

白芷精油成分分析及清除DPPH自由基活性

郑立辉¹, 王鹏君², 李 伟^{3,4}, 封 丹⁵

(1.东北石油大学秦皇岛分校, 河北 秦皇岛 066004; 2.燕山大学环境与化学工程学院, 河北 秦皇岛 066004;
3.哈尔滨商业大学食品工程学院, 黑龙江 哈尔滨 150076; 4.黑龙江省高校食品科学与工程重点实验室,
黑龙江 哈尔滨 150076; 5.广州焙乐道食品有限公司, 广东 广州 511480)

摘 要: 为开发白芷精油在抗氧化方面的应用, 采用水蒸气蒸馏法提取白芷精油, 研究其对1,1-二苯基-2-苦味酰基(1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl, DPPH) 自由基的清除作用。结果表明, 白芷精油产率为0.52%; 经气相色谱-质谱分析, 共检测出48种成分, 鉴定出38个成分, 其中16种非萜类化合物, 22种萜类化合物, 白芷挥发油的主要成分为环十二烷(38.705%)、1-十五烯醇(16.781%)、丁子香酚(11.559%)。DPPH自由基清除检测结果显示, 白芷精油能明显地清除DPPH自由基, 在精油质量浓度为32.93 mg/mL时清除率最大为95.09%。

关键词: 白芷; 精油; 水蒸气蒸馏; DPPH自由基; 气相色谱-质谱

Chemical Composition of Essential Oil from *Angelica dahurica* Roots and Its DPPH Radical Scavenging Effect

ZHENG Li-hui¹, WANG Peng-jun², LI Wei^{3,4}, FENG Dan⁵

(1. Northeast Petrol University Qinhuangdao Branch, Qinhuangdao 066004, China; 2. College of Environment and Chemical Engineering, Yanshan University, Qinhuangdao 066004, China; 3. College of Food Engineering, Harbin University of Commerce, Harbin 150076, China; 4. Heilongjiang Provincial Key Laboratory of Food Science and Engineering, Harbin 150076, China; 5. Guangzhou Puratos Food Co. Ltd., Guangzhou 511480, China)

Abstract: The scavenging effect of the essential oil from *Angelica dahurica* roots as a potential antioxidant on 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) radical was evaluated. The essential oil was obtained by steam distillation with a yield of 0.52%. A total of 48 constituents were detected by gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS), and 38 of these constituents were identified as 16 non-terpenoids and 22 terpenoids. The abundant components included cyclododecane (38.705%), 1-pentadecanol (16.781%) and eugenol (11.559%). The oil could obviously scavenge DPPH radical, and maximum scavenging rate of 95.09% was observed at a concentration of 32.93 mg/mL.

Key words: *Angelica dahurica*; essential oil; steam distillation; DPPH radical; gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS)

中图分类号: TQ657

文献标志码: A

文章编号: 1002-6630(2014)14-0180-04

doi:10.7506/spkx1002-6630-2014140035

白芷为伞形科当归属植物, 学名*Angelica dahurica* (Fisch. ex Hoffm. Benth. et Hook f. Ex Franch. Et Sav.), 英文名Baizhi *Angelica*^[1]; 别名兴安白芷、祁白芷、杭白芷(川白芷)等, 药食两用^[2]。在我国广泛种植, 其干燥根部作为调味料可增香添味, 脱臭除异, 增进食欲^[3]。白芷根部的挥发性成分是其调味和药理作用的主要物质之一^[4-5]。白芷的化学组成主要为香豆素类物质、挥发油以及多种微量元素, 对其研究主要集中在香豆素类和挥发油成分的分离和鉴定方面, 其中在白芷挥发油的分离和鉴定方面已有大量报道^[6-12]。如朱立俏等^[13]报道了水蒸气蒸馏法得到的白芷挥发油其主成分为甲基丙烯基硫醚(61.32%)、氯乙炔(12.51%)和环十二

烷(6.80%); 马逾英等^[14]报道了亳白芷与川白芷挥发油的主成分, 前者为9-十六碳烯酸十四烷酯(11.40%)和环十二烷(8.23%), 后者为1-十二醇(16.31%)和环十二烷(14.03%); 赵爱红等^[15]报道了兴安白芷挥发油的挥发油主要成分为十四烷醇(19.43%)、 α -柠檬烯(15.25%)、3-萜烯(10.94%)、正十二烷醇(5.74%); 郭耀杰等^[16]报道了不同品种的川白芷的挥发性成分, 其主成分均为碳烯类、醇类化合物, 其次为酯类、有机酸类和烷烃类化合物。

