

储藏时间和方式对肉桂油重量及抑菌性的影响

舒婷¹, 李萍^{1,2,*}, 王英超¹, 黄治强^{1,2}

(1. 天津农学院 基础科学学院, 天津 300384; 2. 天津农学院 化学实验教学中心, 天津 300384)

摘要:以水蒸气蒸馏提取的肉桂油为试材, 采用称重法和琼脂-孔洞扩散法研究不同储藏方式下肉桂油质量损失和抑菌活性随时间的变化规律, GC-MS 分析肉桂油中反式肉桂醛的含量。结果表明, 随着时间的延长, 不同储藏方式的肉桂油质量和抑菌活性均有一定程度的下降。低温或室温(但不要冰箱冷藏)、闭口避光储藏有利于减弱肉桂油的挥发性和维持较长时间的抑菌活性, 是肉桂油安全的储藏方式。随着浓度的增加, 肉桂油对供试微生物的抑制作用加强。肉桂油对供试菌种的抑制率随时间的延长虽然下降, 但室温闭口避光储藏 82 d 后, 浓度为 111.0 mg/mL 的肉桂油对所有供试菌种的抑制率仍维持在 50 % 以上, 说明其可以作为天然防腐剂用于果蔬防腐保鲜, 并保持较长时间的抑菌效果, 延长果蔬保质期。

关键词:肉桂油; 储藏时间; 储藏方式; 重量; 抑菌性

Effects of Storage Time and Ways on Weight and Antibacterial Activity of Cinnamon Oil

SHU Ting¹, LI Ping^{1,2,*}, WANG Ying-chao¹, HUANG Zhi-qiang^{1,2}

(1. College of Basic Science, Tianjin Agricultural University, Tianjin 300384, China; 2. Chemical Experimental Teaching Center, Tianjin Agricultural University, Tianjin 300384, China)

Abstract: This paper was conducted to study the change of mass loss and antimicrobial activities of hydrodistillation extracts of cinnamon oil stored under different storage ways employing two methods, namely gravimetric and agar-hole diffusion assays and the amount of trans-cinnamaldehyde in cinnamon oil was also analyzed by gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS). Results showed that antimicrobial activities of cinnamon oil stored under different storage ways declined with the increase of time. Sealed stored in the dark at cold or room temperature (do not refrigerate) was a safe way for cinnamon oil to decrease its volatility and to maintain longer antibacterial activities. Antibacterial activities of cinnamon oil improved with the increasing of its concentration. Although, the inhibitory rate of cinnamon oil against tested strains reducing with time increasing, cinnamon oil sealed stored in the dark at room temperature at a concentration of 111.0 mg/mL still remained 50 % inhibition on the growth of the tested strains after 82 days, which suggested that cinnamon oil sealed stored in the dark at room temperature can be used as a natural preservative providing longer antibacterial activities and prolonging shelf life of fruits and vegetables.

Key words: cinnamon oil; storage time; storage ways; mass loss; antibacterial activity

食品安全已经成为一个重要的公共卫生问题。据世界卫生组织估计, 工业化国家中每年有 30 % 的人正

遭受食源性疾病的困扰^[1]。为减少病原菌侵蚀, 延长食品保质期, 同时不引入化学防腐剂, 科学家已将注意力集中到植物源性抗菌剂的研究上, 发现多种植物精油具有显著的抑菌效果^[2-5]。研究表明, 肉桂油的抑菌活性是其能够起到防腐保鲜效果的主要原因, 由于其具有广谱抗菌性, 采后果蔬中适量添加肉桂油, 可在一定程度上抑制由真菌引起的果蔬腐败, 减少食源性疾病, 延长果蔬保质期^[6-8]。肉桂油甚至可以掺入食品

基金项目: 2014 年天津市大学生创新创业训练计划项目(201410061087); 天津市应用基础与前沿技术研究计划项目(14JCQNJC06300)

作者简介: 舒婷(1991—), 女(汉), 本科在读, 研究方向: 天然产物提取与活性研究。

* 通信作者: 李萍(1979—), 女(汉), 讲师, 硕士, 主要从事挥发油提取与活性研究工作。

包装材料中增加抗菌性能^[9]。但是,肉桂油在储藏过程中由于挥发和受到空气、温度、光照等因素影响而产生的氧化降解会导致其生理活性的下降并伴随产生不愉快气味^[10]。迄今为止,国内外学者针对肉桂油对多种病原菌的抑制活性及其在果蔬防腐保鲜上的应用研究较多,但对肉桂油储藏过程中质量损失情况和抑菌活性的变化鲜有报道,对肉桂油适宜的储藏条件及保质期也未见明确界定。

