

文章编号:1001-6880(2015)4-0655-06

# 沙棘枝叶与浆果黄酮抗氧化活性比较

焦 扬<sup>1</sup>,李彩霞<sup>1</sup>,高海宁<sup>1</sup>,冯九海<sup>2\*</sup><sup>1</sup>河西学院农业与生物技术学院; <sup>2</sup>甘肃省应用真菌工程实验室,张掖 734000

**摘要:**以大果沙棘浆果黄酮(ZYCFJ)为参照,考察了张掖大果沙棘黄酮(ZYCF)和新疆野生沙棘枝叶黄酮(XJCF)的抗氧化活性。结果表明:沙棘浆果黄酮和沙棘枝叶黄酮对不同自由基的清除效果均有差异。在黄酮浓度为50 μg/mL时,ZYCFJ、ZYCF和XJCF对ABTS<sup>+</sup>清除率分别为60.8%、42.6%、45.4%;对DPPH<sup>-</sup>的清除率分别为95.7%、80.6%、88.6%,在黄酮浓度高于40 μg/mL时,ZYCFJ对DPPH<sup>-</sup>和ABTS<sup>+</sup>的清除效果比ZYCF和XJCF的好。在黄酮浓度为500 μg/mL时,ZYCFJ、ZYCF和XJCF对·OH的清除率分别为92.7%、88.9%、98.6%;对O<sub>2</sub><sup>-</sup>的清除率分别为76.5%、70.6%、82.4%;对亚硝酸盐的清除率分别为98.7%、76.8%、83.7%。就对亚硝酸盐的抑制和Fe<sup>3+</sup>的还原来说,ZYCFJ明显优于ZYCF和XJCF;对超氧阴离子和羟自由基的清除效果ZYCFJ、ZYCF和XJCF的相当。

**关键词:**沙棘枝叶;黄酮;张掖大果沙棘;新疆野生沙棘;抗氧化性

中图分类号:R285

文献标识码:A

DOI:10.16333/j.1001-6880.2015.04.020

## Antioxidant Activity of Flavonoids from Branches-Leaves and Berry of *Hippophae rhamnoides* Linn

JIAO Yang<sup>1</sup>, LI Cai-xia<sup>1</sup>, GAO Hai-ning<sup>1</sup>, FENG Jiu-hai<sup>2\*</sup><sup>1</sup> College of Agriculture and Biotechnology, Hexi University; <sup>2</sup> Gansu Engineering Laboratory of Applied Mycology, Gansu Zhangye 734000, China

**Abstract:** Using flavonoids from *Hippophae rhamnoides* L. berry (ZYCFJ) as reference, the antioxidant activities of flavonoids in branches and leaves of *Hippophae rhamnoides* L. from Zhangye (ZYCF) and Xinjiang (XJCF) were evaluated by measuring their scavenging activity against DPPH, ABTS, hydroxyl, superoxide anion radicals and reducing Fe<sup>3+</sup> and inhibiting nitroso. The results showed that at 50 μg/mL concentration level, the clearance rates of ZYCFJ, ZYCF and XJCF on ABTS<sup>+</sup> were 60.8%, 42.6%, 45.4%, and on DPPH<sup>-</sup> were 95.7%, 80.6%, 88.6%. When flavonoids concentrations higher than 40 μg/mL, the scavenging activity against DPPH<sup>-</sup> and ABTS<sup>+</sup> of ZYCFJ was better than XJCF and ZYCF. At 500 μg/mL concentration level, the scavenging rates of ZYCFJ, ZYCF and XJCF on ·OH were 92.7%, 88.9%, 98.6%, and on O<sub>2</sub><sup>-</sup> were 76.5%, 70.6%, 82.4%, and inhibition ratio of ZYCFJ, ZYCF and XJCF on nitrite were 98.7%, 76.8%, 83.7%. In term of the inhibition rates of nitrite and the reduction of Fe<sup>3+</sup>, ZYCFJ was better than that of ZYCF and XJCF. The scavenging effect of ZYCFJ, ZYCF and XJCF on superoxide anion and hydroxyl free radical were equivalent.

