

# 槐花抗氧化活性物质的提取工艺优化与定性分析

朱昱燕,郭晓敏,李丽萍,王友升\* (北京工商大学化学与环境工程学院,植物资源研究开发北京市重点实验室,北京 100048)

**摘要** [目的]研究槐花中抗氧化物质的提取工艺优化,并进行定性分析。[方法]通过正交试验确定槐花总抗氧化能力、总酚和总黄酮的最佳提取工艺。[结果]结果表明,槐花中总抗氧化活性物质的最佳提取条件为:以70%乙醇为提取溶剂,预处理0 h,提取2 h;总酚物质的最佳提取条件为:溶剂是70%乙醇,预处理0 h,提取2 h;总黄酮物质的最佳提取条件为:以50%乙醇为提取溶剂,预处理6 h,提取3 h。直观分析结果表明,提取液浓度是影响槐花总抗氧化能力、总酚和总黄酮提取效率的主要因素。相关性分析表明,除黄酮类物质和酚类之外,槐花中还含有其他强抗氧化活性物质。[结论]试验为槐花提取物应用于抗衰老食品提供了理论依据。

**关键词** 槐花;抗氧化;正交试验

中图分类号 TQ047.1 文献标识码 A 文章编号 0517-6611(2009)26-12697-02

## Optimization of Extraction Conditions for Oxidation Resistant Components from Pogadatree Flower and Qualitative Analysis

ZHU Yu-yan et al (Beijing Key Laboratory of Plant Resources Research and Development, School of Chemistry and Environment Engineering Beijing Technology and Business University, Beijing 100048)

**Abstract** [Objective] The paper aimed to study the optimize extraction conditions for antioxidant substance production from pogadatree flower and its qualitative analysis. [Method] The optimize extraction conditions of total oxidation resistant components, total phenols and total flavonoids of pogadatree flower (*Sophora japonica* L.) were determined by orthogonal test. [Result] The result showed that the optimal condition of pogadatree flower extracted by the means of total antioxidant ability was determined as 70% ethanol when the extraction time was 2 h without pretreatment. The best extraction condition for total phenol substances was identified as 70% ethanol with 0 h of pretreatment and 2 h of extraction. In contrast, the optimized condition for total flavonoids was determined as follows: 50% ethanol, pretreatment time 6 h, extraction time 3 h. The intuitive analysis results indicated that extraction solvent was the main factor that effected on the active substances of pogadatree flower extracts in total antioxidant ability, phenol and flavonoides. The correlation analysis showed that antioxidant ability of pogadatree flower contained some other bioactive substances besides the total phenol and flavonoids. [Conclusion] The research provided the theoretical basis for applying the extraction from pogadatree flower in anti-aging food.

**Key words** Pogadatree flower; Antioxidant; Orthogonal test

目前,根据 D. Harman 提出的自由基衰老生物学理论而设计的抗衰老食品为消费者所认可。因此,如何提取一些具有抗氧化效果的高效、安全、稳定的活性成分作为功效添加剂,已成为抗衰老食品研究的热点和难点<sup>[1-2]</sup>。

槐花(*Sophora japonica* L.)是豆科植物槐的干燥花及花蕾,我国大部分地区均有生长。槐花作为一种药食同源中草药,具有多种保健功能<sup>[3-4]</sup>,应用前景广阔。在前期的研究工作中,笔者对槐花不同清除自由基活性物的提取工艺进行了研究<sup>[5]</sup>,但对于槐花中的总抗氧化活性成分的提取工艺是如何影响的,目前未见有相关报道。因此,笔者主要就影响槐花抗氧化活性成分的提取工艺进行优化并进行初步定性分析,以期为槐花提取物应用于抗衰老食品提供理论依据。

## 1 材料与方法

**1.1 试验材料** 试验所用槐花(*Sophora japonica* L.)均购于北京同仁堂药店,自然风干后粉碎备用。所用试剂均购自北京化学试剂公司。

**1.2 试验设计** 如表1所示,试验利用L<sub>9</sub>(3<sup>4</sup>)正交试验来优化槐花中生物活性成分的提取工艺条件。槐花粉碎成20目后,以1:20料液比,分别用不同浓度的乙醇浸泡(预处理)相应时间后,55℃恒温,以表1所设计的不同时间进行提取,滤渣反复提取2次,合并滤液作为样品提取物,进行相关指标的测定。

