

金银花不同提取物的油脂抗氧化效果研究*

朱振宝,田 宾,易建华

(陕西科技大学生命科学与工程学院,陕西西安,710021)

摘 要 为了比较金银花水提物与醇提物对油脂抗氧化的性质,采用 Schall 烘箱法评价猪油的过氧化值(PV)变化,同时研究了不同提取物清除 DPPH·自由基的效果。结果表明:金银花的 2 种粗提物均具有一定的抑制油脂过氧化的能力,且总体上醇提物的抗氧化能力优于水提物。金银花醇提物的抗氧化能力与 BHT、TBHQ 相当。其清除自由基的能力表明:金银花提取物对油脂体系的抗氧化可能是通过清除自由基,从而抑制油脂的氧化自由基链式反应。金银花具有良好的抗氧化能力,可以开发成天然抗氧化剂。

关键词 金银花,抗氧化,DPPH·自由基,天然产物

油脂在氧化过程中会形成大量的自由基,进一步分解生成醛、酮、醌、游离脂肪酸等有害物质,产生酸败,从而降低其营养价值^[1]。油脂含量高的食品需添加抗氧化剂来防止脂肪氧化,常用的食品抗氧化剂有 BHA、BHT、TBHQ 等。研究发现,长期使用 BHA、BHT 合成的抗氧化剂具有致癌等有害作用^[2],因此现在世界各国纷纷限制人工合成的抗氧化剂的使用。从天然植物中寻找安全的抗氧化成分已成为油脂抗氧化领域的研究热点^[3],如唇形科植物迷迭香提取物已广泛应用于肉制品、油脂等体系的抗氧化,具有良好的防止脂肪氧化的效果,成为合成抗氧化剂的替代品。

金银花(*Flos Lonicerae*),又名二花、银花、双花、茶叶花等,为忍冬科忍冬属植物忍冬(*Lonicera japonica* Thunb) 同属多种植物的干燥花蕾^[4]。金银花是我国的传统药食同源植物,在许多的中成药、口服液、针剂中作为主要成分,具有清热解毒的功效,并有抑菌谱广、疗效显著、毒副作用小等优点。有研究表明,金银花水提物在体外对 H_2O_2 ·具有直接的清除作用且呈线性量效关系,说明其具有抗氧化作用^[5,6]。金银花的药理作用研究表明,金银花具有清除自由基等体内抗氧化作用^[7]。提取天然产物的常用溶剂一般为水和不同浓度的乙醇,目前还未见有关于金银花不同溶剂提取物的抗氧化报道。本文主要研究金银花的不同溶剂提取对油脂体系的抗氧化作用,比较水、醇 2 种提取物清除 DPPH·自由基效果,

为从金银花中提取抗氧化成分,进一步开发安全、高效的天然食品抗氧化剂提供理论基础和技术支持。

1 材料与方法

1.1 材料、试剂

金银花,购于西安万寿路中药材市场,经陕西科技大学生命科学与工程学院药剂专业教师鉴定为忍冬科忍冬属植物干燥花蕾;新鲜猪油,爱家超市购买;BHT、TBHQ、无水乙醇、冰乙酸、三氯甲烷、碘化钾、硫代硫酸钠、可溶性淀粉均为分析纯试剂,购于本地化学试剂公司;DPPH·(1,2-二苯基-2-苦味酰自由基),购于 Sigma 公司。

1.2 主要仪器

双列四孔水浴锅(北京科伟永鑫实验仪器设备厂),FW80. 万能粉碎机(河北省黄邳市新兴电器厂),RE—52A 旋转蒸发仪(上海亚荣生化仪器厂),722 型光栅分光光度计(上海精密科学仪器有限公司),JA5003 分析天平(上海精科天平有限公司)。

1.3 试验方法

1.3.1 金银花水提物与醇提物的制备

将所购的金银花样品 40℃ 烘干至水分恒定,用万能粉碎机粉碎,过 60 目筛备用。每次称取上述样品 10 g,根据水提与醇提的正交试验安排(见表 1、表 2)进行提取、过滤、旋转蒸发、浓缩,真空冻干进行抗氧化试验。

