

陕西商洛艾叶精油和醇提物成分分析及其抗菌抗氧化活性研究

路露^{1,2},姚琪²,束成杰²,姜洪芳²,朱凯^{1*},石宝俊^{1,2*}

¹南京林业大学化学工程学院,南京 210008;²南京野生植物综合利用研究院 南京 211100

摘要:艾叶是一种临床常用的中草药,其分布广泛。为进一步深入的开发利用艾叶,本研究通过 GC-MS 分析了艾叶精油和艾叶醇提物的主要成分,并对比了二者的抗菌和抗氧化活性。结果表明:艾叶精油与艾叶醇提物的主要成分具有很大的差异,艾叶精油主要成分为桉叶油醇(21.11%)和龙脑(10.77%);而艾叶醇提物主要成分为 2-甲基四氢噻(20.18%)、异硫氰酸乙酯(10.47%)和二乙二醇二乙酸酯(10.06%)。艾叶精油与艾叶醇提物对 5 种菌种(大肠杆菌、金黄色葡萄球菌、白色念珠菌、枯草芽孢杆菌、绿脓杆菌)均具有一定的抑菌效果,其中对枯草芽孢杆菌的一直效果最佳,MIC/MBC 值分别为 1.95、7.81 mg/mL 和 3.91、7.81 mg/mL。艾叶精油和艾叶醇提物浓度为 32 mg/mL 时二者对 DPPH 清除能力分别达到 89.5% 和 77.6%。因此,艾叶精油的抑菌和抗氧化活性均优于艾叶醇提物。

关键词:艾叶精油;艾叶醇提物;成分分析;抑菌;抗氧化

中图分类号:R932;TQ65

文献标识码:A

文章编号:1001-6880(2020)11-1852-08

DOI:10.16333/j.1001-6880.2020.11.007

Composition, antibacterial and antioxidant activities of essential oil and alcohol extract from *Artemisia argyi* in Shangluo, Shaanxi Province

LU Lu^{1,2}, YAO Qi², SHU Cheng-jie², JIANG Hong-fang², ZHU Kai^{1*}, SHI Bao-jun^{1,2*}

¹College of Chemical Engineering, Nanjing Forestry University, Nanjing 210008, China;

²Nanjing Institute for Comprehensive Utilization of Wild Plants, Nanjing 211100, China

Abstract: *Artemisia argyi* is a widely distributed and commonly used Chinese herbal medicine. For further development and utilization, the main components of essential oil and alcohol extract of *Artemisia argyi* were analyzed by GC-MS, and their antibacterial and antioxidant activities were compared. The results showed that the main components of *Artemisia argyi* essential oil and alcohol extract were very different. The main components of *Artemisia argyi* essential oil were eucalyptol (21.11%) and α -bornene (10.77%); while the main components of the ethanol extract of *Artemisia argyi* were 2-methyltetrahydrothiophen (20.18%), ethyl isothiocyanate (10.47%) and ethylene glycol diacetate (10.06%). *Artemisia argyi* essential oil and alcohol extracts have a certain bacteriostatic effect on 5 strains (*Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Candida albicans*, *Bacillus subtilis*, *Pseudomonas aeruginosa*), among which the effect on *Bacillus subtilis* is the best, MIC / MBC values are 1.95, 7.81 mg/mL and 3.91, 7.81 mg/mL, respectively. When the concentration of essential oil and alcohol extract of *Artemisia argyi* were 32 mg/mL, their DPPH scavenging capacity reached 89.5% and 77.6%, respectively. Therefore, the antibacterial and antioxidant activities of essential oil from *Artemisia argyi* are better than alcohol extract of *Artemisia argyi*.

Key words: *Artemisia argyi* essential oil; *Artemisia argyi* alcohol extract; component analysis; antibacterial; antioxidant

艾(学名: *Artemisia argyi* Levl. et Vant.) 是菊科蒿属植物,现收载于 2015 年版《中国药典》^[1]。艾叶既可如《食疗本草》^[2]中记录“春月采嫩艾作菜

食,或和面作如弹子”当作食物使用,又可如《五十二病方》^[3]中所述进行艾熏、艾灸的药用使用。研究表明,艾叶有抗菌抗病毒^[4,5]、抗凝血^[6]、抗过敏^[7]、杀虫^[8]等作用。植物挥发油由于具有由于其对人畜无副作用且对环境友好等优点,因此人们往往注重其作为天然杀菌剂、杀虫剂和抗氧化剂的作用^[9]。

收稿日期:2020-05-29 接受日期:2020-09-19

基金项目:国家重点研发计划(2018YFD0600405)

* 通信作者 E-mail: zhukai53@163.com, jacksonshi@126.com

Nuerbiye 等^[10]发现了艾叶挥发油对 5 真菌(疫霉、黑曲霉、粉红聚端孢、青霉、链格孢)的抑菌率为 15.2% ~ 74.5%。Wang 等^[11]发现艾叶水提液对金黄色葡萄球菌、大肠杆菌和乙型伤寒沙门氏菌均有抑制和杀灭作用,对金黄色葡萄球菌的抑菌效果最佳。目前很少有人研究艾叶醇提物对枯草芽孢杆菌、绿脓杆菌和白色念珠菌的抑菌活性。由于传统合成的抗氧化剂如叔丁基对羟基茴香醚(BHA)、二丁基羟基甲苯(BHT)等具有一定的毒副作用,因此无毒安全的天然抗氧化剂受到了重视^[12,13]。本文通过 GC-MS 对艾叶精油成分分析,并比较了艾叶精油和艾叶醇提物对 5 种常用菌种的抑菌效果,选取了革兰氏阳性菌:金黄色葡萄球菌、枯草芽孢杆菌;革兰氏阴性菌:大肠杆菌、绿脓杆菌;真菌:白色念珠菌为代表,探索其对不同性质菌种的抑制效果。同时研究了二者的 DPPH 的清除效果。以期艾叶的综合开发和利用提供理论基础。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 试剂