**Key words:** *Hippophae rhamnoides* L. branch; flavonoids; *Hippophae rhamnoides* L. from Zhangye; *Hippophae rhamnoides* L. from Xinjiang; antioxidant activity

沙棘(*Hippophae rhamnoides* L.)又名醋柳,酸刺,为胡颓子科(Elaeanaeae)沙棘属(*Hippophae*)落叶灌木或小乔木,能防风固沙、保持水分和改良土壤,具有优良的生态效益<sup>[1]</sup>。1977年沙棘首次被正

式收载于《中国药典》,之后又被确定为药食两用品种,具有活血散瘀、止咳祛痰、消食化滞的功效<sup>[2]</sup>。沙棘浆果具有明显的抗氧化作用,可作为一种良好的自由基清除剂<sup>[3]</sup>,清除体内过多的活性氧自由基对预防疾病有重要的作用。

活性氧自由基在生物代谢中不断产生,并对自身组织产生毒害作用,活性极高的自由基对机体本身有严重的危害,由于某种原因使自由基的生成增

收稿日期:2014-09-30 接受日期:2014-11-19

基金项目:国家中医药管理局2012年中医药行业科研专项(201207002);甘肃省高校河西走廊特色资源利用省级重点实验室科研资助项目(XZ12-2)

\*通讯作者 Tel:86-013830623957; E-mail:466820867@qq.com

加或抗氧化能力下降时,活性氧自由基的生成与清除失去平衡,自由基将给机体造成病理性损伤<sup>[4]</sup>。

目前,对沙棘浆果黄酮的研究较多,而对沙棘枝叶黄酮抗氧化活性方面的研究鲜见报道。本工作以沙棘浆果黄酮为参照,比较了产于张掖的大果沙棘枝叶和产于新疆的野生沙棘枝叶黄酮清除 DPPH 自由基、ABTS 自由基、超氧阴离子自由基、羟基自由基、亚硝基自由基及对 Fe<sup>2+</sup> 的还原能力,以期为沙棘枝叶活性成分的开发利用提供理论依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料与仪器

沙棘(*Hippophae rhamnoides* L.)枝叶,由张掖润星生物科技有限公司提供,大果沙棘枝叶和果实采自甘肃张掖,野生沙棘枝叶采自新疆,经阴干、粉碎、过 60 目筛保存备用。

JA5003 电子天平(上海精科公司);V-1200 可见光分光光度计(上海美谱达仪器有限公司)。

芦丁、ABTS、DPPH 均购自 Sigma 公司;过硫酸钾、乙醇、亚硝酸钠、硝酸铝、氢氧化钠、硫酸亚铁、水杨酸、对氨基苯磺酸、盐酸蔡乙二胺、邻苯三酚等药品均为国产分析纯。

### 1.2 实验方法

#### 1.2.1 沙棘黄酮含量的测定

准确称取芦丁 0.02 g 于 100 mL 容量瓶中,加 70% 乙醇溶解并定容,得芦丁标准液。分别准确吸取 0.00、0.50、1.00、1.50、2.00、2.50、3.00 mL 芦丁标准溶液于 10 mL 容量瓶中,加入 0.3 mL 5% 亚硝酸钠溶液混匀,静置 6 min,然后加入 0.3 mL 10% 硝酸铝溶液混匀,静置 6 min,再加 4.0 mL 4% 氢氧化钠溶液,最后用 30% 的乙醇定容至刻度,摇匀,静置 15 min。以不加芦丁为空白对照。在 510 nm 下测定吸光值。以芦丁含量(mg)为纵坐标,吸光度为横坐标绘制标准曲线,得回归方程  $Y = 1.1905X - 0.0118, R^2 = 0.9990$ 。以样品代替芦丁其余步骤一样,以不加芦丁为空白对照。在 510 nm 下测定吸光值,根据回归方程计算黄酮含量。

#### 1.2.2 沙棘黄酮的提取

称取 125 g 沙棘枝叶粉或沙棘浆果原浆,按料液比 1:30 加入 70% 的乙醇,采用回流法提取粗黄酮,并将乙醇蒸发浓缩。将浓缩液在 3000 rpm 离心 15 min,取上清液即沙棘粗黄酮提取液。将沙棘枝叶(浆果)粗黄酮采用 X-5 大孔树脂纯化分离,吸附

条件为:pH5,上样液粗黄酮浓度 4.55 mg/mL,上样液用量 3.24 BV;洗脱条件为:淋洗水量为 1 BV,洗脱剂为 70% 乙醇,用量为 2 BV。将洗脱液浓缩后,稀释使沙棘枝叶(浆果)纯化后黄酮含量均为 1.54 mg/mL。

### 1.3 抗氧化活性测定

#### 1.3.1 沙棘枝叶(浆果)黄酮对 ABTS 自由基的清除作用

参考文献<sup>[5]</sup>,精密称取 ABTS 40.0 mg,加 10 mL 蒸馏水,8.0 mL 1.0 mg/mL 的过硫酸钾,在室温避光条件下静置反应 16 h,转移至 250 mL 容量瓶,加 32 mL 蒸馏水,用无水乙醇定容至刻度,放置 10 h 备用。

