

青海野生西藏沙棘果渣黄酮的提取工艺

冯智鹏, 治贵生, 袁海, 马玉花

(青海大学 农牧学院, 青海 西宁 810016)

摘要:以青海野生西藏沙棘果实为试材,采用乙醇浸提法,设计单因素试验和正交实验,研究了料液比、提取时间、提取温度、乙醇浓度4个提取参数对总黄酮得率的影响,优化了提取工艺。结果表明:提取黄酮的最佳工艺为料液比 $1:60\text{ g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 、提取温度65℃、65%乙醇、提取2.0 h,对最佳工艺进行验证试验,总黄酮得率达到1.72%。4个因素中提取温度对提取效果影响最大,其次是乙醇浓度,提取时间和料液比对试验无影响。正交实验和验证试验优化了总黄酮提取工艺,该工艺提取率高,操作简便,无毒害,具有可信度。

关键词:西藏沙棘;总黄酮;提取工艺

中图分类号:TS 262.7 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2017)01-0142-06

沙棘(*Hippophae rhamnoides* L.)属胡颓子科(Elaeagnaceae)沙棘属的一种耐旱、耐盐碱的落叶灌木或小乔木,又名黑刺、酸柳、达普(藏名)^[1-2]。分布于亚欧大陆的温带、寒带和亚热带高山区,是一种良好的防风固沙树种^[3-4]。我国华北、西北、东北及西南地区是集中分布区。主要分布有6种(鼠李沙棘、柳叶沙棘、西藏沙棘、棱果沙棘、江孜沙棘、肋果沙棘)^[5]。西藏沙棘(*Hippophae thibetana*),别名鸡爪柳,植株高5~50 cm,果实球形,果顶端有6条放射状青褐色条纹,花期5—6月,果期9月^[6-7],生长在西藏、青海等海拔3 000~4 500 m的高原草地、河漫滩、低阶地和山麓^[8]。西藏沙棘中含沙棘油、黄酮、多糖、蛋白质、维生素等^[9],在医学、林学、食品保健、营养学等多个领域均有很高的利用价值。

黄酮类化合物在自然界中广泛存在,沙棘总黄酮主要存在于沙棘的叶、果实中,是沙棘含有的重要的生物活性物质,20世纪50年代,前苏联学者就用色谱技术从沙棘果实和叶片中鉴定出槲皮素、杨梅素、异鼠李素等30多种黄酮类物质^[10]。研究发现,

沙棘黄酮对抗心肌缺血、降血脂、抑制动脉硬化、预防癌症等疾病都有很好的功效^[11-13],这更加表明沙棘果实的黄酮成分具有开发和提取利用的价值。

目前,国内外对黄酮类化合物的提取方法主要包括有机溶剂提取法、超声波辅助提取法、微波法提取^[14]、酶法提取、分子烙印技术等^[15]。我国对沙棘黄酮的开发研究起步较晚,近几年,人们对天然生物活性物质的需求增加,沙棘黄酮的开发利用迅猛发展,但有关西藏沙棘黄酮成分提取的研究尚鲜见报道,该试验利用有机溶剂提取法以及正交设计试验^[16],对西藏沙棘黄酮成分进行提取,优化提取工艺,以期为今后西藏沙棘资源的开发利用提供依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

供试的西藏沙棘采自青海省大通县,采集的果实去除杂质,用冻干机冷冻干燥后冷冻保存。

恒温水浴锅,索式提取器,旋转蒸发仪,恒温加热套,果实粉碎机,真空泵,定性滤纸,无水乙醇,正己烷(分析纯),芦丁标准品购买自 Solarbio 生物试剂公司。

1.2 试验方法

1.2.1 西藏沙棘果实总黄酮的提取 冷冻干燥后的西藏沙棘果实粉碎并脱脂,称取5 g 脱脂后的沙棘果渣,在研钵中用70%乙醇研磨碎,按一定料液比($1:20\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$)加入一定浓度的乙醇,在合适温度的水浴下浸提,然后过滤,滤液定容至100 mL容量

