

永州山苍子精油成分及其对老年小鼠肠道菌群的影响

黎宁, 阳灿, 廖阳, 王小仪, 吴海燕, 李昌珠, 闫荣玲

(湖南科技学院 化学与生物工程学院 & 木本油料资源利用国家重点实验室永州分中心, 永州 425199)

摘要:为更好了解永州山苍子精油成分组成及其对老年肠道微生物的调节作用,本文利用水蒸气蒸馏提取得到永州山苍子精油,通过气相色谱-质谱联用法(GC-MS)分析确定了精油组分,并借助16S rDNA高通量测序法比较了精油灌胃处理前后老年小鼠肠道微生物的变化。结果发现,精油共检出烯、醛、醇、酮共4类21种挥发性成分,且烯、醛两类物质占主导;*D*-柠檬烯(30.55%)、*cis*-柠檬醛(橙花醛,22.52%)、*trans*-柠檬醛(香叶醛,35.59%)三者相对质量分数高于10%; α -蒎烯、桉烯、6-甲基-5-庚烯-2-酮、月桂烯、芳樟醇、香叶醇、 α -石竹烯等7种组分相对质量分数介于3%~5%; β -蒎烯、*cis*-氧化柠檬烯、 α -松油醇、*cis*-橙花醇相对质量分数介于1%~3%间,其余7种物质均低于1%。精油中*D*-柠檬烯、 α -石竹烯(质量分数4.64%)含量远高于贵阳、安顺、恩施、怀化等产区,分别是其他产区的2.4~7.2倍和7~29倍;*trans*-柠檬醛、*D*-柠檬烯、*cis*-柠檬醛三者总量是其他产区精油的1.1~2.6倍。永州山苍子精油灌胃处理导致小鼠肠道微生物香浓(Shannon)指数增加,微生物群落多样性及物种分布更均匀。不同剂量山苍子精油引发老年小鼠肠道微生物类群发生不同程度丰度变化,低剂量(0.2 μ L/g)精油使厚壁菌门丰度上升而拟杆菌门、疣微菌门丰度下降,高剂量(0.6 μ L/g)处理则使厚壁菌门、疣微菌门丰度上升而拟杆菌门丰度降低;细化到属水平,精油处理导致老年小鼠肠道拟杆菌属、普雷沃氏菌属_NK3B31群、另枝菌属、雷沃氏菌属 UCG-001群、毛螺菌属 UCG-006群、拟普雷沃菌属、毛螺菌科_NK4A136群等微生物类群的丰度出现不同程度增加,且高剂量影响较低剂量更明显。大部分精油处理后丰度呈增加趋势的微生物类群为对机体有积极效应的益生菌。结果表明,永州山苍子精油所含活性成分种类多样但含量集中于少数成分,适量精油摄入对老年小鼠的肠道微生物表现出积极调节效应。

关键词:山苍子;气相色谱-质谱法(GC-MS);老年小鼠;16S rDNA;肠道微生物

DOI:10.20048/j.cnki.issn.1003-0174.001284

中图分类号:Q945.1;TS202 文献标识码:A 文章编号:1003-0174(2026)01-0162-08

网络首发时间:2025-11-27 15:38:41

网络首发地址:https://link.cnki.net/urlid/11.2864.TS.20251127.1426.010

Components analysis of the essential oil of *Litsea cubeba* from Yongzhou and its effects on the gut microbiota of elderly mice

Li Ning, Yang Can, Liao Yang, Wang Xiaoyi, Wu Haiyan, Li Changzhu, Yan Rongling

(College of Chemistry and Bioengineering & Branch Center of State Key Laboratory of Utilization of Woody Oil Resources, Hunan University of Science and Engineering, Yongzhou 425199)

Abstract: In order to get a better understanding for the essential oil composition of *Litsea cubeba* from Yongzhou and its regulatory effect on the gut microbiota of elderly body, the essential oil of Yongzhou *Litsea cubeba* was extrac-

基金项目:湖南省教育厅科研项目(24A0599),木本油料资源利用国家重点实验室开放基金项目(GZKF202210),湖南省重点实验室科研项目(HUSE-2024-19),湖南科技学院科研项目(23XKYZZ02),大学生创新训练项目(202510551002)

