

# 超声波法提取沙棘果渣中总黄酮的最佳工艺研究<sup>\*</sup>

姜少娟<sup>1,2</sup>, 马养民<sup>1,2</sup>, 孔东宁<sup>3</sup>, 史清华<sup>2</sup>, 傅建熙<sup>2</sup>

(1 陕西科技大学 化学与化工学院, 陕西 咸阳 712081;

2 西北农林科技大学 生命科学学院, 陕西 杨凌 712100;

3 辽宁东宁药业有限公司, 辽宁 阜新 123000)

[摘 要] 采用超声波提取法从沙棘果渣中提取总黄酮, 以正交试验法确定了总黄酮的最佳提取工艺, 并与传统热回流提取法进行了比较。结果表明, 超声提取沙棘果渣总黄酮的最佳提取工艺条件为: 提取液V(乙酸乙酯)V(体积分数95%乙醇)=3:7, 料液比(m/V)为1:10, 在温度50℃下提取30 min; 提取方法的比较结果表明, 超声提取法优于传统热回流提取法。

[关键词] 超声波提取; 沙棘果渣; 总黄酮; 提取工艺; 正交试验

[中图分类号] S793.608

[文献标识码] A

[文章编号] 1671-9387(2006)10-0184-05

沙棘(*Hippophae rhamnoides* L.)又名酸刺、黑刺、醋柳, 为胡颓子科(Elaegnaceae)沙棘属(*Hippophae* L.)植物。沙棘的药用在我国有着非常悠久的历史, 公元8世纪我国的藏医经典《四部医典》就有沙棘入药的记载<sup>[1]</sup>。作为中药, 沙棘具有祛痰、活血散瘀、补脾健胃、滋补肝肾等药理功效<sup>[2]</sup>。

沙棘果渣一般被作为沙棘鲜果榨汁后的废弃物予以丢弃, 对资源造成了很大浪费。沙棘果渣内总黄酮的含量相对较高, 约为9.82 mg/g, 而沙棘总黄酮对心血管疾病的防治具有显著疗效, 同时还具有防癌抗癌的功效<sup>[3]</sup>。因此, 对沙棘果渣黄酮最佳提取工艺的研究, 具有一定的实用价值。

目前, 有关沙棘果渣内总黄酮提取方法的研究<sup>[4-8]</sup>较多, 而未见有关应用超声波法提取沙棘果渣总黄酮的研究报道。本试验利用超声波能产生强烈振动、高加速度及其强烈的空化效应、搅拌作用等特点<sup>[9]</sup>, 采用正交试验法对沙棘果渣总黄酮的最佳提取工艺进行了研究, 以期利用沙棘果渣提取总黄酮的规模化生产提供理论依据和工艺参数。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

沙棘果渣由辽宁东宁药业有限公司提供, 经60℃干燥、粉碎后过1 mm筛密封备用。所用试剂甲醇、乙酸乙酯、乙醇等均为分析纯。

### 1.2 仪器

DU-70型紫外可见分光光度计, 美国Beackman公司生产; 8855-02型数显超声波仪(超声频率50~60 kHz), 美国Cole-Palmer仪器公司生产; R201L型旋转蒸发仪, 上海申生科技有限公司生产; SHB-III循环水式多用真空泵, 郑州长城科工贸有限公司生产; A200S万分之一天平, 德国Sartorius公司生产。

### 1.3 方法

1.3.1 沙棘果渣总黄酮的提取 (1) 超声波提取法。准确称取一定量的沙棘果渣样品→加入溶剂→超声波提取→过滤→浓缩→蒸干溶剂→得到黄酮粗品, 待进一步分析。(2) 传统热回流法(在进行超声波法与常规热回流法提取总黄酮的比较试验时, 采用传统热回流法)。准确称取一定量的沙棘果渣样品→加入溶剂→热回流提取→过滤→浓缩→蒸干溶剂→得到黄酮粗品, 待进一步分析。

1.3.2 标准溶液的制备和标准曲线的确定 准确称取2 mg异鼠李素标品, 以无水乙醇溶解并定容于100 mL的容量瓶中, 浓度为20 μg/mL。分别移取异鼠李素标品溶液0, 1.0, 2.0, 3.0, 4.0, 5.0 mL于10 mL的试管中, 分别加入0.1 mol/L AlCl<sub>3</sub>无水乙醇溶液1 mL, 后用无水乙醇定容至刻度, 摇匀, 放置10 min, 在430 nm下测定吸光值。以总黄酮的浓度(X)为横坐标, 以吸光值(Y)为纵坐标, 最后得到的标准曲线方程为:  $Y = 0.0931X - 0.0015$ , 相关系数 $r =$

