

## 侧柏叶总黄酮的提取工艺研究

赵莹 张建平, 赵永光 周永国 (河北科技师范学院化学系, 河北秦皇岛 066004)

**摘要** [目的] 探讨提取侧柏叶总黄酮的最优工艺。[方法] 采用索氏提取法, 选用不同溶剂在不同的浸提时间、浸提温度、液料比下对侧柏叶总黄酮提取工艺进行研究。[结果] 最优浸提方案是浸提时间6 h、浸提温度70℃、液料比8:1; 浸提温度对提取侧柏叶总黄酮的影响较大, 其次为浸提时间, 而液料比的影响较小; 甲醇作提取剂的效果最佳。按最优提取工艺得总黄酮产率为8.450%。定性试验和紫外光谱分析结果表明, 侧柏叶中的黄酮化合物主要为黄酮醇类。[结论] 该研究提出了侧柏叶总黄酮的最优提取工艺, 为侧柏叶总黄酮的提取奠定了基础。

**关键词** 侧柏叶; 总黄酮; 提取

中图分类号 Q943.1 文献标识码 A 文章编号 0517-6611(2008)21-09103-02

### Research on the Best Extraction Technique of Flavonoids from *Platycladus orientalis* Leaf

ZHAO Ying et al (Department of Chemistry, Hebei Normal College of Science & Technology, Qinhuangdao, Hebei 066004)

**Abstract** [Objective] The extraction technique of flavonoids from *Platycladus orientalis* leaf was researched with the different solvents, extraction times, temperatures and the proportion of solvent material. The result of orthogonal test: the flavonoids extracted from *Platycladus orientalis* leaf was affected by the extraction temperature, time and solvent material proportion with degression order. The best extraction technique scheme was the solvent was methanol; the extraction time, 6 h; the extraction temperature, 70℃ and solvent material proportion, 8:1. The result of the best extraction technique scheme was flavone content was 8.450%.

**Key words** *Platycladus orientalis* leaf; Flavonoids; Extraction

侧柏(*Platycladus orientalis*)系柏科侧柏属常绿乔木, 别名扁柏、香柏、片柏、片松。喜生于湿润肥沃的山坡, 分布于全国大部分地区<sup>[1]</sup>。现代医学研究证明, 侧柏叶对肺炎双球菌、金黄色葡萄球菌、宋内氏痢疾杆菌有明显的抑制作用, 能缩短出血和凝血时间, 对肺炎、痢疾、高血压等多种疾病有一定的疗效<sup>[2]</sup>。侧柏叶的疗效作用主要是通过存在其中的黄酮类物质起作用的。侧柏叶中黄酮类物质含量很高。为此, 笔者对侧柏叶中黄酮类物质的提取方法进行了研究。

## 1 材料与方 法

**1.1 材料** 侧柏叶, 于4月20日采自河北科技师范学院内, 清洗, 阴干, 烘干(60℃, 4 h), 粉碎, 过60目筛备用<sup>[3]</sup>。

## 1.2 方 法

**1.2.1 黄酮类物质的提取方法。**侧柏叶 清洗, 阴干, 60

烘干4 h(干样重量占37.32%) 粉碎, 过60目筛 石油醚索氏提取去脂 脱脂侧柏叶粉末索氏提取法提取总黄酮 提取液抽滤, 定容, 测定吸光度。

**1.2.2 黄酮类物质的显色反应。**盐酸-镁粉反应是鉴定黄酮类化合物最常用的颜色反应。吸取定容好的提取液1 ml于试管中, 加入少许镁粉振摇, 滴加几滴浓盐酸, 1~2 min即可显色。多数黄酮、黄酮醇、二氢黄酮及二氢黄酮醇类化合物显橙红至紫红色, 少数显紫至蓝色<sup>[4]</sup>。

该试验提取液(甲醇作溶剂)本色为灰黄色, 其在该显色反应的试验中呈紫红色, 而其在对照试验中呈橙色, 证明提取液中含有黄酮、黄酮醇、二氢黄酮及二氢黄酮醇类化合物。侧柏叶提取液中的黄酮类化合物主要为黄酮醇类<sup>[3]</sup>。

**1.2.3 正交试验。**选取浸提时间、浸提温度和液料比3个因素进行 $L_9(3^4)$ 正交试验, 3次重复, 所得数据均为3次重复的平均值<sup>[5]</sup>。因为花色苷及其苷元的颜色随着pH值不同而

改变, 一般显红(pH<7.0)、紫(pH=8.5)、蓝(pH>8.5)等颜色。该试验不考虑pH值对测定结果的影响。试验过程中分别以甲醇、无水乙醇及乙酸乙酯作提取液, 其因素与水平设计见表1~3。

表1 以甲醇作提取剂时的 $L_9(3^4)$ 正交试验因素与水平设计

Table 1 Factors and levels of  $L_9(3^4)$  orthogonal test with methanol as extracting solution