1.3.2 油脂抗氧化试验

取 19 个 50 mL 小烧杯,编号 1#,2#...19#,每个烧杯各加入 10 g 猪油,1#~9# 烧杯分别加入 1.3.1 项下金银花水提物 1~9 号,10#~18# 烧杯分别加入 1.3.1 项下金银花醇提物 1~9 号,19# 为空

第一作者:在读博士,讲师。

* 陕西科技大学自然科学基金资助(ZX05-27)

收稿日期:2007-09-07,改回日期:2007-12-14

白对照。将烧杯放入 60℃ 烘箱中进行强制氧化,参照 GB/T5538—1995 标准碘量法测定猪油的过氧化值(PV)。

1.3.3 不同抗氧化剂比较研究

取 5 个 50mL 小烧杯,编号 1#~5#,准确称取新鲜猪油 20g,分别添加 0.05% 的金银花水提、醇提物、BHT、TBHQ,充分混合。将烧杯放入 60℃ 烘箱中进行强制氧化,参照 GB/T5538—1995 标准碘量法测定猪油的过氧化值(PV)

1.3.4 金银花水提、醇提物清除 DPPH· 自由基

1.3.4.1 浓度对 DPPH· 的清除能力的影响

分别取不同浓度的金银花水提、醇提取物, BHT, TBHQ 溶液 0.5 mL 于 50 mL 小烧杯中,各加 0.04 mg/mL 的 DPPH· 溶液 7.5 mL,混匀,立即静置避光反应 20min,取出于光径 1cm 比色皿中测定混合 DPPH· 溶液在 517 nm 处的吸光度(用蒸馏水调仪器零点)。以不添加样品的 DPPH· 溶液做空白对照,样品对 DPPH· 清除率可由式(1)计算^[8]:

$$\text{DPPH}\cdot\% = (1 - A_t / A_{t=0}) \times 100 \quad (1)$$

式中: $A_{t=0}$ 为空白体系中的 DPPH· 溶液的吸光度; A_t 为加入样品反应后的 DPPH· 溶液的吸光度。

1.3.4.2 时间对 DPPH· 清除能力的影响

分别取 0.5 mL 的 2、1.5 mg/mL 的金银花水提物和醇提物溶液于 50mL 小烧杯中,分别加入 0.04 mg/mL 的 DPPH· 溶液 7.5 mL 混合,立即于光径 1 cm 的比色皿中测定混合 DPPH·,溶液在 517 nm 处的吸光度(用蒸馏水调仪器零点)。每 5 min 测 1 次,直到基本稳定。试验平行进行 3 次,取平均值。样品对 DPPH· 清除率由式(1)计算。

2 结果与讨论

2.1 银花水提物与醇提物抗氧化结果

金银花水提、醇提物对油脂的抗氧化结果见表 1 和表 2。从表 1、表 2 可以看出:金银花的水提、醇提成分都具有一定的抑制猪油氧化的作用,醇提物的抗氧化效果总体优于水提物。在金银花水提过程中,其不同提取物的抗氧化效果差异较大,而不同醇提物之间的抗氧化差异较小。其原因可能是金银花中的抗氧化物质(如绿原酸和黄酮类物质)组成比较复杂,而且极性较小,容易被含水的乙醇溶剂萃取出来。

从表 1 还可以看出,影响水提物抗氧化因素的主次为:提取时间>温度>固液比。由水提试验可以

表 1 金银花水提取物 $L_9(3^3)$ 油脂抗氧化

	A 提取温度 /℃	B 固液比	C 提取时间 /h	PV 值 /mmol·kg ⁻¹
1	40	1:5	3	
2	40	1:10	6	
3	40	1:15	9	
4	60	1:5	6	0.78
5	60	1:10	9	1.70
6	60	1:15	3	0.82
7	80	1:5	9	2.18
8	80	1:10	3	0.90
9	80	1:15	6	2.06
K1	3.30	3.91	4.82	0.95
K2	5.15	4.58	5.95	1.98
K3	4.94	4.94	2.67	2.07
极差 R	1.85	1.03	3.28	
因素主次	C>	A>	B	
最优因素水平	A ₂	B ₃	C ₂	

