

Analysis of Chemical Constituents of the Volatile Oils from *Nardostachys Chinensis* Batal by GC-MS and the Study of Antimicrobial Activities

Yan Dong*, Wei Qi

College of Chemistry and Chemical Engineering, Dezhou University, Dezhou Shandong
Email: *sddzdy@163.com

Received: Jul. 23rd, 2018; accepted: Aug. 13th, 2018; published: Aug. 20th, 2018

Abstract

Objective: To identify the major chemical constituents of volatile oil from *Nardostachys Chinensis* Batal, and to investigate its antimicrobial activities and MICs. **Method:** The volatile oils were extracted by steam distillation, whose chemical constituents were analyzed by GC-MS. The antimicrobial activities were studied by filter paper disk method and plate streak towards four different bacteria. Then, minimal inhibitory concentrations (MICs) were detected against four bacteria strains by micro dilution method. **Results:** Thirty constituents, accounting for 95.23% of the total volatile oil in weight, were identified in volatile oil. The results showed that the volatile oil had no inhibition on *Shigella flexneri*, but had a strong inhibitory effect on *Staphylococcus aureus*, *Salmonella*, and *Salmonella Paratyphi B* with the MIC were 32, 25, 50 mg/mL. **Conclusion:** The experiment provides a scientific basis for further development and utilization of plants of *Patrinia*.

Keywords

Nardostachys Chinensis Batal, Volatile Oil, Extraction, Antimicrobial Activities

GC-MS法分析甘松挥发油化学成分及其抑菌活性研究

董岩*, 祁伟

德州学院化学化工学院, 山东 德州
Email: *sddzdy@163.com

*通讯作者。

收稿日期: 2018年7月23日; 录用日期: 2018年8月13日; 发布日期: 2018年8月20日

摘要

为了确定甘松挥发油主要化学成分, 研究它的抗菌活性和最小抑菌浓度(MICs), 本文采用水蒸气蒸馏法提取甘松中的挥发油, 用气相色谱-质谱(GC-MS)对其化学成分进行分离鉴定, 采用滤纸圆片法和平板划线法对其抑菌活性进行测定, 采用微量稀释法测定其最小抑菌浓度(MIC)。实验结果发现甘松挥发油共鉴定出了30种化学成分, 占挥发油总含量的95.23%, 甘松挥发油对福氏志贺氏菌无抑制作用, 对金黄色葡萄球菌、沙门氏菌、乙型副伤寒杆菌有明显抑制作用, 最小抑菌浓度分别为35、25、50 mg/mL。本研究为甘松的进一步开发和利用提供科学依据。

关键词

甘松, 挥发油, 提取, 抑菌性

Copyright © 2018 by authors and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

1. 引言

甘松是败酱科植物甘松(*Nardostachys jatamansi* DC)的干燥根及根茎, 其性辛、甘、温, 无毒, 归脾、胃、心经。甘松在我国有着悠久的用药历史, 始载于《本草拾遗》, 后列入《海南本草》和《开宝本草》, 又被《中国药典》收藏。近几年研究发现, 它在医药方面可用于治疗脾胃病、心悸、胆结石、肾石症、胸腹痞满、哮喘咳嗽、脚气等症[1]; 另外甘松还有调节血压、抗惊厥, 抑菌或抗真菌[2]等作用。

国内外对于败酱属(*patrinia*)多种植物挥发油化学成分的研究已有报道[3] [4], 但对其挥发油抑菌活性的研究少见报道。为开发利用这一植物资源, 充分发掘其药用价值, 本实验拟研究甘松中挥发油的主要化学成分及其抑菌活性。

2. 材料与方

2.1. 仪器与材料

HP-GC-5890-5970BMSD 型色谱-质谱联用仪(美国 Hewlett Packard 公司); YXQ-LS-30SII 型立式压力蒸汽灭菌器(上海博迅实业有限公司医疗设备厂)。实验所用试剂均为分析纯, 用水为超纯水。乙型副伤寒杆菌(*Salmonella Paratyphi B*)、福氏志贺氏菌(*Shigella flexneri*)、金黄色葡萄球菌(*Staphylococcus aureus*)、沙门氏菌(*Salmonella*)为德州学院医药与护理学院实验室提供。甘松(购于德州颐寿药店, 经德州学院生命科学学院张秀玲教授鉴定)。

2.2. 甘松挥发油的提取

称取粉碎的甘松样品 50 g 放入 1000 mL 圆底烧瓶中, 然后加入一定量的高纯蒸馏水(使水没过药品)浸泡过夜, 用挥发油提取器按常规回流 7 h 直至挥发油不再增加, 得浅绿色油状液体, 具有特殊臭味。

