

超声波辅助水蒸气提取柠檬精油工艺优化 及成分分析

Ultrasonic-assisted extraction essential oil of lemon and chemical composition analysis

肖娟 周康 胡滨 苏赵

XIAO Juan ZHOU Kang HU Bin SU Zhao

(四川农业大学食品学院, 四川雅安 625014)

(College of Food, Sichuan Agricultural University, Ya'an, Sichuan 625014, China)

摘要:以柠檬果皮为原料,研究超声波辅助水蒸气蒸馏提取柠檬精油的最佳工艺条件。在单因素试验基础上,选取超声波功率、料液比、超声波时间及蒸馏时间为影响因素,以提取率为响应值,设计响应面试验;通过气相色谱—质谱法对柠檬精油的化学组分进行检测,采用扫描电镜对柠檬皮的微观结构进行观察。结果表明,最佳工艺条件为:超声波功率 320 W、液料比 15.5:1 (mL/g)、超声波时间 36 min、蒸馏时间 140 min,提取率可达 1.97%;柠檬精油中共鉴定出 26 种化学成分,占总成分的 96.16%,主要成分为柠檬烯;扫描电镜观察表明,超声波显著破坏原料细胞结构,促进了精油的快速释放。该工艺与水蒸气蒸馏提取相比,提取率相近,但明显缩短了提取时间。超声波辅助提取柠檬精油是一种有效的提取方法。

关键词:柠檬精油;超声波辅助水蒸气蒸馏;气相色谱—质谱法;扫描电镜观察

Abstract: Ultrasonic-assisted hydrodistillation extraction (UAHE) essential oil from lemon peel was investigated. On the basis of single-factor test, response surface methodology was applied to optimize the parameters of extraction, including ultrasonic power, solvent to material ratio, ultrasonic time, and distilling time on the yield of essential oil. Meanwhile, the volatile composition was analyzed by GC-MS. In addition, the microscopic structures of material before and after various extraction methods are observed to clarify extraction mechanisms. The optimal extraction conditions were ultrasonic power of 320 W, solvent to material ratio of 15.5:1 (mL/g), ultrasonic time of 36 min, distillation time of 140 min. Under this condition, the oil

yield was up to 1.97%. Totally 26 compounds were identified accounting for 96.16%, of which limonene was the major constituent. Scanning electron microscopy revealed that ultrasonic technique efficiently promoted the release of essential oil by breaking down the cell structure of lemon peel. Moreover, essential oil extracted by UAHE was quantitatively (yield) and qualitatively (chemical composition) similar to those obtained using hydrodistillation extraction. Therefore, UAHE essential oil of lemon would be an effective method.

Keywords: Essential oil of lemon; ultrasonic-assisted hydrodistillation extraction; gas chromatography-mass spectrometry; scanning electron microscopy observation

柠檬属芸香科常绿小乔木,果实为淡黄色柑橘类水果,原产于马来西亚、北非、中国等多个国家,在全世界广泛种植。近年来,中国柠檬种植面积不断增加,除直接销售鲜果外,柠檬加工产品的类别也逐渐丰富,如柠檬果醋、柠檬果酒等。由于柠檬产品在加工时会产生大量的皮、渣等废弃物,而柠檬皮中含有丰富的香精油^[1]。香精油因其独特的清香和良好防腐抗菌性能,广泛应用于食品、化妆品、香精香料以及医药等领域^[2]。因此,提高柠檬加工废弃物的综合开发利用,对提高柠檬加工产品附加值具有重要意义。

目前,有关柠檬精油的提取方法已有压榨法、有机溶剂提取法、超临界流体萃取法、水蒸气蒸馏法等报道^[3-4]。但是压榨法提取率较低;有机溶剂提取法容易造成有机溶剂残留;超临界流体萃取法虽然时间短、得率高,但其生产成本较高,难以在生产中广泛应用;水蒸气蒸馏法是《中国药典》中挥发油含量测定所推荐的方法,但耗时较长。因此,探索操作简单、高提取率、低费用的柠檬精油提取方法,依然是柠檬深加工综合利用的关键,而采用超声波辅助水蒸气蒸馏提取柠檬精油的工艺还未见报道。超声波辅助提取技术是一种

基金项目:国家自然科学基金项目(编号:31701518)

作者简介:肖娟,女,四川农业大学在读硕士研究生。

通信作者:胡滨(1975—),男,四川农业大学副教授,博士。

E-mail: hubin2555@sina.com

收稿日期:2017-10-02

新的提取分离技术,具有时间短、温度低、提取效率高等特点。因此,本试验拟以四川安岳的尤力克柠檬果皮为原料,通过单因素试验和响应面试验研究超声波辅助水蒸气蒸馏提取柠檬精油的最佳工艺参数,利用气相色谱-质谱法(GC-MS)对其化学成分进行分析,再采用扫描电镜观察柠檬皮微观结构的变化,以便为柠檬精油的综合开发利用提供参考。

1 材料与方 法

1.1 试验材料

柠檬皮:将四川省安岳的新鲜尤力克柠檬果皮切碎,经真空干燥至质量恒定后待用。

1.2 主要仪器与设备

电子天平:TE412-L型,德国赛多利斯公司;

真空干燥箱:DZF-6020型,上海齐欣科学仪器有限公司;

电热套:SXKW型,北京中兴伟业仪器有限公司;

数控超声波清洗器:KQ-400DB型,昆山市超声波仪器有限公司;

气相色谱-质谱联用仪:7890A-5975C型,安捷伦科技(中国)有限公司;

