

基于不同提取方法的汉麻茎叶精油全组分鉴定及比较研究

李智宁^{1,2,3}, 李飞飞^{1,2,3}, 宋梦娇^{1,2,4},
马艳妮^{1,2,3}, 张丽先^{1,2,3}, 张桃桃^{1,2}, 魏悦^{1,2,3*}

¹河南省科学院天然产物创新研究中心; ²河南省纳普生物技术有限公司;

³河南省植物天然产物开发工程技术研究中心, 郑州 450000; ⁴河南中医药大学药学院, 郑州 450046

摘要:以汉麻茎叶为原料,分别采用水蒸馏提取法、亚临界萃取法以及超临界萃取法来获得汉麻精油,比较不同提取方法下获得的精油全组分的差异性、特征性。采用气相色谱-质谱法(GC-MS)对精油全组分进行鉴定分析,并通过NIST质谱库和人工解析对所提取成分进行鉴别分析和相似度的检索,最后根据峰面积归一化法得出这三种提取方式下汉麻精油各组分的相对含量。三种提取方法下所得精油组分差异性明显,共计鉴定出154个成分,且含有13个共有成分,相似度均在80%以上。其中水蒸馏提取法共鉴定出89种,含量最高组分是大麻二酚(19.69%);亚临界萃取法鉴定出62种,含量最高组分是邻苯二甲酸二正辛酯(17.56%);超临界萃取法鉴定出59种,含量最高组分是油酸(22.50%)。三种方法所得精油组分种类和含量均有不同程度的差异:水蒸馏法获得的精油组分种类最多,多为烷烃、烯烃、醇类、醛类、倍半萜类等小分子化合物,而亚临界法和超临界法在一定程度上具有相似性,二者共有40个共有成分,多为酸类,醇类,酯类,酚类等高沸点化合物或大分子化合物,但含量差异明显。

关键词:汉麻茎叶;精油;水蒸馏;亚临界;超临界;GC-MS

中图分类号:R284.1;R932

文献标识码:A

文章编号:1001-6880(2023)2-0260-11

DOI:10.16333/j.1001-6880.2023.2.010

Identification and comparative study of essential oil from stem and leaf of hemp based on different extraction methods

LI Zhi-ning^{1,2,3}, LI Fei-fei^{1,2,3}, SONG Meng-jiao^{1,2,4},
MA Yan-ni^{1,2,3}, ZHANG Li-xian^{1,2,3}, ZHANG Tao-tao^{1,2}, WEI Yue^{1,2,3*}

¹Natural Product Innovation Research Center of Henan Academy of Sciences; ²Henan Napu Biotechnology Co., Ltd.;

³Engineering Technology Research Center of Development of Henan Kegao Plant Natural Products, Zhengzhou 450000, China;

⁴School of Pharmacy, Henan University of Traditional Chinese Medicine, Zhengzhou 450046, China

Abstract: Taking the stem and leaves of hemp as raw materials, the essential oil of hemp was obtained by water distillation extraction, subcritical extraction and supercritical extraction respectively. The differences and characteristics of the essential oil components obtained by different extraction methods were compared. The volatile components were identified and analyzed by gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS), and the extracted components were identified and analyzed by NIST mass spectrometry library and manual analysis. Finally, the relative percentage contents of each component of hemp essential oil under the three different extraction methods were obtained according to the peak area normalization method. The components of essential oil obtained by the three extraction methods were significantly different. A total of 154 components were identified and 13 common components were included, with a similarity of more than 80%. Among them, 89 different components were identified by water distillation extraction method, and the highest component was cannabinoid (19.69%). Sixty-two components were identified by subcritical extraction. The most abundant component was celluflexdop (17.56%). Fifty-nine species were identified by supercritical extraction. Oleic acid had the highest content (22.50%). The components and contents of es-

收稿日期:2022-08-11 接受日期:2022-12-20

基金项目:河南省科学院科研开发项目(210913009,200613051);河南省科学院重大科研聚焦项目(190113004)

*通信作者 E-mail:weiyue2001@139.com

essential oil extracted by the three methods were different in different degrees. The essential oil obtained by water distillation had the most kinds of components, mostly small molecular compounds such as alkanes, olefins, alcohols, aldehydes and sesquiterpenes, while subcritical method and supercritical method were similar to each other to a certain extent. They had 40 common components, mostly high boiling point compounds or macromolecular compounds such as acids, alcohols, esters and phenols, but the content difference was obvious.

Key words: stem and leaf of hemp; essential oil; water distillation; subcritical; supercritical; GC-MS

汉麻,又名工业大麻(*Cannabis sativa* L.),为大麻科(Cannabaceae)大麻属(*Cannabis* L.)一年生草本植物,又名火麻、云麻等,是指植物中四氢大麻酚(tetrahydrocannabinol, THC)含量低于0.3%的非毒品性大麻类型^[1,2]。大麻是我国的传统经济作物也是历史悠久的药用植物^[3],其种子(火麻仁)、茎秆以及花叶具有不同的实际应用价值^[4]。最新基于基因组重测序的研究显示,大麻最早起源于东亚,之后按照纤维型大麻(工业大麻)和毒品型大麻两种模式经过强烈的人工驯化形成了现今形态各异的大麻品种^[5]。我国有20多个省市都有工业大麻种植历史,其中大面积种植工业大麻的地区有黑龙江和云南省,甘肃、吉林等地也有零星种植^[6],其应用涉及医药、食品、保健品和化妆品等多个领域^[7]。现代药理研究表明,大麻具有镇痛、降眼压、抗肿瘤、抗呕吐、抗紫外、抗菌、抗炎等功能活性^[8,9]。近年来,大麻非精神活性类成分大麻二酚(cannabidiol, CBD)的作用机制和新药研发取得了突破性进展,基于CBD的各种大麻新产品开发成为了国际热点,而我国在该领域的研究几乎空白^[10]。此外,大麻精油作为大麻植株体内一种挥发性成分也含有较强的活性因子。例如,石竹烯可用于治疗慢性支气管炎和关节炎, α -蒎烯可用于治疗黑色素瘤,亚油酸乙酯可用于降低血脂改善动脉粥样硬化,红没药醇可以用于保护、治疗皮肤过敏等^[11]。国外已有研究应用于日化领域,形成了护手霜,浴液,面霜等产品,由于其政策敏感性,国内相关开发和利用研究很少。

植物精油提取方法主要有固相微萃取法^[12]、同时蒸馏萃取法^[13]、微波辅助萃取法^[14]、超临界流体萃取法和亚临界流体萃取法等^[15-21],如Tian等^[22]采用微波辅助-水蒸气蒸馏法和超临界CO₂萃取法提取汉麻叶精油,共鉴定出90种化合物,多为烃类、醇类等小分子挥发物,且其采用顶空萃取进样,操作繁琐,易造成重现性差等问题,鉴定出的种类也不齐全,不能全面反映精油全组分。因此,本研究分别采用水蒸馏提取法(以下简称水蒸馏法)、亚临界以及超临界萃取法三种方法来获得汉麻茎叶精油,系统

