

提取方法对广佛手精油化学成分及抗氧化活性的影响

王有娣 陈文涛 严 斌 许淑玲 吕依婷 杨雨艳 徐娟娟 欧晓华

(广州新华学院药学院, 广东 广州 510520)

摘要: [目的] 对比评价水蒸气蒸馏法 (SD)、酶辅助水蒸气蒸馏法 (EHSD) 及超声辅助水蒸气蒸馏法 (UASD) 3 种提取方法对广佛手精油的提取效率、化学成分及生物活性的影响。[方法] 分别采用 SD 法、EHSD 法和 UASD 法提取广佛手精油, 气相色谱—质谱联用 (GC-MS) 技术检测精油成分, 聚类热图分析对比不同提取方法下获得的精油成分的差异, 以总抗氧化活性、清除 DPPH 自由基能力及清除羟自由基能力为指标, 对比 3 种提取方法获得的广佛手精油的抗氧化活性。[结果] 3 种提取方法下的广佛手精油得率由高到低依次为 UASD 法 (1.750%) > EHSD 法 (1.252%) > SD 法 (1.250%)。GC-MS 成分分析共检测出 38 个成分, 以烯烃类为主, 其中 3 种提取方法获得的共有成分 18 个, 共有成分中 *D*-柠檬烯 (45%~47%) 和 γ -松油烯 (28%~30%) 的相对含量较高; 差异成分包括 β -蒎烯、 α -蒎烯、*D*-柠檬烯、环戊烷过氧羧酸叔丁酯和香叶基丙酮以及 (*Z*)-柠檬醛等 6 种。差异成分的京都基因与基因组百科全书 (KEGG) 通路富集分析结果显示, *P* 值排名前 20 的通路多与氧化应激密切相关。抗氧化试验结果表明: 试验浓度范围内, 3 种提取方法获得的精油的总抗氧化能力由强到弱依次为 UASD 法 > SD 法 > EHSD 法, DPPH 自由基清除能力由强到弱为 UASD 法 (IC_{50} = 31.15 mg/mL) > EHSD 法 (IC_{50} = 32.82 mg/mL) > SD 法 (IC_{50} = 34.74 mg/mL), 羟自由基清除能力由强到弱为 UASD 法 (IC_{50} = 3.82 mg/mL) > SD 法 (IC_{50} = 9.14 mg/mL) > EHSD 法 (IC_{50} = 9.43 mg/mL)。[结论] UASD 可作为广佛手精油提取的最优方法。

关键词: 广佛手精油; 水蒸气蒸馏法; 酶辅助水蒸气蒸馏法; 超声辅助水蒸气蒸馏法; 成分分析; 抗氧化活性; 聚类分析

Effects of different extraction methods on the chemical composition and antioxidant activity of Guangfoshou essential oil

Wang Youdi Chen Wentao Yan Bin Xu Shuling Lyu Yiting Yang Yuyan Xu Juanjuan Ou Xiaohua

(School of Pharmacy, Guangzhou Xinhua University, Guangzhou, Guangdong 510520, China)

Abstract: [Objective] To comparatively evaluate the effects of three extraction methods, *i. e.*, steam distillation (SD), enzyme-assisted steam distillation (EHSD), and ultrasound-assisted steam distillation (UASD), on the extraction efficiency, chemical composition, and bioactivity of *Citrus medica* L. var. *sarcodactylis* (Guangfoshou) essential oil. [Methods] Guangfoshou essential oil was extracted using SD, EHSD, and UASD. The chemical constituents of the essential oils were analyzed by gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS). Cluster heatmap analysis was employed to compare differences in essential oil composition obtained by the three extraction methods. Antioxidant activity was assessed based on total antioxidant capacity, DPPH radical scavenging activity, and hydroxyl radical scavenging activity. [Results] The yields of Guangfoshou essential oil obtained by the three methods, in descending order, were UASD (1.750%) > EHSD (1.252%) > SD (1.250%). A total of 38 components were identified by GC-MS, mainly olefinic compounds, among which 18 were

基金项目: 广东省本科高校教学质量与教学改革工程建设项目 (编号: 2022J029); 广东省大学生创新创业训练计划项目 (编号: S202513902033); 广州新华学院教职工科研启动基金项目 (编号: 2024KYQNZZK06)

通信作者: 欧晓华 (1995—), 女, 广州新华学院助教, 硕士。E-mail: 1340250453@qq.com

收稿日期: 2025-07-18 **改回日期:** 2026-03-06

引用格式: 王有娣, 陈文涛, 严斌, 等. 提取方法对广佛手精油化学成分及抗氧化活性的影响[J]. 食品与机械, 2026, 42(8): 189-197.

Citation: Wang Youdi, Chen Wentao, Yan Bin, et al. Effects of different extraction methods on the chemical composition and antioxidant activity of Guangfoshou essential oil[J]. Food & Machinery, 2026, 42(8): 189-197.

common to all three methods. Among the common components, *D*-limonene (45%~47%) and γ -terpinene (28%~30%) exhibited the highest relative contents. The differential components included six compounds: β -pinene, α -pinene, *D*-limonene, tert-butyl peroxy-cyclopentanecarboxylate, geranylacetone, and (*Z*)-citral. KEGG pathway enrichment analysis of these differential components showed that the top 20 pathways ranked by *P*-value were mostly closely related to oxidative stress. Antioxidant results indicated that, within the tested concentration range, the total antioxidant capacity of essential oils obtained by the three methods decreased in the order UASD>SD>EHSD. The DPPH radical scavenging activity followed the order UASD ($IC_{50}=31.15$ mg/mL)>EHSD ($IC_{50}=32.82$ mg/mL)>SD ($IC_{50}=34.74$ mg/mL), while hydroxyl radical scavenging activity followed the order UASD ($IC_{50}=3.82$ mg/mL)>SD ($IC_{50}=9.14$ mg/mL)>EHSD ($IC_{50}=9.43$ mg/mL). [Conclusion] UASD can be considered the optimal method for the extraction of Guangfoshou essential oil.

