

不同溶剂亚临界萃取樟树叶精油化学成分分析及抑菌效果*

胡 珊¹ 黄 皓¹ 陈杰连² 梁卫驱¹
连辉明² 侯 晨² 罗华建¹ 谢佩吾²

(1. 东莞市农业科学研究中心, 广东 东莞 523086; 2. 广东省林业科学研究院 / 广东省森林培育与保护利用重点实验室, 广东 广州 510520)

摘要 研究采用丙烷、四氟乙烷、正丁烷、正丁烷与乙醇(9:1)混合物为溶剂, 分别对樟树 *Cinnamomum camphora* 叶进行亚临界提取。提取得到的叶精油用 GC/MS 法进行成分分析, 并开展植物病原菌的抑制作用研究, 以比较不同提取溶剂获得的产物在化学组成成分和抑菌效果上的差异。结果表明: (1) 以正丁烷与乙醇(9:1)混合物为溶剂的亚临界萃取精油得率(3.67%)高于其他3种溶剂; (2) 在4种樟树叶精油样品中鉴定出的化合物分别为29、33、34和22种, 以醇类和烯烃类化合物为主, 其中共同鉴定出的化合物为18种; 所有样品均以龙脑为主要成分, 其相对含量分别为44.91%、43.85%、45.41%和50.44%; (3) 4种樟树叶精油对真菌病原菌水稻纹枯病原菌 *Rhizoctonia solani*、辣椒疫霉病原菌 *Phytophthora capsici* 和细菌病原菌青枯菌 *Ralstonia solanacearum*、胡萝卜软腐果胶杆菌 *Pectobacterium carotovorum* 均有不同程度的抑制作用, 四氟乙烷萃取得到的樟树叶精油抑菌效果最优。

关键词 樟树叶精油; 亚临界萃取; 气相色谱-质谱法; 龙脑; 抑菌

中图分类号: S792.23 文献标志码: A 文章编号: 2096-2053 (2022) 02-0052-08

Analysis of Chemical Constituents and Antibacterial Effect of Subcritical Extraction of Essential Oil from Leaves of *Cinnamomum camphora* with different Solvents

HU Shan¹ HUANG Hao¹ CHEN Jielian² LIANG Weiqu¹
LIAN Huiming² HOU Chen² LUO Huajian¹ XIE Peiwu²

(1. Dongguan Agricultural Science Research Institution, Dongguan, Guangdong, 523086, China; 2. Guangdong Academy of Forestry/Guangdong Provincial Key Laboratory of Silviculture, Protection and Utilization, Guangzhou, Guangdong 510520, China)

Abstract This study used four different solvents, i. e. propane, tetrafluoroethane, butane and mixture of butane with ethanol (9 : 1) for subcritical extraction of essential oil from *Cinnamomum camphora* leaves. The chemical components of four essential oil samples were analyzed by GC/MS, and their inhibition effects against two plant pathogens were surveyed. Our results suggested: (1) Subcritical extraction using mixture of butane with ethanol (9 : 1) had higher essential oil yield (3.67%) than other three solvents. (2) There were 29, 33, 34 and 22 compounds were identified respectively in four essential oil samples. There were 18 components were shared

* 基金项目: 广东省林业科技创新项目(2022KJCX006), 东莞市社会科技发展(重点)项目(2019507101198)。

第一作者: 胡珊(1981—), 女, 高级农艺师, 主要从事农业生物防治技术研究, E-mail: 29657166@qq.com。

通信作者: 谢佩吾(1982—), 女, 副研究员, 主要从事林木育种与森林培育工作, E-mail: xiepeiwu@sinogaf.cn。

by all the four samples and borneol was the highest in relative content, respectively (44.91%, 43.85%, 45.41% and 50.44%). (3) All the four essential oil samples had inhibition effect on tested pathogens, and the essential oil extracted with tetrafluoroethane showed the best antifugus and antibacteria activities.

