

超声辅助水蒸气蒸馏法提取蓝桉叶中精油的工艺优化及其抑菌活性研究

卢 锐, 周汉军, 唐 静, 龚吉军*

(中南林业科技大学食品科学与工程学院, 长沙 410004)

摘 要: **目的** 初步探明蓝桉叶精油最佳提取工艺及不同提取工艺条件下蓝桉叶精油得率与其抗菌活性的差异性。**方法** 以桉叶油得率为评价指标, 采用超声辅助水蒸气蒸馏法, 通过单因素与正交试验确定桉叶油最佳提取工艺。并检验正交试验各组合桉叶油对金黄色葡萄球菌、大肠杆菌和黑曲霉的抑菌效果。**结果** 桉叶油的最佳提取工艺条件为料液比 1:4(g/mL), 超声时间 25 min, 超声功率 200 W, 蒸馏时间 5 h, 桉叶油得率为 1.51%。而抑菌试验结果表明, 不同提取工艺所得桉叶油的抑菌活性存在差异。对金黄色葡萄球菌和大肠杆菌而言, 料液比 1:6(g/mL), 超声时间 30 min, 超声功率 180 W, 蒸馏时间 5 h 时抑菌活性最强, 抑菌圈直径分别为(11.92±0.20) mm($n=3$)和(10.25±0.35) mm($n=3$), 对应的桉叶油得率为 1.28%; 对黑曲霉而言, 料液比 1:7(g/mL), 超声时间 30 min, 超声功率 200 W, 蒸馏时间 7 h 时抑菌活性最强, 抑菌圈直径为(12.25±0.29) mm($n=3$), 对应的桉叶油得率为 1.38%。**结论** 精油得率与其抑菌活性无相关性, 针对不同的目标微生物需要单独优化提取工艺来获得相应的微生物抑菌剂。

关键词: 水蒸气蒸馏; 超声辅助; 蓝桉叶; 精油; 抗菌活性

Process optimization and antibacterial activity of extracting essential oil from *Eucalyptus globulus* leaves by ultrasonic assisted steam distillation

LU Kun, ZHOU Han-Jun, TANG Jing, GONG Ji-Jun*

(College of Food Science and Engineering, Central South University of Forestry and Technology, Changsha 410004, China)

ABSTRACT: Objective To explore the optimum extraction technology of *Eucalyptus globulus* oil and the difference between the yield of *Eucalyptus globulus* oil and its antibacterial activity under different extraction conditions. **Methods** Taking the yield of eucalyptus oil as the evaluation index, the optimal extraction process of *Eucalyptus* oil was determined by single factor and orthogonal test by ultrasonic assisted steam distillation. The antibacterial effects of each combination of *Eucalyptus* oil on *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* and *Aspergillus niger* were tested. **Results** The optimum extraction conditions of *Eucalyptus* oil were as follows: ratio of material to liquid was 1:4 (g/mL), ultrasonic time was 25 min, ultrasonic power was 200 W, and distillation time was 5 h, and the yield of *Eucalyptus* oil was 1.51%. The bacteriostasis test results showed that the bacteriostatic

基金项目: 长沙市科技计划项目(kq1701099)

Fund: Supported by the Changsha Municipal Science and Technology Project (kq1701099)

*通讯作者: 龚吉军, 博士, 教授, 主要研究方向为农产品加工与贮藏。E-mail: jijungong2007@163.com

*Corresponding author: GONG Ji-Jun, Ph.D, Professor, College of Food Science and Engineering of Central South University of Forestry and Technology, No.498, Shaoshan Road, Tianxin District, Changsha 410004, China. E-mail: jijungong2007@163.com

activity of *Eucalyptus* oil obtained by different extraction processes was different. For *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*, the antibacterial activity was the strongest when the ratio of material to liquid was 1:6 (g/mL), the ultrasonic time was 30 min, the ultrasonic power was 180 W, and the distillation time was 5 h. The diameters of the inhibition zone were (11.92±0.20) mm ($n=3$) and (10.25±0.35) mm ($n=3$), and the corresponding *Eucalyptus* oil yield was 1.28%. For *Aspergillus niger*, the antibacterial activity was the strongest when the ratio of solid to liquid was 1:7 (g/mL), ultrasonic time was 30 min, ultrasonic power was 200 W, and distillation time was 7 h. The diameter of the inhibition zone was (12.25±0.29) mm ($n=3$), and the corresponding eucalyptus oil yield was 1.38%. **Conclusion** There is no correlation between the yield of essential oil and its antibacterial activity. For given target, the technological condition of extraction process should be optimized to obtain a corresponding microbial bacteriostatic agent.

