DOI:10.13652/j.issn.1003-5788.2021.03.027

柑橘精油纳米乳的制备及对金黄色 葡萄球菌的抑制活性研究

Preparation of citrus essential oil nanoemulsions and its antibacterial activity against *Staphylococcus aureus*

蒋书歌^{1,2,3} 侯宇豪^{1,2,3} 刘 坚^{1,2,3}

 JIANG Shu-ge^{1,2,3}
 HOU Yu-hao^{1,2,3}
 LIU Jian^{1,2,3}

 李高阳^{1,2,4}
 付复华^{1,2,4}
 单 杨^{1,2,3}

LI Gao-yang 1,2,4 FU Fu-hua 1,2,4 SHAN Yang 1,2,3

(1. 湖南大学研究生院隆平分院,湖南 长沙 410125; 2. 湖南省农业科学院农产品加工研究所,湖南 长沙 410125; 3. 果蔬贮藏加工与质量安全湖南省重点实验室,湖南 长沙 410125;

4. 果蔬贮藏加工与质量安全国际联合实验室,湖南 长沙 410125)

- (1. Longping Branch Graduate School, Hunan University, Changsha, Hunan 410125, China; 2. Hunan Agricultural Product Processing Institute, Hunan Academy of Agricultural Sciences, Changsha, Hunan 410125, China;
- 3. Hunan Key Lab of Fruits & Vegetables Storage, Processing, Quality and Safety, Changsha, Hunan 410125, China; 4. International Joint Lab on Fruits & Vegetables Processing, Changsha, Hunan 410125, China)

摘要:以抑菌圈直径试验筛选出的对金黄色葡萄球菌抑制效果较好的3种柑橘(佛手柑、甜橙、蜜柚)精油为油相,以吐温80为乳化剂,去离子水为水相,通过相转变法制备纳米乳。结果表明,3种柑橘精油纳米乳的配方:精油质量分数为6%、吐温80质量分数为24%、去离子水质量分数为70%,此条件下制备的纳米乳平均粒径为10~20 nm,粒径分布较均匀。抑菌圈直径试验和最小抑菌浓度试验表明,将3种柑橘精油制备成纳米乳,其抑菌活性均得到提升,其中佛手柑精油纳米乳表现出最强的抑制金黄色葡萄球菌效果,最小抑菌浓度和最小杀菌浓度均为3.75 mg/mL,抑菌活性为纯精油的2.5 倍。扫描电镜结果显示,相对于纯精油,佛手柑精油纳米乳对菌体结构的破坏更显著,说明佛手柑精油纳米乳对食源性病菌金黄色葡萄球菌具有良好的抑制作用。

关键词:柑橘精油;佛手柑;纳米乳;金黄色葡萄球菌;抑菌活性

基金项目:湖南省重点领域研发计划(编号:2019NK2041);湖南省农业科技创新资金项目(编号:2020CX50);湖南省科技创新平台与人才计划(编号:2018TP1030)

作者简介:蒋书歌,女,湖南大学在读硕士研究生。

通信作者:单杨(1963一),男,湖南省农业科学院研究员,博士。

E-mail: sy6302@sohu.com

收稿日期:2020-08-27

Abstract: Citrus essential oil, as a natural extract with a broadspectrum antibacterial effect, can effectively inhibit the growth of food-borne pathogens, but its wide application is limited due to its easy volatilization and poor water solubility. In this study, through the inhibition zone diamater test of three kinds of citrus (bergamot, sweet orange, honey pomelo) essential oils with good antibacterial effect on Staphylococcus aureus wasusedas the oil phase. Tween 80 was used as the emulsifier, with deionized water used as the water phase, and the nanoemulsions was prepared by phase transformation method. According to the pseudo-ternary phase diagrams, the formulas of three citrus essential oil nanoemulsions were obtained, i. e. 6% essential oil, 24% Tween 80 and 70% deionized water. The average particle sizes of the prepared nano-emulsions were between $10\sim20$ nm, and the particle size distributionswere uniform. The inhibition zone diameter test and the minimum inhibition concentration test showed that the antibacterial activity of the three citrus essential oils into nano-emulsions was improved, among which the bergamot essential oil nanoemulsion showed the strongest antibacterial effect against S. aureus, and the minimum inhibitory concentration and the minimum bactericidal concentration were both 3.75 mg/mL. The inhibitory activity was 2.5 times that of the pure essential oil. Scanning electron microscopy results showed that, compared with pure essential oil, bergamot essential oil nano-emulsion damaged

the bacterial structure more significantly. This showed that the bergamot essential oil nano-emulsion had a good antibacterial effect on the food-borne pathogen *S. aureus*.

