

# 丁香油微乳的制备及抑菌活性研究

## Study on the preparation and antibacterial activity of clove oil microemulsions

梁蓉<sup>1,2</sup> 钟芳<sup>1,3</sup> 王浩<sup>1,3</sup> 张美龄<sup>1,2</sup>

LIANG Rong<sup>1,2</sup> ZHONG Fang<sup>1,3</sup> WANG Hao<sup>1,3</sup> ZHANG Mei-ling<sup>1,2</sup>

(1. 食品胶体与生物技术教育部重点实验室, 江苏 无锡 214122; 2. 江南大学化学与材料工程学院, 江苏 无锡 214122; 3. 江南大学食品学院, 江苏 无锡 214122)

(1. Key Laboratory of Food Colloids and Biotechnology, Ministry of Education, Wuxi, Jiangsu 214122, China;  
2. School of Chemical and Material Engineering, Wuxi, Jiangsu 214122, China;  
3. School of Food Science and Technology, Jiangnan University, Wuxi, Jiangsu 214122, China)

**摘要:**为了改善丁香油水相溶解性及储藏稳定性差的应用缺陷,以可稀释微乳包载丁香油。通过比较丁香油微乳拟三元相图中微乳区面积( $S_{ME}$ )和最小可稀释比( $DR$ ),选择聚氧乙炔蓖麻油(Cremophor)EL 30 与无水乙醇以 2:1(质量比)为混合表面活性剂,水相环境为中性制备丁香油微乳。进一步采用电导率法和流变法对微乳构型进行鉴定,并选择 O/W 中心区域微乳:混合表面活性剂/丁香油/水(质量比)=16/4/80,  $K_m=2$ ,进行抑菌活性评价。结果表明,微乳包埋体系并未改变丁香油的抑菌活性。同时,通过检测丁香油微乳在稀释和储藏过程中的粒径变化,发现此微乳能保持良好的稀释和储藏稳定性。因此,该微乳在有效改善丁香油的水溶性和储藏稳定性的同时,对其抑菌活性没有影响。

**关键词:**丁香油;微乳;拟三元相图;包埋体系;抑菌活性

**Abstract:** In order to improve the stability and water solubility of clove oil, fully dilutable microemulsions incorporating clove oil were prepared in this study. By comparing the areas of microemulsion region in pseudo-ternary phase diagram ( $S_{ME}$ ) and the minimum dilution ratio ( $DR$ ), Cremophor EL 30 and anhydrous ethanol were chosen to prepare clove oil microemulsion at 2:1 (w:w), and the aqueous phase was neutral. Further, the type of microemulsion were identified using electric conductivity and rheometer, and the antibacterial activity of microemulsion in O/W central zone was also determined, with mixed surfactant / clove oil / water at 16/4/80 (w/w/w),  $K_m = 2$ . The results revealed that the encapsulation showed little effect on the antibacterial activity of clove oil. Meanwhile, no significant changes of microemulsion size were determined when dilu-

ting and storing, and this might indicate that microemulsion maintained a fine dilution and storage stability. Thus, clove oil microemulsions could improve water solubility and storage stability of clove oil with no effect on their antimicrobial activities.

**Keywords:** clove oil; microemulsion; pseudo ternary phase diagram; encapsulation system; antimicrobial activity

丁香油是一种天然植物精油,具有强抗菌活性<sup>[1]</sup>。近年来,关于丁香油的抑菌活性<sup>[2-3]</sup>和抑菌机理<sup>[4]</sup>的研究逐渐成熟,这为丁香油作为一种天然、高效、安全的防腐剂应用于食品、化妆品等体系中提供了理论依据。然而,丁香油易挥发、易被氧化、水溶性差的特点,在很大程度上限制了丁香油在实际体系中的应用<sup>[5]</sup>。针对以上问题,各种包埋技术,例如:微胶囊化技术<sup>[6-7]</sup>、乳化技术<sup>[8-9]</sup>、微乳化技术<sup>[10]</sup>等,均可用于丁香油的包埋和运载,不仅可以改善其水溶性,还可以大幅度提高丁香油的储藏稳定性。

