

## 4种植物精油体外抑菌活性及其稳定性的研究

李娅男 吕飞 梁浩\* 袁其朋

(北京化工大学 生命科学与技术学院 化工资源有效利用国家重点实验室, 北京 100029)

**摘要:** 对牛至、罗勒、佛手柑、紫苏4种精油,采用抑菌圈法研究了其对大肠杆菌、金黄色葡萄球菌、枯草芽孢杆菌及酿酒酵母的抑菌特性,并且分析了pH、光、热对精油稳定性的影响。结果表明牛至精油对4种菌都具有较强的抑制活性,罗勒精油和佛手柑精油对其中的革兰氏阳性菌有很好的抑制效果,而紫苏精油则对酿酒酵母有很强的抑制专一性。4种植物精油的抑菌效果与培养基的pH有关。pH < 5.0时,抑菌效果非常显著,培养基上无菌落生长;pH > 5.0时,抑菌效果随pH值的增大而有所降低。4种精油经过热处理和紫外线照射后均不影响其抑菌效果,具有较强的光、热稳定性。

**关键词:** 精油; 抑菌; pH; 光; 热; 稳定性

**中图分类号:** TQ654

### 引言

近些年,精油(EOs)作为天然抑菌物质受到广泛的关注。大量研究发现,许多植物精油具有抑菌活性强,无刺激作用,毒副作用小,安全性高的优点。Ankri等<sup>[1]</sup>研究发现大蒜油的抑菌谱非常广,对常见的革兰氏阳性菌和革兰氏阴性菌都具有强烈的抑制作用。吴慧清等<sup>[2]</sup>比较了42种植物精油的抑菌作用,发现真菌和革兰氏阳性菌对植物精油最为敏感。钟瑞敏等<sup>[3]</sup>研究发现小茴香精油对9种供试菌种表现出了广谱抑菌性,并且对其中的副溶血性嗜盐菌和黑曲霉表现出了极强的抑制效果。

植物精油不仅具有良好的抑菌效果,它还满足了人们对于食品质量及其安全性的需求。目前关于在食品加工及贮藏过程中所需的光、热处理对于精油稳定性影响的报道较少。本文主要挑选食品中常见菌种,研究精油对其抑菌效果及其稳定性。

### 1 实验部分

#### 1.1 材料与仪器

##### 1.1.1 供试菌种

大肠杆菌(*Escherichia coli*) ATCC 8739、金黄色

葡萄糖球菌(*Staphylococcus aureus*) ATCC 6538、枯草芽孢杆菌(*Bacillus subtilis*) ATCC 6633、酿酒酵母(*Saccharomyces cerevisiae*) ATCC 9763,中国科学院微生物研究所。

##### 1.1.2 植物精油

牛至精油(*Origanum vulgare*)、佛手柑精油(*Citrus bergamia*)、紫苏精油(*Perilla arguta*)、罗勒精油(*Ocimum basilicum*),湖南长沙冠香日化贸易公司。所有精油通过水蒸汽蒸馏法制得,实验前置于低温(4℃)、避光环境下保存。

##### 1.1.3 培养基

牛肉膏蛋白胨培养基:牛肉膏3g,蛋白胨10g,NaCl 5g,琼脂1.5%~2.0%(液体培养基不含琼脂),水1000mL,pH 7.0~7.2(使用1.0mol/L的NaOH溶液调节pH)。

YPD培养基:酵母浸粉10g,蛋白胨20g,葡萄糖20g,琼脂1.5%~2.0%(液体培养基不含琼脂),水1000mL,自然pH值。

#### 1.2 菌悬液的配制

从经过活化的菌体斜面上挑取一环菌体接种于相应的液体培养基中,放入恒温振荡培养箱培养至对数生长期。分别吸取以上培养时间的供试菌液0.5mL,加入无菌水倍比稀释到 $10^5 \sim 10^6 \text{ mL}^{-1}$ ,备用。

#### 1.3 精油的抑菌活性的测定

采用滤纸片法测定抑菌活性。使用打孔器,将定性滤纸制成小圆纸片( $D = 6 \text{ mm}$ ),高压灭菌后备

收稿日期: 2011-11-15

基金项目: 国家自然科学基金(20806005)

