

## 三种植物精油化学成分分析及体外抑菌活性研究

牛彪<sup>1△</sup>, 金川<sup>2△</sup>, 梁剑平<sup>1</sup>, 尚若锋<sup>1</sup>, 郝宝成<sup>1</sup>, 王学红<sup>1</sup>, 杨珍<sup>1</sup>, 刘宇<sup>1\*</sup>

(1. 中国农业科学院兰州畜牧与兽药研究所, 农业部兽用药物创制重点实验室, 甘肃省新兽药工程重点实验室, 甘肃兰州 730050; 2. 定西市安定区畜牧兽医局白碌畜牧兽医站, 甘肃定西 743026)

**摘要:**为了研究肉桂、山苍子、迷迭香植物精油化学成分及体外抑菌活性, 采用滤纸片法测定抑菌圈直径, 通过肉汤稀释法和点种法测定其最小抑菌浓度(MIC)、最小杀菌浓度(MBC), 并通过气相-质谱法(GC-MS)测定各植物精油的成分及含量。结果显示, 肉桂精油浓度在 1.118% 时就可将 5 种病原菌全部杀灭; 山苍子精油浓度在 4.75% 时可将 *S. albus*、*S. aureus*、*E. coli*、*C. albicans* 杀灭, 而对 *P. aeruginosa* 的杀灭浓度大于 9.5%; 迷迭香精油在浓度 9.5% 可将 *S. albus*、*S. aureus*、*C. albicans* 杀灭, 而对 *E. coli*、*P. aeruginosa* 的杀灭浓度大于 9.5%。GC-MS 结果显示, 肉桂精油主要组分为肉桂醛(83.57%)、2'-甲氧基肉桂醛(5.96%), 香豆素(2.90%); 山苍子精油包括柠檬醛(21.45%)、双戊烯(21.88%)、(Z)-3,7-二甲基-2,6-辛二烯醛(20.96%); 迷迭香精油主要含有  $\alpha$ -蒎烯(24.09%)、桉树脑(25.81%)、左旋樟脑(25.09%)、异龙脑(9.28%)。结果表明, 3 种植物精油具有广谱的抑菌活性, 能够为开发新型、绿色、安全、高效的抗生素替代品提供理论依据。

**关键词:**植物精油; 滤纸片法; 最小抑菌浓度; 最小杀菌浓度; 气相-质谱法

DOI:10.16437/j.cnki.1007-5038.2019.12.004

中图分类号: S853.7

文献标识码: A

文章编号: 1007-5038(2019)12-0018-06

近年来, 抗生素耐药性及药物残留的日益加重, 严重影响着食品安全及人类健康, 已成为全球性话题。植物精油(plant essential oil), 是存在于植物中的一类具有芳香气味、可随水蒸气蒸馏出来而又与水不相混溶的挥发性油状成分的总称, 是天然植物和香料的精华, 是植物的次生代谢产物<sup>[1]</sup>。全球精油品种 3 000 种以上<sup>[2]</sup>, 具有商业价值的多达数百种。植物精油具有很强的广谱抑菌杀菌、抗氧化、抗炎症和促生长的作用<sup>[3-6]</sup>。此外, 精油在肠道菌群平衡调节、新型饲料添加剂产品的研发、养殖场环境控制具有可期待性<sup>[7]</sup>。因而, 使得越来越多的研究人员从天然植物中寻找抗生素替代品, 植物精油有望成为一种可缓解全球抗菌药物危机的天然抗菌剂<sup>[8]</sup>, 得到了广大科研工作者的青睐, 其对常见微生物的杀灭性及在兽药耐药性及残留方面均比化学药品有显著的优越性, 有广泛的开发利用前景。肉桂(*Cinnamomum cassia*)属于樟科植物<sup>[9]</sup>, 其精油是从桂枝、桂皮等部位通过水蒸气蒸馏提取所得; 山苍子(*Litsea cubeba*)又名山鸡椒、山苍树、山姜子、木香子、木姜子<sup>[10]</sup>, 是樟科、木姜子属落叶灌木或小乔

