

4 类重庆柑橘乙醇提取物类黄酮分析及其体内外抗氧化评价

郭春霞^{1,2,3}

(1.西南大学园艺园林学院,重庆 400716;2.农业部柑橘产品质量安全风险评估实验室(重庆),重庆 400712;3.南方山地园艺学教育部重点实验室,重庆 400715)

摘要 [目的]研究4类重庆柑橘乙醇提取物的类黄酮成分及其体内外抗氧化活性。[方法]以4种重庆产区柑橘果实(梁平柚、奉节脐橙、万州大红袍红橘和潼南尤力克柠檬)为研究材料,利用 Xevo G2-S Qtof 高分辨四级杆飞行时间质谱仪中的超高效液相色谱仪(Ultra-performance liquid chromatography with a photodiode array detector, UPLC-PDA)对柑橘果皮和果肉的乙醇提取物中主要的10种类黄酮(橙皮苷、芸香柚皮苷、柚皮苷、地奥司明、橘皮素、川陈皮素、圣草次苷、甜橙黄酮、异橙黄酮和山柰酚)进行了定性和定量分析,并用3种体外抗氧化测定方法(DPPH、ABTS、FRAP)评价柑橘果实乙醇提取物的抗氧化活性。同时,以酿酒酵母 BY4742 菌株为试验模型,检测用低、中、高浓度的4类柑橘果实乙醇提取物处理后酵母菌胞内活性氧(Reactive oxygen species, ROS)含量。[结果]不同柑橘、同种柑橘不同部位的类黄酮种类和含量都存在差异。总体而言,柑橘果皮类黄酮物质的种类与总含量高于果肉,果皮提取物的内外抗氧化能力高于果肉提取物。其中,梁平柚果实中含量最高的是柚皮苷,奉节脐橙、万州大红袍红橘和潼南尤力克柠檬果实提取物中含量较高的是橙皮苷。此外,圣草次苷大量存在于潼南尤力克柠檬果实中,川陈皮素大量存在于万州大红袍红橘中,芸香柚皮苷大量存在于奉节脐橙中,山柰酚主要分布于梁平柚果皮中,地奥司明主要分布于柠檬和柚子的果肉中。[结论]奉节脐橙具有较好的营养价值。与其他3种柑橘果肉相比,奉节脐橙果肉含有最高的类黄酮含量、综合抗氧化活性和较高的活性氧清除能力。

关键词 柑橘;乙醇提取物;类黄酮;活性氧;抗氧化;重庆**中图分类号** TS207 **文献标识码** A **文章编号** 0517-6611(2018)22-0149-05**Flavonoids Composition of the Ethanol Extracts of Four Citrus in Chongqing and Their *in vitro* and *in vivo* Antioxidant Activities**GUO Chun-xia^{1,2,3} (1.College of Horticulture and Landscape Architecture, Southwest University, Chongqing 400716;2. Laboratory of Quality & Safety Risk Assessment for Citrus Products (Chongqing), Ministry of Agriculture, Chongqing 400712;3. Key Laboratory of Horticulture Science for Southern Mountainous Regions, Ministry of Education, Chongqing 400715)

Abstract [Objective] The research aimed to study the flavonoids and the antioxidative activity *in vitro* of four kinds of Chongqing citrus extracts. [Method] Four kinds of Citrus in Chongqing producing area (Liangping pomelo, Fengjie navel orange, Wanzhou Dahongpao red tangerine and Tongnan Eureka lemon) were used as materials to qualitatively and quantitatively analyze the main ten kinds of flavonoids (Hesperidin, Narirutin, Naringin, Diosmin, Tangeritin, Nobiletin, Eriocitrin, Sinensetin, Isosinensetin and Kaempferol) in their ethanol extracts by applying the ultra performance liquid chromatography coupled with quadrupole time-of-flight mass spectrometry. Three antioxidant assays (DPPH, ABTS, FRAP) were used to evaluate the antioxidant activity of ethanol extracts from the peel/flesh of the four Citrus. At the same time, the *Saccharomyces cerevisiae* BY4742 strain was used as the experimental model to detect the content of reactive oxygen species (ROS) in yeast cells after treating by the ethanol extracts of four Citrus with low, medium and high concentrations. [Result] There were differences in the types and contents of flavonoids in different Citrus and different parts of the same Citrus. Overall, the species and total content of flavonoids in Citrus pericarp were higher than that of pulp, and the pericarp extracts had higher *in vitro* antioxidant capacity than the pulp extract. Among them, Liangping pomelo had high content of naringin, while Fengjie navel orange, Wanzhou Dahongpao red tangerine and Tongnan Eureka lemon fruit extract had high content of hesperidin. In addition, a large number of eriocitrin, nobiletin and narirutin were existed in Tongnan Eureka lemon, Wanzhou Dahongpao red tangerine and Fengjie navel orange, respectively. The kaempferol was specific in the peel of Liangping pomelo, and diosmin was specially distributed in the pulp of lemons and grapefruit. [Conclusion] Compared with the other three kinds of Citrus pulp, Fengjie navel orange pulp contains the highest flavonoids content and comprehensive antioxidant activity, and high reactive oxygen scavenging capacity.

