

DOI:10.6041/j.issn.1000-1298.2012.10.024

丁香非挥发性成分抗氧化活性*

沈勇根¹ 蔡志鹏¹ 江慎华² 上官新晨¹ 徐明生¹ 廖亮²

(1. 江西农业大学食品科学与工程学院, 南昌 330045; 2. 九江学院生命科学学院, 九江 332000)

【摘要】 对丁香非挥发性成分的抗氧化活性及采用酸水解处理对丁香有效部位——乙酸乙酯部位抗氧化活性的影响进行了研究。结果表明,丁香非挥发性成分各极性部位(乙酸乙酯、正丁醇和水)中,乙酸乙酯部位抗氧化活性(总抗氧化能力、超氧阴离子自由基清除能力、羟自由基清除能力和抑制脂质过氧化能力)最强,为有效部位。相关性分析表明,抗氧化活性与总多酚和总黄酮含量显著相关。薄层色谱表明丁香有效部位主要含有8种成分。有效部位酸水解后可显著提高其总抗氧化能力、羟自由基清除能力和超氧阴离子自由基清除能力。

关键词: 丁香 非挥发性成分 抗氧化 酸水解

中图分类号: S38 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-1298(2012)10-0131-07

Antioxidant Activity of Non-volatiles from Clove

Shen Yonggen¹ Cai Zhipeng¹ Jiang Shenhua² Shangguan Xinchun¹ Xu Mingsheng¹ Liao Liang²

(1. College of Food Science and Engineering, Jiangxi Agricultural University, Nanchang 330045, China

2. College of Life Science, Jiujiang University, Jiujiang 332000, China)

Abstract

The non-volatiles from clove were fractionated by liquid-liquid partition by using ethyl acetate, n-butanol and water, respectively. The antioxidant activity of three different fractions was evaluated by using different antioxidant tests, including total antioxidant activity, superoxide radical, hydroxyl radicals scavenging activities and inhibition of peroxidation of linoleic acid. In the above four assays, ethyl acetate fraction exhibited more antioxidant potency than other fractions and was effective fraction. Correlation analysis indicated that there was a linear relationship between antioxidant activity and the content of phenolic compounds. Through the use of thin-layer chromatography (TLC), there were eight major constituents in the effective fraction. Furthermore, the effective fraction was found to be more effective by acid hydrolysis in total antioxidant activity, hydroxyl radicals and superoxide radical scavenging activity.

Key words Clove, Non-volatiles, Antioxidant activity, Acid hydrolysis

引言

人工合成的抗氧化剂由于其潜在的健康风险和毒性,使得寻找天然抗氧化剂成为国内、外食品等相关领域的研究热点^[1]。

目前,国内外对丁香已有的研究主要集中在其挥发油部分,如挥发油的药理作用、化学成分及其在食品、化妆品和医药等领域的应用等^[2-5]。但是,对

丁香非挥发性成分的研究较少,仅对其鞣质、固醇、三萜和黄酮类化合物等进行了一些报道^[6]。

研究表明植物抗氧化功能的主要物质基础为黄酮和多酚类化合物^[7]。天然黄酮类化合物大多数以苷类形式存在,而黄酮苷元比糖苷更容易被人体吸收并且具有更强的生理活性^[8]。因此,本文运用系统溶剂法将丁香非挥发性成分划分为乙酸乙酯、正丁醇和水相3个部位,采用4种方法对丁香非挥

收稿日期: 2012-01-04 修回日期: 2012-02-11

* 国家自然科学基金资助项目(31060050)、中国博士后科学基金资助项目(20100481099)、江西省教育厅科学基金资助项目(GJJ12620)和江苏省农产品物理加工重点实验室开放课题资助项目(JAPP2010-5)

作者简介: 沈勇根,副教授,主要从事食品科学与工程研究,E-mail: foodsp@163.com

通讯作者: 江慎华,副教授,博士,主要从事天然产物研究与开发、食品营养学和功能性食品研究,E-mail: jiangshenhua66@163.com

发性成分的抗氧化活性进行评价,并采用薄层色谱对其抗氧化活性的主要成分进行初步分析。并采用酸水解法对丁香非挥发性成分有效部位进行处理,以达到继续提高其抗氧化活性的目的。

1 材料与方 法

1.1 化学试剂

丁香,产地云南,购自江西省黄庆仁棧华氏大药房。氮蓝四唑(nitro blue tetrazolium,简称 NBT)购自 Sigma 公司,其余化学试剂均为国产分析纯或优级纯。

1.2 主要仪器设备

TLC SCANNER 3 型薄层扫描仪,瑞士 CAMAG 公司;UNIC 7200 型可见分光光度计,尤尼柯(上海)

