

# 日本晚樱花挥发油化学成分GC-MS分析及其抗氧化活性分析

文飞龙, 张璐璐, 刘智慧, 查钱慧, 陈 杭, 毕淑峰\*  
(黄山学院生命与环境科学学院, 安徽 黄山 245041)

**摘 要:** 对日本晚樱花挥发油的化学成分进行气相色谱-质谱(GC-MS)分析, 并以DPPH自由基、ABTS<sup>+</sup>·、亚硝酸钠清除作用为指标, 以1mg/mL VC或2,6-二叔丁基-4-甲基苯酚(BHT)为阳性对照评价挥发油的抗氧化活性。结果表明: 从挥发油中鉴定出28个化合物, 占挥发油总量的84.54%, 以倍半萜和醛类为主; 挥发油对DPPH自由基、ABTS<sup>+</sup>·、亚硝酸钠有明显的清除作用, 样品量与清除率间呈量效关系, 且清除效果优于1mg/mL VC或BHT。

**关键词:** 日本晚樱花; 挥发油; 气相色谱-质谱; 抗氧化活性

## Chemical Composition of Volatile Oil from Flowers of *Prunus lanneciana* Analyzed by GC-MS and Its Antioxidant Activity

WEN Fei-long, ZHANG Lu-lu, LIU Zhi-hui, ZHA Qian-hui, CHEN Hang, BI Shu-feng\*  
(College of Life and Environment Science, Huangshan University, Huangshan 245041, China)

**Abstract:** The chemical components of volatile oil from the flowers of *Prunus lanneciana* were determined by gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS). The antioxidant activity of the volatile oil was evaluated by DPPH and ABTS free radical and sodium nitrite scavenging assays with 1 mg/mL VC or BHT as the positive control. The results showed that twenty-eight compounds representing 84.54% of the total constituents were identified. Some sesquiterpenoids and aldehydes were identified as the major components in the volatile oil. It scavenged DPPH and ABTS free radicals and sodium nitrite in a concentration-dependent manner, and showed better scavenging capacity than 1 mg/mL VC or BHT.

**Key words:** flowers of *Prunus lanneciana*; volatile oil; gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS); antioxidant activity

中图分类号: TS201.2

文献标志码: A

文章编号: 1002-6630(2013)20-0190-04

doi:10.7506/spkx1002-6630-201320040

樱花是著名的木本观赏花卉, 隶属于蔷薇科樱属, 在世界各地广泛栽培<sup>[1]</sup>。樱花核仁和叶可以入药, 可透发麻疹<sup>[2-3]</sup>。樱花的花具有食用价值, 可直接生吃, 也可制成果酱、寿司、甜点、调味品等, 晒干后可泡水饮用, 还具有嫩肤、增亮肤色的作用, 常被用于护肤品的原料。日本晚樱(*Prunus lanneciana*)是樱花中优良品种, 主要分布于西部和西南地区, 华北至长江流域地区广泛栽培<sup>[4]</sup>。日本晚樱花大、重瓣、颜色鲜艳、气味芳香、花期长, 具有观赏、食用、护肤等功能。人们对云南樱花的色素、樱花的多糖和樱花叶总黄酮等有一定的研究<sup>[5-7]</sup>, 但对樱花挥发油化学成分及其生物活性研究未见报道。本实验以日本晚樱的花为材料, 采用水蒸气蒸馏法提取挥发油, 用气相色谱-质谱(gas chromatography-mass spectrometry,

GC-MS)测定挥发油的化学成分, 并以1,1-二苯基-2-三硝基苯肼(DPPH)自由基、2,2-联氨基-双-(3-乙基苯并噻唑啉-6-磺酸)二氢盐自由基(ABTS<sup>+</sup>·)、亚硝酸钠的清除能力为指标综合评价日本晚樱花挥发油的抗氧化活性, 为日本晚樱花的综合开发利用提供理论依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料与试剂

