

· 中药农业 ·

加工方法对金银花质量的影响[△]尚庆文^{1,2}, 于盱³, 梁呈元³, 齐希武³, 房海灵³, 巢建国^{2*}, 李维林³

1. 江苏省中医院, 江苏 南京 210029; 2. 南京中医药大学, 江苏 南京 210023;

3. 江苏省中国科学院植物研究所, 江苏 南京 210014

[摘要] 目的: 研究不同加工方法对金银花中绿原酸、木犀草苷和氨基酸含量的影响。方法: 分别采用高效液相色谱法和 GB/T 8314—2002 茶-游离氨基酸测定不同加工方法处理的金银花中绿原酸、木犀草苷和氨基酸含量, 记录金银花的外观、水浸出物、酸不溶性灰分和总灰分。结果: 微波杀青后低温干燥的方法具有良好的外观性状, 经微波杀青低温干燥处理后, 绿原酸和木犀草苷的含量较高, 氨基酸含量降低, 绿原酸、木犀草苷和氨基酸含量之和最高($P < 0.05$), 微波杀青低温干燥的总灰分均较低($P < 0.05$)。结论: 微波杀青低温干燥法是合适的金银花加工方法, 值得在种植区推广。

[关键词] 金银花; 加工; 绿原酸; 木犀草苷; 氨基酸; 高效液相色谱法

[中图分类号] R282.4; R282.71; R284 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1673-4890(2019)01-0076-06

doi:10.13313/j.issn.1673-4890.20180815002

Effect of Different Processing Methods on the Medicinal Quality of Lonicerae Flos

SHANG Qing-wen^{1,2}, YU Xu³, LIANG Cheng-yuan³, QI Xi-wu³, FANG Hai-ling³, CHAO Jian-guo^{2*}, LI Wei-lin³

1. Jiangsu Province Hospital of TCM, Nanjing 210029, China;

2. Nanjing University of Chinese Medicine, Nanjing 210023, China;

3. Institution of Botany Jiangsu Province and Chinese Academy of Sciences, Nanjing 210014, China

[Abstract] **Objective:** To study the effects of different processing methods on the content of chlorogenic acid, luteolin and amino acids in Lonicerae Flos. **Methods:** The high performance liquid chromatography and GB/T8314-2002 tea-free amino acid were used to determine the content of chlorogenic acid, luteolin and amino acid in Flos Lonicerae treated by different processing methods. The appearance, water extract, acid-insoluble and total ash of Lonicerae Flos were recorded. **Results:** The method of the low temperature drying after microwave sterilization had good appearance. After microwave drying and low temperature drying treatment, the contents of chlorogenic acid and luteolin increased, the amino acid content decreased, and the sum of chlorogenic acid, luteolin and amino acid content was the highest($P < 0.05$). The total ash of Lonicerae Flos treated by low temperature drying after microwave sterilization decreased($P < 0.05$). **Conclusion:** The low temperature drying after microwave sterilization method is a suitable method for processing Lonicerae Flos, which is worthy of promotion in Lonicerae Flos planting areas.

[Keywords] Lonicerae Flos; processing; chlorogenic acid; lignin; amino acid; HPLC

金银花又称忍冬 *Lonicera japonica* Thunb., 为忍冬科忍冬属植物, 花初开时为白色, 后变为金黄色, 故称金银花^[1]。金银花药用历史悠久, 始载于《名医别录》, 列为上品, 是国家中医药管理局确定的38种名贵中药材之一, 后来又被确定为药食兼用中药材^[2-3]。金银花主要以其干燥的花蕾入药, 具有清热解毒、凉散风热之功效, 用于治疗外感风热或温