<sup>\*</sup> [收稿日期] 2006-04-24

[作者简介] 姜少娟(1979-), 女, 陕西长安人, 在读硕士, 主要从事天然产物化学研究。

[通讯作者] 马养民(1963-), 男, 陕西乾县人, 教授, 主要从事天然产物化学及有机合成研究。E-mail: mym63@sina.com

1 000 Q。

1.3.3 提取液中总黄酮含量的测定 1.3.1 中所  
得黄酮粗品用无水乙醇溶解并定容于25 mL 的容量  
瓶中,准确移取待测液1 mL 于10 mL 试管中,用A-I-  
C<sub>13</sub> 无水乙醇溶液进行衍生,用无水乙醇定容至刻  
度,放置10 min,以无水乙醇加衍生溶剂作为空白对  
照,于430 nm 下测定吸光值,根据标准曲线方程计  
算总黄酮含量。

1.3.4 提取溶剂的选择 黄酮类化合物易溶于甲  
醇、乙醇、乙酸乙酯、乙醚等有机溶剂及稀碱水溶液。  
由于乙醚危险性大,碱提液杂质较多不利于纯化,故  
本试验选用甲醇、乙酸乙酯、体积分数95%乙醇3种  
溶剂及其混合溶剂(体积比为1:1)进行试验,取料  
液比为1:8,在40℃下超声提取25 min,测定总黄  
酮含量。

1.3.5 提取条件的选择 (1)提取溶剂混合比对总  
黄酮含量的影响。取乙酸乙酯和95%乙醇分别按照  
V(乙酸乙酯):V(体积分数95%乙醇)为0:1,  
1:9,3:7,1:1,7:3,9:1,料液比为1:8,于40℃  
下超声波提取25 min,进行总黄酮含量的测定。  
(2)料液比(m/V)对总黄酮含量的影响。在提取溶剂  
V(乙酸乙酯):V(体积分数95%乙醇)=3:7时,

分别取料液为1:4,1:6,1:8,1:10,1:12,于40℃  
下超声波提取25 min,进行总黄酮含量的测定。

(3)提取时间对总黄酮含量的影响。在提取溶剂  
V(乙酸乙酯):V(体积分数95%乙醇)为3:7,料液  
比为1:10,提取时间分别为10,15,20,25,30 min  
的条件下,于40℃下超声波提取,进行总黄酮含量  
的测定。(4)提取温度对总黄酮含量的影响。在提取  
溶剂V(乙酸乙酯):V(体积分数95%乙醇)为3:7,  
料液比为1:10,分别于30,35,40,45,50℃超声波  
提取30 min,进行总黄酮含量的测定。

1.3.6 正交试验 为系统考察提取总黄酮的工艺参  
数,根据已有数据资料及实际情况,选择提取溶剂、料  
液比、提取温度、提取时间为考查因素,以测得提取液  
中的总黄酮含量为考察指标,用L<sub>9</sub>(3<sup>4</sup>)正交表设计正  
交试验。同一批次平行3份样品(提取2次)。

2 结果与分析

2.1 提取溶剂的选择

从表1可以看出,体积分数95%乙醇与乙酸乙  
酯的混合溶液对总黄酮的提取效果最好。所以,本试  
验选用体积分数95%乙醇与乙酸乙酯的混合溶液作  
为提取溶剂。

表1 不同提取溶剂对总黄酮含量的影响

| Table 1 Effect of different solutions on content of total flavonoids extraction |                                         |                                              |                                         | mg/g |
|---------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------|----------------------------------------------|-----------------------------------------|------|
| 溶剂<br>Solution                                                                  | 总黄酮含量<br>Content of total<br>flavonoids | 溶剂<br>Solution                               | 总黄酮含量<br>Content of total<br>flavonoids |      |
| 甲醇 Methanol                                                                     | 5.59                                    | 甲醇与乙酸乙酯 Methanol and ethyl acetate           |                                         | 7.98 |
| 体积分数95%乙醇 95% ethanol                                                           | 5.66                                    | 乙酸乙酯与体积分数95%乙醇 Ethyl acetate and 95% ethanol |                                         | 8.23 |
| 乙酸乙酯 Ethyl acetate                                                              | 7.25                                    | 甲醇与体积分数95%乙醇 Methanol and 95% ethanol        |                                         | 6.79 |

