

# 4种方法提取萎叶鲜叶挥发性成分的比较分析

昌娅琪<sup>1</sup>, 栾新博<sup>2</sup>, 权帆<sup>2</sup>, 颜健<sup>2</sup>, 黎平<sup>2\*</sup>

(1. 华南理工大学轻工科学与工程学院, 广东广州 510640)

(2. 华南农业大学资源环境学院, 农业农村部华南热带农业环境重点实验室, 广东广州 510642)

**摘要:** 萎叶鲜叶具有独特的辛香味, 在我国南方地区常用作嚼槟榔青果的植物配料。为了探究萎叶鲜叶的挥发性成分, 采用气相色谱-串联质谱仪对不同方法(水蒸气蒸馏法、固相微萃取法、超声辅助正己烷法和超声辅助二氯甲烷法)提取的挥发性成分进行分析。结果显示, 4种方法提取和鉴定出的挥发性成分共92种, 相对含量较高为酚类、烯类、酯类和醇类, 主要成分为萎叶酚、乙酸丁香酚酯、香叶烯D、4-烯丙基邻苯二酚二乙酸酯、 $\beta$ -石竹烯、 $\gamma$ -衣兰油烯等; 水蒸气蒸馏法提取的挥发性成分最多, 共鉴定60种; 固相微萃取法、超声辅助二氯甲烷和超声辅助正己烷法提取鉴定的挥发性成分分别为53种、42种和25种; 4种提取方法共有组分17种, 而固相微萃取法特有成分20种, 水蒸气蒸馏法获得特有成分18种。不同提取方法获得挥发性成分的种类和含量差异较大, 以挥发性活性成分为目的的提取方法, 水蒸气蒸馏提取法较为合适, 固相微萃取法结合水蒸气蒸馏法提取萎叶鲜叶, 能够获得更加全面的挥发性成分, 可为萎叶香气物质基础的开发与利用提供参考。

**关键词:** 萎叶; 挥发性成分; 水蒸气蒸馏法; 超声波溶剂提取; 顶空固相微萃取; 气相色谱-串联质谱仪

文章编号: 1673-9078(2023)05-225-233

DOI:10.13982/j.mfst.1673-9078.2023.5.0634

## Comparative Analysis of Four Methods for Extracting Volatile

### Constituents from Fresh *Piper betle* Leaves

CHANG Yaqi<sup>1</sup>, LUAN Xinbo<sup>2</sup>, QUAN Fan<sup>2</sup>, YAN Jian<sup>2</sup>, LI Ping<sup>2\*</sup>

(1.School of Light Industry and Engineering, South China University of Technology, Guangzhou 510640, China)

(2.Laboratory of Tropical Agro-Environment in South China Ministry of Agriculture and Rural Affairs, College of Natural Resources and Environment, South China Agricultural University, Guangzhou 510642, China)

**Abstract:** The fresh leaves of *Piper betle* have a unique spicy flavor and are usually used as a plant ingredient for chewing betel nut in southern China. In order to explore the volatile constituents of *P. betle* fresh leaves, the volatile components were extracted by different methods (steam distillation, headspace solid-phase microextraction, ultrasonic-assisted n-hexane extraction and ultrasonic-assisted dichloromethane extraction) and analyzed by gas chromatography-tandem mass spectrometry. The results showed that a total of 92 volatile constituents were extracted and identified, and the volatile constituents with relatively high contents were phenols, alkenes, esters and alcohols, with the main compounds being chavibetol, eugenol acetate, germacrene D, 4-Allylpyrocatechol diacetate,  $\beta$ -caryophyllene and  $\gamma$ -muurolene. The number of volatile constituents extracted by steam distillation was the highest, with a total of 60 compounds being identified. There are 53, 42 and 25 volatile components, respectively, extracted by solid-phase microextraction, ultrasonic-assisted dichloromethane extraction method and ultrasonic-assisted n-hexane extraction method. Seventeen common constituents were extracted by the four extraction methods, with 20 unique volatile constituents obtained by headspace solid-phase microextraction, and 18 unique constituents by steam distillation extraction. The types and contents of volatile constituents obtained by the four extraction methods differed largely. For the purpose of extracting volatile active

引文格式:

昌娅琪, 栾新博, 权帆, 等. 4种方法提取萎叶鲜叶挥发性成分的比较分析[J]. 现代食品科技, 2023, 39(5): 225-233.

CHANG Yaqi, LUAN Xinbo, QUAN Fan, et al. Comparative analysis of four methods for extracting volatile constituents from fresh *Piper betle* leaves [J]. Modern Food Science and Technology, 2023, 39(5): 225-233.

收稿日期: 2022-05-19

基金项目: 国家自然科学基金项目 (31800283)

作者简介: 昌娅琪 (1990-), 女, 硕士, 助理实验师, 研究方向: 精细化工和实验室管理, E-mail: changyq@scut.edu.cn

通讯作者: 黎平 (1986-), 男, 博士, 讲师, 研究方向: 植物代谢组学, E-mail: liping2016@scau.edu.cn

components, steam distillation is more suitable for the extraction of volatile active components. Solid-phase microextraction combined with steam distillation can extract more comprehensive volatile constituents from the fresh leaves of *Piper betle*. This study provides a reference for the development and utilization of the volatiles constituents of *P. betle* leaves.

**Key words:** *Piper betle*; volatile constituents; steam distillation; ultrasonic-assisted extraction; headspace solid-phase microextraction; gas chromatography-mass spectrometry

蒟叶 (*Piper betle*), 俗名蒟酱, 为胡椒科胡椒属多年生攀援藤本植物, 主要分布于东南亚热带和亚热带地区, 在我国东南至西南部各省区均有栽培。蒟叶作为“药食同源”植物, 其茎、叶入药, 可治胃寒痛、风寒咳嗽、疮疖、湿疹等<sup>[1,2]</sup>, 蒟叶具有强烈的辛辣芳香气味, 可作调香原料, 其叶片与各种调味品一起使用, 例如蒟叶和槟榔、豆蔻等用于咀嚼, 用作餐后口腔清新剂<sup>[3]</sup>。我国海南、西双版纳等地居民, 将新鲜蒟叶包和生石灰与槟榔青果作咀嚼嗜好品<sup>[4]</sup>。蒟叶由于具有重要的食用价值和药用价值, 在印度、斯里兰卡、泰国、马来西亚等国被广泛栽培, 其叶子在亚洲是最受欢迎的第二大日常消费品<sup>[5]</sup>。