病初起、热毒下痢、肺热咳嗽等^[4]。金银花临床应用非常广泛, 据统计有超过500种中药制剂中含有金银花^[5]。药理研究表明金银花提取物具有包括抗氧化、抗菌、抗炎症、抗病毒、抗癌、保护肝脏、抗血管生成和镇痛等多种重要的药理活性^[6-7]。金银花产地、采收时间、加工方法、运输贮藏过程等对药材品质形成都起着关键性的作用。传统的金银花

[△] [基金项目] 江苏省林业三新工程项目(LYSX [2014] 11); 江苏省农业三新工程项目(SXGC [2014] 319)

* [通信作者] 巢建国, 研究员, 研究方向: 药用植物资源及质量评价; E-mail: jgchao@njutcm.edu.cn

加工方法主要有自然晒干、阴干、烘房烘干、微波杀青烘干和滚筒杀青烘干等。虽然业内人士对各种方法无统一的观点,但对“杀青”的共识度较高,如胡璇等^[8]认为滚筒杀青烘干法是适合四倍体金银花的新型干燥方法;王永香等^[9]考察了5种干燥方法,认为其中以微波杀青烘干和滚筒杀青烘干法中金银花药材中指标成分含量最高。宋健等^[10]研究结果表明杀青烘干法中金银花绿原酸含量比晒干和阴干方法分别高12.8%和24.9%,是最佳的产地加工方法。但近年来随着人们对养生的要求越来越高,氨基酸的含量也是评价金银花营养价值的主要指标之一,但氨基酸含量受杀青处理方法的影响较大,如何有效快速地处理金银花是目前中药产地加工的一个重要问题。本研究经过对引种于江苏的不同品种、采收期金银花的主要药效成分含量影响的系统研究基础上测定了不同加工方法对同一品种、产地金银花药效成分的影响,为引种栽培采收后的金银花加工方法的确定提供一定参考。

1 受试药材和方法

1.1 受试药材与仪器

二年生忍冬,种植于江苏省中国科学院种质资源圃内。于5月份采收金银花大白期花蕾。Dionex Ultimate 3000 超高效液相色谱仪(美国 Thermo scientific); Kq-300DB 型数控超声仪(昆山市超声仪器有限公司); BP210D 型电子天平(北京赛多利斯仪器有限公司)。

1.2 方法

1.2.1 干燥方法及折干比 微波杀青低温干燥:将鲜花薄摊于微波炉内,微波杀青1~2 min,放置室温后于烘箱中55℃低温至全干。每次10 g,重复10次。

低温烘干:将鲜花薄摊于烘箱中,55℃低温至全干。每次10 g,重复10次。

微波杀青高温干燥:将鲜花薄摊于微波炉内,高温下杀青1~2 min,放置室温后于烘箱中105℃高温烘至全干。每次10 g,重复10次。

高温烘干:将鲜花薄摊于烘箱中,105℃至全干。每次10 g,重复10次。

高温杀青后低温烘干:将鲜花薄摊于烘箱中,105℃杀青2~3 min,55℃低温至全干。每次10 g,重复10次。

晒干:选择多日晴好天气,将鲜花采回后,松散地薄摊于竹框中曝晒。每次10 g,重复10次。

记录所有干燥方法项下干燥后的颜色、质地及折干比(获得1 kg的干燥药材所耗新鲜金银花的重量)。

1.2.2 绿原酸含量测定方法 对照品溶液制备:精密称取绿原酸对照品3.4 mg,置于5 mL棕色量瓶中,加50%甲醇制成0.68 mg·mL⁻¹浓度的标准品溶液^[4]。

样品溶液制备:精密称取金银花药材细粉(40目)0.2 g,置具塞锥形瓶中,精密加入50%甲醇25 mL,称定重量,超声处理(功率250 W,频率35 kHz)30 min,放冷,再称定重量,用50%甲醇补足减失的重量,摇匀,滤过,待测。