Key words camphor leaves essential oil; subcritical extraction; GC/MS; borneol; antimicrobial effect

樟树 *Cinnamomum camphora*, 又名香樟、乌樟、樟木、芳樟等, 为樟科樟属常绿阔叶乔木, 原产于我国东南以及西南各地, 广西、广东、江西、福建、台湾、湖南、湖北、四川、云南等地均有分布^[1]。樟树皮、根、茎、叶均可提取精油, 该精油具有抑菌、止痛、抗癌、抗氧化等作用, 是香料香精、医药卫生等行业的重要原料^[2-5]。

樟树精油的提取方法有水蒸气蒸馏法、有机溶剂提取法、超临界二氧化碳萃取法、超声波辅助提取法、同时蒸馏萃取法、微波辅助水蒸馏法等^[6]。但亚临界萃取樟树精油的研究甚少。周海旭等^[7-8]研究表明以丁烷为溶剂, 提取温度为 65 ℃、解析温度 45 ℃、提取时间 40 min 为樟树精油亚临界萃取的最优工艺条件, 得率为 3.54%, 该精油对大肠杆菌 *Escherichia coli*、金黄色葡萄球菌 *Staphylococcus aureus*、绿脓杆菌 *Pseudomonas aeruginosa*、枯草杆菌 *Bacillus subtilis* 均有不同程度的抑制作用。

溶剂种类是影响提取效果的重要因素。根据相似相溶原理, 溶剂种类会影响提取物中化学成分的组成, 进而影响其应用效果。因此, 通过比较不同提取溶剂所得提取物化学成分和应用效果, 能够筛选出合适的提取溶剂种类^[9]。目前, 不同溶剂亚临界萃取樟树叶精油未有研究。本研究选取丙烷、四氟乙烷、正丁烷、正丁烷与乙醇混合溶剂亚临界萃取樟树叶, 分析 4 种溶剂亚临界提取樟树叶精油的化学成分; 选取常见的植物病原真菌水稻纹枯病原菌 *Rhizoctonia solani*、辣椒疫霉病原菌 *Phytophthora capsici* 和植物病原细菌青枯菌 *Ralstonia solanacearum*、胡萝卜软腐果胶杆菌 *Pectobacterium carotovorum* 作为供试菌, 研究 4 种不同樟树叶精油对植物病原菌的抑制作用, 为樟树叶的深加工技术和应用提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

新鲜樟树叶由广东华清园生物科技有限公司提供。培养基包括营养肉汤培养基(北京陆桥技

术股份有限公司); 马铃薯琼脂培养基(广东环凯微生物科技有限公司); CPG 培养基: 水解酪蛋白 1 g, 蛋白胨 10 g, 葡萄糖 5 g, 琼脂 20 g, 加水配制 1 L 培养基。供试植物病原菌包括真菌病原菌: 水稻纹枯病原菌、辣椒疫霉病原菌, 由华南农业大学植物病理系提供; 细菌病原菌: 青枯菌、胡萝卜软腐果胶杆菌, 购买于商城北纳创联生物科技有限公司。试验试剂包括丙烷(河南亚临界萃取技术研究院有限公司), 四氟乙烷(霍尼韦尔, 广州中冷贸易有限公司), 正丁烷(河南亚临界萃取技术研究院有限公司), 无水乙醇(西陇科学股份有限公司)。

1.2 试验设备

CBE-20 L 型亚临界萃取仪、CBEW-10 L 亚临界乙醇萃取仪、CBEW-5 L 亚临界水萃取仪(均由河南亚临界萃取技术研究院有限公司制造); 电子天平(赛多利斯科学仪器(北京)有限公司); YXQ-LS-75G 立式压力蒸汽灭菌锅(上海博讯实业有限公司医疗设备厂); ZHWY-211B 恒温培养振荡器(上海智城分析仪器制造有限公司); SW-CJ-1F 洁净工作台(苏州安泰空气技术有限公司); LRH-250 生化培养箱(上海一恒科学仪器有限公司); LAD-050FCI 空气能热泵烘干系统(广东瑞星新能源科技有限公司); WN-200+ 水冷全能粉碎机(广州市旭朗机械设备有限公司)等。

1.3 试验方法

1.3.1 工艺流程 新鲜樟树叶→烘干→粉碎→称重→滤袋盛装后置于萃取罐→亚临界流体萃取→溶剂分离回收→制得萃取物(计算得率)→抑菌作用测定。

1.3.2 不同溶剂亚临界萃取樟树叶 采用丙烷、四氟乙烷、正丁烷、正丁烷、正丁烷与乙醇混合溶剂(正丁烷与乙醇的体积比为 9 : 1) 4 种不同溶剂分别按表 1 中的工艺条件亚临界萃取樟树叶, 得到相应的初提物。

1.3.3 樟树叶精油的纯化 所得萃取物用 20 倍体积的无水乙醇溶解, 于 -18 ℃ 下冷冻 24 h, 过滤, 除去不溶的蜡质、纤维等成分, 滤液经旋转蒸发

