

迷迭香脂溶性抗氧化剂提取工艺的优化研究

王莹, 曾祥辉, 黄大川, 曾祥燕, 任光云

(邵阳学院 食品与化学工程学院, 湖南 邵阳 422000)

摘要:以经不同方法预处理(蒸馏法去精油和水煮法去精油)后的迷迭香叶为原料,无添加食用油为提取剂,通过单因素试验考察提取温度、料液比、提取时间及提取次数对脂溶性抗氧化剂(鼠尾草酸+鼠尾草酚)得率的影响。在单因素试验的基础上,采用响应面法对提取工艺条件进一步优化。结果表明:水煮法去精油的原料迷迭香脂溶性抗氧化剂的最优提取条件为提取温度61℃、料液比1:11、提取时间61 min、提取次数5次,在此条件下脂溶性抗氧化剂得率为2.8601%;蒸馏法去精油的原料迷迭香脂溶性抗氧化剂的最优提取条件为提取温度71℃、料液比1:11、提取时间81 min、提取次数4次,在此条件下脂溶性抗氧化剂得率为3.8013%。对比分析表明,蒸馏法去精油的迷迭香脂溶性抗氧化剂得率高于水煮法去精油的。

关键词:迷迭香;抗氧化剂;脂溶性;鼠尾草酸;鼠尾草酚;响应面优化

中图分类号:TS229;R284.2 **文献标识码:**A **文章编号:**1003-7969(2020)09-0072-05

Optimization of extracting oil – soluble rosemary antioxidants

WANG Ying, ZENG Xianghui, HUANG Dachuan,
ZENG Xiangyan, REN Guangyun

(College of Food and Chemistry Engineering, Shaoyang University, Shaoyang 422000, Hunan, China)

Abstract: The rosemary leaves was pretreated by extracting essential oil with steam distillation and boiling method, and then was used to extract oil – soluble antioxidant. The edible oil without antioxidant was used as the extractant, oil – soluble antioxidants (carnosic acid and carnosol) yield was used as evaluation index, the effects of extraction temperature, material – liquid ratio, extraction time and extraction times were studied by single factor experiment. On the basis of single factor experiment, the response surface methodology was used to optimize the extraction conditions. The results showed that the optimal extraction conditions with the rosemary leaves pretreated by extracting essential oil with boiling method were obtained as follows: extraction temperature 61℃, material – liquid ratio 1:11, extraction time 61 min and extraction times 5. Under these conditions, the yield of oil – soluble antioxidants was 2.8601%. For the rosemary leaves pretreated by extracting essential oil with steam distillation method, the optimal extraction conditions were obtained as follows: extraction temperature 71℃, material – liquid ratio 1:11, extraction time 81 min and extraction times 4. Under these conditions, the yield of oil – soluble antioxidants was 3.8013%. The yield of oil – soluble antioxidants of rosemary leaves pretreated by extracting essential oil with steam distillation method was higher than that by extracting essential oil with boiling method.

Key words: rosemary; antioxidant; oil – solubility; carnosic acid; carnosol; response surface methodology

收稿日期:2020-02-18;修回日期:2020-06-28

基金项目:2018年湖南省教育厅双一流学科优秀青年项目(18B422);2020年湖南省研究生科研创新项目(20201186)

作者简介:王莹(1988),助理研究员,博士,研究方向为食品质量与安全(E-mail)wdjsex@163.com。

迷迭香(*Rosmarinus officinalis*)属于双子叶、多年生植物,最早在地中海沿岸被发现,主要用于提取精油和抗氧化剂。迷迭香叶中的许多成分都属于天然抗氧化剂,如黄酮类、萜类、酚酸类等成分,而萜

类中的迷迭香酚、迷迭香酸、鼠尾草酚、鼠尾草酸为其主要的抗氧化性成分^[1]。人工合成抗氧化剂,如TBHQ、BHA、BHT、PG,具有生产成本低、抗氧化性能强以及应用比较广泛的优点,但其存在副作用和潜在毒性^[2]。现代人们追求天然、健康的食品已经成为一种趋势。迷迭香提取物作为一种天然抗氧化剂,具有安全性高、高效性、耐高温性^[3-6]等优点,在抗菌、抗病毒方面有一定的作用^[7]。如何更好地利用迷迭香抗氧化剂已成为研究天然抗氧化剂的热点。

