

不同成熟度树葡萄果实醇提取物抗氧化和抑制 α -葡萄糖苷酶活性研究

林宝妹, 郑开斌, 张帅, 洪佳敏, 郑菲艳, 林国容, 邱珊莲*

(福建省农业科学院亚热带农业研究所, 福建 漳州 363005)

摘要: 为探究树葡萄果皮和种籽的抗氧化和对 α -葡萄糖苷酶活性的抑制作用, 采用比色法测定了不同成熟度树葡萄果皮和种籽 70%乙醇提取物的总多酚和总黄酮含量, 并分析了他们与抗氧化活性和 α -葡萄糖苷酶活性抑制作用的相关性。结果表明, 绿果皮的总多酚含量最高(95.96 mg g⁻¹ DW), 红果皮的最低(18.31 mg g⁻¹ DW); 绿果籽的总黄酮含量最高(43.48 mg g⁻¹ DW), 紫果籽的最低(16.50 mg g⁻¹ DW); 抗氧化活性及对 α -葡萄糖苷酶活性抑制作用均以绿果皮的最强, 紫果籽的最弱。树葡萄果皮/籽清除 OH 自由基能力均高于抗坏血酸, 对 α -葡萄糖苷酶活性抑制作用均强于阿卡波糖; 其总多酚和总黄酮含量与抗氧化能力显著正相关($P < 0.05$), 抗氧化能力与对 α -葡萄糖苷酶活性的抑制作用呈显著正相关($P < 0.05$)。因此, 树葡萄绿果的总多酚及总黄酮含量较高, 抗氧化活性、对 α -葡萄糖苷酶活性的抑制作用较强, 可用于天然抗氧化剂和 α -葡萄糖苷酶抑制剂的开发。

关键词: 树葡萄; 总多酚; 总黄酮; 抗氧化; α -葡萄糖苷酶

doi: 10.11926/jtsb.3831

Studies on Antioxidant and α -Glucosidase Inhibitory Activities of Ethanol Extracts from Peels and Seeds of Jaboticaba at Different Maturities

LIN Bao-mei, ZHENG Kai-bin, ZHANG Shuai, HONG Jia-min, ZHENG Fei-yan, LIN Guo-rong, QIU Shan-lian*

(Institute of Subtropical Agriculture, Fujian Academy of Agricultural Sciences, Zhangzhou 363005, Fujian, China)

Abstract: In order to investigate the antioxidant and α -glucosidase inhibitory activities of jaboticaba (*Myrciaria cauliflora*) fruits at different maturities, the contents of total polyphenols (TP) and total flavonoids (TF) of 70% ethanol extracts from its peels and seeds were measured, and the correlation of TP, TF with antioxidant capacity and α -glucosidase inhibitory activity was analyzed. The results showed the contents of TP and TF, antioxidant capacity and α -glucosidase inhibitory activity in peels and seeds of jaboticaba at different maturities had obviously difference. The contents of TP and TF ranged from 18.31 to 95.96, 16.50 to 43.48 mg g⁻¹ DW, respectively. The content of TP was the highest in peels at green fruit stage, the lowest in peels at red fruit stage, while the content of TF was the highest in seeds at green fruit stage, the lowest in seeds at purple fruit stage. The peels of green fruits had the highest antioxidant capacity, while the seeds of purple fruits showed the lowest level. The capacity of scavenging OH of all extracts with EC₅₀ ranged from 0.260 6 to 1.280 4 g DW L⁻¹ was stronger than that of ascorbic acid (EC₅₀=2.659 0 g DW L⁻¹). The IC₅₀ value of α -glucosidase inhibitory activity ranged

收稿日期: 2017-09-30

接受日期: 2017-12-14

基金项目: 福建省公益类科研院所专项(2017R1024-1, 2017R1024-7); 福建省农业科学院青年英才计划项目(YC2015-19); 福建省农业科学院科技创新项目(PC2018-9); 福建省农业科学院青年创新团队项目(STIT2017-3-4); 福建省农业科学院生产性工程化实验室中试项目(AG2017-5)资助
This work was supported by the Special Project for Public Welfare for Research Institute in Fujian (Grant No. 2017R1024-1, 2017R1024-7), the Project for Young Talent of Fujian Academy of Agricultural Sciences (FAAS) (Grant No. YC2015-19); the Project for Technology Innovation of FAAS (Grant No. PC2018-9); the Project for Youth Innovation Team of FAAS (Grant No. STIT2017-3-4); and the Pilot Project of Productive Engineering Laboratory of FAAS (Grant No. AG2017-5).

作者简介: 林宝妹(1988~), 女, 研究实习生, 研究方向为天然产物化学。E-mail: yogobm@qq.com

* 通信作者 Corresponding author. E-mail: slqiu79@163.com

from 1.134 0 to 11.414 1 mg DW L⁻¹ showed lower than that of acarbose (IC₅₀=3 133.47 mg L⁻¹). The contents of TP and TF had positively significant correlation with the antioxidant capacity ($P<0.05$), as well as α -glucosidase inhibitory activity and scavenging capacity of free radicals, such as DPPH[·], OH and ABTS⁺. Therefore, the jaboticaba fruits at green stage were a good source of natural antioxidants and α -glucosidase inhibitors, due to its high contents of TP and TF, great antioxidation and strong inhibition on α -glucosidase.