艾叶为陕西省商洛洛南县古城镇秦之艾;DP-PH、抗坏血酸(Vc)(上海麦克林公司);氯化钠、葡萄糖、酵母抽提物(国药集团化学试剂有限公司);琼脂、多聚蛋白胨(日本制药株式会社)。

1.1.2 培养基与菌种

大肠杆菌、金黄色葡萄球菌、白色念珠菌、枯草芽孢杆菌、绿脓杆菌由南京野生植物资源综合利用研究院提供。

LB 培养基:1 g 胰蛋白胨、0.5 g 酵母抽提物、1 g 氯化钠、2 g 琼脂、100 mL 蒸馏水;LB 液体培养基去除琼脂即可;YPD 培养基:1 g 酵母抽提物、2 g 蛋白胨、2 g 葡萄糖、2.5 g 琼脂、100 mL 蒸馏水 YPD 液体培养基去除琼脂即可。以上培养基均进行高压灭菌(121 °C, 20 min)后备用。

1.1.3 仪器

Agilent Technologies 7820A 气相色谱-质谱联用仪(安捷伦公司);MQT-60R 震荡培养箱(上海曼泉仪器有限公司);HCB-1300V 垂直层流洁净工作台(青岛海尔特种电器有限公司);JW-2017HR 高度冷冻离心机(安徽嘉文仪器装备有限公司);YP3002 电子天平(上海佑科仪器仪表有限公司);LDZX-50KBS 立式压力蒸汽灭菌锅(上海申安医疗器械厂);T6 紫外/可见分光光度计(北京普析通用仪器

有限公司)。

1.2 样品制备

1.2.1 艾叶精油制备

参考 Nuerbiye 等^[10]的实验方法,稍加修改。称取 200 g 艾叶置于圆底烧瓶中,加入 3 500 mL 水,然后连接挥发油提取器,加热煮沸提取约 6 h 左右,用指形管接收到绿色艾叶精油,贴标签保存备用。重复以上实验多次,保存备用。

1.2.2 艾叶醇提物制备

参考 Guo 等^[14]的实验方法,稍加修改。称取 30 g 艾叶置于 1 000 mL 圆底烧瓶中,加入 300 mL 85% 的乙醇,加热约 1.5 h。待仪器冷却后用纱布过滤倒出醇提液,旋转蒸发器浓缩,而后用离心机离心 15 min,最终得到 1 g/mL 的艾叶醇提物,贴标签放冰箱保存备用。

1.3 GC-MS 成分分析条件

色谱条件为:色谱柱 19091J-433-HP-5 (30 m × 250 μm, 0.25 μm),初温 60 °C,保留时间为 3 min,以 1 °C/min 升温至 80 °C,保留 0 min,然后以 10 °C/min 升温至 180 °C 并保留 2 min。进样口温度为 250 °C, FID 检测器温度为 280 °C;以氦气为载气,流速 1 mL/min,样量为 1 μL^[15]。

质谱条件为:EI 离子源 200 °C,四级杆 150 °C;电子能量 70 eV;全程扫描。

1.4 抑菌实验

1.4.1 测定抑菌圈

参考先前研究^[16,17]的方法,将已灭菌的固体培养基倒入培养皿中,供试菌种均匀的涂布在培养基上,静置 10 min。已灭菌的 6 mm 抑菌圈放置在培养基上,取 10 μL 样品打在抑菌圈上。静置 10 min, DMSO 作为对照。放置培养箱中 37 °C 培养 24 h,测量其抑菌直径,每个样品重复 3 次。

1.4.2 测定 MIC、MBC

参考 Wei 等^[18]的方法,采用双倍稀释法,用 DMSO 将样品稀释成 31.25、15.63、7.81、3.91、1.95、0.98、0.49、0.24 mg/mL 溶液液备用。取 5 mL 液体培养基、500 μL 不同浓度样品和 500 μL 菌液加入到试管中,充分混匀。试管置于 37 °C, 180 rpm 摇床培养 24 h。以肉眼不见浑浊的最低浓度即为 MIC。取 50 μL 混合菌液于培养皿上,均匀涂布,于 37 °C 培养 24 h 后,无菌体繁殖的最低浓度即为 MBC。每个样品重复 3 次。

