

# 枸杞中黄酮类化合物的超声波强化提取<sup>\*</sup>

贾韶千<sup>1</sup> 吴彩娥<sup>1</sup> 李艳霞<sup>2</sup>

(1. 南京林业大学森林资源与环境学院, 南京 210037; 2. 江苏省农业科学院农业资源与环境研究中心, 南京 210014)

**【摘要】** 为了提高枸杞中黄酮类化合物的提取效果,通过超声波细胞粉碎仪的强化作用,对枸杞中的黄酮类化合物进行提取研究,通过单因素和正交试验确定最佳工艺参数。结果表明,最佳提取工艺参数为:乙醇体积分数80%,液料比50 mL/g,超声波工作/间歇时间3 s/1 s,超声波功率500 W,提取时间50 min。在此条件下提取率达到89.87%。

**关键词:** 黄酮类化合物 枸杞 超声波 提取

**中图分类号:** R284.2 **文献标识码:** A

## Flavonoids Ultrasonic Extraction from *Lycium Barbarum* L.

Jia Shaoqian<sup>1</sup> Wu Caie<sup>1</sup> Li Yanxia<sup>2</sup>

(1. College of Forest Resources and Environment, Nanjing Forestry University, Nanjing 210037, China

2. Research Center of Agricultural Resources and Environments, Jiangsu Academy of Agricultural Sciences, Nanjing 210014, China)

### Abstract

In order to improve the extraction effect of flavonoids from *Lycium barbarum* L., ultrasonic was used to extract flavonoids of *Lycium barbarum* L. Through single fraction experiments and orthogonal experiments, the optimal technological parameters were determined. The result expresses the optimal technological parameters are the concentration of ethanol 80%, liquid to solid ratio 50 mL/g, ratio of ultrasonic run and interim time 3 s/1 s, ultrasonic power 500 W, extracting 50 min, the extraction rate was 89.87%.

**Key words** Flavonoids, *Lycium barbarum* L., Ultrasonic, Extraction

### 引言

枸杞(*Lycium barbarum* L.)中含有丰富的多糖、氨基酸、黄酮类化合物、矿物质等<sup>[1~2]</sup>。目前有关枸杞中黄酮类化合物提取的报道很少,且多采用传统方法<sup>[3]</sup>。因此,研究枸杞黄酮类化合物的提取技术,对枸杞资源开发利用具有现实意义。

黄酮类化合物的传统提取方法有水提法、碱性水或稀醇提取法、有机溶剂提取法等。水提法仅限于提取黄酮苷类物质,此工艺成本低、安全,适合工业化大生产,但是提取液中杂质较多(如无机盐、蛋白质、糖等),给进一步分离带来许多麻烦;氢氧化钠

水溶液对黄酮类化合物的浸出能力较高,但杂质较多不利于纯化;有机溶剂法主要用于提取脂溶性基团占优势的黄酮类物质,对设备要求简单,产品得率高,但提取时间较长,杂质含量较高,不利于进一步纯化<sup>[4~5]</sup>。

超声波传播时会产生热效应、机械传质作用以及空化作用等一系列效应,利用这些效应可以使植物细胞壁快速破裂,有利于溶剂浸入细胞中,从而加速植物中有效成分进入溶剂,提高提取效率<sup>[6~7]</sup>。近年来,超声波技术已广泛应用到黄酮类化合物的提取,此法具有能耗低、效率高、不破坏有效成分等特点<sup>[8~9]</sup>。目前,国内超声波法提取黄酮类化合物

收稿日期: 2008-10-10 修回日期: 2008-11-14

<sup>\*</sup> 南京林业大学引进高层次人才科研基金资助项目(CT2006-1)