在 5 支试管中分别加入 0.5 mL 质量浓度为 10、20、30、40、50 μg/mL 的沙棘枝叶(浆果)黄酮,1.5 mL 80% 的乙醇补至 2.0 mL,再加入 2.0 mL ABTS 反应液混合,静置 6 min,测 734 nm 吸光值记为 A<sub>i</sub>;以 2.0 mL 80% 乙醇代替样液作空白对照在 734 nm 波长下吸光值记为 A<sub>0</sub>。ABTS 自由基清除率按以下公式计算。

$$\text{清除率}(\%) = \frac{A_0 - A_i}{A_0}$$

式中:A<sub>0</sub> 为对照的吸光值;A<sub>i</sub> 为样品的吸光值。

#### 1.3.2 沙棘枝叶(浆果)黄酮对 DPPH 自由基的清除作用

参照文献<sup>[6]</sup>稍作修改,在试管中分别加入 2.0 mL 质量浓度为 10、20、30、40、50 μg/mL 的沙棘枝叶(浆果)黄酮,加入 2.0 mL 0.5 mmol/L DPPH 乙醇溶液,摇匀,放置 30 min,以 2.0 mL 无水乙醇代替样品和 2.0 mL 70% 乙醇混合作空白调零,测定 517 nm 波长处的吸光值 A<sub>i</sub>。空白对照组以 2.0 mL 无水乙醇代替样品,测定 517 nm 波长处的吸光值 A<sub>0</sub>,同时测定 2.0 mL 待测液与 2.0 mL 无水乙醇在 517 nm 波长处的吸光值 A<sub>j</sub>。DPPH 自由基清除率按以下公式计算。

$$\text{DPPH 的清除率}(\%) = \frac{A_0 - (A_i - A_j)}{A_0}$$

式中:A<sub>0</sub> 为不加黄酮的吸光值;A<sub>i</sub> 为测定液的吸光值;A<sub>j</sub> 为黄酮的本底吸光值。

#### 1.3.3 沙棘枝叶(浆果)黄酮对亚硝酸盐(NO<sup>2-</sup>)的清除作用

参阅文献<sup>[7]</sup>,将沙棘枝叶(浆果)黄酮提取液配制成 300、350、400、450、500 μg/mL 的溶液,分别取

2.0 mL,各加入3.0 mL 5 μg/mL NaNO<sub>2</sub> 标准溶液,于室温下作用30 min,然后立即加入2.0 mL 0.4% 对氨基苯磺酸溶液,摇匀,静置3~5 min,加入1.0 mL 0.2% 盐酸萘乙二胺溶液,摇匀,定容至25 mL,静置15 min,以蒸馏水空白调零,于540 nm下测定吸光值A<sub>i</sub>,空白对照组以2.0 mL 70% 乙醇代替样品在540 nm下测定吸光值A<sub>0</sub>,同时2.0 mL待测液与3.0 mL 70% 乙醇代替NaNO<sub>2</sub> 标准溶液做同样操作,测517 nm波长处的吸光值A<sub>j</sub>。亚硝基自由基的清除率按以下公式计算:

$$\text{清除率}(\%) = \frac{A_0 - (A_i - A_j)}{A_0} \times 100$$

式中:A<sub>0</sub>为未加黄酮溶液的测定值;A<sub>i</sub>为加黄酮溶液的测定值;A<sub>j</sub>为黄酮的本底吸收。

### 1.3.4 沙棘枝叶(浆果)黄酮对羟自由基(·OH)的清除作用

参阅文献<sup>[8]</sup>并稍作修改,将黄酮配制成300、350、400、450、500 μg/mL的溶液,在10 mL的试管中依次加2.0 mL 6 mmol/L 硫酸亚铁溶液,2.0 mL 6 mmol/L 双氧水溶液和2.0 mL 不同浓度的黄酮,混合均匀后,加2.0 mL 6 mmol/L 水杨酸溶液混匀。37 °C恒温反应15 min后于510 nm处测定吸光值为A<sub>i</sub>。以不加黄酮的对照吸光值为A<sub>0</sub>,以不加H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>本底吸光值为A<sub>j</sub>。对羟基自由基的清除效率根据下式计算。

