

中药现代化技术

# 紫薇果实挥发油提取工艺、化学成分及抗菌活性

张 勇, 金雨馨, 刘贞鑫, 黄 磊, 于月月, 王桃云\*

(苏州科技大学 化学与生命科学学院, 江苏 苏州 215009)

**摘要:** 采用单因素和 Box-Behnken 响应面法对超声波辅助提取紫薇果实挥发油 (LIFVO) 的提取工艺进行了优化。利用 GC-MS 测定挥发油的化学组分, 并测试其抑菌活性。结果显示, 挥发油的最优提取工艺为提取温度 69 °C、超声波功率 562 W、液料比 23.6 : 1 (mL : g), 超声提取时间 47 min, 在此条件下, LIFVO 得率为 2.72%±0.02%。从挥发油中共鉴定出 27 种化合物, 主要成分是二十四烷、二十五烷和二十六烷, 其相对含量分别为 17.307%、12.731%、10.897%。抑菌实验显示, 所有受试菌的生长均能被挥发油所抑制。挥发油中的主要抑菌成分是多种烃类、醇类、酚类及萜烯类化合物。

**关键词:** 响应面优化; 超声波提取; 紫薇果实挥发油; 成分分析; 抑菌活性; 中药现代化技术

中图分类号: R284.2

文献标识码: A

文章编号: 1003-5214 (2022) 08-1641-07

开放科学 (资源服务) 标识码 (OSID):



## Extraction process, chemical composition and antimicrobial properties of volatile oil from *Lagerstroemia indica* fruit

ZHANG Yong, JIN Yuxin, LIU Zhenxin, HUANG Lei, YU Yueyue, WANG Taoyun\*

(School of Chemistry and Life Sciences, Suzhou University of Science and Technology, Suzhou 215009, Jiangsu, China)

**Abstract:** The ultrasonic-assisted extraction process of volatile oil (LIFVO) from *Lagerstroemia indica* fruit were optimized by single-factor and Box-Behnken response surface methodology. The chemical components of volatile oil were identified by GC-MS, followed by investigation on its antibacterial activity. The results showed that LIFVO extraction reached the optimal with a yield of 2.72%±0.02% at parameters of extraction temperature 69 °C, ultrasonic power 562 W, liquid-solid ratio 23.6 : 1 (mL : g) and extraction time 47 min. GC-MS analysis identified twenty-seven compounds in LIFVO with tetradecane (17.307%), pentadecane (12.731%) and hexadecane (10.897%) the major components. Antimicrobial assessment suggested that LIFVO could significantly inhibit the growth of tested bacteria with a variety of alkanes, alcohols, phenols and terpene the main bacteriostatic components.

**Key words:** response surface optimization; ultrasonic extraction; *Lagerstroemia indica* fruit volatile oil; component analysis; antibacterial activity; modernization technology of traditional Chinese medicine

植物挥发油具有治疗肿瘤、糖尿病、神经系统与精神疾病、杀灭病菌、消除炎症等生物活性。其中, 抑菌活性是挥发油的重要活性之一, 其活性成分包括萜类、烃类、酚类、醇类等, 挥发油中一些次要组分或其组合对抑菌活性也起到重要作用<sup>[1-2]</sup>。植物挥发油在医药、食品、洗漱用品、化妆品及香水等产品中都有应用, 并受到了广泛关注<sup>[3-7]</sup>。开展植物挥发油研究, 可为其在医药、食品等产品中的

应用提供参考。

紫薇 (*Lagerstroemia indica* L.) 是一种优秀的园林绿化树种, 在中国已有近 1700 年栽培史<sup>[8-9]</sup>。紫薇的果实、根、茎和叶中富含单宁、花青素、木质素、多酚等成分, 具有抗菌、抗炎、治疗糖尿病、肝病及清除自由基等药理活性<sup>[10-13]</sup>。与紫薇的根、茎、叶、花等部位相比, 其果实具有生物量大、来源充足、采收时间长等优点。目前, 国内外仅有

收稿日期: 2022-01-06; 定用日期: 2022-04-16; DOI: 10.13550/j.jxhg.20220011

作者简介: 张 勇 (1996—), 男, 硕士生, E-mail: 1157499827@qq.com。联系人: 王桃云 (1973—), 男, 副教授, E-mail: wangtaoyun@mail.usts.edu.cn。

WEI 等<sup>[14]</sup>对紫薇花中的挥发油成分及其抑菌活性进行了研究, 但并未进行紫薇果实挥发油的研究, 这很大程度上限制了紫薇果实资源的开发利用。因此, 探究紫薇果实挥发油提取工艺、化学成分及其抑菌活性对于紫薇果实资源开发、探索新的抗菌化合物具有一定意义。

本研究拟采用单因素及响应面法结合超声波辅助提取技术对紫薇果实挥发油(LIFVO)提取工艺进行优化, 并对紫薇果实挥发油的化学成分和抗菌活性进行测试和评价, 旨在为紫薇果实资源的进一步开发利用及寻找新的抗菌化合物提供科学依据。

## 1 实验部分

### 1.1 试剂与仪器

紫薇果实, 于 2019 年 10 月中旬采于江西省南昌市湾里园艺花木有限公司, 紫薇种类由苏州科技大学生物系王金虎博士鉴定, 样品标本保存于苏州科技大学植物标本室, 紫薇果实洗净、晒干、粉碎后过 60 目筛备用; 二甲基亚砜(DMSO, AR)、NaCl(AR)、正己烷(AR)、LB 肉汤(BR)、琼脂(BR), 国药集团化学试剂有限公司; 受试菌为灰绿青霉、金黄色葡萄球菌、大肠杆菌和李斯特菌, 中国工业微生物菌种保藏管理中心。