Key words: Jaboticaba; Total polyphenol; Total flavonoid; Antioxidant capacity; α -Glucosidase inhibitory activity

树葡萄(*Myrciaria cauliflora*)是南美洲的一种常见水果,果实营养成分丰富,含有多种微量元素,如钙、铁、锌、维生素 B、维生素 C 和多种氨基酸,如色氨酸、赖氨酸等。果实中还含有多种挥发性成分和多酚类物质,挥发性成分有 45 种,如单萜烯类、烷酸类、芳香醇类等;多酚类物质有花青素、没食子酸、鞣花酸,以及黄酮类物质,如槲皮苷、异槲皮苷、杨梅苷等^[1-2]。有研究表明树葡萄果实具有良好的抗炎^[3]、舒张血管、降血压作用^[4],树葡萄籽具有抗氧化、抗癌细胞增殖作用^[5],果皮具有抗菌、降血脂、减少胰岛素抵抗等生物活性^[6]。

α -葡萄糖苷酶抑制剂是目前临床应用的一种能确切控制血糖水平、安全有效的降糖药物,它通过竞争性抑制小肠刷状缘上皮细胞的 α -葡萄糖苷酶,使淀粉或蔗糖分解成单糖的速度减慢,从而延缓葡萄糖吸收,达到降低餐后血糖的目的^[7]。越来越多的研究已经证实氧化应激是糖尿病多种慢性并发症的不同发病机制的共同通路,抗氧化剂可阻断氧化应激损伤途径,在糖尿病的治疗中显现出日益重要的作用^[8]。目前常用的抗氧化剂及 α -葡萄糖苷酶抑制剂多为人工合成或微生物发酵而来,存在着安全性及毒性问题^[9-10],从植物中筛选兼有降糖和抗氧化活性的天然产物,有望获得安全高效的防治糖尿病及其并发症的天然药物。目前对于树葡萄不同成熟度果实的抗氧化活性和 α -葡萄糖苷酶抑制作用的研究尚无相关报道。本研究选取树葡萄 3 个成熟阶段的果实,测定皮/籽醇提取物的抗氧化活性和对 α -葡萄糖苷酶活性抑制作用,以及总多酚和总黄酮含量,分析生物活性与总多酚、总黄酮含量的相关性,探讨可能的生物活性物质基础,为天然抗氧化剂和 α -葡萄糖苷酶抑制剂的开发提供理论基础。

1 材料和方法

1.1 材料

树葡萄(*Myrciaria cauliflora*)果实于 2017 年 4

月 25 日采自福建龙海市吉勇果蔬闽台合作农场,随机选取 9 株树葡萄‘沙巴’品种果树,树龄 15 a,采集不同成熟度果实,按照果色分为 3 个时期,即绿果期、红果期和紫果期。绿果为幼果期,果实颜色青绿,皮厚硬,无甜度,酸涩度高;红果为果实转色期,果实颜色呈红色或青红相间,皮逐渐变薄,具甜味,略带酸涩;紫果为果实成熟期,颜色紫黑色,皮薄,甜度充分,无酸涩。

1.2 仪器和试剂

紫外可见分光光度计, L5S 型,上海仪电分析仪器有限公司;超纯水机, UPW-20N 型,北京历元电子仪器有限公司;分析天平, BS110S 型,德国 Sartorius 集团;水浴锅, HH S21-8-S 型,上海新苗医疗器械制造有限公司;台式冷冻恒温振荡器, THZ-C-1 型,苏州培英实验设备有限公司;粉碎机, WBL2521H 型,佛山美的集团;旋转蒸发仪, RE-52AA 型,上海亚荣生化仪器厂;电热鼓风干燥箱, GZX-9246MBE,上海博迅实业有限公司医疗设备厂。

1,1-苯基-2-苦肼基自由基(DPPH[·])、2,2'-联氮双(3-乙基苯并噻唑啉-6-磺酸)二铵盐(ABTS⁺)、 α -葡萄糖苷酶(α -glucosidase, G5003-100UN)、4-硝基苯- α -D-吡喃葡萄糖苷(PNPG, N1377-1G)、邻二氮菲(P9375-5G)均为 Sigma 产品;阿卡波糖水合物(acarbose hydrate, C₂₅H₄₃NO₁₈·xH₂O, A2485)、没食子酸、芦丁为日本东京化成工业株式会社产品。抗坏血酸、无水乙醇、95%乙醇、双氧水、硫酸亚铁、磷酸二氢钾、磷酸氢二钾、碳酸钠为国药集团化学试剂有限公司产品。

1.3 果实提取液的制备

将树葡萄果实去除果肉,分为果皮和种籽,分别用粉碎机(28 000 r min⁻¹)粉碎 30 s,取适量样品与 70%乙醇按 1:10 (m/V)混合,在摇床(30℃, 180 r min⁻¹)中振荡提取 16 h,然后以 3 820×g 离心 15 min,取上清,经旋转蒸发仪浓缩,至冷凝管中无溶剂滴出

为止, 浓缩液用水溶解定容至 10 mL, 未见沉淀, 4℃保存, 待测。样品浓度单位为 mg mL^{-1} 。

另取部分树葡萄果皮/籽, 称鲜重后, 烘干至恒重, 计算干质量百分含量。绿果皮、绿果籽、红果皮、红果籽、紫果皮和紫果籽的干质量百分含量分别为 14.73%、31.65%、18.76%、50.00%、22.94% 和 50.51%。

1.4 总多酚含量的测定

参照刘禹等^[11]的方法并做适当修改。取 0.1 mL 样品, 加入 0.1 mL 1.0 mol L^{-1} Folin-Ciocalteu 试剂和 2.8 mL 水, 摇匀, 静置 8 min 后加入 2 mL 7.5% 碳酸钠溶液, 摇匀, 室温下密封避光 2 h, 于 765 nm 处测吸光度。以没食子酸为标准品, 建立方程 $y = 0.0020x + 0.0614$ ($0 \sim 300 \mu\text{g mL}^{-1}$, $R^2 = 0.995$), 式中, y 为吸光度值, x 为没食子酸浓度 ($\mu\text{g mL}^{-1}$)。树葡萄果皮/籽醇提取物的总多酚含量用每克干果皮/籽中所含的相当于没食子酸(GAE)的量表示, 单位为 $\text{mg g}^{-1} \text{ DW}$ 。试验重复 3 次, 每次设 3 个平行。

