈直径为29.6 mm,达到极敏感水平。包埋后的桉叶精油在10 μL时对大肠杆菌和酿酒酵母的抑菌圈直径均有所下降,但仍达到极敏感水平;在10 μL时对金黄色葡萄球菌的抑菌圈直径为16.3 mm,属高敏水平;在50 μL时对桔青霉的抑菌圈直径为21.9 mm,属极敏感水平;在100 μL时对黑曲霉的抑菌圈直径为22.7 mm,属极敏感水平。桉叶精油包埋后对供试菌的抑菌活性有所下降,但仍具有较好的抑菌效果。阳性对照施保克对供试菌的抑菌圈直径均>20 mm,属极敏感,但施保克作为果蔬保鲜剂使用时一般需稀释至千分之一至万分之一<sup>[23-24]</sup>,但在此浓度下施保克对细菌和酵母菌几乎无抑菌效果。

总体来看,桉叶精油对酿酒酵母的抑制效果最好,其次是两种细菌,效果稍差的是霉菌,即桉叶精油对细菌和酵母菌的抑制作用要好于霉菌,这与吴慧清等人<sup>[25]</sup>的研究结果基本一致。桉叶精油包埋后抑菌效果稍有下降,但对供试菌的抑菌活性仍达到极敏或高敏水平。说明桉叶精油具有广谱抑菌性,其作为天然食品保鲜剂具有潜在优势。

## 2.2 桉叶精油包埋前后气相 MIC 及 MBC 的测定结果

为进一步定量比较桉叶精油包埋前后对食品中常见腐败菌的抑菌效果差异,通过测定其对供试菌的 MIC 和 MBC 进行研究,实验结果如表2所示。

表2 桉叶精油包埋前后对供试菌的气相最低抑菌浓度和最低杀菌浓度

Table 2 MIC and MBC of Eucalyptus essential oils before and after encapsulation against tested microorganisms

| 样品        | μL/L |     |         |     |     |     |     |     |      |     |
|-----------|------|-----|---------|-----|-----|-----|-----|-----|------|-----|
|           | 大肠杆菌 |     | 金黄色葡萄球菌 |     | 桔青霉 |     | 黑曲霉 |     | 酿酒酵母 |     |
|           | MIC  | MBC | MIC     | MBC | MIC | MBC | MIC | MBC | MIC  | MBC |
| 桉叶精油(包埋前) | 50   | 100 | 50      | 100 | 200 | 200 | 400 | 400 | 25   | 25  |
| 桉叶精油(包埋后) | 50   | 100 | 50      | 100 | 200 | 400 | 400 | 400 | 25   | 50  |

由表2可知,桉叶精油包埋前后对酿酒酵母的气相 MIC 最低,均为25 μL/L;对两种细菌的 MIC 和 MBC 均相同,分别为50 μL/L 和100 μL/L;对霉菌的抑制效果稍差,尤其是黑曲霉, MIC 及 MBC 达到了400 μL/L。说明桉叶精油对细菌和酵母菌的抑制效果大于对霉菌的抑制效果。桉叶精油包埋后对供试菌的 MIC 不变,仅对酿酒酵母和桔青霉的 MBC 稍有上升。说明微胶囊化并未对桉叶精油的抑菌性能造成太大影响,包埋后的桉叶精油仍具有较好的抑菌效果。较低剂量的桉叶精油即可杀死食品中常见的腐败菌,表明桉叶精油作为食品保鲜剂使用时不需要太大剂量,对食品风味不会造成太大影响。实验中桉叶精油不直接与供试菌接触,在密闭空间内以挥发性气体的形式即对供试菌具有抑菌及

