



曹先爽, 王进, 宋丽, 等. 全二维气相色谱-飞行时间质谱分析紫藤种子提取物及其杀蚜活性研究[J]. 华南农业大学学报, 2017, 38(5): 67-73.

全二维气相色谱-飞行时间质谱分析紫藤种子 提取物及其杀蚜活性研究

曹先爽¹, 王 进¹, 宋 丽¹, 姜 浩^{1,2}, 姚 曦¹, 汤 锋¹, 岳永德¹

(1 国际竹藤中心 国家林业局竹藤科学与技术重点实验室, 北京 100102;

2 安徽农业大学 茶树生物学与资源利用国家重点实验室, 安徽 合肥 230036)

摘要:【目的】通过对紫藤 *Wisteria sinensis* 种子提取物的化学成分分析及杀蚜活性测定和抗氧化活性评价, 为紫藤种子资源在植物源农药领域的利用提供基础。【方法】以紫藤种子提取物为材料, 采用全二维气相色谱-飞行时间质谱(GC×GC-TOF/MS)技术进行成分分析, 以微量点滴法开展对棉蚜 *Aphis gossypii* 的触杀毒力测定, 用 2,2-二苯基-1-苦基肼(DPPH)自由基清除法进行抗氧化活性评价。【结果】从紫藤种子石油醚提取物中检测到 61 种化合物, 主要包括酯类、烷烃类、芳香烃类等化合物, 其中相对含量大于 9% 的化合物有: 对二甲苯(14.33%)、十一烷(11.89%)、1,4-二乙基苯(11.02%)和癸烷(9.54%)。紫藤种子提取物对棉蚜的致死中质量浓度(LC₅₀)为 193.22 mg·L⁻¹(处理后 24 h)。同时, 紫藤种子提取物具有抗氧化活性, 对 DPPH 的抑制中质量浓度(IC₅₀)为 4.15 g·L⁻¹。【结论】紫藤种子提取物具有较强的杀蚜活性, 有望作为植物源杀蚜剂用于棉蚜的防治。

关键词: 紫藤; 种子提取物; 全二维气相色谱-飞行时间质谱; 化学成分; 触杀活性; 棉蚜; 抗氧化活性

中图分类号: S482.1; S433

文献标识码: A

文章编号: 1001-411X(2017)05-0067-07

GC×GC-TOF/MS analysis of the seed extract of *Wisteria sinensis* and the insecticidal activity

CAO Xianshuang¹, WANG Jin¹, SONG Li¹, JIANG Hao^{1,2}, YAO Xi¹, TANG Feng¹, YUE Yongde¹

(1 SFA Key Laboratory of Bamboo and Rattan Science and Technology, International Centre for Bamboo and Rattan, Beijing 100102, China; 2 State Key Laboratory of Tea Plant Biology and Utilization, Anhui Agricultural University, Hefei 230036, China)

Abstract: 【Objective】To analyze the chemical composition, insecticidal and antioxidant activities of the seed extract of *Wisteria sinensis*, and provide a basis for developing botanical pesticide from *W. sinensis* germplasm resources. 【Method】The seed extract of *W. sinensis* was analyzed by comprehensive two-dimensional gas chromatography-time-of-flight mass spectrometry (GC×GC-TOF/MS). The toxicity against *Aphis gossypii* was determined by topical application bioassay. The antioxidant activity was evaluated using the 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) radical scavenging method. 【Result】A total of 61 components were identified from the seed extract of *W. sinensis*, mainly including esters, alkane, arene, etc. The constituents with higher than 9% relative content were p-xylene (14.33%), undecane (11.89%), 1,4-diethyl-benzene (11.02%) and decane (9.54%). The seed extract of *W. sinensis* showed insecticidal activity against *A. gossypii* with the LC₅₀ value of 193.22 mg·L⁻¹ after 24 h treatment, and also showed antioxidant activity with the IC₅₀ value of 4.15 g·L⁻¹ against DPPH. 【Conclusion】The seed extract of *W. sinensis*

收稿日期: 2016-11-19 优先出版时间: 2017-07-14

优先出版网址: <http://kns.cnki.net/kcms/detail/44.1110.s.20170714.0859.024.html>

作者简介: 曹先爽(1992—), 女, 硕士研究生, E-mail: 18811717100@163.com; 通信作者: 王 进(1977—), 男, 副研究员, 博士, E-mail: wangjin@icbr.ac.cn

基金项目: “十三五”国家重点研发计划(2016YFD0600801); 国际竹藤中心基本科研业务费专项(1632014009)

has strong insecticidal activity, and has the potential to be developed into a natural insecticide for controlling *A. gossypii*.

