

# 三种柑橘类精油的GC-MS分析及抑菌活性对比

陈彦<sup>1,2</sup>, 潘晓薇<sup>2</sup>, 陶红<sup>2</sup>, 林恋竹<sup>1\*</sup>

(1. 华南理工大学食品科学与工程学院, 广东广州 510641)

(2. 广东中烟工业有限责任公司技术中心, 广东广州 510385)

**摘要:** 选取陈皮、柠檬和金桔这三种柑橘类植物为原料, 利用超临界 CO<sub>2</sub> 萃取法高效提取精油。采用 GC-MS 分析样品成分, 进而探究三种精油对金黄色葡萄球菌和烟曲霉菌的抑菌活性。研究表明: 柠檬精油中的醇类 (3.41%)、醛类 (2.55%)、酮类 (2.03%)、酯类 (7.17%) 和除柠檬烯以外的萜烯类化合物 (34.06%) 含量较高, D-柠檬烯含量是这三种精油中最低的 (46.52%); 陈皮精油中的萜烯类 (86.34%)、酚类化合物 (1.82%) 含量较高; 金桔精油中的酸类化合物 (12.71%) 和 D-柠檬烯 (72.69%) 含量较高。精油对金黄色葡萄球菌和烟曲霉菌的抑菌活性均为柠檬精油 > 陈皮精油 > 金桔精油。在这三种柑橘类精油中 D-柠檬烯并非唯一的抑菌成分, 精油的抑菌活性也与除 D-柠檬烯以外的抑菌成分密切相关。其中柠檬精油中含量丰富的  $\gamma$ -松油烯和  $\beta$ -蒎烯等其他抑菌成分可与 D-柠檬烯协同起到有效提高精油抑菌活性的作用。该方法所提取的精油可为相关天然抑菌产品研发提供一定帮助。

**关键词:** 柑橘精油; 超临界萃取; 抑菌活性; GC-MS

文章编号: 1673-9078(2024)01-84-91

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2024.1.0170

## GC-MS Analysis of the Composition of Three Citrus Essential Oils and Comparison of Their Microbiostatic Activities

CHEN Yan<sup>1,2</sup>, PAN Xiaowei<sup>2</sup>, TAO Hong<sup>2</sup>, LIN Lianzhu<sup>1\*</sup>

(1. School of Food Science and Engineering, South China University of Technology, Guangzhou 510640, China)

(2. Technology Centre, China Tobacco Guangdong Industrial Co. Ltd., Guangzhou 510385, China)

**Abstract:** Three citrus species, Citri Reticulatae Pericarpium (CRP), lemon and kumquat, were selected as raw materials for the extraction of essential oils by supercritical CO<sub>2</sub> extraction. Gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS) was used to analyze the components of the samples, and the microbiostatic activities of the three essential oils against *Staphylococcus aureus* and *Aspergillus fumigatus* were also studied. The results showed that lemon essential oil had relatively high levels of alcohols (3.41%), aldehydes (2.55%), ketones (2.03%), esters (7.17%) and terpenes (34.06%), whereas the content of D-limonene (46.52%) was the lowest among the three essential oils. CRP essential oil had relatively high levels of terpenes (86.34%) and phenolic compounds (1.82%), while kumquat essential oil had relatively high levels of acid compounds (12.71%) and D-limonene (72.69%). The microbiostatic activities of these essential oils against *Staphylococcus aureus* and *Aspergillus fumigatus* were ranked as follows: lemon essential oil > CRP essential oil > kumquat essential oil.

引文格式:

陈彦,潘晓薇,陶红,等.三种柑橘类精油GC-MS分析及抑菌活性对比[J].现代食品科技,2024,40(1):84-91.

CHEN Yan, PAN Xiaowei, TAO Hong, et al. GC-MS analysis of the composition of three citrus essential oils and comparison of their microbiostatic activities [J]. Modern Food Science and Technology, 2024, 40(1): 84-91.

收稿日期: 2023-02-17

基金项目: 广东省基础与应用基础研究基金项目 (2022B1515120083)

作者简介: 陈彦 (1988-), 女, 博士, 研究方向: 香料提取, E-mail: xiao\_chenyan@126.com

通讯作者: 林恋竹 (1985-), 女, 博士, 研究员, 研究方向: 食品生物技术, E-mail: 343417838@qq.com

D-limonene was not the only microbiostatic component in the three essential oils, and their microbiostatic activities were closely related to microbiostatic components other than D-limonene. Other microbiostatic components, including  $\gamma$ -pinene and  $\beta$ -pinene, which were abundant in lemon essential oil, can work synergistically with D-limonene to effectively improve its microbiostatic activity. Essential oils extracted by this method can help to facilitate the development of related natural microbiostatic products.

