

5种植物精油抑菌活性及其化学成分研究

马秋^{1,2}, 章勇³, 王照国^{1,2}, 段炼^{1,2}, 宋俊蓉^{1,2},
刘务玲^{1,2}, 王春林^{1,2}, 杨华⁴, 李奕^{1,2*}

(1. 贵州医科大学省部共建药用植物功效与利用国家重点实验室, 贵阳 550014; 2. 贵州省中国科学院天然产物化学重点实验室/贵州省天然药物工程研究中心, 贵阳 550014; 3. 广东省昆虫行为调控工程技术研究中心, 华南农业大学农学院, 广州 510642; 4. 延安大学化学与化工学院, 延安 716000)

摘要 从植物精油中寻找新型抑菌剂是植物化学研究的一个方向。本试验提取了丁香、八角、孜然、薄荷和生姜5种药食兼用植物的精油, 采用抑制菌丝生长法和96孔板法测试了5种精油对8种植物病原真菌和5种细菌的抑菌活性。结果表明5种植物精油对测试真菌有不同程度的抑制作用, 丁香的抑制作用最强, 对梨黑星病菌的抑制作用最强, 其 IC_{50} 为93.44 mg/L; 5种植物精油对测试细菌的抑菌作用较弱, 孜然和生姜精油对青枯菌的抑制最强, 最小抑菌浓度(MIC)也仅为125 mg/L。采用气相色谱-质谱联用仪(GC-MS)分析了各精油的主要化学成分, 八角主要成分为茴香脑(53.16%), 薄荷主要成分为长叶薄荷酮(15.85%), 丁香主要成分为丁香酚(82.68%), 生姜主要成分为香叶醛(16.80%), 孜然主要成分为茴香甲醛(46.06%)。本研究结果表明丁香具有开发为新型植物源抑菌剂的潜力。

关键词 植物精油; 抑菌活性; 化学成分

中图分类号: S 482.292 **文献标识码:** A **DOI:** 10.16688/j.zwbh.2019215

Antimicrobial activity of the essential oils from five plants

MA Qiu^{1,2}, ZHANG Yong³, WANG Zhaoguo^{1,2}, DUAN Lian^{1,2}, SONG Junrong^{1,2},
LIU Wuling^{1,2}, WANG Chunlin^{1,2}, YANG Hua⁴, LI Yan^{1,2*}

(1. State Key Laboratory of Functions and Applications of Medicinal Plants, Guizhou Medical University Guiyang 550014, China; 2. The Key Laboratory of Chemistry for Natural Products of Guizhou Province and Chinese Academy of Sciences, Guizhou Provincial Engineering Research Center for Natural Drugs, Guiyang 550014, China; 3. Guangdong Engineering Research Center for Insect Behavior Regulation, College of Agronomy, South China Agricultural University, Guangzhou 510642, China; 4. School of Chemistry and Chemical Engineering, Yan'an University, Yan'an 716000, China)

Abstract Finding new bacteriostatic agents from plant essential oils is a trend in phytochemical research. In this study, the essential oils were extracted from five kinds of plants, *Syzygium aromaticum*, *Illicium verum* Hook. f., *Cuminum cyminum* L., *Mentha haplocalyx* Briq. and *Zingiber officinale* Roscoe by steam distillation. Antifungal and antibacterial activities of the essential oils from the five plants were tested by inhibiting mycelial growth and using 96-well method. The results of antifungal activity showed that the essential oils from the five plants had varying degrees inhibitory effects on the growth of eight plant pathogenic fungal hyphae. The antifungal activity of *S. aromaticum* oil was the strongest, with a 50% inhibition concentration (IC_{50}) of 93.44 mg/L against *V. piriformis*. The results of antibacterial activity showed that the essential oils had weak activities against all five tested bacteria. The oils of *Z. officinale* and *C. cyminum* showed strong activities against *R. solanacearum* and the minimum inhibitory concentration (MIC) was 125 mg/L. The chemical constituents of the essential oils were analyzed by gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS). The results showed that the main component of essential oils

收稿日期: 2019-04-26

修订日期: 2019-09-20

基金项目: 国家自然科学基金地区基金(31660530); 国家重点研发计划子课题(2017YFD0201402-05); 贵州省科学基金(黔科合J字[2017]5737, 黔科合支撑[2018]2357, 黔科合支撑[2017]2550, 黔科合基础[2018]1108)

* 通信作者 E-mail: liyan1612@163.com

of *I. verum* was anethole (53.16%). The main content of *M. haplocalyx* was pulegone (15.85%), and the main contents of *S. aromaticum*, *Z. officinale* and *C. cyminum* were eugenol (82.68%), geranyl aldehyde (16.80%) and fennel formaldehyde (46.06%), respectively. These results indicated that *S. aromaticum* has the potential for development of novel plant-derived bacteriostats.

