

SO₃ 气体预处理辅助提取白术精油和多糖

喻明军^{1*}, 王 可¹, 李亚楠¹, 曹刚刚², 马 彪², 张小倩¹

¹亳州学院中药学院, 亳州 236800; ²安徽古井健康科技有限公司, 亳州 236821

摘 要: 为研究 SO₃ 气体预处理对白术精油和多糖提取率以及其对精油和多糖质量的影响, 通过单因素试验和响应面法优化预处理工艺, 利用 GC-MS 分析精油化学成分变化, 以抗氧化试验评价精油和多糖生物活性变化。结果显示, 最佳预处理条件为: SO₃ 用量 2.0%、47 °C 和 58 min, 此时精油和多糖提取率分别提高了 27.5% 和 29.9%。精油提取动力学研究还表明, 预处理可显著提高精油提取速率。扫描电镜 (SEM) 结果发现预处理后白术表面出现许多孔洞, 证实了预处理有利于精油和多糖提取。GC-MS 分析表明预处理对白术精油化学成分影响很小。精油对 DPPH 和 ABTS 自由基的清除能力影响也较小, 与 GC-MS 分析结果一致。此外, 预处理的多糖对 ABTS 自由基的清除能力也无明显影响。这些结果表明, SO₃ 气体预处理可显著提高白术精油和多糖提取效率, 而不影响其生物活性, 可用于白术精油和多糖的提取。

关键词: 白术; 精油; 多糖; 抗氧化; SO₃ 气体

中图分类号: TQ654.2 文献标志码: A

SO₃ gas pre-treatment assisted extraction of essential oil and polysaccharides from *Atractylodis Macrocephalae* Rhizoma

YU Ming-jun^{1*}, WANG Ke¹, LI Ya-nan¹,

CAO Gang-gang², MA Biao², ZHANG Xiao-qian¹

¹Department of Traditional Chinese Medicine College, Bozhou University, Bozhou 236800, China; ²Anhui Gujing Health Technology Co., Ltd., Bozhou 236821, China

Abstract: To investigate the effect of SO₃ gas pre-treatment on the extraction yield of *Atractylodis Macrocephalae* Rhizoma essential oil and polysaccharides, as well as the quality, single factor experiments and response surface methodology were used to optimize the pre-treatment process, GC-MS was used to analyze the changes in the chemical composition of the essential oil, and antioxidant experiments were used to evaluate the changes in the biological activity of the essential oil and polysaccharides. The results showed that the optimal pre-treatment conditions were: SO₃ dosage of 2.0%, 47 °C, and pre-treatment time 58 min. At this time, the extraction yield of essential oils and polysaccharides increased by 27.5% and 29.9%, respectively. The results of essential oil extraction kinetics showed that the extraction efficiency was significantly improved after pre-treatment. The scanning electron microscope (SEM) results showed that many pores appeared on the surface of *Atractylodis Macrocephalae* Rhizoma after pre-treatment, which confirmed that pre-treatment could contribute to extract

essential oils and polysaccharides. GC-MS analysis showed that pre-treatment only had slight effect on the chemical composition of *Atractylodis Macrocephalae Rhizoma* essential oil. Essential oils only have little effect on DPPH and ABTS radical scavenging ability, which was consistent with the results of GC-MS analysis. In addition, pre-treatment had no significant effect on the ABTS free radical scavenging ability of polysaccharides. These results indicated that SO₃ gas pre-treatment could significantly improve the extraction efficiency of *Atractylodis Macrocephalae Rhizoma* essential oil and polysaccharides, had no obvious effect on their biological activity, and could be used to extract *Atractylodis Macrocephalae Rhizoma* essential oil and polysaccharides.

Key words: *Atractylodis Macrocephalae Rhizoma*; essential oil; polysaccharides; antioxidant activity; SO₃ gas

白术为菊科苍术属植物白术的根茎，具有补气健脾、燥湿利水、止汗和安胎等功效，在我国主要分布在安徽、浙江、湖南、江西和河南等地^[1]。现代医学研究表明，白术具有抗炎、抗肿瘤、降血糖、抗高尿酸血症和保肝等生理活性^[2,3]。

白术精油和多糖为其主要活性物质。白术精油主要成分为萜类化合物，其主要包括苍术酮、 α -愈创木烯、 α -律草烯、 β -桉叶醇和白术内酯，具有抗氧化、抗炎、抗肿瘤、抑菌和调节胃肠道功能等作用^[4-6]。此外，白术多糖具有调节胃肠道运动、调节肠道菌群、调节免疫和肝脏保护等生理活性^[7]。

目前已报道的白术精油提取方法主要有水蒸馏法、超声波辅助提取法、超临界 CO₂ 提取法和溶剂提取法^[8,9]。水蒸馏法设备简单、操作方便及经济性好，由于无溶剂参与，也保证了精油的纯度，但由于提取时间长，会造成热敏感成分的分解，且还具有提取率较低和能耗较高的缺点^[10]。白术多糖的提取方法主要包括煎煮法、微波、超声以及复合酶辅助提取法^[11]。煎煮法具有易操作、设备简单和经济性好等优点，但存在时间长、易破坏多糖立体结构和提取率低等缺点^[12]。植物细胞壁是阻碍有效成分提取的重要因素，微波、超声和酶等常用于破坏细胞壁，提高有效成分的提取率。但是，微波和超声对设备要求较高，不适合用于大规模提取。研究发现，SO₃ 气体预处理中药材时 SO₃ 气体与细胞壁中的水分发生热反应破坏细胞壁，可以提高中药材中有效成分的提取率。Yu 等^[13]报道了 SO₃ 气体预处理显著提高肉桂精油的提取率。Wu 等^[14]利用 SO₃ 微热爆预处理技术对丹皮进行预处理，丹皮酚的提取率增长了 13%。Wang 等^[15]利用 SO₃ 微热爆预处理技术对黄连进行预处理，黄连素的提取率上升了 67.39%，同时提取时间缩短一半。

本研究利用 SO₃ 预处理提取白术精油和多糖，利用单因素试验和响应曲面法优化 SO₃ 预处理关键参数。通过气相色谱-质谱（GC-MS）联用分析比较 SO₃ 预处理提取的白术精油和未处理提取的精油组分差异。此外，通过 DPPH 和 ABTS 法评价了两种方法提取的白术

