

大豆异黄酮超临界流体萃取工艺与动力学模型^{*}

潘利华 罗建平

(合肥工业大学生物与食品工程学院, 合肥 230009)

【摘要】 通过单因素和 $L_9(3^4)$ 正交试验确定了超临界流体萃取大豆异黄酮最佳萃取条件为: CO_2 流量 8 L/h, 静萃取 120 min, 动萃取 60 min, 每克脱脂豆粕的乙醇用量 3 mL, 萃取温度 55℃, 萃取压力 30 MPa。借鉴固定床层吸附/脱附理论建立了萃取动力学模型, 并采用 BP 神经网络和试差法确定了模型参数 $k_L a$, 确定参数后的动力学模型较为精确地定量描述了萃取床层的溶质分布。

关键词: 超临界流体萃取 大豆异黄酮 工艺 染料木苷 萃取动力学模型 神经网络

中图分类号: TQ028 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-1298(2010)06-0137-05

Process and Kinetics of Supercritical Fluid Extraction for Soybean Isoflavones

Pan Lihua Luo Jianping

(School of Biotechnology and Food Engineering, Hefei University of Technology, Hefei 230009, China)

Abstract

The optimal conditions of supercritical fluid extraction were obtained as follows, CO_2 flow rate of 8 L/h, static extraction time of 120 min, dynamic extraction time of 60 min, entrainer ethanol dosage of 3 mL/g defatted soybean residues, extraction temperature of 55℃ and extraction pressure of 30 MPa, by single factor test and four factors and three levels orthogonal design method. The kinetic model of supercritical fluid extraction accurately described the distribution of isoflavone genistin in the extraction bed was developed based on adsorption and desorption theory. The model parameter $k_L a$ was determined by BP neural network and trial and error method.

Key words Supercritical fluid extraction, Soybean isoflavone, Process, Genistin, Dynamics model of extraction, Neural network

引言

大豆异黄酮是一类重要的生理活性物质, 大豆中其含量仅为 0.1% ~ 0.5%^[1], 因此提高大豆异黄酮的提取率非常重要。大豆异黄酮提取方法有油脂浸提^[2]、混合搅拌提取^[3]、有机溶剂或用含水混合浸泡提取^[4]、高压湿法提取^[5]等。这些方法存在品质低下, 溶剂消耗量或能耗过大, 效率低下等缺陷。超临界 CO_2 流体萃取技术是近年来分

离领域出现的新技术, 由于具有提取率高, 选择性好, 无溶剂残留, 能有效萃取热敏性及易氧化、易挥发物质等优点, 因而被广泛用于医药、食品、化工等许多领域。但迄今为止, 超临界 CO_2 流体萃取技术在大豆异黄酮提取方面的应用报道还不多见。本文以乙醇为夹带剂, 研究超临界 CO_2 流体萃取大豆异黄酮染料木苷的工艺和萃取动力学模型, 以期为大豆异黄酮的工业化生产提供必要参数。

收稿日期: 2009-03-23 修回日期: 2009-07-23

^{*} 安徽省自然科学基金资助项目(050410301)和安徽省青年教师资助计划项目(2006jp1022)

作者简介: 潘利华, 副教授, 主要从事农产品深加工研究, E-mail: panlihua612@yahoo.com.cn

通讯作者: 罗建平, 教授, 博士生导师, 主要从事食品生物化学研究, E-mail: jianpingluo@yahoo.com.cn

1 材料与方法

1.1 试剂与仪器

脱脂豆粕(山东禹王实业有限公司,其染料木苷含量为 827.6 $\mu\text{g/g}$),染料木苷(上海同田生化技术有限公司,色谱纯),高纯 CO_2 (合肥市光源气体科技有限公司),HA121-50-01 型超临界流体萃取设备(江苏南通华安仪器厂,萃取釜体积为 2 L,最高工作压力为 45 MPa)。

