

秦巴山区 5 种花挥发性物质抗氧化和抗菌活性研究

刘存芳*

(陕西理工学院化学与环境科学学院, 陕西 汉中 723000)

[摘要] 目的: 提取含笑花、紫玉兰花、栀子花、藿香花以及蔷薇花中的挥发性物质, 探讨这 5 种花挥发性物质的抗氧化活性和抗菌活性为其开发利用可提供科学依据。方法: 用水蒸气蒸馏法从含笑花、紫玉兰花、栀子花、藿香花以及蔷薇花中分别提取挥发性物质, 测定其对羟基自由基的清除作用来确定抗氧化活性效果, 测定最小抑菌浓度 (MIC) 和最小杀菌浓度 (MBC) 来确定这 5 种花挥发性物质的抗菌活性。结果: 5 种花的挥发性物质均有明显的抗氧化活性, 这 5 种花的挥发性物质均具有显著地抗菌活性。结论: 这 5 种花的挥发性物质抗氧化活性大小依次为含笑花 D 藿香花 D 紫玉兰花 D 栀子花 D 蔷薇花; 抗菌活性大小依次为藿香花 D 紫玉兰花 D 蔷薇花 D 栀子花 D 含笑花。

[关键词] 花; 挥发性物质; 抗氧化活性; 抗菌活性

[中图分类号] R285.5 [文献标识码] A [文章编号] 1005-9903(2011)03-0103-05

Study on Anti-oxidation and Antimicrobial Activities of Volatile Components of 5 Species Flowers Obtained from Qinba Mountain

LIU Cun-fang*

(School of Chemistry and Environmental Sciences, Shaanxi University of Technology, Hanzhong 723000, China)

[Abstract] **Objective:** These volatile components were extracted from 5 species flowers of *Michelia figo*, *Magnolia liliflora*, *Gardenia jasminoides*, *Agastache rugosa*, and *Rosa multiflora*, this research will provide scientific

[收稿日期] 20100913(007)

[基金项目] 陕西省教育厅专项科研计划项目(2010JK471); 陕西理工学院科技处项目(SLG0812)

[通讯作者] * 刘存芳, 副教授, 硕士, 研究方向: 绿色功能食品化学, Tel: 15929592234, E-mail: cunfangliu398@yahoo.com.cn

1.706 (C O), 1.467, 723; $^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, CDCl_3): 0.87 (3H, t, $J=6.6$ Hz, CH_3), 1.27 (m), 1.61 (2H, m), 2.23 (2H, t, $J=7.2$ Hz), 是长链脂肪酸的特征谱, 确定为二十八烷酸 (*n*-octacosanoic acid)。

[参考文献]

[1] 梁侨丽, 闵知大. 地胆草属植物化学成分与药理活性 [J]. 国外医学·植物药分册, 2002(1): 8.
[2] 刘鹏翰, 赵典丰, 陆来祥, 等. 妇炎净颗粒的质量控制方法研究 [J]. 中成药, 2006, 28(6): 815.
[3] 刘浩华, 袁学文, 冯汉江, 等. 感冒茶颗粒的研制及临床应用 [J]. 现代中西医结合杂志, 2008, 17(27): 4250.
[4] 严海, 邹节明, 王力生, 等. 三金感冒片质量标准研究 [J]. 中成药, 2008, 30(11): 1635.
[5] Liang Q L, Min Z D, Tang Y P. A new elemanolide sesquiterpene lactone from *Elephantopus scaber* [J]. J Asian

Nat Prod Res, 2008, 10: 403.
[6] 梁侨丽, 龚祝南, 闵知大. 地胆草三萜成分的研究 [J]. 中国药学杂志, 2007, 42(7): 494.
[7] 辛小燕, 胡旺云, 王文峰. 香豆酸盐系列化合物的谱学特征 [J]. 光谱实验室, 1999(3): 313.
[8] Nasfay Scott K. Carbon-13 nuclear magnetic resonance of biologically important aromatic acids. I. Chemical shifts of benzoic acid and derivatives [J]. J Amer Chem Soc, 1972, 94: 8564.
[9] 董礼, 李磊, 廖志华, 等. 柴胡红景天化学成分的研究 [J]. 西北植物学报, 2007(12): 2564.
[10] 严铭铭, 金向群, 徐东铭. 浙贝母茎叶化学成分的研究 [J]. 中草药, 1994, 25(7): 344.