精油和多糖抗氧化活性的差异。以期对白术精油和多糖提取提供新方法。

1 材料与方法

1.1 试验材料

白术购买于安徽亳州康美中药材市场，产地浙江磐安，经亳州学院中药学院孟祥松教授鉴定为白术 (*Atractylodes macrocephala*) 的根茎。

五氧化二磷、浓硫酸、无水硫酸钠、苯酚和维生素 C (V_C) (分析纯，批号：20230724、20220625、20220625、20231011, 20230323, 国药集团)；乙酸乙酯 (分析纯，批号：20240101, 天津市志远化学试剂有限公司)；无水乙醇 (纯度：99.7%，批号：P2580396, 上海泰坦科技股份有限公司)；1,1-二苯基-2-三硝基苯肼 (DPPH) (纯度：98%，批号：P2692533, 上海阿达玛斯试剂有限公司)；2,2-联氮双(3-乙基苯并噻唑啉-6-磺酸)二铵盐 (ABTS) (纯度：98%，批号：P2589175, 上海阿达玛斯试剂有限公司)；D(+)-无水葡萄糖标准品 (纯度：>99%，批号：A10012-100 mg, 上海源叶生物科技有限公司)；过硫酸钾 (纯度：99.5%，批号：B2207572, 上海阿拉丁生化科技有限公司)。

1.2 试验设备

TQ8040 气相色谱质谱联用仪 (日本岛津有限公司)；SpectraMax iD3 多功能酶标仪 (美国美谷分子仪器)；ZEISS Sigma 300 扫描电镜 (SEM) (德国卡尔·蔡司股份公司)。

1.3 SO₃ 预处理白术饮片

将 40 g 白术饮片平铺于 1 000 mL 烧杯中的塑料网格上，在烧杯底部放置 1.42 g 五氧化二磷，然后快速加入 1.47 g 浓硫酸，立即用乳胶手套密封，然后将密封后的烧杯放置于 40 °C 恒温干燥箱中反应。

1.4 水蒸馏提取白术精油

将 SO₃ 预处理或未处理的白术切片放入多功能粉碎机中进行粉碎，过 5 号筛。称取粉碎后的白术粉末 20.0 g 置于 1 000 mL 圆底烧瓶中，加入 300 mL 纯化水。然后装上挥发油提取仪进行回流提取，直至精油完全提取。收集提取仪中的物质，用少量乙酸乙酯润洗挥发油提取仪一次，合并提取液，分层除去水，再用适量无水硫酸钠干燥乙酸乙酯溶液。最后，控制水温 30 °C，减压浓缩除去乙酸乙酯得到白术精油。白术精油提取率 (Y) 根据公式 (1) 计算。

$$Y = \frac{m_2}{m_1} \times 100\% \quad (1)$$

式中， m_1 ：白术重量 (g)； m_2 ：精油重量 (g)

1.5 白术多糖提取方法

1.5.1 直接提取白术多糖

参照文献^[6]方法,称取 SO₃ 预处理和未处理的白术粉末 5.0 g,置于 250 mL 圆底烧瓶中加入 50 mL 纯化水,加热回流 1.5 h,趁热过滤,滤渣加入 50 mL 纯化水,加热回流 1.5 h,过滤后合并滤液,然后离心除去少量滤渣,液体定容至 100 mL。白术多糖提取率 (Y) 根据公式 (2) 进行计算。

$$Y = \frac{C \times D \times V}{m} \times 100\% \quad (2)$$

式中, C: 白术多糖浓度 (mg/mL); D: 稀释倍数; V: 总体积 (mL); m: 白术重量 (mg)。

1.5.2 同步提取白术多糖

在精油提取结束后,补加 300 mL 纯化水,继续回流 1 h,过滤,滤液经离心除去滤渣。根据公式 (2) 计算白术多糖提取率。

1.5.3 粗多糖的制备

取白术多糖提取水溶液 30 mL 加入 90 mL 无水乙醇,搅拌 10 min,然后在冰箱冷藏中静置过夜,抽滤,滤饼用无水乙醇洗涤,干燥得到粗多糖。

1.6 SO₃ 预处理条件优化

1.6.1 单因素试验

在 SO₃ 预处理白术过程中,SO₃ 用量、温度和预处理时间是影响精油和多糖提取的重要参数。考察 SO₃ 用量为白术的 0.5%、1%、1.5%、2%,预处理温度为 35、40、45、50 °C,预处理时间为 30、45、60、75、90 min 对白术精油提取率的影响。

1.6.2 基于 BBD 法优化 SO₃ 预处理条件

采用基于 BoxBehnken design (BBD) 响应面法 (response surface methodology, RSM) 优化 SO₃ 预处理参数。根据单因素试验结果,以 SO₃ 用量 (X₁)、预处理温度 (X₂) 和预处理时间 (X₃) 三个因素为自变量,以白术精油提取率为目标,设计试验因素与水平,详见表 1。采用 Design-Expert 12 软件进行方差分析 (ANOVA)、回归分析和最佳参数估计。

表 1 响应面因素与水平分析

Table 1 Response surface factors and level analysis

水平 Level	因素 Factor		
	X ₁ (g/100 g)	X ₂ (°C)	X ₃ (min)
-1	1.0	40	30
0	2.0	50	60

1	3.0	60	90
---	-----	----	----

1.7 白术多糖含量测定

采用苯酚-硫酸法^[17]测定白术多糖含量,利用酶标仪测定葡萄糖在 490 nm 处吸光度绘制标准曲线。回归方程为: $y=61.04x+0.0317$, 回归系数 $R^2=0.9992$ 。

