

贮存年份对北艾和蕲艾精油成分与抑菌活性的影响研究

蒋志惠¹, 郑婧龙¹, 谷令彪¹, 李志祥², 刘运革², 马立静¹, 王 敏¹, 申艳红^{1*}

¹安阳工学院 河南省兽用生物制品研发与应用国际联合实验室; ²河南省亚临界生物技术有限公司, 安阳 455000

摘要:本文采用水蒸汽蒸馏法提取了贮存0、1、2年的北艾和蕲艾精油,采用GC-MS检测精油化学成分,选取10种常见细菌,检测了其抗菌谱和最小杀菌浓度。结果发现:0、1年份北艾精油中小分子挥发性物质较多,随着贮存年份的增加,大分子挥发性物质随之增加;侧柏酮为蕲艾的特有成分。0年份艾叶精油的抑菌活性较高,对沙门菌、枯草芽孢杆菌、沙门菌耐药菌、绿脓杆菌均具有抑制作用。综上,不同贮存年份和品种的艾叶精油在化学成分、抗菌谱和抑菌活性方面均存在差异,综合考虑精油含量和抑菌活性,以0年份的北艾为原料提取精油最佳。

关键词:艾叶;精油;化学成分;抑菌活性

中图分类号:O659.12

文献标识码:A

文章编号:1001-6880(2021)2-0227-10

DOI:10.16333/j.1001-6880.2021.2.007

Effect of storage years on the chemical components and antibacterial activity of essential oils in *Artemisia argyi* (Beiai and Qiai)

JIANG Zhi-hui¹, ZHENG Jing-long¹, GU Ling-biao¹,
LI Zhi-xiang², LIU Yun-ge², MA Li-jing¹, WANG Min¹, SHEN Yan-hong^{1*}

¹Henan Joint International Research Laboratory of Veterinary Biologics Research and Application, Anyang Institute of Technology;

²Henan Subcritical Extraction Biological Technology Co., Ltd, Anyang 455000, China

Abstract: The effects of different storage years on chemical components and the antibacterial activities of essential oils in *Artemisia argyi* (Beiai and Qiai) were studied to provide data references for screening the better antimicrobial activity of Artemisia. The essential oils of Beiai and Qiai in 0, 1st, and 2nd years were extracted by water distillation. The chemical compositions of essential oils were identified by GC-MS. To study the antibacterial activity of the essential oils, 10 kinds of common bacteria were selected, and the antibacterial spectrum and minimum bactericidal concentration of the essential oils were detected. The results showed that storage years affect the chemical compositions and bacteriostasis activity of the essential oils of Beiai and Qiai. The GC-MS and compounds analysis results showed that the small molecules of volatile substances were higher in the 0 and 1st years of Beiai than others. With the increase of storage years, the content of macromolecular volatile substances increased. Compared with Beiai, thujone was found only in Qiai. The results of the antimicrobial spectrum showed that the essential oil of the *Artemisia argyi* family has a wide antimicrobial spectrum, but there are differences. Among the different storage years, the antibacterial activity of the *Artemisia argyi* family in year 0 was best among them. The essential oil of Beiai and Qiai has better antibacterial effects on *Salmonella*, *Bacillus subtilis*, *Salmonella*-resistant bacteria and *Pseudomonas aeruginosa*. A comprehensive analysis of essential oil content and antibacterial activity showed that the essential oil of Beiai in year 0 was the best choice.

Key words: *Artemisia argyi*; essential oil; chemical composition; antibacterial activity

艾草(*Artemisia argyi* H. Lév. & Vaniot)是菊科蒿属植物,多年生草本或略成半灌木状或者小灌木

状植物。植株有浓烈香气,茎褐色或灰黄褐色,有少数短的分枝,叶厚纸质,上面被灰白色短柔毛^[1]。其全草入药,具有温经、去湿、散寒、止血、消炎、平喘、止咳、安胎、抗过敏等作用^[2,3]。古籍将艾草分为北艾、蕲艾、海艾^[4]。其中北艾(Beiai)主要分布于北半球温带、寒温带和亚热带地区,为模式标本。

收稿日期:2020-05-25 接受日期:2020-11-17

基金项目:河南省重点研发与推广专项(科技攻关)(182102310

686);河南省科技攻关重点项目(192102110102)

*通信作者 E-mail:20160453@ayit.edu.cn

蕲艾(Qiai)产于湖北蕲春县,是我国开发最早,应用最广的艾草品种。

《孟子》云“犹七年之病,求三年之艾”。随存放时间的延长,艾叶精油的化学成分会发生改变,精油中的醛类会发生醇化、酯化,叶绿素转化为叶黄素使其颜色发生改变^[6,7]。Jin 等^[5]对 1、2、3 年份蕲艾绒中精油成分进行了研究,结果发现艾绒中挥发性成分的相对含量随着贮存时间的增加而降低,且陈年艾中以大分子挥发性成分为主。灸疗时燃点附近的精油挥发至燃烧部位,产生短时高温,而后精油含量减少,温度下降。陈艾精油含量较低,灸疗时火力温和,可在一定程度上阐明艾灸时用 3 年陈艾效果最佳的原因。但到目前为止贮存年份对于艾叶精油化学成分的影响尚不明确。此外,研究表明艾草具有抑菌作用^[8-10],对大肠杆菌、金黄色葡萄球菌等细菌均具有显著的抑制作用^[11,12],但艾草贮存年份导致化学成分的改变是否影响其抑菌作用亦不明确。故本研究选取 3 个贮存年份的北艾和蕲艾,通过比较精油提取率和 GC-MS/MS 分析结果,明确不同贮存年份和不同品种艾叶精油含量与成分的差异;并通过抗菌谱筛选和最小杀菌浓度测定,分析不同贮存年份和不同品种艾叶精油抑菌能力的差异,以为艾草资源的科学贮存与合理化利用提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

