

高速剪切提取金银花 11 种活性成分及其抗氧化活性

付元真^{1,2},王新新^{1,2},王晓²,杜金华¹,耿岩玲²,刘峰^{2*},李圣波³

1(山东农业大学 食品科学与工程学院,山东 泰安,271018)

2(山东省分析测试中心,中药质量控制技术重点实验室,山东 济南,250014)

3(山东亚特生态技术股份有限公司,山东 临沂,276400)

摘 要 以金银花中 11 种活性成分(新绿原酸、绿原酸、隐绿原酸、咖啡酸、芦丁、木犀草苷、金丝桃苷、异绿原酸 B、异绿原酸 A、异绿原酸 C、槲皮素)总提取率为指标,通过正交试验,优化得到高速剪切提取金银花活性成分最佳工艺条件为体积分数 60% 乙醇为溶剂,转速 10 000 r/min,提取时间 120 s,料液比 1:25 (g:mL),11 种活性成分总提取率达 35.86 mg/g。与热回流提取和超声提取法相比,高速剪切提取时间短,提取率明显优于超声提取。以 Vc 为阳性对照,以 DPPH 自由基、超氧阴离子自由基($O_2^{\cdot-}$)的清除率及还原能力为指标,评价其提取物的抗氧化能力。DPPH 自由基、 $O_2^{\cdot-}$ 抑制率 IC_{50} 分别为 0.055 mg/mL 和 0.070 mg/mL,金银花提取物有较强的抗氧化能力,其中, $O_2^{\cdot-}$ 抑制率高于 Vc。相关性分析显示,大部分活性成分浓度与抗氧化活性呈显著性相关。

关键词 金银花;活性成分;高速剪切提取;抗氧化活性

金银花为植物忍冬(*Lonicera Japonica* Thunb.)的花蕾及初开的花,是一种药食两用植物。金银花作为药材历史悠久,临床应用广泛,具有清热解毒、消痈散肿、凉血止痢之功效^[1];作为食品原料,金银花花蕾常用来制作成酒、饮料和茶,具有清热解毒、通经活络、护肤美容以及一定的减肥功效。现代药理实验证明,金银花有多种生物活性,比如抗发炎、抗过敏、抗病毒、解热、增强机体免疫力、止血、利尿、降血脂、中枢兴奋、抗生育^[2-5]、抗氧化活性^[6]等作用。作为一种新兴的提取技术,高速剪切提取技术(high-speed shearing extraction, HSSE)具有快速、高效、常温等特点,能够避免活性物质因热效应发生结构变化,已经应用在橄榄叶中提取黄酮、橄榄苦苷^[7],黄芪中提取总黄酮^[8],油菜花粉中提取总黄酮^[9],茶叶中提取茶多酚等有效成分^[10],而采用高速剪切技术提取金银花活性成分及其抗氧化活性研究的还未见报道。本研究以高速剪切技术作为金银花活性成分的提取方法,以 HPLC/DAD 作为其检测手段,优化金银花中 11 种活性成分的最佳提取工艺,并进一步对金银花提取物的抗氧化活性及各活性物质与抗氧化活性的

相关性进行了研究。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

原料:金银花采自山东亚特生态技术股份有限公司种植基地,35 °C 鼓风干燥后,粉碎,备用。新绿原酸、隐绿原酸、木犀草苷、异绿原酸 A、槲皮素、绿原酸、芦丁、咖啡酸、异绿原酸 B、异绿原酸 C 对照品购买自成都曼斯特生物有限公司。

主要试剂:无水乙醇(北京益利精细化学品有限公司),DPPH(和光纯药工业株式会社),三(羟甲基)氨基甲烷、HCl、焦性没食子酸、 NaH_2PO_4 、 Na_2HPO_4 、 $K_3Fe(CN)_6$ 、三氯乙酸、 $FeCl_3$ 、抗坏血酸、 $NaNO_2$ 、 $Al(NO_3)_3$ 、NaOH、福林酚、 Na_2CO_3 (国药集团化学试剂有限公司)。

1.2 仪器与设备

FA25-186 高速剪切分散乳化机,上海弗鲁克流体机械制造有限公司;Aglient 1120 型高效液相色谱仪,美国 Aglient 公司;GENESYS 10S 紫外可见分光光度计,Thermo Scientific;KA-1000 台式离心机,上海安亭科学仪器厂;UB-7 pH 计,丹佛仪器(北京)有限公司;BSA124S 天平,Sartorius 公司。

