

香花枇杷和普通枇杷叶片抗氧化活性成分的比较

洪燕萍^{1,2}, 黄素华¹, 曹红云¹, 林顺权^{2*}, 刘宗莉²

(¹龙岩学院生命科学学院, 福建龙岩 364012; ²华南农业大学园艺学院, 广州 510642)

摘要: 测定香花枇杷和普通枇杷各萃取部的抗氧化活性, 并测定具较强抗氧化活性的萃取部黄酮、总酚的含量, 结果表明香花枇杷叶片的抗氧化活性高于普通枇杷。两种枇杷具有抗氧化活性萃取物中的黄酮和总酚含量均与 FRAP值呈极显著正相关关系, 与 DPPH的 C_{50} 呈极显著负相关关系, 即黄酮、总酚的含量与总还原能力及自由基清除能力成正相关。同时试验还表明大孔树脂 AB-8具有较好的富集黄酮和多酚的效果。

关键词: 枇杷; 香花枇杷; 抗氧化; 黄酮; 总酚

中图分类号: S 567.1; S 667.3 **文献标识码:** A **文章编号:** 0513-353X (2009) 06-0898-07

The Comparison of Antioxidant Activity and the Contents of Antioxidant Compounds of Extract Fractions Between Fragrant Loquat and Common Loquat

HONG Yan-ping^{1,2}, HUANG Su-hua¹, CAO Hong-yun¹, LIN Shun-quan^{2*}, and LIU Zong-li²

(¹College of Life Science, Longyan University, Longyan, Fujian 364012, China; ²College of Horticulture, South China Agricultural University, Guangzhou 510642, China)

Abstract: It is well known that *Eriobotrya* plants have significant amounts of phenolics and flavonoids, and exhibit a strong antioxidant activity. Experiments were conducted to examine variation in the contents of total phenolics and flavonoids, and antioxidant activities in the leaves of fragrant loquat and common loquat. In this study, it is shown that the fragrant loquat had stronger antioxidant activities, and that the contents of total phenolics or flavonoids was significantly correlated with DPPH radical scavenging activity/reducing power. In addition, the AB-8 resin could be used to enrich total phenolics and total flavonoids from some extract fractions of fragrant loquat and common loquat. This work suggests that fragrant loquat has a better utilization value.

Key words: loquat; fragrant loquat; antioxidant activity; flavonoids; total phenolics

我国是世界上最主要的枇杷生产国, 且有丰富的枇杷属野生种质资源。普通枇杷 [*Eriobotrya japonica* (Thunb) Lindl], 即栽培枇杷, 其干燥叶——“枇杷叶”是一种常用中药, 具有抗炎止咳、抗肿瘤、降血糖等功效 (Gray, 1972; 鞠建华等, 2003; Koba et al, 2007)。研究发现这些功效与叶片中的抗氧化活性成分如黄酮、酚类以及萜类成分有关 (Nonaka & Nishioka, 1982; 鞠建华等, 2003; Dufour et al, 2007)。普通枇杷叶片的活性及成分的研究已有不少, 但对野生的枇杷属植物其它种类的相关研究却近乎空白, 而野生枇杷资源的利用是今后的一个研究方向和趋势 (Lin, 2007)。野生资源不仅可以作为改良栽培枇杷的种质资源, 也可以作为药用植物直接加以利用。

香花枇杷 (*Eriobotrya fragrans* Champ ex Benth) 是除普通枇杷外最早发现的枇杷属植物, 其分布

收稿日期: 2008-11-14; 修回日期: 2009-03-02

基金项目: 广东省自然科学基金重点项目 (07118121); 福建省青年人才项目 (2008F3080); 华南农业大学大型仪器使用基金项目 (2008Y037)

* 通讯作者 Author for correspondence (E-mail: loquat@scau.edu.cn; Tel: 020-85282107)

范围广, 光合能力强, 是一种具有潜在的利用价值的野生枇杷 (杨向晖和林顺权, 2007)。Hong等已经对十多种枇杷属植物野生种质资源的三萜酸成分以及黄酮多酚成分进行了一些分析和比较 (Hong et al, 2007; Hong et al, 2008a), 并对香花枇杷进行重点研究, 分离纯化了多种萜类、黄酮等成分 (Hong et al, 2008b)。