1.2.3 木犀草苷含量测定方法 对照品溶液制备:精密称取木犀草苷对照品2 mg,置于5 mL棕色量瓶中,加入70%乙醇制成标准品溶液。

样品溶液制备:取金银花粉1 g,加入70%乙醇25 mL,超声1 h(功率250 W,频率33 kHz)放冷,再称定重量,用70%乙醇补足减失的重量,取续滤液10 mL,回收溶剂至干,残渣用70%乙醇溶解,转移至5 mL容量瓶中,定容待测^[4,11]。

1.2.4 色谱条件 绿原酸含量测定色谱条件:在戴安3000型高效液相色谱仪上,选用Welch LP-C18 4.6 mm×150 mm柱(4.6 mm×150 mm, 5 μm),流动相为乙腈-0.4%磷酸溶液(13:87),临用前以0.45 μm微孔滤膜过滤并经超声脱气处理;流速1 mL·min⁻¹;检测波长327 nm;理论塔板数按绿原酸计算不低于1000。

木犀草苷含量测定色谱条件:在戴安3000型高效液相色谱仪上,选用Welch LP-C₁₈ 4.6 mm×150 mm柱(4.6 mm×150 mm, 5 μm),流动相为乙腈(流动相A):0.5%磷酸水(流动相B)梯度洗脱条件见表1,检测波长350 nm,流速1.0 mL·min⁻¹,进样量为20 μL,柱温25℃。以木犀草苷为对照品,峰面积外标法定量。

表1 木犀草苷液相色谱梯度洗脱条件

时间/min	流动相 A/%	流动相 B/%
0~5	8~10	92~90
5~25	10~20	90~80
25~45	20~30	80~70
45~55	30~100	70~0
55~60	100~8	0~92
60~70	8	92

1.2.5 氨基酸含量测定 采用GB/T 8314—2002 茶-游离氨基酸的测定方法进行测定^[12]。称取“1.2.2 绿原酸含量测定方法”项下的干燥金银花粉,精

确至 0.1 mg，置于干燥的锥形瓶，加 50 mL 乙酸溶解，加 2 滴结晶紫指示液，用高氯酸标准滴定液滴定至溶液呈蓝绿色，同期进行空白试验。

1.2.6 金银花的检查项目 采用 2015 版《中华人民共和国药典》的方法^[4]，检测水浸出物、酸不溶性灰分和总灰分。

1.2.7 统计学处理 将所有数据输入 SPSS 19.0 软件包中，组间计量资料采用“均数 ± 标准差”标识，比较采用方差分析，组内两两比较采用 q 检验， $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果与分析

2.1 不同干燥加工方法的金银花成品外观性状比较

微波杀青后低温干燥及直接低温干燥技术所

得的金银花成品外观性状较好呈淡黄绿色，高温杀青后低温干燥方法次之，高温烘干易使花颜色变深卷曲，高温烘干和晒干方法获得的金银花成品外观性状较差，6 种不同的加工方法所得金银花的折干比差异无统计学意义($P > 0.05$)。参见图 1 和表 2。

2.2 不同干燥加工方法的金银花成品的绿原酸、木犀草苷和氨基酸含量比较

经微波杀青低温干燥法处理后，绿原酸和木犀草苷的含量较高，氨基酸的含量较低，经低温干燥处理后，氨基酸的含量最高，经直接高温干燥处理后，绿原酸、木犀草苷和氨基酸含量均降低，经微波杀青低温干燥法处理后，绿原酸、木犀草苷和氨基酸含量之和最高($P < 0.05$)。参见图 2 ~ 图 6 和表 3。