但对白芷挥发性成分应用报道较少。本实验采用水蒸气蒸馏法提取白芷精油, 对获得的精油进行解析和鉴定, 确定其主要成分; 以稳定的1,1-二苯基-2-苦味酰基

收稿日期: 2013-08-03

基金项目: 秦皇岛市科学技术研究与发展计划项目(第二批)(201302A228)

作者简介: 郑立辉(1980—), 男, 讲师, 硕士, 研究方向为有机功能分子。E-mail: zhenglihui@aliyun.com

(1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl, DPPH) 自由基为清除对象, 通过研究其精油用量与DPPH自由基清除率之间的定量关系, 确定白芷精油抗氧化能力, 为白芷精油作为天然抗氧化剂的开发利用提供理论基础, 并为其在食品保鲜中的应用提供借鉴。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

白芷 黑龙江省哈尔滨市售; 乙醚、无水硫酸钠 (均为分析纯) 天津市化学试剂三厂; DPPH 日本和光株式会社。

1.2 仪器与设备

721 分光光度计 上海第三分析仪器厂; GC6890N-MS5973N型气相色谱-质谱分析仪 美国Agilent公司; HP-5 ms (30 m×0.25 mm, 0.25 μm) 气相色谱柱。

1.3 方法

1.3.1 白芷精油的提取

称取300 g白芷, 粉碎, 用带有水蒸气发生器的水蒸气蒸馏装置蒸馏4 h; 以少量重蒸乙醚分3次萃取水蒸气馏出物, 无水硫酸钠干燥除去水分后, 过滤除干燥剂, 旋转蒸发浓缩即得白芷精油。

1.3.2 白芷精油气相色谱-质谱 (gas chromatography-mass spectrometry, GC-MS) 测定条件和成分解析

气相色谱条件: 初始温度80 ℃, 保留1 min后, 以6 ℃/min速率升温至180 ℃, 再以10 ℃/min速率升温至220 ℃, 保留8 min; 进样口温度250 ℃; 进样量0.5 μL; 分流比60:1; 载气 (氢气) 流速1 mL/min。

质谱条件: 电子电离源, 电离电压70 eV, 离子源温度260 ℃, 扫描质量范围30~600 u。

成分解析: NIST98质谱数据库检索标准谱库解析成分, 以相似度大于80%作为结构确认依据, 小于该值即定义为未知, 以峰面积归一法计算各组分相对含量。

1.3.3 白芷精油清除DPPH自由基的测定

1.3.3.1 测定原理

DPPH自由基是一种稳定的自由基。溶于乙醇溶液后呈紫色, 其孤对电子在515 nm波长处有强吸收, 当有自由基清除剂存在时, 孤对电子被配对, 颜色由紫色向黄色转变, 吸光度变小, 而吸光度变小的程度与自由基被清除的程度呈定量关系^[17-18]。

1.3.3.2 测定方法

取一定量白芷精油加入到2.5 mL 75 μmol/L的DPPH无水乙醇溶液中, 再以无水乙醇定容至3 mL, 室温下放置30 min后, 于515 nm波长处测定溶液的吸光度。由下式计算清除效应:

$$S/\% = \frac{A_0 - (A - A_b)}{A_0} \times 100$$

式中: S 为DPPH自由基的清除率/%; A_0 为515 nm波长处DPPH的无水乙醇溶液吸光度; A 为515 nm波长处, 清除30 min后混合液的吸光度; A_b 为515 nm波长处样品本身的吸光度 (不加DPPH)。

2 结果与分析

2.1 GC-MS成分解析结果

提取得到的白芷精油为淡黄色液体, 产率为0.52%, 相对密度为0.987 9 g/mL。其GC-MS全离子流分析如图1所示。

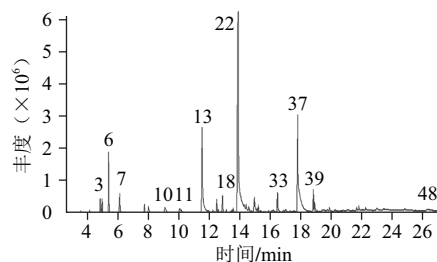


图1 白芷精油GC-MS全离子流图

Fig.1 GC-MS total ion chromatogram of the essential oil from *Angelica dahurica* roots

