

DOI: 10.13718/j.cnki.xdzk.2015.03.026

皱皮木瓜皮渣齐墩果酸、熊果酸和总黄酮连续提取工艺研究^①

卞京军, 程密密, 刘世尧,
白志川, 韦正鑫, 蔡娟

西南大学 园艺园林学院/南方山地园艺学 教育部重点实验室, 重庆 400715

摘要: 采取高效液相色谱法与三氯化铝比色法检测皱皮木瓜皮渣齐墩果酸、熊果酸和总黄酮得率, 通过单因素试验进行 3 种物质提取因素敏感区域确定, 并利用正交试验设计进行 3 种物质连续提取工艺指标优化研究. 结果表明: ① 齐墩果酸、熊果酸: 超声提取, 乙醇体积分数 95%, 料液比为 1:10(g/mL), 提取温度 70℃, 提取时间 40 min, 此时得率最高, 为 1.677%; ② 总黄酮: 超声提取, 乙醇体积分数 50%, 料液比为 1:25(g/mL), 提取温度 60℃, 提取时间 70 min, 此时得率最高, 为 0.527%.

关键词: 皱皮木瓜; 齐墩果酸; 熊果酸; 高效液相色谱法(HPLC); 总黄酮; 正交试验

中图分类号: R284.2

文献标志码: A

文章编号: 1673-9868(2015)03-0158-08

皱皮木瓜 [*Chaemmeles speciosa* (Sweet) Nakai] 为蔷薇科木瓜属植物贴梗海棠的果实, 贴梗海棠为我国古老的树种. 皱皮木瓜具有药用、食用、观赏等多种用途, 药用价值与营养保健价值极大. 味酸性温, 入肝、脾经, 有健脾开胃, 去湿舒筋之功效, 临床用以治疗吐泻转筋、湿痹、脚气、水肿、痢疾及维生素 C 缺乏症等疾病^[1]. 皱皮木瓜化学成分研究表明, 其中含有超氧化物歧化酶、五环三萜有机酸、黄酮类、抗坏血酸、苹果酸、酒石酸以及皂甙、鞣质等多种成分, 其中三萜酸与黄酮类是皱皮木瓜皮渣中的重要活性成分. 齐墩果酸和熊果酸是皱皮木瓜的主要药效成分, 据文献报道, 齐墩果酸具有消炎抑菌、降低转氨酶的作用, 还有促进肝细胞再生、防止肝硬化、强心、利尿、降血脂、降血糖、增强有机体免疫功能、抑制变态反应等作用, 是当前治疗肝炎的有效药物之一, 近年又被证明具有抗癌活性. 齐墩果酸是五环三萜类化合物, 分子式为 $C_{30}H_{48}O_3$, 熊果酸是齐墩果酸的同分异构体, 药理研究证明其具有显著的抗癌、促进免疫、降血脂和降血糖功效. 二者结构复杂, 尚无合成品, 主要靠从植物中提取获得. 皱皮木瓜总黄酮包括槲皮素、芦丁等多种活性物质, 具有稳定血管、增强毛细血管弹性和降低血压等作用^[2-5]. 近年来随着重庆皱皮木瓜鲜果加工业的发展, 生产超氧化物歧化酶后的鲜果皮渣排放量也在逐年增加, 造成了原料的大量浪费. 而目前我国对皱皮木瓜皮渣的开发缺少有效的手段, 不仅影响了果业的可持续发展, 也造成了一定的环境污染^[6]. 关于木瓜鲜果的齐墩果酸、熊果酸和总黄酮的提取研究, 王志芳等人进行了木瓜中齐墩果酸和熊果酸提取工艺的研究^[7], 陈翠等人对木瓜中总黄酮提取最佳工艺进行了研究^[8], 唐媛媛等人利用 HPLC 法同时测定野木瓜中齐墩果酸与熊果酸^[9], 目前以皱皮木瓜鲜果皮渣为试材进行齐墩果酸、熊果酸和总黄酮连续提取研究还少见文献报道.

本实验以超声法提取超氧化物歧化酶所得的皱皮木瓜鲜果皮渣为试材, 选择超声辅助法进行齐墩果酸、

① 收稿日期: 2014-07-16

基金项目: 重庆市科技攻关计划项目(CSTC, 2009AC1180).

作者简介: 卞京军(1989-), 男, 山东临沂人, 硕士研究生, 主要从事植物资源化学研究.

通信作者: 刘世尧, 副教授.

熊果酸和总黄酮连续提取工艺优化研究,即先进行齐墩果酸、熊果酸的提取,然后继续利用提取齐墩果酸、熊果酸后的残渣进行总黄酮的提取,从而实现其连续提取工艺的优化研究.通过单因素多水平试验对提取方法、提取溶剂、提取温度、提取时间和料液比敏感性水平进行探索,进而采用正交试验,优化皱皮木瓜 SOD 提取皮渣中齐墩果酸、熊果酸与总黄酮连续提取工艺,旨在确定其最佳提取工艺,为重庆皱皮木瓜果业皮渣的有效开发利用提供理论支撑,以期为扩大皱皮木瓜工业生产及其产品的开发利用提供参考依据.