公司。

1.3 试验方法

1.3.1 丁香非挥发性成分抗氧化活性测定

采用 Jiang 等方法,略作修改^[9]。称取 200 g 丁香粉碎、过 40 目筛,采用甲醇以料液比 0.1 g/mL、提取温度 60℃、水浴振荡提取 3 次,提取液合并、浓缩。取 1/10 体积浓缩液冻干获得丁香粗提物,剩余的浓缩液采用正己烷脱除丁香精油,之后加入适量的蒸馏水超声辅助溶解至悬浊液后分别采用极性逐渐增大的乙酸乙酯和正丁醇依次萃取,最后剩余水相部分。3 个不同样品分别浓缩、冻干获得干粉,用甲醇配制成适当浓度置冰箱中备用,处理流程如图 1 所示。所有试验均重复 3 次,试验结果以平均值 ± 标准偏差表示。

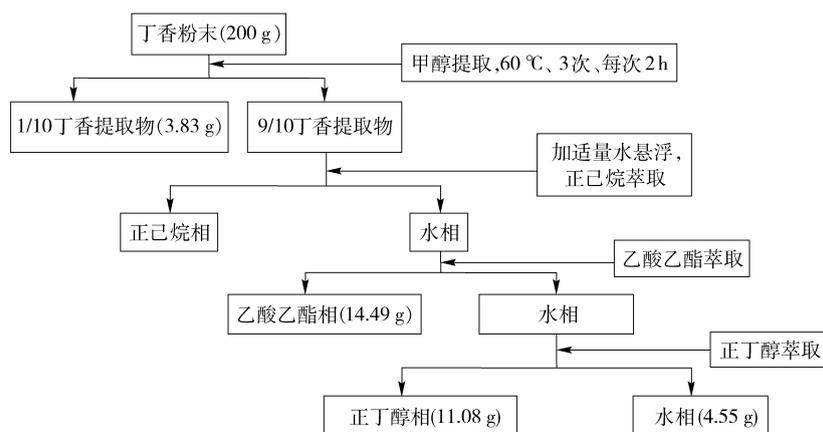


图 1 丁香非挥发性成分梯度萃取流程图

Fig.1 Fraction scheme of clove for different polarities

(1) 总多酚、总黄酮含量

采用 Abu Bakar 等方法测定样品总多酚含量,略有修改^[10]。将 Folin 试剂取出适当体积稀释到 10%,取该稀释液 2.25 mL 加入到 0.1 mL 样液中,室温静置 5 min,然后加入 2.25 mL 质量分数为 6% 碳酸钠溶液,振荡均匀,室温静置 90 min 后于波长 765 nm 处比色测定。将食子酸配成质量浓度为 25、50、100、150、200、250 μg/mL 6 个样液作标准曲线。

采用 Abu Bakar 等方法测定样品总黄酮含量^[10]。加 2.25 mL 蒸馏水于试管中,取 0.5 mL 样液置于试管中,加入 0.15 mL 质量分数为 5% NaNO₂,静置 6 min 后加入 0.3 mL 质量分数为 10% AlCl₃·6H₂O,静置 5 min 后加入 1.0 mL、1 mol/L NaOH,振荡均匀后于波长 510 nm 处比色测定。将芦丁配成质量浓度为 25、50、100、200、400、600、800、1 000 μg/mL 8 个样液作标准曲线。

(2) 总抗氧化能力

采用 Pan 等方法,略作修改^[11]。配制硫酸、磷

酸钠、钼酸铵混合试剂,各试剂终浓度分别为 600、28 和 4 mmol/L。取 4 mL 混合液,加入 0.4 mL 样液(200 μg/mL),摇匀后于 95℃ 水浴加热 90 min,取出冷却后以甲醇代替样液为空白于波长 695 nm 处测吸光度。

(3) 超氧阴离子自由基清除能力

采用 Duan 等方法^[12]。取 2.7 mL 蛋氨酸(14.5 mmol/L),依次加入 0.1 mL EDTA(3.0 mmol/L),0.1 mL NBT(1.89 mmol/L),1.0 mL 样液(200 μg/mL),0.1 mL 核黄素(39 μmol/L),2 个 20 W 荧光灯照射 20 min,于波长 560 nm 处测定吸光度。以甲醇代替样品作空白对照,计算超氧阴离子自由基清除率。其中蛋氨酸、EDTA、NBT、核黄素由 50 mmol/L 磷酸盐缓冲液(pH 值 7.8)配制。超氧阴离子自由基清除率计算公式为

$$Y_1 = \frac{A_{0,560} - A_{560}}{A_{0,560}} \times 100\%$$

式中 $A_{0,560}$ ——波长 560 nm 下空白样品的吸光度
 A_{560} ——波长 560 nm 样品的吸光度

(4) 羟自由基清除能力

采用 Yang 和顾海峰等方法,略有修改^[13-14]。在反应体系中依次加入 0.5 mL FeSO₄ (2 mmol/L)、1.0 mL 水杨酸 (6 mmol/L) 和 3.0 mL 样液 (200 μg/mL), 混匀后加入 0.5 mL 体积分数为 0.01% H₂O₂ 启动反应, 然后于 37℃ 水浴 30 min, 冷却后于波长 510 nm 处测定吸光度, 羟基自由基清除率为

