

【调查研究】

文章编号:1001-5914(2006)01-0063-03

园柏和龙柏主要挥发物及其抑菌和杀菌作用

崔艳秋¹, 南蓬², 林满红¹, 段佳², 崔心红¹

摘要:目的 分析园柏和龙柏挥发物的化学成分,并比较其抑菌和杀菌效果。方法 于 2003 年 8 月在上海植物园采集新鲜的园柏和龙柏叶片,采用气相色谱-质谱(GC-MS)技术进行挥发物成分分析,并用其挥发油对表皮葡萄球菌(ATCC-35984)、金黄色葡萄球菌(ATCC-29213)、大肠杆菌(ATCC-25922)、绿脓杆菌(ATCC-27853)进行体外抗菌效果研究。结果 园柏和龙柏挥发油中主要成分均为乙酸龙脑酯,含量分别为 38.1%和 46.5%,此外,园柏含 24.9%的水芹烯(phellandrene)和 12.4%的对薄荷-1-烯-4-醇(*p*-menth-1-en-4-ol),龙柏含 30.0%的柠檬烯(limonene)和 7.9%的 β -蒎烯(β -pinene)。园柏挥发油对金黄色葡萄球菌、表皮葡萄球菌、大肠杆菌最低抑菌浓度和最低杀菌浓度分别为 4、8 mg/L;2、8 mg/L;8、8 mg/L。龙柏挥发油仅对金黄色葡萄球菌和表皮葡萄球菌有抑菌作用,最低抑菌浓度分别为 2、4 mg/L,并且只对表皮葡萄球菌有杀菌作用,最低杀菌浓度为 16 mg/L。结论 园柏挥发油对金黄色葡萄球菌、表皮葡萄球菌、大肠杆菌均有较强的抑菌及杀菌效果,而龙柏挥发油仅对金黄色葡萄球菌和表皮葡萄球菌有抑菌效果,且只对表皮葡萄球菌有杀菌效果。园柏挥发油的抑菌杀菌效果优于龙柏,且抑菌范围更广。

关键词:植物;微生物敏感性试验;挥发性有机物

中图分类号:R994.6

文献标识码:A

Main Volatile Components in the Leaves of *Sabina chinensis* L. Ant. and *Sabina chinensis* L. Ant. cv. Kaizuca and Their Effects on Bacteria CUI Yan-qiu, NAN Peng, LIN Man-hong, et al. Shanghai Landscape Gardening Reserch Institute, Shanghai 200232, China

Abstract: Objective To analyze the volatile composition in the leaves of *Sabina chinensis* L. Ant. and *Sabina chinensis* L. Ant. cv. Kaizuca and to study their effects on bacteria. **Methods** GC-MS was employed in the analysis of volatile composition and four kinds of bacteria were used for testing the sterilization and bacteriostasis of the volatile oil. **Results** The main substance in volatile oil from the two kinds of plants, *Sabina chinensis* L. Ant. and *Sabina chinensis* L. Ant. cv. Kaizuca, was bornyl acetate and the percentage was 38.1% and 46.5% respectively. In addition, in the volatile oil from *Sabina chinensis* L. Ant. contained 24% of phellandrene and 12.4% of *p*-menth-1-en-4-ol, as for *Sabina chinensis* L. Ant. cv. Kaizuca, 30.0% of limonene and 7.9% of β -pinene were contained. The volatile oil from *Sabina chinensis* L. Ant. had greater effects of bacteriostasis and sterilization on *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Escherichia coli* compared with *Sabina chinensis* L. Ant. cv. Kaizuca. **Conclusion** Compared with *Sabina chinensis* L. Ant. cv. Kaizuca, the effects of sterilization and bacteriostasis of volatile oil from *Sabina chinensis* L. Ant. are much greater and with a larger spectrum of bacteria.

Key words: Plant; Microbial sensitivity test; Volatile organic compounds

园柏(*Sabina chinensis* L. Ant.)和龙柏(*Sabina chinensis* L. Ant. cv. Kaizuca)属柏科园柏属植物,龙柏是园柏的栽培品种。园柏和龙柏常绿,树形优美,历来就是风景园林的重要植物^[1]。园柏和龙柏树干、枝和叶等部位气味芳香,其挥发物成分及其对住区环境和人体健康的影响为人们关注。为此,我们测定了园柏和龙柏的挥发物组分,并对二者主要挥发物及其抑菌和杀菌效果进行研究。

1 材料与方法

1.1 样品采集和预处理

于 2003 年 8 月在上海植物园采集新鲜的园柏和

龙柏叶片,摊放在阴凉处晾干,粉碎后装入圆底烧瓶,约 3 h 后,得到浅黄色有特殊气味的挥发油,得油率分别约为 0.4%和 0.5%。分装于 1.5 ml Eppendorf 管,用 Parafilm 膜封口, -20℃保存,以减少挥发。