对比以上几种包埋技术,微乳作为自发形成体系,具有各向同性和热力学稳定性<sup>[11]</sup>,且制备工艺简单、外观透明,是近年来医药、化妆品和食品领域中脂溶性活性物常用的包埋形式之一<sup>[12]</sup>。微乳中的可稀释 O/W 型微乳(即 U-型微乳),具有在不改变微乳结构的前提下可被水无限稀释的特性<sup>[13]</sup>,这样可以减小微乳中表面活性剂的用量,具有更高的安全性和可靠性,也更具有实际应用价值。本研究拟以可稀释型 O/W 型微乳作为丁香油的载体,研究乳化剂的 HLB 值(Tween 系列和 Cremophor 系列)、表面活性剂与助表面活性剂(无水乙醇)比例( $K_m$ )、水相环境(离子强度、pH)对微乳拟三元相图中微乳区面积( $S_{ME}$ )和最小可稀释比( $DR$ )的影响,并通过电导率法和流变法对微乳区进行划分。最终,以区域中的 O/W 型微乳为研究对象,考察其抑菌活性和储藏稳定性。

**基金项目:**国家自然科学基金(编号:31401533,31571891)

**作者简介:**梁蓉,女,江南大学副教授,博士。

**通讯作者:**钟芳(1972-),女,江南大学教授。

E-mail: fzhong@jiangnan.edu.cn

**收稿日期:**2016-04-17

## 1 材料与方 法

### 1.1 材料与仪器

丁香油:康民本草药用油提炼厂;

聚氧乙烯蓖麻油(Cremophor)系列:德国巴斯夫(BASF)公司;

大肠杆菌(*E. coli* HB2151):杭州远方生物科技有限公司;

金黄色葡萄球菌(*S. aureus* ATCC 25923):青岛海博生物技术有限公司;

其它试剂:分析纯,国药集团化学试剂有限公司;

pH计:EL20型,上海梅特勒—托利多有限公司;

电导率仪:FE-30型,上海梅特勒—托利多有限公司;

粒径分析仪:Nano-Zs90型,英国 Malvern 仪器有限公司;

流变仪:AR1000型,英国 TA公司;

净化工作台:SW-CJ-1D型,苏州净化设备有限公司;

恒温恒湿培养箱:HWS-150型,上海森信实验仪器有限公司;

高压灭菌锅:LDIX-50KBS型,上海申安医疗器械厂。

### 1.2 丁香油微乳拟三元相图的构建

采用水滴法构建拟三元相图<sup>[14]</sup>。准确称取一定量的表面活性剂与无水乙醇(助表面活性剂),搅拌 1 h。然后,加入一定质量的丁香油,震荡混合均匀,30 °C 恒温 30 min。不断加入等温度的去离子水并混合均匀,直至体系变浑浊且不发生变化时,记录此时去离子水添加量。计算水、丁香油和混合表面活性剂在该转变点时的质量分数,绘制拟三元相图并计算各微乳区域面积。

### 1.3 微乳构型的确定

微乳构型通过测定不同含水量微乳的电导率变化确定<sup>[15]</sup>。准确称取 12 g 混合表面活性剂( $K_m=2$ )以及 3 g 丁香油,混合均匀并恒温 30 min,不断滴加去离子水,待体系稳定后测定电导率值,直至水分含量达到 70% 以上。

同时,采用流变法对电导率法的结果进行验证。当丁香油微乳含水量(10%~90%)不同时,其表观黏度不同,根据黏度的变化趋势可以确定微乳构型。试验中,剪切速率为  $75\text{ s}^{-1}$ ,采用 40 mm 平板并控制与样品距离 0.5 mm。其中混合表面活性剂与丁香油质量比为 8:2。

### 1.4 丁香油微乳最小抑菌浓度(MIC)的测定

丁香油微乳最小抑菌浓度的测定参照 Hammer 等<sup>[16]</sup>的方法,以大肠杆菌和金黄色葡萄球菌为指示菌。将一系列两倍稀释的丁香油和丁香油微乳加入融化且冷却至 50 °C 左右的定量 TSA 固体培养基中,混合均匀并制成平板,总体积为 15 mL。待平板凝固后,接种  $100\ \mu\text{L}\ 10^4\ \text{CFU/mL}$  的菌悬液,涂布均匀。将接种后的平板倒置于 37 °C 培养箱中培养 24 h,以平板上无可见菌落的最小浓度为 MIC。试验重复 3 次。以灭菌水为空白。