$$Y_2 = \frac{A_o - (A_i - A_{i_o})}{A_o} \times 100\%$$

式中 A_o ——未加样液的吸光度

A_i ——加入样液的吸光度

A_{i_o} ——试剂空白的吸光度

(5) 抑制亚油酸过氧化能力

采用 Padmashree 等方法测定^[15]。用 0.2 mol/L、pH 值 7.0 的磷酸缓冲液将 0.280 4 g 亚油酸及 0.280 4 g Tween20 定容到 50 mL, 获得亚油酸混合乳化液备用。量取 1.0 mL 样液 (100 μg/mL)、2.5 mL 上述亚油酸混合乳化液和 2 mL、0.2 mol/L、pH 值 7.0 的磷酸缓冲液混合均匀。将该混合物置 37℃ 培养箱避光保存以加速脂质氧化速度, 每隔 12 h 测定氧化产物, 连续测定数天。氧化产物测定方法: 依次加入 4.7 mL 体积分数为 75% 乙醇、0.1 mL 质量分数为 30% 硫氰酸铵溶液、0.1 mL 上述培养箱中被氧化的混合物和 0.1 mL、20 mmol/L 四水氯化亚铁溶液 (质量分数为 3.5% 盐酸配制) 混合均匀, 放置 3 min 后于波长 500 nm 测定吸光度。抑制率计算公式为

$$Y_3 = \frac{A_{o,500} - A_{500}}{A_{o,500}} \times 100\%$$

式中 $A_{o,500}$ ——波长 500 nm 空白样品吸光度

A_{500} ——波长 500 nm 样品吸光度

1.3.2 薄层扫描法对丁香乙酸乙酯相主要成分的初步分析

将样品用甲醇超声溶解、过滤, 配制成 30 mg/mL 备用。展开剂由氯仿、丙酮与甲酸体积比为 8.0:3.0:0.2 的混合物组成。将展开的薄层板采用双波长扫描, 测定波长为 300 nm, 参比波长为 600 nm。同时, 将薄层板置于波长 254 nm 和 365 nm 紫外灯下照相, 并和碘蒸气显色的薄层板比较。采用上述 2 种方法对有效部位组成成分进行初步分析。

1.3.3 酸水解处理对丁香有效部位抗氧化活性的影响

(1) 丁香有效部位酸水解试验

采用 Bae 等方法, 略有修改^[16]。精确称取 25 mg 丁香有效部位 (乙酸乙酯相) 加入 12 mL 甲醇, 超声 5 min 溶解后加入 3 mol/L 盐酸 6 mL, 95℃ 水解 2 h 后冷却至室温, 用旋转蒸发仪除去溶剂, 加甲醇定容至 50 mL, 经 0.45 μm 有机膜过滤后作为水解母液备用。

(2) 丁香有效部位酸水解处理后抗氧化活性测定

采用 1.3.1 节中的方法测定酸水解前、后丁香有效部位总抗氧化能力、羟自由基清除能力和超氧阴离子自由基清除能力的变化, 以评价酸水解对该相抗氧化活性的影响。

2 结果与分析

2.1 丁香非挥发性成分抗氧化活性

(1) 总多酚、总黄酮含量

黄酮和多酚类化合物被认为是植物抗氧化活性的主要物质基础^[5]。Liu 等通过测定余甘子植物黄酮和多酚类化合物含量来评价研究样品抗氧化活性^[17]。本试验测得丁香非挥发性成分各极性部位总多酚、总黄酮含量如表 1 所示。

表 1 丁香各部位总多酚、总黄酮含量测定结果

Tab.1 Contents of total phenols and flavonoids of different fractions from clove

mg/g

成分	乙酸乙酯相	正丁醇相	水相	粗提物
总多酚	487.36 ± 10.69 ^A	268.96 ± 7.51 ^C	92.92 ± 3.61 ^D	333.54 ± 7.86 ^B
总黄酮	208.97 ± 9.37 ^A	108.69 ± 2.10 ^C	39.25 ± 1.44 ^D	164.81 ± 4.59 ^B

注: 同一行不同字母表示各样品之间存在显著性差异 ($P < 0.001$)。

由表 1 可知, 在丁香 3 个不同极性部位中, 弱极性乙酸乙酯部位总多酚与总黄酮含量最高, 分别为 (487.36 ± 10.69) mg/g 和 (208.97 ± 9.37) mg/g, 均显著性高于其他 2 个极性部分和粗提物 ($P < 0.001$)。Jiang 等在研究香椿老叶时也发现了类似的研究结果^[9]。

