

白兰花挥发油化学成分及其抑菌拒食活性研究

侯冠雄^{1,2},王永江²,张周鑫²,颜一军²,马亚团²,朱艳玲^{3*},黄胜雄^{1,2*}

¹云南中医学院中药学院,昆明 650500;²中国科学院昆明植物研究所植物化学与西部植物资源持续利用国家重点实验室,昆明 650201;³昆明医科大学海源学院,昆明 650106;

摘要:利用水蒸气蒸馏法提取白兰花中的挥发性成分,通过气相色谱质谱联用技术(GC-MS)并结合计算机分析鉴定提取物中挥发油芳香成分,共鉴定出76个化合物,其中有37个萜类化合物、17个醇类化合物、6个烷烃类化合物和其它类型化合物。用面积归一化法测定挥发油中各种成分的相对含量,合计占总峰面积的93.292%。同时对不同菌株进行抑菌实验,并探究不同浓度挥发油对粘虫的拒食作用。实验结果表明:用水蒸气蒸馏提取白兰花挥发油时,提取率为4.18%,其最主要成分为芳樟醇;该方法提取的白兰花挥发油对水稻黄单胞菌和枯草芽孢杆菌抑制作用最好,并且对粘虫幼虫有很好拒食活性。

关键词:白兰花;挥发油;拒食性;GC-MS;抑菌活性;粘虫

中图分类号:R284.2;Q961

文献标识码:A

DOI:10.16333/j.1001-6880.2018.12.005

Study on the Volatile Oil of *Michelia alba* DC. and Its Antimicrobial and Antifeedant Activities

HOU Guan-xiong^{1,2}, WANG Yong-jiang², ZHANG Zhou-xin²,
YAN Yi-jun², MA Ya-tuan², ZHU Yan-ling^{3*}, HUANG Sheng-xiong^{1,2*}

¹College of Pharmaceutical Science, Yunnan University of Traditional Chinese Medicine, Kunming 650500, China;

²State Key Laboratory of Phytochemistry and Plant Resources in West China, Kunming Institute of Botany, Chinese Academy of Sciences, Kunming 650201, China; ³Haiyuan College of Kunming Medical University, Kunming 650106, China

Abstract: Volatile oils were obtained from the flowers of *Michelia alba* DC. by means of steam distillation technique. The volatile components in the extracts were analyzed by GC-MS and their relative contents were identified by peak area normalization method. The results showed that there are 76 identified compounds which include 37 terpenoids, 17 alcohols, 6 alkane compounds and other substances in the essential oils. The relative contents of all detected compounds in the essential oils are 93.026%. In addition, we conducted antimicrobial experiments with different strains, and explored the antifeedant properties of essential oils in different concentrations against the worm *Mythimna separata*. The experimental results showed that the extraction rate was 4.18% by using steam distillation extraction method. The most abundant component of the extracted oil is linalool. The essential oils showed most potent inhibitory activity against *Xanthomonas oryzae* and *Bacillus subtilis* among the tested strains and it had a good inhibitory effect on the armyworm *Mythimna separata*.

Key words: *Michelia alba* DC.; volatile oil; antifeedant; GC-MS; antimicrobial activity; *Mythimna separata*

白兰(*Michelia alba* DC.),又名黄桷兰、白缅桂、把兰等,属木兰科含笑属的常绿乔木,原产于印度尼西亚的瓜哇岛,现已广泛分布于我国的西部和东南部^[1]。白兰不但树形好,花期长,叶色浓绿,且白兰花、叶、茎中都含有挥发性芳香物质,少有病虫

害侵扰,四季呈香,是珍贵的观赏性芳香植物。白兰花性温,味苦辛,具有止咳、化浊的功效,民间用作驱蚊防虫剂。白兰花洁白清香,可提制成白兰花浸膏,供高档化妆品作为香精之用,还是我国熏制花茶的重要原料之一^[2]。鲜叶可提取香油,又称“白兰叶油”,其对慢性支气管炎有很好的功效,且根皮可入药,用于治疗便秘^[3]。

现如今,已有大量国内外学者对白兰花挥发油成分进行了研究^[4-9],大都是采用溶剂萃取和固相微

收稿日期:2018-04-12 接受日期:2018-09-04

基金项目:云南省应用基础研究面上项目(2016FB021);国家自然科学基金(81522044)