Key words essential oil; antibacterial activity; chemical constituent

目前通常使用化学农药来防控植物病害,然而,随着化学农药的使用,其负面效应也逐渐显露出来,如病原微生物产生抗药性,对环境及其人体健康产生不利影响等,这些因素严重制约着化学农药的使用。随着人们生活水平的提高,越来越注重健康和食品安全,对食品的需求也越来越向“绿色”和“天然”转变,因此,开发天然、高效、低毒的抑菌产品已经成为研究的热点之一^[1]。找寻“新型绿色抑菌剂”的需求显得尤为突出,从植物精油中寻找具有应用价值的抑菌剂是植物化学研究的一个方向。

植物精油(essential oil)是一类存在于植物体内、分子量较小的次生代谢产物,在常温下易挥发,具有一定气味的油状液体的总称^[2]。因其来源于植物,并具有多种生物活性,正日益受到科研工作者的关注^[3]。近年来,研究报道了多种植物精油具有广谱的抗菌活性,对细菌、真菌均有显著的抑制作用^[4-6]。

八角 *Illicium verum* Hook. f.、丁香 *Syzygium aromaticum* (L.) Merr. & L. M. Perry、孜然 *Cuminum cyminum* L.、生姜 *Zingiber officinale* Roscoe 和薄荷 *Mentha haplocalyx* Briq. 均为药食兼用的植物,资源丰富,广泛应用于医疗保健和日常饮食中^[7]。据报道,孜然精油的主要化学成分为 2-萜烯-10-醛^[8-9],抑菌活性测试表明其对晚疫病病菌 *Phytophthora infestans*、扩展青霉 *Penicillium expansum*、匍枝根霉 *Rhizopus stolonifer*、茄腐镰刀菌 *Fusarium solani* 均具有明显的抑制作用,最小抑菌浓度(MIC)依次为 0.4‰、0.6‰、0.3‰、0.3‰^[10],对大肠杆菌 *Escherichia coli* 和福氏志贺氏菌 *Shigella flexneri* 作用最为明显(MIC 均为 25 μg/mL, MBC(最小杀菌浓度)均为 50 μg/mL)^[11]。丁香精油的主要化学成分为丁香酚和石竹烯^[12],其对食品中常见腐败菌及致病菌具有较强的抑制作用^[13-15]。薄荷精油的主要成分为薄荷酮、异佛尔酮等^[16],对多种革兰氏阴性和阳性菌具有较好的抑制作用, MIC 值范围为 2.50%~0.62%^[17]。八角精油主要成分为茴香脑、草蒿脑、茴香醚等,可显著抑制大肠杆菌 *E. coli*、枯草芽胞杆菌 *Bacillus subtilis*、金黄色

葡萄球菌 *Staphylococcus aureus*、黑曲霉 *Aspergillus niger* 和黄曲霉 *A. flavus*、棉花枯萎病菌 *F. oxysporum* f. sp. *vasinfectum* (Atk.) Snyder & Hansen, MIC 值为 0.5~80 mL/L^[18-19]。生姜精油的主要化学成分为 α-姜烯、β-倍半水芹烯^[20-21],对大肠杆菌、金黄色葡萄球菌和沙门氏菌 *Salmonella* 的 MIC 值均为 0.1 g/mL,对志贺氏痢疾杆菌 *S. castellani* 和苏云金杆菌 *B. thuringiensis* 的 MIC 值均为 0.05 g/mL^[22],对青霉 *Penicillium* 和黑曲霉的 MIC 值均为 0.78%^[23]。

5 种精油化学成分及抑菌活性虽有报道,但对于产地为贵州的 5 种植物精油的主要化学成分及抑菌活性鲜有报道,另外,5 种精油针对农业致病菌的活性报道较少。鉴于此,本文采用水蒸气蒸馏法提取了产自贵州的 5 种植物的精油,并系统测试了 5 种精油对多种植物病原真菌、细菌及其他致病菌的抑制作用。以期能筛选出可有效防控植物病原微生物和其他致病菌的天然产物,为下一步开发为植物源杀菌剂奠定基础。

1 材料和方法

1.1 试验材料

1.1.1 植物样品

八角 *I. verum* 和孜然 *C. cyminum* 的籽,丁香 *S. aromaticum* 的花蕾,生姜 *Z. officinale* 的块根,薄荷 *M. haplocalyx* 叶,5 种植物样品均采自贵阳周边地区。

