

不同产地大果山楂总黄酮含量及抗氧化活性^{*}

孙博^{1,2}, 霍华珍², 蔡爱华², 谢运昌², 李典鹏^{1,2**}

(1. 桂林理工大学化学与生物工程学院, 广西桂林 541004; 2. 广西壮族自治区中国科学院广西植物研究所, 广西植物功能物质研究与利用重点实验室, 广西桂林 541006)

摘要:为测定不同产地大果山楂总黄酮含量及其体外抗氧化活性, 选用广西、广东 10 种不同产地的大果山楂鲜果, 采用回流提取法和超声提取法对大果山楂总黄酮进行提取; 对可见分光光度法进行方法学考察, 并采用 DPPH 自由基清除法和氧自由基吸收法来评价大果山楂体外抗氧化活性。结果表明, 超声提取法耗时短、效率高、操作简便, 优于回流提取法, 适用于大果山楂总黄酮的提取; 芦丁在 0.008—0.064 mg/mL 范围内线性关系良好, $R^2=0.9983$, 平均加样回收率为 99.78% (RSD=1.07%), 表明可见分光光度法适用于大果山楂总黄酮含量测定; 10 种产地大果山楂总黄酮含量存在显著差异 ($P<0.05$), 其中广西靖西市大果山楂总黄酮含量高达 38.61 mg/g, 大部分产地的大果山楂总黄酮含量为 20.91—32.63 mg/g。体外抗氧化活性结果表明, 不同产地大果山楂总黄酮提取液均具有良好的 DPPH 自由基清除能力和氧自由基吸收能力, 以广西靖西市大果山楂总黄酮提取液体外抗氧化效果最佳, 其 DPPH 自由基清除能力的半数清除浓度 $IC_{50}=(0.048\pm 0.006)$ mg/mL, 氧自由基吸收能力为 (39.35 ± 0.42) mg TE/g FW。本研究为大果山楂的原料、产品质量控制, 以及功能性食品的开发利用提供一定的理论基础。

关键词:大果山楂 不同产地 总黄酮 含量测定 抗氧化活性

中图分类号: TS201.2 文献标识码: A 文章编号: 1005-9164(2020)04-0356-06

DOI: 10.13656/j.cnki.gxkx.20200924.003

0 引言

大果山楂为蔷薇科苹果亚科苹果属植物台湾林檎 *Malus doumeri* (Bois) Chev. 和光萼林檎 *Malus leiocalyca* SZ. Huang. 的干燥成熟果实, 但实际生产中的树种均为台湾林檎^[1]。大果山楂主要分布于我

国的中部和南部地区^[2], 是广西重要的经济作物, 具有 80 多年的栽培史。在政府扶贫项目的扶持下, 广西逐步发展成为大果山楂的主产地。据 1990 年版《广西中药材标准》记载, 大果山楂果实性味甘、酸、涩、微温, 有理气健脾和消食导滞功效^[3]。现代药理研究表明大果山楂具有开胃助消化、降血脂、消炎抗

^{*} 广西科技重大专项(桂科 AA17204038), 广西自然科学基金项目(2017GXNSFAA198009)和广西植物功能物质研究与利用重点实验室主任基金项目(ZRJJ2018-2)资助。

【作者简介】

孙博(1995—), 男, 在读硕士研究生, 主要从事植物资源开发与利用研究, E-mail: S568951197@foxmail.com。

【**通信作者】

李典鹏(1968—), 男, 研究员, 博士, 主要从事植物资源开发与利用研究, E-mail: ldp@gxib.cn。

【引用本文】

孙博, 霍华珍, 蔡爱华, 等. 不同产地大果山楂总黄酮含量及抗氧化活性[J]. 广西科学, 2020, 27(4): 356-361.

SUN B, HUO H Z, CAI A H, et al. Total Flavonoids Content and Antioxidant Activity of *Malus doumeri* Fruit from Different Producing Areas [J]. Guangxi Sciences, 2020, 27(4): 356-361.