样品采自黄山学院, 由黄山学院生命与环境科学学院潘健副教授鉴定为日本晚樱, 将样品置于真空干燥箱中烘干, 粉碎、过筛后备用。

1,1-二苯基-2-三硝基苯肼(DPPH) 梯希爱(上海)化

收稿日期: 2012-11-18

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)

作者简介: 文飞龙(1990—), 男, 学士, 研究方向为天然产物化学与活性。E-mail: hswfl@yahoo.cn

\*通信作者: 毕淑峰(1975—), 男, 副教授, 博士, 研究方向为天然产物化学。E-mail: bsfhs@yahoo.cn

成工业发展有限公司; 2,2-联氨基-双-(3-乙基苯并噻唑啉-6-磺酸)二氢盐(ABTS) 利嘉生物科技有限公司; 其他试剂均为国产分析纯。

## 1.2 仪器与设备

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; 挥发油提取器 郑州中天实验仪器有限公司。

## 1.3 方法

### 1.3.1 挥发油的提取

精确称取粉碎后的样品30.00g置于烧瓶中, 加水300mL, 用挥发油提取器按水蒸气蒸馏法提取6h, 得到具有浓郁香味的无色透明油状物, 用无水硫酸钠干燥, 挥发油的得率为0.29%。取部分挥发油用无水乙醚稀释后进行GC-MS测试, 同时将部分挥发油用丙酮稀释成体积分数20%, 用于抗氧化活性测试。

### 1.3.2 色谱条件

色谱柱: HP-5 MS弹性石英毛细管柱(30m×0.25mm, 25 $\mu$ m); 高纯氦气为载气, 体积流量1.0mL/min, 分流比40:1; 进样口温度280℃; 进样量0.5 $\mu$ L, 色谱柱初始温度60℃, 以5℃/min升至270℃, 保持10min。

### 1.3.3 质谱条件

电子电离(EI)源, 离子源温度230℃, 四极杆温度150℃, 电子能量70eV, 扫描范围 $m/z$  35~450, 质谱数据库为NIST 08。

### 1.3.4 挥发油对DPPH自由基清除作用的测定

综合文献[8-9]的方法进行测定。取20~100 $\mu$ L 20%挥发油置于5支试管, 样品体积少于100 $\mu$ L的试管, 以丙酮补至100 $\mu$ L。分别加4mL 24mg/L的DPPH乙醇(95%)溶液混合, 避光2h, 在517nm波长处测吸光度( $A_i$ ), 以不加样品的DPPH乙醇液为对照, 测定对照组吸光度( $A_0$ )。按式(1)计算DPPH自由基清除率。

$$\text{清除率}/\% = (1 - A_i/A_0) \times 100 \quad (1)$$

### 1.3.5 挥发油对ABTS<sup>+</sup>·清除作用的测定

采用杨少辉等<sup>[10]</sup>的方法, 并略做改进。将等量的7mmol/L ABTS<sup>+</sup>·溶液与2.45mmol/L过硫酸钾混合使之反应并置于暗处12~16h。用甲醇将ABTS溶液稀释至其在734nm波长处吸光度为0.70±0.02。取20~100 $\mu$ L 20%挥发油置于5支试管中, 样品体积少于100 $\mu$ L的试管, 用丙酮补至100 $\mu$ L。向各试管加入2mL ABTS溶液, 6min后测量其在734nm波长处的吸光度( $A_i$ )。测定2mL ABTS溶液与样品体积相同甲醇混合后的吸光度( $A_0$ )。测定2mL甲醇溶液与不同体积样品液混合后的吸光度( $A_j$ )。按式(2)计算ABTS<sup>+</sup>·清除率。

$$\text{清除率}/\% = \frac{A_0 - A_i + A_j}{A_0} \times 100 \quad (2)$$

### 1.3.6 挥发油对亚硝酸钠清除作用的测定

将0.5mol/L的柠檬酸钠-盐酸缓冲液(pH3.0)5.0mL置于10mL容量瓶中, 加入1mL 0.1g/L的NaNO<sub>2</sub>溶液和20~100 $\mu$ L挥发油, 用蒸馏水定容至刻度, 37℃条件下反应1h。取1mL反应液, 加入4g/L对氨基苯磺酸溶液2mL和2g/L N-1-萘乙二胺盐酸盐1mL, 摇匀放置15min, 在540nm波长处测吸光度 $A_x$ ; 同时做对照实验测其吸光度 $A_0$ <sup>[11]</sup>。按式(3)亚硝酸钠清除率。

