

文章编号: 1000-5692(2000)02-0146-04

# 香椿嫩叶中黄酮类化合物的提取

毕丽君

(杭州商学院食品科学与工程系, 浙江杭州 310035)

**摘要:** 为确定香椿嫩叶中黄酮类化合物的提取工艺, 用乙醇溶液浸提, 结合超声波辅助方法, 萃取香椿嫩叶中的黄酮类化合物, 探讨了影响提取率的主要因素, 最后用正交法确定了较好的提取工艺, 并用方差分析进行了显著性检验。结果表明: 在 1.00 g 样品中, 加 50 mL 体积分数为 50% 的乙醇水溶液提取剂, 浸泡 24 h 后, 超声波辅助萃取 45 min, 连续萃取 2 次, 总浸出率可达 96.47%。香椿嫩叶中的叶片黄酮提取率为 7.45%, 叶柄为 5.40%。乙醇体积分数为显著因素, 超声波辅助萃取时间对提取率有一定的影响, 溶剂用量看不出有影响。图 3 表 2 参 7

**关键词:** 香椿; 嫩叶; 黄酮类化合物; 萃取; 超声波; 正交设计

**中图分类号:** Q946; S644.4      **文献标识码:** A

香椿 (*Toona sinensis*), 别名椿甜树, 椿阳树, 为楝科多年生落叶乔木, 是为数不多的木本蔬菜之一。经我们初步分析, 香椿嫩叶中含有黄酮类化合物。黄酮类化合物是存在于自然界的一大类化合物, 在食品和医药工业上有着广泛的应用。目前, 文献中只有从银杏叶<sup>[1,2]</sup>、竹叶<sup>[3]</sup>和葛根<sup>[4]</sup>等提取黄酮类化合物的记载, 而从香椿叶中的提取却未见报道。香椿在我国分布广泛, 便于栽培, 因此充分开发利用香椿中黄酮类化合物具有十分重要的现实意义。

## 1 试验部分

### 1.1 材料和仪器

香椿嫩叶, 4 月份采于杭州市市郊。芦丁标准品, 上海试剂一厂生产; 95% 乙醇 (分析纯), 杭州长征化工厂生产。723 分光光度计, 上海第三分析仪器厂生产; 超声波发生器, 日本生产。

### 1.2 操作步骤

香椿嫩叶 → 自然风干 → 叶片、叶柄分离 → 溶剂浸泡 → 超声波辅助萃取 → 抽滤 → 定容 → 定量分析。

总黄酮苷的测定: 以芦丁为标样, 采用亚硝酸钠-硝酸铝比色法<sup>[1]</sup>, 在可见光 510 nm 处测定其吸光值。提取率 (%) = (黄酮类化合物质量 / 干物料质量) × 100%。

初步分析, 香椿嫩叶中的叶片和叶柄黄酮类化合物的含量有所不同。为了避免由于所取的样品中叶片和叶柄的比例不一致而造成的实验误差, 本试验中只通过叶片来做试验。提取工艺条件确定好以后, 再对叶柄中黄酮类化合物的含量作分析。

收稿日期: 1999-07-15; 修回日期: 1999-12-23

作者简介: 毕丽君 (1964-), 女, 浙江临海人, 实验师, 从事食品分析及天然产物开发与研究。

## 2 结果与分析

### 2.1 萃取中主要影响因素的确定

考虑过滤问题, 在叶片和叶柄分离后, 只对叶柄作剪切成 0.5 cm 长的处理。在材料粉碎度一定的条件下, 所用的溶剂以及溶剂的体积分数、用量、浸泡时间, 萃取辅助方式、萃取温度及萃取时间等因素都对提取率有影响。

用水浸提, 提取物杂质多, 后处理较麻烦。甲醇、丙酮等作为提取剂, 虽然效果不错<sup>[2]</sup>, 但二者有毒。乙醇浸提的选择性好, 渗透性强, 浸出率较高<sup>[2]</sup>。本试验选择一定体积分数的乙醇溶液作为提取剂。为了提高有效成分的浸出, 同时克服加热提取有一定水解产物的存在, 本试验利用超声波辅助萃取。经文献报道, 超声波辅助萃取不会破坏芦丁成分的结构<sup>[5]</sup>。当超声波发生器工作 10 min 以上后, 水的温度一般保持在  $(43 \pm 2)^\circ\text{C}$  之间。经过反复试验, 原料充分浸泡后, 提取率几乎不受浸泡时间影响。本试验浸泡时间定为 24 h。因此, 本试验主要讨论乙醇的体积分数、超声波辅助萃取时间和溶剂(乙醇水溶液)用量对提取率的影响。

**2.1.1 乙醇体积分数对提取率的影响** 在 1.00 g 样品中, 加入 40 mL 不同体积分数的乙醇溶液, 浸泡 24 h, 超声波辅助萃取 15 min, 抽滤, 定容, 测其吸光度 A 值, 得提取率与乙醇体积分数比的关系(图 1)。从图 1 看出, 乙醇体积分数为 20%~80% 时, 提取率较高。

