

## 不同品种树葡萄叶片醇提物抗氧化及抑制 $\alpha$ -葡萄糖苷酶活性研究

邱珊莲<sup>1</sup>, 林宝妹<sup>1</sup>, 郑开斌<sup>1\*</sup>, 张少华<sup>2</sup>, 林霜霜<sup>1</sup>, 张树河<sup>1</sup>, 郑菲艳<sup>1</sup>, 李珊珊<sup>1</sup>

(<sup>1</sup>福建省农业科学院亚热带农业研究所, 福建漳州 363005; <sup>2</sup>宁波市食品检验检测研究院, 浙江宁波 315048)

**摘要:**【目的】探讨4个不同品种树葡萄嫩/老叶片醇提物抗氧化活性、抑制 $\alpha$ -葡萄糖苷酶活性、总多酚和总黄酮含量,以及功能活性与物质成分相关性。【方法】以‘沙巴’‘四季早生’‘福冈’‘阿根廷’4个树葡萄品种的嫩/老叶为试材,对清除DPPH $\cdot$ 、 $\cdot$ OH、ABTS $^+$ 3种自由基的能力、抑制 $\alpha$ -葡萄糖苷酶活性、多酚及黄酮含量进行测定。【结果】4个品种树葡萄嫩/老叶片提取物均表现出不同程度的抗氧化能力和很强的 $\alpha$ -葡萄糖苷酶抑制活性,且嫩叶提取物的活性明显高于同品种老叶提取物;3种抗氧化活性评价结果均表明‘沙巴’嫩叶醇提物的抗氧化活性最强,‘四季早生’嫩叶次之,‘福冈’老叶最弱;4个品种的新/老叶醇提物对 $\alpha$ -葡萄糖苷酶的半抑制率(IC<sub>50</sub>)范围为1.99~38.71 mg $\cdot$ L<sup>-1</sup>,抑制活性均远高于阳性对照‘阿卡波糖’(IC<sub>50</sub>为3 133.47 mg $\cdot$ L<sup>-1</sup>);叶片中多酚与黄酮含量也表现出嫩叶极显著高于老叶( $P<0.01$ ),多酚和黄酮质量分数分别介于53.92~274.72 mg $\cdot$ g<sup>-1</sup>、49.84~214.82 mg $\cdot$ g<sup>-1</sup>;抗氧化能力、 $\alpha$ -葡萄糖苷酶抑制能力与叶片多酚含量呈极显著正相关( $P<0.01$ ),与黄酮含量不具有显著相关性( $P>0.05$ )。【结论】4个树葡萄品种中,‘沙巴’嫩叶提取物抗氧化活性、 $\alpha$ -葡萄糖苷酶抑制活性及多酚含量最高,是开发天然抗氧化剂和 $\alpha$ -葡萄糖苷酶抑制剂的良好来源。

**关键词:** 树葡萄叶片;提取物;抗氧化; $\alpha$ -葡萄糖苷酶;多酚

中图分类号: S667.9

文献标志码: A

文章编号: 1009-9980(2017)11-1450-08

## Antioxidative activity and $\alpha$ -glucosidase inhibitory activity of ethanol extracts of leaves of different cultivars of jaboticaba

QIU Shanlian<sup>1</sup>, LIN Baomei<sup>1</sup>, ZHENG Kaibin<sup>1\*</sup>, ZHANG Shaohua<sup>2</sup>, LIN Shuangshuang<sup>1</sup>, ZHANG Shuhe<sup>1</sup>, ZHENG Feiyan<sup>1</sup>, LI Shanshan<sup>1</sup>

(<sup>1</sup>Institute of Subtropical Agriculture, Fujian Academy of Agricultural Sciences, Zhangzhou 363005, Fujian, China; <sup>2</sup>Ningbo Institute for Food Control, Ningbo 315048, Zhejiang, China)

**Abstract:** 【Objective】 The study compared the antioxidant activity,  $\alpha$ -glucosidase inhibitory activity, and the contents of total polyphenols and flavonoids of ethanol extracts from young and old leaves in 4 different cultivars of jaboticaba, and to analyze their correlations. 【Methods】 The fresh young and old leaves of 4 cultivars of jaboticaba, ‘Sabah’ ‘Sijizaosheng’ ‘Fukuoka’ and ‘Argentina’, were collected from Fujian-Taiwan Jiyong Cooperative Farm of Fruits and Vegetables, Longhai, Fujian. Leaves were crashed in 70% ethanol at a mass ratio of 1:10 for 1 min by a shredder. The liquor was shaken for 16 h at 28 °C and 180 r $\cdot$ min<sup>-1</sup> and centrifuged for 15 min at 6 000 r $\cdot$ min<sup>-1</sup>. The supernatant was collected and applied to determine the scavenging effects on DPPH $\cdot$ ,  $\cdot$ OH and ABTS $^+$  free radicals, the inhibition effect on  $\alpha$ -glucosidase activity, as well as the contents of total polyphenols and flavonoids. Difference significance and the correlations between the content of active substances (polyphenols and flavonoids) and antioxidant activity,  $\alpha$ -glucosidase inhibitory activity were analyzed using SPSS19.0 software. 【Results】 Extracts of young

收稿日期: 2017-05-08 接受日期: 2017-07-25

基金项目: 福建省公益类科研院所专项(2015R1013-1; 2016R1012-6; 2017R1024-1); 福建省农业科学院青年英才计划(YC2015-19); 福建省农业科学院科技创新团队PI项目(2016PI-2)