1 仪器、材料、试剂与方法

1.1 仪器

DU730 核酸蛋白分析仪(美国贝克曼库尔特公司),DHG-9240A 电热恒温鼓风干燥箱(上海齐欣科学仪器有限公司),FE-10 高速药材粉碎机(浙江温岭市百乐粉碎设备厂;),KQ-5200DE 型数控超声波清洗机(河南兄弟仪器设备有限公司),TDL-5A 型菲恰尔台式离心机(上海菲恰尔分析仪器有限公司),Mol-gene210a 型超纯水机(上海摩尔科学仪器有限公司),Mettler Toledo 万分之一电子天平(瑞士梅特勒-托利多公司),沃特斯 e2695 高效液相色谱仪(沃特世科技(上海)有限公司).

1.2 材料

实验样品于 2013 年 9 月采集于重庆綦江县石壕镇.皱皮木瓜提取 SOD 后将皮渣经 45 °C 恒温鼓风干燥至恒重,粉碎,过 80 目筛,备用.

1.3 试剂

芦丁标准品(纯度 $\geq 98\%$,生产批号 100080-200707,中国食品药品检定研究院),齐墩果酸(110709-200505)、熊果酸(110742-200516)标准品(纯度 99% 以上,HPLC 含量测定级,中国标准物质网),乙醇(95%),甲醇,盐酸,氢氧化钠,三氯甲烷,石油醚(60~90 °C),乙酸乙酯,丙酮,乙胺,冰乙酸.以上均为分析纯.

1.4 实验方法

工艺流程:皱皮木瓜提取 SOD 后皮渣烘干→打粉→过筛→齐墩果酸、熊果酸提取→HPLC→烘干提取齐墩果酸、熊果酸后的皮渣→总黄酮提取→ AlCl_3 比色法检测

1.4.1 齐墩果酸、熊果酸提取方法

精确称取 1.000g 皱皮木瓜皮渣粉末,置于 50 mL 的离心管中,根据实验要求,按照不同的提取方法(浸提提取、渗漉提取、回流提取、超声提取),提取溶剂(80%乙醇、85%乙醇、90%乙醇、95%乙醇、甲醇)、提取温度(30,40,50,60,70,80 °C)、提取时间(20,30,40,50,60,70,80 min)以及不同料液比[1:5,1:10,1:15,1:20,1:25,1:30(g/mL)]进行提取,离心,提取 2 次,合并 2 次提取液,摇匀,然后用 0.22 μm 微孔滤膜过滤,即得供试品溶液,3 个平行重复.将提取残渣放入烘干箱进行 45 °C 恒温烘干至恒重.

1.4.2 齐墩果酸、熊果酸标准品溶液配制

精密称取 11.8 mg 齐墩果酸标准品和 12.6 mg 熊果酸标准品,分别用 10 mL 容量瓶甲醇定容,摇匀,配制成 1.18 mg/mL 的齐墩果酸标准品母液和 1.26 mg/mL 的熊果酸标准品母液.

1.4.3 HPLC 检测方法

参照唐维媛^[9]与中国药典(2010 年版一部)^[10]报道方法并优化,利用 HPLC-PDA 法进行送检样品中齐墩果酸与熊果酸含量测定.色谱条件:色谱柱为 Waters SunFire C18 柱(4.6 mm \times 150 mm,5 μm);流动相:甲醇-0.1%磷酸(90:10,V/V);柱温 35 °C;检测波长 210 nm;流量 0.8 mL/min;进样量:10 μL ,检测时间 30 min.

1.4.4 齐墩果酸、熊果酸标准曲线的绘制

分别精确吸取齐墩果酸标准品母液 0.25,0.50,1.00,2.00,2.50 mL 置于 10 mL 容量瓶,甲醇定容至刻度,摇匀,即得 0.029 5,0.059 0,0.118 0,0.236 0,0.295 0 mg/mL 系列浓度的标准品溶液.在上述色谱条件下,将以上各浓度的对照品溶液分别进样 10 μL 进行测定.得齐墩果酸线性回归方程:

$$Y = 5E + 06X + 133\ 247 \quad R = 0.991\ 9, n = 5$$

结果表明齐墩果酸在 0.029 5~0.295 0 mg/mL 呈良好的线性关系(图 1).

分别精确吸取熊果酸标准品母液 0.25,0.50,1.00,2.00,2.50 mL 置于 10 mL 容量瓶,甲醇定容至刻度,摇匀,即得 0.031 5,0.063 0,0.094 5,0.189 0,0.315 0 mg/mL 系列浓度的标准品溶液.在上述色谱条

件下, 将以上各浓度的对照品溶液分别进样 $10 \mu\text{L}$ 进行测定. 得熊果酸线性回归方程:

$$Y = 4E + 06X + 107\ 563 \quad R = 0.996\ 3, n = 5$$

结果表明熊果酸在 $0.0315 \sim 0.3150 \text{ mg/mL}$ 呈良好的线性关系(图 2).