作者简介: 贾韶千, 博士生, 主要从事食品活性物质分离与纯化研究, E-mail: qian12358@163.com

通讯作者: 吴彩娥, 教授, 博士生导师, 主要从事食品工程技术及食品活性物质分离纯化研究, E-mail: sxwucaie@163.com

大多采用超声波清洗器,超声作用效果不好。超声波细胞粉碎仪是将超声波发生探头直接插入待提取料液的内部,从而使料液充分混匀,达到较好的超声效果。本文采用超声波细胞粉碎仪,对超声波强化提取枸杞中的黄酮类化合物进行探讨。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验材料

枸杞为一级品,采自宁夏中宁县;芦丁标准品购自中国药品生物制品所;亚硝酸钠、硝酸铝、氢氧化钠、乙醇均为分析纯。

### 1.2 试验仪器

FW100型万能粉碎机(天津泰斯特仪器有限公司);HG101-3型电热鼓风干燥箱(南京盈鑫实验仪器有限公司);RE-52型旋转蒸发仪(上海亚荣生化仪器厂);SHB-III型水循环式真空泵(郑州长城科工贸有限公司);SPS601F型电子天平(梅特勒-托利多称量设备系统有限公司);DK-S26型恒温水浴锅(上海精宏试验设备有限公司);SZF-06B型索氏提取器(上海新嘉电子有限公司);SCIEENT-II D型超声波细胞粉碎仪(宁波新芝生物技术股份有限公司);16WS型高速台式离心机(湖南湘仪离心机仪器有限公司);TU-1800PC型紫外可见分光光度计(北京普析通用仪器有限责任公司)。

### 1.3 试验方法

#### 1.3.1 标准曲线的制备

精密称取120℃干燥至恒重的芦丁标准品10.0 mg,加体积分数80%乙醇溶解,定容至50 mL容量瓶中,摇匀,制成0.2 mg/mL的标准品溶液;分别取该溶液0、0.2、0.5、1.0、2.0、3.0、4.0 mL于10 mL容量瓶中,加5%亚硝酸钠0.4 mL,放置6 min,加10%硝酸铝0.4 mL,放置6 min,再加4%氢氧化钠4 mL,加水至刻度,摇匀,放置15 min,在波长510 nm处测定其吸光度;以标准样品质量浓度为横坐标,吸光度为纵坐标,绘制标准曲线<sup>[10]</sup>,如图1所示。计算得吸光度A对质量浓度C的线性回归方程为: $A = 11.574C - 0.0011$ ,  $R^2 = 0.9998$ ,在

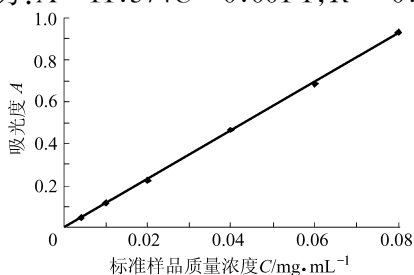


图1 芦丁标准曲线

Fig.1 Standard curve of rutin

0.004~0.08 mg/mL范围内呈良好的线性关系。

#### 1.3.2 枸杞中黄酮类化合物的提取工艺

枸杞60℃干燥至恒重,用万能粉碎机粉碎成粉末,过80目筛,用石油醚脱去脂肪、色素等杂质。提取时,准确称取一定量的枸杞粉末,加入相应比例的提取溶剂,放入超声波细胞粉碎仪中进行提取。吸取5 mL提取液放入高速离心机(5 000 r/min)中离心10 min,取2 mL离心后的提取液于10 mL容量瓶,按1.3.1节的方法进行吸光度值测定。

#### 1.3.3 枸杞总黄酮含量的测定

准确称取1.0 g枸杞粉末,放入索氏提取器中进行提取,测定总黄酮含量,重复5次,求平均值。按1.3.1节的方法、条件进行测定,测得试验所用材料的总黄酮质量分数为1.25%。

