

梔子叶、茎挥发油成分及其抑制豆腐致腐细菌作用研究

卫强,徐飞

(安徽新华学院 药学院,安徽 合肥,230088)

摘 要 研究了梔子叶、茎中挥发油的化学成分及其对豆腐的抑菌作用。采用超临界二氧化碳和环己烷、乙醚分别萃取挥发油,以气相色谱-质谱联用(GC-MS)法鉴定其化学成分,共鉴定 153 个化合物,梔子叶中挥发油中主要有 1,2,3,4,5,6,7,8 α -八氢化-1,4-二甲基-7-(1-甲基乙烯基)萘、甲苯、[1S-(1 α ,4 α ,7 α)]-1,2,3,4,5,6,7,8-八氢化-1,4-二甲基-7-(1-甲基乙烯基)萘、4,8,12,15,15-五甲基双环[9.3.1]十五烷-3,7-二烯-12-醇、1,1-二乙氧基乙烷、2-乙基-1,3-二氧戊烷;梔子茎中挥发油主要有 4,8,12,15,15-五甲基双环[9.3.1]十五烷-3,7-二烯-12-醇、1,2,3,4,5,6,7,8 α -八氢化-1,4-二甲基-7-(1-甲基乙烯基)萘、龙脑、1,1-二乙氧基乙烷。梔子叶(乙醚)挥发油对豆腐中菌群有较强抑制作用,可使豆腐保鲜期延长 6 天。

关键词 梔子叶、茎;挥发油;化学成分;豆腐;抑菌活性

豆腐是我国传统的大豆制品,营养丰富,富含蛋白质、不饱和脂肪酸、卵磷脂、脑磷脂等营养成分。食用豆腐具有降低胆固醇、降血压、降血糖、减少动脉硬化、预防骨质疏松、保护心血管系统等保健功能^[1-2]。但是,大豆制品营养成分极易引起微生物生长繁殖,引起腐败。豆腐腐败主要是由细菌引起的,在加工过程中易受到各种细菌的污染,如**芽孢杆菌**、**屎肠球菌**^[3]、**枯草芽孢杆菌**和**凝结芽孢杆菌**^[4]、**团肠杆菌**、**短小芽孢杆菌**、**巨大芽孢杆菌**和**溶酪葡萄球菌**^[2]等大量增殖,在腐败菌中占据主导地位^[5]。

梔子(*Gardenia jasminoides* Ellis)来源于茜草科(Rubiaceae)梔子属植物,分布于我国大部分地区,其果实始载于《神农本草经》,列为中品^[6],具有泻火除烦,清热利湿,凉血解毒的功能,外用消肿止痛。现代研究表明,梔子具有保肝^[7-8]、抗抑郁^[9]、降血糖^[10]、抗氧化^[11]等多种生物活性。梔子叶在我国四川、广西等地民间广泛应用,有治疗跌打损伤、血淤、烫伤等症^[12]。梔子叶、茎挥发油鲜有报道,本文对其挥发油成分及抑制豆腐致腐细菌进行研究,以期寻找天然防腐有效成分。

1 材料与方 法

1.1 材料与试剂

第一作者:硕士,副教授。

基金项目:安徽省质量工程项目(2014zy078)

收稿日期:2015-12-03,改回日期:2016-01-19

梔子叶、茎于 2014 年 5 月采自安徽合肥大蜀山地区。市售普通新鲜南豆腐,大小齐整,每块约 100 g。**芽孢杆菌**(*Bacillus firmus*)、**屎肠球菌**(*Enterococcus faecium*)、**凝结芽孢杆菌**(*Bacillus coagulans*)、**成团肠杆菌**(*Enterococcus agglomerans*)、**短小芽孢杆菌**(*Bacillus pumilus*)、**巨大芽孢杆菌**(*Bacillus megaterium*)、**溶酪葡萄球菌**(*Staphylococcaceae caseolyticus*)、**枯草芽孢杆菌**(*Bacillus subtilis*)购于中国菌种保藏中心。所用试剂为分析纯。

1.2 仪器与设备

HA221-50-01 型超临界萃取设备,江苏南通华安超临界有限公司;Agilent 6890-5973N 气相色谱仪,美国安捷伦公司。

1.3 方 法

1.3.1 挥发油的提取

精密称取干燥粉碎后的梔子叶、茎各 220 g 装入料筒,放入超临界二氧化碳萃取釜内,设置萃取压力 40 MPa,萃取温度 25 ℃,萃取流量 20 L/h,萃取 2 h 后,打开分离釜排料阀,收集萃取物。萃取物经减压蒸馏后分别以环己烷、乙醚萃取,氮气吹去溶剂,得到挥发油。叶、茎环己烷层挥发油几近无色,叶、茎乙醚层挥发油呈淡黄色,3 次萃取,以油重/样品重得梔子叶环己烷、乙醚萃取挥发油得率为 0.79%、0.98%,茎环己烷、乙醚萃取挥发油得率为 0.33%、0.51%。

1.3.2 色谱条件

色谱柱:HP-5 MS 石英毛细管柱(30 m × 0.25 mm,0.25 μ m);升温程序:程序升温,柱起始温度为

40 ℃,保持 1 min 后以 5 ℃/min 升至 150 ℃,保持 2 min,再以 10 ℃/min 升至 280 ℃,保持 7 min,再以 5 ℃/min 升至 300 ℃,保持至完成分析;载气:高纯 He;进样量 1 μL;不分流。

1.3.3 质谱条件

电子轰击离子源;电子轰击能量 60 eV;扫描范围 m/z 25 - 550;离子源温度 220 ℃;接口温度 280 ℃;全离子扫描。通过面积归一化法测定鉴定的化合物的相对含量,检索为 NIST2011 数据库。

