

文章编号: 1001 - 9499 (2018) 05 - 0012 - 04

# 舟山新木姜子挥发性成分的季节性变化及抑菌、抗氧化效果研究\*

李 娜<sup>1,2</sup> 李 鑫<sup>1,2</sup> 祝子坪<sup>1,2</sup> 吴 晗<sup>1</sup> 傅 蓉<sup>1</sup> 陈玮玮<sup>1</sup>

(1. 台州学院生命科学院, 浙江 台州 318000; 2. 浙江省植物进化生态与保护重点实验室, 台州 318000)

**摘要:** 对舟山新木姜子材料不同时期的叶片挥发性成分含量进行分析, 研究其不同季节挥发性成分含量的动态变化以及挥发油的抑菌和抗氧化效果。结果表明, 夏季挥发油含量最高为 5.4%, 精油的主要挥发性成分是酯类、单萜和倍半萜。抑菌性实验结果表明精油具有抑菌效果, 且效果随着浓度的升高而增大。抗氧化性实验通过 DPPH 自由基清除实验表明舟山新木姜子精油具有较强的抗氧化性。

**关键词:** 舟山新木姜子; 抑菌性; 抗氧化性; 成分变化

**中图分类号:** S 759.82, S788.1 **文献标识码:** C

舟山新木姜子(*Neolitsea sericea*)是普陀樟系樟科(Lauraceae)樟属(Cinnamomum)常绿乔木, 间断生长在中国东部沿海地区, 从上海金山县大金山岛向西坡延伸至浙江舟山群岛和台州等地, 中国台湾、朝鲜、日本也有生长, 是常见于海拔 200~400 m 的低山沟谷常绿阔叶林的植物<sup>[2-3]</sup>。舟山新木姜子的数量很少, 是荷兰植物学家布鲁曼(Blume)于 1826 年在舟山采到模式标本后发表公布于世的, 是我国唯一以舟山地名命名的植物<sup>[4-5]</sup>, 在《中国珍稀濒危保护植物名录》第 1 册中被列为二级保护对象。有学者研究, 很多种新木姜子有引起血管收缩, 抗肿瘤活性, 抑菌活性等作用<sup>[4]</sup>。但目前对舟山新木姜子的研究主要集中在引种驯化、资源调查、群落结构分析等方面, 对其生物活性成分的研究较少。本文通过对舟山新木姜子叶片精油的成分及功能研究, 分析其开发和利用价值, 以期达到促进人工种植, 保存物种的目的。

## 1 材料与amp;方法

### 1.1 仪器及材料

大肠杆菌(*Escherichia coli*)由台州学院微生物

实验室提供。舟山新木姜子叶子采样地点位于舟山市农林局, 位于中国大陆海岸线的中部, 长江和钱塘江的入口处。用于成分分析的叶子分别在 1、4、8、11 月份在 3 株 10~15 年的舟山新木姜子树上进行采摘, 采摘部位靠近地面 1.3~1.8 m 的树枝, 靠近本年新生叶片上 50 cm 内的叶片。采摘之后的叶子置于 -80 °C 的冰箱中冷冻保存。

气相色谱质谱联用仪(美国 Agilen, 7890A-5975C); 精油提取器、恒温培养箱(宁波江南仪器厂, GNP-9050); 全温培养摇床(宁波江南仪器厂, QYC-200); 洁净工作台(苏州安泰空气技术有限公司, VD-650-U)电热恒温鼓风干燥箱(宁波江南仪器厂, DHG-9240AS)。

阿莫西林胶囊(广州白云山制药总厂), 其他试剂均为分析纯, 水为超纯水。

### 1.2 实验方法

#### 1.2.1 舟山新木姜子精油的提取

取 180 g 新鲜舟山新木姜子叶清洗干净, 加入打浆机中加水至 500 mL, 打浆 20~30 min, 取出; 加入 5 mL 乙酸丁酯和 5 g 氯化钠, 充分搅拌, 放入水蒸气蒸馏装置, 静置 30 min, 190 °C, 加热蒸馏 60~90 min; 收集上层馏出液, 多次提取之后一起

