

灵香草精油的提取及其防腐保鲜效果

Study on extraction of essential oil from *Lysimachia foenum-graecum* Hance and its preservation effect on longan

闫旭宇^{1,2} 李玲^{1,2} 陈婷¹ 吴媛娇¹

YAN Xu-yu^{1,2} LI Ling^{1,2} CHEN Ting¹ WU Yuan-jiao¹

(1. 湖南科技学院化学与生物工程学院, 湖南 永州 425199;

2. 湘南优势植物资源综合利用湖南省重点实验室, 湖南 永州 425199)

(1. Department of Chemistry and Biological Engineering, Hunan University of Science and Engineering, Yongzhou, Hunan 425199, China; 2. Key Laboratory of Comprehensive Utilization of Advantage Plants Resources in Hunan South, Yongzhou, Hunan 425199, China)

摘要:以灵香草为研究对象,采用水蒸气蒸馏法提取其精油,通过正交试验设计优化灵香草精油的提取条件,研究灵香草精油对龙眼的防腐保鲜效果。结果表明,灵香草精油的最佳提取工艺条件为:氯化钠浓度 4%,蒸馏时间 6 h,料液比 1:10(g/mL),该条件下精油的提取率为 0.167 2%。精油对龙眼的防腐保鲜试验结果表明:随着处理时间的延长,4 个处理的抑菌效果、V_C含量和可溶性固形物含量逐渐降低,龙眼失重率和腐败率逐渐增加,其抑菌效果和保鲜防腐能力为:0.5%精油>山梨酸钾—精油>0.05%山梨酸钾>75%乙醇。灵香草精油对龙眼具有较好的防腐保鲜效果。

关键词:灵香草;精油;提取优化;防腐保鲜

Abstract: Essential oil was extracted from *Lysimachia foenum-graecum* Hance using steam distillation method. The extraction conditions of essential oil were optimized by orthogonal experimental design, and its preservation on longan was studied. The results showed that the optimum extraction technology were: the concentration of sodium chloride 4%, the distilling time was 6 h, and the solid-liquid ratio of 1:10 (g/mL). Under the condition, the extraction rate of essential oil reached 0.167 2%. The preservation results indicated: the antibacterial effects of 4 treatments, the content of Vitamin C and soluble solid decreased gradually, and weight loss and corruption rate of longan increased with the extension of the time. Its ability of antibacterial effects and preservation were followed: 0.5%

essential oil > the mixture of potassium sorbate and essential oil > 0.05% potassium sorbate > 75% ethanol. It has better preservation effect on longan of essential oil than potassium sorbate.

Keywords: *Lysimachia foenum-graecum* Hance; essential oil; extraction and optimization; preservation

灵香草为报春花科植物的带根全草,又名香草、零陵香,其味甘、性平,具有解表、止痛、行气、驱蛔等功效^[1-2],是湖南省永州市的特色传统药用植物。灵香草精油是从灵香草植株中分离提取的具有挥发性的油状物质,含有大量的酯类等芳香物质以及较多的有机酸成分,具有特殊的香气,被用于化妆品及生活用品的加香,具有较高的经济价值^[3-6]。灵香草精油大多采用水蒸气蒸馏法和超临界 CO₂萃取法得到。水蒸气蒸馏法通过蒸馏、油水分离加工可得到精油,该法得到的灵香草精油香气纯正、纯度高、色泽浅,适于高档产品的加香,但由于产品收率太低,约 0.04%~0.39%,有机溶剂的加入可适当提高精油得率^[7-9],本试验为了研究灵香草精油的防腐保鲜效果,故不添加其他物质。超临界 CO₂萃取法工艺过程简单,温度低,萃取选择性强,无溶剂残留,但设备要求高,可以得到香气纯正、性能优良的灵香草萃取物^[5]。不同的提取方法得到的灵香草精油的成分有一定的差异,水蒸气蒸馏法提取的精油含酸类成分较多^[10]。研究^[11]表明,有机酸能够降低水分活性,使菌体蛋白变性脱水,有利于食品保鲜,既经济便利又对人体无害,是天然防腐剂重要组成部分。灵香草精油中以有机酸成分居多,并具有消炎抑菌作用,可以作为理想的天然防腐剂。由于天然防腐保鲜剂比化学防腐添加剂安全健康,对植物精油防腐保鲜方面的研究日渐增多,但是关于灵香草精油防腐保鲜的研究还未见报道。因此,结合本试验精油的用途,选用水蒸气蒸馏法提取灵香