1.5 总黄酮含量的测定

参照刘禹等^[11]的方法并做适当修改。取 1 mL 样品, 加入 0.5 mL 5% 亚硝酸钠溶液, 摇匀静置 6 min 后加入 0.5 mL 10% 硝酸铝溶液, 再摇匀静置 6 min, 然后加入 4 mL 4% NaOH 溶液, 加水定容至 10 mL, 静置 15 min, 于 510 nm 处测吸光度。以芦丁为标准品, 建立方程 $y = 1.2065x - 0.0051$ ($0 \sim 60 \mu\text{g mL}^{-1}$, $R^2 = 0.999$), 式中, y 为吸光度值, x 为芦丁浓度 ($\mu\text{g mL}^{-1}$)。树葡萄果皮/籽醇提取物的总黄酮含量用每克干果皮/籽中所含的相当于芦丁(RE)的量表示, 单位为 $\text{mg g}^{-1} \text{ DW}$ 。试验重复 3 次, 每次设 3 个平行。

1.6 抗氧化活性的测定

DPPH·自由基清除能力的测定参照 Li 等^[12]的方法并稍做改动, DPPH 溶剂为 95% 乙醇, DPPH 清除率 = $[1 - (A_i - A_j) / A_0] \times 100\%$, 公式中: A_0 为溶剂空白对照吸光值; A_i 为样品吸光值; A_j 为样品本底值。OH 自由基清除能力的测定参照 Caillet 等^[13]的邻二氮菲法, OH 清除率 = $[(A_3 - A_2 - A_1) / (A_0 - A_1)] \times 100\%$, 式中, A_0 为未损伤管吸光值, A_1 为损伤管吸光值; A_2 为样品本底值; A_3 为样品吸光值。ABTS⁺自由基清除能力的测定采用 Hu 等^[14]的方法, ABTS⁺清除率计算公式同 DPPH·。以样品浓度(设

立 5 个浓度梯度)为自变量, 自由基清除率为因变量, 绘制回归曲线, 计算自由基清除率为 50% 时的样品浓度, 以半数清除浓度(EC_{50})表示, 每个自由基清除试验设 3 次重复, 每次设 3 个平行。

1.7 α -葡萄糖苷酶活性抑制率测定

取 500 μL 0.2 mol L^{-1} 磷酸钾缓冲液(pH 6.8), 加入 80 μL 15 mmol L^{-1} PNPG, 200 μL 样品和 1.62 mL 水, 混合溶液在 37℃ 恒温水浴 5 min, 然后加入 100 μL α -葡萄糖苷酶溶液(0.2 U mL^{-1}), 摇匀, 37℃ 恒温水浴 15 min, 然后加入 0.2 mol L^{-1} 碳酸钠溶液 2.5 mL, 于 400 nm 处测定吸光度, 酶活性抑制率 = $[1 - (A_1 - A_2) / A_0] \times 100\%$, 式中: A_0 为溶剂空白对照管吸光值; A_2 为样品本底值; A_1 为样品管吸光值。以样品浓度(设 5 个浓度梯度)为自变量, α -葡萄糖苷酶活性抑制率为因变量, 绘制对数回归曲线, 计算 α -葡萄糖苷酶活性抑制率为 50% 时的样品浓度, 以半数抑制浓度(IC_{50})表示, 每个酶活性抑制试验设 3 次重复, 每次设 3 个平行。

1.8 统计分析

采用 Microsoft Excel 2007 进行线性/对数回归曲线的制作; 采用 SPSS 22.0 统计软件进行相关性和单因素方差分析。

2 结果和分析

2.1 总多酚与总黄酮含量

从表 1 可见, 不同成熟度果皮/籽醇提取物的总多酚和总黄酮含量具有极显著差异($P < 0.01$), 除绿果的果皮/籽总多酚含量接近外, 红果和紫果的果皮总多酚和总黄酮含量极显著高于种籽($P < 0.01$), 总多酚含量为 $(18.31 \pm 4.93) \sim (95.96 \pm 3.87) \text{ mg g}^{-1} \text{ DW}$, 总黄酮含量为 $(16.50 \pm 0.48) \sim (43.48 \pm 0.55) \text{ mg g}^{-1} \text{ DW}$ 。总多酚含量依次为绿果皮 > 绿果籽 > 紫果皮 > 红果籽 > 紫果籽 > 红果皮; 总黄酮含量依次为绿果籽 > 紫果皮 > 绿果皮 > 红果籽 > 红果皮 > 紫果籽。

2.2 抗氧化活性

2.2.1 对 DPPH·自由基的清除能力

从表 2 可见, 3 种成熟度果皮/籽醇提取物对 DPPH·自由基均有一定的清除能力, 且在一定的浓度范围内呈线性关系, 线性系数为 $0.9784 < R^2 <$

表 1 树葡萄果皮/籽的总多酚与总黄酮含量

Table 1 Contents of total polyphenols and total flavonoids in peels and seeds of jaboticaba

	总多酚含量 (mg g ⁻¹ DW) Content of total polyphenols	总黄酮含量 (mg g ⁻¹ DW) Content of total flavonoid
绿果皮 Peel of green fruit	95.96 ± 3.87aA	33.54 ± 0.15bB
绿果籽 Seed of green fruit	95.75 ± 8.78aA	43.48 ± 0.55aA
红果皮 Peel of red fruit	18.31 ± 4.93eE	17.09 ± 0.93dD
红果籽 Seed of red fruit	47.52 ± 0.31cC	25.12 ± 0.37cC
紫果皮 Peel of purple fruit	65.63 ± 5.66bB	43.07 ± 2.14aA
紫果籽 Seed of purple fruit	25.96 ± 4.28dD	16.50 ± 0.48dD

$n=3$; 同列数据后不同大写和小写字母分别表示差异极显著 ($P<0.01$) 和差异显著 ($P<0.05$)。下表同。

$n=3$. Data followed different capital and small letters within column indicate significant different at 0.01 and 0.05 levels, respectively. The same is following Tables.