1.3.4 抑菌实验

以苯甲酸钠为对照,以蒸馏水溶解。制备苯甲酸钠、栀子叶、茎挥发油肉膏平板培养基,质量浓度(ρ)依次为 3.000、1.500、0.750、0.375、0.188、0.094、0.047 mg/mL。在以上培养基上分别接种坚强芽孢杆菌、屎肠球菌、凝结芽孢杆菌、成团肠杆菌、短小芽孢杆菌、巨大芽孢杆菌、溶酪葡萄球菌、枯草芽孢杆菌,移入培养箱中 37 ℃ 培养 48 h,根据苯甲酸钠、栀子叶、茎挥发油的最小抑菌浓度(minimum inhibitory concentration, MIC)选择最优抑菌挥发油。

将栀子叶挥发油(乙醚)以喷瓶喷入新鲜豆腐(约 100 g),喷入量分别为豆腐质量分数(ω)的

0.05%、0.1%、0.15%;以苯甲酸钠为阳性对照组喷入质量分数(ω)为 0.1%。放入保鲜袋内,置于 4 ℃ 冰箱中。采用平板菌落计数法(参照 GB4789.2—2010《食品微生物学检验菌落总数测定》),分别按照一定的稀释梯度稀释,贮藏于冰箱冷藏一定时间(0, 3, 6, 9, 12, 15 d),计算菌落总数:

$$\text{菌落总数} = \frac{\text{平板菌落数之和}}{\text{低稀释倍数平板个数} + \text{高稀释倍数平板个数}} \times \text{低稀释度}$$

2 结果与分析

2.1 栀子叶、茎挥发油化学成分

结果见图 1、表 1 和表 2 所示。由表 1,表 2 可知,从栀子叶、茎挥发油中共鉴定出 153 种化学成分,主要有烃类、酯类、苯类、醇类、醛类、酮类、酸类、醚类、杂环类等。其中从栀子叶环己烷萃取挥发油以烃类成分为主,栀子叶乙醚萃取挥发油和茎环己烷、乙醚萃取挥发油均以烃类和醇类成分为主。4,8,12,15,15-五甲基双环[9.3.1]十五烷-3,7-二烯-12-醇为栀子叶乙醚萃取挥发油和茎环己烷、乙醚萃取挥发油的主要成分。

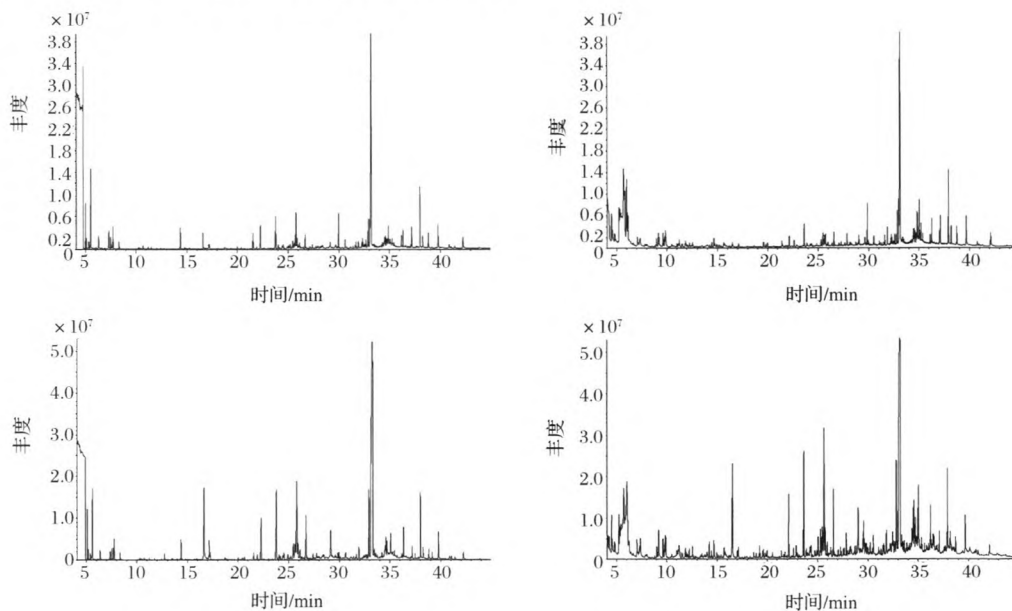


图 1 栀子叶(AB)、茎(CD)中挥发油总离子流

Fig. 1 Total ion chromatogram of volatile oil of leaf and stem from *Gardenia jasminoides* Ellis

2.2 抑菌实验

由表 3 可知,4 个萃取物中,栀子叶(乙醚)挥发油对豆腐中腐生菌坚强芽孢杆菌等 8 种菌有较强抑制力,其 MIC 值范围为 0.047 ~ 0.188 mg/mL;栀子叶

(环己烷)挥发油、栀子茎(环己烷)挥发油和茎(乙醚)挥发油抑制力较弱,其 MIC 值范围为 0.094 ~ 3.000 mg/mL。由表 4 可知,与空白组对照,在 4 ℃ 冰箱中放置 3 ~ 15 d,随着栀子叶(乙醚)挥发油添加

浓度的提高,对豆腐抑菌作用明显增强。根据 GB2711—2003^[13]要求,散装豆腐菌落总数(CFU/mL) $\leq 1 \times 10^5$,由表4可知,豆腐自然放置超过3 d,

菌落数超标;而使用栀子叶(乙醚)挥发油进行抑菌处理后,可放置9 d,菌落数在正常范围内。

表1 栀子叶、茎挥发油不同部位化学成分

Table 1 Volatile oils' chemical constituents of leaf and stem from *Gardenia jasminoides* Ellis

