

达乌里胡枝子黄酮抗氧化活性研究

吴洪新¹, 单昌辉², 王育青¹, 戴雅婷¹

(1 中国农业科学院 草原研究所, 内蒙古 呼和浩特 010010; 2 西北农林科技大学 动物科技学院, 陕西 杨凌 712100)

【摘要】【目的】探讨达乌里胡枝子黄酮(*Lespedeza davurica* flavonoids, LDF)的体外抗氧化作用。【方法】分别采用 Fenton 反应法、邻苯三酚自氧化法和碘-硫代硫酸钠滴定法,测定达乌里胡枝子黄酮对羟自由基、超氧阴离子的清除作用及对猪油、菜油、亚油酸氧化酸败的抑制作用。【结果】达乌里胡枝子黄酮对羟自由基、超氧阴离子有较强的清除作用,在一定范围内,清除效果随质量浓度的升高而加强。当添加的达乌里胡枝子黄酮的质量浓度为 1.0 mg/mL 时,其对羟自由基的清除作用达到最大,为 97.44%;当质量浓度为 0.48 mg/mL 时,其对超氧阴离子的清除作用最大,可达 97.89%;达乌里胡枝子黄酮对猪油、菜油、亚油酸也有极强的抗氧化作用,能够极显著地抑制猪油、菜油过氧化值(POV)的升高($P < 0.01$)和亚油酸的氧化($P < 0.01$),这种抑制效果随着达乌里胡枝子黄酮质量浓度的升高而增大。【结论】达乌里胡枝子黄酮具有显著的抗氧化活性,其药用价值值得关注。

【关键词】 达乌里胡枝子;黄酮;抗氧化活性

【中图分类号】 S541⁺.509.9

【文献标识码】 A

【文章编号】 1671-9387(2009)05-0195-06

Study on the antioxidant activity of flavonoids extracted from *Lespedeza davurica*

WU Hong-xin¹, SHAN Chang-hui², WANG Yu-qing¹, DAI Ya-ting¹

(1 Grassland Research Institute of CAAS, Huhhot, Inner Mongolia Autonomous Region 010010, China;

2 College of Animal Science and Technology, Northwest A&F University, Yangling, Shaanxi 712100, China)

Abstract: 【Objective】The study discussed the antioxidant activity of *Lespedeza davurica* flavonoid (LDF) *in vitro*. 【Method】Fenton reaction, pyrogallol autoxidation and $I_2-Na_2S_2O_3$ titration were used to determine its scavenging effect on hydroxyl radicals ($\cdot OH$) and superoxide anion ($O_2^{\cdot -}$) and inhibition on lard, colseeds oil and linoleic acid. 【Result】LDF had good scavenging effect on hydroxyl radicals ($\cdot OH$) and superoxide anion ($O_2^{\cdot -}$), in a certain scope, the effect grew stronger as mass concentration increased. When the mass concentration of additional LDF reached 1.0 mg/mL, the maximum scavenging rate on hydroxyl radicals ($\cdot OH$) was 97.44%; when the mass concentration was 0.48 mg/mL, the maximum scavenging rate on superoxide anion ($O_2^{\cdot -}$) was 97.89%; LDF also had good antioxidant on lard, colseeds oil and linoleic acid. LDF could inhibit POV of lard and colseeds oil and inhibit oxidation of linoleic acid significantly ($P < 0.01$), and the effect became stronger as mass concentration of LDF increased. 【Conclusion】The LDF has significant antioxidant activity, and more attention should be paid to its drug value.

Key words: *Lespedeza davurica*; flavonoid; antioxidant activity

黄酮类化合物(Flavonoids)广泛存在于自然界中,是目前倍受关注的天然活性产物之一。近年来

* [收稿日期] 2008-06-17

[基金项目] 中央级公益性科研院所(中国农业科学院草原研究所)基本科研业务费专项资金项目

[作者简介] 吴洪新(1978—),女,内蒙古赤峰人,实习研究员,主要从事牧草资源的开发与利用研究。

E-mail: wuhongxin168@163.com

[通信作者] 王育青(1960—),男,内蒙古默特左旗人,研究员,博士,主要从事退化草地改良研究。

的大量体内和体外研究表明,黄酮类化合物具有较强的抗氧化活性和清除自由基活性,某些黄酮类化合物的抗氧化活性是化学合成抗氧化剂的 3~5 倍^[1]。由于其同时还具有抑菌、抗衰老、抗突变、降血脂、降血压等药理保健功能,且毒副作用很小,因而是一类极具开发前景的天然有机抗氧化剂^[2-3]。