KEY WORDS: hydrodistillation; ultrasound-assisted; *Eucalyptus globulus* leaf; essential oil; antimicrobial activity

1 引 言

桉树为桃金娘科(Myrtaceae)桉树属(*Eucalyptus*)乔木。按叶精油是按树叶油腺细胞分泌出来的芳香精油,具有广泛的生物活性,对微生物和昆虫的生长繁殖具有不同程度的抑制作用^[1-3],在食品、化工、医药等行业被广泛应用。桉叶精油提取最常用的方法为水蒸气蒸馏法,此外,还有超临界 CO₂ 萃取法^[4]、有机溶剂萃取法^[5]、分子蒸馏法精制^[6]等,单独采用水蒸气蒸馏法,存在提取率不高的缺陷;采用有机溶剂萃取法得到的精油更少;而超临界 CO₂ 萃取法提取率相对要高,但设备投资及运行成本要高很多。迄今为止,还未见有关以桉叶精油得率为评价指标的提取工艺优化研究报道。超声辅助提取植物有效成分,其操作简便快捷、能有效提高得率,且提取物结构未被破坏,目前已得到广泛应用,但该法用于辅助提取桉叶精油,报道较少。

有关桉叶精油抑菌特性的研究报道很多,很多种类桉叶精油具广谱抑菌活性^[7-10]。叶舟^[8]在大叶桉精油抑菌效果研究中还发现,单一成分的抑菌效果并不明显,认为各抑菌成分之间可能存在协同作用。有关桉叶精油的研究目前多集中于其抑菌特性,而关于提取工艺的不同对其抑菌活性的影响研究较少。

本文拟采用超声辅助水蒸气蒸馏法提取蓝桉叶精油,研究料液比、超声处理时间、超声功率以及蒸馏时间对桉叶精油得率的影响,旨在探明最佳提取工艺条件,同时研究不同提取工艺所得蓝桉叶精油的抑菌活性是否存在差异,以期为后续目标差异化的提取工艺优化提供依据。

2 材料与amp;方法

2.1 材料、试剂与仪器

蓝桉叶: 采自重庆市忠县,鲜叶粉碎装入保鲜袋中于 4℃冰箱中保存;
金黄色葡萄球菌(*Staphylococcus aureus*)、大肠杆菌

(*Escherichia coli*)和黑曲霉(*Aspergillus flavus*)(广东省微生物研究所);脑心浸出液肉汤培养基、马铃薯葡萄糖琼脂培养基(青岛海博生物技术有限公司)。

JB 挥发油测定器(常州普天仪器制造有限公司);QE-300 万能粉碎机(浙江屹立工贸有限公司);JY92-11 超声细胞粉碎机(宁波新芝生物科技股份有限公司);WP-25A 电热恒温培养箱(天津市意博高科实验仪器厂);MJX-250B 霉菌培养箱(北京中兴伟业仪器有限公司)。

2.2 实验方法

2.2.1 超声辅助水蒸气蒸馏提取桉叶油工艺优化研究

(1) 单因素试验
通过单因素试验确定正交试验时各因素适宜的取值范围。称取经充分破碎的蓝桉叶 50.00 g,放入到 1000 mL 圆底烧瓶中,加入一定量的蒸馏水,经超声处理后蒸馏提取蓝桉叶精油。料液比(g/mL)分别为 1:4、1:5、1:6、1:7、1:8、1:9、1:10;超声处理时间分别为 5、10、15、20、30、40 min;超声处理功率分别为 100、140、180、200、220、240、280、300、400 W;蒸馏时间分别为 4、5、6、7、8、9 h。蒸馏结束后收集精油,用无水硫酸钠脱水后,计算得率,装入可密封的棕色瓶中,置于 4℃下保存。蓝桉叶精油得率/%=精油质量(g)/鲜蓝桉叶质量(g)×100%。试验重复 3 次。

(2) 正交试验
在单因素试验的基础上,进行正交试验,采用 L₁₆(4⁵)正交表,因素与水平见表 1。试验重复 3 次。

表 1 正交试验因素水平				
Table 1 Factors and levels of orthogonal experiment				
水平	A	B	C	D
	料液比/(g/mL)	超声处理时间/min	超声功率/W	蒸馏时间/h
1	1:4	20	180	4
2	1:5	25	200	5
3	1:6	30	220	6
4	1:7	35	240	7

2.2.2 蓝桉叶精油抑菌活性试验

(1) 桉叶精油抑菌活性试验

将正交试验各组合所得精油用无菌水稀释成浓度为 100 $\mu\text{L/mL}$ 的乳浊液。采用琼脂滤纸片扩散法, 将圆滤纸片($d=6\text{ mm}$)贴到涂抹一定菌液浓度(细菌 10^8 CFU/mL , 霉菌 10^6 CFU/mL)菌悬液的培养基平板上, 吸取 10 μL 乳浊液垂直滴加到圆滤纸片上。每个培养皿贴 2 片滤纸片。所有试验均重复 3 次, 并设空白对照。细菌 37 $^{\circ}\text{C}$ 条件下培养 24 h, 霉菌 28 $^{\circ}\text{C}$ 条件下培养 48 h, 观察并测定抑菌圈直径。试验重复 3 次。