*通信作者 Tel:86-871-65215112; E-mail: wofe798@126.com

萃取等方法,并结合 GC-MS 分析白兰花挥发油成分。白兰具有抗癌和皮肤保护的药理作用^[10],但其抗虫和抑菌活性研究相对甚少^[11],本文将对此方面进行研究探讨,涉及的供试菌为 4 株细菌,4 株真菌;供试虫为粘虫 (*Mythimna separata*)^[12-16]。粘虫属鳞翅目,夜蛾科,又名行军虫或剃枝虫,危害玉米、小麦和水稻等主要粮食作物以及其它 100 多种作物,其可将作物的叶片吃光并能咬断麦穗或谷穗,使作物严重减产,甚至绝产,损害农民利益。本文研究发现白兰挥发油对水稻黄单胞菌和水稻纹枯病菌抑制效果较好,并且对粘虫 (*M. separata*) 也有一定抑制作用,这为白兰花挥发油的综合利用提供了理论基础。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 供试材料与取样方法

供试材料:白兰花,2016 年采自四川省邛崃市孔明乡,该植物由中国科学院昆明植物研究所吴之坤高级工程师鉴定。标本(KIB1201)保存于中国科学院昆明植物研究所植物化学与西部植物资源可持续利用国家重点实验室。

受试昆虫:粘虫 *Mythimna separata* (Walker) 幼虫,从济源白云实业有限公司购入。本实验选取健康,大小一致,发育正常的 2~3 龄粘虫幼虫。

1.1.2 菌种及培养基

菌株:大肠杆菌 (*Escherichia coli* ATCC 8099)、金黄色葡萄球菌 (*Staphylococcus aureus* ATCC 6538) 和枯草芽孢杆菌 (*Bacillus subtilis* ATCC 6633) 购买自 ATCC 菌种库;水稻黄单胞菌 (*Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* RS105)、白色念珠菌 (*Candida albicans*)、大豆根腐致病菌 (*Fusarium oxysporum*)、玉米弯孢致病菌 (*Curvularia lunata* (Walk) Boed) 和水稻纹枯病菌 (*Rhizoctonia solani*) 由西北农林科技大学马亚团老师提供。菌株目前保藏于植物化学与西部植物资源可持续利用国家重点实验室。

PDA 培养基:200.0 g 去皮土豆切碎后,加入 1.0 L 自来水,煮沸 30 min,四层纱布过滤后,滤液加入技术琼脂粉 20.0 g,右旋葡萄糖 20.0 g,定容至 1.0 L,自然 pH。

LB 培养基:胰蛋白胨 10.0 g/L,酵母提取物 5.0 g/L,氯化钠 10.0 g/L,技术琼脂粉 20.0 g/L,pH = 7.4。

1.1.3 实验试剂与仪器条件

主要仪器:电热套(北京中兴伟业仪器有限公

司,中国),恒温水浴锅(上海申生科技有限公司,中国),德国科恩 KERN ABS 系列万分之一分析天平, YXQ-LS-18SI 高压蒸汽灭菌锅(上海博迅实业有限公司医疗设备厂,中国),使用的挥发油提取器,圆底烧瓶,冷凝管的厂家均为中国四川蜀玻(集团)有限责任公司。使用的试剂丙酮、甲醇、无水硫酸钠均为分析纯,由中国天津市大茂化学试剂厂生产。气相色谱质谱联用仪器为美国 Agilent Technologies 公司 HP6890GC/5973MS 气相色谱-质谱联用仪。

GC 条件:HP-5MS 石英毛细管柱(30 m × 0.25 mm × 0.25 μm);柱温:起始温度 40 °C,程序升温 3 °C/min 至 80 °C,再程序升温 5 °C/min 至 280 °C,保持 20 min;柱流速为 1.0 mL/min;进样口温度 250 °C;柱前压 100 kPa;分流比 30:1;进样量 0.1 μL;载气为高纯氦气。MS 条件:电离方式 EI;电子能量 70 eV;传输线温度 250 °C;离子源温度 230 °C;四极杆温度 150 °C;质量范围 35~500 amu。

1.2 方法

1.2.1 白兰花挥发油的提取与鉴定

采用水蒸气蒸馏法^[19]提取白兰花挥发油。采用气相色谱质谱联用仪器进行分离分析,采用 Wiley7n.1 标准谱库检索定性。

1.2.2 得率计算

白兰花挥发油提取率 = $(M - M_0) / 100 \times 100\%$

其中, M (g) 为挥发油连同容器重量; M_0 (g) 为干燥容器重量。每次实验样品用量 100.0 g。

1.2.3 抑菌实验^[17]

