

诃子总多酚恒温超声辅助提取与过程动力学研究^{*}

江慎华^{1,2} 刘梦莹¹ 杜余辉¹ 沈勇根^{1,2} 廖亮¹ 马海乐³

(1. 九江学院药学与生命科学学院, 九江 332000; 2. 江西省天然产物与功能食品重点实验室, 南昌 330045;

3. 江苏大学食品与生物工程学院, 镇江 212013)

摘要: 采用三频恒温数控超声辅助提取技术优化了诃子总多酚提取工艺; 通过比较试验和扫描电镜分析了该技术高效提取的原因; 从 Fick 第一定律出发建立了诃子总多酚扩散动力学方程, 并进行了验证。结果表明, 恒温超声提取诃子总多酚最佳工艺条件为: 乙醇体积分数 60%、超声频率 80 kHz、超声功率 180 W、提取温度 70℃; 该工艺提取效率显著高于水浴振荡提取工艺 ($P < 0.001$); 扫描电镜观察发现, 恒温超声提取技术对原料粉末微观结构破坏更严重。结合 Fick 第一定律及超声提取动力学推导了恒温超声辅助提取诃子总多酚动力学方程; 验证试验表明, 在相应的范围内, 提取时间对数和提取功率对数均与诃子总多酚浓度对数呈正比关系。结果表明: 恒温超声辅助技术可用于诃子总多酚高效提取。

关键词: 诃子 总多酚 恒温超声辅助提取 动力学 扫描电镜

中图分类号: TS201.1 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-1298(2015)02-0213-09

Extraction Technology and Dynamics of Total Polyphenols from *Terminalia chebula* Retz. Based on Ultrasound Assisted Extraction with Constant Temperature

Jiang Shenhua^{1,2} Liu Mengying¹ Du Yuhui¹ Shen Yonggen^{1,2} Liao Liang¹ Ma Haile³

(1. School of Pharmacy and Life Science, Jiujiang University, Jiujiang 332000, China

2. Jiangxi Key Laboratory of Natural Products and Functional Foods, Nanchang 330045, China

3. School of Food and Biological Engineering, Jiangsu University, Zhenjiang 212013, China)

Abstract: In order to optimize the extraction of total polyphenols from *Terminalia chebula* Retz. (TCR), the extraction technology of total polyphenols from TCR were optimized by using ultrasound assisted extraction with constant temperature and three-frequency (UAE-CT & TF). The reasons for high efficiency of this extraction technology were analyzed by comparative experiments and scanning electron microscope (SEM). The dynamic equation of diffusion for the total polyphenols was determined and verified based on the first Fick theory. Results showed that the optimal parameters of extracting technology were as follows, the concentration of ethanol was 60%, ultrasound frequency was 80 kHz, ultrasound power was 180 W and extracting temperature was 70℃. The extraction efficiency of UAE-CT & TF dramatically exceeded that of water bath oscillator extraction (WBE) ($P < 0.001$). The microcosmic structures of powders of raw material after being extracted by UAE-CT & TF were seriously destroyed from the analysis of SEM. The dynamic equation of diffusion for the total polyphenols extraction of TCR was determined based on the first Fick theory and ultrasound extraction dynamics. The verification experiment showed the logarithms of extraction time and power were all positively proportional to the concentrations of TCR total polyphenols. The technology of UAE-CT & TF was proved as a technology with high efficiency for extracting TCR total polyphenols.

收稿日期: 2014-10-20 修回日期: 2014-11-24

^{*} 国家自然科学基金资助项目(31360371)、九江市科技支撑计划资助项目(201438)、江西省自然科学基金资助项目(20132BAB204030)、江西省科技支撑计划资助项目(20123BBF60150)、江苏省农产品物理加工重点实验室开放课题资助项目(JAPP2010-5)和江西省天然产物与功能食品重点实验室开放基金资助项目

作者简介: 江慎华, 副教授, 主要从事天然产物开发研究, E-mail: jiangshenhua66@163.com

通讯作者: 沈勇根, 教授, 主要从事天然产物开发研究, E-mail: foodsp@163.com

Key words: *Terminalia chebula* Retz. Total polyphenol Ultrasound assisted extraction with constant temperature Dynamics Scanning electron microscope

引言

诃子果实中鞣质和多元酚类含量丰富,占干重 23.60%~37.36%^[1]。诃子多酚具有收敛止泻、抑制肠蠕动、抗炎性渗出等多种疗效^[2]。

超声提取被广泛应用于中草药有效成分的提取^[3]。其中,频率和强度是影响超声提取效率的主要参数^[4-5]。频率高低与超声波强弱直接相关、可能影响其空穴作用、改变其阈值,进而影响提取效率。因超声热效应作用,使得提取过程中溶液温度无法稳定,会随时间延长而上升,从而使提取温度失真并有可能引起其他效应,进而影响提取效果^[6]。目前有学者采用超声辅助技术对诃子总多酚提取工艺进行了研究^[7]。但是,超声频率对诃子总多酚提取效率的影响未见相关报道。同时,普通超声波设备在提取过程中温度无法稳定,常处于缓慢上升过程,因其提取过程中温度失真而导致无法真实反映超声提取效果。

研究超声辅助提取中草药有效成分的动力学模型,可完善和发展其浸提机理,为工艺优化提供可靠的实验依据和理论指导。在超声辅助提取过程中,中草药有效成分的传质动力学符合 Fick 第一定律。李有润等^[8]、Hou 等^[9]、储茂泉等^[10]在前人研究基础上以传质理论为基础,得到了适用于当归、丹参等药用植物的提取动力学模型。然而超声提取诃子多酚类化合物动力学模型未见相关报道。

扫描电镜工作原理是,经过一系列处理使电子与样品相互作用产生电信号,经放大后能对物质微观层次和结构进行成像分析与表征^[11-14]。超声辅助提取技术在诃子总多酚提取过程中具有较好的优势,利用扫描电镜技术可观察其对原料粉末内部微观结构改变的影响及解释高效提取的原因。

