

超声波的空化作用 及其对多酚稳定性的影响

王 涓¹, 潘忠礼^{1,2,*}, 马海乐¹, 曲文娟¹, 吴本刚¹

(1. 江苏大学食品与生物工程学院, 江苏镇江 212013;

2. 美国加州大学戴维斯分校生物与农业工程系, 美国加州 95616)

摘 要: 超声波因其能耗低、温升小, 作为一种绿色、高效的加工手段, 在食品工业中被广泛应用, 但是在一定条件下超声波空化作用引起的消极声化学效应也不容忽视。本文以超声波在多酚提取中引起多酚失活的现象为例, 详细介绍了超声波的空化作用及其影响空化作用的主要因素、超声波空化作用在水相产生羟自由基的机理, 及其影响多酚稳定性的原因。

关键词: 超声波, 空化作用, 羟自由基, 多酚, 稳定性

Cavitation effect of ultrasound and its effect on the stability of polyphenols

WANG Juan¹, PAN Zhong-li^{1,2,*}, MA Hai-le¹, QU Wen-juan¹, WU Ben-gang¹

(1. School of Food and Biological Engineering, Jiangsu University, Zhenjiang 212013, China;

2. Department of Biological and Agricultural Engineering, University of California, Davis, CA 95616)

Abstract: Ultrasound is widely used in food industry as an efficient processing method due to its low energy consumption and heat generation. Meanwhile, the negative effects of the sound chemistry caused by ultrasound in certain conditions need to be considered. This paper reviewed the positive and negative effects of ultrasound-assistant process on extraction of polyphenols, the mechanism of cavitation caused by ultrasound, the main factors influencing the cavitation, the pathway of the occurrence of hydroxyl radicals in aqueous liquid caused by cavitation, and effect of cavitation on the stability of polyphenols.

Key words: ultrasound; cavitation effect; hydroxyl free radical; polyphenol; stability

中图分类号: TS201

文献标识码: A

文章编号: 1002-0306(2014)19-0388-04

doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2014.19.076

超声波是指频率超过 20000Hz, 人耳无法识别的声波, 其频率最高可达 10^{11} Hz^[1]。超声波按照其应用的不同, 分为检测超声与功率超声。检测超声频率高而功率低, 频率一般在 0.5~20MHz, 功率一般小于 1W/cm²; 功率超声频率低但功率较高, 功率可达 10~100W/cm², 频率在 15~60kHz^[2-3]。

多酚是一大类具有结构共性的物质, 广泛存在于植物中, 尤其在水果、蔬菜和茶叶中含量较高。多酚具有多种生物活性, 能延缓衰老^[4]、预防癌症^[5-6]、预防老年性痴呆^[7]及心脑血管疾病^[8], 还可以促进排铅^[9]、预防龋齿^[10]、保护脑血屏障^[11]。

由于多酚具有多种保健功效且来源广泛, 近年

来多酚的提取成为研究热点, 而超声辅助提取广泛应用其中以期望缩短提取时间、提高得率。但超声的空化作用会产生局部高温、高压以及诱发产生自由基, 这改变了提取体系的微物理化学环境, 对多酚的稳定性产生影响。

1 超声波的空化作用

1.1 空化成因

在流体中, 当流体某处的压力低于空气分离压时, 原来溶解在流体中的气体就会解析出来, 在流体内部或者表面形成气泡, 这些气泡称为空穴, 空穴(气泡)的形成、发展和淬灭的过程, 称为空化^[12]。

超声空化是超声波作用于液体介质时特有的一种物理现象。当超声波在液体介质中传播时, 它将引起介质分子以其平衡位置为中心的振动。在声波压缩相内, 分子间的距离减小; 在稀疏相(即负压相)内, 分子间的距离增大。对于强度为 I 的声波来说, 其作用于介质的声压为:

$$P_a = P_A \sin \omega t \quad \text{式(1)}$$

式(1)中 P_A 为声压振幅; ω 为声波的角频率。

收稿日期: 2014-03-04

作者简介: 王涓(1989-), 女, 硕士研究生, 研究方向: 食品物理加工技术。

* 通讯作者: 潘忠礼(1961-), 男, 博士, 研究方向: 食品物理加工(红外)技术。

基金项目: 江苏省青年自然科学基金(BK2012287)。

$$I = \frac{P_A^2}{2\rho c} \quad \text{式(2)}$$

式(2)中 ρ 为介质的密度; c 为声速。

在声波的负压相内, 介质受到的作用力为 $(P_h - P_a)$, P_h 为液体的静压力。那么由(1)(2)式我们不难得出, 如果声强增大, 则声压振幅增大, 即作用于介质的压力将增大, 如果这个压力足够大, 大到使分子间的距离超过极限距离, 液体的完整结构将被破坏, 空穴由此形成。