Keywords: citrus essential oil; bergamot; nanoemulsion; *Staphylococcus aureus*; antibacterial activity

金黄色葡萄球菌(Staphylococcus aureus)是一种常见的食源性致病菌,可造成呕吐腹痛等症状,因此市售食品中往往会添加一些防腐剂抑制金黄色葡萄球菌的生长^[1]。随着人们对健康、绿色食品的追求,天然抑菌剂成为一种趋势。柑橘精油主要存在于柑橘外果皮的油囊中,可通过蒸馏、冷榨或萃取等技术提取。柑橘精油富含柠檬烯、松油烯、月桂烯等抑菌活性成分^[2],可作为理想的天然抑菌剂替代亚硝酸钠、苯甲酸钠等传统防腐剂^[3-4]。然而,柑橘精油水溶性差、易挥发、易氧化,极大地限制了其应用范围。

纳米乳是一种非热力学稳定的胶体分散体系,粒径一般为10~100 nm^[5],根据油或水作为分散相,分为水包油型、油包水型、双连续型3种^[6]。纳米乳具有良好的动力学稳定性,其乳中乳化剂及其他助乳化剂的存在,降低了油水界面张力^[7],同时,缩小粒径至纳米级别可减少液滴聚集、絮凝和引力作用从而显著提高乳液稳定性^[8]。将精油制备成纳米乳能提高精油的水溶性,使得亲脂性成分快速融入以水为主要溶剂的食品生产体系^[9-11]。另外,纳米乳具有高分散性、高渗透性等优点,提高了精油的抗菌、抗氧化等生物活性^[12-13]。

研究拟以8种柑橘精油为原料,金黄色葡萄球菌为受试菌种,通过抑菌圈大小筛选合适的柑橘精油作为油相,并以吐温80为乳化剂,去离子水为水相,利用相转变法制备柑橘精油纳米乳并确定最佳配方。根据平均粒径、多分散相系数、粒度分布对柑橘精油纳米乳稳定性进行评价,通过抑菌圈直径、最小抑菌浓度、最小杀菌浓度以及扫描电镜比较柑橘精油纳米乳和纯精油的抑菌活性,旨在为柑橘精油作为一种天然食品抑菌剂的开发与应用提供依据。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

1.1.1 材料与试剂

佛手柑:产地浙江省金华市,市售; 甜橙:产地云南省玉溪市,市售; 酸橙:产地湖南省涟源市,市售; 蜜柚:产地福建省漳州市,市售; 沙田柚:产地广西省容县,市售; 金桔:产地广西省阳朔县,市售; 蜜橘:产地湖南省石门县,市售; 帝王柑:产地广东省德庆县,市售; 金黄色葡萄球菌:广东省微生物培养中心;

无水硫酸钠:分析纯,天津市恒兴化学试剂制造有限公司:

吐温 80: 化学纯,国药集团化学试剂有限公司; 苏丹红 III: 化学纯,上海麦克林生化科技有限公司; LB 肉汤培养基、LB 琼脂培养基、MH 琼脂培养基: 广东环凯微生物科技有限公司。

1.1.2 主要仪器设备

恒温恒湿培养箱:LHS-250HC-11型,上海一恒科学 仪器有限公司:

空气浴摇床:TS-100B型,金坛市精达仪器制造有限公司:

离心机:Avanti 1-26xp型,美国 Beckman 有限公司; 磁力搅拌器: HJ-6A型,江苏金怡仪器科技有限公司;

气相色谱—质谱联用仪: 7890A-5975C 型,美国 Agilent 公司;

