

离子液体[Emim]OAc环境提取 生姜精油的研究

刘辉鸿¹, 胡飞^{1,*}, 李平凡²

(1.华南理工大学轻工与食品学院, 广东广州 510640;

2.广东高校特色调味品工程技术开发中心, 广东广州 510300)

摘要:以离子液体1-乙基-3-甲基咪唑乙酸盐([Emim]OAc)作为生物催化介质和萃取剂,采用酶解超声辅助技术萃取生姜中的精油,结果显示在含有15%[Emim]OAc的催化体系中,酶解速度加快,酶对高温变性作用的抵抗力增强,但若离子液体浓度过高则会对酶的作用发生阻碍。考察超声功率、超声时间、液料比等因素对姜精油提取率的影响,结果表明在以15%[Emim]OAc作为萃取剂萃取精油的过程中,酶解液料比为15:1,超声功率为200W和超声时间20min时生姜精油的提取率高达1.39%。

关键词:离子液体,酶解,超声,生姜精油

Study on extraction of ginger oil in ionic liquid [Emim]OAc system

LIU Hui-hong¹, HU Fei^{1,*}, LI Ping-fan²

(1.College of Light Industry and Food Science, South China University of Technology, Guangzhou 510640, China;

2.Opening Project of Center of Guangdong Higher Education for Engineering and Technological Development of Speciality Condiments, Guangzhou 510300, China)

Abstract: The ionic liquids [Emim]OAc was used as biocatalyst medium and extraction agent in enzymatic hydrolysis process with the ultrasonic aimed to improve the extraction efficiency of ginger oil. The experimental results showed that the enzyme activity was higher for 15% [Emim]OAc/buffer biphasic system than for pure buffer system, but the enzyme activity decreased in higher ionic liquid's concentration. What's more, the effect of ultrasonic power, ultrasonic time and liquid-solid ratio on the extraction rate of ginger oil were investigated. The optimum conditions were shown as follows [Emim]OAc concentration was 15%, ultrasonic power was 200W, ultrasonic time was 20min, liquid-solid ratio was 15:1. The extraction of ginger oil was 1.39%.

Key words: ionic liquid; enzymatic hydrolysis; ultrasonic; ginger oil

中图分类号: TS201.1

文献标识码: A

文章编号: 1002-0306(2015)06-0208-04

doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2015.06.038

生姜属姜科,是我国的一种传统农作物,也是一种药食两用的植物^[1]。姜精油是指从生姜根茎中得到的挥发性油份,是一种棕色油状澄明液体^[2],主要成分为倍半萜烯类碳水化合物、氧化倍半萜烯化合物、单萜烯类碳水化合物和氧化单萜烯类化合物^[3],具有浓郁的芳香气味。研究表明生姜精油具有抗凝血及防血栓,调节血脂和防治动脉粥样硬化的作用,也具有抗氧化、抑菌的作用^[4],同时还可以用于食品原料的加香和护肤美容品中^[5]。如何高效的从生姜中提取生姜精油一直成为国内外的研究热点。目前,生姜精油的提取方法有很多,其中水汽蒸馏法提取生姜精油的最常见的一种方法,其他方法如溶剂法^[6]、压榨法、超临界CO₂萃取法^[7]等。水汽蒸馏法操作简单,但

缺点是蒸馏时间长,一般需要7h左右,能耗大;溶剂法需要使用大量的有机溶剂如乙醚、石油醚等,这样会使提取的生姜精油残留大量的有机试剂;超临界CO₂萃取法是以CO₂为流体,在超临界状态下把姜油萃取出来,对反应的条件要求比较苛刻,成本高。酶解辅助提取精油是一种新型的提取方法,相关报道较少,与其他方法相比,具有提取时间短、有效成分破坏少等优点。

室温离子液体通常简称为离子液体,它由有机阳离子和无机或有机阴离子构成,具有挥发性小、蒸汽压低、液态范围宽、溶解能力低、萃取能力好的独特物理性质,在有机合成、催化、萃取等领域得到广泛应用^[8-11],作为生物催化介质,离子液体能提高酶

