

DOI:10.12171/j.1000-1522.20190249

## 红花玉兰挥发油萃取及抗氧化、抗菌活性研究

程嘉莉<sup>1</sup> 马江<sup>1</sup> 肖爱华<sup>1</sup> 朱仲龙<sup>1</sup> 桑子阳<sup>2</sup> 马履一<sup>1</sup>

(1. 北京林业大学 林学院 省部共建森林培育与保护教育部重点实验室, 北京 100083;  
2. 湖北五峰土家族自治县林业科学研究所, 湖北 五峰 443413)

**摘要:**【目的】研究红花玉兰花蕾挥发油的萃取工艺, 并对其化学组成、抗氧化及抗菌活性进行鉴定和评价, 旨在为红花玉兰花蕾挥发油的萃取建立一套可行的工艺体系, 并为后续的开发应用提供技术支持和理论参考。【方法】以‘娇红1号’红花玉兰阴干花蕾为原料, 在单因素试验基础上, 采用响应面分析法优化超临界 CO<sub>2</sub> 萃取工艺, 结合自动化质谱解卷积和保留指数对最佳工艺条件下得到的挥发油进行成分定性和定量; 采用 DPPH 自由基清除法和还原能力法评价挥发油抗氧化活性, 纸片扩散法和微量肉汤稀释法评价挥发油抗菌活性。【结果】阴干预处理条件下, 红花玉兰花蕾挥发油萃取的最佳条件为萃取温度 47 °C, 萃取压力 40.7 MPa, 动态萃取时间 102 min, 该条件下挥发油的萃取率为 (1.217 ± 0.014)%。GC-MS 共鉴定出 30 种化学成分, 占检测到的挥发油总量的 70.65%。DPPH 自由基清除法测定得到挥发油 IC<sub>50</sub> 值为 12.82 mg/mL AEAC 值为 198.64 mg, 表明挥发油具有一定的抗氧化活性, 还原力测定也得到了这一结果。抗菌试验表明, 挥发油对 4 种供试菌抑制作用强弱依次为金黄色葡萄球菌 > 枯草芽孢杆菌 > 大肠杆菌 > 鼠伤寒沙门氏菌。【结论】首次建立了红花玉兰阴干花蕾挥发油的超临界 CO<sub>2</sub> 萃取工艺, 确定了该工艺条件下挥发油的主要成分, 并验证其具有一定的抗氧化和抗菌活性。

**关键词:** 红花玉兰花蕾挥发油; 超临界 CO<sub>2</sub> 萃取; 响应面分析; GC-MS; 抗氧化; 抗菌

**中图分类号:** S685.15; TS201 **文献标志码:** A **文章编号:** 1000-1522(2020)02-0096-10

**引文格式:** 程嘉莉, 马江, 肖爱华, 等. 红花玉兰挥发油萃取及抗氧化、抗菌活性研究 [J]. 北京林业大学学报, 2020, 42(2): 96-105. Cheng Jiali, Ma Jiang, Xiao Aihua, et al. Extraction, antioxidant and antibacterial activities of essential oils from *Magnolia wufengensis* [J]. Journal of Beijing Forestry University, 2020, 42(2): 96-105.

### Extraction, antioxidant and antibacterial activities of essential oils from *Magnolia wufengensis*

Cheng Jiali<sup>1</sup> Ma Jiang<sup>1</sup> Xiao Aihua<sup>1</sup> Zhu Zhonglong<sup>1</sup> Sang Ziyang<sup>2</sup> Ma Lüyi<sup>1</sup>

(1. Key Laboratory for Silviculture and Conservation of Ministry of Education, School of Forestry, Beijing Forestry University, Beijing 100083, China;  
2. Forestry Research Institute of Wufeng County, Wufeng 443413, Hubei, China)

**Abstract:** [Objective] The aim of this study is to establish a set of reliable process system for the extraction of essential oils from *Magnolia wufengensis* buds and provide technical support as well as theoretical reference for its subsequent development and application. The extraction process of essential oils from *M. wufengensis* buds was studied, and chemical compositions, antioxidant and antibacterial activities were identified and evaluated. [Method] Based on single-factor experiment, the supercritical CO<sub>2</sub> fluid extraction conditions of essential oils from air-dried buds of *M. wufengensis* ‘Jiaohong No.1’ were optimized by response surface methodology. Components of essential oils were qualitatively and quantitatively analyzed by automated mass spectral deconvolution and identification system combined with retention index. DPPH

收稿日期: 2019-06-03 修回日期: 2019-06-14

基金项目: 林业公益性行业科研专项(201504704)。

第一作者: 程嘉莉。主要研究方向: 红花玉兰植物化学。Email: Chengjiali@bjfu.edu.cn 地址: 100083 北京市海淀区清华东路 35 号北京林业大学林学院。

责任作者: 马履一, 教授, 博士生导师。主要研究方向: 森林培育。Email: maluyi@bjfu.edu.cn 地址: 同上。

本刊网址: <http://j.bjfu.edu.cn>; <http://journal.bjfu.edu.cn>

free radical scavenging method and reducing power method were used to analyze the antioxidant activity of essential oils. Disk diffusion method and broth microdilution method were used to measure the antibacterial activities. [Result] Under the air-dried pretreatment condition, the optimum processing conditions for extracting essential oils from *M. wufengensis* were as follows: extraction temperature 47 °C, extraction pressure 40.7 MPa, dynamic extraction time 102 min. The extraction yield of essential oils under this condition was  $(1.217 \pm 0.014)\%$ . A total of 30 components were identified, accounting for 70.65% of the total components. DPPH free radical scavenging method showed that the  $IC_{50}$  value of essential oils was 12.82 mg/mL, and the AEAC value was 198.64 mg. The essential oils had certain antioxidant activity, and the reducing power method showed the same results. The inhibitory effect of essential oils on the four tested bacteria was in order of *Staphylococcus aureus* > *Bacillus subtilis* > *Escherichia coli* > *Salmonella typhimurium*. [Conclusion] A feasible supercritical CO<sub>2</sub> extraction process of the essential oils from the air-dried buds of *M. wufengensis* was established for the first time. Furthermore, the main components of the essential oils were identified and its antioxidant and antibacterial activities were verified.