## 1.3 指标测定

**1.3.1 总抗氧化能力的测定** 参照白红进等的方法<sup>[6]</sup>。反

**基金项目** 北京市科技新星项目(2007B011)。

**作者简介** 朱昱燕(1987-),女,河南商丘人,硕士研究生,研究方向:食品生物技术。\*通讯作者,副教授,E-mail:wangys@th.btbu.edu.cn。

**收稿日期** 2009-05-12

表1 槐花中生物活性成分提取优化的正交试验 L<sub>9</sub>(3<sup>4</sup>)

Table 1 L<sub>9</sub>(3<sup>4</sup>) orthogonal test factor and level for the extraction technology optimization of bioactive components from pogadatree flower

水平 Level	因素 Factor		
	乙醇浓度 // % Ethanol concentration	预处理时间 // h Pretreatment time	提取时间 // h Extraction time
1	30	12	2
2	50	6	1
3	70	0	3

应体系:0.4 ml 样品,3.0 ml TPTZ 工作液(0.3 mol/L, pH 值3.6,由醋酸盐缓冲液25.0 ml,10.0 mmol/L TPTZ 溶液2.5 ml,20.0 mmol/L 氯化铁溶液2.5 ml 组成),混合,37℃下放置45 min 后于593 nm 下测其吸光度,记为A。以样品溶剂代替样品作为对照,记为A<sub>0</sub>。以0.3 mol/L, pH 值3.6 醋酸盐缓冲液代替TPTZ 工作液作为空白,用pH 值3.6 醋酸盐缓冲液调零,所得吸光度值记为A<sub>1</sub>。A-A<sub>0</sub>-A<sub>1</sub> 对应标准曲线上相应的硫酸亚铁浓度(mmol/L)定义为FRAP 值,并作为总抗氧化能力的活性单位(U)。样品总抗氧化能力以每克干重的槐花提取液样品中含有的活性单位来表示[U/g(DW)]。

**1.3.2 总酚含量的测定** 参照鞠志国的方法<sup>[7]</sup>。反应体系:2.40 ml H<sub>2</sub>O,0.18 ml 样品,0.12 ml 福林试剂,0.30 ml Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>(0.267 mg/ml)。避光静置1 h,在760 nm 下测定其吸光度值。其中对照为甲醇代替样品。以没食子酸作标准曲线,样品的总酚含量换算为每克干重样品中没食子酸的含量(μg/g)。

**1.3.3 总黄酮含量的测定** 参照廖志雄的方法<sup>[8]</sup>。反应体系:0.3 ml 样品,0.3 ml 5% 亚硝酸钠,0.3 ml 10% 硝酸铝,1.5 ml NaOH(1.0 mol/L)。避光静置1 h,在510 nm 下测定其吸

光度值。对照为甲醇代替样品。以芦丁作标准曲线,样品中总酚含量换算为每克干重样品中芦丁的含量( $\mu\text{g/g}$ )。

**1.3.4 数据统计与分析。**采用一般正交分析方法处理正交试验所得的试验数据。

## 2 结果与分析

**2.1 槐花总抗氧化物质的提取条件优化** 不同提取工艺对槐花提取物总抗氧化能力的结果如表2所示。根据极差的大小,得到各因素对槐花提取物总抗氧化能力的影响依次为:乙醇浓度>提取时间>预处理时间,表明提取液浓度对槐花提取物总抗氧化能力的影响最大。通过比较各因素不同水平之间的均值,可以确定槐花提取物总抗氧化物质的最佳提取工艺是:提取溶剂为70%乙醇,预处理0 h,提取2 h。

表2 槐花提取物总抗氧化能力的正交试验结果及直观分析

Table 2 The orthogonal test results of total antioxidant ability and visual analysis of pogadatree flower extracts

试验号	乙醇浓度//%	预处理时间//h	提取时间//h	总抗氧化能力 U/g(DW)
Test	Ethanol	Pretreatment	Extraction	Total antioxidant ability
No.	concentration	time	time	
1	30	12	2	32.3
2	30	6	1	32.0
3	30	0	3	29.8
4	50	12	1	33.0
5	50	6	3	37.4
6	50	0	2	44.6
7	70	12	3	41.4
8	70	6	2	38.3
9	70	0	1	37.1
$k_1$	31.36	35.37	38.40	
$k_2$	38.33	35.90	34.03	
$k_3$	38.93	37.17	36.20	
极差 R	7.57	1.60	4.37	

