

双频超声强化超临界流体萃取黄酮类化合物

丁彩梅^{1,2}, 丘泰球¹, 陆海勤¹

(1. 华南理工大学 食品与生物工程学院, 广东 广州 510640; 2. 中国轻工业武汉设计工程有限责任公司, 湖北 武汉 430060)

摘要:通过单因素和正交实验研究,对双频超声交替强化超临界流体萃取黄酮类化合物的工艺进行了优化设计。实验结果表明,影响萃取得率的各因素强烈程度顺序是:夹带剂用量 > 超声频率 > 萃取温度 > 萃取压力 > 超声功率;本实验条件下的最佳萃取实验工艺条件为萃取温度 50 , 萃取压力 20 MPa, 夹带剂用量 2 mL/g, 超声频率 20 KHz, 超声功率 150 W。

关键词:超声;超临界流体萃取;强化;黄酮类化合物

中图分类号: TQ 645. 96

文献标识码: A

文章编号: 1005-9954(2005)06-0067-04

Double-frequency ultrasounds alternately enhanced supercritical fluid extraction of effective components of plants

DING Caimei^{1,2}, QIU Taizhou¹, LU Haiqin¹

(1. College of Food and Biological Engineering, South China University of Technology, Guangzhou 510640, Guangdong Province, China; 2. China National Light Industry Wuhan Design Engineering Co., Ltd, Wuhan 430060, Hubei Province, China)

Abstract: Double-frequency ultrasounds alternately-enhanced supercritical fluid extraction of effective components of plants was optimized by single factor experiment and orthogonal experiment. The results indicated that the successive order of different effect factors is entrainer amount > ultrasonic frequency > extraction temperature > extraction pressure > ultrasonic power and the optimum conditions of the extraction includes: temperature 50 , pressure 20 MPa, entrainer amount 2 mL/g, ultrasonic frequency 20 kHz, power 150 W.

Key words: ultrasound; supercritical fluid extraction; alternately enhanced; officinal components of plants

超临界流体萃取是 20 世纪 70 年代兴起的一门新的分离技术,它具有传质速度快、溶解能力强、低温操作、节能等优点,引起国内外有关专家及学者的普遍关注,特别是用该技术提取天然产物有效成分成为人们研究的热点^[1-2]。但是,单一组分的超临界溶剂对一定的分离过程有很大的局限性,其表现为萃取压力比较高,对设备的要求高,提取能力小,而且能耗相对也大^[3]。特别是对于极性物质的萃取,压力很高,而且还要加夹带剂^[4-6]。另外,在超临界流体中物质的扩散系数比在普通流体(液体)中的扩散速度大的多,传质速率快,但是相当多的物质在超临界流体中的溶解度与在常规流体中的溶解度相比,相对较小^[7]。特别是在处理固体物料时,由于颗粒内扩散对

传质速率的制约,使得在超临界流体中的传质速率非常慢,使萃取时间变长以至失去应用价值。这些都是制约超临界技术应用的“瓶颈”所在。所以,在超临界流体萃取过程中,进行强化处理是非常必要的。

本研究以香椿嫩叶为原料,将超声场引入到超临界流体中,用于强化超临界流体萃取其中药用有效成分黄酮类化合物。

1 实验部分

1.1 材料

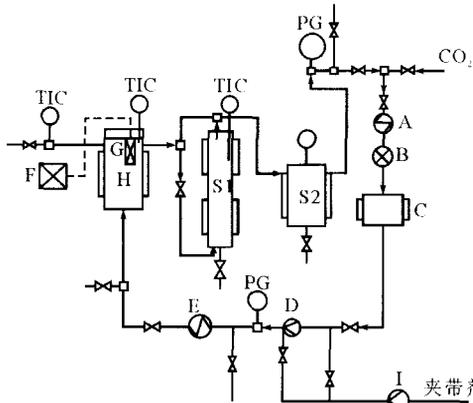
香椿嫩叶,4 月份采于宁波市郊。试剂为食用酒精。CO₂ 气体由广州为康气体供应中心提供,广州粤港气体公司生产,纯度为 99.5% 以上。

基金项目:广州市科技计划项目(穗科条字[2002]27号)

作者简介:丁彩梅(1978—),女,研究方向为天然产物声化学技术,电话:(020)87113308, E-mail: dingcaimei@163.com;陆海勤,通讯联系人, E-mail: haiqin6@163.com。

1.2 实验流程^[8]