Agilent 7890A/5975C 型气-质联用仪, 美国安捷伦科技有限公司; UV-5300 PC 型紫外-可见光分光光度计, 日本岛津仪器(苏州)有限公司; SB-600 GDV 型超声波清洗机, 宁波新芝生物科技有限公司; BCM-1300 型超净工作台, 苏州瑞盛科学仪器有限公司。

### 1.2 方法

#### 1.2.1 LIFVO 提取的基本工艺流程

按 5 g/次的量取紫薇果实粉末, 以弱极性有机溶剂为提取剂, 在一定提取条件下进行提取、离心, 得上清液, 旋蒸浓缩后冷冻干燥(温度范围-35~35℃, 干燥 24 h), 得到 LIFVO, 用棕色瓶密封保存在-20℃冰箱中备用。

LIFVO 得率按照式(1)进行计算:

$$Y/\% = m_1/m_0 \times 100 \quad (1)$$

式中:  $Y$  为 LIFVO 得率, %;  $m_1$  和  $m_0$  分别为 LIFVO 和紫薇果实粉末的质量, g。

#### 1.2.2 单因素及响应面实验

按照 1.2.1 节所述制备方法, 以 LIFVO 得率为判定依据, 按不同弱极性溶剂种类(正己烷、石油醚、乙醚、二氯甲烷)、不同提取时间(20~60 min)、提取温度(35~75℃)、超声波功率(200~700 W)及

液料比(mL:g, 下同)(10:1~30:1)5个因素进行实验。参考 RATANASUMARN 等<sup>[15]</sup>及王舒舒等<sup>[16]</sup>的响应面设计方法, 进一步优化 LIFVO 提取工艺。

#### 1.2.3 LIFVO 的抑菌实验

##### 1.2.3.1 供试菌准备及 LIFVO 抑菌活性测定

将供试菌按王桃云等<sup>[17]</sup>的方法进行活化, 将细菌配制成菌液浓度为  $1 \times 10^6 \sim 1 \times 10^7$  CFU/mL, 青霉菌配制成  $1 \times 10^6 \sim 1 \times 10^7$  CFU/mL 的孢子悬浮液。

以头孢拉定、山梨酸钾为阳性对照, DMSO 为阴性对照。对 LIFVO 的抑菌活性进行测定。参照高海荣等<sup>[18]</sup>的方法确定 LIFVO 对 4 种供试菌(3 种细菌和 1 种真菌)的敏感性。

##### 1.2.3.2 LIFVO 最低抑菌浓度的测定

采用连续二倍稀释法将 LIFVO 溶解在 DMSO 中, 配制一系列梯度质量浓度(0.125~32 g/L)的溶液。参照 NASSIM 等<sup>[19]</sup>的方法, 不同质量浓度的 LIFVO 稀释液用 0.22  $\mu\text{m}$  聚四氟乙烯微孔滤膜过滤后, 各取 100  $\mu\text{L}$  到 96 孔板中, 接着将 100  $\mu\text{L}$  细菌悬浮液分别添加到每个孔中, 然后将微孔板在 37℃ 下培养 24 h。以头孢拉定为阳性对照, DMSO 为阴性对照。无可见菌生长的稀释管中每毫升溶液所含 LIFVO 质量即为其最低抑菌浓度(MIC)。

#### 1.2.4 LIFVO 化学成分的 GC-MS 分析

在气-质联用仪(9091S-433-Agilent 色谱柱, 30 m $\times$ 0.25 mm $\times$ 0.25  $\mu\text{m}$ )上对 LIFVO 进行组分分析, 分析条件如下: 入口温度 280℃, 进样量 5  $\mu\text{L}$ , 柱子流速 0.8 mL/min, 不分流。初始柱温 90℃, 维持 5 min, 以 1℃/min 的速度升温到 250℃, 维持 10 min, 再以 2℃/min 的速度升温到 300℃, 维持 2 min。EI 离子源, 其温度为 230℃, 质量扫描范围 50~500 amu; 电子能量 70 eV, 检测电压 350 V。

#### 1.2.5 数据处理

应用 SPSS26.0、OriginPro9.1 软件进行数据处理与分析, 所有数据均为 3 组重复实验的平均值。

## 2 结果与讨论

### 2.1 单因素实验结果

#### 2.1.1 提取剂种类对 LIFVO 得率的影响

在 1.2.1 节基础上, 以提取温度 45℃、超声波功率 400 W、提取时间 30 min、液料比 20:1, 考察了不同弱极性提取剂种类对 LIFVO 得率的影响, 结果如图 1 所示。

由图 1 可知, 在 4 种受试提取剂中, 正己烷的 LIFVO 得率最高, 为 2.50% $\pm$ 0.04%, 石油醚的 LIFVO 得率最低, 因此, 后续实验选择正己烷为提取剂。

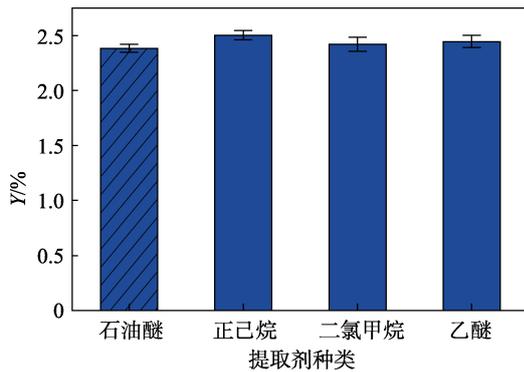


图 1 提取剂对 LIFVO 得率的影响

Fig. 1 Effect of extractant on yield of LIFVO

### 2.1.2 提取时间对 LIFVO 得率的影响

在 1.2.1 节基础上,以正己烷为提取剂,提取温度 45 °C、超声波功率 400 W、液料比 20 : 1,考察了提取时间对 LIFVO 得率的影响,结果如图 2 所示。

