

肉桂精油蒸气对黄曲霉生长及其毒素 B₁ 合成的影响

王一非, 卞文怡, 刘竹臻, 何艳*, 宋晓秋, 黄雨晴
(上海应用技术大学, 香料香精技术与工程学院, 上海 201418)

摘要:肉桂精油是具有潜力代替化学杀菌剂的天然植物提取物。本文以熏蒸的方法, 研究肉桂精油蒸气对黄曲霉生长及其毒素 B₁ 合成的抑制作用。结果表明: 肉桂精油蒸气对黄曲霉菌丝体和孢子的抑制效果与蒸气浓度成正相关; 熏蒸时间实验观察了移除精油蒸气形成的抑菌环境后黄曲霉的生长情况, 发现精油蒸气处理时间越长, 黄曲霉菌丝体重新生长的速度越慢, 处理 6 d 的黄曲霉继续培养 7 d 后菌落直径仅为 6.18 cm (对照组为 8.30 cm); 通过添加 NaCl 降低培养基的水分活度可以显著提高肉桂精油蒸气对黄曲霉的抑菌活性, 当水分活度低于 0.96 时, 精油蒸气可完全抑制黄曲霉菌丝体和孢子的生长; 在液体培养基中, 131.74 μL/L 的熏蒸浓度可以完全抑制黄曲霉的生长和黄曲霉毒素 B₁ 的合成; 黄曲霉菌丝体和孢子的表面形态观察显示肉桂精油蒸气熏蒸会使黄曲霉的菌丝体变得瘦小, 孢子数量减少。本文研究结果可为植物精油用于熏蒸抑菌提供应用依据。

关键词: 肉桂精油, 蒸气, 黄曲霉, 抑菌, 黄曲霉毒素

Effect of cinnamon essential oil in the vapor phase on the growth and aflatoxin B₁ production of *Aspergillus flavus*

WANG Yi-fei, BIAN Wen-yi, LIU Zhu-zhen, HE Yan*, SONG xiao-qiu, HUANG Yu-qing

(School of Perfume and Aroma Technology, Shanghai Institute of Technology, Shanghai 201418, China)

Abstract: Cinnamon essential oil (CEO), a natural plant extract, has been regarded as a potential alternative to chemical fungicides. In this study, the antifungal and antiaflatoxicenic efficacy of the vapor phase of CEO against *Aspergillus flavus* were determined. The results indicated that the inhibition of CEO vapor on the growth of mycelia and spores depended on the oil vapor concentration. Moreover, the diameters of *A. Flavus* colony after removing CEO vapor were also evaluated. A reduction in percentage inhibition was observed after removing the antimicrobial atmosphere and the inhibition effect was found to be static for *A. flavus*. Besides, the antifungal efficacy of the CEO vapor was strongly affected by water activity (A_w). CEO vapor inhibited the growth of the mycelia and spores when A_w was ≤ 0.96 . During antiaflatoxin investigation, a gradual decrease in mycelia dry weight and AFB₁ production by *A. flavus* in the liquid culture was found on increasing the concentration of CEO in the vapor phase. The CEO vapor was 131.74 μL/L exhibited a complete inhibition on the mycelial growth and AFB₁ synthesis. The essential oil vapor was also investigated to determine morphological changes of *A. flavus*. The results showed that the number of the spores was obviously decreased and mycelia of *A. flavus* brought shrinking and stained readily with cotton blue lactophenol solution. This study shows the potential application of the vapor phase of CEO in food industry.

Key words: cinnamon essential oil; vapor phase; *Aspergillus flavus*; antimicrobial; aflatoxins

中图分类号: TS201.1

文献标识码: A

文章编号: 1002-0306(2018)09-0119-05

doi:10.13386/j.issn1002-0306.2018.09.021

引文格式: 王一非, 卞文怡, 刘竹臻, 等. 肉桂精油蒸气对黄曲霉生长及其毒素 B₁ 合成的影响 [J]. 食品工业科技, 2018, 39(9): 119-123.