本实验装置由广州市轻工研究所开发生产的萃取量为 1 L 的超临界流体萃取装置和根据该设备系统特点自行设计的超声波强化装置 (20/38 kHz, 400 W) 构成。实验流程见图 1。



A 冷阱; B 流量计; C-CO₂ 储罐; D 高压泵; E 热交换器; F 超声波发生器; G 换能器; H 萃取罐; I 夹带剂泵; S1 分离柱; S2 分离罐; TIC 温度传感器; PG 压力表

图 1 超声强化超临界流体萃取实验流程图

Fig 1 Experimental flow diagram of ultrasonically enhanced supercritical fluid extraction (SFE) apparatus

1.3 实验方法

影响超声强化超临界流体萃取的因素主要有萃取温度、萃取压力、夹带剂用量、超声频率、超声功率等。根据 CO₂ 的物性参数、实验设备的操作说明以及相关的文献报道^[5-6, 8], 确定实验条件为萃取温度: 35—55 °C; 萃取压力: 12—24 MPa; 夹带剂用量: 0—2 mL/g; 超声频率: 38 kHz, 38/20 kHz, 20 kHz; 超声功率: 0—150 W。

在单因素实验的基础上, 进行了多因素正交实验, 寻找超声强化超临界流体萃取黄酮类化合物的最佳工艺参数。

2 结果与分析

2.1 单因素实验

2.1.1 萃取温度对萃取率的影响

萃取温度对超临界流体萃取过程的影响有两方面。一方面, 随着温度升高, 分子热运动速度加快, 相互碰撞几率增加, 超临界 CO₂ 与有效成分的缔和机会增加, 而且温度升高也使有效成分的扩散系数增大, 传质速度加快, 从而有利于有效成分的快速萃取; 另一方面, 温度升高致使 CO₂ 密度降低, 携带物质的能力降低, 导致有效成分的萃取率降低。因此, 在一定的压力条件下存在着一个使上述两方面矛盾

平衡的最适萃取温度。图 2 结果表明, 香椿叶黄酮类化合物的最适萃取温度为 50 °C。当温度低于 50 °C 时, 随着萃取温度提高, 萃取率显著增大; 当温度高于 50 °C 时, 萃取率开始下降。在超声场的作用下, 萃取率明显提高, 20 kHz 超声强化的萃取率最大, 而且在较低的萃取温度下, 即可获得较高的萃取率。

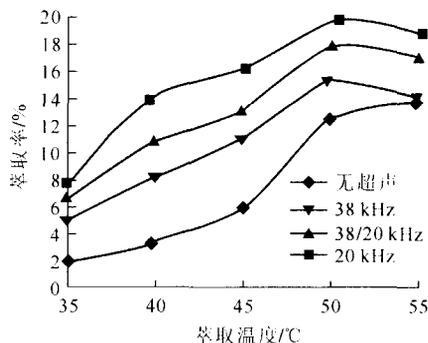


图 2 萃取温度对总黄酮萃取率的影响

Fig 2 Effect of extraction temperature on flavonoid extraction yield

2.1.2 萃取压力对萃取率的影响

超临界流体对有效成分的溶解度与超临界流体的密度密切相关, 而萃取压力是改变超临界流体对物质溶解能力的重要参数, 通过改变压力可以使超临界流体的密度发生变化, 从而增大或减少它对物质的溶解能力。图 3 表明随着萃取压力的增大, 香椿叶黄酮类化合物的萃取率随之增大。在超声场的作用下, 超过 20 MPa 时, 再增大萃取压力, 萃取率增加很小, 而且在 20 kHz 超声作用下, 增加幅度最小; 无超声作用时, 萃取率随压力的增大不断增大。