菌及抗肿瘤效果^[4]。大果山楂具有果大、气味清香、酸甜适中的特点,是制作山楂糕、山楂片、蜜饯等传统食品的原料^[5],因此大果山楂具有较强的市场生命力,值得进一步开发利用。

黄酮类化合物是一类具有 2-苯基色原酮结构的化合物,在植物体中主要以糖苷形式存在,具有多种生物活性,在抗氧化、防癌和抑制脂肪酶活性等方面具有明显作用^[6]。大果山楂因富含黄酮类物质而具有抗氧化、清除自由基和抗衰老等功效^[7-9]。目前对单一产地或品种的大果山楂化学成分和药理作用等方面的研究较多^[10],对不同产地大果山楂果实总黄酮含量及其抗氧化活性的报道较少^[7,11-12]。已发表的关于大果山楂总黄酮含量的测定方法主要为高效液相色谱法^[7]和可见分光光度法^[12]。与高效液相色谱法相比,可见分光光度法具有适用性较广、操作简单、测试时间短、精密度高和准确度较好等特点。因此,本文以 10 种产地的大果山楂鲜果为研究对象,采用可见分光光度法测定总黄酮含量,并测定其对 DP-PH 自由基的清除能力和氧自由基的吸收能力,以期为大果山楂原料和产品的质量,以及功能性食品的开发利用提供科学依据。

1 材料与方 法

1.1 材 料

2019 年 10 月采摘来自于广西、广东 10 种不同地方的成熟大果山楂鲜果,经李典鹏研究员鉴定均为台湾林檎 *Malus doumeri* (Bois) Chev. 果实,各样品编号及产地信息如下: M1, 广西天峨县; M2, 广西柳江区; M3, 广西德保县; M4, 广西靖西市; M5, 广西长洲区; M6, 广西昭平县; M7, 广西钟山县; M8, 广西平乐县; M9, 广西恭城县; M10, 广东信宜市。选择没有病虫害、无机械损伤且成熟度基本一致的大果山楂,在 4℃ 条件下贮藏备用。

1.2 试 剂

芦丁、水溶性维生素 E 类似物 Trolox(纯度 ≥ 98%, 合肥博美生物科技有限责任公司), 亚硝酸钠、硝酸铝、氢氧化钠、95% 乙醇、磷酸二氢钾、磷酸氢二钾(分析纯, 西陇化工股份有限公司), 1,1-二苯基-2-三硝基苯肼(DPPH)(纯度 ≥ 97%, 福州飞净生物科技有限公司), 2,2'-偶氮二异丁基脒二盐酸(ABAP, 分析纯, 济南荣正化工有限公司), 荧光素钠(分析纯, 西安百萤生物科技有限公司)。试验用水为实验室自制超纯水。

1.3 仪 器 设 备

电子天平(沈阳龙腾电子有限公司), T6 紫外-可见分光光度计(北京普析通用仪器有限公司), XS205 分析天平(梅特勒-托利多仪器有限公司), RIOS 8 超纯水系统(美国 Millipore 公司), 100—1 000 μL Finn-pipette F1 移液器(美国 Thermo Fisher 公司), 高速冷冻离心机(德国 Eppendorf 公司), LHS 智能恒温恒湿箱(上海一恒科学仪器有限公司), HH-S4 恒温水浴锅(上海况胜实业发展有限公司), N1100 旋转蒸发仪(上海艾朗仪器有限公司), 超声波清洗机(深圳福洋科技集团有限公司), Tecan Spark 多功能酶标仪(上海帝肯贸易有限公司)。

1.4 方 法

1.4.1 大果山楂总黄酮的提取

参考大果山楂鲜果总黄酮回流提取法^[11]和超声提取法^[13], 稍作改进, 使用两种方法提取大果山楂总黄酮。

回流提取法: 以广西天峨县大果山楂为原料, 称取 10 g 鲜果匀浆, 在提取溶剂为 70% 乙醇、提取温度 70℃、料液比 1: 18 (g/mL) 的条件下, 回流提取 2 h, 抽滤, 并重复提取 3 次, 滤液合并减压浓缩后用 70% 乙醇定容至 100 mL, 平行试验 3 次。