蒟叶含有丰富的挥发油、萜类、生物碱、多酚类等化学成分<sup>[6]</sup>, 其中, 挥发油是蒟叶叶片的主要成分, 含量为 0.1%~2%<sup>[7]</sup>。研究表明蒟叶挥发油的主要成分为丁香酚、蒟叶酚、胡椒酚、乙酸丁香酚酯、异丁香酚、反式-异丁香酚等<sup>[8]</sup>, 药理研究表明蒟叶具有抑菌、抗氧化剂、抗虫、抗炎、抗微生物等多种生物活性<sup>[2,9]</sup>。蒟叶广谱抗菌活性颇受关注, 研究学者将蒟叶的提取物和挥发油作为天然食品防腐剂<sup>[10]</sup>, 添加入苹果汁<sup>[11]</sup>、番茄酱<sup>[12]</sup>、蛋糕<sup>[13]</sup>等食品。蒟叶独特的芳香气味和多种生物学功能, 具备开发成食品添加剂、保健品和医药用品的潜力。

选择合适的提取方法对于植物挥发性成分的提取至关重要。当前, 对蒟叶挥发油的提取方法多采用水蒸气蒸馏法, 例如, 采用优化的水蒸气蒸馏法提取蒟叶鲜叶和腌制叶片的挥发油含量并分析其化学成分<sup>[14]</sup>; 通过微波辅助水蒸气提取的蒟叶挥发油, 在产率不变的前提下缩短提取时间<sup>[15]</sup>; 国内学者使用超声波辅助同时蒸馏萃取的方法, 结合响应面法优化获得蒟叶挥发油提取的最优工艺条件<sup>[16]</sup>。其他提取方法研究相对较少, 如采用固相微萃取法从蒟叶中鉴定的化学成分与水蒸气蒸馏提取有较大区别<sup>[17]</sup>; 不同溶剂(甲醇、乙醇、丙酮和乙酸乙酯)提取蒟叶提取物比较分析其抗菌和抗氧化活性<sup>[18]</sup>; 通过测定 4-烯丙基邻苯二酚和丁香酚的百分比评估液液萃取和超临界 CO<sub>2</sub> 流体萃取蒟叶干叶的效率<sup>[19]</sup>。由上可知, 常用的提取方法均有应用在蒟叶化学成分研究中, 然而不同提取方法提取蒟叶挥发油的研究未见报道, 本研究以新鲜

蒟叶叶片为研究对象, 通过水蒸气蒸馏法、超声辅助溶剂萃取法和顶空-固相微萃取法进行提取, GC-MS 比较分析我国蒟叶挥发性物质的含量和异同, 对蒟叶质量控制和开发利用具有重要指导意义。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料与试剂

新鲜蒟叶的叶片于 2021 年 6 月采自海南省乐东黎族自治县福报村 (18°31'15.2"N, 109°06'51.6"E), 采集材料为栽培 3 年的生长期叶片, 经华南农业大学羊海军高级实验师鉴定为胡椒科胡椒属蒟叶 (*Piper betle* L.), 凭证标本存放于华南农业大学标本馆。

正己烷、二氯甲烷 (色谱纯, 天津科密欧化学试剂有限公司); 无水硫酸钠 (分析纯, 江苏强盛功能化学股份有限公司); 标准正构烷烃 (C<sub>7</sub>-C<sub>40</sub>), 纯度 > 98%, 美国 Sigma 公司。

### 1.2 仪器与设备

SPME 手动固相微萃取装置, 萃取头为 65 μm 聚二甲硅氧烷 (PDMS/DVB), 美国 Supelco 公司, 7890A/5975B-MSD 气-质联用仪, 美国安捷伦科技有限公司; 超声清洁仪, 宁波双嘉仪器有限公司。

### 1.3 方法

#### 1.3.1 挥发性成分的提取

(1) 超声波辅助溶剂提取: 取 2 g 的蒟叶鲜叶放入研钵中, 液氮速冻后研磨成粉末, 称取 400 mg 蒟叶粉末置于西林瓶, 加入 4 mL 正己烷或二氯甲烷, 室温下超声 30 min, 随后加入 1 g 无水硫酸钠, 密封置于 4 °C 冰箱静置 12 h; 小心吸取上清液 1 mL, 经 0.4 μm 聚四氟滤膜过滤后, 待 GC-MS 分析。

(2) 水蒸气蒸馏法提取: 水蒸气蒸馏法主要采用 Clevenger 装置提取蒟叶的精油, 取 130 g 蒟叶鲜叶经液氮速冻后充分研磨成粉末, 加入超纯水 500 mL, 用 Clevenger 装置提取 6 h, 收集挥发油, 产率约 0.20%。精油经过无水硫酸钠去除水分后, 用二氯甲烷配置成 1 mg/mL, 进行 GC-MS 分析。

(3) 顶空-固相微萃取 (HS-SPME): 蒟叶鲜叶

剪成小片,加入液氮快速研磨成粉末后,取1g粉末立即装入顶空样品瓶,封口备用。顶空固相微萃取取前,将固相萃取头于GC进样口老化1h,老化温度250℃,将老化好的固相微萃取头插入顶空顶,60℃水浴条件下萃取15min,进行GC-MS分析。

### 1.3.2 气相色谱-质谱条件

GC条件:色谱柱HP-5ms弹性石英毛细管柱(30m×0.25mm×0.25μm);程序升温条件为:60℃保持2min,然后以6℃/min速率升至280℃,保持15min。进样口温度250℃,载气为氮气,载气流量1.0mL/min,不分流。MS条件:EI离子源,电离能源70eV,扫描范围 $m/z$ 29~500,离子源温度230℃,GC/MS接口温度280℃。

### 1.3.3 数据分析

GC-MS下机数据,利用MSDIAL 4.80<sup>[20]</sup>进行数据预处理,通过解卷积、峰提取、峰对齐、归一化处理等,其中分析时间范围为5.50~35.00min,最小峰强度(Minimum Peak Height)为3000;以标准正构烷烃的保留时间,计算获得各个挥发性成分的保留指数(RI),将检测到的挥发性成分的代表质谱图在NIST2014标准质谱数据库进行检索和鉴定,取RI值接近度较高和匹配度800及以上峰,采用峰面积归一化法计算各挥发性成分的相对含量。韦恩图绘制由VENNY.2.1(<https://bioinfogp.cnb.csic.es/tools/venny/index.html>)完成,GraphPadPrism 8.0.1软件绘制类型含量图。