本研究对香花枇杷和普通枇杷叶片的不同萃取部分的抗氧化活性及其中黄酮、总酚含量进行检测, 以期比较这两个种类的抗氧化活性, 及抗氧化活性部位与黄酮、总酚含量间的关系, 探讨香花枇杷潜在的药用价值。

1 材料与方法

1.1 材料

香花枇杷叶片采自广州三角山, 普通枇杷叶片取自华南农业大学园艺学院果园。收集清理后室温晾干, 粉碎得叶片干粉。

1.2 方法与仪器试剂

仪器: 超声波清洗机 SK5200H (200W)、旋转蒸发仪 LABOROTA4000 (Heidolph)。紫外可见分光光度计 (Shimadzu UV-2450)。

药品与试剂: DPPH (1, 1-二苯-2-苦肼基, 批号 085K1471)、TPTZ (三吡啶三吡嗪, 批号 1359384, 纯度 99.0%)、没食子酸 (批号 1126284, 纯度 98.0%) 和 Folin-Ciocalteu 试剂购买于 Sigma 公司; 其它试剂均为分析纯, 大孔树脂 AB-8 为天津南开大学化工厂生产。

1.3 方法

1.3.1 材料的提取、萃取及除杂

取香花枇杷、普通枇杷叶片干粉各 4.5 kg, 分别用 95% 乙醇浸提, 提取液减压浓缩至无醇味 (剩下水为溶剂), 通过过滤将沉淀 (脂溶性部分) 与上清液 (水溶性部分) 分开, 分别以石油醚、氯仿、乙酸乙酯、正丁醇萃取, 减压浓缩去除溶剂, 得沉淀各萃取部及剩余部分, 以及上清液各萃取部及剩余水相部分。两种枇杷的上清液乙酸乙酯部及正丁醇部浸膏用适量蒸馏水溶解, 经大孔树脂 AB-8 吸附后水洗除杂, 80% 乙醇洗脱回收, 减压浓缩得干粉, 分别以上清液乙酸乙酯大孔及上清液正丁醇大孔表示。

所有提取液及萃取部在进一步处理及测定前均置于 4℃ 冰箱保存。

1.3.2 萃取各部分 DPPH 自由基清除率

1, 1-二苯基-2-苦肼基自由基 (DPPH·) 分析法是用分光法进行定量分析筛选自由基清除剂的简便方法 (Mellors & Tappel, 1966)。萃取物对 DPPH 自由基的清除率 (The percentage of scavenging radical capacity) SR 的计算方法参考许申鸿和杭瑚 (2000) 的方法。由于在测定体系中样品本身的 OD 值很低 (<0.003), 因此忽略不计, 计算公式简化为: $SR (\%) = (A_0 - A_t) / A_t \times 100$ 。式中: A_0 为 DPPH 乙醇溶液的吸光值; A_t 为加入提取物溶液后的 DPPH 乙醇溶液的最终吸光值。取各萃取部浸膏或干粉配制 $20 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 母液, 吸取母液 $2 \mu\text{L}$, 加入 2 mL 浓度为 $0.025 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的 DPPH 乙醇液中, 即待测样品终浓度为 $19.98 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$, 计算清除率。

1.3.3 抗氧化活性萃取部抗氧化能力测定

为了定量更准确, 上清液萃取部所得浸膏取少量进一步减压浓缩至干, 进行抗氧化能力及总黄酮、总酚含量测定。取 50 mg 浓缩干燥的萃取产物, 加 10 mL 甲醇溶解, 得 $5 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 待测原液。

DPPH 自由基清除能力 IC_{50} 测定: 用无水乙醇稀释待测原液至 0.15 、 0.30 、 0.45 、 0.60 、 $0.75 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$, 取稀释液 $20 \mu\text{L}$, 加 1.98 mL 浓度为 $0.025 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的 DPPH 无水乙醇溶液, 反应 30 min , 测定 517 nm OD 值。DPPH 自由基清除能力以 IC_{50} , 即 SR 为 50% 时的提取物溶液浓度表示

($\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$), 每个样重复测定 3 次。 IC_{50} 越低, 自由基清除能力越大。