1.1.2 供试菌株

细菌:绿脓杆菌 *Pseudomonas aeruginosa*、金黄色葡萄球菌 *S. aureus*、大肠杆菌 *E. coli*、青枯菌 *Ralstonia solanacearum* 和枯草芽胞杆菌 *B. subtilis*,均由贵州省中国科学院天然产物化学重点实验室提供。

真菌:黄瓜菌核病菌 *Sclerotinia sclerotiorum*、人参锈病菌 *Cylindrocarpon destructans*、油菜菌核病菌 *S. sclerotiorum* (Lib.) de Bary、腐皮镰刀菌 *F. solani*、立枯丝核菌 *R. solani*、梨黑星病菌 *Venturia pirina*

Aderh、苍术黑斑病菌 *Alternaria tenuissima* 和根腐病菌 *P. cinnamomi*, 均由贵州省中国科学院天然产物化学重点实验室提供。

1.1.3 培养基

Luria-Bertani 液体培养基 (LB): 胰蛋白胨 10.0 g, 酵母提取物 5.0 g, NaCl 10.0 g, 加入去离子水至 1 000 mL, 用 5 mol/L NaOH 调 pH 至 7.4, 灭菌后备用。

马铃薯葡萄糖琼脂 (PDA) 固体培养基 (上海博微生物科技有限公司): 马铃薯浸粉 5.0 g, 葡萄糖 20.0 g, 琼脂 15.0 g, 氯霉素 0.1 g, 加蒸馏水 1 000 mL, 加热煮沸溶解, 灭菌后备用。

1.2 仪器与试剂

1.2.1 仪器

RE 52-99 型亚荣旋转蒸发仪 (上海亚荣生化仪器厂); ZNHW 型电热套 (杭州明远仪器有限公司); DL SB-5/20 型低温冷却液循环泵 (郑州长城科工贸有限公司); HBM-106 型粉碎机 (瑞安市瀚博机电有限公司); FA2204B 万分之一电子天平 (上海精密科学仪器有限公司); HZQ-F160A 恒温振荡器 (上海一恒科学仪器有限公司); LDZX-50KBS 型立式压力蒸汽灭菌锅 (上海申安医疗器械厂); SW-CJ-2FD 型双人单面净化工作台 (苏州净化设备有限公司); HP6890/5975C GC/MS 联用仪 (美国安捷伦公司)。

1.2.2 试剂

无水乙醇、二氯甲烷、无水硫酸钠、二甲基亚砷 (DMSO) 均为市售分析纯, 吐温-80 为市售化学纯, 纯水为本实验室制备。

1.3 试验方法

1.3.1 精油的提取

采用水蒸气蒸馏法提取 5 种植物精油^[24]。将原材料阴干粉碎后过 20 目筛, 各称取 1 500 g 新鲜样品置于 5 000 mL 的烧瓶中, 按固液比 1:2 加入 3 000 mL 蒸馏水, 加热, 保持沸腾 3~4 h, 回流冷凝收集蒸馏液。用二氯甲烷萃取收集到的蒸馏液, 萃取液以无水硫酸钠干燥, 过滤, 用旋转蒸发仪去除溶剂, 得到精油, 密封, 保存在 4℃ 冰箱中备用。

1.3.2 抑菌活性测试

采用抑制菌丝生长法测试抑制真菌的活性^[25]: 将样品用一定量的二甲基亚砷 (DMSO) 溶解配制成 300 mg/mL 溶液, 加入少许吐温-80, 用灭菌的 PDA 培养基将溶液稀释至 2 000、1 000、500、250 mg/L 和

125 mg/L, 使 DMSO 含量低于 0.5%, 将带药培养基倒入培养皿中, 待其凝固后接入活化后的待测真菌菌饼, 每样重复 3 次, 以加入少许吐温-80 的等量 DMSO 溶剂作为空白对照, 以三唑酮为阳性对照。置于 28℃ 培养箱中培养 6 d, 用十字交叉法测量菌落直径, 根据菌丝生长抑制率计算抑制中浓度 (IC₅₀)^[26]。

抑制细菌的活性^[27]: 将所选测试菌种活化后, 用 LB 液体培养基稀释菌液至 0.5 麦氏浊度; 将样品用一定量的 DMSO 溶解并用活化后的菌液配制成 4 000 mg/L 溶液, 加入少许吐温-80, 使 DMSO 含量低于 1.0%。采用 96 孔板 2 倍稀释法测试 5 种植物的抑制细菌活性, 以加入少许吐温-80 的等量 DMSO 的菌液作为空白对照, 以环丙沙星为阳性对照。置于 37℃ 培养箱中培养 24 h, 以孔板上没有浑浊的最小药液浓度为样品对供试细菌的最低抑菌浓度 (MIC)。