序号	保留时间/ min	分子式	化合物	相对含量/%			
				叶(环)	叶(醚)	茎(环)	茎(醚)
			烷烃类				
1	4.271	C ₇ H ₁₆ O	2-乙氧基戊烷 2-Ethoxypentane				0.21
2	5.115	C ₇ H ₁₄	甲基环己烷 Methyl cyclohexane	2.58		0.86	
3	5.256	C ₅ H ₁₂ O	2-乙氧丙烷 2-Ethoxy-propane		1.89		0.80
4	5.749	C ₆ H ₁₄ O ₂	1,1-二乙氧基乙烷 1,1-Diethoxy-ethane		9.51		6.80
5	6.068	C ₆ H ₁₃ ClO	2-乙氧基-3-氯丁烷 2-Ethoxy-3-chlorobutane				4.89
6	6.138	C ₅ H ₁₀ O ₂	2-乙基-1,3-二氧戊烷 2-Ethyl-1,3-dioxolane		5.46		
7	9.175	C ₇ H ₁₆ O	1-(1-甲基乙氧基)丁烷 1-(1-Methylethoxy)-butane		0.81		
8	33.391	C ₃₇ H ₇₆ O	三十七醇 1-Heptatriacotanol				0.47
9	35.080	C ₁₈ H ₃₆ O ₂	十八烷酸 Octadecanoic acid				2.51
10	11.221	C ₈ H ₁₈ O ₃	3,5-二甲基-1,3,4-三羟基己烷 3,5-Dimethyl-hexane-1,3,4-triol		0.53		
11	11.491	C ₉ H ₁₆	3-(1-甲基乙基)-环己烯 3-(1-Methylethyl)-cyclohexene				
12	11.870	C ₈ H ₁₆ O	trans-2,3-双(1-甲基乙基)-环氧乙烷 trans-2,3-Bis(1-methylethyl)-oxirane				0.27
13	13.489	C ₈ H ₁₈ O ₂	3-甲基-4,6-二甲氧基戊烷 3-Methyl-4,6-dioxanonane				0.21
14	15.183	C ₇ H ₁₆ O ₂	2-甲基-2,4-二甲氧基丁烷 2-Methyl-2,4-dimethoxybutane				0.12
15	16.612	C ₁₀ H ₁₈ O	龙脑 Borneol	2.46	0.42	5.14	4.05
16	17.505	C ₁₉ H ₄₀	6-甲基十八烷 6-Methyl-octadecane				0.05
17	19.231	C ₁₅ H ₃₂	2,6,11-三甲基-十二烷 2,6,11-Trimethyl-dodecane				0.30
18	19.789	C ₁₀ H ₂₀ O ₂	(E)-1-[1-乙氧乙氧基]-3-己烯 (E)-1-(1-Ethoxyethoxy)-3-hexene				0.17
19	20.395	C ₁₂ H ₂₂	1,1'-双环己烷 1,1'-Bicyclohexyl				
20	21.911	C ₉ H ₁₆ O	2-亚甲基-环戊烷丙醇 2-Methylene-cyclopentanepropanol				0.23
21	22.284	C ₁₅ H ₂₄	白菖烯 1 α ,2,3,5,6,7,7 α ,7 β -Octahydro-1,1,7,7 α -tetramethyl-1H-cyclopropa [a]naphthalene	4.44	0.71	2.44	1.65
22	22.620	C ₁₄ H ₃₀	十四烷 Tetradecane		0.39		0.24
23	23.762	C ₁₅ H ₂₄	[1S-(1 α ,4 α ,7 α)]-1,2,3,4,5,6,7,8-八氢化-1,4-二甲基-7-(1-甲基乙基)- 萘 [1S-(1 α ,4 α ,7 α)]-1,2,3,4,5,6,7,8-Octahydro-1,4-dimethyl-7-(1-methyl- ethenyl)-azulene	5.79	1.37	4.75	3.29
24	24.049	C ₁₅ H ₂₄	(-)-Isosativene				0.28
25	24.173	C ₁₅ H ₂₄	β -金合欢烯 (E)-7,11-Dimethyl-3-methylene-1,6,10-dodecatriene				0.19
26	26.712	C ₁₅ H ₂₄	α -石竹烯 α -Caryophyllene				2.20
27	24.547	C ₁₅ H ₂₄	1,2,3,4,4 α ,5,6,8 α -八氢-7-甲基-4-亚甲基-1-(1-甲基乙基)-萘 1,2,3,4,4 α , 5,6,8 α -Octahydro-7-methyl-4-methylene-1-(1-methylethyl)-naphthalene	0.60		0.42	0.45
28	24.920	C ₁₅ H ₂₄	异喇叭茶烯 Isolatedene				0.08
29	25.202	C ₁₃ H ₂₀	1-(3-异丙基-4-甲基-3-丙烯-1-炔基)-1-甲基-环丙烷 1-(3-Isopropyl-4-methyl- pent-3-en-1-ynyl)-1-methyl-cyclopropane				0.30
30	25.488	C ₁₅ H ₂₄	1,2,3,4,4 α ,5,6,8 α -八氢-4 α ,8-二甲基-2-(1-甲基乙基)-萘 1,2,3,4,4 α ,5, 6,8 α -Octahydro-4 α ,8-dimethyl-2-(1-methylethenyl)-naphthalene				1.31
31	25.445	C ₁₅ H ₂₄	[4 α R-(4 $\alpha\alpha$,7 α ,8 $\alpha\alpha$)]-4 α -甲基-1-亚甲基-7-(1-甲基乙基)-十氢化萘 [4 α R-(4 $\alpha\alpha$,7 α ,8 $\alpha\alpha$)]-Decahydro-4 α -methyl-1-methylene-7-(1-methylethenyl)- naphthalene	1.62	0.51	1.03	0.99
32	25.478	C ₁₈ H ₃₇ Cl	氯代十八烷 1-Chloro-octadecane		0.33		
33	25.629	C ₁₅ H ₂₄	1,2,3,4,4 α ,5,6,8 α -八氢-4 α ,8-二甲基-2-(1-甲基乙基)-萘 1,2,3,4,4 α ,5, 6,8 α -Octahydro-4 α ,8-dimethyl-2-(1-methylethenyl)-naphthalene				
34	25.635	C ₁₅ H ₂₄	2-异丙基-4 α ,8-二甲基-1,2,3,4,4 α ,5,6,8 α -八氢萘 2-Isopropenyl-4 α ,8-dime- thyl-1,2,3,4,4 α ,5,6,8 α -octahydronaphthalene				1.33