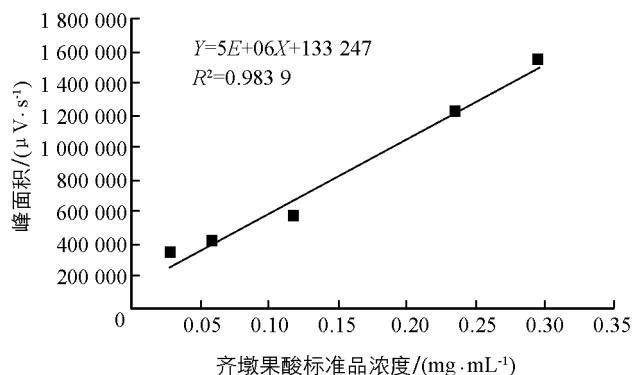


图 1 齐墩果酸标准曲线

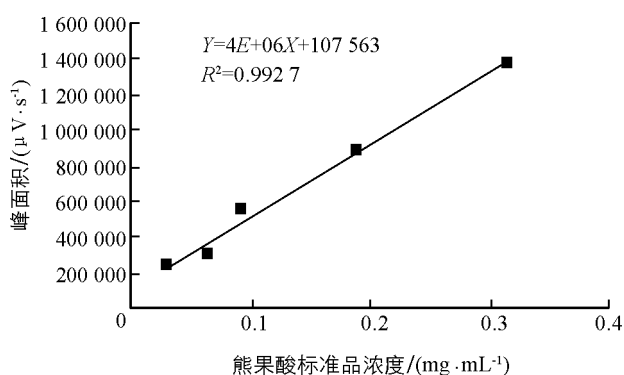


图 2 熊果酸标准曲线

1.4.5 总黄酮提取方法

精确称取 1.000 g 烘干后皱皮木瓜皮渣粉末, 置于 50 mL 的离心管中, 根据实验要求, 按照不同的提取方法(索式提取、浸提提取、超声提取、回流提取、渗漉提取)、提取溶剂(45% , 50% , 55% , 60% , 65% , 70% , 75% , 80% 乙醇)、提取温度($30, 40, 50, 60, 70, 80 \text{ }^\circ\text{C}$)、提取时间($10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80 \text{ min}$)以及不同料液比[$1:5, 1:10, 1:15, 1:20, 1:25, 1:30(\text{g/mL})$]进行提取, 离心, 提取 2 次, 合并 2 次提取液, 摇匀, 即得供试品溶液, 3 个平行重复.

1.4.6 芦丁标准曲线的绘制

精密称取芦丁标准品 68 mg , 置于 100 mL 容量瓶中, 加入浓度 70% 的乙醇使之溶解, 然后定容至刻度, 摇匀, 即得 0.68 mg/mL 的芦丁标准溶液. 精密吸取芦丁标准品溶液配制成浓度分别 $0.000\ 503, 0.001\ 06, 0.002\ 12, 0.004\ 25, 0.008\ 5, 0.017 \text{ mg/mL}$ 的对照品溶液, 各分别加 1 mL 浓度 10% 三氯化铝溶液, 再加浓度 60% 甲醇定容至 25 mL , 摇匀, 同时设空白对照. 经波段扫描选择 406 nm 波长处测定吸光值. 计算得线性回归方程:

$$Y = 44.484X + 0.024\ 3 \quad R = 0.995\ 9, n = 6$$

表明芦丁在 $0.000\ 503 \sim 0.017 \text{ mg/mL}$ 呈良好的线性关系(图 3).

1.4.7 总黄酮含量测定计算方法

皱皮木瓜总黄酮含量测定应用三氯化铝比色法. 精确移取皱皮木瓜皮渣总黄酮提取液 1.0 mL 于 10 mL 比色管中, 按照 1.4.6 所述方法测定吸光度. 样品中总黄酮质量浓度与吸光度在一定条件下遵从朗伯一比耳定律, 以芦丁为基准物, 参照芦丁标准曲线方程计算总黄酮得率. 总黄酮得率的计算公式:

$$Y = \frac{\rho_1 \times (V_1 \times V_2) \times V}{1\ 000\ m} \times 100\%$$

式中: Y 为总黄酮得率%; ρ_1 为吸光度按照标准曲线计算出得显色溶液中黄酮质量浓度/(mg/mL); V_1 为显色时溶液的定容体积/ mL ; V_2 为显色时移取的提取液的体积/ mL ; V 为提取液的总体积/ mL ; m 为称取样品的质量/ g .

2 结果与分析

2.1 齐墩果酸、熊果酸的提取工艺优化

2.1.1 提取方法的优选

按照 1.4.1 分别用浸提提取、渗漉提取、回流提取、超声提取等方法, 95% 乙醇、料液比 $1:20(\text{g/mL})$ 、提取温度 $30 \text{ }^\circ\text{C}$ 、提取时间 40 min 进行提取, 检测分析得齐墩果酸和熊果酸总得率(图 4). 由图 4 可以看出, 用超声辅助法提取齐墩果酸和熊果酸的得率最高, 且操作简便, 所以选用超声提取.