0.999 6, 即 DPPH· 自由基清除率随提取物浓度的增加而升高。清除 DPPH· 自由基的能力依次为绿果皮 > 绿果籽 > 紫果皮 > 红果皮 > 红果籽 > 紫果籽。绿果皮的抗氧化性最强, EC_{50} 为 0.180 0 g DW L⁻¹, 紫果籽的最弱, EC_{50} 为 0.731 4 g DW L⁻¹。

2.2.2 对 OH 自由基的清除能力

从表 2 可见, 与清除 DPPH· 自由基略有不同的是红果籽醇提取物清除 OH 自由基能力大于红果

皮。醇提取物浓度与 OH 自由基的清除率间呈现明显的量效关系, R^2 均大于 0.98。抗氧化活性最强的为绿果皮, 最弱的为紫果籽。不同成熟度树葡萄果皮/籽对 OH 自由基的清除能力 (EC_{50} 为 0.260 6~1.280 4 g DW L⁻¹) 均高于抗坏血酸 (2.659 0 g DW L⁻¹)。

2.2.3 对 ABTS⁺ 自由基的清除能力

从表 2 可见, 随着醇提取物浓度的增加, 果皮/籽对 ABTS⁺ 自由基的清除作用增强, 二者呈线性关

表 2 树葡萄果实皮/籽醇提取物对 3 种自由基的清除效果

Table 2 Scavenging effect on DPPH·, OH and ABTS⁺ free radicals of 70% ethanol extracts of peels and seeds of jaboticaba

自由基 Free radical	样品 Sample	回归方程 Regression equation	R^2	EC_{50} (g DW L ⁻¹)
DPPH·	绿果皮 Peel of green fruit	$y=41.0044x-0.1094$	0.999 6	0.180 0
	绿果籽 Seed of green fruit	$y=65.6152x+1.3371$	0.986 3	0.234 7
	红果皮 Peel of red fruit	$y=15.8932x+9.9011$	0.978 4	0.478 2
	红果籽 Seed of red fruit	$y=47.4892x+3.7649$	0.990 2	0.486 8
	紫果皮 Peel of purple fruit	$y=30.4483x+9.6330$	0.983 1	0.304 1
	紫果籽 Seed of purple fruit	$y=33.9442x+0.8422$	0.997 7	0.731 4
	抗坏血酸 Ascorbic acid	$y=948.7629x+1.6255$	0.996 6	0.051 0
OH	绿果皮 Peel of green fruit	$y=29.2440x-1.7570$	0.996 3	0.260 6
	绿果籽 Seed of green fruit	$y=48.8706x-1.5170$	0.997 5	0.333 6
	红果皮 Peel of red fruit	$y=14.2849x-3.5653$	0.993 8	0.703 5
	红果籽 Seed of red fruit	$y=41.5301x-4.5790$	0.987 1	0.657 1
	紫果皮 Peel of purple fruit	$y=24.9670x-0.6493$	0.998 5	0.465 3
	紫果籽 Seed of purple fruit	$y=19.2410x+1.2207$	0.997 1	1.280 4
	抗坏血酸 Ascorbic acid	$y=31.2978x-33.2091$	0.996 8	2.659 0
ABTS ⁺	绿果皮 Peel of green fruit	$y=24.5535x+6.9204$	0.997 4	0.258 4
	绿果籽 Seed of green fruit	$y=52.9030x+5.9834$	0.998 7	0.263 3
	红果皮 Peel of red fruit	$y=13.2023x+2.5220$	0.999 8	0.669 6
	红果籽 Seed of red fruit	$y=54.2455x-0.0177$	0.974 4	0.461 1
	紫果皮 Peel of purple fruit	$y=21.4795x+12.1818$	0.992 6	0.403 8
	紫果籽 Seed of purple fruit	$y=24.4276x+6.3327$	0.997 3	0.902 8
	抗坏血酸 Ascorbic acid	$y=596.0499x+3.2737$	0.999 5	0.078 0

-: 未测到。下表同。

-: Not detected. The same is following Tables.

系, R^2 均大于 0.97。不同成熟度树葡萄果皮/籽对 $ABTS^+$ 自由基清除能力与对 OH 自由基的清除能力一致, 均为绿果皮 > 绿果籽 > 紫果皮 > 红果籽 > 红果皮 > 紫果籽。绿果皮(EC_{50} 为 $0.258\ 4\ g\ DW\ L^{-1}$) 清除 $ABTS^+$ 自由基的能力最高, 约为抗坏血酸(EC_{50} 为 $0.078\ 0\ g\ DW\ L^{-1}$) 的 1/3。