表 1 不同溶剂的亚临界萃取工艺

Table 1 Subcritical extraction process with different solvents

萃取溶剂 Extraction solvent	料液比 Material to solvent	萃取温度 /℃ Extraction temperature	萃取压力 /Mpa Extraction pressure	萃取次数 Extraction repeats	萃取时间 /min Extraction time
丙烷 Propane	1 : 1.2	30	1.10	4	160
四氟乙烷 Tetrafluoroethane	1 : 1.2	34	0.95	4	160
正丁烷 Butane	1 : 1.2	45	0.46	4	160
正丁烷与乙醇混合溶剂 Butane + ethanol	1 : 1.2	45	0.46	4	160

(40 ℃, 0.01 MPa), 得樟树叶精油。计算得率^[10]。

樟树叶精油得率 (%) = 萃取得到的樟树叶精油质量 / 萃取的樟树叶质量 × 100。

1.3.4 樟树叶精油成分 GC-MS 分析^[11] (1) 色谱柱: SH-Rxi-5Sil MS 石英毛细管柱 (30 m × 0.25 mm, 0.25 μm); (2) 气相条件 (GC): 升温程序: 初始柱温为 70 ℃, 以 2 ℃ /min 速度升温至 160 ℃, 保持 2 min, 再以 10 ℃ /min 速度升温至 220 ℃保持 5 min, 全程共运行 51 min。进样量 0.5 μL, 采用分流的方式进样, 进样口温度 230 ℃。载气为氦气, 过柱载气恒流速为 1.19 mL/min。(3) 质谱条件 (MS): 离子源温度 200 ℃, 接口温度 250 ℃, 扫描范围 (m/z) 50~500。溶剂延迟 3 min。(4) 化合物鉴定: 将总离子流图中各峰经质谱扫描后得到质谱图, 通过标准质谱图库进行检索分析鉴定, 并采用峰面积归一定量法计算各组分在挥发油中的相对百分含量。

1.3.5 樟树叶精油抑菌作用 (1) 樟树叶精油配制: 无菌条件下, 将精油用少量二甲基亚砷 (DMSO) 溶解配制成 100 mg/mL 溶液。(2) 真菌病原菌抑制试验: 采用 PDA 平板对峙法^[12]。用 6 mm 打孔器打取真菌菌饼移入到 PDA 平板中央, 在距菌饼约 2 cm 处等距离呈等边三角形的 3 点打孔, 每个孔内加 100 μL 樟树叶精油溶液, 每处理 3 次重复, 以不加精油的处理为空白对照。28 ℃培养至空白对照菌落长满, 测量各处理的菌落直径, 计算抑制率。抑制率 (%) = (空白对照菌落直径 - 处理菌落直径) / 空白对照菌落直径 × 100。(3) 细菌病原菌抑制试验: 滤纸片琼脂扩散法^[13-14]。向灭菌好的培养皿中倒入约 20 mL 的灭菌好的琼脂培养基, 待其凝固后, 加入 100 μL 的细菌菌液 (浓度调整为 10⁸ CFU /mL), 均匀涂布后于 30 ℃细菌培养箱中静置 1 h。以平板中心点为中心, 呈

3 cm 等边三角形形状放置直径 6 mm 的灭菌圆形滤纸片, 用移液枪吸取 20 μL 樟树叶精油弥散于滤纸上, 每处理 3 次重复, 以不加精油的处理为空白对照。28 ℃恒温条件下黑暗培养, 24 h 后观察精油对胡萝卜软腐果胶杆菌的抑菌效果, 48 h 后观察精油对青枯菌的抑菌效果, 用十字交叉法测量抑菌圈直径 (d)。抑菌强度按以下标准判定: 当 d > 1.5 cm 时, 表示高度抑菌 (S); 当 1.0 cm ≤ d ≤ 1.5 cm 时, 表示中度抑菌 (I); 当 0 cm ≤ d < 1.0 cm 时, 表示低度抑菌 (R)^[15]。

1.4 数据处理方法

采用 SPSS17.0 及 Microsoft Excel 2007 软件对数据进行分析, 试验数据为平均值 ± 标准差。采用单因素方差分析 (One-way ANOVA), 以最小显著性差异法 (LSD) 多重比较检验不同处理之间的差异显著性 (α = 0.05)。