扫描电子显微镜: A02100301 型,德国 Zeiss 公司; 激光粒度仪: Zetasizer Nano ZS90 型,英国马尔文仪 器公司。

1.2 试验方法

1.2.1 柑橘精油的制备 将柑橘皮与 4 倍质量的水混匀于烧瓶蒸馏 3 h,将馏分用无水硫酸钠干燥后置于 4 ℃下保存备用。

1.2.2 菌种活化 取甘油管保藏的金黄色葡萄球菌至 80 mL 的 LB 肉汤培养基中,37 \mathbb{C} ,200 r/min 震荡培养 24 h,取 200 μ L 培养液接入 80 mL 的 LB 肉汤培养基,于 37 \mathbb{C} ,200 r/min 下震荡培养 24 h,连续培养 2 代,用 LB 肉汤培养基稀释菌体浓度为 1×10^7 CFU/mL 备用。

1.2.3 柑橘精油的筛选 采用滤纸片 [14] 法对精油抑菌效果进行比较筛选,取活化的菌液均匀涂布于 MH 琼脂培养基上。将含有 6 μ L 精油的无菌圆盘滤纸片置于平板,不含精油的空白滤纸片作为对照,平板于 37 $\mathbb C$ 培养 24 h,测定抑菌圈大小。

1.2.4 柑橘精油化学成分测定 参照苏瑾等[15]的方法,通过气相色谱—质谱(GC-MS)分析柑橘精油化学成分。

1.3 柑橘精油纳米乳的制备

1.3.1 伪三元相图绘制 采用相转变法制备柑橘精油纳米乳 [16]。固定柑橘精油和吐温 80 的质量为 2 g,按 $m_{\Re tell}:m_{\Re tell}$ 分别为 9:1,8:2,7:3,6:4,5:5,4:6,3:7,2:8,1:9于烧杯中混匀,25 $\mathbb C$ 、500 r/min 下磁力搅拌,以 1 mL/min 的流速依次向烧杯中滴加去离子水,当烧杯中溶液由澄清变浑浊再变澄清时,即为相转变点,记录此时所滴加的去离子水质量,并计算各组分在相转变点的质量分数,用 Origin 8.0 绘制伪三元相图。

1.3.2 纳米乳平均粒径、多分散相系数(PDI)及粒度分布

测定 将样品用去离子水稀释 100 倍以避免多重散射的影响,使用马尔文激光粒度仪测定乳液的平均粒径、PDI 及粒度分布,测定条件为温度 $25 \, ^{\circ}$ 、散射角 $173 \, ^{\circ}$ 、平衡时间 $5 \, \text{min}$ 、测试时间 $5 \, \text{min}$ 。

1.4 柑橘精油纳米乳抑菌性

1.4.1 纳米乳抑菌活性

- (1) 纳米乳抑菌圈直径:取活化后的菌液 100 μL 均匀涂布于 MH 琼脂培养基上。将含有 20 μL 纳米乳或普通乳液的无菌圆盘滤纸片置于平板,其中普通乳液中各组分含量与纳米乳一致,通过初步混合制备。空白组添加含 24%吐温 80 的稀释液。平板于 37 ℃下培养24 h,测定抑菌圈大小。
- (2) 纳米乳最小抑菌浓度: 参照 Guo 等[14] 的方法采用倍半稀释法分别测定柑橘精油纳米乳及对应浓度纯精油的最小抑菌浓度(MIC)和最小杀菌浓度(MBC)。
- 1.4.2 纳米乳对微生物微观结构的影响 参照 Moghimi 等^[17]的方法用扫描电镜(SEM)观察经纳米乳处理后的 金黄色葡萄球菌的形态变化。