2.3 对 α -葡萄糖苷酶活性的抑制作用

从表 3 可见, 醇提取物浓度与 α -葡萄糖苷酶活性抑制率呈非线性关系, 随着提取物浓度的增加, 对 α -葡萄糖苷酶活性抑制率急速增高, 随后变得较缓慢, 成抛物线形, 为对数曲线, R^2 均在 0.96 以上, 趋势线拟合程度较好。果皮/籽对 α -葡萄糖苷酶的活性抑制作用(IC_{50} 为 $1.134\ 0\sim\ 11.414\ 1\ mg\ DW\ L^{-1}$) 均远强于阿卡波糖($3\ 133.47\ mg\ DW\ L^{-1}$), 果皮对 α -葡萄糖苷酶活性抑制作用明显高于相同成熟度

的果籽, 这与抗氧化活性相同, 表明果皮中可能存在某种功能成分的含量高于果籽。不同成熟度树葡萄果皮/籽对 α -葡萄糖苷酶的活性抑制作用依次为绿果皮 > 绿果籽 > 红果皮 > 紫果皮 > 红果籽 > 紫果籽。绿果皮醇提取物对 α -葡萄糖苷酶活性的抑制作用最强, 绿果籽次之, 紫果籽最弱。

2.4 相关性分析

从表 4 可见, 树葡萄果皮/籽醇提取物的总多酚含量与清除 $DPPH$ 、 OH 和 $ABTS^+$ 能力均呈显著正相关($P < 0.05$, $0.815\ 7 < r < 0.902\ 1$); 果皮/籽总黄酮含量与清除 $DPPH$ 和 OH 能力呈显著正相关($P < 0.05$, $0.820\ 0 < r < 0.835\ 3$), 与清除 $ABTS^+$ 能力的相关性较小($P > 0.05$, $r = 0.774\ 3$)。树葡萄果皮/籽的总多酚和总黄酮含量与 α -葡萄糖苷酶活性抑制作用的相关性较小($P > 0.05$, $0.629\ 7 < r < 0.662\ 1$)。

表 3 树葡萄果皮/籽醇提取物对 α -葡萄糖苷酶活性的抑制作用

Table 3 Inhibitory activity on α -glucosidase of 70% ethanol extracts from peels and seeds of jaboticaba

	回归方程 Regression equation	R^2	IC_{50} (mg DW L ⁻¹)
绿果皮 Peel of green fruit	$y = 38.7\ 319\ln x + 238.5\ 221$	0.991 9	1.134 0
绿果籽 Seed of green fruit	$y = 41.6\ 328\ln x + 258.8\ 603$	0.966 7	2.088 6
红果皮 Peel of red fruit	$y = 51.2\ 737\ln x + 256.5\ 022$	0.973 9	3.339 6
红果籽 Seed of red fruit	$y = 44.0\ 242\ln x + 251.0\ 748$	0.977 3	5.200 0
紫果皮 Peel of purple fruit	$y = 39.7\ 802\ln x + 217.8\ 233$	0.985 2	3.371 6
紫果籽 Seed of purple fruit	$y = 44.8\ 165\ln x + 219.9\ 037$	0.974 3	11.414 1
阿卡波糖 Acarbose	$y = 23.7\ 558\ln x + 22.8\ 675$	0.998 8	3 133.470 0

表 4 抗氧化活性、 α -葡萄糖苷酶活性抑制作用与总多酚、总黄酮含量的相关性

Table 4 Correlation between antioxidant capacity, inhibitory activity of α -glucosidase and contents of total polyphenols and total flavonoids

	总多酚含量 Content of total polyphenols		总黄酮含量 Content of total flavonoid	
	P	r	P	r
$DPPH \cdot$	0.022 8*	0.873 9	0.045 7*	0.820 0
OH	0.013 9*	0.902 1	0.038 5*	0.835 3
$ABTS^+$	0.047 8*	0.815 7	0.070 6	0.774 3
α -Glucosidase	0.152 0	0.662 1	0.180 3	0.629 7

*: $P < 0.05$; **: $P < 0.01$ 。下表同。

*: $P < 0.05$; **: $P < 0.01$ 。The same is following Tables.

从表 5 可见, 树葡萄果皮/籽醇提取物对 α -葡萄糖苷酶活性抑制作用与清除 $DPPH$ 、 OH 能力呈极显著正相关($P < 0.01$), 与清除 $ABTS^+$ 能力呈显著正相关($P < 0.05$)。

表 5 α -葡萄糖苷酶活性抑制作用与抗氧化活性的相关性

Table 5 Correlation between inhibitory activity of α -glucosidase and anti-oxidant activity

	P	r
$DPPH \cdot$	0.006 7**	0.932 3
OH	0.001 7**	0.966 1
$ABTS^+$	0.022 9*	0.873 7

3 讨论和结论

本研究采用分光光度法测定了树葡萄 3 个成熟度果实皮/籽 70% 乙醇提取物的总多酚和总黄酮含量, 结果表明, 树葡萄从绿果期至紫果期, 果皮的总多酚、总黄酮含量先降后升。杏 (*Armeniaca vulgaris*) 果皮在进入硬核期后, 总多酚和总黄酮含量逐渐降低, 至商熟期又有所升高^[15]。李小龙^[16]利用 HPLC 技术分析了葡萄 3 个红色品种果实发育过程中果皮及种子酚类物质含量的变化趋势, 果皮

的酚类物质在幼果期下降较为迅速,果实转色后缓慢下降,果实成熟后期又缓慢积累,呈先下降后上升趋势;而种子的酚类物质含量总体呈下降趋势。树葡萄果籽的总多酚、总黄酮含量随果实的成熟逐渐减少。有研究表明,黄酮类物质作为植物的次生代谢产物,在果实成熟过程中不断积累,在成熟期达到稳定或略下降^[17-18]。黄酮类物质如槲皮素及其衍生物与花色苷的合成有相同的合成前体二氢黄酮醇,随着果实成熟,花色苷合成增加,总黄酮物质合成相应减少^[19],因此树葡萄果籽的总黄酮含量从绿果期至紫果期呈逐渐减少趋势可能是花色苷的大量合成,导致黄酮类物质含量不断减少。

