

桃花中总酚和总黄酮的提取及抗氧化活性研究

刘杰超, 张春岭, 吕真真, 刘 慧, 焦中高*

(中国农业科学院郑州果树研究所, 郑州 450009)

摘要: **目的** 研究提取条件对桃花总酚和总黄酮提取及提取物抗氧化活性的影响。**方法** 利用正交试验研究不同提取条件对桃花总酚和总黄酮提取的影响, 并进一步用Photochem抗氧化剂和自由基分析仪对各提取物的抗氧化活性进行分析测定。**结果** 桃花总酚和总黄酮提取的最佳工艺条件略有差异, 总酚提取条件为: 乙醇浓度50%(v/v)、提取时间2 h、温度50℃、提取次数3次; 总黄酮提取条件为: 乙醇浓度60%(v/v)、提取时间2 h、温度60℃、提取次数3次; 不同提取条件得到的桃花提取物对自由基都具有一定的清除作用, 但清除效果存在一定的差异。**结论** 提取条件不仅会影响桃花总酚和总黄酮的提取率, 而且可影响桃花提取物的抗氧化活性。

关键词: 桃花; 总酚; 黄酮; 提取; 抗氧化

Extraction of total phenolics and flavanoids from peach blossoms and their antioxidant activity

LIU Jie-Chao, ZHANG Chun-Ling, LV Zhen-Zhen, LIU Hui, JIAO Zhong-Gao*

(Zhengzhou Fruit Research Institute, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Zhengzhou 450009, China)

ABSTRACT: Objective This work aimed to evaluate the effects of extraction conditions on the yielding of total phenolics and flavanoids from peach blossoms as well as antioxidant activity of the extracts. **Methods** The optimal conditions for the extraction of total phenolics and flavanoids from peach blossoms were studied by orthogonal test, and the antioxidant activity of each extract was determined by using PHOTOCHEM[®] Photochemiluminescence analyzer. **Results** The optimum condition for extraction of total phenolics from peach blossoms was at 50℃ of extraction temperature by using 50%(v/v) ethanol as solvent for 3 times, each time for 2 h. While for the extraction of total flavanoids, it was at 60℃ of extraction temperature by using 60%(v/v) ethanol as solvent for 3 times, each time for 2 h. Furthermore, the extracts obtained by different extraction conditions showed different antioxidant activities. **Conclusion** Extraction conditions could not only affect the yield of total phenolics and flavanoids, but also influence the antioxidant activity significantly.

KEY WORDS: peach blossom; total phenolics; flavanoids; extraction; antioxidant

1 引言

桃花是蔷薇科落叶乔木桃树的花, 其美容养颜和保健功效在我国传统医疗实践中得到了广泛的应

用。在最早的药学专著《神农本草经》中就提到桃花具有“令人好颜色”之功效;《图经本草》称其“可悦泽人面, 经润容颜色”;而药王孙思邈的美容方也颇为推崇桃花。传统中医药学认为, 桃花味甘辛、性微湿,

*通讯作者: 焦中高, 博士, 副研究员, 主要研究方向为果品营养与保鲜加工。E-mail: jiaozhonggao@caas.cn

*Corresponding author: JIAO Zhong-Gao, Associate Researcher, Zhengzhou Fruit Research Institute, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Hanghai East Road, Zhengzhou 450009, China. E-mail: jiaozhonggao@caas.cn