[责任编辑 邹晓翠]

proof for the search of anti-oxidation activities and antimicrobial activities to empower these natural resources. **Method:** These volatile components were extracted from flowers of *M. figo*, *M. liliflora*, *G. jasminoides*, *A. rugosa*, and *R. multiflora* respectively by steam distillation. Five species volatile components were investigated about antimicrobial activities of scavenging effect for $\cdot\text{OH}$, and were evaluated to anti-oxidation activities using minimum inhibitory concentration (MIC) and minimum bactericidal concentration (MBC) methods. **Result:** Five species volatile components have obvious action to anti-oxidation activities of scavenging effect for $\cdot\text{OH}$, and inhibited the growth of testing bacterias and sterilized them. **Conclusion:** Their anti-oxidation activities showed *M. figo* D *A. rugosa* D *M. liliflora* D *G. jasminoides* D *R. multiflora*. The antimicrobial results showed *A. rugosa* D *M. liliflora* D *R. multiflora* D *G. jasminoides* D *M. figo*.

[Key words] flower; volatile component; anti-oxidation activity; antimicrobial activity

含笑 *Michelia figo* 为木兰科 (Magnoliaceae) 含笑属 *Michelia* Linn 植物, 又名香蕉花、寒宵, 花色象牙黄, 有香蕉气味。含笑是一种传统的中药材, 其味苦、涩, 性平, 多以其花蕾入药, 花期采集, 晾干, 亦可鲜用, 临床上可用于治疗月经不调、痛经、胸肋间作痛等病症, 含笑花挥发性物质具有抗癌、抗炎等活性, 其抗癌物质主要为倍半萜^[1]。紫玉兰 *Magnolia liliflora* Desr 为木兰科 (Magnoliaceae) 木兰属落叶灌木, 又名辛夷、木笔。花蕾卵圆形, 紫绿色, 被淡黄色绢毛, 气香、味辛辣, 树皮、叶和花蕾均可入药, 其花瓣可糖渍制糕点, 含柠檬醛, 丁香油酚、桉油精为主的挥发性物质^[2], 主治鼻炎、头痛, 作镇痛消炎剂。栀子 *Gardenia jasminoides* 为茜草科植物, 又名黄栀子、山枝子、大红栀、白蝉, 花单生于枝顶, 初为白色, 后变为乳黄色, 芳香, 性味归经性寒, 味甘苦, 入肺、肝经。可清肺止咳, 凉血止血, 治疗咯痰, 肿毒等病症, 栀子花含有三萜成分^[3], 栀子花酸 A, B 和子酸, 还含有碳水化合物、蛋白质、粗纤维及多种生素。藿香 *Agastache rugosa* 为唇形科藿香属多年生草本植物, 又名为榆香、排香草、野苏子、山薄荷、大叶薄荷等, 可药食兼用。花淡紫色, 唇形, 花萼管状钟形, 花冠蓝紫色, 叶及茎均富含挥发性芳香油, 有浓郁的香味, 为芳香油原料, 其花中的成分研究较少^[4]。蔷薇 *Rosa multiflora* Thunb 为木兰纲 (Magnoliopsida) 蔷薇科 (Rosaceae) 蔷薇属植物, 又名野蔷薇、刺红、买笑、雨薇, 花色杂多, 红色居多, 芳香, 蔷薇花含有黄酮苷、挥发性物质, 有利胆的作用。人们对含笑花、紫玉兰花、栀子花、蔷薇花中的挥发性物质组成进行了组分分析^[1-5], 对这 4 种花挥发性物质的生物活性研究较少, 对藿香花中的挥发性物质的研究尚未见文献报道。人们从天然产物中提取生物活性成分多

不注重挥发性物质, 实际上挥发性物质具有很多奇特的芳香味和独特的药理活性, 具有清热解毒、消炎、杀菌、抗氧化等作用^[5], 常常被用作香料或作为食品的天然防腐剂, 一些挥发性物质已用于医疗, 保健和食品工业。这里采用水蒸气蒸馏法提取这 5 种花中的挥发性物质^[6], 对这 5 种花的挥发性物质进行体外抗氧化活性和抗菌活性研究, 探讨其抗氧化和抗菌活性效果, 为开发和利用这 5 种花挥发性物质提供一些有益的参考。