(2) 最低杀菌浓度的测定

采用连续平板稀释法^[11]。将正交试验各组合中对大肠杆菌(*Escherichia coli*)、金黄色葡萄球菌(*Staphylococcus aureus*)和黑曲霉(*Aspergillus niger*)抑菌活性最强的桉叶精油用于 MBC 的测定。将适量经紫外灭菌的桉叶精油加入到含 2% Tween 80 灭菌培养基(琼脂凝固点 40 $^{\circ}\text{C}$, 桉叶精油最低沸点 70 $^{\circ}\text{C}$, 两者温差较高, 故精油损失较少)中混匀, 精油浓度分别为 5、6、7、8、9、10、13、14、15、20 $\mu\text{L/mL}$, 然后将培养基加入到无菌培养皿中。待其凝固, 将一定浓度(细菌 10^8 CFU/mL , 霉菌 10^6 CFU/mL)菌悬液均匀涂布于上述平板表面。细菌 37 $^{\circ}\text{C}$ 培养 24 h, 霉菌 28 $^{\circ}\text{C}$ 培养 48 h。观察供试菌的生长情况, 以完全无菌生长的精油浓度为最低杀菌浓度(minimum bactericidal concentration, MBC)。以含 2% Tween 80 的培养基作对照。试验重复 3 次。

2.2.3 数据分析

采用 SPSS 18.0 软件对数据进行统计分析。 $P<0.05$ 为差异显著, $P<0.01$ 为差异极显著。

3 结果与分析

3.1 超声辅助水蒸气蒸馏法提取蓝桉叶精油工艺优化

3.1.1 单因素试验

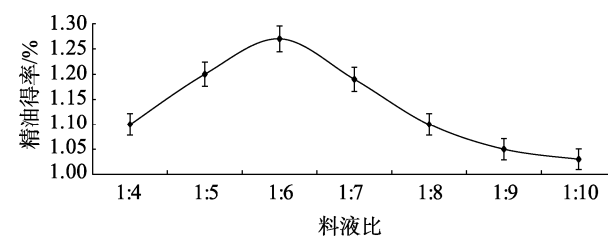
(1) 料液比对蓝桉叶精油得率的影响

料液比是影响植物精油提取效果的重要因素之一。料液比过小, 水不能充分渗入物料中, 导致精油溶出不完全或由于水量少导致局部过热而降低得率; 过大, 则精油在水中的溶解量增大, 也会降低其得率, 同时还会增加能耗^[12,13]。料液比对蓝桉叶精油得率的影响见图 1。由图 1 可以看出, 料液比对蓝桉叶精油得率的影响曲线呈倒 V 形, 当料液比为 1:6(g/mL) 时, 蓝桉叶精油得率最高(1.27%), 料液比由 1:4(g/mL) 提高至 1:6(g/mL) 时, 蓝桉叶精油的得率快速上升, 但料液比超过 1:6(g/mL) 后, 得率又持续降低。采用超声辅助水蒸气蒸馏提取蓝桉叶精油, 料液比应控制在 1:6(g/mL) 左右。

(2) 超声处理时间对蓝桉叶精油得率的影响

超声处理时间对蓝桉叶精油得率的影响见图 2。由图 2 可以看出, 在 5~40 min 时间范围内, 蓝桉叶精油得率随

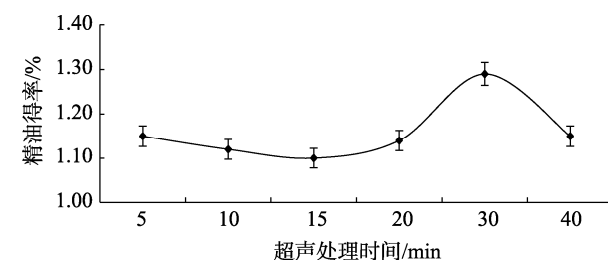
时间的延长呈先稍微降低后快速升高再快速降低的趋势, 超声处理时间为 30 min 时, 得率为 1.29%, 达到最高值。超声处理时间过短, 蓝桉叶细胞壁破裂及胞内热效应程度低, 精油无法完全溶出, 随着超声处理时间的延长, 蓝桉叶细胞壁破裂程度提高, 精油的溶出充分, 但如果超声处理时间过长, 则其升温效应会导致蓝桉叶精油挥发, 故得率也会下降。Athanasia^[14]在超声辅助提取石榴籽油时发现, 随着超声处理时间的延长, 油的得率在快速上升至最高水平后即趋于稳定, 这与笔者的研究结果存在差异。采用超声辅助水蒸气蒸馏法提取蓝桉叶精油时, 超声处理时间应控制在 30 min 左右。



