

刘欢, 赵巨堂, 罗海涛, 等. 提取方法对百里香精油化学成分和抗氧化活性的影响 [J]. 食品工业科技, 2022, 43(19): 331-339. doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2021120146

LIU Huan, ZHAO Jutang, LUO Haitao, et al. Effect of Extraction Methods on Chemical Constituents and Antioxidant Activity of Essential Oil from *Thymus vulgaris* L. [J]. Science and Technology of Food Industry, 2022, 43(19): 331-339. (in Chinese with English abstract). doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2021120146

· 分析检测 ·

# 提取方法对百里香精油化学成分和抗氧化活性的影响

刘欢<sup>1</sup>, 赵巨堂<sup>1</sup>, 罗海涛<sup>2</sup>, 任周营<sup>2</sup>, 邵灯寅<sup>2,\*</sup>

(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:** 本文分别采用水蒸气蒸馏法 (SD)、同时蒸馏萃取法 (SDE)、冷等离子体辅助提取法 (CPAE) 从百里香叶片中提取精油, 通过气相色谱-质谱联用 (GC-MS) 分析了三种精油中的挥发性成分, 测定其精油中的总酚、总黄酮、花青素含量, 通过 DPPH<sup>•</sup>、ABTS<sup>+</sup>、总抗氧化能力三个抗氧化指标评估了其体外抗氧化性, 并将精油中的主要活性成分与抗氧化能力进行相关性分析, 比较得出得率更高、抗氧化性更好的提取方法。结果表明, 不同提取方法在精油得率上有显著性差异 ( $P < 0.05$ ), SDE 法的精油得率最高, 达到了 1.30%。经 GC-MS 分析, 三种精油共检出了 36 种组分, 主要成分均为 2-茨醇 (32.194%~32.515%)、香芹酚 (17.265%~19.998%)、百里香酚 (13.031%~15.202%) 和  $\alpha$ -松油醇 (11.296%~12.012%), 其中, SDE 法和 CPAE 法比 SD 法制备得到的精油在以上活性成分上含量更高。在总酚、总黄酮、花青素的测定结果中, SDE 法制备得到的精油中总酚和花青素含量更高, 分别为 133.67±0.20 mg GA/g EO、0.32±0.02 mg/g EO, CPAE 法制得的精油总黄酮含量最高, 达到了 54.82 mg Rutin/g EO。在体外抗氧化性实验中, 三种精油在实验浓度范围内对各项抗氧化指标都表现出较强的抗氧化性和明显的量效关系, 其中, SDE 法获得的精油对于自由基的清除效果更佳, 在最高实验浓度下清除率均在 96% 以上。通过抗氧化相关性分析发现, 百里香精油的抗氧化活性与酚类等物质的含量密切相关。综上, 从各项实验结果来看, SDE 法是一种更为可取的提取百里香精油的方法。

**关键词:** 百里香, 精油, 提取方法, GC-MS, 化学成分, 抗氧化

中图分类号: TS202.3

文献标识码: A

文章编号: 1002-0306(2022)19-0331-09

DOI: 10.13386/j.issn1002-0306.2021120146

本文网刊:



## Effect of Extraction Methods on Chemical Constituents and Antioxidant Activity of Essential Oil from *Thymus vulgaris* L.

LIU Huan<sup>1</sup>, ZHAO Jutang<sup>1</sup>, LUO Haitao<sup>2</sup>, REN Zhouying<sup>2</sup>, SHAO Dengyin<sup>2,\*</sup>

(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 oils from *Thymus vulgaris* L. were extracted by using different methods of stream distillation (SD), simultaneous distillation extraction (SDE), and cold plasma assisted extraction (CPAE) separately, then the volatile components in the essential oils were identified by GC-MS. The contents of total phenols, flavonoids and anthocyanins in essential oil were determined. Its antioxidant activity *in vitro* was evaluated by three antioxidant indexes: DPPH<sup>•</sup>, ABTS<sup>+</sup> and total antioxidant capacity, and the correlation between the main active components in essential oil and antioxidant capacity was analyzed. Therefore, the extraction method with higher rate and better antioxidant capacity was obtained. The results showed that different extraction methods had significant difference in yield ( $P < 0.05$ ). And the SDE method had the

收稿日期: 2021-12-14

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: 邵灯寅 (1990-), 男, 硕士, 工程师, 研究方向: 卷烟调香和产品开发, E-mail: dyshao1015@163.com。

highest yield, reaching 1.30%. By GC-MS analysis, 36 components of the three essential oils were detected. The main volatile components were borneol (32.194%~32.515%), carvacrol (17.265%~19.998%), thymol (13.031%~15.202%),  $\alpha$ -terpinol (11.296%~12.012%). The SDE and CPAE methods had higher contents of main active ingredients than SD method. In the determination results of total phenols, total flavonoids and anthocyanins, the contents of total phenols and anthocyanins in the essential oil prepared by SDE method were 133.67±0.20 mg GA/g EO and 0.32±0.02 mg/g EO, respectively. The contents of total flavonoids in the essential oil prepared by CPAE method were the highest, reaching 54.82 mg Rutin/g EO. *In vitro* antioxidant experiments, the three essential oils showed strong antioxidant activity and obvious dose-effect relationship to various antioxidant indexes within the experimental concentration range. Among them, the essential oil obtained by SDE method had better scavenging effect on free radicals, and the scavenging rate was above 96% at the highest experimental concentration. Correlation analysis showed that the antioxidant activity of the essential oils were closely related to the content of phenols and other main substances. In conclusion, according to the experimental results, the SDE method is a more desirable method for the extraction of essential oils from *Thymus vulgaris* L..

**Key words:** *Thymus vulgaris* L.; essential oil; extraction method; GC-MS; chemical components; oxidation resistance

百里香(*Thymus vulgaris* L.)是唇形科(Labiatae)百里香属(*Thymus*)双子叶植物,因其植株具有浓郁的芳香而闻名,别名地椒、山椒、麝香草等<sup>[1]</sup>。百里香原产于欧洲南部,在我国主要分布在甘肃、陕西等黄河以北地区,被作为食品的调味品而广泛种植,是一种重要的烹饪香料,可以去除食品中的腥味,给予其清香和草香味<sup>[2]</sup>。百里香中除了含有大量挥发性香味成分外,还有碳水化合物、蛋白质和钙、铁、锌、硒等微量元素,具有很高的食用价值。百里香精油作为主要生物活性成分,其分析和应用正在不断研究与发展<sup>[3-4]</sup>。