$$\text{清除率}/\% = \frac{A_0 - A_x}{A_0} \times 100 \quad (3)$$

## 2 结果与分析

### 2.1 挥发油的GC-MS分析

对日本晚樱花挥发油进行GC-MS分析, 其总离子流图和化学成分的具体分析结果分别见图1和表1。从挥发油中共分离到49个化合物, 初步鉴定了28个化合物, 占挥发油成分的84.54%, 具体分析结果见表1。挥发油中含量较高的化合物主要有榄香醇、 $\beta$ -桉叶醇、 $\gamma$ -桉叶醇、 $\alpha$ -古芸烯、苯甲醛、石竹烯氧化物, 相对质量分数分别为26.01%、25.74%、8.23%、6.90%、5.82%、3.45%, 占挥发油总量的76.15%。挥发油中含有12个倍半萜及含氧衍生物、6个烷烃化合物、4个脂肪酸及其酯、4个醛类化合物, 分别占挥发油总量的74.04%、2.30%、0.55%、7.42%。

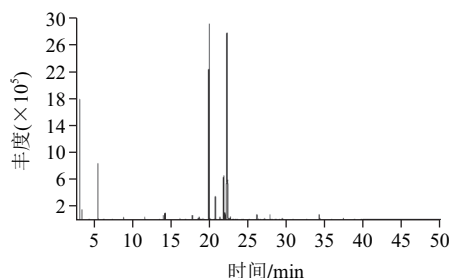


图1 日本晚樱花挥发油的GC-MS总离子流图

Fig.1 GC-MS total ion current chromatogram of volatile oil from the flowers of *Prunus lanneciana*

### 2.2 挥发油对DPPH自由基的清除作用

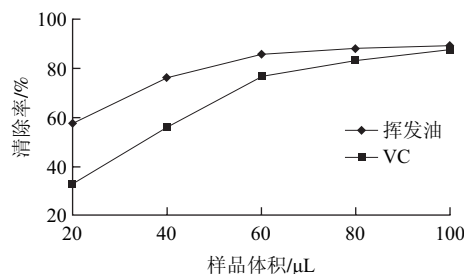


图2 挥发油对DPPH自由基的清除作用

Fig.2 Scavenging capacity of the volatile oil against DPPH free radicals

表 1 日本晚樱花挥发油化学成分的GC-MS分析结果  
Table 1 Chemical composition of the volatile oil analyzed by GC-MS