**2.1.2 超声波辅助萃取时间对提取率的影响** 在 1.00 g 样品中, 加入 40 mL 体积分数为 50% 的乙醇水溶液浸泡 24 h 后, 用超声波辅助萃取, 萃取时间分别为 15 min, 30 min, 45 min, 60 min, 抽滤, 定容, 测其吸光值, 分别计算提取率, 得提取率与超声波辅助萃取时间的关系(图 2)。

由图 2 分析及考虑时间效益, 可将超声波辅助萃取时间确定在 15~45 min。

**2.1.3 溶剂用量对提取率的影响** 在 1.00 g 样品中, 分别加入 20 mL, 30 mL, 40 mL, 50 mL, 60 mL 和 70 mL 体积分数为 50% 的乙醇水溶液, 浸泡 24 h 后, 用超声波辅助萃取 15 min, 抽滤, 定容, 测其吸光值, 得溶剂用量与提取率的关系(图 3)。

由图 3 可以看出, 提取率在溶剂用量为 30~50 mL 时, 随溶剂用量增大提取率较快增大, 故将乙醇用量定在 30~50 mL 之间较合适。

### 2.2 正交设计

由于提取率实际上是受到乙醇体积分数、超声波辅助萃取时间和溶剂用量 3 个因素交叉影响, 而以上所做试验都是单因子影响, 为了全面考察这 3 个因素的影响, 设计了三因素三水平正交试验。正交表及正交试验结果见表 1, 方差分

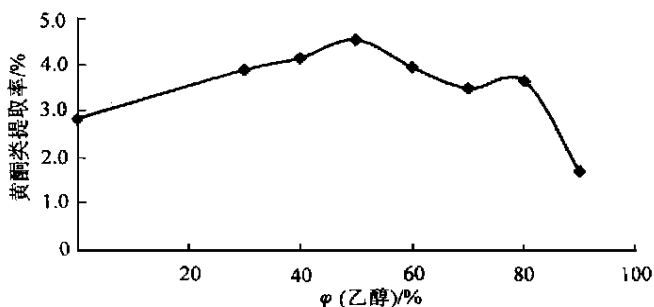


图 1 乙醇体积分数对提取率的影响

Figure 1 Effect of ethanol volume on extraction rate

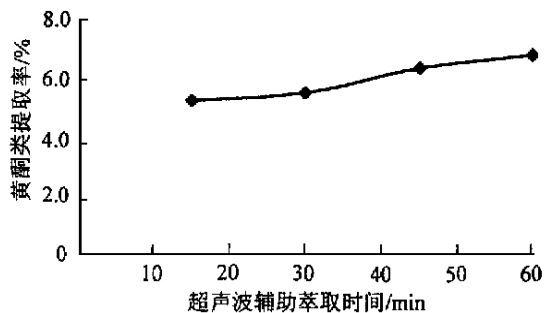


图 2 超声波辅助萃取时间对提取率的影响

Figure 2 Effect of time of ultrasonic wave-assisted on extraction rate

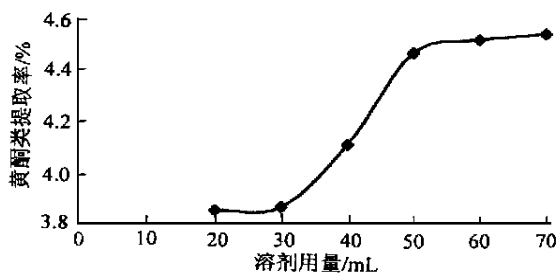


图 3 溶剂用量对提取率的影响

Figure 3 Effect of solvent quantity on extraction rate

析见表2。

表1  $L_9(3^4)$  的正交表和试验结果

Table 1  $L_9(3^4)$  orthogonal design and result

编号	影响 因素	A 乙醇 体积分数	B 超声波萃取 时间/min	C 溶剂用量 /mL	D (空列)	样品质量 /g	吸光值	提取率/%
1		30% (1)	15 (1)	30 (1)	(1)	1.0035	0.261	5.25
2		30% (1)	30 (2)	40 (2)	(2)	1.0033	0.284	5.71
3		30% (1)	45 (3)	50 (3)	(3)	1.0038	0.314	6.32
4		50% (2)	15 (1)	40 (2)	(3)	1.0032	0.326	6.56
5		50% (2)	30 (2)	50 (3)	(1)	1.0015	0.345	6.95
6		50% (2)	45 (3)	30 (1)	(2)	1.0056	0.367	7.37
7		70% (3)	15 (1)	50 (3)	(2)	1.0036	0.326	6.56
8		70% (3)	30 (2)	30 (1)	(3)	1.0033	0.305	6.12
9		70% (3)	45 (3)	40 (2)	(1)	1.0040	0.334	6.72
$K_1$		17.28	18.37	18.74	18.92			
$K_2$		20.88	18.78	18.99	19.64			
$K_3$		19.40	20.41	19.83	19.00			
$k_1$		5.76	6.12	6.25	6.31			
$k_2$		6.96	6.26	6.33	6.55			
$k_3$		6.47	6.80	6.61	6.33			
$Q_i$		370.31	368.90	368.35	368.23			
$S_i$		2.91	0.77	0.22	0.1			
		$K = 57.56$						
		$P = 368.13$						

