

尾叶桉叶精油的成分分析及抑菌效果初探

黄 瑶¹, 田 玉 红¹, 刘 雄 民², 刘 洁 云¹

(1. 广西工学院 生物与化学工程系, 广西 柳州 545006; 2. 广西大学 化学化工学院, 广西 南宁 530004)

摘 要: 用水蒸气蒸馏法提取尾叶桉叶精油, 采用 GC-MS 联用技术分析了精油的化学成分, 用滤纸片法测其抑菌效果。结果表明: 共鉴定出尾叶桉叶精油挥发性化学成分 51 种, 占挥发油总量的 92.60%, 其中 1,8-桉叶油素和乙酸松油酯含量较高, 分别占 39.03% 和 14.35%; 尾叶桉叶精油对常见的几种细菌和真菌均有抑菌效果。

关键词: 尾叶桉; 精油; 成分; 抑菌效果

中图分类号: S 792.39 **文献标识码:** A **文章编号:** 1001-0009(2010)06-0026-03

植物精油(Essential oil)是一种从植物果实、叶片、花和根中提取的挥发性液体, 具有强烈的气味和香味。植物精油的用途广泛, 通常植物精油是用来制备香精、香水, 但是近十多年的许多研究发现, 精油成分具有强烈的抑制或杀死真菌等微生物的特性, 当今在植物病原菌对化学杀菌剂产生抗药性、农药残留危害日渐加剧的形势下, 精油可作为一种有待开发的新型杀菌物质进行研究^[1]。

尾叶桉(*Eucalyptus urophylla*)是一种的重要经济树种, 具有速生丰产的特点, 广泛种植于广东、广西、海南等地^[2]。尾叶桉叶片富含精油, 但有关尾叶桉叶精油的成分及抑菌活性的研究还未见报道。该试验采用水蒸气蒸馏法, 提取出尾叶桉的叶片精油, 对其进行了化学成分分析, 并初步研究其对常见菌种的抑制效果, 为桉叶油的开发应用提供参考依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

尾叶桉叶片采自广西东门林场。所选用的菌种由广西工学院生物与化学工程系微生物实验室提供。菌种分别为: 3 种细菌: 大肠杆菌(*Escherichia coli*.)、枯草芽孢杆菌(*Bacillus subtilis*)、金黄色葡萄球菌(*Staphylococcus aureus*); 2 种酵母: 假丝酵母(*Candida Berkhout*)、啤酒酵母(*Saccharomyces cerevisiae*); 3 种霉菌: 黑曲霉(*Aspergillus niger*)、黄曲霉(*Aspergillus flavus*)、桔青霉(*Penicillium citrinum*)。

1.2 试验方法

1.2.1 尾叶桉叶精油的提取方

第一作者简介: 黄瑶(1979-), 女, 硕士, 讲师, 现从事生物技术方面研究工作。

基金项目: 广西自然科学基金资助项目(桂科自 0991065)。

收稿日期: 2009-12-20

2 cm² 的碎片, 置于挥发油提取器中, 加入 600 mL 水, 按常规水蒸气蒸馏法提取, 提取时间为 6 h, 静置分层后读取挥发油的体积, 油被收集下来, 称重。尾叶桉的提取率为 1.01%。

1.2.2 尾叶桉叶精油成分的分析方法和条件 桉叶挥发性成分的定性定量分析采用气相色谱-质谱联用技术。气相色谱条件: DB-1 型弹性石英毛细管色谱柱(J & W Scientific, USA), 规格为 0.25 μm × 0.25 mm × 30 m; 载气为高纯氦气; 柱前压 47 KPa, 分流比 1:50, 进样口温度 250℃, 接口温度 230℃。根据样品成分的不同分别采用如下的升温程序: 60℃保持 1 min, 升至 138℃(3℃/min), 再升至 170℃(2℃/min), 继续升至 250℃(8℃/min), 于 250℃保持 5 min。质谱条件: EI 电离源, 电子能量 70 eV, 电子倍增器电压 1.5 kV, 质量扫描范围 33~550 amu, 全扫描方式。

1.2.3 菌种培养基^[3] PDA 培养基(酵母和霉菌用); PD 培养基(酵母液体培养用); 营养琼脂培养基(细菌用); 营养肉汤培养基(细菌液体培养用)。