真菌毒素是真菌在食品或饲料里生长所产生的代谢产物, 对人类和动物都有极大危害^[1-3]。最常见的真菌毒素是由黄曲霉、寄生曲霉产生的黄曲霉毒素, 它于 1993 年被世界卫生组织的癌症研究机构划

定为 1 类致癌物^[4-6]。在天然污染的食品中, 以黄曲霉毒素 B₁ (AFB₁) 最为多见, 其毒性和致癌性也最强^[7-10]。因此, 建立真菌毒素 (特别是黄曲霉毒素) 高效防控措施, 对保障食品安全和消费者健康具有重

收稿日期: 2017-08-14

作者简介: 王一非 (1981-), 女, 博士, 副教授, 研究方向: 食品微生物与食品保藏技术, E-mail: wangyifei@sit.edu.cn。

* 通讯作者: 何艳 (1982-), 女, 硕士, 工程师, 研究方向: 食品中的腐败微生物及防治方法, E-mail: 55309690@qq.com。

基金项目: 上海市科促会联盟计划项目 (LM201644); 上海市科促会联盟计划项目 (LM201528)。

要意义。研究表明,通过抑制菌丝生长可有效控制黄曲霉毒素合成^[11-13]。化学防腐剂常被用来抑制真菌的生长和繁殖,但其残留物的致癌致畸及剧毒性会引发很多环境和健康问题^[14-16]。因此,学者们开始致力于天然物质的抑菌性能研究,以满足公众对不含化学防腐剂的纯天然食品的需求。

植物精油(cinnamon essential oil,CEO)是芳香植物高度浓缩的提取物,具有良好的抑菌性能,并符合美国食品药品监督管理局的安全性(GRAS)认证。植物精油对霉菌的初级、次级代谢及形态均有一定影响,且病原菌对其产生抗性的风险较低^[17-19],但精油在食品中应用时,这可能会改变食物原有的口感和风味。以蒸气接触代替直接添加的方式,将植物精油作为活性抑菌因子应用在食品包装材料或食品储存密闭空间中,能够降低对食品感官的破坏,提升食品机器包装的质量和安全性,并有效延长食品的货架期^[20-23]。

肉桂精油是一种常见的植物精油,其液态形式下对多种腐败微生物的作用效果被前人研究证实,如赵丹等^[15]发现肉桂精油对黑曲霉、大肠杆菌、金黄色葡萄球菌和枯草芽孢杆菌均有较强的抑制效果;Al-Gahtani等^[24]研究发现在百里香、大蒜、肉桂、薄荷和迷迭香等众多精油中,肉桂精油对黄曲霉生长和黄曲霉毒素生产的抑制作用效果最为显著。近年来,肉桂精油蒸气抑菌活性研究也逐渐吸引了研究者的目光。刘晓丽等^[10]研究了肉桂精油气相的体外抑菌活性,发现其对霉菌的抑制效果要优于酵母菌和细菌。Goni等^[17]研究发现肉桂精油蒸气对多种革兰氏阳性菌和革兰氏阴性菌均有较强的抑菌效果。多项研究证实,肉桂精油的气相组成包括肉桂醛、丁香油酚、石竹烯、芳樟醇、黄樟醚等,其中肉桂醛是主要抑菌成分^[8,11]。然而,与精油液相抑菌研究相比,涉及蒸气形式的应用探索还比较少,关于肉桂精油蒸气对黄曲霉作用效果、作用方式、毒素产生等方面的系统研究相对缺乏。基于此,本文旨在以熏蒸处理的方式,探究肉桂精油对黄曲霉生长及其毒素B₁合成的影响,并明确水分活度和熏蒸时间对蒸气抑菌效果的影响,从而为肉桂精油蒸气作为黄曲霉生长及毒素合成抑制剂的应用提供数据支持。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

产毒黄曲霉(*Aspergillus flavus*) AS3.4408 由中国普通微生物菌种保藏管理中心提供,4℃保藏于查氏(Czapek)培养基斜面;肉桂精油 封装在棕色玻璃瓶中避光冷藏,上海彩呈实业有限公司;黄曲霉毒素B₁酶联免疫检测试剂盒 上海纤检仪器有限公司;马铃薯葡萄糖琼脂培养基(PDA)、酵母提取物 青岛高科园海博生物技术有限公司;Parafilm 封口膜 美国 Bemis 公司;氯化钠、氯仿、甲醇、蔗糖、七水硫酸镁、硝酸钾等 均为分析纯。