全面地比较三种方法获得的精油全组分及其各组分间含量的差异性和特征性,以期发现更多潜在活性成分为汉麻产业合理、合规的开发利用提供科学依据,也为后期进行汉麻精油的活性测试和批量提取选择一个高效便捷的提取方式,为汉麻精油(组分)产品开发及其抗氧化、抗炎等活性筛选提供研究基础,具有理论和指导意义。

1 材料与方法

1.1 原料

挑选完整、无虫病害的汉麻植株(云南昆明)作为试验原料,汉麻茎叶原料从产地直接收集,经河南省科学院赵天增研究员鉴定,均为大麻科Cannabaceae大麻属*Cannabis* Linn.汉麻*Cannabis sativa* L.植株的茎叶,标本存放于河南省科学院天然产物重点实验室(编号zwyn20180017)。

1.2 仪器与试剂

GCMS-2010Uira型气相色谱-质谱仪(日本岛津公司);超临界萃取装置、亚临界萃取装置、LPG-5型喷雾干燥器(常州市一新机械厂);HSCE40-24X2型大提取装置(上海研究机械设备有限公司);KQ-5WE超声池(昆山市超声仪器有限公司);ME204型万分之一天平(梅特勒-托利多公司);甲醇(LC/MS级, Fisher Scientific公司);水为娃哈哈矿泉水,乙醇等其他试剂均为分析纯。

1.3 色谱条件

色谱柱:Rxi-5ms(30 m × 0.25 mm, 0.25 μm);柱流量:1.16 mL/min;流量控制方式:线速度;压力:78.1 kPa;进样量:1 μL;进样口温度:280 °C;柱温80 °C(保持1 min),以5 °C/min升到220 °C(保持2 min),5 °C/min升到320 °C(保持5 min),分流比50:1。

1.4 质谱条件

离子源EI,Scan扫描模式;离子源温度200 °C;接口温度250 °C;电子能力70 eV;检测器电压0.93 kV;溶剂延迟3.0 min。扫描范围35~500 amu;经GC-MS分析得到不同提取方式下汉麻精油的总离子流色谱图(total ion chromatogram, TIC)(见图1~3)。

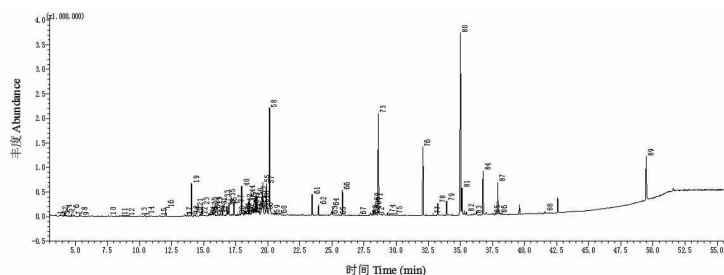


图1 水蒸馏方法提取汉麻精油的总离子流色谱图

Fig. 1 TIC of hemp essential oil extracted by water distillation method

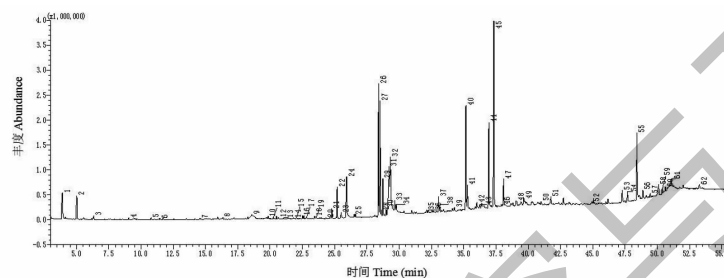


图2 亚临界方法提取汉麻精油的总离子流色谱图

Fig. 2 TIC of hemp essential oil extracted by subcritical method

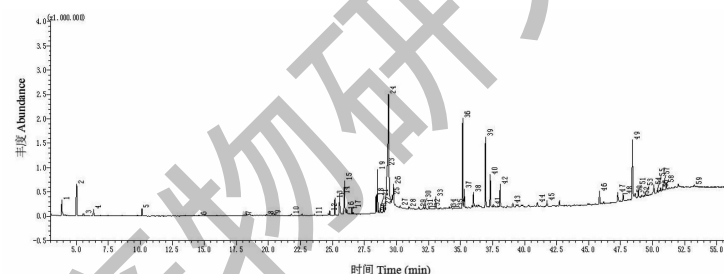


图3 超临界方法提取汉麻精油的总离子流色谱图

Fig. 3 TIC of hemp essential oil extracted by supercritical method

1.5 样本前处理

将汉麻茎叶原料置于干燥阴凉的地方阴干,使用粉碎机粉碎并通过二号筛(24目),得到汉麻茎叶粗粉,将过筛的样品放于密封袋中,放置在4℃的冰箱中备用。

1.5.1 水蒸馏法

称取处理好的汉麻茎叶粗粉约75.00 g(准确至0.01 g),将粗粉置于1 000 mL圆底烧瓶中,再按照料液比1:10将水加入到圆底烧瓶中,混合搅拌均匀,在50℃下平衡0.5 h,50℃温浴2 h,采用水蒸气蒸馏法收集馏出的挥发油,根据《中国药典》2020版四部通则附录挥发油测定法(2204)进行提取^[24],保持微沸大约3~5 h左右,当精油提取器中的精油量不再增加时停止加热,放置片刻,读取汉麻精油的

提取含量并分离出精油,重复提取3次,计算物料中汉麻精油的收率平均值。

汉麻茎叶精油得率(mL/g) =

汉麻茎叶精油体积(mL)/汉麻茎叶粗粉质量(g)

1.5.2 亚临界法

称取约50.00 g(准确至0.01 g)汉麻茎叶粗粉放置于亚临界萃取装置中,使用丁烷为夹带剂,萃取温度40℃,萃取压强为0.45 MPa,萃取时间为20 min,萃取3次。萃取液从萃取罐进入分离罐,减压脱除溶剂,得到粗提物,在搅拌下向浸膏中加入10倍量的95%乙醇,加热至50℃,保持40 min使其充分溶解,待溶液冷却至室温后,转移至-20℃冰箱中冷冻过夜,抽滤后,在0.01 MPa、浴温35℃条件下将滤液浓缩至无溶剂,得到汉麻茎叶精油样品,并计