1.2.4 抑菌圈的测定 采用滤纸片法^[4], 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, 置洁净干燥的培养皿中, 121℃湿热灭菌 20 min 后干燥备用。把制备好菌悬液(细菌约 10⁸ 个/mL, 酵母 10⁶ 个/mL, 霉菌为孢子悬液约 10⁶ 个/mL)振荡均匀。在操净工作台上, 用无菌移液枪吸取菌液 0.2 mL, 将其均匀地涂布于平板表面, 正置在培养箱 1 h。1 h 后取到净化工作台上, 在每平皿中心放入 1 张滤纸片, 然后再用无菌移液枪吸取精油或对照抑菌剂 10 μL 垂直滴加到滤纸片。细菌在 37℃恒温正置培养 1 h 后倒置培养 24 h, 酵母和霉菌在 28℃恒温正置培养 1 h 后倒置培养 48 h, 观察并测量抑菌圈直径, 3 个重复计平均值。以 1,8-桉叶油素(国产分析纯)作对照, 以注射用硫酸链霉素溶液(0.1 × 10 U/mL)

为细菌抑菌试验的阳性对照; 以克霉唑溶液(2.7 mg/mL)为霉菌抑菌试验的阳性对照。

2 结果与分析

2.1 尾叶桉叶精油成分的分析结果

采用气相色谱-质谱联用技术对尾叶桉叶精油挥发性成分的定性定量分析结果见表1。尾叶桉叶精油挥发性成分共鉴定出51种化合物, 占挥发油总量的92.60%。其中1,8-桉叶油素(39.03%)和乙酸松油酯(14.35%)为含量较高的成分, 其次为 α -蒎烯(7.43%)、 α -松油醇(5.43%)、蓝桉醇(2.69%)和喇叭茶醇(2.02%), 共占尾叶桉叶精油挥发性成分含量的70.95%, 为尾叶桉叶精油的主要成分, 其混合香气组成了尾叶桉叶精油的特征香气。

表1 尾叶桉叶的挥发性化学成分
Table 1 Chemical constituents of volatile compounds from leaves of *E. urophylla*

化合物名称	分子式	保留时间	相对含量
Compound name	Molecular formula	Time/min	Relative content/%
异戊醛 Isovaleraldehyde	C ₅ H ₁₀ O	1.717	0.23
乙酸异戊酯 Isoamyl acetate	C ₇ H ₁₄ O ₂	3.805	0.13
α -蒎烯 α -pinene	C ₁₀ H ₁₆	5.409	7.43
蒎烯 Camphene	C ₁₀ H ₁₆	5.653	0.33
β -蒎烯 β -pinene	C ₁₀ H ₁₆	6.398	1.50
β -月桂烯 β -myrcene	C ₁₀ H ₁₆	6.798	0.38
α -水芹烯 α -phellandrene	C ₁₀ H ₁₆	7.201	0.37
对伞花烃 p-cymene	C ₁₀ H ₁₄	7.717	0.70
1,8-桉叶油素 1,8-cineole	C ₁₀ H ₁₈ O	8.400	39.03
柠檬烯 Limonene	C ₁₀ H ₁₆	8.508	1.33
顺式-罗勒烯 Cis-ocimene	C ₁₀ H ₁₆	8.569	1.04
反式-罗勒烯 Trans-ocimene	C ₁₀ H ₁₆	8.868	0.30
γ -松油烯 γ -terpinene	C ₁₀ H ₁₆	9.230	0.09
氧化芳樟醇 Linalool oxide	C ₁₀ H ₁₈ O ₂	9.622	0.16
异松油烯 Terpinolene	C ₁₀ H ₁₆	10.542	0.12
β -芳樟醇 β -linalool	C ₁₀ H ₁₈ O	11.040	0.43
异戊醇异戊酯 Isopentyl isovalerate	C ₁₀ H ₂₀ O ₂	10.292	0.08
葑醇 Fenchol	C ₁₀ H ₁₈ O	11.601	0.58
反式-松香芹醇 Trans-pinocarveol	C ₁₀ H ₁₆ O	12.743	0.27
水合蒎烯 Camphene hydrate	C ₁₀ H ₁₈ O	13.141	0.15
龙脑 Borneol	C ₁₀ H ₁₈ O	14.187	0.83
4-松油醇 β -menthyl-en-4-ol	C ₁₀ H ₁₈ O	14.872	1.01
α -松油醇 α -terpineol	C ₁₀ H ₁₈ O	15.762	5.43
桃金娘醇 Myrtenol	C ₁₀ H ₁₆ O	15.940	0.22
反式-香芹醇 Trans-carveol	C ₁₀ H ₁₆ O	16.914	0.13
胡椒酮 Piperitone	C ₁₀ H ₁₆ O	18.115	0.13
香叶醇 Geraniol	C ₁₀ H ₁₈ O	19.883	0.22
乙酸龙脑酯 Bormyl acetate	C ₁₂ H ₂₀ O ₂	20.300	0.25
乙酸 1,3,3-三甲基-2-氧杂双环[2.2.2]-6-辛酯 1,3,3-trimethyl-2-oxabicyclo[2.2.2]octan-6-ylacetate	C ₁₂ H ₂₀ O ₃	22.957	0.49
乙酸松油酯 α -terpinyl acetate	C ₁₂ H ₁₈ O ₂	23.910	14.35
乙酸香叶酯 Geranyl acetate	C ₁₂ H ₂₀ O ₂	25.154	1.60
α -古芸烯 α -gujunene	C ₁₅ H ₂₄	26.683	0.05
β -石竹烯 β -caryophyllene	C ₁₅ H ₂₄	27.056	1.46
香桉烯 Aromadendrene	C ₁₅ H ₂₄	27.884	0.20

