

香榧纯露的挥发性成分及抗氧化活性研究

孙君燕, 孙 敏, 宋诗清, 王化田, 冯 涛, 姚凌云, 俞文华

Volatile Composition and Antioxidant Activity of *Torreya grandis* Hydrosols

SUN Junyan, SUN Min, SONG Shiqing, WANG Huatian, FENG Tao, YAO Lingyun, and YU Wenhua

在线阅读 View online: <https://doi.org/10.13386/j.issn1002-0306.2021040181>

您可能感兴趣的其他文章

Articles you may be interested in

蓝莓酵素的体外抗氧化及对秀丽隐杆线虫的氧化应激保护作用

Antioxidant Activity *in Vitro* and Promoting Resistance to Oxidative Stress in *Caenorhabditis elegans* of Blueberry Jiaosu

食品工业科技. 2021, 42(15): 343-350

努格特啤酒花挥发性成分的气相色谱-质谱分析

Analysis of the volatile compounds from Nugget hop variety by gas chromatography-mass spectrometry

食品工业科技. 2017(03): 279-285

姜黄素对秀丽隐杆线虫降脂及抗氧化保护作用

Lipid-lowering and anti-oxidative effects of curcumin on *Caenorhabditis elegans*

食品工业科技. 2017(14): 289-293

芫荽提取物对秀丽隐杆线虫体内抗氧化活性的初步探究

Exploring the Antioxidant Activity *in Vivo* of Coriander Extract in *Caenorhabditis elegans*

食品工业科技. 2020, 41(20): 285-289

柚子全果果酒发酵工艺优化及其抗氧化活性、挥发性成分分析

Optimization of Fermentation Process of Grapefruit Whole Fruit Wine and Analysis of Its Antioxidant Activity and Volatile Components

食品工业科技. 2021, 42(13): 149-155

1-脱氧野尻霉素对秀丽隐杆线虫的抗衰老作用

Anti-aging Effects of 1-Deoxynojirimycin on *Caenorhabditis elegans*

食品工业科技. 2018, 39(21): 280-286



关注微信公众号, 获得更多资讯信息

孙君燕, 孙敏, 宋诗清, 等. 香榧纯露的挥发性成分及抗氧化活性研究 [J]. 食品工业科技, 2022, 43(3): 40–47. doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2021040181

SUN Junyan, SUN Min, SONG Shiqing, et al. Volatile Composition and Antioxidant Activity of *Torreya grandis* Hydrosols[J]. Science and Technology of Food Industry, 2022, 43(3): 40–47. (in Chinese with English abstract). doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2021040181

· 研究与探讨 ·

香榧纯露的挥发性成分及抗氧化活性研究

孙君燕¹, 孙 敏¹, 宋诗清¹, 王化田¹, 冯 涛¹, 姚凌云^{1,*}, 俞文华²

(1. 上海应用技术大学香料香精化妆品学部, 上海 201418;

2. 宁波华木来生物科技有限公司, 浙江宁波 315131)

摘 要: 为了研究香榧纯露的稳定性及体内外抗氧化活性, 以香榧假种皮水蒸气提取精油的副产物香榧纯露为试验材料, 采用 LUMi Sizer 稳定性分析仪对香榧纯露的稳定性进行了评价, 并通过气相色谱-质谱分析 (GC-MS) 技术对纯露的挥发性成分进行分析。在此基础上, 通过体外自由基清除实验评估了香榧纯露的体外抗氧化能力, 并利用秀丽隐杆线虫模型对香榧纯露体内抗氧化活性进行了评价。结果表明: 经膜过滤处理的香榧纯露不稳定系数接近于 0 (0.007 ± 0.003), 具有更好的稳定性。采用 GC-MS 技术共鉴定出 49 种挥发性成分, 以醇类化合物 (41.82%) 为主, 共 21 种; 其次为萜类化合物 (5.27%), 共 7 种; 其他还包括酚类化合物 (5 种)、烃类化合物 (5 种)、醛类化合物 (3 种) 及酯类化合物等。体外抗氧化活性结果表明, 香榧纯露对 DPPH、ABTS 自由基清除能力与浓度呈正相关, 最高浓度下清除率分别为 $67.3\% \pm 1.2\%$ 和 $84.2\% \pm 3.7\%$ 。此外, 香榧纯露可显著提高秀丽隐杆线虫抗氧化应激性能及良好的延长寿命的作用 ($P < 0.05$), 有望开发为抗氧化、抗衰老功效的新型食品或化妆品原料。

关键词: 香榧纯露, 抗氧化, 挥发性成分, 寿命, 秀丽隐杆线虫, 不稳定系数, 气相色谱-质谱分析

中图分类号: TS209

文献标识码: A

文章编号: 1002-0306(2022)03-0040-08

DOI: 10.13386/j.issn1002-0306.2021040181

本文网刊:



Volatile Composition and Antioxidant Activity of *Torreya grandis* Hydrosols

SUN Junyan¹, SUN Min¹, SONG Shiqing¹, WANG Huatian¹, FENG Tao¹, YAO Lingyun^{1,*}, YU Wenhua²

(1. School of Perfume and Aroma Technology, Shanghai Institute of Technology, Shanghai 201418, China;

2. Ningbo Huamulai Biological Technology Co., Ltd., Ningbo 315131, China)

Abstract: The purpose of this experiment was to study the stability and antioxidant activity of *Torreya grandis* hydrosols *in vivo* and *in vitro*. The work aims to study the stability, volatile composition and antioxidant activity of *Torreya grandis* hydrosols. The stability of untreated and filter-treated hydrosols was evaluated by LUMi Sizer stability analyzer, and the volatile components of hydrosols were analyzed by gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS). In addition, the antioxidant activity *in vitro* and *in vivo* was evaluated by free radical scavenging experiments and *C.elegans* tests respectively. The results showed that the filter-treated hydrosols revealed better stability as compared to untreated hydrosols, with the instability coefficient close to 0 (0.007 ± 0.003). GC-MS demonstrated that a total of 49 volatile components were identified for the hydrosols, including 21 alcohols (41.82%), 7 terpenoids (5.27%), 5 phenols, 5 hydrocarbons, 3 aldehydes and some other types of volatile compounds. DPPH and ABTS free radical scavenging experiments demonstrated that *T. grandis* hydrosols revealed good antioxidant activity with radical scavenging rate of $67.3\% \pm 1.2\%$ and $84.2\% \pm 3.7\%$, respectively. Furthermore, the hydrosols revealed significant antioxidant performance in *C.elegans* and prolong the life span of *C.elegans* ($P < 0.05$). These results may help in developing new antioxidant and anti-aging ingredients for food and cosmetic products use.

