

• 药剂与工艺 •

## 基于系统压力调控的水蒸气蒸馏法提取柏木阴沉木精油的化学成分分析及抗氧化活性研究

唐欣<sup>1</sup>, 吴一峰<sup>1</sup>, 郭冬云<sup>1</sup>, 万娜<sup>1,2</sup>, 吴大章<sup>3</sup>, 伍振峰<sup>1,4</sup>, 杨明<sup>1,4</sup>, 邱咏薇<sup>1,5\*</sup>, 黄小英<sup>1,4\*</sup>

1. 江西中医药大学 现代中药制剂教育部重点实验室, 江西 南昌 330004
2. 江西中医药大学药学院, 江西 南昌 330004
3. 太极集团重庆桐君阁药厂有限公司, 重庆 401366
4. 江西中医药大学 创新药物与高效节能降耗制药设备国家重点实验室, 江西 南昌 330004
5. 江西中医药大学 中药资源与民族药研究中心, 江西 南昌 330004

**摘要:** 目的 研究不同系统压力条件下提取的柏木 *Cypressus funebris* 阴沉木精油在提取率、成分、含量与抗氧化能力方面的差异, 为柏木阴沉木应用开发提供一定的研究基础。方法 首先考察不同系统压力的水蒸气蒸馏对柏木阴沉木精油提取率、物理性质以及提取动力学的区别, 然后采用气相色谱-质谱联用法 (GC-MS) 鉴定柏木阴沉木精油的化学成分, 最后通过对柏木阴沉木精油清除 DPPH· 自由基 (DPPH·)、羟自由基 (·OH) 能力以及总还原力的测定, 来比较其抗氧化活性。结果 采用水蒸气蒸馏法提取柏木阴沉木精油在系统压力为 50 kPa 时的提取率 (3.63±0.03)% 最高。系统压力越大, 所提取精油中柏木醇含量越高, 而其他主要成分 α-柏木烯、β-柏木烯、罗汉柏烯、γ-衣兰油烯等在减压法提取的精油中含量高于常压法提取的精油。常压提取条件下, 前 5 h 内对精油的成分种类无影响, 5 h 以后, 对精油成分的种类有所影响。减压提取法提取的柏木阴沉木精油清除 DPPH·、·OH 的能力以及总还原力均优于常压提取法提取的精油。结论 减压法可以提高对柏木阴沉木精油的提取率、抗氧化能力, 并能在较短的时间内获得较高的精油产率。

**关键词:** 柏木阴沉木; 精油; 系统压力调控; GC-MS 分析; 化学成分; 抗氧化活性; 柏木醇; 柏木烯; 罗汉柏烯; 衣兰油烯; 水蒸气蒸馏法

中图分类号: R283.6 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2022)06-1709-10

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2022.06.013

## Chemical component analysis and anti-oxidant activity of essential oil extracted from buried wood of *Cypressus funebris* by steam distillation based on systematic pressure control

TANG Xin<sup>1</sup>, WU Yi-feng<sup>1</sup>, GUO Dong-yun<sup>1</sup>, WAN Na<sup>1,2</sup>, WU Da-zhang<sup>3</sup>, WU Zhen-feng<sup>1,4</sup>, YANG Ming<sup>1,4</sup>, QIU Yong-wei<sup>1,5</sup>, HUANG Xiao-ying<sup>1,4</sup>

1. Key Laboratory of Modern Preparation of TCM, Ministry of Education, Jiangxi University of Chinese Medicine, Nanchang 330004, China
2. College of Pharmacy, Jiangxi University of Chinese Medicine, Nanchang 330004, China
3. Chongqing Tong Junge Pharmaceutical Co., Ltd., Taiji Group, Chongqing 401366, China
4. State Key Laboratory of Innovation Medicine and High Efficient and Energy Saving Pharmaceutical Equipment, Jiangxi University of Chinese Medicine, Nanchang 330004, China
5. Research Center of Natural Resources of Chinese Medicinal Materials and Ethnic Medicine, Jiangxi University of Chinese Medicine, Nanchang 330004, China

收稿日期: 2021-09-16

**基金项目:** 国家重点研发计划 (2018YFC1706404); 国家自然科学基金资助项目 (82060720); 国家自然科学基金资助项目 (81560657); 江西省重大科技研发专项 (20194ABC28009); 江西省重点研发计划 (20192BBG70072); 校级大学生创新创业计划项目 (202110412168)

**作者简介:** 唐欣 (1998—), 女, 硕士研究生, 研究方向为中药药剂学。E-mail: 1275364172@qq.com

**\*通信作者:** 邱咏薇, 高级实验师, 研究方向为中药鉴定与分类。E-mail: vvqiu517@163.com

黄小英, 副研究员, 研究方向为中药精油及芳香疗法。E-mail: 8842100@qq.com

**Abstract: Objective** To study the differences in extraction rate, composition, content and antioxidant capacity of essential oil extracted from buried wood of *Cypressus funebris* under different system pressure conditions, so as to provide a certain research basis for the application and development of buried wood of *C. funebris*. **Methods** Firstly, the differences of the extraction rate, physical properties and extraction kinetics of essential oil extracted from buried wood of *C. funebris* were investigated by steam distillation under different pressure. And then the chemical constituents of the essential oil were identified by gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS). Finally, the antioxidant activity of the essential oil was analyzed by the removal of DPPH·, ·OH and the determination of total reducing power. **Results** The extraction rate ( $3.63 \pm 0.03\%$ ) of buried wood of *C. funebris* essential oil by steam distillation was the highest when the system pressure was 50 kPa. The content of cedrol in the extracted essential oil increased with the increase of system pressure, while the contents of  $\alpha$ -cedrene,  $\beta$ -cedrene, *cis*-thujopsene,  $\gamma$ -muurolene and other main components in decompression extracted essential oil were higher than those under atmospheric pressure. There was no significant difference in the species of the essential oil components extracted at the first five hours under atmospheric pressure, but species of the essential oils changed at the later stage of extraction. The scavenging ability of DPPH·, ·OH and total reducing power of buried wood of *C. funebris* essential oil extracted by decompression were better than those extracted by atmospheric pressure. **Conclusion** The decompression extraction increased the extraction rate and antioxidant capacity of essential oil, and higher yield of essential oil could be obtained in a shorter time.