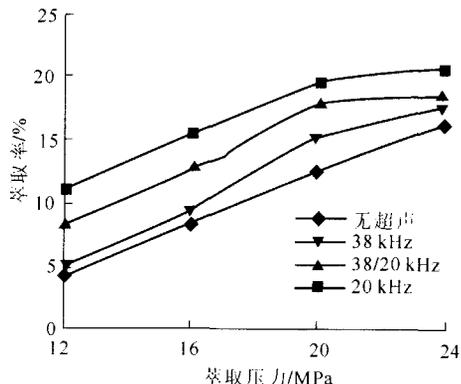


图 3 萃取压力对总黄酮萃取率的影响

Fig 3 Effect of extraction pressure on flavonoid extraction yield

2.1.3 超声频率对萃取率的影响

图 3 表明, 频率为 20 kHz 超声强化的萃取率最大, 38 kHz 的超声最小, 两者交替的居于中间。这可从以下方面解释: 高频超声在流体中的能量消

耗快。为了获得同样的提取率,对于高频则需付出较大的能量消耗。频率 f 和振幅 A 成反比。频率越小,振幅越大。振幅越大,能量密度越大,浓度梯度也越大,导致高的扩散系数,从而更明显地强化萃取效果。低频超声在超临界流体中传播引起媒质分子(CO_2)的振动振幅较高频大,那么低频超声强化较高频超声强化引起 CO_2 分子极化率增大的幅度大。在超临界流体 CO_2 萃取极性物质的过程中, CO_2 分子的极性增大,根据相似相容原理,其对极性物质的溶解度增大,萃取率也就相应增大。

尽管低频超声强化效果比高频超声要好,但是低频对换能器的材质要求高,成本也高,噪音较大。而且,单频超声在萃取罐内形成驻波场,此驻波效应使萃取罐内声压分布明显不均,在各节面附近出现盲区。为使声场均匀,本文进行了双频交替提取实验的研究。

2.1.4 夹带剂用量对萃取率的影响

夹带剂的作用主要是增加被萃取组分在超临界流体(Supercritical Fluid, SCF)中的溶解度,降低萃取过程的操作压力;提高 SCF 对溶质的选择性;改变超临界流体的相行为;提高分离过程的分离因子;增加溶解度对温度和压力的敏感程度;克服基体的束缚作用,与溶质分子在基体上争夺活性位点等。需要指出的是,夹带剂的作用是有限的,它在改善超临界流体溶解性的同时,也会削弱萃取系统的捕获作用,导致共萃物的增加,还可能会干扰分析测定,因此,应当依据待萃物和夹带剂的理化性质结合试验确定夹带剂的种类和添加量。鉴于乙醇无毒,分子量小,在基体中扩散、渗透能力强,能够有效地与黄酮类化合物争夺吸附位点,易于和黄酮类化合物发生氢键缔合,促使其脱离基体,因此本实验选择乙醇作为夹带剂是最为理想的。

图 4 结果表明,黄酮类化合物的萃取率随着夹带剂用量的增大而增大。夹带剂用量在 0—1 时,萃取率随夹带剂用量的增加迅速增加,当夹带剂用量 >1 mL/g 时,萃取率随夹带剂用量的增大而缓慢增大。在 SFE 中加入超声场后,少量的夹带剂即可获得较高的萃取率,而且超声的频率在 20 kHz 时萃取率最大。

2.1.5 超声功率对萃取率的影响

图 5 表明,随着超声功率的增大,黄酮类化合物的萃取率也随之增大。这是因为声功率大,声强大,而声强 $I = \frac{1}{2} \rho v^2 c$, 式中, ρ 为密度; c 为声速; v 为质点振动速度。对于一定的媒质, ρ 、 c 均为常数,因此,声功率的增大,会导致溶质分子运动速度增大,

从而使萃取率提高。随着功率越增大,38 kHz 超声强化的萃取率增幅最大,与 20 kHz 越来越接近。但是超声功率不能无限制的增加,因为功率增大,振幅就增大,在流体和变幅杆之间出现了耦合分离,从而导致能量的传递效率降低。

