

纵条纹炭角菌石油醚萃取物的挥发性成分分析

罗静, 杨伟, 伍娇琪, 任青媛, 黄毅* (西南科技大学生命科学与工程学院, 四川绵阳 621010)

摘要 [目的] 分析炭角菌科药食真菌纵条纹炭角菌(*Xylaria striata* Pat. 1887)子实体石油醚萃取物的化学成分。[方法] 采用气相色谱-质谱联用技术(GC-MS)对纵条纹炭角菌乙醇提取石油醚萃取物进行测定, 使用NIST谱图库自动检索结合人工比对确定其化学成分, 并利用峰面积归一法计算各成分相对百分含量。[结果] 共分离出37个色谱峰, 经文献与标准图谱对照分析, 鉴定出30个化合物, 鉴定成分占流出峰总面积的98.43%。纵条纹炭角菌石油醚萃取物主要包括脂肪酸及其酯类(77.58%), 以及甾体类化合物(19.44%)。含量最高的是反式-亚油酸甲酯(38.23%), 其次为棕榈酸甲酯(19.12%)、麦角甾醇(17.06%)、9-顺, 12-反-亚油酸甲酯(5.15%)、油酸甲酯(4.43%)以及硬脂酸甲酯(3.3%)等。[结论] 研究结果为该食药两用真菌在农业和医药等领域的开发利用提供了理论依据。

关键词 纵条纹炭角菌; 石油醚萃取物; 气相色谱-质谱联用; 化学成分分析

中图分类号 S567.3 **文献标识码** A **文章编号** 0517-6611(2017)17-0001-03

Analysis of Volatiles of Petroleum Fraction of *Xylaria striata*

LUO Jing, YANG Wei, WU Jiao-qi, HUANG Yi* et al (School of Life Science and Engineering, Southwest University of Science and Technology, Mianyang, Sichuan 621010)

Abstract [Objective] To analyze the chemical constituents of petroleum fraction from the fruiting body of *Xylaria striata*. [Method] The petroleum extracts from *X. striata* were extracted by ethanol and then the petroleum fraction was analyzed by GC-MS. After using NIST spectrum database and artificial comparison, the chemical composition was confirmed. And relative percentage of each component was calculated by peak area normalization method. [Result] 37 peaks were separated, and 30 compounds were identified based on NIST spectral library and corresponding literature information, which took 98.43% of total peaks. Most of them were fat acids and their esters (77.58%), steroids (19.44%). The content of methyl linoleate was the highest (38.23%), followed by methyl palmitate (19.12%), 9-cis, 12-trans, methyl linoleate (5.15%), methyl oleate (4.43%) and methyl stearate (3.3%). [Conclusion] The research can provide some theoretical basis for the exploration and utilization of *X. striata*.

Key words *Xylaria striata*; Petroleum fraction; GC-MS; Chemical constituents

纵条纹炭角菌(*Xylaria striata* Pat. 1887), 隶属于囊菌门盘菌亚门粪壳菌纲炭角菌亚纲炭角菌目炭角菌科炭角菌属(*Xylaria* Hill ex Schrank)。该菌是一种植物内生菌, 夏季埋生或表生于阔叶树的腐朽树皮和活树根上, 民间将其作为药用菌使用, 幼嫩子实体还可直接食用, 味道鲜美^[1]。现有文献已报道同属其他炭角菌的多种生物学功效^[2-5]和分离获得的一系列活性化合物^[6-9], 表明炭角菌属具有较高的科研开发价值。笔者所在课题组于2013年开始对该菌进行系统研究, 目前已完成并优化了该菌的实验室人工培养方法^[10-12]和活性初筛工作。活性筛选结果表明, 纵条纹炭角菌乙醇提取物具有较强的抗菌^[13]和抗肿瘤活性^[14]。同时, 化合物的成分分离鉴定工作也同步进行, 并取得了一定的进展^[15-16], 但目前关于纵条纹炭角菌化学成分的系统研究则鲜见报道。笔者对纵条纹炭角菌乙醇提取石油醚萃取物采用GC-MS联用技术进行了分离与鉴定, 旨在为纵条纹炭角菌化学成分的研究提供理论数据。