杀菌作用<sup>[26]</sup>, 说明可采用微胶囊缓释的方式发挥桉叶精油的防腐保鲜作用, 桉叶精油应用于食品保鲜剂的安全性得到进一步的提高。

### 2.3 桉叶精油包埋前后成分分析结果

为明确桉叶精油的成分及包埋前后的成分差异, 采用 GC-MS 法对桉叶精油包埋前后的成分进行分析, 得到桉叶精油包埋前后的总离子流图见图 1 和图 2。

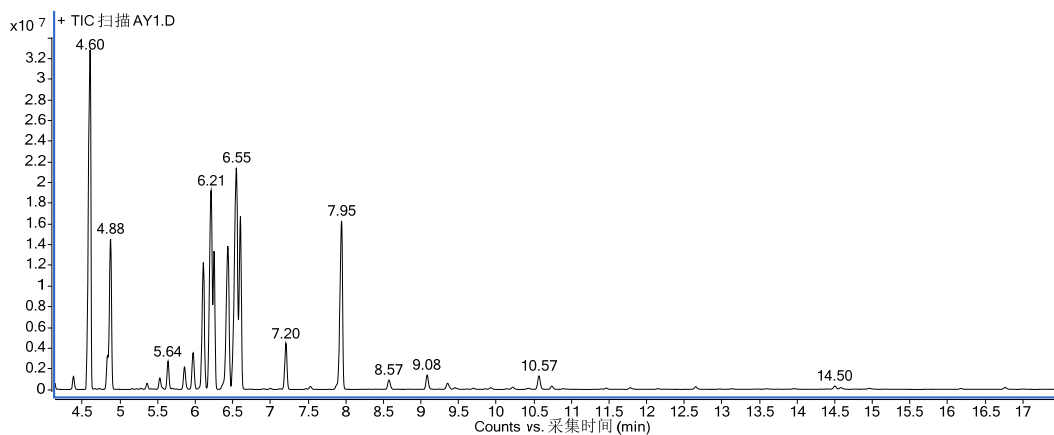


图 1 包埋前桉叶精油的总离子流图

Fig.1 Total ion chromatogram of chemical components of Eucalyptus essential oil before encapsulation

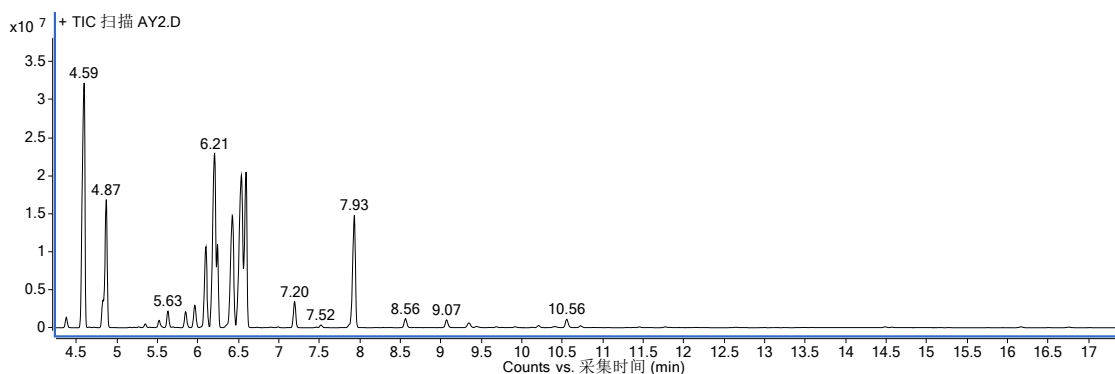


图 2 包埋后桉叶精油的总离子流图

Fig.2 Total ion chromatogram of chemical components of Eucalyptus essential oil after encapsulating

将图 1 和图 2 中分离出的各组分提取质谱图, 用 NIST14 标准谱库进行检索, 参考标准图谱和相关文献确定各组分的化学结构, 并采用峰面积归一化法确定各组分的相对百分含量<sup>[4,27-29]</sup>, 结果见表 3 和表 4。

表 3 包埋前桉叶精油的化学成分及相对含量

Table 3 Chemical components and relative contents in the Eucalyptus essential oil before encapsulation

| 序号 | 保留时间/min | 化合物名称  | 分子式                             | 相对含量/%  | 匹配度/% |
|----|----------|--|---------------------------------|---------|-------|
| 1  | 4.1293   | (6S,4E)-2,6-二甲基-4-辛烯 (6S,4E)-2,6-Dimethyl-4-octene | C <sub>10</sub> H <sub>20</sub> | 0.3254  | 97    |
| 2  | 4.3835   | (1S)-(+)-3-萜烯 (1S)-(+)-3-Carene                    | C <sub>10</sub> H <sub>16</sub> | 0.5078  | 94    |
| 3  | 4.6046   | 蒎烯 (1R)-2,6,6-Trimethylbicyclo[3.1.1]hept-2-ene    | C <sub>10</sub> H <sub>16</sub> | 17.7343 | 94    |