本文采用三频恒温数控超声波提取设备,通过仪器本身的制冷作用控制温度稳定,同时改变频率,在此前提下优化诃子总多酚超声提取工艺;将该工艺与传统提取工艺进行比较;采用扫描电镜对高效原因进行分析;并结合 Fick 第一定律和超声提取动力学模型,确定恒温超声辅助提取诃子总多酚动力学模型,为诃子资源深度开发提供依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

诃子,产地广西,购自湖南松龄堂中药饮片有限

公司。药材买回后立即粉碎、过 60 目筛后置冰箱中备用。其余化学试剂均为国产分析纯或优级纯。

1.2 主要仪器设备

KQ-300GVDV 型三频恒温数控超声波清洗器,昆山市超声仪器有限公司;UNIC 7200 型可见分光光度计,尤尼柯(上海)仪器有限公司;VEGA(Ⅱ)LSU 型扫描电子显微镜,捷克泰思肯(TESCAN)公司;DFY-300 型摇摆式高速万能粉碎机,温岭市林大机械有限公司;101-1AB 型电热鼓风干燥箱,天津市泰斯特仪器有限公司;SHA-B 型恒温振荡器,常州国华电器有限公司;XW-80A 型漩涡混合器,上海青浦沪西仪器厂;DL-5C 型离心机,上海安亭科学仪器厂。

1.3 试验方法

1.3.1 总多酚含量的测定

采用江慎华等^[15-16]的方法,具体步骤如下。
采用蒸馏水将 Folin 试剂原液稀释 10 倍,取稀释后的 Folin 试剂 2.25 mL 加入到 0.5 mL 样液中,然后加入 2.25 mL 6% 无水碳酸钠溶液,振荡均匀,35℃ 水浴中静置 90 min 后于波长 765 nm 处读数。将没食子酸配成质量浓度为 0、3.125、6.25、12.5、25、50、100、150 μg/mL 8 个样液制作标准曲线,获得回归方程

$$y = 0.013\,4x + 0.033\,2 \quad (r = 0.998\,1)$$

诃子总多酚得率计算公式为

$$Y = \frac{X_1 X_2 X_3}{X_4}$$

式中 Y——总多酚质量比,即诃子粉末总多酚提取得率,g/g

X₁——总多酚质量浓度,g/mL

X₂——稀释倍数

X₃——提取液最后定容体积,mL

X₄——提取前诃子粉末质量,g

1.3.2 单因素试验

参照江慎华等^[17]、贝玉祥等^[7]的方法提取,略作改进,具体步骤如下。

称取 5.000 g 诃子粉末于 150 mL 具塞锥形瓶中,进行单因素试验(表 1)。每次提取后离心,上清液合并、定容成统一体积,稀释 200 倍后测定总多酚含量,共提取 3 次。其中,液料比指提取溶剂体积(mL)与诃子粉质量(g)的比值。

1.3.3 正交试验

以单因素试验结果为参考,设计四因素三水平

表 1 恒温超声辅助提取诃子总多酚单因素试验

Tab.1 Univariate experiments of UAECT for extracting polyphenols from TCR		
提取因素	因素水平	总多酚提取条件
提取时间/min	3、5、7、9、11、13、15	20 mL/g 液料比、60% 乙醇、超声功率 240 W、超声频率 45 kHz、超声温度 60℃
超声频率/kHz	45、80、100	20 mL/g 液料比、60% 乙醇、超声功率 240 W、提取时间 9 min、超声温度 60℃
超声功率/W	120、150、180、210、240、270、300	20 mL/g 液料比、60% 乙醇、超声频率 45 kHz、提取时间 9 min、超声温度 60℃
超声温度/℃	40、45、50、55、60、65、70、75、80	20 mL/g 液料比、60% 乙醇、超声功率 210 W、提取时间 9 min、超声频率 45 kHz
液料比/(mL·g ⁻¹)	15、20、25、30、35、40	60% 乙醇、超声功率 210 W、提取时间 9 min、超声频率 45 kHz、超声温度 70℃
乙醇体积分数/%	30、40、50、60、70、80、90	20 mL/g 液料比、超声功率 210 W、提取时间 9 min、超声频率 45 kHz、超声温度 70℃

(L₉(3⁴)) 正交试验,其因素水平如表 2 所示,以总多酚含量衡量提取效率。

表 2 恒温超声辅助提取诃子总多酚正交试验因素水平

Tab.2 Orthogonal experiments of UAECT for extracting polyphenols from TCR				
水平	乙醇体积 分数/%	超声频率/ kHz	超声功率/ W	提取温度/ ℃
1	50	45	180	65
2	60	80	210	70
3	70	100	240	75

1.3.4 与水浴振荡优化工艺提取效率的比较

为了衡量恒温超声提取效率,本文将该工艺与实验室前期确定的水浴振荡最佳提取工艺^[17]进行比较,具体参数设置如表 3 所示。

表 3 恒温超声优化工艺与水浴优化工艺提取效率比较参数设置

Tab.3 Parameters of optimization of UAECT and WBE for comparing extraction efficiency	
提取方法	诃子总多酚提取条件
超声优化提取	提取时间 9 min、液料比 20 mL/g、乙醇体积分数 60%、超声功率 210 W、超声频率 80 kHz、超声温度 70℃、提取次数 3 次
水浴振荡提取	提取时间 7 min、液料比 20 mL/g、乙醇体积分数 50%、水浴温度 70℃、提取次数 4 次

1.3.5 不同提取方式对样品微观结构的影响

将超声提取和水浴振荡提取前、后的样品粉末 60℃干燥后过 60 目筛。取筛选后少量诃子粉末在离子溅射仪中完成真空喷镀后进行扫描电子显微镜分析。

1.3.6 动力学过程建模及模型验证

1.3.6.1 动力学模型的建立

药用植物有效成分的提取是一个复杂的物质扩散传质过程,需要探寻影响溶质转移的关键因素及内部机制,以改善药用植物提取工艺和提取效率。在中草药普通浸提过程中,药用植物溶质浸提于固液两相之中,其提取实质是有效成分的传质过程^[18],可根据 Fick 第一定律描述有效成分从固相

到溶剂的扩散速率。

由 Fick 第一扩散定律可得

$$\frac{dn}{dt} = -DS\frac{dC}{dx}$$

(1)