收稿日期:2025-03-06

第一作者:黎宁,女,2006年出生,学士,植物活性成分利用研究,2724191550@qq.com

通信作者:廖阳,男,1983年出生,教授,植物活性成分开发利用研究,liaoyang1127@163.com

闫荣玲,女,1982年出生,副教授,天然产物开发利用研究,yanrongling0912@163.com

ted by steam distillation, and its components were analyzed and determined by GC – MS. Subsequently, the changes in the gut microbiota of elderly mice before and after gavage with the essential oil were compared using 16S rDNA high – throughput sequencing. Results showed that a total of 21 components belonging to four categories (alkenes, aldehydes, alcohols, and ketones) were detected in the essential oil, with the alkenes and aldehydes being dominant categories. Three components had relative mass fractions exceeding 10% : *D* – limonene (30.55%), *cis* citral (neral, 22.52%), and *trans* – citral (geranial, 35.59%). Seven components had relative mass fractions ranging from 3% to 5% : α – pinene, sabinene, 6 – methyl – 5 – hepten – 2 – one, myrcene, linalool, geraniol, and α – caryophyllene. Four components were in the range of 1% to 3% : β – pinene, *cis* – limonene oxide, α – terpineol, and *cis* – nerol. The remaining seven components accounted for less than 1% each. The contents of *D* – limonene and α – caryophyllene in the essential oil of Yongzhou *Litsea cubebais* were significantly higher than those in essential oils from other producing areas (such as Anshun, Guiyang, Enshi, and Huaihua), being 2.4 – 7.2 times and 7 – 29 times higher, respectively. The total content of *trans* – citral, *D* – limonene, and *cis* – citral was 1.1 – 2.6 times that of essential oils from other producing areas. Gavage of the essential oil of Yongzhou *Litsea cubeba* increased the Shannon index of the gut microbiota in mice, resulting in more uniform diversity of microbial community and species distribution. Different dose of essential oil caused varying degree of changes in the abundance of gut microbiota in elderly mice. In the low – dose group (0.2 $\mu\text{L/g}$), the abundance of Firmicutes were increased, while that of Bacteroidetes and Verrucomicrobia was decreased; in the high – dose group (0.6 $\mu\text{L/g}$), the abundance of Firmicutes and Verrucomicrobia were increased, while that of Bacteroidetes was decreased. At the genus level, treatment with essential oil resulted in varying degrees of increase in the abundance of several microbial genera in the gut of elderly mice, including *Bacteroidetes*, *Prevotella_NK3B31_group*, *Alistipes*, *Prevotella_UCG – 001_group*, *Lachnospiraceae_UCG – 006_group*, *Alloprevotella*, and *Lachnospiraceae_NK4A136_group*, Notably, the high – dose treatment exerted a more pronounced effect than that of the low – dose. Most of the microbial groups that showed an increasing trend in abundance after essential oil treatment were probiotics with positive effects on the organism. The results indicate that the essential oil of Yongzhou *Litsea cubeba* contains a variety of active ingredients, but the contents are concentrated in a few components. As appropriate intake of essential oil may exert a positive regulatory effect on the gut microbiota of elderly mice.

Key words: *Litsea cubeba*; gas chromatography – mass spectrometry; elderly mice; 16S rDNA; gut microbiota

精油是植物根、茎、叶、花、果等营养或生殖器官中的次生代谢产物,有益于活血行气、改善认知、抗菌消炎、抑制肿瘤等,在医药、保健、食品、轻工业等领域表现出显著应用潜力^[1-3]。山苍子 (*Litsea cubeba*) 作为我国南方地区广泛分布的樟科木姜子属多年生落叶灌木或小乔木,从其鲜果中提取得到的精油富含柠檬醛、柠檬烯、香樟醇等挥发性物质,具有浓郁柠檬清香及有助于抗菌、祛痰、镇痛等,可用于香精原料、化工原料、医用药物^[4,5]。不同产区气候、环境、土壤因子的不同往往导致同种植物精油成分上不同程度的差异^[6,7]。

研究表明,肠道菌群与机体代谢、健康、衰老、情绪、记忆等密切相关,并随年龄、昼夜表现出一定动态变化规律^[8,9]。随着年龄增加,人体及动物肠道菌群易出现不同程度失调,引发肠道免疫屏障破坏和神经递质分泌失衡等连锁效应,并通过神经(神经递质)、免疫(细胞因子)、内分泌(激素)等多种途径影

响中枢神经系统与血液循环系统健康^[10,11]。研究表明,植物精油等天然产物所含挥发性成分及微量酮、醛、烯、多糖、维生素可调节肠道菌群向利于机体健康的方向变化^[12-16]。

本研究利用水蒸气蒸馏提取得到永州产山苍子精油,利用气相色谱 – 质谱联用技术(GC – MS)分析精油的组分与含量,并与其他产区山苍子精油进行了横向比较;在此基础上,利用 16S rDNA 高通量测序以及生物信息学分析等方法,探究了山苍子精油灌胃对老年小鼠肠道微生物的影响,以期为永州山苍子精油的开发利用提供参考。

1 材料与amp;方法

1.1 实验材料

山苍子于 2023 年 7 月中旬采于湖南省永州市江华瑶族自治县湘江乡;SPF 级 15 月龄老龄昆明小鼠购

自湖北省实验动物研究中心,许可证号为SCXK(鄂)2020-0018,所有小鼠体型均匀,体质量为 (55 ± 2) g。

1.2 试剂与仪器

0.5 mol/L 氢氧化钠-甲醇溶液(0.1 g 氢氧化钠溶于5.0 mL 甲醇溶液中,搅拌混匀制得)、2.0 g/100 mL吐温80溶液(称取2.0 g 吐温80后加无菌水定容至100 mL,立体蒸汽灭菌器灭菌后振荡摇匀制得)。

QP2010S GC-MS、SW-CJ2FD 超净工作台、YXQ-100SII 立式压力蒸汽灭菌器、QYC-200 全温培养摇床、SDX-80 智能光照培养箱、JA3003 电子分析天平、DF-101S 集热式恒温加热磁力搅拌器、WG-71 电热干燥鼓风箱、XY-100 高速多功能粉碎机、DW-HL340 超低温冰箱、MiSeq 高通量测序仪。

