

三种蒿类植物挥发油成分及抗菌活性的比较分析

高海荣¹, 王亚鑫¹, 谢晨¹, 罗青², 刘新雨¹, 王燕¹, 钱朵朵¹

(1. 郑州师范学院化学化工学院, 河南郑州 450044) (2. 郑州师范学院生命与科学学院, 河南郑州 450044)

摘要: 为了寻找高效、绿色的食品抗菌保鲜剂, 本研究以水蒸气蒸馏法从河南产艾蒿、白蒿、牡蒿植物中提取挥发油, 并对其化学成分进行 GC-MS 测定与分析。结果显示, 三种蒿类植物挥发油的化学成分种类和含量差异显著。艾蒿挥发油主要成分为十氢二甲基甲乙烯基萜酚 (16.82%)、氧化石竹烯 (10.51%)、 β -石竹烯 (6.45%)、4-萜烯醇 (5.22%)、右旋龙脑 (4.60%)、桉树脑 (4.55%) 等; 白蒿挥发油主要成分为氧化石竹烯 (15.24%)、镰叶芹醇 (14.34%)、桉油烯醇 (6.61%)、大根香叶三烯-1-醇 (6.27%)、棕榈酸 (5.72%)、 α -毕橙茄醇 (5.19%) 等; 牡蒿挥发油主要成分为环己酮 (30.14%)、氧化石竹烯 (9.74%)、邻二甲苯 (4.72%)、2-香豆酸 (4.38%)、(Z,E)- α -金合欢烯 (3.88%)、(E)- α -金合欢烯 (3.80%)、 β -石竹烯 (3.31%) 等。三种挥发油共有成分主要为石竹烯、氧化石竹烯、十氢二甲基甲乙烯基萜酚、匙叶桉油烯醇、萜烯醇等。采用滤纸片法对挥发油的抗菌活性进行了测定。研究表明三种挥发油对大肠杆菌、四联球菌和蜡芽孢杆菌显示了良好的抑菌作用, 白蒿和艾蒿挥发油抑菌活性优于牡蒿, 不同挥发油的抗菌特性也不同。因此, 蒿类植物挥发油有望成为潜在天然抑菌剂及食品保鲜剂。

关键词: 艾蒿; 白蒿; 牡蒿; 挥发油; 化学成分; 抑菌性

文章编号: 1673-9078(2020)01-262-268

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2020.1.036

Comparison and Analysis of Chemical Components and Their Antimicrobial Activity of Essential Oils from Three Artemisia Plants

GAO Hai-rong¹, WANG Ya-xin¹, XIE Chen¹, LUO Qing², LIU Xin-yu¹, WANG Yan¹, QIAN Duo-duo¹

(1.College of Chemistry and Chemical Engineering, Zhengzhou Normal University, Zhengzhou 450044, China)

(2.College of Life Sciences, Zhengzhou Normal University, Zhengzhou 450044, China)

Abstract: To find effective and green antibacterial preservatives for food, the essential oils of *Artemisia argyi*, *Herba Artemisiae sieversianae* and *Artemisia japonica* from Henan were extracted by steam distillation method, their chemical components were detected and identified by GC-MS analysis. The results showed that the main components of essential oil of *Artemisia argyi* were Neointermedeol (16.82%), Caryophyllene oxide (10.51%), β -Caryophyllene (6.45%), Terpinen-4-ol (5.22%), endo-Borneol (4.60%), Eucalyptol(4.55%). The main components of essential oil of *Herba Artemisiae sieversianae* were Caryophyllene oxide (15.24%), Falcariol (14.34%), Spathulenol (6.61%), 4(15),5,10(14)-Germacatrien-1-ol (6.27%), n-Hexadecanoic acid (5.72%), α -Cadinol (5.19%) . The main components of essential oil of *Artemisia japonica sieversianae* were Cyclohexanone (30.14%), Caryophyllene oxide (9.74%), 1,2-xylene(4.72%),2-Propenoic acid (4.38%), (3Z,6E)- α -Farnesene (3.88%), (E)- α -farnesene (3.80%), β -Caryophyllene (3.31%). The three essential oils all contained Caryophyllene, Caryophyllene Oxide, Neointermedeol, (-)-Spathulenol and Terpinen-4-ol with high content. The antimicrobial activity of essential oil of three Artemisia plants was determined by filter paper disk diffusion. Results showed that the three kinds of essential oils had good antimicrobial effects on three tested microbes: *Escherichia coli*, *Micrococcus tetragenus* and *Bacillus cereus*. The antibacterial activity of the essential oil of *Artemisia argyi* and *Herba Artemisiae sieversianae* was stronger than that of *Artemisia japonica*. Therefore, the essential oil of *Artemisia* plants is expected to be a potential natural antibacterial agent and food preservative.