**Key words:** citrus essential oil; supercritical fluid extraction; microbiostatic activity; gas chromatography-mass spectrometry

芸香科 (Rutaceae) 中柑橘属 (*Citrus*) 植物有 20 余种, 主要分布于亚热带和热带地区, 包括了柑、桔、橙、柚、柠檬等品种, 为重要的药食同源植物, 也是我国中医药领域常用的理气类中药的主要来源。柑橘类植物精油不仅安全还具有广谱抑菌性能, 可作为化学杀菌剂的天然替代品<sup>[1,2]</sup>。

柑橘类植物的抑菌活性主要来源于挥发油, 而挥发油的抑菌能力又取决于化合物的组成和含量<sup>[3]</sup>。柑橘类植物挥发油成分复杂, 目前主要采用 GC-MS 法对该类植物所提取的精油 (挥发油) 成分进行研究, 其中主要成分为柠檬烯<sup>[4]</sup>。研究发现, 陈皮精油<sup>[5]</sup>、柠檬精油<sup>[6]</sup>和金桔精油<sup>[7]</sup>中含有多种生物活性成分, 对各类细菌和真菌均有一定抑菌活性。部分文献报道柠檬烯是柑橘类精油主要的抑菌成分<sup>[8,9]</sup>, 但也有研究者认为精油中其他萜类化合物<sup>[10,11]</sup>, 酚醛类化合物<sup>[12-14]</sup>、含氧化合物<sup>[15]</sup>、醇类化合物和酮类化合物<sup>[16]</sup>才是决定其抑菌活性的关键。陈皮、柠檬和金桔这三种柑橘类植物的基原相同, 但因各自挥发油成分不同导致抑菌效果也不同, 目前尚缺乏系统的归纳和比较。

植物精油的组成不仅取决于品种, 也与提取手段和分离方法有关<sup>[17]</sup>。柑橘类精油的提取方法很多<sup>[18]</sup>, 其中超临界 CO<sub>2</sub> 流体萃取法是近年来发展较为迅速的提取方法, 具有低温高效提取、无溶剂残留等先天优势, 尤其适用于天然产物活性成分的提取。针对抑菌活性研究, 除了目前最常用的金黄色葡萄球菌作为模式致病细菌菌株以外, 烟曲霉菌则是一种重要的致病真菌<sup>[19]</sup>。其能引起人和动物的肺曲霉病等, 侵染苹果和棉铃等植物则会引起来果实腐烂。目前针对烟曲霉菌这种真菌类的抑菌产品研究较少, 迫切需要寻找天然针对烟曲霉菌的抑菌剂。因此, 本文利用 GC-MS 对超临界 CO<sub>2</sub> 萃取得到的陈皮、柠檬和金桔精油成分进行比较分析, 通过关联精油对金黄色葡萄球菌和烟曲霉菌的抑菌实验结果, 以期寻找该柑橘类精油抑菌活性与抑菌成分之间的关系, 为柑橘类精油在抑菌领域的应用提供一

定的理论支撑。同时可为针对烟曲霉菌的天然抑菌产品研发提供一定的帮助。

## 1 材料与方法

### 1.1 原料

#### 1.1.1 主要原料试剂及菌悬液制备

原料试剂: 陈皮, 购于广东福东海药业有限公司, 干柠檬片, 购于安岳永腾商贸有限公司, 干金桔片, 购于桐乡市海泰菊业有限公司。CO<sub>2</sub> (体积分数 99.9%), 购于盛盈气体有限公司; 乙醇 (体积分数 99.7%), 购于国药集团化学试剂有限公司; 金黄色葡萄球菌 (*Wild-type S. aureus*, ATCC6538) 和烟曲霉菌 (*Aspergillus fumigatus*, ATCC40537), 购于广州洛孚生物科技有限公司。

菌悬液制备: 在无菌条件下, 挑取母代菌株接种于液体培养基中, 金黄色葡萄球菌放置于 37 °C 恒温培养摇床中进行传代培养 24 h, 将菌液浓度用质量分数 0.9% NaCl 水溶液稀释至 10<sup>6</sup>~10<sup>7</sup> CFU/mL 备用; 烟曲霉菌放置于 28 °C 恒温培养摇床中进行传代培养 24~48 h, 用移液枪反复吹吸制成烟曲霉孢子悬液, 将菌液浓度用质量分数 0.9% NaCl 水溶液稀释至 10<sup>5</sup> CFU/mL 左右备用。

#### 1.1.2 主要仪器设备

仪器: 气相色谱质谱联用仪 (Perkin Elmer 680S; GC Clarus 680, MS Clarus SQ 8T), 美国仪器公司; 超临界 CO<sub>2</sub> 萃取设备 (SFE 221-50-06), 南通华兴石油仪器有限公司与华工联合研制; 中草药粉碎机 (FW177), 天津市泰斯特仪器有限公司; 电子分析天平 (MS205DU), 瑞士梅特勒-托利多公司; 涡旋混合器 (XW-80A), 上海精科实业有限公司; KBF 恒温恒湿箱, Binder 公司。