作者简介: 邱珊莲, 女, 副研究员, 博士, 研究方向为天然产物化学。Tel: 0596-2122112, E-mail: slqiu79@163.com

\*通信作者 Author for correspondence. E-mail: kaibin118@163.com

and old leaves from different cultivars had different levels of antioxidant capacity and a strong  $\alpha$ -glucosidase inhibitory activity. The results of all tested samples showed a linear relationship between the ability of scavenging DPPH $\cdot$ ,  $\cdot$ OH and ABTS $^+$  free radicals and the concentrations the components. According to the IC<sub>50</sub> values obtained from linear regression equation, the scavenging ability towards DPPH $\cdot$  free radicals was in the order of young leaves of 'Sabah' (ySa) > young leaves of 'Sijizaosheng' (ySi) > young leaves of 'Argentina' (yAr) > young leaves of 'Fukuoka' (yFu) > old leaves of 'Sijizaosheng' (oSi) > old leaves of 'Sabah' (oSa) > old leaves of 'Argentina' (oAr) > old leaves of 'Fukuoka' (oFu); the order of the ability of scavenging hydroxyl radicals was ySa > ySi > yAr > oSi > yFu > oSa > oAr > oFu; the ability of scavenging ABTS $^+$  radicals is in the order of ySa > ySi > yAr > oSi > yFu > oAr > oSa > oFu. Thus, the three antioxidant tests exhibited the highest antioxidant activity in the extract of ySa, followed by that of ySi and yAr. The extract of oFu exhibited the lowest antioxidant activity. The capacity of scavenging  $\cdot$ OH of all extracts with an IC<sub>50</sub> in the range of 127.80–960.63 mg $\cdot$ L<sup>-1</sup>, was much higher than the positive control of ascorbic acid (VC, IC<sub>50</sub>=2 658.62 mg $\cdot$ L<sup>-1</sup>). The  $\alpha$ -glucosidase inhibitory rate was linearly correlated with the logarithm values of extract concentration for all the tested samples. The IC<sub>50</sub> value of  $\alpha$ -glucosidase inhibitory activity of the 8 samples ranged from 1.99 to 38.71 mg $\cdot$ L<sup>-1</sup>. The inhibitory activity of all extracts from jaboticaba leaves in this study was much higher than that of acarbose (IC<sub>50</sub>=3 133.47 mg $\cdot$ L<sup>-1</sup>), and was in the order of ySa > ySi > oSi > yFu > yAr > oSa > oAr > oFu. Similar to the antioxidant activity, ySa showed the strongest  $\alpha$ -glucosidase inhibitory activity, followed by ySi, and oFu had the lowest activity. The contents of polyphenols and flavonoids of extracts ranged from 53.92 to 274.72 mg $\cdot$ g<sup>-1</sup> and 49.84 to 214.82 mg $\cdot$ g<sup>-1</sup>, respectively. The content of polyphenols was in the order of ySa > ySi > yAr > oSi > yFu > oAr > oSa > oFu, but the content of flavonoids was in the order of yAr > ySi > oSa > yFu > ySa > oAr > oSa > oFu. The contents of polyphenols and flavonoids in the young leaves were significantly higher than those in the old leaves of the same cultivar ( $P < 0.01$ ). Correlation analysis revealed that the DPPH $\cdot$ ,  $\cdot$ OH and ABTS $^+$  free radicals scavenging abilities were highly, significantly and positively correlated with the contents of polyphenols ( $P < 0.01$ ,  $0.933 1 < r < 0.958 0$ ). The inhibitory activity on  $\alpha$ -glucosidase was also significantly and positively correlated with the contents of polyphenols ( $P = 0.009 6$ ,  $r = 0.836 5$ ). However, the antioxidant capacity and  $\alpha$ -glucosidase inhibitory activity had no significant correlation with flavonoids ( $P > 0.05$ ). 【Conclusion】 The results indicated that there were significant differences in antioxidant activity,  $\alpha$ -glucosidase inhibitory activity, and the contents of total polyphenols and flavonoids among the ethanol extracts from young and old leaves of different cultivars of jaboticaba. The antioxidant activity,  $\alpha$ -glucosidase inhibitory activity, and the contents of total polyphenols and flavonoids in the young leaves were obviously higher than in the old leaves for each cultivar in this study. These bioactivities had a significant positive correlation with the content of polyphenols. The extract of ySa had the highest antioxidant activity,  $\alpha$ -glucosidase inhibitory activity, and content of total polyphenols among the 4 cultivars, followed by ySi.

**Key words:** Jaboticaba leaves; Extract; Antioxidant activity;  $\alpha$ -glucosidase; Polyphenol

树葡萄 [*Myrciaria cauliflora* (DC.) Berg], 又名肖怪柳桃金娘、珍宝果、嘉宝果、拟爱神木, 为桃金娘科拟香桃木属 (也曾称肖怪柳桃金娘属、水柏枝属或拟爱神木属) 果树, 属热带亚热带常绿灌木, 原产于巴

西、巴拉圭、阿根廷等国家和地区。树葡萄果实口味独特, 香气丰富, 富含人体必需的多种营养成分、矿物质元素及微量元素<sup>[1]</sup>。果皮中富含花青素、槲皮素衍生物等酚类物质, 表现出很强的抗氧化活性、抗菌活

性及抗细胞增殖活性<sup>[2]</sup>,因而具有治疗炎症性疾病、心血管疾病、糖尿病、抗癌、保护肝脏及美容养颜等功效<sup>[3]</sup>。

目前国内对树葡萄研究还较少,且多集中在栽培技术、营养成分及产品加工方面<sup>[4-7]</sup>,功效研究还处于空白。国外对其果皮及籽粒等提取物进行了少量功效研究。Araújo等<sup>[8]</sup>研究发现树葡萄果皮醇提取物富含多酚且具有很高的抗氧化能力,并认为树葡萄果皮可以作为天然抗氧化剂的重要来源;Leite-Legatti等<sup>[2]</sup>研究显示树葡萄果皮提取物除了具有很强的抗氧化活性外,对K-562细胞(人慢性骨髓性白血病细胞)及前列腺癌PC-3细胞也具有抗增殖能力,且不会引起细胞突变;Wang等<sup>[9]</sup>发现树葡萄籽粒提取物具有抗氧化和抑制口腔癌细胞增殖的作用;Macedo-Costa等<sup>[10]</sup>研究发现树葡萄叶片提取物对6种口腔细菌具有抑制作用。

植物多酚具有很好的抗氧化活性并可抑制 $\alpha$ -葡萄糖苷酶活性,且多酚主要存在于植物果、叶、根、皮中。目前对树葡萄功效研究多集中于果皮多酚类物质的抗氧化能力及抗细胞增殖能力研究,但对其叶片提取物进行抗氧化活性及抑制 $\alpha$ -葡萄糖苷酶活性的研究尚未有报道。笔者采用比色法测定4个不同品种的树葡萄嫩/老叶醇提物的抗氧化活性、抑制 $\alpha$ -葡萄糖苷酶活性、多酚及黄酮含量,并探讨活性与功能成分含量的相关性,旨在为筛选合适的树葡萄品种叶片进行深入的功能性研究与开发提供理论依据。

## 1 材料和方法

试验于2016年12月至2017年3月在福建省农业科学院亚热带农业研究所实验室内进行。

### 1.1 材料

树葡萄叶片于2016年12月8日采自福建龙海市吉勇果蔬闽台合作农场(惠昌树葡萄合作社),供试品种有‘沙巴’‘四季早生’‘福冈’‘阿根廷’,树龄为5 a(年)生。每个品种随机选取9株健康植株剪取叶片,嫩叶和老叶分开取样,每3株叶片混合成1个样品,即每个品种的嫩/老叶均设有3个重复样品。