1 材料与方法

1.1 供试材料、试剂和仪器

1.1.1 供试材料。纵条纹炭角菌子实体, 由西南科技大学微生物实验室培养, 培养方法参见文献[10]。真菌材料在用纯水清除外部杂质后, 室外风干后再于50℃下烘干至恒重。干燥的子实体粉碎过50目筛, 避光干燥保存, 备用。

1.1.2 试剂。无水乙醇、石油醚(沸点60~90℃)、硫酸、甲苯、正己烷、无水硫酸钠和甲醇均为国产分析纯, 购自成都科龙化工试剂厂; 超纯水(电阻率18.2 MΩ)为实验室自制。

1.1.3 设备。7890A/5975C气相色谱-质谱联用仪, 为美国安捷伦公司产品; RE-52A旋转蒸发仪, 为上海亚荣生化仪器厂产品; SHB-B95循环水式多用真空泵, 为郑州长城科工贸有限公司产品; ALC-210.4电子天平, 为德国赛多利斯科技仪器有限公司产品; 电子恒温水浴锅, 为天津市泰斯特仪器有限公司产品; SB-5200DTK数控超声波清洗机和DLK5007快速低温冷却循环泵, 为宁波新芝生物科技股份有限公司产品。

1.2 供试样品的制备 450 g纵条纹炭角菌子实体干燥粉末, 用10倍体积(*m/V*)无水乙醇冷浸5次, 每次24 h。过滤并合并滤液, 于45℃真空减压浓缩至无乙醇味, 获得浸膏23.28 g。浸膏加入超纯水混悬后, 用石油醚(沸点60~90℃)萃取3次, 分液合并石油醚萃取部分并旋干, 得石油醚萃取物2.7 g, 4℃下保存备检。

1.3 GC-MS分析

1.3.1 甲酯化。取100 mg石油醚萃取物样品置于10 mL具塞试管中, 加入5 mL甲酯化溶液(95%硫酸: 甲苯: 甲醇=1:1:2, *V/V/V*), 用旋涡混合仪振荡后, 于50℃放置12 h, 12 h内每1 h在涡旋上振荡20 s。甲酯化完成后, 为了获得相分离, 需添加3 mL正己烷于甲酯液中, 再用旋涡混合仪振荡, 静置10 min后取上清液, 加入少许无水硫酸钠除水后, 将液体经0.22 μm滤膜过滤, 将滤液移入进样瓶, 进行GC-MS分析。