基金项目:湘南优势植物资源综合利用湖南省重点实验室开放基金(编号: XNZW16C02);永州市指导性科技计划项目(编号: 2015-10)

作者简介:闫旭宇,男,湖南科技学院讲师,硕士。

通信作者:李玲(1982—),女,湖南科技学院副教授,博士。

E-mail: liling7826@126.com

收稿日期:2015-09-20

草精油,并从抑菌活性、失重率、腐败程度、V_c含量、可溶性固形物含量5个方面来研究灵香草精油对龙眼采后的防腐保鲜效果,旨在为安全环保的新型天然防腐保鲜剂的开发提供依据。

1 材料与方 法

1.1 材料与仪器

1.1.1 材料与试剂

灵香草:购自湖南永州,样品阴干备用;

龙眼:产地广东茂名,选用新鲜、无腐烂、无病虫害的成熟龙眼为材料;

石油醚、氯化钠、无水乙醇:分析纯,杭州邦易化工有限公司;

无水硫酸钠、硫酸亚铁、碳酸氢钠、双氧水:分析纯,廊坊天科生物科技有限公司;

V_c、水杨酸、山梨酸钾、草酸、2,6-二氯酚靛酚:分析纯,鹏彩精细化工有限公司;

Tris 试剂、牛肉膏、琼脂、蛋白胨:分析纯,苏州亚科科技股份有限公司。

1.1.2 仪器与设备

电热鼓风干燥箱:WG-71型,天津市泰斯特仪器有限公司;

调温电热套:KDM型,北京市佳祥科技仪器有限公司;

电子分析天平:JA3003型,上海舜宇恒平科技仪器有限公司;

旋转蒸发器:YRE-2010-II型,郑州长城科工贸有限公司;

三用恒温水箱:HH型,江苏国胜实验仪器厂;

中草药粉碎机:FW177型,天津市泰斯特仪器有限公司;

超净工作台:SW-CJ-2F型,苏净集团安泰公司;

不锈钢手提式高压蒸汽灭菌锅:YXQ-LS-18SI型,上海博迅实业有限公司;

阿贝折射仪:WAY-2W型,上海精密科学仪器有限公司;

紫外—可见分光光度计:UV2800型,上海舜宇恒平科技仪器有限公司;

恒温培养箱:HZQ-Q型,中国哈尔滨东联电子技术开发有限公司。

1.2 试验方法

1.2.1 样品前处理 将灵香草放入80℃干燥箱内干燥至衡重,粉碎成粉末备用。

1.2.2 灵香草精油的提取 采用水蒸气蒸馏法^[12]。准确称取50g灵香草粉末于装有500mL蒸馏水的圆底烧瓶中,加入一定量的氯化钠浸泡1h,用调温电热套加热直至沸腾,调节电热套电压,使其保持微沸状态蒸馏6h。含有精油的水蒸气经由导管收集冷却馏出后,用石油醚萃取,再经过无水硫酸钠脱水处理,旋转挥发回收石油醚可得灵香草精油。精油提取率按式(1)计算:

$$E = \frac{m_1}{m_0} \times 100\%, \quad (1)$$

式中:

E——提取率,%;

m₁——精油质量,g;

m₀——灵香草质量,g。

1.2.3 灵香草精油提取的单因素试验

(1) 氯化钠浓度对精油提取率的影响:在蒸馏时间为6h,料液比为1:10(g/mL)时,氯化钠浓度分别设置为2%,3%,4%,5%,6%,平行试验3次,研究氯化钠浓度对灵香草精油提取率的影响。