第一作者简介:冯智鹏(1991-),男,青海西宁人,硕士研究生,研究方向为森林培育。E-mail:1655652839@qq.com。

责任作者:马玉花(1978-),女,回族,青海乐都人,博士,副教授,现主要从事森林培育理论与技术及植物资源开发利用等研究工作。E-mail:35613572@qq.com。

基金项目:中国科学院“西部之光”人才培养计划资助项目。

收稿日期:2016-09-29

瓶中得提取液,备用。再用分光光度计于 510 nm 波长测定提取液中总黄酮的含量。吸取样品量 1 mL 放入 10 mL 容量瓶中,用 70% 乙醇加到 2 mL,加入 5% 亚硝酸钠溶液 0.5 mL 摆匀,放置 6 min,加入 10% 硝酸铝溶液 0.5 mL,放置 6 min 后,加入 4% 氢氧化钠溶液 4 mL,加 70% 乙醇定容,摇匀后放置 15 min,在 510 nm 处测吸光度,根据标准曲线计算黄酮含量。总黄酮得率(%)=C×V×n/M×100,C—根据标准曲线计算出的提取液中黄酮的浓度(mg·mL⁻¹),V—提取液的总体积,n—稀释倍数,M—果渣的质量。

1.2.2 标准曲线的绘制 称量 13.2 mg 芦丁标准品,用 70% 乙醇定容到 25 mL 容量瓶中作标准液。准确吸取芦丁标准液 0、0.4、0.8、1.2、1.6、2.0 mL,放入 10 mL 容量瓶内(标记),分别加入 2.0、1.6、1.2、0.8、0.4、0 mL 的 70% 乙醇溶液,再加入 5% 亚硝酸钠溶液 0.5 mL 摆匀,放置 6 min,加入 10% 硝酸铝溶液 0.5 mL,放置 6 min 后,加入 4% 氢氧化钠溶液 4 mL,加 70% 乙醇定容,摇匀后放置 15 min,在 510 nm 处测吸光度,制作标准曲线。

1.2.3 提取溶剂的选择 选择无水乙醇、甲醇、乙酸乙酯、丙酮 4 种有机溶剂,取沙棘果渣 3 g,在料液比 1:30 g·mL⁻¹,温度 60 ℃ 的条件下浸提 2.0 h,测定提取液中的总黄酮含量,确定较佳提取溶剂,重复 3 次。

1.2.4 单因素试验 以料液比、提取温度、提取时间、乙醇浓度 4 个试验参数研究对西藏沙棘果渣中总黄酮含量的影响,根据结果确定有效提取参数,优化提取工艺,每组试验 3 次重复。料液比对黄酮含量的影响:用 70% 乙醇提取,提取时间 3.0 h,提取温度为 65 ℃,料液比 1:10、1:20、1:30、1:40、1:50、1:60 g·mL⁻¹,提取 3 次,计算黄酮含量,取平均值。提取时间对黄酮含量的影响:以 70% 乙醇为提取溶剂,料液比 1:20 mg·L⁻¹,提取温度 65 ℃,提取时间分别为 1.0、1.5、2.0、2.5、3.0 h,各提取 3 次,测定黄酮含量。提取温度对黄酮含量的影响:用 70% 乙醇提取,料液比为 1:20 g·mL⁻¹,提取时间 3.0 h,在提取温度 60、65、70、75、80 ℃ 的条件下,分别提取 3 次,计算黄酮含量,取平均值。乙醇浓度对黄酮含量的影响:以料液比为 1:20 g·mL⁻¹,提取时间 3.0 h,温度 65 ℃ 的条件下,在乙醇浓度为 60%、65%、70%、75%、80% 的梯度条件下分别提取 3 次,计算黄酮含量,取平均值。

1.2.5 正交实验 在单因素试验的基础上,以料液比、提取时间、提取温度、乙醇浓度为 4 因素,总黄酮

含量为指标,进行 L₁₆(4⁵)的正交实验设计,因素及水平见表 1。

表 1 正交实验的因素与水平

Table 1 Factors and levels of orthogonal experiment

	A 料液比 Solid-liquid ratio Level / (g·mL ⁻¹)	B 提取时间 Extraction time /h	C 提取温度 Extraction temperature/℃	D 乙醇浓度 Ethanol concentration/%	空列 columns
1	1:30	1.5	65	60	1
2	1:40	2.0	70	65	2
3	1:50	2.5	75	70	3
4	1:60	3.0	80	75	4