**2.2 槐花总酚物质的提取条件优化** 槐花总酚物质提取工艺的正交试验结果及直观分析如表3所示。根据极差的大小,得到各因素对总酚物质提取效率的影响依次为:乙醇浓度>提取时间>预处理时间,结果表明,提取时间是影响槐花总酚物质提取效率的最关键因素。

各因素不同水平之间的方差分析结果表明,乙醇浓度对槐花中总酚物质提取效率的影响达到了显著水平。根据各因素不同水平之间的均值可以确定槐花中总酚物质提取的最优条件为:70%乙醇,预处理0 h,提取2 h。

**2.3 槐花总黄酮物质的提取条件优化** 根据正交试验直观分析(表4),可以得到各因素对总黄酮物质提取效率的影响

次序为:乙醇浓度>提取时间>预处理时间,结果表明,提取液浓度对总黄酮物质提取效率的影响最大。通过比较各因素不同水平之间的均值,可以确定槐花中黄酮物质的提取的最优条件是:50%乙醇,预处理6 h,提取3 h。即正交试验的第5个处理为该最佳条件。

表3 槐花总酚物质提取条件的正交试验结果及直观分析

Table 3 The orthogonal experiment results of extraction condition for total phenol substances of pogadatree flower and intuitive analysis

试验号	乙醇浓度//%	预处理时间//h	提取时间//h	总酚含量 (没食子酸// $\mu\text{g/g}$ )
Test	Ethanol	Pretreatment	Extraction	Total phenol content
no.	concentration	time	time	
1	30	12	2	102.8
2	30	6	1	94.2
3	30	0	3	105.6
4	50	12	1	107.6
5	50	6	3	112.2
6	50	0	2	115.7
7	70	12	3	126.9
8	70	6	2	132.5
9	70	0	1	126.7
$k_1$	100.87	112.43	117.00	
$k_2$	111.83	112.97	109.50	
$k_3$	128.70	116.00	114.90	
极差 R	27.83	3.57	7.50	

表4 槐花总黄酮提取条件的正交试验结果及直观分析

Table 4 The orthogonal test results of extraction condition for total flavonoids of pogadatree flower and intuitive analysis

试验号	乙醇浓度//%	预处理时间//h	提取时间//h	总黄酮 (芦丁// $\mu\text{g/g}$ )
Test	Ethanol	Pretreatment	Extraction	Total flavonoids
No.	concentration	time	time	
1	30	12	2	46.3
2	30	6	1	45.9
3	30	0	3	47.4
4	50	12	1	55.9
5	50	6	3	58.5
6	50	0	2	52.8
7	70	12	3	53.2
8	70	6	2	54.0
9	70	0	1	55.9
$k_1$	46.53	51.80	51.03	
$k_2$	55.73	52.80	52.57	
$k_3$	54.37	52.03	53.03	
极差 R	9.20	1.00	2.00	

