

文章编号:1001-6880(2018)11-1863-08

大葱挥发油的提取工艺、GC-MS 分析及抗菌活性研究

李肖^{1,2},周天天¹,郑吴殷晓¹,盛芬¹,段伟利¹,阮金兰^{1,2*}¹武昌理工学院生命科学院 湖北省生物多肽糖尿病药物工程技术研究中心,武汉 430063;²武汉工程大学化工与制药学院,武汉 430205

摘要:为优化大葱挥发油提取工艺并建立气相-质谱联用法(GC-MS)分析大葱挥发油成分,并研究大葱挥发油的抗菌活性。本研究通过单因素实验和正交实验对超声时间,料液比和提取时间的考察,采用超声辅助水蒸气蒸馏的方法提取大葱挥发油,优化出大葱挥发油提取最佳工艺为超声 40 min,料液比 1:3,蒸馏时间 3 h。大葱挥发油实际提取率为 0.042 96%。运用 GC-MS 对其主要化学成分进行鉴定,通过 NIST 质谱库检索,鉴定了其中 42 个主要化合物,运用峰面积归一法确定各个组分的含量,其中主要物质为含硫化合物,含量较多的是氟胞嘧啶、烯丙基异丙基硫醚、丙烯基甲基硫醚,二甲基三硫化物、二丙基三硫化物、四硫化物、噻吩、噻烷和噻唑类。抗菌实验表明大葱挥发油对所选取得 8 种菌株均有很好的活性。本实验提取工艺优化后使提取率增加,抗菌实验表明大葱的挥发油具有抗菌作用,而成分分析鉴定出大量硫化物,可能为抑菌有效成分。

关键词:大葱;挥发油;GC-MS;抗菌活性。

中图分类号:R917

文献标识码:A

DOI:10.16333/j.1001-6880.2018.11.003

Extraction Process, GC-MS Analysis and Antibacterial Activity of Volatile Oil from *Allium fistulosum* L.

LI Xiao^{1,2}, ZHOU Tian-tian¹, ZHENG Wu-yin-xiao¹, SHENG Fen¹, DUAN Wei-li¹, RUAN Jin-lan^{1,2*}¹Wuchang University of Technology, Department of Life Sciences, Hubei Biopharmaceutical Diabetes

Pharmaceutical Engineering Research Center, Wuhan 430063, China;

²School of Chemical Engineering and Pharmacy, Wuhan Institute of Technology, Wuhan 430205, China

Abstract: This paper mainly studied the process of the volatile oil from *Allium fistulosum* L., and developed GC-MS to analyze the chemical composition, and studied the antibacterial activity. The ultrasonic time, the ratio of material to liquid and the extraction were investigated by single factor experiment and orthogonal experiment. The volatile oil of *Allium fistulosum* L. was identified by GC-MS and the antibacterial activity of the volatile oil was evaluated. The optimum extraction time was investigated by single factor experiment and orthogonal experiment. The volatile oil of *Allium fistulosum* L. was extracted by ultrasonic assisted steam distillation. The main chemical components of the volatile oil were technology of volatile oil from *Allium fistulosum* L. was ultrasonic 40 min, material liquid ratio 1:3 and distillation time 3 h. In this way the actual extraction rate of volatile oil from *Allium fistulosum* L. was 0.04296%. GC-MS identified many chemical constituent. 42 main compounds were identified by NIST mass spectral library search, and the main substance was sulfur compounds, such as fluorocytosine, allyl isopropyl sulfide, propylene methyl sulfide, dimethyl trisulfide, dipropyl trisulfide, tetrasulfide, thiophenet, hiane and thiazoles. The antibacterial experiments showed that the volatile oil from *Allium fistulosum* L. had good activity on the 8 strains selected. The optimized extraction process makes the extraction rate increase. The antibacterial experiment showed that the volatile oil of *Allium fistulosum* L. had antibacterial effect. A large amount of sulfide was identified by component analysis, which might be an effective antibacterial ingredient.