扫描电子显微镜:JSM-7500F型,日本电子株式会社。

1.3 精油提取方法

1.3.1 水蒸气蒸馏提取法 按照《中国药典》I部(2010年)附录XD中甲法进行提取。取50g经真空干燥后的柠檬皮,置圆底烧瓶,加数粒玻璃珠防止暴沸。将烧瓶与挥发油测定器和回流冷凝管连接,由冷凝管上端加水至挥发油测定器的刻度部分,并且溢流入烧瓶为止。再将烧瓶放置于电热套中加热到微沸,保持微沸5h,当挥发油测定器中的油量不再增加时,停止加热,放置一定时间后开启下端活塞,将水缓慢放出,读取油量,按式(1)计算精油提取率;其中柠檬精油相对密度的测定按GB/T 11540—2008《香料 相对密度的测定》进行。

$$c = \frac{m_1 \times \rho}{m_2} \times 100\% \quad (1)$$

式中:

c ——提取率,%;

m_1 ——精油体积,mL;

ρ ——精油密度,g/mL;

m_2 ——柠檬皮质量,g。

1.3.2 超声波辅助水蒸气蒸馏提取工艺 将柠檬皮经真空干燥至质量恒定,称取一定量柠檬皮置圆底烧瓶中,按比例加入适量蒸馏水,经超声波处理一定时间后,再连接挥发油提取装置和冷凝管,用电热套加热至微沸,进行水蒸气蒸馏提取。

1.3.3 单因素试验

(1) 超声波功率:设定液料比10:1(mL/g)、超声波时间25min、蒸馏时间120min,研究不同超声波功率(160,200,240,280,320,360,400W)对提取率的影响。

(2) 液料比:设定超声波功率280W、超声波时间

25min、蒸馏时间120min,研究不同液料比[7:1,10:1,13:1,16:1,19:1,22:1(mL/g)]对提取率的影响。

(3) 超声波时间:设定超声波功率280W、液料比13:1(mL/g)、蒸馏时间120min,研究不同超声波时间(15,20,25,30,35,40,45min)对提取率的影响。

(4) 蒸馏时间:设定超声波功率280W、液料比13:1(mL/g)、超声波时间30min,研究不同蒸馏时间(60,90,120,150,180,210min)对提取率的影响。

1.3.4 Box-Behnken Design 试验设计 在单因素试验基础上,以超声波功率、液料比、超声波时间和蒸馏时间为自变量,提取率为响应值,按照Box-Behnken Design(BBD)设计进行响应面(RSM)试验。

1.4 柠檬精油的化学成分检测

采用GC-MS法。

(1) GC条件:HP-5MS弹性石英毛细管柱(柱长:30m,膜厚:0.25 μ m内径:0.25mm);载气为氦气,流速为1mL/min。进样量0.5 μ L,进样口温度250 $^{\circ}$ C,不分流进样,解析时间5min;升温程序:起始温度50 $^{\circ}$ C,以3 $^{\circ}$ C/min升温至220 $^{\circ}$ C,保持2min^[1]。

(2) MS条件:电子轰击离子源(EI),电子能量70eV,GC与MS接口温度280 $^{\circ}$ C;离子源温度230 $^{\circ}$ C;电子检测器检测电压350V;质量扫描范围10~450amu^[1]。

1.5 扫描电镜观察

将未经处理、水蒸气蒸馏和超声波辅助水蒸气蒸馏提取后的柠檬皮原料,经冷冻干燥后再喷金处理,通过扫描电镜观察其微观结构的变化。

2 结果与分析

2.1 单因素试验

2.1.1 超声波功率对提取率的影响 由图1可知,当功率在160~280W时,随着超声波功率的增大,提取率明显上升;功率在280~360W时,提取率随功率的增加而增加但增幅减缓;功率在360W以后,提取量下降。这可能是随着超声波功率的增加,加快了细胞破碎程度,有利于精油溶出,故提取率上升;但在一定超声时间下提高超声功率会使溶剂温度升高,可使精油中部分低沸点成分挥发而降低提取率;此外,超声波功率过大,还可能会对精油组分的结构造成破坏^[5]。

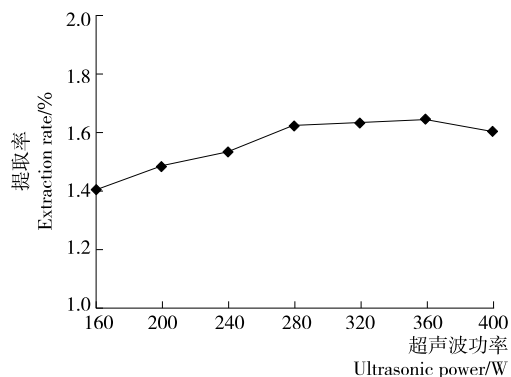


图1 超声波功率对提取率的影响

Figure 1 Effect of ultrasonic power on extraction rate

Karim 等^[6]在研究葛缕子精油的提取时证实,精油提取率随着超声波功率的提高而增加,但超过一定的功率后,提取率不再增加。因此,较适宜的超声波功率为 280 W。

2.1.2 液料比对提取率的影响 由图 2 可知,液料比在 7:1~13:1 (mL/g) 时,提取率随着液料比增大而升高;当超过 16:1 (mL/g) 后,提取率增加趋于平缓。通常适当液料比可使原料浸泡充分,达到更好的质壁分离效果;当溶剂量达到一定程度后,物料与溶剂之间的扩散趋于平衡,再继续增加溶剂量已不能提高提取率。Sandrine 等^[7]在提取薰衣草油时,也得到了类似结论。所以,较适宜的液料比为 13:1 (mL/g)。