1.3 永州山苍子精油成分测定

微波辅助水蒸汽蒸馏法提取永州山苍子精油,取经无水硫酸钠干燥后的精油0.5 mL 置容量瓶中,加入无水乙醇色谱纯定容至5.0 mL,振荡充分混匀后取1.5 mL 至进样瓶中待测。GC-MS 测试条件如下:采用石英毛细管色谱柱(30.00 m \times 0.25 mm, 0.25 μ m);载气为He,流量2 mL/min;升温程序为初始温度70 $^{\circ}$ C,保持3 min;以5 $^{\circ}$ C/min 的速度升温至220 $^{\circ}$ C,保持8 min;进样量1.0 μ L;离子源为EI,温度为230 $^{\circ}$ C,传输管温度250 $^{\circ}$ C;电子能量70 eV;扫描周期0.5 s;扫描质量范围40~550;界面温度250 $^{\circ}$ C。采用质谱图库检索比较取最优匹配者进行定性鉴定,峰面积归一法确定各成分相对含量^[17, 18]。

1.4 永州山苍子精油对小鼠灌胃处理

昆明小鼠先进行适应性饲喂7 d,期间给予标准实验室饲料自由饮水采食。适应期结束后进入灌胃处理阶段。每次灌胃处理前准备好9支新EP管并标好序,每支EP管固定对应空白对照组(CK)、低剂量山苍籽精油灌胃组(LA)、高剂量山苍籽精油灌胃组(HA)中的其中1只特定的小鼠,每只EP管中均加入相同的2.0 g/100 mL吐温80溶液0.5 mL。CK组各小鼠直接灌胃对应EP管的0.5 mL吐温80溶液。LA和HA组分别根据各组每只小鼠体重按0.2 μ L/g和0.6 μ L/g计算山苍子精油量,根据计算所需山苍子精油量,取得精油后加入对应EP管的0.5 mL吐温80溶液中混匀。每天下午5点灌胃1次,灌胃体积0.5 mL^[12]。

实验室条件保持恒温 (22 ± 2) $^{\circ}$ C,持续处理20 d

后在超净工作台无菌环境下断颈处死小鼠,腹部酒精消毒后用无菌手术剪刀打开腹腔取出小鼠完整肠道,收集盲肠和结肠内容物装入1.5 mL EP,保存于超低温冰箱(-80 $^{\circ}$ C),及时送至诺禾致源生物科技有限公司进行16S rDNA 高通量测序分析肠道菌群^[12, 13]。

测序引物对应区域分别为:16S V4 区引物(515F和806R)鉴定细菌多样性,18S V4 区引物(528F和706R)鉴定真核微生物多样性,ITS1 区引物(ITS5-1737F和ITS2-2043R)鉴定真菌多样性,新古菌V4 区引物(Novel-Archaea-V4)鉴定新古菌多样性。所有PCR混合液加入15 μ L Phusion High-Fidelity PCR Master Mix(New England Biolabs)、0.2 μ mol/L引物和10 ng 基因组DNA模板,98 $^{\circ}$ C下进行1 min的第1次变性,然后在98 $^{\circ}$ C(10 s)、50 $^{\circ}$ C(30 s)和72 $^{\circ}$ C(30 s)下进行30次循环,最后在72 $^{\circ}$ C下保持5 min;PCR产物磁珠纯化后,根据产物浓度进行等量混样,充分混匀后进行检测并回收目的条带。之后进行文库构建、Qubit和Q-PCR定量,文库合格后用NovaSeq6000 上机测序和生物信息学分析^[12, 13]。

1.5 数据处理

实验所得数据经Excel 2007、SPSS 19.0及Sigmaplot 10.0等软件进行整理、分析与作图。

2 结果与分析

2.1 永州产山苍子精油成分

永州山苍子精油GC-MS总离子流图如图1所示,精油所含各类物质的出峰时间主要集中于5~15 min区间,离子流图显示精油所含成分复杂且不同成分相对含量占比差异明显。检索比对确定离子流图对应的各成分及其相对含量列于表1。由表1可知,精油共检出21种挥发性成分,这些成分可分为烯、醛、醇、酮4类,且烯、醛2类物质占主导。组分中相对质量分数大于10%的有D-柠檬烯(30.55%)、顺-柠檬醛(橙花醛,22.52%)、反-柠檬醛(香叶醛,35.59%)3种,三者总质量分数达88.66%,其中两种柠檬醛异构体质量分数之和为58.11%。精油中的其余成分相对质量分数均低于5%,其中 α -蒎烯、桉烯、6-甲基-5-庚烯-2-酮、月桂烯、芳樟醇、香叶醇、 α -石竹烯等7种组分相对质量分数超过3%,而 β -蒎烯、cis-氧化柠檬烯、 α -松油醇、cis-橙花醇介于1%~3%区间,相对质量分数最少的 γ -松油烯仅占0.23%。