百里香精油的用途十分广泛,由于其具有愉悦、宜人的香气在香精香料和化妆品工业被用作芳香剂、增味剂。同时百里香精油还表现出优良的抑菌、防腐和抗氧化性能,亦可有望成为人工合成添加剂的替代品<sup>[5]</sup>。研究表明,精油的质量与提取方法息息相关,不同提取方法所展现出的物化性质有可能差异很大,直接关系到精油的应用效果<sup>[6]</sup>。目前有关于百里香精油的研究多集中于对其抗氧化性和抗菌保鲜方面的探索,对于不同提取方法的考察鲜有报道。在各种提取方法中水蒸气蒸馏法(SD)是指将植物原料浸泡在容器中的水中,然后将混合物煮沸的过程,是一种传统而且最为常用的精油获取方式。同时蒸馏萃取(SDE)结合了水蒸气蒸馏与有机萃取两种方法的优点,在少量萃取溶剂存在的条件下便可制得更多的样品,更好地浓缩了香气成分,一定程度上避免了水蒸气蒸馏法提取后收集微量精油时因粘壁而损失的情况。两种方法最主要的区别是SDE法可以将有机蒸汽和样品蒸汽交汇后同时冷凝下来,即在不断的水蒸气蒸馏过程中进行溶剂萃取,对于精油的交换萃取更为彻底。等离子体辅助提取(CPAE)则是一种较为新颖的非热加工提取技术,等离子体是由自由电子、离子、自由基、激发态粒子构成的整体呈电中性的导电流体,含有多种活性物质,主要用于杀菌保藏和组分改性<sup>[7]</sup>,这种准中性电离气体会导致果皮表面蚀刻,这有助于使存在于角质层下方的油腺破裂,便于浸出。Ebadi等<sup>[8]</sup>利用冷等离子体辅助提取柠檬马鞭草精油时,发现短时间的处理柠檬马鞭草对于得率

的提高有着积极的影响,而且一定程度上改变了精油中挥发性成分的种类和含量。虽然近年来我国有文献报道过百里香精油的成分及提取工艺的影响,但是尝试的提取方法多为较常规的溶剂提取、微波提取等<sup>[9-10]</sup>,在百里香精油提取上,对于同时蒸馏萃取和等离子体这种新型非热处理方法辅助提取精油的研究还有待拓展。

本研究采用SD法、SDE法和CPAE法制备百里香精油,综合比较了传统和新兴提取方法对于百里香精油得率、挥发性成分、抗氧化性的影响,考察百里香精油的主要活性物质与抗氧化能力的相关性,旨在获得更为科学有效的方法,为百里香精油的工业生产和综合利用提供理论依据和文献参考。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料与仪器

百里香叶 品种为银叶百里香,产地为广西玉林。样品预处理:用蒸馏水将百里香清洗后,在60℃烘箱中干燥6h,室温冷却后用粉碎机粉碎,然后过60目筛,收集后于干燥阴凉处保存备用。

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、二氯甲烷、氯化钾、三氯化铁、无水乙酸钠、冰醋酸、无水乙醇、甲醇、七水合硫酸亚铁、氢氧化钠、亚硝酸钠、氯化铝、无水碳酸钠 分析纯,西陇科学股份有限公司;福林酚试剂、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;2,4,6-三吡啶基三嗪(TPTZ)、芦丁标准品、没食子酸标准品、2-萘醇标准品、百里香酚标准品、香芹酚标准品均为色谱纯 索莱宝生物科技有限公司。

DZF-6055 鼓风干燥箱 上海一恒科学仪器有限公司;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-三重串联四极杆质谱联用仪 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 冰柜 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; 非平衡性大气压下介质阻挡放电(DBD)冷等离子体系统 实验室自主开发。

## 1.2 实验方法

1.2.1 水蒸气蒸馏法(SD)提取百里香精油 称取 50 g 百里香粉后添加 1000 mL 蒸馏水以及 1% NaCl, 在组装好的挥发油提取器及冷凝装置中煮沸条件下反应 3 h, 提取结束后冷却至室温, 取 10 mL 正己烷把百里香精油萃取出来, 之后添加 3 g Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, 然后置于-18 ℃ 冰箱冷冻 8 h, 滤除固体后旋蒸除去溶剂, 将百里香精油收集备用。

1.2.2 同时蒸馏萃取(SDE)百里香精油 称取 50 g 百里香粉后添加 500 mL 蒸馏水以及 1% NaCl, 在另一个容器中加入 50 mL 二氯甲烷(分析纯)并放入 60 ℃ 的水浴锅中, 通过同时蒸馏萃取装置将两个容器连接起来, 等两边蒸汽都开始冷凝后打开计时器, 提取 3 h 后再把二氯甲烷收集起来并添加适量无水 Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 除去少量水分, 然后置于-18 ℃ 冰箱冷冻 8 h, 滤除固体后旋蒸除去溶剂, 将百里香精油收集备用。

1.2.3 冷等离子体辅助提取(CPAE)百里香精油 称取 50 g 百里香粉放入直径 18 cm, 高度 3 cm 的等离子体反应室中用等离子体处理, 冷等离子体的产生是由非平衡性大气压下介质阻挡放电(DBD)冷等离子体系统实现的, 该反应室由上下两个平面铜电极组成, 电极之间的距离(放电空间)和电极两端的电势(电压)可以根据需要变化。所采用的系统利用大气(O<sub>2</sub>、N<sub>2</sub>)作为等离子体放电的来源, 介质阻挡材料为聚氯乙烯(PVC), 百里香粉在 45 kV 的高压和 50 Hz 的频率处理 5 min 结束, 在原料中添加 1000 mL 蒸馏水以及 1% NaCl, 组装好挥发油提取器及冷凝装置在煮沸条件下反应 3 h, 提取结束待收集管冷却后取 10 mL 正己烷把百里香精油萃取出来, 之后加 3 g Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, 然后置于-18 ℃ 的冰箱冷冻 8 h, 滤除固体后旋蒸除去溶剂, 将百里香精油收集备用。

1.2.4 百里香精油得率的计算

$$\text{百里香精油得率(\%)} = \frac{\text{百里香精油质量(g)}}{\text{百里香质量(g)}} \times 100$$

1.2.5 GC-MS 分析条件

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 6 ℃/min 升温至 240 ℃, 保持 3 min, 再以 10 ℃/min 升温至 280 ℃, 保持 3 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: 20:1。

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 结合标准品进行成分定性, 使用面积归一化法计算百里香精油各组分的相对含量。

1.2.6 总酚、总黄酮、总花青素含量的测定

1.2.6.1 精油中总酚含量的测定 参考文献 [11] 的方法, 将 3 种精油配制为 1 mg/mL 乙醇-精油溶液, 将 0.5 mL 的乙醇-精油溶液与 2.5 mL 的 Foline-Ciocalteu 试剂(用蒸馏水 1:10 稀释)和 2 mL 的 7.5% 碳酸钠溶液在试管中混合, 摇匀。将混合物在 45 ℃ 的热水浴中保持 15 min。由试剂空白作为参比, 在 765 nm 处测量吸光度。以没食子酸(Gallic acid, GA)作为标准品并按上述方法绘制标准曲线, 得到回归方程  $y=9.17619x+0.03195$  ( $R^2=0.99903$ ), 总酚含量以每克精油中没食子酸的毫克数表示。

