

樊琛,曾庆华,王会,等.金银花总黄酮的提取[J].江苏农业科学,2014,42(10):255-256.

# 金银花总黄酮的提取

樊琛,曾庆华,王会,李燕,孙小凡

(聊城大学农学院,山东聊城 252059)

**摘要:**以金银花为原料,通过正交试验探讨了乙醇浓度、料液比、超声提取时间以及提取温度等对金银花总黄酮提取率的影响。结果表明,最佳提取条件为料液比 1 g : 200 mL、提取时间 15 min、乙醇浓度 30%、提取温度 40 ℃。

**关键词:**金银花;总黄酮;超声辅助;最佳提取方法

**中图分类号:** R284.2 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2014)10-0255-02

金银花(*Lonicera japonica*)为忍冬科植物忍冬的花蕾<sup>[1]</sup>,是我国公布的既是食品又是药品的植物,具有清热解毒、疏风通络等功效<sup>[2]</sup>。金银花中有挥发油、黄酮类、有机酸、三萜类、无机元素等多种化学成分<sup>[3]</sup>。有研究表明,绿原酸类和黄酮类化合物具有抗氧化、清除自由基的作用<sup>[4-5]</sup>。本研究以金银花为原料,运用正交试验法,以料液比、提取时间、提取液(乙醇)浓度、提取温度为因素,提取金银花中的总黄酮成分,以期为金银花的综合利用提供参考。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料与试剂

金银花,由北京同仁堂健康药业(福州)有限公司提供;乙醇、NaNO<sub>2</sub>、芸香苷等为分析纯。

### 1.2 仪器与设备

UV-1800 紫外可见分光光度计,日本岛津公司;

SK1200H 超声清洗机,上海科导超声仪器有限公司;79-2 双向磁力加热搅拌器,江苏省金坛市医疗仪器厂;SB-2000 水浴锅,上海爱朗仪器有限公司;TD5 台式多管架离心机,长沙英泰仪器有限公司。

### 1.3 试验方法

**1.3.1 金银花提取液的制备** 称取干金银花样本,用研钵研成粉末,溶于不同浓度的提取剂(乙醇)溶液中,45 W 超声浸提处理 15~45 min 后抽滤,将滤液于 3 000 r/min 离心 15 min 后,得到的澄清液体即为金银花提取液。

**1.3.2 正交试验的设计** 用正交试验 L<sub>9</sub>(3<sup>4</sup>) 确定最佳料液比、处理时间、乙醇浓度、提取温度等工艺条件。考虑到生物活性物质对温度的敏感性和实际操作中节省物料、能源的实际情况,正交试验因素水平设置见表 1。

表 1 金银花总黄酮提取正交试验设计

水平	因素			
	料液比 (g : mL)	提取时间 (min)	乙醇浓度 (%)	提取温度 (℃)
1	1 : 200	30	60	60
2	1 : 300	45	30	40
3	1 : 400	15	0	20

收稿日期:2013-11-29

基金项目:聊城大学博士科研启动基金(编号:31805)。

作者简介:樊琛(1978—),女,山东聊城人,博士,副教授,主要从事食品营养、病原体分子生物学、食品卫生学方面的研究。E-mail: fanchen7810@126.com。

较高,适合于鱼腥草多糖的提取。

## 参考文献:

- [1] 中华人民共和国药典委员会. 中华人民共和国药典[M]. 北京:人民卫生出版社,1957:155.
- [2] 卢红梅,彭丽华,郭方遒,等. 鱼腥草中黄酮类成分的高效液相色谱指纹图谱分析[J]. 色谱,2010,28(10):965-970.
- [3] 王健,史玉,张永泽,等. 鱼腥草不同部位提取物的抗菌抗病毒作用比较[J]. 河北工程大学学报:自然科学版,2010,27(2):104-106.
- [4] 刘光建,王璐,王菲菲,等. 鱼腥草多糖对小鼠肝、肾、心肌和脑组织抗氧化作用的研究[J]. 中国实验方剂学杂志,2011,17(8):207-210.
- [5] Tian L M, Zhao Y, Guo C, et al. A comparative study on the antioxidant activities of an acidic polysaccharide and various solvent extracts derived from herbal *Houttuynia cordata* [J]. Carbohydrate Polymers, 2011, 83(2):537-544.

