

不同溶剂同时蒸馏萃取艾叶挥发油的抑菌活性

葛德鹏, 李森, 黄凯, 管骁*

(上海理工大学 医疗器械与食品学院, 上海 200093)

摘要: 采用二氯甲烷和正己烷 2 种溶剂, 分别进行同时蒸馏萃取(SDE)工艺萃取艾叶挥发油, 对得物进行气质联用(GC-MS)成分分析, 测定其抑菌活性的差异, 并通过扫描电镜(SEM)探究艾叶挥发油抑菌作用的机理。结果表明, SDE 比水蒸气蒸馏萃取节省时间 1 h, 提取率达 1.5%, 是后者的 3 倍。SDE(正己烷)的得物抑菌活性更强, 最低抑菌浓度集中在 6.25 $\mu\text{L}/\text{mL}$, GC-MS 结果可知其成分的 92.95% 是水蒸气蒸馏得物和 SDE(二氯甲烷)的公共主要成分, SEM 结果显示艾叶挥发油可作用于微生物细胞壁结构, 从而达到抑制效果。

关键词: 同时蒸馏萃取; 艾叶挥发油; 扫描电镜; 抑菌活性

中图分类号: TS 201.1 文章编号: 1673-1689(2020)03-0041-08 DOI: 10.3969/j.issn. 1673-1689.2020.03.006

Antimicrobial Activities of *Artemisia argyi* Essential Oils Extracted by Simultaneous Distillation using Different Solvent Systems

GE Depeng, LI Sen, HUANG Kai, GUAN Xiao*

(School of Medical Instrument and Food Engineering, University of Shanghai for Science and Technology, Shanghai 200093, China)

Abstract: In this study, *Artemisia argyi* essential oils were extracted by simultaneous distillation (SDE) with dichloromethane and n-hexane, respectively. To explore the differences of antimicrobial activities, components of the oil were analyzed by GC-MS, and scanning electron microscope (SEM) was used to explore the mechanism of antimicrobial activity. Compared with the steam distillation, SDE saved one hour and had a three times higher yield (1.5%). SDE (n-hexane) oil had a higher antimicrobial activity with the minimum inhibitory concentration (MIC) being 6.25 $\mu\text{L}/\text{mL}$. GC-MS results revealed that the SDE (n-hexane) oil had 92.95% similarity in the chemical composition with the oils extracted with steam distillation and SDE (dichloromethane). SEM results showed that the antibacterial activity of *Artemisia argyi* essential oil could be achieved by disruption of cell wall.

Keywords: simultaneous distillation extraction, *Artemisia argyi* essential oil, scanning electron microscope, antimicrobial activity

收稿日期: 2018-04-01

基金项目: 国家自然科学基金项目(31701515)。

* 通信作者: 管骁(1979—), 男, 博士, 教授, 博士研究生导师, 主要从事食品营养与功能方面研究。Email: gnxo@163.com

艾草(*Artemisia argyi*),别名:香艾、蕪艾、艾蒿。艾草是多年生草本或略成半灌木状植物,植株有浓烈香气。分布广,除极干旱与高寒地区外,几乎遍及全国^[1]。《本草纲目》记载“蕪艾”可入药,其植株高大,香气浓烈;叶厚纸质,被毛密而厚。艾叶是传统的中医药原料,不仅可改善哮喘、咳嗽,亦能疏通血液^[2],而实现这些功效的物质主要是艾叶挥发油。现已有众多科学研究表明艾叶挥发油能快速缓解哮喘等病状,并且其对金黄色葡萄球菌、痢疾芽孢杆菌、枯草芽孢杆菌、伤寒杆菌、大肠杆菌和假单胞菌等常见的微生物的生长具有显著的抑制作用^[3]。

但艾叶挥发油的化学成分不仅十分复杂而且种类繁多,不同的提取方法会对精油的成分造成很大的差异,因此采取适当的提取条件,最大程度地获得其中的抑菌成分,是艾叶开发利用的基础。目前,对于艾叶挥发性油的化学成分及其生物活性已有一些报道,但对提取工艺优化研究的报道较少并且局限于水蒸气蒸馏、有机溶剂渗漉法、超临界 CO₂ 等传统提取法,这些方法在提取艾叶挥发性油的过程中,存在挥发性油有效成分的破坏,有机溶剂难以分离,操作难度大成本高等问题^[4-6]。同时蒸馏萃取(SDE)在挥发油提取上具有明显的优势,集合水蒸气蒸馏及溶剂萃取的优点,提取时间短、溶剂使用少;使得样品的挥发蒸汽和溶剂反复混合,达到充分提取的效果^[7-9]。同时蒸馏萃取虽然早在 1946 年就被发明使用,但并没有广泛的应用到挥发油的萃取中来。因此充分的利用这种方法,将其应用到艾叶挥发油的提取上来,必将会促进艾叶的开发应用。