Key words: *Artemisia argyi*; *Herba Artemisiae sieversianae*; *Artemisia japonica*; essential oils; chemical components; antimicrobial activity

收稿日期: 2019-08-06

基金项目: 河南省科技厅科技攻关项目(182102210563); 河南省高等学校大学生创新训练计划项目(201912949006); 郑州师范学院大学生创新项目(DGZ2018019)

作者简介: 高海荣 (1973-), 女, 博士, 副教授, 研究方向: 食品分析

食品腐败不仅会造成巨大的经济损失, 更为可怕的是大多腐败微生物却是食源性致病菌^[1], 使人类遭受着由食物传播的痛苦感染。使用防腐保鲜剂已成为防止食品腐败变质、延长货架期以及确保食品安全的重要手段。目前市场上使用的防腐保鲜剂多数为

化学合成所得,具有潜在的毒副作用,因此迫切需要寻找新型、有效、安全的抗菌保鲜剂。植物性天然产物或其衍生物具有显著性生物活性^[2,3]。植物挥发油不仅具有独特的香味,它潜在的生物活性^[4-7]如抗氧化性、驱虫,抗菌,镇痛,抗炎,抗高血压和抑制疼痛等药理功效使其在化工、化妆品、食品、香料、医药等行业具有广阔的应用价值,是人类开发绿色抗菌防腐剂的重要原料。

研究表明,诸多植物挥发油对食物腐败细菌有一定的抑制作用。Mijat B 等^[5]从地中海地区的一种芳香的草本植物荆芥中提取挥发油,发现它具有广泛的生物活性,包括抗菌、抗氧化和抗炎,以及抗溃疡和杀虫特性。Bounatirou S 等^[6]采用水蒸馏法从突尼斯产的百里香植物中分离得到精油,发现植物在花期和花期后挥发油具有较高的抗氧化性和抗菌活性。Li 等^[7]研究了柑桔类植物佛手柑精油纳米乳液对枯草杆菌、金黄色葡萄球菌和霉菌的抗菌活性,开发的 FCEO 负载纳米乳具有良好的物理稳定性和抗菌活性,在食品饮料领域具有潜在的应用前景。Zhou 等^[8]通过添加纤维素纳米晶(CNCs)来增强牛至挥发油(OEO)酸洗乳剂的稳定性,研制了一种有效的抗菌体系。该乳剂对四种被测的食品相关微生物具有良好的抑菌效果。

蒿属植物分布广泛,富含挥发油。文献报道^[9-11]艾叶挥发油对金黄色葡萄球菌、大肠杆菌、绿脓杆菌等有强抑菌作用,且有抗炎、止血及抗氧化作用。植物挥发油的化学成分与其基因、生长环境、土壤、气候、生长期等诸多因素有关^[12,13],河南省地处亚热带向暖温带过渡地区,蒿类植物更是异常丰富,艾蒿、白蒿、牡蒿为我省优势植物物种,然而对河南产蒿类挥发油的研究却报道较少。艾蒿由于具有广泛的体外抗菌性而成为重要的中药材之一,与其同属的白蒿、牡蒿的化学成分及抑菌性能未见报道,开展蒿类植物成分鉴定及抗菌研究对于开发我省地方优势中药资源意义重大。本研究以河南产艾蒿、白蒿、牡蒿为原料,水蒸气蒸馏法提取植物挥发油,通过气相色谱-质谱(GC-MS)联用仪对挥发油化学成分进行了对比分析,并就挥发油对大肠杆菌、四联球菌、蜡样芽孢杆菌三种常见食品腐败微生物的抗菌活性进行了探究,实验结果为绿色防腐剂的开发及蒿类中药资源的综合利用提供理论参考。

1 材料与方法

1.1 仪器、试剂与材料

TFT-1310 气相色谱-质谱仪器,赛默飞世尔科技

有限公司; LX-07A 万能高速粉碎机,红光工贸有限公司; FA116 分析天平,上海海康电子仪器; DHP-2150 电热恒温培养箱,郑州生元仪器有限公司; SW-CJ-2FD 超净工作台,苏州净化设备有限公司。

艾蒿、白蒿、牡蒿原料,采于河南信阳(将新鲜蒿去杆,阴干,粉碎备用);大肠杆菌、四联球菌、蜡样芽孢杆菌三种受试菌种由郑州师范学院生命科学院微生物实验室提供;乙醚(AR)、二甲基亚砜(AR)、无水硫酸钠(AR)均购于天津市科密欧化学试剂有限公司;琼脂(AR)、牛肉膏(BR)、蛋白胨(AR)购于上海国药试剂集团;实验用蒸馏水为二次蒸馏水。

1.2 挥发油的提取

以料液比 1:10 的量加入蒸馏水提取剂,采用简水蒸气蒸馏装置(烧瓶、恒压漏斗、球形冷凝管)对植物挥发油进行提取,约回流 2 h。将馏出液转至分液漏斗中,乙醚萃取,无水硫酸钠干燥,水浴加热蒸除乙醚,即得挥发油。挥发油的得率以每 100 g 蒿类植物干样中提取出的挥发油质量(g)表示,按下式计算各挥发油的得率。