续表 1

序号	保留时间/ min	分子式	化合物	相对含量/%			
				叶(环)	叶(醚)	茎(环)	茎(醚)
35	25.770	C ₁₅ H ₂₄	1,2,3,4,5,6,7,8 α -八氢化-1,4-二甲基-7-(1-甲基乙烯基)萘 1,2,3,5,6,7,8,8 α -Octahydro-1,4-dimethyl-7-(1-methylethenyl)-azulene	6.96	0.72	5.89	4.82
36	25.905	C ₁₅ H ₂₄ O	白菖油萜环氧化物 Calarene epoxide	1.89	0.78	0.90	0.77
37	25.976	C ₁₅ H ₂₄ O	α -环氧柏木烷 α -Cedrene epoxide		0.42		
38	26.560	C ₁₅ H ₂₄	cis- α -甜没药烯 cis- α -Bisabolene		0.80		
39	26.690	C ₁₅ H ₂₄	α -石竹烯 α -Caryophyllene				
40	27.410	C ₁₅ H ₂₄ O	氧化双环外雪松烯 Diepicedrene-1-oxide	0.54	0.33	0.28	0.44
41	27.621	C ₁₅ H ₂₄ O	环氧异香树烯 Isoaromadendrene epoxide		0.33		0.24
42	27.751	C ₁₅ H ₂₄ O	喇叭烯氧化物-(II) Ledene oxide-(II)	0.48		0.41	0.26
43	27.843	C ₁₆ H ₃₄	十六烷 Hexadecane		0.68		0.57
44	29.689	C ₁₇ H ₃₆	2,6,10-三甲基十四烷 2,6,10-Trimethyl-tetradecane	0.42	0.81		0.56
45	32.465	C ₂₁ H ₄₄	2,6,10,15-四甲基十七烷 2,6,10,15-Tetramethyl-heptadecane				0.66
46	32.931	C ₂₀ H ₃₂	西松烯 [S-(E,Z,E)]-3,7,11-Trimethyl-14-(1-methylethyl)-1,3,6,10-cyclotetradecatetraene			3.62	
47	33.883	C ₂₆ H ₅₄	3-乙基-5-(2-乙基丁基)-十八烷 3-Ethyl-5-(2-ethylbutyl)-octadecane				0.32
48	34.214	C ₂₀ H ₃₂	5 α ,8 α ,9 α ,10 α ,12 α -Atis-16-ene			0.18	
49	34.625	C ₁₈ H ₃₇ Cl	氯代十八烷 1-Chloro-octadecane				1.71
50	35.291	C ₁₆ H ₃₃ NO	十六碳酰胺 Hexadecanamide	1.65	1.68		
51	35.458	C ₂₆ H ₅₄	3-乙基-5-(2-乙基丁基)-十八烷 3-Ethyl-5-(2-ethylbutyl)-octadecane	0.72	0.72		
52	37.115	C ₁₈ H ₃₇ NO	十八酰胺 Octadecanamide	0.33	0.62		
53	36.341	C ₂₁ H ₄₄	二十一烷 Heneicosane	1.65		0.97	1.65
54	37.185	C ₂₄ H ₅₀	二十四烷 Tetracosane	2.01		0.36	
55	38.008	C ₂₅ H ₅₂	二十五烷 Pentacosane			1.93	
56	38.219	C ₃₁ H ₆₄	三十一烷 Hentriacontane				0.80
57	38.825	C ₂₈ H ₅₈	二十八烷 Octacosane	1.98	3.36	0.42	2.37
58	40.898	C ₂₇ H ₅₆	二十七烷 Heptacosane	0.66	1.04	0.19	0.66
59	41.082	C ₃₀ H ₅₀	反式角鲨烯 (all-E)-2,6,10,15,19,23-Hexamethyl-2,6,10,14,18,22-tetracosahexaene			0.14	
酯类							
60	5.326	C ₉ H ₁₆ O ₂	乙酸(6-庚烯-1-基)酯 6-Heptenyl acetate				
61	6.398	C ₆ H ₁₂ O ₂	醋酸正丁酯 Acetic acid, butyl ester			0.19	
62	8.801	C ₁₀ H ₂₀ O ₄	二乙二醇二醋酸酯 2-(2-Butoxyethoxy)-ethanol, acetate				0.05
63	9.218	C ₇ H ₁₄ O ₂	2-甲基戊酸甲酯 2-Methyl-pentanoic acid, methyl ester				0.98
64	11.513	C ₈ H ₁₆ O ₃	3-羟基-4-甲基-戊酸乙酯 3-Hydroxy-4-methyl-pentanoic acid, ethyl ester		0.18		0.12
65	12.087	C ₁₂ H ₂₀ O ₂	1-甲基-4-(1-异丙基)环己醇乙酯 1-Methyl-4-(1-methylethenyl)-cyclohexanol acetate				0.12
66	17.142	C ₈ H ₈ O ₃	水杨酸甲酯 Methyl salicylate	0.54		0.85	
67	17.754	C ₁₅ H ₂₆ O ₂	异戊酸香叶酯 Geranyl isovalerate				0.05
68	19.610	C ₁₂ H ₂₄ O ₄	3-(1-乙氧乙氧基)-2-乙基-丁酸乙酯 3-(1-Ethoxy-ethoxy)-2-ethyl-butyric acid, ethyl ester				0.23
69	19.968	C ₂₆ H ₅₀ O ₂	2-辛基-环己烷十四烷酸甲酯 2-Octyl-cyclopropanetetradecanoic acid, methyl ester				0.24
70	23.881	C ₁₆ H ₂₆ O ₂	3,7,11-三甲基-1,6,10-十二烷-3-基甲酸酯 Formic acid, 3,7,11-trimethyl-1,6,10-dodecatrien-3-yl ester		0.27		
71	24.038	C ₁₇ H ₂₈ O ₂	醋酸橙花酯 Nerolidyl acetate				
72	24.260	C ₁₅ H ₂₄ O ₂	新戊酸-6-烯酯 Limonen-6-ol, pivalate				0.42
73	27.058	C ₁₇ H ₃₂ O ₂	7-甲基-Z-十四烯-1-醇乙酯 7-Methyl-Z-tetradecen-1-ol acetate		0.39		0.59
74	29.873	C ₁₆ H ₂₈ O ₃	Z-(13,14-环氧)十四烷基-11-烯-1-醇乙酯 Z-(13,14-Epoxy) tetradec-11-en-1-ol acetate				0.29
75	31.854	C ₁₆ H ₂₂ O ₄	邻苯二甲酸二异丁酯 1,2-Benzenedicarboxylic acid, bis(2-methylpropyl) ester		1.05		
76	31.929	C ₂₆ H ₄₂ O ₄	丁基邻苯二甲酸十四酯 Phthalic acid, butyl tetradecyl ester				
77	31.935	C ₂₂ H ₃₄ O ₄	邻苯二甲酸丁酯 8-甲基壬酯 1,2-Benzenedicarboxylic acid, butyl 8-methylnonyl ester			0.41	0.98

