

薰衣草薄荷叶非精油组分清除自由基作用的研究

张 军¹,陈季武¹,袁萌芽¹,姚 雷²,周 影¹

(1 华东师范大学 生命科学院,上海 200062;2 上海交通大学 植物科学系,上海 201101)

【摘 要】 【目的】为薰衣草薄荷叶非精油组分的医疗、保健和营养等功能提供理论依据。【方法】分别采用水、甲醇-水、乙酸乙酯和乙醇提取法对薰衣草薄荷叶非精油组分进行了提取,并分别采用超氧阴离子自由基(O_2^-)、羟自由基($\cdot OH$)、过氧亚硝基($ONOO^-$)化学发光体系和 $\cdot OH$ 氧化损伤 DNA 的化学发光体系以及二苯代苦味肼基自由基(DPPH $\cdot$)比色体系,对得到的4种提取物抗氧化能力进行比较。【结果】薰衣草薄荷叶非精油组分的有效成分主要存在于极性和弱极性溶剂提取物中。4种薰衣草薄荷叶非精油组分提取物不仅能够直接有效地清除 O_2^- 、 $\cdot OH$ 、 $ONOO^-$ 和DPPH $\cdot$,而且能够有效地抑制和延缓 $\cdot OH$ 对DNA的氧化损伤。【结论】薰衣草薄荷叶非精油组分是一种有效的、多功能的天然抗氧化剂和自由基清除剂,具有良好的应用前景。

【关键词】 薰衣草薄荷;非精油组分;自由基;DNA损伤;抗氧化剂

【中图分类号】 TS202.3;Q505

【文献标识码】 A

【文章编号】 1671-9387(2008)02-0159-06

Study on scavenging free radical of the components of nonessential oils in Lavender mint leaves

ZHANG Jun¹, CHEN Ji-wu¹, YUAN Meng-ya¹, YAO Lei², ZHOU Ying¹

(1 College of Life Sciences, East China Normal University, Shanghai 200062, China;

2 Department of Plant Science, Shanghai Jiaotong University, Shanghai 201101, China)

Abstract: 【Objective】 The study provides a theoretical basis for medical care, health, nutrition and other functions of components of nonessential oils in Lavender mint leaves. 【Method】 The components of nonessential oils in Lavender mint leaves are distilled respectively by water extraction, methanol-water extraction, ethyl acetate extraction and ethanol extraction, then compared and evaluated by Chemiluminescence systems of superoxide anion free radical, hydroxyl radical, peroxynitrite and DNA oxidative damage caused by hydroxyl radical and colorimetric systems of DPPH free radical. 【Result】 The main active ingredients of components of nonessential oils in Lavender mint leaves exist in polar and weak polar solvent extracts. The experiments reveal that the four different extractions of the components of nonessential oils in Lavender mint leaves can not only directly scavenge superoxide anion free radical, hydroxyl radical, peroxynitrite and DPPH free radical, but also has a better ability to obviously mitigate and delay DNA oxidative damage caused by hydroxyl radical. 【Conclusion】 The components of nonessential oils in Lavender mint leaves are very effective and multifunctional crude antioxidants and free radical scavengers with a good application prospect.

Key words: Lavender mint; components of nonessential oils; free radical; DNA damage; antioxidant

* [收稿日期] 2007-01-31

[作者简介] 张 军(1982—),男,河南南阳人,在读硕士,主要从事自由基医学和抗氧化研究。

[通讯作者] 陈季武(1956—),男,上海人,副教授,主要从事植物资源开发和自由基医学研究。

自 1900 年 Gomberg 首次证实三苯甲基自由基以来,自由基参与众多重要的生命过程逐步为人们所认识,特别是自由基在促成疾病发生和发展过程中的作用,已成为科学和产业界所要解决的重要问题^[1-2]。随着基础理论和研究工作的深入,尤其是合成抗氧化剂所显露的弊端以及回归“绿色天然”概念深入人心,源于自然界的抗氧化物质开始备受重视。其中芳香植物提取物的抗氧化作用开始受到关注,并广泛应用于食品加工、医学治疗、美容保健等领域^[3]。但目前国内外对芳香植物的研究与开发主要聚焦于精油组分^[3],而姚雷等^[4]、裘惠霞等^[5]对百里香、神香草等芳香植物所进行的抗氧化研究表明,更多的抗氧化物质是存在于非精油组分中。