不同的抗氧化剂通过不同的机制发挥抗氧化作用,如自由基清除、生物大分子结构保护、减缓或抑制脂质氧化等^[20]。对 DPPH、OH 和 ABTS⁺ 的清除能力常用于评价植物提取物的抗氧化性,其中 OH 是人体内最活跃的氧自由基,对体内氧化还原反应有重大影响^[21-22]。本研究采用 3 种方法评价树葡萄果皮/籽醇提取物对自由基的清除能力,结果表明,所有醇提取物清除 OH 的能力(EC₅₀ 为 0.260 6~1.280 4 g DW L⁻¹)均高于抗坏血酸(2.659 0 g DW L⁻¹),清除 DPPH·(EC₅₀ 为 0.180 0~0.731 4 g DW L⁻¹)和 ABTS⁺ (0.258 4~0.902 8 g DW L⁻¹)的能力低于抗坏血酸(分别为 0.051 0 和 0.078 0 g DW L⁻¹)。多数植物清除 DPPH、OH 的能力与多酚、黄酮含量具有显著相关性^[23-24],也有的相关性较小^[25-26]。树葡萄果实皮/籽对 DPPH、OH 自由基的清除能力与总多酚和总黄酮含量呈显著相关性。有研究表明,甘薯(*Ipomoea batatas*)叶、金盏花(*Tagetes erecta*)清除 ABTS⁺ 的能力与多酚、黄酮含量有显著相关性^[27-28],铁皮石斛(*Dendrobium officinale*)清除 ABTS⁺ 的能力与总黄酮含量显著相关,与总多酚含量相关性较小^[29]。本研究结果表明,树葡萄果皮/籽醇提取物清除 ABTS⁺ 的能力虽然与总多酚含量显著相关,但与总黄酮含量的相关性较小。不同植物的活性物质组成不一样,清除自由基的能力也各异,但都保持与多酚、黄酮类物质含量密切的联系。

采用 α -葡萄糖苷酶活性抑制酶学模型测量树葡萄 3 种成熟度果实皮/籽醇提取物体外对 α -葡萄糖苷酶的抑制作用,结果表明,所有醇提取物的酶活性抑制作用均远强于阿卡波糖,说明树葡萄果皮/籽在开发 α -葡萄糖苷酶抑制剂方面可能具有很大的潜力和价值。相关性分析结果表明,树葡萄果皮/

籽对 α -葡萄糖苷酶活性的抑制作用与总多酚、总黄酮含量的相关性较小,与 3 种自由基清除能力具有显著或极显著正相关性(表 4)。金银花(*Lonicerae japonicae*)和朱砂根(*Ardisia crenata*)具有较强的抗氧化活性和 α -葡萄糖苷酶活性抑制作用^[30-31]。闫淑霞^[32]从杨梅(*Myrica rubra*)果实中分离得到矢车菊素-3-O-葡萄糖苷、杨梅苷、槲皮苷和金丝桃苷等 4 种黄酮苷类化合物单体,这 4 种单体均有显著的 α -葡萄糖苷酶活性抑制作用,同时抗氧化活性也与 4 种单体含量呈显著正相关性。因此,我们认为植物抗氧化活性和 α -葡萄糖苷酶抑制活性有共同的物质基础,可能与多酚、黄酮中的某一类物质息息相关。树葡萄果皮/籽中可能仅是部分总多酚和总黄酮类物质发挥 α -葡萄糖苷酶活性抑制作用,因而 α -葡萄糖苷酶活性抑制作用与总多酚、总黄酮含量相关性较小。

3 种成熟度的树葡萄果皮/籽在抗氧化活性、 α -葡萄糖苷酶活性抑制作用、总多酚及总黄酮含量上存在显著差异,以绿果的皮/籽的抗氧化活性、 α -葡萄糖苷酶活性抑制作用、总多酚及总黄酮含量较高,清除 OH 的能力高于抗坏血酸,对 α -葡萄糖苷酶活性抑制作用强于阿卡波糖。综上所述,树葡萄绿果可作为 α -葡萄糖苷酶抑制剂和抗氧化剂的良好来源,但树葡萄果皮/籽中究竟是哪种化学成分在发挥抗氧化活性及 α -葡萄糖苷酶抑制活性,尚有待进一步研究。

参考文献

- [1] TANG L, YUAN T T, ZHONG Q P. Analysis of nutritional components in *Myrciaria cauliflora* [J]. Nonwood For Res, 2014, 32(2): 120-124. doi: 10.3969/j.issn.1003-8981.2014.02.024.
唐丽,袁婷婷,钟秋平.嘉宝果营养成分分析[J].经济林研究, 2014, 32(2): 120-124. doi: 10.3969/j.issn.1003-8981.2014.02.024.
- [2] WU S B, LONG C L, KENNELLY E J. Phytochemistry and health benefits of jaboticaba, an emerging fruit crop from Brazil [J]. Food Res Int, 2013, 54(1): 148-159. doi: 10.1016/j.foodres.2013.06.021.
- [3] VASCONCELOS P C P, ANDREO M A, VILEGAS W, et al. Effect of *Mouriri pusa* tannins and flavonoids on prevention and treatment against experimental gastric ulcer [J]. J Ethnopharmacol, 2010, 131(1): 146-153. doi: 10.1016/j.jep.2010.06.017.
- [4] de ANDRADE D M L, de FÁTIMA R C, da SILVA C P F, et al. Vasorelaxant and hypotensive effects of jaboticaba fruit (*Myrciaria cauliflora*) extract in rats [J]. Evid Based Comple Alternat Med, 2015,