由图1可知, 该条件下共检出48种成分, 利用NIST 98质谱数据库进行对照解析, 并鉴定了占精油95%的38个成分。采用峰面积归一化法计算精油中各成分相对含量, 结果见表1。

表1 白芷精油的解析结果

Table 1 Chemical composition of the essential oil from *Angelica dahurica* roots

编号	保留时间/min	化合物名称	相似度/%	相对含量/%
1	3.611	α -蒎烯 α -pinene *	91.7	0.108
2	4.195	β -蒎烯 β -pinene *	92.6	0.155
3	4.874	对伞花烃 p -cymene *	94.5	1.206
4	4.943	D -柠檬烯 D -limonene *	82.4	0.259
5	5.003	桉叶油素 eucalyptol *	93.1	1.06
6	5.442	γ -松油烯 γ -terpinene *	94.2	3.979
7	6.146	芳樟醇 linalool *	93.6	1.906
8	7.771	4-松油醇 4-terpineol *	94.4	0.751
9	8.046	α -松油醇 α -terpineol *	91.5	0.745
10	9.112	枯茗醛 cuminal *	95.0	1.174
11	10.083	茴香脑 anethole	91.6	0.62
12	10.169	p -烯丙基茴香醚 p -allylanisole	86.6	0.466
13	11.544	丁香酚 eugenol	93.8	11.559
14	11.948	异丁香酚 isoeugenol	83.5	0.241
15	12.258	β -榄香烯 β -elemene *	82.9	0.184
16	12.507	十二醛 dodecanal	97.2	1.075
17	12.61	长叶烯 longifolene *	88.0	0.274
18	12.885	石竹烯 caryophyllene *	93.7	1.497
19	13.135	α -香柠檬烯 α -bergamotene *	94.6	0.263

续表1

编号	保留时间/min	化合物名称	相似度/%	相对含量/%
20	13.496	β -金合欢烯 β -farnesene*	85.5	0.274
21	13.582	葑草烯 humulene*	91.8	0.516
22	13.908	环十二烃 cyclododecane	95.4	38.705
23	14.252	未知 unknown	76.0	0.741
24	14.321	未知 unknown	77.8	0.827
25	14.433	8-异丙烯基-1,5-二甲基十环-1,5-二烯 8-isopropenyl-1,5-dimethyl-cyclodeca-1,5-diene*	83.3	1.215
26	14.604	β -红没药烯 β -bisabolene*	98.0	0.848
27	14.965	丁子香酚乙酸酯 eugenol acetate	92.4	2.066
28	15.077	未知 unknown	75.5	0.275
29	15.146	雪竹烯 himachalene*	89.0	0.397
30	15.232	β -马兜烯 β -maaliene*	90.6	0.605
31	15.902	未知 unknown	77.5	0.214
32	16.203	未知 unknown	79.2	0.543
33	16.478	十二醇乙酸酯 acetic acid, dodecyl ester	96.9	1.959
34	16.556	十四醛 tetradecanal	92.4	0.346
35	16.891	α -杜松醇 α -cadinol*	84.9	0.26
36	17.028	未知 unknown	77.9	0.471
37	17.793	1-十五烯醇 1-pentadecanol	94.9	16.781
38	18.301	未知 unknown	75.6	0.577
39	18.833	(Z)-9-十五烯醇 (Z)-9-pentadecenol	99.0	1.876
40	18.928	未知 unknown	81.7	0.672
41	19.435	3-(4-甲氧基苯)-2-丙烯酸乙酯 2-propenoic acid, (4-methoxyphenyl)-, ethyl ester	90.4	0.361
42	19.882	1-十九烯 1-nonadecene	81.7	0.434
43	20.26	未知 unknown	—	0.115
44	21.661	9-十六烯酸 9-hexadecenoic acid	84.4	0.205
45	21.816	5,8,11-十七碳三烯-1-醇 5,8,11-heptadecatrien-1-ol	82.2	0.358
46	22.263	十六酸乙酯 hexadecanoic acid, ethyl ester	85.7	0.129
47	22.977	未知 unknown	77.0	0.524
48	26.286	软木花椒素 suberosin*	98.0	0.187