FRAP法测定总还原能力: 铁还原 抗氧化能力 (Ferric reducing/antioxidant power, FRAP) 参照 Benzie 和 Strain (1996) 的方法。根据 Fe^{3+} - 三吡啶三吡嗪 (tripyrindyl-triazine, TPTZ) 被还原后于 593 nm 处吸光度的大小计算样品抗氧化活性的强弱。

FRAP标准曲线: 1.8 mL TPTZ工作液加 0.2 mL 不同浓度 FeSO_4 , 以 1.8 mL TPTZ工作液加 0.2 mL 纯水为空白, 593 nm 测定吸光度。 FeSO_4 浓度从 0.025 至 2 $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 取 14 个浓度, 即 FeSO_4 量 0.005 ~ 0.4 μmol , 吸光度从 0.098 ~ 4.257。以此绘制标准曲线。其中 TPTZ工作液: pH 3.6 的 0.3 $\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 醋酸盐缓冲液, 10 $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ TPTZ (以 40 $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ HCl 配制), 20 $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ FeCl_3 , 按 10 1 1 比例混合。

抗氧化活性萃取部进一步用 FRAP法测定总还原能力。5 $\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 待测原液稀释 50 或 80 倍, 取稀释液 0.2 mL 加 1.8 mL TPTZ工作液, 37 °C 反应 10 min, 593 nm 测定 OD 值。每个样重复 3 次。以相当于 FeSO_4 $\mu\text{mol} \cdot \text{mg}^{-1}$ 萃取物表示总还原能力。

1.3.4 抗氧化活性萃取部黄酮含量的测定

黄酮含量用硝酸铝、亚硝酸钠比色法测定, 参照 Wang 等 (2005) 和 Heimler 等 (2005) 方法略有改动。

黄酮含量标准曲线绘制: 取烘干至恒重芦丁, 加 30% 乙醇配制的 0.2 $\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 芦丁标准液母液。取母液 40 ~ 1000 μL , 加 30% 乙醇至 1 mL, 再加入 60 μL 5% 亚硝酸钠, 放置 5 min; 加入 60 μL 10% 硝酸铝放置 6 min 后, 加入 400 μL 1.0 $\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 氢氧化钠和 480 μL 30% 乙醇, 摇匀放置 20 min, 510 nm 测定吸光值。

黄酮含量测定: 以 5 $\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 待测原液 30 μL 代替芦丁标准溶液母液, 同样用上述标准曲线测定方法测定吸光值, 每个样品重复 3 次。结果表示为每毫克萃取产物中含有黄酮相当芦丁的微克数。

1.3.5 抗氧化活性萃取部总酚含量的测定

总酚含量的测定采用 Folin-Ciocalteu 方法, 结果表示为每克干粉中含有相当没食子酸的毫克数。

没食子酸标准曲线绘制: 纯水配制没食子酸 1 $\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 母液, 然后用纯水将母液稀释为 10、30、50、70、90 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$, 取 0.3 mL 稀释液, 加 1.5 mL 福林酚试剂 (原液 2 $\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$, 稀释 10 倍), 加 1.2 mL 7.5% 碳酸钠, 于 45 °C 水浴 15 min, 760 nm 检测吸光值。

总酚含量测定: 5 $\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 待测原液 30 μL 加 970 μL 纯水稀释。取稀释液 0.3 mL, 同上述标准曲线测定方法测定吸光值, 每个样品重复 3 次。

1.3.6 数据处理

各样品 DPPH IC_{50} 、FRAP 值及总黄酮与总酚含量测定均重复 3 次, 以 SPSS10.0 进行数据处理, 数据表示为平均值 \pm SD (标准偏差, standard deviations), 各样品间差异显著性以 Duncan's 多重比较进行分析, 以 $P < 0.05$ 水平作为差异显著。

2 结果与分析

2.1 香花枇杷与普通枇杷各萃取部抗氧化活性

各萃取部抗氧化活性以 DPPH 自由基清除率表示, 结果见表 1。

总体结果显示, 普通枇杷清除自由基能力低于香花枇杷, 上清液部分比沉淀部分清除自由基能力强。沉淀部分以萃取剩余部抗氧化能力最强, 上清液部分中乙酸乙酯部、正丁醇部及剩余水相的自由基清除率高。

表 1 分部萃取物的 DPPH 自由基清除率
Table 1 The percentage of scavenging radical capacity of fractional extract

