

三叶青茎部不同溶剂提取物的功能成分、 抗氧化及酪氨酸酶抑制活性研究

胡宇航^{1,2}, 陈 梁^{1,2}, 罗翌元^{1,2}, 楚玉柔^{1,2}, 王家星², 鲍晶晶²,
王 振³, 张 宾¹, 孙继鹏^{2*}

(1. 浙江海洋大学食品与药学学院, 舟山 316100; 2. 浙江省海洋开发研究院, 舟山 316100;
3. 浙江岩汐生态科技有限公司, 舟山 316100)

摘 要: **目的** 以三叶青茎部为原料, 探究三叶青不同溶剂提取物的功能成分、抗氧化及酪氨酸酶抑制活性。**方法** 采用乙醇超声法提取三叶青, 获得醇提液及残渣。醇提液依次用石油醚、乙酸乙酯、正丁醇对其进行分步萃取, 残渣则采用蒸馏水多次提取, 最终得到 4 种提取物。分别测定 4 种提取物总酚、总黄酮、总皂苷、总多糖、抗氧化及酪氨酸酶抑制活性, 并进行相关性分析。**结果** 4 种提取物中乙酸乙酯萃取物总酚、总黄酮、总皂苷含量最高, 分别为 $40.22\% \pm 1.01\%$ 、 $38.56\% \pm 0.64\%$ 、 $6.15\% \pm 0.21\%$, 正丁醇萃取物总多糖含量最高, 为 $9.29\% \pm 0.25\%$ 。各萃取物均具有抗氧化和酪氨酸酶抑制活性, 其中乙酸乙酯萃取物清除 1,1-二苯基-3-硝基苯肼(1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl, DPPH)自由基、超氧阴离子、2-苯基-4,4,5,5-四甲基咪唑啉-3-氧代-1-氧(2-phenyl-4,4,5,5-tetramethylimidazoline-3-oxide-1-oxyl, PTIO)自由基、羟自由基能力和铁离子还原能力(ferric reducing antioxidant power, FRAP)最强, 其半抑制浓度(half maximal inhibitory concentration, IC_{50})分别为 0.016、0.014、0.355、0.265、0.352 mg/mL。同时, 在酪氨酸酶抑制活性上, 乙酸乙酯萃取物明显强于各萃取物。相关性分析表明, 三叶青提取物中总酚、总黄酮、总皂苷物质与抗氧化和酪氨酸酶抑制活性呈极显著正相关性($P < 0.01$)。**结论** 三叶青茎部乙酸乙酯萃取物具有较强的抗氧化性及抑制酪氨酸酶活性, 主要作用成分为总酚、总黄酮和总皂苷。本研究为进一步开发利用三叶青茎部资源提供相关技术支持。

关键词: 三叶青茎部; 抗氧化活性; 酪氨酸酶抑制活性; 相关性

Functional components, antioxidant activity and tyrosinase inhibitory activity of extracts from different solvent extracts from stems of *Tetrastigma hemsleyanum* Diels et Gilg

HU Yu-Hang^{1,2}, CHEN Liang^{1,2}, LUO Yi-Yuan^{1,2}, CHU Yu-Rou^{1,2}, WANG Jia-Xing²,
BAO Jing-Jing², WANG Zhen³, ZHANG Bin¹, SUN Ji-Peng^{2*}

(1. College of Food and Pharmaceutical, Zhejiang Ocean University, Zhoushan 316100, China;
2. Zhejiang Marine Development Research Institute, Zhoushan 316100, China;
3. Zhejiang Yanxi Ecology Technology Co., Ltd., Zhoushan 316100, China)

ABSTRACT: Objective To investigate the functional components, antioxidant and tyrosinase inhibitory activity of

基金项目: 浙江省海洋开发研究院专项(2022C61007、2023C61002、2021C41002)

Fund: Supported by the Special Project of Zhejiang Marine Development Research Institute (2022C61007, 2023C61002, 2021C41002)

***通信作者:** 孙继鹏, 博士, 副研究员, 主要研究方向为海洋生物资源高值开发利用。E-mail: jipengsun@yeah.net

***Corresponding author:** SUN Ji-Peng, Ph.D, Associate Professor, Zhejiang Marine Development Research Institute, No.10, Tiyu Road, Lincheng Street, Dinghai District, Zhoushan 316100, China. E-mail: jipengsun@yeah.net

different solvent extracts from *Tetrastigma hemsleyanum* Diels et Gilg by using the stem of *Tetrastigma hemsleyanum* Diels et Gilg as the raw material. **Methods** The ultrasonification process and the absolute ethyl alcohol were used to deal with the stem of *Tetrastigma hemsleyanum* Diels et Gilg, obtaining the residues and alcohol extracts. The distilled water multiply extracted the residues, while the alcohol extract were extracted sequentially using a three-solvent combination order: Petroleum ether, ethyl acetate, and *n*-butanol. Finally, 4 kinds of extracts were obtained. The total content of flavonoids, polyphenols, saponin, or other functional components, their corresponding antioxidant activities, and tyrosinase inhibitory activities of 4 kinds of extracts were measured, respectively, then the correlation analysis between in them were conducted. **Results** The results demonstrated that the extract obtained from the ethyl acetate contained the highest amount of flavonoids, polyphenols, and saponins, and the proportions reached $40.22\% \pm 1.01\%$, $38.56\% \pm 0.64\%$, and $6.15\% \pm 0.21\%$, respectively. The extract obtained from the *n*-butanol contained the highest amount of polysaccharides, and the proportion reached $9.29\% \pm 0.25\%$. Each extract owned antioxidant activity and tyrosinase inhibitory activity, but the ethyl acetate extract had the most robust ability to 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) radical, superoxide anion, 2-phenyl-4,4,5,5-tetramethylimidazoline-3-oxide-1-oxyl (PTIO) reactive oxygen radical, hydroxyl radical, and ferric reducing antioxidant power (FRAP) among all the extracts, and the half inhibitory concentration (IC_{50}) were 0.016, 0.014, 0.355, 0.265 and 0.352 mg/mL, respectively. Moreover, the ethyl acetate extract was superior to other extracts in tyrosinase inhibition activity. The correlation analysis showed that there was a highly significant positive correlation between the total phenols, total flavonoids, and total saponins in the extract of *Tetrastigma hemsleyanum* Diels et Gilg and its antioxidant and tyrosinase inhibitory activities ($P < 0.01$). **Conclusion** The ethyl acetate extract from the stem of *Tetrastigma hemsleyanum* Diels et Gilg has strong antioxidant activity and tyrosinase inhibitory activity. The main active components are total phenols, total flavonoids, and total saponins. This study provides relevant technical supports for the further development and utilization of the stem resources of *Tetrastigma hemsleyanum* Diels et Gilg.