|    |        |   |                                   |         |    |
|----|--------|---|-----------------------------------|---------|----|
| 4  | 4.6696 | 2,2-二甲基-5-亚甲基二环[2,2,1]庚烷<br>2,2-Dimethyl-5-methylene-bicyclo[2.2.1]heptane            | C <sub>10</sub> H <sub>16</sub>   | 0.0282  | 97 |
| 5  | 4.7282 | 香茅烯 R(-)-3,7-Dimethyl-1,6-octadiene   | C <sub>10</sub> H <sub>18</sub>   | 0.0369  | 99 |
| 6  | 4.8762 | 莜烯 Camphene   | C <sub>10</sub> H <sub>16</sub>   | 7.4975  | 97 |
| 7  | 5.1658 | (Z)-3,7-二甲基-2-辛烯 2-Octene, 3,7-dimethyl-, (Z)-  | C <sub>10</sub> H <sub>20</sub>   | 0.0301  | 91 |
| 8  | 5.2258 | (+)-4-萹烯 (+)-4-Carene   | C <sub>10</sub> H <sub>16</sub>   | 0.0252  | 93 |
| 9  | 5.2797 | 3,7,7-三甲基-1,3,5-环庚三烯<br>3,7,7-Trimethyl-1,3,5-cycloheptatriene                        | C <sub>10</sub> H <sub>14</sub>   | 0.0486  | 91 |
| 10 | 5.3611 | 反-1-异丙基-4-甲基环己烷 Cyclohexane,<br>1-methyl-4-(1-methylethyl)-, trans-                   | C <sub>10</sub> H <sub>20</sub>   | 0.2534  | 95 |
| 11 | 5.5317 | (1R,3S,6S)-3,7,7-三甲基二环[4, 1,0]庚烷<br>(1R,3S,6S)-3,7,7-Trimethyl bicyclo[4.1.0]heptane  | C <sub>10</sub> H <sub>18</sub>   | 0.5292  | 93 |
| 12 | 5.6406 | β-月桂烯 β-Myrcene   | C <sub>10</sub> H <sub>16</sub>   | 1.1587  | 96 |
| 13 | 5.7022 | 3-乙烯基-1,2-二甲基-1,4-环己二烯<br>3-Ethenyl-1,2-dimethyl-1,4-cyclohexadiene                   | C <sub>10</sub> H <sub>14</sub>   | 0.044   | 87 |
| 14 | 5.859  | 4-甲基-1-(1-甲基乙基)-环己烯<br>4-Methyl-1-(1-methylethyl)-cyclohexene                         | C <sub>10</sub> H <sub>18</sub>   | 1.018   | 87 |
| 15 | 5.9733 | α-水芹烯 α-Phellandrene  | C <sub>10</sub> H <sub>16</sub>   | 1.7213  | 87 |
| 16 | 6.11   | (+)-3-萹烯 (+)-3-Carene   | C <sub>10</sub> H <sub>16</sub>   | 6.3087  | 97 |
| 17 | 6.212  | 1,4-桉叶素 1,4-Cineole   | C <sub>10</sub> H <sub>18</sub> O | 11.065  | 95 |
| 18 | 6.253  | α-松油烯 α-Terpinene   | C <sub>10</sub> H <sub>16</sub>   | 4.9935  | 97 |
| 19 | 6.4352 | 邻异丙基甲苯 o-Cymene   | C <sub>10</sub> H <sub>14</sub>   | 8.7412  | 97 |
| 20 | 6.5482 | 右旋柠檬烯 d-Limonene  | C <sub>10</sub> H <sub>16</sub>   | 14.7025 | 98 |
| 21 | 6.6024 | 1,8-桉叶素 1,8-Cineole   | C <sub>10</sub> H <sub>18</sub> O | 7.4175  | 97 |
| 22 | 6.9088 | 2,2-二甲基-5-(1-甲基-1-丙烯基)四氢呋喃<br>Furan, tetrahydro-2,2-dimethyl-5-(1-methyl-1-propenyl)- | C <sub>10</sub> H <sub>18</sub> O | 0.0305  | 93 |
| 23 | 7.0009 | γ-柠檬烯 γ-Limonene  | C <sub>10</sub> H <sub>16</sub>   | 0.0467  | 91 |
| 24 | 7.1303 | 3-异丙烯基-5,5-二甲基-环戊烯<br>3-Isopropenyl-5,5-dimethyl-cyclopentene                         | C <sub>10</sub> H <sub>16</sub>   | 0.0298  | 95 |
| 25 | 7.2069 | γ-松油烯 γ-Terpinene   | C <sub>10</sub> H <sub>16</sub>   | 2.0829  | 97 |
| 26 | 7.4754 | 4-甲基-1-异丙烯基-环己烯 4-Methyl-1-(1-methylethenyl)-<br>cyclohexene                          | C <sub>10</sub> H <sub>16</sub>   | 0.031   | 96 |
| 27 | 7.9466 | 异松油烯 Terpinolene  | C <sub>10</sub> H <sub>16</sub>   | 9.3586  | 98 |
| 28 | 8.5768 | 葑醇 Fenchol  | C <sub>10</sub> H <sub>18</sub> O | 0.4891  | 98 |