序号	保留时间/min	化合物	分子式	相对分子质量	相似度/%	相对含量/%
1	3.483	3-糠醛3-furaldehyde	C <sub>5</sub> H <sub>4</sub> O <sub>2</sub>	96	91	0.89
2	4.690	2-乙酰基呋喃2-acetyl furan	C <sub>6</sub> H <sub>6</sub> O <sub>2</sub>	110	89	0.08
3	5.654	苯甲醛benzaldehyde	C <sub>7</sub> H <sub>6</sub> O	106	96	5.82
4	6.421	正癸烷decane	C <sub>10</sub> H <sub>22</sub>	142	95	0.14
5	8.994	癸醛decanal	C <sub>10</sub> H <sub>20</sub> O	156	82	0.09
6	13.859	乙酸冰片酯bornyl acetate	C <sub>12</sub> H <sub>20</sub> O	196	91	0.15
7	14.347	十一醛undecanal	C <sub>11</sub> H <sub>22</sub> O	170	86	0.62
8	16.620	榄香烯 $\beta$ -elemene	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub>	204	87	0.24
9	19.014	$\beta$ -桉叶烯 $\beta$ -eudesmene	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub>	204	97	0.25
10	19.168	十五烷 pentadecane	C <sub>15</sub> H <sub>32</sub>	212	98	0.42
11	19.310	$\alpha$ -衣兰油烯 $\alpha$ -muurolene	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub>	204	96	0.10
12	19.656	1,2,4a,5,6,8a-六氢-4,7-二甲基-1-(1-甲基乙基)-萘1,2,4a,5,6,8a-hexahydro-4,7-dimethyl-1-(1-methylethyl)-naphthalene	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub>	204	97	0.29
13	20.470	榄香醇 elemol	C <sub>15</sub> H <sub>26</sub> O	222	90	26.01
14	21.331	石竹烯氧化物caryophyllene oxide	C <sub>15</sub> H <sub>26</sub> O	220	94	3.45
15	21.934	cis- $\alpha$ -bisabolene epoxide	C <sub>15</sub> H <sub>26</sub> O	220	93	0.58
16	22.405	$\gamma$ -桉叶醇 $\gamma$ -eudesmol	C <sub>15</sub> H <sub>26</sub> O	222	96	8.23
17	22.590	$\beta$ -愈创木烯 $\beta$ -guaiene	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub>	204	89	1.69
18	22.842	$\beta$ -桉叶醇 $\beta$ -eudesmol	C <sub>15</sub> H <sub>26</sub> O	222	89	25.74
19	22.902	$\alpha$ -古芸烯 $\alpha$ -gurjunene	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub>	204	90	6.90
20	23.369	4-异丙-1,6-二甲萘cadalin	C <sub>15</sub> H <sub>18</sub>	198	98	0.56
21	27.912	十九烷nonadecane	C <sub>19</sub> H <sub>40</sub>	268	80	0.20
22	28.439	棕榈酸甲酯methyl hexadecanoate	C <sub>17</sub> H <sub>34</sub> O <sub>2</sub>	270	97	0.08
23	29.077	棕榈酸palmitic acid	C <sub>16</sub> H <sub>32</sub> O <sub>2</sub>	256	99	0.10
24	30.276	巴西酸亚乙酯ethylene brassylate	C <sub>15</sub> H <sub>30</sub> O <sub>4</sub>	270	86	0.28
25	33.012	亚麻酸乙酯ethyl linolenate	C <sub>20</sub> H <sub>34</sub> O <sub>2</sub>	306	87	0.09
26	35.183	二十烷eicosane	C <sub>20</sub> H <sub>42</sub>	282	91	1.15
27	36.814	二十六烷hexacosane	C <sub>26</sub> H <sub>54</sub>	366	86	0.14
28	38.381	二十八烷octacosane	C <sub>28</sub> H <sub>58</sub>	394	87	0.25

DPPH自由基在有机溶剂中是一种稳定的、以氮为中心的质子自由基，广泛用于天然产物抗氧化活性的研究<sup>[12]</sup>。由图2可知，挥发油对DPPH自由基有明显的清除作用，样品量为20 $\mu$ L时，清除率达56.73%。在测定的体积范围内，挥发油对DPPH自由基的清除作用随着样品体积增加而增强，样品体积与清除率存在量效关系( $R^2=0.8138$ )，但样品体积与清除率增幅成反比，清除率增幅随着样品体积的增加而逐渐减少。挥发油对DPPH自由基的清除效果优于1mg/mL的VC，当样品量为20 $\mu$ L时，挥发油对DPPH自由基清除率是VC的1.76倍。

2.3 挥发油对ABTS<sup>+</sup>·的清除作用

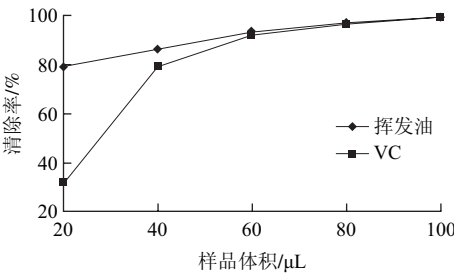


图 3 挥发油对ABTS<sup>+</sup>·的清除作用  
Fig.3 Scavenging capacity of the volatile oil against ABTS free radicals