1.5 统计分析

所有试验数据均以"平均值士标准差"表示。使用GraphPad Prism 8 软件进行绘图与 ANOVA 差异显著性分析(P<0.05)。

2 结果与分析

2.1 柑橘精油的筛选

- 2.1.1 柑橘精油抑菌性 由图 1 和表 1 可知,抑菌圈直径大小分别为佛手柑>蜜柚>甜橙>帝王柑>沙田柚>金桔>酸橙>蜜橘,且佛手柑、蜜柚、甜橙三者抑菌圈大小无显著性差异,因此筛选出抑菌效果较好的佛手柑、蜜柚、甜橙精油进一步试验。
- 2.1.2 柑橘精油化学成分 由表 2 可知,分别鉴定了3 种精油中的 30 种化合物,其分别占出峰总物质的 97.74% (佛手柑),98.86%(甜橙),98.46%(蜜柚)。佛手柑精油的主要 化合物 为 γ -松油烯(35.97%)、D-柠檬烯(32.79%)、3-蒈烯(5.15%);甜橙精油的主要化合物为 D-柠檬烯(73.86%)、 β -月桂烯(7.65%)、 β -水芹烯(3.21%);蜜 柚精油的主要化合物为 D-柠檬烯(56.52%)、 β -月桂烯(26.82%)、 β -蒎烯(4.72%)。据报道[18-19], γ -松油烯和D-柠檬烯具有广谱抑菌效果。此

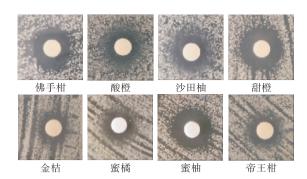


图 1 8 种柑橘精油对金黄色葡萄球菌抑菌效果图

Figure 1 Diagram of the antibacterial effect of eight citrus essential oils on Staphylococcus aureus

外, 蒈烯、月桂烯及 β -蒎烯等其他主要成分也具有较好的 抑菌活性[20-22]。

2.2 柑橘精油纳米乳的制备

2.2.1 伪三元相图的绘制 由图 2 可知,当 $m_{\pi \ell m}$: $m_{\pi im}$ 为 5 : 5,4 : 6,3 : 7,2 : 8,1 : 9 时,佛手柑精油纳米乳无相转变,当 $m_{\pi \ell m}$: $m_{\pi im}$ 为 4 : 6,3 : 7,2 : 8,1 : 9 时,佛手柑精油纳米乳无相转变,当 $m_{\pi \ell m}$ 为 4 : 6,3 : 7,2 : 8,1 : 9 时,甜橙、蜜柚精油纳米乳无相转变,这些情况下均无法形成纳米乳。由于载油量越大抑菌活性越强,因此选择载油量最大的组合作为纳米乳最优配方。当 $m_{\pi \ell m}$: $m_{\pi im}$ 为 8 : 2 时,佛手柑清油、甜橙精油、蜜柚精油 3 种乳液中精油均具有最大质量比,分别为 (5.97 ± 0.00)%,(6.79 ± 0.00)%,(6.17 ± 0.00)%,故选取 $m_{\pi \ell m}$: $m_{\pi im}$ 为 8 : 2 制备乳液。为避免载油量差异对后续抑菌试验造成偏差,将 3 种纳米乳的配方统一设定为精油质量分数 6%、吐温 80 质量分数 24%、水质量分数 70%。

2.2.2 纳米乳平均粒径、PDI及粒度分布 在确定最佳配方基础上,制备3种柑橘精油纳米乳,分别测定其平均粒径、PDI及粒径分布,结果见表3、图3。

由表 3 可知, 佛手柑精油、甜橙精油、蜜柚精油 3 种纳米乳的平均粒径分别为(15.01±0.85),(15.36±0.76),(17.43±0.22) nm, 佛手柑与甜橙之间无显著性差异, 蜜柚的平均粒径偏大。佛手柑精油纳米乳的 PDI 显著低于甜橙精油纳米乳和蜜柚精油纳米乳,PDI 越小,乳液液滴分布越均匀,体系越稳定,说明佛手柑精油纳米乳相较其他两种纳米乳粒径分布更均匀。粒度分布结果更直观反映了 3 种纳米乳在稳定性上的差异,其中佛手柑精油纳米乳的粒径分布最窄且呈单峰,说明液滴粒径一致性

mm

表 1 8 种柑橘精油对金黄色葡萄球菌抑菌圈直径的影响

Table 1 Effect of eight citrus essential oils on inhibition zone of Staphylococcus aureus