薰衣草薄荷是唇形科薄荷属多年生草本植物,因具有近似薰衣草的香气而得名(学名:*Mentha piperita* cv. ‘*lavandula*’,英文名: Lavender mint)。作为近年来培育出的新品种,其在日本等国主要作为观赏花卉,而对于该品种的植物学性状及其有效成分的研究报道甚少,未见有关该品种清除活性氧、活性氮及抗氧化的研究报道。本研究选取薰衣草薄荷叶非精油组分的 4 种不同溶剂提取物为试验材料,较系统地检测其清除活性氧、活性氮和抗氧化及防护 $\cdot\text{OH}$ 对 DNA 的氧化损伤作用,旨在为薰衣草薄荷叶非精油组分的医疗、保健和营养等功能提供理论依据,为其进一步开发利用奠定基础。

1 材料与方法

1.1 材 料

1.1.1 供试植物 自日本引种的薰衣草薄荷于 2004-04 播种在上海市青浦农业园区,于 2005-08 初采集植株的中上部叶片(离地面 20 cm),立即称重后置于凉棚内自然干燥,时间为 30 d,再置 60℃烘箱烘至恒重。用高速微量粉碎机粉碎并收集粉末。

1.1.2 试 剂 黄芩甙纯度为 97%,购自上海中药一厂;鲁米诺为 SIGMA 产品;二苯代苦味肼基(DPPH $\cdot$)为日本东京化成工业株式会社产品;其他试剂均为国产分析纯。

1.2 方 法

1.2.1 薰衣草薄荷叶精油组分的提取^[6] 准确称取 50 g 薰衣草薄荷叶粉末倒入蒸馏瓶,加入 250 mL 去离子水,于 50℃水浴锅中温浴 4 h,然后使用精油提取器提取 0.5 h,流速约为 1 mL/min,最终得精油约为 0.4 mL,收集蒸馏瓶中的全部残渣。以上精油提取重复 4 次,合并所有残渣。

将上述残渣抽滤,加入 100 mL 石油醚,于 40℃水浴锅中过夜。按此方法用石油醚脱色 3 次^[7]。置通风橱内尽可能使石油醚挥发干净,保存滤渣。

1.2.2 薰衣草薄荷叶非精油组分的提取(Components of Nonessential Oils in Lavender Mint Leaves,CNOLML) (1)水提取法^[7]。称取薰衣草薄荷叶残余物约 58 g 置蒸馏瓶中,加入 300 mL 超纯水,置于 100℃水浴锅中,5 h 后过滤,保存滤液,在残渣中又加入 180 mL 超纯水,置 100℃水浴锅中 5 h 后过滤,保存滤液;在残渣中再加入 60 mL 超纯水,置 100℃水浴锅中 5 h 后过滤,保存滤液,合并 3 次滤液于培养皿中,冷冻干燥。

(2)甲醇-水提取法^[7]。称取薰衣草薄荷叶残余物约 40 g 置蒸馏瓶中,加入 200 mL 甲醇与超纯水的混合溶液[V(甲醇):V(超纯水)=9:1],置于 40℃水浴锅中,12 h 后过滤,保存滤液,在残渣中又加入 200 mL 甲醇与超纯水的混合溶液[V(甲醇):V(超纯水)=1:1],置于 40℃水浴锅中,12 h 后过滤,保存滤液。合并 2 次滤液,加入等体积的氯仿,静置萃取 10 min,弃掉下层氯仿,收集上层液体,重复 3 次。将所得滤液置于旋转蒸发仪中,于 60 r/min、45℃下减压进行 2 h,收集剩余混合液于培养皿中,冷冻干燥。

(3)乙酸乙酯提取法^[8]。称取薰衣草薄荷叶残余物约 35 g 放入蒸馏瓶中,加入 200 mL 乙酸乙酯,置于 65℃水浴锅中回流提取,5 h 后过滤,保存滤液,在残渣中又加入 200 mL 乙酸乙酯,置于 65℃水浴锅中回流提取,5 h 后过滤,保存滤液;在残渣中再加入 200 mL 乙酸乙酯,置于 65℃水浴锅中回流提取,5 h 后过滤,保存滤液。合并 3 次滤液,置旋转蒸发仪中,在 60 r/min、45℃下减压进行 2 h,收集剩余混合液于培养皿中,冷冻干燥。

