

不同提取时间的艳山姜挥发油组分 分析及其抑菌活性研究

邹月^{1,2}, 黄金凤^{1,2}, 魏琴^{1*}, 单谦¹, 沈子豪¹, 邓超¹, 王芹¹

(1. 宜宾学院 生命科学与食品工程学院 香料植物资源开发与利用四川省高校重点实验室, 四川
宜宾 644000; 2. 西华大学 食品与生物工程学院, 成都 610039)

摘要:采用电子鼻和气相色谱-质谱联用(gas chromatography-mass spectrometry, GC-MS)结合主成分分析(principal component analysis, PCA),对不同提取时间的艳山姜挥发油成分进行差异分析。并采用肉汤二倍稀释法测定最低抑菌浓度(MIC)和最低致死浓度(MBC),比较抑菌活性。结果显示,电子鼻能够很好地区分不同时间提取的挥发油风味,可将其分为三类,分别为2 h, 3~7 h, 8 h。GC-MS共分离出38种化合物,结合NIST质谱库检索鉴定出36种化合物,进一步得出1,8-桉叶油醇、 β -蒎烯为区分不同风味的重要化合物。艳山姜挥发油对4种供试菌志贺氏菌、沙门氏菌、大肠杆菌和金黄色葡萄球菌均有抑制效果,对金黄色葡萄球菌的抑菌活性最强,提取8 h的挥发油抑菌效果最好。文章分析了不同时间提取的艳山姜挥发油的风味差异与抑菌活性差异,为其进一步开发利用奠定了一定的理论依据。

关键词:GC-MS; 电子鼻; PCA; 挥发油; 抑菌活性

中图分类号:TS201.3

文献标志码:A

doi:10.3969/j.issn.1000-9973.2020.03.014

文章编号:1000-9973(2020)03-0062-05

Analysis of Volatile Oil Components of *Alpinia zerumbet* at Different Extraction Time and Study on Their Antibacterial Activity

ZOU Yue^{1,2}, HUANG Jin-feng^{1,2}, WEI Qin^{1*}, SHAN Qian¹, SHEN Zi-hao¹,
DENG Chao¹, WANG Qin¹

(1. Key Laboratory of Spice Plant Resources Exploitation and Utilization in Institutions of
Higher Education of Sichuan Province, School of Life Science and Food Engineering,
Yibin College, Yibin 644000, China; 2. School of Food and Bioengineering,
Xihua University, Chengdu 610039, China)

Abstract: E-nose, GC-MS and principal component analysis (PCA) are used to analyze the differences of volatile oil components of *Alpinia zerumbet* at different extraction time. The minimal inhibitory concentration (MIC) and minimal bactericidal concentration (MBC) are determined by broth double dilution method. The results show that e-nose can distinguish the flavor of volatile oils extracted at different time, and can be divided into three categories: 2 h, 3~7 h, 8 h. A total of 38 compounds are isolated by GC-MS, 36 compounds are identified by NIST mass spectrometry library retrieval, and 1,8-eucalyptol and β -pinene are the important compounds to distinguish different flavor. The volatile oils of *Alpinia zerumbet* have the inhibition effect on *Shigella*, *Salmonella*, *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*. In this paper, the flavor difference and antibacterial activity of volatile oils extracted at different time are analyzed, which has laid a theoretical basis for their further development and utilization.

Key words: gas chromatography-mass spectrometry; electronic nose; PCA; volatile oil; antibacterial activity

艳山姜(*Alpinia zerumbet* Burtt. et Smith)为姜科山姜属植物,广泛分布于中国东南部至西南部各省

区。除作为观赏植物外,其果实具有重要的药用价值,如在2003版《贵州省中药材、民族药材质量标准》中介

收稿日期:2019-09-01

* 通讯作者

基金项目:四川省知识产权局保护促进类项目(2017-BH-00002);四川省宜宾市科技创新专项项目(2017ZSF009-6)

作者简介:邹月(1994-),女,四川自贡人,硕士,研究方向:植物资源开发利用;

魏琴(1967-),女,四川宜宾人,教授,博士,研究方向:植物资源开发利用。

绍其主治心腹冷痛、胸腹胀满、消化不良、呕吐腹泻等症^[1]。艳山姜果实挥发油中 α -蒎烯、蒎烯、1,8-桉叶油醇及 β -蒎烯等作为其主要活性物质基础^[2],具有一定的抗炎、镇痛、防治心血管系统疾病和抑制因高糖诱导的疾病作用^[3,4]。近年来,随着种植面积扩大^[5],产量逐年增加,国内学者常使用GC-MS研究其化学成分,如张成川等通过分析艳山姜各部位化学成分发现其中含有许多热不稳定物质^[6,7],故不同提取时间所得艳山姜挥发油化学成分有所差异,简单地以提取率为目的的提取工艺无法合理地利用此资源。而使用GC-MS仅能检测到样品中化学成分的种类及其含量,不能像电子鼻一样在较短的时间从整体上无损地对样品风味进行分析,同时艳山姜果实挥发油的抗菌活性研究较少。