2017 年 5 月份采集的新鲜北艾(河南省安阳市汤阴县扁鹊庙内,坐标 114.435 159°35.87 178'N)和蕲艾(湖北省黄冈市蕲春县,坐标 115.365 152°30.048 862'N),在同一贮存条件下分别存储 0 年、1 年和 2 年。贮存条件依据艾草贮存行业标准:置于清洁、阴凉、干燥、通风的库房内,样品堆放处距离热源 2 m 以上,室温(10~30 °C),周围空气无酸性或其他有害气体,无易燃易爆物品。

供试菌种:枯草芽孢杆菌(*Bacillus subtilis*)、藤黄微球菌(*Micrococcus luteus*)、绿脓杆菌(*Pseudomonas aeruginosa*)、金黄色葡萄球菌耐药菌(*Staphylococcus aureus* resistant bacteria)、大肠杆菌耐药菌(*Escherichia coli* resistant bacteria)、沙门菌耐药菌(*Salmonella* resistant bacteria)、李斯特菌(*Listeria monocytogenes*)均由国家重点微生物资源实验室提供,大肠杆菌(*Escherichia coli*)、沙门菌(*Salmonella*)、金黄色葡萄球菌(*Staphylococcus aureus*)由西北农林科技大学微生物实验室提供。

仪器:精油提取分离器(常州荣华汉器制道有限公司 HDM-2 000D);恒温培养箱(海智城分析仪器制造有限公司 ZXGP-A2 160);高压灭菌锅(华粤企业集团有限公司华粤行仪器有限公司 HVA-110);气相色谱与质谱联用仪(安捷伦科技有限公司 5 977A-MSD)。

1.2 试验方法

1.2.1 水蒸汽蒸馏法提取艾叶精油

艾草前处理:将自然晾干后的艾叶粉碎,过 80 目筛,放入自封袋中备用。

称取 60 g 艾叶粉放入三口烧瓶,加入 600 mL 蒸馏水和 4 颗沸石,放入精油分离器中,95 °C 加热 2 h 收集下层的艾露和上层精油。

1.2.2 艾叶精油提取得率的计算

$$\text{艾叶精油提取得率} = M_1/M_2 \times 100\%$$

M_1 :艾叶精油重量; M_2 :艾叶粉质量。

1.2.3 GC-MS 测定条件

5 977A-MSD 气相色谱条件为:HP-5 ms(非极性毛细管柱,30 m × 250 μm × 0.25 μm,载气为氮气,流量:10 mL/min)初始温度 70 °C,采用程序升温以 10 °C/min 速率升温至 95 °C。再以 5 °C/min 速率升温到 125 °C,以 6 °C/min 速率升温到 180 °C,以 20 °C/min 速率升温到 280 °C,进样量 2 μL,分流比 15:1。

质谱分析条件为:离子源为 EI,电离电压 70 eV,进样口温度 200 °C,离子源温度 230 °C,扫描范围 30~600 amu^[13]。

1.2.4 药敏片法测定抗菌谱

根据菌种配制相应的培养基,高压灭菌后以每个平板 10 mL 的体积制成固体培养基,每个平板划分为四个区域,每区分别加入 15 μL 不同的菌悬液,等待 10 min,用无菌镊子将直径为 0.6 mm,且浸泡 5 μL 艾叶精油 24 h 的药敏片分别放入四个区域中央。放入 37 °C 恒温培养箱中培养 12 h 后,测量抑菌圈直径。以头孢唑啉为阳性对照。

1.2.5 最小杀菌浓度(MBC)测定

制作浓度为 20% 的艾叶精油稀释液,将浓度为 10 000 CFU/mL 对数生长期的菌悬液同艾叶精油稀释液混合培养 12 h。取以上培养菌液,接种到 LB 固体培养基上,在 37 °C 培养箱中培养 12 h,观察平板。若无菌落生长则将艾叶精油浓度降低 10%,若有菌落生长则将艾叶精油浓度增加 10%,重复以上步骤。不生长菌落的最小浓度即为菌种的最小杀菌浓度(MBC)。

2 结果与讨论

2.1 贮存时间影响艾叶精油提取率

结果如表 1 所示,随着贮存时间的增加,艾叶精

油的提取率下降。存储 0 年、1 年和 2 年份的北艾和蕲艾精油提取率无显著性差异 ($P > 0.05$), 但蕲艾的精油平均提取率高于北艾。

表 1 不同贮存时间和品种艾叶精油提取得率

Table 1 Effect of different storage time and species of *Artemisia* on yield of essential oil

艾叶精油提取次数 Extraction times	艾叶精油提取得率 Extraction rate of essential oil from <i>Artemisia argyi</i> leaf (%)					
	2 年份 The 2 nd year(2019.05)		1 年份 The 1 st year(2018.06)		0 年份 The 0 year(2017.06)	
	北艾 Beiai	蕲艾 Qiai	北艾 Beiai	蕲艾 Qiai	北艾 Beiai	蕲艾 Qiai
第一次 The first time	0.28	0.26	0.28	0.32	0.38	0.53
第二次 The second time	0.21	0.25	0.37	0.34	0.40	0.30
第三次 The third time	0.26	0.22	0.28	0.29	0.35	0.37
平均数 Mean value	0.25	0.24	0.31	0.32	0.38	0.40

