赤楠叶精油的化学成分及其抗菌活性

黄晓冬1 刘剑秋2

(1. 泉州师范学院教科院, 福建 泉州 362000; 2. 福建师范大学生物工程学院, 福建 福州 350007)

摘要:以水蒸汽蒸馏法提取赤楠叶精油,得率约 0.51%,用 GC-MS 分析其化学成分,主要为石竹烯(37.623%)、 α -瑟林烯(9.627%)、 β -瑟林烯(9.408%)、柯巴烯(5.360%)等。抗菌实验显示该精油对金黄色葡萄球菌、枯草芽孢杆菌、大肠杆菌、普通变形杆菌、藤黄八叠球菌等具有较强的抑杀活性。

关键词: 赤楠;精油;化学成分;抗菌活性

中图分类号: Q946

文献标识码: A

文章编号: 1005-3395(2004)03-0233-04

Chemical Composition and Antibacterial Activities of the Essential Oil from the Leaves of Syzygium buxifolium

HUANG Xiao-dong1

LIU Jian-qiu²

(1. Institute of Educational Science, Quanzhou Normal College, Quanzhou 362000, China; 2. Bioengineering College, Fujian Normal University, Fuzhou 350007, China)

Abstract: The essential oil was obtained at a yield of 0.51% by steam distillation from the leaves of Syzygium buxifolium. The main components were identified by GC-MS as caryophyllene (37.623%), a -selinene (9.627%), β -selinene (9.408%) and copaene (5.360%). Antibacterial experiments showed that the essential oil had strong inhibitory and bactericidal activities against Staphylococcus aureus, Bacillus subtilis, Escherichia coli, Proteus vulgaris and Sarcina lutea.

Key words: Syzygium buxifolium: Essential oil: Chemical constituent; Antibacterial activity

赤楠 Syzygium buxifolium Hook. et. Arn.为桃金娘科蒲桃属植物,常绿灌木,多生于低山疏林或灌丛中,广布于两广、贵州、湖南、台湾、江西、浙江、安徽等省,福建各地极常见[1]。国内外的研究发现蒲桃属多种植物含有精油,并且有些植物体的提取物有抗微生物和抗炎活性。Syzygium aromaticum (L.) Merr. et Perry 可提取丁香油[2],并已广泛用于食品、化妆品与制药等工业; Ndounga 等[3]发现巴西蒲桃S. brazzavillense 和几内亚蒲桃S. guineense var. guineense 的叶和茎皮的水提液对革兰氏阳性菌和阴性菌的生长都有抑制作用; Corine 等[4]发现蒲桃S. jambos 树皮的丙酮和水提取物有高含量的鞣质,具有较强的抗菌活性。但对赤楠的研究报道较少,已发现其根、茎、叶具健脾、利湿、平喘之功效[5],周法兴[6]等从其根茎中分离鉴定了6种化学成分。本

文首次报道赤楠叶精油的化学成分及其抗菌活性, 以期为进一步开发利用这一资源丰富的野生植物 提供基础的科学依据。

1 材料和方法

精油提取 赤楠叶、茎和成熟果肉采自福州 鼓山疏林地带,洗净,阴干,磨成粉末,过筛,分别称 取 100 g 以水蒸汽蒸馏法提取精油,测得油率。

精油化学成分分析 精油经无水 Na₂SO₃ 干燥后,用 WAY 阿贝折射仪测定折光率,以 GC-MS-DS 联用技术分析化学组成和相对含量。

GS条件 美国 Hewlett-Packark 公司生产的 HP6890/HP5973GC/MS 联用仪, HP-5MS 石英毛细 管柱(30 m×0.25 mm), 柱温 80-200℃, 以 2℃ min⁻¹ 升温,至 250℃保持 5 min; 载气 He, 流速 0.7 ml min⁻¹, 进样量 0.5 µ l, 分流比 100:1。

MS 条件 EI 离子源,电子能量 70 eV,扫描 范围 35-450 amu,离子源温度 250℃。美国 WILEY 标准谱库,以面积归一法测相对含量。

供试菌种 细菌有大肠杆菌 Escherichia coli, 普通变形杆菌 Proteus vulgaris, 枯草芽孢杆菌 Bacillus subtilis,藤黄八叠球菌 Sarcina lutea,金黄 色葡萄球菌 Staphylococcus aureus。霉菌有黄曲霉 Aspergillus flavas,青霉 Penicillium sp.,黑曲霉 Aspergillus niger。以上菌种均由福建师范大学生物 工程学院微生物教研组提供。