#### 1.3.4 枸杞总黄酮提取率的计算方法

枸杞总黄酮提取率计算公式为

$$Q = \frac{(A + 0.0011)Vn}{11.574M\omega} \times 100\%$$

式中 A——测得吸光度

V——提取液体积, mL

M——样品质量, mg

n——稀释倍数, 本文为5

$\omega$ ——试验所用材料的总黄酮质量分数, 本文为1.25%

## 2 结果与分析

### 2.1 乙醇体积分数

分别用体积分数为50%、60%、70%、80%、90%的乙醇以及无水乙醇为溶剂,液料比40 mL/g,在超声波功率500 W、超声波工作/间歇时间1 s/2 s的条件下,在超声波细胞粉碎仪中提取30 min,测定提取率,结果如图2所示。

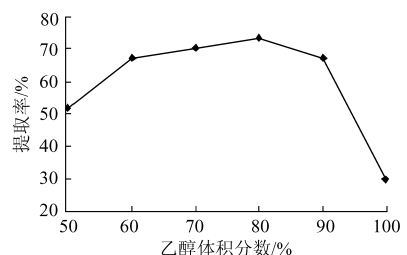


图2 乙醇体积分数对提取率的影响曲线

Fig.2 Curve of ethanol concentration effect on the extraction rate

由图2可以看出,乙醇体积分数对提取率的影响较大,体积分数为80%的乙醇提取率最高,其次是70%,乙醇体积分数较高或较低提取率都不佳。这是由于不同体积分数的乙醇极性不同,黄酮类化合物具有较高的极性,根据相似相溶原理,乙醇体积

分数为80%时对枸杞黄酮类化合物的溶解能力最强,因此选择体积分数为80%的乙醇进行提取。

## 2.2 提取时间

利用体积分数为80%的乙醇,以40 mL/g的液料比,在超声波功率500 W、超声波工作/间歇时间1 s/2 s的条件下,研究超声波提取时间对提取率的影响,结果如图3所示。

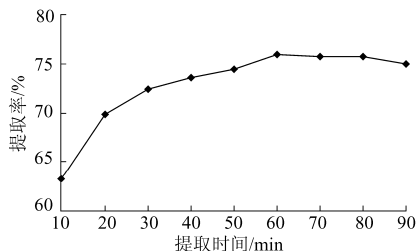


图3 提取时间对提取率的影响曲线

Fig.3 Curve of extraction time effect on the extraction rate

由图3可看出,在超声波提取的前60 min,提取时间越长,超声波作用越充分,黄酮类化合物浸出的越多,提取率也就越高。但提取时间超过60 min后,随着提取时间的延长,提取率反而越低,这可能是由于提取时间过长,导致某些黄酮类化合物被破坏。从图中看出,超声波在较短的时间内就可以达到较高的提取率。

## 2.3 液料比

以不同的液料比,利用体积分数为80%的乙醇,在超声波功率500 W、超声波工作/间歇时间1 s/2 s的条件下进行提取,结果如图4所示。

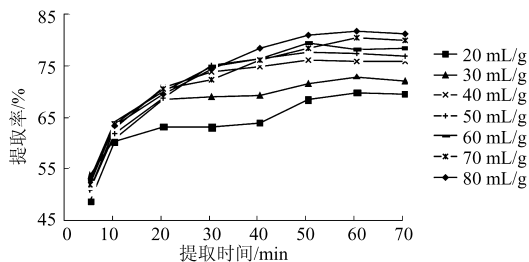


图4 不同液料比条件下的提取率曲线

Fig.4 Curve of different liquid to solid ratio effect on the extraction rate

由图4可以看出,随着液料比的增大,提取率也随之增大。这主要是因为随着液料比的增大,枸杞粉末与提取液接触面的浓度差增大,黄酮类化合物就越容易渗透出来;当液料比增大到一定值后,由于枸杞中黄酮类化合物的含量有限,提取率的增加趋于平缓。而且,液料比越大,溶剂的用量就会增加,还会增加去除溶剂的难度,导致提取成本增高<sup>[11]</sup>。因此,确定液料比50 mL/g为最佳。