(2) 料液比对精油提取率的影响:在蒸馏时间为6h,氯化钠浓度为4%时,料液比分别设置为1:7,1:8,1:9,1:10,1:11(g/mL),平行试验3次,研究料液比对灵香草精油提取率的影响。

(3) 蒸馏时间对精油提取率的影响:在料液比为1:10(g/mL),氯化钠浓度为4%时,蒸馏时间分别设定为4,5,6,7,8h,平行试验3次,研究蒸馏时间对灵香草精油提取率的影响。

1.2.4 灵香草精油提取的正交试验 在单因素试验的基础上,以氯化钠浓度、料液比、蒸馏时间为试验因素,选择最佳3个水平,以精油提取率为指标,采用L₉(3⁴)正交表进行正交试验,确定水蒸气蒸馏法提取灵香草精油的最佳工艺条件。

1.2.5 灵香草精油的防腐保鲜试验 设定4个处理,分别为0.05%山梨酸钾、0.5%灵香草精油、75%乙醇、0.05%山梨酸钾—0.5%灵香草精油混合液(体积比为1:1)。将龙眼分为4组,每组分别为100个,称量好后,在上面4个处理液中浸泡10min,沥干,用保鲜膜包装,室温保藏,每24h观察1次。

1.2.6 测定指标及方法

(1) 抑菌活性:参照文献[13]。观察记录大肠杆菌在平板培养基上的生长情况,用抑菌率来判定灵香草精油的抑菌效果。抑菌率按式(2)计算:

$$I = \frac{G_0 - G_1}{G_0} \times 100\%, \quad (2)$$

式中:

I——抑制率,%;

G₀——对照生长量,mm;

G₁——处理生长量,mm。

(2) 失重率:采用称重法,按式(3)计算失重率。

$$L = \frac{W_0 - W_1}{W_0} \times 100\%, \quad (3)$$

式中:

L——失重率,%;

W₀——龙眼处理前的重量,g;

W₁——龙眼处理后的重量,g。

(3) 腐败率:观察处理后龙眼外观上的变化,腐烂指数分为4级:无褐变、无腐烂记为0级;腐烂面积<10%,轻微腐烂,记为1级;10%<腐烂面积<30%,记为2级;30%<

腐烂面积,记为 3 级。以龙眼的腐烂面积为基准,统计龙眼的腐烂个数,按式(4)计算腐烂率。

$$D = \frac{\sum (r \times n)}{R \times N} \times 100\%, \quad (4)$$

式中:

D ——腐烂率,%;

r ——腐烂级别;

n ——所在腐烂级别的果数,个;

R ——腐烂最高级;

N ——总果数,个。

(4) V_c 含量的测定:采用 2,6-二氯酚靛酚滴定法^[14]。

V_c 含量按式(5)计算:

$$m = \frac{V \times T \times V_0}{m_0} \times 100, \quad (5)$$

式中:

m ——100 g 样品中含 V_c 的质量,mg;

V ——滴定时所用的染料体积,mL;

V_0 ——染料总体积,mL;

m_0 ——10 mL 样液中含样品的质量数,g;

T ——每毫升染料能氧化 V_c 质量数,mg/mL。

(5) 可溶性固形物:取处理后的龙眼,充分研磨过滤得滤液即为龙眼汁,利用阿贝折光仪测定龙眼汁的总可溶性固形物含量。

2 结果与分析

2.1 单因素试验结果

2.1.1 氯化钠浓度对提取率的影响 由图 1 可知,在蒸馏体系中,随着氯化钠浓度的增加,灵香草精油的提取率逐渐增加。当氯化钠浓度为 4% 时,灵香草精油提取率达到最高,之后逐渐下降。这可能是由于加入无机盐可强化有机物的分离,但无机盐浓度过高时,导致溶液爆沸,使精油中易挥发物质损失^[15]。因此,氯化钠浓度为 4% 时,提取效果较好。