1 材料

紫玉兰花收集于 2009 年 4 月上旬, 含笑花收集于 2009 年 5 月上旬, 蔷薇花收集于 2009 年 5 月下旬, 栀子花收集于 2009 年 6 月上旬, 藿香花收集于 2009 年 9 月上旬, 这 5 种花均采集于陕西南部的秦巴山区, 全株均由陕西理工学院生物学院植物分类中心的赵桦教授鉴定确认。MH 肉汤, 肉汤培养基, 普通琼脂平板培养基。活性实验所用标准菌株冻干品购自中国预防医学科学院北京药品生物制品检定所中国医学细菌保藏中心。

200 mmol·L⁻¹ pH 7.4 的 PBS 溶液的配制: 准备称取磷酸氢钠 7.800 8 g 定容于 250 mL 量瓶中, 准备称取磷酸二氢钠 35.814 1 g 定容于 500 mL 量瓶中, 分别吸取磷酸氢钠溶液 405 mL 和磷酸二氢钠溶液 95 mL, 混匀于 500 mL 量瓶中。

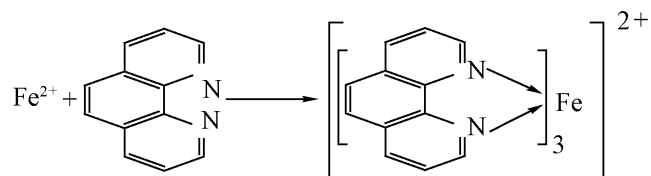
UV-6 型紫外-可见分光光度计 (上海美谱达仪器有限公司), 恒温水浴锅 (渤海电器厂 HH 系列), 优普超纯水机 (5-7PS1), 96 孔培养板, 普通培养箱, 水蒸气蒸馏装置。

2 方法

2.1 挥发性物质的提取 准确称取新鲜的紫玉兰花 100 g 在研钵中捣成泥浆状, 然后转入水蒸气蒸

馏瓶用蒸馏水浸泡过夜,用普通的水蒸气提取法提取挥发油8 h。馏出液经NaCl饱和后用乙醚萃取3次,合并萃取液,用无水硫酸钠干燥过夜。蒸馏回收乙醚后得到一种具有花清香气味的挥发性物质,称重,重复3次。其他4种花中挥发性物质的提取和紫玉兰花挥发性物质的提取方法相同。从这5种花中提取挥发性物质的质量紫玉兰花0.98 g,藿香花1.06 g,含笑花1.58 g,蔷薇花1.14 g,栀子花2.13 g。

2.2 抗氧化活性实验原理 邻二氮菲与 Fe^{2+} 络合使得本来颜色很浅的 Fe^{2+} 转变为橙红色的邻二氮菲- Fe^{2+} 的络合物,反应式如下:



$\text{H}_2\text{O}_2/\text{Fe}^{2+}$ 体系可通过Fenton反应产生羟基自由基,反应式为: $\text{H}_2\text{O}_2 + \text{Fe}^{2+} \rightarrow \cdot\text{OH} + \text{OH}^- + \text{Fe}^{3+}$,加入 H_2O_2 后,邻二氮菲- Fe^{2+} 水溶液被羟基自由基氧化为邻二氮菲 Fe^{3+} 后,其在536 nm处的吸收峰减弱或消失。加入抗氧化剂后羟基自由基与其作用,减弱 $\cdot\text{OH}$ 对 $\text{Fe}^{2+}/$ 邻二氮菲的氧化作用,引起吸光度变化^[7]。

2.3 对羟基自由基的清除作用 以乙醇为溶剂将5种花的挥发性物质分别配成含笑花 $1.03 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$,紫玉兰花 $1.70 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$,栀子花 $1.23 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$,藿香花 $1.12 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$,蔷薇花 $1.32 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ 的溶液。取7个25 mL量瓶,分别加入 $7.5 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 邻二氮菲溶液1 mL, $200 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 的pH 7.4的PBS溶液1.5 mL,充分混匀,再加入 $7.5 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ FeSO_4 溶液1 mL,立即混匀。然后向5个量瓶中分别加入0.2,0.4,0.6,0.8,1.0 mL的花挥发性物质的溶液,混匀,另2个量瓶分别为损伤瓶和未损伤瓶,损伤瓶不加挥发油,加入0.01%的 H_2O_2 1 mL;未损伤瓶不加花挥发性物质溶液,不加双氧水。对7个量瓶均以2次蒸馏水补充至刻线。将7个量瓶置入恒温水浴锅在 37.0 条件下保温1 h。在536 nm下,测定溶液的吸光度,每组重复3次,结果取平均值,确定5种花挥发性物质的。

$$\cdot\text{OH} \text{ 的清除率} = (A_t - A_{\text{损伤}}) / (A_{\text{未损伤}} - A_{\text{损伤}}) \times 100\%$$

