

金盏花精油的微波辅助提取及其成分与抗氧化活性研究

刘欢, 赵巨堂, 何力, 罗海涛, 熊文俊, 邹恩凯

Microwave-Assisted Extraction of Essential Oil from *Calendula officinalis* L. and Its Components and Antioxidant Activity

LIU Huan, ZHAO Jutang, HE Li, LUO Haitao, XIONG Wenjun, and ZOU Enkai

在线阅读 View online: <https://doi.org/10.13386/j.issn1002-0306.2021060062>

您可能感兴趣的其他文章

Articles you may be interested in

微波辅助提取陕产瞿麦挥发油工艺优化及其抗氧化活性

Optimization of Microwave-assisted Extraction Process of Volatile Oil from Shaanxi-fringed Pink and Its Antioxidant Activity

食品工业科技. 2019, 40(23): 130-136

山银花不同萃取部位抗炎、抗氧化体外活性评价及化学成分分析

Evaluation of *in Vitro* Anti-inflammatory and Antioxidant Activities and Analysis of Chemical Components in Different Extraction Parts of Lonicerae Flos

食品工业科技. 2021, 42(8): 81-87

微波无溶剂萃取法提取野菊花精油工艺及成分分析

Extracting Process of Essential Oil from *Chrysanthemum indicum* by Solvent-free Microwave Extraction and Its Components Analysis

食品工业科技. 2021, 42(18): 226-234

微波辅助碱溶酸沉法提取芡实蛋白的工艺优化及其抗氧化性

Optimization on microwave-assisted alkali-solution and acid-isolation extraction of protein from *Euryale ferox* and its antioxidant activity

食品工业科技. 2017(24): 206-211

提取方法对澳洲坚果油的化学成分及其抗氧化活性影响研究

Study on the antioxidant activities and compositions of macadamia nuts oil from different extraction methods

食品工业科技. 2017(15): 1-5

微波辅助提取薏苡仁油工艺优化

Optimization of Microwave-assisted Extraction Technique of Coix Seed Oil

食品工业科技. 2019, 40(8): 145-150,157



关注微信公众号，获得更多资讯信息

刘欢, 赵巨堂, 何力, 等. 金盏花精油的微波辅助提取及其成分与抗氧化活性研究 [J]. 食品工业科技, 2022, 43(10): 180-188. doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2021060062

LIU Huan, ZHAO Jutang, HE Li, et al. Microwave-Assisted Extraction of Essential Oil from *Calendula officinalis* L. and Its Components and Antioxidant Activity[J]. Science and Technology of Food Industry, 2022, 43(10): 180-188. (in Chinese with English abstract). doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2021060062

· 工艺技术 ·

金盏花精油的微波辅助提取及其成分与 抗氧化活性研究

刘欢¹, 赵巨堂¹, 何力², 罗海涛², 熊文俊¹, 邹恩凯^{2*}

(1.南昌大学食品科学与技术国家重点实验室, 江西南昌 330047;

2.江西中烟工业有限责任公司, 江西南昌 330096)

摘要: 采用微波辅助水蒸气蒸馏法提取金盏花精油, 以得率为评价指标, 在单因素实验的基础上通过正交试验对精油提取工艺进行优化, 随后通过气相色谱-质谱 (GC-MS) 对金盏花精油化学成分进行分析, 最后以 DPPH 自由基、羟自由基、ABTS⁺ 自由基清除能力为指标评价金盏花精油的抗氧化效果。结果表明, 微波辅助水蒸气蒸馏法提取金盏花精油的最佳工艺条件为: NaCl 浓度 3%、料液比 1:30 g/mL、微波功率 240 W, 在此条件下精油得率为 0.156%。通过 GC-MS 分析, 金盏花精油共被鉴定出 25 种组分, 占总成分的 97.94%, 主要为醇类和萜烯类化合物。在抗氧化试验中, 金盏花精油对 DPPH 自由基的清除能力较弱, 对羟自由基和 ABTS⁺ 自由基的清除能力较强, 总体上具有明显的抗氧化活性并有良好的量效关系。本研究将为金盏花精油的大规模生产提供较为可靠的工艺参数, 并为评价其抗氧化活性提供基础数据和参考。

关键词: 金盏花精油, 微波提取, 气相色谱-质谱法 (GC-MS), 化学成分, 抗氧化活性

中图分类号: TS202.3

文献标识码: B

文章编号: 1002-0306(2022)10-0180-09

DOI: 10.13386/j.issn1002-0306.2021060062



本文网刊:

Microwave-Assisted Extraction of Essential Oil from *Calendula officinalis* L. and Its Components and Antioxidant Activity

LIU Huan¹, ZHAO Jutang¹, HE Li², LUO Haitao², XIONG Wenjun¹, ZOU Enkai^{2*}

(1.State Key Laboratory of Food Science and Technology, Nanchang University, Nanchang 330047, China;

2.Tobacco Jiangxi Industrial Co., Ltd., Nanchang 330096, China)

Abstract: The essential oil from *Calendula officinalis* L. was extracted by microwave-assisted steam distillation. Taking the yield as the evaluation index, the extraction process of essential oil was optimized by orthogonal experiment on the basis of single factor test. The chemical composition of the essential oil was analyzed by gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS). The antioxidant effect of the essential oil was evaluated by the scavenging activity of DPPH free radical, hydroxyl radical and ABTS⁺ free radical. The results showed that the optimum conditions for extracting the essential oil by microwave-assisted steam distillation were as follows: NaCl content 3%, ratio of material to liquid 1:30 g/mL, microwave power 240 W. Under these conditions, the yield of the essential oil was 0.156%. By GC-MS analysis, a total of 25 components were identified in the essential oil, accounting for 97.94% of the total components, mainly alcohols and terpenes. In the antioxidant test, the scavenging ability of the essential oil to DPPH free radical was weak. It had strong scavenging ability to hydroxyl radical and ABTS⁺ radical. In general, it had obvious antioxidant activity and a good dose-effect relationship. This study would provide more reliable technological parameters for large-scale production of *Calendula officinalis* L. essential oil, and provide basic data and reference for the evaluation of its antioxidant activity.

