

柠檬叶挥发性成分的提取及分析

周丽珠¹ 李军集¹ 梁忠云^{1 2} 文彩琳¹

(1. 广西林业科学研究院, 南宁 530002; 2. 国家林业局中南速生材繁育实验室)

摘要: 采用水蒸气蒸馏法从柠檬叶中提取挥发油中的油相成分, 进一步以乙醚为溶剂从蒸馏馏出液中萃取挥发油中的水溶性物质; 利用气相色谱-质谱联用(GC-MS)表征了二者的化学成分, 根据气相色谱峰面积归一化法进行定量。通过表征和分析比较得到: 柠檬叶挥发油油相成分得率为0.33% (以鲜叶计), 确定了其中的30种成分, 占油相成分总量的96.35%, 其主要成分为d-柠檬烯(29.91%), 其后依次为β-蒎烯(20.37%)、香茅醛(18.52%)、桉烯(5.74%)。柠檬叶水溶性成分得率为0.03% (以鲜叶计), 确定了其中的30种成分, 占水相成分总量的97.94%, 其主要成分为d-柠檬烯(30.33%)、香茅醛(21.88%)、β-蒎烯(19.83%)、桉烯(6.49%)。

关键词: 柠檬叶; 挥发油; 水溶性成分; d-柠檬烯; GC-MS

Extraction and determination of volatile constituents in leaves of *Citrus limon* // ZHOU Lizhu, LI Junji, LIANG Zhongyun, WEN Cailin

Abstract: The volatile constituents in leaves of *Citrus limon* included oil fraction and water-soluble fraction. Oil fraction of volatile components was obtained through steam distillation. Ether was used as the solvent to extract the water-soluble fraction of volatile compounds in order to know quantity and constituents of volatile compounds dissolved in the water phase. The oil yield in the oil fraction was 0.33%, and the oil yield in the water-soluble fraction was 0.03% (both on fresh weight basis). Both oil fraction and water-soluble fraction were quantitatively and qualitatively analyzed by means of GC-MS and GC. The results showed that both 30 compounds (96.35%) in oil fraction and (97.94%) water-soluble fraction were identified. The major constituents in oil fraction were d-limonene (29.91%), followed by β-pinene (20.37%), citronellal (18.52%), sabinene (5.74%). The major constituents in water-soluble fraction were d-limonene (30.33%), β-pinene (19.83%), citronellal (21.88%), sabinene (6.49%). In conclusion the comprehensive utilization value of leaves *C. limon* was enhanced owing to extraction of water-soluble volatile components.

Key words: *Citrus limon* leaves; volatile oil; water-soluble fraction; d-limonene; GC-MS

First author's address: Guangxi Academy of Forestry, Nanning 530002, China

柠檬(*Citrus limon*)是芸香科柑橘属常绿果树,其枝、叶、果皮均含有芳香油—柠檬油。研究报道柠檬油的主要成分为柠檬烯、香茅醛、β-蒎烯、3-蒎烯和柠檬醛等一大批生物活性物质^[1-2],柠檬油可作为生产食品、香料、香精、化妆品的优质原料^[3],还可应用于杀虫剂^[4]、驱蚊剂的配制^[5]。柠檬油的提取与应用已有研究^[6-7],主要集中在柠檬果皮油的提取方法及其化学成分的表征^[1-2],而柠檬叶油的成分除了木里柠檬叶油^[8]外其他的少有研究,与水蒸气一起被带出并溶于(或微溶于)水的挥发性成分未见研究。本试验采用水蒸气蒸馏法从柠檬叶中提取挥发油中的油相成分,用乙醚作为溶剂从蒸馏馏出液中萃取挥

发油中的水溶性物质,利用气相色谱-质谱联用(GC-MS)分析二者的化学成分进行比较,并用气相色谱峰面积归一法定量分析,旨在为柠檬叶的利用与开发提供参考。

1 材料与方法

1.1 试验材料

提取所用鲜柠檬叶(含水率54.34%)采自广西南宁市兴宁区路东村留肖坡。试验所用仪器及主要试剂:BRUKER TQ456气质联用仪,Aglient7890A气相色谱仪,挥发油测定器,乙醚(分析纯),无水硫酸钠(分析纯)。