SPX-150R-Z 生化培养箱 上海博讯实业有限公司;LS-B50L 立式压力蒸气灭菌锅 上海医用核子仪器厂;Aw-1A 型智能水分活度仪 无锡市碧波

电子设备厂;XSP-BM-8CA 生物显微镜 上海彼爱姆光学仪器制造公司;RE52-A 旋转蒸发仪 上海亚容生化仪器厂;HYG-A 全温摇瓶柜 太仓实验设备厂。

1.2 实验方法

1.2.1 肉桂精油蒸气浓度对黄曲霉菌丝体径向生长的影响 参考 Phillips 等^[7]的方法,将黄曲霉接种在 PDA 平板中央,28℃生化培养箱中培养 7 d,用无菌打孔器自平板培养物边缘切下菌丝块(直径 10 mm),并接种于新的 PDA 平板中央,平板倒置,将一无菌滤纸片(直径 15 mm)贴在平板盖中央,移取不同体积精油于滤纸片上,使平板空间精油浓度分别为 15.38、46.15、76.92、107.69、138.46、184.61 μL/L,其空间浓度计算参考 Aguilar-González 等^[25]的方法。对照组为不添加肉桂精油的滤纸片。然后用 Parafilm 封口膜密封平板,28℃培养 7 d 后测量菌落直径,确定肉桂精油蒸气对黄曲霉菌丝体径向生长的影响。菌丝体径向生长抑制率的计算公式见式(1)。每个浓度梯度 3 块平板,实验重复 3 次。

$$\text{菌丝体径向生长抑制率}(\%) = (d_c - d_i) / d_c \times 100 \quad \text{式(1)}$$

式(1)中, d_c 为对照组菌落直径(cm); d_i 为精油蒸气处理组菌落直径(cm)。

1.2.2 肉桂精油蒸气浓度对黄曲霉孢子的影响 参考 Phillips 等^[4]和 López 等^[7]的方法,用 10 mL 无菌水冲洗培养 7 d 的黄曲霉斜面得到孢子,将孢子悬浮液浓度调整至 5×10^5 个/mL,取 0.2 mL 涂布于 PDA 平板。取不同体积肉桂精油滴加于直径为 15 mm 的滤纸片上,使平板空间精油终浓度分别为 1.54、3.08、4.62、6.15、7.69 μL/L,对照组为不添加肉桂精油的滤纸片。倒置平板,把滤纸片贴在皿盖中央,然后用 Parafilm 封口膜密封平板,28℃培养 7 d 后测量抑菌圈直径(cm)。每个浓度梯度 3 块平板,实验重复 3 次。

1.2.3 肉桂精油蒸气作用时间对黄曲霉生长的影响 参考 López 等^[4]的方法,用无菌打孔器在培养 7 d 的黄曲霉平板上打取直径 10 mm 的菌块,置于新的 PDA 平板中央。将一定体积的精油添加于直径 15 mm 的无菌滤纸片上,贴于皿盖中央,使平板空间精油浓度为 76.92 μL/L,精油分别对黄曲霉熏蒸 0、1、3、6 d 后,用另一无菌平板盖代替含滤纸片的平板盖,继续于 28℃培养 7 d,用 Parafilm 封口膜密封平板,每天观察抑菌效果,并测量菌落直径(cm)。每个处理 3 块平板,实验重复 3 次。

1.2.4 培养基水分活度对肉桂精油蒸气抑制黄曲霉的影响 参考 Gardini 等^[8]的方法,向 50 mL PDA 培养基中加入不同质量的 NaCl 作为保湿剂,充分溶解,使水分活度分别达到 0.99、0.98、0.96、0.94、0.92,趁热倒入平板中。滤纸片上添加肉桂精油,使平板空间精油浓度为 76.92 μL/L,检测水分活度对肉桂精油蒸气抑制黄曲霉菌丝体和孢子的影响,接种、培养及测量计算方法同 1.2.1、1.2.2。每个处理 3 个平行,实验重复 3 次。

