

文章编号: 1000-5692(2001)01-0050-03

# 喜树叶总黄酮优化提取方案的研究

王学利

(浙江林学院 信息工程与基础科学系, 浙江 临安 311300)

**摘要:** 采用二次通用旋转组合设计方法, 用 pH=10 的水作为溶剂, 在不同的提取温度、溶剂体积和提取时间的条件下对喜树叶总黄酮的含量进行提取试验, 建立三元二次回归方程并进行分析。对三因素的不同水平搭配组合, 应用计算机进行模拟试验得到  $9^3=729$  个数据, 由此推求最优提取方案。结果表明, 以 pH=10 的水为溶剂, 提取温度 91~100 °C, 溶剂体积 50~60 mL, 提取时间 25~37 min, 可最大限度地提取喜树叶中的黄酮。表 3 参 7

**关键词:** 喜树; 叶; 总黄酮; 通用旋转组合设计; 萃取

**中图分类号:** R284.2; Q946; S785.015 **文献标识码:** A

喜树 (*Camptotheca acuminata*) 属紫树科 (Nyssaceae), 别名旱莲木。喜树含有喜树碱、喜树次碱、10-羟基喜树碱和甲氧基喜树碱等多种生物碱<sup>[1]</sup>。喜树碱具有抗癌功能, 主治急性淋巴细胞性白血病和慢性粒细胞性白血病<sup>[1]</sup>。对喜树黄酮类化合物的研究尚未见文献报道。

黄酮类化合物广泛存在于植物的各个部位, 主要集中在植物的花、叶及果实中。黄酮类化合物的生理活性主要表现在对心血管系统的作用, 护肝作用, 抗炎作用, 雌性激素样作用, 抗菌及抗病毒作用, 泻下作用及解痉作用等<sup>[2]</sup>。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, 已从黄芩 (*Scutellaria baicalensis*)、水芹 (*Oenanthe javanica*)、银杏 (*Ginkgo biloba*) 叶、竹叶和龙柏 *Sabina chinensis* cv. 'Kaizuca' 叶中提取分离了许多黄酮类化合物<sup>[3~9]</sup>。本文采用二次通用旋转组合设计方法, 对喜树叶总黄酮进行最优提取方案的研究, 为喜树叶的进一步开发和利用提供理论基础。

## 1 材料与方 法

### 1.1 材料采集

实验样品于 2000 年 8 月采自浙江林学院校园内。分别从喜树树冠的上部、中部和下部采集树叶<sup>[5]</sup>。样品洗净后低温烘干, 混合, 粉碎后装于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 9.17%。

### 1.2 提取方法

准确称取样品 0.500 0 g, 用 pH=10 的水作为溶剂, 恒温水浴加热回流, 抽取不同的时间, 过滤。滤液于 100 mL 容量瓶定容, 待测总黄酮的含量。

### 1.3 测定方法

以卢丁 ( $C_{27}H_{30}O_{16}$ ) 为标准样品, 用比色法对各提取液中的总黄酮含量进行测定<sup>[9]</sup>。

收稿日期: 2000-09-07; 修回日期: 2000-10-30

作者简介: 王学利(1954-), 男, 山东寿光人, 讲师, 从事林产化学研究

## 2 结果与分析

### 2.1 喜树叶总黄酮提取条件的确立

在相同溶剂的前提下, 确立 3 个提取因素: 提取温度 30 ~ 100 °C, 溶剂体积 20 ~ 60 mL, 提取时间 5 ~ 37 min。

### 2.2 试验设计方案

采用二次通用旋转组合设计<sup>[7]</sup>。设提取温度 ( $T$ )、溶剂体积 ( $V$ ) 和提取时间 ( $t$ ) 等 3 个因素。各因素水平编码值如表 1。全部试验设计 20 个处理, 其中 15 ~ 20 号为零水平处理。试验方案及结果见表 2。