注: 提取条件为超声处理时间 30 min、超声功率 220 W、蒸馏时间 6 h。

图 1 料液比对蓝桉叶精油得率的影响($n=3$)

Fig.1 Effect of solid to water ratio on extraction yield of *Eucalyptus globulus* oil ($n=3$)



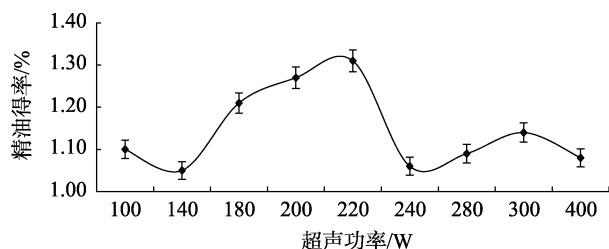
注: 提取条件为料液比 1:6(g/mL)、超声功率 220 W、蒸馏时间 6 h。

图 2 超声处理时间对蓝桉叶精油得率的影响($n=3$)

Fig.2 Effect of ultrasound treatment time on extraction yield of *Eucalyptus globulus* oil ($n=3$)

(3) 超声功率对蓝桉叶精油得率的影响

超声功率对蓝桉叶精油得率的影响见图 3。由图 3 可以看出, 超声功率在 140~220 W 区间, 蓝桉叶精油提取率随超声功率增大而提高, 在 220 W 时蓝桉叶精油得率达到最大值(1.35%), 在此之后蓝桉叶精油得率随超声功率增大反而降低。当超声功率过低时, 超声波产生的空化作用较弱, 故精油得率较低; 随着超声功率增大, 空化作用增强, 使蓝桉叶细胞壁的破裂更充分, 加速蓝桉叶精油渗出; 但超声功率过大时, 其产生的空化作用大幅度增强, 精油在水中的乳化作用也增强, 同时由于其热效应增强, 蓝桉叶精油的损失会增加, 李雪^[15]在用超声辅助提取紫苏精油时, 也有相似的发现。因此, 在采用超声辅助水蒸气蒸馏法提取蓝桉叶精油时, 超声功率应控制在 220 W 左右。



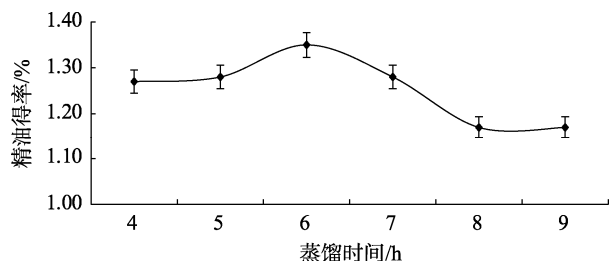
注: 提取条件为料液比 1:6(g/mL)、超声处理时间 30 min、蒸馏时间 6 h。

图 3 超声功率对蓝桉叶精油得率的影响($n=3$)

Fig.3 Effect of ultrasonic power on extraction yield of *Eucalyptus globulus* oil ($n=3$)

(4) 蒸馏时间对蓝桉叶精油得率的影响

蒸馏时间对蓝桉叶精油得率的影响见图 4。图 4 的结果表明, 在 6 h 内, 蓝桉叶精油得率随蒸馏时间的延长而提高, 但超过 6 h 后, 蓝桉叶精油得率反而降低, 可能缘于部分精油的挥发所致, 这一结果与马玉花等^[16]在杏仁油提取研究中的发现有相似之处。因此, 在采用超声辅助水蒸气蒸馏法提取蓝桉叶精油时, 蒸馏 6 h 左右较适宜。



注: 提取条件为料液比 1:6(g/mL), 超声处理时间 30 min, 超声功率 220 W。

图 4 蒸馏时间对蓝桉叶精油得率的影响($n=3$)

Fig.4 Effect of hydrodistillation time on extraction yield of *Eucalyptus globulus* oil ($n=3$)

3.1.2 正交试验

以蓝桉叶精油得率为评价指标, 正交试验结果见表 2。从直观效果来看, 2 号组合($A_1B_2C_2D_2$)和 10 号组合($A_3B_2C_4D_3$)的蓝桉叶精油得率最高, 均为 1.51%。而极差分析结果表明, $A_1B_2C_2D_3$ 为最优组合。直观最优组合与极差分析得出的最优组合不一致, 因此需要验证。在验证试验中, $A_1B_2C_2D_3$ 的蓝桉叶精油得率为 1.55%(3 次平均值), 三者之间并无明显差异($P>0.05$)。因此, 为了减少能耗与节约时间, 最终确定最优组合为 $A_1B_2C_2D_2$, 即料液比 1:4(g/mL)、超声时间 25 min、超声功率 200 W、蒸馏时间 5 h。Cheng 等^[17]采用水蒸气蒸馏法提取尾桉叶精油, 其得率为 0.57%(W/DW), 但赤桉叶精油的得率达 2.19%(W/DW)。Harminder 等^[18]同样采用水蒸气蒸馏法提取柠檬桉叶精油, 其得率为 1.2%(W/FW)。Bachir 等^[19]用蒸汽蒸馏法提取蓝桉叶精油, 其得率亦为 1.2%(W/FW)。本研究的蓝桉叶精油

