

## 摘 要

本文以茶叶和绞股蓝为原料,分别进行了水浴法提取、超声波辅助提取、微波辅助提取、超声-微波协同提取等试验,研究了不同工艺条件对绞股蓝皂苷和茶多酚提取率的影响,优化获得了提取工艺参数,可为工业化提取绞股蓝皂苷和茶叶中茶多酚提供一定的参考;同时确定了较佳的用于提取的超声波与微波参数,再结合超声波、微波和动态逆流提取的原理,在试验室已有的逆流提取设备上加载超声波与微波发生装置,获得了可实现超声波、微波协同作用的动态逆流提取设备,并通过试验确定了该设备较佳的工作性新能参数。

研究表明:

1 超声波与微波对绞股蓝皂苷和茶多酚的提取率均有影响,其中以超声-微波协同逆流提取设备提取的提取率为最高,提取稳定性也相对较好。用该设备进行绞股蓝皂苷和茶多酚提取的结果为:绞股蓝皂苷平均提取率为 8.06%、相对标准偏差(RSD)为 1.9621%;茶多酚平均提取率为 9.89%、相对标准偏差(RSD)为 2.4189%。

2 超声-微波协同逆流提取机组中,超声波参数为:频率 28KHz,功率 1200W×4;微波参数为:频率为 2450MHz,功率为 850W×6;机组最大生产率达 10kg/h。可适用于多种天然产物有效成分的提取。

3 超声-微波协同逆流提取绞股蓝皂苷的较优提取工艺参数为:液固比 30:1、提取温度 60℃、提取时间 60min、提取过程中一直使用超声波处理(60min)、在提取初期使用微波处理 18 min;提取茶叶中茶多酚的较优提取工艺参数为:液固比 25:1、提取温度 60℃、提取时间 50min、提取过程中一直使用超声波处理(50min),在提取初期使用微波处理 14 min。

4 超声波、微波与酶法协同提取技术有利于绞股蓝皂苷的提取。超声-微波协同酶法提取具有一定的开发价值。

本文的创新之处:提出以超声波、微波和动态逆流提取协同组合技术进行天然产物有效成分的提取,并进行了设备的研制;首次探索研究了将超声波、微波与酶技术融合于一体进行天然产物有效成分的提取。

关键词:超声波,微波,逆流提取,协同提取,设备

## Abstract

Gynosaponins(GP) has been extracted from *gynostemma pentaphyllum* and tea-polyphenols(TP) has been extracted from tea by water extraction, ultrasonic extraction, microwave extraction and ultrasonic synergizing microwave extraction. The technological conditions of extracting GP and TP were studied and optimized. It can apply for a technological reference of extracting GP and TP for industrialized production. The working parameters of ultrasonic and microwave were confirmed and optimized. On the base of the available dynamic countercurrent extraction equipment, the ultrasonic generator and microwave generator were used as a assisted method for dynamic countercurrent extraction according to extraction principle of ultrasonic extraction, microwave extraction and dynamic countercurrent extraction. The ultrasonic-microwave synergizing dynamic countercurrent extraction equipment was designed and manufactured, and the structure and performance parameters were optimized and confirmed.

The main results were listed as follows:

1. The ultrasonic and microwave extraction had effect on the extraction yield of GP and TP. The ultrasonic-microwave synergizing dynamic countercurrent extraction equipment had the highest extraction yield and the extraction technique was considerably stable. The yield of GP was 8.06%, RSD was 1.9621%, and the yield of TP was 9.89%, RSD was 2.4189% by the ultrasonic-microwave synergizing dynamic countercurrent extraction equipment.

2. The working parameters of ultrasonic-microwave synergizing dynamic countercurrent extraction equipment: the ultrasonic frequency was 28KHz, the ultrasonic power was  $1200W \times 4$ ; the microwave frequency was 2450 KHz, the microwave power was  $850W \times 6$ ; the productivity was 10kg/h. A mass of experiments showed that this equipment was suitable to extracting effective components from a great many natural plants.

3. The best extraction technique of extracting GP by the ultrasonic-microwave synergizing dynamic countercurrent extraction equipment: the liquid-solid ratio 30:1, extraction temperature  $60^{\circ}C$ , extraction time 60min, the ultrasonic processing time 60min during the whole process of extraction, the microwave processing time 18min in initial stage. The best combined condition of extracting TP by this equipment: the

liquid-solid ratio 25:1, extraction temperature 60°C, extraction time 50min, the ultrasonic processing time 50min during the whole process of extraction, the microwave processing time 14 min in initial stage.

4. Ultrasonic, microwave and enzyme synergistic technology were helpful for extracting GP from gynostemma pentaphyllum. Ultrasonic-microwave synergizing enzyme extraction method had certain development values.

**The innovation of this study:** The method of extracting effective components from natural plants was studied by the ultrasonic, microwave and dynamic countercurrent combination technology, and the extraction equipment was designed and manufactured; Ultrasonic, microwave and enzyme synergistic technology were used for extracting GP from gynostemma pentaphyllum.

**Key words:** Ultrasonic, Microwave, Dynamic countercurrent extraction, Synergistic extraction, Equipment

# 插图与附表清单

## 插图清单

2-1 绞股蓝皂苷检测标准曲线 .....	21
2-2 液固比对水浴提取皂苷提取率的影响 .....	23
2-3 提取时间对水浴提取皂苷提取率的影响 .....	23
2-4 提取温度对水浴提取皂苷提取率的影响 .....	24
2-5 超声波对水温的影响 .....	26
2-6 液固比对超声波提取皂苷提取率的影响 .....	27
2-7 提取时间对超声波提取皂苷提取率的影响 .....	28
2-8 温度对超声波提取皂苷提取率的影响 .....	28
2-9 液固比对微波提取皂苷提取率的影响 .....	31
2-10 微波功率对微波提取皂苷提取率的影响 .....	32
2-11 提取时间对微波提取皂苷提取率的影响 .....	32
2-12 酶用量对皂苷提取率的影响 .....	35
2-13 pH 值对皂苷提取率的影响 .....	36
2-14 酶解温度对皂苷提取率的影响 .....	37
2-15 酶解时间对皂苷提取率的影响 .....	37
2-16 微波处理时间对皂苷提取率的影响 .....	39
3-1 液固比对水浴提取茶多酚提取率的影响 .....	43
3-2 提取温度对水浴提取茶多酚提取率的影响 .....	44
3-3 提取时间对水浴提取茶多酚提取率的影响 .....	44
3-4 液固比对超声波提取茶多酚提取率的影响 .....	47
3-5 提取时间对超声波提取茶多酚提取率的影响 .....	48
3-6 提取温度对超声波提取茶多酚提取率的影响 .....	48
3-7 液固比对微波提取茶多酚提取率的影响 .....	51
3-8 提取时间对微波提取茶多酚提取率的影响 .....	52
3-9 微波功率对微波提取茶多酚提取率的影响 .....	52
4-1 超声-微波协同逆流提取机组结构示意图 .....	56
4-2 超声-微波协同逆流提取机组实物图 .....	57
4-3 提取机组螺旋输送机构 .....	58
4-4 超声波发生器 .....	59
4-5 微波发生器及内部结构图 .....	60
4-6 电器控制原理图 .....	62

## 附表清单

2-1 水浴法提取绞股蓝皂苷正交试验因素与水平设计 .....	22
2-2 水浴法提取绞股蓝皂苷正交试验结果 .....	24
2-3 水浴法提取绞股蓝皂苷正交试验极差分析 .....	25
2-4 水浴法提取绞股蓝皂苷正交试验方差分析 .....	25
2-5 水浴法提取绞股蓝皂苷验证试验结果 .....	25
2-6 超声波法提取绞股蓝皂苷正交试验因素与水平设计 .....	26
2-7 超声波法提取绞股蓝皂苷正交试验结果 .....	29
2-8 超声波法提取绞股蓝皂苷正交试验极差分析 .....	29
2-9 超声波法提取绞股蓝皂苷正交试验方差分析 .....	29
2-10 超声波法提取绞股蓝皂苷验证试验结果 .....	30
2-11 微波法提取绞股蓝皂苷正交试验因素与水平设计 .....	31
2-12 微波法提取绞股蓝皂苷正交试验结果 .....	33
2-13 微波法提取绞股蓝皂苷正交试验极差分析 .....	33
2-14 微波法提取绞股蓝皂苷正交试验方差分析 .....	33
2-15 微波法提取绞股蓝皂苷验证试验结果 .....	34
2-16 超声波强化酶法提取绞股蓝皂苷正交试验因素与水平设计 .....	35
2-17 超声波强化酶法提取绞股蓝皂苷正交试验结果 .....	38
2-18 超声波强化酶法提取绞股蓝皂苷正交试验极差分析 .....	38
2-19 超声波强化酶法提取绞股蓝皂苷正交试验方差分析 .....	38
2-20 超声-微波协同酶法提取绞股蓝皂苷验证试验结果 .....	39
3-1 水浴法提取茶多酚正交试验因素与水平设计 .....	43
3-2 水浴法提取茶多酚正交试验结果 .....	45
3-3 水浴法提取茶多酚正交试验极差分析 .....	45
3-4 水浴法提取茶多酚正交试验方差分析 .....	45
3-5 水浴法提取茶多酚验证试验结果 .....	46
3-6 超声波法提取茶多酚正交试验因素与水平设计 .....	47
3-7 超声波法提取茶多酚正交试验结果 .....	49
3-8 超声波法提取茶多酚正交试验极差分析 .....	49
3-9 超声波法提取茶多酚正交试验方差分析 .....	49
3-10 超声波法提取茶多酚验证试验结果 .....	50
3-11 微波法提取茶多酚正交试验因素与水平设计 .....	51
3-12 微波法提取茶多酚正交试验结果 .....	53
3-13 微波法提取茶多酚正交试验极差分析 .....	53

3-14	微波法提取茶多酚正交试验方差分析 .....	53
3-15	微波法提取茶多酚验证试验结果 .....	54
4-1	超声-微波协同逆流提取机组结构参数与性能参数 .....	63
4-2	超声-微波协同逆流提取机组提取绞股蓝皂苷验证试验结果 .....	67
4-3	超声-微波协同逆流提取机组提取茶多酚验证试验结果 .....	67

## 独创性声明

本人声明所呈的学位论文是本人在导师指导下进行的研究工作及取得的研究成果。据我所知，除了文中特别加以标注和致谢的地方外，论文中不包含其他人已经发表或撰写过的研究成果，也不包含为获得安徽农业大学或其他教育机构的学位或证书而使用过的材料。与我一同工作的同志对本研究所做的任何贡献均已在论文中作了明确的说明并表示谢意。

学位论文作者签名：

签字日期：2009年6月11日

## 学位论文版权使用授权书

本学位论文作者完全了解安徽农业大学有关保留、使用学位论文的规定，有权保留并向国家有关部门或机构送交论文的复印件和电子文件，允许论文被查阅和借阅。本人授权安徽农业大学可以将学位论文的全部或部分内容编入有关数据库进行检索，可以采用影印、缩印或扫描等复制手段保存、汇编学位论文（保密的学位论文在解密后适用本授权书）。

学位论文作者签名：

签字日期：2009年6月16日

指导教师签名：

签字日期：09年6月15日

学位论文作者毕业后去向： \_\_\_\_\_

工作单位： \_\_\_\_\_ 电话： \_\_\_\_\_

通信地址： \_\_\_\_\_ 邮编： \_\_\_\_\_

# 1 绪论

## 1.1 天然产物提取的意义

天然产物活性成分是指从再生资源中提取的具有独特功能和生物活性的化合物，其中许多有效成分是疾病防治、强身健体的物质基础。而且天然产物安全性高，已成为医药、食品及饲料的重要来源<sup>[1]</sup>。天然产物不仅是药物的重要来源，而且在药物开发中被作为分子骨架受到关注。1995年曾作过统计，在总共244个基本化学结构模型中，其中83%来源于动物、植物、微生物或矿物质，仅17%出自化学合成<sup>[2]</sup>。如美国1983~1994年批准的520种新药中，天然产物占289种，新型食品添加剂中天然产物所占的比例由36%增加到54%<sup>[1]</sup>。

提取是分离和提纯物质的一种常用方法，是农产品加工及化工生产中广泛采用的一种单元操作。是大多数农产品加工的起点。天然产物有效成分大多存于细胞原生质中的液泡内，在溶媒进入细胞组织溶解其有效成分后变成浸出液。当前，现代化的制药工程、食品加工等行业中，提取技术是否先进，工艺合理与否，直接关系到生产的物耗、能耗。此外还影响到产品的质量和品质。

随着人们生活水平的不断提高，人们开始关注和追求生活的高质量，尤其是关注与健康长寿有关的医疗和保健消费。而天然产物的提取物作为一种可广泛地用于医药、食品、化妆品、保健品等制品上的产品，近年来，受到特别的重视和青睐，尤其是植物药产品，在国际市场上发展迅速。据预测，全球的植物药市场在2005年将突破260亿美元，2006年产值更将突破350亿美元，2010年将达到1000亿美元，市场前景十分看好。我国已把中药现代化课题列入“十五”重点计划和2015年发展规划，国家科技部也在“十五”计划和2015年发展规划中，把中药列为重点研究领域。要实现中药现代化，其首要的问题是将目标产物从大量的动植物组织中提取出，达到富集目标产物的目的，解决对中草药进行有效成分的提取和分离的技术问题<sup>[1,3]</sup>。

天然产物活性成分包括有黄酮、多酚、萜类等几百种，其分子主要特点有：相对分子质量相对较低，从几百到几千；具有一定的极性，可溶于许多有机溶剂中。天然活性成分的提取是中药现代化的重要组成部分，但目前中国中药主要是传统的中药丸、散等药剂，经济效益低，而以天然产物为主的保健食品和药物目前具有相当的市场。但由于对中药中真正有效的成分并不了解，或由于分离纯化困难，很难达到和国际接轨的要求。在天然产物分离纯化有所突破的基础上，开发高效的天然产物分离方法对彻底改变中国天然产物开发层次低、生产方式粗放、技术落后有重



要作用，对中国中药现代化及改造和提升传统中药行业有重要意义，而且纯化后的天然产物本身可形成新的经济增长点<sup>[1]</sup>。

由此可见，提取在天然产物的开发中具有十分重要的意义<sup>[4]</sup>：①降低原植物毒性，提高药效。寻找中草药的有效部位和有效成分，能够去除植物中无效而有毒的成分，从而降低毒性，提高疗效。②改进剂型，控制生产质量。中草药有效成分的含量受产地、采集季节及加工方法的不同而有所变化，在临床应用中其疗效往往也有所不同，工业生产时其质量较难稳定。如果我们能提取出其有效成分并进行生产，则可进行熔点、旋光度，甚至红外光谱和紫外光谱等物理常数的测定，这样可有效地控制工业化质量，以保证临床运用的效果。③扩大中草药的资源。针对某具有一定疗效中草药的某一药效成分，根据有效成分的化学性质和鉴别方法，可从其它中草药中也提取此成分，从而扩大某一药效成分的来源。④进行化学合或结构改造。有些中草药资源比较匮乏，或者资源虽然丰富但是用量十分巨大以致于供不应求，此时可以通过从其他中草药中提取再进行人工合成生产从而满足需要。

## 1.2 高新技术及其在提取分离中的应用概况

高新技术是指以科学技术新发现为基础，以知识密集、技术密集、智力密集和研发资金密集为条件的新兴的技术群。高新技术是一个建立在最新科学成就基础之上的、随着空间和时间动态变化的概念。它是对国家科技进步、经济的发展能产生重大影响，能促进产品、企业发展和产业结构优化的创新技术。高新技术与传统的技术相比有着许多突出的特点，主要体现在：它是智力密集型和知识密集型；它投资大、风险高、收益高；它发展快、更新周期短；学科带动性强、综合性强等。

如今传统的提取方法由于具有技术经验丰富、工艺简单、无须特殊设备等特点，依然普遍使用。但其存在耗时、费试剂、效率低、重现性差等缺点，而且现代社会一直在贯彻执行快速、高效、经济、节能的理念，传统的提取方法近年来已越来越不能满足发展的需要。高新技术科技迅速进步的大环境下，已经取得了快速的发展和广泛的应用与推广，在天然产物提取当中的应用也迅速成为深加工领域的一大热点。下面简述几种已经用于天然产物有效成分提取中的新技术。

### 1.2.1 超声波提取技术

自 19 世纪末到 20 世纪初，在物理学上发现了压电效应(1880 年居里发现<sup>[5]</sup>)与反压电效应之后，人们解决了利用电子学技术产生超声波的办法，从此迅速揭开了发展与推广超声技术的历史篇章。目前超声技术的研究已涉及到有机合成、生物化学、分析化学、高分子化学、高分子材料、表面加工、生物技术及环境保护等方面，广泛地应用于生物、海洋、航空、轻工、食品加工、化学、化工、医药、医疗和农药等诸多领域。新世纪以来，超声波应用于提取技术是一个较新的研究领域。

超声波和声波一样，是物质介质中的一种弹性机械波，只是频率不同。物理学中规定，高于 20kHz 的是超声波，上限可高至与电磁波的微波区 (>10 GHz) 重叠<sup>[6]</sup>。目前人们常用的超声波基本上分为两类：一类是频率高，能量低的诊断超声波，其频率多以 MHz 为单位；另一类是频率低，能量高的功率超声波，其频率则以 KHz 为单位<sup>[7]</sup>。它在介质中主要产生两种形式的振荡，即横向振荡(横波)和纵向振荡(纵波)，前者只能于固体中产生，而后者可在固、液、气体中产生。此外，超声波波形中还有表面波及板波<sup>[8]</sup>。超声波在物质介质中形成介质粒子机械振动，这种含有能量的超声振动引起媒质间的相互作用，可以归纳为热机制、机械机制和空化机制<sup>[9]</sup>。

由于超声波的以上机制，可以产生以下效应：①力学效应如搅拌作用、分散效应、破碎作用、除气作用、成雾作用、凝聚作用、定向作用；②热学效应如媒质吸收热引起的整体加热、边界处的局部高温高压等；③光学效应如引起光的衍射、折射、声致发光；④电学效应如超声电镀、压电；⑤化学效应如加速化学反应，产生新的化学反应物。究竟产生何种效应以及效应的强弱，与超声作用的参数及作用的对象密切相关，应视具体情况进行分析<sup>[9-10]</sup>。

超声波提取(Ultrasonic-Assisted Extraction)的机理除了基于惠更斯波动理论外，就是依据超声波在液体连续介质中传播时所特有的物理性质——机械和空化机制<sup>[11]</sup>。惠更斯波动原理指出，在其传播的波阵面上将引起介质质点(包括提取成分的质点)的运动，使其传播途径上的每一个介质质点都获行巨大的加速度和动能，经计算，在水中超声波可使水质点运动的加速度达重力加速度( $g=9.8\text{m/s}^2$ )的二千倍以上<sup>[11]</sup>。超声的机械机制能产生线形或非线形交变振动，其中线性的交变振动作用使媒质粒子作交变振动，并引起媒质中的应力或声压的周期性变化，从而引起一系列次级效应，可以使各种提取物料在溶媒中剧烈震动，这种大振幅振动在媒质中传播时会形成锯齿形波面的周期性激波，在波面处造成很大的压强梯度，因而能产生局部高温高压等一系列特殊效应，有利于目的物的浸出，非线性的震动引起的直流定向力，其中最主要是沿声波传播方向的辐射压强，对原料有一定的破坏作用<sup>[12]</sup>。但在提取过程中，超声在介质中传播能产生如此附加效应，这主要源于超声能量与物质尤其是液体之间的独特作用形式——超声空化<sup>[13]</sup>。目的物的提取其中就是利用空化和机制的作用不断产生无数内部压力达到上千个大气压的微气穴以及不断“爆破”产生微观上的强大冲击波作用在提取物料上，使其中的目的成分被“轰击”逸出，并使得物料基体被不断剥蚀、植物细胞壁破裂或变形，不属于植物结构的药效成分不断被分离出来，加速有效成份的浸出提取<sup>[11]</sup>。

超声波提取设备基本结构及组成主要由超声波发生器、超声振子(通称换能器)和处理容器组成<sup>[14]</sup>。超声波发生器是超声波的波源，它是超声设备的重要组成部分。超声换能器是电能与机械能之间的转换器。处理容器的作用是盛装需要超声加

工处理的物质。超声波发生器实质是一个功率信号发生器，产生一定频率的正弦(或类似正弦)信号，为超声换能器提供超声频的电能。高频方波电压加在超声换能器的两端，换能器本身是一种容抗元件，外加电感后组成一个串联谐振电路。根据超声换能器的谐振频率和阻抗，选择变压器的变比及电感的大小进行匹配，并通过调节整流可控硅导通角予以调节<sup>[15]</sup>。比较完善的超声波发生器还应有反馈环节，主要提供二个方面的反馈信号：第一个是提供输出功率信号。我们知道当发生器的供电电源(电压)发生变化时，发生器的输出功率也会发生变化，这时反映在换能器上就是机械振动忽大忽小，因此需要稳定输出功率，通过功率反馈信号相应调整功率放大器，使得功率放大稳定。第二个是提供频率跟踪信号。频率跟踪信号可以控制信号发生器，使信号发生器的频率在一定范围内跟踪换能器的谐振频率点，让发生器工作在最佳状态。

超声波技术为农产品加工提供了一种应用新选择，具有其他技术所没有的优势，但目前大多数超声技术还只停留在试验室阶段，工业规模的生产应用很有限，要使超声技术在农产品加工中有更广泛的应用，仍需科技工作者进一步开发、应用和推广。目前使用过程中的存在的主要问题有能耗较高、噪音较大、相关机理研究不充分等，再者没有工业规模的生产也是超声技术在工业上不能推广的严重障碍。要将超声技术在农产品加工中普遍推广应用，需从以下几方面开展进一步的研究工作：①超声波换能器的改进，提高能量转换效率，实现节约能源；②超声检测技术在应用中主要是受到检测精度和稳定性的限制，因此开发设计高精度、更稳定的超声信号检测系统是实现这一检测技术的前提；③研究超声作用产生的热效应对维生素类、多酚类、果蔬色香味等热敏性的活性成分的影响，其结果对超声技术在食品工业中的应用尤其重要；④研究超声场的选择性作用，以确定超声场作用特点，对超声设备的开发、设计和工艺参数的确定极为重要，是工程优化和工艺优化的基础；⑤对超声作用机理的深入研究，是实现技术应用的基础；⑥对超声产生的噪音进行控制，噪音影响了人们正常的工作，限制了超声技术的工业应用；⑦多频超声可应用频率高，能量低的超声波，作用效果比单频超声好，噪音小，备受研究者的关注；⑧超声技术在更多加工行业中的应用技术与开发<sup>[16]</sup>。

### 1.2.2 微波提取技术

微波技术起源于二十世纪30年代，二战期间，微波技术主要应用于通讯领域，当时为了研制雷达而成熟起来的。1986年，匈牙利人 Ganzler 首先报道了微波用于天然产物成分的提取，使用的是东芝 ER638ETD 家用微波炉<sup>[17-18]</sup>。20世纪90年代以来，微波技术已广泛应用于食品、生物、制药、通讯、医学、科学研究、环境样品、工农业生产及天然产物提取，微波用于食品加工技术是应用微波对物质的场致

作用来进行物料的加热、干燥、灭菌、烧结、萃取、催熟、调温和解冻等的特殊加工。整个 90 年代，国内外不少学者<sup>[19-23]</sup>将微波应用于天然产物的浸取过程中，有效地提高了收率，取得了可喜的进展。微波萃取是一种非常具有发展潜力的新的萃取技术，是在传统萃取工艺的基础上强化、传热、传质；通过微波强化，其萃取速度、萃取效率及萃取质量均比常规工艺优秀得多<sup>[24-26]</sup>。在如今人与自然、与社会和谐的时代，这种技术非常符合环境保护的要求，是一种全新的“绿色”萃取技术<sup>[27]</sup>。

微波一般是指波长在 1mm 到 1m 范围(相对频率为 300~300000 MHz)的电磁波，介于红外线和无线电波之间，由于微波频率很高，故在某些场合也称为超高频。为防止民用微波能技术对军用微波雷达和通讯广播的干扰，国际上规定工农业、科学及医学等民用微波有 I、S、C 及 K 等 4 个波段，频率分别为 890~940、2400~2500、5725~5875 及 22000~22250MHz。目前 915MHz 和 2450MHz 两个频率已广泛为微波加热所采用，另 2 个较高频段因无大功率发生设备，故仅在小功率情况下有所使用<sup>[28]</sup>。其中工业和生活中最常用的频率是 2450±13MHz(波长约 12.5cm)<sup>[29]</sup>。

微波辅助提取 (Microwave-Assisted Extraction) 是指利用微波的电磁辐射将目标物质从样品中快速萃取出来，使其进入溶剂中的萃取技术<sup>[30]</sup>。目前，对微波萃取机制的解释，Pare 等<sup>[31]</sup>提出的假设得到广大学者的认同，即微波萃取的机理可由以下两方面考虑：一方面微波辐射过程是高频电磁波穿透萃取介质，到达植物物料的内部维管束和腺细胞内，由于物料内的水分大部分是在维管束和腺细胞内，水分吸收微波能后使细胞内部温度迅速上升，而溶剂对微波是透明(或半透明)的，受微波的影响小，温度较低。连续的高温使其内部压力超过细胞壁膨胀的能力，从而导致细胞破裂，细胞内的物质自由流出，萃取介质就能在较低的温度条件下捕获并溶解，通过进一步过滤和分离，便获得萃取物料。另一方面，微波所产生的电磁场，加速被萃取部分向萃取溶剂界面扩散速率，用水作溶剂时，在微波场下，水分子高速转动成为激发态，这是一种高能量不稳定状态，或者水分子汽化，加强萃取组分的驱动力；或者水分子本身释放能量回到基态，所释放的能量传递给其他物质分子，加速其热运动，缩短萃取组分的分子由物料内部扩散到萃取溶剂界面的时间，从而使萃取速率提高数倍，同时还降低了萃取温度，最大限度保证萃取的质量。

微波萃取机理也有另一种描述<sup>[32]</sup>：由于微波的频率与分子转动的频率相关联，所以微波能是一种由离子迁移和偶极子转动引起分子运动的非离子化辐射能。当它作用于分子上时，促进了分子的转动运动，分子若此时具有一定的极性，便在微波电磁场作用下产生瞬时极化，并以  $24.5 \text{ 亿次} \cdot \text{S}^{-1}$  的速度做极性变换运动，从而产生键的振动、撕裂和粒子之间的相互摩擦、碰撞，促进分子活性部分(极性部分)更好地接触和反应，同时迅速生成大量的热能，促使细胞破裂，使细胞液溢出来并扩散到溶剂中。

由于微波在传输过程中遇到不同的介质，依介质性质不同，会产生反射、吸收和穿透现象，这取决于材料本身的几个主要特性：介电常数、介质损耗系数、比热、形状和含水量等。因此 Eskilsson 等<sup>[33]</sup>也根据微波的频率与分子转动频率的关联性进一步补充阐述了 MAE 机理，认为物质的介电常数、比热、形状及含水量的不同，各物质吸收微波能的能力不同，其产生的热能及传递给周围环境的热能也不同，这种差异使萃取体系中的某些组分或基体物质的某些区域被选择性加热，从而使被萃取物质从基体或体系中分离出来，进入介电常数小、微波吸收能力差的萃取剂中。

微波具有似光特性、波动特性、高频特性、热特性及非热特性(生物效应)<sup>[34]</sup>。这决定了微波萃取环境有机样品具有以下特点：①瞬间产生高温，萃取时间短<sup>[35]</sup>；②加热均匀<sup>[35]</sup>；③加热具有选择性，可通过选择适当的溶剂提高萃取效果<sup>[18]</sup>；④伴随着生物效应<sup>[36]</sup>。

微波能量是由微波发生器产生的，由波导装置无损耗地传输到提取腔内的。微波发生器包括微波管和微波管电源两个部分。其中微波管电源(简称电源或微波源)的作用是把常用的交流电能变成直流电能，为微波管的工作创造条件。微波管是微波发生器的核心，它将直流电能转变成微波能。微波管有微波晶体管和微波电子管两大类。微波晶体管输出功率较小，一般用于测量和通讯等领域。微波电子管种类很多，常用的有磁控管、速调管、行波管等。它们的工作原理不同、结构不同、性能各异，在雷达、导航、通讯、电子对抗和加热，科学研究等方面都得到广泛的应用。由于磁控管的结构简单、效率高、工作电压低、电源简单和适应负载变化的能力强，因而特别适用于微波加热和微波能的其他应用。只是磁控管在使用时应注意以下几个问题：①负载要匹配；②工作过程中的冷却；③合理调整阴极加热功率；④注意保存和防止运输中的振动。