1.2 试验方法

1.2.1 挥发油的提取

挥发油的油相部分参照《中华人民共和国药典》2005年版一部附录XD中挥发油测定法甲法中水蒸气蒸馏法提取。将鲜柠檬叶剪成1.0~1.5cm碎片,

收稿日期:2013-07-10

修回日期:2014-01-08

基金项目:广西财政专项基本科研业务费(编号:林科201407号);广西林业厅项目(编号:桂林科字[2006]第16号)。

作者简介:周丽珠(1965-),女,高级工程师,主要从事植物有效成分提取工作。E-mail:zhoulizhuok@163.com

放入 2000 mL 圆底烧瓶中,加适量水,接上挥发油提取器和冷凝器,回流 4 h,冷却,分离出精油,称质量。得油率以鲜叶质量计。

1.2.2 水溶性挥发性成分提取

收集馏出液,用乙醚萃取两次,萃取液用无水硫酸钠干燥,再于 50 °C 水浴上挥干乙醚,得到水溶性挥发成分,称质量。得油率以鲜叶质量计。

1.2.3 成分分析

(1) 定性分析:采用气-质联用仪进行分析,NIST 标准谱库检索及人工解析^[8]的检索结果进行定性,并采用周丽珠等^[9]的方法,用气相色谱相同保留时间验证部分单萜化合物。GC-MS 定性分析条件:BRUKER 公司 TQ456 气质联用仪。色谱柱:弹性石英毛细管柱 BR-5(60 m × 0.25 mm × 0.25 μm),载气为高纯氮气,程序升温:70 °C(1 min),以 3 °C/min 升温至 150 °C,以 5 °C/min 升温至 200 °C,再以 50 °C/min 升温至 250 °C,停留 1 min,进样口 230 °C,接口 250 °C。质谱条件:EI 离子源,电离电压 70 eV,扫描范围 45 ~ 350 amu,全扫描方式,溶剂延迟 5 min;进样量 0.3 μL(1% 乙醇溶液)。

(2) 定量分析:用气相色谱峰面积归一化法定量。GC 定量分析条件:Aglient 7890A 气相色谱仪。弹性石英毛细管柱 BR-5(60 m × 0.25 mm × 0.25 μm),载气为氮气,程序升温:70 °C 1 min,以 3 °C/min 升至 150 °C,以 5 °C/min 升至 200 °C,再以 10 °C/min 升至 220 °C,停留 1 min,进样口 250 °C,汽化室 250 °C,分流比 1:50;进样量 0.3 μL。

按上述定性分析条件对挥发油的油相和水溶性成分进行分析,得到二者的总离子流图,采用计算机对各峰的质谱图进行 NIST 标准谱库的检索,根据质谱裂解规律进行核对;参考标准谱库和相关文献确定其结构,对部分单萜化合物采用气相相对保留时间进行验证,利用气相面积归一化法计算各组分的相对含量。

2 结果与分析

2.1 柠檬叶油的得率

试验结果表明,柠檬叶油的油相部分得率为 0.33%,水溶性部分精油 0.03%。由此可见,通过增加对水溶性挥发性成分的提取,柠檬叶油得油率提高了 9.1%。

2.2 柠檬叶油的主要化学成分及含量

柠檬叶油的主要化学成分及含量分析如表 1 所示。结果表明,柠檬叶油油相部分和水溶性部分在化

学分类上主要为单萜烯、单萜醇、单萜醛、酯类和倍半萜类化合物,其中油相部分分别为 62.80%、9.75%、19.52%、2.44% 和 1.84%,水溶性部分分别为 63.87%、9.05%、22.14%、1.91% 和 0.97%。油相部分主要的化学成分为 d-柠檬烯(29.91%)、β-蒎烯(20.37%)、香茅醛(18.52%)、桉烯(5.74%),水溶性部分主要组分为 d-柠檬烯(30.33%)、β-蒎烯(19.83%)、香茅醛(21.88%)、桉烯(6.49%)。