#### 1.1.3 试验方法

##### 1.1.3.1 精油提取

三种干品原料于 50 °C 下烘 8 h 干燥后, 打粉过 30 目筛后作为提取原料。用干品原料粉将 1 L 提取

罐装满, 记录其质量  $m_0$ , 置入超临界  $\text{CO}_2$  提取设备后进行提取。提取温度为  $50\text{ }^\circ\text{C}$ , 提取压力为  $15\text{ MPa}$ , 分离罐温度为  $50\text{ }^\circ\text{C}$ , 分离罐的压力为  $5\text{ MPa}$ ,  $\text{CO}_2$  流量控制在  $40\text{ L/h}$  左右, 提取  $1.5\text{ h}$ 。将冷藏保存的提取物趁冷于  $8\,000\times g$  条件下离心  $20\text{ min}$ , 分离取上清液, 得到精油, 称质量计为  $m_1$ 。按式 (1) 计算精油得率。

$$Y = \frac{m_1}{m_0} \times 100\% \quad (1)$$

式中:

$Y$ —得率, %;

$m_1$ —精油质量, g;

$m_0$ —原料质量, g。

### 1.1.3.2 精油成分GC-MS测定

进样口温度  $250\text{ }^\circ\text{C}$ ; 载气: 高纯度 He; 色谱柱 (Agilent Technologies InC; DB-5MS 122-5562;  $60\text{ m}\times 0.250\text{ mm}\times 0.25\text{ }\mu\text{m}$ ); 柱流速:  $1.0\text{ mL/min}$ ; 不分流; 进样量为  $1.0\text{ }\mu\text{L}$ ; 程序升温: 初温  $35\text{ }^\circ\text{C}$ , 保持  $5\text{ min}$  后以  $3\text{ }^\circ\text{C/min}$  的速率升温至  $180\text{ }^\circ\text{C}$  保持  $2\text{ min}$ ; 再以  $5\text{ }^\circ\text{C/min}$  升至  $240\text{ }^\circ\text{C}$ , 保持  $2\text{ min}$ 。

质谱参数设定: 电子轰击离子源 (EI); 电子电压为  $70\text{ eV}$ ; 离子源温度  $230\text{ }^\circ\text{C}$ ; 四级杆温度  $150\text{ }^\circ\text{C}$ ; 传输线温度  $280\text{ }^\circ\text{C}$ ; 扫描质量范围:  $35\sim 550\text{ m/z}$ 。溶剂延迟时间设置为  $7\text{ min}$ 。

采用软件自带检索谱库和 Nist 标准谱库对成分进行检索定性 (匹配度  $>80\%$ ), 采用手动积分, 峰面积归一化法进行定量。

### 1.1.3.3 精油抑菌性能测定

通过纸片扩散法对金黄色葡萄球菌抑菌活性进行测定<sup>[10]</sup>: 在琼脂平板上均匀涂布一层  $200\text{ }\mu\text{L}$  菌悬液, 用无菌镊子将浸有等量精油样品的滤纸片 ( $d_0=6\text{ mm}$ ) 均匀贴在培养基表面, 每皿三片作为平行, 以一片浸有等量  $0.9\%$  NaCl 水溶液空白纸片作对照, 四片滤纸呈四边形均匀分散放置。标号后将平板置于  $37\text{ }^\circ\text{C}$  倒置培养  $24\text{ h}$  后取出测量抑菌圈直径 ( $d$ ), 计算三个平行实验的平均值及误差。抑菌圈越大表明精油对测试菌的抑制生长能力越强, 反之则越弱, 可用抑菌圈直径增长值 ( $d-d_0$ ) 表示。

由于烟曲霉菌的菌落形貌与金黄色葡萄球菌有所差异, 为了更方便研究精油对烟曲霉菌的抑菌效果, 烟曲霉菌的抑菌操作为两种。一种与金黄色葡萄球菌相同的抑菌操作类似, 标号后将平板置于  $28\text{ }^\circ\text{C}$  倒置培养  $24\text{ h}$  后观察抑菌效果。另一种抑菌操作是在平板培养基上均匀涂布一层  $200\text{ }\mu\text{L}$  精油, 然后将琼脂平板置于室温 ( $25\text{ }^\circ\text{C}$  左右) 静置干

燥后涂布一层  $100\text{ }\mu\text{L}$  菌液在培养基表面。标号后将平板置于  $28\text{ }^\circ\text{C}$  倒置培养  $72\text{ h}$  后观察烟曲霉菌的生长状况。菌落尺寸越大表明精油对测试菌的抑制生长能力越弱, 反之则越强。

整个实验过程均在无菌环境中操作。

### 1.1.3.4 统计方法

金黄色葡萄球菌抑菌实验分别进行三次平行, 并以数据平均值  $\pm$  标准差表示, 方差是用三个样本均数差异的显著性检验,  $P<0.05$  时说明有统计学意义<sup>[20]</sup>。

## 2 结果与讨论

### 2.1 精油提取率分析

三种柑橘类植物原料及对应提取物形貌如图 1 所示。陈皮提取物大部分为精油, 有少量沉淀, 精油呈橙红色, 得率为  $6.37\%$ 。柠檬提取物有明显沉淀, 精油呈深褐色, 得率为  $1.63\%$ 。金桔片提取物为膏状, 精油呈红褐色, 得率为  $0.78\%$ 。经三种精油得率比较可知, 陈皮精油得率最高, 柠檬片精油次之, 金桔片精油得率最低。相比于其他方法<sup>[21,22]</sup>, 利用该工艺提取的柑橘类精油得率较高。