(2) 总抗氧化能力

在酸性条件下, Mo⁶⁺ 被提取液还原成 Mo⁵⁺, 形

成的绿色磷酸钼在波长 695 nm 处有最大吸收, 吸光度越大说明被还原的 Mo⁶⁺ 越多, 待测样液总抗氧化能力越强^[9]。以 BHT 和维生素 C 为阳性对照, 丁香非挥发性成分各极性部位总抗氧化能力测定结果如图 2 所示。

由图 2 可知, 在丁香非挥发性成分各极性部位和粗提物中, 乙酸乙酯相总抗氧化能力最强, 尽管显著低于阳性对照维生素 C ($P < 0.001$), 但仍高于阳

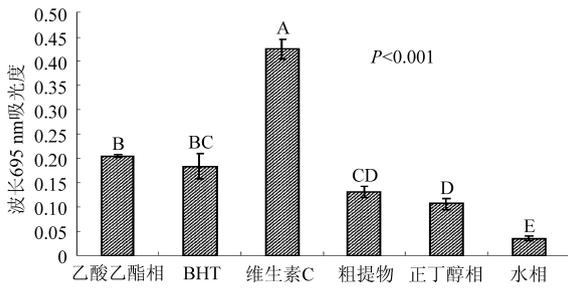


图2 丁香不同极性部位总抗氧化能力的测定结果

Fig. 2 Total antioxidant capacities of different fractions from clove

性对照 BHT。Pan 等在研究密蒙花时也发现了类似的研究结果^[11]。

(3) 超氧阴离子自由基清除能力

本试验通过光照核黄素产生超氧阴离子,然后还原 NBT 生成蓝色甲臞,其在波长 560 nm 有最大吸收。样品在波长 560 nm 处吸光度越小,超氧阴离子清除能力越强。丁香非挥发性成分各极性部位清除超氧阴离子能力测定结果如图 3 所示。

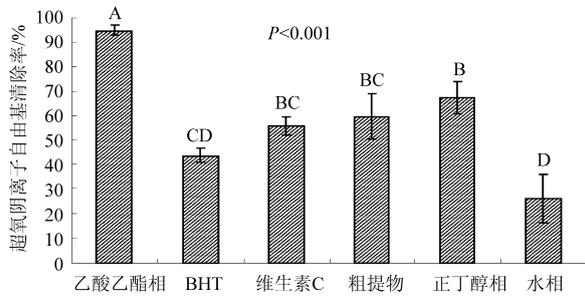


图3 丁香不同极性部位清除超氧阴离子清除能力的测定结果

Fig. 3 Superoxide anion radical scavenging activity of different fractions from clove

由图 3 可知,丁香非挥发性成分各极性部位和粗提物都具有很强的超氧阴离子清除能力,仍以乙酸乙酯相清除率最高(94.9 ± 2.12)%,并显著性高于阳性对照 BHT(43.7 ± 3.05)% 和维生素 C(55.8 ± 3.66)% ($P < 0.001$)。Prasad 等在研究黄皮时也发现其乙酸乙酯部位清除超氧阴离子自由基能力显著性高于阳性对照 BHT^[18]。据报导,超氧阴离子清除能力可能是由于存在游离的羟基基团^[19]。

(4) 羟自由基清除能力

本试验中通过 Fenton 反应 $\text{Fe}^{2+} + \text{H}_2\text{O}_2 \rightarrow \text{Fe}^{3+} + \cdot\text{OH} + \text{OH}^-$ 产生羟自由基,而水杨酸通过吸收羟自由基形成有色物质,加入羟自由基清除剂后可减少有色物质的生成。丁香非挥发性成分各极性部位清除羟自由基测定结果如图 4 所示。

由图 4 可知,丁香非挥发性成分各极性部位和粗提物都具有较强的羟自由基清除能力,仍以乙酸乙酯相(200 μg/mL)清除能力最强,达(75.10 ±

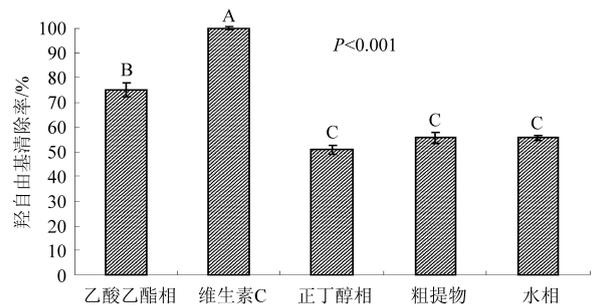


图4 丁香不同极性部位清除羟自由基能力的测定结果

Fig. 4 Hydroxyl radical scavenging activity of different fractions from clove

2.69)%,但弱于维生素 C(100 ± 0.49) %。Guo 等研究发现,松露乙酸乙酯部位羟自由基清除能力也弱于阳性对照维生素 C^[20]。据报道,抗氧化剂通过抑制羟自由基生成或清除已经生成的羟自由基来达到抗氧化目的。前一种机制与过渡金属离子有关。当存在过渡金属离子时,羟自由基非常稳定。羟自由基可由过渡金属离子和过氧化氢反应生成。因此,通过整合过渡金属离子从而达到清除羟自由基的目的^[21]。

