

乐 薇, 吴士筠. 热浸法提取箬叶总黄酮的动力学研究[J]. 江苏农业科学, 2015, 43(11): 359–361.

doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2015.11.113

热浸法提取箬叶总黄酮的动力学研究

乐 薇, 吴士筠

(武汉工商学院环境与生物工程学院, 湖北武汉 430065)

摘要:以 Fick 扩散定律为基础, 建立热浸法提取箬叶总黄酮的动力学模型, 由此推算出提取速率常数、活化能等动力学参数, 考察温度、时间对总黄酮提取率的影响。结果表明, 所得模型能较好地描述箬叶总黄酮提取的动态过程, 箬叶总黄酮的浸提过程符合一级动力学方程。热力学数据表明, 该提取过程是自发、吸热和熵增加的过程。

关键词:箬叶; 总黄酮; 热浸法; 动力学

中图分类号: R284.2 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2015)11-0359-03

从植物中提取有效成分, 提取工艺的选择, 优化始终是一个重要的内容, 也是重点和难点所在。植物功能成分浸提过程动力学是采用数学模型定量描述浸提过程中功能成分质量浓度随时间变化的规律, 其随揭示浸提温度、溶剂倍量、颗粒粒度等因素对浸提效果的影响以及优化浸提工艺等具有重要指导意义, 已成为当今研究热点^[1-4]。

箬叶为禾本科竹亚科箬竹属植物叶的总称, 该属植物约有 30 种以上, 均产自中国^[5], 自古以来就是端午节标志食品——粽子的包装物。据《本草纲目》记载, 箬叶味甘, 性寒, 有清热止血、解毒消肿之功效。现代药理分析发现, 箬叶具有杀菌、防腐、抗癌等多种显著作用, 可广泛应用于医药、食品及日化用品等^[6-7]。我国长江以南各省份均有大量野生箬叶资源, 特别是湖北武陵山区野生箬叶资源非常丰富, 在开发植物药用资源上具有优势。研究证明, 总黄酮是箬叶中的重要活性成分^[8], 含量丰富, 占箬叶总质量的 2% 左右^[9], 但相关提取的研究报道较少。本研究通过 Fick 第一、第二扩散定律, 建立热浸法提取箬叶总黄酮的动力学模型, 为箬叶总黄酮提取工艺条件优化及工艺设计提供理论依据。

1 热浸法提取箬叶总黄酮的动力学模型

从传质角度看, 箬叶总黄酮浸提过程是黄酮从箬叶(固相)向溶液(液相)进行扩散的两相间传质过程, 即溶剂渗透

进入箬叶颗粒, 颗粒内部黄酮被溶剂溶解后向颗粒表面扩散, 以及黄酮由箬叶颗粒表面向溶液主体扩散等 3 个同时发生的过程。对于黄酮的提取, 箬叶内黄酮的溶解可在瞬间完成, 而黄酮在箬叶颗粒内外的扩散过程相对于渗透和黄酮溶解是一个较慢的过程, 其在浸提中起主要作用。

箬叶内部总黄酮浓度随提取时间的增加不断降低, 为不稳定扩散过程。为便于分析, 本研究中采用平板模型, 先假设: (1) 颗粒的厚度是均匀的; (2) 有效成分黄酮的扩散方向是沿颗粒的厚度方向进行的; (3) 萃取开始和任意取样时间间隔内, 颗粒内各成分是均匀分布的; (4) 颗粒表面的传质阻力忽略不计且在任意取样时间间隔内有效成分的扩散系数不变; (5) 颗粒与溶剂的温度是相同的, 且温度是均匀分布的。根据 Fick 第一、第二定律建立的动力学模型为^[10-11]

$$\ln \frac{C_{\infty}}{C_{\infty} - C} = kt + \ln \frac{\pi C_{\infty}}{4(C_{\infty} - C_0)}; \quad (1)$$

$$k = \frac{\pi^2 D_s}{(2D)^2} \quad (2)$$

式中: C_0 为提取液溶质的初始质量浓度, %; C_{∞} 为提取平衡时提取液溶质的质量浓度, %; k 为速率常数; t 为提取时间, min; $2D$ 为箬叶的厚度; D_s 为内扩散系数。

2 材料与方法

2.1 试剂和仪器

芸香苷标准品: 中国药品生物制品检定所; 无水乙醇、亚硝酸钠、硝酸铝、氢氧化钠等均为分析纯。

B-220 恒温水浴锅, 上海亚荣生化仪器厂; 752 型紫外可见分光光度计, 上海光谱仪器有限公司; RE52CS 型旋转蒸

步评价[J]. 广东农业科学, 2002(4): 15–17.