1.3.3 化学成分分析

气相色谱条件: 色谱柱为弹性石英毛细管柱 (ZB-5MSI, 30 m×0.25 μm×250 μm), 用正己烷将植物精油配制成 150 mg/L 的溶液。测定八角、丁香、生姜、薄荷精油时, 程序升温: 初始温度为 58℃ 保持 2 min, 以 3℃/min 升温速度升至 160℃, 再以 10℃/min 的速度升至 310℃, 八角和丁香处理运行 40 min, 生姜和薄荷处理运行 56 min; 孜然处理程序升温: 初始温度 48℃ 保持 2 min, 以 4℃/min 升温速度升至 206℃, 再以 8℃/min 的速度升至 310℃, 运行 35 min; 柱子参数: 汽化室温度 250℃, 接口温度 280℃, 进样量 1 μL, 载气为 99.99% 的高纯氦气, 丁香、薄荷、八角、生姜精油柱前压均为 8.11 psi, 孜然柱前压为 7.38 psi, 载气流量 1.0 mL/min, 分流比 20:1, 溶剂滞后时间 4.0 min。5 种植物精油的质谱条件: 电子能量 70 eV, 离子源为 EI 源, EI 源温度 230℃, 发射电流 34.6 μA, 四极杆温度 150℃, 倍增器电压 1 482 V, 质量范围 29~500 amu。各峰经质谱计算机数据系统检索, 标准图谱库 Nist 2005 和 Wiley 275 确定各精油的化合物结构, 用峰面积归一化法确定各成分的相对含量。

2 结果与分析

2.1 5 种植物精油抑制真菌活性

5 种植物精油对 8 种植物病原真菌的抑制活性测试结果见表 1。由表可知, 5 种植物精油对测试真菌均有不同程度的抑制作用, 其中丁香精油活性最好,

对梨黑星病菌的作用最强,IC₅₀为 93.44 mg/L。其次为孜然精油,其对人参锈病菌的活性最好,IC₅₀为 112.28 mg/L。薄荷精油的抑菌作用最弱,对所有测试菌的 IC₅₀均高于 300 mg/L,其中对梨黑星病菌的活性最差,其 IC₅₀为 797.04 mg/L。在所有测试

精油中,生姜精油对根腐病菌的抑制作用最弱,其 IC₅₀为 1 279.38 mg/L,但对其他测试真菌的抑制作用较强,对立枯丝核菌的 IC₅₀也达到146.83 mg/L。该结果表明 5 种植物精油具有较为广谱的抑制真菌的作用,但与阳性对照相比活性较差。

表 1 5 种植物精油对 8 种植物病原真菌的抑制活性

Table 1 Antibacterial activities of the essential oils from five plants against eight plant pathogenic fungi

植物精油 Essential oil	抑制中浓度(IC ₅₀)/mg·L ⁻¹ 50% inhibition concentration			
	梨黑星病菌 <i>V. piritna</i>	腐皮镰刀菌 <i>F. solani</i>	黄曲霉菌核病菌 <i>S. sclerotiorum</i>	根腐病菌 <i>P. cinnamomi</i>
八角 <i>I. verum</i>	131.89(116.45~145.72)	333.87(238.13~463.23)	948.51(392.47~3 219.67)	344.32(67.12~1 059.15)
丁香 <i>S. aromaticum</i>	93.44(68.75~111.73)	119.70(101.36~134.99)	301.57(126.73~575.53)	136.41(25.50~210.42)
孜然 <i>C. cyminum</i>	634.76(276.79~1 744.48)	136.83(62.36~253.62)	184.93(168.46~201.91)	174.08(36.12~361.04)
生姜 <i>Z. officinale</i>	411.40(216.89~722.30)	363.19(173.32~651.74)	379.66(237.44~579.52)	1 279.38(788.17~3 438.11)
薄荷 <i>M. haplocalyx</i>	797.04(412.91~2 546.32)	320.84(66.44~796.53)	390.28(284.60~530.32)	479.58(204.01~1 096.90)
三唑酮(CK) triazolone	0.10(0.04~0.29)	37.09(6.60~330.29)	0.02(0.001~0.05)	22.08(4.22~85.90)