普通枇杷样品 Samples of common loquat	OD	清除率 / % Percentage of scavenging radical capacity	香花枇杷样品 Samples of fragrant loquat	OD	清除率 / % Percentage of scavenging radical capacity
空白 B blank	0.456		空白 B blank	0.456	
上清液浓缩浸膏 Extract of concentrated supernatant	0.136	70.154	上清液浓缩浸膏 Extract of concentrated supernatant	0.071	84.345
沉淀干粉 Dry powder of deposit	0.319	29.993	沉淀干粉 Dry powder of deposit	0.169	62.985
沉淀石油醚部 Petroleum ether extract of deposit	0.415	8.851	沉淀石油醚部 Petroleum ether extract of deposit	0.430	5.706
沉淀氯仿部 Chloroform extract of deposit	0.321	29.627	沉淀氯仿部 Chloroform extract of deposit	0.379	16.825
沉淀乙酸乙酯部 EtOAc extract of deposit	0.364	20.117	沉淀乙酸乙酯部 EtOAc extract of deposit	0.272	40.380
沉淀正丁醇部 n-BuOH extract of deposit	0.368	19.239	沉淀正丁醇部 n-BuOH extract of deposit	0.250	45.062
上清液石油醚部 Petroleum ether extract of supernatant	0.428	5.999	上清液石油醚部 Petroleum ether extract of supernatant	0.434	4.755
上清液氯仿部 Chloroform extract of supernatant	0.397	12.948	上清液氯仿部 Chloroform extract of supernatant	0.323	29.042
上清液乙酸乙酯部 EtOAc extract of supernatant	0.126	72.275	上清液乙酸乙酯部 EtOAc extract of supernatant	0.049	89.247
上清液正丁醇部 n-BuOH extract of supernatant	0.284	37.747	上清液正丁醇部 n-BuOH extract of supernatant	0.047	89.685
上清液水相 Raffinate of supernatant	0.107	76.518	上清液水相 Raffinate of supernatant	0.049	89.173
沉淀萃取剩余部 Residue of deposit extraction	0.054	88.149	沉淀萃取剩余部 Residue of extraction deposit	0.047	89.685

2.2 抗氧化活性萃取部抗氧化能力

2.2.1 DPPH法测定各萃取部自由基清除能力

清除率高的部分（抗氧化活性部位）进一步确定 DPPH 自由基半清除率 IC_{50} ， IC_{50} 越小，说明抗氧化能力越强，测定结果见表 2。数据显示，香花枇杷自由基清除能力从低到高分别为上清液浓缩浸膏、上清液萃取剩余水相、上清液正丁醇部、沉淀萃取剩余部、上清液乙酸乙酯部，DPPH 的 IC_{50} 从 0.843 ~ 0.643 $mg \cdot mL^{-1}$ 。上清液乙酸乙酯部及正丁醇部经过大孔树脂除杂后，自由基清除能力也提高， IC_{50} 分别为 0.577、0.519 $mg \cdot mL^{-1}$ 。

普通枇杷自由基清除能力从低到高分别为上清液正丁醇、上清液浓缩浸膏、上清液萃取剩余水相、上清液乙酸乙酯部，DPPH 的 IC_{50} 从 1.671 ~ 0.726 $mg \cdot mL^{-1}$ ，沉淀萃取剩余部自由基清除能力最高，DPPH 的 IC_{50} 仅为 0.525 $mg \cdot mL^{-1}$ 。上清液乙酸乙酯部及正丁醇部经过大孔树脂除杂后，自由基清除能力也提高， IC_{50} 分别为 0.582、0.625 $mg \cdot mL^{-1}$ 。

2.2.2 FRAP法测定各萃取部总还原能力

具有抗氧化活性的萃取物还以 FRAP 法确定总氧化还原能力，总还原能力以还原形成的二价铁的量（相当于 $FeSO_4$ $\mu mol \cdot mg^{-1}$ 萃取物）表示。结果如表 2 所示，香花枇杷还原能力由弱到强为上清液萃取剩余水相、上清液浓缩浸膏、沉淀萃取剩余部、上清液正丁醇部、上清液乙酸乙酯部，以形成的二价铁的量表示，在 2.385 ~ 4.582 $\mu mol \cdot mg^{-1}$ 之间，经过大孔树脂除杂后，还原能力有提高，但

