

干燥香榧假种皮精油挥发性成分、体外抗氧化活性及抑菌效果研究

刘思宇¹, 史 瑛¹, 陈启和^{1,2*}

1. 浙江大学 食品科学与营养系, 浙江 杭州 310058

2. 浙江大学 长三角智慧绿洲创新中心, 浙江 嘉兴 314102

摘要: 香榧假种皮作为废物被丢弃会造成资源浪费和环境污染, 为提高其综合加工价值及开发香榧精油产品, 采用水蒸气蒸馏法提取干燥香榧假种皮精油, 利用 GC-MS 技术分析精油的挥发性成分及含量, 通过体外自由基清除试验探究干燥香榧假种皮精油的抗氧化活性, 并采用牛津杯法评估其对 3 种食源性致病菌(大肠杆菌、蜡样芽孢杆菌和金黄色葡萄球菌)的抑制效果。结果表明: 利用 GC-MS 共鉴定出 45 种挥发性成分, 包括萜烯类、醇类、醛类和酮类等化合物, 主要成分为 3-萜烯(26.20%)、D-柠檬烯(15.11%)、 δ -杜松醇(8.16%)和 δ -杜松烯(7.57%); 干燥香榧假种皮精油具有较好的体外抗氧化活性, 对 DPPH、ABTS 和羟自由基清除能力与其质量浓度呈正相关($P < 0.01$); 此外, 干燥香榧假种皮精油有明显的抑菌作用, 抑菌效果与其质量浓度呈正相关($P < 0.01$), 3 株供试菌对香榧假种皮精油的敏感程度为蜡样芽孢杆菌 > 大肠杆菌 > 金黄色葡萄球菌。干燥香榧假种皮精油具有较好的体外抗氧化和抑菌活性。

关键词: 香榧; 精油; 挥发性成分; 体外抗氧化活性; 抑菌效果

中图分类号: TS201.2

文献标志码: A

文章编号: 1673-2383(2023)03-0042-08

DOI: 10.16433/j.1673-2383.2023.03.006

Study on volatile compounds, *in vitro* antioxidant activities and antibacterial effects of essential oil extracted from the dried aril of *Torreya grandis*

LIU Siyu¹, SHI Ying¹, CHEN Qihe^{1,2*}

1. Department of Food Science and Nutrition, Zhejiang University, Hangzhou 310058, China

2. Innovation Center of Yangtze River Delta, Zhejiang University, Jiaxing 314102, China

Abstract: In this study, the essential oil of *Torreya grandis* (*T. grandis*) dried aril was extracted by steam distillation, and its volatile compounds and contents were analyzed using gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS). In addition, the *in vitro* antioxidant activities of the essential oil were investigated by DPPH, ABTS and hydroxyl free radicals scavenging rate assays. Finally, the inhibitory effects against *Escherichia coli* (*E. coli*), *Bacillus cereus* (*B. cereus*) and *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*) were evaluated by the Oxford cup method. According to the GC-MS analysis, a total of 45 volatile components were identified in the essential oil of *T. grandis* dried aril. Among them, 3-Carene was the most dominant compound, possessing the highest relative content of 26.20%, followed by D-limonene, δ -Cadinene and δ -Cadinol, with relative content of 15.11%, 8.16% and 7.57%, respectively. The results of *in vitro* free radical scavenging tests showed that the essential oil exhibited great antioxidant activities, and the scavenging ability against DPPH, ABTS and hydroxyl free radicals was positively correlated with the mass con-

收稿日期: 2023-04-09

基金项目: 浙江省科技计划公益项目(LGF18C200003); 浙江省自然科学基金项目(LR13C200002)

作者简介: 刘思宇(1998—), 女, 四川崇州人, 博士研究生, 研究方向为食品微生物技术。

* 通信作者: 陈启和, 教授, 博导, E-mail: chenqh@zju.edu.cn。

centrations of the essential oil ($P < 0.01$). The scavenging rates against DPPH, ABTS and hydroxyl free radicals were $74.82\% \pm 1.58\%$, $78.78\% \pm 1.75\%$ and $69.76\% \pm 2.73\%$, respectively, at the highest concentration of 1 mg/mL essential oil. The results of the antibacterial effects revealed that the essential oil of *T. grandis* dried aril inhibited *E. coli*, *B. cereus*, and *S. aureus* to some extent. By comparing the diameter of the inhibition zone, the essential oil displayed obvious antibacterial activity, which was positively correlated with the concentration ($P < 0.01$). At the same mass concentration, *B. cereus* was the most sensitive to the essential oil, followed by *E. coli* and finally *S. aureus*. This study demonstrated that the essential oil of *T. grandis* dried aril had good *in vitro* antioxidant and antibacterial activities.

