

褚橙精油纳米乳的制备及抑菌性

刘如楠¹, 黄凯¹, 管骁^{*1}, 李森¹, 刘静², 宋洪东¹

(1. 上海理工大学 医疗器械与食品学院, 上海 200093; 2. 上海海事大学 信息工程学院, 上海 200135)

摘要: 由于褚橙(*Citrus sinensis* Osbeck)精油特有的香气和抑菌性,使褚橙精油在食品、医药、化妆品等行业有着极其广泛的应用。但褚橙精油的水溶性差、且易挥发特性限制了其应用。为解决这些问题,以非离子表面活性剂(Tween 80 和 Span 80)为乳化剂,采用高速剪切的方法制备了褚橙精油 O/W 纳米乳液。并研究了表面活性剂复配比、质量浓度以及乳化剪切速率对褚橙精油纳米乳粒径、 ζ -电位、黏度、乳液稳定性的影响。探索了制备褚橙精油的优化工艺参数:当褚橙精油的质量浓度为 5 g/dL 时,Tween 80 和 Span 80 复配质量比为 1:2,复合表面活性剂质量浓度为 3 g/dL,乳化剪切速度为 12 000 r/min,所得乳液粒径为 (135 ± 0.76) nm, ζ -电位绝对值 (30 ± 0.36) mV,稳定性良好。研究发现,相比较于纯精油,褚橙精油纳米乳表现出更强的抑菌效果,说明将精油乳化可以提高其利用效率,这为该精油的应用拓展提供了可能。

关键词: 褚橙精油; 纳米乳; 稳定性; 抑菌性

中图分类号: Q 592.6 文章编号: 1673-1689(2020)05-0059-09 DOI: 10.3969/j.issn. 1673-1689.2020.05.009

Preparation and Antibacterial Activity of Chu Orange Essential Oil Nanoemulsion

LIU Runan¹, HUANG Kai¹, GUAN Xiao^{*1}, LI Sen¹, LIU Jing², SONG Hongdong¹

(1. School of Medical Instrument and Food Engineering, University of Shanghai for Science and Technology, Shanghai 200093, China; 2. College of Information Engineering, Shanghai Maritime University, Shanghai 200135, China)

Abstract: Chu orange (*Citrus sinensis* Osbeck) essential oil is widely applied in food, medical, and cosmetic industries for its unique odor and antibacterial properties. However, its poor water solubility and strong volatility limit the wider application of this essential oil. In order to overcome these disadvantages, O/W Chu orange essential oil nanoemulsion was prepared with the non-ionic surfactant emulsifiers Tween 80 and Span 80. The effects of surfactant ratio, concentration and emulsification shear rate on the particle size, zeta potential, rheological viscosity and emulsion stability of Chu orange essential oil nanoemulsion were studied. The stable nanoemulsion with the particle size (135 ± 0.76) nm and the absolute value of zeta potential (30 ± 0.36) mV was obtained under the conditions of 5%(w/w) Chu orange oil, 3% Tween 80 and Span 80 (1:2), and shear rate of

收稿日期: 2019-11-19

基金项目: 国家自然科学基金项目(31701515); 国家粮食行业青年拔尖人才计划项目(LQ2018204)。

* 通信作者: 管 骁(1979—),男,博士,教授,博士研究生导师,主要从事食品功能与营养、食品资源精深加工、食品生物纳米材料、食品安全品质监测与控制等方面的研究。E-mail: gnxo@hotmail.com

12 000 r/min. In addition, the antibacterial activity of the Chu orange essential oil nanoemulsion was stronger than that of the pure essential oil, which suggested that nanoemulsion can efficiently improve its utilization. This opens up the possibility of expanding the application of Chu orange essential oil.

Keywords: Chu orange essential oil, nanoemulsion, stability, antibacterial

褚橙是云南著名特产,以味甜皮薄而著称,含有大量维生素C,营养价值较高。柑橘类精油是最重要的柑橘类副产品,主要从果皮中提取,具有特殊芳香和抗菌、抗炎、抗氧化等性能^[1-2],因此被广泛应用于食品和化妆品行业中^[3-4]。随着人们健康意识的提高,消费者对天然食品添加剂的需求不断增长,而褚橙精油因其天然性而备受青睐。但褚橙精油通常具有柑橘类精油的稳定性差、易挥发、水溶性差等通病,因此该精油的应用受到很大程度的限制^[1-5]。

水包油(O/W)纳米乳被广泛报道可用于解决精油溶解度的问题^[6]。纳米乳液是液滴尺寸在20~300 nm之间的乳液^[7]。纳米乳是热力学不稳定,但动力学稳定的系统^[8]。这种体系由于表面活性剂或其他乳化剂的存在而使油水界面张力降低,从而使乳液稳定。通过将精油乳化,亲脂性成分可以快速分散到水基食品系统中。此外,由于优异的分散性、稳定性以及渗透能力,纳米乳的活性可以得到改善^[9]。

