

# 相向双频超声法提取陈皮中黄酮类化合物

马艳<sup>1\*</sup>, 张宁宁<sup>2</sup>

- (1. 宁夏师范学院物理与信息技术学院, 宁夏 固原 756000;
2. 渭南师范学院物理与电子工程系, 陕西 渭南 710062)

**[摘要]** **目的:** 优选相向双频超声提取陈皮总黄酮的工艺条件。**方法:** 利用水听器法考察不同频率及功率下单频、相向双频超声的空化效应。以陈皮总黄酮提取率为指标, 通过单因素试验考察超声电功率、提取时间、乙醇体积分数及不同频率/功率组合方式对提取工艺的影响。**结果:** 相向双频超声(20 + 25) kHz 的空化效应大于单频超声(频率分别为 20, 25 kHz); 在温度(20 ± 0.5) °C, 提取时间 10 min, 乙醇体积分数 60%, 相向双频超声组合(20 kHz, 25 kHz) 条件下, 陈皮总黄酮提取率 4.52%, 高于同样条件下单频超声的提取率(3.95%, 4.03%)。**结论:** 相向双频超声提取中草药有效成分是一种较理想的方法, 与反应器形状、换能器空间位置等因素密切相关。

**[关键词]** 相向双频超声; 水听器法; 空化效应; 总黄酮; 陈皮

**[中图分类号]** R283.6; R284.2; R284.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2013)24-0049-04

**[doi]** 10.11653/syfyj2013240049

## Extraction of Total Flavonoids from Citri Reticulatae Pericarpium by Opposite Dual-Frequency Ultrasonic Method

MA Yan<sup>1\*</sup>, ZHANG Ning-ning<sup>2</sup>

- (1. College of Physics and Information Technology, Ningxia Teachers University, Guyuan 756000, China;
2. College of Physics and Electronic Engineering, Weinan Normal University, Weinan 710062, China)

**[Abstract]** **Objective:** To optimize opposite dual-frequency ultrasonic extraction technology of total flavonoids from Citri Reticulatae Pericarpium. **Method:** Hydrophone method was adopted to investigate cavitation effect of single frequency and opposite dual-frequency ultrasonic under different frequency and power. With yield of total flavonoids as index, effects of extraction time, ethanol concentration, ultrasonic electric power and different frequency/power combinations on extraction technology were investigated by single factor tests. **Result:** Cavitation effect of opposite dual-frequency ultrasonic (20 + 25) kHz was greater than single frequency ultrasonic (frequency were 20 kHz and 25 kHz, respectively); Under a temperature of (20 ± 0.5) °C, extraction time of 10 min, ethanol concentration of 60%, opposite dual-frequency ultrasonic combination of (20 kHz, 25 kHz), yield of total flavonoids was 4.52%, which was higher than the same extraction condition of single frequency ultrasonic (3.95%, 4.03%). **Conclusion:** Opposite dual-frequency ultrasonic extraction for active ingredients from Chinese herbal medicines was an ideal method, which was closely related to reactor shape, transducer spatial location and other factors.

**[Key words]** dual-frequency ultrasonic; hydrophone method; cavitation effect; total flavonoids; Citri Reticulatae Pericarpium

超声提取因其设备简单、提取时间短、效果好而被广泛用于提取中草药有效成分, 目前应用单频超

声提取居多,但单频超声声场不均匀、易产生驻波,会影响中草药有效成分的提取效果。近年来研究表明双频超声或复频超声能显著增加空化效果,减少驻波造成的“死角”,提高声化学产额<sup>[1-3]</sup>。在前期研究基础上,作者分别设计了 20,25 kHz 的相向双频超声提取装置。本实验拟采用相向双频超声法提取陈皮中黄酮类化合物,并分别与 20,25 kHz 的单频超声提取效果进行对比,为相向双频超声装置的推广提供实验依据。

### 1 材料

UGD 型超声发生器(杭州瑞利超声器件公司),WT1600 型功率计(日本横河),CS-3 型水听器(杭州瑞利超声器件公司),Agilent54622A 型示波器(东莞市国通电子仪器有限公司),CF16RX 型高速离心机[日立高新技术(上海)有限公司],JA2003 型皿式电子天平(上海精科天平厂),UV-2550 型紫外-可见分光光度计(日本岛津公司),双频超声波反应装置(自制,图 1)。芦丁对照品(中国食品药品检定研究院,批号 100080-200306),陈皮(购自西安自力中药集团有限公司,经陕西中医学院药物研究所王昌利所长鉴定为芸香科植物橘 *Citrus reticulata* Blanco 及其栽培变种的干燥成熟果皮,粉碎过 16 目筛备用),其他试剂均为分析纯。