1.2 挥发油成分的气相色谱-质谱(GC-MS)分析

采用 Finnigan MAT ITD800 GC-MS-DS 气相色谱-质谱仪,仪器条件:HP-5 石英毛细管柱(30 m×0.25 mm×0.25 μ m),进样口温度 250℃,柱温 60℃(2 min)~250℃(10 min),升温速度 10℃/min,载气为氦气,载气压力为 0.25 MPa;进样量 0.1 μ l。MS 条件:电离方式 EI,电离电压 70 eV,灯丝电流 80 μ A,离子焰温度 200℃。数据处理及联机检索:利用气质联用仪计算机的 NIST-MS 谱库自动检索各组分的质谱数据,并对机检结果参考有关标准图谱^[2]进行核对和补充检索,经色谱峰面积归一化法计算,得出主要组分的相对含量。

1.3 挥发物体外抑菌、杀菌实验

1.3.1 受试样品 园柏、龙柏挥发油(使用前用无水乙

基金项目:上海市建设技术发展基金会资助项目(A0200811)

作者单位:1.上海市园林科学研究所(上海 200232);2.复旦大学生物多样性科学和生态工程教育部重点实验室(上海 200433)

作者简介:崔艳秋(1964-),女,讲师,硕士,现在上海体育运动技术学院工作,从事天然产物与人体健康研究。

通讯作者:崔心红 E-mail: xinhongcui@21cn.com

China Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

醇和 5% 的 Tween-80 水溶液乳化)。

1.3.2 受试菌株 表皮葡萄球菌(*Staphylococcus epidermidis* ATCC-35984), 金黄色葡萄球菌(*Staphylococcus aureus* ATCC-29213), 大肠杆菌(*Escherichia coli* ATCC-25922), 绿脓杆菌(*Pseudomonas aeruginosa* ATCC-27853), 以上标准菌株由复旦大学医学院分子病毒国家重点实验室提供。

1.3.3 试剂 无水乙醇(上海振兴化工一厂), 5% 的 Tween-80 水溶液(中国医药集团上海化学试剂有限公司); 高压蒸汽灭菌 20 min, 冷却后 4 ℃ 保存; 氨苄青霉素(上海生工生物制品有限公司)贮存液(100 mg/ml): 经 0.22 μm 微孔滤器过滤后, 分装于 1.5 ml Eppendorf 管, -20 ℃ 保存; 水解酪蛋白(MH)平皿(上海市疾病预防控制中心), 100 ml 三蒸水: 121 ℃, 103.35 kPa 高压蒸汽灭菌 20 min, 分装于 1.5 ml 无菌 Eppendorf 管, 冷却后, -20 ℃ 保存。

1.3.4 培养基 MH 培养基, MH 21 g 溶于 1 000 ml 去离子水中, 121 ℃, 103.35 kPa 高压蒸汽灭菌 20 min, 冷却后, 4 ℃ 保存。

1.3.5 菌悬液的制备^[3,4] 取 -70 ℃ 条件下保存的保藏菌株, 按 1:100 接种, 置于 37 ℃ 培养过夜。细菌用比浊法记数, 继续稀释培养至光密度(OD_{600})值=0.3, 调整细菌悬液的浓度, 使其含菌量为 10^7 cfu/ml, 即得供试菌悬液。

1.3.6 试验方法 采用试管稀释法^[3,5]。

1.3.6.1 最低抑菌浓度(minimum inhibitory concentration, MIC)试验^[4,6,7] 园柏和龙柏挥发油用无水乙醇和 5% 的 Tween-80 水溶液稀释, 振荡器振荡使乳化均匀。连续稀释使其试验浓度分别为 16、12、8、4、2、1、0.5、0.25 μg/ml。阳性对照: 用三蒸水连续稀释氨苄青霉素贮存液(100 mg/ml), 混匀, 使氨苄青霉素试验浓度分别为 256、128、64、32、16、8、4、2、1、0.5 μg/ml^[7,8]; 阴性对照: 5% Tween-80 水溶液和 MH 培养基。取 8 支无菌试管, 分别标记为 a、b、c、d、e、f、g、h。每管加入 850 μl MH 培养基和 100 μl 菌悬液(10^7 cfu/ml)。将分装好的植物样品挥发油分别加入相应编号的试管, 加盖试管帽并用 Parafilm 膜封口。在摇床内, 37 ℃, 220 r/min 培养 24 h 后观察结果, 以完全无菌生长的挥发油最高稀释度作为该挥发油的最低抑菌浓度。按上述同样方法处理氨苄青霉素(区别在于每管加入 836 μl MH 培养基)。另取 2 支无菌试管, 一管加入 1 ml MH 培养基, 另一管加入 1 ml 5% Tween-80 水溶液, 在相同的培养条件下进行培养。