\* 国家自然科学基金青年基金资助项目(31300047); 台州市科技计划项目(1403ky02)

置于旋转蒸发器 50℃, 去除乙酸丁酯, 蒸馏至原来的 1/4 的量, 即得到以舟山新木姜子为主要成分的精油。利用蒸馏萃取法装置在一定条件下分别提取舟山新木姜子精油。鲜叶称重后置于烘干箱, 干燥至恒重, 并计算含水率。挥发油提取率计算公式:

$$\text{挥发油提取率} = \frac{\text{挥发油质量}}{\text{叶片干重}} \times 100\%$$

### 1.2.2 舟山新木姜子精油的成分

色谱条件 GC 分析条件: 使用 30 m × 0.25 mm × 0.25 μm 厚涂层的 DB-5MS 石英毛细管柱, 柱温以 6℃/min 的速度由 60℃ 升至 300℃, 并保持 2 min, 汽化室温度 320℃, 柱前压 10 Pa, 以高纯氦作为载气, 进样量 1 μL, 分流比 50:1。

MS 分析条件 电子轰击源(EI), 电子轰击电压 70 eV, 离子源温度 250℃, 倍增电压 1 294 V, 质量扫描范围 50~700 AMU。所得的质谱图直接与该机中 NIST08 质谱库检索并参考相关文献来比较确定。

### 1.2.3 舟山新木姜子精油抑菌实验

#### (1) 培养基的制备

配制牛肉膏蛋白胨培养基待用。

#### (2) 菌悬液的制备

配置 250 mL 的牛肉膏培养液, 灭菌, 加入一环大肠杆菌, 在摇床里 37℃ 条件下培养 24 h。

#### (3) 滤纸片扩散法测定抑菌圈

将待测菌悬液各取 1.0 mL 均匀涂布于相应的固体培养基表面, 制成含菌平板。将滤纸用打孔器打孔, 制成小圆片, 灭菌。在无菌操作台上, 取 250 uL 精油润湿 6 叠小纸片(孔径 6 mm, 两张小纸片为一叠, 下同)5 min, 将小纸片贴在培养基上, 标记为 A; 取 125 uL 精油、125 uL 乙酸正丁酯润湿 6 叠小纸片 5 min, 将小纸片贴在培养基上, 标记为 B; 取 250 uL 乙酸正丁酯润湿 6 叠小纸片 5 min, 将小纸片贴在培养基上, 作为阴性对照。然后将阿莫西林胶囊的粉末 0.25 mg, 稀释于 500 mL 的无菌蒸馏水中, 取 250 uL 润湿 6 叠小纸片 5 min, 将小纸片贴在培养基上, 作为阳性对照; 取一个培养基, 不放小纸片, 标记为 E, 作为空白对照。每组重复 3 次, 然后按照顺序将这些培养基放入恒温培养箱 37℃ 培养 24 h。

#### (4) 舟山新木姜子精油抗氧化活性测定 DPPH 法

通过 DPPH 自由基清除率表现舟山新木姜子精

精油中的成分以脂类、单萜、倍半萜等为主。大部分挥发性成分在一年四季没有特别大的变化,除了 $\alpha$ 蒎烯和呋喃型倍半萜甲酯。酯类物质的含量在夏天最多,秋冬相对较少,丙酸丁酯和乙酸丁酯含量相对较高(图2)。单萜类物质的含量春天最多,夏天最少, $\alpha$ 蒎烯只有春天才有,且含量很高,秋季罗勒烯含量很高。倍半萜类物质的含量四季差异不大,桉油烯醇和呋喃型倍半萜甲酯含量较高,秋季呋喃型倍半萜甲酯含量升高,其他倍半萜类物质均有下降。