在  $10^8\ \text{CFU/mL}$  的菌悬液中加入 Cremophor EL 30 或无水乙醇,使其最终浓度分别为 3% 和 1.5%,37 °C 震荡培养

1 h,梯度稀释后涂布。37 °C 下培养 24 h,进行平板计数。以研究微乳中表面活性剂和助表面活性剂对细菌的影响。

### 1.5 微乳粒径的测定

采用 Malvern Nano-Zs 90 粒径分析仪测定微乳的粒径大小<sup>[17]</sup>。

## 2 结果与分析

### 2.1 表面活性剂对丁香油微乳的影响

表面活性剂的 HLB 值会影响微乳的性质及微乳的形成能力,因此,通过选择不同链长的 Cremophor 和 Tween 系列乳化剂,考察了 HLB 值对丁香油微乳的影响。在微乳拟三元相图中,微乳区域面积( $S_{ME}$ )与微乳大小、丁香油的载量以及微乳稳定性密切相关,最小可稀释比( $DR$ )反映制备丁香油微乳时表面活性剂的最少用量,因此,在此以微  $S_{ME}$  和  $DR$  为指标,筛选最佳的丁香油微乳体系的表面活性剂类型,结果见表 1。

表 1 表面活性剂 HLB 值对微乳的影响<sup>†</sup>

Table 1 Effect of surfactants HLB on microemulsion ( $K_m=2$ )

表面活性剂	HLB 值	$S_{ME}/\%$	$DR$ (质量比)	S/O
Cremophor EL 30	12.0	44.45	8:2	2.67:1
Cremophor EL 35	13.0	48.29	9:1	6:1
Cremophor HR 40	14.0	42.79	8:2	2.67:1
Tween 80	15.0	42.27	9:1	6:1
Tween 40	15.6	39.23	9:1	6:1
Tween 20	16.9	35.35	9:1	6:1

<sup>†</sup> S/O 表示在  $DR$  下表面活性剂和丁香油的质量比。

由表 1 可知,对于 Cremophor 系列表面活性剂,虽然 Cremophor EL 35 形成微乳区面积最大,但是其最小可稀释比为 9:1, S/O 较高;而 Cremophor EL 30 和 Cremophor HR 40 的最小可稀释比均为 8:2, S/O 为 2.67:1,远远小于其它表面活性剂。也就是说,在包埋等量丁香油的情况下,Cremophor EL 30 和 Cremophor HR 40 在制备可稀释微乳时所需表面活性剂质量较少。对于 Tween 系列表面活性剂,其形成的微乳区面积较小,且随着疏水链的长度变短,HLB 值增大,越不利于微乳的形成,这与徐文婷<sup>[18]</sup><sup>14-16</sup>的研究结果一致。综合考虑微乳区面积和最小可稀释比,选择 Cremophor EL 30 作为丁香油微乳的表面活性剂。

### 2.2 $K_m$ 值对丁香油微乳的影响

Trotta 等<sup>[19]</sup>认为  $K_m$  值对微乳区面积影响显著,因此,采用常用的无水乙醇为助表面活性剂,对不同 Cremophor EL 30 与无水乙醇的质量比( $K_m$ )进行考察,研究  $K_m$  为 4:1, 3:1, 2:1, 1:1 和 2:1 时,对微乳区面积和  $DR$  的影响,结果见表 2。

由表 2 可知,当  $K_m < 2$  时,随着  $K_m$  值的降低微乳区面积明显减小,即形成微乳的丁香油载量越低,并且 S/O 随  $K_m$  值的减小而增大,所需表面活性剂的量也增加;当  $K_m =$

