DOI: 10.19812/j.cnki.jfsq11-5956/ts.20250918003
引用格式: 李梅琴, 殷思萌, 于丹瑾, 等. 超临界二氧化碳萃取法提取香青兰挥发油及其抗氧化活性研究[J]. 食品安全质量检测学报, 2026, 17(3): 111–118.
LI MQ, YIN SM, YU DJ, *et al*. Study on the extraction of volatile oil from *Dracocephalum moldavica* L. by supercritical carbon dioxide and its antioxidant activity [J]. Journal of Food Safety & Quality, 2026, 17(3): 111–118. (in Chinese with English abstract).

超临界二氧化碳萃取法提取香青兰挥发油及其抗氧化活性研究

李梅琴, 殷思萌, 于丹瑾, 杨佳欣, 陈西蕾, 范 蕊*
(新疆维吾尔自治区科技资源共享服务中心, 新疆特色功能食品营养与安全检测重点实验室, 乌鲁木齐 830011)

摘 要: 目的 探究香青兰(*Dracocephalum moldavica* L.)挥发油成分组成及抗氧化能力, 明确其活性物质基础与应用潜力。**方法** 采用超临界二氧化碳萃取法提取香青兰挥发油, 通过气相色谱三重四极杆质谱联用仪对挥发油系统性解析, 同时进行峰面积归一化法计算各成分的百分含量。采用 1,1-二苯基-2-三硝基苯肼(1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl, DPPH)自由基、2,2-联氨-双(3 乙基苯并噻唑啉-6-磺酸)[2,2'-azinobis-(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid), ABTS]阳离子自由基清除法对香青兰挥发油体外抗氧化能力进行测试。**结果** 利用气相色谱-三重四极杆质谱联用仪从香青兰挥发油共鉴定出 24 种化合物, 其中脂肪酰胺类 ER 芥酸酰胺占比最高, 酯类化合物种类最多。进一步对挥发油进行体外抗氧化活性研究, 表明其对 DPPH 自由基、ABTS 阳离子自由基均具有一定的清除效果, 且 ABTS 阳离子自由基清除能力[半数抑制浓度(median inhibition concentration, IC_{50})=1.44 mg/mL]优于 DPPH 自由基清除能力 IC_{50}=2.58 mg/mL。通过沃德聚类(Ward)分析发现, ER 芥酸酰胺含量越高, 挥发油抗氧化活性越强, 经统计验证 F=242 且(P<0.001), 表明三群间的 IC_{50} 差异极显著, 呈现出抗氧化活性从强到弱的梯度变化特征。**结论** 该研究不仅突破了传统提取工艺的局限性, 还明确了香青兰挥发油具有显著的体外抗氧化活性, 为香青兰挥发油的后续深入研究与产业化加工利用提供了坚实的科学依据及可靠的数据支持。

关键词: 香青兰; 超临界二氧化碳萃取; 气相色谱-三重四极杆质谱法; 抗氧化活性; 成分分析

Study on the extraction of volatile oil from *Dracocephalum moldavica* L. by supercritical carbon dioxide and its antioxidant activity

LI Mei-Qin, YIN Si-Meng, YU Dan-Jin, YANG Jia-Xin, CHEN Xi-Lei, FAN Rui*
(*Uygur Autonomous Region Science and Technology Resources Sharing Service Centre*, *Xinjiang Key Laboratory of Specialty Functional Food Nutrition and Safety Testing*, *Urumqi* 830011, *China*)

收稿日期: 2025-09-18
基金项目: 新疆维吾尔自治区公益性科研院所基本科研业务经费资助项目(KY2024150)
第一作者: 李梅琴(1995—), 女, 中级实验师, 主要研究方向为天然产物成分分析。E-mail: 1319963617@qq.com
***通信作者:** 范蕊(1990—), 女, 硕士, 高级实验师, 主要研究方向为天然产物分析、食品微生物研究。E-mail: 3047665049@qq.com

ABSTRACT: Objective To investigate the composition of the volatile oil of *Dracocephalum moldavica* L. and its antioxidant capacity, and clarify the active substance basis and application potential of this plant. **Methods** The volatile oil of *Dracocephalum moldavica* L. was extracted by supercritical carbon dioxide extraction method. The volatile oil was systematically analyzed by gas chromatography triple quadrupole mass spectrometry. The percentage content of each component was calculated by peak area normalization method. The *in vitro* antioxidant capacity of the volatile oil of *Dracocephalum moldavica* L. was tested by cationic free radical scavenging methods, such as 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) and 2,2'-azinobis-(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) ($ABTS^+$). **Results** Using a gas chromatography-triple quadrupole mass spectrometry instrument, 24 kinds of compounds were identified from the volatile oil of *Dracocephalum moldavica* L. Among them, the fatty amide type ER erucic acid amide accounted for the highest proportion, and the types of ester compounds were the most numerous. Further *in vitro* antioxidant activity studies were conducted on the volatile oil, indicating that it had certain scavenging effects on DPPH free radicals and ABTS cationic free radicals, and the ABTS cationic free radicals scavenging ability [(median inhibition concentration, IC_{50})=1.44 mg/mL] was superior to that of DPPH (IC_{50}=2.58 mg/mL). Through Ward clustering analysis, it was found that the higher the content of ER erucic acid amide, the stronger the antioxidant activity of the volatile oil. Statistical verification showed F=242 and (P<0.001), indicating that the differences in IC_{50} values among the 3 groups were extremely significant, presenting a gradient change characteristic of antioxidant activity from strong to weak. **Conclusion** This research not only overcame the limitations of traditional extraction methods, but also clearly demonstrate that the volatile oil of *Dracocephalum moldavica* L. has significant *in vitro* antioxidant activity. It provides a solid scientific basis and reliable data support for the subsequent in-depth research and industrial processing and utilization of the volatile oil of *Dracocephalum moldavica* L..