入心、肺、大肠经,具有活血、悦面、润肤、峻下利尿、通便、美容减肥及化瘀止痛等功效。《太平圣惠方》记载“取桃花阴干研末加冬瓜子研末等份调蜜敷面可治雀斑、黑斑、黑痣”;《葛洪肘后备急方》称“桃花令人面白,细腰身”。现代医学与营养学研究表明,桃花富含多酚、多糖、类胡萝卜素和多种维生素、氨基酸及微量元素化学成分,具有较好的药用与营养价值,可能在桃花的美容养颜与保健功效中发挥重要作用^[1-6]。郭彩珍等^[7]从桃花中提取多糖并对其抗氧化活性进行了研究,证实其对羟基自由基和超氧阴离子具有较强的清除能力。袁建梅等^[8]采用超声辅助的方法提取桃花多酚,并证实该提取物对羟自由基和 DPPH 自由基具有良好的清除能力。Kim 等^[6]从桃花中分离得到了栎精(quercitrin)、柚皮素(naringenin)以及三叶豆甙(trifolin)、阿福豆甙(afzelin)等多种黄酮类化合物,说明桃花中含有丰富的黄酮类化合物。但未见关于桃花总黄酮提取及提取条件对桃花提取物生物活性影响的相关报道。本文采用溶剂浸提方法,利用正交试验研究不同提取条件对桃花总酚和总黄酮提取的影响,并进一步用 Photochem 抗氧化剂和自由基分析仪对各提取物的抗氧化活性进行分析测定,以了解提取条件对其活性的影响,为进一步优化高活性桃花提取物的生产工艺提供参考。

2 材料与方法

2.1 材料

桃花,采自中国农业科学院郑州果树研究所国家果树种质郑州桃资源圃,取花瓣放于通风处自然阴干,经研磨粉碎后过 60 目筛备用。

2.2 仪器与设备

Specord 50 紫外/可见分光光度计(德国 Analytic Jena 公司); Photochem 抗氧化剂和自由基分析仪(德国 Analytic Jena 公司); Milli-Q Academic 超纯水机(美国 Millipore 公司); BS214D 电子分析天平(德国赛多利斯公司); DZKW 型电子恒温水浴锅(北京市光明医疗仪器); SHA-C 数显水浴恒温振荡器(江苏省金坛市荣华仪器制造有限公司)。

2.3 实验方法

2.3.1 桃花总酚和总黄酮的提取

采用乙醇水溶液浸提法提取桃花中的总酚和总

黄酮。桃花粉碎后准确称取 1.0 g,放于具塞三角瓶中,加入一定量的溶剂浸泡 5 min,然后置于水浴恒温振荡器中在一定温度条件下进行振荡提取,达到提取预定时间后抽滤,定容后测定提取液中的总酚和总黄酮含量,以提取液中的总酚和总黄酮含量高低来比较提取效果。每一试验重复三次,试验数据用 SPSS 软件进行统计分析。

2.3.2 桃花提取物中总酚含量的测定

桃花提取物稀释至合适浓度后采用 Folin-Ciocalteus 法^[9]测定,以绿原酸为标准品。

2.3.3 桃花提取物中总黄酮含量的测定

桃花提取物稀释至合适浓度后采用硝酸铝比色法^[10]测定,以芦丁为标准品。

2.3.4 桃花提取物抗氧化活性的测定

通过 Photochem 抗氧化剂和自由基分析仪用光化学发光法测定。桃花提取物用 ACW 工作液稀释至合适浓度后用水溶性抗氧化能力试剂盒(PCL-ACW)进行抗氧化能力测定,监测时间为 180 s。通过计算机软件分析计算抑制率。以不同浓度桃花提取物对自由基的清除率对样品浓度作图并进行线性回归,根据回归方程计算 IC₅₀。

3 结果与分析

3.1 浸提条件对桃花总酚与总黄酮提取的影响

3.1.1 乙醇浓度对桃花总酚和总黄酮提取的影响

料液比为 1:50,提取时间为 2 h,室温条件下测定了不同浓度乙醇水溶液对桃花总酚和总黄酮提取的影响,结果见图 1。

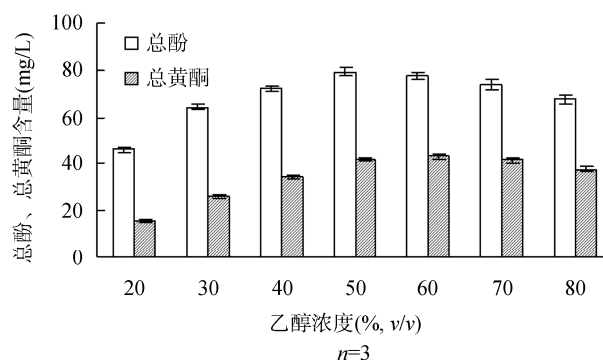


图 1 乙醇浓度对桃花总酚和总黄酮提取的影响

Fig. 1 Effect of ethanol concentration on the yields of total phenolics and flavanoids from peach blossoms