将冻存在 20% 甘油中的植物病原真菌接种到 PDA 培养基上,28 °C 避光培养 4 天,细菌接种到液体 LB 培养基中,37 °C,200 rpm 避光培养 12 h。将挥发油用丙酮稀释成 5 个浓度(0.2、0.1、0.05、0.025、0.0125 mL/mL)待用。将活化好的植物病原真菌孢子接种到约 45 °C 的 PDA 培养基并倒入培养皿中,冷却凝固后待用。取液体 LB 培养好的细菌菌液,将其接种到约 45 °C 的固体 LB 培养基并倒入到培养皿中,冷却凝固后待用。在无菌滤纸片(用打孔器将滤纸片加工成直径为 6 mm)中心滴加 5 μL 丙酮稀释的待测样品,待溶剂挥发干后,将其放置在已接菌的培养基中。每块平板均以丙酮作为阴性对照,真菌以放线菌酮和制霉菌素作为阳性对照,细菌以卡那霉素作为阳性对照。植物病原真菌在 28 °C 培养箱中培养 48 h 后观察抑菌圈大小,细菌在 37 °C 培养箱中培养 12 h 后观察抑菌圈大小,进行 3 组

平行实验,求其平均值。

1.2.4 拒食活性测定^[18]

采用小叶碟添加法。挑选大小均一、生命力较强的实验粘虫,隔离于锥形瓶中,保持其饥饿状态 6~8 h 后,取出并将其置于洁净的培养皿中。将采摘的新鲜玉米叶裁剪成边长为 1 cm 的正方形叶碟,将其浸泡于上述用丙酮稀释好的挥发油中,2~3 s 后取出,待溶剂挥发干后,置于放有试虫的培养皿内。对照组使丙酮溶液作对照用相同方法处理。分别在 6、12、24、48 h 用坐标方格纸测量拒食面积并计算拒食率,进行 3 组平行实验,求其平均值。公式如下:拒食率(%) = [(对照组取食面积 - 处理组取食面积) / 对照组取食面积] × 100%。

2 结果与分析

2.1 白兰花中挥发油成分的总离子流图

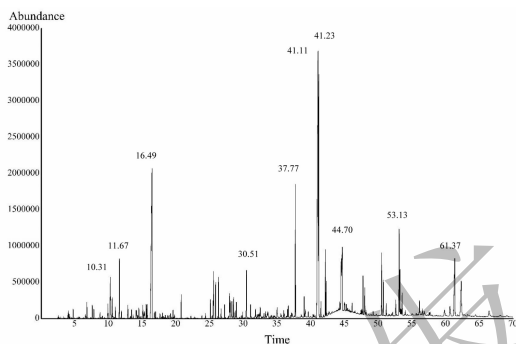


图 1 白兰花中挥发油成分的总离子流图

Fig. 1 Total ion chromatogram of chemical constituents of essential oils from flowers of *M. alba* DC.

2.2 挥发油化学成分分析

对白兰花挥发油的化学成分进行气相色谱-质谱分析,采用 Wiley7n.1 标准谱库检索定性,其结果见表 1。

表 1 白兰花挥发油的化学物质组成和百分比含量

Table 1 The chemical composition and percentage content of essential oils from flowers of *M. alba* DC

| 序号 No. | 化合物 Compounds | 分子式 Molecular formula | 分子量 Molecular weight | 相对分子含量 Relative molecular content (%) |
|-----------|--------------------------------------|-----------------------------|----------------------------|---|
| | Terpenoids | | | |
| 1 | α -Pinene | $C_{10}H_{16}$ | 136 | 0.065 |
| 2 | Camphene | $C_{10}H_{16}$ | 136 | 0.046 |
| 3 | Sabinene | $C_{10}H_{16}$ | 136 | 0.046 |
| 4 | β -Pinene | $C_{10}H_{16}$ | 136 | 0.202 |
| 5 | Cinene | $C_{10}H_{16}$ | 136 | 0.058 |
| 6 | 1,8-Cineole | $C_{10}H_{18}O$ | 154 | 0.423 |
| 7 | <i>cis</i> -Ocimene | $C_{10}H_{16}$ | 136 | 0.420 |
| 8 | <i>trans</i> -Ocimene | $C_{10}H_{16}$ | 136 | 0.447 |
| 9 | α -Cubebene | $C_{15}H_{24}$ | 204 | 0.412 |
| 10 | α -Copaene | $C_{15}H_{24}$ | 204 | 1.419 |
| 11 | β -Cubebene | $C_{15}H_{24}$ | 204 | 0.602 |
| 12 | α -Elemene | $C_{15}H_{24}$ | 204 | 0.121 |
| 13 | β -Elemene | $C_{15}H_{24}$ | 204 | 3.068 |
| 14 | <i>cis</i> - α -Bergamotene | $C_{15}H_{24}$ | 204 | 0.171 |
| 15 | β -Caryophyllene | $C_{15}H_{24}$ | 204 | 3.409 |
| 16 | <i>trans</i> - α -Bergamotene | $C_{15}H_{24}$ | 204 | 0.691 |
| 17 | α -Guaiene | $C_{15}H_{24}$ | 204 | 0.099 |
| 18 | α -Caryophyllene | $C_{15}H_{24}$ | 204 | 1.122 |
| 19 | β -Santalene | $C_{15}H_{24}$ | 204 | 0.131 |
| 20 | γ -Muurolene | $C_{15}H_{24}$ | 204 | 0.198 |
| 21 | Germacrene-D | $C_{15}H_{24}$ | 204 | 1.258 |