Key words: *Allium fistulosum* L.; volatile oil; GC-MS; antibacterial activity

收稿日期:2018-04-27 接受日期:2018-09-27

基金项目:生物多肽糖尿病药物湖北省协同创新中心(鄂教科涵[2012]56 号);湖北省生物多肽糖尿病药物工程技术研究中心项目(鄂科技通[2014]72 号)

*通信作者 E-mail:jinlan8152@163.com

大葱为百合科葱属植物 *Allium fistulosum* L., 多产自我国北方,为多年生草本植物,根为白色的弦线状,茎为主要食用部分,外表皮为白色膜质,叶子圆筒形,中间空,脆弱易折,呈青色。大葱味辛,性微

温,具有发表通阳,有解毒调味,发汗抑菌和舒张血管的作用。在我国大葱具有抗菌解毒、增进食欲作用,广泛应用于日常烹饪中。大量研究表明葱属植物具有抗菌功效,李倩竹等^[1]研究表明茗葱水提物及醇提物均对蜡状芽孢杆菌和沙门氏菌产生较好抑制作用,且抑菌效果醇提物优于水提物,对大肠杆菌无作用,对金黄色葡萄球菌只有醇提物起作用。杨敏等^[2]研究表明3种葱属植物(沙葱、洋葱、葱茎)挥发物及提取液具有广谱抗植物病原真菌和卵菌活性,但不同葱属植物对不同种类病原菌抑菌效果有差异。其中关于大葱的抗菌活性大多为醇提物和水提物,本文将提取的挥发油进行成分分析,并作用于8种常见细菌,研究其挥发油的抗菌功效,从而为大葱挥发性成分和药理活性的进一步研究和开发提供实验依据。

1 材料和仪器

1.1 实验材料

大葱购于武汉市武商超市庙山店,经本课题组阮金兰教授鉴定为百合科葱属大葱(*Allium fistulosum* L.)。菌种为武昌理工学院细胞室菌种,分别为金黄色葡萄球菌(*Staphylococcus aureus*),肺炎克雷伯菌(*Klebsiella Pneumoniae*),铜绿假单胞菌(*Pseudomonas aeruginosa*),粪肠球菌(*Enterococcus faecalis*),鲍曼不动杆菌(*Acinetobacter baumannii*),枯草芽孢杆菌(*Bacillus subtilis*),大肠杆菌(*Escherichia coli*),苏云金杆菌(*Bacillus thuringiensis*)。

1.2 实验仪器与试剂

Agilent 7890A-59750型气质联用仪(美国 Agilent 公司);SQP型万分之一电子天平(赛多利斯科学仪器(北京)有限公司);KQ3200DB型数控超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司);高压灭菌锅(上海博迅实业有限公司医疗设备厂);麦氏比浊管(0.5, 上海广锐生物科技有限公司);超净工作台;

涂布棒;接种环;挥发油提取器;电热套;恒温培养箱。无水乙醚、二甲基亚砜,为分析纯,国药集团化学试剂有限公司;牛肉膏、蛋白胨、琼脂粉,氯化钠,为试剂纯,国药集团化学试剂有限公司。

2 实验方法

2.1 大葱挥发油提取

将新鲜大葱洗净晾干,去除大葱葱叶和根须只留葱白,将葱白切段打浆备用。用直接干燥法测定大葱含水量为91.75%。

2.1.1 单因素实验

2.1.1.1 考察不同超声时间对挥发油提取率的影响

准确称取新鲜大葱匀浆100 g,料液比1:2加入纯化水,搅拌均匀,分别在20 ℃下超声0、10、20、30、40 min,水蒸气蒸馏提取2 h,自提取液中用乙醚萃取大葱挥发油,回收溶剂,计算提取率。挥发油提取率(%) = $m_1/m \times 100\%$ (m_1 为挥发溶剂后油的质量, m 为起始大葱匀浆质量)。

2.1.1.2 考察不同蒸馏时间对挥发油提取率的影响

准确称取新鲜大葱匀浆100 g,以料液比1:1加入纯化水,搅拌均匀,在20 ℃下超声20 min,分别蒸馏提取1、2、3、4、5 h,自提取液中用乙醚萃取大葱挥发油,回收溶剂,计算提取率。