2 结果与分析

2.1 亚临界初提物的物理形态和精油得率

樟树叶亚临界初提物的物理形态及得率见表 2。4 种亚临界初提物状态各不相同, 有浑浊、沉淀和分层的现象, 所得初提物均有浓郁的龙脑香味。正丁烷与乙醇混合溶剂提取物有明显分层现象。采用正丁烷与乙醇混合溶剂萃取樟树叶精油, 乙醇在一定程度上增大了溶剂体系的极性, 提取物中醇溶性成分较多, 在初提物纯化为精油的处理中损失较少, 所以精油得率最高, 为 3.67%。

2.2 不同溶剂亚临界萃取樟树叶精油的化学成分分析结果

将樟树叶精油经 GC-MS 检测得到的总离子流图进行谱库匹配和人工鉴定, 使用峰面积归一化法确定各化学成分的相对含量, 分析结果见表 3。在丙烷、四氟乙烷、正丁烷、正丁烷与乙醇混合

表 2 樟树叶 4 种亚临界初提物的性状和精油得率

Table 2 Properties of subcritical primary and essential oil yield extracts from camphor leaves

溶剂 Solvent	性状 Character	得率 /% Yield
丙烷 Propane	深黄绿色、黏稠的均相液体膏状物	2.36
四氟乙烷 Tetrafluoroethane	黄绿色、黏稠的不均相液体膏状物	2.84
正丁烷 Butane	墨绿色固体膏状	3.22
正丁烷与乙醇混合溶剂 Butane + ethanol	墨绿色、黏稠的均相膏状物	3.67

表 3 4 种樟树叶精油的 GC/MS 分析结果

Table 3 GC / MS analysis results of four essential oils from camphor leaves

类别 Category	序号 Number	保留时间 /min Retention time	化合物 Compound	相对含量 /% Relative content			
				丙烷 Propane	四氟乙烷 Tetrafluoroethane	正丁烷 Butane	正丁烷与乙醇混合溶 剂 Butane + ethanol
烃类 Hydrocarbons	1	4.449	α - 侧柏烯 α -Thujene	0.08	0.08	0.07	0.06
	2	4.643	α - 蒎烯 α -Pinene	1.44	1.31	1.18	0.46
	3	5.033	莰烯 Camphene	0.88	0.84	0.73	0.34
	4	5.552	桉烯 Sabinene	0.36	0.39	0.31	0.18
	5	5.720	β - 蒎烯 β -Pinene	0.58	0.58	0.48	0.21
	6	5.921	β - 月桂烯 β -Myrcene	0.61	0.7	0.53	0.18
	7	6.494	β - 水芹烯 β -Phellandrene	0.16	0.17	0.14	0.17
	8	7.066	β - 伞花烃 β -Cymene	0.15	0.19	0.12	0.11
	9	7.238	D- 柠檬烯 D-Limonene	1.73	1.94	1.51	0.69
	10	9.347	2- 萜烯 2-Carene	-	-	0.16	-
	11	9.351	异松油烯 Terpinolene	0.17	0.18	0.17	-
	12	14.628	α - 松油烯 α -Terpineol	-	1.05	0.8	-
	13	25.120	咕巴烯 Copaene	0.29	0.26	0.14	-
	14	26.017	β - 榄香烯 β -Elemene	-	0.18	-	-
	15	27.686	石竹烯 Caryophyllene	-	-	-	2.48
	16	29.108	马兜铃烯 Aristolene	0.29	0.27	0.24	-
	17	29.894	α - 石竹烯 α -Caryophyllene	3.55	3.98	3.25	-