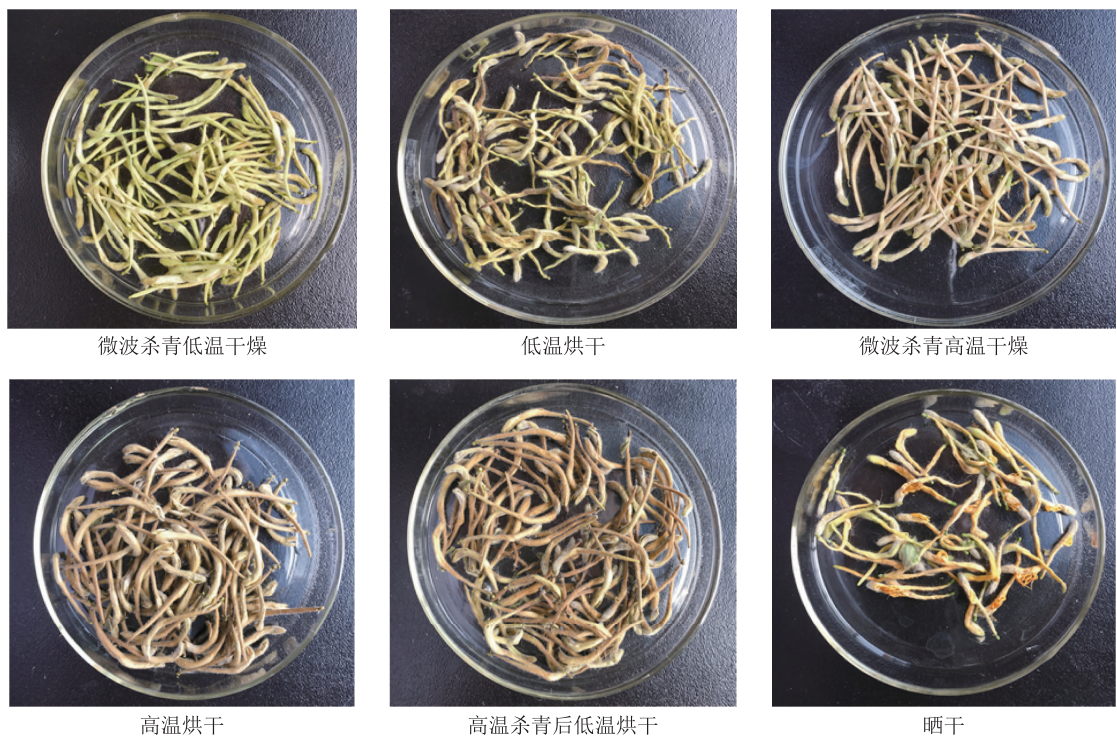


图 1 不同干燥方式对金银花外观性状的影响

表 2 不同的加工方法所得金银花成品的外观性状($n = 10$)

编号	干燥方法	折干比	颜色	质地
1	微波杀青低温干燥	4.15 ± 0.89	淡绿色	花蕾饱满，具熟花感
2	低温干燥	3.89 ± 0.68	黄绿色至淡黄色	花蕾较饱满，具熟花感
3	微波杀青高温干燥	4.54 ± 0.72	淡棕色	花蕾较饱满，具熟花感
4	高温杀青低温干燥	3.74 ± 0.63	淡棕色	花蕾饱满油润，具明显熟花感
5	高温直接干燥	4.33 ± 0.59	深棕色	花蕾严重卷缩，具明显熟花感
6	晒干	4.01 ± 0.69	整体黄色	花蕾不饱满，无油性具生花感