收稿日期: 2014-04-24

作者简介: 刘辉鸿(1990-),男,硕士研究生,主要从事谷物化学与工程方面的研究。

* 通讯作者: 胡飞(1972-),男,博士,副教授,主要从事粮食资源化学与技术方面的研究。

基金项目: 广东高校特色调味品工程技术开发中心开发课题资助项目(GCZX-B1103)。

的活性加快酶解速率^[12],作为萃取剂与传统的有机溶剂相比,不仅对环境友好,而且能提高选择性,具有热稳定性好、不易燃烧、不爆炸、不挥发、便于重复利用的特点^[13-14]。因此,本研究以酶解法提取生姜精油,以离子液体既作为酶解反应的催化介质,又作为生姜精油的萃取溶剂,采用超声辅助萃取生姜中的精油,研究离子液体体系下生姜精油提取的影响,以期生姜精油的提取提供一种新的途径。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

生姜 购自华工后勤集团;离子液体[Emim]OAc (1-乙基-3-甲基咪唑乙酸盐) 纯度99%以上,购自上海笛柏化学品技术有限公司;纤维素酶 实测酶活1800U/mg,广州齐云生物技术有限公司;醋酸-醋酸钠缓冲液(pH=6.0) 取醋酸钠54.6g,加1mol/L醋酸溶液20mL溶解后,加水稀释至500mL,即得;其他试剂 均为分析纯。

L-550型台式低速离心机 湖南湘仪实验室仪器有限公司;PHS-25型酸度计 上海虹益仪器仪表有限公司;水浴恒温振荡器 江苏省金坛市宏华仪器厂;FW-100型高速万能粉碎机 北京市永光明医疗仪器厂;KQ-250DE型数控超声波清洗器 昆山超声仪器有限公司;721型可见分光光度计 上海菁华科技仪器有限公司。

1.2 实验方法

1.2.1 生姜预处理 将生姜清洗干净后自然阴干,切成薄片,并在60℃恒温烘箱烘干8~10h后进行粉碎,过60目筛子,贮于干燥室温环境中备用。

1.2.2 离子液体超声协同辅助制取生姜精油 称取适量姜粉,加入含离子液体[Emim]OAc的醋酸-醋酸钠缓冲液混匀,加入2%的纤维素酶,置于45℃的恒温摇床中酶解一段时间,然后超声萃取,再用4层纱布过滤,离心(4000r/min, 15min),去渣,取清液静置,分层后取下层离子液体旋蒸(温度45℃,真空度为-0.08MPa),收集有浓郁香味油状物,用无水硫酸钠干燥,即得生姜精油。将旋蒸后余下的黄色粘稠状液体收集合并,即为回收离子液体[Emim]OAc,可循环使用。生姜提取率(%)=提取所得生姜精油质量(g)/原料质量(g)×100。

1.2.3 葡萄糖含量的测定 反应体系中葡萄糖含量的测定采用DNS法^[15]。

1.2.4 单因素实验 根据前期预实验的结果,采用单因素轮换实验考察在离子液体体系下液料比、超声功率、超声时间对生姜精油提取率的影响。

料液比对姜精油提取率的影响:选取酶解液料比分别为5:1、10:1、15:1、20:1、25:1,按1.2.2的实验方法,得到的酶解液在200W的超声功率下提取15min,测定生姜精油的提取率,确定最佳的料液比。

超声功率对姜精油提取率的影响:选取超声功率分别为100、125、150、175、200、225、250W,按1.2.2的实验方法,在确定的最佳液料下进行酶解,得到的酶解液在不同的超声功率下超声提取15min,测定生姜精油的提取率,确定最佳的超声功率。

超声时间对姜精油提取率的影响:选取超声时间分别为5、10、15、20、25min,按1.2.2的实验方法,在确定的液料比下进行酶解,得到的酶解液在确定的超声功率下提取不同的时间,测定生姜精油的提取率,确定最佳的超声提取时间。