本研究的目的是分析褚橙植物精油的化学成分,制备褚橙精油纳米乳液并提升其稳定性,以及比较乳液与纯精油的抗菌活性差异。结果显示,以Tween 80和Span 80复配质量比为1:2作为表面活性剂制备的褚橙精油乳液稳定性、分散性良好,并且抗菌性显著高于褚橙精油,从而解决了褚橙精油在生产加工中水溶性差的问题,并且为褚橙精油在工业中作为添加剂、防腐剂等奠定了基础。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

褚橙:购于超市;Tween 80、Span 80、二甲基亚枫:国药控股化学试剂有限公司产品;大肠杆菌(*Escherichia coli*)、变形杆菌(*Proteus vulgaris*)、枯草芽孢杆菌(*Bacillus subtilis*):所有供试细菌均来源于上海理工大学微生物实验室;牛肉膏蛋白胨培养基:牛肉浸膏3 g/L,蛋白胨10 g/L,氯化钠5 g/L,蒸馏水1 000 mL;pH 7.2~7.4。

1.2 仪器与设备

Milli-Q超纯水设备:美国密理博公司产品;流变仪:美国TA公司产品;Agilent 7890A GC-5975c气相色谱质谱联用仪:Agilent公司产品;HP-INNOWAX毛细管柱(30 m×0.25 mm×0.25 μm):Agilent公司产品;多角度激光散射粒度分析仪:美国布鲁克海文仪器公司产品;马尔文激光粒度仪:英国马尔文仪器有限公司产品;多重光散射仪Turbiscan MA 2000:法国Formulation公司产品;高速剪切机(ULTRA-TURRAX T18):德国IKA公司产品;透射电子显微镜(JEM-2100F):日本电子株式会社(JEOL)产品;立式高压蒸汽灭菌器:上海申安医疗器械厂制造。

1.3 实验方法

1.3.1 褚橙精油的制备 称取一定量的褚橙皮,适当剪碎,置于Clevenger型装置中,在100℃下蒸馏来获得精油。将得到的精油与水分离,用无水Na₂SO₄干燥,并在4℃下储存。

1.3.2 气相色谱-质谱分析 通过GC-MS分析鉴定褚橙精油的成分^[9]。色谱条件:色谱柱型号为HP-INNOWAX毛细管柱(30 m×0.25 mm×0.25 μm);升温程序设定为:40℃开始并保持5 min,然后以8℃/min的速度升至250℃,并保持5 min,分离比为5:1。载气为氦气,流速设定为1 mL/min。质谱条件:EI电离源为70 eV,离子源温度设定为230℃,四极温度为150℃,界面温度为250℃。扫描范围m/z为30~400。

1.3.3 乳液制备 将Tween 80和Span 80以一定比例混合,然后以不同的质量浓度分别添加到2.5 g褚橙精油中。在25℃下以1 000 r/min的恒定速度磁力搅拌30 min来制备油相。将充分混合的油相滴定至搅拌的水相(去离子水)中。乳液的总质量保持恒定在50 g。滴定后,通过高速剪切机12 000 r/min剪切20 min制备褚橙精油纳米乳。

1.4 乳液测量

1.4.1 粒度分布 使用多角度激光散射粒度分析仪测定乳液粒径分布,设定温度 25 ℃、散射角 90°、样品平衡时间 5 min、检测时间为 5 min。在分析之前,将每种乳液样品稀释 100 倍。

1.4.2 ζ -电位的测定 通过使用马尔文激光粒度仪测定乳液的 ζ -电位大小,测定温度为 25 ℃,等待时间为 120 s,平衡时间设置为 180 s。每个样品至少测试了 3 遍,在分析之前,将每种乳液样品稀释 100 倍。

1.4.3 流变黏度 通过使用配备有同心圆筒夹具的剪切流变仪来测量具有不同表面活性剂浓度的褚橙精油纳米乳液的黏度。测量温度 25 ℃,测定剪切速率从 0.01~200 s⁻¹ 递增,通过随附的软件记录每个剪切速率下的剪切黏度。

1.4.4 乳液的微观结构 用磷酸盐缓冲液稀释适量的纳米乳样品,然后滴到覆盖有碳膜的铜网中。负染色用质量分数为 2.0%的磷钨酸进行 40 s,使用 JEM-2100F 透射电子显微镜观察褚橙精油纳米乳的形貌。

1.4.5 乳液的背向散射(BS)曲线和 Turbiscan 稳定性指数(TSI) 使用 Turbiscan MA 2000 仪器,获得了乳液在 24 h 内的背散射光变化(BS)曲线。测量时,将褚橙精油纳米乳液样品置于 20 mL 样品池中,测量探头从样品池的底部到样品池的顶部每 40 μ m 测量一次,在测试期间乳液保持稳定。此外,还获得了 Turbiscan 稳定性指数(TSI)以评估乳液的稳定性。

1.5 褚橙精油及乳液的抗菌活性

使用滤纸片法测定褚橙精油和乳液对 3 种供试细菌抑菌活性。纯精油用 1%二甲基亚砜(DMSO)稀释到与乳液含油量相同,将供试细菌在营养琼脂上于 37 ℃生长 18~24 h。挑取一环接种到灭菌的培养基中,制备细菌悬浮液,将 100 μ L 的试样涂布在营养琼脂固体培养基上。将培养基分为 3 个区域,在各个区域中间放置准备好的 6 mm 的滤纸片,移液枪分别吸取 10 μ L 稀释的纯精油、褚橙精油纳米乳液及 1%的 DMSO(对照)滴至滤纸片中间,迅速盖上培养皿盖。并将平板在 37 ℃下培养 24 h。平行 3 次,计算并比较精油和乳液抑制区直径。