KEY WORDS: *Dracocephalum moldavica* L.; supercritical carbon dioxide extraction; gas chromatography-triple quadrupole mass spectrometry; antioxidant activity; component analysis

0 引 言

香青兰(*Dracocephalum moldavica* L.)是我国特有的香料植物，唇形科青兰属植物，是新疆维吾尔族常用药，维吾尔名为巴迪然吉布亚[1]，其主要产地为新疆[2]，是药食一体，香青兰的干燥成熟果实香青兰子，也为维吾尔医习用药材，是诸多成方制剂的主要药味[3]，具有双补心脑、爽心悦志、镇痛止咳的功能，用于心脏虚弱，心律不齐，各种伤寒等[4−5]，主要化学成分为挥发油、多糖、萜类、黄酮类、氨基酸、微量元素，具有保护心脑血管、抗动脉粥样硬化、防哮喘、清热解毒、活血通络、抗氧化[6]、调节血脂异常等多种药理作用，且香青兰为维吾尔人民的民间广泛用于抗菌、抗病毒、抗过敏等多种药理作用[7−8]。国内对香青兰中挥发油、黄酮类、三萜类、微量元素、多糖等成分的含量进行了测量，香青兰的研究主要集中在化合物的分离鉴定以及总提物、总部位的药效学研究等方面，采用超临界二氧化碳萃取技术进行抗氧化研究鲜少报道[9−11]。该技术有着高效、环保、无溶剂残留等优势[12]，在提取挥发油工艺中运用广泛，相比较采用水蒸馏、索氏抽提等方法中工艺烦琐且有机试剂在应用及推广中存在一定困难，目前研究以总黄酮、多糖为目标物进行抗氧化活性研究分析，在挥发油提取研究上较少，且挥发油可以作为一种天然的抗氧化剂，为香青兰通过超临界二氧化碳萃取法进行清除自由基、抗氧化能力及成分分析的研究进一步奠定基础。

本研究选取本地种植香青兰品种，采用超临界二氧化碳萃取法提取挥发油，避免传统提取工艺效率低、热敏性成分易降解等问题，在保护有效挥发成分、提取率以及提取时间等方面有着显著优势，通过气相色谱-三重四极杆质谱联用仪定性分析其成分，同时进行体外活性研究，经 SPSS 聚类分析探究主要成分与抗氧化之间的关联性，为发现香青兰挥发油的抗氧化作用机制及药理作用潜在利用提供有利依据。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

香青兰(新疆库尔勒龙之源药业有限公司购买)；二氧化碳气体(纯度≥99.99%，新疆康迪实业发展有限公司)；无水乙醇(分析纯，乌鲁木齐市津华化玻科器有限公司)；1,1-二苯基-2-三硝基苯肼(1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl, DPPH)(阿拉丁生化科技股份有限公司)；2,2-联氨-双(3 乙基苯并噻唑啉-6-磺酸)二铵盐[2,2'-azinobis-(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid), ABTS](上海源叶生物

科技有限公司)。

SEPAREX-France 超临界二氧化碳萃取仪(分离器 SEPARATOR: S50)(法国 FRANCE ETUVES 公司); TSQ 8000 EVO 气相色谱三重四极杆质谱联用仪、TG-5MS 色谱柱(30 m×0.25 mm, 0.25 μm)(美国赛默飞世尔科技有限公司); SpectraMax i3 酶标分析仪[美谷分子仪器(上海)有限公司]; BCE124I-1CCN 电子天平[精度 0.0001 g, 赛多利斯科学仪器(北京)有限公司]; RT-02A 高速万能粉碎机(深圳艾尔莎科技有限公司)。

1.2 实验方法

1.2.1 样品制备

取香青兰花、叶、茎放入高速粉碎机中粉碎、过筛(100 目), 将样品放入密封袋中, 低温烘干后阴凉干燥存放。

1.2.2 超临界二氧化碳萃取仪条件

参照黄培池等[13]测定方法并略作修改。载气 CO_2, 反应釜萃取温度 42 ℃, 萃取压力 30 Mpa, 萃取时间 1.5 h。取 30.00 g 待测样品放入反应釜中萃取。计算该条件下测得香青兰挥发油得率, 挥发油得率计算见公式(1)。

$$F/\%=\frac{g}{G}\times 100\% \tag{1}$$

式中: F 为样品超临界二氧化碳萃取法提取率, %; g 为样品提取后挥发油克重, g; G 为样品提取前克重, g。

1.2.3 气相色谱条件

TG-5MS 色谱柱(30 m×0.25 mm, 0.25 μm), 柱温 40 ℃保留 1.5 min, 以 25.0 ℃/min 速率升温至 180 ℃, 保留 1.5 min, 再以 20.0 ℃/min 升温至 280 ℃, 保留时间 6.4 min。分流比 1:20, 进样量 1 μL。

1.2.4 质谱条件

电离模式为电子轰击离子源(electron ionization, EI), 离子源温度 300 ℃, 质谱传输线温度 280 ℃, 全扫描质量范围 50~500 m/z。

1.2.5 DPPH 自由基清除率半数抑制浓度测定

参照罗秋水等[14]的研究方法并略作修改。DPPH 乙醇溶液配制: 准确称取 DPPH 粉末 3.94 mg(精确到 0.01 mg), 用无水乙醇配制成 1 mmol/L 储备液, 避光保存; 临用前稀释为 100 μmol/L 使用。样品组: 移取 30 μL 待测液至 96 孔酶标板中再加入 180 μL DPPH 溶液(100 μmol/L); 对照组: 移取 30 μL 待测液至酶标板中再加入 180 μL 无水乙醇; 空白组: 移取 30 μL 无水乙醇至酶标板中再加入 180 μL DPPH 溶液(100 μmol/L); 各组样品置于室温条件下避光反应 40 min 后, 于吸光度为 516 nm 处测定其吸光度值。DPPH 自由基清除率计算见公式(2)。

$$Q/\%=\frac{D_0-(D_1-D_2)}{D_0}\times 100\% \tag{2}$$

式中: Q 为 DPPH 自由基清除率, %; D_0 为空白组吸光度值, Abs; D_1 为样品组吸光度值, Abs; D_2 为对照组吸光度值, Abs。

1.2.6 ABTS 阳离子自由基清除率及半数抑制浓度测定

参照罗秋水等[14]的研究方法并略作修改。ABTS 母液: 称取 0.0961 g ABTS 粉末至 25.00 mL 容量瓶中, 加入二次水溶解后定容至 25.00 mL。

