

肉桂精油乳液的制备及抑菌性

汪师帅, 朱 蝶

(武汉商学院 食品科技学院, 湖北 武汉 430056)

摘要: 肉桂精油具有抑菌杀菌、抗氧化等功效, 但因其水溶性差、易挥发、稳定性差, 限制了应用。将肉桂精油溶解于中链脂肪酸, 以司班 20 与吐温 80 为乳化剂, 制备水包油型乳液。通过改变肉桂精油的质量分数(0%~2.5%), 可得粒径分布在 50~280 nm 乳液。离心实验发现, 该乳液稳定性好, 且适宜于在温度低于 40 ℃条件下使用。在 25 ℃下储藏 10 d, 乳液的粒径和分散系数几乎不变。此外, 利用比浊法测定不同粒径的乳液抑菌效果发现, 粒径为 150 nm 的肉桂精油乳液对大肠杆菌和金黄色葡萄球菌的抑制效果最好。

关键词: 肉桂精油; 乳化; 大肠杆菌; 金黄色葡萄球菌; 抑菌

中图分类号: TS 202 文章编号: 1673-1689(2020)09-0084-05 DOI: 10.3969/j.issn. 1673-1689.2020.09.012

Preparation and Antibacterial Activity of Cinnamon Essential Oil Emulsion

WANG Shishuai, ZHU Die

(College of Food Science and Technology, Wuhan Business University, Wuhan 430056, China)

Abstract: Cinnamon essential oil has antibacterial and antioxidant functions, but its application is limited due to its poor water solubility, volatilization and poor stability. The oil-in-water emulsion was prepared by dissolving cinnamon essential oil in the medium chain fatty acid and using emulsifiers of Span 20 and Tween 80. By changing the mass fraction (0%~2.5%) of cinnamon oil, an emulsion with particle size distribution of 50~280 nm could be obtained. Centrifugation experiments showed that the emulsion was stable and suitable for utilization at temperatures below 40 ℃. After storage at 25 ℃ for 10 d, the particle size and dispersion coefficient of the emulsion were almost unchanged. In addition, the bacteriostatic effect of emulsions with different particle sizes was determined by turbidimetry. It was found that the cinnamon oil emulsion with a particle size of 150 nm had the best inhibitory effect on *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*.

Keywords: cinnamon essential oil, emulsification, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, antibacterial

肉桂精油是从桂皮、桂叶、桂枝等部位提取而得, 为琥珀色液体, 香气强烈持久。肉桂醛是肉桂精油的主要成分, 难溶于水和甘油, 易溶于醇和醚类物质, 能随水蒸气挥发, 导致肉桂精油在食品中很

难稳定存在^[1]。肉桂醛也易发生化学降解, 导致香味丢失, 并产生异味, 在一定程度上限制了应用^[2]。

肉桂醛的抑菌性良好, 对细菌、真菌等微生物具有较强的抑制作用。肉桂醛能够使细菌的细胞膜

收稿日期: 2019-04-29

基金项目: 武汉商学院博士科研基金项目(2016KB002)。

作者简介: 汪师帅(1987—), 女, 博士, 讲师, 主要从事生物大分子研究。E-mail: sswang123@163.com

破裂,使细菌在细胞分裂时产生畸变和异常分裂,从而对细菌的正常生长繁殖产生直接的抑制作用,导致其外观形态发生明显变化。此外,肉桂醛还能与细菌 DNA 发生相互作用,影响细菌 DNA 的正常合成,并能够改变细菌内部的离子平衡,导致细菌发生解体而死亡^[3]。

作者通过将肉桂精油制备成水包油型乳液,一方面探讨了该乳液对离心转速、温度以及储藏时间的稳定性;另一方面通过改变乳液中肉桂精油的质量分数,获得一系列不同粒径分布的乳液液滴。在此基础上,以大肠杆菌和金黄色葡萄球菌为对象,探讨乳液的粒径大小与其抑菌效果的相关性。本研究可为肉桂精油在食品加工中的有效应用奠定基础。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

肉桂精油:深圳市鼎诚植物香料有限公司产品;中链脂肪酸(MCT,食品级):武汉博星化工有限公司产品;吐温 80、司班 20(分析纯):上海申宇医药化工有限公司产品;营养肉汤培养基(LB 培养基,含有胰蛋白胨 10 g/L、酵母粉 5 g/L、氯化钠 10 g/L):上海博微生物科技有限公司产品。