算供试品中精油的收率^[15,16]。精油得率计算公式同“1.5.1”。

1.5.3 超临界法

称取约 50.00 g(准确至 0.01 g)的汉麻茎叶粗粉添加到萃取釜,密封安装后进行超临界 CO₂ 萃取,萃取压力为 29 MPa,萃取温度 49 ℃,萃取时间 4 h,CO₂ 流量为 13 mL/min,最后记录所提取得到的精油含量,并计算供试品中汉麻茎叶精油的收率^[25]。精油得率计算公式同“1.5.1”。

1.5.4 供试品溶液的制备

准确称取上述方法制备获得的精油约 100 mg 放于 10 mL 的离心管中,加入 5 mL 甲醇(或正己烷)超声提取溶解,并定容,再将配置好的溶液稀释 50 倍,用 0.22 μm 微孔滤膜滤过,取续滤液,即得。

2 结果与讨论

2.1 三种方法制备汉麻茎叶精油的比较

采用 3 种方法制备得到的汉麻茎叶精油的得率、性状及鉴定化合物数如表 1 所示。结果表明,三种方法提取的汉麻茎叶精油得率差异明显。亚临界法和超临界法比水蒸馏法的得率提高了 50% 以上,得到的精油颜色稍深;超临界萃取法提取的精油得率最高,采用乙醇作夹带剂,溶解出汉麻茎叶中的色素成分,因此精油颜色较深,显现出绿黄色油状,浓缩除去精油中的乙醇,最终精油得率为 0.0031 mL/g。从鉴定化合物数进行比较,水蒸馏法提取得到的成分最多,高达 89 个,而亚临界和超临界两种方法获得的成分比较接近,且有高达 40 个共有成分,所得指纹图谱也很相近。

表 1 三种方法制备的汉麻茎叶精油的比较

Table 1 Comparison of essential oils from stems and leaves of hemp prepared by three methods

方法 Method	得率 Yield(mL/g)	性状外观 Characteristic	鉴定化合物数 Number of identified compound
水蒸馏法 Water distillation method	0.001 8	淡绿色,油状	89
亚临界法 Subcritical method	0.002 9	浅绿黄色,油状	62
超临界法 Supercritical method	0.003 1	绿黄色,油状	59

2.2 汉麻精油成分 GC-MS 分析

将所得的精油全组分的质谱图与分析软件中的美国国家科学技术研究所的 NIST 质谱库 2011 版和 2014 版(NIST-2011、NIST-2014)进行检索比对并结合文献查阅分析,对各个成分峰的化合物的相似度进行评价分析,采用峰面积归一化法计算出各组分的相对含量,结果见表 2。结果表明,水蒸馏法共提取出 89 种成分,亚临界萃取法共提取出 62 种成分,超临界萃取法共提取出 59 种成分,三者共计含有 13 种共有成分。水蒸馏法所提取得到的成分最多,且主成分在种类和含量上也有较大差异。其中,水蒸馏法提取的成分中主要有:大麻二酚(19.69%)、 α -红没药醇(9.07%)、石竹烯及其衍生物(8.87%)、植物醇(8.54%)、次大麻二酚(7.05%)、抗氧化剂 168(4.01%)、 Δ^9 -四氢大麻酚(4.00%)、大麻酚(3.04%)、大根香叶酮(2.80%)、大麻色原烯(2.78%)、大麻环酚(2.51%)、大根香叶三烯醇(2.41%)、邻苯二甲酸二丁酯(2.02%)、 β -愈创木烯(1.78%)、植酮(1.51%)等成分,同时还含有大量的低挥发性小分子化合物;亚临界法提取的成分主要有:邻苯二甲酸二正辛酯(17.56%)、亚油酸甲

酯(8.66%)、二十二烷基多沙酸 8,11,14-三烯酸酯(7.94%)、大麻二酚(7.86%)、亚油酸(6.51%)、(Z)-9-十六碳烯醛(6.41%)、 Δ^9 -四氢大麻酚(5.90%)、 γ -谷甾醇(5.24%)、棕榈酸(3.61%)、甘油(3.51%)、(+)-柠檬烯(2.35%)、植物醇(2.42%)、棕榈酸甲酯(1.86%)、大麻色原烯(1.79%)、大麻酚(1.84%)等成分;超临界法提取的成分主要有:油酸(22.50%)、大麻二酚(8.71%)、亚油酸(7.68%)、 γ -谷甾醇(6.71%)、 Δ^9 -四氢大麻酚(6.62%)、(+)-柠檬烯(4.17%)、棕榈酸(4.05%)、油酸乙酯(2.92%)、邻苯二甲酸二正辛酯(2.89%)、大麻酚(2.09%)、大麻色原烯(1.80%)、亚油酸甲酯(1.40%)、胆固醇(1.38%)、亚油酸缩水甘油酯(1.36%)、棕榈酸甲酯(1.34%)、甘油(1.32%)、 Δ^9 -四氢大麻素(1.16%)等成分。

亚临界萃取法和超临界萃取法所得到的成分在种类上有着很大的相似性,且多为半挥发性成分或大分子化合物,经统计发现二者共有 40 个共有成分。其中甘油,棕榈酸甲酯,棕榈酸,亚油酸, Δ^9 -四

氢大麻素,大麻二酚、大麻色原烯,大麻酚、 Δ^9 -四氢大麻酚、 γ -谷甾醇、坎培甾醇等在含量上比较接近。然而,亚临界法所获得的(+)-柠檬烯、油酸乙酯、油酸缩水甘油酯、棕榈油酸等成分含量低至超临界法的2-5倍左右,但却远高于水蒸馏法所得,而亚油酸甲酯成分含量远高于超临界法和水蒸馏法。同样,水蒸馏法所得的 α -红没药醇,植物醇,植酮,次大麻二酚,大麻二酚等明显高于亚临界法和超临界法。此外,亚临界法获得了较高含量的邻苯二甲酸二正

辛酯和二十二烷基多沙酸8,11,14-三烯酸酯两种酯类成分,占比高达25.5%,而超临界法获得了较高含量的油酸,占比22.5%,同时,二者提取获得的高分子化合物或半挥发性成分明显多于水蒸馏法所得,但小分子化合物或低沸点的成分却损失严重。这可能是基质所处的提取环境,提取条件,夹带剂的使用不同等原因使得所提取的精油成分与溶剂分子间作用力不同而造成。

表2 不同提取方法下汉麻精油成分鉴定和比较分析

Table 2 Component identification and comparative analysis of hemp essential oil under three different extraction methods