2.1.2 料液比对提取率的影响 由图 2 可知,在利用水作为提取溶剂时,随着溶剂用量的增加,灵香草提取率逐渐提高,当料液比为 1:10(g/mL) 时,灵香草精油提取率最高,之后随着水的增多,提取率成下降趋势。利用水蒸气蒸馏法提取精油,加水量过大会增大精油在水中的溶解度,加水量过少,

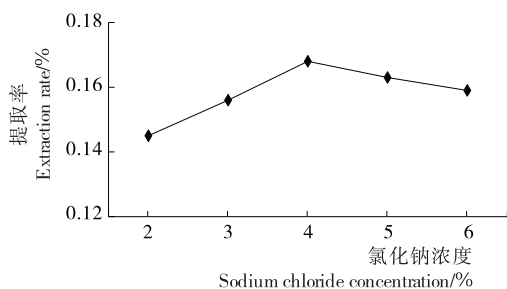


图 1 氯化钠浓度对灵香草精油提取率的影响

Figure 1 Effect of sodium chloride concentration on essential oil extraction rate in *Lysimachia foenum-graecum* Hance

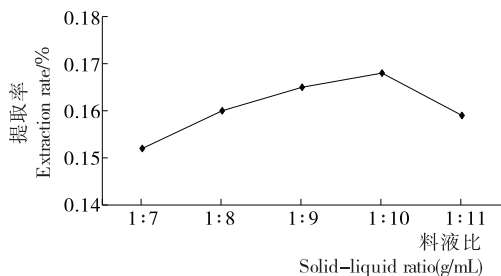


图 2 料液比对灵香草精油提取率的影响

Figure 2 Effect of the solid-liquid ratio on essential oil extraction rate in *Lysimachia foenum-graecum* Hance

水散作用也会影响提取率^[16]。由于料液比在 1:8(g/mL) 和 1:11(g/mL) 时提取率比较接近,为了防止加水量过大引起精油在水中的溶解度增大,进而导致试验误差增大,因而选择料液比 1:8,1:9,1:10(g/mL) 进行正交试验。

2.1.3 蒸馏时间对提取率的影响 由图 3 可知,随着蒸馏时间增加,精油提取率不断增加,在蒸馏时间为 6 h 时,灵香草精油提取率最高,之后随着时间的延长,精油提取率呈下降趋势。水蒸气蒸馏法提取植物精油,蒸馏时间过短精油提取不够彻底,蒸馏时间过长导致精油的易挥发成分损失,资源浪费。因此,蒸馏时间选择 6 h 左右为宜。

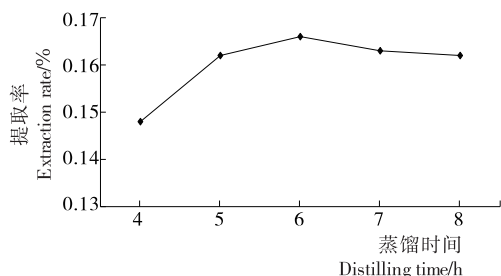


图 3 蒸馏时间对灵香草精油提取率的影响

Figure 3 Effect of the distilling time on essential oil extraction rate in *Lysimachia foenum-graecum* Hance

2.2 正交试验结果

根据单因素试验结果,以氯化钠浓度、料液比、蒸馏时间为考察因素,以提取率为考察指标,进行 $L_9(3^4)$ 正交试验,因素水平见表 1。

由表 2 可知,影响灵香草精油提取率的主次因素依次为氯化钠浓度>料液比>蒸馏时间,氯化钠浓度对提取率的影响相对较大。水蒸气蒸馏法提取灵香草精油的最佳组合为 $A_3B_2C_2$,即料液比为 1:10(g/mL),蒸馏时间为 6 h,氯化钠浓度为 4%。在此条件下进行实验验证,设置 3 次平行实验,