由图1可以看出,在低浓度条件下,随着乙醇浓度的提高,桃花总酚和总黄酮的提取率也不断增加,并分别在乙醇浓度为50%(v/v)和60%(v/v)时达到最高,再继续提高乙醇浓度时总酚和总黄酮得率均呈下降趋势。这说明桃花中的多酚和黄酮类化合物极性略有差异,提取桃花中总酚和总黄酮以50%~60%(v/v)浓度的乙醇水溶液为宜。

3.1.2 提取时间对桃花总酚和总黄酮提取的影响

以50%(v/v)乙醇水溶液为提取溶剂、料液比1:50,室温条件下测定了不同提取时间对桃花总酚和总黄酮提取的影响,结果见图2。

由图2可以看出,0~2 h内桃花中总酚和总黄酮的提取率逐渐升高,2 h左右时达到最高,再延长提取时间则略有下降。这是因为多酚和黄酮类化合物均属于易氧化物质,被溶剂浸提出来后失去了原有植物组织的保护作用,更易于被氧化破坏,造成得率降低。因此,在保证一定提取率的前提下,应尽量缩短提取时间,以避免桃花中多酚和黄酮类化合物的氧化损失。桃花中总酚和总黄酮的提取时间以2 h左右为宜。

3.1.3 提取温度对桃花总酚和总黄酮提取的影响

以50%(v/v)乙醇水溶液为提取溶剂、料液比1:50、提取时间2 h,分别在30、40、50、60、70、80 °C条件下进行试验,考察提取温度对桃花总酚和总黄酮提取的影响。结果见图3。

由图3可见,随着温度升高,桃花总酚和总黄酮提取率均呈现先升高后降低的趋势。一般来讲,温度的提高有利于提高溶质的溶解度,从而有利于桃花中总酚和总黄酮的提取,但同时也加速了多酚与黄酮类化合物的氧化,导致提取率下降。桃花中总酚和总黄酮的提取温度以50~60 °C为宜。

3.1.4 提取次数对桃花总酚和总黄酮提取的影响

以50%(v/v)乙醇水溶液为提取溶剂、料液比1:50、提取时间2 h,在室温条件下,分别萃取1次、2次、3次、4次,考察提取次数对桃花总酚和总黄酮提取的影响。结果见图4。

由图4可以看出,在试验条件下,桃花中总酚和总黄酮的一次提取率即可分别达到94.45%和93.07%,提取2~3次,即可基本完全提取出桃花中的多酚和黄酮类物质,提取次数过多对提取率的增加没有明显效果,而且还会造成生产成本的增加。

3.1.5 桃花总酚和总黄酮提取的正交试验

为了得到桃花中总酚和总黄酮提取最佳工艺条

件,根据单因素实验结果,选取乙醇浓度、提取时间、提取温度、提取次数的合适范围,每个因素选择三个水平进行正交试验。正交试验的因素及水平设置和测定结果如表1、表2所示,极差分析结果见表3、表4。

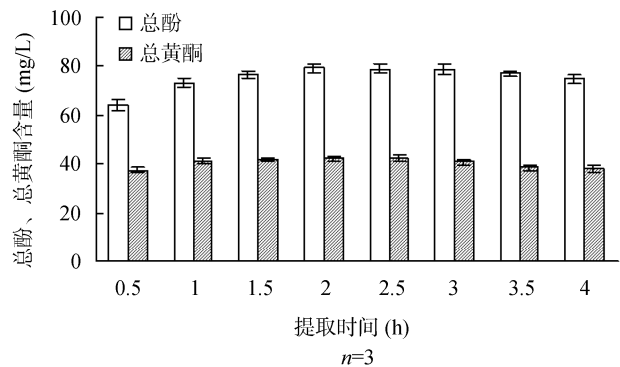


图2 提取时间对桃花总酚和总黄酮提取的影响

Fig. 2 Effect of extraction duration on the yields of total phenolics and flavanoids from peach blossoms