(5) 抑制亚油酸过氧化能力

在本试验反应体系中,亚油酸过氧化产生的氧化产物将 Fe^{2+} 氧化成 Fe^{3+} , Fe^{3+} 与硫氰酸铵形成一红色复合物,该复合物在波长 500 nm 处有最大吸收。抗氧化剂抑制亚油酸过氧化从而减少氧化产物量,致使在波长 500 nm 处吸光度减小。丁香非挥发性成分各极性部位抑制脂质过氧化结果如图 5 所示。

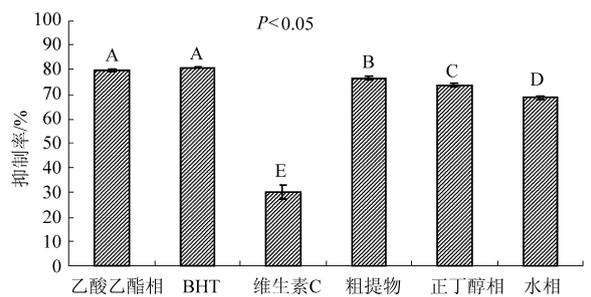


图5 丁香不同极性部位抑制脂质过氧化能力的测定结果

Fig. 5 Capabilities of lipid peroxidation inhibition of different fractions from clove

由图 5 可知,丁香非挥发性成分各极性部位和粗提物都具有很强的抑制脂质过氧化能力,乙酸乙酯相抑制脂质过氧化能力最强(79.68 ± 0.50)%($P < 0.05$),尽管稍低于阳性对照 BHT(80.90 ± 0.25)%,但没有显著性差异($P > 0.05$),远强于维生素 C(30.00 ± 2.90)%($P < 0.05$)。维生素 C 抑制脂质过氧化能力很弱,可能是其水溶性特点和热

稳定性的缘故。Jia 等研究决明子抗氧化能力时也发现其乙酸乙酯部位抑制脂质过氧化能力弱于 BHT、远强于维生素 C^[22]。

由上述分析可知,在丁香粗提物和 3 个不同极性部位中,乙酸乙酯相抗氧化能力最强,为丁香非挥发性成分抗氧化活性的有效部位。

表 2 丁香非挥发性成分抗氧化活性之间的相关性

Tab.2 Correlation among antioxidant properties of non-volatiles from clove

	总多酚含量	总黄酮含量	总抗氧化能力	抑制脂质过氧化能力	羟自由基清除率	超氧阴离子自由基清除率
总多酚含量	1					
总黄酮含量	0.986 *	1				
总抗氧化能力	0.996 **	0.970 *	1			
抑制脂质过氧化能力	0.992 **	0.998 **	0.977 *	1		
羟自由基清除率	0.730	0.690	0.780	0.670	1	
超氧阴离子自由基清除率	0.962 *	0.910	0.968 *	0.930	0.670	1

注:相关性,*表示 $P < 0.05$,**表示 $P < 0.001$ 。

由表 2 可知,总多酚含量与总黄酮含量($R = 0.986$)、总抗氧化能力($R = 0.996$)、抑制脂质过氧化($R = 0.992$)和清除超氧阴离子自由基能力($R = 0.962$)之间均存在显著性相关,显示出这些抗氧化活性主要由总多酚类化合物所贡献。总黄酮含量与总抗氧化能力($R = 0.970$)和抑制脂质过氧化能力($R = 0.998$)也显著相关,说明丁香所含总多酚和总黄酮是其强抗氧化活性的主要物质。Jiang 等在研究香椿老叶时也得出了相同的结论^[9]。

丁香总抗氧化能力与抑制脂质过氧化能力($R = 0.997$)和清除超氧阴离子自由基能力($R = 0.968$)也显著相关。其他因素相互之间尽管也具有一定的相关性,但均不显著。由此可见,抗氧化活性的强弱与采用的评价方法有关,采用不同的方法评价丁香非挥发性成分的抗氧化活性非常必要^[1]。

(6) 相关性分析

在测定丁香非挥发性成分不同极性部位抗氧化能力的基础上,对其总抗氧化能力、超氧阴离子清除能力、羟自由基清除能力、抑制脂质过氧化能力和总多酚、总黄酮含量相互之间的相关性进行了统计分析,结果如表 2 所示。

从本试验中采用的 5 种不同方法对丁香非挥发性成分抗氧化活性的评价结果可知,乙酸乙酯部位抗氧化活性最强,是丁香抗氧化活性的有效部位和主要物质来源。Jiang 等采用相同的方法研究香椿抗氧化活性时也得出了相同的结论^[9]。