|    |         |   |                 |        |    |
|----|---------|---|-----------------|--------|----|
| 29 | 9.0841  | 1-松油醇 1-Terpinenol                            | $C_{10}H_{18}O$ | 0.729  | 91 |
| 30 | 9.357   | $\beta$ -松油醇 $\beta$ -Terpineol               | $C_{10}H_{18}O$ | 0.3646 | 86 |
| 31 | 9.6998  | 异龙脑 Isoborneol                                | $C_{10}H_{18}O$ | 0.0609 | 86 |
| 32 | 9.9311  | 2-茨醇 endo-Borneol                             | $C_{10}H_{18}O$ | 0.098  | 97 |
| 33 | 10.2228 | 4-松油烯醇 Terpinen-4-ol                          | $C_{10}H_{18}O$ | 0.1245 | 97 |
| 34 | 10.4276 | 2-(4-甲基苯基)丙-2-醇 2-(4-Methylphenyl)propan-2-ol | $C_{10}H_{14}O$ | 0.0806 | 81 |
| 35 | 10.5697 | 松油醇 Terpineol                                 | $C_{10}H_{18}O$ | 0.7376 | 90 |
| 36 | 10.7414 | $\gamma$ -松油醇 $\gamma$ -Terpineol             | $C_{10}H_{18}O$ | 0.1817 | 97 |
| 37 | 10.8948 | 2-乙基-4-甲基-苯酚 2-Ethyl-4-methyl-phenol          | $C_9H_{12}O$    | 0.0584 | 81 |
| 38 | 12.6539 | 反式驱蛔帖烯 trans-Ascaridol glycol                 | $C_{10}H_{18}O$ | 0.1612 | 86 |
| 39 | 16.182  | 长叶烯 Longifolene                               | $C_{15}H_{24}$  | 0.0545 | 99 |

表 4 包埋后桉叶精油的化学成分及相对含量

Table 4 Chemical components and relative contents in the Eucalyptus essential oil after encapsulation

| 序号 | 保留时间/min | 化合物名称  | 分子式             | 相对含量/%  | 匹配度/% |
|----|----------|--|-----------------|---------|-------|
| 1  | 4.1224   | (6S,4E)-2,6-二甲基-4-辛烯 (6S,4E)-2,6-Dimethyl-4-octene                         | $C_{10}H_{20}$  | 0.2007  | 97    |
| 2  | 4.3757   | (1S)-(+)-3-薷烯 (1S)-(+)-3-Carene  | $C_{10}H_{16}$  | 0.5481  | 94    |
| 3  | 4.5958   | 蒎烯 (1R)-2,6,6-Trimethylbicyclo[3.1.1]hept-2-ene                            | $C_{10}H_{16}$  | 17.0996 | 94    |
| 4  | 4.6606   | 2,2-二甲基-5-亚甲基二环[2,2,1]庚烷<br>2,2-Dimethyl-5-methylene-bicyclo[2.2.1]heptane | $C_{10}H_{16}$  | 0.0325  | 96    |
| 5  | 4.8689   | 茨烯 Camphene  | $C_{10}H_{16}$  | 8.5978  | 96    |
| 6  | 5.2696   | 间异丙基甲苯 Benzene, 1-methyl-3-(1-methylethyl)-                                | $C_{10}H_{14}$  | 0.0497  | 86    |
| 7  | 5.3519   | 反-1-异丙基-4-甲基环己烷 Cyclohexane,<br>1-methyl-4-(1-methylethyl)-, trans-        | $C_{10}H_{20}$  | 0.2149  | 95    |
| 8  | 5.5225   | 3,7,7-三甲基二环[4,1,0]庚烷<br>3,7,7-Trimethylbicyclo[4.1.0] heptane              | $C_{10}H_{18}$  | 0.4649  | 91    |
| 9  | 5.6311   | $\beta$ -月桂烯 $\beta$ -Myrcene  | $C_{10}H_{16}$  | 0.9465  | 96    |
| 10 | 5.6924   | 1,3,8-对-薄荷三烯 1,3,8-p-Menthatriene  | $C_{10}H_{14}$  | 0.0443  | 90    |
| 11 | 5.8498   | 4-甲基-1-(1-甲基乙基)-环己烯<br>4-Methyl-1-(1-methylethyl)- cyclohexene             | $C_{10}H_{18}$  | 0.9727  | 81    |
| 12 | 5.9633   | $\alpha$ -水芹烯 $\alpha$ -Phellandrene                                       | $C_{10}H_{16}$  | 1.4255  | 87    |
| 13 | 6.0992   | (+)-3-薷烯 (+)-3-Carene  | $C_{10}H_{16}$  | 5.4529  | 97    |
| 14 | 6.2064   | 1,4-桉叶素 1,4-Cineole  | $C_{10}H_{18}O$ | 13.7296 | 94    |
| 15 | 6.2432   | $\alpha$ -松油烯 $\alpha$ -Terpilene  | $C_{10}H_{16}$  | 3.5721  | 97    |