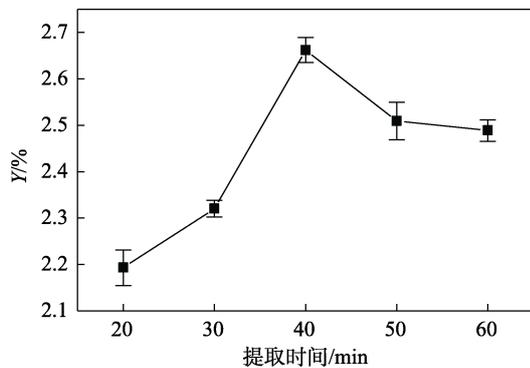


图 2 提取时间对 LIFVO 得率的影响

Fig. 2 Effect of extraction time on yield of LIFVO

由图 2 可知, LIFVO 得率随着提取时间的延长呈先升高后降低的趋势。提取时间 40 min 为其拐点,此时 LIFVO 得率为 2.66%±0.03%。其原因可能是:超声波的振动和空穴作用能破坏紫薇果实细胞,在提取前期能加速 LIFVO 释放到提取剂中。随着提取时间的延长,紫薇果实细胞中的各种杂质也被大量提取出来,细胞碎片也逐步增多,从而使 LIFVO 得率降低<sup>[17,20]</sup>。因此,选取最佳提取时间为 40 min。

### 2.1.3 提取温度对 LIFVO 得率的影响

在 1.2.1 节基础上,以正己烷为提取剂,提取时间 40 min、超声波功率 400 W、液料比 20 : 1,考察了提取温度对 LIFVO 得率的影响,结果如图 3 所示。

由图 3 可知,随着提取温度的提高, LIFVO 得率呈先升高后降低的趋势,其最适提取温度为 65 °C,此时 LIFVO 得率为 2.65%±0.03%。其主要原因是:提取温度升高能提高提取剂扩散系数,从而使 LIFVO 的溶解度增大、传质效率提高。但温度过高会使 LIFVO 不稳定,易挥发分解,导致 LIFVO 得率降低<sup>[21]</sup>。同时由于正己烷沸点为 69 °C,温度过高

也会导致其挥发,减少与原料的接触,从而导致 LIFVO 得率降低。因此,选取最佳提取温度为 65 °C。

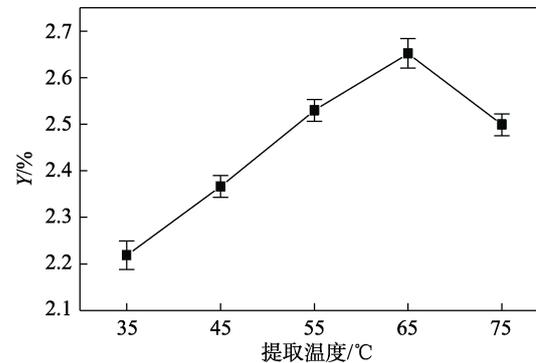


图 3 提取温度对 LIFVO 得率的影响

Fig. 3 Effect of extraction temperature on yield of LIFVO

### 2.1.4 超声波功率对 LIFVO 得率的影响

在 1.2.1 节基础上,以正己烷为提取剂,提取温度 45 °C、提取时间 40 min、液料比 20 : 1,考察了超声波功率对 LIFVO 得率的影响,结果见图 4。

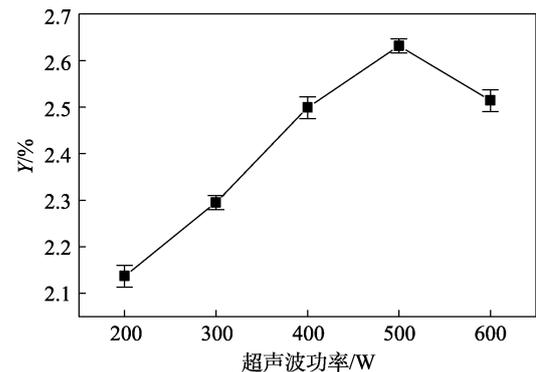


图 4 超声波功率对 LIFVO 得率的影响

Fig. 4 Effect of ultrasound power on yield of LIFVO

由图 4 可知,超声波功率在 200~600 W 范围内, LIFVO 得率随着超声波功率的增加先升高后降低,超声提取功率为 500 W 时, LIFVO 得率最高,为 2.63%±0.02%。其原因是:超声波功率大小与细胞破碎程度呈正相关性,功率增大有助于加快 LIFVO 从细胞中萃出。当超声波功率继续增大到较大值时,可能导致提取出来的杂质增多,同时功率过高也会导致挥发油分解和挥发。因此,选取最佳超声波功率为 500 W。

### 2.1.5 料液比对 LIFVO 得率的影响

在 1.2.1 节基础上,以正己烷为提取剂,提取温度 45 °C、提取时间 40 min、超声功率 400 W,考察了料液比对 LIFVO 得率的影响,结果如图 5 所示。