**Key words:** essential oils from buds of *Magnolia wufengensis*; supercritical CO<sub>2</sub> fluid extraction; response surface methodology; GC-MS; antioxidant; antibacterial

挥发油是芳香植物中萃取出的一类重要活性物质,具有抗氧化、抗菌、抗炎、抗肿瘤、抗胆碱酯酶等作用<sup>[1-2]</sup>。近年来由于消费者对合成添加剂表现出的毒理效应和细菌耐药性的质疑和排斥日益增强,人们迫切寻找既安全又高效,同时还具有良好感官品质的抗氧化剂和抗菌剂的天然替代品<sup>[3]</sup>。植物挥发油大多无毒且有着合成香料无法替代的独特芳香,并且大量研究均表明挥发油具有良好的抗氧化和抗菌活性。如荒野蒿(*Artemisia campestris*)和腓尼基桧(*Juniperus phoenicea*)的挥发油较其水醇提取物具有更强的清除过氧化氢自由基能力<sup>[4]</sup>,莪术(*Curcuma phaeocaulis*)的挥发油清除 1,1-二苯基-2-三硝基苯肼(1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl, DPPH)能力甚至强于 Trolox C<sup>[5]</sup>;圆叶薄荷(*Mentha rotundifolia*)以及唇萼薄荷(*M. pulegium*)的挥发油对革兰氏阳性菌、革兰氏阴性菌和真菌均具有良好的抑制作用<sup>[6-7]</sup>。挥发油同时满足了消费者对功能和感官的双重需求,因此被认为是合成添加剂理想的潜在替代品,这也促使了挥发油的萃取工艺及其相关生理活性研究成为近年来的热点之一。

目前常用的挥发油提取方法主要有水蒸气蒸馏法、索氏提取法、超声萃取法、微波萃取法和超临界 CO<sub>2</sub> 萃取法等。相较于其他方法,超临界 CO<sub>2</sub> 萃取法具有安全无毒,高萃取率,可在室温下操作,避免热敏性成分氧化及逸散,最大限度地保持挥发油天然活性的特性<sup>[8]</sup>。因此,立足于挥发油的萃取率、品质以及操作便捷性等方面,选择超临界 CO<sub>2</sub> 萃取法作为红花玉兰花蕾挥发油萃取的理想方法。另外,芳香植物中挥发油的萃取率普遍较低,一般约为 0.001%~10%,少数可达到 20%<sup>[9]</sup>,而超临界 CO<sub>2</sub> 萃

取过程中,设置的参数条件会显著影响挥发油萃取的数量和质量,为满足挥发油实际应用所需,对超临界 CO<sub>2</sub> 萃取条件进行的探索就尤为重要。

红花玉兰(*Magnolia wufengensis*)是木兰科(Magnoliaceae)木兰属(*Magnolia*)新种<sup>[10]</sup>,原始群落仅分布于湖北省五峰县海拔 1 400~2 000 m 次生林中,花期在 3 月中下旬—4 月中旬,花型优美,花色艳丽,并有着不同于其他植物独特的浓郁芳香<sup>[11]</sup>。目前已建立苗木繁育、栽培示范推广基地 233.3 hm<sup>2</sup>,大苗培育基地 853.3 hm<sup>2</sup>,繁育、栽培红花玉兰及其新品种苗木 400 万株,并在北京、江苏、河南、广东等 17 个省、直辖市开展了红花玉兰引种栽培和技术推广<sup>[12]</sup>。多处研究已报道木兰科植物的挥发油成分具有抗氧化、抗菌等活性,如张婷婷等<sup>[13]</sup>和 Morshedloo 等<sup>[14]</sup>分别对辛夷(*Magnolia liliflora*)、广玉兰(*Magnolia grandiflora*)的挥发油进行了生理活性的测定,明确了木兰属植物挥发油具有一定的抗氧化及抗菌活性,且辛夷挥发油对大肠杆菌抑制作用较强。因此,红花玉兰花蕾挥发油作为人工合成抗氧化剂和抗菌剂的天然替代品具有极为广阔的开发应用前景。本试验通过单因素试验结合响应面分析法对超临界 CO<sub>2</sub> 萃取工艺进行探索,基于自动化质谱解卷积和保留指数对最佳萃取条件下获得的挥发油成分进行了定性和定量分析。另外,采用 DPPH 自由基清除法、还原能力测定法评价了红花玉兰花蕾挥发油的抗氧化活性,以滤纸片扩散法和微量肉汤稀释法评价了其体外抗菌活性。本研究初步补充了红花玉兰花蕾挥发油相关应用潜力信息,为红花玉兰花蕾挥发油的萃取和应用奠定了理论和技术基础。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料与试剂

2018年3月上旬上午于湖北省五峰县仁和坪采集红花玉兰‘娇红1号’花蕾,除去枝梗后在室内通风避光处阴干至重量恒定,用粉碎机粉碎后过标准筛,取20~40目样品封袋保存于干燥器中备用。

大肠杆菌(*Escherichia coli* ATCC25922)、金黄色葡萄球菌(*Staphylococcus aureus* ATCC25923)、鼠伤寒沙门氏菌(*Salmonella typhimurium* ATCC14028)、枯草芽孢杆菌(*Bacillus subtilis* ATCC6633)(上海鲁微科技有限公司),C7~C40正构烷烃混标(o2si标准品公司,美国),DPPH(Sigma公司,美国), $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 、 $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$ 、三氯乙酸、抗坏血酸标准品、吐温-80、氨苄青霉素、刃天青(阿拉丁试剂有限公司),铁氰化钾、氯化铁、正己烷(色谱纯)(北京化工厂有限责任公司),其余试剂均为分析纯。

### 1.2 仪器与设备

高速万能粉碎机(天津泰斯特仪器有限公司),超临界 $\text{CO}_2$ 萃取装置(Applied Separations公司,美国),旋转蒸发仪(Heidolph公司,德国),Agilent 7890B-5977A气相色谱质谱联用仪(Agilent科技有限公司,美国),超声波清洗机(宁波新芝生物科技股份有限公司),Lambda35紫外分光光度计(PerkinElmer公司,美国),恒温培养箱(上海博迅医疗生物仪器股

份有限公司)等。

### 1.3 方法

#### 1.3.1 挥发油萃取的单因素试验

固定静态萃取时间90 min,  $\text{CO}_2$  流速2.5 mL/min, 分别以萃取温度(35、40、45、50、55  $^{\circ}\text{C}$ ), 萃取压力(25、30、35、40、45 MPa)和动态萃取时间(30、60、90、120、150 min)为单因素进行萃取试验, 所得粗提物用正己烷溶解、过滤后, 用旋转蒸发仪在35  $^{\circ}\text{C}$  旋至纯净, 得到乳黄色具芳香气味的挥发油, 称质量并计算萃取率, 平行试验3次, 分析各因素对红花玉兰花蕾挥发油萃取率的影响。

$$\text{挥发油萃取率} = \frac{\text{挥发油质量}}{\text{样品粉末质量}} \times 100\%$$

#### 1.3.2 响应面分析法优化超临界 $\text{CO}_2$ 萃取工艺

根据单因素试验获得的各因素适宜水平值, 应用Design-Expert 10软件中的Box-Behnken设计创建以萃取压力、萃取温度、动态萃取时间为自变量, 红花玉兰花蕾挥发油萃取率为响应值的3因素3水平试验, 并根据响应面试验结果确定超临界 $\text{CO}_2$ 萃取红花玉兰花蕾挥发油萃取的最佳工艺条件。响应面试验因素与水平见表1。

#### 1.3.3 挥发油成分分析

##### 1.3.3.1 正构烷烃混标进样前处理

将1 mg/mL的C7~C40正构烷烃混标用正己烷稀释, 待GC-MS检测。

表1 响应面试验设计方案及结果

Tab. 1 Design and results of response surface experiments

试验号 Experiment No.	萃取温度 Extraction temperature/ $^{\circ}\text{C}$	萃取压力 Extraction pressure/MPa	动态萃取时间 Dynamic extraction time/min	挥发油萃取率 Extraction yield of essential oil/%
1	-1 (40)	0 (40)	-1 (60)	1.034
2	-1	0	1 (120)	1.091
3	0 (45)	0	0 (90)	1.207
4	0	1 (45)	-1	1.116
5	1 (50)	0	-1	1.145
6	0	0	0	1.203
7	-1	1	0	1.066
8	0	-1 (35)	1	1.177
9	0	1	1	1.172
10	1	0	1	1.173
11	1	1	0	1.178
12	1	-1	0	1.126
13	0	0	0	1.218
14	0	-1	-1	1.103
15	-1	-1	0	1.048

注: 括号内数字表示各编码值代表的实际参数值。Note: the numbers in parentheses represent the actual parameter values represented by each coded value.