[3] 施兴凤, 李 琼, 李学辉, 等. 黄瓜黄酮类化合物的抗氧化作用[J]. 食品研究与开发, 2010, 31(3): 85–86.

[4] 王春芳, 毛 明, 胡菲菲, 等. 超高压和热处理后黄瓜汁感官品质的主观评价和仪器检测对比[J]. 农业工程学报, 2013, 29(10): 278–286.

[5] 侯丽丽, 陈洪海, 蔡敏杰, 等. 芹菜黄瓜复合蔬菜汁的研制[J]. 饮料工业, 2014, 17(1): 11–14.

[6] 范淑玲, 王 丹, 李春梅. 黄瓜乳饮料的研制[J]. 中国乳业,

2013(4): 59–61.

[7] 仪淑敏, 王雪琦, 励建荣, 等. 黄瓜汁鱼丸的研制及冷藏过程中品质变化规律的研究[J]. 食品工业科技, 2013, 34(22): 280–284.

[8] 赵 翊, 李红良, 陆燕贞. 均匀设计法在黄瓜酸奶发酵工艺条件优化中的应用[J]. 中国乳品工业, 2012, 40(4): 58–61.

[9] 刘志祥, 曾超珍, 吴耀辉, 等. 发酵型绿茶黄瓜酸乳的研制[J]. 食品与机械, 2006, 22(3): 97–99.

[10] 罗 伟. 芹菜营养保健酸奶的研制[J]. 农产品加工, 2012(11): 74–75.

收稿日期: 2014-10-30

基金项目: 湖北省自然科学基金(编号: 2013C111)。

作者简介: 乐 薇(1979—), 女, 湖北沙市人, 硕士, 副教授, 研究方向为生物分析。E-mail: yuewei11@126.com。

发仪,上海亚荣生化仪器厂。

2.2 试验方法

2.2.1 箬叶总黄酮的含量测定

2.2.1.1 标准溶液的配制和标准曲线的绘制 准确称取干燥至恒质量的芸香苷标准品 0.075 2 g,用 30% 乙醇水浴微热溶解,用 30% 乙醇定容至 250 mL,得 0.300 8 mg/mL 芸香苷对照品溶液。精确移取 0.00、1.00、2.00、3.00、4.00、5.00 mL 上述芸香苷对照品溶液,分别置于 6 支 10 mL 比色管中,加 30% 乙醇至 5 mL,加 5% NaNO₂ 溶液 0.30 mL,摇匀后放置 5 min,加 10% Al(NO₃)₃ 溶液 0.30 mL,摇匀后放置 6 min,加 4% NaOH 溶液 2.00 mL,再用 30% 乙醇稀释至刻度,摇匀后放置 10 min,以试剂空白为参比,于 510 nm 处测定吸光度。以芸香苷浓度 C 为横坐标,吸光度 D 为纵坐标绘制标准曲线 $D = aC + b$ 。

2.2.1.2 样品溶液的测定 分别吸取 2 份相同的 0.50 mL 箬叶总黄酮提取液于 10 mL 容量瓶,其中一份按上述芸香苷标准曲线绘制方法配置溶液,并以试剂空白为参比,测定吸光度为 D_1 ;另一份用 30% 乙醇溶液定容至 10.00 mL,以 30% 乙醇为参比,测定吸光度为 D_2 ,按下列公式计算总黄酮含量:

提取液浓度 (mg/mL): $C = \frac{(\Delta D - b)}{a}$ 。 (3)

其中 $\Delta D = D_1 - D_2$ 。 (4)