**Key words:** buried wood of *Cypressus funebris*; essential oils; systematic pressure control; GC-MS analysis; chemical composition; antioxidant activities;  $\alpha$ -cedrene;  $\beta$ -cedrene; *cis*-thujopsene;  $\gamma$ -muurolene; steam distillation method

柏木阴沉木 (buried wood of *Cypressus funebris*) 系历史上因地震、山洪、泥石流等自然灾害而埋于地下或水下的柏木在缺氧、高压以及细菌和微生物的作用下慢慢碳化而形成,出土后木材含水率高,密度较大,有沉于水的特点,故命名为阴沉木<sup>[1]</sup>。柏木根及树干入药清热利湿,止血生肌<sup>[2]</sup>。柏木阴沉木木材纹理细,质坚,耐水,气馥,香气比新鲜柏木气味浓厚。所提取的柏木油可作多种化工产品,树根提炼柏木油后的碎木,经粉碎成粉后作为香料,经济价值高<sup>[3-4]</sup>。其主要成分柏木醇具有抗白蚁和解痉功效<sup>[5]</sup>,对大肠杆菌、枯草芽孢杆菌、金黄色葡萄球菌和伤寒沙门氏菌等也有明显的抑制作用<sup>[6]</sup>,还具有抗癌、调节心血管系统、镇静等作用<sup>[7]</sup>。

柏木阴沉木精油中的成分应用广泛,而柏木生长速度较慢,需生长 60 年才能成为用材,其树根才能用于提油<sup>[8]</sup>,其阴沉木更是不可再生资源。柏木阴沉木多应用于艺术花雕、家具等<sup>[9]</sup>,以做花雕、家具等剩下的木屑或木粉为原材料对不同提取方法所得精油成分比较分析,可为柏木阴沉木木屑及木粉回收再利用、改进精油提取工艺,将其扩大到工业生产中以及精油的科学开发、充分利用提供理论基础。常压水蒸气蒸馏法 (hydro-distillation, HD) 是目前常用的精油提取方法,但存在收率低、温度高、有效成分易被破坏等缺点。减压水蒸气蒸馏法 (vacuum distillation-extraction, VED) 是近年发展起来的较为新颖的一种提取技术,通过调控真空度实现溶剂沸点降低,精油在低温下提取而得,使得其

热敏性成分不易被破坏,提高了有效成分的提取效率<sup>[10]</sup>。目前,国内外关于柏木阴沉木精油提取及成分分析的研究鲜有报道。本实验对柏木阴沉木精油采用 HD 以及 VED 提取,利用气相色谱-质谱联用 (GC-MS) 技术进行成分分析,再比较其抗氧化活性,以期为其应用开发提供一定的研究基础。

## 1 仪器与材料

### 1.1 仪器

V.CHI 真空泵 V-700、V.CHI 真空控制器 V-850,瑞士 Buchi 公司; SXKW 型数显控温电热套,北京市永光明医疗仪器有限公司; LT2002E 型电子天平,天量仪器有限责任公司; EL104 型电子天平, Mettler Toledo 公司; 一次性使用无菌注射器带针,江西三鑫医疗科技股份有限公司; 精油提取器,四川蜀玻(集团)有限责任公司; H2050R 型大容量高速台式冷冻离心机,湖南湘仪实验室开发有限公司; HH-S 型恒温水浴锅,江苏省金坛市医疗仪器厂; UV-6000 型紫外可见分光光度计,上海元析仪器有限公司; 7890A/5975C 型气相-色谱质谱联用仪,安捷伦科技有限公司。

### 1.2 材料

柏木阴沉木,购自云南省绿春县,由江西中医药大学杨明教授鉴定为柏科柏木属常绿乔木柏木阴沉木。

1,1-二苯基-2-苦肼基 (DPPH),上海源叶生物科技有限公司; 铁粉、30%过氧化氢、硫酸亚铁、水杨酸、铁氰化钾、三氯乙酸、三氯化铁、无水乙醇、

无水硫酸钠、正己烷等均为分析纯；实验用水为屈臣氏蒸馏水，广州屈臣氏食品饮料有限公司。

## 2 方法

### 2.1 HD

柏木阴沉木粉碎成最粗粉后准确称取 200 g，置于圆底烧瓶中，加 6 倍水，加入沸石，振荡混匀，浸泡 30 min，水蒸气蒸馏法常压提取 8 h（自滴油开始记录），待油量不再增加时即停止蒸馏，收集精油层，用无水硫酸钠干燥脱水 12 h 后，称量油质量，根据公式（1）计算得油率，置于棕色瓶中在 4 °C 条件下贮藏备用。

$$\text{得油率} = \text{精油质量} / \text{药材质量} \quad (1)$$

### 2.2 VED

减压提取时在冷凝管上端连接真空泵控制体系压强，其他操作同“2.1”方法，控制系统压力分别在 30、40、50、60、70、80 kPa 6 个水平下进行 VED 实验。

### 2.3 提取动力学模型建立

分阶段收集 HD 提取的精油，建立提取过程的动力学模型来描述 HD 提取柏木阴沉木精油的过程。从理论上研究 HD 提取过程，可为此技术提取工艺工业化生产提供理论依据，对指导实际生产具有重要意义。

提取动力学模型建立基于提取过程中每隔一段时间收集的精油体积，当精油开始滴出时，每 30 分钟记录 1 次油量。使用来自 Saidj 等<sup>[1]</sup>提出的提取模型描述了提取过程中精油体积的变化。稍作调整后，该模型如公式（2）所示。

$$V_t = a - e^{(V-kt)} \quad (2)$$

$V_t$  为在提取时间  $t$  之后获得的含油量， $V$  为该方法的蒸馏得到最大油量的 25%， $a$  和  $k$  分别为从柏木阴沉木中提取精油的常数和速率

### 2.4 柏木阴沉木 GC-MS 测定

**2.4.1 供试品溶液的制备** 取样品 50  $\mu\text{L}$  于 10 mL 量瓶中，正己烷定容，混匀后用 0.45  $\mu\text{m}$  微孔滤膜滤过到进样瓶中。

**2.4.2 色谱条件** HP-5MS 石英毛细管色谱柱（30 m  $\times$  320  $\mu\text{m}$   $\times$  1.8  $\mu\text{m}$ ）；载气 He，柱体积流量 1.0 mL/min；进样口温度 280 °C；分流比 20 : 1；程序升温为起始温度 70 °C，保持 0 min，后运行 70 °C，再以 3 °C/min 升温至 101 °C，保持 1 min，再以 5 °C/min 升温至 120 °C，保持 1 min，再以 0.5 °C/min 升温至 132 °C，保持 1 min，再以 5 °C/min 升温至