如今，微波萃取技术已经表现出良好的发展前景和巨大的应用潜力。我国已将微波萃取列为 21 世纪中药产业现代化推广技术之一，应用前景将十分广阔。但大多数微波萃取过程还停留在实验室小样品的提取及分析上，所用设备较为简陋，许多甚至还在使用家用微波炉，因而不能提供工业化生产所需的基础数据。而且由于基体物质和被萃取物质的复杂性，在萃取机理方面仍有许多工作要做，甚至微波对农产品有效成分的药理作用和药物疗效影响的研究报道的很少，这方面几乎还是空白<sup>[37]</sup>。因此，目前对微波协助萃取技术需从以下方面进行研究和开发：①进一步深入研究萃取机理；②开发新的微波萃取系统及设备，供工业化生产应用；③研究现有设备技术改造方案，有效降低技术推广成本；④进一步研究有效安全防护设施，降低幅射泄漏；⑤开发微波萃取与其它技术结合的联用技术；⑥加强微波对农产品有效成分的药理作用和药物疗效的影响<sup>[38]</sup>。

### 1.2.3 超临界萃取技术

1822年, Cagniard de la Tour<sup>[39]</sup>首次在上世界上作了有关临界现象的报道, 1869年, 英国的 Thomas Andrews<sup>[40]</sup>发现超临界二氧化碳流体, 并测定出了 CO<sub>2</sub> 的临界参数, 即临界压力 Pc=7.2Mpa, 临界温度 Tc=304.065K。1879年, Hannay 与 Hogarth<sup>[41]</sup>首次发现超临界流体(Supercritical Fluid, 即 SCF)具有类似于液体的溶解能力, 为超临界流体技术应用提供了依据。1978年1月5日, 在原西德埃森(Essen)召开的世界首次超临界专题讨论会, 堪称现代超临界流体技术的里程碑<sup>[42]</sup>。而近30年来 SFE 作为一种清洁、高效及较好的选择性的新型分离方法, 在天然产物有效成分提取与分离、生产高经济附加值、难分离物质回收和微量杂质的脱除方面展现出勃勃生机<sup>[43]</sup>, 被誉为“超级绿色”(Super Green)新兴技术, 受到各国政府、企业和学术界的普遍关注。

超临界流体(SCF)是指超过临界温度与临界压力状态的流体, 具有接近液体的密度和溶解能力, 具有接近气体的粘度和扩散速度, 这就意味着超临界流体有很高的传质速率和很快达到萃取平衡的能力<sup>[44]</sup>。且 SCF 的密度当温度或压力有微小变化时, 它能有较大的变化, 超临界流体提取(Supercritical Fluid Extraction, SFE)就是依据这一特性, 利用密度的变化对物质溶解力的差异, 实现分离混合物的<sup>[45]</sup>。即 SFE 的过程是: 由于 SCF 对许多物质具有较好的渗透性和较强的溶解能力。当待处理的物料与 SCF 接触时, 能选择性地溶解某些组分, 进而通过减压、升温, 使 SCF 迅速汽化, 被溶解的物质就以固态或液态形式析出, 从而达到分离某些化合物的目的。

良好的超临界萃取溶剂应具有化学性质稳定、价格便宜、无毒、安全可靠、具有较低的临界温度和压力、较大的临界密度、容易与产品分离等特点。常见的超临界萃取溶剂有乙烷、丙烷、二氧化碳、一氧化氮、正戊烷、乙烯、乙醇、丁醇、水、乙酸乙酯、苯、氨、氟利昂等<sup>[46]</sup>。这些萃取剂中 CO<sub>2</sub> 最为常用, 这是因为超临界 CO<sub>2</sub> 具有一些独特的优点: ①CO<sub>2</sub> 临界温度低, 操作温度低, 有利于保持萃取的有效成分不被破坏, 特别适合热敏性物质的提取; ②CO<sub>2</sub> 还具有抗氧化、灭菌作用; ③CO<sub>2</sub> 无毒、无腐蚀性、无残留、不易燃烧、便宜易得; ④CO<sub>2</sub> 可以循环利用; ⑤密度大, 溶解能力强, 传质速率高; ⑥临界压力适中(7.4MPa), 容易实现, 临界温度为 31℃, 分离过程可在接近室温条件下进行。超临界流体 CO<sub>2</sub> 尤其适用于天然产物和生理活性物质的提取和分离。因 CO<sub>2</sub> 是非极性分子, 故主要用于萃取低极性和非极性的化合物。向超临界流体 CO<sub>2</sub> 加入一定量的水、甲醇、乙醇、乙酸乙酯等极性物质或它们的混合物(称为夹带剂或提携剂), 对分离物质的特定组分有较强的影响, 对提高其溶解度增加抽出率或改善选择性具有较大的作用。夹带剂的使用可使超临界流体 CO<sub>2</sub> 萃取剂更有效地对物质进行分离提纯, 适用范围进一步扩大<sup>[47]</sup>。

目前市场上销售的 CO<sub>2</sub> 超临界流体萃取设备的主要组成部件有萃取釜、分离釜、预热器、精馏柱(塔)、净化活化器、CO<sub>2</sub> 储存罐及主泵、携带剂(夹带剂)泵、蒸发器、制冷机组流量计、温度和压力控制系统等。萃取时将经过处理(一般为粉碎)的原料装入萃取釜,用循环热水加热预热器、萃取釜、分离釜至萃取温度,再将 CO<sub>2</sub> 储存罐中液态 CO<sub>2</sub> 经 CO<sub>2</sub> 主泵加压注入预热器,待超临界状态后经流量计计量后进入萃取釜。当萃取釜压力达到时,打开萃取釜的出口阀门,并注意保持压力不变。届时萃取釜内超临界 CO<sub>2</sub> 具有很强的渗透性和溶解性,经过萃取原料层时,萃取的目标产物及原料中的部分水分便溶解在 CO<sub>2</sub> 中。这些溶解物经过管道到达分离釜,经分离釜逐级降低超临界 CO<sub>2</sub> 的密度便把它们分离出来,从最后一个分离釜出来的 CO<sub>2</sub> 则自动返回 CO<sub>2</sub> 储存罐加以循环使用。萃取的目标产物可根据不同原料的分离时间和速率等情况,从分离釜下部的释放阀门放出,而从溶解物带来的部分水分一般从最后一个分离釜下部放出<sup>[48]</sup>。

目前,世界各国都集中人力物力对超临界技术基础理论、萃取设备和工业应用等方面进行系统研究,取得了长足进展。但超临界萃取技术作为一项新技术,其本身存在一些不足,如操作压力大、对设备要求高、自动化程度低等导致处理成本高、设备生产能力低、对有些成分提取率低,另外还有能源的回收、堵塞、腐蚀等技术问题的存在。限制其应用领域的进一步拓展。因此,科研工作者在不断地探索以下两个方面<sup>[49-50]</sup>:一是研究各种不同夹带剂对萃取效率和成分萃取选择性地影响,探索新的优质夹带剂,使超临界流体具有更大的溶解度、更高的选择性、更好的温度和压力敏感性;二是不断改进超临界萃取系统,使其能够实现自动化在线快速分离分析。

#### 1.2.4 酶辅助提取技术

人类生命物体的基本特征之一就是不断地进行新陈代谢,新陈代谢是由许多有机化学反应组成的,如动植物的消化反应和各种物质的合成与分解等。这些反应地进行在体内很快,原因是有生命的动植物体内存在着的一种生物催化剂——酶<sup>[51]</sup>。酶是由活细胞产生,并可在细胞内或细胞外起催化作用的一类蛋白质。生物体在新陈代谢过程中的化学反应,除极少数外,都是在酶的催化下进行的,离开了酶的催化作用,新陈代谢就不能进行<sup>[52]</sup>。

早在 4000 年前的夏禹时代,我国劳动人民已经掌握酿酒技术;3000 年前,我国已经用麦芽制饴糖;2000 年前,我国最先用麦曲治疗消化障碍。只是当时人们并未意识到这是“酶”在起作用<sup>[52]</sup>。直到 19 世纪,人们对酶的分子结构,酶作用的机理及酶系统的自我调节已形成了一个完整的工业体系<sup>[51]</sup>。开始认识了酶的高效、特异的催化特点和蛋白质的本质,进行各种有关酶的工业生产。

酶具有催化效率高,作用专一性强和催化条件温和等特点,用于工业可提高生产率,降低能耗,改善劳动条件,减少污染,还可以生产出其他方法难以得到的产品。因此,酶不仅用于食品和化工行业,还可用于基因工程、细胞工程等新技术领域。由于酶是蛋白质,可百分之百的被微生物降解,不会对环境造成危害。近年来,工业化用酶的用途已十分广泛。20世纪90年代中期以来,我国也陆续有研究报道将其用于中药的提取制备中,并取得了较好的效果<sup>[52]</sup>。

植物细胞由细胞壁及原生质体组成,细胞壁是由纤维素、半纤维素、果胶质,木质素等物质构成的致密结构,一般分为3层,即胞间层、初生壁和次生壁。胞间层的主要成分为果胶质。初生壁主要由纤维素、半纤维素和果胶质组成。初生壁的结构甚为复杂,由纤维素分子组成的微纤丝构成了其基本骨架,在微纤丝之间的空隙中,填着果胶质和半纤维素的胶体状物质。和初生壁一样,次生壁的骨架也是由纤维素分子组成的微纤丝构成的<sup>[53-54]</sup>。

酶提取(Enzyme Extraction)的原理是根据植物细胞壁的构成,选用一些恰当的酶类,如纤维素酶、半纤维素酶、果胶酶等作用与药用植物细胞,使细胞壁及细胞间质中的纤维素、半纤维素、果胶等物质降解,破坏细胞壁的致密结构,引起细胞壁及细胞间质结构产生局部疏松、膨胀、崩溃等变化,减小细胞壁、细胞间质等传质屏障对有效成分从胞内向提取介质扩散的传质阻力,从传质角度促使有效成分提取率提高<sup>[55]</sup>。而且选用恰当的酶,不仅可以较温和地分解植物组织,加速释放有效成分,还能分解去除影响液体制剂的杂质如淀粉、蛋白质、果胶等非目标成分,促进某些极性低的脂溶成分转化为易溶于水的糖苷类而有利于提取<sup>[56]</sup>。因此酶解法不失为一种最大限度从植物体内提取有效成分的方法之一,是一项很有前途的新技术<sup>[57]</sup>。

由于酶一般是在相对较低的温度下具有较大的活性,因此酶法提取过程一般分成2个步骤,一是酶解处理,低温下用酶降解细胞壁和胞间连接物;二是提取有效成分,通过提高温度使酶失活的同时,用溶剂浸提出有效成分<sup>[58]</sup>。

目前,酶技术在现代提取中正展示其独特的优势,引起许多企业和科研单位的关注,并已经开始了在这一领域的探索与研究。研究表明,与传统提取法相比,酶技术除了可提高生产率外,还具有更多显著优势,具体表现在:降低持水率;节约能源,减少污染,降低生产成本;实现低温提取,目标产物稳定;提取产物纯度、活性均高;改善有效组分,产出其他方法难以得到的产物,提高了产品的药用价值;操作简便易行,对设备的要求不高<sup>[52,58-59]</sup>。通过酶工程技术可在温和条件下对药效成分进行高选择性转化,不仅能克服工业常用提取方法中提取率低、工序复杂等问题,还能提高提取体系的澄清度、改变药材质地,同时可以在提取中改变原有天然成分结构,增加提取物的生理活性。



但是，酶法提取对实验条件要求较高，为使其发挥最大作用，需先经实验确定最适反应条件，同时还须考虑酶及底物浓度、抑制剂和激动剂等对提取物的影响。另外，目前研究主要集中在利用市场已有的酶进行工艺条件的探索，对非均相和较高温度的提取体系内酶的作用机理与过程的基础研究十分缺乏，并且缺少针对中药提取用酶的生产技术。关于这方面的基础与应用研究亟应加强，建立酶法提取的最适生产和工艺方法，有望实现高效提取与转化，降低生产成本。相信随着酶技术在中草药有效成分提取方面研究的不断深入，酶技术必将在中药现代化进程中发挥重要作用，酶法在提取植物有效成分应用中也必将更加普遍。

### 1.2.5 大孔吸附树脂技术

大孔吸附树脂是大孔树脂的一种，是 20 世纪 60 年代末发展起来的一类有较好吸附性能的有机高聚物吸附剂。大孔吸附树脂(Macroporous Adsorption Resins)是一种不含交换基团、具有大孔结构的高分子吸附剂。它是利用树脂能发生吸附—解吸作用，以达到物质的分离、纯化目的的一类可以反复使用的树脂。大孔吸附树脂在医药领域有其独特的作用，与传统吸附剂相比，大孔吸附树脂具有比表面积大、选择性好、吸附容量高、吸附速度快、易于解吸附、物理化学稳定性高、使用周期长、再生处理简便、耐污染等优点。它包括大孔离子交换树脂和大孔吸附树脂，大孔离子交换树脂与大孔吸附树脂的界线有时很难划分。一般观点认为，依靠物理界面力作用引起溶液中溶质浓度的减少称为吸附，因化学作用引起溶液中溶质变化的称为离子交换。起离子交换与吸附作用的树脂分别称为离子交换树脂和吸附树脂<sup>[60]</sup>。20 世纪 70 年代末，大孔吸附树脂技术逐步应用到天然药物有效成分的提取分离，是继离子交换树脂后的分离新技术之一，是提取分离有机化合物尤其是水溶性化合物的有效手段。尤其适用于分离纯化甙类、黄酮类、皂甙类、生物碱类等成分及大规模生产<sup>[61]</sup>。

大孔吸附树脂是吸附性和分子筛性原理相结合的分选材料，它的吸附性是由于范德华引力或产生氢键的结果，分子筛性是由于其本身多孔性结构的性质所决定。以范德华力从很低浓度的溶液中吸附有机物，其吸附性能主要取决于吸附剂的表面性质。如表面的亲水性或疏水性决定了它对不同有机化合物的吸附特性。非极性化合物在水中易被非极性树脂吸附，极性树脂则易在水中吸附极性物质，中性树脂既可由极性溶剂中吸附非极性物质，又可由非极性溶剂中吸附极性物质。另外，物质在溶剂中的溶解度大，树脂对此物质的吸附力就小，反之就大。分子量小、极性小的化合物与非极性大孔吸附树脂吸附作用强<sup>[62]</sup>。

大孔吸附树脂使用前必须进行其预处理。目前常用的处理方法有以下几种<sup>[63]</sup>：  
①将树脂浸泡在乙醇、甲醇等醇类溶剂一定时间，然后在真空条件下干燥得到处理

树脂；②将树脂浸泡在乙醇等醇类溶液一定时间后，上柱用乙醇溶液冲洗，直致冲洗液中无白色浑浊物，或直至冲洗液的紫外吸收干扰为 0；③将树脂浸泡在乙醇溶液中一定时间后上柱，然后依次用水、酸、水、碱、水冲洗，直至冲洗液中无白色浑浊物并且呈中性。

但是，由于天然药物成份复杂，大孔吸附树脂种类繁多，因此，对天然药物成分分离纯化的影响因素也很多。具体影响因素为：①被分离物成分的性质；②上样溶剂的性质，通常一种成分在某种溶剂中溶解度大，则在该溶剂中，树脂对该物质的吸附力就小，反之亦然。故在上样溶液中加入适量无机盐可使树脂吸附量加大。一般而言，酸性化合物在酸性溶液中进行吸附，碱性化合物在碱性溶液中进行吸附较为合适，中性化合物可在近中性的情况下被吸附；③上样溶液的浓度；④吸附的流速；⑤洗脱剂的性质。可根据吸附力强弱选用不同的洗脱剂及浓度。对于非极性树脂，洗脱剂极性越小，其洗脱能力越强；对于中极性树脂和极性树脂，则用极性较大的洗脱剂为宜。为了达到满意效果，可设几种不同浓度的洗脱剂洗脱，以确定最佳洗脱剂浓度。另外，洗脱剂的 pH 值对其洗脱能力也有影响。通过改变洗脱剂的 pH 值，可使吸附物形成较强的离子化合物，很容易被洗脱下来，从而提高洗脱率<sup>[64]</sup>。

虽然大孔吸附树脂在中药制剂领域的应用已取得一定的进展，但是由于树脂纯化技术的应用时间相对较短、用来制备中药复方制剂则还刚刚起步，相关基础研究较薄弱等原因，实际应用中还存在一些问题，具体表现在<sup>[65]</sup>：①树脂的型号和质量，采用大孔吸附树脂精制中药的关键在于保证应用的安全性、有效性、稳定性及可控性。应用大孔树脂分离、纯化中药提取液，首先就应针对提取液中主要成分的理化性质选择合格的树脂。②树脂的安全性，树脂的组成与结构既决定树脂的吸附性能，也可从中了解可能存在的有害残留物。市售的大孔吸附树脂一般含未聚合的单体、致孔剂（多为长碳链的脂肪醇类）、引发剂、分散剂和防腐剂等。这些物质混入制剂中对人体大都会产生一定的危害，因此使用前必须经过处理将其除去。③树脂的适用性，由于大孔吸附树脂的固有特性，它能富集、分离不同母核结构的药物，可用于单一或复方的分离与纯化。但实际上，大孔吸附树脂型号很多，性能用途各异，不同类型树脂对同一成分有不同程度的吸附，同一型号树脂对多种成分也有不同程度的吸附。而中药成分又极其复杂，尤其是复方中药，因此必须根据功能主治明确其有效成分类别和性质，选择适宜的树脂。④树脂吸附及洗脱工艺应用大孔吸附树脂分离纯化中药成分时，上样液必须用水溶解后滤过或者离心处理，否则影响吸附甚至引起树脂柱的堵塞。⑤树脂的稳定性与再生，大孔吸附树脂是有机高分子聚合物，在使用过程中会因为某些成分的不可逆吸附而老化，虽经再生处理，吸附能力也会降低，从而影响其对有效成分的吸附、分离，并且在一定条件下或长期

的使用过程中，树脂还可能会发生降解而进入药液中产生二次污染，严重影响产品的安全性。

大孔吸附树脂技术的应用还有一个不断发展完善的过程。当前应加强大孔树脂基础方面的研究工作<sup>[65]</sup>：①展开对大孔吸附树脂纯化不同中药有效部位的特性研究，寻找具有指导意义的吸附特性参数；②探讨各类有效成分在树脂上的吸附模型（多分子层吸附或单分子层吸附），拟合必要的数学模型以指导实际操作；③加强工业生产上的放大试验研究。通过这些研究，对于优化生产工艺，提高分离效果，充分利用中药材资源具有重要意义；尤其是为推广吸附纯化法于中药制剂提供应用基础。

### 1.2.6 膜分离技术

人们对于膜现象的研究源于1748年，法国学者阿贝诺伦特（Abble Nellet）发现水会自发地扩散到装有酒精的猪膀胱内，而且首创 Osmosis 一词，用来描述水通过半透膜的现象，成为第一例有记载的描述膜分离的试验<sup>[66]</sup>，但长期来这一现象并未引起人们的重视。膜分离技术的工业应用是在20世纪60年代<sup>[67]</sup>以后，自1968年美国 N·N·Li 博士发明了膜分离技术以来，随着科学技术的发展，特别是新型高分子材料的开发，膜分离技术已成为各国研究的热点<sup>[68]</sup>。其发展历程大概为：20世纪30年代微孔过滤(Microfiltration)；40年代渗析(Dialysis)；50年代电渗析(Electrodialysis)；60年代反渗透(Reverse osmosis)；70年代超滤(Ultrafiltration)；80年代气体分离(Gas separation)；90年代渗透汽化(Pervaporation)<sup>[69]</sup>。由于其省能、高效、简单、造价低、易于操作，可代替传统的分离技术(如精馏、蒸发、萃取、结晶等过程)，所以是对传统分离方法的一次革命，至今已形成了相当大的产业规模，广泛应用于化工、电子、轻工、纺织、石油、食品、医药等工业，被公认为20世纪末至21世纪中期最有发展前景的高技术之一<sup>[70]</sup>。

膜分离技术<sup>[71]</sup>(Membrane Separation Technology)是利用天然或人工合成的、具有选择透过性的高分子膜，以外加压力或化学位差等为推动力，对双组分或多组分的溶液进行分离、分级、提纯和富集的技术。其基本原理是利用高分子膜的选择透过性，以浓度差梯度、压力梯度或电势梯度作为推动力，在膜相际之间进行传质，以达到不同组分的分离和纯化的目的<sup>[72]</sup>。目前已经深入研究和开发的膜分离技术有：微滤、超滤、纳滤、反渗透、电渗析、渗透汽化和气体分离等，正在开发研究中新的膜过程有：膜蒸馏、支撑液膜、膜萃取、膜生物反应器、控制释放膜、仿生膜以及生物膜等过程<sup>[73]</sup>。在工业上膜技术分离物质大致尺寸：为微滤( $\geq 0.1\mu\text{m}$ )、超滤(10-100nm)、纳滤(1-10nm)、反渗透( $\leq 1\text{nm}$ )几类<sup>[74]</sup>。微滤技术即微孔过滤，其基本原理是筛孔分离。在压力差的推动下，原料液中的溶剂和小的溶质粒子透过

膜，而大的粒子组分被膜截留，达到溶液的净化目的。超滤(UF)也是一个以压力差为推动力的膜分离过程。超滤膜分离主要是依据筛分原理，根据膜的截流分子量不同进行分离<sup>[75]</sup>。纳滤(Nanofiltration, NF)是80年代末问世的新型分离技术。纳滤膜具有纳米级孔径，截流分子量介于反渗透膜和超滤膜之间，为200-2000。主要特点是膜的表面常带正或负电荷<sup>[76]</sup>。反渗透是依靠渗透膜在压力的作用下使溶液中的溶剂与溶质进行分离的过程，从而达到纯化和浓缩的目的。

膜分离技术的核心是膜本身，膜材料分为有机和无机两大类。有机材料主要包括纤维素类、聚酰胺类、芳香杂环类、聚砜类、聚烯烃类、硅橡胶类、含氟高分子类等；无机材料主要以金属、金属氧化物、陶瓷、多孔玻璃等为主<sup>[73]</sup>。目前，开发新型有机高分子膜材料、加强“超薄”和“活化”制膜工艺的研究是目前有机高分子分离膜发展的动向，大致有以下几个方面<sup>[77]</sup>：①继续进行各种分子结构、各种功能基团有机高分子膜材料的合成，定量的研究分子结构与分离性能之间的关系；②对膜的表面进行改性。根据不同的分离对象，引入不同的活化基团，使膜的表面(分离层)活化；③发展高分子合金膜；④研究新的成膜工艺，进一步发展制备超薄、高度均匀(无孔或孔分布均匀)、无缺陷的非对称膜皮层的技术与工艺。

各种膜分离装置主要包括两部分：一是膜分离单元，即膜组件；二是对流体提供压力和流速的装置，即泵。膜组件是膜分离装置的核心部分。要求具有良好的机械稳定、化学稳定性和热稳定性、装填密度大、流体流动方式合理、压力损失低且造价低等。目前工业中常用的膜组件有板框式、管式、螺旋卷式、中空纤维式、毛细管式和槽条式等几种类型<sup>[78]</sup>。管式：易清洗、无死角，适宜于处理含固体量较多的料液，保留体积大，单位体积中所含过滤面积较小压力降大；中空纤维式：保留体积较大，单位体积中所含过滤面积大，可以逆洗，操作压力较低，料液需要预处理，单根纤维容易损坏，一旦单根纤维损坏，需调换整个模块；卷式：单位体积中所含过滤面积大，换新膜容易，操作压力可达较高，流速快；平板板式：保留体积小，能量消耗介于管式和卷式之间，死体积大；离心管式：用于生物技术中小量样品处理或分析用，在普通小型离心机上使用，操作方便一次性使用；注射针筒式：用于小量样品处理，手推操作，快速简便；空气加压式：接高压氧气瓶或氮气瓶，用于小体积样品操作<sup>[79]</sup>。

从前面我们可以看到，与蒸馏、分馏、沉淀、萃取、吸附等传统的分离方法相比，膜分离具有以下优点<sup>[80]</sup>：①分离过程中不发生相的变化，能耗小；②在常温下进行，特别适用于热敏感物质如：蛋白质、酶、药品的分离、分级、浓缩和富集；③应用范围广，对无机物、有机物及生物制品都可适用，还适用于许多特殊溶液体系的分离，如：溶液中大分子与无机盐的分离、一些共沸物及近沸点物系的分离等；④设备简单，操作容易，制造方便。但是作为一门新兴的科学领域，今后膜分离提

取得研究工作还要进一步从以下几方面进行<sup>[81]</sup>：①膜萃取过程的传质机理和数学模型，如何提高膜萃取过程的体积传质系数等；②膜材料的浸润性能及其对传质的影响；③膜萃取过程中的两相渗透问题；④膜萃取过程中膜孔溶胀及其对传质速率的影响；⑤膜萃取过程付诸应用的可能性及膜器结构和操作条件优化等。

### 1.2.7 动态逆流提取技术

天然产物有效成分的分子量一般都比无效成分的分子量小得多，提取时要求有效成分透过细胞膜渗出，无效成分仍留在细胞组织中以便除去。天然产物有效成分提取是采用适当的溶剂和方法使物料中所含的有效成分或有效部位浸出的操作，提取时要求有效成分透过细胞膜渗出，这是一个浸提过程，这一过程一般可分为湿润、渗透、解析、溶解、扩散等相互关联的阶段。溶剂进入物料细胞后可溶性成分大量溶解，当浸出溶剂溶解大量有效成分后，细胞内液体浓度显著增高，使细胞内外出现浓度差和渗透压差。所以，外侧纯溶剂或稀溶液向细胞内渗透，细胞内高浓度的液体可不断地向周围低浓度方向扩散，至内外浓度相等，渗透压平衡时，扩散终止。因此，浓度差是渗透或扩散的推动力，生产中最重要的是保持最大的浓度梯度。要达到快速完全地提取物料中的有效成分，就必须经常更新固液两相界面层，使浓度差保持在较高的水平，创造最大的浓度梯度是浸出设备设计的关键<sup>[82-83]</sup>。

动态逆流提取 (Dynamic Countercurrent Extraction) 即是根据这一原理进行工作的，在提取过程中物料和溶剂同时作连续相向的逆流运动，物料在运动的过程中不断改变与溶剂的接触情况，使物料在提取过程中与溶剂充分接触，同时在设备内部不断更新溶剂，溶剂在流动过程中不断获得物料的有效成分，浓度不断提高，在连续进液和连续出液的过程中，溶剂中存在连续的浓度梯度，从而使提取液可以获得比较快的浸出速度，也可以获得比较高的提取液浓度并从相反方向流出<sup>[84]</sup>。此项技术利用了固液两相浓度梯度差，逐级将物料中的有效成分扩散至起始浓度相对较低的提取液中，达到最大限度转移天然产物中有效溶解成分的目的<sup>[85]</sup>。

动态逆流提取的工作过程一般为<sup>[86]</sup>：在初提取段，预处理后的天然产物由进料控制机构经计量器均匀地投入提取器一端，由螺旋推运器推向另一端，在推送的过程中将物料搅拌、翻滚，使物料始终处于动态状态，与提取液充分浸润接触，由于物料开始时本身温度低，投入后与从前面逆流过来的提取液（浓度高、温度低）接触，天然产物中的易提取成分，如香气成分、色素、氨基酸、酮类物质等先浸出，浸出后即从出液口流出，进入下一道工序；物料继续前进进入深提取段，物料被螺旋推运器向前推进的过程中，接触的溶剂温度越来越高，提取液浓度越来越低，保持较高的渗透压，这样提取的物质会逐渐浸出；在末段，物料经充分提取后，料渣被逐渐向后推进到加溶剂口附近，这一段提取液的浓度最低，温度最高，提取液对

料渣进行表面渗洗，使料渣表面粘附的可溶性成分被洗下进入提取液中，而料渣经过渗洗后，被推进到排渣机构，通过排渣装置将其排出。

动态逆流提取与一般的提取方法相比，具有显著的优点<sup>[87]</sup>：①提高有效成分的收率；②能连续作业，生产效率高；③应用范围广；④降低生产成本。据报道<sup>[88]</sup>，采用动态连接逆流提取工艺能节约溶剂用量 50%，降低能耗约 30%，有效成分提取率提高 10%以上，最终溶剂的有效成分含量是通常提取的约 2 倍。