### 2.3 试验结果统计分析

从表 2 可以看出, 在溶剂体积和提取时间相同的条件下, 第 9 号与第 10 号比较, 产率提高 19.05%, 说明提取温度对喜树叶中总黄酮的提取率有显著的影响, 随温度的升高, 产率增加。其次, 第 1 号与第 2 号比较, 在提取温度和溶剂体积相同的条件下, 提取时间增加, 产率提高 6.70%, 说明提取时间也有较大的影响。第 11 号与第 12 号比较, 在提取温度和提取时间相同的条件下, 增加溶剂的体积, 产率提高 5.89%, 说明溶剂体积也影响提取的产率。

根据表 2 的试验结果建立三元二次回归方程:

$$\hat{y} = 8.2263 + 0.4830x_1 + 0.1260x_2 + 0.1992x_3$$

$$+ 0.0987x_1x_2 - 0.0412x_1x_3 + 0.1087x_2x_3 + 0.1019x_1^2 - 0.0643x_2^2 - 0.0042x_3^2。$$

计算误差平方和  $SS_{\text{误}} = 0.04437$ , 剩余平方和  $SS_{\text{剩}} = 0.11560$ , 失拟平方和  $SS_{\text{失}} = 0.07123$ , 作失拟性检验得  $F = 1.61$ , 小于临界值  $F_{0.05}(5, 5) = 5.05$ , 所以不存在其他不可忽略的因素的影响。进一步作方差分析, 得表 3。结果表明回归关系显著, 说明回归方程与实际情况拟合得很好。

各回归系数显著性检验的  $t$  值分别为  $t_1 = 16.60$ ,  $t_2 = 4.33$ ,  $t_3 = 6.85$ ,  $t_{12} = 2.60$ ,  $t_{13} = 1.09$ ,  $t_{23} = 2.86$ ,  $t_{11} = 3.60$ ,  $t_{22} = 2.27$ ,  $t_{33} = 0.15$ 。临界值为  $t_{0.05}(10) = 2.23$ 。其中  $t_{13}$  和  $t_{33}$  小于临界值, 所以  $x_1x_3$  与  $x_3^2$  项可从方程中删去。

利用回归方程推求最优提取方案, 在  $-1.68 \leq x_i \leq 1.68$  区间内取步长 0.42, 计算不同搭配组合时的总黄酮含量拟合值共  $9^3 = 729$  个, 其中含量  $\geq 0.93$  的有 49 个。在这 49 个中  $x_1$  (温度) 编码值在 1.26 ~ 1.68 的占 94%,  $x_2$  (体积) 编码值在 0.84 ~ 1.68 的占 71%,  $x_3$  (时间) 编码值在 0.42 ~ 1.68 的占 76%, 且均以 1.68 为最好, 也就是说提取温度 91 ~ 100 °C, 溶剂体积 50 ~ 60 mL, 提取时间 25 ~ 37 min 为宜。

表 1 温度、体积和时间水平编码值

Table 1 Coding value of temperature, volume and time levels

编码值 $x$	$T/^\circ\text{C}$	$V/\text{mL}$	$t/\text{min}$
1.682	100	60	37
1	86	52	31
0	65	40	20
-1	44	28	11
-1.682	30	20	5

表 2 通用旋转组合设计方案及结果

Table 2 Scheme and results of current spinning combination design

试验号	$x_1(^\circ\text{C})$	$x_2(\text{mL})$	$x_3(\text{min})$	产率/%
1	1 (86)	1 (52)	1 (31)	9.24
2	1 (86)	1 (52)	-1 (11)	8.61
3	1 (86)	-1 (28)	1 (31)	8.63
4	1 (86)	-1 (28)	-1 (11)	8.41
5	-1 (44)	1 (52)	1 (31)	8.14
6	-1 (44)	1 (52)	-1 (11)	7.32
7	-1 (44)	-1 (28)	1 (31)	7.85
8	-1 (44)	-1 (28)	-1 (11)	7.54
9	1.682 (100)	0 (40)	0 (20)	9.31
10	-1.682 (30)	0 (40)	0 (20)	7.82
11	0 (65)	1.682 (60)	0 (20)	8.33
12	0 (65)	-1.682 (20)	0 (20)	7.86
13	0 (65)	0 (40)	1.682 (37)	8.50
14	0 (65)	0 (40)	-1.682 (5)	8.03
15	0 (65)	0 (40)	0 (20)	8.38
16	0 (65)	0 (40)	0 (20)	8.17
17	0 (65)	0 (40)	0 (20)	8.29
18	0 (65)	0 (40)	0 (20)	8.15
19	0 (65)	0 (40)	0 (20)	8.21
20	0 (65)	0 (40)	0 (20)	8.14