Key words: *Torreya grandis*; essential oil; volatile components; *in vitro* antioxidant activity; antibacterial effect

香榧 (*Torreya grandis*, *T. grandis*), 又称野榧、玉香果, 属于红豆杉科榧属植物。香榧是我国特有的一种珍贵经济干果类树种, 主要分布在浙、苏、皖、闽和赣等地区, 浙江省诸暨市是香榧的主产地, 有着“中国香榧之乡”的美称^[1]。香榧果实因其独特的风味、极高的营养和药用价值而深受人们的喜爱, 成为市场受欢迎和有价值的干坚果之一, 并在全球范围内消费^[2]。

香榧果实由假种皮、外种皮和食用种子仁构成, 其中香榧假种皮是包裹在香榧果实外面的一层肉质化结构, 占新鲜果实质量的 50% ~ 60%^[3]。目前对于香榧果实的工业开发大多是将采摘的新鲜果实进行晾晒, 之后通过脱皮机将假种皮和种子分离, 保留种子做进一步的处理加工, 而假种皮作为废物被丢弃, 既污染了环境又造成了资源的浪费^[4]。研究表明, 香榧假种皮作为香榧加工过程中的下脚料, 其富含萜类和芳香族等多种活性化合物, 具有抗氧化、抑菌消炎、镇咳和驱虫等生物活性和药用功能, 是一种提取药用活性精油和香料制品的天然原料^[5]。香榧精油作为香榧假种皮的挥发性次级代谢产物之一, 含有萜烯类、醇类、醛类、酮类和酯类等多种芳香活性成分, 在清除自由基方面有较好的效果, 具有体外抗氧化和抑菌活性, 可作为提取高级芳香油和浸膏的天然优质原料^[6-7]。

目前关于香榧属植物的研究主要集中在香榧枝叶和假种皮等的化学组成及其生物活性等方面。关于香榧假种皮精油的报道多为比较不同提取方法和提取工艺对所得精油成分及含量的影响, 开展香榧假种皮精油的化学物质及生物活性功能的研究对于提高香榧假种皮的附加价值、合理开发利用我国特有的地方资源以及增加农民经济收入具有积极的促进作用。

作者采用水蒸气蒸馏法对干燥的香榧假种皮进行提取, 利用 GC-MS 技术对提取得到的精油的挥发性成分及含量进行分析, 进一步通过体外抗氧化试验探究了香榧假种皮精油对 DPPH、ABTS 和羟自由基的清除能力, 评估了该精油对 3 种食源性致病菌 (大肠杆菌、蜡样芽孢杆菌和金黄色葡萄球菌) 的抑制效果, 以期对香榧假种皮资源的深加工和香榧精油的开发利用提供参考。

1 材料与amp;方法

1.1 试验材料

干燥香榧假种皮: 浙江省诸暨市果园; 无水乙醇、抗坏血酸 (Vc)、过硫酸钾: 分析纯, 国药集团化学试剂有限公司; 1, 1-二苯基-2-三硝基苯肼 (DPPH): 上海麦克林生化科技有限公司; 2, 2'-联氮双(3-乙基苯并噻唑啉-6-磺酸) 二铵盐 (ABTS): 德国 Sigma-Aldrich 公司; Luria-Bertani (LB) 液体培养基、LB 固体培养基、羟自由基清除能力检测试剂盒: 北京索莱宝科技有限公司。大肠杆菌、蜡样芽孢杆菌和金黄色葡萄球菌均为本实验室保藏。

1.2 仪器与amp;设备

BSA 223s 电子天平: 德国赛多利斯有限公司; KDM 水蒸气蒸馏设备: 天津赛得利斯实验分析仪器制造厂; 7890B/5977A 气相色谱-质谱联用仪: 美国安捷伦科技有限公司; 紫外可见分光光度计: 美国赛默飞世尔科技公司; GR-B2078DAH 冰箱: 韩国 LG 电子集团; Opti-Clean1300 洁净工作台: 力康生物医疗科技控股有限公司; DK-S22 电热恒温水浴锅: 上海精宏实验设备有限公司; BPH-9162 恒温培养箱: 上海一恒科学仪器有限公司。

1.3 试验方法

1.3.1 香榧假种皮精油的提取与配制

采用水蒸气蒸馏法提取香榧假种皮精油。称取干燥的香榧假种皮粉末 100 g 置于圆底烧瓶中,按料液比 1:10 (g/mL) 加入去离子水,并加入沸石,组装水蒸气蒸馏装置后开始加热,循环提取 6 h,收集提取器中的精油,用无水硫酸钠干燥。提取的香榧假种皮精油密封储藏在 4 ℃ 冰箱中备用。将香榧假种皮精油按照一定比例溶于无水乙醇,混合均匀后得到质量浓度分别为 0.2、0.4、0.6、0.8、1.0 mg/mL 的精油溶液。