### 1.2 方法

1.2.1 树葡萄叶片醇提物的制备 将采集的树葡萄新鲜叶片与70%乙醇按1:10质量比用粉碎机粉碎1 min,摇床振荡(28 ℃,180 r·min<sup>-1</sup>)提取16 h,取出

后以6 000 r·min<sup>-1</sup>离心15 min,取上清,10倍梯度稀释,待测。样品浓度单位为g·L<sup>-1</sup>,为鲜样质量浓度。另取一部分叶片,称其鲜质量后,烘干至恒质量,计算干物质百分含量,用于换算干样质量。

1.2.2 抗氧化活性测定 DPPH·自由基清除能力测定参照Xu等<sup>[11]</sup>的方法;·OH自由基清除能力测定参照曹燕等<sup>[12]</sup>的方法;ABTS<sup>+</sup>自由基清除能力测定参照Hu等<sup>[13]</sup>的方法。

1.2.3  $\alpha$ -葡萄糖苷酶抑制活性测定 取500  $\mu$ L 0.2 mol·L<sup>-1</sup>磷酸钾缓冲液(pH 6.8),加入80  $\mu$ L 15 mmol·L<sup>-1</sup>PNPG,200  $\mu$ L样品溶液,1.62 mL蒸馏水。将混合溶液在37 ℃恒温水浴5 min,然后加入100  $\mu$ L 0.2 U·mL<sup>-1</sup> $\alpha$ -葡萄糖苷酶溶液,摇匀,37 ℃恒温水浴15 min,然后加入0.2 mol·L<sup>-1</sup>碳酸钠溶液2.5 mL,于400 nm处测定吸光度,样品液每种浓度重复测3次,每次设3个平行。酶活性抑制率/%=[1-(A<sub>样品</sub>-A<sub>样品背景</sub>)/A<sub>空白</sub>] $\times$ 100。

1.2.4 半清除率(抑制率)IC<sub>50</sub>的计算 IC<sub>50</sub>指清除率(抑制率)为50%时所需样品液浓度,用来表示抗氧化剂清除自由基能力或酶抑制剂抑制活性。将样品溶液配制成不同浓度梯度溶液,测定各浓度样品液清除率(抑制率),绘制清除率(抑制率)-样品浓度曲线,由曲线读出或用方程计算出IC<sub>50</sub>。浓度越低,表明清除能力(抑制活性)越强。

1.2.5 多酚、黄酮含量测定 均参照Xu等<sup>[14]</sup>的方法。多酚测定以没食子酸为标准品,建立方程: $y=0.0020x+0.0614$ (0~300 mg·L<sup>-1</sup>, $R^2=0.9952$ ),式中: $y$ 为吸光度值, $x$ 为没食子酸质量浓度(mg·L<sup>-1</sup>)。样品中多酚含量用每g干燥叶片中所含的相当于没食子酸的量(GAE)进行计算,单位为mg·g<sup>-1</sup>(以干质量计)。黄酮测定以芦丁为标准品,建立方程: $y=1.2498x-0.0007$ (0~60 mg·L<sup>-1</sup>, $R^2=0.9999$ ),式中: $y$ 为吸光度值, $x$ 为芦丁质量浓度(mg·L<sup>-1</sup>)。样品中总黄酮含量用每g干燥叶片中所含的相当于芦丁(RE)的量进行计算,单位为mg·g<sup>-1</sup>。