肉桂油提取方法很多,水蒸气蒸馏是我国药典推荐的精油提取方法,且预试验表明水蒸气蒸馏提取的肉桂油含有更多的主要成分反式肉桂醛,对多种常见微生物抑制效果比索氏提取和超声波辅助提取更好。因此,本文以水蒸气蒸馏提取的肉桂油为试材,研究不同储藏方式下肉桂油的质量损失情况及抑菌活性随时间的变化规律,探讨影响肉桂油储藏稳定性的一些因素(如光照、温度等),旨在为肉桂油的安全储藏、抑菌活性的较长时间维持及开发为天然防腐剂提供科学参考。

1 材料与方法

1.1 材料

肉桂皮:购于农贸市场,60℃烘干,粉碎,备用。

供试菌种由天津农学院农学与资源环境学院微生物实验室提供,4℃斜面保存。

培养基:牛肉膏蛋白胨培养基(细菌用);酵母膏腺葡萄糖琼脂培养基(酵母菌用);马铃薯培养基(霉菌用)。

1.2 仪器

DX-35BI 立式压力蒸汽灭菌锅:上海博迅实业有限公司;Thermo Scientific MSC-Advantage II 级生物安全柜:德国 Thermo Fisher Scientific 公司;移液器:德国 eppendorf 公司;LRH-250-S 恒温恒湿培养箱,广东省医疗器械厂;Agilent 7890A/5975C 型气相色谱-质谱联用仪:美国安捷伦科技有限公司。

1.3 方法

1.3.1 水蒸气蒸馏法提取肉桂油^[11]

1.3.2 储藏时间和方式对肉桂油质量损失的影响

室温敞口自然光、室温闭口自然光、室温闭口避光和冰箱冷藏闭口避光 4 种方式储藏肉桂油 82 d,间隔一定时间测定肉桂油的质量,按公式(1)计算质量损失率。

$$\text{质量损失率}/\% = \frac{\text{初始质量/g} - \text{剩余质量/g}}{\text{初始质量/g}} \times 100 \quad (1)$$

1.3.3 储藏时间和方式对肉桂油抑菌活性的影响

室温闭口自然光、室温闭口避光和冰箱冷藏闭口

避光 3 种方式储藏肉桂油 82 d,间隔一定时间采用琼脂-孔洞扩散法测定肉桂油抑菌活性的变化规律。

菌悬液制备:活化后的菌种接入液体培养基,摇床培养。细菌用平板稀释法测定菌落数^[12],酵母菌用血球计数法计算菌落数^[12],调节菌悬液浓度均为 10^7 cfu/mL。霉菌移入适量无菌生理盐水中,充分振荡,制成孢子数为 10^7 个/mL 的菌液。

不同浓度肉桂油配制:肉桂油原液浓度为 1.00 g/mL, N,N-二甲基甲酰胺(DMF)作溶剂,采用 3 倍稀释法配制不同浓度的样品溶液。

琼脂-孔洞扩散法步骤^[13-14]:灭菌培养基冷至 50℃,加入 5 mL 菌悬液,混匀,倒入培养皿中(直径 9 cm),每皿 20 mL,固化 1 h,用无菌打孔器在固化的培养基上均匀打孔(直径 7 mm),记号,每孔加入 40 μ L 不同浓度的肉桂油溶液,DMF 作空白对照,每个浓度重复 3 次。细菌 37℃培养 24 h,酵母菌 28℃培养 48 h,霉菌 25℃培养 3 d~4 d。测量抑菌圈直径,按公式(2)计算肉桂油对供试菌种的抑制率。

$$\text{抑制率}/\% = \frac{\text{样品抑菌圈直径/mm} - \text{空白抑菌圈直径/mm}}{\text{样品抑菌圈直径/mm}} \times 100 \quad (2)$$

1.3.4 GC-MS 测定肉桂油中反式肉桂醛含量

色谱条件:HP-5MS 色谱柱(30 m $\times$ 0.25 mm, 0.25 μ m),载气为高纯氦气,进样口温度 220℃,分流(20:1),进样量 1 μ L。柱程序升温:初始 80℃,保持 1 min,3℃/min 速率升至 110℃,保持 1 min,5℃/min 速率升至 210℃,保持 1 min。