### 1.3.3.2 GC-MS 条件

GC 条件: HP-5M 石英毛细管柱(30 m × 250 μm × 0.25 μm); 载气为高纯氦气(He), 载气流速 1 mL/min; 进样量 1 μL, 分流比 10:1; 进样口温度 280 °C; 程序升温: 初始温度 120 °C, 保持 2 min, 以 10 °C/min 升至 280 °C, 保持 20 min。

MS 条件: 电子电离源(70 eV); 离子源温度 230 °C; 四级杆温度 150 °C; 传输线温度 280 °C; 溶剂延迟时间 3 min; 质量扫描范围 m/z: 35 ~ 550 u。

### 1.3.3.3 定性与定量

将 GC-MS 采集到的总离子流图采用自动化质谱解卷积进行处理, 以 NIST14.L 标准谱库中匹配度最高的值为结果, 结合正构烷烃混标测定结果计算目标成分的保留指数(<sup>a</sup>RI), 并与谱库中的保留指数(<sup>b</sup>RI)进行对比分析, 以峰面积百分比进行初步定量。

科瓦茨保留指数(RI)按以下公式计算<sup>[13]</sup>:

$$RI = 100z + \frac{100 \times (T_{R_x} - T_{R_z})}{T_{R(z+1)} - T_{R_z}}$$

式中:  $T_{R_x}$  为组分保留时间;  $T_{R_z}$ 、 $T_{R(z+1)}$  分别为碳数  $z$ 、 $z+1$  正构烷烃的保留时间, 且  $T_{R_z} < T_{R_x} < T_{R(z+1)}$ 。

### 1.3.4 挥发油的抗氧化性测定

#### 1.3.4.1 清除 DPPH 自由基活性测定

参照 Cherrat 等<sup>[15]</sup>的方法并做优化。将红花玉兰花蕾挥发油用无水乙醇稀释成 3、6、9、12 和 15 mg/mL 样液, 阳性对照抗坏血酸对照稀释为 0.004、0.008、0.012、0.016、0.020 mg/mL 样液, 以 1 mL 乙醇作空白对照。分别吸取上述各浓度样液 1 mL, 加入 3 mL 质量浓度为 0.1 mM 的 DPPH-乙醇溶液, 室温黑暗条件下振荡 60 min, 于波长 517 nm 处测定其吸光度, 用乙醇组调零。平行试验 3 次, 所有试剂现配现用。

按下列公式计算自由基清除率  $I$ :

$$I = \frac{A_0 - A_s}{A_0} \times 100\%$$

式中:  $A_0$  为空白样液吸光度;  $A_s$  为挥发油和抗坏血酸样液吸光度。

测定结果建立 DPPH 自由基清除率-样品浓度回归模型, 并计算半数抑制浓度( $IC_{50}$ )。由于  $IC_{50}$  受 DPPH 自由基初始浓度影响, 目前各文献中初始浓度差异较大, 无法统一比较, 因此采用抗坏血酸当量 (ascorbic acid equivalent antioxidant capacity, AEAC) 来消除这一干扰。

AEAC 计算公式如下<sup>[16]</sup>:

$$AEAC = \frac{IC_{50(A)}}{IC_{50(S)}} \times 10^5$$

式中:  $IC_{50(A)}$  为抗坏血酸半数抑制浓度,  $IC_{50(S)}$  为挥

发油半数抑制浓度。

#### 1.3.4.2 还原能力测定(普鲁士蓝法)

参照 Harkat-Madouri 等<sup>[17]</sup>的方法并做优化。将红花玉兰花蕾挥发油用无水乙醇稀释成 15、30、45、60、75 mg/mL 样液, 阳性对照抗坏血酸对照稀释为 0.004、0.008、0.012、0.016、0.020 mg/mL 样液。分别吸取上述各浓度样液 1 mL, 加入 1 mL 磷酸缓冲液(0.2 M, pH = 6.6)和 1 mL 铁氰化钾溶液(1%), 黑暗中 50 °C 水浴加热 20 min, 快速冷却后加入 1 mL 三氯乙酸溶液(10%, w/v), 3 000 g 离心 10 min 后, 取 1.5 mL 上清液, 加入 1.5 mL 蒸馏水和 0.3 mL 氯化铁溶液(0.1%)充分混合, 静置 10 min 后, 在波长 700 nm 处测定吸光度, 用乙醇组调零。平行试验 3 次, 所有试剂现配现用。

### 1.3.5 挥发油的抑菌活性测定

#### 1.3.5.1 滤纸片扩散法

参照 Abdelli 等<sup>[7]</sup>的方法并做优化。红花玉兰花蕾挥发油用吐温-80 溶液稀释至 50 mg/mL, 以 5% 吐温-80 溶液为阳性对照, 5 μg/disc 氨苄青霉素为阴性对照。活化后的大肠杆菌、金黄色葡萄球菌、鼠伤寒沙门氏菌和枯草芽孢杆菌通过平板菌落计数法调整到  $10^7$  CFU/mL。在超净工作台将 MH(Mueller Hinton)培养基倒入 90 mm 平板中, 凝固后分别加入的 4 种菌液 100 μL, 均匀涂布并干燥 10 min 后, 每个平板上均匀放置 3 个 6 mm 无菌药敏纸片, 依次滴加 10 μL 挥发油样液、5% 吐温-80 样液和 5 μg/disc 氨苄青霉素样液, 在超净工作台上扩散半小时后, 移至 37 °C 恒温培养箱中培养 24 h, 平行试验 3 次, 记录抑菌圈 (diameters of inhibition zones, DIZ) 的大小, 取其平均值, 单位为 mm。