KEY WORDS: *Tetrastigma hemsleyanum* Diels et Gilg stems; antioxidant activity; tyrosinase inhibitory activity; correlation

0 引 言

自由基是包含不成对价电子的各种原子、分子或离子,按其构成是否包含氧分子可分为氧自由基和非氧自由基^[1]。自由基种类繁多,其高反应性与高活性被认为是疾病发生的第一大危险因素,对内可造成分子损伤,对外可表现出应激反应、炎症反应,与年龄相关的慢性病甚至癌症,不利于延缓衰老与慢性病预防^[2]。许多研究证实植物源提取物,如多酚、黄酮、皂苷、多糖等功能成分可以有效清除自由基,具有很好的体外抗氧化活性^[3]。

三叶青(*Tetrastigma hemsleyanum* Diels et Gilg),又称为金线吊葫芦、三叶崖爬藤,为葡萄科崖爬藤属植物,主要产自浙江、江苏、福建、广东等地,全年均可采收,块根常制作为菜肴食用,茎叶可制作茶叶饮用,食用价值丰富^[4]。研究发现,三叶青中含有丰富的总多酚类、总黄酮类、有机酸、三萜及甾体类等化合物,其中总黄酮类作为三叶青的主要活性成分和质控指标^[5],在抗癌、免疫调节、抗炎、抗病毒等诸多方面具有生理活性^[6]。三叶青地下块根是三叶青主要食用部分,茎和叶作为其副产物,在三叶

青加工过程中,基本全部丢弃,造成极大的资源浪费^[7]。目前,三叶青茎部只有少数用于饲料和茶饮,其自身所具有的保健、药用和经济价值尚不明确,其萃取物的总酚、总黄酮、总三萜、总多糖等有关抗氧化物含量及活性的研究也尚为少见^[7]。

本研究以三叶青茎为主要原料,通过对三叶青茎部提取液进行萃取的方式获得不同极性萃取物,测定其总酚、总黄酮、总皂苷、总多糖含量,评价其 1,1-二苯基-3-硝基苯肼(1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl, DPPH)自由基、超氧阴离子自由基、2-苯基-4,4,5,5-四甲基咪唑啉-3-氧代-1-氧(2-phenyl-4,4,5,5-tetramethylimidazoline-3-oxide-1-oxyl, PTIO)活性氧自由基、2,2'-氨基-二(3-乙基-苯并噻唑啉-6-磺酸)二铵盐[2,2'-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid), ABTS]阳离子自由基、羟自由基清除能力与铁原子还原能力(ferric reducing antioxidant power, FRAP),同时用酪氨酸酶抑制活性实验评价其美白效果,并分析它们之间的相关性,为进一步开发利用三叶青资源提供技术支持,以期能有效促进天然抗氧化剂的研究和三叶青产业的健康发展。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

三叶青藤茎于 2022 年春季采集于浙江省舟山市, 浙江海洋开发研究院生物研发室鉴定为三叶青(*Tetrastigma hemsleyanum* Diels et Gilg)的干燥藤茎。

芦丁、没食子酸、齐墩果酸、葡萄糖、牛血清蛋白(纯度 $\geq 98\%$, 上海麦克林生化科技有限公司); DPPH、ABTS、PTIO(纯度 $\geq 95\%$, 美国 Sigma-Aldrich 公司); 无水乙醇、抗坏血酸、碳酸钠、亚硝酸钠、硝酸铝、三氯化铁(分析纯, 国药集团化学试剂有限公司); 石油醚、正丁醇、乙酸乙酯(分析纯, 美国 Sigma 公司); 邻苯三酚(纯度 $\geq 99\%$)、邻二氮菲(纯度 $\geq 99\%$)、酪氨酸酶(25 kU)(北京索莱宝公司)。

1.2 仪器与设备

KH-500B 型超声清洗器(昆山禾创超声仪器有限公司); YRE-201D 型旋转蒸发仪(予华仪器有限公司); Synergy 功能微孔板检测仪(美国 BioTek 仪器有限公司); FreeZone 型冷冻干燥机(美国 LABCONCO 公司); Cubis 型电子分析天平(精度 0.1 mg, 北京赛多利斯有限公司); BPG-9056A 电热鼓风干燥箱(上海一恒科学仪器有限公司)。

1.3 实验方法

1.3.1 三叶青茎部不同溶剂提取物的制备

选取三叶青茎部, 清洗, 置于真空干燥箱内 50℃烘干, 粉碎, 过 100 目网筛, 准确称取茎部粉末 200 g 于大烧杯中, 用 70%(体积分数, 下同)乙醇在温度 60℃、料液比 1:25 (m:V)条件下超声提取 3 次, 每次 30 min, 合并提取液, 过滤, 减压浓缩至无乙醇味。将醇提物用适量蒸馏水充分混悬后, 醇提液依次用石油醚、乙酸乙酯、正丁醇对其进行分步萃取, 分别重复萃取 3 次, 减压浓缩悬液至浸膏状态, 真空冷冻干燥至恒重, 获得三叶青茎部石油醚、乙酸乙酯、正丁醇 3 种提取物, -20℃储存备用^[8]。

1.3.2 三叶青茎部水提物的制备

70%乙醇提取后的残渣, 按相同比例加入蒸馏水, 在 80℃、料液比 1:25 (m:V)条件下超声提取 3 次, 每次 30 min, 合并提取液, 过滤, 减压浓缩, 冷冻干燥, 得到三叶青茎部水提物, -20℃储存备用^[9]。

1.3.3 三叶青茎部不同极性萃取物功能成分测定

(1)总酚含量的测定

三叶青茎部不同极性萃取物总酚含量的测定, 采用福林-酚法^[10], 取稀释后不同极性萃取物溶液 1 mL 于 15 mL 试管中, 加入 5 mL 福林酚溶液(10%), 充分混匀后静置 15 min, 加入 4 mL Na_2CO_3 溶液(7.5%), 漩涡振荡摇匀, 于室温条件下避光静置 1.5 h, 在 765 nm 处测定样品吸光值。按照以上实验操作, 以不同质量浓度的没食子酸标准品溶液代替样品溶液作为横坐标(X_1 , $\mu\text{g/mL}$), 以吸光值为

纵坐标(Y_1), 得到线性回归方程为 $Y_1=0.0616X_1+0.04789$ ($r^2=0.9991$)。根据线性方程, 计算样品总酚含量。

(2)总黄酮含量的测定

采用 NaNO_2 - $\text{Al}(\text{NO}_3)_3$ - NaOH 比色法^[11], 取稀释后不同极性萃取物溶液 1 mL 于 10 mL 容量瓶中, 加入 5% NaNO_2 溶液 0.3 mL, 充分摇匀后静置 6 min, 加 10% $\text{Al}(\text{NO}_3)_3$ 溶液 0.3 mL, 充分摇匀后静置 6 min, 再加入 4% NaOH 溶液 4.0 mL, 用 70%乙醇定容至刻度, 充分摇匀静置 15 min, 在 500 nm 处测定样品吸光值。按照以上实验操作, 以不同质量浓度的芦丁标准品溶液代替样品溶液作为横坐标(X_2 , $\mu\text{g/mL}$), 以吸光值为纵坐标(Y_2), 得到线性回归方程为 $Y_2=3.76421X_2+0.03892$ ($r^2=0.9997$)。根据线性方程, 计算样品总黄酮含量。