(4)乙醇提取法^[9]。称取薰衣草薄荷叶残余物约 50 g 放入蒸馏瓶中,加入 200 mL 体积分数 70%乙醇,置于 70℃水浴锅中回流提取 2 h 后过滤,保存滤液,在残渣中又加入 200 mL 体积分数 70%乙醇,置 70℃水浴锅中回流提取 2 h 后过滤,保存滤液。合并 2 次滤液置旋转蒸发仪中,在 60 r/min、40℃下减压进行 1 h,收集剩余混合液于培养皿中,冷冻干燥。

1.2.3 4 种薰衣草薄荷叶非精油组分提取物的抗氧化能力 以公认的抗氧化剂黄芩甙作为对照,研究薰衣草薄荷叶非精油组分 4 种提取物对不同自由基的清除作用以及防止 DNA 氧化损伤的保护作用。

(1)产生超氧阴离子(O_2^-)的化学发光体系。采用邻苯三酚自氧化产生 O_2^- 的化学发光体系^[10]。

(2)产生羟自由基($\cdot OH$)的化学发光体系。采用 $CuCl$ -Phen- H_2O_2 产生 $\cdot OH$ 的化学发光体系^[11]。

(3)DNA 损伤的化学发光体系。采用 $CuSO_4$ -Phen-Vit, C-DNA- H_2O_2 产生 $\cdot OH$ 损伤 DNA 的化学发光体系^[12]。

(4)产生过氧亚硝基($ONOO^-$)的化学发光体系。采用羟胺自氧化产生 $ONOO^-$ 的化学发光体系^[13]。

上述 4 种化学发光体系均采用 SHG-1 型生物化学发光测量仪进行测定。

(5)二苯代苦味肼基自由基($DPPH\cdot$)比色体系。采用 $DPPH\cdot$ 分析法,用 721 型分光光度计进行测定^[14]。

2 结果与分析

2.1 4 种薰衣草薄荷叶非精油组分提取法的比较

表 1 显示,4 种提取法中,水提取法的提取率最高,其次是甲醇一水和乙醇提取法,乙酸乙酯提取法最低。在 4 种提取法中,溶剂的极性强弱顺序依次

为水、甲醇一水、乙醇和乙酸乙酯。由此可见,薰衣草薄荷叶非精油组分的有效成分主要存在于极性和弱极性溶剂提取物中。

表 1 4 种薰衣草薄荷叶非精油组分提取法的比较
Table 1 Comparison of extractions of four CNOLML

方 法 Method	原材料/g Raw materials	提取物/g Extracts	提取率/% Extraction rate
水提取法 Distilled water extraction	58	15.819	27.27
甲醇一水提取法 Methanol-distilled water extraction	40	6.670	16.67
乙酸乙酯提取法 Ethyl acetate ex- traction	35	3.481	9.94
乙醇提取法 Ethanol extraction	50	7.165	14.32

2.2 4 种薰衣草薄荷叶非精油组分提取物对 O_2^- 的清除作用

邻苯三酚自氧化所产生的 O_2^- 能与发光剂鲁米诺反应,使后者进入激发态,当其返回基态时,会产生 425 nm 的微弱蓝紫光, O_2^- 的浓度与鲁米诺发光强度成正比^[10]。4 种薰衣草薄荷叶非精油组分提取物对 O_2^- 的清除作用见图 1。

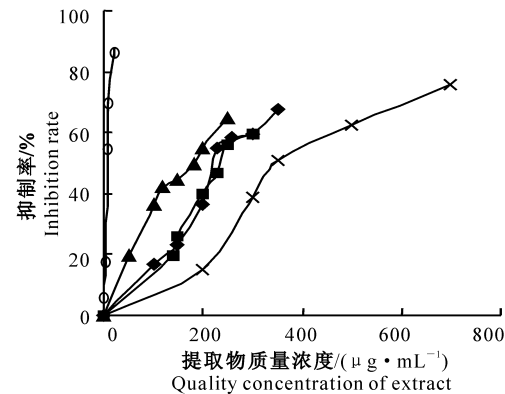


图 1 4 种薰衣草薄荷叶非精油组分提取物对 O_2^- 的清除作用
—◆—,水提取物;—■—,甲醇一水提取物;—▲—,乙酸乙酯提取物;
—×—,乙醇提取物;—○—,黄芩甙