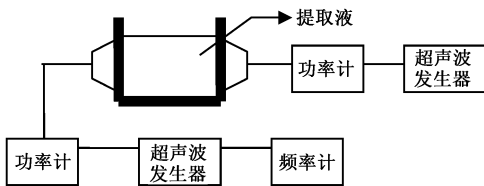


图 1 双频超声波反应装置示意

### 2 方法与结果

**2.1 超声空化效应的测量**<sup>[4-6]</sup> 采用水听器法,利用输出的电压信号变化来反映液体中声压变化,从而描绘整个声场的分布。在超声波作用下,随超声电功率的增加,各谐波的相对电压幅值逐渐增大。在低功率的超声作用下,除基频属于有限振幅声波外,已经开始出现非线性;而在较高电功率下除高次谐波外还出现了分谐波的高次谐波,说明空化效应已经产生,继续增加超声电功率,基频、高次谐波、分谐波的高次谐波成更为强烈,说明空化现象愈加剧烈。将相向双频超声在电功率 30 W 的声压频谱(图 2)与 30 W 电功率下单频 20 kHz(图 3)和 25 kHz(图 4)的声压频谱图进行对比,显示双频超

声产生的声压频谱成分较单频更强,更多各种频率的声波相互叠加能够形成相对比较均匀的声场,更有利于空化效应的增强。

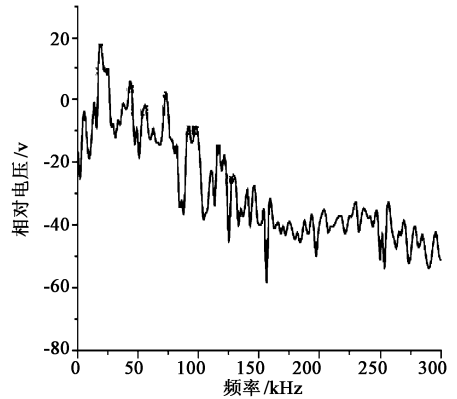


图 2 双频超声电功率 30 W  
(20 kHz,15 W;25 kHz,15 W)声压频谱

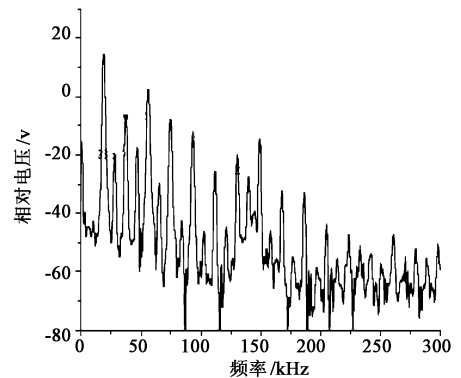


图 3 单频超声 20 kHz,30 W 的声压频谱

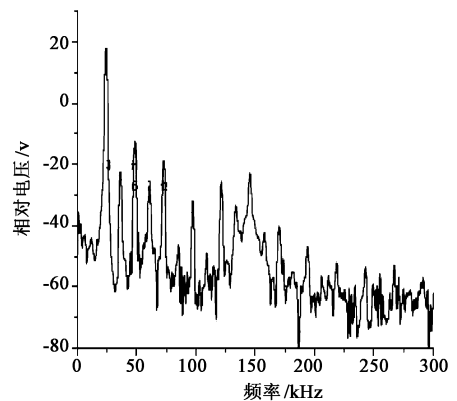


图 4 单频超声 25 kHz,30 W 声压频谱

### 2.2 陈皮总黄酮的含量测定

**2.2.1 标准曲线的制备** 精确称取芦丁对照品 10 mg,用 70% 乙醇溶解并定容至 50 mL 量瓶中,摇匀,精密量取该溶液 0,0.2,0.4,0.6,0.8,1.2 mL,分别置于 20 mL 量瓶中,加入 5% 亚硝酸钠 0.8 mL,摇匀,放置 6 min,加 10% 硝酸铝 0.8 mL,摇匀,放置

6 min,加5%氢氧化钠8 mL,加水至刻度,摇匀,放置15 min,以空白试剂作为参比溶液,于500 nm处测定吸光度(A),以A为纵坐标,质量浓度(C)为横坐标,得回归方程 $A = 0.21877C + 0.00238$  ( $R^2 = 0.9998$ ),线性范围 $0.2 \sim 0.5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 。

**2.2.2 供试品溶液的制备** 精确称取陈皮粉末20 g,加一定体积分数乙醇800 mL浸泡24 h,于恒温( $20 \pm 0.5$ ) °C超声提取,提取液于 $3000 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ 离心30 min( $20$  °C),合并上清液并定容至800 mL,即得。

