

# 溶剂气浮法分离富集银杏叶黄酮

刘萌, 吴兆亮, 孙江娜, 韩冰, 钱少瑜

(河北工业大学化工学院, 天津 300130)

**摘要:**以银杏叶浸取液为研究体系,对溶剂气浮法分离富集银杏叶黄酮进行了研究.考察了气浮溶剂种类、气浮溶剂与料液体积比( $V_0/V_1$ )、表面活性剂种类及浓度、溶液 pH、气浮气速和气浮时间对气浮效率的影响.结果表明,以正辛醇为气浮溶剂、正辛醇与料液体积比 1:10、表面活性剂 SDBS 浓度 100 mg/L、料液 pH 3.0、气速 100 mL/min、气浮时间 60 min 为最佳操作条件,在此条件下,黄酮类化合物的富集比与回收率分别为 5.73 和 59.76%.

**关键词:**溶剂气浮;富集比;回收率;银杏叶;黄酮

**中图分类号:** TQ028.8

**文献标识码:** A

**文章编号:** 1009-606X(2009)01-0028-05

## 1 前言

银杏是一种古老的树种,银杏叶中含有的黄酮苷和萜内酯类化合物具有极高的药用价值,黄酮类化合物已成功用于治疗心脑血管疾病,还可用于生产保健品及天然化妆品等<sup>[1,2]</sup>.国内外对于银杏叶有效成分的提取方法已有大量文献报道,如溶剂萃取法、超临界流体萃取法、高速逆流色谱技术提取法、微波提取法、超声提取法、酶提法等<sup>[2,3]</sup>.目前,工业生产中主要采用溶剂萃取法提取银杏叶黄酮<sup>[4]</sup>,但该法产率较低,因此有必要探求一种操作简单、生产成本低廉的提取银杏叶黄酮的新方法.

溶剂气浮法作为一种重要的分离富集技术<sup>[5]</sup>,在环保、冶金工业及分析化学中具有广泛的应用<sup>[6-9]</sup>.溶剂气浮过程由于不受液液平衡的限制,气浮效率较高,因此受到广泛关注<sup>[10]</sup>,近几年的研究<sup>[11-13]</sup>表明,溶剂气浮技术还可以有效应用于生物分离和中药提取领域.尽管溶剂气浮技术用于分离中药中有效成分的研究已取得很大进步,但仍存在一些不足,主要问题是研究中使用的原料液为用水稀释的中药浸取液,溶剂浮选后富集比很高,但与稀释比相比并不能得到很大提高,甚至有时会低于稀释比,这意味着经溶剂气浮后浸取液中有效成分并未实现有效富集,不利于工业化生产中采用溶剂气浮技术分离富集中药有效成分.本研究直接以自制的未经稀释的银杏叶浸取液为研究体系,采用溶剂气浮法代替单一的溶剂萃取法分离富集银杏叶黄酮,旨在为溶剂气浮法用于分离富集中药有效成分提供依据.

## 2 实验

### 2.1 试剂与仪器

试剂:干燥银杏叶片(天津敬一堂药店),无水乙醇

(天津市富宇精细化工有限公司),正辛醇、异辛醇、正戊醇、正庚醇、盐酸(天津市赢达稀贵化学试剂厂),Tween-80、十六烷基三甲基溴化铵(Cetyltrimethyl Ammonium Bromide, CTAB)、NaOH、十二烷基苯磺酸钠(Sodium Dodecyl Benzene Sulfonate, SDBS,天津市化学试剂三厂).以上试剂均为分析纯.

仪器:721型分光光度计和 pHS-25型 pH计(上海精密科学仪器有限公司),LZB型玻璃转子流量计(天津五环仪表厂制造),电磁式空气压缩机(广东海利集团有限公司),电子天平(上海精密科学仪器有限公司).

### 2.2 实验装置和方法

实验在自制的溶剂气浮塔中进行,气浮塔由玻璃制成,高 1.2 m,内径 0.035 m.实验装置和流程见图 1.