木, 精油是从其果实、花、叶及树皮中提炼的; 迷迭香(*Rosmarinus officinalis*)是双子叶植物纲、唇形科、迷迭香属植物灌木<sup>[11]</sup>, 迷迭香精油可通过水蒸气蒸馏法从其花和叶子中提取的。本研究主要通过测定 3 种植物精油对常见 5 种病原微生物体外抑菌活性, 分析其化学成分, 为植物精油在基础兽药产品中的研究开发提供理论支持。

### 1 材料与方法

#### 1.1 材料

1.1.1 主要试剂 肉桂精油(批号: 20170815)、山苍子精油(批号: 20170803)、迷迭香精油(批号: 20170921), 广州花神生物科技有限公司产品; 改良马丁琼脂培养基、改良马丁培养基, 海博生物科技有限公司产品; NB 肉汤、MHA 培养基、MHB 培养基, 北京奥博星生物技术有限责任公司产品; 二甲基亚砜(DMSO), 莱阳化工实验厂产品; 正己烷(色谱级), 天津市科密欧化学试剂有限公司产品; 自制滤纸片(d=6 mm)经 121℃ 高压烘干后待用, 试验中用到的其他试剂均为分析纯。

1.1.2 主要仪器 HF-Safe 生物安全柜, 上海力申

收稿日期: 2019-01-07

基金项目: 中国农业科学院 2018 年重大产出科研选题项目(CAAS-ZDXT2018008); 兰州市科技计划项目(2018-1-114)

作者简介: 牛彪(1990-), 男, 硕士研究生, 主要从事兽用天然药物的开发与应用。△同等贡献作者, \*通讯作者

科学仪器有限公司产品;恒温培养振荡器,天津欧诺仪器股份有限公司产品;Agilent 6890/5973 气相色谱仪,美国安捷伦科技公司产品;BS-90-D 培养皿,兰州博乐知生物科技有限公司;LDZX-50KBS 立式压力蒸气灭菌器,上海申安医疗器械厂产品。

1.1.3 菌株 大肠埃希菌(*E. coli*, CICC10389)、白色念珠菌(*C. albicans*, CICC1965)、金黄色葡萄球菌(*S. aureus*, CICC10384)、白色葡萄球菌(*S. albus*, CICC10897)、铜绿假单胞菌(*P. aeruginosa*, CICC10419),中国农业科学院兰州畜牧与兽药研究所农业部兽用药物创制重点实验室和甘肃省新兽药工程重点实验室保存。

## 1.2 方法

1.2.1 菌悬液的制备 将低温斜面保存的菌种先置于常温约 30 min 后,用接种环划线将白色念珠菌接种至改良马丁琼脂培养基,置于 28℃ 恒温培养箱培养 48 h,将其余 4 种菌株接种至 MHA 培养基于 37℃ 恒温培养箱培养 24 h,从上述培养基上挑取单菌落用无菌生理盐水稀释至 0.5 麦氏单位的菌悬液( $1 \times 10^8$  CFU/mL ~  $5 \times 10^8$  CFU/mL),用倍比稀释法稀释至所需浓度( $1 \times 10^6$  CFU/mL ~  $5 \times 10^6$  CFU/mL)<sup>[12]</sup>,备用。

1.2.2 抑菌圈的测定 取菌悬液 150  $\mu$ L,用涂布棒均匀涂于平板中,用无菌镊子夹取滤纸片于培养基表面,采取 3 个试验组和 1 个阴性对照组,使得各滤纸片间距离相等。然后在试验组滤纸片上加上 5  $\mu$ L 精油,阴性对照组加入 5  $\mu$ L 无菌生理盐水,缓慢盖住平皿,白色念珠菌 28℃ 培养 48 h,其余细菌放在 37℃ 恒温培养 24 h,用游标卡尺测以上精油对上述病原菌的抑菌圈直径<sup>[13]</sup>。

