

# 金银花不同溶剂提取物多酚含量及抗氧化活性

王桂林, 徐未芳, 刘乐, 范建凤, 赵三虎, 赵二劳\*

(忻州师范学院, 山西 忻州 034000)

**摘要:**分别以水、70%甲醇、70%乙醇和70%丙酮为提取剂,超声辅助提取金银花中多酚,采用Folin-Ciocalteu法测定提取液中多酚量,并利用清除DPPH·、·OH和ABTS<sup>+</sup>·法评价其抗氧化活性。结果表明,金银花不同溶剂水、70%甲醇、70%乙醇和70%丙酮提取物中多酚含量分别为18.97、46.56、46.63、48.49 mg/g,以水为溶剂与以有机溶剂为溶剂,金银花多酚提取量有极显著差异( $p < 0.01$ )。不同溶剂金银花多酚均具有一定的清除DPPH·、·OH和ABTS<sup>+</sup>·能力,即抗氧化活性,但其清除DPPH·和ABTS<sup>+</sup>·的能力弱于2,6-二叔丁基-4-甲基苯酚(butylated hydroxytoluene, BHT),清除·OH的能力强于BHT。不同溶剂提取的金银花多酚种类不同,对自由基的清除能力不同。

**关键词:**金银花;多酚;超声辅助提取;提取量;抗氧化活性

## The Content and Antioxidant Activities of Honeysuckle Polyphenol Extracted by Different Solvent

WANG Gui-lin, XU Wei-fang, LIU Le, FAN Jian-feng, ZHAO San-hu, ZHAO Er-lao\*

(Xinzhou Teachers University, Xinzhou 034000, Shanxi, China)

**Abstract:** Honeysuckle polyphenols were extracted by ultrasonic-assisted with water, 70% methanol, 70% ethanol, and 70% acetone as extractant, respectively. The content of polyphenols was determined by Folin-Ciocalteu method, and the antioxidant activities were evaluated by scavenging DPPH·, ·OH and ABTS<sup>+</sup>·. The results showed that the content of polyphenols in water, 70% methanol, 70% ethanol and 70% acetone extractions were 18.97, 46.56, 46.63 mg/g and 48.49 mg/g, respectively. The amounts of honeysuckle polyphenols were significantly different between the extraction with water as extractant and the extraction with organic solvent as extractant ( $p < 0.01$ ). Honeysuckle polyphenols from different solvent all had certain ability to scavenge DPPH·, ·OH and ABTS<sup>+</sup>·, namely antioxidant activity. However, the ability to scavenge DPPH· and ABTS<sup>+</sup>· was weaker than butylated hydroxytoluene (BHT), and the ability to scavenge ·OH was stronger than BHT. The types of honeysuckle polyphenols extracted by different solvents were different, and the abilities of scavenging free radicals were different.

**Key words:** honeysuckle; polyphenols; ultrasonic-assisted extract; extraction amount; antioxidant activity

引文格式:

王桂林,徐未芳,刘乐,等.金银花不同溶剂提取物多酚含量及抗氧化活性[J].食品研究与开发,2020,41(5):104-107

WANG Guilin, XU Weifang, LIU Le, et al. The Content and Antioxidant Activities of Honeysuckle Polyphenol Extracted by Different Solvent[J]. Food Research and Development, 2020, 41(5): 104-107

基金项目: 国家级大学生创新创业训练计划项目(201910124008); 山西省 1331 工程重点学科建设计划支持项目(2019); 山西省高等学校大学生创新创业训练计划项目(2019514); 忻州师院化学化工大学生创新基地项目(2019)

作者简介: 王桂林(1981—),女(汉),实验师,硕士,研究方向:天然产物活性成分分析。

\* 通信作者: 赵二劳(1952—),男,教授,研究方向:天然产物化学。

金银花(*Lonicera japonica*)为忍冬科多年生植物忍冬的干燥花蕾或带初开的花<sup>[1]</sup>,药食两用,为药用历史悠久的常用中药,我国各省均有分布,资源丰富<sup>[2-4]</sup>。金银花性寒,味甘,入肺、心、胃经,具有清热解毒、抗炎、补虚疗风之功效<sup>[5]</sup>,临床常用于胀满下疾、温病发热,热毒痈疡和肿瘤等症。现代药理研究表明,多酚是金银花中的主要有效成分,具有抗氧化、抗病毒、抗炎、解