收稿日期: 2021-06-08

基金项目: 国家自然科学基金青年项目 (31901648); 国家自然科学基金面上项目 (31770861); 国家自然科学基金地区科学基金项目 (31960464)。

作者简介: 刘欢 (1988-), 男, 博士, 教授, 研究方向: 食品化学, E-mail: liu_huan2011@hotmail.com。

* 通信作者: 邹恩凯 (1992-), 男, 硕士, 工程师, 研究方向: 卷烟调香和产品开发, E-mail: 498528946@qq.com。

Key words: *Calendula officinalis* L. essential oil; microwave extraction; gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS); chemical components; antioxidant activity

金盏花(*Calendula officinalis* L.)是菊科金盏菊属植物,别名金盏菊、盏盏菊等。其在世界各地均有广泛种植,尤其以欧洲及美国为主^[1],目前在国内主要分布于四川、安徽、广西、广东等地。金盏花中不仅含有糖类、脂肪、氨基酸等基本营养物质^[2],还富含类胡萝卜素、类固醇、三萜皂苷、黄酮等有效成分,具有很强的健胃、收敛、止血和愈伤的功效,此外还有抗炎、抗肿瘤、免疫调节和促进细胞再生等药理作用^[3-4]。精油作为金盏花中主要活性组分之一,其优异的抗菌、抗氧化等功效,正受到消费者及研究人员的关注。

水蒸气蒸馏法是提取精油最为常用的方法之一,可以较好地保留原料的香气,且工艺及设备都较为简单,但耗时长,能耗高。近年来微波辅助法以其快速省时、节约能耗的特点在植物精油的提取中广泛应用,并取得了较好效果,微波辐射所产生的热效应和非热效应都可以加速活性物质的溶出,从而使目标产物得率上升,而且不会改变精油的成分组成^[5]。很多研究者利用微波辅助水蒸气蒸馏法对许多植物原料的精油进行了提取。杨婷等^[6]采用微波辅助水蒸气提取法对香桂叶精油进行了提取,经过优化后得率达到了 4.43%,与单一水蒸气提取相比得率上升了 0.14%,同时达到了减少耗时、提高效率的目的。李晓娇等^[7]利用微波结合水蒸气蒸馏法提取的清香木叶精油得率最高可达到 2.09%,对比超声波辅助法(1.78%)和蒸馏萃取法(0.93%)精油得率显著提高。Farhat 等^[8]利用微波蒸气扩散法提取橙皮精油,与普通蒸馏法相比得到了相似的得率,但是极大缩短了提取时间,而且含有相同数量的挥发性次生代谢物,且产率相近。综上,微波辅助水蒸气蒸馏法是一种绿色、高效的精油提取方法。

目前,关于金盏花精油的研究多集中在化学成分的鉴定和比较,而有关其工艺和抗氧化活性的研究还不充分。本研究在传统水蒸气蒸馏法基础上结合微波辅助,以干燥的金盏花为原料,优化了制备金盏花精油的三项关键工艺参数,并用气相色谱-质谱联用(GC-MS)法对金盏花精油的化学组分及含量进行鉴定分析,检测了其体外抗氧化性。本研究将为金盏花精油的大规模生产提供较为可靠的工艺参数,并为探索其作为天然抗氧化剂的潜力提供理论依据及参考。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

金盏花花瓣 产自内蒙古,亳州市连锐商贸有限公司;无水硫酸钠、水杨酸、30% 过氧化氢、过硫酸钾、抗坏血酸、氯化钠、正己烷、无水乙醇、七水合硫酸亚铁(均为分析纯) 西陇科学股份有限公司;1,

1-二苯基-2-三硝基苯肼(1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl, DPPH)、2,2-联氮-二(3-乙基-苯并噻唑-6-磺酸)二铵盐(2,2'-Azinobis-(3-ethylbenzthiazoline-6-sulphonate), ABTS)(均为分析纯) 索莱宝生物科技有限公司。

GZX-9420 MBE 鼓风干燥箱 上海博迅实业有限公司;HWS-24 型电热恒温水浴锅 上海一恒科学仪器有限公司;DFY-500 中药粉碎机 大德中药机械有限公司;KE-52AA 旋转蒸发器、SHZ-III 型循环水真空泵 上海亚荣生化仪器厂;Agilent7890-7000A 气相色谱-三重串接四极杆质谱联用仪 美国安捷伦科技有限公司;ZNHW 型智能恒温电热套 上海锦岐仪器设备有限公司;LE2202E 电子天平 梅特勒托利多仪器有限公司;U-T6 紫外可见分光光度计 屹谱仪器制造有限公司;BD/BC-218E 冰箱 浙江星星冷链集成股份有限公司;WBFY-205 型微波化学反应器 上海秋佐科学仪器有限公司;VORTEX 3 旋涡振荡器 艾卡(广州)仪器设备有限公司。

1.2 实验方法

1.2.1 金盏花精油的提取 参考段宾宾等^[9]的提取方法并做出一些改动:将干燥的金盏花粉碎,过 60 目筛子,得到金盏花粉末。量取 50 g 金盏花粉末于 5000 mL 烧瓶中,加水后经微波加热再进行水蒸气蒸馏,探究提取时间(2、3、4、5、6 h)、NaCl 质量浓度(1%、2%、3%、4%、5%)、料液比(1:20、1:30、1:40、1:50、1:60 g/mL)、微波功率(80、240、400、640、800 W)、微波时间(2、4、6、8、10 min)五个因素对精油得率的影响,蒸馏结束后用 10 mL 正己烷把上层金黄色的金盏花精油萃取出来放入 50 mL 离心管,然后加入适量无水硫酸钠,再放入-18 ℃ 的冰箱冷冻 8 h,将固体滤除后减压蒸发,即得金盏花精油。

1.2.2 单因素实验

1.2.2.1 提取时间对精油得率的影响 将 50 g 金盏花粉置于蒸馏烧瓶中,按照 1:40 g/mL 料液比与水混合再加 3% 质量浓度的 NaCl,经过 6 min 功率为 400 W 的微波辐射后蒸馏提取一定时间,后续操作如 1.2.1 所述,观察了金盏花精油在 2、3、4、5、6 h 的蒸馏时长下产量的变化。

1.2.2.2 NaCl 浓度对精油得率的影响 将 50 g 金盏花粉置于蒸馏烧瓶中,按照 1:40 g/mL 料液比与水混合再加一定量的 NaCl,经过 6 min 功率为 400 W 的微波辐射后蒸馏提取 4 h,后续操作如 1.2.1 所述,观察了金盏花精油在 1%、2%、3%、4%、5% 质量浓度的 NaCl 条件下产量的变化。

1.2.2.3 料液比对精油得率的影响 将 50 g 金盏花粉置于蒸馏烧瓶中,按照一定料液比与水混合再加

3% 质量浓度 NaCl, 经过 6 min 功率为 400 W 的微波辐射后蒸馏提取 4 h, 后续操作如 1.2.1 所述, 观察了金盏花精油在 1:20、1:30、1:40、1:50、1:60 g/mL 料液比条件下产量的变化。

1.2.2.4 微波功率对精油得率的影响 准确称取 50 g 金盏花粉于蒸馏烧瓶中, 按照 1:30 g/mL 料液比与水混合再加 3% 质量浓度 NaCl, 在一定功率下微波辐射 6 min 后蒸馏提取 4 h, 后续操作如 1.2.1 所述, 观察了金盏花精油在 80、240、400、640、800 W 微波功率条件下产量的变化。