注：—. 相似度很低，相似度< 80%，定义为未知；*. 萜类化合物。

由表1可知，白芷精油所鉴定的38种成分中16种为非萜类化合物，占77.181%，为精油的主要成分，其中饱和烃类化合物的环十二烃含量最高，占挥发油总量的38.705%；其次为1-十五烯醇占16.781%，丁子香酚占11.559%，脂肪酸酯含量为5.959%。22种为萜类化合物，占17.863%。萜类化合物中有4种萜醇类化合物，占4.462%，15种萜烯类化合物，占11.780%，萜烯类化合物中 γ -松油烯含量最高（3.979%）。这些均与文献报道的差距较大，如主成分环十二烃含量均远远高于郭耀杰等^[16]报道的6.487%和朱立俏等^[13]报道的6.803 2%；1-十五烯醇远远高于赵爱红等^[15]报道的1.44%。这可能是由于产地不同、药材种属不同或原料前处理方法不同等造成的^[19-20]。

2.2 白芷精油对DPPH自由基的清除效果

一些植物精油或者萃取物具有抗氧化作用和对DPPH自由基的清除作用^[21-27]。本研究用水蒸气蒸馏法提取的白芷精油对DPPH自由基进行清除测定结果如图2所示。

由图2可以看出，水蒸气蒸馏法提取的白芷精油对DPPH自由基具有明显的清除作用，精油质量浓度低于16.47 mg/mL时，随精油质量浓度的增加，清除率显著

增大；当精油质量浓度大于16.47 mg/mL时，清除率随精油质量浓度增加的幅度明显降低，即使精油质量浓度从24.70~65.86 mg/mL时，清除率的增加微乎其微。当精油质量浓度在32.93 mg/mL时，清除率已经达到较高的95.09%水平。

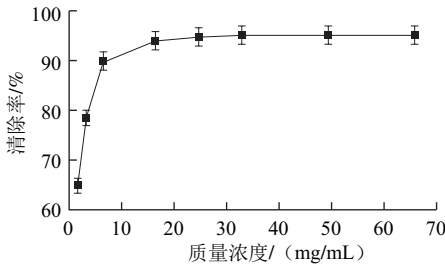


图2 精油质量浓度对DPPH自由基清除率的影响
Fig.2 Effect of the essential oil at various concentrations on the scavenging of DPPH free radicals

由于精油的组成复杂，为醇类、酚类等具有各种官能团的各类化合物的混合物，可以推测，凡是可与自由基进行反应，使自由基形成稳定状态的成分都有可能起到清除DPPH自由基的作用，精油清除DPPH自由基活性应该是各组分清除活性的综合协同作用的结果。由上述成分解析可知白芷精油的主要组成成分是非萜类化合物，占77.181%，但不饱和双键在精油中所占比例极大，可以认为是不饱和双键的含量对清除DPPH自由基起重要作用。

3 结论

3.1 本研究以水蒸气蒸馏萃取法对白芷根部进行蒸馏萃取，以0.52%的产率获得了白芷精油；以GC-MS联用分析精油，共检测出48种成分，其中鉴定了38种成分，由22种萜类化合物和16种非萜类化合物构成，主要成分为环十二烃（38.705%）、1-十五烯醇（16.781%）、丁子香酚（11.559%）。

3.2 采用清除DPPH自由基法测定了白芷精油的抗氧化性。结果表明，白芷精油对DPPH自由基具有明显的清除作用，且随精油质量浓度的增加而增强，当精油质量浓度在32.93 mg/mL时，对DPPH自由基清除率最高可达到95.09%，因此认为白芷精油可以作为天然抗氧化剂使用。至于其抗氧化的机理及清除DPPH自由基活性成分有待进一步研究。

参考文献：

[1] 彭菲. 白芷 独活[M]. 北京: 中国中医药出版社, 2001: 7-11.
[2] GEORG F, JERZY A B, PHILIP K. Fragrance chemistry[J]. Tetrahedron, 1998, 54(27): 7633-7703.