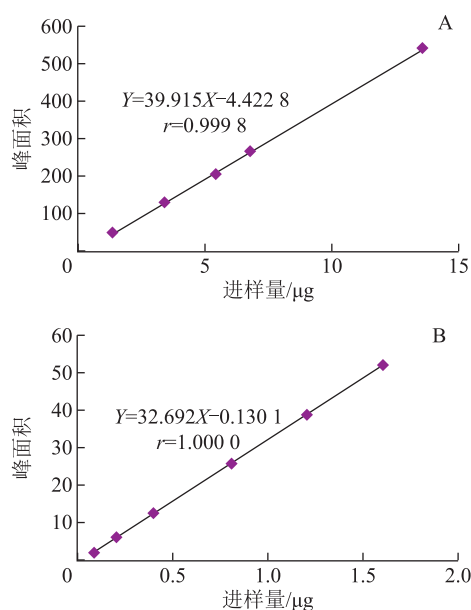


图2 绿原酸(A)、木犀草苷(B)对照品标准曲线

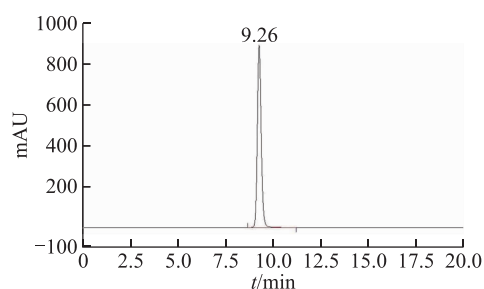


图3 绿原酸标准品高效液相色谱图

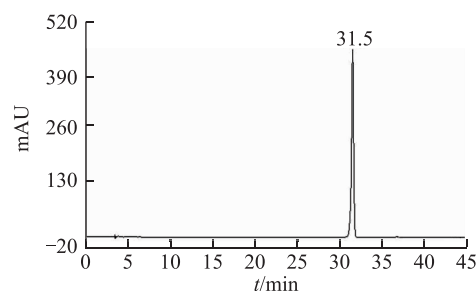


图4 木犀草苷标准品高效液相色谱图

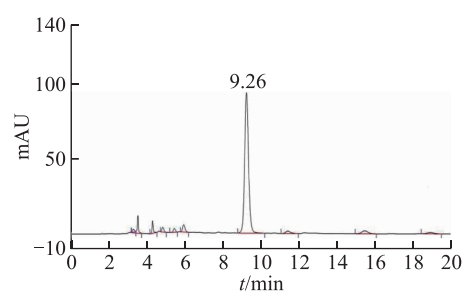


图5 绿原酸样品高效液相色谱图

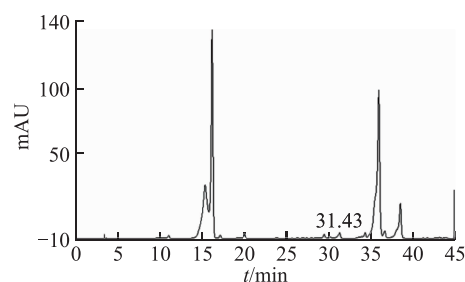


图6 木犀草苷样品高效液相色谱图

表3 不同加工方法的金银花中绿原酸、木犀草苷和氨基酸含量

					g/100 g
样品编号	干燥方法	绿原酸含量	木犀草苷	氨基酸	合计
1	微波杀青低温干燥	2.73 ± 0.86	0.28 ± 0.07	2.35 ± 0.45	5.36 ± 0.33
2	低温干燥	2.41 ± 0.95	0.22 ± 0.06	2.38 ± 0.39	5.01 ± 0.35 ¹⁾
3	微波杀青高温干燥	1.79 ± 0.76 ¹⁾	0.25 ± 0.06	2.28 ± 0.51	4.32 ± 0.37 ¹⁾²⁾
4	高温杀青低温干燥	1.14 ± 0.59 ¹⁾²⁾³⁾	0.10 ± 0.02 ¹⁾²⁾³⁾	2.31 ± 0.53	3.55 ± 0.36 ¹⁾²⁾³⁾
5	高温直接干燥	1.05 ± 0.57 ¹⁾²⁾³⁾	0.15 ± 0.05 ¹⁾²⁾³⁾	2.27 ± 0.54	3.47 ± 0.38 ¹⁾²⁾³⁾
6	晒干	1.97 ± 0.66 ¹⁾⁴⁾⁵⁾	0.22 ± 0.06 ⁴⁾⁵⁾	2.41 ± 0.48	4.60 ± 0.35 ¹⁾²⁾⁴⁾⁵⁾
F 值		8.113	14.280	0.133	45.912
P 值		0.000	0.000	0.984	0.000