式中 A_t 为加花挥发性物质溶液的吸光度, $A_{\text{损伤}}$ 为损伤瓶的吸光度, $A_{\text{未损伤}}$ 为未损伤瓶的吸光度。

2.4 体外抗菌活性 抗菌实验菌株用6个细菌和1个酵母菌分别为大肠埃希菌,伤寒沙门菌,肠炎沙门

菌,鼠伤寒沙门菌,福氏志贺菌,金黄色葡萄球菌和白色假丝酵母菌。菌液的配置是将细菌先接种于MH肉汤中在 37 的普通培养箱里培养24 h。比浊法计数,用培养液调配成 $1 \times 10^6 \text{ CFU}\cdot\text{mL}^{-1}$,培养基用肉汤和普通琼脂平板培养基,设立细菌对照,利用微量二倍连续梯度稀释法和平板转种法来测定最小抑菌浓度(MIC)和最小杀菌浓度(MBC)来确定抗菌活性效果^[8]。

3 结果与讨论

3.1 含笑花挥发性物质的抗氧化活性 体外抗氧化活性实验中当含笑花挥发性物质的质量浓度为0.014,0.041,0.068,0.095,0.122 $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 时,清除率为9.33%,19.33%,33.31%,65.09%,100.00%,其量效关系如图1,含笑花挥发性物质对羟基自由基有较强的清除作用,且随着试样溶液加入浓度的增大,对羟基自由基的清除作用也显著增强,含笑花挥发性物质在一定浓度范围内对羟基自由基的清除作用呈现量效关系。

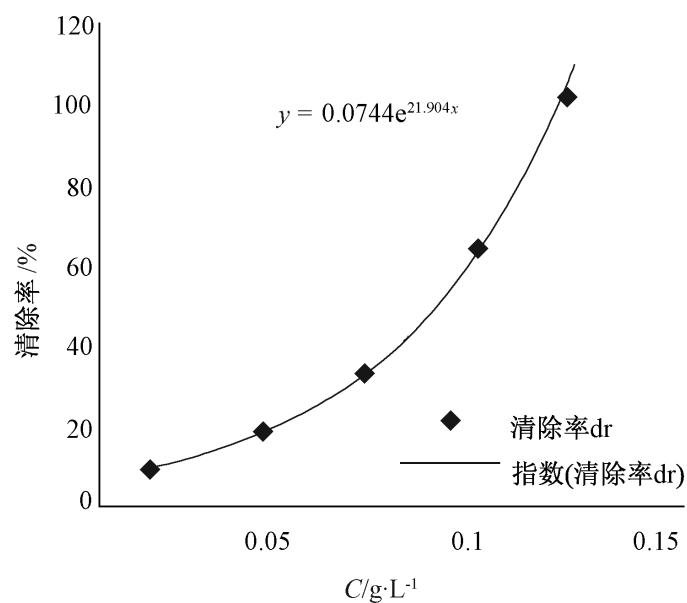


图1 含笑花挥发性物质对羟基自由基 $\cdot\text{OH}$ 的量效曲线

3.2 藿香花挥发性物质的抗氧化活性 体外抗氧化活性实验中当藿香花挥发性物质的质量浓度为0.01,0.026,0.035,0.065 $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 时,其清除率为3.80%,9.72%,13.59%,13.59%,25.49%,41.86%,量效关系如图2,藿香花挥发性物质对羟基自由基有较强的清除作用,随着藿香花挥发性物质加入浓度的增大,对羟基自由基的清除作用也增强,在一定浓度范围内对羟基自由基的清除作用呈现量效关系。

3.3 紫玉兰花挥发性物质的抗氧化活性 体外抗氧化活性实验中当紫玉兰花挥发性物质的质量浓度为0.007,0.014,0.020,0.027,0.034 $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 时,其清除率为19.23%,30.34%,52.99%,69.66%,

