

6 个品种牡丹花瓣的抗氧化活性分析

冯志文,杨霞光,潘 剑,任光辉,张二喜,范丙友,史国安

(河南科技大学 农学院,洛阳市牡丹生物学重点实验室,河南 洛阳 471003)

【摘 要】 【目的】分析不同品种牡丹花瓣的抗氧化活性。【方法】采用卵黄脂蛋白过氧化法、DPPH 法和氮兰四唑(NBT)光还原法、水杨酸羟基化法,以 Vc 和 BHT 为阳性对照,在 DPPH、 O_2^- 和 $\cdot OH$ 的产生和检测系统以及卵黄组织匀浆中,加入一定量的牡丹花瓣提取液,观察其与活性氧引发反应的竞争效应,研究 6 个牡丹品种(“藏枝红”、“洛阳红”、“胡红”、“迎日红”、“赵粉”和“凤丹”)花瓣提取液的抗氧化活性。【结果】牡丹花瓣提取液能明显抑制卵黄组织匀浆的脂质过氧化作用,降低 DPPH 的吸光值、抑制 O_2^- 介导的 NBT 光化学还原及 $\cdot OH$ 作用下的水杨酸羟基化作用,其中牡丹花瓣提取液清除 DPPH 自由基的活性高于 200 $\mu g/mL$ BHT,但低于 80 $\mu g/mL$ Vc。6 个品种的牡丹花瓣提取液,在 4 种测定系统中均具有一定程度的抗氧化能力,且水提取液的抗氧化活性略高于体积分数 50%乙醇提取液,深色花瓣提取液对不同自由基的清除能力较强。【结论】牡丹花瓣可能成为一种新的高效天然抗氧化剂。

【关键词】 牡丹;花瓣提取液;抗氧化活性
【中图分类号】 S685.11 【文献标识码】 A 【文章编号】 1671-9387(2009)01-0205-06

Antioxidation analysis of extracts from petals of 6 tree peonies *in vitro*

FEN Zhi-wen, YANG Xia-guang, PAN Jian, REN Guang-hui,
ZHANG Er-xi, FAN Bing-you, SHI Guo-an

(Luoyang Key Laboratory of Peony Biology, College of Agriculture, Henan University of
Science & Technology, Luoyang, Henan 471003, China)

Abstract: 【Objective】 To extract the antioxidant compounds from peony flowers, its effect of cleaning oxygen radical was analyzed. 【Method】 The extracts from 6 peonies petals were isolated by water and 50% ethanol. Its antioxidation activities were detected and evaluated by four systems of DPPH, O_2^- , $\cdot OH$ and PUFA with controls for Vc and BHT. Water or 50% ethanol extracts of 6 peonies petals were added to the generating and detecting systems of DPPH radical, hydroxyl radical ($\cdot OH$), superoxide radical (O_2^-) and PUFA peroxidation of yolk lipoprotein for the observation of its competitive abilities to active reactions. 【Result】 The results indicated that the water or 50% ethanol extracts from peonies petals could reduce light absorption of DPPH and $\cdot OH$ initiated hydroxylation of salicylate, and inhibit O_2^- mediated light chemical reduction of nitroblue tetrazolium (NBT) effectively, and lipid peroxidation of polyunsaturated fatty from yolk lipoprotein, in which DPPH scavenging activities of 6 peonies water extracts were hinger than that of 200 $\mu g/mL$ BHT, but lower than 80 $\mu g/mL$ Vc. In 4 kinds of detecting systems of antioxidation, the peroxidation activity of deep colored flowers of peonies was higher than that of light colored flowers of peonies. 【Conclusion】 The peony flower can be used as an antioxidation.