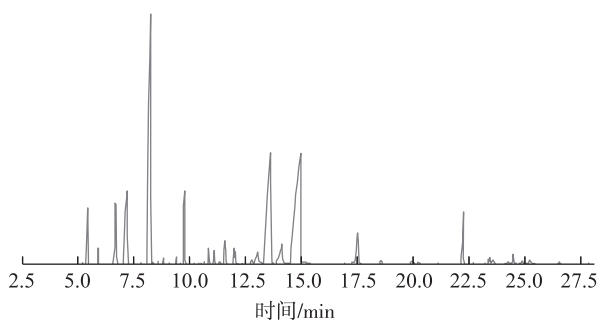


图 1 永州山苍子精油 GC-MS 总离子流图

表 1 永州山苍子精油的成分组成

峰号	保留时间 /min	化合物名称	分子式	相对分子质量	相对质量分数/%
1	5.420	α -蒎烯	C ₁₀ H ₁₆	136	3.42
2	5.893	蒎烯	C ₁₀ H ₁₆	136	0.83
3	6.641	桉烯	C ₁₀ H ₁₆	136	3.65
4	6.734	β -蒎烯	C ₁₀ H ₁₆	136	2.73
5	7.130	6-甲基-5-庚烯-2-酮	C ₈ H ₁₄ O	126	4.78
6	7.198	月桂烯	C ₁₀ H ₁₆	136	3.30
7	8.247	D-柠檬烯	C ₁₀ H ₁₆	136	30.55
8	8.810	γ -松油烯(γ -萜品烯)	C ₁₀ H ₁₆	136	0.23
9	9.393	α -水芹烯	C ₁₀ H ₁₆	136	0.29
10	9.749	芳樟醇	C ₁₀ H ₁₈ O	154	3.22
11	10.847	香茅醛	C ₁₀ H ₁₈ O	154	0.73
12	11.084	<i>trans</i> -氧化柠檬烯	C ₁₀ H ₁₆ O	152	0.68
13	11.307	异冰片醇(异龙脑)	C ₁₀ H ₁₈ O	154	0.25
14	11.563	<i>cis</i> -氧化柠檬烯	C ₁₀ H ₁₆ O	152	1.80
15	11.987	α -松油醇	C ₁₀ H ₁₈ O	154	1.40
16	13.053	橙花醇	C ₁₀ H ₁₈ O	154	1.60
17	13.625	<i>cis</i> -柠檬醛(橙花醛)	C ₁₂ H ₁₆ O	152	22.52
18	14.118	香叶醇	C ₁₀ H ₁₈ O	154	3.17
19	14.954	<i>trans</i> -柠檬醛(香叶醛)	C ₁₀ H ₁₆ O	152	35.59
20	22.240	α -石竹烯	C ₁₅ H ₂₄	204	4.64
21	24.479	γ -榄香烯	C ₁₅ H ₂₄	204	0.44

2.2 永州与其他产地山苍子精油成分对比

对比湖南永州与已报道的贵州安顺、贵州贵阳、湖北恩施、湖南怀化 4 个产区山苍子精油组分种类如表 2 所示。结果发现,总组分种类最多的是贵州安顺产区精油(达 44 种),而永州与贵阳、恩施、怀化等产区的总组分均在 20 种左右(18~21 种)。虽然安顺产区精油检出组分总数多于其他产区,但大部分组分的相对质量分数极低(<0.5%的有 27 种),相对质量分数大于 10%的组分种类数和永州产区一致(均为 3 种),相对质量分数大于 3%及相对质量分数大于 1%的组分种类数与永州产区几近一致,且均多于贵阳、恩施、怀化等其他 3 个产区。

表 2 永州与其他产区山苍子精油总组分及不同相对质量分数组分的数量对比

项目	产地				
	湖南永州	贵州安顺 ^[19]	贵州贵阳 ^[20]	湖北恩施 ^[20]	湖南怀化 ^[20]
组分总数量	21	44	19	18	21
相对质量分数 >10% 的组分数量	3	3	3	2	2
相对质量分数 >3% 的组分数量	10	11	6	4	8
相对质量分数 >1% 的组分数量	14	14	10	7	11

比较永州山苍子精油中相对质量分数超过 1% 的 *D*-柠檬烯、*cis*-柠檬醛、*trans*-柠檬醛、 α -蒎烯、桉烯、6-甲基-5-庚烯-2-酮、月桂烯、芳樟醇、香叶醇、 α -石竹烯、 β -蒎烯、*cis*-氧化柠檬烯、 α -松油醇、*cis*-橙花醇等 14 种成分与其他产区相应物质的含量如表 3 所示。永州山苍子精油的 *D*-柠檬烯含量远高于其他产区,是其他产区的 2.4~7.2 倍;另一种成分 α -石竹烯虽相对质量分数占比不高(4.64%),但也达其他产区的 7~29 倍。除二者外,永州山苍子精油中的 6-甲基-5-烯-2-酮、香叶醇、橙花醇等 3 种物质也不同程度的高于其他产区。其他物质诸如桉烯、 α -蒎烯、月桂烯、 α -松油醇等相对质量分数较其他产区则无固定规律,即可能高于部分产区的同时又低于个别产区。永州山苍子精油中含量最高的 *trans*-柠檬醛、*D*-柠檬烯、*cis*-柠檬醛等 3 种物质,也同样是其他产区精油中相对质量分数最多的 3 种物质(仅安顺产区精油中的芳樟醇稍高于 *trans*-柠檬醛),但永州精油中三者总相对质量分数最高,分别是安顺、贵阳、恩施、怀化产区精油的 2.6、1.3、1.1、1.8 倍。