ABTS<sup>+</sup>·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<sup>[13]</sup>。由图3可知，挥发油对ABTS<sup>+</sup>·有明显的清除作用，样品体积为20 $\mu$ L时，挥发油对ABTS<sup>+</sup>·清除率达78.86%，挥发油样品量(X)与清除率(Y)存在较好的量效关系，两者的回归方程为 $Y=0.2588X+75.49(R^2=0.9434)$ 。挥发油对ABTS<sup>+</sup>·的清除作用优于1mg/mL VC，但随着样品量的增加，两者清除率的差异逐步减少。

2.4 挥发油对亚硝酸钠的清除作用

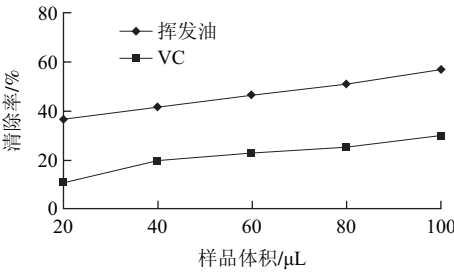


图 4 挥发油对亚硝酸钠的清除作用  
Fig.4 Scavenging capacity of the volatile oil against sodium nitrite

亚硝酸盐是化学致癌物N-亚硝基化合物的前体，清除亚硝酸盐具有防治癌症的功能<sup>[14]</sup>。由图4可知，在测量

的体积范围内,挥发油对亚硝酸钠有一定的清除效果,清除作用明显优于1mg/mL BHT,挥发油和BHT体积为100 $\mu$ L时,清除率分别为56.64%、29.38%。挥发油的体积(X)与亚硝酸钠的清除率(Y)间呈线性正相关,两者的回归方程为 $Y=0.2562X+30.833(R^2=0.9994)$ ,清除率为50%时,挥发油和BHT的体积分别为74.81、195.61 $\mu$ L, BHT的体积为挥发油体积的2.61倍。

### 3 结 论

从日本晚樱花挥发油中鉴定了28个化合物,占挥发油成分的84.54%,以倍半萜和醛类化合物为主;榄香醇、 $\beta$ -桉叶醇、 $\gamma$ -桉叶醇、 $\alpha$ -古芸烯、苯甲醛、石竹烯氧化物为其主要成分,占挥发油总量的76.15%。苯甲醛可用于食用香精和香料,是蔷薇科植物普遍存在的化学成分;研究表明苯甲醛是蔷薇科植物的桃枝、花楸树果实、稠李、苦杏仁挥发油主要成分<sup>[15-18]</sup>;其他5种化合物均为倍半萜及含氧衍生物,倍半萜的含氧衍生物往往有较强的香气和生物活性,是医药、食品、化妆品工业的重要原料<sup>[19]</sup>。榄香醇、 $\beta$ -桉叶醇含量占挥发油总量的一半以上,都可用作香精、香料。因此,日本晚樱花挥发油可作为生产天然香精、香料的原料,其活性和致香成分在挥发油中的含量高,便于后续的开发利用。

日本晚樱花挥发油对DPPH自由基、ABTS<sup>+</sup>和亚硝酸钠均有清除作用,清除效果均优于1mg/mL的VC或BHT的阳性对照,清除率与样品量呈正相关。挥发油对DPPH自由基、ABTS<sup>+</sup>和亚硝酸钠的清除作用存在差异,其中对ABTS<sup>+</sup>的清除效果最好,DPPH自由基次之,亚硝酸钠最差。20%的日本晚樱花挥发油就具有较好的抗氧化活性,随着挥发油体积和浓度的增加,其抗氧化活性会更强。活性是由内在的化学成分决定的,日本晚樱花挥发油含量最高的前4种成分均为倍半萜类化合物,占挥发油总量的74.04%,含有不饱和双键的萜类化