超声提取法: 以广西天峨县大果山楂为原料, 称取 10 g 鲜果匀浆, 在提取溶剂为 70% 乙醇、料液比 1: 18 (g/mL)、超声功率 300 W 的条件下, 超声提取 40 min, 抽滤, 重复提取 3 次, 滤液合并减压浓缩后用 70% 乙醇定容至 100 mL, 平行试验 3 次。

1.4.2 溶 液 的 制 备

(1) 对照品溶液的制备: 精密称取 5.00 mg 芦丁对照品, 加甲醇定容至 25 mL 容量瓶中, 得 0.20 mg/mL 芦丁对照品溶液。

(2) 供试品溶液的制备: 随机取各产地大果山楂果实匀浆 10 g, 在提取溶剂为 70% 乙醇、料液比 1: 18 (g/mL)、超声功率 300 W 的条件下, 超声提取 40 min, 抽滤, 重复提取 3 次, 滤液合并减压浓缩后用 70% 乙醇定容至 100 mL。

1.4.3 可见分光光度法方法学考察

以芦丁为对照品, 采用可见分光光度法对大果山楂总黄酮的含量进行测定。

(1) 溶液显色方法

参照文献^[14]进行。取适量 1.4.2 节中的待测供试品溶液置于 25 mL 容量瓶中, 加入 50% 乙醇至 10 mL, 接着再加入 1 mL 5% 亚硝酸钠, 混匀, 放置 6

min; 然后加入 1 mL 10% 硝酸铝溶液, 摇匀, 放置 6 min; 再加入 10 mL 4% 氢氧化钠溶液, 最后加入 50% 乙醇定容至刻度, 摇匀, 放置 15 min 后在 510 nm 波长处测定吸光度。

(2) 线性关系

分别取芦丁标准品溶液 0.0, 1.0, 2.0, 4.0, 6.0, 8.0 mL 置于 25 mL 容量瓶中, 按照 1.4.3 节步骤(1)进行显色, 以相应试剂为空白, 在 510 nm 波长处测定吸光度, 以反应体系芦丁含量(mg/mL)为横坐标, 吸光度为纵坐标绘制标准曲线。

(3) 精密度试验

精密吸取 1.4.2 节制备的供试品溶液 0.3 mL, 置于 25 mL 容量瓶中, 按照 1.4.3 节步骤(1)进行显色, 显色后平行 6 次测定吸光度。

(4) 稳定性试验

精密吸取 1.4.2 节制备的供试品溶液 0.3 mL, 置于 25 mL 容量瓶中, 按照 1.4.3 节步骤(1)进行显色, 显色后于 0, 15, 30, 45, 60 min 时测定吸光度。

(5) 重复性试验

精密称取同一个产地大果山楂果实匀浆 6 份, 按 1.4.2 节方法进行供试品溶液的制备, 取 0.3 mL 该溶液, 置于 25 mL 容量瓶中, 按照 1.4.3 节步骤(1)进行显色, 显色后测定各溶液的吸光度。

(6) 大果山楂总黄酮含量测定

精密吸取 0.3 mL 1.4.1 节提取的总黄酮提取液和 1.4.2 节制备的供试品溶液, 参照 1.4.3 节步骤(1)进行显色, 在 510 nm 波长处测定吸光度并计算其总黄酮含量, 每个样品平行测定 6 次($n=6$)。总黄酮(mg/g) = 大果山楂提取液中总黄酮含量(mg) / 大果山楂鲜果取样质量(g)。