Key words: *Wisteria sinensis*; seed extract; GC×GC-TOF/MS; chemical composition; contact toxicity; *Aphis gossypii*; antioxidant activity

植物源农药具有环境友好、低毒和不易产生抗性等优点,是一种理想的生物农药,越来越受到关注。紫藤 *Wisteria sinensis* 是紫藤属的藤本植物,在我国分布广泛,资源丰富^[1-2]。紫藤提取物具有抗氧化^[3-4]、抑菌^[5-6]、抗炎^[7]和抗肿瘤^[8]等生物活性,其中紫藤花提取物的抗氧化能力与其含有的总酚和总黄酮含量呈正相关^[9]。在病虫害防治方面,Hirashiki 等^[10]报道了紫藤种子中含有的蛋白酶抑制剂在植物防御病虫害中担当重要角色。目前,对紫藤植物的花、茎和叶等部位的生物活性及化学成分的研究都有涉及,但对紫藤种子的研究相对较少^[11-14]。在民间,紫藤种子晾干捣碎,经水浸泡后的浸出液,可作为土农药用于杀虫^[15]。据《本草拾遗》记载,紫藤种子味甘、性温、有小毒。高希武^[16]报道了紫藤种子的丙醇提取物对苹果蠹蛾 *Cydia pomonella* 幼虫有毒性。陈凡等^[17]从紫藤种子的蛋白粗提液中得到了紫藤凝集素,主要含有谷氨酸、天冬氨酸。朱立成^[18]利用离子交换层析、凝胶过滤等色谱技术,从紫藤种子中分离纯化出 2 种新的抗真菌肽,命名为 WsAFPI 和 WsAFP2,它们对油菜菌核病菌 *Sclerotinia sclerotiorum* 和烟草赤星病菌 *Alternaria alternata* 的生长具有抑制作用。棉蚜 *Aphis gossypii* 是一种重要的农业害虫,对棉花等多种农作物均有危害作用。它不仅吸食植物汁液,破坏植物生长,还能传播植物病毒病,给农业生产带来严重的损失^[19-20]。在生产中,常用化学农药进行棉蚜的防治,但容易造成棉蚜的抗药性以及农药残留等问题,因此,利用植物源农药进行棉蚜害虫的防治值得研究。本研究利用全二维气相色谱-飞行时间质谱(GC×GC-TOF/MS)分析了紫藤种子石油醚提取物的化学成分,并评价了紫藤种子提取物对棉蚜的触杀活性及抗氧化能力,旨在为紫藤种子提取物作为植物源农药应用提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

紫藤种子于 2015 年 10 月从北京中国林业科学研究院采集,在室内自然风干,从紫藤荚中取出种子并粉碎,置于-20℃冰柜中备用。

甲醇、正己烷(色谱纯),美国 Fisher 公司产品;吡虫啉,纯度为 96%(w),国家农药质量监督检验中心产品;2,6-二叔丁基-4-甲基苯酚(butylated hydroxytoluene, BHT)和 2,2-二苯基-1-苦基肼(2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl, DPPH),美国 Sigma-Aldrich 公司产品;丙酮、乙酸乙酯、石油醚(分析纯),北京化工厂产品。

1.2 供试蚜虫

供试棉蚜生活于棉花幼苗叶片表面,于光照培养箱中培养,培养箱温度为(28±1)℃,相对湿度(RH)为 70%±5%,光周期为 16 h 光照:8 h 黑暗。

1.3 紫藤种子提取物制备

取粉碎后紫藤种子样品 100 g 于 700 mL 石油醚中,超声波提取 30 min,重复提取 3 次,合并提取液,经布氏漏斗抽滤,在旋转蒸发仪(45℃)中浓缩去除石油醚相,浓缩后的提取物为黄色油状物。取 10 μL 的紫藤种子提取物溶于 1 mL 正己烷中,用 GC×GC-TOF/MS 分析。