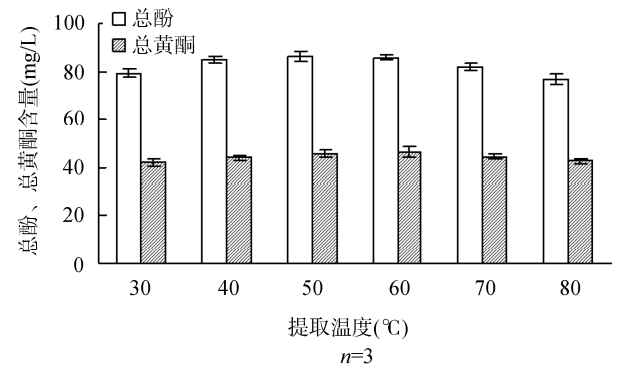


图3 提取温度对桃花总酚和总黄酮提取的影响

Fig. 3 Effect of extraction temperature on the yields of total phenolics and flavanoids from peach blossoms

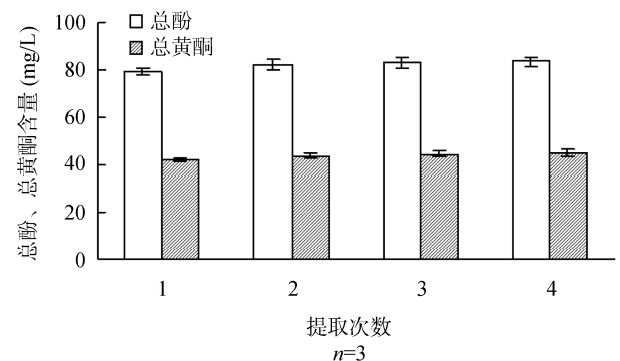


图4 提取次数对桃花总酚和总黄酮提取的影响

Fig. 4 Effect of extraction times on the yields of total phenolics and flavanoids from peach blossoms

表 1 桃花中总酚和总黄酮提取正交试验的因素及水平设置

Table 1 Factors and levels in orthogonal design for the extraction of total phenolics and flavanoids from peach blossoms

水平	因素			
	乙醇浓度 A(% , v/v)	时间 B (h)	温度 C ()	次数 D
1	50	1.5	40	1
2	60	2.0	50	2
3	70	2.5	60	3

表 2 桃花中总酚和总黄酮提取正交试验结果

Table 2 Orthogonal test results and their analysis for the extraction of total phenolics and flavanoids from peach blossoms

试验号	A	B	C	D	提取物总酚含量(mg/L)	提取物总黄酮含量(mg/L)
1	1	1	1	1	83.29	42.67
2	1	2	2	2	87.12	45.43
3	1	3	3	3	85.23	46.97
4	2	1	2	3	86.05	47.92
5	2	2	3	1	84.21	48.27
6	2	3	1	2	81.14	46.56
7	3	1	3	2	83.49	44.81
8	3	2	1	3	83.11	46.03
9	3	3	2	1	79.98	42.98

表 3 桃花中总酚提取正交试验结果极差分析

Table 3 Range analysis for the extraction of total phenolics from peach blossoms

因素	A	B	C	D
K_1	85.21	84.27	82.51	82.49
K_2	83.80	84.81	84.38	83.92
K_3	82.19	82.12	84.31	84.80
R	3.02	2.69	1.87	2.31

表 4 桃花中总黄酮提取正交试验结果极差分析

Table 4 Range analysis for the extraction of total flavanoids from peach blossoms

因素	A	B	C	D
K_1	45.02	45.13	45.09	44.64
K_2	47.58	45.58	45.44	45.60
K_3	44.61	45.50	46.68	46.97
R	2.98	1.44	1.60	2.26

由表 3、表 4 可以看出, 各因素对桃花总酚和总黄酮提取率的影响略有差异。对总酚提取率的影响程度从高到低依次为 $A>D>B>C$, 即乙醇浓度>提取次数>时间>温度, 其最佳提取工艺条件为 $A_1B_2C_2D_3$, 即乙醇浓度为 50%(v/v), 提取时间为 2 h, 温度为 50 °C, 提取次数为 3 次; 对总黄酮提取率的影响程度从高到低依次为 $A>D>C>B$, 即乙醇浓度>提取次数>温度>时间, 其最佳提取工艺条件为 $A_2B_2C_3D_3$, 即乙醇浓度为 60%(v/v), 提取时间为 2 h, 温度为 60 °C, 提取次数为 3 次。