类别 Category	序号 Number	保留时间 /min Retention time	化合物 Compound	相对含量 /% Relative content			
				丙烷 Propane	四氟乙烷 Tetrafluoroethane	正丁烷 Butane	正丁烷与乙醇混合溶 剂 Butane + ethanol
醇类 Alcohols	18	31.911	4(14),11- 桉叶二烯 Eudesma-4(14),11-diene	-	-	-	0.8
	19	31.476	大根香叶烯 D Germacrene D	3.36	3.95	3.07	2.46
	20	31.915	α -古芸烯 α -Gurjunene	8.4	8.73	7.74	-
	21	32.365	大根香叶烯 B Germacrene B	2.58	2.8	2.41	1.74
	22	33.016	α -布藜烯 α -Bulnesene	0.35	0.40	-	-
	23	33.827	δ -杜松烯 δ -Cadinene	0.22	0.21	0.15	-
	24	36.031	α -愈创烯 α -Guaiene	0.87	-	0.39	-
	25	36.032	γ -榄香烯 γ -Elemene	-	0.55	0.79	-
	26	37.383	氧化石竹烯 Caryophyllene oxide	-	0.34	0.28	-
	27	38.682	γ -芹子烯 γ -Selinene	0.79	0.55	0.31	-
	28	7.353	桉叶油醇 Eucalyptol	1.33	1.56	1.18	1.16
	29	8.745	松油醇 Terpineol	0.16	0.2	0.15	0.12
	30	9.929	芳樟醇 Linalool	-	-	-	0.1
	31	13.417	龙脑 Borneol	44.91	43.85	45.41	50.44
	32	13.894	松油烯-4-醇 4-Terpineol	0.28	0.37	0.27	0.27
	33	14.648	α -松油醇 α -Terpineol	0.83	-	-	-
	34	37.173	匙叶桉油烯醇 Spathulenol	-	0.66	0.63	-
	35	39.884	6-芹子烯-4-醇 Selina-6-en-4-ol	16.6	14.57	15.26	0.86
	36	45.136	喇叭醇 Ledene alcohol	1.07	0.81	0.76	-
	37	50.447	叶绿醇 Phytol	-	0.56	4.60	29.45
酯类 Esters	38	3.02	2-辛基环丙烷十二酸甲酯 Cyclopropanedodecanoic acid, 2-octyl-, methyl ester	-	-	0.02	-
酮类 Ketones	39	19.612	左旋乙酸冰片酯 Bornyl acetate	2.02	2.33	0.81	2.05
	40	12.108	樟脑 Camphor	0.85	1.1	0.81	0.74

溶剂提取的 4 种樟树叶精油中分别鉴定出 29、33、34 和 22 种化合物，相对总含量分别为 94.91%、95.66%、94.87%、95.07%。4 种叶精油的化学组分均以醇类和烯烃类化合物为主，其中醇类有 7~8 种，相对含量在 63.68%~83.14% 之间；烯烃类有 12~22 种，相对含量在 9.77%~29.46% 之间；除此以外，还检测出酯类化合物 1~2 种，以及酮类化合物 1 种。

4 种樟树叶精油共同鉴定出的化合物有 18 种，其中 10 种烯烃类（ α -蒎烯、蒎烯、 β -蒎烯、 β -月桂烯、D-柠檬烯、大根香叶烯 B、大根香叶烯 D、 α -侧柏烯、桉烯、 β -水芹烯）、1 种芳香

烃类（ β -伞花烃）、5 种醇类（桉叶油醇、松油醇、龙脑、松油烯-4-醇、6-芹子烯-4-醇）、1 种酯类（左旋乙酸冰片酯）和 1 种酮类（樟脑）。龙脑是 4 种樟树叶精油的主要化学成分，相对含量在 43.85%~50.44% 之间，以正丁烷与乙醇混合溶剂提取的叶精油中龙脑的相对含量最高。

4 种樟树叶精油中除龙脑外，其他的一些化学成分也是医药、化工等行业重要的工业原料。不同溶剂提取物中非龙脑的化学成分含量在 49.56%~56.15% 之间，其中相对含量超过 1% 的化学成分有 7 种： α -蒎烯、D-柠檬烯、大根香叶烯 B、大根香叶烯 D、桉叶油醇、6-芹子烯-4-醇、

