

沙棘果渣中总黄酮提取的研究

刘锡建 王艳辉 李 平 马润宇*

(北京化工大学可控化学反应科学与技术基础教育部重点实验室,北京 100029)

摘要: 研究了从沙棘果渣中提取黄酮的工艺,考察了提取溶剂和果渣脱脂与否对提取效果的影响,在此基础上采用正交实验方法确定了沙棘果渣总黄酮的常规提取最佳条件:石油醚脱脂,质量分数为 65% 的乙醇溶液作为提取剂,提取温度为 80℃,提取 1 g 果渣的每次溶剂用量为 8 mL,提取次数为 3 次(每次为 1 h),在常规提取的最佳条件下沙棘果渣的总黄酮得率高达 0.5344%。尝试了超声辅助提取,结果表明提取前用超声预处理 15 min,可以大大减少溶剂用量和提取时间,而黄酮得率保持不变。

关键词: 沙棘果渣;总黄酮;提取;脱脂;超声波

中图分类号: R927.2

我国有丰富的沙棘资源,每年有大量的沙棘果用于生产果汁或者榨油,而含有丰富的黄酮类化合物和 β -胡萝卜素的果渣却被作为废弃物,极大地浪费了资源。沙棘黄酮具有抗心肌缺血、降血脂、抗肿瘤、调节免疫系统等作用^[1-2]。沙棘黄酮还具有直接清除超氧阴离子及羟基自由基的作用,其清除作用比维生素 E 还强,抗衰老作用明显^[3]。为了充分利用沙棘果资源,变废为宝,对沙棘果渣进行深加工具有重要的意义,为此,本课题进行了提取沙棘果渣中黄酮类物质的研究,成功的开发该项目将会给社会带来巨大的经济效益。

沙棘黄酮一般是用乙醇和水做提取剂。王尚义等^[4]采用水浸提取沙棘黄酮,但效果比较差。朱万靖等^[5]直接用乙醇从沙棘果渣中提取总黄酮,但 β -胡萝卜素白白浪费了。报道用超临界 CO_2 流体提取沙棘黄酮,由于设备等局限,没有广泛应用^[5]。本文以沙棘果渣为研究对象,进行提取方法和操作条件的优化研究。

1 材料与方法

1.1 材料与设备

沙棘果渣,内蒙古赤峰;95% 医用乙醇,北京化学试剂二厂;芦丁标准品,中国药品生物检定所;X-5

树脂,南开大学化工厂;石油醚(沸程 60~90℃)、甲醇、无水乙醇、无水三氯化铝均为分析纯。

恒温水浴锅,北京医疗设备厂;酒精计,国营武强县仪表厂;蠕动泵,保定兰格恒流泵有限公司;722 分光光度计,北京光学仪器厂;KQ-100DE 型医用数控超声波清洗器(40 KHZ),昆山市超声仪器有限公司。

1.2 实验方法

脱脂 取果渣 10 g,加入 80 mL 石油醚,浸泡 1 h 后,于水浴 70℃ 加热回流 1.5 h,过滤,再加入 60 mL 石油醚加热回流 1 h,过滤,滤液用来分离 β -胡萝卜素,干燥滤渣,待提取用(文中如没有特别说明,果渣在提取前都已脱脂)。

提取和精制 脱脂后的果渣用一定量的乙醇提取,提取液处理后用 X-5 树脂精制。精制过程如下:

沙棘果渣 $\xrightarrow{\text{石油醚脱脂,干燥}}$ 脱脂果渣 $\xrightarrow{\text{乙醇提取}}$ 提取液
回收乙醇 $\xrightarrow{\text{浓缩液}}$ 醇沉、离心 $\xrightarrow{\text{回收乙醇}}$ 黄酮水溶液
X-5 树脂吸附 $\xrightarrow{\text{乙醇洗脱}}$ 洗脱液 $\xrightarrow{\text{回收乙醇,干燥}}$ 黄酮产品

1.3 分析方法

参考文献[6]方法,提取液的总黄酮含量的分析采用分光光度计测定吸光度。绘制得标准曲线的回归方程为 $y = 0.0277A - 0.0003$, $r = 0.9998$

$$\text{总黄酮得率 } x = \frac{n \cdot V}{m} \times 100\%$$

式中: x 为黄酮质量浓度, g/L; A 为吸光度; r 为相关性因数; n 为样品稀释倍数; V 为提取液体积, L;