3.2 桃花提取物的抗氧化活性

Photochem 抗氧化剂和自由基分析仪的测定原理是由光化学法生成自由基, 并通过测量反应所生成的光强度来测量自由基的瞬间含量(光强与自由基含量成正比)。由图 5 可见, 起始反应后, 空白光强快速提高, 说明产生了大量的自由基, 但加入桃花提取液后, 出现光信号的时间大幅后延, 光强大幅减弱,

说明桃花提取液清除了大量的自由基, 具有较好的抗氧化活性。

图 6 为正交试验设计中不同提取条件得到桃花提取物对自由基的清除效果(图中样品号对应于表 2 中的试验号)。由图 6 可见, 不同提取条件得到的桃花提取物对自由基都具有一定的清除作用, 但清除效果存在一定的差异。

对比表 2 和图 6 还发现, 不同工艺条件得到的桃花提取物对自由基的清除效果与其中的总酚含量并不能完全一一对应, 各样品对自由基的清除率由高到低依次为 2>4>5>3>7>8>6>1>9, 而总酚含量由高到低依次为 2>4>3>5>7>8>1>6>9, 总黄酮含量高低依次为 5>4>3>6>8>2>7>9>1, 说明萃取条件除影响多酚和黄酮提取率外, 也可对其抗氧化活性产生重要影响, 获得高提取率所需工艺条件与获得高抗氧化活性提取物所需工艺条件可能不同。

为了进一步考察桃花提取物的抗氧化活性, 以表 2 中试验 2 所得到的桃花提取物为材料, 研究了不同浓度桃花提取物对自由基的清除效果, 结果见图 7。

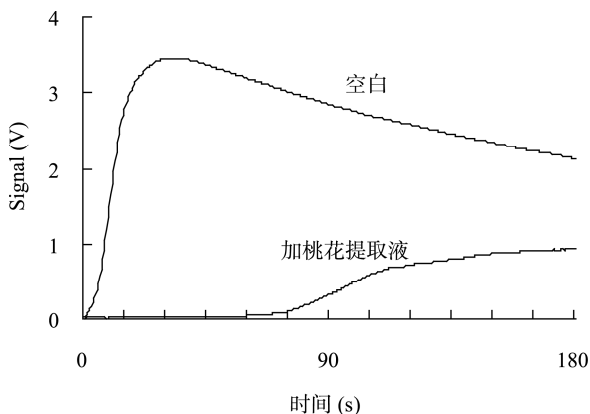


图 5 桃花提取物对自由基的清除作用

Fig. 5 Radical scavenging effect of peach blossom extract

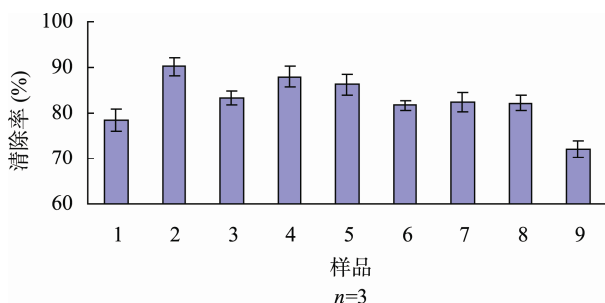


图 6 不同桃花提取物对自由基的清除效果

Fig. 6 Radical scavenging effect of different peach blossom extracts

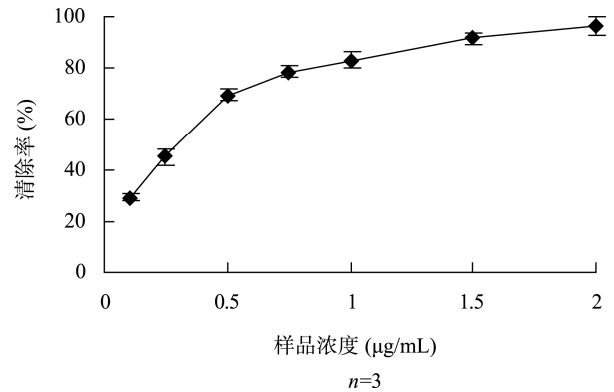


图 7 桃花提取物对自由基清除效果的量效关系

Fig. 7 Dose dependency of the radical scavenging effect of the peach blossom extract