佛手柑	酸橙	沙田柚	甜橙	金桔	蜜橘	蜜柚	帝王柑
15.48±0.48ª	9.32 ± 0.79^{dg}	10.29 ± 0.84^{de}	14.65±0.70°c	9.55 ± 0.74^{df}	9.20 ± 0.06^{dh}	14.66 ± 0.89^{ab}	10.88±0.25 ^d

[†] 字母不同表示差异显著(P<0.05)。

表 2 3 种柑橘精油的化学成分分析

Table 2 Analysis of the chemical components of three citrus essential oils

佛手柑		甜橙		蜜柚		
化合物	含量/%	化合物	含量/%	化合物	含量/%	
γ-松油烯	35.97	D-柠檬烯	73.86	D-柠檬烯	56.52	
D-柠檬烯	32.79	β-月桂烯	7.65	β-月桂烯	26.82	
3-蒈烯	5.15	β-水芹烯	3.21	(一)-β-蒎烯	4.72	
萜品油烯	3.75	α-蒎烯	2.94	β-荜澄茄烯	1.83	
(一)-β-蒎烯	2.10	3-蒈烯	2.69	罗勒烯异构体混合物	1.59	
(E)-β-罗勒烯	2.00	芳樟醇	1.50	(+)-α-蒎烯	1.24	
(E)-柠檬醛	1.96	正癸醛	1.01	顺式-氧化芳樟醇	0.71	
α-松油醇	1.68	α-松油醇	0.68	2,6,11,15-四甲基十六碳-2,6, 8,10,14-五烯	0.54	
(Z)-3,7-二甲基辛-2,6-二烯醛	1.65	(一)-4-萜品醇	0.58	柠檬烯	0.49	
β-月桂烯	1.43	(E)-柠檬醛	0.58	芳樟醇	0.37	
罗勒烯异构体混合物	1.37	萜品油烯	0.57	(Z)-3,7-二甲基-2,6-辛二烯醛	0.37	
β-没药烯	1.17	(Z)-3,7-二甲基辛-2,6-二烯醛	0.45	(E)-柠檬醛	0.35	
β-石竹烯	1.01	γ-松油烯	0.42	δ-榄香烯	0.32	
α-香柠檬烯	0.81	罗勒烯异构体混合物	0.37	α-松油醇	0.26	
4-萜烯醇	0.65	壬醛	0.28	α-水芹烯	0.23	
(+)-大根香叶烯-D	0.65	正辛醇	0.27	β-榄香烯	0.20	
2-蒈烯	0.58	巴伦西亚橘烯	0.20	β-石竹烯	0.20	
β-荜澄茄烯	0.55	十二醛	0.20	γ-榄香烯	0.20	
橙花醇	0.39	β-石竹烯	0.19	二环大根香叶烯	0.19	
间异丙基甲苯	0.38	橙花醇	0.17	橙花醇	0.18	
罗勒烯	0.38	β-荜澄茄烯	0.15	(一)-4-萜品醇	0.16	
(一)-4-萜品醇	0.34	(+)-香茅醛	0.12	正癸醛	0.15	
芳樟醇	0.16	2,6,10-三甲基-十二碳-2,6,9, 11-四烯醛	0.12	γ-松油烯	0.13	
二环大根香叶烯	0.15	反式-1,4-二甲基环辛烷	0.11	香叶醇	0.13	
十一醛	0.13	(+)-δ-杜松烯	0.11	顺式-橙花叔醇	0.12	
橙花醇乙酸酯	0.12	α-甜橙醛	0.11	2-蒈烯	0.11	
三环烯	0.12	β-榄香烯	0.09	反式-ρ-薄荷基-2,8-二烯醇	0.10	
桉油烯醇	0.11	柠檬烯	0.08	2-乙基-4-戊烯醛	0.09	
(一)-α-荜澄茄油烯	0.10	香叶醇	0.08	(+)-δ-杜松烯	0.07	
乙酸香叶酯	0.09	(一)-α-蒎烯	0.07	紫苏烯	0.07	
合计	97.74		98.86		98.46	