注：与微波杀青低温干燥比，¹⁾ $P < 0.05$ ；与低温干燥比，²⁾ $P < 0.05$ ；与微波杀青高温干燥比，³⁾ $P < 0.05$ ；与高温杀青低温干燥比，⁴⁾ $P < 0.05$ ；与高温直接干燥比，⁵⁾ $P < 0.05$ 。

2.3 不同干燥加工方法的金银花成品的水浸出物、酸不溶性灰分和总灰分比较

6 种不同的加工方法的水浸出物和酸不溶

性灰分差异无统计学意义 ($P > 0.05$)，微波杀青低温干燥的总灰分较低 ($P < 0.05$)。参见表 4。

表4 不同干燥加工方法的金银花成品的水浸出物、
酸不溶性灰分和总灰分

样品 编号	干燥方法	水浸出物 (g/100 g)	酸不溶性灰分 (g/100 g)	总灰分(%)
1	微波杀青低温干燥	30.1 ± 5.1	1.5 ± 0.5	5.4 ± 0.5
2	低温干燥	31.5 ± 4.9	1.9 ± 0.6	6.1 ± 0.6 ¹⁾
3	微波杀青高温干燥	30.6 ± 5.2	1.6 ± 0.7	5.8 ± 0.7
4	高温杀青低温干燥	30.7 ± 5.6	1.7 ± 0.6	5.3 ± 0.6 ²⁾
5	高温直接干燥	30.5 ± 5.7	1.7 ± 0.7	5.4 ± 0.7 ²⁾
6	晒干	30.5 ± 4.9	1.8 ± 0.9	6.3 ± 0.9 ¹⁾⁴⁾⁵⁾
F 值		0.078	0.435	3.775
P 值		0.995	0.822	0.005

注:与微波杀青低温干燥比,¹⁾ $P < 0.05$,与低温干燥比,²⁾ $P < 0.05$,与微波杀青高温干燥比,³⁾ $P < 0.05$,与高温杀青低温干燥比,⁴⁾ $P < 0.05$,与高温直接干燥比,⁵⁾ $P < 0.05$ 。

3 结论

金银花产地初加工是影响其品质的重要因素^[13-14],《千金翼方》曾论述:“夫药采取,不以阴干曝干,虽有药名,终无药实。”即说明加工方法对药材品质的影响。金银花中主要有效成分之一也是药典中指标性成分绿原酸,是一种含邻位酚羟基的有机酸,易被多酚氧化酶氧化,在高温下也易分解^[15]。2005年版《中华人民共和国药典》增加了木犀草苷作为控制金银花药材的重要指标,与绿原酸类似,木犀草苷结构中也含有多个酚羟基,对热的稳定性也较差。近年来,金银花中的氨基酸也成为评估金银花营养价值的重要指标之一^[16-17]。从这三个方面评估产地初加工方法具有一定的参考价值。

本研究表明在同一时期、产地和品种完全相同的样品经过不同加工方法处理后其绿原酸含量、木犀草苷和氨基酸的含量均有一定差异。传统加工方法中晒干、阴干法虽然无需设备,成本低,但所需时间较长,环境温度无法控制,导致有效成分含量偏低,成色不佳^[18-19];微波杀青处理后再进行干燥的方法在烘干前先使多酚氧化酶失活,保证金银花样品中绿原酸和木犀草苷含量,而杀青后的低温干燥能够保证绿原酸稳定性,其成品同时具有良好的外观性状,高温烘干虽然能够节省时间但外观性状差,绿原酸和木犀草苷有效成分含量低。从绿原酸和木犀草苷的含量看,金银花在2015版的《中华人

民共和国药典》绿原酸和木犀草苷的含量分别要高于1.5%和0.05%,低温干燥和微波杀青高温干燥处理后的绿原酸含量虽然有所降低,但也符合药典的要求,本课题纳入6种处理方法的木犀草苷含量均高于0.05%,也符合药典的要求。