1.2.3 MIC 和 MBC 的测定 由于植物精油与培养液不相溶,采用 DMSO 为助溶剂,根据文献显示<sup>[11]</sup>,DMSO/植物精油 = 1 : 19 时 DMSO 对待测菌的生长无影响,将其称为精油乳剂。按上述比例各先配制精油乳剂 5 mL,然后采用肉汤稀释法及点种法来测定 MIC 及 MBC,具体为取一系列试管,分别标号 1,2,3...,10,将已灭菌试管排成 5 排于超净台,每一排 9 支试管分别编号 1,2,...9 号,向前 4 排每支试管中加入 1 mL MHB 液体培养基,第 5 排每支试管中加入 1 mL 改良马丁培养基,分别吸取肉桂精油乳剂 1 mL 于 5 排中的第 1 号试管,连续吹打混匀后采用倍比稀释法取 1 mL 至每排中第 2、3、4、5、6 号试管制成不同浓度的肉桂精油乳剂,再向其中每支试管中加入 3.8 mL 相对应的液体培养基,每一排对应一个菌种并依次标注,然后取 200

$\mu$ L 菌悬液于相应的试管中,从而每排前 6 号试管中含有的肉桂精油浓度分别为 9.5%、4.75%、2.375%、1.188%、0.594%、0.297%,第 7 号不加乳化剂作为阳性对照,8、9 号不加菌液作为液体培养基及空白对照。试验重复 3 次,将前 4 排试验完的试管放入 37℃ 恒温培养振荡器中培养 24 h,第 5 排试管放入 28℃ 恒温振荡培养箱中培养 48 h。到相应时间后从各试管中取 200  $\mu$ L 于已准备好的相应培养基,用涂布棒涂匀后再培养相应的时间后数菌落个数,平皿中菌落数  $\leq 5$  对应的肉桂精油浓度为该菌的 MIC,将各试管继续在相应的温度下振荡培养 5 d,按上述方法接种后未出现菌落生长的最小浓度为该菌的 MBC。同理,测得山苍子、迷迭香精油的 MIC 和 MBC。

1.2.4 3 种精油成分分析 结合文献<sup>[14-16]</sup>稍加修改,并进一步优化色谱条件,其中石英毛细管柱(0.25 mm  $\times$  50 m),载气:高纯氦气,纯度  $\geq 99.999\%$ ;流速 1.0 mL/min;进样量 1  $\mu$ L,离子源温度 230℃,电离电压:70 eV;四级杆温度:150℃,保持 5 min;扫描模式:全扫描;扫描范围:50 m/z ~ 650 m/z 为相同条件。

肉桂精油 GC 条件:分流比 50 : 1,进样口温度:250℃,升温程序:初始温度 50℃,以 5℃/min 速率升至 200℃,以 10℃/min 速率升至 280℃,保持 1 min。山苍子精油 GC 条件:分流进样,分流比 100 : 1,进样口温度:250℃,升温程序:初始温度 50℃,以 3℃/min 速率升至 180℃,以 4℃/min 速率升至 230℃,保持 1 min。迷迭香精油 GC 条件:分流进样,分流比 50 : 1,进样口温度:250℃,升温程序:初始温度 80℃,保持 1 min,以 3℃/min 速率升至 200℃,保持 10 min,以 5℃/min 速率升至 230℃,保持 1 min。

1.2.5 数据统计分析 对体外抑菌活性试验,进行 3 次平行,数据采用 SPSS 22 以  $\bar{x} \pm SD$  表示。对采集得到的质谱图用美国国家科学技术研究所的 NIST 质谱库 08 版(NIST08.L)进行匹配,根据匹配度对化合物进行定性,用峰面积归一化法计算样品中各成分的相对百分含量。

## 2 结果

### 2.1 抑菌圈测定结果

依据美国临床实验室标准化委员会(NCCLS)颁布的《抗微生物药物敏感性试验执行标准》判断精油对药物的敏感性<sup>[17]</sup>,从表 1 可知,肉桂精油对 5 种常见病原菌均表现出很强的抑制效果,均为最敏感;山苍子精油对 *S. albus* 表现出中度敏感,迷迭香相

对较弱;山苍子精油对 *E. coli* 表现出中度敏感,迷迭香精油无抑制作用;迷迭香精油对 *P. aeruginosa* 表现出中度敏感,山苍子精油无抑制作用;山苍子精油对 *S. aureus* 表现出很强抑制作用,为最敏感,迷