1.4 紫藤种子提取物的色谱层析馏分

将紫藤种子石油醚提取物用硅胶柱色谱分离,在玻璃柱(内径 26 mm、柱长 500 mm)填充硅胶(200~300 目,青岛海洋化工厂产品)后,按照质量比 1:10 的比例上样,分别用石油醚、石油醚+乙酸乙酯(二者体积比为 7:3)、乙酸乙酯、乙酸乙酯+甲醇(二者体积比为 6:4)、乙酸乙酯+甲醇(二者体积比为 2:8)、甲醇进行梯度洗脱,每个梯度使用 2 倍柱体积(柱体积约为 200 mL)的洗脱液,收集每个梯度的馏分,在 45℃条件下减压浓缩,然后分别对每个馏分进行杀蚜活性评价。

1.5 GC×GC-TOF/MS 分析

利用 Pegasus 4D 全二维气相色谱-飞行时间质谱进行样品分析,仪器由美国 LECO 公司生产,分析条件:进样口及传输线温度设为 240 和 280℃;进样量 1 μL;色谱柱为一维柱,即 Rxi-5 Sil MS 石英毛细柱(内径 0.25 mm×柱长 30 m,膜厚 0.25 μm),二维柱即 Rxi-17 Sil MS 石英毛细柱(内径 0.18 mm×柱长 2 m,膜厚 0.18 μm)。一维柱升温程序:50℃保持 0.2 min,以 8.0℃·min⁻¹ 速度升至 280℃;二维柱炉温补偿 5℃;热脉冲 0.8 s,调制周期 4.0 s;载气

为高纯氦气 1.0 mL·min⁻¹; 载气分流比为 50: 1。质谱参数: 离子源温度 250 ℃; 检测器电压 1 420 V; 质量扫描范围(*m/z*)33~550; 采集频率 100 spec·s⁻¹。

1.6 触杀活性测定

采用微量点滴法进行棉蚜触杀活性的测定^[21], 在棉花幼苗叶片上, 用毛笔剔除若虫, 选取健康活泼、大小一致的无翅成蚜(≥30 头)为供试对象, 将紫藤种子提取物溶于丙酮溶剂中, 采用倍半稀释法将供试溶液的质量浓度配成 500.00、250.00、125.00、62.50 和 31.25 mg·L⁻¹, 用 Burkard-900X 型自动微量施药器对棉蚜背部进行点滴施药, 设置丙酮溶剂为空白对照, 吡虫啉为阳性对照, 每个处理重复 3 次, 然后用湿棉花包住叶柄保湿, 放在培养皿(内径 9.0 cm×高 1.5 cm)中, 将培养皿放置在光照培养箱中[θ=(28±1) ℃、RH=(70±5) %、光周期为 16 h 光照:8 h 黑暗]培养, 24 h 后检查蚜虫死亡情况, 并计算校正死亡率和致死中浓度(Median lethal concentration, LC₅₀)。

1.7 紫藤石油醚提取物的抗氧化活性测定

采用 DPPH 自由基清除法, 评价紫藤提取物的抗氧化活性^[22], 以乙醇为溶剂, 分别配制 0.125 mmol·L⁻¹ 的 DPPH 溶液、10 mg·mL⁻¹ 的紫藤提取物溶液和 0.5 mg·mL⁻¹ 的阳性对照 BHT 的溶液, 分别取上述样品 0.60、0.50、0.30、0.10 和 0.07 mL, 加入乙醇定容至 1 mL 后, 再加入 2 mL DPPH, 混合摇匀, 以乙醇溶剂为空白对照, BHT 为阳性对照, 每个处理重复 3 次, 在 37 ℃ 摇床上反应 30 min, 用紫外分光光度计测定样品在 517 nm 的光密度(*D*_{517 nm})。

1.8 数据处理

1.8.1 棉蚜死亡率和校正死亡率 棉蚜死亡率和校正死亡率计算公式: 死亡率=死亡虫数/总虫数×100%, 校正死亡率=(处理组死亡率-对照组死亡率)/(1-对照组死亡率)×100%。

差异显著性分析用统计软件(Statistical product and service solutions, SPSS)在 *P*=0.05 时用单因素方差分析和邓肯显著性检验, 杀虫活性的致死中浓度(LC₅₀)根据概率回归分析计算。

1.8.2 DPPH 自由基清除率 DPPH 自由基清除率=(*D*₀-*D*₁)/*D*₀×100%, 其中: *D*₀ 为空白对照样品的光密度; *D*₁ 为处理样品的光密度。计算结果用于制作样品质量浓度和自由基清除率相关的曲线, 并根据该曲线的回归模型计算出抑制中浓度(Half maximal inhibitory concentration, IC₅₀), IC₅₀ 的数值越小, 所表征出的活性越高。