## 2 结果与讨论

### 2.1 4种提取方法获得萎叶挥发性成分种类和数量的比较分析

由GC-MS分析获得挥发物的总离子图(图1),表明4种提取方法所得提取物主要挥发性成分基本相似,主要成分出峰时间在17.00min~24.00min,个别峰的相对含量有所差异。二氯甲烷提取的挥发性成分的图谱和水蒸气蒸馏提取的挥发性成分的图谱较为相似,而正己烷提取获得的挥发性成分图谱和固相微萃取法获得的挥发性成分图谱有一定的相似性,个别峰的相对含量有所差异。

由MSDIAL软件对GC-MS数据进行处理,以NIST数据库标准图谱的匹配率和保留指数来鉴定挥发性成分。水蒸气蒸馏法所得的萎叶挥发油共检测出70个峰,鉴定出60种成分,占其挥发油总相对含量的98.47%(峰面积),固相微萃取法所得挥发油共检

测出62个峰,鉴定了53种成分,占其挥发性成分总相对含量的99.41%,二氯甲烷提取物检测出55个峰,鉴定了42种成分,占其挥发性成分总相对含量的98.61%,正己烷提取物检测出32个峰,鉴定了25种成分,占其挥发性成分总相对含量的94.87%。因此,水蒸气蒸馏提取的挥发性成分种类最多,其次是固相微萃取,正己烷溶剂提取的挥发性成分种类最少。

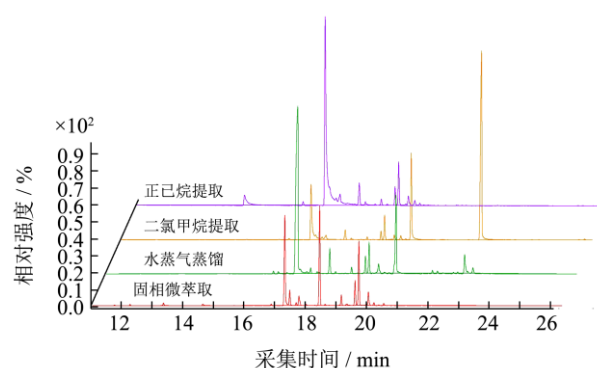


图1 4种不同方法提取萎叶挥发性成分的GC-MS总离子流图

Fig.1 The total ion chromatogram of volatile constituents from *P. betle* leaf by four extract methods

4种提取方法共鉴定出92个化合物(表1),主要为烯类43种、醇类18种、烷烃类13种、酯类8种、酚类5种、醛类3种等,占相对总挥发性成分含量较高为酚类、烯类、酯类和醇类(图2a)。正己烷提取法和水蒸气蒸馏法提取获得含量较高的为酚类,分别为65.68%和57.68%,酚类化合物仅为5种。苏彦利<sup>[16]</sup>通过单因素优化提取方法获取海南萎叶的挥发油,也发现主要成分为酚类5种、醇类6种、烯类28种,其中酚类的含量高达70.03%。固相微萃取法获得的烯类多达37种,相对含量高达68.49%,而二氯甲烷提取的酯类相对含量达66.67%,表明不同提取方法获得的萎叶挥发性成分的种类和含量区别较大。

通过韦恩图分析,4种提取方法提取和鉴定的共有挥发性成分17种(图2b),分别为 $\beta$ -榄香烯、香叶烯D、Isogermacrene D、 $\beta$ -波旁烯、异丁香酚、 $\gamma$ -衣兰油烯、(E)- $\beta$ -罗勒烯、 $\alpha$ -蒎烯、*cis*-Muurolo-4(15),5-diene、榄香烯、双环大根香叶烯、芳樟醇、 $\alpha$ -石竹烯、 $\beta$ -荜澄茄烯、*cis*- $\beta$ -Copaene、 $\beta$ -石竹烯、(Z)- $\alpha$ -可巴烯。二氯甲烷提取法和水蒸气蒸馏法获得的相似挥发性成分最多,有25种。差异成分来看,固相微萃取特有成分20种,水蒸气蒸馏有18种;溶剂超声提取特有成分较少4~5种。可见,固相微萃取和水蒸气蒸馏法可获得萎叶更多的挥发性成分(图2b)。张鹏云等<sup>[21]</sup>采用固相微萃取和水蒸气蒸馏法分析山银花的挥发性成分,两种方法提取的挥发油组分种类及含量差异较大。陈琪等<sup>[22]</sup>比较分析了溶剂蒸馏萃取和固相微萃取法

提取的库买提杏干挥发性成分,共鉴定 46 种成分,两种方法结合更能全面而准确的分析其挥发性成分。本研究结果表明水蒸气蒸馏与固相微萃取两种提取方式结合能较好获得挥发性成分。

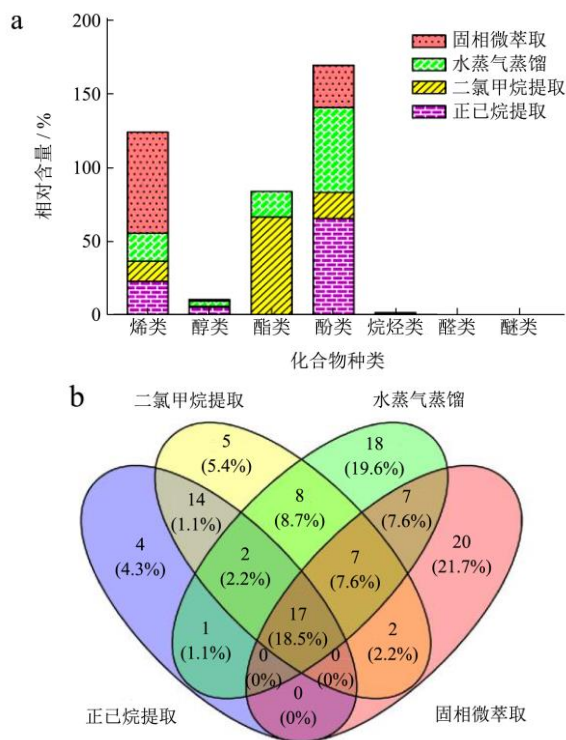


图 2 4 种提取方法获得挥发性成分的种类、含量 (a) 及韦恩图 (b)

Fig.2 The relative content and types of volatile constituents (a) and Venn analysis of four extract methods (b)