表 3 永州与其他产区山苍子精油成分相对质量分数对比/%

成分	产地				
	湖南永州	贵州安顺 ^[19]	贵州贵阳 ^[20]	湖北恩施 ^[20]	湖南怀化 ^[20]
<i>trans</i> -柠檬醛	35.59	7.59	31.82	44.33	20.48
<i>D</i> -柠檬烯	30.55	11.44	12.67	4.23	5.73
<i>cis</i> -柠檬醛	22.52	14.74	24.58	34.68	22.77
前三者之和	88.66	33.77	69.07	82.34	48.98
6-甲基-5-烯-2-酮	4.78	3.90	3.41	2.21	1.88
α -石竹烯	4.64	0.16	0.32	0.31	0.66
桉烯	3.65	5.84	—	0.32	0.56
α -蒎烯	3.42	4.52	—	0.31	0.63
月桂烯	3.30	3.01	0.67	0.94	0.72
芳樟醇	3.22	9.28	6.95	1.99	5.43
香叶醇	3.17	—	1.85	—	0.76
β -蒎烯	2.73	2.24	0.37	0.42	0.93
<i>cis</i> -氧化柠檬烯	1.80	0.07	<0.40	<0.40	—
橙花醇	1.60	—	0.87	—	0.81
α -松油醇	1.40	—	3.38	0.64	3.03

除精油所含组分数量及同一组分相对质量分数存在差异外,不同产区的山苍子精油还均含有自身特有成分,如永州精油中的 γ -榄香烯,贵阳精油中的斯巴醇,恩施精油中的十二烷衍生物,怀化精油中的4-萜品醇,安顺精油中的胡椒酮、 α -罗勒烯、 α -侧柏烯等^[19, 20]。各产地精油所含独有组分相对质量分数往往不高,但赋予了不同产区精油地方特色,可作为区别不同产地精油的特征性指纹。

2.3 永州山苍子精油对小鼠肠道菌群的影响

基于 16S rDNA 测序和生物信息学分析所得各组样本盲肠到结肠段的微生物丰度情况可知,对对照组(DZ)与2个精油处理组(DN、GN)三者的微生物类群组成及丰度均在门水平存在不同程度差异。对照组和处理组排名前10位的分别是迟杆菌门(Latecibacterota)、蓝藻菌门(Cyanobacteria)、脱铁杆菌门(Deferribacterota)、变形菌门(Proteobacteria)、放线菌门(Actinobacteriota)、髌骨细菌门(Patescibacteria)、脱硫杆菌门(Desulfobacterota)、疣微菌门(Verrucomicrobia)、厚壁菌门(Firmicutes)、拟杆菌门(Bacteroidota)。其中拟杆菌门(Bacteroidota)、厚壁菌门(Firmicutes)、疣微菌门(Verrucomicrobia)是各组老年小鼠肠道中占比前三的微生物类群,三者之外的其他几类微生物丰度极低,仅脱硫杆菌门在部分样本中丰度稍高。

如表4所示,山苍子精油灌胃处理导致老年小

鼠肠道微生物类群发生了不同程度的丰度变化。其中,低剂量处理使厚壁菌门、髌骨细菌门、变形菌门、蓝藻菌门的丰度上升,而拟杆菌门、疣微菌门、放线菌门、脱硫杆菌门丰度下降;高剂量精油处理则使厚壁菌门、疣微菌门、髌骨细菌门、蓝藻菌门丰度上升,而拟杆菌门、变形菌门、脱铁杆菌门、放线菌门的丰度下降。

根据所有样本在属水平的物种注释及丰度信息,选取丰度排名前35个属根据其所属门进行聚类,对应的丰度数据汇于表5。结果显示,低剂量精油处理使肠道微生物中的厚壁菌门、脱硫杆菌门、髌骨细菌门、蓝藻菌门的丰度上升,而拟杆菌门、疣微菌门、放线菌门、变形菌门、脱铁杆菌门的丰度下降;高剂量处理下各门的变化趋势与低剂量组基本一致,但对疣微菌门和脱硫杆菌门的作用结果与低剂量处理存在差异,具体表现为高剂量导致了疣微菌门丰度上升,但对脱硫杆菌丰度影响不明显(表5)。

细化到属水平,低剂量精油处理使拟杆菌属、普雷沃氏菌属_NK3B31群、另枝菌属、雷沃氏菌属 UCG-001群、毛螺菌属 UCG-006群、拟普雷沃菌属、毛螺菌科 UCG-006群、拟普雷沃菌属、毛螺菌科_NK4A136群的丰度较对照组增加,而嗜黏蛋白阿克曼菌属、乳杆菌属、苏黎世杆菌属的丰度下降;高剂量处理则使除苏黎世杆菌属之外的几乎所有各属均不同程度增加(表6)。

表4 各组老年小鼠肠道微生物门水平丰度比较

组别	丰度									
	迟杆菌门	蓝藻菌门	脱铁杆菌门	变形菌门	放线菌门	髌骨细菌门	脱硫杆菌门	疣微菌门	厚壁菌门	拟杆菌门
DZ	0.000 00	0.000 05	0.000 65	0.001 10	0.002 80	0.000 94	0.008 70	0.075 44	0.293 20	0.617 07
DN	0.000 01	0.000 18	0.000 33	0.000 40	0.001 25	0.001 66	0.011 05	0.039 92	0.395 57	0.549 64
GN	0.000 00	0.000 07	0.000 12	0.000 40	0.002 34	0.003 89	0.008 50	0.139 16	0.399 56	0.445 96