达乌里胡枝子(*Lespedeza daurica*)别名耗牛茶、牛枝子、兴安胡枝子,以全草入药,味辛,性温,具有益肝明目、解毒散寒及止咳作用。据《中国草地饲用植物资源》记载,达乌里胡枝子也是一种良等饲用植物^[4]。20 世纪六七十年代,国内外就有科研人员对植物的化学成分进行了研究,已从胡枝子属植物中分离出 64 种黄酮类化合物,并对其部分活性进行了相关研究^[5-16],但目前尚未见对达乌里胡枝子黄酮及其活性的研究报道。为此,本试验对达乌里胡枝子黄酮清除自由基、抑制动物和植物油脂的氧化酸败、抑制亚油酸氧化等抗氧化活性进行研究,以期对达乌里胡枝子黄酮在天然食品抗氧化剂及天然药物方面的开发利用提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

达乌里胡枝子粗黄酮粉,利用达乌里胡枝子全株,由实验室提取,所得黄酮的质量分数为 4.67 mg/g,试验用黄酮溶液为粗黄酮粉的酒精溶液;猪油,市售板油熬制;菜油,市售。

1.1.1 试剂 无水乙醇、邻苯三酚、浓盐酸、硫酸亚铁铵、邻二氮菲、双氧水、可溶性淀粉、硫代硫酸钠、碘化钾、冰乙酸、三氯甲烷、氯化亚铁、硫氰酸铵,均为分析纯。

1.1.2 仪器 旋转蒸发仪-RE2000,上海亚荣生化仪器厂;SHB-III 循环式多用真空泵,郑州长城科工贸有限公司;UV-2450 紫外可见光光度计,日本岛津公司;恒温振荡器 SHA-B,常州国华电器有限公司;pHs-p1 型酸度计,上海大浦仪器有限公司;电热恒温培养箱,湖北黄石医疗器械厂。

1.2 试验方法

1.2.1 达乌里胡枝子黄酮对羟自由基的清除作用

按 Fenton 反应原理^[6-8],取 12 支 25 mL 比色管,依次加入 0.2 mL 75 mmol/L 硫酸亚铁铵溶液、0.2 mL 75 mmol/L 邻二氮菲溶液、1 mL pH 为 7.47 的 Tris-HCl 缓冲溶液,在 2~12 号比色管中各加入 0.2 mL 75 mmol/L 的 H₂O₂,然后在 3~12 号比色管中分别加入 0.2 mL 质量浓度为 0.1,0.2,0.3,

0.4,0.5,0.6,0.7,0.8,0.9 和 1.0 mg/mL 的达乌里胡枝子黄酮溶液,用双蒸水定容至刻度,于 37 ℃ 水浴中反应 1 h,在波长 508 nm 处测吸光度,按下式计算羟自由基清除率:

$$\text{羟自由基清除率}/\% = \frac{A_3 - A_2}{A_1 - A_2} \times 100\%$$

式中:A₁ 为羟自由基体系不加 H₂O₂ 及黄酮液的吸光度,A₂ 为羟自由基体系加 H₂O₂ 但不加黄酮液时的吸光度,A₃ 为加入黄酮液的羟自由基体系的吸光度。

1.2.2 达乌里胡枝子黄酮对超氧阴离子的清除作用 按邻苯三酚自氧化反应方法^[6-8],取 8 支 25 mL 比色管,依次加入 5 mL 25 ℃ 预热 20 min 的 pH 为 8.2 的 Tris-HCl 缓冲液,在 3~8 号比色管中分别加入 5 mL 质量浓度为 0.08,0.16,0.24,0.32,0.40,0.48 mg/mL 的达乌里胡枝子黄酮溶液,然后在 2~8 号比色管中加入 2.5 mL 25 ℃ 预热 20 min 的 0.5 mmol/L 的邻苯三酚溶液,用双蒸水定容至刻度,在波长 325 nm 每隔 30 s 测 1 次吸光值;以不加邻苯三酚和黄酮溶液为空白对照(CK)。按下式计算超氧自由基清除率:

$$\text{超氧自由基清除率}/\% = \frac{\Delta A_1/\Delta t - \Delta A_2/\Delta t}{\Delta A_1/\Delta t} \times 100\%$$

式中:ΔA₁ 为邻苯三酚 2 次吸光值之差,ΔA₂ 为加入黄酮液后的 2 次吸光值之差,Δt 为 2 次反应的时间间隔(30 s),ΔA₁/Δt 为邻苯三酚自养化速率,ΔA₂/Δt 为加入黄酮液后的氧化速率。