过硫酸钾溶液配制: 称取 0.0331 g 过硫酸钾至 50.00 mL 容量瓶中, 加入二次水溶解, 定容至 50.00 mL。

ABTS 工作液配制: 分别吸取 ABTS 母液和过硫酸钾溶液按 1:1 (V:V)混合均匀, 避光静置 12~16 h, 使用前用无水乙醇稀释, 在波长 734 nm 处吸光度在 0.70±0.02 范围内, 备用。

样品组: 移取 30 μL 待测液至 96 孔酶标板中再加入 180 μL ABTS 溶液; 对照组: 移取 30 μL 待测液至酶标板中再加入 180 μL 无水乙醇; 空白组: 移取 30 μL 无水乙醇至酶标板中再加入 180 μL ABTS 溶液; 各组样品置于室温条件下避光反应 40 min 后, 于吸光度为 734 nm 处测定其吸光度值。ABTS 阳离子自由基清除率按照公式(3)计算。

$$B/\%=\frac{B_0-(B_1-B_2)}{B_0}\times 100\% \tag{3}$$

式中: B 为 ABTS 阳离子自由基清除率, %; B_0 为空白组吸光度值, Abs; B_1 为样品组吸光度值, Abs; B_2 为对照组吸光度值, Abs。

1.3 数据处理

数据处理采用 Excel 2019 (Microsoft Office 365 版)与 OriginPro 2021b 完成, 相关性热图及逐步回归由 SPSS 26.0 的“双变量相关”与“线性-逐步”模块实现, 聚类分析通过“沃德法”分析。所有实验数据均独立重复 3 次, 结果以平均数±标准偏差表示, 方差分析与回归显著性阈值设为 α=0.05。

2 结果与分析

2.1 香青兰挥发油提取得率计算

本研究通过超临界二氧化碳萃取法提取后所得挥发油克重为 0.312 g, 经过 3 次重复实验, 即通过超临界二氧化碳萃取香青兰挥发油, 得油率为 1.04%。在预实验中, 采用传统无溶剂水蒸馏法进行工艺研究, 提取率为 0.85%; 索氏抽提工艺提取时, 以石油醚为溶剂, 提取率也仅为 0.98%, 该方法具有显著的技术优越性, 其核心优势集中体现在有效解决了传统工艺中普遍存在的提取耗时较长、目标活性成分提取不充分等关键技术痛点[15–17], 不仅大幅提升了提取效率, 综合工艺性能更具应用价值[18–20]。提取方法称取 0.2000 g(精确到 0.0001 g)的香青兰油至 10 mL 离心管中, 加入 2 mL 无水乙醇(100 mg/mL)样品溶液, 备用。

2.2 香青兰挥发油定性分析

通过气相色谱-三重四极杆质谱联用仪共检测出可识别峰 36 个, 经鉴定, 进一步筛选出匹配度大于等于 85%的色谱峰 24 个, 通过面积归一法, 计算各个化合物百分含量[21–22]。前期参与研究香青兰挥发性成分研究分析工作中[23], 发现

挥发性成分主要为柠檬醛，该研究分析出有机酸类 1 种、烷烃类 2 种，酯类 13 种、醇类和甾醇类 7 种，脂肪酰胺类 1 种，其中相对含量最高的为 ER 芥酸酰胺，占总量的 24.62%。为香青兰的全面开发提供数据基础，同时也为研究 ER 芥酸酰胺化合物与抗氧化之间联系提供新的研究思路[24–26]。在上述实验条件下，得香青兰总离子流图(图 1)。

表 1 为香青兰挥发油成分分析，其中 ER 芥酸酰胺成分突出，以产物为研究对象，根据查阅相关资料，发现该化合物存在于植物、粮食等一类植物内源中，作用机制独特，具有广谱抗菌活性的天然产物分子—芥酸酰胺[27]。

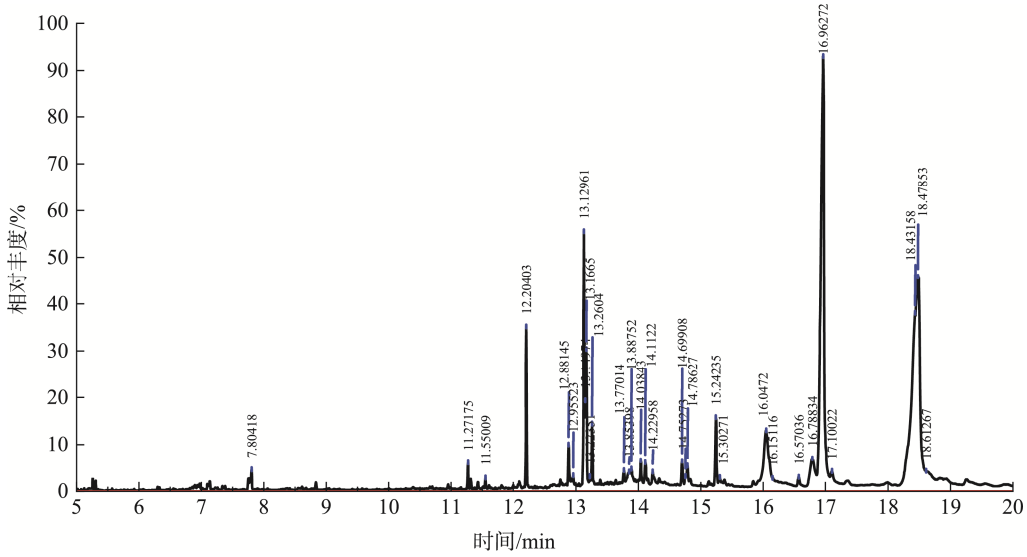


图 1 香青兰挥发油总离子流图

Fig.1 Total ion chromatogram of volatile oil from *Dracocephalum moldavica* L.