式中 n ——诃子总多酚物质的量
 D ——扩散系数 S ——固液界面积
 $\frac{dC}{dx}$ ——浓度梯度 t ——提取时间

在普通水提法中, D 为分子扩散。当引入超声辅助提取技术后, D 则应包括分子扩散和因超声振荡引起的涡流扩散两部分^[19-20],可以得到

$$D = D_m + D_e$$

(2)

其中 $D_m = K \exp \left(-\frac{E}{RT} \right) C^q$

(3)

$$D_e = k_3 (k_1 T + k_2 P) D_m$$

(4)

式中 D_m ——浓度与温度的函数,与非溶性药物的扩散过程类似^[21]

K ——影响因素系数,主要与提取温度、药材颗粒大小、搅拌因素以及溶质总扩散系数有关

E ——扩散活化能,仅与扩散体系有关

T ——温度 C ——浓度

R ——摩尔气体常数 q ——参数

D_e ——涡流扩散系数,与溶液的湍动程度有关^[22-23]

P ——超声功率

$k_1、k_2、k_3$ ——温度、功率及二者相互作用对扩散系数的影响系数

将式(3)、(4)代入式(2)化简得到

$$D = Ke^{-E/(RT)} C^q [1 + k_3 (k_1 T + k_2 P)]$$

(5)

超声提取的主要作用是增加了固液接触面,加速了内层细胞内容物的浸提扩散面,根据前人研究结果^[24],对式(1)中的 S 作出修正,即

$$S = S_0 B t$$

(6)

其中 $B = \mu P$

式中 S_0 ——提取前扩散面积
 μ ——与药材颗粒形状相关的系数
设诃子粉粒数目为 w ,颗粒粒度为 σ ,药材干质

量为 G , 密度为 ρ , 则

$$S_0 = kw\sigma^2 \quad (7)$$

$$G = k'w\rho\sigma^3 \quad (8)$$

式中 k, k' ——比例常数, 与药材颗粒的形状等因素有关

由式(7)与式(8)得

$$S_0 = \frac{JG}{\sigma} \quad (9)$$

其中

$$J = \frac{k}{k'}\rho$$

若不计因蒸发而引起的溶剂损失, 此时溶剂的液料比为 M , F 是干药材的吸溶率, 为诃子粉充分润湿时所需的溶剂体积与质量之比, 对于给定的干药材, F 为一个确定值。则液料比 M 计算公式为

$$M = \frac{V}{G} + F \quad (10)$$

式中 V ——药液体积

将式(5)、(6)、(9)、(10)代入式(1)中, 化简积分得

$$C = \left\{ \frac{\alpha K \mu P [k_3(k_1 T + k_2 P) + 1]}{\sigma(M - R)} t^\beta \right\}^{\frac{1}{1-q}} \quad (11)$$

$$\text{其中 } \alpha = \frac{ak(1-q)e^{-\frac{k}{RT}}}{k'\beta} \quad \beta = 2 + b$$

式中 a, b ——参数, $a > 0$, $-1 < b < 0$

式(11)即为超声辅助提取动力学模型, 此模型适用于超声辅助提取诃子总多酚动力学过程的研究, 其与于云虎等^[25]研究成果十分吻合。

1.3.6.2 动力学模型验证

为了验证上述提出的超声辅助提取动力学模型, 对式(11)分析可以得到药用植物超声提取浓度 C 与提取时间 t 和超声功率 P 相关。选用诃子作为试验原料, 设计相关试验探究有效成分浓度和时间及功率的关系, 验证实际超声辅助提取诃子总多酚动力学过程与理论推导出的动力学模型是否相符。

(1) 提取液总多酚质量浓度与超声时间之间相关性验证试验

超声功率一定时, 可令 $\gamma = k_0 \mu P [1 + k_3(k_1 T + k_2 P)]$, 当只有超声提取时间变化而其他提取条件均不变时, 可对式(11)两边同时取对数得

$$\ln C = \lambda + \varphi \ln t \quad (12)$$

其中

$$\lambda = \frac{1}{1-q} \ln \frac{\alpha \gamma}{\sigma(M - R)} \quad \varphi = \frac{\beta}{1-q}$$

λ, φ 均为常数。

控制超声时间为 3、5、7、9、11 min, 控制超声功率为一定值, 在液料比 20 mL/g、乙醇体积分数 60%、超声温度 70℃ 和超声频率 45 kHz 条件下测得提取液中总多酚质量浓度(g/L), 按照以上相同条件分

别对超声功率 0、150、210 和 270 W 进行 4 次验证。

(2) 提取液总多酚质量浓度与超声功率之间相关性验证试验

当涡流扩散可被忽略不计, 在超声提取功率变化而其他提取条件均不变时, $k_3(k_1 T + k_2 P) = 0$, 动力学方程式(11)可变换为^[23]

$$C = \left[\frac{\alpha k_0 \mu P t^\beta}{\sigma(M - R)} \right]^{\frac{1}{1-q}} \quad (13)$$

对式(13)两边同时取对数得到

$$\ln C = \varphi \ln P + \omega \quad (14)$$

$$\text{其中 } \omega = \frac{1}{1-q} \ln \frac{\alpha k_0 \mu P t^\beta}{\sigma(M - R)} \quad \varphi = \frac{1}{1-q}$$

控制超声功率为 120、150、180、210、240、270、300 W, 控制超声时间为一定值, 在液料比 20 mL/g、乙醇体积分数 60%、超声温度 70℃、超声频率 45 kHz 条件下测得提取液中总多酚质量浓度(g/L)。按照以上相同条件分别对超声时间 3、5、7 min 进行 3 次验证。

所有测定均 3 次重复, 结果以平均值 $\pm$ 标准差表示。

2 结果与分析

2.1 单因素试验

(1) 恒温超声辅助提取时间单因素试验结果如图 1 所示。从该图可以看出, 前阶段诃子总多酚质量比随提取时间的延长而升高, 当提取时间达到 9 min 时质量比达到最大值, 此后随着提取时间的延长总多酚质量比逐渐减少。可能是随着加热时间延长导致提取出的一些热敏性成分转化降解所致^[6]。故选定提取时间 7、9 和 11 min 做正交试验。