1.2.5 肉桂精油蒸气对黄曲霉毒素 B₁ (AFB₁) 合成的影响 肉桂精油蒸气对黄曲霉的抑毒性实验在蔗糖酵母 (SMKY) 液体培养基^[1,9] (蔗糖 200 g, MgSO₄ · 7H₂O 0.5 g, KNO₃ 0.3 g, 酵母提取物 7.0 g, 水 1L, pH5.6 ± 0.2) 中进行。直径 20 mm 无菌滤纸片上滴加不同体积肉桂精油并悬挂于锥形瓶内, 使瓶内顶端空间精油浓度分别为 32.93、65.87、98.80、131.74、164.67 μL/L, 培养过程中滤纸片不与培养基接触, 对照组为不添加肉桂精油的滤纸片。将 1 mL 黄曲霉孢子悬浮液 (约 10⁶ 个孢子/mL) 接种于含 50 mL 液体培养基的 250 mL 三角瓶中, 置于 28 °C 培养 10 d。培养结束后, 液体培养基中的菌丝用预干燥的滤纸过滤、100 °C 干燥至恒重后, 测定菌丝干重。滤液在分液漏斗 (250 mL) 中用 25 mL 氯仿抽提两次, 提取物合并蒸发至干燥, 残留物重悬于 1 mL 甲醇: 水 (体积比 1:1) 溶液, 用于 AFB₁ 产量的测定^[1,3]。AFB₁ 的检测根据黄曲霉毒素 B₁ 酶联免疫检测试剂盒说明书操作进行。AFB₁ 抑制率通过式 (2) 计算:

$$AFB_1 \text{ 抑制率} (\%) = (C_e - C_i) / C_e \times 100 \quad \text{式(2)}$$

式 (2) 中, C_i 是添加精油的处理组的 AFB₁ 的浓度 (μg/L); C_e 是不添加精油的对照组的 AFB₁ 的浓度 (μg/L)。

1.2.6 肉桂精油蒸气对黄曲霉表面细胞形态的影响 用无菌水冲洗黄曲霉斜面, 振荡均匀, 将孢子悬浮液浓度调整至 5 × 10⁵ 个/mL, 取 0.2 mL 涂布于 PDA 平板。将直径为 15 mm 的无菌滤纸片贴在皿盖中央, 取纯精油于滤纸片上使平板空间精油浓度为 76.92 μL/L, 对照组为不添加肉桂精油的滤纸片, 然后用 Parafilm 封口膜密封平板。将平板置倒置于 28 °C 培养箱中, 培养 7 d。用接种环从培养基表面取出黄曲霉, 放在乳酸苯酚棉蓝液滴中分散固定, 于光学显微镜下进行镜检观察。

1.3 数据统计与分析

所有实验数据运用 SAS (V 8.02) 软件中的 ANOVA 进行邓肯多重差异分析 (p < 0.05)。

2 结果与分析

2.1 肉桂精油蒸气浓度对黄曲霉菌丝体径向生长的影响

不同浓度肉桂精油蒸气对黄曲霉菌丝体径向生长的抑制效果见图 1。由图 1 可知, 实验中不同浓度肉桂精油蒸气对黄曲霉菌丝体均有显著抑制作用 (p < 0.05), 且菌丝生长抑制率和精油蒸气浓度成正相关 (相关系数为 0.93), 即抑制率随着浓度增大而加强。当肉桂精油蒸气浓度为 76.92 μL/L 时, 抑制率为 62.65%; 浓度为 138.46 μL/L 和 184.61 μL/L 时, 抑制率均超过 75.00%。

不同浓度肉桂精油蒸气对黄曲霉孢子的抑制效果见图 2。所有浓度的肉桂精油蒸气对黄曲霉孢子均有抑制效果, 并且抑菌圈直径同精油蒸气浓度成正相关 (相关系数为 0.96)。对照组孢子长满平板, 无可测抑菌圈。当肉桂精油蒸气浓度为 1.54 μL/L 时, 抑菌圈直径为 1.53 cm; 浓度为 7.69 μL/L 时, 抑菌圈直径已达到 5.63 cm, 具有较好的抑制效果。

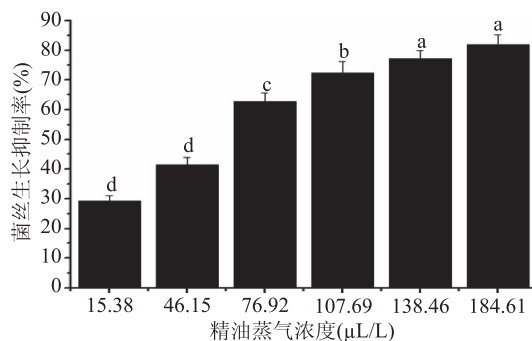


图 1 肉桂精油蒸气浓度对黄曲霉菌丝体径向生长的影响
Fig.1 Effect of concentration cinnamon essential oil vapor on the mycelia radial growth of *A.flavus*

