

绒毛香茶菜精油化学成分的 GC-MS 分析及其抑菌活性鉴定

赵小珍¹, 李 晨², 崔晓东², 王转花^{2*}¹山西省分析科学研究院; ²化学生物学与分子工程教育部重点实验室 山西大学生物技术研究所, 太原 030006

摘要: 用水蒸气蒸馏法提取绒毛香茶菜精油, 并用气相色谱-质谱 (GC-MS) 联用技术对其化学成分进行分析。共鉴定出 31 种化合物, 主要含有脂肪族烯烃、醇类、酯类、脂肪族烷烃、芳香烃等化合物。用峰面积归一法测定了各成分的相对质量分数, 约占精油总组分的 92.94%, 含量最高的单一化合物为柠檬烯, 占总量的 36.86%。利用平板涂布法测定了该精油对四种供试菌株的最低抑菌浓度 (MIC) 和最低杀菌浓度 (MBC), 结果显示, 该精油对阪崎肠杆菌没有明显抑制作用, 但对大肠埃希氏菌、金黄色葡萄球菌、伤寒沙门氏菌都有较强的抑制效果。其中, 对金黄色葡萄球菌的抑制作用最强, MIC 和 MBC 分别为 1 $\mu\text{L}/\text{mL}$ 和 5 $\mu\text{L}/\text{mL}$ 。

关键词: 绒毛香茶菜; 精油; 化学成分; 抑菌活性; 鉴定

中图分类号: R284

文献标识码: A

DOI: 10.16333/j.1001-6880.2016.3.010

Chemical Composition and Antimicrobial Activity of *Plectranthus tomentosa* Essential Oil

ZHAO Xiao-zhen¹, LI Chen², CUI Xiao-dong², WANG Zhuan-hua^{2*}¹Shanxi Academy of Analytical Science; ²Key Laboratory of Chemical Biology and

Molecular Engineering, Ministry of Education, Institute of Biotechnology, Shanxi University, Taiyuan 030006, China

Abstract: The essential oil of *Plectranthus tomentosa* was extracted by steam distillation and was analyzed using gas chromatography-mass spectroscopy (GC-MS). Thirty-one compounds accounting for 92.94% of the total oil were identified by area normalization method. The main constituents were Aliphatic olefins, alcohols, esters, alkanes, aromatic hydrocarbons compounds. Limonene was found to be the most abundant component (36.86%) of *P. tomentosa* oil. The essential oil had obvious antibacterial effect according to experiments. Then, minimal inhibitory concentration (MIC) and minimum bactericidal concentration (MBC) were detected against four bacteria strains by Plate Counting method. The results showed that the essential oil had no inhibition on *Enterobacter sakazakii*, but had a strong inhibitory effect on *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* and *Salmonella typhi*. The inhibitory effect on *S. aureus* was the strongest, MIC and MBC were 1 $\mu\text{L}/\text{mL}$ and 5 $\mu\text{L}/\text{mL}$ respectively.

Key words: *Plectranthus tomentosa*; essential oil; chemical composition; antimicrobial activity; analysis

绒毛香茶菜 (*Plectranthus tomentosa*) 又名碰碰香, 唇形科香茶菜属, 为多年生灌木状草本植物。因其在触碰后可散发出令人舒适的香气, 具有提神醒脑、清热解暑、趋避蚊虫等功效, 常被作为小型盆栽植物在办公室或家居中栽培, 可泡茶、炖汤、生食, 具有一定的药用价值。植物精油具有抑菌消炎、抗氧化、净化空气、调节内分泌等作用^[1-4], 可用于香水、化妆品、保健品、食品添加剂和防腐剂等的生产^[5]。随着人们对天然产品的日益青睐, 植物精油引起人

们的广泛关注, 而对绒毛香茶菜精油的研究相对较少。虽然对其挥发性成分已有报道^[6,7], 但用新鲜原料匀浆提取碰碰香精油的报道很少。水蒸气蒸馏法是提取植物精油最常用的方法^[8], 本研究通过水蒸气蒸馏法提取新鲜绒毛香茶菜叶子精油, 用气相色谱-质谱 (GC-MS) 联用技术对其化学成分进行研究与分析, 并首次利用平板涂布法测定了该精油对阪崎肠杆菌 CICC 21560、大肠埃希氏菌 ATCC 25922、金黄色葡萄球菌 ATCC 6538、伤寒沙门氏菌 ATCC 14028 四种供试菌株的最低抑菌浓度 (MIC) 和最低杀菌浓度 (MBC), 以期为其进一步生产及开发应用奠定基础。