#### 1.3.5.2 微量肉汤稀释法

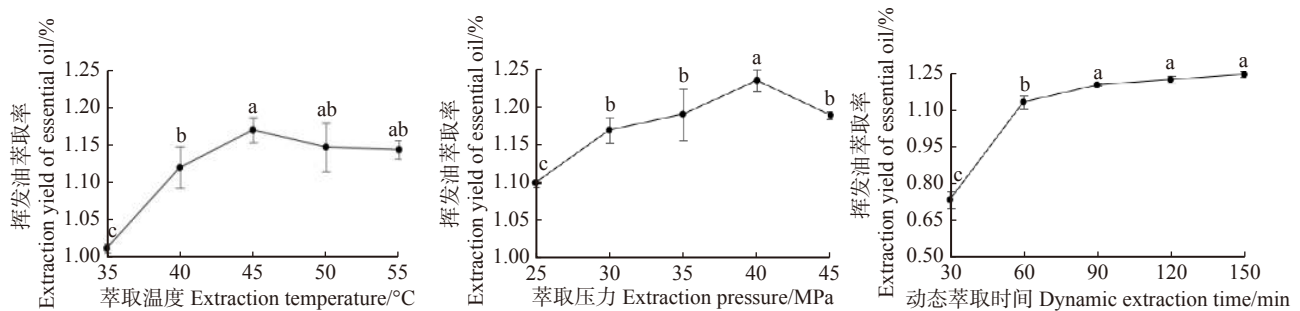
参照 Almadiy 等<sup>[3]</sup>的方法并做优化。在无菌 96 孔板第 1 ~ 10 列加入 100 μL 灭菌冷却至室温的 MH 肉汤, 在第 1 列加入 50 mg/mL 挥发油样液 100 μL 后对溶液进行 2 倍连续稀释, 第 11 孔以吐温-80 溶液(5%)做阴性对照, 第 12 孔以氨苄青霉素(0.5 mg/mL)为阳性对照, 然后在每一孔中加入调整为  $10^7$  CFU/mL 的菌悬液 100 μL, 37 °C 摇床振荡培养 22 h 后, 加入 50 μL 刃天青溶液(0.2 g/L), 继续振荡培养 2 h, 每个菌种设置 3 组平行。刃天青本身为蓝色, 当孔中有细菌生长则呈红色, 以此确定挥发油的最小抑菌浓度 (minimal inhibitory concentration, MIC)。从蓝色 96 孔板内移取 100 μL 溶液涂布平板, 置于 37 °C 恒温培养箱中培养 24 h, 所涂平板完全没有测试菌生长的最低浓度即认定为最小杀菌浓度 (minimum bactericidal concentration, MBC)。

## 2 结果与分析

### 2.1 挥发油萃取的单因素实验结果

超临界 CO<sub>2</sub> 萃取过程中各因素的微小变化都会影响被萃取物有效成分的萃取结果, 综合考虑挥发油萃取率和萃取成分对影响因素的响应程度以及因素的可控性, 选择萃取温度、萃取压力和动态萃取时间 3 个因素来评价它们对红花玉兰阴干花蕾挥发油萃取效果的影响。

单因素试验结果图 1 所示, 以萃取压力 30 MPa, 动态萃取时间 120 min 为初始固定条件, 随着萃取



字母不同表示各因素对挥发油萃取率影响差异显著 ( $P < 0.05$ )。Different letters indicate that the effects of various factors on the extraction rate of essential oils are significantly different ( $P < 0.05$ ).

图 1 3 种因素对红花玉兰花蕾挥发油萃取率影响的单因素试验结果

Fig. 1 Single factor experiment results of three factors on extraction yield of essential oils from the buds of *Magnolia wufengensis*

以萃取温度 45 °C, 动态萃取时间 120 min 为固定条件, 萃取压力(25、30、35、40、45 MPa)的加强使得挥发油萃取率也呈现先增大后减小的变化趋势, 并在 40 MPa 时达到最大值( $1.229 9 \pm 0.016 1$ )%。主要原因可能是萃取过程中压力的加强可显著增加 CO<sub>2</sub> 流体密度, 从而增大溶质的溶解度, 提高萃取效率<sup>[19]</sup>; 而当压力超过临界值后, 粉末易被压缩成块, 与 CO<sub>2</sub> 流体的接触面积减少, 反而会导致溶质溶解度下降, 萃取收率也随之下降, 因此选定合适萃取压力为 40 MPa。

以萃取温度 45 °C, 萃取压力 40 MPa 为固定条件, 随着动态萃取时间(30、60、90、120、150 min)增加, 挥发油萃取率不断增大, 在 90 min 达到( $1.201 3 \pm 0.008 1$ )% 后增长逐渐平缓。这可能是由于动态萃取时间增加有利于 CO<sub>2</sub> 流体与溶质之间达到溶解平衡, 从而提高萃取收率, 但随着溶质中有效成分的减少, 增加动态萃取时间, 萃取收率增加缓慢且能耗增加, 因此综合考虑时间和能耗选定 90 min 为合适的动态萃取时间。

### 2.2 响应面实验结果

利用 Design Expert 10 软件对响应面试验得到的结果进行多元回归拟合, 结果如表 2 所示, 得到挥发油萃取率对萃取温度(A), 萃取压力(B), 动态萃取

温度(35、40、45、50、55 °C)的升高, 挥发油萃取率先增大后平缓地减小, 在 45 °C 时达到最大值, 为( $1.160 0 \pm 0.005 2$ )%。这可能是由于萃取过程中温度的升高增加了溶质的蒸气压和扩散能力, 使其在超临界 CO<sub>2</sub> 中的溶解度上升; 当温度超过临界值后, 随着温度的升高溶质的挥发度和扩散度依然增加, 但难以补偿 CO<sub>2</sub> 流体密度下降造成的溶质溶解度下降<sup>[18]</sup>, 此外伴随温度的升高, 杂质溶解度也会增加从而增大分离纯化的复杂性, 降低溶质的收率以及造成一些不稳定成分的变性、分解和失效, 因此选定合适萃取温度为 45 °C。

时间(C)的二次多元回归方程为  $Y = 1.21 + 0.048A + 0.009 687B + 0.027C + 0.008 525AB - 0.007 225AC - 0.004 45BC - 0.068A^2 - 0.037B^2 - 0.03C^2$ 。方程中二次项系数均为负值表明红花玉兰花蕾挥发油萃取率具极大值点, 可以进行优化分析; 一次项系数绝对值表明对红花玉兰花蕾挥发油萃取率的影响: 萃取温度 > 动态萃取时间 > 萃取压力。

进一步统计分析得到方程模型  $P < 0.01$ , 表明各组参数得到的挥发油萃取率差异极显著, 该模型对红花玉兰花蕾挥发油的萃取具有重要的参考意义, 可以用作后续的优化设计; 失拟项  $P > 0.05$ , 差异不显著, 表明无失拟因素, 该模型在被研究的整个回归区域内拟合较好; 多元相关系数  $R^2 = 0.983 1$ , 表明该模型模拟预测值与实际值拟合度良好, 能够较好的描述试验结果; 信噪比(Adeq Precision)=17.175, 数值较高, 变异系数 CV=1.13%, 数值较低, 表明试验的精确度和精密度高<sup>[20]</sup>; 因此该模型可用于对红花玉兰花蕾挥发油萃取率的预测。由软件分析结果得出红花玉兰花蕾挥发油最佳萃取工艺参数为萃取温度 47 °C、萃取压力 40.7 MPa、动态萃取时间 102 min, 结合固定条件静态萃取 90 min, CO<sub>2</sub> 流速 2.5 mL/min 的工艺条件进行验证实验, 得到挥发油萃取率为( $1.217 \pm 0.014$ )%, 与预测值 1.224% 基本吻合。

