

3种芳香植物单方及其复方精油的抗真菌作用

姚元¹, 陈全家¹, 姚雷²

(1. 新疆农业大学农学院, 乌鲁木齐 830052; 2. 上海交通大学农业与生物学院, 上海 200240)

摘要: 探讨柠檬草、百里香和肉桂精油及其它们所组成的复方精油对足癣真菌的抑制作用。通过抑菌圈法, 比较单方精油及其组合复方精油对引起足癣的真菌: 红色毛癣菌、石膏样毛癣菌和絮状表皮癣菌的抑菌作用。结果表明, 单方精油和复方精油对受试真菌均有较好的抑菌效果。单方精油的抑菌效果强弱顺序为: 肉桂、百里香、柠檬草, 复方精油中柠檬草+百里香+肉桂(1:1:1)在 3 μL 时对 3 种真菌效果最佳。通过两两组合或三者组合的精油复方表现出明显的协同增效的作用。对真菌的抑菌作用大小为: 絮状表皮癣菌 > 石膏样毛癣菌 > 红色毛癣菌。

关键词: 芳香植物; 精油; 红色毛癣菌; 石膏样毛癣菌; 絮状表皮癣菌

中图分类号: R756.3

文献标识码: A

Antifungal Function of Three Pure Essential Oils and Their Compounds from Aromatic Plants

YAO Yuan¹, CHEN Quan-jia¹, YAO Lei²

(1. School of Agronomy, Xinjiang Agricultural University, Urumqi 830052, China;

2. School of Agricultural and Biology, Shanghai Jiaotong University, Shanghai 200240, China)

Abstract: In this study, essential oils from lemongrass, thyme and cinnamon were obtained by means of steam distillation. The antimicrobial effects of these essential oils on different athlete foot fungus (*Trichophyton rubrum*, *Trichophyton gypsum* and *Epidermophyton floccosum*) were investigated and compared *in vitro* experiments by using different essential oil formulas (pure and mixture) respectively. The results showed that favorite anti-fungal effects were indicated in all pure essential oils and their compounds. The order of the anti-fungal function was listed as follows; cinnamon > thyme > lemongrass. In addition, 3 μl of blended essential oils (lemongrass, thyme, and cinnamon) with the proportion of 1:1:1 demonstrated the best anti-fungal effects against 3 dominant fungus strains. The combination of two or three of the pure essential oil showed significantly synergistic anti-fungal effects. The descending order of the fungal susceptibility to the essential oil was as follows; *Epidermophyton floccosum* > *Trichophyton gypsum* > *Trichophyton rubrum*.

Key words: essential oil; fungus; *Trichophyton rubrum*; *Trichophyton gypsum*; *Epidermophyton floccosum*

收稿日期: 2012-03-29

基金项目: 上海市绿化和市容管理局重大项目(G102407); 上海市科委重大攻关项目(10DZ1200403); 公益性行业(农业)科研专项经费(200903056)

作者简介: 姚元(1986-), 女, 硕士生, 研究方向: 芳香植物, E-mail: yaoyuan8611@gmail.com;

姚雷(1963-)为本文通讯作者, 女, 博士, 博士生导师, 研究方向: 芳香植物, E-mail: yaolei@sjtu.edu.cn

红色毛癣菌、絮状表皮癣菌和石膏样毛癣菌是引起足癣的主要真菌。近年来,随着抗生素的广泛应用,真菌的耐药性不断增强,其发病率呈不断增长之势^[1]。从天然产物中筛选抗真菌药物越来越受到国内外学者的广泛重视^[2-4]。在芳香植物中,植物精油由于其特殊的化学组成,许多都具有抗菌的效果,其中柠檬草、百里香和肉桂精油的良好抗菌性能已经被诸多研究所证实^[5-7]。柠檬草具有杀菌、抗病毒、促进血液循环和消除疲劳等功效;百里香具有温中散寒、驱风止痛、健胃发汗等作用,外用能防腐、杀虫、治疗足癣等疾病;肉桂具有抗菌、消炎、镇静等功效。但目前对于柠檬草、百里香和肉桂精油联合抗足癣真菌的研究,还未见报道。本实验拟对单一精油、两两混合和三者混合的复方的抗真菌效果进行初步的研究,以期为芳香植物精油在治疗足癣功效方面提供理论依据^[8-9]。

1 材料和方法

1.1 材料

1.1.1 原料和试剂

新鲜的柠檬草、百里香植物:采自上海交通大学七宝校区农场芳香植物研究实验大棚。肉桂:购自中药饮片厂。试剂:葡萄糖(国药集团化学试剂有限公司,分析纯);琼脂(上海楷洋生物技术有限公司);无水氯化钠(南京化学试剂厂)。