收稿日期: 2015-10-22 接受日期: 2015-12-23

基金项目: 山西省青年科技研究基金 (2015021047)

* 通讯作者 E-mail: zhwang@sxu.edu.cn

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

室内种植的绒毛香茶菜健康植株,实验用水为二次蒸馏水。AR2140 型电子天平(美国奥豪斯);挥发油提取器;TRACE DSQ II 气质联用仪(Thermo 公司)。

供试菌种:阪崎肠杆菌 CICC 21560、大肠埃希氏菌 ATCC 25922、金黄色葡萄球菌 ATCC 6538、伤寒沙门氏菌 ATCC 14028,购自广东环凯微生物科技有限公司。

1.2 实验方法

1.2.1 精油提取

取新鲜绒毛香茶菜叶,按照料液比 1:6(g:mL)加入蒸馏水,匀浆,取匀浆液置于挥发油提取器中,进行水蒸气蒸馏,至测定器中油量不再增加时结束蒸馏。收集精油,经无水硫酸钠干燥,得到浓郁气味的黄色透明精油,重复三次,分别计算精油得率。出油率按以下公式计算:精油含量(mL/g) = 测得精油量(mL)/原材料质量(g)。

1.2.2 GC-MS 分析方法

将提取的精油用正己烷稀释 100 倍后进样分析,所用仪器为 Thermo TRACE DSQ II 气-质联用仪。

气相色谱条件:TRACE TR-5 GC 色谱柱(30 m × 0.25 mm × 0.25 μm);程序升温:初始温度为 60 °C,保温 1 min 后以 10 °C/min 升至 300 °C,保持 1 min。进样方式:不分流;进样体积:1 μL;进样口温度:230 °C;载气:He,流速:1 mL/min;传输线:250 °C。

质谱条件:电子电离源温度为 200 °C,溶剂延迟时间 5 min;全扫描,扫描范围 50 ~ 600 amu。

1.2.3 化学成分鉴定与含量计算

通过 NIST(2005) 谱库对质谱图进行自动检索获得初步鉴定结果,参考相关文献中质谱资料,最终对精油的化学成分进行定性分析。对色谱峰用面积归一法定量,计算各组分的百分含量。

1.2.4 精油的抑菌试验

用阪崎肠杆菌 CICC 21560、大肠埃希氏菌 ATCC 25922、金黄色葡萄球菌 ATCC 6538、伤寒沙门氏菌 ATCC 14028 四种供试菌株对精油的抑菌活性进行试验。供试菌株活化后接种到营养肉汤中,36 °C 培养 24 h,用液体培养基对培养物进行稀释,制成浓度大约为 10⁵ CFU/mL 的菌悬液。于每一种供试

菌株培养物中加入不同体积的精油,再加入 5%吐温—80 以增加精油的溶解度。10 mL 营养肉汤培养物中分别加入 5、10、25、50、100 μL 精油,相当于精油浓度分别为 0.5、1、2.5、5、10 μL/mL。然后取 0.1 mL 培养物涂布营养琼脂平板,36 °C 培养 24 h,观察菌落数,测定其最低抑菌浓度(minimal inhibitory concentration, MIC)和最低杀菌浓度(minimum bactericidal concentration, MBC)。

2 结果与分析

2.1 绒毛香茶菜精油的提取

按照 1.2.1 方法提取获得的绒毛香茶菜叶精油为浅黄色油状,具有浓郁香味,精油出油率为 0.15% 左右。精油的提取方法有多种,如压榨法、水蒸汽蒸馏法等,其中水蒸气蒸馏法因操作简单、成本较低且无污染,是提取精油最常用的方法。虽然已有对绒毛香茶菜挥发性成分的报道,但其方法侧重于分析,不适合大量生产制备,本研究用水蒸气蒸馏法制备得到精油并对其成分进行分析,有利于绒毛香茶菜的进一步开发应用。精油得率与叶片的采摘时间、粉碎程度、料液比以及蒸馏时间等有关^[9],其最佳的提取条件还有待进一步探索。