1.6 统计分析

所有实验和测量均为 3 份,并将结果记录为平均值和标准偏差。使用 SPSS Statistics Software

(IBM) 对数据进行 ANOVA 差异显著性分析, $p < 0.05$ 为显著性差异。

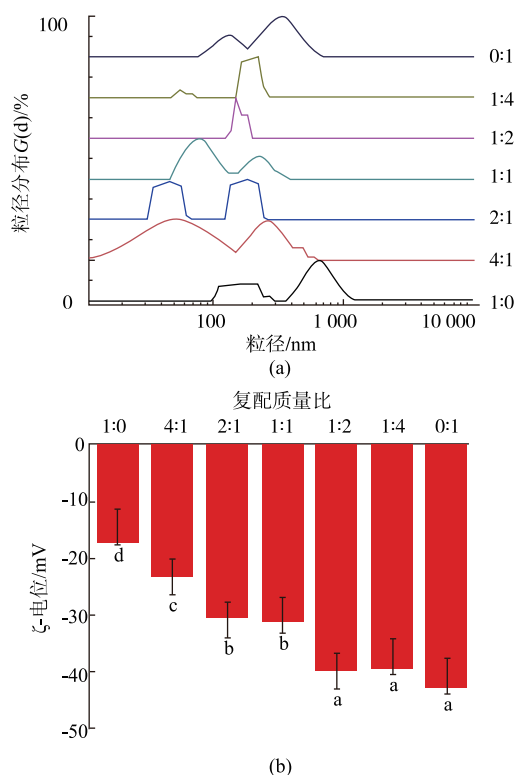
2 结果与分析

2.1 褚橙精油纳米乳的制备

2.1.1 不同表面活性剂的复配比对褚橙精油纳米乳粒径分布和 ζ -电位值的影响 选用 Tween 80 与 Span 80 作为本实验的表面活性剂,将 Tween 80 与 Span 80 按照 1:0、4:1、2:1、1:1、1:2、1:4、0:1 的质量比分别混合均匀,将不同比例的混合表面活性剂加入到 2.5 g 褚橙精油中并在磁力搅拌器上充分搅拌,混合均匀后,以 1 mL/min 的速度加入到水相。体系总质量为 50 g。用高速剪切机剪切 20 min,得到均匀的纳米乳液,测定粒径和 ζ -电位大小。 ζ -电位的大小提供了乳液体系潜在稳定性的指标^[10],绝对值较高的 ζ -电位颗粒之间相互排斥。 ζ -电位显示出物理稳定性, ζ -电位的绝对值越大,乳液越稳定。

由图 1(a)可知,随着 Span 80 比例的增大,纳米乳的粒径先减小后增大,当 Tween 80:Span 80 从 1:0 到 2:1,粒径分布均呈现双峰,但平均有效粒径呈逐渐减小的趋势,当 Tween 80:Span 80 从 1:1 到 0:1 有效粒径逐渐增大。Tween 80 与 Span 80 质量比为 2:1 时,达到最小粒径 70 nm。Tween 80:Span 80 为 1:2 时,粒径分布最窄且呈现单峰分布。从图 1(b)可以看出,Tween 80 与 Span 80 的从 1:0 到 1:2 时, ζ -电位的绝对值显著增加($p < 0.05$),即稳定性显著增加。但当 Tween 80:Span 80 为 1:2 时再增加 Span 80 的量, ζ -电位的绝对值变化不显著($p > 0.05$)。由于粒径分布图在复配比为 1:2 时为单峰分布,同时具有较高的 ζ -电位绝对值。在随后的实验中选择 Tween 80:Span 80 复配比 1:2 制备乳液。

2.1.2 不同质量浓度表面活性剂对褚橙精油纳米乳粒径分布、 ζ -电位值及流变黏度的影响 乳液的性质与其表面活性剂的质量浓度密不可分,因此研究了表面活性剂质量浓度对褚橙精油纳米乳液性能的影响。将 Tween 80 与 Span 80 按照复配比 1:2 的比例混合均匀,再按照质量浓度 1、2、3、4、5 g/dL 分别加入到 2.5 g 褚橙精油混合均匀,以 1 mL/min 的速度加入到水相,使乳液的总质量为 50 g。用高速剪切机剪切 20 min 测定乳液的粒径分布、 ζ -电位以及黏度。