(3)总皂苷含量的测定

总皂苷含量的测定^[12], 取稀释后不同极性萃取物溶液各 0.4 mL 于 15 mL 试管中, 样液 70℃下水浴挥干, 加入 0.4 mL 1.5%香草醛-冰乙酸溶液(溶液现配现用), 再加入 1.6 mL 高氯酸, 充分混匀后 70℃水浴 15 min, 取出后快速冰水浴, 冷却后加入 5 mL 乙酸乙酯, 静置 5 min, 在 546 nm 处测定样品吸光度。按照以上实验操作, 以不同质量浓度的齐墩果酸标准品溶液代替样品溶液作为横坐标(X_3 , $\mu\text{g/mL}$), 以吸光值为纵坐标(Y_3), 得到线性回归方程为 $Y_3=27.32857X_3-0.03693$ ($r^2=0.9992$)。根据线性方程, 计算样品总皂苷含量。

(4)总多糖含量的测定

采用苯酚-硫酸法^[13], 取稀释后不同极性萃取物溶液各 1 mL 于 15 mL 试管中, 加入蒸馏水 3 mL、6%苯酚溶液 1.0 mL, 并迅速向试管中加入浓硫酸 5.0 mL, 充分摇匀后, 室温静置 20 min, 于 490 nm 处测定样品吸光值。按照以上实验操作, 以不同质量浓度的葡萄糖标准品溶液代替样品溶液作为横坐标(X_4 , $\mu\text{g/mL}$), 以吸光值为纵坐标(Y_4), 得到线性回归方程为 $Y_4=0.09821X_4+0.05624$ ($r^2=0.9993$)。根据线性方程, 计算样品总多糖含量。

1.3.4 三叶青茎部不同极性萃取物抗氧化活性测定

(1) DPPH 自由基清除率测定

参考文献[14]方法稍作修改, 将样品溶液和 VC 对照品配制成不同质量浓度(0.2、0.4、0.6、0.8、1.0 mg/mL, 下同)萃取物溶液与 VC 标准品样液。吸取 1 mL 样液, 加入 3 mL 0.04 mg/mL DPPH 溶液, 立即混匀后, 室温下避光反应 30 min, 在 517 nm 波长处测定其吸光度, 记为 A_1 ; 再将 1 mL 蒸馏水代替样液, 加入 3 mL DPPH 溶液, 相同条件下反应, 在 517 nm 波长处测定吸光度, 记为 A_0 , 根据公式(1)计算 DPPH 自由基清除率。

$$\text{DPPH 自由基清除率}/\%=(1-\frac{A_1}{A_0})\times 100 \quad (1)$$

(2)超氧阴离子清除率测定

参考文献方法^[15]稍作修改, 吸取 100 μL 样品, 依

次加入 5 mL Tris-HCl 缓冲溶液(0.05 mol/L, pH 8.20)和 0.1 mL 邻苯三酚溶液(5 mmol/L)于试管中,充分混合后,在 320 nm 波长处测定其吸光度,记为 B_1 ;按上述实验步骤,以等体积蒸馏水代替样品测定其吸光度,记为 B_0 ;以相同体积的蒸馏水代替邻苯三酚溶液,320 nm 测定吸光度,记为 B_2 ,根据公式(2)计算超氧阴离子自由基清除率。

$$\text{超氧阴离子自由基清除率}/\% = (1 - \frac{B_1 - B_2}{B_0}) \times 100 \quad (2)$$

(3) PTIO 活性氧自由基清除率测定

参考文献[16]方法稍作修改,取 PTIO 固体 3 mg 溶于 20 mL 蒸馏水中,超声 5 min 混匀,得 PTIO 溶液。吸取样品溶液 50 μ L,加入 200 μ L PTIO 测试液,充分混匀后,37 $^{\circ}$ C 水浴 30 min,在 560 nm 处测定吸光值为 C_1 ;取 200 μ L PTIO 溶液和 50 μ L 甲醇溶液,混匀后在 560 nm 处测定吸光值为 C_0 ,根据公式(3)计算 PTIO 活性氧自由基清除率。

$$\text{PTIO 活性氧自由基清除率}/\% = \frac{C_0 - C_1}{C_0} \times 100 \quad (3)$$

(4) ABTS 阳离子自由基清除率测定

参考文献[17–19]方法稍作改动,用适量磷酸盐缓冲液(phosphate buffered saline, PBS) (0.01 mol/L pH 7.6)稀释 ABTS 阳离子溶液;吸取 100 μ L 样品和 2 mL 稀释后的 ABTS 阳离子溶液于试管中,充分混合后室温 25 $^{\circ}$ C 避光反应 30 min,在 734 nm 波长处测定其吸光度,记为 D_1 ;以甲醇代替样品溶液,在 734 nm 波长处测定其吸光度,记为 D_0 ;以 PBS 代替 ABTS 阳离子溶液,记作 D_2 ;根据公式(4)计算 ABTS 阳离子自由基清除率。

$$\text{ABTS 阳离子自由基清除率}/\% = (1 - \frac{D_1 - D_2}{D_0}) \times 100 \quad (4)$$

(5) 羟基自由基清除率测定

参考文献[20]方法稍作改动,取 1.0 mL 样品溶液,依次加入 0.5 mL PBS (pH 7.4)、0.5 mL (0.108 mg/mL)邻二氮菲溶液、0.5 mL (0.198 mg/mL)硫酸亚铁溶液立即混匀后,加入 1.0 mL (0.01%, V:V)过氧化氢溶液,充分混匀后在室温下反应 1 h,在波长 536 nm 下测定样品吸光度,记作 E_1 ;以 1.0 mL 70%乙醇替代样品溶液,待反应结束后测定其吸光度,记作 E_2 ;以 1.0 mL 70%乙醇替代样品溶液与过氧化氢溶液,充分混匀,待反应结束后测定其吸光度,记作 E_0 ;根据公式(5)计算羟基自由基清除率。

$$\text{羟基自由基清除率}/\% = (\frac{E_2 - E_1}{E_2 - E_0}) \times 100 \quad (5)$$

(6) 铁还原力测定

参考文献[21]方法稍作改动,在 0.1 mL 样品中依次加入 2 mL 醋酸盐缓冲溶液(pH 3.6)、0.5 mL 的 TPTZ 溶液(5 mmol/L)和 0.5 mL 的三氯化铁溶液(5 mmol/L)充分混合,在室温下避光反应 10 min,并于 700 nm 处测定其吸光

度。以吸光值大小表示还原力大小。

1.3.5 酪氨酸酶抑制活性

参考 T/SHRH 015—2018《化妆品-酪氨酸酶抑制实验方法》稍作修改,将样品溶液加入 10 mL 容量瓶中,用 pH 6.8 的 PBS 将样品质量浓度稀释为 0.01、0.05、0.20、0.50、0.80 mg/mL,加样:分别吸取 0.5 mL 样品溶液和 0.5 mL 100 μ g/mL 酪氨酸酶溶液于 5 mL 离心管中,混匀后于 37 $^{\circ}$ C 水浴 10 min,向离心管中加入 1.0 mg/mL 的左旋多巴溶液 2 mL,静置反应 5 min,即刻在 475 nm 处测定吸光值,记作 A_i ;用 0.5 mL PBS 代替酪氨酸酶溶液,测定吸光度,记作 A_j ;用 0.5 mL PBS 代替样品溶液,测定吸光度,记作 B_i ;吸取 1 mL PBS 代替样品和酪氨酸酶溶液,测定吸光度,记作 B_j 。酪氨酸酶抑制率公式见式(6)。

$$\text{抑制率}/\% = (1 - \frac{A_i - A_j}{B_i - B_j}) \times 100 \quad (6)$$

1.4 数据处理

实验数据均为 3 次重复后的平均值,采用 SPSS 22.0 统计软件和 Origin 9 软件进行实验数据处理和图表绘制,同时计算各萃取物半抑制浓度(half maximal inhibitory concentration, IC_{50})。采用 Pearson 法分析抗氧化活性及酪氨酸酶抑制活性与总酚、总黄酮、总皂苷和总多糖含量的相关性。