2.1.1.3 考察不同料液比对挥发油提取率的影响

准确称取新鲜大葱匀浆100 g,分别以料液比1:1、1:2、1:3、1:4、1:5加入纯化水,搅拌均匀,分别在20 ℃下超声20 min,蒸馏提取2 h,自提取液中用乙醚萃取大葱挥发油,回收溶剂,计算提取率。

2.1.2 正交实验

考察超声时间、料液比和蒸馏时间对挥发油提取率的影响,采用L₉(3⁴)正交实验,因素水平表见1,以总挥发油提取率为考察指标。

表1 正交实验因素水平表
Table 1 Orthogonal test factor level table

水平 Level	因素 Factor		
	超声时间 A Ultrasonic time A (min)	蒸馏时间 B Distillation time B (h)	料液比 C Liquid-liquid ratio C
1	30	3	1:3
2	35	4	1:4
3	40	5	1:5

2.1.3 验证实验

选取单因素和正交实验的最佳提取工艺条件,进行三次平行验证实验,计算大葱挥发油的平均提取率。

2.2 大葱挥发油成分分析与鉴定

2.2.1 GC 条件

色谱柱 DB-5 ($30\text{ m} \times 250\text{ }\mu\text{m} \times 0.25\text{ }\mu\text{m}$);进样口温度 $250\text{ }^\circ\text{C}$,升温程序为初始温度 $40\text{ }^\circ\text{C}$,保持 2 min ,以 $10\text{ }^\circ\text{C}/\text{min}$ 速率升至 $250\text{ }^\circ\text{C}$,保持 5 min ,再以 $20\text{ }^\circ\text{C}/\text{min}$ 速率升至 $280\text{ }^\circ\text{C}$,保持 1 min ;载气 He;流量 $1\text{ mL}/\text{min}$;分流比 $40:1$;进样量 $1\text{ }\mu\text{L}$ 。

2.2.2 MS 条件

EI 离子源,正离子模式采集数据,离子源温度 $230\text{ }^\circ\text{C}$,四级杆温度 $150\text{ }^\circ\text{C}$,传输线温度 $280\text{ }^\circ\text{C}$,电子能量 70 eV ,质量扫描范围 $m/z:50\sim550$ 全扫描。

2.3 大葱挥发油抗菌活性

2.3.1 培养基的制备

量取 1 L 纯化水于烧杯中,依次加入牛肉膏 3.0 g 、氯化钠 5.0 g 、琼脂 15 g 、蛋白胨 10 g ,加热溶解,用 0.1 mol/L 的氢氧化钠溶液调节 pH 至 7.2 ,分装于锥形瓶中, 103.43 KPa 和 $121\text{ }^\circ\text{C}$ 高压灭菌 20 min , $4\text{ }^\circ\text{C}$ 冷藏备用^[3]。

2.3.2 菌种的活化

将固体培养基平铺于培养皿,用划线法将菌种接种于培养皿中, $37\text{ }^\circ\text{C}$ 恒温培养 24 h ,观察菌种生长状态,所有操作均在无菌条件下操作。

2.3.3 菌悬液的制备

将已接种的单一菌落与液体培养基混合均匀,制备成菌悬液,将菌悬液与麦氏比浊管比较,使菌悬液的密度为 $1.5 \times 10^8\text{ CFU/mL}$ ^[4],于 $4\text{ }^\circ\text{C}$ 冷藏保存,备用,所有操作均在无菌条件下操作。

2.3.4 大葱挥发油溶液制备

以最优方案提取的挥发油 0.4 mL ,用水加适量助溶剂吐温 20 作为溶剂溶解稀释,将其稀释成 2% 的高浓度和 0.2% 的低浓度,备用。

2.3.5 抑菌效力的测定

采用滤纸片扩散法。用打孔器将滤纸制作成直径为 6.0 mm 的小圆纸片,将 5 张小圆片滤纸贴于已涂布菌悬液的牛肉膏、蛋白胨固体培养基上,分别取各大葱挥发油溶液 $50\text{ }\mu\text{L}$,滴到 3 张小圆纸片上,用溶剂作为空白对照。于培养箱中培养 24 h 后观察菌的生长情况并进行数据的记录,以测量抑菌圈的直径^[5],评价抑菌活性。