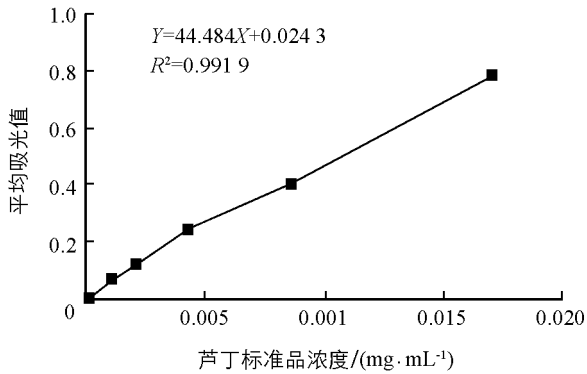


图 3 芦丁标准曲线

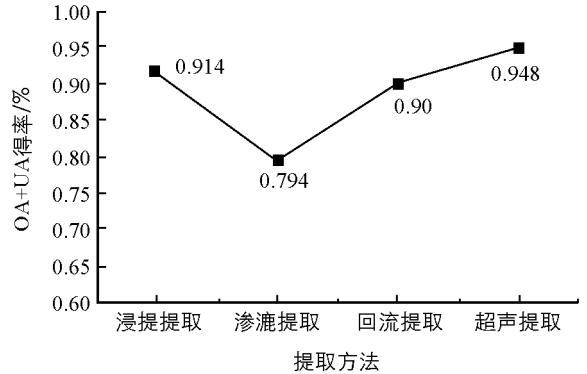


图 4 提取方法对齐墩果酸、熊果酸得率的影响

2.1.2 提取溶剂对得率的影响

按照 1.4.1 分别用体积分数 80%乙醇、85%乙醇、90%乙醇、95%乙醇、甲醇, 料液比 1:20(g/mL)、30℃、超声提取 40 min, 检测分析得齐墩果酸和熊果酸总得率(图 5). 由图 5 可知, 随着乙醇体积分数的增加, 齐墩果酸和熊果酸的得率随之增加, 95%达到最大. 甲醇的得率比 95%乙醇得率稍高, 但由于甲醇成本较高, 且具有毒性, 所以 95%乙醇为最佳提取溶剂.

2.1.3 料液比对得率的影响

按照 1.4.1 用体积分数 95%乙醇, 分别按料液比 1:5, 1:10, 1:15, 1:20, 1:25, 1:30(g/mL), 提取温度 30℃、超声提取 40 min, 检测分析得齐墩果酸和熊果酸总得率(图 6). 由图 6 可知, 随着料液比的增大, 齐墩果酸和熊果酸的总得率先增加后迅速减小, 料液比为 1:10(g/mL)时, 得率最高, 原因可能是随着液料比的增大, 齐墩果酸、熊果酸在整体溶剂中的比例迅速减小, 不利于齐墩果酸、熊果酸的提取, 所以最佳料液比为 1:10(g/mL).

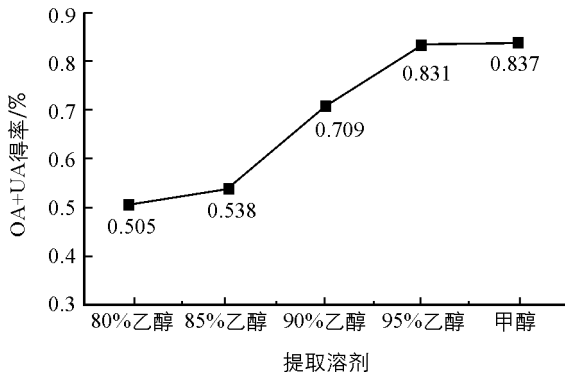


图 5 提取溶剂对齐墩果酸、熊果酸得率的影响

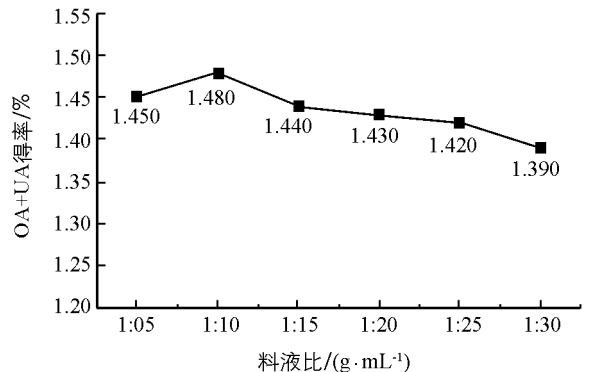


图 6 料液比对齐墩果酸、熊果酸得率的影响

2.1.4 提取时间对得率的影响

按照 1.4.1 用体积分数 95%乙醇、料液比 1:20(g/mL), 30℃环境下分别超声提取 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80 min, 检测分析得齐墩果酸和熊果酸总得率(图 7). 由图 7 可知, 随着时间的延长, 得率在不断增加, 40 min 以后增长不明显, 趋于平缓. 为节约时间成本, 超声提取选取 40 min 较为合理.