表 1 柠檬叶油的主要化学成分及含量

序号	化合物名称	分子式	分子量	油相		水溶性	
				相似度/%	相对含量/%	相似度/%	相对含量/%
1	α-侧柏烯	C ₁₀ H ₁₆	136	842	0.15	856	0.15
2	α-蒎烯	C ₁₀ H ₁₆	136	914	1.57	902	1.49
3	茨烯	C ₁₀ H ₁₆	136	827	0.11	885	0.10
4	桉烯	C ₁₀ H ₁₆	136	828	5.74	834	6.49
5	β-蒎烯	C ₁₀ H ₁₆	136	855	20.37	857	19.83
6	α-松油烯	C ₁₀ H ₁₆	136	823	0.12	893	1.16
7	对伞花烃	C ₁₀ H ₁₄	134	845	0.39	923	0.54
8	d-柠檬烯	C ₁₀ H ₁₆	136	853	29.91	887	30.33
9	β-水芹烯	C ₁₀ H ₁₆	136	844	0.50	866	0.44
10	1-β-桉叶油素	C ₁₀ H ₁₈ O	154	859	2.44	884	2.59
11	反式β-罗勒烯	C ₁₀ H ₁₆	136	881	3.31	897	2.58
12	γ-松油烯	C ₁₀ H ₁₆	136	862	0.52	882	0.55
13	异松油烯	C ₁₀ H ₁₆	136	850	0.11	893	0.11
14	芳樟醇	C ₁₀ H ₁₈ O	154	859	1.30	866	0.79
15	2-壬烯-1-醇	C ₉ H ₁₈ O	142	804	0.14	818	0.18
16	香茅醛	C ₁₀ H ₁₈ O	154	842	18.52	865	21.88
17	异薄荷醇	C ₁₀ H ₁₈ O	154	841	0.22	862	0.27
18	4-松油醇	C ₁₀ H ₁₈ O	154	843	1.08	843	0.86
19	α-松油醇	C ₁₀ H ₁₈ O	154	822	1.36	851	1.10
20	香茅醇	C ₁₀ H ₂₀ O	156	823	3.27	839	3.26
21	橙花醛	C ₁₀ H ₁₆ O	152	821	0.22	827	0.09
22	香叶醛	C ₁₀ H ₁₆ O	152	855	0.78	846	0.17
23	乙酸芳樟酯	C ₁₂ H ₂₀ O ₂	196	843	1.14	840	0.12
24	乙酸橙花酯	C ₁₂ H ₂₀ O ₂	196	776	0.19	792	0.19
25	乙酸香叶酯	C ₁₂ H ₂₀ O ₂	196	852	1.11	821	1.60
26	石竹烯	C ₁₅ H ₂₄	204	827	1.30	803	0.19
27	反式-α-香柠檬烯	C ₁₅ H ₂₄	204	787	0.11	796	0.45
28	葎草烯	C ₁₅ H ₂₄	204	755	0.19	776	0.06
29	α-金合欢烯	C ₁₅ H ₂₄	204	776	0.13	769	0.20
30	β-红没药烯	C ₁₅ H ₂₄	204	769	0.11	778	0.07

由于油相部分和水溶性部分确认的组分相同,只是得油率的差别,这说明柠檬叶水蒸气蒸馏提取挥发油不完全,其馏出水存在溶于水的挥发性物质,可充分利用,或者考虑用溶剂来提取。