目前,迷迭香抗氧化剂提取方法主要有水蒸气蒸馏法、溶剂提取法、超声波浸提法、微波浸提法和超临界流体萃取法,制取工艺不同各成分的含量略有差异^[8]。其中,溶剂提取法实验装置简单,容易操作,成本低,并且提取率、纯度高,稳定性好,是使用最广的一种提取方法。溶剂提取法一般采用乙醇作为提取溶剂,与此相关的研究方法已比较成熟,但在回收溶剂的过程中受操作条件的影响,鼠尾草酸容易转变成抗氧化作用相对较低的鼠尾草酚,导致整体抗氧化作用降低^[9]。为给迷迭香抗氧化剂提供一个全新、安全、稳定的提取方法,本研究首次以无添加食用油为提取剂,对迷迭香脂溶性抗氧化剂的提取工艺条件进行优化,得到迷迭香脂溶性抗氧化剂的最佳提取条件,以期推动迷迭香天然抗氧化剂产业的发展。

1 材料与方法

1.1 试验材料

迷迭香干叶,无添加食用油(自榨,由花生冷榨制取),乙腈(色谱纯),甲醇(色谱纯),磷酸(色谱纯),鼠尾草酸标准品(大连美仑生物技术有限公司,HPLC纯度 $\geq 98\%$)。

FW80高速万能粉碎机,天津泰斯特仪器有限公司;DZKW-4电子恒温水浴锅,北京中兴伟业仪器有限公司;CP114分析天平,奥豪斯仪器上海有限公司;TD4台式低速离心机,湖南赫西仪器设备有限公司;SHB-D(III)A抽滤机,河南省泰斯特仪器有限公司;U3000高效液相色谱仪,Thermo Fisher公司。

1.2 试验方法

1.2.1 样品预处理

迷迭香干叶分别经水蒸气蒸馏法和水煮法^[10]去精油,再于45℃烘箱低温干燥后粉碎过80目筛,得迷迭香渣备用。

1.2.2 迷迭香脂溶性抗氧化剂的提取

称取2.00 g迷迭香渣于150 mL锥形瓶中,按

一定料液比加入无添加食用油,置于一定温度的恒温水浴锅中提取一定时间,取出冷却后在3 500 r/min下离心20 min,收集上清液(若提取多次,离心沉淀继续重复提取后离心,合并上清液),抽滤,滤液按体积比1:20加乙腈进行提取,重复2次,将乙腈提取后的上层液于40℃恒温水浴锅蒸发回收乙腈,得到迷迭香脂溶性抗氧化剂提取液。

1.2.3 总抗氧化成分(以鼠尾草酸和鼠尾草酚计)的测定

参照GB 1886.172—2016,采用高效液相色谱法测定迷迭香脂溶性抗氧化剂提取液中总抗氧化成分(以鼠尾草酸和鼠尾草酚计)含量。HPLC条件: C₁₈反相色谱柱(4.6 mm × 250 mm × 5 μm);流动相A为0.1%磷酸溶液,流动相B为乙腈,梯度洗脱(0~35 min、77% A-23% B);柱温30℃;检测波长280 nm;流动相流速1.0 mL/min;进样量10 μL。

按下式计算迷迭香脂溶性抗氧化剂得率(Y)。

$$Y = (C_1 + C_2) \times V / m \times 100\%$$

式中: C₁为鼠尾草酸含量,mg/mL; C₂为鼠尾草酚含量,mg/mL; V为迷迭香脂溶性抗氧化剂提取液体积,mL; m为试样质量,mg。

2 结果与分析

2.1 单因素试验

2.1.1 提取温度对迷迭香脂溶性抗氧化剂得率的影响

在料液比1:10、提取时间60 min、提取次数3次的条件下,考察提取温度对迷迭香脂溶性抗氧化剂得率的影响,结果见图1。

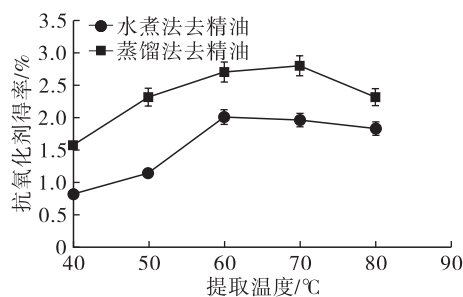


图1 提取温度对迷迭香脂溶性抗氧化剂得率的影响

由图1可以看出,对于水煮法去精油的原料,迷迭香脂溶性抗氧化剂得率随着提取温度的升高不断增大,在60℃时达到最大,随后有所降低。对于蒸馏法去精油的原料,迷迭香脂溶性抗氧化剂得率变化趋势和水煮法的相似,但在70℃时得率最高。两者均在超过一定的温度后得率有所下降,可能是由于提取温度过高导致其抗氧化成分氧化或分解,造成抗氧化剂失活所致。综合考虑,水煮法去精油的