2.1.5 提取温度对得率的影响

按照 1.4.1 用体积分数 95%乙醇、料液比 1:20(g/mL), 提取温度分别按 30, 40, 50, 60, 70, 80℃, 超声提取 40 min, 检测分析得齐墩果酸和熊果酸总得率(图 8). 由图 8 可知, 随着温度的升高, 齐墩果酸和熊果酸的得率也在不断的升高. 当温度为 70℃时得率达到最高, 80℃时得率反而下降, 这可能是由于长时间的高温加热使部分齐墩果酸和熊果酸发生氧化或分解反应. 所以超声提取的最佳温度为 70℃.

2.1.6 正交试验与验证试验

由单因素试验结果可以得出, 提取溶剂、不同的料液比、提取时间、提取温度都较为明显且不同程度地影响着齐墩果酸和熊果酸的得率. 因此, 正交试验确定提取溶剂、料液比、提取时间和提取温度 4 因素, 采用 $L_9(3^4)$ 正交设计, 通过正交试验优化提取工艺. 正交试验结果与极差分析见表 1, 方差分析见表 2.

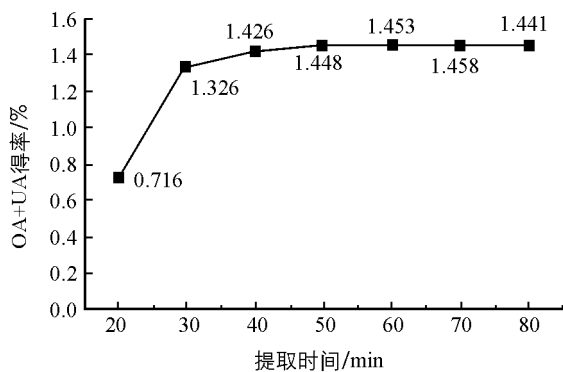


图7 提取时间对齐墩果酸、熊果酸得率的影响

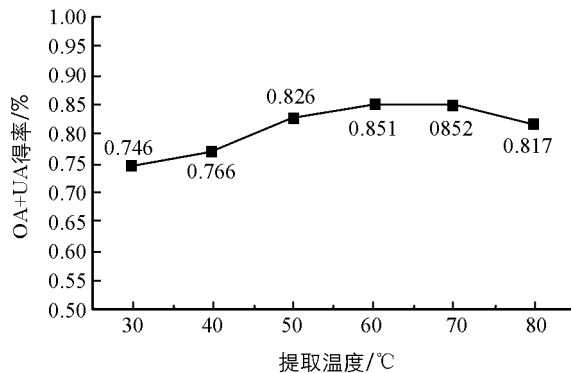


图8 温度对齐墩果酸、熊果酸得率的影响

表1 齐墩果酸和熊果酸得率的正交试验结果与极差分析

编号	A 乙醇体积分数 /%	B 料液比 /(g·mL ⁻¹)	C 时间 /min	D 温度 /°C	总得率 /%
1	1(85)	1(1:5)	1(20)	1(50)	0.524
2	1	2(1:10)	2(30)	2(60)	0.616
3	1	3(1:15)	3(40)	3(70)	1.626
4	2(90)	1	2	3	0.599
5	2	2	3	1	1.674
6	2	3	1	2	1.405
7	3(95)	1	3	2	1.565
8	3	2	1	3	1.652
9	3	3	2	1	1.450
k1	0.922	0.896	1.194	1.216	
k2	1.226	1.314	0.888	1.195	
k3	1.556	1.494	1.622	1.292	
R	0.634	0.598	0.648	0.097	

表2 正交试验方差分析

因素	偏差平方和	自由度	F 比	F 临界值	显著性
体积分数	2.411	2	38.27	19	*
料液比	2.257	2	35.825	19	*
时间	3.257	2	51.698	19	*
温度	0.063	2	1	19	
误差	0.06	2			

根据表1与表2得知,在考察的4个因素中,对皱皮木瓜皮渣提取齐墩果酸、熊果酸总得率的影响程度从大到小依次为C,A,B,D,即提取时间,乙醇体积分数,料液比,提取温度.提取时间对提取效果的影响最大,料液比与乙醇体积分数对其总得率亦有显著影响,提取温度无显著性影响.综合考虑成本与效率,确定最佳组合为A₃B₂C₃D₃,综合单因素试验,确定最佳提取工艺条件为:乙醇体积分数95%,料液比为1:10(g/mL),提取温度70℃,提取时间40min.按上述优化提取条件平行做样品3份,提取2次,结果稳定,齐墩果酸、熊果酸总得率可达1.677%,证明该方案可行.

2.2 利用齐墩果酸、熊果酸提取后残渣进行总黄酮的提取优化

2.2.1 总黄酮提取方法的优选

按照1.4.5分别用索式提取、浸提提取、超声提取、回流提取、渗漉提取等方法,按料液比1:25(g/mL)加入60%乙醇,在70℃水浴中进行提取40min.测得总黄酮得率结果(图9).由图9可知,5种提取方法中,超声提取木瓜总黄酮的得率最高,索式提取最小,故选定提取方法采用超声提取.