挥发油得率(%)=[挥发油质量(g)/植物样品质量(g)]×100%。

1.3 挥发油的GC-MS测定

采用气相色谱-质谱(GC-MS)联用技术对三种蒿类植物挥发油化学成分进行了测定。色谱条件:色谱柱为 ZB-5 熔融石英毛细管柱(30 m×0.25 mm×0.25 μm)。载气:氦气;流速:1.0 mL/min;进样方式:分流比 1:10,进样量:1 μL。程序升温柱温:初始温度 60 °C,保留 3 min;以 6 °C/min 升至 260 °C 并保持 10 min。质谱条件:电离源 EI,电子能量 70 eV,离子源温度 200 °C。扫描范围:35~500 u,扫描速率 0.2 scans/s。用计算机谱库 NIST 进行检索。

1.4 挥发油抑菌活性测定

抑菌剂的配制:蒿类挥发油以体积分数为 50%的二甲基亚砜(DMSO)水溶液为溶剂,配制不同浓度的挥发油抑菌剂(分别为 100.00、50.00、25.00、15.00 μL/mL),并设置溶剂空白对照试验。

抑菌性的测定:将活化后的大肠杆菌、四联球菌、枯草芽孢杆菌接种于新的培养液,置于恒温箱中,37 °C 恒温培养 24 h,用平板计数法调整浓度为 10⁶ cfu/mL,得菌悬液。用移液枪分别吸取 100 μL 上述各菌悬液到培养皿中,使用灭菌涂布棒涂布于培养基表面。用无菌镊子夹取浸有挥发油抑菌剂的 4 片滤纸片

置于含菌培养皿中,每个培养皿有三个样品,37℃恒温培养24h,同时设置溶剂空白试验,通过测定抑菌圈直径以评估抑菌活性大小。

1.5 最低抑菌浓度(MIC)的测定

最低抑菌浓度(MIC)的测定参照文献^[4],略有改动。先在各灭菌试管中加入100μL液体培养基,再加入相应的挥发油抑菌剂,以50%二甲基亚砜溶剂稀释配制一系列浓度的蒿类挥发油溶液(浓度范围在0.50~50.00μL/mL),每个试管中加入50μL浓度为 10^6 cfu/mL的各菌悬液。以不接种细菌的溶剂空白为对照,37℃培养24h,将培养后的培养物与空白对照分别测定浊度,以无菌落生长的试管中挥发油浓度作为最低抑菌浓度。

1.6 数据处理

使用Origin 8对试验中得到的数据进行处理,利用SPSS对数据进行统计学分析。

2 结果与讨论

2.1 三种蒿类植物挥发油收率

通过水蒸气蒸馏法对蒿类植物挥发油进行提取,艾蒿挥发油的得率最高,为0.2%;牡蒿和白蒿挥发油的得率分别为0.07%和0.05%。

2.2 三种蒿类植物挥发油化学成分分析

采用气相色谱-质谱(GC-MS)联用技术对三种蒿类植物挥发油化学成分进行了检测,艾蒿、白蒿、牡蒿三种蒿类植物挥发油的总离子流分别见图1~3。挥发油化学成分的鉴定是利用GC-MS联用仪计算机NIST-MS谱库自动检索各组分的质谱数据,并对鉴定结果参考有关文献、标准图谱和人工分析,确定各化合物。经峰面积归一化法计算出艾蒿、白蒿及牡蒿挥发油各组分的相对百分含量。三种蒿类植物挥发油的主要化学成分及含量见表1。从艾蒿挥发油中共鉴定出主要化合物35种,占挥发油总含量的88.54%,主要成分有十氢二甲基甲乙烯基萘酚(16.82%)、氧化石竹烯(10.51%)、β-石竹烯(6.45%)、4-萘烯醇(5.22%)、右旋龙脑(4.60%)、桉树脑(4.55%)等;从白蒿挥发油中共鉴定出主要化合物33种,占挥发油总含量的87.67%,主要成分有氧化石竹烯(15.24%)、镰叶芹醇(14.34%)、桉油烯醇(6.61%)、大根香叶三烯-1-醇(6.27%)、棕榈酸(5.72%)、α-毕橙茄醇(5.19%)、等;从牡蒿挥发油中共鉴定出主要化合物29种,占挥发油

总含量的85.87%,主要成分有环己酮(30.14%)、氧化石竹烯(9.74%)、邻二甲苯(4.72%)、2-香豆酸(4.38%)、(Z,E)-α-金合欢烯(3.88%)、β-石竹烯(3.31%)等。