续表 1

序号	保留时间/ min	分子式	化合物	相对含量/%			
				叶(环)	叶(醚)	茎(环)	茎(醚)
78	32.260	C ₁₉ H ₃₂ O ₃	2-羟基-9,12,15-十八碳三烯酸甲酯 Methyl 2-hydroxy-octadeca-9,12,15-trienoate	0.60			
79	32.687	C ₁₇ H ₃₄ O ₂	十六酸甲酯 Hexadecanoic acid, methyl ester	0.63	0.47		
80	34.316	C ₂₁ H ₃₆ O ₄	亚麻酸甘油酯 (Z,Z,Z)-9,12,15-Octadecatrienoic acid, 2,3-dihydroxypropyl ester	0.87	1.16		
81	35.399	C ₃₃ H ₅₄ O ₃	3,5-二氢-6-甲氧基-胆甾-22-烯-21-新戊酸酯 3,5-Dehydro-6-methoxy-cholest-22-ene-21-ol, pivalate				1.08
82	38.273	C ₂₄ H ₃₈ O ₄	邻苯二甲酸二异辛酯 1,2-Benzenedicarboxylic acid, diisooctyl ester	1.65	0.92	0.40	
83	5.537	C ₇ H ₈	甲苯 Toluene	6.72		1.93	0.23
84	7.475	C ₈ H ₁₀	乙苯 Ethylbenzene	1.05	0.75	0.30	
85	7.708	C ₈ H ₁₀	间二甲苯 1,3-Dimethyl-benzene				
86	7.946	C ₈ H ₁₀	邻二甲苯 o-Xylene	0.66		0.61	0.11
87	8.341	C ₈ H ₁₀	对二甲苯 p-Xylene			0.19	
88	11.210	C ₉ H ₁₂	1,2,3-三甲苯 1,2,3-Trimethyl-benzene				
89	11.215	C ₉ H ₁₂	1-乙基-3-甲基苯 1-Ethyl-3-methyl-benzene			0.06	
90	12.433	C ₉ H ₁₀	2,3-二氢茚 Indane				
91	21.548	C ₁₀ H ₁₂ O ₂	丁香酚 Eugenol	2.55	0.36	0.36	0.18
92	24.352	C ₁₅ H ₂₆ O	1,2,3,4,4 α ,7,8,8 α -八氢-1,6-二甲基-4-(1-甲基乙基)-1-萘酚 1,2,3,4,4 α ,7,8,8 α -Octahydro-1,6-dimethyl-4-(1-methylethyl)-1-naphthalenol	0.29			
93	4.163	C ₆ H ₁₄ O ₂	1-丙氧基-2-丙醇 1-Propoxy-2-propanol				0.08
94	4.866	C ₇ H ₁₆ O	2,2-二甲基-1-戊醇 2,2-Dimethyl-1-pentanol				0.29
95	7.313	C ₆ H ₁₂ O	(Z)-3-己烯-1-醇 (Z)-3-Hexen-1-ol	2.22		0.31	
96	7.681	C ₆ H ₁₄ O	正己醇 1-Hexanol			0.34	0.93
97	7.881	C ₆ H ₁₄ O ₂	1-(1-甲基乙氧基)异丙醇 1-(1-Methylethoxy)-2-propanol				0.08
98	11.242	C ₆ H ₁₂ O ₅	6-脱氧-D-半乳糖 6-Deoxy-D-galactose				0.71
99	11.854	C ₆ H ₁₄ O ₂	3-甲基-2,4-戊二醇 3-Methyl-2,4-pentanediol	0.48			
100	12.260	C ₈ H ₁₆ O ₄	α -(1-乙氧乙氧基)环氧乙醇 α -(1-Ethoxyethoxy)-oxiraneethanol				0.29
101	12.531	C ₉ H ₂₀ O ₂	3-(1-甲基丁氧基)-2-丁醇 3-(1-Methylbutoxy)-2-butanol	0.47			
102	12.568	C ₁₃ H ₁₈ O ₅	甲基 2-O-苄基-D-阿拉伯呋喃糖苷 Methyl 2-O-benzyl-D-arabinofuranoside				0.50
103	12.861	C ₈ H ₁₈ O	2,4-二甲基-3-己醇 2,4-Dimethyl-3-hexanol				0.05
104	13.505	C ₁₀ H ₁₈ O ₂	α -甲基- α -[4-甲基-3-戊烯基]环氧基甲醇 α -Methyl- α -[4-methyl-3-pentenyl]oxiranemethanol			0.07	0.09
105	13.862	C ₁₀ H ₁₈ O ₂	cis- α , α -5-三甲基-5-乙烯基四氢化呋喃-2-甲醇 cis-5-Ethenyltetrahydro- α , α , 5-trimethyl-2-furanmethanol				0.09
106	14.003	C ₉ H ₂₀ O ₂	3-(2,2-二甲基-丙氧基)-2-丁醇 3-(2,2-Dimethylpropoxy)-2-butanol				0.39
107	14.349	C ₁₀ H ₁₈ O	3,7-二甲基-1,6-辛二烯-3-醇 3,7-Dimethyl-1,6-octadien-3-ol	2.43		0.74	0.41
108	14.669	C ₈ H ₁₀ O	苯乙醇 Phenylethyl alcohol	0.18	1.01		0.60
109	14.918	C ₇ H ₁₆ O	2,4-二甲基-3-戊醇 2,4-Dimethyl-3-pentanol		0.33		0.18
110	15.702	C ₈ H ₁₅ ClO	1-氯-3,5-二甲基-1-己烯-4-醇 1-Chloro-3,5-dimethyl-1-hexen-4-ol				0.35
111	17.256	C ₁₀ H ₁₈ O	松油醇 (S)- α , α , 4-Trimethyl-3-cyclohexene-1-methanol	0.87	0.27		0.35
112	18.733	C ₁₀ H ₁₈ O	香叶醇 (E)-3,7-Dimethyl-2,6-octadien-1-ol	0.21			0.24
113	21.916	C ₉ H ₁₆ O	4-环辛烯-1-甲醇 4-Cyclooctene-1-methanol	0.27			0.15
114	28.135	C ₁₉ H ₃₆ O	2-甲基-E,E-3,13-十八烷二烯-1-醇 2-Methyl-E,E-3,13-octadecadien-1-ol	0.20			
115	29.158	C ₁₅ H ₂₆ O	蓝桉醇 Globulol	1.50	0.83	2.38	1.73
116	29.857	C ₁₅ H ₂₂ O	3,5,6,7,8,8 α -六氢-4,8 α -二甲基-6-(1-羟甲基乙烯基)-(1H)-萘-2-酮 3,5,6,7,8,8 α -Hexahydro-4,8 α -dimethyl-6-(1-methylethenyl)-2(1H)naphthalenone			0.28	
117	29.981	C ₁₅ H ₂₄ O ₂	2-甲基-9-(丙-1-烯-3-醇-2-基)-双环[4.4.0]癸-2-烯-4-醇 2-Methyl-9-(prop-1-en-3-ol-2-yl)-bicyclo[4.4.0]dec-2-ene-4-ol		0.41		
118	31.399	C ₂₀ H ₄₀ O ₂	(Z)-2-(9-十八碳烯基氧基)乙醇 (Z)-2-(9-Octadecenyl-oxy)-ethanol				
119	32.189	C ₁₉ H ₃₄ O ₂	E,E,Z-1,3,12-十九碳三烯-5,14-二醇 E,E,Z-1,3,12-Nonadecatriene-5,14-diol	0.38			