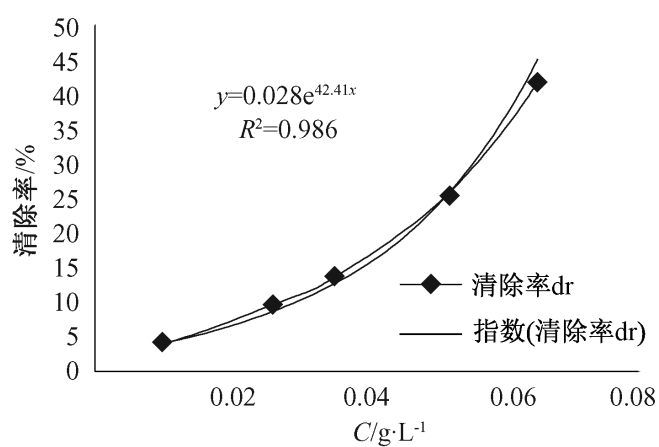


图 2 藿香花挥发性物质对羟基自由基·OH 的量效曲线

96.58%, 量效关系如图 3, 紫玉兰花挥发性物质对羟基自由基有较强的清除作用, 随着紫玉兰花挥发性物质加入浓度的增大, 对羟基自由基的清除作用也增强, 在一定浓度范围内对羟基自由基的清除作用呈现量效关系。

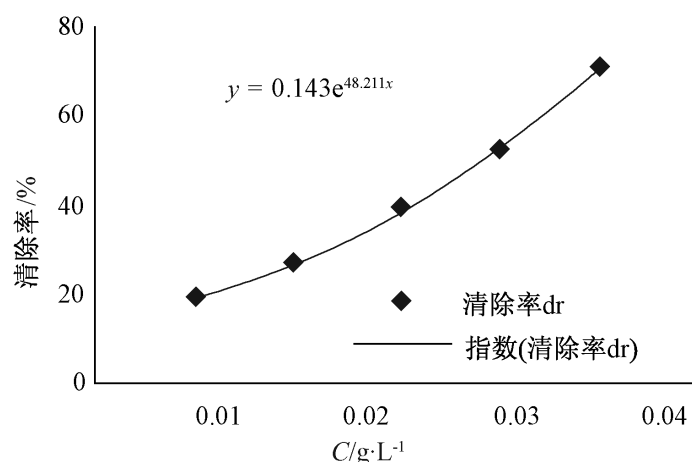


图 3 紫玉兰挥发油对羟基自由基·OH 的清除率随浓度的变化

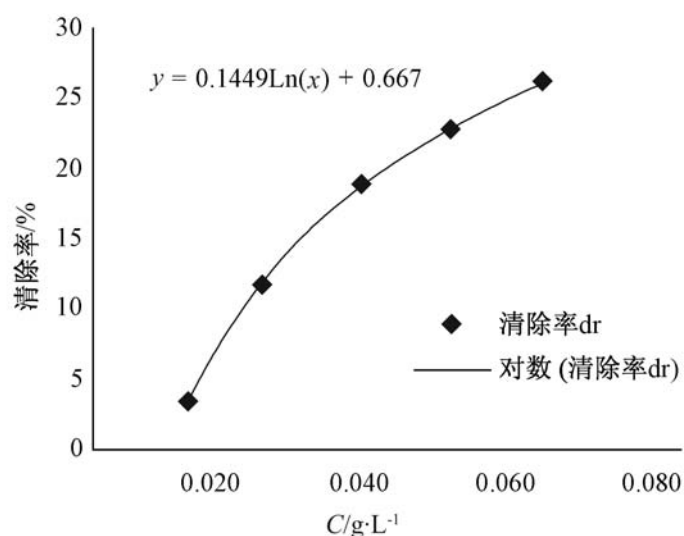


图 4 栀子花挥发油对羟基自由基·OH 的清除率随浓度的变化

3.4 栀子花挥发油的抗氧化活性 体外抗氧化活性实验中当栀子花挥发性物质的质量浓度为 0.012, 0.024, 0.037, 0.049, 0.061 g·L⁻¹ 时, 其清除率为 3.60%, 11.82%, 18.59%, 23.05%, 26.80%, 量效关系如图 4, 栀子花挥发性物质对羟基自由基有清除能力, 随着栀子花挥发油加入浓度的增大, 对羟基自由基的清除作用也增强, 在一定浓度范围内