1.5 DPPH 清除率的测定

DPPH 方法是根据氢的提供或自由基清除能力所确定物质的抗氧化活性^[19]。参考 Khawla 等^[20]的方法测定艾叶精油和艾叶醇提取物对 DPPH 的清除效果,并进行适当的修改。配制 1×10^{-4} mol/L DPPH 乙醇溶液和浓度为 1、2、4、8、16、32 mg/mL 的艾叶精油和艾叶醇提取物以及 20、40、60、80、100 mg/L 的 Vc 溶液。分别取 2 mL 不同浓度的样品和 2 mL DPPH 乙醇溶液。混合均匀,避光反应 30 min,在 517 nm 处测其吸光度。每个样品重复 3 次。使用下式计算其清除率。

$$I = [1 - (A_1 - A_2) / A_0] \times 100\%$$

式中, I :清除率; A_0 :DPPH 加乙醇空白组吸光度; A_1 :样品加 DPPH 吸光度; A_2 :样品加乙醇的吸光度。

1.6 统计与分析

本文中所有实验用 SPSS 25 数据处理软件对实验数据,平行三次。所有数据均以平均值 \pm 标准差 (mean \pm SD) 表示。

2 结果

2.1 GC-MS 分析

采用峰面积归一化法得到各组分的相对含量。由图 1 和表 1 可知艾叶精油的主要成分为桉叶油醇 (21.11%)、萜品烯 (7.24%)、龙脑 (10.77%)、石竹烯 (5.85%) 和异香橙烯环氧化物 (6.61%)。图 2 和表 2 可知艾叶醇提取物的主要成分为 2-甲基四氢噻吩 (20.18%)、异硫氰酸乙酯 (10.47%)、二乙二醇二乙酸酯 (10.06%)、2-[2-[2-(2-丁氧基乙氧基)乙氧基]乙氧基]乙酸乙酯 (7.83%) 和新癸酸 (6.71%)。由此可见二者的主要成分具有很大的差异。

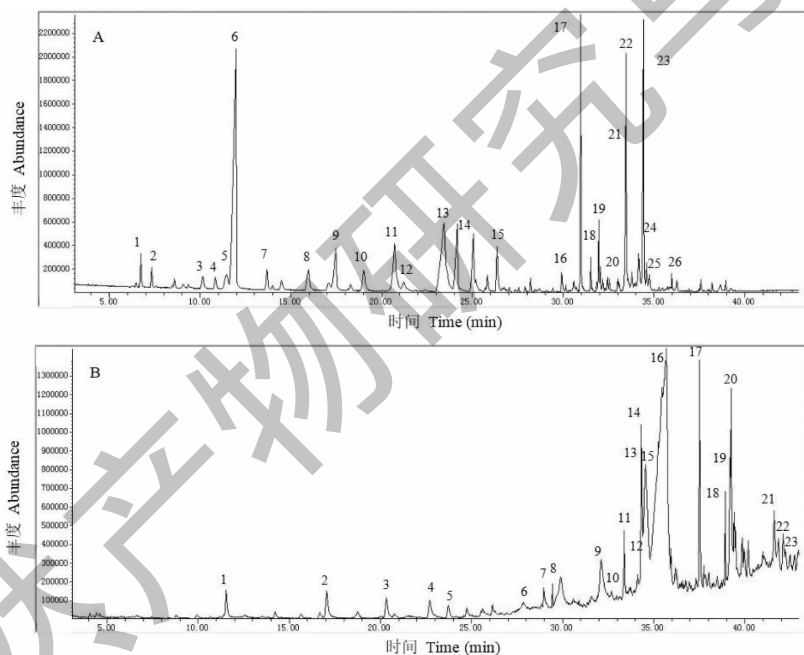


图 1 艾叶精油 (A) 和艾叶醇提取物 (B) 总离子流图

Fig. 1 Total ion chromatogram (TIC) of volatile oil (A) and alcohol extract (B) from *A. argyi*

表 1 艾叶精油的化学组分

Table 1 Chemical groups of *A. argyi* volatile oil

| 峰号 Peak No. | 化合物 Compound | 分子式 Molecular formula | 保留时间 t_R (min) | 相对含量 Relative content (%) |
|----------------|--|--------------------------|---------------------|------------------------------|
| 1 | Tricyclo[2.2.1.0(2,6)]heptane,1,3,3-trimethyl- | $C_{10}H_{16}$ | 6.733 | 1.03 |
| 2 | Camphene | $C_{10}H_{16}$ | 7.329 | 0.67 |
| 3 | Phenylethanolamine | $NH_2CH_2CH(OH)C_6H_5$ | 10.148 | 0.77 |

续表 1 (Continued Tab. 1)