表 1 香青兰非极性提取物成分分析

Table 1 Component analysis of non-polar extracts from *Dracocephalum moldavica* L.

序号	中文名称	英文名称	化学式	保留时间/min	相对含量/%
1	植醇乙酸酯	acetate phytol	$C_{22}H_{40}O_2$	11.27	1.48
2	植醇	3,7,11,15-tetramethyl-2-hexadecen-1-ol	$C_{20}H_{40}O$	11.55	0.57
3	棕榈酸乙酯	palmitic acid ethyl ester	$C_{18}H_{36}O_2$	12.20	9.36
4	十七烷酸乙酯	ethyl heptadecanoate	$C_{19}H_{38}O_2$	12.75	0.57
5	植醇	phytol	$C_{20}H_{40}O$	12.88	2.47
6	亚油酸乙酯	9,12-octadecadienoic acid ethyl ester	$C_{20}H_{36}O_2$	13.13	14.77
7	亚麻酸乙酯	linolenic acid ethyl ester	$C_{20}H_{34}O_2$	13.17	7.89
8	硬脂酸乙酯	stearic acid ethyl ester	$C_{20}H_{40}O_2$	13.26	3.91
9	1,2-棕榈酸甘油酯	1,2-dipalimitin	$C_{35}H_{68}O_5$	13.77	1.03
10	维生素 E	vitamin E	$C_{29}H_{50}O_2$	13.89	1.23
11	二十四碳四烯酸甲酯	6,9,12,15-docosatetraenoic acid ethyl ester	$C_{23}H_{38}O_2$	14.04	1.55
12	顺-13-二十碳烯酸	cis-13-eicosenoic acid	$C_{20}H_{38}O_2$	14.11	1.53
13	19-甲基二十烷酸甲酯	19-methy-eicosanoate	$C_{22}H_{44}O_2$	14.23	1.01
14	对环芳烃	tricyclo	$C_{30}H_{52}O_2$	14.70	1.48
15	正十八烷	3-ethyl-5-octadecane	$C_{26}H_{54}$	14.79	1.72
16	芥酸乙酯	ethyl erucate	$C_{24}H_{46}O_2$	15.24	4.19
17	枫香脂	ethyliso-allocholate	$C_{26}H_{44}O_5$	15.30	0.94
18	甘油三亚油酸酯	trilinolein	$C_{57}H_{98}O_6$	15.84	0.52
19	菜油甾醇	campesterol	$C_{28}H_{48}O$	16.05	3.45
20	反式香叶醇	trans-geranylgeraniol	$C_{20}H_{34}O$	16.57	0.74
21	豆甾醇	stigmasterol	$C_{29}H_{48}O$	16.79	1.92
22	ER 芥酸酰胺	(*z*)-docos-13-enamide	$C_{22}H_{43}NO$	16.96	24.62
23	乙酰氧基-7,8-环氧羊毛甾醇	3-acetoxy-7,8-epoxylanostan-11-ol	$C_{32}H_{54}O_4$	17.10	1.03
24	谷甾醇	*α*-sitosterol	$C_{29}H_{50}O$	18.48	12.06

2.3　抗氧化活性的测定与分析

2.3.1　DPPH 自由基清除率及半数抑制浓度测定

DPPH 为稳定氮中心自由基, 其稳定性源于三苯环共振离域与空间位阻效应。在乙醇体系中, DPPH 呈深紫色, 本研究于 516 nm 处有特征强吸收峰, 是观测颜色和定量分析的基础。当挥发油作为自由基清除剂加入 DPPH 溶液时, 其活性成分会提供一个电子给 DPPH 自由基, 使其还原为无色的 DPPH-H, 依据吸光度变化定量评估其自由基清除能力。实验结果显示, DPPH 溶液均对光线敏感, 因光照降解导致活性降低。如图 2 所示, 将香青兰挥发油 100 mg/mL 稀释成 10.0、5.0、2.0、1.0、0.1 mg/mL 5 个质量浓度梯度下, 进行 DPPH 自由基清除能力测定。经加入到 96 孔板暗反应后, 酶标分析仪进行测定。每一组浓度下平行 3 次(标准偏差均小于 4%)测得 DPPH 自由基清除率分别为 92.97%、65.39%、35.41%、20.17%、7.29%。从数据趋势可见, 清除率随浓度降低呈明显递减, 体现出良好的剂量-效应关系。以浓度为自变量、清除率为因变量进行 Logistic 非线性拟合, 95%置信区间覆盖所有实验数据点, 表明拟合结果的可靠性较高; 拟合优度 R^2=0.994, 说明模型对实验数据的解释度超过 99%, 拟合效果优异。进一步计算得出半数抑制浓度(median inhibition concentration, IC_{50})为 2.58 mg/mL, 表明该挥发油在中等浓度范围内即可实现半数清除效果, 所以其具备较强的自由基清除能力。

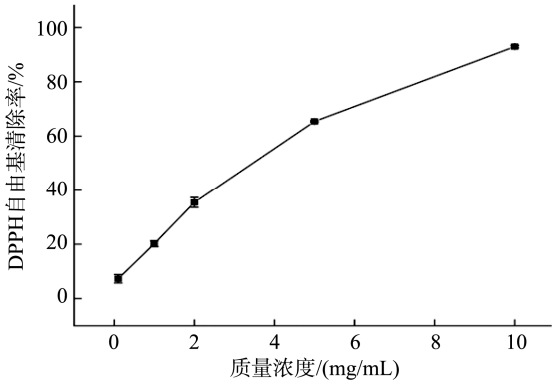


图 2　香青兰挥发油 DPPH 自由基清除率

Fig.2　DPPH free radical scavenging rates of volatile oil from *Dracocephalum moldavica* L.

