

# 微波辅助水蒸气蒸馏法提取野坝子叶精油及其抑菌活性测试

李 丽, 李晓娇, 熊燕花, 杨晓芳

(保山学院 资源与环境学院, 云南 保山 678000)

**摘 要:**以野坝子叶为原料,蒸馏水为提取剂,采用单因素试验和正交实验相结合,研究了料液比、NaCl 质量分数、微波功率、微波时间等工艺参数对精油得率的影响,并采用滤纸片法和 2 倍稀释法测野坝子叶精油对大肠杆菌、金黄色葡萄球菌、枯草芽孢杆菌的体外抗菌活性。结果表明:野坝子叶精油的最佳提取工艺为料液比 1:20 g/mL,NaCl 的质量分数 1%,微波功率 350 W,微波时间 30 s,精油平均得率为 2.01%。对 3 种细菌的体外抗菌试验表明,该精油对测试菌株具有较好的抑菌能力。

**关键词:**微波辅助;野坝子叶;精油;抗菌

**中图分类号:**S 567.7<sup>+</sup>9 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2015)22-0137-04

野坝子(*Elsholtzia rugulosa*)属唇形科(Labiatae)草本至半灌木,又名野拔子、野坝蒿、狗尾巴香、野香薷等,分布于四川、贵州、云南、广西等地。全草有特殊香味,是具有药用和食用价值的植物,在云南大部分地区,田间地头,丛林之间都可见大量的野坝子生长,易于繁殖,资源较为丰富,广受当地百姓的喜爱。研究表明<sup>[1-3]</sup>,野坝子含有酮、醇、醛、酸、酯、烷烃类、碳烯类、精油等成分。近年来,随着植物精油的功效逐步被发现,各地掀起了精油研究和应用的热潮<sup>[5-8]</sup>,探求多种类、多功能的精油及探找优质高效的精油提取工艺是相关研究者努力的目标。目前,关于野坝子精油化学成分分析研究报道相对较多<sup>[9-11]</sup>,结果表明,不同地域的原料,不同研究方法,所得精油的化学成分及含量都有所差别,而且其提取工艺研究大多停留在传统提取阶段,其相关抗氧化、抗菌性能的研究报道还很少见,作为传统民间医药,对其进一步的研究具有重要的意义。

该试验以野坝子叶为原料,采用微波辅助水蒸气蒸馏法提取了野坝子叶精油,将单因素试验与正交实验相结合,确定了最佳提取工艺;并以大肠杆菌、金黄色葡萄球菌、枯草芽孢杆菌 3 种细菌为对象,考察了野坝子精油的抑菌活性,以期对野坝子资源的全面认识和民间医药资源的重视提供一定的试验参考依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验材料

野坝子叶:采自云南保山市西山。

试剂:氯化钠、乙醚均为国产分析纯。

受试菌:大肠杆菌、枯草芽孢杆菌、金黄色葡萄球菌,由保山学院微生物实验室提供。

主要仪器:旋风式粉碎磨(杭州麦哲仪器有限公司),MW20-M605 微波炉(广东欧派集团有限公司),电子天平(奥豪斯仪器上海有限公司),恒温振荡培养箱(HZQ-XI00A),显微镜(Smart),移液枪(芬兰百得),不锈钢立式灭菌器(LDZX-75KB),电热恒温干燥培养箱(DHP-9082)。

### 1.2 试验方法

1.2.1 野坝子叶前处理 将新鲜野坝子叶洗净,阴干后用粉碎机进行粉碎后,密封保存备用。

1.2.2 野坝子叶精油提取 准确称取 20 g 野坝子叶粉末,置于 500 mL 烧瓶中,先加入一定体积的蒸馏水,再加入一定质量的 NaCl,充分溶解后放入微波炉中,经微波处理一定时间后进行水蒸气蒸馏提取 2 h,向馏液中加入适量乙醚进行萃取,用医用针管吸取其有机相,待乙醚自然挥干后,加入无水硫酸钠干燥,过滤得浅黄色的透明油状液体,称重后转入精油瓶中,保存备用。

1.2.3 单因素试验 料液比对精油得率的影响:选择料液比分别为 1:10、1:15、1:20、1:25、1:30 g/mL,NaCl 的质量分数为 3%,微波功率 350 W,微波时间 90 s,考察不同料液比对野坝子叶精油提取率的影响。NaCl