在动态连续逆流提取过程中添加各种物理场（如超声波、微波、电脉冲等）、外源温度、压力等作用，强化提取效率，可以大大缩短提取时间。由此又衍生了动态连续逆流超声波提取法、动态连续逆流微波提取法、动态连续逆流电脉冲提取法、负压动态连续逆流提取法等。与其它现有分离技术中的一个（膜技术、高速离心及大孔树脂吸附技术等）或几个组合，可形成以动态连续逆流提取有效成分为核心的中药产业化技术体系<sup>[89]</sup>。

### 1.3 超声-微波协同提取的研究及应用概况

#### 1.3.1 现阶段应用状况

目前对超声联合微波协同提取的应用报道，主要集中在多糖的提取中，对多酚、黄酮、有机酸等其它成分的提取也有一定报道。

多糖是由许多单糖以糖苷键结合而成的高分子碳水化合物，多糖分布广泛，在高等植物、细菌、真菌、藻类以及动物体内含量丰富。最近的研究表明，多糖具有抗肿瘤、抗病毒和降血糖等功效。赵小亮等<sup>[90]</sup>采用超声-微波协同萃取法和常规水浴提取杜梨果实多糖，并用蒽酮-硫酸比色法测定多糖含量，结果表明：超声波-微波协同萃取法比较常规水浴法提取杜梨果实多糖效果更好。汪河滨等<sup>[91]</sup>采用超声-微波协同萃取法从黑果枸杞中提取多糖，并用蒽酮-硫酸比色法测定多糖含量，结果表明：用超声-微波协同萃取法提取，测得黑果枸杞多糖含量较常规法高出 1.35%。王志高等<sup>[92]</sup>利用超声-微波协同萃取枇杷叶中多糖，结果表明：相对于水提醇沉法及微波提取法，超声-微波协同萃取法提高了提取率，缩短了提取时间。

黄酮类化合物多存在于高等植物和羊齿类植物中，常以游离或与糖结合成苷的形式存在，在花、叶、果实等组织中多为苷类，而在木质部组织中多为游离苷元。主要包括黄酮、异黄酮、二氢黄酮、儿茶精、花色素等及各种衍生物。研究表明，黄酮类化合物具有降压降血脂和抑制血小板聚集等功效，广泛存在于天然产物中。罗锋等<sup>[93]</sup>采用超声-微波协同萃取法，从甘草中提取黄酮，用分光光度法测定黄酮含量。结果表明：经超声-微波协同萃取法提取甘草中总黄酮的含量较常规法高出近 0.3%，超声-微波协同萃取法使样品介质内各点受到的作用一致，降低目标物与样品基体的结合力，加速目标物从固相进入溶剂的过程。唐仕荣<sup>[94]</sup>研究了乙醇浓度、

微波功率、微波处理时间、料液比、银杏叶粉碎颗粒大小以及微波-超声波协同作用对银杏黄酮提取效率的影响,结果表明:微波处理,微波-超声波协同处理可以显著提高银杏黄酮的提取率。李莹等<sup>[95]</sup>对超声波、微波及超声/微波联合作用 3 种不同提取银杏叶总黄酮方法进行了探讨,实验结果表明,超声波和微波联合作用较任何单一方法的提取率均高。

酚类化合物是一类结构中含有酚基官能团的化合物,广泛分布于植物细胞中,由于其羟基取代的高反应性和吞噬自由基的能力而有很好的抗氧化活性。研究表明,多酚类化合物可以延缓肿瘤的发作,抑制肿瘤的形成,提高认知功能,抑制低密度脂蛋白 LDL 氧化及抑制血小板凝集等功能。杨会成等<sup>[96]</sup>以超声波、微波复合浸提为前处理手段,在单因素实验的基础上采用正交实验对海带多酚浸提工艺参数进行了优化与研究,确立了多酚提取最佳工艺条件。结果表明:采用料液比(匀浆:乙醇, g/mL)1:7,乙醇体积分数 85%,浸提温度 70℃,浸提次数 2 次,浸提时间 4h。在该条件下海带多酚提取率为 2.08%。由此可见,将超声波与微波联用于多酚的提取具有很好的效果。

马利华等<sup>[97]</sup>研究了传统蒸馏法与超声波-微波协同萃取法对牛蒡中类胡萝卜素提取率的影响,通过两种提取方法的比较得出:超声波-微波协同萃取法比传统蒸馏法对类胡萝卜素提取率高近一倍。徐竞<sup>[98]</sup>研究了微波和超声波对柿子红色素提取的影响,通过单因素分析和正交试验设计确定了最佳提取工艺条件,结果表明:微波和超声波处理通过打断色素与其结合、破碎组织细胞,在很大程度上提高了柿子红色素的提取率。凌敏等<sup>[99]</sup>研究了超声波辅助微波萃取法从迷迭香中提取迷迭香酸的工艺条件,结果表明:采用超声波辅助微波提取迷迭香酸,具有提取率高,提取时间短和节能等优点。蔡友华等<sup>[100]</sup>研究了巴西虫草菌丝体中甘露醇的超声-微波协同萃取工艺,结果表明:超声-微波协同萃取在提取时间和提取率等方面都要优于水热浸提。

### 1.3.2 协同提取工艺

超声-微波协同提取工艺就是将超声波与微波用于同一个提取工艺过程中来进行天然产物有效成分的提取,可以通过结合超声与微波各自在提取中的机理与优势,更大幅度地提高提取得率。根据超声波与微波的同时启闭、先超后微、先微后超等多种不同的辅助提取方式,或再结合其他提取方式来实现不同的提取工艺。目前试验表明,通过正确的提取工艺与方法,这种方法是切实可行的。

### 1.3.3 提取设备的开发

目前国内外对超声波提取、微波提取的单独使用已有大量的研究报导,也相应开发出了超声波单罐提取设备、微波单罐提取设备。随着研究逐步深入,提取效果

也变得越来越明显，但超声-微波协同提取设备的开发还处于初期，面市的产品更是见之甚少。

2007年第十二届北京分析测试学术报告会及展览会（BCEIA）上，由上海新拓微波容样测试技术有限公司与中山大学化学学院邹世春博士等人联合研制出的CW-2000超声-微波协同萃取/反应仪得到了评委们的广泛认可，荣获2007年BCEIA展览会仪器金奖。CW-2000超声-微波协同萃取/反应仪正是凭借其独特新颖先进的技术组合、良好的用户评价和广阔的应用前景成为了2007年BCEIA会上在众多微波仪器中唯一获得这一殊荣的仪器。该仪器中直接固定于超声波换能器（50W）上的样品容器，巧妙地置于功率可调，温度可控的微波超声波辐射腔内，通过一系列电子自控技术，实现了直接超声波萃取、开放式微波萃取和微波-超声波二者协同萃取等各种不同的萃取方法。此设备目前也只是一台试验设备，正被逐步的推广。

#### 1.3.4 提取过程中需要注意的问题

目前在超声-微波共同用于天然产物提取的探索中往往出现以下几个比较突出的问题：

##### （1）选择合适的目标提取物及超声与微波参数

许多实验表明，不同的中药材及天然产物，由于其组织结构和目标成分的生化性质的不同，采用不同的参数（主要包括频率、功率和作用时间等），提取结果是不一样的。

##### （2）对生物活性的影响

部分研究表明，无论在水溶液中还是在有机溶剂中，适当的超声与微波辐射都可以增强成分生物活性。如适当的超声与微波辐射都可以增强酶活性，使酶促反应速率提高。而高强度的超声与微波则会抑制酶的活性，甚至使酶失活。

##### （3）对提取物稳定性的影响

由于超声波与微波在提取过程中都具有强烈的破坏作用，而且还伴有一定的化学效应，所以在提取过程中会产生很多具有较强活性的自由基，能与许多抗氧化性物质反应，破坏活性成分。再者大多数中药及天然产物的有效成分具有较强的活性，因而提取物的稳定性较差。

##### （4）波的泄漏及设备的密封性

高强度的超声波，噪声极大，长期在超声辐射下工作的人有不适感。微波对人体伤害极大。设备的密封性就是一个铁的指标，波的泄漏应绝对避免。

### 1.4 本课题的研究目的与意义

从农产品中提取有效成分是农产品深加工的一个重要方向，使用超声-微波协同



逆流提取技术可以显著地提高提取农产品时有效成分的溶出和收率、缩短提取时间、实现提取的连续作业，提高生产效率。该项目具有很好的经济意义，还可以促进农产品深加工的技术发展。

本文以茶叶和绞股蓝为原料，分别进行了水浴法提取、超声波辅助提取、微波辅助提取、超声-微波协同提取等试验，研究了不同工艺条件对绞股蓝皂苷和茶多酚得率的影响，优化获得了提取工艺参数，可为工业化提取绞股蓝皂苷和茶叶中茶多酚提供一定的参考。

本论文基于本实验室已有逆流提取机组，根据微波、超声波和动态逆流提取的原理分析和有机结合，开发出超声-微波协同逆流提取设备。研制的超声-微波协同逆流提取设备可以应用于农产品深加工企业提取农产品中的有效成分，如从栀子中提取黄酮和多糖、从罗汉果中提取多糖、从茶叶中提取茶多酚、从绞股蓝中提取多糖、从菊花中提取黄酮、从玉米中提取脂多糖、从苋菜中提取红色素、从辣椒中提取辣椒碱、从山药中提取糖蛋白、从水芹菜中提取黄酮、从桑叶中提取多糖、从番茄中提取番茄红素等等，也可以应用于中药企业提取中草药中的药用成分。该提取设备比传统的单罐提取设备有着明显的优势，从而具有很好的市场前景。国内大多数从农产品中提取有效成分的企业都使用传统的单罐提取，我国的绝大多数农产品深加工企业和中药生产企业基本上也都使用单罐提取，这就为本研究研制的提取设备的推广和应用提供了巨大的市场空间。同时该设备的研制也为天然产物提取设备的开发与研究提供了一定的技术理论基础。

研制的提取设备是集超声波提取、微波提取、逆流提取于一体的用于提取农产品有效成分的生产型设备。在进行天然产物有效成分提取时，可进行动态逆流提取、超声波强化逆流提取、微波强化逆流提取、超声-微波协同逆流提取等多种选择，针对不同的物料和目标产物可以择优选用，具有使用方便、适应面广、便于工业化生产等诸多优势。因此，该课题具有很好的应用前景，可以促进农产品深加工的技术发展。

## 2 绞股蓝皂苷的提取试验研究

### 2.1 绞股蓝研究现状

#### 2.1.1 绞股蓝简介

绞股蓝[*Gynostemma pentaphyllum*(Thunb) Makino], 又名七叶胆、五叶参、七叶参等, 是葫芦科绞股蓝属植物, 为多年生蔓生草本, 早在我国《救荒本草》中已有记载。该属植物广泛分布于亚热带, 全世界约有 16 种和 3 个变种, 我国有 15 种和 3 个变种<sup>[101]</sup>, 广泛分布于秦岭及长江以南广大地区, 以长江南岸、神农架、星斗山等地产的绞股蓝质量为上乘, 印度、日本等国家亦有分布<sup>[102]</sup>。另外, 我国北方引种也已成功<sup>[103]</sup>。

绞股蓝的主要药效成分是绞股蓝皂苷 (*Gynosaponins*, GP), 近几年国内外对绞股蓝皂苷提取的研究也投入了大量的人力和物力。现已从绞股蓝中分离鉴定了 80 多种与人参皂苷有类似骨架的达玛烷型绞股蓝皂苷<sup>[104]</sup>。其中有 4 种皂苷分别与人参皂苷 Rb1、Rb3、Rd、F2 的结构完全相同, 而且人参皂苷的含量是人参的 8 倍, 总皂苷含量是人参的 3 倍, 绞股蓝皂苷与人参皂苷作用相似, 无过量服用的副作用, 是一种新的药食两用植物资源<sup>[105]</sup>。此外, GP 还含有糖类、黄酮、甾醇、各种氨基酸和微量元素<sup>[106]</sup>。

据《中药大辞典》(上海科学技术出版社, 1986 年 5 月第 1 版)记载, 绞股蓝味苦寒、无毒、具有消炎解毒、止咳祛痰之功, 主要用来治疗慢性支气管炎。1976 年起, 日本学者对绞股蓝进行了大量的化学、药理方面的研究<sup>[107]</sup>。中医认为绞股蓝具有清热解毒、祛痰止咳、镇静安神、益气强身的功效, 现代药学研究证实绞股蓝皂苷还有降血脂、降血糖、抗溃疡、抗肿瘤、抗疲劳、抗衰老、保肝及增强免疫功能等作用<sup>[108-109]</sup>。如今, 已有以绞股蓝为原料研制各种保健品的报道<sup>[110]</sup>。更有甚者, 绞股蓝提取物在食品、饮料、化妆品和保健品等方面业已显示出了良好的开发前景。因此, 研究高效、经济的绞股蓝有效成分提取分离方法也更是具有现实意义。

#### 2.1.2 绞股蓝有效成分提取的研究概况

如何将已知或未知的有效成分高效率地提取出来是中药开发和中药现代化研究的关键技术之一<sup>[111]</sup>。直至目前, 绞股蓝有效成分的提取主要局限在绞股蓝皂苷、多糖以及氨基酸等的提取上。而且绞股蓝皂苷是目前提取最多, 提取工艺相对较成熟的绞股蓝成分。

绞股蓝皂苷的提取是绞股蓝皂苷生产工艺的关键环节之一, 提取效果的好坏直接影响到生产成本和生产过程。提取是一个复杂的过程, 提取溶剂、料液比、提取

温度、提取时间、物料粉碎度等都是提取得率的影响因素，因此必须进行合理的选择。另外，选择合理的提取方法也是至关重要的，近年来，随着科技发展，新技术、新材料的不断发现，一些新的提取技术逐渐被应用到绞股蓝皂苷的提取上，如超声波技术、微波技术、超临界萃取、酶工程技术、大孔吸附树脂法、膜分离技术等，其中微波和超声波以其反应敏感、升温快速均匀、操作简单、工作效率高、提取率高等优点受到人们的重视。如陈艳莉<sup>[112]</sup>早在 1994 年将超声波应用到皂苷的提取当中，显示出提取时间短、温度低、收率高等优点。宋小妹等<sup>[113]</sup>将超声波应用于总皂苷的提取，实验表明：超声法可以提高绞股蓝总皂苷的提取率，最佳提取工艺为超声高频提取 3 次，每次 80min，得率为 1.226%。张慧丽等<sup>[114]</sup>通过正交实验优化提取确定超声提取绞股蓝总皂苷的最佳条件为：提取温度 60℃，超声波功率 20kHz，80%的甲醇溶液 52 mL 回流提取 3 次，每次 130 min。

我国野生绞股蓝分布广泛，人工种植又易种易活，防病力强，产量高，开发绞股蓝资源可缓解人参皂苷供应的紧张局面，绞股蓝所含化学成分较多，药理活性广泛，疗效确切，副作用轻微，价格低廉，不仅可以供药用，还可制成保健滋补品，在生产中有着重要的开发利用价值。

## 2.2 试验材料与设备

### 2.2.1 试验材料

绞股蓝叶：购于湖北省咸丰县绿缘富硒绞股蓝有限公司；

人参皂苷 Rb<sub>1</sub>、Rb<sub>3</sub>、Rd、F<sub>2</sub> 标准品：中国药品生物制品检定所；

果胶酶（酶活 95000AJDU/mL）：凯瑞生化科技生产；

高氯酸、冰醋酸、香草醛等均为分析纯。

### 2.2.2 试验设备

TDL-5 台式离心机：上海安亭科学仪器厂；

SL202N 型电子天平：上海明桥精密科学仪器有限公司；

DZC-403 型真空干燥箱：天津天宇机电仪器有限公司；

722s 可见分光光度计：上海精密科学仪器有限公司；

HH 数显恒温水浴锅：金坛市金城国胜试验仪器厂；

SHZ-D（III）型循环水真空泵：河南省巩义市英峪予华仪器厂；

KG3200DE 型数控超声波清洗器：昆山超声仪器有限公司；

JCT-1200 超声波提取机：山东省济宁市超声波电子仪器厂；

NX80-1200 超声波提取器：鑫能信超声设备（集团）有限公司；

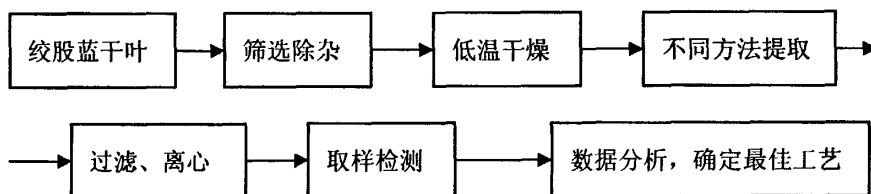
WD750B 型微波炉：顺德格兰仕电器厂有限公司。

## 2.3 试验设计与检测方法

### 2.3.1 试验设计

先进行单因素试验，得出各因素在不同水平上的绞股蓝皂苷提取率，分析各因素对皂苷提取率的影响。通过对单因素影响条件的研究，确定较佳的单因素试验条件范围，在此基础上，再进行正交试验设计，根据正交试验结果确定出绞股蓝皂苷的最佳提取工艺。

试验选用水浴法提取、超声波辅助提取和微波辅助提取以及超声-微波协同酶法提取等方法，其工艺流程为：



### 2.3.2 绞股蓝皂苷检测方法

标准曲线制备方法<sup>[115]</sup>：精密称取干燥至恒重的绞股蓝皂苷标准品 Rb 适量，用甲醇溶解，制成浓度为 2mg/mL，取其 20 $\mu$ L、40  $\mu$ L、60  $\mu$ L、80  $\mu$ L、100  $\mu$ L 置于 10mL 具塞试管中，用烘箱与 100 $^{\circ}$ C 条件下烘干，分别加入新配制的 5%香草醛—冰醋酸溶液 0.2mL 和高氯酸 0.8mL，摇匀，置 60 $^{\circ}$ C 恒温水浴中加热 15min，取出，流水冷却，各加冰醋酸 5mL，摇匀，随行试剂做空白，参照分光光度法[《中华人民共和国药典》(一部)附录 VIIA] 试验，在 550nm 的波长处分别测其吸收度。以吸收值 Y 与皂苷浓度 X (mg/mL) 做回归处理，得标准曲线，如图 2-1。

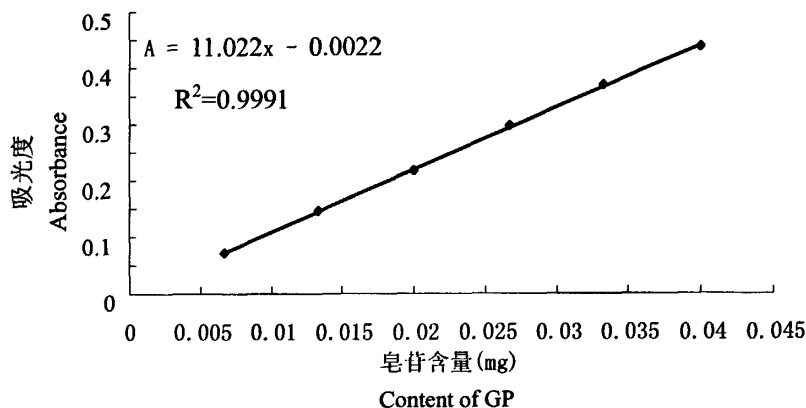


图 2-1 标准曲线

Fig 2-1 The specification curve

求得回归方程为： $Y=11.022X-0.0022$  ( $R^2=0.9991$ )。

皂苷提取率的测定：于提取液中取 120 $\mu$ L 置于 10mL 具塞试管中，按标准曲线中的显色方法显色，测定吸光度，代入回归方程求得皂苷的含量 C，则皂苷提取率  $\eta$ ：

$$\eta = \frac{C \cdot V}{1000 \cdot M} \times 100\%$$

式中： $\eta$ —皂苷提取率 (%)； C—皂苷含量 (mg/mL)；  
V—提取液总体积 (mL)； M—绞股蓝干叶质量 (g)

### 2.3.3 验证试验

按照正交试验结果所优化的最佳提取工艺条件，进行重复性验证试验，分析检测。计算出各皂苷提取率以及各提取率之间的相对标准偏差(Relative Standard Deviation, RSD)，评价正交试验优化选择的工艺条件是否稳定。最终得到绞股蓝皂苷最经济可靠的提取工艺。

## 2.4 水浴法提取 (WE) 绞股蓝皂苷

### 2.4.1 提取方法

准确称取一定量的干燥绞股蓝叶，加蒸馏水以制成不同的液固比。以不同的液固比、提取温度和提取时间为考察因素，置于水浴锅中进行提取。然后过滤、离心，取样检测，计算绞股蓝皂苷提取率。

### 2.4.2 正交试验的设计

根据单因素试验所确定较适宜的单因素试验条件，选定液固比、提取温度和提取时间为影响因素，并各选出 3 个水平，进行三因素三水平的  $L_9(3^3)$  正交试验。因素与水平设计见表 2-1。

表 2-1 正交试验的因素与水平  
Table 2-1 Factors and levels of the orthogonal experiment

水平	因素		
	A 液固比 (mL/g)	B 提取温度 (°C)	C 提取时间 (min)
1	25: 1	75	90
2	30: 1	80	100
3	35: 1	85	110

### 2.4.3 单因素试验结果与分析

#### 2.4.3.1 液固比对皂苷提取率的影响

变动液固比，在提取时间 80min、提取温度为 60°C 的条件下进行绞股蓝皂苷的提

取，并测定对应的皂苷提取率。结果如图 2-2。

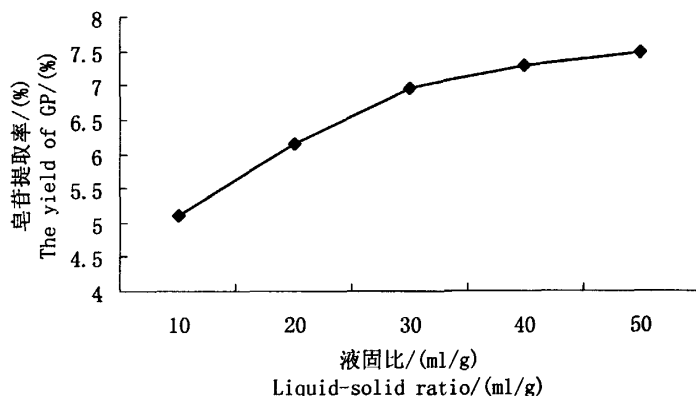


图 2-2 液固比对皂苷提取率的影响  
Fig 2-2 Effect of liquid-solid ratio on the yield of GP

由图 2-2 可知，液固比由 10:1 到 30:1 范围内，随着液固比的增大，皂苷提取率也在增加，液固比由 30:1 到 50:1 范围内，随着液固比增加，提取率增加逐步缓慢，考虑到后续纯化浓缩和节约溶剂等综合因素，较优液固比选 30:1 左右为宜。

#### 2.4.3.2 提取时间对皂苷提取率的影响

变动提取时间，在液固比为 30:1、提取温度为 60℃的条件下进行绞股蓝皂苷的提取，并测定对应的皂苷提取率。结果如图 2-3。

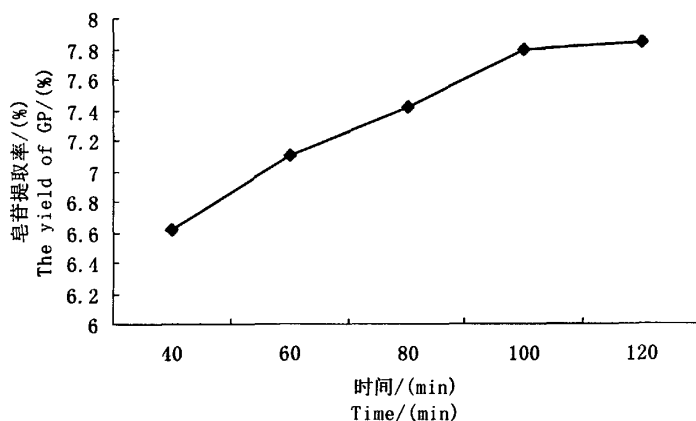


图 2-3 提取时间对皂苷提取率的影响  
Fig 2-3 Effect of extraction time on the yield of GP

由图2-3可知，提取时间由40min到100min范围内，皂苷提取率随提取时间的延长而迅速增加，当提取时间进一步延长时，皂苷提取率上升趋势平缓。这可能是随着提取时间的延长，细胞中的可溶性物质已基本溶出，当提取时间进一步延长时，细胞内

外浓度达到平衡，同时溶剂也有所挥发，所以提取率增加缓慢。从省时的角度及结合工业化生产要求考虑，提取时间选用100min左右为宜。

### 2.4.3.3 提取温度对皂苷提取率的影响

变动提取温度，在液固比为 30:1、提取时间为 100min 的条件下进行绞股蓝皂苷的提取，并测定对应的皂苷提取率。结果如图 2-4。

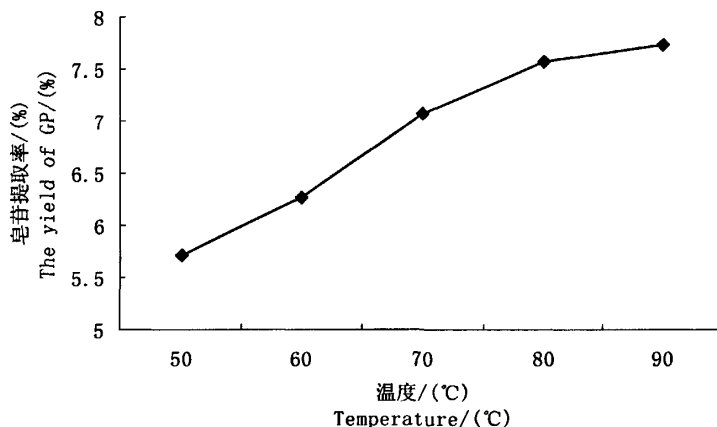


图 2-4 提取温度对皂苷提取率的影响  
Fig 2-4 Effect of extraction temperature on the yield of GP

由图2-4可知，随着提取温度的升高，皂苷提取率一直呈上升趋势，只是当提取温度上升到80℃后，上升趋势稍有减缓。考虑到生产中高温不仅会使溶剂大量蒸发，同时提取物中热敏性物质会产生变性。提取温度选用80℃左右为宜。

### 2.4.4 正交试验结果与分析

按表 2-1 因素与水平的设计，结果见表 2-2，结果分析见表 2-3 和表 2-4。

表 2-2 正交试验结果  
Table 2-2 The results of the orthogonal experiment

实验号	因素			皂苷提取率/%		
	A	B	C	重复 1	重复 2	重复 3
1	1	1	1	7.28	7.18	7.21
2	1	2	2	7.35	7.40	7.45
3	1	3	3	7.59	7.52	7.45
4	2	1	3	7.15	7.15	6.99
5	2	2	1	7.32	7.30	7.29
6	2	3	2	7.78	7.69	7.71
7	3	1	2	7.29	7.20	7.04
8	3	2	3	7.30	7.37	7.22
9	3	3	1	7.78	7.79	7.80

表 2-3 极差分析

Table 2-3 The range analysis of the orthogonal experiment

		A	B	C
总和	K1	66.46	64.51	66.96
	K2	66.40	66.02	66.93
	K3	66.81	69.14	65.78
均值	k1	7.38	7.16	7.44
	k2	7.38	7.33	7.43
	k3	7.42	7.68	7.31
极差	R	0.04	0.52	0.13

表 2-4 方差分析

Table 2-4 The variance analysis of the orthogonal experiment

方差来源	平方和	自由度	均值	F 值	显著水平
A	0.0112	2	0.0056	0.3338	
B	1.2381	2	0.6191	36.9505	**
C	0.1013	2	0.0507	3.0247	
误差	0.1340	8	0.0168		

注: \*\*表示因素在 0.01 水平上对性能影响显著; \*表示因素在 0.05 水平上对性能影响显著。F<sub>0.05</sub>(2, 8)=4.46, F<sub>0.01</sub>(2, 8)=8.65。

由表 2-3 极差分析结果可知,各因素对提取得率影响程度依次为: B>C>A,即影响提取得率的因素依次是:提取温度>提取时间>液固比。由表 2-4 可知,因素 B 对皂苷提取率的影响高度显著。这说明提取温度的高低对绞股蓝皂苷提取率的影响最大。所以提取过程中对温度的选择和控制是尤为重要的。综合分析表 2-3 和表 2-4 以及考虑到工业化生产要求,确定最佳提取工艺条件为 A<sub>3</sub>B<sub>3</sub>C<sub>1</sub>,即:液固比 35:1,提取温度 85℃,提取时间 90min。