作者采用二氯甲烷和正己烷 2 种溶剂,通过同时蒸馏萃取获得艾叶挥发油,进而研究挥发性油对常见微生物的抑菌活性,并对挥发油采用气相色谱结合质谱(GC-MS)的方法进行成分分析,以及通过扫描电镜(SEM)来观测微生物细胞形态的变化,比较不同工艺的差异。对比传统的水蒸气蒸馏的方法,从而挑选出艾叶挥发油的较优提取工艺,深入研究艾叶挥发油的提取工艺和挥发性油的抗菌活性,为艾叶的综合开发利用提供了实验依据。

1 材料与方法

1.1 材料与设备

艾叶,购于湖北省蕪春;二氯甲烷和正己烷为分析纯,培养基及相应实验耗材均购于国药集团化

学试剂有限公司。

Agilent 6890N-5973i 气相色谱-质谱联用仪(色谱柱:DB-WAX 毛细管柱,30.0 m×250 μm×0.25 μm)、Agilent 7890N-5875i(色谱柱:HP-5 毛细管柱,30.0 m×250 μm×0.25 μm),美国安捷伦科技有限公司产品;同时蒸馏萃取装置,上海高信化玻仪器有限公司产品。

革兰氏阳性菌:金黄色葡萄球菌 ATCC 6538、枯草芽孢杆菌 CMCC B63501、单增李斯特菌 ATCC 19115;革兰氏阴性菌:大肠杆菌 ATCC 12900、变形杆菌 CMCC B49027、肠炎沙门氏菌 ATCC 13076;真菌:黑曲霉 ATCC 6633、酿酒酵母 ATCC 9763,以上菌种均由上海理工大学医疗器械与食品学院提供,并于-80℃存放。

1.2 艾叶挥发油提取

1.2.1 水蒸气蒸馏提取 依据权美平的研究^[9],称取 100 g 艾叶原料,放入 2 000 mL 圆底烧瓶中,加入 1 500 mL 去离子水,加热煮沸,3 h 后,收集提取物,计算提取率。低温密封保存,备用。

$$\text{挥发油提取率}/\% = \frac{m_{\text{提取物}}}{m_{\text{艾叶原料}}} \times 100\%$$

其中 m 表示质量。

1.2.2 同时蒸馏萃取 同时蒸馏萃取使用图 1 所示装置,组装好同时蒸馏萃取装置,参照夏雪娟^[10]的方法,称取 100 g 艾叶原料,放入 2 000 mL 圆底烧瓶中,加入 1 500 mL 的去离子水;量取 25 mL 二氯甲烷加入 100 mL 圆底烧瓶中;开始加热。萃取 3 h 后,收集提取物,使用旋转蒸发仪浓缩后,计算提取率,低温密封保存,备用。

将二氯甲烷换为正己烷,重复上述操作。萃取 3 h 后,收集提取物,使用旋转蒸发仪浓缩后,计算提取率,低温密封保存,备用。

1.3 抑菌活性

挥发油的成分决定其抑菌活性,而不同提取工艺会对挥发油成分产生很大的影响,因此对以上获得的 3 种挥发油进行目标菌种的抑菌活性研究,分析提取工艺对抑菌活性的影响。

1.3.1 抑菌圈试验 吸取 100 μL 活化后的金黄色葡萄球菌菌液均匀涂布到营养琼脂固体培养基上,将培养基等分成 4 个区域,在各个区域中间放置准备好的直径 6 mm 的滤纸片,移液枪吸取 10 μL 水蒸气蒸馏提取物滴至滤纸片中间,迅速盖上培养皿

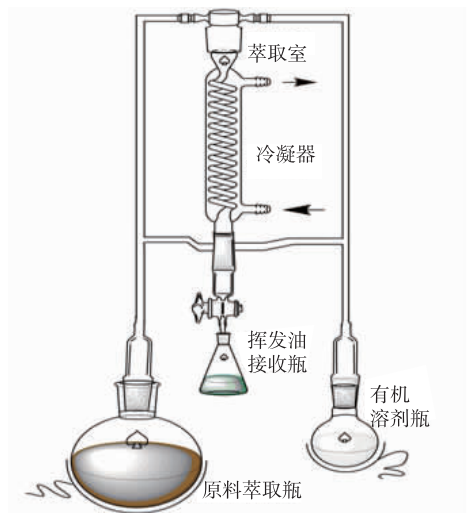


图1 同时蒸馏萃取装置

Fig. 1 Schematic diagram of the simultaneous distillation and extraction experimental apparatus.