**第一作者简介:**李丽(1982-),女,云南昌宁人,硕士,讲师,研究方向为催化化学。E-mail:lili19820607@126.com.

**基金项目:**保山学院科研教研基金重点资助项目(13BZ012)。

**收稿日期:**2015-07-27

的质量分数对精油得率的影响:选择 NaCl 的质量分数分别为 0%、1%、2%、3%、4%,料液比 1:10 g/mL,微波功率 350 W,微波时间 90 s,考察不同 NaCl 的质量分数对野坝子叶精油得率的影响。微波功率对精油得率的影响:选择微波功率分别为 70、210、350、490、700 W,NaCl 的质量分数为 3%,料液比 1:10 g/mL,微波时间 90 s,考察不同微波功率对野坝子叶精油提取率的影响。微波时间对精油得率的影响:选择微波处理时间分别为 30、60、90、120、150 s,NaCl 的质量分数为 3%,料液比 1:10 g/mL,微波功率 350 W,考察不同微波处理时间对野坝子叶精油提取率的影响。

1.2.4 正交实验 根据单因素试验结果,选取上述 4 个单因素试验的各 3 个较优水平,按  $L_9(3^4)$  设计进行正交实验,优化试验工艺,得出最佳精油提取工艺。试验设计如表 1 所示。

表 1 正交实验因素和水平

Table 1 The factors and levels of orthogonal experiment

水平 Level	A 料液比 Solid-liquid ratio /(g·mL <sup>-1</sup> )	B NaCl 质量分数 Concentration of NaCl	C 微波功率 Microwave power /W	D 微波时间 Microwave irradiation time/s
1	1:15	0	70	30
2	1:20	1	210	60
3	1:25	2	350	90

1.2.5 野坝子叶精油提取率的计算公式 精油得率(%)=精油质量/原料质量×100。

1.2.6 抑菌效果测定 采用滤纸片法<sup>[12]</sup>对野坝子精油进行抑菌效果测定:制备无菌营养琼脂平板,在牛肉膏蛋白胨培养基中分别接种大肠杆菌、金黄色葡萄球菌及枯草芽孢杆菌 3 种细菌,于 37℃ 下培养 12 h 后,取 0.2 mL 已培养好的浓度为  $1 \times 10^8$  cfu/mL 细菌菌悬液,均匀地涂抹在所制备的营养琼脂平板上,操作均在无菌条件下进行。取圆形无菌滤纸片(直径 8 mm)分别交叉放置于同一含菌的营养琼脂平板上,用移液器吸取 1 000  $\mu$ g 精油注入到滤纸片的正中央后,再将平板在 37℃ 下恒温培养 24 h 后,测量细菌抑菌圈直径。所有试验均重复 3 次,取其平均值为试验测定结果。

1.2.7 最小抑菌浓度(MIC)的测定 采用 2 倍稀释法<sup>[13]</sup>,以无水乙醇为溶剂,将野坝子精油配制成浓度分别为 50.00%、25.00%、12.50%、6.25%、3.15%、1.58% 的 6 个样品溶液,待用。按 1.2.6 法测定其抑菌效果,每一浓度梯度做 3 组平行试验,重复 3 次,取其平均值为试验测定结果。

## 2 结果与分析

### 2.1 单因素试验结果及分析

2.1.1 料液比对精油得率的影响 由图 1 可知,随着料液比的增加,野坝子叶精油得率呈现先增大后减小的规律,当料液比为 1:20 g/mL 时,得率达最佳,与 1:10 g/mL

料液比相比,精油得率增幅达 53%。其主要原因可能是适当增大水的体积,有利于精油从胀破的细胞里充分溶出,但是,当加入水的体积过大时,将使得提取时间延长,精油在水中溶解度会增加精油得率降低。因此,该试验最终选择料液比为 1:20 g/mL。

