

槐花精油的化学成分及其抑菌活性的研究

陈屹, 章银珠, 孙石磊, 姚卫蓉

(江南大学食品学院, 江苏 无锡 214122)

摘要: 采用同时蒸馏萃取法提取槐花精油, 用气相-质普联用技术(GC-MS)分析其化学成分; 鉴定出 43 种化合物, 占出峰总面积的 98.49%; 主要成分为十六酸(38.69%)、亚油酸甲酯(10.13%)、2-甲氧基-4-(2-丙烯基)-苯酚(6.71%)、亚麻酸(6.35%)、2-羟基-3-甲基-4H-吡喃-4-酮(3.49%)、8-十七碳烯(2.44%)、二苯砜(2.44%)、6,10,14-三甲基-2-十五酮(1.85%)、4-乙烯基-2-甲氧基苯酚(1.82%)等。体外抑菌实验显示该精油对金黄色葡萄球菌 ATCC 6538、伤寒沙门氏菌 CMCC50013、志贺氏痢疾杆菌 CMCC51334、埃希氏大肠杆菌 ATCC 8099 均有抑制作用。

关键词: 槐花; 精油; 气相色谱-质谱; 抑菌活性; 最低抑菌浓度

中图分类号: TS201.2; 文献标识码: A; 文章编号: 1673-9078(2008)04-0318-04

Chemical Composition and Antimicrobial Activity of Essential Oil from *Flos Sophorae Immaturus*

CHEN Yi, ZHANG Yin-zhu, SUN Shi-lei, YAO Wei-rong

(School of Food Science & Technology, Jiangnan University, Wuxi 214122, China)

Abstract: The chemical composition of the essential oil obtained from *Flos Sophorae Immaturus* by simultaneous distillation-extraction was analyzed by GC-MS. 43 Kinds of compounds (about 98.49% of the total peak areas) in the essential oil were identified and the major components were hexadecanoic acid(38.69%), 9,12-octadecadienoic acid methyl ester(10.13%), 2-methoxy-4-(2-propenyl)-phenol(6.71%), 9,12,15-Octadecatrienoic acid (6.35%), 2-hydroxy-3-methyl-4H-pyran-4-ketone(3.49%), 8-heptadecene(2.44%), 1,1'-sulfonylbis-benzene (2.44%), 6,10,14-trimethyl-2-pentadecanone(1.85%), 4-vinyl-2-methoxy-phenol(1.82%). In vitro antimicrobial experiments showed that the essential oil had antibacterial activities against *Staphylococcus aureus* ATCC 6538, *Salmonella typhi* CMCC 50013, *Shigella dysenteriae* CMCC 51334 and *Escherichia coli* ATCC 8099.

Key words: *Flos Sophorae Immaturus*; essential oil; GC-MS; antimicrobial activity; minimum inhibitory concentration

槐花又名槐蕊, 始载于《日华子本草》, 为豆科植物槐(*Sophora japonica* L.)的干燥花及花蕾, 前者习称为“槐花”, 后者习称为槐米。槐花原产于我国北部, 华南及西南地区亦产, 河北省产量较丰富, 江苏主产于镇江、苏州、南京、徐州等地。其非挥发性成分主要为芸香甙, 有少量的槲皮素、山萘酚。性味苦、微寒, 归肝、大肠经。《中国药典》称其凉血止血、清肝泻火, 用于便血、痔血、血痢、崩漏、吐血、衄血、肝热目赤、头痛眩晕等^[1], 为中医常用的止血药。国内外对于槐花的研究主要集中在槐花黄酮的抗氧化性、治疗疾病方面^[2,3], 而槐花的化学成分虽有很多人做过分析^[4], 但其精油的抗菌性研究未见报道。

收稿日期: 2007-12-27

作者简介: 陈屹(1981-), 男, 硕士研究生, 研究方向为食品安全与质量控制

通讯作者: 姚卫蓉教授

本文首先测定了槐花精油的化学成分, 并首次探索了槐花精油的抑菌活性, 以期为进一步开发利用这一丰富的植物资源提供基础科学依据。

1 材料和方法

1.1 材料

1.1.1 原料

中药槐米(产地: 江苏, 无锡市健康参药店购买)。

1.1.2 试验菌种

埃希氏大肠杆菌 ATCC 8099 (*Escherichia coli*)、金黄色葡萄球菌 ATCC 6538 (*Staphylococcus aureus*)、伤寒沙门氏菌 CMCC 50013 (*Salmonella typhi*)、志贺氏痢疾杆菌 CMCC 51334 (*Shigella dysenteriae*)、黑曲霉 ATCC 16404 (*Aspergillus niger*)。以上细菌菌种由无锡市疾病预防控制中心提供。