2.2 不同贮存时间和艾草品种影响艾叶精油的化学成分

不同品种、不同年份的艾叶精油具有不同的颜色(图 1A)。北艾精油 2 年份、1 年份和 0 年份的颜色分别为浅黄色(a)、黄绿色(b)、绿色(c)。蕲艾精油 0 年份、1 年份和 2 年份的颜色分别为浅绿色(d)、蓝绿色(e)、蓝色(f),提示不同贮存年份和品种的艾叶精油化学成分可能存在差异。

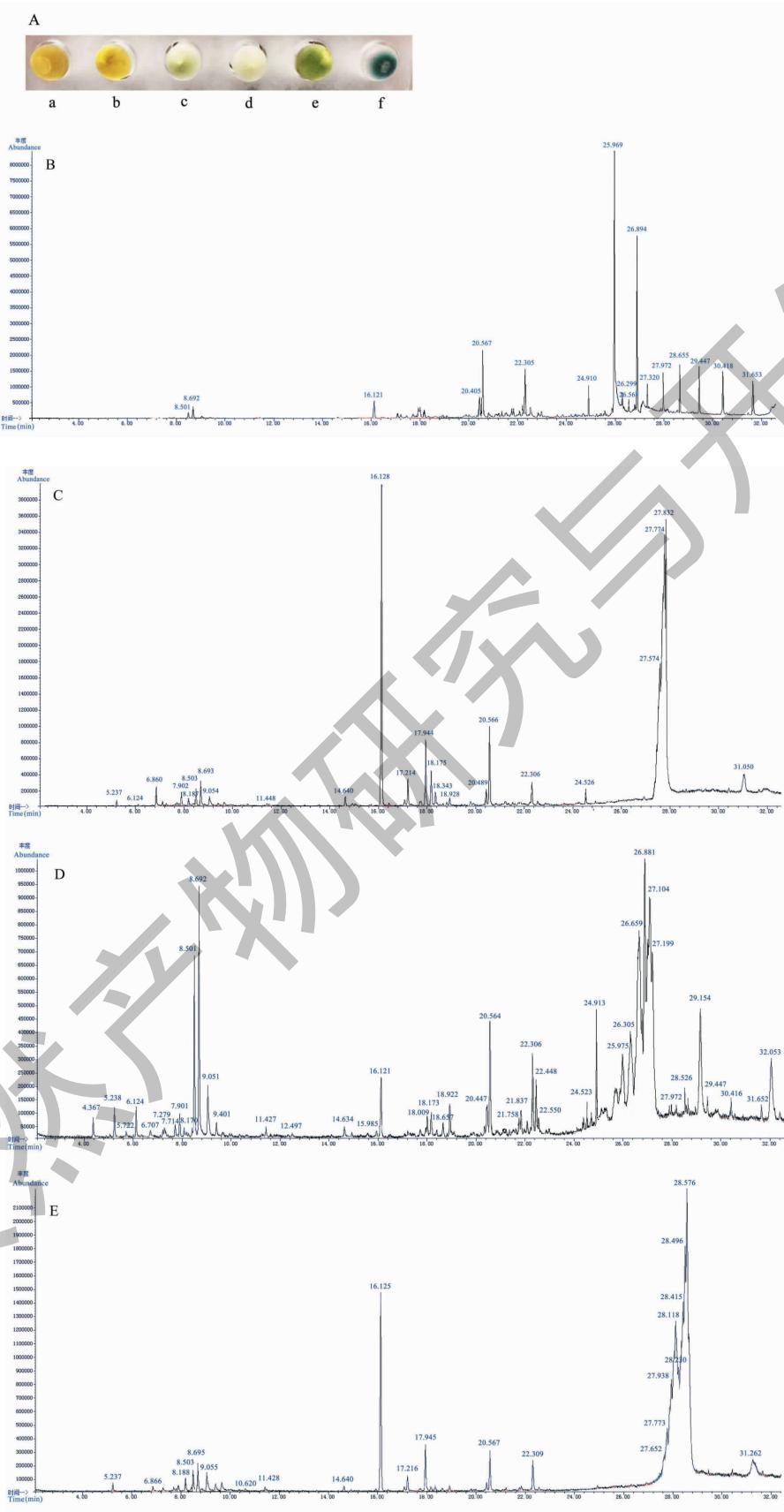
采用 GC-MS 法检测了 3 个贮存年份的北艾和蕲艾精油化学成分。通过出峰时间和峰面积发现 3 个贮存年份的北艾和蕲艾精油化学成分和相对含量存在显著差异,图 1D、F 中提示 0 年份和 1 年份北艾精油中小分子挥发性物质较多,随着贮存年份的增加,大分子挥发性物质随之增加。

成分鉴定表明不同贮存年份和品种的艾叶精油化学成分存在差异性。0 年份、1 年份、2 年份的北艾和蕲艾分别有 9 种、14 种、17 种相同成分(图 2)。与北艾相比,侧柏酮为蕲艾的特有成分(thujone, 图 1C 6. 124 min, 图 1E 6. 866 min 和图 1G 6. 862 min)。三个存储年份北艾精油之间有 16 种相同成分,其中主要成分桉油精(eucalyptol)和龙脑(borneol)含量随贮存年份的增加而减少。2 年份艾叶精油独有植醇正十四碳烷(tetradecane),且含量较高(19.99%)。3 个存储年份蕲艾精油之间有 20 种相同成分(图 2F),其中侧柏酮和醋酸冰片酯(bornyl acetate, 图 1C 11. 448 min, 图 1E 11. 428 min, 图 1G 11. 426 min)的含量随着贮存年份的增加而降低。