$$\text{清除率}(\%) = \frac{A_0 - (A_i - A_j)}{A_0} \times 100$$

式中:A<sub>0</sub>为未加黄酮溶液的测定值;A<sub>i</sub>为加黄酮溶液的测定值;A<sub>j</sub>为黄酮的本底吸收。

### 1.3.5 沙棘枝叶(浆果)黄酮对超氧阴离子的清除作用

采用邻苯三酚自氧化法<sup>[9]</sup>,测定沙棘枝叶(浆果)黄酮对超氧阴离子的清除作用。取4.5 mL pH8.2的50 mmol/L Tris-HCl缓冲溶液,与4.2 mL 蒸馏水,混匀后在25 °C水浴中保温20 min,取出后立即加入在25 °C预热过的3 mmol/L 的邻苯三酚0.30 mL(以10 mmol/L HCl配制,空白管用10 mmol/L HCl代替邻苯三酚溶液),迅速摇匀后倒入比色杯,325 nm下每隔30 s测定吸光度,计算线形范围内每分钟吸光度的增加。在加入邻苯三酚前,先加入1.0 mL 浓度为300、350、400、450、500 μg/mL 黄酮,计算抑制率。

$$\text{抑制率}(\%) = \frac{\Delta A_0 - \Delta A_i}{\Delta A_0} \times 100$$

式中:ΔA<sub>0</sub>为邻苯三酚的自氧化的速率;ΔA<sub>i</sub>为加入黄酮后邻苯三酚自氧化的速率。

### 1.3.6 沙棘枝叶(浆果)黄酮的还原力测定

采用普鲁士兰法<sup>[10]</sup>评价沙棘枝叶(浆果)黄酮对Fe<sup>3+</sup>的还原能力。将黄酮稀释成300、350、400、450、500 μg/mL的溶液,分别吸取1.0 mL置于10 mL试管中,加入0.2 mol/L pH6.6的磷酸缓冲液和1%的铁氰化钾溶液各2.5 mL,混合均匀,50 °C恒温水浴20 min后立即冷却,然后加入2.5 mL 10%的三氯乙酸混匀,加入2.5 mL 蒸馏水及0.5 mL 0.1% 三氯化铁,摇匀,在700 nm处测定吸光度,吸光度越大,还原力越大。

## 1.4 数据处理

采用Excel 2003统计软件进行数据处理,用Origin8.0软件作图。

## 2 结果与分析

### 2.1 沙棘枝叶与浆果黄酮对ABTS<sup>+</sup>的清除效果

ABTS是一种水溶性的自由基引发剂,它经活性氧化后成蓝绿色的阳离子自由基ABTS<sup>+</sup>,当待测物质含有抗氧化物时,该物质能够提供供氢体,使之吸光度下降,其下降程度与抗氧化物质的抗氧化活性有关。比较了沙棘枝叶与浆果黄酮浓度对清除ABTS<sup>+</sup>的影响,结果见图1。

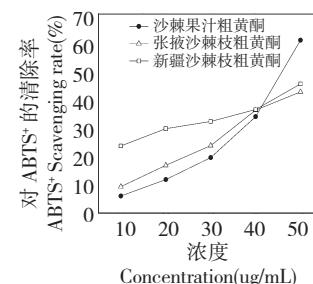


图1 ZYCFJ、ZYCF 和 XJCF 对 ABTS<sup>+</sup> 的清除作用

Fig. 1 Scavenging effect of ZYCFJ, ZYCF and XJCF on ABTS<sup>+</sup>

由图1可见,ZYCFJ、ZYCF 和 XJCF 清除ABTS<sup>+</sup>的能力随浓度增大而增大,在浓度为50 μg/mL时,三者对ABTS<sup>+</sup>清除率分别为60.8%、42.6%、45.4%。在浓度为10~40 μg/mL范围内,两种沙棘枝叶黄酮对ABTS<sup>+</sup>清除能力均优于沙棘浆果黄酮;在浓度为40~50 μg/mL时,ZYCFJ对ABTS<sup>+</sup>的清除能力骤增,高于了两种沙棘枝叶黄酮。

由此可见, XJCF 对 ABTS<sup>+</sup> 清除效果好于 ZYCF, 而且 ZYCFJ、ZYCF 和 XJCF 清除 ABTS<sup>+</sup> 的能力随浓度增大而增大。

## 2.2 沙棘枝叶与浆果黄酮对 DPPH<sup>·</sup> 的清除效果

DPPH 是一种稳定的含氮自由基, 当待测物质含有抗氧化物时, 抗氧化物提供一个电子与其配对结合, 使 DPPH 的特征紫色消失, 根据褪色程度的大小来评价抗氧化剂的抗氧化性。比较了沙棘枝叶与浆果黄酮浓度对清除 DPPH<sup>·</sup> 的影响, 结果如图 2。