1.8 精油提取动力学分析

精油提取的动力学曲线可以阐明精油的释放过程,根据动力学曲线的变化,可有效地判断精油提取效率急剧下降的时间,从而提高精油提取效率。参考文献的方法,根据公式(3)拟合白术精油提取动力学曲线^[18]。

$$Y_t = Y_\infty [1 - \exp(-K_{d1}t)] \quad (3)$$

式中, Y_∞ : 平衡时精油提取率, Y_t : 在时间 t 时精油提取率, K_{d1} : 精油传质速率常数。

1.9 微观形态分析

利用 SEM 检测 SO_3 气体预处理后白术切片的形态变化。SEM 在标准真空条件下操作,加速电压为 10.0 kV,工作距离为 7.5~9.8 mm。

1.10 抗氧化试验

1.10.1 DPPH 自由基清除试验

参照 Rumpf 等^[9]的方法稍加修改,在 96 孔板中分别加入 100 μ L DPPH 乙醇溶液(0.023 mg/mL)和 100 μ L 不同浓度的白术精油乙醇溶液,37 $^\circ$ C 孵育 30 min,用酶标仪测定 517 nm 处的吸光度,每个浓度平行测定 3 次。根据公式(4)计算 DPPH 自由基清除率(R)。

$$R = \left(1 - \frac{A_i - A_j}{A_0 - A_j}\right) \times 100\% \quad (4)$$

式中, A_i : 精油与 DPPH 溶液的吸光度; A_j : 精油与无水乙醇的吸光度; A_0 : 无水乙醇与 DPPH 溶液的吸光度。

1.10.2 ABTS 自由基清除试验

参照 Rumpf 等^[9]的方法稍加修改,将浓度为 7 mmol/L 的 ABTS 溶液和 2.45 mmol/L 的过硫酸钾溶液混合,在室温避光的条件下静置 16 h,用无水乙醇将 ABTS 过硫酸钾溶液稀释 33 倍,形成 ABTS 测定液。白术精油用无水乙醇稀释(0.3125、0.625、1.25、2.5、5、10、20、40、80 mg/mL)。粗白术多糖用纯化水稀释(0.03125、0.0625、0.125、0.25、0.5、1.0 mg/mL)。在 96 孔板中分别加入 40 μ L 无水乙醇和 40 μ L 各浓度供试品,再加入 160 μ L ABTS 测定液,然后在室温避光条件下反应 30 min,使用酶标仪测定 734 nm 处的吸光度,每个浓度平行测定 3 次。根据公式(4)计算 ABTS 自由基清除率。

1.11 GC-MS 条件

参照文献^[20]方法并加以修改。色谱条件:色谱柱 SH-Rxi-5Sil MS(30 m×250 μm×0.25 μm), 进样口温度 280 °C, 载气流速 1.6 mL/min (氦气), 进样量为 0.5 μL, 分流比为 20:1。程序升温, 初始温度 60 °C, 保持 2 min, 再以 8 °C/min 的速率升至 125 °C, 然后以 5 °C/min 的速率升至 145 °C, 保持 5 min, 最后以 9 °C/min 的速率升至 250 °C, 保持 5 min。

质谱条件: 溶剂延迟 3 min 后, 在 70 eV 电子电离模式下, 进行 m/z 范围为 35~500 的全扫描。

1.12 数据处理与分析

每组数据至少重复 3 次, 用 Design-Expert12 软件进行响应面设计和结果处理, 用 SPSS21.0 计算显著性分析, Origin 2021 用于方程拟合, GraphPadPrism 8.0 用于作图。

2 结果与分析

2.1 单因素试验

为达到最佳的预处理效果, 通过单因素试验对预处理中 SO₃ 的用量、预处理温度和预处理时间进行了优化。

2.1.1 SO₃ 用量对白术精油提取率的影响

预处理温度 45 °C, 预处理时间 45 min 时, SO₃ 用量对白术精油提取率的影响如图 1 所示。白术精油提取率随着 SO₃ 用量的增加先提高再下降。SO₃ 和白术切片里的水发生热反应破坏细胞壁, 加速精油的溶出, 提取率上升。而过多的 SO₃ 可能会造成有效成分的破坏, 而降低提取率。SO₃ 最佳用量为 2.0%, 此时提取率从未处理的 0.69% ± 0.011% 提高到 0.82% ± 0.0091%。

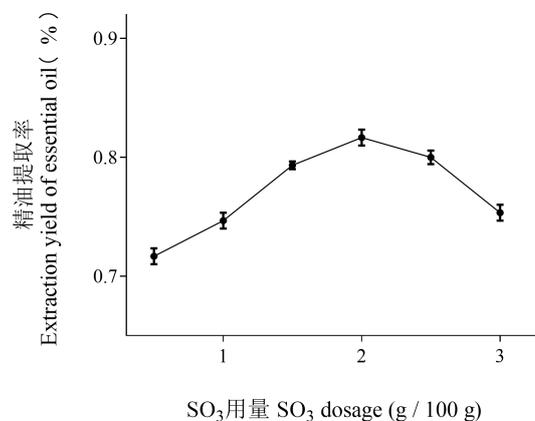


图 1 SO₃ 用量对精油提取率的影响

Fig. 1 Effect of SO₃ dosage on the extraction yield of essential oil

2.1.2 预处理温度对白术精油提取率的影响

SO₃用量为 2.0%时，SO₃ 预处理温度对白术精油提取率的影响如图 2 所示。白术精油提取率先随着预处理的温度升高，在 50 °C达到最大值 0.84% ± 0.0089%，继续提高处理温度，提取率则下降。温度在 40~45 °C和超过 50 °C后，温度变化对白术精油提取率影响较大，而在 45~50 °C之间，白术精油的提取率变化较小。

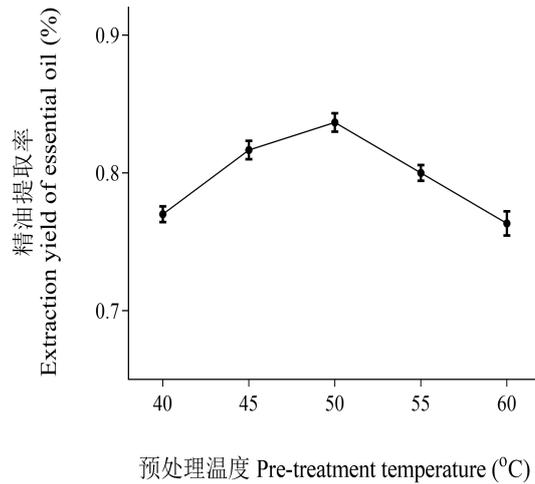


图 2 预处理温度对精油提取率的影响

Fig. 2 Effect of pre-treatment temperature on the extraction yield of essential oil

2.1.3 预处理时间对白术精油提取率的影响

在 SO₃用量 2.0%和预处理温度为 50 °C时，预处理时间对白术精油提取率的影响如图 3 所示。预处理时间较短时，白术精油提取率提高较少，随着时间延长，白术精油的提取率逐渐提高，在 60 min 时白术精油提取率达到最大值 0.87% ± 0.011%。继续延长预处理时间后，提取率缓慢降低。

