

小叶女贞果实挥发油的 GC-MS 分析及其抗氧化活性

朱 玉, 文飞龙, 齐应才, 李长虹, 尹学健, 张义丹, 毕淑峰*

黄山学院生命与环境科学学院, 黄山 245041

摘要:首次采用气相色谱-质谱联用(GC-MS)分析小叶女贞果实挥发油化学成分,并以 ABTS 自由基和亚硝酸钠清除作用评价 25% 挥发油抗氧化活性。从小叶女贞果实挥发油中共鉴定出 67 种化合物,占挥发油总量的 76.50%,主要成分有大根香叶烯 D(8.57%)、顺式-2-反式-6-金合欢醇(6.38%)、 α -葑澄茄烯(5.24%)、2-己烯醛(3.80%)、芳樟醇(3.78%)、 α -衣兰油烯(3.70%)等。挥发油对 ABTS 自由基和亚硝酸钠具有明显地清除作用,样品量与清除率间呈量效关系。

关键词:小叶女贞;果实;挥发油;气相色谱-质谱联用;抗氧化活性

中图分类号:R284.1

文献标识码:A

Chemical Constituents of Volatile Oil of *Ligustrum quihoui* Fruits and Their Antioxidant Activity

ZHU Yu, WEN Fei-long, QI Ying-cai, LI Chang-hong, YIN Xue-jian, ZHANG Yi-dan, BI Shu-feng*

College of Life and Environment Science, Huangshan University, Huangshan 245041, China

Abstract: In this study, the chemical constituents of volatile oil of *Ligustrum quihoui* fruits were determined by gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS) for the first time and the antioxidant activity of 25% volatile oil was investigated by evaluating its scavenging capacity against ABTS· and sodium nitrite. Sixty-seven compounds, which occupied 76.50% of total constituents, were tentatively identified. The major constituents of the volatile oil were germacrene D (8.57%), cis-2-trans-6-farnesol (6.38%), α -cubebene (5.24%), hex-2-enal (3.80%), linalool (3.78%), α -muur-olene (3.70%). The volatile oil exhibited significant scavenging capacities against ABTS· and sodium nitrite in a concentration-dependent manner.

Key words: *Ligustrum quihoui*; fruits; volatile oil; GC-MS; antioxidant activity

小叶女贞(*Ligustrum quihoui* Carr.)为木犀科女贞属植物,其叶、花、果实等均可入药。小叶女贞叶含熊果酸、齐墩果酸等成分^[1],叶挥发油主要为萜类、脂肪族化合物^[2],花挥发性成分主要为萜类、芳香族化合物^[3,4]。小叶女贞果实提取物具有抗氧化、增强免疫力等活性^[5,6]。小叶女贞果实挥发油化学成分及其活性研究鲜见报道,本研究首次采用GC-MS分析小叶女贞果实挥发油化学成分,并以ABTS自由基和亚硝酸钠清除作用为指标评价小叶女贞果实挥发油的抗氧化活性。

1 材料与方法

1.1 材料、仪器与试剂

样品采自安徽省黄山市,由黄山学院生命与环境学院张慧冲副教授鉴定为小叶女贞(*Ligustrum quihoui* Carr.)果实。2,2-联氨基-双-(3-乙基苯并噻唑啉-6-磺酸)二氨盐(ABTS, Regal Biotechnology Company);2,6-二叔丁基-4-甲基苯酚(BHT)、无水乙醚、无水硫酸钠等为国产分析纯。Agilent HP7890-5975C气相色谱-质谱联用仪(美国Agilent公司);UV754N紫外可见分光光度计(上海精密科学仪器有限公司)。

1.2 实验方法

1.2.1 挥发油的提取

精确称取新鲜样品 50 g,粉碎后置于挥发油提取器中,按水蒸气蒸馏法提取 6 h,得到具有浓郁香味淡黄色透明油状物,无水硫酸钠干燥后用于 GC-MS 测试。同时取部分挥发油用丙酮稀释成体积分数 25%,用于抗氧化活性测试。