故本实验结合GC-MS和电子鼻对不同提取时间的艳山姜挥发油的化学物质进行检测,通过主成分分析(principal component analysis, PCA)对其成分进行分析^[8],比较分析其抗菌活性,旨在揭示不同提取时间所得化合物变化情况及其抑菌效果的差异。为进一步完善艳山姜果实挥发油提取工艺和提高其医用等价值提供更加科学的依据,为艳山姜资源开发和产业化发展提供一定的理论依据和技术支撑。

1 材料与方法

1.1 实验材料与仪器

1.1.1 材料与试剂

艳山姜:干果,采自广西省邕宁区,将艳山姜在干燥箱中40℃烘干,研磨成粉末过40目筛储存。二氯甲烷:HPLC,成都科隆化学品有限公司;无水硫酸钠:西陇科学股份有限公司;肉汤培养基:广东环凯微生物科技有限公司;LB培养基:杭州百思生物技术有限公司;其他化学试剂:均为分析纯。

1.1.2 仪器

Agilent 7890A/5975C型气相色谱-质谱联用仪(GC-MS) 美国安捷伦公司;ME203电子天平 梅特勒-托利多仪器(上海)有限公司;Pen3型电子鼻 德国Airsense公司;LRH-250恒温培养箱 上海齐欣科学仪器有限公司。

1.1.3 菌种

供试病原菌菌株:金黄色葡萄球菌(*Staphylococcus aureus* CICC 21600);福氏志贺氏菌(*Shigella flexneri* CICC 21534);肠炎沙门氏菌(*Salmonella enteritidis* CICC 21513);出血性大肠埃希氏菌(*Escherichia coli* EHEC CICC 21530),由北京城市学院梁寒峭课题组和北京科技大学刘洋课题组提供。

1.2 供试品溶液的制备

取40 g艳山姜粉末置于1000 mL挥发油提取器

中,加水混匀,浸泡1 h,使用水蒸气蒸馏法提取挥发油^[9],选取挥发油得率为0.385~0.438 mL的时间(2,3,4,5,7,8 h)。停止加热后,待提取器中油水自然分层时,取出上层油状物质,加入适量无水硫酸钠,静止过夜,干燥待用。

1.3 电子鼻分析

吸取精油0.1 mL加入25 mL旋口顶空瓶中密封,在50℃恒温30 min后上样分析。样品的检测参数:进样量200 mL/min,进样时间60 s,延滞时间300 s。当传感器接触到样品挥发物后,电导率G会发生改变,且G与初始电导率 G_0 的比值也随之变化。响应气体浓度越大^[10], G/G_0 的值越偏离1(大于或小于1)。

1.4 GC-MS分析

1.4.1 样品制备

将7个时间提取的挥发油经无水硫酸钠干燥后,加适量二氯甲烷稀释样品溶液,经0.22 μ m微孔滤膜过滤,进行成分分析。

1.4.2 GC条件

HP-5MS毛细管色谱柱(30 m $\times$ 250 μ m $\times$ 0.25 μ m);载气(He);流速1 mL/min,不分流进样,进样口温度220℃;柱温60℃用于0 min,然后以10℃/min升温到190℃,保持2 min;再以5℃/min升温到210℃。保持2 min;然后以10℃/min升温到220℃,保持8 min,运行30 min。

1.4.3 MS条件

接口温度280℃;离子源温度230℃;电子电离源;电子能量70 eV;质量扫描范围45~300 amu。

1.5 抑菌实验

1.5.1 样品制备

1.5.1.1 菌液制备

将金黄色葡萄球菌、芽孢杆菌、沙门氏菌、志贺氏菌于肉汤培养基中培养2代后配制成 1×10^8 CFU/mL菌悬液,备用。

1.5.1.2 抗菌液制备

取提取时间为2,3,4,5,6,7,8 h的挥发油各0.1 mL用二甲基亚砜(DMSO)稀释10倍,配制成100 μ L/mL挥发油抗菌液。

1.5.2 最小抑菌浓度(MIC)和最小杀菌浓度(MBC)^[11]

将96孔培养板用体积分数95%乙醇溶液浸泡1 h后晾干,备用。配制 1×10^3 CFU/mL的4种菌液,备用。在96孔培养板中用二倍稀释法配制11个浓度梯度^[12]。用移液枪往孔中分别注入11个浓度梯度抗菌液50 μ L,肉汤培养基130 μ L,4种菌液20 μ L,得11个抗菌液浓度梯度25~0.024 μ L/mL培养液,每个梯度重复3次,以空白培养基和DMSO作为对照。接种后,放于37℃恒温培养箱中培养20 h后取出观