序号 No.	t_R (min)	成分 Component	CAS号	分子式 Molecular formula	相似度 Similarity (%)	相对含量 Relative content (%)		
						A	B	C
1	3.489	α -蒎烯 α -Pinene ^[21,22]	80-56-8	C ₁₀ H ₁₆	94	0.07	-	-
2	3.831	苯甲醛 Benzaldehyde ^[22]	100-52-7	C ₇ H ₆ O	95	0.08	-	-
3	3.868	甘油 Glycerol	56-81-5	C ₃ H ₈ O ₃	98	-	3.51	1.32
4	3.991	蘑菇醇 Mushroom alcohol ^[20]	3391-86-4	C ₈ H ₁₆ O	95	0.05	-	-
5	4.120	甲基庚烯酮 Prenylacetone ^[14,15]	110-93-0	C ₈ H ₁₄ O	91	0.12	-	-
6	4.206	6-甲基-5-庚烯-2-醇 6-methyl-5-Hepten-2-ol	1569-60-4	C ₈ H ₁₆ O	87	0.21	-	-
7	4.702	2-溴辛烷 2-Bromooctane	557-35-7	C ₈ H ₁₇ Br	83	0.08	-	-
8	4.911	(+)-柠檬烯 (+)-Dipentene ^[22]	5989-27-5	C ₁₀ H ₁₆	94	0.08	2.35	4.17
9	5.355	5-(2-甲基丙基)壬烷 5-Isobutylnonane	62185-53-9	C ₁₃ H ₂₈	92	0.11	-	-
10	5.463	氯代十四烷 1-Chlorotetradecane	2425-54-9	C ₁₄ H ₂₉ Cl	79	0.05	-	-
11	5.580	γ -松油烯 γ -Terpinene ^[22]	99-85-4	C ₁₀ H ₁₆	95	-	-	0.34
12	6.349	芳樟醇 Linalool ^[22]	78-70-6	C ₁₀ H ₁₈ O	96	-	0.42	0.69
13	7.597	甲基环己基二甲氧基硅烷 Cyclohexyldimethoxymethylsilane	17865-32-6	C ₉ H ₂₀ O ₂ Si	91	0.11	-	-
14	8.456	正十二烷 Dodecane	112-40-3	C ₁₂ H ₂₆	94	0.06	-	-
15	8.585	2,4-二甲基-1-庚醇 2,4-Dimethyl-1-heptanol	98982-97-9	C ₉ H ₂₀ O	80	0.08	-	-
16	9.040	2,3-二氢苯并呋喃 2,3-Dihydrobenzofuran	496-16-2	C ₈ H ₈ O	89	-	0.15	-
17	10.015	5-甲基-十四烷 5-Methyltetradecane	25117-32-2	C ₁₅ H ₃₂	95	0.07	-	-
18	10.123	反式-2-癸烯醛 3-Heptylacrolein	3913-81-3	C ₁₀ H ₁₈ O	95	-	-	0.51
19	10.421	4,6-二甲基-月桂烷 4,6-Dimethyl-dodecane	61141-72-8	C ₁₄ H ₃₀	93	0.16	-	-
20	10.774	脂肪酸甲酯 Monomethyl adipate	627-91-8	C ₇ H ₁₂ O ₄	93	-	0.13	-
21	11.467	对乙烯基愈创木酚 <i>p</i> -Vinylguaiacol	7786-61-0	C ₉ H ₁₀ O ₂	83	-	0.08	-
22	11.563	正十六烷 Hexadecane	544-76-3	C ₁₆ H ₃₄	91	0.06	-	-
23	12.047	薄荷二烯酮 Piperitenone	491-09-8	C ₁₀ H ₁₄ O	96	0.65	-	-

续表 2(Continued Tab. 2)

序号 No.	t_R (min)	成分 Component	CAS 号	分子式 Molecular formula	相似度 Similarity(%)	相对含量 Relative content(%)		
						A	B	C
24	13. 538	瓜菊醇酮 Cinerolone	17190-74-8	C ₁₀ H ₁₄ O ₂	80	0. 11	-	-
25	13. 726	α -石竹烯 α -Caryophyllene ^[14,15,21]	6753-98-6	C ₁₅ H ₂₄	95	0. 23	-	-
26	14. 046	β -石竹烯 β -Caryophyllene ^[14,15,22]	87-44-5	C ₁₅ H ₂₄	97	2. 46	-	-
27	14. 245	10, 10-二甲基-2, 6-双(亚甲基)-二环 [7. 2. 0]十一烷 10, 10-Dimethyl-2, 6-dime- thylenebicyclo[7. 2. 0]undecane	136296-38-3	C ₁₅ H ₂₄	92	0. 10	-	-
28	14. 359	(<i>E</i>)- α -香柑油烯 (<i>E</i>)- α -bergamotene	13474-59-4	C ₁₅ H ₂₄	95	0. 10	-	-
29	14. 572	2,6-二叔丁基苯酚 2,6-Di-tert-butylphenol	128-39-2	C ₁₄ H ₂₂ O	91	-	0. 08	0. 07
30	14. 699	香叶基丙酮 Geranylacetone	3796-70-1	C ₁₃ H ₂₂ O	93	0. 17	-	-
31	14. 871	β -律草烯 β -Humulene	116-04-1	C ₁₅ H ₂₄	95	0. 89	-	-
32	15. 396	γ -衣兰油烯 γ -Muurolene ^[14,15]	30021-74-0	C ₁₅ H ₂₄	91	0. 21	-	-
33	15. 482	α -姜黄烯 α -Curcumene ^[14,15]	644-30-4	C ₁₅ H ₂₂	93	0. 24	-	-
34	15. 577	香紫苏醚 Aclareol oxide	5153-92-4	C ₁₈ H ₃₀ O	80	0. 15	-	-
35	15. 663	β -瑟林烯 β -Selinene ^[22]	17066-67-0	C ₁₅ H ₂₄	93	0. 28	-	-
36	15. 724	正二十烷 Eicosane	112-95-8	C ₂₀ H ₄₂	91	0. 24	-	-
37	15. 864	α -愈创烯 α -Guaiene ^[22]	3691-12-1	C ₁₅ H ₂₄	90	0. 40	-	-
38	16. 104	(<i>Z</i>)-石竹烯 (<i>Z</i>)-Caryophyllene	13877-93-5	C ₁₅ H ₂₄	89	0. 24	-	-
39	16. 245	β -桉叶醇 β -Eudesmol	473-15-4	C ₁₅ H ₂₆ O	83	0. 03	-	-
40	16. 298	γ -紫穗槐烯 γ -Amorphene	6980-46-7	C ₁₅ H ₂₄	90	0. 20	-	-
41	16. 333	紫罗醇 Butylated hydroxytoluene	128-37-0	C ₁₅ H ₂₄ O	94	-	0. 14	-
42	16. 489	δ -杜松烯 δ -Cadinene	483-76-1	C ₁₅ H ₂₄	81	0. 40	-	-
43	16. 811	香橙烯 (+)-Aromadendrene ^[21]	489-39-4	C ₁₅ H ₂₄	89	0. 77	-	-
44	16. 894	α -红没药烯 α -Bisabolene ^[14,15]	25532-79-0	C ₁₅ H ₂₄	89	0. 19	-	-
45	16. 968	3,7(11)-蛇床二烯 3,7(11)-Selinadiene	6813-21-4	C ₁₅ H ₂₄	92	0. 86	-	-
46	17. 357	反式-橙花叔醇 (<i>E</i>)-Nerolidol ^[14,15]	40716-66-3	C ₁₅ H ₂₆ O	93	0. 95	-	-
47	17. 642	石竹烯醇 Carnationenol	913176-41-7	C ₁₅ H ₂₆ O	89	0. 09	-	-
48	17. 770	7-表-反式-倍半松烯-水合物 7-Epi-trans- sesquisabinene hydrate ^[23]	58319-04-3	C ₁₅ H ₂₂ O	80	0. 22	-	-
49	17. 953	石竹素 Caryophyllene oxide	1139-30-6	C ₁₅ H ₂₄ O	94	2. 61	-	0. 07
50	18. 145	2,2,4-三甲基戊二醇异丁酯 2,2,4-Trime- thyl-1,3-pentane diol diisobutyrate	6846-50-0	C ₁₆ H ₃₀ O ₄	86	0. 39	-	-
51	18. 237	愈创醇 (-)-Guaiol	489-86-1	C ₁₅ H ₂₆ O	94	0. 60	-	-
52	18. 310	乙酸芳樟酯 Linalyl acetate	115-95-7	C ₉ H ₁₃ NO	84	0. 27	-	-
53	18. 428	氯丙酮醇 Copaborneol	21966-93-8	C ₁₅ H ₂₆ O	89	0. 98	-	-