表 2  $K_m$  值对微乳相图的影响

Table 2 Effect of different  $K_m$  on phase diagrams of microemulsion

$K_m$	$S_{ME}/\%$	DR(质量比)	S/O
1/2	29.51	9 : 1	3 : 1
1	34.82	8.5 : 1.5	2.83 : 1
2	44.45	8 : 2	2.67 : 1
3	44.04	8 : 2	3 : 1
4	38.88	8 : 2	3 : 1

2 时,形成微乳区面积最大(44.45%),此时 S/O 最小,也就是说  $K_m=2$  时制备可稀释丁香油微乳所需的表面活性剂最少;而当  $K_m=3$  时,微乳区面积变化不大,但 S/O 有所增加, $K_m$  值继续增加到 4 时,微乳区面积开始迅速下降。

2.3 不同水环境对丁香油微乳的影响

在实际应用中,不同水环境可能会对丁香油微乳产生一定的影响,因此,在确定了乳化剂为 Cremophor EL 30,  $K_m=2$  的基础上,研究了水相中电解质浓度和 pH 值对微乳形成能力的影响,结果见表 3。随着电解质浓度的增加,微乳区面积减小,这是因为高电子强度使非离子表面活性剂发生盐析<sup>[20]</sup>,使表面活性剂的亲水能力降低,所以形成微乳的能力也有所降低。随着 pH 值由中性降低,虽然最小可稀释比不发生变化,但丁香油微乳区面积不断减小,不利于形成微乳。因此,低电解质浓度和中性的水相环境,更有利于形成微乳体系。

表 3 不同水相环境对微乳相图的影响

Table 3 Effect of different aqueous phase environments on phase diagrams of microemulsions

水相环境	控制参数	$S_{ME}/\%$	DR(质量比)
对照	—	44.45	8 : 2
电解质浓度	0.5 mol/L	42.47	8 : 2
	1.0 mol/L	41.44	8 : 2
	2.0 mol/L	33.04	9 : 1
	pH 3.0	33.63	8 : 2
酸碱度	pH 5.0	37.79	8 : 2
	pH 7.0	43.92	8 : 2

2.4 微乳构型的确定

为了研究微乳稀释过程中的相转变情况,在确定了乳化剂类型、 $K_m$  以及制备条件的基础上,进一步采用电导率法和流变法对微乳构型进行划分。根据渗透理论<sup>[21]</sup>,利用电导率法对微乳的结构进行了划分。由图 1(a)可知,随着水分含量( $\varphi$ )的增加微乳电导率不断变化,当  $\varphi < 54\%$  时,电导率随  $\varphi$  呈线性增加;当  $54\% < \varphi < 67\%$  时,电导率增速开始放缓;当  $\varphi > 67\%$  时,电导率开始降低。则对应的微乳构型分别为 W/O 型、B.C 型、O/W 型。

微乳黏度与微乳的结构密切相关<sup>[21]</sup>,因此,还采用流变法对微乳构型进行了验证。由图 1(b)可知,开始微乳黏度随

水分含量增加不断变大,当水分含量在 50%~60% 时,微乳黏度基本不发生变化,而继续增加微乳中水分含量,微乳黏度迅速下降。因此,从黏度变化的差异可将微乳构型分别对应于 W/O 型、B.C 型和 O/W 型。此结果与电导率法测得的结果一致。

根据电导率和流变法结果,将混合表面活性剂/丁香油/水( $K_m=2$ )的微乳拟三元相图分为 O/W、B.C 和 W/O 型微乳区域,结果见图 2,其微乳区面积分别为 3.35%、13.44%、27.66%。