1.2.3 达乌里胡枝子黄酮对猪油的抗氧化作用 参照文献[17]的方法,分别精密称取达乌里胡枝子粗黄酮粉 50,100,150,200 和 250 mg,用 25 mL 乙醇溶解,加入到装有 50 g 熔化猪板油的碘量瓶中,搅拌均匀,使抗氧化剂均匀分散在油样中,塞紧瓶塞,置于 70 ℃ 恒温箱中培养,每 24 h 将瓶中的油样搅拌均匀,测定计算其过氧化值(POV)。以不加抗氧化剂的油样为空白对照(CK),每组 3 个重复。POV 的计算公式如下:

$$\text{POV}/(\text{meq} \cdot \text{kg}^{-1}) = C \times (V_1 - V_2) \times 1000/m$$

式中:V₁ 为试样消耗硫代硫酸钠标准溶液的体积(mL),V₂ 为空白试验消耗硫代硫酸钠标准溶液的体积(mL),C 为硫代硫酸钠标准溶液的摩尔浓度(mol/L),m 为样品质量(g)。

1.2.4 达乌里胡枝子黄酮对菜油的抗氧化作用 参照文献[17]的方法,分别精密称取达乌里胡枝子粗黄酮粉 10,20,30 和 40 mg,用 25 mL 乙醇溶解,加入到装有 30 g 菜油的碘量瓶中,搅拌均匀,使抗氧化

剂均匀分散在油样中,塞紧瓶塞,置于 70 ℃ 恒温箱中培养,每 24 h 将瓶中的油样搅拌均匀,按 1.2.3 中 POV 的测定及计算方法计算 POV 值。以不加抗氧化剂的油样为空白对照(CK),每组 3 个重复。

1.2.5 达乌里胡枝子黄酮对亚油酸的抗氧化作用

精密称取达乌里胡枝子粗黄酮粉 10, 20, 30 和 40 mg, 用适量乙醇溶解, 并分别加入到装有 30 mL 体积分数为 0.5% 的亚油酸乙醇溶液的碘量瓶中, 搅拌均匀, 置于 40 ℃ 恒温箱中培养。每隔 24 h 将瓶中的培养液搅拌均匀, 并各取 0.1 mL, 分别加入 9.7 mL 体积分数为 75% 的乙醇和 0.1 mL 质量分数为 30% 的硫氰酸铵, 然后再加入 0.1 mL 0.02 mol/L 的氯化亚铁溶液, 准确反应 3 min, 于波长 500 nm 下测吸光值^[9-12], 每组 3 个重复。

1.3 数据统计与分析

有关达乌里胡枝子黄酮对猪油、菜油、亚油酸抗氧化作用的试验数据以“平均值±标准误”表示, 用 SPSS13.0 统计软件 ANOVA 进行显著性分析, 并

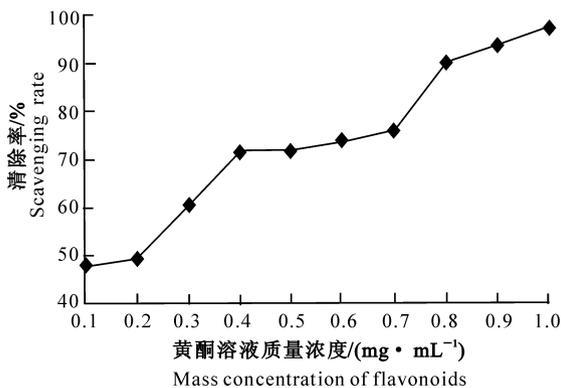


图 1 达乌里胡枝子黄酮对羟自由基的清除效果

Fig.1 Scavenging effect of LDF on hydroxyl radicals

2.3 不同用量达乌里胡枝子黄酮对油脂的抗氧化作用

2.3.1 对猪油的抗氧化作用 由表 1 可见, 与对照组相比, 猪油中添加不同用量的达乌里胡枝子黄酮, 均可极显著地抑制猪油 POV 值的升高 ($P < 0.01$), 第 7 天时, 对照组的 POV 值达 19.669 meq/kg, 超过了猪油的卫生标准值 (GB 10146-2005 规定猪油的 $POV \leq 15.76$ meq/kg), 而添加黄酮组的 POV 值均低于此标准值, 说明达乌里胡枝子黄酮对猪油具有较强的抗氧化活性, 即可以延长猪油的保存时间。当达乌里胡枝子黄酮添加量为 50~250 mg 时, 随着黄酮添加量的增加, 相同处理天数猪油的过氧化值趋于降低, 抗氧化效果愈强。