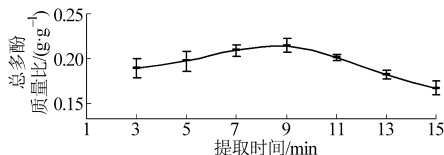


图 1 恒温超声辅助提取时间单因素试验结果

Fig. 1 Results of extraction time experiment by UAECT

(2) 恒温超声辅助提取频率单因素试验结果如图 2 所示。由该图可见, 随着超声频率增大提取液总多酚质量比逐渐降低。超声波频率与波长成反比, 随着频率增加, 其波长随之减小, 造成声波在传播过程中衰减加快, 进而影响到对细胞的破碎效率。同时, 频率升高将导致空化作用的阈值升高, 导致空化效果减弱^[26-27]。基于以上原因, 造成总多酚质量比随频率升高而下降。

(3) 恒温超声辅助提取功率单因素试验结果如图 3 所示。可以看出, 在超声功率 120 ~ 210 W 范围

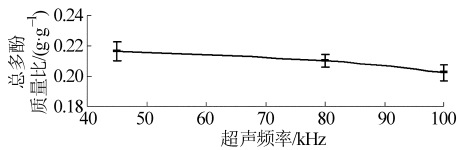


图 2 恒温超声辅助提取频率单因素试验结果

Fig. 2 Results of ultrasonic frequency experiment by UAECT

内,提取液总多酚质量比随着超声功率的增大逐渐增大。当提取功率大于 210 W 以后,总多酚质量比随着时间的增加反而逐渐降低。因超声波的空化效应和机械作用有效破坏植物细胞壁,有效成分游离进入提取溶剂,使一定范围内随超声功率升高而促进总多酚溶出。而当功率过高时,造成温度过高又促使某些总多酚分解^[26]。同时,功率越高其声强也越高,声强越高产生的空泡越多,空泡越多反射声波越多,使能量传递效率降低,影响总多酚提取率^[6]。故本试验选定提取功率 180、210 和 240 W 做正交试验。

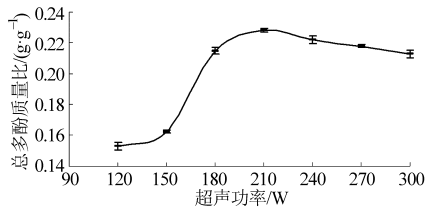


图 3 恒温超声辅助提取功率单因素试验结果

Fig. 3 Results of ultrasonic power experiment by UAECT

(4)恒温超声辅助提取温度单因素试验结果如图 4 所示。在 40 ~ 70℃ 温度范围内,总多酚质量比随超声温度升高而逐渐上升,70℃ 达最高,当超过 70℃ 后反而下降。其原因可能是,在低温时,超声波未能将细胞彻底破碎。随着温度升高,分子热运动加速,进一步破碎细胞结构,从而使总多酚充分溶出^[28]。但是,随温度继续增加,接近溶剂的沸点,造成溶剂气化而减少了固-液间的有效接触面积,提取速率反而下降。此外,高温容易加速热不稳定活性物质降解^[29]。故选定 65、70 和 75℃ 做正交试验。

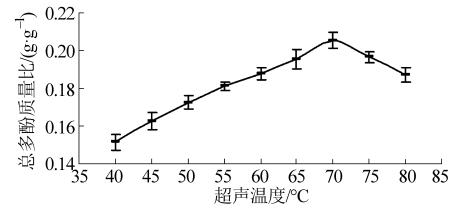


图 4 恒温超声辅助提取温度单因素试验结果

Fig. 4 Results of ultrasonic temperature experiment by UAECT

(5)恒温超声辅助提取液料比单因素试验结果如图 5 所示。随着提取液料比增大,总多酚质量比逐渐增加,当液料比达到 20 mL/g 后,总多酚质量比变化不大。这是因为液料比增大时,浸提剂乙醇可

以与诃子粉充分接触,使总多酚容易溶出。但是当液料比超过一定范围时,溶液中多酚含量接近饱和,同时也会导致其他杂质溶出较多,与总多酚形成竞争性抑制,从而影响总多酚继续溶出^[30]。因此,综合考虑生产成本和后续处理,正交试验选定液料比 20 mL/g 为固定参数。

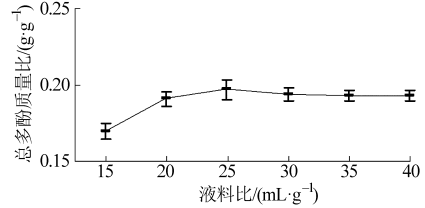


图 5 恒温超声辅助提取液料比单因素试验结果

Fig. 5 Results of solvent to solid ratio experiment by UAECT

(6)恒温超声辅助提取乙醇体积分数单因素试验结果如图 6 所示。由该图可以看出,在 30% ~ 60% 的体积分数范围内,总多酚质量比随着乙醇体积分数的增大而快速上升,60% 时达最大,在 70% ~ 80% 范围内反而下降较快。植物体内的部分多酚以游离的形式存在于液泡中,部分与蛋白质、多糖通过氢键或疏水键以结合的形式存在于细胞壁中。而乙醇体积分数过高会使蛋白质变性,降低与之结合的总多酚溶出效果^[31-32]。同时导致溶剂挥发增大,一些醇溶性杂质溶出增加,而干扰与之结合的总多酚溶出,造成总多酚质量比下降^[33]。故选定 50%、60% 和 70% 乙醇做正交试验。

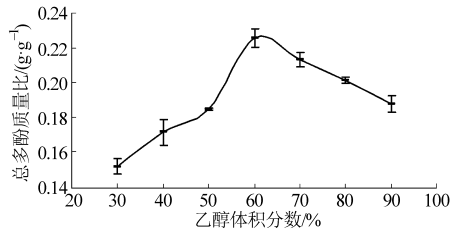


图 6 超声辅助提乙醇体积分数单因素试验结果

Fig. 6 Results of ethanol concentration experiment by UAECT

2.2 恒温超声辅助提取诃子总多酚正交试验结果

根据上述单因素试验结果确定的四因素三水平正交试验结果如表 4 所示, $X_1 \sim X_4$ 分别表示乙醇体积分数、超声频率、超声功率与超声温度的水平值。由该表可以看出,影响超声辅助提取诃子总多酚含量的因素从大到小排序依次为:乙醇体积分数、超声频率、超声功率、超声温度,最佳提取工艺为:乙醇体积分数 60%、超声频率 80 kHz、超声功率 180 W、超声温度 70℃。由方差分析表 5 可见,排在前面的两个因素(乙醇浓度和超声频率)对提取结果均产生显著性影响($P < 0.01$)。