(7) 加样回收率试验

取总黄酮含量已知的大果山楂匀浆, 加入一定量的芦丁对照品, 按 1.4.2 节方法制备样品溶液 6 份, 按 1.4.3 节步骤(1)显色后测定吸光度。

1.4.4 大果山楂黄酮提取液体外抗氧化活性测定

(1) DPPH 自由基清除能力的测定

参考文献[15-17]方法, 稍作修改。分别精密量取 2.0 mL 1.4.2 节供试品溶液稀释后所得的各浓度黄酮溶液(0.02, 0.04, 0.06, 0.08, 0.10, 0.12 mg/mL), 与 2.0 mL 0.02 mmol/L DPPH 溶液混合摇匀, 于室温下静置反应 20 min, 作为样品溶液。用 95% 乙醇调零, 样品放入吸收池中, 在 517 nm 处测定吸光度(A_1)。使用相同体积的 95% 乙醇代替 DP-

PH 溶液(为对照组), 按上述条件混合和静置反应, 测定其在 517 nm 处的吸光度(A_0)。空白组为 2 mL 95% 乙醇 + 2 mL DPPH 溶液, 按上述方法测定其在 517 nm 处的吸光度(A_2), 以水溶性维生素 E 类似物 Trolox 为阳性对照物(浓度为 0.02, 0.04, 0.06, 0.08, 0.10, 0.12 mg/mL), 平行测定 3 次, 计算 DPPH 清除率, $\text{DPPH 清除率}(\%) = [1 - (A_1 - A_2) / A_0] \times 100\%$ 。不同产地大果山楂黄酮提取液对 DPPH 的清除能力, 用半数清除浓度 IC_{50} 表示。根据 DPPH 清除率, 运用 SPSS 19.0 进行 Probit 回归分析, 计算 10 种产地大果山楂总黄酮提取液对 DPPH 自由基的半数清除浓度(IC_{50}), IC_{50} 值越小说明清除自由基的能力越强^[18]。

(2) 氧自由基吸收能力(ORAC)的测定

参考文献[7]进行 ORAC 的测定。标准品 Trolox 需配制成系列浓度(6.25, 12.50, 25, 50 $\mu\text{mol/L}$)的溶液。配制 75 mmol/L pH=7.4 磷酸盐缓冲溶液, 现配现用。待测样品用磷酸盐缓冲溶液稀释。具体操作步骤如下: 在 96 孔黑色底部透明微孔板相应的微孔中分别加入 20 μL 磷酸盐缓冲溶液(空白对照)或抗氧化物质(Trolox 或待测样品), 37 $^{\circ}\text{C}$ 下暗处反应 10 min; 然后加入 200 μL 荧光工作液(荧光素钠), 在 37 $^{\circ}\text{C}$ 下反应 20 min; 随后迅速在各个微孔中加入 20 μL 自由基诱发剂 ABAP 溶液, 在多功能酶标仪中连续测定其荧光强度的变化(37 $^{\circ}\text{C}$, 每 5 min 测定一次, 总时长为 150 min, 激发波长为 485 nm, 发射波长为 538 nm)。以 Trolox 为标准品绘制标准曲线, 所有样品都进行 3 次平行试验。根据抗氧化剂作用下的荧光熄灭曲线下面积(AUC)与空白对照孔(无抗氧化剂)自由基的 AUC, 计算抗氧化剂的荧光保护面积, 即荧光熄灭曲线的延迟部分面积(Net AUC)。Net AUC 的计算公式为 $\text{Net AUC} = \text{AUC}_{\text{sample}} - \text{AUC}_{\text{blank}}$ 。根据 Trolox 浓度和 Net AUC 之间的回归方程来计算 ORAC 值, 并表示为每克样品(鲜质量)的 Trolox 当量[mg Trolox equivalents (TE)/g FW]。ORAC 值越大, 说明大果山楂黄酮提取液对氧自由基的吸收能力越强, 其抗氧化活性越高^[7]。

1.5 数据处理

每个试验平行 3—6 次, 试验结果用平均值 \pm 标准差($\bar{x} \pm \text{SD}$)表示。采用 Excel 2019 软件进行数据处理, 应用 SPSS 19.0 进行 Probit 回归分析, 计算自由基的半数清除浓度 IC_{50} 值, Duncan 法检验各数据