1.2.6.2 精油中总黄酮含量的测定 参照文献 [12] 的方法, 将三种精油配为 1 mg/mL 乙醇-精油溶液, 吸取 1.0 mL 乙醇-精油溶液于 10 mL 试管中, 加蒸馏水 4.4 mL, 加 5% 亚硝酸钠溶液 0.3 mL, 混匀, 静置 5 min; 再加入 10% 氯化铝溶液 0.3 mL, 摇匀, 静置 6 min; 然后加 4% 氢氧化钠溶液 2.0 mL, 摇匀, 静置 15 min。由试剂空白作为参比, 在 510 nm 处测定吸光度。以芦丁(Rutin)作为标准品并按上述方法绘制标准曲线, 得到回归方程  $y=1.09702x+0.00752$  ( $R^2=0.99979$ ), 总黄酮含量以每克精油中芦丁的毫克数表示。

1.2.6.3 精油中花青素含量的测定 参考文献 [13] 的方法, 将三种精油配成 1 mg/mL 乙醇-精油溶液, 取 1 mL 样品溶液加入到试管中, 然后加入 2 mL 氯化钾缓冲液(pH1.0), 充分混合, 室温下放置 30 min。用蒸馏水作空白调零, 在 510 和 700 nm 下测量混合物的 OD 值。然后样液与乙酸钠缓冲液(pH4.5)类似地合并, 并分别在相同波长下测量这些溶液的吸光度。测量重复 3 次。总花青素含量计算公式如下:

$$C = \frac{A \times V \times n \times M}{\epsilon \times m}$$

$$A = (A_{520} - A_{700})_{\text{pH}1.0} - (A_{520} - A_{700})_{\text{pH}4.5}$$

式中, C 为花青素含量, mg/g; A 为两种缓冲液吸光度的差值; A<sub>520</sub> 表示样品在 520 nm 处测得的吸光度; A<sub>700</sub> 表示样品在 700 nm 处测得的吸光度; V 为精油溶液体积, mL; M 为矢车菊-3-葡萄糖苷的相对分子质量, 449.2; n 为稀释倍数; ε 为摩尔消光系数, 26900(矢车菊素-3-葡萄糖苷的摩尔消光系数); m 为样品质量, g。

1.2.7 DPPH 自由基清除能力测定 参考文献 [14] 的方法, 将 1 mL 精油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 2 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。

1.2.8 ABTS 自由基清除能力测定 参考文献 [15] 的方法,分别用 10 mL 容量瓶配制好 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  $0.70 \pm 0.02$  即得淡绿色的 ABTS 工作液。将 1 mL 精油-无水乙醇稀释液与 3 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。

1.2.9 总抗氧化能力测定(FRAP 法) 参考文献 [16] 的方法测定总抗氧化能力。FRAP 工作液的配置:将 0.3 mol/L 醋酸缓冲溶液(用 1 mol/L HCl 调至 pH3.6)、10 mmol/L 2,4,6-三吡啶基三嗪(TPTZ)盐酸溶液和 20 mmol/L  $FeCl_3$  溶液按 10:1:1 体积比配制,现用现配。分别取 0.2~1.6 mmol/L  $FeSO_4$  0.1 mL,加入 1.8 mL FRAP 工作液和 3.1 mL 的蒸馏水,37 °C 下水浴 30 min,在 593 nm 处测定吸光度,绘制标准曲线,得到回归方程为  $y=0.4990x+0.0223$  ( $R^2=0.9990$ )。分别取 0.1 mL 精油-乙醇溶液(0.2、0.4、0.6、0.8、1.0、1.2 mg/mL),同法处理,用无水乙醇调零,测定吸光度。以抗坏血酸作为阳性对照,样品的总抗氧化能力以 FRAP 值表示,1 FRAP=1 mmol/L  $FeSO_4$ ,即样品的抗氧化能力相当于  $FeSO_4$  浓度。

### 1.3 数据处理

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

## 2 结果与分析

### 2.1 提取方法对精油得率的影响

所有样品的色状均一,呈现淡黄色。不同提取方法下的百里香精油得率如图 1 所示,可以看出在三种提取方法下百里香精油的得率有显著差异( $P<0.05$ ),得率从高到低依次是 SDE(1.30%)>CPAE(1.17%)>SD(0.98%)。本研究中,SDE 法相比 SD 法萃取更为完全,所以提取效果更好,而 CPAE 可能是通过等离子体的作用引起离子和电子的轰击,导致百里香表面的刻蚀,使油腺体破裂,从而提高了得率<sup>[17]</sup>。精油得率受原料生长环境因素和提取方法的影响很大<sup>[18]</sup>。徐世千等<sup>[9]</sup>采用了水蒸气蒸馏法、有机溶剂萃取法和超临界  $CO_2$  萃取法来提取百里香精油,得率在 0.19%~0.27%,其中,超临界  $CO_2$  萃取法的产量最高,但是质量较差,不利于进一步利用。也有研究者优化超高压提取和微波提取百里香精油,最佳条件下得率在 1.04%~1.11% 之间<sup>[19]</sup>。

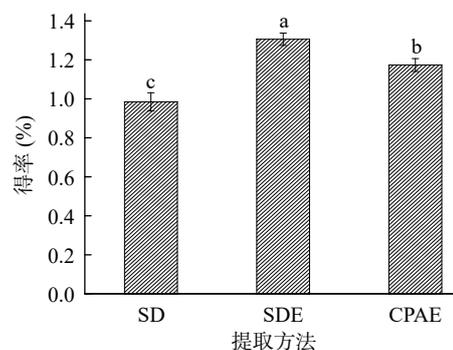


图 1 不同提取方法对百里香精油得率的影响  
Fig.1 Effect of different extraction methods on yield of essential oil from *Thymus vulgaris* L.  
注:不同小写字母表示差异显著( $P<0.05$ )。

### 2.2 提取方法对精油化学成分的影响

2.2.1 百里香精油挥发性成分分析 本实验采用 GC-MS 对三种方法提取的百里香精油进行了挥发性成分分析,结果如表 1 所示,总计鉴定出 36 种化合物,占总成分的 98.670%~99.774%,其中,萜烯化合物含量占总成分的 6.368%~9.976%,醇类化合物含量占总成分的 50.348%~51.575%,酮类化合物含量占总成分的 1.448%~1.744%,酚类化合物占总成分的 30.296%~35.200%,其他化合物占总成分的 4.395%~7.681%。

百里香精油中的主要成分(含量超过 10%)有 4 个,含量最高的是 2-茨醇(32.194%~32.515%),又称为龙脑、冰片,它具有一定清热明目的功效和类似薄荷和胡椒的香气特征<sup>[19]</sup>;其次是香芹酚(17.265%~19.998%)和百里香酚(13.031%~15.202%),它们是从叶绿体中产生的含氧单萜,有着浓郁的麝香味被广泛用于制作香料<sup>[8]</sup>,也是评估百里香精油质量的重要参数;然后是  $\alpha$ -松油醇(11.296%~12.012%),它有着较强的抑菌、抗氧化和驱蚊活性<sup>[20-21]</sup>。百里香精油

表 1 百里香精油成分的 GC-MS 分析  
Table 1 GC-MS analysis of essential oil from *Thymus vulgaris* L.