### 1.3 数据处理

试验数据采用Excel、SPSS 19.0统计软件进行线性回归分析和单因素方差分析。

## 2 结果与分析

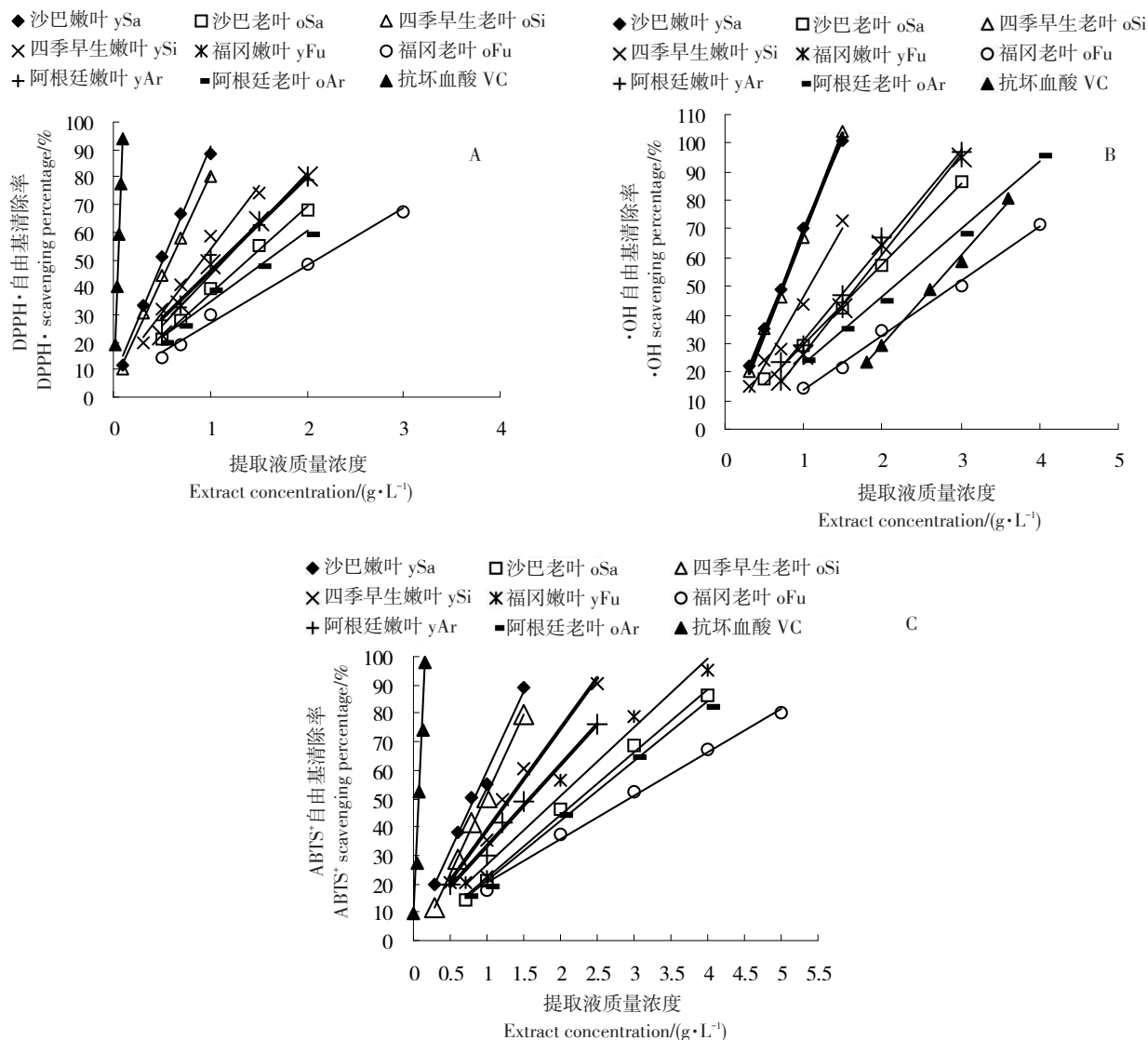
### 2.1 不同品种树葡萄叶片醇提物的抗氧化活性

#### 2.1.1 对DPPH·自由基的清除能力 不同品种树

葡萄叶片 70%醇提取物对 DPPH· 自由基的清除效果见图 1-A 和表 1。不同品种嫩叶与老叶提取液均对 DPPH· 自由基有一定的清除效果,且在一定的提取物浓度范围内呈线性量效关系,即 DPPH· 自由基清除率随提取物浓度的增加而升高。由图 1-A、表 1 可知,所测的 4 个树葡萄品种中,嫩叶提取物对 DPPH· 自由基的清除能力均高于同品种的老叶提取物,8 个样品提取液对清除 DPPH· 自由基的能力由大到小依次为:‘沙巴’嫩叶>‘四季早生’嫩叶>‘阿根廷’嫩叶>‘福冈’嫩叶>‘四季早生’老叶>‘沙巴’老叶>‘阿根廷’老叶>‘福冈’老叶。其中,‘沙巴’品种嫩叶提取液清除 DPPH· 自由基的能力最强,其提取

物在 0.10~1.00 mg·L<sup>-1</sup> 的范围内,对 DPPH· 自由基清除率为 11.45%~88.61%,其线性回归方程为  $y=84.701 0x+6.201 5, R^2=0.992 4, IC_{50}$  为 93.06 mg·L<sup>-1</sup>,该值为叶片干质量浓度,非某一功能成分浓度,与现在普遍接受的抗氧化剂抗坏血酸(VC)IC<sub>50</sub>(50.99 mg·L<sup>-1</sup>)相比,表明‘沙巴’嫩叶醇提取物具有很强的抗氧化性;而‘福冈’老叶提取液的清除 DPPH· 自由基的能力最弱,其提取物在 0.50~3.00 mg·L<sup>-1</sup> 的范围内,对 DPPH· 自由基清除率为 14.29%~67.62%,其线性回归方程为  $y=21.028 8x+5.565 9, R^2=0.992 2, IC_{50}$  为 697.29 mg·L<sup>-1</sup>。

2.1.2 对·OH 自由基的清除能力 不同品种树葡萄



ySa. Young leaves of Sabah; oSa. Old leaves of Sabah; ySi. Young leaves of Sijzaosheng; oSi. Old leaves of Sijzaosheng; yFu. Young leaves of Fukuo-ka; oFu. Old leaves of Fukuo-ka; yAr. Young leaves of Argentina; oAr. Old leaves of Argentina. VC. Vitamin C. The same below.

图 1 树葡萄叶片醇提取物对 DPPH·、·OH 及 ABTS· 自由基的清除效果

Fig. 1 Scavenging effect of ethanol extracts from leaves of jaborcaba on DPPH· radicals, ·OH radicals and ABTS· radicals

**表 1 树葡萄叶片醇提取物对 DPPH· 自由基的清除效果**  
**Table 1 DPPH· radical scavenging activity of ethanol extracts from leaves of jaboticaba**

叶片醇提取物 Ethanol extracts of leaves	线性回归方程 Linear regression equation	相关系数平方 Square of correlation coefficient, $R^2$	半清除率质量浓度 50% inhibitory concentration, $IC_{50}/(mg \cdot L^{-1})$
沙巴嫩叶 ySa	$y=84.701 0x+6.201 5$	0.992 4	93.06
沙巴老叶 oSa	$y=31.866 7x+5.907 9$	0.994 0	442.88
四季早生嫩叶 ySi	$y=76.380 3x+4.876 2$	0.994 2	118.20
四季早生老叶 oSi	$y=45.675 0x+8.404 7$	0.982 2	273.30
福冈嫩叶 yFu	$y=37.522 8x+6.842 0$	0.986 0	241.50
福冈老叶 oFu	$y=21.028 8x+5.565 9$	0.992 2	697.29
阿根廷嫩叶 yAr	$y=34.234 6x+11.743 9$	0.972 7	212.23
阿根廷老叶 oAr	$y=25.923 0x+8.742 5$	0.976 0	461.68
抗坏血酸 VC	$y=948.762 9x+1.625 5$	0.996 6	50.99

叶片 70%醇提取物对·OH 自由基的清除效果见图 1-B 和表 2。研究结果与清除 DPPH· 自由基大体一致。提取液浓度与·OH 自由基的清除率之间呈现明显的量效关系,  $R^2$  值均大于 0.98。同样地, 各品种嫩叶提取物对·OH 自由基的清除能力均高于同品种的老叶提取物, 各品种嫩/老叶提取液对清除·OH 自由基的能力大小次序与清除 DPPH· 略有差异, 依次为: ‘沙巴’嫩叶>‘四季早生’嫩叶>‘阿根廷’嫩叶>‘四季早生’老叶>‘福冈’嫩叶>‘沙巴’老叶>‘阿根廷’老叶>‘福冈’老叶。抗氧化活性最强的亦为‘沙巴’嫩叶提取液, 最弱的为‘福冈’老叶提取液。与

**表 2 树葡萄叶片醇提取物对·OH 自由基的清除效果**  
**Table 2 ·OH radical scavenging activity of ethanol extracts from leaves of jaboticaba**