1.3 数据处理

用软件SPSS 19.0、Excel 2010处理数据并画图。

2 结果与讨论

2.1 [Emim]OAc浓度对酶解速度的影响

纤维素酶能特异性地作用于生姜细胞壁中的纤维素,促使其转化为葡萄糖及其他还原糖,酶解速度越快体系中的葡萄糖含量越高。因此,可以测定体系中的葡萄糖的含量来表征纤维素酶的酶解速度。按1.2.2的方法进行酶解,改变离子液体[Emim]OAc的浓度,测定反应平衡后体系中的葡萄糖浓度,结果如图1所示。考察不同的离子浓度对反应体系酶解速度的影响,定时取样测定反应体系中的葡萄糖含量,得到图2。

由图1可知,在离子液体体积分数0%~20%范围内的醋酸-醋酸钠催化介质中,酶解速度随着[Emim]OAc浓度的增大而增加,在浓度为15%和20%体积浓度时达到最大,而后又随着浓度的增大而减小。与纯缓冲液体系相比,在5%~20%[Emim]OAc催化介质中,酶解反应速度均明显要高。

由图2可知,在20%体积浓度时,酶解反应达到平衡的时间为1.5h,少于其他离子液体浓度下酶解反应达到平衡所需要的时间。可能的原因是适量的离子液体[Emim]OAc能够促进底物与酶的结合,提高酶解速度,从而缩短达到反应平衡时所需要的时间。但随着离子液体浓度不断升高,反应体系黏度会随之增大,底物的传质阻力也相应增大,当底物与酶活性部位的结合受到严重阻碍时,就会影响到酶的催化作用,从而降低酶解速度,甚至会影响反应的进行。

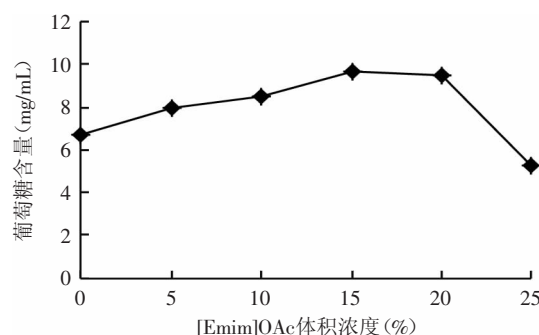


图1 离子液体浓度对酶解速度的影响

Fig.1 Effect of [Emim]OAc concentration on enzymatic hydrolysis rate

从图2可以看出,两种不同体系下酶解反应速率在0.5h时基本相同,但0.5h以后在5%~20%离子液体体系下的酶解速率明显高于纯缓冲溶液体系。这可能是由于在酶解过程的前期,酶解速率主要受温度的影响,刚开始由于反应体系温度低,未达到纤维素酶的最佳作用温度,因此,在前期两种体系下的酶解速率基本相同。当温度达到纤维素酶的最适温度时,

离子液体的传质作用对酶解体系的反应速率起主要作用,从而使离子液体体系下的反应速率高于纯缓冲溶液体系。综合考虑成本与时间等因素,选用含有离子液体体积浓度为15%的缓冲溶液体系,酶解反应时间为2.0h。

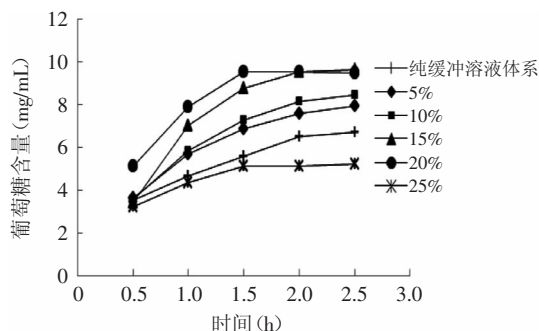


图2 不同离子浓度体系下的酶解过程曲线

Fig.2 Process curve of enzymatic hydrolysis with different concentration of [Emim]OAc