1.3.2 香榧假种皮精油挥发性成分分析

采用气相色谱-质谱技术(GC-MS)分析香榧假种皮精油的挥发性成分,参考 Hu 等^[8]的方法并稍加修改。气相色谱条件:HP-5MS 毛细管柱(30 m×0.25 mm, 0.25 μm),进样口温度 250 ℃,进样量 1 μL,载气为氦气(99.999 5%),流速 1 mL/min,分流比 15:1。升温程序:起始温度 60 ℃,保持 2 min,以 5 ℃/min 升至 140 ℃,保持 3 min,再以 10 ℃/min 升温至 280 ℃,保持 2 min。质谱条件:电子轰击电离源(EI),离子源温度 230 ℃,能量电压 70 eV,质量扫描范围 35~450 m/z,全扫描模式。将获得的质谱数据和美国国家标准与技术研究院(NIST)、Willey 质谱数据库中存储的数据进行匹配鉴定精油挥发性成分,采用色谱峰面积归一化法定量计算各成分的相对含量。

1.3.3 对 ABTS 自由基清除能力的测定

参考 Zhu 等^[9]的方法并稍加修改。将 7 mmol/L 的 ABTS 溶液与 2.45 mmol/L 的过硫酸钾等体积混合反应,并在室温黑暗条件下静置 12 h,得到 ABTS⁺ 储备液。用无水乙醇稀释 ABTS⁺ 储备液至 734 nm 处的吸光度为 0.700±0.050,得到 ABTS⁺ 工作液。在 5 mL 试管中加入 1 mL ABTS⁺ 工作液和 3 mL 无水乙醇,混合均匀后置于室温黑暗条件下反应 30 min,于 734 nm 处测定吸光度,记为 A₀。将 1 mL ABTS⁺ 工作液、1 mL 不同质量浓度的精油样品以及 2 mL 无水乙醇依次加入试管中,涡旋混匀后在室温黑暗条件下反应 30 min,于 734 nm 处测定吸光度,记为 A。用相同质量浓度的抗坏血酸(Vc)作为阳性对照,每个样品做 3 个平行。

$$\text{ABTS 自由基清除率} = (A_0 - A) / A_0 \times 100\%$$

1.3.4 对 DPPH 自由基清除能力的测定

参考 Sun 等^[10]的方法并稍加修改。用无水

乙醇配制 0.2 mmol/L 的 DPPH 工作液。在 5 mL 试管中加入 1 mL DPPH 溶液和 1 mL 无水乙醇,混合均匀后置于室温黑暗条件下反应 30 min,于 517 nm 处测定吸光度,记为 A₀。将 1 mL DPPH 溶液和 1 mL 不同质量浓度的精油样品加入试管中,涡旋混匀后在室温黑暗条件下反应 30 min,于 517 nm 处测定吸光度,记为 A。用相同质量浓度的抗坏血酸(Vc)作为阳性对照,每个样品做 3 个平行。

$$\text{DPPH 自由基清除率} = (A_0 - A) / A_0 \times 100\%$$

1.3.5 对羟自由基清除能力的测定

H₂O₂ 将邻二氮菲-Fe²⁺ 水溶液中的 Fe²⁺ 通过 Fenton 反应氧化为 Fe³⁺,并产生羟自由基,从而导致 536 nm 处的吸光度下降,而吸光度下降速率的抑制程度反映了样本清除羟自由基的能力。参照试剂盒说明书进行操作,将检测试剂依次加入 1.5 mL EP 管中,充分混匀后加入 150 μL 不同质量浓度的精油样品,涡旋混匀后置于 37 ℃ 水浴锅中反应 60 min。在常温条件下 10 000 r/min 离心 10 min,取上清液测定 536 nm 处的吸光度。用不加样品的蒸馏水体系作为空白组,不加样品的反应体系作为试验对照组,加样品的反应体系作为试验组,每个样品做 3 个平行。

羟自由基清除率 = (A - A₁) / (A₀ - A₁) × 100%,
式中:A₀、A₁、A 分别为空白组、对照组、试验组在 536 nm 处的吸光度。

1.3.6 香榧假种皮精油的抑菌试验

采用牛津杯法测定不同样品对大肠杆菌、金黄色葡萄球菌和蜡样芽孢杆菌的抑菌圈,评估不同质量浓度的香榧假种皮精油的抑菌效果。参考曾琳等^[11]的方法并稍加修改。挑取 3 株供试菌于 LB 固体培养基中分别进行活化,然后挑取适量菌种接种于 4 mL 的 LB 液体培养基中,37 ℃ 振荡培养 24 h 后将供试菌液稀释至浓度为 10⁶ CFU/mL。取 150 μL 各供试菌悬液于 LB 固体培养基中,用涂布棒涂布均匀,待微干后在平板表面放置牛津杯(直径 8 mm),将 100 μL 不同质量浓度的香榧假种皮精油加入牛津杯,置于 37 ℃ 培养箱中培养 24 h。用无水乙醇做空白对照,每组做 3 个平行,测量各抑菌圈直径。

1.4 数据处理

数据以“平均值±偏差”表示,采用 Excel 2019、SPSS 26.0 及 Origin 2018 进行数据统计分析和作图。

2 结果与分析

2.1 香榧假种皮精油挥发性成分分析

通过 GC-MS 对干燥香榧假种皮精油的挥发性成分进行分析,精油的 GC-MS 总离子流图如图 1 所示。表 1 列出了香榧假种皮精油中的挥发性成分及其含量,共鉴定得到 45 种化合物,包括萜烯类、醇类、醛类和酮类等化合物。香榧假种