1.3 数据分析

试验数据采用 Excel、DPS 软件进行处理和方差分析。

2 结果与分析

2.1 标准曲线绘制结果

以黄酮浓度(X)为横坐标,吸光值(Y)为纵坐标绘制标准曲线,考察线性关系。回归方程为 Y=0.001 1X-0.001 6, R²=0.999 3。

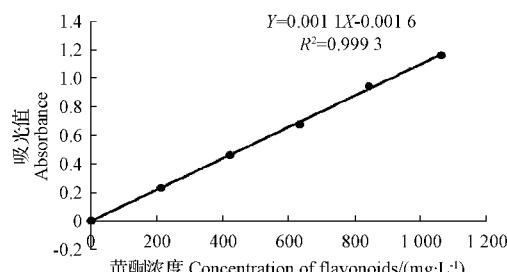


图 1 黄酮标准曲线

Fig. 1 Standard curve of flavonoids

2.2 提取溶剂对黄酮含量的影响

由图 2 可知,4 种有机溶剂提取西藏沙棘总黄酮,丙酮的提取效果最好,得率达到 1.385%,其次是乙醇,得率为 1.052%,乙酸乙酯提取效果最差,只有 0.528%。虽然丙酮提取效果最好,但考虑到丙酮具

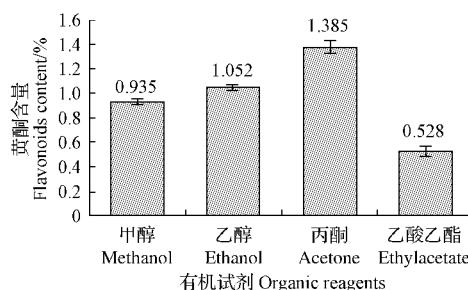


图 2 提取溶剂的选择

Fig. 2 Selection of solvents

有毒性,而无水乙醇提取效果较好,没有毒性,且价格低廉、是理想的提取剂,因此,最终选择乙醇为西藏沙棘果渣黄酮的提取溶剂。由表2可以看出,4种溶剂对西藏沙棘果渣黄酮提取的影响达到极显著水平($P<0.01$)。表3多重比较结果表明,4种溶剂间乙醇与甲醇对黄酮得率影响无显著差异,而丙酮、乙酸乙酯与乙醇和甲醇对得率影响存在极显著差异($P<0.01$)。

表2 不同溶剂对西藏沙棘黄酮提取的方差分析

Table 2 Analysis of variance of different solvents extracting Tibet *Hippophae rhamnoides* flavonoids

变异来源	平方和	自由度	均方	F值	P值
Sources of variation	Sum of square	Degree of freedom	Mean square	F value	P value
处理间 Between processing	1.127	3	0.376	91.553	0.000 1
处理内 Within processing	0.033	8	0.004		
总变异 Total variation	1.159	11			

表3 不同溶剂对沙棘黄酮提取差异显著性分析

Table 3 Significant difference analysis of different solvents extracting *Hippophae rhamnoides* flavonoids

溶剂 Solvent	得率均值 Yield mean	5%显著水平 5% significant	1%极显著水平 1% significant
	value/%	level	level
丙酮 Acetone	1.385±0.044	a	A
乙醇 Ethanol	1.052±0.038	b	B
甲醇 Methanol	0.935±0.087	b	B
乙酸乙酯 Ethyl acetate	0.528±0.074	c	C

2.3 料液比对黄酮含量的影响

由图3可知,随着料液比的增加,提取的黄酮含量逐渐增加,当料液比达到1:50 g·mL⁻¹时,黄酮得率最大为1.605%,当料液比大于1:50 g·mL⁻¹时,得率逐渐下降,再增加料液比,对提取效果没有太大影响,因此,在料液比为1:50 g·mL⁻¹时,提取效果更好。由表4可知,不同料液比对西藏沙棘果