盖,用密封膜密封,放置培养箱中,37℃培养24 h,2种溶剂体系下的同时蒸馏萃取物重复以上步骤,观察结果。其它菌种选择相应的培养基和培养条件,重复以上步骤,获得抑菌圈实验结果^[11]。

1.3.2 最低抑菌浓度 将3种挥发油提取物用体积分数50%的乙醇由50 μL/mL起,二倍稀释10个浓度梯度,至0.05 μL/mL;吸取100 μL活化后金黄色葡萄球菌菌液以及等量的相应梯度浓度的提取物,混合均匀后,均匀涂布到营养琼脂培养基上,迅速盖上培养皿盖,用密封膜密封,放置培养箱中,37℃培养24 h,观察结果。其它菌种选择相应的培养基和培养条件,重复以上步骤,获得抑菌圈实验结果^[12]。

1.4 GC-MS 成分分析

色谱柱型号:HP-5 MS 30 m×0.25 mm×0.25 μm,柱温程序:起始温度50℃保持1 min,以4℃/min速度升温至200℃,保持1 min,再以20℃/min的速度升温至280℃保持至完成分析;进样口温度250℃;载气为He,流速为1 mL/min;进样量1 μL,分流比为40:1;70 eV电子轰击离子源,离子源温度230℃,四极杆温度150℃,接口温度280℃,溶剂延迟5 min,质量范围10~550 amu。

1.5 扫描电镜 SEM 微生物形态变化观察

收集以上最低抑菌浓度测定实验后的样品,在3 000 r/min的条件下离心15 min,收集沉淀,加入pH 7.4的PBS洗涤2次后,再次离心,再加入体积分数2.5%的戊二醛(pH 7.4的PBS稀释),在4℃下

固定过夜(16 h),再次使用pH 7.4的PBS冲洗,使用乙醇梯度脱水,冷冻干燥,喷重金属进行SEM观察并拍摄细胞形态^[13-14]。

2 结果与讨论

2.1 3种工艺提取艾叶挥发油结果分析

按照选择的提取方法以及设置的提取条件,获得的提取物通过脱水后测定得率。结果如表1显示,3种提取工艺均可获得艾叶挥发油,但传统的水蒸气蒸馏工艺需要提取4 h才能最大限度的将挥发油提取完全,相较于同时蒸馏萃取工艺来说,多用了1 h;而在得率上,同时蒸馏萃取(二氯甲烷)得率为1.5%,同时蒸馏萃取(正己烷)得率为1.2%,2种工艺的提取率相似,且均高于水蒸气蒸馏的0.5%;在颜色上,水蒸气蒸馏萃取得物颜色更深,这可能是因为长时间的高温提取,使得挥发油得物的成分发生改变,分解或合成一些深色的成分;而同时蒸馏萃取工艺的提取时间较短,因而这种化学成分的变化几率较低,比水蒸气蒸馏萃取得物的颜色浅^[5]。由以上结果,同时蒸馏萃取工艺相对于传统的艾叶挥发油提取方法水蒸气蒸馏萃取在提取时间和提取率上更具有优势。

表1 3种工艺提取艾叶挥发油的提取结果

Table 1 Yield of *Artemisia argyi* essential oils obtained by three different extraction methods

提取方法	提取时间/ min	提取率/ %	颜色
水蒸气蒸馏	240	0.5	深绿
SDE(二氯甲烷)	180	1.5	浅绿
SDE(正己烷)	180	1.2	淡黄

2.2 艾叶挥发油的抑菌活性结果分析

不同的提取工艺不仅对艾叶挥发油的提取率以及颜色和气味等产生影响,对其生物活性有很大的影响。抑菌活性是艾叶挥发油的一种重要的生物活性,因此这里对3种工艺提取的艾叶挥发油的抑菌活性进行了研究。包括抑菌圈和最低抑菌浓度试验,结果分别如图2和图3所示。

由图2可知,3种工艺提取的艾叶挥发油都具有广谱的抑菌活性,水蒸气蒸馏萃取得物的抑菌圈结果是0.935~1.823 cm,但对革兰氏阴性菌(大肠杆菌、变形杆菌、沙门氏菌)以及单增李斯特菌和真菌的结果主要集中在1 cm;SDE(正己烷)得物的范围