Key words: Tree peony; extract of petal; antioxidation activity

* [收稿日期] 2008-01-17
[基金项目] 国家自然科学基金项目(30740013); 河南省自然科学基金项目(0611030600); 河南科技大学大学生科研训练计划(SRTP)项目(2006059)
[作者简介] 冯志文(1987—), 男, 内蒙古赤峰人, 主要从事牡丹生物学研究。
[通信作者] 史国安(1963—), 男, 河南伊川人, 教授, 主要从事植物抗氧化代谢研究。E-mail: gashi1963@163.com

自由基衰老学说认为,许多与年龄相关的疾病,如心脏病、癌症、各种炎症、白内障、脑功能异常及内脏器官的损伤或老化,可能与自由基导致的细胞损伤有关^[1-2]。因此,寻找有效的、能清除自由基的各类抗氧化剂已成为人们研究热点。天然抗氧化物质无污染,副作用少,来源广泛,对疾病的治疗和人体健康的保护作用十分突出^[3-4]。

牡丹(*Paeonia suffruticosa*)为原产中国的名贵花卉,花大色艳,不仅深受我国人民的喜爱,而且符合西方人的审美需求。牡丹品种繁多,栽培面积大,除了具有重要的观赏功能外,我国很早就有食用牡丹花的习俗。《本草纲目》记载牡丹花是清热解毒的传统药材,其味苦、性平,具有和血、生血、凉血之功效,主治血中伏火、除烦热。作为抗氧化食品或医药原材料的应用和开发,将大大增加牡丹花经济价值,有利于牡丹特色产业的深层次发展。然而,牡丹除了观赏和药用之外,用途相对单一,且互不衔接,其综合效益有待进一步提高。因此,拉长牡丹产业化生产链条,打破制约牡丹生产的瓶颈,是亟待解决的重要问题。本试验研究了 6 个不同牡丹品种花瓣提取液的抗氧化活性,以期牡丹花的综合利用提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 材 料

1.1.1 牡丹花瓣 试验材料为牡丹(*Paeonia suffruticosa*)品种“藏枝红”(A)、“洛阳红”(B)、“胡红”(C)、“迎日红”(D)、“赵粉”(E)和“凤丹”(F),花朵采于河南科技大学牡丹试验基地。从同一花圃地 5 年株龄牡丹植株上采切盛开期的花朵各 30 枝,保湿运回实验室,插在盛有自来水的桶中恢复 1 h 后,立即剥去花萼和最外一层花瓣,取内层花瓣称重后,经液氮速冻贮存于-80℃超低温冰箱。

1.1.2 试剂和仪器 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl(DPPH)为 Sigma 公司产品,甲硫氨酸(Met)、核黄素(VB₂)、氮蓝四唑(NBT)、乙二胺四乙酸钠(EDTA-Na)、水杨酸钠、硫酸亚铁、过氧化氢、无水乙醇、甲醇、盐酸、硫代巴比妥酸、抗坏血酸(Vc)、丁基羟基甲苯(BHT)等均为国产分析纯试剂。

主要仪器有 755B 型紫外可见分光光度计(上海分析仪器厂)、赛多利斯 200S 电子分析天平、小型三用恒温水箱(北京西城区医疗器械厂)、LD4-2 低速离心机(北京医用离心机厂)、Sigma 3K-18 高速冷冻离心机和超低温冰箱(美国热电公司)等。

1.2 牡丹花瓣提取液的制备

取 2.00 g 冷冻牡丹花瓣样品,分别用 30 mL 双蒸水和体积分数 50%乙醇加热浸提 15 min,反复浸提 3 次,合并滤液定容于 100 mL 容量瓶中,制成 2%的牡丹花瓣提取液(每 mL 相当 20 mg 鲜样),置于 4℃冰箱中备用。

1.3 总酚、类黄酮和花色苷含量的测定

按林植芳等^[5]的方法测定。

1.4 卵黄脂蛋白过不饱和脂肪酸(PUFA)过氧化体系中抗氧化活性(AOA)的测定

按照张尔贤等^[6]的方法,建立以 Fe²⁺ 诱发卵黄磷脂 C-2 上的极低密度脂蛋白(VLDL)和低密度脂蛋白(LDL)中的过不饱和脂肪酸(PUFA)过氧化模型。卵黄中磷脂 C-2 上所含 VLDL 和 LDL 中的 PUFA,在铁离子催化下,经振荡能诱发过氧化,产生烷氧基(LO·)和烷过氧基(LOO·),再诱发链式级联反应。在加热条件下,过氧化物可与硫代巴比妥酸(TBA)反应产生红色化合物,并在 532 nm 处有最大吸收峰。