143 °C，保持 1 min，再以 1 °C/min 升温至 150 °C，保持 1 min，再以 2.5 °C/min 升温至 158 °C，保持 1 min，再以 10 °C/min 升温至 250 °C，保持 0 min；进样量为 1.0  $\mu\text{L}$ 。

**2.4.3 质谱条件** 四极杆温度 150 °C；电离源为标准 EI 源，离子源温度为 230 °C；电子倍增管电压为 2 447.06 V；质量扫描范围为  $m/z$  50~650。

### 2.5 精油抗氧化活性的测定

**2.5.1 DPPH 自由基 (DPPH·) 清除能力的测定** 各取 2.0 mL 用无水乙醇稀释的不同质量浓度柏木阴沉木精油溶液与 4.0 mL 0.1 mmol/L DPPH 无水乙醇溶液置于试管中，充分混匀后暗处反应 30 min，在 517 nm 处测定不同质量浓度样品溶液的  $A$  值 ( $A_1$ )；以无水乙醇代替样品同法测定  $A$  值 ( $A_0$ )，以无水乙醇代替 DPPH 同法测定不同质量浓度样品溶液  $A$  值 ( $A_2$ )，每个样品平行 3 次。DPPH·清除率按公式（3）计算。

$$S = [A_0 - (A_1 - A_2)] / A_0 \quad (3)$$

**2.5.2 羟自由基 ( $\cdot\text{OH}$ ) 清除能力的测定** 各取 2.0 mL 无水乙醇稀释的不同质量浓度柏木阴沉木精油溶液中加入 6 mmol/L 硫酸亚铁溶液 2.0 mL 和 6 mmol/L 过氧化氢溶液 1.2 mL，混匀后 37 °C 水浴 10 min，再加 20 mmol/L 水杨酸 2.0 mL，混匀后 37 °C 水浴 30 min，在 510 nm 处测定  $A$  值 ( $A_i$ )；以无水乙醇代替水杨酸，同法测定其  $A$  值 ( $A_j$ )；以无水乙醇代替样品同法测定其  $A$  值 ( $A_0$ )，每个样品平行 3 次。 $\cdot\text{OH}$  清除率按公式（4）计算。

$$S = [A_0 - (A_i - A_j)] / A_0 \quad (4)$$

**2.5.3 总还原力测定** 分别取 1.0 mL 无水乙醇稀释的不同质量浓度柏木阴沉木溶液加入 0.2 mol/L pH 6.6 的磷酸盐缓冲液 (PBS) 2.5 mL 和 1% 铁氰化钾溶液 2.5 mL，混匀后在 50 °C 水浴 30 min，再加入 10% 三氯乙酸溶液 2.5 mL，混匀后离心 15 min，取 2.5 mL 上清液，再加入蒸馏水 2.5 mL 和 1%  $\text{FeCl}_3$  溶液 0.5 mL，混匀后反应 10 min，在 700 nm 处测定吸光度，每个样品平行 3 次。

## 3 结果与分析

### 3.1 系统压力对柏木阴沉木精油及其提取率的影响

如表 1 所示，系统压力在 30~50 kPa 时，VED 提取柏木阴沉木精油提取率呈增长趋势，在 50 kPa 时达到最大值，随后提取率下降。减压提取得油率大于常压，且最优提取压强应控制在 50 kPa 左右。这是因为一方面随着真空度的降低，提取设备中的

表1 系统压力对柏木阴沉木精油提取率的影响

Table 1 Effect of pressure on extraction yield of essential oil from buried wood of *C. funebris*

系统压力/kPa	得油率/%	系统压力/kPa	得油率/%
30	3.10±0.07	70	3.15±0.10
40	3.37±0.06	80	2.52±0.05
50	3.63±0.03	常压	2.37±0.07
60	3.31±0.04		

空气被抽走了更多,精油在空气中的传质阻力随着蒸汽的扩散而减小;另一方面,在真空提取过程中可以通过调节封闭系统中的真空度实现溶剂沸点降低,保持溶剂低温沸腾状态动态提取。与常压静态提取过程相比,沸腾动态提取能阻止一些大分子杂

质(淀粉、蛋白质)融入到提取液中,有利于保持药物提取的最大质量浓度梯度,促进扩散,提高精油的蒸发和冷凝速率,在保证精油在最佳温度下溶出的前提下,最终提高精油的收率<sup>[12]</sup>。然而系统压力过低时,提取温度也较低,溶剂的沸点降低,液体的黏度和密度增加,又阻碍了溶剂深入样品基体<sup>[13]</sup>。沸腾后挥发的溶剂蒸汽和挥发油被部分吸入真空系统,导致溶剂和挥发油的损耗,在提取过程中也不能形成很好的“回流”效果。如图1所示,系统压力越小,所提取到的精油颜色越接近白色透明,常压提取的精油为浅黄色且较浑浊,且常压及减压提取精油中有乳白色絮状物。常压提取的精油由于在高沸点下蒸馏时间过长,某些成分会发生分解、氧化,精油颜色变深、品质降低。



图1 不同压力下所得柏木阴沉木精油

Fig. 1 Essential oil of buried wood of *C. funebris* obtained under different pressures

### 3.2 提取动力学

将常压提取精油( $E_h$ )与减压提取精油( $E_v$ )的提取量( $V_t$ )和时间数据代入公式(2)中,使用Origin 2021对散点图进行非线性拟合,曲线符合此函数。2种方法提取的精油体积的变化如图2所示。用于描述提取动力学的模型参数如表2所示。 $R^2$ 的值分别为0.996 2和0.998 8,实验值 $V$ 与从模型获得的预测值 $V$ 基本吻合。这表明,相关实验数据具有较强相关性和回归性,该模型稍加修正即可较准确地描述柏木阴沉木的提取行为。如图2所示,在提取的初始阶段,观察到油的体积迅速增加,且减压环境中的提取速率高于大气压的提取速率,这是因为在减压条件下溶剂的沸点较低,提取初期溶剂沸腾时大量的气泡破裂,有利于提取溶剂与药材的全面接触,使药材提前进入动态的过程,促进药材精油的挥发和溶剂的扩散<sup>[12]</sup>。随着提取过程的进行,精油的蒸馏速度变慢,直到提取速率达到恒定。这很可能是因为在这个过程的后期,精油往往会从药材内部未被破坏的油室缓慢扩散到表面<sup>[14]</sup>。在最