表 1 正交试验因素水平

Table 1 Factors and levels of the orthogonal test

水平	A 料液比(g/mL)	B 蒸馏时间/h	C 氯化钠浓度/%
1	1:8	5	3
2	1:9	6	4
3	1:10	7	5

表2 正交试验优化结果

Table 2 The results of the orthogonal test for optimal conditions

序号	A	B	C	D(空列)	提取率/%
1	1	1	1	1	0.125 8
2	1	2	2	2	0.158 7
3	1	3	3	3	0.154 8
4	2	1	2	3	0.162 3
5	2	2	3	1	0.155 4
6	2	3	1	2	0.130 9
7	3	1	3	2	0.161 5
8	3	2	1	3	0.137 6
9	3	3	2	1	0.165 9
<hr/>					
k_1	0.146 4	0.149 9	0.131 4	0.149 0	
k_2	0.149 5	0.150 6	0.162 3	0.150 4	
k_3	0.155 0	0.150 5	1.157 2	0.151 6	
R	0.008 6	0.000 7	0.030 9	0.002 6	

最终得到灵香草精油的提取率为0.1672%。本试验优化提取灵香草精油的得率远高于张喜云等^[7]研究的得率0.04%，但低于朱凯等^[8]及黄琼等^[9]研究的得率0.24%和0.39%，这可能和灵香草的产地以及试验取材有关。同时，由于本试验在提取精油之后要进行防腐保鲜效果的研究，在提取时没有通过添加有机溶剂等途径来辅助提高精油得率，这也是导致精油得率偏低的原因。

2.3 灵香草精油的防腐保鲜效果

2.3.1 灵香草精油对大肠杆菌的抑制效果 由图4可知，随着处理时间的延长，4个处理的抑菌效果逐渐降低，抑菌效果趋势为：75%乙醇<0.05%山梨酸钾<山梨酸钾-精油<0.5%精油。这表明灵香草精油对大肠杆菌的生长繁殖有较强的抑制作用，且抑制作用明显高于山梨酸钾，而乙醇的抑菌效果最低。这可能与精油中含有的酚类、有机酸类、萜烯类、醛酮类物质等主要抑菌活性成分有关^[17]。

2.3.2 灵香草精油对龙眼重量变化的影响 由图5可知，随着处理时间的延长，4个处理的龙眼失重率逐渐增加。龙眼失重率的上升趋势为：75%乙醇>0.05%山梨酸钾>山梨酸钾-精油>0.5%精油。这说明灵香草精油在一定程度上能减缓龙眼水分的损失，从而延缓龙眼腐烂的速度，可以作为

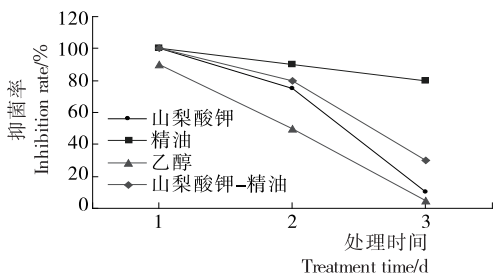


图4 抑菌率变化情况

Figure 4 The change of the inhibition rate under four treatments

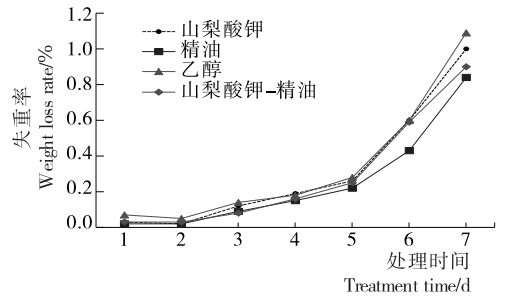


图5 失重率变化情况

Figure 5 The change of the weight loss rate on longan under four treatments

一种理想安全的保鲜剂。

2.3.3 灵香草精油对龙眼防腐保鲜效果的影响 水果的腐败率是直观体现水果保鲜效果的重要指标。随着处理时间的延长，4个处理的龙眼腐败率逐渐增加，防腐能力为：0.5%精油>山梨酸钾-精油>0.05%山梨酸钾>75%乙醇(图6)。这说明灵香草精油在一定程度上可降低龙眼的腐烂率，具有一定的防腐效果，且对龙眼的防腐效果优于山梨酸钾。