上清液乙酸乙酯部经大孔树脂后差别不大, 只由 $4.582 \mu\text{mol} \cdot \text{mg}^{-1}$ 提高到 $4.686 \mu\text{mol} \cdot \text{mg}^{-1}$, 而上清液正丁醇部提高较多, 由原先 $3.724 \mu\text{mol} \cdot \text{mg}^{-1}$ 提高到 $4.691 \mu\text{mol} \cdot \text{mg}^{-1}$ 。

表 2 具有抗氧化活性萃取物中黄酮、总酚含量及 DPPH IC_{50} 、FRAP 值

Table 2 The content of flavonoid / total phenolics and DPPH IC_{50} /FRAP in antioxidant extract

材料 Material	萃取部分 Extract fraction	黄酮 / ($\mu\text{g} \cdot \text{mg}^{-1}$) Flavonoids	总酚 / ($\mu\text{g} \cdot \text{mg}^{-1}$) Total phenolics	FRAP/ ($\mu\text{mol} \cdot \text{mg}^{-1}$)	DPPH IC_{50} / ($\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$)	
香花枇杷 Fragrant loquat	上清液浓缩浸膏 Extract of concentrated supematant	554.340 \pm 6.656bc	189.006 \pm 1.754c	2.864 \pm 0.092ab	0.843 \pm 0.007de	
	上清液乙酸乙酯 EOAc extract of supematant	666.289 \pm 4.357d	254.503 \pm 2.339d	4.582 \pm 0.190c	0.643 \pm 0.007c	
	上清液正丁醇 n-BuOH extract of supematant	524.151 \pm 3.328b	184.912 \pm 0.585c	3.724 \pm 0.162bc	0.711 \pm 0.005cd	
	上清液水相 Raffinate of supematant	548.050 \pm 6.289bc	190.175 \pm 2.549c	2.385 \pm 0.118ab	0.766 \pm 0.005d	
	沉淀萃取剩余部 Residue of deposit extraction	666.289 \pm 5.483d	201.287 \pm 1.170c	3.651 \pm 0.089bc	0.651 \pm 0.004c	
	上清液乙酸乙酯大孔 EOAc extract of supematant (macropore resin) *	837.358 \pm 7.003e	287.836 \pm 1.013de	4.686 \pm 0.080c	0.577 \pm 0.007b	
	上清液正丁醇大孔 n-BuOH extract of supematant (macropore resin) *	805.912 \pm 7.003e	267.368 \pm 1.547de	4.691 \pm 0.227c	0.519 \pm 0.005a	
	普通枇杷 Common loquat	上清液浓缩浸膏 Extract of concentrated supematant	468.805 \pm 13.132b	128.772 \pm 2.109b	2.660 \pm 0.056ab	1.131 \pm 0.008e
		上清液乙酸乙酯 EOAc extract of supematant	714.088 \pm 4.357d	202.456 \pm 3.039c	4.103 \pm 0.125bc	0.726 \pm 0.008d
		上清液正丁醇 n-BuOH extract of supematant	296.478 \pm 3.774a	103.626 \pm 2.924a	1.725 \pm 0.044a	1.671 \pm 0.010f
上清液水相 Raffinate of supematant		516.604 \pm 8.248b	177.310 \pm 2.680c	2.988 \pm 0.129ab	0.888 \pm 0.009e	
沉淀萃取剩余部 Residue of deposit extraction		799.623 \pm 12.130e	215.322 \pm 3.256cd	5.311 \pm 0.106c	0.525 \pm 0.003a	
上清液乙酸乙酯大孔 EOAc extract of supematant (macropore resin) *		808.428 \pm 5.031e	249.240 \pm 3.894d	5.275 \pm 0.258c	0.582 \pm 0.010b	
上清液正丁醇大孔 n-BuOH extract of supematant (macropore resin) *		685.157 \pm 13.606d	235.789 \pm 1.013cd	4.744 \pm 0.154c	0.625 \pm 0.005bc	

注: 同一栏以不同字母表示数据差异显著 ($P < 0.05$)。* 经过大孔树脂 AB-8 纯化。

Note: Meaning with different letters within a same column are significantly different at the 5% level * Purified by AB-8 resin