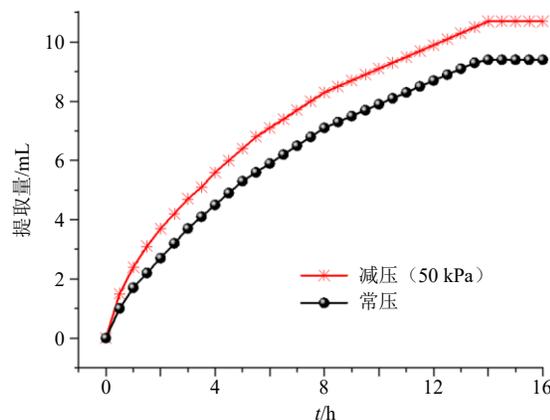


图2 常压、减压提取柏木阴沉木精油的提取动力学

Fig. 2 Kinetics of extraction of essential oil from buried wood of *C. funebris* under atmospheric pressure and decompression

后提取阶段,真空提取的产率高于常压提取,表明真空提取具有优越性。

与常压相比,减压提取不仅提高了提取速率,还提高了得油率,这与表2中的 $k$ 值是一致的。减压提取的高得油率是由多种因素促成的,这些因素

表 2 柏木阴沉木提取动力学模型参数受提取工艺的影响

Table 2 Parameters of extraction kinetics model of buried wood of *C. funebris* affected by extraction process

模型	提取方式	a	k	V 值		R <sup>2</sup>
				实际测量值	模拟数据值	
$V_t = a - e^{(V-kt)}$	减压 (50 kPa)	12.044	0.140	2.675	2.432	0.996 2
	常压	11.370	0.119	2.350	2.403	0.998 8

与提取过程中物料的质地和挥发油的溶解扩散速率有关<sup>[12]</sup>。

### 3.3 精油 GC-MS 成分分析

使用 GC-MS 技术对柏木阴沉木精油成分进行分析, 用 GC-MS 仪 NIST 11 谱库自动检索被分析组分的质谱数据, 并对检索结果进行人工核对, 得到以下结果。

**3.3.1 不同系统压力提取得到精油成分分析** 根据不同系统压力提取得到的精油总离子流图 (图 3) 共鉴定出了 32 种化合物 (表 3), 主要为萜烯类化合物, 其中单萜类 9 种, 倍半萜类 19 种, 其他类 4 种, 成分检出率为 92.24%~94.12%。

E<sub>h</sub> 中含量较高的成分为柏木醇 (35%)、 $\alpha$ -柏木烯 (16.46%)、 $\beta$ -马榄烯 (7.14%)、 $\alpha$ -松油醇 (6.22%)、 $\beta$ -柏木烯 (3.48%)、 $\alpha$ -芹子烯 (3.40%)、 $\beta$ -芹子烯 (3.08%)。E<sub>v</sub> 主要成分为柏木醇 (22.72%~35.00%)、 $\alpha$ -柏木烯 (16.46%~29.41%)、 $\alpha$ -松油醇 (5.19%~7.83%)、 $\beta$ -马榄烯 (2.90%~7.14%)、 $\beta$ -柏木烯 (3.48%~6.26%)、罗汉柏烯 (2.87%~5.56%)、龙脑 (2.31%~3.78%) 等, 不同系统压力下所提取精油的

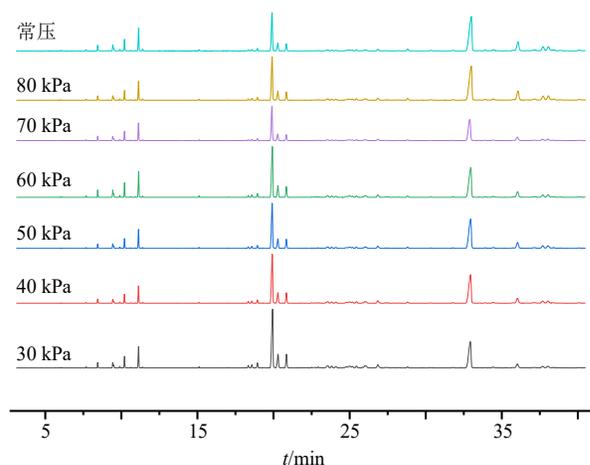


图 3 不同系统压力下水蒸气蒸馏提取柏木阴沉木精油总离子流图

Fig. 3 Total ion flow diagram of essential oil extracted from buried wood of *C. funebris* by steam distillation under different system pressures

成分相对含量略有差别。柏木醇是一种高沸点的倍半萜醇, 因此, 在压力越大的系统中所得精油中柏木醇相对含量越高。 $\alpha$ -柏木烯、 $\beta$ -柏木烯、罗汉柏烯、 $\gamma$ -衣兰油烯等 E<sub>v</sub> 中含量高于 E<sub>h</sub>, 且  $\alpha$ -柏木烯相对含量随着系统压力增大相对减少。 $\beta$ -马榄烯、 $\beta$ -芹子烯、 $\alpha$ -芹子烯等 E<sub>v</sub> 中相对含量低于 E<sub>h</sub>。减压提取过程中在系统压力较低条件下含有 (+)-枞油烯、2,6-二甲基-2,4,6-辛三烯、别罗勒烯等单萜类化合物, 而 E<sub>h</sub> 样品中未检测到, 这可能是因为单萜类化合物沸点较低, 而真空度高时体系内沸点较低, 单萜类化合物得到了较好的保留。

**3.3.2 常压蒸馏提取不同时间段精油成分比较** 常压蒸馏提取中根据不同提取时间得到的精油总离子流图 (图 4) 鉴定出了 43 种化合物 (表 4), 主要为萜烯类化合物, 其中单萜类 10 种, 倍半萜类 28 种, 二萜类 3 种, 其他类 2 种, 成分检出率为 91.90%~99.56%。

常压蒸馏提取每隔 1 h 收集 1 次精油, 经干燥脱水后对不同蒸馏时间的 E<sub>h</sub> 进行 GC-MS 测定, 其结果表明不同蒸馏时间的 E<sub>h</sub> 成分有所差异。1~8 h 提取过程中每小时获得的精油成分种类分别为 36、35、35、35、35、22、19、21, 前 5 h 内对精油的成分种类和数量无影响, 5 h 以后, 对精油成分的种类有所影响, 第 6~8 小时种类明显更少, 例如缺少 1,3,3-三甲基-二环 [2.2.1] 庚-2-酮、di-*epi*- $\alpha$ -柏木烯 (I)、 $\beta$ -榄香烯、 $\alpha$ -衣兰油烯、姜黄烯等成分, 但同时又增加了部分其他成分, 如 2,4-二甲基苯乙烯、右旋萜二烯、表松油烯等。说明随着蒸馏时间的增加, 精油的品质发生变化。