2 结果与分析

2.1 紫藤种子提取物的 GC×GC-TOF/MS 分析结果

经测定, 紫藤种子提取物的得率(*w*)为 6.5%, 利用 GC×GC-TOF/MS 对紫藤提取物进行分析, 采用峰面积归一化法计算各化合物的相对含量, 通过比对 NIST2011 谱库, 把匹配度大于 80% 的化合物列于表 1。由表 1 可以看出, 从紫藤种子石油醚提取物中共鉴定出 61 种成分, 包括酯类、烷烃类、芳香烃类等。根据面积归一化法计算, 检出峰的面积占总峰面积的 88.38%, 其中, 相对含量在 2% 以上的

表 1 紫藤种子石油醚提取物化学成分全二维气相色谱-飞行时间质谱分析

Tab. 1 Chemical compounds identified from the petroleum ether extract of *Wisteria sinensis* seeds by GC×GC-TOF/MS

序号	化合物	<i>t</i> _{一维保留/s}	<i>t</i> _{二维保留/s}	分子式	相对含量/%
1	乙酸丙酯	184	0.88	C ₅ H ₁₀ O ₂	0.79
2	1,1-二乙氧基乙烷	188	0.82	C ₆ H ₁₄ O ₂	1.69
3	乙酸仲丁酯	208	0.94	C ₆ H ₁₂ O ₂	0.24
4	甲苯	216	1.10	C ₇ H ₈	4.74
5	乙酸丁酯	248	1.13	C ₆ H ₁₂ O ₂	2.20
6	乙基苯	292	1.35	C ₈ H ₁₀	3.34
7	对二甲苯	300	1.36	C ₈ H ₁₀	14.33
8	1,3,5,7-环辛四烯	320	1.58	C ₈ H ₈	0.09
9	邻二甲苯	320	2.14	C ₈ H ₁₀	0.41
10	正壬烷	324	0.88	C ₉ H ₂₀	0.25
11	反式-1-甲基-2-(2-丙烯基)-环戊烷	364	1.05	C ₉ H ₁₆	0.11
12	3-乙基-2-甲基庚烷	368	0.91	C ₁₀ H ₂₂	0.38
13	丙基苯	384	1.48	C ₉ H ₁₂	0.07
14	异癸烷	392	0.91	C ₁₀ H ₂₂	0.67