图中不同字母表示差异显著 ($p < 0.05$); 图 a、b 中比值均表示 Tween 80:Span 80

图 1 不同表面活性剂复配比对褚橙油乳液粒径分布和 ζ -电位值的影响

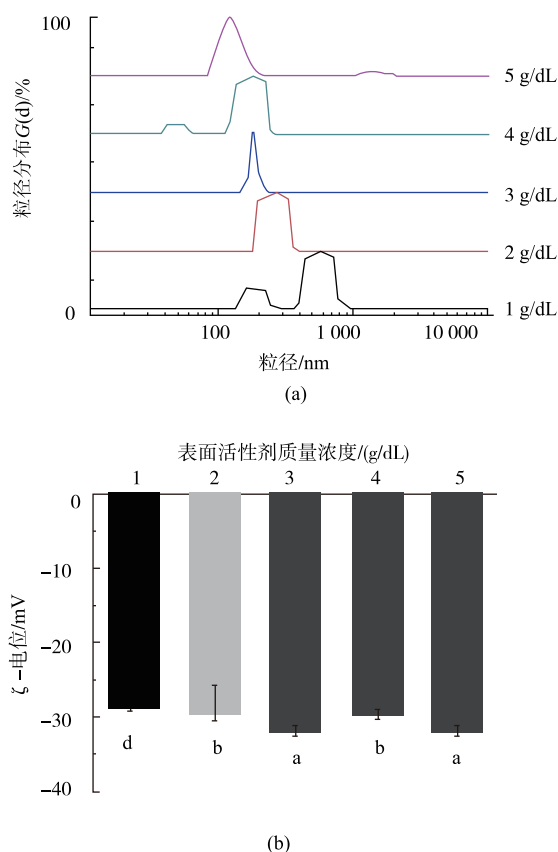
Fig. 1 Effect of different ratios of surfactants on particle size distribution and zeta potential of Chu orange essential oil emulsion

如图 2(a)所示,表面活性剂质量较低的褚橙精油纳米乳含有较大的粒径,在较低的表面活性剂质量浓度下,其粒径分布呈双峰分布。这是由于当表面活性剂的用量较低时,表面活性剂不足以覆盖新油滴的表面,导致油滴相互碰撞和堆积而形成较大的液滴^[7]。当表面活性剂质量浓度超过 3 g/dL 时,乳液液滴直径变化很小且分布变得不均。这是由于非离子表面活性剂稳定小液滴曲率的能力有限,在表面活性剂分子过量的情况下,限制了乳液液滴粒径的进一步减小^[11]。

从图 2(b)中 ζ -电位图可以看出,随着表面活性剂质量浓度从 1 g/dL 增加到 3 g/dL,乳液的 ζ -电位绝对值显著增加 ($p < 0.05$),褚橙精油纳米乳 ζ -电位绝对值的增加为乳液液滴之间提供了高能量屏障,从而具有了良好的静电排斥^[12]。但表面活性剂质量浓度从 3 g/dL 增加到 5 g/dL, ζ -电位绝对值的变化不显著 ($p > 0.05$),这与乳液粒径的变化趋势是一

致的。因此,当表面活性剂质量浓度为 3 g/dL 时,褚橙精油纳米乳的粒径分布和 ζ -电位基本保持不变。所以,质量浓度为 3 g/dL 的表面活性剂可以形成比较稳定的褚橙精油纳米乳液,此质量浓度最适合褚橙精油纳米乳的制备。

流变黏度影响乳液加工的适用性,直接关系到流体的稳定性^[13]。因此研究表面活性剂质量浓度与褚橙精油乳液流变黏度之间的关系很有必要。如图 3 所示,随着表面活性剂的量的增加,乳液流变黏度增加,褚橙精油纳米乳的黏度范围在 1.08~1.65 mPa·s,随着表面活性剂质量浓度的增加,乳液的黏度有所增加,表面活性剂的质量浓度从 4 g/dL 增加到 5 g/dL 时,可以看到黏度发生更大的增量,这是由于过量的表面活性剂迁移到水相中,导致褚橙精油纳米乳液的表观黏度急剧增加。



图中不同字母表示差异显著 ($p < 0.05$)

图 2 表面活性剂质量浓度对褚橙精油乳液粒径和电位的影响

Fig. 2 Effect of surfactant concentration on the particle size and zeta potential of the Chu orange essential oil emulsion

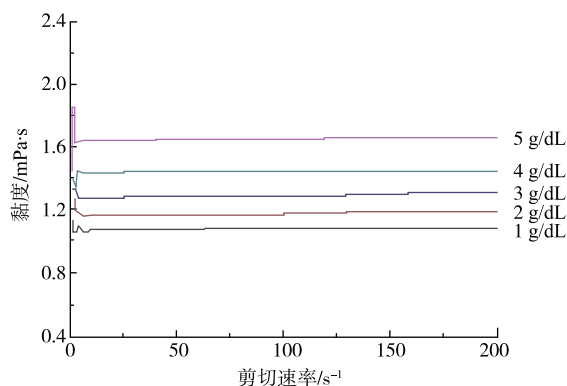
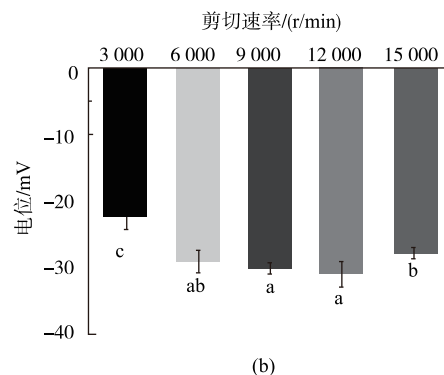
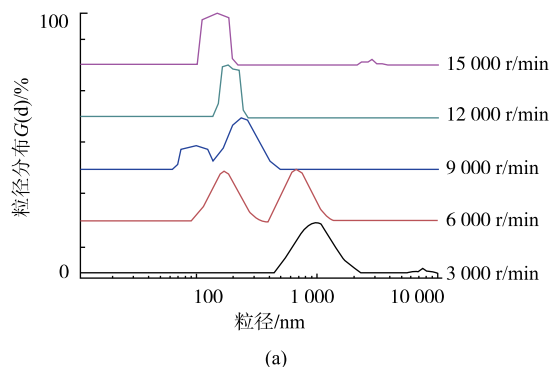