### 3.4 抗氧化实验

**3.4.1 清除 DPPH· 能力测定** DPPH 的无水乙醇溶液为紫色, 在 517 nm 波长处有最大吸收, 吸光度与浓度呈线性关系。向其中加入自由基清除剂时, 可以结合或替代 DPPH·, 使自由基数量减少, 吸光度变小, 溶液颜色变浅, 褪色越明显表示其抗氧化能力越强。由图 5 可知, 柏木阴沉木精油具有一定的

表3 不同系统压力下获得柏木阴沉木精油主要成分及相对含量

Table 3 Main components and relative contents of essential oil from buried wood of *C. funebris* obtained by steam distillation under different system pressures

序号	$t_R$ /min	名称	分子式	相对含量/%						
				30 kPa	40 kPa	50 kPa	60 kPa	70 kPa	80 kPa	常压
1	8.443	萜醇	C <sub>10</sub> H <sub>18</sub> O	1.19	1.03	1.08	1.53	1.59	0.92	1.23
2	9.433	1-甲氧乙基环己烷	C <sub>9</sub> H <sub>18</sub> O	1.22	1.03	1.20	—	—	—	—
3	9.435	2-(3,4-二溴-4-甲基环己基)丙烷-2-醇	C <sub>10</sub> H <sub>18</sub> Br <sub>2</sub> O	—	—	—	1.66	1.68	1.52	—
4	9.436	二氢月桂烯醇	C <sub>10</sub> H <sub>20</sub> O	—	—	—	—	—	—	2.06
5	10.205	龙脑	C <sub>10</sub> H <sub>18</sub> O	2.77	2.47	2.68	3.52	3.78	2.31	2.91
6	11.120	(+)-桉油烯	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub>	—	—	—	6.97	—	5.00	—
7	11.129	$\alpha$ -松油醇	C <sub>10</sub> H <sub>18</sub> O	5.65	5.19	5.68	—	7.83	—	6.22
8	18.574	di- <i>epi</i> - $\alpha$ -柏木烯-(I)	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub>	1.10	0.89	0.79	0.84	0.77	0.61	0.53
9	18.942	$\beta$ -榄香烯	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub>	1.66	1.28	1.14	1.26	1.04	0.87	0.80
10	19.902	$\alpha$ -柏木烯	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub>	29.41	25.61	23.00	23.49	24.21	18.77	16.46
11	20.285	$\beta$ -柏木烯	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub>	6.26	5.38	4.80	4.98	4.87	3.94	3.48
12	20.845	罗汉柏烯	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub>	5.56	4.79	4.16	4.17	4.07	3.18	2.87
13	23.581	$\gamma$ -衣兰油烯	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub>	1.65	1.42	1.21	1.27	1.13	1.01	0.84
14	25.026	(+)- $\alpha$ -长叶蕨烯	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub>	1.58	1.49	0.65	1.25	1.18	1.04	—
15	25.194	$\alpha$ -衣兰油烯	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub>	0.76	0.73	0.60	0.62	0.57	0.53	0.42
16	25.449	(+)-花侧柏烯	C <sub>15</sub> H <sub>22</sub>	0.90	0.95	0.76	0.74	0.73	0.69	0.60
17	26.007	2,6-二甲基-2,4,6-辛三烯	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub>	—	1.62	1.36	—	—	—	—
18	26.009	3-甲基-5-乙基苯酚	C <sub>9</sub> H <sub>12</sub> O	—	—	—	—	—	—	0.89
19	26.009	2-甲基-4-乙基苯酚	C <sub>9</sub> H <sub>12</sub> O	—	—	—	—	—	1.09	—
20	26.011	2,6-二甲基-2,4,6-辛三烯	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub>	1.92	—	—	—	—	—	—
21	26.011	别罗勒烯	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub>	—	—	—	—	1.29	—	—
22	26.012	3-(1-甲乙基)苯酚	C <sub>9</sub> H <sub>12</sub> O	—	—	—	1.43	—	—	—
23	26.847	(-)- $\beta$ -杜松烯	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub>	—	—	—	—	1.49	—	—
24	26.853	顺-衣兰油-3,5 二烯	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub>	—	—	—	—	—	1.36	—
25	26.854	$\Delta$ -杜松烯	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub>	2.17	1.94	1.69	1.73	—	—	1.06
26	28.816	$\beta$ -榄香烯	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub>	0.52	0.69	0.78	0.74	—	0.99	1.09
27	30.337	$\beta$ -甜没药烯	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub>	—	—	—	0.29	—	—	—
28	33.005	柏木醇	C <sub>15</sub> H <sub>26</sub> O	22.72	29.09	30.98	27.10	30.02	34.09	35.00
29	36.044	$\beta$ -马榄烯	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub>	2.90	4.28	4.99	4.21	4.44	6.88	7.14
30	37.164	$\gamma$ -衣兰油烯	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub>	—	—	0.72	0.61	—	—	1.00
31	37.172	T-杜松醇	C <sub>15</sub> H <sub>26</sub> O	—	—	—	—	—	0.93	—
32	37.701	$\beta$ -芹子烯	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub>	1.12	1.69	2.13	1.72	1.65	3.04	3.08
33	38.040	$\alpha$ -芹子烯	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub>	1.18	1.78	2.37	1.92	1.78	3.34	3.40
34	38.422	$\gamma$ -衣兰油烯	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub>	—	—	0.56	0.44	—	0.81	0.87
35	40.100	香树烯	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub>	—	—	—	—	—	—	0.62
总计				92.24	93.35	93.33	92.49	94.12	92.92	92.57

DPPH·清除能力,且随着样品质量浓度的增大,对DPPH·的清除能力增强。 $E_v$ 在清除DPPH·上的表现

优于 $E_h$ ,半数抑制浓度(half inhibitory concentration,  $IC_{50}$ )分别为84.99  $\mu$ L/mL( $E_v$ )和105.37  $\mu$ L/mL( $E_h$ )。