续表 1 Tab. 1 continued

序号	化合物	<i>t</i> _{一维保留} /s	<i>t</i> _{二维保留} /s	分子式	相对含量/%
15	3-乙基甲苯(间甲乙苯)	392	1.51	C ₉ H ₁₂	0.26
16	3-甲基壬烷	400	0.92	C ₁₀ H ₂₂	0.55
17	联三甲苯	400	1.52	C ₉ H ₁₂	2.19
18	对-甲乙苯	412	1.61	C ₉ H ₁₂	0.15
19	1-甲基-2-丙基-环戊烷	420	1.06	C ₁₀ H ₂₀	0.70
20	3,4-二甲基葵烷	428	0.93	C ₁₂ H ₂₆	0.09
21	癸烷	432	0.98	C ₁₀ H ₂₂	9.54
22	2-甲基丙基苯	444	1.48	C ₁₀ H ₁₄	0.06
23	2,2,3,5,5,6,6-七甲基-3-庚烯	448	1.07	C ₁₄ H ₂₈	0.29
24	螺[4,5]癸烷	452	1.23	C ₁₀ H ₁₈	0.42
25	5-乙基-2-甲基庚烷	456	0.93	C ₁₀ H ₂₂	2.77
26	邻伞花烃	464	1.52	C ₁₀ H ₁₄	0.47
27	Z-1,4-二甲基-环辛烷	468	1.02	C ₁₀ H ₂₀	0.38
28	丁基环己烷	472	1.15	C ₁₀ H ₂₀	1.67
29	3,7-二甲基壬烷	476	0.96	C ₁₁ H ₂₄	0.56
30	二氢化茚	476	1.97	C ₉ H ₁₀	0.10
31	1-甲基-3-(2-甲基丙基)环戊烷	480	1.04	C ₁₀ H ₂₀	0.62
32	2-甲基-4,5-壬二烯	480	0.32	C ₁₀ H ₁₈	0.16
33	八氢-5-甲基-1H-茚	488	1.32	C ₁₀ H ₁₈	0.25
34	1,4-二乙基苯	488	1.64	C ₁₀ H ₁₄	11.02
35	2-甲基癸烷	504	0.96	C ₁₁ H ₂₄	2.58
36	1-乙基-2-丙基-环己烷	508	1.12	C ₁₁ H ₂₂	0.51
37	反式十氢化萘	508	1.38	C ₁₀ H ₁₈	1.38
38	仲丁基苯	508	1.67	C ₁₀ H ₁₄	0.55
39	3-甲基癸烷	512	0.97	C ₁₁ H ₂₄	0.70
40	1-十一炔	512	1.22	C ₁₁ H ₂₀	0.35
41	间伞花烃	524	1.69	C ₁₀ H ₁₄	0.98
42	1-羟基甲基-1,3-二甲基环戊烷	532	1.12	C ₈ H ₁₆ O	1.00
43	2-十一炔	532	1.31	C ₁₁ H ₂₀	0.28
44	1-苯基-1-丁烯	532	1.91	C ₁₀ H ₁₂	0.86
45	1,3-二甲基-2-乙基苯	536	1.78	C ₁₀ H ₁₄	0.17
46	对乙基苯乙烯	540	1.84	C ₁₀ H ₁₂	0.12
47	十一烷	544	1.03	C ₁₁ H ₂₄	11.89
48	2,3-二氢-1,1-二甲基-1H-茚	552	1.78	C ₁₁ H ₁₄	0.16
49	2-甲基-2-十一烷硫醇	556	1.16	C ₁₂ H ₂₆ S	0.12
50	2-丁烯基苯	564	1.91	C ₁₀ H ₁₂	0.08
51	十氢-2-甲基萘	568	1.36	C ₁₁ H ₂₀	0.53
52	3,7-二甲基癸烷	572	0.99	C ₁₂ H ₂₆	0.30
53	1,2,3,4-四甲基苯	572	1.80	C ₁₀ H ₁₄	0.23
54	戊基环乙烷	588	1.21	C ₁₁ H ₂₂	0.48
55	1-甲基萘烷	588	1.41	C ₁₁ H ₂₀	0.52
56	2,6-二甲基十一烷	604	1.00	C ₁₃ H ₂₈	0.16
57	1-乙基-2,3-二甲基苯	604	1.95	C ₁₀ H ₁₄	0.13
58	1-甲基茚	604	2.08	C ₁₀ H ₁₂	0.07
59	4-甲基十三烷	616	1.00	C ₁₄ H ₃₀	0.10
60	1,2,3,4-四氢萘	620	2.20	C ₁₀ H ₁₂	0.04
61	萘	648	2.60	C ₁₀ H ₈	2.53
合计					88.38

成分有: 对二甲苯(14.33%)、十一烷(11.89%)、1,4-二乙基苯(11.02%)、癸烷(9.54%)、甲苯(4.74%)、乙基苯(3.34%)、5-乙基-2-甲基庚烷(2.77%)、2-甲基癸烷(2.58%)、萘(2.53%)和乙酸丁酯(2.20%)。

2.2 紫藤种子提取物及其洗脱馏分的杀蚜活性筛选

采用微量点滴法, 对供试的紫藤种子提取物及其不同洗脱馏分进行杀虫活性评价, 计算每个供试样品在处理 24 h 后的棉蚜死亡率, 结果见表 2。从表 2 可以看出, 紫藤种子石油醚提取物具有较好的

杀蚜活性, 在处理质量浓度为 500 mg·L⁻¹ 时, 蚜虫的死亡率达到 80.33%。通过硅胶柱对紫藤种子石油醚提取物进行色谱分离, 获得了 6 个色谱洗脱馏分(表 2 中编号 1~6), 在不同馏分的杀蚜活性筛选中, 发现乙酸乙酯+甲醇(二者体积比为 2:8)洗脱馏分的杀虫活性最高, 棉蚜的死亡率达到 85.80%, 说明紫藤种子石油醚提取物中的杀蚜活性组分, 主要集中在该馏分, 因此, 进一步对乙酸乙酯+甲醇(二者体积比为 2:8)洗脱馏分和紫藤种子石油醚提取物进行毒力回归分析。

表 2 紫藤种子提取物及其不同洗脱馏分处理 24 h 后的杀蚜活性

Tab. 2 Insecticidal activity of the seed extract of *Wisteria sinensis* and different elution fractions against *Aphis gossypii* after 24 h treatment