基金项目 国家自然科学基金项目(21272189); 西南科技大学大学生创新基金项目(CX16-064)。

作者简介 罗静(1996—), 女, 四川南充人, 本科生, 专业: 制药工程。
* 通讯作者, 讲师, 博士, 从事真菌天然产物开发研究。

收稿日期 2017-04-14

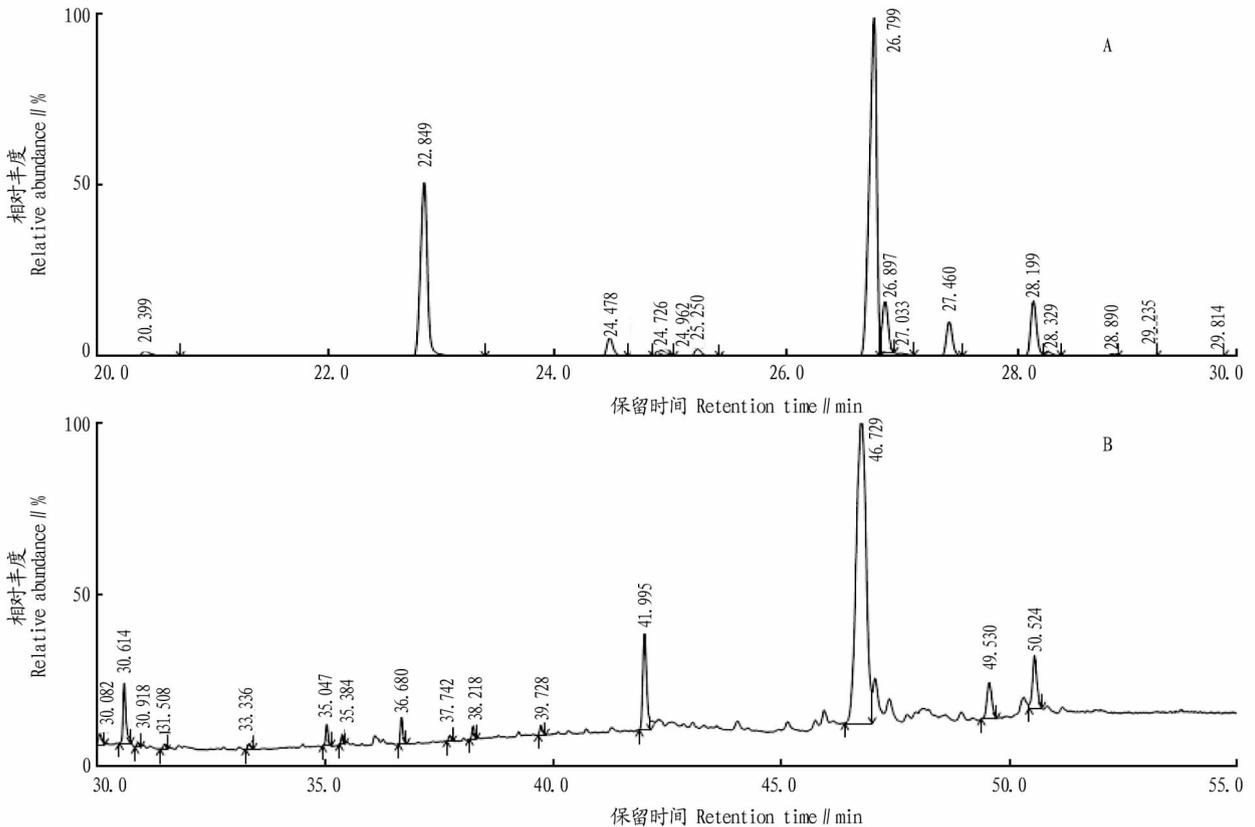
1.3.2 GC 条件。色谱柱为 Agilent 19091S - 433 柱(30 m × 250 μm, 0.25 μm); 升温程序: 50 °C 保持 2 min, 以 10 °C/min 升至 180 °C, 保持 5 min, 以 5 °C/min 升至 280 °C, 保持 5 min, 再以 3 °C/min 升至 300 °C, 保持 10 min。载气为高纯氦气(99.999%), 柱内载气流量为 1.0 mL/min。进样量 1 μL, 分流比为 10:1, 体积流量为 1 mL/min, 容积延迟 3 min。

1.3.3 MS 条件。EI 电离源, 接口温度为 200 °C, 电子能量

70 eV, 离子源温度 220 °C, 扫描质量范围 m/z 30 ~ 600, 质谱检索标准库为 NIST05。

2 结果与分析

从纵条纹炭角菌的石油醚萃取物中检测出的 GC - MS 色谱峰如图 1 所示。各色谱峰相应的质谱图经 NIST 谱图库自动检索, 并查阅相关文献与标准图谱对照分析结果如表 1 所示。



注: A. 20 ~ 30 min 离子流色谱放大图; B. 30 ~ 55 min 离子流色谱放大图

Note: A. Enlarge figure of total ion chromatogram within 20 - 30 min; B. Enlarge figure of total ion chromatogram within 30 - 55 min