不同贮存年份和品种艾叶精油中萜类成分占比最多,其次是生物碱。随着贮存年份的增加,随之降低(图 2G)。通过分析前 5 种主要的化学成分发现(表 2),不同贮存年份和品种的艾叶精油存在相同成分,3 个贮存年份的北艾和蕲艾均含有 eucalyptol(桉油精);0 年份和 1 年份北艾含有 2,4,6-trifluorophenylamine(三氯苯胺)和 3,3,5,5-tetramethyl-6-(2,4,6-trimethylbenzoyl)-dihydro-pyran-2,4-dione;0 年份北艾和 1 年份蕲艾含有 benzoic acid 2,4,6-trimethyl-2,4,6-trimethylphenyl ester;1 年份北艾和蕲艾含有 benzoic acid, 4-propyl-, 4-cyano-3-fluorophenyl ester 和 ethanone, 1-[4-(1-methylethyl)phenyl];2 年份北艾和蕲艾含有 caryophyllene oxide(石竹烯氧化物)。

2.3 不同贮存年份和品种精油的抗菌谱比较

如图 3 所示,艾叶精油的抗菌谱较广。从贮存年份上分析,0 年份的艾叶精油抗菌谱广、抑菌圈直径长。从品种上分析,北艾精油的抗菌谱较蕲艾精油更广。其中 0 年份的北艾精油抗菌谱广泛,对沙门菌、枯草芽孢杆菌、沙门菌耐药菌、藤黄微球菌、绿脓杆菌具有显著的抑制作用,但对李斯特菌、金黄色葡萄球菌耐药菌和金黄色葡萄球菌无显著抑制作用。0 年份蕲艾精油可有效抑制沙门菌、枯草芽孢杆菌、沙门菌耐药菌、绿脓杆菌和大肠杆菌。1 年份蕲艾和北艾精油抑菌圈大小与阳性对照无显著性差异。而 2 年份北艾和蕲艾精油抗菌谱较窄,对沙门菌、枯草芽孢杆菌、藤黄微球菌无抑菌效果。



续图 1(Continued Fig.1)

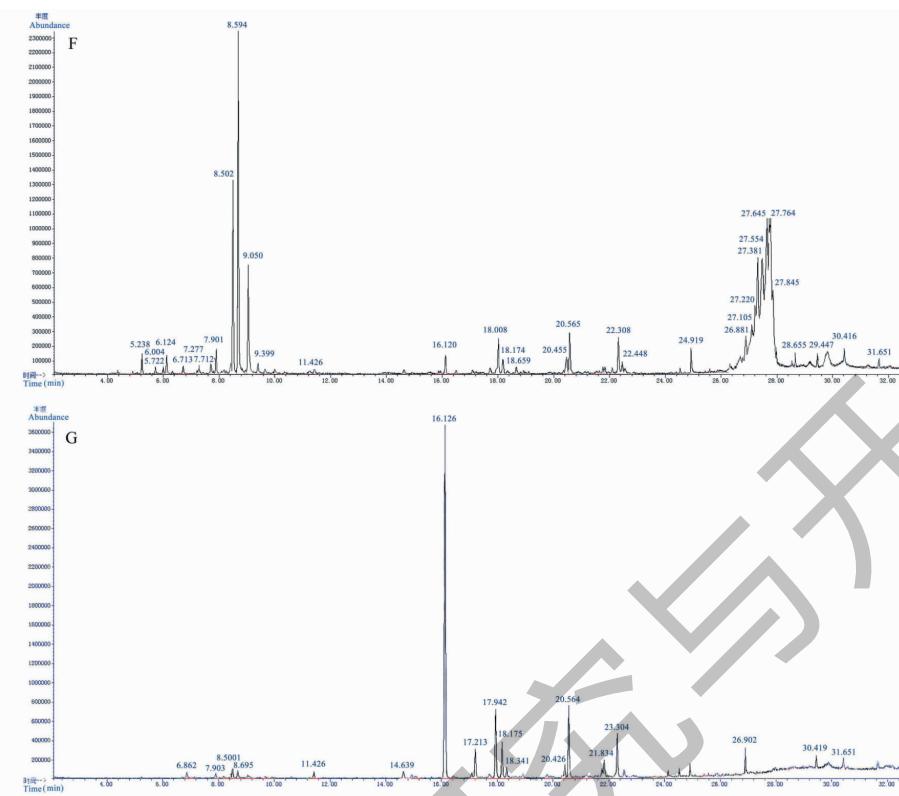
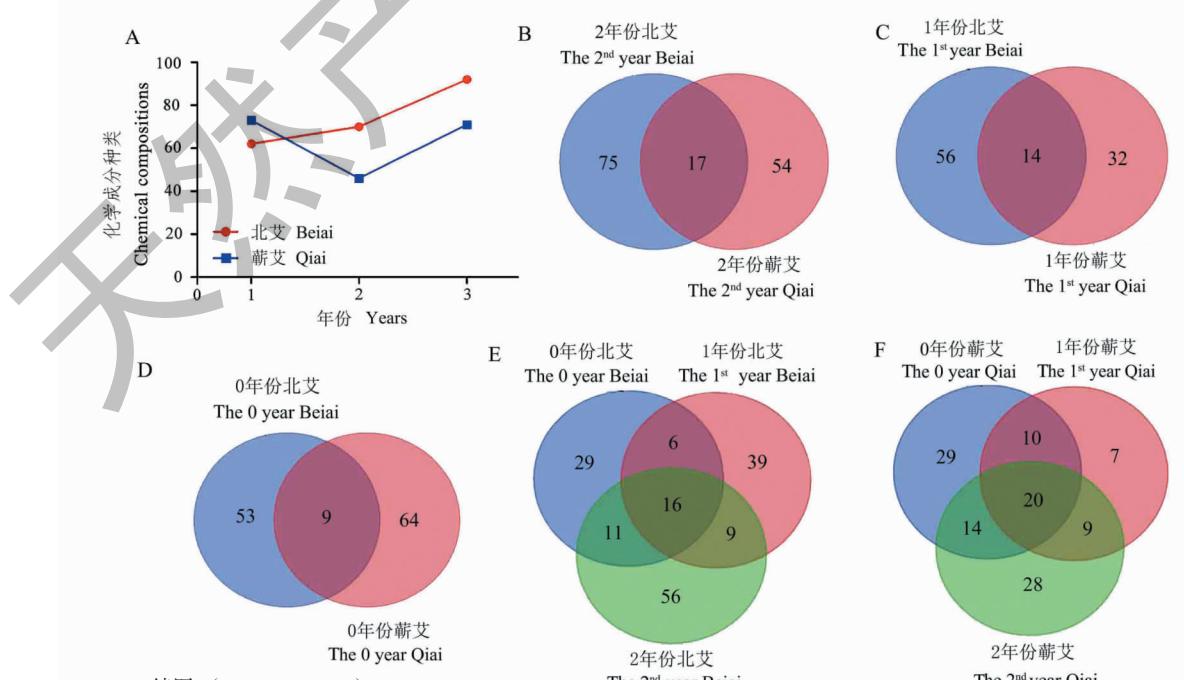