Key words: *Torreya grandis* hydrosols; antioxidant activity; volatile components; life span; *Caenorhabditis elegans*;

收稿日期: 2021-04-26

基金项目: 上海高校高峰高原学科建设计划 (1021GN203004005); 上海应用技术大学协同创新基金 (10120K208045-A06)。

作者简介: 孙君燕 (1996-), 女, 硕士研究生, 研究方向: 天然产物功能因子的功效评价与应用, E-mail: sunjunyansit@outlook.com。

* 通信作者: 姚凌云 (1982-), 男, 博士, 讲师, 研究方向: 生物化工, E-mail: Lyyao@sit.edu.cn。

instability coefficient; gas chromatography-mass spectrometry analysis

香榧(*Torreya grandis*)是红豆杉科榧树属植物,为我国特有的经济树种。香榧果实(香榧子)作为药食两用植物资源在我国具有悠久的历史,该果实外面裹有一层的肉质化假种皮,约占鲜重的 50%~60%,长期被当作香榧子加工废弃物而没有得到有效利用,同时对环境造成不良影响^[1-2]。近年来,随着对香榧假种皮化学成分和生物活性研究的深入,其开发价值逐渐被人们所认识,研究表明,香榧假种皮富含二萜、黄酮等多种活性次级代谢产物,可产生抗氧化、抑菌、抗病毒、抑止酪氨酸酶等生物活性,可作为芳香油和药用活性浸膏提取的天然优质原料^[3-4]。

目前关于香榧假种皮的植物精油成分及生物活性已有一些报道。香榧精油主要含 α -蒎烯、 δ -杜松烯、D-柠檬烯等挥发性成分,具有抗氧化、酪氨酸酶抑制等活性^[5-7]。纯露是提取精油过程中伴随产生的副产物,一般是指在精油蒸馏萃取过程中,分离出来的一种饱和的蒸馏原液,其中含有植物水溶性活性成分,同时保留精油芳香,在食品、化妆品中常直接使用或作为溶剂应用^[8-10]。香榧精油的提取过程中同样会产生大量的纯露,但香榧纯露的挥发性物质组成及生物活性的研究目前还尚未见报道。

本文通过 LUMi Sizer 稳定性分析仪对不同工艺处理香榧纯露的稳定性进行考察,利用气相色谱-质谱分析(GC-MS)技术对纯露的化学成分进行分析,并进一步通过体外抗氧化及秀丽隐杆线虫的氧化应激试验探究了香榧纯露的抗氧化活性,为香榧资源的深加工和香榧纯露的合理利用提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

野生型(N2)秀丽隐杆线虫(*Caenorhabditis elegans*) 上海南方模式生物科技股份有限公司;1,1-二苯基-2-三硝基苯肼(DPPH)、2,2-联氮-(3-乙基-苯并噻唑-6-磺酸)二铵盐(ABTS) 国药集团化学试剂有限公司;重铬酸钾、5-氟脱氧尿(5-fluoro-2'-deoxy- β -uridine) Sigma 公司;胆固醇、抗坏血酸(V_C)、氯化钠、氯化钙、磷酸二氢钾、磷酸氢二钠、硫酸镁等试剂 分析纯,国药集团化学试剂有限公司;琼脂粉 生工生物工程(上海)股份有限公司;蛋白胨、胰蛋白胨、酵母提取物 英国 OXOID 公司。

UV2350 型紫外可见分光光度计 上海尤尼科仪器有限公司;SPME 萃取头(100 μ m CAR-PDMS-DVB) 美国 Supelco 公司;GC-MS(7890A-5975C)

安捷伦科技(中国)有限公司;LUMi Sizer 稳定性分析仪 罗姆(江苏)仪器有限公司;电热恒温培养箱

上海新苗医疗器械制造有限公司;恒温水浴锅 常州市人和仪器厂;FA1604 型电子天平 上海精密科学仪器有限公司;DHG-9140 型电热恒温鼓风干燥箱 上海一恒科技有限公司。

1.2 实验方法

1.2.1 香榧纯露的提取 新鲜香榧假种皮在 2020 年 10 月采集于浙江会稽山一带,4 $^{\circ}$ C 冷库存放备用。称取 50 kg 香榧假种皮置于 500 L 不锈钢蒸馏塔,加入 350 L 去离子水蒸馏,蒸馏温度为 90 $^{\circ}$ C,冷凝温度 0 $^{\circ}$ C,蒸馏时间 2.5 h。蒸馏收集的冷凝液通过离心(1500 r/min $\times$ 10 min)后进行油水分离,上层为香榧精油,下层为香榧纯露原液。香榧纯露原液经 0.25 μ m 膜过滤处理获得过滤香榧纯露,两种纯露样品无菌灌装后均置于冰箱(4 $\pm$ 2) $^{\circ}$ C 避光保存备用。

1.2.2 香榧纯露稳定性的测定 LUMi Sizer 稳定性分析仪对纯露样品进行物理稳定性评估。仪器测定样品在离心作用红外透光率并绘制曲线,不稳定系数是指透光率积分对时间的曲线的斜率^[11-12]。取香榧纯露样品注入到 PC 管样品皿底部,温度设定为 25 $^{\circ}$ C,离心转速为 4000 r/min,透射率的特征线每 60 s 记录 1 次,共计 1000 次。通过不同时间的样品的透光率-位置图谱(指纹图)和不稳定系数柱状图,可定性评估香榧纯露的长期物理稳定性。

1.2.3 气相色谱-质谱(GC-MS)分析 气相色谱条件:GC-MS(7890A-5975C)升温程序:初始温度 50 $^{\circ}$ C,保持 2 min,以 4 $^{\circ}$ C/min 升至 120 $^{\circ}$ C,保持 3 min,再以 8 $^{\circ}$ C/min 升温至 280 $^{\circ}$ C,保持 5 min。进样口温度 250 $^{\circ}$ C,载气为 N_2 ,流速为 1 mL/min,分流比 15:1。质谱条件:接口温度 280 $^{\circ}$ C,电子轰击(EI)源,电子能量 70 eV,扫描质量范围 33.00~55.00 amu,电子倍增器电压 1000 V,溶剂延迟时间 3 min。样品处理:先将 SPME 纤维萃取头插入气相色谱仪预处理 30 min 进行老化,温度为 250 $^{\circ}$ C;取 5.0 mL 香榧纯露置于顶空瓶中,加入 2-辛醇 10 μ L(400 ppm),混合后置于 45 $^{\circ}$ C 平衡 20 min,然后将老化好的萃取头置入顶空瓶的上部顶空,于 55 $^{\circ}$ C 吸附 30 min,然后取出萃取头取出并直接插进气相色谱质谱联用仪(GC-MS)。利用 NIST11 和 NIST11s 标准质谱库对采集到的质谱图进行检索,采用色谱峰面积归一化法定量。

1.2.4 体外抗氧化实验

1.2.4.1 DPPH 自由基清除实验 参考 Pavlic 等^[13]的实验方法并稍作调整。对照溶液:取 1 mL 的 2×10^{-4} mol/L DPPH 溶液加水使最终体积为 4 mL,室温下避光 30 min 后,在 517 nm 处测量吸光值,记为 A_0 ;样品溶液:取 1 mL 的 DPPH 溶液分别与 1 mL 不同浓度的香榧纯露(20、40、60、80、100 mg/mL)混合,加水使最终体积为 4 mL,测量不同浓度香榧纯露的吸光度,记为 A。实验以相同质量浓度的 V_C 作为阳性对照,每个样品重复 3 次,DPPH 自由基清除率(%)=(A_0-A)/ $A_0 \times 100$ 。