质谱条件:电子轰击离子源(EI),电子能量 70 eV,离子源温度 230℃,四极杆温度 150℃,接口温度 280℃。采用 NIST2008 标准谱库进行定性分析,用峰面积归一化法计算各成分的相对百分含量。选择离子检测模式进行定量测定(特征离子 $m/z=51.1$ 、77.1、103.1、131.0,定量离子为 103.1)。标准曲线:反式肉桂醛用正己烷稀释成 0.1、0.2、0.4、0.5、0.6、0.8 g/mL,按选定的色谱、质谱条件,以浓度为横坐标,响应值为纵坐标绘制标准曲线,得到回归方程: $y=1E+06x-99\ 716$, $R^2=0.999\ 6$ ($n=6$)。

2 结果与分析

2.1 水蒸气蒸馏提取的肉桂油理化性质

肉桂油为浅黄色油状液体,有强烈辛香味,提取率为 3.5%,折光率为 1.631 9,水蒸气提取肉桂油总离子流图见图 1。

图 1 显示了提取的肉桂油总离子流图。GC-MS 鉴定出 20 种化学成分,反式肉桂醛含量为 88.98%。

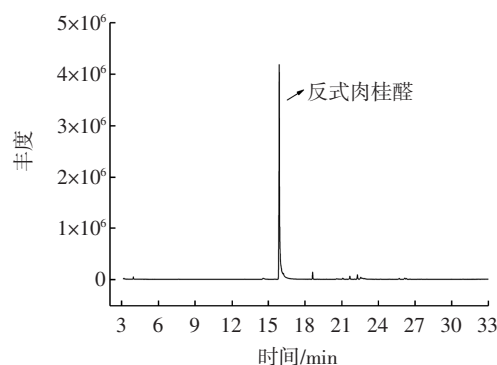


图1 水蒸气提取肉桂油总离子流图

Fig.1 Total ion chromatogram of cinnamon oil

2.2 储藏时间和方式对肉桂油质量损失的影响

肉桂油质量损失率随时间的变化见图2。

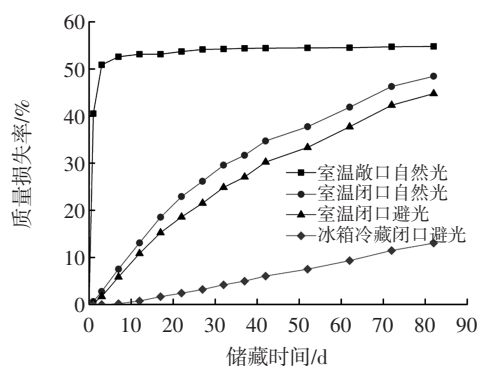


图2 储藏时间和方式对肉桂油质量损失的影响

Fig.2 Effects of storage time and ways on mass loss of cinnamon oil

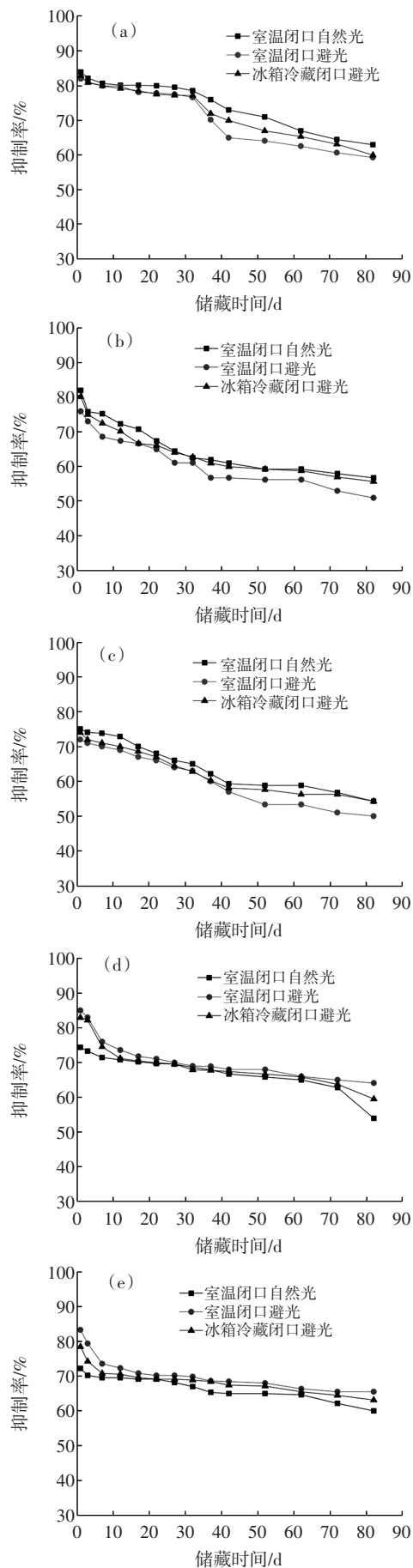
由图2可以看出,随着时间的延长,不同储藏方式的肉桂油质量均有下降。室温敞口自然光储藏质量损失最严重,前3天就达到50.88%,7 d后损失趋于稳定,82 d后达到54.80%,说明肉桂油具有较强的挥发性。冰箱冷藏闭口避光储藏的肉桂油质量损失最小,82 d后仅减少13.03%,与室温闭口避光和室温闭口自然光储藏相比,损失分别少31.75%和35.43%,说明低温、避光储藏有利于减弱肉桂油的挥发性。