2.2 提取条件的选择

2.2.1 提取溶剂混合比对总黄酮含量的影响

酸乙酯和体积分数95%乙醇混合溶剂不同混合比  
对沙棘果渣总黄酮含量提取的影响如图1所示。

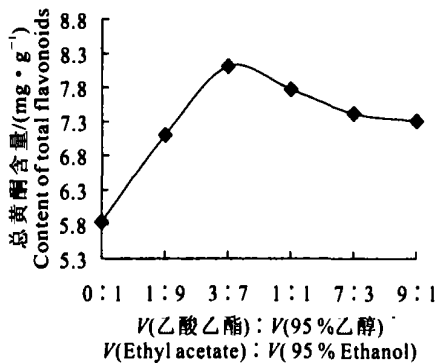


图1 不同体积比混合溶剂对总黄酮含量的影响  
Fig.1 Effects of mixture solution of different volume  
proportions on the content of total flavonoids

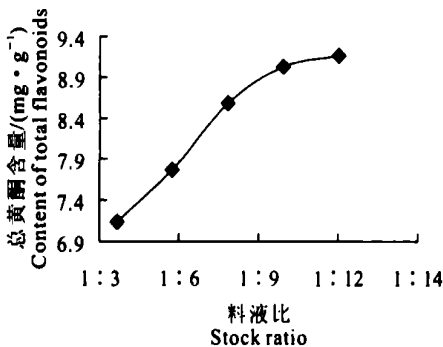


图2 料液比对总黄酮含量的影响  
Fig.2 Effects of stock ratio on the  
content of total flavonoids

从图1可以看出,随着混合溶剂中乙酸乙酯量的增加,总黄酮含量也随之增加,在 $V$ (乙酸乙酯) $V$ (体积分数95%乙醇)=3 7时总黄酮含量达最大值,之后总黄酮含量随乙酸乙酯的增加而逐渐下降。因此,乙酸乙酯和95%乙醇的混合比例为3 7~ 7 3时比较合适。

2 2 2 料液比( $m/V$ )对总黄酮含量的影响 从图2可以看出,总黄酮的提取量随提取混合溶剂量的增加而增大。但当料液比大于1 10时,总黄酮含量的

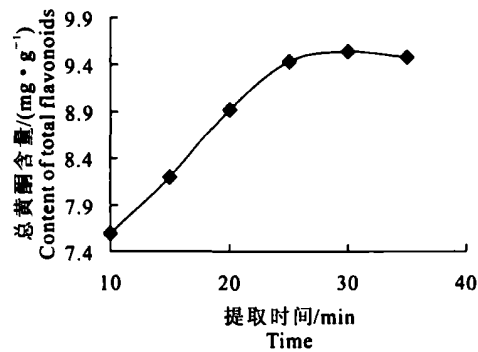


图3 提取时间对总黄酮含量的影响  
Fig. 3 Effects of ultrasonic time on the content of total flavonoids

2 3 正交试验结果

将2 2得到的提取条件结果按照 $L_9(3^4)$ 正交试验表2  $L_9(3^4)$ 正交试验因素水平表

Table 2 Factor Standard list of the orthogonal experimental of  $L_9(3^4)$

| 因素 Factor |                                                                                |                                  |                                       |                                      |
|-----------|--------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------|---------------------------------------|--------------------------------------|
| 水平 Level  | $V$ (乙酸乙酯)<br>$V$ (体积分数95%乙醇)<br>$V$ (ethyl acetate)<br>$V$ (95% ethanol)<br>A | 料液比/ $(m/V)$<br>Stock ratio<br>B | 提取时间/ $m\ in$<br>Ultrasonic time<br>C | 提取温度/<br>Ultrasonic temperature<br>D |
| 1         | 3 7                                                                            | 1 4                              | 10                                    | 30                                   |
| 2         | 5 5                                                                            | 1 8                              | 20                                    | 40                                   |
| 3         | 7 3                                                                            | 1 10                             | 30                                    | 50                                   |