表 4 恒温超声辅助提取诃子总多酚正交试验结果

Tab.4 Orthogonal experiments for extracting polyphenols from TCR by UAECT

试验编号	X_1	X_2	X_3	X_4	总多酚质量比/ ($\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$)
1	1	1	1	1	$0.230\pm0.002\ 3$
2	1	2	2	2	$0.237\pm0.005\ 1$
3	1	3	3	3	$0.224\pm0.002\ 6$
4	2	1	2	3	$0.236\pm0.001\ 0$
5	2	2	3	1	$0.241\pm0.006\ 3$
6	2	3	1	2	$0.241\pm0.000\ 9$
7	3	1	3	2	$0.235\pm0.001\ 4$
8	3	2	1	3	$0.242\pm0.002\ 6$
9	3	3	2	1	$0.236\pm0.007\ 2$
k'_1	0.230 3	0.233 7	0.237 7	0.235 7	
k'_2	0.239 3	0.240 0	0.236 3	0.237 7	
k'_3	0.237 7	0.233 7	0.233 3	0.23 4	
极差 R'	0.009 0	0.006 3	0.004 4	0.003 7	
因素主次	$X_1、X_2、X_3、X_4$				

表 5 恒温超声辅助提取诃子总多酚正交试验方差分析

Tab.5 Analysis of orthogonal experiments

因素	偏差平方和	自由度	F 比	$F_{0.05}$	$F_{0.01}$	显著性
X_1	0	2	12.491	3.55	6.01	**
X_2	0	2	8.383	3.55	6.01	**
X_3	5.78×10^{-5}	2	1.870	3.55	6.01	
X_4	9.70×10^{-5}	2	3.137	3.55	6.01	
误差	0	18				

** 相应因素对结果具有极显著性影响 ($P<0.01$)。

选取超声辅助提取最佳工艺 (60%、80 kHz、180 W、70℃) 与正交试验中总多酚质量比最高组 (70%、80 kHz、180 W、75℃) 进行验证试验,结果分别为 (0.266 ± 0.002) g/g 与 (0.222 ± 0.004) g/g。正交最佳工艺提取液总多酚含量极显著性高于正交表中总多酚含量最高组 ($P<0.001$)。由此证明该最优提取工艺较为可靠,可以考虑作为后续扩大提取工艺的提取条件。

2.3 恒温超声辅助与水浴振荡提取效率的比较

为了评价超声辅助提取效率,将本文最佳提取

工艺与实验室前期确定的水浴振荡提取最佳工艺^[17]进行了比较,结果如图 7 所示。由图 7 可知,恒温超声辅助最佳工艺所得提取液总多酚质量比及 FRAP 值均显著高于水浴振荡最佳工艺提取液 ($P<0.001$),水浴振荡提取液总多酚含量和 FRAP 值分别仅为超声提取液的 92.59% 及 94.20%。对比结果说明恒温超声辅助提取法优于传统水浴振荡提取方法。

2.4 扫描电镜样品微观结构分析

为了进一步分析超声优化提取高效的原因,本文将提取前原料、超声优化提取与水浴振荡提取后所得诃子粉末的微观结构进行了观察和分析,其结果如图 8 所示。由图 8 可知,未经过提取处理的诃子粉末其组织表面光滑、平整、结构致密完整。经过超声优化提取 9 min 与水浴振荡提取 7 min 后,其组织内部结构变得松散,并均有不同程度破坏。但是,经过超声优化提取 9 min,诃子组织破损严重,细胞无法识别,微观结构遭到更严重破坏。其中主要原因可能是超声波产生的机械粉碎、搅拌和撞击导致细胞壁破裂,改变了材料内部结构,而其空化作用增加了传质速率,进而使有效成分提取率增加^[34-35]。在空穴作用中,溶液中不同成核位置产生气泡,并随声波增强而增多,空穴作用导致温度和压强大幅度升高,使泡沫崩解,产生猛烈的冲击波,加强了溶剂系统内的传质过程。随后,超声波扩散通过细胞壁,细胞壁一旦破碎,细胞内容物迅速溶出^[36]。刘常金等^[34]研究超声-微波协同提取丁香抗氧化活性研究超声循环提取和水浴振荡提取茹笋多糖物质时,也从扫描电镜图像中观察到类似结果。