由图 5 可知,在液料比 10 : 1~30 : 1 之间时,随着料液比的增加, LIFVO 得率先逐渐增加后减小,这是因为,随着提取剂的增多,挥发油与提取剂接

触机会增加,有利于 LIFVO 的提取;而提取剂量过大时,材料中的一些杂质也大量被萃取,也会减弱超声波振动和空化作用,导致 LIFVO 得率降低<sup>[22]</sup>。当液料比为 25 : 1 时, LIFVO 得率最高,为 2.67%±0.04%。所以, 25 : 1 为最佳液料比。

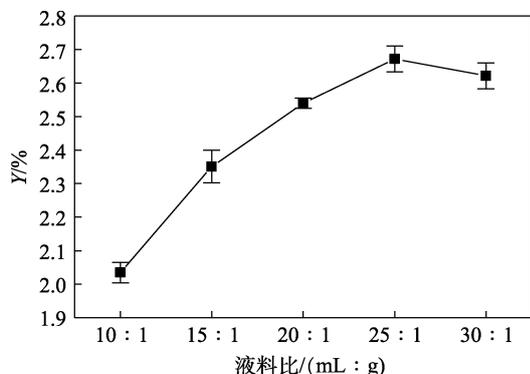


图 5 液料比对 LIFVO 得率的影响

Fig. 5 Effect of material/liquid ratio on yield of LIFVO

## 2.2 响应面法优化提取 LIFVO 的工艺

### 2.2.1 响应面优化设计与结果

基于单因素实验结果,开展  $L_{29}(3^4)$ 响应面优化实验,响应面实验因素-水平表见表 1,响应面工艺优化具体设计与结果见表 2。运用 Design-Expert 软件进行多元回归拟合,得到以下二次回归方程为  $Y=2.73 + 0.029A + 0.047B + 0.014C + 0.020D + 0.095AB + 0.180AC - 0.035AD + 0.087BC - 0.092BD - 0.077CD - 0.25A^2 - 0.12B^2 - 0.14C^2 - 0.20D^2$

表 1 响应面实验因素-水平表

Table 1 Levels of response surface experimental design

因素	水平		
	-1	0	1
A (提取温度/°C)	55	65	75
B (提取时间/min)	30	40	50
C (超声波功率/W)	400	500	600
D (液料比/(mL : g))	20 : 1	25 : 1	30 : 1

### 2.2.2 模型的建立与显著性分析

方差分析结果如表 3 所示。该响应面回归模型总体显著性达到极显著水平 ( $P < 0.0001$ ),模型的相关系数  $R^2 = 0.9198$ ,失拟误差项不显著 ( $P > 0.05$ ),说明模型可用于 LIFVO 提取的优化。由  $F$  值可知,一次项中  $B$  (提取时间)对 LIFVO 得率具有显著影响,二次项  $A^2$ 、 $B^2$ 、 $C^2$ 、 $D^2$ 影响极显著,由此可知,各影响因素与 LIFVO 得率之间并不是简单的线性关系,各因素对 LIFVO 得率影响大小依次为  $B > A > D > C$ 。

### 2.2.3 单因素间交互作用分析

LIFVO 得率被响应面实验中 4 个因素交互作用的影响结果如图 6 所示。

表 2 响应面工艺优化设计与结果

Table 2 Response surface process optimization design and results

序号	A/°C	B/min	C/W	D/(mL : g)	Y/%
1	65	40	400	30 : 1	2.54±0.03
2	65	40	500	25 : 1	2.72±0.04
3	65	40	600	30 : 1	2.31±0.15
4	75	40	600	25 : 1	2.56±0.06
5	65	50	500	30 : 1	2.31±0.17
6	65	30	500	20 : 1	2.23±0.09
7	65	40	500	25 : 1	2.72±0.18
8	55	40	500	30 : 1	2.33±0.10
9	65	30	600	25 : 1	2.31±0.06
10	65	50	400	25 : 1	2.45±0.16
11	75	50	500	25 : 1	2.59±0.21
12	55	40	500	20 : 1	2.17±0.16
13	55	40	400	25 : 1	2.39±0.14
14	65	40	600	20 : 1	2.48±0.19
15	75	40	500	20 : 1	2.31±0.18
16	65	50	500	20 : 1	2.45±0.12
17	65	40	500	25 : 1	2.69±0.27
18	65	30	500	30 : 1	2.46±0.17
19	55	40	600	25 : 1	2.19±0.03
20	55	30	500	25 : 1	2.40±0.17
21	75	40	400	25 : 1	2.05±0.18
22	65	50	600	25 : 1	2.63±0.12
23	75	30	500	25 : 1	2.30±0.26
24	65	40	400	20 : 1	2.40±0.24
25	65	40	500	25 : 1	2.79±0.12
26	65	30	400	25 : 1	2.48±0.23
27	65	40	500	25 : 1	2.71±0.18
28	75	40	500	30 : 1	2.33±0.13
29	55	50	500	25 : 1	2.31±0.12

表 3 显著性检验及方差分析结果

Table 3 Results of significance test and analysis of variance

变异源	平方和	自由度	均方和	F 值	P 值	显著性
模型	0.890	14	0.063	11.47	<0.0001	**
A	0.010	1	0.010	1.84	0.1959	
B	0.026	1	0.026	4.72	0.0474	*
C	0.002	1	0.002	0.44	0.5202	
D	0.005	1	0.005	0.87	0.3675	
AB	0.036	1	0.036	6.52	0.0229	*
AC	0.130	1	0.130	22.77	0.0003	**
AD	0.005	1	0.005	0.89	0.3627	
BC	0.031	1	0.031	5.53	0.0338	*
BD	0.034	1	0.034	6.18	0.0261	*
CD	0.024	1	0.024	4.34	0.0560	
A <sup>2</sup>	0.390	1	0.390	70.88	<0.0001	**
B <sup>2</sup>	0.097	1	0.097	17.49	0.0009	**
C <sup>2</sup>	0.120	1	0.120	22.46	0.0003	**
D <sup>2</sup>	0.250	1	0.250	45.56	<0.0001	**
残差	0.077	14	0.006			
失拟误差	0.072	10	0.007	5.02	0.0669	不显著
纯误差	0.006	4	0.001			
总和	0.970	28				