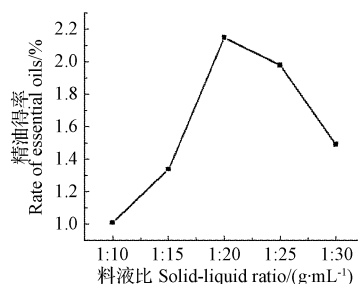


图 1 料液比对精油得率的影响

Fig. 1 The effect of solid-liquid ratio on extraction rate of essential oils

2.1.2 NaCl 的质量分数对精油得率的影响 由图 2 可知,随着 NaCl 的质量分数的增加,精油得率随之增加,当质量分数超过 1% 时,随质量分数的增加,得率迅速降低,因此,该试验选定 NaCl 的质量分数为 1%。

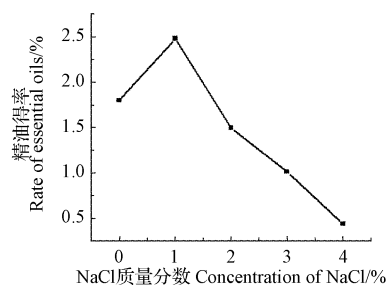


图 2 NaCl 质量分数精油得率的影响

Fig. 2 The effect of NaCl on extraction rate of essential oils

2.1.3 微波功率对精油得率的影响 由图 3 可知,当微波功率在 70~350 W 时,得率随功率的增大而增大,原因可能是,适当增加功率,温度上升快,有利于物质的渗透、扩散和溶解,则精油物质容易溶出。当功率超过 350 W 后,得率迅速下降,其原因可能是功率较大时,高温会对

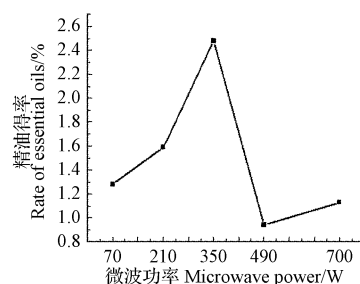


图 3 微波功率对精油得率的影响

Fig. 3 The effect of microwave power on extraction rate of essential oils

精油产生一定程度的破坏,导致得率下降。试验中还发现,当微波功率较大时精油很容易挥发,也不利于精油的提取。因此,该试验选定微波提取功率为 350 W。

2.1.4 微波时间对精油得率的影响 由图 4 可知,当提取时间为 90 s 时得率达最大值,延长或减少提取时间,都不利于精油的提取,该试验最终选定微波处理时间为 90 s。

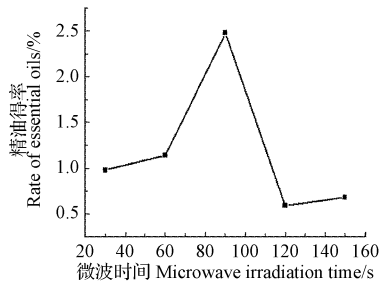


图 4 微波时间对精油得率的影响

Fig. 4 The effect of microwave irradiation time on extraction rate of essential oils

## 2.2 正交实验结果

由表 2 正交实验结果可以看出,对野坝子叶精油得率的影响大小依次为 NaCl 的质量分数(B)>料液比(A)>微波功率(C)>提取时间(D)。微波辅助水蒸气蒸馏提取的优化工艺条件是  $A_2B_2C_3D_1$ ,即料液比为 1:20 g/mL,NaCl 的质量分数为 1%,微波功率为 350 W,微波时间 30 s。按此工艺条件下进行了 3 次平行验证试验,精油得率分别为 2.03%、2.01%、2.00%,平均得率 2.01%,高于文献[3,12]报道结果,微波辅助水蒸气蒸馏法是提取野坝子叶挥发油的有效方法。

表 2 正交实验及结果分析

Table 2 Results and analysis of orthogonal experiment

因素	料液比	NaCl 质量分数	微波功率	微波时间	精油得率
Factor	Solid-liquid ratio	Concentration of NaCl/%	Microwave power/W	Microwave irradiation time/s	Essential oils/%
	A	B	C	D	
1	1:15	0	70	30	0.55
2	1:15	1	210	60	0.87
3	1:15	2	350	90	0.96
4	1:20	0	210	90	0.66
5	1:20	1	350	30	1.98
6	1:20	2	70	60	0.94
7	1:25	0	350	60	0.66
8	1:25	1	70	90	0.80
9	1:25	2	210	30	0.50
k1	0.79	0.63	0.76	1.03	
k2	1.21	1.23	0.68	0.82	
k3	0.65	0.80	1.22	0.81	
R	0.56	0.60	0.54	0.22	