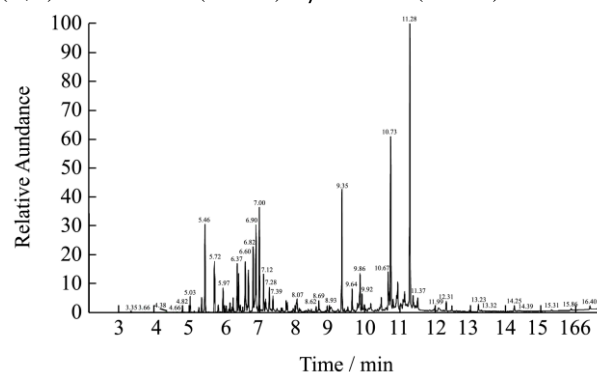


图1 艾蒿挥发油的GC-MS总离子流图

Fig.1 GC-MS total ion current chromatogram of essential oil

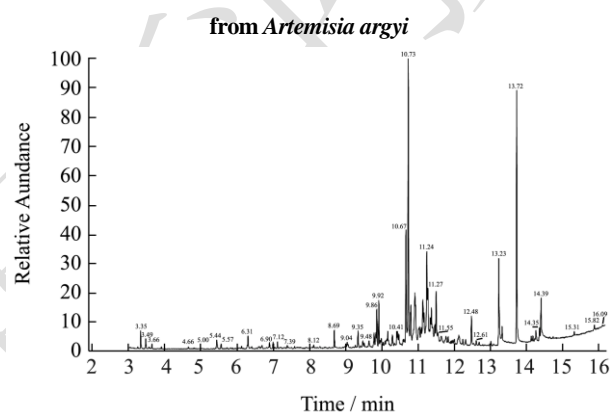


图2 白蒿挥发油的GC-MS总离子流图

Fig.2 GC-MS total ion current chromatogram of essential oil

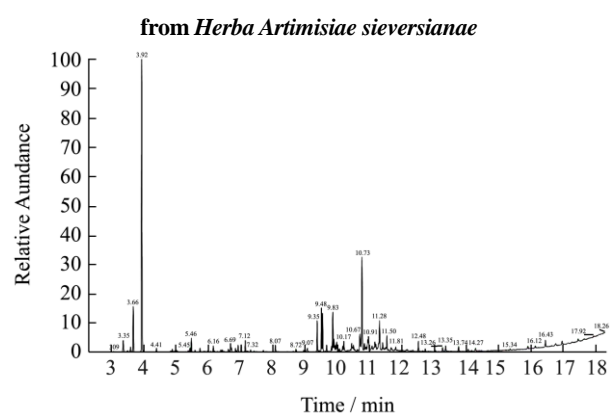


图3 牡蒿挥发油的GC-MS总离子流图

Fig.3 GC-MS total ion current chromatogram of essential oil

from Artemisia japonica

经分析三种蒿类植物挥发油化学成分主要以醇类、烯烃成分为主,但具体化学成分存在较大的差异。在白蒿挥发油中含量较高的镰叶芹醇,在艾蒿和牡蒿挥发油中均未检测出,牡蒿挥发油中含量较高的环己酮也未在艾蒿和白蒿挥发油中检出。艾蒿挥发油中十氢二甲基甲乙烯基萘酚、桉树脑、4-萘烯醇、右旋龙

脑含量均远高于白蒿和牡蒿。但三种挥发油也存在着诸多的共有成分,如均含有较高含量的石竹烯及氧化石竹烯、十氢二甲基甲乙炔基萘酚、匙叶桉油烯醇、萜烯醇、桉树脑、大根香叶烯、4(15),5,10(14)-大根香叶三烯-1-醇等。据文献调研^[15],石竹烯及氧化石竹烯具有抗炎、驱蚊虫、抗焦虑、镇咳祛痰等功效;匙叶

桉油烯醇、十氢二甲基甲乙炔基萘酚、萜烯醇、桉树脑、大根香叶烯等物质均具有光谱抗菌、抗氧化等生理活性,其中匙叶桉油烯醇还有抗菌、抗肿瘤等医药功效;镰叶芹醇具有抗菌、镇痛、抗凝血、抗肿瘤等作用,因此各挥发油中组分的差异以及各组分相对含量的不同,会导致其生物活性和药理功能存在差异。

表 1 三种蒿类植物挥发油主要化学成分及含量分布

Table 1 Chemical components and content of essential oils from three species of artemisia plants