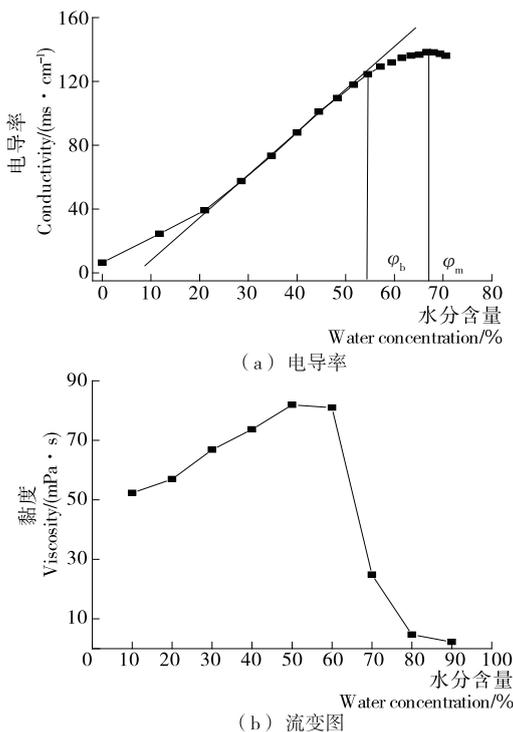


Figure 1 The electrical conductivity and viscosity of clove oil microemulsions with different water contents

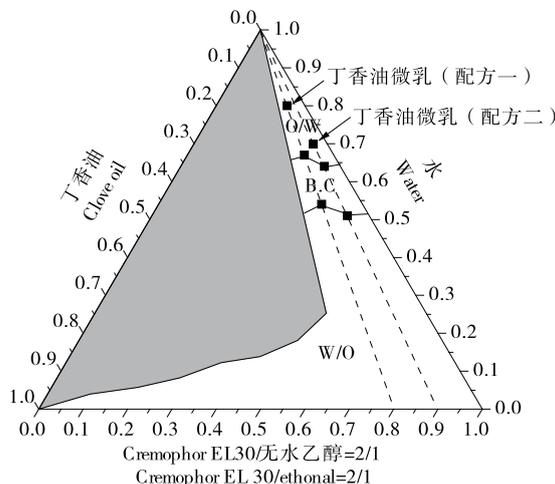


Figure 2 Phase diagrams of clove oil microemulsion

### 2.5 丁香油微乳的最小抑菌浓度

根据 Al-Adham 等<sup>[22]</sup>对微乳在相图中的位置与微乳抗菌活性之间关系的研究结果可知,O/W型微乳区的中间区域的微乳应具有较强的抗菌性。为探究丁香油经微乳包埋后是否对丁香油的抑菌活性产生影响,并结合图2中的分区结果,在最小稀释比为8:2和9:1(质量比)上,分别选择两个靠近O/W型微乳中心区域位置的配方点进行抑菌活性测定<sup>[17]15</sup>。配方一为:混合表面活性剂:丁香油:水=16:4:80(质量比), $K_m=2$ ;配方二为:混合表面活性剂:丁香油:水=27:3:70(质量比), $K_m=2$ 。

采用平板稀释法测定了丁香油及丁香油微乳对大肠杆菌和金黄色葡萄球菌的最小抑菌浓度,结果见表4。丁香油对大肠杆菌和金黄色葡萄球菌的最小抑菌浓度分别为0.625,1.250  $\mu\text{L}/\text{mL}$ ,此结果与文献[23]结果相吻合。与丁香油相比,由配方一制备的丁香油微乳对两种细菌的MIC值与纯丁香油相同。而配方二制备的微乳对两种细菌的MIC值分别为2.500,5.000  $\mu\text{L}/\text{mL}$ ,比纯丁香油高,抑菌活性有所下降。

表4 丁香油及其微乳体系对测试菌的MIC值<sup>†</sup>

Table 4 MIC values of clove oil and its microemulsion system against microorganisms

体系	最小抑菌浓度/ $(\mu\text{L} \cdot \text{mL}^{-1})$	
	大肠杆菌	金黄色葡萄球菌
丁香油	0.625	1.250
配方一	0.625	1.250
配方二	2.500	5.000

<sup>†</sup> 丁香油微乳的MIC以换算成微乳中实际丁香油的添加量。

同时,对表面活性剂和助乳化剂进行了抑制细菌生长能力的测试,结果见表5。在质量浓度为3%表面活性剂或质量浓度1.5%无水乙醇处理1h后,细菌的存活率有一定程度的下降,但并不明显,说明Cremopor EL 30和无水乙醇自身的抑菌能力很弱。因此,丁香油微乳的抑菌活性主要取决于丁香油自身的抗菌活性。同时,比较丁香油微乳两种配方抑菌活性的差别,可能是受表面活性剂浓度的影响,表面活性剂浓度越高,微乳界面结构越致密,丁香越难以释放,可能导致体系的抑菌活性下降。