2.2 离子液体体系下酶的热稳定性

将反应体系分别为含有15%[Emim]OAc的缓冲溶液和纯的缓冲溶液体系,置于不同的温度下,按1.2.2的方法进行酶解。考察离子液体体系下酶的热稳定性,分别定时测量不同温度不同时刻下的葡萄糖浓度,结果如图3、图4所示。适宜的温度能促进反应的进行,但是温度过高则会加速酶变性失活。由

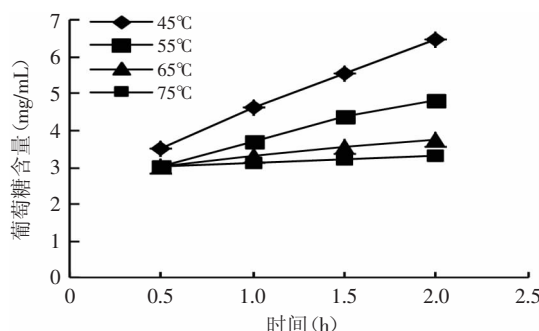


图3 纯缓冲溶液体系不同温度下的酶解过程曲线

Fig.3 Process curve of enzymatic hydrolysis in buffer reaction system with different temperature

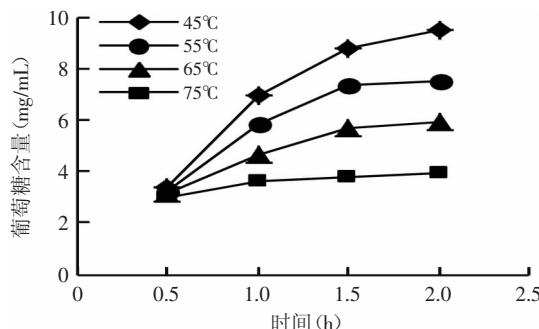


图4 15%[Emim]OAc缓冲溶液体系在不同温度下的酶解过程曲线

Fig.4 Process curve of enzymatic hydrolysis in 15% [Emim]OAc buffer reaction system with different temperature

图3、图4可知在45~65℃时,含有[Emim]OAc的缓冲溶液的酶能保持较高的活性,酶解速率较高,而在纯的缓冲溶液体系中,当温度为65℃时,反应体系中的酶活性远低于含有[Emim]OAc的缓冲溶液反应体系。在温度为75℃时,纯的缓冲溶液体系酶在0.5h以后几乎完全失活,而在[Emim]OAc的缓冲溶液中,在0.5~1h内酶还有一定的活性。显然,纤维素酶在[Emim]OAc的缓冲溶液中的热稳定较高,原因可能是酶在高温的环境中,蛋白质的结构易发生变化,而离子液体[Emim]OAc和酶分子之间能够产生电荷作用,更好的维持酶的刚性而紧凑的结构,从而提高了酶对高温变性作用的抵抗力。

2.3 离子液体体系下各提取因素对生姜精油提取率的影响

2.3.1 液料比对生姜精油提取率的影响 由图5可知,当液料比达到15:1时,生姜精油提取率最高,而后随着液料比不断增大,精油提取率趋于减少。可能是由于溶剂增多,反应底物浓度降低,导致反应速度降低,酶解液的水解度变小,从而精油提取率减少。离子液体作为萃取剂,由于溶剂过多,导致不易对浸出的精油萃取,另外,溶剂本身对超声波也有吸收损耗,使进入基体内的超声波相应减少,萃取功率减弱,进而使生姜精油提取率减少。