1.2 影响空化的因素

影响超声空化的因素很多, 超声参数、介质本身的物理性质以及外界环境都可以影响空化。具体说来包括:

1.2.1 声强 声强直接决定空化是否能够发生, 只有声强达到空化阈值才可以发生空化。一定范围内, 声强越大, 空化越强烈, 但空化饱和后, 声强的增大带来的是大量的无用气泡, 这些气泡甚至在压缩相内来不及崩溃, 形成气体屏障, 加重了超声波的散射与衰减, 对空化不利^[13]。

1.2.2 频率 频率的增大会提高空化阈值, 不容易产生气泡。但有必要指出的是, 空化的强烈程度与空化的化学效应不是一个概念, 赵逸云等^[14]对比了 38.4kHz 和 800kHz 所产生的声化学效果, 发现高频超声化学效应更强烈(TA 荧光法)。这是因为低频超声激发的空化泡半径大、崩溃时释放的能量也大, 但是正是由于瞬间产生了大量的羟自由基, 羟自由基局部浓度瞬时增高, 羟自由基更易结合生成过氧化氢。高频超声虽然激发产生的羟自由基不如低频激发的多, 但是羟自由基却不容易因为浓度过高进一步发生反应而“消失”。

1.2.3 脉冲宽度 莫喜平^[15]等研究发现脉冲宽度也可以影响空化。

1.2.4 液体的粘滞系数与表面张力系数 液体越粘稠, 空化越难发生。表面张力系数增大, 即空化泡收缩力增大, 空化越难发生。

1.2.5 蒸汽压 液体蒸汽压升高, 空化减弱。

1.2.6 温度 温度对空化的影响是多方面的, 一方面温度升高, 导致表面张力系数降低, 粘性系数降低, 这些都会使空化阈值降低, 空化变得容易; 另一方面温度升高使得蒸汽压升高, 又弱化了空化效应, 所以综合考虑, 要想获得良好的空化效果, 应该在低温下进行, 并且选用低蒸汽压的液体。

1.2.7 液体中的含气量与含气种类 溶解在液体中的气体越多, 即液体中的微小泡核越多, 空化阈值越低, 使得空化变得容易, 但空化强度却会减弱; 溶解的气体的比热越大, 空化效应越大, 比如单原子气体比双原子气体空化效应大。

1.2.8 外界环境压力 外压增高会提高空化阈值, 同时使气泡崩溃程度加剧^[12, 16-17]。

2 超声辅助提取多酚

超声波在介质中传播时会引起介质物理或化学的变化, 这些变化并非单一独立发生, 而是同时出现。超声波在介质中传播时, 介质会吸收超声波, 然

后将超声波的振动能全部或大部分转化为热能使自身温度升高, 这称之为超声波的热作用。热作用使介质温度升高, 从而加速了有效成分的溶解。超声的高频振动使介质质点进入振动状态, 交替压缩伸张, 产生线形或非线形交变振动, 引起相互作用的伯努利力、粘滞力, 这称之为超声波的机械作用。机械作用加速了介质的质点运动, 同时也强化了组织内物质的释放与溶解。另外超声空化作用产生的瞬时高温、高压提高了组织细胞的破碎效率、缩短了破碎时间, 直接有利于目标物质的溶出^[2, 18]。基于上述机理, 超声波辅助提取可以获得较高的提取效率。超声辅助提取没有目标物质的限定, 油脂^[19]、蛋白质^[20]、淀粉^[21]、多糖^[22]及其它活性物质^[23]都可以应用超声辅助提取, 多酚也不例外。