Key words Citrus; Ethanol extract; Flavonoids; Reactive oxygen species; Antioxidant activity; Chongqing

我国是柑橘属植物最重要的起源地,拥有丰富的柑橘资源^[1-2]。柑橘作为类黄酮含量丰富的水果之一,具有重要的营养、保健、医学和经济价值^[3-5]。目前已从柑橘中鉴定出超过60种类黄酮物质,主要是黄烷酮类、黄酮、黄酮醇和花色苷^[6],其具有重要的抗氧化活性^[7]。抗氧化活性是指生物活性物质能有效地清除体内多余的自由基,防止自由基对生物大分子的氧化损伤,维持细胞正常结构与功能的能力。抗氧化活性为柑橘果实的重要品质因子之一,对人体健康具有重要意义^[5]。

目前,对水果和蔬菜中各种营养和活性物质的研究已经成为国内外学者共同关注的重大科学问题^[8-9],也是园艺学

研究的热点问题和研究方向^[3,8,10]。国内外有关柑橘属植物营养和活性物质的研究已涉到资源评价(种类和含量)、活性成分的提取分离技术、新物质的鉴定、重要成分代谢合成调控、不同成分生物活性评价、生物活性的影响因素(结构与活性、遗传、环境、采后、加工)、人类重大慢性疾病(肥胖与糖尿病、心血管疾病、各种癌症)防治、不同活性物质间的互作以及生物活性物质的科学利用,如抑制微生物、食品保鲜、净化环境、纳米材料制作等各个方面^[3]。

重庆作为我国唯一的柑橘非疫区和农业部《中国柑橘优势区域规划》“长江中下游柑橘优势产业带”核心区,在全国柑橘产业发展中具有重要的作用,柑橘产业已成为加快重庆农业产业结构调整及促进该市农民增收的重要产业^[3]。而针对重庆产区柑橘果实的相关分析与活性评价还比较欠缺。为此,笔者以梁平柚、奉节脐橙、万州大红袍红橘和潼南尤力克柠檬4个重庆地区的特色柑橘品种为研究材料,探讨其果

基金项目 重庆市研究生科研创新项目(CYS16081)。**作者简介** 郭春霞(1993—),女,四川达州人,硕士研究生,研究方向:果品营养与质量安全。**鸣谢** 感谢周志敏教授对该研究试验思路及写作的指导。**收稿日期** 2018-03-06;修回日期 2018-04-09

实乙醇提取物的类黄酮成分及其体内外抗氧化活性,以期进一步为重庆柑橘资源的分析与利用提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 植物材料。该试验所用的4类柑橘果实于2016年12月采自重庆梁平、奉节、万州和潼南。在果实成熟季节,随机选择树势相对一致的3株树,采摘树冠外围中上部果实大小、成熟度相对一致、无病虫害的果实约20个。具体的样品信息如表1所示。

表1 柑橘样品材料
Table 1 Citrus sample materials

材料编号 No.	中文名 Chinese name	学名 Taxon name	部位 Plant parts used	缩写 Abbr.
1	潼南尤力克柠檬	<i>Citrus limon</i> (L.) Burm.f.	果皮	LP
			果肉	LF
2	梁平柚	<i>Citrus maxima</i> (Burm.) Merr.cv.Liangpin Yu	果皮	PP
			果肉	PF
3	奉节脐橙	<i>Citrus sinensis</i> (L.) Osbeck.	果皮	OP
			果肉	OF
4	万州大红袍红橘	<i>Citrus tangerina</i> Hort.ex Tanaka	果皮	TP
			果肉	TF

1.1.2 酵母菌株。野生型酿酒酵母菌株BY4742(ATCC®201389™)(*MATα his3Δ1 leu2Δ0 lys2Δ0 ura3Δ0*)购买于美国模式培养物集存库(American type culture collection)。

1.1.3 试剂。类黄酮标准品[橙皮苷(Hesperidin)、柚皮芸香苷(Narirutin)、柚皮苷(Naingin)、地奥司明(Diosmin)、橘皮素(Tangeretin)、川陈皮素(Nobiletin)、圣草次苷(Eriocitrin)、甜橙黄酮(Sinensetin)、异橙黄酮(Isosinensetin)、山柰酚(Kaempferol)],L-氨基酸,酵母氮源,无氨基酸(YNB),硫酸铵,蛋白胨,琼脂和酵母提取物,H2DCFDA,2,4,6-三吡啶基-s-三嗪(TPTZ),2,2'-(ABTS),1,1-二苯基-2-苦基肼基(DPPH),二甲亚砜(DMSO),以上所有试剂均购自西格玛奥德里奇公司(Sigma-Aldrich,上海)。YPD肉汤和其他化学品来自索莱宝生物技术有限公司(北京)。