采用 Duncan 氏法进行多重比较。

2 结果与分析

2.1 不同质量浓度达乌里胡枝子黄酮对羟自由基的清除作用

由图 1 可见, 达乌里胡枝子黄酮对羟自由基具有较强的清除作用, 而且在供试质量浓度范围内, 羟自由基清除率随着黄酮质量浓度的提高而增大。当添加黄酮的质量浓度为 1.0 mg/mL 时, 其对羟自由基的清除率达到 97.44%。

2.2 不同质量浓度达乌里胡枝子黄酮对超氧阴离子的清除作用

由图 2 可知, 达乌里胡枝子黄酮对超氧阴离子的清除效果与其对羟自由基的清除作用相似, 随着黄酮质量浓度的升高, 达乌里胡枝子黄酮对邻苯三酚自氧化速率的抑制作用增强。当添加黄酮的质量浓度为 0.48 mg/mL 时, 其对超氧阴离子的清除率可达 97.89%。

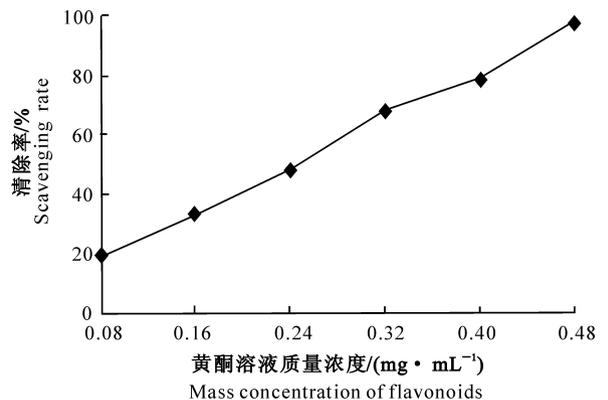


图 2 达乌里胡枝子黄酮对超氧阴离子的清除效果

Fig.2 Scavenging effect of LDF on superoxide anion

2.3.2 对菜油的抗氧化作用 由表 2 可知, 菜油中添加不同用量的达乌里胡枝子黄酮, 均可明显抑制菜油过氧化值的升高。随着处理天数的增加, 过氧化值 (POV) 增大, 当处理 4 d 时, 对照组的 POV 值已达 21.158 meq/kg, 超过了食用植物油的卫生标准值 (GB 2716-2005 规定菜油的 $POV \leq 19.7$ meq/kg), 而添加达乌里胡枝子黄酮处理均极显著地抑制了 POV 值的升高 ($P < 0.01$), 延长了菜油的保存时间, 对其表现出较强的抗氧化活性。随着达乌里胡枝子黄酮用量的增加, 菜油的过氧化值升高速率变慢, 当黄酮添加量为 10~50 mg 时, 随着黄酮添加量的增加, 其抗氧化能力增强。

表 1 不同用量达乌里胡枝子黄酮对猪油抗氧化作用的影响
Table 1 Antioxidant activity of different dosages of LDF on lard

处理天数/d Day of treatment	黄酮用量/mg Dosage of LDF					
	0	50	100	150	200	250
1	3.601±0.017 aA	0.615±0.025 bB	0.575±0.014 bC	0.701±0.018 cD	0.418±0.017 dE	0.063±0.008 eF
2	5.364±0.012 aA	3.054±0.011 bB	3.394±0.013 cC	3.133±0.013 dD	2.872±0.020 eE	2.746±0.024 fF
3	5.343±0.010 aA	3.065±0.017 bB	2.790±0.018 cC	3.192±0.010 dD	3.152±0.014 dD	3.349±0.010 eE
4	3.751±0.015 aA	3.869±0.017 bB	2.727±0.013 cC	4.626±0.009 dD	3.924±0.016 eB	4.444±0.011 fE
5	7.880±0.014 aA	6.218±0.011 bB	4.563±0.013 cC	2.727±0.011 dD	3.065±0.015 eE	2.301±0.026 fF
6	12.451±0.014 aA	7.116±0.028 bB	5.051±0.009 cC	4.760±0.012 dD	4.641±0.012 eE	4.657±0.018 eE
7	19.669±0.009 aA	13.656±0.012 bB	12.167±0.016 cC	8.621±0.018 dD	8.085±0.016 eE	5.303±0.014 fF
8	29.590±0.013 aA	15.524±0.012 bB	16.588±0.006 cC	13.247±0.018 dD	12.301±0.022 eE	10.181±0.027 fF
9	52.679±0.014 aA	20.906±0.014 bB	19.701±0.015 cC	15.745±0.018 dD	14.326±0.007 eE	13.901±0.009 fF
11	62.593±0.014 aA	32.514±0.018 bB	27.928±0.012 cC	27.329±0.013 dD	15.705±0.019 eE	14.815±0.018 fF
13	88.889±0.056 aA	66.887±0.030 bB	47.061±0.021 cC	34.972±0.015 dD	31.371±0.013 eE	21.505±0.021 fF