图1 不同贮存年份北艾和蕲艾精油颜色及其气相色谱图谱

Fig. 1 The color and gas chromatogram of different species *Artemisia* in different storage years

注:A:不同贮存年份北艾和蕲艾精油颜色对比(a~c;2、1、0贮存年份北艾;d~f;0、1、2贮存年份蕲艾);B~G:不同年份北艾和蕲艾GC图(B:2年份北艾;C:2年份蕲艾;D:1年份北艾;E:1年份蕲艾;F:0年份北艾;G:0年份蕲艾)。Note: A: The color of essential oils from different species *Artemisia* in different storage years (a-c: essential oils from Beiae in 2, 1 and 0 storage years; d-f: essential oils from Qiae in 0, 1 and 2 storage years); B-G: The GC of different species *Artemisia* in different storage years (B: Beiae in 2 storage years; C: Qiae in 2 storage years; D: Beiae in 1 storage years; E: Qiae in 1 storage years; F: Beiae in 0 storage year; G: Qiae in 0 storage year).



续图2(Continued Fig.2)

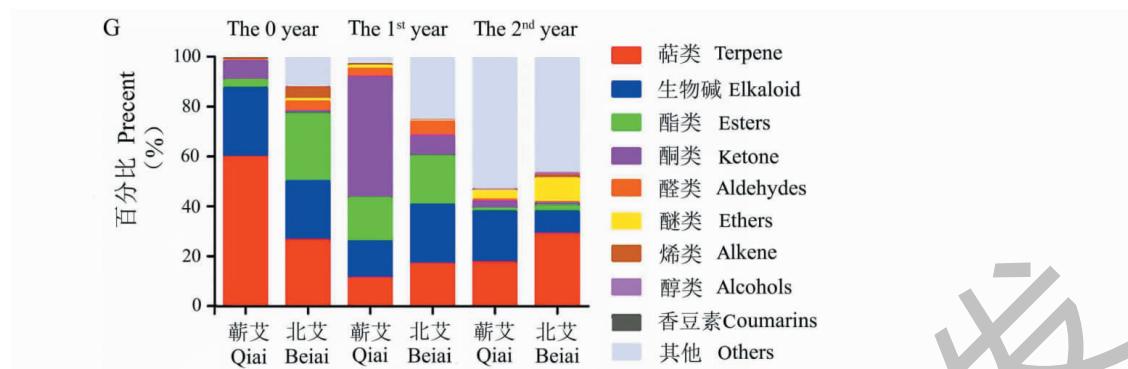


图 2 不同贮存时间北艾和蕲艾化学成分的比较

Fig. 2 Chemical compositions of different *Artemisia* species in different storage years

注:A:化学成分数量;B~D:2、1、0年份北艾和蕲艾化学成分的比较;E~F:3个年份间北艾、蕲艾化学成分的比较;G:化学成分分类比较。
Note: A: The quantity of chemical composition; B-D: Comparison of chemical composition of essential oil between Beiae and Qiaei on 2nd, 1st and 0 years; E-F: Comparison of chemical composition of essential oil from Beiae and Qiaei among 2nd, 1st with 0 years; G: Chemical composition classification comparison.

表 2 不同贮存时间北艾和蕲艾精油前 5 种主要化学成分及相对浓度

Table 2 The first five major chemical compositions of different species *Artemisia* in different storage years