注: \*表示差异显著 ( $P < 0.05$ ); \*\*表示差异极显著 ( $P < 0.01$ )。

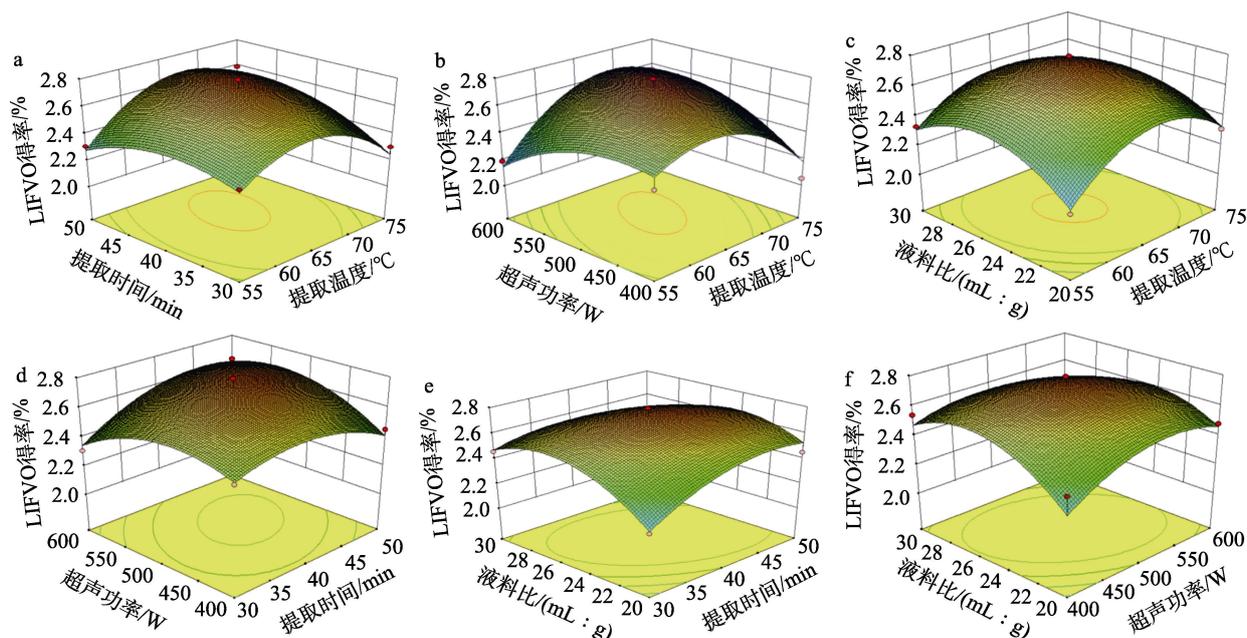


图 6 各因素交互作用响应面曲面及等高线图

Fig. 6 Response surfaces and contour plots of interaction of various factors

如图 6 所示, 其中图 6b 等高线呈椭圆形, 且其鞍面最陡, 表明 A-C 的交互作用最大, 在 6 组交互作用中对 LIFVO 得率的影响也最大。由图 6a、d、e 可知, 这几个曲面图亦呈比较陡峭的椭圆形, 说明 A-B、B-C、B-D 这几组因素之间有一定的交互作用。图 6c、f 表明, 这两个曲面图鞍面较平坦, 说明 A-D、C-D 之间的交互作用不明显, 这两组交互作用对 LIFVO 得率影响较小<sup>[23-24]</sup>。这些结果与回归模型分析结果一致。

#### 2.2.4 最佳提取工艺的确定与验证

通过回归模型预测出 LIFVO 的最佳工艺条件为用正己烷提取, 温度 69.36 °C、时间 46.86 min、功率 562.39 W、液料比 23.64 : 1, 在此工艺条件下, 所得 LIFVO 为淡黄色油状物, 模型得率的最大预测值为 2.75%。接下来进行进一步验证实验, 基于实验可操作性将实验条件调整为 69 °C、47 min、562 W 和液料比 23.6 : 1, 在此实验条件下, LIFVO 得率为 2.72%±0.02%, 按照式 (2) 计算, 实际得率达到模型预估值的 98.9%, 说明模型与实际实验操作拟合度良好。

$$a / \% = Y_{\text{实}} / Y_{\text{估}} \times 100 \quad (2)$$

式中:  $a$  为 LIFVO 实际得率与模型预估得率的百分数, %;  $Y_{\text{实}}$  和  $Y_{\text{估}}$  分别为 LIFVO 实际得率及模型预估得率, %。

#### 2.3 LIFVO 的 GC-MS 分析

对 LIFVO 进行了 GC-MS 测试, 结果如图 7 所示。利用 NIST 谱库对测定结果进行比对分析, 用峰面积归一化法计算已鉴定出来的 LIFVO 各组分的相对含量, 结果见表 4。