差异显著性, $P < 0.05$ 表示差异显著。画图 and 面积积分用 Sigmaplot 12.5 (Sustat Software, Inc., Chicago, IL), 浓度效应计算用 Calcsyn 2.0 (Biosoft, Cambridge, U. K.)。

2 结果与分析

2.1 方法学考察结果

线性关系试验中芦丁浓度与吸光值间的回归方程为 $y = 11.184x + 0.0085$, 相关系数 $R^2 = 0.9983$; 芦丁质量浓度在 $0.008\text{--}0.064\text{ mg/mL}$ 范围内线性关系良好。重复性试验中吸光度的相对标准偏差 RSD 为 1.81% , 表明该方法重复性良好; 精密度试验中吸光度的相对标准偏差 RSD 为 1.46% , 表明仪器精密度良好; 稳定性试验中吸光度的相对标准偏差 RSD 为 2.14% , 表明总黄酮溶液在显色后 60 min 内具有良好的稳定性; 加样回收率试验中平均加样回收率为 99.78% , 相对标准偏差 RSD 为 1.07% , 表明该方法适合大果山楂总黄酮含量的检测。

2.2 大果山楂总黄酮提取方法的确定

将回流提取和超声提取的天峨县大果山楂进行总黄酮含量测定, 回流提取法提取大果山楂总黄酮的平均得率为 2.18% , 超声提取法提取大果山楂总黄酮的平均得率为 2.16% , 结果表明两种方法的得率差异甚微。超声波具有空化、机械、热效应、乳化、扩散等效应, 能使植物细胞壁破裂, 加速大果山楂有效成分的释放、溶解及扩散; 且提取温度低、时间短、提取效率高, 因此选择超声提取法作为大果山楂总黄酮的提取方法。

2.3 大果山楂总黄酮含量

如表 1 所示, 10 种不同产地的大果山楂总黄酮含量为 $16.87\text{--}38.61\text{ mg/g}$, 其中广西靖西市的大果山楂总黄酮含量最高为 $(38.61 \pm 0.25)\text{ mg/g}$, 约为广西德保县大果山楂总黄酮含量 $(16.87 \pm 0.22)\text{ mg/g}$ 的 2.3 倍。10 种产地大果山楂总黄酮含量由高到低依次为 M4(广西靖西市) > M10(广东信宜市) > M8(广西平乐县) > M6(广西昭平县) > M9(广西恭城县) > M7(广西钟山县) > M1(广西天峨县) > M5(广西长洲区) > M2(广西柳江区) > M3(广西德保县)。统计分析表明不同产地大果山楂总黄酮含量存在显著差异 ($P < 0.05$)。不同产地大果山楂总黄酮含量差异显著的原因可能与采收时间、栽培方式、品种和产地等因素有关。由于取样的局限性, 本实验所收集的品种并不能完全代表各产地的质量差

异, 如深入研究则应进一步对其他成分或品种产地进行分析。

表 1 10 种不同产地大果山楂样品的总黄酮含量 ($n = 6$)

Table 1 Contents of total flavonoids in 10 *Malus doumeri* fruit samples from different producing areas ($n = 6$)

样品 Sample	平均含量 Average content (mg/g)	RSD (%)
M1	21.57 ± 0.28^d	1.31
M2	17.87 ± 0.31^b	1.72
M3	16.87 ± 0.22^a	1.28
M4	38.61 ± 0.25^i	0.64
M5	20.91 ± 0.22^c	1.03
M6	24.76 ± 0.20^f	0.81
M7	22.81 ± 0.20^e	0.89
M8	25.40 ± 0.34^g	1.33
M9	22.99 ± 0.25^e	1.07
M10	32.63 ± 0.24^h	0.72

注: 同列不同字母表示不同产地大果山楂果实中总黄酮平均含量存在显著差异 ($P < 0.05$)