迭香精油次之,为中度敏感;山苍子、迷迭香精油对 *C. albicans* 亦表现为中度敏感。阴性对照未出现抑制效果。

表1 3种精油抑菌圈直径

Table 1 Diameters of bacteriostasis circles of three essential oils

精油 Essential oil	抑菌圈直径/mm Inhibition zone diameter				
	白色葡萄球菌 <i>S. albus</i>	大肠埃希菌 <i>E. coli</i>	绿脓杆菌 <i>P. aeruginosa</i>	金黄色葡萄球菌 <i>S. aureus</i>	白色念珠菌 <i>C. albicans</i>
肉桂 <i>Cinnamomum cassia</i>	32.67±0.82***	28.28±0.18***	25.46±0.35***	39.03±0.76***	34.37±0.32***
山苍子 <i>Litsea cubeba</i>	18.09±0.79**	12.38±0.21**	—	21.10±0.50***	14.91±0.62**
迷迭香 <i>Rosmarinus officinalis</i>	9.77±0.47*	—	10.20±0.30**	11.67±0.55**	10.11±0.27**

注:\*\*\*表示最敏感,\*\*表示中度敏感,\*表示低度敏感,—表示无抑制作用。

Note:\*\*\* Most sensitive,\*\* Moderately sensitive,\* Low sensitive,—No inhibition.

## 2.2 MIC和MBC测定结果

按照“1.2.3”的内容,得出3种精油对5种常见病原菌的MIC和MBC,7号阳性对照管出现培养液浑浊,有菌落生长,8、9号阴性对照管培养液澄清,无菌落生长(表2、表3)。从表2、表3看出,3种植物精油对5种常见微生物有不同程度的抑制作用,肉桂精油在浓度小于9.5%就可将5种病原菌全部杀灭;对 *S. albus* 来说,杀灭效果最好的为肉桂,杀灭浓度在0.594%~1.118%之间,山苍子精油次之,相对较弱的为迷迭香精油,杀灭浓度在4.75%~9.5%之间;肉桂精油对 *E. coli* 有很强的杀灭作用,

杀灭浓度小于0.297%,迷迭香次之,杀灭浓度为1.188%~2.375%,山苍子精油作用相对较弱,大于9.5%;肉桂精油对 *P. aeruginosa* 表现出很强的杀灭效果,杀灭浓度小于0.297%,其余2种植物精油,杀菌浓度均大于9.5%;对 *S. aureus* 杀灭效果最好的为肉桂精油,杀灭浓度小于0.297%,其余2种精油的杀灭浓度在2.375%~4.75%之间;肉桂精油对 *C. albicans* 呈现出良好的杀灭作用,杀灭浓度小于0.297%,山苍子次之,杀灭浓度为1.188%~2.375%,相对较弱的为迷迭香精油,杀灭浓度在4.75%~9.5%之间。

表2 3种精油的最小抑菌浓度

Table 2 Minimum inhibitory concentrations of three essential oils

精油 Essential oil	MIC/%				
	白色葡萄球菌 <i>S. albus</i>	大肠埃希菌 <i>E. coli</i>	绿脓杆菌 <i>P. aeruginosa</i>	金黄色葡萄球菌 <i>S. aureus</i>	白色念珠菌 <i>C. albicans</i>
肉桂 <i>Cinnamomum cassia</i>	0.594~1.188	<0.297	<0.297	<0.297	0.29~0.594
山苍子 <i>Litsea cubeba</i>	1.188~2.375	>9.5	>9.5	0.594~1.188	1.18~2.375
迷迭香 <i>Rosmarinus officinalis</i>	4.75~9.5	0.594~1.188	>9.5	1.188~2.375	2.375~4.75

表3 3种精油的最小杀菌浓度

Table 3 Minimum bactericidal concentrations of three essential oils

精油 Essential oil	MBC/%				
	白色葡萄球菌 <i>S. albus</i>	大肠埃希菌 <i>E. coli</i>	绿脓杆菌 <i>P. aeruginosa</i>	金黄色葡萄球菌 <i>S. aureus</i>	白色念珠菌 <i>C. albicans</i>
肉桂 <i>Cinnamomum cassia</i>	0.594~1.188	<0.297	<0.297	<0.297	<0.297
山苍子 <i>Litsea cubeba</i>	2.375~4.75	>9.5	>9.5	1.188~2.375	1.18~2.375
迷迭香 <i>Rosmarinus officinalis</i>	4.75~9.5	1.18~2.375	>9.5	1.188~2.375	4.75~9.5