Carla 等人^[24]在研究从葡萄籽中提取多酚时发现提取等量的多酚, 传统浸提需要 12h, 但运用 20kHz、150W 超声后, 只需要 15min, 大大缩短了提取时间; Leandro 等人^[25]在研究从黑果梨提取多酚的实验中发现运用超声后效果显著不同, 在超声的作用下, 多酚的产量提高到了 85%。Daniella 等人^[26]从制作苹果汁的果渣中提取多酚, 超声提取组的总酚含量(儿茶素当量)比传统提取组的总酚含量(儿茶素当量)提高了 30%。陶令霞等人^[27]也运用超声从苹果皮渣中提取多酚, 在最优参数下, 取得到较高的多酚得率(4.29g/kg)。潘忠礼等人^[28]利用连续超声和脉冲超声辅助提取石榴皮渣中的多酚, 发现两种超声模式下多酚提取率均高于传统提取率且提取时间均少于传统提取。

3 超声波的空化作用对多酚稳定性的影响

与传统提取相比, 超声辅助提取多酚虽然可以缩短时间、提高得率, 但提取过程中, 超声波空化作用对多酚稳定性的破坏也不容忽视。

超声波空化有两种形式, 稳态空化与瞬态空化。稳态空化在较低声强作用下即可发生, 气泡在负压半周期内缓慢膨胀, 在正压半周期内缓慢收缩但不致破裂, 气泡做周期性的、非线形的振荡运动。稳态空化气泡寿命相对较长, 空化程度较为缓和, 对介质微环境影响较小。瞬态空化在较强声强下才能发生。瞬态空化气泡在负压半周期内急剧膨胀, 在进入正压半周期后又剧烈收缩直至崩溃。在这瞬时剧烈的膨胀又收缩直到最后的崩溃期间, 气泡内会产生局部高温(5000K)与高压(50MPa), 还伴随强大冲击波(均相)、高速(>110m/s)微射流(非均相)的产生。瞬态空化程度剧烈, 使介质形成多个局部极端的物理化学环境, 对介质微环境有较大影响^[29-30]。瞬态空化正是以这种特殊的能量形式加速了某些化学反应, 又为某些反应启通了新的通道^[30]。

当介质中存在水时, 瞬态空化产生的高温高压会激发羟自由基(hydroxyl free radical)的产生^[31]:



Milino 等^[32]早在 1982 年就利用电子自旋共振法(ESR)在超声处理后的水体中检测出了羟自由基。后来众多的研究者也用不同的自由基检测技术检测

出了超声致水体产生的羟自由基^[30,33]。

羟自由基是最活泼的一种活性分子,氧化性极强,氧化电位高达 2.80V,氧化能力与氟(F)相当,几乎能与所有的生物大分子、有机物或无机物发生多种化学反应^[34]。多酚是一大类具有结构共性的化合物,含有两个或两个以上羟基与芳香环直接相连的结构^[35]。由于其结构特点,多酚很容易被氧化失活^[36]。并且羟自由基参与的反应属于游离基反应,反应速度极快。所以超声波空化作用产生的羟自由基可以快速氧化多酚,严重威胁着多酚的稳定性。

不仅如此,Castellanos 等^[37]还认为超声产生的羟自由基会彼此结合生成过氧化氢:



过氧化氢也是一种周知的强氧化剂,也可氧化多酚使其失活^[31]。

空化作用主要是通过这两大途径影响着多酚的稳定性。另外,超声的空化作用对多酚稳定性的影响,还与多酚自身的结构有关。一般来说,多酚苯环上的取代基越多,越不稳定,相同取代基数量的情况下,羟基取代基越多,越不稳定,而甲氧基取代基越多,越稳定^[38]。

许多研究者的成果表明超声波的空化作用确实会破坏多酚的稳定性,并且也佐证着空化作用影响多酚稳定性的机理。

Metalitza 等^[39]研究发现超声空化作用可以引起尿素酶的降解失活,而多酚不仅可以保护尿素酶不在低频超声(27kHz, 60W/cm²)环境中降解,而且在高频超声(2.64MHz, 1W/cm²)环境中同样起到保护作用。没食子酸丙酯可以使尿素酶在低频超声环境中的失活率降低 3 倍,并且完全抑制尿素酶在高频超声环境中的失活。