1.1.4 仪器与设备。Xevo G2-S Qtof 高分辨四级杆飞行时间质谱仪(美国Waters公司);全波长扫描式多功能酶标仪(Varioskan Flash,Thermo,USA);Lambd 25型紫外/可见分光光度计(美国PerkinElmer公司);RE-52A/RE-52AA旋转蒸发器(上海亚荣);Milli-Q超纯水仪(美国Millipore公司);小型粉碎机(北京兴时利和科技发展有限公司,RT-04);高速冷冻离心机(Eppendorf,Centrifuge 5810R,Germany);超净工作台(苏州净化设备有限公司);HVE-50型全自动高压灭菌锅(江苏省科学器材有限公司);恒温培养箱(成都盛德先华科贸有限公司)。

1.2 方法

1.2.1 样品预处理。柑橘果实采摘后用干净的抹布擦去灰尘等,果实皮肉分离切成小块,用液氮速冻后磨粉,各样品混匀后放于-80℃冰箱储存待用。

1.2.2 乙醇提取物的提取与类黄酮成分分析。快速称取打成粉的果皮/果肉2g于10mL离心管中,加入7mL乙醇,混

匀后超声波提取30min,5000r/min离心10min,取上清,残渣再加7mL甲醇重复提取2次,合并上清液并定容至25mL,放于4℃冰箱中备用。测定样品时,取0.4mL提取液,加入0.6mL超纯水稀释后过0.2μm亲水性PTFE膜到2mL进样小瓶,待测。利用Q-ToF仪器分析提取液类黄酮成分的具体方法和仪器指标参考Yang等^[11]的研究。

同样的提取方法,根据用量扩大倍数,该试验所用的果皮粉为50g,果肉粉为100g。得到的提取物用旋转蒸发器挥发掉乙醇,将获得的物质分别溶解于10mL和5mL DMSO中得到高浓度提取液,将其用DMSO稀释10倍得到中浓度提取液,再取部分中浓度提取液用DMSO稀释10倍得到低浓度提取液。

1.2.3 体外抗氧化评价。

1.2.3.1 DPPH。参考Barreca等^[12]的方法。准确吸取500μL样品于3.5mL 75μmol/L的DPPH溶液中,避光反应30min后,在517nm处测吸光度。以溶于80%乙醇的Trolox溶液为标样做标准曲线,抗氧化能力用Trolox当量TE表示。

1.2.3.2 ABTS。分别吸取0.1mL提取液,加4.9mL ABTS反应10min后,以纯甲醇为对照,于734nm处测定吸光度。以溶于80%甲醇的Trolox溶液为标样做标准曲线,Trolox浓度做标准曲线,抗氧化能力用Trolox当量TE表示。具体方法参见文献[13]。

1.2.3.3 FRAP。准确吸取200μL提取液加到3.8mL TPTZ溶液中,反应30min后,以0号(200μL 80%甲醇+3.8mL TPTZ)为对照,在593nm波长下检测吸光度。以溶于80%甲醇的Trolox溶液为标样做标准曲线,抗氧化能力用Trolox当量TE表示。具体方法参见文献[14]。

1.2.4 酵母胞内活性氧ROS测定。为了定量有/无柑橘提取物生长时的酵母胞内活性氧水平,具体试验步骤参考文献[15]。在30℃下,将溶于DMSO溶液的2μL 5mmol/L的ROS探针H2DCFDA加入1mL在30℃、200r/min培养2d的酵母菌培养基中,混匀后反应1h。然后将培养基在无菌蒸馏水中洗涤2次并悬浮于1.0mL 50mmol/L Tris/Cl缓冲液(pH 7.5)中。加入20μL氯仿和10μL 0.1%(W/V)十二烷基硫酸钠(SDS),并将细胞在30℃、200r/min条件下温育30min以使染料扩散。将培养物以5000r/min离心5min,使用酶标仪在480nm激发波长和520nm发射波长下测量上清液的荧光。