1.2.4.2 ABTS 自由基清除实验 参照 Bai 等^[14]的方法并适当修改,将等体积(50 mL)7 mmol/L 的 ABTS 与 2.6 mmol/L 过硫酸钾溶液混合,室温下避光 12~16 h,得到 ABTS⁺储备液,使用前用无水乙醇稀释,使其在 734 nm 波长下的吸光度为 0.70 ± 0.02 ,即得 ABTS⁺工作液。对照溶液:取一支 10 mL 试管,加入 ABTS⁺工作液 1.0 mL 和无水乙醇 3.0 mL 于试管中至终体积 4.0 mL,静置 30 min,在 734 nm 波长处测吸光度,记为 A_0 ;样品溶液:取数支 10 mL 试管分别加入 1 mL 不同浓度的香榧纯露(20、40、60、80、100 mg/mL)溶液,加入无水乙醇 2.0 mL,再加入 ABTS⁺工作液使最终体积为 4.0 mL,避光静置反应 30 min,在 734 nm 波长处测吸光度,记为 A 。实验以相同质量浓度的 V_C 作为阳性对照,每个样品重复 3 次,ABTS 自由基清除率(%)= $(A_0 - A)/A_0 \times 100$ 。

1.2.5 秀丽隐杆线虫实验 本实验中所采用的线虫品系为野生型(N2)秀丽隐杆线虫(*Caenorhabditis elegans*),培养线虫使用的培养基为表面涂布 *E. coli* OP50 的线虫标准培养基(NGM),在 20 °C 下培养,相对湿度为 40%。

1.2.5.1 线虫同期化处理 一条产卵期线虫 1 h 可以产卵 8 个左右。为得到同步生长的线虫,挑取进入产卵期的线虫若干条在一个平板中,把平板置于 20 °C 恒温箱中孵育,孵育约 2 h 后,将平板中线虫挑出,平板中的卵孵化后即处于同一发育时期^[15-16]。收集同期化线虫,进行氧化应激及线虫寿命试验。

1.2.5.2 重金属 Cr^{6+} 应激实验 参考 Yuen 等^[17]方法进行适当修改,取同期化之后正常生长至 L4 期(约 3 d)的秀丽隐杆线虫幼虫,随机分组(空白对照组、样品组、 V_C 对照组)置于 3 cm 的培养皿,每组培养皿中 200 条幼虫,培养 48 h,分别加入 1.7 mL 的完全培养基,0.2 mL 不同浓度的香榧纯露,0.1 mL 的 OP50(0.1 g/mL),空白对照组用无菌水代替纯露样品,阳性对照以 0.05 mg/mL 的 V_C 溶液代替纯露样品,培养完成后,用移液枪将每组样品吸入到 EP 管中,用 M9 缓冲液冲洗到 EP 管中,冲洗 3 遍,除去试样、大肠杆菌 OP50 和已经死亡的成虫后,将线虫分配在 96 孔板的孔中,对照组及纯露样品处理组线虫均分 3 个孔,每个孔不少于 30 条虫,每孔加入 8 μ L 的 $K_2Cr_2O_7$ (10 mmol/L)和 152 μ L 的 M9 缓冲液诱导线虫氧化应激反应,每 4 h 记录一次线虫存活的数量变化,考察纯露处理对线虫氧化应激的影响。

1.2.5.3 线虫寿命试验 将单条线虫挑入含有液体完全培养基的 96 孔板的每个孔中,完全培养基中添加 2 mg/mL(湿重)OP50 和 400 μ mol/L 的 5-氟去氧尿苷。试验设有空白组、样品组和 V_C 对照组,纯露处理组设置不同的浓度梯度(香榧纯露 10 倍稀释液、50 倍稀释液、100 倍稀释液、500 倍稀释液),每 d 记录死亡虫体的数目^[18-19]。以无菌水代替纯露样

品作为空白对照组,以 0.05 mg/mL 的 V_C 溶液作为阳性对照,死亡标准是用金属丝触碰线虫,如虫体不动则判为死亡,每组实验重复三次。

1.3 数据处理

数据采用 SPSS 18.0 软件进行方进行数据统计学分析,若无特别说明,实验数据为 3 次平行实验的平均值,试验结果以平均值 $\pm$ 标准差以($\bar{x} \pm s$)表示,并进行 t 检验或单向方差分析, $P < 0.05$ 为具有显著差异。在体外抗氧化和线虫试验中,所得数据利用 Origin 9.0 和 GraphPad Prism 8 软件绘制各个因素的动力学曲线。

2 结果与分析

2.1 香榧纯露稳定性测试

通过 LUMi Sizer 稳定性分析仪测定不稳定系数。不稳定系数反映了样品的整体不稳定性趋势情况,其值越接近 1,产品分层越严重,越接近于 0,表示产品分层现象不明显,稳定性越好^[20]。从图 1 可知,两种样品的不稳定系数均接近 0,具有较好的稳定性,但非过滤香榧纯露的不稳定性系数(0.192 ± 0.009)大于过滤香榧纯露(0.007 ± 0.003),过滤纯露的不稳定系数更趋近于 0,说明纯露经过滤后稳定性大于非过滤纯露。香榧假种皮经水蒸气蒸馏提取后,馏出液含香榧精油(油相)和大量的香榧纯露(水相)两相,通过膜过滤工艺处理可更好地富集香味物质或提高纯露的稳定性。

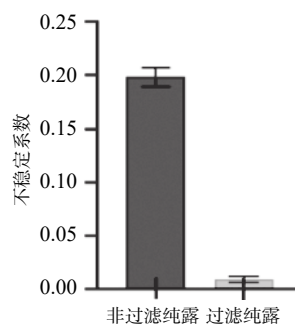


图 1 过滤与非过滤香榧纯露不稳定性指数

Fig.1 Instability coefficient of filter-treated and untreated *T. grandis* hydrosols

不同工艺香榧纯露样品通过 LUMi Sizer 稳定性分析仪在 25 °C 条件下测试 30 s 加速分析后的透光率指纹图谱见图 2,其中横坐标是样品管的位置(mm),左端是指样品管的顶端,右端指的是样品管的底部,纵坐标是透光率数值(%).红色是指初始透光率谱线,绿色是指结束时刻的透光率谱线,红色到绿色谱线的渐变是随着测试开始到结束的变化过程^[21]。从图 2 可知,过滤纯露(图 2B)与非过滤纯露(图 2A)相比,初始透光率谱线与结束时刻的透光率谱线保持一致,总体具有更好稳定性。加速试验中,两种纯露样品均呈现顶端(105~109 mm)透光率升高,底部(128~130 mm)透光率降低,具有典型的沉降过程^[22]。过滤香榧纯露(图 2B)在样品管 109~128 mm 位置,

初始透光率谱线与结束时刻的透光率谱线呈较为平整的直线, 与非过滤纯露(图 2A)相比具有较好的均一稳定性。根据 LUMi Sizer 稳定性分析仪测试结果(图 1、图 2), 可知经过滤处理后的香榧纯露具有更好的稳定性。