取新鲜鸡蛋蛋黄加等体积无菌蒸馏水,搅拌均匀制备蛋黄悬液。在反应体系中加入 0.1 mL 牡丹花瓣提取液(20 mg/mL),并以等体积的天然水溶性抗氧化剂 Vc(80 μg/mL)、人工合成的脂溶性抗氧化剂 BHT(200 μg/mL)做阳性对照。反应体系中包含 0.2 mL 蛋黄悬液、0.2 mL 25 mmol/L FeSO₄、1.5 mL 磷酸缓冲液(PBS),pH7.0、0.1 mL 牡丹花瓣提取液,将试管置于 37℃水浴中温浴 60 min,然后加入 2.0 mL 质量分数 0.5%硫代巴比妥酸(TBA)-20%三氯乙酸(TCA)溶液,沸水浴中反应 15 min,迅速冷却,于 3 500 r/min 离心 5 min,以空白管调零(以等体积的蒸馏水代替),测定 532 nm 处的吸光值(A₅₃₂)。对照管以等量的提取介质代替,其他同样品管。样品 AOA 用卵黄脂蛋白脂质过氧化(LPO)的抑制率(%)表示。

$$AOA/\% = \frac{(\text{对照管 } A_{532} - \text{一样品管 } A_{532})}{\text{对照管 } A_{532}} \times 100\%。$$

1.5 对 DPPH 自由基清除能力的测定

1.5.1 测定原理 DPPH 是一种有机自由基,具有单电子,且在 517 nm 处有强吸收峰,当有自由基清除剂存在时,其单电子配对而使吸收逐渐消失,褪色程度与所接受的电子数呈定量关系,因而可以用分光光度法进行定量分析^[7-9]。

1.5.2 测定方法^[7-9] 将 2.0 mL 100 μmol/L DPPH 溶液加入一定剂量的待测试样中,用相同剂量双

蒸水代替试样作为对照,以体积分数 50%乙醇为空白 CK。室温放置 30 min,测定 517 nm 处的吸光值 A_{517} ,重复 3 次。结果以抑制率(%)表示:抑制率/%=(对照管 A_{517} - 一样品管 A_{517})/对照管 $A_{517} \times 100\%$ 。

为了分析不同类型抗氧化剂对 DPPH 有机自由基的清除能力与时间效应的曲线,测定了两种抗氧化剂 Vc(80,8 $\mu\text{g/mL}$)和 BHT(200,20 $\mu\text{g/mL}$)的浓度与清除 DPPH 自由基的时间效应曲线,以及不同质量浓度(20 $\mu\text{g/mL}$ 和 2 mg/mL)“洛阳红”与“凤丹”花瓣乙醇提取液的作用时间关系,初步判断牡丹花瓣的抗氧化剂类型。

1.6 超氧阴离子 O_2^- 的产生和检测

1.6.1 测定原理 O_2^- 可将氮蓝四唑(Nitroblue Tetrazolium, NBT)还原为非水溶性的蓝紫色物质,在 560 nm 下呈现最大吸收峰,用光照核黄素的方法作为产生 O_2^- 的体系,在抗氧化剂存在条件下, O_2^- 对 NBT 的还原能力被减弱,用比色法测定 NBT 还原产物可以间接反映抗氧化物质的活性。

1.6.2 测定方法 按史国安等^[10]、Stewart 等^[11]的方法进行。3 mL 反应液中含 13 mmol/L Met、75 $\mu\text{mol/L}$ NBT、100 mmol/L EDTA-Na、2 $\mu\text{mol/L}$ VB_2 、50 mmol/L PBS(pH 7.8)及 500 μL 牡丹花瓣水提取液,于 25 $^\circ\text{C}$ 下照光 20 min 后,测定 560 nm 处的吸光值。试验重复 4 次,以牡丹花瓣提取液抑制 NBT 光还原的效应表示其清除 O_2^- 的能力。