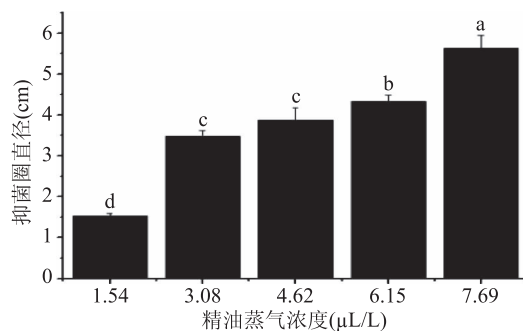


图 2 肉桂精油蒸气浓度对黄曲霉孢子的影响
Fig.2 Effect of concentrations cinnamon essential oil vapor on the spores of *A.flavus*

2.2 肉桂精油蒸气作用时间对黄曲霉生长的影响

将直径为 10 mm 的黄曲霉菌块经过 76.92 μL/L 肉桂精油蒸气处理 1、3、6 d 后转移到无精油蒸气的环境中, 继续培养 7 d 观察黄曲霉菌落的直径结果 (图 3)。熏蒸不同时间的菌丝均能够继续生长, 但与未经精油蒸气处理的对照 (8.30 cm) 相比, 精油蒸气处理时间长, 黄曲霉菌落生长的越慢。熏蒸 6 d 的菌块在继续培养 7 d 后菌落直径为 6.18 cm, 且在培养的第 4 d 后生长处于停滞状态。结果表明肉桂精油蒸气可以有效抑制黄曲霉菌丝以及孢子的生长, 这与 López^[4]、刘晓丽等^[10]的发现类似。

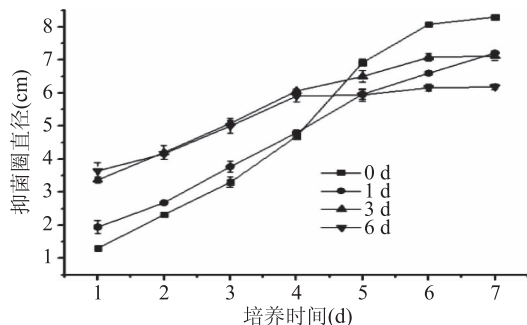


图 3 肉桂精油蒸气作用时间对黄曲霉生长的影响
Fig.3 Effect of time on the inhibition of cinnamon essential oil vapor on *A.flavus*

2.3 水分活度对肉桂精油蒸气抑制黄曲霉的影响

培养基水分活度的变化对肉桂精油蒸气抑制黄曲霉生长的影响结果见表 1。水分活度对肉桂精油

蒸气抑制黄曲霉菌丝体的径向生长和孢子均具有显著影响($p < 0.05$)。当水分活度 ≤ 0.98 时,76.92 $\mu\text{L/L}$ 肉桂精油蒸气对黄曲霉的抑制率比对照组高 35.09%, 达到 100%。抑菌圈直径与水分活度呈负相关,水分活度越小,肉桂精油蒸气对黄曲霉孢子的抑制效果越好,当水分活度不超过 0.98 时,76.92 $\mu\text{L/L}$ 肉桂精油蒸气可完全抑制黄曲霉孢子的生长,跟 Passone 等^[12]在研究植物精油蒸气抑菌时得到的结果相似。由于挥发性物质的抑菌能力随着蒸气压的升高而增强,水分活度的降低会导致蒸气压的升高^[13],因此低水分活度下肉桂精油蒸气的抑菌能力较强。

表 1 水分活度对肉桂精油蒸气抑制黄曲霉的影响

Table 1 Effect of A_w on the inhibition of cinnamon essential oil vapor against *A.flavus*

水分活度	菌丝体径向生长抑制率(%)	孢子的抑菌圈直径(cm)
0.99(对照)	64.91 \pm 2.82 ^b	3.60 \pm 0.15 ^c
0.98	100.00 \pm 0.00 ^a	5.82 \pm 0.29 ^b
0.96	100.00 \pm 0.00 ^a	8.30 \pm 0.00 ^a
0.92	100.00 \pm 0.00 ^a	8.30 \pm 0.00 ^a