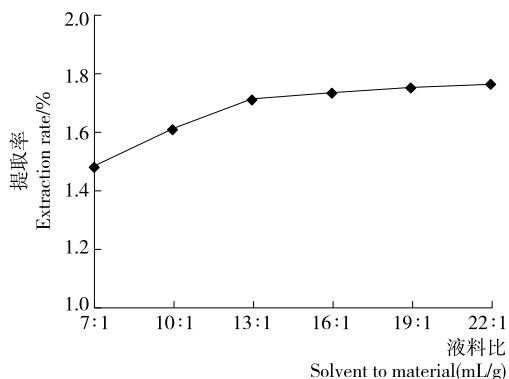


图 2 液料比对提取率的影响

Figure 2 Effect of the solvent to material ratio on extraction rate

2.1.3 超声波时间对提取率的影响 由图 3 可知,超声波时间在 15~30 min 时,随着超声波处理时间的延长,提取率逐渐上升;在超声波时间 40 min 后,提取率有所降低。原因主要是,随着超声时间的延长,细胞破碎程度增加,有利于精油进入溶剂中;但由于精油是易挥发物质,提取时间过长,超声热效应过大,温度过高,导致精油提取率下降;而且超声波作用时间太长不仅增加成本,还可能会使精油成分受到影响。Daniella 等^[8]在研究柑橘皮精油提取过程中,也认为提取率随着超声波时间的延长而增长,但在一定时间后,提取率不再增加。因此,较适宜的超声波作用时间为 30 min。

2.1.4 蒸馏时间对提取率的影响 由图 4 可知,蒸馏时间在 60~150 min 时,随着蒸馏时间的延长,提取率明显增加;蒸

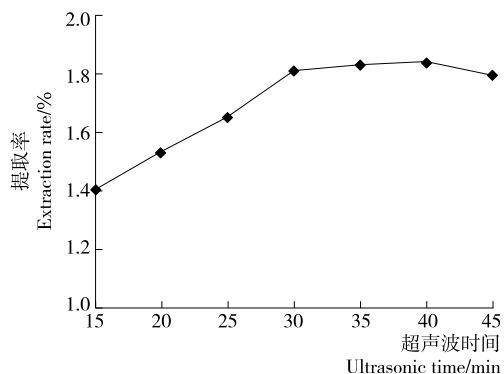


图 3 超声波时间对提取率的影响

Figure 3 Effect of ultrasonic time on extraction rate

馏时间在 150 min 后,提取率增幅不明显。这可能是随着蒸馏时间的延长,柠檬果皮细胞中的精油成分不断被溶出,使提取率上升;但超过 150 min 后,精油已经基本溶出,提取率趋于平缓,继续延长蒸馏时间对提取率影响不大。Ljiljana 等^[9]在采用水蒸气蒸馏提取苜蓿籽精油时,也得到了类似结论。所以,较适宜的蒸馏时间为 150 min。

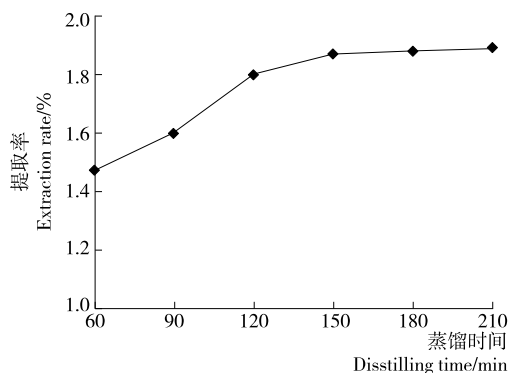


图 4 蒸馏时间对提取率的影响

Figure 4 Effect of distilling time on extraction rate

2.2 Box-Behnken Design 试验

2.2.1 响应面模型的建立 在单因素试验基础上,以超声波功率、液料比、超声波时间和蒸馏时间为自变量,以提取率为响应值,按照 Design-expert 9.0 软件采用 BBD 设计 RSM 试验。其中为了缩短提取时间,节约经济成本,将时间范围设置在 90~150 min。各因素的具体取值见表 1, RSM 的结果见表 2。

采用 Design-expert 9.0 软件对表 2 的试验结果进行分析,得到了提取率与超声波功率、液料比、超声波时间和蒸馏时间的二次回归方程模型:

$$Y = 1.82 + 4.46667E - 003A + 0.07B + 0.04C + 0.02D + 1.45833E - 004AB + 3.75000E - 005AC + 1.66667E - 005AD + 9.16667E - 004BC + 4.16667E - 004BD - 8.33333E - 005CD - 1.48958E - 005A^2 - 5.87037E - 003B^2 - 7.40833E - 004C^2 - 9.89815E - 005D^2 \quad (2)$$

2.2.2 响应面模型的显著性检验 通过对二次回归方程模型进行方差分析,对模型的系数进行显著性检验,结果见表 3。

由表 3 可知,该回归方程的模型差异极显著 ($P < 0.01$), 失拟项差异不显著 ($P > 0.05$), R^2 为 0.9903, R_{Adj}^2 为 0.9805, 说明本试验建立的模型 98.05% 响应值的变化来源于该模型

表 1 响应面试验因素水平编码表

编码	A 超声波功率/W	B 液料比 (mL/g)	C 超声波时间/min	D 蒸馏时间/min
-1	200	10:1	20	90
0	280	13:1	30	120
1	360	16:1	40	150

表 2 响应面试验设计及结果

Table 2 Experiment design and results of response surface methodology

序号	A	B	C	D	Y 提取率/%
1	1	-1	0	0	1.62
2	1	0	0	1	1.85
3	0	0	0	0	1.83
4	-1	0	-1	0	1.51
5	0	0	0	0	1.80
6	0	0	0	0	1.82
7	-1	0	1	0	1.57
8	1	0	0	-1	1.56
9	-1	1	0	0	1.67
10	0	-1	-1	0	1.54
11	0	0	-1	-1	1.44
12	-1	0	0	1	1.61
13	0	0	0	0	1.80
14	0	0	-1	1	1.74
15	1	1	0	0	1.94
16	0	0	1	-1	1.67
17	0	-1	1	0	1.60
18	0	0	0	0	1.82
19	-1	-1	0	0	1.49
20	0	1	-1	0	1.71
21	0	1	1	0	1.88
22	1	0	-1	0	1.64
23	0	-1	0	1	1.63
24	1	0	1	0	1.82
25	0	1	0	-1	1.62
26	0	1	0	1	1.94
27	0	-1	0	-1	1.46
28	0	0	1	1	1.84
29	-1	0	0	-1	1.48