经无水硫酸钠干燥后得挥发油, 平行操作 3 次, 平均收率为 2.17%, 按气相色谱 - 质谱工作条件, 进样量为 1 μl , 进行测定。

2.3. 气相色谱 - 质谱分析条件

气相色谱条件: DB-5MS 色谱柱(30 m \times 0.25 mm, 0.25 μm)弹性石英毛细管柱; 色谱柱升温程序: 初始温度 45 $^{\circ}\text{C}$, 保持 2 min, 以 5 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$ 升至 300 $^{\circ}\text{C}$, 保持 5 min; 载气为高纯氦气; 分流比 1:50; 进样口温度 240 $^{\circ}\text{C}$ 。

质谱分析条件: 离子源温度 230 $^{\circ}\text{C}$; 电离电压 70 eV, 扫描质量范围 20~550 amu; 扫描方式 EI 源; 扫描间隔 0.5 s。柱前压 49 kPa; 气化室及检测器温度均为 280 $^{\circ}\text{C}$ 。

2.4. 甘松挥发油的抑菌活性测定

制备牛肉膏蛋白胨培养基后, 用纱布包脱脂棉过滤得透明溶液, 121 $^{\circ}\text{C}$ 下高压蒸汽灭菌 20 min 备用。将灭菌滤纸片放入甘松挥发油中浸泡过夜。待测细菌在 37 $^{\circ}\text{C}$ 培养箱中培养 24 h, 甘松挥发油用二甲基亚砷溶液配成浓度为 125 mg/mL、100 mg/mL、75 mg/mL、50 mg/mL、25 mg/mL 共 5 个浓度的供试液, 浓度为 0.05 mg/mL 的青霉素钠溶液作为阳性对照, 用二甲基亚砷溶液作为阴性对照, 测量抑菌圈直径, 实验重复 3 次, 结果取平均值。

2.5. 甘松挥发油的 MIC 测定

用二甲基亚砷把甘松挥发油配成不同浓度的供试液, 分别为 50 mg/mL、45 mg/mL、40 mg/mL、35 mg/mL、30 mg/mL、25 mg/mL、20 mg/mL 共 7 个浓度, 采用二甲基亚砷溶液做阴性对照, 浓度为 0.05 mg/mL 的青霉素钠溶液作为阳性对照, 观察各个培养皿中细菌的生长情况, 培养基浑浊, 则说明有菌落生成, 培养基清澈透明则无菌落生成, 取完全没有菌落生长的最低浓度为挥发油溶液的最低抑菌浓度。

3. 结果与讨论

3.1. 甘松挥发油成分定量定性分析结果

按气相色谱条件, 对甘松挥发油进行分离, 以面积归一化法测得挥发油各组分相对百分含量, 按质谱工作条件对挥发油进行分析, 经计算机数据系统检索, 人工谱图解析, 按各色谱峰的质谱裂片图与文献核对, 查对质谱文献[5], 对基峰、质荷比和相对丰度等方面进行直观比较, 分别对各个色谱峰加以确认, 综合各项分析鉴定, 确定了甘松挥发油中的化学成分 30 种, 结果见表 1。

本次实验鉴定的 30 个成分占挥发油总成分的 95.23%, 其主要成分为烯类, 其次为酮和醇类, 此外, 还含有少量烷烃。如月桂烯、环氧柏木烷、1-(1,5-二甲基-4-己烯基)-4-甲基-苯、广藿香醇、 α -芹子烯、 α -愈创木烯、4-松油醇、脱氢香橙烯、 γ -古芸烯、百里基甲醚等, 其中含量超过 5% 的有月桂烯(18.99%)、环氧柏木烷(13.74%)、1-(1,5-二甲基-4-己烯基)-4-甲基-苯(13.49%)、广藿香醇(6.95%)。并与邱琴, 刘廷礼, 崔兆杰[6]等人的研究成果进行了比较, 发现主要成分基本相同, 但含量不同, 进一步印证了同一植物生长地区不同, 采摘时间不同影响到它们的化学成分和含量不同。

实验检测出的多种化学成分都具有一定的应用价值。如广藿香醇能抑制前列腺癌细胞 DU145 细胞的增殖[7], 对柯萨奇病毒、腺病毒和甲型流感病毒也显示出抑制作用, 广藿香醇还是良好的定香剂, 被广泛用于日用品和化妆品[8]。含量最高的月桂烯, 在合成香料和药物中间体方面有非常重要的应用, 可以合成薄荷、柠檬醛、香茅醇、香叶醇、橙花醇和芳樟醇等[9]。环氧柏木烷作为一种高级加香香料, 被广泛应用于香水、香皂、日用化妆品及烟草等香精产品的加香[10]。以上分析对深入研究甘松挥发油提供了