热、保肝、降血脂、兴奋中枢神经和调节免疫等功效<sup>[6-8]</sup>,在食品、调味品、保健和医药等领域有广阔的应用前景。但近年来有关金银花中多酚的研究,仅见游玉明等<sup>[9]</sup>金银花中多酚高效液相色谱-二极管阵列法测定、邹容等<sup>[10]</sup>干燥方式对金银花多酚及其抗氧化活性影响、以及陈奎等<sup>[11]</sup>金银花多酚诱导癌 H1299 细胞凋亡的研究,鲜见金银花多酚提取及其抗氧化活性的研究。基于此,本研究采用不同溶剂提取金银花多酚,并利用清除 DPPH·、·OH 和 ABTS<sup>+</sup>法评价其抗氧化活性,以期对金银花资源的深度开发及其多酚研究应用提供科学依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料与仪器

#### 1.1.1 材料与试剂

金银花:忻州市本草堂大药房(产地河南封丘),烘箱中 45℃干燥后,粉碎过 40 目筛,装瓶保存,待用。

DPPH:日本东京化成工业株式会社;ABTS:sigma 公司;福林-酚试剂(生化试剂):上海源聚生物科技有限公司;其余试剂均为国产分析纯。

#### 1.1.2 主要仪器

723 型分光光度计、pHS-3B 型精密 pH 计:上海光谱仪器有限公司;AL104 电子分析天平:上海梅特勒-托利多仪器有限公司;KQ-400KDE 型高功率数控超声波清洗器:昆山市超声仪器有限公司;THZ-82 水浴恒温振荡器:江苏省金坛市荣华仪器有限公司。

### 1.2 试验方法

#### 1.2.1 金银花提取液制备

精确称取金银花粉各 3.0 g,参考文献[12-13]的方法,按料液比 1:20(g/mL)分别加入不同溶剂(水、70%甲醇、70%乙醇和 70%丙酮),充分润湿后,在温度 50℃、超声功率 200 W 的条件下,提取 20 min,抽滤,滤液浓缩,真空干燥得不同溶剂提取浸膏,浸膏分别用无水乙醇溶解后定容为 100 mL,冰箱保存待测。

#### 1.2.2 多酚提取量的测定

##### 1.2.2.1 没食子酸标准曲线绘制

以没食子酸为标准品,参考文献[14-15]采用 Folin-Ciocalteu 法进行。测得在 0.0~7.0 mg/mL 浓度范围内没食子酸与其吸光度线性关系良好,标准曲线回归方程为: $A=0.0714c+0.0072$ , $R^2=0.9992$ 。

式中: $A$  为吸光度值; $c$  为没食子酸质量浓度,mg/mL。

##### 1.2.2.2 不同溶剂金银花中多酚提取量的测定

适当稀释后移取不同溶剂金银花多酚提取液各

1.0 mL,置于 25 mL 比色管中,按 1.2.2.1 的方法测定,由标准曲线方程计算多酚提取量。多酚提取量计算按下式进行。

多酚提取量/(mg/g) = 提取液中多酚量(mg)/金银花用量(g)

#### 1.2.3 不同溶剂金银花多酚的抗氧化活性

以氧化剂 2,6-二叔丁基-4-甲基苯酚(butylated hydroxytoluene, BHT)为阳性对照,采用清除 DPPH·、·OH 和 ABTS<sup>+</sup>法评价不同溶剂金银花多酚的抗氧化性。对自由基的清除率越大,其抗氧化活性越强。

##### 1.2.3.1 不同溶剂金银花多酚对 DPPH·的清除率

试验参照文献[16-17]方法,测定不同溶剂金银花多酚和 BHT 对 DPPH·的清除率。由下式计算清除率。

$$\text{清除率}/\% = [1 - (A_i - A_j)/A_0] \times 100$$

式中: $A_0$  为 DPPH·溶液体系的吸光度; $A_i$  为加入金银花多酚溶液(或 BHT 溶液)后 DPPH·溶液体系吸光度; $A_j$  为金银花多酚溶液(或 BHT 溶液)本底吸光度。

##### 1.2.3.2 不同溶剂金银花多酚对·OH 的清除率

试验参照文献[18-19]采用水杨酸法测定不同溶剂金银花多酚和 BHT 对·OH 的清除率。由下式计算清除率。

$$\text{清除率}/\% = [1 - (A_1 - A_2)/A_0] \times 100$$

式中: $A_0$  为未加金银花多酚溶液(或 BHT 溶液)·OH 体系的吸光度; $A_1$  为加入金银花多酚溶液(或 BHT 溶液)·OH 体系的吸光度; $A_2$  为金银花多酚溶液(或 BHT 溶液)本底吸光度。