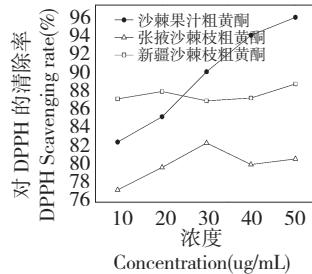


图 2 ZYCFJ、ZYCF 和 XJCF 对 DPPH<sup>·</sup> 的清除作用

Fig. 2 Scavenging effect of ZYCFJ, ZYCF and XJCF on DPPH<sup>·</sup>

由图 2 可见, 黄酮浓度在 10 ~ 30  $\mu\text{g}/\text{mL}$  范围内, ZYCF 清除 DPPH<sup>·</sup> 的能力随着浓度的增大而增大, 但在 30 ~ 50  $\mu\text{g}/\text{mL}$  范围内清除率有所下降; 而 XJCF 清除 DPPH<sup>·</sup> 的能力随浓度的增加变化不大; 在实验浓度范围内, ZYCFJ 清除 DPPH<sup>·</sup> 的能力随着浓度的增大而增大。沙棘枝叶与浆果黄酮浓度为 20  $\mu\text{g}/\text{mL}$  时 ZYCFJ、ZYCF 和 XJCF 对 DPPH<sup>·</sup> 的清除率分别为 85.1%、79.7%、87.8%, 而浓度为 50  $\mu\text{g}/\text{mL}$  时三者对 DPPH<sup>·</sup> 的清除率分别为 95.7%、80.6%、88.6%。虽浓度增加了 2.5 倍但对 DPPH<sup>·</sup> 清除率的增加幅度很小。由此可见, ZYCF 和 XJCF 清除 DPPH<sup>·</sup> 的效果较 ZYCFJ 略差, 但沙棘枝叶黄酮仍有较好的清除 DPPH<sup>·</sup> 的能力。

## 2.3 沙棘枝叶与浆果黄酮对羟自由基的清除作用

$\cdot\text{OH}$  是最活泼的氧自由基, 可与活细胞中的

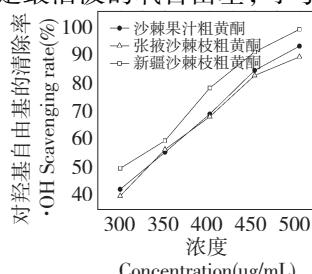


图 3 ZYCFJ、ZYCF 和 XJCF 对羟基自由基的清除作用

Fig. 3 Scavenging effect of ZYCFJ, ZYCF and XJCF on  $\cdot\text{OH}$

任何分子发生反应对机体造成损伤。利用  $\text{H}_2\text{O}_2$  与  $\text{FeSO}_4$  混合产生  $\cdot\text{OH}$ , 在体系内加入水杨酸能有效地捕捉  $\cdot\text{OH}$  并产生有色物质, 该物质在波长 510 nm 处有最大吸收。比较了浓度对沙棘枝叶黄酮清除羟基自由基的影响, 结果如图 3。

从图 3 可见, 随着三者黄酮浓度的增大, 对  $\cdot\text{OH}$  清除效果也逐渐增大, 从 300 ~ 500  $\mu\text{g}/\text{mL}$  之间, 对  $\cdot\text{OH}$  清除率几乎增加了 50% 左右, 在浓度为 500  $\mu\text{g}/\text{mL}$  时, ZYCFJ、ZYCF 和 XJCF 对  $\cdot\text{OH}$  的清除率分别为 92.7%、88.9%、98.6%。由此可得, XJCF 对  $\cdot\text{OH}$  清除效果最好, ZYCF 和 ZYCFJ 对  $\cdot\text{OH}$  清除效果次之。

## 2.4 沙棘枝叶黄酮对超氧阴离子的清除作用

超氧阴离子自由基是基态氧接受一个电子后形成的第一个自由基, 它可经过一系列反应生成其它自由基。由此比较了沙棘枝叶与浆果黄酮浓度对清除超氧阴离子自由基的影响, 结果见图 4。

