

菊花有效成分的最佳提取条件

周 蒂 奚可春¹ 施 菁²(杭州 310007 海南养生堂药业有限公司;¹ 杭州 310006 浙江大学湖滨校区生物医学工程系;² 杭州 310006 浙江省医药保健品进出口公司)

菊花为菊科植物菊 *Chrysanthemum morifolium* Ramat. 的干燥头状花序,具有发散风热,平肝明目,解毒消肿等功效,而被广泛应用于医药及饮食行业中,近年来由于菊花成药及菊花饮品的不断开发,改进提取工艺、提高提取效率引起人们的重视,本文采用正交试验法,以总黄酮、浸出物及浸出物中黄酮为指标,对提取温度、溶剂(乙醇浓度)、提取时间、提取次数诸因素进行优选试验,以便选择最佳提取条件,从而为大生产中菊花提取及人们饮用菊花提供有益的指导。

1 材料及标准品

菊花于1996年11月购于浙江省桐乡灵安镇,经原浙医大生药学教研室鉴定为菊科植物菊 *Chrysanthemum morifolium* Ramat. 的干燥头状花序。标准品芦丁(浙江省药品检验所);岛津 UV-260 紫外分光光度计。

2 实验部分

2.1 样品提取

2.1.1 总黄酮提取

精密称取菊花样品 2.50g,按正交试验表所列条件,每次加入 40ml 溶剂加热回流提取,将提取液过滤合并,适当浓缩后用相应浓度乙醇定容于 25ml 量瓶中,摇匀备用。

2.1.2 浸出物

称取菊花 4.0g,按正交试验表所列条件,每次加溶

剂 30ml,加热回流提取,将提取液合并过滤,用相应浓度乙醇定容于量瓶中(提取一次用 50ml 量瓶,提取 2 次用 100ml 量瓶,提取 3 次或 4 次用 250ml 量瓶)。精密吸取 1/10 量于烧杯中,供测黄酮用;剩余滤液倒入已干燥恒重的蒸发皿中,将其在水浴上蒸干,并于 105℃ 烘箱中干燥 3h 至恒重,冷却 30min,称重。

2.1.3

浸出物黄酮提取 将上述已移入烧杯的提取液于水浴上蒸干,并用 75% 乙醇溶解,转移滤入 25ml 量瓶中,定容,摇匀,备用。

2.2 含量测定

2.2.1 总黄酮的含量

2.2.1.1 标准曲线绘制 精密称取芦丁标准品 20.4 mg,溶解并定容于 60% 乙醇 100ml 中,摇匀后,吸取 50ml,并定容于 100ml 蒸馏水中。分别吸取 1.0, 2.0, 3.0, 4.0 和 5.0ml,加 30% 乙醇使成 5ml,摇匀加 5% 亚硝酸钠试液 0.3ml,振荡后静置 6min,再加 10% 硝酸铝溶液 0.3ml,摇匀,放置 10min,在 510nm 波长处测定吸收度,以吸收度 A 为纵坐标,浓度 C 为横坐标,得一标准曲线,并计算回归方程为: $CONC = 86.307 \cdot ABS - 0.2179(\mu\text{g}/\text{ml})$, $r = 0.9998$ 。

2.2.1.2 样品测定 精密吸取样品液各 0.5ml,用 30% 乙醇稀释至 5.0ml,按“绘制标准曲线”项下的方法显色,并以 30% 乙醇液 5.0ml 为空白对照,在 510nm 波

长处测定吸收度,由标准曲线回归方程计算样品中黄酮含量(%)。

2.2.2 浸出物含量测定

浸出物提取项下已恒重含浸出物蒸发皿重量减去恒重的空蒸发皿重量即得浸出物重量。

2.2.3 浸出物黄酮的含量测定

浸出物黄酮提取物按总黄酮测定法测定。

3 正交试验设计及结果

3.1 选用 $L_{16}(4^5)$ 正交表,考察因素及具体水平列于表

表 2 $L_{16}(4^5)$ 正交试验结果

1,试验结果见表 2,并将加因素与提取量作关系图。

表 1 考察因素及水平

因素	水平			
	1	2	3	4
提取温度/℃	25	50	85	100
乙醇浓度/%	0	30	75	95
提取时间/h	0.5	1.0	1.5	2.0
提取次数/次	1	2	3	4