叶片醇提取物 Ethanol extracts of leaves	线性回归方程 Linear regression equation	相关系数平方 Square of correlation coefficient, $R^2$	半清除率质量浓度 50% inhibitory concentration, $IC_{50}/(mg \cdot L^{-1})$
沙巴嫩叶 ySa	$y=67.172 7x+2.299 8$	0.993 4	127.80
沙巴老叶 oSa	$y=27.973 7x+1.763 4$	0.997 4	551.68
四季早生嫩叶 ySi	$y=69.704 5x-1.179 0$	0.998 1	146.80
四季早生老叶 oSi	$y=47.870 1x-1.544 7$	0.983 3	323.10
福冈嫩叶 yFu	$y=34.690 4x-7.850 9$	0.996 1	350.28
福冈老叶 oFu	$y=19.119 6x-5.653 1$	0.994 9	960.63
阿根廷嫩叶 yAr	$y=33.100 1x-1.485 8$	0.994 7	295.45
阿根廷老叶 oAr	$y=23.384 9x-0.114 8$	0.997 0	625.53
抗坏血酸 VC	$y=31.297 8x-33.209 1$	0.996 8	2 658.62

DPPH· 自由基的清除结果不同的是, 8 个样品溶液对·OH 自由基的清除能力均远高于阳性对照 VC。

2.1.3 对 ABTS<sup>+</sup> 自由基的清除能力 不同品种树葡萄叶片 70%醇提取物对 ABTS<sup>+</sup> 自由基的清除效果见图 1-C 和表 3。随着叶片提取物浓度的增加, 对 ABTS<sup>+</sup> 自由基的清除作用增强, 在测定的浓度范围内二者呈直线关系,  $R^2$  值均大于 0.98。4 个品种的嫩叶提取

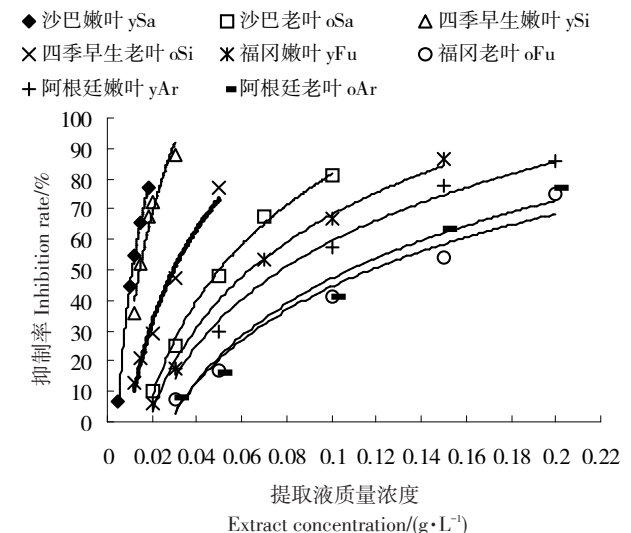
物对 ABTS<sup>+</sup> 自由基清除能力均高于同品种的老叶提取物, 8 个样品提取液清除 ABTS<sup>+</sup> 自由基能力由高到低依次为: ‘沙巴’嫩叶>‘四季早生’嫩叶>‘阿根廷’嫩叶>‘四季早生’老叶>‘福冈’嫩叶>‘阿根廷’老叶>‘沙巴’老叶>‘福冈’老叶。与前 2 种自由基清除结果类似, ‘沙巴’嫩叶提取液清除 ABTS<sup>+</sup> 自由基的能力最强, ‘四季早生’嫩叶次之, 再次为‘阿根廷’嫩叶, ‘福冈’老叶最弱。‘沙巴’嫩叶及‘四季早生’嫩叶醇提取物 2 者的  $IC_{50}$  与 VC 的  $IC_{50}$  ( $78.39 mg \cdot L^{-1}$ ) 相比, 从样品液浓度内涵的角度分析, 仍能表明‘沙巴’嫩叶及‘四季早生’嫩叶醇提取物均具有很强的抗氧化活性。

**表 3 树葡萄叶片醇提取物对 ABTS<sup>+</sup> 自由基的清除效果**  
**Table 3 ABTS<sup>+</sup> radical scavenging activity of ethanol extracts from leaves of jaboticaba**

叶片醇提取物 Ethanol extracts of leaves	线性回归方程 Linear regression equation	相关系数平方 Square of correlation coefficient, $R^2$	半清除率质量浓度 50% inhibitory concentration, $IC_{50}/(mg \cdot L^{-1})$
沙巴嫩叶 ySa	$y=56.433 5x+3.082 5$	0.990 4	149.58
沙巴老叶 oSa	$y=22.112 0x+0.018 3$	0.995 4	723.20
四季早生嫩叶 ySi	$y=56.409 6x-5.128 7$	0.998 9	195.40
四季早生老叶 oSi	$y=35.470 6x+3.590 7$	0.984 2	392.40
福冈嫩叶 yFu	$y=24.044 2x+3.040 7$	0.981 8	410.13
福冈老叶 oFu	$y=15.436 0x+4.698 0$	0.993 9	968.55
阿根廷嫩叶 yAr	$y=28.607 4x+4.886 8$	0.988 6	299.63
阿根廷老叶 oAr	$y=20.974 4x+0.334 1$	0.995 4	686.72
抗坏血酸 VC	$y=596.049 9x+3.273 7$	0.999 5	78.39

**2.2 不同品种树葡萄叶片醇提取物对  $\alpha$ -葡萄糖苷酶活性的抑制作用**

不同品种树葡萄叶片醇提取物抑制  $\alpha$ -葡萄糖苷酶活性研究结果见图 2 和表 4。图 2 显示各提取物



**图 2 树葡萄叶片醇提取物对  $\alpha$ -葡萄糖苷酶的抑制作用**  
**Fig. 2 Inhibitory activity of ethanol extracts from leaves of jaboticaba on  $\alpha$ -glucosidase**

表 4 树葡萄叶片醇提取物对  $\alpha$ -葡萄糖苷酶的抑制活性Table 4 Inhibitory activity of ethanol extracts from leaves of jaboticaba on  $\alpha$ -glucosidase

叶片醇提取物 Ethanol extracts of leaves	对数回归方程 Logarithm regression equation	相关系数平方 Square of correlation coefficient, $R^2$	半清除率浓度 50% inhibitory concentration, $IC_{50}/(mg \cdot L^{-1})$
沙巴嫩叶 ySa	$y=54.3173 \ln(x)+294.6136$	0.9994	1.99
沙巴老叶 oSa	$y=45.2921 \ln(x)+185.7565$	0.9948	15.97
四季早生嫩叶 ySi	$y=56.8202 \ln(x)+291.1171$	0.9589	2.87
四季早生老叶 oSi	$y=44.4810 \ln(x)+206.8626$	0.9835	8.82
福冈嫩叶 yFu	$y=40.0909 \ln(x)+160.4287$	0.9958	13.37
福冈老叶 oFu	$y=34.4944 \ln(x)+123.9205$	0.9628	38.71
阿根廷嫩叶 yAr	$y=37.4239 \ln(x)+145.6723$	0.9874	14.74
阿根廷老叶 oAr	$y=36.9559 \ln(x)+132.2734$	0.9669	31.30
阿卡波糖 Acarbose	$y=23.7558 \ln(x)+22.8675$	0.9988	3 133.47