1.2.2.5 微波时间对精油得率的影响 准确称取 50 g 金盏花粉于蒸馏烧瓶中, 按照 1:30 g/mL 料液比加入水以及 3% 质量浓度 NaCl, 经过功率为 240 W 的微波辐射一定时间后蒸馏提取 4 h, 后续操作如 1.2.1 所述, 观察了金盏花精油在 2、4、6、8、10 min 微波时间条件下产量的变化。

1.2.3 正交试验 参照单因素实验的结果, 以金盏花精油得率为指标, 选取三个得率波动较大的因素 (NaCl 浓度、料液比、微波功率) 进行三因素三水平正交试验, 其他两项因素水平固定在提取时间 4 h, 微波时间 8 min。试验设计水平安排如表 1。

表 1 正交试验因素及水平
Table 1 Factors and levels of orthogonal test

水平	因素		
	A NaCl浓度(%)	B料液比(g/mL)	C微波功率(W)
1	2	1:20	80
2	3	1:30	240
3	4	1:40	400

1.2.4 金盏花精油得率的计算

$$\text{金盏花精油得率}(\%) = \frac{\text{金盏花精油质量(g)}}{\text{金盏花质量(g)}} \times 100$$

1.2.5 GC-MS 分析金盏花精油成分

1.2.5.1 色谱条件 色谱柱: HP-5MS 石英毛细管柱 (30 m×0.25 mm×0.25 μm); 升温程序: 初始温度 60 ℃, 保持 3 min, 以 5 ℃/min 升温至 120 ℃, 保持 3 min, 再以 4 ℃/min 升温至 230 ℃, 保持 5 min。进样口温度 250 ℃, 载气为氦气, 流量: 1 mL/min, 进样量: 1 μL; 分流比: 30:1。

1.2.5.2 质谱条件 电离方式 EI, 电离能量: 70 eV; 离子源温度: 230 ℃; 四级杆温度 150 ℃, 溶剂延迟: 4 min; 扫描离子质量范围: 35~550 amu。对照质谱库 NIST08 结合参考文献进行成分定性, 使用面积归一化法计算金盏花精油各组分的相对含量。

1.2.6 金盏花精油对 DPPH 自由基清除能力测定 参考苏瑾等^[10]的方法: 将 1 mL 精油-无水乙醇稀释液用移液枪转移到 5 mL 离心管中, 再移取 1 mmol/L 的 DPPH 反应液 3 mL, 涡旋后在阴暗条件下反应 30 min, 测得混合液在 517 nm 下的吸光值 A_1 , 无水

乙醇代替精油测得 A_0 , 无水乙醇代替 DPPH 反应液测得 A_2 , 用无水乙醇作调零, 以抗坏血酸作为阳性对照, 平行操作重复 3 次。清除率按下式计算:

$$R = \frac{A_0 - (A_1 - A_2)}{A_0} \times 100$$

式中: R: 清除率, %; A_0 : 空白组吸光值; A_1 : 样品组吸光值; A_2 : 无水乙醇代替 DPPH 反应液所得吸光值。

1.2.7 金盏花精油对羟自由基清除能力测定 参考范三红等^[11]和刑颖等^[12]的方法: 首先用移液枪移取 6 mmol/L 的 FeSO_4 溶液、水杨酸-乙醇溶液各 1 mL 加入到 5 mL 离心管中, 再移取 1 mL 精油-无水乙醇稀释液, 最后加入 1 mL 6 mmol/L H_2O_2 于 37 ℃ 水浴 30 min, 在 510 nm 下测定吸光度值 A_1 , 蒸馏水代替精油测得 A_0 , 蒸馏水代替 H_2O_2 测得 A_2 , 用无水乙醇调零, 以抗坏血酸作为阳性对照, 平行操作重复 3 次。清除率按下式计算:

$$R = \frac{A_0 - (A_1 - A_2)}{A_0} \times 100$$

式中: R: 清除率, %; A_0 : 空白组吸光值; A_1 : 样品组吸光值; A_2 : 蒸馏水代替 H_2O_2 所得吸光值。

1.2.8 ABTS⁺自由基清除能力测定 参考李娜等^[13]的方法: 分别用 10 mL 容量瓶以蒸馏水为溶剂配制好 7 mmol/L ABTS 溶液与 2.5 mmol/L 过硫酸钾溶液后在烧杯中混合, 避光保存 16 h 后即为 ABTS 储备液, 然后用无水乙醇将其稀释成 734 nm 下 OD 值为 0.70±0.02 的淡绿色的 ABTS 工作液。将 1 mL 精油-无水乙醇稀释液与 2 mL 上述工作液在 5 mL 离心管中混合后于阴暗条件下反应 30 min, 在 734 nm 处测定吸光值 A_1 , 无水乙醇代替精油测得 A_0 , 无水乙醇代替 ABTS 工作液测得 A_2 , 用无水乙醇调零, 以抗坏血酸为阳性对照, 平行操作重复 3 次。清除率按下式计算:

$$R = \frac{A_0 - (A_1 - A_2)}{A_0} \times 100$$

式中: R: 清除率, %; A_0 : 空白组吸光值; A_1 : 样品组吸光值; A_2 : 无水乙醇代替 ABTS 工作液所得吸光值。

1.3 数据处理

利用 Excel (版本: 2010; 微软公司, 美国) 和 SPSS (版本: 25.0; IBM 公司, 美国) 进行数据处理和分析, 方差分析 (ANOVA) 采用邓肯多重比较 ($\alpha=0.05$), 使用 Origin (版本: 2018; IBM 公司, 美国) 对实验数据进行作图。所有测定重复三次, 结果以平均值±标准差表示。

2 结果与分析

2.1 单因素实验结果

2.1.1 提取时间对精油得率的影响 不同提取时间对金盏花精油得率的影响如图 1 所示, 可以看出金盏花精油的得率呈现先升高后降低的趋势, 在 2~4 h 时间里精油随着时间的延长不断积累, 所以得率呈现

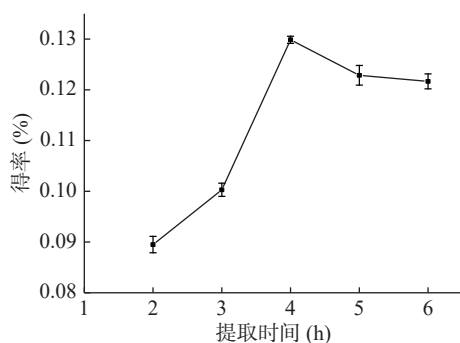


图 1 提取时间对金盏花精油得率的影响

Fig.1 Effect of extract time on the yield of essential oil from *Calendula officinalis* L.