续表 1 (Continued Tab. 1)

| 序号 No. | 化合物 Compounds | 分子式 Molecular formula | 分子量 Molecular weight | 相对分子含量 Relative molecular content (%) |
|-----------|--|--|----------------------------|---|
| 22 | β -Selinene | C ₁₅ H ₂₄ | 204 | 1.677 |
| 23 | α -Muurolene | C ₁₅ H ₂₄ | 204 | 0.316 |
| 24 | β -Bisabolene | C ₁₅ H ₂₄ | 204 | 1.999 |
| 25 | δ -Cadinene | C ₁₅ H ₂₄ | 204 | 1.833 |
| 26 | α -Calacorene | C ₁₅ H ₂₀ | 200 | 0.454 |
| 27 | β -Calacorene | C ₁₅ H ₂₀ | 200 | 0.116 |
| 28 | Caryophyllene oxide | C ₁₅ H ₂₄ O | 220 | 6.097 |
| 29 | γ -Cadinene | C ₁₅ H ₂₄ | 204 | 0.240 |
| 30 | 12-Oxabicyclo[9.1.0]dodeca-3,7-diene, 1,5,5,8-tetramethyl-, (1 <i>R</i> ,3 <i>E</i> ,7 <i>E</i> ,11 <i>R</i>) | C ₁₅ H ₂₄ O | 220 | 1.672 |
| 31 | 1,5-Epoxy salvial-4(14)-ene | C ₁₅ H ₂₄ O | 220 | 0.111 |
| 32 | Naphthalene, 1,2,4a,5,6,8a-hexahydro-4,7-dimethyl-1-(1-methylethyl)- | C ₁₅ H ₂₄ | 204 | 0.111 |
| 33 | Bicyclo[5.2.0]nonane, 4-methylene-2,8,8-trimethyl-2-vinyl- | C ₁₅ H ₂₄ | 204 | 0.112 |
| 34 | Tricyclo[5.2.2.0(1,6)]undecan-3-ol, 2-methylene-6,8,8-trimethyl- | C ₁₅ H ₂₄ O | 220 | 0.037 |
| 35 | α -Cedrene oxide | C ₁₅ H ₂₄ O | 220 | 0.438 |
| 36 | 1,6-Dimethyl-4-(1-methylethyl)-(1,2,3,4,4a,7)hexahydronaphthalene | C ₁₅ H ₂₄ | 204 | 0.489 |
| 37 | <i>cis</i> - β -Farnesene | C ₁₅ H ₂₄ | 204 | 0.466 |
| | Alcohols | | | |
| 38 | <i>cis</i> -Linalool oxide (furanoid) | C ₁₀ H ₁₈ O ₂ | 170 | 1.847 |
| 39 | <i>trans</i> -Linalool oxide (furanoid) | C ₁₀ H ₁₈ O ₂ | 170 | 1.669 |
| 40 | Linalool | C ₁₀ H ₁₈ O | 154 | 43.180 |
| 41 | Hotrienol | C ₁₀ H ₁₆ O | 152 | 0.345 |
| 42 | Benzeneethanol | C ₈ H ₁₀ O | 122 | 0.096 |
| 43 | <i>trans</i> -Linalool oxide (pyranoid) | C ₁₀ H ₁₈ O ₂ | 170 | 0.127 |
| 44 | <i>cis</i> -Linalool oxide (pyranoid) | C ₁₀ H ₁₈ O ₂ | 170 | 0.087 |
| 45 | 4-Terpineol | C ₁₀ H ₁₈ O | 154 | 0.050 |
| 46 | α -Terpineol | C ₁₀ H ₁₈ O | 154 | 0.173 |
| 47 | Geraniol | C ₁₀ H ₁₈ O | 154 | 0.101 |
| 48 | Nerolidol | C ₁₅ H ₂₆ O | 222 | 0.663 |
| 49 | <i>tau</i> -Muurolol | C ₁₅ H ₂₆ O | 222 | 1.583 |
| 50 | Selin-11-en-4 α -ol | C ₁₅ H ₂₆ O | 222 | 0.592 |
| 51 | 6-Isopropenyl-4,8a-dimethyl-1,2,3,5,6,7,8,8a-octahydro-naphthalen-2-ol | C ₁₅ H ₂₄ O | 220 | 1.000 |
| 52 | <i>Epi</i> -Cubebol | C ₁₅ H ₂₄ | 204 | 0.327 |
| 53 | (+) Spathulenol | C ₁₅ H ₂₄ O | 220 | 0.372 |
| 54 | <i>Epi</i> -Eudesmol | C ₁₅ H ₂₆ O | 222 | 0.818 |
| | Hydrocarbon | | | |
| 55 | 2-Undecanone | C ₁₁ H ₂₂ O | 170 | 0.033 |
| 56 | Nonadecane | C ₁₉ H ₄₀ | 268 | 0.031 |
| 57 | Heneicosane | C ₂₁ H ₄₄ | 297 | 0.048 |
| 58 | Tricosane | C ₂₃ H ₄₈ | 325 | 0.068 |