注:在不添加精油蒸气的情况下,黄曲霉在不同水分活度培养基中均生长良好;同列不同小写字母代表差异显著性水平 $p < 0.05$ 。

2.4 肉桂精油蒸气对黄曲霉毒素 B₁ 合成的影响

不同浓度的肉桂精油蒸气对液体培养基中黄曲霉菌丝干重及 AFB₁ 的合成影响见表 2。不同浓度的精油蒸气均能抑制菌丝生长和 AFB₁ 的合成,且两者成正相关,即菌丝生长被抑制时,AFB₁ 的合成量降低。当精油蒸气浓度达到 131.74 $\mu\text{L/L}$ 时,AFB₁ 的合成和黄曲霉菌丝的生长被完全抑制。结合黄曲霉菌丝生长抑制结果,推测肉桂精油蒸气抑制 AFB₁ 合成的机理可能是其挥发性成分抑制菌丝生长,并通过作用于一些糖代谢途径的关键酶而引起合成 AFB₁ 能力降低的综合结果^[23]。

表 2 肉桂精油蒸气对黄曲霉菌丝干重及合成 AFB₁ 的影响Table 2 Effects of cinnamon essential oil vapor on dry mycelium weight and aflatoxin B₁ synthesis of *A.flavus*

肉桂精油蒸气含量($\mu\text{L/L}$)	菌丝干重(g)	黄曲霉毒素 B ₁ ($\mu\text{g/L}$)	AFB ₁ 抑制率(%)
0(对照)	2.01 \pm 0.04 ^a	71.13 \pm 0.92 ^a	0.00
32.93	1.72 \pm 0.05 ^b	54.93 \pm 0.71 ^b	22.78
65.87	1.46 \pm 0.01 ^c	42.62 \pm 2.52 ^c	40.08
98.80	1.16 \pm 0.06 ^d	16.66 \pm 0.40 ^d	76.58
131.74	0.00 \pm 0.00 ^e	0.00 \pm 0.00 ^e	100.00
164.67	0.00 \pm 0.00 ^e	0.00 \pm 0.00 ^e	100.00

注:同列不同小写字母代表差异显著性水平 $p < 0.05$ 。

2.5 肉桂精油蒸气对黄曲霉表面细胞形态的影响

利用光学显微镜观察肉桂精油蒸气处理的黄曲霉细胞形态,结果见图 4,正常生长的对照组黄曲霉较完整,菌丝体形状规则,平均直径约为 10.72 \pm

2.65 μm ,分生孢子数量多且直径较一致;处理组的黄曲霉孢子明显减少且不均一,菌丝体瘦小,平均直径约为(4.83 \pm 1.57) μm ,在棉蓝染色过程中易着色。

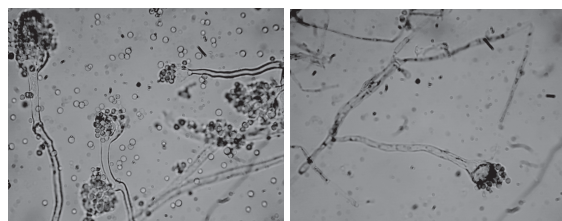
a:对照(640 \times)b:经肉桂精油蒸气处理(640 \times)

图 4 肉桂精油蒸气对黄曲霉形态的影响

Fig.4 Morphology of *A.flavus* treated with cinnamon essential oil vapor

3 结论

研究表明,肉桂精油蒸气对黄曲霉的生长以及 AFB₁ 的合成均有显著的抑制效果,且抑菌活性能通过降低水分活度等手段得以增强。不过,移除精油蒸气形成的抑菌环境后,黄曲霉重新开始生长,表明肉桂精油蒸气对黄曲霉产生的是静态效应。在后续研究中,可以将精油熏蒸用于体内(*in vivo*)实验,可以同时探究作用时间对菌体生长、毒素分泌和食品感官品质的影响,从而找出精油蒸气在食品防腐应用中的适宜作用方式。综上可知,熏蒸可能是植物精油在食品保鲜领域使用的一种重要形式,肉桂精油蒸气有望用于抑制食品贮藏期间霉菌的生长,减少化学合成真菌防腐剂的使用,有效提高食品的质量和安全性。