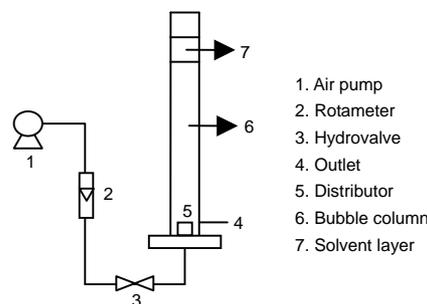


图 1 溶剂气浮装置图

Fig.1 Schematic diagram of solvent sublimation system

将配制好的 400 mL 银杏叶浸取液注入塔内,根据气浮溶剂与料液体积比向塔内加入一定量的气浮溶剂,通入气体开始计时.通过改变浸取液的 pH、调节气速和表面活性剂浓度进行实验.在不同时间从塔底取样口取样进行分析.

### 2.3 银杏叶黄酮的分析方法

根据中性条件下黄酮类化合物与三氯化铝形成黄

络合物的原理,采用紫外-可见分光光度法在波长 420 nm 处测定其吸光度,从而确定银杏叶黄酮的含量. 拟合得到标准曲线为

$$X=0.0899Y-0.001591, R=0.9992,$$

其中,  $X$  为黄酮浓度(g/L),  $Y$  为吸光度.

## 2.4 气浮效率评价参数

实验采用富集比和回收率来评价溶剂气浮分离富集银杏叶黄酮的气浮效率:

$$\text{回收率} \quad R=(C_i-C_f)/C_i \times 100\%. \quad (1)$$

$$\text{富集比} \quad E=(C_iV_i-C_fV_s)/(C_iV_s). \quad (2)$$

式中,  $C_i$  为初始料液浓度(g/L),  $C_f$  为实验后料液浓度(g/L),  $V_i$  为料液体积(L),  $V_s$  为气浮溶剂体积(L).

## 3 结果和讨论

### 3.1 气浮溶剂

取 400 mL 银杏叶浸取液,固定料液 pH 为 3.0、表面活性剂 SDBS 浓度 100 mg/L、气速 100 mL/min、气浮时间 60 min、气浮溶剂与料液体积比 1:10, 分别以 40 mL 正戊醇、正辛醇、异辛醇、正庚醇为气浮溶剂进行实验,富集比和回收率如表 1 所示.

表 1 气浮溶剂对富集比和回收率的影响

Table 1 Effect of sublation solvent on  $E$  and  $R$

Sublation solvent	Enrichment ratio, $E$	Recovery rate, $R$ (%)
Pentanol	4.61	46.76
Octanol	5.79	58.45
Isooctanol	5.24	52.98
Heptanol	3.65	36.23

溶剂气浮要求使用的气浮溶剂密度比水小、不与水互溶. 根据相似相溶原理,气浮溶剂碳链越长,溶解效果越好. 采用体积比 2:1 的正丁醇和甲苯的混合液为气浮溶剂分离富集黄酮苷时效果较好<sup>[12]</sup>,但正丁醇易溶于水,甲苯为国家限制购买的化学试剂,不宜在工业生产中推广使用. 本研究体系中,银杏叶的有效成分主要是黄酮类化合物,根据上述浮选要求,选取了正戊醇、正庚醇、正辛醇、异辛醇等 4 种常用的有机溶剂,其中以正辛醇的效果最好,故后续实验均选用正辛醇作为气浮溶剂.

### 3.2 气浮溶剂与料液体积比

取 400 mL 银杏叶浸取液,固定料液 pH 为 3.0、表面活性剂 SDBS 浓度 100 mg/L、气速 100 mL/min、气浮时间 60 min,按气浮溶剂与料液体积比 1:20, 2:20, 3:20 和 4:20, 分别加入 20, 40, 60, 80 mL 正辛醇进行实验. 气浮溶剂与料液体积比( $V_s/V_i$ )对富集比与回收率的影响如图 2 所示.