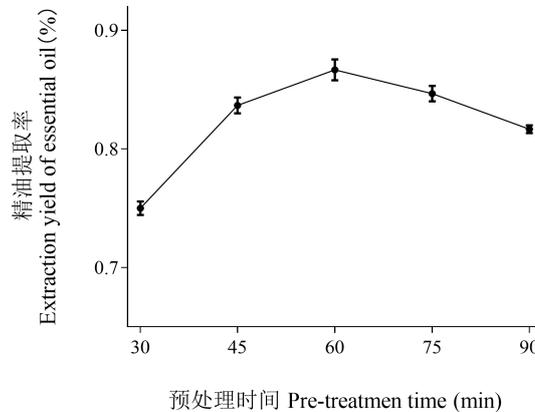


图 3 预处理时间对精油提取率的影响

Fig. 3 Effect of pre-treatment time on the extraction yield of essential oil

2.2 利用 BBD 优化 SO₃ 预处理工艺

在不同的预处理条件下，结合响应面法进行 BBD 优化试验，对 SO₃ 用量、预处理温度和预处理时间进行优化，试验模型及结果如表 2 所示。根据试验数据，通过二次多项式方程拟合计算，建立了回归模型方程。白术精油产率 (Y) 与 SO₃ 用量 (X_1)、预处理温度 (X_2) 和预处理时间 (X_3) 的回归方程为： $Y = 0.868 + 0.0212X_1 + 0.0163X_2 - 0.0025X_3 - 0.0225X_1X_2 - 0.01X_1X_3 - 0.015X_2X_3 - 0.0652X_1^2 - 0.043X_2^2 - 0.0327X_3^2$ 。

表 2 响应面试验设计与结果

Table 2 Design and results of response surface experiment

编号 No.	X_1	X_2	X_3	提取率 Extraction yield (%)
1	1	50	30	0.74
2	1	60	60	0.78
3	2	50	60	0.85
4	2	40	30	0.76
5	2	50	60	0.86
6	1	50	90	0.75
7	2	50	60	0.87
8	3	60	60	0.77
9	1	40	60	0.71
10	2	40	90	0.79
11	2	60	30	0.83
12	3	40	60	0.79
13	2	50	60	0.88
14	3	50	30	0.81
15	3	50	90	0.78
16	2	60	90	0.80
17	2	50	60	0.88

精油提取率的回归模型方差分析如表 3 所示。模型的 P 值 < 0.0001 ，说明模型的适应度显著，模型中的“失拟项”的 F 值为 0.5392 和 P 值 0.6804 (> 0.05)，表明该模型是合理的。回归模型的决定系数 (R^2) 值为 0.9775，表明该模型具有较高的统计学意义，且与试验结

果的拟合性较好。此外，调整后 R^2 值 (0.948 5) 接近 R^2 值，表明预测值与观测值之间有很强的相关性^[21]。预测 R^2 为 0.871 0，与调整后 R^2 差值小于 0.2，表明预测结果可靠。从表 3 中还可以发现，各因素对白术精油提取率影响大小顺序为： SO_3 用量 (X_1) > 温度 (X_2) > 时间 (X_3)。对于精油 X_1 和 X_2 的线性项， X_1^2 、 X_2^2 和 X_3^2 的二次项以及 X_1X_2 和 X_2X_3 的相互作用项都非常显著 ($P < 0.05$)，而其他系数则不显著 ($P > 0.05$)。

表 3 回归模型方差分析

Table 3 Analysis of variance of regression model

方差来源 Variance source	平方和 Sum of squares	自由度 Freedom	均方 Mean square	F 值 F-value	P 值 P-value
模型 Model	0.0414	9	0.0046	33.72	< 0.0001
X_1	0.0036	1	0.0036	26.48	0.0013
X_2	0.0021	1	0.0021	15.48	0.0056
X_3	0.0001	1	0.0001	0.3665	0.564
X_1X_2	0.002	1	0.002	14.84	0.0063
X_1X_3	0.0004	1	0.0004	2.93	0.1306
X_2X_3	0.0009	1	0.0009	6.6	0.0371
X_1^2	0.0179	1	0.0179	131.4	< 0.0001
X_2^2	0.0068	1	0.0068	50	0.0002
X_3^2	0.0045	1	0.0045	33.1	0.0007
残差 Residual	0.001	7	0.0001		
失拟项 Lack of fit	0.0003	3	0.0001	0.5392	0.6804
纯误差 Pure error	0.0007	4	0.0002		
总差 Cor total	0.0424	16			

根据模型绘制的白术精油提取率的响应面 3D 图如图 4 所示。图 4 直观的显示了 SO_3 用量 (X_1)、预处理温度 (X_2) 和预处理时间 (X_3) 对白术精油产量 (Y) 的相互作用。响应面 3D 图中，图 4a 中，精油提取率随 SO_3 用量增加和温度提高先增加再下降， SO_3 用量对应的曲面倾斜度高于预处理温度，与表 3 中的结果一致。图 4a~4c 中，图 4a 的陡度明显高于图 4c 和 4b，与表 3 的结果一致。

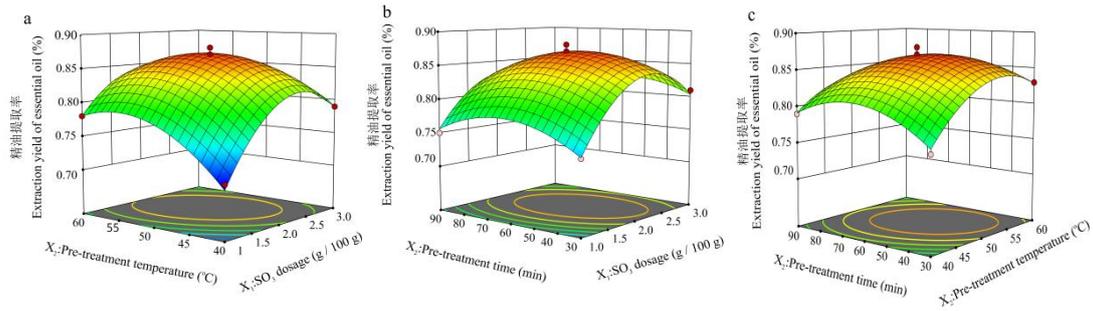


图 4 自变量对精油提取率影响的响应面 3D 图

Fig. 4 3D response surface plot of the influence of independent variables on the extraction yield of essential oils