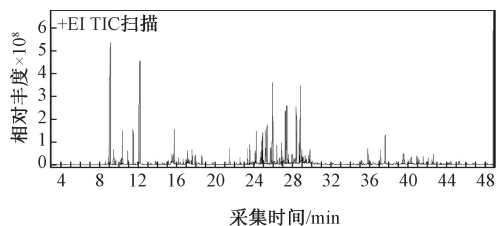


图 1 干燥香榧假种皮精油的总离子流图

Fig. 1 Total ion current chromatogram of essential oil from the dried aril of *T. grandis*

表 1 干燥香榧假种皮精油的挥发性化合物及其含量

Table 1 Volatile compounds and their content of essential oil from the dried aril of *T. grandis*

序号	保留时间/min	化合物名称	分子式	CAS 号	相对含量/%
1	8.600 3	环萜烯	C ₁₀ H ₁₆	488-97-1	0.35
2	9.121 6	3-萜烯	C ₁₀ H ₁₆	488-97-1	26.20
3	9.463 7	茨烯	C ₁₀ H ₁₆	79-92-5	1.16
4	10.302 8	β-水芹烯	C ₁₀ H ₁₆	555-10-2	0.42
5	10.373 7	1-亚甲基-4-(1-甲基乙烯基)环己烷	C ₁₀ H ₁₆	499-97-8	2.34
6	10.916 8	β-蒎烯	C ₁₀ H ₁₆	18172-67-3	0.96
7	12.173 7	D-柠檬烯	C ₁₀ H ₁₆	5989-27-5	15.11
8	13.956 6	α-松油烯	C ₁₀ H ₁₆	29050-33-7	0.23
9	15.113 3	龙脑烯醛	C ₁₀ H ₁₆ O	4501-58-0	0.27
10	15.512 6	反式松香芹醇	C ₁₀ H ₁₆ O	547-61-5	0.61
11	15.748 9	马鞭草烯醇	C ₁₀ H ₁₆ O	1820-09-3	3.23
12	16.207 0	桉烯	C ₁₀ H ₁₆	3387-41-5	0.41
13	16.677 4	4-松油醇	C ₁₀ H ₁₈ O	20126-76-5	0.35
14	16.980 4	对甲基苯异丙醇	C ₁₀ H ₁₄ O	1197-01-9	0.38
15	17.107 1	α-松油醇	C ₁₀ H ₁₈ O	10482-56-1	0.97
16	17.204 3	桃金娘烯醛	C ₁₀ H ₁₄ O	564-94-3	0.34
17	17.265 0	桃金娘烯醇	C ₁₀ H ₁₆ O	515-00-4	0.28
18	17.598 4	(-)-马鞭烯酮	C ₁₀ H ₁₄ O	1196-01-6	1.07
19	18.603 6	右旋香芹酮	C ₁₀ H ₁₄ O	2244-16-8	0.71
20	21.480 3	3-羟基苯乙酮	C ₈ H ₈ O ₂	121-71-1	0.26
21	21.492 9	α-古巴烯	C ₁₅ H ₂₄	3856-25-5	1.28
22	22.568 3	α-葎澄茄油烯	C ₁₅ H ₂₄	17699-14-8	0.52
23	23.339 1	反式石竹烯	C ₁₅ H ₂₄	87-44-5	1.17
24	23.583 6	β-古巴烯	C ₁₅ H ₂₄	18252-44-3	3.74
25	24.257 7	顺式-β-法呢烯	C ₁₅ H ₂₄	28973-97-9	2.46
26	24.700 3	δ-杜松烯	C ₁₅ H ₂₄	28973-97-9	7.57
27	24.791 3	γ-衣兰油烯	C ₁₅ H ₂₄	30021-74-0	1.65
28	25.034 0	β-芹子烯	C ₁₅ H ₂₄	17066-67-0	0.30
29	25.274 0	4-乙基邻甲酚	C ₉ H ₁₂ O	17066-67-0	0.25
30	25.369 5	α-衣兰油烯	C ₁₅ H ₂₄	31983-22-9	2.84
31	26.401 6	β-白菖考烯	C ₁₅ H ₂₀	50277-34-4	2.38
32	26.874 7	反式橙花叔醇	C ₁₅ H ₂₆ O	40716-66-3	0.61
33	27.005 2	喇叭茶醇	C ₁₅ H ₂₆ O	5986-49-2	0.43
34	27.067 4	β-日本刺参萜酮	C ₁₅ H ₂₄ O	28305-60-4	0.25
35	27.282 4	桉油烯醇	C ₁₅ H ₂₄ O	6750-60-3	4.62
36	27.972 8	环氧化蛇麻烯 II	C ₁₅ H ₂₄ O	19888-34-7	0.60
37	28.026 8	异桉油烯醇	C ₁₅ H ₂₄ O	88395-46-4	0.53
38	28.722 5	葎澄茄油烯醇	C ₁₅ H ₂₆ O	88395-46-4	1.53
39	28.861 9	δ-杜松醇	C ₁₅ H ₂₆ O	5937-11-1	8.16
40	37.147 9	松香三烯	C ₂₀ H ₃₀	19407-28-4	1.15
41	39.475 1	山达海松醛	C ₂₀ H ₃₀ O	3855-14-9	0.30
42	40.327 0	泪杉醇	C ₂₀ H ₃₄ O	596-85-0	0.51
43	41.578 9	松香醛	C ₂₀ H ₃₀ O	6704-50-3	0.60
44	42.101 9	脱氢枞酸甲酯	C ₂₁ H ₃₀ O ₂	1235-74-1	0.49
45	42.507 0	脱氢松香醇	C ₂₀ H ₃₀ O	3772-55-2	0.41