化合物名称	分子式	保留时间	相对含量
Compound name	Molecular formula	Time/min	Relative content/%
α -石竹烯 α -caryphyllene	C ₁₅ H ₂₄	28.443	0.28
别香桉烯 Alloaromadendrene	C ₁₅ H ₂₄	28.751	0.40
绿花白千层烯 Viridiflorene	C ₁₅ H ₂₄	30.300	0.36
去氢白菖烯 Calamenene	C ₁₅ H ₂₄	31.193	0.36
δ -杜松烯 δ -cadinene	C ₁₅ H ₂₄	31.453	0.23
表蓝桉醇 Epiglobulol	C ₁₅ H ₂₆ O	32.930	0.16
喇叭茶醇 Palustrol	C ₁₅ H ₂₆ O	33.309	0.43
橙花叔醇 Neralidol	C ₁₅ H ₂₆ O	33.471	0.80
斯巴醇 Spathulenol	C ₁₅ H ₂₄ O	33.649	1.37
氧化石竹烯 Caryophyllene oxide	C ₁₅ H ₂₄ O	33.747	0.49
蓝桉醇 Globulol	C ₁₅ H ₂₆ O	34.155	2.69
喇叭茶醇 Ledol	C ₁₅ H ₂₆ O	34.507	2.02
玫瑰叶悬钩子醇 Rosifoliol	C ₁₅ H ₂₆ O	34.921	1.19
τ -杜松醇 τ -cadinol	C ₁₅ H ₂₆ O	36.755	0.37
7(11)-桉叶烯-4-醇 eudesma-7[11]-en-4-ol	C ₁₅ H ₂₆ O	37.158	0.13
α -杜松醇 α -cadinol	C ₁₅ H ₂₆ O	37.310	0.18
金合欢醇 Farnesol	C ₁₅ H ₂₄ O	40.482	0.12
总量 Total content			92.6

2.2 尾叶桉叶精油对7种常见菌种的抑菌效果

从表2中可见,尾叶桉叶精油对*P.citrimum*、*S.aureus*、*E.coli*、*B.subtilis*、*S.cerevisiae*、*C.Berkhout*和*A.flavus*等7种常见菌种均有一定抑制效果。其中对*P.citrimum*、*S.aureus*和*A.flavus*抑菌效果最好, 抑菌圈直径分别为29.0、20.3和18.3 mm, 对2种酵母菌的抑菌效果次之, 对*E.coli*和*B.subtilis*的抑菌效果较差。1,8-桉叶油素对*S.cerevisiae*、*C.Berkhout*和*P.citrimum*3种真菌的抑菌效果均较好, 抑菌圈直径都大于20 mm, 对3种细菌也有一定的抑菌作用。

表2 尾叶桉叶精油的抑菌效果
Table 2 Inhibition of the of leaves from *Eucalyptusurophylla*

菌种 Strain	抑菌剂 Bacteriostat (抑菌圈直径 Antihacral cirde diameter/mm)				阴性对照 Negative control group (无药含菌)
	尾叶桉叶精油 essential oils	1,8-桉叶油素 Cineole	链霉素 Streptomycin	克霉唑 C10trimazole	
<i>S. aureus</i>	20.3	11.0	23.9	—	0
<i>E. coli</i>	8.6	9.5	18.2	—	0
<i>B. subtilis</i>	9.8	9.1	17.0	—	0
<i>S. cerevisiae</i>	10.5	22.0	—	18.5	0
<i>C. Berkhout</i>	12.8	20.0	—	30.3	0
<i>A. flavus</i>	18.3	14.0	—	24.5	0
<i>P. citrimum</i>	29.0	20.5	—	14.9	0