收稿日期:2013-03-19 接受日期:2013-10-09

基金项目:中国博士后科学基金面上项目(2011M500898);黄山学院博士启动基金项目(2012xkjq002)

* 通讯作者 Tel:86-015005599526; E-mail:bsfhs@yahoo.cn

1.2.2 GC-MS 分析条件

GC 条件:HP-5 MS 弹性石英毛细管柱(30 m × 0.25 mm,0.25 (m);载气为高纯氦气,流速为 1.0 mL/min,分流比为 40:1;进样口温度为 280 °C;进样量为 0.5 μL,色谱柱初始温度为 60 °C,以 5 °C/min 升至 285 °C,保持 1 min。

MS 条件:电子轰击(EI)离子源,离子源温度 230 °C,四极杆温度 150 °C,电子能量 70 eV,扫描质量数范围 35 ~ 450 amu,采用 NIST08 标准谱库进行检索。

1.2.3 挥发油对 ABTS·清除能力的测定^[7]

将等量的 7 mmol/L ABTS 溶液与 2.45 mmol/L 过硫酸钾混合使之反应并置于暗处 12 h。用甲醇将 ABTS 溶液稀释至在 734 nm 处吸光度 0.70 ± 0.02。取 20 ~ 100 μL 25% 挥发油置于 5 只试管中,样品体积少于 100 μL 的试管,用丙酮补至 100 μL。向各试管加入 2 mL ABTS 溶液,6 min 后测量其吸光度(A_i)。测定 2 mL ABTS 溶液与样品体积相同甲醇混合后的吸光度(A₀)。测定 2 mL 甲醇溶液与不同体积样品液混合后的吸光度(A_j)。清除率% = [(A₀-A_i + A_j)/A₀] × 100%。

1.2.4 挥发油对亚硝酸钠清除能力的测定^[8]

将 0.5 mol/L 的柠檬酸钠-盐酸缓冲液(pH3.0)

5.0 mL 置于 10 mL 容量瓶中,加入 1 mL 0.1 g/L 的 NaNO₂ 溶液和 20 ~ 100 μL 挥发油,用蒸馏水定容至刻度,37 °C 下反应 1 h。取 1 mL 反应液,加入 4 g/L 对氨基苯磺酸溶液 2 mL 和 2 g/LN-1-萘乙二胺盐酸盐 1 mL,放置 15 min,在 540 nm 处测吸光度值 A_x;同时做对照实验测其吸光度 A₀。清除率% = [(A₀-A_x)/A₀] × 100%。

2 结果与分析

2.1 小叶女贞果实挥发油的 GC-MS 分析

按设定的 GC-MS 条件分析挥发油,根据计算机 NIST08 标准库检索、质谱图分析结果,鉴定匹配度高于 80% 的化学成分,并用面积归一化法计算各组分相对含量,具体分析结果见表 1。从挥发油鉴定出 67 个化合物,占挥发油总量的 76.50%。挥发油含有萜类、醇、醛、酮、酯、烷烃等,以萜类、醛、酯为主,其中含有 34 种萜类化合物(54.58%)、8 种醛(8.74%)、5 种酯(4.35%)。挥发油中含量较高成分有大根香叶烯 D(8.57%)、顺式-2-反式-6-金合欢醇(6.38%)、α-萜澄茄烯(5.24%)、2-己烯醛(3.80%)、芳樟醇(3.78%)、α-衣兰油烯(3.70%)、5-乙炔基-3-吡啶羧酸甲酯(3.67%)、反式-2-己烯-1-醇(3.54%)、糠醛(3.15%)、β-萜澄茄烯(3.06%)等。

表 1 小叶女贞果实挥发油化学成分的 GC-MS 分析结果

Table 1 Chemical constituents of volatile oil of *L. quihoui* fruits identified by GC-MS