##### 1.2.3.3 不同溶剂金银花多酚对 ABTS<sup>+</sup>的清除率

参照文献[20-21]方法,配置反应溶液并测定不同溶剂金银花多酚和 BHT 对 ABTS<sup>+</sup>的清除率。由下式计算清除率。

$$\text{清除率}/\% = [1 - (A_1 - A_2)/A_0] \times 100$$

式中: $A_0$  为未加金银花多酚溶液(或 BHT 溶液)ABTS<sup>+</sup>体系的吸光度; $A_1$  为加入金银花多酚溶液(或 BHT 溶液)ABTS<sup>+</sup>体系的吸光度; $A_2$  为金银花多酚溶液(或 BHT 溶液)本底吸光度。

### 1.3 数据处理

试验均重复 3 次,Excel2007 作图,SPSS 分析数据( $p<0.01$  差异极显著; $p<0.05$  差异显著; $p>0.05$  差异不显著)。

## 2 结果与分析

### 2.1 不同溶剂金银花多酚提取量

按试验方法,测得金银花多酚不同溶剂提取量如表 1。

表1 金银花多酚提取量

Table 1 Extraction amount of polyphenols from honeysuckle

| 提取液    | 多酚提取量/(mg/g) |       |       |       | 相对标准偏差 |
|--------|--------------|-------|-------|-------|--------|
|        | 1            | 2     | 3     | 平均    |        |
| 水      | 18.92        | 18.96 | 19.03 | 18.97 | 0.29   |
| 70 %甲醇 | 46.61        | 46.52 | 46.56 | 46.56 | 0.10   |
| 70 %乙醇 | 46.59        | 46.66 | 46.65 | 46.63 | 0.08   |
| 70 %丙酮 | 48.43        | 48.48 | 48.57 | 48.49 | 0.15   |

由表1可知,在其它提取条件相同时,金银花多酚不同溶剂提取量不同,70 %丙酮提取量>70 %乙醇提取量>70 %甲醇提取量>水,即溶剂极性小,多酚提取量多。以水为溶剂与以有机溶液为溶剂,金银花多酚提取量有极显著差异( $p<0.01$ ),有机溶剂70 %甲醇和70 %乙醇与70 %丙酮的多酚提取量也有显著差异( $p<0.05$ ),70 %甲醇与70 %乙醇的多酚提取量基本相当( $p>0.05$ )。表明金银花中脂溶性多酚的含量远大于水溶性多酚。提示在进行金银花多酚提取研究时,应选择有机溶液为溶剂,同时考虑金银花多酚的食用或药用安全性,应选择乙醇溶液为溶剂。有关金银花中多酚的种类,还有待进一步深入研究。

## 2.2 不同溶剂金银花多酚对 DPPH· 的清除率

按试验方法测定不同溶剂金银花多酚和 BHT 对 DPPH· 清除率,结果如图1。

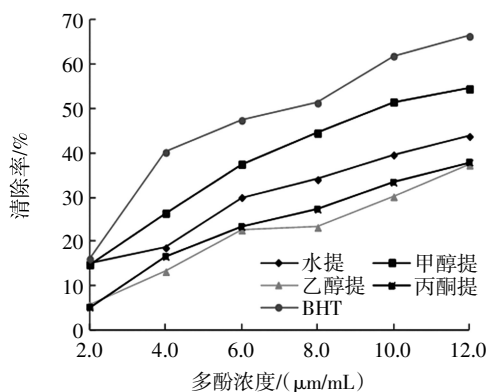


图1 不同溶剂金银花多酚和 BHT 对 DPPH· 的清除率

Fig.1 Scavenging rate different solvent polyphenols from honeysuckle and BHT on DPPH·

由图1可知,不同溶剂金银花多酚和 BHT 对 DPPH· 的清除率均随其浓度升高而增大,与浓度具有一定的相关性。不同溶剂金银花多酚对 DPPH· 的清除率均小于 BHT,且差异显著( $p<0.05$ ),但也表明不同溶剂金银花多酚对 DPPH· 均具有一定的清除能力,即抗氧化活性。同时也可知,对 DPPH· 清除能力的强弱为 甲醇提多酚>水提多酚>丙酮提多酚>乙醇提多酚。表明不同溶剂提取的金银花多酚,对 DPPH· 的清除能力