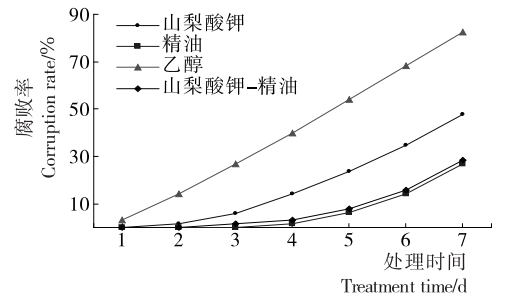


图6 不同处理组的龙眼腐败率

Figure 6 The change of the corruption rate on longan under four treatments

2.3.4 灵香草精油对龙眼Vc含量的影响 在果蔬加工中，Vc含量是衡量食品质量的重要指标。随着处理时间的延长，4个处理的龙眼Vc含量逐渐降低，抑制Vc含量降低能力为：0.5%精油>山梨酸钾-精油>0.05%山梨酸钾>75%乙醇(图7)。龙眼属于高糖低酸果实，其Vc含量相对较低，适当保持其含量尤为必要。结果表明灵香草精油有利于龙眼Vc的保存。

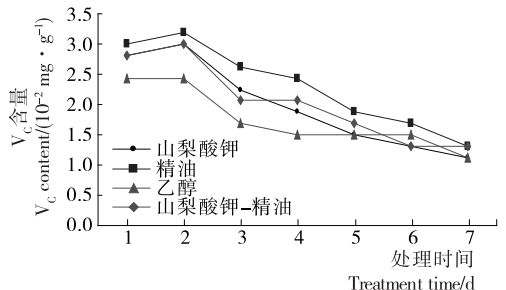


图7 Vc含量变化趋势图

Figure 7 The change of Vc content on longan under four treatments

2.3.5 灵香草精油对龙眼可溶性固形物含量的影响 由图 8 可知,随着处理时间的延长,4 个处理的龙眼可溶性固形物含量总体呈下降趋势。可溶性固形物含量实质上就是水果中的含糖量,在水果贮藏的过程中,呼吸作用导致含糖量逐渐下降。延缓龙眼可溶性固形物含量降低的能力为:0.5%精油>山梨酸钾—精油>0.05%山梨酸钾>75%乙醇。这说明灵香草精油在一定程度上可以减缓龙眼中可溶性固形物含量的降低,也就是说,精油可以抑制龙眼中含糖量的下降,延缓龙眼的货架期寿命,保护果皮内的果肉组织不被破坏。

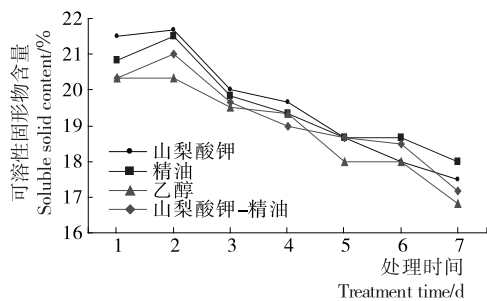


图 8 可溶性固形物含量变化情况

Figure 8 The change of the soluble solid content on longan under four treatments

由以上几个防腐保鲜指标值可以看出,灵香草精油对龙眼具有较好的防腐保鲜效果。这可能是灵香草精油含有大量的有机酸成分,具有较好的抗致病性^[3-6],同时,灵香草中含氧化合物、醛类、醇类和酮类等多种成分,使得灵香草精油表现出广谱抑菌性^[6]。精油用于果蔬保鲜时,能够破坏细胞膜的屏障,影响膜脂流动性,阻碍细菌呼吸作用,抑制外来微生物的入侵^[18-20],是理想的天然防腐保鲜剂。