2.3.6 最低抑菌浓度(MIC)的测定

在 96 孔板中,第一列至第十列为供试样品孔,第十一列为空白对照孔,第十二列为阳性对照孔,每孔加入 $100\text{ }\mu\text{L}$ 液体培养基,实验组加入 $50\text{ }\mu\text{L}$ 初筛后的样品(利用二倍稀释法,第一列至第十列浓度梯度设置为 $2\%、1\%、0.5\%、0.25\%、0.125\%、0.0625\%、0.0312\%、0.0156\%、0.0078\%、0.0039\%$,空白对照加入 $50\text{ }\mu\text{L}$ 溶剂,阳性对照组加入 $50\text{ }\mu\text{L}$ 浓度为 0.1 g/L 的链霉素溶液)。依次在每孔中加入 $50\text{ }\mu\text{L}$ 菌液,用摇床在 $37\text{ }^\circ\text{C}$ 摆匀,每个浓度均设 3 个复孔做平行对照,在 $37\text{ }^\circ\text{C}$ 恒温培养箱中培养 24 h ,加入 $40\text{ }\mu\text{L} 0.2\text{ g/L}$ 的碘硝基四唑紫,以微孔中是否出现紫色来检查有无细菌生长,以不出现紫色的微孔浓度为最低抑菌浓度^[6],所有操作均在无菌条件下操作。

2.3.7 最低杀菌浓度(MBC)的测定

将未出现紫色的微孔浓度样品取出 $200\text{ }\mu\text{L}$,均匀涂布在固体培养基上, $37\text{ }^\circ\text{C}$ 恒温培养 24 h ,未出现菌落的即为 MBC 值,所有操作均在无菌条件下操作^[7]。

3 实验结果

3.1 大葱挥发油提取工艺优化结果与讨论

3.1.1 单因素实验结果

3.1.1.1 考察不同超声时间对挥发油提取率的影响

由图 1 可知,在其他条件不变的情况下,挥发油提取率随着超声时间的增加而增大,超声时间在 0 至 30 min 之间增加明显,在 30 min 之后呈缓慢增长趋势,经超声原理分析在超声 20 min 之后,脂溶性成分开始大量溶出, 30 min 后几乎完全溶出,故挥发油提取率不再明显增加。出于节约时间的原则,因此选择超声时间 $30\text{, }35\text{, }40\text{ min}$ 作为正交实验超声时间的水平。

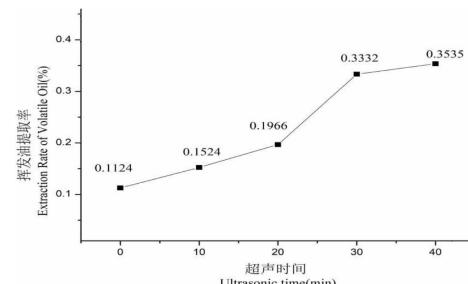


图 1 不同超声时间对挥发油提取率的影响

Fig. 1 Effect of different ultrasonic time on the extraction rate of volatile oil

3.1.1.2 考察不同蒸馏时间对挥发油提取率的影响

由图2可知,在其他条件不变的情况下,在4小时内蒸馏时间越长挥发油提取率越高,但是在4小时后反而出现下降趋势,经分析可能在4 h前挥发性成分慢慢随水蒸气一起蒸馏出来,但在4 h后挥发性成分挥发在空气中的量大于蒸馏出来的量,从而导致在4 h后挥发油提取率反而开始降低。因此

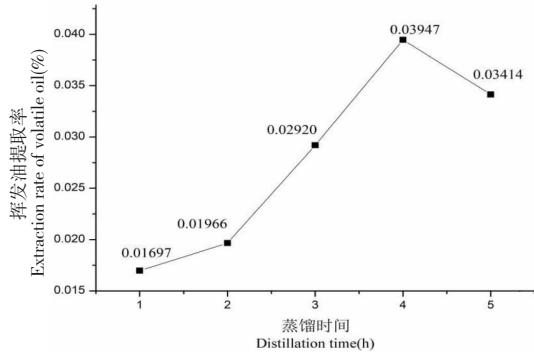


图2 不同蒸馏时间对挥发油提取率的影响

Fig. 2 Effect of different distillation time on extraction rate of volatile oil

表2 $L_9(3^4)$ 正交试验方案及结果($n = 3, \bar{x} \pm s$)

