

Study on the Extraction of Rosemary Volatile Oil by Enzyme-Assisted Steam Distillation

Na Liu, Danyang Yuan, Xiuli Chen, Huiji Li, Xiaowen Yang, Haijie Sun*

The College of Chemistry and Chemical Engineering, Zhengzhou Normal University, Zhengzhou Henan
Email: liuna2322@126.com, *sunhaijie406@163.com

Received: Nov. 5th, 2019; accepted: Nov. 19th, 2019; published: Nov. 26th, 2019

Abstract

The optimum extraction process of volatile oil from rosemary was studied by cellulase assisted steam distillation using the single factor variable controlling method. The best enzymatic assisted extraction conditions of volatile oil from rosemary are the enzyme dosage of 5 mg/g, hydrolysis temperature of 30°C, hydrolysis time of 3.5 h, ratio of material to liquid of 1:8, extraction time of 2.5 h, and the highest extraction rate of 1.357%. Cellulase can effectively destroy the cell wall and is beneficial to the release of volatile oil from rosemary. The hydrolysis conditions are mild, the operation is simple, and it is beneficial to industrial production.

Keywords

Rosemary, Volatile Oil, Cellulase, Extraction

酶辅助水蒸气蒸馏提取迷迭香精油工艺的研究

刘娜, 院丹阳, 陈秀丽, 李会吉, 杨晓文, 孙海杰*

郑州师范学院, 化学化工学院, 河南 郑州
Email: liuna2322@126.com, *sunhaijie406@163.com

收稿日期: 2019年11月5日; 录用日期: 2019年11月19日; 发布日期: 2019年11月26日

摘要

本文采用纤维素酶辅助的水蒸气蒸馏的提取方法, 通过控制单因素变量法, 探讨迷迭香中精油的最佳提取方法。
*通讯作者。

文章引用: 刘娜, 院丹阳, 陈秀丽, 李会吉, 杨晓文, 孙海杰. 酶辅助水蒸气蒸馏提取迷迭香精油工艺的研究[J]. 化学工程与技术, 2019, 9(6): 497-502. DOI: 10.12677/hjct.2019.96070

取工艺。酶法辅助迷迭香精油的最佳提取工艺条件：加酶量为5 mg/g，酶解温度为30℃，酶解时间为3.5 h，料液比为1:8，水蒸馏时间为2.5 h，此时的提取率最高为1.357%。纤维素酶能够有效地破坏细胞壁，有利于迷迭香挥发油的释放。酶解条件温和，操作简便，有利于工业化生产。

关键词

迷迭香，挥发油，纤维素酶，提取

Copyright © 2019 by author(s) and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

1. 引言

迷迭香为唇形科大型常绿灌木，适合在温暖气候的地区生长，原产欧洲地区和非洲北部地中海沿岸。在我国广西，云南，贵州，山东等地区都有种植[1]。迷迭香属于无氮芳香族香辛料，主要成分为挥发油和多种抗氧化成分。现代研究表明，迷迭香精油是一种无色至淡黄色的液体，具有抗氧化，抗病毒，抗肿瘤，保肝，治疗心血管，消炎，安神等功效[2]，被广泛用于食用香料，日常生活用品和医药产品中[3]。目前，提取迷迭香挥发油的方法主要有水蒸气蒸馏法[4]，有机溶剂萃取法[5]，微波辅助提取[6]，酶法辅助提取[2] [7]，超临界流体萃取[8]等工艺。由于水蒸气蒸馏法具有成本低廉，操作简便，无溶剂污染等优点，因此，工业上常用水蒸气蒸馏法提取迷迭香精油。本实验采用酶法辅助水蒸气蒸馏法对迷迭香精油的提取工艺进行研究，以便为其工业化生产提供参考。

2. 实验部分

2.1. 实验药品与仪器

2.1.1. 实验药品

迷迭香全株安徽亳州药材市场；纤维素酶(酶活 $\geq 10,000$ U/g)上海阿拉丁生化科技股份有限公司；乙酸乙酯，无水硫酸钠和浓盐酸等均为分析纯化学试剂。