原料选用提取温度为 60℃,蒸馏法去精油的原料选用提取温度为 70℃。

2.1.2 料液比对迷迭香脂溶性抗氧化剂得率的影响

在提取温度 60℃、提取时间 60 min、提取次数 3 次的条件下,考察料液比对迷迭香脂溶性抗氧化剂得率的影响,结果见图 2。

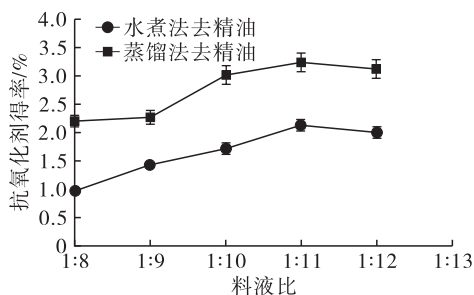


图 2 料液比对迷迭香脂溶性抗氧化剂得率的影响

由图 2 可以看出,对于两种方法去精油的原料,迷迭香脂溶性抗氧化剂得率均随着料液比的增大而呈先增大后减小趋势,均在料液比为 1:11 时达到最大,之后继续增大料液比迷迭香脂溶性抗氧化剂得率变化不大。加大溶剂用量,可以增加有效物质和溶剂的接触机会,还可以增加原料细胞内外有效成分的浓度差(传质推动力),因而增大料液比有利于提高有效物质的得率,继续增大料液比抗氧化剂得率并没有提高,这可能是由于料液比继续增大后,迷迭香内多糖类物质等的溶解量增加,从而对有效物质起到了吸附沉淀作用,因此两种原料最终均选取料液比为 1:11。

2.1.3 提取时间对迷迭香脂溶性抗氧化剂得率的影响

在提取温度 60℃、料液比 1:10、提取次数 3 次的条件下,考察提取时间对迷迭香脂溶性抗氧化剂得率的影响,结果见图 3。

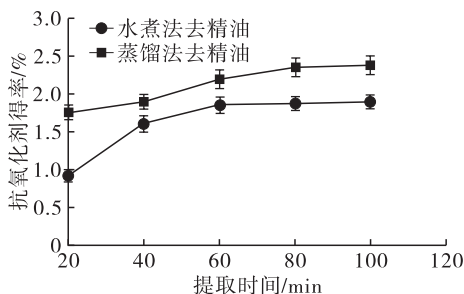


图 3 提取时间对迷迭香脂溶性抗氧化剂得率的影响

由图 3 可以看出,迷迭香脂溶性抗氧化剂得率随着提取时间的延长呈先上升后稳定的趋势,说明提取时间与有效物质的浸出过程密切相关,提取时间过短,有效物质溶解不充分,提取时间过长,可能会导致有效物质的结构发生变化。对于水煮法去精

油的原料迷迭香脂溶性抗氧化剂得率在提取 60 min 后增加比较缓慢,增幅不明显;而对于蒸馏法去精油的原料迷迭香脂溶性抗氧化剂得率在提取 80 min 后增加比较缓慢,增幅不明显。因此,水煮法去精油的原料选取提取时间为 60 min,蒸馏法去精油的原料选取提取时间为 80 min。

2.1.4 提取次数对迷迭香脂溶性抗氧化剂得率的影响

在提取温度 60℃、料液比 1:10、提取时间 60 min 条件下,考察提取次数对迷迭香脂溶性抗氧化剂得率的影响,结果见图 4。

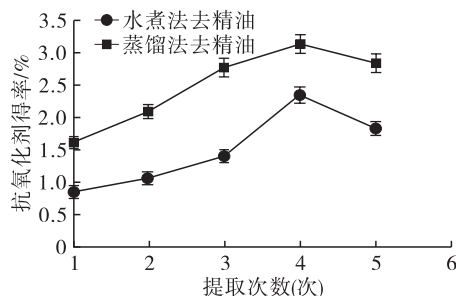


图 4 提取次数对迷迭香脂溶性抗氧化剂得率的影响

由图 4 可以看出,对于蒸馏法去精油和水煮法去精油的原料,迷迭香脂溶性抗氧化剂得率均在提取次数为 4 次时最高,之后,继续增加提取次数,迷迭香脂溶性抗氧化剂得率降低。增加提取次数能使抗氧化剂提取更完全,但过长时间提取会使有效成分的结构遭到破坏或被氧化,从而导致其得率降低。因此,两种方法去精油的原料均选取提取次数为 4 次。