2.2 提取物的成分鉴定

精油样品 GC-MS 分析的总离子流图如图 1 所示,化学组成测定结果见表 1。由表 1 可知,绒毛香茶菜叶精油共有 31 种主要成分,用面积归一法测定精油化学成分的相对质量分数占总峰面积的 92.94%,主要包括脂肪族烯烃、醇类、酯类、脂肪族烷烃、芳香烃等化合物。烯烃类化合物含量最高,是精油中种类最多的一类化合物,占到 54.66%,其中,最主要成分为柠檬烯,含量为 36.86%;其次是醇类化合物,为 29.96%;酯类化合物为 5.01%。本实验鉴定出的柠檬烯、3-萜烯、乙酸龙脑酯、衣兰烯、桉叶醇等多种成分与之前熊伟、孔维维等^[6,7]的文献报道一致,然而也存在差异,如芳樟醇、镰叶芹醇、十六碳烯酸乙酯等都未在文献中检出,这可能与植物生长条件、提取方法不同等有一定关系。

2.3 精油的抑菌试验

本文使用阪崎肠杆菌 CICC 21560、大肠埃希氏菌 ATCC 25922、金黄色葡萄球菌 ATCC 6538、伤寒沙门氏菌 ATCC 14028 四种供试菌株,首次用平板计数法研究绒毛香茶菜精油的抑菌活性,结果见图 2。比较精油对不同菌种的抑制效果,可以看出,该

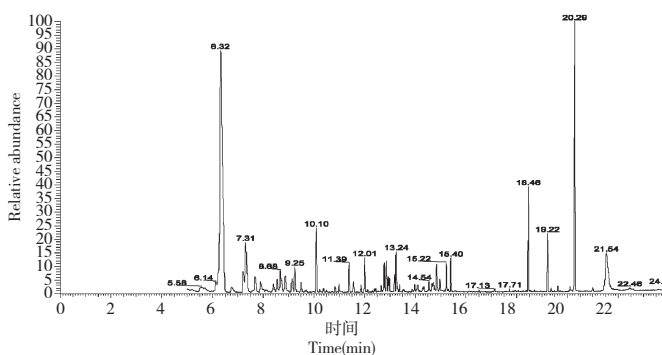


图1 绒毛香茶菜精油的离子流图谱

Fig. 1 GC-MS total ion chromatogram of *P. tomentosa* essential oil

表1 绒毛香茶菜精油的化学成分及相对含量

Table 1 Chemical constituents and their relative contents in *P. tomentosa* essential oil