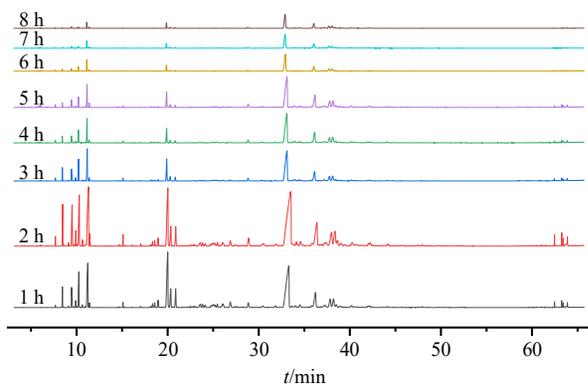


图4 不同时间段 E<sub>h</sub> GC-MS 总离子流图

Fig. 4 GC-MS total ion chromatogram of E<sub>h</sub> at different time periods

**3.4.2 清除·OH 能力测定** H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 与亚铁离子反应生成·OH, 加入水杨酸后产生紫色化合物(2,3-二羟基苯甲酸), 该化合物在 510 nm 波长处有最大吸收峰, 其 A 值与·OH 的量成正比。向其中加入自由基清除剂时, 被氧化的水杨酸减少, A 值变小, 溶液颜色变浅, 褪色越明显表示其抗氧化能力越强。

由图 6 可知, 柏木阴沉香精油具有一定的·OH 清除能力, 且随着样品质量浓度的增大, 对·OH 的清除能力增强, IC<sub>50</sub> 分别为 10.43 μL/mL (E<sub>v</sub>) 和 180.64 μL/mL (E<sub>h</sub>), E<sub>v</sub> 对·OH 的清除能力是 E<sub>h</sub> 的 17 倍左右。

**3.4.3 总还原力测定** 总还原力测定是利用样品所

表 4 常压下不同蒸馏时间 E<sub>h</sub> 主要成分及相对含量

Table 4 Main components and its relative content of E<sub>h</sub> obtained at different distillation time under normal pressure

序号	t <sub>R</sub> /min	中文名	分子式	相对含量/%							
				1 h	2 h	3 h	4 h	5 h	6 h	7 h	8 h
1	7.677	2,4-二甲基苯乙烯	C <sub>10</sub> H <sub>12</sub>	-	-	-	-	0.70	-	0.60	0.33
2	7.682	1,3,3-三甲基-二环[2.2.1]庚-2-酮	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub> O	0.17	0.46	0.59	0.61	-	0.83	-	-
3	8.443	葑醇	C <sub>10</sub> H <sub>18</sub> O	1.74	2.73	2.61	1.49	0.98	1.37	0.73	0.46
4	9.442	α-松油醇	C <sub>10</sub> H <sub>18</sub> O	-	-	-	2.52	2.22	2.70	-	-
5	9.447	右旋萜二烯	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub>	-	-	-	-	-	-	2.21	1.77
6	9.449	反式-2-(4-甲基环己基)异丙醇	C <sub>10</sub> H <sub>20</sub> O	-	-	3.84	-	-	-	-	-
7	9.480	2-(3,4-二溴-4-甲基环己基)丙烷-2-醇	C <sub>10</sub> H <sub>18</sub> Br <sub>2</sub> O	2.82	3.70	-	-	-	-	-	-
8	10.901	异龙脑	C <sub>10</sub> H <sub>18</sub> O	0.60	0.88	0.72	0.42	0.32	0.39	-	-
9	10.205	龙脑	C <sub>10</sub> H <sub>18</sub> O	4.27	5.07	5.04	3.29	2.38	3.26	1.97	1.36
10	11.129	α-松油醇	C <sub>10</sub> H <sub>18</sub> O	8.02	9.16	9.74	7.57	6.37	8.59	7.02	5.90
11	11.392	萜品油烯	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub>	0.45	0.65	0.74	0.81	-	1.07	1.31	1.30
12	15.101	3-甲基苯乙醇	C <sub>9</sub> H <sub>12</sub> O	0.44	0.59	0.60	0.41	0.35	0.42	0.28	-
13	18.344	α-柏木烯	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub>	0.52	0.34	0.21	0.13	0.12	-	-	-
14	18.576	di-epi-α-柏木烯-(I)	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub>	0.64	0.41	0.26	0.16	0.14	-	-	-
15	18.942	β-榄香烯	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub>	1.03	0.67	0.43	0.29	0.28	-	-	-
16	19.886	α-柏木烯	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub>	14.04	8.94	8.00	6.08	5.70	6.70	6.97	7.54
17	20.281	β-柏木烯	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub>	3.34	2.14	1.65	1.20	1.14	1.28	1.33	1.46
18	20.840	罗汉柏烯	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub>	2.89	1.82	1.36	0.91	0.79	0.89	0.83	0.89
19	23.584	γ-衣兰油烯	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub>	1.07	0.66	0.46	0.30	-	-	-	-
20	23.841	α-衣兰油烯	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub>	0.60	0.36	0.22	-	-	-	-	-
21	24.104	姜黄烯	C <sub>15</sub> H <sub>22</sub>	0.56	0.34	0.23	-	0.15	-	-	-
22	24.773	巴伦西亚橘烯	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub>	0.53	-	-	-	-	-	-	-
23	25.042	(+)-α-长叶蕈烯	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub>	1.01	0.65	0.61	0.50	0.56	-	-	-
24	25.199	α-衣兰油烯	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub>	0.52	0.33	0.27	0.20	0.22	-	-	-
25	25.440	(+)-花侧柏烯	C <sub>15</sub> H <sub>22</sub>	0.64	0.45	0.48	0.45	0.49	-	-	-
26	26.021	3-(1-甲基)苯酚	C <sub>9</sub> H <sub>12</sub> O	1.12	0.66	0.53	0.36	0.21	-	-	-
27	26.854	Δ-杜松烯	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub>	1.46	0.87	0.65	0.40	0.38	-	-	-