植物精油 Essential oil	抑制中浓度(IC ₅₀)/mg·L ⁻¹ 50% inhibition concentration			
	人参锈病菌 <i>C. destructans</i>	油菜菌核病菌 <i>S. sclerotiorum</i>	立枯丝核菌 <i>R. solani</i>	苍术黑斑病菌 <i>A. tenuissima</i>
八角 <i>I. verum</i>	211.48(211.38~510.03)	436.49(287.99~651.58)	94.57(9.51~135.03)	356.01(45.02~1 364.70)
丁香 <i>S. aromaticum</i>	140.57(123.62~156.22)	195.02(101.25~303.61)	94.57(9.51~135.03)	198.98(148.68~255.17)
孜然 <i>C. cyminum</i>	112.28(88.70~132.31)	303.76(221.34~403.07)	178.65(163.00~194.79)	238.09(49.59~484.91)
生姜 <i>Z. officinale</i>	465.96(315.13~683.11)	439.73(282.16~674.08)	146.83(77.19~202.67)	288.33(197.81~396.63)
薄荷 <i>M. haplocalyx</i>	414.70(136.44~1 090.36)	374.45(229.69~577.97)	319.97(257.07~395.87)	529.83(282.48~1 007.32)
三唑酮(CK) triazolone	0.49(0.07~2.65)	0.02(0.01~0.04)	0.02(0.001~0.10)	15.54(4.23~417.66)

2.2 5 种植物精油抑制细菌活性

5 种植物精油对细菌的抑制作用结果见表 2。由表可知,5 种植物精油对 5 种测试细菌均有一定的抑制作用,但远远小于阳性对照环丙沙星。与抑制真菌结果相似,亦是丁香和孜然精油的活性最好,对 5 种测试菌均有一定的抑制作用。孜然精油

对青枯菌的 MIC 最小,为 125 mg/L,丁香精油对青枯菌和枯草芽胞杆菌的 MIC 均为 250 mg/L。八角、生姜、薄荷精油只对部分测试菌具有抑制作用,其中八角精油的活性最差,只对大肠杆菌、金黄色葡萄球菌、枯草芽胞杆菌具有抑制作用,但 MIC 均大于1 000 mg/L。

表 2 5 种植物精油抑制细菌的活性¹⁾

Table 2 Antibacterial activities of the essential oils from five plants against five bacterial strains

菌株 Bacterial strain	最小抑菌浓度(MIC)/mg·L ⁻¹ Minimum inhibitory concentration					
	八角 <i>I. verum</i>	丁香 <i>S. aromaticum</i>	孜然 <i>C. cyminum</i>	生姜 <i>Z. officinale</i>	薄荷 <i>M. haplocalyx</i>	环丙沙星 Ciprofloxacin
青枯菌 <i>R. solanacearum</i>	—	250	125	125	500	3
大肠杆菌 <i>E. coli</i>	2 000	1 000	1 000	—	—	2
绿脓杆菌 <i>P. aeruginosa</i>	—	1 000	500	500	250	4
金黄色葡萄球菌 <i>S. aureus</i>	1 000	500	1 000	—	—	3
枯草芽胞杆菌 <i>B. subtilis</i>	1 000	250	500	1 000	500	1

1) “—”表示精油浓度在 2 000 mg/L 时对供试菌没有抑制作用。

“—” indicates that the essential oil at the concentration of 2 000 mg/L has no inhibitory effect on the tested bacteria.

2.3 5 种植物精油化学成分分析

GC-MS 检测 5 种植物精油的主要化学成分见表 3。八角精油中检测出的化合物含量占总成分的

98.97%,其主要成分是茴香脑和茴香醛,茴香脑占 53.16%,茴香醛占 25.68%。另外,芳樟醇的含量为 7.18%,萜品烯醇-4 和 α-萜品醇的含量分别是

2.44%和2.34%。薄荷精油中的化合物含量占总含量的99.30%,其中含量最多的为长叶薄荷酮,含量为15.85%,其次为异薄荷脑,含量为15.21%。薄荷烯酮醚和反-胡椒酮氧化物的含量分别为13.04%和12.66%,异薄荷酮9.07%。丁香精油中化合物较少,其含量占总含量的99.90%,其中含量最多的为丁子香酚,含量达到82.65%,其次为乙酰丁香酚,含量为15.81%,其余的化合物含量均较

少。生姜精油检测出的化合物,含量占总含量的74.41%。含量最多的香叶醛,含量为16.80%;其次为橙花醇,含量为11.89%;姜烯的含量为5.93%。孜然精油检测出的化合物占总含量的99.99%。其中茴香甲醛和茴香脑的含量分别是46.06%和38.69%,这2种化合物含量为84.75%,是孜然挥发油中的主要物质。草蒿脑的含量为7.96%,萜品烯和伞花烃的含量分别为2.80%和1.96%。