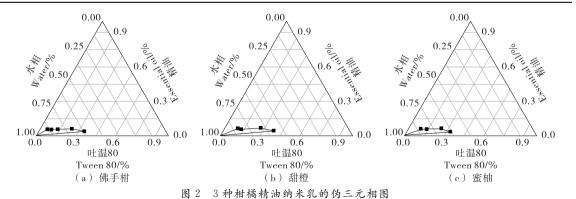


Figure 2 Pseudo-ternary phase diagrams of three citrus essential oil nanoemulsions

表 3 3 种柑橘精油纳米乳的平均粒径及 PDI[†]

Table 3 The average particle size and PDI of three citrus essential oil nanoemulsions

类别	粒径/nm	PDI
佛手柑	15.01 ± 0.85^{a}	0.281±0.020ª
甜橙	$15.36 \pm 0.76^{\mathrm{ab}}$	$0.374 \pm 0.030^{\mathrm{bc}}$
蜜柚	$17.43 \pm 0.22^{\circ}$	$0.371 \pm 0.025^{\rm b}$

† 字母不同表示差异显著(P<0.05)。

好。佛手柑精油纳米乳的高稳定性可能与佛手柑精油中高比例极性化合物有关,极性化合物会促进吐温 80 在液滴界面上的覆盖,从而进一步改善乳化作用并产生相对较强的界面[23]。

2.3 柑橘精油纳米乳的抑菌性

2.3.1 纳米乳抑菌活性 由表 4 可知,与普通精油乳液相比,3 种柑橘精油纳米乳的抑菌圈直径显著增大。佛手柑、甜橙、蜜柚精油的MIC分别为9.375,18.750,

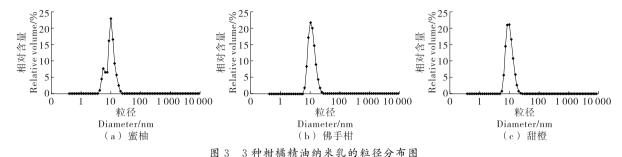


Figure 3 Diagramsofthe particle size distribution of three citrus essential oil nanoemulsions

18.750 mg/mL,且三者 MIC 与 MBC 一致;而佛手柑、甜橙、蜜 柚精油纳米乳的 MIC 分别为 3.750,15.000,7.500 mg/mL,MBC 分别为 3.750,15.000,15.000 mg/mL。3 种柑橘精油中,佛手柑精油对金黄色葡萄球菌的抑菌活性最强,甜橙、蜜柚精油抑菌活性无明显差异。将精油制备成纳米乳后,佛手柑精油纳米乳的抑菌效果提升最显著,其 MIC、MBC 均为纯精油的2.5倍,而另外2种精油纳米乳的抑菌活性也有小幅度的提升。佛手柑精油纳米乳的最高抑菌活性可能与以下两方面有关:① D-柠檬烯是甜橙、蜜柚精油的主要成分,相对于佛手柑精油的主要成分,一松油烯,其抗氧化能力更强,对氧气更加敏感[18],纳米乳制备过程中,样品由于空气、磁力搅拌等因素可能在一定程度上造成柠檬烯的损失,导致抑菌效果产生明显差异;② 更稳定的乳液体系能降低乳液在贮藏及加工过程中破乳、分层、聚集等现象的

表 4 金黄色葡萄球菌的抑菌圈直径、MIC 及 MBC[†]

Table 4 Inhibition zone, MIC and MBC of

Staphylococcus aureus

样品	抑菌圈	MIC/	MBC/
行用	直径/mm	$(mg \cdot mL^{-1})$	$(mg \cdot mL^{-1})$
佛手柑精油纳米乳	14.24±0.28ª	3.750	3.750
佛手柑精油	10.41 ± 0.50^{cd}	9.375	9.375
甜橙精油纳米乳	$12.60 \pm 0.39^{\rm b}$	15.000	15.000
甜橙精油	8.58 ± 0.10^{e}	18.750	18.750
蜜柚精油纳米乳	$10.71 \pm 0.46^{\mathrm{c}}$	7.500	15.000
蜜柚精油	6.92 ± 0.55^{f}	18.750	18.750