## 2.2 不同提取方法所得的挥发性成分比较

从挥发性成分的含量来看,4 种提取方法共鉴定的 92 种化合物中,含量较高的化合物为萹叶酚 (16.91%~64.79%) 和乙酸丁香酚酯 (13.52%~16.96%),其他挥发物如香叶烯 D (4.31%~17.07%)、4-烯丙基邻苯二酚二乙酸酯 (3.26%~49.19%)、 $\beta$ -石竹烯 (3.01%~27.25%)、 $\gamma$ -衣兰油烯 (1.47%~4.03%)、双环大根香叶烯 (0.84%~3.50%) 等为萹叶鲜叶的主要挥发性成分 (表 1)。其中,二氯甲烷提取所得含量最高的挥发性成分为 4-烯丙基邻苯二酚二乙酸酯,其他 3 种方法获得的萹叶酚的相对含量占比最高。

水蒸气蒸馏法为常用的方法,国内外采用水蒸气蒸馏法获得挥发油的报道较多,提取得到的挥发油的

主要成分各不相同。廖超林等<sup>[8]</sup>从泰国萹叶藤叶挥发油中鉴定了 57 个化合物,含量较高的前 5 种物质为乙酸丁香酚酯 (31.77%)、反式-异丁香酚 (28.32%)、乙酸-4-烯丙基苯酚酯 (8.05%)、 $\beta$ -石竹烯 (3.06%) 和香叶烯 D (2.92%)。吕纪行等<sup>[23]</sup>从海南萹叶中提取的挥发油中鉴定出 22 种成分,含量较高的成分为异丁香酚 (67.14%)、胡椒酚 (13.45%)、乙酸异丁香酚酯 (9.62%)。苏彦利<sup>[18]</sup>从萹叶挥发油中鉴定了 41 种化合物,主要成分为异丁香酚 (70.03%)、对烯丙基苯酚 (10.52%) 和乙酸丁香酚酯 (7.04%)。Xiang 等<sup>[24]</sup>分析了 16 种胡椒属植物的挥发油,发现萹叶的叶片和茎挥发油的主要成分为异丁香酚 (10.30%~44.80%)、 $\delta$ -毕橙茄醇 (9.32%)、石竹素 (8.78%)、桉油烯醇 (8.00%) 等。Guha 等<sup>[25]</sup>整理了印度、东南亚不同国家的不同种类萹叶的主要挥发性成分,主要化合物类型有胡椒酚、香叶烯 D、异丁香酚、萹叶酚、丁香酚、茴香烯、黄樟素和乙酸丁香酚酯。其中产自马来西亚、菲律宾萹叶中的萹叶酚含量达 53.10%~80.50% 之间。综上,不同产地的萹叶有不同的品种,其挥发油及挥发性成分存在较大差异。本研究采用水蒸气蒸馏法提取萹叶挥发性成分共鉴定了 60 种化合物,主要成分为萹叶酚 (56.69%)、乙酸丁香酚酯 (13.52%)、香叶烯 D (4.35%)、 $\beta$ -石竹烯 (3.83%) 和  $\gamma$ -衣兰油烯 (2.52%),萹叶酚的含量最高,与国外报道的有一定相似性,而同国内报道的萹叶主要成分有差异。

挥发油可溶于石油醚、二氯甲烷、氯仿、苯和丙酮等有机溶剂,可通过控温、超声波辅助提取以获得较多挥发性成分,本研究采用超声辅助溶剂提取,比较了正己烷和二氯甲烷两种溶剂的提取效果,正己烷超声提取挥发性成分较少,获得的含量较高物质为萹叶酚 (64.79%)、香叶烯 D (7.50%)、 $\beta$ -石竹烯 (3.50%)、 $\gamma$ -衣兰油烯 (3.14%) 和  $\beta$ -榄香烯 (2.12%)。二氯甲烷提取物种类和含量较多 (表 1),主要成分包括 4-烯丙基邻苯二酚二乙酸酯 (49.19%)、乙酸丁香酚酯 (16.96%)、萹叶酚 (16.91%)、香叶烯 D (4.31%) 和  $\beta$ -石竹烯 (3.01%)。二氯甲烷提取的挥发性成分数量和种类较正己烷多,且与水蒸气蒸馏提取的挥发性成分相似度较高,因此,超声辅助二氯甲烷提取的效果较好。

表 1 不同提取方法提取萎叶叶片的挥发性成分

Table 1 Volatile chemical compounds of *P. betle* leaf extracted using different extract methods