大肠杆菌(*Escherichia coli*)与金黄色葡萄球菌(*Staphylococcus aureus*)来源于中国医学菌种保藏中心。

1.2 仪器

DF-101Z 集热式恒温加热磁力搅拌器:郑州长城科工贸有限公司产品;CJJ78-1 电子天平:上海越平科学仪器有限公司产品;Zetasizer nano ZS 纳米粒度分析仪:英国马尔文仪器公司产品;TG16-WS 高速冷冻离心机:湘仪离心机仪器有限公司产品;JY92-IIN 紫外可见分光光度计:上海元析仪器有限公司产品;YXQ-50SII 压力蒸汽灭菌锅:上海博迅有限公司产品;HCY-123C 恒温培养箱:上海精宏实验设备有限公司产品。

1.3 肉桂精油乳液的制备

称取一定量的肉桂精油与 MCT 混合均匀,逐滴加入含有乳化剂的水中。整个实验在 50 ℃水浴条件下进行,持续 15 min。在乳液体系中,固定油相总体质量分数为 5%,乳化剂(司班 20:吐温 80=1:3,质量比)质量分数为 10%,水的质量分数为 85%。为了得到不同粒径的乳液,可通过改变肉桂精油的添

加量,使肉桂精油占整个乳液体系的质量分数分别为 0%、0.5%、1%、1.5%、2%、2.5%。

1.4 乳液的粒径及 PDI 测定

采用纳米粒度仪 Zetasizer nano ZS 测定肉桂精油乳液的平均粒径及多分散系数 PDI 值,参数设置为温度 25 ℃,散射角 173°,折射率 1.453。为降低多重光散射效应,测定前需用去离子水稀释溶液。实验重复测定 3 次取平均值,采用 $d_{4,3}$ 即体积平均粒径表征乳液粒径的大小。

1.5 肉桂精油乳液的稳定性测定

离心稳定性:将质量分数 1.5%肉桂精油乳液于 2 000~12 000 r/min 的条件下离心 12 min,观察乳液是否分层。若无分层,测定其粒径及 PDI 大小。每个样品设置 3 个平行。

热稳定性:将质量分数 1.5%肉桂精油乳液分别放置在 4、25、40、60、80 ℃的条件下处理 30 min,测定其粒径及 PDI 大小。每个样品重复测定 3 次。

储藏稳定性:将肉桂精油乳液放置于 4 ℃和 25 ℃条件下储藏不同时间。每隔一段时间取样,测定其粒径及 PDI 大小。每个样品重复测定 3 次。

1.6 乳液的抑菌性测定

乳液的处理:以无菌水为空白对照,实验组为 T-0.5%、T-1.5%、T-2.5%,分别对应乳液中肉桂精油的质量分数为 0.5%、1.5%、2.5%。为了保证乳液中肉桂精油的质量相同,用无菌水将 T-1.5%、T-2.5%分别稀释 3 倍和 5 倍,独立探讨不同粒径的乳液对细菌生长的抑制情况。

菌悬液的制备:用接种环从肉汤琼脂斜面上挑取一环活化后的受试菌至 LB 培养基中,37 ℃培养 18~24 h 得菌悬液。

动态抑菌曲线的制作:用移液枪准确吸取 200 μ L 菌悬液于离心管中,再加入 1 800 μ L 乳液或无菌水,混匀,静置 0.5 h 后放置于 37 ℃培养。每隔一定的时间取样,测定样品在 600 nm 处的吸光度。每个样品设置 3 个平行。