察,将用肉眼小孔内澄清即在小孔内完全抑制细菌生长的最低药物浓度记作 MIC。从完全无菌生长的孔内移取 50 μL 液体涂板,做 3 个重复,然后将培养皿放入 37 $^{\circ}\text{C}$ 的培养箱中培养 24 h,平板完全没有菌生长出的最低浓度记作 MBC。

2 结果与分析

2.1 电子鼻实验结果分析

若某个传感器响应值越远离 1,它在样品风味形成中占据越重要的地位,反之,若越接近 1 则它在样品风味形成中占据的地位越低。检测到的各个时间段挥发油气味数据见图 1。

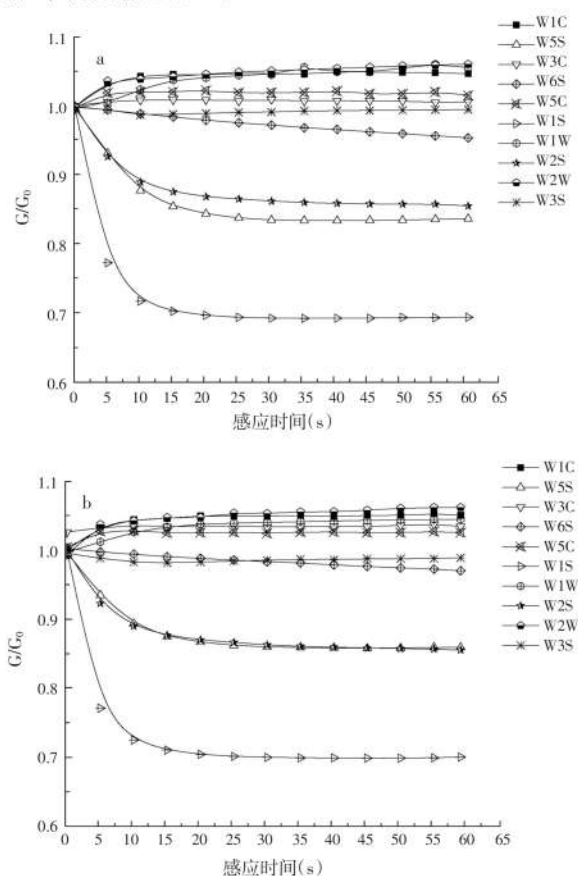


图 1 电子鼻艳山姜挥发油气味响应曲线(a 为 2 h, b 为 8 h)

Fig. 1 Response curves of flavor of volatile oils from *Alpinia zerumbet* by e-nose

注: a 为 2 h, b 为 8 h。

在该电子鼻所有的 10 根金属氧化物传感器中^[13],艳山姜挥发油在 W1S 出现最高的响应值,该传感器对甲烷敏感,W2S、W5S 上出现较高的响应值,两种传感器分别对醇类和氮氧化合物灵敏,故推测甲基类、醇类、氮氧化合物等物质为该挥发油的主要化合物。由该结果可知,挥发油中可能存在部分 GC-MS 未检测出的氮氧化合物和硫化物,具体情况还需做进一步研究。

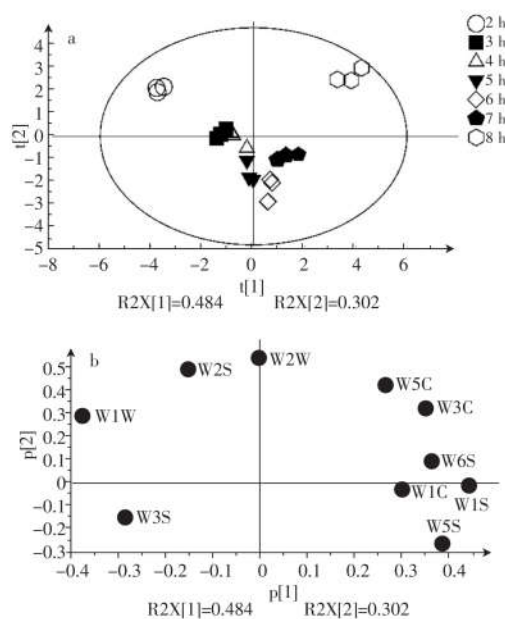


图 2 艳山姜挥发油电子鼻 PCA 的得分图(a)和载荷图(b)

Fig. 2 Scoring plot (a) and loading plot (b) of volatile oils from *Alpinia zerumbet* by electronic nose and PCA