由图 7 可以看出, 随着桃花提取物浓度的提高, 桃花提取物对自由基的清除效果也得到显著提高, 呈明显的量效关系。在试验浓度范围内(折合成桃花浓度为 0.1~2.0 mg/mL), 其对自由基的清除率最高可达到 96.31%, 试验条件下其 IC_{50} 为 0.26 $\mu\text{g/mL}$ (折合成桃花浓度)。

4 讨论

在天然产物提取中, 常以目标成分的提取率为考察指标对其工艺进行优化。但对于一些复杂成分的提取, 由于检测方法的局限, 常常造成一些微量重要活性成分被忽视, 造成最优化提取工艺得到提取物的活性并不一定是最高。许多研究表明, 提取工艺条件可对提取物的生物活性产生重要影响^[11-14], 而且在很多情况下获得高提取率所需条件与获得高活性提取物所需条件不尽一致^[13,14]。多酚和黄酮作为生物活性物质, 提取条件对其活性的影响不容忽视。本文采用正交试验方法研究发现, 提取溶剂、温度、时间和次数等条件不仅影响桃花总酚和总黄酮的提取率, 而且对桃花提取物的生物活性也存在重要影响。针对不同考察指标, 各因素的影响程度和效果也不相同, 正交试验分析结果也不相同, 最高总酚或总黄酮提取率的工艺条件并不一定能够满足最高活性的需要。因此, 要想得到高活性桃花提取物, 必须针对目标活性, 综合考虑总酚和总黄酮得率和活性, 才能得到最优化的提取工艺。

我国是世界上桃和油桃产量最多的国家, 桃产量和桃树栽培面积均居世界第一位。为了提高桃果质

量,在桃树栽培管理过程中常需大量疏花,但大部分未能得到有效利用,造成宝贵资源的极大浪费。本文在对桃花总酚和总黄酮提取工艺进行优化的基础上,进一步采用 Photochem 抗氧化剂和自由基分析仪对其抗氧化活性进行了分析测定,证实桃花具有优越的抗氧化性能,因此可以作为功能性食品原料用来防止人体因由自由基代谢失调造成的衰老及心脏病、动脉粥样硬化、过敏、癌症等疾病的发生^[15,16]。关于桃花抗氧化活性与其美白功效的关系,有待于进一步研究。