不同,其原因可能是由于不同溶剂提取的金银花多酚种类不同,其活性不同,清除 DPPH· 能力不同,这与文献[9]研究表明金银花中含有多种多酚类成分的结果一致。

## 2.3 不同溶剂金银花多酚对 ·OH 的清除率

按试验方法测定不同溶剂金银花多酚和 BHT 对 ·OH 的清除率,结果如图2。

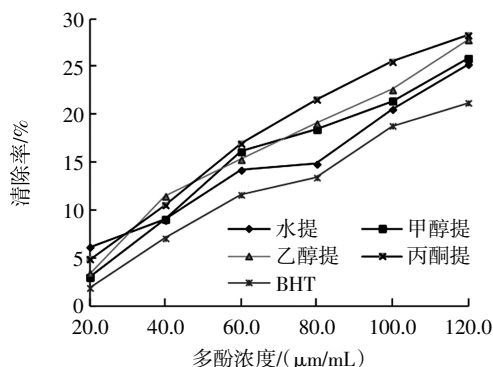


图2 不同溶剂金银花多酚和 BHT 对 ·OH 的清除率

Fig.2 Scavenging rate different solvent polyphenols from honeysuckle and BHT on ·OH

由图2可知,不同溶剂金银花多酚对 ·OH 均具有一定的清除能力,随其浓度的增加清除率增大,具有一定的浓度相关性,且不同溶剂金银花多酚对 ·OH 的清除率均大于 BHT。同时也可知,对 ·OH 清除能力的强弱基本为 丙酮提多酚>乙醇提多酚>甲醇提多酚>水提多酚。表明不同溶剂金银花多酚,对 ·OH 的清除能力不同,同样反映不同溶剂提取的金银花多酚种类可能不同,导致对 ·OH 的清除率不同。

## 2.4 不同溶剂金银花多酚对 ABTS· 的清除率

按试验方法测定不同溶剂金银花多酚和 BHT 对 ABTS· 的清除率,结果如图3。

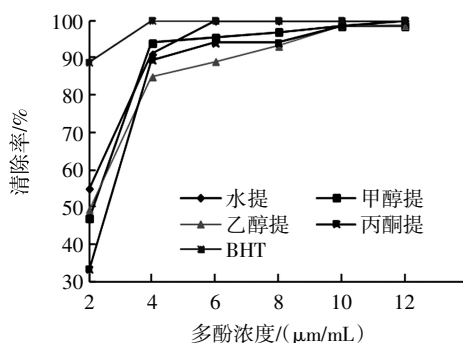


图3 不同溶剂金银花多酚和 BHT 对 ABTS· 的清除率

Fig.3 Scavenging rate different solvent polyphenols from honeysuckle and BHT on ABTS·

由图3可知,不同溶剂金银花多酚对 ABTS· 均具有一定的清除能力,其和 BHT 对 ABTS· 的清除率随

浓度的增加而增大,且不同溶剂金银花多酚对 ABTS<sup>+</sup>·的清除率均小于 BHT。此外,对 ABTS<sup>+</sup>·清除能力的强弱基本为水提多酚>甲醇提多酚>丙酮提多酚>乙醇提多酚。表明不同溶剂提取的金银花多酚,对 ABTS<sup>+</sup>·的清除能力不同,也反映不同溶剂提取的金银花多酚种类可能不同,导致对 ABTS<sup>+</sup>·的清除率不同。

综上不同溶剂金银花多酚和 BHT 溶液对 DPPH·、·OH 和 ABTS<sup>+</sup>·的体外清除试验研究表明,不同溶剂提取的金银花多酚均具有一定的清除 DPPH·、·OH 和 ABTS<sup>+</sup>·能力,即具有一定的抗氧化活性,但它们清除 DPPH·、·OH 和 ABTS<sup>+</sup>·的能力不同,存在明显差异( $p < 0.05$ )。表明金银花中含有不同种类的多酚,不同溶剂提取的金银花多酚种类不同。同时由不同溶剂提取的金银花多酚对 DPPH·和 ABTS<sup>+</sup>·的清除率小于 BHT,而对·OH 的清除率大于 BHT,也提示我们,通过清除自由基法评价物质抗氧化活性,不能仅采用一种清除自由基体系,而应同时采用多种清除自由基体系综合分析,才能得到科学、准确的结论。

### 3 结论

分别以水、70 % 甲醇、70 % 乙醇和 70 % 丙酮为提取剂,超声辅助提取金银花中多酚,采用 Folin-Ciocalteu 法测定提取物中多酚量,并利用清除 DPPH·、·OH 和 ABTS<sup>+</sup>·法评价其抗氧化活性。结果表明,金银花不同溶剂水、70 % 甲醇、70 % 乙醇和 70 % 丙酮提取物中多酚含量分别为 18.97、46.56、46.63、48.49 mg/g,以水为溶剂与以有机溶液为溶剂,金银花多酚提取量有极显著差异( $p < 0.01$ )。不同溶剂金银花多酚均具有一定的清除 DPPH·、·OH 和 ABTS<sup>+</sup>·能力,即抗氧化活性,但不同溶剂金银花多酚对自由基的清除能力不同,推测不同溶剂提取的金银花多酚种类有所不同。研究结果为金银花多酚的深入研究及作为天然抗氧化剂用于食品、保健和医药等领域提供了依据。