| 峰号 Peak No. | 化合物 Compound | 分子式 Molecular formula | 保留时间 t_R (min) | 相对含量 Relative content(%) |
|----------------|--|--------------------------|---------------------|--------------------------------|
| 4 | Benzene,2-ethyl-1,4-dimethyl- | $C_{10}H_{14}$ | 10.836 | 0.63 |
| 5 | Benzene,1-methyl-3-(1-methylethyl)- | $C_{10}H_{14}$ | 11.464 | 1.39 |
| 6 | Eucalyptol | $C_{10}H_{18}O$ | 11.985 | 21.11 |
| 7 | gamma-Terpinene | $C_{10}H_{16}$ | 13.693 | 7.24 |
| 8 | 1,3,6-Heptatriene,2,5,5-trimethyl | $C_{10}H_{16}$ | 15.969 | 1.62 |
| 9 | Bicyclo[3.1.0]hexan-3-one,4-methyl-1-(1-methylethyl)-, [1S-(1.alpha.,4.beta.,5.alpha.)]- | $C_{10}H_{16}O$ | 17.484 | 3.18 |
| 10 | 3-Carene | $C_{10}H_{16}$ | 19.020 | 1.69 |
| 11 | (+)-2-Bornanone | $C_{10}H_{16}O$ | 20.716 | 4.74 |
| 12 | Benzene,1-ethyl-3,5-dimethyl- | $C_{10}H_{14}$ | 21.210 | 0.96 |
| 13 | endo-Borneol | $C_{10}H_{18}O$ | 23.439 | 10.77 |
| 14 | alpha.-Terpineol | $C_{10}H_{18}O$ | 25.055 | 3.32 |
| 15 | Carveol | $C_{10}H_{16}O$ | 26.360 | 2.52 |
| 16 | Eugenol | $C_{10}H_{12}O_2$ | 29.926 | 0.71 |
| 17 | Caryophyllene | $C_{15}H_{24}$ | 30.968 | 5.85 |
| 18 | Humulene | $C_{15}H_{24}$ | 31.510 | 0.71 |
| 19 | 1,6-Cyclodecadiene,1-methyl-5-methylene-8-(1-methylethyl)-,[S-(E,E)]- | $C_{15}H_{24}$ | 31.950 | 1.49 |
| 20 | Naphthalene,1,2,3,5,6,7,8,8a-octahydro-1,8a-dimethyl-7- (1-methylethenyl)-,[1S(1.alpha.,7.alpha.,8a.alpha.)]- | $C_{15}H_{24}$ | 32.036 | 0.56 |
| 21 | Alloaromadendrene | $C_{15}H_{24}$ | 33.003 | 3.58 |
| 22 | Isoaromadendrene epoxide | - | 33.454 | 6.61 |
| 23 | Naphthalene,decahydro-4a-methyl-1-methylene-7- (1-methylethylidene)-,(4aR-trans)- | $C_{15}H_{24}$ | 34.410 | 7.5 |
| 24 | Neoisolongifolene,8,9-dehydro- | $C_{15}H_{24}$ | 34.582 | 1.05 |
| 25 | Isolongifolene,7,8-dehydro-8a-hydroxy- | $C_{15}H_{24}O$ | 34.759 | 0.81 |
| 26 | n-Hexadecanoic acid | $C_{16}H_{32}O_2$ | 36.263 | 0.50 |

注:表中显示为含量 >0.5% 的主要成分。

Note: The table shows the main components with a content of >0.5%.

表 2 艾叶醇提物的化学组分

Table 2 Chemical groups of alcohol extract from *A. argyi*

| 峰号 Peak No. | 化合物 Compound | 分子式 Molecular formula | 保留时间 t_R (min) | 相对含量 Relative content(%) |
|----------------|---|--------------------------|---------------------|--------------------------------|
| 1 | Eucalyptol | $C_{10}H_{18}O$ | 11.544 | 0.99 |
| 2 | 1,6-Octadien-3-ol,3,7-dimethyl- | $C_{10}H_{18}O$ | 17.054 | 1.47 |
| 3 | Camphor | $C_{10}H_{16}O$ | 20.335 | 1.01 |
| 4 | endo-Borneol | $C_{10}H_{18}O$ | 22.709 | 1.10 |
| 5 | Terpinen-4-ol | $C_{10}H_{18}O$ | 23.734 | 0.66 |
| 6 | 1,3-Cyclopentadiene,5,5-dimethyl-2-ethyl- | - | 28.981 | 0.81 |
| 7 | Hydroquinone | $C_6H_6O_2$ | 29.684 | 0.59 |
| 8 | Phenol,4-ethoxy- | $C_8H_{10}O_2$ | 29.910 | 3.10 |
| 9 | Benzene,1-hexyl-4-nitro- | $C_{12}H_{17}NO_2$ | 32.085 | 2.11 |
| 10 | 3,5-Dimethylanisole | $C_9H_{12}O$ | 32.224 | 1.06 |

续表 2(Continued Tab. 2)

| 峰号 Peak No. | 化合物 Compound | 分子式 Molecular formula | 保留时间 t_R (min) | 相对含量 Relative content(%) |
|----------------|--|--------------------------|---------------------|--------------------------------|
| 11 | Caryophyllene oxide | $C_{15}H_{24}O$ | 33.395 | 1.32 |
| 12 | Isobornyl acetate | $C_{12}H_{20}O_2$ | 34.120 | 1.11 |
| 13 | Azulene, 1,2,3,3a,4,5,6,7-octahydro-1,4-dimethyl-7-(1-methylethenyl)-, [1R-(1.alpha.,3a.beta.,4.alpha.,7.beta.)]- | $C_{15}H_{24}$ | 34.335 | 5.18 |
| 14 | 4-Acetylbutyric acid | $C_6H_{10}O_3$ | 34.539 | 4.52 |
| 15 | Butanoic acid, ethyl ester | $C_6H_{12}O_2$ | 34.560 | 7.97 |
| 16 | Thiophene, tetrahydro-2-methyl- | $C_5H_{10}S$ | 35.172 | 20.18 |
| 17 | Ethanol, 2,2'-oxybis-, diacetate | $C_8H_{14}O_5$ | 37.435 | 10.06 |
| 18 | Neodecanoic acid | $C_{10}H_{20}O_2$ | 38.570 | 6.71 |
| 19 | 2-[2-[2-(2-Butoxyethoxy)ethoxy]ethoxy]ethyl acetate | $C_{12}H_{27}O_8P$ | 38.966 | 7.83 |
| 20 | Ethane, isothiocyanato- | C_3H_5NS | 39.688 | 10.47 |
| 21 | Trimethylsilyl 23-Acetoxy-3,6,9,12,15,18,21-heptaotricosan-1-oate | $C_7H_{16}S_2Si$ | 41.351 | 1.18 |
| 22 | 4-Methyl-1-hepten-4-ol acetate | $C_8H_{14}O$ | 42.182 | 0.66 |
| 23 | Octadecane | $C_{18}H_{38}$ | 42.268 | 0.72 |