图 1 纵条纹炭角菌石油醚萃取物 GC - MS 离子流色谱图

Fig. 1 GC-MS ion flow chromatograms of petroleum extracts

试验结果表明, 在纵条纹炭角菌石油醚萃取物中共分离出 37 个峰, 并鉴定了其中的 30 个化合物, 鉴定成分占流出峰总面积的 98.43%, 其中含量在 1.00% 以上的有 12 个, 主要为脂肪酸及其酯类、甾类化合物。其中含量最高的是反式 - 亚油酸甲酯(38.23%), 而后依次为棕榈酸甲酯(19.12%)、麦角甾醇(17.06%)、9 顺, 12 反 - 亚油酸甲酯(5.15%)、油酸甲酯(4.43%)、硬脂酸甲酯(3.30%)、9, 11 - 去氢麦角甾醇苯甲酸酯(2.16%)、棕榈酸乙酯(1.96%)、麦角甾酮(1.31%)、羊毛甾醇(1.07%)、十五烷酸甲酯(1.05%) 和 γ - 亚麻酸甲酯等。

3 讨论与结论

袁小红等^[13-14]曾报道纵条纹炭角菌的乙醇提取物对植物病原真菌及植物病原细菌均具有较好的抑制活性, 并对肝癌细胞也有较强的抑制活性。笔者在 GC - MS 分析中发现该菌石油醚萃取部位含有较高的亚油酸甲酯和棕榈酸甲酯, 这 2 种化合物均有较强的抗菌活性, 且对植物害虫还有较强

的触杀、产卵抑制和趋避作用^[17-18]。这表明纵条纹炭角菌乙醇提取物的抗菌活性物质可能来自亚油酸甲酯和棕榈酸甲酯。另外, 文献报道麦角甾醇、麦角甾酮也具有较强的抗菌抗肿瘤活性^[19-25], 这 2 种化合物可能也是该菌乙醇提取物的抗肿瘤活性的物质基础。此外, 麦角甾醇还是食品、饲料及医疗等工业中常用的一种化学品原料, 为重要的脂溶性维生素 D₂ 源, 可作为添加剂添加到饲料中, 还可用于生产“可的松”“激素黄体酮”等甾醇类药物^[20]。

GC - MS 中发现的其他化合物也具有多种生物学活性, 如羊毛甾醇具治疗白内障的价值^[26]; 含量最高的亚油酸甲酯具衍生化价值^[27], 其衍生物亚油酸、共轭亚油酸具抗癌^[28]、预防心血管疾病^[29]等活性。