2.3.2　ABTS 阳离子自由基清除率及 IC_{50} 测定

ABTS经氧化生成稳定的蓝绿色ABTS阳离子自由基, 在 734 nm 处有特征强吸收峰。当挥发油作为自由基清除剂, 向 ABTS 提供电子, 使其还原为无色稳定产物, 特征吸收峰吸光度下降, 通过吸光度变化定量评估香青兰挥发油对 ABTS 阳离子自由基的清除能力。在 ABTS 阳离子自由基清除实验中(图 3), 香青兰挥发油同样表现出优异的清除活性。在 10 mg/mL 质量浓度下, 清除率达到 99.56%, 几乎实现完全清除, 显示出其对 ABTS 阳离子自由基的高效中和能力。随着质量浓度递减至 5.0、2.0、1.0、0.1 mg/mL 质量浓度时, 每一组浓度下平行 3 次测得 ABTS 阳离子自由基清除率分别为 88.21%、54.81%、27.52%、9.32%。同样呈现出浓度依赖性。ABTS 阳离子自由基清除率随浓度升高呈典型 *S* 型量效关系, Logistic 模型拟合后 R^2=0.997, 拟合度优异; 95%置信区间覆盖所有数据点, 结合较小的标准偏差值, 验证了实验数据的可靠性。计算出 IC_{50} 值为 1.44 mg/mL, 低于 DPPH 实验结果, 表明该挥发油对 ABTS 阳离子自由基的清除效率更高。

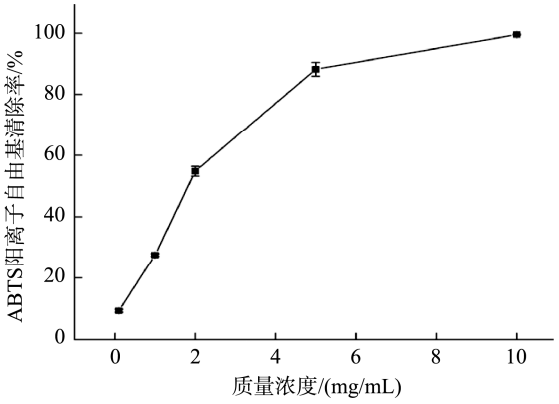


图 3　香青兰挥发油 ABTS 阳离子自由基清除率

Fig.3　ABTS cationic free radical scavenging rates of volatile oil from *Dracocephalum moldavica* L.

根据以上结果分析, 香青兰挥发油对 DPPH 自由基、ABTS 阳离子自由基均具有不同程度的清除能力, 且随着挥发油浓度的升高而增加[28–29], 在质量浓度为 10 mg/mL 时, 对两者的清除率分别达到最高。ABTS 阳离子自由基清除法对挥发油中脂溶性活性成分及微量极性成分均有响应, 反应效率更高, DPPH 自由基清除法对脂溶性成分选择性强, 部分活性成分溶解度及反应活性受限。ABTS 阳离子为自由基, 相比较 DPPH 受苯环空间位阻影响, 对结构复杂成分选择性低而言, ABTS 阳离子反应特性普适性较强。同时, DPPH 自由基清除法特征吸收峰(516 nm)易受挥发油中色素等杂质干扰, 而 ABTS 阳离子自由基清除法(734 nm)抗干扰性更强。结果表明, 香青兰挥发油具有较强的抗氧化活性, 为今后挥发油进一步开发与利用提供数据基础。

2.3.3　构建相关矩阵分析

通过 Pearson 相关分析构建成分与抗氧化指标之间的相关矩阵, 色阶红-白-绿, –1~0~+1。结果显示脂肪酰胺类与 IC_{50} 值呈强正相关(r=0.98), 与酯类则呈显著负相关(r=–0.94), 提示脂肪酰胺类成分在抗氧化机制中可能扮演关键角色。此外, 酯类与 DPPH、ABTS 阳离子自由基清除率均呈高度正相关(r 分别为 0.96 与 0.95), 说明其在抗氧化过程中亦具有积极贡献。相较之下, 有机酸、烷烃类及醇+甾醇类与清除率之间的相关性较弱, 表明其对抗氧化活性的直接影响有限, 见表 2。

表 2 成分与抗氧化指标的相关矩阵(Pearson)

Table 2 Correlation matrix between components and antioxidant indicators (Pearson)

变量类	有机酸	烷烃类	酯类	醇+甾醇	脂肪酰胺类	DPPH 自由基清除率	ABTS 阳离子自由基清除率	IC_{50}(DPPH)	IC_{50}(ABTS 阳离子)
有机酸	1	–0.05	0.41	0.38	–0.42	0.43	0.42	–0.40	–0.39
烷烃类	–0.05	1	–0.33	–0.30	–0.35	–0.32	–0.31	0.33	0.32
酯类	0.41	–0.33	1	0.46	–0.94	0.96	0.95	–0.94	–0.93
醇+甾醇	0.38	–0.30	0.46	1	–0.40	0.44	0.43	–0.41	–0.40
脂肪酰胺	–0.42	–0.35	–0.94	–0.40	1	–0.97	–0.96	0.98	0.97
DPPH 自由基清除	0.43	–0.32	0.96	0.44	–0.97	1	0.99	–0.97	–0.96
ABTS 阳离子自由基清除率	0.42	–0.31	0.95	0.43	–0.96	0.99	1	–0.96	–0.97
IC_{50}(DPPH)	–0.40	0.33	–0.94	–0.41	0.98	–0.97	–0.96	1	0.98
IC_{50}(ABTS 阳离子)	–0.39	0.32	–0.93	–0.40	0.97	–0.96	–0.97	0.98	1