## 2.3 3种植物精油抗菌成分分析

### 2.3.1 肉桂精油GC-MS分析

用气相色谱-质谱联用仪对肉桂精油成分进行分析,得到肉桂精油总离子流图(图1)共分离出30个峰,针对主要色谱峰加以确认,共鉴定出14种化合物,其含量占色谱总

流出峰相对百分含量的99.36%(表4)。从已鉴别出的14种化合物中,含量最高的肉桂醛,相对含量占83.57%,其良好的抑菌效果,与肉桂醛的含量密切相关<sup>[17]</sup>,其次为2'-甲氧基肉桂醛(5.96%),香豆素(2.90%),乙酸桂酯(2.62%),苯丙醛(0.83%),

苯甲醛(0.75%),占已鉴别出的化学成分含量的97.25%。

2.3.2 山苍子精油 GC-MS 分析 山苍子精油的 GC-MS 化学成分总离子流图见图 2,共分离出 30 个峰,可鉴别出 17 中物质,占色谱总流出峰相对百分含量的 98.65%(表 5)。其主要杀菌成分为柠檬醛<sup>[19]</sup>(21.45%),另外含有双戊烯(21.88%)、(Z)-3,7-二甲基-2,6-辛二烯醛(20.96%)、1,4-桉叶素(9.78%)等成分。

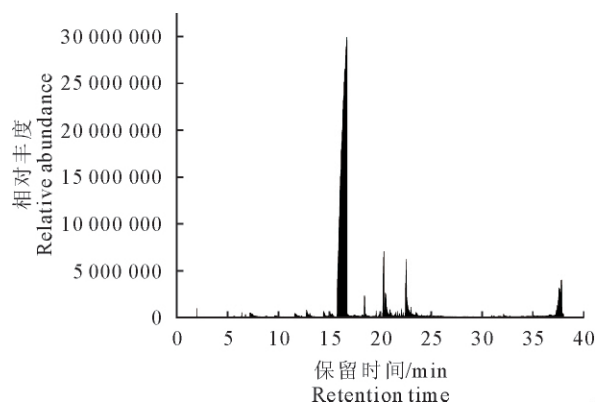


图 1 肉桂精油化学成分总离子流图

Fig. 1 Total on flow chart of chemical constituents of *Cinnamomum cassia* essential oil

表 4 肉桂精油化学成分

Table 4 Chemical constituents of *Cinnamomum cassia* essential oil

峰号 Peak No	保留时间/min Retention Time	化合物名称 Compound Name	相对含量/% Relative Content
1	7.473	苯甲醛 Benzaldehyde	0.75
2	9.991	水杨醛 Salicylaldehyde	0.32
3	11.784	苯乙醇 Phenethyl alcohol	0.58
4	12.951	苯丙醛 Phenylpropyl aldehyde	0.83
5	15.171	邻甲氧基苯甲醛 o-Anisaldehyde	0.37
6	16.352	肉桂醛 Cinnamaldehyde	83.57
7	17.554	肉桂醇 Cinnamyl alcohol	0.21
8	18.470	$\alpha$ -蒎烯 Alpha-pinene	0.74
9	19.570	1-石竹烯 l-Caryophyllene	0.14
10	20.297	乙酸桂酯 Cinnamyl acetate	2.62
11	20.582	香豆素 Coumarin	2.90
12	21.675	没食子酸 gallic acid	0.12
13	22.068	紫萜烯 Cadinene	0.25
14	23.026	2'-甲氧基肉桂醛 2'-Methoxycinnamaldehyde	5.96

2.3.3 迷迭香精油 GC-MS 分析 迷迭香精油的 GC-MS 化学成分总离子流图见图 3,共分离出 40

个峰,通过鉴定可识别出 18 种化合物,占色谱总流出峰相对百分含量的 99.07%(表 6)。其主要包括  $\alpha$ -蒎烯(24.09%)、桉树脑(25.81%)、左旋樟脑(25.09%)、异龙脑(9.28%)及少数萜类、烯类、脂肪类物质组成,这些物质具有明显的消炎、镇痛、抗菌的功效,构成了某些中药的主要有效成分<sup>[20]</sup>。