上升趋势,反应 4 h 可得最高得率(0.13%);当反应超过 4 h 后,金盏花精油不再延续积累的态势,出现略微下降的趋势,这可能是因为金盏花精油长时间在较高的温度下会挥发而造成损失^[14],因此最佳提取时间为 4 h。

2.1.2 NaCl 浓度对精油得率的影响 不同 NaCl 添加量对金盏花精油得率的影响如图 2 所示,可以看出金盏花精油的收率一开始会随着 NaCl 添加量的升高而提高,在 NaCl 浓度升高至为 3% 时折线图达到顶点,这是因为 NaCl 作为一种无机盐夹带剂可以使体系中精油溶解度降低,同时一定量的 NaCl 可以让组织与溶液形成较大的渗透压差,迫使精油溶出而被提取出来^[15]。另外经过 NaCl 溶液的浸泡可以利用其盐析作用使精油更透亮美观。随后继续提高 NaCl 浓度,精油的收率出现急剧下降的态势,这可能是根据拉乌尔定律,高浓度的 NaCl 使体系饱和和蒸气压降低,难以达到大气压强,导致精油更难蒸出^[16]。因此最佳 NaCl 浓度为 3%。

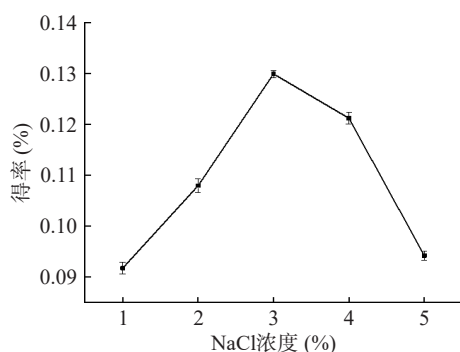


图 2 NaCl 浓度对金盏花精油得率的影响

Fig.2 Effect of NaCl content on the yield of essential oil from *Calendula officinalis* L.

2.1.3 料液比对精油得率的影响 不同料液比对金盏花精油的得率影响如图 3 所示,可以看出,随着料液比的增加,金盏花精油的得率提高,但当原料与加水量的比例超过 1:30 g/mL 后,得率便会呈现断崖式下跌。这是因为当加水量较少时,原料与水接触并不完全,浸润度不高,精油不能完全释放从而限制得率。加水量提高之后,有更充足的溶液与原料接触,精油

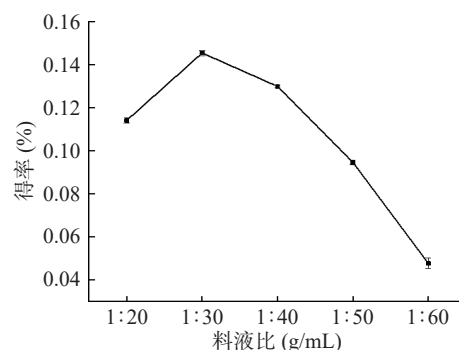


图 3 料液比对金盏花精油得率的影响

Fig.3 Effect of material to liquid on the yield of essential oil from *Calendula officinalis* L.

可以更多地随蒸气蒸发出来。但如果加水量过高的话,则会使得精油更多地溶解分散在水中,同时液量的增加亦会减弱微波热效应,最终导致得率严重降低^[17-18]。因此最佳料液比为 1:30 g/mL。

2.1.4 微波功率对精油得率的影响 不同微波功率对金盏花精油得率的影响如图 4 所示,可以看出,随着微波功率的提高,收率呈现先增加后降低的现象,在 240 与 400 W 收率相差不明显,但 240 W 提取效果略好于 400 W。当微波功率逐渐增加时,料液的温度也会随之升高,加剧了分子热运动,使细胞内的物质更容易渗出,从而提高了金盏花精油得率。但随着功率的持续增大,精油成分中热敏性物质会因过高的加热温度而受破坏和损失,从而降低了金盏花精油的得率^[19]。因此最佳微波功率为 240 W。

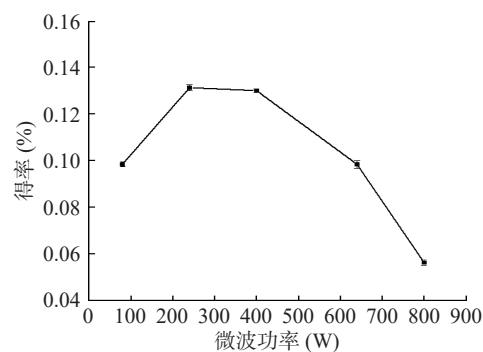


图 4 微波功率对金盏花精油得率的影响

Fig.4 Effect of microwave power on the yield of essential oil from *Calendula officinalis* L.

2.1.5 微波时间对精油得率的影响 不同微波时间对金盏花精油得率的影响如图 5 所示,整体来看,金盏花精油在 2~10 min 内得率的变化浮动相比其他因素较小,最高与最低相差只有 0.02% 左右。精油产量随着微波时间的延长而提高,微波辐射 8 min 产出效果最好,若再延长在微波反应器中的反应时间,会使产量下降。这可能是由于短时间的微波辐射所产生的热效应较小,对于植物细胞的腺体和细胞的破坏不完全,有效成分溶出较少;而微波加热时间过长会出现热敏成分挥发或降解的现象^[20-21]。因此最佳

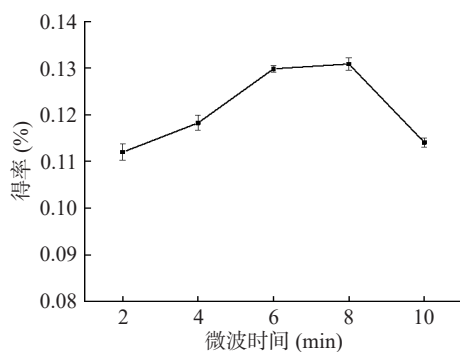


图5 微波时间对金盏花精油得率的影响

Fig.5 Effect of microwave time on the yield of essential oil from *Calendula officinalis* L.