Keywords: Guangfoshou essential oil; steam distillation method; enzyme-assisted steam distillation method; ultrasound-assisted steam distillation method; component analysis; antioxidant ability; cluster analysis

佛手 (*Citrus medical* var. *Sarcodactylis*) 又称为佛手桔、佛手柑、五指柑, 来源于芸香科柑橘属植物, 是一种富含精油的药食同源的果实。根据产地不同主要分为广佛手 (广东、广西)、川佛手 (四川)、金佛手 (浙江) 和闽佛手 (福建)。其中, 广佛手是《广东省岭南中药材保护条例 (草案)》从广东省全省统一遴选出的第一批受保护的 8 种岭南中药材之一, 据 2020 版《中国药典》记录, 其具有疏肝理气、和胃止痛、燥湿化痰等功效^[1]。现代研究^[2-4]表明, 广佛手的主要化学成分有精油类、黄酮类、香豆素类、多糖类, 其中精油类成分作为广佛手的主要组分之一, 是目前该领域研究热点。

在植物精油提取领域, 传统水蒸气蒸馏法 (SD) 因操作简便、成本低廉被广泛应用^[5], 但存在提取效率低、热敏成分易破坏等缺陷。为优化提取工艺, 研究者尝试引入辅助技术, 如王祎赫等^[6]采用了酶辅助水蒸气蒸馏提取法提取佛手精油, 并从中鉴定出了 42 种化合物; 李黎等^[7]采用超声辅助水蒸气蒸馏法提取柚皮精油, 并从中鉴定出了 20 种挥发性物质。然而, 现有研究仍存在明显局限: ① 多数文献仅聚焦单一提取工艺, 如水蒸气蒸馏法^[8]、超声提取法^[9]及低温相变萃取^[10]等, 缺乏不同提取方法下精油成分谱与生物活性的系统比较; ② 现有分析多停留在成分鉴定阶段, 对提取方法、关键成分、生物活性的关联机制探讨不足。

基于此, 研究拟采用多提取方法平行对比的策略, 采用 SD 法、酶辅助水蒸气蒸馏法 (EHSD) 和超声辅助水蒸气蒸馏法 (UASD) 提取广佛手精油, 借助气相色谱-质谱联用 (GC-MS) 技术结合主成分分析 (PCA) 分析不同提取方法所得广佛手精油成分的差异, 并对比各广佛手精油的抗氧化活性差异, 旨在为药食同源的广佛手精油的标准化提取及综合利用提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

广佛手干果皮: 产地为广东肇庆, 广州赛沫生物科技有限公司;

纤维素酶: 酶活 ≥ 1 万 U/g, 上海麦克林生化股份有限公司;

抗坏血酸 (V_c)、1, 1-二苯基-2-苦基肼 (DPPH)、2, 6-二叔丁基-4-甲基苯酚 (BHT)、无水乙醇等: 分析纯, 市售; 气相色谱-质谱联用仪: 7890A/5975C 型, 美国安捷伦 (Agilent) 公司;

电子天平: EL204 型, 梅特勒-托利多仪器 (上海) 有限公司;

酶标仪: SpectraMax iD3 型, 美国 Molecular Devices 公司;

数显恒温水浴锅: HH-S1 型, 江苏金怡仪器科技有限公司。

1.2 方法

1.2.1 广佛手精油提取 称取广佛手果皮块 70 g, 按料液比 1:9 (g/mL), 加入蒸馏水 630 mL; 提取结束后均收集挥发油、用无水硫酸钠除水并称重, 计算精油得率。

(1) SD 法: 直接加热回流 7 h。

(2) EHSD 法: 加入 1.0% 纤维素酶, 45 °C 水浴中酶解 120 min 后加热回流 7 h。

(3) UASD 法: 加入蒸馏水后先在超声功率 140 W 下超声 40 min, 再加热回流 7 h。

1.2.2 广佛手精油化学成分分析

(1) 色谱条件: 色谱柱为 HP-5MS UI (30 m $\times$ 250 μ m $\times$ 0.25 μ m) 毛细管柱; 进样量 1 μ L; 进样口温度 250 °C; 载气为高纯 He 气; 流量 1.0 mL/min; 分流比 30:1; 升温程序: 初始温度 50 °C, 以 4 °C/min 升至 150 °C, 保留 2 min, 然后以 10 °C/min 升至 250 °C, 保留 5 min。

(2) 质谱条件: 离子源温度 230 °C; 四极杆温度 150 °C; 接口温度 280 °C; 电离方式为电子轰击离子源; 电子能量 70 eV; 扫描范围 m/z 30~600; 溶剂延迟 3 min; SCAN 全扫描模式。标准图库为 NIST17s.lib 质谱数据库。

1.2.3 差异成分层次聚类分析 采用 GC-MS 联用仪 (NIST14.lib 数据库) 自带数据处理软件进行峰识别、峰过滤、峰对齐和归一化数据处理。对样品的总体化合物进

行层次聚类热图分析。使用SIMCA 14.1软件,对数据进行主成分分析(PCA)和正交偏最小二乘法分析(OPLS-DA),获得不同提取方法组间的差异成分,对差异化合物进行层次聚类分析,绘制聚类热图,并将差异成分注释到KEGG数据库进行通路富集分析。

1.2.4 广佛手精油抗氧化活性测定

(1) 总抗氧化活性:采用磷钼络合法^[11]。用无水乙醇将广佛手精油稀释成质量浓度梯度为20.00, 10.00, 5.000, 2.500, 1.250, 0.625 0, 0.312 5 mg/mL的精油样品溶液。分别取3 mL磷钼试剂液与1 mL精油样品溶液于离心管中,于避光处95℃恒温水浴90 min后在695 nm处测定吸光度(A)。设定5个复孔,平行测定3次,以等浓度梯度的BHT溶液作为阳性对照组。