1.2 试验步骤

将脱脂豆粕粉末用夹带剂充分浸润后装入萃取釜,设定萃取釜和分离釜温度后,开启升压柱塞泵对萃取釜加压至设定压力,使 CO_2 与原料充分接触。一定时间后,开启分离釜前阀门使 CO_2 在管路中循环,动萃取时打开另一柱塞泵,使夹带剂自夹带剂罐流入萃取釜,萃取所得产品进入分离釜,卸压后收集。产品提取量以提取液中染料木苷总质量与所用脱脂豆粕质量的比值($\mu\text{g/g}$)计。

1.3 大豆异黄酮超临界萃取动力学模型

1.3.1 模型建立

处理过程中认为乙醇完全溶解于 CO_2 中,形成均一超临界流体相(流动相)。借鉴传统的固定床吸附/脱附理论,模型建立过程中假设:① 固定床层内温度、压力等操作参数分布均匀。② 固定床层内部豆粕粉末均匀填充,可采用恒定孔隙率。③ 萃取过程中流动相的流型为平推流。④ 忽略径向传质及径向萃取剂流速。根据假设,染料木苷在流动相中的浓度随时间和床层变化的质量守恒方程式为^[6-7]

$$\rho\varepsilon \frac{\partial y}{\partial t} + \rho u \frac{\partial y}{\partial z} - \rho\varepsilon D \frac{\partial^2 y}{\partial z^2} = J \quad (1)$$

假定入口 CO_2 气体中不含溶质,则方程初始条件、边界条件可以写为

$$y|_{z,t=0} = 0 \quad (2)$$

$$-\varepsilon D \left(\frac{\partial y}{\partial z} \right) \Big|_{z=0,t} + uy|_{z=0,t} = 0 \quad (3)$$

$$\left(\frac{\partial y}{\partial z} \right) \Big|_{z=L,t} = 0 \quad (4)$$

式中 y ——染料木苷在流动相中的含量

D ——固定床层轴向弥散系数

ε ——固定床层孔隙率

t ——萃取时间

L ——脱脂豆粕粉末填充高度

z ——固定床层轴向坐标

u ——流动相线性流速

ρ ——萃取剂密度

式(1)左边第一项为非稳态项,即溶质(染料木苷)浓度随时间的变化率,左边第二项为对流扩散引起的溶质浓度的变化,第三项则考虑轴向扩散; J 表示溶质流入流动相的通量。由于脱脂豆粕粉末粒径很小,因此忽略萃取过程中的内扩散影响,则溶质流入流动相的通量可以表示为

$$J = \rho k_L a (y^* - y) \quad (5)$$

式中 k_L ——液膜传质系数,即外扩散系数

a ——脱脂豆粕比表面积

y^* ——染料木苷理论总含量

1.3.2 模型求解

参照文献[7],一方面假定一定操作条件下 $k_L a$ 为定值,采用 BP 神经网络对不同超临界萃取操作条件下染料木苷的穿透曲线进行回归模拟,以获得相应条件下的穿透曲线表达式;另一方面采用试差法设定 $k_L a$ 值,利用标准 Runge-Kutta 法对式(1)进行差分数值求解,并求解出穿透曲线;最后比较两种方法获得的穿透曲线的偏差,对 $k_L a$ 进行修正,继续求解偏微分方程,直至由方程求解出的溶质穿透曲线与神经网络回归曲线的误差足够小为止。

1.4 分析方法

染料木苷的分析采用高效液相色谱(HPLC)法。HPLC 的检测条件为:德国 Merck 公司的 Purospher STAR C18 柱(4.6 mm $\times$ 250 mm, 5 μm),柱温 25 $^{\circ}\text{C}$,流动相是甲醇与水的体积比为 7:3 的溶液,进样量 20 μL ,流速 0.7 mL/min,检测波长 260 nm。