### 2.6 丁香油微乳的粒径及稀释、储藏稳定性

进一步对抑菌活性较好的丁香油微乳(配方一)进行水

表5 经Cremophor EL 30或无水乙醇处理后细菌的存活数

Table 5 Viability of bacteria treated with Cremophor EL 30 and ethanol ( $n=3$ )

细菌种类	时间/min	细菌存活数/ $(\lg \text{CFU} \cdot \text{mL}^{-1})$	
		Cremophor EL 30	无水乙醇
大肠杆菌	1	8.74 $\pm$ 0.01	8.73 $\pm$ 0.01
	60	8.30 $\pm$ 0.03	8.69 $\pm$ 0.04
金黄色葡萄球菌	1	8.72 $\pm$ 0.02	8.74 $\pm$ 0.01
	60	8.34 $\pm$ 0.04	8.59 $\pm$ 0.09

相体系模拟稀释的应用试验,考察粒径随稀释倍数的变化情况。由表6可知,丁香油微乳的初始粒径为16.84 nm,在经过10,20,100倍水相稀释后,微乳粒径变化不大,这表明丁香油微乳在稀释过程中粒径能基本保持恒定,而且丁香油微乳稀释前后的PDI值均较小,说明配方一制备的微乳具有较好的稀释稳定性。

表6 稀释、储藏过程中微乳粒径的变化

Table 6 Changes in particle size of microemulsions in the process of diluting and storage ( $n=3$ )

样品	控制参数	微乳粒径 $d/\text{nm}$	PDI
原始微乳	—	16.84 $\pm$ 0.04	0.265 $\pm$ 0.062
	10	13.65 $\pm$ 0.11	0.246 $\pm$ 0.004
	20	14.01 $\pm$ 0.23	0.201 $\pm$ 0.017
稀释倍数	100	17.99 $\pm$ 1.87	0.273 $\pm$ 0.063
	30 d	17.46 $\pm$ 0.49	0.204 $\pm$ 0.009
	60 d	18.39 $\pm$ 0.11	0.229 $\pm$ 0.004
储藏时间	90 d	18.39 $\pm$ 0.22	0.228 $\pm$ 0.009
	120 d	19.83 $\pm$ 0.20	0.217 $\pm$ 0.015

丁香油微乳的储藏稳定性也是影响微乳应用的重要因素,试验通过测定乳液粒径随时间的变化情况来表征。由表6可知,微乳粒径在储存120 d内无明显差异,粒径仅增加2.99 nm,PDI值在储藏过程中也无明显变化,表明所制备的丁香油微乳在储藏时间内能保持良好的稳定性,与徐文婷<sup>[18]30-31</sup>的研究结果一致。

## 3 结论

本试验对丁香油微乳的制备和抑菌性能进行了分析。首先,通过丁香油微乳拟三元相图的构建,优化了表面活性剂种类、 $K_m$ 值以及水相环境(离子强度和pH)。其次,利用电导率法和流变法确定微乳构型,选择混合表面活性剂/丁香油/水=16/4/80(质量比), $K_m=2$ (配方一)以及27/3/70(质量比), $K_m=2$ (配方二)的丁香油微乳配方,考察其抑菌活性。通过对大肠杆菌和金黄色葡萄球菌的MIC结果表明,配方一制备的微乳的抗菌活性与纯丁香油相同,分别为0.625,1.250  $\mu\text{L}/\text{mL}$ ,配方二制备的微乳的抑菌活性明显下降。此外,通过抑菌率试验表明Cremophor EL 30和无水乙醇的抑菌作用较弱,因此,丁香油微乳的抑菌活性主要由丁香油的自身抗菌活性决定,且表面活性剂浓度越高,微乳界面结构越致密,丁香油难以在体系中释放,抗菌活性明显下降。另外,制备的丁香油微乳具有可稀释特性,且储藏时间内能保持良好的稳定性。因此,所制备的丁香油微乳能在保持丁香油抑菌活性的基础上,使其具有更好的水溶性和稳定性,具有更广泛的应用前景。