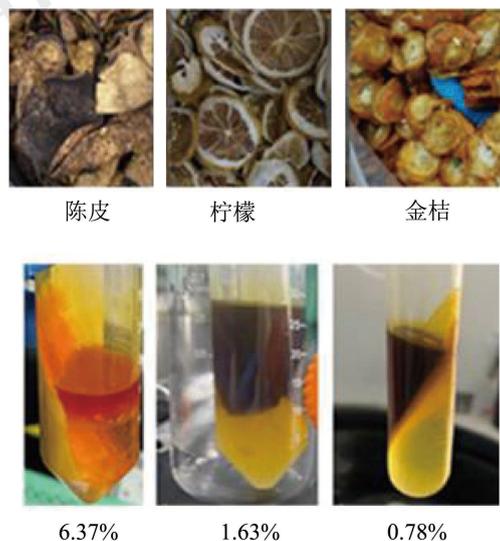


图 1 原料 (上) 及提取物 (下) 形貌图和精油得率  
Fig.1 The pictures of raw materials (the upper row), extracts (the lower row) and essential oil yield

### 2.2 精油成分分析

精油的抑菌性能与其成分有直接关系, 为此首先将用于抑菌活性研究的三种精油进行成分分析, 测定步骤如 1.1.3.2 所述。图 2 为三种精油的总离子流图, 由图可知, 柠檬精油的组成更为丰富, 陈皮

精油次之，金桔精油则以 D-柠檬烯（保留时间在 30 min 左右）为主。为了深入分析精油的抑菌活性，将文献中已报道的具有抑菌活性的成分<sup>[8-16]</sup>汇总后对应精油中成分绘制带有抑菌成分标记的表 1（由于成分过多，表中只记录含量 0.5% 的物质，化合物分类按所有物质统计）。通过对比可知，三种精油均以萜烯类化合物为主，其中柠檬精油中的醇类、醛类、酮类和酯类化合物明显高于陈皮精油和金桔精油，陈皮精油中的萜烯类、酚类化合物含量较高，金桔精油中的酸类化合物含量较高。陈皮精油的总抑菌活性成分含量最高（89.71%），金桔精油次之（81.74%），柠檬精油中含量最低（78.84%）。

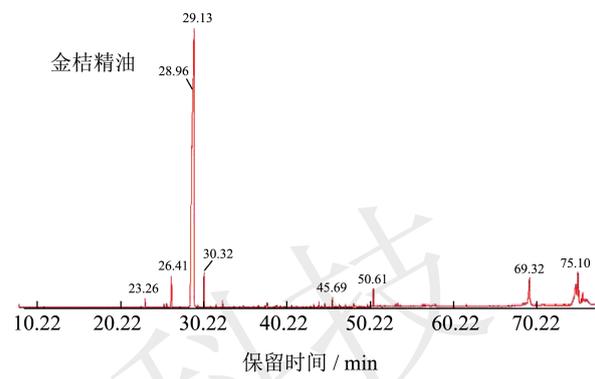
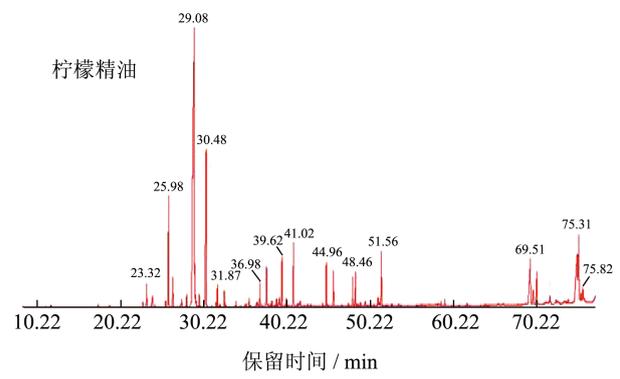
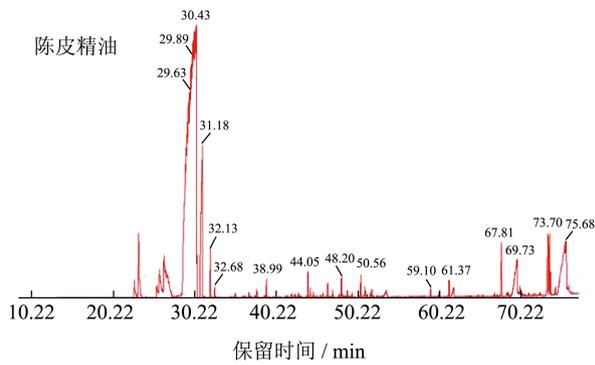


图 2 三种精油成分总离子流图

Fig.2 Total ionization chromatography profile of the three kinds of essential oil components

表 1 三种精油挥发性成分及抑菌成分分析

Table 1 The results of volatile components and antifungal components analysis of three kinds of essential oils