Table 2 $L_9(3^4)$ orthogonal test program and results($n = 3, \bar{x} \pm s$)

试验号 Test No.	因素 Factor				提取率 Extraction rate
	A	B	C	D	
1	1	1	1	1	0.02159 ± 0.0362
2	1	2	2	2	0.02564 ± 0.8243
3	1	3	3	3	0.03067 ± 0.0579
4	2	1	2	3	0.02862 ± 0.3728
5	2	2	3	1	0.02048 ± 1.2256
6	2	3	1	2	0.02378 ± 3.7125
7	3	1	3	2	0.02073 ± 0.5234
8	3	2	1	3	0.02547 ± 2.3541
9	3	3	2	1	0.03714 ± 0.9842
K1	0.07790	0.07094	0.07188	0.07921	
K2	0.04911	0.07159	0.09140	0.07015	
K3	0.08334	0.09159	0.08476	0.08476	
R	0.03423	0.02065	0.01952	0.01461	

从表2直观分析,各因素对大葱挥发油提取率影响为A>B>C。其中:因素A为K3>K1>K2,因素B为K3>K2>K1,因素C为K2>K3>K1。直观分析超声辅助水蒸气蒸馏提取工艺的最佳条件为

选择蒸馏时间3、4、5 h作为正交实验蒸馏时间的水平。

3.1.1.3 考察不同料液比对挥发油提取率的影响

由图3可知,在其他条件不变的情况下,在料液比为1:3时挥发油提取率最高,料液比超过1:3后提取率出现反复,但都维持在0.03%左右,所以选择料液比1:3、1:4和1:5作为正交实验料液比的水平。

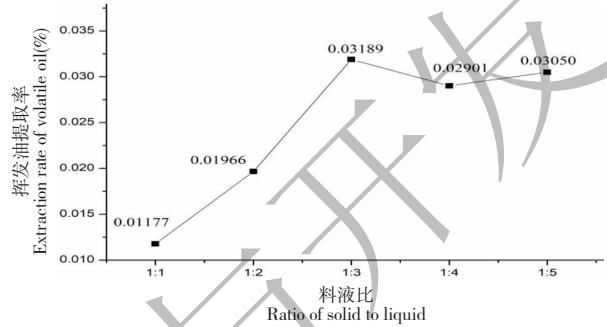


图3 不同料液比对挥发油提取率的影响

Fig. 3 Effect of different ratio of solid to liquid on extraction rate of volatile oil

3.1.2 正交实验结果

$A_3B_3C_2$ 。从表3方差分析发现因素A对大葱挥发油提取率有显著影响,因此选择该因素最好水平A3;B因素对大葱挥发油提取率无显著影响,本着节省时间的原则,因此选择该因素最好水平B1;C

表 3 方差分析结果
Table 3 ANOVA results

考察指标 Inspection indicators	差异源 Source of difference	离差平方和 STDEV	自由度 DOF	均方 Mean square	F 值 F value	显著性 Significant
提油率	A	0.018 39	2	0.009 19	1.322 6	$P < 0.05$
	B	0.011 73	2	0.005 87	1.150 2	$P > 0.05$
	C	0.009 92	2	0.004 96	0.278 3	$P > 0.05$
	误差	0.007 37	2	-	-	-

因素对大葱挥发油没有显著影响,本着节省资源的原则,选择水平 C1。综合考虑各种影响因素,最佳提取工艺为 A3B1C1。即大葱挥发油提取最佳工艺为超声 40 min,蒸馏时间 3 h,料液比 1:3。