(2) DPPH自由基清除率:根据王佳丽等^[12]的方法,并做如下修改:以无水乙醇为溶剂将精油稀释成质量浓度为50.00, 25.00, 12.50, 6.250, 3.125 mg/mL的待测样品溶液,移取各浓度待测样品溶液100 μ L于离心管中,再加入1 mmol/L DPPH乙醇溶液2 mL,于暗处振摇30 min后,在517 nm处测定吸光度值,每组试验平行3次,取平均值(A_j)。用无水乙醇代替精油测得其吸光度值(A_k),无水乙醇代替DPPH测得其吸光度值(A_i)。以 V_c 作为阳性对照,按式(1)计算DPPH自由基清除率。

$$R = \left(1 - \frac{A_j - A_i}{A_k} \right) \times 100\%, \quad (1)$$

式中:

R ——自由基清除率, %;

A_j ——样品组吸光度;

A_i ——空白组吸光度;

A_k ——对照组吸光度。

(3) 羟自由基清除率:根据闫红秀等^[13]的方法,并做如下修改:以无水乙醇为溶剂将精油稀释成质量浓度为50.00, 12.50, 3.125, 0.781, 0.195 mg/mL的待测样品溶液,取0.5 mL样品溶液加入0.5 mL 10 mmol/L的硫酸亚铁,再加入0.5 mL的3% H_2O_2 混匀。避光放置10 min,然后加入0.5 mL 10 mmol/L水杨酸乙醇溶液,充分混匀后,37℃水浴中避光反应30 min,孵育结束后取出,将其加入到96孔板中,200 μ L/孔,每个样品浓度3个复孔,并在510 nm处测定其吸光度值,每组试验平行3次,取平均值(A_j)。用无水乙醇代替精油测得其吸光度值(A_k),以超纯水代替 H_2O_2 测得其吸光度值(A_i)。以BHT作为阳性对照,按式(1)计算羟自由基清除率。

1.2.5 数据分析 GC-MS联用仪测定的结果采用NIST17s.lib标准质谱图库检索,选择匹配度高于80%的峰,以峰面积归一化法计算精油各成分的相对含量。自由基半数清除质量浓度(IC_{50})的计算采用GraphPad Prism 10软件计算,其余数据采用Microsoft Excel 2017进

行作图分析。各试验均重复3次,数据结果以 $\bar{x} \pm s$ 表示。

2 结果与分析

2.1 不同提取方法下广佛手精油得率

由表1可知,精油得率高低依次为UASD法(1.750%)、EHSD法(1.252%)、SD法(1.250%),其中UASD法的得率显著高于其他两种方法($P < 0.01$),SD法与EHSD法之间的精油得率无显著性差异($P > 0.05$)。超声辅助水蒸气蒸馏法主要利用机械效应等促进组织细胞结构的破坏,因此有效促进了精油等细胞内的化学成分的外流^[14],晏菲等^[15]采用水蒸气蒸馏法、酶辅助水蒸气蒸馏法、超声辅助水蒸气蒸馏法等5种方法提取生姜挥发油的研究结果也显示,超声辅助水蒸气蒸馏法得油率最高。

表1 3种提取方法下精油得率对比

Table 1 Comparison of essential oil yields under three extraction methods

提取方法	得率/%
SD	1.250 $\pm$ 0.016
EHSD	1.252 $\pm$ 0.012
UASD	1.750 $\pm$ 0.002

2.2 广佛手精油化学成分分析

由表2可知,3种方法提取的精油的主要挥发性成分基本相似,主要成分出峰时间在4.00~15.00 min;共鉴定出广佛手精油化学成分38种,其中采用SD法获得的精油中鉴定出26种成分,EHSD法28种,UASD法26种;广佛手精油成分中绝大多数均为萜烯类。3种方法得到的精油中 α -蒎烯的相对含量均高于2%,高于林敏浩等^[8]提取的(0.576%),可能由于广佛手产地及提取方法的不同所致。对广佛手精油挥发性成分的分类进行分析,结果显示广佛手精油的成分以单萜和倍半萜类化合物为主,检出的38种成分中有20个为烯烃, D -柠檬烯与 γ -松油烯的相对含量较高,其中 D -柠檬烯的相对含量均高于45%, γ -松油烯的相对含量均高于28%,有研究表明, D -柠檬烯可中和胃酸、抑制溃疡等^[16],而 γ -松油烯则具有抗炎^[17]等药理活性。

2.3 不同提取方法下广佛手精油的共有成分

由图1可知,3种方法提取的精油的共有成分有18个,分别为 D -柠檬烯、 γ -松油烯、蒎品油烯、 β -蒎烯、 β -月桂烯、 α -蒎烯、(E)-柠檬醛、 α -松油烯、4-蒎烯醇、(Z)-柠檬醛、 α -侧柏烯、 β -红没药烯、(E)- α -香柠檬烯、乙酸橙花酯、桉烯、乙酸香叶酯、 α -水芹烯、香精烯D,但不同提取方法得到这些物质的相对含量存在差别。如图2所示, D -柠檬烯和 γ -松油烯的相对含量较高, D -柠檬烯占比为45%~

表 2 3 种提取方法下广佛手精油化学成分
Table 2 Chemical components of Guangfoshou essential oils under three extraction methods