由表3可以看出,超声波法提取沙棘果渣总黄酮的最佳提取工艺条件为 $A_1B_3C_3D_3$ ,即 $V$ (乙酸乙酯) $V$ (95%乙醇)为3 7,料液比为1 10,在50

增加幅度较少,故确定料液比为1 4~ 1 10。

2 2 3 提取时间对总黄酮含量的影响 从图3可以看出,随着提取时间的延长总黄酮含量不断增加。当提取时间达30 min以上时,提取时间对总黄酮含量的影响很小。所以将提取时间定为10~ 30 min。

2 2 4 提取温度对总黄酮含量的影响 从图4可以看出,总黄酮的提取量随提取温度的增加呈先增加后降低趋势,于50 提取量达到最大,因此提取温度以30~ 50 为宜。

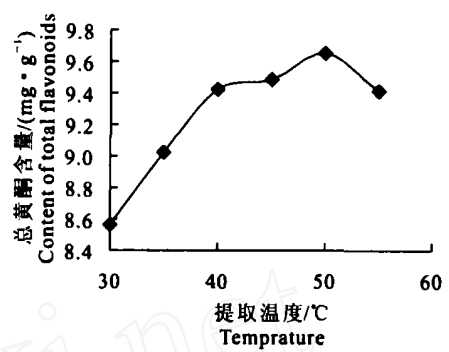


图4 提取温度对总黄酮含量的影响  
Fig. 4 Effects of ultrasonic temperature on the content of total flavonoids

验设计因素水平表, $L_9(3^4)$ 正交试验设计及其结果见表2和表3。

表2  $L_9(3^4)$ 正交试验因素水平表

表3  $L_9(3^4)$ 的正交试验及结果

Table 3 Orthogonal experimental  $L_9(3^4)$  and the results

| 编号 No. | $V$ (乙酸乙酯)<br>$V$ (体积分数95%乙醇)<br>$V$ (ethyl acetate)<br>$V$ (95% ethanol)<br>A | 料液比/ $(m/V)$<br>Stock ratio<br>B | 提取时间/ $m\ in$<br>Ultrasonic time<br>C | 提取温度/<br>Ultrasonic temperature<br>D | 总黄酮含量/ $(mg\cdot g^{-1})$<br>Total flavonoids content |
|--------|--------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------|---------------------------------------|--------------------------------------|-------------------------------------------------------|
| 1      | 3 7(1)                                                                         | 1 4(1)                           | 10(1)                                 | 30(1)                                | 7.26                                                  |
| 2      | 3 7(1)                                                                         | 1 8(2)                           | 20(2)                                 | 40(2)                                | 8.16                                                  |
| 3      | 3 7(1)                                                                         | 1 10(3)                          | 30(3)                                 | 50(3)                                | 9.12                                                  |
| 4      | 5 5(2)                                                                         | 1 4(1)                           | 20(2)                                 | 50(3)                                | 7.62                                                  |
| 5      | 5 5(2)                                                                         | 1 8(2)                           | 30(3)                                 | 30(1)                                | 8.09                                                  |
| 6      | 5 5(2)                                                                         | 1 10(3)                          | 10(1)                                 | 40(2)                                | 8.21                                                  |

续表 3 Continued of Table 3

| 编号<br>No.      | V (乙酸乙酯)<br>V (体积分数 95% 乙醇)<br>V (ethyl acetate)<br>V (95% ethanol)<br>A | 料液比/(m V)<br>Stock ratio<br>B | 提取时间/m in<br>Ultrasonic time<br>C | 提取温度/<br>Ultrasonic<br>temperature<br>D | 总黄酮含量/(mg · g <sup>-1</sup> )<br>Total flavonoids<br>content |
|----------------|--------------------------------------------------------------------------|-------------------------------|-----------------------------------|-----------------------------------------|--------------------------------------------------------------|
| 7              | 7 3(3)                                                                   | 1 4(1)                        | 30(3)                             | 40(2)                                   | 7.40                                                         |
| 8              | 7 3(3)                                                                   | 1 8(2)                        | 10(1)                             | 50(3)                                   | 8.70                                                         |
| 9              | 7 3(3)                                                                   | 1 10(3)                       | 20(2)                             | 30(1)                                   | 8.51                                                         |
| k <sub>1</sub> | 8.180                                                                    | 7.427                         | 8.057                             | 7.953                                   |                                                              |
| k <sub>2</sub> | 7.973                                                                    | 8.317                         | 8.097                             | 7.923                                   |                                                              |
| k <sub>3</sub> | 8.203                                                                    | 8.613                         | 8.203                             | 8.480                                   |                                                              |
| R              | 0.230                                                                    | 1.186                         | 0.146                             | 0.557                                   |                                                              |