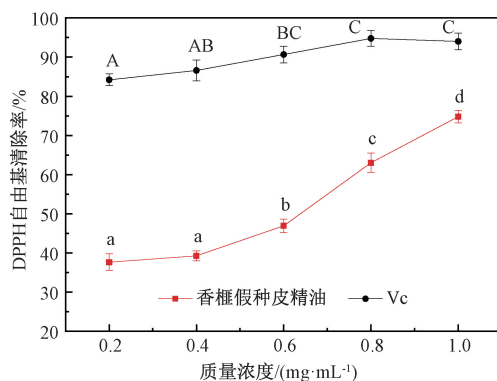
皮精油中有 19 种萜烯类化合物(69.90%)、14 种醇类(22.62%)、4 种酮类(2.29%)、1 种烷烃(2.34%)、4 种醛类(1.51%)、1 种酯类(0.49%)和 2 种其他化合物(0.85%)。萜烯是香榧假种皮精油中含量最丰富的芳香族化合物,具有挥发性香味的萜烯包括单萜烯和倍半萜烯,它们与风味感知和消费者接受度密切相关,有研究表明高浓度萜烯的存在可能会导致精油出现苦味^[12]。对萜烯含量的进一步分析结果表明,单萜烯是前段精油的主要成分,倍半萜烯则在中段精油中占据主要地位,这与李彪等^[6]的研究结果一致。

在香榧假种皮精油的挥发性成分中,3-萜烯和 D-柠檬烯是主要的化合物,其含量分别占总挥发性化合物的 26.20% 和 15.11%。3-萜烯存在于大部分花果类植物和某些中草药中,具有强烈的松木样香气,有较好的抗菌抗炎作用,可作为天然食品用香料直接使用,也可作为中间体原料合成具有生物活性的药物^[13]。D-柠檬烯是柑橘类水果的成分,具有橙子般的果香味,已经证明其对化学诱导的啮齿动物乳腺癌、肺癌和胃癌具有显著的化学预防和化疗活性,同时还抑制多种食品相关微生物的生长,如金黄色葡萄球菌、单核细胞增生李斯特菌和肠道沙门氏菌等^[14-15]。此外, δ -杜松醇、 δ -杜松烯、桉油烯醇和 β -古巴烯在香榧假种皮精油中的含量也相对较高,分别为 8.16%、7.57%、4.62% 和 3.74%,这些挥发性化合物都具有较强的植物芳香气味,具有提神消炎、抗菌杀虫等生物活性^[16-17]。

2.2 对 DPPH 自由基清除能力的测定

DPPH 自由基是一种很稳定的自由基,是样本抗氧化能力的重要指标之一,被广泛用于测定各种天然化合物的抗氧化活性。DPPH 自由基的中心氮原子上有一个未成对的单电子,其醇溶液呈紫色,在 517 nm 波长处有强吸收。当有抗氧化剂存在时,DPPH 自由基能接受抗氧化剂的电子或氢,形成稳定的产物,反应体系颜色变浅,吸光度下降,因此其吸光度的降低与自由基被清除的能力呈正相关^[5,18]。由图 2 可知,在相同的质量浓度下,Vc 清除 DPPH 自由基的能力要强于干燥香榧假种皮精油。随着香榧假种皮精油质量浓度的增加,对 DPPH 自由基的清除率逐渐提高,这与孙君燕^[19]报道的结果一致。在 0.2~1.0 mg/mL 范围内,1.0 mg/mL 的香榧假种皮精油对 DPPH 自由基的清除作用最强,为 74.82% \pm 1.58%。利用 SPSS 软件进行相关性分析,结果

表明干燥香榧假种皮精油对 DPPH 自由基的清除能力与其质量浓度呈正相关,皮尔逊相关系数为 0.956 ($P < 0.01$)。香榧假种皮精油对 DPPH 自由基的半数清除率浓度(IC_{50})为 0.55 mg/mL。研究表明植物精油中的醇类和酚类化合物一定程度上可以淬灭多数已知的自由基,烯类化合物如 α -松油烯具有很强的 DPPH 自由基清除活性,因此香榧假种皮精油具有较好的 DPPH 自由基清除能力可归因于其含有丰富的烯萜类和醇类化合物^[20]。