#### 2.4.5 验证试验结果

按以上因素试验所确定的最佳工艺 A<sub>3</sub>B<sub>3</sub>C<sub>1</sub>,做 6 平行的验证性试验。即准确称取 6 份一定量绞股蓝干叶,制成液固比为 35:1,置于水浴锅中水浴提取,提取温度为 85℃,提取时间为 90min。取样检测,计算皂苷提取率。结果与分析如表 2-5。

表 2-5 验证试验结果

Table 2-5 The results of the validation experiment

试验号	皂苷提取率/%	提取率均值/%	方差	标准差	相对标准偏差 (RSD)/%
1	7.76	7.79	0.0089	0.0946	1.2135
2	7.83				
3	7.62				
4	7.81				
5	7.93				
6	7.79				

由表 2-5 可知,用最佳提取工艺进行绞股蓝皂苷的提取,皂苷平均提取率为 7.79%,相对标准偏差 (RSD) 为 1.2135%。



## 2.5 超声波辅助提取 (UAE) 绞股蓝皂苷

### 2.5.1 提取方法

准确称取一定量的干燥绞股蓝叶, 加蒸馏水以制成不同的液固比。然后在一定功率和频率的超声波作用下, 通过控制不同的液固比、提取温度和时间置于超声波清洗器中进行强化提取。过滤、离心, 取样检测, 计算绞股蓝皂苷提取率。

### 2.5.2 超声波对水温的影响试验

超声波除对目的提取物有强化提取作用外, 对提取溶剂的温度也产生影响, 因此, 在进行超声波辅助提取试验时, 对超声波影响溶剂温度的考察也是必需的。本实验考察超声波对水温的影响。准确量取室温蒸馏水 3L 于超声波清洗器中, 分别开启功率为 60W、75W、90W、115W、120W、135W、150W 的超声波, 每隔 5min 记录下水的温度。

### 2.5.3 正交试验的设计

根据单因素试验所确定超声波频率和较适宜的单因素试验条件, 选定液固比、提取温度和提取时间为影响因素, 并各选出 3 个水平, 进行三因素三水平的  $L_9(3^3)$  正交试验。因素与水平设计见表 2-6。

表 2-6 因素与水平  
Table 2-6 Factors and levels

水平	因素		
	液固比 (mL/g)	B 温度 (°C)	C 时间 (min)
1	25: 1	50	50
2	30: 1	60	60
3	35: 1	70	70

### 2.5.4 超声波对水温的影响结果

按照 2.5.2, 对超声波对水温的影响进行考察, 其结果如图 2-5。

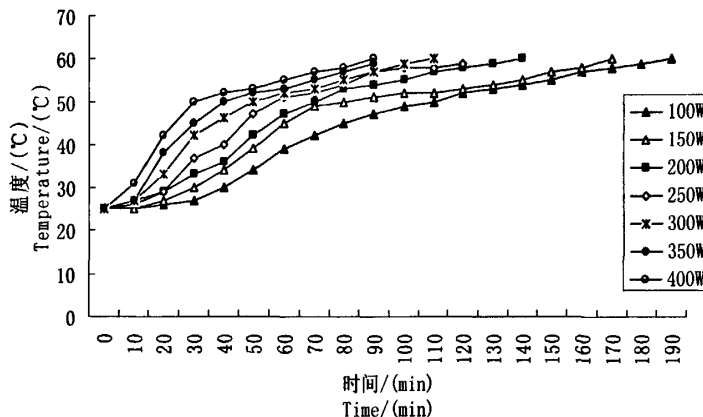


图2-5 超声波对水温的影响  
Fig 2-5 Effect of ultrasonic wave on the water temperature

由图 2-5 可见，功率越大，水温上升得越快，但经一定时间后，不同功率超声作用下的水温在升至 60℃左右时均趋向稳定。

## 2.5.5 单因素试验结果与分析

### 2.5.5.1 液固比对皂苷提取率的影响

分别用 10:1, 20:1, 30:1, 40:1, 50:1 的液固比 (mL/g)，在固定提取温度为 60℃、提取时间为 60min 的条件下，分别进行 40KHz 超声波提取和 28KHz 超声波提取，并测定对应的皂苷提取率。结果见图 2-6。

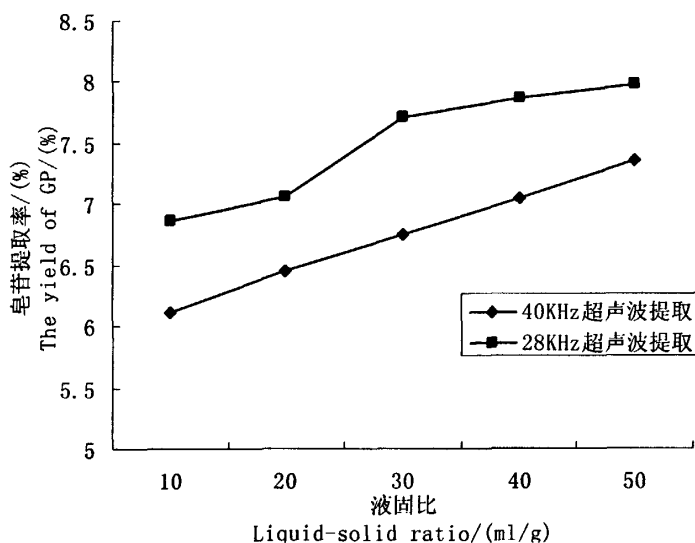


图 2-6 液固比对皂苷提取率的影响

Fig 2-6 Effect of liquid-solid ratio on the yield of GP

由图 2-6 可知，与 40KHz 超声波提取相比，28KHz 超声波提取的皂苷提取率明显较高。在这二种不同频率超声波提取中，随着液固比的增大，皂苷提取率均在增加。用 28KHz 超声波提取时，液固比由 10:1 增大到 20:1 范围，皂苷提取率增加不明显，由 20:1 增大到 30:1 范围内，皂苷提取率增加较明显，液固比增大到 30:1 以后，皂苷提取率仍然逐步增加，但增加逐步变缓，考虑到后续纯化浓缩和节约溶剂等综合因素，较优液固比选 30:1 左右为宜。

### 2.5.5.2 提取时间对皂苷提取率的影响

在固定液固比为 30:1，提取温度为 60℃的条件下，分别进行 40KHz 超声波提取和 28KHz 超声波提取，提取时间分别为 30、40、50、60、70min，并测定对应的皂苷提取率。结果见图 2-7。

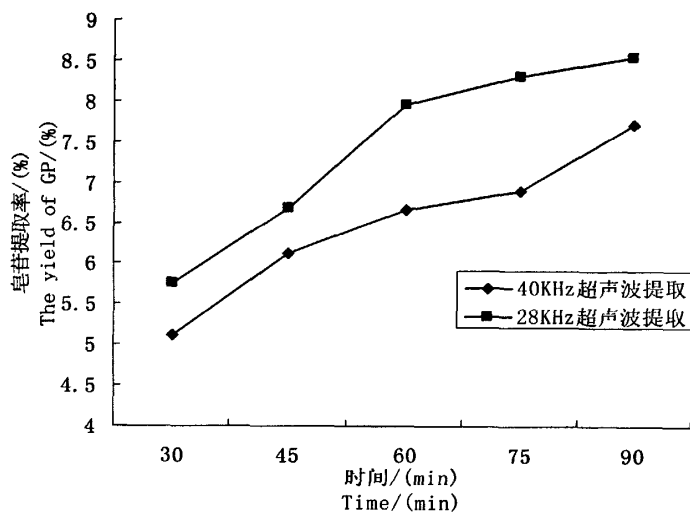


图 2-7 提取时间对皂苷提取率的影响  
Fig 2-7 Effect of extraction time on the yield of GP

由图 2-7 可知，与 40KHz 超声波提取相比，28KHz 超声波提取的皂苷提取率明显较高。在这二种不同频率超声波提取中，随着提取时间的延长，皂苷提取率呈上升趋势。用 28KHz 超声波提取时，提取时间在 60min 以内，提取率上升极为迅速，当时间继续延长时，皂苷提取率增加逐渐缓慢，较优提取时间选 60min 左右为宜。

### 2.5.5.3 提取温度对皂苷提取率的影响

固定液固比为 30:1，分别控制提取温度为 30℃、40℃、50℃、60℃、70℃，进行 40KHz 超声波提取和 28KHz 超声波提取，提取时间为 60min，并测定对应的皂苷提取率。结果见图 2-8。

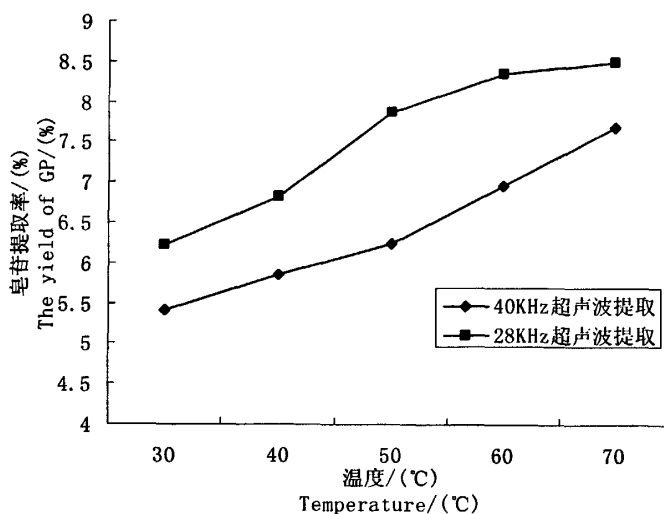


图 2-8 提取温度对皂苷提取率的影响  
Fig 2-8 Effect of temperature on the yield of GP

由图 2-8 可知, 与 40KHz 超声波提取相比, 28KHz 超声波提取的皂苷提取率明显较高。在这二种不同频率超声波提取中, 随着提取温度的升高, 皂苷提取率也逐渐增加。用 28KHz 超声波提取时, 在提取温度低于 60℃ 范围内, 得率上升较为迅速, 当温度继续升高时, 皂苷提取率增加逐渐缓慢, 从节能和保持成分稳定的角度等综合考虑, 较优提取温度选 60℃ 左右为宜。

### 2.5.6 正交试验结果与分析

按表 2-6 因素与水平的设计, 结果见表 2-7, 结果分析见表 2-8 和表 2-9。

表 2-7 正交试验结果  
Table 2-7 The results of the orthogonal experiment

实验号	因素			皂苷提取率/%		
	A	B	C	重复 1	重复 2	重复 3
1	1	1	1	7.23	7.28	7.27
2	1	2	2	7.37	7.35	7.39
3	1	3	3	7.70	7.68	7.69
4	2	1	3	7.30	7.21	7.18
5	2	2	1	7.45	7.37	7.34
6	2	3	2	7.88	7.82	7.90
7	3	1	2	7.48	7.57	7.37
8	3	2	3	7.40	7.31	7.23
9	3	3	1	7.64	7.59	7.80

表 2-8 极差分析  
Table 2-8 The range analysis of the orthogonal experiment

		A	B	C
总和	K <sub>1</sub>	66.97	65.89	66.98
	K <sub>2</sub>	67.46	66.22	68.14
	K <sub>3</sub>	67.41	69.73	66.73
均值	k <sub>1</sub>	7.44	7.32	7.44
	k <sub>2</sub>	7.49	7.36	7.57
	k <sub>3</sub>	7.48	7.75	7.41
极差	R	0.05	0.43	0.16

表 2-9 方差分析  
Table 2-9 The variance analysis of the orthogonal experiment

方差来源	平方和	自由度	均值	F 值	显著水平
A	0.0160	2	0.0080	0.5518	
B	1.0024	2	0.5012	34.6751	**
C	0.1263	2	0.0631	4.3677	
误差	0.1156	8	0.0145		

注: \*\* : 表示因素在 0.01 水平上对性能影响显著; \* : 表示因素在 0.05 水平上对性能影响显著。F<sub>0.05</sub>(2, 8)=4.46, F<sub>0.01</sub>(2, 8)=8.65。

由极差分析 (表 2-8) 和方差分析 (表 2-9) 结果可知, 采用 28KHz 超声波提取

绞股蓝皂苷时，各因素对提取率影响程度依次为： $B>C>A$ ，即影响提取率的因素依次是：提取温度>提取时间>液固比；提取温度对皂苷提取率的影响高度显著，提取过程中应该严格控制。

根据以上分析，结合工业化生产要求综合考虑，最终确定 28KHz 超声波提取绞股蓝皂苷最佳提取条件为  $A_2B_3C_2$ ，即最佳提取工艺参数为，液固比 30:1，提取温度 70℃，提取时间 60min。

### 2.5.7 验证试验结果

按以上所确定的最佳提取工艺  $A_2B_3C_2$ ，做 6 平行的验证性试验。即准确称取 6 份一定量绞股蓝干叶于烧杯中，制成液固比为 30:1，置于 28KHz 超声波提取机中提取，提取温度 70℃，提取时间 60min。取样检测，计算皂苷提取率。结果与分析如表 2-10。

表 2-10 验证试验结果  
Table 2-10 The results of the validation experiment

试验号	皂苷提取率/%	提取率均值/%	方差	标准差	相对标准偏差 (RSD)/%
1	7.70				
2	7.93				
3	7.75				
4	7.68	7.80	0.0093	0.0966	1.2372
5	7.89				
6	7.86				

由表 2-10 可知，用最佳工艺进行绞股蓝皂苷的提取，皂苷平均提取率为 7.80%，相对标准偏差 (RSD) 为 1.2372%。

## 2.6 微波辅助提取 (MAE) 绞股蓝皂苷

### 2.6.1 提取方法

微波提取方法：由于微波辐射能使得溶液迅速升温，在较短的时间内，致使用于提取的容器内溶液液产生暴沸以溢出容器。经过大量的预备试验，微波提取试验采用微波间歇处理的方式进行提取，即微波先处理 2 分钟，使提取液迅速达到沸腾状态，然后静置 3 分钟，微波处理 1 分钟，再静置 3 分钟，微波处理 1 分钟，如此循环。以总时间计为本试验的提取时间。

微波提取工艺：准确称取一定量的干燥绞股蓝叶于烧杯中，加蒸馏水制成一定的液固比，通过控制不同的液固比、微波功率和提取时间置于微波炉中提取。然后过滤、离心，取样检测，计算绞股蓝皂苷提取率。

## 2.6.2 正交试验的设计

根据单因素试验所确定较适宜的单因素试验条件, 选定液固比、微波功率和提取时间为影响因素, 并各选出 3 个水平, 进行三因素三水平的  $L_9(3^3)$  正交试验。因素与水平设计见表 2-11。

表 2-11 因素与水平  
Table 2-11 Factors and levels

水平	因素		
	A 液固比 (mL/g)	B 微波功率 (W)	C 提取时间 (min)
1	25: 1	450	10
2	30: 1	600	14
3	35: 1	750	18

## 2.6.3 单因素试验结果与分析

### 2.6.3.1 液固比对皂苷提取率的影响

试验条件为: 微波功率为 450W, 提取时间为 10min, 液固比为: 10:1、20:1、30:1、40:1 和 50:1 (mL/g)。结果见图 2-9。

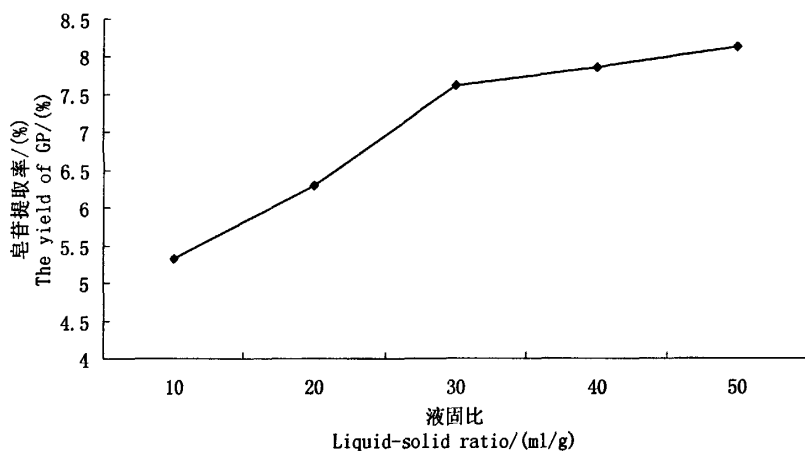


图 2-9 液固比对皂苷提取率的影响  
Fig 2-9 Effect of liquid-solid ratio on the yield of GP

由图 2-9 可知, 液固比由 10:1 到 30:1 范围内, 随着液固比的增大, 皂苷提取率迅速增加, 液固比由 30:1 到 50:1 范围内, 随着液固比增加, 皂苷提取率增加逐步变缓, 考虑到后续纯化浓缩和节约溶剂等综合因素, 较优液固比选 30:1 左右为宜。

### 2.6.3.2 微波功率对皂苷提取率的影响

试验条件为: 液固比为 30:1 (mL/g), 提取时间为 10min, 微波功率为 150、300、

450、600 和 750W。提取结果见图 2-10。

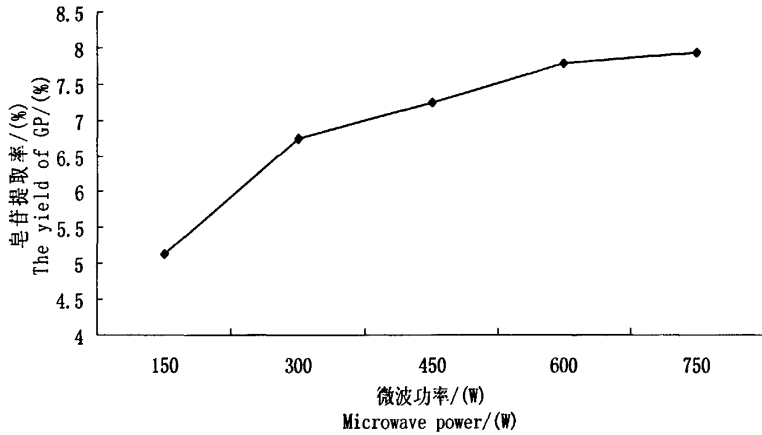


图 2-10 微波功率对皂苷提取率的影响  
Fig 2-10 Effect of microwave power on the yield of GP

由图 2-10 可知，随着微波功率增大，皂苷提取率也逐渐增加，在 150W 与 600W 范围内，皂苷提取率上升较为迅速，在 600W 与 750W 之间，皂苷提取率增加逐渐变缓，从节能和保持提取过程稳定的角度等综合考虑，较优功率选 600W 左右为宜。

### 2.6.3.3 提取时间对皂苷提取率的影响

试验条件为：液固比为 30:1 (mL/g)，微波功率为 450W，提取时间为 6、10、14、18 和 22min。提取结果见图 2-11。

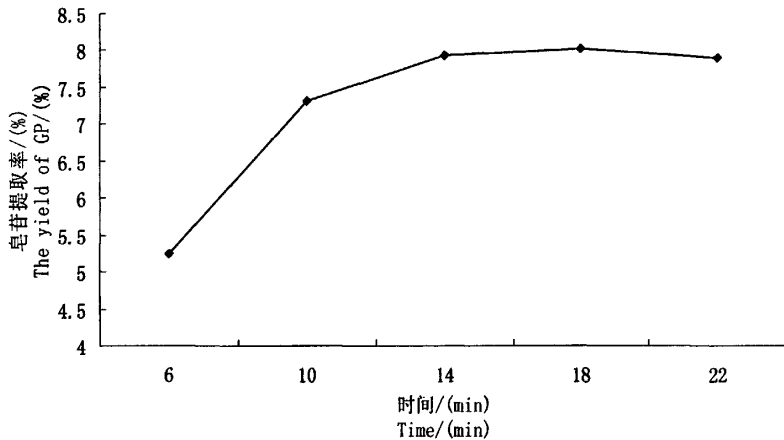


图 2-11 提取时间对皂苷提取率的影响  
Fig 2-11 Effect of extraction time on the yield of GP

由图 2-11 可知，提取时间由 6min 延长到 14min 范围内，随着提取时间的延长，皂苷提取率呈上升趋势，当时间由 14min 延长到 18min 范围内，皂苷提取率增加逐渐

变缓，当提取时间继续延长时，提取率呈下降趋势，这可能是由于提取时间过长导致提取溶剂大量蒸发而损失的缘故，从省时的角度综合考虑，较优提取时间选 14min 左右为宜。

#### 2.6.4 正交试验结果与分析

按表 2-11 因素与水平的设计，结果见表 2-12，结果分析见表 2-13 和表 2-14。

表 2-12 正交试验结果  
Table 2-12 The results of the orthogonal experiment

实验号	因素			皂苷提取率/%		
	A	B	C	重复 1	重复 2	重复 3
1	1	1	1	7.09	7.10	7.08
2	1	2	2	7.89	7.80	7.79
3	1	3	3	7.95	8.00	7.89
4	2	1	3	7.56	7.55	7.37
5	2	2	1	7.78	7.75	7.78
6	2	3	2	7.94	8.00	7.92
7	3	1	2	7.21	7.15	7.02
8	3	2	3	7.91	7.87	7.92
9	3	3	1	7.57	7.61	7.55

表 2-13 极差分析  
Table 2-13 The range analysis of the orthogonal experiment

		A	B	C
总和	K <sub>1</sub>	68.62	65.15	67.33
	K <sub>2</sub>	69.67	70.51	68.75
	K <sub>3</sub>	67.84	70.46	70.04
均值	k <sub>1</sub>	7.62	7.23	7.48
	k <sub>2</sub>	7.74	7.82	7.63
	k <sub>3</sub>	7.53	7.83	7.78
极差	R	0.21	0.60	0.30

表 2-14 方差分析  
Table 2-14 The variance analysis of the orthogonal experiment

方差来源	平方和	自由度	均值	F 值	显著水平
A	0.1871	2	0.0936	11.0614	**
B	2.1105	2	1.0553	124.7494	**
C	0.4060	2	0.2030	23.9956	**
误差	0.0677	8	0.0085		

注：\* \*：表示因素在 0.01 水平上对性能影响显著；\*：表示因素在 0.05 水平上对性能影响显著。F<sub>0.05</sub>(2, 8) = 4.46, F<sub>0.01</sub>(2, 8) = 8.65。

由极差分析（表 2-13）和方差分析（表 2-14）结果可知，各因素对提取得率影响程度依次为：B>C>A，即影响提取率的因素依次是：微波功率>提取时间>液固比；



微波功率对皂苷提取率的影响高度显著，提取时间对皂苷提取率的影响极显著，液固比对提取率的影响也较显著。

根据以上分析，结合工业化生产要求综合考虑，最终确定最佳提取工艺条件为 A<sub>2</sub>B<sub>3</sub>C<sub>3</sub>，即最佳提取工艺参数为：液固比 30:1、微波功率 750W、提取时间 18min。

### 2.6.5 验证试验结果

按所确定的最佳提取条件 A<sub>2</sub>B<sub>2</sub>C<sub>3</sub>，做 6 平行的验证性试验。即准确称取 6 份一定量绞股蓝干叶，制成液固比为 30:1，置于微波炉中提取，微波功率 750W，提取时间 18min。取样检测，计算皂苷提取率。结果与分析如表 2-15。

表 2-15 验证试验结果  
Table 2-15 The results of the validation experiment

试验号	皂苷提取率/%	提取率均值/%	方差	标准差	相对标准偏差 (RSD)/%
1	8.10				
2	7.90				
3	7.82	7.88	0.0279	0.1672	2.1213
4	7.66				
5	7.71				
6	8.07				

由表 2-15 可知，用最佳工艺进行绞股蓝皂苷的提取，皂苷平均提取率为 7.88%，相对标准偏差 (RSD) 为 2.1213%。

## 2.7 超声-微波协同酶法提取绞股蓝皂苷

### 2.7.1 提取方法

酶法提取的过程一般分成 2 个阶段，第一阶段：酶解处理，低温下用酶降解细胞壁和胞间连接物；第二阶段：提取有效成分，通过提高温度使酶失活的同时，用溶剂浸提出有效成分。本试验将用超声波强化第一阶段，称作超声波强化酶法提取阶段；用微波辅助第二阶段，称作微波强化酶法提取阶段。整个提取工艺过程即是超声-微波协同酶法提取的工艺过程。

#### 2.7.1.1 超声波强化酶法提取试验设计

准确称取绞股蓝干叶于烧杯中，加入适量调好 pH 值的蒸馏水，按一定加酶量加入果胶酶，混匀后置于超声波提取机中提取。通过预试验，确定以酶用量、酶解时间、pH 值和酶解温度为主要考察因素进行单因素试验，分析各因素对绞股蓝皂苷提取率的影响。在单因素试验基础上，确定以酶用量、酶解时间、pH 值和酶解温度为影响因素，各选出 3 个水平，安排四因素三水平的 L<sub>9</sub>(3<sup>4</sup>) 正交试验。因素与水平的设计见表 2-16。

表 2-16 因素与水平  
Table 2-16 Factors and levels of the orthogonal experiment

水平	因素			
	A 酶用量 (%)	B pH 值	C 酶解温度 (°C)	D 酶解时间 (min)
1	0.20	3.0	45	60
2	0.25	3.5	50	70
3	0.30	4.0	55	80

### 2.7.1.2 微波强化酶法提取试验设计

准确称取绞股蓝干叶于烧杯中，加入适量调好 pH 值的蒸馏水，按一定加酶量加入果胶酶，混匀后置于超声波清洗器中，按超声强化酶解处理阶段优选的最佳组合先进行提取，然后及时将烧杯取出再置于微波炉中进行提取，考察微波处理时间对皂苷提取率的影响，微波提取采用间歇处理，即微波先处理 2 min 迅速升温，然后静置 2 min，微波处理 1 min，再静置 2 min，微波处理 1 min，如此循环，以总时间计为微波处理时间。

### 2.7.2 超声波强化酶法提取的结果与分析

#### 2.7.2.1 酶用量对皂苷提取率的影响

变动酶用量，在酶解时间 70 min、pH 值为 3.5、酶解温度为 50°C 的条件下进行绞股蓝皂苷的提取，并测定对应的皂苷提取率。结果如图 2-12 所示。

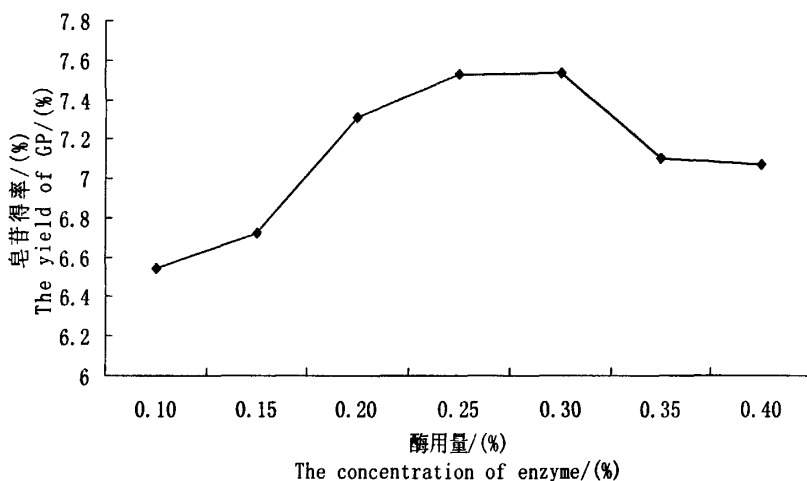


图 2-12 酶用量对皂苷提取率的影响  
Fig 2-12 Effect of concentration of enzyme on the yield of GP

由图 2-12 可知：酶用量在 0.10%~0.25% 范围内，皂苷提取率随酶用量的增加而大幅上升；酶用量在 0.30% 以后，皂苷提取率随酶用量的增加而下降；酶用量在 0.25%~0.30% 之间，皂苷提取率最高。这可能是由于酶量低于最佳值时，酶解未进行完全，随着酶量的增加，酶解逐步完全，皂苷提取率逐步增加；当酶量到达最佳值

时，酶解比较完全，皂苷提取率较高，当继续加大酶量，底物浓度不能对酶达到饱和，导致酶的作用受到抑制，造成皂苷提取率下降<sup>[116]</sup>。综合以上所述，在超声波强化酶法提取阶段，酶用量选用 0.25%左右为宜。

### 2.7.2.2 pH 值对皂苷提取率的影响

变动 pH 值，在酶解时间 70 min、酶用量为 0.25%、酶解温度为 50℃的条件下进行绞股蓝皂苷的提取，并测定对应的皂苷提取率。结果如图 2-13 所示。