编号	样品名称	ρ /(mg·mL ⁻¹)	死亡率 ¹⁾ /%	校正死亡率/%
1	石油醚洗脱馏分	300	45.75±1.43d	43.34
2	$V(\text{石油醚}): V(\text{乙酸乙酯})=7:3$ 洗脱馏分	300	39.74±0.63e	37.07
3	乙酸乙酯洗脱馏分	300	44.74±2.04de	42.29
4	$V(\text{乙酸乙酯}): V(\text{甲醇})=6:4$ 洗脱馏分	300	64.22±4.84c	62.63
5	$V(\text{乙酸乙酯}): V(\text{甲醇})=2:8$ 洗脱馏分	300	85.80±3.10a	85.17
6	甲醇洗脱馏分	300	68.51±6.35c	67.11
7	石油醚提取物	500	80.33±2.52b	79.70
8	空白对照	0	4.25±2.10f	0

1)该列数据为平均值±SE, 该列数据后凡是有一个相同小写字母者, 表示样品间差异不显著($P>0.05$, Duncan's 法)。

2.3 紫藤种子提取物对棉蚜的触杀毒力回归分析

将紫藤种子石油醚提取物和乙酸乙酯+甲醇(二者体积比为 2:8)洗脱馏分的样品对棉蚜的触杀生物活性进行毒力回归分析, 并与阳性对照吡虫啉进行比较, 分析结果见表 3。从表 3 可知, 供试的紫藤种子石油醚提取物及其洗脱馏分, 均对棉蚜虫有较

好的触杀作用, 其致死中浓度(LC₅₀)分别为 193.22 和 86.88 mg·L⁻¹。用 LC₅₀ 值表征紫藤种子提取物的触杀能力, LC₅₀ 值越小代表触杀能力越强, 紫藤种子石油醚提取物的 LC₅₀ 值是农药吡虫啉 LC₅₀ 值的 15 倍, 但作为植物源提取物来说, 其杀虫活性值得研究。

表 3 紫藤种子石油醚提取物及洗脱馏分对棉蚜 24 h 的触杀活性

Tab. 3 Contact toxicity of petroleum ether extract of *Wisteria sinensis* seeds and the elution fraction against *Aphis gossypii* after 24 h treatment

样品	LC ₅₀ /(mg·L ⁻¹)	95% 置信区间/(mg·L ⁻¹)	回归方程斜率±标准误	χ^2
石油醚提取物	193.22	119.16~383.88	2.48±0.27	7.26
$V(\text{乙酸乙酯}): V(\text{甲醇})=2:8$ 洗脱馏分	86.88	42.19~146.35	3.75±0.40	4.17
吡虫啉(阳性对照)	12.53	10.10~15.46	1.17±0.10	1.17

2.4 紫藤石油醚提取物的抗氧化活性

采用 DPPH 自由基清除法, 测定紫藤种子石油醚提取物的抗氧化活性, 以 BHT 为阳性对照, 结果见表 4。从表 4 看出, 在试验设置的质量浓度范围内, 紫藤种子石油醚提取物的质量浓度与其抗氧化

活性呈线性关系($R^2\geq 0.968$), 紫藤石油醚提取物具有一定的抗氧化能力, 其抑制中浓度(IC₅₀)为 4.15 g·L⁻¹。用 IC₅₀ 表征紫藤种子石油醚提取物的抗氧化能力, IC₅₀ 越小所表征的抗氧化能力越强。

表 4 紫藤种子石油醚提取物的抗氧化活性

Tab. 4 Antioxidant activity of the petroleum ether extract of *Wisteria sinensis* seeds

样品	回归方程 ¹⁾	决定系数 R^2	IC ₅₀ /(g·L ⁻¹)
石油醚提取物	$y=80.749x+117.44$	0.968 8	4.15
BHT(阳性对照)	$y=0.325\ 5x+32.654$	0.984 7	0.05