注:同行数据后标不同小写字母者表示差异显著($P<0.05$),标不同大写字母者表示差异极显著($P<0.01$),下表同。

Note: Values with different small letters in the same row mean significant difference ($P<0.05$), different capital letters mean extremely significant difference ($P<0.01$), the same as below.

表 2 不同用量达乌里胡枝子黄酮对菜油抗氧化作用的影响
Table 2 Antioxidant activity of different dosages of LDF on collesed oil

处理天数/d Day of treatment	黄酮用量/mg Dosage of LDF					
	0	10	20	30	40	50
1	11.482±0.007 aA	7.321±0.017 bB	7.100±0.017 cC	6.722±0.012 dD	4.389±0.010 eE	1.907±0.014 fF
2	11.828±0.012 aA	7.825±0.015 bB	7.384±0.007 cC	6.895±0.010 dD	5.390±0.006 eE	4.681±0.006 fF
3	16.399±0.012 aA	12.585±0.012 bB	10.402±0.007 cC	8.605±0.016 dD	8.219±0.007 eE	8.637±0.010 dD
4	21.158±0.013 aA	13.097±0.015 bB	12.309±0.015 cC	10.412±0.009 dD	10.047±0.007 eE	8.968±0.012 fF
5	26.170±0.012 aA	15.721±0.010 bB	13.901±0.006 cC	13.073±0.017 dD	16.422±0.014 eE	10.670±0.009 fF
6	31.899±0.017 aA	19.527±0.010 bB	21.119±0.015 cC	19.480±0.019 aD	18.826±0.017 dE	15.430±0.014 eF
8	53.538±0.009 aA	28.779±0.015 bB	23.042±0.007 cC	21.395±0.012 dD	21.119±0.015 eE	18.692±0.010 fF
9	57.250±0.010 aA	38.984±0.015 bB	32.254±0.018 cC	27.013±0.012 dD	25.768±0.010 eE	23.428±0.014 fF
11	66.147±0.009 aA	41.024±0.007 bB	34.965±0.009 cC	34.287±0.012 dD	29.125±0.010 eE	25.169±0.009 fF
13	98.968±0.018 aA	53.806±0.012 bB	45.162±0.009 cC	41.261±0.009 dD	31.765±0.016 eE	28.597±0.016 fF

2.4 不同用量达乌里胡枝子黄酮对亚油酸的抗氧化作用

抗氧化剂会抑制自由基链反应的进行,最终表

现为硫代巴比酸(TBA)红色产物的生成较少,吸光值小。不同用量达乌里胡枝子黄酮对亚油酸抗氧化作用的影响如表 3 所示。

表 3 不同用量的达乌里胡枝子黄酮对亚油酸抗氧化作用的影响
Table 3 Antioxidant activity of different dosages of LDF on linoleic acid

处理天数/d Days of treatment	黄酮用量/mg Dosage of LDF				
	0	10	20	30	40
1	0.021±0.015 aA	0.020±0.011 aA	0.010±0.004 bB	0.007±0.007 cBC	0.005±0.007 cC
2	0.042±0.011 aA	0.021±0.015 bB	0.012±0.007 cC	0.011±0.004 cC	0.008±0.009 dC
3	0.054±0.021 aA	0.030±0.016 bB	0.026±0.011 bB	0.020±0.001 cC	0.010±0.007 dD
4	0.067±0.016 aA	0.035±0.021 bB	0.031±0.022 bcB	0.029±0.014 cB	0.011±0.015 dC
5	0.073±0.015 aA	0.047±0.016 bB	0.039±0.013 cC	0.034±0.015 cC	0.014±0.019 dD
6	0.109±0.016 aA	0.026±0.010 bB	0.024±0.014 bB	0.023±0.015 bBC	0.017±0.018 cC
7	0.121±0.015 aA	0.042±0.017 bB	0.034±0.020 cC	0.029±0.016 cC	0.018±0.018 dD
8	0.132±0.034 aA	0.025±0.017 bB	0.033±0.010 bBe	0.030±0.016 cdBC	0.021±0.015 dC
9	0.141±0.037 aA	0.029±0.016 bB	0.025±0.018 bBe	0.022±0.011 cB	0.022±0.014 cB
10	0.159±0.020 aA	0.026±0.020 bB	0.029±0.026 bB	0.023±0.018 bB	0.023±0.021 bB
11	0.187±0.026 aA	0.034±0.011 bB	0.032±0.025 bBC	0.030±0.021 bBeC	0.024±0.021 cC
12	0.202±0.023 aA	0.065±0.018 bB	0.056±0.017 cB	0.041±0.026 dC	0.033±0.027 eC