续表 2(Continued Tab. 2)

序号 No.	t_R (min)	成分 Component	CAS 号	分子式 Molecular formula	相似度 Similarity (%)	相对含量 Relative content (%)		
						A	B	C
54	18.551	环氧化蛇麻烯 II (-)-Humulene epoxide II	19888-34-7	C ₁₅ H ₂₄ O	95	1.19	-	-
55	18.583	黄姜醇 Curcumol	4871-97-0	C ₁₅ H ₂₆ O	83	-	0.19	-
56	18.655	库贝醇 (-)-Cubenol	21284-22-0	C ₁₅ H ₂₆ O	80	0.15	-	-
57	18.735	环丙甲醇 Cyclopropanemethanol	54999-63-2	C ₁₂ H ₂₀ O ₂	80	0.36	-	-
58	18.788	γ -桉叶油醇 (+)- γ -Eudesmol	117066-77-0	C ₁₅ H ₂₆ O	93	0.62	-	-
59	18.938	7-表-顺式-倍半桉烯-水合物 7-Epi-cis-sesquibabinene hydrate ^[23]	58319-05-4	C ₁₅ H ₂₆ O	85	0.52	-	-
60	19.058	β -石竹烯醇 β -Caryophyllenol	32214-88-3	C ₁₅ H ₂₄ O	84	1.90	-	-
61	19.145	石竹二烯醇 II Caryophylladienol II	19431-79-9	C ₁₅ H ₂₄ O	95	1.34	-	-
62	19.221	T-杜松醇 T-cadinol	5937-11-1	C ₁₅ H ₂₆ O	81	0.53	-	-
63	19.324	异戊酸缬草烯酯 (E)-Valerenyl isovalerate	101527-75-7	C ₂₀ H ₃₂ O ₂	80	0.49	-	-
64	19.520	β -愈创木烯 β -Guaiene	88-84-6	C ₁₅ H ₂₄	80	1.78	-	-
65	19.604	大根香叶酮 Germacrone	6902-91-6	C ₁₅ H ₂₂ O	84	2.80	-	-
66	19.818	异愈创木醇 Bulnesol	22451-73-6	C ₁₅ H ₂₆ O	90	0.28	-	-
67	19.840	芳姜黄酮 ar-Turmerone	532-65-0	C ₁₅ H ₂₀ O	89	-	0.11	0.17
68	19.898	4(15),5,10(14)-大根香叶三烯-1-醇 4 (15),5,10(14)-Germacatrien-1-ol	81968-62-9	C ₁₅ H ₂₄ O	84	2.41	-	-
69	20.133	α -红没药醇 α -Bisabolol	515-69-5	C ₁₅ H ₂₆ O	97	9.07	0.18	0.15
70	20.355	2-十五烷酮 2-Pentadecanone	2345-28-0	C ₁₅ H ₃₀ O	85	0.13	-	-
71	20.475	杜松脑 Juniper camphor	473-04-1	C ₁₅ H ₂₆ O	83	0.05	-	-
72	20.648	鳞叶甘草素 B Glepidotin B	87440-60-6	C ₁₅ H ₂₂ O	80	-	0.15	-
73	21.055	五甲基味喃溴酸酯 Methyl myristate	124-10-7	C ₁₅ H ₃₀ O ₂	89	-	0.08	-
74	21.799	肉豆蔻酸 Myristic acid	544-63-8	C ₁₄ H ₂₈ O ₂	94	-	0.09	0.10
75	22.053	α -环己烷乙酸 Cyclohexylacetic acid	5292-21-7	C ₁₁ H ₁₆ O ₃	84	-	0.11	-
76	22.510	去氢吐叶醇 Dehydrovomifolol	39763-33-2	C ₁₃ H ₁₈ O ₃	80	-	0.23	-
77	22.829	植烷 Phytane	638-36-8	C ₂₀ H ₄₂	89	-	0.11	-
78	23.456	新植二烯 Neophytadiene	504-96-1	C ₂₀ H ₃₈	96	-	0.28	-
79	23.444	植酮 Fitone	502-69-2	C ₁₈ H ₃₆ O	94	1.51	0.11	0.09
80	23.950	邻苯二甲酸二异丁酯 Diisobutyl phthalate	84-69-5	C ₁₆ H ₂₂ O ₄	97	0.89	-	-
81	24.328	叶绿醇 (2E)-3,7,11,15-Tetramethyl-2-hexadecen-1-ol	102608-53-7	C ₂₀ H ₄₀ O	85	-	0.11	-
82	24.782	棕榈油酸甲酯 Palmitoleic acid methyl ester	1120-25-8	C ₁₇ H ₃₂ O ₂	97	-	0.59	0.35
83	24.880	8-甲基壬基苯-1,2-二羧酸丁酯 8-Methylnonyl butyl benzene-1,2-dicarboxylate	89-18-9	C ₂₂ H ₃₄ O ₄	83	0.10	-	-

续表 2(Continued Tab. 2)