续表 2

序号	$t_R$ /min	中文名	分子式	相对含量/%							
				1 h	2 h	3 h	4 h	5 h	6 h	7 h	8 h
28	28.837	$\beta$ -榄香烯	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub>	1.09	1.39	1.42	1.73	1.78	1.57	1.47	1.49
29	30.522	$\beta$ -甜没药烯	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub>	0.51	0.69	0.55	0.62	0.69	-	-	-
30	33.295	柏木醇	C <sub>15</sub> H <sub>26</sub> O	25.99	27.07	31.99	37.04	34.82	42.61	44.05	43.27
31	33.568	$\beta$ -蛇麻烯	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub>	-	-	-	0.39	-	-	-	-
32	33.935	$\alpha$ -柏木烯	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub>	0.59	0.72	1.16	1.40	1.40	0.79	0.84	0.81
33	34.477	(+)- $\alpha$ -柏木萜烯	C <sub>14</sub> H <sub>22</sub> O <sub>2</sub>	0.92	0.96	0.94	1.15	1.27	0.77	0.83	0.91
34	35.763	(+)- $\alpha$ -榄香烯乳	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub>	-	-	0.47	0.59	-	-	-	-
35	35.774	表松油烯	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub>	-	-	-	-	0.57	-	-	-
36	36.119	$\beta$ -马榄烯	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub>	5.19	6.07	6.94	9.30	10.06	10.71	12.84	13.73
37	37.213	T-杜松醇	C <sub>15</sub> H <sub>26</sub> O	1.03	1.21	1.14	1.42	1.61	1.30	1.51	1.63
38	37.991	香橙烯	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub>	2.69	3.16	3.51	4.75	5.00	4.95	5.83	6.18
39	38.116	$\alpha$ -芹子烯	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub>	2.75	3.25	3.58	4.85	5.17	5.43	6.52	6.88
40	38.426	$\gamma$ -衣兰油烯	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub>	0.80	0.93	0.97	1.30	1.43	1.33	1.59	1.78
41	38.868	6-甲基-6-[3-甲基-3-(1-甲基乙烯基)-1-环丙烯-1-甲基]-2-庚酮	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub> O	0.47	0.59	0.65	0.80	0.93	-	-	-
42	40.100	香树烯	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub>	0.64	0.78	0.78	0.88	1.21	0.95	-	1.11
43	40.527	$\gamma$ -雪松烯	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub>	-	0.44	-	-	0.62	-	-	-
44	41.983	$\beta$ -甜没药烯	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub>	0.34	0.41	0.37	0.46	0.51	-	-	-
45	42.196	(-)- $\alpha$ -雪松烯	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub>	0.34	0.49	0.40	0.56	0.63	-	-	-
46	43.858	佛术烯	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub>	0.23	0.12	-	0.43	0.52	-	-	-
47	62.468	泪柏烯	C <sub>20</sub> H <sub>32</sub>	0.41	0.47	0.41	0.31	0.33	-	-	-
48	63.255	香紫苏醇	C <sub>20</sub> H <sub>36</sub> O <sub>2</sub>	0.45	-	0.51	0.50	0.54	0.28	-	0.23
49	63.259	泪柏烯	C <sub>20</sub> H <sub>32</sub>	-	0.52	-	-	-	-	-	-
50	63.880	8-亚甲基二螺[2.1.2.4]十一烷	C <sub>12</sub> H <sub>18</sub>	-	-	-	0.46	-	0.50	-	0.53
51	63.882	(+)-15-贝叶烯	C <sub>20</sub> H <sub>32</sub>	0.71	0.75	0.42	-	1.05	-	-	-
总计				93.63	91.90	95.45	97.04	93.64	98.69	98.73	99.56

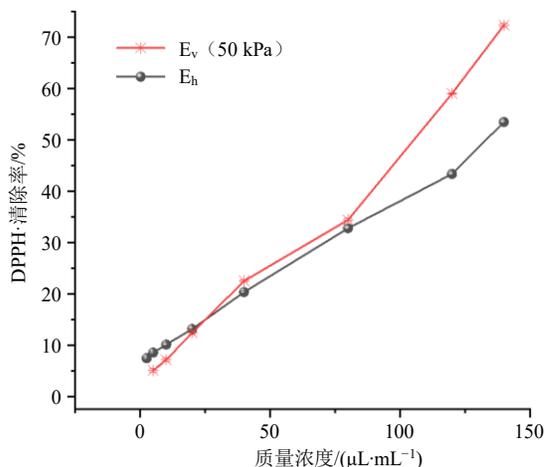


图 5 柏木阴沉木精油的 DPPH· 的清除能力

Fig. 5 DPPH· radical scavenging rate of essential oil from buried wood of *C. funebris*

具有的还原性, 可将铁氰化钾的  $\text{Fe}^{3+}$  还原成  $\text{Fe}^{2+}$ , 然后亚铁氰化钾继续和  $\text{FeCl}_3$  反应, 产生颜色变化明显的蓝色沉淀 (普鲁士蓝), 这种蓝色沉淀在波长 700 nm 处有最大吸收波长,  $A$  值越高, 说明样品还原能力越强。其结果如图 7 所示, 柏木阴沉木精油还原能力与浓度呈线性相关, 质量浓度越高, 还原能力越强, 且  $E_v$  还原能力强于  $E_h$ 。

#### 4 讨论

本实验结果显示, VED 提取工艺中精油在系统压力为 50 kPa 的提取率 ( $3.63 \pm 0.03$ ) % 最高。提取动力学实验以动力学模型  $V_t = a - e^{(V-k)t}$  为基础, 分别推导出 VED 与 HD 精油提取的动力学模型  $V_t = 12.044 - e^{(2.432-0.140)t}$ 、 $V_t = 11.370 - e^{(2.403-0.119)t}$ , 且证明该模型可描述相关的提取过程。实验结果发现

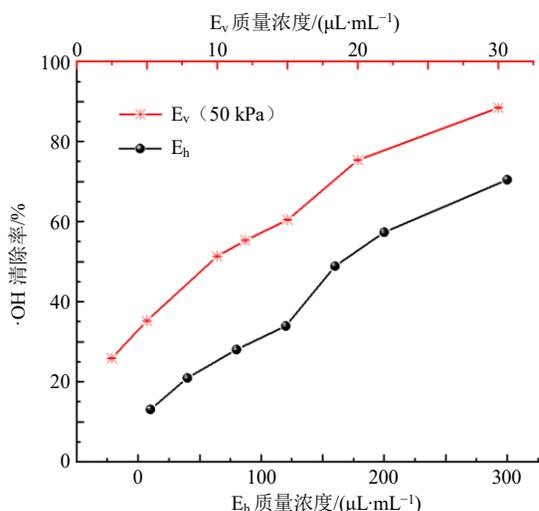


图6 柏木阴沉木精油的·OH清除能力

Fig. 6 Hydroxyl radical scavenging rate of essential oil from buried wood of *C. funebris*