贮存年份 Storage year	化学成分 Chemical composition	相对浓度 Relative concentration (%)	CAS	保留时间 Retention time (min)
2 年份北艾 The 2 nd year Beiae	Tetradecane	19.68 ± 3.21	000629-59-4	25.97
	Phytol	6.17 ± 1.35	000150-86-7	26.89
	Caryophyllene oxide	4.64 ± 0.76	001139-30-6	20.57
	Camphene	3.24 ± 0.36	000079-92-5	22.31
2 年份蕲艾 The 2 nd year Qiaei	3,8-Dioxa-2,9-disiladec-5-ene,2,2,9,9-tetramethyl-, (E)-	2.92 ± 0.11	053326-59-3	28.65
	8-Hydroxymethyladenine	27.27 ± 3.52	030466-95-6	27.77
	Cyclohexane,1,5-diethenyl-3-methyl-2-methylene-, (1 alpha,5 alpha)-	5.15 ± 0.67	000470-82-6	16.13
	Caryophyllene oxide	2.81 ± 0.32	001139-30-6	20.57
1 年份北艾 The 1 st year Beiae	2,4,6-Trimethyl propiophenone	2.67 ± 0.69	002040-15-5	31.05
	2H-[1,2,4]Triazole,3-amino-5-(pyridin-4-yl)-	2.41 ± 0.66	1000304-38-0	17.94
	2,4,6-Trifluoroaniline	14.76 ± 3.21	000363-81-5	27.103
	3,3,5,5-Tetramethyl-6-(2,4,6-trimethyl-benzoyl)-dihydro-pyran-2,4-dione	13.08 ± 2.86	1000300-11-3	26.659
1 年份蕲艾 The 1 st year Qiaei	1,13-Bis(trimethylsilyloxy) tridecane	6.31 ± 1.85	000470-82-6	29.153
	Ethanone,1-[4-(1-methylethyl) phenyl]-	6.18 ± 0.66	000645-13-6	26.306
	Benzoic acid,4-propyl-,4-cyano-3-fluorophenyl ester	6.03 ± 0.84	086776-51-4	27.2
	Ethanone,1-[4-(1-methylethyl) phenyl]-	21.85 ± 1.53	000645-13-6	28.577
0 年份北艾 The 0 year Beiae	Benzoic acid,2,4,6-trimethyl-,2,4,6-trimethylphenyl ester	17.34 ± 1.06	001504-38-7	28.116
	Benzoic acid,4-propyl-,4-cyano-3-fluorophenyl ester	13.78 ± 0.95	086776-51-4	28.416
	2,2-Dimethyl-1-(2,4,6-trimethylphenyl) propan-1-one	10.24 ± 1.06	002700-84-7	28.497
	2,4,6-Trifluoroaniline	7.01 ± 0.88	000470-82-6	27.938
0 年份蕲艾 The 0 year Qiaei	Benzoic acid,2,4,6-trimethyl-,2,4,6-trimethylphenyl ester	11.36 ± 0.37	001504-38-7	27.645
	2,4,6-Trifluoroaniline	9.65 ± 0.53	000470-82-6	27.845
	3,3,5,5-Tetramethyl-6-(2,4,6-trimethyl-benzoyl)-dihydro-pyran-2,4-dione	6.59 ± 0.82	1000300-11-3	27.764
	Borneol	5.31 ± 0.38	010385-78-1	8.51

续表2(Continued Tab. 2)

贮存年份 Storage year	化学成分 Chemical composition	相对浓度 (%)	CAS	保留时间 (min)
0 年份蕲艾 The 0 year Qiai	2,4,6-Trifluoroaniline	5.03 ± 0.64	000363-81-5	27.38
	beta. -Myrcene	28.10 ± 2.68	000123-35-3	16.127
	4H-3,1-Benzoxazin-4-one,2-methyl-	7.71 ± 0.67	000470-82-6	17.942
	Bicyclo[3.1.1]heptane,6,6-dimethyl-3-methylene-	5.69 ± 1.17	016022-04-1	20.564
	4H-3,1-Benzoxazin-4-one,2-methyl-	5.29 ± 0.77	054789-69-4	17.943
	2-Cyclopentene-1-acetaldehyde,2-formyl-alpha,3-dimethyl-	3.34 ± 0.33	075332-42-2	22.303

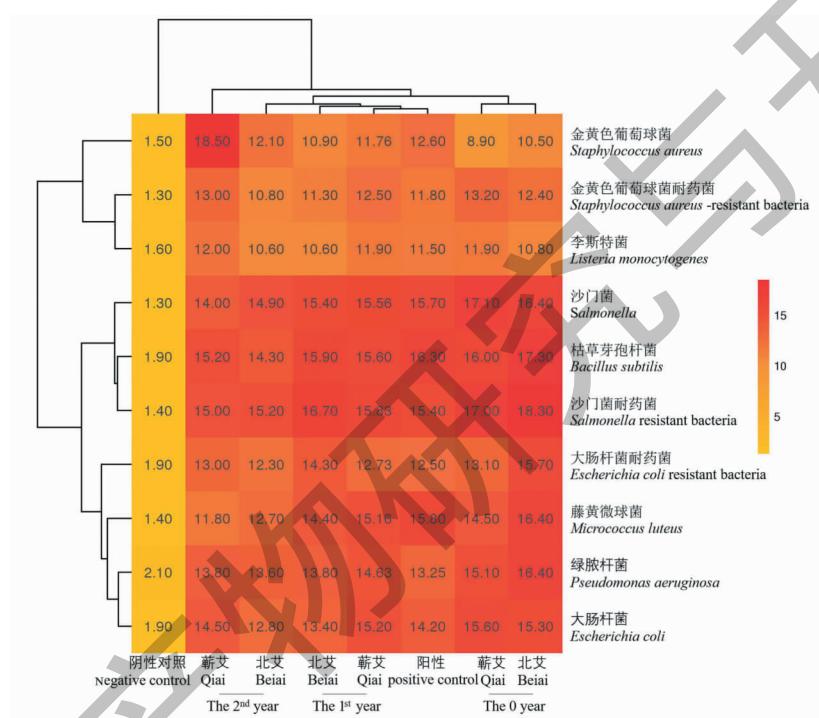


图3 艾叶精油抑菌圈大小

Fig. 3 Diameter of bacteriostatic zone of different *Artemisia* species in different storage years (mm)

2.4 不同贮存年份和品种精油的最小杀菌浓度比较

如表3所示,不同品种和贮存年份的艾叶精油的杀菌能力存在差异。整体分析发现,存储时间越短,杀菌能力越强,但金黄色葡萄球菌除外。从品种分析,与0年份蕲艾精油相比,0年份北艾精油对枯草芽孢杆菌、藤黄微球菌、金黄色葡萄球菌耐药菌、大肠杆菌、大肠杆菌耐药菌、沙门菌耐药菌和绿脓杆菌的最小杀菌浓度较低,说明杀菌能力较高。