收稿日期: 2003-07-01

第一作者: 1978 年生,男,硕士生

*通讯联系人

E-mail: r.ma@mail.buct.edu.cn

m 为沙棘果渣的质量, g。

2 结果与讨论

2.1 提取剂的筛选

实验考察不同质量分数甲醇溶液和乙醇溶液、水作为提取剂在提取温度为 60, 提取 1 g 果渣的每次溶剂用量 V_a 为 8 mL, 提取次数为 3 次(每次为 1 h)条件下, 对沙棘果渣总黄酮得率 x 的影响, 实验结果如图 1 所示。

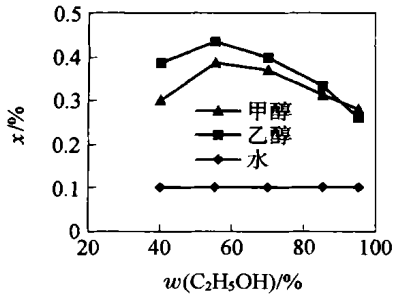


图 1 提取溶剂的筛选

Fig. 1 Selection of extraction solvents

由图 2 可知, 当乙醇质量分数 $w(C_2H_5OH)$ 为 55 % 时, 黄酮得率最高, 明显要比甲醇提取要高, 远高于水提取, 说明在此浓度下黄酮类化合物在乙醇溶液中的溶解度要明显大于在甲醇溶液和在水中的溶解度。由于黄酮类化合物具有多个苯环和酚羟基结构^[7], 苯环为非极性基团, 而酚羟基为亲水基团, 具有极性, 所以沙棘黄酮适宜用有一定碳链长度的适宜极性的混合溶剂提取。并且由于提取的总黄酮一般应用于医药和保健品, 而乙醇是对人体无毒有机溶剂, 因此选择乙醇作为提取溶剂。

2.2 脱脂对总黄酮提取效果的影响

实验在提取温度为 75, 提取 1 g 果渣每次乙醇溶液用量为 8 mL, 提取次数为 3 次(每次为 1 h)的条件下考察脱脂和不脱脂的提取效果, 实验结果见图 2。

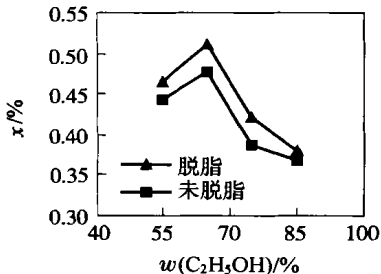


图 2 脱脂对总黄酮得率的影响

Fig. 2 Effect of degreasing on yield of total flavones

从图 2 可以看出, 在相同的乙醇浓度下, 先用石油醚脱脂后的提取效果明显好于未脱脂的提取效果。这是因为提取过程中, 提取溶剂对脂类物质的溶解, 降低了其对黄酮类化合物的溶解, 而通过高效液相分析石油醚提取的物质, 未发现黄酮类物质。因此提取前先用石油醚脱脂, 可以提高总黄酮得率。

2.3 脱脂对提取液后处理的影响

上述脱脂提取和未脱脂的提取液经过处理, 取等量同浓度的处理液, 通过 X-5 树脂柱, 用同浓度的等量的乙醇溶液洗脱, 结果见表 1。

表 1 脱脂和未脱脂提取液后续精制效果的比较

Table 1 Effects of degreasing and nondegreasing on consequent purification

	吸附率/ %	洗脱率/ %	纯度/ %
脱脂	83.49	88.51	23.37
未脱脂	80.34	88.01	20.60

由表 1 可以看出, 脱脂后提取液通过 X-5 树脂精制, 效果均好于未脱脂的提取液。未脱脂的提取液中含有脂类物质, 堵塞了树脂孔道, 降低了树脂对黄酮的吸附, 导致树脂对黄酮的吸附率下降, 而洗脱过程中, 黄酮类化合物和脂类物质都被洗脱下来, 导致总黄酮的纯度下降。

2.4 提取时间对总黄酮提取过程的影响

实验在以质量分数为 75 % 乙醇作为提取溶剂, 提取温度为 75, 提取 1 g 果渣的乙醇溶液的体积为 24 mL 的条件下, 考察提取时间对总黄酮提取过程的影响, 实验结果见图 3。