## 2.3 抑菌生物活性测定结果

2.3.1 抑菌效果测定结果 野坝子叶精油的抑菌效果见表 3,野坝子叶精油对大肠杆菌、枯草芽孢杆菌和金黄色葡萄球菌都有明显的抑菌活性,抑制效果为枯草芽孢

表 3 野坝子精油的抑菌效果

Table 3 Antimicrobial activity of *Elsholtzia rugulosa* essential oils

抑 菌 物	抑 菌 直 径 Antibacterial diameter/mm		
Antimicrobial	大肠杆菌	枯草芽孢杆菌	金黄色葡萄球菌
substance	<i>Escherichia coli</i>	<i>Bacillus subtilis</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>
精油 Essential oils	17.20±0.21	19.67±0.15	13.67±0.15
无水乙醇 Anhydrous alcohol	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00

杆菌>大肠杆菌>金黄色葡萄球菌。

2.3.2 抑菌效果测定结果 采用 2 倍稀释法,野坝子叶精油对不同供试菌的 MIC 结果如表 4 所示,野坝子叶精油对大肠杆菌、枯草芽孢杆菌抑制效果相对较强,MIC 为 3.15%,对金黄色葡萄球菌的抑制效果相对较弱,MIC 为 6.25%。

表 4 野坝子精油对不同供试菌的 MIC 比较

Table 4 MICs of *Elsholtzia rugulosa* essential oils against 3 pathogenic bacteria

供试菌种	大肠杆菌	枯草芽孢杆菌	金黄色葡萄球菌
Test strain	<i>Escherichia coli</i>	<i>Bacillus subtilis</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>
MIC/%	3.15	3.15	6.25

## 3 结论

野坝子叶精油的微波提辅助水蒸气蒸馏法提取工艺,受料液比、NaCl 的质量分数、微波功率、微波时间的影响,正交实验优化结果表明,影响大小依次为 NaCl 的质量分数>料液比>微波功率>提取时间,当料液比为 1:20 g/mL,NaCl 的质量分数为 1%,微波功率为 350 W,微波时间 30 s 时,精油得率最佳为 2.01%,该方法是一种有效的提取野坝子叶精油的方法。

野坝子叶精油对大肠杆菌、枯草芽孢杆菌和金黄色葡萄球菌都有明显的抑菌作用,其中对大肠杆菌、枯草芽孢杆菌的抑制效果较强,MIC 为 3.15%,对金黄色葡萄球菌的抑制效果相对较弱,MIC 为 6.25%,这也可能是野坝子可以治疗疾病的原因之一。

## 参考文献

- [1] 杨莎.野巴子的生药学研究[D].成都:成都中医药大学,2012.
- [2] 来国防,朱向东,罗士德,等.野拔子的化学成分研究[J].中草药,2008,39(5):661-663.
- [3] 赵勇,李庆春,赵焱,等.野拔子的化学成分研究[J].中国中药杂志,2004(29):1144-1146.
- [4] 余汉谋,姜兴涛,李庆廷,等.植物精油在皮肤美白领域中的研究进展[J].日用化学工业,2014,44(1):320-324.
- [5] 杨辉,杨福馨,欧丽娟,等.植物精油-EVOH 活性包装膜对草鱼鱼肉保鲜效果的研究[J].食品科学,2014,35(22):45-49.
- [6] 邹鹏,郭东锋,舒俊生,等.麦芽精油成分研究及其在卷烟中应用[J].中国烟草学报,2014,20(2):47-53.
- [7] 曾华,温秀兰,张广兰,等.中草药植物精油联合产后乳房康抚按摩对产妇泌乳的影响[J].中国妇幼保健,2014(29):2337-2339.
- [8] 薛山,谭道谈.植物精油防控果蔬采后病害的应用探究[J].食品工业,2011(11):106-110.
- [9] 李文军,唐自明.白族药野坝子的挥发性化学成分研究[J].云南中医学院学报,1999,22(39):19-21.