选取平稳时间段 55~57 s 的数据进行主成分分析,将数据导入 SIMCA 14-1 软件中进行 PCA 分析。由图 2 可知,PCA 将数据降维后第一主成分贡献率为 48.4%,第二主成分贡献率为 30.2%,第一主成分和第二主成分总贡献率为 78.6%,能代表大部分挥发油电子特征信息。在 PCA 分析中将 7 个样品分为 3 类:第一类:2 h,第二类:3~7 h,第三类:8 h。Loading 图表示每个传感器在区分样品时的相对重要性。在第一主成分上,因 W5S、W1S、W1W 在载荷图上贡献值较大,即可知氮氧化合物、甲烷、硫化物可能为样品区分为 3 类的主要差异物质,在第二成分上 5 h、6~8 h 存在差异,主要是 W2W、W2S、W6S 贡献值不同,即有机硫化物、乙醇、氢气含量不同所致。

2.2 GC-MS 实验结果分析

GC-MS 共分离出 38 个化合物,通过 NIST 质谱库检索结合相关文献^[14,15],确定化合物名称,用色谱峰面积归一化法计算挥发油成分的相对质量分数,总共鉴定出 36 种化合物,均占挥发油总量的 97.9% 以上,结果见表 1。

表 1 不同提取时间艳山姜挥发油成分分析

Table 1 Composition analysis of volatile oils from *Alpinia zerumbet* at different extraction time

编号	化合物	分子式	相对含量(%)							
			2 h	3 h	4 h	5 h	6 h	7 h	8 h	
	单萜类		33.92	25.19	18.44	19.95	18.60	22.86	17.16	
1	β -蒎烯	C ₁₀ H ₁₆	11.65	8.36	5.42	5.87	5.73	7.64	4.82	
2	α -水芹烯	C ₁₀ H ₁₆	0.77	0.51	0.31	0.42	0.34	0.47	0.42	
3	1,8-桉叶油醇	C ₁₀ H ₁₆ O	14.90	10.82	7.85	8.93	8.16	9.72	7.39	
4	芳樟醇	C ₁₀ H ₁₈ O	1.05	0.90	0.68	0.71	0.68	0.75	0.70	

续 表

编号	化合物	分子式	相对含量(%)							
			2 h	3 h	4 h	5 h	6 h	7 h	8 h	
5	樟脑/2-茨酮	C ₁₀ H ₁₆ O	1.42	1.18	0.96	0.93	0.84	1.01	0.89	
6	冰片/2-茨醇	C ₁₀ H ₁₈ O	1.63	1.29	1.22	1.17	1.06	1.23	1.07	
7	4-萜烯醇	C ₁₀ H ₁₈ O	0.83	0.65	0.58	0.56	0.50	0.59	0.50	
8	(-)- α -松油醇	C ₁₀ H ₁₈ O	1.27	1.01	0.99	0.90	0.80	1.00	0.85	
9	γ -Pyrone	C ₁₀ H ₁₆	0.41	0.48	0.45	0.45	0.50	0.45	0.51	
	倍半萜类		63.33	71.99	78.63	76.64	77.87	74.01	78.49	
10	(-)- α -葑烯茄烯	C ₁₅ H ₂₄	0.41	0.40	0.42	0.40	0.41	0.41	0.43	
11	α -胡椒烯	C ₁₅ H ₂₄	0.61	0.68	0.93	0.83	0.92	0.94	0.99	
12	β -榄香烯	C ₁₅ H ₂₄	2.36	2.51	2.69	2.52	2.49	2.47	2.59	
13	石竹烯	C ₁₅ H ₂₄	5.21	5.65	6.94	6.43	6.66	6.52	6.09	
14	cis-muurolo-3,5-diene	C ₁₅ H ₂₄	0.44	0.48	0.39	0.49	0.56	0.48	0.65	
15	α -石竹烯	C ₁₅ H ₂₄	2.44	2.69	3.06	2.88	2.88	2.87	3.00	
16	(+)-香橙烯	C ₁₅ H ₂₄	2.21	2.56	3.03	2.84	2.97	2.91	3.10	
17	γ -依兰油烯	C ₁₅ H ₂₄	1.34	1.66	1.91	1.89	2.06	1.98	2.17	
18	β -胡椒烯	C ₁₅ H ₂₄	1.17	1.37	1.45	1.36	1.51	1.36	1.71	
	(+)-epi-									
19	Bicyclosquiphellandrene	C ₁₅ H ₂₄	3.00	1.30	1.90	1.89	1.92	0.96	1.96	
20	α -依兰油烯	C ₁₅ H ₂₄	3.41	2.73	4.80	4.60	4.85	4.68	4.06	
21	(-)- α -依兰油烯	C ₁₅ H ₂₄	4.30	5.25	5.79	5.49	5.77	5.40	5.79	
22	(-)- β -杜松烯	C ₁₅ H ₂₄	9.40	11.89	13.85	12.77	13.71	12.85	13.06	
23	立方烯	C ₁₅ H ₂₄	0.46	0.55	0.50	0.55	0.62	0.54	0.70	
24	(-)- α -葑烯茄烯	C ₁₅ H ₂₄	0.61	0.81	0.96	0.87	0.97	0.93	1.10	
25	2-橙花叔醇	C ₁₅ H ₂₆ O	0.77	0.91	0.87	0.89	0.34	0.86	0.86	
	2-异丙基-5-甲基-9-									
26	亚甲基双环[4.4.0]DEC-1-烯	C ₁₅ H ₂₆ O	3.31	3.50	3.08	3.34	3.07	2.82	3.54	
27	石竹素	C ₁₅ H ₂₄ O	1.45	1.84	1.74	1.78	1.64	1.62	1.58	
28	Selina-3,7(11)-diene	C ₁₅ H ₂₄	0.72	0.83	0.81	0.84	0.80	0.78	0.87	
29	tau-Muurolol	C ₁₅ H ₂₆ O	9.21	11.52	10.39	11.14	10.77	10.56	10.86	
30	α -毕橙茄醇	C ₁₅ H ₂₆ O	9.50	11.50	11.67	11.43	11.43	10.76	11.53	
	Tricyclo[6.3.0.0									
31	(2,4)]undec-8-ene, 3,3,7,11-tetramethyl-	C ₁₅ H ₂₄	0.58	0.76	0.74	0.76	0.77	0.67	0.87	
32	佛术烯	C ₁₅ H ₂₄	0.25	0.36	0.41	0.40	0.44	0.38	0.56	
33	顺式 α -檀香醇	C ₁₅ H ₂₄ O	0.16	0.23	0.28	0.26	0.30	0.26	0.40	
	其他		1.62	1.66	1.88	2.12	2.09	2.06	2.25	
34	茴香脑	C ₁₀ H ₁₂ O	0.81	0.69	0.59	0.72	0.59	0.67	0.62	
35	4-异丙基-3-甲酚	C ₁₀ H ₁₄ O	0.38	0.26	0.54	0.58	0.54	0.60	0.59	
36	4,7-二甲基-5-癸炔-4,7-二醇	C ₁₂ H ₂₂ O ₂	0.43	0.71	0.75	0.82	0.96	0.80	1.04	