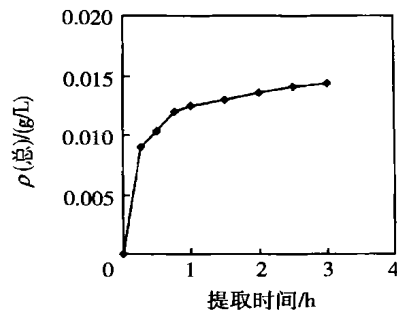


图 3 提取时间对提取过程影响

Fig. 3 Effect of time on extracting process

由图 4 可知, 在提取时间低于 1 h 时, 总黄酮浓度随时间增加而大幅度增加, 大于 1 h 后, 总黄酮浓度随时间变化的趋势减缓。在提取时间低于 1 h, 提取溶剂里面总黄酮浓度低, 而果渣里面总黄酮含量高, 两个体系有高浓度差, 传质推动力大, 所以总黄

酮浸出速率快。1 h 后,两个体系浓度梯度下降,传质推动力下降,总黄酮缓慢浸出。在提取过程中,为了提高提取效率和缩短生产周期,采取多次提取,每次提取 1 h。

2.5 正交实验

在上述单因素实验基础上,采用乙醇做提取溶剂,对乙醇浓度、提取温度、提取次数和每次溶剂用量对黄酮提取的影响进行了 $L_{16}(4^4)$ 正交实验,正交设计及正交实验结果如表 2 所示。

表 2 正交实验表及实验结果

Tab. 2 Orthogonal experiments and results

水平	$w(\text{C}_2\text{H}_5\text{OH})$	温度/	V_d/mL	次数	$x/\%$
	/ %	B	C	D	
A					
1	1(55)	1(65)	4(10)	4(5)	0.4705
2	1	2(70)	3(8)	2(3)	0.4743
3	1	3(75)	2(6)	1(2)	0.4480
4	1	4(80)	1(4)	3(4)	0.4785
5	2(65)	1	1	1	0.3873
6	2	2	2	3	0.4956
7	2	3	3	4	0.5335
8	2	4	4	2	0.5421
9	3(75)	1	2	2	0.4138
10	3	2	1	4	0.4449
11	3	3	4	3	0.4712
12	3	4	3	1	0.4641
13	4(85)	1	3	3	0.3822
14	4	2	4	1	0.3794
15	4	3	1	2	0.3663
16	4	4	2	4	0.4165
K_1	1.8713	1.6538	1.6770	1.6788	
K_2	1.9585	1.7942	1.7739	1.7965	
K_3	1.7940	1.8349	1.8541	1.8275	
K_4	1.5444	1.9012	1.8632	1.8654	
k_1	0.4678	0.4134	0.4193	0.4197	
k_2	0.4896	0.4486	0.4435	0.4491	
k_3	0.4485	0.4587	0.4637	0.4569	
k_4	0.3861	0.4753	0.4658	0.4664	
R	0.1035	0.0619	0.0465	0.0467	

正交实验结果表明,各因素对黄酮提取的影响次序为:乙醇浓度(A) > 提取温度(B) > 提取次数(D) > (C) 每次溶剂用量。乙醇浓度对黄酮得率影

响最大,以质量分数为 65 % 乙醇溶液作为提取溶剂提取效果最好。温度的影响次之,温度越高,提取效果越好,但是温度不能太高,太高的温度会导致黄酮的活性成分被破坏,杂质的溶出量也增加,给后续的精制带来不便。极差分析可以看出提取 1 g 果渣的每次溶剂用量达到 8 mL 后,总黄酮得率随溶剂用量的增加而增加很少。提取次数超过 3 次后,总黄酮得率随提取次数的增加而增加的幅度不大。所以在生产可以采用 $A_2B_4C_3D_2$, 并且验证实验表明:在 $A_2B_4C_3D_2$ 黄酮得率为 0.5344 %, 在正交的最优条件 $A_2B_4C_4D_4$, 黄酮得率为 0.5755 %, 黄酮得率比 $A_2B_4C_3D_2$ 条件下有一点提高,但是大大的增加了溶剂用量,延长了生产周期,增加了生产成本。

综合以上实验结果,沙棘果渣总黄酮常规提取的最佳条件是:质量分数为 65 % 的乙醇溶液作提取剂,提取温度为 80 , 提取 1 g 果渣的每次乙醇溶液用量为 8 mL,提取次数为 3 次(每次为 1 h)。

2.6 超声辅助提取和常规提取的比较

在上述常规提取的最佳条件下进行超声辅助提取,脱脂后的果渣先用超声波处理一定时间后,然后按常规提取,实验结果见表 3。

表 3 超声辅助提取和常规提取的比较

Table 3 Comparison between extracting with aid of ultrasonic wave and traditionally extracting