微波时间为 8 min。

2.2 正交试验结果

正交试验结果见表 2。从表 2 极差分析中可以得出影响金盏花精油产量的主次顺序为 A>C>B, 即 NaCl 浓度大于微波功率大于料液比。由表 3 可知, NaCl 浓度对金盏花精油得率影响极显著 ($P<0.01$), 微波功率对得率的影响显著 ($P<0.05$), 料液比对于得率的影响未表现出显著性, 这说明方差分析与极差分析结果一致。根据结果得出, 金盏花精油的最佳提取工艺为 A₂B₂C₂, 即 NaCl 浓度 3%, 料液比 1:30 g/mL, 微波功率 240 W。由于最优组合在正交结果中不存在, 所以在经过三次验证试验后, 在此条件下金盏花精油产量为 0.156%±0.002%, 该结果比正交表中的结果都要高, 理论与实际相吻合, 由此可见通过正交试验优化得到的最优工艺参数呈现较好重复性及可靠性。相比于以往文献^[21]中金盏花精油得率(0.02%~0.06%)有了极大提高。

表 2 正交试验结果与分析

Table 2 Results and analysis of orthogonal test

实验号	A NaCl浓度	B料液比	C微波功率	得率(%)
1	1	1	1	0.103
2	1	2	2	0.121
3	1	3	3	0.096
4	2	2	3	0.154
5	2	3	1	0.135
6	2	1	2	0.136
7	3	3	2	0.087
8	3	1	3	0.104
9	3	2	1	0.112
K ₁	0.320	0.344	0.343	
K ₂	0.425	0.360	0.387	
K ₃	0.303	0.344	0.318	
k ₁	0.107	0.115	0.114	
k ₂	0.142	0.12	0.129	
k ₃	0.101	0.115	0.106	
R	0.041	0.005	0.023	
主次顺序		A>C>B		
优水平		A ₂ B ₂ C ₂		
优组合		A ₂ B ₂ C ₂		

表 3 正交试验方差分析结果

Table 3 Analysis of variance results of orthogonal test

方差来源	偏差平方和	自由度	均方	F值	显著性
修正模型	0.004 ^a	6	0.001	74.632	0.013
截距	0.122	1	0.122	14451.368	0.000
A	0.003	2	0.001	172.355	0.006 ^{**}
B	5.589	2	2.844×10 ⁻⁵	3.368	0.229
C	0.001	2	0.000	48.171	0.020 [*]
误差	1.689×10 ⁻⁵	2	8.444×10 ⁻⁶		
总计	0.126	9			
校正总和	0.004	8			

注: $R^2=0.996$ (调整后 $R^2=0.982$); *表示 $P<0.05$, 差异显著; **表示 $P<0.01$, 差异极显著。

2.3 GC-MS 结果分析

金盏花精油的 GC-MS 结果如图 6 和表 4 所示, 总计分离出 25 种组分, 占被检总量的 97.74%, 其中有 11 种醇类化合物, 占总成分的 67.42%; 6 种萜烯类化合物, 占总成分的 22.53%; 3 种萜烯类氧化物, 占总成分的 3.75%; 2 种酮类化合物, 占总成分的 2.24%; 2 种烷烃化合物, 占总成分的 1.31%; 1 种酯类化合物, 占总成分的 0.49%。

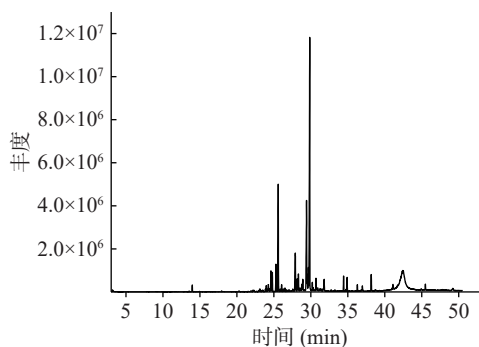


图6 金盏花精油的总离子流色谱图

Fig.6 Total ion flow chromatography of essential oil from *Calendula officinalis* L.

通过采用面积归一化法计算金盏花精油各组分相对含量可以看出, 在已鉴定的挥发性成分中含量超过 1% 的成分共有 15 个, 占据主导的是 α -杜松醇 (37.27%), 是一种倍半萜醇类化合物, 具有很强的杀螨活性^[23], 这与黄妙玲等^[24]和 Petrovic 等^[25]的分析结果相似; 其次是 β -杜松烯 (13.59%), 是一种倍半萜烯, 具有百里香和木材的香气^[26], 然后是 T-依兰油醇 (13.08%)、愈创醇 (6.22%)、 γ -杜松烯 (3.34%)、喇叭烯 (2.15%) 等, 这些主要成分占总成分的 90.67%。Khalid 等^[27]研究了不同培养状态下金盏花精油的成分组成, 发现其主要成分为 α -杜松醇 (32.01%~65.99%)、 δ -杜松烯 (17.79%~23.14%)、 α -桉叶醇 (0.26%~9.77%)。Okoh 等^[28]分析了金盏花干叶、鲜叶、鲜花中精油的化学成分, 发现在这三个部位中都具有较高的 α -侧柏烯 (17.8%~26.9%)、T-依兰油烯 (13.1%~40.9%) 以及 δ -杜松烯 (9.0%~13.1%), 除此之外, 在鲜花精油中还有较多的大牛儿烯 (2.8%)、 α -可巴烯 (2.7%) 等^[28],

表 4 金盏花精油成分的 GC-MS 分析结果
Table 4 GC-MS analysis of essential oil from *Calendula officinalis* L.

序号	保留时间(min)	分子式	化学成分	CAS号	相对含量(%)
1	13.967	C ₁₀ H ₁₈ O	α -松油醇(α -terpineol)	98-55-5	0.62
2	23.981	C ₁₅ H ₂₄	γ -依兰油烯(γ -muurolene)	30021-74-0	0.71
3	24.257	C ₁₅ H ₂₀ O	β -紫罗兰酮(β -Ionone)	14901-07-6	0.72
4	24.603	C ₁₅ H ₂₄	喇叭烯(ledene)	21747-46-6	2.15
5	24.79	C ₁₅ H ₂₄	α -依兰油烯(α -muurolene)	31983-22-9	1.95
6	25.281	C ₁₅ H ₂₄	γ -杜松烯(γ -Cadinene)	39029-41-9	3.34
7	25.592	C ₁₅ H ₂₄	β -杜松烯(β -Cadinene)	523-47-7	13.59
8	26.042	C ₁₅ H ₂₄	α -杜松烯(α -Cadinene)	24406-05-1	0.79
9	27.902	C ₁₅ H ₂₆ O	愈创醇(guaiol)	489-86-1	6.22
10	28.172	C ₁₅ H ₂₆ O	喇叭茶萜醇(ledol)	577-27-5	1.38
11	28.78	C ₁₅ H ₂₆ O	喇叭茶醇(Palustrol)	5986-49-2	0.62
12	28.912	C ₁₅ H ₂₆ O	萆澄茄油烯醇(Cubenol)	21284-22-0	1.74
13	29.417	C ₁₅ H ₂₆ O	T-依兰油醇(T-muurolol)	19912-62-0	13.08
14	29.52	C ₁₅ H ₂₆ O	δ -杜松醇(δ -Cadinol)	19435-97-3	0.90
15	29.659	C ₁₅ H ₂₆ O	β -桉叶醇(β -Eudesmol)	473-15-4	2.13
16	29.852	C ₁₅ H ₂₆ O	α -杜松醇(α -Cadinol)	481-34-5	37.27
17	30.198	C ₁₅ H ₂₄ O	异香橙烯环氧化物(isoaromadendrene epoxide)	—	0.91
18	30.696	C ₁₅ H ₂₄ O	反式长叶松香芹醇(trans-longipinocarveol)	—	1.49
19	31.802	C ₁₅ H ₂₄ O	香橙烯氧化物2(Aromadendrene oxide-2)	85710-39-0	1.10
20	34.43	C ₁₅ H ₂₄ O	香树烯氧化物1(Aromadendrene oxide-1)	—	1.74
21	34.908	C ₁₈ H ₃₆ O	植酮(Phytone)	502-69-2	1.52
22	36.291	C ₂₁ H ₄₄	正二十一烷(Heneicosane)	629-94-7	0.73
23	36.969	C ₁₇ H ₃₄ O ₂	棕榈酸甲酯(Methyl hexadecanoate)	112-39-0	0.49
24	38.172	C ₂₀ H ₃₄ O	蕁苣醇(verticillol)	70000-19-0	1.97
25	45.489	C ₂₇ H ₅₆	正二十七烷(heptacosane)	593-49-7	0.58