|    |         |   |                                   |         |    |
|----|---------|---|-----------------------------------|---------|----|
| 16 | 6.4269  | 邻异丙基甲苯 o-Cymene   | C <sub>10</sub> H <sub>14</sub>   | 9.4108  | 95 |
| 17 | 6.5383  | 右旋柠檬烯 d-Limonene  | C <sub>10</sub> H <sub>16</sub>   | 14.0152 | 98 |
| 18 | 6.5955  | 1,8-桉叶素 1,8-Cineole   | C <sub>10</sub> H <sub>18</sub> O | 9.7598  | 98 |
| 19 | 6.8976  | 2,2-二甲基-5-(1-甲基-1-丙烯基)四氢呋喃<br>Furan, tetrahydro-2,2-dimethyl-5-(1-methyl-1-propenyl)- | C <sub>10</sub> H <sub>18</sub> O | 0.0426  | 95 |
| 20 | 6.9902  | γ-柠檬烯 γ-Limonene  | C <sub>10</sub> H <sub>16</sub>   | 0.0495  | 87 |
| 21 | 7.1957  | γ-松油烯 γ-Terpinene   | C <sub>10</sub> H <sub>16</sub>   | 1.61    | 97 |
| 22 | 7.4645  | 4-甲基-1-异丙烯基-环己烯 4-Methyl-1-(1-methylethenyl)-<br>cyclohexene                          | C <sub>10</sub> H <sub>16</sub>   | 0.0302  | 96 |
| 23 | 7.9327  | 异松油烯 Terpinolene  | C <sub>10</sub> H <sub>16</sub>   | 8.2691  | 98 |
| 24 | 8.5651  | 葑醇 Fenchol  | C <sub>10</sub> H <sub>18</sub> O | 0.6253  | 98 |
| 25 | 9.0729  | 1-松油醇 1-Terpinenol  | C <sub>10</sub> H <sub>18</sub> O | 0.5387  | 97 |
| 26 | 9.3476  | β-松油醇 β-Terpineol   | C <sub>10</sub> H <sub>18</sub> O | 0.4024  | 92 |
| 27 | 9.6871  | 异龙脑 Isoborneol  | C <sub>10</sub> H <sub>18</sub> O | 0.0663  | 94 |
| 28 | 9.9188  | 2-茨醇 endo-Borneol   | C <sub>10</sub> H <sub>18</sub> O | 0.0739  | 93 |
| 29 | 10.2098 | 4-松油烯醇 Terpinen-4-ol  | C <sub>10</sub> H <sub>18</sub> O | 0.1538  | 96 |
| 30 | 10.5573 | 松油醇 Terpineol   | C <sub>10</sub> H <sub>18</sub> O | 0.6299  | 90 |
| 31 | 10.7296 | γ-松油醇 γ-Terpineol   | C <sub>10</sub> H <sub>18</sub> O | 0.1464  | 95 |
| 32 | 16.1678 | 长叶烯 Longifolene   | C <sub>15</sub> H <sub>24</sub>   | 0.0748  | 99 |