3 讨论

艾草较其他植物性药材相比,具有贮存年份的特殊性。艾草根据贮存时间分为0年艾、1年艾、2年艾等。研究表明,艾草不同贮存时间影响其药性,

然而具体原因仍不清楚。因此我们选取《本草纲目》中记载的主要品种北艾和蕲艾作为品种的研究对象,以0年、1年和2年贮存时间为研究时限,比较不同年份和品种艾叶精油中的物理性质、化学成分和种类、抑菌能力,进而解析贮存时间对艾叶精油化学成分和抑菌能力的影响。

首先,贮存时间影响艾叶精油的化学成分。比较艾叶精油的提取率发现,艾叶精油的含量随着贮存时间的增加而降低。预实验期同样提取了贮存3年的艾叶精油,提取率为0.06%,由于精油含量较低,我们选取0年、1年和2年贮存时间为研究时限。从不同贮存年份的同种艾叶精油比较发现,3个贮存年份的北艾精油共同具有的次生代谢产物有

表 3 艾叶精油对供试菌种的最小杀菌浓度

Table 3 MBC of different species *Artemisia* in different storage years

供试菌种 Bacterias	最小杀菌浓度 Minimum bactericidal concentration(μ L/mL)					
	0 年份北艾 The 0 year Beiai	0 年份蕲艾 The 0 year Qiai	1 年份北艾 The 1 st year Beiai	1 年份蕲艾 The 1 st year Qiai	2 年份北艾 The 2 nd year Beiai	2 年份蕲艾 The 2 nd year Qiai
枯草芽孢杆菌 <i>Bacillus subtilis</i>	1	25	25	50	100	250
藤黄微球菌 <i>Micrococcus luteus</i>	1	25	50	25	500	250
李斯特菌 <i>Listeria monocytogenes</i>	10	10	100	125	125	125
金黄色葡萄球菌 <i>Staphylococcus aureus</i>	500	25	500	50	25	1
金黄色葡萄球菌耐药菌 <i>Staphylococcus aureus</i> -resistant bacteria	100	200	200	250	100	200
大肠杆菌 <i>Escherichia coli</i>	1	25	50	100	250	500
大肠杆菌耐药菌 <i>Escherichia coli</i> -resistant bacteria	1	25	50	50	250	125
沙门菌 <i>Salmonella</i>	50	5	100	25	1 000	1 000
沙门菌耐药菌 <i>Salmonella</i> -resistant bacteria	5	50	100	250	500	500
绿脓杆菌 <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	5	10	100	250	100	250

16 种, 蕲艾有 20 种, 分别占总产物的 12.8%、31.2%, 表明次生代谢产物的变化受存储年份的影响。其中, 生物碱类的占比整体变化较小, 萜类占比随着贮存年份的增加而降低, 酯类变化占比无规律, 该结果与叶羊等研究结果相似^[14]。艾叶精油为挥发性成分, 可因与空气和光线接触发生氧化变质、水解反应和重排现象, 使其成分相对比重增加, 颜色加深^[6,7]。我们的研究结果也发现艾叶精油的颜色随着贮存年份的增加而不同, 北艾精油分别为绿色、黄绿色、浅黄色, 蕲艾精油分别为浅绿色、蓝绿色、蓝色, 且随着存储年份的增加, 小分子的挥发性物质相对含量降低, 大分子的挥发物质相对含量增加。

3 个年份的北艾和蕲艾精油均含有 1,8-桉油精、樟脑和龙脑, 且含量较高。我们前期研究结果发现 1,8-桉油精具有抑菌、消炎、抗氧化的作用^[15]。龙脑也叫天然冰片, 是一种珍贵的医药原料、高级香料和化学原料, 在中国和印度被用于食品和民间医药中, 具有抗炎和神经保护的作用^[16]。樟脑具有驱虫^[17]、杀虫、消炎的作用, 被广泛地用作化妆品的香味剂、食品的调味剂、家庭清洁剂的常见成分, 以及局部应用的止痛剂和治疗轻微肌肉疼痛的发红剂。

因此不同品种、贮存时间的艾叶精油具有抗菌、消炎、驱虫等功效, 但其药理学活性也存在着双面性, 大剂量的樟脑具有神经毒性^[17]。分析结果发现, 三个贮存年份的蕲艾均含有侧柏酮, 而北艾未检测出该成分。研究表明侧柏酮除了具有抑菌作用, 还具有较强的神经毒性, 因此蕲艾精油作为药物、食品等添加剂的安全性还需要进行评价。

其次, 贮存时间影响艾叶精油的抑菌活性。基于化学成分的不同, 我们推测贮存年份的不同, 其抑菌活性不同。从结果中比较发现, 3 个存储年份的北艾和蕲艾精油均具有较好的抗菌谱和抑菌活性, 与其他年份相比, 0 年份北艾和蕲艾精油的抗菌谱最广, 最小杀菌浓度较低。抑菌活性的改变可能与萜类含量有关。研究表明萜类具有抑菌、杀菌的活性, 它可以破坏细胞膜的渗透性^[18], 导致核酸等大分子物质的外泄, 同时对细胞菌体蛋白的合成和积累有干扰作用。并且萜烯相互作用可诱导细胞呼吸的改变, 随后导致微生物氧化磷酸化的解耦联^[19], 对耐药菌具有协同抑制的作用, 因此, 67% 的增效剂都属于单萜类和倍半萜类^[20]。本实验结果表明艾叶精油中的萜类化合物种类较多, 且随着贮存年份