最后, 根据 Design-Expert 12 软件中的模型预测出最佳的预处理条件为: SO₃ 用量 2.0%, 预处理温度 47.5 °C 和预处理时间为 58.4 min, 预测精油提取率为 0.861%。根据实验室条件将预处理温度调整为 47 °C, 预处理时间调整为 58 min, 三次试验平均值为 0.88% ± 0.012%, 与预测值较为接近, 表明利用响应曲面对提取工艺进行优化结果较为合理。

2.3 预处理对白术多糖提取率的影响

由图 5 可知, SO₃ 预处理后, 直接提取白术多糖和同步提取白术多糖工艺都显著提高了白术多糖的提取率。直接提取时, 白术多糖提取率从 35.1% ± 0.46% 提高到 45.6% ± 0.51%, 同步提取时, 白术多糖的提取率从 32.6% ± 0.54% 提高到 42.3% ± 0.41%。这与精油提取率变化相一致, 也与白术表面微观变化中预处理后出现许多微孔的结果一致。

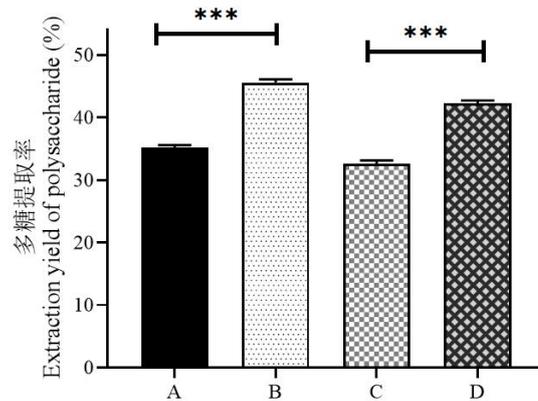


图 5 预处理对白术多糖提取率的影响

Fig.5 Effect of pre-treatment on the extraction yield of polysaccharides

注: A: 未处理, 直接提取; B: 预处理, 直接提取; C: 未处理, 同步提取; D: 预处理, 同步提取。

Note: A: Unpretreated, direct extraction; B: Pretreated, direct extraction; C: Unpretreated, consecutive extraction;

D: Pretreated, consecutive extraction.

2.4 白术微观组织形态

SO₃ 预处理前后白术饮片表面形貌的 SEM 图，如图 6 所示。未处理的白术表面在低倍数下（见图 6A）表面比较光滑，而 SO₃ 预处理后，白术表面变得凹凸，并产生许多孔洞（见图 6C）。在高倍数放大下，预处理后白术表面的孔洞也显著增加（见图 6B、6D）。白术表面的凹凸和孔洞增加是由于 SO₃ 与白术中的水原位热反应，瞬间释放出大量的热量造成细胞壁破裂，形成大量的孔洞。这些孔洞的形成使得细胞结构变得更加松散，有利于白术中的有效成分的溶出和扩散，提高提取率。

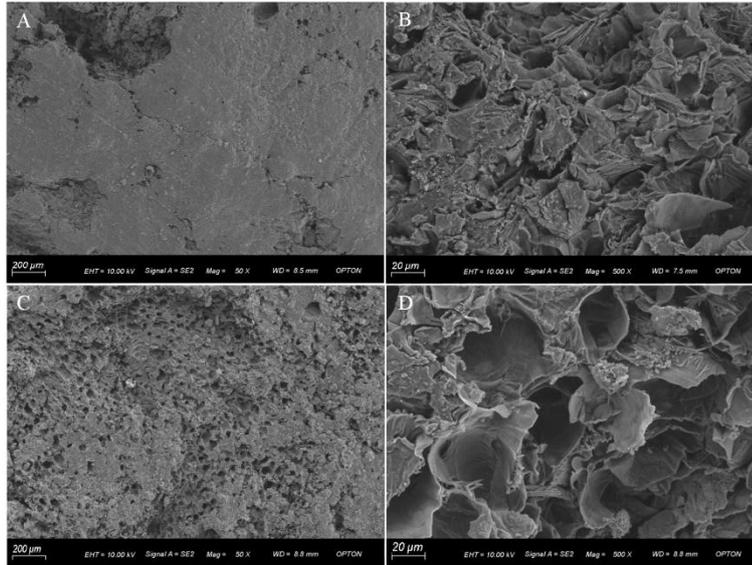


图 6 预处理前后白术的 SEM 图

Fig. 6 SEM images of *Atractylodis Macrocephalae Rhizoma* before and after pre-treatment

注：A、B：未处理；C、D：预处理。

Note: A,B:Unpretreated; C,D: Pretreated.

2.5 白术精油提取动力学曲线

未处理和预处理的白术精油提取率与时间关系如图 7 所示，动力学方程分别如公式（5）和（6）所示：

$$Y_t = 0.738[1 - \exp(-0.37t)] \quad (R^2 = 0.9971) \quad (5)$$

$$Y_t = 0.903[1 - \exp(-0.701t)] \quad (R^2 = 0.9979) \quad (6)$$

由公式（5）和公式（6）可知，相关系数 R^2 均大于 0.99，表明拟合的动力学公式符合白术精油提取过程。公式（5）和公式（6）的动力学方程形式一致，表明白术经 SO₃ 预处理后，并未改变精油的扩散过程。预处理后，平衡时白术精油的提取率从 0.738% 提高到 0.903%，精油的传递常数 K_{d1} 从 0.37 提高到 0.701，表明，SO₃ 在预处理时对细胞壁的破坏使得精油

能更快，更彻底的扩散出来，这与 SEM 的结果一致。

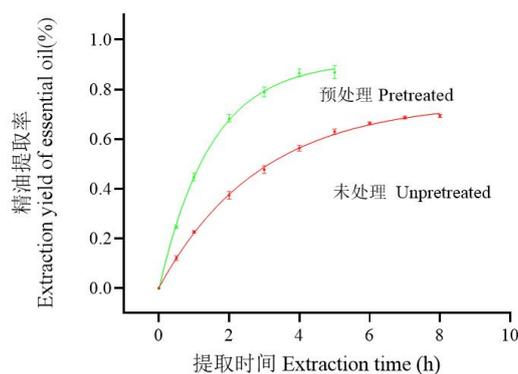


图 7 白术精油提取动力学曲线

Fig. 7 Extraction kinetics curves of essential oil from *Atractylodis Macrocephalae Rhizoma*