表5 各组老年小鼠肠道微生物类群丰度排名前35各属在门水平丰度比较

组别	丰度									
	迟杆菌门	蓝藻菌门	脱铁杆菌门	变形菌门	放线菌门	髌骨细菌门	脱硫杆菌门	疣微菌门	厚壁菌门	拟杆菌门
DZ	0.000 00	0.000 05	0.000 65	0.001 10	0.002 80	0.000 94	0.008 70	0.075 44	0.293 20	0.617 07
DN	0.000 01	0.000 20	0.000 33	0.000 40	0.001 24	0.001 62	0.011 06	0.039 91	0.395 71	0.549 50
GN	0.000 00	0.000 06	0.000 11	0.000 39	0.002 36	0.003 87	0.008 50	0.139 16	0.399 57	0.445 96

表6 各组老年小鼠肠道微生物类群属水平丰度比较

组别	丰度									
	嗜黏蛋白阿克曼菌属	乳杆菌属	拟杆菌属	普雷沃氏菌科_NK3B31群	苏黎世杆菌属	另枝菌属	普雷沃氏菌科 UCG-001群	毛螺菌科 UCG-006群	拟普雷沃菌属	毛螺菌科_NK4A136群
DZ	0.075 81	0.035 73	0.016 27	0.009 65	0.030 26	0.012 16	0.012 38	0.002 67	0.005 71	0.008 23
DN	0.039 91	0.002 65	0.024 07	0.024 61	0.000 32	0.027 54	0.029 12	0.005 87	0.016 82	0.014 98
GN	0.139 16	0.049 05	0.043 91	0.010 26	0.003 28	0.023 59	0.015 94	0.011 29	0.008 80	0.014 31

各组样本表征微生物多样性的香浓指数(Shannon 指数)如图2所示,指数值越大说明微生物群落多样性越高,物种分布越均匀。图2中GN组和DN组的Shannon指数相近,且二者指数值均高于DZ组,说明山苍子精油处理导致样本微生物群落多样性增加,物种分布更均匀。以Weighted Unifrac距离矩阵做UPGMA聚类分析,聚类结果与各样本门水平的物种相对丰度整合后发现,对照组和低剂量组在同一支而高剂量组在另外一支,结果提示高剂量山苍子精油处理对老年小鼠肠道微生物种类影响大于低剂量组。

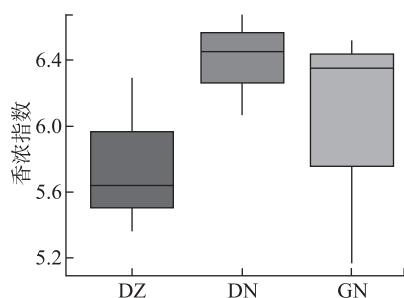


图2 各组老年小鼠肠道微生物多样性 Shannon 指数比较

3 讨论

植物精油含有十余种甚至几十种不同挥发性组分及微量活性成分,赋予了植物精油独特理化性质、嗅觉体验、生物活性。作为次生代谢产物,其合成与调控与所在产地的海拔高度、气温高低、土壤肥力、二氧化碳浓度等环境与气候因子密切相关,从而导致同种精油在不同产地间的成分差异及含量波动,以及随之而来的地域特色及功效差异。

山苍子是在我国南方地区大面积分布的一种植物资源,对其精油进行开发利用具有重要的经济与社会价值。本研究结果表明,永州山苍子精油与其他植物精油类似,呈现出成分复杂多样但含量相对集中的典型特征^[18-21]。平行对比不同产区山苍子精油组分及其含量可知,永州山苍子精油中相对质量分数大于1%的组分总数高于贵州安顺、贵州贵阳、湖北恩施、湖南怀化等其他产区的精油^[19, 20]。

山苍子精油已在食品保鲜、生物农药、药物制剂、天然香料等领域广泛应用,这与其含柠檬醛、柠檬烯、芳樟醇、 α -石竹烯等活性成分具清香、有益于抑菌、消炎、杀虫、抗氧化等特性密不可分。相较于其他产区,永州山苍子精油更高的柠檬烯相对质量分数(是其他产区的2.4~7.2倍)、 α -石竹烯相对质

量分数(是其他产区的7~29倍),以及更高的柠檬醛与柠檬烯总量(是其他产区的1.1~2.6倍)将赋予其更佳生物学活性,也为其所含主要活性物质的单体分离、衍生物合成、下游产品开发等提供了良好条件。

进入老龄阶段后,机体从分子、细胞、组织到整体等各个水平会逐渐出现各种衰老表征。诸多研究表明,肠道微生物通过其代谢产物影响机体的心血管、中枢神经、免疫等多个系统,从而与个体的衰老速度以及常见老龄疾病的发生发展密切相关^[22]。因此,解析肠道微生态与老年个体健康间的相关性可为预防老年疾病和延缓个体衰老提供新思路、新策略。本研究发现,老年小鼠肠道中占主导的优势微生物类群是拟杆菌门(Bacteroidota)、厚壁菌门(Firmicutes)、疣微菌门(Verrucomicrobia),且对照组个体间微生物类群及丰度存在明显差异。

植物精油可通过促进益生菌和抑制有害菌达到改善肠道菌群平衡的目的。其之所以能够对动物肠道菌落结构具有调节功效,是因为含有萜烯类、芳香族类、脂肪族类、含氮或含硫类化合物^[23-25]。山苍子精油作为一种木本植物精油,含有更为复杂的小分子活性成分,因此在调节人体尤其老年个体健康中潜能显著。本研究发现,经永州山苍子精油处理后的老年鼠肠道微生物群落多样性呈现增加趋势,不同微生物类群的丰度也发生不同程度的变化,且高浓度处理下变化更加明显,证明山苍子精油等木本植物精油摄入会影响老年个体肠道微生物种类及丰度。