### 参考文献

- [1] FRIEDMAN M, HENIKA P R, MANDRELL R E. Bactericidal activities of plant essential oils and some of their isolated constituents against *Campylobacter jejuni*, *Escherichia coli*, *Listeria*

- monocytogenes*, and *Salmonella enteric*[J]. *Journal of Food Protection*, 2002, 65(10): 1 545-1 560.
- [2] 张鹰, 曾新安, 温其标. 生物防腐剂及其在食品中的应用[J]. *食品与机械*, 2006, 22(1): 77-79.
- [3] 夏秀芳, 孔保华, 于长青. 几种天然香辛料提取物延长冷却肉货架期的研究[J]. *食品与机械*, 2008, 24(3): 55-59.
- [4] DEVI K P, NISHA S A, SAKTHIVEL R, et al. Eugenol (an essential oil of clove) acts as an antibacterial agent against *Salmonella typhi* by disrupting the cellular membrane[J]. *Journal of Ethnopharmacology*, 2010, 130(1): 107-115.
- [5] 王金宇, 李淑芬, 关文强. 酵母细胞微胶囊化丁香油的研究[J]. *食品科学*, 2006, 04(27): 154-157.
- [6] 郝喜海, 孙森, 邓靖, 等. 丁香精油- $\beta$ -环糊精包合物的缓释抗菌性能[J]. *食品科学*, 2012, 11(33): 86-88.
- [7] 蔡茜彤, 段小明, 冯叙桥, 等. 微胶囊技术在食品添加剂中的应用与展望[J]. *食品与机械*, 2014, 30(4): 247-270.
- [8] RANASINGHE L, JAYAWARDENA B, ABEYWICKRAMA K. An integrated strategy to control post-harvest decay of Embul banana by combining essential oils with modified atmosphere packaging[J]. *International Journal of Food Science & Technology*, 2005, 40(1): 97-103.
- [9] 谢晶, 金晨钟, 陈礼刚, 等. 复合植物精油乳液的制备研究[J]. *湖南农业科学*, 2011(3): 112-114.
- [10] 雍国平, 方力, 方望, 等. 丁香油的微乳液研究[J]. *食品科学*, 2001, 22(9): 26-27.
- [11] HOAR T P, SCHULMAN J H. Transparent water-in-oil dispersions: the oleopathic hydro-micelle [J]. *Nature*, 1943, 152: 102-103.
- [12] 于梦, 钟芳, 麻建国, 等. 薄荷油微乳液的多孔淀粉固化及其在卷烟中应用[J]. *食品与机械*, 2008, 24(3): 29-33.
- [13] SPERNATH A, ASERIN A. Microemulsions as carriers for drugs and nutraceuticals[J]. *Advances in Colloid and Interface Science*, 2006, 128: 47-64.
- [14] FERNANDEZ P, ANDR V, RIEGER J, et al. Nano-emulsion formation by emulsion phase inversion[J]. *Colloids and Surface A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 2004, 251: 53-58.
- [15] MEHTA S K, BALA K. Tween-based microemulsions: a percolation view[J]. *Fluid Phase Equilibria*, 2000, 172(2): 197-209.
- [16] HAMMER K A, CARSON C F, RILEY T V. Antimicrobial activity of essential oils and other plant extracts[J]. *Journal of Applied Microbiology*, 1999, 86(6): 985-990.
- [17] 王浩. 丁香油乳化体系的制备及抗菌特性的研究[D]. 无锡: 江南大学, 2014.
- [18] 徐文婷. 非离子表面活性剂形成微乳的规律性研究[D]. 无锡: 江南大学, 2009.
- [19] TROTTA M, CAVALLI R, UGAZIO E, et al. Phase behaviour of microemulsion systems containing lecithin and lysolecithin as surfactants[J]. *International Journal of Pharmaceutics*, 1996, 143(1): 67-73.
- [20] 付婷婷. 番茄红素微乳的制备及特性研究[D]. 无锡: 江南大学, 2012: 19.
- [21] FANG J, VENABLE R L. Conductivity study of the microemulsion system sodium dodecyl sulfate-hexylamine-heptane-water[J]. *Journal of Colloid and Interface Science*, 1987, 116(1): 269-277.
- [22] AI-ADHAM I, AI-NAWAJEH A, KHALIL E, et al. The Antimicrobial activity of oil-in-water microemulsions is predicted by their position within the microemulsion stability zone[J]. *The International Arabic Journal of Antimicrobial Agents*, 2012, 2(2): 2-8.
- [23] 周建新, 许华, 金浩. 丁香油抑菌效果与抑菌成分的研究[J]. *食品工业*, 2000(3): 24-25.