序号 No.	t_R (min)	成分 Component	CAS 号	分子式 Molecular formula	相似度 Similarity(%)	相对含量 Relative content(%)		
						A	B	C
84	24.950	反式-法尼基丙酮 (<i>E,E</i>)-Farnesyl acetone	1117-52-8	$C_{18}H_{30}O$	92	0.23	-	-
85	25.193	棕榈酸甲酯 Methyl palmitate	112-39-0	$C_{17}H_{34}O_2$	97	-	1.86	1.34
86	25.503	棕榈油酸 Palmitoleic acid	373-49-9	$C_{16}H_{30}O_2$	95	-	0.41	2.36
87	25.493	异植物醇 Isophytol	505-32-8	$C_{20}H_{40}O$	94	0.06	-	-
88	25.810	邻苯二甲酸二丁酯 Dibutyl phthalate	84-74-2	$C_{16}H_{22}O_4$	97	2.02	-	-
89	25.940	棕榈酸 Palmitic acid	57-10-3	$C_{16}H_{32}O_2$	94	-	3.61	4.05
90	26.117	9-十六碳烯酸乙酯 Ethyl 9-hexadecenoate	54546-22-4	$C_{18}H_{34}O_2$	95	-	-	0.38
91	26.519	棕榈酸乙酯 Palmitic acid ethyl ester	628-97-7	$C_{18}H_{36}O_2$	95	-	0.17	0.48
92	27.082	香叶基芳樟醇 Geranyl linalool	1113-21-9	$C_{30}H_{50}O$	89	0.10	-	-
93	28.009	亚环己基环己酮 Cyclohexylidodecyclohexane	4233-18-5	$C_{12}H_{20}$	80	0.43	-	-
94	28.168	10,12-二十五碳二炔酸 10,12-Pentacosadiynoic acid	66990-32-7	$C_{25}H_{42}O_2$	82	0.11	-	-
95	28.261	亚油酸甲酯 Methyl linoleate	112-63-0	$C_{19}H_{34}O_2$	96	0.51	8.66	1.40
96	28.381	α -亚麻酸甲酯 Methyl linolenate	301-00-8	$C_{19}H_{32}O_2$	93	0.39	-	-
97	28.514	反式油酸甲酯 Elaidic acid methyl ester	1937-62-8	$C_{19}H_{36}O_2$	96	-	-	3.66
98	28.465	5-十二烷基二氢-2(3 <i>H</i>)-呋喃酮 γ -Palmitolactone	730-46-1	$C_{16}H_{30}O_2$	86	0.10	-	-
99	28.523	二十二烷基多沙酸 8,11,14-三烯酸酯 8,11,14-Docosatrienoic acid methyl ester	56847-02-0	$C_{23}H_{40}O_2$	87	-	7.94	-
100	28.610	11-十八酸甲酯 Methyl (<i>E</i>)-Octadec-11-enoate	52380-33-3	$C_{19}H_{36}O_2$	95	-	0.38	0.19
101	28.607	植物醇 Phytol	150-86-7	$C_{20}H_{40}O$	97	8.54	2.42	0.53
102	28.977	硬脂酸甲酯 Methyl stearate	112-61-8	$C_{19}H_{38}O_2$	97	-	0.48	0.61
103	29.214	亚油酸 Linoleic acid	60-33-3	$C_{18}H_{32}O_2$	94	-	6.51	7.68
104	29.312	(<i>Z</i>)-9-十六碳烯醛 <i>cis</i> -9-Hexadecenal	56219-04-6	$C_{16}H_{30}O$	89	-	6.41	-
105	29.339	(<i>Z</i>)-氧代环十七碳-8-烯-2-酮 Oxacycloheptadec-8-en-2-one	123-69-3	$C_{16}H_{28}O_2$	93	0.26	-	-
106	29.380	油酸 Oleic acid	112-80-1	$C_{18}H_{34}O_2$	92	-	-	22.50
107	29.485	反亚油酸甲酯 Linolelaidic acid methyl ester	2566-97-4	$C_{19}H_{34}O_2$	90	0.16	-	-
108	29.648	亚油酸乙酯 Oleic acid	112-80-1	$C_{20}H_{36}O_2$	96	-	0.87	1.30
109	29.767	油酸乙酯 Ethyl linoleate	544-35-4	$C_{20}H_{38}O_2$	94	-	0.61	2.92
110	30.287	十八酸乙酯 Ethyl oleate	111-62-6	$C_{20}H_{40}O_2$	92	-	-	0.17
111	30.962	对庚基苯乙酮 Ethyl stearate	111-61-5	$C_{15}H_{22}O$	80	-	-	0.27
112	31.743	花生四烯酸甲酯 Methyl arachidonate	2566-89-4	$C_{21}H_{34}O_2$	91	-	-	0.15

续表 2 (Continued Tab. 2)