Table 1. The chemical compositions from *Nardostachys Chinensis Batal***表 1.** 甘松挥发油化学成分分析结果

编号	保留时间	化合物名称	分子式	分子量	百分含量
1	6.42	环丁基甲酰氯 Cyclobutanecarboxylic acid chloride	C ₅ H ₇ ClO	119	1.00
2	12.51	苯乙醛 Hyacinthin	C ₈ H ₈ O	120	1.02
3	12.90	α -愈创木烯 α -Guaiene	C ₁₀ H ₈	128	3.93
4	13.01	α -蒎烯 α -Pincene	C ₁₀ H ₁₆	136	2.38
5	13.22	月桂烯 myrcene	C ₁₀ H ₁₆	136	18.99
6	13.38	β -广藜香烯 β -patchouzene	C ₁₀ H ₂₀	140	3.64
7	13.56	α -松油醇 α -Terpineol	C ₁₀ H ₁₈ O	154	2.22
8	13.68	2-萘甲醇 2-Naphthalenemethanol	C ₁₁ H ₁₀ O	158	0.15
9	13.78	百里基甲醚 Thymylmethylether	C ₁₁ H ₁₆ O	164	2.83
10	13.96	β -紫罗兰酮 β -Ionone	C ₁₃ H ₂₀ O	192	2.10
11	14.03	α -紫罗兰酮 α -Ionone	C ₁₃ H ₂₀ O	192	0.78
12	14.06	月桂醇乙酸酯 Myrtenylacetate	C ₁₂ H ₁₈ O ₂	194	0.56
13	14.25	6-(1-乙基丙基)-1,2,3,4 四氢萘 6-(1-ethylpropyl)-1,2,3,4-tetrahydro Naphthalene	C ₁₅ H ₂₂	202	0.82
14	14.72	IS,-顺-菖蒲萜烯 IS,-cis-Calamenene	C ₁₅ H ₂₂	202	1.31
15	14.90	脱氢香橙烯 Dehydroaromadendrene	C ₁₅ H ₂₂	202	3.64
16	15.01	α -芹子烯 α -Selinene	C ₁₅ H ₂₄	204	2.94
17	15.09	喇叭茶烯 Ledene	C ₁₅ H ₂₄	204	1.84
18	15.33	β -绿叶烯 β -Patchoulene	C ₁₅ H ₂₄	204	1.31
19	15.57	β -马榄烯 β -Maaliene	C ₁₅ H ₂₄	204	0.80
20	15.69	马兜铃烯 Airstolene	C ₁₅ H ₂₄	204	2.49
21	15.88	α -古芸烯 α -Gurjunene	C ₁₅ H ₂₄	204	1.64
22	16.08	1-(1,5-二甲基-4-己烯基)-4-甲基-苯 Benzene,1-(1,5-dimethyl-4-hexenyl)-4-methyl	C ₁₅ H ₂₄	204	13.49
23	16.49	长叶烯 longifolene	C ₁₅ H ₂₄	204	0.94
24	16.76	环氧柏木烷 Alpha-Cedrene Epoxide	C ₁₅ H ₂₄ O	220	13.74
25	16.95	(+)-斯巴醇(+)-Spathulenol	C ₁₅ H ₂₄ O	220	0.36
26	17.19	广藜香醇 Patchouliolcohol	C ₁₅ H ₂₆ O	222	6.95
27	17.29	绿花白千层醇 Viridiflorol	C ₁₅ H ₂₆ O	222	0.81
28	17.41	芴酮-2-羧酸 Fluorenone-2-carboxylic acid	C ₁₄ H ₈ O ₃	224	1.28
29	17.50	3,5-二叔丁基-4-羟基苯甲醛	C ₁₅ H ₂₂ O ₂	234	0.38
30	17.62	d-油酸 Oleicaci	C ₁₈ H ₃₄ O ₂	282	0.89

一定的理论依据。

3.2. 甘松挥发油的抑菌活性实验结果分析

3.2.1. 甘松挥发油的抑菌圈实验结果分析

采用滤纸圆片法和平板划线法测定甘松挥发油的抑菌圈直径,用取菌杯取了细菌后,在琼脂平板表面反复密集划线直至布满琼脂平板,然后将含有定量甘松挥发油的滤纸圆片贴于已接种待测细菌的琼脂平板上,甘松挥发油抑制细菌生长,从而形成透明的抑菌圈。实验结果如表 2、图 1 所示。