所选的变量。信噪比为 33.449, $\gg 4$, 且变异系数为 1.24%, 表明回归方程的可信度和拟合度均很高; 而且 A、B、C、D、AB、AC、AD、BC、BD、CD、A²、B²、C²、D² 对试验结果的影响差异显著 ($P < 0.05$) 或极显著 ($P < 0.01$), 说明试验的各个因素对响应值不是简单的线性关系, 而是二次抛物线关系, 有极大值存在。因此, 该回归模型能够预测柠檬精油提取时的提取率。

2.2.3 各因子间交互作用的响应面分析 各因子间交互作用的响应面分析见图 5。

由图 5(a) 可知, 当超声波时间和蒸馏时间处于中心点位置时, 当液料比一定, 随着超声波功率的增加, 提取率呈现先增加后减小。当超声波功率一定, 随着液料比的增高, 提取率先增加后趋于平缓。所以, 超声波功率和液料比对提取率存在显著交互作用。

由图 5(b) 可可知, 当液料比和蒸馏时间处在中心点位置

表 3 回归方程的方差分析[†]

Table 3 Variance analysis of regression equation

变异原因	平方和	自由度	均方	F 值	P 值	显著程度
模型	0.62	14	0.04	101.81	<0.000 1	* *
A	0.10	1	0.10	232.25	<0.000 1	* *
B	0.17	1	0.17	387.02	<0.004 1	* *
C	0.05	1	0.05	113.80	<0.000 1	* *
D	0.17	1	0.17	381.59	<0.000 1	* *
AB	4 900.00	1	4 900.00	11.29	0.004 7	*
AC	3 600.00	1	3 600.00	8.29	0.012 1	*
AD	6 400.00	1	6 400.00	14.74	0.001 8	* *
BC	3 025.00	1	3 025.00	6.97	0.019 4	*
BD	5 625.00	1	5 625.00	12.96	0.002 9	*
CD	2 500.00	1	2 500.00	5.76	0.030 9	*
A ²	0.06	1	0.06	135.78	<0.000 1	* *
B ²	0.02	1	0.02	41.70	<0.000 1	* *
C ²	0.04	1	0.04	82.00	<0.000 1	* *
D ²	0.05	1	0.05	118.56	<0.000 1	* *
剩余	6 078.00	14	43 420.00			
失拟	5 358.00	10	53 580.00	2.98	0.15	不显著
纯误差	72 000.00	4	18 000.00			
总误差	0.62	28				

[†] * 表示差异显著, $P < 0.05$; * * 表示差异极显著, $P < 0.01$; R^2 为 0.990 3, R_{adj}^2 为 0.980 5, 信噪比为 33.449, 变异系数为 1.24。

时, 当超声波时间一定时, 随着超声波功率的增加, 提取率先上升后减小。当超声波功率一定时, 随着超声波时间的延长, 提取率先上升后减小。因此, 超声波功率和超声波时间对提取率产生了显著的交互影响。

由图 5(c) 可知, 当液料比和超声波时间处在中心点位置时, 当蒸馏时间一定时, 随着超声波功率的增高, 提取率显著上升后缓慢降低。当超声波的功率一定时, 随着蒸馏时间的延长, 提取率先上升后减小。因此, 超声波功率和蒸馏时间对提取率有极显著交互影响。

由图 5(d) 可知, 当超声波功率和蒸馏时间处在中心点位置时, 当超声波时间一定时, 随着液料比的增加, 提取率先增加然后逐渐趋于平缓。当液料比一定时, 随着超声波时间的延长, 提取率先增加再减小。所以, 液料比和超声波时间对提取率有显著交互影响。

由图 5(e) 可知, 当超声波功率和超声波时间处在中心点位置时, 当蒸馏时间一定时, 随着液料比的增加, 提取率先上升后逐渐减少。当液料比一定时, 随着蒸馏时间的延长, 提取率先增加后减小。所以, 液料比和蒸馏时间对提取率有显著交互影响。

由图 5(f) 可知, 当超声波功率和液料比处在中心点位置时, 当蒸馏时间一定时, 随着超声波时间的延长, 提取率先上升后减小。当超声波时间一定时, 随着蒸馏时间的延长, 提取率先增加后趋于稳定。因此, 超声波时间和蒸馏时间对提取率有显著交互影响。