参考文献

- [1] Kumar A, Shuklar R, Singh P, et al. Chemical composition, antifungal and antiaflatoxigenic activities of *Ocimum sanctum* L. essential oil and its safety assessment as plant based antimicrobial [J]. Food and Chemical Toxicology, 2010, 48(2): 539-543.
- [2] Cardile V, Russo A, Formisano C, et al. Essential oils of *Salvia bracteata* and *Salvia rubifolia* from Lebanon: chemical composition, antimicrobial activity and inhibitory effect on human melanoma cells [J]. Journal of Ethnopharmacology, 2009, 126(2): 265-272.
- [3] Tian J, Huang B, Luo X L, et al. The control of *Aspergillus flavus* with *Cinnamomum jensenianum* Hand-Mazz essential oil and its potential use as a food preservative [J]. Food Chemistry, 2012, 130(3): 520-527.
- [4] López P, Sánchez C, Batlle R, et al. Solid- and vapor- phase antimicrobial activities of six essential oils: Susceptibility of selected foodborne bacterial and fungal strains [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2005, 53(17): 6939-6946.
- [5] Tyagi A K, Malik A. Antimicrobial potential and chemical composition of *Eucalyptus globules* oil in liquid and vapor phase against food spoilage microorganisms [J]. Food Chemistry, 2011, 126(1): 228-235.
- [6] Manso S, Cacho N F, Becerril R, et al. Combined analytical and microbiological tools to study the effect on *Aspergillus flavus* of cinnamon essential oil contained in food packaging [J]. Food

Control, 2013, 30(2) :370-378.

[7] Phillips C A, Laird K, Allen S C. The use of an antimicrobial citrus essential oil vapor for the control of *Penicillium chrysogenum*, *Aspergillus niger* and *Alternaria alternata* in vitro and on food [J]. Food Research International, 2012, 47(2) : 310-314.

[8] López P, Sánchez C, Batlle R, et al. Vapor-Phase activities of cinnamon, thyme, and oregano essential oils and key constituents against foodborne microorganisms [J]. Food Chemistry, 2007, 55(11) :4348-4356.

[9] Prakash B, Singh P, Kedia A, et al. Assessment of some essential oils as food preservatives based on antifungal, anti-aflatoxin, antioxidant activities and *in vivo* efficacy in food system [J]. Food Research International, 2012, 49(1) :201-208.

[10] 刘晓丽, 钟少枢, 吴克刚, 等. 丁香和肉桂精油气相抑菌活性研究 [J]. 食品与发酵工业, 2010, 36(1) :21-24.

[11] 戴向荣, 蒋立科, 罗曼. 肉桂醛抑制黄曲霉机理初探 [J]. 食品科学, 2008, 29(1) :36-40.

[12] Passone M A, Girardi N S, Etcheverry M. Antifungal and anti-aflatoxin activity by vapor contact of three essential oils, and effects of environmental factors on their efficacy [J]. LWT - Food Science and Technology, 2013, 53(2) :434-444.

[13] 李殿鑫, 江琳琳, 朱娜, 等. 植物精油在食品保鲜中的研究进展 [J]. 食品工业科技, 2012, 33(12) :396-400.

[14] Lanciotti R, Sinigaglia M, Gardini F, et al. Growth/no growth interfaces of *Bacillus cereus*, *Staphylococcus aureus* and *Salmonella enteritidis* in model systems based on water activity, pH, temperature and ethanol concentration [J]. Food Microbiology, 2001, 18(6) :659-668.

[15] 赵丹, 孙旻, 陈光. 肉桂精油的抑菌作用 [J]. 吉林农业大学学报, 2013, 35(4) :402-405.

[16] Lopez - Malo A, Barreto - Valdivieso J, Palou E, et al. *Aspergillus flavus*, growth response to cinnamon extract and sodium benzoate mixtures [J]. Food Control, 2007, 18(11) :

(上接第 118 页)

New York: Wiley-Liss, 2000:315-351.

[33] Dickinson J R, Salgado L E J, Hewlins M J E. The catabolism of amino acids to long chain and complex alcohols in *Saccharomyces cerevisiae* [J]. Journal of Biological Chemistry, 2003, 278(10) :8028-8034.

