

# 超声波提取酸枣仁总黄酮工艺研究

李慎欧<sup>1</sup>, 郝庆红<sup>1</sup>, 王常富<sup>1</sup>, 郭伟伟<sup>2</sup>, 张艳<sup>1</sup>, 陈志敏<sup>1</sup>

(1. 河北农业大学, 河北保定 071001; 2. 河北省沧州市环境监测站, 河北沧州 061000)

**摘要** [目的] 探索超声波提取酸枣仁总黄酮的最佳工艺条件。[方法] 采用3种提取方法(95℃索氏提取器中浸提提取2h; 60℃热回流浸提提取2h; 超声提取50min)对酸枣仁总黄酮的提取效果进行分析, 确定最佳提取方法。以乙醇浓度、料液比和提取时间为因子进行单因素试验和正交试验, 确定超声波提取酸枣仁总黄酮的最佳工艺。[结果] 用超声波提取总黄酮的提取率要高于回流提取和浸提法, 超声波提取确定为理想的提取方法。影响总黄酮得率的主次因素为料液比 > 乙醇浓度 > 超声提取时间。超声波提取酸枣仁总黄酮的最佳工艺条件为: 70%乙醇, 料液比1:30, 超声提取50min提取2次, 提取率达到98.73%。[结论] 采用超声波提取法的研究为酸枣仁总黄酮的工业化生产提供了参考依据。

**关键词** 酸枣仁; 黄酮; 超声

**中图分类号** S665.1 **文献标识码** A **文章编号** 0517-6611(2009)28-13790-03

## Study on the Supersonic Extraction Process of Flavonoids from *Ziziphi Spinosa* Kernels

LI Shen-ou et al (Agriculture University of Hebei, Baoding, Hebei 071001)

**Abstract** [Objective] The study aimed to explore the optimum process condition for extracting flavonoids from *Ziziphi Spinosa* kernel with the supersonic extraction. [Method] The extracting effects on flavonoids from *Z. Spinosa* kernel by 3 kinds of extraction methods including the lixiviating extraction in Soxhlet extractor at 95℃ for 2 h, the heat refluxing extraction at 60℃ for 2 h and the supersonic extraction for 50 min were analyze to confirm the optimum extraction method. With ethanol concn., solid-liquid ratio and extracting time as the factors, the single factor test and the orthogonal test were conducted to confirm the optimum process condition for extracting flavonoids from *Z. Spinosa* kernel. [Result] The extraction rate of flavonoids from *Z. Spinosa* kernel by supersonic extraction was higher than that by refluxing extraction and the lixiviating extraction, so the supersonic extraction as confirmed as the perfect extraction method. The degree of the factors effecting the extraction rate of flavonoids was in order was solid-liquid ratio > ethanol concn. > extracting time. The optimum process condition for extracting flavonoids from *Z. Spinosa* kernel with the supersonic extraction was follows: 70% ethanol, solid-liquid ratio of 1:30, ultrasonic extracting time of 50 min and extracting times of 2 times. Under this process condition, the average extraction rate was as high as 98.73%. [Conclusion] The study on supersonic extraction provided the reference basis for the industrialization production for flavonoids from *Z. Spinosa* kernel.

**Key words** *Ziziphi Spinosa* kernels; Flavonoids; Ultrasonic

酸枣仁为鼠李科植物酸枣 [*Ziziphus jujuba* Mill. var. *spinosa* (Bunge) Hu] 的干燥成熟种子, 具宁心、安神、养肝、敛汗的作用。常用于虚烦不眠、惊悸多梦、体虚多汗、津伤口渴的治疗<sup>[1]</sup>。有研究表明, 酸枣仁中含有脂肪油、皂苷、黄酮等多种物质<sup>[2]</sup>。并有文献报道, 黄酮类为其主要有效成分之一<sup>[3]</sup>。近年来, 超声波提取方法作为一种优良的提取方法已经广泛应用于天然植物中有效成分的提取<sup>[4-7]</sup>, 超声法提取总黄酮是一种较为有效和简便的方法。在超声提取过程中, 由于物料特性的不同, 其提取工艺也有所不同, 目前关于酸枣仁总黄酮超声提取工艺未见报道。笔者采用单因素试验和正交试验法对酸枣仁中总黄酮的超声提取工艺进行研究, 探索酸枣仁总黄酮有效、简便的提取工艺。

## 1 试验与方法

**1.1 试验材料** DU650 紫外可见分光光度计(Beckman Inc. U. S. A.); KQ3200E 型超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司); SHD-III 型循环水式多用真空泵(保定高新区阳光科教仪器厂); RE-52 旋转蒸发器(上海亚荣生化仪器厂); FA1004 型电子分析天平(上海天平仪器厂)。