Potapovich 等^[40]研究发现从欧洲羽节蕨地上部分提取出的没食子酸丙酯及其二硫聚合物、黄氏武、六种儿茶酚的叔丁基衍生物均可以保护暴露在超声环境中的过氧化氢酶的活性,并且其中 4-叔丁基儿茶酚、黄氏武的效果最好。

Entezar 等^[41]在研究超声降解多酚取代物时发现,单纯的超声处理就对某一类结构的多酚替代物有着显著的降解效果。

马亚琴^[42]在研究超声辅助提取柑橘中酚酸时发现,在经 20kHz 超声在 40℃ 处理 20min 后,多种酚酸发生了降解,其中咖啡酸和对羟基苯甲酸降解最严重,分别高达 48.90% 和 35.33%,其它酚酸含量也有不同程度的降低。

Rawson 等^[43]研究脉冲超声波处理新鲜哈密瓜汁时发现,多酚含量在 6min 内不受影响,但 10min 后超声处理组的多酚含量较对照组显著下降($p < 0.05$)。同样地 Tiwari^[44]研究超声处理草莓汁也发现,处理前期花色苷含量随时间延长而增加,但随着时间进一步延长,花色苷的含量反而下降。

Paniwnyk 等^[45]探究超声辅助提取芦丁时发现,提取溶剂的选择很重要,甲醇作为提取溶剂时,提取时间明显缩短,并且得率显著提高,但水系溶剂却对提取不利。

Fonteles 等^[46]研究超声对哈密瓜汁品质影响时发现,超声处理后,过氧化物酶、多酚氧化酶显著降低($p < 0.05$),并且多酚含量也降低了 30%。值得注意的是该研究结果中,相同的超声处理条件,低温短时处理组的降解率却明显高于高温长时处理组。

乔丽萍等^[47]以对羟基苯甲酸(p-hydroxybenzoic acid)、原儿茶酸(protocatechuic acid)、香草酸(vanillic acid)、对香豆酸(p-coumaric acid)、咖啡酸(caffeic acid)、阿魏酸(ferulic acid)、芥子酸(sinapic acid)七种酚酸为研究对象,采用高效液相色谱法分析经超声处理 60min 后的样品,发现咖啡酸和芥子酸确实发生了降解,在 80% 乙醇水溶液中二者降解率分别达到 8.9% 和 11.88%,在纯水溶液中,芥子酸的降解率甚至达到了 16.34%。研究还发现,溶剂类型和温度显著影响降解效果,溶剂的类型甚至直接决定降解作用是否发生。无水系的溶剂组并没有观测到降解现象,并且低温处理组的降解率高于高温处理组。

4 结论与展望

超声波被大量应用于多酚的辅助提取中,但目前研究表明,超声波空化作用产生的高温、高压以及诱导产生的羟自由基和过氧化氢对多酚的稳定性存在影响。为了避免或减弱该影响,建议在用超声辅助提取多酚时重视溶剂的选择,尽量不要选用水系溶剂,或者尽可能降低溶剂中水分的比例。

目前虽已明确空化作用影响多酚稳定性的主体在于羟自由基,但还有一些机理尚不明确,比如多酚的含量虽然下降,但反应是聚合还是分解并不能完全确定。另外,多酚是一大类具有多种化学结构的物质,是否所有类型的多酚都会发生降解,发生降解的多酚有没有结构上的共性,多酚的降解究竟是发生怎样的反应,遵循怎样的规律,降解后的多酚是否还具备生物活性等等,这些都是值得关注、探究的问题。