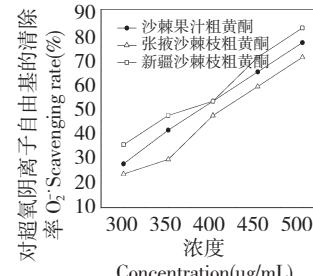


图 4 ZYCFJ、ZYCF 和 XJCF 对超氧阴离子的清除作用

Fig. 4 Scavenging effect of ZYCFJ, ZYCF and XJCF on superoxide anion radical

从图 4 可见, 三者黄酮随浓度的增加对超氧阴离子的清除效果为逐渐上升趋势。浓度为 500  $\mu\text{g}/\text{mL}$  时, ZYCFJ、ZYCF 和 XJCF 对超氧阴离子的清除率分别为 76.5%、70.6%、82.4%。由此可见, 沙棘枝叶和浆果黄酮对超氧阴离子的清除能力差异不是很大。

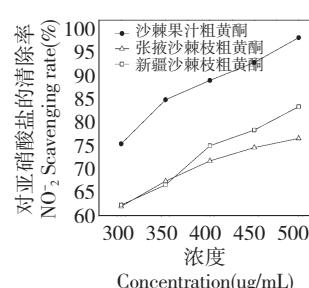


图 5 ZYCFJ、ZYCF 和 XJCF 对亚硝酸盐的抑制作用

Fig. 5 Scavenging effect of ZYCFJ, ZYCF and XJCF on  $\text{NO}_2^{\cdot}$

## 2.5 沙棘枝叶与浆果黄酮对亚硝酸盐的清除效果

亚硝酸盐是亚硝胺类物质的前体物质。N-亚硝基化合物具有强烈致癌作用,能引起人和动物肝脏等多种器官的恶性肿瘤<sup>[11]</sup>。清除体内亚硝酸盐和阻断亚硝胺的合成是防止癌症的有效途径<sup>[12]</sup>。由此比较了沙棘枝叶与浆果黄酮浓度对亚硝酸盐清除的影响,结果如图5。

由图5可知,随沙棘枝叶与浆果黄酮浓度的增大,ZYCFJ、ZYCF 和 XJCF 对亚硝酸盐的抑制作用明显增加。在 300 ~ 500  $\mu\text{g}/\text{mL}$  范围内, ZYCF 和 XJCF 对亚硝酸盐的抑制作用相当,而 ZYCFJ 对亚硝酸盐的抑制作用明显高于前两者。在浓度为 500  $\mu\text{g}/\text{mL}$  时对亚硝酸盐的抑制率分别为 98.7%、76.8%、83.7%。由此可见,在不同浓度条件下, ZYCFJ 对亚硝酸盐的抑制效果要明显高于 ZYCF 和 XJCF。

## 2.6 沙棘枝叶与浆果黄酮的还原力

$\text{Fe}^{3+}$  可被样品中抗氧化物质还原为二价铁形式,吸光值越大,表明由抗氧化物质还原的  $\text{Fe}^{2+}$  越多,即抗氧化物质的抗氧化活性越强。由此比较了沙棘枝叶与浆果黄酮浓度对  $\text{Fe}^{3+}$  的还原能力,结果如图6所示。

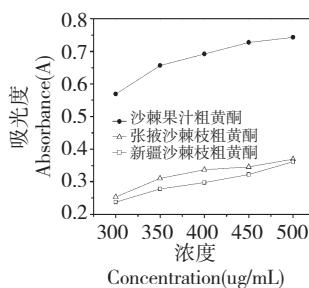


图 6 ZYCFJ、ZYCF 和 XJCF 对  $\text{Fe}^{3+}$  的还原力

Fig. 6 Reducing power of ZYCFJ, ZYCF and XJCF on  $\text{Fe}^{3+}$

从图6可以看出,沙棘枝叶与浆果黄酮对  $\text{Fe}^{3+}$  的还原力随浓度的增大而增大,但随浓度增加的幅度并不明显。ZYCFJ 对  $\text{Fe}^{3+}$  的还原力明显较 ZYCF 和 XJCF 的强,且 ZYCF 的与 XJCF 的还原力相当。由此可见,两种沙棘枝叶黄酮的还原力明显低于沙棘浆果,但来源于沙棘枝叶的黄酮仍有一定的对  $\text{Fe}^{3+}$  的还原能力。