1.1.3 细菌用营养琼脂培养基培养

成分为蛋白胨 10 g, 牛肉膏 3 g, NaCl 5 g, 琼脂 18 g, 加蒸馏水至 1000 mL, pH 7.2~7.4; 营养肉汤用于细菌的液体培养。霉菌用马铃薯培养基培养: 用市售新鲜马铃薯, 去皮切成小块, 称 100 g 加水约 400 mL 煮沸 30 min, 纱布过滤, 加葡萄糖 10 g, 琼脂 10 g, 加蒸馏水至 500 mL, 自然 pH 值。

1.1.4 菌悬液或孢子悬液制备

采用比浊法配成最终浓度 10^6 cfu/mL左右的菌悬液和 10^4 cfu/mL左右的孢子悬液。

1.2 方法

1.2.1 槐花精油的提取^[5]

称取干燥槐花约50 g放入1000 mL圆底烧瓶中, 加入350 mL蒸馏水浸泡约3 h。将该烧瓶接入同时蒸馏萃取装置的一个接口, 另一接口与盛有50 mL无水乙醚的100 mL圆底烧瓶相连。装样品和盛乙醚萃取剂的圆底烧瓶分别用电热套和水浴(水浴温度50 ℃)加热, 同时蒸馏萃取2.5 h。向萃取后的乙醚溶液中加入30 g无水硫酸钠, 干燥过夜。去除干燥剂后精馏乙醚溶液至5 mL左右, 用氮气吹至1 mL, 得淡黄绿色精油, 直接用于GC-MS分析。

1.2.2 GC-MS 的测定条件

气相色谱条件: 采用美国 Finnigan 公司 TRACE MS 仪器。HP-5 毛细管色谱柱(30 m×320 μm×0.25 μm); 采用程序升温: 初温 60 ℃, 5 ℃/min 升温至 270 ℃, 保持 30 min; 进样口温度 250 ℃; 载气为高纯氦气, 流速 1.0 mL/min, 进样量 0.1 μL, 分流比 20:1。

质谱条件: 电离方式为电子轰击(EI), 电子能量 70 eV; 接口温度 210 ℃; 四极杆温度 150 ℃; 电子倍增器电压 1.89 kV; 扫描范围 35~500 emu。

利用 WILLEY、REPLIB 及 MAINLIB 三个谱库进行串联检索, 并结合相关文献资料, 对采集到的成分进行定性。

1.2.3 槐花精油的抑菌圈测定

采用琼脂扩散法^[6]。用无菌移液枪吸取 0.1 mL 悬菌液, 加入已倒好培养基的平皿中涂布均匀。取 10 μL 精油轻轻吸附在灭过菌的滤纸片(d=6 mm)上, 用镊子夹取滤纸片放置于含菌平皿上, 每皿三个, 呈正三角形均匀分散放置在平皿中央, 每个菌种做三组平行。以无菌蒸馏水和 20 万单位的青霉素分别做阴阳性对照。暗室培养(细菌: 37 ℃/24 h; 霉菌: 28 ℃/48 h)。测定抑菌圈直径, 取平均值。

1.2.4 槐花精油最低抑菌浓度(MIC)的测定^[7]

采用二倍稀释法, 以丙酮为溶剂, 配制一系列梯度浓度的精油溶液, 将此梯度浓度的精油溶液加入已

融化好的培养基中, 混合均匀, 使培养基中含精油的浓度分别为 25.0 μL/mL、12.5 μL/mL、6.25 μL/mL、3.13 μL/mL、1.56 μL/mL、0.78 μL/mL、0.39 μL/mL、0.20 μL/mL、0.10 μL/mL、0.05 μL/mL。待培养基冷却凝固后, 平板划线接种, 按前述条件培养, 观察结果, 每一精油浓度梯度作 3 组平行试验, 与对照组(菌落正常生长)比较, 有肉眼可见菌落生长者为无抑制作用, 以完全没有菌生长的最低精油浓度为其最低抑菌浓度(MIC, minimum inhibitory concentration), 以丙酮作对照。