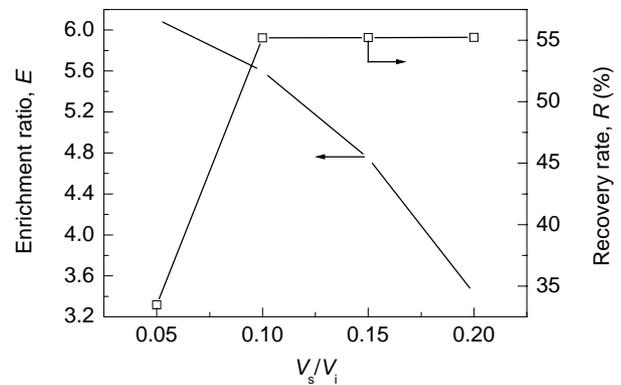


图 2 气浮溶剂与料液体积比对富集比与回收率的影响

Fig.2 Effect of  $V_s/V_i$  on  $E$  and  $R$

实验结果表明,当  $V_s/V_i < 1:10$  时,回收率随体积比增大而上升;体积比继续增大,回收率增加缓慢. 这可能是因为溶剂气浮不受萃取平衡常数的影响,只与气浮溶剂的性质及用量有关.  $V_s/V_i < 1:10$  时,有机相吸收达到饱和,由于料液体积固定,随着有机相体积的增大,能吸收的物质增加,故回收率上升;当  $V_s/V_i > 1:10$  后,回收率变化趋于平缓,但由于有机相体积的增大,导致富集比降低. 综合考虑对富集比与回收率的影响,确定气浮溶剂与料液的体积比为 1:10,即 400 mL 料液中加入 40 mL 正辛醇.

### 3.3 表面活性剂

取 400 mL 银杏叶浸取液,固定料液 pH 为 3.0、表面活性剂浓度 100 mg/L、气速 100 mL/min、正辛醇与料液体积比 1:10、气浮时间 60 min,分别在料液中加入 40 mg CTAB, Tween-80 和 SDBS 进行实验. 表面活性剂对富集比与回收率的影响如表 2 所示.

表 2 表面活性剂对富集比与回收率的影响

Table 2 Effect of surfactant on  $E$  and  $R$

Surfactant	Enrichment ratio, $E$	Recovery rate, $R$ (%)
SDBS	5.73	59.76
CTAB	3.59	37.88
Tween-80	4.38	45.84
-	4.81	50.19

实验过程中,以 SDBS 和 Tween-80 为表面活性剂时,有机相和泡沫层均较稳定;使用 CTAB 时,有机相在实验后半阶段会出现混浊现象. 与不添加表面活性剂的气浮效果相比,添加 SDBS 使富集比与回收率均有所增加, Tween-80 的作用不是很明显,而加入 CTAB 导致回收率和富集比大幅下降. 原因可能是 Tween-80 为非离子表面活性剂,产生的泡沫持液量较小,导致可吸收的目标产物量较低,从而影响气浮效率;CTAB 虽然起泡效果较好,但因可溶于正辛醇,并在一定条件下能与正辛醇形成反胶团,会改变有机相的性质,从而使气浮效率大幅降低;SDBS 起泡性能较 Tween-80 好,能产

生稳定的泡沫层,且不溶于正辛醇,因此不会产生上述负面影响.另外,可能由于其结构中含有苯环,可与黄酮分子中的苯环相互作用,更易吸附在气泡表面,从而被气泡携带进入有机相.但 SDBS 和黄酮类化合物之间不会形成化学键,当 SDBS 携带目标产物上升至有机相界面后,目标产物即被有机溶剂截留,而 SDBS 重新回到料液相,可持续维持泡沫稳定性,有利于提高气浮效率.所以,实验选用 SDBS 作表面活性剂.

### 3.4 表面活性剂浓度

取 400 mL 银杏叶浸取液,固定料液 pH 为 3.0、气速 100 mL/min、正辛醇与料液体积比 1:10、气浮时间 60 min,改变 SDBS 浓度,其对富集比与回收率的影响如图 3 所示.

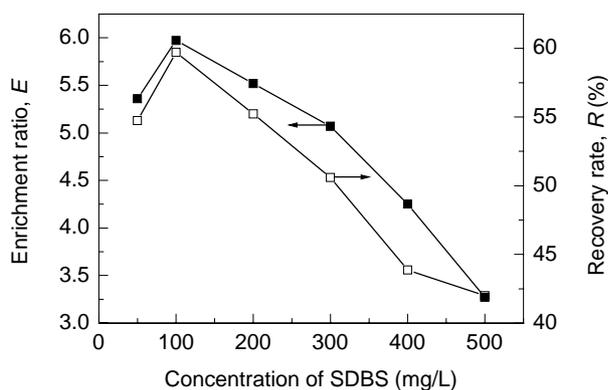


图 3 表面活性剂浓度对富集比与回收率的影响  
Fig.3 Effect of concentration of surfactant on  $E$  and  $R$