1.7 羟自由基($\cdot\text{OH}$)的产生与检测

按 Smirnoff 等^[12]的方法并加以改进。3 mL 反应液中含 0.15 mmol/L FeSO_4 、6 mmol/L H_2O_2 、2 mmol/L 水杨酸钠及不同体积的牡丹花瓣水提取液,加入 H_2O_2 起动反应,37 $^\circ\text{C}$ 保温 1 h 后,加 0.12 mL 11.0 mol/L HCl 终止反应,水杨酸羟基化产物萃取入乙醚中,测定 510 nm 处的吸光值。试验重复 4 次,以牡丹花瓣乙醇提取液竞争性抑制 $\cdot\text{OH}$ 引发的水杨酸羟基化作用的效应,表示其清除 $\cdot\text{OH}$ 的能力。

2 结果与分析

2.1 不同品种牡丹花瓣中总酚、类黄酮与花色素苷含量的比较

经观察可知,供试的牡丹品种花瓣颜色有明显差异,“藏枝红”与“洛阳红”为深红色,“胡红”与“迎日红”为粉红色,“赵粉”为浅粉色,“凤丹”为白色。由表 1 可以看出,6 个不同牡丹品种花瓣的花色素苷含量差异达到极显著水平,其外观红色的深浅与花色素苷含量的高低相一致;牡丹花瓣中总酚含量

表现为深色品种高于浅色品种,但总酚含量差异相对较小;类黄酮含量因品种表现出较大差异,但与花瓣颜色的深浅无关,其中以“迎日红”花瓣类黄酮含量最高,达到 528.15 U/g,“洛阳红”含量最低,为 142.37 U/g,两者相差近 4 倍。说明不同牡丹品种花瓣中水溶性抗氧化剂的种类与数量有一定差异。

表 1 6 个品种牡丹花瓣中的总酚、类黄酮与花色素苷含量
Table 1 Contents of total phenolics, flavonoids and anthocyanin of petals from 6 peonies

品种 Cultivar	总酚/ ($\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$) Total phenolic	类黄酮/ ($\text{U} \cdot \text{g}^{-1}$) Flavonoids	花色素苷/ ($\text{U} \cdot \text{g}^{-1}$) Anthocyanin
藏枝红 Gangzhihong	90.10 a	245.92 D	290.09 A
洛阳红 Luoyanghong	88.76 ab	142.37 E	151.21 B
胡红 Huhong	86.00 bc	398.22 B	52.61 C
迎日红 Yingrihong	87.06 bc	528.15 A	36.60 C
赵粉 Zhaofen	85.80 bc	330.74 C	3.66 D
凤丹 Fengdan	83.76 c	237.27 D	1.73 D

注:同列数据后标不同大写字母者表示差异极显著($P<0.01$),标不同小写字母者表示差异显著($P<0.05$)。
Note: Different small and capital letters in the same row mean significant difference at 0.05 and 0.01 level respectively.

2.2 不同品种牡丹花瓣提取液抗脂质过氧化活性的比较

6 个品种牡丹花瓣提取液抗脂质过氧化活性的比较见图 1。

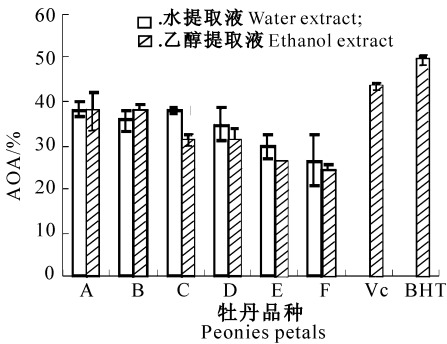


图 1 6 个品种牡丹花瓣提取液抗脂质过氧化活性的比较
A. 藏枝红; B. 洛阳红; C. 胡红; D. 迎日红; E. 赵粉;
F. 凤丹; 图 3 和图 4 同

Fig. 1 Comparison of extracts from 6 peonies petals on AOA level in PUFA of yolk lipoprotein
A. Gangzhihong; B. Luoyanghong; C. Huhong;
D. Yingrihong; E. Zhaofen; F. Fengdan; Fig. 3 and Fig. 4 are same