2.6 白术精油化学成分分析

白术精油经 GC-MS 检测后，通过 NIST14 谱库检索进行定性分析，利用面积归一法定量分析各组分的相对含量，结果如图 8 和表 4 所示。SO₃ 预处理和未处理的白术精油分别鉴定出 42 和 41 种化学成分，主要化学成分为苍术酮、大根香叶烯 B 和瓦伦烯。SO₃ 预处理后仅大根香叶烯 B 含量从 12.14% 增加到 13.43%，其余化学成分含量无明显变化。

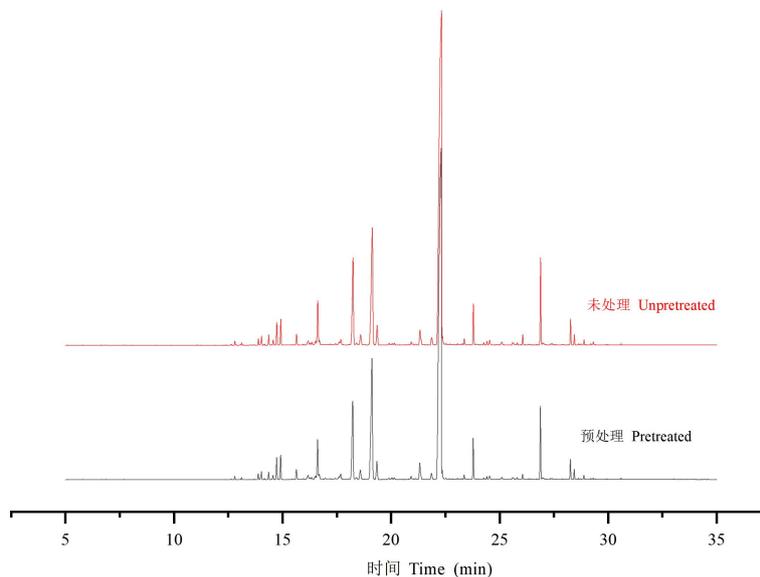


图 8 白术精油总离子流图

Fig. 8 Total ion chromatograms of *Atractylodis Macrocephalae Rhizoma* essential oil

表 4 白术精油化学成分

Table 4 Chemical components of *Atractylodis Macrocephalae Rhizoma* essential oil

序	t_R	化合物	分子式	CAS	相对含量 Relative content (%)
---	-------	-----	-----	-----	---------------------------

号 No.	(mi n)	Compound	Molecular formula		预处理 Pretreated	未处理 Unpretreated
1	12.86	(+)-Dipentene	C ₁₀ H ₁₆	5989-27-5	0.16	0.18
2	13.18	(-)-Silphinenene	C ₁₅ H ₂₄	74284-57-4	0.10	0.11
3	13.95	Modephene	C ₁₅ H ₂₄	68269-87-4	0.29	0.29
4	14.10	Berkheyaradulene	C ₁₅ H ₂₄	65372-78-3	0.49	0.5
5	14.22	β -榄香烯 β -Elemene	C ₁₅ H ₂₄	515-13-9	0.05	0.05
6	14.43	香附子烯 Cyperene	C ₁₅ H ₂₄	2387-78-2	0.4	0.49
7	14.63	β -Isocomene	C ₁₅ H ₂₄	71596-72-0	0.21	0.26
8	14.81	β -石竹烯 β -Caryophyllene	C ₁₅ H ₂₄	87-44-5	1.21	1.16
9	14.99	石竹烯 Caryophyllene	C ₁₅ H ₂₄	17627-40-6	1.29	1.35
10	15.75	α -Acoradiene	C ₁₅ H ₂₄	28400-13-7	0.62	0.61
11	16.24	γ -Bisabolene	C ₁₅ H ₂₄	495-62-5	0.4	0.38
12	16.32	β -姜黄烯 β -Curcumene	C ₁₅ H ₂₄	451-56-9	0.09	0.11
13	16.41	γ -Muurolene	C ₁₅ H ₂₄	30021-74-0	0.41	0.16
14	16.55	Eremophilene	C ₁₅ H ₂₄	10219-75-7	0.26	0.31
15	16.68	β -Selinene	C ₁₅ H ₂₄	17066-67-0	2.78	2.81
16	16.76	Zingiberene	C ₁₅ H ₂₄	495-60-3	0.29	0.23
17	17.04	α -Farnesene	C ₁₅ H ₂₄	502-61-4	0.06	-
18	17.64	(+)-Calarene	C ₁₅ H ₂₄	17334-55-3	0.22	0.20
19	17.78	Sesquisabinen	C ₁₅ H ₂₄	58319-04-3	0.41	0.38
20	18.33	瓦伦烯 Valencene	C ₁₅ H ₂₄	4630-07-3	7.05	7.21
21	18.50	Selina-3,7(11)-diene	C ₁₅ H ₂₄	6813-21-4	0.15	0.16
22	18.70	(3 <i>R</i> ,8 <i>aR</i>)-5,8 <i>a</i> -Dimethyl-3-(prop-1-en-2-yl)-1,2,3,7,8,8 <i>a</i> -hexahydronaphthalene	C ₁₅ H ₂₂	193615-07-5	0.83	0.84
23	19.26	大根香叶烯 <i>B</i> Germacrene <i>B</i>	C ₁₅ H ₂₄	15423-57-1	13.43	12.14
24	19.46	β -Vetivenen	C ₁₅ H ₂₂	27840-40-0	1.51	1.47
25	20.00	Caryophyllene oxide	C ₁₅ H ₂₄ O	1139-30-6	0.11	0.14
26	20.86	Humulene epoxide II	C ₁₅ H ₂₄ O	19888-34-7	0.11	0.21
27	21.45	桉油烯醇 Spathulenol	C ₁₅ H ₂₄ O	6750-60-3	1.38	1.25
28	22.49	苍术酮 Atractylon	C ₁₅ H ₂₀ O	6989-21-5	54.66	54.46
29	23.11	Juniper camphor	C ₁₅ H ₂₆ O	473-04-1	0.05	0.06
30	23.33	Isospathulenol	C ₁₅ H ₂₄ O	88395-46-4	0.05	0.13
31	23.47	1,1,2,5-Tetramethyldecahydro-1H-cyclopropa[e]azulene-2,5-diol	C ₁₅ H ₂₆ O ₂	1212211-43-2	0.26	0.32
32	23.86	香附烯酮 Cyperenone	C ₁₅ H ₂₂ O	3466-15-7	2.21	2.03
33	24.35	β -Oplophenone	C ₁₅ H ₂₄ O	28305-60-4	0.11	0.17
34	24.47	4,8 <i>a</i> -Dimethyl-6-(prop-1-en-2-yl)-1,2,3,5,6,7,8,8 <i>a</i> -octahydronaphthalen-2-ol	C ₁₅ H ₂₄ O	726134-57-2	0.17	0.19
35	24.68	4(15),5,10(14)-Germacratrien-1-	C ₁₅ H ₂₄ O	81968-62-9	0.28	0.34