## 3 分析与讨论

抗氧化剂在不同体系或介质中显示出不同的抗氧化或促氧化作用,由此对一种抗氧化剂的评估与

实验体系紧密相关,单一的体系较难全面体现其生物学意义<sup>[13]</sup>。对沙棘枝叶和浆果黄酮采用不同的抗氧化体系进行评估时,其差异较明显。总体来说,在较低浓度时,沙棘枝叶黄酮对 DPPH<sup>-</sup> 和 ABTS<sup>+</sup> 有较好的清除效果,且相同浓度时对 DPPH<sup>-</sup> 的清除效果要好于对 ABTS<sup>+</sup> 的效果,当浓度超过 40  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ,沙棘浆果黄酮对 DPPH<sup>-</sup> 和 ABTS<sup>+</sup> 的清除率大于沙棘枝叶黄酮的清除率。乔建卫等研究表明,黄芩黄酮清除 DPPH<sup>-</sup> 的能力与样品浓度呈现良好的浓度效应依赖关系,在浓度 600  $\mu\text{g}/\text{mL}$  时清除率可达 100%<sup>[14]</sup>。而 ZYCF 和 XJCF 对 DPPH<sup>-</sup> 的清除率,在浓度为 50  $\mu\text{g}/\text{mL}$  时为 80.6% 和 88.6%。可见,沙棘枝叶黄酮对 DPPH<sup>-</sup> 的清除效果要远优于黄芩黄酮。郭青枝等人研究表明,沙棘叶的 50% 乙醇提取物对  $\cdot\text{OH}$ 、 $\text{O}_2^-$  均具有较强的清除能力,且自由基的清除率与其用量成正相关<sup>[15]</sup>。本实验中,ZYCFJ 与 ZYCF 和 XJCF 对  $\cdot\text{OH}$ 、 $\text{O}_2^-$  的清除率差别不太明显。朱玉昌等的研究认为,甜橙中总多酚对抗氧化的贡献率高于单一八种酚类物质对抗氧化贡献率的总和<sup>[16]</sup>。贾长虹等研究表明,当浓度为 80  $\mu\text{g}/\text{mL}$  时,Vc 和月季叶黄酮对亚硝酸盐的抑制率为 80.8% 和 46.3%<sup>[17]</sup>。而 ZYCF 和 XJCF 对亚硝酸盐的抑制率在 500  $\mu\text{g}/\text{mL}$  时为 76.8% 和 83.7%,较 Vc 对亚硝酸盐的抑制效果差。因此,沙棘枝叶和浆果黄酮也可能由于纯化后黄酮类物质的组成较单一,而使其对不同自由基的清除率差异明显。由此,ZYCFJ 与 ZYCF 和 XJCF 对不同自由基的清除差异,可能与黄酮的组成及结构有关,大孔吸附树脂 X-5 对沙棘枝叶和浆果黄酮的纯化可能使其组成成分发生变化,来源于沙棘枝叶与浆果黄酮的组成可能有差异。就对实验中自由基的清除效果而言,XJCF 优于 ZYCF,说明沙棘生长的地域及品种也是导致沙棘枝叶黄酮对自由基清除作用不同的原因之一。

## 4 结论

沙棘枝叶和浆果黄酮对几种自由基均有不同程度的清除效果。对亚硝酸盐的抑制和  $\text{Fe}^{3+}$  的还原来说 ZYCFJ 明显优于 ZYCF 和 XJCF;在黄酮浓度高于 40  $\mu\text{g}/\text{mL}$  时,ZYCFJ 对 DPPH<sup>-</sup> 和 ABTS<sup>+</sup> 的清除效果比 ZYCF 和 XJCF 要好;对超氧阴离子和羟自由基的清除效果 ZYCFJ、ZYCF 和 XJCF 相当。沙棘枝叶与浆果黄酮的组成可能有差异,沙棘生长的地域及品种也是导致沙棘枝叶黄酮对自由基清除效果不