DOI:10.11937/bfyy.201522037

## 1-MCP 对“脱骨”李常温贮藏期品质的影响

牛 歆 雨, 刘 林, 张 良 英

(西藏大学 农牧学院, 西藏 林芝 860000)

**摘 要:**以“脱骨”李为试材,采用常温贮藏方法,研究不同浓度 1-MCP 对“脱骨”李贮藏期品质和采后生理的影响。结果表明:不同浓度 1-MCP 均可降低果实的呼吸速率及其峰值,抑制乙烯释放,有效延缓硬度、可滴定酸含量、维生素 C 含量的下降速率,减少果实腐烂率,延长货架期,但对可溶性固形物含量影响不显著。此外,不同浓度 1-MCP 处理的效果也存在差异。在 0~2.0  $\mu\text{L/L}$  浓度范围内,以 1.5  $\mu\text{L/L}$  与 2.0  $\mu\text{L/L}$  处理抑制呼吸速率和乙烯释放效果最明显,但 2.0  $\mu\text{L/L}$  的烂果率较高。综合比较认为,1.5  $\mu\text{L/L}$  的 1-MCP 处理果实效果最好。

**关键词:**1-MCP;“脱骨”李;采后品质;生理变化

**中图分类号:**S 662.309<sup>+</sup>.3 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2015)22-0140-04

李(*Prunus salicina* L.)属蔷薇科李属植物,在我国栽培已有逾 3 000 年历史<sup>[1]</sup>,含有大量蛋白质、氨基酸、

**第一作者简介:**牛歆雨(1974-),男,陕西西安人,硕士,讲师,现主要从事果树生理和采后等教学与研究工作。E-mail:niuxinyu2004@126.com.

**基金项目:**国家自然科学基金地区科学基金资助项目(31460206)。

**收稿日期:**2015-07-23

碳水化合物、维生素、无机元素等,因丰富的营养成分及药用价值深受消费者喜爱。在我国以中国李栽培为主<sup>[1]</sup>,分布非常广泛,有许多好的地方品种。“脱骨”李<sup>[2]</sup>果实圆形,离核,平均单果重 24.0 g,最大单果重 30.0 g,树势强,品质好,在四川汶川、康定等地种植面积较大,西藏察隅、林芝、米林也有引种且表现良好,已取得了一定的经济效益。李是时令性水果,货架期短,常温下贮

[10] 赵勇,邱玲,李庆春,等.野拔子挥发油化学成分的研究[J].云南大学学报(自然科学版),1998(3):462-464.

[11] 付立卓,李海舟,李蓉涛.2 种蔷薇属植物挥发油成分分析[J].昆明理工大学学报(理工版),2010,35(1):88-92.

[12] 周金沙,朱良,李乐,等.褐苞蒿挥发油成分及其抗菌活性研究[J].食品与机械,2014,30(2):152-154.

品与机械,2014,30(2):152-154.

[13] 陈佳佳,刘凡,廖森泰,等.桑叶提取物抑菌活性及抑菌稳定性研究[J].食品工业科技,2012,33(9):88-91.

[14] 彭永芳,李维莉,周珊珊,等.野坝子挥发油超声提取工艺优化的研究[J].中药材,2009,32(11):1764-1766.

## Study on Steam Distillation Combined With Microwave Extraction and Anti-microbial Activities of Essential Oils From the Leaves of *Elsholtzia rugulosa*

LI Li, LI Xiaojiao, XIONG Yanhua, YANG Xiaofang

(Department of Resource and Environment, Baoshan College, Baoshan, Yunnan 678000)

**Abstract:** Taking the leaves of *Elsholtzia rugulosa* as test materials, and distilled water as extractant, the technology of extraction of the essential oils from the leaves of *Elsholtzia rugulosa* was studied to provide a reference for further study and utilization, the effect of solid-liquid ratio, NaCl concentration, extracting time and microwave power on the extraction of the essential oils from the leaves of *Elsholtzia rugulosai* was investigated using the methods of single factor test and orthogonal design test of  $L_9(3^4)$ . Meanwhile, the bacteriostatic test of resulting extract was further emulated to *Escherichia coli*, *Bacillus subtilis* and *Staphylococcus aureus* by filter paper method and two times dilution method. The results showed that highest extraction rate (2.01%) of the essential oils in the leaves of *Elsholtzia rugulosa* could be obtained under conditions of 1:20 g/mL, the NaCl was 1% (wt%), microwave power was 350 W, and extracting time was 30 seconds. In addition, the essential oil had certain antibacterial activity to the tested microbial.

**Keywords:** microwave; leaves of *Elsholtzia rugulosa*; essential oil; anti-microbial