乙醇、石油醚、三氯化铝、醋酸钾均为分析纯。芦丁对照品(购于南京替斯艾中中药技术研究所); 酸枣仁(购于保定万宝堂药店)。

## 1.2 试验方法

**1.2.1 原料预处理。**准确称取酸枣仁粉(过60目筛)5.0g,

石油醚回流脱脂3次, 每次2h, 挥干石油醚, 样品待用。

**1.2.2 总黄酮含量测定方法。**

**1.2.2.1 样品溶液的制备。**将晾干后粉末加70%乙醇150ml, 超声提取50min。减压抽滤, 将滤液定容至150ml。

**1.2.2.2 对照品溶液制备。**精密称定芦丁对照品10.0mg, 加70%乙醇溶液适量溶解, 置25ml容量瓶中, 用70%稀释至刻度, 摇匀, 即得浓度为0.40mg/ml的对照品储备液, 阴凉干燥处存放。

**1.2.2.3 最大波长扫描。**精密吸取芦丁对照品储备液1.0ml, 样品溶液1.5ml置于25ml容量瓶中, 加入0.2mol/L三氯化铝溶液2.5ml和1mol/L醋酸钾溶液5.0ml, 加70%乙醇至刻度, 摇匀, 随行空白, 放置10min。用紫外-可见分光光度计进行全波长扫描, 结果显示芦丁对照品溶液和样品溶液均在271nm处有最大吸收。

**1.2.2.4 标准曲线的制备。**精密吸取0.25、0.50、0.75、1.00、1.25和1.50ml芦丁对照品液, 按“1.2.2.3”项方法操作, 用紫外-可见分光光度计于271nm处测定其吸光度。以对照品浓度为横坐标, 以吸光度为纵坐标作标准曲线, 计算标准曲线的回归方程,  $Y = 59.614X + 0.0028$ ,  $r = 0.9996$ , 对照品在0.004~0.024mg/ml范围内呈良好的线性关系。

**1.2.3 提取方法的选择。**取石油醚脱脂粉末加体积分数70%乙醇50ml。①浸提法。在95℃索氏提取器中提取2h, 测定提取率。②回流法。60℃热回流浸提提取2h, 测定提取率。③超声法。超声提取50min。测定提取率。

**1.2.4 超声波提取单因素试验。**影响超声波提取的因素主要有超声波处理时间、料液比和水浴温度, 取石油醚脱脂后

**作者简介** 李慎欧(1981-), 男, 河北衡水人, 硕士研究生, 研究方向: 农产品加工及贮藏工程。

**收稿日期** 2009-05-26

的粉末,加入 70% 乙醇 50 ml,超声 50 min 提取,在其他条件不变的情况下,改变其中一个因素探讨对黄酮得率的影响。

**1.2.5 超声波法提取条件的优化。**在单因素考察的基础上,用正交试验对影响提取的因素:乙醇浓度、料液比及时间进行优化。选用正交表  $L_9(3^4)$ (表 1)。

表 1 正交试验设计  
Table 1 Orthogonal test design

水平 Level	A 乙醇浓度//% Ethanol concentration	B 物料比//g:ml Material ratio	C 提取时间//min Extraction time
1	80	1:30	50
2	70	1:20	40
3	60	1:10	30