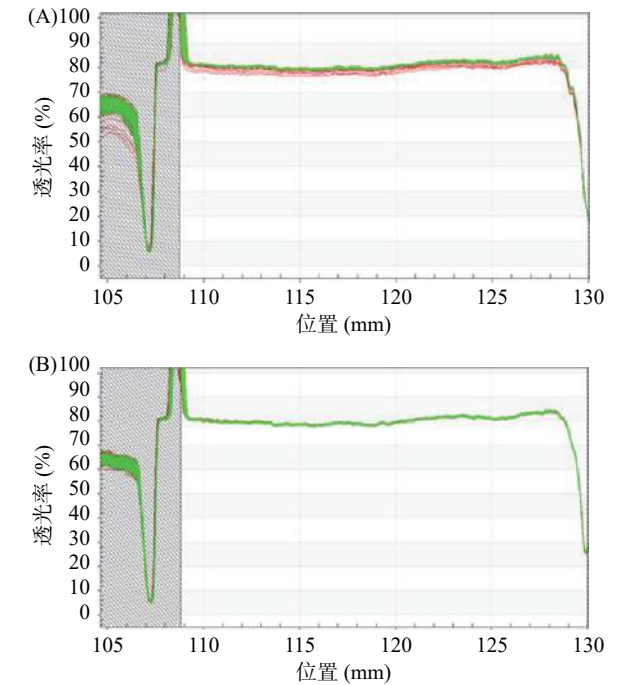


图 2 LUMi Sizer 稳定性分析仪评价非过滤(A)与过滤(B)香榧纯露长期物理稳定性结果
Fig.2 Physical stability of untreated (A) and filter-treated (B) *T. grandis* hydrosols evaluated by LUMi Sizer

2.2 香榧纯露挥发性成分的 GC-MS 分析

实验通过 HS-SPME 结合 GC-MS 方法对香榧纯露的挥发性成分进行了系统分析, 经 GC-MS 联用仪所配置的 NIST-MS 谱库进行检索, 分析各组分的质谱数据, 按峰面积归一化法测得各成分相对质量百分含量。在香榧纯露中, 共鉴定出 49 种挥发性物质, 主要成分包括醇类、萜类、酚类、醛类、烃类、酮类等。从表 1 可知, 共鉴定出 21 种醇类化合物(41.82%), 是纯露中主要的挥发性物质, 包括 3-甲基-3-丁烯-1-醇、3-己烯-1-醇、3-辛醇、1-辛烯-3-醇、2-乙基己醇、芳樟醇、环己醇、葑醇、4-萜品醇、 β -松油醇、2-环己烯-1-醇、异龙脑、松油醇、2-茨醇、 β -香茅醇、橙花醇、对甲基苯异丙醇、苯乙醇、紫苏醇、对异丙基苯甲醇、 α -毕橙茄醇。其中, β -香茅醇(5.5%)、松油醇(16.45%)和 4-萜品醇(11.14%)相对含量较大。 β -香茅醇有优雅的玫瑰香气, 具有抑制金黄色葡萄及伤寒杆菌活性, 广泛应用于化妆品领域^[23]。 β -松油醇存在于多种精油中, 如松油、橙花油等, 有似海桐花的清香, 甜的紫丁香、铃兰气息^[24]。4-萜品醇是茶叶挥发油的主要成分, 具有良好的抗氧化活性^[25]。

萜类化合物(5.27%)共有 7 种, 包括单萜 α -萜品烯、右旋萜二烯、萜品烯、罗勒烯、 α -衣兰油烯、 α -蒎烯, 除单萜类化合物, 还有其他萜类化合物如樟脑。

表 1 香榧纯露成分的 GC-MS 分析结果
Table 1 GC-MS analysis of volatile compounds in *T. grandis* hydrosols

分类	名称	Rt (min)	分子式	相对含量 (%)
萜类	α -萜品烯	12.76	C ₁₀ H ₁₆	0.78
	右旋萜二烯	13.32	C ₁₀ H ₁₆	1.77
	萜品烯	14.7	C ₁₀ H ₁₆	0.94
	罗勒烯	14.75	C ₁₀ H ₁₆	0.16
	樟脑	22.33	C ₁₀ H ₁₆ O	0.24
	α -蒎烯	34.62	C ₁₅ H ₂₄	1
醇类	α -衣兰油烯	27.2	C ₁₅ H ₂₄	0.38
	3-甲基-3-丁烯-1-醇	14.58	C ₅ H ₁₀ O	0.02
	3-己烯-1-醇	18.3	C ₆ H ₁₂ O	0.03
	3-辛醇	18.44	C ₈ H ₁₈ O	0.08
	1-辛烯-3-醇	19.96	C ₈ H ₁₆ O	0.32
	2-乙基己醇	21.01	C ₈ H ₁₈ O	0.16
	芳樟醇	22.49	C ₁₀ H ₁₈ O	0.8
	环己醇	23.51	C ₆ H ₁₂ O	0.03
	葑醇	23.71	C ₁₀ H ₁₈ O	0.15
	4-萜品醇	24.26	C ₁₀ H ₁₈ O	11.14
	β -松油醇	24.83	C ₁₀ H ₁₈ O	0.07
	2-环己烯-1-醇	25.76	C ₆ H ₁₀ O	0.08
	异龙脑	25.84	C ₁₀ H ₁₈ O	0.65
	松油醇	26.38	C ₁₀ H ₁₈ O	16.45
	2-茨醇	26.55	C ₁₀ H ₁₈ O	2.79
	β -香茅醇	27.59	C ₁₀ H ₂₀ O	5.5
	橙花醇	28.32	C ₁₀ H ₁₈ O	2.11
	对甲基苯异丙醇	29.19	C ₁₀ H ₁₄ O	0.12
	苯乙醇	30.46	C ₈ H ₁₀ O	0.15
醛类	紫苏醇	31.89	C ₁₀ H ₁₆ O	0.66
	α -毕橙茄醇	34.5	C ₁₅ H ₂₆ O	0.44
	对异丙基苯甲醇	33.26	C ₁₀ H ₁₄ O	0.07
	壬醛	18.75	C ₉ H ₁₈ O	0.02
酚类	3-羧基苯甲醛	30.91	C ₈ H ₆ O ₃	0.16
	香桃木醛	25.18	C ₁₀ H ₁₄ O	0.04
	甲基丁香酚	31.96	C ₁₁ H ₁₄ O ₂	0.04
	2-甲氧基-4-甲基苯酚	31.22	C ₉ H ₁₀ O ₂	0.35
酸类	4-乙基-2-甲氧基苯酚	32.32	C ₉ H ₁₂ O ₂	0.3
	2,6-二叔丁基苯酚	35.68	C ₁₄ H ₂₂ O	0.29
	愈创木酚	29.63	C ₇ H ₈ O ₂	0.6
	乙酸	20.29	C ₂ H ₄ O ₂	0.35
酯类	邻苯二甲酸二丁酯	40.12	C ₁₆ H ₂₂ O ₄	1.51
烃类	1,3-环己二烯	14.85	C ₆ H ₈	0.25
	十六烷	24.06	C ₁₆ H ₃₄	0.03
酮类	2,4-二甲基苯乙炔	20.04	C ₁₀ H ₁₂	1.09
	2,2-二甲基-3-亚甲基二环[2.2.1]庚烷	29.73	C ₁₀ H ₁₆	0.03
	间异丙基甲苯	32.13	C ₁₀ H ₁₄	0.09
	环己酮	24.63	C ₆ H ₁₀ O	0.17
其他	4-羟基-2-甲基苯乙酮	34.21	C ₉ H ₁₀ O ₂	1.19
	吡啶	12.96	C ₅ H ₅ N	0.15
	3-甲氧基吡啶	23.83	C ₆ H ₇ NO	0.12
	油酸酰胺	36.61	C ₁₈ H ₃₅ NO	7.84
	硬脂酰胺	41.14	C ₁₈ H ₃₇ NO	3.18