1.3 数据处理和分析用Excel、GraphPad Prism 7软件进行制图、数据处理与差异显著性分析。

2 结果与分析

2.1 4类柑橘果皮果肉乙醇提取物中10种类黄酮的分布情况

2.1.1 方法验证。表2显示,依照“1.2.2”方法,10种类黄酮单体在Qtof高分辨四级杆飞行时间质谱仪中所得到的标准曲线在线性范围内都具有较好的线性关系。

2.1.2 提取物中类黄酮种类及含量分析。图1为4种柑橘果皮果肉乙醇提取物中10种类黄酮成分的分布图。由图1可知,这8个样品的类黄酮种类和含量都存在一定的差异。

表 2 各类黄酮单体的线性方程、线性范围和决定系数

Table 2 Linear equations, linear ranges and determination coefficients of flavonoids

序号 No.	类黄酮单体 Flavonoids	线性方程 Linear equation	线性范围 Linear range μg/mL	R ²
1	橙皮苷	$y=4\ 479.3x-815.38$	0.5~100.0	0.999 2
2	芸香柚皮苷	$y=3\ 603.6x+5\ 025.3$	0.5~75.0	0.996 9
3	柚皮苷	$y=5\ 271.9x+46\ 280$	1.0~100.0	0.990 8
4	地奥司明	$y=4\ 034.1x-206.83$	0.5~50.0	0.999 7
5	橘皮素	$y=36\ 227x+6\ 097.8$	0.5~50.0	0.999 8
6	川陈皮素	$y=9\ 217.1x+606.19$	0.5~50.0	0.999 6
7	圣草次苷	$y=4\ 213.3x-214.05$	1.0~150.0	0.999 6
8	甜橙黄酮	$y=16\ 530x+1\ 625.4$	0.5~50.0	0.999 9
9	异橙黄酮	$y=7\ 846x+1\ 422.5$	0.5~50.0	0.999 8
10	山柰酚	$y=4\ 234.5x-1\ 572.3$	0.5~50.0	0.998 5

为奉节脐橙果肉、潼南尤力克柠檬和万州大红袍红橘的果皮提取物,超过 2.00 μg/g (FW);最后为潼南尤力克柠檬、梁平柚和万州大红袍红橘的果肉提取物,约为 1.00 μg/g (FW)。另外,橙皮苷在柠檬、脐橙和红橘中都有较大含量,柚皮苷在梁平柚中有大量分布,圣草次苷主要分布于柠檬中,芸香柚皮苷主要分布于奉节脐橙中,山柰酚主要分布于梁平柚果皮中,地奥司明主要分布于柠檬和柚子的果肉中,而川陈皮素主要分布于脐橙和红橘皮中。

表 3 抗氧化检测方法的线性方程、线性范围和决定系数

Table 3 Linear equations, linear ranges and determination coefficients of antioxidative detection methods

方法 Method	线性方程 Linear equation	线性范围 Linear range//μmol/L	R ²
DPPH	$y=-0.002\ 9x+0.671\ 6$	0~200	0.999 7
ABTS	$y=-0.000\ 6x+0.644\ 0$	0~1\ 000	0.996 2
FRAP	$y=0.002\ 3x-0.003\ 0$	0~560	0.999 2

2.2 4 类柑橘果皮果肉乙醇提取物的抗氧化活性 DPPH、ABTS 和 FRAP 法的线性方程、线性范围和相关系数见表 3。4 种柑橘成熟果实果皮果肉乙醇提取物的 DPPH、ABTS 和 FRAP 抗氧化能力如表 4 所示,数值均转化为相应柑橘材料的鲜重。由 DPPH 自由基清除试验可知,4 种柑橘果实果皮果肉乙醇提取物 DPPH 值为 0.43~1.12 mg (TE)/g (FW);其中奉节脐橙果皮的 DPPH 自由基清除能力最强,其次为奉节脐橙果肉,最弱的为梁平柚果皮。由 ABTS 自由基清除试验可知,4 种柑橘果实果皮果肉乙醇提取物 ABTS 值为 0.86~4.29 mg (TE)/g (FW);其中奉节脐橙果皮的 ABTS 自由基清除能力最强,其次为潼南尤力克柠檬果皮,最弱的为柠檬果肉。由 FRAP 铁离子还原试验可知,4 种柑橘果实果皮果肉乙醇提取物 FRAP 为 0.77~1.93 mg (TE)/g (FW)。其中潼南尤力克柠檬果皮的 FRAP 自由基清除能力最强,其次为奉节脐橙果皮,最弱的为万州大红袍红橘果肉。

由于运用 DPPH、ABTS 和 FRAP 3 种方法检测出的 4 种柑橘果实果皮果肉乙醇提取物的抗氧化能力高低次序不一致,所以该试验利用 Seeram 等^[16]报道的一种综合抗氧化能力评价指数方法来综合评价所分析的 4 种柑橘果实果皮果肉乙醇提取物的抗氧化能力,并对它们抗氧化能力进行排序(表4)。结果表明,不同品种柑橘果皮果肉的综