图3 表面活性剂质量浓度对褚橙精油乳液流变黏度的影响
Fig. 3 Effect of surfactant concentration on rheological viscosity of Chu orange essential oil emulsion

2.1.3 不同剪切速度对褚橙精油纳米乳粒径分布、 ζ -电位值及离心稳定性的影响 将质量浓度为3 g/dL的复合表面活性剂(Tween 80:Span 80为1:2)加入到2.5 g油相混合均匀,将混合物加入到一定量的去离子水中,使体系总质量为50 g。分别以3 000、6 000、9 000、12 000、15 000 r/min在高速剪切机上剪切20 min,测定粒径、 ζ -电位及离心稳定性。由图4(a)可知,随着剪切速度的增加,纳米乳粒径逐渐减小,当剪切速度达到12 000 r/min时,纳米乳粒径分布变为单峰分布,此时,再增大剪切速率,乳液粒径变化很小,且乳液粒径变为双峰分布。这可能是由于剪切速率过大,使得乳液液滴过小,颗粒之间布朗运动加快、相互碰撞次数增多而发生液滴聚集现象。这说明并非剪切速率越大,乳液的分散性越好。从图4(b)可以看出,剪切速率从3 000 r/min增加到12 000 r/min时, ζ -电位绝对值显著增大($p < 0.05$),在15 000 r/min时 ζ -电位绝对值反而减小。即褚橙精油纳米乳液在剪切速率为12 000 r/min时,纳米乳液达到最稳定的状态。



图中不同字母表示差异显著($p < 0.05$)
图4 剪切速率对褚橙精油乳液粒径和 ζ -电位的影响
Fig. 4 Effect of shear rate on particle size and zeta potential of Chu orange essential oil emulsion

另外,将乳液在4 000 r/min室温条件下离心30 min,结果见图5。剪切速率为3 000、6 000、9 000 r/min制备的乳液均有不同程度的明显分层,随着剪切速率的增大,分层高度降低,说明剪切速率对纳米乳液的稳定性影响很大。当剪切速率达到12 000 r/min时,乳液未发生分层现象,所以最佳剪切速率选择12 000 r/min。



从左到右依次是3 000、6 000、9 000、12 000、15 000 r/min
图5 不同剪切速率乳液的离心稳定性
Fig. 5 Centrifugal stability of emulsions at different shear rates

综上所述,制备最稳定的褚橙精油纳米乳液的优化条件为:表面活性剂选择Tween 80:Span 80质量比1:2,其质量浓度为3 g/dL、剪切速率为12 000 r/min,所得乳液的粒径为 (135 ± 0.76) nm, ζ -电位值为 (-30 ± 0.36) mV。

2.2 褚橙精油纳米乳的质量评价

2.2.1 褚橙精油纳米乳的微观形态 通过透射电子显微镜(TEM)观察纳米乳形态,结果见图6。发现褚橙精油纳米乳液滴分布均匀,呈圆球形,表明褚橙精油纳米乳分散较好。经测量纳米乳平均粒径为96 nm,比动态光散射法测得的稍小一些,由于动态

光散射测得的是水合半径,此结果符合实际规律。

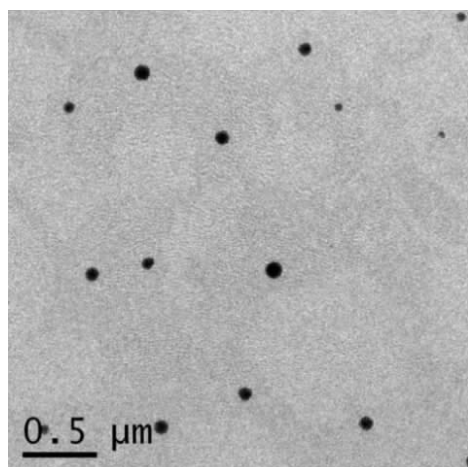


图6 褚橙精油纳米乳的微观形态

Fig. 6 Microscopic morphology of Chu orange essential oil nanoemulsion

2.2.2 褚橙精油不稳定性分析 限制乳液应用的很大一个原因是乳液在储存期间不能保持稳定。通常,乳液去稳定化是由3种物理过程引起,即聚结、絮凝或奥斯特瓦尔德熟化和粒子重力迁移^[14]。为了探究褚橙精油乳液的不稳定机制,并验证 Tween 80 和 Span 80 复配质量比为 1:2 作为复合表面活性剂是否适合于形成褚橙精油纳米乳的小粒径和单峰分布的优质乳液,分别以 Tween 80、Tween 80 和 Span 80 复配质量比为 1:2, Span 80 为表面活性剂制备了3种乳液,用 Turbiscan 得到了 24 h 之内3种乳液的 TSI 指数和 BS 的变化,比较3种不同的表面活性剂的稳定性行为,以分析乳液的不稳定性。