2.2 丁香非挥发性成分抗氧化活性物质基础

采用瑞士 CAMAG 公司 TLC SCANNER 3 型薄层扫描仪对丁香有效部位(乙酸乙酯相)组成成分进行双波长扫描的结果如图 6 所示。由图 6 可知,丁香有效部位主要含有 8 种成分。由于部分物质可能无紫外吸收,因此本文同时比较了紫外灯(波长 254 nm 和 365 nm)照射和碘蒸气显色,结果如图 7 所示。结合两种显色方法,可知丁香乙酸乙酯相主要含有 8 种成分。需进一步分离纯化,以确定非挥发性成分抗氧化活性物质的基础。

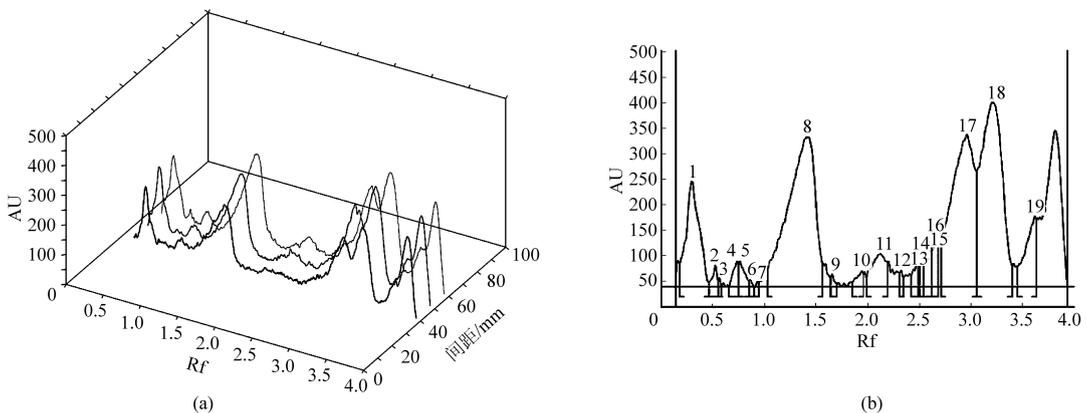


图 6 丁香乙酸乙酯相薄层扫描结果

Fig.6 TLC scan of ethyl acetate fraction from clove

(a) 丁香有效部位展开后在波长 254 nm 处三维扫描图 (b) 丁香有效部位展开后在波长 254 nm 处平面扫描图

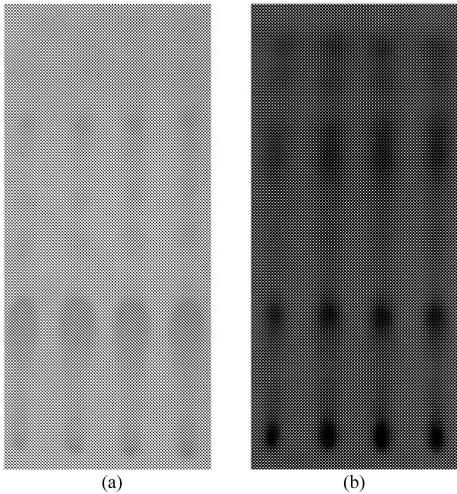


图7 丁香乙酸乙酯相紫外和碘蒸气显色结果

Fig.7 TLC of ethyl acetate fraction from clove

(a) 丁香有效部位展开后碘蒸气显色结果

(b) 丁香有效部位展开后在 254 nm 紫外灯下显色结果

2.3 酸水解处理对丁香有效部位抗氧化活性影响

黄酮苷水解的方法主要包括酸法水解、碱法水解、酶法水解等。其中,酸水解操作简单方便、速度快且成本低,因此被广泛应用^[16]。为了进一步提高丁香有效部位抗氧化能力,本试验采用盐酸对该部位进行水解,通过测定总抗氧化能力、超氧阴离子清除能力和羟自由基清除能力的变化来反映酸水解对其抗氧化活性的影响,试验结果如图8~10所示。

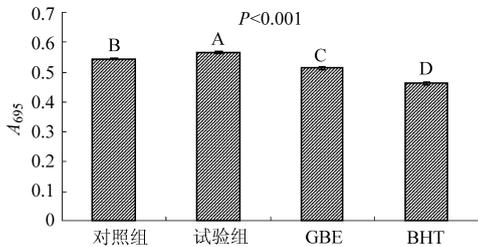


图8 酸水解丁香有效部位总抗氧化能力的测定结果

Fig.8 Total antioxidant capacities of effective fraction from clove by acid hydrolysis