1.3 实验方法

1.3.1 高速剪切提取

精确称取 1.0 g 金银花样品于试管中,按照一定

第一作者:硕士研究生(刘峰博士为通讯作者,E-mail:liufeng8109@163.com)。

基金项目:国家自然科学基金(81473298);山东省科技攻关项目(2014GSF119031)

收稿日期:2015-10-09,改回日期:2015-11-10

的料液比加入溶剂,设定提取转速、时间后,启动高速剪切分散乳化机。提取结束后,3 000 r/min 离心 5 min,得上清液,乙醇定容至 50 mL,过 0.45 μm 滤膜后,HPLC 测定活性成分含量。所有实验重复 3 次,结果取平均值。

1.3.2 超声提取

称取 1.0 g 样品于具塞玻璃试管中,加入 40 mL 体积分数 60% 乙醇溶液后,在超声频率 30 kHz 下提取 40 min 后,过滤,3 000 r/min 离心 5 min,得上清液,乙醇定容至 50 mL,提取液用 0.45 μm 微滤膜过滤后 HPLC 测定活性成分含量。所有实验重复 3 次,结果取平均值。

1.3.3 加热回流提取

称取 1.0 g 样品于具塞玻璃试管中,加入 40 mL 60% 乙醇,70°C 加热回流提取 1.5 h。将提取液 3 000 r/min 离心 5 min,得上清液,乙醇定容至 50 mL,提取液用 0.45 μm 微滤膜过滤后 HPLC 测定活性成分含量。所有实验重复 3 次,结果取平均值。

1.3.4 高速剪切提取正交实验

本研究以 11 种活性成分总含量为指标,考察影响含量的主要因素,即提取时间(A)、转速(B)、乙醇体积分数(C)和料液比(D),选取如下水平进行正交实验。正交试验的因素水平见表 1。

表 1 正交试验因素水平表

Table 1 Factor level table of orthogonal design

水平	A(时间)/s	B(转速)/(r·min ⁻¹)	C(乙醇体积分数)/%	D(料液比)(g:mL)
1	60	10 000	40	1:25
2	90	13 000	50	1:35
3	120	16 000	60	1:45

1.3.5 对照品制备

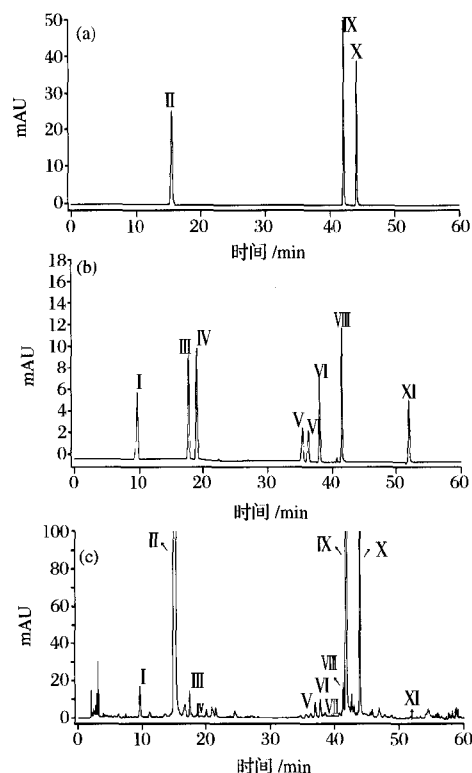
分别称取绿原酸、异绿原酸 A、异绿原酸 C 1.4、1.4、1.1 mg,甲醇溶解后定容至 10 mL,再分别取上述溶液 2 mL 混合后定容至 10 mL,得混标 a;分别称取新绿原酸、隐绿原酸、咖啡酸、芦丁、木犀草苷、金丝桃苷、异绿原酸 B、槲皮素 1.2、1.4、1.1、1.9、0.4、1.1、1.1、1.6 mg,甲醇溶解定容至 10 mL,分别取以上溶液 1、1、0.5、0.5、2、0.5、1、0.5 mL 混合后定容至 10 mL,得混标 b。

1.3.6 色谱条件

色谱柱为 Symmetry C₁₈ (250 mm × 4.6 mm, 5 μm);流动相:(A)0.2% 甲酸溶液,(B)乙腈;梯度洗

脱:0~10 min,8%~10% B;10~20 min,10%~15% B;20~30 min,15%~15% B;30~40 min,15%~25% B;40~50 min,25%~30% B;50~51 min,30%~100% B;51~60 min,100% B;流速 1 mL/min;检测波长 280 nm,柱温 25°C,进样量 10 μL 。