1)式中,y为供试样品的质量浓度,x为DPP自由基清除率。

3 讨论与结论

在紫藤种子提取物的化学成分分析中,发现一些化合物的保留时间相似,在一维色谱中难以分开,而在二维色谱中能够较好地分离,结合飞行时间质谱进行定性,鉴定结果的可靠度更高。徐敬东^[5]采用气相色谱-质谱联用法(GC-MS)分析了紫藤种子超临界 CO₂ 提取物,鉴定出了 21 种化合物,相对含量较高的为亚油酸(62.13%)和十六碳烯酸(17.46%),从水蒸气蒸馏法制备的紫藤提取物中,鉴定出 47 种化合物,相对含量较高的化合物为棕榈酸(19.10%)和油酸(7.58%)。上述研究结果与本研究中的紫藤种子提取物成分差异较大,可能由于种子产地来源以及提取工艺方法的不同,造成了检出化学成分的差异。另外,紫藤植物不同组织部位的化学成分也存在差异,如,金振国等^[23]采用 GC-MS 分析紫藤莢提取物的化学成分,其中 2,3-环氧基-1-丁醇和乙酸乙酯的相对含量较高。Mohamed 等^[8]从紫藤叶甲醇提取物中分离鉴定出 9 种化合物,其中 6 种为黄酮类化合物。植物化学成分是其生物活性的物质基础,上述结果对于紫藤的生物活性研究具有重要意义。

本研究采用 GC×GC-TOF/MS 技术对紫藤种子石油醚提取物进行分析,共鉴定出 61 种成分,相对含量较高的成分有:对二甲苯(14.33%)、十一烷(11.89%)和 1,4-二乙基苯(11.02%)等。李轲轲等^[24]研究了二甲苯对蚜虫的行为反应,发现二甲苯在较低剂量时就可以引起蚜虫死亡。另外,杨红等^[25]研究表明,二甲苯以 ϕ 为 4% 的体积分数,就能对菜青虫细胞产生 78% 的致死率。因此,本研究中紫藤种子提取物中相对含量较高的对二甲苯对杀蚜活性起到重要作用。

本研究表明,紫藤种子石油醚提取物对棉蚜虫有较好的触杀作用,其 LC₅₀ 为 193.22 mg·L⁻¹,通过对紫藤种子提取物的硅胶柱色谱分离表明,其杀蚜活性成分集中在乙酸乙酯+甲醇(二者体积比为 2:8)的洗脱馏分,有文献报道,从骆驼蓬 *Peganum*

harmala 中分离出的骆驼蓬碱具有较好的杀虫活性,合成制备的 2 种骆驼蓬碱单体化合物对芥末蚜虫的 LC₅₀ 为 53.16 和 68.05 mg·L⁻¹(处理 48 h)^[26]。华北白前 *Cynanchum mongolicum* 精油对大豆蚜虫的 LC₅₀ 为 37.8 μL·mL⁻¹(处理 24 h)^[27]。和紫藤植物一样,华北白前和骆驼蓬 2 种植物也在民间用于杀虫。本研究中,紫藤种子石油醚提取物具有一定的抗氧化能力,其 IC₅₀ 为 4.15 g·L⁻¹。一般来说,植物源农药具有稳定性差、易降解的特点,通过加入抗氧化剂来清除氧自由基或阻断链式自由基氧化反应,是增加或改善植物源农药稳定性的方法之一^[28]。本研究表明,紫藤种子提取物具有一定的抗氧化活性,将有助于其制剂的稳定性。因此,紫藤种子石油醚提取物具有开发成植物源杀蚜剂的潜力。

参考文献:

[1] 蒋新龙. 紫藤红色素的提取工艺及性质研究[J]. 浙江树人大学学报(自然科学版), 2010, 10(1): 10-15.

[2] 戴振伦, 程传宏, 马维军, 等. 保康县紫藤资源调研初报[J]. 北京林业大学学报, 2012, 34(S1): 228-230.

[3] OH W G, JANG I C, JEON G I, et al. Antioxidative activity of extracts from *Wisteria floribunda* flowers[J]. J Korean Soc Food Sci Nutr, 2008, 37(6): 677-683.

[4] 李会端. 酶解法提取紫藤总黄酮及自由基清除活性研究[J]. 河南师范大学学报(自然科学版), 2014, 42(3): 79-84.

[5] 徐敬东. 紫藤提取物抑真菌活性及其化学成分研究[D]. 合肥: 安徽农业大学, 2014.

[6] 姜艳华, 樊晓晖, 姜华. 紫藤活性成分的提取与抑菌作用初探[J]. 河南农业科学, 2009, 38(3): 60-62.

[7] TAI B H, TRUNG T N, NHIEM N X. A new flavan-3-ol and the anti-inflammatory effect of flavonoids from the fruit peels of *Wisteria floribunda*[J]. J Asian Nat Prod Res, 2011, 13(11): 1061-1068.