### 3 结论

在溶剂体积和提取时间相同的条件下, 提取温度对喜树叶总黄酮的提取率有显著的影响, 随温度的升高, 产率增加。其次在提取温度和溶剂体积相同的情况下, 提取时间也有明显的影响。在提取温度和提取时间相同情况下, 溶剂体积也影响总黄酮提取产率的高低。

喜树叶总黄酮的最优提取方案为: pH=10 的水作溶剂, 提取温度为 91~100 °C, 溶剂体积

为 50~60 mL, 提取时间为 25~37 min。在实际操作中可采用提取温度 90 °C, 溶剂体积 60 mL, 提取时间 30min, 这样就可达到较佳的提取效果。

表3 方差分析法

Table 3 Variance analysis

变异来源	df	SS	MS	F	F <sub>0.01</sub>
x <sub>1</sub>	1	3.186	3.186	275.571	4.94
x <sub>2</sub>	1	0.217	0.217	18.749	
x <sub>3</sub>	1	0.542	0.542	46.878	
x <sub>12</sub>	1	0.078	0.078	6.748	
x <sub>13</sub>	1	0.014	0.014	1.178	
x <sub>23</sub>	1	0.095	0.095	8.814	
x <sub>1</sub> <sup>2</sup>	1	0.150	0.150	12.934	
x <sub>2</sub> <sup>2</sup>	1	0.060	0.060	5.156	
x <sub>3</sub> <sup>2</sup>	1	0.000	0.000	0.022	
回归	9	4.370	0.486	42.008	
剩余	10	0.116	0.012		
总计	19	4.486			

### 参考文献:

- [1] 《浙江药用植物志》编写组. 浙江药用植物志: 下册[M]. 杭州: 浙江科学技术出版社, 1980. 869-870.
- [2] 江年琼. 药用木本植物叶资源的开发思路和方法[J]. 经济林研究, 1999, 17(4): 56-57.
- [3] 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, 4(2): 38-45.
- [4] 毕丽君, 李慧. 水芹中总黄酮类化合物最佳提取工艺的研究[J]. 食品科学, 1999, (12): 35-37.
- [5] 毛燕, 黄必恒. 龙柏叶总黄酮提取条件的研究[J]. 浙江林学院学报, 2000, 17(1): 102-105.
- [6] 许正斌, 佟婉筠, 杨光. 刺五加各部位有效成分的含量测定[J]. 中草药, 1984, 15(5): 33.
- [7] 杨义群. 回归设计及多元分析[M]. 西安: 天则出版社, 1990. 62-91.

## Optimum scheme of extracting flavonoid in *Camptotheca acuminata* leaves

WANG Xue-li

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

**Abstract:** Under the different temperatures, solvent volumes and extracting hours, using water (pH=10) as solvent, the experiment how to more extract content of flavonoid in *Camptotheca acuminata* leaves was made by use of quadratic current spinning combination design method. According to the experimental data, a ternary quadratic form regression equation was built and analyzed; and a simulate test to different leaves of three factors was did with computer. The results showed that the optimum scheme of extracting flavonoid from *Camptotheca acuminata* leaves was extracting temperature of 90-100 °C, solvent volume of 50-60 mL and extracting time of 25-37 min.

**Key words:** *Camptotheca acuminata*; leaves; flavonoid; current spinning combination design; extraction