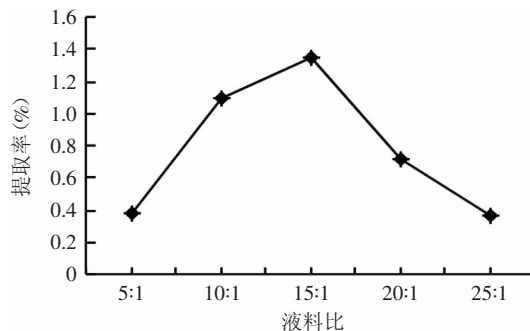


图5 提取液料比对生姜精油提取率的影响

Fig.5 Effect of liquid-material ratio on extraction of ginger oil

2.3.2 超声波功率对生姜精油提取率的影响 如图6所示,随着超声波功率的增大,生姜精油提取率先增大后减少,在功率200W时达到最大。可能的原因是在一定范围内,超声波功率越大,其空化作用越强,空化现象越剧烈,固液扩散速度也越快,有利于生姜

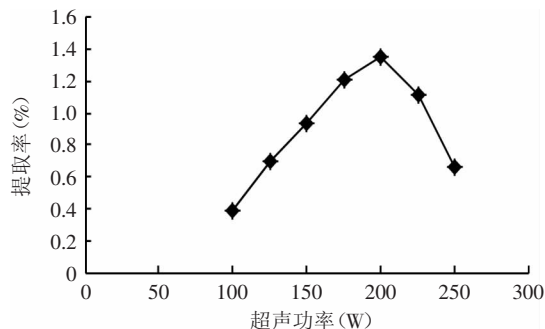


图6 超声功率对生姜精油提取率的影响

Fig.6 Effect of ultrasonic power on extraction rate of ginger oil

精油的浸出,但当超声功率过大时,体系的温度也会升高的很快,导致精油的挥发损失。

2.3.3 超声时间对生姜精油提取率的影响 如图7所示,随着超声波萃取时间的延长,生姜精油提取率也随之迅速上升,20min时达到最大,而后随着萃取时间的延长,由于挥发损失,导致生姜精油提取率逐渐减少。可能的原因是当离子液体萃取到一定的时间后,达到其最大的萃取量,再延长时间也不会增加生姜精油的萃取量,但由于精油是一种易挥发的液体,随着时间延长精油会挥发造成损失,导致提取率下降。

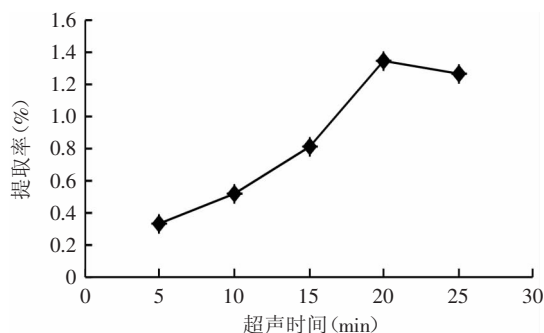


图7 超声提取时间对生姜精油提取率的影响

Fig.7 Effect of ultrasonic time on extraction of ginger oil

2.4 方法的验证

在超声功率200W,液料比15:1,超声时间20min时,得到精油提取率为1.39%。

本文所建立的离子液体超声协同提取生姜精油法与传统的水汽蒸馏提取法相比,提取时间更短,耗能少;与超临界CO₂萃取法相比,操作简单,反应条件要求低。因此,运用离子液体超声协同提取法提取生姜精油是一种可行的提取方法。

3 结论

离子液体作为生物反应的催化介质时,与传统的纯缓冲溶液体系相比,能提高酶的热稳定性,加快酶解反应的进行,且随着离子液体浓度的增加酶解反应速度先升高后降低,在体积浓度为15%和20%时,酶解反应速度最大。适宜的浓度的离子液体,能减少酶解反应达到平衡所需要的时间。

离子液体作为提取生姜精油的萃取剂时,在超声协同的作用下能有效的从体系中提取出生姜精油,并且提取率的高低与超声功率、超声时间以及液

料比有关。结果发现,在超声功率为200W,液料比为15:1,超声时间为20min时,生姜精油的提取率达1.39%。采用离子液体超声辅助法提取生姜精油具有提取时间短,所用离子液体可以回收利用,可降低实验成本,且不会造成环境污染等优点。因此,采用离子液体超声辅助法提取生姜精油是一种可行有效的提取方法。