实验结果表明,表面活性剂 SDBS 浓度为 100 mg/L 时,富集比与回收率均达到最大;继续增大 SDBS 浓度,气浮效率大幅度降低.这可能是因为 SDBS 浓度低于 100 mg/L 时,随浓度增加,溶液表面张力降低,泡沫稳定性提高,表面吸附量随之增加;但当达到其临界胶束浓度(CMC)后,溶液中会形成胶束,使液相主体与有机相界面张力显著降低,造成反向传质,表现为有机溶剂出现返混现象,从而影响气浮效率.因此确定表面活性剂浓度为 100 mg/L.

### 3.5 pH

取 400 mL 银杏叶浸取液,固定 SDBS 浓度 100 mg/L、气速 100 mL/min、正辛醇与料液体积比 1:10、气浮时间 60 min, pH 对富集比与回收率的影响见图 4.

实验结果表明,富集比与回收率在料液 pH 为 3.0 时达到最大值.这可能是因为黄酮类化合物结构中含有酚羟基,呈弱酸性,更易溶于碱性环境.当料液呈酸性时,目标产物自身不发生电离,亲气疏水性增强,有利于吸附于气泡表面,提高气浮效率. pH 过低(<3.0)时,由于  $H^+$  浓度过高,生成的伴盐会使黄酮中的活性成分

被破坏而丧失生物活性<sup>[14]</sup>.故本实验料液 pH 为 3.0 时效果最好.

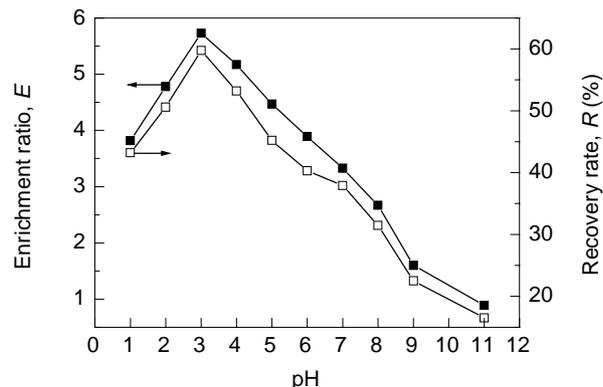


图 4 pH 对富集比与回收率的影响  
Fig.4 Effect of pH on  $E$  and  $R$

### 3.6 气浮气速

取 400 mL 银杏叶浸取液,固定料液 pH 为 3.0、SDBS 浓度 100 mg/L、正辛醇与料液体积比 1:10、气浮时间 60 min,气速对气浮效率的影响如图 5 所示.图 5 表明,富集比与回收率在气速低于 100 mL/min 时,随气速的增加显著提高,继续增大气速,富集比与回收率增加缓慢.气速较低时,气泡在料液中有较长的停留时间,使气液界面的吸附传质得以充分进行;另外,随着气速增大,单位时间内产生的气泡数量增加,使气液接触面积增大,有利于目标产物气液界面上的吸附.但当气速超过 100 mL/min 时,目标产物在气液界面的吸附传质受到影响,同时,随气速的增加,产生的气泡大小变得不均匀,气泡之间发生聚并,且伴有破裂现象,降低了气液接触面积,不利于目标产物吸附在气液界面上.当气速达 200 mL/min 时,气浮塔内液体呈沸腾状态,有机相返混极为严重.因此实验确定气速为 100 mL/min,此时,有机相在气浮过程中较稳定,富集比和回收率也较高.