3.1.3 验证实验

使用提取方案 A₃B₁C₁ 和直观分析最佳条件 A₃B₃C₂ 两组分别进行三次平行验证实验,结果显示提取方案 A₃B₁C₁ 大葱挥发油的提取率为 0.042 96% (RSD = 1.12%), 提取方案 A₃B₃C₂ 大葱挥发油的提取率为 0.042 38% (RSD = 1.65%)。两组提取

方案提取率差别不大,因此选用提取方案 A₃B₁C₁ 作为优选的最佳提取方案。即大葱挥发油提取最佳工艺为超声 40 min,蒸馏时间 3 h,料液比 1:3。

3.2 大葱挥发油成分分析结果

采用优化后的最佳提取工艺提取大葱挥发油适量,按“2.2”项下 GC-MS 条件进行分析,所得分离组分采用与 NIST 质谱库中数据匹配及人工谱图解析,以确定化合物名称,并应用色谱峰面积归一化法计算各挥发油成分的相对质量分数,结果见表 4。

表 4 大葱挥发油的 GC-MS 分析
Table 4 GC-MS Analysis of Volatile Oil from *Allium fistulosum* L.

序号 Peak	保留时间 R. T. min (t/min)	分子式 Molecular formula	化合物名称 Compound name	相对质量分数 Mr (%)	匹配度 Suitability
1	2.581	C ₂ H ₆ S ₂	Disulfide, dimethyl	0.635	78
2	2.870	C ₇ H ₈	Toluene	0.203	83
3	3.412	C ₆ H ₁₂ O	Hexanal	0.230	83
4	4.137	C ₆ H ₁₀ O	2-Butenal, 2-ethyl-	0.923	91
5	5.506	C ₆ H ₈ S	Thiophene, 3,4-dimethyl-	0.216	90
6	6.408	C ₆ H ₈ S	Thiophene, 2,4-dimethyl-	1.228	91
7	7.347	C ₁₂ H ₁₈ ClN	Benzeneethanamine, N-(3-chloropropyl)-, alpha. -methyl	3.480	32
8	7.669	C ₄ H ₈ S ₂	1,3-Dithiane	3.447	37
9	8.707	C ₂ H ₆ S ₃	Dimethyl trisulfide	7.024	83
10	13.567	C ₆ H ₁₄ S ₂	Disulfide, dipropyl	2.960	27
11	13.828	C ₃ H ₄ N ₂ OS ₂	4-Thiazolidinone, 3-amino-2-thioxo-	2.690	47
12	14.270	C ₅ H ₇ NS	5-Ethylthiazole	0.657	35
13	14.945	C ₉ H ₁₃ NO ₄	d-Proline, N-allyloxycarbonyl-	10.403	23
14	15.416	C ₄ H ₈ S	Sulfide, allyl methyl	7.419	30
15	15.633	C ₅ H ₇ NS	Thiazole, 4,5-dimethyl-	0.810	46
16	16.907	C ₂ H ₆ S ₄	Tetrasulfide, dimethyl	3.835	56
17	17.094	C ₁₀ H ₁₂ O ₂	Eugenol	0.237	27
18	18.129	C ₃ H ₇ NS	Thiazole, tetrahydro-	0.281	39
19	20.134	C ₆ H ₁₄ S ₃	Trisulfide, dipropyl	4.794	91

续表2(Continued Tab. 2)