类别	保留时间(min)	分子式	化合物	相对含量(%)		
				SD	SDE	CPAE
萜烯	10.105	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub>	$\alpha$ -蒎烯( $\alpha$ -Pinene)	0.982±0.052 <sup>a</sup>	0.428±0.023 <sup>b</sup>	0.138±0.071 <sup>c</sup>
	10.518	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub>	莜烯(Camphene)	2.084±0.151 <sup>a</sup>	1.025±0.134 <sup>b</sup>	0.388±0.117 <sup>c</sup>
	11.234	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub>	$\beta$ -蒎烯( $\beta$ -Pinene)	0.221±0.092 <sup>a</sup>	—	—
	11.447	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub>	$\beta$ -月桂烯( $\beta$ -Myrcene)	0.199±0.051 <sup>a</sup>	—	—
	12.216	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub>	$\alpha$ -松油烯( $\alpha$ -Terpinene)	0.230±0.043 <sup>a</sup>	0.168±0.080 <sup>b</sup>	—
	12.544	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub>	柠檬烯(1-Limonene)	0.424±0.053 <sup>a</sup>	0.303±0.021 <sup>b</sup>	0.211±0.074 <sup>c</sup>
	13.318	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub>	$\gamma$ -松油烯( $\gamma$ -Terpinene)	0.953±0.095 <sup>a</sup>	0.596±0.054 <sup>b</sup>	0.395±0.088 <sup>c</sup>
	14.103	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub>	萜品油烯(Terpinolene)	0.193±0.022 <sup>a</sup>	—	—
	21.196	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub>	$\alpha$ -可巴烯( $\alpha$ -Copaene)	0.205±0.051 <sup>a</sup>	0.209±0.028 <sup>a</sup>	0.181±0.034 <sup>b</sup>
	22.242	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub>	$\beta$ -石竹烯( $\beta$ -Caryophyllene)	3.615±0.021 <sup>a</sup>	3.507±0.033 <sup>b</sup>	3.61±0.028 <sup>a</sup>
	22.968	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub>	$\alpha$ -律草烯( $\alpha$ -Caryophyllene)	0.024±0.005 <sup>b</sup>	0.183±0.004 <sup>a</sup>	0.187±0.011 <sup>a</sup>
	23.353	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub>	$\alpha$ -依兰油烯( $\alpha$ -Muuroleone)	—	—	0.166±0.056 <sup>a</sup>
	23.825	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub>	4,9-依兰油二烯(4,9-Muuroadiene)	—	—	0.187±0.031 <sup>a</sup>
	24.163	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub>	$\gamma$ -杜松烯( $\gamma$ -Cadinene)	0.410±0.022 <sup>b</sup>	0.407±0.019 <sup>b</sup>	0.439±0.031 <sup>a</sup>
24.29	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub>	$\delta$ -杜松烯( $\delta$ -Cadinene)	0.436±0.043 <sup>b</sup>	0.425±0.021 <sup>c</sup>	0.466±0.018 <sup>a</sup>	
			萜烯总含量	9.976	7.251	6.368
醇类	14.113	C <sub>10</sub> H <sub>18</sub> O	二氢香芹醇(Cyclohexanol)	—	0.165±0.085 <sup>a</sup>	0.154±0.089 <sup>a</sup>
	14.322	C <sub>10</sub> H <sub>18</sub> O	芳樟醇(Linoolol)	2.507±0.031 <sup>b</sup>	2.566±0.022 <sup>a</sup>	2.491±0.046 <sup>c</sup>
	16.259	C <sub>10</sub> H <sub>18</sub> O	2-茨醇(Borneol)	32.194±0.014 <sup>a</sup>	32.515±0.029 <sup>a</sup>	32.465±0.021 <sup>b</sup>
	16.458	C <sub>10</sub> H <sub>18</sub> O	4-萜品醇(4-Terpinol)	2.058±0.017 <sup>a</sup>	1.799±0.013 <sup>c</sup>	1.846±0.020 <sup>b</sup>
	16.618	C <sub>10</sub> H <sub>18</sub> O	侧柏醇(Thujyl alcohol)	0.444±0.023 <sup>c</sup>	0.513±0.025 <sup>b</sup>	0.636±0.013 <sup>a</sup>
	16.787	C <sub>10</sub> H <sub>18</sub> O	$\alpha$ -松油醇( $\alpha$ -Terpinol)	11.296±0.011 <sup>c</sup>	12.012±0.007 <sup>a</sup>	11.862±0.020 <sup>b</sup>
	25.546	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub> O	斯巴醇(Spathulenol)	—	—	0.19±0.025 <sup>a</sup>
	26.228	C <sub>15</sub> H <sub>26</sub> O	库贝醇(Cubenol)	—	—	0.221±0.061 <sup>a</sup>
	26.7	C <sub>15</sub> H <sub>26</sub> O	T-杜松醇(T-Cadinol)	1.651±0.046 <sup>a</sup>	0.643±0.033 <sup>b</sup>	1.448±0.029 <sup>a</sup>
	26.986	C <sub>15</sub> H <sub>26</sub> O	$\alpha$ -杜松醇( $\alpha$ -Cadinol)	0.198±0.031 <sup>b</sup>	0.163±0.022 <sup>c</sup>	0.262±0.017 <sup>a</sup>
			醇类总含量	50.348	50.376	51.575
酮类	15.699	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub> O	樟脑(Camphor)	1.473±0.016 <sup>a</sup>	1.448±0.012 <sup>b</sup>	1.476±0.018 <sup>a</sup>
	16.947	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub> O	二氢香芹酮(Cyclohexanone)	—	—	0.268±0.013 <sup>a</sup>
			酮类总含量	1.473	1.448	1.744
酚类	19.05	C <sub>10</sub> H <sub>14</sub> O	百里香酚(Thymol)	13.031±0.081 <sup>b</sup>	15.202±0.098 <sup>a</sup>	15.159±0.052 <sup>a</sup>
	19.321	C <sub>10</sub> H <sub>14</sub> O	香芹酚(Carvacrol)	17.265±0.241 <sup>b</sup>	19.998±0.132 <sup>a</sup>	19.914±0.097 <sup>a</sup>
				酚类总含量	30.296	35.200
其他	12.434	C <sub>10</sub> H <sub>14</sub>	对聚伞花烃(p-Cymene)	2.735±0.048 <sup>a</sup>	1.590±0.079 <sup>b</sup>	0.982±0.076 <sup>c</sup>
	17.729	C <sub>11</sub> H <sub>18</sub> O <sub>2</sub>	甲酸异茨酯(Sobornyl formate)	0.275±0.024 <sup>a</sup>	0.292±0.021 <sup>a</sup>	0.306±0.027 <sup>a</sup>
	17.958	C <sub>11</sub> H <sub>16</sub> O	2-异丙基-1-甲氧基-4-甲基苯(2-Isopropyl-1-methoxy-4-methylbenzene)	1.166±0.011 <sup>a</sup>	1.127±0.014 <sup>a</sup>	1.127±0.019 <sup>a</sup>
	25.702	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub> O	石竹素(Caryophyllene oxide)	1.29±0.021 <sup>c</sup>	1.386±0.026 <sup>b</sup>	1.621±0.028 <sup>a</sup>
	26.15	C <sub>15</sub> H <sub>26</sub> O	香橙烯氧化物2(Aromadendrene oxide-2)	—	—	0.174±0.029 <sup>a</sup>
	27.083	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub> O	异香橙烯环氧化物(Isoaromadendrene epoxide)	—	—	0.348±0.036 <sup>a</sup>
	39.866	C <sub>27</sub> H <sub>54</sub>	正二十七烷(Heptacosane)	2.215±0.041 <sup>a</sup>	—	—
			其他总含量	7.681	4.395	4.558
			合计	99.774	98.670	99.318