普通枇杷还原能力由弱到强为: 上清液正丁醇部、上清液浓缩浸膏、上清液水相、上清液乙酸乙酯部、沉淀萃取剩余部, 以形成的二价铁的量表示, 在 $1.725 \sim 5.311 \mu\text{mol} \cdot \text{mg}^{-1}$ 之间。上清液乙酸乙酯部与上清液正丁醇部经大孔树脂除杂后, 还原能力分别从 $4.103 \mu\text{mol} \cdot \text{mg}^{-1}$ 和 $1.725 \mu\text{mol} \cdot \text{mg}^{-1}$ 提高到 $5.275 \mu\text{mol} \cdot \text{mg}^{-1}$ 和 $4.744 \mu\text{mol} \cdot \text{mg}^{-1}$ 。

2.3 抗氧化活性萃取部黄酮含量

从表 2 中可以看出, 香花枇杷具有抗氧化活性的各萃取部黄酮含量较高, 在 $524 \sim 666 \mu\text{g} \cdot \text{mg}^{-1}$ 之间, 上清液乙酸乙酯部与沉淀萃取剩余部含量为 $666 \mu\text{g} \cdot \text{mg}^{-1}$, 上清液浓缩浸膏、上清液萃取剩余的水相及上清液正丁醇部含量也较高, 在 $524 \sim 554 \mu\text{g} \cdot \text{mg}^{-1}$ 之间。上清液乙酸乙酯与正丁醇部分经过大孔树脂除杂后, 黄酮富集, 分别达到 837、805 $\mu\text{g} \cdot \text{mg}^{-1}$ 。

普通枇杷也有类似的结果, 上清液正丁醇部相对含量较低, 为 $296 \mu\text{g} \cdot \text{mg}^{-1}$, 上清液浓缩浸膏和上清液萃取剩余水相比较, 在 $468 \sim 516 \mu\text{g} \cdot \text{mg}^{-1}$ 之间, 同样上清液乙酸乙酯部与沉淀萃取剩余部分黄酮含量高, 分别达到 $714 \mu\text{g} \cdot \text{mg}^{-1}$ 、 $799 \mu\text{g} \cdot \text{mg}^{-1}$ 。上清液的乙酸乙酯部及正丁醇部经大孔树

脂除杂, 同样可将黄酮富集, 分别达到 $808 \mu\text{g} \cdot \text{mg}^{-1}$ 和 $685 \mu\text{g} \cdot \text{mg}^{-1}$ 。

2.4 抗氧化活性萃取部总酚含量

总酚含量测定结果如表 2 所示, 香花枇杷具有抗氧化活性的各萃取部总酚含量较高, 上清液正丁醇部、上清液浓缩浸膏、上清液水相及沉淀萃取剩余部, 总酚含量在 $200 \sim 170 \mu\text{g} \cdot \text{mg}^{-1}$, 上清液乙酸乙酯部总酚含量达到 $254 \mu\text{g} \cdot \text{mg}^{-1}$, 上清液乙酸乙酯部与正丁醇部经大孔树脂除杂后总酚含量提高, 分别达到 $287 \mu\text{g} \cdot \text{mg}^{-1}$ 和 $267 \mu\text{g} \cdot \text{mg}^{-1}$ 。

普通枇杷上清液正丁醇部、上清液浓缩浸膏及上清液萃取剩余水相总酚含量较低, 在 $100 \sim 180 \mu\text{g} \cdot \text{mg}^{-1}$ 之间, 上清液乙酸乙酯部、沉淀萃取剩余部含量较高, 在 $200 \sim 215 \mu\text{g} \cdot \text{mg}^{-1}$ 之间, 上清液乙酸乙酯部及正丁醇经过大孔树脂除杂后总酚含量提高, 分别达到 $249 \mu\text{g} \cdot \text{mg}^{-1}$ 和 $235 \mu\text{g} \cdot \text{mg}^{-1}$ 。

2.5 提取物抗氧化活性与黄酮、总酚含量的关系

各萃取部分黄酮、总酚含量与 FRAP 和 DPPH IC_{50} 进行线性回归, 分析这两种物质含量与抗氧化活性间的关系, 结果如表 3 所示, 相关系数均大于 0.7, 呈极显著相关 ($P < 0.01$)。