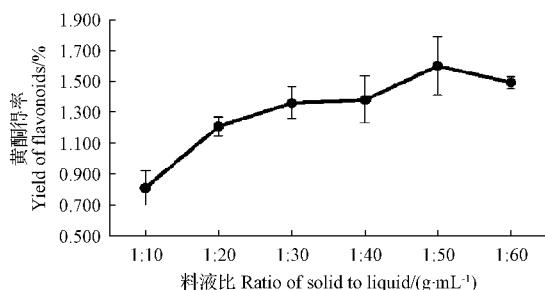


图3 料液比对黄酮得率的影响

Fig. 3 Effect of solid-liquid ratio on flavonoid yield

实黄酮得率的影响差异极显著($P<0.01$)。表5多重比较显示,料液比1:50 g·mL⁻¹与1:60、1:40、1:30、1:20 g·mL⁻¹之间及1:10 g·mL⁻¹与1:60、1:40、1:30、1:20 g·mL⁻¹之间黄酮得率影响无极显著差异,而1:50 g·mL⁻¹与1:10 g·mL⁻¹之间对得率影响差异极显著($P<0.01$)。

表4 料液比对西藏沙棘黄酮提取的方差分析

Table 4 Analysis of variance of solid-liquid ratio of Tibetan *Hippophae rhamnoides* flavonoids

变异来源	平方和	自由度	均方	F值	P值
Sources of variation	Sum of square	Degree of freedom	Mean square	F	P
处理间 Between processing	1.161	5	0.232	5.317	0.008
处理内 Within processing	0.524	12	0.044		
总变异 Total variation	1.685	17			

表5 料液比对西藏沙棘黄酮提取的差异显著性分析

Table 5 Difference significance analysis of solid-liquid ratio of Tibetan *Hippophae rhamnoides* flavonoids

料液比 Solid-liquid ratio /(g·mL⁻¹)	得率均值 Yield mean value /%	5%显著水平 5% significant	1%极显著水平 1% significant
		level	level
1:60	1.494±0.104	a	AB
1:50	1.605±0.190	a	A
1:40	1.385±0.180	a	AB
1:30	1.366±0.263	ab	AB
1:20	1.212±0.331	ab	AB
1:10	0.812±0.067	b	B

2.4 提取时间对黄酮含量的影响

由图4可知,随着时间的延长,黄酮得率逐渐增加,在时间达到2.5 h后,提取效果最高,得率达到1.573%。2.5 h之后,提取效果开始下降,而且提取时间过长,不仅增加试验困难,而且易造成黄酮类物质的变性分解。因此最终确定提取最佳时间为2.5 h。由表6方差分析结果可知,说明西藏沙棘果渣黄酮的得率在不同提取时间下达到极显著水平

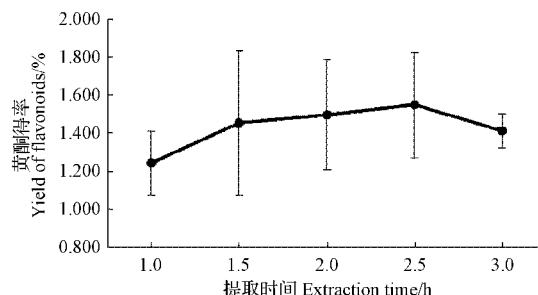


图4 提取时间对黄酮得率的影响

Fig. 4 Effect of extraction time on flavonoid yield

($P<0.01$)。表 7 的多重比较结果表明,不同提取时间对黄酮得率影响的比较中,2.5、2.0、1.5 h 与 3.0 h 之间无显著差异,1.5、3.0 h 与 1.0 h 之间也无显著差异,而 2.5、2.0 h 与 1.0 h 之间对黄酮得率的影响差异极显著($P<0.01$)。

表 6 提取时间对西藏沙棘黄酮提取的方差分析

Table 6 Analysis of variance of extraction time of Tibet *Hippophae rhamnoides* flavonoids