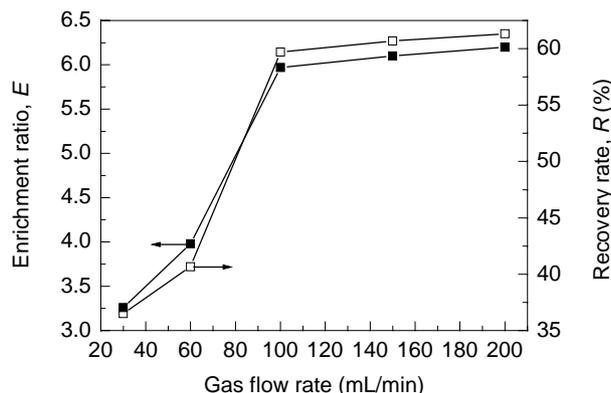


图 5 气速对气浮效率的影响  
Fig.5 Effect of gas flow rate on  $E$  and  $R$

### 3.7 气浮时间

取 400 mL 银杏叶浸取液, 固定料液 pH 为 3.0、SDBS 浓度 100 mg/L、风速 100 mL/min、加入正辛醇与料液体积比 1:10, 气浮时间对富集比和回收率的影响如图 6 所示。

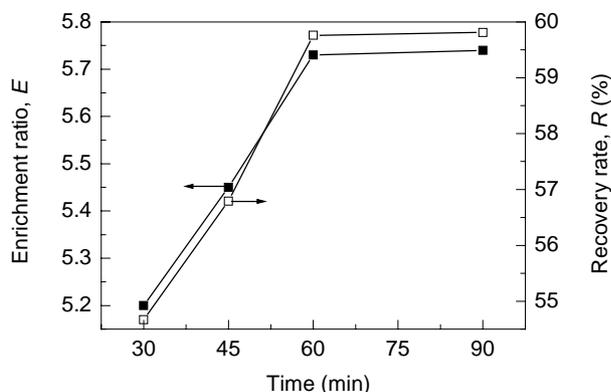


图 6 时间对富集比和回收率的影响  
Fig.6 Effect of time on  $E$  and  $R$

实验结果表明, 随着气浮时间的增加, 气浮效率不断提高. 实验进行 30 min 时回收率就达 54%, 远远超过了萃取的回收率. 实验进行 60 min 时气浮基本达到平衡, 继续增加气浮时间, 回收率和富集比增加幅度均不明显. 原因可能是气浮时间越长, 产生的气泡越多, 气液界面面积越大, 从而有利于目标产物的吸附, 提高气浮效率. 并且实验前 60 min 内气浮效率的提高速率较 60 min 以后大很多, 这可能是因为实验开始阶段料液相中黄酮类化合物浓度相对较高, 从而在气液界面的吸附传质速率较快. 由于继续延长气浮时间, 富集比与回收率增长缓慢, 而增加气浮时间会使操作成本提高, 故确定气浮时间为 60 min.

### 3.8 溶剂气浮法与溶剂萃取法的比较

取气浮溶剂与料液体积比为 1:10, 进行液液萃取实验. 溶剂气浮法与萃取法的对比结果见表 3. 其中, 分配系数  $D$  为萃取相与萃余相中黄酮浓度之比.

表 3 不同方法分离富集银杏叶黄酮的结果

Table 3 The results of separation and enrichment of flavone by different methods

Method	$V_2/V_1$	$E$	$D$	$R$ (%)
Solvent sublation	0.1	5.73	13.42	59.76
Extraction	0.1	3.79	6.11	37.98

表 3 结果表明, 溶剂气浮法对银杏叶中黄酮类化合物的分离富集明显优于溶剂萃取法, 富集比和回收率都较高. 在溶剂萃取中, 目标溶质在两相中的分配由整个有机相和整个水相两相平衡常数所确定, 而溶剂气浮过程中, 平衡状态并非由整个两相所确定, 而仅仅建立在

水相-有机相的两相界面上, 通过气浮使被吸附物质吸附在气液界面上, 从而使气液界面上吸附物质的浓度高于主体液体水相浓度, 随着气泡通过水相-有机相界面进入有机相. 有机层收集的目标物质的量不取决于母液体积, 因此溶剂气浮过程可以突破萃取平衡常数的限制. 另外, 溶剂萃取过程由于搅拌或摇晃使两相混合, 易形成乳浊液; 而溶剂气浮过程只要选择合适的气速, 即可避免上述乳化问题.

综上所述, 溶剂气浮过程不涉及萃取中的分配平衡问题, 所以比溶剂萃取的分离效果好, 富集比大. 且在整个过程中不易发生溶液乳化, 因此采用溶剂气浮法可以对银杏叶中黄酮类化合物进行有效的分离富集.