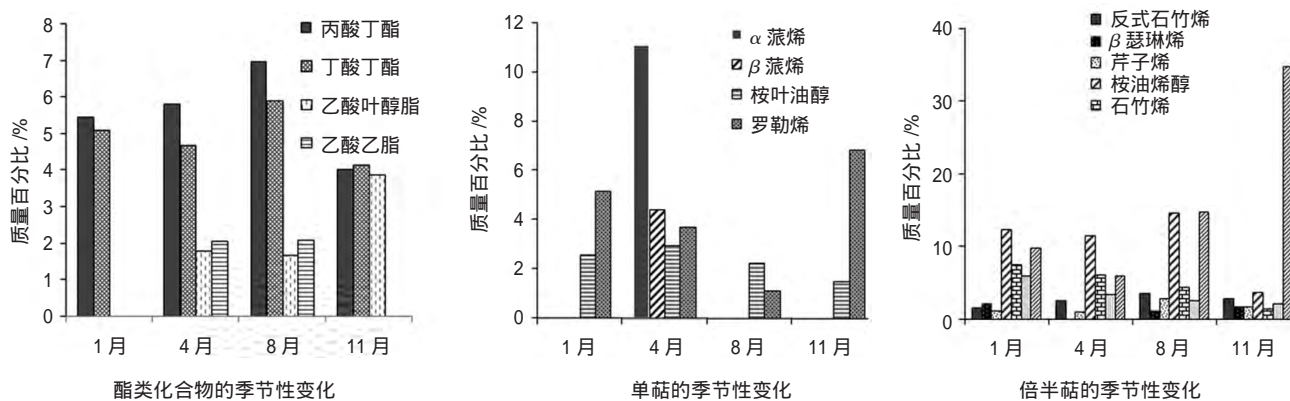
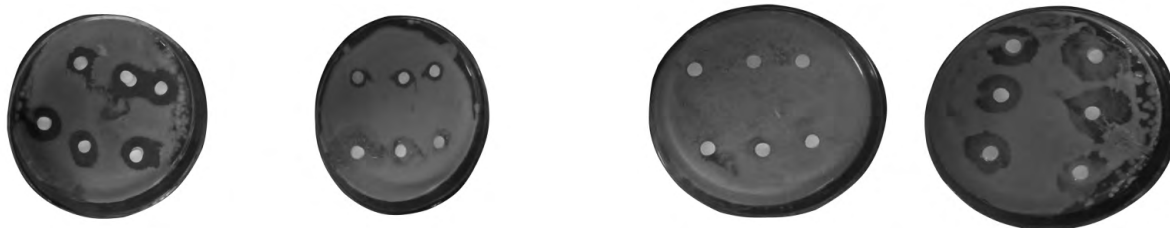


图2 舟山新木姜子精油成分随季节的变化



丁酯为提取溶剂,无清除 DPPH 能力,舟山新木姜子精油具有较强的清除 DPPH 能力,但略低于 VE。抗氧化物主要通过两种机制清除自由基的机制为

氢原子转移(HAT)和电子转移(SET)<sup>[6-7]</sup>,推测舟山新木姜子叶片挥发油的抗氧化性是因含有大量的烯萜类成分具有这两种功能。

表 2 精油抗氧化性实验结果

样品	浓度 /%	10 min 清除率 /%	20 min 清除率 /%	30 min 清除率 /%
VE	40	67.0±1.3	82.1±4.4	88.7±3.7
乙酸丁酯	40	0	0.1±0.1	0.1±0.1
舟山新木姜子精油	40	60.3±5.2	78.2±4.7	79.5±6.3

### 3 结果与结论

通过体外实验对舟山新木姜子精油的成分分析、抑菌性和抗氧化性进行了初步研究。利用水蒸气有机溶剂蒸馏法获得精油，用气相色谱 - 质谱数据系统(GC/MS) 进行了分析精油被定性检出化合物 24 种，主要是酯类、单萜和倍半萜。这些成分中大部分一年四季的变化不大，一般都是在春夏的含量提高， $\alpha$  蒎烯只在春季存在，且含量高，呋喃型倍半萜甲酯的含量在秋季升高了 1 倍左右。另外，不同季节舟山新木姜子挥发油的提取率存在差异，夏季最高为 5.4%，冬季最低为 3.7%，春季和秋季则分别为 4.7%、5.3%。同时，精油对大肠杆菌由很强的抑制活性的作用，且浓度越高抑制效果越明显。在抗氧化性实验中，我们也发现舟山新木姜子精油具有很强的抗氧化作用。从以上结果来看不同季节精油的挥发性成分有所不同，可能抑菌性和抗氧化效果也存在不同，可以在用不同季节的精油进