2.5 动力学过程验证试验结果

为了验证该方程中有效成分质量浓度对数值分别与功率对数值或时间对数值在实际试验中是否成线性关系,以证明该动力学方程的合理性,本文进行了如下验证试验。

(1)测得在固定功率条件下不同提取时间所得提取液总多酚质量浓度,结果如表 6 所示。

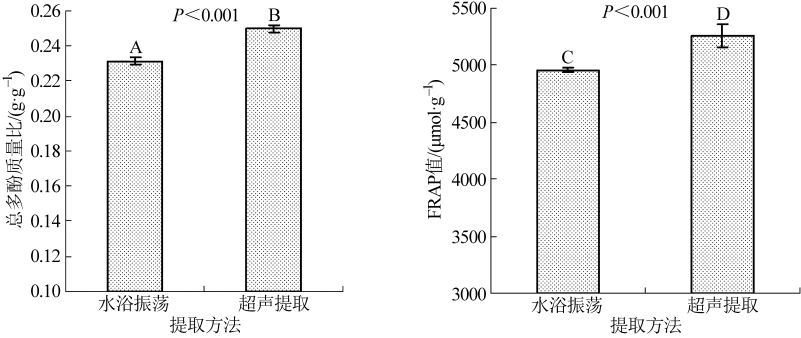


图 7 恒温超声辅助提取、水浴振荡最佳工艺提取效率的比较

Fig.7 Extraction efficiency comparison between UAECT and WBE

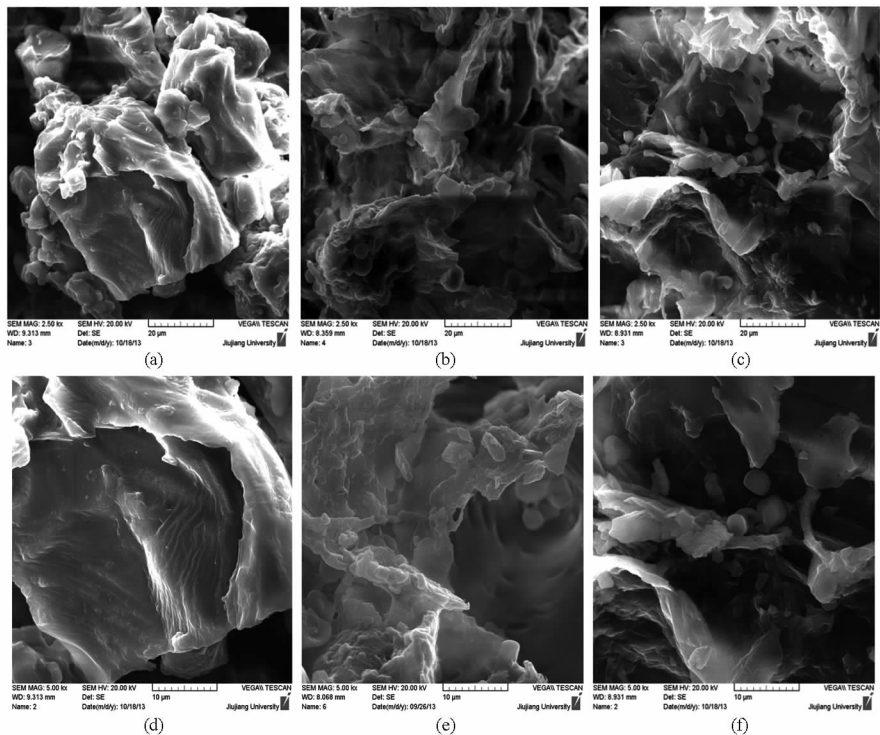


图 8 诃子粉末的扫描电镜照片

Fig. 8 Scanning electron microscope pictures of TCR

(a) 提取前 (2.5 kx) (b) 超声提取后 (2.5 kx) (c) 水浴提取后 (2.5 kx)
(d) 提取前 (5.0 kx) (e) 超声提取后 (5.0 kx) (f) 水浴提取后 (5.0 kx)

表 6 在固定超声功率条件下不同提取时间所得提取液总多酚质量浓度

超声功率/W	提取时间/min				
	3	5	7	9	11
0	3.710 ± 0.071	4.003 ± 0.038	4.257 ± 0.046	4.491 ± 0.068	4.372 ± 0.060
150	4.172 ± 0.058	4.496 ± 0.067	4.740 ± 0.023	4.904 ± 0.096	4.859 ± 0.023
210	5.437 ± 0.048	5.646 ± 0.062	5.869 ± 0.048	6.193 ± 0.030	6.103 ± 0.045
270	5.143 ± 0.038	5.362 ± 0.069	5.586 ± 0.057	5.830 ± 0.096	5.695 ± 0.031

对表 6 中的数据进行处理,绘制总多酚质量浓度对数($\ln C$)与超声提取时间对数($\ln t$)之间的关系图如图 9 所示。

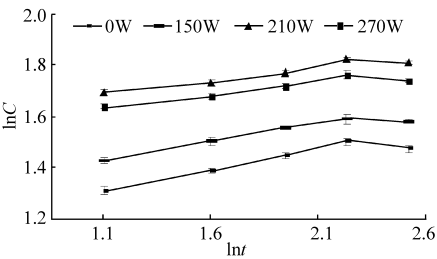


图 9 $\ln C$ 与 $\ln t$ 关系

Fig. 9 Relationship between $\ln C$ and $\ln t$

由图 9 可以看出,在一定的时间范围内 (3 ~ 9 min, $\ln t$ 分别对应为 1.10、1.61、1.95 和 2.20),诃子中总多酚质量浓度 $\ln C$ 与超声提取时间 $\ln t$ 呈较好的线性关系,没有超声作用 (0 W) 的浸提曲线斜率明显小于有超声作用的超声提取曲线斜率,表明

超声能够加速药材有效成分溶出^[35]。但是超过一定时间 (9 min, $\ln t$ 为 2.20) 则变化不大。这是因为提取物质质量浓度趋向于极限值, $\ln C$ 与 $\ln t$ 不再呈线性关系。说明此时超声提取过程不再受动力学控制。

(2)测得在固定功率条件下不同提取时间所得提取液总多酚质量浓度,提取结果如表 7 所示。

对表 7 中的数据进行处理,绘制总多酚质量浓度对数($\ln C$)与超声功率对数($\ln P$)之间的关系图,结果如图 10 所示。

由图 10 可看出,在一定的功率范围内,且时间一致的情况下, $\ln C$ 与 $\ln P$ 呈良好的线性关系,符合式 (14) 的规律。但是超过一定的功率 (210 W) 则出现拐点,提取物质质量浓度随功率变化很小,达到极限提取值。而拐点所对应的时间即是提取工艺中所需要的最适提取时间。同时也显示过高的超声波功率

反而会降低提取效果,印证了单因素试验结果。李 娜等^[37]也发现了与本文相类似的结果。

表 7 在固定提取时间条件下不同超声功率所得提取液总多酚质量浓度

Tab.7 Polyphenols concentration of extract under fixed extraction time and different ultrasonic powers g/L							
提取时间/ min	超声功率/W						
	120	150	180	210	240	270	300
3	3.624 ± 0.120	4.011 ± 0.095	4.422 ± 0.120	4.828 ± 0.095	4.723 ± 0.067	4.573 ± 0.092	4.334 ± 0.088
5	4.017 ± 0.017	4.417 ± 0.060	4.806 ± 0.054	5.178 ± 0.079	4.962 ± 0.042	4.845 ± 0.067	4.678 ± 0.069
7	4.512 ± 0.048	4.806 ± 0.079	5.162 ± 0.079	5.556 ± 0.100	5.412 ± 0.038	5.234 ± 0.017	4.979 ± 0.010