在 1.123~1.580 cm, 且对革兰氏阳性菌和阴性菌的结果主要集中在 1.5 cm; SDE(二氯甲烷)得物的范围在 0.728~1.528 cm, 但对多数受试菌的抑菌圈结果均在 1 cm 以下。最低抑菌浓度(MIC)的结果又印证了抑菌圈结果, 水蒸气蒸馏萃取物对革兰氏阳性菌以及真菌的 MIC 结果均为 6.25 $\mu\text{L}/\text{mL}$, 但对变形杆菌的 MIC 达到 25 $\mu\text{L}/\text{mL}$; SDE(正己烷)对革兰氏阴性菌及真菌的 MIC 结果均为 6.25 $\mu\text{L}/\text{mL}$, 对其它菌种的 MIC 结果最高为 12.5 $\mu\text{L}/\text{mL}$; SDE(二氯甲烷)对所有受试菌种的 MIC 结果均大于 12.5 $\mu\text{L}/\text{mL}$, 甚至对沙门氏菌、枯草芽孢杆菌、大肠杆菌、单增李斯特菌、黑曲霉的 MIC 结果达到了 25 $\mu\text{L}/\text{mL}$ 。

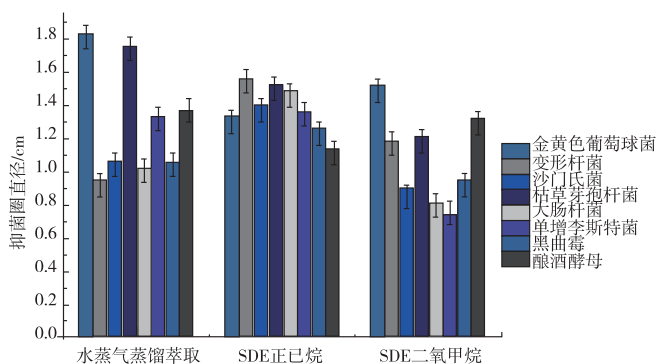


图 2 3 种工艺提取艾叶挥发油的抑菌圈试验结果 (抑菌圈直径)

Fig. 2 Inhibition zone of *Artemisia argyi* essential oils against various microorganisms

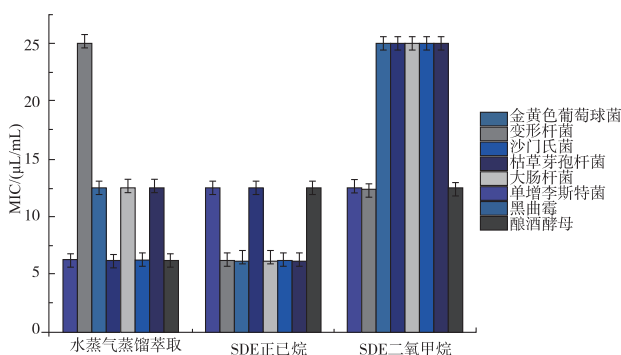


图 3 3 种工艺提取艾叶挥发油的最低抑菌浓度 (MIC)

Fig. 3 Minimum inhibitory concentration (MIC) of *Artemisia argyi* essential oils against various microorganisms

综合以上抑菌圈和最低抑菌浓度的结果, 从受试菌来说, 实验中的革兰氏阳性菌(金黄色葡萄球菌、枯草芽孢杆菌、单增李斯特菌)相对于革兰氏阴

性菌和真菌对艾叶挥发油更敏感, 其抑菌圈更大, 最低抑菌浓度更小; 从提取工艺来说, SDE(正己烷)得到的挥发油的抑菌活性比其余 2 种工艺更具有广谱抑菌性, 且抑菌圈更大, 最低抑菌浓度更低, 更具有优势。而 SDE(二氯甲烷)的挥发油得物的抑菌活性低于另外 2 种工艺的挥发油得物。

由此可见, 不同提取方法获得的艾叶挥发油的抑菌活性存在很大的差异, 甚至同一种方法, 不同溶剂下, 其抑菌活性的差异也很大。但得到这样的结果, 可能是因为由于萃取时间长, 水蒸气蒸馏萃取获得的挥发油的成分比 SDE 的种类多, 抑菌活性受多种成分协同的作用可能性大, 因此水蒸气蒸馏萃取物对受试菌也有一定的抑制活性。SDE 使用了有机溶剂, 可能将挥发油中有抑菌活性的主要成分聚集, 因此 SDE(正己烷)的抑菌活性超过了水蒸气蒸馏萃取的得物; 但不同溶剂存在极性等性质的差异, 造成得到的艾叶挥发油的成分种类, 或者含量不同^[16], 因此 SDE(二氯甲烷)得物的抑菌活性比其余两者较弱。