编号 No.	保留时间 <i>t</i> _R	化合物 Compounds	分子式 Formula	相似度 SI	相对含量 Relative content (%)
1	3.496	糠醛 furfural	C ₅ H ₄ O ₂	91	3.15
2	3.740	2-己烯醛 hex-2-enal	C ₆ H ₁₀ O	97	3.80
3	3.916	反式-2-己烯-1-醇 trans-2-hexen-1-ol	C ₆ H ₁₂ O	91	3.54
4	4.515	2-乙酰基呋喃 2-acetylfuran	C ₆ H ₆ O ₂	87	0.08
5	5.136	α-蒎烯 α-pinene	C ₁₀ H ₁₆	96	0.10
6	5.663	苯甲醛 benzaldehyde	C ₇ H ₆ O	96	0.21
7	5.766	3-乙炔基吡啶 3-ethenyl pyridine	C ₇ H ₇ N	91	0.50
8	5.928	3-亚甲基-6-(1-甲基乙基)环己烯 3-methylene-6-(1-methylethyl)-cyclohexene	C ₁₀ H ₁₆	87	0.08
9	6.022	β-蒎烯 β-pinene	C ₁₀ H ₁₆	94	0.03
10	6.391	反式-2,4-庚二烯醛 trans,trans-2,4-heptadienal	C ₇ H ₁₀ O	94	0.08
11	7.161	(+)-萜二烯(+)-limonene	C ₁₀ H ₁₆	94	0.17
12	7.243	桉叶油醇 cineole	C ₁₀ H ₁₈ O	97	0.54
13	7.521	苯乙醛 phenylacetaldehyde	C ₈ H ₈ O	95	0.28
14	8.103	1-辛醇 1-octanol	C ₈ H ₁₈ O	87	0.13
15	8.891	芳樟醇 linalool	C ₁₀ H ₁₈ O	97	3.78