对照品及样品提取溶液高效液相图见图 1。各对照品经 HPLC 检测,计算得到其标准曲线及检测范围如表 2 所示。



峰:(I)新绿原酸(II)绿原酸(III)隐绿原酸(IV)咖啡酸(V)芦丁(VI)木犀草苷(VII)金丝桃苷(VIII)异绿原酸 B(IX)异绿原酸 A(X)异绿原酸 C(XI)槲皮素

图 1 活性成分对照品(a,b)和 HSSE 得到的金银花提取液(c)的高效液相色谱图

Fig. 1 HPLC chromatograms of the standards of the 11 active components (a, b) and the extracts by HSSE (c).

1.3.7 对 DPPH 自由基的清除作用

参考文献^[11-12]的方法并稍作改动,取不同浓度的金银花提取物乙醇溶液 2 mL 和 2 mL 乙醇配制的 DPPH 溶液(0.08 mmol/L)混匀,30°C 水浴遮光反应 30 min 后,冷却至室温,517 nm 下测吸光度值,平行测定 3 次取平均值。阳性对照为 Vc。

样品对 DPPH 自由基的清除率计算公式为:

$$\text{DPPH 自由基清除率}/\% = \frac{A_0 - (A_i - A_j)}{A_0} \times 100 \quad (1)$$

表 2 活性成分对照品的标准曲线
Table 2 Standard curve of active components
reference substance

成分	标准曲线	R^2	检测范围/ μg
新绿原酸	$y = 839.17x + 4.33$	0.999 9	0.012 ~ 0.300
绿原酸	$y = 1\,304.7x + 41.736$	0.999 8	0.140 ~ 7.000
隐绿原酸	$y = 1\,007.2x + 3.184\,7$	0.999 8	0.014 ~ 0.350
咖啡酸	$y = 2\,930.9x + 1.010\,5$	1	0.005 ~ 0.125
芦丁 rutin	$y = 557.3x + 0.854\,8$	0.999 8	0.010 ~ 0.250
木樨草苷	$y = 538.48x + 1.217\,6$	0.999 8	0.008 ~ 0.200
金丝桃苷	$y = 1\,796.2x + 1.326\,5$	0.999 8	0.005 ~ 0.125
异绿原酸 B	$y = 1\,090.8x + 0.093\,5$	0.999 8	0.011 ~ 0.275
异绿原酸 A	$y = 1\,099.9x + 137.76$	0.999 7	0.140 ~ 7.000
异绿原酸 C	$y = 1\,471.7x + 7.453\,4$	0.999 9	0.022 ~ 0.550
槲皮素	$y = 1\,099.3x - 2.507\,7$	0.999 7	0.008 ~ 0.200

其中, A_0 为空白组的吸光度值; A_i 为样品组的吸光度值; A_j 为对照组的吸光度值。

1.3.8 对超氧阴离子($\text{O}_2^{\cdot -}$)的清除作用

采用邻苯三酚自氧化法^[13]取浓度为 50 mmol/L 的 Tris-HCl(pH 8.2)缓冲液 4.0 mL, 25℃ 水浴 10 min, 然后加入 1.0 mL 不同质量浓度的样品溶液, 再加入 0.1 mL 浓度为 10 mmol/L 的邻苯三酚溶液, 混匀 25℃ C 反应 4 min 后, 即刻加入 1 mL 8 mmol/L 的 HCl 终止反应, 在波长 325 nm 处测吸光度^[14]。实验重复 3 次, 结果取平均值。V_c 作为阳性对照。

样品对 $\text{O}_2^{\cdot -}$ 的清除率计算公式为:

$$\text{O}_2^{\cdot -} \text{ 的清除率} / \% = \frac{B_0 - B_i}{B_0} \times 100 \quad (2)$$

其中: B_0 为空白组的吸光度值; B_i 为样品组的吸光度值。

1.3.9 还原力测定实验

金银花提取物样品还原力测定参照文献^[15]稍作改动, 取 2.5 mL 磷酸缓冲液(0.2 mol/L, pH 6.6), 再加入 2.5 mL 质量分数为 1% 的 $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$, 分别加入 1 mL 不同质量浓度的金银花提取物样品, 混匀后 50℃ C 水浴 20 min, 冷却后加入 2.5 mL 质量分数为 10% 的三氯乙酸, 混匀, 3 000 r/min 离心 10 min, 取上清液 2.5 mL, 加入蒸馏水和质量分数为 0.1% 的 FeCl_3 各 2.5 mL, 混匀, 静置 10 min, 在 700 nm 下测吸光度值。平行测定 3 次取平均值。阳性对照为 V_c。