第一作者: 女,1987年生,硕士生

\* 通讯联系人

E-mail: lianghao@mail.buct.edu.cn

用。无菌条件下,在已灭菌的培养皿中倾入相应菌种的培养基 20 ~ 25 mL,冷却凝固后制成固体平板。吸取已制备好的菌悬液 200  $\mu$ L 加入到相应的固体平板培养基中,利用涂布棒将菌液涂布均匀。取滤纸片贴在含菌平板上,在每片滤纸片上滴加 5  $\mu$ L 植物精油,每皿贴 3 片,贴时注意滤纸片之间要保持一定的距离。将大肠杆菌、金黄色葡萄球菌、枯草芽孢杆菌置于 37  $^{\circ}$ C 培养箱中培养 24 h,酿酒酵母置于 30  $^{\circ}$ C 培养箱中培养 48 h。培养结束后选取抑菌圈明显的平板测量直径大小,结果取重复试验的平均值。

#### 1.4 精油抑菌试验

分别改变培养基的 pH 值,对精油进行热处理和紫外照射,按 1.3 节的步骤进行抑菌圈实验。

## 2 结果与讨论

### 2.1 4 种植物精油的抑菌活性

牛至精油,佛手柑精油,紫苏叶精油,罗勒精油对 4 株供试菌种的抑菌活性测定结果如表 1 所示。其中硫酸卡那霉素的质量浓度为 6 g/L,化学防腐剂苯甲酸钠、山梨酸钾和尼泊金甲酯的质量浓度均为 40 g/L。

表 1 4 种植物精油的抑菌活性  
Table 1 Antimicrobial activity of four essential oils

抑菌剂	抑菌圈直径/mm				
	金黄色葡萄球菌 <sup>a)</sup>	枯草芽孢杆菌 <sup>a)</sup>	大肠杆菌 <sup>b)</sup>	酿酒酵母 <sup>c)</sup>	
精油	罗勒	23.3 $\pm$ 0.4	20.2 $\pm$ 0.3	15.2 $\pm$ 0.5	18.3 $\pm$ 0.6
	牛至	27.4 $\pm$ 0.5	27.4 $\pm$ 0.7	18.2 $\pm$ 0.8	27.2 $\pm$ 0.6
	紫苏	0	15.0 $\pm$ 1.7	0	25.9 $\pm$ 0.2
	佛手柑	26.2 $\pm$ 0.6	24.3 $\pm$ 0.6	0	15.2 $\pm$ 0.4
抗生素	硫酸卡那霉素	19.5 $\pm$ 0.4	18.4 $\pm$ 0.6	24.3 $\pm$ 0.6	21.0 $\pm$ 0.3
	苯甲酸钠	10.3 $\pm$ 0.4	7.8 $\pm$ 0.2	10.7 $\pm$ 0.4	9.8 $\pm$ 0.3
化学防腐剂	山梨酸钾	10.6 $\pm$ 0.3	8.7 $\pm$ 0.2	11.9 $\pm$ 0.4	8.5 $\pm$ 0.3
	尼泊金甲酯	12.6 $\pm$ 0.3	11.4 $\pm$ 0.4	11.8 $\pm$ 0.3	8.8 $\pm$ 0.4

a) 为革兰氏阳性菌; b) 为革兰氏阴性菌; c) 为真菌

由表 1 可知,牛至精油对金黄色葡萄球菌、枯草芽孢杆菌和酿酒酵母的抑菌活性最强。罗勒精油对革兰氏阳性菌的抑菌活性强烈,类似地,佛手柑精油也对革兰氏阳性菌表现出了强抑菌性。紫苏精油对细菌的抑制效果一般,只对枯草芽孢杆菌有一定的作用((15.0  $\pm$  1.7) mm),但是其对酿酒酵母有很强的抑制专一性,仅次于牛至精油的抑菌效果。值得注意的是,大肠杆菌(革兰氏阴性菌)在精油抑菌实验中表现出了低敏感度,只有牛至精油和罗勒精油对其表现出了一定的抑制效果,抑菌圈直径分别为(18.2  $\pm$  0.8) mm 和(15.2  $\pm$  0.5) mm。

通常来讲,革兰氏阳性菌对植物精油的敏感性要大于革兰氏阴性菌<sup>[4]</sup>。这是因为革兰氏阴性菌的细胞壁外侧含有一层脂多糖,它能够阻止疏水性的化合物进入到菌体细胞体内,从而降低了抑菌效果<sup>[5]</sup>。本实验中,革兰氏阴性菌大肠杆菌就符合这一规律,只有牛至精油和罗勒精油对其有中度敏感的抑制作用。