2.2 响应面试验

根据单因素试验结果,采用 Box - Behnken 响应面设计对两种方法去精油的原料中迷迭香脂溶性抗氧化剂的提取条件进行优化,响应面因素水平分别见表 1、表 2,响应面设计试验方案及结果见表 3,方差分析见表 4。

表 1 水煮法去精油的因素水平

水平	X_1 提取温度/℃	X_2 料液比	X_3 提取时间/min	X_4 提取次数(次)
-1	50	1:10	50	3
0	60	1:11	60	4
1	70	1:12	70	5

表 2 蒸馏法去精油的因素水平

水平	X_1 提取温度/℃	X_2 料液比	X_3 提取时间/min	X_4 提取次数(次)
-1	60	1:10	70	3
0	70	1:11	80	4
1	80	1:12	90	5

表3 响应面试验设计方案及结果

试验号	X_1	X_2	X_3	X_4	$Y_1/\%$	$Y_2/\%$
1	-1	-1	0	0	1.958 2	2.918 3
2	1	0	0	1	2.566 9	3.486 3
3	0	0	0	0	2.878 5	3.806 6
4	1	0	0	-1	2.434 0	3.327 1
5	0	0	0	0	2.901 1	3.821 7
6	0	-1	0	-1	2.536 2	3.413 3
7	-1	0	-1	0	2.218 3	3.103 9
8	0	-1	-1	0	2.361 2	3.249 6
9	-1	1	0	0	2.041 0	2.932 6
10	-1	0	1	0	2.317 4	3.116 3
11	0	0	0	0	2.857 9	3.833 4
12	1	-1	0	0	2.132 6	3.002 8
13	1	1	0	0	2.215 1	3.125 4
14	0	0	-1	-1	2.625 8	3.519 7
15	0	1	1	0	2.503 0	3.383 8
16	0	0	1	1	2.749 5	3.635 7
17	0	1	-1	0	2.382 8	3.306 2
18	1	0	1	0	2.295 3	3.326 0
19	1	0	-1	0	2.223 1	3.112 7
20	0	1	0	-1	2.558 7	3.455 8
21	0	0	0	0	2.925 8	3.846 2
22	0	-1	0	1	2.501 3	3.421 6
23	0	0	0	0	2.866 2	3.825 7
24	-1	0	0	-1	2.404 0	3.241 2
25	0	1	0	1	2.599 7	3.489 2
26	0	0	1	-1	2.712 7	3.562 9
27	-1	0	0	1	2.482 3	3.263 1
28	0	0	-1	1	2.694 2	3.606 1
29	0	-1	1	0	2.395 9	3.277 8

注： Y_1 为水煮法去精油抗氧化剂得率； Y_2 为蒸馏法去精油抗氧化剂得率。

对表3数据进行回归拟合,可得到水煮法去精油的原料迷迭香脂溶性抗氧化剂得率的回归方程为: $Y_1 = 2.89 + 0.037X_1 + 0.035X_2 + 0.039X_3 + 0.027X_4 - 0.000075X_1X_2 - 0.006725X_1X_3 + 0.014X_1X_4 + 0.021X_2X_3 + 0.019X_2X_4 - 0.0079X_3X_4 - 0.44X_1^2 - 0.33X_2^2 - 0.17X_3^2 + 0.002337X_4^2$ 。蒸馏法去精油的原料迷迭香脂溶性抗氧化剂得率的回归方程为: $Y_2 = 3.83 + 0.067X_1 + 0.034X_2 + 0.034X_3 + 0.032X_4 + 0.027X_1X_2 + 0.05X_1X_3 + 0.034X_1X_4 + 0.012X_2X_3 + 0.006275X_2X_4 - 0.0034X_3X_4 - 0.47X_1^2 - 0.34X_2^2 - 0.19X_3^2 - 0.039X_4^2$ 。