Note: Different letters in the same column indicate that the average content of total flavonoids in *Malus doumeri* fruits from different producing areas is significantly different ($P < 0.05$)

2.4 大果山楂总黄酮提取液体外抗氧化活性

2.4.1 DPPH 自由基清除能力

实验表明 DPPH 自由基清除率随着总黄酮浓度增加而增大, 在一定范围内具有明显的量效关系, 而当浓度超过 0.1 mg/mL 后量效关系体现不明显, 这与黄欣欣^[19]的研究结果一致。如表 2 所示, 10 种产地大果山楂总黄酮提取液对 DPPH 自由基均有较好的清除能力。广西靖西市大果山楂总黄酮提取液对 DPPH 自由基的清除能力是 10 个样品中最强的, 且略强于阳性对照 Trolox, 其半数清除浓度 $IC_{50} = (0.048 \pm 0.006)\text{ mg/mL}$, 其次为广东信宜市大果山楂 $IC_{50} = (0.055 \pm 0.004)\text{ mg/mL}$, 清除能力最弱的是广西天峨县大果山楂 $IC_{50} = (0.059 \pm 0.007)\text{ mg/mL}$ 。各大果山楂总黄酮提取液对 DPPH 自由基清除能力 (IC_{50}) 无显著差异 ($P > 0.05$)。

2.4.2 氧自由基吸收能力 (ORAC)

从表 3 可知, 不同产地大果山楂总黄酮提取液氧自由基吸收能力最强的是广西靖西市 (39.35 ± 0.42) mg TE/g FW , 其次是广东信宜市 (33.68 ± 0.54) mg TE/g FW , 最弱的是广西天峨县 (24.06 ± 0.74) mg TE/g FW , 而且 10 种产地大果山楂总黄酮提取液的 ORAC 值存在显著差异 ($P < 0.05$)。另外,

表 2 10 种不同产地大果山楂黄酮提取液对 DPPH 自由基的清除能力 ($n=3$)

Table 2 Scavenging activity of 10 kinds of *Malus doumeri* flavonoids from different producing areas on DPPH free radicals ($n=3$)

样品 Sample	半数清除浓度 IC ₅₀ (mg/mL)
Trolox	0.049±0.003
M1	0.059±0.007
M2	0.057±0.005
M3	0.055±0.004
M4	0.048±0.006
M5	0.053±0.003
M6	0.056±0.005
M7	0.054±0.005
M8	0.055±0.008
M9	0.054±0.006
M10	0.051±0.004

表 3 10 种不同产地大果山楂黄酮提取液氧自由基吸收能力 ($n=3$)

Table 3 Absorption capacity of liquid oxygen free radicals extracted from 10 kinds of *Malus doumeri* flavonoids from different producing areas ($n=3$)

样品 Sample	氧自由基吸收能力 ORAC (mg TE/g FW)
M1	24.06±0.74 ^a
M2	24.26±0.81 ^b
M3	24.67±0.63 ^c
M4	39.35±0.42 ^j
M5	27.86±0.84 ^d
M6	30.59±0.49 ^e
M7	30.27±0.64 ^f
M8	31.42±0.53 ^h
M9	29.82±0.86 ^e
M10	33.68±0.54 ⁱ

注: 同列不同字母表示不同产地大果山楂果实 ORAC 平均值存在显著差异 ($P<0.05$)

Note: Different letters in the same column indicate that average ORAC values of *Malus doumeri* fruits from different producing areas is significantly different ($P<0.05$)

ORAC 值与大果山楂总黄酮含量趋势并不完全一致, 一方面可能是各产地大果山楂果实含有的黄酮类化合物组成和含量不同导致的; 另一方面在大果山楂总黄酮提取过程中不可避免地会有其他酚类^[7]或维生素^[9]等成分浸出, 如绿原酸^[20]、肉桂酸^[21]和维生素 C^[22]等, 这些成分组成和含量的差异也会影响总黄酮提取液的抗氧化活性。因此要全面掌握大果山楂果实抗氧化的物质基础, 需对大果山楂果实中各类组成成分及含量进行深入分析。