α -萜品烯具有柑橘和柠檬似香气, 常作为香料, 制备人造柠檬和薄荷精油。右旋萜二烯别名为 D-柠檬

烯,有似鲜花的香气,具有良好的镇咳、祛痰、抑菌作用,已被广泛应用于食品、香料、日化、医药等行业^[26];萜品烯可以保护 SOD、GSH-Px 和 CAT 等抗氧化酶的活性,在一定程度上恢复由过氧化氢引发的细胞损伤,起到抗氧化作用^[27]。罗勒烯有草香、花香并伴有橙花油气息,可用于多种日化香精配方中;萜品油烯、 α -衣兰油烯、 α -蒎烯用作香料的原料。其中 α -蒎烯在一定作用水平下对大肠杆菌具有明显的抑制作用。樟脑具有兴奋、止痛、除湿、驱风等功效。

酚类化合物有 5 种,相对含量为 1.58%,包括愈创木酚、2-甲氧基-4-甲基苯酚、甲基丁香酚、4-乙基-2-甲氧基苯酚、2,6-二叔丁基苯酚;其中愈创木酚有芳香气味,主要用作杀虫剂,用于香料和医药等领域;2-甲氧基-4-甲基苯酚可用于威士忌酒的增香剂,也可调配丁香、熏肉、香荚兰等食用香精和烟用香精;甲基丁香酚主要用于配制依兰型、康乃馨型、紫丁香型等香精^[28]。

除了醇类、萜类、酚类化合物以外,还有烃类化合物有 5 种(1.49%),包括 1,3-环己二烯、2,4-二甲基苯乙烯、十六烷和 2,2-二甲基-3-亚甲基二环[2.2.1]庚烷、间异丙基甲苯;醛类化合物有 3 种,但相对含量较低(0.24%),包括 3-羧基苯甲醛、壬醛、香桃木醛;其中壬醛具有玫瑰、柑橘等香气,有强的油脂气味,广泛用于配制人造玫瑰油和玫瑰型香精,工业生产中可用作食品、纺织品等的芳香剂或异味掩盖剂^[29]。酮类化合物 2 种,包括环己酮(0.17%)和 4-羟基-2-甲基苯乙酮(1.19%);酯类化合物 1 种,邻苯二甲酸二丁酯,相对含量为 1.51%,主要作为增塑剂和用于制备香料溶剂、织物润滑剂等。除此之外,还有酸类如乙酸,及其它类型的挥发性化合物如吡啶、3-甲氧基吡啶、油酸酰胺和硬脂酰胺等。

在水蒸气蒸馏提取植物精油过程中,挥发性成分经冷凝后分为油水两相,即精油和纯露,被蒸馏出来植物纯露中以醇类、酚类等水溶性成分为主^[30]。香榧纯露的生物活性相关的报道较少,因此后续实验针对香榧纯露的生物活性开展了进一步的探索。

2.3 体外抗氧化试验结果

2.3.1 DPPH 自由基清除试验结果 DPPH·氧化性强,当加入抗氧化物质后,DPPH·的产生会被抑制,颜色由紫变黄^[31]。实验评价了香榧纯露的清除 DPPH 自由基的能力,以 V_C 作为阳性对照,结果见图 3,阳性对照 V_C 在 20~100 mg/mL 浓度范围内,清除率达 90% 以上并趋于平衡,香榧纯露达到 100 mg/mL 时,对 DPPH 自由基的清除率达 67.3% $\pm$ 1.2%。香榧纯露清除 DPPH 的 IC_{50} 为 73.10 mg/mL(V_C 为 0.018 mg/mL)。以往研究表明,许多植物纯露都具有一定的抗氧化活性^[32],本研究中香榧纯露对 DPPH 自由基的最高清除率高于文献报道的玫瑰纯露^[9],表明其在功能性食品、化妆品等领域的应用潜力。

2.3.2 ABTS 自由基清除试验结果 香榧纯露 ABTS

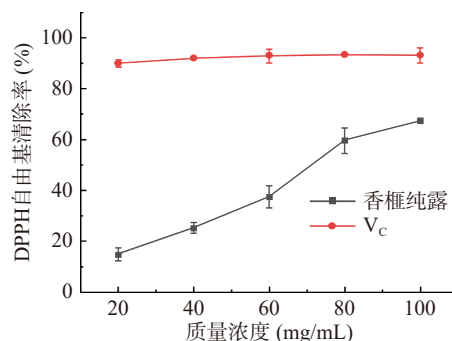


图3 香榧纯露对 DPPH 自由基的清除能力

Fig.3 Effect of *T. grandis* hydrosols on DPPH free radical scavenging

自由基清除试验结果见图 4,在 20~100 mg/mL 浓度范围内,香榧纯露对 ABTS 自由基清除能力随着香榧纯露浓度增加而增强,在 100 mg/mL 时清除率最高并趋于稳定,达到 84.2% $\pm$ 3.7%(IC_{50} =37.63 mg/mL)。 V_C (IC_{50} =0.014 mg/mL)在 20~100 mg/mL 浓度范围内,对 ABTS 自由基清除率均为 90% 以上,清除率趋于平稳。香榧纯露对 ABTS 自由基的清除率虽然低于阳性对照 V_C ,但清除率达到 80% 以上,表明期具有较好的体外抗氧化活性。