1.1.2 仪器

恒温振荡器, HZ-9211K 型,江苏太仓生产; RQX 系列智能型人工气候箱,上海一恒科技有限公司出产;艾科浦纯水仪, ABZ2-0501-P 型,重庆颐洋企业发展有限公司出产;高压蒸气灭菌锅, YXQ-G01-28 型,上海医用核子仪器厂生产;超净工作台, SA-96-II 型,上海汇龙仪表电子有限公司生产。

1.1.3 菌种

红色毛癣菌(*Trichophyton rubrum*, 以下简称 T. r)、絮状表皮癣菌(*Epidermophyton floccosum*, 以下简称 E. f)、石膏样毛癣菌(*Trichophyton gypsum*, 以下简称 T. g)由上海华山医院皮肤科取得。

1.2 方法

1.2.1 柠檬草、百里香、肉桂精油的提取

采收新鲜的柠檬草^[10],晾干,切成 5~8 cm 的小段,用水蒸气蒸馏法提取精油,计算其精油的提取率。百里香于 8 月花期前后采收,晾干,用水蒸气蒸

馏法提取精油,计算其精油的提取率^[11]。肉桂材料直接粉碎,控制粉粒细度约 70 目,再用水蒸气蒸馏法提取精油,计算其精油的提取率。

1.2.2 柠檬草、百里香、肉桂复方精油的制备

将柠檬草、百里香、肉桂精油两两按精油 1:1 混合,得到柠檬草+百里香、百里香+肉桂和肉桂+柠檬草 3 种复方精油。再将柠檬草、百里香、肉桂精油 3 者按精油比 1:1:1 混合,得到柠檬草+百里香+肉桂的复方精油。

1.2.3 菌悬液的制备

将 3 种菌种用马铃薯葡萄糖琼脂固体培养基进行活化。3 个菌种分别挑取 1 个单一菌落,分别用 10 mL 无菌盐水,研磨 15 min 后,用平板菌落计数法测定含菌数后,调节菌悬液含菌数到 $1 \times 10^5 \sim 1 \times 10^6$ cfu/mL,备用。

1.2.4 精油抑菌圈实验

将稀释好的 3 种菌液各取 100 μ L 加入到马铃薯葡萄糖琼脂固体培养基中,涂抹均匀。然后在每个平板中加入 4 片滤纸片(直径 5 mm),并使滤纸片展平。其中每个平板上的 4 片滤纸片分别含精油原液、空白、两性霉素(阳性对照)、无菌盐水(阴性对照)。精油原液的用量梯度为 3、6、9 μ L,每一用量对每个菌种设 3 个重复。3 个单方精油和 4 组复方精油对 3 种供试菌依次被进行上述操作,并做好区分标记。待精油被滤纸片充分吸收后,将培养皿翻转并放入 28 $^{\circ}$ C 微生物培养箱中,7 d 后观察并测定实验结果,各用量的实验结果取 3 个重复的平均值^[12]。

1.2.5 抑菌圈试验判定标准

抑菌圈直径大于 20 mm,极敏;15~20 mm,高敏;10~15 mm,中敏;7~10 mm,低敏;小于 7 mm,不敏感。

2 结果与分析

2.1 不同用量单方精油对 3 种真菌的抑菌实验

从表 1 可知,3 种单方精油对红色毛癣菌、絮状表皮癣菌和石膏样毛癣菌都有一定的抑菌作用。随着精油用量的增加,对真菌的抑制效果也不断的提高。其中肉桂精油在 9 μ L 时对絮状表皮癣菌达到高敏的抑菌效果,对其他 2 种真菌达到中敏。各剂量的肉桂精油与相同剂量的其他 2 种精油相比,均显示出更高的抑菌活性。百里香精油在 9 μ L 时对絮状表皮癣菌达到中敏,对其他 2 种菌达到了中敏,

其抑菌效果比肉桂精油低。单方精油的抑菌效果强弱顺序为:肉桂、百里香、柠檬草。单方精油对真菌

的抑菌作用大小为:絮状表皮癣菌>石膏样毛癣菌>红色毛癣菌^[13]。

表1 3种单方精油对3种癣菌的抑菌圈直径

复方精油用量/ μL Compound essential oil dosage	柠檬草 Lemongrass			百里香 Thyme			肉桂 Cinnamon			阳性对照 Positive control			阴性对照 Negative control		
	T. r	E. f	T. g	T. r	E. f	T. g	T. r	E. f	T. g	T. r	E. f	T. g	T. r	E. f	T. g
3	8.3	9.2	8.7	8.9	9.5	9.3	9.4	10.3	9.7	7.2	7.6	7.5	0	0	0
6	9.1	10.7	10.4	10.2	11.6	10.8	11.2	13.7	12.8	7.3	7.5	7.6	0	0	0
9	10.7	11.7	11.3	11.2	12.7	11.5	12.6	15.1	13.4	7.1	7.2	7.5	0	0	0

注:抑菌圈试验判定标准:抑菌圈直径大于20 mm,极敏;15~20 mm,高敏;10~15 mm,中敏;7~10 mm,低敏;小于7 mm,不敏感。下同。

Note: sensitivity to bacteria, "<7 mm" means no; "7~10 mm" means little; "10~15 mm" means moderate; "15~20 mm" means high; ">20 mm" means supreme. The same as below.