### 2.3 单因素试验考察

**2.3.1 提取时间** 固定超声电功率30 W,乙醇体积分数60%,考察不同频率组合下提取时间对陈皮总黄酮提取率的影响,结果见图5。显示不论是单频超声提取还是双频超声提取,在第10 min时,陈皮总黄酮的提取率已达1个极大值,在10~30 min,总黄酮提取率随提取时间的延长而呈减小趋势,提取30 min后,总黄酮提取率随时间的增加呈增大趋势。原因可能为超声作用一定时间后,陈皮粗品中杂质含量增加,黄酮成分含量反而降低;长时间超声辐射下黄酮类化合物发生降解,致使提取率降低。

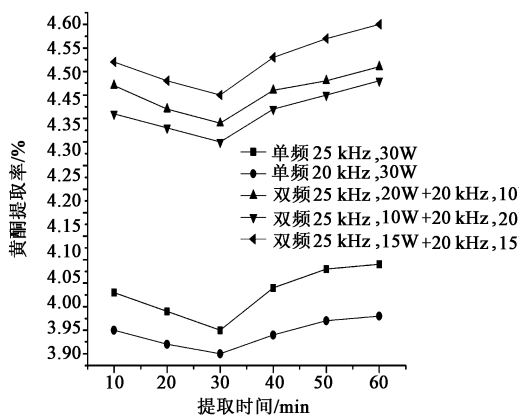


图5 提取时间对陈皮总黄酮提取率的影响

**2.3.2 乙醇体积分数** 固定超声电功率30 W,提取时间10 min,在不同频率组合下,考察乙醇体积分数(20%,40%,60%)对陈皮总黄酮提取率的影响,见图6。结果发现不管是双频超声还是单频超声提取,总黄酮提取率均随着乙醇体积分数的增加而增加,因为随乙醇体积分数的增加,陈皮渗透压提高,创造了向外扩散的条件,使得黄酮类化合物的溶解度逐渐提高,从而提取率增加。

**2.3.3 超声电功率** 固定乙醇体积分数60%,提取时间10 min,考察不同超声电功率(10,20,30 W)下,单频超声和相向双频超声提取总黄酮的效果见

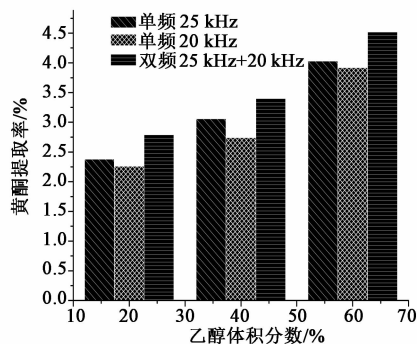


图6 乙醇体积分数对陈皮总黄酮提取率的影响

图7。结果表明不论是双频超声组合还是单频超声,总黄酮提取率均随超声电功率的增加而增大;同样电功率下,相向双频超声对总黄酮的提取效果明显好于单频超声,因为随超声电功率的增加(10~30 W),液体内声强增加,同时随着超声电功率的增加,会激发更多分谐波的高次谐波,使空化效应增强,从而使得更多的黄酮类化合物溶解于乙醇中,明显提高总黄酮提取率。

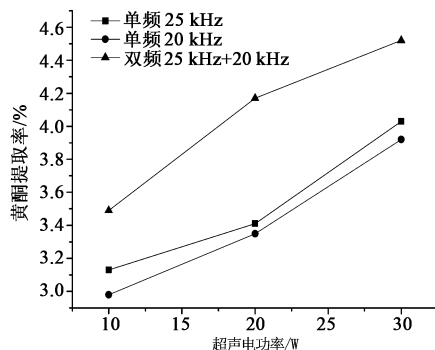


图7 超声电功率对陈皮总黄酮提取率的影响

**2.3.4 不同频率/功率组合方式** 固定乙醇体积分数60%,提取时间10 min,考察不同频率/功率组合方式(单频20 kHz,30 W;单频25 kHz,30 W;双频20 kHz,20 W+25 kHz,10 W;双频20 kHz,15 W+25 kHz,15 W;双频20 kHz,10 W+25 kHz,20 W)对总黄酮提取率的影响,结果总黄酮提取率分别为3.95%,4.03%,4.41%,4.52%,4.47%。表明在同样电功率和提取时间下,相向双频超声提取陈皮总黄酮的效果要明显高于单频超声,原因主要包括两方面:一为提取率的高低取决于超声空化强弱,两列超声波同时作用于提取液,能激发更多新的空化核,增强了空化效应;二为双频超声辐射实质上在液体中激发产生了多个频率的谐波,使得声场更为复杂均匀,有效地避免了声场“死角”<sup>[7-9]</sup>。保持乙醇体积分数、提取时间相同的条件下,不同电功率组合对