艳山姜挥发油主要由单萜类(C₁₀H_n)和倍半萜类(C₁₅H_n)组成^[16],其中单萜类 9 种(18.44%~33.92%),倍半萜 24 种(63.33%~78.63%),其他物质仅有 3 种(1.62%~2.25%)。其中(-)- β -杜松烯、 α -毕橙茄醇、tau-Muurolol、1,8-桉叶油醇、 β -蒎烯、石竹烯为艳山姜果实挥发油主要的化学成分。4 h 前沸点的高低会对化合物提取造成影响,低沸点的单萜类在 2 h 和 3 h 时含量高于其他时间,高沸点的倍半萜类在 2 h 和 3 h 时含量低于其他时间,故可认为不同时间提取的艳山

姜果实挥发油的差异主要表现在单萜类和倍半萜的相对含量不同。

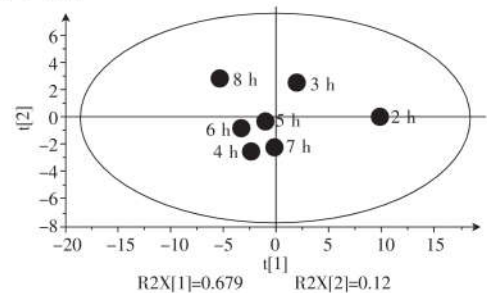


图 3 艳山姜挥发油化合物 PCA 得分图

Fig. 3 PCA scoring plot of volatile oil compounds from *Alpinia zerumbet*

对 7 个时间提取挥发油的 GC-MS 数据进行 PCA 分析,由图 3 可知,第一主成分(PC-1)方差贡献率为 67.9%,第二主成分(PC-2)方差贡献率为 12.0%,累计贡献率为 79.9%,包含了样品大部分信息。7 个时间所提取的挥发油因化合物成分不同而区分开,可将其分为 4 类,分别为 2 h,3 h,4~7 h,8 h。