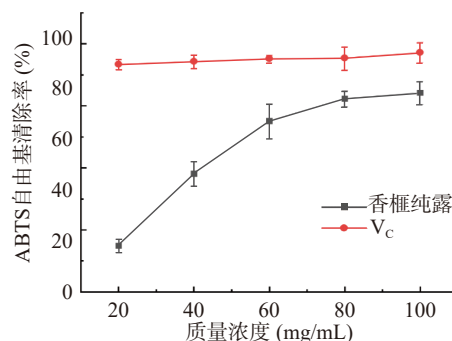


图4 香榧纯露对 ABTS 自由基的清除能力

Fig.4 Effect of *T. grandis* hydrosols on ABTS radical scavenging

2.4 秀丽隐杆线虫实验结果

2.4.1 香榧纯露对线虫镉应激的影响 重金属应激反应是指秀丽隐杆线虫在一定浓度的重金属离子中的生存情况,可以反映秀丽隐杆线虫抵抗重金属诱导的氧化应激性^[33-34]。在 96 孔板实验中,通过每孔加入 8 μ L 的 $K_2Cr_2O_7$ (10 mmol/L)考察不同样品对线虫存活的影响。从图 5 可知,以蒸馏水为样品的空白对照存活时间最短(60 h),添加阳性对照 V_C 可极显著提高线虫存活时间至 64 h($P<0.01$),不同稀释浓度(10~100 倍稀释)的香榧纯露对线虫存活时间的延长同样显著($P<0.05$),当稀释达 500 倍时对线虫存活时间无明显影响(图 5D)。目前已有较多文献报道,植物挥发性成分可以调节线虫自身的氧化应激性能并延长线虫的寿命。如杜松子(*Juniperus communis*)精油在较低剂量(10 ppm)显示出抵抗各种氧化和热应力的潜力,并且可使线虫的寿命延长 18.54%^[35]。

本研究试验结果表明, 香榧纯露在一定浓度内具有显著提高线虫抵抗重金属诱导的应激能力(图 5A~C), 并且与浓度存在相关性, 随着纯露浓度降低(稀释倍数增大), 其抵抗镉应激能力减弱(图 5D), 显示香榧纯露在一定浓度范围具有对线虫的抗氧化应激和延长寿命方面的活性。

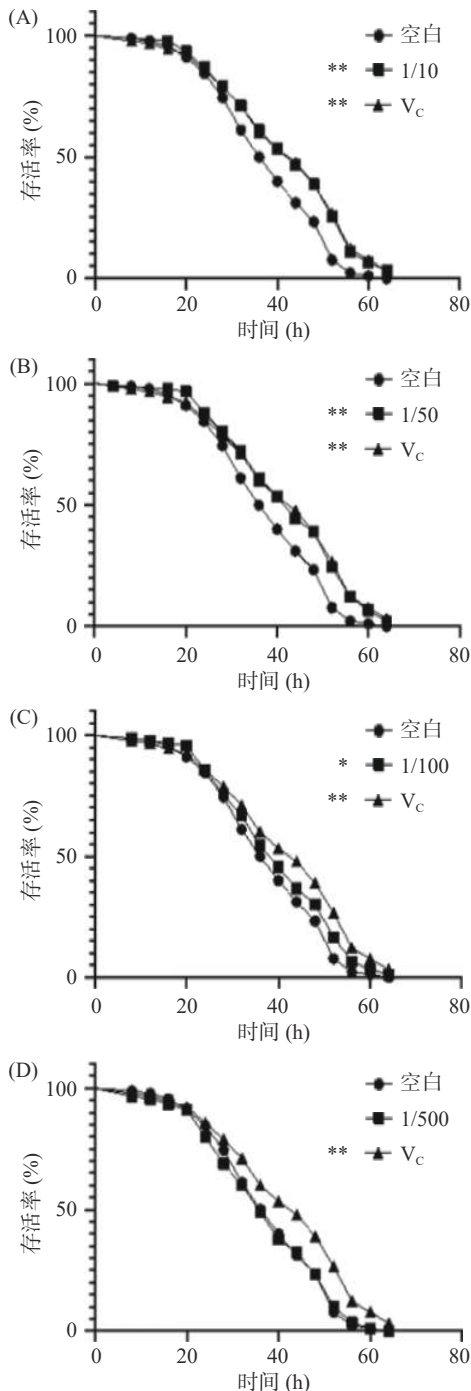


图 5 香榧纯露对线虫应镉抵抗能力的影响
Fig.5 Effect of *T. grandis* hydrosols on stress resistance of *C. elegans* under stimulation of Cd^{6+}
注: 1/10~1/500 分别表示稀释倍数为 10~500 倍。与空白组相比, * 差异显著($P<0.05$), ** 差异极显著($P<0.01$); 图 6 同。

2.4.2 香榧纯露对线虫寿命的影响 将同步到 L4 期的线虫转移至 96 孔板, 培养基中添加 5-氟去氧尿苷(400 $\mu\text{mol/L}$)抑制线虫繁殖, 每天观察并记录线虫

的存活数量, 直至所有线虫死亡为止, 不同浓度香榧纯露对线虫寿命的影响如图 6 所示。空白组线虫寿命最长为 24 d, 添加 V_C (0.05 mg/mL)和香榧纯露可使线虫的最长寿命延长, 添加 V_C 可使线虫最长寿命延长至 30 d, 稀释 10、50、100、500 倍的香榧纯露可使线虫最长寿命延长至 32、28、28、26 d, 表 2 可知, 与空白组相比, 添加 V_C 的线虫平均寿命提高 29.5%, 添加稀释 10、50、100、500 倍的香榧纯露, 线虫平均寿命依次提高约为 30.7%、21.8%、14.3%、7.8%。

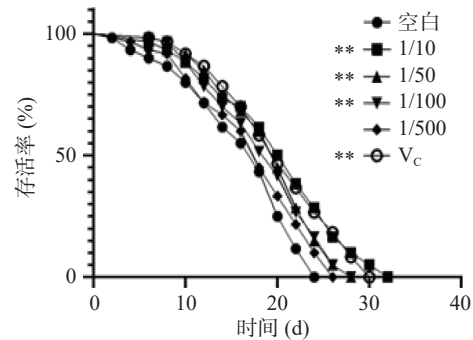


图 6 不同稀释倍数香榧纯露对线虫寿命的影响
Fig.6 Effect of *T. grandis* hydrosols on life span of *C. elegans*

表 2 香榧纯露对线虫寿命的影响			
Table 2 Effect of <i>T. grandis</i> hydrosols on life span of <i>C. elegans</i>			
组别	平均寿命(d)	中位数(d)	最长寿命时间(d)
空白组	20.00±1.17	18.00±1.17	24.00±1.17
1/10	27.00±0.68**	21.00±0.90**	32.00±0.44**
1/50	24.00±1.79**	20.00±0.46**	28.00±1.19**
1/100	23.00±1.20*	20.00±0.59*	28.00±1.82*
1/500	22.00±0.84	18.00±0.18	26.00±1.31
V_C	26.00±1.42**	20.00±1.34**	30.00±0.72**

注: 与空白组相比, * 差异显著($P<0.05$), ** 差异极显著($P<0.01$)。

从表 2 可知, 同空白组相比, 添加 V_C 及高浓度香榧纯露组可使线虫平均寿命和中位生存时间显著增加。线虫平均寿命及中位生存时间的增加与香榧纯露的浓度呈正相关, 试验的最高浓度组(香榧纯露原液稀释 10 倍)的平均寿命、中位生存时间及最长寿命时间相比空白组均显著增加($P<0.01$), 且优于阳性对照 V_C (0.05 mg/L), 表明香榧纯露在一定浓度范围具有延缓衰老、延长线虫寿命的作用。