成分类型		化合物	相对含量/%		
			SD	EHSD	UASD
萜烯类		α -侧柏烯	0.77±0.03	0.63±0.03	0.60±0.03
		α -蒎烯	2.61±0.08	2.02±0.07	2.07±0.07
		桉烯	0.19±0.01	0.17±0.01	0.16±0.01
		β -蒎烯	3.27±0.13	2.95±0.12	2.99±0.09
		β -月桂烯	2.86±0.11	2.62±0.09	2.74±0.08
		α -水芹烯	0.13±0.01	0.13±0.01	0.13±0.01
		α -松油烯	1.27±0.06	1.29±0.04	1.33±0.06
		<i>D</i> -柠檬烯	47.07±0.68	45.22±0.77	45.72±0.85
		β -罗勒烯	1.78±0.07	—	—
		α -罗勒烯	—	1.78±0.07	1.82±0.06
		γ -松油烯	30.12±0.57	28.88±0.98	30.40±0.71
		萜品油烯	3.52±0.07	3.46±0.07	3.53±0.03
		1,3,7-辛三烯	0.06±0.00	—	—
		4,5-二甲基,3-乙基,1,4-己二烯	0.11±0.01	—	0.15±0.00
		富马酸二(环己-3-烯基)	0.13±0.00	—	—
		反式石竹烯	—	0.25±0.03	0.25±0.02
		(—)-异丁香烯	0.25±0.03	—	—
		(<i>E</i>)- α -香柠檬烯	0.24±0.00	0.23±0.01	0.24±0.02
		香精烯 D	0.11±0.01	0.12±0.01	0.11±0.00
		β -红没药烯	0.33±0.03	0.34±0.01	0.34±0.03
酮类		苯甲基对羟基苯基酮	—	—	0.05±0.00
		1-环丙基-2-丙烯-1-酮	—	0.13±0.00	—
		环戊基乙酮	—	—	0.08±0.00
		<i>D</i> (+)-樟脑	—	0.23±0.01	—
		(<i>S</i>)-(+)-香芹酮	—	1.07±0.03	1.20±0.04
		薄荷酮	—	0.34±0.01	—
		香叶基丙酮	—	0.06±0.00	—
酯类		异丁酸芳樟酯	—	0.30±0.01	—
		乙酸橙花酯	0.23±0.01	0.31±0.01	0.26±0.00
		乙酸香叶酯	0.19±0.00	0.25±0.01	0.20±0.04
		环戊烷过氧羧酸叔丁酯	0.05±0.01	—	0.09±0.01
醇类		α,β -二甲基- α -苯基苯乙醇	—	0.06±0.00	—
		4-萜烯醇	0.96±0.03	2.16±0.09	1.64±0.02
		α -松油醇	1.23±0.03	—	—
其他类		(<i>Z</i>)-柠檬醛	0.92±0.02	2.39±0.06	1.85±0.05
		(<i>E</i>)-柠檬醛	1.43±0.03	2.57±0.10	1.83±0.05
		4-苯氧基苯甲酸	—	0.05±0.00	—
		苯辛基醚	0.16±0.00	—	0.23±0.01

47%, γ -松油烯占比为 28%~30%。有研究^[18]发现,柠檬烯的止咳、祛痰作用显著,是佛手止咳祛痰的活性成分之一。SD 法、UASD 法、EHSD 法 3 种提取方法下 *D*-柠檬烯

的相对含量分别为 47.07%,45.72%,45.22%,据此推测 SD 法获得的广佛手精油止咳祛痰效果可能优于另外两种提取方法获取的。另外,EHSD 法提取获得的精油成分中

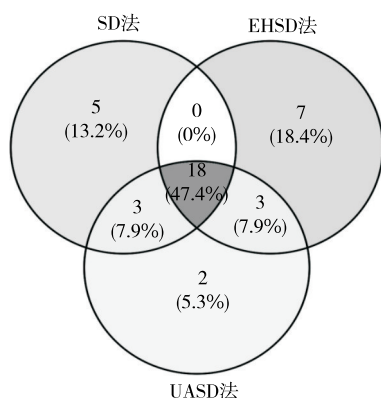


图1 3种提取方法下的广佛手精油共有成分和特有成分韦恩图

Figure 1 Venn diagram of common and unique components of Guangfoshou essential oils extracted by three methods

(Z)-柠檬醛(2.39%)、(E)-柠檬醛(2.57%)、4-萜烯醇(2.16%)的含量高于另外两种提取方法。

2.4 广佛手精油化学成分的聚类及差异分析

如图3(a)所示,3种不同提取方法下广佛手精油化学成分分别聚为3大类;化学成分在3种提取方法下的含量有较明显差异($P < 0.05$)。另将数据导入SIMCA14.1软件进行主成分分析,PCA模型的质量参数 $R^2X=0.806 > 0.5$, $Q^2=0.751$,表明该模型稳定性及拟合效果较好,预测率较高。所有样本均在95%置信区间内。对样品数据进行OPLS-DA分析,去除不相关差异信息进一步寻找出组间的差异变量,模型验证结果($R^2X=0.700$, $R^2Y=0.996$, $Q^2=0.993$)显示该模型有良好预测能力,组分离程度较

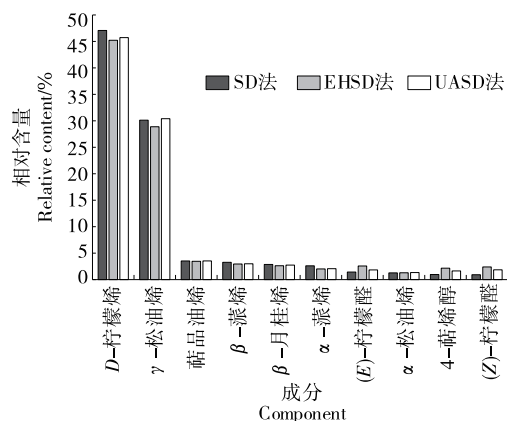


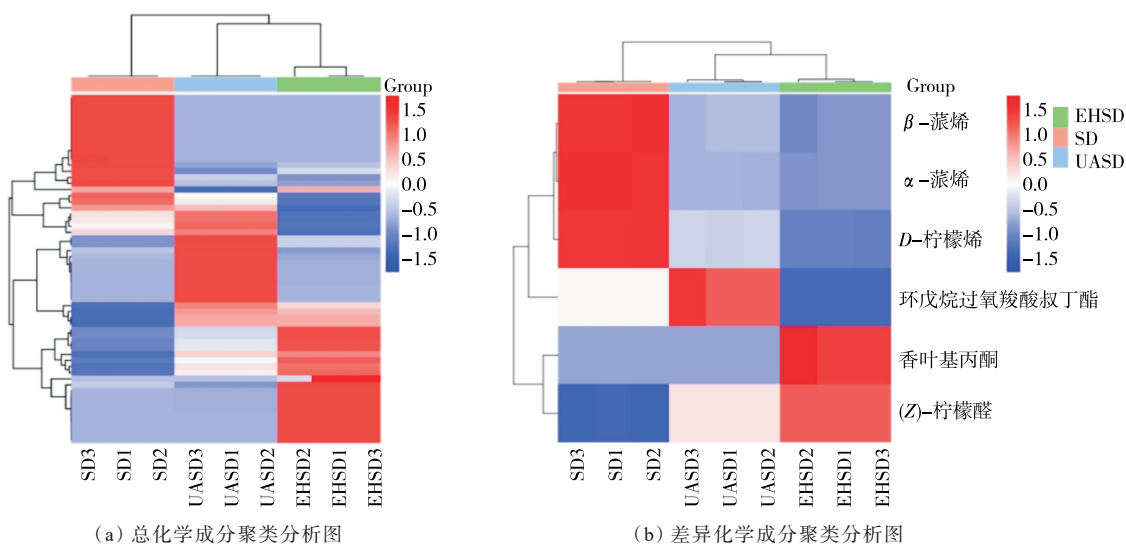
图2 3种提取方法下广佛手精油共有成分对比图

Figure 2 Comparison of common components in Guangfoshou essential oils extracted by three methods