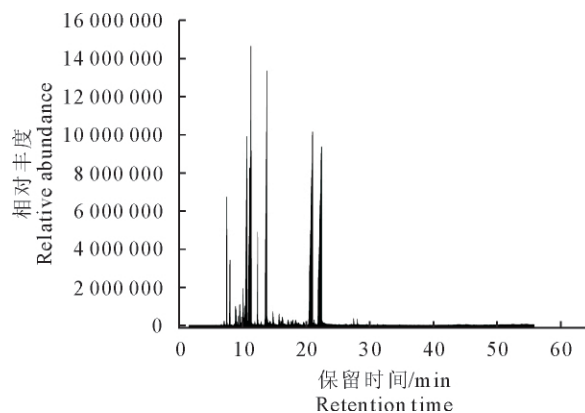


图 2 山苍子精油化学成分总离子流图

Fig. 2 Total ion flow chart of chemical constituents in essential oil of *Litsea cubeba*

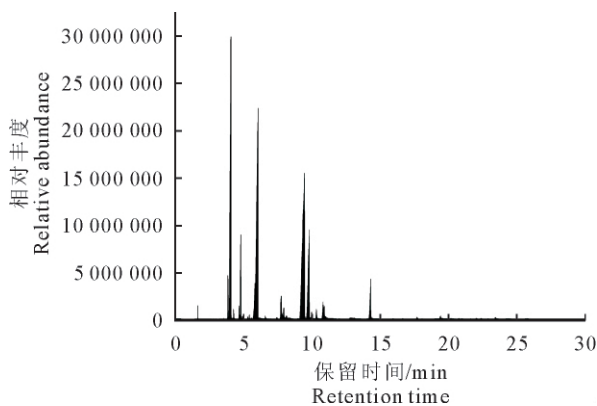


图 3 迷迭香精油化学成分总离子流图

Fig. 3 Total ion flow chart of chemical constituents of *Rosmarinus officinalis* essential oil

### 3 讨论

与传统的化学药物杀菌剂相比,天然植物精油具有广谱抑菌效果、毒性小、利用率高的优势,逐渐受到越来越多研究者的关注。在“禁抗、限抗”的新时代背景下,植物精油满足社会的需求,其含有的各种生物活性成分将成为新型药物研发不可或缺的一部分,但由于植物精油提取率相对较低,导致价格相对较高。植物精油提取工艺的优化是开发精油类制剂前提,在最优的条件下获得品质最好的精油是保证精油发挥临床疗效及安全的重要基础。因此,植物精油质量是制约精油类制剂研发的关键所在。所以,植物精油类制剂的研发在我国还处于萌芽阶段,

在响应社会需求的前提下,期待越来越多的精油类 制剂问世。

表5 山苍子精油化学成分

Table 5 Chemical constituents of *Litsea cubeba* essential oil

峰号 Peak No	保留时间/min Retention time	化合物名称 Compound name	相对含量/% Relative content
1	7.540	$\alpha$ -蒎烯 $\alpha$ -pinene	2.38
2	8.022	樟脑萜 Camphene	1.34
3	8.973	顺-1-异丙基-4-甲基环己烷 cis-1-isopropyl-4-methylcyclohexane	0.92
4	9.299	4-甲基-1-(1-甲基乙基)-环己烯 4-methyl-1-(1-methylethyl)-Cyclohexene,	0.20
5	9.604	月桂烯 Myrcene	0.61
6	10.120	$\alpha$ -水芹烯 $\alpha$ -Phellandrene	1.08
7	10.616	1,4-桉叶素 1,4-Cineole	9.78
8	11.213	双戊烯 Dipentene	21.88
9	12.388	萜品烯 g-Terpinene	2.23
10	13.759	庚烷 Heptane	13.56
11	14.845	小茴香醇 Fenchol	0.49
12	15.775	1-甲基-4-(1-甲基乙基)-3-环己烯-1-醇 1-methyl-4-(1-methylethyl)-3-Cyclohexen-1-ol	0.44
13	16.291	$\beta$ -松油醇 $\beta$ -terpineol	0.55
14	17.194	DL-异冰片醇 DL-Isoborneol	0.30
15	18.552	萜品油烯 Terpinolene	0.48
16	20.812	(Z)-3,7-二甲基-2,6-辛二烯醛 (z)-3,7-dimethylocta-2,6-Dienal	20.96
17	22.258	柠檬醛 Citral	21.45