3 讨论与结论

桉树的原产地是澳大利亚, 我国的桉树引种栽培也约有100 a的历史, 桉叶油资源十分丰富, 田玉红等通过对国内种植的多种桉树叶油的化学成分分析发现, 蓝桉、柠檬桉、邓恩桉、赤桉、本泌桉、粗皮桉、圆角桉、窿缘桉和大叶桉等各种桉树叶油的化学成分与原产地相比基本化学成分类似, 其主要成分为1,8-桉叶油素、 α -蒎烯、蒎烯、对伞花烃、罗勒烯、异松油烯、

α -水芹烯、 α -松油烯、柠檬烯、石竹烯、香茅醛、橙花叔醇、芳樟醇、反式-松香芹醇、松桉叶醇、 α -桉叶醇等,但在产油率和各组分的相对含量上有所差异^[5-7]。结果表明,尾叶桉叶精油的主要成分是1,8-桉叶油素、乙酸松油酯、 α -蒎烯、 α -松油醇、蓝桉醇以及喇叭茶醇等,其中的乙酸松油酯含量为14.35%,高于蓝桉^[8]、赤桉^[9]、偃松针叶^[10]和台湾杉叶^[11]等植物精油中的乙酸松油酯含量。

关于桉树叶精油的抑菌性研究已有许多报道,认为多种桉叶精油具有广谱的抗菌效果,也有研究发现桉叶油的抗菌性能并不与桉叶油中的主要成分1,8-桉叶油素、 α -蒎烯、对伞花烃等含量正相关^[8]。试验对尾叶桉叶精油的抑菌效果作了初步研究,结果发现尾叶桉叶精油对细菌和真菌均有抑菌效果,其中对桔青霉抑菌效果最好,对金黄色葡萄球菌的抑菌效果次之,对大肠杆菌的抑菌效果最差。作为对照的分析纯1,8-桉叶油素的抑制真菌效果比抑制细菌的效果好。试验所用尾叶桉叶精油为直接使用提纯精油对微生物进行抑菌效果初步研究,对其最小的有效抑菌浓度和杀菌浓度仍有待进一步研究。

参考文献

- [1] 杨致年,曾超,朱宗良,等.植物精油的抗菌性[J].四川林业科技,2000,21(3):37-39.
- [2] 祁树雄.中国桉树[M].北京:中国林业出版社,2002:42-52.
- [3] 钱存柔,黄仪秀主编.微生物学实验教程[M].北京:北京大学出版社,2000,205-215.
- [4] 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.
- [5] 田玉红,张祥民,黄泰松,等.桉叶油的研究进展[J].食品与发酵工业,2007,33(10):139-143.
- [6] Li H, Madden J L, Potts B M. Variation in volatile leaf oils of the Tasmanian Eucalyptus Species II. Subgenus Symphyomyrtus [J]. Biochemical Systematics and Ecology, 1996(24):547-569.
- [7] Li H, Madden J L, Potts B M. Variation in volatile leaf oils of the Tasmanian eucalyptus species I. Subgenus mono-calyptus [J]. Biochemical Systematics and Ecology, 1995(23):299-318.
- [8] 王颖,宋爱华,刘艳梅,等.蓝桉叶挥发油化学成分分析研究[J].精细化工中间体,2008,32(2):70-72.
- [9] 田玉红,刘雄民,周永红,等.赤桉和本泌桉叶精油的化学成分研究[J].精细化工,2005,22(12):920-923.
- [10] 金琦,郭幼庭,石冬琰,等.偃松针叶精油化学组成的研究[J].林产化学与工业,1994,14(4):19-22.
- [11] 龚玉露,张文慧,姜自见,等.台湾杉叶挥发油的成分及其生物活性[J].江苏农业科学,2008(5):235-236.

Study on the Composition and its Antimicrobial Effects of Essential Oils from Leaves of *Eucalyptus urophylla*

HUANG Yao¹, TIAN Yu-hong¹, LIU Xiong-min², LIU Jie-yun¹

(1. Department of Biological and Chemical Engineering, Guangxi University of Technology, Liuzhou, Guangxi 545006; 2. College of Chemistry and Chemical Engineering, Guangxi University, Nanning, Guangxi 530004)

Abstract: The essential oils were extracted from leaves of *Eucalyptus urophylla* by water steam distillation and their constituents were analyzed by GC-MS method. Their antimicrobial effects were investigated by plate diffuse. The result showed that 51 compounds in essential oil of leaves from *Eucalyptus urophylla* were identified, accounting for 92.60% of the total content, the major chemical compositions of essential oil were 1,8-cineole (39.03%) and α -terpinyl acetate. The essential oil had inhibition to all bacterial species in our experiment.

Key words: *Eucalyptus urophylla*; essential oils; composition; antimicrobial effects