注:表中显示为含量 >0.5% 的主要成分。

Note: The table shows the main components with a content of >0.5%.

2.2 艾叶精油和艾叶醇提取物抑菌效果

不同浓度艾叶精油和艾叶醇提取物对大肠杆菌、金黄色葡萄球菌、白色念珠菌、枯草芽孢杆菌、绿脓杆菌生长抑菌圈直径大小见表 3 和表 4。由表 3 和表 4 可知随着艾叶精油和艾叶醇提取物浓度的增加,抑菌圈大小成正比的增大。由表 3 可知艾叶精油对

5 种菌种菌具有一定的抑制效果,其中对白色念珠菌抑菌作用最佳。由表 4 可知艾叶醇提取物对 5 种菌种菌具有一定的抑制效果,其中对金黄色葡萄球菌抑菌作用最佳。结果显示艾叶精油和艾叶醇提取物的抑菌效果与其浓度呈正相关性,且艾叶精油的抑菌效果更佳。

表 3 不同浓度艾叶精油抑菌圈直径

Table 3 Diameter of inhibition zone of different concentrations of *A. argyi* essential oil

| 菌种 Strain | 抑菌圈直径 Inhibition zone diameter(mm) | | | | | | |
|---|---------------------------------------|---------------|----------------|----------------|----------------|-----------------|-----------------|
| | DMSO | 7.81 mg/mL | 15.63 mg/mL | 31.25 mg/mL | 62.50 mg/mL | 125.00 mg/mL | 250.00 mg/mL |
| 大肠杆菌 <i>Escherichia coli</i> | 6.13 ± 0.25 | 7.25 ± 0.16 | 8.30 ± 0.32 | 9.56 ± 0.21 | 10.11 ± 0.43 | 10.52 ± 0.26 | 11.14 ± 0.27 |
| 金黄色葡萄球菌 <i>Staphylococcus aureus</i> | 6.09 ± 0.16 | 7.33 ± 0.32 | 8.25 ± 0.21 | 9.28 ± 0.31 | 9.71 ± 0.28 | 10.33 ± 0.13 | 11.75 ± 0.19 |
| 白色念珠菌 <i>Candida albicans</i> | 6.11 ± 0.15 | 9.34 ± 0.26 | 10.21 ± 0.17 | 11.43 ± 0.23 | 13.05 ± 0.28 | 13.55 ± 0.31 | 13.87 ± 0.12 |
| 枯草芽孢杆菌 <i>Bacillus subtilis</i> | 6.05 ± 0.23 | 9.01 ± 0.21 | 9.87 ± 0.13 | 10.21 ± 0.26 | 10.67 ± 0.31 | 11.113 ± 0.19 | 11.52 ± 0.23 |
| 绿脓杆菌 <i>Pseudomonas aeruginosa</i> | 6.08 ± 0.24 | 8.22 ± 0.13 | 8.42 ± 0.21 | 8.51 ± 0.61 | 9.31 ± 0.41 | 10.21 ± 0.28 | 11.36 ± 0.16 |

不同菌种对不同浓度艾叶精油和艾叶醇提取物的敏感度不同(表 5),艾叶精油浓度为 1.95 mg/mL 时,枯草芽孢杆菌不生长;艾叶精油浓度为 3.91 mg/mL 时;大肠杆菌和金黄色葡萄球菌不生长;艾

叶醇提取物浓度为 3.91 mg/mL 时,大肠杆菌和枯草芽孢杆菌不生长;艾叶精油浓度为 7.81 mg/mL 时,白色念珠菌和绿脓杆菌不生长;艾叶醇提取物浓度为 7.81 mg/mL 时,白色念珠菌和金黄色葡萄球菌不生

长;艾叶醇提取物浓度为 15.63 mg/mL 时,绿脓杆菌 不生长。

表 4 不同浓度艾叶醇提取物抑菌圈直径

Table 4 Diameter of inhibition zone of different concentrations of alcohol extract from *Artemisia argyi*