ol						
36	25.28	(<i>E</i>)-Isovalencenol	C ₁₅ H ₂₄ O	22387-74-2	0.18	0.29
37	25.72	Farnesyl acetate	C ₁₇ H ₂₈ O ₂	4128-17-0	0.2	0.23
38	26.95	(<i>E</i>)-3-((4 <i>S</i> ,7 <i>R</i> ,7 <i>aR</i>)-3,7-Dimethyl-2,4,5,6,7,7 <i>a</i> -hexahydro-1 <i>H</i> -inden-4-yl)-2-methylallyl acetate	C ₁₇ H ₂₆ O ₂	101527-74-6	3.47	3.87
39	28.38	Atractylenolide I	C ₁₅ H ₁₈ O ₂	73069-13-3	0.99	1.16
40	28.54	3,5,8 <i>a</i> -Trimethyl-4,4 <i>a</i> ,8 <i>a</i> ,9-tetrahydronaphtho[2,3- <i>b</i>]furan	C ₁₅ H ₁₈ O	115526-32-4	0.45	0.41
41	28.94	Atractylenolide II	C ₁₅ H ₂₀ O ₂	73069-14-4	0.20	0.23
42	29.38	亚油酸甲酯 Methyl linoleate	C ₁₉ H ₃₄ O ₂	112-63-0	0.08	0.17
合计 Total					97.67	97.06

2.7 抗氧化活性

2.7.1 精油抗氧化活性

预处理和未处理的白术精油对 DPPH 自由基和 ABTS 自由基的清除作用如图 9 所示。预处理后提取的精油对 DPPH 自由基的清除能力略强于未处理，在浓度为 40 mg/mL 时，对 DPPH 自由基的清除率分别为 88.7%± 2.3%和 82.5%± 0.9%，有统计学差异，而对 ABTS 自由基的清除能力无明显变化，但均弱于 V_C，该结果与精油组分分析中主要组分含量无明显变化一致。

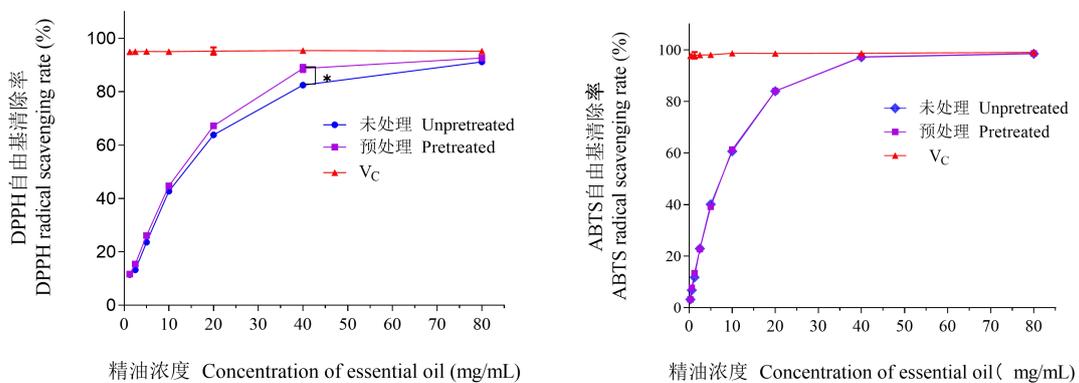


图 9 白术精油的抗氧化能力

Fig. 9 The antioxidant capacity of Atractylodis Macrocephalae Rhizoma essential oil

2.7.2 多糖抗氧化活性

如图 10 所示，在 1 mg/mL 时预处理和未处理的白术多糖对 ABTS 自由基的清除率分别为 26.4%± 1.1%和 25.1%± 0.9%，有统计学差异，预处理后多糖对 ABTS 自由基的清除率有轻微的增加，该结果与精油抗氧化活性变化基本一致。

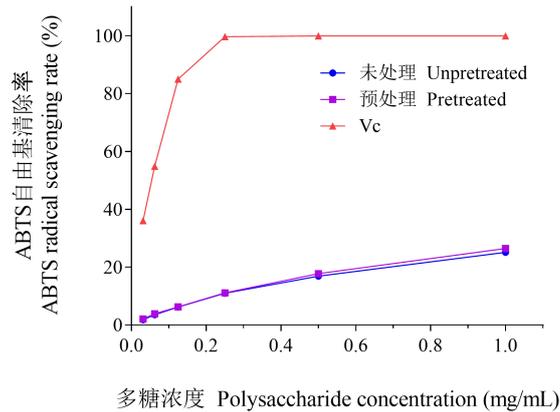


图 10 白术多糖对 ABTS 自由基的清除能力

Fig. 10 Scavenging rate of *Atractylodes Macrocephalae* Rhizoma polysaccharides on ABTS free radicals