## 4 机理分析

溶剂气浮法是在泡沫分离的基础上发展起来的, 通过在料液上方加入适当有机溶剂, 吸附有目标产物的泡沫被气流驱使上升至有机相, 目标产物被有机溶剂截留, 进而实现目标产物的提取和纯化<sup>[15]</sup>. 与单纯的泡沫分离相比, 该法可进一步提高分离效率, 分离机理主要涉及气泡夹带液膜分离、气液界面吸附分离和液液界面扩散传递分离<sup>[16,17]</sup>. 具有疏水性的溶质分子或与表面活性物质形成的络合物吸附于气泡的气液界面, 并随之上升至有机相, 另外, 气泡上升过程中夹带的液膜也可携带一部分目标产物, 在有机相与料液相界面通过扩散传递进入有机相<sup>[18]</sup>.

黄酮类化合物是指具有 2 个苯环、且苯环间通过中央三碳链连接成  $C_6-C_3-C_6$  的一系列化合物, 其化学结构中含有酚羟基, 由于碳链较长, 具有一定的疏水性, 因此, 本研究中的目标产物银杏叶黄酮可通过溶剂气浮法实现分离富集. 利用该法分离富集目标产物, 作为气浮溶剂的有机溶剂的选择十分关键, 要求有机溶剂密度比水小, 不与水互溶. 根据这些要求, 本研究从正戊醇、正庚醇、正辛醇、异辛醇等 4 种有机溶剂中筛选出正辛醇进行溶剂气浮实验, 并确定了其用量为料液体积的 10% 时气浮效果最佳.

由于黄酮类化合物自身表面活性较低, 起泡能力有限, 故本研究向体系中引入了不同种类的表面活性剂, 以增强溶液起泡性能. 结果表明, 使用 SDBS 时, 银杏叶黄酮的气浮效率得到提高, 并在 SDBS 浓度为 100 mg/L 时效果最好.

溶液 pH 对气浮效率的影响主要体现在对目标产物自身性质的影响上. 银杏叶黄酮呈弱酸性, 在酸性环境中疏水性增强, 从而有利于在气液界面的吸附, 实验确定最佳 pH=3.0, pH<3.0 时, 气浮效率反而不好, 这与

张春秀等<sup>[14]</sup>的研究结果一致, 过高的  $H^+$  浓度造成伴盐的生成, 使黄酮类化合物丧失了生物活性。

气速对溶剂气浮法气浮效率的影响是多方面的: 其一, 气速影响产生气泡的数量和大小, 这将直接影响气浮过程中气液界面的面积和气泡中夹带液膜的体积, 从而影响气浮效率; 其二, 过高的气速会造成溶质的反向传递, 甚至引起有机相返混, 使气浮效率降低。

另外, 溶剂气浮法分离富集目标产物还受气浮时间的影响。在开始阶段, 由于溶液中溶质浓度相对较高, 在气液界面的吸附传质速率较快, 随气浮时间的延长, 产生的气泡数量增多, 同样可使气液界面面积和液膜体积增大, 从而提高气浮效率。

## 5 结论

采用溶剂气浮法分离富集银杏叶黄酮, 优化操作条件为: 以正辛醇作为气浮溶剂、正辛醇与料液体积比 1:10、表面活性剂 SDBS 浓度 100 mg/L、料液 pH 3.0、气速 100 mL/min、气浮时间 60 min。在此条件下, 银杏叶黄酮的富集比与回收率分别为 5.73 和 59.76%。该法操作简单, 成本低廉, 为探索分离富集中药料液有效成分的新型工艺提供了依据。

### 参考文献:

- [1] 高锦明. 银杏叶中有效成份的研究 [J]. 西北林学院学报, 1995, 10(4): 94-100.
- [2] 吕帮玉, 杨新河, 毛清黎. 银杏叶黄酮提取与测定研究进展 [J]. 河北农业科学, 2007, 11(3): 91-95.
- [3] 董雯雯, 孙洪宾, 刘振学. 银杏叶黄酮类化合物的研究进展 [J]. 山东化工, 2008, 37(1): 24-26.
- [4] 柳春娣, 孙智华. 银杏叶浸膏浸取溶剂的工艺改进 [J]. 中国医院药学杂志, 2003, 23(7): 433-434.