对羟基自由基的清除作用呈现量效关系。

3.5 蔷薇花挥发油的抗氧化活性 如图 5, 蔷薇花挥发性物质对羟基自由基有清除能力, 随着蔷薇花挥发性物质加入浓度的增大, 对羟基自由基的清除作用也增强, 在一定浓度范围内对羟基自由基的清除作用呈现量效关系。

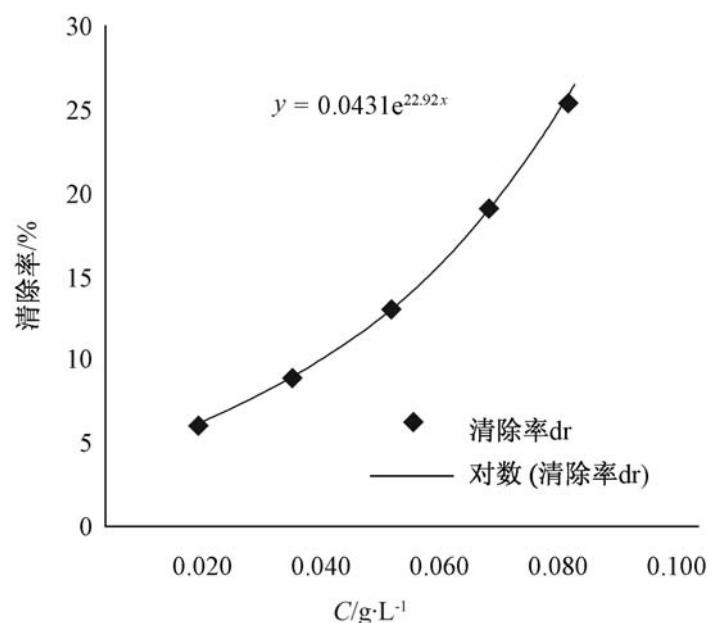


图 5 蔷薇花挥发油对羟基自由基·OH 的清除率随浓度的变化

含笑花、藿香花、紫玉兰花、栀子花以及蔷薇花挥发性物质对羟基自由基均在一定浓度范围内具有明显的清除作用, 4 种花的挥发性物质对羟基自由基的清除能力有所不同。含笑花、藿香花和紫玉兰花的挥发性物质对羟基自由基清除效果显著, 栀子花和蔷薇花的挥发性物质对羟基自由基的清除能力相对较弱, 这 5 种花挥发性物质清除羟基自由基活性大小为含笑花 D 藿香花 D 紫玉兰花 D 栀子花 D 蔷薇花, 可能与这 5 种花挥发性物质的组成有关, 这 5 种花的挥发性物质的组成存在着显著差异, 其具体的量效关系和清除羟基自由基的机制还需要深入研究。

3.6 抗菌活性结果分析 5 种花的挥发性物质对 7 个标准菌株的 MIC 和 MBC 如表 1, 从表中结果可以看出这 5 种花的挥发性物质对实验所选用的 7 个菌株均有明显的抑制作用和灭活作用, 都能有效地抵抗常见肠道致病菌的感染。藿香花挥发性物质对肠炎沙门和大肠埃希菌的 MIC 分别为 0.04, 0.72 g·L⁻¹, 说明藿香花挥发性物质对这 2 个细菌有显著的抑制作用, 对其他细菌的 MIC 最大为 3.84 g·L⁻¹, 说明对其他细菌的抑制作用也非常显著。紫玉兰花挥发性物质对大肠埃希菌的 MIC 是 5.02 g·L⁻¹, 对鼠伤寒沙门菌的 MIC 是 8.28 g·L⁻¹, 说明紫玉兰花挥发性物质对菌株均有明显的抑制作用, 相对藿香花挥发性物质的抑制作用较弱。含笑花挥发性物质