实验	处理时间/ min	提取次数	总提取时间/ h	提取 1 g 果渣	$x/\%$
				总的溶剂用量/ mL	
常规	0	3	3	24	0.5344
超声 1 [#]	5	2	2	16	0.5040
超声 2 [#]	15	2	2	16	0.5345
超声 3 [#]	25	2	2	16	0.5347

从表 3 可以看出超声预处理 15 min 提取 2 次就可以达到常规提取 3 次的总黄酮得率,而继续增加超声预处理时间,总黄酮得率基本保持不变。超声波具有机械、空化效应,破碎了植物细胞壁,从而黄酮类化合物能更快、更完全地溶出,从而大大减少溶剂用量和提取时间,超声处理 15 min 植物细胞壁已经基本破碎了,所以增加超声处理时间对总黄酮得率影响不大。

3 结论

(1) 乙醇溶液作为提取溶剂明显要优于甲醇溶

液和水作为提取溶剂;(2)采用石油醚先脱脂后提取的提取效果和后续黄酮精制效果都要比未脱脂提取好,(3)沙棘总黄酮常规提取的最佳条件:先用石油醚脱脂,质量分数为 65% 的乙醇溶液作提取剂,提取温度为 80℃,提取每 g 果渣的每次溶剂用量是 8 mL,提取次数为 3 次(每次为 1 h),在此条件下沙棘果渣提取总黄酮得率高达 0.5344%。(4)果渣提取前用超声预处理 15 min 可以大大节省提取溶剂用量和提取时间,而总黄酮得率保持不变。

本研究充分利用沙棘果渣资源,在提取总黄酮的过程中同时可以得到副产品-胡萝卜素;尝试了超声辅助提取,为沙棘黄酮提取开辟了新的思路;在最佳常规提取条件下有较高的总黄酮得率,为沙棘黄酮的开发利用提供了一定的依据。

参 考 文 献

- [1] 赵玉珍,武福亨. 沙棘中黄酮类化合物及其药用价值[J]. 沙棘,1997,10(1):39-41
- [2] 高锦明,李芸生,张鞍灵,等. 沙棘黄酮化学研究的进展[J]. 沙棘,1998,11(2):34-39
- [3] 王秉文,李小安,康军,等. 沙棘叶中黄酮的抗衰老作用的实验研究[J]. 沙棘,1998,11(2):26-31
- [4] 王尚义,郑玉霞,刘声普. 水浸提沙棘叶总黄酮的工艺研究[J]. 沙棘,2001,14(2):27-29
- [5] 朱万靖,倪培德,江志炜. 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] 邹运香,张晓光,赵国良,等. 沙棘叶中黄酮含量的测定[J]. 大连轻工业学院学报,1997,16(2):12-14
- [7] 刘莉华,宛晓春,李大祥. 黄酮类化合物抗氧化活性构效关系的研究进展[J]. 安徽农业大学学报,2002,29(23):265-270

Extraction of total flavones from marc of *Sea buckthorn*

Liu Xi-jian Wang Yan-hui Li Ping Ma Run-yu

(The Key Laboratory of Science and Technology of Controllable Chemical Reactions, Ministry of Education, Beijing University of Chemical Technology, Beijing 100029, China)

Abstract: The methods and optimum conditions of extracting total flavones from marc of *Sea buckthorn* was studied in this article. The effects of different solvents, degreasing and nondegreasing on the extraction were investigated. The conventional optimum technological conditions were attained by the orthogonal experiment as follows: degreasing with benzine first, extracted with 65% ethanol, extraction temperature 80℃, ethanol volume 8ml for 1 g marc every time, and extracting for 3 times (1 h for each time). The yield of total flavones on the conventional optimum conditions was 0.5344%. Total flavones was also extracted with the aid of ultrasonic wave, and the results showed that marc treated for 15 minutes by ultrasonic wave before extracting, the amount of the solvent used was greatly decreased and the extracting time was shortened, whereas the yield of total flavones was as high as 0.5345%.

Key words: marc of *Sea buckthorn*; total flavones; extraction; degrease; ultrasonic wave

(责任编辑 云志学)

北京化工大学图书馆被华北地区高等学校图书馆协作委员会评为先进集体

2003年9月,华北地区高等学校图书馆协作委员会在山西省大同市召开第十七届学术年会。此次会议,不仅进行了论文学术交流,还评出了北京地区高等学校图书馆先进集体和先进个人。北京共有高等学校98所,共评出15个先进图书馆。其中,北京化工大学图书馆被评为先进图书馆,另外李广慧、张国强两位老师被评为先进个人。