氨基酸属于蛋白范畴,对微波的敏感度较高^[20-21],低温干燥的影响最小,而经微波杀青低温干燥处理后,但总体上,微波杀青低温干燥后,金银花的绿原酸、木犀草苷和氨基酸的总和较高,且根据药典的要求,检测金银花成品的水浸出物、酸不溶性灰分和总灰分,微波杀青低温干燥的处理方法也是最优。

综上所述,本研究结果认为微波干燥技术可作为大规模加工金银花的最佳初加工方法。

参考文献

- [1] KWON Seung-Hwan, MA Shi-Xun, HONG Sa-Ik, et al. *Lonicera japonica* Thunb. Extract Inhibits Lipopolysaccharide-Stimulated Inflammatory Responses by Suppressing NF-κB Signaling in BV-2 Microglial Cells[J]. J Med Food, 2015, 18(7):762-775.
- [2] PARK C, LEE W S, HAN M H, et al. *Lonicera japonica* Thunb. Induces caspase-dependent apoptosis through death receptors and suppression of AKT in U937 human leukemic cells[J]. Phytother Res, 2018, 32(3):504-513.
- [3] 杜肖璇, 孟蔚, 严军, 等. 栽培技术对金银花品质及产量的影响[J]. 中国现代中药, 2014, 16(1):80-82.
- [4] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典:一部[M]. 北京:中国医药科技出版社, 2015:221.
- [5] SHANG X, PAN H, LI M, et al. *Lonicera japonica* Thunb.: Ethnopharmacology, phytochemistry and pharmacology of an important traditional Chinese medicine[J]. J Ethnopharmacol, 2011, 138(1):1-21.
- [6] 宋亚玲, 倪付勇, 赵祎武. 金银花化学成分研究进展[J]. 中草药, 2014, 45(24):3656-3662.
- [7] KU S K, SEO B I, PARK J H, et al. Effect of *Lonicerae* Flos extracts on reflux esophagitis with antioxidant activity[J]. World Journal of Gastroenterology: WJG, 2009, 15(38):4799-4822.
- [8] 胡璇, 李卫东, 李欧, 等. 滚筒杀青烘干加工方法对四倍体金银花药材质量的影响[J]. 中国中药杂志, 2012, 37(17):2554-2556.
- [9] 王永香, 罗勇, 沈娟, 等. 不同产地加工方法对江苏省东海县种植基地金银花质量影响的研究[J]. 中国中药杂志, 2014, 39(14):2665-2669.

- [10] 宋健,张会敏,石俊英.金银花最佳产地加工方法——杀青烘干干燥法[J].中药材,2008,31(4):489-491.
- [11] 武琳,黄菲,杨光.复方罗布麻颗粒中木犀草苷含量测定方法研究[J].中国中医药信息杂志,2015,22(4):91-93
- [12] 王川丕,刘新,诸力.两种方法测定茶叶游离氨基酸总量的差异及其原因分析[J].中国茶叶,2012,34(12):12-14.
- [13] 陈燕文,王玲娜,梁从莲,等.干燥方法对金银花多糖含量的影响[J].中国现代中药,2017,19(1):88-91.
- [14] RAI Amit, KAMOUCHI Hidetaka, SUZUKI Hideyuki, et al. De novo transcriptome assembly and characterization of nine tissues of *Lonicera japonica* to identify potential candidate genes involved in chlorogenic acid, luteolosides, and secoiridoid biosynthesis pathways[J]. J Nat Med, 2017, 71(1): 1-15.
- [15] CHAOWUTTIKUL C, PALANUVEJ C, RUANGRUNGSI N. Pharmacognostic Specification, Chlorogenic Acid Content, and In vitro Antioxidant Activities of *Lonicera japonica* Flowering Bud[J]. Pharmacognosy Res, 2017, 9(2): 128-132.
- [16] 马静遥,刘新民,金哲雄,等.改善认知功能障碍中药研究进展[J].中国中医药信息杂志,2013,20(9):104-107.
- [17] WU Jie, WANG Xiao-Chen, LIU Yang, et al. Flavone synthases from *Lonicera japonica* and *L. macranthoides* reveal differential flavone accumulation[J]. Sci Rep, 2016, 6(1): 19245.
- [18] 谷民举,刘明岭,王琰.金银花质量与产地影响因素相关性研究[J].药学研究,2018,37(5):295-297.
- [19] 刘涛,王鸿,李青苗,等.不同采收期金银花的产地加工方法考察[J].中国实验方剂学杂志,2016,22(10):28-31.
- [20] 祁丹丹,戴伟东,谭俊峰,等.杀青方式对夏季绿茶化学成分及滋味品质的影响[J].茶叶科学,2016,36(1):18-26.
- [21] 崔文甲,曹世宁,王文亮,等.微波辅助提取金针菇、香菇柄中氨基酸的研究[J].食品工业,2018,39(9):96-99.