2.2.2 提取溶剂对总黄酮得率的影响

按照1.4.5分别用体积分数为45%,50%,55%,60%,65%,70%,75%,80%乙醇,料液比1:25(g/mL),在70℃水浴中进行超声提取40min.测得总黄酮得率(图10).由图10可知,选取的8个乙醇体积分数中,随乙醇体积分数增加,总黄酮得率先增加后下降,在体积分数为50%时,其得率最高,说明皱皮木瓜总黄

酮在体积分数为 50% 乙醇中溶解度最大.

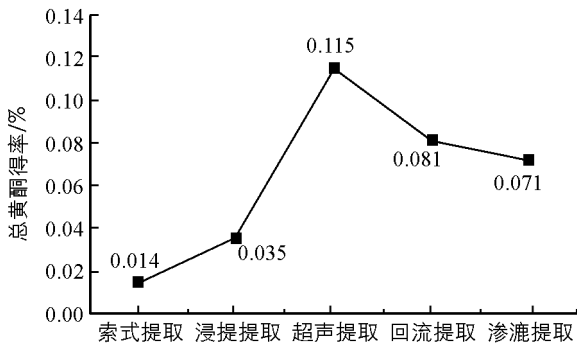


图 9 提取方法对总黄酮得率的影响

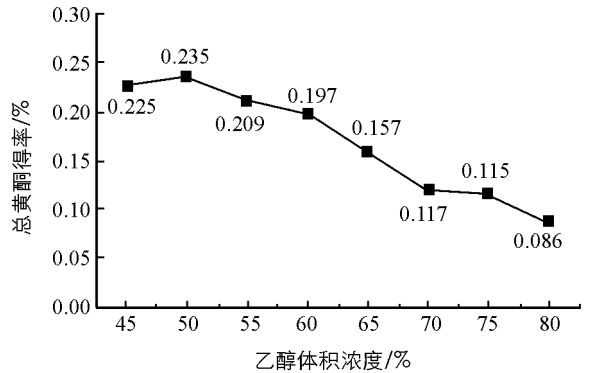


图 10 提取溶剂对总黄酮得率的影响

2.2.3 料液比条件对总黄酮得率的影响

按照 1.4.5 分别按料液比为 1:5, 1:10, 1:15, 1:20, 1:25, 1:30 (g/mL) 加入体积分数 60% 的乙醇, 在 70 °C 水浴中进行超声提取 40 min. 测得总黄酮得率(图 11). 由图 11 可知, 随着料液比增加, 总黄酮得率亦增加, 而当料液比超过 1:25 (g/mL) 时, 得率增长放缓, 基本维持不变, 故其最佳料液比为 1:25 (g/mL).

2.2.4 温度对总黄酮得率的影响

按照 1.4.5 按料液比 1:25 (g/mL) 加入体积分数 60% 乙醇, 在温度分别为 30, 40, 50, 60, 70, 80 °C 水浴中进行超声提取 40 min. 测得总黄酮得率(图 12). 由图 12 可知, 随温度的升高, 总黄酮得率逐渐增加. 在 60 °C 时总黄酮得率最高, 70 °C 以后有所下降. 可能是由于温度过高, 使其部分黄酮类化合物结构遭到破坏, 亦或是当温度达到溶剂沸点后, 容易造成溶剂的损失, 其得率也会降低, 故其最佳提取温度为 60 °C.

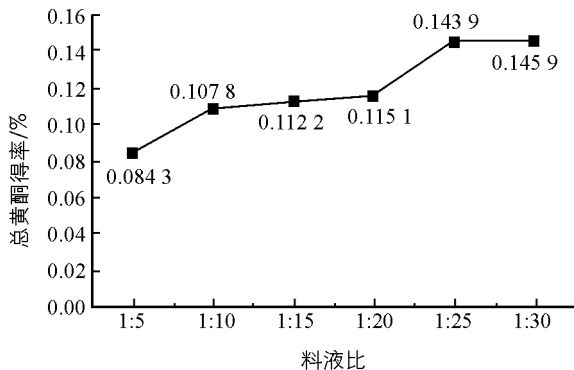


图 11 料液比对总黄酮得率的影响

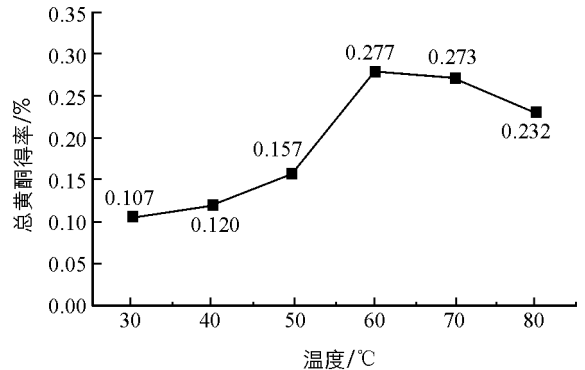


图 12 提取温度对总黄酮得率的影响

2.2.5 超声提取时间对总黄酮得率的影响

按照 1.4.5 用体积分数 60% 乙醇, 按料液比 1:25 (g/mL), 在 70 °C 水浴中分别超声提取 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80 min. 测得总黄酮得率(图 13). 由图 13 可知, 皱皮木瓜皮渣总黄酮的得率在 70 min 时达到较高水平, 70 min 以后增长趋于平缓. 在工业中, 延长提取时间不利于生产周期的控制, 同时亦会增加生产成本和消耗, 所以选取 70 min 作为最佳提取时间.