3 结论

采用 SO_3 气体对白术进行预处理, 通过对预处理中 SO_3 用量、预处理温度和时间的单因素试验和响应面优化, 得到最佳的预处理条件为 SO_3 用量 2.0%, 温度 47°C , 时间 58 min。此时白术精油的提取率为 $0.88 \pm 0.012\%$, 较未处理时的 0.69% 提高了 27.5%, 此时, 多糖的提取率为 45.6%, 较未处理时的 35.1% 提高了 29.9%。在白术精油和多糖的同步提取时, 白术多糖提取率也从 32.5% 提高到 42.3%。 SO_3 预处理不仅提高了精油的提取率, 还显著提升了白术精油的提取效率, 提取时间从 8 h 降低到 4 h。 SO_3 气体预处理后, 白术外观结构发生了显著变化, 出现了很多孔洞, 有利于白术的精油和多糖的扩散和溶出, 与白术精油和多糖提取率显著提高结果一致。白术精油的主要化学成分为苍术酮、大根香叶烯 B 和瓦伦烯, 预处理对白术精油化学成分影响较小, 仅大根香叶烯 B 含量从 12.14% 增加到 13.43%。预处理得到的白术精油对 DPPH 自由基和 ABTS 自由基的清除率只有轻微影响, 该结果与预处理对精油组分影响结果较小一致。此外, 预处理提高了粗多糖对 ABTS 自由基的清除能力。结果表明, SO_3 气体预处理可以用于白术精油和多糖的提取。

参考文献

- 1 Li J, He M, Li L, et al. Research progress on chemical composition and pharmacological effects of volatile oil from *Atractylodes macrocephala*[J]. Chin Tradit Pat Med (中成药), 2024, 46: 881-889.
- 2 Zhu B, Zhang QL, Hua JW, et al. The traditional uses, phytochemistry, and pharmacology of *Atractylodes macrocephala* Koidz.: a review[J]. J Ethnopharmacol, 2018, 226: 143-167.
- 3 Wang Y, Lin ZJ, Huang J, et al. An integrated study of Shenling Baizhu San against hyperuricemia: efficacy evaluation, core target identification and active component discovery[J]. J Ethnopharmacol, 2022, 295: 115450.

- 4 Li R,Li J,Xu CQ,et al.Identification of *Atractylodes macrocephala* Koidz. from different areas by GC-MS fingerprint and multivariate statistical analysis[J].J Guangdong Pharm (广东药科大学学报),2021,37:30-39.
- 5 Gu S,Li L,Huang H,et al.Antitumor,antiviral,and anti-inflammatory efficacy of essential oils from *Atractylodes macrocephala* Koidz. produced with different processing methods[J].Molecules,2019,24:2956.
- 6 Wang J,Feng W,Zhang S,et al.Ameliorative effect of *Atractylodes macrocephala* essential oil combined with Panax ginseng total saponins on 5-fluorouracil induced diarrhea is associated with gut microbial modulation[J].J Ethnopharmacol,2019,238:111887.
- 7 Li X,Rao Z,Xie ZQ,et a.Isolation,structure and bioactivity of polysaccharides from *Atractylodes macrocephala*:a review[J].J Ethnopharmacol,2022,296:115506.
- 8 Huang XQ,Mu J,Zhu Y,et al.Optimize the extraction process of volatile oil from Rhizoma Atractylodis Macrocephalae and study its chemical composition[J].J Shandong Univ Tradit Chine Med (山东中医药大学学报),2013,37(04):339-342.
- 9 Li ZW,Cui JJ,Fu Z,et al.Supercritical CO₂ fluid extraction and chemical composition analysis of volatile oil from Atractylodis Macrocephalae Rhizoma[J].Food Drug (食品与药品),2019,21:269-273.
- 10 Ye R,Tian K,Hu H,et al.Extraction process optimization of essential oil from *Melissa officinalis* L. using a new ultrasound-microwave hybrid-assisted Clevenger hydrodistillation[J].Ind Crop Prod,2023,203:117165.
- 11 Yang Y,Wei MX,Wu YY,et al.Research progress on extraction separation,chemical constitution and pharmacological activities of polysaccharide extracted from *Atractylodes macrocephala*[J].Chine Tradit Herb Drugs (中草药),2021,52:578-584.
- 12 Li XY,Ao ZL,Xie ZQ,et al.Isolation,structure and bioactivity of polysaccharides from *Atractylodes macrocephala*:a review[J].J Ethnopharmacol,2022,296:115506.
- 13 Yu MJ,Wang SL,Zhu HX,et al.In-situ reactive heat breaking cell wall by SO₃ hydration: innovative cell-wall breaking technique to enhance extraction of cinnamaldehyde from cinnamon[J].Prep Biochem Biotech,2021,51:833-841.
- 14 Wu H,Wang SL,Yao RS,et al.Application of SO₃ micro-thermal explosion technology in extraction of paeonol[J].Mod Chem Indus (现代化工),2021,41:182-185.
- 15 Wang SL,Zhu HX,Yao RS,et al.Application of SO₃ micro-thermal explosion in berberine extraction[J].Mod Chem Indus (现代化工),2021,41(01):88-92+98.
- 16 Yuan HM,Li HX,Peng T.Extraction process for optimization of polysaccharide of *Atractylodes macrocephala* Koidz by orthogonal experiment[J].J Chengdu Univ:Nat Sci (成都大学学报:自然科学

版),2015,34:217-219.

- 17 Pan BY,Meng XQ,Kang TG,et al.Optimization of extraction process of Arctii Fructus polysaccharide based on response surface method and its anti-inflammatory effect on cells[J].Nat Prod Res Dev (天然产物研究与开发),2024,36:102-106.
- 18 Peng X,Liu N,Wang M,et al.Recent advances of kinetic model in the separation of essential oils by microwave-assisted hydrodistillation[J].Ind Crops Prod,2022,187:115418.
- 19 Rumpf J,Burger R,Schulze M.Statistical evaluation of DPPH,ABTS,FRAP,and Folin-Ciocalteu assays to assess the antioxidant capacity of lignins[J].Int J Biol Macromol,2023,233:123470.
- 20 Wu JJ,Liu D,Zhang L,et al.Predictive analysis of quality markers of Atractylodis Macrocephalae Rhizoma volatile oil based on GC-MS fingerprint and network pharmacology[J].Nat Prod Res Dev(天然产物研究与开发),2023,35(08):1305-1313+1392
- 21 Zhou P,Li X,Zhou J,et al.A green approach for multivariate consecutive extraction of essential oils and flavonoids from *Citrus aurantium* L. var. *amara* Engl.:process optimization and mechanistic insights based on machine learning methods[J].Ind Crop Prod,2023,206:117611.

收稿日期: 2024-03-29 接受日期:

基金项目: 安徽省高校重点自然科研项目(2022AH052410, 2023AH052268); 亳州学院重点科研项目(BYZ2021BO1); 亳州学院质量工程项目(2023XJXM004)

*通信作者 E-mail: 18356791808; E-mail: yuymj127@126.com