大,表明组间差异明显。对OPLS-DA模型进行随机置换检验($n=200$), $R^2=0.383$, $Q^2=-0.536 < 0$,说明模型没有过度拟合并且稳定可靠,其中筛选出的6种差异化学成分分别为 β -蒎烯、 α -蒎烯、D-柠檬烯、环戊烷过氧羧酸叔丁酯、香叶基丙酮以及(Z)-柠檬醛,见图3(b),SD法提取的精油 β -蒎烯、 α -蒎烯、D-柠檬烯含量高于UASD法和EHSD法,UASD法提取的精油环戊烷过氧羧酸叔丁酯含量较高,EHSD法提取的精油香叶基丙酮、(Z)-柠檬醛含量较高。

2.5 差异成分的KEGG通路富集分析

将3种提取方法获得的广佛手精油间的6种差异化学成分进行KEGG分析,从而获得差异化学成分参与的通路信息,选择P值排名前20的通路进行展示,20条通路



(a) 总化学成分聚类分析图

(b) 差异化学成分聚类分析图

图3 3种提取方法下广佛手精油化学成分聚类分析热图

Figure 3 Heatmap of cluster analysis of chemical components of Guangfoshou essential oils under three extraction methods

均显著富集($P < 0.05$), 见图 4。通路富集分析结果表明, 差异成分主要参与神经信号传导如神经活性配体-受体相互作用(neuroactive ligand-receptor interaction)、5-羟色胺能突触(serotonergic synapse)、胆碱能突触(cholinergic synapse)等, 疾病通路如癌症(pathways in cancer)、急性髓系白血病(acute myeloid leukemia)、酒精性肝病(alcoholic liver disease)等, 代谢调控如氧化物酶体增殖物

激活受体信号通路(PPAR signaling pathway)等相关通路。有研究^[19-23]表明, 这些通路的功能稳态与细胞内氧化还原平衡密切相关。例如, 神经递质代谢、癌症发生发展以及代谢性疾病的病理过程均伴随着显著的氧化应激^[24-26]。因此, 推测不同提取方法导致的广佛手精油成分差异, 可能通过影响其整体的抗氧化潜能, 进而调控上述生物学过程。

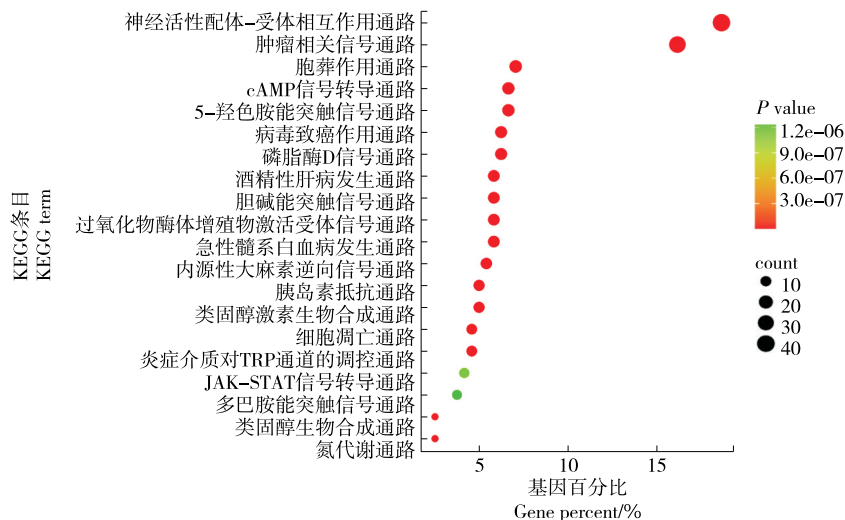


图 4 KEGG 富集分析

Figure 4 KEGG enrichment analysis

2.6 广佛手精油抗氧化活性

2.6.1 总抗氧化能力 如图 5 所示, 在 0.312 5~20.00 mg/mL 的质量浓度范围内, 广佛手精油的总抗氧化能力与精油浓度呈正相关。在 0.312 5~5.000 mg/mL 的质量浓度范围内, 各精油样品的吸光度值增长平缓, 当质量浓度达到 5.000 mg/mL 后, 吸光度值增长快速, 当质量浓度为 20.00 mg/mL 时, 3 种提取方法下得到的广佛手精油样品的吸光度均达到试验浓度范围内的最大值, 即它们的总抗氧化能力达到最大值, 此时 3 种精油样品组以及阳性对照组(BHT)的总抗氧化能力强弱排序为 UASD 法、SD 法、阳性对照、EHSD 法。有研究^[27-29]表明, γ -松油烯等具有较强的抗氧化效果。3 种提取方法获得精油的 γ -松油烯总含量占比由高到低依次为 UASD 法(30.40%)、SD 法(30.12%)、EHSD 法(28.88%)。3 种提取方法获得的广佛手精油的抗氧化活性差异可能与精油中 γ -松油烯的含量呈正相关, 具体的相关性有待后续的进一步研究分析。

2.6.2 清除 DPPH 自由基能力 如图 6 所示, 在 3.125~50.00 mg/mL 的质量浓度范围内, 广佛手精油清除 DPPH 自由基的能力随着精油质量浓度的增加而增强, 质量浓度为 3.125~12.50 mg/mL 时, 清除能力平缓增强, 当质量浓度为 12.50~50.00 mg/mL, 清除能力大幅增强。精油质