由表 3 可以看出,同一处理时间内,添加组的吸光值低于未添加组($P<0.01$),同时随着处理天数

的增加,吸光值均变大,但添加组吸光值变化较慢。表明亚油酸中添加达乌里胡枝子黄酮能够极显著地

抑制亚油酸的自氧化($P < 0.01$),具有较强的抗氧化活性;随着处理时间的延长,达乌里胡枝子黄酮高添加量处理的吸光值高于低添加量处理,即黄酮添加量在10~40 mg时,随着黄酮添加量的增加,其对亚油酸自氧化的抑制能力增强。

3 讨论

3.1 达乌里胡枝子黄酮对自由基的清除作用

生物体需氧代谢中氧化还原反应所产生的超氧阴离子和羟自由基,可以引发生物膜多不饱和脂肪酸发生脂质过氧化反应,损伤膜结构及功能。活性氧的上述毒性反应被认为与炎症、自身免疫病、肿瘤、心肌及脑缺血、衰老和肺气肿等疾病的成因有直接关系。正常状态下,机体内自由基浓度很低,显示出独特的生理作用;但在某些病理状态下,自由基的产生和清除失去平衡,则会对机体造成损伤,导致多种疾病的发生并加速衰老^[18]。本试验通过Fenton反应体系和邻苯三酚自氧化体系表明,达乌里胡枝子黄酮能够明显清除体系中已产生的羟自由基和超氧阴离子,并抑制其再生,表现出极强的抗氧化活性。

3.2 达乌里胡枝子黄酮对油脂的抗氧化作用

从化学本质来讲,油脂发生过氧化反应主要是因为油脂中含有不饱和脂肪酸,尤其是亚麻酸和亚油酸。达乌里胡枝子黄酮抗氧化作用的机理与其他酚类抗氧化剂相似,其自身作为优良的供氢体,向活泼自由基提供氢后,形成的自由基可通过共轭杂化与其他自由基结合成稳定的二聚体,从而切断链式反应,发挥抗氧化作用^[7]。邓胜国^[9]和郑敏燕等^[15]分别比较了荷叶黄酮与0.01%的BHT(丁基羟基甲苯)及迎春叶黄酮与0.02%的BHT对油脂抗氧化的作用效果,结果表明,其抗氧化效果可以与BHT相媲美。本研究分析了达乌里胡枝子黄酮对猪油、菜油、亚油酸的抗氧化效果,结果表明,达乌里胡枝子黄酮对油脂具有极强的抗氧化作用,可抑制油脂的氧化酸败,延长油脂的贮存时间,但适宜的添加量以及其与化学抗氧化剂抗氧化效果的比较等,还有待于进一步研究。

4 结论

达乌里胡枝子黄酮对羟自由基、超氧阴离子有较强的清除作用,在一定范围内,清除效果随黄酮质量浓度的升高而加强。当达乌里胡枝子黄酮质量浓度为1.0 mg/mL时,其对羟自由基的清除作用最

大,可达97.44%;当质量浓度为0.48 mg/mL时,其对超氧阴离子的清除作用最大,可达97.89%。说明随着黄酮质量浓度的增加,其可以清除已产生的超氧阴离子,同时还可抑制超氧阴离子的产生。

达乌里胡枝子黄酮对猪油、菜油、亚油酸有极强的抗氧化作用,能够极显著地抑制猪油、菜油POV值的升高,抑制亚油酸的氧化,这种效果随着达乌里胡枝子黄酮用量的增加而增大。

本研究结果表明,达乌里胡枝子黄酮具有显著的抗氧化活性,其药用价值更值得关注。作为一种绿色的植物资源,达乌里胡枝子具有深入研究开发的潜力。

[参考文献]