Fig.1 Effect of four extraction of CNOLML on scavenging O_2^-
—◆—,Distilled water extraceion;—■—,Methanol-distilled water extraceion;—▲—,Ethyl acetate extract;
—×—,Ethanol extraction;—○—,Baicalin

图 1 显示,薰衣草薄荷叶非精油组分 4 种提取物对 O_2^- 所引起的化学发光均有一定的抑制作用,并呈明显的剂量依赖性。水提取物、甲醇一水提取物、乙酸乙酯提取物和乙醇提取物的化学发光半抑制质量浓度 (IC_{50}) 分别为 220, 240, 180 和 345 $\mu g/mL$,但抑制作用均小于黄芩甙 (IC_{50} 为 6.9

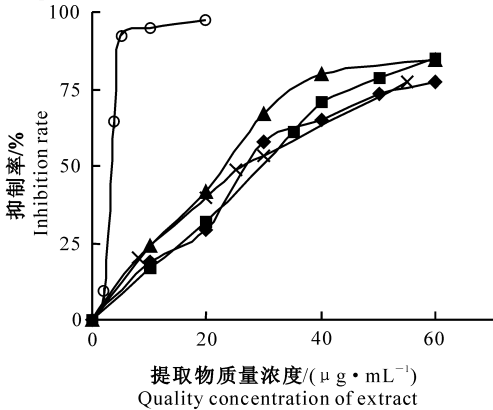


图 2 4 种薰衣草薄荷叶非精油组分提取物对 $\cdot OH$ 的清除作用
—◆—,水提取物;—■—,甲醇一水提取物;—▲—,乙酸乙酯提取物;
—×—,乙醇提取物;—○—,黄芩甙

Fig.2 Effect of four extraction of CNOLML on scavenging $\cdot OH$
—◆—,Distilled water extraceion;—■—,Methanol-distilled water extraceion;—▲—,Ethyl acetate extract;
—×—,Ethanol extraction;—○—,Baicalin

$\mu g/mL$)。

2.3 4 种薰衣草薄荷叶非精油组分提取物对 $\cdot OH$ 的清除作用

H_2O_2 与 Cu^+ 反应产生 $\cdot OH$,邻菲罗啉(Phen)与 $\cdot OH$ 作用产生化学发光,最大发光在 450~455 nm^[11]。图 2 显示,水提取物、甲醇一水提取物、乙酸

乙酯提取物和乙醇提取物均能剂量依赖性地清除 $\cdot\text{OH}$,从而抑制该体系的化学发光,其 IC_{50} 分别为 $26.4, 29, 23$ 和 $26\text{ }\mu\text{g/mL}$,但抑制作用均小于黄芩甙(IC_{50} 为 $3.5\text{ }\mu\text{g/mL}$)。

2.4 4 种薰衣草薄荷叶非精油组分提取物对 $\cdot\text{OH}$ 引起 DNA 氧化损伤的保护作用

化学发光体系生成的 $\cdot\text{OH}$ 氧化损伤 DNA,并产生化学发光,最大发光在 $380\sim 420\text{ nm}$,该发光峰代表 DNA 损伤产物,即游离鸟嘌呤的特征发光。加入抗氧化剂可使该发光动力学曲线发生明显变化,表现为峰值下降(抑制效应)或发光峰位后移(延迟效应)^[12]。4 种薰衣草薄荷叶非精油组分提取物对 $\cdot\text{OH}$ 引起 DNA 氧化损伤的保护作用见图 3。从图 3 可以看出,薰衣草薄荷叶非精油组分的 4 种提

取物均可以剂量依赖性地使 DNA 损伤产物的发光峰峰值明显下降,峰位明显后移。发光峰峰值下降,说明薰衣草薄荷叶非精油组分能够有效地抑制由 $\cdot\text{OH}$ 引起的 DNA 氧化损伤,清除了启动链反应产生的 $\cdot\text{OH}$,起到了预防型抗氧化剂的作用;而峰位后移,说明可以延缓 DNA 的氧化损伤,清除了链反应之后由 $\cdot\text{OH}$ 参与反应而转化生成的延伸自由基,起到了断链型抗氧化剂的作用。水提取物、甲醇—水提取物、乙酸乙酯提取物和乙醇提取物的 IC_{50} 分别为 $243, 256, 211$ 和 $270\text{ }\mu\text{g/mL}$ 。由此可知,作为预防型抗氧化剂,乙酸乙酯提取物的效果最好;作为断链型抗氧化剂,水提取物的作用能力略强于乙酸乙酯提取物。