培养基 细菌用营养琼脂培养基培养,成分为蛋白胨 10 g,牛肉膏粉 3 g,氯化钠 5 g,琼脂 13 g,加蒸馏水至 1 000 ml,pH7.2-7.4。霉菌用马铃薯培养基培养,用市售新鲜马铃薯、去皮切成小块,称 100 g 加水约 400 ml 煮沸 30 min,纱布过滤,加葡萄糖 10 g,琼脂条 10 g,加蒸馏水至 500 ml。

菌悬液或孢子悬液制备 采用平板菌落计数 法¹⁷。将受试菌在斜面培养基活化 2-3 代后,用接种环从斜面上轻刮菌苔一环,分别收集到内盛 10 ml 无菌水的小三角瓶中,配成终浓度为 0.5×10⁷个 ml⁻¹ 的菌悬液和 10⁴个 ml⁻¹ 孢子悬液,备用。

精油稀释液 精油以95%乙醇助溶(1 ml 精油:4 ml 95%乙醇),用无菌水稀释成 2 倍比浓度 (v/v)的精油稀释液,精油浓度依次为 10%,5%, 2.5%,1.25%,0.63%; 相对应的含乙醇浓度依次为 38%,19%,9.5%,4.75%,2.38%。

抗菌活性测定 用吸水力较强而质地均匀的双层滤纸,用打孔器打成直径 6 mm 的圆形滤纸片,置洁净干燥的试管内,120℃干燥灭菌 2 h。一般来讲,每 100 张 6 mm 的圆形滤纸片的饱和吸收量为 0.5 ml 样液^[8],本实验按此法制作含有不同浓度精油稀释液的圆形滤纸片,同时制作含有相对应浓度乙醇液的圆形滤纸片,作为对照。用无菌移液枪吸取菌液 0.1 ml,将其均匀地涂布于平板表面,在每平皿中等距离放入 4 张已含精油稀释液的滤纸片。细菌在 37℃恒温倒置培养 24 h,霉菌在 28℃恒温倒置培养 48 h,观察抑菌情况,并用游标卡尺测量抑菌环直径,每种菌重复实验 3 个平板,求其平均值,以此评价其抑菌效果。

最低抑菌浓度(MIC)和最低杀菌浓度(MBC)的测定^[9] 用无菌移液枪吸取精油稀释液 1 ml,注入

直径 90 mm 的无菌培养皿中,加入已溶解的约 15 ml 无菌培养基(温度 <45℃),充分混匀后冷却制成含样液平板,并编号;以无菌水和 50%乙醇作对照。吸取菌悬液或孢子悬液 0.1 ml 于平板表面,涂布均匀,置适温(细菌 37℃、霉菌 28℃)下,培养一定时间(细菌培养 24 h、霉菌培养 48 h)后,观察测试菌的生长情况。以完全没有菌生长的最低浓度作为该精油的最低抑菌浓度 MIC。

把上述没有长菌的平板继续培养(细菌再培养24 h、霉菌再培养48 h),以完全没有菌生长的最低浓度作为该精油的最低杀菌浓度MBC。

2 结果和分析

2.1 精油收率及其理化常数

水蒸汽蒸馏法提取赤楠叶精油,约4h可基本提取完全,收率0.51%(v/m)。经无水 Na_2S0_3 干燥后,为淡黄绿色液体,有浓郁香味且香味持久,折光指数 n_D^{20} =1.4885-1.4898。而蒸馏枝和成熟果肉粉未,表明枝不含精油,成熟果肉仅含有少量(约0.1%左右)。赤楠精油以叶的含量最高。

2.2 精油的化学成分

赤楠叶精油进行 GC-MS-DS 分析,总离子流图 见图 1,定性的化学成分及相对含量见表 1。

从总离子流图看,实验共检出了39个较明显的峰,分析了其中37个峰,鉴定出33种化学成分,占精油总量的99.44%,化学成分以倍半萜类化合物及其衍生物为主,占总量的94.46%,主要成分是β-石竹烯(37.623%),α-瑟林烯(9.627%),β-瑟林烯(9.408%),柯巴烯(5.360%)等。

2.3 赤楠叶精油的抗菌活性

以滤纸片法测定赤楠叶精油的抑菌活性(表 2),结果表明:以不同浓度的乙醇液对照实验均无抑菌环,赤楠叶精油对 3 种霉菌无抑制作用,10%和100%赤楠叶精油对 5 种细菌有较强的抑菌作用,对金黄色葡萄球菌的抑制作用最强,10%浓度下抑菌环直径达 15 mm;5%精油对金黄色葡萄球菌和枯草芽孢杆菌的抑菌环直径分别达 12 mm 和 10 mm,而对其它 3 种菌无抑菌环。总体上,叶精油对革兰氏阴性菌和革兰氏阳性菌均有抑菌作用,具有广谱性。

