

文章编号: 1000-5692(2000)01-0102-04

# 龙柏叶总黄酮提取条件的研究

毛燕, 黄必恒

(浙江林学院信息工程与基础科学系, 浙江临安 311300)

**摘要:** 在不同的条件下对龙柏叶总黄酮含量的提取结果表明: 溶剂乙醇的体积分数、提取时间和提取温度对总黄酮提取量都有不同程度的影响, 其中乙醇的体积分数对总黄酮的提取量影响最为显著。通过正交试验得出龙柏叶总黄酮提取的最佳条件是溶剂乙醇的体积分数为 75%, 提取时间为 20 min, 提取温度为 90~100 °C。表 5 参 3

**关键词:** 龙柏; 叶; 黄酮类化合物; 萃取

**中图分类号:** R284.2; Q946      **文献标识码:** A

黄酮类化合物广泛存在于植物的各个部位, 尤其是花叶部位。黄酮类成分有明显的抗溃疡、解痉、抗菌、抗炎、降血脂、镇痛、提高雌性激素等生物活性和生理活性作用<sup>[1]</sup>。有关研究表明, 黄酮类化合物是一类具有广泛开发前景的天然抗氧化剂。近几年来从中草药中提取分离黄酮类化合物的工作开展得较为广泛。从黄芩、麦冬、白萸青、铁轴草、瓦松、野松、银杏叶中提取分离了许多黄酮类化合物<sup>[1]</sup>。有些黄酮类化合物具有利尿和调节血管渗透性的类似维生素 P 的作用, 有的具有抑制肿瘤细胞的作用<sup>[2]</sup>。对柏树类的黄酮类化合物的提取尚未见有报道。本文采取不同的方法, 不同的条件对龙柏 (*Sabina chinensis* cv. *Kaizuca*) 叶总黄酮进行提取测定, 用以讨论从植物中提取黄酮类化合物的应用价值, 旨在为植物中的有效成分研究与开发提供参考, 并丰富植物化学成分研究的内容。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料采集

1999 年 5 月在浙江林学院校园内, 分别从龙柏树的上部、中部和下部采集树叶。样品洗净, 烘干, 混合粉碎后装入干燥的磨口瓶中备用。在实验的同时测定含水率。样品含水率为 1.5%。

### 1.2 提取方法

1.2.1 热水提取 称取供试样品 1.0 g 加水 40 mL, 浸泡过夜, 次日在水浴中以不同的时间和温度加热, 过滤。滤液于 100 mL 容量瓶中定容后备用。

1.2.2 乙醇溶液提取 称取供试样品 0.2 g, 分别加入不同体积分数的乙醇溶液 30 mL, 浸泡过夜, 次日在沸水浴中回流提取 30 min, 冷却, 过滤。滤液用石油醚萃取以除去叶绿素后于 100 mL 容量瓶中定容, 待测总黄酮含量。

### 1.3 分析方法

以卢丁为标准样品, 采用比色法对各提取液中的总黄酮含量进行测定<sup>[3]</sup>。

收稿日期: 1999-05-31; 修回日期: 1999-09-03

作者简介: 毛燕(1957-), 女, 浙江江山人, 讲师, 从事植物化学研究。

## 2 结果与分析

### 2.1 不同的时间条件对提取总黄酮量的影响

以水为溶剂, 在沸水浴中以不同的时间进行提取, 实验重复 3 次, 得到结果见表 1。

表 1 的结果表明, 随着时间的增加提取总黄酮量有所增加, 但各个不同时间的提取之间的差异不显著。从平均值可看出, A 与 B 之间差别极小, C 与 D 及 E 之间几乎无差别, A 与 C, D, E 之间的差别略为显著。当温度及其他条件一定时, 提取时间以 50~70 min 为宜。

### 2.2 不同的温度条件对提取总黄酮量的影响

保持其他条件一定时, 进行了不同温度的提取试验(水为溶剂, 提取时间 60 min), 得结果见表 2。

从表 2 中得出, 随着温度的升高, 总黄酮含量也随之增加。A 与 B 之间差异不大, B 与 C 及 D 之间差异也不显著, 而 A 与 E 之间的差异较为显著。其中 E 条件的提取含量最高, 说明提取温度对黄酮提取率也有一定的影响。当提取时间和其他条件一定时, 温度以 100 °C 为宜。