1.7 数据处理

所有实验数据采用 Origin 8.5 软件进行平均值和方差分析。

2 结果与分析

2.1 肉桂精油质量分数对乳液粒径及 PDI 的影响

肉桂精油质量分数对乳液粒径及 PDI 值的影

响,如图1所示。当肉桂精油质量分数从0.5%增大至2.0%,乳液粒径迅速从约50 nm上升至270 nm。随着精油质量分数进一步增加至2.5%,乳液粒径增加缓慢。PDI值是反应乳液均一性的重要指标。PDI值越小,乳液体系均一性越好^[4]。图中PDI值先减小后增大,在肉桂精油质量分数为1.5%时,PDI值达到最小,约为0.1。肉眼观察发现当精油质量分数<1%,乳液澄清透明,泛微蓝色乳光。当精油质量分数 $\geq 1\%$,乳液呈现均一的乳白色。乳液外观的差异是乳液液滴与光线作用的结果。当液滴直径远大于入射光波长时,主要发生光的反射,伴随光的折射、吸收和散射,呈现乳白色、不透明的外观;当液滴直径稍大于入射光波长时,则有光的散射现象发生,体系呈半透明状;当液滴直径小于入射光波长时,光可完全透过,此时乳状液呈透明状。因此,可从乳液外观粗略判断乳液粒径大小^[5]。

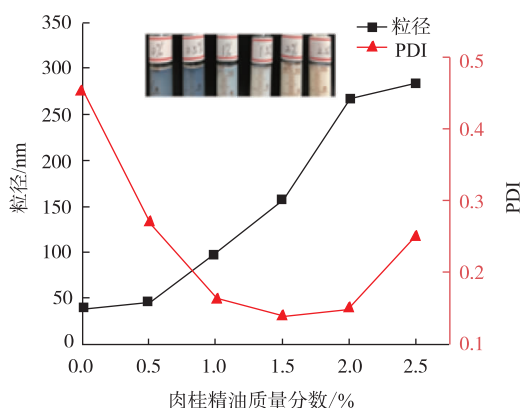


图1 肉桂精油质量分数对乳液粒径及PDI值的影响

Fig. 1 Effect of cinnamon oil concentration on particle size and PDI value of emulsion

2.2 肉桂精油乳液的离心稳定性

稳定性是评价乳液质量非常重要的指标,也决定了乳液的储藏条件、应用范围及有效期限^[6]。如若乳液体系的稳定性差,在储藏过程中会发生乳液液滴聚集,出现絮凝分层现象。该现象出现的快慢可评判乳液稳定性的差异。此部分通过离心这一物理方式可加速这一变化,来表征乳液的稳定性。

实验中控制乳液中各组分的质量分数分别为肉桂精油1.5%,MCT 3.5%,乳化剂10%,水85%,制备得到乳液,比较乳液经离心处理后粒径及PDI值的变化,结果如图2所示。经过不同转速(2 000~12 000 r/min)处理后,乳液的粒径基本维持在

130 nm附近。离心转速的差异并不会导致乳液的粒径发生明显变化。然而,乳液PDI值随着离心转速增加而略微上升,说明高离心转速会导致乳液的均一性稍有下降。此外,通过肉眼观察发现乳液经不同转速离心后,均未出现絮凝分层现象。由此可见该乳液具有较好的离心稳定性,体系稳定性较好。

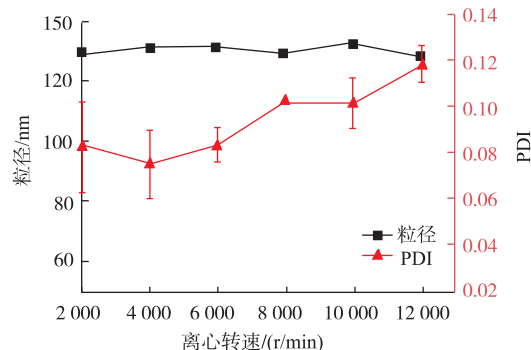


图2 离心转速对乳液粒径及PDI值的影响

Fig. 2 Effect of centrifugal speed on particle size and PDI value of emulsion

2.3 肉桂精油乳液的热稳定性

为了探究此肉桂精油乳液在应用及储藏时的温度条件,此部分实验将肉桂精油质量分数为1.5%的乳液放置于不同温度条件(4~80 ℃)下处理30 min,来判断乳液对热的稳定性。从图3可见,当温度低于40 ℃,乳液的粒径及PDI值基本不发生变化,粒径维持在130 nm,PDI维持在0.1。而在60、80 ℃条件下,乳液的粒径及PDI值陡然增加。表明高温会破坏乳液体系的稳定性。林丽萍等^[7]利用司班和吐温系列乳化剂所制备的肉桂醛乳液在(54±1) ℃条件下,贮存14 d后,出现了油析和白色沉淀。