表 3 5 种植物精油主要化学成分

Table 3 Main chemical components of the essential oils from five plants

植物 Plant	序号 No.	保留时间/min Retention time	中文名称 Chinese name	分子量 Molecular weight	相似度/% Similarity	相对含量/% Relative content
八角 <i>I. verum</i>	1	10.94	桉油精	154	97	1.06
	2	13.91	芳樟醇	154	97	7.18
	3	17.34	萜品烯醇-4	154	96	2.44
	4	17.95	α -萜品醇	154	91	2.34
	5	18.28	草蒿脑	148	98	1.38
	6	20.75	茴香醛	136	98	25.68
	7	22.20	茴香脑	148	98	53.16
	8	26.48	茴香酮	164	94	1.81
	9	37.86	胡椒酚	134	91	1.84
薄荷 <i>M. haplocalyx</i>	1	16.25	异薄荷酮	154	98	9.07
	2	17.17	异薄荷脑	156	91	15.21
	3	20.09	长叶薄荷酮	152	98	15.85
	4	20.79	反-胡椒酮氧化物	168	93	12.66
	5	22.53	玟烷	138	94	1.88
	6	24.54	优葛缕酮	150	91	2.05
	7	25.33	丁子香酚	164	98	4.52
	8	25.65	薄荷烯酮醚	166	96	13.04
	9	27.91	β -石竹烯	204	99	1.22
	10	30.45	大根香叶烯	204	98	1.00
	11	32.71	4-环丙基-2-甲氧基苯酚	164	93	1.93
丁香 <i>S. aromaticum</i>	1	25.42	丁子香酚	164	99	82.65
	2	27.92	β -丁香油烯	204	99	1.09
	3	32.33	乙酰丁香酚	206	98	15.81
生姜 <i>Z. officinale</i>	1	10.94	桉树脑	154	98	2.25
	2	16.83	茨醇	154	91	3.66
	3	17.95	α -萜品醇	154	91	2.00
	4	20.18	橙花醇	152	96	11.89
	5	20.82	反-香叶醇	154	90	1.54
	6	21.51	香叶醛	152	95	16.80
	7	30.54	芳姜黄烯	202	98	3.98
	8	31.05	姜烯	204	95	5.93
	9	31.57	β 甜没药烯	204	95	3.22
	10	32.17	β 倍半水芹烯	204	98	3.96
	11	33.19	榄香醇	222	95	3.01
	12	33.74	3,7,11-三甲基-6,10-十二碳二烯-1-乙酸酯	282	91	1.60
	13	34.76	sesquisabinene hydrate	222	91	2.25
	14	35.68	zingiberenol	222	90	3.48
	15	36.94	β 桉叶油醇	222	95	2.54
孜然 <i>C. cuminum</i>	1	12.30	伞花烃	134	95	1.96
	2	13.56	萜品烯	136	97	2.80
	3	18.80	草蒿脑	148	98	7.96
	4	20.54	茴香甲醛	148	98	46.06
	5	21.95	茴香脑	148	97	38.69

3 讨论

本文通过水蒸气蒸馏法提取了 5 种药食兼用植物的精油,采用抑制菌丝生长速率法和 96 孔板微量稀释法测试了 5 种植物精油对多种植物病原真菌和细菌的抑制作用。结果表明,5 种植物精油对多种植物病原真菌和细菌具有一定程度的抑制作用。

本试验中检测出八角精油中的主要成分是茴香脑(53.16%)和茴香醛(25.68%),对 8 种测试植物病原真菌均有一定的抑制作用,但对所测细菌的活性较弱或没有抑制作用,该结果与已报道的精油活性相差较大^[18-19]。张赟彬等报道了柠檬烯为八角精油中的主要抑菌活性物质^[28],而本试验检测出的柠檬烯含量仅为 0.03%。文献报道的主要成分与本文所测相似,但抑菌活性相差较大,推测与柠檬烯的含量有关。

本试验检测出的生姜精油的主要成分是香叶醛(16.80%)和橙花醇(11.89%),对所测的植物病原真菌均有中等强度的抑菌活性,对细菌的抑制作用较弱。文献报道生姜精油的主要成分为 α -姜烯^[20,29]、 β -姜烯^[21]、 β -水芹烯^[30],本试验检测出的姜烯含量为 5.93%,与文献报道含量差距甚远,推测可能是受提取工艺、采摘地点和采摘时节等因素的影响。多篇文章报道了生姜精油具有较强的抑菌活性,推测可能与姜精油中姜辣素、黄酮和多酚成分含量有关^[22-23,31-32],而这些物质本试验中并未检测出,可能这就是本次测试活性较弱的原因。