参考文献

- [1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典[M]. 北京:中国医药科技出版社,2010:176.
- [2] 骆海林,陆宁. 同时蒸馏-萃取法(SDE)提取/GC-MS分析姜精油的组分[J]. 中国调味品,2010,35(10):104-106.
- [3] 葛毅强,倪元颖,张振华,等. 生姜精油的研究新进展[J]. 中国调味品,2004(9):3-9.
- [4] 李计萍,王跃生,马华,等. 干姜与生姜主要化学成分的比较研究[J]. 中国中药杂志,2001,26(11):748-750.
- [5] 孙宝国,何坚. 香料化学与工艺学[M]. 北京:化学工业出版社,2004.
- [6] 何文珊,李琳,郭祀远,等. 姜油的提取及其对油脂抗氧化活性的研究[J]. 中国油脂,1999,24(1):42-44.
- [7] 邹纲明,郑品梅,李彦威,等. 姜精油的超临界CO₂提取及其抗氧化性研究[J]. 食品科技,2007(2):136-138.
- [8] Wang Ben, Cao Yan, Huang Kelin, et al. Dissolution and regeneration of sugar arcanebagasse cellulose in ionic liquid[J]. CIESIC Journal,2010,61(6):1592-1596.
- [9] Ohno H. Electrochemical aspects of ionic liquids. Analytical chemistry[J]. Dyson P J, Geldbach T J Metal catalysed reactions in ionic liquids. Springer: Netherlands, 2005, 127: 3298-3299.
- [10] Wasserscheid P, Welton T. Ionic Liquids in Synthesis[J]. Organic Process Research & Development,2003,7(2):223-224.
- [11] 裴渊超. 离子液体的萃取分离性能及与溶质相互作用的研究[D]. 甘肃:兰州大学,2008.
- [12] Park S, Kazlauskas R J. Improved preparation and use of room temperature ionic liquids in lipase-catalyzed enation and regioselective acylations[J]. Org Chem,2001,66(25):8395-8401.
- [13] Ezniczek G, Jurenitsch J, Pluson M, et al. Four major saponins from Solidago Canadensis[J]. Phytochemistry,1991,30(5):1629-1633.
- [14] Bohlmann F, Fritz U, King R M, et al. Sesquiterpene and diterpene derivatives from Solidago species[J]. Phytochemistry,1980,19(12):2655-2661.
- [15] GB/T 5009.7-2008. 食品中还原糖的测定[S]. 2008.
- [16] 朱其瀚,许伟,窦文芳,等. 镇江香醋醋醅中产酸菌的分子鉴定[OL]. [2008-03-18]. 中国科技论文在线, <http://www.paper.edu.cn/releasepaper/content/200803-473>.
- [17] 余永建,邓晓阳,陆震鸣,等. 高效液相色谱法定量分析固态发酵食醋中有机酸的方法优化[J]. 食品科学,2014,35(4):55-59.
- [18] Uckoo R M, Jayaprakasha G K, Nelson S D, et al. Rapid simultaneous determination of amines and organic acids in citrus using high-performance liquid chromatography[J]. Talanta,2011,83(3):948-954.
- [19] 余宁华,陆震鸣,许伟,等. 基于主成分分析的中国发酵食醋有机酸含量差异性分析[J]. 食品与发酵工业,2010,36(10):144-148.
- [20] 李国权,陆振鸣,余永建,等. 镇江香醋有机酸风味特征的分析[J]. 中国调味品,2013,38(11):63-65.
- [21] Haruta S, Ueno S, Egawa I, et al. Succession of bacterial and fungal communities during a traditional pot-fermentation of rice vinegar assessed by PCR-mediated denaturing gradient gel electrophoresis[J]. International Journal of Food Microbiology,2006,109(1-2):79-87.

(上接第207页)