16	8.990	壬醛 nonanal	C ₉ H ₁₈ O	93	0.64
17	9.936	烟酸甲酯 methyl nicotinate	C ₇ H ₇ NO ₂	97	0.11
18	10.056	2,6,6-三甲基-2-环己烯-1,4-二酮 2,6,6-trimethyl-2-cyclohexene-1,4-dione	C ₉ H ₁₂ O ₂	97	0.10
19	10.142	樟脑 camphor	C ₁₀ H ₁₆ O	98	2.77
20	10.685	冰片 bingpian	C ₁₀ H ₁₈ O	95	0.32
21	10.981	(-)-4-萜品醇(-)-4-terpineol	C ₁₀ H ₁₈ O	97	0.15
22	11.324	α-松油醇 α-terpineol	C ₁₀ H ₁₈ O	80	1.03
23	12.248	香茅醇 citronellol	C ₁₀ H ₂₀ O	98	1.13
24	12.492	6-甲基烟酸甲酯 methyl-6-methylnicotinate	C ₈ H ₉ NO ₂	90	0.21
25	12.959	香叶醇 geraniol	C ₁₀ H ₁₈ O	95	1.65
26	13.152	反式-2-癸烯醛 trans-2-decenal	C ₁₀ H ₁₈ O	83	0.40
27	13.858	乙酸冰片酯 bornyl acetate	C ₁₂ H ₂₀ O ₂	99	0.21
28	13.927	黄樟油素 safrole	C ₁₀ H ₁₀ O ₂	83	0.11
29	14.556	4-乙烯基-2-甲氧基苯酚 2-methoxy-4-vinylphenol	C ₉ H ₁₀ O ₂	91	0.36
30	14.559	反式-2,4-癸二烯醛 trans,trans-2,4-decadien-1-al	C ₁₀ H ₁₆ O	90	0.18
31	15.563	5-乙烯基-3-吡啶羧酸甲酯 5-vinyl-3-pyridine carboxylic acid methyl ester	C ₉ H ₉ NO ₂	90	3.67
32	15.695	3-烯丙基愈创木酚 3-allyl guaiacol	C ₁₀ H ₁₂ O ₂	98	0.30
33	15.862	癸酸 decanoic acid	C ₁₀ H ₂₀ O ₂	98	0.07
34	16.042	(+)-环苜蓿烯(+)-cyclosativene	C ₁₅ H ₂₄	99	1.13
35	16.252	α-葑澄茄烯 α-cubebene	C ₁₅ H ₂₄	97	5.24
36	16.423	β-大马烯酮 β-damascenone	C ₁₃ H ₁₈ O	97	0.91
37	16.599	β-葑澄茄烯 β-cubebene	C ₁₅ H ₂₄	96	3.06
38	16.896	六氢假紫罗酮 hexahydro-pseudoionone	C ₁₃ H ₂₆ O	86	0.30
39	17.074	α-紫罗烯 α-ionene	C ₁₃ H ₁₈	84	0.20
40	17.374	1-石竹烯 1-caryophyllene	C ₁₅ H ₂₄	99	2.85
41	17.597	双环倍半水芹烯 bicyclo sesquiphellandrene	C ₁₅ H ₂₄	95	0.23
42	18.068	香叶基丙酮 geranylacetone	C ₁₃ H ₂₂ O	95	0.11
43	18.915	大根香叶烯 D germacrene D	C ₁₅ H ₂₄	95	8.57
44	19.185	1,2,3,5,6,7,8,8a-octahydro-1-methyl-6-methylene-4-(1-methylethyl)-naphthalene	C ₁₅ H ₂₄	92	0.95
45	19.331	1,2,3,5,6,7,8,8 a-八氢-1-甲基-6-亚甲基-4-(1-甲基乙基)-萘 α-衣兰油烯 α-muurolene	C ₁₅ H ₂₄	97	3.70
46	19.575	2,6-二叔丁基对甲酚 2,6-di-tert-butyl-4-methyl phenol	C ₁₅ H ₂₄ O	98	0.53
47	19.875	d-杜松烯 d-cadinene	C ₁₅ H ₂₄	95	2.37
48	19.939	表圆线藻烯 epizonarene	C ₁₅ H ₂₄	96	0.33
49	20.093	1,6-dimethyl-4-(1-methylethyl)-(1,2,3,4,4a,7)-hexahydro-naphthalene	C ₁₅ H ₂₄	98	0.28
50	20.740	1,6-二甲基-4-(1-甲基乙基)-(1,2,3,4,4a,7)-六氢-萘 顺式-橙花叔醇 cis-nerolidol	C ₁₅ H ₂₆ O	81	0.51
51	20.928	g-古芸烯 g-gurjunene	C ₁₅ H ₂₄	83	0.18
52	21.335	石竹烯氧化物 caryophyllene oxide	C ₁₅ H ₂₄ O	94	0.96
53	21.802	桉叶-3,7(11)-二烯 eudesma-3,7(11)-diene	C ₁₅ H ₂₄	92	0.74
54	22.161	(-)-g-杜松烯(-)-g-cadinene	C ₁₅ H ₂₄	90	0.41
55	22.641	t-依兰油醇 t-muurolol	C ₁₅ H ₂₆ O	94	2.35
56	22.731	α-可巴烯 α-copaene	C ₁₅ H ₂₄	91	1.10
57	23.801	法呢醇 farnesol	C ₁₅ H ₂₆ O	95	0.76

58	24.328	顺式-2-反式-6-金合欢醇 cis-2-trans-6-farnesol	$C_{15}H_{26}O$	91	6.38
59	25.552	菲 phenanthrene	$C_{14}H_{10}$	96	0.14
60	26.829	植酮 perhydrofarnesyl acetone	$C_{18}H_{36}O$	94	0.14
61	28.439	棕榈酸甲酯 methyl hexadecanoate	$C_{17}H_{34}O_2$	99	0.15
62	29.171	软脂酸 palmitic acid	$C_{16}H_{32}O_2$	99	0.59
63	31.701	十七烷 heptadecane	$C_{17}H_{36}$	97	0.18
64	31.967	植物醇 phytol	$C_{20}H_{40}O$	94	0.57
65	35.174	二十烷 eicosane	$C_{20}H_{42}$	98	0.21
66	38.381	二十五烷 pentacosane	$C_{25}H_{52}$	98	0.33
67	43.224	角鲨烯 squalene	$C_{30}H_{50}$	94	0.16