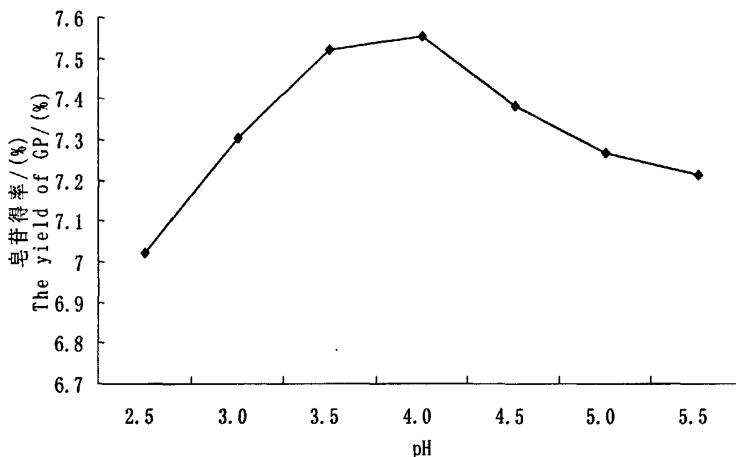


图 2-13 pH 值对皂苷得率的影响

Fig 2-13 Effect of pH on the yield of GP

由图 2-13 可知，pH 值在 2.5~3.5 之间，皂苷提取率随 pH 值的上升而增加；当 pH 值超过 4.0 之后，皂苷提取率呈明显下降趋势；pH 值在 3.5~4 之间，皂苷提取率较高。这可能是由于果胶酶在 pH 值小于 3.5 或大于 4 时，果胶酶未达到最大活力，对皂苷提取的促进作用较小；当 pH 值在 3.5~4 之间时，酶达到最大活力，对皂苷的提取有最大的促进作用<sup>[126]</sup>。综合以上所述，在超声波强化酶法提取阶段，pH 值选用 3.5 左右为宜。

### 2.7.2.3 酶解温度对皂苷提取率的影响

变动温度，在酶解时间 70 min、酶用量为 0.25%、pH 值为 3.5 的条件下进行绞股蓝皂苷的提取，并测定对应的皂苷提取率。结果如图 2-14 所示。

由图 2-14 可知，当酶解温度在 30~50℃范围内时，皂苷得率随酶解温度的升高而增大；50℃以后随酶解温度的增大，皂苷得率有逐步减小的趋势。这可能是由于温度对酶解反应速度有影响，开始阶段，酶活性随温度增加而增强，酶解反应速度加快；当温度继续升高，酶活性减弱、酶解反应速度降低，使得皂苷得率下降。综合以上所述，在超声波强化酶法提取阶段，酶解温度选用 50℃左右为宜。

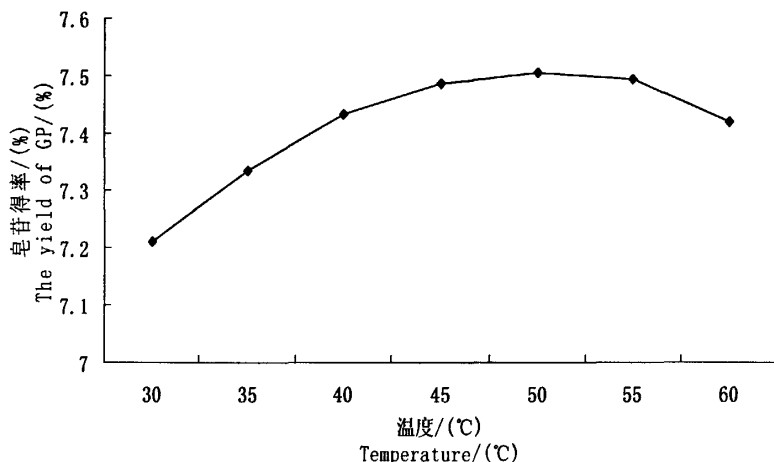


图 2-14 酶解温度对皂苷得率的影响  
Fig 2-14 Effect of enzymolysis temperature on the yield of GP

#### 2.7.2.4 酶解时间对皂苷提取率的影响

变动时间, 在酶解温度为 50°C、酶用量为 0.25%、pH 值为 3.5 的条件下进行绞股蓝皂苷的提取, 并测定对应的皂苷提取率。结果如图 2-15 所示。

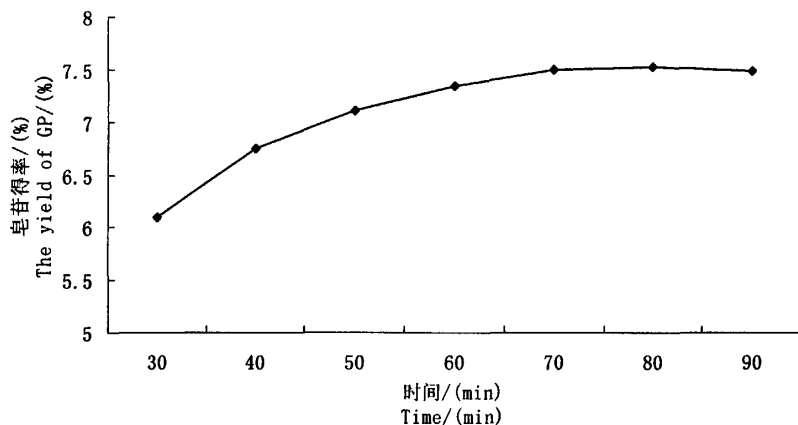


图 2-15 酶解时间对皂苷得率的影响  
Fig 2-15 Effect of enzymolysis time on the yield of GP

由图 2-15 可知, 皂苷提取率随着酶解时间的延长而增加; 当时间达到 70min 后, 继续延长酶解时间时, 皂苷提取率增加极度缓慢。这可能是由于随着酶解时间的延长, 酶活力得到充分利用, 酶解进行得较完全, 使皂苷提取率上升。当充分酶解后, 继续延长酶解时间, 对皂苷提取率已无明显影响。在超声波强化酶法提取阶段, 酶解时间选用 70min 左右为宜。

#### 2.7.2.5 正交试验结果与分析

由表 2-16 所示正交试验的因素与水平设计, 正交试验结果见表 2-17, 结果分析见表 2-18 和表 2-19。

表 2-17 正交试验结果  
Table 2-17 The results of the orthogonal experiment

实验号	因素				皂苷提取率/%		
	A	B	C	D	重复 1	重复 2	重复 3
1	1	1	1	1	7.30	7.28	7.25
2	1	2	2	2	7.37	7.31	7.29
3	1	3	3	3	7.38	7.35	7.30
4	2	1	2	3	7.28	7.29	7.25
5	2	2	3	1	7.42	7.40	7.28
6	2	3	1	2	7.56	7.51	7.50
7	3	1	3	2	7.40	7.38	7.46
8	3	2	1	3	7.47	7.49	7.47
9	3	3	2	1	7.62	7.59	7.60

表 2-18 极差分析  
Table 2-18 The range analysis of the orthogonal experiment

		A	B	C	D
总和	K <sub>1</sub>	65.86	65.91	66.87	66.78
	K <sub>2</sub>	66.53	66.54	66.64	66.81
	K <sub>3</sub>	67.52	67.46	66.40	66.31
均值	k <sub>1</sub>	7.31	7.32	7.43	7.42
	k <sub>2</sub>	7.39	7.39	7.41	7.43
	k <sub>3</sub>	7.50	7.49	7.38	7.37
极差	R	0.18	0.17	0.05	0.06

表 2-19 方差分析  
Table 2-19 The variance analysis of the orthogonal experiment

方差来源	平方和	自由度	均值	F 值	显著水平
A	0.1560	2	0.0780	48.6582	**
B	0.1347	2	0.0673	42.0171	**
C	0.0121	2	0.0060	3.7613	*
D	0.0173	2	0.0087	5.4103	*
误差	0.0256	16	0.0016		

注：“\*\*”：表示因素在 0.01 水平上对性能影响显著， $F_{0.01}(2, 16) = 6.23$ ；  
“\*”：表示因素在 0.05 水平上对性能影响显著； $F_{0.05}(2, 16) = 3.63$ 。

由极差分析（表 2-18）和方差分析（表 2-19）结果可知，各因素对提取率影响程度依次为：A > B > D > C，即影响提取得率的因素依次是：酶用量 > pH 值 > 酶解时间 > 酶解温度；酶用量与 pH 值对皂苷得率的影响高度显著。

根据以上分析，最终确定最佳提取条件为 A<sub>3</sub>B<sub>3</sub>C<sub>1</sub>D<sub>2</sub>，即最佳提取工艺为：酶用量为 0.3%，pH 值为 4.0，酶解温度为 45℃，酶解时间为 70min。在此工艺条件下进行多次试验，平均皂苷提取率为 7.63%。

### 2.7.3 微波强化酶法提取的结果与分析

按超声波强化酶法提取的最佳工艺提取后，再用不同的时间进行微波强化提取与

灭酶。结果见图 2-16。

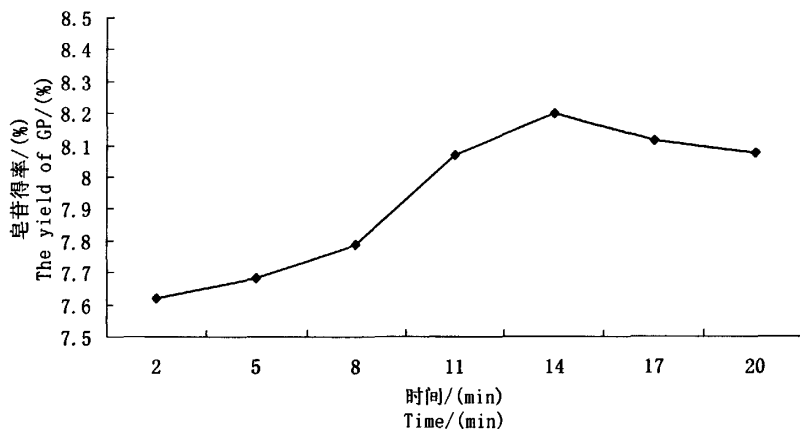


图 2-16 微波处理时间对皂苷得率的影响  
Fig 2-16 Effect of time on the yield of GP by microwave

在微波的作用下，提取液迅速升至高温以达到迅速灭酶的目的。除此之外，由图 2-16 可知，由于微波作用，在高温灭酶的同时，皂苷得率在微波处理时间为 2~14 分钟时，随着时间的延长，皂苷得率迅速增加，当时间继续延长时，皂苷得率呈下降趋势，这可能是由于微波处理时间过长导致提取溶剂大量蒸发而损失的缘故。从节能省时的角度，再结合其它综合因素考虑，微波强化酶法提取的时间选用 14min 为最佳。

#### 2.7.4 验证试验结果

采用果胶酶用量为 0.3%，pH 值为 4.0，超声波强化酶解提取时间为 70min，超声强化酶法提取温度为 45℃，微波强化酶法提取 14min 进行 6 平行的验证性试验，结果与分析见表 2-20。

表 2-20 验证试验结果  
Table 2-20 The results of the validation experiment

试验号	皂苷提取率/%	提取率均值/%	方差	标准差	相对标准偏差 (RSD)/%
1	8.03	8.20	0.0283	0.1684	2.0528
2	8.40				
3	8.12				
4	8.32				
5	7.97				
6	8.36				

由表 2-20 可知，平均皂苷提取率为 8.20%，相对标准偏差 (RSD) 为 2.0528%，稳定性较好。

## 2.8 本章小结

水浴法提取考察了液固比、提取温度和提取时间对绞股蓝皂苷提取率的影响，通

过正交试验分析,确定绞股蓝皂苷的水提取最佳工艺条件为  $A_3B_3C_1$ ,即:液固比 35:1,提取温度  $85^{\circ}\text{C}$ ,提取时间 90min;其中提取温度对提取过程的影响极其显著。用此最佳工艺进行重复性验证试验,皂苷的平均提取率为 7.79%,相对标准偏差(RSD)为 1.2135%,即提取结果稳定性相当好。

超声波辅助提取以 28KHz 和 40KHz 两种不同频率超声波考察了液固比、提取温度和提取时间对绞股蓝皂苷提取率的影响,通过正交试验分析,确定绞股蓝皂苷的 28KHz 超声波法最佳提取工艺条件为  $A_2B_3C_2$ ,即:液固比 30:1,提取温度  $70^{\circ}\text{C}$ ,提取时间 60min;其中温度对提取过程的影响极其显著。用此最佳工艺进行重复性验证试验,皂苷的平均提取率为 7.80%,相对标准偏差(RSD)为 1.2372%,即提取结果稳定性相当好。与水浴提取相比,尽管提取率没有较大的提高,但降低液固比了,在工业化中,为后续加工工序减轻压力,同时也降低了提取温度,缩短了提取时间。因此,试验结果表明,采用超声波提取绞股蓝皂苷的方法要优于水浴法提取。另外,超声波的辐射对提取液的温度有一定影响。由于提取器的排热效果和环境因素,造成温度的不稳定,给试验的过程控制带来不便,试验中应严格控制。本文考察了本提取器对水温的影响,即当水温在超声波作用下升至  $60^{\circ}\text{C}$ 左右时均趋向稳定。因此在  $60^{\circ}\text{C}$ 条件下作非温度因素的单因素考察时,可以排除提取率因超声波对水温升高二而间接对结果的影响。

微波辅助提取考察了液固比、微波功率和提取时间对绞股蓝皂苷提取率的影响,通过正交试验分析,确定绞股蓝皂苷的微波法最佳提取工艺为  $A_2B_3C_3$ ,即:液固比为 30:1,微波功率 750W,提取时间 18min;其中微波功率和提取时间对皂苷提取率的影响高度显著。用此最佳工艺进行重复性验证试验,皂苷的平均提取率为 7.88%,相对标准偏差(RSD)为 2.1213%,即提取结果稳定性较好,只是相对水浴提取和超声波提取较差,这可能是由于微波使得溶剂升温极快,从而导致试验稳定性相对较差。总得来说,与水浴提取与超声波提取相比,提取率虽稍有提高,增加幅度不大,但较大的缩短了提取时间。

超声-微波协同酶法提取(Ultrasonic-Microwave Synergizing Enzyme Extraction)绞股蓝皂苷的最佳工艺为:果胶酶用量为 0.3%,pH 值为 4.0,超声强化酶解时间为 70min,超声强化酶解温度为  $45^{\circ}\text{C}$ ,微波灭酶提取 14min。在此工艺条件下皂苷提取率达 8.20%,在超声强化酶解的基础上增加了 7.48%,相对标准偏差 RSD 为 2.0528%,提取结果相对稳定,与水浴提取、超声波提取、微波提取相比,皂苷提取率有一定提高。

## 3 茶叶中茶多酚的提取试验研究

### 3.1 茶多酚提取研究现状

茶叶在世界上是仅次于水而被广泛消费的饮料，它作为中华民族的传统保健饮料已有四五千年的历史，喝茶有助于健康的理念已被广大人民所接受，喝茶可以预防一些疾病也在流行病学中有报道，研究表明，茶叶中对身体健康有益的物质主要是茶多酚<sup>[117]</sup>。茶多酚(Tea-Polyphenols,TP)又名茶单宁、茶鞣质<sup>[117]</sup>，是一类以儿茶素类(catechines)为主体的多酚类化合物，在新鲜茶叶中占其干重的 15%~30%<sup>[118]</sup>。茶多酚具有优越的抗氧化活性<sup>[119]</sup>。它还具有抗衰老、抗辐射、清除人体自由基、降低血糖血脂等一系列重要功能<sup>[118]</sup>。我国卫生部已批准了茶叶天然抗氧化剂为我国的食品添加剂之一<sup>[120]</sup>。

茶多酚的提取方法目前主要有：水浴提取、有机溶剂提取法、离子沉淀法、超临界流体萃取法、微波浸提法、超声波浸提法等多种方法<sup>[121-122]</sup>。有机溶剂提取时，提取率虽有所提高，但由于浸提液中不但含有茶多酚而且还含有茶色素、咖啡碱等杂质，操作提取工艺较复杂，且需要用大量的有机溶剂，有的有机溶剂回收困难，有毒、易燃，不利于安全生产<sup>[123]</sup>。离子沉淀法虽然减少了有机溶剂的使用量，工艺比较简单等，但是，无机盐沉淀剂沉淀转溶时 pH 值波动大，而茶多酚在碱性条件下易氧化，影响产品品质，工艺操作控制比较严格，废渣、废液处理量也较大<sup>[124]</sup>。而水浴法提取虽有耗时长、温度高、严重影响茶多酚制品儿茶素的组成<sup>[125]</sup> 缺点，但由于技术成熟、工艺简单、无须特殊设备、方便制成成品等特点，在整个提取工业中依然占有相当大的比例。随着科技的发展，高新技术也在天然产物提取中较广泛的应用，超声波技术与微波技术相继也应用到茶叶茶多酚的提取中，这种纯物理作用的提取方法也得到了人们的普遍关注，现已取得了较大的发展。

### 3.2 试验材料与设备

#### 3.2.1 试验材料

茶叶：购于安徽省池州市；

硫酸亚铁、酒石酸钾钠、磷酸氢二钠、磷酸二氢钾等试剂均为分析纯。

#### 3.2.2 试验设备

TDL-5 台式离心机：上海安亭科学仪器厂；

SL202N 型电子天平：上海明桥精密科学仪器有限公司；

DZC-403 型真空干燥箱：天津天宇机电仪器有限公司；

722s 可见分光光度计：上海精密科学仪器有限公司；



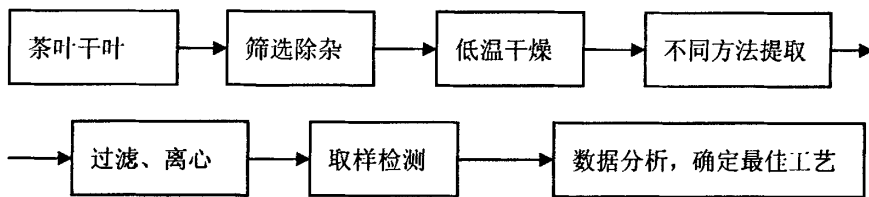
HH 数显恒温水浴锅：金坛市金城国胜试验仪器厂；  
 SHZ-D（III）型循环水真空泵：河南省巩义市英峪予华仪器厂；  
 KG3200DE 型数控超声波清洗器：昆山超声仪器有限公司；  
 JCT-1200 超声波提取机：山东省济宁市超声波电子仪器厂；  
 NX80-1200 超声波提取器：鑫能信超声设备（集团）有限公司；  
 WD750B 型微波炉：顺德格兰仕电器厂有限公司；

### 3.3 试验设计与检测方法

#### 3.3.1 试验设计

先进行单因素试验，得出各因素在不同水平上的茶多酚提取率，分析各因素对茶多酚提取率的影响。通过对单因素影响条件的研究，确定较佳的单因素实验条件范围，在此基础上，再进行正交试验设计，根据正交试验结果确定出茶多酚最佳的提取工艺。

试验分别选用水浴法提取、超声波辅助提取和微波辅助提取三种方法，其提取工艺流程为：



#### 3.3.2 茶多酚检测方法

茶多酚含量的测定方法：按中华人民共和国国家标准 GB/T 8313—2002 “茶-茶多酚测定”（Tea—Determination of tea polyphenols content）。

茶叶中茶多酚提取率计算公式为：

$$\text{茶多酚 (\%)} = \frac{A \times 1.957 \times 2}{1000} \times \frac{L_1}{L_2 \times M_0} \times 100$$

式中：  $L_1$ ——试液的总量，mL；  $L_2$ ——测定时用液量，mL；

$M_0$ ——试验的质量，g； A——试样的吸光度；

1.957——用 10mm 比色杯，当吸光度为 0.5 时，每毫升茶汤中含茶多酚相当于 1.957mg。

#### 3.3.3 验证试验

按照正交试验所优化的最佳提取工艺条件，进行重复性验证试验，分析检测。计算出各茶多酚提取率以及各茶多酚提取率之间的相对标准偏差，评价正交试验优化选择的工艺条件是否稳定可靠。最终可得到茶叶茶多酚最经济可靠的提取工艺。

### 3.4 水浴法提取（WE）茶多酚

### 3.4.1 提取方法

准确称取一定量的干燥茶叶于烧杯中，加蒸馏水以制成不同的液固比。然后以不同的液固比、提取温度和提取时间为考察因素，置于水浴锅中进行提取。然后过滤、离心，取样检测，计算茶多酚提取率。

### 3.4.2 正交试验的设计

根据单因素试验所确定较适宜的单因素试验条件，选定液固比、提取温度和提取时间为影响因素，并各选出3个水平，进行三因素三水平的  $L_9(3^3)$  正交试验。因素与水平设计见表 3-1。

表 3-1 正交试验的因素与水平  
Table 3-1 Factors and levels of the orthogonal experiment

水平	因素		
	A 液固比 (mL/g)	B 提取温度 (°C)	C 提取时间 (min)
1	25: 1	75	70
2	30: 1	80	80
3	35: 1	85	90

### 3.4.3 单因素试验结果与分析

#### 3.4.3.1 液固比对茶多酚提取率的影响

变动液固比，在提取时间 60min、提取温度为 60°C 的条件下进行茶叶茶多酚的提取，并测定对应的茶多酚提取率。结果如图 3-1。

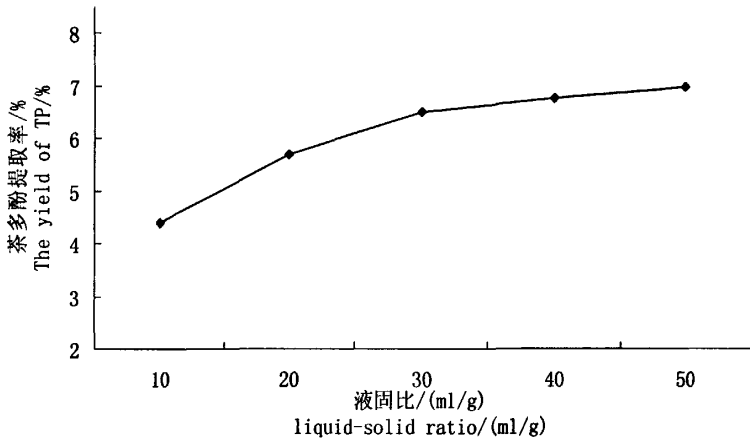


图 3-1 液固比对茶多酚提取率的影响  
Fig 3-1 Effect of liquid-solid ratio on the yield of TP

由图 3-1 可知，液固比由 10:1 到 30:1 范围内，随着液固比的增大，茶多酚提取率也在增加，液固比由 30:1 到 50:1 范围内，随着液固比增加，茶多酚提取率增加逐步变缓，这可能是由于液固比过大，提取液中皂苷浓度太低，使得再提取后的过滤、

离心以及分析检测时的微量损失造成的误差过大所导致。从大规模的工业化生产的角度考虑，为后续纯化浓缩减轻压，以及从节约溶剂等综合考虑，较优液固比选 30:1 左右为宜。

### 3.4.3.2 提取温度对茶多酚提取率的影响

变动提取温度，在液固比为 30:1、提取时间为 60min 的条件下进行茶叶茶多酚的提取，并测定对应的茶多酚提取率。结果如图 3-2。

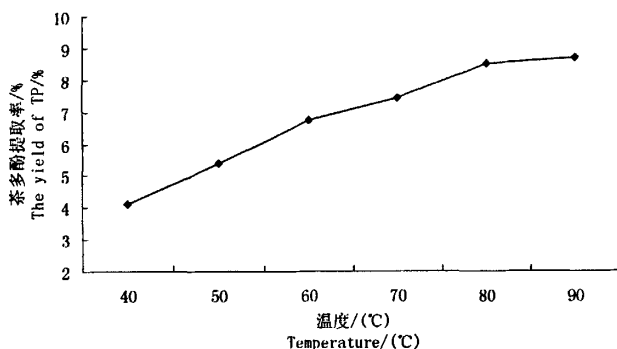


图 3-2 温度对茶多酚提取率的影响  
Fig 3-2 Effect of extraction temperature on the yield of TP

由图 3-2 可知，随着提取温度的升高，茶多酚提取率一直呈上升趋势，只是当温度上升到 80°C 后，上升趋势稍有减缓。考虑到生产中高温不仅会使溶剂大量蒸发，同时提取物中热敏性物质会产生变性。综合考虑，提取温度选用 80°C 左右为宜。

### 3.4.3.3 提取时间对茶多酚提取率的影响

变动提取时间，在液固比为 30:1、提取温度为 80°C 的条件下进行茶叶茶多酚的提取，并测定对应的茶多酚提取率。结果如图 3-3。

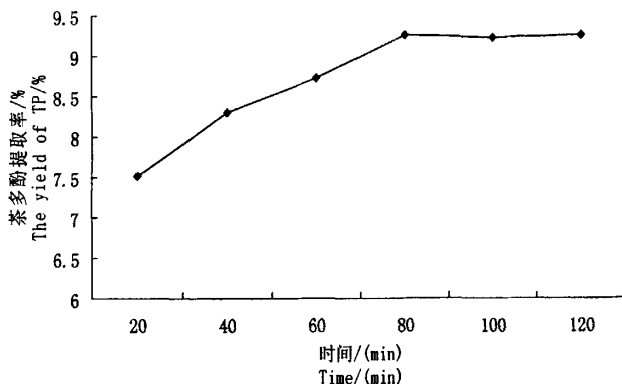


图 3-3 提取时间对茶多酚提取率的影响  
Fig 3-3 Effect of extraction time on the yield of TP

由图 3-3 可知，提取时间由 40min 到 80min 范围内，茶多酚提取率随提取时间的延

长而迅速增加，当提取时间进一步延长时，茶多酚提取率上升趋势趋于平缓。这可能是随着提取时间的延长，细胞中的可溶性物质已基本溶出，当提取时间进一步延长时，细胞内外浓度达到平衡，同时溶剂也有所挥发，所以提取率增加缓慢。综合考虑，提取时间选用80min左右为宜。

### 3.4.4 正交试验结果与分析

按表 3-1 因素与水平的设计，结果见表 3-2，结果分析见表 3-3 和表 3-4。

表 3-2 正交试验结果  
Table 3-2 The results of the orthogonal experiment

实验号	因素			茶多酚提取率/%		
	A	B	C	重复 1	重复 2	重复 3
1	1	1	1	7.83	7.68	7.80
2	1	2	2	8.24	8.37	8.09
3	1	3	3	8.65	8.43	8.56
4	2	1	3	8.13	8.09	7.99
5	2	2	1	8.29	8.18	8.21
6	2	3	2	8.70	8.80	8.79
7	3	1	2	8.10	7.99	8.03
8	3	2	3	8.37	8.12	8.20
9	3	3	1	8.61	8.70	8.78

表 3-3 极差分析  
Table 3-3 The range analysis of the orthogonal experiment

		A	B	C
总和	K1	73.68	71.68	74.11
	K2	75.22	74.12	75.15
	K3	74.96	78.06	74.59
均值	k1	8.18	7.96	8.23
	k2	8.36	8.23	8.35
	k3	8.33	8.67	8.29
极差	R	0.18	0.71	0.12

表 3-4 方差分析  
Table 3-4 The variance analysis of the orthogonal experiment

方差来源	平方和	自由度	均值	F 值	显著水平
A	0.1508	2	0.0754	3.1832	
B	2.3047	2	1.1524	48.6617	**
C	0.0599	2	0.0300	1.2649	
误差	0.1894	8	0.0237		

注：\*\*：表示因素在 0.01 水平上对性能影响显著；\*：表示因素在 0.05 水平上对性能影响显著。 $F_{0.05}(2, 8)=4.46$ ， $F_{0.01}(2, 8)=8.65$ 。

由表 3-3 极差分析结果可知，各因素对提取得率影响程度依次为：B>A>C，即影

响提取率的因素依次是：提取温度>液固比>提取时间。由表 3-4 可知，因素 B 对茶多酚提取率的影响高度显著。这说明提取温度的高低对茶多酚提取率的影响最大。所以提取过程中对提取温度的选择和控制是尤为重要的。综合分析表 3-3 和表 3-4 以及考虑到工业化生产要求，确定最佳提取工艺条件为  $A_2B_3C_2$ ，即：液固比 30:1、提取温度 85℃、提取时间 80min。

### 3.4.5 验证试验结果

按以上所确定的最佳工艺  $A_2B_3C_2$ ，做 6 平行的验证性试验。即准确称取 6 份一定量茶叶干叶于烧杯中，制成液固比为 30:1，置于水浴锅中提取，提取温度为 85℃，提取时间 80min。取样检测，计算茶多酚提取率。结果与分析如表 3-5。

表 3-5 验证试验结果  
Table 3-5 The results of the validation experiment

试验号	茶多酚提取率/%	提取率均值/%	方差	标准差	相对标准偏差 (RSD)/%
1	8.64				
2	8.74				
3	8.82				
4	8.48	8.66	0.0172	0.1310	1.5119
5	8.79				
6	8.52				