**1.2.6 提取次数确定和最终得率计算。**选取最佳提取工艺,提取 3 次,确定提取次数并计算总黄酮得率。

**2 结果与分析**

**2.1 提取方法的选择** 图 1 显示,超声波提取总黄酮的提取率要高于回流提取和浸提,因此选择超声波提取为理想的提取方法。

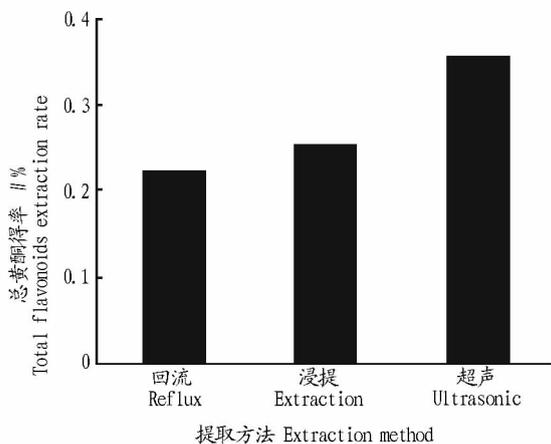


图 1 提取方法对总黄酮提取率的影响

Fig. 1 Effects of extraction method to the extraction rate of total flavonoids

**2.2 超声波提取单因素试验**

**2.2.1 超声时间对总黄酮提取率的影响。**图 2 显示,在 20~40 min 提取率变化很大,而到 40 min 以后,提取率略有上升,没有太明显变化,说明已经提取完全,故选择 40 min 为最佳条件。

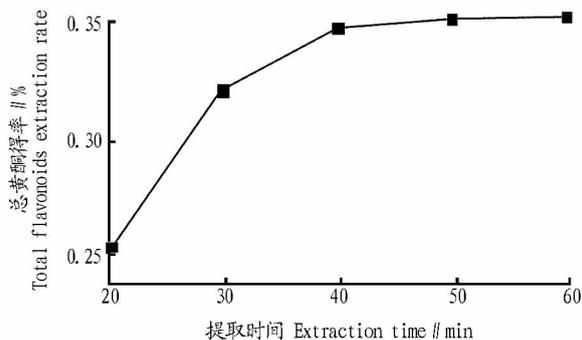


图 2 超声时间对总黄酮提取率的影响

Fig. 2 Effects of ultrasonic time to the extraction rate of total flavonoids

**2.2.2 乙醇浓度对黄酮提取率的影响。**由图 3 可见,乙醇浓度为 70% 时,总黄酮提取率最高,说明乙醇浓度在 70% 时极性与总黄酮极性相似,因此选择浓度为 70% 乙醇进行超声提取。

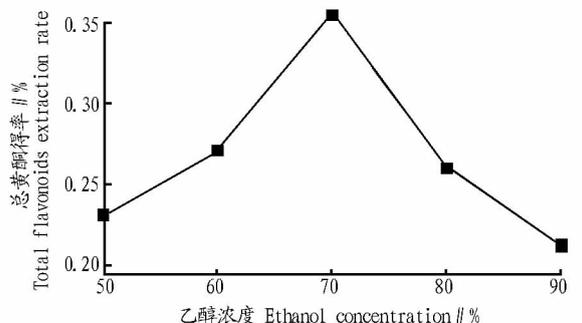


图 3 乙醇浓度对总黄酮提取率的影响

Fig. 3 Effect of ethanol concentration to the extraction rate of total flavonoids

**2.2.3 料液比对总黄酮提取率的影响。**由图 4 可知,料液比在 1:5~1:30 时总黄酮得率有明显变化,而在 1:40 时没有太多升高,考虑溶剂回收与经济问题,因此选择料液比 1:30 最好。

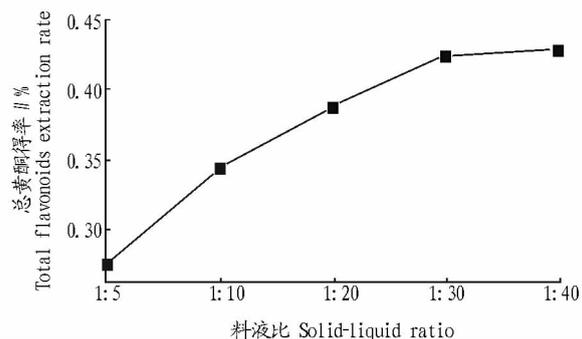


图 4 料液比对总黄酮提取率的影响

Fig. 4 Effect of solid-liquid ratio to the extraction rate of total flavonoids

**2.3 正交试验分析** 通过表 2 的极差分析和表 3 方差分析表明,料液比和乙醇浓度对总黄酮得率影响的差异具有显著

表 2 正交试验结果

Table 2 Orthogonal test result

试验号 Test No.	A	B	C	D(空白)	总黄酮含量//mg/g Total flavonoids content
1	1	1	1	1	3.629
2	1	2	2	2	3.384
3	1	3	3	3	2.479
4	2	1	2	3	4.201
5	2	2	3	1	3.596
6	2	3	1	2	3.514
7	3	1	3	2	3.380
8	3	2	1	3	3.561
9	3	3	2	1	2.634
$k_1$	9.492	11.211	10.704	9.858	
$k_2$	11.310	10.542	10.218	10.278	
$k_3$	9.576	8.628	9.456	10.242	
$K_1$	3.164	3.737	3.568	3.286	
$K_2$	3.770	3.514	3.406	3.426	
$K_3$	3.192	2.876	3.152	3.414	
R	0.606	0.861	0.416	0.140	

性,超声提取时间对总黄酮得率影响的差异性不明显。影响总黄酮得率的主次因素  $B > A > C$ ,即料液比  $>$  乙醇浓度  $>$  超声提取时间,单次最佳提取工艺为  $A_2B_1C_1$ ,即使用 70% 乙醇,料液比 1:30,提取 50 min。

表3 方差分析结果

Table 3 Variance analysis result

方差来源	离散平方和	自由度	方差估计值	F 值	P
Variance	Discretized	Degree of	Variance	F value	
resource	square sum	freedom	estimated value		
A	0.703	2	0.352	19.604	<0.05
B	1.198	2	0.599	33.399	<0.05
C	0.264	2	0.132	7.368	>0.05
D	0.036	2	0.018		
误差 Error	0.036	2	0.018		