- [1] 张德权. 生物类黄酮的研究及应用状况 [J]. 食品与发酵工业, 1999(6):52-57.
Zhang D Q. Bioflavonoid's research and application [J]. Food and Fermentation Industries, 1999(6):52-57. (in Chinese)
- [2] 刘仲则. 中草药黄酮类化合物心血管活性成分概述 [J]. 中草药, 1987, 18(4):34.
Liu Z Z. Overviewing cardiovascular active component of flavonoid in Chinese traditional and herbal drugs [J]. Chinese Traditional and Herbal Drugs, 1987, 18(4):34. (in Chinese)
- [3] 朱丹, 袁芳, 孟坤, 等. 黄酮类化合物的研究进展 [J]. 中华中医药杂志, 2007, 22(6):387-389.
Zhu D, Yuan F, Meng K, et al. Study progress of flavonoid [J]. China Journal of Traditional Chinese Medicine and Pharmacy, 2007, 22(6):387-389. (in Chinese)
- [4] 红霞. 内蒙古胡枝子属(*Lespedeza michx*)植物的分类学研究 [D]. 内蒙古: 内蒙古师范大学, 2003.
Hong X. The taxonomical study of *Lespedeza michx* in Inner Mongolia [D]. Inner Mongolia: Inner Mongolia Normal University, 2003. (in Chinese)
- [5] 朗娜, 罗红霞. 黄花菜中黄酮类物质抗氧化活性的研究 [J]. 食品研究与开发, 2007, 28(3):74-77.
Lang N, Luo H X. Study on the antioxidant activity of flavonoid in *Hemerocallis fulva* [J]. Food Research and Development, 2007, 28(3):74-77. (in Chinese)
- [6] 赵二芳, 张海容. 沙棘黄酮的测定及其抗氧化作用 [J]. 化学研究与应用, 2003, 15(2):284-286.
Zhao E L, Zhang H R. Determination of seabuckthorn flavone and study of its antioxidant effect [J]. Chemical Research and Application, 2003, 15(2):284-286. (in Chinese)
- [7] 陈乃东, 胡金蓉, 周守标, 等. 春花胡枝子黄酮的提取及抗氧化能力测定 [J]. 中国林副特产, 2006(5):1-4.
Chen N D, Hu J R, Zhou S B, et al. Flavone extraction technology from *Lespedeza dumii* and the measurement of its antioxidant ability [J]. Forest By-Product and Speciality in China, 2006(5):1-4. (in Chinese)
- [8] 吴春, 陈林林. 菟丝子黄酮体外清除自由基活性的研究 [J].

- 天然产物研究与开发,2005,17(5):553-556.
- Wu C, Chen L L. Study on scavenging activity of free radicals by *Semen cuscutae* flavonoids [J]. Natural Product Research and Development, 2005, 17(5): 553-556. (in Chinese)
- [9] 邓胜国. 荷叶黄酮体外抗氧化活性的研究 [J]. 食品科技, 2006(7): 274-276.
- Deng G. Study on the antioxidant activity of flavonoids extracted from lotus leaves *in vitro* [J]. Food Science and Technology, 2006(7): 274-276. (in Chinese)
- [10] 陈乃富, 张 莉. 蕨菜黄酮类化合物的提取与分析 [J]. 中国林副特产, 2004(6): 1-4.
- Chen N F, Zhang L. Extraction and analysis of flavonoids from *Pteridium aquilinum* var. *latiusculum* [J]. Forest By-Product and Speciality in China, 2004(6): 1-4. (in Chinese)
- [11] 杨 洋, 韦小英. 柚皮黄酮类化合物的提取方法和抗氧化性的研究 [J]. 食品与发酵工业, 2002, 28(6): 9-12.
- Yang Y, Wei X W. Study on the extraction method of flavonoid compound in pomelo peel and its antioxidant property [J]. Food and Fermentation Industries, 2002, 28(6): 9-12. (in Chinese)
- [12] 李 丹, 肖 刚, 丁霄霖, 等. 苦荞黄酮抗氧化作用的研究 [J]. 无锡轻工大学学报, 2001, 20(1): 44-47.
- Li D, Xiao G, Ding X L, et al. Study on antioxidant effect of tartary buckwheat flavonoid [J]. Journal of Wuxi University of Light Industry, 2001, 20(1): 44-47. (in Chinese)
- [13] 杨建雄, 原江峰, 李发荣. 柿叶黄酮的体外抗氧化作用研究 [J]. 营养学报, 2003, 25(2): 215-217.
- Yang J X, Yuan J F, Li F R. The anti-oxidative effect of per-simmon leaf falconoid *in vitro* [J]. Acta Nutimenta Sinica, 2003, 25(2): 215-217. (in Chinese)
- [14] 杨建雄, 杨 晨, 邱 娟, 等. 连翘叶黄酮的体外抗氧化作用 [J]. 天然产物研究与开发, 2007(19): 97-100.
- Yang J X, Yang C, Qiu J, et al. *In vitro* antioxidant properties of *Forsythia suspense* leaves flavonoids [J]. Natural Product Research and Development, 2007(19): 97-100. (in Chinese)
- [15] 郑敏燕, 魏永生. 迎春叶黄酮类化合物抗氧化性的研究 [J]. 咸阳师范学院学报, 2005, 20(6): 30-32.
- Deng M Y, Wei Y S. Studies on the antioxidant activity of flavonoids in *Jasminum nudiflorum* Lindl [J]. Journal of Xianyang Teachers college, 2005, 20(6): 30-32. (in Chinese)
- [16] 徐雅琴, 李淑琴, 付 红, 等. 黄树莓叶片中黄酮类物质的提取及抗氧化性 [J]. 化学研究与应用, 2002, 14(6): 739-741.
- Xu Y Q, Li S Q, Fu H, et al. Study on the extraction of flavonoids in the leaves from yellow raspberry and antioxidant activity [J]. Chemical Research and Application, 2002, 14(6): 739-741. (in Chinese)
- [17] 王肇慈. 粮油食品品质分析 [M]. 2 版. 北京: 中国轻工业出版社, 2000.
- Wang Z C. Foodstuffs quality analysis [M]. 2th Edition. Beijing: China Light Industry Publishing House, 2000. (in Chinese)
- [18] 许 钢, 张 红. 大麦麦叶中黄酮类化合物清除自由基动态研究 [J]. 营养学报, 2003, 25(4): 401-404.
- Xu G, Zhang H. Study on scavenging free radicals by active compounds from barley leaves [J]. Acta nutrimenta Sinica, 2003, 25(4): 401-404. (in Chinese)