变异来源	平方和	自由度	均方	F 值	P 值
Sources of variation	Sum of square	Degree of freedom	Mean square	F value	P value
处理间 Between processing	0.181	4	0.045	10.401	0.001 4
处理内 Within processing	0.044	10	0.004		
总变异 Total variation	0.225	14			

表 7 提取时间对西藏沙棘黄酮提取的差异显著性分析

Table 7 Significant difference analysis of extraction time of Tibet *Hippophae rhamnoides* flavonoids

提取时间 Extraction time/h	得率均值 Yield mean value/%	5% 显著水平 5% significant level	1% 极显著水平 1% significant level
2.5	1.573±0.039	a	A
2.0	1.501±0.079	a	A
1.5	1.456±0.077	a	AB
3.0	1.415±0.060	ab	AB
1.0	1.245±0.067	b	B

2.5 提取温度对黄酮含量的影响

由图 5 可知,刚开始提取时,随着温度逐渐增加,黄酮得率逐渐增加,温度达到 75 ℃,提取得率最大达到 1.596%,温度超过 75 ℃后,提取效果下降,这是因为温度过高会使一些黄酮类物质发生降解,致使含量下降。此外,随着温度的升高,溶剂的易挥发性会降低回收率,增加提取成本,因此,选择 75 ℃为最佳提取温度。由表 8 方差分析结果可知,不同提取温度对果渣黄酮得率的影响达到极显著水平($P<0.01$)。表 9 多重比较结果表明,不同提取温度

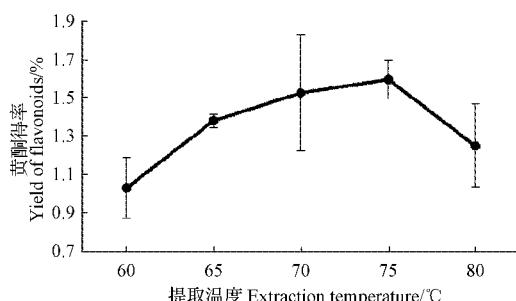


图 5 提取温度对黄酮得率的影响

Fig. 5 Effect of temperature on flavonoid yield

的比较在 75 ℃与 70 ℃、70 ℃与 65 ℃、65 ℃与 80 ℃之间对黄酮得率的影响差异不显著,75 ℃与 65、80、60 ℃之间对得率影响达到极显著差异水平。

表 8 提取温度对西藏沙棘黄酮提取的方差分析

Table 8 Analysis of variance of extraction temperature of Tibetan *Hippophae rhamnoides* flavonoids

变异来源	平方和	自由度	均方	F 值	P 值
Sources of variation	Sum of square	Degree of freedom	Mean square	F value	P value
处理间 Between processing	0.613	4	0.153	50.051	0.000 1
处理内 Within processing	0.031	10	0.003		
总变异 Total variation	0.643	14			

表 9 温度对西藏沙棘黄酮提取的差异显著性分析

Table 9 Difference significant analysis of temperature for Tibet *Hippophae rhamnoides* extract

温度 Temperature/℃	得率均值 Yield mean value/%	5% 显著水平 5% significant level	1% 极显著水平 1% significant level
75	1.596±0.065	a	A
70	1.527±0.020	ab	AB
65	1.383±0.031	bc	BC
80	1.251±0.001	c	C
60	1.031±0.098	d	D

2.6 乙醇浓度对黄酮含量的影响

由图 6 可知,提取得率随着乙醇浓度的增加而增加。当浓度达到 70%,得率最大达到 1.370%,浓度超过 70% 后,得率下降,继续增加乙醇浓度,对黄酮含量几乎没有影响。因此,选择 70% 为最佳提取浓度。从表 10 可以看出,不同乙醇浓度对西藏沙棘果实黄酮得率的影响差异达到极显著水平。由表 11 可知,乙醇浓度梯度间的比较中,70% 乙醇、65% 乙醇、80% 乙醇对得率影响无显著差异,75% 乙醇与 80% 乙醇对得率影响也无显著差异,70% 乙醇、65% 乙醇与 60% 乙醇之间对得率差异极显著($P<0.01$)。