- [5] Sebba F. Determination of Surfactant Ions by Ion Flotation [J]. Anal. Chim. Acta, 1962, 27: 596-597.
- [6] Sun X H, Chang Z D, Shen S F, et al. Effects of Emulsion Properties on Recovering Butyl Acetate from Wastewater of Penicillin Plant by Solvent Sublation [J]. Colloids Surf. A: Physicochem. Eng., 2006, 286(1/3): 8-16.
- [7] Lu Y J, Liu J H, Xiong Y, et al. Study of a Mathematical Model of Metal Ion Complexes in Solvent Sublation [J]. J. Colloid Interface Sci., 2003, 263(1): 261-269.
- [8] Kim Y S, Shin J H, Choi Y S, et al. Solvent Sublation Using 8-Hydroxyquinoline as a Ligand for Determination of Trace Elements in Water Samples [J]. Microchem. J., 2001, 68(2/3): 99-107.
- [9] 吕玉娟, 朱锡海. 十六烷基氯化吡啶溶剂气浮的热力学及动力学研究 [J]. 化学物理学报, 2000, 13(6): 741-746.
- [10] 孙兴华, 常志东, 刘会洲. 溶剂气浮法分离有机物稀溶液的研究进展 [J]. 化工进展, 2004, 23(9): 938-942.
- [11] 董慧茹, 王士辉. 溶剂浮选分离富集麻黄草中有效成分 [J]. 分析化学, 2004, 32(4): 503-506.
- [12] Dong H R, Bi P Y, Wang S H. Separation and Enrichment of Baicalin in SBG by Solvent Sublation and Its Determination by HPLC and Spectroscopy [J]. Anal. Lett., 2005, 38(2): 289-301.
- [13] 王玉堂, 张佳秋, 于永. 溶剂浮选法分离富集淫羊藿提取液中淫羊藿苷 [J]. 分析化学, 2007, 35(3): 409-412.
- [14] 张春秀, 胡小玲, 岳红, 等. 银杏黄酮类化合物的提取分离 [J]. 应用化学, 2001, 18(4): 338-339.
- [15] 董慧茹, 王士辉. 中草药有效成分的溶剂浮选研究 [D]. 北京: 北京化工大学, 2004. 8-17.
- [16] Smith J S, Valsaraj K T, Thibodeaux L J. Bubble Column Reactors for Wastewater Treatment: I. Theory and Modeling of Continuous Countercurrent Solvent Sublation [J]. Ind. Eng. Chem. Res., 1996, 35(5): 1688-1699.
- [17] Ososkov V, Kebbekus B, Chen M. Emission of Volatile Organic Compounds to the Atmosphere in the Solvent Sublation Process: I. Toluene [J]. Sep. Sci. Technol., 1996, 31(2): 213-227.
- [18] Lu Y J, Li J Z, Zhang X L, et al. Studies on the Mechanism of Indigo Carmine Removal by Solvent Sublation [J]. J. Colloid Interface Sci., 2005, 292(1): 210-218.

## Separation and Enrichment of Flavone from *Ginkgo biloba* Leachate by Solvent Sublation

LIU Meng, WU Zhao-liang, SUN Jiang-na, HAN Bing, QIAN Shao-yu

(School of Chemical Engineering, Hebei University of Technology, Tianjin 300130, China)

**Abstract:** Solvent sublation was applied to separate and enrich flavone from *Ginkgo biloba* leachate system. The effects of solvents, volumetric ratio of solvent to aqueous solution ( $V_s/V_l$ ), type and concentration of surfactant, pH, gas flow rate and sublation time on the floatation efficiency were investigated. The results showed that the optimized operating conditions were octanol as sublation solvent,  $V_s/V_l$  value at 1:10, concentration of sodium dodecyl benzene sulfonate at 100 mg/L, pH value at 3.0, gas flow rate at 100 mL/min and sublation time for 60 min. Under the above conditions, the enrichment ratio and recovery rate of flavone reached 5.73 and 59.76%, respectively.

**Key words:** solvent sublation; enrichment ratio; recovery rate; *Ginkgo biloba* leachate; flavone