2 结果与分析

2.1 三叶青茎部不同极性萃取物功能成分分析

总酚、总黄酮、总皂苷、总多糖等功能成分广泛存在于植物体内,化学结构特殊,是具有抗氧化性的天然化学合成物^[22]。由表 1 可知,三叶青茎部不同极性萃取物中的总酚、总黄酮及总皂苷的质量分数差异显著($P < 0.05$)。其中总酚含量最高的是乙酸乙酯萃取物,为 40.22% $\pm$ 1.01%,其次是正丁醇和石油醚萃取物,水提物的总酚含量最少,各萃取物之间存在显著性差异($P < 0.05$)。在不同溶剂提取物中,总黄酮和总皂苷含量也具有相似的规律,含量最高的均为乙酸乙酯萃取物,分别为 38.56% $\pm$ 0.64%和 6.15% $\pm$ 0.21%,与其他萃取物均存在显著性差异($P < 0.05$),其次是正丁醇和石油醚萃取物,水提物中的总黄酮和总皂苷含量最少,这种差异可能是三叶青中多酚、黄酮等化合物的结构和性质不同,导致在溶剂中的溶解度不同。在 4 种萃取物中,正丁醇的总多糖含量最高为 9.29% $\pm$ 0.25%,与其他萃取物含量存在显著性差异($P < 0.05$),而乙酸乙酯萃取物中相对较少,石油醚中的最少。综上所述,采用 70%乙醇从三叶青茎部中提取了大量功能成分。其中,乙酸乙酯提取物中富集的总黄酮和总酚含量最高,正丁醇富集的总多糖质量分数最高,通过萃取方式对三叶青茎部中总酚、总黄酮、总皂苷、总多糖成分进行了初步分离。

表 1 三叶青茎部不同极性萃取物质量分数
Table 1 Mass fraction of different polar extracts from the stem of *Tetrastigma hemsleyanum*

功能成分	质量分数/%			
	水提取物	石油醚萃取物	乙酸乙酯萃取物	正丁醇萃取物
总酚	6.69±0.18 ^{Ad}	13.11±0.50 ^{Ac}	40.22±1.01 ^{Aa}	29.62±0.34 ^{Bb}
总黄酮	3.05±0.09 ^{Bd}	4.96±0.32 ^{Bc}	38.56±0.64 ^{Ba}	30.39±0.21 ^{Ab}
总皂苷	2.12±0.15 ^{Cd}	3.14±0.13 ^{Cc}	6.15±0.21 ^{Da}	4.47±0.11 ^{Db}
总多糖	6.45±0.09 ^{Ac}	3.84±0.56 ^{Cd}	7.93±0.18 ^{Cb}	9.29±0.25 ^{Ca}

注: 同列不同大写字母表示差异显著($P<0.05$); 同行不同小写字母表示差异显著($P<0.05$), 表 2 同。

2.2 三叶青茎部不同极性萃取物的抗氧化性分析

2.2.1 DPPH 自由基清除能力

DPPH 自由基是一种非常稳定的氮中心自由基, 具有易获得、重复性好的特点, 广泛应用于抗氧化物对自由基清除能力的评价, 对 DPPH 自由基的清除率越大, 说明样品抗氧化能力越强^[20,23]。由图 1 可知, 三叶青茎部不同极性萃取物对 DPPH 自由基均存在不同程度的清除能力, 在一定质量浓度范围内, 各萃取物对 DPPH 自由基的清除率均随着质量浓度的增加而升高。当质量浓度在 10~30 $\mu\text{g/mL}$ 之间, 水提取物和石油醚萃取物对 DPPH 自由基的清除能力相近, 而质量浓度为 30~50 $\mu\text{g/mL}$ 时, 水提取物对 DPPH 的清除能力逐渐低于石油醚萃取物。在样品质量浓度为 50 $\mu\text{g/mL}$ 时, 三叶青茎部各萃取物的清除能力存在差异: 乙酸乙酯萃取物清除能力最强为 91.01%±0.24%, 接近 VC 对照组的清除能力, 水提取物清除能力最弱为 14.50%±0.33%, 表明三叶青茎部清除 DPPH 自由基的活性成分主要富集在乙酸乙酯段中。

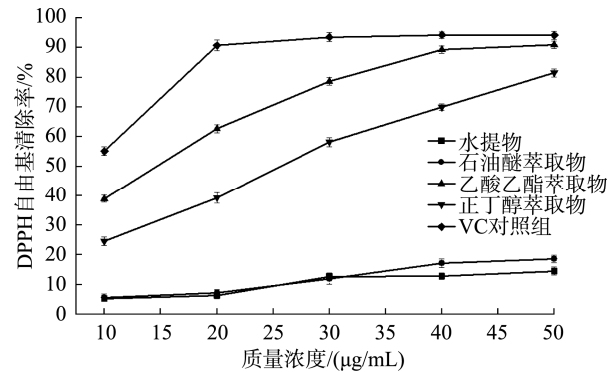


图 1 三叶青茎部不同极性萃取物对 DPPH 自由基清除能力
Fig.1 DPPH radical scavenging activities of different polar extracts from the stem of *Tetrastigma hemsleyanum*

2.2.2 超氧阴离子自由基清除能力

生物体内氧化还原反应中, 大约有 2%~5%的氧会产生超氧阴离子自由基, 其是羟基等多种自由基的衍生源, 超氧阴离子自由基的清除能力是评价样品抗氧化能力的一个重要指标^[24]。由图 2 可知, 三叶青茎部不同极性萃取物对超氧阴离子均存在不同程度的清除能力, 在一定质量浓

度范围内, 各萃取物与清除能力呈现正相关。在质量浓度为 50 $\mu\text{g/mL}$ 时, 4 种萃取物中乙酸乙酯萃取物对超氧阴离子的清除能力最强, 为 74.14%±1.87%, 最弱的是水提取物, 为 30.03%±1.80%, 三叶青茎部多酚、黄酮等物质作为主要的活性成分, 在乙酸乙酯段中富集后, 清除超氧阴离子自由基能力明显增强。

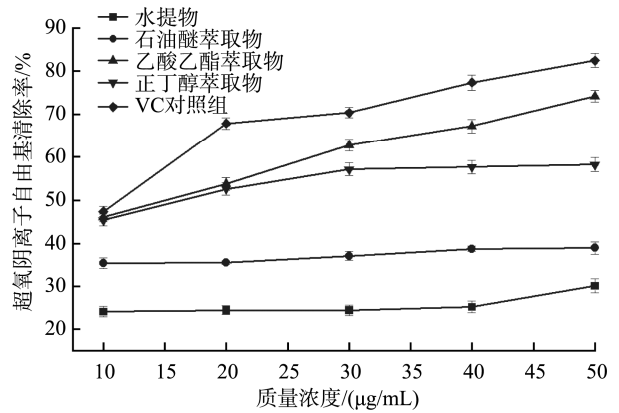


图 2 三叶青茎部不同极性萃取物对超氧阴离子自由基清除能力
Fig.2 Superoxide anion free radical scavenging abilities of different polar extracts from the stem of *Tetrastigma hemsleyanum*