续表 1

序号	保留时间/ min	分子式	化合物	相对含量/%			
				叶(环)	叶(醚)	茎(环)	茎(醚)
120	33.212	C ₂₀ H ₃₄ O	4,8,12,15,15-五甲基双环[9.3.1]十五烷-3,7-二烯-12-醇 4,8,12,15,15-Pentamethyl-bicyclo[9.3.1]pentadeca-3,7-dien-12-ol	3.09	24.77	33.68	22.43
121	34.674	C ₃₇ H ₇₆ O	三十七醇 1-Heptatriacotanol		1.62	0.67	
122	34.609	C ₂₀ H ₃₄ O ₂	1,5,9-三甲基-12-(1-甲基乙基)-4,8,13-环四癸三烯-1,3-二醇 1,5,9-Trimethyl-12-(1-methylethyl)-4,8,13-cyclotetradecatriene-1,3-diol	1.71		0.96	
123	35.713	C ₂₀ H ₄₀ O ₂	(Z)-2-(9-十八碳烯基氧基)乙醇 (Z)-2-(9-Octadecenyl-oxy)-ethanol			0.13	
124	41.082	C ₃₀ H ₅₂ O	2,2,4-Trimethyl-3-(3,8,12,16-tetramethyl-hepta-3,7,11,15-tetraenyl)-cyclohexanol 2,2,4-三甲基-3-(3,8,12,16-四甲基-十八烷基-3,7,11,15-四烯基)-环己醇				
			醛类				
125	10.328	C ₇ H ₆ O	苯甲醛 Benzaldehyde			0.08	
126	12.736	C ₈ H ₈ O	苯乙醛 Benzeneacetaldehyde			0.23	
127	15.324	C ₉ H ₁₈ O ₃	3-(1-乙氧乙氧基)-2-甲基丁醛 3-(1-Ethoxyethoxy)-2-methyl-butanal		0.17		
128	22.885	C ₁₂ H ₂₄ O	十二醛 Dodecanal				0.33
129	26.382	C ₂₀ H ₂₈ O	视黄醛 Vitamin A aldehyde		0.26		
130	29.873	C ₁₄ H ₂₈ O	十四醛 Tetradecanal	3.54	1.68		
131	29.970	C ₁₈ H ₃₆ O	十八醛 Octadecanal			0.25	
132	32.346	C ₁₆ H ₂₆ O	cis,cis,cis-7,10,13-十六碳三烯醛 cis,cis,cis-7,10,13-Hexadecatrienal				
133	41.412	C ₁₈ H ₃₅ BrO	2-溴十八醛 2-Bromo-octadecanal				
			酮类				
134	8.947	C ₄ H ₈ O ₂	3-羟基-2-丁酮 3-Hydroxy-2-butanone		0.57		0.36
135	12.238	C ₈ H ₁₆ O ₂	4-仲丁氧基-2-丁酮 4-sec-Butoxy-2-butanone		0.38		0.06
136	25.055	C ₁₃ H ₂₀ O	β-紫罗兰酮 4-(2,6,6-Trimethyl-1-cyclohexen-1-yl)-3-buten-2-one	0.60	0.20		
137	25.191	C ₉ H ₈ N ₂ O ₂	4-苯基-吡唑-3,5-二酮 4-Phenyl-pyrazolidine-3,5-dione				
138	26.138	C ₁₁ H ₁₆ O ₂	cis-六氢化-8α-甲基-1,8(2H,5H)-萘二酮 cis-Hexahydro-8α-methyl-1,8(2H,5H)-naphthalenedione				
139	29.857	C ₁₅ H ₂₂ O	3,5,6,7,8,8α-六氢-4,8α-二甲基-6-(1-羟甲基乙基)-1(1H)-萘-2-酮 3,5,6,7,8,8α-Hexahydro-4,8α-dimethyl-6-(1-methylethenyl)-2(1H)naphthalenon			0.28	0.44
140	31.675	C ₁₈ H ₃₆ O	6,10,14-三甲基-2-十五烷酮 6,10,14-Trimethyl-2-pentadecanone	0.69	0.47	0.17	0.36
			杂环				
141	4.514	C ₆ H ₁₂ O ₂	2,4,5-三甲基-1,3-二氧戊环 2,4,5-Trimethyl-1,3-dioxolane		1.23		0.66
142	7.372	C ₁₀ H ₁₂ O ₂	2-(苯甲基)-1,3-二氧戊环 2-(Phenylmethyl)-1,3-dioxolane		0.89		
143	8.049	C ₈ H ₁₆ O ₂	2-乙基-2,4,5-三甲基-1,3-二氧戊环 2-Ethyl-2,4,5-trimethyl-1,3-dioxolane		0.23		0.12
144	10.999	C ₈ H ₁₆ O ₃	2-甲氧基甲基-2,4,5-三甲基-1,3-二氧戊环 Methoxymethyl-2,4,5-trimethyl-1,3-dioxolane		0.24		0.38
145	19.513	C ₆ H ₁₂ O ₂	2-丙基-1,3-二氧戊环 2-Propyl-1,3-dioxolane		0.26		0.20
			酸类				
146	13.770	C ₇ H ₁₄ O ₂	正庚酸 Heptanoic acid				0.14
147	15.870	C ₁₈ H ₂₈ O ₂	10,12-十八烷二炔酸 10,12-Octadecadiynoic acid				0.21
148	30.614	C ₁₄ H ₂₈ O ₂	十四烷酸 Tetradecanoic acid	0.33	0.68	0.32	0.68
149	34.906	C ₁₈ H ₃₀ O ₂	亚麻酸 (Z,Z,Z)-9,12,15-Octadecatrienoic acid	3.30	2.07		
150	35.047	C ₁₈ H ₃₆ O ₂	十八烷酸 Octadecanoic acid		3.06		
			醚类				
151	9.640	C ₈ H ₁₈ O	仲丁基醚 Di-sec-butyl ether		0.89		0.56
152	14.441	C ₉ H ₂₀ O	己基异丙醚 Ether, hexyl isopropyl		0.39		0.18
153	18.609	C ₁₂ H ₂₀ O	香叶基乙烯基醚 Geranyl vinyl ether		0.21		0.09