2.3 GC-MS 成分分析结果

不同的提取工艺会对挥发油的成分产生影响, 因此本研究进一步对 3 种工艺提取获得的艾叶挥发油进行 GC-MS 成分分析, 结果如表 2 所示。水蒸气蒸馏萃取物有 66 种成分, SDE(二氯甲烷)得物有 37 种成分, SDE(正己烷)得物有 10 种成分; 其中 α -侧柏酮、右旋樟脑、 β -石竹烯、龙脑、氧化石竹烯、甲乙基萘酚等是 3 种工艺得物的公共主要成分, 这 6 种成分分别占水蒸气蒸馏得物、SDE(二氯甲烷)、SDE(正己烷)总成分的 44.23%、52.42%、92.95%。由此可见, 不同提取方法之间在得物的成分种类数量上存在很大差异, 不同溶剂下同时蒸馏萃取物的成分种类也有很大差异。造成这种结果的原因可能是因为提取时间的长短造成得物成分的差异, 而溶剂的极性等性质的差异也是得物成分差异的主要原因^[17-18]。

综合以上结果, 不同工艺的艾叶挥发油得物在成分的种类和含量上确实有很大差异, 因此这种结果亦能解释抑菌活性的差异。SDE(正己烷)的得物成分种类数量远远不如其余 2 种工艺的得物, 但其 3 种工艺的得物的公共成分含量最高, 这些成分可能是艾叶挥发油抑菌活性的有效成分, 因此 SDE(正己烷)的抑菌效果优于其余 2 种工艺的得物。

表 2 3种工艺提取艾叶挥发油的 GC-MS 分析结果

Table 2 Chemical composition (in percent) of *Artemisia argyi* essential oils obtained by three different methods

序号	中文名称	匹配度	CAS 号	相对含量%(GC-MS)		
				水蒸气	SDE (二氯甲烷)	SDE (正己烷)
1	γ -松油烯	97	000099-85-4	0.247	0.876	-
2	邻伞花烃	83	000527-84-4	0.315	0.974	-
3	异松油烯	90	000586-62-9	0.079	-	-
4	2,5,5-三甲基-2,6-庚二烯-4-酮(蒿属酮)	98	000546-49-6	0.048	-	-
5	艾草醇	98	026127-98-0	0.535	0.693	-
6	α -侧柏酮	93	000546-80-5	7.989	9.987	14.551
7	(+)- β -侧柏酮	98	000471-15-8	1.916	1.961	-
8	顺式菊烯醇	84	055722-60-6	-	0.464	-
9	反式水合桉烯	95	017699-16-0	1.199	1.216	-
10	α -葑澄茄油烯	98	017699-14-8	0.079	-	-
11	右旋樟脑	98	000464-49-3	3.896	4.512	10.022
12	(-)-香附烯	96	002387-78-2	0.063	-	-
13	左旋- β -波旁烯	97	005208-59-3	0.146	-	-
14	反式松茨酮	95	000547-60-4	0.179	-	-
15	伞形酮	99	024545-81-1	0.407	0.340	-
16	顺式-2-薄荷烯醇	99	029803-82-5	1.614	0.883	-
17	乙酸龙脑酯	95	000076-49-3	0.240	0.281	-
18	β -衣兰烯	99	1000374-19-1	0.157	-	-
19	蒎罗醚	97	074410-10-9	0.059	-	-
20	β -石竹烯	98	000087-44-5	7.495	3.139	13.687
21	松油烯醇	95	020126-76-5	4.441	-	-
22	1-对烯-4-醇(又名 1-对-薄荷烯-4-醇)	93	000562-74-3	-	8.736	-
23	反式二氢香芹酮	82	005948-04-9	0.252	-	-
24	桃金娘烯醛	84	000564-94-3	0.275	-	-
25	α -侧柏醇	93	057129-54-1	0.233	-	14.551
26	反式-2,8-薄荷二烯-1-醇	70	007212-40-0	0.102	-	-
27	顺式-2-薄荷烯醇	82	029803-82-5	-	0.813	-
28	(-)-反松香芹醇	95	000547-61-5	0.349	0.456	-
29	马鞭烯醇	97	000473-67-6	0.209	-	1.827
30	β -柠檬醛	92	000106-26-3	-	0.239	-
31	乙酸异侧柏酯	90	139757-62-3	0.508	-	-
32	异侧柏醇	90	007712-79-0	0.734	0.769	-
33	α -律草烯	99	006753-98-6	2.236	1.659	-
34	莎草烯	94	017627-30-4	0.283	0.932	-
35	龙脑	98	000507-70-0	6.482	8.889	16.356
36	落羽醇	84	003310-02-9	5.505	6.511	-