得率亦以鲜叶基计算, 可见采用超声辅助水蒸气蒸馏法用于蓝桉叶精油的提取, 在精油得率上具有优势。

正交试验的方差分析结果见表 3。表 3 的结果显示, 料液比、超声处理时间、超声功率和蒸馏时间 4 因素对蓝桉叶精油得率的影响均达到显著水平($P<0.05$)。

3.2 蓝桉叶精油抑菌活性研究

3.2.1 桉叶精油抑菌活性试验

正交试验各组合所得精油对大肠杆菌、金黄色葡萄球菌和黑曲霉的抑菌活性试验结果见表 4。由表 4 可以看出, 当蓝桉叶精油提取中 4 个主要条件即料液比、超声处理时间、超声功率和蒸馏时间的参数发生变化时, 所得蓝桉叶精油对大肠杆菌、金黄色葡萄球菌、黑曲霉的抑菌圈直径也会发生改变; 对大肠杆菌和金黄色葡萄球菌而言, 要获得最大抑菌活性的蓝桉叶精油, 最佳提取工艺均为 $A_3B_3C_1D_2$, 其抑菌圈直径分别为(11.92±0.20) mm ($n=3$)和(10.25±0.35) mm ($n=3$), 该组合对应的蓝桉叶精油得率仅为 1.28%。而最大精油得率(1.51%)的组合 I 即 $A_1B_2C_2D_2$ 所得精油对大肠杆菌的抑菌圈直径为(9.75±0.29) mm ($n=3$), 对金黄色葡萄球菌的抑菌圈直径为(8.10±0.42) mm ($n=3$), 抑菌圈直径分别比对应的最大值要小 18.20%和 20.98%, 差异极显著($P<0.01$)。而最大精油得率(1.51%)的组合 II 即 $A_3B_2C_4D_3$ 所得精油对大肠杆菌的抑菌圈直径为(10.50±0.00) mm ($n=3$), 对金黄色葡萄球菌的抑菌圈直径为(6.63±0.25) mm ($n=3$), 抑菌圈直径分别比对应的最大值小 11.91%和 35.32%, 前者差异显著($P<0.05$), 后者差异极显著($P<0.01$)。对黑曲霉而言, 要获得最大抑菌活性的蓝桉叶精油, 最佳提取工艺为 $A_4B_3C_2D_4$, 其抑菌圈直径为(12.25±0.29) mm ($n=3$), 而最大精油得率(1.51%)的组合 I 即 $A_1B_2C_2D_2$ 所得精油的抑菌圈直径为(10.25±0.50) mm ($n=3$), 比对应的最大值要小 16.33%, 差异极显著($P<0.01$); 而最大精油得率(1.51%)的组合 II 即 $A_3B_2C_4D_3$ 所得精油的抑菌圈直径为(10.67±0.52) mm ($n=3$), 比对应的最大值要小 12.90%, 差异显著($P<0.05$)。研究表明, 提取工艺不同, 蓝桉叶精油组分有差异, 所得蓝桉叶精油的抑菌活性存在明显差异。

桉树种类不同, 所得桉叶精油的组分有异, 其抑菌活性亦存在差异^[18-21]。而提取溶剂不同, 所得桉叶精油的抑菌效果也有差异^[22]。但迄今为止, 提取工艺的不同导致精油成分

3.2.2 最低杀菌浓度的测定(MRC)

采用 2.2.1 中的组合($A_3B_2C_1D_2$)和($A_4B_3C_2D_4$)工艺提取桉叶精油, 分别测定其对大肠杆菌、金黄色葡萄球菌和黑曲霉的最低杀菌浓度, 结果见表 5。由表 5 可知, 2 种精油对 3 种菌的最低杀菌浓度各不相同, 组合($A_3B_2C_1D_2$)提取桉叶精油对大肠杆菌的最低杀菌浓度最低, 为 6 μ L/mL, 对金黄色葡萄球菌的最低杀菌浓度为 9 μ L/mL, 表明大肠杆菌比金黄色葡萄球菌更易对该精油敏感。组合($A_4B_3C_2D_4$)

提取桉叶精油对黑曲霉的最低杀菌浓度为 14 $\mu\text{L/mL}$ 。该精油对黑曲霉的最低杀菌浓度比组合($A_3B_2C_1D_2$)提取桉叶精油对大肠杆菌和金黄色葡萄球菌的高, 除与菌种敏感性有