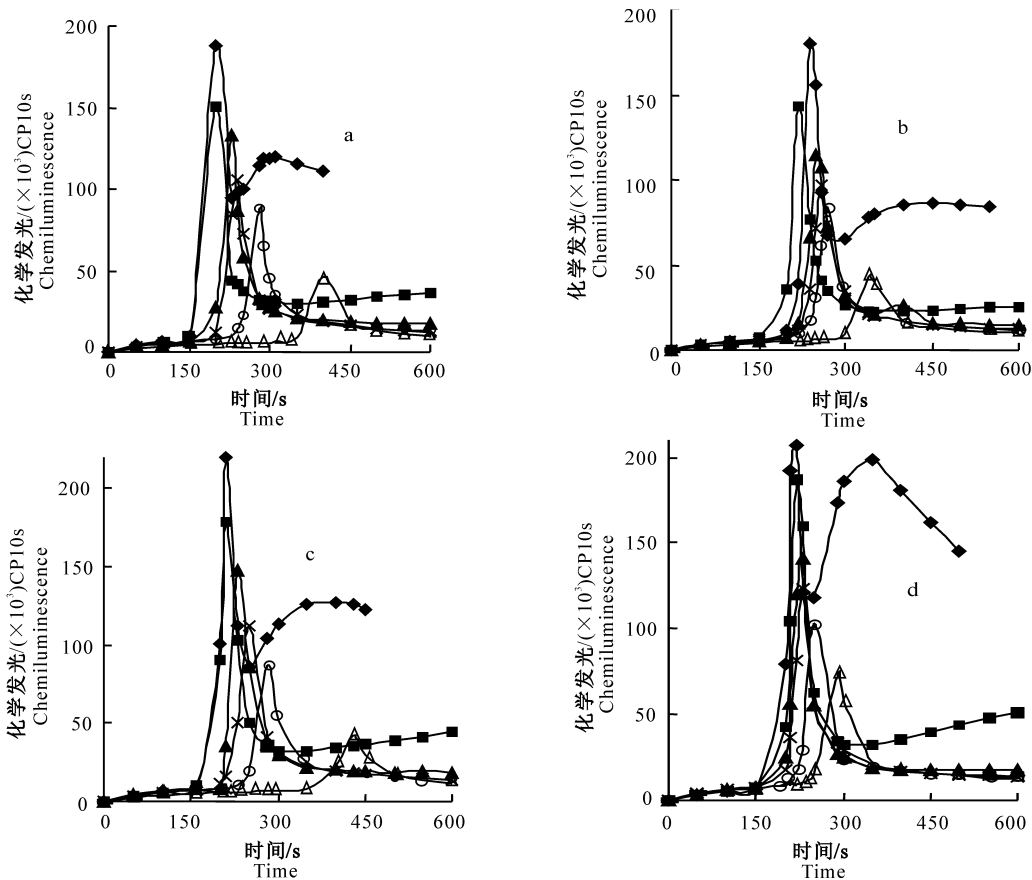


图 3 4 种薰衣草薄荷叶非精油组分提取物对 $\cdot\text{OH}$ 引起 DNA 氧化损伤的保护作用

a. 水提取物; b. 甲醇—水提取物; c. 乙酸乙酯提取物; d. 乙醇提取物; —◆—, $0\text{ }\mu\text{g/mL}$; —■—, $0.50\text{ }\mu\text{g/mL}$; —▲—, $100\text{ }\mu\text{g/mL}$; —×—, $200\text{ }\mu\text{g/mL}$; —○—, $300\text{ }\mu\text{g/mL}$; —△—, $480\text{ }\mu\text{g/mL}$

Fig. 3 Effect of four acetate extraction on inhibiting DNA damage caused by $\cdot\text{OH}$

a. Distilled water exaaction; b. Methanol—distilled water exaction; c. Ethy lacetate extraction; d. Ethanol extraction; —◆—, $0\text{ }\mu\text{g/mL}$; —■—, $0.50\text{ }\mu\text{g/mL}$; —▲—, $100\text{ }\mu\text{g/mL}$; —×—, $200\text{ }\mu\text{g/mL}$; —○—, $300\text{ }\mu\text{g/mL}$; —△—, $480\text{ }\mu\text{g/mL}$