续表 2

序号	中文名称	匹配度	CAS 号	相对含量%(GC-MS)		
				水蒸气	SDE (二氯甲烷)	SDE (正己烷)
37	(-)-苧醇崖柏醇	86	021653-20-3	1.193	-	-
38	(-)-苧醇崖柏醇	80	021653-20-3	-	2.453	-
39	α -松油醇	91	000098-55-5	3.617	4.199	-
40	别香橙烯	98	025246-27-9	0.139	-	-
41	大根香叶烯 D	81	023986-74-5	0.548	-	-
42	β -桉叶烯	82	017066-67-0	1.112	0.940	-
43	(6R)-3-甲基-6-(1-甲基乙基)-2-环己烯-1-酮	84	000089-81-6	0.422	-	-
44	顺式菊烯醇	92	055722-60-6	2.529	3.195	2.738
45	反式辣薄荷醇	86	016721-39-4	0.602	0.512	-
46	长叶烯	95	016729-01-4	0.359	-	-
47	异戊酸龙脑酯	98	000076-50-6	0.652	-	-
48	异香芹醇	87	1000374-16-7	0.436	-	-
49	4-异丙基-1,5-环己二烯-1-甲醇	94	019876-45-0	0.123	-	-
50	二氢香芹醇	86	000619-01-2	0.614	-	-
51	反式去氢白菖烯	99	073209-42-4	0.036	-	-
52	顺式香芹醇	98	001197-06-4	1.404	0.194	-
53	对伞花-8-醇	86	001197-01-9	0.425	-	-
54	巴豆酸龙脑酯	95	101223-92-1	0.404	-	-
55	反式紫苏醇	85	022451-48-5	0.010	-	-
56	β -紫罗兰酮	98	000079-77-6	0.028	-	-
57	氧化石竹烯	96	001139-30-6	8.713	11.241	21.553
58	鼠尾草酮	96	073809-82-2	-	0.317	-
59	环氧化蛇麻烯 II	86	019888-34-7	0.763	0.786	-
60	刺柏烯醇	90	000472-07-1	0.220	-	-
61	橙花叔醇	82	000142-50-7	0.055	-	-
62	对-异丙基苻醇	85	000536-60-7	0.170	-	-
63	右旋斯巴醇	95	006750-60-3	1.508	1.571	2.487
64	丁香酚	99	001941-12-4	0.209	-	-
65	β -古芸烯	94	017334-55-3	-	0.173	-
66	百里香酚	78	000089-83-8	0.108	-	-
67	十氢二甲基甲乙烯基萘酚	99	005945-72-2	9.652	14.652	16.779
68	11,11-二甲基-4,8-二亚甲基环[7.2.0]混十一烷-3-醇	99	079580-01-1	0.304	0.398	-
69	10,10-二甲基-2,6-二亚甲基环[7.2.0]混十一烷-5-醇	92	019431-80-2	1.302	1.807	-
70	洋甘菊油萜	99	000529-05-5	0.049	-	-
71	木香醇	95	000515-20-8	0.060	-	-
72	植醇	70	000150-86-7	0.140	0.864	-
73	棕榈酸	99	000057-10-3	0.373	1.008	-

注：“-”表示未检出

2.4 扫描电镜结果分析

通过抑菌活性的结果可知革兰氏阳性菌对艾叶挥发油更具有敏感性,而金黄色葡萄球菌的敏感程度尤为突出,为进一步验证3种工艺得物的抑菌活性的差异,以及深入探索艾叶挥发油的抑菌机制,本研究进而以处理后的金黄色葡萄球菌为目标菌种,采用扫描电镜的方法观察细胞的形态变化,其结果如图4所示。

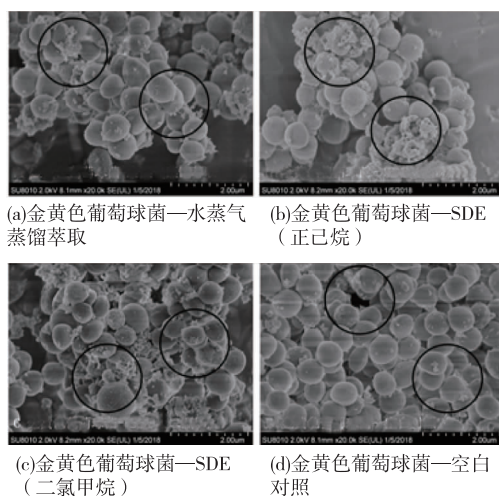


图4 3种工艺提取艾叶挥发油的SEM分析结果

Fig. 4 SEM results of *Artemisia argyi* essential oils obtained by three different methods