2.2.6 正交试验与验证试验

根据单因素试验结果分析, 选择乙醇体积分数、料液比、提取时间、提取温度 4 个因素, 采用 $L_9(3^4)$ 正交设计. 通过正交试验优化提取工艺. 正交试验结果与直观分析见表 3, 方差分析见表 4.

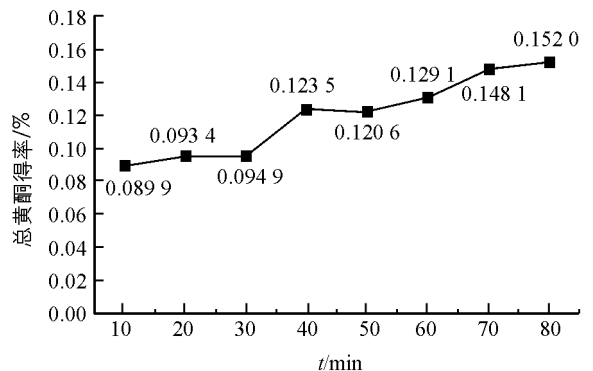


图 13 提取时间与总黄酮得率的关系

表3 总黄酮提取 L₉(3⁴) 正交试验结果与直观分析

编号	A 乙醇体积分数 /%	B 料液比 /(g·mL ⁻¹)	C 时间 /min	D 温度 /°C	得率 /%
1	1(45)	1(1:15)	1(50)	1(50)	0.273
2	1	2(1:20)	2(60)	2(60)	0.512
3	1	3(1:25)	3(70)	3(70)	0.414
4	2(50)	1	2	3	0.417
5	2	2	3	1	0.281
6	2	3	1	2	0.517
7	3(55)	1	3	2	0.511
8	3	2	1	3	0.381
9	3	3	2	1	0.269
k ₁	0.399	0.400	0.390	0.274	
k ₂	0.405	0.391	0.399	0.513	
k ₃	0.387	0.400	0.402	0.404	
R	0.018	0.009	0.012	0.239	

表4 正交试验方差分析

因素	偏差平方和	自由度	F 比	F 临界值	显著性
体积分数	0.002	2	1	19	
料液比	0.001	2	0.5	19	
时间	0.001	2	0.5	19	
温度	0.343	2	171.5	19	*
误差	0	2			

注: F 表 $\alpha=0.05$.

根据表3和表4得知,在考察的4个因素中,对皱皮木瓜皮渣提取齐墩果酸、熊果酸后继续提取总黄酮得率的影响程度从大到小依次为D,A,C,B,即提取温度,溶剂体积分数,提取时间,料液比,所以提取温度对提取效果的影响最大.提取温度与溶剂体积分数对其总黄酮的得率有较为显著的影响,提取时间与料液比的影响相对不显著.为节省成本和时间,确定最佳的组合为A₂B₃C₃D₂,综合单因素试验,确定利用皱皮木瓜皮渣提取齐墩果酸、熊果酸后继续进行总黄酮提取的最佳工艺条件为:乙醇体积分数50%,料液比为1:25(g/mL),提取温度60℃,提取时间70min.按上述优化提取条件平行做样品3份,提取2次,结果稳定,总黄酮得率可达0.527%,证明该方案可行.

3 小结

3.1 齐墩果酸、熊果酸提取条件优化

根据实验结果,可选定超声提取为皱皮木瓜皮渣齐墩果酸、熊果酸的提取方法.影响其总得率的4个主要因素主次顺序为提取时间,乙醇体积分数,料液比,提取温度,其中提取时间、溶剂体积分数和料液比影响较为显著.最佳提取工艺:超声提取,体积分数95%的乙醇为提取溶剂,提取温度70℃,料液比1:10(g/mL),提取时间40min.在此条件下,皱皮木瓜皮渣齐墩果酸、熊果酸的得率为1.677%.

3.2 利用齐墩果酸、熊果酸提取后残渣进行总黄酮提取条件优化

根据实验结果,可以选定超声提取为皱皮木瓜皮渣提取齐墩果酸、熊果酸后继续提取总黄酮的方法.影响其得率的4个主要因素主次顺序为提取温度,乙醇体积分数,提取时间,料液比,其中温度对其黄酮类化合物的得率影响最为显著.最佳提取工艺:超声提取,体积分数50%的乙醇为提取溶剂,提取温度60℃,料液比1:25(g/mL),提取时间70min;在此条件下,皱皮木瓜皮渣总黄酮的得率为0.527%.