序号	温度/℃	时间/h	浓度/%	次数	误差	测试指标/ $\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$		
						总黄酮	浸出物	浸出物黄酮
1	1	1	1	1	1	22.5653	0.4390	2.2832
2	1	2	2	2	2	24.3777	0.9243	16.3512
3	1	3	3	3	3	31.5412	1.2420	26.3629
4	1	4	4	4	4	30.5918	1.0136	19.5446
5	2	1	2	3	4	33.0084	1.7976	25.6724
6	2	2	1	4	3	24.5504	1.3716	25.8450
7	2	3	4	1	2	38.1869	1.2079	15.2293
8	2	4	3	2	1	32.1454	1.4856	37.6691
9	3	1	3	4	2	36.8060	0.8327	46.3861
10	3	2	4	3	1	42.9338	1.4316	38.4458
11	3	3	1	2	4	26.7943	1.6532	26.4492
12	3	4	2	1	3	26.7080	1.8440	15.1429
13	4	1	4	2	3	47.3354	0.9934	30.7645
14	4	2	3	1	4	37.2375	1.5408	17.8184
15	4	3	2	4	1	35.9429	1.7580	50.7014
16	4	4	1	3	2	26.1902	1.8786	34.4757
黄酮	I	1.0910	1.3972	1.0010	1.2470	1.3359		
	II	1.2789	1.2910	1.2000	1.3065	1.2556		
	III	1.3324	1.3247	1.3773	1.3367	1.3014		
	IV	1.4671	1.1564	1.5905	1.2789	1.2763		T = 1.6702
	I^2	1.1903	1.9522	1.0020	1.5550	1.7846		
	II^2	1.6356	1.6667	1.4400	1.7070	1.5766		
	III^2	1.7753	1.7547	1.8970	1.7869	1.6935		
	IV^2	2.1524	1.3772	2.5296	1.6356	1.6290		
浸出物	I	3.6189	4.0627	5.3424	5.0317	5.1142		
	II	5.8627	5.2683	6.3239	5.0565	4.8435		
	III	5.7615	5.8611	5.1011	6.3498	5.4510		
	IV	6.1708	6.2218	4.6465	4.9759	6.0052		T = 28.6597
	I^2	13.0964	16.5055	28.5412	25.3180	26.1550		
	II^2	34.3713	27.7550	39.9917	25.5682	23.4595		
	III^2	33.1949	34.3525	26.0212	40.3200	29.7134		
	IV^2	38.0788	30.7108	21.5900	24.7596	36.0642		

序号	温度/℃	时间/h	浓度/%	次数	误差	测试指标/ $\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$		
						总黄酮	浸出物	浸出物黄酮
浸出物黄酮 I	0.6454	1.0511	0.8905	0.5047	1.2910			
II	1.0442	0.9846	1.0787	1.1123	1.1244			
III	1.2642	1.1874	1.2823	1.2496	0.9811			
IV	1.3376	1.0683	1.0398	1.4248	0.8948			T = 1.1510
I ²	0.4166	1.1047	0.7930	0.2548	1.6667			
II ²	1.0903	0.9694	1.1635	1.2373	1.2643			
III ²	1.5983	1.4100	1.6445	1.5614	0.9627			
IV ²	1.7892	1.1413	1.0813	2.0300	0.8007			