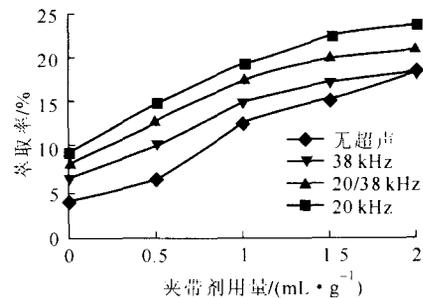


图 4 夹带剂用量对总黄酮提取率的影响

Fig 4 Effect of modifier amount on flavonoid extraction yield

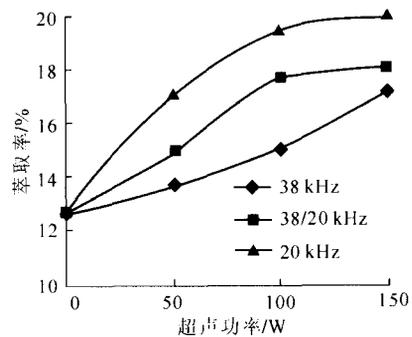


图 5 超声功率对总黄酮萃取率的影响

Fig 5 Effect of ultrasonic power on flavonoid extraction yield

2.2 正交实验

在前面的单因素实验的基础上,采用 $L_{16}(4^5)$ 设计正交实验,在每次实验过程中,萃取时间为 4 h,实验结果见表 1。

根据表 1 中实验结果,进行因素水平极差和方差分析,分析结果见表 2 和表 3。

由表 2 可以看出,在影响超声提取的 5 个因素(萃取温度、萃取压力、夹带剂用量、超声功率、超声频率)中,夹带剂用量的影响最大,超声功率的影响最小。其影响总黄酮提取率的大小次序先后为:夹带剂用量 $>$ 超声频率 $>$ 萃取温度 $>$ 萃取压力 $>$ 超声功率,超声强化超临界流体萃取总黄酮的优化工艺参数为:萃取温度 50,萃取压力 20 MPa,夹带剂用量 2 mL/g,超声频率为 20 kHz,超声功率为 150 W。

由表 3 的方差分析结果表明,夹带剂用量(因子 C)对香椿叶总黄酮的提取率的影响达到极显著水平,夹带剂用量越大,提取效果越好;超声频率(因子 E)对提取的影响达次显著水平,低频超声利

于提取。萃取温度(因子 A)对提取率有一定的影响,随着萃取温度的增加,香椿叶总黄酮提取率随着增大。萃取压力(因子 B)对提取的影响较小,在该

实验的水平范围内,因子 B 各水平间的差异极小,从生产角度看,可选水平 1 或 2。超声功率(因子 D)对提取率基本上没影响。

表 1 双频交替超声强化超临界流体萃取香椿叶黄酮类化合物的正交实验结果

Table 1 Orthogonal experimental result of flavonoid extraction by ultrasonically enhanced supercritical fluid extraction (USFE)

实验 编号	萃取温度 / A	萃取压力 /MPa 夹带剂 / (mL · g ⁻¹) B	超声功率 /W C	超声频率 /kHz D	提取率 /% E	
1	1(35)	1(12)	1(0.5)	1(0)	1(0)	1.3
2	1	2(16)	2(1)	2(50)	2(38)	8.82
3	1	3(20)	3(1.5)	3(100)	3(38/20)	13.8
4	1	4(24)	4(2)	4(150)	4(20)	20.85
5	2(40)	1	2	3	4	11.25
6	2	2	1	4	3	9.64
7	2	3	4	1	2	14.15
8	2	4	3	2	1	10.31
9	3(45)	1	3	4	2	11.9
10	3	2	4	3	1	11.84
11	3	3	1	2	4	10.35
12	3	4	2	1	3	11.98
13	4(50)	1	4	2	3	19.36
14	4	2	3	1	4	16.89
15	4	3	2	4	1	10.72
16	4	4	1	3	2	13.4

表 2 以提取率为指标的因素水平极差分析

Table 2 Difference analysis between factors levels of extraction yield

极差分析	A	B	C	D	E
K1	44.77	43.81	34.69	44.32	34.17
K2	45.35	47.19	42.77	48.84	48.27
K3	46.07	49.02	52.90	50.29	54.78
K4	60.37	56.54	66.20	53.11	59.34
k1	11.19	10.95	8.67	11.08	8.54
k2	11.34	11.80	10.69	12.21	12.07
k3	11.52	12.26	13.23	12.57	13.70
k4	15.09	14.14	16.55	13.28	14.84
R _j	42.25	21.75	138.64	10.10	90.18

表 3 以提取率为指标的因素水平方差分析

Table 3 Variance analysis between factors levels of extraction yield

方差分析	平方和	自由度	均方差	F比	显著性
A	42.25	3	14.08	0.84	较显著
B	21.75	3	7.25	0.43	不显著
C	138.64	3	46.21	2.77	显著
D	10.1	3	3.37	0.20	不显著
E	90.18	3	30.06	1.80	显著
误差	0.20	6	0.07		
QT	303.12	15	20.21		

3 结论

(1) 实验条件下,随着萃取压力、流体流量、夹带剂用量、超声功率的适量增加,萃取率提高;萃取率随温度的升高呈现先提高后降低的趋势。

(2) 频率为 20 kHz 的超声强化的萃取率最大,38 kHz 的超声最小,两者交替的居于中间。

(3) 在影响超声提取的 5 个因素(萃取温度、萃取压力、夹带剂用量、超声功率、超声频率)中,夹带剂用量的影响最大,超声功率的影响最小。其影响总黄酮提取率的大小次序先后为:夹带剂用量 > 超声频率 > 萃取温度 > 萃取压力 > 超声功率,超声强化超临界流体萃取总黄酮的优化工艺参数为:萃取温度 50, 萃取压力 20 MPa, 夹带剂用量 2 mL/g, 超声频率为 20 kHz, 超声功率为 150 W。