2 结果与分析

2.1 单因素分析

以 11 种活性成分总提取率作为评价提取效率的指标。提取率计算根据高效液相色谱图中 11 种活性

成分的峰面积, 由标准曲线计算而得。

2.1.1 提取溶剂的选择

称取 1.0 g 金银花样品粉末, 分别采用体积分数 30%、40%、50%、60%、70% 乙醇为提取溶剂, 转速 13 000 r/min, 料液比 1:25 (g:mL), 提取时间为 90 s, 考察不同乙醇体积分数对金银花中 11 种活性成分提取率的影响, 结果如图 1 所示。主要活性成分的总提取率随乙醇浓度升高先增大后减小, 当 60% 乙醇为溶剂时总提取率达到最大值。

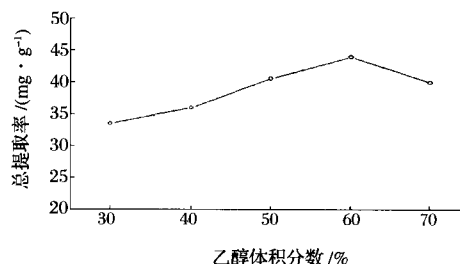


图 1 乙醇体积分数对金银花 11 种活性成分总提取率的影响

Fig. 1 Effect of ethanol solvent concentration on the contents of 11 active components

2.1.2 转速的选择

60% 乙醇为溶剂, 料液比 1:25 (g:mL), 乳化机转速分别设定为 10 000、13 000、16 000、19 000、22 000 r/min, 提取时间 90 s, 结果如图 2 所示。转速的升高, 样品颗粒减小, 与溶剂接触面积增大, 同时样品组织细胞的破坏增强, 加快了目标化合物的扩散速度。由图 2 可知, 随着转速的增加, 目标化合物的提取率也逐渐增高, 然而当转速达到 16 000 r/min 后, 提取率降到最低。而后继续增大转速提取率继续上升, 但低于 13 000 r/min。

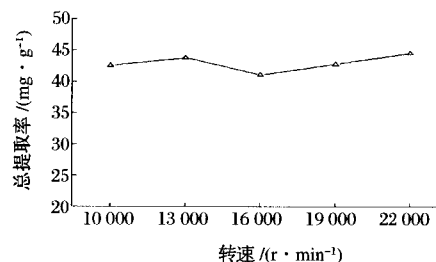


图 2 转速对对金银花 11 种活性成分总提取率的影响

Fig. 2 Effect of speed on the contents of 11 active components

2.1.3 料液比的选择

别称取一定量的金银花样品粉末, 采用 60% 乙

醇为提取溶剂,料液比分别为 1:15、1:25、1:35、1:45、1:55 (g:mL),转速 13 000 r/min 下提取 90 s,所得结果如图 3 所示。当料液比达到 1:45 时,提取率达到最高。当料液比 1:55 时提取率降低,可能因为溶剂增多,单位时间内对样品的处理次数减少,影响了活性成分的溶出。

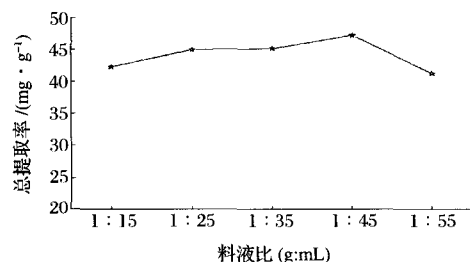


图 3 料液比对金银花 11 种活性成分总提取率的影响

Fig. 3 Effect of solid/liquid ratio on the contents of 11 active components

2.1.4 提取时间的选择

称取 1.0 g 金银花样品粉末,采用体积分数 60% 乙醇为提取溶剂,转速 13 000 r/min,料液比 1:25 (g:mL),提取时间分别设定为 30、60、90、120、150 s。所得结果如图 4 所示。在 30 ~ 90 s 中,11 种活性成分总提取率随着时间的延长而提高,当提取时间 90 s 时,总提取率达到最高。继续延长剪切时间,提取率下降,可能是因为与氧气接触时间越多,活性成分被氧化从而导致提取率降低。