每次取样后浸提溶液的总体积将依次减小 1 mL,溶液中总黄酮化合物的质量也同时递减。因此,对光度法测定的黄酮质量浓度进行相应修正,其公式为

$C_n = \frac{1}{V} \{ [V - (n - 1)] C_n' + \sum_{i=1}^{n-1} C_i \}$ 。 (5)

式中: C_n 为第 n 次取样质量浓度修正值; C_n' 为第 n 次取样质量测定浓度; V 为溶剂体系; n 为取样次数。

2.2.2 箬叶总黄酮浸提试验 将 5.0 g 箬叶(过 20 目筛,厚

度约 0.85 mm)加入 250 mL 的三口烧瓶中,加入已加热到设定温度的 60% 乙醇水溶液 100 mL,在此温度下进行热浸法提取,并在不同时间间隔时取样 0.50 mL 各 2 份,用于总黄酮含量的测定。提取时间为 5、10、15、20、25、30、35、40、50、60、70、80、90、120 min;提取温度为 303、323、343 K。

3 结果与分析

3.1 速率常数的求解

由于没有预浸泡, $C_0 = 0$,按“2.2.2”节操作,试验结果表明,不同浸提温度条件下,总黄酮浓度差异较大,提取温度越高,提取速率越快,提取液浓度越大。当提取时间达到 120 min 时,基本达到平衡。在较长时间中,总黄酮浓度基本不变时即可认为达到了浸提平衡,此时可将该浓度作为浸提的平衡浓度,并以 $\ln[C_\infty / (C_\infty - C)]$ 对提取时间 t 作图,结果见图 1、表 1。结果表明,所建立的动力学方程式与试验结果能较好地吻合,曲线的线性拟合关系良好,即经过粉碎的箬叶总黄酮提取符合一级动力学模型。同时也发现,表观速率常数随着温度的升高增大,有效成分的提取加快,且平衡浓度随温度的升高也略有升高。

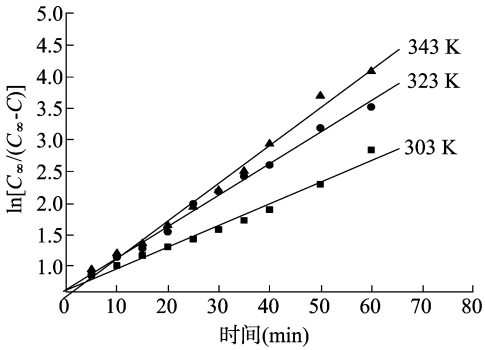


图1 总黄酮提取液不同温度下 $\ln[C_\infty / (C_\infty - C)]$ 与提取时间 t 的关系

表 1 不同温度下总黄酮提取直线回归结果

提取温度 (K)	直线方程	r^2	C_∞	k
303	$\ln[C_\infty / (C_\infty - C)] = 0.036\ 6\ t + 0.551\ 6$	0.988\ 7	1.42	0.036\ 6
323	$\ln[C_\infty / (C_\infty - C)] = 0.049\ 7\ t + 0.634\ 9$	0.992\ 8	1.55	0.049\ 7
343	$\ln[C_\infty / (C_\infty - C)] = 0.058\ 3\ t + 0.551\ 6$	0.987\ 1	1.75	0.058\ 3

3.2 相对萃余率的求解

设相对萃余率 $y = (C_\infty - C) / (C_\infty - C_0)$, 则公式(1)变为 $y = (4/\pi) e^{-kt}$, 作 y 对提取时间 t 的关系图,结果见图 2、表 2。

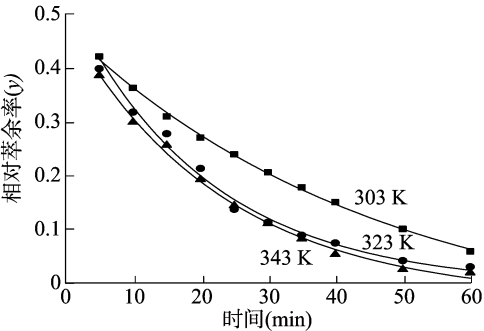


图2 总黄酮提取液不同温度下相对萃余率与时间的关系

表 2 不同温度下总黄酮相对萃余率对时间回归结果

提取温度 (K)	指数方程	r^2	k
303	$y = 0.526e^{-0.034\ 0t}$	0.983\ 9	0.034\ 0
323	$y = 0.530e^{-0.049\ 7t}$	0.992\ 8	0.049\ 7
343	$y = 0.576e^{-0.058\ 3t}$	0.988\ 7	0.058\ 3