2 结果与分析

2.1 CO_2 流量的确定

图 1 为 CO_2 平均流量对脱脂豆粕中染料木苷提取量的影响。萃取过程中由于 CO_2 流量随时间波动,故采用平均体积流量表征。由图可以看出, CO_2 流量的变化对染料木苷的提取量影响不明显($P > 0.05$)。究其原因是染料木苷极性较强,在超临界 CO_2 中的溶解度并不大,因此 CO_2 流量的变化对染料木苷的提取量影响较小,后续试验 CO_2 流量选择 8 L/h。

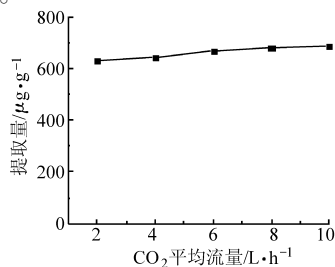


图 1 CO_2 流量对染料木苷提取量的影响

Fig. 1 Effect of CO_2 flow rate on the yield of genistin

2.2 萃取时间优化

图 2 为染料木苷提取量随静萃取时间的变化曲线。由图可见,当静萃取时间小于 180 min 时,染料木苷提取量随静萃取时间的延长而增多,但超过 180 min 后,继续增加静萃取时间对染料木苷最终提取量的影响并不显著。这表明在 180 min 时 CO₂ 和乙醇已能完全渗入脱脂豆粕粉末。在 120 ~ 180 min 的静萃取时间内,虽然提取量增加,但综合考虑能耗,在以后的萃取过程中,静萃取时间定为 120 min。

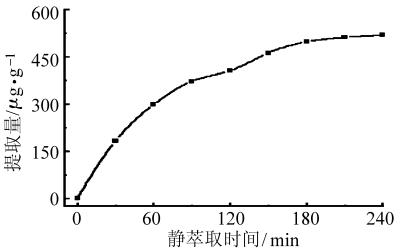


图 2 染料木苷提取量随静萃取时间的变化曲线
Fig. 2 Effect of static extraction time on the yield of genistin

图 3 为染料木苷提取量随动萃取时间的变化曲线。由图可知,萃取初期染料木苷提取量随动萃取的进行呈指数急增,到 60 min 时几乎已完成脱脂豆粕中 90% 染料木苷的萃取,到 90 min 时已基本观察不到再有产品萃出。从图还可知,通过夹带剂泵加入的乙醇流速增大时,染料木苷的萃出速率有所提高;但当乙醇流速低时,由于与脱脂豆粕粉末接触时间相对延长,有利于脱脂豆粕染料木苷总量的提高。为了获得尽可能大的染料木苷提取量,后续试验采用静萃取 120 min,动萃取 60 min。

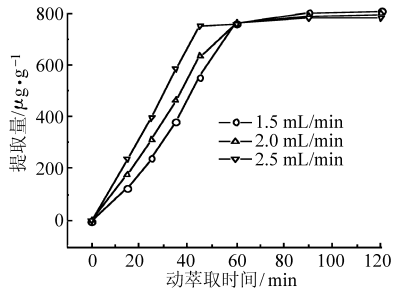


图 3 染料木苷提取量随动萃取时间的变化曲线
Fig. 3 Effect of dynamic extraction time on the yield of genistin

2.3 萃取釜条件优化

采用 L₉(3⁴) 正交试验对萃取釜的温度和压力,以及每克脱脂豆粕粉末的乙醇用量进行优化(表 1、表 2)。由表 2 可以看出,A₃B₂C₁(8 号)和 A₃B₃C₂(9 号)组合萃取率较高;极差分析表明各因素对染料木苷提取量的影响主次顺序为:夹带剂用量、萃取压力、萃取温度,最佳萃取组合为 A₃B₂C₂。因此,将

8 号、9 号和 A₃B₂C₂ 组合做重复试验,染料木苷提取量分别为 711.8 ± 27.2、794.5 ± 31.3 和 741.6 ± 20.1 μg/g,故选择 9 号为最佳萃取组合,即每克脱脂豆粕乙醇用量 3 mL、萃取温度 55℃,萃取压力 30 MPa。