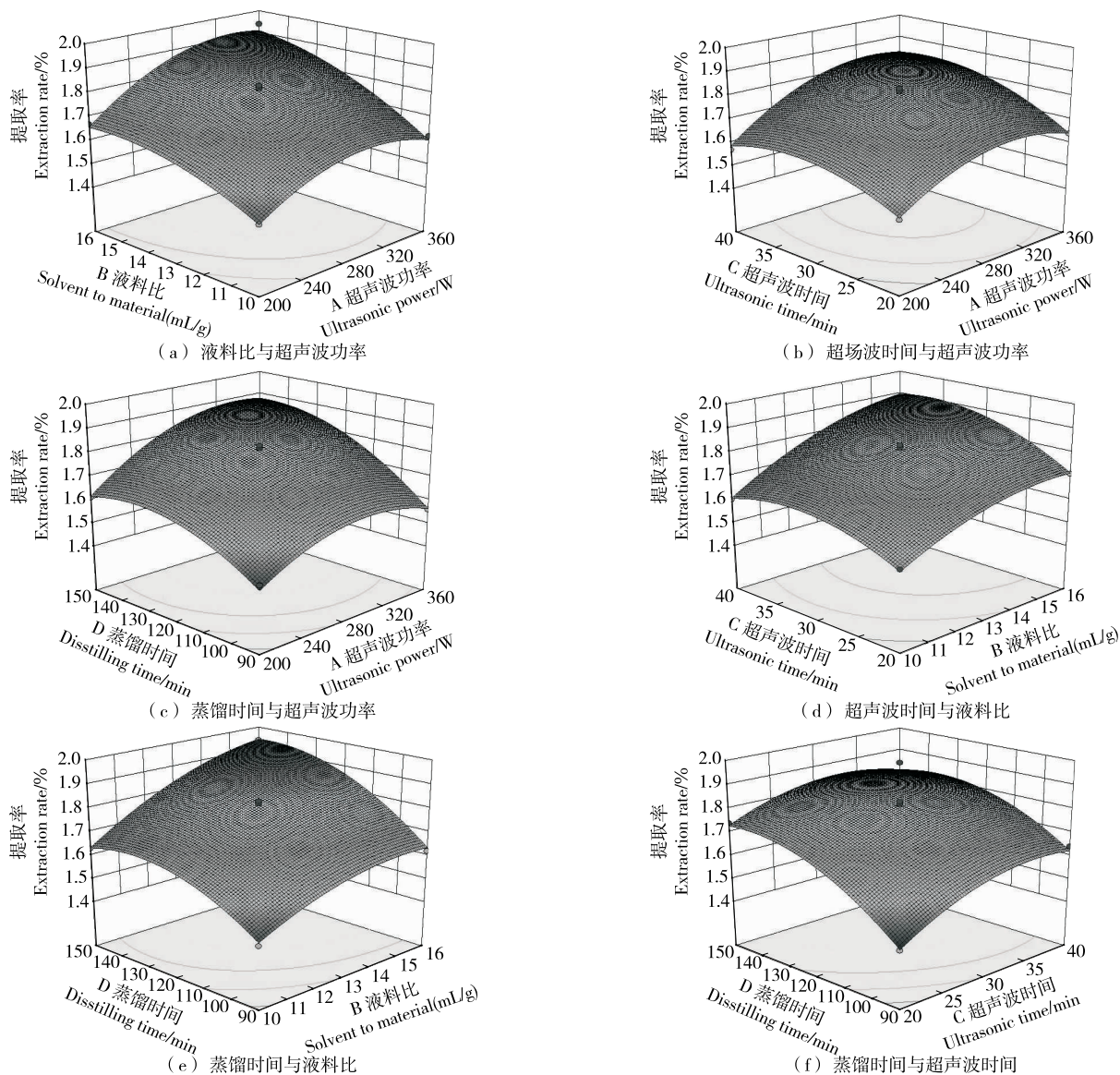


图 5 两因子交互作用对提取率影响的响应面图

Figure 5 Response surface of mutual-influence of two factors on extraction rate

2.2.4 验证实验 通过 Design-expert 9.0 软件对方程进行求解,得出柠檬精油理想的提取工艺为:超声波功率 321.69 W、液料比 15.43 : 1 (mL/g)、超声波时间 36.28 min、提取时间 140.84 min,理论提取率 2.03%。考虑到实际生产过程中操作的可行性,将提取工艺条件修正为:超声波功率 320 W、液料比 15.5 : 1 (mL/g)、超声波时间 36 min、提取时间 140 min。该条件下进行 3 次平行验证实验,得到提取率的平均值为 1.97%,与理论预测值基本相吻合。表明该提取工艺条件的参数可靠,具有实际的应用价值。

2.3 柠檬精油的化学成分分析

水蒸气蒸馏和超声波辅助水蒸气蒸馏提取柠檬精油的总离子流图见图 6。

利用 NIST11 质谱数据库进行对照解析,取匹配度 85% 以上数据,通过峰面积归一化法计算精油中各成分的相对含量,解析鉴定的结果见表 4。

由表 4 可知,2 种工艺提取柠檬精油的化学成分基本一致,表明超声波辅助提取保留了柠檬精油的原有成分,没有对其产生破坏。超声波辅助提取的柠檬精油共鉴定出 26 种化学成分,占总成分的 96.16%。其主要成分是烯烃类、醇类、醛类和酯类化合物,尤其以烯类化合物为主,相对含量占总质量分数在 85% 以上。Vaio 等^[10]和 Al-Jabri 等^[11]分别检测了乙醇提取和水蒸气蒸馏提取柠檬精油的化学成分,结果均证实柠檬烯、月桂烯、 β -蒎烯、蒎品烯、 α -蒎烯等是其 主要特征组分,与本研究的 结果类似。

2.4 2 种方法提取率的比较

柠檬精油 2 种提取方法测定结果见表 5。

由表 5 可见,2 种方法提取率相近,但超声波辅助提取法明显缩短了精油提取时间。这是由于一定频率超声波产生的强烈振动和空化效应可使细胞壁破裂,提高萃取成分的运动速度,缩短了提取时间。Morsy 等^[12]在提取小豆蔻精油