的增加而降低。我们通过比较发现,0 年份的 eucalyptol(桉油精)、 β -myrcene(β-月桂烯)、bicyclo[3.1.1]heptane, 6, 6-dimethyl-3-methylene 含量较多。研究表明桉油精、月桂烯具有较强的抑菌能力,推测艾叶精油抑菌活性的主要成分为桉油精和月桂烯。与 0 年份的蕲艾精油相比,北艾精油对枯草芽孢杆菌、藤黄微球菌、金黄色葡萄球菌耐药菌、大肠杆菌、大肠杆菌耐药菌、沙门菌耐药菌和绿脓杆菌的最小杀菌浓度较低,对金黄色葡萄球菌、沙门菌的最小杀菌浓度较高。说明不同品种艾叶精油对不同细菌的杀菌能力不同,可以有针对性的选择品种使用。

本研究发现不同贮存年份和品种的艾叶精油其化学成分和抑菌活性也存在差异。贮存年份主要影响萜类和酯类的含量比例。与北艾的化学成分相比,蕲艾含有特有成分侧柏酮。另外,0 年份的艾叶精油具有较广的抗菌谱,较低的最小杀菌浓度,推测主要的杀菌活性成分为桉油精和龙脑。综上结果,不同存储年份的北艾和蕲艾化学成分与抑菌活性具有较大的差异性,因此艾叶应用在医疗、食品等方面应重新评价不同年份和品种的化学成分及功能。

综上,艾叶精油含量随着贮存年份的增加而降低,且艾叶精油中的化学成分发生变化。其中生物碱类的占比整体变化较小,萜类占比随着贮存年份的增加而降低,酯类变化占比无规律。艾叶精油的抗菌谱较广,从贮存年份上分析,0 年份的艾叶精油抗菌谱广。从品种上分析,北艾精油抑菌效果较蕲艾显著。从化学成分上分析,蕲艾精油因含有侧柏酮存在潜在的神经毒性。

参考文献

- Nie W, Liu C, Shan CY. Textual Research and resources distribution of wormwood [J]. Chin Wild Plant Res(中国野生植物资源), 2019, 38: 93-95.
- Liu H, Zhan S, Zhang Y, et al. Molecular network-based analysis of the mechanism of liver injury induced by volatile oils from Artemisiae Argyi Folium [J]. BMC Complement Altern Med, 2017, 17: 491.
- Liu R, Zhao J, He K, et al. Determination of eupatilin in Foli um Artemisiae Argyi and its inhibitory effect on hepatoma cells [J]. Pharmacogn Mag, 2018, 14: 129-133.
- Jiang ZH, Chang XM, Zhang ZR, et al. Advances in the phytochemistry and pharmacology of *Artemisia argyi* [J]. Chin J Vet Drug(中国兽药杂志), 2019, 53: 76-85.
- Jin R, Yu MM, Zhao BX et al. Analysis on chemical compositions of *Artemisia argyi* from Qichun of different years and moxa wool refined in different proportions [J]. Chin Acupunct Moxib(中国针灸), 2010, 30: 389-392.
- Zhang MC. Pharmacognosy research and development of ai and qiai on the effect of different stack heights on appearance quality and chemical composition of primary flue-cured tobacco in Southern Anhui [J]. Anhui Agr Sci Bull(安徽农学通报), 2018, 24: 43-44.
- Chen YH, Zhang C, Zhu QF, et al. Analysis on the change of aroma components content in flue-cured tobacco leaves during storage [J]. J Anhui Agr Sci(安徽农业科学), 2018, 46: 182-184.
- Zhang Y, Zhang T, Luo T, et al. Preliminary study on antimicrobial mechanism of *Artemisia argyi* aqueous extract on *Escherichia coli* [J]. Hubei Agr Sci(湖北农业科学), 2019, 58: 45-48.
- Zhao XL, Dang YL. Advance on chemical constituents and pharmacological effects of *Artemisia argyi* volatile oils [J]. Nat Prod Res Dev(天然产物研究与开发), 2019, 31: 2182-2188.
- Tang YF, Zhang ML, Ye JF. Study on the antimicrobial activities of the extract of *Folium Artemisiae Argyi* by supercritical carbon dioxide extraction [J]. Nat Prod Res Dev(天然产物研究与开发), 2006, 18: 269-272.
- Li ZP, Ye ZL, Huang ZH, et al. Study on bacteriostatic action of *Artemisia argyi* supercritical extraction [J]. Guangdong Chem Ind(广东化工), 2015, 42: 32-33.
- Yao YF, Shi L, Tan CD. The antibacterial substance of worn-wood [J]. Food Sci Technol(食品科技), 2011, 36: 212-214.
- Liu XQ, Chen SZ, Ni N. Study on constituents of volatile oil from *Artemisia argyi* in Hunan Province by GC-MS [J]. J Chin Med Mater(中药材), 2005, 28: 1069-1071.
- Ye Y, Zhang XY, Du J, et al. Study on changes of active components in Lianzhifan solution under different storage conditions [J]. Chin Tradit Herb Drugs(中草药), 2019, 50: 5745-5752.
- Jiang Z, Guo X, Zhang K, et al. The Essential oils and eucalyptol from *Artemisia vulgaris* L. prevent acetaminophen-induced liver injury by activating Nrf2-Keap1 and enhancing APAP clearance through non-toxic metabolic pathway [J]. Front Pharmacol, 2019, 10: 782.
- Asadollahi A, Khoobdel M. Effectiveness of plant-based repellents against different *Anopheles* species: a systematic review [J]. Malar J, 2019, 18: 436.

(下转第 207 页)