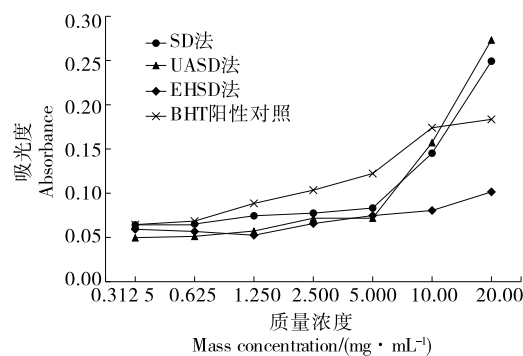


图 5 3 种提取方法下广佛手精油的总抗氧化能力

Figure 5 Total antioxidant capacity of Guangfoshou essential oils extracted by three methods

量浓度为 50.00 mg/mL 时, UASD 法、EHSD 法和 SD 法提取的广佛手精油对 DPPH 自由基的清除率分别为 93.67%, 90.03%, 89.42%, 均强于阳性对照组(清除率 86.57%)。UASD 法、EHSD 法和 SD 法提取的广佛手精油对 DPPH 自由基的半数清除质量浓度(IC₅₀)分别为 31.15, 32.82, 34.74 mg/mL, 可见 3 种方法提取的广佛手精油的 DPPH 自由基清除能力由强到弱依次为 UASD 法、EHSD 法、SD 法。

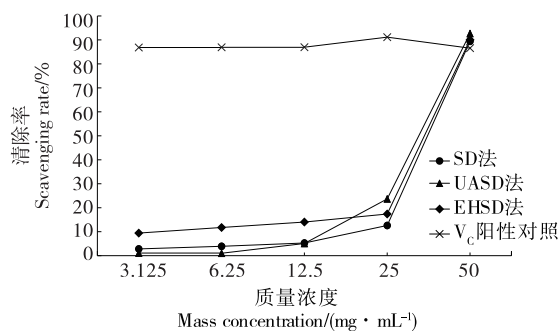


图6 3种提取方法下广佛手精油的DPPH自由基清除率对比

Figure 6 Comparison of DPPH scavenging rates of Guangfoshou essential oils under three extraction methods

2.6.3 清除羟自由基能力 如图7所示,在0.195~50.00 mg/mL的质量浓度范围内,3种提取方法获得的广佛手精油清除羟自由基的能力随着精油质量浓度的增加而增强,质量浓度为50.00 mg/mL时,UASD法、EHSD法和SD法提取的广佛手精油对羟自由基的清除率分别为60.05%,59.82%,58.46%,均弱于阳性对照组(清除率99.82%)。UASD法、EHSD法和SD法提取的广佛手精油对羟自由基的 IC_{50} 分别为3.82,9.14,9.43 mg/mL,可见3种方法提取的广佛手精油的羟自由基清除能力由强到弱依次为UASD法、SD法、EHSD法。

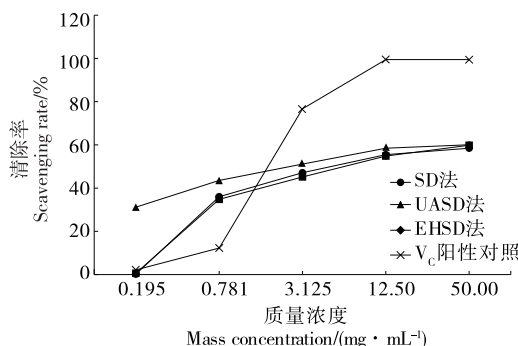


图7 3种提取方法下广佛手精油的羟自由基清除率对比

Figure 7 Comparison of hydroxyl radical scavenging rates of Guangfoshou essential oils under three extraction methods

综合3种体外抗氧化活性测试试验结果,3种方法提取的精油存在抗氧化活性的差异,UASD法提取的精油无论是总抗氧化活性、DPPH自由基清除能力抑或是羟自由基清除能力均强于另外两种方法的,而EHSD法提取的精油虽羟自由基清除能力不及SD法提取的,但其DPPH自由基清除能力强于SD法提取的,推测不同提取工艺制备的精油清除不同自由基的能力存在差异^[30]。另外由于 β -

蒎烯^[31]、 α -蒎烯^[32]、*D*-柠檬烯^[33]、(*Z*)-柠檬醛^[34]等差异成分均具有良好的抗氧化作用,3种方法提取的精油抗氧化活性的差异可能是由精油中上述成分的差异引起的。

3 结论

对比水蒸气蒸馏法、酶辅助水蒸气蒸馏法、超声辅助水蒸气蒸馏法提取广佛手精油的效率、化学成分与抗氧化活性,结果显示:超声辅助水蒸气蒸馏法精油得率最高(1.750%),3种方法提取的精油共鉴定出38个成分,以烯类为主,其中*D*-柠檬烯(45%~47%)和 γ -松油烯(28%~30%)是含量较高的共有成分,同时筛选出 β -蒎烯、 α -蒎烯、*D*-柠檬烯、环戊烷过氧羧酸叔丁酯、香叶基丙酮、(*Z*)-柠檬醛6种差异成分,这些差异成分的KEGG通路富集分析中,*P*值排名前20的通路多与氧化应激密切相关。抗氧化试验结果证实,3种提取方法下广佛手精油的活性存在差异,其中超声辅助水蒸气蒸馏法获得的精油抗氧化活性最强。但该研究所涉及的活性测试有限,后续将通过分子机制及动物模型试验进一步验证提取方法对广佛手精油活性的影响,为广佛手精油的合理开发利用提供理论依据。