参考文献:

- [1] 郑永春, 罗晓星. 超临界二氧化碳萃取技术的特点和研究进展 [J]. 大理学院学报, 2002, 1(4): 64—72
- [2] 尹卫萍, 陈素兰. 超临界流体萃取技术及其应用 [J]. 江苏地质, 2002, 26(3): 150—153

[下转第 73 页]

下位机软件主要完成与微机的通信并控制 FPGA 开始测量传播时间,每一次测量完成后从 FPGA 读取传播时间初步进行数据合理性校验后将数据传送给微机。

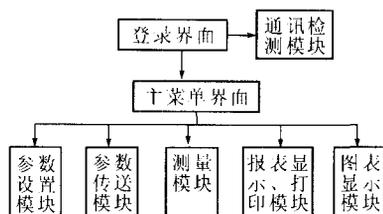


图 5 微机软件总框图

Fig 5 Supervisor software system frame

5 测量系统精度分析

在实际测量中,流量计的误差主要表现在以下几方面(以四声路测量为例):

(1)传播时间测量误差:由于流速误差与传播时间差的误差成正比,因此传播时间的测量误差会给流速带来较明显的误差。譬如当声路长为 1.2 m,流速为 0.5 m/s 时,传播时间差约为 533 ns,利用基于锁相环路的计数法测量传播时间其精度可以达到 0.1 ns,又由于有四声路,且误差是随机的,因此其相对误差为

$$ET = \frac{0.1}{533\sqrt{4}} = 0.001\%$$

(2)声路长误差:若用钢卷尺、测径仪或毫米尺测量每一声路上两换能器间的距离,例如 1.2 m 长的声路有 1.6 mm 误差,产生 0.13% 的流速误差。由声路长度测量误差引起的整个流量测量误差为

$$EL = \frac{0.0013}{\sqrt{4}} = 0.00065 = 0.065\%$$

(3)声路角误差:声路角的测量误差使用高精度的角度测量仪器,如经纬仪,其精度可达 $\pm 3.33 \times 10^{-3}$ rad,产生的流速误差小于 0.1%,在交叉声路中该误差通常可以忽略。

(4)半径测量误差:圆管的半径测量误差在流量中表现出来,用高精度的测量仪器在若干个位置测量其半径,然后将其平均以补偿管的不圆度。这样,半径的测量精度可达 0.1%。由半径引起的流量计算误差为

$$ER = 1 - \left[\frac{1}{1.001} \right]^2 = 0.002 = 0.2\%$$

(5)积分误差:用四声路积分,误差的典型值小于 0.1%。

计算总精度:系统精度定义为各个单项误差的均方根。因而,四声路流量测量系统的流量总误差为

$$E = \sqrt{0.001^2 + 0.065^2 + 0.2^2 + 0.1^2} \% = 0.23\%$$

其误差小于 0.25%。

6 结论

采用基于 FPGA 和锁相环路的多声路超声波流量测量系统,使得对超声波传播时间的测量精度可以达到 0.1 ns,从而使流量测量误差小于 0.25%,大大提高了流量的测量精度。

参考文献:

- [1] 王艳霞,傅星,胡小唐,等.一种高精度的超声波检测流量系统[J].压电与声光,2003,25(1):84—86
- [2] 杨媛,高勇,李福德,等.基于 CPLD 的超声波流量计系统的研制[J].仪器仪表学报,2001,22(6):583—587.

[上接第 70 页]

- [3] 宋慧婷,李淑芳.超临界流体技术在中药现代化生产中的研究进展[J].湖北大学学报(自然科学版),2003,25(3):237—242
- [4] 曾琦华,黄少烈.夹带剂在银杏叶超临界 CO₂ 萃取中的应用研究[J].广东药学,2001,11(6):7—10
- [5] 游海,陶秉莹,张立麒.超临界萃取法从银杏叶中提取黄酮类化合物、萜内酯的工艺研究[J].南昌大学学报

(工科版),2000,22(4):34—38

- [6] 高荫榆,游海,陈岑,等.蜂胶黄酮类化合物超临界萃取工艺研究[J].食品科学,2002,23(8):154—157.
- [7] 陈维枢.超临界流体萃取的原理和应用[M].北京:化学工业出版社,1998
- [8] 胡爱军.超声强化超临界流体萃取黄酮类化合物[D].广州:华南理工大学,2003.