表 2 GC-MS 特征向量矩阵

Table 2 GC-MS eigenvector matrix

编号	化合物	PC-1	PC-2
1	β -蒎烯	0.198	0.024
2	α -水芹烯	0.186	0.124
3	1,8-桉叶油醇	0.200	0.038
4	芳樟醇	0.192	0.139
5	樟脑/2-茨酮	0.196	0.080
6	冰片/2-茨醇	0.197	-0.019
7	4-萜烯醇	0.200	0.010
8	(-)- α -松油醇	0.190	-0.049
9	γ -Pyrone	-0.155	0.259
10	(-)- α -葑烯茄烯	-0.071	0.049
11	α -胡椒烯	-0.183	-0.137
12	β -榄香烯	-0.151	-0.047
13	石竹烯	-0.156	-0.299
14	cis-muurolo-3,5-diene	-0.109	0.287
15	α -石竹烯	-0.189	-0.114
16	(+)-香橙烯	-0.197	-0.092
17	γ -依兰油烯	-0.197	-0.029
18	β -胡椒烯	-0.180	0.154
19	(+)-epi-Bicyclosquiphellandrene	0.100	0.043
20	α -依兰油烯	-0.118	-0.350
21	(-)- α -依兰油烯	-0.199	-0.044
22	(-)- β -杜松烯	-0.190	-0.133
23	立方烯	-0.155	0.249
24	(-)- α -葑烯茄烯	-0.197	0.010
25	2-橙花叔醇	0.031	0.087
26	2-异丙基-5-甲基-9-亚甲基双环[4.4.0]DEC-1-烯	0.015	0.436

续 表

编号	化合物	PC-1	PC-2
27	石竹素	-0.079	0.040
28	Selina-3,7(11)-diene	-0.164	0.230
29	,tau,-Muurolool	-0.129	0.178
30	α -毕橙茄醇	-0.176	0.060
31	Tricyclo[6.3.0.0(2,4)]undec-8-ene, 3,3,7,11-tetramethyl-	-0.174	0.233
32	佛术烯	-0.186	0.143
33	顺式 α -檀香醇	-0.184	0.122
34	茴香脑	0.173	0.078
35	4-异丙基-3-甲酚	-0.131	-0.223
36	4,7-二甲基-5-癸炔-4,7-二醇	-0.193	0.081

由表 2 可知,4-萜烯醇(0.200)、1,8-桉叶油醇(0.200)、(-)- α -依兰油烯(-0.199)、 β -蒎烯(0.198)在第一主成分具有较大载荷,其中 1,8-桉叶油醇含量在 7.39%~14.9%之间, β -蒎烯含量在 4.82%~11.65%之间,在区分 2 h 与其他时间气味差异时起重要作用,2-异丙基-5-甲基-9-亚甲基双环[4.4.0]DEC-1-烯(0.436)、 α -依兰油烯(-0.350)在第二主成分具有较大载荷,在区分 8 h、3 h 与 4~7 h 上起到重要作用。

2.3 挥发油抑菌结果分析

植物挥发油富含萜类化合物,可通过破坏其细胞膜对微生物产生抑制作用^[17]。本研究中,艳山姜挥发油中含有的大量萜烯和萜醇^[18],如 1,8-桉叶油醇、 β -蒎烯、石竹烯、橙花叔醇等具有一定的抑菌活性。不同时间提取的艳山姜挥发油对各致病菌的 MIC, MBC 浓度见表 3。

表 3 艳山姜挥发油抑菌实验结果

Table 3 Bacteriostatic test results of volatile oils from *Alpinia zerumbet*

时间 (h)	$\mu\text{L/mL}$							
	志贺氏菌		沙门氏菌		大肠杆菌		金黄色葡萄球菌	
	MIC	MBC	MIC	MBC	MIC	MBC	MIC	MBC
2	6.25	6.25	12.5	25	6.25	25	0.024	0.049
3	6.25	12.5	12.5	25	6.25	12.5	0.049	0.098
4	6.25	12.5	12.5	25	6.25	12.5	0.195	0.781
5	6.25	12.5	12.5	25	6.25	12.5	0.024	0.049
6	12.5	12.5	12.5	12.5	12.5	12.5	0.781	0.781
7	6.25	12.5	12.5	25	6.25	12.5	0.781	0.781
8	6.25	12.5	12.5	25	6.25	12.5	0.024	0.024

两个对照培养基中均有菌种生长,排除了 DMSO 的抑菌影响。由表 3 可知,艳山姜挥发油对所试 3 种阴性菌 MIC 的浓度(6.25~12.5 $\mu\text{L/mL}$)明显高于金黄色葡萄球菌的 MIC 浓度(0.024~0.781 $\mu\text{L/mL}$),说明艳山姜挥发油对 4 种供试菌均表现出抑菌活性,且对金黄色葡萄球菌的抑菌活性最佳。乔明锋等^[19]在研究花椒挥发油时发现其对阳性菌的抑制作用明显,对阴性菌的抑菌活性较小,故可推测艳山姜果实挥

发油对阳性菌的抑制效果优于阴性菌。陈建烟在探究其叶片挥发油的抑菌活性时发现金黄色葡萄球菌的抑菌活性与大肠杆菌相同,故可推测艳山姜果实与叶的抑菌效果可能不同,可对此做进一步研究。