本试验检测出薄荷精油中的主要化学成分为长叶薄荷酮(15.85%)、异薄荷脑(15.21%),生测结果显示其对植物病原真菌和一些细菌的抑制作用均较弱,且对大肠杆菌、金黄色葡萄球菌没有抑制作用。与本试验检测结果不同,文献报道薄荷精油的主要成分为异佛尔酮^[17]、香薷酮^[33]、薄荷醇^[34],对一些病原细菌均具有良好的抗菌活性^[17,35],MIC 值为 5.00%~0.04%^[17]。国内亦有多篇文献报道了不同品种、不同产地、不同采摘时间、不同提取方法的薄荷精油的成分及抑菌活性,结果表明薄荷精油中的化学成分相差较大,但均有较好的抑菌活性,推测可能原料品种、产地和提取方法不同导致了成分的差异^[36]。

本试验所测孜然精油的主要成分为茴香甲醛(46.06%)和茴香脑(38.69%),而文献报道其主要成分为 2-萜烯-10-醛、枯茗醛、3-萜烯-10-醛^[8-9,24],这些化合物本次试验均未检出。另外,抑菌活性试验显示孜然精油对测试真菌和细菌均有中等强度的抑制作用,与文献报道相似^[11,24,37],推测孜然精油中有多种成分具有抑菌活性。

本试验检测出丁香精油中含量最多的为丁子香酚(82.68%),其次为乙酰丁香酚(15.81%),与文献报道相似^[12]。本试验生测结果显示丁香精油在 5 种被测精油中抑菌活性最强,该结果与文献报道一致^[14-15,37-38]。丁子香酚为丁香中的主要气味物质和抑菌物质^[14],贵州产丁香中丁子香酚的含量高于文献报道,据此可推测贵州产丁香应具有更强的丁香气味及抑菌活性,故其品质更优。

本文研究的 5 种贵州产药食兼用植物精油的主要成分及抑菌活性虽与报道有差别,但其抑菌作用是毋庸置疑的,它们的活性与阳性对照相比较差,是因为 5 种植物精油均为粗提物,成分较多,活性物质含量较低,故下一步本实验室将在活性追踪下分离这些植物精油中的活性物质,以期寻找到新的抑菌活性物质。本试验研究结果显示,5 种植物精油对多种植物病原微生物具有抑制作用,但本次试验均为体外测试,且精油往往对植物具有化感作用,故这些精油对于植物相关病症的效果,还需进一步的盆栽试验验证。另外,本文中的植物均为人们通常添加到食物中的香料植物,千百年来的食用结果表明这些植物对人体无毒、无副作用,本研究的结果将为食物及食材的保鲜提供新的方法,为天然产物在食品安全领域的应用开发提供理论依据。

参考文献

- [1] 疏秀林,施庆珊,欧阳友生,等. 植物精油的抗菌特性及在食品工业中研究进展[J]. 生物技术,2006,16(6): 89-92.
- [2] 肖崇厚. 中药化学[M]. 上海:上海科学技术出版社,1993: 75-78.
- [3] 李文茹,施庆珊,莫翠云,等. 几种典型植物精油的化学成分与其抗菌活性[J]. 微生物学通报,2013,40(11): 2128-2137.
- [4] CEYLAN E, FUNG D Y C. Antimicrobial activity of spices [J]. Journal of Rapid Methods and Automation in Microbiology, 2004, 12(1): 1-55.