行深层的实验，为进一步的开发利用奠定基础。本实验只做了大肠杆菌的抑菌实验，接下来可以扩大菌种范围，做其他菌种的抑菌实验。从结论得出舟山新木姜子精油具有开发成为食品和化妆品天然抗氧化剂及抗菌剂的潜力，但是还需要做进一步实验确定对人体是否无害。

### 参考文献

[1] 丁方明, 张成标, 卢小根. 舟山新木姜子资源调查报告[J]. 浙江林业科技, 2001(4): 52 - 54.

[2] 王景祥. 浙江植物志: 第 2 卷[M]. 杭州: 浙江科学技术出版社, 1992.

[3] 张若蕙. 浙江珍稀濒危植物[M]. 杭州: 浙江科学技术出版社, 1994.

[4] 管月清, 陈红梅, 孙凌峰. 新木姜子属植物化学成分及其生物活性研究进展[J]. 江西化工, 2002(3): 10 - 13.

[5] 李修鹏, 赵慈良, 俞慈英, 等. 舟山新木姜子保存技术研究[J]. 浙江海洋学院学报(自然科学版), 2009, 28(1): 84 - 88.

[6] Blois M S. Antioxidant determinations by the use of a stable free radical[J]. Nature, 1958(181): 1 199 - 1 200 .

[7] Mallet J F, Cerati C, Ucciani E, et al . Antioxidant activity of fresh pepper ( Capsicum annum) cultivares[J]. Food Chem, 1994 (49): 61 - 65 .

第 1 作者简介：李娜(1978-)，女，副教授，主要从事天然产物的分离提取研究工作。

收稿日期：2018 - 07 - 20

(责任编辑：张亚楠)

## Component Analysis, Antibacterial, Antioxidant Effect of Essential Oil from *Neolitsea sericea*

LI Na

(1"#\$%\$&'(&!")\*\*)+, -(.#\$/ O\*(1)23(45+ 6#)7(-\*8 , -(.#\$/ 318000)

**Abstract** ?' \$ \* - "&\$" & - / 3-1) 01\$ \* -69- "\$& 0" 1\$)3\$2 - / 9)\$%(43)- 3)2(")- 4)2 )")1; 7\$# ) & #0//\$%"& 2&), \$25 2&. #; - " &' \$ #; ") 60\* \*')", \$2 - / 3-1) 01\$ \* -69- "\$& 0" #0//\$%"& 2\$)2-"2 )"# &' \$ )"0( )\*&\$%0)1 )"# )"0-80#)"& \$//\$\* &2 - / 3-1) 01\$ -01< ?' \$ %\$2. 1&2 2' -4\$# &' \$ ' 0, ' 2& 3-1) 01\$ -01 \* -"&\$" & 0" 2. 66\$% 4)2 F-GH5 &' \$ \$22\$ "0)1 3-1) 01\$ \* -69- "\$& 2 - / \$22\$ "0)1 -012 4)2 2&\$%25 6- -&\$%9\$ "2 )"# 2\$2D. 0&\$%9\$ "2< ?' \$ %\$2. 1&2 - / )"0( )\*&\$%0)1 &\$2& 2' -4\$# &' )&' \$ \$22\$ "0)1 -01 ' )# ( )\*&\$%0-2& )0\* \$//\$\* &5 )" # &' \$ \$//\$\* & 0"\*%\$)2\$# 40&' &' \$ 0"\*%\$)2\$ - / &' \$ \* -"\*\$ " &%) 0- < l "0-80#)"& )\*&30&; - / J@@K /%(\$%)#0\*)1 2\*)3\$ " , 0", \$89\$%06\$ "2' -4\$# &' )& 9)\$%(43)- 3)2(")- \$22\$ "0)1 -01 ' )# 2&-%, )"0-80#)"& )\*&30&; <

**Key words** 9)\$%(43)- 3)2(")-> C) \*&\$%0-2& )0\* > l "0-80#)"& 9%-9\$%0\$2> L", %\$#0\$ " &2 \*')", \$