序号	保留时间 /min	物质	CAS	类型	相对含量/%		
					陈皮精油	柠檬精油	金桔精油
1	23.89	$\alpha$ -蒎烯 *	80-56-8	萜烯	2.44	2.08	0.57
2	24.84	蒎烯 *	79-92-5	萜烯	-	1.20	-
3	26.22	$\beta$ -水芹烯 *	555-10-2	萜烯	0.27	1.40	0.17
4	26.68	左旋- $\beta$ -蒎烯 *	18172-67-3	萜烯	0.69	7.07	0.02
5	26.88	$\beta$ -蒎烯 *	127-91-3	萜烯	3.56	1.88	2.20
6	30.2	D-柠檬烯 *	138-86-3	萜烯	71.74	46.52	72.69
7	31.3	$\gamma$ -松油烯 *	99-85-4	萜烯	6.90	8.87	0.01
8	32.43	萜品油烯	586-62-9	萜烯	-	0.82	0.02
9	37.37	4-萜烯醇 *	562-74-3	醇	0.07	0.67	-
10	37.93	$\alpha$ -松油醇 *	98-55-5	醇	0.04	0.87	0.03
11	40.27	左旋香芹酮 *	6485-40-1	酮	0.02	1.39	0.05
12	41.46	(E)-3,7-二甲基-2,6-辛二烯醛	141-27-5	醛	-	1.99	-
13	42.3	香芹酚 *	499-75-2	酚	1.69	-	-
14	44.6	乙酸橙花酯 *	141-12-8	酯	0.21	1.23	0.52
15	44.89	乙酸香叶酯 *	16409-44-2	酯	0.09	0.93	0.42
16	48.67	$\beta$ -石竹烯 *	87-44-5	萜烯	0.19	1.61	0.58
17	48.96	异丁香烯	118-65-0	萜烯	-	1.91	0.01

续表1

序号	保留时间/min	物质	CAS	类型	相对含量/%		
					陈皮精油	柠檬精油	金桔精油
18	51.05	大根香叶烯 *	23986-74-5	萜烯	-	-	1.80
19	51.38	姜烯	495-60-3	萜烯	-	1.05	0.05
20	51.54	佛术烯	10219-75-7	萜烯	-	0.66	0.09
21	52.02	$\beta$ -红没药烯	495-61-4	萜烯	-	3.27	0.05
22	68.31	棕榈酸甲酯	112-39-0	酯	0.74	-	-
23	69.97	棕榈酸	1957/10/3	酸	2.16	1.72	2.73
24	70.57	5,7-二甲氧基香豆素	487-06-9	内酯	-	1.20	-
25	70.6	棕榈酸乙酯	628-97-7	酯	0.10	-	0.75
26	73.45	顺式 11,14,17-二十碳三烯酸甲酯	55682-88-7	酯	-	-	0.57
27	73.97	十七烷酸	506-12-7	酸	0.96	-	-
28	74.17	亚油酸甲酯	112-63-0	酯	0.86	-	-
29	75.37	$\alpha$ -亚麻酸	463-40-1	酸	-	-	4.17
30	75.54	亚麻酸乙酯	1191-41-9	酯	-	2.96	1.22
31	75.69	亚油酸	60-33-3	酸	2.50	-	3.79
32	75.72	十八烷酸	506-17-2	酸	-	1.53	-
33	75.89	亚油酸乙酯	7619/8/1	酯	1.41	0.35	-
34	75.96	硬脂酸 *	1957/11/4	酸	0.28	0.50	1.39
35	76.25	油酸乙酯	111-62-6	酯	0.22	-	1.42
* 抑菌成分					89.71	78.84	81.74
* 抑菌成分 (除 D-柠檬烯)					17.97	32.32	9.05
萜烯类化合物					86.34 (*86.02)	80.58 (*71.85)	79.59 (*78.71)
* 抑菌萜烯 (除 D-柠檬烯)					14.28	25.33	6.02
醇类化合物					0.90 (*0.69)	3.41 (*2.17)	1.23 (*0.28)
酚类化合物					1.82 (*1.82)	- (*-)	0.04 (*0.04)
醛类化合物					0.34 (*0.11)	2.55 (*0.08)	0.44 (*0.03)
酮类化合物					0.37 (*0.37)	2.03 (*1.95)	0.05 (*0.05)
氧化物类化合物					0.08 (*0.08)	0.06 (*-)	0.43 (*0.12)
酯类化合物					3.71 (*0.34)	7.17 (*2.29)	5.47 (*1.01)
酸类化合物					6.43 (*0.28)	4.19 (*0.50)	12.71 (*1.46)

注: \* 表示抑菌成分及其含量。

为了方便比较三种精油成分, 将其分类后绘制对比图 3a~c。由图 3a 可知, 柠檬精油中含有较高的醇类、醛类、酮类以及萜烯类化合物, 陈皮精油中以上几类化合物含量次之, 酚类化合物含量较高, 金桔精油中则氧化物、酸类和其余化合物含量更高。通过已报道具有抑菌活性成分对比图 3b 可知, 抑菌成分在柠檬精油中总占比最低, 陈皮精油中总占比最高, 但抑菌成分中萜烯类化