柠檬叶油的油相部分和水溶性部分都确认了 30 种组分的化学成分,分别占油相成分和水溶性成分总量的 96.35% 和 97.94% (图 1、2)。

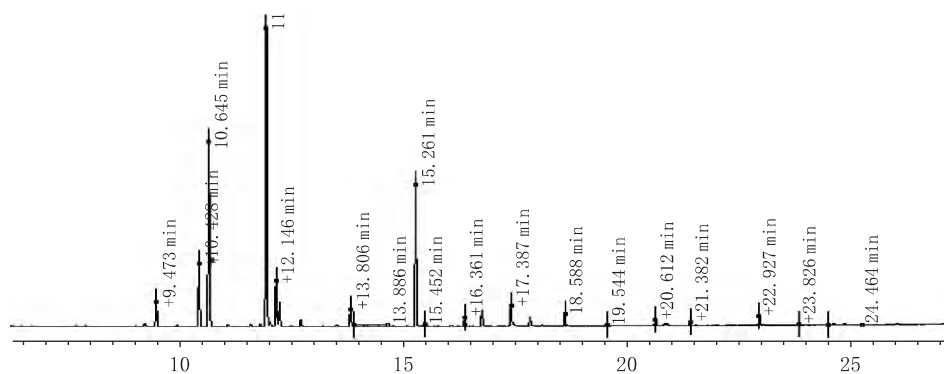


图1 柠檬叶油的 GC/MS 总离子流图

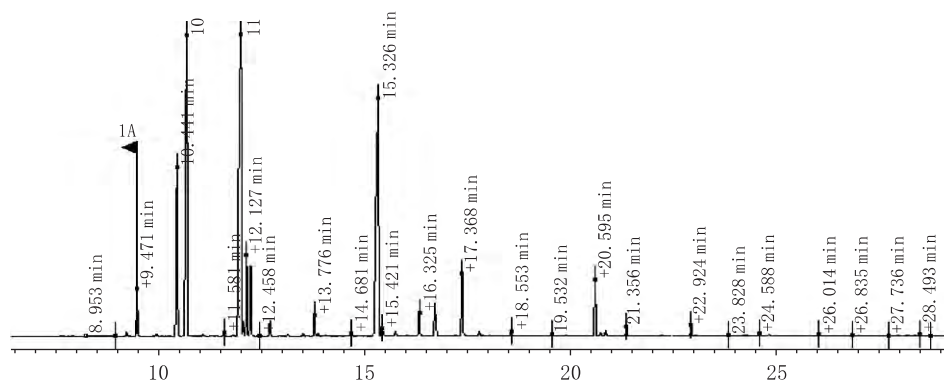


图2 柠檬叶水层的 GC/MS 总离子流图

2.3 与木里柠檬叶油、柠檬果皮油成分比较

与木里柠檬叶油相比^[8],它们共有 25 种相同的组分,但主要成分有差别,木里柠檬叶油单萜烯组分约占 25%,单萜醇、醛、酮化合物共占 65%;其中主成分为 d-柠檬烯(9.84%)、 β -水芹烯(9.32%)、橙花醛(13.96%)、芳樟醇(17.26%)、香叶醛(21.31%)。这是否与品种差异引起有待进一步研究。

柠檬叶油与柠檬果皮油^[1-2]相比,它们的成分主要是单萜烯(含量约为 50%)、单萜醇和酮。d-柠檬烯是共有的主成分,含量一般在 28% 以上,不同的研究者做出的柠檬果皮油成分差异较大,d-柠檬烯含量为 29.63% ~ 67.23%,这可能与产地或提取工艺有关,柠檬叶油是否也会出现类似问题有待探讨。

3 结论

通过对柠檬叶的水蒸气蒸馏提取得到柠檬叶油和馏出液水中萃取得到水溶性挥发油的研究,根据 GC、GC-MS 分析可知:柠檬叶油油相部分和水溶性部分组分相同,含量差异不大,含有多种活性成分,以单萜烯、单萜醇和单萜醛类化合物为主,主要化学成分有 d-柠檬烯、 β -蒎烯、香茅醛以及桉烯等活性成分,是一种值得开发的资源。与木里柠檬叶油、柠檬果皮油相比,柠檬叶油成分差异较大。

参考文献

- [1] 廖玉琴,包清彬,李松柏,等. 柠檬精油提取工艺的优化及其 GC-MS 分析[J]. 食品与机械, 2012, 28(1): 186-189.
- [2] 赵文红,黄桂颖,陈悦娇,等. 柠檬果皮精油挥发性成分的 GC-MS 分析[J]. 食品工业科技, 2009, 30(12): 113-115.
- [3] 马家骥. 柠檬栽培技术[J]. 果农之友, 2004(6): 24-25.
- [4] 申建梅,曾玲,胡黎明,等. 柠檬精油的化学成分及其引诱活性[J]. 广东农业科学, 2011(11): 101-103.
- [5] 邓永学. 环境因子对四种储粮害虫影响的研究[D]. 重庆: 西南农业大学, 2001.
- [6] 侯滨滨,李悦. 微波辅助水蒸汽蒸馏提取柠檬精油[J]. 食品研究与开发, 2010, 31(4): 57-59.
- [7] 侯华民,张兴. 植物精油对玉米象的熏蒸和种群抑制活性研究[J]. 粮食储藏, 2001(3): 8-11.
- [8] 温鸣章,肖顺昌. 木里柠檬叶精油化学成分的研究[J]. 天然产物研究与开发, 1989, 1(2): 18-22.
- [9] 周丽珠,梁忠云,李军集,等. 不同产地和季节对岗松油成分影响初探[J]. 广西林业科学, 2010, 39(2): 97-99.

(责任编辑 史洁)