- [3] 高九思, 杨世强, 黄姜, 穿地龙、白芷、紫苑高效栽培技术[M]. 郑州: 河南科学技术出版社, 2004: 101-139.
- [4] BAKKALI F, AVERBECK S, AVERBECK D, et al. Biological effects of essential oils: a review[J]. Food and Chemical Toxicology, 2008, 46(2): 446-475.
- [5] KANG O H, LEE G H, CHOI H J, et al. Ethyl acetate extract from *Angelica dahuricae* radix inhibits lipopolysaccharide-induced production of nitric oxide, prostaglandin E₂ and tumor necrosis factor- α in macrophages[J]. Pharmacological Research, 2007, 55(4): 263-270.
- [6] 张国彬, 薛敦渊, 李兆琳, 等. 杭白芷精油化学成分研究[J]. 兰州大学学报, 1989(3): 159-160.
- [7] 李伟, 陆占国, 封丹, 等. 顶空固相微萃取-气质分析白芷香气成分研究[J]. 中国调味品, 2012, 37(5): 109-112.
- [8] PIAO X L, PARK I H, BAEK S H, et al. Antioxidative activity of furanocoumarins isolated from *Angelica dahuricae*[J]. Journal of Ethnopharmacology, 2004, 93(2/3): 243-246.
- [9] 殷铭俊, 陈执中. 天然药物抗氧化活性成分研究进展[J]. 中国民族民间医药杂志, 2005(2): 65-69; 124.
- [10] 勾明玥, 刘梁, 张春枝. 采用DPPH法测定26种植物的抗氧化活性[J]. 食品与发酵工业, 2010, 36(3): 148-150.
- [11] 吴青, 黄娟, 罗兰欣, 等. 15种中草药提取物抗氧化活性的研究[J]. 中国食品学报, 2006, 6(1): 284-289.
- [12] 成喜雨, 崔馨, 刘春朝, 等. 中草药抗氧化活性研究进展[J]. 天然产物研究与开发, 2006(3): 514-518.
- [13] 朱立俏, 盛华刚. 白芷挥发性成分的GC-MS分析[J]. 广州化工, 2012(23): 103-104; 19.
- [14] 马逾英, 王娜. 不同前处理方法所得白芷挥发油成分的GC-MS分析[J]. 成都中医药大学报, 2009, 32(4): 50-53.
- [15] 赵爱红, 杨鑫宝, 杨秀伟, 等. 兴安白芷的挥发油成分分析[J]. 药物分析杂志, 2012(5): 763-768.
- [16] 郭耀杰, 吴卫, 李静夜, 等. 川白芷不同品种(系)挥发油成分GC-MS分析[J]. 中国实验方剂学杂志, 2013(8): 110-116.
- [17] 王顺民, 郭红转, 陆占国. 芫荽茎叶精油GC/MS解析及清除DPPH自由基作用[J]. 中国粮油学报, 2008, 32(5): 99-102.
- [18] 韩飞, 周孟良, 钱健亚, 等. 抗氧化剂抗氧化活性测定方法及其评价[J]. 粮油食品科技, 2009, 17(6): 54-57.
- [19] 韩学俭. 白芷及其采收加工技术[J]. 四川农业科技, 2001(6): 29.
- [20] 夏黎明, 姚成. 中药白芷的研究现状[J]. 中医药研究, 2002, 18(5): 56-58.
- [21] ŞERBETÇİ T, ÖZSOY N, DEMİRCİ B, et al. chemical composition of the essential oil and antioxidant activity of methanolic extracts from fruits and flowers of *Hypericum lydiu* Boiss[J]. Industrial Crops and Products, 2012, 36(1): 599-606.
- [22] SARIKURKCU C, ARISOY K, TEPE B, et al. Studies on the antioxidant activity of essential oil and different solvent extracts of *Vitex agnus castus* L. fruits from turkey[J]. Food and Chemical Toxicology, 2009, 47(10): 2479-2483.
- [23] LEE W C, MAHMUD R, PILLAI S, et al. Antioxidant activities of essential oil of *Psidium guajava* L. leaves[J]. APCBEE Procedia, 2012, 2: 86-91.
- [24] 吴克刚, 黄洁虹, 柴向华, 等. 植物精油气相清除DPPH自由基的研究[J]. 中国食品添加剂, 2013(3): 110-113.
- [25] 王方, 王灿. 白芷醇提物延缓皮肤衰老与抗氧化作用的相关性研究[J]. 中国药房, 2012(7): 599-602.
- [26] 郑瑞生, 封辉, 戴聪杰, 等. 植物中抗氧化活性成分研究进展[J]. 中国农学通报, 2010(9): 85-90.
- [27] 李大强. 孜然精油的成分分析、抗菌和抗氧化活性[D]. 兰州: 甘肃农业大学, 2012.