2.2.3 PTIO 活性氧自由基清除能力

PTIO 作为一种常用的一氧化氮清除剂^[25], 其带电基团为氧原子, 区别于其他自由基, 如 DPPH 自由基为氮原子^[26]。由图 3 可知, 三叶青茎部不同极性萃取物对 ABTS 阳离子自由基均存在不同程度的清除能力, 在一定质量浓度范围内, 各萃取物与清除能力呈现正相关。在质量浓度为 1.0 mg/mL 时, 4 种萃取物中乙酸乙酯萃取物对 PTIO 活性氧自由基的清除能力最强, 为 66.67%±1.60%, 其次是正丁醇萃取物, 为 63.29%±1.12%, 最弱的是石油醚萃取物, 为 38.26%±1.80%, 表明三叶青茎部清除 PTIO 活性氧自由基的活性成分主要富集在乙酸乙酯段中。

2.2.4 ABTS 阳离子自由基清除能力

ABTS 阳离子自由基是通过硫酸钾氧化 ABTS 产生的一种自由基, 其性质非常稳定, 目前被广泛应用于样品抗氧化能力的测定^[26]。由图 4 可知, 三叶青茎部不同极性萃取物对 ABTS 阳离子自由基均存在不同程度的清除能力,

在一定质量浓度范围内,各萃取物与清除能力呈现正相关。在质量浓度为 1.0 mg/mL 时,其中正丁醇萃取物的清除能力最强,为 $77.60\% \pm 1.50\%$,其次是乙酸乙酯段,为 $75.71\% \pm 1.40\%$,最弱的是石油醚萃取物,为 $37.29\% \pm 1.60\%$ 。各萃取物对 ABTS 阳离子自由基与 DPPH 自由基的清除活性不一致,这与郭刚军等^[27]对抗氧化物的研究结果相似。分析原因可能是不同极性溶剂在萃取时,富集到的萃取物活性成分复杂,其中不同含量和化学结构的活性物质产生协同作用造成的^[28]。

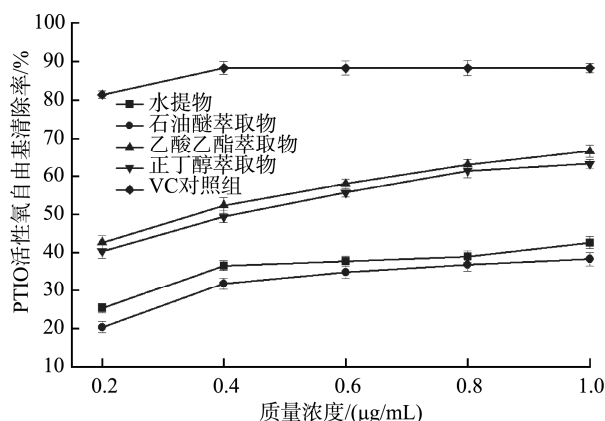


图 3 三叶青茎部不同极性萃取物对 PTIO 活性氧自由基清除能力

Fig.3 PTIO reactive oxygen species free radical scavenging abilities of different polar extracts from the stem of *Tetragium hemsleyanum*

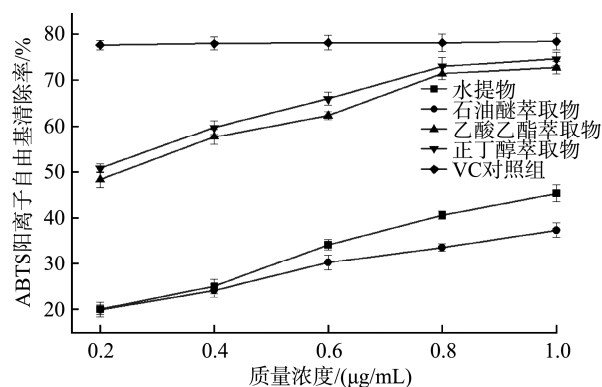


图 4 三叶青茎部不同极性萃取物对 ABTS 阳离子自由基清除能力

Fig.4 ABTS cationic radical scavenging abilities of different polar extracts from the stem of *Tetragium hemsleyanum*

2.2.5 羟自由基清除能力

羟自由基是一种氧化能力很强的自由基,可以发生电子转移,夺取氢原子和羟基化等反应^[29]。由图 5 可知,三叶青茎部不同极性萃取物对羟自由基均存在不同程度的清除能力,在一定质量浓度范围内,各萃取物与清除能力呈现正相关。在质量浓度为 1.0 mg/mL 时,4 种萃取物中乙酸

乙酯萃取物对羟自由基清除能力最强,为 $70.23\% \pm 1.44\%$,其次是正丁醇萃取物,为 $69.30\% \pm 1.62\%$,两者清除能力较为接近,最弱的是水提取物,为 $38.13\% \pm 1.23\%$ 。羟自由基的清除能力随着样品浓度的升高而升高,互相存在浓度效应关系,这可能与酚类等活性成分的富集有关。

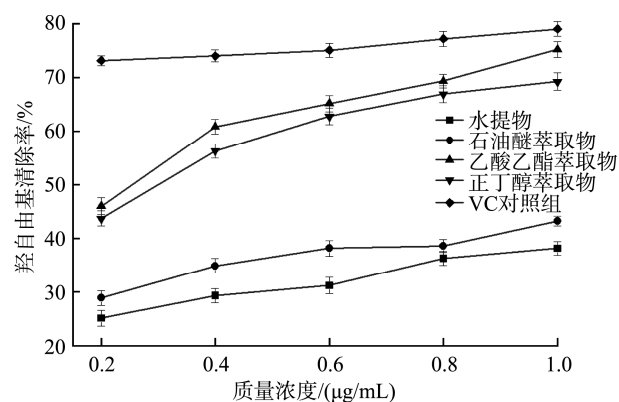


图 5 三叶青茎部不同极性萃取物对羟自由基清除能力
Fig.5 Hydroxyl radical scavenging abilities of different polar extracts from the stem of *Tetragium hemsleyanum*

2.2.6 铁原子还原能力

FRAP 是评价样品抗氧化性的一项重要指标,通常吸光值越大还原力越大。由图 6 可知,三叶青茎部不同极性萃取物对铁原子均存在不同程度的清除能力,在一定质量浓度范围内,各萃取物与清除能力呈现正相关。在质量浓度为 1.0 mg/mL 时,各萃取物中乙酸乙酯萃取物的 FRAP 最强,为 1.43 ± 0.08 ,其次是正丁醇萃取物,为 1.22 ± 0.08 ,最弱的是水提取物,为 0.60 ± 0.08 ,表明三叶青茎部对 FRAP 的活性成分主要富集在乙酸乙酯段中。