水平 Level	浸提时间 h Extraction time	浸提温度 Extraction temperature	液料比 liquid:Solid ratio
1	2	65	10:1
2	4	70	8:1
3	6	75	6:1

表2 以无水乙醇作提取液时的 $L_9(3^4)$ 正交试验因素与水平设计

Table 2 Factor and level design of  $L_9(3^4)$  orthogonal test with anhydrous alcohol as extracting solution

水平 Level	浸提时间 h Extraction time	浸提温度 Extraction temperature	液料比 liquid:Solid ratio
1	2	80	10:1
2	4	85	8:1
3	6	90	6:1

表3 以乙酸乙酯作提取液时的 $L_9(3^4)$ 正交试验因素与水平设计

Table 3 Factor and level design of  $L_9(3^4)$  orthogonal test with ethyl acetate as extracting solution

水平 Level	浸提时间 h Extraction time	浸提温度 Extraction temperature	液料比 liquid:Solid ratio
1	2	80	10:1
2	4	85	8:1
3	6	90	6:1

**1.2.4 吸光度的测定。**将提取液蒸馏浓缩至50 ml, 再取该浓缩液5 ml, 定容至50 ml。加入2滴1%三氯化铝溶液<sup>[6]</sup>(生成的络合物为黄色, 并有荧光, 可用于定性及定量分析)。以同样加入三氯化铝溶液的溶剂作参比, 测定提取液的吸光度值。以芦丁作对照品, 测定侧柏叶提取物中总黄酮成分含量。以吸光度值为纵坐标, 以浓度值为横坐标绘制标准曲

基金项目 河北省科技厅科技攻关项目部分内容。

作者简介 赵莹(1979-), 女, 河北石家庄人, 硕士, 讲师, 从事应用化学方面的研究。

收稿日期 2008-04-28

线。检测波长415 nm, 芦丁浓度在2.31 ~231.00  $\mu\text{g/ml}$ , A 与 C 具有良好的线性关系, 回归方程:  $Y = 2.82X - 0.0056$ ,  $r = 0.9996^{[5]}$ 。

**1.2.5 紫外光谱分析。**按参考文献[7]的方法将提取物用适量甲醇溶液溶解后, 在200 ~450 nm 处扫描其紫外吸收光谱。

## 2 结果与分析

### 2.1 正交试验结果

**2.1.1 以甲醇作提取液。**表4 表明, 以甲醇作提取液时, 影响侧柏叶总黄酮提取( 甲醇作溶剂) 的主要因素是浸提时间和浸提温度, 而液料比的影响相对较小。各因素的主次顺序是:  $B > A > C$ , 最优浸提方案为  $A_3B_2C_2$ , 即浸提时间6 h, 浸提温度70  $^{\circ}\text{C}$ , 液料比8 1。按最优浸提方案进行试验得到吸光度值为0.471, 总黄酮得率为8.450%。

表4 以甲醇作提取剂时的正交试验结果

Table 4 Results of orthogonal test with methanol as extractant

试验序号 Est No.	浸提时间 Extraction time	浸提温度 Extraction temperature	液料比 Solid-liquid ratio	吸光度值 Absorbance value	总黄酮得率 % Total flavonoids yield
1	1	1	1	0.127	2.351
2	1	2	2	0.320	5.773
3	1	3	3	0.290	5.241
4	2	1	2	0.209	3.805
5	2	2	3	0.377	6.784
6	2	3	1	0.379	6.819
7	3	1	3	0.175	3.202
8	3	2	1	0.436	7.830
9	3	3	2	0.432	7.759
R	1.809	3.677	0.703		

**2.1.2 以无水乙醇作提取液。**表5 表明, 以无水乙醇作提取液时, 影响侧柏叶总黄酮提取( 无水乙醇作溶剂) 的主要因素是浸提时间和浸提温度, 而液料比的影响相对较小。各因素的主次顺序是:  $B > A > C$ , 最优浸提方案为  $A_3B_2C_1$ , 即浸提时间6 h, 浸提温度85  $^{\circ}\text{C}$ , 料液比10 1。按最优浸提方案进行试验得到吸光度值为0.413, 总黄酮得率为7.422%。

表5 以无水乙醇作提取液时的正交试验结果

Table 5 Results of orthogonal test with anhydrous alcohol as extracting solution

试验序号 Est No.	浸提时间 Extraction time	浸提温度 Extraction temperature	液料比 Solid-liquid ratio	吸光度值 Absorbance value	总黄酮得率 % Total flavonoids yield
1	1	1	1	0.103	1.925
2	1	2	2	0.251	4.407
3	1	3	3	0.243	4.407
4	2	1	2	0.175	3.202
5	2	2	3	0.286	5.170
6	2	3	1	0.332	5.986
7	3	1	3	0.231	4.195
8	3	2	1	0.392	7.050
9	3	3	2	0.351	6.323
R	2.229	2.483	0.396		