3 讨论与结论

采用 LUMi Sizer 稳定性分析仪对非过滤和过滤工艺下香榧纯露的稳定性进行了比较, 通过不稳定系数分析及加速试验透光率指纹图谱对比, 表明过滤香榧纯露具有较低的不稳定系数和更好的稳定性。在此基础上, 对香榧纯露的成分与抗氧化活性进行了研究。香榧纯露通过 GC-MS 共鉴定出 49 种化合物, 其中醇类化合物占较大比例共 21 种(41.82%), 如松油醇(16.45%)、4-萜品醇(11.14%), 7 种萜类化合物(5.27%), 还有酚类(5 种)、醛类(3 种)及其他类型挥发性化合物等。

体外 DPPH、ABTS 自由基清除能力的测定结果表明, 香榧纯露具有较好的抗氧化作用, 且清除自由基能力在试验中与香榧纯露的质量浓度呈正相关。秀丽隐杆线虫抗氧化应激试验结果表明, 香榧纯露可以提高线虫的抗氧化应激能力且与浓度呈正相关, 在试验考察的最高浓度(香榧纯露原液稀释 10 倍)时其体内抗氧化应激性能与阳性对照药物 $V_C(0.05 \text{ mg/L})$ 接近。秀丽隐杆线虫由于其较短的寿命周期、高度保守的基因和拥有与人相似的衰老通路, 常被用作衰老研究的模式生物^[36-37]。本试验中线虫寿命结果表明, 香榧纯露在一定浓度范围可显著提高线虫平均寿命及中位生存时间, 而对于其延缓衰老的成分及作用机制还需要后续的进一步研究。

香榧是我国特有的植物资源, 本文对香榧假种皮提取精油过程的副产物香榧纯露进行了成分鉴定和体内外抗氧化活性研究, 相关结果表明香榧纯露具有应用在抗氧化、抗衰老功能性食品、化妆品上的潜能。本研究结果为香榧资源的综合利用和开发提供了科学依据与理论参考, 但寿命延长机制还有待于在今后工作中继续深入探究。

参考文献

- [1] 李兴飞, 郜海燕, 陈杭君, 等. 香榧坚果生物活性成分与抗氧化研究进展[J]. 食品科学, 2012, 33(7): 341-345. [LI X F, GAO H Y, CHEN H J, et al. Research progress on bioactive components and antioxidation of *Torreya grandis*[J]. Food Science, 2012, 33(7): 341-345.]
- [2] 李冬梅, 古研, 赵振东, 等. 香榧假种皮中主要化学组成的研究[J]. 生物质化学工程, 2012, 46(4): 22-26. [LI D M, GU Y, ZHAO Z D, et al. Study on the main chemical components in the aril of *Torreya grandis*[J]. Biochemical Engineering of Biomass, 2012, 46(4): 22-26.]
- [3] 何宛燕, 陈雨欣, 于勇杰, 等. 香榧假种皮提取物的体外抗氧化活性研究[J]. 中国野生植物资源, 2015, 34(6): 1-4, 17. [HE W Y, CHEN Y X, YU Y J, et al. *In vitro* antioxidant activity of extracts from *Torreya grandis* aril[J]. Chinese Wild Plant Resources, 2015, 34(6): 1-4, 17.]
- [4] ZHOU X, SHANG J, QIN M, et al. Fractionated antioxidant and anti-inflammatory kernel oil from *Torreya fargesii*[J]. Molecules, 2019, 24(18): 3402.
- [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] 冯涛, 吴琰君. 香榧壳香精的提取及其成分鉴定[J]. 食品工业, 2009(3): 65-68. [FENG T, WU Y J. Extraction and composition identification of *Torreya grandis* shell flavor[J]. Food Industry, 2009(3): 65-68.]
- [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*[J]. Rsc Advances, 2019, 9: 60-66.
- [8] 赵丹. 常见药用植物纯露抑菌性及保湿性能研究[J]. 现代农村科技, 2021(5): 63-65. [ZHAO D. Study on antibacterial and moisturizing properties of common medicinal plant hydrosols[J]. Modern Rural Science and Technology, 2021(5): 63-65.]
- [9] 王斌, 王凤君, 梁颖琪, 等. 玫瑰纯露提取工艺优化及其抑菌和抗氧化活性研究[J]. 北方园艺, 2020(18): 106-113. [WANG B, WANG F J, LIANG Y Q, et al. Optimization of extraction process and Study on antibacterial and antioxidant activities of rose hydrosols[J]. Northern Horticulture, 2020(18): 106-113.]
- [10] 王斌, 黄嘉坪, 肖艳辉, 等. 芳香植物纯露处理对鲜切芋头保鲜效果的影响[J]. 保鲜与加工, 2020, 20(3): 41-46. [WANG B, HUANG J P, XIAO Y H, et al. Effect of hydrosols treatment of aromatic plants on preservation of fresh cut taro[J]. Preservation and Processing, 2020, 20(3): 41-46.]
- [11] 黄剑钊, 黎攀, 许锦伟, 等. 美藤果油纳米乳液的制备及稳定性研究[J]. 食品与发酵工业, 2020, 46(11): 216-222. [HUANG J Z, LI P, XU J W, et al. Preparation and stability of Mei Chang Guo oil nanoemulsion[J]. Food and Fermentation Industry, 2020, 46(11): 216-222.]
- [12] 曾小兰. 改性短直链淀粉对不同构型风味物质包含表征及稳定性研究[D]. 上海: 上海应用技术大学, 2019. [ZENG X L. Inclusion characterization and stability of modified short amylose for flavor compounds with different configurations[D]. Shanghai: Shanghai University of Applied Technology, 2019.]
- [13] PAVLIC B, TESLIC N, ZENGIN G, et al. Antioxidant and enzyme-inhibitory activity of peppermint extracts and essential oils obtained by conventional and emerging extraction techniques[J]. Food Chemistry, 2021, 338: 127724.
- [14] BAI Z Z, NI J, TANG J M, et al. Bioactive components, antioxidant and antimicrobial activities of *Paonia rockii* fruit during development[J]. Food Chemistry, 2021, 343: 128444.
- [15] 张晓寒, 赵江, 韩英, 等. 根皮素对秀丽隐杆线虫寿命的影响[J]. 食品科学, 2021, 42(1): 187-196. [ZHANG X H, ZHAO J, HAN Y, et al. Effect of phloretin on life span of *Caenorhabditis elegans*[J]. Food Science, 2021, 42(1): 187-196.]
- [16] 胡倩, 李静, 刘大会, 等. 艾叶总黄酮提取物体内外抗氧化活性研究[J]. 食品工业科技, 2021, 42(6): 304-309. [HU Q, LI J, LIU D H, et al. *In vitro* and *in vivo* antioxidant activity of total flavonoids from *Artemisia argyi*[J]. Food Industry Science and Technology, 2021, 42(6): 304-309.]
- [17] YUEN C W, MURUGAIYAH V, NAJIMUDIN N, et al. Danshen (*Salvia miltiorrhiza*) water extract shows potential neuroprotective effects in *Caenorhabditis elegans*[J]. Journal of Ethnopharmacology, 2021, 266: 113418.
- [18] BORA S, VARDHAN G S H, DEKA N, et al. Paraquat exposure over generation affects lifespan and reproduction through mitochondrial disruption in *C.elegans*[J]. Toxicology, 2021, 447: 152632.
- [19] CHANG M, YANG J, GUO X, et al. Medium/long-chain structured triglycerides are superior to physical mixtures triglycerides in *Caenorhabditis elegans* lifespan through an AMPK modified pathway[J]. Food Bioscience, 2021, 39: 100815.
- [20] 温永柱, 周娜, 陈家伯. LUMiSizer 与近红外指纹技术联用分析解决果汁类产品中油圈上浮问题[J]. 饮料工业, 2018, 21(2): 8-11. [WEN Y Z, ZHOU Y, CHEN J B. Application of