注:表中 I 代表每个因素中水平 1 所对应的试验结果之和, II、III、IV 类同

3.2 方差分析结果

我们分别对黄酮、浸出物、浸出物黄酮的试验结果作方差分析(表 3,4,5),发现三者不尽一致。

表 3 黄酮方差分析结果

方差来源	自由度	离差平方和	均方	F = Si/Se	P 值	顺序
提取温度	3	18.23×10^{-3}	6.077×10^{-3}	24.12	<0.05	2
提取时间	3	17.53×10^{-3}	5.844×10^{-3}	23.10	<0.05	3
乙醇浓度	3	46.98×10^{-3}	15.66×10^{-3}	62.14	<0.01	1
提取次数	3	0.956×10^{-3}	0.319×10^{-3}	1.265		
误差 e	3	0.756×10^{-3}	0.252×10^{-3}	$F_{1-0.01}(3,3) = 29.5$ $F_{1-0.05}(3,3) = 9.3$		

表 4 浸出物方差分析结果

方差来源	自由度	离差平方和	均方	F = Si/Se	P 值	顺序
提取温度	3	1.0257	0.3419	5.4613	<0.10	1
提取时间	3	0.6713	0.2238	3.5728	<0.25	2
乙醇浓度	3	0.3765	0.1255	2.0048		
提取次数	3	0.3318	0.1106	1.7668		
误差 e	3	0.1879	0.0626	$F_{1-0.01}(3,3) = 5.39$ $F_{1-0.25}(3,3) = 2.36$		

表 5 浸出物黄酮方差分析结果

方差来源	自由度	离差平方和	均方	F = Si/Se	P 值	顺序
提取温度	3	0.07256	0.02419	3.2714	<0.25	2
提取时间	3	0.00535	0.00178			
乙醇浓度	3	0.01957	0.00652			
提取次数	3	0.11985	0.03995	5.4019	<0.10	1
误差 e	3	0.02219	0.00740	$F_{1-0.01}(3,3) = 5.39$ $F_{1-0.25}(3,3) = 2.36$		

4 结果分析

从上述实验结果可知,对不同的指标其最佳提取条件分别如表 6 所列。

根据最佳条件及方差分析,给各测定结果以权数,并以加权法计算得综合评分如表 7。

5 结论和讨论

中国现代应用药学杂志 2000 年第 17 卷第 7 期

表 6 各指标的最佳提取条件

测试指标	最佳条件		
总黄酮	95% Alc	100℃	1.5h
浸出物	100℃	2h	
浸出物共同酮	4 次	100℃	

表 7 综合评分结果

条件	总黄酮	浸出物(1/5)	浸出物黄酮	综合评分
100℃	5	3	2	1.3713
95% Alc	6	1	1	1.4390
1.5h	4	2	1	1.2615
2.0h	4	2	1	1.1690
4 次	1	1	2	1.3097

5.1 正交试验结果表明,以总黄酮为指标各因素的影响显著性次序为:乙醇浓度 > 提取温度 > 提取时间;以浸出物重量为指标各因素的影响显著性次序为:提取温度 > 提取时间;以浸出物黄酮为指标各因素的影响显著性次序为:提取次数 > 提取温度。

5.2 由于上述各指标中影响因素的不一致性,故以综合评分结合实际情况确定最佳提取条件为:采用 95% 乙醇为溶剂,100℃ 水浴加热回流 1.5h,重复提取 4 次,按此条件进行提取,测得黄酮的含量为 $48.5612 \mu\text{g}/\text{ml}$,浸出物含量为 1.7843%,因此证明此条件确为最佳。

5.3 溶剂乙醇的浓度主要影响黄酮的浸出,而对浸出物含量没有太大的影响,根据实际情况,浸出物黄酮作为次要指标,其综合评分结果可不作同等考虑,综合上述分析,从浸出物含量的角度,提议人们日常饮用菊花时,应以 100℃ 开水冲泡 4 次,每次冲泡时间以 1.5h 左右为好。

5.4 挥发油亦为菊花的主要有效成分之一,而实际上在煎煮提取过程中挥发油有很的损失,因此在本实验中没有考虑。