

不同超声作用方式对葛根有效部位 提取率的影响*

张晓燕[†] 丘泰球¹ 徐彦渊¹ 李金华²

(1 华南理工大学轻工与食品学院 广州 510640)

(2 中药提取分离过程现代化国家工程研究中心广州汉方现代中药研发有限公司 广州 510240)

摘要 研究不同的超声作用方式对葛根总黄酮的提取率的影响。采用单频, 双频(包括槽式双频以及槽式+探头式双频), 及三频等不同的处理方法, 对超声作用参数, 如时间, 声强及处理量的多少进行研究, 采用两个超声特性参数即能量效率和空化产量来对比不同容积、频率的超声作用效果。目前的研究表明: 多频超声耦合时, 可以获得较高的能量效率和空化产量。

关键词 葛根黄酮, 超声频率, 能量效率, 空化产量

Influence of the form of ultrasound on the extraction of puerarin from *Pueraria Lebata ohwi*

ZHANG Xiao-Yan[†] QIU Tai-Qiu¹ XU Yan-Yuan¹ LI Jin-Hua²

(1 College of Light Chemistry and Food Science, South China University of Technology, Guangzhou 510640)

(2 Guangzhou HanFang Natural Medicine Research & Development Co. Ltd, Guangzhou 510240)

Abstract The extraction of the puerarin from *Pueraria Lebata Ohwi* has been studied using different cavitation equipments such as ultrasonic horn, ultrasonic bath, dual frequency and triple frequency. The effect of several operating parameters such as time of extraction, frequency of irradiation and liquid level in the case of ultrasonic bath on the extent of extraction has been studied. Comparison of these types of equipment has been made using the two characteristic parameters, i.e. energy efficiency and the cavitation yield. The triple frequency flow cell has been found to be more efficient in the extraction. The present work clearly illustrates that the multiple frequency and multiple transducer reactors can be used with higher energy efficiency and cavitation yield.

Key words Puerarin, Frequency, Energy efficiency, Cavitation yield

2005-06-13 收稿; 2005-12-26 定稿

* 国家“十五”科技攻关计划重大项目(2004BA721A39), 广东省科技计划项目(2003 B31709), 广州市科技计划项目(2005Z3-E5071)

作者简介: 张晓燕(1980-), 女, 河北衡水人, 硕士研究生。研究方向: 天然产物分离纯化新方法新技术。

丘泰球(1941-), 男, 教授, 博士生导师。徐彦渊(1979-), 男, 硕士研究生。李金华(1967-), 男, 博士。

[†] 通讯联系人 Email: tqiu@scut.edu.cn

1 引言

中药现代化是中医药发展的必然趋势,而中药生产的标准化是中药现代化与国际接轨的一个关键^[1]。中药标准化研究,尤其是生产过程关键技术的标准化对保证中药产品的安全有效、质量可控具有非常重要的意义。本课题是十五科技攻关项目“中药超声提取的标准化研究”的前期工作,为超声提取标准化的建立提供技术支持,为在工业化生产中如何选用超声提供一定的依据。

本研究所采用的药材为具有一定代表性的天然植物——葛根。葛根有“山人参”之美称,现代医学证明其富含人体必需的8种氨基酸和多种微量元素特别是抗衰老硒元素高达12.5 μ g/100g,具有去热解毒、扩张血管、抗癌等功能。葛根素是葛根的主要有效成份之一,其化学名为4,7-二羟基-8-葡萄糖醛基异黄酮,相对分子量为416。现已被制成针剂(葛根素注射液)、片剂(愈风宁心片)、滴丸(愈风宁滴丸)等^[2,3]。

2 材料与方法

2.1 材料与仪器

中药野葛根由广州汉方现代中药研发有限公司提供并鉴定,葛根素标准品(中国药检所,纯度大于99.6%),95%乙醇(分析纯),752型紫外分光光度计,FA2004型1/10万电子天平。

超声处理器类别:

I. 频率: 40kHz, 功率: 100W 清洗槽式超声处理器, II. 频率: 19kHz, 功率: 50W 清洗槽式超声处理器, III. 频率: 25kHz, 功率: 300W 清洗槽式超声处理器, IV. 20~25kHz 频率自动追踪, 功率为0~1000W的探头式超声处理器, 探头表面积为0.28cm², V. 20kHz, 28kHz, 33kHz (600W) 三频槽式超声波处理器。

2.2 试验方法

2.2.1 葛根素标准曲线的制定

精确称取5mg葛根素标准品,用95%的

乙醇溶解在25ml的容量瓶中,用取样器精密吸取0.2ml, 0.4ml, 0.6ml, 0.8ml, 1.0ml溶液置于10ml容量瓶中,加95%的乙醇至1ml,在250nm下测定吸光度^[4]。得到的标准曲线为: $A = 169.33C - 0.011$ ($R^2 = 0.9993$) (A: 吸光度; C: 葛根素浓度 mg/ml)。