3种乳液的常温下的整体的 TSI 见图7。TSI 值越大,稳定性越低。可以看到,仅以单一表面活性剂作为乳化剂所制备的乳液的稳定性要低于复配的表面活性剂所制备的乳液。

从图8可以看出,由于BS强度是位于管的特定高度和粒径的分散相体积的函数^[14],如果粒径大于入射波长,则BS强度随粒径的增加或粒子浓度的下降而降低;反之,BS随着粒子尺寸的增大而增大。底层中BS的下降表示底部浓度下降代表底部澄清的过程,而顶层中BS的增加则反应颗粒浓度的增加^[15]。

从图8可知,仅以单一表面活性剂 Tween 80 或者 Span 80 (即图8(a)和8(c))为乳化剂的乳液在24 h内BS变化较大。图8(a)和8(c)的底部BS变化和

顶部BS变化均较强烈,这表明乳液底部澄清,乳液发生了严重的重力迁移,并且顶部BS增加,即乳液顶层发生油滴上浮现象。此外,以 Tween 80 为表面活性剂的乳液(图8(a))的管中间部分BS水平降低,表明由于絮凝或聚结过程导致液滴尺寸增加。而 Tween 80 和 Span 80 复配质量比为 1:2 (图8(b)),变化最小,底部的BS没有明显变化,顶部的BS变化比底部略大。说明样品的不稳定性主要是由于样品顶部油滴发生上浮,中间部分BS水平几乎未发生变化。这些结果表明,褚橙精油乳液的不稳定性是由严重的重力分离引起的,其在底部产生澄清,在顶部产生奶油层,且以复配表面活性剂为乳化剂的乳液比以单一表面活性剂制备的乳液稳定性好。

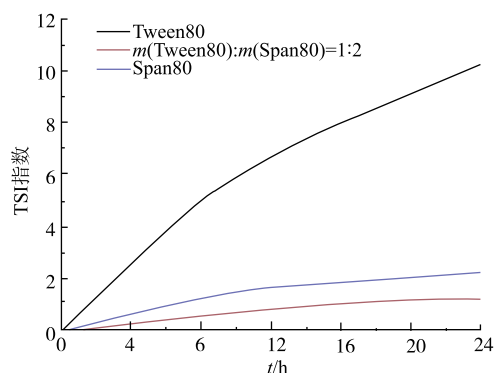


图7 不同表面活性剂制备的乳液在24 h内TSI指数变化

Fig. 7 TSI index of emulsions prepared with different surfactants within 24 h

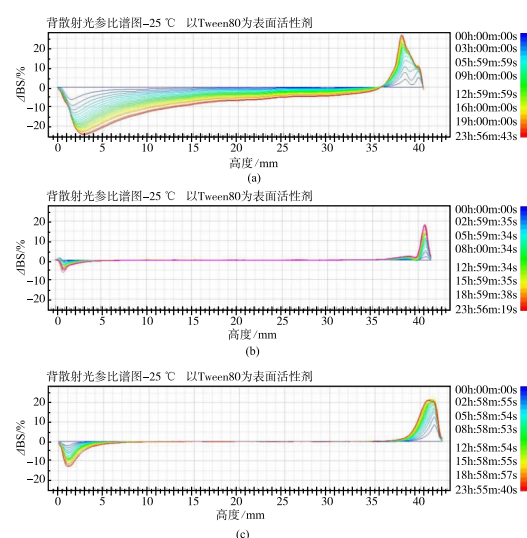


图8 不同表面活性剂制备的乳液在24 h内的BS变化

Fig. 8 BS changes in emulsions prepared with different surfactants within 24 h

2.3 褚橙精油抑菌性

2.3.1 GC-MS 通过 GC-MS 对褚橙精油的成分进行分析,鉴定了精油中的 36 种化合物,占出峰物质总数的 95.41%。定量和定性分析结果见表 1。精油的主要化合物是 D-柠檬烯 (52.96%)、 β -蒎烯 (11.85%)、 α -蒎烯 (9.19%) 和顺式-(S)-(-)-柠檬烯氧化物 (6.99%)。据报道,D-柠檬烯具有杀菌、抗氧化剂、化学预防和治疗活性^[6],除此之外, α -蒎烯、 β -蒎烯、柠檬烯氧化物等倍半萜烯也具有相似

的生物活性,这可能是褚橙精油具有抑菌性的主要原因^[7]。

2.3.2 褚橙精油及纳米乳的抑菌性 大肠杆菌属于革兰氏阴性菌,在一定条件下可以引起人和多种动物发生胃肠道感染或尿道等多种局部组织器官感染。变形杆菌也属于革兰氏阴性细菌,通常在食物中繁殖并产生可引起人中毒的毒素,而枯草芽孢杆菌在自然界广泛存在,属于革兰氏阳性细菌。作者研究了精油及乳液对这 3 种细菌的抗菌性能。