合物占比最大, 尤其是 D-柠檬烯的占比 (表 1)。当除去 D-柠檬烯后 (图 3c), 柠檬精油中除 D-柠檬烯以外的抑菌成分总含量及除 D-柠檬烯以外的萜烯类抑菌成分含量最高, 陈皮精油次之, 金桔精油中含量最少。为了进一步探究三种精油挥发性成分的组成特性, 选取三种精油共有成分中含量超过 2% 的物质进行对比分析, 如图 3d 所示。由图可知, 陈皮精油中含量较多的三种物质分别

是 D-柠檬烯 (71.74)、 $\gamma$ -松油烯 (6.90%) 和  $\beta$ -蒎烯 (3.56%); 柠檬精油中含量较多的三种物质是 D-柠檬烯 (46.52%)、 $\gamma$ -松油烯 (8.87%) 和左旋- $\beta$ -蒎烯 (7.07%); 金桔精油中含量较多的三种物质是 D-柠檬烯 (72.69%)、 $\alpha$ -亚麻酸 (4.17%)

和亚油酸 (3.79%)。陈皮精油与金桔精油中 D-柠檬烯的含量均较高, 柠檬精油与陈皮精油的成分组成则更为相近。其中 D-柠檬烯、 $\gamma$ -松油烯、左旋- $\beta$ -蒎烯和  $\beta$ -蒎烯均为已报道具有抑菌活性的物质。

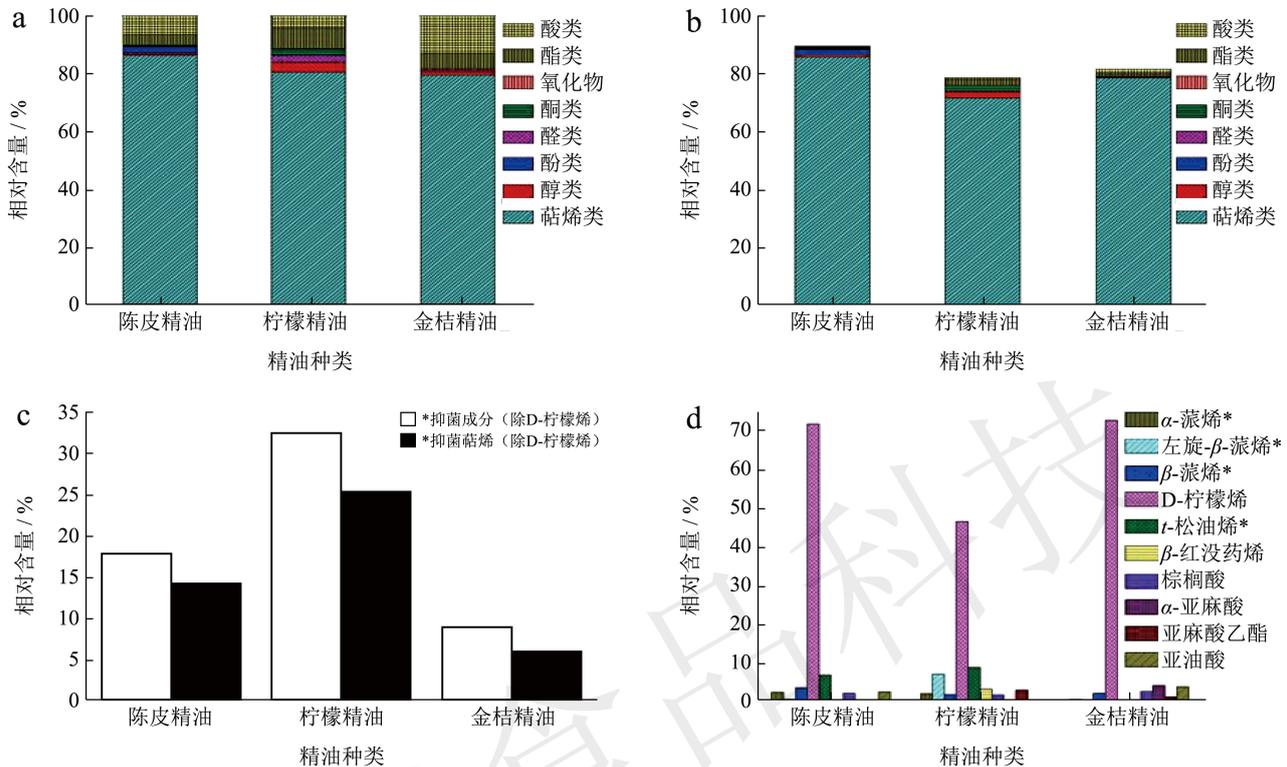


图3 三种精油成分对比图 (a)、抑菌成分对比图 (b,c) 和主要成分对比图 (d)

Fig.3 Comparison of components (a), components with antibacterial properties (b,c) and main components (d) of three kinds of essential oils