2.2.2 药材中总黄酮含量的确定

精确称取0.5g葛根粉末(过80目筛),加70%乙醇溶液100ml,放入索式抽提器中。在85 $^{\circ}$ C下提取8小时,用真空泵过滤,收集滤液,在旋转蒸发仪上蒸干,用95%乙醇定容,按标准曲线的制定方法进行检测,测得野葛中总黄酮含量为7.53%。

2.2.3 超声法总黄酮含量的确定

精确称取5g葛根粉末(过80目筛),以料液比1:10加浓度为70%的乙醇溶液50ml,经超声作用后,按标准曲线的测定方法进行测定,计算总黄酮的含量。

3 试验部分

3.1 单频超声处理系统

单频处理时,采用槽式I类、II类、III类、V类(三个频率分别作用)和探头式(IV类),分别进行试验。按2.2.3的试验方法,用单频超声作用60分钟,然后比较总黄酮提取率。

3.2 双频超声处理系统

在双频处理系统中,我们采用了两种方式处理:一种是将V类(三频处理器)中三个频率两两组合,即形成三种组合形式:20+33kHz, 20+28kHz和28+33kHz。

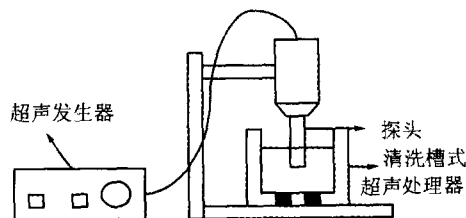


图1 探头与清洗槽相耦合示意图

另外一种就是将探头式(IV类)和清洗槽

(I 类、II 类、III 类) 相耦合构成双频处理系统 (如图 1 所示)。也有三种组合形式: 探头 +40kHz, 探头 +19kHz 和探头 +25kHz。

按照 2.2.3 的试验方法, 用上述不同组合形式的超声作用 60 分钟, 然后比较总黄酮提取率。

3.3 三频超声处理系统

我们设计的三频处理系统是由 20kHz, 28kHz, 33kHz 三个频率构成, 其处理量为 15L。每个发射面有 4 个 50W 的超声波换能器。结构如图 2 所示, 总功率为 600W, 共有 7 种不同的组合, 既可以用作单频处理器, 又可两两组合作为双频处理系统, 还可以三频同时作用。

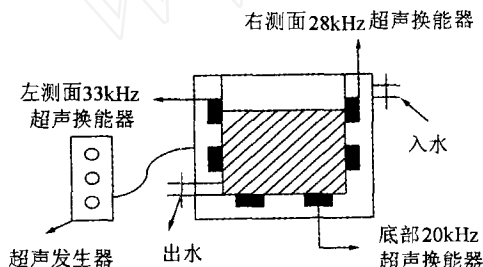


图 2 三频超声处理器示意图

3.4 能量效率和空化产量

在目前的实验室试验中, 所用到的超声设备容积各不相同, 所以在研究各自的产率时, 缺乏一个可以衡量的标准, 于是, 我们引入了能量效率^[8]和空化产量^[8]两个概念。

3.4.1 关于能量效率 (Energy efficiency)

将量热法用于测定仪器的能量效率, 很早就有过详细的报道。能量效率指的是扩散到体系中的有效能量即用来产生空化的能量与超声总能量的比值。不管何种仪器, 都应该使它尽可能的高, 本试验采用量热法来计算能量效率。

能量效率 (%)

$$= (\text{总能量输入 (J)} - \text{超声提取过程中产生的热量 (J)}) / \text{总能量输入 (J)} \quad (1)$$

3.4.2 关于空化产量 (Cavitation yield)

描述空化效应的第二个参数就是空化产

量。空化产量是指在超声反应器中期望发生的化学变化 (表现在本实验中就是指葛根总黄酮的提取率) 与功率密度 (单位 W/L, 即超声处理器单位体积上的能量分布) 的比值。其数学表达式是:

$$\text{空化产量} = \frac{\text{总黄酮提取率} (\%)}{\text{功率密度} (W/L)} \quad (2)$$

在设计超声处理器时, 设计者的目的就是尽量使空化产量达到最大。可以通过控制超声处理条件和处理器的几何参数来达到空化反应所需要的要求。

4 结果和讨论

将超声波用于中药材有效成分的提取是基于惠更斯波动理论和超声波在液体连续介质中传播时特有的物理性质。惠更斯波动理论指出, 波动 (包括起源于波源的振动) 在连续介质中传播时, 在其波阵面上将引起介质质点的运动, 波前在介质中达到的每一点都将引起相邻质点的振动从而形成新的波源, 简而言之, 波动使其传播路径上的每一个质点都获得加速度和动能, 采用超声 $f = 28\text{kHz}$ 时, 在水中超声波可使水的质点运动的加速度达到重力加速度 ($g = 9.8\text{m/s}^2$) 的 2000 倍以上。换言之, 水介质质点在超声波作用下, 把二千倍于重力加速度的巨大加速度和每秒钟 28000 次获得最大速度 117m/s 的巨大速度和动能作用于中药有效成分质点上, 使之获得巨大的速度和动能, 迅速溢出药材基体而游离于水中^[6,7]。超声波在液体介质中产生特有的空化效应, 不断产生无数内部压力达上千个大气压的微气穴, 并不断爆破产生微观上的强冲击波。作用在药材基体上, 使其中的有效成分被轰击溢出, 并促使药材细胞破壁变形, 加速药效成分物质的溢出。

4.1 能量效率的比较

对于超声处理系统而言, 最主要的能量输入形式就是电能。在空化反应之前, 电能转化成其他形式的能, 一般情况下, 电能转化成机

械能,如压力,振动等^[7]。能量在每一次的转化中都会发生损失。因此,研究不同的超声设备空化时能量的利用率时,能量效率的对比是非常重要的。机械能转化成两种形式的能,一种是超声波在液体中的振动用来产生空化所需要的能量。这部分能量通过空化反应中空化泡发生剧烈的爆破释放出来;另一种是以反应热的形式释放出来的热能。这种情况反映在小型的超声处理系统中,尤其是探头式超声处理装置,热量更容易扩散到周围的液体中,因此,不可避免的会产生一定的热量。这两种形式能量的变化随着超声仪器的类型(如超声容器的几何参数,处理条件的不同)的不同而变化。

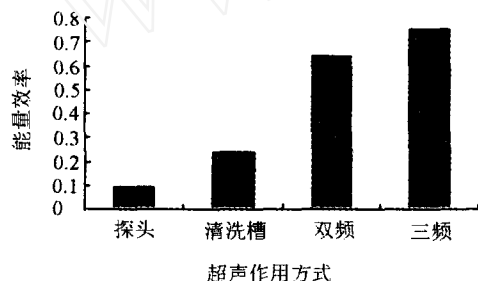


图3 不同超声仪器的能量效率

采用量热法计算能量损失,按公式(1)计算发现,在超声过程中,探头式超声的能量效率最低(< 10%),而三频的能量效率最高(75%~78%),这是由于三频处理器的能量扩散面与探头式相比要大的多。双频的能量效率也比较高,达到了64%~73%,这也是由于能量发射面积比较大的原因。有研究显示^[8],当操作条件低于最优处理条件时,声波的能量吸收比例达到 $I^{1/2}$ (I :辐射强度)。如果操作条件接近或达到最优条件时,超声波会出现明显的减弱现象,且扩散到溶剂中的能量会大大减少,使能量损失降到很小。

4.2 空化产量的比较

本研究通过对五类超声处理器进行研究,确定各类处理器的空化产量(如图4)。这可以根据功率密度来解释,功率密度是指扩散到液体的功率和溶液体积的比值^[9]。探头可以作用的体积很小,而槽式作用的体积要大的多。有研究表明,对同样的处理体积而言,提取率的提高随着功率密度的提高而提高。

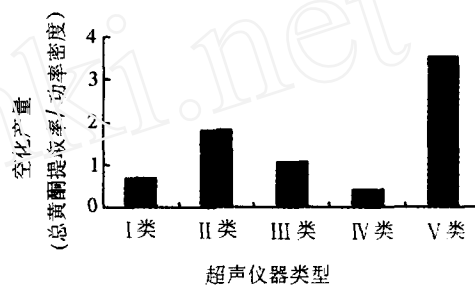


图4 各种超声仪器的空化产量对比(超声仪器类别如2.2所述)

由图4可以看出,由于超声仪器的规格和参数不同,其空化产量相差甚远。其中探头式(类别IV)效果最差,而20kHz的处理器(类别V)空化产量最高,其能量利用率也最高。

4.3 单频、双频、三频处理方式对提取率的影响

通过研究单频20kHz、28kHz、33kHz;双频20+28kHz、28+33kHz、20+33kHz及三频20+28+33kHz得出不同频率组合对葛根黄酮提取率的影响。各种组合采用相同超声功率(200W)处理60分钟,得到的试验结果如表1:

由表1可以看出,对于功率一定的单频超声来说,随着频率的增加,超声对有效成分的提取率反而降低。这是因为超声空化现象能否发生与超声频率有关。并非液体中所有的空化泡都能产生明显的空化过程。只有当超声频率与空化泡的自然共振频率相等时,超声波与空化泡之间才能达到最有效的能量耦合。随着超

表1 频率组合方式对总黄酮提取率的影响

频率(kHz)	20	28	33	20+28	20+33	28+33	20+28+33
提取率(%)	81.41	79.25	76.38	83.85	86.35	81.51	89.36

声频率的增加, 声波膨胀时间变短, 空化核来不及发生崩溃, 空化过程会变得难以发生。因而, 随着超声频率的升高, 超声对有效成分的提取率反而降低。有研究结果显示, 在同样声强、声功率、辐照时间的条件下, 在低 MHz 范围内, 超声频率增高, 声化学反应产额降低^[5]。所以, 一般在提取中应用的超声频率为低频。

由表 1 我们还可以看出, 在相同的提取时间下, 使用双频和三频耦合的方式, 提取率比单频有明显的提高。根据空化理论进行的研究表明, 使用多频耦合相对比单频而言, 空化泡爆破时产生更高的压力和温度, 从而提取率有一定幅度的提高, 有研究发现^[6]: 在声强不变且空化核半径一定时, 随着耦合频率的增加,

空化泡破裂时产生的压力和温度也会升高。根据热点理论可以得出, 提取的速率会随温度的升高而升高。另外, 采用多个频率超声波相向发射超声, 可以减少声场的不均匀性, 提高空化效应, 从而提高提取率。

4.4 超声探头与清洗槽耦合

另外, 我们还采用了超声探头 + 清洗槽的方式进行双频耦合 (如图 1)。结果显示, 较低频率耦合时也会产生较高的提取率, 而且比单独使用清洗槽或者探头效果都好。探头 + 清洗槽式体系与清洗槽双频处理体系十分相似。采用不同频率, 相同功率 (200W) 的超声处理 60 分钟, 得到的试验结果如表 2:

表 2 探头 + 清洗槽式超声处理结果

频率 (kHz)	19	25	40	探头	19+ 探头	25+ 探头	40+ 探头
提取率 (%)	80.73	78.37	75.79	70.77	83.38	85.84	79.20

由表 2 可以看出, 在相同的提取时间内, 双频超声提取率明显比单频提取率高。本试验中如只使用探头式超声, 在体积比较大的容器中作用时, 处理效果非常差。在本试验中, 探头作用的溶剂体积非常小 (约 50ml), 但是效果还是不理想。这可能是由于探头的面积非常小, 可以作用到的超声体积比较少, 其引发的瞬态空化可能会导致一些空化泡不能破裂, 达不到细胞破碎的效果, 从而影响提取率的提高。

当探头式与槽式联合作用时, 探头对提高空化产量和效率起到辅助作用。通过对比发现, 探头 + 25kHz 的方式获得的提取率相比另外两种是最佳组合方式, 也是一种有发展潜力的超声耦合方式。

5 结论

本文研究的是不同的超声作用方式对葛根有效部位的提取率的影响。通过对比单频, 双频和三频的处理方式发现, 双频和三频能够更加有效的提高黄酮的提取率, 在大规模的生产

中, 多频超声耦合时, 可以获得较高的能量效率和空化产量。到目前为止, 超声强化萃取的研究已经涉及到食品、医药、香料、海洋化工、生物工程等诸多领域, 引起了世人广泛的关注, 具有广阔的发展前景。

参 考 文 献

- 1 阴健, 郭力弓编. 中药现代研究与临床应用. 北京: 学苑出版社, 1993, 19~58.
- 2 梁桂贤, 李勤. 山西中医学院学报, 2001, 2(4):54~55.
- 3 王娟, 沈平嫒, 沈永嘉. 中国药科大学学报, 2002, 33(5):379~382.
- 4 王娟, 沈平嫒, 沈永嘉. 中国医药工业杂志, 2002, 33(8):382.
- 5 胡爱军, 丘泰球. 声学技术, 2003, 1(1):61~63.
- 6 冯若, 李化茂编. 声化学及其应用. 合肥: 安徽科技出版社, 1992. 11~23.
- 7 Paniwnyk L, Beaufoy E, Lorimer J P, et al. *Ultrasonics*, 2001, 8:299~301.
- 8 Parag R G, Sukti M, Aniruddha B P. *Advances in Environmental Research*, 2003, 7:283~299.
- 9 Manickam S, Prashant A T, Aniruddha B P. *Chemical Engineering Journal*, 2002, 85:327~338.