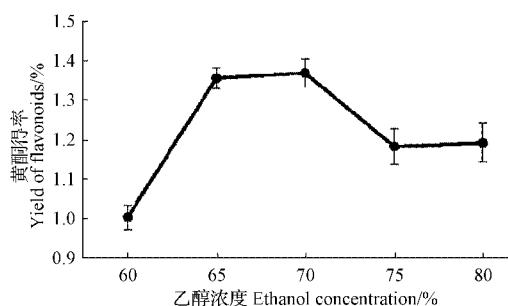


图 6 乙醇浓度对黄酮含量的影响

Fig. 6 Effect of ethanol concentration on flavonoid content

表 10 不同乙醇浓度对西藏沙棘黄酮提取的方差分析

Table 10 Variance analysis of different concentrations of ethanol in Tibet *Hippophae rhamnoides* extract

变异来源	平方和	自由度	均方	F 值	P 值
Sources of variation	Sum of square	Degree of freedom	Mean square	F	P
处理间 Between processing	0.272	4	0.068	15.279	0.000 3
处理内 Within processing	0.044	10	0.004		
总变异 Total variation	0.316	14			

表 11 乙醇浓度对沙棘黄酮提取率的差异显著性分析

Table 11 Difference significant analysis of ethanol concentration for *Hippophae rhamnoides* extraction yield

乙醇浓度	得率均值	5% 显著水平	1% 极显著水平
Ethanol concentration / %	Yield mean value / %	5% significant level	1% significant level
70	1.370±0.054	a	A
65	1.356±0.045	ab	A
80	1.192±0.061	ab	AB
75	1.182±0.078	b	AB
60	1.003±0.087	c	B

2.7 正交实验

由表 12 结果可知,4 个单因素对西藏沙棘果渣中黄酮得率影响最大的是提取温度,其次是乙醇浓度、提取时间,料液比影响最小。根据 4 个因素在正交实验中的水平变化,最后选择较优的提取工艺为 A₄B₂C₁D₂,即料液比 1:60 mg·L⁻¹、提取时间 2 h、提取温度 65 °C、乙醇浓度 65%。

表 13

正交实验方差分析

Table 13 Orthogonal test analysis of variance

变异来源	平方和	自由度	均方	F 值	P 值	变异来源
Sources of variation	Sum of square	Degree of freedom	Mean square	F value	P value	Sources of variation
料液比 Solid-liquid ratio	0.042	3	0.014		$F_{0.01}(3,9)=6.992$	
提取时间 Extraction time	0.069	3	0.023		$F_{0.05}(3,9)=3.863$	
提取温度 Extraction temperature	0.502	3	0.168	8.890	$F_{0.1}(3,9)=2.813$	***
乙醇浓度 Ethanol concentration	0.150	3	0.050	2.660	$F_{0.25}(3,9)=1.632$	○
误差 Error	0.060	3	0.020			
修正误差 Correcting errors	0.170	9	0.018 9			
总和 Sum	0.822					

($P<0.01$),乙醇浓度对黄酮得率有一定影响($P<0.25$),而料液比和提取时间对黄酮得率的影响没有显著性差异。

2.9 验证试验

结合单因素试验和正交实验结果,取料液比 1:60 g·mL⁻¹,用 65% 的乙醇在 65 °C 下提取 2.0 h,进行 3 次平行试验对结果验证,由表 14 可知,在最佳提取工艺条件下得到的黄酮得率平均值为 1.722%,高于正交实验中的其它试验,说明试验结果有效。