| 菌种 Strain | 抑菌圈直径 Inhibition zone diameter(mm) | | | | | |
|------------------------------|---------------------------------------|-------------|-------------|-------------|--------------|--------------|
| | DMSO | 15.63 mg/mL | 31.25 mg/mL | 62.50 mg/mL | 125.00 mg/mL | 250.00 mg/mL |
| 大肠杆菌 <i>E. coli</i> | 6.13 ± 0.25 | 6.35 ± 0.18 | 7.11 ± 0.21 | 9.21 ± 0.16 | 9.79 ± 0.13 | 10.41 ± 0.26 |
| 金黄色葡萄球菌 <i>S. aureus</i> | 6.09 ± 0.16 | 6.26 ± 0.31 | 6.35 ± 0.26 | 8.56 ± 0.12 | 10.31 ± 0.32 | 11.58 ± 0.21 |
| 白色念珠菌 <i>C. albicans</i> | 6.11 ± 0.15 | 6.25 ± 0.21 | 7.21 ± 0.19 | 7.59 ± 0.11 | 8.63 ± 0.15 | 9.46 ± 0.16 |
| 枯草芽孢杆菌 <i>B. subtilis</i> | 6.05 ± 0.23 | 6.17 ± 0.31 | 7.31 ± 0.21 | 8.42 ± 0.13 | 9.62 ± 0.24 | 10.43 ± 0.25 |
| 绿脓杆菌 <i>P. aeruginosa</i> | 6.08 ± 0.24 | 6.32 ± 0.19 | 8.33 ± 0.17 | 8.59 ± 0.21 | 9.73 ± 0.12 | 10.44 ± 0.15 |

表 5 最小抑菌浓度结果

Table 5 Results of minimum inhibitory concentration

| 菌种 Strain | 样品 Sample | 样品浓度 Concentration(mg/mL) | | | | | | | | 对照 Control |
|---------------------------|------------------------|---------------------------|-------|------|------|------|------|------|------|---------------|
| | | 31.25 | 15.63 | 7.81 | 3.91 | 1.95 | 0.98 | 0.49 | 0.24 | |
| 大肠杆菌 <i>E. coli</i> | 艾叶精油 Essential oil | - | - | - | - | + | + | + | + | + |
| | 艾叶醇提取物 Alcohol extract | - | - | - | - | + | + | + | + | + |
| 枯草芽孢杆菌 <i>B. subtilis</i> | 艾叶精油 Essential oil | - | - | - | - | - | + | + | + | + |
| | 艾叶醇提取物 Alcohol extract | - | - | - | - | + | + | + | + | + |
| 白色念珠菌 <i>C. albicans</i> | 艾叶精油 Essential oil | - | - | - | + | + | + | + | + | + |
| | 艾叶醇提取物 Alcohol extract | - | - | - | + | + | + | + | + | + |
| 绿脓杆菌 <i>P. aeruginosa</i> | 艾叶精油 Essential oil | - | - | - | + | + | + | + | + | + |
| | 艾叶醇提取物 Alcohol extract | - | - | + | + | + | + | + | + | + |
| 金黄色葡萄球菌 <i>S. aureus</i> | 艾叶精油 Essential oil | - | - | - | - | + | + | + | + | + |
| | 艾叶醇提取物 Alcohol extract | - | - | - | + | + | + | + | + | + |

注:“-”代表试管澄清没长菌;“+”代表试管浑浊长菌。

Note:“-” means that the test tube is clarified and does not grow bacteria;“+” means that the test tube is cloudy and grow bacteria.

由表 6 可知,艾叶精油和艾叶醇提取物对 5 种菌种的生长都有不同程度的抑制作用,其中艾叶精油对枯草芽孢杆菌和大肠杆菌的抑制效果较佳,其 MIC/MBC 值分别为 1.95、7.81 mg/mL 和 3.91、7.81 mg/mL。艾叶醇提取物对枯草芽孢杆菌和大肠杆菌的抑制作用最强, MIC/MBC 值分别为 3.91、7.81 mg/mL 和 3.91、15.63 mg/mL。对金黄色葡萄球菌、白色念珠菌和绿脓杆菌的抑菌效果次之。其中艾叶精油和艾叶醇提取物对绿脓杆菌的抑菌效果较差。

2.3 艾叶精油和艾叶醇提取物对 DPPH 的清除效果

图 2 为不同浓度艾叶精油、艾叶醇提取物以及 Vc

对 DPPH 的清除率变化曲线图。由图 2 可知艾叶精油、艾叶醇提取物对 DPPH 的清除率随着浓度的增加而增大,具有正相关性。当浓度为 32 mg/mL 时,艾叶精油、艾叶醇提取物对 DPPH 的清除能力分别达到 89.5% 和 77.6%。其清除 DPPH 能力分别是 100 mg/L Vc 的 1.46 和 1.27 倍。由此可知艾叶精油和艾叶醇提取物均具有良好的抗氧化活性,艾叶精油抗氧化活性强于艾叶醇提取物。

3 结论

本研究通过水蒸气蒸馏法从艾叶片中得到艾叶精油,并通过 GC-MS 分析发现其主要成分为桉叶油醇(21.11%)、萜品烯(7.24%)、龙脑(10.77%)、石

表 6 艾叶精油和艾叶醇提取物对 5 种菌种的最低抑菌浓度和最小杀菌浓度

Table 6 Minimum inhibitory concentration and minimum bactericidal concentration of essential oil and alcohol extract of *Artemisia argyi* against 5 species of bacteria (mg/mL)

| 样品 Sample | 大肠杆菌 <i>E. coli</i> | | 枯草芽孢杆菌 <i>B. subtilis</i> | | 白色念珠菌 <i>C. albicans</i> | | 绿脓杆菌 <i>P. aeruginosa</i> | | 金黄色葡萄球菌 <i>S. aureus</i> | |
|---------------------------|------------------------|-------|------------------------------|------|-----------------------------|-------|------------------------------|-------|-----------------------------|-------|
| | MIC | MBC | MIC | MBC | MIC | MBC | MIC | MBC | MIC | MBC |
| 艾叶精油 Essential oil | 3.91 | 7.81 | 1.95 | 7.81 | 7.81 | 31.25 | 7.81 | 15.63 | 3.91 | 15.63 |
| 艾叶醇提取物 Alcohol extract | 3.91 | 15.63 | 3.91 | 7.81 | 7.81 | 31.25 | 15.63 | 62.50 | 7.81 | 15.63 |