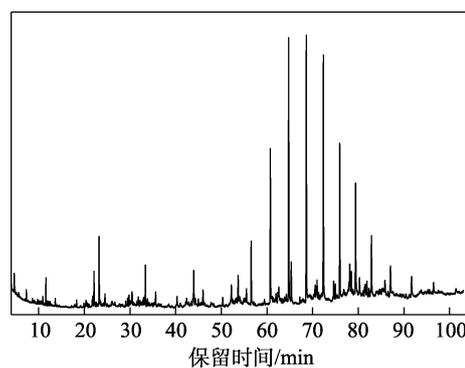


图 7 LIFVO 的 GC-MS 谱图

Fig. 7 GC-MS spectrum of LIFVO

由表 4 可知, 从挥发油中初步鉴定出 27 种化合物, 占 LIFVO 总量的 89.400%, 其中, 20 种烃类化合物 (占 LIFVO 总量的 81.622%); 2 种酚类化合物 (占 LIFVO 总量的 4.482%); 3 种酯类化合物 (占 LIFVO 总量的 1.634%); 1 种醇类 (占 LIFVO 总量的 0.986%); 1 种萜类化合物 (占 LIFVO 总量的 0.676%)。LIFVO 中含量较多的组分有: 二十四烷 (17.307%)、二十五烷 (12.731%)、二十六烷 (10.897%)。在鉴定出来的 27 个化合物中二十七烷、二十六烷、二十五烷、二十四烷、二十二烷、二十一烷、二十烷、A-毕橙茄醇、2,4-二叔丁基苯酚及角鲨烯都具有一定的抗菌、抑菌作用<sup>[18,25-27]</sup>, 这些抑菌成分占 LIFVO 总量的 63.59%。可以推断, LIFVO 中的抑菌活性物质主要是多种烃类、醇类、酚类及萜类化合物, 这与文献中报道的主要抑菌化合物类别基本一致<sup>[1-2]</sup>。

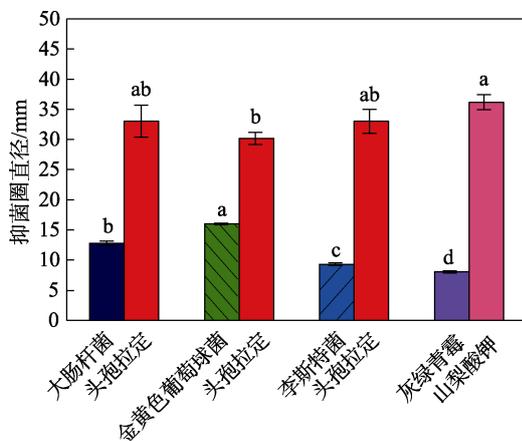
表 4 LIFVO 的 GC-MS 测定分析结果

Table 4 Determination and analysis results of LIFVO by GC-MS

序号	保留时间/min	化合物	分子式	相对含量/%
1	10.908	亚硫酸十二烷基己酯	C <sub>4</sub> H <sub>10</sub> O <sub>2</sub>	0.290
2	11.583	5-甲基-5-戊内酯	C <sub>13</sub> H <sub>28</sub>	0.930
3	20.373	十四烷	C <sub>14</sub> H <sub>30</sub>	1.005
4	21.714	2,4-二甲基十一烷	C <sub>13</sub> H <sub>28</sub>	0.295
5	22.135	十五烷	C <sub>15</sub> H <sub>32</sub>	1.770
6	23.223	2,4-二叔丁基苯酚	C <sub>14</sub> H <sub>22</sub> O <sub>2</sub>	2.967
7	29.067	1-氟-1,2,2-三氯乙烷	C <sub>2</sub> H <sub>2</sub> Cl <sub>3</sub> F	0.534
8	29.789	顺式马索拉-3,5-二烯	C <sub>30</sub> H <sub>52</sub> O <sub>2</sub>	0.593
9	30.433	α-毕橙茄醇	C <sub>15</sub> H <sub>26</sub> O	0.986
10	35.617	三十一烷	C <sub>31</sub> H <sub>64</sub>	0.716
11	40.302	2-甲基二十六烷	C <sub>27</sub> H <sub>56</sub>	0.387
12	44.979	3-(3,5-二叔丁基-4-羟基苯基)丙酸甲酯	C <sub>18</sub> H <sub>28</sub> O <sub>3</sub>	0.414
13	52.204	二十一烷	C <sub>21</sub> H <sub>44</sub>	2.435
14	53.681	9-辛基-十七烷	C <sub>25</sub> H <sub>52</sub>	1.429
15	56.547	二十烷	C <sub>20</sub> H <sub>42</sub>	7.507
16	59.453	3,8-二甲基-癸烷	C <sub>12</sub> H <sub>26</sub>	0.263
17	60.731	十七烷	C <sub>17</sub> H <sub>36</sub>	8.952
18	62.391	2-甲基二十八烷	C <sub>29</sub> H <sub>60</sub>	0.357
19	64.749	二十四烷	C <sub>24</sub> H <sub>50</sub>	17.307
20	65.305	2,2'-亚甲基双-(4-甲基-6-叔丁基苯酚)	C <sub>23</sub> H <sub>32</sub> O <sub>2</sub>	1.515
21	67.195	二十二烷	C <sub>22</sub> H <sub>46</sub>	0.288
22	68.624	二十五烷	C <sub>25</sub> H <sub>52</sub>	12.731
23	72.340	二十六烷	C <sub>26</sub> H <sub>54</sub>	10.897
24	74.976	四十四烷	C <sub>44</sub> H <sub>90</sub>	0.601
25	75.929	二十七烷	C <sub>27</sub> H <sub>56</sub>	7.796
26	79.406	二十八烷	C <sub>28</sub> H <sub>58</sub>	5.759
27	80.272	角鲨烯	C <sub>30</sub> H <sub>50</sub>	0.676