**2.4 总抗氧化能力与总酚和总黄酮的相关性分析** 图1显示,不同处理中槐花提取物总抗氧化能力与总酚含量(A)和总黄酮含量(B)均呈正相关,表明槐花提取物中的总酚与总

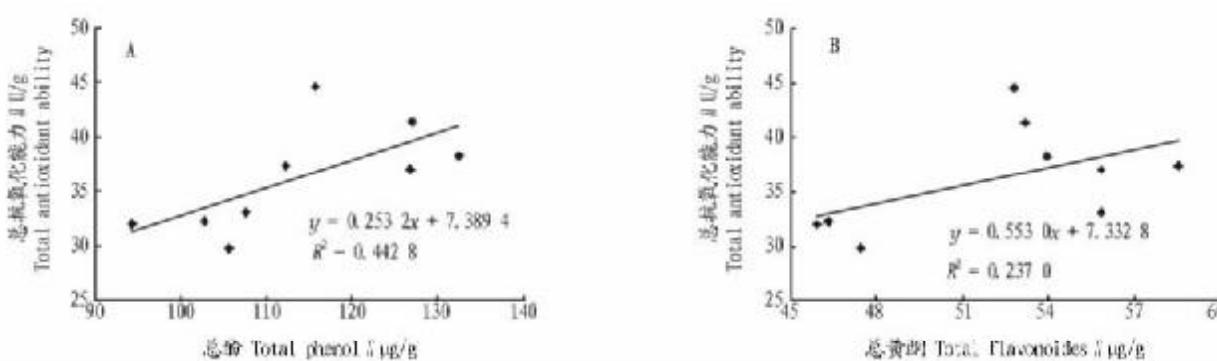


图1 槐花提取物的总抗氧化能力与总酚(A)和总黄酮(B)含量的相关性分析

Fig. 1 The relativity analysis of total antioxidant ability, phenol (A) and flavonoides (B) content of pogadatree flower extracts

社会失灵,而在熟人社会仍旧有强大的约束力,说明传统劳动交换规则部分地失灵了。原本劳动交换只遵循人情原则,现在则受人情原则和互惠原则的双重影响,而且利益正在成为决定农户社会关系亲疏的最大砝码。这说明互惠原则比人情原则更能适应市场经济的规律,更能满足农户日益增长的对货币和其他利益的需求。

### 3 结论与讨论

农村劳动交换的社会环境和交换特征是互为因果的。在传统社会小农生产方式与差序格局的社会关系作用下产生了传统的劳动交换行为,而劳动交换行为反过来维护了传统农村社会的小农生产方式和差序格局的社会关系格局。在转型社会,小农生产方式逐渐社会化、差序格局的社会关系格局扩大化、理性化,与之相应,劳动交换的范围、规则、效率等方面特征也发生了变化。只要农户的家庭目标和家庭任务仍旧存在,差序格局的社会关系格局还没有完全消失,农户之间的劳动交换将继续存在于农村社会。

随着生产和日常生活进一步地社会化和市场化,客观上需要把农民大规模组织起来进行高效率的、以市场为导向的现代农业生产。在这个社会背景下,陕南农村的劳动交换必将走向现代化,表现为:①农户之间主要基于完全的利益博弈,在熟人社会和陌生人社会的广泛范围内进行多元化的劳动交换,交换主要遵循有机团结的道德原则和理性的市场规则;②金钱作为交换的一般等价物占有绝对的位置,劳动交换完全遵循市场规则,具有等价性、即时性、非循环性和高效性;③政府行为的参与使得农户之间劳动交换的组织化、市场化、理性化程度更高;④劳动交换的客体结构变化更加巨大,农户的劳动资源继续流失,但积累了足够多的物质资源和货币资源,用以扩大农业生产;⑤没有回报的劳动或非劳动的援助将帮助农户扩大交换的机会。

由此可见,陕南农村劳动交换未来变化的核心特征是高效率,而这正是市场经济发展的要求。因此,有必要在政策方面促进陕南农村社会交换向着组织化、理性化、现代化方

(上接第 12698 页)

黄酮均具有一定的总抗氧化能力。同时可以看出,槐花提取物总抗氧化能力与总酚含量和总黄酮含量的线性方程  $R^2$  分别为 0.442 8 和 0.273 0,说明总抗氧化能力与总酚和总黄酮含量均无良好的线性关系,结果暗示槐花中除黄酮类和酚类物质外,还有其他具有强抗氧化能力的活性物质存在。

### 3 结论

不同乙醇浓度是影响槐花提取物中总抗氧化能力和总酚、总黄酮物质含量的最关键因素。槐花中总抗氧化活性物质的最佳提取条件是:以 70% 乙醇为提取溶剂,预处理 0 h, 提取 2 h; 总酚物质的最优提取溶剂是 70% 乙醇, 预处理时间为 6 h, 提取 2 h; 总黄酮物质的最佳提取条件为以 50% 乙醇作提取溶剂, 预处理 6 h, 提取 3 h。槐花中除黄酮类和酚类物质外, 还含有其他具有强抗氧化能力的活性物质。