包埋前的桉叶精油共检测出 51 种物质, 鉴定出其中 39 种成分, 占总离子流出峰面积的 98.9066%。其中萜烯类化合物 (67.9172%) 22 种、醇类化合物 (21.3790%) 12 种、烷烃类化合物 (0.8108%) 3 种、苯类化合物 (8.7412%) 1 种、酚类化合物 (0.0584%) 1 种。含量较高的化合物有蒎烯 (17.7343%)、右旋柠檬烯 (14.7025%)、1,4 桉叶素 (11.065%)、异松油烯 (9.3586%)、邻异丙基甲苯 (8.7412%)、桉烯 (7.4975%)、1,8 桉叶素 (7.4175%)、(+)-3-萜烯 (6.3087%)、α-松油烯 (4.9935%)、γ-松油烯 (2.0829%)、α-水芹烯 (1.7213%)、β-月桂烯 (1.1587%)。萜烯类和醇类化合物是桉叶精油的主要化学成分, 这与田玉红等<sup>[4,30-31]</sup>的研究结果基本相符。

包埋后的桉叶精油共检测出 41 种物质, 鉴定出其中 32 种成分, 占总离子流出峰面积的 99.2505%。其中萜烯类化合物 (62.9090%) 16 种、醇类化合物 (26.1687%) 11 种、烷烃类化合物 (0.7123%) 3 种、苯类化合物 (9.4605%) 2 种。其中, 含量较高的化合物有蒎烯 (17.0996%)、右旋柠檬烯 (14.0152%)、1,4 桉叶素 (13.7296%)、1,8 桉叶素 (9.7598%)、邻异丙基甲苯 (9.4108%)、桉烯 (8.5978%)、异松油烯 (8.2691%)、(+)-3-萜烯 (5.4529%)、α-松油烯 (3.5721%)、γ-松油烯 (1.6100%)、α-水芹烯 (1.4255%)、4-甲基-1-(1-甲基乙基)-环己烯 (0.9727%)、β-月桂烯 (0.9465%)。

对比表 3 和表 4 可知, 微胶囊化并未对桉叶精油的主要成分造成太大的影响, 桉叶精油包埋前后均以萜烯类和醇类化合物为主。包埋后桉叶精油中有部分萜烯类、烷烃类和酚类化合物消失。主要成分中萜烯类化合物含量与包埋前相比均有所减少, 而醇类化合物含量则有所增加。

结合 2.1 和 2.2 的结果说明桉叶精油的抑菌作用与其成分及抑菌成分的含量有一定的关系, 其抑菌成分并非一种物质, 而是多种物质协同作用的结果<sup>[3,30,32]</sup>。桉叶精油中的萜烯类、醇类、酚类物质



均具有一定的抑菌性能<sup>[30,33]</sup>。桉叶精油对食品中常见的腐败菌具有较好的抑菌功能与蒎烯、柠檬烯、松油烯、炭烯和桉叶素等抑菌成分有关<sup>[3]</sup>。其中蒎烯类物质对桉叶精油抑菌活性的发挥有较大影响<sup>[3,30,34]</sup>，包埋后的桉叶精油中部分蒎烯类物质消失或含量降低，使得包埋后的桉叶精油抑菌活性稍有下降，对酿酒酵母和桔青霉的 MBC 稍有上升，但对所有供试菌的 MIC 不变。微胶囊化并未对桉叶精油的抑菌性能造成太大影响，包埋后的桉叶精油仍具有较好的抑菌效果。

### 3 结论

桉叶精油包埋前后对供试细菌、酵母菌和霉菌均有一定的抑制作用。对酵母菌的抑制作用最强，其次为细菌，对霉菌的抑制效果稍差。包埋后的桉叶精油抑菌效果稍有下降，但供试菌的抑菌活性仍达到极敏或高敏水平。

桉叶精油包埋前后对供试菌的 MIC 和 MBC 未有太大差异。包埋前后对酿酒酵母的 MIC 均低至 25  $\mu\text{L/L}$ ；对两种细菌的 MIC 和 MBC 均相同，分别为 50  $\mu\text{L/L}$  和 100  $\mu\text{L/L}$ ；对霉菌的抑制效果稍差，尤其是黑曲霉，MIC 及 MBC 达到了 400  $\mu\text{L/L}$ 。

GC-MS 分析的结果表明，微胶囊化并未对桉叶精油的主要成分造成太大的影响，桉叶精油包埋前后均以蒎烯类和醇类化合物为主。桉叶精油的抑菌作用与蒎烯、柠檬烯、松油烯、炭烯和桉叶素等抑菌成分有关。包埋后桉叶精油中蒎烯类化合物含量的减少，导致抑菌活性稍有下降，对酿酒酵母和桔青霉的 MBC 稍有上升，但对所有供试菌的 MIC 不变。微胶囊化并未对桉叶精油的抑菌性能造成太大影响，包埋后的桉叶精油仍具有较好的抑菌效果。