续表 1 (Continued Tab. 1)

| 序号 No. | 化合物 Compounds | 分子式 Molecular Formula | 分子量 Molecular weight | 相对分子含量 Relative molecular content (%) |
|-----------|---|--|----------------------------|---|
| 59 | Pentacosane | C ₂₅ H ₅₂ | 353 | 0.033 |
| 60 | 8-Hexadecyne | C ₁₆ H ₃₀ | 222 | 0.223 |
| | Other | | | |
| 61 | 2-Methylbutyric acid | C ₅ H ₁₀ O ₂ | 102 | 0.056 |
| 62 | <i>p</i> -Cymene | C ₁₀ H ₁₄ | 134 | 0.110 |
| 63 | Borneol | C ₁₀ H ₁₈ O | 154 | 0.107 |
| 64 | <i>p</i> -Allylanisole | C ₁₀ H ₁₂ O | 148 | 0.109 |
| 65 | Safrole | C ₁₀ H ₁₀ O ₂ | 162 | 0.054 |
| 66 | Methyl anthranilate | C ₈ H ₉ NO ₂ | 151 | 0.060 |
| 67 | Methyl isoeugenol | C ₁₁ H ₁₄ O ₂ | 178 | 3.540 |
| 68 | Methyleugenol | C ₁₁ H ₁₄ O ₂ | 178 | 3.54 |
| 69 | 2(1H)Naphthalenone,3,5,6,7,8,8a-hexahydro-4,8a-dimethyl-6-(1-methylethenyl) | C ₁₅ H ₂₂ O | 218 | 0.185 |
| 70 | Lilac aldehyde A | C ₁₀ H ₁₆ O ₂ | 168 | 0.048 |
| 71 | Lilac aldehyde B | C ₁₀ H ₁₆ O ₂ | 168 | 0.086 |
| 72 | 4,7-Methanobenzofuran,2,2-oxybis[octahydro-7,8,8-Trimethyl-, [2S-[2a(2R*,3aS*,4R*,7R*,7aS*),3aa,4a]] | C ₂₄ H ₃₈ O ₃ | 374 | 0.226 |
| 73 | 2,5-Cyclohexadiene-1,4-dione,2,6-bis(1,1-dimethylethyl) | C ₁₄ H ₂₀ O ₂ | 220 | 0.139 |
| 74 | 2-(4a,8-Dimethyl-6-oxo-1,2,3,4,4a,5,6,8a-octahydro-naphthalen-2-yl)-propionaldehyde | C ₁₅ H ₂₂ O ₂ | 234 | 0.038 |
| 75 | 9,12,15-(Octadecatrienoic acid, methyl ester, (Z,Z,Z)) | C ₁₉ H ₃₂ O ₂ | 292 | 0.339 |
| 76 | 7,7'-(Bi(bicyclo[2.2.1]heptan)-7(7')-ene) | C ₁₄ H ₂₀ | 188 | 0.347 |
| | 总计 Total | | | 93.026 |