### 2.3 溶剂乙醇的体积分数对提取总黄酮量的影响

黄酮易溶于醇等有机溶剂中, 所以采用不同体积分数的乙醇提取试验(沸水浴回流, 提取时间 30 min), 结果见表 3。

以不同体积分数的乙醇液提取结果来看, 乙醇体积分数的增大所提取的总黄酮量大幅度增加, 说明不同体积分数的乙醇提取总黄酮率的差异极显著, 即得出提取率为  $D > E > C > B > A$  的顺序。A 与 B 之间差异不大, D 与 E 差异相当, 而 A, B 与 C 及 A, B 与 D, E 之间已达到有显著性或极显著性的差异。试验中 E 的乙醇体积分数最大, 可得率呈下降状态, 可见乙醇体积分数具有一定的选择范围, 即乙醇液的最佳体积分数为 80%。试验结果表明选择合适体积分数的乙醇溶剂对获得较高总黄酮的提取率是非常重要的。同时也说明了有效提取龙柏叶总黄酮适宜的乙醇体积分数范围为 60%~95%。

2.4 正交试验

### 2.4 正交试验

根据上述各种因素影响的试验结果, 综合考虑提取时间、提取温度和溶剂乙醇的体积分数等 3 方面的影响, 进行了龙柏叶总黄酮提取的正交试验, 确立提取黄酮的最佳条件。正交试验的设计及结果与分析见表 4。

由表 4 得, 各试验号优势顺序为 7, 3, 4, 9, 2, 5, 1, 6, 8, 最好的第 7 号试验组合为  $A_3B_1C_3$ , 即提取温度 90~100 °C, 提取时间 20 min, 溶剂乙醇体积分数 75%。由各因素不同水平均值  $\bar{K}_1, \bar{K}_2$  和  $\bar{K}_3$  得最优水平组合为  $A_3B_1C_3$ , 与最好的试验号相一致。3 个因素中极差最大的是 C, 因此溶剂乙醇的体积分数对试验结果影响最大。

表 1 不同时间条件下提取的总黄酮量

Table 1 Effect of extracting time on total flavone content

时间/min	各次总黄酮量/(g·kg <sup>-1</sup> )			总和 $T_i$	平均 $\bar{x}_i$
	1	2	3		
A (30)	8.6	8.1	7.9	24.0	8.2
B (40)	8.8	8.9	9.0	26.7	8.9
C (50)	10.1	10.5	10.9	31.5	10.5
D (60)	10.8	11.0	10.7	32.5	10.8
E (70)	10.6	11.0	11.4	33.1	11.0

$$T = 148.3, x = 9.8$$

表 2 不同温度条件下提取的总黄酮量

Table 2 Effect of temperature on total flavone content

温度/°C	各次总黄酮量/(g·kg <sup>-1</sup> )			总和 $T_i$	平均 $\bar{x}_i$
	1	2	3		
A (60)	6.6	5.8	5.8	18.2	6.1
B (70)	7.6	7.1	6.8	21.5	7.2
C (80)	8.9	8.6	8.7	26.2	8.7
D (90)	9.7	8.1	10.1	27.9	9.3
E (100)	10.6	11.0	11.1	32.7	10.9

$$T = 126.5, x = 8.4$$

表 3 乙醇的体积分数对提取总黄酮量的影响

Table 3 Effect of alcohol volume percentage on total flavone content

乙醇的体积分数/%	各次总黄酮量/(g·kg <sup>-1</sup> )			总和 $T_i$	平均 $\bar{x}_i$
	1	2	3		
A (20)	22.6	26.7	27.2	76.5	25.5
B (40)	30.3	29.3	33.9	93.5	31.1
C (60)	107.6	120.7	112.2	340.5	113.5
D (80)	173.9	197.5	186.3	557.7	185.9
E (95)	176.5	179.7	181.4	537.6	179.2