但这些物质在本试验中并未检出,可能是由于金盏花品种及产地、处理条件和提取方式的不同,导致得到的精油成分种类及含量具有一定差异性,但大部分检出组分与前人报道保持一致。

2.4 金盏花精油抗氧化活性分析

2.4.1 金盏花精油对 DPPH 自由基的清除作用 金盏花精油抵御 DPPH 自由基氧化的原理是精油所含的有效组分提供单电子将 DPPH 所带的电子捕获从而使其紫色减退,紫色消褪越明显其抗氧化性越强^[29-30]。由图 7 可以看出,在 5~35 mg/mL 浓度范围内,随着浓度的增大,精油对 DPPH 自由基的清除率逐渐增高,浓度为 35 mg/mL 时清除率达到 55.71%,且有继

续增长的趋势,IC₅₀ 为 28.89 mg/mL,但相比于 V_C 来说,金盏花精油抵御 DPPH 自由基的氧化能力较弱。Sahingil^[1] 研究了金盏花精油的 DPPH 抗氧化性,在精油用量为 200 μ g/mL 的条件下,DPPH 自由基清除率为 72.48%,相较于本试验对于 DPPH 的抗氧化性更强,可能是因为它所制备的金盏花精油里具备本次试验未能检出的 γ -萜品烯和柠檬烯,这两种成分都具有可观的 DPPH 自由基清除活性^[10,31]。

2.4.2 金盏花精油对羟自由基的清除作用 由图 8 可知,在 5~35 mg/mL 浓度范围内,金盏花精油对羟自由基的清除能力呈现较好的量效关系,随着浓度的增大,精油对羟自由基的清除率逐渐增高,浓度为 5 mg/mL

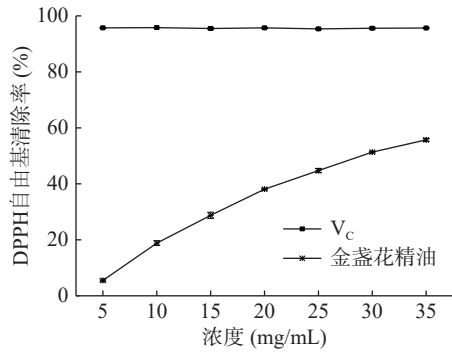


图 7 金盏花精油对 DPPH 自由基的清除作用

Fig.7 Scavenging effect of essential oil from *Calendula officinalis* L. on DPPH free radical

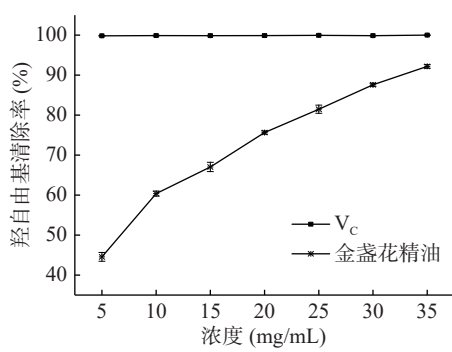


图 8 金盏花精油对羟自由基的清除作用

Fig.8 Scavenging effect of essential oil from *Calendula officinalis* L. on hydroxyl free radical

时清除率为 44.92%, 浓度为 35 mg/mL 时清除率达到 92.18%, 且仍有增长的趋势, 此时已接近同浓度 V_C 的清除活性, 金盏花精油清除羟自由基的 IC_{50} 为 6.77 mg/mL。研究表明精油中的 α -松油醇具有很好的羟自由基清除效果^[32], 因此金盏花精油较强的羟自由基清除能力可能与其含一定的 α -松油醇有关。

2.4.3 金盏花精油对 $ABTS^+$ 自由基的清除作用
 $ABTS^+$ 在 734 nm 下具有最大吸收波长, 可通过过硫酸钾与 $ABTS$ 反应获得, 在与抗氧化成分反应后可使其蓝绿色减退, 褪色程度与抗氧化能力呈正相关^[33]。由图 9 可知, V_C 在 5~35 mg/mL 浓度范围内均处于 99% 以上。在 2~14 mg/mL 浓度范围内, 金盏花精油对 $ABTS^+$ 自由基的清除能力呈现较好的量效关系, 随着浓度的增大, 精油对 $ABTS^+$ 自由基的清除率逐渐增高, 浓度为 2 mg/mL 时清除率为 43.79%, 浓度为 14 mg/mL 时清除率达到 98.40%, 且有继续增长的趋势, 此时已接近同浓度 V_C 的清除活性。金盏花精油清除 $ABTS^+$ 自由基的 IC_{50} 为 2.21 mg/mL, 表明金盏花精油具有良好的 $ABTS^+$ 自由基清除能力, 而且其相关的成分主要是 β -桉叶醇和 α -松油醇^[34]。

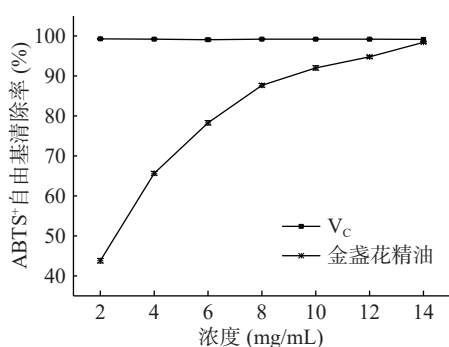


图9 金盏花精油对 $ABTS^+$ 自由基的清除作用

Fig.9 Scavenging effect of essential oil from *Calendula officinalis* L. on $ABTS^+$ free radical