表 1 中列出了从白兰花挥发油中鉴定出的 76 个化合物,主要为单萜和倍半萜。本次检测出的化合物占总挥发油的 93.026%,主要成分有芳樟醇(43.180%)、石竹烯氧化物(6.097%)、 β -榄香烯(3.068%)、甲基丁香酸(3.540%)、 β -石竹烯(3.409%)、 β -红没药烯(1.999%)、顺-咪喃型芳樟醇氧化物(1.847%)、 δ -杜松烯(1.833%)、 β -芹子烯(1.677%)、 τ -木罗醇(1.583%)、 α -胡椒烯(1.419%)和大香叶烯 D(1.258%)等。

2.3 抑菌活性测定

用滤纸片法,测定纯挥发油及 5 种不同浓度挥发油的抑菌活性,其结果见表 2、表 3。白兰花挥发油对指示细菌和植物病原真菌都具有一定抑制作用,其中,纯挥发油抑制效果最佳。白兰花挥发油对枯草芽孢杆菌和水稻黄单胞菌具有较好的抑制作用,在浓度为 0.0125 mL/mL 时,都能对这两株指示细菌具有抑制作用。此外,白兰花挥发油在高浓度时对植物病原真菌具有很好的抑制作用,在低浓度

时对植物病原真菌的抑制作用相对较弱。

2.4 拒食活性测定

采用叶碟法,测定 5 种不同浓度的白兰花挥发油对粘虫幼虫的拒食活性,其结果见表 4。

表 4 显示,不同浓度白兰花挥发油对粘虫幼虫具有一定的拒食作用。当白兰花挥发油浓度大于 0.1 mL/mL 时,供试虫不取食,拒食率接近 100%;当浓度小于 0.05 mL/mL 时,随着时间的推移粘虫表现出波浪型拒食特性,即某一段时间拒食率较高,某一段时间拒食率低。总体而言,白兰花挥发油对粘虫幼虫表现出较强拒食活性,取当浓度为 0.1 mL/mL 的白兰花挥发油处理叶片 48 小时后,仍具有 80% 的拒食率。

3 结论

本论文利用传统的水蒸气蒸馏法提取的挥发油得率为 4.18%,虽耗时长,但所提取的挥发油外观佳,抑菌和拒食活性好。而后通过气相色谱-质谱联

表2 纯挥发油及不同浓度白兰花挥发油的抗菌活性(抑菌圈的直径,mm)

Table 2 The antibacterial activity of essential oils from flowers of *M. alba* (The diameter of inhibition zone, mm)

| 测试细菌 Bacterium | 卡那霉素 Kanamycin | 纯挥发油 Essential oil | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 |
|---|-------------------|-----------------------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|
| 大肠杆菌 <i>Escherichia coli</i> ATCC 8099 | 16.0 ± 0.2 | 9.0 ± 0.4 | 7.7 ± 0.6 | 7.4 ± 0.4 | 0 | 0 | 0 |
| 金黄色葡萄球菌 <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 6538 | 19.5 ± 0.7 | 7.3 ± 0.4 | 6.8 ± 0.4 | 6.4 ± 0.7 | 0 | 0 | 0 |
| 枯草芽孢杆菌 <i>Bacillus subtilis</i> ATCC 6633 | 24.3 ± 0.3 | 9.2 ± 0.4 | 9.3 ± 0.8 | 8.3 ± 0.5 | 8.3 ± 0.8 | 8 ± 0.7 | 7.3 ± 0.3 |
| 水稻黄单胞菌 <i>Xanthomonas oryzae</i> pv. <i>oryzae</i> RS105 | 33.3 ± 0.4 | 12.4 ± 1.0 | 9.8 ± 0.6 | 8.8 ± 0.8 | 8.0 ± 0.9 | 7.9 ± 0.4 | 7.2 ± 0.4 |

注:丙酮稀释后的5个浓度(0.2,0.1,0.05,0.025,0.0125 mL/mL)的挥发油分别与1,2,3,4,5对应。表中数据均为3次重复平均值。

Note: The five kinds of essential oils diluted by acetone (0.2, 0.1, 0.05, 0.025, 0.0125 mL/mL) correspond to 1, 2, 3, 4, 5. Data given were from 3 duplicates.