1.3.6.2 最低杀菌浓度(minimum beat concentration, MBC)试验^[3,4] 从 MIC 试验无菌生长的试管中吸取 10 μl 培养液加入装有 90 μl MH 培养基的无菌 Eppendorf 管, 混和均匀(以稀释法解除残留药物的抑菌作用)。将稀

释后的 100 μl 菌液加入 MH 平皿, 用三角玻棒涂布均匀。正面向上放入 37 ℃ 的培养箱, 约 0.5 h 后(待表面干燥)将平皿翻转, 继续培养 18~24 h(视菌种不同而定)。以完全无菌生长的挥发油最高稀释度作为该挥发油的最低杀菌浓度。

2 结果

2.1 挥发油成分的 GC-MS 分析

结果见图 1 和表 1。园柏和龙柏挥发油中含量最高的成分均为乙酸龙脑酯(bornyl acetate), 该成分在园柏和龙柏挥发油中的含量分别为 38.1% 和 46.5%。挥发油中含量次之的其他成分完全不同, 园柏挥发油中含 24.9% 的水芹烯(phellandrene)和 12.4% 的对薄荷-1-烯-4-醇(*p*-menth-1-en-4-ol); 龙柏挥发油中含 30.0% 的柠檬烯(limonene)和 7.9% 的 β-蒎烯(β-pinene)。

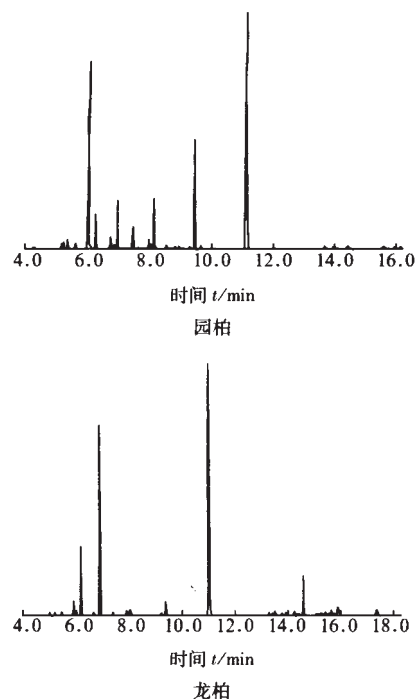


图 1 园柏与龙柏挥发物图谱

表 1 园柏与龙柏挥发油主要成分及含量 (%)

成分	园柏	龙柏
乙酸龙脑酯	38.1	46.5
水芹烯	24.9	
对薄荷-1-烯-4-醇	12.4	
柠檬烯		30.0
β-蒎烯		7.9

2.2 抗菌试验结果

结果见表 2。在实验浓度下, 园柏挥发油对金黄色葡萄球菌、表皮葡萄球菌、大肠杆菌均有较强的抑菌及杀菌效果, 最低抑菌浓度和最低杀菌浓度分别为 4、8 mg/L; 2、8 mg/L; 8、8 mg/L。而龙柏挥发油仅对金黄色葡萄球菌和表皮葡萄球菌有抑菌作用, 最低抑菌浓度

表 2 园柏与龙柏挥发油体外抑菌及杀菌效果的比较

样品	金黄色葡萄球菌		表皮葡萄球菌		大肠杆菌		绿脓假单胞菌	
	MIC	MBC	MIC	MBC	MIC	MBC	MIC	MBC
园柏挥发油	4	8	2	8	8	8	>16	>16
龙柏挥发油	2	>16	4	16	>16	>16	>16	>16

分别为 2、4 mg/L，并且只对表皮葡萄球菌有杀菌作用，最低杀菌浓度为 16 mg/L。

3 讨论

本研究结果显示，从挥发油主要成分看，园柏和龙柏均含有乙酸龙脑酯，含量高达 38.1%和 46.5%，乙酸龙脑酯是医药及香料工业的重要原料，具有浓烈的清香和镇痛抗炎作用^[9]。因此，在建造园林时，尤其在居住区、学校、幼儿园、医院等特殊场所绿化时，应着重考虑园柏和龙柏；园柏挥发油对受试菌种的体外抑菌及杀菌作用优于龙柏挥发油，且抑菌范围更广，应成为首选，但造成两者抑菌及杀菌作用差异的原因有待进一步研究。