序号	时间/min	化合物名称	分子式	CAS 号	匹配度 <sup>a</sup>	保留指数		类别	相对含量/%			
						计算值	参考值 <sup>b</sup>		正己烷提取	二氯甲烷提取	水蒸气蒸馏	固相微萃取
1	6.71	Origanene	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub>	2867-05-2	870	931	929	烯类	-	-	-	0.02
2	6.77	$\alpha$ -蒎烯 $\alpha$ -Pinene	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub>	80-56-8	917	934	937	烯类	0.40	0.19	0.04	1.30
3	7.25	莜烯 Camphene	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub>	79-92-5	944	953	952	烯类	-	-	-	0.48
4	7.56	苯甲醛 Benzaldehyde	C <sub>7</sub> H <sub>6</sub> O	100-52-7	827	966	962	醛类	-	-	-	0.06
5	7.84	$\beta$ -蒎烯 $\beta$ -Pinene	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub>	127-91-3	839	978	979	烯类	-	0.02	-	0.17
6	7.86	桉烯 Sabinene	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub>	3387-41-5	904	979	974	烯类	-	-	-	0.06
7	8.15	2,2,4,6,6-五甲基庚烷 2,2,4,6,6-Pentamethyl-heptane	C <sub>12</sub> H <sub>26</sub>	13475-82-6	837	990	991	烷烃类	0.29	-	-	-
8	8.29	月桂烯 $\beta$ -Myrcene	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub>	123-35-3	955	996	991	烯类	-	-	-	0.25
9	8.70	乙酸叶醇酯 <i>cis</i> -3-Hexenylacetate	C <sub>8</sub> H <sub>14</sub> O <sub>2</sub>	3681-71-8	914	1 012	1 005	酯类	-	-	-	0.03
10	9.16	间伞花烃 <i>m</i> -Cymene	C <sub>10</sub> H <sub>14</sub>	535-77-3	858	1 030	1 023	烯类	-	-	-	0.01
11	9.24	桉叶油醇 Eucalyptol	C <sub>10</sub> H <sub>18</sub> O	470-82-6	934	1 034	1 032	醇类	-	0.04	0.07	0.84
12	9.25	双戊烯 Dipentene	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub>	138-86-3	927	1 034	1 030	烯类	-	-	-	0.31
13	9.32	丁基环己烷 <i>n</i> -Butylcyclohexane	C <sub>10</sub> H <sub>20</sub>	1678-93-9	890	1 037	1 030	烷烃类	-	-	-	0.24
14	9.48	( <i>Z</i> )- $\beta$ -罗勒烯( <i>Z</i> )- $\beta$ -Ocimene	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub>	3338-55-4	926	1 043	1 038	烯类	-	-	-	0.14
15	9.64	( <i>E</i> )- $\beta$ -罗勒烯( <i>E</i> )- $\beta$ -Ocimene	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub>	3779-61-1	943	1 049	1 049	烯类	0.25	0.05	0.01	0.50
16	9.66	苯乙醛 Benzeneacetaldehyde	C <sub>8</sub> H <sub>8</sub> O	122-78-1	934	1 050	1 045	醛类	-	-	-	0.05
17	10.95	芳樟醇 Linalool	C <sub>10</sub> H <sub>18</sub> O	78-70-6	912	1 101	1 099	醇类	0.69	0.11	0.29	0.16
18	11.91	戊基环己烷 Pentylcyclohexane	C <sub>11</sub> H <sub>22</sub>	4292-92-6	900	1 140	1 135	烷烃类	-	-	-	0.15
19	12.68	乙酸苄酯 Benzylacetate	C <sub>9</sub> H <sub>10</sub> O <sub>2</sub>	140-11-4	886	1 172	1 164	酯类	-	-	-	0.02
20	13.24	$\alpha$ -松油醇 $\alpha$ -Terpineol	C <sub>10</sub> H <sub>18</sub> O	98-55-5	884	1 195	1 189	醇类	-	-	0.04	-
21	13.44	水杨酸甲酯 Methylsalicylate	C <sub>8</sub> H <sub>8</sub> O <sub>3</sub>	119-36-8	924	1 203	1 192	酯类	-	-	-	0.06
22	13.51	胡椒酚甲醚 Estragole	C <sub>10</sub> H <sub>12</sub> O	140-67-0	951	1 206	1 196	醚类	-	-	-	0.70
23	13.70	2,6-二甲基十一烷 2,6-Dimethylundecane	C <sub>13</sub> H <sub>28</sub>	17301-23-4	812	1 214	1 210	烷烃类	-	0.02	-	-
24	13.89	2,8-二甲基十一烷 2,8-Dimethylundecane	C <sub>13</sub> H <sub>28</sub>	17301-25-6	841	1 222	1 220	烷烃类	-	0.02	-	-
25	14.71	香叶醇 Geraniol	C <sub>10</sub> H <sub>18</sub> O	106-24-1	946	1 258	1 255	醇类	3.83	-	-	-
26	14.80	胡椒酚 Chavicol	C <sub>9</sub> H <sub>10</sub> O	501-92-8	917	1 261	1 255	酚类	-	-	0.20	0.70
27	14.87	2-甲基十二烷 2-Methyldodecane	C <sub>13</sub> H <sub>28</sub>	1560-97-0	804	1 265	1 264	烷烃类	-	0.05	0.01	-
28	15.25	2,6,11-三甲基十二烷 2,6,11-Trimethyl-dodecane	C <sub>15</sub> H <sub>32</sub>	31295-56-4	833	1 281	1 275	烷烃类	-	0.10	0.03	-
29	15.75	十三烷 Tridecane	C <sub>13</sub> H <sub>28</sub>	629-50-5	898	1 302	1 300	烷烃类	-	0.05	-	0.02
30	16.29	4,6-二甲基十二烷 4,6-Dimethyl-dodecane	C <sub>14</sub> H <sub>30</sub>	61141-72-8	824	1 327	1 325	烷烃类	-	0.06	0.02	-