浓度与抑制率呈非线性关系,即随着提取物浓度的增加,抑制率也随着增高,最初增高较急速,随后变得较缓慢,呈抛物线形,为对数函数型曲线, $R^2$ 值均在 0.95 以上,反映趋势线拟合程度较高。根据  $IC_{50}$  可知,4 个品种的新/老叶醇提取物对  $\alpha$ -葡萄糖苷酶的抑制活性均远高于阳性对照组阿卡波糖( $IC_{50}$  为  $3\ 133.47\ mg \cdot L^{-1}$ ),各品种嫩叶提取物对  $\alpha$ -葡萄糖苷酶抑制活性均明显高于同品种老叶提取物,这点与抗氧化活性相同,表明嫩叶中可能存在某一种功能成分含量明显高于老叶。8 个样品提取液对  $\alpha$ -葡萄糖苷酶的抑制活性从大到小依次为:‘沙巴’嫩叶>‘四季早生’嫩叶>‘四季早生’老叶>‘福冈’嫩叶>‘阿根廷’嫩叶>‘沙巴’老叶>‘福冈’老叶>‘阿根廷’老叶>‘福冈’老叶。‘沙巴’嫩叶提取液对  $\alpha$ -葡萄糖苷酶的抑制活性最强,‘四季早生’嫩叶次之,‘福冈’老叶最弱。

### 2.3 不同品种树葡萄叶片醇提取物中多酚与总黄酮含量

不同品种树葡萄叶片醇提取物中总多酚和总黄酮含量的测定结果见表 5。各品种嫩叶的多酚、黄酮

表 5 树葡萄叶片醇提取物中多酚与总黄酮含量

Table 5 The contents of polyphenols and flavonoids in leaves of jaboticaba

树葡萄叶 Leaves of jaboticaba	$\omega$ (多酚) Total phenolic/( $mg \cdot g^{-1}$ )	$\omega$ (黄酮) Total flavonoid/( $mg \cdot g^{-1}$ )
沙巴嫩叶 ySa	$274.72 \pm 1.06\ A$	$111.94 \pm 2.11\ E$
沙巴老叶 oSa	$76.23 \pm 0.95\ F$	$66.68 \pm 0.15\ F$
四季早生嫩叶 ySi	$237.85 \pm 0.51\ B$	$139.84 \pm 1.46\ B$
四季早生老叶 oSi	$148.76 \pm 8.32\ D$	$130.62 \pm 0.64\ C$
福冈嫩叶 yFu	$125.05 \pm 2.90\ E$	$117.13 \pm 2.24\ D$
福冈老叶 oFu	$53.92 \pm 1.92\ G$	$49.84 \pm 0.58\ G$
阿根廷嫩叶 yAr	$215.11 \pm 9.55\ C$	$214.82 \pm 4.66\ A$
阿根廷老叶 oAr	$78.79 \pm 1.33\ F$	$107.78 \pm 0.29\ E$

注:不同大写字母表示  $P < 0.01$  极显著差异。

Note: Different capital letters indicate significant difference at  $P < 0.01$ .

含量均极显著高于同品种老叶( $P < 0.01$ ),多酚质量分数范围为  $53.92 \sim 274.72\ mg \cdot g^{-1}$ ,黄酮质量分数范围为  $49.84 \sim 214.82\ mg \cdot g^{-1}$ 。多酚含量由高到低依次为‘沙巴’嫩叶>‘四季早生’嫩叶>‘阿根廷’嫩叶>‘四季早生’老叶>‘福冈’嫩叶>‘阿根廷’老叶>‘沙巴’老叶>‘福冈’老叶,可见‘沙巴’嫩叶多酚含量最高,‘四季早生’嫩叶次之,‘福冈’老叶多酚含量最低。黄酮含量由高到低依次为‘阿根廷’嫩叶>‘四季早生’嫩叶>‘四季早生’老叶>‘福冈’嫩叶>‘沙巴’嫩叶>‘阿根廷’老叶>‘沙巴’老叶>‘福冈’老叶,黄酮含量最高的为阿根廷’嫩叶,其次为‘四季早生’嫩叶,含量最低的为‘福冈’老叶。

### 2.4 抗氧化活性、 $\alpha$ -葡萄糖苷酶抑制活性与多酚、黄酮含量的相关性分析

不同品种树葡萄叶片醇提取物抗氧化活性、抑制  $\alpha$ -葡萄糖苷酶活性与叶片多酚、黄酮含量的相关性分析结果见表 6。叶片多酚含量与清除 DPPH $\cdot$ 、 $\cdot$ OH、ABTS $^+$ 自由基能力均呈极显著正相关( $P < 0.01$ ,  $0.933\ 1 < r < 0.958\ 0$ ),与  $\alpha$ -葡萄糖苷酶抑制活性也具有极显著的正相关性( $P < 0.01$ ,  $r = 0.836\ 5$ )。黄酮含量与抗氧化能力、酶抑制活性均无显著的正相关性( $P > 0.05$ )。

表 6 生物活性与叶片中多酚、黄酮含量的相关性

Table 6 The correlation between biological activities and the contents of polyphenols and flavonoids

	多酚 Total phenolic		黄酮 Total flavonoid	
	显著性水平 ( $P$ )	相关系数 ( $r$ )	显著性水平 ( $P$ )	相关系数 ( $r$ )
	Significance level	Correlation coefficient	Significance level	Correlation coefficient
DPPH $\cdot$	0.0006	0.9357	0.3865	0.3562
$\cdot$ OH	0.0007	0.9331	0.3918	0.3525
ABTS $^+$	0.0002	0.9580	0.3124	0.4105
$\alpha$ -glucosidase	0.0096	0.8365	0.7568	0.1312