2.1.2. 仪器

FW-100 高速万能粉碎机天津市泰斯特仪器有限公司；FA114 电子分析天平上海海康电子仪器厂；PHS-25 pH 计上海仪电科学仪器股份有限公司；SHZ-D(III)循环水真空泵巩义市予华仪器有限责任公司；RE-52AA 旋转蒸发仪上海亚荣生化仪器厂；DF-101S 集热式恒温加热磁力搅拌器上海秋佐科学仪器有限公司；DLSB-5/30 低温冷却液循环泵巩义市予华仪器有限责任公司。

2.2. 实验方法

2.2.1. 实验前准备

实验前先对原材料迷迭香进行处理，先分离出干燥的迷迭香叶，统一粉碎后经过 60 目筛后装入样品袋中备用。

先配置适量浓度为 1% 的稀盐酸，取 2 mL 的稀盐酸稀释至 20 mL。量取蒸馏水 5 L 于烧杯中，逐滴滴加稀盐酸调节蒸馏水的 pH 为 4.86，盛放在试剂瓶中，密封保存备用。

2.2.2. 实验步骤

称量 20.00 g 迷迭香干叶于 500 mL 三颈烧瓶中, 按一定的料液比加入 pH 为 4.86 的蒸馏水和磁子, 将三颈瓶放入恒温磁力搅拌器的油浴锅中, 连接好冷凝管, 设置一定温度, 固定转速为 1020 r/min, 待温度稳定后加入一定量的纤维素酶进行酶解实验。酶解一定时间后, 采用共水蒸馏的水蒸气蒸馏法提取迷迭香精油。当恒压滴液漏斗中出现第一滴液滴时开始计时, 蒸馏一定时间后, 停止加热, 冷却至室温。混合物用乙酸乙酯萃取(5 mL × 3), 合并的有机相用无水硫酸钠干燥, 经过滤, 浓缩后称量, 并计算提取率。

提取率的计算公式:

$$\text{提取率}(\%) = \frac{\text{精油的质量}}{\text{迷迭香干叶的质量}} \times 100\% \quad (1)$$

2.2.3. 单因素试验

影响迷迭香精油提取率的影响因素主要有加酶量(0.0, 4.0, 4.5, 5.0, 5.5, 6.0 mg/g), 酶解温度(20℃, 25℃, 30℃, 35℃, 40℃, 45℃, 50℃), 酶解时间(2 h, 2.5 h, 3 h, 3.5 h, 4 h), 料液比(1:6, 1:7, 1:8, 1:9, 1:10)和水蒸气蒸馏时间(1 h, 2 h, 2.5 h, 3 h, 4 h)。

3. 结果与分析

3.1. 加酶量的选择

在料液比为 1:10, 酶解温度为 45℃, 酶解时间为 3 h 和水蒸气蒸馏时间为 3 h 等实验条件下, 按照不同的加酶量进行实验, 加酶量对迷迭香精油提取率的影响如图 1 所示。

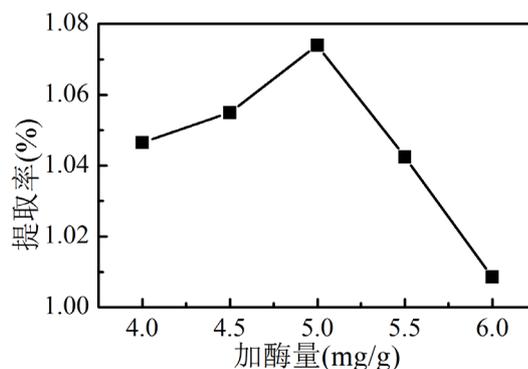


Figure 1. The effect of the enzyme dosage on the extraction rate of volatile oil

图 1. 加酶量对精油提取率的影响

不加酶时迷迭香精油的提取率为 1.0465%, 加酶量对迷迭香精油提取率产生影响, 主要是对迷迭香叶细胞壁中纤维素分子水解速度的控制。当加酶量较少时, 由于固定了酶解的时间, 酶解不完全, 迷迭香精油不能完全游离出来。当加酶量为 4~5 mg/g 时, 迷迭香精油的提取率是逐渐上升的, 其中加酶量为 5 mg/g 时提取率最高, 继续增加纤维素酶的量时, 精油提取率反而下降。