从图中可以看出细胞排列紧密,呈现出典型的葡萄球状,而经过3种工艺提取得到的艾叶挥发油处理金黄色葡萄球菌后的细胞形态(图4中(a)、

(b)、(c))与未使用艾叶挥发油处理的金黄色葡萄球菌的细胞形态(图4中(d))存在明显差异。(d)中因为培养时间的延长和后期的处理,出现了微弱的细胞破碎^[19-20],如(d)中圆圈所示;(a)、(b)、(c)中均出现了明显的细胞形态变化及细胞破碎,且程度都强于未由艾叶挥发油处理的(d);(a)、(b)、(c)中的细胞形态变化进一步证明艾叶挥发油具有明显的抑菌活性,而细胞的破碎和变形,说明艾叶挥发油的抑菌活性可能是因为对微生物的细胞壁结构的破坏完成的。

3 结语

作者将同时蒸馏萃取作为艾叶挥发油的提取方法,使用同时蒸馏萃取常用的二氯甲烷作为提取溶剂,引用未曾广泛使用的正己烷作为第2种溶剂,对比传统的艾叶挥发油的水蒸气蒸馏萃取法,系统的分析了提取率和工艺用时,得知SDE用时少,提取率高;通过抑菌活性的研究,得知SDE(正己烷)的抑菌活性强于其它2种工艺;而对得物成分的GC-MS分析结果可知SDE(正己烷)虽然成分种类最少,但主要的成分含量很多,因此正己烷有望成为同时蒸馏萃取方法的重要溶剂;扫描电镜的分析结果进一步揭示艾叶挥发油的显著抑菌效果,并表明艾叶挥发油会作用于微生物细胞壁结构,从而达到抑菌效果。但深入的抑菌机理,主要的抑菌活性成分还尚待在今后的研究中继续探索。

参考文献:

- [1] NAKASUGI T, NAKASHIMA M, KOMAI K. Antimutagens in gaiyou (*Artemisia argyi* Levl. et Vant.)[J]. *J Agric Food Chem*, 2000, 48(08): 3256-3266.
- [2] LI Zhenzhen, LV Jieli, ZHANG Laibin, et al. Chemical constituents and pharmacology activities of *Artemisia argyi*: research advances[J]. *Journal of International Pharmaceutical Research*, 2016, 43(06): 1059-1066. (in Chinese)
- [3] CHAI Xianghua, DONG Yan, WU Kegang, et al. Antibacterial activity of plant essential oils against common harmful microorganisms in foods[J]. *Modern Food Science and Technology*, 2016, 32(08): 123-127. (in Chinese)
- [4] YI Xuejing, LIU Gang, GONG Zhengwu. Extraction of *Artemisia argyi* volatile oil with microwave-assisted enzyme method[J]. *Food & Machinery*, 2016, 32(03): 160-164. (in Chinese)
- [5] REZVANPANAH S, REZAEI K, RAZAVI S H, et al. Use of microwave-assisted hydrodistillation to extract the essential oils from *Satureja hortensis* and *Satureja montana*[J]. *Food Science & Technology International Tokyo*, 2008, 14(03): 311-314.
- [6] SAMEJO M Q, MEMON S, BHANGER M I, et al. Comparison of chemical composition of *Aerva javanica* seed essential oils obtained by different extraction methods[J]. *Pakistan Journal of Pharmaceutical Sciences*, 2013, 26(04): 757-760.
- [7] LIAO S L, WENG Q L, TANG Y Y, et al. Analysis of volatile components in Wuyi narcissus tea by different extracted methods [J]. *Science & Technology of Food Industry*, 2017, 38(12): 7-16.