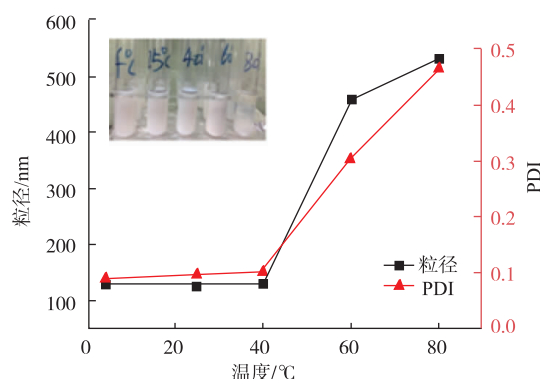


图3 温度对乳液粒径及PDI值的影响

Fig. 3 Effect of temperature on particle size and PDI value of emulsion

此外,通过肉眼观察还发现乳液经过 80 ℃ 处理后发生明显的分层现象。待此样品冷却,摇晃,样品又恢复均一的乳白色。司班 20 和吐温 80 属非离子型乳化剂,当温度较高时,乳化剂在水中的溶解度迅速降低而析出,体系发生分层现象。该现象称为起昙,温度为昙点。当环境温度低于昙点时,体系恢复澄清^[8]。

2.4 肉桂精油乳液的储藏稳定性

为了探究此肉桂精油乳液的有效使用期限,此部分实验将不同质量分数的肉桂精油乳液置于 4、25 ℃ 恒温条件下储藏不同时间,以乳液的粒径为主要评价指标,考察乳液的储藏稳定性,结果如图 4 所示。在 4 ℃ 条件下,储藏 1~5 d,各质量分数的肉桂精油乳液均能保持稳定,乳液粒径基本维持不

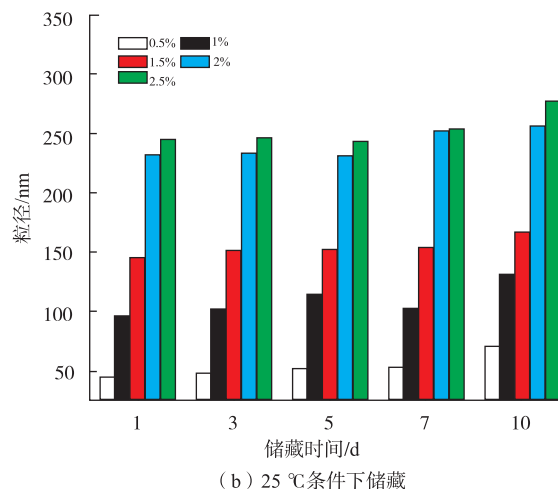
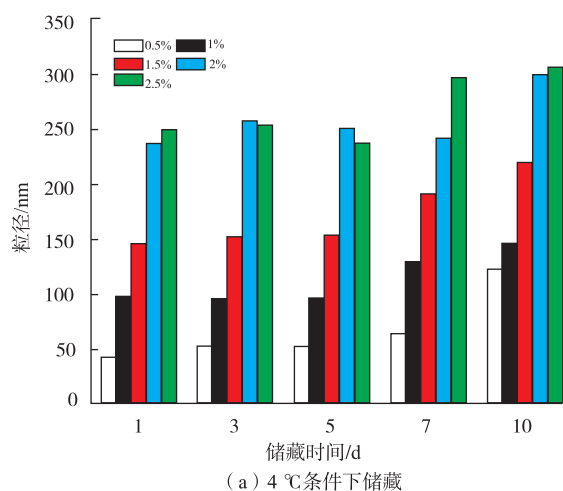


图 4 储藏时间对不同质量分数的肉桂精油乳液粒径的影响
Fig. 4 Effect of storage time on particle size of emulsion with different cinnamon oil concentrations