在 4 种精油里,牛至的主抑菌成分为百里香酚和香芹酚<sup>[6]</sup>,罗勒的主要有效抑菌成分为丁香酚<sup>[7]</sup>,佛手柑精油与紫苏精油中的主要抑菌成分为柠檬烯。这 4 种物质具有很强的抑菌效果,均可显著降低细胞膜中的不饱和脂肪酸(UFA)含量,并且能够破坏细菌的细胞膜从而达到抑菌的效果。而由于牛至主要的抑菌有效成分为百里香酚与香芹酚,其抑菌效果更强总含量更高,所以在 4 种精油中牛至表现出了更强的抑菌效果。

总体来看,和对照组(硫酸卡那霉素、苯甲酸钠、山梨酸钾和尼泊金甲酯)相比较,这 4 种植物精油表现出了很强的抑菌效果。牛至精油对所有菌种都具有较强的抑制活性,罗勒精油和佛手柑精油对革兰氏阳性菌有很好的抑制效果,而紫苏精油则对酿酒酵母有很强的抑制专一性。

### 2.2 pH 对精油抑菌活性的影响

在 pH 分别为 4.0、5.0、6.0、7.0 和 8.0 的条件下,牛至精油、罗勒精油、佛手柑精油和紫苏精油对

4 株供试菌种(大肠杆菌、金黄色葡萄球菌、枯草芽孢杆菌和酿酒酵母)的抑菌活性(抑菌圈大小)测定结果如表 2 所示。表 2 的结果显示,各对照组菌种(不含精油)在 pH 为 4.0~8.0 范围内可以正常生

长。加入相应的精油后,当 pH 为 4.0 和 5.0 时,各供试菌种的生长被完全抑制,培养基上无任何菌落生长;随着 pH 的增大(pH = 6.0、7.0、8.0),精油的抑菌作用逐渐减弱,表现为抑菌圈逐渐减小。

表 2 不同 pH 值下精油对供试菌种的抑菌圈直径  
Table 2 Antimicrobial activity of EOs against the tested microorganisms at different pH values

菌种	精油	抑菌圈直径/mm				
		pH 4.0	pH 5.0	pH 6.0	pH 7.0	pH 8.0
大肠杆菌	对照	正常生长	正常生长	正常生长	正常生长	正常生长
	牛至精油	>30	>30	20.8 ± 0.6	18.9 ± 0.6	16.1 ± 0.3
	罗勒精油	>30	>30	17.8 ± 0.3	15.7 ± 0.7	13.0 ± 0.2
金黄色葡萄球菌	对照	正常生长	正常生长	正常生长	正常生长	正常生长
	牛至精油	>30	>30	29.7 ± 0.9	28.5 ± 0.5	26.5 ± 0.5
	罗勒精油	>30	>30	25.8 ± 1.1	24.1 ± 0.8	22.3 ± 0.6
	佛手柑精油	>30	>30	29.8 ± 0.9	27.2 ± 0.5	24.6 ± 0.4
枯草芽孢杆菌	对照	正常生长	正常生长	正常生长	正常生长	正常生长
	牛至精油	>30	>30	28.4 ± 0.5	27.3 ± 0.8	24.8 ± 0.9
	罗勒精油	>30	>30	23.7 ± 0.4	22.9 ± 1.0	20.6 ± 0.8
	佛手柑精油	>30	>30	25.9 ± 0.5	24.5 ± 0.4	21.4 ± 0.7
酿酒酵母	对照	正常生长	正常生长	正常生长	正常生长	正常生长
	牛至精油	>30	>30	29.0 ± 0.6	27.5 ± 1.2	25.7 ± 1.2
	紫苏精油	>30	>30	28.7 ± 0.3	25.4 ± 0.9	23.7 ± 1.1

综上,各种植物精油的抑菌效果与培养基的 pH 值有关。在 pH < 5.0 时,抑菌效果非常显著,培养基上无菌落生长;在 pH > 5.0 时,抑菌效果随 pH 值的增大而有所降低。一方面,精油在低 pH 条件下抑菌活性增强,与供试菌种在酸性环境中自身活性降低有关;另一方面,也与精油活性成分在酸性环境下的结构形式有关。具体来讲,pH 的降低能够减小精油中酚类化合物上所带羟基的电离度,使其疏水性增加,因此更易与菌体的细胞膜及其脂蛋白相结合,从而提高抑菌活性。