序号 No.	保留时间 Rt (min)	英文名称 English name	中文名称 Chinese name	化学式 Chemical formula	含量 Content (%)
1	5.58	1,4-Cyclohexadiene	1,4 环己二烯	C ₁₀ H ₁₆	0.99
2	5.70	alpha-Pinene	α-蒎烯	C ₁₀ H ₁₆	0.63
3	6.32	limonene	柠檬烯	C ₁₀ H ₁₆	36.86
4	6.75	3-Carene	3-萜烯	C ₁₀ H ₁₆	0.71
5	7.21	1-methyl-4-(1-methylethylidene)	萜品油烯	C ₁₀ H ₁₆	1.88
6	7.31	Linalool	芳樟醇	C ₁₀ H ₁₈ O	4.66
7	7.68	Calamene	去氢白菖烯	C ₁₅ H ₂₂	1.69
8	7.89	Epi-bicyclosquiphellandrene	双环倍半水芹烯	C ₁₅ H ₂₄	1.24
9	8.55	Aristolene	马兜铃烯	C ₁₅ H ₂₄	1.02
10	8.68	Ylangene	衣兰烯	C ₁₅ H ₂₄	2.01
11	8.87	Selinene	蛇床烯	C ₁₅ H ₂₄	1.33
12	9.13	Isocaryophyllene	异丁子香烯	C ₁₅ H ₂₄	1.36
13	9.25	alloaromadendrene	香树烯	C ₁₅ H ₂₄	1.61
14	9.50	γ-Cadinene	γ-杜松烯	C ₁₅ H ₂₄	0.66
15	10.10	Bornyl acetate	乙酸龙脑酯	C ₁₂ H ₂₀ O ₂	2.81
16	11.39	Copaene	可巴烯	C ₁₅ H ₂₄	1.20
17	11.56	Eudesmol	桉叶醇	C ₁₅ H ₂₆ O	0.70
18	12.01	Caryophyllene	石竹烯	C ₁₅ H ₂₄	1.47
19	12.78	Hinesol	苍术醇	C ₁₅ H ₂₆ O	1.24
20	12.86	Isolongifolene-8-ol	异长叶烯-8-醇	C ₁₅ H ₂₄ O	1.23
21	13.18	Caryophyllene oxide	石竹烯氧化物	C ₁₅ H ₂₄ O	0.79
22	13.24	Falcarinol	镰叶芹醇	C ₁₇ H ₂₄ O	1.88
23	14.54	2,6-Di-Tert-Butyl-4-Methylphenol	2,6-二叔丁基-4-甲基苯酚	C ₁₅ H ₂₄ O	0.67
24	14.72	naphthalene methanol	萘甲醇	C ₁₅ H ₂₆ O	0.76
25	14.97	hexadecane	十六烷	C ₁₆ H ₃₄	0.60
26	15.22	CIS-5,8,11,14-twentycarbon acid	全顺式-5,8,11,14-二十碳四烯酸	C ₂₀ H ₃₂ O ₂	1.25
27	15.40	The fragrant perilla alcohol	香紫苏醇	C ₂₀ H ₃₆ O ₂	1.32
28	18.46	Podocarp-7-en-3a-ol	罗汉松-7-烯-3A-醇	C ₂₀ H ₃₂ O	3.89
29	19.22	Sixteen eicosapentaenoic acid ethyl ester	十六碳烯酸乙酯	C ₁₈ H ₃₄ O ₂	2.20
30	20.29	7-Isopropyl-1,4a-dimethyl-decahydrophenanthren-1-yl-methanol	7-异丙基-十氢-菲-甲醇	C ₂₀ H ₃₂ O	9.85
31	21.54	Sitosterol	谷甾醇	C ₂₉ H ₅₀ O	4.43

精油对大肠埃希氏菌、金黄色葡萄球菌、伤寒沙门氏菌都有不同程度的抑制作用,对金黄色葡萄球菌的抑制作用最强, MIC 为 $1 \mu\text{L}/\text{mL}$, MBC 为 $5 \mu\text{L}/\text{mL}$;对大肠埃希氏菌的 MIC 为 $2.5 \mu\text{L}/\text{mL}$, MBC 为 $10 \mu\text{L}/\text{mL}$;对伤寒沙门氏菌的 MIC 为 $2.5 \mu\text{L}/\text{mL}$,但在本实验最高浓度 $10 \mu\text{L}/\text{mL}$ 下仍未完全抑制;

而精油对阪崎肠杆菌几乎没有抑制作用。分析原因可能是由于金黄色葡萄球菌属于革兰氏阳性菌,而其余三种菌都为革兰氏阴性菌,它们之间的细胞壁结构存在差异,该精油对革兰氏阳性菌具有更好的抑制效果。