由此发现, 在抗氧化活性研究中, 脂肪酰胺类正相关, 可提高 ER 芥酸酰胺含量可提升抗氧化活性关键正向因素。

2.3.4 标准化回归系数

在逐步回归模型中, 以 DPPH 自由基清除率为因变量, 脂肪酰胺与酯类作为预测变量进入模型。根据多重共线性检验[30], 结果显示模型拟合度极高(R^2=0.983, 调整 R^2_{Adj}=0.978), F 为 261.3, P<0.001, 表明模型具有统计学意义。脂肪酰胺的标准化回归系数为–0.92, T 为–14.0, P<0.001, 显示出极强的负向预测作用, 即脂肪酰胺含量越高, IC_{50} 越低, 清除能力越强。酯类的 β 为 0.12, 虽相对较小, 但仍具有显著性(P=0.048), 提示其在模型中起到一定辅助作用。方差扩大因子(variance inflation factor, VIF)约为 1.06, 说明变量间无多重共线性问题, 模型稳健性良好, 见表 3。说明该模型拟合度极高, 在两个变量中, 脂肪酰胺是决定清除率的关键因素, β 系数为–0.92, 相当于含量每增加一个单位, 按 0.92 个单位呈现下降趋势, 对抗氧化影响显著, 残差符合正态分布, 进一步验证回归模型适用性。

2.3.5 沃德聚类分析

采用沃德聚类法对样品进行分组, 依据脂肪酰胺含量将样品划分为三群见表 4, 对应的脂肪酰胺平均含量分别为 24.6%、15.6%与 11.5%, 其 IC_{50}(DPPH)依次为 2.58、2.95 与 3.68 mg/mL, IC_{50}(ABTS 阳离子)分别为 1.44、1.72 与 2.18 mg/mL, 呈现出明显的梯度变化。方差分析结果显示, 脂肪酰胺在不同聚类间差异极显著(F=242, P<0.001, η^2=0.97), 说明该成分在样品间的分布并非随机, 且与抗氧化活性之间存在紧密关联。在抗氧化活性研究中, IC_{50} 越低, 意味着达到 50%抗氧化效果所需的物质浓度越低, 具有较强的抗氧化活性。因此, 脂肪酰胺含量越高, 抗氧化活性越强, 两者呈清晰的反向剂量-效应关系。

表 3 逐步回归模型(因变量: DPPH 自由基清除率)

Table 3 Stepwise regression model (dependent variable: DPPH clearance rate)

预测变量	非标准化 B	标准化 β	t	P	容忍度 VIF
常数	2.22	—	0.91	0.42	—
脂肪酰胺	–0.071	–0.92	–14.0	<0.001	1.06
酯类	0.63	0.12	2.1	0.048	1.06

注: —表示无此数据。

表 4 沃德聚类结果(三群)

Table 4 Ward clustering results (three groups)

聚类	n	有机酸/%	烷烃/%	酯/%	醇+甾醇/%	脂肪酰胺/%	IC_{50}(DPPH)/(mg/mL)	IC_{50}(ABTS 阳离子)/(mg/mL)
1	3	0.6±0.1	1.7±0.2	48.8±2.1	19.5±1.0	24.6±0.1	2.58±0.04	1.44±0.02
2	4	0.6±0.1	1.7±0.2	30.5±1.5	19.2±0.8	15.6±0.9	2.95±0.07	1.72±0.05
3	3	0.6±0.1	1.7±0.2	18.3±2.4	18.9±1.0	11.5±1.3	3.68±0.12	2.18±0.09

注: 方差分析: 脂肪酰胺 F=242, P<0.001, η^2=0.97。

通过沃德聚类(Ward)分析发现[31–32], F 是检验“各组均值是否真有差异”的统计量, 远大于临界值, 说明 3 组脂肪酰胺类含量的差别不是随机误差造成的, 排除了随机误差导致该趋势的可能性, 脂肪酰胺类含量差异极显著, 对应 IC_{50} 的梯度变化也显著, 进一步探究了香青兰挥发油中存在的 ER 芥酸酰胺对抗氧化能力影响显著。

3　结　论

香青兰采用超临界二氧化碳萃取技术提取挥发油共鉴定出 24 种脂肪酸化合物, 该工艺应用在中草药提取工艺中应用广泛。突破现有技术, 使得香青兰挥发油提取较为充分且有效。通过体外抗氧化活性测定与分析, 香青兰具有较强的抗氧化活性, 其中含量最高的 ER 芥酸酰胺与抗氧化能力之间存在显著相关性。明确该关键化合物与抗氧化活性均呈正相关, 这些研究结果为进一步解析香青兰挥发油为进一步开发与利用提供了新的科学依据。

参考文献

[1] 谭梅娥, 何承辉, 帕依曼·亥米提, 等. 高效液相色谱法同时测定维药香青兰有效部位中 10 个化学成分的含量[J]. 医药导报, 2024, 43(4): 567–571.
TAN ME, HE CH, PAYIMAN GMT, *et al.* Simultaneous determination of 10 chemical components in the effective parts of the Wei medicine *Dracocephalum moldavica L* by HPLC [J]. Medical Guide, 2024, 43(4): 567–571.

[2] 买买提·努尔艾合提, 吐尔洪·艾买尔, 罗光明. 高效液相色谱法测定维吾尔药材香青兰中田蓟苷和洋芹素的含量[J]. 中国民族医药杂志, 2009, 15(11): 61–62.
MAIMAITI NERAIHT, TUERHONG AIMT, LUO GM. Determination of Tianjin and Yangqin in Uyghur medicinal herb *Dracocephalum moldavica L* by high-performance liquid chromatography [J]. Chinese Journal of Ethnic Medicine, 2009, 15(11): 61–62.