表 1 正交试验因素水平
Tab.1 Factor and its level of orthogonal test

水平	因素			
	乙醇用量 A/mL·g ⁻¹	萃取温度 B/℃	萃取压力 C/MPa	空列 D
1	1.0	35	20	
2	2.0	45	30	
3	3.0	55	40	

表 2 试验方案及结果

Tab.2 Scheme and result of orthogonal experiment

试验号	A	B	C	D	染料木苷提取量 /μg·g ⁻¹
1	1	1	1	1	446.9
2	1	2	2	2	686.3
3	1	3	3	3	504.8
4	2	1	2	3	653.8
5	2	2	3	1	620.7
6	2	3	1	2	595.4
7	3	1	3	2	695.2
8	3	2	1	3	736.6
9	3	3	2	1	794.5
k ₁	546.0	598.6	592.9	620.7	T = 5 734.2
k ₂	563.3	681.2	711.5	659.0	
k ₃	742.1	631.6	606.9	631.7	
R	196.1	82.6	118.6	38.3	

2.4 超临界萃取异黄酮动力学参数的求取

2.4.1 床层孔隙率 ε

试验测得萃取釜中 100 g 脱脂豆粕原料床层体积约 205 mL,脱脂豆粕的密度为 1 150 kg/m³,床层孔隙率为

$$\varepsilon = \frac{V - \frac{m}{\rho}}{V} = \frac{205 - \frac{100}{1.15}}{205} = 0.576 \quad (6)$$

2.4.2 流动相线性流速 u

萃取过程 CO₂ 的平均流量为 8 L/h,萃取釜直径为 5 cm,计算得流动相线性流速为

$$u = \frac{Q}{S\varepsilon} = \frac{8 \times 10^{-3}}{\frac{\pi}{4} \times 0.05^2 \times 0.576} = 0.002 \text{ m/s} \quad (7)$$

2.4.3 轴向弥散系数 D

参考 Tan 等^[8]推荐使用的轴向弥散系数的关联式求取

$$D=0.085u^{0.914}d_p^{0.388}\rho_r^{0.725}\mu_r^{0.676}\tag{8}$$

式中 d_p ——平均颗粒直径,0.095 μm
 ρ_r,μ_r ——CO₂ 的对比密度和对比黏度,在操作条件下(35~65℃,15~45 MPa)其范围分别为 1.21~2.15 和 1.41~3.42^[9]

求得轴向弥散系数 D 为 $0.78\times10^{-6}\sim2.15\times10^{-6}\text{ m}^2/\text{s}$ 。

2.4.4 萃取剂密度 ρ

萃取剂(CO₂/乙醇)的密度用理想气体状态方程进行求取。

2.4.5 染料木苷溶解度计算

染料木苷在超临界 CO₂ 中的溶解度 y 采用萃取前 60 min 的萃取数据通过积分进行求取,若涉及试验组外操作条件下的溶解度,则采用空间二次插值进行求取,结果如表 3 所示。

表 3 染料木苷在超临界 CO₂ 中的溶解度
Tab.3 Solubility of genistin in CO₂/ethanol mobile phase

试验号	乙醇用量/mL	温度/℃	压力/MPa	染料木苷溶解度/g·g ⁻¹
1	100	35	20	3.44×10^{-7}
2	100	45	30	3.64×10^{-7}
3	100	55	40	2.07×10^{-7}
4	200	35	30	3.36×10^{-7}
5	200	45	40	2.47×10^{-7}
6	200	55	20	4.88×10^{-7}
7	300	35	40	2.68×10^{-7}
8	300	45	20	5.86×10^{-7}
9	300	55	30	4.34×10^{-7}
10	100	45	40	2.69×10^{-7}
11	200	55	30	3.43×10^{-7}
12	300	35	20	5.46×10^{-7}

2.4.6 k_La 估算

k_La 采用 Carberry 关联式估算

$$\frac{\varepsilon k_L}{u}S_c^{2/3}=1.15Re^{-0.5}\tag{9}$$

其中 $S_c=\frac{u}{\rho D_m}$ $Re=\frac{d_p u \rho}{\mu}$
式中 S_c ——Schmidt 数 Re ——Reynolds 数
 μ ——流动相黏度
 D_m ——溶质在流动相中的分子扩散系数
根据超临界流体性质,对相关参数估值如下:

$\mu=2\times10^{-5}\text{ Pa}\cdot\text{s}$, $\rho=950\text{ kg/m}^3$, $D_m=5\times10^{-8}\text{ m}^2/\text{s}$,已计算出 $\varepsilon=0.576$, $u=0.002\text{ m/s}$, $d_p=0.095\text{ }\mu\text{m}$,算得 $k_L=3.48\times10^{-3}\text{ m/s}$ 。

又颗粒比表面积为 $a=6/d_p=63.16\text{ m}^2/\text{m}^3$,故得总体积传质系数估算值 $k_La=0.2198\text{ s}^{-1}$ 。

2.5 穿透曲线模拟

2.5.1 BP 神经网络模拟穿透曲线

表 3 试验样本中的 3 组萃取动力学曲线如图 4 所示(图 4 对提取量进行了归一化处理,即将其表示为萃取出的染料木苷量 y 与染料木苷理论总含量 y^* 的比值)。参照固定床层萃取理论,将萃取动力学曲线写成萃取时间的显式表达式为

$$y=\frac{t}{At+B}\tag{10}$$

式中 A,B ——关联常数

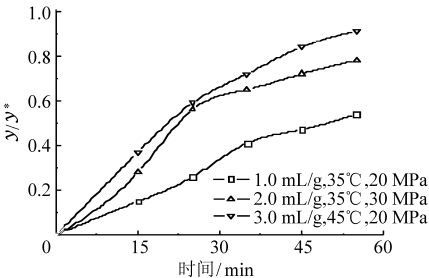


图 4 染料木苷萃取动力学曲线

Fig.4 Extraction kinetic curves of genistin

采用最小二乘法,得出图 4 中 3 组试验条件下萃取动力学曲线,关联常数以及任意选定的、未进行试验的 3 组操作条件下萃取动力学曲线的关联常数如表 4 所示。表 4 结果表明,相关性较好。

表 4 染料木苷萃取动力学曲线的关联常数

Tab.4 Correlation parameters of extraction kinetic curves for genistin

萃取条件			模型参数		相关系数 R
乙醇用量/mL	温度/℃	压力/MPa	A	B	
100	35	20	0.2912	83.3989	0.9948
200	35	30	0.6374	33.5743	0.9904
300	45	20	0.5339	30.2151	0.9976
150	40	35	0.3487	67.3133	0.9887
250	50	15	0.6016	33.6714	0.9906
300	55	30	0.7211	18.5897	0.9955

采用 BP 神经网络进行模拟,输入变量为萃取温度、萃取压力及夹带剂乙醇用量,输出变量为每一萃取不同时段(15、25、35、45 min)、归一化的染料木苷提取量,中间节点 6 个,对表 3 中前 9 组操作条件下的动力学曲线数据进行神经网络学习训练;用收

敛后的模型对剩余 3 组试验数据进行检测和其他操作条件下的萃取动力学曲线进行预测。学习误差和预测误差用平均绝对值相对误差 (average absolute relative deviations, 简称 AARD) 表示。模拟得到网络学习和预测时的误差值分别为 1.8% 和 3.7%。

2.5.2 试差法模拟穿透曲线

由式(1)知,给定体积传质系数 k_La 初值即可对之进行求解,通过与式(10)比较,对 k_La 进行反复试差,使得两种方法计算所得 k_La 的 AARD 在 10% 左右。模拟表 3 中前 3 种萃取条件下所得到的体积传质系数及误差如表 5 所示。

表 5 模型试差法拟合的体积传质系数
Tab.5 Fitted volume transfer coefficient (k_La)
by trial and error method

萃取条件			$k_La/$	AARD/
乙醇用量/mL	温度/℃	压力/MPa	s^{-1}	%
100	35	20	0.198 9	9.5
200	35	30	0.199 8	9.1
300	45	20	0.200 7	8.7