综上所述, 纵条纹炭角菌具有开发成生物环保农药和医药用途的潜力, 为进一步深入的活性成分开发研究提供了物质基础, 同时为该食药真菌在农业和医药等方面的开发利

用提供了一定的理论依据。

表 1 石油醚萃取物的组分分析

Table 1 Component analysis of petroleum extracts

序号 No.	化合物名称 Name of compounds	分子式 Molecular formula	保留时间 Retention time//min	相对含量 Relative content//%	相似度 Similarity %
1	十五烷酸甲酯	C ₁₅ H ₃₀ O ₂	20.40	1.05	93
2	棕榈酸甲酯	C ₁₇ H ₃₄ O ₂	22.85	19.12	97
3	棕榈酸乙酯	C ₁₈ H ₃₆ O ₂	24.48	1.96	93
4	亚油酸甲酯(全顺)	C ₁₉ H ₃₄ O ₂	24.73	0.16	84
5	2-己基-环丙烷辛酸 甲酯	C ₁₈ H ₃₄ O ₂	24.96	0.05	78
6	甲基十七烷酸甲酯	C ₁₉ H ₃₈ O ₂	25.25	0.98	93
7	亚油酸甲酯(全反)	C ₁₉ H ₃₄ O ₂	26.80	38.23	95
8	油酸甲酯	C ₁₉ H ₃₆ O ₂	26.90	4.43	93
9	三十二碳三烯酸甲基酯	C ₂₃ H ₄₀ O ₂	27.03	0.23	87
10	硬脂酸甲酯	C ₁₉ H ₃₈ O ₂	27.46	3.30	95
11	亚油酸甲酯(9顺,12 反)	C ₁₉ H ₃₄ O ₂	28.20	5.15	92
12	顺式-9-十六烯醛	C ₁₆ H ₃₀ O	28.33	0.42	87
13	十九烷酸乙酯	C ₂₁ H ₄₂ O ₂	28.89	0.23	86
14	顺式-10-十九烯酸甲 酯	C ₂₀ H ₃₈ O ₂	29.24	0.13	86
15	γ-亚麻酸甲酯(9顺,11 反,13反)	C ₁₉ H ₃₂ O ₂	29.81	0.17	88
16	顺式-5,8,11-二十碳 三烯酸甲酯	C ₂₁ H ₃₆ O ₂	30.08	0.24	86
17	γ-亚麻酸甲酯(9顺,11 顺,13顺)	C ₁₉ H ₃₂ O ₂	30.61	1.03	89
18	1,2-环氧十八烷	C ₁₈ H ₃₆ O	30.92	0.07	81
19	二十六酸甲酯	C ₂₇ H ₅₄ O ₂	31.51	0.09	81
20	18-甲基十八烷酸甲酯	C ₂₂ H ₄₄ O ₂	33.34	0.09	82
21	甲基二十五烷酸甲酯	C ₂₇ H ₅₄ O ₂	35.05	0.31	89
22	邻苯二甲酸二(2-乙 基)酯	C ₂₄ H ₃₈ O ₄	35.38	0.14	89
23	木蜡酸甲酯	C ₂₂ H ₄₄ O ₂	36.68	0.39	86
24	溴代三十烷	C ₃₀ H ₆₁ Br	37.74	0.08	79
25	十四烷酸-5,9,13-三 甲基-甲酯	C ₂₂ H ₄₄ O ₂	38.25	0.19	84
26	1,6,10,14,18,22-四十 二碳六烯-3-醇,2,6, 10,15,19,23-六甲基 (E)	C ₃₀ H ₅₀ O	39.73	0.15	83
27	9,11-去氢麦角甾醇苯 甲酸酯	C ₃₅ H ₄₆ O ₂	42.00	2.16	63
28	麦角固醇	C ₂₈ H ₄₄ O	46.73	17.06	89
29	羊毛甾醇	C ₃₀ H ₅₀ O	49.53	1.07	78
30	麦角甾酮	C ₂₈ H ₄₀ O	50.52	1.31	80

参考文献

[1] 贺新生. 四川盆地蕈菌图志[M]. 北京: 科学出版社, 2011: 52-57.
 [2] 马志章, 张曙云, 陈宛如, 等. 黑柄炭角菌多糖对小鼠巨噬细胞功能的影响[J]. 免疫学杂志, 1989, 5(2): 13-16.
 [3] 吴根福, 杨志坚. 炭角菌深层发酵制品的抗氧化特性研究[J]. 浙江大学学报(理学版), 2002, 29(2): 179-183.