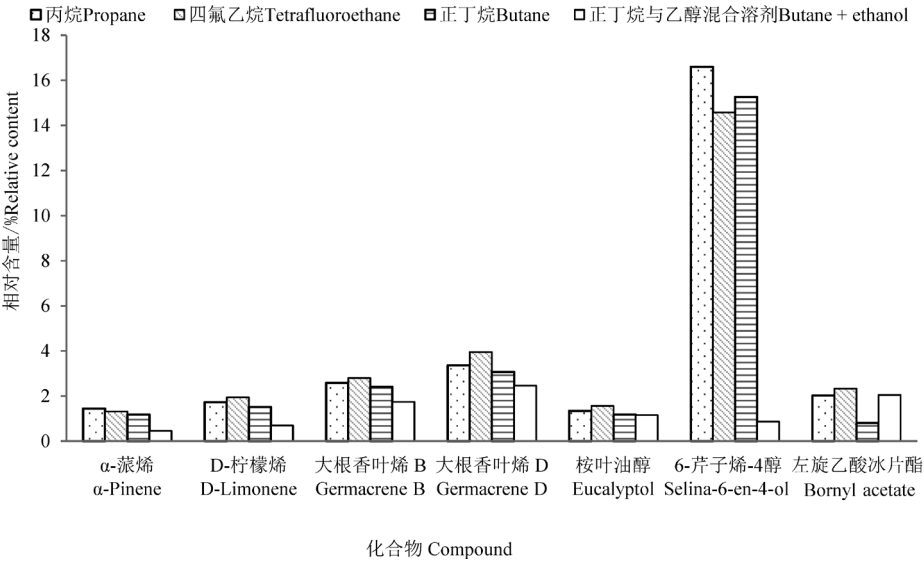


图 1 4 种樟树叶精油中相对含量超过 1% 的非龙脑化学成分

Fig. 1 Chemical constituents other than borneol in the four essential oils from camphor leaves with a relative content of more than 1%

表 4 4 种樟树叶精油对真菌病原菌的抑制作用

Table 4 Antibacterial effect of four essential oils from camphor leaves on fungal pathogens

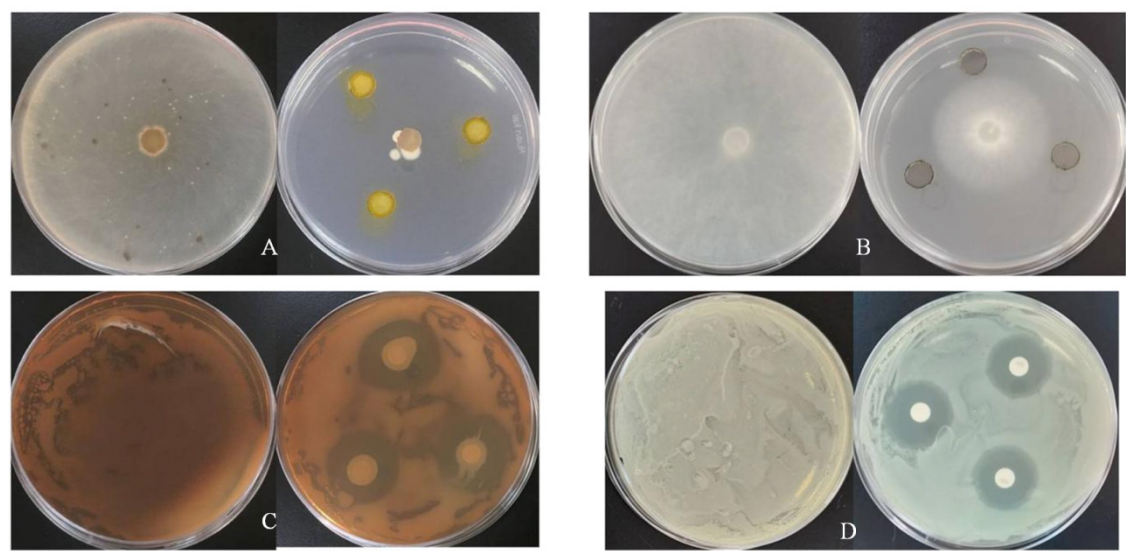
溶剂 Solvent	水稻纹枯病菌 <i>Rhizoctonia solani</i>		辣椒疫霉病菌 <i>Phytophthora capsici</i>	
	菌落直径 /cm Fungi colony diameter	抑制率 /% Inhibition rate	菌落直径 /cm Fungi colony diameter	抑制率 /% Inhibition rate
丙烷 Propane	2.37 ± 0.09b	73.37	5.25 ± 0.14a	41.01
四氟乙烷 Tetrafluoroethane	1.01 ± 0.10d	88.65	3.12 ± 0.11c	64.94
正丁烷 Butane	1.95 ± 0.18c	78.09	3.83 ± 0.09c	56.97
正丁烷与乙醇混合溶剂 Butane + ethanol	3.02 ± 0.02a	66.07	4.52 ± 0.18b	49.21

注：同列不同小写字母表示处理间差异显著（ $P<0.05$ ）。
Note: different lowercase letters in the same column mean significant differences at 0.05 level among treatments.