- [8] LIU T, FENG T, CHEN W. Identification of volatile flavour components of *Tuber melanosporum* using simultaneous distillation-extraction[J]. **Czech Journal of Food Sciences**, 2017, 35(06):483-487.
- [9] QUAN Meiping, TIAN Chengrui. Study on the antibacterial activity and its mechanism of essential oil from Madder (*Rubia cordifolia* L.) extracted by hydrodistillation[J]. **Journal of Food Science and Biotechnology**, 2017, 36(08):843-848. (in Chinese)
- [10] XIA Xuejuan, LI Guannan, LUO Dongsheng, et al. Analysis of essential oil extracted by different methods from *Osmanthus fragrans*[J]. **Journal of the Chinese Cereals and Oils Association**, 2017, 32(01):67-73. (in Chinese)
- [11] WU Kegang, CUI Qichang, DONG Yan, et al. Antimicrobial effects of edible plant essential oils on common food spoilage microorganisms[J]. **Modern Food Science and Technology**, 2017, 33(04):120-127. (in Chinese)
- [12] BEHBAHANI B A, SHAHIDI F, YAZDI F T, et al. Antioxidant activity and antimicrobial effect of tarragon (*Artemisia dracunculoides*) extract and chemical composition of its essential oil[J]. **Journal of Food Measurement & Characterization**, 2017, 11(02):1-17.
- [13] ERDMAN N, ROBERTSON V E, CAMPBELL R A, et al. Advanced application of FE-SEM and sample preparation for energy storage materials[J]. **Microscopy & Microanalysis**, 2012, 18(S2):1406-1407.
- [14] SCHADLER S, BURKHARDT C, KAPPLER A. Evaluation of electron microscopic sample preparation methods and imaging techniques for characterization of cell-mineral aggregates[J]. **Geomicrobiology Journal**, 2008, 25(05):228-239.
- [15] DJOUAHRI A, BOUDARENE L, MEKLATI B Y. Effect of extraction method on chemical composition, antioxidant and anti-inflammatory activities of essential oil from the leaves of *Algerian Tetraclinis articulata* (Vahl) Masters [J]. **Industrial Crops & Products**, 2013, 44(44):32-36.
- [16] SONG Wanyao, LIU Yuliang, YAO Lei. Comparison of extracted volatile compounds from rose water between organic solvent extraction and SPME[J]. **Journal of Shanghai Jiaotong University: Agricultural Science**, 2016, 34(04):57-64. (in Chinese)
- [17] MOHAMED A A, ALI S I, EL-BAZ F K, et al. Chemical composition of essential oil and in vitro antioxidant and antimicrobial activities of crude extracts of *Commiphora myrrha* resin[J]. **Industrial Crops & Products**, 2014, 57(05):10-16.
- [18] YUE Shuli, REN Xiaoling, CHEN Xia, et al. Comparative study of antimicrobial activity and composition of Eucalyptus essential oil before and after encapsulation[J]. **Food Science**, 2017, 38(11):155-160. (in Chinese)
- [19] LIU Yinghua, WANG Chuanhua, XIAO Rong, et al. SEM analysis of starch granules in dough matured with different microorganisms[J]. **Food Science**, 2012, 33(21):114-116. (in Chinese)
- [20] BIDGOLI R D, EBRAHIM A H, HESHMATI G A, et al. Antioxidant and antimicrobial activity evaluation and essential oil analysis of artemisia aucheri boiss[J]. **From Iran. Current Research in Chemistry**, 2013, 5(01):1-10.

科 技 信 息

欧盟批准酿酒酵母 CNCM I-4407 制剂作为断奶仔猪等饲料添加剂

2020年2月4日,欧盟发布条例(EU)2020/147,批准酿酒酵母 CNCM I-4407 制剂(*Saccharomyces cerevisiae* CNCM I-4407)作为断奶仔猪等的饲料添加剂,本条例自发布之日起第20天生效。

该添加剂所属类别为“动物技术性添加剂”,功能组别为“肠道菌群稳定剂”;识别号为4b1702;用于断奶仔猪和母猪时在含水率12%全价饲料中的最小用量为 5×10^9 CFU/kg;用于奶牛时在含水率12%全价饲料中的最小用量为 4×10^8 CFU/kg;批准期限至2030年2月24日。

法规(EC)No 2148/2004的附件II、法规(EC)No 1288/2004的附件I、法规(EC)No 1811/2005的附件III分别删除关于酿酒酵母 NCYC Sc 47 的条目 E 1702。

根据2020年2月24日之前适用的规则,在2020年8月24日之前生产并贴有标签的附件中规定的制剂和含有该制剂的饲料可继续投放市场并使用,直至现有库存耗尽。

[信息来源]厦门 WTO/TBT-SPS 通报咨询工作站. 欧盟批准酿酒酵母 CNCM I-4407 制剂作为断奶仔猪等饲料添加剂

[EB/OL]. (2020-2-4). <http://swj.xm.gov.cn/xmtbt-sps/show.asp?id=61277>