序号 Peak	保留时间 R. T. min (t/min)	分子式 Molecular formula	化合物名称 Compound name	相对质量分数 Mr (%)	匹配度 Suitability
20	20.532	C ₆ H ₁₂ S	1-Propene,3-[(1-methylethyl) thio]	8.094	14
21	20.770	C ₆ H ₁₀ O ₂	2H-Pyran-2-one,tetrahydro-6-methyl-	0.758	35
22	21.059	C ₆ H ₃ ClN ₂ O ₂	5-Chloro-beznofurazan oxide	0.334	17
23	21.295	C ₉ H ₁₇ S ₃	4-Methyl-2,6,7-trithiabicyclooctane	0.295	32
24	21.951	C ₂₃ H ₄₉ NO ₄	6-Ethyl-2,3-dihydro-1,2,4-triazolo (3,4-b)-1,3,4-thiadiazole-3-thione	8.145	32
25	22.849	C ₉ H ₉ FO ₃	6-Fluoroveratraldehyde	0.453	38
26	23.612	C ₄ H ₅ NS	4-Methylthiazole	1.780	14
27	23.963	C ₈ H ₁₁ N	Pyridine,2,4,6-trimethyl-	0.228	35
28	24.563	C ₁₃ H ₂₆ O	2-Tridecanone	1.478	98
29	24.956	C ₃ H ₄ N ₃ S	3H-1,2,4-Triazole-3-thione,2,4-dihydro-4-methyl-	0.295	50
30	25.426	C ₁₃ H ₁₆ N ₂	3-Ethyl-1,2,3,4-tetrahydro- gamma,-carboline	0.298	43
31	26.257	C ₈ H ₄ F ₆	Benzene,1,4-bis(trifluoromethyl)-	6.450	16
32	26.775	C ₆ H ₁₀ O ₂	2-Pentenoic acid,2-methyl-	1.226	43
33	16.993	C ₁₀ H ₁₈ O ₂	Glutaric acid,2-pentyl	0.217	43
34	27.896	CH ₅ N ₂ O	Hydrazine,3-methoxyphenyl)-	0.466	35
35	28.129	C ₁₃ H ₂₂ O ₂	3(2H)-Furanone,5-methyl-2-octyl-	0.494	72
36	28.362	C ₁₀ H ₉ N	Quinoline,4-methyl-	0.591	35
37	30.138	C ₅ H ₉ Br	Cyclopentane,bromo-	2.005	17
38	30.888	C ₄ H ₄ FN ₃ O	flucytosine	11.051	38
39	31.291	C ₉ H ₇ N	Quinoline	1.819	27
40	34.535	C ₁₈ H ₃₄ O ₄	Glutaric acid,neopentyl tridecyl ester	0.231	59
41	34.738	C ₁₆ H ₃₂ O ₂	n-Hexadecanoic acid	1.441	99
42	40.794	C ₁₇ H ₃₆	Heptadecane	0.377	96

由表4可知,大葱挥发油中总共检测出42种物质,其中含硫化合物有16种,占总量的46.165%,这一结果与郭海忱^[9]的研究相符。挥发油中含量最高的化合物是氟胞嘧啶(11.051%)、含量较高的是稀丙基异丙基硫醚(8.094%)、烯丙基甲基硫醚(7.419%)、二甲基三硫醚(7.024%)、二丙基三硫醚(4.794%)、二甲基四硫醚(3.835%)、1,4-二(三氟甲基)-苯(6.450%)。

3.3 大葱挥发油抗菌活性

3.3.1 抑菌圈测定结果

滤纸片法测定结果见表5。

从表5可见,高浓度(2%)的大葱挥发油对金黄色葡萄球菌、肺炎克雷伯菌、铜绿假单胞菌、粪肠球菌、鲍曼不动杆菌、枯草芽孢杆菌、大肠杆菌和苏云金杆菌这8种菌种都有抑制作用,其中对枯草芽孢杆菌、大肠杆菌和苏云金杆菌作用显著;对鲍曼不

动杆菌的抑制作用较弱。低浓度(0.02%)大葱挥发油对大肠杆菌和苏云金杆菌作用显著,对肺炎克雷伯菌、金黄色葡萄球菌和枯草芽孢杆菌也有较为明显抑制作用;但对铜绿假单胞菌、粪肠球菌和鲍曼不动杆菌无明显抑菌作用。

3.3.2 大葱挥发油抗菌实验结果

从表6中可以看出大葱挥发油对金黄色葡萄球菌、肺炎克雷伯菌、铜绿假单胞菌、粪肠球菌、鲍曼不动杆菌、枯草芽孢杆菌、大肠杆菌和苏云金杆菌的MIC均为1%,对金黄色葡萄球菌、肺炎克雷伯菌、铜绿假单胞菌、鲍曼不动杆菌、大肠杆菌和苏云金杆菌的MBC均为2%;而且对粪肠球菌和枯草芽孢杆菌的MBC仅为1%,结果表明大葱挥发油具有良好的抗菌和杀菌活性。前面在大葱挥发油中分析鉴定出很多硫化物,可能为抑菌有效成分。