[3] 吕佳敏, 翟科峰, 段红, 等. 基于焦亡途径研究香青兰总黄酮对博来霉素诱导的肺纤维化小鼠的作用机制[J]. 中国中药杂志, 2022, 47(24): 6663–6671.
LV JM, ZHAI KF, DUAN H, *et al*. Mechanism of total flavonoids from *Dracocephalum moldavica* L. on bleomycin-induced pulmonary fibrosis in mice based on pyroptosis pathway [J]. China Journal of Chinese Materia Medica, 2022, 47(24): 6663–6671.

[4] ZENG C, JIANG W, YANG X, *et al.* Pretreatment with total flavonoid extract from *Dracocephalum moldavica* L. attenuates ischemia reperfusion-induced apoptosis [J]. Scientific Reports, 2018, 8(1): 17491.

[5] 洪叶, 袁勇, 曹文疆, 等. 香青兰总黄酮对大鼠心肌缺血再灌注损伤诱导的自噬作用的研究[J]. 中国药学杂志, 2016, 51(11): 890–895.
HONG Y, YUAN Y, CAO WJ, *et al.* Study on the autophagic effect induced by total flavonoids of *Dracocephalum moldavica* L. on myocardial ischemia-reperfusion injury in rats [J]. Chinese Journal of Pharmacy, 2016, 51(11): 890–895.

[6] 陈丽, 曹星月, 王占黎, 等. 内蒙古香青兰总黄酮提取工艺优化及其抗氧化活性成分分析[J]. 中国现代应用药学, 2023, 40(9): 1187–1193.
CHEN L, CAO XY, WANG ZL, *et al.* Optimization of total flavonoids extraction process and analysis of antioxidant active components in inner mongolia fragrant orchid [J]. Chinese Journal of Modern Applied Pharmacy, 2023, 40(9): 1187–1193.

[7] 王海宁, 靳敏, 于慧, 等. 香青兰化学成分、药理活性及其影响因素研究进展[J]. 辽宁中医药大学学报, 2024, 26(10): 157–164.
WANG HN, JIN M, YU H, *et al.* Research progress on chemical composition, pharmacological activity and influencing factors of *Dracocephalum moldavica* L. [J]. Journal of Liaoning University of Traditional Chinese Medicine, 2024, 26(10): 157–164.

[8] LI J, XU S. Tilianin attenuates MPP^+-induced oxidative stress and apoptosis of dopaminergic neurons in a cellular model of Parkinson's disease [J]. Experimental and Therapeutic Medicine, 2022, 23(4): 293–293.

[9] 胥明磊, 高慧敏, 张永欣, 等. 基于 UPLC-Q-TOF-MS/MS 和 UPLC 的香青兰化学成分定性与定量分析[J]. 中国中药杂志, 2024, 49(23): 6352–6367.
XU ML, GAO HM, ZHANG YX, *et al.* Qualitative and quantitative analysis of chemical components in *Dracocephalum moldavica* L. based on UPLC-Q-TOF-MS/MS and UPLC [J]. Chinese Journal of Traditional Chinese Medicine, 2024, 49(23): 6352–6367.

[10] 杨亚琼, 王素巍, 王晓琴. 香青兰的质量标准研究[J]. 华西药学杂志, 2025, 40(1): 65–69.
YANG YQ, WANG SW, WANG XQ. Research on quality standards of *Dracocephalum moldavica* L. [J]. West China Pharmaceutical Journal, 2025, 40(1): 65–69.

[11] SAHAR Z, DAVOOD B, AMIR S, *et al*. Improvement of phytochemical and quality characteristics of *Dracocephalum* kotschyi by drying methods [J]. Food Science & Nutrition, 2023, 11(7): 4246–4262.

[12] 雷秀兰. 超临界二氧化碳萃取桂花油的工艺研究[J]. 食品工程, 2025(2): 29–32, 36.
LEI XL. Research on the extraction process of osmanthus oil by supercritical carbon dioxide [J]. Food Engineering, 2025(2): 29–32, 36.

[13] 黄培池, 谢亲建, 齐越, 等. 徐州野生薄荷挥发油提取工艺、化学成分及活性研究[J]. 世界中医药, 2025, 20(4): 531–537, 546.
HUANG PC, XIE QJ, QI Y, *et al.* Extraction process, chemical composition and activity of volatile oil from wild peppermint in Xuzhou [J]. World Journal of Traditional Chinese Medicine, 2025, 20(4): 531–537, 546.

[14] 罗秋水, 谢升, 汤凯洁, 等. 鱼腥草挥发油抗氧化作用的研究[J]. 中国粮油学报, 2020, 35(2): 105–109.
LUO QS, XIE S, TANG KJ, *et al.* Study on the antioxidant effect of volatile oil from *Houttuynia cordata* [J]. Chinese Journal of Grain and Oil, 2020, 35(2): 105–109.

[15] 胡准, 俞小梅, 余梦, 等. Box-Behnken 设计-响应面法优选香青兰中挥发油的提取工艺[J]. 中国药师, 2022, 25(6): 1007–1011.
HU Z, YU XM, YU M, *et al.* Box Behnken design response surface methodology optimization of extraction process for volatile oil from fragrant orchid [J]. Chinese Pharmacist, 2022, 25(6): 1007–1011.

[16] 蒋雨桥, 赵仲恺, 张文斌. 超临界二氧化碳萃取元宝枫籽油工艺研究[J]. 中国油脂, 2024, 49(9): 10–15.
JIANG YQ, ZHAO ZK, ZHANG WB. Research on supercritical carbon dioxide extraction process of acer truncatum seed oil [J]. Chinese Journal

of Oils and Fats, 2024, 49(9): 10–15.

[17] 安军红. 超临界二氧化碳萃取天然产物的应用现状[J]. 广州化工, 2022, 50(15): 25–28.
AN JH. Application status of supercritical carbon dioxide extraction of natural products [J]. Guangzhou Chemical Industry, 2022, 50(15): 25–28.