由表 3-5 可知，用最佳工艺进行茶多酚的提取，茶多酚平均提取率为 8.66%，相对标准偏差 (RSD) 为 1.5119%。

## 3.5 超声波辅助提取 (UAE) 茶多酚

### 3.5.1 提取方法

准确称取一定量干燥茶叶，加蒸馏水以制成不同的液固比。然后在一定超声波功率和频率的超声波作用下，通过控制不同的液固比、提取温度和提取时间置于超声波清洗器中进行超声波辅助提取。然后过滤、离心，取样检测，计算茶多酚提取率。

### 3.5.2 正交试验的设计

根据单因素试验所确定超声波频率和较适宜的单因素试验条件，选定液固比、提取温度和提取时间为影响因素，并各选出 3 个水平，进行三因素三水平的  $L_9(3^3)$  正交试验。因素与水平设计见表 3-6。

表 3-6 因素与水平  
Table 3-6 Factors and levels

水平	因素		
	A 液固比 (mL/g)	B 提取温度 (°C)	C 提取时间 (min)
1	25: 1	50	50
2	30: 1	60	60
3	35: 1	70	70

### 3.5.3 单因素试验结果与分析

#### 3.5.3.1 液固比对茶多酚提取率的影响

分别用 10:1, 20:1, 30:1, 40:1, 50:1 的液固比 (mL/g), 在固定提取温度为 60 °C, 提取时间为 60min 的条件下, 分别进行 40KHz 超声波提取和 28KHz 超声波提取, 并测定对应的茶多酚提取率。结果见图 3-4。

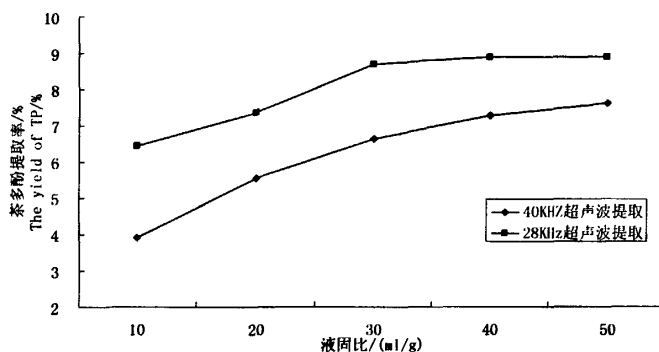


图 3-4 液固比对茶多酚提取率的影响  
Fig 3-4 Effect of liquid-solid ratio on the yield of TP

由图 3-4 可知, 与 40KHz 超声波提取相比 28KHz 超声波提取的茶多酚提取率明显较高。在这二种不同频率超声波提取中, 随着液固比的增大, 茶多酚提取率均在增加, 用 28KHz 超声波提取时, 当液固比增大到 30:1 以后, 提取率增加逐步缓慢, 综合因素, 较优液固比选 30:1 左右为宜。

#### 3.5.3.2 提取时间对茶多酚提取率的影响

在固定液固比为 30:1, 提取温度为 60°C 的条件下 (60°C 条件下作非温度因素的单因素考察时, 可以排除提取率因超声波对水温的升高而间接对结果的影响), 分别进行 40KHz 超声波提取和 28KHz 超声波提取, 提取时间分别为 30、40、50、60、70min, 并测定对应的茶多酚提取率。结果见图 3-5。

由图 3-5 可知, 与 40KHz 超声波提取相比, 28KHz 超声波提取的茶多酚提取率明显较高。在这二种不同频率超声波提取中, 随着提取时间的延长, 茶多酚提取率呈

上升趋势，用 28KHz 超声波提取时，提取时间在 60min 以内，提取率上升迅速，当时间继续延长时，提取率增加逐渐变缓，从省时的角度考虑，较优提取时间选 60min 左右为宜。

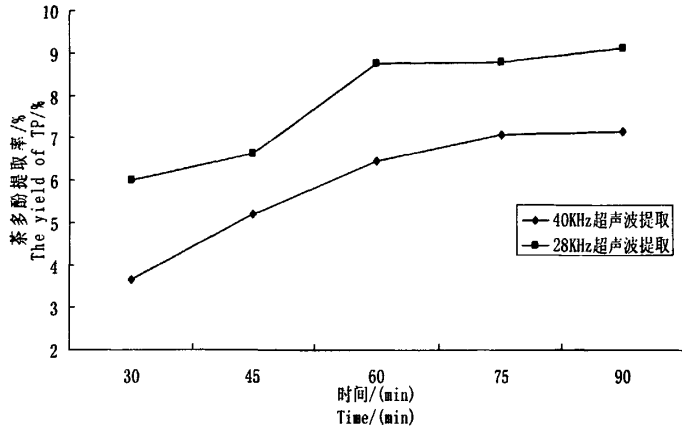


图 3-5 提取时间对茶多酚提取率的影响  
Fig 3-5 Effect of extraction time on the yield of TP

### 3.5.3.3 提取温度对茶多酚提取率的影响

固定液固比为 30:1，分别控制提取温度为 30、40、50、60、70℃，进行 40KHz 超声波提取和 28KHz 超声波提取，提取时间为 60min，并测定对应的茶多酚提取率。结果见图 3-6。

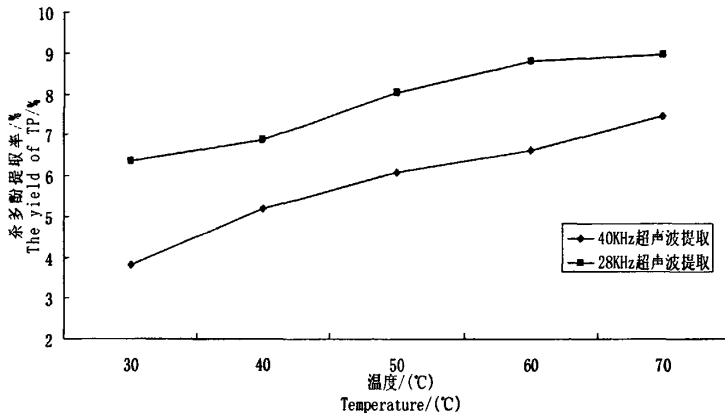


图 3-6 提取温度对茶多酚提取率的影响  
Fig 3-6 Effect of extraction temperature on the yield of TP

由图 3-6 可知，与 40KHz 超声波提取相比，28KHz 超声波提取的茶多酚提取率明显较高。在这二种不同频率超声波提取中，随着提取温度的升高，茶多酚提取率也逐渐增加，用 28KHz 超声波提取时，在提取温度升高到 60℃后而继续上升时，提取

率增加逐渐变缓，从节能和保持成分稳定的角度等综合因素考虑，较优提取温度选60℃左右为宜。

### 3.5.4 正交试验结果与分析

按表 3-6 所示正交试验的因素与水平的设计，结果见表 3-7，结果分析见表 3-8 和表 3-9。

表 3-7 正交试验结果  
Table 3-7 The results of the orthogonal experiment

实验号	因素			茶多酚提取率/%		
	A	B	C	重复 1	重复 2	重复 3
1	1	1	1	7.81	7.79	7.90
2	1	2	2	8.47	8.36	8.50
3	1	3	3	8.52	8.55	8.63
4	2	1	3	8.41	8.39	8.53
5	2	2	1	8.86	8.76	8.91
6	2	3	2	8.08	8.05	8.11
7	3	1	2	7.94	7.82	7.74
8	3	2	3	8.47	8.37	8.49
9	3	3	1	8.78	8.67	8.80

表 3-8 极差分析  
Table 3-8 The range analysis of the orthogonal experiment

		A	B	C
总和	K <sub>1</sub>	74.56	72.34	76.31
	K <sub>2</sub>	76.13	77.22	73.09
	K <sub>3</sub>	75.09	76.21	76.38
均值	k <sub>1</sub>	8.28	8.03	8.47
	k <sub>2</sub>	8.45	8.58	8.12
	k <sub>3</sub>	8.34	8.46	8.49
极差	R	0.17	0.55	0.37

表 3-9 方差分析  
Table 3-9 The variance analysis of the orthogonal experiment

方差来源	平方和	自由度	均值	F 值	显著水平
A	0.1421	2	0.0711	0.6061	
B	1.4725	2	0.7362	6.2785	*
C	0.7846	2	0.3923	3.3456	
误差	0.9381	8	0.1173		

注：\* \*：表示因素在 0.01 水平上对性能影响显著；\*：表示因素在 0.05 水平上对性能影响显著。F<sub>0.05</sub>(2, 8) = 4.46, F<sub>0.01</sub>(2, 8) = 8.65。

由极差分析（表 3-8）和方差分析（表 3-9）结果可知，采用 28KHz 超声波提取茶多酚时，各因素对提取得率影响程度依次为：B>C>A，即影响提取率的因素依次是：



提取温度>提取时间>液固比；提取温度对茶多酚提取率的影响较显著。

根据以上分析，结合工业化生产要求综合考虑，最终确定最佳提取工艺条件为  $A_2B_2C_1$ ，即最佳提取工艺参数为：液固比 30:1、提取温度 60℃、提取时间 50min。

### 3.5.5 验证试验结果

按确定的最佳工艺  $A_2B_2C_1$ ，做 6 平行的验证性试验。即准确称取 6 份一定量茶叶，制成液固比为 30:1，置于超声波提取机中提取，提取温度 60℃，提取时间 50min。取样检测，计算茶多酚提取率。结果与分析如表 3-10。

表 3-10 验证试验结果  
Table 3-10 The results of the validation experiment

试验号	茶多酚提取率/%	提取率均值/%	方差	标准差	相对标准偏差(RSD/%)
1	9.05				
2	8.85				
3	8.62	8.82	0.0207	0.1439	1.6327
4	8.90				
5	8.68				
6	8.79				

由表 3-10 可知，用最佳工艺进行茶多酚的提取，茶多酚平均提取率为 8.82%，相对标准偏差（RSD）为 1.6327%。

## 3.6 微波辅助提取（MAE）茶多酚

### 3.6.1 提取方法

微波提取方法：由于微波辐射能在较短的时间内，致使容器内提取液产生暴沸以溢出容器。试验采用微波间歇处理的方式提取，即微波先处理 2 分钟，使提取液迅速达到沸腾状态，然后静置 3 分钟，微波处理 1 分钟，再静置 3 分钟，微波处理 1 分钟，如此循环。以总时间计为本试验的提取时间。

微波提取工艺：准确称取一定量的干燥茶叶于烧杯中，加蒸馏水制成一定的液固比，通过控制不同的液固比、微波功率和提取时间置于微波炉中提取。过滤、离心，取样检测，计算茶多酚提取率。

### 3.6.2 正交试验的设计

根据单因素试验所确定较适宜的单因素试验条件，选定液固比、微波功率和提取时间为影响因素，并各选出 3 个水平，进行三因素三水平的  $L_9(3^3)$  正交试验。因素与水平设计见表 3-11。

表 3-11 因素与水平  
Table 3-11 Factors and levels

水平	因素		
	液固比 (mL/g)	B 微波功率 (W)	C 提取时间 (min)
1	25: 1	450	10
2	30: 1	600	14
3	35: 1	750	18

### 3.6.3 单因素试验结果与分析

#### 3.6.3.1 液固比对茶多酚提取率的影响

试验条件为：微波功率为 450W，提取时间为 10min，液固比为：10:1、20:1、30:1、40:1 和 50:1 (mL/g)。提取结果见图 3-7。

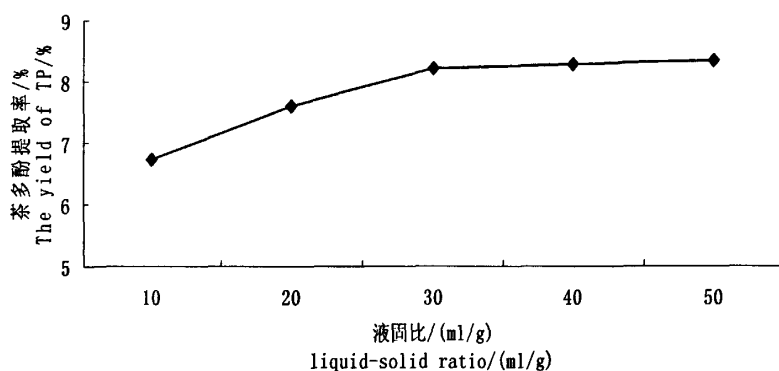


图 3-7 液固比对茶多酚提取率的影响  
Fig 3-7 Effect of liquid-solid ratio on the yield of TP

由图 3-7 可知，液固比由 10:1 到 30:1 范围内，随着液固比的增大，茶多酚提取率也在增加，液固比由 30:1 到 50:1 范围内，随着液固比增加，茶多酚提取率增加逐步缓慢，考虑到后续纯化浓缩和节约溶剂等综合因素，较优液固比选 30:1 左右为宜。

#### 3.6.3.2 提取时间对茶多酚提取率的影响

试验条件为：液固比为 30:1 (mL/g)，微波功率为 450W，提取时间为 6、10、14、18 和 22min。提取结果见图 3-8。

由图 3-8 可知，提取时间由 6min 延长到 14min 范围内，随着提取时间的延长，茶多酚提取率呈上升趋势，当时间由 14min 延长到 18min 范围内，茶多酚提取率增加逐渐变缓，当时间继续延长时，茶多酚提取率呈下降趋势，这可能是由于提取时间过长导致提取溶剂大量蒸发而损失的缘故，从省时的角度综合考虑，较优提取时间选 14min 左右为宜。

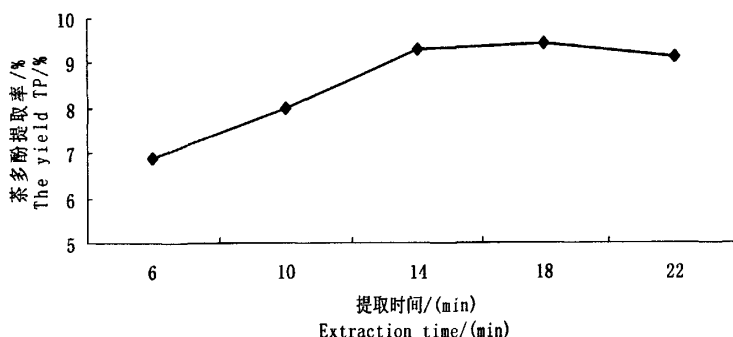


图 3-8 提取时间对茶多酚提取率的影响  
Fig 3-8 Effect of extraction time on the yield of TP

### 3.6.3.2 微波功率对茶多酚提取率的影响

试验条件为：液固比为 30:1 (mL/g)，提取时间为 14min，微波功率为 150、300、450、600 和 750W。提取结果见图 3-9。

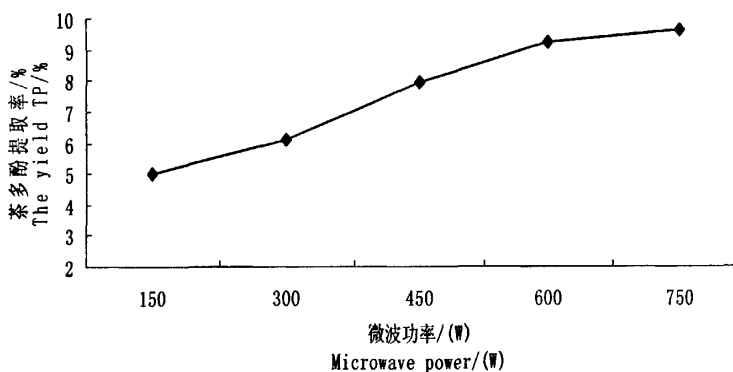


图 3-9 微波功率对皂苷得率的影响  
Fig 3-9 Effect of microwave power on the yield of TP

由图 3-9 可知，随着微波功率增大，茶多酚提取率也逐渐增加，在 150W 与 600W 范围内，茶多酚提取率上升较为迅速，在 600W 与 750W 之间，茶多酚提取率增加逐渐变缓，从节能和保持提取过程稳定的角度等综合考虑，较优功率选 600W 左右为宜。

### 3.6.4 正交试验结果与分析

按表 3-11 的因素与水平的设计，结果见表 3-12，结果分析见表 3-13 和表 3-14。

由表 3-13 极差分析结果可知，各因素对茶多酚提取率影响程度依次为：B > C > A，即采用常规水提取茶多酚时，影响提取率的因素依次是：微波功率 > 提取时间 > 料液比。这说明微波功率的高低对茶多酚提取率的影响最大，其次是提取时间，最小是料液比。可能是因为高功率微波穿透能力极强，直接作用于植物细胞内部，使有效成分很快溶出，同时可使溶剂温度升高较快和提取液迅速处于沸腾状态，有利于茶多酚的

提取。而提取时间过长会使溶剂蒸发过快，从而影响茶多酚提取率。

表 3-12 正交试验结果  
Table 3-12 The results of the orthogonal experiment

实验号	因素			茶多酚得率/%		
	A	B	C	重复 1	重复 2	重复 3
1	1	1	1	8.39	8.32	8.25
2	1	2	2	8.90	9.08	9.07
3	1	3	3	9.51	9.47	9.59
4	2	1	3	8.29	8.15	8.39
5	2	2	1	8.78	8.77	8.64
6	2	3	2	9.64	9.56	9.70
7	3	1	2	8.21	8.19	8.19
8	3	2	3	8.96	8.82	8.95
9	3	3	1	9.23	9.15	9.35

表 3-13 极差分析  
Table 3-13 The range analysis of the orthogonal experiment

		A	B	C
总和	K1	80.63	74.41	78.92
	K2	79.94	80.01	80.5
	K3	79.09	85.24	80.17
均值	k1	8.95	8.26	8.76
	k2	8.88	8.89	8.95
	k3	8.79	9.47	8.91
极差	R	0.16	1.21	0.19

表 3-14 方差分析  
Table 3-14 The variance analysis of the orthogonal experiment

方差来源	平方和	自由度	均值	F 值	显著水平
A	0.1332	2	0.0666	2.5200	
B	6.5247	2	3.2623	123.4757	**
C	0.1661	2	0.0831	3.1434	
误差	0.2114	8	0.0264		

注：\*\*：表示因素在 0.01 水平上对性能影响显著；\*：表示因素在 0.05 水平上对性能影响显著。 $F_{0.05}(2, 8)=4.46$ ,  $F_{0.01}(2, 8)=8.65$ 。

由表 3-14 方差分析结果表明，因素 B 对指标的影响极其显著，因此微波功率对茶多酚提取率影响较大，生产中应严格控制。试验经常由于功率过高，时间过长而导致试验中提取液暴沸而难以进行。

根据以上分析，结合工业化生产要求综合考虑，确定最佳提取工艺为  $A_1B_3C_2$ ，即液固比 25:1，微波功率 750W，提取时间 14min，也即先微波处理 2 分钟，再进行 3 次 3 分钟静置 1 分钟微波处理。

### 3.6.5 验证试验结果

按确定的最佳提取工艺条件  $A_1B_3C_2$ ，做 5 平行的验证性试验。即准确称取 5 份

一定量茶叶干叶,加蒸馏水制成液固比为 25:1,置于微波炉中提取,微波功率为 750W,循环提取 14min,测定茶多酚的含量。结果与分析如表 3-15。

表 3-15 微波提取稳定性试验结果  
Table 3-15 The results of the stability experiment

试验号	茶多酚得率/%	得率平均值/%	方差	标准差	相对标准偏差 (RSD)/%
1	9.49				
2	9.62				
3	9.51	9.60	0.0079	0.0889	0.9257
4	9.72				
5	9.67				

由表 30 可知,用微波提取的最佳工艺进行提取试验,茶多酚平均提取率为 9.60%,相对标准偏差 RSD 为 0.9257%。

### 3.7 本章小结

水浴法提取考察了液固比、提取温度和提取时间对茶多酚提取率的影响,通过正交试验分析,确定茶多酚的水提取最佳提取工艺条件为  $A_2B_3C_2$ ,即:液固比 30:1、提取温度 85℃、提取时间 80min;其中提取温度对茶多酚提取率的影响极其显著。用此最佳工艺进行重复性验证试验,茶多酚的平均提取率为 8.66%,相对标准偏差 (RSD) 为 1.5119%,即提取结果稳定性较好。

超声波辅助提取以 28KHz 和 40KHz 两种不同频率超声波考察了液固比、提取温度和提取时间对茶多酚提取率的影响,通过正交试验分析,确定茶多酚的 28KHz 超声波法最佳提取工艺条件为  $A_2B_2C_1$ ,即:液固比 30:1、提取温度 60℃、提取时间 50min;其中提取温度对茶多酚提取率的影响较显著。用此最佳工艺进行重复性验证试验,茶多酚的平均提取率为 8.82%,相对标准偏差 (RSD) 为 1.6327%,即提取结果稳定性好。并且与水浴法提取相比,提取率有一定的提高,而且降低了液固比,在工业化中,为后续加工工序减轻压力,同时也降低了提取温度,缩短了提取时间。因此,试验结果表明,采用超声波提取茶多酚的方法要优于常规水浴提取。

微波辅助提取考察了液固比、微波功率和提取时间对茶多酚提取率的影响,通过正交试验分析,确定茶多酚的微波法最佳提取工艺条件为  $A_1B_3C_2$ ,即液固比 25:1,微波功率 750W,提取时间 14min,也即微波先处理 2 分钟,再进行 3 次 3 分钟静置 1 分钟微波处理;按照最佳工艺进行了 5 次重复性验证试验,茶多酚平均提取率为 9.60%,相对标准偏差 RSD 为 0.9257%;即提取结果稳定性相当好。结果表明:用微波提取茶多酚能达到较高的提取率,与水浴法提取相比和超声波提取相比,都有很大的提高且提取结果稳定,缩短了提取时间。

## 4 超声-微波协同逆流提取机组的设计

由绞股蓝皂苷和茶多酚的提取试验,结合对茶多酚提取和绞股蓝皂苷的提取试验的结果进行分析和比较发现,超声波与微波用于天然产物的提取中,不但能够提高提取率,而其缩短了提取时间,降低了提取温度。因此,将超声波与微波结合逆流提取的动态过程,开发出可实现超声波、微波协同作用的动态逆流提取设备,对天然产物的提取应该有一定的促进作用。

### 4.1 现代天然产物提取对提取设备的要求

随着科学技术的进步,多学科互相渗透,在对天然产物提取原理及过程深入研究的同时,也涌现出一些新的提取方法。然而,随着社会的高速发展,人们生活水平的提高,对现代天然产物的提取工艺和设备提出了新的要求<sup>[3]</sup>:

(1) 有效成分提取充分,提取率高,提取速度快,效率高,减少物料资源的浪费,便于后续在利用;

(2) 溶媒耗量少,出液系数小,浸出液浓度高,节省溶剂,节省后道工序的工作压力和生产成本;

(3) 提取温度可调,既适于热稳定性好的物料的提取,又适于热敏性物料的提取,减少对有效成分的破坏;

(4) 物料在提取器中不停流动,且流动速度可调;适应性好,应能适于不同物料的提取;

(5) 生产连续性好,提取过程易于监测与控制,应能适于现代化大规模连续性工业化生产;

(6) 节约能源,安全可靠;结构简单,操作方便。

为此,设计了一种新型的超声-微波协同逆流提取(Ultrasonic-Microwave Synergizing Dynamic Countercurrent Extraction, U-MSDE)的天然产物有效成分提取设备,要求最大生产率达到10kg/h。

### 4.2 超声波与微波参数的确定

由提取试验结果所确定的超声波与微波用于提取的有效参数,结合工业化生产需要和选用产品的性能,选用超声波频率为28KHz、功率为1200W的超声波发生器,微波频率为2450MHz、功率为850W的工业用微波发生装置。

### 4.3 主要结构的设计与部件的选用

超声-微波协同逆流提取机组是在本试验室设计的连续逆流提取机组的基础上,进一步改进,并附加超声波发生装置与微波发生装置总装设计而成。根据前言所述的

微波、超声波与逆流提取的原理分析，充分地利用它们各自的特性，将其有机地结合起来，研究开发出适合天然产物有效成分提取的中试提取设备。结构示意图见图4-1，实物图见4-2。

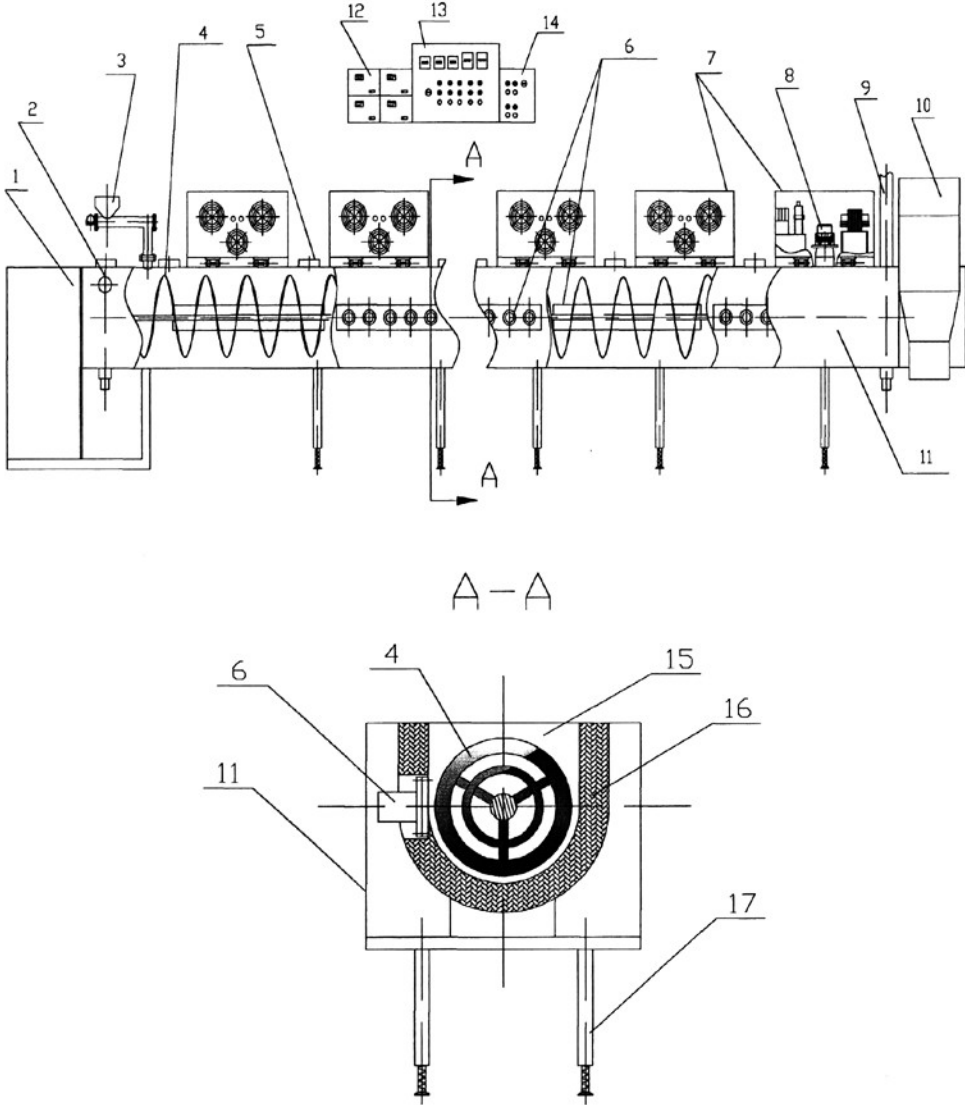


图 4-1 超声-微波协同逆流提取机组结构示意图  
 Fig 4-1 The schematic diagram of structure of ultrasonic-microwave synergizing dynamic countercurrent extraction equipment

- 1 动力装置箱；2 出液口；3 投料口；4 输送螺旋和传动轴；5 观测孔；6 超声探头（换能器）和换能板组合；
- 7 微波发生器；8 微波磁控管；9 容媒进口；10 排渣装置；11 机组外壳；12 超声波发生器；
- 13 总控制柜；14 微波控制箱；15 提取槽；16 隔热层；17 可调支撑