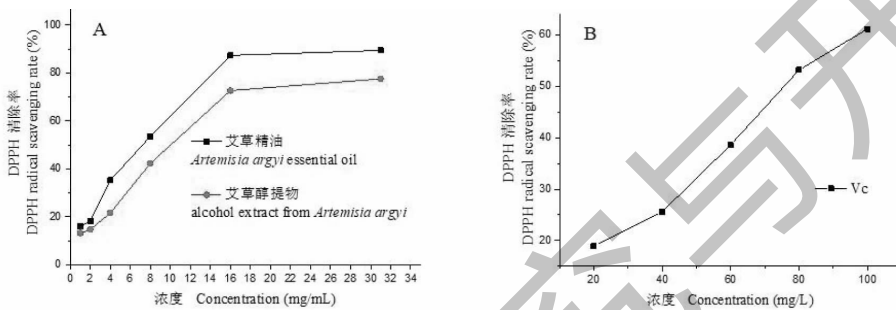


图 2 艾叶精油、艾叶醇提取物 (A) 和 Vc (B) 对 DPPH 自由基的清除率

Fig. 2 DPPH · radical scavenging ability of essential oil, alcohol extract of *Artemisia argyi* (A) and Vc (B)

竹烯 (5.85%) 和异香橙烯环氧化物 (6.61%)。Wang 等^[21]通过水蒸气蒸馏法提取的胶东沿海地区艾蒿精油,主要成分为桉油醇 (24.54%)、石竹烯 (11.57%)、樟脑 (9.16%)、刺柏烯 (7.87%)、长叶烯 (5.30%);Bao 等^[22]提取的黑龙江艾叶精油主要成分为 4-萜烯醇 (18.75%)、6-芹子烯-4-醇 (11.74%)、桉油醇 (9.10%)、石竹烯氧化物 (8.01%)、香芹醇 (6.27%)、3,3,6-三甲基-1,4-庚二烯-6-醇 (5.21%)。与之相比,桉叶油醇 (21.11%) 和龙脑 (10.77%) 含量较高,这可能是由于地区的不同导致的差异性。

本文通过对比艾叶精油和艾叶醇提取物对大肠杆菌、金黄色葡萄球菌、白色念珠菌、枯草芽孢杆菌、绿脓杆菌的抑菌效果进行比较,均发现艾叶精油的效果优于艾叶醇提取物。这可能与挥发油中高含量成分桉叶油醇和龙脑有关,研究表明桉叶油醇和龙脑具有较好的镇痛、抑菌和杀菌作用^[19-23]。此外,Zhu 等^[24]发现美花红千层具有很好的抑菌效果,可能是由于其成分红桉叶油醇 (50.67%)、 α -蒎烯 (19.27%)、2-蒎烯 (7.85%) 含量较高。此外,我们还发现艾叶精油清除 DPPH 效果也优于艾叶醇提取物,当二者浓度为 32 mg/mL 时,前者的抗氧化能力

是后者的 1.15 倍。Cao 等^[25]曾发现 β -石竹烯增加了 SOD 含量,降低了 MDA 水平,提高了其抗氧化活性。由此可知艾叶精油具有良好的抗氧化效果可能归功于其主要成份石竹烯。

综上所述,艾叶精油和艾叶醇提取物的抑菌效果与其浓度具有正相关性,抑菌圈、MIC 和 MBC 实验结果显示艾叶精油的抑菌效果优于艾叶醇提取物。从对大肠杆菌、金黄色葡萄球菌、白色念珠菌、枯草芽孢杆菌、绿脓杆菌 5 种菌种的抑制效果来看艾叶精油和艾叶醇提取物均对枯草芽孢杆菌的抑制效果最佳,其 MIC/MBC 值分别为 1.95、7.81 mg/mL 和 3.91、7.81 mg/mL。DPPH 清除实验结果可知艾叶精油和艾叶醇提取物均有良好的抗氧化能力,且前者优于后者。在接下来的研究中需进一步探索主要成分与抗菌活性和抗氧化活性之间存在的关系,为艾叶的开发利用提供可靠的依据。

参考文献

- 1 Chinese Pharmacopoeia Commission. Pharmacopoeia of the People's Republic of China: Vol I (中华人民共和国药典: 第一部) [M]. Beijing: China Medical Science Press, 2015, 4:60-63.
- 2 Meng S. Therapeutic Materia Medica (食疗本草) [M]. Bei-