序号 No.	t_R (min)	成分 Component	CAS 号	分子式 Molecular formula	相似度 Similarity (%)	相对含量 Relative content (%)		
						A	B	C
113	32.100	油酸缩水甘油酯 2,3-Epoxypropyl oleate	5431-33-4	$C_{21}H_{38}O_3$	84	-	0.22	0.29
114	32.082	次大麻二酚 Cannabidiol	24274-48-4	$C_{19}H_{26}O_2$	84	7.05	0.23	0.24
115	32.528	棕榈酸缩水甘油酯 Glycidyl palmitate	7501-44-2	$C_{19}H_{36}O_3$	84	-	-	0.24
116	32.867	Δ^9 -四氢大麻素 Δ^9 -Tetrahydrocannabivarin	31262-37-0	$C_{19}H_{26}O_2$	80	0.11	1.18	1.16
117	33.154	花生酸甲酯 Methyl arachidate	1120-28-1	$C_{21}H_{42}O_2$	80	-	0.56	-
118	33.243	大麻二环醇 Cannabibinol	67920-00-7	$C_{21}H_{30}O_2$	89	1.13	-	-
119	33.932	大麻环酚 Cannabicyclol	21366-63-2	$C_{21}H_{30}O_2$	96	1.38	-	0.18
120	34.290	大麻素 Cannabivarol	33745-21-0	$C_{19}H_{22}O_2$	83	-	0.42	0.30
121	35.004	大麻二酚 Cannabidiol	13956-29-1	$C_{21}H_{30}O_2$	97	19.69	7.86	8.71
122	35.119	大麻色原烯 Cannabichromene	20675-51-8	$C_{21}H_{30}O_2$	98	2.78	1.79	1.80
123	35.476	大麻香豆酮 Cannabicumaronone	70474-97-4	$C_{21}H_{28}O_3$	87	0.29	-	-
124	36.009	亚油酸缩水甘油酯 Glycidyl linoleate	24305-63-3	$C_{21}H_{36}O_3$	90	-	0.47	1.36
125	36.064	外四氢大麻酚 <i>exo</i> -Tetrahydrocannabinol (THC)	27179-28-8	$C_{21}H_{30}O_2$	86	0.08	-	-
126	36.259	人参醇 Panaxadiol	19666-76-3	$C_{21}H_{32}O_2$	80	-	0.16	-
127	36.765	Δ^9 -四氢大麻酚 (-)- Δ^9 - <i>trans</i> -THC	1902-08-3	$C_{21}H_{30}O_2$	95	4.00	5.90	6.62
128	37.317	邻苯二甲酸二辛酯 Bis (2-ethylhexyl) phthalate	117-81-7	$C_{24}H_{38}O_4$	97	-	-	2.89
129	37.335	邻苯二甲酸二正辛酯 Celluflexdop	117-84-0	$C_{24}H_{38}O_4$	97	-	17.56	-
130	37.543	δ -二十内酯 δ -Eicosalactone	110071-67-5	$C_{20}H_{38}O_2$	86	-	-	0.22
131	37.523	3-甲基二十五烷 3-Methyl-pentacosane	6902-54-1	$C_{26}H_{54}$	77	0.13	-	-
132	37.749	大麻萜酚 Cannabigerol	2808-33-5	$C_{21}H_{32}O_2$	87	0.13	-	-
133	37.990	<i>n</i> -十九烷基环己烷 <i>n</i> -Nonadecylcyclohexane	22349-03-7	$C_{25}H_{50}$	80	-	0.09	-
134	37.912	大麻酚 Cannabinol	521-35-7	$C_{21}H_{26}O_2$	96	3.04	1.84	2.09
135	39.070	角鲨烷 Squalane	111-01-3	$C_{30}H_{62}$	86	0.03	0.59	0.37
136	39.658	甘油单油酸酯 Glycerol	111-03-5	$C_{21}H_{40}O_4$	91	-	0.35	-
137	40.997	芥酸酰胺 <i>cis</i> -13-Docosenoamide	112-84-5	$C_{22}H_{43}NO$	91	-	0.26	0.51
138	41.600	反式角鲨烯 Squalene	111-02-4	$C_{30}H_{50}$	93	0.17	0.53	0.52
139	44.920	γ -生育酚 γ -Tocopherol	54-28-4	$C_{28}H_{48}O_2$	84	-	0.07	-
140	45.846	胆固醇 Cholesterol	57-88-5	$C_{27}H_{46}O$	90	-	-	1.38
141	47.279	菜油甾醇 22-Dihydrobrassicasterol	4651-51-8	$C_{28}H_{48}O$	85	-	1.08	1.24
142	47.687	豆固醇 Stigmasterol	83-48-7	$C_{29}H_{48}O$	90	-	0.75	0.7
143	48.422	γ -谷甾醇 Clionasterol	83-47-6	$C_{29}H_{50}O$	89	-	5.24	6.71

续表 2(Continued Tab. 2)

序号 No.	t_R (min)	成分 Component	CAS 号	分子式 Molecular formula	相似度 Similarity (%)	相对含量 Relative content (%)		
						A	B	C
144	48.633	豆甾醇 Isofucosterol	481-14-1	C ₂₉ H ₄₈ O	88	-	-	0.72
145	48.881	β -香树精 β -Amyrin	559-70-6	C ₃₀ H ₅₀ O	90	-	0.64	0.78
146	49.144	β -白檀酮 β -Amyron	638-97-1	C ₃₀ H ₄₈ O	82	-	-	0.12
147	49.444	α -香树精 α -Amyrin	638-95-9	C ₃₀ H ₅₀ O	93	-	0.26	0.30
148	49.478	抗氧化剂 168 Antioxidant 168	31570-04-4	C ₄₂ H ₆₃ O ₃ P	90	4.01	-	-
149	50.097	β -香树脂醇乙酸酯 β -Amyrin acetate	1616-93-9	C ₃₂ H ₅₂ O ₂	95	-	0.75	0.86
150	50.374	24-亚甲基阿屯醇 24-Methylene cycloartanol	1449-09-8	C ₃₁ H ₅₂ O	84	-	0.29	0.29
151	50.617	α -香树脂醇乙酸酯 α -Amyrenyl acetate	863-76-3	C ₃₂ H ₅₂ O ₂	90	-	0.33	0.41
152	50.759	表木栓醇 Friedelal	5085-72-3	C ₃₀ H ₅₂ O	81	-	-	0.19
153	51.063	无羁萜 Friedeline	559-74-0	C ₃₀ H ₅₀ O	92	-	0.61	0.64
154	53.254	9-十八烯酸-十二烷基酯 9-Octadecenoic acid, dodecyl ester	36078-10-1	C ₃₀ H ₅₈ O ₂	81	-	0.38	0.19

注:A:水蒸馏法;B:亚临界法;C:超临界法;-:未检出;

Note: A: Water distillation method; B: Subcritical method; C: Supercritical method; -: Not detected.

3 讨论与结论

本试验经过大量试验优化和筛选,获得 3 种方法下汉麻精油的 GC-MS 总离子流色谱图,使得各成分间实现较好的分离,提高了鉴定的准确度、可信度。通过对 3 种不同提取方法所获得的汉麻精油全组分进行 GC-MS 鉴定分析和比较研究,结果发现:三种方法所得精油共计鉴定出 154 个成分,且含有 13 个共有成分,相似度均在 80% 以上,其中水蒸馏法获得提取成分最多,高达 89 种,多为烷烃、烯烃、醇类、醛类、倍半萜类等小分子化合物成分,而超临界和亚临界萃取法所得精油组分在具有一定的相似性,多为酸类、醇类、酯类、酚类等高沸点化合物或大分子化合物,且含有 40 个共有峰,但含量差异明显,如植物醇,亚油酸,油酸,大麻二酚等。

虽然水蒸馏法获得的提取成分种类比较多,但是出油率较低,并且挥发性成分或主成分含量也与另外两种提取方法有着较大的差异。这是因为水蒸气蒸馏时,热水中能溶解一定比例的精油(挥发油)成分,水蒸气蒸馏时蒸馏温度能达到 100 ℃,所以,沸点较高的成分不容易被蒸出,同时,不同成分在热水中溶解度不同,各成分被蒸出的比例也不尽相同。水蒸馏法主要将那些低沸点、小分子化合物成分等提取出来,因此,使用水蒸馏法可以获得多种类的挥发性成分。而亚临界和超临界两种提取方法在提取原理和获得成分上具有一定的相似性,二者提取

时在适宜的临界温度和压强下可使得极性较大的化合物,高沸点化合物或大分子化合物分离出来,同时伴随着夹带剂的使用,夹带剂与溶质分子间存在范德华力或夹带剂与溶质具有特定的分子间作用,如氢键及其他各种作用力,这样不仅改善和维持了萃取的选择性,而且还提高了难挥发性溶质和极性溶质的溶解度,相比水蒸馏法可以分离萃取出更多中性成分或半挥发性成分,同时也会造成一些小分子成分的损失。综合考虑,亚临界萃取法作为一种新型萃取手段,具有低温高保活、常压易实现、环境友好型优点,最大限度地保留了热敏性,易挥发性,易水解,易氧化组分,同时还具有节能、成本低等优点,可考虑将亚临界萃取法作为提取汉麻精油的理想方法。