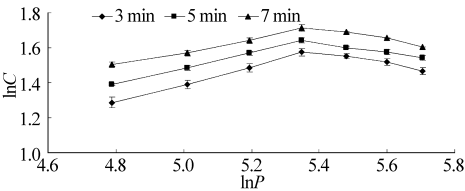


图 10 lnC 与 lnP 关系

Fig. 10 Relationship between lnC and lnP

3 结论

(1)通过单因素和正交试验确定了恒温超声辅助提取诃子总多酚的最佳工艺为:乙醇体积分数

60%、超声频率 80 kHz、超声功率 180 W、超声温度 70℃,其可靠性由方差分析和验证试验得到确认。

(2)对比试验发现,恒温超声辅助最佳工艺提取效率显著高于水浴振荡最佳工艺($P < 0.001$);扫描电镜分析后发现,与水浴振荡提取相比,恒温超声提取使原料粉末在微观结构上产生更严重的破坏作用,组织和细胞破损更严重,促进了溶剂向细胞内浸透,使得诃子总多酚迅速、充分溶出,提取效率显著提高。

(3)建立了适用于恒温超声辅助提取诃子总多酚的动力学模型,并进行了验证,完善和发展超声辅助提取中草药的浸提机理。

参 考 文 献

1 贝玉祥,郭英,何超,等. 诃子多酚的提取分离、结构鉴定及抗氧化活性的研究[J]. 食品研究与开发, 2009, 30(11): 6-9.
Bei Yuxiang, Guo Ying, He Chao, et al. Isolation, purification, structure identification and antioxidant ability of terminalia polyphenols[J]. Food Research and Development, 2009, 30(11): 6-9. (in Chinese)

2 罗光伟,陈建江. 诃子的药理作用研究进展[J]. 云南中医中药杂志, 2012, 33(11): 78-80.

3 张晓东,潘国风,吕圭源. 超声提取在中药化学成分提取中的应用研究进展[J]. 时珍国医国药, 2004, 15(12): 861-862.

4 钟玲,尹蓉莉,张仲林. 超声提取技术在中药提取中的研究进展[J]. 西南军医, 2007, 9(6): 84-87.
Zhong Ling, Yin Rongli, Zhang Zhonglin. The research progress of ultrasonic extraction technique in traditional Chinese medicine extracting [J]. Journal of Military Surgeon in Southwest China, 2007, 9(6): 84-87. (in Chinese)

5 杨云裳,张海霞,李春雷,等. 万寿菊叶黄素的超声提取工艺研究[J]. 食品研究与开发, 2007, 28(1): 97-99.
Yang Yunshang, Zhang Haixia, Li Chunlei, et al. Orthogonal test for optimization of lutein ultrasound extracting procedure from marigold flower [J]. Food Research and Development, 2007, 28(1): 97-99. (in Chinese)

6 李珍,哈益明,李安,等. 响应面优化苹果皮渣多酚超声提取工艺研究[J]. 中国农业科学, 2013, 46(21): 4569-4577.
Li Zhen, Ha Yiming, Li An, et al. Optimization of ultrasound-assisted extraction technology of polyphenols from apple pomace by response surface methodology[J]. Scientia Agricultura Sinica, 2013, 46(21): 4569-4577. (in Chinese)

7 贝玉祥,郭英,和万芬,等. 诃子中总多酚含量的测定及其超声提取工艺的研究[J]. 生物技术, 2008, 18(2): 82-84.
Bei Yuxiang, Guo Ying, He Wanfen, et al. Study on polyphenols extraction from terminalia by ultrasonic and its content determination[J]. Biotechnology, 2008, 18(2): 82-84. (in Chinese)

8 李有润,郑青. 中草药提取过程的数学模拟与优化[J]. 中草药, 1997, 28(7): 399-401.

9 Hou K F, Zheng Q, Li Y R, et al. Modeling and optimization of herb leaching processes [J]. Computers and Chemical Engineering, 2000, 24(2-7): 1343-1348.

10 储茂泉,古宏晨,刘国杰. 中草药浸提过程的动力学模型 [J]. 中草药, 2000, 31(7): 504-506.

11 郭素枝. 扫描电镜技术及其应用[M]. 厦门:厦门大学出版社, 2006.

12 Zhang H, Yang X, Zhao L, et al. Ultrasonic-assisted extraction of epimedin C from fresh leaves of epimedium and extraction mechanism [J]. Innovative Food Science & Emerging Technologies, 2009, 10(1): 54-60.

13 Balachandran S, Kentish S E, Mawson R, et al. Ultrasonic enhancement of the supercritical extraction from ginger [J]. Ultrasonics Sonochemistry, 2006, 13(6): 471-479.

14 Yang B, Jiang Y, Zhao M, et al. Effects of ultrasonic extraction on the physical and chemical properties of polysaccharides from longan fruit pericarp [J]. Polymer Degradation and Stability, 2008, 93(1): 268-272.

15 江慎华,蔡志鹏,廖亮,等. 丁香抗氧化活性物质提取及人工胃肠液对其活性的影响[J]. 农业机械学报, 2012, 43(7): 149-155.

Jiang Shenhua, Cai Zhipeng, Liao Liang, et al. Extraction of antioxidants from clove and effect of artificial gastrointestinal juice immersion on its antioxidant properties[J]. Transactions of the Chinese Society for Agricultural Machinery, 2012, 43(7):149 – 155. (in Chinese)

16 江慎华,王书源,马海乐,等. 丁香活性物质提取工艺优化与抗氧化活性研究 [J]. 农业机械学报,2010, 41(1):132 – 138.
Jiang Shenhua, Wang Shuyuan, Ma Haile, et al. Extracting technology and antioxidant activity of bioactive components from clove [J]. Transactions of the Chinese Society for Agricultural Machinery, 2010,41(1): 132 – 138. (in Chinese)

17 江慎华,吴士云,马海乐,等. 诃子抗氧化活性物质提取工艺与抗氧化活性研究[J]. 农业机械学报,2011, 42(4): 120 – 126.
Jiang Shenhua, Wu Shiyun, Ma Haile, et al. Extraction technology and antioxidant activities of bioactive components from *Terminalia chebula* Retz [J]. Transactions of the Chinese Society for Agricultural Machinery, 2011, 42(4): 120 – 126. (in Chinese)

18 苏辉,王伯初,刘玮琦,等. 天然药物提取过程的动力学数学模型[J]. 中草药,2011, 42(2): 384 – 391.