(上接第 194 页)

- [20] Kim Y S, Kim S G, Park J E, et al. A membrane-bound NAC transcription factor regulates cell division in *Arabidopsis* [J]. Plant Cell, 2006, 18(11): 3132-3144.
- [21] Larkin M A, Blackshields G, Brown N P, et al. ClustalW and ClustalX version 2 [J]. Bioinformatics, 2007 23(21): 2947-2948.
- [22] Saitou N, Nei M. The neighbor-joining method: a new method for reconstructing phylogenetic trees [J]. Mol Biol Evol, 1987, 4(4): 406-425.
- [23] Kyte J, Doolittle R F. A simple method for displaying the hydropathic character of a protein [J]. J Mol Biol, 1982, 157(6): 105-132.
- [24] Doyle J J. Trees within trees: genes and species, molecules and morphology [J]. Syst. Biol, 1997, 46: 537-553.
- [25] Ooka H, Satoh K, Doi I K, et al. Comprehensive analysis of NAC family genes in *Oryza sativa* and *Arabidopsis thaliana* [J]. DNA Research, 2003, 10(6): 239-247.
- [26] Farazi T A, Waksman G, Gordon J I. The biology and enzymology of protein N-myristoylation [J]. J Biol Chem, 2001, 276(43): 39501-39504.
- [27] Xie Q, Frugis G, Colgan D, et al. *Arabidopsis* NAC1 transduces auxin signal downstream of TIR1 to promote lateral root development [J]. Genes & Dev, 2000, 14: 3024-3036.
- [28] Duval M, Hsieh T F, Kim S Y, et al. Molecular characterization of AtNAM, A member of the *Arabidopsis* NAC domain superfamily [J]. Plant Mol Biol, 2002, 50: 237-248.
- [29] Zhong R, Richardson E A, Ye Z H. The MYB46 transcription factor is a direct target of SND1 and regulates secondary wall biosynthesis in *Arabidopsis* [J]. Plant Cell, 2007, 19(9): 2776-2792.
- [30] Yang C, Xu Z, Song J, et al. *Arabidopsis* MYB26/MALE STERILE35 regulates secondary thickening in the endothecium and is essential for anther dehiscence [J]. Plant Cell, 2007, 19(2): 534-548.
- [31] Qu L J, Zhu Y X. Transcription factor families in *Arabidopsis*: major progress and outstanding issues for future research [J]. Curr Opin Plant Biol, 2006, 9(5): 544-549.
- [32] Olsen A N, Ernst H A, Leggio L L, et al. NAC transcription factors: structurally distinct, functionally diverse [J]. Trends Plant Sci, 2005, 10(2): 79-87.