序号	时间	化合物	分子式	相对分子量	相对含量/%			
					艾蒿	白蒿	牡蒿	
1	3.35	二丙酮醇	Acetyl dimethylcarbinol	C ₆ H ₁₂ O ₆	116	-	1.03	1.20
2	3.66	邻二甲苯	1,2-Xylene	C ₈ H ₁₀	106	-	-	4.72
3	3.92	环己酮	Cyclohexanone	C ₆ H ₁₀ O	98	-	-	30.14
4	5.03	2,5,5-三甲基-3,6-庚二烯-2-醇	2,5,5-trimethyl-3,6-heptadien-2-ol	C ₁₀ H ₁₈ O	154	0.75	-	-
5	5.36	邻异丙基苯	o-Cymene	C ₁₀ H ₁₄	134	0.61	-	-
6	5.46	桉树脑	Eucalyptol	C ₁₀ H ₁₈ O	154	4.55	0.66	1.44
7	5.72	蒿酮	Artemisia ketone	C ₁₀ H ₁₆ O	152	2.93	0.21	-
8	5.97	3,3,6-三甲基-1,5-庚二烯-4-醇	3,3,6-Trimethyl-1,5-heptadien-4-ol	C ₁₀ H ₁₈ O	154	1.14	-	-
9	6.31	苯乙醇	Benzeneethanol	C ₈ H ₁₀ O	122	-	0.85	-
10	6.37	侧柏酮	Thujone	C ₁₀ H ₁₆ O	152	2.94	-	-
11	6.41	侧柏醇	Sabinene hydrate	C ₁₀ H ₁₈ O	154	1.81	-	-
12	6.60	香桉醇	Sabinol	C ₁₀ H ₁₆ O	152	3.11	-	-
13	6.69	(-)-樟脑	(-)-Alcanfor	C ₁₀ H ₁₆ O	152	1.86	0.22	0.88
14	6.82	菊醇	cis-Chrysanthenol	C ₁₀ H ₁₆ O	152	3.25	-	-
15	6.90	右旋龙脑	endo-Borneol	C ₁₀ H ₁₈ O	154	4.60	0.47	0.64
16	7.00	4-萜烯醇	Terpinen-4-ol	C ₁₀ H ₁₈ O	154	5.22	0.55	0.80
17	7.12	松油醇	Terpineol	C ₁₀ H ₁₈ O	154	2.08	0.32	1.22
18	7.28	胡椒脑	Piperitol	C ₁₀ H ₁₈ O	154	1.27	-	-
19	7.39	葛缕醇	Trans-Carveol	C ₁₀ H ₁₆ O	152	0.75	-	-
20	8.07	乙酸龙脑酯	Bomyl acetate	C ₁₂ H ₂₀ O ₂	194	1.18	-	0.76
21	8.69	丁香酚	Eugenol	C ₁₀ H ₁₂ O ₂	164	0.99	1.05	-
22	9.35	β-石竹烯	β-Caryophyllene	C ₁₅ H ₂₄	204	6.45	1.02	3.31
23	9.48	2-香豆酸	2-Propenoic acid	C ₉ H ₈ O ₃	164	-	-	4.38
24	9.52	(E)-α-金合欢烯	(E)-alpha-farnesene	C ₁₅ H ₂₄	204	0.23	-	3.80
25	9.64	α-石竹烯	α-Caryophyllene	C ₁₅ H ₂₄	204	1.30	0.62	0.71
26	9.79	A-姜黄烯	α-Curcumene	C ₁₅ H ₂₂	202	0.46	0.92	-
27	9.83	(Z,E)-α-金合欢烯	(3Z,6E)-a-Farnesene	C ₁₅ H ₂₄	204	-	-	3.88
28	9.86	大根香叶烯	Germacrene D	C ₁₅ H ₂₄	204	1.91	1.74	0.93
29	9.92	佛术烯	Eremophilene	C ₁₅ H ₂₄	204	0.75	2.25	0.40
30	10.17	α-蒎烯	α-Copaene	C ₁₅ H ₂₄	204	0.37	0.87	0.92
31	10.29	4,4a,5,6,7,8-六氢-1-甲氧基-2-萘酮	2(3H)-Naphthalenone,4,4a,5,6,7,8-hexahydro-1-methoxy-	C ₁₁ H ₁₆ O ₂	180	-	1.03	-

转下页

接上页								
32	10.41	橙花叔醇	Nerolidol	C ₁₅ H ₂₆ O	222	-	1.07	0.68
33	10.67	匙叶桉油烯醇	(-)-Spathulenol	C ₁₅ H ₂₄ O	220	2.67	6.61	2.30
34	10.73	氧化石竹烯	Caryophyllene oxide	C ₁₅ H ₂₄ O	220	10.51	15.24	9.74
35	10.80	香橙烯氧化物	Aromadendrene oxide-(2)	C ₁₅ H ₂₄ O	220	0.51	2.98	0.90
36	10.91	4(15),5,10(14)-大根香叶三烯-1-醇	4(15),5,10(14)-Germacatrien-1-ol	C ₁₅ H ₂₄ O	220	0.76	6.27	2.06
37	10.94	环氧化蛇麻烯 II	a-Humulene epoxide II	C ₁₅ H ₂₄ O	220	2.67	-	1.18
38	11.04	葑澄茄油烯醇	Cubenol	C ₁₅ H ₂₆ O	222	0.77	1.33	0.61
39	11.13	香榧醇	Torreyol	C ₁₅ H ₂₆ O	222	0.88	1.88	0.86
40	11.24	α-毕澄茄醇	α-Cadinol	C ₁₅ H ₂₆ O	222	-	5.19	-
41	11.28	十氢二甲基甲乙烯基萜酚	Neointermedeol	C ₁₅ H ₂₆ O	222	16.82	2.58	3.18
42	11.34	菖蒲醇	α-Acorenol	C ₁₅ H ₂₆ O	222	-	0.87	-
43	11.37	喇叭烯氧化物	Ledene oxide-(II)	C ₁₅ H ₂₄ O	220	1.05	1.15	0.96
44	11.50	(1R,7S,E)-4,10-二亚甲基-7-异丙基环十一碳-5-烯醇	(1R,7S,E)-7-Isopropyl-4,10-dimethylenecyclodec-5-enol	C ₁₅ H ₂₄ O	220	0.77	2.63	1.55
45	12.31	花生五烯酸	cis-5,8,11,14,17-Eicosapentaenoic acid	C ₂₀ H ₃₀ O ₂	302	0.62	-	-
46	12.48	植酮	Hexahydrofarnesyl acetone	C ₁₈ H ₃₆ O	268	-	1.82	1.10
47	13.23	棕榈酸	n-Hexadecanoic acid	C ₁₆ H ₃₂ O ₂	256	-	5.72	-
48	13.32	邻苯二甲酸二丁酯	Dibutyl phthalate	C ₁₆ H ₂₂ O ₄	278	-	0.85	0.62
49	13.72	镰叶芹醇	(+)-Falcarinol	C ₁₇ H ₂₄ O	244	-	14.34	-
50	14.35	2-[(9Z,12Z)-9,12-十八碳二烯-1-基氧基]乙醇	2-cis,cis-9,12-Octadecadienyloxyethanol	C ₂₀ H ₃₈ O ₂	310	-	0.69	-
51	14.39	亚麻酸	Linolenic acid	C ₁₈ H ₃₀ O ₂	278	-	2.64	-