19 赵鹏. 款冬花多糖提取纯化工艺研究及结构鉴定[D]. 西安:西北大学, 2010.

20 徐化能. 葛藤异黄酮的浸取与分离过程研究[D]. 杭州:浙江大学, 2007.

21 林亚平,卢维伦. 非溶蚀型药物体系的释放动力学新模型——Fick 第一扩散定律的修正及其应用[J]. 药学学报, 1997, 32(11): 70 – 74.
Lin Yaping, Lu Weilun. A new dynamic model of release for not-corroded drug system—revision and use of fick’s first law[J]. Acta pharmaceutica sinica, 1997, 32(11): 70 – 74. (in Chinese)

22 黄可龙,李进飞,刘素琴. 超声场强化中药有效成分提取动力学模型[J]. 化工学报, 2004, 55(4): 646 – 648.
Huang Kelong, Li Jinfei, Liu Suqin. Kinetic model for ultrasonic enhancement of extraction process of chinese traditional medicine [J]. Journal of Chemical Industry and Engineering, 2004, 55(4): 646 – 648. (in Chinese)

23 李娜. 超声辅助提取苦菜单宁的工艺优化及其动力学研究[D]. 西安:陕西师范大学, 2012.

24 丘泰球,李月花. 花粉细胞超声破壁技术的研究[J]. 应用声学,1992, 11(2): 10 – 13.
Qiu Taiqiu, Li Yuehua. The technology of breaking cell walls on pollen based on ultrasound [J]. Applied Acoustics, 1992, 11(2): 10 – 13. (in Chinese)

25 于云虎,林书玉,张鹏利,等. 超声波提取中草药动力学模型的探究[C]//2009 年上海-西安声学学会学术交流会论文集, 2009: 101 – 103.

26 胡殿丽,吴鸣建. 木蝴蝶总黄酮超声提取工艺研究[J]. 时珍国医国药,2010, 21(10): 2475 – 2477.
Hu Dianli, Wu Mingjian. Study on the extraction technology of total flavonoids from *Oroxylum indicum* [J]. Lishizhen Medicine and Materia Medica Research,2010, 21(10): 2475 – 2477. (in Chinese)

27 牛春玲,吴胜举,沈壮志,等. 盾叶薯蓣总皂苷超声提取及动力学[J]. 生物加工过程, 2009, 7(4): 20 – 23.
Niu Chunling, Wu Shengju, Shen Zhuangzhi, et al. Kinetics of ultrasonic assisted extraction of saponin from *Dioscorea zingiberensis* C. H. Wright[J]. Chinese Journal of Bioprocess Engineering, 2009, 7(4): 20 – 23. (in Chinese)

28 董红敏,李素清,牛小勇,等. 正交实验优化川明参多糖超声提取工艺[J]. 食品工业科技,2014, 35(8): 306 – 309.
Dong Hongmin, Li Suqing, Niu Xiaoyong, et al. Optimizing ultrasonic extraction of polysaccharides from *Chuanminshen violaceum* based on orthogonal experiments design [J]. Science and Technology of Food Industry, 2014, 35(8): 306 – 309. (in Chinese)

29 马亚琴. 超声辅助提取柑橘皮中黄酮、酚酸及其抗氧化能力的研究[D]. 杭州:浙江大学, 2008.

30 陈兰,李喜宏,王腾月,等. 响应面法优化枣核总黄酮超声提取工艺研究[J]. 食品工业科技,2013, 34(24): 292 – 295.
Chen Lan, Li Xihong, Wang Tengyue, et al. Study on optimization of the extraction of total flavonoids from date seeds by response surface methodology [J]. Science and Technology of Food Industry, 2013, 34(24): 292 – 295. (in Chinese)

31 陈晨,胡文忠,田沛源,等. 超声辅助提取香蕉皮多酚工艺优化及其抗氧化性的分析 [J]. 食品科学,2014,35(2):12 – 17.
Chen Chen, Hu Wenzhong, Tian Peiyuan, et al. Optimization of ultrasound-assisted extraction of polyphenols from banana peel and their antioxidant capacity[J]. Food Science, 2014, 35(2): 12 – 17. (in Chinese)

32 Yang L, Jiang J G, Li W F, et al. Optimum extraction process of polyphenols from the bark of *Phyllanthus emblica* L. based on the response surface methodology [J]. Journal of Separation Science, 2009, 32(9):1437 – 1444.

33 李红娟,樊金拴,郑涛,等. 响应面法优化核桃青皮黄酮的超声提取工艺研究[J]. 北方园艺,2013(14): 132 – 136.
Li Hongjuan, Fan Jinshuan, Zheng Tao, et al. Response surface methodology for the optimization of extraction technology of total flavonoids from walnut green husk [J]. Northern Horticulture, 2013(14): 132 – 136. (in Chinese)

34 刘常金,赵锦,江慎华,等. 丁香抗氧化活性物质超声波-微波协同提取技术[J]. 农业机械学报,2014,45(11):223 – 229.
Liu Changjin, Zhao Jin, Jiang Shenhua, et al. Extraction technology of antioxidants from clove based on simultaneous ultrasonic/microwave assisted extraction[J]. Transactions of the Chinese Society for Agricultural Machinery, 2014,45(11):223 – 229. (in Chinese)

35 Timothy G Leighton. What is ultrasound? [J]. Progress in Biophysics & Molecular Biology, 2007, 93(1 – 3):3 – 83.

36 Pan J, Xia X X, Liang J. Analysis of pesticide multi-residues in leafy vegetables by ultrasonic solvent extraction and liquid chromatography-tandem mass spectrometry[J]. Ultrasonics Sonochemistry, 2008, 15(1): 25 – 32.

37 李娜,林书玉,赵学慧. 超声提取中草药有效成分动力学模型的优化[C]//中国声学学会第九届青年学术会议论文集, 2011:121 – 122.