2.5 4 种薰衣草薄荷叶非精油组分提取物对 ONOO^- 的清除作用

研究表明,在某些病理条件下,体内可产生

$\text{NO}\cdot$ 和 O_2^- ,两者可以弥散反应生成危害大、半衰期较长的 ONOO^- 。 ONOO^- 在碱性条件下较为稳定,能够从机体内远距离扩散至靶位,是导致细胞和组

织损伤的高强度氧化剂^[13]。因此,筛选 ONOO⁻ 的清除剂具有重要意义。图 4 显示,水提取物、甲醇—水提取物、乙酸乙酯提取物、乙醇提取物和黄芩甙均能有效地清除 ONOO⁻,其 IC₅₀ 分别为 5.92,5.10,4.46,6.56 和 5.90 μg/mL,其中乙酸乙酯提取物对 ONOO⁻ 的清除效果最佳,且优于黄芩甙。

2.6 4 种薰衣草薄荷叶非精油组分提取物对 DPPH[·] 的清除作用

作用 DPPH[·] 是一种稳定的有机自由基,该体系中因 DPPH[·] 在 517 nm 处有强吸收峰,自由基清

除剂可与其单电子配对而使其吸收逐渐消失。吸光值的变化与自由基清除剂接受的电子数成定量关系,因而通过分光光度法检测自由基清除剂对 DPPH[·] 的清除能力即可表示其抗氧化性的强弱^[14]。图 5 显示,水提取物、甲醇—水提取物、乙酸乙酯提取物、乙醇提取物和黄芩甙均能有效地清除 DPPH[·],量效关系明显,其 IC₅₀ 分别为 15.5,19.8,18.3,19.9 和 10.1 μg/mL,4 种提取物中水提取物对 DPPH[·] 的清除作用最强,但弱于黄芩甙。

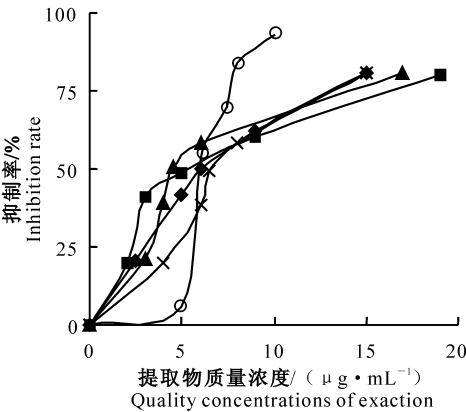


图 4 4 种薰衣草薄荷叶非精油组分提取物对 ONOO⁻ 的清除作用
—◆—,水提取物;—■—,甲醇—水提取物;—▲—,乙酸乙酯提取物;
—×—,乙醇提取物;—○—,黄芩甙

Fig. 4 Effect of four extraction of CNOLML on scavenging ONOO⁻

—◆—,Distilled water extraceion;—■—,Methanol-distilled water extraceion;—▲—,Ethyl acetate extract;
—×—,Ethanol extraction;—○—,Baicalin

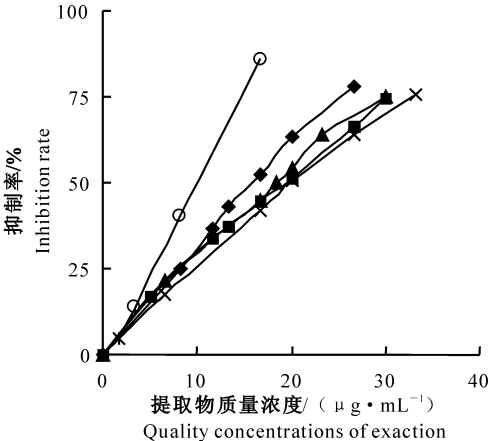


图 5 4 种薰衣草薄荷叶非精油组分提取物对 DPPH[·] 的清除作用
—◆—,水提取物;—■—,甲醇—水提取物;—▲—,乙酸乙酯提取物;
—×—,乙醇提取物;—○—,黄芩甙