- jing: People's Medical Publishing House Press, 1984.
- 3 Mawangdui Tomb Book Sorting Group. Fifty-two Sickness (五十二病方) [M]. Beijing: People's Medical Publishing House Press, 1979.
 - 4 Chen Y, Xu W, Xu SY. Germicidal effect of the leaves of *Artemisia argyi* extract [J]. J Microbiol (微生物学杂志), 2014, 34(6): 107-109.
 - 5 Zhao ZP, Hou YY, Zhen LY, et al. Anti-hepatitis B virus activities of ethyl acetate extracts from Folium Artemisiae Argyi *in vitro* [J]. J Zhengzhou Univ: Med Sci (郑州大学学报: 医学版), 2013, 48: 783-785.
 - 6 Zhang YS, Zhang L, Ni N, et al. Experimental study on blood coagulation effect of Folium Artemisiae Argyi *in vitro* [J]. Tianjin J Tradit Chin Med (天津中医药), 2010, 27: 156-157.
 - 7 Xie QM, Tang FD, Wang Y, et al. Studies on the respiratory pharmacology of essential oil extracted from *Artemisia argyi*-II, effects of antianaphylactic effects [J]. Chin J Mod Appl Pharm (中国现代应用药学杂志), 1999, 16(5): 3-6.
 - 8 Zhang WJ, You CX, Yang K, et al. Bioactivity of essential oil of *Artemisia argyi* Levl. et Vant. and its main compounds against *Lasioderma serricorne* [J]. J Oleo Sci, 2014, 63: 829-837.
 - 9 Tongnuanchan P, Benjakul S. Essential oils: extraction, bioactivities, and their uses for food preservation [J]. J Food Sci, 2014, 79(7): R1231-R1249.
 - 10 Nuerbiye A, Rena K, Yang L, et al. Study on chemical constituents and antifungal activity of volatile oil in *Artemisia argyi* Levl. et vant [J]. J Xinjiang Med Univ (新疆医科大学学报), 2017, 9: 1195-1198.
 - 11 Wang H, Zhou XQ, Zhong XX, et al. *In vitro* antibacterial test of Aiye water extract on three bacteria [J]. Heilongjiang Anim Sci Vet Med (黑龙江畜牧兽医), 2016, 10: 168-169.
 - 12 Zhang ZS, Guo Q, Gao YF, et al. Progress in the industrialization of natural antioxidant [J]. Food Res Dev (食品研究与开发), 2017, 38(7): 206-209.
 - 13 Xiong HP, Yang WL, Zhang YS. Research progress of natural plant antioxidants [J]. Nat Prod Res Dev (天然产物研究与开发), 2001, 13: 75-79.
 - 14 Guo R, Liu ZH, Wang WL, et al. Effects of alcohol extracts of Aiye on thermal sensitive channel TRPV1 [J]. Chin J Basic Tradit Chin Med (中国中医基础医学杂志), 2019, 25: 314-316.
 - 15 Guo SN. Study on the quality evaluation and antioxidant activity of volatile components from *Artemisia argyi* [D]. Wuhan: Hubei University of Chinese Medicine (湖北中医药大学), 2016.
 - 16 Ajay S, Vivek K, Bajpai, et al. Determination of antibacterial mode of action of *Allium sativum* essential oil against food-borne pathogens using membrane permeability and surface characteristic parameters [J]. J Food Safety, 2013, 33(2): 197-208.
 - 17 Li X, Zhou TT, Zheng WYX, et al. Extraction process, GC-MS analysis and antibacterial activity of volatile oil from *Allium fistulosum* [J]. Nat Prod Res Dev (天然产物研究与开发), 2018, 41: 1863-1869.
 - 18 Wei Q, Yue W, Lyu BK, et al. Study on extracting technology by orthogonal design and antibacterial activity of procyanidins from chestnut shells [J]. Food Ferment Ind (食品与发酵工业), 2016, 42: 214-219.
 - 19 Luo YH, Li XR, He J, et al. Isolation, characterisation, and antioxidant activities of flavonoids from chufa (*Eleocharis tuberosa*) peels [J]. Food Chem, 2014, 164: 30-35.
 - 20 Khawla BJ, Fatma C, Sameh M, et al. Structural, functional, and antioxidant properties of water-soluble polysaccharides from potatoes peels [J]. Food Chem, 2016, 205: 97-105.
 - 21 Wang QJ, Gao L. Chemical components of essential oil from *Artemisia argyi* of Jiaodong peninsula coast [J]. J Yantai Univ: Nat Sci (烟台大学学报: 自科版), 2010, 23(2): 105-110.
 - 22 Bao YH, Duan WL, Wang F, et al. Study on optimization of microwave-assisted extraction and chemical composition analysis of essential oil from *Artemisia argyi* leaves [J]. Sci Technol Food Ind (食品工业科技), 2015, 14: 287-292.
 - 23 Maria RP, Mark JP, Wendy SG, et al. The impacts of reactive terpene emissions from plants on air quality in Las Vegas Nevada [J]. Atmos Environ, 2009, 43: 4109-4123.
 - 24 Zhu YM, Liu Y, Wang W, et al. Analysis on composition and antimicrobial activity of volatile oils from leaves and fruits of *Callistemon citrinus* [J]. J Zhejiang For Sci Tech (浙江林业科技), 2017, 6: 29-34.
 - 25 Cao XG, Li RR, Liu J, et al. β -Caryophyllene protects cerebral cortical neurons against cerebral ischemia and reperfusion in rats by improving antioxidant activities [J]. Pharmacol Clin Chin Mater Med (中药药理与临床), 2016, 1: 56-60.