表 3 黄酮、总酚含量与 FRAP 值、DPPH IC_{50} 的相关系数

Table 3 Correlation coefficients of contents of total phenolics or flavonoids with antioxidant capacities (FRAP value and DPPH IC_{50})

测定方法 Methods for examining	总酚 Total phenolics	黄酮 Flavonoids
DPPH IC_{50}	0.85**	0.88**
FRAP	0.87**	0.93**

** 表示显著性水平为极显著。

** Indicating significance level ($P < 0.01$).

3 讨论

本试验对香花枇杷和普通枇杷的各萃取部进行了抗氧化活性的研究, 结果显示香花枇杷与普通枇杷相比具有较强的抗氧化活性, 同时这两种枇杷叶片提取物的上清液及各萃取部的抗氧化能力都比沉淀及各萃取部的抗氧化能力强, 上清液各萃取部以乙酸乙酯部抗氧化能力强。同时, 试验中使用大孔树脂对上清液的乙酸乙酯及正丁醇部分进行除杂, 结果表明大孔树脂浓缩黄酮、多酚类物质的效果较好, 并可提高抗氧化能力, 这也与他人的研究一致 (李维等, 2007; 张京芳和王冬梅, 2007)。

通常黄酮、多酚有较强的抗氧化活性, 许多研究表明植物的抗氧化活性与黄酮、多酚含量有关 (Yang et al, 2004; Aaby et al, 2007; Xu et al, 2007; Hong et al, 2008a)。本试验结果分析表明, 两种枇杷提取液抗氧化活性部位的各萃取部的黄酮、总酚含量均与 FRAP 法测定的氧化还原能力呈正相关, 与 DPPH 的 IC_{50} 负相关, 即黄酮、总酚含量与总还原能力及自由基清除能力成正相关, 说明这两种枇杷的抗氧化活性在一定程度上与黄酮、多酚成分有关。

目前, 相关研究人员已对枇杷属野生植物资源的成分和活性做了一些研究, 结果表明各种枇杷属野生植物资源与普通枇杷相比较, 活性成分有较大的相似性, 也有一定的差异 (Hong et al, 2007), 不同种类枇杷属植物的抗氧化活性有较大的差异, 一些枇杷属野生植物资源与普通枇杷相比具有更多的抗氧化活性物质和更强的抗氧化活性 (Hong et al, 2008a), 不少植物的药用活性依赖于其抗氧化活性 (Zhao et al, 2006; Dufour et al, 2007), 这些枇杷属野生植物资源可能具有潜在的应用价值。香花枇杷是一种分布较广的枇杷属野生植物资源, 含有较丰富的活性物质, 包括一些具有抗氧化活性的酚性成分及具有其他活性的三萜酸类成分。本试验对香花枇杷的各个分极性萃取部分别进行研究, 结果表明了香花枇杷的乙醇总提取物及多数萃取部分的黄酮和总酚含量以及抗氧化能力均高于普通枇杷。说明香花枇杷可能存在潜在药用价值, 同样也从一个侧面说明野生枇杷属植物具有进一步研