从表2可以看出,当甘松挥发油浓度小于125 mg/mL时,对福氏志贺氏菌的抑菌圈直径都小于9 mm,当甘松挥发油浓度为125 mg/mL时,抑菌圈直径仅仅为9.36 mm,甘松挥发油对福氏志贺氏菌无明显抑制作用。甘松挥发油对金黄色葡萄球菌、沙门氏菌、乙型副伤寒杆菌的抑菌效果虽然弱于阳性对照组,但是在实验浓度范围内体现出了明显的抑菌作用。

从图1可以看出,随着甘松挥发油浓度增加,对金黄色葡萄球菌、沙门氏菌、乙型副伤寒杆菌的抑菌效果都明显增强,但是在不同浓度范围内有交叉现象,这是因为甘松挥发油不同浓度时,对不同细菌的抑制效果增长速率不同,当甘松挥发油浓度低于70 mg/mL时,抑制效果为:沙门氏菌 > 金黄色葡萄球菌 > 乙型副伤寒杆菌,当挥发油浓度在大于70 mg/mL时,抑制效果为:金黄色葡萄球菌 > 沙门氏菌 > 乙型副伤寒杆菌。

3.2.2. 甘松挥发油的 MIC 实验结果分析

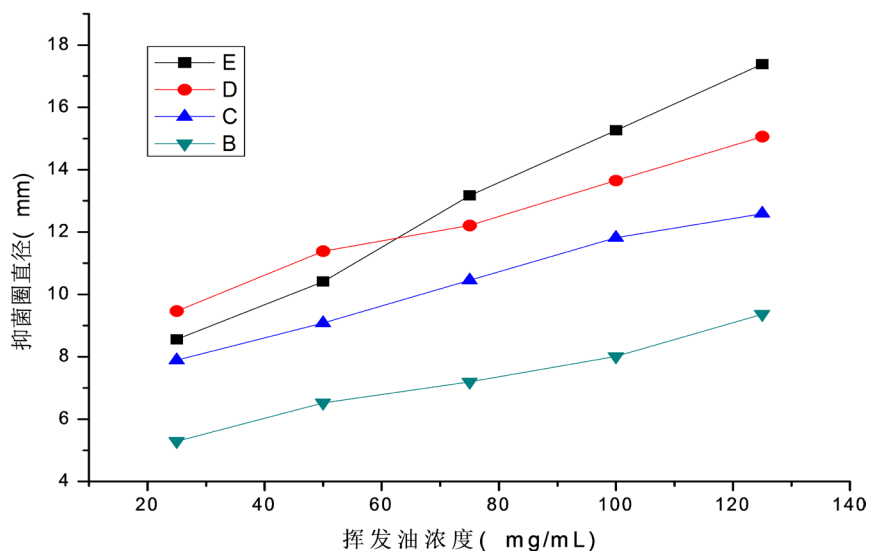
通过微量稀释法测定了甘松挥发油的MIC, MIC实验可用于定量测试抗菌药物对某一细菌的体外活

Table 2. The antimicrobial activity of the chemical compositions from *Nardostachys Chinensis Batal*

表 2. 甘松挥发油的抑菌活性

Dilute solution (mg/mL)	<i>Staphylococcus aureus</i> (mm)	<i>Salmonella</i> (mm)	<i>Salmonella Paratyphi B</i> (mm)	<i>Shigella flexneri</i> (mm)
125	17.38 ± 0.06	15.06 ± 0.04	12.59 ± 0.11	9.36 ± 0.02
100	15.26 ± 0.03	13.65 ± 0.03	11.81 ± 0.09	8.01 ± 0.06
75	13.17 ± 0.09	12.21 ± 0.11	10.45 ± 0.10	7.19 ± 0.10
50	10.41 ± 0.07	11.39 ± 0.10	9.08 ± 0.06	6.51 ± 0.05
25	8.56 ± 0.05	9.47 ± 0.07	7.89 ± 0.12	5.29 ± 0.07
positive control	23.56 ± 0.07	20.14 ± 0.05	22.03 ± 0.09	19.41 ± 0.06
negative control	—	—	—	—

注: “—”为无菌生长,实验数据为3次实验的平均值 ± 标准偏差。



注: B 福氏志贺氏菌, C 乙型副伤寒杆菌, D 沙门氏菌, E 金黄色葡萄球菌。

Figure 1. The antimicrobial activity of the chemical compositions from *Nardostachys Chinensis Batal*