2.6 固定床层染料木苷的分布

求解式(1)以获得溶质在任意时刻 t 、任一床层位置 z (一维,床层高度方向)处的分布。图 5 是表 5 中第一组操作条件下染料木苷的床层分布曲线。由图 5 可知,在萃取的前 15 min 内,大豆异黄酮在萃取床层顶端即已达到饱和,且在床层进口处

分布较少,表明大豆异黄酮在流动相中能很好地溶解;随着时间的推移,进口处溶质浓度快速降低,表明溶质在流动相作用下快速向顶端聚集,并流入分离釜。结果与常规固定床层洗脱过程中的床层浓度变化规律一致^[10]。

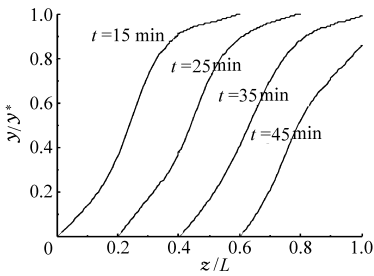


图 5 不同时间固定床层染料木苷的分布曲线
Fig.5 Concentration curves of solute in fixed extraction bed at different time

3 结束语

以乙醇为夹带剂能较好地实现脱脂豆粕中染料木苷的超临界萃取,优化的工艺为:CO₂ 流量 8 L/h,静萃取 120 min、动萃取 60 min、每克脱脂豆粕乙醇用量 3 mL、萃取温度 55℃、萃取压力 30 MPa;此条件下染料木苷的萃取量为 794.5 μg/g。根据固定床层吸附/脱附理论,采用 BP 神经网络和试差法能够实现对萃取偏微分方程的求解和试验条件下超临界萃取动力学曲线的拟合,建立染料木苷超临界流体萃取动力学模型。

参 考 文 献

1 Watanabe S. Pharmacokinetics of soybeans in plasma, urine and feces of men after ingestion of baked soybean powder (kinako)[J]. The Journal of Nutrition, 1998, 128(10):1710~1715.

2 Chang L H, Cheng Y C, Chang C M. Extracting and purifying isoflavones from defatted soybean flakes using superheated water at elevated pressures[J]. Food Chemistry, 2004, 84(2):279~285.

3 Grun I U, Adhikari K, Li C, et al. Changes in the profile of genistein, daidzein, and their conjugates during thermal processing of tofu[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2001, 49(6):2839~2843.

4 Murphy P A, Barua K, Hauck C C. Solvent extraction selection in the determination of isoflavones in soy foods[J]. Journal of Chromatography B, 2002, 777(1~2):129~138.

5 Rostagno M A, Palma M, Barroso C G. Pressurized liquid extraction of isoflavones from soybeans[J]. Analytica Chimica Acta, 2004, 522(2):169~177.

6 Fullana M, Trabelsi F, Recasens F. Use of neural net computing for statistical and kinetic modelling and simulation of supercritical fluid extractors[J]. Chemical Engineering Science, 1999, 54(24):5845~5862.

7 未作君,刘迎新,倪晋仁. 超临界二氧化碳流体萃取大豆异黄酮动力学模型[J]. 化工学报, 2006, 57(3):582~589.

Wei Zuojun, Liu Yingxin, Ni Jinren. A kinetic model of *Rhubarb* anthraquinones extraction by supercritical CO₂ fluid[J]. Journal of Chemical Industry and Engineering, 2006, 57(3):582~589. (in Chinese)

8 Tan C S, Liou D C. Axial dispersion of supercritical carbon dioxide in packed beds[J]. Industrial and Engineering of Chemical Research, 1989, 28(8):1246~1250.

9 Bruno T J, Svoronos P N. Handbook of basic tables for chemical analysis [M]. 2nd edition. New York: CRC Press, 2004.

10 孙彦. 生物分离工程[M]. 北京:化学工业出版社, 1998.