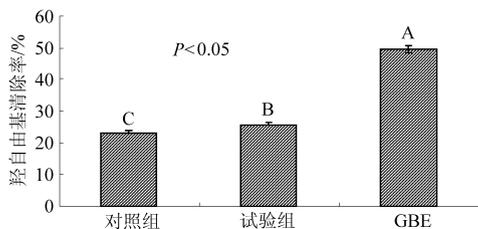


图9 酸水解丁香有效部位羟自由基清除能力的测定结果

Fig.9 Hydroxyl radical scavenging activity of effective fraction from clove by acid hydrolysis

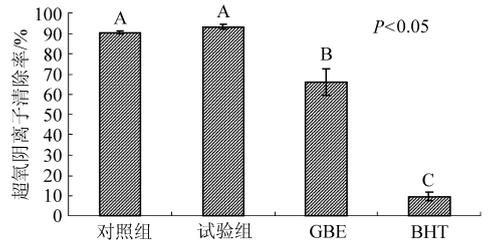


图10 酸水解丁香有效部位超氧阴离子清除能力的测定结果

Fig.10 Superoxide anion radical scavenging activity of effective fraction from clove by acid hydrolysis

与水解前相比,丁香有效部位水解后总抗氧化能力($P < 0.001$)和羟自由基清除能力($P < 0.05$)均得到显著增强(图8、图9),超氧阴离子清除能力也有一定程度提高(图10),但没有显著增强($P > 0.05$)。其原因可能是在酸水解条件下,丁香有效部位黄酮苷类物质所含的苷键发生断裂生成了黄酮苷元,而苷元比糖苷具有更高的抗氧化活性^[23]。据报道,染料木素比染料木苷能更好地抑制由过亚硝酸盐诱导的低密度脂蛋白(LDL)氧化^[24]。Plumb等研究发现,茶叶黄酮苷的抗氧化活性随着糖苷基团数目的增多而减弱^[25]。刘亚男等采用盐酸水解蜂胶黄酮苷,提高了清除DPPH自由基和抑制猪油氧化能力^[26]。由此可见,酸水解是进一步提高丁香抗氧化能力的一个有效手段。

3 结论

(1)通过测定总抗氧化能力、超氧阴离子清除能力、羟自由基清除能力和抑制脂质过氧化能力发现,丁香非挥发性成分各极性部位中,乙酸乙酯抗氧化活性最强,为丁香非挥发性成分抗氧化活性的有效部位。

(2)相关性分析表明,除了羟自由基清除能力外,总多酚含量与总抗氧化能力、抑制脂质过氧化能力和清除超氧阴离子之间均存在显著性相关,显示出这些抗氧化活性主要由总多酚类化合物所贡献。

(3)总抗氧化能力与抑制脂质过氧化能力和清除超氧阴离子能力显著相关($P < 0.05$)。其他因素相互之间尽管也具有一定的相关性,但均不显著。

(4)TLC分析表明丁香有效部位主要含有8种成分。

(5)酸水解处理能进一步提高丁香有效部位的抗氧化活性。

参 考 文 献

- Dudonné S, Vitrac X, Coutière P, et al. Comparative study of antioxidant properties and total phenolic content of 30 plant extracts of industrial interest using DPPH, ABTS, FRAP, SOD, and ORAC assays[J]. Journal of Agricultural and Food