关外, 还与精油中各成分间的相互协同作用紧密相连^[8,23]。不同的提取工艺会使提取所得精油的组成成分及其含量存在差异, 进而影响其抑菌活性^[9,19,24]。

表 2 正交实验结果
Table 2 Results of orthogonal experiment

序号	<i>A</i> 料液比/(g/mL)	<i>B</i> 超声处理时间/min	<i>C</i> 超声功率/W	<i>D</i> 蒸馏时间/h	<i>E</i> 空列	蓝桉叶精油得率/%
1	1(1:4)	1(20)	1(180)	1(4)	1	1.26
2	1	2(25)	2(200)	2(5)	2	1.51
3	1	3(30)	3(220)	3(6)	3	1.47
4	1	4(35)	4(240)	4(7)	4	1.38
5	2(1:5)	1	2	3	4	1.47
6	2	2	1	4	3	1.40
7	2	3	4	1	2	1.36
8	2	4	3	2	1	1.21
9	3(1:6)	1	3	4	2	1.34
10	3	2	4	3	1	1.51
11	3	3	1	2	4	1.28
12	3	4	2	1	3	1.30
13	4(1:7)	1	4	2	3	1.26
14	4	2	3	1	4	1.28
15	4	3	2	4	1	1.38
16	4	4	1	3	2	1.26
k_1	1.41	1.33	1.30	1.30	1.29	
k_2	1.36	1.43	1.42	1.32	1.37	
k_3	1.36	1.37	1.33	1.43	1.36	
k_4	1.30	1.29	1.38	1.39	1.35	
R	0.11	0.14	0.12	0.13	0.08	

表 3 方差分析结果
Table 3 Results of variance analysis

方差来源	平方和 Q	自由度 f	平均平方和 Q/f	F 值	显著性
<i>A</i>	2.452×10^{-6}	3	8.173×10^{-7}	15.627	*
<i>B</i>	4.107×10^{-6}	3	1.369×10^{-6}	26.176	*
<i>C</i>	3.212×10^{-6}	3	1.071×10^{-6}	20.478	*
<i>D</i>	4.112×10^{-6}	3	1.371×10^{-6}	26.214	*
误差	1.569×10^{-7}	3	5.230×10^{-8}		
总和	1.404×10^{-5}	15			

注: *表示影响显著($P<0.05$)。 $F_{0.05}(3, 3)=9.28$, $F_{0.01}(3, 3)=29.46$ 。

表 4 正交试验中所得蓝桉叶精油的抑菌活性($n=3$)
Table 4 Antimicrobial activity of *Eucalyptus globulus* oil obtained in the orthogonal experiments ($n=3$)

编号					抑菌圈直径/mm		
	A 料液比	B 超声时间/min	C 超声功率/W	D 蒸馏时间/h	大肠杆菌 <i>Escherichia coli</i>	金黄色葡萄球菌 <i>Staphylococcus aureus</i>	黑曲霉 <i>Aspergillus niger</i>
1	1	1	1	1	10.50±0.50 c	6.25±0.29 f	10.25±0.27 de
2	1	2	2	2	9.75±0.29 e	8.10±0.42 c	10.25±0.50 de
3	1	3	3	3	10.25±0.35 cd	8.20±0.29 bc	10.83±0.93 c
4	1	4	4	4	10.50±0.58 c	8.00±0.00 c	10.14±0.38 e
5	2	1	2	3	10.75±0.29 bc	7.88±0.25 cd	10.88±0.25 c
6	2	2	1	4	10.25±0.15 cd	6.20±0.27 f	11.19±0.65 b
7	2	3	4	1	11.00±0.50 b	8.25±0.35 bc	9.90±0.41 ef
8	2	4	3	2	10.75±0.52 bc	8.50±0.41 b	10.25±0.29 de
9	3	1	3	4	10.75±0.27 bc	8.50±0.40 b	9.50±0.00 g
10	3	2	4	3	10.50±0.00 c	6.63±0.25 e	10.67±0.52 cd
11	3	3	1	2	11.92±0.20 a	10.25±0.35 a	10.38±0.48 de
12	3	4	2	1	10.10±0.12 d	6.13±0.15 f	10.50±0.57 d
13	4	1	4	2	10.50±0.20 c	8.50±0.00 b	9.88±0.25 f
14	4	2	3	1	10.50±0.32 c	7.50±0.41 d	9.17±0.29 h
15	4	3	2	4	10.00±0.00 de	7.55±0.40 d	12.25±0.29 a
16	4	4	1	3	10.63±0.25 bc	8.50±0.29 b	11.00±0.32 bc

注: 同一列不同小写字母表示差异显著($P<0.05$)。

表 5 桉叶精油对 3 种菌的最小杀菌浓度
Table 5 Minimum bactericidal concentration of *Eucalyptus globulus* oil against three testing microbes