表 2 回归模型方差分析及显著性检验

Tab. 2 Variance analysis on regression models and significance test

方差来源 Source of variance	平方和 Sum of squares	自由度 DF	均方 Mean square	F值 F value	P值 P value
模型 Model	0.048	9	$5.357 \times 10^{-3}$	32.39	0.000 7
A	0.018	1	0.018	110.77	0.000 1
B	$7.508 \times 10^{-4}$	1	$7.508 \times 10^{-4}$	4.54	0.086 3
C	$5.784 \times 10^{-3}$	1	$5.784 \times 10^{-3}$	34.97	0.002 0
AB	$2.907 \times 10^{-4}$	1	$2.907 \times 10^{-4}$	1.76	0.242 2
AC	$2.088 \times 10^{-4}$	1	$2.088 \times 10^{-4}$	1.26	0.312 2
BC	$7.921 \times 10^{-5}$	1	$7.921 \times 10^{-5}$	0.48	0.519 7
A <sup>2</sup>	0.017	1	0.017	103.24	0.000 2
B <sup>2</sup>	$5.062 \times 10^{-3}$	1	$5.062 \times 10^{-3}$	30.61	0.002 6
C <sup>2</sup>	$3.407 \times 10^{-3}$	1	$3.407 \times 10^{-3}$	20.60	0.006 2
残差 Residual	$8.268 \times 10^{-4}$	5	$1.654 \times 10^{-4}$		
失拟项 Lack of fit	$6.957 \times 10^{-4}$	3	$2.319 \times 10^{-4}$	3.54	0.228 3
纯误差 Pure error	$1.312 \times 10^{-4}$	2	$6.559 \times 10^{-5}$		
总变异 Total variation	0.049	14			

### 2.3 挥发油成分分析

由 GC-MS 总离子流图可知, 色谱峰主要集中在 14 ~ 30 min(图 2), 进行自动化质谱解卷积分析处理后, 结果如表 3 所示, 从红花玉兰花蕾挥发油中共鉴定出 30 种化合物, 占检测到的挥发性物质总量的 70.65%, 其中含有甾醇类 1 种(24.39%), 烃类 12 种(29.73%), 酮类 1 种(7.82%), 醛类 5 种(1.78%), 酯类 6 种(1.03%), 而维生素 E(0.21%)和醇类 2 种(0.14%)及其他物质 2 种(5.55%)。4 种主要成分依次为  $\gamma$ -谷甾醇(24.39%)、二十三烷(8.77%)、16-三十一酮(7.82%)、二十五烷(7.79%)。

以往的研究表明, 辛夷挥发油提取率为 0.77% ~ 1.05%<sup>[13]</sup>, 其中主要成分萜醇类(39.27% ~ 47.43%)和萜烯类(37.74% ~ 41.93%)远高于红花玉兰, 但酮(0.47% ~ 2.32%)、醛(0.19% ~ 0.27%)、酯类(0.43% ~ 0.77%)含量较红花玉兰相对低。文献报道, 亲缘关系相近的不同树种<sup>[13-14]</sup>或同一树种不同种源、不同取样部位, 土壤(土壤水分、养分等)、气候(温度、湿度、光照时长、降水等)、栽培管理措施等的区别, 均会造成植物合成和积累的挥发油存在较大差异, 且变异规律也不甚明显<sup>[5,21]</sup>, 这些都是植物对生长环境适应的结果。例如木兰属 10 个玉兰种的挥发油中共分离和鉴定出特有或非共有成分 45 种, 占挥发油含率的 25.5%, 且不同树种非共有成分间差异很大, 也无明显变异规律<sup>[22]</sup>。而从不同地区的广玉兰中提取得到的挥发油, 其主要成分及含量也被证明存在较大差别, 如采自伊朗的广玉兰挥发油主要成分为  $\beta$ -榄香烯(14.3%), 牛儿烯(10.3%), 大根香叶烯 D

(7.6%), 采自墨西哥的广玉兰主要成分为醋酸冰片酯(20.9%), 而采自古巴的广玉兰挥发油则以  $\beta$ -蒎烯(10.5%), 香叶醇(7.4%), 大根香叶烯 D(6.2%)为主<sup>[14]</sup>。Zheng 等<sup>[23]</sup>对比发现广西单性木兰雄花和雌花的挥发油虽然成分相似但含量存在差异, 而两者均与叶片的挥发油存在成分上的显著差异。并且挥发油的含量和成分还与采收时所处发育阶段有关<sup>[21]</sup>。此外, 植物样品在干燥过程中既会导致某些原有成分的损失, 也会伴随一些新成分的出现, 这些改变主要取决于操作参数和植物的生物学特性, 如亲水性成分随水份散失, 挥发性成分逸散和氧化<sup>[24-26]</sup>, 因此, 提取得到的挥发油往往与芳香植物本身成分组成存在一定差异。而挥发油提取方法和参数的差异则会直接导致对挥发油成分选择性的不同, 如超临界 CO<sub>2</sub> 萃取在较高萃取压力下, 对大分子成分的选择性会增强, 适当降低压力能增加萜烯类小分子物质的萃取<sup>[27]</sup>。因此, 红花玉兰虽然是木兰属树种, 但挥发油含量和成分与其他木兰种存在较大差异, 且超临界 CO<sub>2</sub> 萃取得到的挥发油中甾醇类等大分子成分含量较高, 而萜醇类等小分子成分含量较低, 这可能与树种、生长环境、所采样品的发育阶段、干燥和提取方法及参数条件等因素相关。其中相对含量最高的  $\gamma$ -谷甾醇(24.44%)与菜油甾醇(4.83%)是植物甾醇的主要存在形式, 具有抗炎、抗癌活性以及降低胆固醇, 预防和治疗冠状动脉硬化类心血管疾病等药理作用, 被誉为“生命的钥匙”<sup>[28]</sup>, 因此红花玉兰的挥发油萃取物在该方面可能具有极其重要的开发和应用价值。

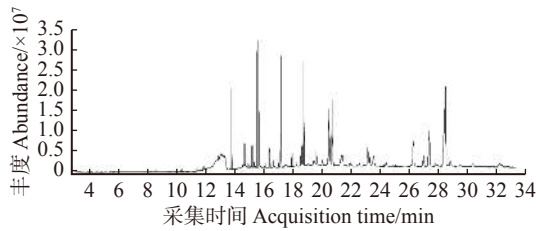


图2 红花玉兰花蕾挥发油 GCMS 总离子流图  
Fig. 2 Total ion current map of essential oils from the buds of *M. wufengensis*

## 2.4 挥发油的抗氧化性测定

DPPH 自由基清除法和还原能力法是评价植物提取物体外抗氧化活性最常用的方法,二者通过两个不同的体系来表现提取物抗氧化活性。前一种方法中, DPPH 能形成稳定的醇溶性自由基, 提取物通过清除这些自由基的能力来反映抗氧化活性, 而后一种方法中, 提取物则通过还原脂质过氧化过程中产生的中间体, 从另一方面反映其抗氧化活性<sup>[29]</sup>。

由表 4 可知, 挥发油和抗坏血酸样品浓度与

表 3 红花玉兰花蕾挥发油化学成分

Tab. 3 Chemical compositions of essential oils from the buds of *Magnolia wufengensis*