[†] 字母不同表示差异显著(P<0.05)。

产生,避免乳液成分损失^[24],纳米乳稳定性试验表明,佛手柑精油纳米乳在3种纳米乳中稳定性最好,抑菌过程中有效成分挥发相对较少,因此抑菌效果提升最明显。精油成分上的优势以及纳米乳的高稳定性,可能是佛手柑精油纳米乳表现出较高抑菌活性的主要原因。

2.3.2 纳米乳对微生物微观结构的影响 由图 4 可知, 与空白对照组和纯精油处理的细胞相比,纳米乳处理的 微生物细胞呈现明显的形态学变化。空白对照组的微生 物细胞具有光滑完整的表面;精油处理组的微生物细胞 形态结构受到较小程度的破坏,某些细胞出现凹陷、变 形,但大部分细胞仍完整;而纳米乳处理的微生物细胞呈

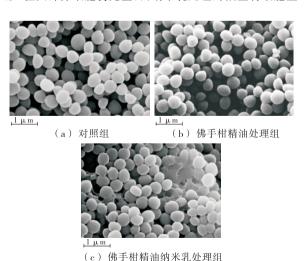


图 4 金黄色葡萄球菌的扫描电子显微镜图

Figure 4 SEM of Staphylococcus aureus under the magnification (15 $000 \times$)

现大面积不同程度的变形、粘连及破损,有更大范围的凹陷和畸形细胞群体。说明佛手柑精油及其纳米乳对金黄色葡萄球菌均具有良好的抑制作用,且纳米乳的抑菌效果更显著。

3 结论

探究了柑橘精油纳米乳对食源性细菌金黄色葡萄球菌的抑制作用,筛选出了抑菌效果最强的3种柑橘精油(佛手柑、甜橙、蜜柚)。结果显示,当精油质量分数为6%、吐温80质量分数为24%、去离子水质量分数为70%时,制备的纳米乳粒径为10~20 nm 且分布较均匀,其中佛手柑精油纳米乳的稳定性最佳。抑菌试验表明,将3种柑橘精油制备成纳米乳后其抑菌活性得到不同程度的提升,其中佛手柑精油纳米乳的抑菌活性提升为纯精油的2.5倍,具有最突出的抑制金黄色葡萄球菌效果,这可能与乳液稳定性及不同品种柑橘精油的成分差异有关。扫描电镜表明,佛手柑精油纳米乳及其纯精油对微生物形态结构都具有破坏作用,且纳米乳的破坏程度更显著。试验制备的佛手柑精油纳米乳对金黄色葡萄球菌具有良好的抑制作用,可作为一种天然抗菌剂进一步开发利用。

参考文献

- [1] 汪蕾, 刘洋, 孙杨赢, 等. 迷迭香酸协同 ϵ -聚赖氨酸对金黄色 葡萄球菌的抑菌机理初探[J]. 食品工业科技, 2020, 41 (14): 192-196, 227.
- [2] 金如月. 柑橘精油的优化提取及活性研究[D]. 上海: 上海应用技术大学, 2019: 2-4.
- [3] 田梦瑶, 张映瞳, 胡花丽. 柑橘精油的提取及在食品保鲜中的应用[J]. 中国果菜, 2020, 40(1): 21-25.
- [4] OZOGUL Y, KULEY E, UCAR Y, et al. Antimicrobial impacts of essential oils on food borne-pathogens[J]. Recent Patents on Food Nutrition & Agriculture, 2015, 7(1): 53-61.
- [5] 孙小涵. 金华佛手精油的提取、纳米乳制备及活性研究[D]. 无锡: 江南大学, 2018: 5-6.
- [6] ALI A, ANSARI V A, AHMAD U, et al. Nanoemulsion: An advanced vehicle for efficient drug delivery[J]. Drug Research, 2017, 67(11): 617-631.
- [7] 刘如楠,黄凯,管骁,等. 褚橙精油纳米乳的制备及抑菌性[J]. 食品与生物技术学报,2020,39(5):59-67.
- [8] CHANG Y, MCLANDSBOROUGH L, MCCLEMENTS D J. Fabrication, stability and efficacy of dual-component antimicrobial nanoemulsions: *Essential* oil (thyme oil) and cationic surfactant (lauric arginate)[J]. Food Chemistry, 2015, 172; 298-304.
- [9] KIM M S, LEE K, PARK E. Antimicrobial activity of lavander and rosemary essential oil nanoemulsions[J]. Korean Journal of Food and Cookery Science, 2017, 33(3): 256-263.
- [10] DUARTEJ L, AMADO J R R, OLIVEIRA A E M F M, et