参考文献

- [1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典: 一部[S]. 2020年版. 北京: 中国医药科技出版社, 2020: 189.
Chinese Pharmacopoeia Commission. Pharmacopoeia of the People's Republic of China: Volume I[S]. 2020 ed. Beijing: China Medical Science Press, 2020: 189.
- [2] Zhu M Y, Dong W Y, Guo J R, et al. A neural circuit for bergamot essential oil-induced anxiolytic effects[J]. Advanced science, 2025, 12(1): e2406766.
- [3] Fu Q F, Yu Z Y, Yang C Q, et al. Discovery of quality by design-based extraction technology and the quality standard of jinhua finger citron essential oil[J]. ACS omega, 2024, 9(37): 38 490-38 497.
- [4] 马文聪, 吴宇箫, 钟诚, 等. 基于网络药理学和分子对接探究广佛手成分的降血糖作用机制[J]. 食品与机械, 2025, 41(5): 10-18.
Ma W C, Wu Y X, Zhong C, et al. Exploration on hypoglycemic mechanism of components in Guangdong finger citron based on network pharmacology and molecular docking[J]. Food & Machinery, 2025, 41(5): 10-18.
- [5] Yang N, Jin Y M. Novel electromagnetic heat hydrodistillation for extraction of essential oil from tangerine peel[J]. Foods, 2024, 13(5): 677.
- [6] 王祎赫, 夏燕莉, 张欣, 等. 佛手果皮精油的提取工艺优化及其成分与抗氧化活性分析[J]. 食品工业科技, 2023, 44(3): 230-239.
Wang Y H, Xia Y L, Zhang X, et al. Optimization of extraction

- process of essential oil from bergamot peel and analysis of its components and antioxidant activity[J]. Science and Technology of Food Industry, 2023, 44(3): 230-239.
- [7] 李黎, 孙晶, 石艳宾, 等. 超声辅助提取柚皮精油工艺优化及 GC-MS 成分对比分析[J]. 中国调味品, 2023, 48(8): 180-184, 192.
- Li L, Sun J, Shi Y B, et al. Optimization of process of pomelo peel essential oil by ultrasonic-assisted extraction and comparative analysis of components by GC-MS[J]. China Condiment, 2023, 48(8): 180-184, 192.
- [8] 林敏浩, 周爱梅, 杨慧, 等. 水蒸汽蒸馏法提取广佛手挥发精油及其组成分析[J]. 食品安全质量检测学报, 2015, 6(2): 619-625.
- Lin M H, Zhou A M, Yang H, et al. Research on the extraction of bergamot essential oil by steam distillation and component analysis[J]. Journal of Food Safety & Quality, 2015, 6(2): 619-625.
- [9] 杨丽霞, 王颖莉. 星点设计效应面法优选超声提取石菖蒲挥发油的工艺研究[J]. 化学试剂, 2020, 42(6): 704-708.
- Yang L X, Wang Y L. Optimization of ultrasonic extraction of volatile oil from *acorus tatarinowii* rhizoma by central composite design-response surface method[J]. Chemical Reagents, 2020, 42(6): 704-708.
- [10] 杨慧, 周爱梅, 夏旭, 等. 低温连续相变萃取广佛手精油及其组成分析[J]. 食品工业科技, 2015, 36(16): 289-293.
- Yang H, Zhou A M, Xia X, et al. Study on the extract technology and component analysis of bergamot essential oil by low-temperature continuous phase transition[J]. Science and Technology of Food Industry, 2015, 36(16): 289-293.
- [11] 陈婕, 陈畅宇, 王有娣, 等. 保加利亚产大马士革玫瑰精油的化学成分及其抗氧化活性研究[J]. 云南化工, 2024, 51(7): 39-44.
- Chen J, Chen C Y, Wang Y D, et al. Chemical components and antioxidant activities of rose otto essential oil[J]. Yunnan Chemical Technology, 2024, 51(7): 39-44.
- [12] 王佳丽, 张晓南, 熊婷婷, 等. 香茅挥发油提取工艺优化及抗氧化、抑真菌活性研究[J]. 食品与机械, 2022, 38(8): 166-173, 201.
- Wang J L, Zhang X N, Xiong T T, et al. Optimization of the extraction process of citronella volatile oil and its antioxidant and antifungal activities[J]. Food & Machinery, 2022, 38(8): 166-173, 201.
- [13] 闫红秀, 马晓冉, 陆培演, 等. 肉桂精油及其主要成分的羟自由基清除能力、抗脂质过氧化活性及抑菌效果研究[J]. 黑龙江畜牧兽医, 2022(6): 99-104, 109.
- Yan H X, Ma X R, Lu P Y, et al. Study on hydroxyl radical scavenging ability, anti-lipid peroxidation activity and bacteriostatic effect of cinnamon essential oil and its main components[J]. Heilongjiang Animal Science and Veterinary Medicine, 2022(6): 99-104, 109.
- [14] 郭道, 罗诗烨, 林炎鑫, 等. 提取方法对米糠纤维素理化性质的影响[J]. 中国粮油学报, 2024, 39(7): 43-51.
- Guo X, Luo S Y, Lin Y X, et al. Effects of extraction methods on physicochemical properties of rice bran cellulose[J]. Journal of the Chinese Cereals and Oils Association, 2024, 39(7): 43-51.
- [15] 晏菲, 王开亮, 张小飞, 等. 五种方法提取生姜挥发油的比较研究[J]. 天然产物研究与开发, 2022, 34(12): 1 999-2 010, 2 076.
- Yan F, Wang K L, Zhang X F, et al. Comparative study on five methods for extracting volatile oil from ginger[J]. Natural Product Research and Development, 2022, 34(12): 1 999-2 010, 2 076.
- [16] Moraes M T, Kushima H, Moleiro C F, et al. Effects of limonene and essential oil from citrus aurantium on gastric mucosa: role of prostaglandins and gastric mucus secretion[J]. Chemico-Biological Interactions, 2009, 180(3): 499-505.
- [17] Yasuo T, Nobuya I, Shigeru K, et al. Effects of γ -terpinene on lipid concentrations in serum using triton WR1339-treated rats [J]. Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry, 2003, 67(11): 2 448-2 450.
- [18] 王伟江. 天然活性单萜—柠檬烯的研究进展[J]. 中国食品添加剂, 2005(1): 33-37.
- Wang W J. Recent advances on limonene, a natural and active monoterpene[J]. China Food Additives, 2005(1): 33-37.
- [19] 魏江平, 赵子瑄, 曾静, 等. 基于神经活性配体受体交互作用探讨党参—茯苓配伍改善痴呆小鼠学习记忆能力的作用机制[J]. 中药新药与临床药理, 2023, 34(11): 1 514-1 524.
- Wei J P, Zhao Z X, Zeng J, et al. Explore the mechanism of compatibility of radix codonopsis and poria on improving learning and memory ability in dementia mice based on neuroactive ligand receptor interaction[J]. Traditional Chinese Drug Research and Clinical Pharmacology, 2023, 34(11): 1 514-1 524.
- [20] 马玉峰, 王嘉麟, 邢佳, 等. 柴胡疏肝散对肝气郁结证大鼠海马及下丘脑单胺类神经递质的影响[J]. 中西医结合心脑血管病杂志, 2016, 14(21): 2 494-2 497.
- Ma Y F, Wang J L, Xing J, et al. Effects of Chaihu Shugan power on the levels of monoamine neurotransmitters in the hippocampus and hypothalamus in rats with liver-qi stagnation syndrome[J]. Chinese Journal of Integrative Medicine on Cardio-Cerebrovascular Disease, 2016, 14(21): 2 494-2 497.
- [21] 徐雪梅, 徐森, 周国坤, 等. 恶心呕吐的分子机制及神经回路研究进展[J]. 中国疼痛医学杂志, 2024, 30(11): 804-814.
- Xu X M, Xu S, Zhou G K, et al. Advances in the molecular mechanisms and neural circuits of nausea and vomiting[J]. Chinese Journal of Pain Medicine, 2024, 30(11): 804-814.
- [22] 肖森, 李雨馨, 刘凯会, 等. 熊果酸对急性酒精性肝损伤小鼠的保护作用及机制[J]. 食品工业科技, 2025, 46(12): 370-379.
- Xiao M, Li Y X, Liu K H, et al. Protective effect and