- 2015: 696135. doi: 10.1155/2015/696135.
- [5] WANG W H, TYAN Y C, CHEN Z S, et al. Evaluation of the antioxidant activity and antiproliferative effect of the jaboticaba (*Myrciaria cauliflora*) seed extracts in oral carcinoma cells [J]. *BioMed Res Int*, 2014, 2014: 185946. doi: 10.1155/2014/185946.
- [6] BORGES L L, CONCEIÇÃO E C, SILVEIRA D. Active compounds and medicinal properties of *Myrciaria* genus [J]. *Food Chem*, 2014, 153: 224–233. doi: 10.1016/j.foodchem.2013.12.064.
- [7] ZHANG Z. Inhibitory effect of extracts from cinnamon on α -glucosidase [D]. Shanghai: Shanghai University, 2006.
张忠. 中药肉桂提取物对 α -葡萄糖苷酶的抑制作用研究 [D]. 上海: 上海大学, 2006.
- [8] YUAN X Y, REN Y Z. Advances in antioxidants in the treatment of diabetes mellitus and its complications [J]. *Foreign Med Sci (Geriatr)*, 2007, 28(2): 49–55. doi: 10.3969/j.issn.1674-7593.2007.02.001.
袁小燕, 任跃忠. 抗氧化剂治疗糖尿病及其并发症新进展 [J]. *国外医学 老年医学分册*, 2007, 28(2): 49–55. doi: 10.3969/j.issn.1674-7593.2007.02.001.
- [9] GU J F, CHEN Z J. The studies and applications of α -glucosidase inhibitors [J]. *Prog Pharmac Sci*, 2009, 33(2): 62–67. doi: 10.3969/j.issn.1001-5094.2009.02.003.
顾觉奋, 陈紫鹃. α -葡萄糖苷酶抑制剂的研究及应用 [J]. *药学进展*, 2009, 33(2): 62–67. doi: 10.3969/j.issn.1001-5094.2009.02.003.
- [10] HUANG J, YANG G Y, LI H J, et al. Progress in mechanism of antioxidants [J]. *Nat Mag*, 2004, 26(4): 74–78. doi: 10.3969/j.issn.0253-9608.2004.02.003.
黄进, 杨国宇, 李宏基, 等. 抗氧化剂作用机制研究进展 [J]. *自然杂志*, 2004, 26(4): 74–78. doi: 10.3969/j.issn.0253-9608.2004.02.003.
- [11] LIU Y, DUAN J L, LI W Q, et al. Study on antioxidant activities of different solvent extracts from the sorghum rice [J]. *J Chin Cereals Oils Assoc*, 2013, 28(6): 36–39. doi: 10.3969/j.issn.1003-0174.2013.06.008.
刘禹, 段江莲, 李为琴, 等. 高粱米不同溶剂提取物的抗氧化活性研究 [J]. *中国粮油学报*, 2013, 28(6): 36–39. doi: 10.3969/j.issn.1003-0174.2013.06.008.
- [12] LI X C, LIN J, GAO Y X, et al. Antioxidant activity and mechanism of rhizoma *Cimicifugae* [J]. *Chem Cent J*, 2012, 6(1): 140–150. doi: 10.1186/1752-153X-6-140.
- [13] CAILLET S, YU H L, LESSARD S, et al. Fenton reaction applied for screening natural antioxidants [J]. *Food Chem*, 2007, 100(2): 542–552. doi: 10.1016/j.foodchem.2005.10.009.
- [14] HU Q P, XU J G. Profiles of carotenoids, anthocyanins, phenolics, and antioxidant activity of selected color waxy corn grains during maturation [J]. *J Agric Food Chem*, 2011, 59(5): 2026–2033. doi: 10.1021/jf104149q.
- [15] ZHANG J H, YANG L, SUN H Y, et al. Changes of the total phenols and flavonoids in apricot peel and pulp of different cultivars during fruit development [J]. *N Hort*, 2012, 36(24): 1–5.
张俊环, 杨丽, 孙浩元, 等. 不同品种杏果实发育进程中多酚与类黄酮物质含量的变化 [J]. *北方园艺*, 2012, 36(24): 1–5.
- [16] LI X L. Changes of phenolic components during the development of wine grape berries [D]. Yangling: Northwest Agricultural & Forestry University, 2015.
李小龙. 酿酒葡萄果实生长发育过程中酚类物质变化规律的研究 [D]. 杨凌: 西北农林科技大学, 2015.
- [17] ZHANG X M, LIU Y G, ZHU Z Y, et al. Total polyphenols, flavonoids and antioxidant activities in mulberry (*Morus alba*) leaves and fruits at different maturities [J]. *J Fruit Sci*, 2014, 31(4): 660–666. doi: 10.13925/j.cnki.gsx.20130473.
- [18] GUPTA N, SHARMA S K, RANA J C, et al. Expression of flavonoid biosynthesis genes vis-à-vis rutin content variation in different growth stages of *Fagopyrum* species [J]. *J Plant Physiol*, 2011, 167(17): 2117–2123. doi: 10.1016/j.jplph.2011.06.018.
- [19] ZHANG Q, WANG H Q, LENG P, et al. Mechanism of anthocyanins and flavonols in fruit development of strawberries [J]. *Acta Hort Sin*, 2008, 35(12): 1735–1741. doi: 10.16420/j.issn.0513-353x.2008.12.003.
张琼, 王红清, 冷平, 等. 草莓果实发育过程中花色苷和类黄酮物质形成机制 [J]. *园艺学报*, 2008, 35(12): 1735–1741. doi: 10.16420/j.issn.0513-353x.2008.12.003.
- [20] DU Y, LOU H X. Advances in the mechanism of antioxidants from plants [J]. *J Chin Med Mat*, 2006, 29(7): 739–743. doi: 10.3321/j.issn:1001-4454.2006.07.044.
杜玉, 娄红祥. 天然植物抗氧化剂的作用机制研究概况 [J]. *中药材*, 2006, 29(7): 739–743. doi: 10.3321/j.issn:1001-4454.2006.07.044.
- [21] CHENG Z Y, REN J, YAN G T, et al. Quantitative elucidation of the molecular mechanisms of hydroxyl radical quenching reactivity of phenolic compounds [J]. *Bioorg Chem*, 2003, 31(2): 149–162. doi: 10.1016/S0045-2068(03)00027-0.
- [22] ZHANG M. Evaluation research of several detection methods for antioxidant *in vitro* [D]. Xi'an: Shaanxi Normal University, 2010.
张明. 几种体外抗氧化检测方法的评价研究 [D]. 西安: 陕西师范大学, 2010.
- [23] JHA D K, PANDA L, RAMAIAH S, et al. Evaluation and comparison of radical scavenging properties of solvent extracts from *Justicia adhatoda* leaf using DPPH assay [J]. *Appl Biochem Biotechnol*, 2014, 174(7): 2413–2425. doi: 10.1007/s12010-014-1164-z.
- [24] SAOSOONG K, LITTHANAPONGSATORN I, RUANGVIRIYACHAI C.