[18] 张蕾, 王友峰, 杨乐, 等. 超临界 CO_2 萃取法和水蒸气蒸馏法提取的花椒精油成分分析及其抑菌活性、抗氧化活性的比较[J]. 中南药学, 2025, 23(8): 2187–2192.
ZHANG L, WANG YF, YANG L, *et al.* Analysis of essential oil components extracted from Sichuan pepper by supercritical CO_2 extraction and steam distillation, and comparison of their antibacterial and antioxidant activities [J]. Zhongnan Pharmaceutical, 2025, 23(8): 2187–2192.

[19] 曹承旭, 刘成欣, 沈英杰, 等. 酸枣仁油超临界 CO_2 萃取工艺优化及理化特性研究[J]. 中国食品工业, 2025(14): 149–151.
CAO CX, LIU CX, SHEN YJ, *et al.* Optimization of supercritical CO_2 extraction process and study on physical and chemical characteristics of jujube seed oil [J]. China Food Industry, 2025(14): 149–151.

[20] CHEN L, ZHANG S, WANG T, *et al*. Preparation of black soybean (*Glycine max* (L.) Merr.) components by supercritical carbon dioxide (SC-CO_2) extraction: A box–behnken process optimization, component, and oxidation resistance analysis [J]. Journal of Food Processing and Preservation, 2025, 2025(1): 8835170–8835170.

[21] 冯波, 郝莉花, 巩凡. 气相色谱三重四极杆质谱法检测茶叶中 11 种香精成分[J]. 安徽农业科学, 2025, 53(7): 160–164.
FENG B, HAO LH, GONG F. Determination of 11 essence in tea by gas chromatography triple quadrupole mass spectrometry [J]. Anhui Agricultural Sciences, 2025, 53(7): 160–164.

[22] 黄浩洲, 张定堃, 李梦琪, 等. 基于顶空固相微萃取-气相色谱-三重四极杆质谱联用技术的余甘子挥发性成分分析及抗仓储害虫作用研究[J]. 世界中医药, 2022, 17(19): 2681–2691.
HUANG HZ, ZHANG DK, LI MQ, *et al.* Analysis of volatile components and study on the anti storage pest effect of *Fructus phyllanthus* based on headspace solid-phase microextraction gas chromatography triple quadrupole mass spectrometry [J]. World Journal of Traditional Chinese Medicine, 2022, 17(19): 2681–2691.

[23] 李晶, 丁祖英, 古丽米热·努拉吉, 等. 顶空固相微萃取-气相色谱-质谱法测定香青兰挥发性成分[J]. 安徽农业科学, 2024, 52(5): 204–207.
LI J, DING ZY, GULIMIRE MLJ, *et al.* Determination of volatile components in *Dracocephalum moldavica* L. by headspace solid-phase microextraction gas chromatography-mass spectrometry [J]. Anhui Agricultural Science, 2024, 52(5): 204–207.

[24] FAHAM K, AMIRHOSSEIN P, MOHSEN DJ. Anti-toxoplasma effects of *Dracocephalum polychaetum* essential oil [J]. Interdisciplinary Perspectives on Infectious Diseases, 2022, 2022: 6091834.

[25] ADELNINA N, DEHMORDI ML, CHERMAHINI AM, *et al*. Antioxidant and immunological properties of *Dracocephalum moldavica* extract in *Penaeus vannamei* [J]. Natural Product Communications, 2024, 19(10). DOI: 10. 1177/1934578X241289253

[26] 刘清莹. 单花山竹子和香青兰的化学成分及生物活性研究[D]. 济南: 山东大学, 2022.
LIU QY. Chemical and bioactive studies on *Garcinia oligantha* Merr. and *Dracocephalum moldavica* L. [D]. Ji'nan: Shandong University, 2022.

[27] MIAO P, WANG H, WANG W, *et al*. A widespread plant defense compound disarms bacterial type III injectisome assembly [J]. Science (New York), 2025, 387(6737): eads0377.

[28] 王艳. 采收期对盐碱地中不同种质香青兰生长、产量及药效成分的影响[D]. 呼和浩特: 内蒙古农业大学, 2023.
WANG Y. The effect of harvesting period on the growth, yield, and medicinal components of different germplasm of *Dracocephalum moldavica L* in saline alkali soil [D]. Hohhot: Inner Mongolia Agricultural University, 2023.

[29] 王浩泽, 雷雪峰, 卢鹏飞, 等. 不同盐碱地中 5 种香青兰种质的产量和品质表现[J]. 西北农林科技大学学报(自然科学版), 2024, 52(10): 127–135.
WANG HZ, LEI XF, LU PF, *et al.* Yield and quality performance of five *Dracocephalum moldavica* L. germplasm species in different saline alkali land [J]. Journal of Northwest A&F University (Natural Science Edition), 2024, 52(10): 127–135.

[30] 田合, 王苗苗, 严欢, 等. 蜡菊总黄酮提取工艺优化及体外抗氧化活性评价[J]. 食品与发酵科技, 2024, 60(4): 8–14.
TIAN H, WANG MM, YAN H, *et al.* Optimization of extraction process for total flavonoids from chrysanthemum and evaluation of *in vitro* antioxidant activity [J]. Food and Fermentation Technology, 2024, 60(4): 8–14.

[31] 岳宇轩, 高亮, 吕瀛玥, 等. 基于主成分 Ward 聚类的地铁网络结构功能特征比较研究[J]. 系统科学学报, 2026(2): 1–11.
YUE YX, GAO L, LV YY, *et al.* Comparative study on the structural and functional characteristics of subway networks based on principal component Ward clustering [J]. Journal of Systems Science, 2026(2): 1–11.

[32] 刘晓静, 罗金, 崔旭廷, 等. 基于 Ward 优化蚂蚁觅食聚类算法的边坡安全等级分类[J]. 吉林水利, 2021(10): 1–4.
LIU XJ, LUO J, CUI XT, *et al.* Slope safety classification based on Ward optimized ant foraging clustering algorithm [J]. Jilin Water Resources, 2021(10): 1–4.

(责任编辑: 蔡世佳 韩晓红)