序号 No.	化合物名称 Compound name	保留时间 Retention time/min	<sup>a</sup> RI/ <sup>b</sup> RI	相对含量 Relative content/%
1	8-羟基芳樟醇 8-Hydroxylinalool	5.733	1 364/1 361	0.08
2	反式橙花叔醇 Nerolidol	8.21	1 570/1 564	0.06
3	3,4-二甲氧基苯甲酸甲酯 Benzoic acid, 3,4-dimethoxy-, methyl ester	8.535	1 597/1 592	0.13
4	石竹烯氧化物 Caryophyllene oxide	8.636	1 606/1 581	0.14
5	脱氢风毛菊内脂 Dehydrosaussurea lactone	11.364	1 856/1 838	0.19
6	苯甲酸苯乙酯 Benzoic acid, 2-phenylethyl ester	11.534	1 872/1 856	0.06
7	十九烷 Nonadecane	11.822	1 900/1 900	0.23
8	二十烷 Eicosane	12.806	2 000/2 000	0.35
9	二十一烷 Heneicosane	13.754	2 100/2 100	5.38
10	二十二烷 Docosane	14.647	2 200/2 200	1.61
11	裂叶苣荬菜内酯 Santamarine	14.72	2 209/2 227	0.36
12	二十烷醛 Eicosanal	14.894	2 229/2 221	0.24
13	瑞诺木烯内酯 Reynosin	14.994	2 241/2 266	0.22
14	诱虫烯 9-Tricosene, (9Z)-	15.305	2 277/2 272	0.35
15	二十三烷 Tricosane	15.521	2 300/2 300	8.77
16	4H-xanthalongia	15.684	2 322/-	5.41
17	对甲氧基肉桂酸异辛酯 2-Ethylhexyl trans-4-methoxycinnamate	15.776	2 333/2 339	0.07
18	二十四烷 Tetracosane	16.336	2 400/2 400	1.34
19	二十二烷醛 Docosanal	16.598	2 434/2 430	0.51
20	二十五碳烯 Pentacos-1-ene	16.949	2 478/2 488	0.44
21	二十五烷 Pentacosane	17.142	2 500/2 500	7.79
22	二十六烷 Hexacosane	17.897	2 600/2 600	0.88
23	二十四烷醛 Tetracosanal	18.176	2 636/2 632	0.24
24	二十七碳烯 Heptacos-1-ene	18.565	2 686/2 688	1.44
25	二十八烷 Octacosane	19.574	2 800/2 800	1.15
26	二十六烷醛 Hexacosanal	19.979	2 839/2 815	0.47
27	二十八烷醛 Octacosanal	22.498	3 042/3 039	0.32
28	维生素E dl- $\alpha$ -Tocopherol	24.232	3 146/3 150	0.21
29	16-三十一酮 16-Hentriacontanone	27.283	3 291/3 304	7.82
30	$\gamma$ -谷甾醇 $\gamma$ -Sitosterol	28.398	3 332/3 351	24.39

注: <sup>a</sup>RI/<sup>b</sup>RI代表计算所得目标成分的保留指数/谱库中目标成分的保留指数。Note: <sup>a</sup>RI/<sup>b</sup>RI represents calculated retention index of target component/retention index of target component in the library.

表 4 红花玉兰花蕾挥发油抗氧化活性

Tab. 4 Antioxidant activities of essential oils from *Magnolia wufengensis* buds

方法 Method	样品 Sample	线性回归方程 Regression equation	相关系数 $R^2$	$IC_{50}/(mg \cdot mL^{-1})$	AEAC /mg
DPPH 自由基清除法 DPPH free radical scavenging	挥发油 Essential oils	$y = 3.4787x + 5.4081$	0.9954	$12.82 \pm 0.2437$	198.64
	抗坏血酸 Ascorbic acid	$y = 218.4x - 5.6095$	0.9988	$0.025 \pm 0.0007$	—
还原能力法 Reducing power	挥发油 Essential oil	$y = 0.006x + 0.0892$	0.9779	—	—
	抗坏血酸 Ascorbic acid	$y = 16.19x + 0.0620$	0.9998	—	—

DPPH 自由基清除率( $R_{EoS}^2 = 0.9945$ ,  $R_{VC}^2 = 0.9988$ )、吸光度( $R_{EoS}^2 = 0.9779$ ,  $R_{VC}^2 = 0.9998$ )均呈显著正相关。在 DPPH 自由基清除法中,  $IC_{50}$  数值越小则抗氧化活性越强, 而红花玉兰花蕾挥发油的  $IC_{50}$  值( $(12.82 \pm 0.2437)mg/mL$ )远大于抗坏血酸标准品的  $IC_{50}$  值( $(0.025 \pm 0.0007)mg/mL$ ), 且 AEAC 达 198.64 mg, 这表明红花玉兰阴干花蕾萃取的挥发油虽然具有一定的抗氧化性, 但活性相对较弱。还原能力法中, 测定得到挥发油线性回归模型斜率(0.006)远小于抗坏血酸(16.19), 同样表明红花玉兰花蕾挥发油的抗氧化活性相对较弱。

## 2.5 挥发油的抑菌活性测定

采用纸片扩散法和微量肉汤稀释法评价红花玉兰阴干花蕾挥发油对 4 种常见细菌的抗菌活性。由表 5 可知, 红花玉兰花蕾挥发油能在一定程度上抑制细菌的生长, 且对革兰氏阳性菌抑制效果强于革兰氏阴性菌, 这可能与革兰氏阴性菌细胞壁脂多糖对有效成分的限制有关<sup>[6]</sup>。纸片扩散法中, 50 mg/mL 挥发油对 4 种常见细菌的抑制作用强弱依次为金黄色葡萄球菌 > 枯草芽孢杆菌 > 大肠杆菌 > 鼠伤寒沙门氏菌, 抑菌圈直径从  $(8.26 \pm 0.34)mm$  至  $(12.22 \pm 0.83)mm$ 。5  $\mu g/disc$  氨苄青霉素对 4 种细菌的抑制效果表现依次为金黄色葡萄球菌 > 枯草芽孢杆菌 > 鼠伤寒沙门氏菌 > 大肠杆菌, 且抑菌圈直径  $(14.29 \pm 0.43) \sim (37.01 \pm 1.70)mm$  远大于挥发油。微量肉汤稀释法测定的红花玉兰花蕾挥发油抑菌效果与纸片

扩散法测定的结果一致。挥发油对金黄色葡萄球菌抑制效果最佳(MIC = 12.5 mg/mL), 其次为枯草芽孢杆菌和鼠伤寒沙门氏菌, 对大肠杆菌抑制效果最弱(MIC = 25 mg/mL)。

已开展的芳香植物挥发油抗菌试验表明, 挥发油对革兰氏阴性菌与革兰氏阳性菌抑制作用强弱结果不一, 如从 12 个不同产地的莪术中提取得到的挥发油对革兰氏阴性菌和革兰氏阳性菌的抑制作用无明显规律<sup>[5]</sup>; 而圆叶薄荷和蓍草(*Achillea* spp.)类的挥发油对革兰氏阳性菌的抑制作用强于革兰氏阴性菌<sup>[3,6]</sup>, 但蓝桉树(*Eucalyptus globulus*)的挥发油对两种细菌的抑制效果则恰恰相反<sup>[17]</sup>。