$$T = 1605.8, x = 107.0$$

表4 正交试验结果与分析

Table 4 Result and analysis of orthogonal design experiment

试验号	因 素			总黄酮量/ (g·kg <sup>-1</sup> )
	A 提取温度/ °C	B 提取时间/min	C 乙醇体积分数/ %	
1	A <sub>1</sub> (70~80)	B <sub>1</sub> (20)	C <sub>1</sub> (55)	65.9
2	A <sub>1</sub> (70~80)	B <sub>2</sub> (30)	C <sub>2</sub> (65)	141.9
3	A <sub>1</sub> (70~80)	B <sub>3</sub> (40)	C <sub>3</sub> (75)	159.3
4	A <sub>2</sub> (80~90)	B <sub>1</sub> (20)	C <sub>2</sub> (65)	144.5
5	A <sub>2</sub> (80~90)	B <sub>2</sub> (30)	C <sub>3</sub> (75)	138.9
6	A <sub>2</sub> (80~90)	B <sub>3</sub> (40)	C <sub>1</sub> (55)	31.6
7	A <sub>3</sub> (90~100)	B <sub>1</sub> (20)	C <sub>3</sub> (75)	235.4
8	A <sub>3</sub> (90~100)	B <sub>2</sub> (30)	C <sub>1</sub> (55)	25.9
9	A <sub>3</sub> (90~100)	B <sub>3</sub> (40)	C <sub>2</sub> (65)	143.9
K <sub>1</sub>	367.1	445.8	123.4	
K <sub>2</sub>	315.0	306.7	430.3	∑ x = 1087.3
K <sub>3</sub>	405.2	334.8	533.6	$\bar{x} = 120.8$
$\bar{K}_1$	122.4	14.96	41.1	
$\bar{K}_2$	105.0	102.2	143.4	
$\bar{K}_3$	135.1	111.6	177.9	
极差 R	30.1	46.4	136.8	

进一步对正交试验结果作方差分析得表5。结果表明：溶剂乙醇体积分数间差异达到显著水平，提取温度和提取时间之间无显著差异。说明溶剂体积分数对试验结果有显著影响，而提取温度和提取时间对试验结果影响不大。使用乙醇作溶剂来提取黄酮时乙醇体积分数要控制在75%左右。

### 3 结论

提取时间对龙柏叶中总黄酮含量并无多大的影响，在水浴温度100℃和溶剂一定的条件下，适宜的提取时间为50~70 min。

在溶剂和提取时间不变的条件下，提取温度也不同程度的影响龙柏叶

中总黄酮的提取率。温度差别越大，对提取率的影响也越突出。从70~100℃亦属较为稳定范围，但较为理想应为100℃的温度条件。因此，相比较而言，沸水提取可以得到较为满意的结果。

采用乙醇溶液为溶剂可显著的提高龙柏叶总黄酮的提取量。乙醇体积分数的改变极大地影响总黄酮的得率，从B到C, D, E, 随着乙醇体积分数的增大，总黄酮的提取率有极为显著的增加，可以说得到了理想的结果。总之，适宜的乙醇体积分数范围为60%~95%，但最佳的乙醇溶液体积分数为80%左右。

龙柏叶总黄酮的最佳提取条件是：乙醇溶液的体积分数为75%，提取温度为90~100℃，提取时间为20 min。由正交试验所得到的结果与以乙醇溶液作溶剂的影响条件下提取所得到的结果大体上一致。

### 参考文献:

- 1 贾元慎, 刘志坤, 傅一穷. 竹叶中黄酮类化合物总量的研究[J]. 竹子研究汇刊, 1995, 14(2): 38~45.
- 2 上海药物研究所. 中草药有效成分的提取和分离[M]. 上海: 上海人民出版社, 1972. 233.
- 3 许正斌, 佟婉筠, 扬光. 刺五加各部位有效成分的含量测定[J]. 中草药, 1984, 15(5): 33.

表5 正交试验方差分析表

Table 5 Variance analysis of orthogonal design experiment

变异来源	OF	SS	MS	F	F <sub>2</sub>
A 提取温度	2	13.67	6.84	1.20	F <sub>0.05</sub> (2, 2) = 19
B 提取时间	2	36.07	18.04	3.17	
C 乙醇体积分数	2	303.47	151.74	26.64*	
误差	2	11.39	5.7		
总 和	8	364.60			

# Extraction of flavonoid compounds in dragon juniper leaves

MAO Yan, HUANG Bi-heng

(Department of Information Engineering and Basic Science, Zhejiang Forestry College, Lin'an 311300, China)

**Abstract:** The results of extracting flavonoid compounds from dragon juniper leaves under different conditions show that alcohol volume percentage, extracting time and temperature all affect the amount of total flavone that is extracted. One of them alcohol volume percentage is a key factor. The best conditions of extracting flavonoid compounds from dragon juniper leaves are as follows: alcohol volume percentage is 75%, extracting time 20 min, and extracting temperature 90 ~ 100 °C.

**Key words:** dragon juniper (*Sabina chinensis* cv. Kaizuca); leaves; flavonoid compounds; extraction