(收稿日期: 2018-08-15 编辑: 姚霞)

(上接第75页)

- [5] 谷小红,郭宝林,田景,等.植物生长调节剂在药用植物生长发育和栽培中的应用[J].中国现代中药,2017,19(2):295-305,310.
- [6] 马千里,金晶茹,王秀全.不同规格插穗及生长调节剂对五味子扦插生根的影响[J].中国现代中药,2010,12(5):12-15.
- [7] 田景,金华,姜志海,等.植物生长调节剂及氮素处理对拟巫山淫羊藿采后再萌发的影响[J].中国中药杂志,2018,43(11):2236-2241.
- [8] 张云凤,郭宝林,杨相波,等.水培条件下氮素对拟巫山淫羊藿产量和黄酮类成分的影响[J].中国中药杂志,2017(23):4574-4581.
- [9] 杨东清.细胞分裂素参与氮素调控小麦分蘖发育的作用机制及构建合理群体结构的化控途径[D].济南:山东农业大学,2016.
- [10] 李金航,郭丽丽,孔祥生,等.6-BA和GA₃对牡丹叶片衰老过程中生理特性的影响[J].植物生理学报,2014(8):1243-1247.
- [11] 李沙,刘卫东,冯斌义,等.硝酸钾和6-BA对假俭草叶绿素含量的影响[J].中南林业科技大学学报,2013,33(4):110-113.
- [12] 王帅,王海波,王孝娣,等.施硼和6-BA对葡萄叶片衰老与活性氧代谢的影响[J].果树学报,2015,32(2):206-214.
- [13] 张溢,袁雅珍,余露霞,等.植物生长调节剂对月季切花保鲜效果的影响[J].南方农业学报,2016,47(3):454-458.
- [14] 朱立保,刘海河,张彦萍,等.6-BA对厚皮甜瓜坐果节位叶片衰老及果实品质的影响[J].北方园艺,2014(19):20-23.
- [15] 赵素平,刘红艳,胡花丽,等.6-BA处理对采后西兰花呼吸途径及能量水平的影响[J].现代食品科技,2017(5):1-7.
- [16] 肖长新,陈延玲,米国华.灌浆后期6-BA灌根对玉米衰老和产量形成的影响[J].玉米科学,2014,22(1):103-107.
- [17] 陈国臣,曾雯珺,金颐熙,等.6-BA和赤霉素对油茶穗条生长发育及内源激素的影响[J].广西林业科学,2014,43(1):5-9.
- [18] 李有梅.喷施6-BA和IAA对富士幼树花芽孕育期间激素与相关基因表达的影响[D].杨凌:西北农林科技大学,2015.

(收稿日期: 2018-08-13 编辑: 姚霞)