3.2. 酶解温度的选择

在料液比为 1:10, 加酶量为 5 mg/g, 酶解时间为 3 h 和水蒸气蒸馏时间为 3 h 等实验条件下, 按照不同酶解温度进行实验, 酶解温度对迷迭香精油提取率的影响如图 2 所示。温度对纤维素酶的活性产生很

大的影响,随着酶解温度的升高,溶液中纤维素酶的活性分子数增加,酶促反应速度变快,但因为酶是蛋白质,温度过高时会使蛋白质发生变性,致使酶的活性降低或消失,从而影响酶对纤维素的水解效率。随着酶解温度的升高,精油提取率逐渐升高,当酶解温度为 30℃ 时提取率最高为 1.0945%;当温度在 30℃ ~50℃ 时,提取率随着温度的升高而下降。

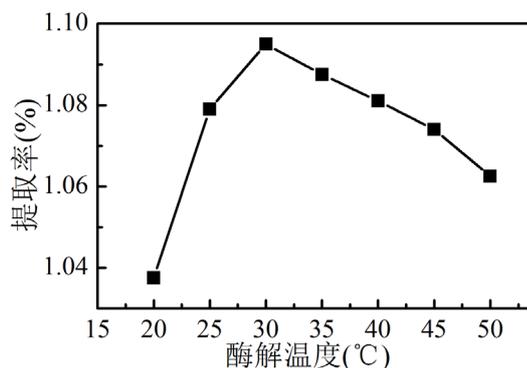


Figure 2. The effect of hydrolysis temperature on the extraction rate of volatile oil

图 2. 酶解温度对精油提取率的影响

3.3. 酶解时间的选择

在料液比为 1:10, 加酶量为 5 mg/g, 酶解温度为 30℃ 和水蒸气蒸馏时间为 3 h 等实验条件下, 按照不同的酶解时间下进行实验, 酶解时间对迷迭香精油提取率的影响如图 3 所示。酶解时间影响酶解反应的效率, 酶解时间过短, 破壁不完全, 酶解不充分; 酶解时间长, 精油中的某些组分的结构可能遭到破坏。随着酶解时间的增加, 精油提取率呈上升趋势, 当增加到 3.5 h 后提取率逐渐下降。

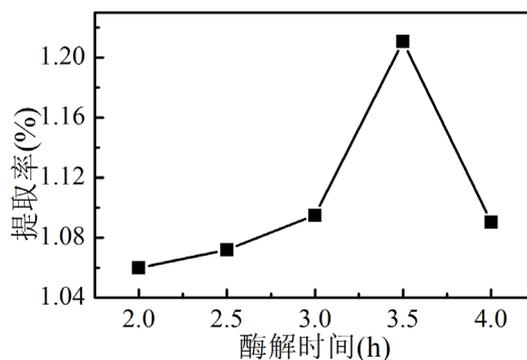


Figure 3. The effect of hydrolysis time on the extraction rate of volatile oil

图 3. 酶解时间对精油提取率的影响

3.4. 料液比的选择

在加酶量为 5 mg/g, 酶解温度为 30℃, 酶解时间 3.5 h 和水蒸气蒸馏时间为 3 h 等实验条件下, 按照不同的料液比进行实验, 不同料液比对迷迭香精油提取率的影响如图 4 所示。料液比影响纤维素酶的浓度, 进而影响酶解效率和精油提取率。随着料液比的增加, 精油提取率呈上升趋势; 当料液比大于 1:8 时, 提取率开始下降。