菌种	抑菌浓度/(μ L/mL)									
	20	15	14	13	10	9	8	7	6	5
大肠杆菌 <i>Escherichia coli</i>	+	+	+	+	+	+	+	+	+	—
金黄色葡萄球菌 <i>Staphylococcus aureus</i>	+	+	+	+	+	+	—	—	—	—
黑曲霉 <i>Aspergillus niger</i>	+	+	+	—	—	—	—	—	—	—

注: $A_3B_2C_1D_2$ 工艺提取桉叶精油测试大肠杆菌和金黄色葡萄球菌, $A_4B_3C_2D_4$ 工艺提取桉叶精油测试黑曲霉。“+”表示无菌生长, “—”表示有少量菌体生长。

4 结 论

以蓝桉叶精油得率作为评价指标, 本文建立的超声辅助水蒸气蒸馏法是适宜的提取方法, 其精油得率明显高于文献报道的单独采用水蒸气蒸馏法的精油得率。
蓝桉叶精油对金黄色葡萄球菌(G^+ 菌)、大肠杆菌(G^- 菌)和黑曲霉均有较强的抑菌活性, 是极具开发利用前景的食品天然抑菌剂。
蓝桉叶精油成分复杂, 提取条件的变化会影响所得精油组分, 并会导致其抑菌活性的差异。精油得率高并不

意味着其抑菌活性也强, 要获得对目标菌具高抑菌活性的蓝桉叶精油, 须单独优化提取工艺。

参考文献

[1] 岳淑丽, 任小玲, 向红, 等. 桉叶精油 β -环糊精微胶囊制备工艺的研究[J]. 中国粮油学报, 2017, 32(7): 108–113.
Yue SL, Ren XL, Xiang H, *et al.* Research on preparation of eucalyptus essential oil β -cyclodextrin microcapsules [J]. J Chin Cere Oil Ass, 2017, 32(7): 108–113.
[2] 王娟, 程萌, 孔瑞琪, 等. 植物精油海藻酸钠复合膜对双孢蘑菇的抑菌保鲜效果研究[J]. 农业工程学报, 2019, 35(5): 311–318.