## 2.4 超声波功率

利用体积分数为80%的乙醇,以40 mL/g的液

料比,在超声波工作/间歇时间1 s/2 s的条件下,选择不同的超声波功率进行提取,结果如图5所示。

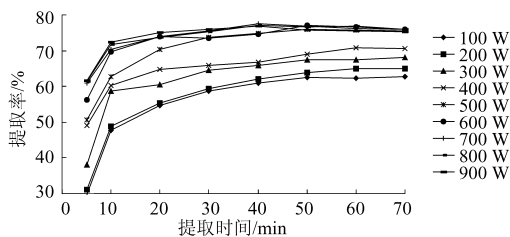


图5 不同超声波功率条件下的提取率曲线

Fig.5 Curve of ultrasonic wave power effect on the extraction rate

由图5可以看出,超声波功率在100、200 W时,提取率较低,这是因为超声波功率较低时超声强度不够,不能使物料充分受到超声波的作用。随着超声波功率的增加,提取率随之变大。但在超声波功率高于500 W后,变化趋势不再明显,甚至出现提取率下降,这主要是由于超声波对黄酮类化合物有一定的破坏作用。考虑到功率越高,机器损耗越大,生产成本也越高,因此选择超声波功率500 W为最佳。

## 2.5 超声波工作/间歇时间

利用体积分数为80%的乙醇,以40 mL/g的液料比,在超声波功率500 W的条件下,以不同的超声波工作/间歇时间进行提取,结果如图6所示。

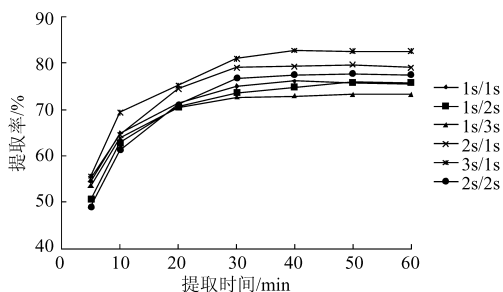


图6 不同超声波工作/间歇时间条件下的提取率曲线

Fig.6 Curve of ultrasonic run and interim time ratio effect on the extraction rate

由图6可以看出,3 s/1 s的提取率最高,2 s/1 s、2 s/2 s次之,1 s/1 s、1 s/2 s、1 s/3 s的提取率较低。超声波工作/间歇比是指超声波工作时间与间歇时间的比值,工作/间歇比越大,在相同的时间内,实际的超声波作用时间越长,提取率也就越高。因此,本文选择超声波工作/间歇比3(超声波工作/间歇时间3 s/1 s)、2(超声波工作/间歇时间2 s/1 s)、1(超声波工作/间歇时间2 s/2 s)进行正交试验。

## 2.6 超声波提取枸杞总黄酮正交优化试验

为了确定在多因素条件下超声波提取枸杞黄酮类化合物的最佳工艺,本文在单因素试验的基础上,选择合适的参数范围,对液料比、工作/间歇比、超声

波功率、提取时间4个因素安排及进行 $L_9(3^4)$ 正交试验,以黄酮类化合物的提取率为评价指标,优化最佳提取工艺,试验结果如表1、2所示。

表1 因素水平表

Tab.1 Factor level chart

水平	因素			
	液料比 A/ mL·g <sup>-1</sup>	工作/间歇 比 B	超声波 功率 C/W	提取时间 D/min
1	40	2	400	30
2	40	3	500	40
3	40	1	600	50