向发展。传统村落的现代化更多地是依靠外生性的力量促进<sup>[13]</sup>。为解决目前农户所面临的劳动力和资金双重缺乏的困境,应该进行外生型的政策引导,促使农村劳动交换向现代性转变。首先,要促使陕南农村劳动交换的经济基础现代化,使家庭经营的生产方式进一步社会化、集约化;其次,促使农户社会网络进一步扩大化;第三,培育并加强村庄集体意识和道德规范,加强村庄的集体意识对农户行为的社会控制、社会整合作用;第四,引导劳动交换走向理性化、市场化、组织化。随着陕南劳动交换效率的进一步提高,农户的生产效率将会进一步提高,经济生活质量也会进一步提高。这既有利于农户自身的发展,又有利于和谐社会的建设及新农村建设目标的实现。

### 参考文献

- [1] 宋洪远. 经济体制与农户行为——一个理论分析框架及其对中国农户问题的应用研究[J]. 经济研究, 1994(8): 22~35.
- [2] 范丰, 刘武芳. 缺乏分层与缺失记忆型村庄的农民互助合作问题初探——以乡村治理与农民组织化为分析框架[J]. 中国发展, 2005, 5(4): 28~30.
- [3] 徐晓军. 转型期中国乡村社会交换的变迁[J]. 社会科学辑刊, 2002(1): 42~48.
- [4] 全雪, 熊会, 张艳玲. 当前农民互助行为探析——以四川省阆中市江南镇前锋村为例[J]. 成都大学学报:社会科学版, 2006(1): 21~22.
- [5] 张思. 近代华北农村的农家生产条件·农耕结合·村落共同体[J]. 中国农史, 2003, 22(3): 84~95.
- [6] 董海荣, 李金才, 左停, 等. 互助: 解决农村家庭劳动力短缺的有效途径[J]. 农村经济, 2008(11): 110~113.
- [7] 管爱华. 从血缘互助到现代合作——对当代中国农民合作伦理的经验分析[J]. 苏州科技大学学报:社会科学版, 2004, 21(2): 48~51.
- [8] 陆学艺. 中国社会结构的变化及发展趋势[J]. 云南民族大学学报:哲学社会科学版, 2006, 23(5): 28~35.
- [9] 徐勇. 如何认识当今的农民、农民合作与农民组织[J]. 华中师范大学学报:人文社会科学版, 2007, 46(1): 1~3.
- [10] 费孝通. 乡土中国生育制度[M]. 北京:北京大学出版社, 1998.
- [11] 杨善华, 侯红蕊. 血缘、姻缘、亲情与利益——现阶段中国农村社会中“差序格局”的“理性化”趋势[J]. 宁夏社会科学, 1999(6): 51~58.
- [12] 周红艳, 蒋传刚. 转型期中国农村社会问题的凸现——一种“集体意识缺失”的视角[J]. 桂海论丛, 2006(3): 1~4.
- [13] 张红, 李霖, 孙玉娜. 一个传统村落的变迁——陕西省吴旗县白豹村的实证研究[J]. 调研世界, 2007(3): 31~34.

### 参考文献

- [1] 田云, 卢向阳, 易克, 等. 天然抗氧化剂清除氧自由基的能力[J]. 湖南农业大学学报:自然科学版, 2004, 30(3): 209~211.
- [2] 田云, 卢向阳, 何小解. 天然植物抗氧化剂清除氧自由基特性研究[J]. 食品科学, 2005, 26(6): 123~125.
- [3] 邹耀洪. 国产槐花黄酮类成分研究[J]. 分析测试学报, 1996, 15(1): 71~73.
- [4] 董艳芬, 李坚. 槐花的现代研究与临床应用[J]. 中医药信息, 2001, 18(6): 21~23.
- [5] 宋彦, 王友升, 李莉, 等. 槐花中清除自由基活性物质的提取工艺研究[J]. 安徽农业科学, 2009, 37(5): 2049~2050, 2053.
- [6] 白红进, 汪河滨, 罗峰, 等. 黑果枸杞色素的提取及其清除 DPPH 自由基作用的研究[J]. 西北农业学报, 2007, 16(2): 190~192.
- [7] 鞠志国, 朱广廉, 曹宗翼. 莱阳在梨果实褐变与 PPO 及酚类物质区域化分布的关系[J]. 植物生理学报, 1988, 14(4): 256~261.
- [8] 廖志雄, 余建清. 瞿麦中总黄酮的含量的测定[J]. 医药导报, 2006, 25(5): 472~473.
- [9] MONTAGOMERY D C. Design and analysis of experiments[M]. 4th ed. New York: Wiley, 1996: 627~631.