合物具有抗氧化活性<sup>[20]</sup>,日本晚樱花挥发油的强抗氧化活性与其主要成分萜类化合物密切相关。日本晚樱花挥发油在天然抗氧化剂方面极具开发价值,其体内抗氧化活性有待进一步研究。

### 参考文献:

- [1] 王贤荣, 黄国富. 中国樱花类植物资源及其开发利用[J]. 林业科技开发, 2001, 15(6): 3-6.
- [2] 中国科学院植物研究所. 中国高等植物图鉴[M]. 北京: 科学出版社, 1983: 312.
- [3] 胡嘉琪, 梁师文. 黄山植物[M]. 上海: 复旦大学出版社, 1996: 198.
- [4] 孟月娥, 李艳敏, 赵秀山, 等. 日本晚樱组培快繁技术研究[J]. 中国农学通报, 2006, 22(10): 264-266.
- [5] 李永强, 毕晓菲, 杨士花, 等. 云南樱花色素的初步定性及提取工艺[J]. 食品与发酵工业, 2010, 36(5): 174-177.
- [6] 肖飞, 曹莹, 海涛. 樱花多糖体外抗氧化功能研究[J]. 安徽农学通报: 上半月刊, 2009, 15(15): 39-40.
- [7] 吴练中, 顾维戎, 周秀云, 等. 樱花树叶总黄酮、微量元素的含量及毒性的测定和药理研究[J]. 上海医药, 1994, 15(4): 45-46.
- [8] 贾红丽, 张丕鸿, 计巧灵, 等. 新疆阿勒泰百里香挥发油化学成分GC-MS分析及抗氧化活性测定[J]. 食品科学, 2009, 30(4): 224-229.
- [9] 赵金伟, 李范洙, 张先. 苹果梨酚类物质抗氧化活性研究[J]. 食品科学, 2010, 31(17): 170-172.
- [10] 杨少辉, 宋英今, 王洁华, 等. 雪莲果体外抗氧化和自由基清除能力[J]. 食品科学, 2010, 31(17): 166-169.
- [11] 陆占国, 李伟, 封丹. 苜蓿籽精油成分及清除亚硝酸钠研究[J]. 天然产物研究与开发, 2010, 22(3): 479-482.
- [12] AWIKA J M, ROONEY L W, WU X, et al. Screening methods to measure antioxidant activity of sorghum (*Sorghum bicolor*) and sorghum products[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2003, 51(23): 6657-6662.
- [13] 郑善元, 陈填烽, 郑文杰, 等. 单从茶水提物清除DPPH和ABTS自由基的光谱学研究[J]. 光谱学与光谱分析, 2010, 30(9): 2417.
- [14] 付晓燕, 李海龙, 杨超, 等. 发芽燕麦不同溶剂提取液抗氧化活性的比较[J]. 食品与发酵工业, 2011, 37(4): 68-72.
- [15] 郝俊杰, 王祥培, 李雨生, 等. 桃枝挥发油化学成分的GC-MS分析[J]. 中国实验方剂学杂志, 2010, 16(16): 45-48.
- [16] 崔嘉, 白政忠, 曹菲, 等. 花楸树果实挥发油的GC/MS分析[J]. 黑龙江医药, 2010, 23(5): 703-705.
- [17] 赵秋雁. 稠李(*Prunus padus* Linn.)挥发油化学组成分析[J]. 植物研究, 2003, 23(1): 91-93.
- [18] 回瑞华, 侯冬岩, 李铁纯, 等. 苦杏仁挥发油化学成分的微波-同时蒸馏萃取GC-MS分析[J]. 分析测试学报, 2003, 22(1): 55-57.
- [19] 曹慧, 肖建波, 周春山, 等. 拳卷地钱不同提取部位的气相色谱-质谱分析比较和部分生物活性研究[J]. 质谱学报, 2005, 26(1): 1-5.
- [20] 陈长武, 昌友权, 曲红光, 等. 松针提取物抗衰老氧化作用研究[J]. 食品科学, 2005, 26(9): 465-467.