由表 4 可以看出,料液比(B)对沙棘果渣总黄酮提取的影响达显著水平;超声提取温度(D)及乙酸乙酯与 95% 乙醇的混合比例(A)对沙棘果渣总黄酮的提取有一定影响,但差异不显著;超声提取时间(C)对沙棘果渣中总黄酮的提取影响最小。由此可见,影响总黄酮提取量的主次顺序依次为:B>D>A>C。

表 4 总黄酮含量方差分析表

Table 4 Variation analysis of content of total flavonoids

| 因素<br>Factor | 离差平方和<br>Deviation sum<br>of squares | 自由度<br>Degree of<br>freedom | 均差<br>Mean<br>square | F 值<br>F value | P 值<br>P value | 显著性<br>Significant<br>examination |
|--------------|--------------------------------------|-----------------------------|----------------------|----------------|----------------|-----------------------------------|
| A            | 0.096                                | 2                           | 0.032                | 2.824          | < 0.05         |                                   |
| B            | 2.288                                | 2                           | 1.144                | 67.294         | < 0.01         | **                                |
| C            | 0.034                                | 2                           | 0.017                | 1.000          | < 0.05         |                                   |
| D            | 0.588                                | 2                           | 0.294                | 17.294         | < 0.05         | *                                 |
| 误差 Error     | 0.03                                 | 2                           |                      |                |                |                                   |

注:\*.差异显著;\*.差异极显著。  
Note \*. is significant difference; \*. is greatly significant difference.

2.4 超声波法与热回流法的比较

称取相同质量的样品,采用超声波法按表 3 A<sub>1</sub>B<sub>3</sub>C<sub>3</sub>D<sub>3</sub> 的最优方案进行试验;而采用热回流法V(乙酸乙酯) V(95%乙醇)为 3 7,料液比为 1 10,在 75 的条件下回流提取 2 h。均平行提取 3 次,过滤,蒸干溶剂后,测定提取液中的总黄酮含量,其结果见表 5。

表 5 超声法与热回流法提取的总黄酮含量比较

Table 5 Comparison of content of total flavonoids between ultrasonic extraction and refluxing extraction mg/g

| 提取次数<br>Extraction<br>frequency | 超声法<br>Ultrasonic<br>extraction | 回流法<br>Refluxing<br>extraction | 提取次数<br>Extraction<br>frequency | 超声法<br>Ultrasonic<br>extraction | 回流法<br>Refluxing<br>extraction |
|---------------------------------|---------------------------------|--------------------------------|---------------------------------|---------------------------------|--------------------------------|
| 1                               | 7.23                            | 6.15                           | 3                               | 9.50                            | 9.72                           |
| 2                               | 1.94                            | 1.91                           | 总计 Total                        | 9.67                            | 8.78                           |

由表 5 可以看出,超声波提取 2 次的提取量高于热回流法 3 次的提取量。并且超声法提取 2 次的总黄酮含量高达 9.17 mg/g。所以采用超声波提取法提取 2 次即可达到提取目的。

3 结 论

(1) 本文通过正交试验设计优化了沙棘果渣中总黄酮提取的工艺条件,最终确定的最佳工艺条件为:V(乙酸乙酯) V(95%乙醇)= 3 7,料液比为 1

10,在温度 50 下提取 30 m in。在此条件下沙棘果渣中总黄酮的 3 次提取量高达 9.67 mg/g。

(2) 通过超声波法与热回流法的比较可以看出,超声波法优于常规热回流法,并且超声波提取法提取 2 次的总黄酮含量高于热回流法提取 3 次,达到了提取目的,大大节省了提取所需的时间,降低了生产成本,提高了经济效益,为开发利用沙棘果渣提供了有益的参考。