注:同一曲线上不同字母表示差异显著 ($P < 0.05$)。

图 3 和图 4 同。

图 2 干燥香榧假种皮精油对 DPPH 自由基的清除率

Fig. 2 DPPH free radical scavenging rate of essential oil from the dried aril of *T. grandis*

2.3 对 ABTS 自由基清除能力的测定

ABTS 抗氧化能力的测定是目前使用最广泛且最受欢迎的间接检测法,其测定的基础是 ABTS 被氧化后生成稳定的蓝绿色阳离子自由基 $ABTS^+$,在 734 nm 处有强吸收^[21]。当被测物质中含有抗氧化成分时,能将预先形成的 $ABTS^+$ 还原,从而导致反应体系颜色变浅,吸光度下降,因此其吸光度的降低与自由基被清除的能力呈正相关^[22]。由图 3 可知,在 0.2~1.0 mg/mL 范围内,Vc 对 ABTS 自由基的清除率均在 80% 以上,且随着质量浓度的增加逐渐趋于平衡。尽管在同一质量浓度下,香榧假种皮精油对 ABTS 自由基的清除率低于 Vc,但随着质量浓度的增加,香榧假种皮精油对 ABTS 自由基的清除能力不断增强,在 1.0 mg/mL 时清除率达到最高。利用 SPSS 软件进行相关性分析,结果表明干燥香榧假种皮精油对 ABTS 自由基的清除能力与质量浓度呈正相关,皮尔逊相关系数为 0.966 ($P < 0.01$)。香榧假种皮精油对 ABTS 自由基的清

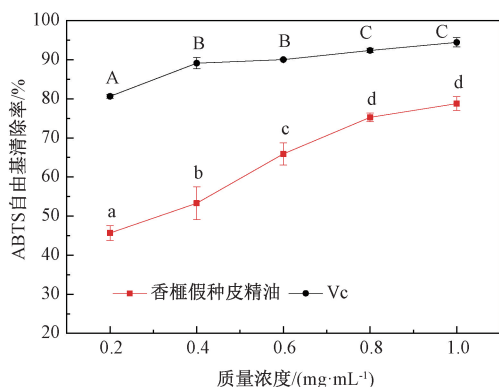


图 3 干燥香榧假种皮精油对 ABTS 自由基的清除率

Fig. 3 ABTS free radical scavenging rate of essential oil from the dried aril of *T. grandis*

除表现出较好的量效关系, IC_{50} 为 0.29 mg/mL。

2.4 对羟自由基清除能力的测定

羟自由基是一种对生物体毒性强、危害大的自由基,可以与细胞膜磷脂的多不饱和脂肪酸反应,对人体细胞造成氧化性损伤和破坏^[23]。由图 4 可知,在质量浓度为 0.2 mg/mL 时,干燥香榧假种皮精油对羟自由基已具有一定的清除能力,其清除率为 $(47.66 \pm 1.67)\%$ 。在 0.2~1.0 mg/mL 范围内,香榧假种皮精油的羟自由基清除率随着质量浓度的增加不断升高,在 1.0 mg/mL 时清除率达到最高。利用 SPSS 软件进行相关性分析,结果表明干燥香榧假种皮精油对羟自由基的清除能力与质量浓度呈正相关,皮尔逊相关系数为 0.936 ($P < 0.01$)。香榧假种皮精油对羟自由基的 IC_{50} 为 0.32 mg/mL。研究表明萜烯类化合物具有两个或两个以上的双键,是反应活性很强的一类化合物,可与羟自由基等迅速反应为二级基团,有一定的羟自由基清除作用^[24]。因此香榧假种皮精油较强的羟自由基清除能力可能与其含有大量的单萜烯、倍半萜烯和二萜烯类化合物有关。

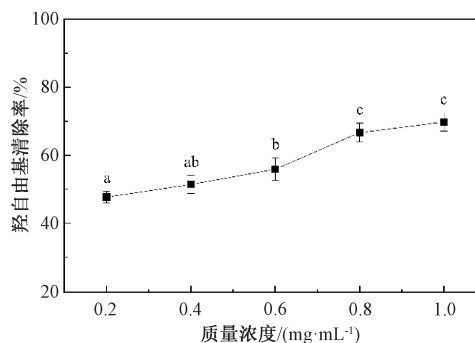


图 4 干燥香榧假种皮精油对羟自由基的清除率

Fig. 4 Hydroxyl radical scavenging rate of essential oil from the dried aril of *T. grandis*