4 讨论

实验以皱皮木瓜皮渣为试材进行齐墩果酸、熊果酸的最佳提取工艺以及利用其提取齐墩果酸、熊果酸后残渣继续进一步提取总黄酮的最佳工艺研究,探索出了一条皱皮木瓜皮渣提取齐墩果酸、熊果酸和总黄酮连续提取的最佳工艺,开辟了一条皱皮木瓜皮渣开发利用变废为宝的有效途径,且证明了皱皮木瓜皮渣提取齐墩果酸、熊果酸和总黄酮连续提取工艺的可行性,充分挖掘出木瓜的利用价值,从而使皱皮木瓜原料的利用更为高效.在控制成本、提高效率、节约资源方面有着巨大的优势,为扩大皱皮木瓜工业生产及其产品的开发利用提供了可靠依据.

参考文献:

- [1] 国家中医药管理局《中华本草》编辑委员会. 中华本草 [M]. 第 4 卷. 上海: 上海科学技术出版社, 1999: 111.
- [2] 吴虹, 魏伟, 吴成义. 木瓜化学成分及药理活性的研究 [J]. 安徽中医学院学报, 2004, 23(2): 62-64.
- [3] 张薇, 王文燕, 李生正. 中药木瓜的研究概况 [J]. 陕西中医, 2000, 21(9): 424.
- [4] 唐春红, 叶志义, 项昭保, 等. 木瓜营养保健作用研究动态 [J]. 天然产物研究与开发, 2000, 12(4): 97-100.
- [5] 孟瑞丽, 马登峰, 刘洪, 等. 高效液相色谱法测定木瓜中熊果酸的含量研究 [J]. 西南师范大学学报: 自然科学版, 2010, 35(5): 125-127.
- [6] 刘世尧, 白志川, 李加纳. 皱皮木瓜与光皮木瓜品质多性状指标综合评价 [J]. 中国中药杂志, 2012, 37(7): 901-907.
- [7] 王志芳, 汪芳安, 彭光华, 等. 木瓜中齐墩果酸和熊果酸提取工艺的研究 [J]. 食品科技, 2006, 31(7): 134-137.
- [8] 陈翠, 熊德琴, 李春晖. 木瓜中总黄酮提取最佳工艺的研究 [J]. 广东石油化工学院学报, 2012, 22(1): 15-17, 25.
- [9] 唐维媛, 张义明, 董永刚. HPLC 法同时测定野木瓜中齐墩果酸与熊果酸的研究 [J]. 中国食品添加剂, 2010(4): 196-200.
- [10] 国家药典委员会. 中国药典 [S]. 1 部. 北京: 中国医药科技出版社, 2010: 57.
- [11] 谢建华, 胡小华, 李志明, 等. 超声波提取芦笋皮中黄酮类化合物及其抗氧化活性的研究 [J]. 西南师范大学学报: 自然科学版, 2012, 37(1): 92-98.
- [12] 马陶陶, 张群林, 李俊, 等. 三氯化铝比色法测定中药总黄酮方法的探讨 [J]. 时珍国医国药, 2008, 19(1): 54-56.
- [13] 李育钟, 白志川, 刘世尧, 等. 重庆光皮木瓜鲜果挥发油成分的 GC-MS 分析 [J]. 西南师范大学学报: 自然科学版, 2012, 37(8): 60-65.
- [14] 陈洪超, 丁立生, 彭树林, 等. 皱皮木瓜化学成分的研究 [J]. 中草药, 2005, 36(1): 30-31.

Co-Production Extraction Process for Oleanolic Acid, Ursolic Acid and Total Flavonoids from the Peel Pomace of *Chaenomeles speciosa* (Sweet) Nakai

BIAN Jing-jun, CHENG Mi-mi, LIU Shi-yao,
BAI Zhi-chuan, WEI Zheng-xin, CAI Juan

School of Horticulture and Landscape Architecture, Southwest University / Key Laboratory of Horticulture Science for Southern Mountainous Regions, Ministry of Education, Chongqing 400715, China

Abstract: Objective: To optimize the co-production extraction process for oleanolic acid (OA), ursolic acid (UA) and total flavonoids from the peel pomace of *Chaenomeles speciosa* (Sweet) Nakai. Methods: A single factor test was conducted to determine the sensitive regions for the extraction of the above three substances, and then an orthogonal test was used to optimize the factors of co-production extraction process: extracting time, temperature, the ratio of solid to liquid and solvent concentration. The contents of oleanolic acid and ursolic acid were determined by HPLC. Aluminium trichloride colorimetry was used to detect the total flavonoids. Results: The optimum conditions for ultrasonic extraction of OA and UA were as follows: a yield of 1.677% was obtained when the solvent concentration was 95% ethanol, the extracting time was 40 min, the extracting temperature was 70 °C and the ratio of materials to solution was 1 : 10 (g/mL); the optimum conditions for ultrasonic extraction of total flavonoids were as follows: the solvent concentration was 50% ethanol, the extracting time was 70 min, the extracting temperature was 60 °C and the ratio of materials to solution was 1 : 25 (g/mL), and under such conditions the yield of total flavonoids was 0.527%. Conclusion: This method was simple, convenient and accurate for the detection of oleanolic acid, ursolic acid and total flavonoids.

Key words: *Chaenomeles speciosa* (Sweet) Nakai; oleanolic acid; ursolic acid; high performance liquid chromatography (HPLC); total flavonoid; orthogonal test