参考文献

- [1] 王育慷. 超声波原理与现代应用探讨[J]. 贵州大学学报(自然科学版), 2005, 22(3): 287-290.
- [2] 姜峰, 赵燕禹, 姜梅兰, 等. 功率超声在中药提取过程中的应用[J]. 化工进展, 2007, 26(7): 944-948.
- [3] 刘海洲, 刘均洪, 张媛媛, 等. 超声辅助萃取技术在食品工业的应用和研究进展[J]. 乳业科学与技术, 2008(5): 246-248.
- [4] Lu Y, Yeap FOO L. Antioxidant and radical scavenging activities of polyphenols from apple pomace[J]. Food Chemistry, 2000, 68: 81-85.
- [5] 谢冰芬, 刘宗潮, 郝东磊, 等. 茶多酚细胞毒作用和抗肿瘤作用的研究[J]. 癌症, 1998, 17(6): 418-427.
- [6] 母德清, 彭淑牖, 李江涛. 茶多酚作用于线粒体杀伤胰腺癌细胞的实验性研究[J]. 中华肝胆外科杂志, 2006, 12(6): 414-418.
- [7] Kenjiro O, Yuji Y, Akihiko T, et al. Potent anti-amyloidogenic and fibril-destabilizing effects of polyphenols *in vitro*: implications for the prevention and therapeutics of Alzheimer's disease[J].

Journal Of Neurochemistry, 2003, 87: 172-181.

[8] Cacace J E, Mazza G. Mass transfer process during extraction of phenolic compounds from milled berries [J]. Journal Of Food Engineering, 2003, 59: 379-389.

[9] 艾志录, 王育红, 塔西买买提马合苏木, 等. 苹果多酚的促排铅功效研究[J]. 食品科学, 2007, 28(8): 468-470.

[10] 武长柱. 苹果多酚的功效研究及应用展望[J]. 彭城职业大学学报, 1999, 14(4): 92-93.

[11] Xue R, Lv J, Gao J, et al. Protective effect of tea polyphenols on the blood-brain barrier [J]. Translational Neuroscience, 2013, 4(3): 295-301.

[12] 王萍辉. 超声空化影响因素[J]. 河北理工学院学报, 2003, 25(04): 154-161.

[13] 陈辉, 强颖怀, 葛长路. 超声波空化及其应用[J]. 新技术新工艺, 2005(07): 63-65.

[14] 赵逸云, 冯若, 杨晓云. 频率对声致羟自由基形成的影响[J]. 声学技术, 1998, 17(1): 12-14.

[15] 莫喜平, 冯若, 王双维. 混响场中脉冲超声空化效应的影响[J]. 应用声学, 1996, 15(04): 23-26.

[16] 冯若. 超声手册[Z]. 南京大学出版社, 1999: 656-717.

[17] 梁召峰, 周光平, 林书玉. 大功率低频超声场测量研究进展[J]. 声学技术, 2004, 23(01): 61-66.

[18] 胡爱军, 郑捷. 食品工业中的超声提取技术[J]. 食品与机械, 2004, 20(4): 57-60.

[19] 赵文斌, 刘金荣, 但建明, 等. 均匀设计法优化苦杏仁油超声波提取工艺[J]. 粮食与油脂, 2001(11): 4-5.

[20] 马海乐, 张连波. 米糠蛋白的脉冲超声辅助提取技术[J]. 江苏大学学报: 自然科学版, 2006, 27(1): 14-17.

[21] 何荣海, 谢斌, 仲晗实, 等. 扫频脉冲超声辅助提取慈姑淀粉的实验研究[J]. 食品工业科技, 2012, 33(15): 274-288.

[22] 李金忠, 马海乐, 吴沿友. 山药多糖的超声辅助提取技术研究[J]. 食品研究与开发, 2005, 26(4): 72-75.

[23] 秦炜, 郑涛, 袁永辉, 等. 超声波对姜黄素提取过程的强化[J]. 清华大学学报: 自然科学版, 1998, 38(6): 46-48.

[24] Carla D P, Erica P, Deborha D. Comparison of ultrasound-assisted extraction with conventional extraction methods of oil and polyphenols from grape (*Vitis vinifera* L.) seeds [J]. Ultrasonics Sonochemistry, 2013, 20: 1076-1080.

[25] Leandro G D, Karim K, Jordan N, et al. Ultrasound assisted extraction of polyphenols from black chokeberry [J]. Separation And Purification Technology, 2012, 93: 42-47.

[26] Daniella P, Anne-sylvie F, Carine L B, et al. Lab and pilot-scale ultrasound-assisted water extraction of polyphenols from apple pomace [J]. Journal Of Food Engineering, 2012, 111: 73-81.