表2 正交试验结果

Tab.2 Results of orthogonal test

试验序号	A	B	C	D	提取率/%
1	1	1	1	1	82.81
2	1	2	2	2	88.21
3	1	3	3	3	85.61
4	2	1	2	3	87.54
5	2	2	3	1	87.39
6	2	3	1	2	83.74
7	3	1	3	2	82.58
8	3	2	1	3	87.43
9	3	3	2	1	87.13
$K_1$	256.62	252.93	253.98	257.33	
$K_2$	258.68	263.03	262.88	254.53	
$K_3$	257.13	256.48	255.57	260.57	
$k_1$	85.54	84.31	84.66	85.78	
$k_2$	86.23	87.68	87.63	84.84	
$k_3$	85.71	85.49	85.19	86.86	
R	0.69	3.37	2.97	2.02	

由表2可知,试验所考察的4个因素中,工作/间歇比对黄酮类化合物的提取率影响较大;超声波

功率和提取时间的影响次之,液料比的影响最小。各因素对超声波提取黄酮类化合物提取率影响的主次顺序依次为B、C、D、A,即工作/间歇比、超声波功率、提取时间、液料比。由表2可知,超声波提取黄酮类化合物的最佳组合为 $A_2B_2C_2D_3$ ,即液料比50 mL/g,工作/间歇时间3 s/1 s,超声波功率500 W,提取时间50 min。按照此条件进行验证试验,其提取率为89.87%,这与正交试验中的各组相比,其提取率最高。

对试验结果进行方差分析、F检验,结果如表3所示。

表3 正交设计方差分析结果

Tab.3 Analysis of variances of orthogonal design

变异来源	平方和	自由度	均方	F值	临界值	显著性
B	17.49	2	8.75	22.89	$F_{(0.05)}=19.0$	显著(*)
C	15.04	2	7.52	19.68	$F_{(0.01)}=99.0$	显著(*)
D	6.11	2	3.06	8.00		
A	0.76	2	0.38			
误差	0.76	2	0.38			
总和	39.41					

由表3方差分析看出,在超声波提取黄酮类化合物正交试验中所选择的因素和水平范围内,工作/间歇时间、超声波功率都达到显著水平( $P<0.05$ ),而提取时间、液料比影响不显著。

### 3 结束语

通过单因素试验和正交试验得出,超声波提取枸杞中黄酮类化合物的最佳工艺条件为:乙醇体积分数80%,液料比50 mL/g,超声波工作/间歇时间3 s/1 s,超声波功率500 W,提取时间50 min。在此条件下提取率达到89.87%。超声波法提取枸杞黄酮类化合物时间短、能耗低,且提取工作在室温下进行,可避免高温对提取成分的影响。

### 参 考 文 献

- 薛立文,李以暖.枸杞子的营养和保健功能[J].广东微量元素科学,2000,7(6):1~4.  
Xue Liwen, Li Yinuan. Nutrition and health functions of *Lycium barbarum* L. [J]. Guangdong Trace Elements Science, 2000, 7(6):1~4. (in Chinese)
- 宋国安.枸杞籽的药用保健价值与开发前景[J].中国食物与营养,2005(7):26~28.  
Song Guoan. Medicinal and hygienic value and development prospect of *Lycium barbarum* L. [J]. Food and Nutrition in China, 2005(7):26~28. (in Chinese)
- 张颖,张立睦,周红英,等.不同产地枸杞子中黄酮含量的测定[J].中国中医药科技,2004,11(2):102~103.  
Zhang Ying, Zhang Limu, Zhou Hongying, et al. Determination of flavones contents from *Lycium barbarum* L. in different area [J]. Chinese Journal of Traditional Medical, 2004, 11(2):102~103. (in Chinese)
- 李巧玲.黄酮类化合物提取分离工艺的研究进展[J].山西食品工业,2003,12(4):6~7.