从表 2、图 2 可以看出,拟合方程的 r^2 均大于 0.98,可见曲线的拟合精度较高,说明箬叶总黄酮的提取符合指数模型,且表观速率常数与表 1 的结果比较接近,但与理论值的平衡常数 $4/\pi$ 有一定偏差,这可能是由于实际情况复杂,影响因素多。从图 2 可以看出,随着时间的延长,相对萃余率减小,即提取率不断增大,但增长的幅度下降,说明在实际提取过程中并不是提取的时间越长越好,而是应综合考虑提取的效率和设备的利用率等因素^[11]。

3.3 活化能的求解

由化学动力学可知, 箬叶总黄酮的浸提过程中表观速率常数是温度的函数, 应遵循 Arrhenius 公式, 即

$$k = Ae^{-E_a/(RT)} \text{ 或 } \ln k = \ln A - \frac{E_a}{RT} \quad (6)$$

式中: k 为表观提取速率常数, s^{-1} ; $R = 8.314 \text{ J}/(\text{mol} \cdot \text{K})$; A 为指前因子; T 为提取温度, K ; E_a 为表观活化能, J/mol 。

利用表 1、表 2 数据, 对 $-\ln k$ 和 $1/T$ 作图, 结果见图 3, 表明 $\ln k$ 和 $1/T$ 线性良好, 其回归方程为: $\ln k = -1215.9/T + 0.7235$, $r^2 = 0.9801$ 。

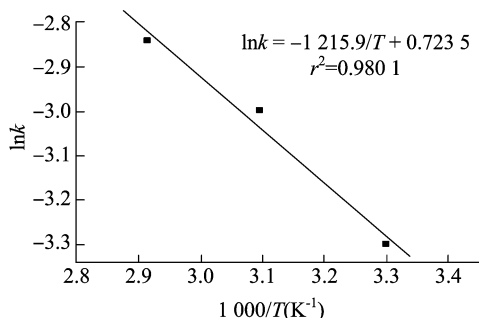


图3 箬叶总黄酮提取 $\ln k$ 与 $1/T$ 的关系

由此可算出箬叶总黄酮浸提过程的活化能为 $E_a = 1215.9 \times 8.314 \approx 10109 \text{ J}/\text{mol} = 101.09 \text{ kJ}/\text{mol}$ 。活化能反映了速率常数对温度的敏感程度, 活化能较大时, 速率常数随温度的变化较明显。

3.4 内扩散系数的求解

整个浸提过程的内扩散系数可以通过速率常数来计算, 由公式(2)可知, 速率常数是内扩散系数 D_s 和颗粒尺寸的函数, 由 D_s 对 $1/T$ 作图, 结果见图 4, 由此可以计算出不同温度下箬叶总黄酮提取的内扩散系数。

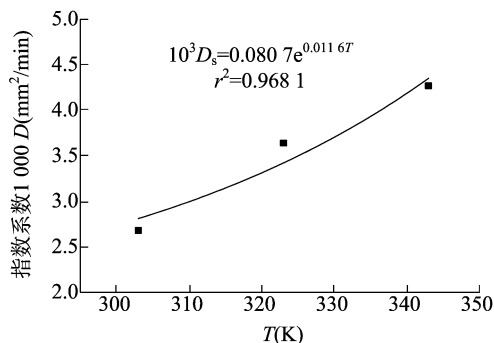


图4 箬叶总黄酮内扩散系数与温度的关系

3.5 相关热力学函数

基于分配平衡理论, 可以得到提取过程中的平衡常数, 计算见公式(7):

$$K_e = \frac{C_1}{C_s} = \frac{C_i}{C_t - C_i} \quad (7)$$

式中: K_e 为箬叶总黄酮在两相的分配系数; C_s 为箬叶颗粒中的总黄酮浓度; C_i 为溶液中的总黄酮浓度; C_t 为总黄酮在两相的总浓度, 采用浸提法提取 3 次测定箬叶总黄酮的总含量^[12]。