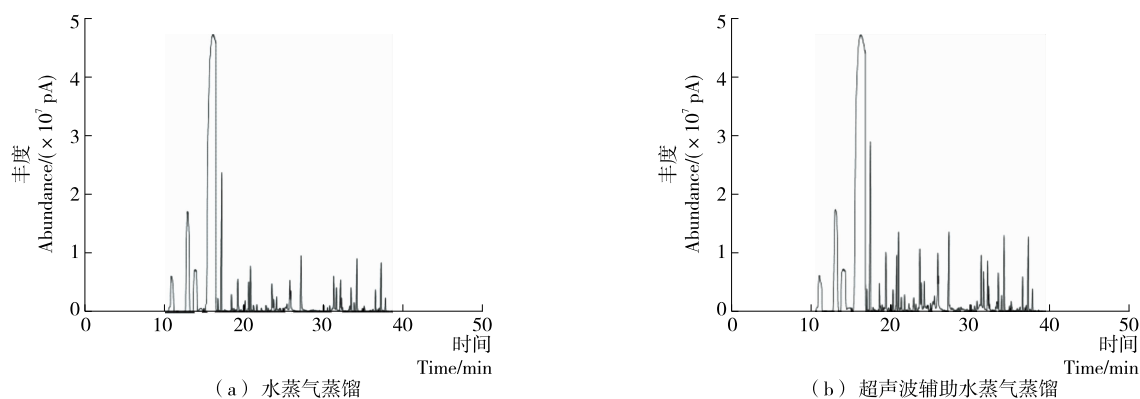


图6 水蒸气蒸馏和超声波辅助水蒸气蒸馏提取柠檬精油的总离子流图

Figure 6 Total ion current of essential oil of lemon from hydrodistillation and ultrasonic-assisted extraction

表4 2种方法提取柠檬精油的化学成分分析

Table 4 Analyses of chemical components oil of lemon extracted by two extraction methods

序号	化合物	水蒸气蒸馏		超声波辅助水蒸气蒸馏	
		保留时间/min	含量/%	保留时间/min	含量/%
1	α -蒎烯	10.96	3.23	10.93	3.51
2	樟脑萜	11.68	0.10	11.66	0.12
3	β -蒎烯	12.97	9.25	12.95	9.54
4	月桂烯	13.95	5.22	13.92	4.94
5	柠檬烯	16.15	61.81	16.17	64.66
6	罗勒烯	16.93	0.19	16.79	0.20
7	萜品烯	17.35	3.31	17.21	2.94
8	异松油烯	18.52	0.55	18.45	0.36
9	芳樟醇	19.32	1.09	19.25	0.84
10	樟脑		未检出	20.21	0.10
11	(R)-氧化柠檬烯		未检出	20.91	0.80
12	香茅醛	21.67	0.22	21.63	0.14
13	α -松油醇		未检出	23.52	0.75
14	癸醛	24.16	0.62	24.12	0.42
15	(Z)-3,7-二甲基-2,6-辛二烯醛	25.84	1.86	25.78	1.42
16	柠檬醛	27.23	1.83	27.18	1.48
17	3,7-二甲基-1,6-辛二烯-3-醇甲酸酯	25.57	0.10		未检出
18	十一醛	28.73	0.12	28.74	0.10
19	α -葑烯	30.46	0.11	30.47	0.11
20	乙酸橙花酯	31.26	0.94	31.29	0.92
21	2-蒎烯	31.87	0.10	31.86	0.10
22	乙酸香叶酯	32.09	0.64	32.12	0.52
23	1-石竹烯	33.43	0.54	33.45	0.50
24	α -法尼烯	34.16	1.28	34.18	0.89
25	(E)- β -金合欢烯	35.87	0.12	36.15	0.21
26	巴伦西亚橘烯	36.45	0.58	36.49	0.42
27	氧化石竹烯	40.02	0.27	40.03	0.17
合计			94.08		96.16

表 5 2 种提取方法提取率的比较

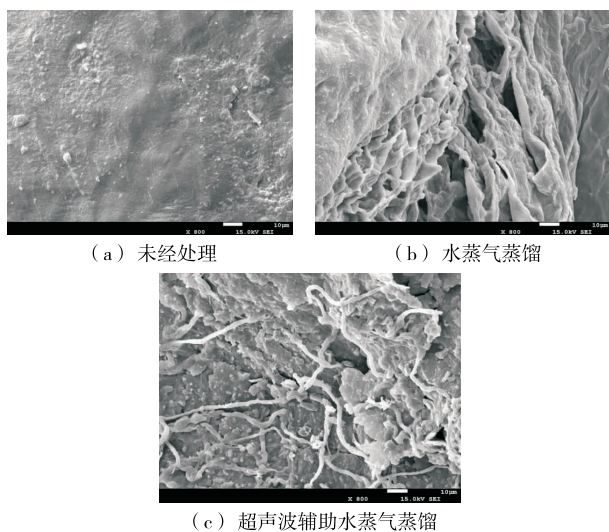
Table 5 Comparisons of extraction rate of two extraction methods

方法	时间/min	提取率/%
水蒸气蒸馏法	300	1.98
超声波辅助水蒸气蒸馏法	176	1.97

时证实,采用超声波预处理后进行水蒸气蒸馏提取,可明显降低水蒸气蒸馏时间,节约能耗。Tekin 等^[13]在采用超声波辅助水蒸气蒸馏提取丁香精油时,也得出了类似结论。由此可见,与传统水蒸气蒸馏提取法相比,超声波辅助水蒸气蒸馏法提取柠檬精油可以缩短提取时间,降低能耗。

2.5 提取方法对柠檬皮超微结构的影响

采用扫描电镜对未经处理、水蒸气蒸馏、超声波辅助水蒸气蒸馏提取后的柠檬皮超微结构进行了观察,结果见图 7。



(a) 未经处理

(b) 水蒸气蒸馏

(c) 超声波辅助水蒸气蒸馏

图 7 未经处理、水蒸气蒸馏、超声波辅助水蒸气蒸馏提取后的柠檬皮扫描电镜观察

Figure 7 Scanning electron micrographs of lemon peel: lemon peel without treatment, lemon peel by hydrodistillation, lemon peel by ultrasonic-assisted extraction