2.4 LIFVO 的抑菌活性

采用滤纸片-十字交叉法进行抑菌活性测定,以抑菌圈直径大小评估抑菌活性。LIFVO 对 4 种受试菌的抑菌活性见图 8。



注: 图中不同字母表示差异显著 (P<0.05)。

图 8 LIFVO 对 4 种供试菌的抑菌活性

Fig. 8 Bacteriostatic activity of LIFVO on four tested microorganisms

由图 8 可知, LIFVO 对 4 种供试菌均具有抑菌作用, 且其对不同菌株抑菌活性具有显著差异 (P<0.05)。其中, LIFVO 对金黄色葡萄球菌的抑菌活性最强 (抑菌圈直径为 15.98 mm), 表现为高敏性 (抑菌圈直径在 15~20 mm 之间), LIFVO 对大肠杆菌较弱 (抑菌圈直径为 12.79 mm), 表现为中敏性 (抑菌圈直径在 11~15 mm 之间), LIFVO 对李斯特菌和灰绿青霉抑菌活性最弱 (抑菌圈直径分别为 9.31 mm 和 8.07 mm), 表现为低敏性 (抑菌圈直径在 8~11 mm 之间)。同时, 紫薇果实挥发油对金黄色葡萄球菌、大肠杆菌、李斯特菌和灰绿青霉 4 种受试菌都有抑菌效果, 但抑菌活性要弱于头孢拉定(抑制细菌阳性对照)和山梨酸钾(抑制真菌阳性对照)。

为了进一步确定 LIFVO 对 4 种供试菌的抗菌效果, 对 LIFVO 的 MIC 进行了研究, 结果如表 5 所示。

表 5 LIFVO 对供试菌的 MIC

Table 5 MIC of LIFVO on tested microorganisms

MIC/(g/L)	供试菌种			
	金黄色葡萄球菌	大肠杆菌	李斯特菌	灰绿青霉
1.00				
2.00				
4.00				
8.00				

由表 5 可知, LIFVO 对 4 种供试菌的抗菌强度依次为: 金黄色葡萄球菌>大肠杆菌>李斯特菌>灰绿青霉。从抑菌实验结果可知, LIFVO 具有较好的体外抑菌活性, 结合前文对 LIFVO 的成分分析, 可以初步推断出 LIFVO 中的主要抑菌活性成分是多烃类 (如二十烷、二十一烷、二十二烷、二十四烷、二十五烷、二十六烷、二十七烷)、醇类 (如 A-毕橙茄醇)、酚类 (如 2,4-二叔丁基苯酚) 及萜烯类化合物 (如角鲨烯)。

3 结论

对紫薇果实挥发油提取工艺进行了优化, 其最优条件为超声提取时间 47 min, 提取温度 69 °C, 超声波功率 562 W, 液料比 23.6 : 1, 在此实验条件下, LIFVO 得率为 2.72%±0.02%。此工艺条件所得结果与响应面模型预测的结果吻合, 表明优化所得的提取工艺条件对于实践操作具有一定指导意义。通过 GC-MS 检测, 确定了紫薇果实挥发油的主要成分, 发现紫薇果实挥发油中主要以各种直链烷烃为主, 其中不少化合物具有抗菌活性。紫薇果实挥发油对金黄色葡萄球菌、大肠杆菌、李斯特菌和灰绿青霉 4 种受试菌都有抑菌效果, 但抑菌活性要弱于头孢拉定 (抑制细菌阳性对照) 和山梨酸钾 (抑制真菌阳性对照)。结合 GC-MS 测定分析结果, 初步推断, 其主要抑菌活性成分是多烃类、醇类、酚类及萜烯类化合物。本文为紫薇果实挥发油及其抑菌