- [6] Meng J, Leung K S, Jiang Z H, et al. Establishment of GC-MS fingerprint of fresh *Houttuynia cordata* [J]. Chemical & Pharmaceutical Bulletin, 2005, 53(11):1484-1489.
- [7] 何士敏,方平,郭利佳. 鱼腥草抗氧化成分的研究[J]. 西南农业学报,2009,22(3):625-631.
- [8] 张娟娟,卢燕,陈道峰. 鱼腥草抗补体活性多糖的制备工艺研究[J]. 中国中药杂志,2012,37(14):2071-2075.
- [9] 李利华. 鱼腥草多糖超声波提取工艺研究[J]. 安徽农业科学,2010,38(5):2571-2573.
- [10] 王素萍,杨亚玲,李晚谊,等. 鱼腥草多糖提取工艺及成分分析研究[J]. 云南大学学报:自然科学版,2008,30(4):396-400.
- [11] 孟江,周毅生,廖华卫. 超声波提取鱼腥草多糖工艺研究[J]. 时珍国医国药,2008,19(1):17-18.
- [12] 刘军海,黄宝旭,蒋德超. 响应面分析法优化艾叶多糖提取工艺研究[J]. 食品科学,2009,30(2):114-118.
- [13] 张维杰. 糖复合物生化研究技术[M]. 杭州:浙江大学出版社,1994:13-16.

1.3.3 提取物的定量分析

1.3.3.1 总黄酮的测定及标准曲线的绘制<sup>[6-12]</sup> 以芸香苷为标准样,用络合-分光光度计法测定金银花提取物的总黄酮含量。分光光度法的原理是:黄酮与铝离子在碱性环境、亚硝酸存在的条件下形成黄酮的铝络合物,进而生成稳定的红色,因此红色的深浅与黄酮含量呈一定的比例关系,可以以芸香苷(标准样)作为标准,在 510 nm 波长处比色定量测定黄酮含量。具体步骤为:准确称取于 120 ℃ 干燥至恒重的 5.0 mg 芸香苷,用甲醇定容至 50 mL,得浓度 0.1 mg/mL 的标准应用液。准确吸取标准应用液 0、1.0、2.0、3.0、4.0、5.0 mL 于 6 支具塞试管中,加 30% 乙醇至 5 mL;再加入 0.3 mL 5% NaNO<sub>2</sub> 溶液,摇匀放置 6 min;加入 0.3 mL 10% AlCl<sub>3</sub> 溶液,摇匀并放置 6 min 后加入 4 mL 1 mol/L NaOH 溶液;加入 0.4 mL 水,摇匀放置 10~15 min;于 510 nm 波长处测定吸光度,绘制浓度(y)-吸光度(x)的标准曲线。

1.3.3.2 金银花黄酮样液的测定方法<sup>[6-12]</sup> 准确吸取 1 mL 提取液并稀释至 5 mL,加入 0.3 mL 5% NaNO<sub>2</sub> 溶液;摇匀放置 6 min 后加入 0.3 mL 10% AlCl<sub>3</sub> 溶液,摇匀放置 6 min;再加入 4 mL 1 mol/L NaOH 溶液、0.4 mL 蒸馏水后摇匀放置 10~15 min;同时作试剂空白组和样品空白组,以试剂空白组作对照,于 510 nm 波长处测定吸光度,查标准曲线后计算出金银花样液中的总黄酮含量(mg/mL);试验设 3 次平行对照,结果取平均值。

样液中的黄酮含量 = C/5 × 5/1 × 10。  
式中:C 表示查标准曲线的值,mg/mL。

2 结果与分析

2.1 标准曲线的绘制

用络合-分光光度计法测定金银花提取物中总黄酮的含量,以芸香苷为标准样绘制标准曲线,得回归方程  $y = 0.0791x - 0.0007$ ,方程  $r = 0.9990$ ,详见图 1。