相向双频超声提取黄酮类物质仍有一定影响。在同样条件下,相向双频超声提取陈皮总黄酮的效率未明显高于单频超声提取,原因可能是选取双频超声提取中草药有效成分时,总黄酮提取率取决于较多因素,如反应器的形状、换能器的空间位置,研究表明声强在平面分布式不均匀时,反应器内壁会发生声波反射,从而造成部分区域声波叠加或抵消<sup>[10]</sup>。

### 3 讨论

双频超声提取效果依赖于所提取中草药的类型、两列超声波的频率、空间组合模式、反应器形状、最佳功率组合等等<sup>[11-13]</sup>,本文只研究了(20+25) kHz的相向双频超声提取陈皮中黄酮类物质,未考察上述几种因素的协同作用,有待于后续研究证实。

### [参考文献]

[1] 贲永光,丘泰球,李金华. 双频超声强化对三七总皂苷提取的影响[J]. 江苏大学学报:自然科学版, 2007,28(1):12.

[2] Sivakumar M, Tatake P A, Pandit A B. Kinetics of *p*-nitrophenol degradation; effect of reaction conditions and cavitation parameters for a multiple frequency system [J]. Chem Eng J, 2002, 85(2/3):327.

[3] 冯若,朱昌平,赵逸云,等. 双频正交辐照的声化学效应研究[J]. 科学通报, 1997, 42(9):925.

[4] 丘泰球,曾荣华,张晓燕. 双频超声强化提取的机理

[J]. 华南理工大学学报:自然科学版, 2006, 34(8):34.

[5] 方启平,颜志余,黄金兰,等. 用染色法记录液体中大功率超声场的分布[J]. 声学技术, 1996, 15(4):177.

[6] Frohly J, Labouret S, Bruneel C, et al. Ultrasonic cavitation monitoring by acoustic noise power measurement [J]. J Acoust Soc Am, 2000, 108(5):2012.

[7] 任金莲,牛勇,张明铎. 复合频率超声波清洗声场均匀性研究[J]. 声学学报, 2003, 28(2):127.

[8] 应崇福. 超声学[M]. 北京:科学出版社, 1990:245.

[9] 冯若,李化茂. 声化学及其应用[M]. 合肥:安徽科学技术出版社, 1992:45.

[10] Crank J. The mathematics of diffusion [M]. Oxford: Oxford University Press, 1975:490.

[11] 沈壮志,尚志远. 双低频超声辐射对碘化钾溶液碘释放量影响的研究[J]. 陕西师范大学学报:自然科学版, 1999, 27(1):51.

[12] Plesset M S, Prosperetti A. Bubble dynamics and cavitation[J]. Annu Rev Fluid Mech, 1977(9):145.

[13] HUANG J L, FENG R, ZHU C P, et al. Low-MHz frequency effect on a sonochemical reaction determined by an electrical method[J]. Ultrason Sonochem, 1995, 2(2):93.

[责任编辑 仝燕]

## 欢迎订阅 2014 年度《中国实验方剂学杂志》

《中国实验方剂学杂志》由国家中医药管理局主管,中国中医科学院中药研究所和中国中西医结合学会中药专业委员会主办的学术刊物,已成为“中国中文核心期刊”;“中国学术期刊综合评价数据库来源”期刊、“中国期刊网、中国学术期刊光盘版”全文收录期刊、美国《化学文摘》统计源期刊;并被评为“中国中医药优秀期刊”及“中国学术期刊优秀期刊”。本刊创刊于 1995 年 10 月,本着提高为主,提高与普及相结合的办刊方针,主要设置:工艺与制剂、化学与分析、资源与鉴定、药物代谢、药理、毒理、临床、综述、学术交流、信息等栏目,交流方剂的药理学、毒理学、药物动力学、药物化学、制剂学、质量标准、配伍研究、临床研究、学术专论以及方剂主要组成药物的研究结果与最新进展。本刊的读者对象是从事中西医药,尤其是方剂教学、科研、医疗、生产的高、中级工作者,以及中医药院校的高年级学生等。

本刊现为半月刊,16 开本,192 页,标准刊号:ISSN1005-9903;CN11-3495/R。每期定价 35 元,全年 840 元。国内外公开发行,国内由北京市报刊发行局办理总发行,邮发代号:2-417;国外由中国国际图书贸易总公司办理发行,代号:SM4655。欢迎订阅。本刊编辑部也办理邮购。地址:北京市东直门内南小街 16 号,《中国实验方剂学杂志》编辑部,邮编:100700,联系电话:(010)84076882,电子邮件:syfjx\_2010@188.com,网址:www.syfjxzz.com。