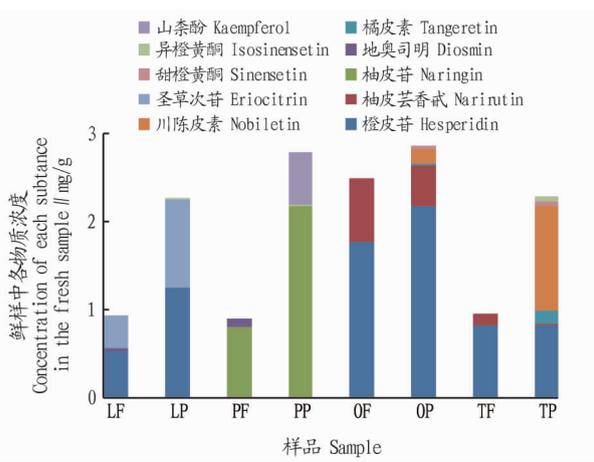


图 1 4 种柑橘果皮果肉乙醇提取物中 10 种类黄酮成分的分布

Fig.1 Distribution of 10 flavonoids in the ethanol extracts of four citrus peel and flesh

从定量出的类黄酮种类上看,红橘果皮最多,有 6 种,按含量由高到低分别为川陈皮素、橙皮苷、橘皮素、甜橙黄酮、异橙黄酮和芸香柚皮苷;其次为奉节脐橙的果皮,含有 5 种;万州大红袍红橘和奉节脐橙果肉所定量出的类黄酮种类最少,只有 2 种,为橙皮苷和芸香柚皮苷。从含量上看,梁平柚和奉节脐橙果肉提取物的类黄酮总量较高,接近 3.00 μg/g (FW);其次

表 4 4 种柑橘果皮果肉乙醇提取物的体外抗氧化活性

Table 4 Antioxidant activity in vitro of the ethanol extracts of four Citrus peel/flesh

样品 Sample	抗氧化活性 Antioxidant activity evaluation//mg (TE)/g (FW)			综合抗氧化能力评价指数 Overall antioxidant potency composite index (APCI)	排序 Rank
	DPPH	ABTS	FRAP		
LF	0.54±0.00 f	0.86±0.01 g	1.09±0.02 d	41.60	7
LP	0.74±0.00 c	3.06±0.02 b	1.93±0.03 a	79.11	2
PF	0.69±0.00 d	1.29±0.01 f	0.96±0.02 e	47.03	5
PP	0.43±0.00 h	2.06±0.01 d	0.82±0.01 f	43.15	6
OF	0.78±0.01 b	1.76±0.02 e	1.09±0.01 d	56.00	4
OP	1.12±0.01 a	4.29±0.06 a	1.72±0.02 b	96.38	1
TF	0.47±0.00 g	0.89±0.01 g	0.77±0.02 f	34.26	8
TP	0.66±0.00 e	2.80±0.01 c	1.53±0.02 c	68.07	3

注:同列不同字母为差异显著($P<0.05$)。APCI=∑(样品值/该方法最高样品值)/方法的数目

Note: Different letters in the same column stand for significant differences ($P<0.05$). APCI=(each sample value/the biggest sample value in that method)/the number of methods

抗氧化指数为41.60~96.38。奉节脐橙果皮的综合抗氧化指数最高,其次为潼南尤力克柠檬果皮,潼南尤力克柠檬果肉乙醇提取物的综合抗氧化指数最低。

2.3 4类柑橘果皮果肉乙醇提取物对酵母胞内活性氧含量的影响

2.3.1 处理酵母菌的4类柑橘果皮果肉乙醇提取液的工作浓度。将按照“1.2.2”方法所得到的提取物溶解在相应体积DMSO中的溶液定义为高浓度提取液,将高浓度提取液用DMSO稀释10倍得到中浓度提取液,再取部分中浓度提取液稀释10倍得到低浓度提取液。将高、中、低浓度分别换算为果实相应部位的鲜重。具体数据见表5。