[4] 刘庆洪, 罗倩怡, 冯昆, 等. 鹿角炭角菌等三种真菌多糖对 HIV-RT 的作用[J]. 中国食用菌, 2004, 23(4): 29-30.
 [5] KO H J, SONG A, LAI M N, et al. Immunomodulatory properties of *Xylaria nigripes* in peritoneal macrophage cells of Balb/c mice[J]. Journal of ethnopharmacology, 2011, 138(3): 762-768.
 [6] 杨小龙, 刘吉开, 罗都强, 等. 黑柄炭角菌的化学成分[J]. 天然产物研究与开发, 2011, 23(5): 846-849.
 [7] 麻兵继, 阮元, 刘吉开. 长柄炭角菌子实体化学成分研究[J]. 天然产物研究与开发, 2008, 20(1): 63-65.
 [8] 王兴娜, 黄午阳, 刘吉开, 等. 大炭角菌子实体化学成分的研究[J]. 中草药, 2012, 43(12): 2327-2332.
 [9] SONG F, WU S H, ZHAI Y Z, et al. Secondary metabolites from the genus *Xylaria* and their bioactivities[J]. Chemistry & biodiversity, 2014, 11(5): 673-694.
 [10] 马贝贝, 霍存录, 孙晓玲, 等. 纵条纹炭角菌子实体培养[J]. 食品与发酵科技, 2013, 49(2): 44-46.
 [11] 冯望, 吴颖, 尤雅, 等. 纵条纹炭角菌培养条件的优化[J]. 广东农业科学, 2014(10): 90-93.
 [12] 刘霞, 高聪, 钟雨婷, 等. 纵条纹炭角菌菌丝液体培养条件的优化[J]. 中药材, 2014, 37(8): 1317-1321.
 [13] 袁小红, 张春杰, 刘霞, 等. 6种高等真菌醇提取物对植物病原菌的抗菌活性研究[J]. 安徽农业科学, 2013, 41(12): 5289-5290, 5294.
 [14] 袁小红, 张春杰, 郑仁林, 等. 六种高等真菌醇提取物的抗肿瘤活性筛选[J]. 西南科技大学学报, 2013, 28(3): 95-97.
 [15] 黄毅, 袁小红, 贺新生, 等. 不同培养方式产纵条纹炭角菌的指纹图谱分析[J]. 安徽农业科学, 2016, 44(8): 134-137.
 [16] 黄毅, 雷传文, 宋航, 等. 高速逆流色谱法用于纵条纹炭角菌中过氧化麦角甾醇的分离纯化[J]. 食品工业科技, 2016, 37(17): 262-266.
 [17] 杜鹃, 赵磊, 师光禄, 等. 亚油酸甲酯对朱砂叶螨的生物活性研究[J]. 中国农学通报, 2010, 26(6): 247-249.
 [18] 王海波, 郝艳平, 王宏伟. 棕榈酸甲酯对植食螨的室内生物活性及与 Silwet L-77 混配毒力测试[J]. 中国农学通报, 2013, 29(21): 184-187.
 [19] 高虹, 史德芳, 杨德, 等. 巴西菇麦角甾醇抗肿瘤活性及作用机理初探[J]. 中国食用菌, 2011, 30(6): 35-39.
 [20] 曹龙辉, 李晓璐, 赵文红, 等. 麦角甾醇的研究进展[J]. 中国酿造, 2014, 33(4): 9-12.
 [21] 陈晗, 陈丹倩, 李全福, 等. 麦角甾酮的药理活性、药代动力学及含量测定研究进展[J]. 中国中药杂志, 2014, 39(20): 3905-3909.
 [22] TINTINO S R, OLIVEIRA-TINTINO C D M, CAMPIN F F, et al. Cholesterol and ergosterol affect the activity of *Staphylococcus aureus* antibiotic efflux pumps[J]. Microbial pathogenesis, 2017, 104: 133-136.
 [23] KANG J H, JANG J E, MISHRA S K, et al. Ergosterol peroxide from *Cha-ga* mushroom (*Inonotus obliquus*) exhibits anti-cancer activity by down-regulation of the β-catenin pathway in colorectal cancer[J]. Journal of ethnopharmacology, 2015, 173: 303-312.
 [24] SHREAZ S, SHIEKH R A, RAJA V, et al. Impaired ergosterol biosynthesis mediated fungicidal activity of Co(II) complex with ligand derived from cinnamaldehyde[J]. Chemico-biological interactions, 2016, 247: 64-74.
 [25] NASIR M N, BESSON F. Interactions of the antifungal mycosubtilin with ergosterol-containing interfacial monolayers[J]. Biochimica et biophysica acta, 2012, 1818(5): 1302-1308.
 [26] 宋伟. 羊毛甾醇可以减轻白内障[J]. 生理科学进展, 2015, 46(5): 346.
 [27] 张丽芳, 赵玉凤, 吴元欣, 等. 植物乳杆菌转化亚油酸为共轭亚油酸条件的研究[J]. 食品工业科技, 2007, 28(12): 72-74, 78.
 [28] 刘家仁. 共轭亚油酸的抑癌作用[J]. 国外医学(卫生学分册), 2000, 27(1): 18-22.
 [29] 衣丹, 林学政, 沈继红, 等. 共轭亚油酸降血脂及抗动脉粥样硬化作用的研究[J]. 现代生物医学进展, 2011, 11(7): 1228-1230.