发现,提取时间对抗氧化效果影响最为明显,其原因在于浸取是一个传质过程,随着时间延长,可能达到传质平衡,再延长时间,不会增加抗氧化成分溶出;温度影响次之,适当升高温度,有利于加快传质速度,而温度过高会使部分抗氧化物质失活;固液比影响最小。水提的最佳组合 A₂B₃C₂,即提取时间 6 h、温度 60℃、固液比 1:15。

表 2 金银花醇提取物 $L_9(3^3)$ 油脂抗氧化

	A 乙醇体积分数 /%	B 固液比	C 提取时间 /h	PV 值 /mmol·kg ⁻¹
1	45	1:3	3	
2	45	1:5	6	
3	45	1:7	9	
4	70	1:3	6	0.75
5	70	1:5	9	0.63
6	70	1:7	3	0.58
7	90	1:3	9	0.62
8	90	1:5	3	0.82
9	90	1:7	6	0.66
K1	1.96	1.96	2.15	0.59
K2	2.10	2.19	1.99	0.74
K3	2.01	1.93	1.49	0.69
极差 R	0.14	0.26	0.56	
因素主次	C>	B>	A	
最优因素水平	A ₂	B ₂	C ₁	

注:提取温度为 60℃

由表 2 可看出,影响醇提物抗氧化因素的主次为:提取时间>固液比>体积分数。醇提的最优方案为:A₂B₂C₁,体积分数 70%、固液比 1:5、提取时间 3 h。

因最佳组合在试验中都没有出现,所以按照水提和醇提的最优条件提取金银花后,进行油脂的抗氧化验证试验。水提物的 PV 为 0.80 mmol/kg,醇提物的 PV 值为 0.57 mmol/kg,证明正交试验得到的最优条件可行。

2.2 不同种类的抗氧化剂比较

由表 3 结果可以看出,合成的抗氧化剂 BHT、TBHQ 的抗氧化效果略优于金银花提取物,其抗氧化能力依次为: BHT > TBHQ > 金银花醇提取物 > 金银花水提取物。其中金银花醇提取物的抗氧化能力与 TBHQ 非常接近,说明可以利用金银花来开发天然的抗氧化剂。

表 3 不同种类的抗氧化剂比较

	抗氧化剂名称				
	BHT	TBHQ	醇提取物	水提取物	空白
$\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3/\text{mL}$	6.20	6.40	7.0	8.0	14.4
$\text{PV}/\text{mmol} \cdot \text{kg}^{-1}$	1.03	1.07	1.19	1.60	2.88

注: $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ 的浓度为 0.002 mol/L, 4 种抗氧化剂的添加浓度为 0.05%。

2.3 抗氧化剂浓度与 DPPH·自由基清除率

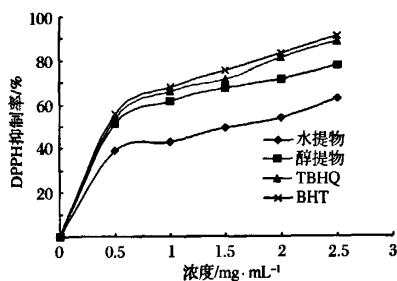


图 1 不同浓度抗氧化剂清除 DPPH·自由基

由图 1 可以看出,在一定剂量范围,4 种抗氧化剂对 DPPH·自由基清除能力随着浓度的增大而增大。在 0.5 mg/mL 范围以内,4 种抗氧化剂清除 DPPH·自由基呈现一级反应。从总体上看,清除 DPPH·自由基的能力依次为: BHT > TBHQ > 金银花醇提取物 > 金银花水提取物。在低浓度条件下(0.5 mg/mL)金银花醇提取物清除自由基的能力与 BHT、TBHQ 相当。由图 1 还可计算出金银花水提物的 IC_{50} 值为 1.6 mg/mL,醇提物的 IC_{50} 值为 0.48 mg/mL,说明醇提取物清除自由基的能力优于水提取物,这与油脂抗氧化的试验结果一致。不同抗氧化剂清除自由基与油脂抗氧化的顺序相同,说明其抑制油脂氧化的机制可能是通过清除自由基,从而抑制油脂的氧化自由基链式反应。