注：“环”为环己烷萃取，“醚”为乙醚萃取。

表 2 梔子叶、茎挥发油化学成分结果比较

Table 2 Comparison between the volatile oils' chemical constituents of leaf and stem from *Gardenia jasminoides* Ellis

类别	叶挥发油		茎挥发油	
	环己烷萃取	乙醚萃取	环己烷萃取	乙醚萃取
鉴定挥发油成分数量/种	40	64	51	85
已鉴定成分所占比例/%	72.39	85.31	80.73	87.44
主要成分类型及含量/%	烃类(36.78%),醇类(12.48%),苯类(10.98%),酯类(3.69%),酸类(3.63%),醛类(3.54%),酮类(1.29%)	烃类(34.22%),醇类(30.77%),酸类(5.81%),酯类(5.04%),杂环(2.85%),醛类(2.11%),酮类(1.62%),醚类(1.49%),苯类(1.40%)	醇类(39.56%),烃类(34.54%),苯类(3.45%),酯类(1.85%),醛类(0.56%),酮类(0.45%),酸类(0.32%)	烃类(46.73%),醇类(29.94%),酯类(5.15%),酮类(1.55%),杂环(1.36%),酸类(1.03%),醚类(0.83%),苯类(0.52%),醛类(0.33%)
主要成分及含量/%	1,2,3,4,5,6,7,8 α -八氢化-1,4-二甲基-7-(1-甲基乙烯基)萘(6.96%),甲苯(6.72%),[1S-(1 α ,4 α ,7 α)]-1,2,3,4,5,6,7,8-八氢化-1,4-二甲基-7-(1-甲基乙烯基)萘(5.79%)	4,8,12,15,15-五甲基双环[9.3.1]十五烷-3,7-二烯-12-醇(24.77%),1,1-二乙氧基乙烷(9.51%),2-乙基-1,3-二氧戊烷(5.46%)	4,8,12,15,15-五甲基双环[9.3.1]十五烷-3,7-二烯-12-醇(33.68%),1,2,3,4,5,6,7,8 α -八氢化-1,4-二甲基-7-(1-甲基乙烯基)萘(5.89%),龙脑(5.14%)	4,8,12,15,15-五甲基双环[9.3.1]十五烷-3,7-二烯-12-醇(22.43%),1,1-二乙氧基乙烷(6.80%)

表 3 梔子叶、茎挥发油抗菌实验的 MIC 值 (n=3)

单位:mg/mL

Table 3 Antimicrobial MIC of leaf and stem essential oils from *Gardenia jasminoides* Ellis

菌种	叶(环己烷)	叶(乙醚)	茎(环己烷)	茎(乙醚)	苯甲酸钠
坚强芽孢杆菌	0.188	0.094	0.188	0.188	0.188
尿肠球菌	0.094	0.047	0.094	0.750	0.094
凝结芽孢杆菌	1.500	0.188	3.000	1.500	0.375
短小芽孢杆菌	0.188	0.094	0.750	3.000	0.188
成团肠杆菌	0.750	0.047	0.188	0.750	0.375
巨大芽孢杆菌	3.000	0.188	0.750	1.500	0.188
溶酪葡萄球菌	1.500	0.188	0.750	0.375	0.047
枯草芽孢杆菌	0.750	0.047	0.094	0.188	0.047

表 4 梔子叶(乙醚)挥发油处理前后对豆腐中微生物中菌落数的影响

Table 4 Affect on the total count of microorganisms before and after milk processing with leaf and stem essential oils of *Gardenia jasminoides* Ellis