续表 1

序号	时间/min	化合物名称	分子式	CAS 号	匹配度 <sup>a</sup>	保留指数		类别	相对含量/%			
						计算值	参考值 <sup>b</sup>		正己烷 提取	二氯甲烷 提取	水蒸气 蒸馏	固相 微萃取
31	16.42	榄香烯 Elemene	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub>	20307-84-0	830	1 333	1 338	烯类	0.75	0.31	0.48	0.04
32	16.79	4-烯丙基苯酚酯 4-Allylphenylacetate	C <sub>11</sub> H <sub>12</sub> O <sub>2</sub>	61499-22-7	961	1 349	1 351	酯类	-	-	0.48	-
33	16.91	$\alpha$ -萜荳蔻烯 $\alpha$ -Cubebene	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub>	17699-14-8	917	1 355	1 351	烯类	-	0.04	0.06	0.41
34	17.08	丁香酚 Eugenol	C <sub>10</sub> H <sub>12</sub> O <sub>2</sub>	97-53-0	911	1 363	1 357	酚类	-	0.06	0.25	0.09
35	17.35	姜叶酚 Chavibetol	C <sub>10</sub> H <sub>12</sub> O <sub>2</sub>	501-19-9	929	1 375	1 377	酚类	64.79	16.91	56.69	27.38
36	17.51	$\alpha$ -可巴烯 $\alpha$ -Copaene	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub>	3856-25-5	907	1 382	1 376	烯类	0.77	0.34	0.42	3.44
37	17.72	$\beta$ -波旁烯 $\beta$ -Bourbonene	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub>	5208-59-3	865	1 391	1 384	烯类	0.45	0.33	0.34	0.64
38	17.81	$\beta$ -萜荳蔻烯 $\beta$ -Cubebene	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub>	13744-15-5	880	1 395	1 389	烯类	0.36	0.57	0.07	1.98
39	17.84	$\beta$ -榄香烯 $\beta$ -Elemene	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub>	515-13-9	821	1 397	1 391	烯类	2.12	0.62	0.71	1.16
40	17.90	十四烷 Tetradecane	C <sub>14</sub> H <sub>30</sub>	629-59-4	891	1 400	1 400	烷烃类	0.13	-	-	-
41	18.07	甲基丁香酚 Methyleugenol	C <sub>11</sub> H <sub>14</sub> O <sub>2</sub>	93-15-2	924	1 408	1 402	酚类	-	0.08	0.40	0.36
42	18.13	十二醛 Dodecanal	C <sub>12</sub> H <sub>24</sub> O	112-54-9	949	1 410	1 410	醛类	-	-	0.25	-
43	18.32	(Z)- $\alpha$ -香柠檬烯(Z)- $\alpha$ -Bergamotene	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub>	18252-46-5	800	1 420	1 415	烯类	-	0.04	0.05	0.06
44	18.47	$\beta$ -石竹烯 $\beta$ -Caryophyllene	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub>	87-44-5	975	1 427	1 419	烯类	3.50	3.01	3.83	27.25
45	18.67	<i>cis</i> - $\beta$ -Copaene	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub>	18252-44-3	921	1 436	1 432	烯类	0.54	0.25	0.32	0.32
46	18.72	$\gamma$ -榄香烯 $\gamma$ -Elemene	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub>	29873-99-2	847	1 439	1 433	烯类	0.14	0.09	0.04	-
47	18.75	$\alpha$ -香柠檬烯 $\alpha$ -Bergamotene	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub>	17699-05-7	816	1 440	1 435	烯类	-	-	0.02	0.03
48	18.89	(+)-香橙烯 Aromandendrene	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub>	489-39-4	939	1 447	1 440	烯类	-	-	0.07	-
49	18.99	IsogermacreneD	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub>	317819-80-0	941	1 452	1 448	烯类	0.21	0.09	0.12	0.04
50	19.12	Cadina-3,5-diene	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub>	267665-20-3	843	1 458	1 458	烯类	-	-	0.03	0.06
51	19.19	$\alpha$ -石竹烯 $\alpha$ -Caryophyllene	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub>	6753-98-6	932	1462	1 454	烯类	1.13	0.54	1.00	2.66
52	19.38	<i>cis</i> -Muurola-4(15),5-diene	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub>	157477-72-0	878	1 471	1 463	烯类	0.23	0.07	0.08	0.17
53	19.49	反式-异丁香酚 <i>trans</i> -Isoeugenol	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub>	5932-68-3	808	1 476	1 454	酚类	-	-	-	0.53
54	19.64	$\gamma$ -衣兰油烯 $\gamma$ -Muurolene	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub>	30021-74-0	959	1 483	1 477	烯类	3.14	1.47	2.53	4.03
55	19.76	香叶烯 DGermacreneD	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub>	23986-74-5	963	1 489	1 481	烯类	7.50	4.31	4.35	17.07
56	19.88	$\beta$ -瑟林烯 $\beta$ -Selinene	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub>	17066-67-0	865	1 495	1 486	烯类	-	-	0.08	-
57	19.91	正十五烷 Pentadecane	C <sub>15</sub> H <sub>32</sub>	629-62-9	809	1 496	1 500	烷烃类	-	0.07	0.02	-
58	20.03	$\gamma$ -紫穗槐烯 $\gamma$ -Amorphene	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub>	6980-46-7	874	1 502	1 496	烯类	-	-	0.41	-
59	20.05	(Z,E)- $\alpha$ -法尼烯(Z,E)- $\alpha$ -Farnesene	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub>	26560-14-5	874	1 503	1 491	烯类	-	-	-	0.05
60	20.06	$\alpha$ -衣兰油烯 $\alpha$ -Muurolene	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub>	10208-80-7	828	1 504	1 499	烯类	-	-	1.38	-
61	20.07	双环大根香叶烯 Bicyclogermacrene	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub>	24703-35-3	928	1 504	1 495	烯类	1.66	0.84	1.17	3.50

续表 1

序号	时间/min	化合物名称	分子式	CAS 号	匹配度 <sup>a</sup>	保留指数		类别	相对含量/%			
						计算值	参考值 <sup>b</sup>		正己烷提取	二氯甲烷提取	水蒸气蒸馏	固相微萃取
62	20.27	$\gamma$ -杜松烯 $\gamma$ -Cadinene	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub>	39029-41-9	854	1 514	1 513	烯类	-	-	0.22	0.16
63	20.29	$\beta$ -杜松烯 $\beta$ -Cadinene	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub>	523-47-7	800	1 515	1 518	烯类	-	-	0.20	-
64	20.29	2,4-二叔丁基苯酚 2,4-Di-tert-butylphenol	C <sub>14</sub> H <sub>22</sub> O	96-76-4	937	1 515	1 519	酚类	0.89	0.63	0.14	-
65	20.34	2,4,6-三异丙基苯酚	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub> O	2934-07-8	808	1 518	1 516	醇类	-	0.08	0.01	-
66	20.40	$\alpha$ -布藜烯 $\alpha$ -Bulnesene	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub>	3691-11-0	890	1 521	1 505	烯类	-	-	-	0.74
67	20.45	Cubebol	C <sub>15</sub> H <sub>26</sub> O	23445-02-5	910	1 523	1 515	醇类	0.36	0.18	-	-
68	20.58	$\delta$ -杜松烯 $\delta$ -Cadinene	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub>	483-76-1	895	1 530	1 524	烯类	-	-	1.12	0.52
69	20.63	乙酸丁香酚酯 Eugenolacetate	C <sub>12</sub> H <sub>14</sub> O <sub>3</sub>	93-28-7	926	1 533	1 524	酯类	-	16.96	13.52	0.04
70	20.73	(E)-去氢白菖烯(E)-Calamenene	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub>	73209-42-4	906	1 538	1 529	烯类	-	-	-	0.13
71	20.88	$\alpha$ -杜松烯 $\alpha$ -Cadinene	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub>	24406-05-1	811	1 545	1 538	烯类	-	-	0.03	0.06
72	20.91	Cadine-1,4-diene	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub>	16728-99-7	885	1 547	1 533	烯类	-	-	-	0.07
73	21.01	$\alpha$ -二去氢菖蒲烯 $\alpha$ -Calacorene	C <sub>15</sub> H <sub>20</sub>	21391-99-1	828	1 552	1 542	烯类	-	-	0.01	0.04
74	21.30	大根香叶烯 BGermanene	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub>	15423-57-1	882	1 567	1 557	烯类	-	0.05	0.04	0.09
75	21.51	Maaliol	C <sub>15</sub> H <sub>26</sub> O	527-90-2	890	1 577	1 574	醇类	-	-	0.10	-
76	21.65	GermaneneD-4-ol	C <sub>15</sub> H <sub>26</sub> O	198991-79-6	855	1 584	1 574	醇类	-	0.06	-	-
77	21.71	$\beta$ -Spathulenol	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub> O	77171-55-2	849	1 587	1 577	醇类	-	-	0.08	-
78	21.84	蓝桉醇 Globulol	C <sub>15</sub> H <sub>26</sub> O	51371-47-2	925	1 594	1 583	醇类	-	-	0.49	-
79	22.02	绿花白千层醇 Viridiflorol	C <sub>15</sub> H <sub>26</sub> O	552-02-3	903	1 603	1 591	醇类	-	-	0.69	-
80	22.50	乙酸异丁香酚酯 Isoeugenolacetate	C <sub>12</sub> H <sub>14</sub> O <sub>3</sub>	93-29-8	800	1 629	1 620	酯类	-	0.04	-	-
81	22.52	Junenol	C <sub>15</sub> H <sub>26</sub> O	472-07-1	924	1 630	1 617	醇类	-	-	0.22	-
82	22.66	Cubenol	C <sub>15</sub> H <sub>26</sub> O	21284-22-0	863	1 637	1 642	醇类	-	-	0.31	-
83	22.89	4-烯丙基邻苯二酚二乙酸酯 4-Allylpyrocatecholdiacetate	C <sub>13</sub> H <sub>14</sub> O <sub>4</sub>	13620-82-1	945	1 650	1 643	酯类	-	49.19	3.26	-
84	22.99	Muurolol	C <sub>15</sub> H <sub>26</sub> O	19435-97-3	832	1 655	1 645	醇类	-	-	0.35	-
85	23.16	$\alpha$ -毕橙茄醇 $\alpha$ -Cadinol	C <sub>15</sub> H <sub>26</sub> O	481-34-5	916	1 664	1 653	醇类	-	-	0.87	-
86	23.18	Neointermedeol	C <sub>15</sub> H <sub>26</sub> O	5945-72-2	864	1 665	1 660	醇类	-	-	0.29	-
87	23.77	4(15),5,10(14)-大根香叶三烯-1-醇 ent-Germacre-4(15),5,10(14)-trien-1 $\beta$ -ol	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub> O	81968-62-9	917	1 696	1 695	醇类	-	-	0.07	-
88	24.03	正十七烷 Heptadecane	C <sub>17</sub> H <sub>36</sub>	629-78-7	818	1 711	1 700	烷烃类	-	0.05	0.01	-
89	26.31	新植二烯 Neophytadiene	C <sub>20</sub> H <sub>38</sub>	504-96-1	936	1 840	1 837	烯类	-	0.17	-	-
90	30.71	植物醇 Phytol	C <sub>20</sub> H <sub>40</sub> O	150-86-7	815	2 115	2 114	醇类	0.52	-	0.02	-
91	32.12	硬脂醇乙酸酯 Stearylacetate	C <sub>20</sub> H <sub>40</sub> O <sub>2</sub>	822-23-1	904	2 210	2 208	酯类	-	0.48	0.07	-
92	34.75	正二十四烷 Tetracosane	C <sub>24</sub> H <sub>50</sub>	646-31-1	843	2 400	2 400	烷烃类	0.26	-	-	-