1.2.5 细菌生长抑制效果的测定

选择抑菌效果较好的金黄色葡萄球菌和大肠杆菌, 制成含MIC浓度精油的带菌培养液, 将试管置于 37 ℃恒温培养箱中培养, 每隔 2 h 测定并记录 OD₆₃₀ 值 (Multiskan MK3-Thermo labsystems 酶标仪), 每隔 4 h 活菌计数(培养 24 h 观察结果), 并以不含精油的带菌营养肉汤培养基作空白对照; OD₆₃₀ 值用 4 组平行样求平均值, 活菌计数取 3 个平行样的平均值, 分别以培养时间为横坐标绘制生长曲线。

2 结果与讨论

2.1 槐花精油的成分

对江苏地区槐花精油化学成分进行 GC-MS 分析。实验分离出 52 种组分, 经数据库检索, 并核对质谱标准图谱, 确认了 43 种成分, 占总峰面积的 98.49%。各组分的含量按峰面积归一化法计算而得, 结果如表 1 所示。

表 1 槐花精油的化学成分

Table 1 Chemical constituents of essential oil from *Flos*

<i>Sophorae Immaturus</i>		
保留时间/min	化合物名称	相对含量/%
3.219	庚醛	0.508
4.211	2-庚烯醛	0.345
4.358	5-甲基糠醛	0.787
4.685	1-(3-羟基-2-咪唑基)乙酮	1.170
4.889	2-戊基咪唑	0.593
5.082	己酸	0.562
5.136	3-甲氧基嘧啶	0.773
5.847	苯甲醇	0.466
6.031	苯乙醛	0.588
6.516	1-(1H-吡咯-2-基)乙酮	0.626
7.057	2-甲氧基苯酚	0.636
7.149	庚酸	0.310
7.387	壬醛	1.760

7.622	2-羟基-3-甲基-4H-吡喃-4-酮	3.490
8.507	2,6-壬二烯醛	0.367
8.65	壬烯醛	0.357
9.189	辛酸	0.513
10.072	2,3-二氢苯并呋喃	1.080
11.371	壬酸	1.550
12.101	4-乙烯基-2-甲氧基苯酚	1.820
13.057	2-甲氧基-4-(2-丙烯基)-苯酚	6.710
14.284	反式石竹烯	0.402
15.013	乙酸香叶酯	0.362
15.685	反式-β-紫罗兰酮	0.603
16.36	3,4-二甲基-2-己烯	1.490
16.539	5,6,7,7a-四氢-4,4,7a-三甲基-2(4H)- 苯并呋喃	0.543
17.282	月桂酸	0.434
17.555	石竹烯氧化物	1.220
19.292	8-十七碳烯	2.440
20.892	十四酸	1.300
22.205	6,10,14-三甲基-2-十五酮	1.850
23.469	二苯砜	2.440
23.536	软脂酸甲酯	0.392
24.307	十六酸	18.490
24.402	正十六酸	20.200
26.235	亚麻酸甲酯	0.567
26.415	3,7,11,15-四甲基-2-十六碳-1-醇	0.910
26.885	亚油酸甲酯	10.131
26.975	亚麻酸	6.350
27.231	9-十八碳烯酸	1.260
29.042	二十四烷	0.524
31.674	三十一烷	0.875
34.116	四十四烷	0.754

本文得到的槐花精油主要成分为十六酸(38.69%)、亚油酸甲酯(10.13%)、2-甲氧基-4-(2-丙烯基)-苯酚(6.71%)、亚麻酸(6.35%)、2-羟基-3-甲基-4H-吡喃-4-酮(3.49%)、8-十七碳烯(2.44%)和二苯砜(2.44%)等,与文献[8]报道的主要化学成分和含量均不同。文献[8]报道的槐米挥发性化学成分主要为1,9,12-三氧-4,6-二氨基环十四烷-5-硫酮(20.58%)、十六酸(9.05%)、9,12,15-十八碳三烯醇(7.05%)、9,12-十八碳二烯酸(6.85%)和β-谷甾醇(6.11%)。本文采用同时蒸馏萃取法,乙醚作为萃取剂,而文献[8]采用微波辅助法萃取,乙醇作为萃取剂,提取方法和两种萃取剂极性不同,可能导致得到的槐米挥发油主要化学成分和含量的差异。