由表4可知,水煮法去精油的原料迷迭香脂溶性抗氧化剂提取的回归方程模型的 $P < 0.0001$,极显著,而失拟项为0.0837,不显著,说明此模型与数据的拟合情况较好,并具有较好的预测能力。该模型的预测复相关系数(R^2)为0.9812,校正系数(R_{Adj}^2)为0.9624,表明该模型的试验值与模拟值的拟合程度良好。另外,蒸馏法去精油的原料迷迭香脂溶性抗氧化剂提取的回归方程模型的 $P < 0.0001$,极显著,而失拟项为0.0659,不显著,说明此模型与数据的拟合情况较好,并具有较好的预测能力。该模型的预测复相关系数(R^2)为0.9944,校正系数(R_{Adj}^2)为0.9889,表明该模型的试验值与模拟值的拟合程度良好。

表4 方差分析

方差来源	水煮法去精油					蒸馏法去精油				
	自由度	平方和	均方	F	P	自由度	平方和	均方	F	P
模型	14	1.900	0.140	52.14	<0.0001	14	2.090	0.150	179.02	<0.0001
X_1	1	0.017	0.017	6.36	0.0244	1	0.054	0.054	64.67	<0.0001
X_2	1	0.014	0.014	5.51	0.0341	1	0.014	0.014	16.75	0.0011
X_3	1	0.018	0.018	7.02	0.0190	1	0.014	0.014	16.32	0.0012
X_4	1	8.662E-3	8.662E-3	3.33	0.0895	1	0.012	0.012	14.57	0.0019
X_1X_2	1	2.250E-8	2.250E-8	8.645E-6	0.9977	1	2.932E-3	2.932E-3	3.51	0.0819
X_1X_3	1	1.809E-4	1.809E-4	0.07	0.7959	1	0.010	0.010	12.09	0.0037
X_1X_4	1	7.480E-4	7.480E-4	0.29	0.6003	1	4.713E-3	4.713E-3	5.65	0.0323
X_2X_3	1	1.828E-3	1.828E-3	0.70	0.4161	1	6.101E-4	6.101E-4	0.73	0.4070
X_2X_4	1	1.440E-3	1.440E-3	0.55	0.4693	1	1.575E-4	1.575E-4	0.19	0.6706
X_3X_4	1	2.496E-4	2.496E-4	0.096	0.7613	1	4.624E-5	4.624E-5	0.06	0.8173
X_1^2	1	1.280	1.280	9.02	0.0198	1	1.450	1.450	1731.98	<0.0001
X_2^2	1	0.720	0.720	0.34	0.5771	1	0.770	0.770	922.36	<0.0001
X_3^2	1	0.190	0.190	12.43	0.0096	1	0.240	0.240	284.94	<0.0001
X_4^2	1	3.544E-5	3.544E-5	0.014	0.9088	1	9.783E-3	9.783E-3	11.72	0.0041
残差	14	0.036	2.603E-3			14	0.012	8.348E-4		
失拟项	10	0.033	3.339E-3	4.38	0.0837	10	0.011	1.083E-3	5.07	0.0659
纯误差	4	3.050E-3	7.625E-4			4	8.551E-4	2.138E-4		
总变异	28	1.94				28	2.10			

根据响应面模型得出,水煮法去精油的原料迷迭香脂溶性抗氧化剂最优提取条件为提取温度 61 °C、料液比 1:11、提取时间 61 min、提取次数 5 次,此时迷迭香脂溶性抗氧化剂得率预测值为 2.920 3%。在最优提取条件下,重复进行 3 次平行验证试验,迷迭香脂溶性抗氧化剂得率平均为 2.860 1%,与预测值相差不大,表明该模型的可靠性较高。蒸馏法去精油的原料迷迭香脂溶性抗氧化剂最优提取条件为提取温度 71 °C、料液比 1:11、提取时间 81 min、提取次数 4 次,此时的迷迭香脂溶性抗氧化剂得率预测值为 3.839 7%。在最优提取条件下,重复进行 3 次平行验证试验,迷迭香脂溶性抗氧化剂得率平均为 3.801 3%,与预测值相差不大,表明该模型的可靠性较高。