[8] MOHAMED M A, HAMED M M, ABDOU A M, et al. Antioxidant and cytotoxic constituents from *Wisteria sinensis*[J]. Molecules, 2011, 16(12): 4020-4030.

[9] 傅茂润, 王晓, 陈庆敏, 等. 紫藤花提取物的抗氧化作用[J]. 食品与发酵工业, 2009, 35(12): 82-85.

[10] HIRASHIKI I, OGATA F, YOSHIDA N, et al. Puri-

fication and complex formation analysis of a cysteine proteinase inhibitor (cystatin) from seeds of *Wisteria floribunda*[J]. J Biochem, 1990, 108(4): 604-608.

[11] 董爱文, 向中, 王国庆. 不同处理的紫藤花萼中黄色素提取及理化性质研究[J]. 食品工业科技, 2014, 35(7): 255-259.

[12] 宋晓, 姜国良, 赵雪梅. 紫藤根茎叶化学成分预实验[J]. 泰山医学院学报, 2013, 34(11): 832-835.

[13] 吴培云, 刘劲松, 陈爱民, 等. 紫藤瘤提取物抗病病原菌活性研究[J]. 中成药, 2012, 34(10): 2018-2020.

[14] 许应生, 吴培云, 刘劲松, 等. 紫藤瘤不同溶剂提取部位抗农作物病原真菌活性研究[J]. 广西植物, 2013, 33(1): 133-135.

[15] 王利民. 如何自制植物性杀虫剂[J]. 中国花卉盆景, 2001(6): 21.

[16] 高希武. 介绍几种杀虫植物[J]. 农药, 1987(2): 44.

[17] 陈凡, 陈海芳, 傅俊. 紫藤凝集素的分离纯化及理化性质研究[J]. 武汉植物学研究, 1994, 12(3): 270-276.

[18] 朱立成. 中国紫藤种子抗真菌肽的研究[D]. 上海: 中国科学院上海生命科学研究院, 2010.

[19] KOO H N, AN J J, PARK S E, et al. Regional susceptibilities to 12 insecticides of melon and cotton aphid, *Aphis gossypii* (Hemiptera: Aphididae) and a point mutation associated with imidacloprid resistance[J]. Crop Prot, 2014, 55(1): 91-97.

[20] 胡道武, 高雪珂, 张帅, 等. 棉蚜寄主植物与棉平突蚜茧蜂寄生选择的关系[J]. 中国生物防治学报, 2016, 32(5): 581-586.

[21] JIANG H, WANG J, SONG L, et al. GC×GC-TOFMS analysis of essential oils composition from leaves, twigs and seeds of *Cinnamomum camphora* L. Presl and their insecticidal and repellent activities[J]. Molecules, 2016, 21(4): 423.

[22] WANG J, CAO X, JIANG H, et al. Antioxidant activity of leaf extracts from different *Hibiscus sabdariffa* accessions and simultaneous determination five major antioxidant compounds by LC-Q-TOF-MS[J]. Molecules, 2014, 19(12): 21226-21238.

[23] 金振国, 刘萍, 王香婷. 气相色谱/质谱法分析紫藤挥发油化学成分[J]. 商洛学院学报, 2012, 26(4): 3-5.

[24] 李轲轲, 吴孔明, 丛斌, 等. 农药常用有机溶剂对烟蚜、棉蚜和大豆蚜定居行为的影响[J]. 农药学学报, 2004, 6(1): 67-70.

[25] 杨红, 周青春, 王家坤, 等. 利用菜青虫细胞检测几种有机溶剂和有机磷农药的毒力[J]. 植物保护学报, 1996, 23(1): 79-83.

[26] ZENG Y, ZHANG Y, WENG Q, et al. Cytotoxic and insecticidal activities of derivatives of harmine, a natural insecticidal component isolated from *Peganum harmala*[J]. Molecules, 2010, 15(11): 7775-7791.

[27] YANG W, ZHAO A, CONGAI Z, et al. Composition of the essential oil of *Cynanchum mongolicum* (Asclepiadaceae) and insecticidal activities against *Aphis glycines* (Hemiptera: Aphididae)[J]. Pharmacogn Mag, 2014, 10(S11): S130-S134.

[28] 代光辉, 顾振芳, 陈晓斌. 植物源农药稳定性研究进展[J]. 世界农药, 2002, 24(4): 25-27.

【责任编辑 李晓卉】