说明:  $K_1^A$  为 A 列水平为 1 时的提取率之和;  $k_1^A = K_1^A/3$ , 其他类推;  $K$  为 9 次试验提取率之和,  $P = K^2/9$ ,  $Q_A = \sum (K_i^A)^2/3$ ,  $S_A = Q_A - P$

从表 1 可看出, 提取的最佳条件是  $A_2B_3C_3$ 。即在 1.00 g 样品中, 用 50 mL 体积分数为 50% 的乙醇水溶液充分浸泡后, 超声波辅助萃取 45 min。

从表 2 可看出, A (乙醇体积分数) 为显著因素, B (超声波辅助萃取时间) 对提取率有一定的影响, C (乙醇用量) 次之。

### 2.3 最佳条件的确认

取香椿嫩叶中的叶片 (1.0056 g), 在最佳工艺条件下操作, 测其吸光值为 0.371, 计算出其提取率为 7.45%, 大于表 2 中所有的提取率, 验证了所确定条件的为最佳提取工艺条件。另外取适量叶柄在最佳提取工艺条件下试验, 得其提取率为 5.40% (质量 1.0078 g, 吸光值 0.270)。

### 2.4 抽提次数的确定

香椿嫩叶中的叶片 (1.0056 g) 用体积分数为 50% 乙醇充分浸泡后, 在最佳提取工艺条件下连续萃取 4 次, 分别测吸光值, 依次为 0.371, 0.065, 0.009, 0.007。每次提取率为 7.45%, 1.30%, 0.18%, 0.14%。第 1 次萃取占总提取率的 82.14%, 第 2 次占 14.33%, 得前 2 次萃取占总提取率的 96.47%。因此, 本试验确定萃取次数为 2 次。

## 3 结论

香椿嫩叶中含有一定量的黄酮类化合物, 在本试验所确定的最佳提取工艺条件下进行提取, 基本

表 2 方差分析表

Table 2 Variance analysis

方差来源	变动平方和	自由度	平均变动	F 值	显著性
A	2.18	2	1.09	21.8	显著
B	0.77	2	0.39	7.8	有影响
C	0.22	2	0.11	2.2	不显著
D (误差)	0.1	2	0.05		

$F(2, 2)_{0.2} = 4$ ;  $F(2, 2)_{0.1} = 9$ ;  $F(2, 2)_{0.05} = 19$ ;  $F(2, 2)_{0.01} = 99$

可将它提取出来。提取物中含有叶绿素较多, 可用氯仿或石油醚将它提纯。由此, 在黄酮类化合物的提取中还得到副产物叶绿素, 可以通过综合开发利用提高其经济效益。

#### 参考文献:

- 1 庄向平, 虞杏英, 杨更生, 等. 银杏叶中黄酮含量的测定和提取方法[J]. 中草药, 1992, 23 (3): 122~124.
- 2 王成章, 郁青, 陈祥, 等. 银杏叶黄酮浸提工艺的研究[J]. 天然产物研究与开发, 1998, 10 (2): 66~70.
- 3 张英, 陈敬秒, 丁霄霖. 竹叶黄酮水溶性稳定性的研究[J]. 浙江农业大学学报, 1997, 23 (1): 29~32.
- 4 陆宁, 宛晓春. 葛根总黄酮和淀粉的提取及应用[J]. 食品工业科技, 1998, (1): 33~34.
- 5 郭孝武. 超声波和热碱提取对芦丁成分的影响的比较[J]. 中草药, 1997, 28 (2): 88~89.
- 6 陈运中. 苦荞麦黄酮含量的测定[J]. 食品科学, 1988 (3): 54~565.
- 7 朱立新, 吕健强, 李正应, 等. 中国野菜开发与利用[M]. 第2版. 北京: 金盾出版社, 1997. 187~193.

## Extracting flavonoid compounds from *Toona sinensis* leaves

BI Li-jun

(Department of Food Science and Engineering, Hangzhou Institute of Commerce, Hangzhou 310005, China)

**Abstract:** Using a method applying alcohol solution as extraction solvent in cooperation with ultrasonic wave in extraction techniques of flavonoid compounds in *Toona sinensis* leaves, discussing the primary factors which influences extraction ratio, and analyzing preferable extraction techniques by variance analysis and orthogonal design, the results show that a general extraction ratio reaches 96.47% after soaking 1.00 g sample in 50 mL 50% alcohol solution for 24 h with application of ultrasonic wave for 45 min and repeating again. The extracting ratio of flavonoids is 7.45% in the leaves and 5.40% in the leafstalk. The volume percentage of alcohol is a predominant factor for extraction ratio. Application time of ultrasonic wave have certain influence while solvent quantity shows little influence on extraction ratio.

**Key words:** *Toona sinensis*; leaves; flavonoid compounds; extraction; ultrasonic waves; orthogonal design