2.2 槐花精油的抑菌效果

从表2可以看出,槐花精油对所选5种菌种的抑制效果明显不同。抑菌圈实验和MIC值实验均标明槐花精油对金黄色葡萄球菌抑制最强;虽然抑菌圈实验表明槐花精油对大肠杆菌有较强的抑制作用,但是在MIC实验的浓度范围内,均没有发现抑菌作用。这其中的原因尚需进一步确证。槐花精油对志贺氏痢疾杆菌和伤寒沙门氏菌均有抑制作用,但是相对金黄色葡萄球菌的抑制效果要稍差些。由于抑菌圈实验表明槐花精油对黑曲霉没有抑制作用,就没有进一步测定其MIC值。

表2 槐花精油的抑菌效果

Table 2 Antimicrobial effect of essential oil from *Flos Sophorae Immaturus*

菌株	抑菌圈直径/mm	MIC/(μL/mL)
埃希氏大肠杆菌 ATCC ^a 8099	+++	>25.0
志贺氏痢疾杆菌 CMCC ^b 51334	++	1.56
金黄色葡萄球菌 ATCC 6538	+++	0.39
伤寒沙门氏菌 CMCC 50013	++	0.78
黑曲霉 ATCC 16404	-	/

注: ^aATCC, 美国典型菌种保藏中心(American Type Culture Collection)的缩写; ^bCMCC, 中国医学微生物菌种保藏管理中心(National Center for Medical Culture Collection)的缩写。抑菌圈实验判定标准: 抑菌圈直径大于20 mm: +++; 15~20 mm: ++; 10~15 mm: +; 7~9 mm: +; 小于7 mm: -。/: 未测定

2.3 槐花精油对金黄色葡萄球菌和大肠杆菌生长的影响

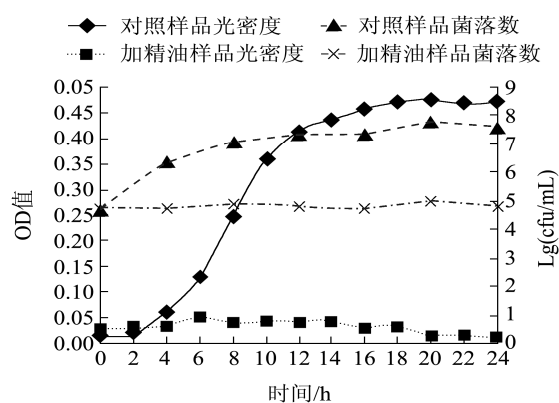


图1 槐花精油对金黄色葡萄球菌生长的影响

Fig.1 Effect of essential oil from *Flos Sophorae Immaturus* on the growth of *Staphylococcus aureus*

从图1、图2可知,金黄色葡萄球菌和大肠杆菌的生长光密度和活菌数,变化趋势基本一致。但大肠杆菌光密度生长曲线在8~24 h这一段时间内,还有一定

的上升,同时活菌数在12~24 h这段时间也有一定上升;而金黄色葡萄球菌在0~24 h这段时间内,无论光密度曲线,还是菌落数曲线都保持平稳。这说明金黄色葡萄球菌在精油的作用下被完全抑制,停止生长。因此,槐花精油对大肠杆菌的生长有一定的抑制作用,对金黄色葡萄球菌的生长则可以完全抑制。