汉麻精油是汉麻植株体内的一种挥发性次生代谢产物,其中的一些组分具有独特的药用和食用价值,鉴于其本身具有较强的挥发性,渗透性,芳香性,不仅可以调节情绪,还可以抗虫,抗菌等,具有较高的应用前景。因此,本试验可为后期进行汉麻精油的活性测试和批量提取选择一种高效便捷的提取方式提供试验依据,为进一步定性定量研究汉麻精油(组分)及其功能活性价值提供数据和参考,也为深入挖掘汉麻应用潜力以增强汉麻产业发展后提供科学指导。

参考文献

- 1 Lu YX, Dong P, Cui XG, et al. Difference between industrial hemp and marijuana hemp and industrial hemp's use value [J]. *Chin Pharmacol Bull* (中国药理学通报), 2007, 23: 1112-1114.
- 2 Li ZN, Wei Y, Li FF, et al. Determination of CBD, THC and CBN in hemp from different habitats by technique-isotopic internal standard method based on GC-MS [J]. *J Pharm Anal* (药物分析杂志), 2021, 41: 1894-1903.
- 3 Guo MB, Chen X, Guo HY, et al. Effects of different light quality on growth of industrial cannabis sativa and accumulation of cannabidiol, an anti-epilepsy compound [J]. *J Chin Med Mater* (中药材), 2019, 42: 2220-2225.
- 4 Li J, Mi YL, Wang SJ, et al. Quantitative analysis of six cannabinoids in hemp based on UPLC-QQQ-MS/MS [J]. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 2022, 53: 1163-1172.
- 5 Ren G P, Zhang X, Li Y, et al. Large-scale whole-genome resequencing unravels the domestication history of *Cannabis sativa* L. [J]. *Sci Adv*, 2021, 7: 1-12.
- 6 Zhang JQ, Chen SL, Wei GF, et al. Cultivars breeding and production of non-psychoactive medicinal cannabis with high CBD content [J]. *China J Chin Mater Med* (中国中药杂志), 2019, 44: 4772-4780.
- 7 Chen X, Xu YP, Zhang QY, et al. Identification and assessment of chemotype and genotype of cannabinoids in *Cannabis sativa* L. [J]. *J Plant Genet Resour* (植物遗传资源学报), 2016, 17: 920.
- 8 Guo L, Wang MZ, Wang DK, et al. Research progress and prospect of comprehensive utilization of industrial hemp [J]. *Heilongjiang Agric Sci* (黑龙江农业科学), 2014: 132.
- 9 He CF, Li JY, Wang L, et al. Anti-UV efficacy and safety evaluation of extracts from *Cannabis sativa* L. [J]. *Nat Prod Res Dev* (天然产物研究与开发), 2014, 26: 1872-1878.
- 10 Li QS, Meng Y, Chen SL. A new cannabis germplasm classification system and research strategies of non-psychoactive medicinal cannabis [J]. *Chin J Chin Mater Med* (中国中药杂志), 2019, 44: 4309-4316.
- 11 Zhou Q, Huang FH, Chang Z, et al. Physicochemical properties and volatile components of hempseed oils in Bama region [J]. *Oil Crop Sci*, 2017, 2: 13-22.
- 12 Zhu CY, Cao R, Jiang Y, et al. Headspace solid-phase micro-extraction and GC-MS analysis of volatile components of china-hemp leaves [J]. *J Food Sci Technol* (食品科学技术学报), 2012, 30: 44-49.
- 13 Jiang Y, Li JY, Du JQ, et al. Simultaneous distillation extraction and GC-MS analysis of volatile components from China hemp leaves [J]. *Food Sci* (食品科学), 2011, 32: 226-229.
- 14 Fiorini D, Scortichini S, Bonacucina G, et al. Cannabidiol-enriched hemp essential oil obtained by an optimized microwave-assisted extraction using a central composite design [J]. *Ind Crop Prod*, 2020, 154: 112688.
- 15 Li ZN, Li X, Li ZH, et al. Study on the volatile constituent of Zhangliang ginger in Henan province [J]. *Hubei Agric Sci* (湖北农业科学), 2019, 58: 189-192.
- 16 Li ZN, Wei Y, Cao JY, et al. Analysis of volatile oil components of ginger and dried ginger from different producing areas [J]. *Jiangsu Agric Sci* (江苏农业科学), 2020, 48: 215-221.
- 17 Qiu SL, Lin BM, Hong JM, et al. Extraction and composition analysis of essential oils from *Cymbopogon citratus* [J]. *Chin Condiment* (中国调味品), 2020, 45: 177-179.
- 18 Zou T, Ji Y, Ruan JP, et al. Study on supercritical CO₂ extraction technology of roxburgh rose seed oil [J]. *J Chin Med Mater* (中药材), 2018, 41: 2876-2878.
- 19 Shi QL, Li HC, Jiang HZ, et al. Effects of supercritical CO₂ extraction on the oil and lappaol F of *Fructus Arctii* [J]. *Chem Reagents* (化学试剂), 2021, 43: 1322-1328.
- 20 Shen RQ, Zhu L, Feng ZH, et al. Optimization of subcritical fluid extraction for volatile oils of *Aquilaria agallocha* and determination of refined essential oils [J]. *Chin Tradit Pat Med* (中成药), 2019, 41: 1495-1501.
- 21 Shen YH, Li ZX, Zhao ZQ, et al. Essential oil extraction from *Artemisia argyi* by subcritical extraction combined with molecular distillation and analysis of its components [J]. *J Henan Normal Univ: Nat Sci* (河南师范大学学报: 自然科学版), 2022, 50: 91-97.
- 22 Tian Y, Sun YF, Zhang DP, et al. Comparison and analysis of volatile components of essential oil from hemp leaves by different extraction methods [J]. *Heilongjiang Sci* (黑龙江科学), 2021, 12: 8-13.
- 23 Hu WJ, Yu H, Zhao CH, et al. The comparison and analysis of essential oil components of *Zingiber officinale* from different regions [J]. *Food Ferment Ind* (食品与发酵工业), 2020, 46: 236-240.
- 24 Chinese Pharmacopoeia Commission. Pharmacopoeia of the People's Republic of China: Vol IV (中华人民共和国药典: 第四部) [M]. Beijing: China Medical Science Press, 2020.
- 25 Tian Y, Sun YF, Zhang ZH, et al. Optimization of supercritical CO₂ extraction of essential oil from hemp leaves by response surface methodology [J]. *Sci Technol Food Ind* (食品工业科技), 2021, 42: 158-163.