2.2 不同用量复方精油对3种真菌的抑菌实验

从表2可以看出,4种复方精油对红色毛癣菌、絮状表皮癣菌和石膏样毛癣菌都有较强的抑菌作用。随着精油用量的增加,抑菌效果也不断提高。其中柠檬草+百里香+肉桂(1:1:1)的复方精油在3 μL 时对3种真菌的抑制效果已达到高敏。当柠檬草+百里香+肉桂和百里香+肉桂在9 μL 对絮

状表皮癣菌的抑菌效果达到了极敏。各剂量的柠檬草+百里香+肉桂复方精油与相同剂量的其他3种复方精油相比,均显示出更高的抑菌活性。复方精油抑菌效果的强弱为:柠檬草+百里香+肉桂、百里香+肉桂、柠檬草+肉桂、柠檬草+百里香。复方精油对絮状表皮癣菌的抑制效果也明显强于对其他2种真菌^[14]。

表2 4种复方精油对3种真菌的抑菌圈直径

复方精油 用量/ μL Compound essential oil dosage	柠檬草+百里香 (1:1)			柠檬草+肉桂 (1:1)			百里香+肉桂 (1:1)			柠檬草+百里香+ 肉桂(1:1:1)			阳性对照 Positive control			阴性对照 Negative control		
	T. r	E. f	T. g	T. r	E. f	T. g	T. r	E. f	T. g	T. r	E. f	T. g	T. r	E. f	T. g	T. r	E. f	T. g
3	11.4	12.5	12.9	11.4	12.5	12.9	14.3	17.4	15.3	16.7	19.3	17.8	7.3	7.4	7.4	0	0	0
6	13.6	14.7	13.6	13.6	14.7	13.6	16.4	18.5	17.9	18.4	21.5	19.6	7.5	7.3	7.2	0	0	0
9	14.3	16.1	15.7	14.3	16.1	15.7	17.3	20.8	19.4	19.5	23.1	21.7	7.3	7.1	7.4	0	0	0

2.3 单方及复方精油对3种真菌的抑菌圈变化

图1、图2和图3为不同用量抑菌圈实验的结果示意图。由图可知,柠檬草、百里香和肉桂精油单方及4种混合复方对红色毛癣菌、絮状表皮癣菌和石膏样毛癣菌均表现出强的抑制作用,且在本实验设定的用量梯度下,7方精油均随用量的增加,抑菌效果逐渐增强。在精油7方中,抑菌作用的强弱为柠檬草+百里香+肉桂、百里香+肉桂、柠檬草+肉桂、柠檬草+百里香、肉桂,百里香,柠檬草。

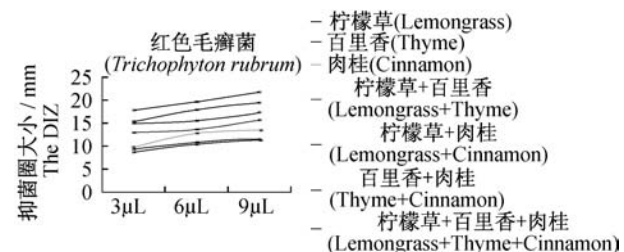


图1 供试精油3种用量下对红色毛癣菌的抑菌圈直径大小
Fig. 1 Diameter of inhibitory zone of the essential oils with three levels against T. r.

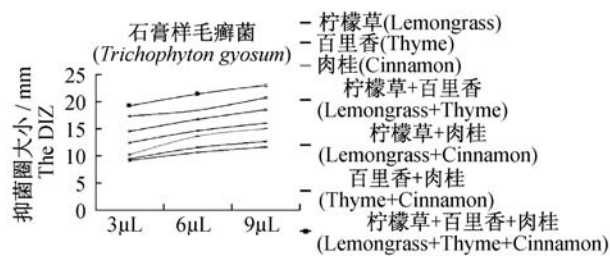


图2 供试精油3种用量下对石膏样毛癣菌的抑菌圈直径大小

Fig.2 Diameter of inhibitory zone of the essential oils with three levels against T. g.