(上接第 68 页)

### 参考文献

- [1] 肖海龙, 屠海云, 王红青, 等. 反相高效液相色谱法快速测定食品中 18 种水溶性合成色素[J]. *中国卫生检验杂志*, 2011, 21(2): 264-266.
- [2] 陈国庆, 吴亚敏, 王俊, 等. 常用合成食品色素荧光光谱研究[J]. *光谱学与光谱分析*, 2009, 29(9): 2 518-2 522.
- [3] 刘成伦, 李小庆, 王晶, 等. 偶氮类非食用色素的快速测定方法研究进展[J]. *食品科学*, 2009, 30(5): 273-276.
- [4] 邱会东. 食用合成色素分析方法的研究进展[J]. *食品与机械*, 2006, 22(2): 102-104.
- [5] 夏涛. 试析茶叶红变原理及红茶色泽形成的调控[J]. *福建茶叶*, 1996(4): 15-18.
- [6] 成洲, 廖茜, 姚逸. 几种工夫红茶的茶汤色泽与感官品质之间的相关性[J]. *天津农业科学*, 2014, 20(3): 71-75.
- [7] OZDEMIR OLGUN F A, DEMIRATE OZTURK B, APAK R. Determination of synthetic food colorants in powder beverage samples by on-line HPLC-cupric Reducing Antioxidant Capacity (CUPRAC) assay with post-column detection [J]. *Chromatographia*, 2016, 79(3): 199-208.
- [8] 范文锐, 吴青, 劳扬, 等. 高效液相色谱法同时测定食品中 7 种非食用色素[J]. *分析化学*, 2012, 40(2): 292-297.
- [9] 张婉, 王覃, 杜宁, 等. 超高效液相色谱法同时测定饮料中 5 种人工合成色素[J]. *食品科学*, 2011, 32(4): 177-180.
- [10] 林芳, 李涛, 王一欣, 等. 固相萃取—超高效液相色谱法同时测定蜜饯中 9 种合成色素[J]. *食品安全质量检测学报*, 2016, 7(2): 567-573.
- [11] 符锋, 范会平, 秦学磊. 高效液相色谱法对挂面中食用合成色素的测定[J]. *食品科学*, 2010, 31(18): 325-328.
- [12] 米迎春, 黄蔚, 刘国, 等. 高效液相色谱法同时测定糕点中 4 种食用合成色素[J]. *食品与机械*, 2011, 27(4): 78-81.
- [13] 张慧, 顾强, 乙小娟, 等. 变波长高效液相色谱法同时测定葡萄酒中 7 种人工合成色素及防腐剂[J]. *食品与发酵科技*, 2015, 51(6): 64-67.
- [14] 陈睿. 茶叶功能性成分的化学组成及应用[J]. *安徽农业科学*, 2004, 32(5): 1 031-1 033, 1 036.
- [15] 谭和平, 叶善蓉, 陈丽, 等. 茶叶中色素的测试方法概述[J]. *中国测试*, 2009, 35(2): 78-82.
- [16] 肖艳, 袁云霞, 王金林, 等. 高蛋白食品中多种人工合成色素的提取及检测[J]. *分析科学学报*, 2010, 26(5): 578-579.
- [17] 刘海玲, 姜艳玲. 聚酰胺对变色酸偶氮类化合物的吸附性能及应用[J]. *桂林工学院学报*, 2002, 20(2): 179-182.