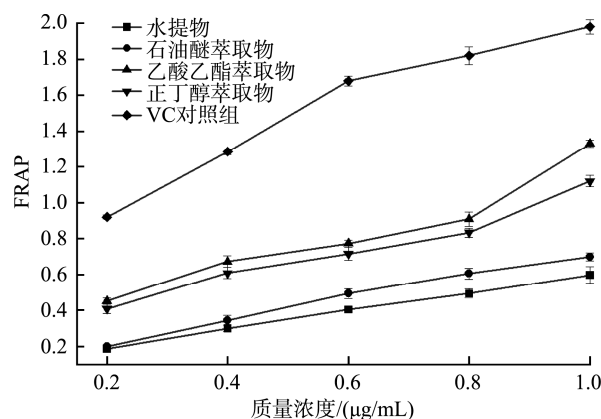


图 6 三叶青茎部不同极性萃取物的铁原子还原能力
Fig.6 FRAP of different polar extracts from the stem of *Tetragium hemsleyanum*

2.3 三叶青茎部不同极性萃取物 IC₅₀ 计算

采用 SPSS 17.0 软件计算三叶青各萃取物的 IC₅₀,以

样品浓度为横坐标, 清除率为纵坐标, 求得线性方程, 以 50%清除率对应的样品浓度作为样品自由基清除能力的半抑制浓度 IC_{50} 。其中铁还原能力的 IC_{50} 用吸光度为定值 0.5 时, 相对应的样品浓度表示^[30]。由表 2 可知, 各萃取物的体外抗氧活性之间存在差异。水提取物与石油醚萃取物的 IC_{50} 值偏大, 这可能是因为各萃取物中所含抗氧化成分的种类及结构不同, 从而导致对不同类型自由基具有选择性的清除作用。

2.4 酪氨酸酶抑制活性

三叶青茎部不同溶剂提取物对酪氨酸酶均存在一定的抑制能力, 且具有一定差异性。其中乙酸乙酯段的 IC_{50}

平均值为 0.394 mg/mL, 对酪氨酸酶的抑制能力显著优于其他 3 种萃取段, 与 VC 的抑制能力相近, 且 4 种萃取物之间均具有显著性差异($P<0.05$), 这说明乙酸乙酯萃取后富集了更多对酪氨酸酶具有抑制活性的物质。石油醚段和正丁醇段次之, IC_{50} 平均值分别为 0.555 mg/mL 和 0.600 mg/mL, 水提段对酪氨酸酶抑制能力较差, IC_{50} 平均值为 2.367 mg/mL, 可能因为水提段中存在一些可溶性淀粉及蛋白质等物质, 抑制活性物质含量较少^[31]。李盼盼等^[32]用相同方法测得甘薯叶中不同溶剂提取物对酪氨酸酶抑制作用明显, 其中 IC_{50} 为 4.010 mg/mL, 低于本研究中测定的乙酸乙酯萃取物。

表 2 三叶青茎部不同极性萃取物 IC_{50}
Table 2 IC_{50} calculation of different polar extracts from that stem of *Tetragastigma hemsleyanum*

分析指标	IC_{50} 值/(mg/mL)				VC
	水提取物	石油醚萃取物	乙酸乙酯萃取物	正丁醇萃取物	
清除 DPPH 自由基能力	0.482±0.060 ^d	0.231±0.040 ^c	0.016±0.002 ^a	0.025±0.006 ^b	0.008±0.001 ^a
清除超氧阴离子自由基能力	1.646±0.360 ^c	0.586±0.110 ^b	0.014±0.001 ^a	0.020±0.003 ^a	0.011±0.002 ^a
清除 PTIO 活性氧自由基能力	1.341±0.210 ^d	2.713±0.400 ^c	0.355±0.010 ^b	0.410±0.013 ^c	0.005±0.001 ^a
清除 ABTS 阳离子自由基能力	0.192±0.020 ^d	0.119±0.020 ^c	0.021±0.001 ^b	0.018±0.002 ^b	0.004±0.001 ^a
清除羟自由基能力	1.930±0.440 ^c	2.184±0.340 ^d	0.265±0.013 ^b	0.397±0.260 ^b	0.005±0.001 ^a
FRAP	2.052±0.310 ^c	1.412±0.190 ^d	0.352±0.027 ^b	0.414±0.043 ^c	0.149±0.024 ^a

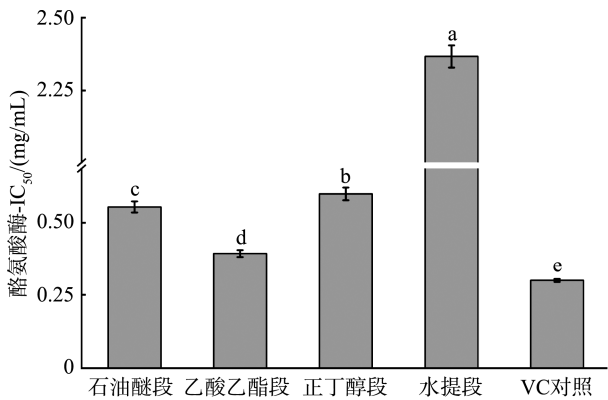


图 7 三叶青茎部不同溶剂提取物对酪氨酸酶的影响
Fig.7 Effects of different polar extracts from the stem of *Tetragastigma hemsleyanum* on tyrosinase

2.5 三叶青茎部不同极性萃取物功能成分与抗氧化活性相关性分析

采用 SPSS 17.0 软件对总酚、总黄酮、总皂苷、总多糖含量与抗氧化和酪氨酸酶抑制活性进行 Person 法相关性分析, 以数值-1 到 1 之间的相关系数来表示变量 X 和 Y 两者之间的线性关系, 方法高效实用。结果见表 3, 由表 3 可知, 三叶青茎部不同极性萃取物中总酚、总黄酮含量与 6 项抗氧化性指标和酪氨酸酶抑制活性的相关性均为极显著($P<0.01$), 总皂苷含量与 FRAP 相关性显著($P<0.05$), 与其他 5 项抗氧

化性指标和酪氨酸酶抑制活性均呈现极显著相关性($P<0.01$), 表明萃取物中的总酚、总黄酮和总皂苷类物质在发挥抗氧化和酪氨酸酶抑制活性中起到重要作用。同时, 各功能成分在抗氧化中发挥着复合作用, 萃取物中的总多糖含量与抗氧化性表现出相关性, 但相关系数相对较小, 部分总多糖可能作为抗氧化性物质, 在抗氧化中发挥协同作用。

表 3 相关性分析
Table 3 Correlation analysis

分析指标	相关性分析			
	总酚	总黄酮	总皂苷	总多糖
清除 DPPH 自由基能力	0.996**	0.962**	0.926**	0.811*
清除超氧阴离子自由基能力	0.978**	1.000**	0.995**	0.631*
清除 PTIO 活性氧自由基能力	0.990**	0.965**	0.931**	0.857*
清除 ABTS 阳离子自由基能力	0.979**	0.951**	0.922**	0.916**
清除羟自由基能力	0.984**	0.949**	0.914**	0.788*
FRAP	0.998**	0.990**	0.968*	0.735*
酪氨酸酶 IC_{50} (抑制活性)	0.962**	0.921**	0.900**	0.890*