表 5 4 种樟树叶精油对细菌病原菌的抑制作用
Table 5 Antibacterial effect of four essential oils from camphor leaves on bacterial pathogens

溶剂 Solvent	青枯病菌 <i>Ralstonia solanacearum</i>		胡萝卜软腐果胶杆菌 <i>Pectobacterium carotovorum</i>	
	抑菌圈直径 /cm	抑菌强度	抑菌圈直径 /cm	抑菌强度
	Inhibitory zone diameter	Antibacterial property	Inhibitory zone diameter	Antibacterial property
丙烷 Propane	1.54 ± 0.09c	S	1.01 ± 0.12c	I
四氟乙烷 Tetrafluoroethane	2.72 ± 0.10a	S	2.33 ± 0.12a	S
正丁烷 Butane	1.23 ± 0.12c	I	1.33 ± 0.11c	I
正丁烷与乙醇混合溶剂 Butane + ethanol	1.92 ± 0.09b	S	1.98 ± 0.21b	S

注：同列不同小写字母表示处理间差异显著（ $P<0.05$ ）。S（ $d>1.5\text{ cm}$ ）表示高度抑菌；I（ $1.0\text{ cm}\leq d\leq 1.5\text{ cm}$ ）表示中度抑菌；R（ $0\text{ cm}\leq d<1.0\text{ cm}$ ）表示低度抑菌。
Note: different lowercase letters in the same column mean significant differences at 0.05 level among treatments. S ($d>1.5\text{ cm}$) indicates high antibacterial property; I ($1.0\text{ cm}\leq d\leq 1.5\text{ cm}$) indicates moderate antibacterial property; R ($0\text{ cm}\leq d<1.0\text{ cm}$) indicates low antibacterial property.



注：A. 水稻纹枯病菌，B. 辣椒疫霉病菌，C. 青枯病菌，D. 胡萝卜软腐果胶杆菌。每幅图左培养皿为添加精油平板，右培养皿为对照。
Note: A. *Rhizoctonia solani*; B. *Phytophthora capsici*; C. *Ralstonia solanacearum*; D. *Pectobacterium carotovorum*. In each image, the left petridish was a plate added with essential oils, the right petridish was a blank plate control.

图 2 四氟乙烷亚临界萃取樟树叶精油的抑菌效果

Fig. 2 The antibacterial effect of essential oil from camphor leaves extracted with tetrafluoroethane

左旋乙酸冰片酯，结果如图 1 所示。

2.3 不同溶剂亚临界萃取樟树叶精油的抑菌作用

4 种樟树叶精油对真菌病原菌和细菌病原菌的抑制作用如表 4、表 5 和图 2 所示，对真菌类病原菌水稻纹枯病菌的抑制率在 66.07%~88.65% 之间，辣椒疫霉病菌的抑制率在 41.01%~64.94% 之间；对细菌类病原菌青枯病菌的抑菌圈直径在 $1.23\pm 0.12\sim 2.72\pm 0.10\text{ cm}$ 之间，除正丁烷提取的

樟树叶精油对该菌表现中度抑菌，其余 3 种精油均表现高度抑菌；胡萝卜软腐果胶杆菌的抑菌圈直径在 $1.01\pm 0.12\sim 2.33\pm 0.12\text{ cm}$ 之间，四氟乙烷、正丁烷与乙醇混合溶剂 2 种溶剂提取的樟树叶精油对该菌高度抑菌，其余 2 种精油表现为中度抑菌。4 种樟树叶精油对两类病原菌的抑菌作用之间存在显著差异，其中，以四氟乙烷为溶剂亚临界提取的樟树叶精油的抑菌效果最优，对两类病原

菌均表现良好的抑菌作用,对真菌类病原菌水稻纹枯病菌和辣椒疫霉病菌的抑制率分别为 88.65%、64.94%;对细菌类病原菌青枯病菌和胡萝卜软腐果胶杆菌的抑菌圈直径分别为 2.72 ± 0.10 cm、 2.33 ± 0.12 cm。

3 结论与讨论

本研究以樟树叶为原料,采用丙烷、四氟乙烷、正丁烷、正丁烷与乙醇混合溶剂 4 种不同溶剂分别进行亚临界萃取得 4 种樟树叶精油。利用 GC/MS 法分析 4 种樟树叶精油,共鉴定出 40 种化合物,成分组成以醇类、烯烃类两大类化合物为主,其中醇类有 7~8 种,相对含量在 63.68%~83.14% 之间;烯烃类有 12~22 种,相对含量在 9.77%~29.46% 之间。正丁烷与乙醇混合后,烯烃类物质种类和相对含量明显减少,醇类物质的相对含量明显增加,叶绿醇、龙脑相对含量增加最为明显。添加极性强的乙醇作混合夹带剂,在一定程度上增大溶剂体系的极性,提取物中醇溶性成分较多,这与王甜等^[16]利用正丁烷+乙醇(夹带剂)亚临界萃取滁菊精油的研究结果一致。研究中以正丁烷为溶剂亚临界萃取樟树叶精油的化学成分与周海旭等^[8]利用正丁烷亚临界萃取的樟树叶精油的化学成分有差异性,这可能与樟树叶种类和种植区域不同有关。文献中樟树叶采集自湖南省长沙市,主要化学成分为桉油精(24.74%),研究中樟树叶采集自广东省平远县,主要化学成分龙脑(45.41%)。4 种樟树叶精油主要化学成分均为龙脑,相对含量在 43.85%~50.44% 之间,以正丁烷与乙醇混合溶剂提取的精油中龙脑相对含量最高。