MIC与MBC的实验结果(表 3)显示: 无菌水和50%乙醇对照实验均有菌落生长, 5%精油稀释液是5种细菌的最小抑菌浓度, 同时也是大肠杆菌、金黄

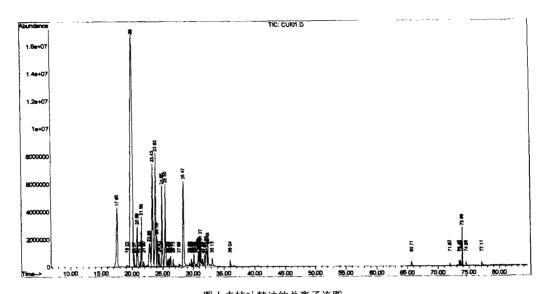


图 1 赤楠叶精油的总离子流图 Fig. 1 Total ions chromatogram of essential oil from S. buxifolium leaves

表 1 赤楠叶精油的化学成分
Table 1 Chemical constituents in essential oil from S. buxifolium leaves

保留时间 RT (min)	化学成分 Chemical constituents	分子式 Formula	分子量 MW	含量(%) Content	保留时间 RT (min)	化学成分 Chemical constituents	分子式 Formula	分子量 MW	含量(%) Content
17.65	a -Copaene	$C_{15}H_{24}$	204	5.360	30.117	a -Cubebene	C ₁₅ H ₂₄	204	0.679
19.997	β -Caryophyllene	$C_{15}H_{24}$	204	37.623	30.506	β -Guaiene	$C_{15}H_{24}$	204	0.241
20.39	β -Cubebene	$C_{15}H_{24}$	204	0.449	30.883	Dehydroaromadendrene	$C_{15}H_{24}$	204	1.039
20.883	a -Guaiene	$C_{15}H_{24}$	204	2.717	31.050	δ -Selinene	$C_{15}H_{24}$	204	0.771
21.573	a -Humulene	$C_{15}H_{24}$	204	2.514	31.260	Trans-isolimonene	$C_{15}H_{24}$	204	1.185
22.871	a -Amorphene	$C_{15}H_{24}$	204	2.767	31.560	δ -Cadinene	$C_{15}H_{24}$	204	0.479
23.359	β -Selinene	$C_{15}H_{24}$	204	8.502	31.91	Eremophilene	$C_{15}H_{24}$	204	0.590
23.892	a -Selinene	$C_{15}H_{24}$	204	7.807	32.151	a -Selinene	$C_{15}H_{24}$	204	1.652
24.070	a -Gurjunene	$C_{15}H_{24}$	204	2.048	32.48	Bicyclo(4,1,0)hept-2-ene	$C_{15}H_{22}$	202	0.998
24.425	δ -Guaiene	$C_{15}H_{24}$	204	0.644	33.125	Bicyclo (4,1,0) heptane	$C_{15}H_{22}$	202	0.443
24.913	a -Amorphene;	$C_{15}H_{24}$	204	4.701	65.716	Ni-phenethyl-beuzonitrile	$C_{15}H_{13}N$	207	0.310
	v -Cadinene				71.891	Cholesta-3,5-diene	$C_{27}H_{44}$	368	0.066
25.446	δ -Cadinene	$C_{15}H_{24}$	204	5.099	73.439	Cholesta-7,14-diene	$C_{27}H_{44}$	368	0.115
25.812	Cadina-1,4-dinene	$C_{15}H_{24}$	204	0.383	73.628	9-Carbomethoxy-6,11-	$C_{21}H_{18}O_{6}$	366	0.142
26.078	a -Cadinene	$C_{15}H_{24}$	204	0.340		dimethoxy-5-oxo-9,10-			
26.289	a -Calaenene	$C_{15}H_{22}$	202	0.582		dihydroxantho-(3,2-g)			
27.643	1H-Cycloprop(e)azulene	$C_{15}H_{24}$	204	0.142		Naphthalene			
28.43	Valerenol	$C_{15}H_{24}$	204	7.048	73.961	Cholesterilene	$C_{27}H_{44}$	368	1.074
29.396	Allo-aromadendrene	$C_{15}H_{24}$	204	0.169	74.560	Tripheuylbeuzene	$C_{24}H_{18}$	306	0.101
29.969 29.995	β-Selinene g-Selinene	$C_{15}H_{24} \\ C_{15}H_{24}$	204 204	0.316 0.168	77.11	Cholest-5-en-3-ol (3, β)	$C_{27}H_{44}$	368	0.173

表 2 赤楠叶精油的抑菌环直径(mm)

Table 2 Diameter (mm) of bacteriostatic circle treated with essential oil from S. buxifolium leaves