表6 迷迭香精油化学成分

Table 6 Chemical Constituents of *Rosmarinus officinalis* essential oil

峰号 Peak No	保留时间/min Retention time	化合物名称 Compound name	相对含量/% Relative content
1	3.581	1,6-二甲基-4-辛烯(6S,4E) 1,6-Dimethyl-4-Octene	0.02
2	4.050	$\alpha$ -蒎烯 $\alpha$ -pinene	24.09
3	4.294	樟脑萜 Camphene	0.28
4	4.797	$\beta$ -蒎烯 $\beta$ -pinene	3.92
5	5.435	3-萜烯 3-Carene	0.29
6	5.991	桉树脑 Cineole	25.81
7	6.616	萜品烯 g-Terpinene	0.15
8	7.458	1,3,3-三甲基-二环[2.2.1]庚-2-酮 1,3,3-trimethyl-2-Norbornanon	0.09
9	7.885	1-亚甲基-4-(1-甲基乙基)-环己烷, Cyclohexane, 1-methylene-4-(1-methylethenyl)	3.14
10	9.372	左旋樟脑 l-Camphor	25.09
11	9.779	异龙脑 DL-Isoborneol	9.28
12	9.997	2-莰醇 L(-)-Borneol	0.26
13	10.350	4-萜烯醇 Terpinen-4-ol	0.58
14	10.913	硫代异氰酸环戊酯 isothiocyanato-Cyclopentane,	2.25
15	12.984	4-异丙基苯甲醛 4-Isopropylbenzaldehyde	0.28
16	14.301	乙酸异龙脑酯 Isobornyl acetate	2.83
17	19.562	肉桂酸甲酯 Methyl cinnamate	0.56
18	23.499	d-紫萜烯 d-Cadinene	0.15

#### 参考文献:

- [1] 罗永明. 中药化学成分提取分离技术与方法[M]. 上海: 上海科学技术出版社, 2016.
- [2] 徐怀德. 天然产物提取工艺学[M]. 北京: 中国轻工业出版社, 2009.
- [3] 王广要, 周虎, 曾晓峰. 植物精油应用研究进展[J]. 食品科技, 2006, 31(5): 11-14.
- [4] Uma K, Huang X, Kumar B A. Antifungal effect of plant extract and essential oil[J]. Chinese J Integrative Med, 2017, 23(3): 233-239.
- [5] 陈建烟, 李永裕, 吴少华. 植物精油生物活性作用机理研究进展[J]. 天然产物研究与开发, 2012, 24(9): 1312-1318.
- [6] Brenes A, Roura E. Essential oils in poultry nutrition: Main effects and modes of action[J]. Animal Feed Sci Technol,