表3 纯挥发油及不同浓度白兰花挥发油的抗真菌活性(抑菌圈的直径,mm)

Table 3 The antifungal activity of essential oils from flowers of *M. alba*. (The diameter of inhibition zone, mm)

| 测试真菌 Fungus | 放线菌酮 Cycloheximide | 制霉菌素 Mycostatin | 纯挥发油 Essential oil | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 |
|--|-----------------------|--------------------|-----------------------|------------|-----------|-----------|---|---|
| 玉米弯孢病菌 <i>Curvularia lunata</i> (Walk) Boed | 12.5 ± 0.4 | 20.6 ± 0.4 | 13.0 ± 0.8 | 8.5 ± 0.8 | 7.0 ± 0.2 | 0 | 0 | 0 |
| 水稻纹枯病菌 <i>Rhizoctonia solani</i> | 14.2 ± 0.6 | 15.0 ± 0.6 | 14 ± 0.8 | 10.0 ± 0.5 | 9.5 ± 0.8 | 8.0 ± 0.4 | 0 | 0 |
| 大豆根腐病菌 <i>Fusarium oxysporum</i> | 11.4 ± 0.2 | 7.6 ± 0.2 | 10.0 ± 0.2 | 8.0 ± 0.2 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 白色念珠菌 <i>Candida albicans</i> | 0 | 15.7 ± 0.3 | 10.5 ± 0.3 | 7.5 ± 0.4 | 0 | 0 | 0 | 0 |

注:丙酮稀释后的5个浓度(0.2 mL/mL, 0.1 mL/mL, 0.05 mL/mL, 0.025 mL/mL, 0.0125 mL/mL)的挥发油分别与1,2,3,4,5对应。表中数据均为3次重复平均值。

Note: The five kinds of essential oils diluted by acetone (0.2 mL/mL, 0.1 mL/mL, 0.05 mL/mL, 0.025 mL/mL, 0.0125 mL/mL) correspond to 1, 2, 3, 4, 5. Data given were from 3 duplicates.

表4 白兰花挥发油对粘虫的拒食活性测定结果

Table 4 Results of resist food effect of essential oils from flowers of *M. alba* DC. on *Mythimna separata*

| 时间 Time | 拒食率 Antifeeding rate | | | | |
|------------|----------------------|--------------|-------------|------------|------------|
| | 0.0125(mL/mL) | 0.025(mL/mL) | 0.05(mL/mL) | 0.1(mL/mL) | 0.2(mL/mL) |
| 6 h | 46.47% | 19.40% | 65.08% | 100% | 100% |
| 12 h | 59.62% | 83.35% | 71.62% | 100% | 100% |
| 24 h | 22.43% | 66.79% | 58.93% | 92.19% | 100% |
| 48 h | 29.96% | 29.61% | 20.96% | 80.11% | 96.73% |

用法分析白兰花中挥发油的成分,共鉴定出76个成分,总含量占挥发油的93.026%。白兰花挥发油中的香气成分主要为芳樟醇,其次石竹烯氧化物、甲基丁香酸、 β -石竹烯等,这些成分构成了白兰特有的香味。通过与文献^[19,20]报道的挥发油对比,发现白兰花的挥发油化学成分与采摘时间和提取方法有关,并且与白兰叶和茎的挥发油成分存在差异,但其主要成分大体相同,所以白兰花挥发油也具有白兰叶

和茎挥发油相似的功效。

从白兰花挥发油抑菌效果来看,白兰花挥发油对枯草芽孢杆菌和水稻黄单胞菌具有较好的抑制作用,在浓度为0.0125 mL/mL时,都能对这两株指示细菌具有抑制作用。此外,白兰花挥发油在高浓度时对植物病原真菌具有很好的抑制作用,在低浓度时对植物病原真菌的抑制作用相对较弱。

综上所述,通过水蒸气提取白兰花挥发油,杂质

较少,整体外观好;从白兰花挥发油对不同菌种的抑菌实验中可知,对细菌和真菌都具有一定的抑制作用,尤其是对水稻黄单胞菌和水稻纹枯病菌抑制效果最好;白兰花挥发油对粘虫抗虫性试验可知,白兰花挥发油在特定浓度下有很高的拒食率,从而使挥发油对粘虫幼虫具有较好的抑制作用。故而,白兰花挥发油在农作物生产以及植物病害防治上具有一定的应用前景。