参考文献：

- [1] 蒋永明. 园林绿化树种手册[M]. 上海: 上海科技出版社, 2002: 23-24.
- [2] 施钧慧, 汪晓慧. 香料质谱图集[M]. 北京: 中国质谱学会有机专业委员会, 1992: 1-261.
- [3] 刘敏, 郑兆群, 屈雪菊, 等. 六月雪的抑菌作用[J]. 武汉大学学报, 2002, 23(2): 167-168.
- [4] 王传恩. 医学微生物学实验指导[M]. 广州: 中山大学出版社, 2002: 12-15.
- [5] Martins AP, Salfueiro LR, Goncalves MJ, et al. Essential oil composition and antimicrobial activity of *Santiria trimera* bark [J]. *Planta Medica*, 2003, 69: 77-79.
- [6] 郑剑玲, 王美惠, 杨秀珍. 大青叶和板蓝根提取物的抑菌作用研究[J]. 中国微生态学杂志, 2003, 15(1): 18-19.
- [7] Kim KJ, Kim YH, Yu HH, et al. Antibacterial activity and chemical composition of essential oil of *Chrysanthemum boreale* [J]. *Planta Medica*, 2003, 69: 274-277.
- [8] Yu HH, Kim YH, Kil BS, et al. Chemical composition and antibacterial activity of essential oil of *Artemisia iwayomogi* [J]. *Planta Medica*, 2003, 69: 1159-1162.
- [9] 吴晓松, 李晓光, 肖飞, 等. 砂仁挥发油中乙酸龙脑酯镇痛抗炎作用的研究[J]. 中药材, 2004, 27(6): 438-439.

(收稿日期: 2005-06-16)

(本文编辑: 杜宇欣)

【监督监测】

文章编号: 1001-5914(2006)01-0065-01

石嘴山市大武口区生活饮用水卫生状况分析

张培凤¹, 马建淮²

关键词: 水; 卫生调查; 地下水 中图分类号: R123.5 文献标识码: E

为了全面了解石嘴山大武口区生活饮用水的卫生状况, 保证居民饮用水的卫生安全, 我们于 2004 年对大武口区生活饮用水(包括市政供水和自建设施供水)进行了卫生学调查。选择大武口区 3 家市政供水单位和 24 家自建设施供水单位。采用现场检查与采样监测相结合的方法, 水质检验和评价均按《生活饮用水检验规范》(2001)进行。按《生活饮用水卫生监督管理办法》、《生活饮用水水质卫生规范》(2001)对生活饮用水供水单位的办证情况、水源地环境卫生状况、制水工艺、水质卫生及管理现状等进行调查。

表 1 显示, 市政供水单位水源水及出厂水、末梢水水质合格率均高于自建设施供水单位, 差异均有统计学意义(Fisher exact test: 水源水及出厂水, $P=0.042$; 末梢水, $P=0.021$)。市政供水单位不合格指标均为游离余氯。自建设施供水单位水源水主要为浑浊度、总硬度、铁、细菌总数超标。出厂水和末梢水主要为细菌总数、总大肠菌群、粪大肠菌群、游离余氯超标, 其中以余氯不合格为最高, 达 77.8%, 水源水细菌总数超标率为 8.8%, 而出厂水高达 33.3%, 表征在制水过程中受到污染。

大武口区市政供水单位抽检的水源水及末梢水合格率高 的原因是, 市政供水单位的水源水均为深层地下水, 有自动加氯设施, 也具备自检机构, 能较好地保证居民饮用水的卫生安

表 1 石嘴山市大武口区市政供水和自建设施供水合格情况

组别	水源水和出厂水			末梢水		
	样本数 (件)	合格数 (件)	合格率 (%)	样本数 (件)	合格数 (件)	合格率 (%)
市政供水	16	15	93.8	12	11	91.7
自建设施供水	52	36	69.2**	48	27	56.3*
合计	68	51	75.0	60	38	63.3

注: 与市政供水比较, * $P<0.05$, ** $P<0.01$ 。

全。自建设施供水单位水源水及出厂水合格率较低(69.2%)的原因有: (1)水源水为浅层地下水, 易受地表污染物影响; (2)建井年代久远, 井壁管材老化; (3)未设置水源保护区。自建设施供水单位末梢水合格率为 56.3%, 不合格的原因有: (1)储水池清洗不及时; (2)无自检机构; (3)供水管网老化; (4)无自动加氯设施, 有的单位甚至不加氯消毒; (5)卫生管理组织机构不健全。

市政供水单位卫生许可证办理和供管水人员健康证、卫生知识培训持证情况, 水源地保护、卫生防护设施、水处理工艺、水质自检、卫生管理组织及卫生管理制度均优于自建设施供水企业。为防止肠道传染病介水传播, 保证饮用者健康, 自备供水单位应建立水质自检机构, 对水质进行日常性检验, 坚持加氯消毒, 大型自备供水单位可安装自动加氯设施, 保证末梢水中游离余氯符合国家卫生标准。

(收稿日期: 2005-06-06)

(本文编辑: 杜宇欣)

作者单位: 1. 石嘴山市卫生监督所(宁夏 石嘴山市 753000); 2. 石嘴山市

卫生局(宁夏 石嘴山市 753000)