3 结论

本研究采取微波辅助法提取的金盏花精油外观呈金黄色澄清液体, 散发浓郁金盏花香气, 通过单因素实验和正交试验确定了金盏花精油的最优提取工艺为 NaCl 浓度 3%, 料液比 1:30 g/mL, 微波功率 240 W, 此参数下金盏花精油收率为 $0.156\% \pm 0.002\%$, 较先前文献极大提高了金盏花精油的产量。由 GC-MS 结果可知从金盏花精油中分离出 25 种化学组分, 最为主要的是 α -杜松醇(37.27%)、 β -杜松烯(13.59%)和 T-依兰油醇(13.08%)。从抗氧化试验中可以看出金盏花精油对三种自由基都呈现一定清除能力, 三者相比来说对于 $ABTS^+$ 自由基清除能力最好, 对于 DPPH 自由基清除能力较弱。综上所述, 金盏花精油是一种有潜力的天然抗氧产物, 在天然抗氧化剂和抗衰老的化妆品、药物中有着极大的应用价值与潜力, 接下来还需要进一步研究的是其抗氧化效果与相应成分的关系以及具体的抗氧化机理。

参考文献

- [1] SAHINGIL D. GC/MS-Olfactometric characterization of the volatile compounds, determination antimicrobial and antioxidant activity of essential oil from flowers of calendula (*Calendula officinalis* L.)[J]. *Journal of Essential Oil Bearing Plants*, 2019, 22(6): 1571-1580.
- [2] 孙曼, 赵兵, 姚默, 等. 金盏花药学研究概况[J]. *安徽农业科学*, 2011, 39(34): 20982-20983. [SUN M, ZHAO B, YAO M, et al. Overview of pharmacological research on *Calendula officinalis* L.[J]. *Journal of Anhui Agricultural Sciences*, 2011, 39(34): 20982-20983.]
- [3] 蒯海英, 黄荣. 响应曲面优化-微波辅助提取金盏花总黄酮工艺研究及功效评价[J]. *广东化工*, 2018, 45(19): 36-39. [KUI H Y, HUANG R. Optimization of response surface-microwave-assisted extraction of total flavonoids from *Calendula officinalis* and its efficacy evaluation[J]. *Guangdong Chemical Industry*, 2018, 45(19): 36-39.]
- [4] 邢占芬, 成洪达, 张平平, 等. 金盏花 HPLC 特征指纹图谱研究[J]. *中药材*, 2014, 37(7): 1176-1178. [XING Z F, CHENG H D, ZHANG P P, et al. HPLC fingerprint of *Calendula officinalis* flower[J]. *Journal of Chinese Medicinal Materials*, 2014, 37(7): 1176-1178.]
- [5] 何凤平, 雷朝云, 范建新, 等. 植物精油提取方法、组成成分及功能特性研究进展[J]. *食品工业科技*, 2019, 40(3): 307-312, 320. [HE F P, LEI Z Y, FAN J X, et al. Research progress of extraction methods, components and functional characteristics in essential oil[J]. *Science and Technology of Food Industry*, 2019, 40(3): 307-312, 320.]
- [6] 杨婷, 邓楠, 旷春桃. 香桂精油的微波辅助提取、化学成分和抗菌活性研究[J]. *中国调味品*, 2020, 45(6): 54-57. [YANG T, DENG N, KUANG C T. Study on microwave-assisted extraction, chemical constituents and antibacterial activity of *Cinnamomum subavenium* essential oil[J]. *China Condiment*, 2020, 45(6): 54-57.]
- [7] 李晓娇, 杨丽华, 陈玉梅, 等. 三种方法提取的清香木叶精油的抗氧化和抑菌活性研究[J]. *食品与发酵工业*, 2020, 46(16): 93-98. [LI X J, YANG L H, CHEN Y M, et al. Antioxidant and antibacterial activity of essential oil extracted from leaves of the *Pistacia weinmannifolia* by three methods[J]. *Food and Fermentation Industries*, 2020, 46(16): 93-98.]
- [8] FARHAT A, FABIANO-TIXIER A S, MAATAOUI M E, et al. Microwave steam diffusion for extraction of essential oil from orange peel: Kinetic data, extract's global yield and mechanism[J]. *Food Chemistry*, 2011, 125(1): 255-261.
- [9] 段宾宾, 刘鹏飞, 王文基, 等. 不同提取方法对怀菊花挥发油成分的影响及挥发油在卷烟加香中的应用[J]. *烟草科技*, 2011(5): 48-52. [DUAN B B, LIU P F, WANG W J, et al. Comparative analysis of volatile oil compositions of huaiju chrysanthemum flower by different extraction methods and their application in cigarette flavoring[J]. *Tobacco Science & Technology*, 2011(5): 48-52.]