3 结论

超声提取法提取大果山楂总黄酮的效果优于回流提取法, 经方法学考察结果表明可见分光光度法适用于大果山楂总黄酮含量的测定。10 种产地大果山楂总黄酮含量存在显著差异 ($P<0.05$), 其中广西靖西市大果山楂总黄酮含量最高。另外, 10 种产地大果山楂总黄酮均具有良好的 DPPH 自由基清除能力和氧自由基吸收能力, 因此可作为抗氧化剂的重要来源, 但其具体的抗氧化活性成分还不明确, 有待进一步探究。后续可考虑利用 HPLC 指纹图谱对大果山楂黄酮类及其他抗氧化物质进行全面的定性和定量分析, 以期为大果山楂的原料和产品质量控制及食品、保健品等领域的开发利用提供更为科学的理论支撑。

参考文献

- [1] 曾勇豪, 唐初明, 周云涛. 广西风味小野果涩梨的特点及开发利用价值研究[J]. 林业勘查设计, 2014(2): 85-88.
- [2] 黄燮才. 中药山楂原植物的研究[J]. 广西植物, 1989, 9(4): 303-310.
- [3] 广西壮族自治区卫生厅. 广西中药材标准: 1990 年版[M]. 南宁: 广西科学技术出版社, 1992.
- [4] 潘莹, 张林丽. 大果山楂的研究进展[J]. 时珍国医国药, 2007, 18(12): 2972-2973.
- [5] 李开祥, 邓绍林, 廖健明, 等. 靖西大果山楂生产及加工现状的调查研究[J]. 广西林业科学, 2003, 32(4): 214-216.
- [6] 李志明. 金银花和叶中黄酮类化合物提取工艺条件的探讨[J]. 喀什师范学院学报, 2006, 27(6): 51-54.
- [7] 温玲蓉. 北山楂和大果山楂的活性成分及其抗氧化与抗增殖活性研究[D]. 广州: 华南理工大学, 2016.
- [8] 魏家红, 刘抒影, 楚红英, 等. 大蒜中总黄酮的提取条件优化及其抗氧化活性研究[J]. 中国食品添加剂, 2020, 31(2): 75-81.
- [9] 陈秋虹, 黄岛平, 蒋艳芳. 大果山楂营养成分与功能成分分析及评价[J]. 轻工科技, 2016, 32(11): 3-4.
- [10] 赵帅, 郝二伟, 杜正彩, 等. 广山楂的化学成分、药理作用与质量控制研究进展[J]. 中成药, 2020, 42(1): 169-175.
- [11] 黄欣欣, 叶志青, 郭兵兵, 等. 响应面法优化回流提取大果山楂总黄酮工艺[J]. 南方农业学报, 2015, 46(6): 1089-1095.
- [12] 付晓, 戴明, 江海燕, 等. 广西不同产地广山楂中总黄酮含量测定[J]. 亚太传统医药, 2016, 12(7): 32-34.
- [13] 覃学谦, 陈洪涛, 刘源焕, 等. 广山楂总黄酮超声提取工艺条件研究[J]. 广西中医药大学学报, 2014, 17(1): 68-70.
- [14] 陈依春, 李捷, 姚欢, 等. 紫外分光光度法测定市售檀香