变。在储藏第 10 天,各组乳液粒径均会发生不同程度地增加。高质量分数的肉桂精油(2.5%),乳液粒径从第 7 天开始增加。相比于 4 ℃ 条件下所得结果,乳液在 25 ℃ 条件下储藏稳定性可延长至 10 d。如图 4(b)所示,在储藏第 10 天,各质量分数精油的乳液粒径开始略微增加。由此可见,25 ℃ 更有利于该肉桂精油乳液的储藏。分析原因为精油在低温条件下易发生结晶,破坏乳液的界面膜,导致乳液颗粒的尺寸变大,均一性变差。此外,低温环境会降低乳液体系的热能,发生液滴少量聚集,亦不利于乳液的稳定性^[9]。

2.5 肉桂精油乳液对大肠杆菌的抑制作用

为了探讨肉桂精油乳液的抑菌效果,选择上述制备的 3 种精油乳液 T-0.5%、T-1.5%、T-2.5%,分别对应乳液中肉桂精油的质量分数为 0.5%、1.5%、2.5%,乳液液滴大小为 50、150、280 nm(见图 1)。用无菌水将 T-1.5%、T-2.5% 分别稀释 3 倍和 5 倍,以保证乳液中肉桂精油质量分数相同,独立探讨乳液粒径和抑菌情况的相关性。肉桂精油乳液对大肠杆菌的抑制情况,如图 5 所示。未添加肉桂精油乳液的空白组中,吸光度随着培养时间的延长一直增大。从生长曲线来看,大肠杆菌生长并未经历调整期,而直接呈指数式增长,生长良好。与空白组相比,乳液组的吸光度则持续下降,仅仅在培养初期 0~1 h,乳液组的吸光度大于空白组,这是少量乳白色的乳液对光的散射所致。含有肉桂精油的乳液组均表现出良好的抑菌性能^[10-11],且 T-1.5% 组抑制效果最佳。由此可见,肉桂精油乳液粒径的不同会对大肠杆菌的动态抑菌曲线产生差异,在乳液粒径为

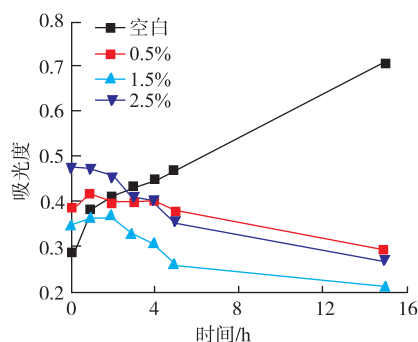


图 5 肉桂精油乳液对大肠杆菌的抑制效果
Fig. 5 Inhibitory effect of cinnamon oil emulsion on *Escherichia coli*

150 nm 时抑菌效果达到最好。王婧等^[12]发现采用吐温80 所制备的氯代肉桂醛纳米乳, 平均粒径为 15.88 nm, 抑菌活性提高了 50%~200%。

2.6 肉桂精油乳液对金黄色葡萄球菌的抑制作用

肉桂精油乳液对金黄色葡萄球菌的抑制效果见图 6 所示。空白组中金黄色葡萄球菌经过约 15 h 的调整期后, 开始迅速增长, 生长状态良好。而乳液组在整个培养时间内(0~22 h), 吸光度几乎维持不变, 且在 5 h 后, 吸光度明显低于空白组。表明金黄色葡萄球菌在肉桂精油乳液的作用下完全无法生长。对比乳液组发现, T-1.5%的抑制作用最强, T-0.5%和 T-2.5%的抑制作用相差不大。要达到对金

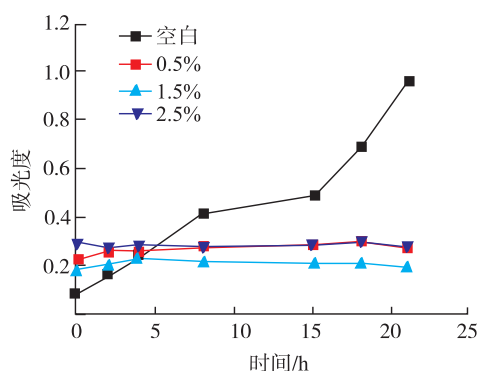


图 6 肉桂精油乳液对金黄色葡萄球菌的抑制情况

Fig. 6 Inhibition of *Staphylococcus aureus* by cinnamon oil emulsion

黄色葡萄球菌最好的抑菌效果, 乳液的粒径为 150 nm。对比图 5 和图 6 可得, 肉桂精油乳液对大肠杆菌的抑制效果要优于金黄色葡萄球菌。分析原因为金黄色葡萄球菌为革兰氏阳性菌, 细胞壁厚; 大肠杆菌为革兰氏阴性菌, 细胞壁薄。细胞壁组成结构的不同引起了抑菌效果的差异^[13]。肉桂精油可通过破坏微生物的细胞壁、细胞膜, 损伤 DNA 而发挥抑菌作用^[14-15]。