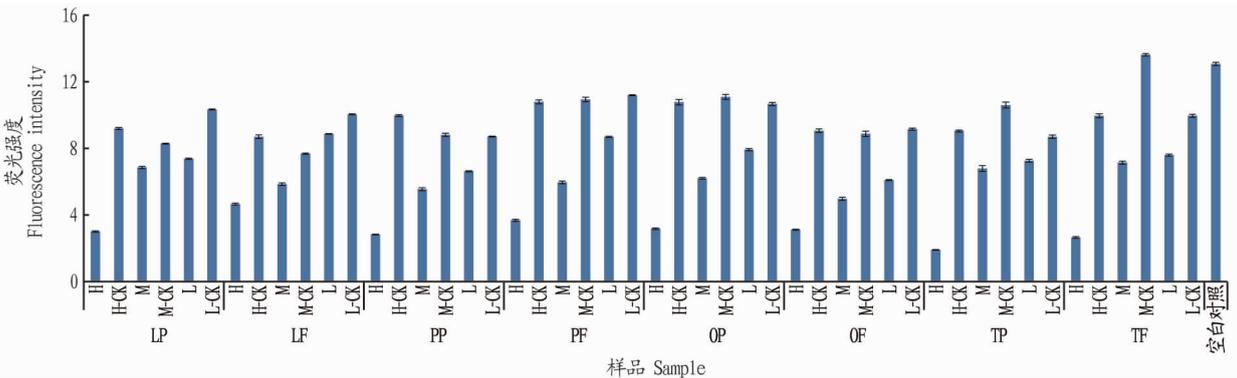
2.3.2 柑橘果实提取物对酵母胞内活性氧含量的影响。由图2可知,在该试验所设置的浓度范围内,柑橘果实提取物对酵母胞内活性氧含量的影响呈现浓度依耐性,其对胞内活性氧的抑制情况随着浓度的增加而增加。由表6可知,奉节脐橙果皮乙醇提取物的高浓度组具有最高的抑制能力,在

其处理下的荧光强度减少了7.60;其次为红橘果肉的乙醇提取物的高浓度组,荧光强度减少了7.31;潼南尤力克柠檬果皮的乙醇提取物的低浓度组具有最低的抑制能力,在其处理下的荧光强度仅仅减少了1.15。

表5 柑橘果皮果肉提取液的工作浓度

Table 5 Working concentrations of Citrus peel and flesh extracts

样品 Sample	高浓度 High concentration	中浓度 Medium concentration	低浓度 Low concentration
LP	17.86	1.79	0.18
LF	34.48	3.45	0.34
PP	20.00	2.00	0.20
PF	45.45	4.55	0.45
OP	19.23	1.92	0.19
OF	33.33	3.33	0.33
TP	21.74	2.17	0.22
TF	50.00	5.00	0.50



注:H、H-CK、M、M-CK、L、L-CK 分别代表高浓度处理组、高浓度处理组的对照组、中浓度处理组、中浓度处理组的对照组、低浓度处理组、低浓度处理组的对照组

Note: H, H-CK, M, M-CK, L, L-CK represent the high-concentration treatment group, the control group of the high-concentration treatment group, the medium-concentration treatment group, the control group of the medium-concentration treatment group, the low-concentration treatment group, the control group of low concentration treatment group

图2 4种柑橘果皮果肉乙醇提取物高中低3个浓度对酵母菌胞内活性氧的影响

Fig.2 Effects of three concentrations of ethanol extracts from four kinds of Citrus peel/flesh on intracellular reactive oxygen species in yeast

表6 高、中、低浓度柑橘果皮果肉提取液对酵母胞内活性氧减少的量
Table 6 The decrease of intracellular ROS in yeast by different concentrations of ethanol extracts of four Citrus peel/flesh

样品 Sample	高浓度 High concentration	中浓度 Medium concentration	低浓度 Low concentration
LP	6.18	1.44	1.15
LF	4.04	1.82	1.18
PP	7.14	3.26	2.09
PF	7.11	4.98	2.50
OP	7.60	4.89	2.75
OF	5.94	3.90	3.06
TP	7.14	3.80	1.44
TF	7.31	6.47	2.36

3 结论与讨论

该研究结果表明不同柑橘、同种柑橘不同部位的类黄酮种类和含量都存在差异,该结论与李秀娟^[17]的结论一致。总体而言,柑橘果皮类黄酮物质的种类与总含量高于果肉,

这与其他学者的研究结果相一致^[18-21]。其中,梁平柚果实中含量最高的是柚皮苷,奉节脐橙、万州大红袍红橘和潼南尤力克柠檬果实提取物中含量较高的是橙皮苷,这与 Arriaga 等^[22]的研究结论一致。此外,圣草次苷大量存在于潼南尤力克柠檬果实中,这与 Miyake 等^[23]和 Kawaii 等^[24]的研究结论一致;川陈皮素大量存在于万州大红袍红橘中,这与 Whiteman 等^[25]的研究结论一致;芸香柚皮苷大量存在于奉节脐橙中,这与 Albach 等^[26]的研究结论一致。

类黄酮具有较好的清除自由基和抗氧化作用^[7]。分析表4和图2可知,4种柑橘果皮果肉提取物的内外抗氧化强度存在一定的差异,但总体而言,果皮提取物的内外抗氧化能力高于果肉提取物。该结果可由“柑橘果皮类黄酮物质的种类与总含量高于果肉”^[18-21]来解释。