由图 7 可以看出,水蒸气蒸馏和超声波辅助水蒸气蒸馏提取的柠檬皮结构与未经处理的柠檬皮结构存在明显差异:未经处理的柠檬皮表面平滑和完整;水蒸气蒸馏提取后的柠檬皮表面部分结构遭到破坏;超声波辅助水蒸气蒸馏提取后的柠檬皮表面结构完全遭到破坏,出现了许多不规则的空腔、裂痕。

通常植物原料中有效成分的溶出,与原料细胞结构的破坏程度密切相关。在超声波辅助提取柠檬精油过程中,超声波对柠檬皮细胞结构的破坏程度超过了水蒸气蒸馏,使得柠檬精油能够快速释放,从而缩短了提取时间,与表 5 的研究结果一致。Sereshti 等^[14]在采用超声波辅助水蒸气蒸馏提取豆蔻精油时证实,经超声波处理后的原料表面结构显著破坏,促进了精油的有效提取。Maral 等^[15]在采用超声波辅助

水蒸气蒸馏提取桉翅芹精油时,也得出了类似结论。

3 结论

本试验通过单因素试验和响应面试验确定了超声波辅助水蒸气蒸馏提取柠檬精油的最佳工艺条件为:超声波功率 320 W、液料比 15.5:1 (mL/g)、超声波时间 36 min、蒸馏时间 140 min,提取率可达 1.97%,所得精油为淡黄色液体,其香气接近鲜柠檬果香。该柠檬精油共鉴定出 26 种化学成分,占总成分的 96.16%,其主要成分为柠檬烯。此外,扫描电镜观察表明,超声波通过有效破坏原料的细胞结构,促进了精油的快速释放。本工艺与传统水蒸气蒸馏提取相比,提取率相近,但明显缩短了提取时间,减少能耗。所以,超声波辅助水蒸气蒸馏提取柠檬精油是一种有效的精油提取方法。

参考文献

- [1] 秦铁, 侯小桢, 章斌, 等. 柠檬精油的化学成分分析及其抗氧化活性研究[J]. 食品与机械, 2014, 30(3): 169-173.
- [2] CATIA G L, FRANCESCA P, ALESSANDRO A C, et al. A non-conventional method to extract D-limonene from waste lemon peels and comparison with traditional Soxhlet extraction[J]. Separation and Purification Technology, 2014, 137: 13-20.
- [3] CRISTINA C K, MARIA C C, IVANA M G, et al. Fractionation of lemon essential oil by solvent extraction: Phase equilibrium for model systems at $T=298.2$ K[J]. The Journal of Chemical Thermodynamics, 2012, 54: 316-321.
- [4] GIRONI F, MASCHIETTI M. Phase equilibrium of the system supercritical carbon dioxide-lemon essential oil: New experimental data and thermodynamic modelling[J]. The Journal of Supercritical Fluids, 2012, 70: 8-16.
- [5] ESCLAPEZ M D, GARCÍA-PÉREZ J V, MULET A, et al. Ultrasound-Assisted Extraction of Natural Products[J]. Food Engineering Reviews, 2011, 3(2): 108-120.
- [6] KARIM A, DANIELLA P, SMAN C, et al. Ultrasound induced intensification and selective extraction of essential oil from *Carum carvi* L. seeds[J]. Chemical Engineering and Processing: Process Intensification, 2012, 62: 99-105.
- [7] SANDRINE P, CHRISTIAN G, GIANCARLO C, et al. A comparison of essential oils obtained from lavender via different extraction processes: Ultrasound, microwave, turbohydrodistillation, steam and hydrodistillation[J]. Journal of Chromatography A, 2013, 1305: 41-47.
- [8] DANIELLA P, ANNE-SYLVIE F T, FARID C. An improved ultrasound cleverger for extraction of essential oils[J]. Food Analytical Methods, 2014, 7(1): 9-12.
- [9] LJILJANA P S, NIKO S R, TATJANA M D, et al. The yield, composition and hydrodistillation kinetics of the essential oil of dill seeds (*Anethi fructus*) obtained by different hydrodistillation techniques[J]. Industrial Crops and Products, 2015, 65: 429-436.
- [10] VAIO C D, GRAZIANI G, GASPARI A, et al. Essential oils content and antioxidant properties of peel ethanol extract in 18 lemon cultivars[J]. Scientia Horticulturae, 2010, 126(1): 50-55.

(下转第 190 页)