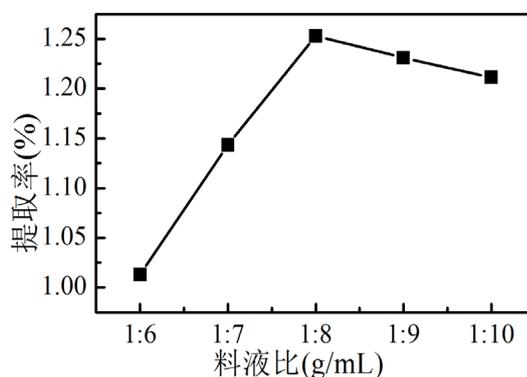


Figure 4. The effect of ratio of material to liquid on the extraction rate of volatile oil

图 4. 料液比对精油提取率的影响

3.5. 水蒸气蒸馏时间的选择

在料液比为 1:8, 加酶量为 5 mg/g, 酶解温度为 30℃和酶解时间 3.5 h 等实验条件下, 按照不同的水蒸气蒸馏时间进行实验, 水蒸气蒸馏时间对迷迭香精油提取率的影响如图 5 所示。水蒸气蒸馏时间主要影响精油的富集效率, 时间太短, 蒸馏不完全, 时间太长, 一些热稳定性不好的组分发生分解或者被氧化。随着水蒸气蒸馏时间的延长, 迷迭香精油的提取率先增加后降低。

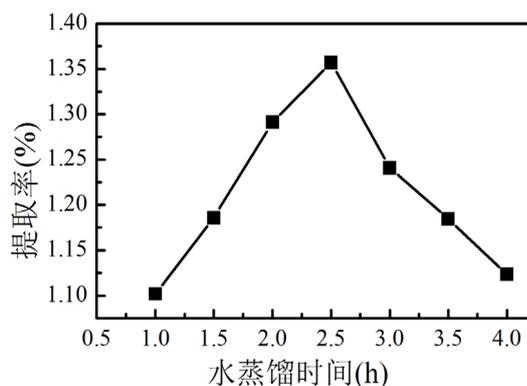


Figure 5. The distillation time on the extraction rate of volatile oil

图 5. 蒸馏时间对精油提取率的影响

4. 总结

本文是对酶法辅助提取迷迭香精油的最佳提取工艺条件进行探究, 先把不加酶和加入 4 mg/g 的纤维素酶两种不同条件下的迷迭香精油提取率进行对比, 得出加酶在一定程度上提高了迷迭香精油的提取率。再利用控制变量法的单因素实验, 得出加酶量为 5 mg/g, 酶解温度为 30℃, 酶解时间为 3.5 h, 料液比为 1:8, 水蒸气蒸馏时间为 2.5 h 时, 为酶法辅助提取迷迭香精油的最佳工艺条件, 此时迷迭香精油的提取率最高。这种提取方法安全无污染, 可以为精油的实际生产提供参考依据。

基金项目

郑州师范学院大学生创新实验项目(DCZ2017022)和郑州师范学院环境催化科研创新团队(702010)。

参考文献

- [1] 常静, 肖绪玲, 王夺元. 我国引种的迷迭香抗氧化成份的分离和抗氧化性能研究[J]. 化学通报, 1992(3): 30-33.
- [2] 李开复, 陶华蕾. 酶法辅助提取迷迭香中三帖酸的工艺[J]. 江西农业大学学报, 2012, 34(5): 1049-1052.
- [3] 黄宏妙, 郭占京, 卢汝梅, 蒙亮. 迷迭香挥发油提取工艺优化及其化学成分分析[J]. 湖北农业科学, 2012, 51(11): 2321-2324.
- [4] 王化. 迷迭香天然活性成分的提取及应用研究[D]: [博士学位论文]. 哈尔滨: 东北林业大学, 2011.
- [5] 李玉山. 迷迭香的综合提取工艺研究[J]. 化学与粘合, 2013, 35(2): 76-78.
- [6] 程贤, 毕良武, 赵振东, 夏田娟. 迷迭香酸的提取纯化及生物活性研究进展[J]. 林产化学与工业, 2015, 35(4): 151-158.
- [7] 郭然, 梁待亮. 酶法辅助提取迷迭香中主要活性成分研究[J]. 化学通报, 1992(3): 30-33.
- [8] 李超. 超声辅助提取迷迭香挥发油的工艺优化[J]. 中国调味品, 2015, 40(6): 62-64.