## [参考文献]

- [1] 费卫东. 沙棘的开发与利用[J]. 中国林业, 1998(3): 27.
- [2] 金怡, 姚敏. 沙棘的研究概况[J]. 中医药信息, 2003, 20(3): 21-22.
- [3] 曹晓, 陈广仁, 王爱国. 沙棘黄酮类化合物及其生理功能探究[J]. 饮料工业, 2003, 6(6): 5-9.
- [4] 刘锡建, 王艳辉, 马润宇. 利用大孔吸附树脂精制沙棘总黄酮工艺的研究[J]. 中国油脂, 2004, 29(5): 37-39.
- [5] 朱万靖, 倪培德, 江志伟. 沙棘果渣中黄酮类化合物最佳提取工艺研究[J]. 中国油脂, 2001, 26(1): 35-37.
- [6] 刘锡建, 王艳辉, 李平, 等. 沙棘果渣中总黄酮提取的研究[J]. 北京化工大学学报, 2004, 31(1): 18-21.
- [7] 刘锡建, 王艳辉, 马润宇. 沙棘果渣中总黄酮提取和精制工艺的研究[J]. 食品科学, 2004, 25(6): 138-141.
- [8] 廖周坤, 徐正, 杨林. 超临界流体萃取去脂沙棘果渣中总黄酮的工艺研究[J]. 四川化工与腐蚀控制, 2003, 6(6): 1-3.
- [9] 胡筱, 魏毅, 沙玫. 淫羊藿中总黄酮的超声提取工艺研究[J]. 海峡药学, 2004, 16(4): 88-89.

## Research on ultrasonic wave extraction of total flavonoids from fruit marc of *Hippophae rhamnoides* L.

JIANG Shao-juan<sup>1,2</sup>, MA Yang-m in<sup>1,2</sup>, KONG Dong-n ing<sup>3</sup>, SHI Q ing-hua<sup>2</sup>, FU Jian-x i<sup>2</sup>

(1 College of Chemistry & Chemical Engineering, Shaanxi University of Science & Technology, Xi'an, Shaanxi 712081, China;

2 College of Life Science, Northwest A & F University, Yangling, Shaanxi 712100, China;

3 Liaoning Dongning Pharmaceutical Company, Ltd., Fuxin, Liaoning 123000, China)

**Abstract:** The ultrasonic extraction of total flavonoids in the fruit marc of *Hippophae rhamnoides* L. was studied. The extraction process of total flavonoids was optimized with orthogonal experiment, and there was a comparison between the ultrasonic method and the refluxing method. The results indicated that optimum extraction conditions were determined as follows: the mixture solution of V (ethyl acetate) and V (95% ethanol) (3 : 7) as extracting solvent, stock ratio 1 : 10 (mass : volume), temperature 50 °C, time 30 min. And the ultrasonic method was superior to the refluxing technology.

**Key words:** ultrasonic wave extraction; fruit marc of *Hippophae rhamnoides* L.; total flavonoids; extraction technology; orthogonal experiment

(上接第183页)

Abstract ID: 1671-9387(2006)10-0181-CA

## Research of all-solid combination pH sensor and its application

YANG Bai-qin<sup>1</sup>, DU Bao-zhong<sup>2</sup>, LI Xiang-yang<sup>2</sup>, GUO Cong<sup>2</sup>, XUE Li<sup>2</sup>

(1 College of Chemistry & Chemical Engineering, Shaanxi University of Science & Technology, Xi'an, Shaanxi 712081, China;

2 Department of Applied Chemistry, Xi'an University of Technology, Xi'an, Shaanxi 710048, China)

**Abstract:** This paper reports about a new type all-solid combination pH sensor determining directly pH value of surface and inside of solid, semi-solid and pasty mass firstly in China. It also describes in detail the technology of preparing, properties of pH determining condition, and effects of other substances. The sensor has lower inner resistance, rapid response, wide measure range (pH 1-13), high measure precision and good repeat, and its response slope is  $(56 \pm 1.0) \text{ mV/pH}$ , temperature coefficient is  $-0.782 \text{ mV/}^\circ\text{C}$ . The all-solid combination pH sensor not only has the same effect as glass electrode, but also can be used in clinic test, food process, biochemical engineering, environment test, leather, paper making, soil survey, cultural relic protection and so on.

**Key words:** pH sensor; in-situ and intact determining; iridium electrode; Ag-AgCl bare reference electrode