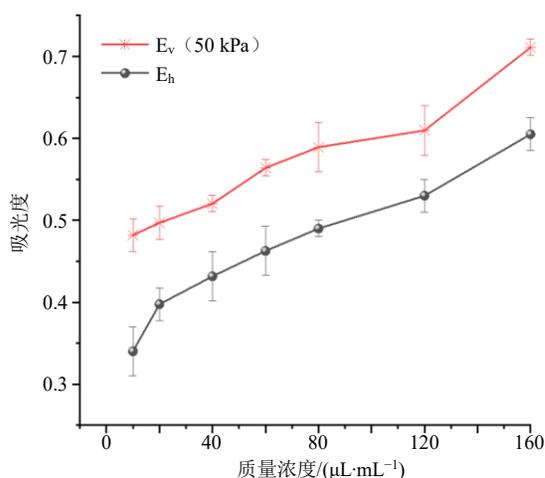


图7 柏木阴沉木精油的还原力

Fig. 7 Reducing power of essential oil from buried wood of *C. funebris*

柏木阴沉木精油对 DPPH 自由基的清除能力、羟自由基的清除能力均是 E<sub>v</sub> 优于 E<sub>h</sub>，总还原力 E<sub>v</sub> 也优于 E<sub>h</sub>。通过本实验可知，与 HD 相比，VED 能提高水蒸气提取柏木阴沉木精油的提取率与抗氧化能力，并能在较短的时间内获得较高的精油产率。在系统压力为 30 kPa 到常压范围内，系统压力越大的条件下所提取精油中柏木醇相对含量越高，而其他主要成分 α-柏木烯、β-柏木烯、罗汉柏烯、γ-衣兰油烯等减压提取精油中相对含量高于常压。常压条件提取不同蒸馏时间的精油在前期四小时精油中的成分种类都相差不大，而在提取后期，精油中的成分种类有所改变。

柏木精油具有抗氧化、抑菌等生物活性，广泛

应用在医药，美容，农业等领域。而柏木阴沉木精油中的主要成分之一柏木醇可用于定香剂、调配日用香精、增香剂<sup>[15]</sup>，还具有改善睡眠、镇静和缓解压力的功效<sup>[16]</sup>，并且在体内和体外实验中均表现出良好抑菌活性，柏木醇具有开发为新型植物源杀菌剂的潜力<sup>[17]</sup>。柏木阴沉木精油中的其他主要成分罗汉柏烯为目前香料工业中重要原料<sup>[18]</sup>，α、β-柏木烯是某些合成香料（如甲基柏木酮、柏木酮、柏木烯醇和环氧柏木烷）的重要原料，这些香料被广泛应用于香水、香皂、日用化妆品等领域<sup>[19]</sup>。本实验利用柏木阴沉木木粉为原料进行精油的提取，实现柏木阴沉木资源的最大化利用和可持续发展，做好边角料的回收利用。研究结果可使柏木阴沉木边角余料得到合理有效的利用，可为其深度开发利用和精油提取提供研究思路和方法，因此具有中药的理论意义和实际应用价值。

**利益冲突** 所有作者均声明不存在利益冲突

#### 参考文献

- [1] 严宗达, 卢圣楼, 郭飞燕, 等. 海南柏木阴沉木挥发油的化学成分分析及耐腐蚀性研究 [J]. 林产化学与工业, 2012, 32(5): 111-114.
- [2] 中国药材公司. 中国中药资源志要 [M]. 北京: 科学出版社, 1994: 149.
- [3] 闫敏. 柏木栽培技术及应用 [J]. 现代农村科技, 2013(18): 54.
- [4] 余梅生, 彭方有, 徐高福, 等. 柏木多目标用途在千岛湖风景区的应用实证研究 [J]. 绿色科技, 2013(5): 138-139.
- [5] 李秋庭, 曾辉, 关继华, 等. 从杉木油中分离柏木醇的研究 [J]. 中南林业科技大学学报, 2013, 33(11): 145-148.
- [6] 叶舟, 林文雄, 陈伟, 等. 杉木心材精油抑菌活性及其化学成分研究 [J]. 应用生态学报, 2005, 16(12): 2394-2398.
- [7] Hori E, Shojaku H, Watanabe N, et al. Effects of direct cedrol inhalation into the lower airway on brain hemodynamics in totally laryngectomized subjects [J]. *Auton Neurosci*, 2012, 168(1/2): 88-92.
- [8] 傅星星. 杉木精油提取及其深加工研究 [D]. 福州: 福建农林大学, 2007.
- [9] 张贝. 华南地区阴沉木的鉴定、成因及其宏观美学与应用研究 [D]. 南宁: 广西大学, 2013.
- [10] 喻芬, 万娜, 伍振峰, 等. 减压提取及其联合技术在中药挥发油中的研究进展 [J]. 中草药, 2020, 51(13): 3561-3568.

- [11] Saidj F, Bentahar F, Boutekedjiret C. Kinetic study and optimization of the operating conditions of the extraction by steam distillation of the essential oil of *Thymus numidicus* (poiret) of Algeria [J]. *J Essent Oil Bear Plants*, 2009, 12(2): 144-154.
- [12] Wu Z F, Xie L Z, Li Y H, et al. A novel application of the vacuum distillation technology in extracting *Origanum vulgare* L. essential oils [J]. *Ind Crops Prod*, 2019, 139: 111516.
- [13] Chen W J, Huang Y L, Qi J, et al. Optimization of ultrasound-assisted extraction of phenolic compounds from *Areca* husk [J]. *J Food Process Preserv*, 2014, 38(1): 90-96.
- [14] Milojević S Ž, Stojanović T D, Palić R, et al. Kinetics of distillation of essential oil from comminuted ripe juniper (*Juniperus communis* L.) berries [J]. *Biochem Eng J*, 2008, 39(3): 547-553.
- [15] 刘志明, 王海英, 王芳, 等. 日本花柏和侧柏精油的GC-MS分析 [J]. *经济林研究*, 2011, 29(3): 88-92.
- [16] 张岩, 曲凡志, 赵余庆. 柏木醇的药理作用研究进展 [J]. *沈阳药科大学学报*, 2014, 31(7): 584-588.
- [17] 康俊. 柏木易挥发成分分析及其抑菌活性成分的研究 [D]. 太原: 山西大学, 2020.
- [18] 蔡玲, 李爱阳. 固相微萃取-GC-MS 联用分析白芷挥发性成分 [J]. *中成药*, 2010, 32(7): 1179-1182.
- [19] 赵孟瑶, 杨清山, 徐猛, 等. 杉木油中柏木烯和柏木醇的测定方法研究 [J]. *中国食品添加剂*, 2019, 30(8): 144-149.

[责任编辑 郑礼胜]