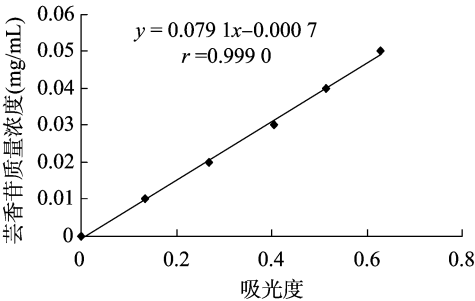


图1 芸香苷标准曲线

2.2 金银花提取液的测定

以料液比、超声提取时间、乙醇浓度和提取温度为正交因素设计正交试验,在 510 nm 波长处测定吸光度,查标准曲线后计算出金银花样液中的总黄酮含量,结果见表 2。

如表 2 所示,影响金银花提取物中总黄酮含量的主要因素是料液比,料液比比值越小,总黄酮含量越低。金银花总黄酮提取最佳组合为 A<sub>1</sub>B<sub>3</sub>C<sub>2</sub>D<sub>2</sub>,即料液比 1 g : 200 mL、提取时间 15 min、乙醇浓度 30%、提取温度 40 ℃。经验证,最佳条件时金银花提取物中黄酮类化合物的含量为 0.069 4 mg/mL。

表 2 正交试验中金银花样液中的总黄酮含量

编号	A:料液比	B:提取时间(min)	C:乙醇浓度(%)	D:提取温度(℃)	总黄酮含量(mg/mL)
1	1	1	1	1	0.054 4
2	1	2	2	2	0.062 4
3	1	3	3	3	0.049 9
4	2	1	2	3	0.038 8
5	2	2	3	1	0.037 4
6	2	3	1	2	0.043 4
7	3	1	3	2	0.031 0
8	3	2	1	3	0.027 6
9	3	3	2	1	0.036 3
k <sub>1</sub>	0.056	0.041	0.042	0.043	
k <sub>2</sub>	0.040	0.042	0.046	0.046	
k <sub>3</sub>	0.032	0.043	0.039	0.039	
R	0.024	0.002	0.007	0.007	

3 结论

结果表明,影响金银花提取物中总黄酮含量的主要因素是料液比。提取金银花总黄酮的最佳组合为 A<sub>1</sub>B<sub>3</sub>C<sub>2</sub>D<sub>2</sub>,即料液比 1 g : 200 mL、提取时间 15 min、乙醇浓度 30%、提取温度 40 ℃。

参考文献:

[1]董照熙,丁立,崔耀章. 金银花叶中有效成分含量的研究[J]. 中药通报,1985,10(5):33-35.  
[2]兰华,申鸿,高丹,等. 金银花不同贮藏时期有效成分与抗氧化力的研究[J]. 中国食品学报,2008,8(6):43-47.  
[3]吴晓春,杨苏亚. 金银花的成分及药理作用分析[J]. 青海医药杂志,2007,37(5):88-89.  
[4]李迎秋,田文利,黄雪松. 生姜提取物在食用油脂中的抗氧化效果[J]. 山东轻工业学院学报:自然科学版,2004,18(2):47-50.  
[5]石雪萍,李小华,杨爱萍. 南京雨花茶中总黄酮提取以及 DPPH 自由基清除活性研究[J]. 江苏农业科学,2013,41(6):238-240.  
[6]于洁,云彩虹,南叶飞,等. 生姜提取物对油脂抗氧化作用研究[J]. 食品工业科技,2010(5):154-156.  
[7]唐仕荣,李超,宋慧,等. 生姜多酚的优化提取及其抗氧化性研究[J]. 食品工业科技,2010(4):256-259.  
[8]高文秀,祝波,王亚红. 酶解法协同超声波法提取山楂中总黄酮的工艺条件优化[J]. 江苏农业科学,2013,41(3):252-254,381.  
[9]莫开菊,柳圣,程超. 生姜黄酮的抗氧化活性研究[J]. 食品科学,2006,27(9):110-115.  
[10]丁利君,周圳辉,林燕如. 芒果中黄酮物质的提取及其抗氧化研究[J]. 食品科学,2005,26(8):77-82.  
[11]曾军,石国荣. 天然产物抗氧化活性的测定方法和原理[J]. 安徽农学通报,2008,14(22):35-36.  
[12]莫开菊,程超,黄鹏,等. 生姜黄酮提取纯化及结构的初步鉴定[J]. 食品科学,2005,26(9):229-233.