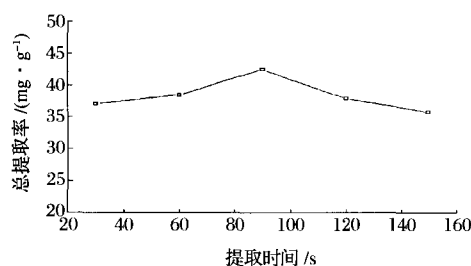


图 4 提取时间对金银花 11 种活性成分总提取率的影响

Fig. 4 Effect of the time on the contents of 11 active components

2.2 正交实验结果

按 $L_9(3^4)$ 正交设计研究高速剪切提取金银花活性成分的提取效果,以 11 种活性成分总量为指标,正交试验结果见表 3。

由正交试验结果及方差分析可知:本试验所选取的 4 个因素中,起主要作用的是 D 因素(料液比),其次是 C 因素(乙醇体积分数), B 因素(转速), A 因素(时间)。影响活性成分提取因素的顺序为 $D > C > B$

$> A$,即物料比 $>$ 乙醇体积分数 $>$ 转速 $>$ 时间;最佳工艺条件应为 $A_3B_1C_3D_1$,即乙醇体积分数 60%,料液比 1:25 (g:mL),转速 10 000 r/min,提取时间 120 s。

表 3 金银花提取工艺正交实验结果

Table 3 Results of *L. japonica* extraction technology orthogonal design

编号	A	B	C	D	总提取率/(mg·g ⁻¹)
1	1	1	1	1	34.00
2	1	2	2	2	22.38
3	1	3	3	3	18.10
4	2	1	2	3	17.19
5	2	2	3	1	34.57
6	2	3	1	2	23.44
7	3	1	3	2	25.19
8	3	2	1	3	18.74
9	3	3	2	1	32.64
k_1	24.827	25.46	25.393	33.737	
k_2	25.067	25.23	24.070	23.670	
k_3	25.523	24.727	25.953	18.010	
R	1.696	0.733	1.883	15.727	

表 4 方差分析

Table 4 Variance analysis

方差来源	偏差平方和	自由度	F 比	F 临界值	显著性
A	0.751	2	0.008	4.460	
B	0.844	2	0.009	4.460	
C	5.612	2	0.058	4.460	*
D	380.701	2	3.926	4.460	
误差	387.91	8			

注: * 为 0.05 显著性差异。

2.3 提取工艺验证

根据优化得到的最佳提取工艺 $A_3B_1C_3D_1$ 进行 3 次平行试验,11 种活性成分对照品和金银花样品提取液的高效液相色谱图见图 1-c。此条件提取得到的新绿原酸 0.574 mg/g,绿原酸 20.695 mg/g,隐绿原酸 0.164 mg/g,咖啡酸 0.027 mg/g,芦丁 0.482 mg/g,木樨草甘 0.504 mg/g,金丝桃苷 0.046 mg/g,异绿原酸 B 0.368 mg/g,异绿原酸 A 11.241 mg/g,异绿原酸 C 1.722 mg/g,槲皮素 0.036 mg/g。11 种活性成分总提取率为 35.86 mg/g 高于各个正交试验值,且方法重复性、操作性好,因此所确定的最佳工艺条件合理可行。

2.4 不同提取法比较

本研究选择同超声提取、加热回流提取进行比较,结果如表 5 所示,超声法的提取率最低,加热回流提取活性成分的得率虽高于高速剪切提取的结果,但

表5 不同提取方法的比较

Table 5 Comparison of different extraction methods

方法	11种活性成分总提取率/ ($\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$)	时间
高速剪切提取 HSSE	35.86	120 s
超声提取 UAE	32.89	40 min
加热回流提取 HRE	36.53	1.5 h

它耗时长、能耗大,而高速剪切提取明显缩短提取时间,又能获得较高的活性成分提取率,快速、高效。

2.5 金银花提取物的抗氧化活性

2.5.1 对 DPPH 自由基的清除作用

在实验浓度范围,金银花提取液 DPPH 自由基清除率随浓度的提高而增大,当浓度达到 0.12 mg/mL 后趋于平缓。经计算得金银花提取物清除 DPPH 的 IC_{50} 为 0.055 mg/mL, Vc 的 IC_{50} 为 0.005 mg/mL,金银花提取物对 DPPH 清除率相对 Vc 较低。