2.4 时间与 DPPH·自由基清除率

由图 2、图 3 可以看出,样品浓度与 DPPH·自由基的清除率存在线性关系,随着样品浓度的增大,

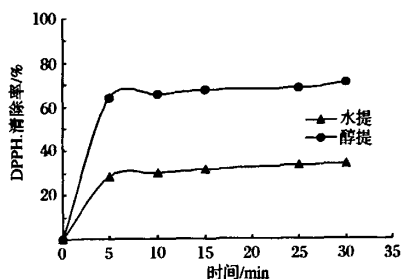


图 2 时间与 DPPH·清除率的关系(浓度为 1.5 mg/mL)

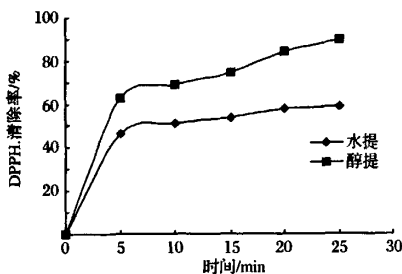


图 3 时间与 DPPH·清除率的关系(浓度为 2 mg/mL)

对自由基的清除率也在增大。金银花水提取物与醇提取物对自由基的清除作用趋势一致,在 5 min 以内,随着时间的延长,对自由基的清除率呈现一级反应。5 min 以后,随着时间的延长,自由基清除率基本达到平衡,不再增加。从总体上看,金银花醇提取物对自由基的清除率要高于水提取物,这与油脂抗氧化的结果一致。

3 结 论

(1)金银花的水提与醇提取物均具有一定的抑制油脂过氧化能力,且总体上醇提取物的抗氧化能力优于水提取物。水提与醇提过程提取时间均为最主要的影响因素,提取温度对水提取物的抗氧化作用也有重要影响。

(2)金银花水提、醇提取物可以有效清除 DPPH·自由基,水提物的 IC_{50} 值为 1.6 mg/mL,醇提物的 IC_{50} 值为 0.48 mg/mL,醇提取物的抗氧化能力与 BHT、TBHQ 基本相当,可以利用金银花来开发天然抗氧化剂。

参 考 文 献

- [美]. 斯沃恩主编,贝雷油脂化学与工艺学(第四版)[M]. 北京:中国轻工业出版社,1987
- Attmann H J, Grunov W, Mohr U, et al. Effects of BHA and related phenols on the forestomach of rats[J]. Food Chem Toxicol, 1986, 24(10~11): 1183~1188
- 陈林, 吴青, 韦薇, 等. 大叶紫薇叶提取物抗氧化性能的研究[J]. 食品与发酵工业, 2006, 32(3): 47~50

- 4 刘思荔,李青山.金银花的研究进展[J].山西医科大学学报,2006,37(3):331~334
- 5 李会军,李 萍,张重义,等.金银花类中药提取物清除自由基的作用[J].中国药科大学学报,2002,33(6):496~498
- 6 张泽生,乌 兰.金银花中绿原酸的体外抑菌和抗氧化的研究[J].天津科技大学学报,2005,20(2):5~8
- 7 石 钺,石任兵,陆蕴如.我国药用金银花资源、化学成分及药理研究进展[J].中国药学杂志,1999,34(11):724~727
- 8 凌关庭.抗氧化食品与健康[M].北京:化学工业出版社,2004

Comparative Study on the Antioxidation Activity of *Flos lonicerae* Extracts Using Water and Ethanol

Zhu Zhenbao, Tian Bin, Yi Jianhua

(School of Life Science and Bioengineering, Shannxi University of Science and Technology, Xian 710021, China)

ABSTRACT To compare the effect of extracts from *Flos lonicerae* (FLE) with different solvents on inhibiting oil oxidation, the lard added *Flos lonicerae* extracts of PV were determined. Furthermore, the scavenging effects of *Flos lonicerae* extracts on free radicals were investigated using DPPH radical. The results showed that these two kinds of crude extracts have the function in preventing oil from peroxidation. The antioxidation activity of *Flos lonicerae* ethanol extracts (FLEE) were generally better than that of *Flos lonicerae* water extracts (FLWE). The antioxidation ability of FLEE was almost the same as that of BHT and TBHQ. It indicated that its mechanism of antioxidation may be realized by scavenging free radical to inhibit lipid chain reactions.