### 2.3 热处理对精油抑菌活性的影响

牛至精油、罗勒精油、佛手柑精油和紫苏精油分别经 80、115 和 121 °C 处理 20 min 后,对 4 株供试菌种的抑菌活性测定结果见表 3 所示。由表 3 可以看出,与对照组(室温)的抑菌效果相比,各精油经不同温度的热处理后,其抑菌活性没有明显变化。

表 3 数据显示,各植物精油具有良好的热稳定性。主要原因为 4 种精油中主要成分均为酚类和萜

烯类物质以及醛酮类物质。它们沸点较高,其中柠檬烯沸点较低为 177 °C,均高于 121 °C,具有良好的热稳定性。所以精油受热处理后仍具有良好的抑菌活性。由于许多食品在加工过程中需要高温灭菌,因此良好的热稳定性是天然防腐剂应具备的重要特性之一。

### 2.4 紫外线照射对精油抑菌活性的影响

牛至精油、罗勒精油、佛手柑精油和紫苏精油分别经紫外线照射 20、40 和 60 min 后,对 4 株供试菌种的抑菌活性测定结果见表 4 所示。

由表 4 所示的结果可以看出,4 种精油经过不同时间的紫外线照射后,其抑菌活性与未经紫外线照射时相比没有明显变化。其主要原因为 4 种精油的主要抑菌成分百里香酚、香芹酚、丁香酚和柠檬烯均对于紫外线具有较强的稳定性,经紫外照射后性质未发生改变,导致精油的抑菌活性对紫外线具有较强的稳定性。

表 3 不同温度处理后精油对供试菌种的抑菌圈直径

Table 3 Antimicrobial activity of EOs against the tested microorganisms after various heat treatment temperatures

菌种	精油	抑菌圈直径/mm			
		80 °C	115 °C	121 °C	室温
大肠杆菌	牛至精油	18.5 ± 0.7	17.9 ± 0.3	18.3 ± 0.4	18.6 ± 1.0
	罗勒精油	15.8 ± 0.4	15.9 ± 0.9	15.4 ± 0.5	16.0 ± 0.9
金黄色葡萄球菌	牛至精油	28.1 ± 0.5	28.0 ± 0.4	27.4 ± 0.9	28.6 ± 0.4
	罗勒精油	23.9 ± 0.4	24.2 ± 0.5	23.1 ± 0.8	23.9 ± 0.3
	佛手柑精油	25.5 ± 0.9	25.9 ± 0.5	24.6 ± 0.7	24.8 ± 0.5
枯草芽孢杆菌	牛至精油	28.1 ± 0.2	27.3 ± 0.4	28.0 ± 0.9	27.6 ± 0.8
	罗勒精油	23.1 ± 0.5	23.7 ± 0.5	24.1 ± 0.4	24.1 ± 0.3
	佛手柑精油	24.8 ± 0.2	25.1 ± 0.4	24.9 ± 0.9	25.1 ± 0.6
酿酒酵母	牛至精油	27.3 ± 0.6	27.8 ± 0.9	28.5 ± 0.4	27.1 ± 0.4
	紫苏精油	25.1 ± 0.5	24.9 ± 1.2	24.7 ± 0.7	25.2 ± 0.6

表 4 紫外线照射后精油对供试菌种的抑菌圈直径

Table 4 Antimicrobial activity of EOs against the tested microorganisms under ultraviolet radiation

菌种	精油	抑菌圈直径/mm			
		20 min	40 min	60 min	对照
大肠杆菌	牛至精油	17.5 ± 0.8	18.2 ± 0.8	18.9 ± 0.5	18.6 ± 0.7
	罗勒精油	15.2 ± 1.1	15.5 ± 0.9	15.6 ± 0.6	16.0 ± 1.1
金黄色葡萄球菌	牛至精油	27.9 ± 1.2	27.8 ± 0.8	28.2 ± 0.5	28.6 ± 0.6
	罗勒精油	24.1 ± 0.6	23.2 ± 0.6	24.9 ± 0.8	23.9 ± 0.5
	佛手柑精油	26.1 ± 0.8	24.7 ± 0.4	25.8 ± 1.1	24.8 ± 0.8
枯草芽孢杆菌	牛至精油	27.0 ± 0.5	26.1 ± 1.1	26.8 ± 0.5	27.6 ± 0.7
	罗勒精油	23.9 ± 0.4	22.9 ± 0.9	23.7 ± 0.6	24.1 ± 0.5
	佛手柑精油	24.8 ± 0.8	25.9 ± 0.6	24.6 ± 0.4	25.1 ± 0.9
酿酒酵母	牛至精油	28.8 ± 1.3	28.0 ± 0.5	28.5 ± 0.9	27.1 ± 0.5
	紫苏精油	24.3 ± 0.9	25.8 ± 0.6	24.7 ± 0.4	25.2 ± 0.5