- mechanism of ursolic acid on acute alcoholic liver injury in mice[J]. Science and Technology of Food Industry, 2025, 46(12): 370-379.
- [23] 邱嘉昊, 朱宛春, 肖桐, 等. 转录组学及实验验证探讨没食子酸治疗代谢相关性脂肪性肝炎的作用机制[J]. 上海中医药大学学报, 2025, 39(2): 37-47.
- Qiu J H, Zhu W C, Xiao T, et al. Transcriptomics and experimental validation of gallic acid's mechanism of action in treating MASH[J]. Academic Journal of Shanghai University of Traditional Chinese Medicine, 2025, 39(2): 37-47.
- [24] 王其飞, 杜兴彬, 孔健达. 中枢疲劳的神经生理基础及运动诱发机制[J]. 中国组织工程研究, 2025, 29(32): 6 979-6 988.
- Wang X D, Du X B, Kong J D. Neural physiological basis and exercise-induced mechanism of central fatigue[J]. Chinese Journal of Tissue Engineering Research, 2025, 29(32): 6 979-6 988.
- [25] 杨梅. 氧化应激介导尿酸囊素生成促进结肠癌进展的机制研究[D]. 成都: 四川大学, 2023: 24-29.
- Yang M. The mechanism of oxidative stress-induced allantoin promotes colorectal cancer progression[D]. Chengdu: Sichuan University, 2023: 24-29.
- [26] 池曦, 岑洋洋, 杨博雯, 等. 黄嘌呤氧化还原酶与代谢性疾病关系研究进展[J]. 宁夏医科大学学报, 2024, 46(12): 1 296-1 300.
- Chi X, Cen Y Y, Yang B W, et al. Research progress on the relationship between xanthine oxidoreductase and metabolic diseases[J]. Journal of Ningxia Medical University, 2024, 46(12): 1 296-1 300.
- [27] 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. Chemical constituents and antioxidant activities of essential oils from lemon peel[J]. Guangdong Chemical Industry, 2021, 48(8): 89-92, 74.
- [28] 李雪青. 金佛手挥发性成分及精油生物活性研究[D]. 杭州: 浙江工业大学, 2014: 46-48.
- Li X Q. Research on the volatile compounds and essential oil bioactivities of Jin bergamot[D]. Hangzhou: Zhejiang University of Technology, 2014: 46-48.
- [29] Guo Y F, Amorati R, Valgimigli L, et al. Synergic antioxidant activity of γ -terpinene with phenols and polyphenols enabled by hydroperoxyl radicals[J]. Food Chemistry, 2021, 345: 128468.
- [30] 张正澳, 吴震生, 李锦馨, 等. 牡丹精油抗氧化性能及清除自由基能力的研究[J]. 宁夏农林科技, 2021, 62(4): 9-12, 18.
- Zhang Z A, Wu Z S, Li J X, et al. Antioxidant property and free radical scavenging ability of peony essential oil[J]. Journal of Ningxia Agriculture and Forestry Science and Technology, 2021, 62(4): 9-12, 18.
- [31] Dahiya M, Kumar A, Yadav M, et al. β -pinene ameliorates ICV-STZ induced alzheimer's pathology via antioxidant, anticholinesterase, and mitochondrial protective effects: in-silico and in-vivo studies[J]. European Journal of Pharmacology, 2025, 991: 177307.
- [32] Alqudah A, Qnais E, Gammoh O, et al. Protective effects of α -Pinene against carbon tetrachloride-induced cardiac injury in wistar rats: modulation of antioxidant and inflammatory responses[J]. Naunyn-Schmiedeberg's Archives of Pharmacology, 2025, 398(3): 2 845-2 854.
- [33] Razazi A, Kakanezhadi A, Raisi A, et al. D-limonene inhibits peritoneal adhesion formation in rats via anti-inflammatory, anti-angiogenic, and antioxidative effects[J]. Inflammopharmacology, 2024, 32(2): 1 077-1 089.
- [34] Budiarto R, Khalisha A, Sari D N, et al. Antioxidant properties of lemon essential oils: a meta-analysis of plant parts, extraction methods, dominant compounds, and antioxidant assay categories[J]. Chemical and Biological Technologies in Agriculture, 2024, 11(1): 147.