Key words *Flos Lonicerae*, antioxidation, DPPH ·, natural products

信
息
窗

赛默飞世尔科技 PITTICON'2008 展示新品

赛默飞世尔科技公司(Thermo Fisher Scientific)在 PITTICON 国际仪器展会(PITTICON'2008)上重点介绍了一些新产品,该展会于2008年3月3日~6日在美国路易斯安娜州的新奥尔良举行。此次赛默飞世尔的新品主要集中在分子光谱系列和色谱质谱2大领域。其中,分子光谱是赛默飞世尔科技深受赞誉的产品系列之一,原尼高力(Nicolet)品牌在相当长的时间里是世界高端分子光谱的代名词。PITTICON'2008展会上,赛默飞世尔科技分子光谱系列推出新品包括:(1) Thermo Scientific Nicolet iS10 型傅立叶变换红外光谱仪。该产品引入光谱性能验证功能,由新版 OMNIC Spectra 软件支持,显著简化了传统傅立叶变换红外光谱仪的数据分析,样品采集和仪器验证环节,成为完成这类分析任务的一种良好的选择。(2) Nicolet iN10 型傅立叶变换红外显微镜。该产品由新版 OMNIC Picta 软件支持。为了满足用户对仪器获取数据速度的要求 PITTICON 2008 仪器展上还将展出新型的 Nicolet iN10MX 成像显微镜,它包括成像的光学元件和阵列检测器,保证仪器简便快速地获得高保真的化学成像。(3) Thermo Scientific DXR 拉曼显微镜。这种仪器专门为帮助非专业人员完成对小到微米尺度的粒子进行快速的进样和分析而设计。(4) DXR SmartRaman 型拉曼光谱仪。它将拉曼光谱的力量引入质量控制领域,可直接穿透玻璃和塑料包装对材料进行高重现性、高特征性的表征,不仅节省测试时间,避免样品污染的风险,同时也减小了误差。该系统采用一种全新的激光校准器,它为提高拉曼光谱的重现性增加了一个新的维数。采用专利的自动准直和快速自动校准,方便对仪器进行完全的系统校验,这款新型的色散型拉曼分光光度计能够长久保持最佳性能。

赛默飞世尔科技的色谱质谱系列秉承原美国菲尼根(Finnigan)高端技术和优异性能,多年来深受专业用户的青睐。PITTICON'2008展会上,赛默飞世尔科技色谱质谱系列的新品包括:(1) 新型综合性 LC-MS 制药研发流程。(2) LTQ Orbitrap™ 系列。其具高分辨组合质谱增加电子转移解离(ETD)和基质辅助激光解析电离(MALDI)能力。ETD 与 LTQ Orbitrap XL 联用组成了最先进的蛋白质组学平台,可以提供三个互补性解离技术,用于蛋白质/多肽表征,翻译后修饰(PTM)分析(尤其是磷酸化),及 Top-down 或 Middle-down 的蛋白和多肽序列分析。(3) 一种新型高灵敏度组织成像平台。该平台由赛默飞世尔 MALDI LTQ XL™ 质谱和 ImageQuest™ 软件组成。该组织成像方案能为研究者提供线性离子阱技术无以伦比的灵敏度和无比匹敌的多级质谱 MSn 质谱性能。(4) 外离子源 ITQ™ 系列气相色谱/质谱联用仪(GC/MS)离子阱质谱。这些新型 GC/MS 系统切合了环境、食品安全、制药 QA/QC、法医毒物学工业和科学实验室的实际分析需求。