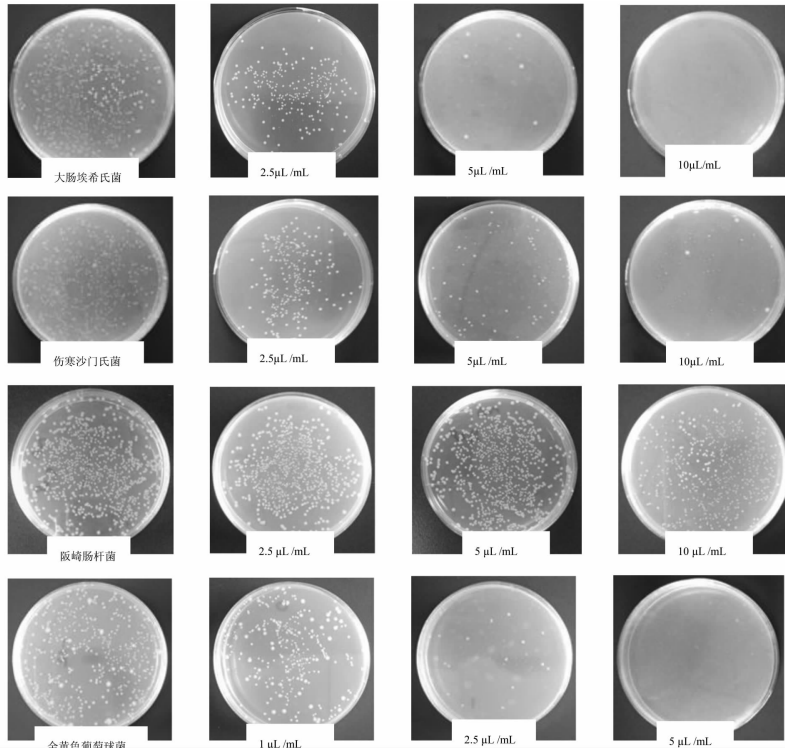


图2 绒毛香茶菜精油对不同菌株在 $36 \text{ }^{\circ}\text{C}$ 培养 24 h 后的抑制效果

Fig. 2 Antimicrobial effects of *P. tomentosa* essential oil against common bacteria for 24 h at $36 \text{ }^{\circ}\text{C}$

2.4 精油的活性成分分析

绒毛香茶菜叶精油中的高含量组分与精油的抑菌活性密切相关。之前的研究表明,柠檬烯有镇咳、祛痰、抑菌作用^[10],另外,萜烯具有很强的抑制李斯特菌属的作用,能使李斯特菌的活菌数目大大减少^[11], α -蒎烯对白色念珠菌的生物合成有显著的抑制作用^[12],萜品烯具有杀菌、止咳作用^[13]。另外,乙酸龙脑酯具有止泻、镇痛抗炎、抑制肠平滑肌痉挛等作用^[14],精油中的沉香螺萜醇也具有镇静安神的作用^[15]。这些微量成分还可以通过与其他组分的协同作用发挥活性。提示该精油有多种用途,具有抑菌活性,且为纯天然植物提取物,可用于抗菌类药物、化妆品、洗涤用品等的开发。

绒毛香茶菜叶精油中的活性成分较多,功能各异,其抑菌作用可能与其中种类最多的化合物烯烃类(54.66%)有关。在本实验提取获得的精油中,

芳樟醇、镰叶芹醇、十六碳烯酸乙酯等均为首次检出。另外,本研究仅采用四种菌株对碰碰香精油的抑菌作用做了分析,其抑菌活性与化学成分之间的关系以及抑菌机理还有待进一步研究。

3 结论

水蒸气蒸馏法可用于提取新鲜绒毛香茶菜叶精油,精油得率约为 0.15%。绒毛香茶菜精油中含量最高的化合物为柠檬烯(36.86%),含有 α -蒎烯、乙酸龙脑酯、芳樟醇等多种活性成分。另外本实验首次检出精油的三种成分,分别为芳樟醇、镰叶芹醇、十六碳烯酸乙酯。此精油对大肠埃希氏菌、金黄色葡萄球菌、伤寒沙门氏菌均有较强的抑制效果,对革兰氏阳性菌抑制作用强于革兰氏阴性菌。目前,有关绒毛香茶菜的报道仅限于其栽培和挥发性成分分析^[6,7,16]。本研究为绒毛香茶菜的进一步开发和利