/#\P#### Dankaria as Consi	精油稀释液 Concentration of essential oil dilution (%) (v/v)						
供试菌种 Bacteria or fungi	100	10	5	2.5	1.25	0.63	
大肠杆菌 Escherichia coli	13	11	_	_	-	_	
金黄色葡萄球菌 Staphylococcus aureus	18	15	12	9	_	-	
枯草芽孢杆菌 Bacillus subtilis	13	12	10	-	_	-	
藤黄八叠球菌 Sarcina lutea	13	12	-	-	_	_	
普通变形杆菌 Proteus vulgaris	12	11	_	_	~	_	
黄曲霉 Aspergillus flowus	~	-	_	_	-	_	
青霉 Penicillium sp.	_	_	-	-	~	_	
黑曲霉 Aspergillus niger	_	_	_	_	~	_	

[&]quot;-"表示无抑菌环 "-": no circle appeared

色葡萄球菌、藤黄八叠球菌的最小杀菌浓度。

表 3 赤楠叶精油的 MIC 和 MBC

Table 3 Minimal inhibition (MIC) and bactericidal concentrations (MBC) of essential oil from S. buxifolium leaves

供试菌种 Bacteria or fungi	MIC (%)	MBC (%)	
大肠杆菌 Escherichia coli	5	5	
金黄色葡萄球菌 Staphylococcus aureus	5	5	
枯草芽孢杆菌 Bacillus subtilis	5	10	
藤黄八叠球菌 Sarcina lutea	5	5	
普通变形杆菌 Proteus vulgaris	5	>10	

3 结论

闽产赤楠叶精油得油率较高,精油主要成分属于倍半萜类化合物及其衍生物,主要化学成分是β-石竹烯(37.623%),α-瑟林烯(9.627%),β-瑟林烯(9.408%),柯巴烯(5.360%)等。石竹烯被证明具有一定的平喘作用且具抗菌活性,可用于治疗老年慢性支气管炎¹¹⁰,在合成香料中也有广泛的应用,在叶精油中含量较高,预示着赤楠叶及其精油具有一定的应用价值。

赤楠叶精油具有一定的抗菌活性,精油对几种 供试细菌都有相对较强的抑杀作用,抗菌具广谱 性,其中以对耐药性较强的金黄色葡萄球菌的抑杀 作用最为突出,其抗菌机理及药用价值还有待更深 入研究。

参考文献

[1] Science and Technology Commission of Fujian Province (福建省

- 科学技术委员会), Writing Group of Flora Fujianica (福建植物志编写组). Flora Fujianica Tomus 4 [M]. Fuzhou: Fujian Science & Technology Press, 1989. 99–100. (in Chinese)
- [2] Dorman H J, Deans S G. Antimicrobial agents from plants: Antibacterial activity of plant volatile oils [J]. J Appl Microbiol, 2000, 88(2):308-316.
- [3] Ndounga M, Bilala J P. Antibacterial properties of aqueous extracts from Syzygium species [J]. Fitoterapia, 1994, 65(1):80-82.
- [4] Corine D D, Michel D. Antimicrobial activity of bark extracts of Syzygium jambos (L.) Alston (Myrtaceae) [J]. J Ethnopharmacol, 2000, 71(1-2):307-313.
- [5] Jiangsu New Medical College (江苏新医学院). Dictionary of Chinese Materia Mediaca Vol. I [M]. Shanghai: Shanghai Scientific & Technical Publishing House, 2001. 1089-1099.(in Chinese)
- [6] Zhou F X (周法兴), Liang P Y (梁培瑜), Zhou Q (周琦), et al. Chemical constituents from the stems and roots of Syzygium buxifolium Hook. et Am. [J]. Chin Med J (中国中药杂志), 1998, 23:164-165. (in Chinese)
- [7] Fan X R(范秀容), Li G W(李广武), Shen P (沈萍). Experiments in Microbiology [M]. 2nd ed. Beijing: Higher Education Press, 1996. 138-262. (in Chinese)
- [8] Zeng L B(曾令冰). Methods for measuring the effects of antibacterial medicines from aquatic products [J]. Fish Sci Techn Inform (水产科技情报), 1997, 24(1):23-24.(in Chinese)
- [9] Wang H X(王红星), Guo Y Q(郭燕群), Zhang J(张继), et al. The determination and comparison of antimicrobial effects of essential oil from aromatic plants [J]. China Feed (中国饲料), 1996, (6): 32-34.(in Chinese).
- [10] The Information Center of Chinese Traditional and Herbal Drugs,
 National Medical Bureau (国家医药管理局中草药情报中心站).
 The Handbook of Effective Components from Plants [M]. Beijing:
 People Health Press, 1986. 181-182.(in Chinese)