- [10] 苏瑾, 潘兆平, 肖媛, 等. 玳玳花精油的成分及其抗氧化活性研究[J]. 食品与机械, 2020, 36(2): 165-170. [SU J, PAN Z P, XIAO Y, et al. Study on the composition and the antioxidant activity of essential oil from flowers of *Citrus aurantium* L. var. *amara* Engl[J]. Food & Machinery, 2020, 36(2): 165-170.]
- [11] 范三红, 秦婉宁, 方楚楚. 油松花粉多酚抗氧化性研究[J]. 食品工业科技, 2016, 37(14): 161-163, 186. [FAN S H, QIN W N, FANG C C. Antioxidant activities of polyphenols from *Pinus tabulaeformis* pollen[J]. Science and Technology of Food Industry, 2016, 37(14): 161-163, 186.]
- [12] 邢颖, 左佳佳. 生姜不同部位活性成分及抗氧化性的比较[J]. 中国调味品, 2020, 45(12): 48-51. [XING Y, ZUO J J. Comparison of active components and antioxidant activity of different parts of ginger[J]. China Condiment, 2020, 45(12): 48-51.]
- [13] 李娜, 乔宏萍, 刘地, 等. 肉桂精油成分分析及其抗氧化性和抑菌活性的研究[J]. 中国粮油学报, 2020, 35(9): 96-102. [LI N, QIAO H P, LIU D, et al. Chemical components and its *in vitro* antioxidant capacity, antibacterial activities of essential oil from cinnamon bark[J]. Journal of the Chinese Cereals and Oils Association, 2020, 35(9): 96-102.]
- [14] 孟雨东, 董颖, 陈鑫沛, 等. 怀菊花精油提取工艺优化[J]. 食品工业科技, 2020, 41(24): 157-161, 167. [MENG Y D, DONG Y, CHEN X P, et al. Optimization of extraction conditions of essential oil from *Huai chrysanthemum*[J]. Science and Technology of Food Industry, 2020, 41(24): 157-161, 167.]
- [15] 王绍引, 张怡, 郑宝东. 微波辅助水蒸气蒸馏法提取金桔果皮精油及其对桔小实蝇引诱活性的影响[J]. 中国食品学报, 2014, 14(4): 37-44. [WANG S Y, ZHANG Y, ZHENG B D. The extraction process of essential oil from fortunella peel via steam distillation combined with microwave and its influence on the attracted activity of the fruit fly[J]. Journal of Chinese Institute of Food Science and Technology, 2014, 14(4): 37-44.]
- [16] 吴晓菊, 和文娟, 杨清香, 等. 水蒸气蒸馏法提取神香草精油的工艺研究[J]. 食品研究与开发, 2016, 37(14): 39-41. [WU X J, HE W J, YANG Q X, et al. Study on extraction process of hyssopus essential oil by hydro-distillation[J]. Food Research and Development, 2016, 37(14): 39-41.]
- [17] 万敏, 姚于飞, 付武威, 等. 黄金茶挥发油提取工艺优化、成分分析及抗氧化研究[J/OL]. 食品工业科技: 1-11[2021-04-02]. [WAN M, YAO Y F, FU W W, et al. Extraction optimization, composition analysis of essential oil from *Chimonanthus nitens* Oliv and its antioxidant activity[J/OL]. Science and Technology of Food Industry: 1-11[2021-04-02].]
- [18] 樊志国, 陈长锴, 赵凤祥, 等. 胡椒叶精油的提取工艺优化及其 GC-MS 分析[J]. 现代食品科技, 2020, 36(6): 226-234. [FAN Z G, CHEN C K, ZHAO F X, et al. Optimization and GC-MS analysis of extracting pepper leaves essential oil[J]. Modern Food Science & Technology, 2020, 36(6): 226-234.]
- [19] 杨艳, 吴素玲, 张卫明, 等. 微波辅助水蒸汽蒸馏法和无溶剂微波萃取法提取孜然精油工艺的研究[J]. 食品科学, 2009, 30(8): 42-46. [YANG Y, WU S L, ZHANG W M, et al. Study on microwave-assisted hydrodistillation extraction and solvent-free microwave extraction of essential oil from cumin (*Cuminum cyminum* L.) seed[J]. Food Science, 2009, 30(8): 42-46.]
- [20] 林洪斌, 曹东, 陈燕, 等. 微波辅助水蒸气法提取柠檬精油工艺研究[J]. 中国酿造, 2015, 34(3): 76-79. [LIN H B, CAO D, CHEN Y, et al. Microwave-assisted steam extraction process of lemon essential oil[J]. China Brewing, 2015, 34(3): 76-79.]
- [21] 陈培珍, 马春华, 刘俊勤, 等. 桂花精油提取工艺优化及其成分分析[J]. 粮食与油脂, 2016, 29(10): 54-57. [CHEN P Z, MA C H, LIU J S, et al. Optimization of extraction technology and analysis of components of *Osmanthus fragrans* essential oil[J]. Cereals & Oils, 2016, 29(10): 54-57.]
- [22] PAOLINI J, BARBONI T, DESJOBERT J M, et al. Chemical composition, intraspecies variation and seasonal variation in essential oils of *Calendula arvensis* L.[J]. Biochemical Systematics & Ecology, 2010, 38(5): 865-874.
- [23] CHANG S T, CHEN P F, WANG S Y, et al. Antimite activity of essential oils and their constituents from *Taiwannia cryptomerioides*[J]. Journal of Medical Entomology, 2001, 28(3): 455-457.
- [24] 黄妙玲, 王冬梅, 梅家齐, 等. 金盏花挥发油和浸泡油化学成分的分析及其在芳香疗法中的应用[C]//第七届中国香料香精学术研讨会论文集. 杭州: 中国香料香精化妆品工业协会, 2008: 6. [HUANG M L, WANG D M, MEI J Q, et al. Chemical composition of the volatile oil and the immersion oil of *Calendula officinalis* L. and its application in aromatherapy[C]//Proceedings of the 7th Chinese Academic Symposium on Flavors and Flavors. Hangzhou: China Association of Fragrance Flavor and Cosmetic Industries, 2008: 6.]
- [25] PETROVIC L, LEPOJEVIC Z, SOVILJ V, et al. Composition of essential oil obtained from tubular, head and ligulate flowers of *Calendula officinalis* L. by steam distillation of plant material and CO₂ extracts[J]. Journal of Essential Oil Research, 2010, 22(2): 143-146.
- [26] 李钰莹, 徐洪雨, 马宏, 等. 杂交滇丁香花香释放规律研究[J]. 山西农业大学学报(自然科学版), 2020, 40(2): 8-18. [LI Y Y, XU H Y, MA H, et al. Temporal variation of floral scent emission of a hybrid variety of *luculia*[J]. Journal of Shanxi Agricultural University (Natural Science Edition), 2020, 40(2): 8-18.]
- [27] KHALID K A, SILVA J. Yield, essential oil and pigment content of *Calendula officinalis* L. flower heads cultivated under salt stress conditions[J]. Scientia Horticulturae, 2010, 126(2): 297-305.
- [28] OKOH O O, SADIMENKO A P, ASEKUN O T, et al. The effects of drying on the chemical components of essential oils of *Calendula officinalis* L.[J]. African Journal of Biotechnology, 2008, 7(10): 1500-1502.
- [29] CHEN X, LIANG L, HAN C. Borate suppresses the scavenging activity of gallic acid and plant polyphenol extracts on DPPH radical: A potential interference to DPPH assay[J]. LWT-Food Science and Technology, 2020, 131(9): 1-7.
- [30] BAO Y J, REN X P, ZHU Y X, et al. Comparison of lipid radical scavenging capacity of spice extract *in situ* in roast beef with DPPH and peroxy radical scavenging capacities *in vitro* models[J].

LWT-Food Science and Technology, 2020(prepublish).

[31] 郝文凤, 田玉红, 董菲, 等. 大型罗勒和柚子精油的成分分析及其抗氧化性[J]. 食品工业, 2021, 42(1): 206–211. [HAO W F, TIAN Y H, DONG F, et al. Chemical composition and antioxidant activities of the essential oil from *Ocimum basilicum* L. var. *majus* benth. and *Citrus maxima*[J]. Food Industry, 2021, 42(1): 206–211.]

[32] 章斌, 侯小桢, 秦轶, 等. 柠檬果皮精油主要组分抑菌及抗氧化活性研究[J]. 食品与机械, 2017, 33(12): 138–142. [ZHANG B, HOU X Z, QIN Y, et al. Research on antimicrobial

and antioxidant activities of major components of lemon peel essential oil[J]. Food & Machinery, 2017, 33(12): 138–142.]

[33] YI F P, SUN J, BAO X L, et al. Influence of molecular distillation on antioxidant and antimicrobial activities of rose essential oils[J]. LWT-Food Science and Technology, 2019, 102: 310–316.

[34] YANG M, LI R, WANG Y, et al. Rapid screening of antioxidant bioactive components in blue ginger (*Dichorisandra thyrsiflora*) essential oil by GC electronic-nose and radical scavenging mechanisms[J]. Journal of Food Measurement & Characterization, 2020, 14(4): 2343–2351.