注: **极显著相关($P<0.01$); *显著相关($P<0.05$)。

3 结 论

本研究对比分析三叶青茎部不同溶剂提取物的功能成分、体外抗氧化和酪氨酸酶抑制活性,并对其相关性进行了分析。实验结果表明三叶青茎部不同溶剂提取物中各功能成分含量丰富,且均具有不同程度的抗氧化和酪氨酸酶抑制活性。4 种提取物中乙酸乙酯提取物在抗氧化和酪氨酸酶抑制活性方面大部分优于其他极性萃取物,表明三叶青茎部中发挥作用的活性的物质主要富集在乙酸乙酯部位,其 DPPH 自由基、超氧阴离子自由基与 VC 相近,IC₅₀ 分别为(0.016±0.002) mg/mL、(0.014±0.001) mg/mL,而正丁醇萃取物的 ABTS 阳离子自由基清除能力最强,其 IC₅₀ 为(0.018±0.002) mg/mL,这可能与各萃取物中富集到的极性物质存在结构和性质上的差异有关。天然产物中的总酚、总黄酮和总皂苷等物质对发挥生物活性具有关键作用,三叶青中的总酚、总黄酮与抗氧化性和酪氨酸酶抑制活性呈现极显著相关性($P<0.01$),表明三叶青提取物中抗氧化和酪氨酸酶抑制活性与其所含有的功能成分密切相关,可能存在协同作用。综上分析,三叶青茎部可以作为天然的抗氧化和美白原料,进一步对其中的活性物质进行分析,确定并分离其中主要的单体物质,为开发新型的天然抗氧化剂及三叶青资源的开发利用提供了理论依据。

参考文献

- [1] 杨善岚, 吴磊, 涂嘉欣, 等. 自由基致衰老的研究进展[J]. 中华疾病控制杂志, 2022, 26(5): 589–594.
YANG SG, WU L, TU JX, et al. Research progress of free radical induced aging [J]. Chin J Dis Control Prev, 2022, 26(5): 589–594.
- [2] DI MS, VENDITTI P. Evolution of the knowledge of free radicals and other oxidants [J]. Oxid Med Cell Longev, 2020, 2020: 9829176.
- [3] 尹德航, 施乐洋, 叶雨涵, 等. 天然产物及其有效成分在化妆品领域的研究与开发[J]. 化学试剂, 2022, 44(7): 960–967.
YIN DH, SHI LY, YE YH, et al. Research and application of natural products and the related components in cosmetic industry [J]. Chem Reag, 2022, 44(7): 960–967
- [4] 李鑫, 刘景玲, 李彦, 等. 三叶青原花青素结构分析[J]. 食品科学, 2018, 39(16): 247–255.
LI X, LIU JL, LI Y, et al. Structural analysis of proanthocyanidins from *Tetrastigma hemsleyanum* diels et gilg. [J]. Food Sci, 2018, 39(16): 247–255
- [5] 徐志杰, 黄子涵, 马方芳, 等. 响应面法优化三叶青总黄酮提取工艺及不同产地三叶青的质量评价[J]. 食品工业科技, 2022, 43(6): 158–167.
XU ZJ, HUANG ZR, MA FF, et al. Optimization of total flavonoids extraction process of *Tetrastigma hemsleyanum* diels et gilg and its quality evaluation from different origins [J]. Sci Technol Food Ind, 2022, 43(6): 158–167
- [6] 范世明, 谢心月, 曾繁天, 等. 三叶青叶化学成分鉴定及其总黄酮含量测定研究[J]. 药物分析杂志, 2017, 37(8): 1481–1488.
FAN SM, XIE XY, ZENG FT, et al. Identification of chemical components and determination of flavonoids in *Tetrastigma hemsleyanum* leaves [J]. Chin J Pharm Anal, 2017, 37(8): 1481–1488.
- [7] 徐帆, 蒋梦丹, 柴伟国, 等. 不同种源三叶青的农艺性状和品质性状的因子分析和聚类分析[J]. 浙江理工大学学报(自然科学版), 2021, 45(3): 408–415.
XU F, JIANG MD, CHAI WG, et al. Factor analysis and cluster analysis of agronomic traits and quality traits of *Tetrastigma hemsleyanum* from different provenances [J]. J Zhejiang Sci Technol Univ (Nat Sci Ed), 2021, 45(3): 408–415.
- [8] 张进军, 张作法, 吕国英, 等. 浙产三叶青地下地上部分抗氧化活性比较[J]. 浙江农业科学, 2021, 62(4): 709–711.
ZHANG JJ, ZHANG ZF, LU GY, et al. Comparison between root and shoot antioxidant activity of *Tetrastigma hemsleyanum* [J]. J Zhejiang Agric Sci, 2021, 62(4): 709–711.
- [9] 丁丽, 纪其雄, 吕雯婷, 等. 三叶青水提物体内、体外抗肿瘤作用的研究[J]. 中成药, 2013, 35(5): 1076–1078.
DING L, JI QX, LV WT, et al. Study on the anti-tumor effect of trifolia water extract *in vitro* and *in vivo* [J]. Chin Tradit Patent Med, 2013, 35(5): 1076–1078.
- [10] 孙美玲, 冯晓光, 常希光, 等. 水晶冰菜总黄酮分级萃取及其抗氧化活性[J]. 北京农学院学报, 2021, 36(4): 116–120.
SUN ML, FENG XG, CHANG XG, et al. Study on extraction and antioxidant activity of total flavonoids from *Mesembryanthemum crystallinum* [J]. J Beijing Univ Agric, 2021, 36(4): 116–120.
- [11] 王杨欣, 陈萱, 范鑫博, 等. 寒葱不同极性溶剂萃取物的活性成分分析及抗氧化活性研究[J]. 延边大学农学报, 2022, 44(1): 1–8.
WANG YX, CHEN X, FAN XB, et al. Analysis of active compounds and antioxidant activity of fractions from different polar solvents of *Allium victorialis* [J]. Agric Sci J Yanbian Univ, 2022, 44(1): 1–8.
- [12] 张丽静, 扎罗, 范蓓, 等. 西藏不同地区芜菁中总黄酮及总皂苷含量测定及抗氧化活性比较研究[J]. 食品研究与开发, 2020, 41(11): 53–58.
ZHANG LJ, ZHA L, FAN B, et al. Comparative analysis of total flavonoids and saponins content and antioxidant activities of *Brassica rapa* L. from different regions in Tibet [J]. Food Res Dev, 2020, 41(11): 53–58.
- [13] 郭畅, 李超, 侯明明, 等. 荔枝草总多糖的提取工艺优化及其体外抗氧化、降血糖活性分析[J]. 食品工业科技, 2022, 43(20): 211–219.
GUO C, LI C, HOU MM, et al. Extraction optimization and its inoxidizability and hypoglycemic properties *in vitro* of polysaccharide from *Salvia plebeia* R. Br [J]. Sci Technol Food Ind, 2022, 43(20): 211–219.
- [14] 史辛夷, 封云倩, 李云萍, 等. 福建观音座莲根茎的抗氧化成分提取工艺优化[J]. 食品工业科技, 2022, 43(11): 235–243.
SHI XY, FENG YQ, LI YP, et al. Study on extraction optimization of anti-oxidants from roots of *Angiopteris fokiensis* Hieron [J]. Sci Technol Food Ind, 2022, 43(11): 235–243.
- [15] 许瑞如, 张秀玲, 李振, 等. 桔梗根提取物不同溶剂萃取物的抗氧化活性[J]. 食品研究与开发, 2021, 42(1): 31–36.
XU RR, ZHANG XL, LI Z, et al. Antioxidant activity of extracts from different solvents of extract of *Platycodon grandiflorum* roots [J]. Food Res Dev, 2021, 42(1): 31–36.
- [16] 王循浩, 尹楠翔, 李倩, 等. 不同提取及测定方法对中药紫草组方抗氧化性比较[J]. 广州化工, 2020, 48(23): 83–86, 123.
WANG DH, YIN NX, LI Q, et al. Comparison of antioxidant activity with