3 结 语

作者首先通过改变肉桂精油的添加量(质量分数)0%~2.5%, 利用司班 20 和吐温 80 为复合乳化剂, 制备出粒度范围在 50~280 nm 的乳液。随后探讨了离心转速、温度、储藏时间对肉桂精油乳液稳定性的影响。乳液经 2 000~12 000 r/min 离心处理, 粒径维持不变, 稳定性较好。在高温条件下(60、80 ℃), 乳液粒径显著增大, 且出现分层现象, 而在温度低于 40 ℃时, 稳定性较好。相比于 4 ℃, 乳液更适于在 25 ℃条件下储藏, 储藏 10 d 以内, 乳液的粒径维持不变。最后, 通过比浊法探讨乳液的粒径与抑菌性质的相关性。结果发现, 当乳液粒径为 150 nm 时, 对大肠杆菌、金黄色葡萄球菌的抑制效果最好。本研究中通过乳化法提高了肉桂精油的稳定性, 并探讨了乳液的抑菌性, 可为后期在具体食品体系中的防腐杀菌应用奠定基础。

参考文献:

- [1] 何艳, 应梦超, 王韵, 等. O/W 型肉桂精油微乳液对灰葡萄孢的抑菌效果[J]. 食品科学, 2013, 34(15): 87-90.
- [2] 李维迪. 肉桂精油微乳体系构建及其在酱牛肉中的应用[D]. 上海: 上海应用技术大学, 2016.
- [3] 陈帅, 高彦祥. 肉桂醛的调味、保鲜及稳态化研究进展[J]. 中国调味品, 2019, 44(2): 156-159.
- [4] 张婉萍, 顾理浩, 方向. 固体脂质防晒粒粒径的影响因素研究[J]. 日用化学工业, 2013, 43(6): 445-449.
- [5] 李阿峰. 低温解封封闭异氰酸酯固化剂的合成及应用研究[D]. 西安: 陕西科技大学, 2013.
- [6] 李杨, 胡森, 谢凤英, 等. 超高压均质对紫苏油纳米乳液稳定性的影响[J]. 农业机械学报, 2018, 49(8): 381-387.
- [7] 林丽萍, 陈妍妍, 田博文, 等. 肉桂醛水乳剂制备及其柑橘青霉抑菌效果测定[J]. 食品与发酵工业, 2019, 45(4): 19-24.
- [8] 郭月萍. 微乳液提取丹参中脂溶性和水溶性成分的研究[D]. 广州: 广州中医药大学, 2010.
- [9] 刘欣. 玫瑰精油微乳液制备及特性研究[D]. 无锡: 江南大学, 2017.
- [10] 汪青青, 李萍, 赵鹏英, 等. 肉桂和八角精油联合抗菌作用研究[J]. 中国调味品, 2019, 44(3): 84-88.
- [11] 王康莉, 张玲玲, 袁火花, 等. 不同精油的抑菌效果及协同作用研究[J]. 中国饲料, 2019, (1): 48-52.
- [12] 王婧, 周威, 胡梁斌, 等. 氯代肉桂醛纳米乳的制备及其抑菌活性研究[J]. 食品工业科技, 2018, 39(15): 37-42.
- [13] 桂雨豪, 孟潇, 陈庆生, 等. 植物精油的抑菌性探究及其在化妆品中的应用[J]. 日用化学工业, 2019, 49(3): 187-192.
- [14] 毛雪琳. 肉桂精油对巨峰葡萄采后部分致病菌的抑制及其保鲜效果研究[D]. 长沙: 中南林业科技大学, 2018.
- [15] 王芳, 曹锦轩, 潘道东, 等. 肉桂精油对成团泛菌和腐生葡萄球菌的抑菌活性及其机理[J]. 食品工业科技, 2016, 37(19): 75-80.