- new clinical target for *Pseudomonas aeruginosa* [J]. *Médecine Et Maladies Infectieuses*, 2006, 36(7): 349-357.
- [52] KONOPEVA M N, KHRULNOVA S A, BARANOVA A, et al. A combination of *luxR1* and *luxR2* genes activates promoters of psychrophilic *Aliivibrio logei lux*-operon independently of chaperonin GroEL/ES and protease Lon at high concentrations of autoinducer [J]. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 2016, 473 (4): 1 158-1 162.
- [53] GUI Meng, WU Rui-yun, LIU Lei, et al. Effects of quorum quenching by AHL lactonase on AHLs, protease, motility and proteome patterns in *Aeromonas veronii* Lp-11 [J]. *International Journal of Food Microbiology*, 2017, 252: 61-68.
- [54] KIM J B, XIA Yu-rong, ROMANOSKI C E, et al. Paraoxonase-2 modulates stress response of endothelial cells to oxidized phospholipids and a bacterial quorum-sensing molecule [J]. *Arteriosclerosis Thrombosis and Vascular Biology*, 2011, 31 (11): 2 624-2 633.
- [55] HEIDARI A, NOSHIRANZADEH N, HAGHI F, et al. Inhibition of quorum sensing related virulence factors of *Pseudomonas aeruginosa* by pyridoxal lactohydrazone [J]. *Microbial Pathogenesis*, 2017, 112: 103-110.
- [56] 王岩, 于雅萌, 张静静, 等. 海洋微生物群体感应与群体感应淬灭的开发利用 [J]. *生物资源*, 2017, 39(6): 413-422.
- [57] VATTEM D A, MIHALIK K, CRIXELL S H, et al. Dietary phytochemicals as quorum sensing inhibitors [J]. *Fitoterapia*, 2007, 78(4): 302-310.
- [58] SHARMA A, FLORES-VALLEJO R D C, CARDOSO-TAKETA A, et al. Antibacterial activities of medicinal plants used in mexican traditional medicine [J]. *Journal of Ethnopharmacology*, 2017, 6(2): 264-329.
- [59] ZHOU Li-man, ZHENG Hong-da, TANG Yi-dan, et al. Eugenol inhibits quorum sensing at sub-inhibitory concentrations [J]. *Biotechnology Letters*, 2013, 35(4): 631-637.
- [60] VIKRAM A, JESUDHASAN P R, JAYAPRAKASHA G K, et al. Citrus limonoids interfere with *Vibrio harveyi* cell-cell signaling and biofilm formation by modulating the response regulator LuxO [J]. *Microbiology*, 2011, 157(1): 99-110.
- [61] BRACKMAN G, DEFOIRD T, MIYAMOTO C, et al. Cinnamaldehyde and cinnamaldehyde derivatives reduce virulence in *Vibrio spp.* by decreasing the DNA-binding activity of the quorum sensing response regulator LuxR [J]. *BMC Microbiology*, 2008, 8(1): 149-162.
- [62] VISVALINGAM J, PALANIAPPAN K, HOLLEY R A. *In vitro* enhancement of antibiotic susceptibility of drug resistant *Escherichia coli* by cinnamaldehyde [J]. *Food Control*, 2017, 79: 288-291.
- [63] TRUCHADO P, TOMÁS-BARBERÁN F A, LARROSA M, et al. Food phytochemicals act as quorum sensing inhibitors reducing production and/or degrading autoinducers of *Yersinia enterocolitica* and *Erwinia carotovora* [J]. *Food Control*, 2012, 24(1/2): 78-85.
- [64] MYSZKA K, SCHMIDT M T, MAJCHER M, et al. Inhibition of quorum sensing-related biofilm of *Pseudomonas fluorescens* KM121 by *Thymus vulgare* essential oil and its major bioactive compounds [J]. *International Biodeterioration and Biodegradation*, 2016, 114: 252-259.
- [65] BANERJEE M, MOULICK S, BHATTACHARYA K K, et al. Attenuation of *pseudomonas aeruginosa* quorum sensing, virulence and biofilm formation by extracts of *andrographis paniculata* [J]. *Microbial Pathogenesis*, 2017, 113: 85-93.
- [66] LIU Zun-ying, PAN Yu-rong, LI Xiao-shuang, et al. Chemical composition, antimicrobial and anti-quorum sensing activities of pummelo peel flavonoid extract [J]. *Industrial Crops and Products*, 2017, 109: 862-868.
- [67] LI Yu-zhe, ZHANG Xiao-peng, LIANG Chun-lai, et al. Safety evaluation of mulberry leaf extract: Acute, subacute toxicity and genotoxicity studies [J]. *Regulatory Toxicology and Pharmacology*, 2018, 95: 220-226.
- [68] KALIA V C. Quorum sensing inhibitors; An overview [J]. *Biotechnology Advance*, 2013, 31(2): 224-245.
- [69] JAKOBSEN T H, BRAGASON S K, PHIPPS R K, et al. Food as a source for quorum sensing inhibitors; iberin from horseradish revealed as a quorum sensing inhibitor of *Pseudomonas aeruginosa* [J]. *Applied & Environmental Microbiology*, 2012, 78(7): 2 410-2 421.
- [70] RASCH M, RASMUSSEN T B, ANDERSEN J B, et al. Well-known quorum sensing inhibitors do not affect bacterial quorum sensing-regulated bean sprout spoilage [J]. *Journal of Applied Microbiology*, 2007, 102(3): 826-837.
- [71] PUGACHEV M V, SHTYRLIN N V, SYSOEVA L P, et al. Synthesis and antibacterial activity of novel phosphonium salts on the basis of pyridoxine [J]. *Bioorganic and Medicinal Chemistry*, 2013, 21(14): 4 388-4 395.

(上接第 178 页)

- [11] AL-JABRI N N, HOSSAIN M A. Comparative chemical composition and antimicrobial activity study of essential oils from two imported lemon fruits samples against pathogenic bacteria [J]. *Beni-Suef University Journal of Basic and Applied Sciences*, 2014, 3(4): 247-253.
- [12] MORSY N F S. A short extraction time of high quality hydro-distilled cardamom (*Elettaria cardamomum* L. Maton) essential oil using ultrasound as a pretreatment [J]. *Industrial Crops and Products*, 2015, 65: 287-292.
- [13] TEKIN K, AKAL M K, SEKER M G. Ultrasound bath-assisted extraction of essential oils from clove using central composite design [J]. *Industrial Crops and Products*, 2015, 77: 954-960.
- [14] SERESHTI H, ROHANIFAR A, BAKHTIARI S, et al. Bi-functional ultrasound assisted extraction and determination of *Elettaria cardamomum* Maton essential oil [J]. *Journal of Chromatography A*, 2012, 1 238: 46-53.
- [15] MARAL S D, MEHRDAD N, MOHAMMAD J S. Ultrasound pretreatment impact on *Prangos ferulacea* Lindl. and *Satureja macrosiphonia* Bornm. essential oil extraction and comparing their physicochemical and biological properties [J]. *Industrial Crops and Products*, 2016, 87: 105-115.