表 12 正交实验结果分析

Table 12 Results of orthogonal experiment analysis

试验号 Experiment No.	料液比 Solid-liquid ratio / (g·mL ⁻¹)	提取时间 Extraction time / h	提取温度 Extraction temperature / °C	乙醇浓度 Ethanol concentration / %	空列 Empty columns	黄酮得率 Flavonoids yield / %
1	1:30	1.5	65	60	1	1.524
2	1:30	2.0	70	65	2	1.463
3	1:30	2.5	75	70	3	1.230
4	1:30	3.0	80	75	4	1.042
5	1:40	1.5	70	70	4	1.229
6	1:40	2.0	65	75	3	1.497
7	1:40	2.5	80	60	2	1.190
8	1:40	3.0	75	65	1	1.545
9	1:50	1.5	75	75	2	1.331
10	1:50	2.0	80	70	1	1.195
11	1:50	2.5	65	65	4	1.689
12	1:50	3.0	70	60	3	1.120
13	1:60	1.5	80	65	3	1.298
14	1:60	2.0	75	60	4	1.719
15	1:60	2.5	70	75	1	1.041
16	1:60	3.0	65	70	2	1.734
K1	5.260	5.382	6.444	5.553	5.305	
K2	5.461	5.874	4.854	5.995	5.718	
K3	5.335	5.150	5.826	5.388	5.145	
K4	5.792	5.442	4.725	4.911	5.679	
k1	1.315	1.346	1.611	1.388	1.326	
k2	1.365	1.469	1.213	1.499	1.430	
k3	1.334	1.287	1.456	1.347	1.286	
k4	1.448	1.360	1.181	1.228	1.420	
R	0.133	0.181	0.430	0.271	0.143	

2.8 方差分析与显著性检验

根据正交实验结果,对各因素进行方差分析,判断其对试验结果的影响。方差分析结果表明(表 13),提取温度对总黄酮得率的影响差异极显著

正交实验方差分析

Table 13 Orthogonal test analysis of variance

变异来源	平方和	自由度	均方	F 值	P 值	变异来源
Sources of variation	Sum of square	Degree of freedom	Mean square	F value	P value	Sources of variation
料液比 Solid-liquid ratio	0.042	3	0.014		$F_{0.01}(3,9)=6.992$	
提取时间 Extraction time	0.069	3	0.023		$F_{0.05}(3,9)=3.863$	
提取温度 Extraction temperature	0.502	3	0.168	8.890	$F_{0.1}(3,9)=2.813$	***
乙醇浓度 Ethanol concentration	0.150	3	0.050	2.660	$F_{0.25}(3,9)=1.632$	○
误差 Error	0.060	3	0.020			
修正误差 Correcting errors	0.170	9	0.018 9			
总和 Sum	0.822					

表 14 验证试验结果

Table 14 Verification test results

验证试验 Verification test	总黄酮得率 Flavonoids yield / %	得率均值 Yield mean value
1	1.667	
2	1.789	1.722
3	1.712	

3 结论与讨论

试验选择乙醇、甲醇、丙酮、乙酸乙酯 4 种有机

溶剂分别提取沙棘黄酮,最终确定无毒,价格低廉的乙醇作为最佳提取剂。通过设定的料液比、提取时间、提取温度、乙醇浓度4个参数进行单因素和正交实验,结果显示影响西藏沙棘果渣总黄酮得率最大的因素是提取温度,对试验影响非常显著,其次是乙醇浓度,对结果有一定影响,提取时间和料液比对试验几乎无影响。根据正交实验及方差分析结果,确定提取西藏沙棘果渣黄酮提取的较优工艺是料液比 $1:60\text{ g}\cdot\text{mL}^{-1}$,提取时间2.5 h,提取温度65 °C,乙醇浓度65%。该试验的研究结果可为西藏沙棘的开发利用提供技术支持。

祖元刚等^[17]利用超声波法优化了沙棘叶总黄酮的提取工艺在最佳工艺条件下总黄酮的提取率为1.72%;朱洪梅等^[18]通过纤维素酶法研究了沙棘黄酮类化合物的提取工艺,最高得率为0.95%;赵春健等^[19]选择匀浆法提取沙棘总黄酮,在优化条件下,总黄酮提取率为0.76%。因此,超声波、酶提取等方法虽然用时短,但提取效率略低,成本高,且存在酶以及超声波辐射对生物活性物质分解的可能性。而溶剂提取法是提取沙棘果渣的总黄酮最常用的方法^[20],操作简便,提取效率较其它方法更高,该试验选择乙醇作提取剂,无毒害性,且节约成本。随着经济发展,沙棘黄酮的提取方法还在深入研究,选择低成本高效率的提取方法,充分利用沙棘资源,保证提取物的生物活性,需要进一步关注和探讨。