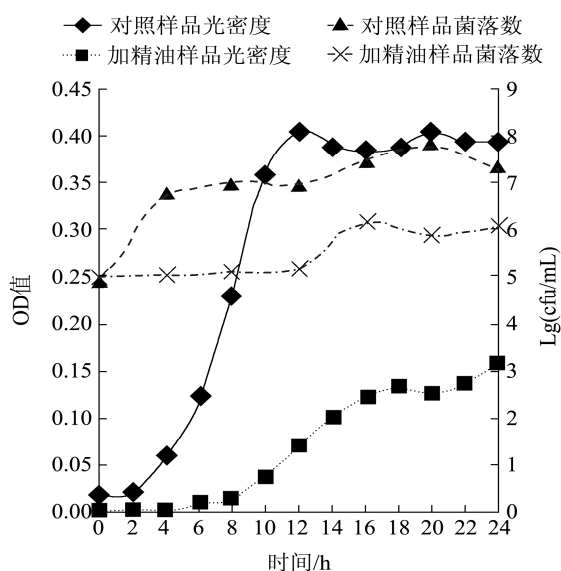


图2 槐花精油对大肠杆菌生长的影响

Fig.2 Effect of essential oil from *Flos Sophorae Immaturus* on the growth of *Escherichia coli*

3 结论与展望

采用同时蒸馏萃取法,以无水乙醚为萃取剂提取槐花精油,用 GC-MS 法分析了精油中的化学成分,鉴定出 43 种化合物,主要香气成分为醇和酯类物质,

如苯甲醇(0.466%),乙酸香叶酯(0.362%),亚麻酸甲酯(0.567%),3,7,11,15-四甲基-2-十六碳-1-醇(0.910%),亚油酸甲酯(10.131%)等,它们是槐花精油具有特征香气的成分。槐花精油具有一定的抗菌活性,对几种供试菌种都有较强的抑制作用,其中对金黄色葡萄球菌的抑制作用最为突出,其抗菌机理及药用价值还有待更深入研究。我们认为,槐花精油是一种很有研究价值和开发前景的中药或芳香油植物资源,在医药或香精香料工业上将会有很好的应用前景。

参考文献

- [1] 国家药典委员会.《中国药典》(一部)[M].北京:化学工业出版社,2000
- [2] 董艳芬,李坚. 槐花的现代研究与临床应用[J]. 中医药信息, 2001,18(6):21-23
- [3] 李婉婉,原思通,肖永庆.中药槐花化学成分、药理作用及炮制研究进展[J]. 中国中医药信息杂志, 2002,9(6):77-82
- [4] 吴虹雯,兰昌云,陈媛.槐花的研究进展[J]. 广东微量元素科学, 2006,13 (6):1-6
- [5] 贾春晓,孙晓丽,毛多斌等.郑州刺槐花挥发油化学成分分析[J]. 郑州轻工业学院学报,2004,19(2):15-19
- [6] Piddock LJ. Techniques used for determination of antimicrobial resistance and sensitivity in bacteria [J]. Journal of Applied Bacteriology. 1990,68:307
- [7] 叶舟,林文雄,陈伟等. 杉木心材精油抑菌活性及其化学成分研究[J]. 应用生态学报,2005,16(12): 2394-2398
- [8] 陈代武,李杰红,王芳. GC-MS 测定槐米萃取液中的挥发性化学成分[J]. 华西药学杂志,2006,21(5):450-451

(上接第 317 页)

图 2 结果表明,在 25 °C 时,8%浓度的原玉米淀粉和作用功率 40 W、60 W 的超声处理淀粉具有触变性,随着超声功率的增大,触变性逐渐减小。功率 80 W 的超声波处理淀粉的触变性很小,而功率 100 W 的超声波处理淀粉的触变性几乎不存在。

3 结论

- 3.1 不同功率超声波处理的淀粉糊均呈现假塑性流体特征,符合幂定律 $\tau=k\cdot\dot{\gamma}^m$,其中k、m为常数。
- 3.2 在25 °C时,质量分数为8%的玉米淀粉和不同功率超声波处理的淀粉糊溶液具有触变性,随着超声功率的增大,触变性逐渐减小。功率80 W的超声波处理淀

粉的触变性很小,而功率100 W的超声波处理淀粉的触变性几乎不存在。

参考文献

- [1] D. S. Jackson., C. Choto-owen. et al. Characterization of starch cooked in alkali by aqueous high-performance size-exclusion chromatography. Cereal Chemistry, 1988,(65): 493-496
- [2] Y.Isono., T. Kumagal., T. Watanabe. Ultrasonic degradation of waxy rice starch. Bioscience Biotechnology Biochemistry,1994,58(10):1799-1802