从“属”一级分析,肠道中乳杆菌属、拟杆菌、普雷沃菌属、嗜黏蛋白阿克曼菌属、苏黎世菌属、毛螺菌科_NK4A136群等有益于增强免疫功能、维持肠道屏障功能、抑制肿瘤细胞增殖、减少代谢性内毒素吸收、维持肠道黏膜完整性和促进碳水化合物代谢等积极效应^[26, 27]。本研究发现,高浓度的永州山苍子精油处理,除苏黎世菌属呈下降趋势外,老年鼠肠道中诸如嗜黏蛋白阿克曼菌属、乳杆菌属、拟杆菌属、普雷沃氏菌科_NK3B31群、普雷沃氏菌科_UCG-001群和毛螺菌科_UCG-006群、拟普雷沃菌属等微生物类群的丰度呈现出上升趋势,这表明一定剂量的永州山苍子精油对老年肠道微生物具有调节效应,且利于机体健康和减缓衰老,结果提示永州山苍子精油在老年保健领域具有显著开发潜力。

4 结论

永州山苍子精油成分丰富多样但含量集中于少数几种主要成分,且较国内其他地区的山苍子精油含有相对质量分数更高的柠檬烯、柠檬醛等活性物质;摄入适量山苍子精油可使老年鼠肠道微生物群落多样性及益生菌丰度上升,从而表现出对老年小鼠肠道微生物的积极调节效应。

参考文献

- [1] Mo X, Wang Y, Zeng Q, et al. Antifungal activity study of several essential oils[J]. *Natural Product Research and Development*, 2005, 17(6): 696 – 699
- [2] Benali T, Laghmari M, Touhtouh J, et al. Chemical composition and bioactivity of essential oils from *Cistus ladanifer* L., *Pistacia lentiscus* L., and *Matricaria chamomilla* L[J]. *Biochemical Systematics and Ecology*, 2024, 116:104880
- [3] 陈奕颖, 刘金松, 刘玉兰, 等. 6种植物精油体外抑菌活性及抗氧化能力的比较研究[J]. *中国粮油学报*, 2024, 39(5):148 – 155
- Chen Y, Liu J, Liu Y, et al. Comparative study on *in vitro* antibacterial activity and antioxidant capacity of six plant essential oils[J]. *Journal of the Chinese Cereals and Oils Association*, 2024, 39(5):148 – 155
- [4] 邹皓炜, 林谦, 宋泽和, 等. 山苍子精油的生理功能及其在动物生产上的应用研究进展[J]. *动物营养学报*, 2024, 36(6):3554 – 3562
- Zou H, Lin Q, Song Z, et al. Research progress on physiological functions of *Litsea cubeba* essential oil and its application in animal production[J]. *Chinese Journal of Animal Nutrition*, 2024, 36(6):3554 – 3562
- [5] 刘尧, 刘健华, 夏琛, 等. 山苍子精油生物活性及其包埋技术的研究进展[J]. *中国粮油学报*, 2022, 37(2): 188 – 195
- Liu Y, Liu J, Xia C, et al. Research progress on bioactivity and embedding technology of *Litsea cubeba* essential oil[J]. *Journal of the Chinese Cereals and Oils Association*, 2022, 37(2):188 – 195
- [6] 刘薇, 赵孔发, 张锋伦, 等. 不同产地青花椒精油的化学成分分析及体外抑制幽门螺杆菌研究[J]. *中国野生植物资源*, 2023, 42(10):68 – 74
- Liu W, Zhao K, Zhang F, et al. Chemical composition analysis and *in vitro* inhibition of *Helicobacter pylori* in essential oil of *Zanthoxylum schinifolium* from different producing areas[J]. *Chinese Wild Plant Resources*, 2023, 42(10):68 – 74
- [7] 胡文杰, 于宏, 赵晨宏, 等. 不同产地生姜精油化学组分比较与分析[J]. *食品与发酵工业*, 2020, 46(20): 236 – 240
- Hu W, Yu H, Zhao C, et al. The comparison and analysis of essential oil components of *Zingiber officinale* from different regions[J]. *Food and Fermentation Industries*, 2020, 46(20): 236 – 240
- [8] Kuang Z, Wang Y, Li Y, et al. The intestinal microbiota programs diurnal rhythms in host metabolism through histone deacetylase[J]. *Science*, 2019, 365: 1428 – 1434
- [9] Thaiss C A, Levy M, Korem T, et al. Microbiota diurnal rhythmicity programs host transcriptome oscillations [J]. *Cell*, 2016, 167(6):1495 – 1510
- [10] Lozupone C A, Stombaugh J I, Gordon J I, et al. Diversity, stability and resilience of the human gut microbiota[J]. *Nature*, 2012, 489(7415):220 – 230
- [11] Carabotti M, Scirocco A, Maselli M A, et al. The gut – brain axis: interactions between enteric microbiota, central and enteric nervous systems[J]. *Annals of Gastroenterology*, 2015, 28(2):203 – 209
- [12] 杨慧超. 石香薷精油改善小鼠腹泻作用及分子机制研究[D]. 长沙: 湖南农业大学, 2021:26 – 32
- Yang H. Effect and molecular mechanism of essential oil of *Mosla chinensis* maxim on improving diarrhea in mice[D]. Changsha: Hunan Agricultural University, 2021:26 – 32
- [13] 刘世锋, 罗玉霜, 刘佩琳, 等. 黄芩提取物对人体肠道菌群及短链脂肪酸的影响[J]. *中国食物与营养*, 2021, 27(1):49 – 53
- Liu S, Luo Y, Liu P, et al. Effects of *Scutellaria baicalensis* extracts on intestinal flora and short – chain fatty acids [J]. *Food and Nutrition in China*, 2021, 27(1):49 – 53
- [14] Jamar G, Estadella D, Pisani L P. Contribution of anthocyanin – rich foods in obesity control through gut microbiota interactions[J]. *BioFactors*, 2017, 43(4):507 – 516
- [15] 龙承星, 贺璐, 郭艳芳, 等. 铁皮石斛多糖对脾虚便秘小鼠免疫、肠道微生物及酶活性的影响[J]. *天然产物研究与开发*, 2017, 29(6):1020 – 1024
- Long C, He L, Guo Y, et al. Effects of *Dendrobium candidum* polysaccharide on immunity, intestinal microbiota and enzyme activity in mice with spleen deficiency constipation [J]. *Natural Product Research and Development*, 2017, 29(6):1020 – 1024
- [16] Giampazolias E, Pereira Da Costa M, Lam K C, et al. Vitamin D regulates microbiome – dependent cancer immunity [J]. *Science*, 2024, 384(6694):428 – 437
- [17] 闫荣玲, 廖阳, 王静, 等. 永州薄荷精油微波辅助提取工艺及具驱蚊功效空气清新剂研究[J]. *天然产物研究与开发*, 2017, 29(8):1403 – 1408
- Yan R, Liao Y, Wang J, et al. Microwave – assisted extraction of essential oil from Yongzhou *Mentha haplocalyx* and formulation development of air freshener with mosquito