究和利用的价值。

References

- Aaby K, Wølsted R E, Ekeberg D, Skrede G. 2007. Polyphenol composition and antioxidant activity in strawberry purees: Impact of achene level and storage. *Journal of Agriculture Food Chemistry*, 55: 5156 - 5166.
- Benzue IF F, Strain J J. 1996. The ferric reducing ability of plasma as a measure of "antioxidant power": The FRAP assay. *Anal Biochem*, 239: 70 - 76.
- Dufour D, Pichette A, Mshvildadze V, Bradette-Hebert M E, Lavoie S, Longtin A, Laprise C, Legault J. 2007. Antioxidant, anti-inflammatory and anticancer activities of methanolic extracts from *Ledum groenlandicum* Retzius. *Journal of Ethnopharmacology*, 111: 22 - 28.
- Gray D O. 1972. Trans-4-hydroxymethylproline from *Eriobotrya japonica*. *Phytochemistry*, 11: 751 - 756.
- Heimler D, Vignolini P, Dini M G, Romani A. 2005. Rapid tests to assess the antioxidant activity of *Phaseolus vulgaris* L. dry beans. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53: 3053 - 3056.
- Hong Y P, Lin S Q, Huang X M. 2007. Determination of ursolic acid in *Eriobotrya* leaves and terpenoid fingerprinting. *Acta Horticulturae*, 750: 225 - 232.
- Hong Y P, Lin S Q, Jiang Y M, Ashraf M. 2008a. Variation in contents of total phenolics and flavonoids and antioxidant activities in the leaves of 11 *Eriobotrya* species. *Plant Foods for Human Nutrition*, 63: 200 - 204.
- Hong Y P, Qiao Y C, Lin S Q, Jiang Y M, Chen F. 2008b. Characterization of antioxidant compounds in *Eriobotrya fragrans* Champ leaf. *Scientia Horticulturae*, 118 (4): 288 - 292.
- Ju Jian-hua, Zhou Liang, Lin Geng, Liu Dong, Wang Li-wei, Yang Jun-shan. 2003. Studies on constituents of triterpene acids from *Eriobotrya japonica* and their anti-inflammatory and antitussive effects. *Chinese Pharmaceutical Journal*, 38 (10): 752 - 757. (in Chinese)
- 鞠建华, 周亮, 林耕, 刘东, 王立为, 杨峻山. 2003. 枇杷叶中三萜酸类成分及其抗炎、镇咳活性研究. *中国药理学杂志*, 38 (10): 752 - 757.
- Koba K, Matsuoka A, Osada K, Huang Y S. 2007. Effect of loquat (*Eriobotrya japonica*) extracts on LDL oxidation. *Food Chemistry*, 104: 308 - 316.
- Lin S Q. 2007. World loquat production and research with special reference to China. *Acta Horticulturae*, 750: 37 - 44.
- Li Wei, Zhong Shi-an, Qiao Rong, Yuan Zhou-Lü, Du Jian-ping. 2007. Macroporous resin adsorption of the flavone from the effluent in pomelo peel processing. *Journal of Beijing University of Chemical Technology*, 34 (Sup): 28 - 31. (in Chinese)
- 李维, 钟世安, 乔蓉, 袁周率, 杜建平. 2007. 大孔树脂吸附分离柚皮加工废液中的总黄酮. *北京化工大学学报*, 34 (增刊): 28 - 31.
- Nonaka G I, Nishioka I. 1982. Tannins and related compounds. VII. Phenylpropanoid-substituted epicatechins, cinchonans from *Cinchona succubna* (1). *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*, 30: 4268 - 4276.
- Wang W J, Li X Y, Zu Y G. 2005. Dynamic feature of flavonoid content in different organs of larch (*Larix gmelinii*). *Journal of Forestry Research*, 16: 89 - 92.
- Xu G, Ye X, Chen J, Liu D. 2007. Effect of heat treatment on the phenolic compounds and antioxidant capacity of citrus peel extract. *Journal of Agriculture Food Chemistry*, 55: 330 - 335.
- Xu Shen-hong, Hang Hu. 2000. A simple method for the screening of free radical scavenger. *Chinese Traditional and Herbal Drugs*, 31 (2): 96 - 97. (in Chinese)
- 许申鸿, 杭瑚. 2000. 一种筛选自由基清除剂的简便方法. *中草药*, 31 (2): 96 - 97.
- Yang J, Meyers K J, van der Heide J, Liu R H. 2004. Varietal differences in phenolic content and antioxidant and antiproliferative activities of onions. *Journal of Agriculture Food Chemistry*, 52: 6787 - 6793.
- Yang Xiang-hui, Lin Shun-quan. 2007. New ideal on the classification of the loquat. *South China Fruits*, 36 (3): 28 - 31. (in Chinese)
- 杨向晖, 林顺权. 2007. 枇杷属植物分类新探. *中国南方果树*, 36 (3): 28 - 31.
- Zhao M M, Yang B, Wang J S, Li B Z, Jiang Y M. 2006. Identification of the major flavonoids from pericarp tissues of lychee fruit in relation to their antioxidant activities. *Food Chemistry*, 98: 737 - 742.
- Zhang Jing-fang, Wang Dong-mei. 2007. Separation and purification of total flavonoids from *Toona sinensis* leaves by macroporous resins. *Acta Horticulturae Sinica*, 34 (6): 1585 - 1588. (in Chinese)
- 张京芳, 王冬梅. 2007. 应用大孔吸附树脂分离纯化香椿叶总黄酮. *园艺学报*, 34 (6): 1585 - 1588.