参考文献

- [1] 付媛,李金梅,张霞.沙棘的化学成分及其保健功能研究进展[J].内蒙古石油化工,2008,34(23):13-14.
- [2] 陈海芳,周文明.沙棘叶总黄酮提取工艺和化学成分研究[D].杨凌:西北农林科技大学,2006.
- [3] 李晓花,孔令学,刘洪章.沙棘有效成分研究进展[J].吉林农业大学学报,2007,29(2):126-127.
- [4] 焦岩,王振宇.大果沙棘黄酮分离纯化及生物活性研究[D].哈尔滨:东北林业大学,2010.
- [5] 金怡,姚敏.沙棘研究概况[J].中医药信息,2003,20(3):21-22.
- [6] 刘素英,王宁.青海省西藏沙棘资源[J].青海农林科技,1997(3):37.
- [7] 何世玉.西藏沙棘[J].中国水土保持,1994,11(12):32.
- [8] 温江波,孙坤,晏民生,等.青海高原东缘西藏沙棘果实现状变异[J].植物研究,2010,30(2):164-169.
- [9] 同涛,罗丽梅,谢竹田,等.沙棘的化学成分及生物功能的研究进展[J].吉林医药学院学报,2009,31(1):52-54.
- [10] 姜少娟,马养民.沙棘果渣黄酮类成分的提取和分离[D].杨凌:西北农林科技大学,2006.
- [11] 周张章,周才琼,阙健全.沙棘的化学成分及保健作用研究进展[J].食品科技,2005,12(2):15-17.
- [12] 包明兰,巴根那,拉喜那木吉拉.蒙药沙棘中黄酮类成分的提取工艺研究[J].中国民族医药杂志,2010,33(4):51-53.
- [13] 吴业飞,刘仲华.雪菊黄酮提取与分离纯化工艺技术研究[D].长沙:湖南农业大学,2014.
- [14] 陈金娥,赵丽婷,赵二劳,等.微博萃取-正交优化设计沙棘黄酮提取工艺[J].中成药,2007,29(11):1612-1614.
- [15] 刘高波,康传红.沙棘黄酮提取工艺及抗氧化性能研究[D].哈尔滨:黑龙江大学,2007.
- [16] 侯宵.正交试验法优化沙棘黄酮的提取工艺[J].国际沙棘研究与开发,2010,8(3):21-24.
- [17] 祖元刚,赵春健,付玉洁,等.正交试验法优选沙棘总黄酮的超声波提取工艺[J].林产化学与工业,2005,25(3):85-88.
- [18] 朱洪梅,赵猛,王文晖,等.酶法提取沙棘叶中黄酮的研究[J].农业与技术,2008,28(6):30-32.
- [19] 赵春健,祖元刚,付玉洁,等.匀浆法提取沙棘果中总黄酮的工艺研究[J].林产化学与工业,2006,26(2):38-40.
- [20] 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.

Extraction Technology for Flavonoids From Fruit Marc of Wild *Hippophae thibetana* in Qinghai

FENG Zhipeng, YE Guisheng, YUAN Hai, MA Yuhua

(Institute of Agriculture and Animal Husbandry, Qinghai University, Xining, Qinghai 810016)

Abstract: The effects of four extraction parameters on the total flavonoids yield were optimized by taking Qinghai wild *Hippophae thibetana* fruit as material, using ethanol extraction, single factor test and orthogonal test. The effects of the ratio of material to liquid, extraction time, extraction temperature and ethanol concentration on the content of total flavonoids were studied. The extraction process was optimized. The results showed that the optimal extraction conditions were as follows: under the condition of the ratio of material to liquid $1:60\text{ g}\cdot\text{mL}^{-1}$, extraction temperature 65 °C, extracting 2.0 hours with 65% ethanol, the optimal yield was 1.72%. The extraction temperature was the most important factor among the four factors, followed by ethanol concentration, extraction time and the ratio of material to liquid. Orthogonal and validate the experiment to optimize the total flavonoids extraction process, the extraction rate was high, simple, non-toxic, with credibility.

Keywords: *Hippophae thibetana*; total flavonoids; extraction technology