- different extraction and determination methods for *Arnebiae* [J]. Guangzhou Chem Ind, 2020, 48(23): 83–86, 123.
- [17] 吕国英, 宋婷婷, 贺伟强, 等. 皱环球盖菇不同极性萃取物抗氧化活性比较及成分分析[J]. 菌物学报, 2022, 41(6): 999–1007.
- LV GY, SONG TT, HE WQ, *et al.* Comparison of antioxidant activities and constituent analyses of different polar extracts from *Stropharia rugosoannulata* [J]. Mycosystema, 2022, 41(6): 999–1007.
- [18] 喻铭佳, 索化夷. 巫山茶多酚提取物体外抗氧化活性研究[J]. 食品安全质量检测学报, 2021, 12(14): 5822–5827.
- YU MJ, SUO HY, Study on *in vitro* antioxidant activity of *Eucommia ulmoides* leaves tea and honeysuckle extracts [J]. J Food Saf Qual, 2021, 12(14): 5822–5827.
- [19] 吴妙鸿, 邱珊莲, 林宝妹, 等. 9 个品种番石榴果实提取物抗氧化活性比较研究[J]. 食品安全质量检测学报, 2022, 13(18): 6082–6089.
- WU MH, QIU SL, LIN BM, *et al.* Antioxidant activities of fruit extracts from 9 kinds of cultivars of *Psidium guajava* L. [J]. J Food Saf Qual, 2022, 13(18): 6082–6089.
- [20] 丁丽, 王淑君, 徐冰婉, 等. 基于体外抗氧化试验的三叶青活性物质提取工艺的研究[J]. 食品科技, 2021, 46(12): 224–229.
- DING L, WANG SJ, XU BW, *et al.* Extraction process of active substance from *Tetrastigmatis hemsleyanum* diels et gilg. based on antioxidant test *in vitro* [J]. Food Sci Technol, 2021, 46(12): 224–229.
- [21] 郭磊, 钱雪瑞, 戴宏伟, 等. 美味牛肝菌不同极性溶剂萃取物的抗氧化及抑菌活性研究[J]. 食品科技, 2020, 45(4): 175–181.
- GUO L, QIAN XR, DAI HW, *et al.* Antioxidant and antibacterial properties of extracts from different polar solvents from *Boletus edulis* bul. [J]. Food Sci Technol, 2020, 45(4): 175–181.
- [22] 孙崇鲁, 吴浩, 楼天灵, 等. UPLC-Q-TOF-MS 法分析三叶青地上部分化学成分[J]. 中成药, 2018, 40(6): 1424–1429.
- SUN CL, WU H, LOU TL, *et al.* UPLC-Q-TOF-MS method analyzes the aerial chemical composition of clover [J]. Chin Tradit Patent Med, 2018, 40(6): 1424–1429.
- [23] CORTES NRR, ORTEGA TDA, MUNOZ RC. Phytochemical content and antioxidant potential of tropical sapodilla fruit (*Manilkara zapota*) [J]. Fruits, 2022, 77(3): 1248–1294.
- [24] KOLAR FR, LINGASUR SM, KUMATHALLI TM, *et al.* Comparative analysis of phytochemical constituents and antioxidant activity of two pomegranate (*Punica granatum* L.) cultivars [J]. Isr J Plant Sci, 2022, 69(1): 100–109.
- [25] 王钦波, 王晓东. PTIO 自由基清除分析法的 pH 值效应与黄芩素及黄芩苷的构效分析[J]. 现代医院, 2019, 19(1): 145–148, 153.
- WANG QB, WANG XD. pH effect of PTIO free radical scavenging analysis and structure-activity analysis between *Baicalein* and *Baicalin* [J]. Mod Hosp, 2019, 19(1): 145–148, 153.
- [26] MWANGI RW, MACHARIA JM, WAGARA IN, *et al.* The antioxidant potential of different edible and medicinal mushrooms [J]. Biomed Pharmacother, 2022, 1: 147.
- [27] 郭刚军, 胡小静, 付稼榕, 等. 澳洲坚果青皮不同极性溶剂分步提取物功能成分与抗氧化活性及其相关性分析[J]. 食品科学, 2021, 42(7): 74–82.
- GUO GJ, HU XJ, FU JR, *et al.* Determination and correlation analysis of functional components and antioxidant activity of successive solvent extracts from *Macadamia* green husk [J]. Food Sci, 2021, 42(7): 74–82.
- [28] 赵晋彤, 付梓璇, 伊进杰, 等. 粗茎鳞毛蕨萃取物的体外抑菌及抗氧化活性分析[J]. 分子植物育种, 2018, 16(16): 5437–5443.
- ZHAO JT, FU ZX, YIN JJ, *et al.* Antibacterial and antioxidant activity of extracts from *Dryopteris crassirhizoma in vitro* [J]. Mol Plant Breed, 2018, 16(16): 5437–5443.
- [29] TOMAR V, SRIVASTAVA M. Comparative phytochemical estimation and free radical scavenging activity in leaves of cassia species [J]. Nat Acad Sci Lett, 2022, 45(3): 227–229.
- [30] 王萍, 王宇鹤, 李辉, 等. 枇杷核不同极性萃取物总黄酮、总多酚含量与其抗氧化活性的相关性[J]. 化学试剂, 2020, 42(9): 1067–1072.
- WANG P, WANG YH, LI H, *et al.* Correlation between the content total flavonoids and total polyphenols in loquat nuclear with different extracts and their antioxidant activities [J]. Chem Reag, 2020, 42(9): 1067–1072.
- [31] 赵雷, 丁葵英, 郑星, 等. 藜麦麸皮不同极性部位的抑菌及酪氨酸酶抑制活性研究[J]. 食品工业科技, 2019, 40(6): 82–88, 94.
- ZHAO L, DING KY, ZHENG X, *et al.* Bacteriostatic and Tyrosinase Inhibitory activities of different polar sites from *Quinoa* bran [J]. Sci Technol Food Ind, 2019, 40(6): 82–88, 94.
- [32] 李盼盼, 杨胜祥, 庞林江, 等. 甘薯叶提取物对酪氨酸酶的抑制作用[J]. 食品研究与开发, 2022, 43(22): 8–14.
- LI PP, YANG SX, PANG LJ, *et al.* Inhibition of tyrosinase by sweet potato leaf extract [J]. Food Res Dev, 2022, 43(22): 8–14.

(责任编辑: 于梦娇 郑 丽)

作者简介



胡宇航, 硕士研究生, 主要研究方向为水产品加工与贮藏。

E-mail: yuhangHYH@zjou.edu.cn



孙继鹏, 博士, 副研究员, 主要研究方向为海洋生物资源高值开发利用。

E-mail: jipengsun@yeah.net