2.5 香榧假种皮精油的抑菌效果

大肠杆菌、蜡样芽孢杆菌和金黄色葡萄球菌是 3 种常见的食源性致病菌,是威胁食品安全的主要危害因子,采用牛津杯法测定了干燥香榧假种皮精油对这 3 种食源性致病菌的抑制效果,结果如表 2 所示。从表 2 可以看出,香榧假种皮精油对 3 种菌均表现出不同程度的抑制作用,与无水乙醇对照组的差异显著 ($P < 0.05$)。通过比较抑菌圈直径可以发现,在同一质量浓度下,蜡样芽孢杆菌对香榧假种皮精油最为敏感,其次是大肠杆菌,金黄色葡萄球菌对香榧假种皮精油的敏感度相对较弱。革兰氏阳性细菌一般比革兰氏阴性细菌对植物精油的敏感性更高,但也有诸多例外,这是由于不同精油含有的成分会对革兰氏阳性和革兰氏阴性细菌表现出不同程度的活性^[25-27]。在 0.2~1.0 mg/mL 范围内,香榧假种皮精油的抑菌效果随着质量浓度的增加而有所提高,相关性分析结果表明,干燥香榧假种皮精油对大肠杆菌、蜡样芽孢杆菌和金黄色葡萄球菌的抑菌效果与质量浓度呈正相关,皮尔逊相关系数分别为 0.916 ($P < 0.01$)、0.930 ($P < 0.01$) 和 0.827 ($P < 0.01$)。1.0 mg/mL 的干燥香榧假种皮精油对 3 种菌的抑菌活性均最强。研究表明植

表 2 干燥香榧假种皮精油的抑菌效果

Table 2 Antibacterial effects of essential oil from the dried aril of *T. grandis*

病原菌名称	抑菌圈直径/mm					
	无水乙醇	干燥香榧假种皮精油质量浓度/(mg·mL ⁻¹)				
		0.2	0.4	0.6	0.8	1.0
大肠杆菌	8.04±0.03 ^a	9.55±0.76 ^b	11.36±0.50 ^c	11.97±0.83 ^{cd}	13.24±0.31 ^{de}	14.42±0.52 ^e
蜡样芽孢杆菌	8.03±0.02 ^a	10.34±0.73 ^b	12.92±0.31 ^c	13.56±0.78 ^c	14.23±0.40 ^c	16.47±0.94 ^d
金黄色葡萄球菌	8.02±0.02 ^a	8.98±0.31 ^{ab}	9.78±0.62 ^{bc}	10.64±0.36 ^{cd}	10.80±0.73 ^{cd}	11.76±0.85 ^d

注:抑菌圈直径以“平均值±偏差”表示,每行数据上标的不同字母表示差异显著 ($P < 0.05$)。

物精油具有较强的抑菌活性,这与其成分中含有的萜烯类、醛类和酚类化合物密切相关^[27]。Um-agiliyage 等^[28]指出 D-柠檬烯可以有效抑制微生物的生长,其可能的机制包括改变细胞壁的性质,刺激与细胞壁完整性信号通路相关基因的表达,从而对细胞分裂产生负面影响。因此香榧假种皮精油具有较好的抑菌效果可归因于其含有丰富的萜烯类和醛类化合物。

3 结论

从水蒸气蒸馏法所得干燥香榧假种皮精油中共鉴定出 45 种挥发性化合物,包括萜烯类、醇类、醛类和酮类等,主要成分为 3-萜烯(26.20%)、D-柠檬烯(15.11%)、 δ -杜松醇(8.16%)和 δ -杜松烯(7.57%)。干燥香榧假种皮精油具有较好的体外抗氧化活性,且对 DPPH 自由基、ABTS 自由基和羟自由基的清除能力与其质量浓度呈正相关。此外,该精油具有明显的抑菌作用,其抑菌效果随着质量浓度的增加而提高,3 株食源性致病菌对同一质量浓度的香榧假种皮精油的敏感程度为蜡样芽孢杆菌>大肠杆菌>金黄色葡萄球菌。干燥香榧假种皮精油具有良好的体外抗氧化活性和抑菌活性,可能与其含有丰富的萜烯类、醇类、醛类和酮类化合物有关。作为一种天然的抗氧化剂和抑菌剂,香榧假种皮精油在功能性食品、抗氧化化妆品以及植物杀菌剂等领域具有极大的应用价值和开发潜力。

参考文献:

- [1] 江学平,陈文焯,郜海燕. 香榧假种皮提取物的研究进展 [J]. 食品科学技术学报, 2014,32(3):54-58.
- [2] YAO L Y, SUN J Y, LIANG Y, et al. Volatile fingerprints of *Torreya grandis* hydrosols under different downstream processes using HS-GC-IMS and the enhanced stability and bioactivity of hydrosols by high pressure homogenization [J]. Food control, 2022, 139: 109058.
- [3] 叶碧欢,陈友吾,李海波,等. 香榧假种皮精油对病原菌和病原藻的抑制活性 [J]. 森林与环境学报,2021,41(6):637-642.
- [4] NIU L Y, BAO J F, ZHAO L, et al. Odor properties and volatile compounds analysis of *Torreya grandis* aril extracts [J]. Journal of essential oil research, 2011, 23(4): 1-6.
- [5] YU Y J, NI S, WU F, et al. Chemical composition and antioxidant activity of essential oil from *Torreya grandis* cv. merrillii arils [J]. Journal of essential oil bearing plants, 2016, 19(5): 1170-1180.
- [6] 李彪,倪伟超,倪穗. 新鲜与干燥香榧假种皮精油成分及抑菌效果比较研究 [J]. 中国野生植物资源,2017,36(3):14-17.
- [7] FENG T, HU Z S, SONG S Q, et al. The antioxidant and tyrosinase inhibition properties of essential oil from the peel of Chinese *Torreya grandis* Fort [J]. RSC advances, 2019, 9(72): 42360-42366.
- [8] HU Y Y, ZHANG Z Y, HUA B, et al. The interaction of temperature and relative humidity affects the main aromatic components in postharvest *Torreya grandis* nuts [J]. Food chemistry, 2022, 368: 130836.
- [9] ZHU Z H, CHEN Y Y, JIA N, et al. Identification of three novel antioxidative peptides from *Auxenochlorella pyrenoidosa* protein hydrolysates based on a peptidomics strategy [J]. Food chemistry, 2022, 375: 131849.
- [10] SUN T, HO C T. Antioxidant activities of buckwheat extracts [J]. Food chemistry, 2005, 90(4): 743-749.
- [11] 曾琳,林秋美,韩成云,等. 香榧叶精油的化学成分、抗氧化及抑菌活性的研究 [J]. 中国粮油学报,2020,35(2):98-104.
- [12] REN J N, TAI Y N, DONG M, et al. Characterisation of free and bound volatile compounds from six different varieties of citrus fruits [J]. Food chemistry, 2015, 185: 25-32.
- [13] 何丽芝,王婧,赵振东,等. 3-萜烯资源及其生物活性应用研究进展 [J]. 林产化学与工业,2011,31(3):122-126.
- [14] BEI W Y, ZHOU Y, XING X Y, et al. Organogel-nanoemulsion containing nisin and D-limonene and its antimicrobial activity [J]. Frontiers in microbiology, 2015, 6: 1010.

- [15] LAN W J, LIANG X, LAN W T, et al. Electrospun polyvinyl alcohol/d-limonene fibers prepared by ultrasonic processing for antibacterial active packaging material [J]. *Molecules*, 2019, 24(4): 767.
- [16] 刘志明,王海英,王芳,等. 日本花柏心材和边材精油的组分[J]. *西南农业学报*, 2011, 24(3): 1095-1098.
- [17] 范睿,周利萍,伍宝朵,等. 六个杂交品种白胡椒精油香气成分GC-MS分析[J]. *热带作物学报*, 2020, 41(8): 1683-1692.
- [18] QUAN W, XU Y, XIE Y T, et al. *In vitro* antioxidant properties and phenolic profile of acid aqueous ethanol extracts from *Torreya grandis* seed coat [J]. *Molecules*, 2022, 27(17): 5560.
- [19] 孙君燕. 香榧纯露和精油的生物活性及化妆品的应用研究[D]. 上海:上海应用技术大学, 2021.
- [20] ASIKIN Y, TAIRA I, INAFUKU S, et al. Volatile aroma components and antioxidant activities of the flavedo peel extract of unripe Shiikuwasha (*Citrus depressa Hayata*) [J]. *Journal of food science*, 2012, 77(4): C469-C475.
- [21] FLOEGEL A, KIM D O, CHUNG S J, et al. Comparison of ABTS/DPPH assays to measure antioxidant capacity in popular antioxidant-rich US foods [J]. *Journal of food composition and analysis*, 2011, 24(7): 1043-1048.
- [22] ILYASOV I R, BELOBORODOV V L, SELIVANOVA I A, et al. ABTS/PP decolorization assay of antioxidant capacity reaction pathways [J]. *International journal of molecular sciences*, 2020, 21(3): 1131.
- [23] HAIDA Z, HAKIMAN M. A comprehensive review on the determination of enzymatic assay and nonenzymatic antioxidant activities [J]. *Food science & nutrition*, 2019, 7(5): 1555-1563.
- [24] 章斌,侯小桢,秦轶,等. 柠檬果皮精油主要组分抑菌及抗氧化活性研究[J]. *食品与机械*, 2017, 33(12): 138-142.
- [25] MULYANINGSIH S, YOUNS M, EL-READI M Z, et al. Biological activity of the essential oil of *Kadsura longipedunculata* (Schisandraceae) and its major components [J]. *Journal of pharmacy and pharmacology*, 2010, 62(8): 1037-1044.
- [26] DORMAN H J D, DEANS S G. Antimicrobial agents from plants: antibacterial activity of plant volatile oils [J]. *Journal of applied microbiology*, 2000, 88(2): 308-316.
- [27] BURT S. Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods: a review [J]. *International journal of food microbiology*, 2004, 94(3): 223-253.
- [28] UMAGILYAGE A L, BECERRA-MORA N, KOHLI P, et al. Antimicrobial efficacy of liposomes containing D-limonene and its effect on the storage life of blueberries [J]. *Post-harvest biology and technology*, 2017, 128: 130-137.

(责任编辑 周凤航)