3 结论

在不考虑其他因素的情况下,灵香草精油提取条件因素的影响主次顺序为:氯化钠浓度>料液比>蒸馏时间。根据正交试验优化得到水蒸气蒸馏法提取灵香草精油的最佳条件为氯化钠浓度 4%,蒸馏时间 6 h,料液比 1:10(g/mL);精油的提取率为 0.167 2%。结合本试验精油防腐保鲜的用途,适宜用水蒸气蒸馏法提取,用该法提取的灵香草精油对龙眼具有较好的防腐保鲜效果。随着处理时间的延长,4 个处理的抑菌效果、V_C含量和可溶性固形物含量逐渐降低,龙眼失重率和腐败率逐渐增加,其抑菌效果和保鲜防腐能力为:0.5%精油>山梨酸钾—精油>0.05%山梨酸钾>75%乙醇。本研究将对灵香草产业的精深加工,以及开发安全环保的新型天然防腐保鲜剂提供一定的参考依据。

参考文献

[1] 中国科学院植物研究所编.中国高等植物图鉴:第三册[M].北京:科学出版社,1974:809.
[2] 江苏新医学院编.中药大辞典:下册[M].上海:上海科技出版社,1986:2470-2472.
[3] 李向日,林瑞超.不同产地零陵香挥发油成分的GC-MS分析

[J].中成药,2007,29(6):853-858.
[4] 安鸣,孟晶岩.零陵香花浸膏提取方法及挥发油成分研究[J].山西农业科学,2014,42(12):1307-1310.
[5] 朱凯,毛连山,朱新宝.超临界CO₂萃取灵香草精油及其化学成分研究[J].精细化工,2005,22(9):681-684.
[6] 龚复俊,王有为.广西灵香草挥发油化学成分[J].植物资源与环境学报,2004,13(3):59-61.
[7] 张喜云,孟庆安.零陵香等药材挥发油含量的测定[J].武警医学院学报,1999,8(4):236-238.
[8] 朱凯,王庆六.灵香草浸膏系列产品的研究[J].林产化学与工业,1995,15(2):67-71.
[9] 黄琼,田玉红,李志华.不同方法提取灵香草挥发油的比较研究[J].湖北农业科学,2010,49(4):944-946.
[10] 黄琼,田玉红,李志华.不同方法提取灵香草挥发油的比较研究[J].湖北农业科学,2010,49(4):944-946.
[11] 张斌,钟业俊.常用有机酸保鲜的研究现状[J].轻工科技,2012,28(5):35-37.
[12] 刘晓丽,钟少枢,于泓鹏,等.微波法和水蒸气蒸馏法提取丁香精油的研究[J].食品与机械,2012,28(4):110-112.
[13] SINGH RANA I, SINGH RANA A, CHARAN RAJAK R. Evaluation of antifungal activity in essential oil of the *Syzygium aromaticum* (L.) by extraction, purification and analysis of its main component eugenol[J]. Braz J Microbiol, 2011, 42(4): 1269-1277.
[14] 王晶英,敖红,张杰,等.植物生理生化实验技术及原理[M].哈尔滨:东北林业大学出版社,2003:8-10.
[15] 陈迅,陆筱艾,刘向程,等.盐析效应在水蒸气提取植物精油中作用分析[J].广州化工,2015,43(6):112-113.
[16] 谭焯,刘鑫,喻世涛.水蒸气蒸馏提取桂叶精油的工艺优化[J].食品研究与开发,2010,31(6):111-113.
[17] ZABKA M, PAVELA R. Antifungal efficacy of some natural phenolic compounds against significant pathogenic and toxigenic filamentous fungi[J]. Chemosphere, 2013, 93(6): 1051-1056.
[18] COX S D, MANN C M, MARKNAM J L, et al. The mode of antimicrobial action of the essential oil of *Melaleuca alternifolia* (tea tree oil)[J]. J Appl Microbiol, 2000, 88(1): 170-175.
[19] BAJPAI V K, BAEK K H, KANG S C. Control of *Salmonella* in foods by using essential oils; A review[J]. Food Research International, 2012, 45(2): 722-734.
[20] GUINOISEAU E, LUCIANI A, ROSSI P G, et al. Cellular effects induced by *Inula graveolens* and *Santolina Corsica* essential oils on *Staphylococcus aureus* [J]. European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases, 2010, 29(7): 873-879.