注: \* 为抑菌成分。

### 2.3 精油抑菌活性分析

通过实验发现, 三种精油对金黄色葡萄球菌和烟曲霉菌均具有一定的抑菌活性, 实验结果分别如图 4a 和 b 所示。由图 4a 可知, 柠檬精油对金黄色葡萄球菌的抑菌效果最好, 抑菌圈直径增长值可达 (4.1 mm), 陈皮精油次之 (1.5 mm), 金桔精油最差 (1.2 mm), 抑菌圈直径增长值右肩字母不同表示差异显著 ( $P < 0.05$ )。在烟曲霉菌的抑菌实验中 (图 4b), 上层纸片扩散法抑菌实验中四片滤纸中未涂精油的空白滤纸已被菌落淹没。下层未涂精油的空白平板中烟曲霉菌的菌落直径为 27 mm, 涂有柠檬精油的平板中烟曲霉菌的菌落直径最小 (6 mm); 涂有陈皮精油的平板中菌落直径为 11 mm, 约为对应柠檬精油的二倍; 涂有金桔精油的平板中菌落则更

大, 直径可达 21 mm, 约为对应柠檬精油的四倍, 陈皮精油的二倍。

三种精油对这两种菌的抑菌效果强弱顺序均为柠檬 > 陈皮 > 金桔。通过与图 3c 和 d 对比可知, 精油中 D-柠檬烯的含量以及包括 D-柠檬烯在内的已知具有抑菌特性成分总量高低并非是决定精油抑菌活性的关键因素, 除 D-柠檬烯以外的抑菌成分, 尤其是柠檬精油中含量丰富的  $\gamma$ -松油烯和  $\beta$ -蒎烯等萜烯类化合物 (32.32%)、醇类化合物 (2.17%)、酮类化合物 (1.95%) 以及酯类化合物 (2.29%) 可与 D-柠檬烯协同起到有效提高精油抑菌活性的作用<sup>[23]</sup>。相比于纯品抑菌剂, 三种精油中各类天然抑菌成分间的相互协同作用使得其具有不同的抑菌活性<sup>[23]</sup>。

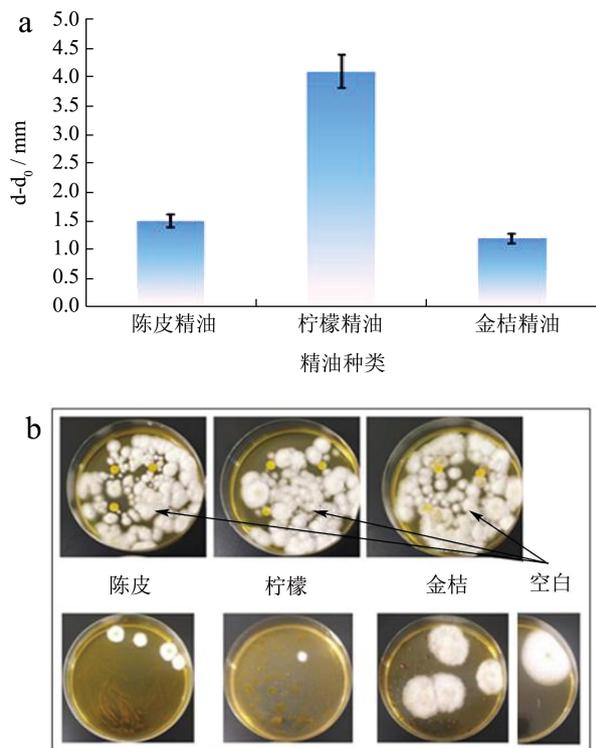


图4 精油对金黄色葡萄球菌抑菌效果对比图(a)和精油对烟曲霉的抑制效果图(b)

Fig.4 Comparison of the antibacterial effect of essential oilson *Staphylococcus aureus* (a) and on *Aspergillus fumigates* (b)

注:图b的上排为纸片扩散法,下排为平板涂布精油后菌落生长对比法。

### 3 结论

金黄色葡萄球菌是抑菌实验中革兰氏阳性菌的代表,为一种常见的食源性致病细菌。烟曲霉菌则为常见的致病真菌代表。目前除了研究最常见的金黄色葡萄球菌抑菌剂外,也迫切需要寻找天然针对烟曲霉菌的抑菌剂。为了寻找柑橘类精油抑菌活性与抑菌成分之间的关系,本文以三种柑橘类植物为原料,采取超临界CO<sub>2</sub>流体萃取法高效提取精油,通过精油的GC-MS成分分析与抑菌效果对比发现,三种柑橘类精油对金黄色葡萄球菌和烟曲霉菌均具有明显的抑菌活性,表明该类精油具有一定的广谱抗菌性。其中抑菌效果最高的均为醇类、醛类、酮类化合物以及除D-柠檬烯以外的萜烯类化合物含量较高的柠檬精油,其次是以上几类化合物含量次之,酚类化合物含量较高的陈皮精油,而氧化物、酸类和其余化合物含量较高的金桔精油的抑菌效果最差。D-柠檬烯的含量以及包括D-柠檬烯在内的已知具有抑菌特性成分总量在柑橘类精油中并非越高对金黄色葡萄球菌和烟曲霉菌的抑菌效果越好,