注: a 为化合物的质谱图与 NIST 数据标准库的正向匹配度, 最大值为 1 000; b 为该化合物在 NIST 数据库中的保留指数; “-”表示未检测到。

顶空-固相微萃取法研究萎叶的挥发性成分的报道较少,尹震花等<sup>[17]</sup>通过顶空-固相微萃取提取海南文昌采集萎叶叶片的挥发性成分,鉴定了27种化合物,主要为2-甲氧基-5-甲基苯甲醛(42.89%)、异丁香酚(13.42%)、胡椒酚醋酸酯(12.49%)、4-烯丙基-1,2-二乙酰氧基苯(9.47%)、胡椒酚(2.89%)。本研究采用的顶空-固相微萃取法共鉴定了53种成分,含量较高的前5种化合物分别为萎叶酚(27.38%)、 $\beta$ -石竹烯(27.25%)、香叶烯D(17.07%)、 $\gamma$ -衣兰油烯(4.03%)和双环大根香叶烯(3.50%)。其中,化合物种类多和含量高的为烯类,相同的提取方法检测到主要成分和含量明显差异,可能与样品的产地、采集时间、新鲜或干燥等因素影响。另外,由于化合物的俗名或同名较多,不同研究者鉴定挥发性成分习惯性使用化合物的简写名称,未使用同一名称,或未列出物质的CAS号,造成信息不对称。因此,本研究在物质的鉴定表格中列出CAS号,有利于后续研究的对比分析。

萎叶挥发油富含丙烯基苯结构的化合物,如萎叶酚、丁香酚、异丁香酚、乙酸丁香酚酯、4-烯丙基邻苯二酚二乙酸酯、胡椒酚、胡椒酚甲醚和甲基丁香酚等。其中萎叶酚、丁香酚、异丁香酚等是萎叶挥发油主要活性成分,也是萎叶辛辣味的特征成分,具有显著的抗菌、抗炎、抗氧化等作用<sup>[7,25]</sup>。本研究采用的4种提取方法中,正己烷溶剂提取获得萎叶酚含量占比最高,但未检测到丁香酚活性成分。水蒸气蒸馏提取获得的萎叶酚和丁香酚活性化合物的含量相对较高。本研究采用的提取方法各有优缺点,大多数萎叶挥发油的提取用Clevenger装置的水蒸气蒸馏法,所得挥发油的物质种类最多,但该方法提取时间较长,而且萎叶挥发油的密度与水接近(0.96~1.06 g/cm<sup>3</sup>),Clevenger装置中的挥发油与水难于分离<sup>[25]</sup>。此外,萎叶挥发油与水形成乳状液进一步加大了蒸馏的难度,影响挥发油的产率。固相微萃取法操作简单,无需试剂,所需样品量少,方便快捷,是食品风味分析的首选技术<sup>[26]</sup>,但存在检测范围较窄、检测周期较长、定量重复性较差等不足,而且吸附膜的特性决定吸附挥发物的性能。本研究使用固相微萃取法提取测得的挥发性成分种类和含量与水蒸气蒸馏及溶剂超声提取有较大区别。溶剂超声萃取的主要优点是在提取过程中能够保持恒温(通常为50℃),提取相对快捷,稳定性较好。本研究采用的二氯甲烷提取挥发性成分的种类和相对含量与水蒸气蒸馏法相似,但有机溶剂有一定毒性,提取液含有大量的色素,废液处理困难,可能存在试剂残留问题。总的来说,不同提取方法均有优缺点,采用不同提取方法获得的萎叶主要挥发性成