图 1. 甘松挥发油的抑菌活性

Table 3. MIC of the chemical compositions from *Nardostachys Chinensis Batal*
表 3. 甘松挥发油的最低抑菌浓度(MIC)

Dilute solution (mg/mL)	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Salmonella</i>	<i>Salmonella Paratyphi B</i>	<i>Shigella flexneri</i>
50	—	—	—	++++
45	—	—	+	++++
40	—	—	++	++++
35	—	—	++	++++
30	+	—	+++	++++
25	++	—	++++	++++
20	+++	++	++++	++++
positive control	—	—	—	—
negative control	++++	++++	++++	++++

注：“—”表示菌落完全无生长，“+”表示少量菌落，“+++”表示大量菌落。

性，MIC 值越小，抗菌作用越强。实验结果如表 3 所示。

从表 3 对照组实验结果可以看出，细菌生长环境正常，在实验浓度范围内，甘松挥发油对福氏志贺氏菌没有抑制作用，对金黄色葡萄球菌、沙门氏菌、乙型副伤寒杆菌待都体现出了明显的抑制作用，这一点和抑菌圈实验的结论一致。从实验结果可以看出甘松挥发油对金黄色葡萄球菌的最小抑菌浓度为 35 mg/mL，对沙门氏菌的最小抑菌浓度为 25 mg/mL，对乙型副伤寒杆菌的最小抑菌浓度为 50 mg/mL。

4. 结论

本文采用常规水蒸气蒸馏法提取甘松中的挥发油，研究甘松中挥发油的主要化学成分，共鉴定出了 30 个化学成分，占挥发油总成分的 95.23%，采用滤纸圆片法和平板划线法对提取的挥发油进行抑菌实验，甘松挥发油对福氏志贺氏菌无明显抑制作用，对金黄色葡萄球菌、沙门氏菌、乙型副伤寒杆菌都体现出明显的抑菌作用。甘松挥发油除了具有药用价值外，还可以用于食品添加剂、护肤香体的化妆品及高级香精等多种产品。挥发油是多种化学成分的混合物，它所体现出的应用，是一种成分的作用，还是几种成分共同起作用，它们的反应机理如何等，这些问题目前还不能解决，有待于进一步的实验研究。

基金项目

山东省自然科学基金(No. ZR 2016BL07); 大学生创新创业训练计划项目(No. 201710448021)。

参考文献

- [1] 万新, 石晋丽, 刘勇, 等. 甘松属植物化学成分与药理作用[J]. 国外医药(植物药分册), 2007, 22(1): 13-15.
- [2] 黄伯舜. 甘松的临床应用心得[J]. 中国中药杂志, 2004, 29(4): 377-378.
- [3] 顾正兵, 陈新建, 杨根金, 等. 糙叶败酱活性成分的研究[J]. 中药材, 2002, 25(3): 178-179.
- [4] 姜泓, 初正云, 王虹霞, 等. 黄花败酱化学成分[J]. 中草药, 2003, 34(11): 978-980.
- [5] 丛浦珠. 质谱学在天然有机化学中的应用[M]. 北京: 科学出版社, 1987: 49-128.
- [6] 邱琴, 刘廷礼, 崔兆杰, 等. 甘松挥发油的提取及其化学成分剖析[J]. 山东大学学报, 1999, 34(2): 192-197.
- [7] 蔡剑, 彭成, 朱晓燕, 等. 广藿香醇对人雄激素非依赖性前列腺癌细胞 DU145 生长的抑制作用及机制[J]. 中国实验方剂学杂志, 2014, 20(10): 165-168.
- [8] 魏晓露, 彭成, 万峰. 广藿香醇体外抗呼吸道病毒作用研究[J]. 中药药理与临床, 2013, 29(1): 26-29.
- [9] 王金娥, 朱岳麟, 熊常健. 月桂烯的来源及其在香料化学中的应用[J]. 山东化工, 2011, 40(3): 47-50.
- [10] 陈华成, 曾韬, 胡宏成. 合成环氧柏木烷的新方法[J]. 生物质化学工程, 2007, 41(1): 40-42.

知网检索的两种方式：

1. 打开知网页面 <http://kns.cnki.net/kns/brief/result.aspx?dbPrefix=WWJD>
下拉列表框选择：[ISSN]，输入期刊 ISSN：2163-1557，即可查询
2. 打开知网首页 <http://cnki.net/>
左侧“国际文献总库”进入，输入文章标题，即可查询

投稿请点击：<http://www.hanspub.org/Submission.aspx>

期刊邮箱：aac@hanspub.org