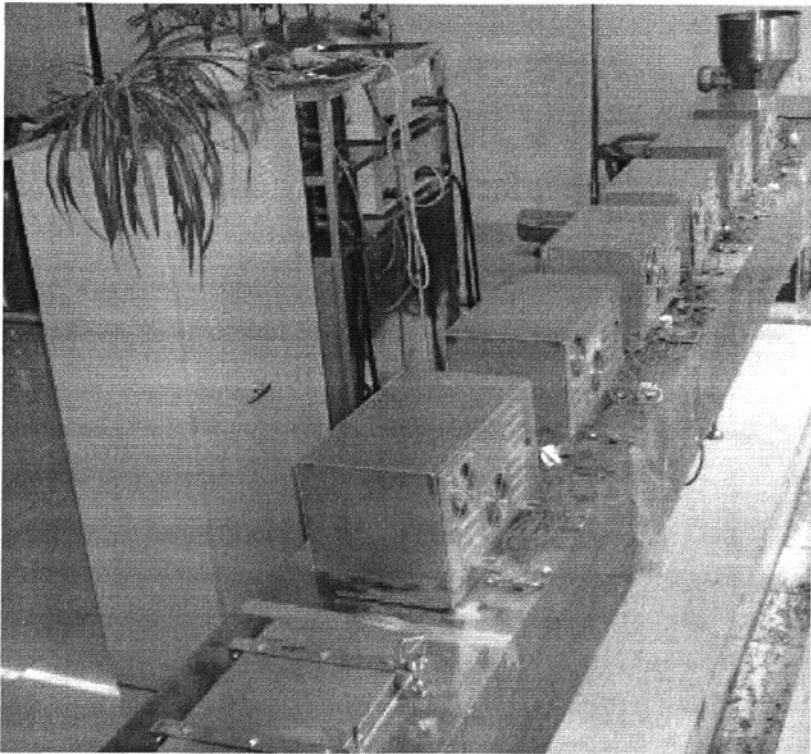
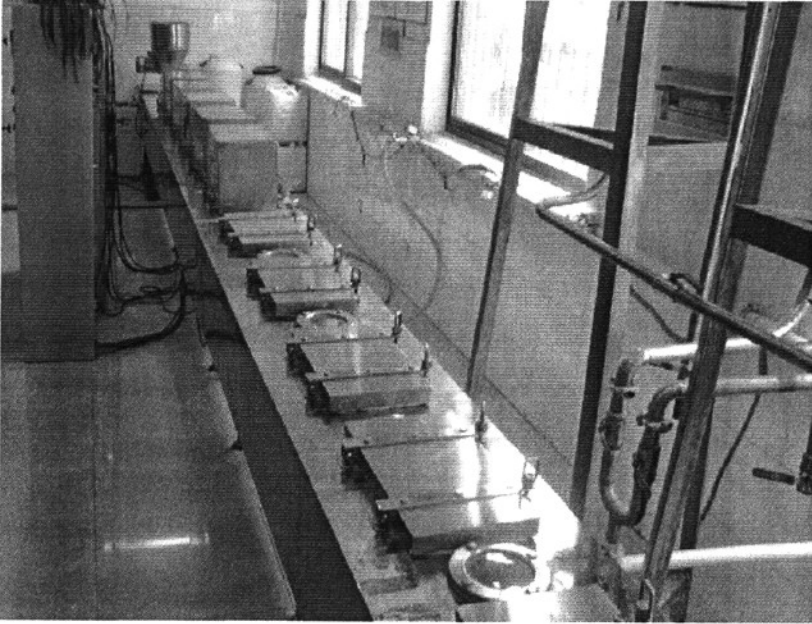


图 4-2 超声-微波协同逆流提取机组  
Fig 4-2 The extraction equipment of ultrasonic-microwave synergizing  
dynamic countercurrent



主要结构有动力装置、槽体、旋转输送装置、投料装置、排渣装置、超声波发生装置、微波发生装置以及一些固定、联结和支撑的配件，外附加粗滤装置、挤汁机、加热箱、流量控制装置、控制箱和线路控制等。

根据农产品加工机械对材料的要求，本机组设备材料全部选用SUS304不锈钢。机体采用分段式，以便检修和组装。机体支撑高度可调，能使支撑受力均匀，机组传动轴处于水平位置。机组上方每间隔均有观测孔，工作时可以随时监测，利用红外测温。微波发生装置与机组的结合处，均垫有用铜编织网(铜编织线)包裹的橡胶垫圈，既能防止震动，又能防止微波泄漏，具有高度的安全性。

#### 4.3.1 动力装置

整个提取机组系统的动力包括五台电动机(具体型号选择见图4-6)，分别用于投料、推送物料、掏渣、挤汁和粗滤的动力提供，其中投料和送料可调频调速，从而可控制投料和送料速度以便控制投料量和提取时间，保证试验的精确度和准确性，并且配合容媒流量控制装置来保证提取液液固比。

#### 4.3.2 旋转输送装置

旋转输送装置主要有U型槽体、转轴、螺旋叶片、传动装置以及固定、联结和支撑的配件组成，整机为四段，总长8.6m。在U型槽体内，由两端及中间支撑来支承四段相互咬合的转轴，在转轴上焊有螺旋叶片。当转轴转动时，转动的螺旋叶片推动物料由投料端到掏渣端，而且推动过程中物料不断翻滚，使得物料提取的更加均匀和充分，见图4-3。

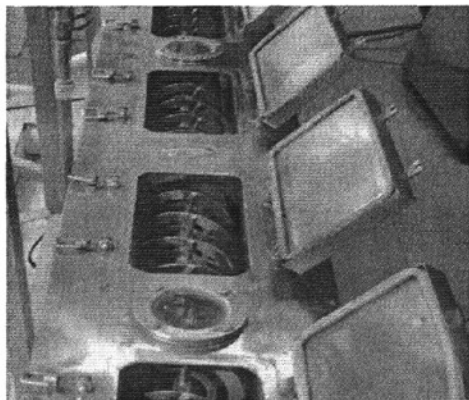


图 4-3 提取机组螺旋输送机构

Fig 4-3 The screw conveyer of ultrasonic-microwave synergizing dynamic countercurrent extraction equipment

因为该提取设备主要用于提取的物料为植物的花、叶和茎，且工作在液体内部，为增加螺旋叶片对物料的输送能力，减少液体阻力，选用带式面型螺旋(螺旋面形状可见图4-1)。

#### 4.3.3 进料装置

投料装置位于机组前段，由动力装置、投料漏斗和传送螺杆组成，物料放入漏斗中，通过控制螺杆的转速来控制投料量。

容媒供给装置位于机组上方，由加热箱（储液箱）和流量控制装置组成。加热箱是溶媒供给容器，用于对溶剂的加温和储存，利用电加热，采用热敏传感器和控制开关进行温度控制，利用溶剂重力通过控制阀和流量计控制进液量。该装置除在提取前用于配制一定的液固比外，而且在逆流提取的过程中通过控制进液量保持提取槽中恒定的液固比。

#### 4.3.4 排渣装置

排渣装置位于机组的末端，主要由传动装置和倾斜的链扒式输送器构成，即传动电机的旋转带动倾斜的链扒式输送器进行排渣，这样犹如从料液中把料渣打捞起来，有利于料渣的清洗和简单滤水。

#### 4.3.5 粗滤装置

粗滤装置位于前段，与出料口相通，主要由滤桶和滤网构成。将滤网放置于滤桶后，滤液从上端流入，经滤网过滤后到下端，下端与一水泵连接，既可以增加滤网上下压力差以加速过滤，又可将滤过液经水泵抽到储料罐中。储料罐同时兼有储存和冷凝作用，使得滤液快速冷却到室温或预定温度，从而可减少提取液中有效成分因高温而变性，导致损失。

#### 4.3.6 超声波发生装置

超声波发生装置主要包括超声波发生器和换能装置，按照前面提取试验结果，超声波发生器选用 JCT1200 型 2 台，NX80-1200 型超声波 2 台，功率 1200W，频率为 28KHz。如图 4-4。



图 4-4 超声波发生器  
Fig 4-4 The ultrasonic generator

换能装置包括超声换能器（探头）和换能面板组成。整个机组共安装 8 个换能面板，分别交替装在提取槽两侧。每台发生器连接 2 个面板，每个面板上装 4 个换

能探头。试验时单独控制，可以根据需要随时开启与关闭。

超声波基本呈外  $45^\circ$  发射，在本提取槽内，当提取液没过超声波换能面板上沿以下，能保证整个提取溶液环境全部能受到超声波的辐射作用。超声波发射时噪声较大，因此提取槽的上方均采用隔声材料，观测孔封装有隔音玻璃。

#### 4.3.7 微波发生装置

微波发生装置的核心是微波磁控管，按照前面提取试验的结果，选用 Panasonic(松下)原装磁控管 2M210-M1 型，功率为 850W，频率为 2450MHz。其总装实物图如图 4-5。

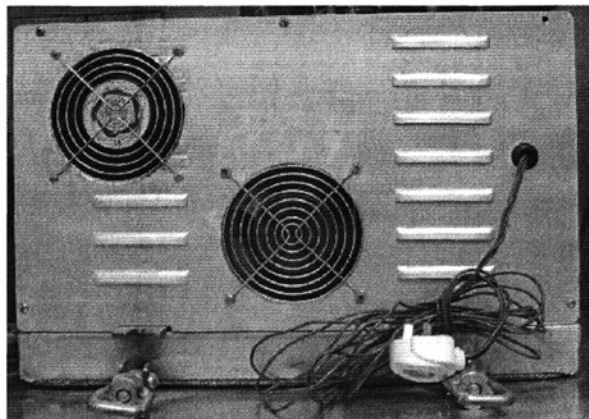
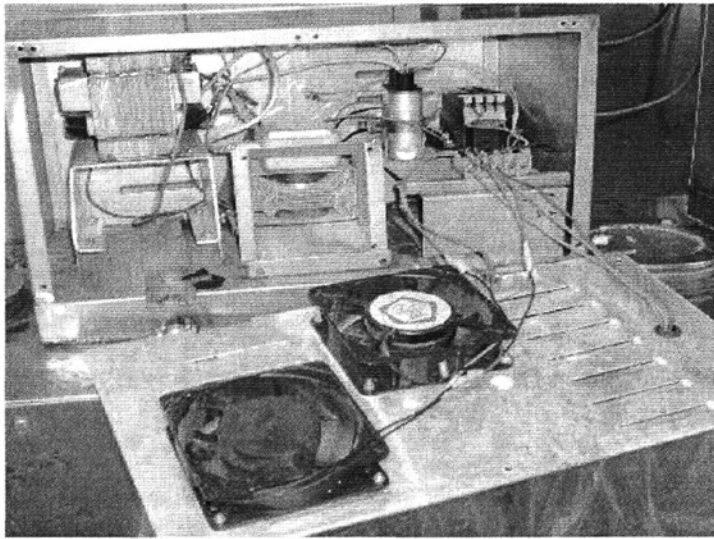


图 4-5 微波发生器及内部结构  
Fig 4-5 The microwave generator and the internal structure

本装置共配置 6 台微波发生器，将微波发生器安装在提取机组的上部。微波向下发射于提取槽。由于微波发生装置与提取机组是单独成体，之间为活动装配，因此微波发生器可以根据需要更换位置，提取时可以实现不同提取阶段的强化。试验时单独控制，可以根据需要随时开启与关闭。

此外，由于微波的发热非常迅速，排热装置也是一个非常重要的部分，否则直接影响磁控管的正常工作，本装置通过两个转速反向的排热扇，使得微波装置内部空气与外部空气形成高速对流，以便实现内部热量的排出。

#### 4.3.8 挤汁机

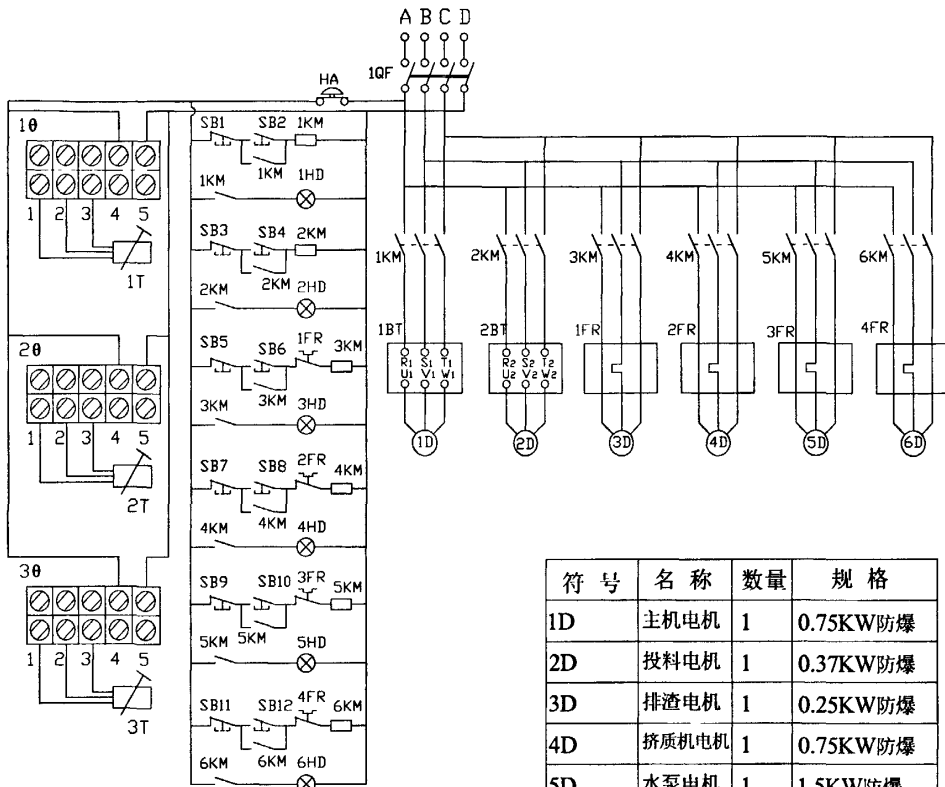
大规模生产时，排渣的简单滤水会造成大量的浪费和损失，是不能满足要求的，因此附加配备专门的挤汁机。挤汁机主要部件是锥体螺旋的传送杆件和不锈钢筒状滤网组成，工作时锥体螺旋传送杆在不锈钢筒状滤网中旋转，使料渣在传送过程中体积在不断缩小，使得料渣中的溶剂被挤压出来，经滤网过滤后出液口流出，渣子被挤压后从出渣口流出。由于排渣装置打捞出的料渣中还有许多提取液，通过挤汁机处理收取更多提取液，避免损失与浪费，既可以保证试验的准确性，又能满足生产的要求。

#### 4.4 电器线路设计

由结构设计可知，机组的各运动部件是由电机来带动的。因此，在工作中对电机的控制是非常重要的。对电机的控制主要是控制它的启动、停止、调速及制动。

机组共有六个电机，五个电机正常使用，其中一个备用。其中投料和送料动力电机接入变频器，可更精确地进行变频调速。电机均接有热继电器以用来保护电机使之免受工作中长期的过载的危害。在提取机组的两端和中间三个部位安装温度传感器（探头），试验时通过温度传感器和温度控制仪可对温度进行时时监控。电器线路控制见图 4-6。

为了充分体现加工设备的柔性化，增加提取机组的机动性，均采用单线控制。由图 4-6 可知，每条单线均采用简单按钮式（常开和常闭各一个），使用灵活方便。并且每条支路均接有指示灯，正常工作时绿灯亮。另外，主电路选用自动空气断路器（自动开关），实现低压安全保护，防止提取过程中短路、过载和失压，保护操作人员的人身安全和提取机组的设备安全。



符号	名称	数量	规格
1D	主机电机	1	0.75KW防爆
2D	投料电机	1	0.37KW防爆
3D	排渣电机	1	0.25KW防爆
4D	挤质机电机	1	0.75KW防爆
5D	水泵电机	1	1.5KW防爆
6D	备用电机	1	1.5KW防爆
1-30	温度控制仪	3	XMTD-2002
1-3T	温度计探头	3	PT100
1-12SB	按钮	12	LA19-11A3
HA	总停开关	1	LA128D
1QF	空气断路器	1	CAM1-40
1-2BT	变频器	2	1HF-0.75K

符号	名称	数量	规格
1-6HD	信号灯	1	AD16
1-6KM	交流接触器	6	CJX1-9/22
1FR	挤质机电机	1	0.63-1A
2FR	热继电器	1	2-3.2A
3-4FR	热继电器	2	2.5-4A

图 4-6 电器控制原理图

Fig 4-6 The principle diagram of electric control

#### 4.5 机组结构参数与性能参数

根据超声-微波协同逆流提取机组的结构设计、电器线路的设计和大量天然产物有效成分提取试验，同时结合农产品精深加工实验室面积和工业化生产需要，以及其它综合考虑因素，最终研制成功的超声-微波协同逆流提取机组的结构参数与性能参数见表 4-1。

表 4-1 提取机组结构与性能参数

Table 4-1 The structure and performance parameters of extraction equipment

序号	参数名称	参数指标
1	试验压力 (Mpa)	常压
2	容器内型	常压
3	工作温度 (°C)	20-100
4	工作介质	中药料液
5	总容积 (L)	350
6	机体工作容积 (L)	220
7	电机总功率 (KW)	5.12
8	槽体内径 (mm)	200
9	壁厚 (mm)	3
10	槽体总长 (mm)	8720
11	材质	SUS304 不锈钢
12	螺旋转速(r/min)	1-6.5
13	最大生产率 (kg/h)	10
14	投料量 (L/h)	12.5
15	超声波频率 (MHz)	28
16	超声波功率 (W)	1200×4
17	微波频率 (MHz)	2450
18	微波功率 (W)	850×6

## 4.6 机组的安装调试

(1) 安装机组时先校地基水平, 然后按设备总装要求将机组固定在操作平台上, 再进一步调节机组水平, 并且按设备原理图进行电器安装, 最后进行超声波与微波装置的安装;

(2) 安装完成后通电、水, 进行试运行, 不得有不正常噪音、震动、滴漏等现象出现;

(3) 开启超声波与微波发生器, 监测运行状况和发生器箱体温度, 不得有中途停机、波泄漏等现象出现。

(4) 设备需要可靠接地。

## 4.7 工作原理与操作过程

### 4.7.1 工作原理

超声-微波协同逆流提取的工作原理是基于扩散理论, 通过机械强制手段使物料

与溶剂做相互运动，使天然产物有效成分始终处于较高的浓度梯度中（逆流提取机理），同时通过超声波与微波的强化作用，加速物料的有效成分进入溶剂当中，从而达到快速提取的目的。由于采用了动态逆流加超声波、微波的辅助，缩短了有效成分从物料内部迁移至表面的时间，可实现提取过程中物料有效成分的快速迁出，从而缩短有效成分有效成分时间，同时也提高了有效成分的提取率。

提取时，物料在被推进的整个过程中分为初提、深提和渗洗三个阶段。

初提阶段，由于物料开始时本身温度低，投料后与后面流过来的提取液（浓度高）接触，同时受超声波、微波的作用较少，天然产物中的易提取成分，如香气成分、色素、氨基酸、酮类物质等先浸出，在很短时间内从提取槽中流出，流向粗滤装置。

深提阶段，物料被螺旋面推进器向后继续推进过程中，接触的溶剂温度越来越高，浓度越来越低，同时受到超声波、微波的辐射作用，物料的细胞组织变疏松或被击碎，这样较难提取的成分会逐渐浸出，如可溶性蛋白、果胶、还有随时间延长逐渐浸出的多酚类物质，以及前面易浸出的少量成分的彻底浸出等。

渗洗阶段，物料经充分提取后，料渣被逐渐向后推进到溶剂进口附近，这一段溶液浓度最低，温度最高，提取液对料渣进行表面的相对清洗，使料渣表明粘附的可溶性成分被洗下进入提取液中，而料渣经过渗洗后，被推进到排渣装置将其排出。

#### 4.7.2 操作过程

提取前，应该进行槽内简单清洗，打开上储液箱上阀门以储存一定量洗涤用溶液，通过打开下阀对机组内槽进行清洗，直至清洗完毕，放开储液箱洗涤用溶液。

提取开始，把溶媒加入储液箱，根据提取物料的特性设定储液箱内的溶剂温度，打开加热按钮对溶剂进行加热；当指示灯有绿变红，加热达到要求，打开储液箱下阀，通过流量计对机组内加液，打开出液口阀门，槽体内液面高度以出液口阀门处为准（此时液面正好没过超声波换能面板），关闭流量计及出液口阀门；根据需要选择开启超声波与微波发生器启闭开关；启动主机电机，根据物料的具体情况设定频率、转速；启动投料电机，根据具体情况设定频率、转速；过程中实时监控，从观测孔观察到物料到达排料器时，开启流量计，然后根据提取物与溶媒的质量比，通过调节流量计上端阀门，选择适当的流量，并同时打开出液口阀门和排渣电机，提取液通过出液口流向粗滤装置，料渣排向挤质机，此时所谓的平衡调节结束，提取正常开始。

提取结束时（一般投料结束），关闭投料器电机，同时关闭流量计，超声波和微波发生器，关闭溶媒进口阀门，并调节主机电机，使主机转速加快，物料快速推进直至排渣结束，关闭电机；打开排污口，使机组底部的提取液流入储料灌；进行

槽体内部清洗；关闭主机及所有阀门。

## 4.8 机组特点与注意事项

### 4.8.1 机组特点

本提取机组是一种协同超声波与微波协同辅助对天然产物有效成分提取的动态逆流提取设备，具有一下特点：

(1) 采用超声波和微波作为辅助手段，对物料进行强化的纯物理方法，有利于物料中有效成分的浸出，对有效成分无任何生化改性的作用；

(2) 尝试浓度梯度大。溶剂与物料间存在相对运动，扩散边界层较薄，相界面更新快，效率高，从而加速了有效成分浸出速度；

(3) 物料在溶媒中不断逆流翻动中加热，受热均匀，保证热敏性成分不被破坏，且提取充分；

(4) 全封闭操作，自动完成，操作方便，间接加热，凡与物料接触部分均采用优质不锈钢，采用可拆卸结构，机组内部能得到充分清洗，洁净卫生，符合《良好生产规范》(Good Manufacture Practice, GMP)要求；

(5) 可进行动态逆流提取、超声波强化逆流提取、微波强化逆流提取、超声-微波协同逆流提取等多种选择；

(6) 整机结构简单，投资成本少。

### 4.8.2 注意事项

(1) 试验前先放水于提取槽至螺旋轴，调至水平；

(2) 主机、投料电机严禁反转；

(3) 待提取的物料中严禁含有砂子、铁屑等硬质杂物，提取强应进行设备清洗和消毒；

(4) 开机前应检查机械、电、水等是否正常，启动设备后，如果当设备有异常噪音或振动时，应立即停电、停水、停机，进行故障排除，待一切正常后，重新开机；

(5) 设备正常工作时，严禁将手或其他物体伸入机组槽体和投料器内，以免发生意外；

(6) 排渣装置内链条如有松弛，会产生跳齿现象，从而造成设备的不正常运行，此时应调整端面上轴的位置，使内链条保持一定的张紧度；

(7) 主机机械密封、轴承套及排渣装置中机械密封和轴套为易损件，应定期检查其工作状况，确定是否更换。

(8) 禁止空启超声波与微波发生器，即必须保证提取槽中液面没过超声波换



能板。一般先开启主机，后开超声波与微波发生器。

## 4.9 超声波与微波协同逆流提取（U-MSDE）试验

### 4.9.1 试验材料与设备

#### 4.9.1.2 试验材料

绞股蓝干叶：购于湖北省咸丰县绿缘富硒绞股蓝有限公司；

茶叶：购于安徽省池州市；

人参皂苷 Rb 标准品：对照品(中国药品生物制品检定所)；

高氯酸、冰醋酸、香草醛、硫酸亚铁、酒石酸钾钠、磷酸氢二钠、磷酸二氢钾等试剂均为分析纯。

#### 4.9.1.2 试验设备

TDL-5 台式离心机：上海安亭科学仪器厂；

SL202N 型电子天平：上海明桥精密科学仪器有限公司；

722s 可见分光光度计：上海精密科学仪器有限公司；

超声-微波协同逆流提取机组：自行研制。

### 4.9.2 试验方法

通过前面水浴提取、超声波提取和微波提取的试验研究，并参照各自所优化的提取工艺，利用新研制的超声-微波协同逆流提取设备进行绞股蓝皂苷和茶多酚的提取试验。试验投料 8kg 物料，提取槽放入 240kg 一定温度的水，开机后，即刻投料，开启超声波、微波，整个试验过程一直使用超声波处理，微波在试验初期提取一段时间。

### 4.9.3 绞股蓝皂苷的提取试验

试验参数为：液固比 30:1，提取温度 60℃，提取时间 60min；超声波参数：频率为 28KHz，功率为 1200W，整个提取过程一直使用超声波处理（作用时间为 60min）；微波参数：频率为 2450MHz，功率为 850W，提取初期使用微波处理（作用时间为 18 min）。结果见表 4-2。

由表 4-2 可知，皂苷平均提取率为 8.06%，相对标准偏差（RSD）为 1.9621%。即提取结果稳定性较好，与水浴提取、超声波提取、微波提取相比，皂苷提取率较高。

表 4-2 绞股蓝皂苷提取试验结果  
Table 4-2 The results of the extraction experiment

试验号	皂苷提取率/%	提取率均值/%	方差	标准差	相对标准偏差(RSD/%)
1	8.01				
2	8.32				
3	7.92	8.06	0.0250	0.1581	1.9621
4	7.97				
5	8.22				
6	7.89				

#### 4.9.4 茶多酚的提取试验

试验参数为：液固比：25:1，提取温度 60℃，提取时间 50min；超声波参数：频率为 28KHz，功率为 1200W，整个提取过程一直使用超声波处理（作用时间为 50min）；微波参数：频率为 2450MHz，功率为 850W，提取初期使用微波处理（作用时间为 14 min）。结果见表 4-3。

表 4-3 茶多酚提取试验结果  
Table 4-3 The results of the extraction experiment

试验号	茶多酚提取率/%	提取率均值/%	方差	标准差	相对标准偏差(RSD/%)
1	9.53				
2	10.16				
3	9.83	9.89	0.0573	0.2394	2.4189
4	9.94				
5	10.20				
6	9.71				

由表 4-3 可知，茶多酚平均提取率为 9.89%，相对标准偏差 (RSD) 为 2.4189%。即提取结果稳定性较好，与水浴提取、超声波提取、微波提取相比，茶多酚提取率较高。

#### 4.10 本章小结

超声-微波协同逆流提取机组是在尽量满足工业化生产的需求和通过大量的基础工艺试验而研制的，其工艺参数的设计均是参考提取试验中所优化的最佳工艺参数范围，同时也结合了实际情况和其它综合因素，具有广泛的实用性。

超声-微波协同逆流提取机组的超声波参数为：频率为 28KHz，功率为 1200W；微波参数为频率为 2450MHz，功率为 850W。该设备提取绞股蓝皂苷的提取参数为：

液固比 30:1，提取温度 60℃，提取时间 60min，其中超声波在整个提取过程中一直处理（处理时间 60min），微波在提取前期处理 18 min；提取结果：绞股蓝皂苷平均提取率为 8.06%，相对标准偏差（RSD）为 1.9621%。提取茶多酚的提取参数为：液固比 25:1，提取温度 60℃，提取时间 50min，其中超声波在整个提取过程中一直处理（处理时间 50min），微波在提取前期处理 14 min；提取结果：茶多酚平均提取率为 9.89%，相对标准偏差（RSD）为 2.4289%。

通过绞股蓝皂苷和茶多酚提取试验所得结果的分析可知，采用超声-微波协同逆流提取机组进行天然产物有效成分的提取，其提取率明显高水浴提取、超声波提取和微波提取，并且试验所用原料较大，接近产品中试，适合工业化生产发展的方向。

## 5 讨论

### 5.1 超声-微波协同逆流提取机组的评价

本研究所设计的超声-微波提取协同逆流提取机组中，超声波频率为 28KHz，超声波功率为 1200W，微波频率为 2450MHz，微波功率为 850W（由于选用的为工业微波，其效率可能较差，选用比优化的 750W 略大）。由于在利用超声波与微波进行提取时，超声波与微波的频率和功率是至关重要的。本机组确定的超声波与微波的频率和功率仅参照绞股蓝皂苷和茶多酚的提取试验中优化选择的参数，对于其他天然产物有效成分的提取是否有效还有待进一步研究。同时由于受试验条件的限制，对超声波频率和功率、微波功率的考察范围过窄，以及波的功率因数的大小等也都需要做进一步的考察和研究。

当然，对该设备的使用和机构优化还需要一个逐步了解和掌握的过程，提取工艺只是参照前面单一的超声波和微波提取绞股蓝皂苷和茶多酚试验的优化结果，按更接近工业化的参数单向选取，具有一定的片面性，同时该机组的工作原理与单一的超声波或微波用于提取也有较大差异，因此要通过对不同物料的研究，设计试验型的超声-微波协同逆流提取机，来进一步探索对该提取设备的改进和提取工艺条件的优化。尤其在实际生产中，为了提高效益、降低成本，还应权衡能耗、成本等多方面因素。