用提供了可靠依据。

参考文献

- Najafian S. Storage conditions affect the essential oil composition of cultivated Balm Mint Herb (*Lamiaceae*) in Iran. *Ind Crops Prod*, 2014, 52: 575-581.
- Brusotti G, Cesari I, Gilardoni G, et al. Chemical composition and antimicrobial activity of *Phyllanthus muellerianus* (Kuntze) excel essential oil. *J Ethnopharmacol*, 2012, 142: 657-662.
- Nikolic M, Glamoclija J, Ferreira I, et al. Chemical composition, antimicrobial, antioxidant and antitumor activity of *Thymus serpyllum* L., *Thymus algeriensis* Boiss. and *Thymus vulgaris* L. essential oils. *Ind Crops Prod*, 2014, 52: 183-190.
- Tounsi MS, Wannas WA, Ouerghemmi I, et al. Variation in essential oil and fatty acid composition in different organs of cultivated and growing wild *Ruta chalepensis* L. *Ind Crops Prod*, 2011, 33: 617-623.
- Bakkali F, Averbeck S, Averbeck D, et al. Biological effects of essential oils-A review. *Food Chem Toxicol*, 2008, 46: 446-475.
- Xiong W (熊伟), Jin HX (金荷仙), Cai BZ (蔡宝珍). Chemical components of *Plectranthus tomentosa* volatile matters. *J Zhejiang Agric Forest Univ* (浙江农林大学学报), 2011, 28: 680-684.
- Kong WW (孔维维), Lv DH (吕鼎豪), Li H (李华), et al. Analysis on volatile components in different parts of *Plectranthus tomentosa* by SPME-GC-MS. *Chin J Pharm Anal* (药物分析杂志), 2013, 33: 241-245.
- Zhang LX (张玲希), Li S (邴帅), Dong YY (董荧荧), et al. Extraction and bioactivity of essential oil from *Apium graveolens* L. leaves. *Nat Prod Res Dev* (天然产物研究与开发), 2015, 27: 1194-1198.
- Hu XY (胡秀沂), Qiu SY (邱树毅), Wu YG (吴远根), et al. Study on the extraction of garlic essential oil by the water vapor distillation. *Food Res Dev* (食品研究与开发), 2007, 28: 124-127.
- Zhang ZJ, Vriesekoop F, Yuan QP, et al. Effects of nisin on the antimicrobial activity of D-limonene and its nanoemulsion. *Food Chem*, 2014, 150: 307-312.
- Teixeira B, Marques A, Ramos C, et al. Chemical composition and antibacterial and antioxidant properties of commercial essential oils. *Ind Crops Prod*, 2013, 43: 587-595.
- Jiang Y, Wu N, Fu YJ, et al. Chemical composition and antimicrobial activity of the essential oil of Rosemary. *Environ Toxicol Pharmacol*, 2011, 32: 63-68.
- Sánchez-González L, González-Martínez C, Chiralt A, et al. Physical and antimicrobial properties of chitosan - tea tree essential oil composite films. *J Food Eng*, 2010, 98: 443-452.
- Chen N, Sun GQ, Yuan X, et al. Inhibition of lung inflammatory responses by bornyl acetate is correlated with regulation of myeloperoxidase activity. *J Surg Res*, 2014, 186: 436-445.
- Tian YZ (田燕泽), Mi XY (秘效媛), Piao XL (朴香兰). Studies on chemical constituents, pharmaceutical effects and clinical application of *Aquilaria sinensis*. *J Central Univ Nat, Nat Sci* (中央民族大学学报, 自科版), 2010, 19(1): 77-81.
- Ma JH (马建华), Feng AY (冯爱云), Wang XH (王小辉), et al. Fast propagation method of a tissue culture of *Plectranthus tomentosa* (一种组织培养快速繁育碰碰香的方法). CN102823496, 2012-9-17.
- Ebada SS, Schulz B, Wray V, et al. Arthrinins A-D: novel diterpenoids and further constituents from the sponge derived fungus *Arthrinium* sp. *Bioorg Med Chem*, 2011, 19: 4644-4651.
- Whyte AC, Gloer JB, Scott JA, et al. Cercophorins A-C: novel antifungal and cytotoxic metabolites from the coprophilous fungus *Cercophora areolata*. *J Nat Prod*, 1996, 59: 765-769.
- Robinson N, Wood K, Hylands PJ, et al. Blue pigments of *Penicillium herquei*. *J Nat Prod*, 1992, 55: 814-817.
- Narasimhachari N, Vining LC. Studies on the pigments of *Penicillium herquei*. *Can J Chem*, 1963, 4: 641-648.

(上接第 330 页)

- Ying YM, Zhang LW, Shan WG, et al. Secondary metabolites of *Peyronellaea* sp. XW-12, an endophytic fungus of *Huperzia serrata*. *Chem Nat Compd*, 2014, 50: 723-725.
- Skehan P, Storeng R, Scudiero D, et al. New colorimetric cytotoxicity assay for anticancer-drug screening. *J Nat Cancer Inst*, 1990, 82: 1107-1112.
- Yang XL (杨小岚), Chen YC (陈玉婵), Li HH (李浩华), et al. Molecular identification of 23 marine fungal strains and their activities against plant pathogenic fungi and cytotoxic activities. *Biotechnol Bull* (生物技术通报), 2014, 8: 132-137.