- 中总黄酮含量[J]. 中国民族民间医药, 2020, 29(1): 52-54.
- [15] 李燕, 赵天明, 黄丽荣, 等. 响应面法优化响铃草总黄酮提取工艺及体外抗氧化活性研究[J]. 食品研究与开发, 2019, 40(17): 79-84.
- [16] KUMARAN A, KARUNAKARAN R J. Antioxidant and free radical scavenging activity of anaqueous extract of *Coleus aromaticus* [J]. Food Chemistry, 2006, 97(1): 109-114.
- [17] 上海日用化学品行业协会团体标准. 化妆品-自由基(DPPH)清除实验方法: T/SHRH 006-2018 [S]. 上海: 上海日用化学品行业协会, 2018.
- [18] 吕平, 潘思轶. 陈皮与普洱茶总黄酮的协同抗氧化作用研究[J]. 食品研究与开发, 2020, 41(3): 59-64.
- [19] 黄欣欣. 大果山楂黄酮类物质的提取及其抗氧化性和降血脂功能研究[D]. 南宁: 广西大学, 2015.
- [20] 肖作为, 谢梦洲, 甘龙, 等. 山银花、金银花中绿原酸和总黄酮含量及抗氧化活性测定[J]. 中草药, 2019, 50(1): 210-216.
- [21] 单旺, 陈永生, 梁晓为, 等. 羟基肉桂酸衍生物的合成及其抗氧化构效关系[J]. 食品工业科技, 2017, 38(12): 287-291, 332.
- [22] 何彩梅, 何忠伟, 莫乾强, 等. 富硒大果山楂果实中抗氧化成分及活性的研究[J]. 食品工业, 2017, 38(11): 174-176.

Total Flavonoids Content and Antioxidant Activity of *Malus doumeri* Fruit from Different Producing Areas

SUN Bo^{1,2}, HUO Huazhen², CAI Aihua², XIE Yunchang², LI Dianpeng^{1,2}

(1. College of Chemistry and Bioengineering, Guilin University of Technology, Guilin, Guangxi, 541004, China; 2. Guangxi Key Laboratory of Functional Phytochemicals Research and Utilization, Guangxi Institute of Botany, Guangxi Zhuang Autonomous Region and Chinese Academy of Sciences, Guilin, Guangxi, 541006, China)

Abstract: In order to determine the total flavonoids content and in vitro antioxidant activity of *Malus doumeri* fruits from different producing areas, the fresh fruits of *M. doumeri* from 10 different places in Guangxi and Guangdong were selected, and the total flavonoids extracted by reflux extraction method and ultrasonic extraction method. Methodological investigation was given to visible spectrophotometry. DPPH free radical and oxygen free radical absorption method were adopted to evaluate the in vitro antioxidant activity of *M. doumeri* fruits. The results showed that compared with the reflux extraction, the ultrasonic extraction was shorter in time, higher in efficiency, and simpler in operation. It was suitable for the extraction of total flavonoids in *M. doumeri* fruits. Within the range from 0.008 mg/mL to 0.064 mg/mL, the rutin had a good linear relationship, its R^2 was 0.998 3, and the average recovery rate was 99.78% (RSD=1.07%), which showed that the visible spectrophotometry was suitable for the determination of total flavonoids in *M. doumeri* fruit. There were significant differences in the total flavonoids of *M. doumeri* fruit in 10 producing areas ($P < 0.05$). Among them, the total flavonoids content of *M. doumeri* fruit in Jingxi City of Guangxi was as high as 38.61 mg/g. And in most places the total flavonoids of *M. doumeri* fruit was between 20.91 mg/g and 32.63 mg/g. The in vitro antioxidant activity results showed that the total flavonoid extract solution of *M. doumeri* fruits from different production places had good DPPH free radical scavenging ability and oxygen free radical absorption ability. The total flavonoids extract solution of *M. doumeri* fruits from Jingxi City of Guangxi had the best in vitro antioxidant effect. Its DPPH free radical scavenging ability was as follows: $IC_{50} = (0.048 \pm 0.006)$ mg/mL, and the absorption capacity of oxygen free radicals was as follows: (39.35 ± 0.42) mg TE/g FW. This study can provide a certain theoretical basis for the quality control of raw materials and products of *M. doumeri* fruit and the development and utilization of functional food.

Key words: *Malus doumeri* fruit, different producing areas, total flavonoids, content test, antioxidant activity

责任编辑: 米慧芝