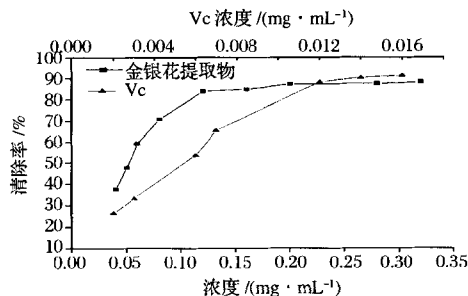


图3 金银花提取液对 DPPH 自由基的清除作用

Fig. 3 DPPH radical scavenging rate curves of

L. japonica extract

2.5.2 对超氧阴离子自由基($\text{O}_2^{\cdot-}$)的清除作用

随着金银花提取液浓度的逐渐增大,其对超氧阴离子自由基($\text{O}_2^{\cdot-}$)的清除率逐渐增大。经计算得金银花提取物清除 $\text{O}_2^{\cdot-}$ 的 IC_{50} 为 0.070 mg/mL, Vc 的 IC_{50} 为 0.090 mg/mL,金银花提取物的抗氧化活性稍高于 Vc。

2.5.3 还原力测定实验

抗氧化剂的抗氧化能力与其还原力有关,还原力越大,抗氧化能力越强。抗氧化剂能够在一定的条件下将 Fe^{3+} 还原为 Fe^{2+} , 因此,根据 Fe^{3+} 还原为 Fe^{2+} 的多少来间接可以评价各种提取物的抗氧化能力^[16]。由图 5 可知,金银花提取液的还原能力与浓度呈正相关性,即随着浓度的增大,还原能力增强。还原力测定的吸光度为 0.805 时,对应的提取液、Vc 浓度为 1.2、0.075 mg/mL,金银花提取物的还原能力低于 Vc。

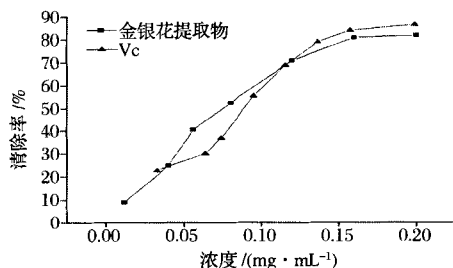
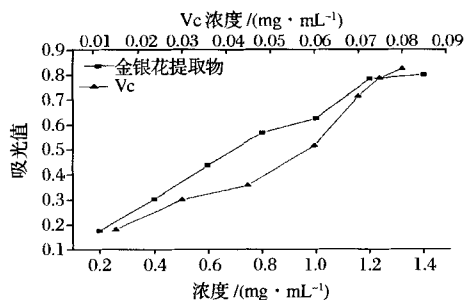
图4 金银花提取液对超氧阴离子自由基($\text{O}_2^{\cdot-}$)的清除作用Fig. 4 $\text{O}_2^{\cdot-}$ radical scavenging rate curves of *L. japonica* extract

图5 金银花提取液还原力

Fig. 5 Ferric reducing activity power of *L. japonica* extract

2.5.4 相关性分析

表 6 为金银花各活性成分与抗氧化指标之间的回归分析。由表 6 可知,活性成分含量与 DPPH 自由基清除率的回归方程均为二次模型,且达到极显著水平;除总黄酮外,活性成分含量与还原力基本呈一次线性回归,均为极显著线性相关;超氧阴离子自由基($\text{O}_2^{\cdot-}$)清除率与总酚浓度为一次线性回归,而与其他活性成分浓度为二次函数关系。总黄酮、木樨草苷、金丝桃苷、槲皮素含量与超氧阴离子自由基($\text{O}_2^{\cdot-}$)清除率呈极显著性相关而新绿原酸与之无显著性关系。

3 结论

(1) 本实验优化得到高速剪切提取金银花活性成分最佳工艺条件为乙醇体积分数 60%, 料液比 1:25 ($\text{g}:\text{mL}$), 转速 10 000 r/min, 提取时间 120 s。通过 HPLC 对最优工艺得到的提取液进行 11 种活性成分定性定量分析活性成分总提取率达 35.86 mg/g。与加热回流提取和超声提取法相比,高速剪切技术提取率明显高于超声提取,稍低于加热回流提取,但其提取时间短,效率高。

(2)通过 DPPH 自由基、 $O_2^{\cdot -}$ · 抑制率及还原力的测定,表明高速剪切提取金银花提取物有较高的抗氧化活性,DPPH 自由基、 $O_2^{\cdot -}$ · IC_{50} 分别为 0.055 和 0.070mg/mL,还原力测定的吸光度为 0.805 时,提取物对应浓度为 1.2 mg/mL。相关性分析显示,大部分活性成分与抗氧化活性呈显著性相关。