- Li Qiaoling. Research progress of extraction and separation processes of flavonoids [J]. Shanxi Food Industry, 2003, 12(4): 6~7. (in Chinese)
- 5 李苑, 张敏. 中草药中黄酮类化合物提取工艺的研究概况[J]. 广东药学, 1999(9): 4~6.  
Li Yuan, Zhang Min. Research on extraction technology of flavonoids in Chinese traditional and herbal drugs [J]. Guangdong Pharmaceutical Journal, 1999(9): 4~6. (in Chinese)
- 6 易克传, 岳鹏翔, 王继先, 等. 超声波强化逆流提取机及提取试验[J]. 农业机械学报, 2007, 38(12): 109~112, 128.  
Yi Kechuan, Yue Pengxiang, Wang Jixian, et al. Study on ultrasonic wave dynamic countercurrent extraction equipment and extraction experiment [J]. Transactions of the Chinese Society for Agricultural Machinery, 2007, 38(12): 109~112, 128. (in Chinese)
- 7 高振鹏, 岳田利, 袁亚宏, 等. 超声波强化有机溶剂提取石榴籽油的工艺优化[J]. 农业机械学报, 2008, 39(5): 77~80.  
Gao Zhenpeng, Yue Tianli, Yuan Yahong, et al. Technology optimization on extracting pomegranate seed oil using organic solvent assisted by ultrasound [J]. Transactions of the Chinese Society for Agricultural Machinery, 2008, 39(5): 77~80. (in Chinese)
- 8 周桂, 邓光辉, 梁达文. 超声波法水提取山楂叶中黄酮的研究[J]. 西南农业大学学报: 自然科学版, 2005, 27(5): 605~607.  
Zhou Gui, Deng Guanghui, Liang Dawen. Ultrasonic extraction of flavone from haw leaves with water as the medium [J]. Journal of Southwest Agricultural University: Natural Science, 2005, 27(5): 605~607. (in Chinese)
- 9 冯宗帅, 吴彩娥, 方升佐, 等. 青钱柳叶总黄酮超声辅助提取工艺优化[J]. 农业机械学报, 2009, 40(2): 130~134, 75.  
Feng Zongshuai, Wu Caie, Fang Shengzuo, et al. Technology optimization of total flavonoids extraction from *Cyclocarya paliurus* leaves by ultrasonic assistance [J]. Transactions of the Chinese Society for Agricultural Machinery, 2009, 40(2): 130~134, 75. (in Chinese)
- 10 张自萍, 黄文波. 枸杞总黄酮和多糖的超声提取及含量测定[J]. 农业科学研究, 2006, 27(1): 22~24.  
Zhang Ziping, Huang Wenbo. Ultrasonic extraction and determination of total flavonoids and polysaccharides from *Lycium barbarum* L. [J]. Journal of Agricultural Science, 2006, 27(1): 22~24. (in Chinese)
- 11 刘迪, 陈雪峰. 超声波辅助萃取法提取桃叶中总黄酮的工艺研究[J]. 现代食品科技, 2006, 22(2): 141~149.  
Liu Di, Chen Xuefeng. Ultrasonic-assisted extraction process of flavones from peach leaf [J]. Modern Food Science and Technology, 2006, 22(2): 141~149. (in Chinese)
- 12 周泉城, 申德超, 区颖刚. 超声波辅助提取大豆皂甙工艺优化[J]. 农业机械学报, 2008, 39(6): 208~210, 197.

~~~~~

(上接第 104 页)

- 14 Abram F, Smelt J P P M, Bos R, et al. Modelling and optimization of inactivation of *Lactobacillus plantarum* by pulsed electric field treatment [J]. Journal of Applied Microbiology, 2003, 94(4): 571~579.
- 15 Min S, Min S K, Zhang Q H. Inactivation kinetics of tomato juice lipoxygenase by pulsed electric fields [J]. Journal of Food Science, 2003, 68(6): 1995~2001.
- 16 Pérez O E, Pilosof A M R. Pulsed electric effects on the molecular structure and gelation of b-lactoglobulin concentrate and egg white [J]. Food Research International, 2004, 37(1): 102~110.
- 17 Nicholas J. Russell bacterial membranes: the effects of chill storage and food processing. An overview [J]. International Journal of Food Microbiology, 2002, 79(1~2): 27~34.