### 3 讨 论

笔者采用分光光度法,测定了4个不同品种树葡萄新/老叶片醇提物对DPPH·、·OH、ABTS<sup>+</sup>3种自由基的清除能力,3种自由基的清除结果虽然均显示‘沙巴’嫩叶提取物的抗氧化活性最强,‘四季早生’嫩叶次之,‘阿根廷’嫩叶再次之,‘福冈’老叶最弱,但8个样品溶液在各个评价体系中的抗氧化能力大小排序却存在差异,这与董丽红等<sup>[14]</sup>研究荔枝果肉的抗氧化活性结果一致,该研究发现不同的抗氧化体系可明显影响酚类等活性物质的抗氧化活性。相同提取液对不同自由基的清除效果亦有所不同,以‘沙巴’嫩叶为例,对DPPH·自由基的IC<sub>50</sub>为93.06 mg·L<sup>-1</sup>,对·OH自由基的IC<sub>50</sub>为127.80 mg·L<sup>-1</sup>,对ABTS<sup>+</sup>自由基的IC<sub>50</sub>为149.58 mg·L<sup>-1</sup>,与阳性对照VC相比,对DPPH·、ABTS<sup>+</sup>自由基的清除能力弱于VC,对·OH自由基的清除能力却远高于VC,以上差异可能源于提取物中不同结构的物质对不同自由基存在一定的选择性<sup>[12]</sup>。

采用α-葡萄糖苷酶活性抑制酶学模型,测定了4个不同品种树葡萄新/老叶片醇提物体外对α-葡萄糖苷酶的抑制作用。结果发现所有品种嫩叶对α-葡萄糖苷酶的抑制活性均高于同品种老叶,‘沙巴’嫩叶提取物的抑制活性最强,其次为‘四季早生’嫩叶,再次为‘四季早生’老叶,‘福冈’老叶最弱。所有样品溶液的抑制活性均远高于‘阿卡波糖’,说明树葡萄叶片在开发α-葡萄糖苷酶抑制剂方面可能具有很大的潜力和价值,这需要通过体内试验研究进一步论证。样品间酶活性强弱与抗氧化活性较为一致,表明树葡萄叶片这2种活性可能存在共同的物质基础。迄今为止,已有一些报道同时对同一溶剂植物提取物进行抗氧化活性及抑制α-葡萄糖苷酶活性的研究<sup>[15-16]</sup>,但结果往往是只有其中1种活性较强,2种活性均高的极少,可能这些植物中发挥不同生物活性的物质基础及其分子极性不同,需要用不同的溶剂去提取。

本研究发现不同品种树葡萄叶片多酚、黄酮含量存在显著差异,同一品种新叶与老叶之间也存在显著差异。这一研究结果与桑叶相似,该研究结果显示桑叶中多酚及黄酮含量与品种、叶位都有一定的相关性,不同品种桑叶中总酚和黄酮含量差异较大,叶质较嫩桑叶(上位叶)2种成分含量高于中位

叶和下位叶<sup>[17-18]</sup>。品种间差异可能取决于遗传因素,叶位间差异可能由叶片成熟过程中物质转化引起。

各品种嫩叶的多酚及黄酮含量均较高,占干物质的10%以上,其中‘沙巴’树葡萄叶片的多酚质量分数(以干质量计)最高,达274.72 mg·g<sup>-1</sup>,约占已报道的树葡萄果皮多酚质量分数(556.3 mg·g<sup>-1</sup>)的一半<sup>[2]</sup>,与青茶中的盛华茗茶茶多酚质量分数(277.47 mg·g<sup>-1</sup>)相当,但高于高海荣等<sup>[19]</sup>报道的其他10种茶叶茶多酚。相关性分析结果表明叶片多酚含量与抗氧化性及α-葡萄糖苷酶抑制活性均呈极显著正相关,而与黄酮含量没有显著相关性。说明不同树葡萄叶片中多酚类物质含量差异是导致其提取物抗氧化活性和α-葡萄糖苷酶抑制活性差异的主要原因。事实上,许多多酚类物质具有很好的抗氧化功能早已被发现和证实,而近十几年来也有研究发现有些多酚类化合物在体外还具有抑制α-葡萄糖苷酶活性的作用,这些化合物包括表没食子儿茶素没食子酸酯、槲皮素、花青素等<sup>[20]</sup>。但树葡萄叶片多酚中究竟是哪种具体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。

### 4 结 论

4个不同品种树葡萄嫩老叶提取物抗氧化活性、α-葡萄糖苷酶抑制活性、多酚及黄酮含量存在显著差异,多酚含量与抗氧化活性、α-葡萄糖苷酶抑制活性均呈极显著正相关。8个样品中以‘沙巴’嫩叶提取物抗氧化活性、α-葡萄糖苷酶抑制活性及多酚含量最高,且与阳性对照相比具有很大的优势,表明‘沙巴’嫩叶可作为α-葡萄糖苷酶抑制剂和抗氧化剂的良好来源。

#### 参考文献 References:

- [1] 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.  
TANG Li, YUAN Tingting, ZHONG Qiuping. Analysis of nutritional components in *Myrciaria cauliflora*[J]. Nonwood Forest Research, 2014, 32(2): 120-124.
- [2] LEITE-LEGATTI A V, BATISTA Â G, DRAGANO N R V, MARQUES A C, MALTA L G, RICCIO M F, EBERLIN M N, MACHADO A R T, CARVALHO-SILVA L B D, RUIZ A L T G, CARVALHO J E D, PASTORE G M, JÚNIOR M R M. Jabcabapeel: Antioxidant compounds, antiproliferative and antimutagenic activities[J]. Food Research International, 2012, 49 (1): 596-