注: “—”表示未检出;同行中不同字母表示差异显著( $P < 0.05$ )。

是这些高含量化合物的天然来源。与已发表的报道相比,本研究百里香精油的挥发性成分中,2-茨醇代替百里香酚成为精油中含量最高的组分,这种差异主要是由于原料产地和生长条件的不同而导致的。Miguel 等<sup>[22]</sup>的研究也给出了较为接近的结果,观察

到不同采收期、采集地的百里香精油的 2-茨醇含量在 10.7%~30.8% 范围内, Borges 等<sup>[23]</sup>也发现百里香精油(原料产地为巴西)的挥发性成分中以 2-茨醇为主要化合物,而更多文献显示出用该品种百里香所提的精油其百里香酚含量在 39.5%~71.29% 之间,占据

主导地位, 2-茨醇含量则在 1.19%~2.14% 之间<sup>[11,24]</sup>。在其他组分中, p-聚伞花烃和  $\gamma$ -蒎烯是所有百里香品种都具有的成分, 也有研究者报道  $\gamma$ -蒎烯可以通过中间产物 p-聚伞花烃来合成百里香酚<sup>[25-26]</sup>。

研究表明, 提取参数中的许多因素, 如温度、时间、提取过程的类型以及原料产出的地点、土壤成分、湿度、海拔等许多其他环境因素都会影响精油的含量和组成<sup>[27]</sup>。三种方法在成分上所表现出的差异可以归因于 SDE 法中有机蒸汽与样品蒸汽可以进行更彻底的交换和萃取, 从而获取更多有效成分; 而在 CPAE 法中等离子体的应用会产生活性物质和自由基, 可能导致精油化合物的氧化降解或异构化<sup>[17]</sup>。

总体而言, 与传统的 SD 法相比, SDE 法和 CPAE 法得到更高的 2-茨醇、百里香酚和香芹酚含量, 精油质量更高。

### 2.2.2 百里香精油总酚、总黄酮、花青素含量分析

目前为止进行的研究已经证实, 百里香不仅被认为是酚类和类黄酮的重要来源, 而且还具有作为天然抗氧化剂的前景<sup>[11]</sup>。总酚、总黄酮和花青素含量是广泛用于评估样品中抗氧化活性的重要指标。不同提取方法得到的百里香精油抗氧化活性含量如表 2 所示, 水蒸气蒸馏法相比其他方法总酚当量最低, 只有 129.51 mg 没食子酸当量, SDE 法的精油总酚含量最高, 可达 133.67 mg 没食子酸当量, 但两者并无显著差异 ( $P>0.05$ )。这与 GC-MS 结果分析里三种样品酚类含量的比较结果相一致。总黄酮的含量在 47.53~54.82 mg Rutin/g EO 之间, SDE 法与 CPAE 法得到的精油在总黄酮含量上有显著差异 ( $P<0.05$ )。花青素的含量在 0.08~0.32 mg/g EO, 其中, SDE 法提取的百里香精油中含量最高, 其次是 CPAE 法和 SD 法, 而且 SDE 法与其他方法相比有显著性差异 ( $P<0.05$ )。

表 2 百里香精油中总酚、总黄酮、花青素含量

Table 2 Contents of total phenols, flavonoids and anthocyanins in *Thymus vulgaris* L. essential oil

提取方法	总酚(mg GA/g EO)	总黄酮(mg Rutin/g EO)	花青素(mg/g EO)
SD	129.51±1.47 <sup>a</sup>	51.49±5.28 <sup>ab</sup>	0.08±0.02 <sup>b</sup>
SDE	133.67±0.20 <sup>a</sup>	47.53±4.75 <sup>b</sup>	0.32±0.02 <sup>a</sup>
CPAE	130.50±0.99 <sup>a</sup>	54.82±4.96 <sup>a</sup>	0.11±0.01 <sup>b</sup>

注: 同一列不同字母表示差异显著 ( $P<0.05$ )。

## 2.3 提取方法对精油抗氧化活性的影响

### 2.3.1 百里香精油对 DPPH 自由基的清除能力

DPPH 自由基清除活性测试是最常用的抗氧化活性评估方法<sup>[28]</sup>。由图 2 可以看出, 在 0.5~5 mg/mL 浓度范围内, 随着浓度的增大, 三种精油对 DPPH 自由基都有着良好的清除能力, 呈现出明显的量效关系。SDE 法提取的精油在 2 mg/mL 时清除率便可达到 95% 以上, 此时已接近同浓度  $V_C$  的清除活性, 但总体上抗氧化活性要弱于  $V_C$ 。SDE 法、CPAE 法、SD 法精油的  $IC_{50}$  分别为 0.57、0.86、1.28 mg/mL, 所以 DPPH 抗氧化活性排序为: SDE>CPAE>SD。