表 2 三种蒿类植物挥发油对三种供试菌的抗菌活性

Table 2 Antimicrobial activities of essential oil from three species of Artemisia plants against 3 tested microbes

项目	挥发油浓度/(μL/mL)	抑菌圈直径平均值/mm		
		大肠杆菌 <i>Escherichia coli</i>	四联球菌 <i>Micrococcus tetragenus</i>	蜡样芽孢杆菌 <i>Bacillus cereus</i>
溶剂空白	0	6.50±0.10	7.00±0.08	7.50±0.12
艾蒿	15.00	8.00±0.14	9.33±0.10	8.67±0.10
	25.00	9.67±0.12	12.67±0.10	10.33±0.20
	50.00	11.32±0.25	16.00±0.14	14.82±0.25
	100.00	15.55±0.40	20.12±0.25	19.00±0.27
	白蒿	15.00	7.67±0.20	9.00±0.20
25.00		10.00±0.20	12.33±0.11	10.00±0.20
50.00		15.33±0.35	17.67±0.38	12.67±0.15
100.00		20.33±0.62	20.67±0.50	15.50±0.30
牡蒿	15.00	7.00±0.10	7.74±0.12	8.67±0.10
	25.00	7.33±0.32	8.50±0.10	9.00±0.20
	50.00	9.00±0.38	9.65±0.25	10.83±0.20
	100.00	11.50±0.40	12.33±0.20	13.67±0.46

2.3 三种蒿类植物挥发油抑菌活性分析

采用滤纸片法进行抑菌活性测定,以抑菌圈直径大小评估抑菌活性。溶剂空白及不同浓度的各挥发油抑菌剂对大肠杆菌、四联球菌、蜡样芽孢杆菌三种常见食品腐败微生物的抑菌试验结果见表 2。抑菌圈直径大于 20 mm 时为极敏;16~20 mm 为高敏;11~15 mm 为中敏;8~10 mm 为低敏;小于 8 mm 为不敏感^[16]。

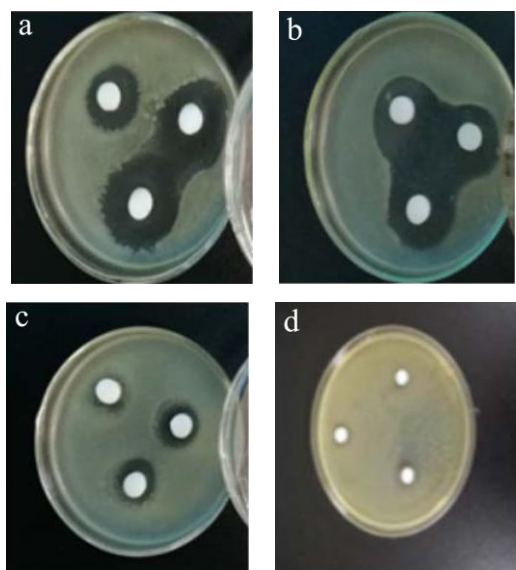


图4 同一浓度(50.00 μL/mL)的三种蒿类挥发油对四联球菌的抗菌效果图

Fig.4 Antibacterial effect of three essential oils (50.00 μL/mL) from *Artemisia* plants against *Micrococcus tetragenus*