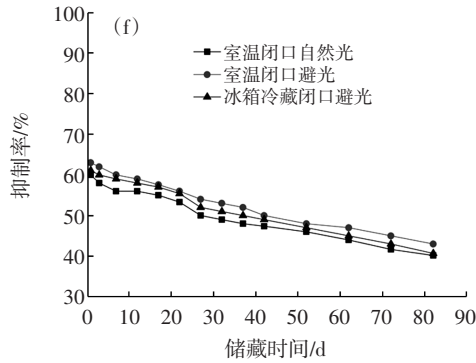
2.3 储藏时间和方式对肉桂油抑菌活性的影响

2.3.1 不同储藏方式下肉桂油对同一菌种抑制活性的变化

不同储藏方式下肉桂油对同一菌种的抑制活性变化见图3。

由图3可知,随着时间的延长,不同储藏方式的肉桂油对同一菌种的抑制活性均呈下降趋势。对细菌的抑制活性为室温闭口自然光>冰箱冷藏闭口避光>室温闭口避光,对酵母菌的抑制活性为室温闭口避光>冰箱冷藏闭口避光>室温闭口自然光,对黑曲霉的抑制活性为室温闭口避光>冰箱冷藏闭口避光>室温闭





(a)大肠杆菌;(b)产气肠杆菌;(c)枯草芽孢杆菌;(d)啤酒酵母;
(e)酿酒酵母;(f)黑曲霉,肉桂油浓度 37.0 mg/mL。

图3 不同储藏方式下肉桂油对同一菌种的抑制活性变化

Fig.3 Antibacterial activities of cinnamon oil under different storage ways against the same strain

口自然光。室温自然光储藏有利于肉桂油对细菌抑制活性的保持,减少食源性致病菌对果蔬的侵蚀,但不利于对酵母和黑曲霉等果蔬腐败性真菌抑制活性的维持。真菌的生长可形成霉菌毒素,使果蔬产生异味,缩短保鲜期^[8]。自然光照射下肉桂油中萜类化合物的氧化降解及主成分反式肉桂醛的氧化变质,都会导致肉桂油抑菌活性的降低。反式肉桂醛是肉桂油抑菌主要活性成分,GC-MS 测定 82 d 后不同储藏方式下肉桂油中反式肉桂醛残留量(见表 1)。冰箱冷藏的肉桂油中反式肉桂醛含量降低最多(<0.1 g/mL),不利于肉桂油抑菌活性的保持。因此,室温闭口避光有利于肉桂油安全储藏及抑菌活性的保持。

表 1 不同储藏方式下肉桂油中反式肉桂醛残留量(82 d 后)

Table 1 Remaining amount of trans-cinnamaldehyde in cinnamon oil under different storage ways (after 82 days)