- LUMiSize and near infrared fingerprint technology to solve the problem of oil ring floating in fruit juice products[J]. *Beverage Industry*, 2018, 21(2): 8–11.]
- [21] 周森, 何志勇, 曾茂茂, 等. 可溶性大豆多糖对于配制型酸性乳饮料稳定效应影响因素研究[J]. *食品科技*, 2019, 44(7): 308–313. [ZHOU S, HE Z Y, ZENG M M, et al. Study on influencing factors of stability effect of soluble soybean polysaccharides on formulated acidic milk beverage[J]. *Food Science and Technology*, 2019, 44(7): 308–313.]
- [22] 许明向, 冯玉红, 许丹虹, 等. 浓缩红枣汁中酶活残留对果汁乳饮料稳定体系影响的研究[J]. *饮料工业*, 2019, 22(2): 41–46. [XU M X, FENG Y H, XU D H, et al. Study on the effect of enzyme residues in concentrated jujube juice on the stability of juice milk beverage[J]. *Beverage Industry*, 2019, 22(2): 41–46.]
- [23] 杨佳佳, 李婉蓉, 彭剑青, 等. 香茅醇亚微乳的处方工艺优化研究[J]. *中国药房*, 2020, 31(14): 1704–1710. [YANG J J, LI W R, PENG J Q, et al. Optimization of formulation process of citronellol submicron emulsion[J]. *Chinese Pharmacy*, 2020, 31(14): 1704–1710.]
- [24] 岳金方, 朱立, 贾爽, 等. 水蒸气法提取黑松松针挥发油及组分分析[J]. *化工技术与开发*, 2018, 47(11): 37–40. [YUE J F, ZHU L, JIA S, et al. Extraction and component analysis of volatile oil from *Pinus thunbergii* needles by steam method[J]. *Chemical Technology and Development*, 2018, 47(11): 37–40.]
- [25] 耿欣, 高志鹏, 张凯奇, 等. 茶叶精油成分和功能研究进展[J]. *食品科学*, 2018, 39(21): 299–307. [GENG X, GAO Z P, ZHANG K Q, et al. Research progress on composition and function of essential oil from tea leaves[J]. *Food Science*, 2018, 39(21): 299–307.]
- [26] 陈晓晶, 黄文佳, 杜丽清. 柠檬果皮精油的成分分析及其抗氧化活性研究[J]. *广东化工*, 2021, 48(8): 89–92, 74. [CHEN X J, HUANG W J, DU L Q. Composition analysis and antioxidant activity of essential oil from lemon peel[J]. *Guangdong Chemical Industry*, 2021, 48(8): 89–92, 74.]
- [27] HUA W, XIANG D G, GAO C Z, et al. *In vitro* and *in vivo* antioxidant activity of aqueous extract from *Choerospondias axillaris* fruit[J]. *Food Chemistry*, 2008, 106(3): 888–895.
- [28] 钱深思, 刘美怡, 容蓉, 等. 细辛挥发油的化学成分及其药理和毒理现代研究进展[J]. *中国药物警戒*, 2021, 18(4): 388–395. [QIAN S L, LIU M Y, RONG R, et al. Chemical constituents, pharmacology and toxicology of essential oil from *Asarum*[J]. *Chinese Pharmacovigilance*, 2021, 18(4): 388–395.]
- [29] 刘欢, 张德权, 王振宇, 等. 北京烤鸭腿皮与腿肉关键挥发性风味物质解析[J]. *中国食品学报*, 2021, 21(2): 308–318. [LIU H, ZHANG D Q, WANG Z Y, et al. Analysis of key volatile flavor compounds in leg skin and leg meat of Beijing roast duck[J]. *Chinese Journal of Food Science*, 2021, 21(2): 308–318.]
- [30] 何金明, 扶美琴, 邹心茹, 等. 不同蒸馏时段迷迭香精油和纯露挥发性成分及抗氧化能力研究[J]. *中国调味品*, 2020, 45(10): 54–58. [HE J M, FU M Q, ZOU X R, et al. Study on volatile components and antioxidant capacity of rosemary essential oil and pure dew at different distillation periods[J]. *China Condiments*, 2020, 45(10): 54–58.]
- [31] JAHDAHY B A, RADADI N S, et al. Selenium nanoparticles synthesized using an eco-friendly method: dye decolorization from aqueous solutions, cell viability, antioxidant, and antibacterial effectiveness[J]. *Journal of Materials Research and Technology*, 2021, 11: 85–97.
- [32] 梁卉, 刘绍华, 欧阳坚, 等. 5 种芳香中药纯露体外抗氧化活性及抑菌活性分析[J]. *香精香料化妆品*, 2018, 3(3): 58–60, 78. [LIANG H, LIU S H, OU Y J, et al. *In vitro* antioxidant activity and antibacterial activity of 5 kinds of aromatic Chinese medicine hydrosols[J]. *Flavor and Fragrance Cosmetics*, 2018, 3(3): 58–60, 78.]
- [33] WAN X, LI X, LIU D, et al. Physicochemical characterization and antioxidant effects of green microalga *Chlorella pyrenoidosa* polysaccharide by regulation of microRNAs and gut microbiota in *Caenorhabditis elegans*[J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2021, 168: 152–162.
- [34] LIU Y, ZHI D, WANG X, et al. Kushui Rose (*R. Setate* x *R. Rugosa*) decoction exerts antitumor effects in *C. elegans* by down-regulating Ras/MAPK pathway and resisting oxidative stress[J]. *International Journal of Molecular Medicine*, 2018, 42(3): 1411–1417.
- [35] SWAPNIL P, SUDEEP T, ANIL K, et al. Antioxidant and anti-aging potential of Juniper berry (*Juniperus communis* L.) essential oil in *Caenorhabditis elegans* model system[J]. *Industrial Crops and Products*, 2018, 120: 113–122.
- [36] DONG L L, XIAO F Z, LE L, et al. Carnitine promotes recovery from oxidative stress and extends lifespan in *C. elegans*[J]. *Aging*, 2020, 12: 813–830.
- [37] LU M R, LAI C K, LIAO B Y, et al. Comparative transcriptomics across nematode life cycles reveal gene expression conservation and correlated evolution in adjacent developmental stages[J]. *Genome Biology and Evolution*, 2020, 12(7): 1019–1030.