同的原因之一。有关沙棘枝叶黄酮的组成和结构还有待于进一步研究。

## 参考文献

- 1 Peng Y(彭游), Tang M(汤明), Hu XM(胡小铭), et al. Advances in extraction of flavonoids in Seabuckthorn. *Nat Prod Res Dev*(天然产物研究与开发), 2012, 24: 562-567.
- 2 Chinese Pharmacopoeia Commission(国家药典委员会). *Pharmacopoeia of the People's Republic of China*(中华人民共和国药典). Beijing: China Medical Science Press, 2005. 127-128.
- 3 Yan XY(闫秀英), Ren JM(任建梅), Han LS(韩丽莎), et al. The laboratory study of the antioxidation of *Hippophae Rhamnoides* Juice. *J Baotou Med Coll*(包头医学院学报), 2002, 18: 179-180.
- 4 Zhang JM(张经明). Free radicals, lipid peroxidation and disease. *J Qinghai med*(青海医药杂志), 1991, 5: 55-58.
- 5 Re B, Pellegrini N, Proteggente A, et al. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radi Biol Med*, 1999, 26: 1231-1237.
- 6 Liu XL, Cui C, Zhao MM, et al. Identification of phenolics in the fruit of emblica (*Phyllanthus emblica* L.) and their antioxidant activities. *Food Chem*, 2008, 109: 905-915.
- 7 Chang LX(常丽新), Zhang LF(张丽芳), Du MY(杜密英), et al. Study on stability and clearing nitrite function of rose flowers pigment. *Food Sci*(食品科学), 2005, 26: 99-102.
- 8 Gao YN(高亚妮), Tian CR(田呈瑞), Kang YX(康宇新), et al. Optimization of ultrasonic-assisted extraction and antioxidant activity of total flavonoids from *Zanthoxylum bungeanum* Maxim Fruit Peel. *Food Sci*(食品科学), 2012, 33(18): 77-82.
- 9 Cheng C(程超), Li W(李伟), Wang XP(汪兴平). Study on the structure analysis and antioxidation effect *in vitro* of water soluble polysaccharide of *Pleurotus ostreatus*. *Food Sci*(食品科学), 2005, 26(8): 55-57.
- 10 Senthil KR, Rajkapoor B, Perumal P. Antioxidant activities of *Indigofera cassiodoides* Rottl. Ex DC. using various *in vitro* assay models. *Asian Pacific Trop Boimed*, 2012, 2: 256-261.
- 11 Yu H(余华), Tang XQ(汤修琴), Cao LR(曹丽容). Studies on cleaning nitrite and blocking synthesis of nitrosamine by natural plant composition under simulated human gastric juice *in vitro*. *Sichuan Food Ferm*(四川食品与发酵), 2005, 41(2): 7-10.
- 12 Xu G(许钢), Zhang H(张虹), Lu J(鹿洁). Study on inhibitory effects of bamboo leaves extract on nitrosation reaction. *J Zhengzhou Coll Eng*(郑州工程学院学报), 2001, 22: 69-72.
- 13 Gu HF(顾海峰), Li CM(李春美), Xu YJ(徐玉娟), et al. Study on preparation and antioxidant activity of persimmon tannin. *J Agric Eng*(农业工程学报), 2007, 23: 241-245.
- 14 Qiao JW(乔建卫), Pei GQ(裴广庆), Wen L(闻莉), et al. Study on antioxidant stability of flavonoids from *Scutellaria*. *Sci Tech Food Ind*(食品工业科技), 2014, 35(7): 66-68.
- 15 Guo QZ(郭青枝), Zhao EL(赵二劳), Bai JH(白建华). Study on the antioxidant properties of extracts of seabuckthorn leaves. *Chem Biol Eng*(化学与生物工程), 2008, 25(3): 58-59.
- 16 Zhu YC(朱玉昌), Zhou DZ(周大寨), Jiao BN(焦必宁), et al. Study on relationship between various active constituents and total antioxidant activity in orange juices. *Food Sci*(食品科学), 2008, 29(5): 82-86.
- 17 Jia CH(贾长虹), Chang XL(常丽新), Li Y(李月), et al. Scavenging effects of rose leaves flavonoids on free radical and nitrite. *Sci Tech Food Ind*(食品工业科技), 2010, 31: 104-106.

(上接第 629 页)

- 6 Ma MD(马明东), Pu SR(蒲尚饶). *Ginkgo biloba* extract (GBE) quality indicators and influencing factors. *J Sichuan Forest Sci Technol*(四川林业科技), 2000, 21: 25-28.
- 7 Zeng L(曾里), Zeng FJ(曾凡骏), Wang W(王威), et al. The determination for flavone in *Ginkgo biloba* by HPLC. *Food Res Dev*(食品研究与开发), 2008, 29(6): 85-88.
- 8 Qian DW(钱大玮), Duan JA(段金廒), Ju JM(鞠建明), et al. An analysis of the flavonoids in *Ginkgo biloba* L. leaves in Pizhou. *Lishizhen Med Mat Med Res*(时珍国医国药), 2004, 15: 387-388.
- 9 Zhang LY(张丽艳), Yang YQ(杨玉琴), Jiang ZH(蒋朝晖), et al. Guizhou ginkgo leaf total flavonoid content changes and influencing factors. *Chin Herb Med*(中药材), 2002, 25: 703-704.
- 10 Wu JS(吴家胜), Ying YQ(应叶青), Cao FL(曹福亮), et al. Effects of nitrogen application on leaf output and flavone content in ginkgo leaves. *J Zhejiang Forest Coll*(浙江林学院学报), 2002, 19: 372-375.