对菌株的 MIC 和 MBC 最小为 8.60, 9.56 g·L⁻¹, 相对于其他 4 种花挥发性物质的杀菌作用较弱, 这 5

种花挥发性物质的杀菌作用依次为藿香花D紫玉兰花D蔷薇花D栀子花D含笑花。

表 1 5种花挥发性物质对标准菌株的 MIC 和 MBC

g·L⁻¹

标准菌株	含笑花		藿香花		紫玉兰花		栀子花		蔷薇花	
	MIC	MBC	MIC	MBC	MIC	MBC	MIC	MBC	MIC	MBC
大肠埃希菌	12.56	14.38	0.72	1.06	5.02	7.54	8.86	13.2	5.84	6.62
伤寒沙门菌	10.02	11.66	3.84	4.92	7.98	9.32	9.36	14.56	8.96	10.12
肠炎沙门菌	8.60	9.82	0.04	0.12	5.26	6.34	7.84	9.36	6.46	8.14
鼠伤寒沙门菌	9.14	11.36	2.32	3.66	8.28	9.88	11.18	12.48	9.74	11.08
福氏志贺菌	12.22	13.64	3.20	5.28	7.76	8.96	11.34	12.62	9.56	10.36
金黄色葡萄球菌	8.82	9.56	2.36	3.88	8.02	9.12	10.32	11.54	10.02	11.42
白色假丝酵母菌	9.68	10.74	3.56	4.82	6.12	7.68	8.16	9.50	8.72	9.98

4 结论

对含笑花、藿香花、紫玉兰花、栀子花和蔷薇花中的挥发性物质采用水蒸气蒸馏法提取, 用该方法提取挥发性物质, 操作简单方便, 所用器皿廉价易得, 适合大规模化的工厂生产。人们在提取和分离天然产物的挥发性物质利用其不同特异的芳香味和独特的药理活性, 将一些挥发性物质已用于医疗、保健和食品工业, 提取这 5 种花中的挥发性物质并进行抗氧化和抗菌活性实验为其开发利用可提供帮助。这 5 种花的挥发性物质对羟基自由基清除有明显效果, 5 种花中的挥发性物质皆有良好的抗氧化活性, 且在一定浓度范围对羟基自由基的清除作用呈现出明显的量效关系, 挥发性物质加入浓度的增大, 对羟基自由基的清除作用也增强, 但由于它们的挥发性物质组成存在差异, 这 5 种花挥发性物质的抗氧化能力不同, 对羟基自由基清除能力从强到弱依次为含笑花D藿香花D紫玉兰花D栀子花D蔷薇花。羟基自由基是造成组织细胞损伤的主要活性氧之一, 它可以引起膜过氧化, 蛋白质交联变性, 核酸损伤等, 是公认的毒性最大的自由基, 因此从天然产物中寻找抗氧化剂显得非常重要。采用微量二倍连续梯度稀释法测定 MIC 和平板转种法来测定 MBC 来确定这 5 种花挥发性物质的抗菌活性效果, 这 5 种花的挥发性物质对实验所选用的菌株均有明显的抑制作用和灭活作用, 能抵抗常见肠道致病菌的感

染, 5 种花挥发性物质的杀菌活性依次是藿香花D紫玉兰花D蔷薇花D栀子花D含笑花。这里仅对这 5 种花的挥发性物质进行了初步的抗氧化和抗菌活性研究, 其抗氧化和抗菌活性的机制以及其他生物活性实验还需要进一步研究。

[参考文献]

- [1] 熊雄, 周先礼, 朱红枚. 含笑花挥发性成分研究[J]. 安徽农业科学, 2008, 36(4):1335.
- [2] 刘艳清. 紫玉兰挥发油化学成分的气相色谱-质谱分析[J]. 时珍国医国药, 2008, 19(8):1911.
- [3] 张银华, 熊秀芳, 徐盈. 湖北栀子花挥发油的 GC-MS 分析[J]. 武汉植物学研究, 1999, 17(1):61.
- [4] 田光辉, 刘存芳, 赖普辉, 等. 野生藿香花萼中挥发油的研究[J]. 食品工业科技, 2009, 30(10):131.
- [5] 王天华, 李玫. 多花蔷薇花挥发油化学成分 GC-MS 分析[J]. 北京大学学报, 1994, 16(4):128.
- [6] 范小春, 梁光义, 曹佩雪, 等. 气相色谱-质谱联用法测定广玉兰果壳和种子中挥发性化学成分[J]. 中国实验方剂学杂志, 2010, 16(7):93.
- [7] 贾之慎, 邬建敏, 唐梦成. 比色法测定 Fenton 反应产生的羟自由基[J]. 生物化学与生物物理进展, 1996, 23(2):184.
- [8] 田光辉, 刘存芳, 危冲, 等. 野生糙苏花中挥发油组分分析及其抗菌活性的研究[J]. 药物分析杂志, 2009, 29(3):390.

[责任编辑 邹晓翠]