其中柠檬精油中含量较高其他抑菌成分,例如 $\gamma$ -松油烯和 $\beta$ -蒎烯等其他萜烯类化合物、醇类化合物、酮类化合物以及酯类化合物可与D-柠檬烯协同起到有效提高精油抑菌活性的作用。三种精油中各类抑菌成分间不同的相互协同作用使得其具有不同的抑菌活性,柑橘精油中真正决定抑菌活性大小的抑菌成分配比规律,有待进一步确证。本研究有望为该类产品以及相关柑橘类精油的提取、成分分析及应用提供一定的理论参考。该方法所提取的精油可为相关天然抑菌产品研发提供一定帮助。

### 参考文献

- [1] CHEN J Y, SHEN Y T, CHEN C Y, et al. Inhibition of key citrus postharvest fungal strains by plant extracts *in vitro* and *in vitro*: a review [J]. *Plants*, 2019, 8: 26.
- [2] ZEMA D A, CALABRO P S, FOLINO A, et al. Valorisation of citrus processing waste: A review [J]. *Waste Management*, 2018, 88: 252-273.
- [3] LIU W B, ZHANG B Y, XIN Z Q, et al. GC-MS fingerprinting combined with chemometric methods reveals key bioactive components in *acori tatarinowii rhizoma* [J]. *Molecular Sciences*, 2017, 18: 1342.
- [4] HIMASHREE B, MADHU K, DIPENDRA K M, et al. Citrus essential oils (CEOs) and their applications in food: an overview [J]. *Plants*, 2020, 9: 357.
- [5] 段亮亮,高杨楚楚,刘宁,等.陈皮精油对大肠杆菌的抑菌作用研究[J]. *食品安全质量检测学报*, 2022, 13(1): 231-238.
- [6] 王木岭,马旋垒,楔栖,等.柠檬精油的GC-MS分析及其抗炎、抗菌活性研究[J]. *粮食与油脂*, 2021, 34(7): 56-61.
- [7] WANG Y W, ZENG W C, XU P Y, et al. Chemical composition and antimicrobial activity of the essential oil of kumquat (*Fortunella crassifolia* Swingle) peel [J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2012, 13: 3382-3393.
- [8] 郭苗苗,郑炜圣,王韵章,等.柑橘皮挥发油的成分分析及抗菌活性的研究[J]. *食品工业*, 2013, 34(5): 149-151.
- [9] 李巧巧,雷激,唐洁,等.商品柑橘精油的抑菌性及其应用研究[J]. *食品与机械*, 2011, 27(6): 160-162.
- [10] GAO B, CHEN Y L, ZHANG M W, et al. Chemical composition, antioxidant and antimicrobial activity of *Pericarpium citri reticulatae* essential oil [J]. *Molecules*, 2011, 16: 4082-4096.
- [11] SARA B. Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods-a review [J]. *International Journal of Food Microbiology*, 2004, 94: 223-253.
- [12] ALINE C G, LEANDRA M M, MAYARA F L, et al.

- Antibacterial activity of terpenes and terpenoids present in essential oils [J]. *Molecules*, 2019, 24: 2471.
- [13] RAO J J, CHEN B C, DAVID J M. Improving the efficacy of essential oils as antimicrobials in foods: mechanisms of action [J]. *Annu Rev Food Sci Technol*, 2019, 25, 365-387.
- [14] AMR E E. Pharmaceutical and therapeutic potentials of essential oils and their individual volatile constituents: a review [J]. *Phytother Res*, 2007, 21: 308-323.
- [15] KALEMBA D, KUNICKA A. Antibacterial and antifungal properties of essential oils [J]. *Current Medicinal Chemistry*, 2003, 10: 813-829.
- [16] 王梁凤,李慧婷,陈青垚,等.中药挥发油抗菌作用的研究进展[J].*中国中药杂志*.2021,46(5),1026-1033.
- [17] HU X, WANG R R, GUO J J, et al. Changes in the volatile components of candied kumquats in different processing methodologies with headspace–gas chromatography–ion mobility spectrometry [J]. *Molecules*, 2019, 24: 3053.
- [18] 贾静波.柑橘精油提取及其应用研究进展[J].*宁夏农林科技*,2016,57(1):38-39,49.
- [19] 王鹏.四君子汤对烟曲霉菌生长和毒性代谢的抑制作用以及相关分子机制的研究[D].南昌:南昌大学,2011.
- [20] 孙达,夏兵.三种植物精油的成分分析及其抑菌活性比较[J].*现代食品科技*,2020,36(11):104-113.
- [21] 李俊健,林锦铭,高杰贤,等.陈皮挥发油提取、成分分析及应用的研究进展[J].*中国调味品*,2021,44(8):169-173.
- [22] 王晓萌,李祯,刘和月,等.柠檬精油提取技术研究进展[J].*山东化工*,2019,48:82-84.
- [23] 郝文凤,田玉红,董菲,等.植物精油协同抑菌的研究进展[J].*中国调味品*,2020,45(3):172-175.

现代食品科技