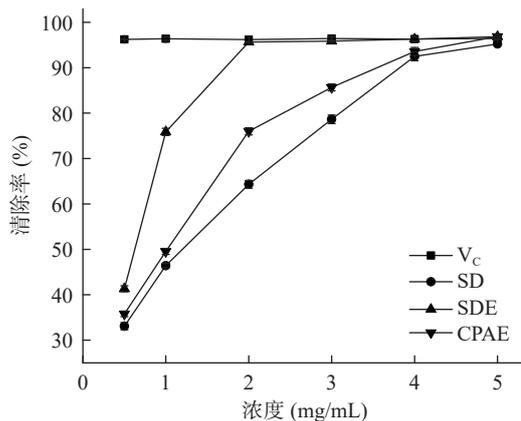


图 2 百里香精油对 DPPH 自由基的清除能力

Fig.2 Scavenging activity of *Thymus vulgaris* L. essential oil on DPPH free radicals

不同精油间抗氧化性的差异可能归因于酚类化合物含量的不同<sup>[29]</sup>。因此, 表现出较高抗氧化活性的精油其总酚含量可能更高。近年来, 百里香精油的抗氧化能力已经得到深入研究。百里香精油里富含的百里香酚和香芹酚与它们较高的自由基清除活性密切相关<sup>[27]</sup>。酚类化合物的抗氧化原理可以解释为由于其化学结构允许它们向自由基供氢, 从而使自由基被还原。此外, 由单萜酚和倍半萜组成的精油已被认为具有更高的抗氧化能力<sup>[30]</sup>。

2.3.2 百里香精油对 ABTS 自由基的清除能力 由图 3 可知, 在 0.02~1 mg/mL 浓度范围内, 随着浓度的增大, 三种精油对 ABTS 自由基都有着良好的清除能力, 呈现出明显的量效关系。SDE 法提取的精油在 1 mg/mL 时已接近同浓度  $V_C$  的清除活性, CPAE 法相比 SD 法抗氧化效果略有提高, 但差距并不明显。SDE 法、CPAE 法、SD 法精油的  $IC_{50}$  分别为 0.018、0.022、0.028 mg/mL, 所以 ABTS 抗氧化活性排序为: SDE>CPAE>SD。Mayara 等<sup>[31]</sup>也报道了百里香精油极强的 ABTS 自由基清除活性, 除此之外还研究了百里香精油主要挥发性成分的单体抗氧化性, 发现只有百里香酚和香芹酚具有高效清除自

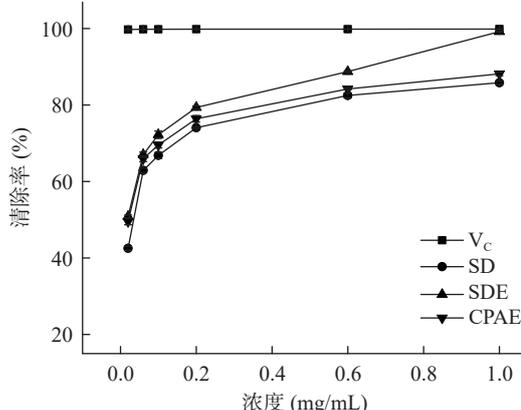


图 3 百里香精油对 ABTS 自由基的清除能力

Fig.3 Scavenging activity of *Thymus vulgaris* L. essential oil on ABTS free radicals

由基的功能(IC<sub>50</sub> 分别为 3.7 μg/mL 和 3.4 μg/mL), 而单体松油烯和芳樟醇并没有表现出抗氧化活性。也有报道称 α-松油醇对于 ABTS 自由基也具有可观的清除效果<sup>[32]</sup>。总体而言, 百里香精油对 ABTS 自由基的清除活性主要来自其酚类物质。

2.3.3 百里香精油总抗氧化能力 金属离子的存在会加速活性氧化物的形成同时激发氧化反应的产生。将金属离子还原可以阻止这一反应并提供氧化稳定性<sup>[33]</sup>。因此, 本实验采用铁离子还原法测定百里香精油的还原能力。由图 4 可知, 在 0.2~1.2 mg/mL 浓度范围内, V<sub>C</sub> 和百里香精油的总抗氧化能力呈明显的剂量依赖效应, V<sub>C</sub> 的 FRAP 值在 2.795~5.593 mmol/L 之间, 三种方法所得精油的总抗氧化能力没有明显的差异, 其中, SDE 法的精油 FRAP 值在 0.275~1.053 mmol/L 范围内, 相比 SD 法(0.244~1.022 mmol/L)和 CPAE 法(0.283~0.998 mmol/L)精油的 FRAP 值略高。总抗氧化能力顺序为: SDE > SD > CPAE。百里香的高还原力与其百里香酚和香芹酚的含量有着密切关系, 主要是由于芳香环上的羟基具有很强的供氢能力<sup>[34]</sup>。

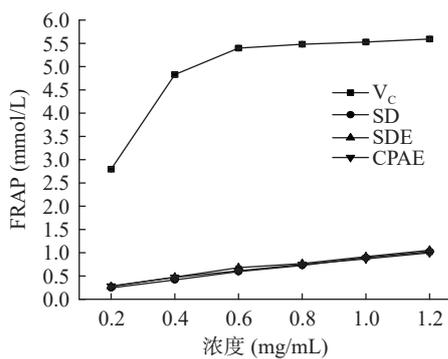


图 4 百里香精油总抗氧化能力

Fig.4 Total antioxidant capacity of *Thymus vulgaris* L. essential oil

2.3.4 百里香精油的化学成分与抗氧化性相关性分析 精油的生物活性组分与其抗氧化性之间有着明

显的相关性<sup>[35]</sup>。如表 3 所示, DPPH 自由基清除能力与总酚呈显著性正相关( $P < 0.05$ ), 与 2-茨醇、百里香酚、香芹酚、α-松油醇含量呈极显著正相关( $P < 0.01$ ), 相关系数分别为 0.838、0.818、0.820、0.843, 可见这几种成分是百里香精油中清除 DPPH 自由基的关键物质。ABTS 自由基清除能力与 2-茨醇、α-松油醇含量呈显著正相关( $P < 0.05$ ), 与花青素含量呈极显著正相关( $P < 0.01$ ), 相关系数达到了 0.990, 可知 2-茨醇、α-松油醇和花青素在清除 ABTS 自由基时起到重要作用。总抗氧化能力与总酚含量呈极显著正相关( $P < 0.01$ ), 相关系数为 0.821。除此之外, 可以看出百里香酚和香芹酚的含量呈现出极强的相关性, 而且香芹酚含量高的精油, 百里香酚含量也较高, 这可能是因为它们之间具有生物合成关系, Thompson 等<sup>[36]</sup>的研究也得出了与本文类似的结果。经过 Pearson 相关性分析也进一步证实, 百里香精油的抗氧化活性与酚类物质的含量密切相关。