通过比较分析该试验的各部分结果,初步评估显示,奉节脐橙具有较好的营养价值。果肉部分为食用部分,与其他

3 种柑橘果肉相比,奉节脐橙果肉含有最高的类黄酮含量、综合抗氧化活性以及较高的活性氧清除能力。

参考文献

- [1] SWINGLE W T. The botany of Citrus and its wild relatives [M]//REUTHER W, WEBBER H J, BATCHELOR L D, et al. The citrus industry. Berkeley: University of California, 1967: 190-430.
- [2] 周开隆, 叶荫民. 中国果树志 [M]. 北京: 中国林业出版社, 2010: 1-456.
- [3] 周志钦. 柑橘果品营养学 [M]. 北京: 科学出版社, 2012: 1-308.
- [4] 耿学燕. 重庆柑橘产业竞争力研究 [D]. 雅安: 四川农业大学, 2013: 1.
- [5] ZOU Z, XI W P, HU Y, et al. Antioxidant activity of Citrus fruits [J]. Food chemistry, 2016, 196: 885-896.
- [6] HOROWITZ R M, GENTILI B. Flavonoid constituents of citrus [M]//NAGY S, SHAW P E, VELDHIJS M K, et al. Citrus science and technology. Westport, CT: Avi Publishing Company, Inc., 1977: 397-426.
- [7] CAZAROLLI L H, ZANATTA L, ALBERTON E H, et al. Flavonoids: Prospective drug candidates [J]. Mini reviews in medicinal chemistry, 2008, 8 (13): 1429-1440.
- [8] 丁晓波, 张华, 刘世尧, 等. 柑橘果品营养学研究现状 [J]. 园艺学报, 2012, 39(9): 1687-1702.
- [9] ASH C, KIBERTIS P, MARSHALL E, et al. It takes more than an apple a day [J]. Science, 2012, 337(6101): 1466-1467.
- [10] 芦琰, 周志钦. 从 28 届国际园艺学大会看果蔬园艺产品营养学研究现状 [J]. 园艺学报, 2011, 38(9): 1807-1816.
- [11] YANG Y, ZHAO X J, PAN Y, et al. Identification of the chemical compositions of Ponkan peel by ultra performance liquid chromatography coupled with quadrupole time-of-flight mass spectrometry [J]. Analytical methods, 2016, 8(4): 893-903.
- [12] BARRECA D, BELLOCCO E, CARISTI C, et al. Kumquat (*Fortunella japonica* Swingle) juice: Flavonoid distribution and antioxidant properties [J]. Food research international, 2011, 44(7): 2190-2197.
- [13] JANG H D, CHANG K S, CHANG T C, et al. Antioxidant potentials of buntan pumelo (*Citrus grandis* Osbeck) and its ethanolic and acetic fermentation products [J]. Food chemistry, 2010, 118(3): 554-558.
- [14] ALMEIDA M M B, DE SOUSA P H M, ARRIAGA A M C, et al. Bioactive compounds and antioxidant activity of fresh exotic fruits from northeastern Brazil [J]. Food research international, 2011, 44(7): 2155-2159.
- [15] WU Z Y, SONG L X, LWU Z Y, et al. A high throughput screening assay

- for determination of chronological lifespan of yeast [J]. Experimental gerontology, 2011, 46(11): 915-922.
- [16] SEERAM N P, AVIRAM M, ZHANG Y, et al. Comparison of antioxidant potency of commonly consumed polyphenol-rich beverages in the United States [J]. Journal of agricultural & food chemistry, 2008, 56(4): 1415-1422.
- [17] 李秀娟. 中国特有柑橘属植物果实主要黄酮含量及其动态变化研究 [D]. 重庆: 西南大学, 2011: 1-2.
- [18] DE MORAES BARROS H R, DE CASTRO FERREIRA T A P, GENOVESE M I. Antioxidant capacity and mineral content of pulp and peel from commercial cultivars of citrus from Brazil [J]. Food chemistry, 2012, 134(4): 1892-1898.
- [19] LEVAJ B, DRAGOVIĆ-UZELAC V, BURSAĆ KOVAČEVIĆ D, et al. Determination of flavonoids in pulp and peel of mandarin fruits [J]. Agriculturae conspectus scientificus, 2009, 74(3): 221-225.
- [20] XI W P, FANG B, ZHAO Q Y, et al. Flavonoid composition and antioxidant activities of Chinese local pummelo (*Citrus grandis* Osbeck.) varieties [J]. Food chemistry, 2014, 161(11): 230-238.
- [21] MATHEW B B, JATAWA S, TIWARI A. Phytochemical analysis of *Citrus limonum* pulp and peel [J]. International journal of pharmacy & pharmaceutical sciences, 2012, 4(2): 369-371.
- [22] ARRIAGA F J, RUMBERO A. Naringin, hesperidin and neohesperidin content in juices from thirteen *Citrus* spp. [J]. Fitoterapia, 1990, 61(1): 31-36.
- [23] MIYAKE Y, YAMAMOTO K, OSAWA T. Isolation of eriocitrin (eriodictyol 7-rutinoside) from lemon fruit (*Citrus limon* BURM.f.) and its antioxidative activity [J]. Food science & technology international Tokyo, 2009, 3(1): 84-89.
- [24] KAWAII S, TOMONO Y, KATASE E, et al. Quantitation of flavonoid constituents in citrus fruits [J]. Journal of agricultural & food chemistry, 1999, 47(9): 3565-3571.
- [25] WHITMAN S C, KUROWSKA E M, MANTHEY J A, et al. Nobiletin, a citrus flavonoid isolated from tangerines, selectively inhibits class A scavenger receptor-mediated metabolism of acetylated LDL by mouse macrophages [J]. Atherosclerosis, 2005, 178(1): 25-32.
- [26] ALBACH R F, REDMAN G H. Composition and inheritance of flavanones in citrus fruit [J]. Phytochemistry, 1969, 8(1): 127-143.