参考文献

- [1] 柳琪,滕薇,苏本玉,等. 桃花营养元素的分析与开发[J]. 氨基酸和生物资源, 1996, 18(4): 31-33.
Liu Q, Teng W, Su BY, *et al.* Analysis of nutrition elements in peach blossom and its potential application [J]. Amino Acids Biotic Resour, 1996, 18(4): 31-33.
- [2] Poonam V, Raunak, Kumar G, *et al.* Chemical constituents of the genus *Prunus* and their medicinal properties [J]. Current Med Chem, 2011, 18: 3758-3824.
- [3] Hendershott C H Jr, Walker D R. Identification of a growth inhibitor from extracts of dormant peach flower buds [J]. Science, 1959, 130: 798-800.
- [4] Ohta T, Miyazaki T, Mihashi S. Isolation of trifolin from the white flowers of *Prunus persica* [J]. Chem Pharm Bull, 1960, 8:647-648.
- [5] Takagi S, Yamaki M, Masuda K, *et al.* Studies on the purgative drugs. III. On the constituents of the flowers of *Prunus persica* Batsch [J]. Yakugaku Zasshi, 1977, 97(1): 109-111.
- [6] Kim YH, Yang HE, Park BK, *et al.* The extract of the flowers of *Prunus persica*, a new cosmetic ingredient, protects against solar ultraviolet-induced skin damage *in vivo* [J]. J Cosmet Sci, 2002, 53(1): 27-34.
- [7] 郭彩珍,邵芬娟,闫桂琴. 桃花多糖的提取及其抗氧化活性研究[J]. 中草药, 2009, 40(S1): 156-158.
Guo CZ, Shao FJ, Yan GQ. Extraction of polysaccharide from peach flower and its antioxidant activity [J]. Chin Tradit Herbal Drug, 2009, 40(S1):156-158.
- [8] 袁建梅,耿明江,闫瑞芳,等. 超声提取桃花多酚的工艺优化及抗氧化活性研究[J]. 食品科技, 2012, (12): 179-183.
Yuan JM, Geng MJ, Yan RF, *et al.* Optimization of ultrasonic-assisted extraction on polyphenols from peach blossom and antioxidant activity evaluation [J]. Food Sci Technol, 2012, (12): 179-183.
- [9] 李静,聂继云,李海飞,等. Folin-酚法测定水果及其制品中总多酚含量的条件[J]. 果树学报, 2008, 25(1):126-131.
Li J, Nie JY, Li HF, *et al.* On determination conditions for total polyphenols in fruits and its derived products by Folin-phenol methods [J]. J Fruit Sci, 2008, 25(1): 126-131.
- [10] 杜志云,涂增清,张焜,等. 超声波辅助提取槐花总黄酮及其对酪氨酸酶的抑制作用[J]. 林产化学与工业, 2011, 31(3): 40-44.
Du ZY, Tu ZQ, Zhang K, *et al.* Ultrasound-assisted extraction of flavanoids from *Sophora japonica* L and its inhibition on tyrosinase [J]. Chem Ind Forest Prod, 2011, 31(3):40-44.
- [11] 包怡红,李文星,齐君君,等. 提取条件对蓝靛果花色苷抗氧化活性的影响[J]. 食品科学, 2010, 31(22): 20-24.
Bao YH, Li WX, Qi JJ, *et al.* Effect of extraction conditions on antioxidant properties of anthocyanins from the fruits of *Lonicera edulis* [J]. Food Sci, 2010, 31(22): 20-24.
- [12] 翟梅枝,贾彩霞,景炳年,等. 不同提取条件对核桃叶中抗病毒物质活性的影响[J]. 林业科学, 2007, 43(7): 149-151.
Zhai MZ, Jia CX, Jing BN, *et al.* Influence of extract condition on activity of antiviral substances from walnut leaves [J]. Scientia Silvae Sinicae, 2007, 43(7): 149-151.
- [13] 刘育玲,姚开,贾冬英,等. 茶多糖酶法提取的优化条件及其对葡萄糖激酶活性的影响[J]. 食品科技, 2010, 35(2): 134-137.
Liu YL, Yao K, Jia DY, *et al.* Optimization condition for enzymatic extraction of tea polysaccharide and its effect on glucokinase activity [J]. Food Sci Technol, 2010, 35(2): 134-137.
- [14] 罗娅,王小蓉,张勇,等. 不同提取条件对草莓果实抗氧化物质和抗氧化活性的影响[J]. 食品科学, 2011, 32(14): 108-112.
Luo Y, Wang XR, Zhang Y, *et al.* Effect of extraction conditions on antioxidant components and antioxidant activity of strawberry fruit extracts [J]. Food Sci, 2011, 32(14): 108-112.
- [15] Lee J, Koo N, Min DB. Reactive oxygen species, aging, and antioxidative nutraceuticals [J]. Compr Rev Food Sci Food Saf, 2004, 3: 21-33.
- [16] Rafnsson SB, Dilis V, Trichopoulou A. Antioxidant nutrients and age-related cognitive decline: a systematic review of population-based cohort studies [J]. Eur J Nutr, 2013, 52(6): 1553-1567.

(责任编辑:张宏梁)

作者简介



刘杰超, 硕士, 助理研究员, 主要研究方向为果品营养与保鲜加工。
E-mail: jchzz@sina.com



焦中高, 博士, 副研究员, 主要研究方向为果品营养与保鲜加工。
E-mail: jiaozhonggao@caas.cn