- [5] BAJPAI V K, YOON J I, KANG S C. Antifungal potential of essential oil and various organic extracts of *Nandina domestica* Thunb. against skin infectious fungal pathogens [J]. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 2009, 83(6): 1127 - 1133.
- [6] DELESPAUL Q, BILLERBECK V G, ROQUES C G, et al. The antifungal activity of essential oils as determined by different screening methods [J]. *Journal of Essential Oil Research*, 2000, 12: 256 - 266.
- [7] 刘文静, 刘东波, 张志旭, 等. 药食兼用植物抑菌和抗炎作用研究进展[J]. *中草药*, 2016, 47(19): 3535 - 3542.
- [8] 李大强, 张忠, 毕阳, 等. 甘肃和新疆产区孜然精油成分的比较[J]. *食品工业科技*, 2012, 33(11): 141 - 143.
- [9] 张越锋. 新疆孜然种子中主要化学成分及精油生物活性的研究[D]. 天津: 天津大学, 2012.
- [10] 聂莹, 李淑英, 齐小雨, 等. 孜然油对几种果蔬贮藏致病菌抑制作用分析[J]. *生物技术通报*, 2013, 18(4): 167 - 171.
- [11] 甘芝霖, 倪元颖. 孜然精油抑菌机制[J]. *食品工业科技*, 2019, 40(2): 154 - 159.
- [12] 陈梅. 丁香精油对番茄采后腐烂抑制作用及成分分析[J]. *山西农业大学学报(自然科学版)*, 2016, 36(9): 678 - 684.
- [13] 邱琴, 崔兆杰, 赵怡, 等. 丁香挥发油化学成分的 GC-MS 分析[J]. *中药材*, 2003, 26(1): 25 - 26.
- [14] 崔海英, 吴娟, 宋方平, 等. 丁香精油的抗菌活性及其在豆制品中的应用[J]. *中国食品添加剂*, 2015(10): 150 - 153.
- [15] 曾荣, 陈金印, 林丽超. 丁香精油及丁香酚对食品腐败菌的抑菌活性研究[J]. *江西农业大学学报*, 2013, 35(4): 852 - 857.
- [16] 陈燕. 薄荷精油的分离、鉴定及微胶囊化研究[D]. 石河子: 石河子大学, 2014.
- [17] 王微, 吴楠, 付玉杰, 等. 薄荷精油抗菌活性研究[J]. *植物研究*, 2007, 27(5): 626 - 629.
- [18] 王同禹. 肉桂和八角茴香挥发性成分的分析及生物活性研究[D]. 柳州: 广西工学院, 2010.
- [19] 刘志希, 李锋, 张腊梅. 八角茴香精油及其主成分对棉花枯萎病菌的拮抗作用[J]. *安徽农业科学*, 2010, 38(32): 18193 - 18194.
- [20] 秦艳, 康林芝, 王娜, 等. 姜精油的香气成分及其生物活性研究[J]. *安徽农业科学*, 2017, 45(18): 104 - 106.
- [21] 张宏志, 管正学, 王建立. 贵州生姜精油化学成分研究[J]. *贵州农业科学*, 2001, 29(4): 8 - 10.
- [22] 张鲁明. 生姜姜油的提取、成分分析及其抑菌活性研究[D]. 长沙: 湖南农业大学, 2010.
- [23] 王丽霞, 钱佳, 冯硕, 等. 超临界提取生姜挥发油的抗氧化及抑菌活性[J]. *食品研究与开发*, 2016, 37(13): 31 - 34.
- [24] 李伟, 封丹, 陆占国. 孜然精油成分及其抗菌作用[J]. *食品科技*, 2008(5): 182 - 185.
- [25] 方中达. 植病研究方法[M]. 北京: 中国农业出版社, 1998.
- [26] 张忠, 李科伟, 毕阳. 两种兔耳草提取物的体外抑菌作用[J]. *食品工业科技*, 2012, 33(9): 62 - 68.
- [27] National committee for clinical laboratory standards. Reference method for broth dilution antifungal susceptibility testing of yeast [M]. Tentative Standard M 27T, National Committee for Clinical Laboratory Standards, 2008: 51 - 56.
- [28] 张赞彬, 郭媛, 江娟, 等. 八角茴香精油及其主要单体成分抑菌机理的研究[J]. *中国调味品*, 2011, 36(2): 28 - 33.
- [29] 杨倩. 薄荷挥发油的化学型分析及抑菌、抗炎活性研究[D]. 镇江: 江苏大学, 2017.
- [30] 战琨友, 董灿兴, 徐坤. 生姜精油、浸膏和油树脂的提取及成分分析[J]. *精细化工*, 2009, 26(7): 685 - 690.
- [31] 赵二芳, 杨洁, 刘乐, 等. 生姜抑菌作用的研究现状[J]. *中国调味品*, 2008, 43(11): 187 - 190.
- [32] 区敏港, 彭新宇, 唐兴刚, 等. 黑胡椒、快乐鼠尾草与生姜精油的化学成分及其对产气荚膜梭菌的抑制活性[J]. *畜牧与兽医*, 2012, 44(3): 62 - 65.
- [33] 李娟娟, 王羽梅. 薄荷精油成分和含量的影响因素综述[J]. *安徽农业科学*, 2011, 39(36): 22313 - 22316.
- [34] 周露, 谢文申. 云南薄荷精油的化学成分及其抗菌活性研究[J]. *香料香精化妆品*, 2011(5): 1 - 3.
- [35] 李铁纯, 张捷莉. 薄荷精油化学成分的分析[J]. *鞍山师范学院学报*, 2000, 2(1): 89 - 91.
- [36] 张婷, 黄罗东, 马玉凤, 等. 新疆孜然不同部位抑菌及抗氧化活性的比较[J]. *食品科技*, 2018, 43(5): 254 - 258.
- [37] 王景信. 丁香精油的超临界 CO₂ 萃取和抑菌作用的研究[J]. *中国调味品*, 2011, 36(10): 26 - 28.
- [38] 顾仁勇, 傅伟昌, 银永忠. 丁香和肉桂精油联合抗菌作用初步研究[J]. *食品科学*, 2008, 29(10): 115 - 117.

(责任编辑: 田 喆)