- al. Evaluation of larvicidal activity of a nanoemulsion of Rosmarinus officinalis essential oil[J]. Revista Brasileira DE Farmacognosia, 2015, 25(2): 189-192.
- [11] MCCLEMENTS D J, DECKER E A, WEISS J. Emulsion based delivery systems for lipophilic bioactive components[J].

 Journal of Food Science, 2007, 72(8): 109-124.
- [12] LOU Zai-xiang, CHEN Jie, YU Fu-hua, et al. The antioxidant, antibacterial, antibiofilm activity of essential oil from Citrus medica L. var sarcodactylis and its nanoemulsion[J].
 LWT-Food Science and Technology, 2017, 80: 371-377.
- [13] DONSÌ F, ANNUNZIATA M, SESSA M, et al. Nanoen-capsulation of essential oils to enhance their antimicrobial activity in foods[J]. LWT-Food Science and Technology, 2011, 44(9): 1 908-1 914.
- [14] GUO Jia-jing, GUO Zhi-peng, XIA Jin-lan, et al. Comparative analysis of chemical composition, antimicrobial and antioxidant activity of citrus essential oils from the main cultivated varieties in China [J]. LWT-Food Science and Technology, 2018, 97: 825-839.
- [15] 苏瑾,潘兆平,肖媛,等. 玳玳花精油的成分及其抗氧化活性研究[J]. 食品与机械,2020,36(2):165-170.
- [16] 任婧楠,董曼,范刚,等. 甜橙精油纳米乳液的制备及其抑菌作用研究[J]. 食品工业科技,2018,39(23);80-83,104.
- [17] MOGHIMI R, GHADERI L, RAFATI H, et al. Superior antibacterial activity of nanoemulsion of Thymus daenensis essential oil against E. coli [J]. Food Chemistry, 2016, 194: 410-415.
- [18] 章斌,侯小桢,秦轶,等. 柠檬果皮精油主要组分抑菌及抗 氧化活性研究[J]. 食品与机械,2017,33(12):138-142.
- [19] SU Jia-qi, GUO Qing, MAO Li-ke, et al. Effect of gum arabic on the storage stability and antibacterial ability of beta-lactoglobulin stabilized D-limonene emulsion [J]. Food Hydrocolloids, 2018, 84: 75-83.
- [20] GHOSH A, RICKE S C, ALMEIDA G, et al. Combined application of *Essential* oil compounds and bacteriophage to inhibit growth of *Staphylococcus aureus* in vitro [J]. Current Microbiology, 2016, 72(4): 426-435.
- [21] RIVAS DA S, LOPES P M, BARROS DE A M, et al. Biological activities of alpha-pinene and beta-pinene Enantiomers[J]. Molecules, 2012, 17(6): 6 305-6 316.
- [22] 曾令达,黄仲景,廖建良,等. 花椒油主要活性物质对荔枝霜疫霉的抑菌活性[J]. 江苏农业科学,2018,46(21):103-105.
- [23] ZHAO Shao-jie, TIAN Gui-fang, ZHAO Cheng-ying, et al.

 The stability of three different citrus oil-in-water emulsions fabricated by spontaneous emulsification[J]. Food Chemistry, 2018, 269: 577-587.
- [24] 陈雨露, 孙婉秋, 高彦祥, 等. 食品运载体系提高酚类物质 生物利用度的研究进展[J]. 食品科学, 2020, 41(5): 323-330.