Fig. 5 Effect of four extraction of CNOLML on scavenging DPPH[·]

—◆—,Distilled water extraceion;—■—,Methanol-distilled water extraceion;—▲—,Ethyl acetate extract;
—×—,Ethanol extraction;—○—,Baicalin

2.7 4 种薰衣草薄荷叶非精油组分提取物作用稳定性的方差分析结果

针对薰衣草薄荷叶非精油组分提取物的作用稳定性做差异显著性检验,其中 $K=3, n \geq 15$ (K 为重复试验的次数, n 为全部处理的观测值个数),方差分析的结果为 $F < F_{0.05}, P > 0.05$,每种试验方法中每个提取物重复测试的结果之间均无显著性差异,表明薰衣草薄荷叶非精油组分清除试验系统中自由基,及防止 DNA 氧化损伤作用的稳定性良好。

3 讨论

生命体的新陈代谢,包括食品的腐败等过程,均会通过多种途径产生各种各样的活性氧(ROS)和活性氮(RNS),以其为代表的众多自由基,已成为许多

病理学和生理学变化中具有重要作用的“多功能中间介质”,自由基可以通过一系列复杂的酶促和非酶促系统作用以维持机体氧化还原平衡,保持内环境稳态。但在因氧化应激引起抗氧化防御系统失衡并形成过量自由基时,会损伤细胞的稳定结构和功能,引起核酸、蛋白质等重要生物大分子损伤,进而不同程度地产生危险病理变化,如诱发心脑血管疾病和癌症等。其中, O₂^{-·} 产生最早, ·OH 和 ONOO⁻ 又分别是毒性最强的 ROS 和 RNS,而食用含有抗氧化剂食品等可抵抗或减轻这些自由基的危害^[15]。同时在食品中添加抗氧化剂也可以有效地抑制油脂或油脂类物质的氧化。因此,筛选能够清除过量自由基、具备较高抗氧化活性的天然产物的意义重大。

本研究将 4 种薰衣草薄荷叶非精油组分提取物

与公认的抗氧化剂黄芩甙,应用于上述检测体系的研究结果显示,虽然前者在清除 O_2^- 、 $\cdot OH$ 和 DPPH $\cdot$ 的作用效果要弱于后者,但清除 ONOO $^-$ 的作用与后者接近或优于后者,并呈明显的量效关系,其中乙酸乙酯提取物清除 ONOO $^-$ 的作用效果最佳,其 IC $_{50}$ 为 4.46 $\mu g/mL$ 。同时 4 种薰衣草薄荷叶非精油组分提取物还能够有效地清除启动链反应生成的 $\cdot OH$,及链反应之后产生的延伸自由基,减轻和延缓由 $\cdot OH$ 引发的 DNA 氧化损伤。因为众多自由基在产生和致害作用机理上的紧密协同效应,所以薰衣草薄荷叶非精油组分对其清除和抑制的多效性也提示,薰衣草薄荷叶非精油组分可不同程度地缓解病理状态下自由基对机体造成的危害。此外,实际应用中黄芩甙等知名抗氧化剂制备工艺复杂且生产成本较高,而薰衣草薄荷叶非精油组分是从制取精油组分后的残余废料中提取的,提取装置和工艺简单,成本低。以上结果表明,薰衣草薄荷叶非精油组分具有良好的开发和应用价值。但其有效成分与抗氧化活性之间的构效关系,以及在抗氧化网络中的分子机理等还需要进一步的研究。