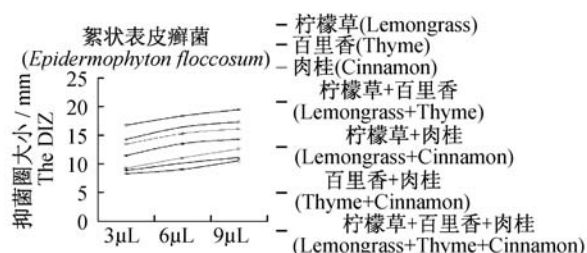


图3 供试精油3种用量下对絮状表皮癣菌的抑菌圈直径大小

Fig.3 Diameter of inhibitory zone of the essential oils with three levels against E. f.

3 讨论

实验结果提示,单方精油和复方精油都具有较好的抑真菌的能力。其中单方精油中肉桂精油对3种真菌的抑制效果最好。复方精油中3种精油混合的抑制效果最好,当复方精油用量为3 μ L时即可达到对3种真菌高敏的抑制效果。而所有精油对絮状表皮癣菌的抑制效果都要强于其他2种真菌。数据表明,精油两两联合或者三者联合对其抗菌性具有协同增效的作用。肉桂精油具气芳香浓烈,其有效抑菌成分主要是肉桂醛,虽然单独使用对3种真菌已有强大的抑菌作用,但其对皮肤刺激性很大,直接作为抗菌剂用于脚癣的治疗会对病人的皮肤产生较大的影响。所以加入百里香和柠檬草精油可以缓解对皮肤的刺激性,其主要有效抑菌成分分别是百里香酚和柠檬醛,都具有一定的抗菌作用^[15-16]。2种或3种精油混合使用不仅能大大降低其刺激的气味,还能缓解对皮肤的刺激性,扩大其使用的范围。

本实验使用3种植物精油的配伍理论是将具有相似功效的不同植物精油配合应用,使其可以起到抗菌活性的相须和相使的作用,并且实验也证明了

单方精油联合使用的抗菌效果比单方精油单独使用时的抗菌效果有明显的增强。由于本实验仅为初步的精油配伍实验,有待于今后进一步的深入研究,采用多因素回归实验进行进一步探讨抗真菌活性的差异,而单方和复方精油对红色毛癣菌的抑制效果都不如对其他3种真菌的抑制,此问题还需要一步深入研究。

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] 欧阳秋,黄晓,陶科,等. 瑞香狼毒对石膏样毛癣菌的抑制作用及其超微结构的影响[J]. 华西药理学杂志,2008,23(1):010-012.
- [3] 唐金花,张薪薪,刘伟,等. 土槿皮对红色毛癣菌的抑菌作用及其超微结构的研究[J]. 辽宁师范大学学报(自然科学版),2005,28(3):399-341.
- [4] 曲戈霞,齐秀兰,刘宏伟,等. 抗真菌中草药的初步筛选[J]. 沈阳药科大学学报,2002,19(3):157-159.
- [5] 杨森艳,姚雷. 柠檬草精油抗菌性研究[J]. 上海交通大学学报(农业科学版),2005,23(4):374-382.
- [6] 樊明涛,陈锦屏. 百里香提取物抑菌特性的研究[J]. 微生物学报,2001,41(4):499-504.
- [7] 邱世翠,李连锦,刘云波,等. 肉桂体外抑菌作用研究[J]. 时珍国医国药,2001,12(1):13.
- [8] 姚雷,张少艾. 芳香植物[M]. 上海:上海教育出版社,2002:2-6.
- [9] 刘玉明,靳小青,沈越. 中草药抗浅部真菌实验研究进展[J]. 海军医学杂志,2006,27(2):174-176.
- [10] 杨森艳,姚雷. 柠檬草的精油季节性变化及功能性研究[D]. 上海:上海交通大学,2006.
- [11] 黄健,马莉,姚雷,等. 7种百里香精油的主成分分析及其化学型[J]. 上海交通大学学报(农业科学版),2009,27(3):206-209.
- [12] 袁萍,王国亮. 3种植物精油对霉菌的抑制作用[J]. 武汉植物学研究,2001,19(6):521-523.
- [13] 周邦靖. 常用中药的抗菌作用及其测定方法[M]. 重庆:科学技术出版社重庆分社,1987:289-314.
- [14] 李京品,籍保平,周峰,等. 丁香和肉桂挥发油的提取、主要成分测定及其抗菌活性研究[J]. 食品科学,2006,27(8):64-68.
- [15] 谢小梅,张文平,付颖瑗,等. 肉桂醛与柠檬醛抗曲霉菌的作用机制的研究[J]. 中草药,2004,35(4):430-432.
- [16] 张静,冯岗,袁旭超,等. 百里香酚抑菌活性初探[J]. 中国农学通报,2009,25(21):277-280.