**2.4 提取次数确定和最终得率计算** 取 3 份晾干后样品,按上述  $A_2B_1C_1$  进行超声提取,各提取 3 次,计算总黄酮得率平均值。结果表明,超声次数越多总黄酮累计得率越高,提高幅度降低较快。第 3 次总黄酮得率仅为 0.006%,因此超声提取 2 次即可达到满意效果,总黄酮得率为 0.465%,总提

(上接第 13789 页)

次为茎和根。因此,张家界地区湖北地黄品种优良,梓醇含量很高,极具开发利用价值。

表3 湖北地黄根、茎、叶和生地黄中梓醇含量

Table 3 The contents of catalpol in the *Rehmannia henryi* Brown's root, stem, leaf and *Radix rehmanniae* %

名称 Name	梓醇含量 Catalpol content
湖北地黄根	1.29
湖北地黄茎	1.35
湖北地黄叶	1.84
生地黄	0.44

### 3 结论

(1) 分布于张家界的湖北地黄通过超声波提取梓醇的较优工艺条件为:以 1:30 的液料比加入 70% 的乙醇水溶液,在超声波条件下提取 30 min,此时,梓醇含量高达 1.76%。

(2) 对分布于张家界的湖北地黄叶、茎、根和生地黄中的梓醇分别进行提取,其含量分别为 1.84%、1.35%、1.29% 和 0.44%。

取率为 98.73%。

### 3 结论

(1) 超声波提取总黄酮的提取率要明显高于回流提取和浸提,因此选择超声波提取为理想的提取方法。此方法为酸枣仁总黄酮的工业化生产提供了依据,超声波对中药有效成分的提取也是未来中药提取的趋势。

(2) 超声波提取总黄酮的最佳提取工艺为:70% 乙醇,料液比 1:30,提取 2 次,每次 50 min。

### 参考文献

- [1] 中国药物大全编辑委员会. 中国药物大全·中药卷[M]. 北京:人民卫生出版社,1991:277.
- [2] 曾路,张如意,王序. 酸枣仁化学成分研究 II[J]. 药学报,1987,22(2):114.
- [3] 袁冒鲁,王中博,焦莹,等. 酸枣仁中黄酮类镇静催眠有效成分的研究[J]. 中药通报,1987,9(12):34-36.
- [4] 王延峰,李延清,郝永红,等. 超声波法提取银杏叶黄酮的研究[J]. 食品科学,2002,23(8):166-167.
- [5] 冯涛. 竹叶总黄酮提取及纯化工艺的研究[D]. 天津:天津科技大学,2003:19-22.
- [6] 周斌. 用超声波提取中药材[J]. 安徽科技,2005(4):23-24.
- [7] 胡忠泽,谭志静,杨久峰,等. 超声法提取姜黄素最佳工艺研究[J]. 中国实验方剂学杂志,2005,11(2):6-7.

(3) 梓醇等环烯醚萜类物质结构相似,极性较大,采用薄层色谱扫描法测定地黄中梓醇含量,方法简便、灵敏,且具有较好的精密度和准确性。

### 参考文献

- [1] 张留记,屈凌波,赵玉芬. 不同产地地黄中地黄苷 A 的含量比较[J]. 时珍国医国药,2007,18(8):1809-1810.
- [2] 王太霞,李景原,李建军,等. 不同产区地黄的比较研究[J]. 河南农业科学,2005(10):69-73.
- [3] 刘彦飞,赵宇,温学森,等. 梓醇的药效学及化学转化研究现状[J]. 中国中药杂志,2007,32(12):1128-1130.
- [4] 楼之岑,秦波. 常用中药材品种整理和质量研究(北方编)(II)[M]. 北京:北京医科大学、中国协和医科大学联合出版社,1995.
- [5] LUO Y Y, ZHANG S Q, SUO J Z. Determination of catalpoli *Radix rehmanniae* by high performance liquid chromatography[J]. Chin Pharm J, 1994,29(1):38-39.
- [6] WANG H J, BIAN B L, YANG J. A study on catalpol conten changes in *Rehmannia glutinosa*( Gaertn. )Libosch. under certain conditions [J]. China J Chin Mater Med,1997,22(7):408-409.
- [7] LI X E, YANG S L, YANG J S, et al. Study on content o catalpol in varieties and earthnuts of *Rehmannia glutinosa* [J]. Chin Pharm J,2002,37(11):820-823.
- [8] LI J P, ZHOU F J, JIA J W, et al. Effects of different stor time and condition on the contents of catalpol in *Rehmanni glutinosa* [J]. Chin Tradit Herb Drugs,2003,3(3):273.