### 3 结论

(1) 牛至精油对所有供试菌种都具有较强的抑制活性,罗勒精油和佛手柑精油对革兰氏阳性菌有很好的抑制效果,而紫苏精油则对酿酒酵母有很强的抑制专一性。

(2) pH < 5.0 时,4 种精油的抑菌效果都非常显著,培养基上无菌落生长;pH > 5.0 时,抑菌效果随 pH 值的增大而有所降低。

(3) 4 种精油均表现出了良好的热稳定性和对紫外线较强的稳定性。

### 参考文献:

- [1] Anki S, Mirelman D. Antimicrobial properties of allicin from garlic[J]. *Microbes and Infection*, 1999, 2: 125-129.
- [2] 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.  
Wu H Q, Wu Q P, Shi L S, et al. Study on inhibitory effects of plant essential oils against microorganisms[J]. *Food Science*, 2008, 29(12): 83-86. (in Chinese)
- [3] 钟瑞敏, 肖仔君, 张振明, 等. 小茴香籽精油成分及其抗菌活性研究[J]. *林产化学与工业*, 2007, 27(6): 36-40.  
Zhong R M, Xiao Z J, Zhang Z M, et al. Composition

- and antimicrobial activity of essential oil from *Foeniculum Vulgare* Mill. Seeds[J]. Chemistry and Industry of Forest Products, 2007, 27(6): 36-40. (in Chinese)
- [4] Oussalah M, Caillet S, Saucier L, et al. Antimicrobial effects of selected plant essential oils on the growth of a *Pseudomonas putida* strain isolated from meat[J]. Meat Science, 2006, 73: 236-244.
- [5] Vaara M. Agents that increase the permeability of the outer membrane[J]. Microbiological Reviews, 1992, 56(3): 395-411.
- [6] Hazzit M, Baaliouamer A, Faleiro M L, et al. Composition of the essential oils of *Thymus* and *Origanum* species from Algeria and their antioxidant and antimicrobial activities[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2006, 54: 6314-6321.
- [7] 吕世明, 陈杖榴, 陈建新, 等. 丁香酚体外抑菌作用研究[J]. 食品科学, 2008, 29(9): 122-124.  
Lv S M, Chen Z L, Chen J X, et al. Study on antibacterial activity of eugenol *in vitro*[J]. Food Science, 2008, 29(9): 122-124. (in Chinese)

## The antimicrobial activity of four essential oils and their stabilities

LI YaNan LV Fei LIANG Hao YUAN QiPeng

(State Key Laboratory of Chemical Resource Engineering, College of Life Science and Technology,  
Beijing University of Chemical Technology, Beijing 100029, China)

**Abstract:** The antimicrobial activity and effect of pH, light and heat treatment on the stability of *Origanum vulgare*, *Ocimum basilicum*, *Citrus bergamia*, *Perilla arguta* essential oils have been investigated using an inhibition zone method. The results indicated that *Origanum vulgare* had a strong antimicrobial activity on four different kinds of bacteria, *Ocimum basilicum* and *Citrus bergamia* had a good antimicrobial effect against Gram-positive bacteria, whilst *Perilla arguta* had a strong inhibitory effect on *Saccharomyces cerevisiae*. The pH of the medium was found to affect the antimicrobial activity of the four essential oils. At pH < 5.0, the antimicrobial effect was very significant and no colony growth was observed; at pH > 5.0, the antimicrobial effect decreased as the pH was increased. Heat treatment and UV irradiation did not affect the antimicrobial activity of the four essential oils, showing they had good optical and thermal stabilities.

**Key words:** essential oils; antimicrobial; pH; light; heat treatment; stability