### 5.2 超声波与微波用于提取中需要继续的工作

天然产物有效成分的提取技术近几年发展迅速，不断融入新的技术，超声与微波共同强化天然产物提取的应用正是在此背景下逐渐得到了发展。但目前，这方面的研究还只是停留在试验阶段，要加强超声与微波协同进行天然产物提取的研究，笔者认为还需做很多工作。

#### （1）机理的深化研究

目前，虽然国内外广大学者对超声波与微波的提取机理做了一定说明，但是由于提取过程是一种多效应共同作用的结果，加上不同天然产物成分的活性与性质的异同，还有很多的工作要做进一步完善。

#### （2）基础实验研究

通过大量文献发现，目前这方面的基础试验是量少面窄。要想在该领域有所进展以及突破，应针对不同天然有效成分的自身性质，进行大量而广泛的基础试验。

#### （3）对药理和药效的影响研究

超声与微波的辐射，对天然产物药效成分可能有一定的影响。加强超声波与微波对天然产物有效成分的药理作用和药物疗效的影响的研究，也有助于对试验参数的选择与控制。

#### (4) 强化过程的研究

在提取过程中，有许多未知因素对提取有一定影响，加上提取机理的不成熟，势必阻碍试验达到预期结果。试验研究过程中，应该针对提取的机理和超声波与微波的自身性质，以及外部环境，来完善影响提取的诸多因素，提高提取的严密性。

#### (5) 设备开发与研究

目前，试验设备多数只是经过简单改造，甚至有些试验设备在安全与经济要求方面，还未达到要求。应该通过对原有设备的合理改造和新设备的研制两种方式，依据超声波与微波所固有的性质，开发出安全可靠，低成本，高效能的提取设备。

### 5.3 超声-微波协同酶法提取的探讨

本文探索性的研究了超声-微波协同酶法提取 (Ultrasonic-Microwave Synergizing Enzyme Extraction)，首次将超声波技术、微波技术与酶技术融合于一个提取工艺来协同绞股蓝皂苷的提取，进行新的提取工艺的探索，这也是超声波与微波协同使用于天然产物有效成分提取的又一研究方向。本论文以绞股蓝为原料，通过结合超声、微波和酶各自在提取中的优势，探索性的研究超声-微波协同酶法进行绞股蓝皂苷的提取，并优化其提取工艺。由于这只是一次探索性试验，其结果只能作为一种试验研究的参照，要想用于工业化生产，还有待更深入的研究。

超声-微波协同酶法提取可以结合超声、微波和酶各自在提取中的优势。利用果胶酶酶解反应，除去细胞壁中的果胶物质，从而有效地破除细胞壁，以便皂苷的溶出。用超声波强化果胶酶提取，除利用超声波提取的特殊机理在酶解反应阶段迅速破壁和部分成分提取外，通过空化、振荡等作用，使酶分子构象及催化部位微环境发生变化，从而影响酶的催化活力，加速破坏细胞结构<sup>[126]</sup>。利用微波进行后处理，除利用微波辐射在灭酶阶段快速升温起到快速灭酶的作用外，还可利用微波进一步的高效快速提取。因此，该提取方法原则上能提高提取率。但是关于酶在一定条件下是否对有效成分具有降解作用是一个必须考虑的问题。由于时间有限，该实验没有对这个方面进行深入的研究。

超声-微波协同酶法提取只是很多正在探索中的新方法中的一种。虽然提取工艺不成熟，只是一个探索性的研究，其提取机理和提取工艺还有待进一步研究，但它已经显示出了节能省时、经济高效的特点，具有继续研究开发的潜力和价值。本实验室希望能从更多同行中寻求更多的协助和合作，在后期的工作中作更深入的研究，同时能够开发出更多的新的提取方法和提取设备，为天然产物的深加工和产品的开发提供理论基础和工艺参考。

## 6 结论

本文以茶叶和绞股蓝为原料，分别进行了水浴法提取、超声波辅助提取、微波辅助提取试验，优化了提取工艺参数，同时确定了较佳的超声波与微波参数，再结合超声波、微波和动态逆流提取的原理，在试验室已有的逆流提取设备上加载了超声波与微波发生装置，研制了超声-微波协同逆流提取机组。

1. 超声-微波协同逆流提取机组中，用于提取的超声波参数为：频率 28KHz、功率 1200W×4；微波参数为：频率为 2450MHz、功率为 850W×6；生产率能达到 10kg/h。可适用于多种天然产物有效成分的提取。

2. 超声-微波协同逆流提取机组的验证试验结果：

绞股蓝皂苷的较优提取工艺参数为：液固比 30:1、提取温度 60℃、提取时间 60min、提取过程中一直使用超声波处理（60min）、在提取初期使用微波处理 18 min；在这一条件下绞股蓝皂苷的提取率为 8.06%，相对标准偏差（RSD）为 1.9621%。

提取茶叶中茶多酚的较优提取工艺参数为：液固比 25:1、提取温度 60℃、提取时间 50min、提取过程中一直使用超声波处理（50min），在提取初期使用微波处理 14 min；在这一条件下茶多酚的提取率为 9.89%，相对标准偏差（RSD）为 2.4189%。

与水浴法提取、超声波辅助提取、微波辅助提取比较，超声-微波协同逆流提取绞股蓝皂苷和茶多酚的提取率均有一定提高、提取稳定性也相对较好。同时，超声波和微波用于绞股蓝皂苷的提取中能有效的降低液固比、节省时间、降低温度，有利于工业化生产。

3. 超声-微波协同逆流提取机组的具有以下优点：

通过纯物理方法，进行机械强制循环，使物料与溶剂作相对运动，物料与溶剂始终保持较高的浓度差，物料中有效成分很容易溶入溶媒中，可降低溶剂用量，提高有效成分提取率；

以超声波与微波为强化手段，对物料进行纯物理的强化处理，使细胞疏松甚至破碎，其中的有效成分快速溶入溶媒，缩短了提取时间，同时可采用较低的提取温度，降低高温对热敏成分影响的同时，可以减少能源消耗；

采用长槽式机体，可进行连续进料和出渣，生产连续性好，同时投料量大，这样可提高生产效率，更适合工业化生产的发展方向。

## 参考文献

- [1] 谭天伟.天然产物分离新技术[J].化工进展,2003,22(7):665~668.
- [2] 楼国庭,许关煜.用好资源·开发新药[J].上海医药,2002,23(3):117~118.
- [3] 易克传,岳鹏翔等.新型天然产物有效成分提取设备的设计和开发[J].轻工机械,2006,24(2):138~140.
- [4] 李津,俞詠霆等.生物制药设备和分离纯化技术[M].北京:化学工业出版社,2003,418~426.
- [5] 李广学.超声波在化工过程中的应用[J].化学反应工程与工艺,1991,7(4):415~416.
- [6] 严伟,李淑芬等.超声波协助提取技术[J].化工进展,2002,21(9):649~651.
- [7] E.Haeggstrom, M.Luukkala. Ultrasound detection and identification of foreign bodies in food products. Food Control[J]. 1997(1):1~6.
- [8] 张永林,杜先锋.超声波及其在粮食食品工业中的应用[J].西部粮油科技,1999,24(2):14~16.
- [9] Timothy, J.Mason.Practical Sonochemistry[M]. England: Ellis Horwood Limited, 1991, 16-22.
- [10] J.V.Sinisterra. Physical effects of ultrasound and their applications [J]. Ultrasonics Sonochemistry, 1992, 30(5):180~185.
- [11] 曹晖,严卓晟.超声波技术及设备在中药提取中的应用进展[A].中国医药生物技术协会,第二届中药提取技术(国际)研讨会论文集[C].中国西安,2005:180~187.
- [12] 杨景峰,罗志刚等.物理波在真菌多糖提取中的应用[J].粮油食品科技,2007,15(5):56~58.
- [13] Mason T J. Sonochemistry: the Use of Ultrasound in Chemistry [M]. Cambridge: Royal Society Chemistry, 1990.
- [14] Mason T J. Practical sonochemistry[M]. Ellis Horwood Ltd, 1991.
- [15] 杨雪飞,祁欣.超声波功率萃取系统电路设计[J].电子测量技术,2006,29(2):145~146.
- [16] 徐小丽,曹雁平.超声技术在食品工业中的研究进展.食品科技专题论述,2006,(7):1~4.
- [17] Ganzler K, Salgo A and Valko K.Microwave extraction: A novel sample preparation method for chromatography [J].J.Chromatogr, 1986, 371(26):299~306.
- [18] Ganzler K, Szinai I and Salgo A.Effective sample preparation method for extracting biologically active compounds from different matrices by a microwave technique.Journal of Chromatography, 1990, 520: 257~262.
- [19] Chen K, Wong M K, Lee H K.Optimization of microwave- assisted solvent extraction of polycyclic aromatic hydrocarbons in marine sediments using a microwave extraction system with high-performance liquid chromatography fluorescence detection and gas chromatography-mass spectrometry.Journal of Chromatography, 1996, 723: 259~271.
- [20] Chen S S.Kinetics of microwave extraction of rosemary leaves in hexane, ethanol and a

- hexane-ethanol mixture. *FlavourFragranceJnl*, 1999, 10: 101~112.
- [21] Spiro M. Kinetics of isothermal and microwave extraction of essential oil constituents of peppermint leaves into several solvent systems. *FlavourFragranceJnl*, 1995, 10: 259~272.
- [22] Young J C. Microwave-assisted extraction of the fungal metabolite ergosterol and total fatty acids. *Journal of Agriculture and Chemistry*. 1995, 43: 2904~2910.
- [23] 贾贵儒, 杨海燕. 从细胞中萃取特定物质机理的研究[J]. *农业工程学报*, 1998, 14 (2): 68~72.
- [24] Vioria L, Yang R. Microwave-assisted extraction of organic compounds from standard reference soils and sediments[J]. *Anal Chem*, 1994, 66: 1097~1106.
- [25] Rodriguez L, et al. Speciation of organic compounds in marine biomaterials after basic leaching in a non-focused microwave extractor equipped with pressurized vessel[J]. *J Chromatogr*, 1997, 774: 379~387.
- [26] Pare J R. Microwave extraction of volatile oils[P]. US: 5338557. 1993-03-10.
- [27] 刘志伟, 文南等. 微波萃取在食品化学中的应用[J]. *武汉工业学院学报*, 2002, 18(4): 18.
- [28] 刘钟栋. 微波技术在食品工业中的应用[M]. 北京: 中国轻工业出版社, 1998.
- [29] 郭振库. 微波制样技术和微波制样设备综述[J]. *现代仪器综述与专论*, 2004, (40): 6~10.
- [30] Magnus Ericsson. Development Of Dynamic Microwave and Sonication-Assisted Extraction Techniques Coupled On-Line to Gas Chromatography[D]. Sweden: Stockholm University. 2003.
- [31] Pare J R J. Microwave-assisted natural products extraction. U. S. Pat. 1991. No. 5002784.
- [32] Baghurst D R, Mingos D M P. *Br. Geram. Trans. J.* 1992, 91: 124.
- [33] Eskilsson C S, et al. Analytical-scale microwave-assisted extraction[J]. *J Chromatogr A*, 2000, 902: 227~250.
- [34] 韩丽. 实用中药制剂新技术[M]. 北京工业出版社, 2002: 148.
- [35] 王绍林. 微波食品工程[M]. 北京: 机械工业出版社, 1994.
- [36] 胡冠九, 徐明华. 微波萃取在环境有机样品分析中的应用[J]. *江苏环境科技*, 1997, (1): 31~33, 36.
- [37] 王志祥, 李红娟等. 微波萃取技术及其在中药有效成分提取中的应用[J]. *时珍国医国药*. 2007, 18 (5): 1245~1247.
- [38] 杨西岳. 物理场强化萃取-微波协助萃取技术[J]. *天然产物分离*, 2004, 2 (3): 18~21.
- [39] 胡英. 近代化工热力学[M]. 上海科技文献出版社, 1994.
- [40] Andrew T Philos. *Trans[J]*. 1869, 159: 575~590.
- [41] Hanny J B, Hogarth J. On the solubility of solids in gases [J]. *Proc Roy Soc (London)*, 1879, 29: 234~246.
- [42] Schneider G M, Stahl E, Wilke G. *Extraction with Supercritical Gases*. Verlag Chemie, Deerfield, Fla, 1980.
- [43] 朱自强. 超临界流体技术—原理和应用[M]. 北京: 化学工业出版社, 2000.
- [44] 片冈义彦. *クワイニカル*. 13 (3): 3. 1984 .
- [45] 何月娥. 超临界流体提取技术在食品工业中的应用现状及展望[J]. *包装与食品机械*, 1994,



12 (1): 26~30

- [46] M Zougagh, M Valcárcel, A Ríos. Supercritical fluid extraction: a critical review of its analytical usefulness, *Trends in Analytical Chemistry*, 2004, 23 (5): 1~7.
- [47] 王建鸣. 超临界萃取技术的新进展[J]. 高等函授学报(自然科学版), 2006, 20 (1): 56~58, 64.
- [48] 阎中林, 王萍. CO<sub>2</sub>超临界流体萃取技术及在林业产业的应用[J]. 辽宁林业科技, 2006, (6): 39~41.
- [49] C Domínguez, E Jover, J M Bayona, et al. Effect of the carbon dioxide modifier on the lipid composition of wool wax extracted from raw wool, *Analytica Chimica Acta*, 2003, 477: 233~242.
- [50] C Goncalves, J J Carvalho, M A Azenha, et al. Optimization of supercritical fluid extraction of pesticide residues in soil by means of central composite design and analysis by gas chromatography-tandem mass spectrometry, *Journal of Chromatography A*, 2006, 1110: 6~14.
- [51] 韩斌, 张林丰. 现代生物化工中酶工程技术研究与应用[J]. 北京农业—畜牧·兽医, 2008, (11): 37~39.
- [52] 姜彬慧, 胡筱敏等. 酶技术与中药现代化[J]. 世界科学技术—中医药现代化, 2004, 6 (2): 46~49.
- [53] 钱铭镛. 酶工程基础与酶应用实例[M]. 江苏科学技术出版社, 1989: 137.
- [54] 李雄彪, 吴奇. 植物细胞壁[M]. 北京: 北京大学出版社, 1993: 67.
- [55] 余洪波, 张晓昱. 酶法在中药提取中的研究进展[J]. 中成药, 2005, 27 (5): 591.
- [56] 汤海鸥, 程茂基. 复合酶法提取松针粉挥发油的研究[J]. 江西饲料, 2005, (5): 9~11.
- [57] 邱斌, 陈卫平等. 浸提法与添加果胶酶提取栀子黄色素的比较[J]. 食品工业, 2008, (1): 29~31.
- [58] 陈栋, 周永传. 酶法在中药提取中的应用和进展[J]. 中国中药杂志, 2007, 32 (1): 99~101.
- [59] 肖麟, 万会师. 酶在植物有效成分提取中的应用[J]. 安徽农业科学, 2006, 34 (8): 1551~1552.
- [60] 周林, 蔡妙颜等. 大孔吸附树脂应用的研究进展[J]. 昆明理工大学学报(理工版), 2003, 28 (6): 99~102.
- [61] 马盼香, 金华等. 大孔吸附树脂在天然药物有效成分提取分离中的应用进展[J]. 中国现代药物应用, 2008, 2 (6): 101~102.
- [62] 冯孝庭. 吸附分离技术[M]. 北京: 化学工业出版社, 2000, 3-13; 23~28.
- [63] 刘瑞源, 钟平等. 大孔吸附树脂提取中草药有效成分的研究进展[J]. 时珍国医国药, 2004(6).
- [64] 黎海彬, 李小梅. 大孔吸附树脂及其在天然产物研究中的应用[J]. 广东化工, 2005, (3): 22~25.
- [65] 刘鄂湖, 鄢丹等. 大孔吸附树脂技术在中药中应用现存问题分析与探讨[J]. 中草药, 2007, 38 (5): 附3~5.
- [66] Ferry DJ. *Chem Rev*, 1936, 18: 377.
- [67] TALESHI MATSUURA. *Progress in Membrane Science and Technology for Seawater*

- Desalination-a Review[J]. Desalination, 2001, 134: 47~54.
- [68] Johnson SJ. Chem Engineer, 1986, 93 (16): 121.
- [69] 孙福强, 崔英德等. 膜分离技术及其应用研究进展[J]. 化工科技, 2002, 10 (4): 58~63.
- [70] Cot L. Proceeding of the third international conference on inorganic membrane[M]. Worcester, USA, 1994, 157.
- [71] 高从楷. 膜技术与相关海洋产业[J]. 海洋通报, 1997, 16 (4): 44~51.
- [72] 高福成. 现代食品工程高新技术[M]. 北京: 中国轻工业出版社, 1997: 346~377.
- [73] 岳志新, 马东祝等. 膜分离技术的应用及发展趋势[J]. 云南地理环境研究, 2006, 18 (5): 52~57.
- [74] Mc Gregor WC. Membrane separations in biotechnology[M]. New York: Marcel Dekker Inc.1986.
- [75] A E Yaroshchuk, Y A Vovkogon. Characterization of Adsorptive Fouling on Ultrafiltration Membranes by Peptides Mixtures Using Contact Angle Measurements. J. Membr.Sci.,1994, 86: 1~18.
- [76] Le Gouellec, Yann A. Elimelech, Calcium Sulfate (gyp-sum) Scaling in Nanofiltration of Agricultural Drainage Water. J. Membr. Sci., 2002, 205: 113~126.
- [77] 郑领英. 膜分离与分离膜[J]. 高分子通报, 1999 (3): 134~137, 144.
- [78] 张英莉, 胡耀辉等. 膜分离技术及其在乳品工业中的应用[J]. 吉林农业大学学报 2000, 22 (2): 108~111.
- [79] 曹学君, 刘叶青. 膜分离技术在医药工业中的应用[J]. 外医药抗生素分册, 2000, 21 (5): 212~214.
- [80] 邵超, 朱若华等. 分离科学的前沿—膜分离技术[J]. 化学教育, 2000 (12): 3~5, 29.
- [81] 程淑英, 龚莉莉. 膜分离技术应用现状与展望[J]. 化工技术经济, 1999, 17 (2): 15~18.
- [82] 李希, 谢守德等. 动态逆流提取技术在中药提取中的应用[J]. 实用中医药杂志, 2008, 24 (12): 806~808.
- [83] 张兆旺. 中药药剂学[M]. 北京: 中国中医药出版社, 2003, 97.
- [84] 王生瑶. 连续逆流提取工艺的设备及其应用[J]. 应用能源技术, 2007, (2): 18~20.
- [85] 沈善明. 论中药单罐分批和多级逆流连续浸出[J]. 医药工业设计, 2001, 22(5): 6~9.
- [86] 易克传. 绞股蓝皂苷提取工艺的研究及设备开发: [硕士学位论文]. 合肥: 安徽农业大学, 2006.
- [87] 易克传, 岳鹏翔等. 动态逆流提取设备在天然产物提取中的应用[J]. 包装与食品机械, 2005, 23 (4): 25~28.
- [88] 王颖玉, 潘立. 动态连续阶段逆流提取工艺分析与研究[J]. 浙江工业大学学报, 2007, 35 (1): 105~108.
- [89] 杨义芳. 中药有效成分提取分离新技术的研究进展[J]. 亚太传统医药, 2008, 4 (7): 29~34.
- [90] 赵小亮, 白红进等. 超声-微波协同萃取法提取杜梨果实多糖[J]. 时珍国医国药, 2007, 18 (9) : 2151~2152.
- [91] 汪河滨, 白红进等. 超声-微波协同萃取法提取黑果枸杞多糖的研究[J]. 西北农业学报,

- 2007, 16 (1) : 157~158, 175.
- [92] 王志高, 鄢贵龙等. 超声-微波协同萃取枇杷叶多糖的工艺研究[J]. 食品工业科技, 2008, 29 (8) : 207~209.
- [93] 罗锋, 汪河滨等. 超声-微波协同萃取法提取甘草黄酮的研究[J]. 食品研究与开发, 2006, 27 (8) : 127~128.
- [94] 唐仕荣. 微波-超声波协同萃取银杏黄酮的工艺研究[J]. 云南化工, 2007, 34 (3) :13~16.
- [95] 李莹,周剑忠等. 超声波和微波联合提取银杏叶黄酮的研究[J].食品科技, 2008,(6): 153~155.
- [96] 杨会成, 曾名勇等. 超声波、微波复合提取海带多酚的工艺研究[J]. 食品与发酵工业, 2007, 33 (11) : 132~135.
- [97] 马利华, 秦卫东等. 超声波-微波协同提取牛蒡中类胡萝卜素[J]. 食品研究与开发, 2007, 28 (1) : 81~85.
- [98] 徐竞. 柿子红色素的微波-超声波法协同提取及其理化性质的研究[J]. 中国食品添加剂, 2008, (3) : 82~86.
- [99] 凌敏, 翟婷等. 超声波微波辅助萃取法提取迷迭香酸的工艺研究[J]. 食品工业科技, 2008, 29 (4) : 194~195, 198.
- [100] 蔡友华, 范文霞等. 超声-微波协同萃取巴西虫草菌丝体中甘露醇的研究[J]. 江西农业大学学报, 2008, 30 (2) : 348~353.
- [101] 潘峰, 刘迪等. 绞股蓝皂甙的药理学临床研究[J]. 现代中西医结合杂志, 2006, 15 (5): 674~676 .
- [102] 谭华炳, 赵世印等. 绞股蓝的基础研究与组方应用研究概况[J]. 医学理论与实践, 2005, 18 (5): 532~535.
- [103] 陈震. 绞股蓝在北京地区的引种栽培研究[J]. 中国中药杂志, 1991, 16 (4): 208.
- [104] 齐刚, 张莉. 绞股蓝的药理作用研究进展[J]. 武警医学院学报, 2003, 12 (3): 239~241.
- [105] 陈武, 伍晓春等. 绞股蓝总皂苷提取工艺的研究[J]. 食品与机械, 2008, 24 (1): 75~77.
- [106] 李俊锋, 李文军. 绞股蓝药理作用的研究进展[J]. 河北中医药学报, 1999,14(2): 37~42.
- [107] 罗巅辉, 王昭晶. 绞股蓝多糖的研究进展[J]. 生物技术通讯, 2005, 16 (6): 703~704.
- [108] 李仪儒, 李立娜. 绞股蓝的综合研究[J]. 天津药学, 1998, 10 (3): 8~10.
- [109] 潘定举. 绞股蓝处方制剂的药理与临床研究[J]. 中草药, 1999, 30 (11): 876~879.
- [110] 郭素枝, 张国军等. 绞股蓝保健成分浸提条件研究[J]. 中国食品学报, 2005, 5(4):96~100.
- [111] 林硕, 高学玲, 岳鹏翔. 罗汉果有效成分提取的研究进展[J]. 中国食品添加剂, 2007, (4): 77~80.
- [112] 陈艳莉. 超声法提取绞股蓝皂甙[J]. 现代应用药学, 1994, 11 (6): 11.
- [113] 宋小妹, 崔九成等. 超声波提取绞股蓝总皂苷的工艺研究[J]. 中成药, 1998,20(5): 4~5.
- [114] 张慧丽, 宋有涛等. 超声提取绞股蓝总皂苷及抗氧化作用的研究[J]. 辽宁大学学报, 2006, 33 (4): 346~348.
- [115] 方道.绞股蓝总皂苷的提纯及含量测定[J]. 安徽医药, 1998, 2 (3): 35.
- [116] 苏东林, 单杨等. 酶法辅助提取柑桔皮总黄酮的工艺优化研究[J]. 农业工程学报, 2008.24

(4): 240~245.

- [117] 宋建红, 汪建华. 用微波萃取法提取茶叶中茶多酚的工艺研究[J]. 辽宁'石油化工大学学报, 2006, 26 (4): 121~125.
- [118] 赵大洲, 石蓓梅等. 茶多酚水提与醇提的比较研究[J]. 食品研究与开发, 2007, 28 (8): 69~71.
- [119] 熊卫东. 天然食品抗氧化剂茶多酚的提取及应用研究[J]. 食品工业科技, 2003, 24 (7): 42~44.
- [120] 陈铃容. 茶多酚的结构特性及开发前景[J]. 茶叶科学技术, 2005, (2): 21.
- [121] 李咏梅, 王学松, 于艳春. 茶叶中茶多酚的提取方法研究[J]. 广州化学, 2003, 28 (1): 59~63.
- [122] 刘伟, 蒲晓林, 谢彬强. 茶多酚制取工艺研究进展[J]. 化工时刊, 2006, 20 (9): 73~77.
- [123] 尹莲. 茶多酚制备工艺的改进研究[J]. 食品科技, 1998 (6): 33~34.
- [124] 葛宜掌, 金红. 茶多酚的离子沉淀提取方法[J]. 应用化学, 1995, 12 (2) 107~109.
- [125] 汪兴平, 周志等. 微波对茶多酚浸出及其结构和组成的影响研究[J]. 农业工程学报, 2002, 18 (2): 110~114.
- [126] 唐娟, 马永强. 超声波技术在黑木耳多糖提取中的应用[J]. 食品与机械, 2005, 21 (1): 28~29.

## 致 谢

在本学位论文即将完成之际，我向曾经给予我帮助和支持的单位和人们表示最真诚、最衷心的感谢。

首先感谢我的指导老师岳鹏翔教授，他在学习和试验方面给了我大量的指导，并为我提供了良好的学习环境和平台。他严谨的治学态度、开阔的视野、敏锐的思维以及为人处世的坦荡将使我终身受益。除此之外，他对我生活的关心和照顾也使得我顺利完成研究生的学业，在此我表示深深的感谢！

感谢高学玲老师在整个硕士研究生学习和生活阶段中给予我无私的帮助和鼓励，感谢岳琳娜等同门们在整个试验过程中给予的大量帮助。

感谢山东省济宁市超声波电子仪器厂、山东济南隆泰微波设备有限公司、南京杰全微波设备有限公司、南京孝马机电设备厂、丹阳市制药设备机械厂等单位在我的论文立项、试验过程以及设备制造和调试过程中给予大量帮助。

感谢工学院的领导和老师们四年来对我的谆谆教诲和入微关怀，感谢茶与食品科技学院部分老师和同学们在我试验中提供大量方便和帮助，感谢家人长期以来默默的奉献和支持，感谢工学院全体研究生的帮助和支持。

再次感谢所有帮助和支持过我的领导、老师、亲人、同学、朋友们！正是有了你们的无言帮助和支持，才使得我的学业得以顺利完成。在此，请接受我最诚挚的谢意和祝福！

林 硕

2009年6月

## 作者简介

林硕，男，中共党员，1983年1月4日出生于安徽省金寨县，2002年考入安徽农业大学工学院机械设计制造及其自动化专业进行本科阶段的学习。2006年顺利毕业，同年考入安徽农业大学工学院攻读农业机械化工程专业农产品加工工程方向进行硕士研究生阶段学习。在学期间，先后参与联合利华中国研究所资助项目“中草药有效成分提取工艺的研究”、安徽省教育厅自然科学基金项目“绞股蓝有效成分的提取分离研究”、颇尔过滤器（北京）有限公司资助项目“绿茶过滤技术的研究”等课题。在“安徽农业大学第四届研究生学术论坛”优秀论文评选中荣获三等奖。在国家级及以上学术期刊上发表论文5篇。

## 作者攻读硕士学位期间发表学术论文

[1] 林硕，高学玲，岳鹏翔. 罗汉果有效成分提取的研究进展[J]. 中国食品添加剂，2007.

[2] 林硕，高学玲，岳琳娜，岳鹏翔. 正交法提取绞股蓝皂苷的工艺与稳定性研究[J]. 中国食品添加剂，2009.

[3] 林硕，岳琳娜，高学玲，岳鹏翔. 果胶酶提取绞股蓝皂苷的工艺研究[J]. 中国食物与营养，2009.

[4] 林硕，高学玲，岳琳娜，岳鹏翔. 超声波强化提取绞股蓝皂苷的工艺研究[J]. 食品科学，2009. .

[5] 林硕，高学玲，岳琳娜，岳鹏翔. 正交法优化微波提取茶多酚的工艺[J]. 食品研究与开发，2009.

[6] 林硕，岳鹏翔. 超声与微波共同强化提取天然产物的工艺研究与设备探索. 安徽农业大学研究生学术论坛，2008.

[7] 岳琳娜，高学玲，岳鹏翔，林硕. 二次通用旋转设计优化绞股蓝皂苷的提取工艺参数[J]. 中国食品添加剂，2009.