(上接第 144 页)

孢杆菌的生长抑制作用逐渐增强。同时,虽然猕猴桃提取物中所含乙醇会在微弱程度上抑制细菌生长,但效果较弱,提取物的抑菌作用主要来自于猕猴桃活性物质。

2.3 猕猴桃提取物抑制真菌活性分析 将活化的黑曲霉、酵母菌分别接种于 96 孔细胞培养板中,每孔加入不同浓度梯度的猕猴桃提取液,补齐 PDA 培养基继续培养。在不同时间点检测 2 种真菌在 OD₆₆₀ 的吸光度。结果发现,添加至 80.0 μL 提取物的样品,吸光度并未明显低于空白组,说明猕猴桃提取物在添加量为 10.0~80.0 μL,对于黑曲霉、酵母菌没有明显的抑制作用。

3 结论与讨论

对于水果和蔬菜中活性物质的研究是当代农学及生命科学研究的热点。其中金寨红猕猴桃富含各种活性物质,具有多种生理活性。该研究采用水提法和醇提法提取金寨红猕猴桃活性物质。通过添加提取物,分析其对 SH-SY5Y、HELA、MCF-7 这 3 种肿瘤细胞的形态结构、生长状态的影响;同时通过其对细菌及真菌的生长抑制,分析其抑菌效果。结果表明,猕猴桃提取物能破坏肿瘤细胞的形态结构,并抑制肿瘤细胞的生长。当添加量为 20.0 μL 时,其对 SH-SY5Y 的抑制率为 38%±6%,对 HELA 的抑制率为 25%±

5%,对 MCF-7 的抑制率为 24%±3%。同时,随着添加量的增大,猕猴桃提取物抑制大肠杆菌及枯草芽孢杆菌生长的作用逐渐增强;添加量达到 40.0 μL 时,可完全抑制 2 种细菌的生长。但其添加量对黑曲霉及酵母菌的生长则无明显抑制。该研究为金寨红猕猴桃的活性分析提供了试验基础,为其深加工及抑菌、抑菌药物的研发提供了一定的数据支持。

参考文献

- [1] 韦一飞,甄丹丹,甄汉深. 美味猕猴桃研究进展 [J]. 亚太传统医药, 2017, 13(4): 57-59.
- [2] 康大力,张洪利. 猕猴桃属植物化学成分及其生物活性研究进展 [J]. 中成药, 2008, 30(1): 116-119.
- [3] 朱振宁. 美味猕猴桃根抑菌活性及化学成分研究 [D]. 杨凌: 西北农林科技大学, 2006.
- [4] LEE Y C, KIM S H, SEO Y B, et al. Inhibitory effects of *Actinidia polygama* extract and cyclosporin A on OVA-induced eosinophilia and bronchial hyperresponsiveness in a murine model of asthma [J]. International immunopharmacology, 2006, 6(4): 703-713.
- [5] 王华,曹婧,翟丽娟,等. 猕猴桃果肉提取物抗氧化活性研究 [J]. 华北农学报, 2013, 28(2): 144-149.
- [6] 马思远,黄初升,刘红星,等. 中华猕猴桃根化学成分及药理活性的研究进展 [J]. 广西师范学院学报(自然科学版), 2016, 33(4): 57-63.
- [7] MONTEFIORI M, MCGHIE T K, COSTA G, et al. Pigments in the fruit of red-fleshed kiwifruit (*Actinidia chinensis* and *Actinidia deliciosa*) [J]. Journal of agricultural and food chemistry, 2005, 53(24): 9526-9530.
- [8] 徐春华. MTT 法检测大豆异黄酮对癌细胞的生长抑制作用 [J]. 中央民族大学学报(自然科学版), 2012, 21(1): 58-62.