[27] 陶令霞, 王浩, 常慧萍, 等. 苹果皮渣中苹果多酚的超声辅助提取工艺优化及其抗脂质氧化活性研究[J]. 河南工业大学学报: 自然科学版, 2008, 29(1): 32-36.

[28] Pan Z L, Qu W J, Ma H L. Continuous and pulsed ultrasound-assisted extractions of antioxidants from pomegranate peel [J]. Ultrasonics Sonochemistry, 2011, 18: 1249-1257.

[29] 刘全宏, 代乐, 齐浩. 超声空化机理及其在抗癌领域应用的研究进展[J]. 临床超声医学杂志, 2006(04): 235-238.

[30] 冯若, 赵逸云, 陈兆华, 等. 声化学主动声-声空化及其检测技术[J]. 声学技术, 1994, 13(2): 56-61.

[31] Svitelska G V, Gallios G P, Zouboulis A I. Sonochemical decomposition of natural polyphenolic compound (condensed tannin) [J]. CHEMOSPHERE, 2004, 56(10): 981-987.

[32] Milino A B, Zherlist S J, Schmidt H M, et al. Pulsed field ultrasonic and ESR experiments in low-dimensional spin systems [J]. Ultrasonics, 1982, 4(9): 317-323.

[33] 张牧群, 尹周澜, 陈启元. 铝酸钠溶液中超声诱致自由基的检测[J]. 中国稀土学报, 2004, 22: 207-211.

[34] 邓淑芳, 白敏冬, 白希尧, 等. 羟基自由基特性及其化学反应[J]. 大连海事大学学报, 2004(03): 62-64.

[35] 曾洁, 李颖畅. 果酒生成技术[G]. 北京: 中国轻工业出版社, 2011.

[36] Entezari M H, Pétrier C, Devidal P. Sonochemical degradation of phenol in water: a comparison of classical equipment with a new cylindrical reactor [J]. Ultrasonics Sonochemistry, 2003, 10(2): 103-108.

[37] Castellanos, Amit J, Chatterjee K, et al. Estimation of hydroxyl free radicals produced by ultrasound in Fricke solution used as a chemical dosimeter [J]. Ultrasonics Sonochemistry, 1995, 12(3): 87-91.

[38] Liazid A, Palma M, Brigue J, et al. Investigation on phenolic compounds stability during microwave-assisted extraction [J]. Journal Of Chromatography A, 2007, 1140: 29-34.

[39] Metalitza D I, Tarun E I, Losev Y P. Polyphenolic Antioxidants Efficiently Protect Urease from Inactivation by Ultrasonic Cavitation [J]. Applied Biochemistry And Microbiology, 2002, 38(6): 509-516.

[40] Potapovich M V, Eremin A N, Metalitza D I. Protective action of substituted polyphenols on catalase subjected to ultrasonic inactivation in solutions [J]. Russian Journal Of Physical Chemistry, 2005, 79(5): 795-802.

[41] Entezari M H, Pétrier C. A combination of ultrasound and oxidative enzyme: sono-biodegradation of substituted phenols [J]. Ultrasonics Sonochemistry. Selected papers from the Eighth Conference of the European Society of Sonochemistry, 2003, 10(4-5): 241-246.

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

[43] Rawson A, Tiwari B K, Patras A, et al. Effect of thermosonication on bioactive compounds in watermelon juice [J]. Food Research International, 2011, 44(5): 1168-1173.

[44] Tiwari B K, O'donnell C P, Patras A, et al. Anthocyanin and Ascorbic Acid Degradation in Sonicated Strawberry Juice [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2008, 56: 10071-10077.

[45] Paniwnyk L, Beaufoy E, Lorimer J P, et al. The extraction of rutin from flower buds of *Sophora japonica* [J]. Ultrasonics Sonochemistry, 2001, 8(3): 299-301.

[46] Fonteles, Thatyane V, Maia C, et al. Power ultrasound processing of cantaloupe melon juice: Effects on quality parameters [J]. Food Research International, 2012, 48(1): 41-48.

[47] Qiao L, Ye X, Sun Y, et al. Sonochemical effects on free phenolic acids under ultrasound treatment in a model system [J]. Ultrasonics Sonochemistry, 2013, 20: 1017-1025.