表 1 褚橙精油的化学成分分析

Table 1 Chemical composition of orange essential oil

峰号	保留时间/min	化合物名称	峰面积/%	匹配度
1	3.8	2-氯-N-(3,4,5-三溴苯基)-乙酰胺	0.153	46
2	6.357 8	癸叔胺	0.365 3	43
3	9.122 3	2-庚烯	0.281	47
4	11.06	庚烷	0.175	72
5	16.020 5	甲苯-d8	0.434 8	91
6	17.760 1	3-甲基-2-丁烯醛	0.068 9	90
7	22.272 8	庚醛	0.178 9	91
8	23.151 3	(+)- α -蒎烯	9.189 1	96
9	24.873 7	甲酸庚酯	0.061 5	83
10	25.295 7	β -蒎烯	11.846 6	97
11	26.923 3	3-萜烯	1.614 6	95
12	28.154 9	D-柠檬烯	52.955 4	99
13	29.248 6	环辛烷	0.193 2	90
14	30.006 5	γ -松油烯	0.065 8	94
15	30.704	芳樟醇	1.925 5	76
16	31.074 3	壬醛	0.113 1	90
17	31.332 7	1-甲基-4-(1-甲基乙烯基)苯	0.249 4	96
18	32.710 6	1,3,8-p-戊三烯	0.896 7	90
19	33.330 7	顺式-(S)-(-)-柠檬烯氧化物	6.987 8	90
20	33.847 4	4-乙酰基-1-甲基-环己烯	0.126 3	95
21	34.657	1,3,3-三甲基三环[2.2.1.0 ^{2,6}]庚烷	0.074 2	58
22	35.087 6	癸醛	0.192 5	99
23	35.328 7	对薄荷-1,3,8-三烯	0.176 8	60
24	35.785 1	3-亚甲基-4-异丙烯基环己醇	0.247 7	70
25	36.276	6 β -(1-丙-1-烯基)-1,5 β 双环 3.1.0 己-2-酮	1.986	64
26	37.025 3	(1R,5R)-rel-香芹醇	1.192 7	96
27	37.533 4	(-)-香芹醇	0.676 9	95
28	38.265 4	繖柳酮	0.097 5	90
29	38.764 9	D-香芹酮	1.720 8	96
30	39.600 3	8-异亚丙基双环[5.1.0]辛烷	0.115 2	55
31	40.323 7	1-紫苏醛	0.207 5	99
32	40.521 7	(S)-3-甲基-6 β -异丙烯基-2-环己烯-1-酮	0.271 4	53
33	40.883 5	马茅烯酮	0.235 6	76
34	43.079 5	4-亚甲基螺[2.4]庚烷	0.187 1	38
35	44.319 7	2-(5-甲基-呋喃-2-基)-丙醛	0.073 7	59
36	44.724 4	5-甲基-4-亚甲基-六氢-戊烯-1-酮	0.066 7	53

如表 2 所示, 褚橙精油纳米乳液对大肠杆菌、变形杆菌和枯草芽孢杆菌的抑菌效果比纯精油好。这些结果与最近的其他研究一致, 这些研究表明, 精油转化为纳米乳液可以提高其抗菌活性^[1,18]。造成

这种现象的原因可能是乳液中的小脂质颗粒能够将精油带到细胞膜表面, 而纯精油由于水溶性低而无法轻易与细胞膜相互作用^[18]。

表 2 褚橙精油及其纳米乳的抑菌效果

Table 2 Antibacterial activities of orange oil and its nanoemulsion

供试菌种	编号	抑菌圈/mm		
		1%DMSO	精油	纳米乳
大肠杆菌	ATCC12900	6.10±0.00 ^a	9.10±0.30 ^b	13.55±0.35 ^c
变形杆菌	CMCCB49027	6.00±0.00 ^a	8.50±10.10 ^b	10.03±0.41 ^c
枯草芽孢杆菌	CMCCB63501	6.20±0.00 ^a	8.80±0.20 ^b	9.36±0.31 ^c

注: 精油抑菌圈直径表示为平均值±标准差, 每行中的上标的不同字母表示差异显著 ($p < 0.05$)。

3 结 语

本研究对褚橙精油纳米乳制备过程中的表面活性剂复配比、浓度以及乳化剪切速率进行了优化, 以制备高质量的纳米乳液。结果显示, 以 Tween 80:Span 80 质量比 1:2、质量浓度为 3 g/dL、剪切速率为 12 000 r/min 时, 褚橙精油纳米乳液表现出了最小粒径和最大的稳定性。单一表面活性剂和复配

表面活性剂为乳化剂的乳液在 24 h 内表现出不同程度的不稳定性, 褚橙精油纳米乳液的不稳定性主要是由严重的重力分离引起的, 以复合表面活性剂为乳化剂制备的乳液稳定性最好。此外, 相比较于纯精油, 褚橙精油纳米乳液表现出更明显的抑菌效果。该研究为今后褚橙精油在食品或其他领域中的应用提供了依据和参考。

参考文献:

- [1] LOU Z, CHEN J, YU F, et al. The antioxidant, antibacterial, antibiofilm activity of essential oil from *Citrus medica* L. var. sarcodactylis and its nanoemulsion[J]. *LWT – Food Science and Technology*, 2017, 80: 371-377.
- [2] PULTRINI ADM, GALINDO L A, COSTA M. Effects of the essential oil from *Citrus aurantium* L. in experimental anxiety models in mice[J]. *Life Sciences*, 2006, 78(15): 1720-1725.
- [3] ZHAO X, LIU F, MA C, et al. Effect of carrier oils on the physicochemical properties of orange oil beverage emulsions[J]. *Food Research International*, 2015, 74: 260-268.
- [4] JOHN I, MUTHUKUMAR K, ARUNAGIRI A. A review on the potential of citrus waste for D-Limonene, pectin, and bioethanol production[J]. *International Journal of Green Energy*, 2017(6): 1-14.
- [5] ZHAO S, TIAN G, ZHAO C, et al. The stability of three different citrus oil-in-water emulsions fabricated by spontaneous emulsification[J]. *Food Chemistry*, 2018, 269: 577-587.
- [6] NIRMAL N P, MEREDDY R, LI L, et al. Formulation, characterisation and antibacterial activity of lemon myrtle and anise myrtle essential oil in water nanoemulsion[J]. *Food Chemistry*, 2018, 254: 1-7.
- [7] KOMAIKO J, MCCLEMENTS D J. Low-energy formation of edible nanoemulsions by spontaneous emulsification; factors influencing particle size[J]. *Journal of Food Engineering*, 2015, 146: 122-128.
- [8] HASHEMNEJAD S M, BADRUDDOZA A Z M, ZARKET B, et al. Thermoresponsive nanoemulsion-based gel synthesized through a low-energy process[J]. *Nature Communications*, 2019, 10(1): 2749.
- [9] AKARCA G. Composition and antibacterial effect on food borne pathogens of *Hibiscus surrattensis* L. calyces essential oil[J]. *Industrial Crops and Products*, 2019, 137: 285-289.
- [10] SHANMUGAM A, ASHOKKUMAR M. Ultrasonic preparation of stable flax seed oil emulsions in dairy systems-physicochemical characterization[J]. *Food Hydrocolloids*, 2014, 39: 151-162.
- [11] ROLDAN-CRUZ C, VERNON-CARTER E J, ALVAREZ-RAMIREZ J. Assessing the stability of Tween 80-based O/W

- emulsions with cyclic voltammetry and electrical impedance spectroscopy[J]. **Colloids and Surfaces A:Physicochemical and Engineering Aspects**, 2016, 511: 145-152.
- [12] LI D, ZHAO Y, WANG X, et al. Effects of (+)-catechin on a rice bran protein oil-in-water emulsion: droplet size, zeta-potential, emulsifying properties, and rheological behavior[J]. **Food Hydrocolloids**, 2020, 98: 105306.
- [13] VIYUCH J, PISUTTHANAN N, FAIKREUA A, et al. Evaluation of in vitro antimicrobial activity of Thai basil oils and their micro-emulsion formulas against *Propionibacterium acnes*[J]. **International Journal of Cosmetic Science**, 2006, 28(2): 125-133.
- [14] DOMIAN E, BRYNDA-KOPYTOWSKA A, OLEKSZA K. Rheological properties and physical stability of o/w emulsions stabilized by OSA starch with trehalose[J]. **Food Hydrocolloids**, 2015, 44: 49-58.
- [15] CASTEL V, RUBIOLO A C, CARRARA C R. Droplet size distribution, rheological behavior and stability of corn oil emulsions stabilized by a novel hydrocolloid(Brea gum) compared with gum arabic[J]. **Food Hydrocolloids**, 2017, 63: 170-177.
- [16] SU J, GUO Q, MAO L, et al. Effect of gum arabic on the storage stability and antibacterial ability of β -lactoglobulin stabilized d-limonene emulsion[J]. **Food Hydrocolloids**, 2018, 84: 75-83.
- [17] EMAMI S A, ASILI J, MALEKIAN M, et al. Antioxidant effects of the essential oils of different parts of *Platycladus orientalis* L. (Franco) and their components[J]. **Journal of Essential Oil Bearing Plants**, 2011, 14(3): 334-344.
- [18] MOGHIMI R, GHADERI L, RAFATI H, et al. Superior antibacterial activity of nanoemulsion of *Thymus daenensis* essential oil against *E. coli*[J]. **Food Chemistry**, 2016, 194: 410-415.

会 议 消 息

会议名称:第六届全国化学类专业研究生化学课程与教学研讨会

会议时间:2020年9月11-14日

会议地点:甘肃省兰州市

主 办 方:中国化学会化学教育学科委员会

共同主办:兰州大学

承 办 方:兰州大学化学化工学院

会议主题:研究生拔尖创新人才培养

大会主席:严纯华

预计规模:120人

联 系 人:张颖

电子邮箱:yingzhang@lzu.edu.cn

电 话:13893293377

会议内容:1. “双一流”建设形势下的研究生培养;2. 研究生思政教育;3. 研究生课程体系建设;4. 研究生培养过程质量监控体系建设;5. 具有国际化视野的研究生培养。