在一定的温度范围内, 提取达到平衡时, 提取过程的焓变

ΔH 及熵变 ΔS 可由范托夫方程计算:

$$\ln K = -\frac{\Delta H}{RT} + \frac{\Delta S}{R}; \quad (8)$$

$$\Delta G = -RT \ln K_e. \quad (9)$$

根据式(8)作 $\ln K - 1/T$ 图, 直线的斜率和截距分别为 $\Delta H/R$ 和 $\Delta S/R$, 可计算提取过程中热力学函数, 结果见表 3。

表3 箬叶黄酮提取过程中的热力学参数

提取温度(K)	K_e	$\Delta G(\text{kJ}/\text{mol})$	$\Delta H(\text{kJ}/\text{mol})$	$\Delta S[\text{J}/(\text{mol} \cdot \text{K})]$
303	1.56	-1.04	141.5	50.11
323	1.98	-2.04	141.5	50.11
343	3.01	-3.04	141.5	50.11

从表 3 可以看出, $\Delta G < 0$, 说明该提取过程为自发过程。随着提取温度的升高, ΔG 逐渐减小, 表明随着温度的增加, 总黄酮更容易向溶剂扩散, 提取过程更容易发生, 提取效率越高。焓变 ΔH 为正值, 说明箬叶总黄酮的浸提过程吸热, 升温有利于浸提的进行, 这与 ΔS 的变化规律一致。 $\Delta S > 0$, 表明在提取过程中分子的混乱程度增加。

4 结论

箬叶总黄酮的提取动力学方程符合一级动力学模式, 热力学数据表明, 该提取过程是自发、吸热和熵增加的过程。当料液比一定时, 模型可以大致预测浸提效果同浸提时间和时间的关系, 可以为箬叶总黄酮的提取工艺设计及操作条件的选择提供有价值的理论依据。

参考文献:

- [1] 陈 杨, 张 晋, 倪 健, 等. 提取动力学模型的简化及黄芩总黄酮模型适应性研究[J]. 中国中药杂志, 2014, 39(2): 230-234.
- [2] 黄 翔, 杨祖金, 葛发欢. 灵芝提取动力学研究[J]. 中药材, 2011, 33(7): 1138-1140.
- [3] 赵 平, 宋学娟, 张月萍, 等. 葡萄籽原花青素提取动力学研究[J]. 食品科学, 2010, 31(1): 110-112.
- [4] 徐菊茂. 杭白菊中黄酮类成分的提取动力学研究[J]. 中国药业, 2012, 21(16): 31-32.
- [5] 苏春花. 箬竹林结构特征及竹叶生物活性成分研究[D]. 南京: 南京林业大学, 2011.
- [6] 靳 伟, 王恩军, 宋 洁, 等. 箬叶多糖对宫颈癌的抑制及免疫功能的影响[J]. 中国计划生育学杂志, 2012, 20(3): 164-167.
- [7] 周 熠. 箬竹叶挥发油的提取、分析及抑菌效果研究[D]. 长沙: 湖南农业大学, 2009.
- [8] 崔 健. 箬竹属植物黄酮类物质与挥发性成分的研究[D]. 北京: 中国林业科学研究院, 2011.
- [9] 靳 伟, 王恩军, 宋 洁, 等. 箬叶多糖对宫颈癌的抑制及免疫功能的影响[J]. 中国计划生育学杂志, 2012, 20(3): 164-167.
- [10] 李 冬, 李稳宏, 廉媛媛, 等. 化香树果序总黄酮提取动力学研究[J]. 天然产物研究与开发, 2011, 23(4): 689-692, 708.
- [11] 高 蓉. 化香树果序活性成分提取、分离、应用及动力学研究[D]. 西安: 西北大学, 2009.
- [12] 陈晓光, 韦藤幼, 彭梦微, 等. 丹参酚酸 B 减压内部沸腾法提取的动力学及相关热力学研究[J]. 高校化学工程学报, 2011, 25(6): 961-965.