〔参考文献〕

- [1] Dizdaroglu M, Jaruga P, Birincioglu M, et al. Free radical-induced damage to DNA: mechanisms and measurement[J]. Free Radical Biology & Medicine, 2002, 32(11): 1102-1115.
- [2] Karbowski M, Kurono C, Wozniak M, et al. Free radical induced megamitochondria formation and apoptosis [J]. Free Radical Biology & Medicine, 1999, 26(1-2): 396-409.
- [3] 吕洪飞. 药用芳香植物资源的开发和研究[J]. 中草药, 2000, 31(9): 711-715.
- Lv H F. Development and research on medicinal aromatic plant resources[J]. Chinese Traditional and Herbal Drugs, 2000, 31(9): 711-715. (in Chinese)
- [4] 姚 雷, 张少艾, 王霞平. 三种芳香植物的抗氧化性研究[J]. 香料香精化妆品, 2002(4): 4-8.
- Yao L, Zhang S A, Wang X P. Research on the antioxidation of three aroma herbs [J]. Flavour Fragrance Cosmetics, 2002 (4): 4-8. (in Chinese)
- [5] 裘惠霞, 姚 雷. 神香草及提取物的抗衰老作用[J]. 上海交通大学学报: 农业科学版, 2005, 23(1): 1-4.
- Qiu H X, Yao L. Antiaging effect of *Hyssop officinalis* and its extract[J]. Journal of Shanghai Jiaotong University: Agricultural Science Ed., 2005, 23(1): 1-4. (in Chinese)
- [6] 卢艳花. 中药有效成分提取技术[M]. 北京: 化学工业出版社, 2005: 289.
- Lu Y H. Extraction technology of chinese medicine effective ingredient[M]. Beijing: Chemical Industry Press, 2005: 289. (in Chinese)
- [7] 秦海燕, 陈季武, 胡 斌, 等. 鼠尾草叶提取物清除自由基抗氧化作用的研究[J]. 食品科学, 2006, 27(7): 89-92.
- Qin H Y, Chen J W, Hu B, et al. Study on scavenging free radical and antioxidation effects of extracts from *Salvia officinalis* leaves[J]. Food Science, 2006, 27(7): 89-92. (in Chinese)
- [8] 常楚瑞. 乙酸乙酯回流法提取木瓜总黄酮及含量测定[J]. 贵阳医学院学报, 2001, 26(4): 326-327.
- Chang C R. Extraction and quantity determination of total flavanone from chinese quince by aceticacid ethyl circumfluence method [J]. Journal of Guiyang Medical College, 2001, 26(4): 326-327. (in Chinese)
- [9] 高荫榆, 霍光华, 何小立, 等. 乌柏叶抽提物体外抗氧化活性的研究[J]. 食品科学, 2003, 24(6): 142.
- Gao Y Y, Huo G H, He X L, et al. Study on antioxidant activity of chinese tallow leaf extracts [J]. Food Science, 2003, 24(6): 142. (in Chinese)
- [10] 郭蔼光, 王振铎. 邻苯三酚自氧化—化学发光法测定 SOD 活性[J]. 植物生理学通讯, 1989(3): 54-57.
- Guo A G, Wang Z Y. Measurement on SOD activity by means of pyrogallol oxidation-chemiluminescence system [J]. Plant Physiology Communications, 1989(3): 54-57. (in Chinese)
- [11] 许申鸿. 一种测定 $\cdot OH$ 产生与清除的新化学发光体系[J]. 分析测试学报, 2000, 19(2): 11-13.
- Xu S H. A new chemiluminescence system for measuring $\cdot OH$ radical [J]. Journal of Instrumental Analysis, 2000, 19(2): 11-13. (in Chinese)
- [12] 张 健, 秦静芬, 曹恩华, 等. DNA 损伤的化学发光法测定和茶多酚对它的保护作用[J]. 生物物理学报, 1996, 12(4): 691-695.
- Zhang J, Qin J F, Cao E H, et al. Measurement of DNA damage and the protection effect of green tea polyphenols by chemiluminescence assay [J]. Acta Biophysica Sinica, 1996, 12 (4): 691-695. (in Chinese)
- [13] 陈季武, 胡 斌, 苏 裕, 等. 一种新的产生和检测过氧亚硝基的化学发光法[J]. 辐射研究与辐射工艺学报, 2006, 24(1): 11-14.
- Chen J W, Hu B, Su Y, et al. A novel chemiluminescence system for producing and measuring peroxy nitrite anions [J]. Journal of Radiation Research and Radiation Processing, 2006, 24(1): 11-14. (in Chinese)
- [14] 许申鸿, 杭 瑚. 二苯代苦味肼基自由基分光测定法及其应用的初步研究[J]. 植物生理学通讯, 1999, 35(6): 474-477.
- Xu S H, Hang H. Preliminary study on DPPH $\cdot$ assay by spectrophotometry and its application [J]. Plant Physiology Communications, 1999, 35(6): 474-477. (in Chinese)
- [15] Shih P W, Lai P L, Jen H W K. Antioxidant activities of aqueous extracts selected plants [J]. Food Chemistry, 2006, 99 (4): 775-783.