4 种樟树叶精油对真菌病原菌和细菌病原菌均有不同程度的抑制作用。这与丁雄等^[17]研究龙脑樟鲜叶挥发油对细菌、酵母菌和霉菌均有一定的抑菌作用的结果一致。其中四氟乙烷萃取的樟树叶精油抑菌效果最优,对两类病原菌均表现良好的抑菌作用。本研究首次以丙烷、四氟乙烷、正丁烷与乙醇混合溶剂亚临界萃取樟树叶,并研究 4 种樟树叶精油对植物病原菌的抑制作用,为樟树叶的深加工提供新技术,同时也为樟树叶精油在各领域的广泛应用提供参考依据。

参考文献

- [1] 郑红富,廖圣良,范国荣,等.芳樟精油的开发与利用研究进展[J].广州化工,2019,47(5): 17-19, 108.
- [2] CHEN S L, ZHENG T F, YE C L, et al. Algicidal properties of extracts from *Cinnamomum camphora* fresh leaves and their main compounds[J]. Ecotoxicology and Environmental Safety, 2018, 163: 594-603.
- [3] LI Y, ZHOU H, LI Z. Isolation and Identification of Lignans from *Cinnamomum camphora* and Its Antibacterial Activity[J]. Journal of Chinese Institute of Food Science and Technology, 2018, 18(8): 267-273.
- [4] 胡冬英,徐大满,储梦龙,等.樟树精油主要化学成分概述[J].林产工业,2019,56(11): 61-64.
- [5] 伍平香.樟树叶中木脂素提取纯化及其体外抗肝癌活性研究[D].长沙:中南林业科技大学,2018.
- [6] 梅国栋.梅片树中右旋龙脑的提取、纯化及 β -环糊精包合研究[D].广州:华南理工大学,2016.
- [7] 周海旭.樟树叶中多酚及挥发油的提取、分离及其成分分析[D].长沙:中南林业科技大学,2013.
- [8] 周海旭,李忠海,付湘晋,等.亚临界流体提取樟叶精油及其抑菌活性的研究[J].中药材,2016,39(6): 1357-1360.
- [9] 景谦平,尉芹,董娟娥.影响植物有效成分提取的因素评述[J].西北林学院学报,2001,16(3): 29-33.
- [10] 陈新强,连辉明,陈杰连,等.龙脑型阴香叶片精油得率影响因素研究[J].林业与环境科学,2020,36(3): 18-23.
- [11] 黄浩,连辉明,何波祥等.龙脑型阴香叶片精油及其主要化学成分含量动态变化研究[J].林业与环境科学,2019,35(6): 22-26.
- [12] 胡珊,黄皓,罗诗,等.4种植物精油对荔枝主要病害抑制作用研究[J].中国南方果树,2015,44(5): 63-65.
- [13] 侯敏娜,成昕玥,赵明光,等.浙贝母挥发油提取工艺优选及抑菌活性实验研究[J].西部林业科学,2019,48(1): 87-92.
- [14] 程敏,顾钢,肖顺,等.芽孢杆菌(*Bacillus*) FJSC01对烟草土传病原菌的拮抗作用及其鉴定[J].福建农林大学学报(自然科学版),2021(2): 164-169.
- [15] 李凤清.植物精油的抑菌评价及其应用[D].南京:南京师范大学,2014.
- [16] 王甜,赵明月,何保江,等.滁菊亚临界净油挥发性和半挥发性成分分析及卷烟加香效果[J].烟草科技,2015,48(7): 46-52.
- [17] 丁雄,苏健裕,石磊,等.龙脑樟鲜叶挥发油成分及其抗菌活性的研究[J].食品工业科技,2012,33(18): 167-171.