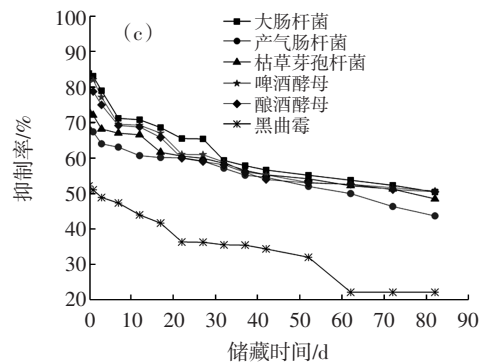
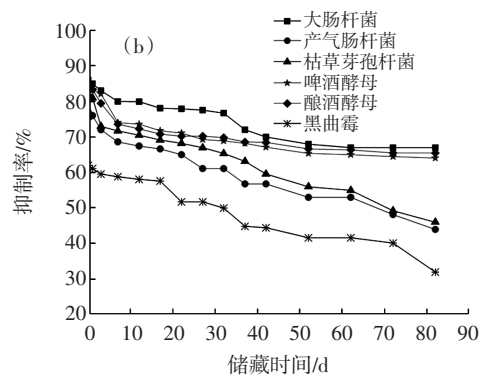
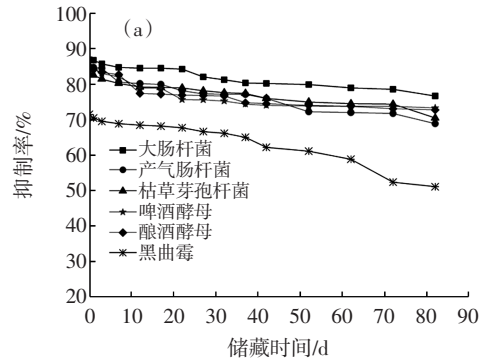
肉桂油	响应值	残留浓度/(g/mL)
室温闭口自然光	186 458	0.28
室温闭口避光	422 457	0.51
冰箱冷藏闭口避光	0	<0.1

注:肉桂油中反式肉桂醛的初始浓度为 0.89 g/mL。

2.3.2 不同浓度肉桂油抑菌活性的变化

室温闭口避光储藏的不同浓度肉桂油对供试菌种的抑制活性变化见图 4。

由图 4 可知,随着浓度的增加,肉桂油的抑菌作用加强。被抑制的微生物中既有革兰氏阴性菌又有革兰氏阳性菌、酵母和霉菌,说明肉桂油具有广谱抑菌性,其中对大肠杆菌抑制效果最好,对酵母菌抑制作用较强,浓度低的肉桂油对黑曲霉抑制效果下降较多。82 d 后,不同浓度的肉桂油对大肠杆菌的抑制率分别下降 10.11 %、18.0 %、32.66 %,对黑曲霉抑制率分别下降



肉桂油的浓度分别为(a)111.0 mg/mL;(b)37.0 mg/mL;(c)12.3 mg/mL

图4 室温闭口避光储藏的肉桂油对供试菌种的抑制活性变化

Fig.4 Change of inhibitory effects of cinnamon oil sealed stored in the dark at room temperature against tested strains

19.41 %、29.11 %、30.05 %。肉桂油对所有供试菌种的抑制率随时间的延长虽然下降,但储藏近 3 个月后,浓度为 111.0 mg/mL 的肉桂油对供试菌种的抑制率仍维持在 50 %以上,说明其应用于果蔬防腐保鲜可以具有较长时间的抑菌效果。

图 5 显示了琼脂-孔洞扩散法测定不同浓度肉桂油抑菌活性的图片,可见此方法比滤纸片法测定结果更准确可靠。

3 结论

本文对水蒸气蒸馏提取的肉桂油在不同储藏方式下的质量损失情况和抑菌活性随时间的变化规律

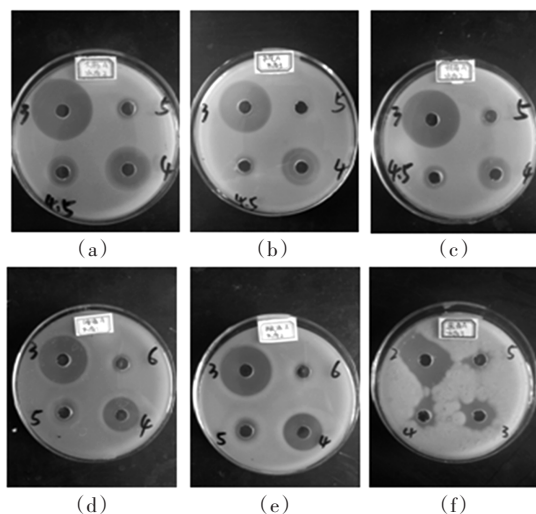


图5 室温闭口避光储藏的不同浓度肉桂油对供试菌种的抑制效果
Fig.5 Inhibitory effects of different concentrations of cinnamon oil sealed stored in the dark at room temperature against tested strains