挥发油的抗氧化和抗菌活性取决于其化学组成<sup>[30]</sup>, 酚类化合物通常被认为具有较强抗氧化、抗菌活性<sup>[31]</sup>, 萜类化合物及其含氧衍生物如萜醇类、酮醛类等, 萜类化合物及其含氧衍生物如萜醇类、酮醛类等, 并且在抗氧化和抗菌活性方面也发挥了重要作用, 并且单萜类含氧衍生物, 尤其是萜醇类, 较之单萜和倍半萜对细菌抑制作用更强<sup>[7]</sup>。挥发油中各成分间存在协同效应, 使挥发油整体的抗氧化、抗菌活性强于单个主要成分<sup>[3]</sup>。红花玉兰花蕾挥发油中萜烯、萜醇以及醛酮类等含量相对较低, 而几乎无抗氧化和抗菌效果的烃类<sup>[21]</sup>含量较高, 这既有红花玉兰花蕾挥发油本身成分组成的原因, 也有花蕾干燥和萃取过程中有效成分逸散、氧化或未被选择的原因。因此红花玉兰花蕾挥发油具有一定的抗氧化和抗菌活性, 但相对较弱。张婷婷等<sup>[13]</sup>和 Morshedloo 等<sup>[14]</sup>分

表 5 红花玉兰花蕾挥发油抑菌活性测定结果

Tab. 5 Antibacterial activities of essential oils from *Magnolia wufengensis* buds

类别 Category	细菌 Bacteria species 名称 Name	纸片扩散法 Disk diffusion method		微量肉汤稀释法 Broth microdilution method	
		挥发油 Essential oil/mm	氨苄青霉素 Ampicillin/mm	MIC/(mg·mL <sup>-1</sup> )	MBC/(mg·mL <sup>-1</sup> )
革兰氏阳性 Gram-positive	枯草芽孢杆菌 <i>B. subtilis</i>	$10.69 \pm 1.06$ ab	$29.83 \pm 0.88$ b	12.5	
	金黄色葡萄球菌 <i>S. aureus</i>	$12.22 \pm 0.83$ a	$37.01 \pm 1.70$ a	12.5	
革兰氏阴性 Gram-negative	鼠伤寒沙门氏菌 <i>S. typhimurium</i>	$8.26 \pm 0.34$ b	$19.41 \pm 0.92$ c	25	> 25
	大肠杆菌 <i>E. coli</i>	$8.99 \pm 0.38$ b	$14.29 \pm 0.43$ d	25	

注: 字母不同表示氨苄或挥发油对不同细菌抑制作用差异显著( $P < 0.05$ )。Note: different letters indicate that the inhibitory effects of ampicillin or essential oils on different bacteria are significantly different ( $P < 0.05$ ).



别对辛夷和广玉兰挥发油清除 DPPH 自由基的能力进行了测定,也得出两者的挥发油具有相对较弱抗氧化活性的结论。

### 3 结 论

在单因素试验的基础上,结合响应面分析法得到红花玉兰阴干花蕾挥发油超临界 CO<sub>2</sub> 萃取的最佳条件为萃取温度 47 ℃,萃取压力 40.7 MPa,动态萃取时间 102 min,该参数下挥发油萃取率为(1.217 ± 0.014)%,研究结果同时表明选定的 3 个因素对红花玉兰花蕾挥发油萃取率的影响强度依次为:萃取温度 > 动态萃取时间 > 萃取压力。此外,自动化质谱解卷积结合保留指数分析得到红花玉兰花蕾挥发油主要成分为甾醇类(24.39%)和烃类(29.73%),并含有醇类(0.14%)、维生素 E(0.21%)以及酮(7.82%)、醛(1.78%)、酯类(1.03%)等成分。抗氧化和抗菌试验表明红花玉兰花蕾挥发油具有一定的抗氧化能力,但活性相对较弱,并且具有广谱抑菌性,且对革兰氏阳性菌抑制效果强于革兰氏阴性菌。若能深入研究影响其成分组成及生理活性的因素,找到提高红花玉兰花蕾挥发油抗氧化、抗菌活性的处理方法,将有助于拓展红花玉兰的经济开发价值,相关后续工作仍有待进一步开展。

#### 参 考 文 献

- [ 1 ] Bayala B, Bassole I H N, Gnoula C, et al. Chemical composition, antioxidant, anti-inflammatory and anti-proliferative activities of essential oils of plants from Burkina Faso[J/OL]. PLoS One, 2014, 9(3): e92122[2019-05-25]. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0092122>.
- [ 2 ] Ahmad S, Ullah F, Sadiq A, et al. Chemical composition, antioxidant and anticholinesterase potentials of essential oil of *Rumex hastatus* D. Don collected from the north west of Pakistan[J/OL]. BMC Complementary and Alternative Medicine, 2016, 16: 29[2019-05-25]. <https://doi.org/10.1186/s12906-016-0998-z>.
- [ 3 ] Almadiy A A, Nenaah G E, Al Assiuty B A, et al. Chemical composition and antibacterial activity of essential oils and major fractions of four *Achillea* species and their nanoemulsions against foodborne bacteria[J]. LWT - Food Science and Technology, 2016, 69: 529-537.
- [ 4 ] Boulanouar B, Abdelaziz G, Aazza S, et al. Antioxidant activities of eight Algerian plant extracts and two essential oils[J]. Industrial Crops and Products, 2013, 46: 85-96.
- [ 5 ] Zhang L Y, Yang Z W, Wei J W, et al. Essential oil composition and bioactivity variation in wild-growing populations of *Curcuma phaeocaulis* Valetton collected from China[J]. Industrial Crops and Products, 2017, 103: 274-282.
- [ 6 ] Riahi L, Elferchichi M, Ghazghazi H, et al. Phytochemistry, antioxidant and antimicrobial activities of the essential oils of *Mentha rotundifolia* L. in Tunisia[J]. Industrial Crops and Products, 2013, 47: 883-889.
- [ 7 ] Abdelli M, Moghrani H, Aboun A, et al. Algerian *Mentha pulegium* L. leaves essential oil: chemical composition, antimicrobial, insecticidal and antioxidant activities[J]. Industrial Crops and Products, 2016, 94: 197-205.
- [ 8 ] Benito-Román O, Rodríguez-Perrino M, Sanz M T, et al. Supercritical carbon dioxide extraction of quinoa oil: study of the influence of process parameters on the extraction yield and oil quality[J]. The Journal of Supercritical Fluids, 2018, 139: 62-71.
- [ 9 ] 秦娇,姚永红,侯智霞,等. 响应面分析法优化毛竹叶挥发油提取工艺[J]. 食品科学, 2010, 31(6): 1-5.
- Qin J, Yao Y H, Hou Z X, et al. Response surface methodology as an approach to optimization of extraction of volatile oil from leaves of *Phyllostachys heterocycla* (Carr.) Mitford cv. *Pubescens* Mazel ex H. de leh[J]. Food Science, 2010, 31(6): 1-5.
- [ 10 ] 马履一,王罗荣,贺随超,等. 中国木兰科木兰属一新变种(英文)[J]. 植物研究, 2006(5): 516-519.
- Ma L Y, Wang L R, He S C, et al. A new species of magnolia from China[J]. Bulletin of Botanical Research, 2006(5): 516-519.
- [ 11 ] 桑子阳,马履一,陈发菊,等. 五峰红花玉兰种质资源保护现状与开发利用对策[J]. 湖北农业科学, 2011, 50(8): 1564-1567.
- Sang Z Y, Ma L Y, Chen F J, et al. Protection status and utilization countermeasure of germplasm resources of *Magnolia wufengensis* in Wufeng County[J]. Hubei Agricultural Sciences, 2011, 50(8): 1564-1567.
- [ 12 ] 马履一. 红花玉兰的选育及在国土绿化中的应用[J]. 国土绿化, 2019(3): 54-56.
- Ma L Y. Breeding and application in land greening of *Magnolia wufengensis* [J]. Land Greening, 2019(3): 54-56.
- [ 13 ] 张婷婷,郭夏丽,黄学勇,等. 辛夷挥发油 GC-MS 分析及其抗氧化、抗菌活性[J]. 食品科学, 2016, 37(10): 144-150.
- Zhang T T, Guo X L, Huang X Y, et al. GC-MS analysis and antioxidant and antimicrobial properties of volatile oil from flos *Magnoliae* [J]. Food Science, 2016, 37(10): 144-150.
- [ 14 ] Morshedloo M R, Quassinti L, Bramucci M, et al. Chemical composition, antioxidant activity and cytotoxicity on tumour cells of the essential oil from flowers of *Magnolia grandiflora* cultivated in Iran[J]. Natural Product Research, 2017, 31(24): 2857-2864.
- [ 15 ] Cherrat L, Espina L, Bakkali M, et al. Chemical composition and antioxidant properties of *Laurus nobilis* L. and *Myrtus communis* L. essential oils from Morocco and evaluation of their antimicrobial activity acting alone or in combined processes for food preservation[J]. Journal of the Science of Food and Agriculture, 2014, 94(6): 1197-1204.
- [ 16 ] 韦献雅,殷丽琴,钟成,等. DPPH 法评价抗氧化活性研究进展[J]. 食品科学, 2014, 35(9): 317-322.
- Wei X Y, Yin L Q, Zhong C, et al. Advances in the DPPH radical scavenging assay for antioxidant activity evaluation[J]. Food Science, 2014, 35(9): 317-322.