表 6 活性成分含量与抗氧化活性回归分析
Table 6 Regression analysis of active components and antioxidant activity

因素	DPPH 清除率		$O_2^{\cdot -}$ · 清除率		还原力	
	回归方程	R^2	回归方程	R^2	回归方程	R^2
总黄酮	$y = -0.78x^2 + 1.76x + 0.08$	0.977 **	$y = -1.84x^2 + 2.78x - 0.28$	0.975 **	$y = -0.01x^2 + 0.15x + 0.03$	0.976 **
总酚	$y = -2.54x^2 + 3.16x + 0.08$	0.991 **	$y = 2.91x + 0.01$	0.958 *	$y = 0.19x + 0.13$	0.955 **
新绿原酸	$y = -4.225.34x^2 + 131.58x + 0.07$	0.992 **	$y = -11.373.23x^2 + 221.90x - 0.259$	0.894	$y = 7.59x + 0.14$	0.898 **
绿原酸	$y = -3.322x^2 + 3.65x + 0.08$	0.980 **	$y = -4.01x^2 + 3.679x - 0.02$	0.952 *	$y = 0.24x + 0.09$	0.989 **
隐绿原酸	$y = -49.395.48x^2 + 434.84x + 0.11$	0.967 **	$y = 102.291.79x^2 + 620.26x - 0.145$	0.976 *	$y = 26.37x + 0.14$	0.955 **
咖啡酸	$y = -1.947.707.63x^2 + 2.775.05x + 0.09$	0.960 **	$y = -3.010.130.91x^2 + 3.457.15x - 0.11$	0.984 *	$y = -14.080.07x^2 + 254.07x + 0.02$	0.932 **
芦丁	$y = -684.808.7x^2 + 16.608.45x + 0.07$	0.970 **	$y = -1.008.529.74x^2 + 1.871.98x - 0.05$	0.940 *	$y = 91.99x + 0.16$	0.921 **
木樨草苷	$y = -6.125.47x^2 + 155.33x + 0.09$	0.976 **	$y = -9.456.03x^2 + 188.92x - 0.13$	0.998 **	$y = -40.79x^2 + 13.53x - 0.02$	0.973 **
金丝桃苷	$y = -5.558.73x^2 + 149.32x + 0.09$	0.978 **	$y = -8.588.07x^2 + 179.90x - 0.126$	0.998 **	$y = 8.84x + 0.12$	0.969 **
异绿原酸 B	$y = -10.099.78x^2 + 196.54x + 0.11$	0.968 **	$y = -23.374.29x^2 + 316.69x - 0.26$	0.986 *	$y = 12.14x + 0.12$	0.951 **
异绿原酸 A	$y = -11.12x^2 + 6.60x + 0.09$	0.973 **	$y = -27.62x^2 + 11.07x - 0.29$	0.98 *	$y = 0.4x + 0.12$	0.933 **
异绿原酸 C	$y = -501.2x^2 + 45.03x + 0.07$	0.952 *	$y = -843.22x^2 + 58.35x - 0.19$	0.985 *	$y = 2.56x + 0.13$	0.955 **
槲皮素	$y = -1.057.322.71x^2 + 2.020.67x + 0.16$	0.982 **	$y = -1.561.199.27x^2 + 2.341.19x - 0.09$	0.996 **	$y = 113.58x + 0.15$	0.941 **

注: * 和 ** 分别表示 0.05 和 0.01 显著性差异。

参 考 文 献

[1] 国家药典委员会编. 中华人民共和国药典(一部). 北京: 中国医药科技出版社, 2010: 205-206.

[2] SHANG XIAO-FEI, PAN HU, LI MAO-XING, et al. *Lonicera japonica* Thunb.; Ethnopharmacology, phytochemistry and pharmacology of an important traditional Chinese medicine [J]. *Ethnopharmacol*, 2011, 138(1): 1-21.

[3] FAN LI, LIN CHANGHU, DUAN WEN-JUAN, et al. Rapid and quantitative determination of 10 major active components in *Lonicera japonica* Thunb. by ultrahigh pressure extraction-HPLC/DAD [J]. *High Pressure Research*, 2015, 35: 57-68.

[4] CHIDANANDA S R, BHARATHI A, ZHAO J P, et al. Quantitative determination of phenolic acids in *Lonicera japonica* Thunb. Using high performance thin layer chromatography [J]. *Liquid Chromatogra. & R T*, 2010, 34(1): 38-47.