3 结论

本研究通过响应面分析法建立了迷迭香脂溶性抗氧化剂提取工艺的数学模型,以抗氧化剂得率为指标,通过响应面分析最终确定了蒸馏法和水煮法去精油后,采用无添加食用油提取其中的脂溶性抗氧化剂的最优条件。对比分析表明,蒸馏法去精油的抗氧化剂得率(3.801 3%)优于水煮法去精油的(2.860 1%)。

目前,对迷迭香中抗氧化剂的提取大多是采用有机溶剂提取法,其他提取剂的研究较少,从而限制了迷迭香的综合开发利用。本研究采用无添加食用

油作提取剂,提供了一个全新、安全、无害及稳定的迷迭香脂溶性抗氧化剂的提取方法,且此方法提取的天然脂溶性抗氧化剂为其在食用油保鲜技术等方面的研究提供一定的理论参考依据。

参考文献:

- [1] 方晓璞,解克伟,任春明,等.迷迭香天然抗氧化剂的应用研究[J].中国油脂,2014,39(7):27-29.
- [2] 李榕.食品中多种抗氧化剂的测定方法研究[D].南京:南京农业大学,2007.
- [3] 曾伟,梁天绪.迷迭香提取物在油脂和肉类制品中的应用[J].中国食品添加剂,2000,11(3):42-46.
- [4] 杨燕.迷迭香抽提物的性质与应用[J].中国食品工业,1999,16(3):38-39.
- [5] 霍晓娜.天然抗氧化剂对控制猪肉脂肪氧化及保鲜效果研究[J].肉类研究,2005,26(10):145-148.
- [6] 李涛,余旭亚,陈朝银,等.抗氧化剂的研究与应用现状[J].食品研究与开发,2003,24(2):23-25.
- [7] 肖香.迷迭香精油及抗氧化剂的提取纯化研究[D].江苏无锡:江南大学,2006.
- [8] 陈凌霞,孙海杰,徐滕滕,等.迷迭香精油和抗氧化剂的提取方法及相关研究[J].化学工程与技术,2020,10(3):215-223.
- [9] 刘凤柳,天建华,曾婉俐,等.迷迭香有效成分的提取方法综述[J].应用化工,2014(S1):177-180.
- [10] 王秀环,孙伟卫,季新燕,等.迷迭香精油提取工艺研究进展[J].山西中医学院学报,2015,16(1):73-76.
- [11] 常馨月,陈程莉,龚娣,等.天然抗氧化剂抑制油脂氧化的研究进展[J].中国油脂,2020,45(4):46-50.
- [12] ALAM M K, RANA Z H, LSLAN S N, et al. Comparative assessment of nutritional composition, polyphenol profile, antidiabetic and antioxidative properties of selected edible wild plant species of Bangladesh[J/OL]. Food Chem, 2020,320[2020-03-01]. https://doi.org/10.1016/j.food-chem.2020.126646.
- [13] 郭宏垚,李冬,雷雄,等.花椒多酚提取工艺响应面优化及动力学分析[J].食品科学,2018,39(2):247-253.
- [14] LAKKA A, GRIGORAKIS S, KARAGEORGOU I, et al. Saffron processing wastes as a bioresource of high-value added compounds: development of a green extraction process for polyphenol recovery using a natural deep eutectic solvent [J/OL]. Antioxidants (Basel, Switzerland), 2019, 8(12)[2020-03-01]. https://doi.org/10.3390/antiox8120586.
- [15] 周琦,曾莹,祝遵凌.响应面法优化香水莲花多酚的提取工艺及其抗氧化活性[J].现代食品科技,2018,34(11):1-8.
- [16] 张玲,黄健文,吴晓颖,等.青橄榄浸膏的提取及其抗氧化活性研究[J].天然产物研究与开发,2019,31(1):147-154,23.
- [17] 胡会刚,赵巧丽.菠萝皮渣多酚的提取分离及其抗氧化活性评价[J].食品科技,2020,45(1):286-293.
- [18] KIM Y M, SEO S B. Beneficial effects on cosmetic activity by optimizing the calamondin orange extraction process[J/OL]. Nat Prod Commun, 2019, 14(6)[2020-03-01]. https://doi.org/10.1177/1934578X19856783.
- [19] 南海娟,王正荣,葛亚明,等.金银花与叶醇提取物对油脂的抗氧化活性比较[J].食品与发酵工业,2017,43(6):175-180.
- [20] 许中畅,卢晓霆.葵盘总黄酮对油脂抗氧化作用研究[J].中国油脂,2016,41(2):44-47.

(上接第 71 页)