2.2 小叶女贞果实挥发油对 ABTS· 的清除作用

ABTS· 清除法是一种广泛应用于生物样品总抗氧化能力测定方法,具有操作简单、快速等优点。由图 1 可知,25% 小叶女贞果实挥发油对 ABTS· 有明显地清除作用,样品体积为 100 μL 时,清除率为 73.14%,但其清除能力低于 1 mg/mL 维生素 C。挥发油对 ABTS· 清除效果与样品量呈显著正相关,挥发油体积(X)与清除率(Y)的回归方程为: $Y = 0.5585X + 19.0063$ ($R^2 = 0.9931$);清除率为 50% 时,25% 挥发油、1 mg/mL 维生素 C 的体积分别为 55.49 μL 、21.46 μL 。

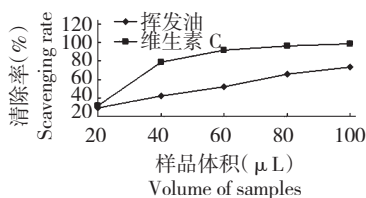


图 1 小叶女贞果实挥发油对 ABTS· 的清除作用

Fig. 1 Scavenging capacity of volatile oil of *L. quihoui* fruits against ABTS·

2.3 小叶女贞果实挥发油对亚硝酸钠的清除作用

亚硝酸钠是一种强氧化剂和食品添加剂,是化学致癌物亚硝胺的前体物质,清除亚硝酸钠是预防癌症的有效途径。由图 2 可知,25% 挥发油对亚硝酸钠清除作用优于 1 mg/mL BHT,随着样品体积增加,两者清除作用的差异有增大趋势。挥发油对亚硝酸钠的清除作用随着样品体积增加而逐步增加,两者呈显著量效关系;挥发油体积(X)与清除率(Y)间的回归方程为: $Y = 0.4367X + 0.5951$ ($R^2 = 0.9878$);清除率为 50% 时,25% 挥发油、1 mg/mL BHT 的体积分别为 113.13、195.61 μL 。

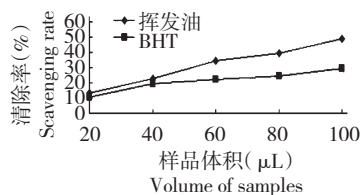


图 2 小叶女贞果实挥发油对亚硝酸钠的清除作用

Fig. 2 Scavenging capacity of volatile oil of *L. quihoui* fruits against sodium nitrite

3 讨论

小叶女贞果实挥发油的化学成分复杂,萜类成分在种类和含量均占绝对优势,其中单萜 12 种(11.75%)、倍半萜 20 种(42.10%)、二萜 1 种(0.57%)、三萜 1 种(0.16%)。小叶女贞果实挥发油化学成分与花、叶挥发油存在较大差异,花、叶挥发油中芳香族、脂肪族主要成分(苯乙醇、苯甲醇、十六烷酸),在果实挥发油中为微量成分或未检测到^[2-4],只有芳樟醇、 β -萜澄茄烯为花和果实共有的主要成分^[3]。因此,小叶女贞果实药理作用与叶、花存在差异。女贞子是女贞属植物女贞的果实,为我国著名传统中药,南京产女贞子挥发油主要成分为单萜和倍半萜, α -萜澄茄烯、 α -衣兰油烯、1-石竹烯均为小叶女贞果实和南京产女贞子挥发油中含量较高成分^[9]。小叶女贞果实与女贞子有一定相似的药理作用,在临床上都可用于治疗肝炎。

小叶女贞果实挥发油中含有多种具有应用价值的化学成分,大根香叶烯 D 具有平喘作用,是治疗老年性支气管炎的有效成分之一;芳樟醇是使用范围最广、使用量最大的香料;香叶醇可用作调香原料、增甜剂,还可用于配制食品、香皂、日用化妆品香精;苯甲醛、(+)-萜二烯、法呢醇等均可用作食用香

料。

小叶女贞果实挥发油具有较好的抗氧化活性,对亚硝酸钠的清除作用优于 1 mg/mL BHT。挥发油中萜类化合物具有抗氧化活性,高含量萜类化合物是小叶女贞果实具有抗氧化活性的内在原因。