进行了研究。结果表明,随着时间的延长,不同储藏方式的肉桂油质量和抑菌活性均有一定程度的下降,说明肉桂油具有较强的挥发性,低温或室温(但不要冰箱冷藏)、闭口避光储藏有利于减弱肉桂油的挥发性和维持较长时间的抑菌活性,是肉桂油安全的储藏方式。随着浓度的增加,肉桂油对供试微生物的抑制作用加强。肉桂油对供试菌种的抑制率随时间的延长虽然下降,室温闭口避光储藏 82 d 后,浓度为 111.0 mg/mL 的肉桂油对所有供试菌种的抑制率仍维持在 50 % 以上,说明其可以作为天然防腐剂用于果蔬防腐保鲜,并保持较长时间的抑菌效果,延长果蔬保质期。

参考文献:

- [1] Qin Wang,Zibian Ou,Hanwu Lei,et al.Antimicrobial activities of a new formula of spice water extracts against foodborne bacteria[J]. Journal of food processing and preservation,2012,36(4):374-381
- [2] Nimsha S Weerakkody,Nola Caffin,Lynette K Lambert,et al.Synergistic antimicrobial activity of galangal (*Alpinia galangal*), rosemary (*Rosmarinus officinalis*) and lemon iron bark(*Eucalyptus staigerana*) extracts[J].Journal of the science of food and agriculture,2011,91(3): 461-468
- [3] Gurdip Singh,Sumitra Maurya,M P de Lampasona,et al.Studies on

essential oils,Part 41. Chemical composition,antifungal,antioxidant and sprout suppressant activities of coriander (*Coriandrum sativum*) essential oil and its oleoresin[J]. Flavour and fragrance journal,2006, 21(3):472-479

- [4] Yage Xing,Qinglian Xu,Xihong Li,et al.Antifungal activities of clove oil against *Rhizopus Nigricans*,*Aspergillus Flavus* and *Penicillium Citrinum* in vitro and in wounded fruit test[J].Journal of food safety,2012,32(1):84-93
- [5] Dragana Kocovski,Muying Du,Jianquan Kan,et al.Antifungal effect of *Allium tuberosum*,*Cinnamomum cassia*,and *Pogostemon cablin* essential oils and their components against population of *Aspergillus Species*[J].Journal of food science,2013,78(5):731-737
- [6] 陈旭,雍克岚.肉桂研究进展[J].食品研究与开发,2003,24(5):21-23
- [7] Gordana Dimic,Suncica Kocic-Tanackov,Ljiljana Mojovic,et al.Antifungal activity of lemon essential oil,coriander and cinnamon extracts on foodborne molds in direct contact and the vapor phase[J]. Journal of food processing and preservation,2014,38(1):1-10
- [8] Yage Xing,Xihong Li,Qinglian Xu,et al.Antifungal activities of cinnamon oil against *Rhizopus nigricans*,*Aspergillus flavus* and *Penicillium expansum* in vitro and in vivo fruit test[J].International journal of food science and technology,2010,45(9):1837-1842
- [9] R Becerril,R Gomez-Lus,P Goni,et al.Combination of analytical and microbiological techniques to study the antimicrobial activity of a new active food packaging containing cinnamon of oregano against *E.coli* and *S.aureus*[J].Analytical and bioanalytical chemistry,2007, 388(5/6):1003-1011
- [10] Claudia Turek,Florian C.Stintzing.Stability of essential oils:A review [J]. Comprehensive reviews in food science and food safety,2013, 12 (1):40-52
- [11] 李好样,董金龙.从肉桂皮中提取肉桂油并鉴定其主要成分[J].光谱实验室,2010,27(5): 2020-2022
- [12] 程丽娟,薛泉宏.微生物学实验技术[M].2 版.北京:科学出版社, 2012:30,61
- [13] Sevil Albayrak, Ahmet Aksoy.Evaluation of antioxidant and antimicrobial activities of two endemic anthesis species in turkey[J].Journal of food biochemistry,2013,37(6):639-645
- [14] Da Cheng Wang,Su Hua Sun,Li Na Shi,et al.Chemical composition , antibacterial and antioxidant activity of the essential oils of *Metaplexis japonica* and their antibacterial components[J].International journal of food science and technology,2015,50(2):449-457

收稿日期:2015-05-19