- 603.
- [3] SANTOS D T, MEIRELES M A A. Jaboticaba as a source of functional pigments[J]. *Pharmacognosy Reviews*, 2009, 3 (5): 137-142.
- [4] 黄丽蓉. 树葡萄的栽培技术及应用价值[J]. *福建热作科技*, 2015, 40(1): 39-41.  
HUANG Lirong. Cultivation technology and application value of jaboticaba[J]. *Fujian Science & Technology of Tropical Crops*, 2015, 40(1): 39-41.
- [5] 黄西华. 嘉宝果的开发利用价值及栽培技术[J]. *福建热作科技*, 2016, 41(1): 46-47.  
HUANG Xihua. Development and utilization value and cultivation technology of jaboticaba[J]. *Fujian Science & Technology of Tropical Crops*, 2016, 41(1): 46-47.
- [6] 刘友接, 傅加兴, 林旗华, 李宪庭, 陈吉昌. 莎芭拉嘉宝果引种表现及栽培技术要点[J]. *中国南方果树*, 2011, 40(4): 97-99.  
LIU Youjie, FU Jiaying, LIN Qihua, LI Xianting, CHEN Jichang. The performance of introduced jaboticaba Sabara and its cultivation techniques[J]. *South China Fruits*, 2011, 40(4): 97-99.
- [7] 丁吉星, 何玉云, 梁艳英, 崔长伟, 王华, 李华. 新型嘉宝果起泡酒香气成分及特征香气分析[J]. *食品科学*, 2014, 35(24): 145-150.  
DING Jixing, HE Yuyun, LIANG Yanying, CUI Changwei, WANG Hua, LI Hua. Analysis of volatile aroma compounds and aromatic characteristics from jaboticaba sparkling wine[J]. *Food Science*, 2014, 35(24): 145-150.
- [8] ARAÚJO C R R, SILVA T D M, LOPES M, VILLELA P, ALCANTARA A F D C, DESSIMONI-PINTO N A V. Total antioxidant capacity, total phenolic content and mineral elements in the fruit peel of *Myrciaria cauliflora*[J]. *Brazilian Journal of Food Technology*, 2013, 16(4): 301-309.
- [9] WANG W H, TYAN Y C, CHEN Z S, LIN C G, YANG M H, YUAN S S, TSAI W C. Evaluation of the antioxidant activity and anti-proliferative effect of the jaboticaba (*Myrciaria cauliflora*) seed extracts in oral carcinoma cells[J]. *Biomed Research International*, 2014, 2014: 1-7.
- [10] MACEDO-COSTA M R, DINIZ D N, CARVALHO C M, PEREIRA M S V, PEREIRA J V, HIGINO J S. Effectiveness of the *Myrciaria cauliflora* (Mart.) O. Berg. extract on oral bacteria [J]. *Revista Brasileira De Farmacognosia*, 2009, 19(2): 565-571.
- [11] XU J G, TIAN C R, HU Q P, LUO J Y, WANG X D, TIAN X D. Dynamic changes in phenolic compounds and antioxidant activity in oats (*Avena nuda* L.) during steeping and germination[J]. *Journal of Agricultural & Food Chemistry*, 2009, 57 (21): 10392-10398.
- [12] 曹燕, 庞市宾, 徐磊, 范玉东, 明婷, 孙玉华. 金鸡菊提取物体外抗氧化活性[J]. *中国实验方剂学杂志*, 2011, 17(12): 144-147.  
CAO Yan, PANG Shibin, XU Lei, FAN Yudong, MING Ting, SUN Yuhua. Antioxidant activities of *Coreopsis tinctoria* extracts *in vitro*[J]. *Chinese Journal of Experimental Traditional Medical Formulae*, 2011, 17(12): 144-147.
- [13] HU Q, XU J. Profiles of carotenoids, anthocyanins, phenolics, and antioxidant activity of selected color waxy corn grains during maturation[J]. *Journal of Agricultural & Food Chemistry*, 2011, 59 (5): 2026-2033.
- [14] 董丽红, 张瑞芬, 肖娟, 邓媛元, 张雁, 刘磊, 黄菲, 魏振承, 张名位. 荔枝果肉不同酚类成分群的分离及其抗氧化活性[J]. *中国农业科学*, 2016, 49(20): 4004-4015.  
DONG Lihong, ZHANG Ruifen, XIAO Juan, DENG Yuanyuan, ZHANG Yan, LIU Lei, HUANG Fei, WEI Zhencheng, ZHANG Mingwei. Separation and antioxidant activity of different phenolic compound fractions from litchi pulp[J]. *Scientia Agricultura Sinica*, 2016, 49(20): 4004-4015.
- [15] 李玲, 孟英才, 肖水平, 谭洋, 廖美芳, 裴刚. 金樱子乙醇提取物抗氧化和抑制 $\alpha$ -葡萄糖苷酶活性的研究[J]. *湖南中医药大学学报*, 2015, 35(12): 14-17.  
LI Ling, MENG Yingcai, XIAO Shuiping, TAN Yang, LIAO Meifang, PEI Gang. Antioxidative activity and  $\alpha$ -glucosidase inhibitory activity of ethanol extract in *Rosa laevigata* Michx[J]. *Journal of Hunan University of Chinese Medicine*, 2015, 35(12): 14-17.
- [16] 张蕾, 周萌, 倪勤学, 陈龙, 王姝, 束旭, 高前欣, 张有做. 大越豆芋花醇提物抗氧化及 $\alpha$ -葡萄糖苷酶抑制活性研究[J]. *浙江林业科技*, 2014, 34(4): 5-10.  
ZHANG Lei, ZHOU Meng, NI Qinxue, CHEN Long, WANG Shu, SHU Xu, GAO Qianxin, ZHANG Youzuo. Antioxidant and inhibitory activities on  $\alpha$ -glucosidase of ethanol extract from *Apios americana*'s flower[J]. *Journal of Zhejiang Forestry Science and Technology*, 2014, 34(4): 5-10.
- [17] 张亮亮, 汪咏梅, 徐曼, 吴冬梅, 陈笱鸿. 不同品种桑叶多酚和黄酮含量变化规律研究[J]. *时珍国医国药*, 2013, 24(5): 1064-1066.  
ZHANG Liangliang, WANG Yongmei, XU Man, WU Dongmei, CHEN Jiahong. Total phenolic and flavonoid contents of different mulberry varieties leaves[J]. *Lishizhen Medicine and Materia Medica Research*, 2013, 24(5): 1064-1066.
- [18] 杨普香, 管帮福, 黎小萍. 桑叶中黄酮类化合物、氨基酸、桑多酚的含量变化探讨[J]. *蚕桑茶叶通讯*, 2003(2): 2-3.  
YANG Puxiang, GUAN Bangfu, LI Xiaoping. Discussion on the content of flavones compound, amino acid and polyphenols in mulberry leaves[J]. *Newsletter of Sericulture and Tea*, 2003 (2): 2-3.
- [19] 高海荣, 黄振旭, 李华敏. 16种中国茶叶中茶多酚含量对比研究[J]. *食品研究与开发*, 2016, 37(7): 33-36.  
GAO Hairong, HUANG Zhenxu, LI Huamin. Comparative study on the content of tea polyphenols of sixteen kinds of China tea[J]. *Food Research and Development*, 2016, 37(7): 33-36.
- [20] MCDUGALL G J, SHIRO F, DOBSON P, SMITH P, BLAKE A, STEWART D. Different polyphenolic components of soft fruits inhibit alpha-amylase and alpha-glucosidase[J]. *Journal of Agricultural & Food Chemistry*, 2005, 53(7): 2760-2766.