比较各时间所得挥发油的抑菌效果可得,2 h 的挥发油对志贺氏菌的抑制效果最佳, MIC=6.25 $\mu\text{L/mL}$, MBC $\leq$ 6.25 $\mu\text{L/mL}$,而此时 1,8-桉叶油醇、 β -蒎烯的浓度与其他提取时间相比最高,故 1,8-桉叶油醇、 β -蒎烯可能是艳山姜挥发油对志贺氏菌发生抑菌活性的主要化合物;6 h 的挥发油对沙门氏菌的抑制效果最佳, MIC=12.5 $\mu\text{L/mL}$, MBC $\leq$ 12.5 $\mu\text{L/mL}$;除 2,7 h 的挥发油抑菌效果较差外,其余时间所提取的挥发油对大肠杆菌的抑制效果均为 MIC=12.5 $\mu\text{L/mL}$, MBC $\leq$ 25 $\mu\text{L/mL}$;提取 8 h 的挥发油对金黄色葡萄球菌的抑制效果最佳, MIC=0.024 $\mu\text{L/mL}$, MBC $\leq$ 0.024 $\mu\text{L/mL}$,而此时 1,8-桉叶油醇、 β -蒎烯的浓度与其他提取时间相比最低,故 1,8-桉叶油醇、 β -蒎烯是艳山姜挥发油对金黄色葡萄球菌发生抑菌作用的过程中不发挥主要作用的主要化合物。8 h 的挥发油抑菌效果略优于其他组,不同时间提取的挥发油抑菌效果存在差异,可能是其中化合物含量不同导致的。

3 结论

由本实验电子鼻结果可知艳山姜挥发油在传感器 W1S、W2S、W5S 出现较高的响应值,说明甲基类、醇类、氮氧化合物等物质是该挥发油的主要化合物。结合 PCA 可将 7 个样品分为三类:第一类 2 h,第二类 3~7 h,第三类 8 h。

利用 GC-MS 从艳山姜挥发油中共鉴定出 36 种挥发性物质。在分析不同时间提取的艳山姜果实挥发油的差异时,主要表现在单萜类和倍半萜的相对含量不同。结合 PCA 对样品做进一步分析,可将样品分为四类,分别为 2 h、3 h、4~7 h、8 h,较电子鼻的分类更具体,可能是电子鼻对风味较接近的样品分类效果没有 GC-MS 灵敏所致。

抗菌实验表明艳山姜挥发油对 4 种供试菌均有抑菌活性。不同时间提取所得挥发油对不同细菌的抑制效果不同,提取 8 h 的挥发油抑菌效果略优于其他组。

本研究通过结合电子鼻的无损检测方法、GC-MS、抑菌实验探索不同时间提取的艳山姜挥发油的差异,并进行了定性定量的差异描述,发现电子鼻在区分差异较大的样品时拥有无损、快速、简单等优势,后续可通过结合 GC-MS 去改进电子鼻检测方法,以达到准确、快速区分不同样品的目的。

参考文献:

- [1] 贵州省药品监督管理局,贵州省中药材、民族药材质量标准[M]. 贵阳:贵州科技出版社,2003. (下转第 72 页)

30 d,结果证实其具有较好的防腐保鲜作用,达到了延长保质期的目的。该复合防腐剂有望在实际生产中得到应用。

参考文献:

- [1]胡怀容,张庆,鲜欣言,等.低盐腌制大头菜腐败菌的分离与初步鉴定[J].食品工业科技,2014,35(20):248-251,268.
- [2]陈岑.泡菜中腐败微生物的分离、鉴定及其对泡菜品质的影响[D].雅安:四川农业大学,2015.
- [3]胡秀虹,张廷辉,李建会,等.低糖腌制韭菜根中优势腐败菌的分离与鉴定[J].中国调味品,2019,44(6):92-94.
- [4]黄本婷,余静,何丹,等.肉制品防腐添加剂及其应用[J].中国调味品,2019,44(2):175-177.
- [5]赵国萍,李迎秋,冯林慧,等.天然防腐剂的应用研究进展[J].中国调味品,2017,42(8):155-159.
- [6]Tajchakavit S,Ramaswamy H S,Fustier P,et al.Enhanced destruction of spoilage microorganisms in apple juice during continuous flow microwave heating[J].Food Research International,1998,31(10):713-722.
- [7]傅俊杰,沈伟桥.榨菜辐照贮藏保鲜研究[J].中国农业科学,2001,34(3):345-347.
- [8]张爽.酱腌菜防腐保鲜技术研究进展[J].安徽农业科学,2011,39(11):6538-6539.
- [9]翟金亮,苏平,那宇.软包装榨菜的超高压杀菌工艺研究[J].食品与发酵工业,2008,34(1):80-83.
- [10]迟明梅,池玉静.防腐剂在卤豆干中的应用[J].中国调味品,2017,42(6):105-108.
- [11]高蕾蕾,李迎秋.乳酸链球菌素及其在食品中的应用研究进展[J].中国调味品,2017,42(3):157-161.
- [12]Mingzhen D,Weixi L,Jing P,et al.Simultaneous determination of seven preservatives in food by dispersive liquid-liquid microextraction coupled with gas chromatography-mass spectrometry[J].Food Chemistry,2018,269:187-192.
- [13]孙启星,侯杰,周其洋,等.微生物源食品防腐剂在调味品中的应用[J].中国调味品,2018,43(12):196-200.
- [14]姜绍通,孙磊,罗水忠,等.复合防腐剂对腌制蔬菜中腐败细菌的抑制效果研究[J].食品科学,2010,31(9):54-58.
- [15]孙磊.腌制蔬菜中复合防腐剂的开发和应用研究[D].合肥:合肥工业大学,2010.
- [16]王征征,李玉峰,李明元,等.防腐剂对腌制大头菜中腐败微生物的抑制效果研究[J].中国食品添加剂,2016(1):119-126.
- [17]GB 2760—2014,食品安全国家标准 食品添加剂使用标准[S].
- [18]GB 4789.2—2010,食品安全国家标准 食品微生物学检验 菌落总数测定[S].
- [19]GB 2714—2015,食品安全国家标准 酱腌菜[S].
- (上接第66页)
- [2]Linghu K G,Lin D,Yang H,et al.Ameliorating effects of 1,8-cineole on LPS-induced human umbilical vein endothelial cell injury by suppressing NF- κ B signaling in vitro[J].Eur J Pharm,2016,789:195-201.
- [3]Fernanda B,Ricieri M,Celso G,et al.Involvement of the catecholaminergic system on the antidepressant-like effects of *Alpinia zerumbet* in mice[J].Pharmaceutical Biology,2016,54(1):100-103.
- [4]杨红,林丹,李晨,等.艳山姜挥发油对高糖诱导大鼠视网膜 Müller 细胞 VEGF 表达的调控作用[J].中药材,2018,41(3):686-690.
- [5]符瑞侃,杨珺,戚华沙,等.艳山姜种子组织培养技术[J].分子植物育种,2018,16(3):931-937.
- [6]张成川,林崇良,林观样,等.温州产艳山姜根茎、花、叶等部位挥发油化学成分研究[J].中国中医药科技,2018,25(1):48-51,76.
- [7]吴林菁,姜丰,苏菊,等.艳山姜挥发油提取工艺优选及化学成分 GC-MS 分析[J].贵州医科大学学报,2017,42(6):655-660.
- [8]阿基业,何骏,孙润彬.代谢组学数据处理——主成分分析十个要点问题[J].药学报,2018,53(6):929-937.
- [9]王少铭,侯颖辉,刘济明,等.贵州不同地区品种间留兰香薄荷精油成分比较[J].中国调味品,2019,44(2):141-145.
- [10]张虹艳,丁武.基于 BP 神经网络的电子鼻羊奶贮藏时间的预测[J].食品工业科技,2012,33(6):377-381.
- [11]赵二劳,徐未芳,刘乐,等.花椒抑菌作用研究进展[J].中国调味品,2019,44(3):185-188.
- [12]唐飞,刘美辰,张世洋,等.广藿香、厚朴配伍前后挥发油化学成分及抗菌活性对比研究[J].中药新药与临床药理,2019,30(4):478-48.
- [13]王思思,钟葵,史波林,等.基于多元统计分析的不同产地红花椒挥发性成分差异分析[J].中国调味品,2019,44(3):51-56.
- [14]朱向可.艳山姜质量控制及杀虫活性研究[D].开封:河南大学,2017.
- [15]陈建烟.花叶艳山姜叶片精油提纯、结构鉴定及生物活性研究[D].福州:福建农林大学,2014.
- [16]李伟,陈林林,王振兴,等.白豆蔻精油的化学组成及清除亚硝酸钠能力[J].中国调味品,2018,43(7):12-14.
- [17]Kuang C L,Lv D,Shen G H,et al.Chemical composition and antimicrobial activities of volatile oil extracted from *Chrysanthemum morifolium* Ramat.[J].Journal of Food Science and Technology,2018,55(7):77-80.
- [18]范文来,徐岩.白酒中重要的功能化合物萜烯综述[J].酿酒,2013,40(6):11-16.
- [19]乔明锋,刘阳,袁小钧,等.茂县花椒化学成分分析及抑菌活性研究[J].中国调味品,2017,42(4):59-63,73.