[34] Klesk K, Qian M, Martin R R. Aroma extract dilution analysis of cv. Meeker (*Rubus idaeus* L.) red raspberries from Oregon and Washington [J]. Journal of agricultural and food chemistry, 2004, 52(16) :5155-5161.

[35] Jirovetz L, Smith D, Buchbauer G. Aroma compound analysis of *Eruca sativa* (Brassicaceae) SPME headspace leaf samples using GC, GC-MS and olfactometry [J]. Journal of agricultural and food chemistry, 2002, 50(16) :4643-4646.

[36] Peinado R A, Mauricio J C, Medina M, et al. Effect of *Schizosaccharomyces pombe* on aromatic compounds in dry sherry wines containing high levels of gluconic acid [J]. Journal of agricultural and food chemistry, 2004, 52(14) :4529-4534.

[37] Fang Y, Qian M. Aroma compounds in Oregon Pinot Noir

1358-1362.

[17] Goñi P, López P, Sánchez C, et al. Antimicrobial activity in the vapour phase of a combination of cinnamon and clove essential oils [J]. Food Chemistry, 2009, 116(4) :982-989.

[18] Rodríguez A, Batlle R, Nerín C. The use of natural essential oils as antimicrobial solutions in paper packaging Part II [J]. Progress in Organic Coatings, 2007, 60(1) :33-38.

[19] Manso S, Cacho - Nerin F, Becerril R, et al. Combined analytical and microbiological tools to study the effect on *Aspergillus flavus*, of cinnamon essential oil contained in food packaging [J]. Food Control, 2012, 30(2) :370-378.

[20] Gutierrez L, Batlle R C, Nerin C. New approach to study the mechanism of antimicrobial protection of an active packaging [J]. Foodborne Pathogens and Disease, 2010, 7(9) :1063-1069.

[21] Flanagan J, Singh H. Microemulsions: A potential delivery system for bioactives in food [J]. Critical Reviews in Food Science and Nutrition, 2006, 46(3) :221-37.

[22] Brul S, Coote P. Preservative agents in foods. Mode of action and microbial resistance mechanisms [J]. International Journal of Food Microbiology, 1999, 50(1-2) :1-17.

[23] Tatsadjieu N L, Dongmo P M J, Ngassoum M B, et al. Investigations on the essential oil of *Lippia rugosa* from Cameroon for its potential use as antifungal agent against *Aspergillus flavus* Link ex Fries. Food Control [J]. Food Control, 2009, 20(2) : 161-166.

[24] Al-Gahtani M F, Al-Othman M R, Mahmoud M A, et al. Anti - aflatoxin effect of essential oils on *Aspergillus* Spp. isolated from pistachio in Saudi Arabia [J]. African Journal of Microbiology Research, 2013, 7(25) :3151-3159.

[25] Aguilar - González A E, Palou E, López - Malo A. Antifungal activity of essential oils of clove (*Syzygium aromaticum*) and/or mustard (*Brassica nigra*) in vapor phase against grey mold (*Botrytis cinerea*) in strawberries [J]. Innovative Food Science & Emerging Technologies, 2015, 32:181-185.

wine determined by aroma extract dilution analysis (AEDA) [J]. Flavour and Fragrance Journal, 2005, 20(1) :22-29.

[38] Fan W, Qian M C. Characterization of aroma compounds of Chinese "Wuliangye" and "Jiannanchun" liquors by aroma extract dilution analysis [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2006, 54(7) :2695-2704.

[39] Qian M, Reineccius G. Identification of aroma compounds in Parmigiano-Reggiano cheese by gas chromatography/olfactometry [J]. Journal of Dairy Science, 2002, 85(6) :1362-1369.

[40] Clemente - Jimenez J M, Mingorance - Cazorla L, MartíNez - Rodríguez S, et al. Molecular characterization and oenological properties of wine yeasts isolated during spontaneous fermentation of six varieties of grape must [J]. Food Microbiology, 2004, 21(2) :149-155.

[41] Allen M S, Lacey M J, Boyd S. Determination of methoxypyrazines in red wines by stable isotope dilution gas chromatography - mass spectrometry [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 1994, 42(8) :1734-1738.