### 3 结论

本研究采用 SD 法、SDE 法和较为新颖的 CPAE 法制得了三种百里香精油, 从得率上看, CPAE 法比 SD 法有了一定的提高, 但 SDE 法可以在同样的时间里获得最多的精油且有着显著差异( $P < 0.05$ )。通过 GC-MS 分析了三种百里香精油的挥发性成分, 共鉴定出了 36 种组分, 组分和含量上三种精油有着一定差异, 在主要活性成分上 SDE 法和 CPAE 法都展现出比 SD 法更高的含量。对百里香精油进行了总酚、总黄酮和花青素含量的测定, SDE 法的精油中三种活性物质也呈现出较高的含量, 这与三种精油的 GC-MS 分析结果中酚类物质的含量水平相一致。三种精油对于 DPPH、ABTS 自由基都有很强的清除能力, 也具有一定的总抗氧化能力。总体上来说, 三种精油的抗氧化能力顺序为 SDE > CPAE > SD。通过活性成分和抗氧化能力的相关性分析表明, 百里香精油的自由基清除能力与酚类物质的含量呈现很强的正相关性。综合来看, SDE 法不论是在品质和效

表 3 不同方法提取的百里香精油抗氧化性与主要化学成分的相关系数

Table 3 Correlation coefficients between antioxidant activity and main chemical components of essential oil extracted by different methods

	总酚	总黄酮	花青素	2-茨醇	百里香酚	香芹酚	α-松油醇	DPPH	ABTS	总抗氧化力
总酚	1									
总黄酮	-0.018	1								
花青素	0.487	-0.749*	1							
2-茨醇	0.410	-0.171	0.695*	1						
百里香酚	0.369	-0.058	0.598	0.992**	1					
香芹酚	0.373	-0.067	0.606	0.993**	1.000**	1				
α-松油醇	0.425	-0.218	0.733*	0.999**	0.983**	0.985**	1			
DPPH	0.698*	-0.145	0.665	0.838**	0.818**	0.820**	0.843**	1		
ABTS	0.496	-0.702*	0.990**	0.737*	0.645	0.653	0.773*	0.679*	1	
总抗氧化力	0.821**	-0.425	0.603	0.153	0.061	0.068	0.191	0.471	0.59	1

注: \*在0.05水平上(双尾), 显著相关; \*\*在0.01水平上(双尾), 极显著相关。

率上都是制备百里香精油的最优方法。百里香精油作为有前景的天然抗氧化剂,如何开发出更加安全、稳定的递送载体从而更广泛、高效地应用于食品和医疗事业将会是未来研究的重点。

### 参考文献

- [1] 李玉邯,陈宇飞,杨柳,等.百里香精油在食品中开发应用的研究进展[J].*粮食与油脂*,2017,30(12):1-3. [LI Y H, CHEN Y F, YANG L, et al. Research progress in the development and application of thyme essential oil in food[J]. *Cereals & Oils*, 2017, 30(12): 1-3.]
- [2] 尹思,梁明霞,屈宇,等.我国百里香属植物资源研究[J].*中国野生植物资源*,2020,39(10):78-84. [YIN S, LIANG M X, QU Y, et al. Genetic resources of thymus in China[J]. *Chinese Wild Plant Resources*, 2020, 39(10): 78-84.]
- [3] 施建群,王全林.百里香中8种金属元素的火焰原子吸收法测定[J].*宁夏大学学报(自然科学版)*,2001,22(1):57-59. [SHI J Q, WANG Q L. Determination of eight metal elements in *Thymus serpyllum* L. by flame atomic absorption spectrophotometry[J]. *Journal of Ningxia University (Natural Science Edition)*, 2001, 22(1): 57-59.]
- [4] 张继,田玉汝,刘忠旺,等.百里香属植物研究进展[J].*北方园艺*,2010,34(1):226-228. [ZHANG J, TIAN Y R, LIU Z W, et al. Research advances on thymus[J]. *Northern Horticulture*, 2010, 34(1): 226-228.]
- [5] 裴海闰,韩笑,曹学丽.百里香精油的成分分析及其抗氧化和抑菌活性评价[J].*中国食品学报*,2011,11(5):182-188. [PEI H R, HAN X, CAO X L. Analysis of the components of thymus essential oil and its antioxidant and antibacterial activity[J]. *Journal of Chinese Institute of Food Science and Technology*, 2011, 11(5): 182-188.]
- [6] GIACOMETTI J, KOVACEVIC D B, PUTNIK P, et al. Extraction of bioactive compounds and essential oils from mediterranean herbs by conventional and green innovative techniques: A review[J]. *Food Research International*, 2018, 113: 245-262.
- [7] 相启森,刘秀妨,刘胜男,等.大气压冷等离子体技术在食品工业中的应用研究进展[J].*食品工业*,2018,39(7):267-271. [XIANG Q S, LIU X F, LIU S N, et al. Recent research progress on application of atmospheric cold plasma technology in food industry[J]. *The Food Industry*, 2018, 39(7): 267-271.]
- [8] EBADI M T, ABBASI S, HAROUNI A, et al. Effect of cold plasma on essential oil content and composition of lemon verbena[J]. *Food Science & Nutrition*, 2019, 7(4): 1166-1171.
- [9] 徐世千,李晓东,张建国.不同方法提取组培百里香精油质量及成分的比较分析[J].*植物科学学报*,2013,31(6):609-615. [XU S Q, LI X D, ZHANG J G. Comparative analysis of essential oil quality and composition from tissue culture seedlings of *Thymus vulgaris* L. using different extraction methods[J]. *Plant Science Journal*, 2013, 31(6): 609-615.]
- [10] 闫红秀,敬雪敏,刘香萍.微波法提取兴安百里香精油及其主要组分活性研究[J].*林产化学与工业*,2019,39(5):121-128. [YAN H X, JING X M, LIU X P. Extraction of *Thymus dahuricus* Serg. essential oil by microwave method and activity of its main components[J]. *Chemistry and Industry of Forest Products*, 2019, 39(5): 121-128.]
- [11] BEHNAZ T, MEHDI R, AHMAD A. Essential oil composition, total phenolic, flavonoid contents, and antioxidant activity of *Thymus* species collected from different regions of Iran[J]. *Food Chemistry*, 2017, 220(1): 153-161.
- [12] JIA Z, TANG M, WU J. The determination of flavonoid contents in mulberry and their scavenging effects on superoxide radicals[J]. *Food Chemistry*, 1999, 64(4): 555-559.
- [13] 王玉书,赵爽,张琳,等.羽衣甘蓝花青素的定位及含量成分测定[J].*中国农业大学学报*,2020,25(11):45-53. [WANG Y S, ZHAO S, ZHANG L, et al. Location, content and composition determination of anthocyanin in kale[J]. *Journal of China Agricultural University*, 2020, 25(11): 45-53.]
- [14] 薛山.不同提取方法下紫苏叶精油成分组成及抗氧化功效研究[J].*食品工业科技*,2016,37(19):67-74. [XUE S. Research of the composition and antioxidant activity of essential oil from *Folium Perillaes* extracted by different methods[J]. *Science and Technology of Food Industry*, 2016, 37(19): 67-74.]
- [15] 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.]
- [16] NETZEL M, NETZEL G, TIAN Q, et al. Sources of antioxidant activity in Australian native fruits. Identification and quantification of anthocyanins[J]. *Journal of Agricultural & Food Chemistry*, 2006, 54(26): 9820-9826.
- [17] CHINNASWAMY A, PRAGNA C H, GRACY T, et al. Effects of microwave and cold plasma assisted hydrodistillation on lemon peel oil extraction[J]. *International Journal of Food Engineering*, 2019, 15(10): 20190093-20190093.
- [18] LLORENS L, LLORENS-MOLINA J A, AGNELLO S, et al. Geographical and environment-related variations of essential oils in isolated populations of *Thymus richardii* Pers. in the Mediterranean basin[J]. *Biochemical Systematics & Ecology*, 2014, 56: 246-254.
- [19] 王娣,程柏,丁莉,等.百里香精油的提取工艺及化学成分分析[J].*中国调味品*,2019,44(7):76-80,94. [WANG D, CHENG B, DING L, et al. Extraction technology and chemical composition analysis of thyme essential oil[J]. *China Condiment*, 2019, 44(7): 76-80,94.]
- [20] 欧阳秋丽,刘洋梅,陈悦,等. $\alpha$ -松油醇对指状青霉抑霉唑抗性菌株 Pdw03 的抑制作用[J].*食品科学*,2022,43(7):8-13. [OUYANG Q L, LIU Y M, CHEN Y, et al. Antifungal action of  $\alpha$ -terpineol on imazalil-resistant *Penicillium digitatum* Pdw03[J]. *Food Science*, 2022, 43(7): 8-13.]
- [21] 章斌,侯小楨,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.]
- [22] MIGUEL M, DUARTE J, FIGUEIREDO A, et al. *Thymus carnosus* Boiss: Effect of harvesting period, collection site and type