- 2010,158(1-2):1-14.
- [7] 吴克刚,罗敏婷,魏 浩. 8种植物精油对肠道常见微生物体外抑菌效果的研究[J]. 现代食品科技,2017,33(6):133-141.
- [8] Carson C F, Hammer K A, Riley T V. *Melaleuca alternifolia* (tea tree) oil: a review of antimicrobial and other medicinal properties[J]. Clin Microbiol Rev,2006,19(1):50-62.
- [9] 赵 丹,孙 畅,陈 光. 肉桂精油的抑菌作用[J]. 吉林农业大学学报,2013,35(4):402-405.
- [10] 刘林波,刘 琦,刘晓莺,等. 山苍子精油对白色念珠菌生物被膜芽管形成的抑制作用研究[J]. 国际检验医学杂志,2017,38(20):2850-2851.
- [11] 林霜霜,邱珊莲,郑开斌,等. 5种植物的化学成分及对番茄早疫病的抑菌活性研究[J]. 中国农学通报,2017(31):138-144.
- [12] 顾仁勇,张 丽,傅伟昌,等. 芭蕉汁的抑菌作用[J]. 食品与发酵工业,2005,31(3):57-59.
- [13] 张 佳,王 莹,张 峰,等. 滤纸片法测定黄花蒿提取物对霉菌的抑制活性[J]. 湖北农业科学,2009,48(5):1153-1154.
- [14] 李凤清. 植物精油的抑菌评价及其应用[D]. 江苏南京:南京师范大学,2014:41-44.
- [15] 邱松山,陈芳玲,姜翠翠,等. 肉桂皮精油提取工艺的优化及成分分析[J]. 中国调味品,2015,40(8):111-115.
- [16] 刘 政,刘秀斌,郑亚杰,等. 湖南怀化产山苍子挥发油的 GC-MS 分析[J]. 安徽农业科学,2017,45(1):130-132.
- [17] 李利红,李先芳,解克伟. 河南禹州产迷迭香精油成分的 GC-MS 分析[J]. 西北农林科技大学学报:自然科学版,2012,40(9):227-230.
- [18] Maria C. Rota, Herrera A, Rosa M, Martinez, et al. Antimicrobial activity and chemical composition of *Thymus vulgaris*, *Thymus zygis* and *Thymus hyemalis* essential oils[J]. Food Control,2008,19(7):681-687.
- [19] 顾仁勇,刘莹莹. 山苍子精油抑菌及抗氧化作用的研究[J]. 食品科学,2006,27(11):86-89.
- [20] 刘昭明,田玉红,黄翠姬,等. 迷迭香挥发油成分及抑菌活性研究[J]. 安徽农业科学,2009,37(2):654-656.

## Chemical Constituents and Antibacterial Activities *in Vitro* of Three Plant Essential Oils

NIU Biao<sup>1</sup>, JIN Chuan<sup>2</sup>, LIANG Jian-ping<sup>1</sup>, SHANG Ruo-feng<sup>1</sup>, HAO Bao-cheng<sup>1</sup>,  
WANG Xue-hong<sup>1</sup>, YANG Zhen<sup>1</sup>, LIU Yu<sup>1</sup>

(1. Key Laboratory of New Animal Drug Project, Gansu province; Key Laboratory of Veterinary Pharmaceutics Discovery, Ministry of Agricultural; Lanzhou Institute of Husbandry and Pharmaceutical Sciences of CAAS, Lanzhou, Gansu, 730050, China;  
2. Bailu Animal Husbandry and Veterinary Station of AnDing District Animal Husbandry and Veterinary Bureau, Dingxi, Gansu, 743026, China)

**Abstract:** In order to study the chemical constituents and antimicrobial activities *in vitro* of plant essential oils of *Cinnamomum cassia*, *Litsea cubeba* and *Rosmarinus officinalis*, the diameter of antimicrobial circle was measured by filter paper method, the minimum inhibitory concentration (MIC) and minimum bactericidal concentration (MBC) were determined by broth dilution method and dot seed method, and the components and contents of essential oils were determined by gas chromatography-mass spectrometry. The results displayed that *Cinnamomum cassia* essential oil could kill all five pathogens at 1.118% concentration; *Litsea cubeba* essential oil could kill *S. albus*, *S. aureus*, *E. coli* and *C. albicans* at 4.75% concentration, but the killing concentration of *P. aeruginosa* was more than 9.5%; *Rosmarinus officinalis* essential oil could kill *S. albus*, *S. aureus* and *C. albicans* at 9.5% concentration, while *E. coli* and *P. aeruginosa* at more than 9.5% concentration. The results of GC-MS showed that the main components of *Cinnamomum cassia* essential oil were cinnamaldehyde (83.57%), 2'-methoxycinnamaldehyde (5.96%) and coumarin (2.90%); *Litsea cubeba* essential oil included citral (21.45%), dipentene (21.88%), (Z)-3,7-dimethyl-2,6-octadienal (20.96%); *Rosmarinus officinalis* essential oil mainly contained  $\alpha$ -pinene (24.09%), eucalyptol (25.81%), levocamphor (25.09%), isoborneol (9.28%). The results showed that three plant essential oils had broad-spectrum antimicrobial activity, which could provide theoretical basis for the development of new, green, safe and efficient alternatives to antibiotics.

**Key words:** plant essential oil; filter paper method; minimum bacteriostatic concentration; minimum bactericidal concentration; gas chromatography-mass spectrometry