参考文献

- Zhu FL(朱亮锋), Lu BY(陆碧瑶), Xu D(徐丹). A preliminary study on chemical constituents of the essential oil from *Michelia alba* DC. [J]. *J Integr Plant Biol*(植物学杂志), 1982, 4:355-359.
- Pan LJ(潘利君), Wang JJ(汪涓涓), Huang YF(黄云峰), et al. Study on analysis of michelia flower & michelia leaf oil by GC/MS and their application in fragrances [J]. *Flavour Fragr Cosmet*(香料香精化妆品), 2013, 2:1-6.
- Jiangsu New Medical College(江苏新医学院). Dictionary of Chinese medicine(中药大辞典) [M]. Shanghai: Shanghai People's Publishing House, 1977:703.
- Li JJ(李军集), Li GQ(黎贵卿), Meng ZL(孟忠磊). Chemical constituents of volatile oils from the flowers and leaves of *Michelia alba* DC. in Guangxi by GC-MS [J]. *J Southwest Forestry Univ*(西南林业大学学报), 2012, 32:102-106.
- Yi XM(衣晓明), Song SQ(宋述芹), Gu M(谷茂). Volatile constituents of *Michelia alba* DC. analysis by GC-MS [J]. *J Shenzhen Polytechnic*(深圳职业技术学院学报), 2016, 15:50-53.
- Gu FL(谷风林), Fang YM(房一明), Hu RS(胡荣锁), et al. Chemical constituents of the volatiles of *Michelia alba* DC. by GC-MS [J]. *Chin J Trop Crops*(热带作物学报), 2011, 32:1769-1773.
- Hu RS(胡荣锁), Lu SF(卢少芳), Gu FL(谷风林), et al. Magnolia flavor components analysis of seven stages on blossom process base on the weak polar solvent extraction [J]. *Chin J Trop Crops*(热带作物学报), 2015, 36:1707-1713.
- Shang CQ, Hu YM, Deng CH, et al. Rapid determination of volatile constituents of *Michelia alba* flowers by gas chromatography-mass spectrometry with solid-phase microextraction [J]. *J Chromatogr A*, 2002, 942:283-288.
- Wang HM, Lo WL, Huang LY, et al. Chemical constituents from the leaves of *Michelia alba* [J]. *Nat Prod Res*, 2010, 24:398-406.
- Lee CH, Chen HL, Li HT, et al. Review on pharmacological activities of *Michelia alba* [J]. *Int J Pharm & Ther*, 2014, 5:289-292.
- Li WZ(李为争), Hu JJ(胡晶晶), Yuan GH(原国辉), et al. Effect of piperine- and sanshool-experiences on larval feeding of *Helicoverpa armigera* [J]. *Sci Agric Sin*(中国农业科学), 2015, 48:2076-2084.
- Xu YC(徐延驰). Occurrence reasons of maize army worm and its preventive measures [J]. *Agric Sci Tech & eqpt*(农业科技与装备), 2016, 259:21-22.
- Jiang XF(江幸福), Luo LZ(罗礼智), Zhang L(张蕾), et al. Current status and trends in research on the oriental armyworm, *Mythimna separate* (Walker) in China [J]. *Chin J Appl Entomol*(应用昆虫学报), 2014, 51:881-889.
- Gao SQ(高淑芹). The biological characteristics and prevention of *Mythimna separate* (Walker) [J]. *J Mudanjiang Teachers Coll: Nat Sci*(牡丹江师范学院学报:自科版), 2002, 2:25.
- Feng GM(冯国明). The damage and control of *Mythimna separate* (Walker) [J]. *CY Agri Farmers*(农村.农业.农民), 2013, 5B:59.
- Chen ZD(陈振东), Li LF(黎柳锋), Zeng XR(曾宪儒), et al. Antifeedant activity of chinese medicine *Brucea javanica* extracts against *Plutella xylostella* [J]. *J Anhui Agric Sci*(安徽农业科学), 2015, 43:122-123.
- Yu ZY(余志银), Yu MM(喻明明), Luo JY(罗剑英), et al. Isolation, identification and antimicrobial activity of secondary metabolites from a soil-derived streptomyces from arid habitats of Qinghai [J]. *Nat Prod Res Dev*(天然产物研究与开发), 2015, 27:1900-1904.
- Yang CW(杨超伟), Hu WH(胡伟华), Xia X(夏莘), et al. Study on anti-feeding active constituent of camphor leaves to *Pieris rapae* [J]. *Nat Prod Res Dev*(天然产物研究与开发), 2014, 26:42-45.
- Huang XZ(黄相中), Yin Y(尹燕), Liu XF(刘晓芳), et al. Studies on chemical constituents of volatile oils from the flowers and leaves of *Michelia alba* DC. in Yunnan [J]. *Chem Ind Forest Prod*(林产化学与工业), 2009, 29:119-123.
- Huang XZ(黄相中), Huang R(黄荣), Yin Y(尹燕), et al. Study on chemical constituents of essential oils from leaves and stems of *Michelia alba* DC. [J]. *Food Sci*(食品科学), 2009, 30:241-244.