[5] YOO H J, KANG H J, SONG Y S, et al. Anti-angiogenic, antinociceptive and anti-inflammatory activities of *Lonicera japonica* extract [J]. *Pharm. Pharmacol*, 2008, 60(6): 779-786.

[6] 罗磊, 郭晓园. 金银花提取液抗氧化活性研究[J]. *食品科学*, 2009, 30(21): 63-65.

[7] 张振兴, 刘永峰, 刘毅, 等. 基于高剪切分散乳化技术提取油橄榄叶中有效成分的样品前处理新方法[J]. *天然产物研究与开发*, 2013, 25(11): 1555-1561.

[8] 滑聚娜, 冯祖飞, 刘永峰, 等. 基于高剪切分散乳化技术的黄芪中黄酮类化合物提取方法及动力学研究[J]. *分析化学研究报告*, 2012, 40(5): 752-756.

- [9] 李丽, 卜令娜, 刘晔玮, 等. 高速剪切技术提取油菜蜂花粉总黄酮工艺[J]. 食品工业科技, 2012, 33(13): 285-288.
- [10] 邸羿, 刘永峰, 孙小明, 等. 高剪切分散乳化技术提取茶叶中有效成分的动力学及热力学研究[J]. 分析测试学报, 2013, 32(4): 401-407.
- [11] GE QING, MAO JIAN-WEI, ZHANG AN-QIANG, et al. Purification, chemical characterization, and antioxidant activity of a polysaccharide from the fruiting bodies of *sanguang mushroom* (*PhellinusBaumii*Pilat) [J]. Food Sci, Biotechnol, 2013, 22(2): 301-307.
- [12] 范菁华, 徐怀德, 李钰金, 等. 超声波辅助提取花椒叶总黄酮及其体外抗氧化性研[J]. 中国食品学报, 2010, 10(6): 22-27.
- [13] 王兴, 黄忠明, 王莉, 等. 苦荞蛋白模拟消化产物抗氧化活性及组成研究[J]. 中国食品学报, 2009, 9(6): 10-15.
- [14] 吴晓红, 杨传平. 红松仁蛋白的分离纯化及抗氧化作用研究[J]. 林产化学与工业, 2015, 35(2): 135-141.
- [15] 李欣, 薛治浦, 朱文学. 丹参不同部位总酚酸和总黄酮含量分析及其抗氧化活性研究[J]. 食品科学, 2011, 32(3): 108-111.
- [16] CHOI Y, JEONG H S, LEE J. Antioxidant activity of methanolic extracts from some grains consumed in Korea [J]. Food Chemistry, 2007, 103(1): 130-138.

High-speed shearing extraction for 11 major active components from *Lonicera japonica* and its antioxidant activity

FU Yuan-zhen^{1,2}, WANG Xin-xin^{1,2}, WANG Xiao²,
DU Jin-hua¹, GENG Yan-ling², LIU Feng^{2*}, LI Sheng-bo³

1(College of Food Science and Engineering, Shandong Agricultural University, Taian 271018, China)

2(Shandong Analysis and Test Center/ Key Laboratory of TCM Quality Control Technology, Jinan 250014, China)

3(Shandong Yate Ecological Technology Limited Company, Linyi 276400, China)

ABSTRACT The total extraction yield of 11 active components (neochlorogenic acid, chlorogenic acid, 4-dicaffeoylquinic acid, caffeic acid, rutin, luteoloside, hyperoside, isochlorogenic acid B, isochlorogenic acid A, isochlorogenic acid C, and quercetin) were taken as index to optimize high-speed shearing extraction (HSSE) conditions for major active components from *Lonicera japonica* by orthogonal design. The optimal extraction conditions were 60% ethanol solution, 1:25 (g: mL) solid: liquid ratio, 10 000 r/min of rotate speed, and 120s of extraction time, the total extraction yield of the 11 active components was 35.86 mg/g. HSSE had advantages such as high yield and times saving by comparison with ultrasound assist extraction (UAE) and heating reflux extraction (HRE). The antioxidant activity of extract was evaluated by the radical scavenging capacity of DPPH and $O_2^{\cdot -}$, ferric reducing activity power, Vc was taken as positive control. Results showed that *Lonicera japonica* extracts had good antioxidant activity, radical scavenging capacity of $O_2^{\cdot -}$ was higher than that of Vc. The correlation analysis indicated that most active components had significant correlation with antioxidant activity.

Key words *Lonicera japonica*; active components; high-speed shearing extraction; antioxidant activity