### 参考文献:

- [1] 李杰,杨晖,和素娜,等. 溶剂热法提取金银花中绿原酸的工艺研究[J]. 中国食品添加剂, 2015(7): 129-133
- [2] 孔欣欣,张永芳. 高纤维低糖花卉饮料的研制[J]. 饮料工业, 2019, 22(3): 19-25

- [3] 孙阳,黄和,胡赉. 绿原酸提取纯化方法的研究进展[J]. 化学试剂, 2017,39(3): 257-262
- [4] 朱小峰,朱晓娣,王金梅. 封丘产金银花不同提取物的体外抗氧化、抗凝血及  $\alpha$ -葡萄糖苷酶抑制活性研究[J]. 中国药房, 2016, 27(34): 4804-4806
- [5] 陈明海. 通腹逐瘀合剂对热毒炽盛型急性阑尾炎术后胃肠功能恢复的临床研究[D]. 济南: 山东中医药大学, 2018
- [6] 刘豪,张冬青,刘硕,等. 金银花不同提取物抗氧化活性的研究[J]. 食品研究与开发, 2016,37(1): 48-52
- [7] 蔡霄英,龚茵茵. 食用花卉中的多酚类成分及生物活性研究进展[J]. 食品与机械, 2018,34(11): 178-182,189
- [8] Fan Z L, Li L, Bai X L, et al. Extraction optimization, antioxidant activity, and tyrosinase inhibitory capacity of polyphenols from *Lonicera japonica*[J]. Food science & nutrition, 2019, 7(5): 1786-1794
- [9] 游玉明,陈泽雄,张美霞,等. HPLC-DAD 法同时测定金银花中 7 种多酚类物质[J]. 食品工业科技, 2014,35(16): 57-60,67
- [10] 邹容,游玉明,陈泽雄,等. 干燥方式对金银花多酚组分及其抗氧化活性的影响[J]. 食品科学, 2016,37(5): 78-83
- [11] 陈垒,张伟,杜亚明. 金银花的多酚粗提物诱导人肺癌 H1299 细胞凋亡作用及机制研究[J]. 中药药理与临床, 2018,34(3): 89-93
- [12] 高畅,程大海,高欣,等. 蓝莓果渣提取物总酚含量及抗氧化活性研究[J]. 植物研究, 2010, 30(2): 253-256
- [13] 任曼妮,高增明,王存堂. 不同溶剂提取对洋葱皮中多酚含量及抗氧化活性的影响[J]. 食品与发酵工业, 2019,45(17): 189-193
- [14] 李利华. 正交实验法优选花椒多酚的超声波辅助提取工艺[J]. 中国调味品, 2018,43(4): 1-3,27
- [15] 关海宁,刁小琴,乔秀丽,等. 玉米须中不同极性多酚体外抗氧化活性比较研究[J]. 食品研究与开发, 2019,40(12): 46-50
- [16] 段树成,管桂林,曲珊珊,等. 萝卜缨有效成分含量及抗氧化活性研究[J]. 中国调味品, 2019,44(9): 80-84
- [17] Ye R, Fan Y H, Ma C M. Identification and enrichment of  $\alpha$ -glucosidase-inhibiting dihydrostilbene and flavonoids from *Glycyrrhiza uralensis* leaves[J]. J Agric Food Chem, 2017, 65(2): 510-515
- [18] 苏伟,简素平,陈钢,等. 不同地区黑木耳多酚提取及抗氧化活性的研究[J]. 食品研究与开发, 2017,38(9): 14-18
- [19] 祁红兵,宋军霞,伦锡华. 市场常见发酵品的抗氧化性活性[J]. 食品工业, 2019,40(8): 180-183
- [20] 罗冬兰,黎晓燕,曹森,等. 贵州不同种类茶叶的几种抗氧化成分及其抗氧化能力分析[J]. 食品研究与开发, 2019,49(17): 35-41
- [21] Sridhar K, Charles A L. In vitro antioxidant activity of Kyoho grape extracts in DPPH and ABTS assays: Estimation methods for EC50 using advanced statistical programs[J]. Food Chemistry, 2019, 275: 41-49

收稿日期: 2019-12-01