分有一定相似性,相对含量和个别化合物存在差异。以挥发性活性成分(丙烯基苯结构的化合物)为目标的提取方法,水蒸气蒸馏提取法更有合适。

### 3 结论

本研究通过对比分析4种方法提取萎叶鲜叶的挥发性成分,共鉴定92种化学成分,占相对总挥发性成分含量较高的为酚类、烯类、酯类。萎叶鲜叶的主要挥发性成分有萎叶酚、乙酸丁香酚酯、香叶烯D、4-烯丙基邻苯二酚二乙酸酯、 $\beta$ -石竹烯、 $\gamma$ -衣兰油烯、双环大根香叶烯、 $\beta$ -波旁烯等。水蒸气蒸馏法、固相微萃取法、超声辅助二氯甲烷和正己烷提取鉴定的挥发性成分分别为60种、53种、42种和25种,其中共有成分17种,水蒸气蒸馏法获得特有成分18种,固相微萃取法获得特有成分20种。水蒸气蒸馏法和超声辅助二氯甲烷提取的主要成分较为相似,但其挥发性成分含量最高的分别为酚类和酯类,固相微萃取所得含量最高的挥发性成分为烯类,超声辅助正己烷获得酚类的含量最高。4种提取方法获得挥发性成分的种类和含量差异较大,以挥发性活性成分为目的的提取方法,水蒸气蒸馏提取较为合适;而固相微萃取结合水蒸气蒸馏法提取萎叶挥发性成分,能够获得更加全面的挥发性组分,为萎叶挥发性成分的资源开发和利用提供参考。

### 参考文献

- [1] 中国科学院植物志编辑委员会.中国植物志[M].北京:科学出版社,第二十卷.1982.
- [2] 姜太玲,沈绍斌,周迎春,等.萎叶的化学成分及生物活性研究进展[J].食品工业科技,2021,43(6):389-399.
- [3] Verma A, Kumar N, Ranade S A. Genetic diversity amongst landraces of a dioecious vegetatively propagated plant, betelvine (*Piper betle* L.) [J]. Journal of Biosciences, 2004, 29(3): 319-328
- [4] 刘进平.萎叶的开发价值[J].农业研究与应用,2011,3:60-61.
- [5] Bissa S, Songara D, Bohra A. Traditions in oral hygiene: Chewing of betel (*Piper betle* L.) leaves [J]. Current Science (00113891), 2007, 92(1): 26-28.
- [6] Ramji N, Ramji N, Iyer R, et al. Phenolic antibacterials from *Piper betle* in the prevention of halitosis [J]. Journal of Ethnopharmacology, 2002, 83(1-2): 149-152.
- [7] Das S, Parida R, Sandeep I S, et al. Biotechnological intervention in betelvine (*Piper betle* L.): A review on recent advances and future prospects [J]. Asian Pacific Journal of Tropical Medicine, 2016, 9(10): 916-923.



- [8] 廖超林.泰国萎叶精油化学成分的研究[J].香料香精化妆品, 2000,2:3-6.
- [9] Madhumita M, Guha P, Nag A. Bio-actives of betel leaf (*Piper betle* L.): A comprehensive review on extraction, isolation, characterization, and biological activity [J]. Phytotherapy Research, 2020, 34(10): 2609-2627.
- [10] Basak S, Guha P. Modelling the effect of essential oil of betel leaf (*Piper betle* L.) on germination, growth, and apparent lag time of *Penicillium expansum* on semi-synthetic media [J]. International Journal of Food Microbiology, 2015, 215: 171-178.
- [11] Basak S. Shelf life extension of tomato paste through organoleptically acceptable concentration of betel leaf essential oil under accelerated storage environment [J]. Journal of Food Science, 2018, 83(5): 1396-1403.
- [12] Basak S, Guha P. Betel leaf (*Piper betle* L.) essential oil microemulsion: Characterization and antifungal activity on growth, and apparent lag time of *Aspergillus flavus* in tomato paste [J]. LWT - Food Science and Technology, 2017, 75: 616-623.
- [13] Roy A, Guha P. Development of a novel cup cake with unique properties of essential oil of betel leaf (*Piper betle* L.) for sustainable entrepreneurship [J]. Journal of Food Science and Technology, 2015, 52(8): 4885-4894.
- [14] Madhumita M, Guha P, Nag A. Extraction of betel leaves (*Piper betle* L.) essential oil and its bio-actives identification: Process optimization, GC-MS analysis and anti-microbial activity [J]. Industrial Crop and Products, 2019, 138: 111578.
- [15] Amaresh A, Guha P, Khan S et al. Comparative study of microwave assisted hydrodistillation with conventional hydro-distillation for extraction of essential oil from *Piper betle* L. [J]. Biosciences Biotechnology Research Asia, 2017, 14(1): 401-407.
- [16] 苏彦利.荖叶精油的提取及抑菌抗氧化活性研究[D].海口:海南大学,2016.
- [17] 尹震花,王微,顾海鹏,等.HS-SPME-GC-MS 分析蒟蒻叶挥发性成分[J].天然产物研究与开发,2012,24(10):1402-1404.
- [18] Nouri L, Nafch A, Karim A. Phytochemical, antioxidant, antibacterial, and  $\alpha$ -amylase inhibitory properties of different extracts from betel leaves [J]. Industrial Crops and Products, 2014, 62: 47-52.
- [19] Singtongratana N, Vadhanasin S, Singkhonrat J. Hydroxychavicol and eugenol profiling of betel leaves from *Piper betle* L. obtained by liquid-liquid extraction and supercritical fluid extraction [J]. Kasetsart Journal: Natural Science, 2013. 47: 614-23.
- [20] Tsugawa H, Cajka T, Kind T, et al. MS-DIAL: Data-independent MS/MS deconvolution for comprehensive metabolome analysis [J]. Nature Methods, 2015, 12(6): 523-526.
- [21] 张鹏云,管维,李蓉,等.顶空-固相微萃取法与水蒸气蒸馏法提取山银花挥发性组分的比较[J].食品科学,2020,41(4): 178-184.
- [22] 陈琪,任新雅,庄建取,等.不同方法提取库买提杏干挥发性成分的比较分析[J].现代食品科技,2020,36(8):290-298.
- [23] 吕纪行,纪明慧,郭飞燕,等.萎叶挥发油的提取及抗氧化和抑菌活性研究[J].食品工业科技,2017,38(9):75-81.
- [24] Xiang C P, Han J X, Li X C. et al. Chemical composition and acetylcholinesterase inhibitory activity of essential oils from *Piper* species [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2017, 65(18): 3702-3710.
- [25] Guha P, Nandi S. Essential Oil of Betel Leaf (*Piper betle* L.): A Novel Addition to the World Food Sector. In: Malik S. (eds) Essential Oil Research [M]. Springer, Cham, 2019, 149-196.
- [26] 黄江艳,李秀娟,潘思轶.固相微萃取技术在食品风味分析中的应用[J].食品科学,2012,33(7):289-298.