注: a: 白蒿; b: 艾蒿; c: 牡蒿; d: 空白。

试验结果发现,三种蒿类植物挥发油对大肠杆菌、四联球菌、蜡样芽孢杆菌均有良好的抑菌作用,其中白蒿、艾蒿挥发油的抗菌性优于牡蒿挥发油。白蒿挥发油对四联球菌和大肠杆菌表现了高敏性,艾蒿挥发油对四联球菌表现了高敏性。牡蒿挥发油对三种受试菌均表现为中敏。三种挥发油对同一细菌的抗性差异很大,从 50.00 μL/mL 的三种挥发油对四联球菌的抗菌效果来看(如图 4),与空白对照相比,三种挥发油均显示了一定的抗菌性,其中白蒿挥发油对四联球菌的抗性最强,抑菌圈直径达到了 17.67 mm,而牡蒿挥发油抑菌圈直径只有 9.65 mm;随着挥发油抑菌剂浓度的增大,抑菌活性增强,表现为抑菌圈直径增大。以不同浓度的白蒿挥发油对四联球菌的抑菌效果来看(如图 5),100.00 μL/mL 的白蒿挥发油对四联球菌的抑菌圈直径达到 20.67 mm,15.00 μL/mL 的白蒿挥发油的抑菌圈直径为 9.00 mm,前者为后者的 2.30 倍;即使同一植物挥发油,对不同的细菌抗性也不同。以同一浓度(50.00 μL/mL)的艾蒿挥发油对三种受试菌

的抑菌效果来看(如图 6),表现为艾蒿挥发油对四联球菌、蜡样芽孢杆菌抗菌性远远大于其对大肠杆菌的抗菌活性,显示着一定的抗菌特性。

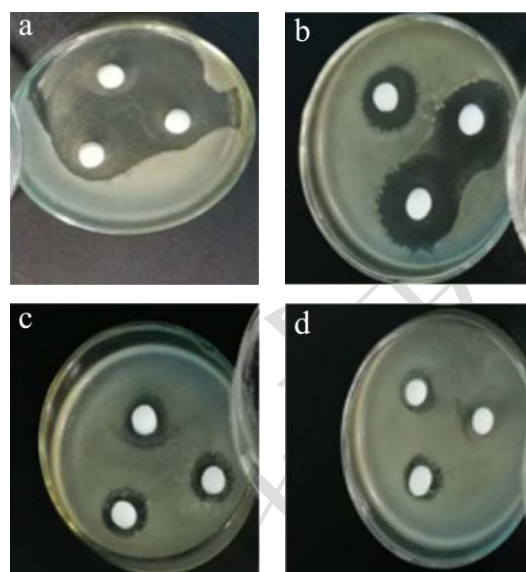


图5 不同浓度的白蒿挥发油对四联球菌的抗菌效果图

Fig.5 Antibacterial effect of essential oils with different concentrations from *Herba Artemisiae sieversianae* against *Micrococcus tetragenus*

注: a: 100 μL/mL; b: 50 μL/mL; c: 25 μL/mL; d: 15 μL/mL。

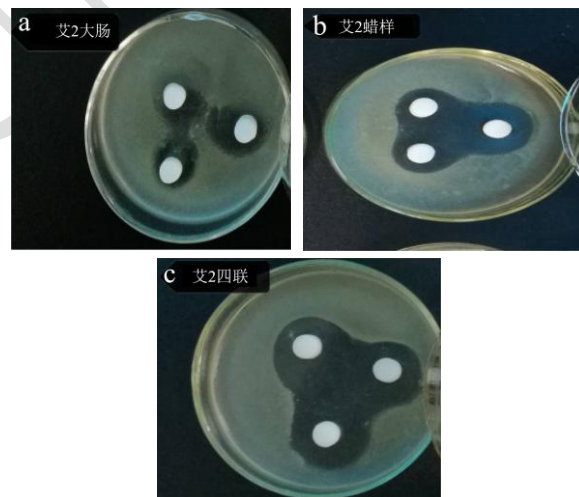


图6 同一浓度(50.00 μL/mL)的艾蒿挥发油对三种细菌的抗菌效果图

Fig.6 Antibacterial effect of essential oil (50.00 μL/mL) from *Artemisia argyi* against 3 tested microbes

注: a: 大肠杆菌; b: 蜡样芽孢杆菌; c: 四联球菌。

为了进一步了解各挥发油对三种供试菌的抗菌效果,通过测定每种植物挥发油的 MIC 对其抗菌效果进行研究,结果发现不同的菌种对各种挥发油的抗性不同,最低抑菌浓度也不同,结果见表 3。其中四联球菌对白蒿和艾蒿挥发油表现了较强的敏感性,最低抑菌浓度均为 2.50 μL/mL;白蒿挥发油对四联球菌和大

肠杆菌的抗菌性明显优于蜡样芽孢杆菌；艾蒿挥发油对大肠杆菌的抗性弱于其它菌种；而牡蒿挥发油对四联球菌和蜡样芽孢杆菌的抗菌性明显优于大肠杆菌。植物挥发油抗菌活性的差异性，可能与其主要抗菌成分及含量密切相关。

表3 三种蒿类植物挥发油对供试菌的最低抑菌浓度

Table 3 The MICs of essential oils from three *Artemisia* plants against 3 tested microbes

挥发油	最低抑菌浓度 MIC/($\mu\text{L}/\text{mL}$)		
	大肠杆菌	四联球菌	蜡样芽孢杆菌
白蒿挥发油	2.50 \pm 0.02	2.50 \pm 0.04	5.00 \pm 0.02
艾蒿挥发油	5.00 \pm 0.08	2.50 \pm 0.04	2.50 \pm 0.05
牡蒿挥发油	10.00 \pm 0.10	5.00 \pm 0.05	5.00 \pm 0.04