参考文献

- Li XM(李晓蒙), Cai ZP(蔡志蓬). Studies on chemical constituents of *Ligustrum quihoui* Carr. *J Guangdong Pharm Univ* (广东药学院学报), 1998, 14(2): 93-94.
- Liu C(刘超), Xu YT(徐玉婷), Liu DP(刘大鹏), et al. Analysis of the chemical constituents of essential oil from *Ligustrum quihoui* by GC-MS. *J Chin Med Mater* (中药材), 2011, 34: 1065-1067.
- Li CF(李彩芳), Fang MY(方明月), Li CQ(李昌勤), et al. Analysis of the essential oil from *Ligustrum quihoui* Carr. by SPME-GC-MS. *Nat Prod Res Dev* (天然产物研究与开发), 2007, 19: 443-446.
- Jin H(金华), Ma CX(马驰骁). Analysis of the essential oil from flower of *Ligustrum quihoui* Carr. *J Anal Sci* (分析科学学报), 2011, 27: 814-816.
- Yang ZB(杨再波), Wu YG(吴勇刚). Study on antioxidant activity of the fruit from *Ligustrum quihoui* Carr. *J Qiannan Normal Coll Nation* (黔南民族师范学院学报), 2011, (3): 47-49.
- Zhang YB(张逸波), Zheng WJ(郑文杰), Huang Z(黄峙), et al. Spectrometric investigation of the antioxidant activity of a novel synthetic selenadiazole derivative SPO against DPPH and ABTS free radicals. *Spectrosc Spectral Anal* (光谱学与光谱分析), 2010, 30: 1866-1871.
- Lu ZG(陆占国), Li W(李伟), Feng D(封丹). Study on chemical components of Dill seeds essential oil and ability of scavenging sodium nitrite. *Nat Prod Res Dev* (天然产物研究与开发), 2010, 22: 479-482.
- Zhang JZ(张菊珍), Liu YQ(刘永清), Qian RY(钱仁渊). Analysis of the chemical constituents of essential oil from *Ligustrum lucidum*. *J Nanjing Inst Chem Technol* (南京化工学院学报), 1993, 15(4): 77-79.
- Chen JY(陈建烟), Li YY(李永裕), Wu SH(吴少华). Advances in mechanism of biological activities of plant essential oils. *Nat Prod Res Dev* (天然产物研究与开发), 2012, 24: 1312-1318.
- Sung YJ, Seo YB. Thermogravimetric study on stem biomass of *Nicotiana tabacum*. *Thermochim Acta*, 2009, 486: 1-4.
- Chen YR(陈育如), Liu YF(刘友芬), Luo YJ(骆跃军), et al. The identification of *Neurospora intermedia* and its potential for bioconversion cellulose to ethanol. *J Chem Eng Chin Univ* (高校化学工程学报), 2009, 23: 819-824.
- Tang G(唐刚), Chen YR(陈育如), Liu YF(刘友芬). Study on carotenoids production by *Neurospora intermedia*. *J Nanjing Norm Univ* (南京师范大学学报), 2009, 9: 73-77.
- He C(何纯), Sun XJ(孙宪响), Duan BH(段碧华). Lca-1 regulating conidiation and carotenoid production in *Neurospora. Mycosystema* (菌物学报), 2011, 30: 435-441.
- Liu XY(刘小勇), Tian SZ(田素忠), Qin GF(秦国夫), et al. An improved method for extracting DNA from plants and microorganisms using SDS-CTAB. *J Beijing For Uni* (北京林业大学学报), 1997, 03: 101-104.
- Liu ZY(刘紫英). Endophytic fungi producing flavonoids from *Spiranthes sinensis*. *Mycosystema* (菌物学报), 2011, 30: 133-137.
- Wang SL(王岁楼). The extraction of carotenoids from *Rhodotorula*. *Shanxi Food Ind* (山西食品工业), 2001, 01: 14-16.

(上接第 533 页)