- repelling function[J]. *Natural Product Research and Development*, 2017, 29(8):1403–1408
- [18] 王思思, 王斌, 廖阳, 等. 永州薄荷精油成分分析及其与异蛇蛇蜕浸液复配剂抑菌效果研究[J]. *天然产物研究与开发*, 2020, 32(9):1545–1551
- Wang S, Wang B, Liao Y, et al. Ingredients analysis of Yongzhou mint essential oil and its antibacterial effect mixing with the slough extract of Yongzhou *Agkistrodon acutus* [J]. *Natural Product Research and Development*, 2020, 32(9):1545–1551
- [19] 林小财. 两种柑橘及山苍子精油的化学成分、抑菌及抗氧化活性研究[D]. 赣州:赣南师范大学, 2023:11–24
- Lin X. Chemical composition, antibacterial and antioxidant activities of essential oils from two types of *citrus* and *Litsea Cubeba* [D]. Ganzhou:Gannan Normal University, 2023:11–24
- [20] 韩艳利. 山苍子精油的提取、精制及物理改性研究[D]. 长沙:中南林业科技大学, 2013:21–29
- Han Y. Study on extraction, refining and physical modification of *Litsea cubeba* essential oil [D]. Changsha: Central South University of Forestry & Technology, 2013:21–29
- [21] 江丽洁, 温乐乐, 石佳艺, 等. 常山胡柚果皮精油提取工艺模型筛选优化、化学成分及抗氧化活性研究[J]. *天然产物研究与开发*, 2024, 36(7):1101–1111
- Jiang L, Wen L, Shi J, et al. Screening and optimization of essential oil extraction process model of *Citrus × aurantium* Changshan – Huyou pericarp and its chemical constituents and antioxidant activity [J]. *Natural Product Research and Development*, 2024, 36(7):1101–1111
- [22] Carabotti M, Scirocco A, Maselli M A, et al. The gut – brain axis: interactions between enteric microbiota, central and enteric nervous systems [J]. *Annals of Gastroenterology*, 2015, 28(2):203–209
- [23] Kırkpınar F, Ünlü H B, Özdemir G. Effects of oregano and garlic essential oils on performance, carcass, organ and blood characteristics and intestinal microflora of broilers [J]. *Livestock Science*, 2011, 137(1–3):219–225
- [24] Du E, Wang W, Gan L, et al. Effects of thymol and carvacrol supplementation on intestinal integrity and immune responses of broiler chickens challenged with *Clostridium perfringens* [J]. *Journal of Animal Science and Biotechnology*, 2016, 7:19
- [25] 李浩, 彭喜洋, 吴湃萱, 等. 植物多酚对肠道微生态影响的研究进展 [J]. *食品与机械*, 2019, 35(6):222–226
- Li H, Peng X, Wu P, et al. Progress on effects of plant polyphenols on intestinal microecology [J]. *Food & Machinery*, 2019, 35(6):222–226
- [26] Odamaki T, Kato K, Sugahara H, et al. Age – related changes in gut microbiota composition from newborn to centenarian: a cross – sectional study [J]. *BMC Microbiology*, 2016, 16:90
- [27] 董新燕, 刘雪, 刘曼妮, 等. 嗜粘蛋白阿克曼菌在糖尿病和肥胖中的作用 [J]. *微生物学报*, 2020, 60(5):856–863
- Dong X, Liu X, Liu M, et al. Role of *Akkermansia muciniphila* in diabetes and obesity [J]. *Acta Microbiologica Sinica*, 2020, 60(5):856–863.