化合物的开发利用提供了参考。

### 参考文献:

- [1] ZHANG Y (张颖), XU J Q (许俊强), LI X (李翔), *et al.* Research progress on antibacterial components of aromatic plant volatile oil[J]. South China Agriculture (南方农业), 2015, 9(22): 69-72.
- [2] MILADINOVID L, DIMITRIJEVI M V, MIHAJLOV-KRSTEV T M, *et al.* The significance of minor components on the antibacterial activity of essential oil via chemometrics[J]. LWT-Food Science and Technology, 2021, 136(2): 110305.
- [3] MARTIM J K P, MARANHO L T, COSTA-CASAGRANDE T A. Review: Role of the chemical compounds present in the essential oil and in the extract of *Cordia verbenacea* DC as an anti-inflammatory, antibacterial and healing product[J]. Journal of Ethnopharmacology, 2021, 265: 113300.
- [4] LI Y Q, KONG D X, WU H. Analysis and evaluation of essential oil components of cinnamon barks using GC-MS and FTIR spectroscopy[J]. Industrial Crops and Products, 2013, 41: 269-278.
- [5] XUE S J (薛淑娟), YANG J K (杨江凯), CHEN S Q (陈随清). Analysis of chemical constitutions of volatile oil in *Opisthopapus taihangensis* by GC-MS combined with retention index[J]. Chinese Journal of Experimental Traditional Medical Formulae (中国实验方剂学杂志), 2021, 22: 1-11.
- [6] HUANG L S (黄罗生), GU Y F (顾燕飞), LI H (李红). Advances in herbal volatile oil and aromatic herbs[J]. China Journal of Chinese Materia Medica (中国中药杂志), 2009, 34(12): 1605-1611.
- [7] LI J (李杰), ZHU D X (朱丹霞), YU P (余平), *et al.* Chemical components and antibacterial activities of essential oils of *Artemisia Verlotorum* and *Artemisia Argyi* from Tangyin county[J]. Fine Chemicals (精细化工), 2022, 39(2): 330-336.
- [8] Delectis Florae Reipublicae Popularis Sinicae Agendae Academiae Sinicae Edita (中国科学院中国植物志编辑委员会). Flora reipublicae popularis sinicae[M]. Beijing: Science Press (科学出版社), 1983: 92-96.
- [9] LIU Y S, ZETTER R, FERGUSON D K, *et al.* *Lagerstroemia* (Lythraceae) pollen from the Miocene of eastern China[J]. Grana, 2008, 47(4): 262-271.
- [10] CHEN Y, LI S W, YIN F Z, *et al.* *Lagerindicine*, a new pyrrole alkaloid isolated from the flowers of *Lagerstroemia indica* Linnaeus[J]. Natural Products and Bioprospecting, 2021, (11): 73-79.
- [11] LIU C H (刘春花), PAN J (潘洁), SUN J (孙佳), *et al.* Quality control method for different parts of *Lagerstroemia indica*[J]. Chinese Journal of Experimental Traditional Medical Formulae (中国实验方剂学杂志), 2018, 24(9): 64-69.
- [12] AJAIB M, AROOJ T, KHAN K M, *et al.* Phytochemical, antimicrobial and antioxidant screening of fruits, bark and leaves of *Lagerstroemia indica*[J]. Journal of the Chemical Society of Pakistan, 2016, 38(3): 2016-2538.
- [13] HE X J (何晓佳), LIU S J (刘少静), PAN M C (潘美驰), *et al.* Research progress on chemical constituents and pharmacological activities of *Lagerstroemia indica*[J]. Chemical Engineer (化学工程师), 2021, (10): 43-47.
- [14] WEI Q, LIU R J. Flower colour and essential oil compositions, antibacterial activities in *Lagerstroemia indica* L.[J]. Natural Product Research, 2022, 36(8): 2145-2148.
- [15] RATANASUMARN N, CHITPRASERT P. Cosmetic potential of lignin extracts from alkaline-treated sugarcane bagasse: Optimization of extraction conditions using response surface methodology[J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2020, 153: 138-145.
- [16] WANG S S (王舒舒), ZHANG Y D (张议丹), SHI H G (石宏刚), *et al.* Optimization of *Candida rugosa* lipase-catalyzed synthesis of lignosterol oleate by response surface methodology[J]. Fine Chemicals (精细化工), 2021, 38(10): 2090-2095.
- [17] WANG T Y (王桃云), JIANG W N (蒋伟娜), HU C Y (胡翠英), *et al.* Research on extraction, chemical composition and bacterial inhibition activity of volatile oils from *Brassica chinensis*[J]. Journal of the Chinese Cereals and Oils Association (中国粮油学报), 2017, 32(3): 81-87.
- [18] GAO H R (高海荣), WANG Y X (王亚鑫), XIE C (谢晨), *et al.* Comparison and analysis of chemical components and their antibacterial activity of essential oils from three artemisia plants modern food science and technology[J]. Modern Food Science and Technology (现代食品科技), 2020, (1): 262-268.
- [19] NASSIM B, BACHRA K, MOHAMMAD H. Antioxidant, antibacterial, and cytotoxic activities of *Cedrusatlantica* organic extracts and essential oil[J]. European Journal of Integrative Medicine, 2021, 42: 101292.
- [20] ALTEMIMI A, CHOUDHARY R, WATSON D G, *et al.* Effects of ultrasonic treatments on the polyphenol and antioxidant content of spinach extracts[J]. Ultrasonics Sonochemistry, 2014, 24: 247-255.
- [21] ZHENG Z H (郑哲浩), YU C (禹宸), QIU L Y (邱林燕), *et al.* Microwave-ultrasound assisted extraction process optimization of perilla essential oil and its antibacterial activity[J]. Journal of the Chinese Cereals and Oils Association (中国粮油学报), 2022, 37(1): 115-121, 141.
- [22] WANG C Y (王彩云), WANG C S (王春胜), ZENG J (曾杰). Optimizing techniques for essential oil extraction from *Betula alnoides* barks[J]. China Forest Products Industry (林产工业), 2020, 57(8): 33-36.
- [23] PU Y X (普义鑫), ZHOU W H (周文化), JIANG A M (蒋爱民), *et al.* Optimization of conditions to extract polyphenol of arecanut using response surface methodology[J]. Chinese Agricultural Science Bulletin (中国农学通报), 2010, 26(12): 334-338.
- [24] ZHAO E L (赵二芳), LI R P (栗瑞萍), JIA N (贾楠), *et al.* Optimization of ultrasound-assisted extraction of polyphenols from flaxseed meal by response surface methodology[J]. China Oils and Fats (中国油脂), 2015, 40(8): 77-80.
- [25] ZHANG Y P (张应鹏), YANG Y S (杨云裳), LIU Y (刘宇), *et al.* Study on chemical composition and antibacterial activity of essential oil from tibetan folk medicine *Swertia mussotii* franch[J]. Lishizhen Medicine and Materia Medica Research (时珍国医国药), 2009, 20(3): 595-597.
- [26] BORCHMAN D, YAPPERTM C, MILLINERS E, *et al.* Confirmation of the presence of squalene in human eyelid lipid by heteronuclear single quantum correlation spectroscopy[J]. Lipids, 2013, 48: 1269-1277.
- [27] ZHOU B L (周宝利), LI N (李娜), LIU S S (刘双双), *et al.* Effects of 2,4-di-*tert*-butylphenol on tomato leaf mould and seedling growth[J]. Chinese Journal of Ecology (生态学杂志), 2013, 32(5): 1203-1207.