表 5 不同浓度大葱挥发油抑菌效果($n = 3, \bar{x} \pm s$)Table 5 Antibacterial effect of volatile oil from Allium fistulosum L($n = 3, \bar{x} \pm s$)

抑菌圈直径 Diameter of inhibition zone (mm)	大葱挥发油体积分数 <i>Allium fistulosum</i> L. volume fraction (%)		
	2	0.2	空白 Blank control
肺炎克雷伯菌 <i>Klebsiella pneumoniae</i>	9.25 ± 1.03	9.25 ± 0.712 4	-
铜绿假单胞菌 <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	9.50 ± 1.785 3	-	X
粪肠球菌 <i>Enterococcus faecalis</i>	15.12 ± 2.072 8	-	X
鲍曼不动杆菌 <i>Acinetobacter baumannii</i>	7.00 ± 0.500 0	-	X
金黄色葡萄球菌 <i>Staphylococcus aureus</i>	7.62 ± 0.649 5	8.87 ± 1.382 4	X
枯草芽孢杆菌 <i>Bacillus subtilis</i>	10.75 ± 1.622 5	8.00 ± 0.562 8	X
大肠杆菌 <i>Escherichia coli</i>	15.68 ± 2.089 2	10.02 ± 1.032 3	X
苏云晶杆菌 <i>Bacillus thuringiensis</i>	13.28 ± 3.027 7	11.99 ± 0.479 5	-

注:所有数据均为3次实验平均值,下同。

Note: All data are averages of 3 experiments, the same below.

表 6 大葱挥发油抗菌实验结果

Table 6 Antibacterial test results of volatile oil from *Allium fistulosum* L

菌种 Bacterial species	大葱挥发油菌液量 <i>Allium fistulosum</i> L. liquid volatile oil (%)	
	MIC	MBC
肺炎克雷伯菌 <i>Klebsiella pneumoniae</i>	1	2
铜绿假单胞菌 <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	1	2
粪肠球菌 <i>Enterococcus faecalis</i>	1	1
鲍曼不动杆菌 <i>Acinetobacter baumannii</i>	1	2
金黄色葡萄球菌 <i>Staphylococcus aureus</i>	1	2
枯草芽孢杆菌 <i>Bacillus subtilis</i>	1	1
大肠杆菌 <i>Escherichia coli</i>	0.5	2
苏云晶杆菌 <i>Bacillus thuringiensis</i>	0.5	2

4 结论

本文对大葱挥发油提取工艺、化学成分和抗菌活性进行了研究,为大葱化学成分的深入研究和资源的合理利用提供了实验依据。

本文通过对超声时间、蒸馏时间和料液比的考察,优化提取工艺,使大葱挥发油提取率达到0.042 96%。相比传统水蒸气提取挥发油的方法,本实验利用超声波辅助提取,使溶剂加速进入大葱组织内部,使相关成分充分溶出,提高挥发油提取率。结果表明该提取工艺可行。本文研究发现大葱挥发油对实验所选菌种均具有明显的抑制作用,说明其不仅能抑制革兰氏阴性菌,也能抑制革兰氏阳性菌。由成分鉴定发现其挥发油含有大量含硫化合物,分析

可能为其抑菌有效成分。其中的氟胞嘧啶含量较大,经文献查阅报道其具有较强的抗真菌作用,临幊上用于治疗由念珠菌属和(或)隐球菌属引起的严重传染病,如败血症、心内膜炎和尿路感染。氟胞嘧啶可能是大葱具有抗菌作用的主要成分之一。大葱资源丰富,为人们喜爱的食用品,依据本文实验研究结果,大葱挥发油可望进一步开发成天然抑菌剂,使丰富的大葱资源得到更充分的利用和更好的开发。

参考文献

- Li QZ(李倩竹), Zhao YJ(赵玉娟), Liu Q(刘乔), et al. Study on the antibacterial effect of wild leek extract [J]. *Food Sci Techno*(食品科技), 2015, 40:288-291.

(下转第 1897 页)