本研究为利用桉叶精油开发天然食品抑菌保鲜剂提供一定的实验依据。

### 参考文献:

- [1] 王俊亮, 肖苏尧, 陈运娇, 等. 广林 9 号桉叶多酚抗氧化活性研究[J]. 食品科学, 2012, 33(01): 20-24.
- [2] 田玉红, 张祥民, 黄泰松, 等. 桉叶油的研究进展[J]. 食品与发酵工业, 2007, 33 (10): 139-143. DOI: 10.13995/j.cnki.11-1802/ts.2007.10.043.
- [3] 蓝亮美, 马丽, 郭占京, 等. 三种桂产桉叶油对常见致腐菌的抑制作用研究[J]. 食品工业科技, 2014, 35(22): 155-158. DOI: 10.13386/j.issn1002-0306.2014.22.025.
- [4] 田玉红, 周琪, 顾俊华, 等. 广林九号桉叶精油的抑菌活性研究[J]. 湖北农业科学, 2013, 52(21): 5193-5196. DOI: 10.14088/j.cnki.issn0439-8114.2013.21.022.
- [5] TYAGI A K, MALIK A. Antimicrobial potential and chemical composition of Eucalyptus globulus oil in liquid and vapour phase against food spoilage microorganisms[J]. Food Control, 2011, 22(22): 1707-1714. DOI: 10.1016/j.foodchem.2010.11.002.
- [6] The Vien Huynh, Nola Caffin, Gary A. Dykes, et al. Optimization of the microencapsulation of Lemon Myrtle oil using response surface methodology[J]. Drying Technology, 2008, 26(3): 357-368. DOI: 10.1080/07373930801898182.
- [7] SUTAPHANIT P, CHITPRASERT P. Optimisation of microencapsulation of holy basil essential oil in gelatin by response surface methodology[J]. Food Chemistry, 2014, 150(2): 313-320. DOI: 10.1016/j.foodchem.2013.10.159.
- [8] ZHAO Q, HO C T, HUANG Q. Effect of Ubiquinol-10 on Citral Stability and Off-Flavor Formation in Oil-in-Water (O/W) Nanoemulsions[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2013, 61(31):7462-7469. DOI: 10.1021/jf4017527.
- [9] 葛昕, 费学谦, 王亚萍, 等. 复合茶油微胶囊的开发及产品性能分析[J]. 中国粮油学报, 2014, 29(5): 75-79.
- [10] 黄国清, 肖军霞, 孙燕婷. 大蒜油微胶囊的表征及在腊肠中的应用研究[J]. 中国调味品, 2014, 39(6): 32-35.
- [11] Leimann F V, Gonçalves O H, Machado R A F, et al. Antimicrobial activity of microencapsulated lemongrass essential oil and the effect of experimental parameters on microcapsules size and morphology[J]. Materials Science and Engineering C, 2009, 29(2): 430-436. DOI: 10.1016/j.msec.2008.08.025.
- [12] 徐宁, 谭兴和, 王锋, 等. 椴柑皮精油微胶囊的制备方法研究[J]. 食品工业科技, 2014, 35(14): 321-325, 329. DOI: 10.13386/j.issn1002-0306.2014.14.062.
- [13] 王芳, 淡小艳, 邓刚, 等. 橘皮精油微胶囊的制备及其稳定性研究[J]. 中国粮油学报, 2012, 27(12): 78-82. DOI:

- 10.3969/j.issn.1003-0174.2012.12.014.
- [14] 岳淑丽, 任小玲, 向红, 等. 桉叶精油微胶囊包埋油含量测定方法的比较[J]. 包装工程, 2016, 37(15): 67-71.
- [15] 陈林林, 米强, 辛嘉英. 柑橘皮精油成分分析及抑菌活性研究[J]. 食品科学, 2010, 31(17): 25-28.
- [16] 李国林, 张忠, 毕阳, 等. 八种植物精油体外抑菌效果的比较[J]. 食品工业科技, 2013, 34(07): 130-133. DOI: 10.13386/j.issn1002-0306.2013.07.038.
- [17] CAKIR A, KORDALI S, ZENGİN H, et al. Composition and antifungal activity of essential oils isolated from *Hypericum hyssopifolium* and *Hypericum heterophyllum*[J]. *Flavour and Fragrance Journal*, 2004, 19(1): 62-68. DOI: 10.1002/ffj.1279.
- [18] 刘光发, 王建清, 赵亚珠. 牛至精油微胶囊的制备及其抑菌效果研究[J]. 包装工程, 2012, 33(3): 19-22.
- [19] ROTA M C, HERRERA A, MARTINEZ R M, et al. Antimicrobial activity and chemical composition of *Thymus vulgaris*, *Thymus zygis* and *Thymus hyemalis* essential oils[J]. *Food Control*, 2008, 19(7): 681-687. DOI: 10.1016/j.foodcont.2007.07.007.
- [20] 吴克刚, 赵欣欣, 谢佩文, 等. 植物精油及单离香料熏蒸控制生湿面制品腐败微生物研究[J]. 粮食与油脂, 2012, 25(6): 14-16. DOI: 10.3969/j.issn.1008-9578.2012.06.004.
- [21] LOPEZ P, SANCHEZ C, BATLLE R, et al. Solid and vapor-phase antimicrobial activities of six essential oils: susceptibility of selected foodborne bacterial and fungal strains[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2005, 53(17): 6939-6946. DOI: 10.1021/jf050709v.
- [22] 付红军. 微波对山苍子油化学成分的影响及其抑菌活性研究[J]. 食品科学, 2016, 37(17): 65-69. DOI: 10.7506/spkx1002-6630-201617011.
- [23] 杨松夏, 吕恩利, 陆华忠, 等. 不同保鲜运输方式对荔枝果实品质的影响[J]. 农业工程学报, 2014, 30(10): 225-232. DOI: 10.3969/j.issn.1002-6819.2014.10.028.
- [24] 刘楷栋, 袁长春, 敬国兴, 等. 外源草酸对采后番荔枝后熟及耐藏性的影响[J]. 食品科学, 2013, 34(14): 329-334. DOI: 10.7506/spkx1002-6630-201314069.
- [25] 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. DOI: 10.3321/j.issn:1002-6630.2008.12.012.
- [26] 王步江, 刘金福, 樊秀花, 等. 肉桂精油抑菌活性研究[J]. 食品与机械, 2011, 27(6): 166-167, 182. DOI:10.3969/j.issn.1003-5788.2011.06.043.
- [27] KUMAR P, MISHRA S, MALIK A, et al. Compositional analysis and insecticidal activity of *Eucalyptus globulus* (family: Myrtaceae) essential oil against housefly (*Musca domestica*)[J]. *Acta Tropica*, 2012, 122(2): 212-218. DOI: 10.1016/j.actatropica.2012.01.015.
- [28] VILELA G R, ALMEIDA G S D, MORAES M H D, et al. Activity of essential oil and its major compound, 1, 8-cineole, from *Eucalyptus globulus* Labill., against the storage fungi *Aspergillus flavus* Link and *Aspergillus parasiticus* Speare[J]. *Journal of Stored Products Research*, 2009, 45(2): 108-111. DOI: 10.1016/j.jspr.2008.10.006.
- [29] MACIEL M V, MORAIS S M, BEVILAQUA, C M, et al. Chemical composition of *Eucalyptus* spp. essential oils and their insecticidal effects on *Lutzomyia longipalpis*[J]. *Veterinary parasitology*, 2010, 167(1): 1-7. DOI: 10.1016/j.vetpar.2009.09.053.
- [30] 叶舟. 大叶桉叶精油化学成分及其抑菌活性[J]. 福建林学院学报, 2007, 27(1): 48-51. DOI: 10.3969/j.issn.1001-389X.2007.01.011
- [31] Ait-Ouazzou A, Lorán S, Bakkali M, et al. Chemical composition and antimicrobial activity of essential oils of *Thymus algeriensis*, *Eucalyptus globulus* and *Rosmarinus officinalis* from Morocco[J]. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 2011, 91(14): 2643-2651. DOI: 10.1002/jsfa.4505.
- [32] SKANDAMIS P N, NYCHAS G J E. Effect of oregano essential oil on microbiological and physico-chemical attributes of minced meat stored in air and modified atmospheres[J]. *Journal of Applied Microbiology*, 2001, 91(6): 1011-1022. DOI: 10.1049/el:20030853.
- [33] 胡林峰, 许明录, 朱红霞. 植物精油抑菌活性研究进展[J]. 天然产物研究与开发, 2011, 23(2): 384-391. DOI: 10.16333/j.1001-6880.2011.02.043
- [34] LIN R M, TIAN J, HUANG G, et al. Analysis of menthol in three traditional Chinese medicinal herbs and their compound

formulation by GC-MS[J]. Biomedical Chromatography, 2002, 16(3): 229-233. DOI: 10.1002/bmc.131