- Wang J, Cheng M, Kong RQ, *et al.* Inhibitory and fresh-keeping effects study of plant essential oil sodium alginate composite film on *Agaricus bisporus* [J]. *Trans Chin Soc Agric Eng*, 2019, 35(5): 311–318.
- [3] Lu H, Shao XF, Cao JX, *et al.* Antimicrobial activity of eucalyptus essential oil against *Pseudomonas* in vitro and potential application in refrigerated storage of pork meat [J]. *Int J Food Sci Technol*, 2016, 30(2): 994–1001.
- [4] Zhao SW, Zhang DK. Supercritical CO₂ extraction of *Eucalyptus* leaves oil and comparison with Soxhlet extraction and hydro-distillation methods [J]. *Sep Purif Technol*, 2014, 133(8): 443–451.
- [5] Pereira V, Dias C, Vasconcelos MC, *et al.* Antibacterial activity and synergistic effects between *Eucalyptus globulus* leaf residues(essential oils and extracts) and antibiotics against several isolates of respiratory tract infections (*Pseudomonas aeruginosa*) [J]. *Ind Crop Prod*, 2014, 52: 1–7.
- [6] 胡雪芳, 田志清, 裴海生, 等. 短程分子蒸馏技术精制巨尾桉叶精油工艺优化[J]. *农业工程学报*, 2018, 34(2): 299–307.
- Hu XF, Tian ZQ, Pei HS, *et al.* Optimization of short-path molecular distillation technology for refining essential oil from *Eucalyptus grandis* leaves [J]. *Trans Chin Soc Agric Eng*, 2018, 34(2): 299–307.
- [7] 黄瑶, 田玉红, 刘雄民, 等. 尾桉叶精油的成分分析及抑菌效果初探[J]. *北方园艺*, 2010, 6: 26–28.
- Huang Y, Tian YH, Liu XM, *et al.* Study on the composition and its antimicrobial effects of essential oils from leaves of *Eucalyptus urophylla* [J]. *Northern Hort*, 2010, 6: 26–28.
- [8] 叶舟. 大叶桉叶精油化学成分及其抑菌活性[J]. *福建林学院学报*, 2007, 27(1): 48–51.
- Ye Z. Chemical constituents of the essential oil from the leaves of *Eucalyptus robusta* and its antimicrobial activity [J]. *J Fujian Coll Fore*, 2007, 27(1): 48–51.
- [9] 周琪. 广林九号桉叶精油的提取及其生物活性研究[D]. 柳州: 广西科技大学, 2013.
- Zhou Q. Extraction technology and bioactivity research of volatile components from *E. Uronhylla X E. Gr-ahdis*(Guang lin 9) [D]. Liuzhou: Guangxi University of Science and Technology, 2013.
- [10] 任小玲, 岳淑丽, 向红, 等. 桉叶精油气相扩散抑菌活性及抑菌成分研究[J]. *食品与机械*, 2017, 33(12): 70–75.
- Ren XL, Yue SL, Xiang H, *et al.* Antimicrobial activity and chemical composition of *Eucalyptus essential* oil [J]. *Food Mach*, 2017, 33(12): 70–75.
- [11] 赵小珍, 李晨, 崔晓东, 等. 绒毛香茶菜精油化学成分的 GC-MS 分析及其抑菌活性鉴定[J]. *天然产物研究与开发*, 2016, 28(3): 377–381.
- Zhao XZ, Li C, Cui XD, *et al.* Chemical composition and antimicrobial of plectranthus tomentosa essential activity oil [J]. *Nat Prod Res Dev*, 2016, 28(3): 377–381.
- [12] Desai MA, Parikh J, De AK. Modelling and optimization studies on extraction of lemongrass oil from *Cymbopogon flexuosus*(Steud.) wats [J]. *Chem Eng Res Des*, 2014, 92: 793–803.
- [13] 马希汉, 王永红, 尉芹, 等. 玫瑰精油提取工艺研究[J]. *林产化学与工业*, 2004, 24(8): 80–84.
- Ma XH, Wang YH, Wei Q, *et al.* Study on processing technology of rose essential oil [J]. *Chem Ind Forest Prod*, 2004, 24(8): 80–84.
- [14] Athanasia MG. Ultrasound-assisted extraction of pomegranate seed oil-Kinetic modeling [J]. *J Food Eng*, 2013, 117: 492–498.
- [15] 李雪. 紫苏挥发油的超声辅助提取工艺及化学成分研究[D]. 杭州: 浙江大学, 2011.
- Li X. Study on extraction of volatile oil of *Perilla Frutescens* ultrasonic wave assisted method and chemical compositions [D]. Hangzhou: Zhejiang University, 2011.
- [16] 马玉花, 赵忠, 郭娟娟, 等. 杏仁精油提取工艺研究[J]. *中国食品学报*, 2007, 7(1): 89–94.
- Ma YH, Zhao Z, Guo CJ, *et al.* Studies on the extraction technology of bitter almond essential oil [J]. *J Chin Inst Food Sci Technol*, 2007, 7(1): 89–94.
- [17] Cheng SS, Huang CG, Chen YJ, *et al.* Chemical compositions and larvicidal activities of leaf essential oils from two eucalyptus species [J]. *Bioresour Technol*, 2009, 100: 452–456.
- [18] Harminder PS, Shalinder K, Kirti N, *et al.* Assessment of *in vitro* antioxidant activity of essential oil of *Eucalyptus ciriodora* (lemon-scented Eucalypt; Myrtaceae) and its major constituents [J]. *LWT-Food Sci Technol*, 2012, 48: 237–241.
- [19] Bachir RG, Benali M. Antibacterial activity of leaf essential oils of *Eucalyptus globulus* and *Eucalyptus camaldulensis* [J]. *Af J Pharm Pharm*, 2008, 2(10): 211–215.
- [20] Akin M, Aktumsek A, Nostro A. Antibacterial activity and composition of the essential oils of *Eucalyptus camaldulensis* and *Myrtus communis* L. growing in northern Cyprus [J]. *Af J Biotechnol*, 2012, 9(4): 531–535.
- [21] 雷启成. 蓝桉叶的生物活性及活性成分研究[D]. 杭州: 浙江工商大学, 2017.
- Lei QC. Study on the bioactivities and active constituents of *Eucalyptus globulus* leaves [D]. Hangzhou: Zhejiang Gongshang University, 2017.
- [22] Egwaikhide PA, Bulus T, Emua SA. Antimicrobial activities and phytochemical screening of extracts of the fever tree, *Eucalyptus globulus* [J]. *Elec J Environ Agric Food Chem*, 2010, 9(5): 940–945.
- [23] Gilles M, Zhao J, An M, *et al.* Chemical composition and antimicrobial properties of essential oils of three Australian *Eucalyptus* species [J]. *Food Chem*, 2010, 119: 731–737.
- [24] Sartorelli P, Marquiere AD, Amaral-Baroli A, *et al.* Chemical composition and antimicrobial activity of the essential oils from two species of *Eucalyptus* [J]. *Phytother Res*, 2007, 21: 231–233.

(责任编辑: 韩晓红)

作者简介



卢 锐, 硕士, 讲师, 主要研究方向为农产品加工及贮藏。

E-mail: 24705744@qq.com



龚吉军, 博士, 教授, 主要研究方向为农产品加工及贮藏。

E-mail: jijungong2007@163.com