- [17] Harkat-Madouri L, Asma B, Madani K, et al. Chemical composition, antibacterial and antioxidant activities of essential oil of *Eucalyptus globulus* from Algeria[J]. *Industrial Crops and Products*, 2015, 78: 148–153.
- [18] 崔丽丽, 逢世峰, 李亚丽, 等. 响应面试验优化超临界 CO<sub>2</sub> 萃取人参挥发油的工艺[J]. *食品科学*, 2016, 37(4): 58–61.
- Cui L L, Pang S F, Li Y L, et al. Optimization of supercritical CO<sub>2</sub> fluid extraction of essential oil from *Panax ginseng* roots by response surface methodology[J]. *Food Science*, 2016, 37(4): 58–61.
- [19] 葛发欢, 李莹, 谢健鸣, 等. 超临界 CO<sub>2</sub> 从柴胡中萃取挥发油及其皂甙的研究[J]. *中国中药杂志*, 2000(3): 21–25.
- Ge F H, Li Y, Xie J M, et al. Studies on technology of supercritical CO<sub>2</sub> fluid extraction for volatile oils and saikosaponins in *Bupleurum chinense* DC.[J]. *China Journal of Chinese Materia Medica*, 2000(3): 21–25.
- [20] 李莉, 张赛, 何强, 等. 响应面法在试验设计与优化中的应用[J]. *实验室研究与探索*, 2015, 34(8): 41–45.
- Li L, Zhang S, He Q, et al. Application of response surface methodology in experiment design and optimization[J]. *Research and Exploration in Laboratory*, 2015, 34(8): 41–45.
- [21] Dhouioui M, Boulila A, Chaabane H, et al. Seasonal changes in essential oil composition of *Aristolochia longa* L. ssp. *paucinervis* Batt. (Aristolochiaceae) roots and its antimicrobial activity[J]. *Industrial Crops & Products*, 2016, 83: 301–306.
- [22] 傅大立, 赵东欣, 孙金花, 等. 10 种国产玉兰属植物挥发油成分及系统学意义[J]. *林业科学*, 2005, 41(3): 68–74.
- Fu D L, Zhao D X, Sun J H, et al. Component of volatile oils in 10 Chinese species of *Yulania* genus and its phylogenetic implication[J]. *Scientia Silvae Sinicae*, 2005, 41(3): 68–74.
- [23] Zheng Y F, Ren F, Liu X M, et al. Comparative analysis of essential oil composition from flower and leaf of *Magnolia kwangsiensis* Figlar and Noot[J]. *Natural Product Letters*, 2016, 30(13): 1552–1556.
- [24] Mitsuo M, Yoshimi N, Hiroshi N, et al. Volatile compounds with characteristic odor of essential oil from *Magnolia obovata* leaves by hydrodistillation and solvent-assisted flavor evaporation[J]. *Journal of Oleo Science*, 2015, 64(9): 999–1007.
- [25] Pirbalouti A G, Oraie M, Pouriamehr M, et al. Effects of drying methods on qualitative and quantitative of the essential oil of Bakhtiari savory (*Satureja bachtiarica* Bunge.)[J]. *Industrial Crops and Products*, 2013, 46: 324–327.
- [26] Rahimmalek M, Goli S A H. Evaluation of six drying treatments with respect to essential oil yield, composition and color characteristics of *Thymus daenensis* subsp. *daenensis*. Celak leaves[J]. *Industrial Crops and Products*, 2013, 42(1): 613–619.
- [27] 胡长鹰. 当归挥发油的提取与成分分析[J]. *食品与机械*, 2006, 22(2): 24–26.
- Hu C Y. Extraction and chemical components of volatile oil from *Angelica sinensis*[J]. *Food and Machinery*, 2006, 22(2): 24–26.
- [28] 张冬阳, 郭雪松. 响应面法优化薏米中 β-谷甾醇的提取工艺[J]. *食品工业科技*, 2017, 38(22): 206–209, 241.
- Zhang D Y, Guo X S. Optimization of extraction technology of β-sitosterol from *Coix* seed by response surface methodology[J]. *Science and Technology of Food Industry*, 2017, 38(22): 206–209, 241.
- [29] 尚红梅, 郭玮, 潘丹, 等. 干燥方式对菊苣根多酚含量和抗氧化活性的影响[J]. *食品科学*, 2015, 36(1): 84–88.
- Shang H M, Guo W, Pan D, et al. Effects of drying methods on polyphenol contents and antioxidant activities of chicory root[J]. *Food Science*, 2015, 36(1): 84–88.
- [30] Teixeira B, Marques A, Ramos C, et al. Chemical composition and antibacterial and antioxidant properties of commercial essential oils[J]. *Industrial Crops and Products*, 2013, 43: 587–595.
- [31] Vallverdú-Queralt A, Regueiro J, Martínez-Huélamo M, et al. A comprehensive study on the phenolic profile of widely used culinary herbs and spices: rosemary, thyme, oregano, cinnamon, cumin and bay[J]. *Food Chemistry*, 2014, 154: 299–307.

(责任编辑 范娟 崔艳红  
责任编辑 孟平)