- of plant material on essential oil composition[J]. *Journal of Essential Oil Research*, 2005, 17(4): 422–426.
- [ 23 ] BORGES A M, PEREIRA J, CARDOSO M G, et al. Determination of essential oils of basil (*Ocimum gratissimum* L.), oregano (*Ocimum gratissimum* L.) and thyme (*Thymus vulgaris* L.)[J]. *Revista Brasileira De Plantas Medicinai*s, 2011, 14(4): 656–665.
- [ 24 ] ANETA W, MONIKA G, DOROTA J. Comparison of the chemical composition of essential oils isolated by water-steam distillation and hydrodistillation from garden thyme (*Thymus vulgaris* L.)[J]. *Journal of Essential Oil Bearing Plants*, 2016, 19(4): 832–842.
- [ 25 ] RUSSO M, GALLETI G C, BOCCHINI P, et al. Essential oil chemical composition of wild populations of Italian oregano spice (*Origanum vulgare* ssp. *hirtum* (Link) Ietswaart): A preliminary evaluation of their use in chemotaxonomy by cluster analysis. 1. inflorescences[J]. *Journal of Agricultural & Food Chemistry*, 1998, 46(9): 3741–3746.
- [ 26 ] CROCOLL C, ASBACH J, NOVAK J, et al. Terpene synthases of oregano (*Origanum vulgare* L.) and their roles in the pathway and regulation of terpene biosynthesis[J]. *Plant Molecular Biology*, 2010, 73(6): 587–603.
- [ 27 ] GEDIKOĞLU A, SÖKMEN M, ÇIVIT A. Evaluation of *Thymus vulgaris* and *Thymbra spicata* essential oils and plant extracts for chemical composition, antioxidant, and antimicrobial properties[J]. *Food Science & Nutrition*, 2019, 7(5): 1704–1714.
- [ 28 ] BAHARFAR R, AZIMI R, MOHSENI M. Antioxidant and antibacterial activity of flavonoid-, polyphenol- and anthocyanin-rich extracts from *Thymus kotschyanus* boiss & hohen aerial parts [J]. *Journal of Food Science & Technology*, 2015, 52(10): 6777–6783.
- [ 29 ] YU Xiuting, YANG Ting, QI Qianqian, et al. Comparison of the contents of phenolic compounds including flavonoids and antioxidant activity of rice (*Oryza sativa*) and Chinese wild rice (*Zizania latifolia*) [J]. *Food Chemistry*, 2020: 128600.
- [ 30 ] EMILIA M, FEDERICA S, DONATO D M, et al. Studies on chemical composition, antimicrobial and antioxidant activities of five *Thymus vulgaris* L. essential oils[J]. *Molecules*, 2015, 20(7): 12016–12028.
- [ 31 ] MAYARA F L, MARIANA F L, HENRIQUE P P, et al. Seasonal variation affects the composition and antibacterial and antioxidant activities of *Thymus vulgaris* [J]. *Industrial Crops & Products*, 2017, 95(1): 543–548.
- [ 32 ] YANG Mei, LI Rong, WANG Ying, 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.
- [ 33 ] BRANIMIR P, NEMANJA T, GOKHAN Z, et al. Antioxidant and enzyme-inhibitory activity of peppermint extracts and essential oils obtained by conventional and emerging extraction technique[J]. *Food Chemistry*, 2020, 338: 127724.
- [ 34 ] INESS J-K, INESS B, KAMEL M, et al. Research on the phenolic compounds and antioxidant activities of Tunisian *Thymus capitatus* [J]. *Journal of Functional Foods*, 2012, 4(3): 661–669.
- [ 35 ] 旷慧, 王金玲, 姚丽敏, 等. 6 种东北地区红树莓果渣提取物的抗氧化活性差异[J]. *食品科学*, 2016, 37(1): 63–68. [ KUANG H, WANG J L, YAO L M, et al. Antioxidant capacities of six varieties of red raspberry pomace extracts in northeast China[J]. *Food Science*, 2016, 37(1): 63–68. ]
- [ 36 ] THOMPSON J D, CHALCHAT J C, MICHET A, et al. Qualitative and quantitative variation in monoterpene co-occurrence and composition in the essential oil of *Thymus vulgaris* chemotypes [J]. *Journal of Chemical Ecology*, 2003, 29(4): 859–880.