- Antioxidant activity of the extracts from *Jatropha curcas* fruit and its correlation with total phenolic content [J]. *Orient J Chem*, 2016, 32(2): 1121–1127. doi: 10.13005/ojc/320237.
- [25] XU Y, FAN M T, RAN J J, et al. Correlation between total phenolic content and antioxidant activity in apple seeds from seven cultivars [J]. *Food Sci*, 2015, 36(1): 79–83. doi: 10.7506/spkx1002-6630-201501015. 徐颖, 樊明涛, 冉军舰, 等. 不同品种苹果籽总酚含量与抗氧化相关性研究 [J]. *食品科学*, 2015, 36(1): 79–83. doi: 10.7506/spkx1002-6630-201501015.
- [26] ZHANG J J, XIE L Y, ZHAO S H, et al. Analysis of active antioxidant substances and antioxidant capacity of *Tremella fuciformis* in different areas [J]. *SW Chin J Agric Sci*, 2015, 28(1): 333–338. doi: 10.16213/j.cnki.scjas.2015.01.062. 张建军, 谢丽源, 赵树海, 等. 不同产地银耳抗氧化活性物质及抗氧化能力分析 [J]. *西南农业学报*, 2015, 28(1): 333–338. doi: 10.16213/j.cnki.scjas.2015.01.062.
- [27] FIDRIANNY I, WINDYASWARI A S, WIRASUTISNA K R. Antioxidant capacities of various leaves extract from five colors varieties of sweet potatoes tubers using ABTS, DPPH assays and correlation with total flavonoid, phenolic, carotenoid content [J]. *Res J Med Plant*, 2013, 7(3): 130–140. doi: 10.3923/rjmp.2013.130.140.
- [28] GONG Y, LIU X, HE W H, et al. Investigation into the antioxidant activity and chemical composition of alcoholic extracts from defatted marigold (*Tagetes erecta* L.) residue [J]. *Fitoterapia*, 2012, 83(3): 481–489. doi: 10.1016/j.fitote.2011.12.013.
- [29] HUANG Q, SHEN Y X, ZHANG C J, et al. Correlation of the antioxidant property with the total phenolic content and total flavonoids of different *Dendrobium officinale* extracts [J]. *Chin J Appl Environ Biol*, 2014, 20(3): 438–442. doi: 10.3724/SP.J.1145.2014.04028. 黄琴, 沈杨霞, 张成静, 等. 铁皮石斛多酚和黄酮含量及与抗氧化活性的相关性 [J]. *应用与生物环境学报*, 2014, 20(3): 438–442. doi: 10.3724/SP.J.1145.2014.04028.
- [30] ZHU X F, ZHU X D, WANG J M. Study on in vitro antioxidant, anticoagulant and α -glucosidase inhibitory activities of different extracts of *Lonicerae japonicae* from Fengqiu [J]. *Chin Pharm*, 2016, 27(34): 4804–4806. doi: 10.6039/j.issn.1001-0408.2016.34.16. 朱小峰, 朱晓娣, 王金梅. 封丘产金银花不同提取物的体外抗氧化、抗凝血及 α -葡萄糖苷酶抑制活性研究 [J]. *中国药房*, 2016, 27(34): 4804–4806. doi: 10.6039/j.issn.1001-0408.2016.34.16.
- [31] LI Y Y, LI K, WANG J X, et al. α -Glucosidase inhibitory and antioxidant activity of *Ardisia crenata* [J]. *Nat Prod Res Dev*, 2014, 24(9): 1257–1260. doi: 10.3969/j.issn.1001-6880.2012.09.024. 李园园, 李锟, 王俊霞, 等. 朱砂根抑制 α -葡萄糖苷酶与抗氧化活性研究 [J]. *天然产物研究与开发*, 2014, 24(9): 1257–1260. doi: 10.3969/j.issn.1001-6880.2012.09.024.
- [32] YAN S X. Separation and purification of flavonoid glycosides from *Myrica rubra* Sieb. et Zucc. fruit and their α -glucosidase inhibitory activities [D]. Hangzhou: Zhejiang University, 2016. 闫淑霞. 杨梅果实黄酮糖苷类物质分离纯化及其抑制 α -葡萄糖苷酶活性研究 [D]. 杭州: 浙江大学, 2016.