3 结论

3.1 本项研究采用水蒸气蒸馏法从河南产艾蒿、白蒿、牡蒿植物中提取挥发油，采用气相色谱-质谱(GC-MS)联用技术对各挥发油化学成分进行检测和分析，从艾蒿挥发油中共鉴定出主要化合物35种，占挥发油总含量的88.54%，主要成分有十氢二甲基甲乙炔基萘酚、氧化石竹烯、 β -石竹烯、4-萜烯醇、右旋龙脑、桉树脑等；从白蒿挥发油中共鉴定出主要化合物33种，占挥发油总含量的87.67%，主要成分有氧化石竹烯、镰叶芹醇、桉油烯醇、大根香叶三烯-1-醇、棕榈酸、 α -毕橙茄醇等；从牡蒿挥发油中共鉴定出主要化合物29种，占挥发油总含量的85.87%，主要成分有环己酮、氧化石竹烯、邻二甲苯、2-香豆酸、(Z,E)- α -金合欢烯、 β -石竹烯、(E)- α -金合欢烯等。

3.2 通过对三种蒿类植物挥发油的抑菌活性研究发现，各挥发油对三种常见的食品腐败微生物大肠杆菌、四联球菌、蜡样芽孢杆菌具有良好的抑菌作用，白蒿、艾蒿挥发油的抗菌性优于牡蒿。白蒿挥发油对大肠杆菌、四联球菌和蜡样芽孢杆菌的最低抑菌浓度(MIC)分别为2.50、2.50、5.00 $\mu\text{L}/\text{mL}$ ；艾蒿挥发油的MIC分别为5.00、2.50、2.50 $\mu\text{L}/\text{mL}$ ；牡蒿挥发油的MIC分别为10.00、5.00、5.00 $\mu\text{L}/\text{mL}$ 。抑菌实验结果提示蒿类植物挥发油含有较强抑菌活性的化学成分，这对于蒿类植物药材的研发及天然食品防腐剂的开发提供了理论参考。

参考文献

[1] Shao M F, Zhang T, Fang H P. Sulfur-driven autotrophic denitrification: diversity, biochemistry, and engineering applications [J]. Applied Microbiology and Biotechnology, 2010, 88(5): 1027-1042

[2] Khalaf R A. Exploring natural products as a source for antidiabetic lead compounds and possible lead optimization [J]. Current Topics in Medicinal Chemistry, 2016, 16(23): 2549-2561

[3] Abdelli M, Moghrani H, Aboun A, et al. Algerian *Mentha pulegium* L. leaves essential oil: Chemical composition, antimicrobial, insecticidal and antioxidant activities [J]. Industrial Crops and Products, 2016, 94: 197-205

[4] Marin M, Novakovic M, Vuckovic I, et al. Wild *Thymus capitatus* Hoff. Et Link. Chemical composition, antioxidant and antimicrobial activities of the essential oil [J]. Journal of Essential Oil Bearing Plants, 2018, 21(2): 388-399

[5] Mijat B, Rino R. *Calamintha nepeta* L. savi and its main essential oil constituent pulegone: Biological activities and chemistry [J]. Molecules, 2017, 22(2): 290

[6] Bounatirou S, Smiti S, Miguel M G, et al. Chemical composition, antioxidant and antibacterial activities of the essential oils isolated from Tunisian *Thymus capitatus* Hoff. et Link [J]. Food Chemistry, 2007, 105(1): 146-155.

[7] Li Z H, Cai M, Liu Y S, et al. Development of finger citron (*Citrus medial* L.) essential oil loaded nanoemulsion and its antimicrobial activity [J]. Food Control, 2018, 94: 317-323

[8] Zhou Y, Sun S, Bei W. Preparation and antimicrobial activity of oregano essential oil Pickering emulsion stabilized by cellulose nanocrystals [J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2018, 112(6): 7-13

[9] Chen Y, Xue X, Kong L, et al. Studies on the extraction and *in vitro* antibacterial activity of essential oil from *Artemisia argyi* [J]. Journal of Jilin Agricultural Science and Technology University, 2011, 20(2): 1-3

[10] Ge Y B, Wang Z G, Xiong Y, et al. Anti-inflammatory and blood stasis activities of essential oil extracted from *Artemisia argyi* leaf in animals [J]. Journal of Natural Medicines, 2016, 70(3): 531-538

[11] Huang H C, Wang Hsiao-Fen, Yih Kuang-Hway, et al. Dual bioactivities of essential oil extracted from the leaves of *Artemisia argyi* as an antimelanogenic versus antioxidant agent and chemical composition analysis by GC/MS [J]. International Journal of Molecular Sciences, 2012, 13(11): 14679-14697

[12] Mehdi R, Badraldinebrahimsayed T, Nematollah E, et al. Essential oil variation among and within six *Achillea* species transferred from different ecological regions in Iran to the field conditions [J]. Industrial Crops and Products, 2009, 29(2): 348-355

(下转第42页)

现代食品科技