**2.1.3 以乙酸乙酯作提取液。**表6 表明, 以乙酸乙酯作提取液时, 影响侧柏叶总黄酮提取的主要因素是浸提时间和浸提温度, 而液料比的影响相对较小。各因素的主次顺序是:  $B > A > C$ , 最优浸提方案为  $A_3B_3C_3$ , 即浸提时间6 h, 浸提温度90  $^{\circ}\text{C}$ , 液料比6 1。按最优浸提方案进行试验得到吸光度值为

0.375, 总黄酮得率为6.748%。

表6 以乙酸乙酯作提取液时的正交试验结果

Table 6 Results of orthogonal test with ethyl acetate as extracting solution

试验序号 Est No.	浸提时间 Extraction time	浸提温度 Extraction temperature	液料比 Solid-liquid ratio	吸光度值 Absorbance value	总黄酮得率 % Total flavonoids yield
1	1	1	1	0.107	1.996
2	1	2	2	0.262	4.745
3	1	3	3	0.293	5.294
4	2	1	2	0.155	2.847
5	2	2	3	0.292	5.277
6	2	3	1	0.336	6.057
7	3	1	3	0.217	3.947
8	3	2	1	0.334	6.021
9	3	3	2	0.317	5.720
R	1.217	2.760	0.402		

**2.2 定性分析** 侧柏叶提取物在265、308、352 nm 处各有1 个吸收峰。黄酮、黄酮醇的紫外吸收光谱在240 ~280 和300 ~380 nm 间有2 个主要的吸收峰。因此, 初步推测侧柏叶中黄酮类化合物主要为黄酮、黄酮醇类。又根据以氢氧化钠为显色试剂作定性分析溶液呈棕黄色, 可以确定侧柏叶中黄酮类化合物主要为黄酮醇类。其光谱图见图1。

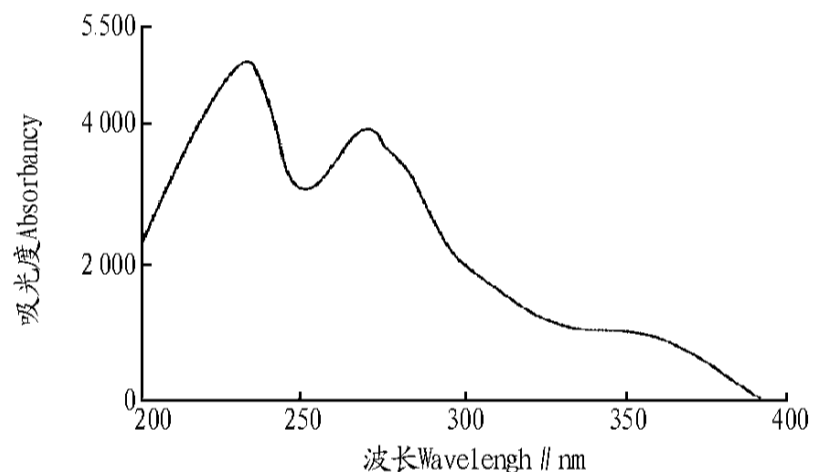


图1 侧柏叶提取物的紫外光谱图

Fig.1 UV spectrum of the leaf extracts from Platyadatus orientalis

## 3 结论与讨论

在用甲醇、乙醇或乙酸乙酯为提取液提取侧柏叶中黄酮类物质过程中, 浸提时间和浸提温度都是影响提取效果的主要因素。以甲醇作提取液, 最优浸提方案为: 浸提时间6 h, 浸提温度70  $^{\circ}\text{C}$ , 液料比8 1, 总黄酮得率为8.450%。以无水乙醇作提取液, 最优浸提方案为: 浸提时间6 h, 浸提温度85  $^{\circ}\text{C}$ , 液料比10 1, 总黄酮得率为7.422%。以乙酸乙酯作提取液, 最优浸提方案为: 浸提时间6 h, 浸提温度90  $^{\circ}\text{C}$ , 液料比6 1, 总黄酮产率为6.748%。

3 种提取液比较, 以甲醇作溶剂提取的总黄酮得率最高, 且甲醇浸提温度最低, 能耗最少, 所以采用甲醇作溶剂的提取工艺最优。

### 参考文献

- [1] 叶水泉. 侧柏叶[J]. 医药与保健, 1998(12): 1-3.
- [2] 张泽峰. “仙丹良药”侧柏叶[J]. 东方药膳, 2006(3): 2-4.
- [3] 赵永光, 常立新, 周永国, 等. 超声波法提取侧柏叶片中黄酮类化合物的研究[J]. 河北农业大学学报, 2005(2): 3-5.
- [4] 张松. 新合成食用香料手册[M]. 北京: 化学工业出版社, 2005: 85-221.
- [5] 宋启煌. 精细化工工艺学[M]. 2版. 北京: 化学工业出版社, 2004: 16-17.
- [6] 徐任生. 天然产物化学[M]. 2版. 北京: 科学出版社, 2004: 526-527.
- [7] 程立方, 田樱. 侧柏叶总黄酮提取工艺与含量测定方法研究[J]. 时珍国药研究, 1995(4): 3-4.