- Chemistry, 2009, 57(5): 1 768 ~ 1 774.
- 2 Jiang S H, Li H Q, Ma H L, et al. Antioxidant activities of selected Chinese medicinal and edible plants[J]. International Journal of Food Sciences and Nutrition, 2011, 62(5): 441 ~ 444.
 - 3 Guan W Q, Li S F, Yan R X, et al. Comparison of essential oils of clove buds extracted with supercritical carbon dioxide and other three traditional extraction methods[J]. Food Chemistry, 2007, 101(4): 1 558 ~ 1 564.
 - 4 Shukri R, Mohamed S, Mustapha N M. Cloves protect the heart, liver and lens of diabetic rats[J]. Food Chemistry, 2010, 122(4): 1 116 ~ 1 121.
 - 5 Özcan M M, Arslan D. Antioxidant effect of essential oils of rosemary, clove and cinnamon on hazelnut and poppy oils[J]. Food Chemistry, 2011, 129(1): 171 ~ 174.
 - 6 Parthasarathy V A, Chempakam B, Zachariah T J. Chemistry of spices[M]. Centre for Agricultural Bioscience International, 2008.
 - 7 Sultana B, Anwar F, Przybylski R. Antioxidant activity of phenolic components present in barks of *Azadirachta indica*, *Terminalia arjuna*, *Acacia nilotica*, and *Eugenia jambolana* Lam. trees[J]. Food Chemistry, 2007, 104(3): 1 106 ~ 1 114.
 - 8 冯淑环, 殷丽君, 袁蕊, 等. 酶法转化糖苷型沙棘叶黄酮生成苷元工艺优化[J]. 农业机械学报, 2011, 42(4): 127 ~ 132.
Feng Shuhuan, Yin Lijun, Yuan Rui, et al. Optimization of enzymatic conversion of flavonoids extracted from sea buckthorn leaves[J]. Transactions of the Chinese Society for Agricultural Machinery, 2011, 42(4): 127 ~ 132. (in Chinese)
 - 9 Jiang S H, Wang C L, Chen Z Q, et al. Antioxidant properties of the extract and subfractions from old leaves of *Toona sinensis* Roem (Meliaceae) [J]. Journal of Food Biochemistry, 2009, 33(3): 425 ~ 441.
 - 10 Abu Bakar M F, Mohamed M, Rahmat A, et al. Phytochemicals and antioxidant activity of different parts of bambangan (*Mangifera pajang*) and tarap (*Artocarpus odoratissimus*) [J]. Food Chemistry, 2009, 113(2): 479 ~ 483.
 - 11 Pan Y M, He C H, Wang H S, et al. Antioxidant activity of microwave-assisted extract of *Buddleia officinalis* and its major active component[J]. Food Chemistry, 2010, 121(2): 497 ~ 502.
 - 12 Duan X W, Jiang Y M, Su X G, et al. Antioxidant properties of anthocyanins extracted from litchi (*Litchi chinensis* Sonn.) fruit pericarp tissues in relation to their role in the pericarp browning[J]. Food Chemistry, 2007, 101(4): 1 365 ~ 1 371.
 - 13 Yang G M, Wang D, Tang W, et al. Anti-inflammatory and antioxidant activities of oxytropis falcata fractions and its possible anti-inflammatory mechanism[J]. Chinese Journal of Natural Medicines, 2010, 8(4): 285 ~ 292.
 - 14 顾海峰, 李春美, 徐玉娟, 等. 柿子单宁的制备及其抗氧化活性研究[J]. 农业工程学报, 2007, 23(5): 241 ~ 245.
 - 15 Padmashree A, Roopa N, Semwal A D, et al. Star-anise (*Illicium verum*) and black caraway (*Carum nigrum*) as natural antioxidants[J]. Food Chemistry, 2007, 104(1): 59 ~ 66.
 - 16 Bae H J, Jayaprakasha G K, Jifon J, et al. Extraction efficiency and validation of HPLC method for the flavonoid analysis from peppers[J]. Food Chemistry, 2011, 130(3): 751 ~ 758.
 - 17 Liu X L, Zhao M M, Wang J S, et al. Antioxidant activity of methanolic extract of emblica fruit (*Phyllanthus emblica* L.) from six regions in China[J]. Journal of Food Composition and Analysis, 2008, 21(3): 219 ~ 228.
 - 18 Prasad K N, Xie H H, Hao J, et al. Antioxidant and anticancer activities of 8-hydroxy-psoralen isolated from wampee (*Clausena lansium* (Lour.) Skeels) peel[J]. Food Chemistry, 2010, 118(1): 62 ~ 66.
 - 19 Siddhuraju P, Mohan P S, Becker K. Studies on the antioxidant activity of Indian Laburnum (*Cassia fistula* L.): a preliminary assessment of crude extracts from stem bark, leaves, flowers and fruit pulp[J]. Food Chemistry, 2002, 79(1): 61 ~ 67.
 - 20 Guo T, Wei L, Sun J, et al. Antioxidant activities of extract and fractions from tuber indicum cooke & massee[J]. Food Chemistry, 2011, 127(4): 1 634 ~ 1 640.
 - 21 Zha X Q, Wang J H, Yang X F, et al. Antioxidant properties of polysaccharide fractions with different molecular mass extracted with hot-water from rice bran[J]. Carbohydrate Polymers, 2009, 78(3): 570 ~ 575.
 - 22 Jia Z B, Tao F, Guo L, et al. Antioxidant properties of extracts from juemingzi (*Cassia tora* L.) evaluated in vitro[J]. LWT-Food Science and Technology, 2007, 40(6): 1 072 ~ 1 077.
 - 23 Heim K E, Tagliaferro A R, Bobilya D J. Flavonoid antioxidants: chemistry, metabolism and structure-activity relationships [J]. The Journal of Nutritional Biochemistry, 2002, 13(10): 572 ~ 584.
 - 24 Lai H H, Yen G C. Inhibitory effect of isoflavones on peroxynitrite-mediated low-density lipoprotein oxidation[J]. Biosci., Biotechnol., Biochem., 2002, 66(1): 22 ~ 28.
 - 25 Plumb G W, Price K R, Williamson G. Antioxidant properties of flavonol glycosides from green beans[J]. Redox Report, 1999, 4(3): 123 ~ 127.
 - 26 刘亚男, 程艳华, 胡福良, 等. 蜂胶黄酮苷的酸解及酸解产物抗氧化性能的研究[J]. 食品科学, 2009, 30(3): 47 ~ 50.