样品	挥发油浓度/%	菌落总数/(CFU·mL ⁻¹)					
		0 d	3 d	6 d	9 d	12 d	15 d
空白组		201	3.6×10 ⁴	4.6×10 ⁶	7.7×10 ⁸	5.1×10 ¹⁰	2.7×10 ¹²
阳性对照组	0.10	209	2.5×10 ²	3.2×10 ³	4.3×10 ⁴	6.6×10 ⁵	5.8×10 ⁶
	0.05	211	2.2×10 ²	2.2×10 ³	3.9×10 ⁴	4.8×10 ⁵	3.1×10 ⁶
叶(乙醚)挥发油组	0.10	203	1.0×10 ²	1.1×10 ³	2.6×10 ⁴	3.3×10 ⁵	1.9×10 ⁶
	0.15	198	0.5×10 ²	0.7×10 ³	1.8×10 ⁴	2.0×10 ⁵	1.0×10 ⁶

3 结论

从梔子叶、茎挥发油中共鉴定出 153 种化学成分,主要有烃类、酯类、苯类、醇类、醛类、酮类、酸类、醚类、杂环类等。叶环己烷萃取挥发油以烃类成分为主,达到 36.78%,而叶乙醚萃取挥发油以烃类和醇类成分为主,分别达到 34.22% 和 30.77%。茎环己烷、乙醚萃取的挥发油也以烃类和醇类成分为主,分

别达到 34.54%、39.56% 和 46.73%、29.94%。4,8,12,15,15-五甲基双环[9.3.1]十五烷-3,7-二烯-12-醇为梔子叶乙醚萃取挥发油和茎环己烷、乙醚萃取挥发油的主要成分。对以上挥发油进行抑制豆腐腐败细菌实验表明,梔子叶(乙醚萃取)挥发油可明显延长豆腐冷藏时间,使其保鲜时间延长 6 d。由于气味芳香,不影响其自然风味。

参 考 文 献

- [1] JAMES W A, BELINDA M S, CARLA S W. Cardiovascular and renal benefits of dry bean and soybean intake[J]. American Journal of Clinical Nutrition, 1999, 70(3): 464-474.
- [2] 王敏. 非发酵性豆制品(豆腐丝)主要腐败细菌的分离鉴定及其防腐研究[D]. 保定:河北农业大学, 2004.
- [3] 李博. GDL豆腐中的主要腐败微生物的研究及 HACCP的建立[D]. 北京:中国农业大学, 2001.
- [4] 邓勇, 腾刚, 陈莲伊. 盒装豆腐腐败菌的鉴定及其耐热性的研究[J]. 中国食品学报, 1998(3): 33-38.
- [5] THOMAS A, MEEKIN M, Thomas R. Shelf life prediction: status and future possibilities[J]. International Journal of Food Microbiology, 1996, 33(1): 65-83.
- [6] 崔红, 张丽云, 李勇. 栀子化学成分和药理作用的研究进展[J]. 医学信息, 2011(4): 1 679-1 680.
- [7] LIN W H, KUO H H, HO L H, et al. *Gardenia jasminoides* extracts and gallic acid inhibit lipopolysaccharide-induced inflammation by suppression of JNK2/1 signaling pathways in BV-2 cells[J]. Iran J Basic Med Sci, 2015, 18(6): 555-562.
- [8] CHEN Y H, LAN T, LI J, et al. *Gardenia jasminoides* attenuates hepatocellular injury and fibrosis in bile duct-ligated rats and human hepatic stellate cells[J]. World J Gastroenterol, 2012, 18(48): 7 158-7 165.
- [9] ZHANG H L, XUE W D, WU R J, et al. Rapid antidepressant activity of ethanol extract of *Gardenia jasminoides* Ellis is associated with upregulation of BDNF expression in the Hippocampus[J]. Evid Based Complement Alternat Med, 2015: 761238.
- [10] CHEN Y I, CHENG Y W, TZENG C Y, et al. Peroxisome proliferator-activated receptor activating hypoglycemic effect of *Gardenia jasminoides* Ellis aqueous extract and improvement of insulin sensitivity in steroid induced insulin resistant rats[J]. BMC Complement Altern Med, 2014, 14(2): 141.
- [11] RIAZ U, MONI R S, NUSRAT S, et al. HPLC-analysis of polyphenolic compounds in *Gardenia jasminoides* and determination of antioxidant activity by using free radical scavenging assays[J]. Adv Pharm Bull, 2014, 4(3): 273-281.
- [12] 税丕先, 庄元春, 孙琴, 等. 栀子叶的生药学研究[J]. 中药材, 2007, 30(5): 536-538.
- [13] 王红戟, 陈娅, 林沛璋. 豆腐加工过程中微生物污染的调查与对策[J]. 中国卫生检验杂志, 2008, 18(6): 1 181-1 182.

Chemical constituents of essential oil of the leaf and stem from *Gardenia jasminoides* Ellis and their antimicrobial activities in the bean curd

WEI Qiang, XU Fei

(Pharmacology College, Anhui Xinhua University, Hefei 230088, China)

ABSTRACT The chemical constituents of essential oils of the leaf and stem from *Gardenia jasminoides* Ellis and their biological activities in the bean curd were studied herein. The volatile oils of leaf and stem were extracted by supercritical CO₂, cyclohexane and ethyl ether extraction, then separated and identified by GC-MS. 153 components were identified from the volatile oil, wherein main constituents were 1,2,3,5,6,7,8,8 α -octahydro-1,4-dimethyl-7-(1-methylethenyl)-azulene, toluene, [1S-(1 α ,4 α ,7 α)]-1,2,3,4,5,6,7,8-octahydro-1,4-dimethyl-7-(1-methylethenyl)-azulene, 4, 8, 12, 15, 15-pentamethyl-bicyclo[9.3.1]pentadeca-3,7-dien-12-ol, 1,1-diethoxy-ethane, 2-ethyl-1,3-dioxolane (5.46%) from the leaf, and 4, 8, 12, 15, 15-pentamethyl-bicyclo[9.3.1]pentadeca-3,7-dien-12-ol, 1, 2, 3, 5, 6, 7, 8, 8 α -octahydro-1,4-dimethyl-7-(1-methylethenyl)-azulene, borneol, 1,1-diethoxy-ethane from the stem. The volatile oils of leaf (aether) showed apparent antimicrobial activities in the bean curd, which could prolong the storage time.

Key words leaf and stem from *Gardenia jasminoides* Ellis; volatile oil; chemical components; bean curd; antimicrobial activities