由图 1 可以看出,除“洛阳红”外,其他牡丹品种花瓣蒸馏水提取液的抗氧化活性略高于体积分数 50%乙醇提取液,6 个牡丹品种花瓣提取液(20 mg/mL)的 AOA 值为 20%~45%,总趋势是深色

品种花瓣的 AOA 高于浅色品种,但低于 Vc(80 $\mu\text{g/mL}$)和 BHT(200 $\mu\text{g/mL}$)。说明牡丹花瓣含有丰富的抗氧化物质,具有较高的清除脂质过氧化产物形成的能力。

2.3 不同品种牡丹花瓣提取液清除 DPPH 自由基活性的比较

从图 2a、图 2b 可以看出,在反应体系中加入 2 mL 的“洛阳红”和“凤丹”花瓣体积分数 50%乙醇提取液(20 mg/mL)(a)与其 10 倍稀释液(b)均能在 5

min 内达到平衡,“洛阳红”清除 DPPH 自由基的活性高于“凤丹”。另外,从时间反应曲线(图 2c、2d)可以看出,清除 DPPH 反应体系中,水溶性抗氧化剂 Vc 能够在短时间内达到反应平衡,而脂溶性抗氧化剂 BHT 达到反应平衡的时间超过 60 min,从而可以推测牡丹花瓣内抗氧化剂的种类以水溶性为主。比较图 2b 与图 2c、2d 可以看出,两个牡丹品种花瓣的 10 倍稀释液(2 mg/mL)清除 DPPH 自由基的活性高于 8 $\mu\text{g/mL}$ Vc,但低于 80 $\mu\text{g/mL}$ Vc。

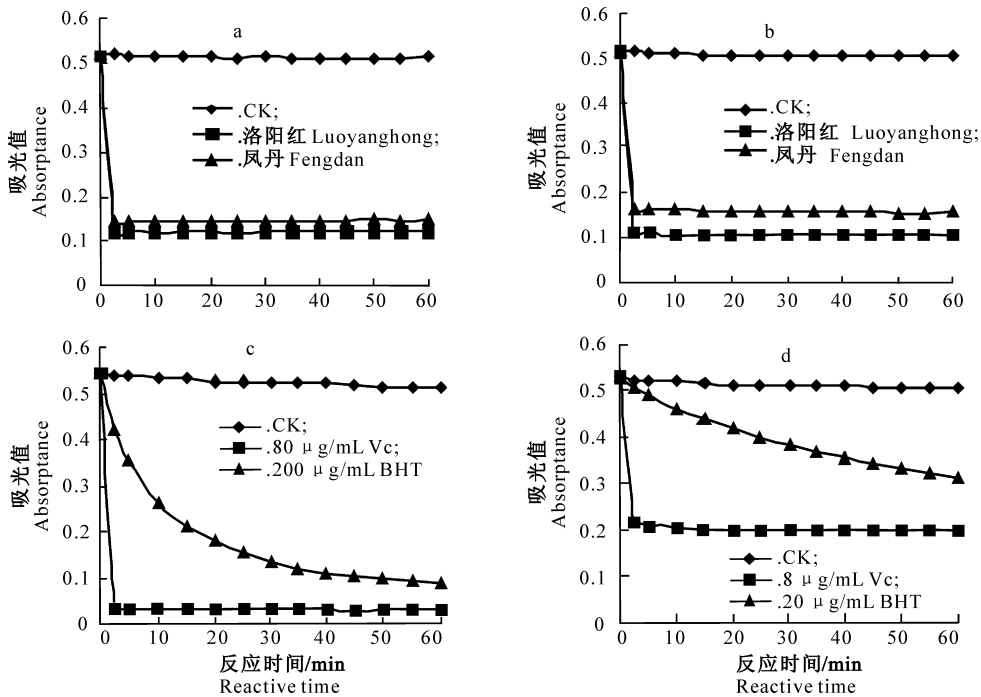


图 2 不同效应物清除 DPPH 自由基的时间效应曲线
a. 20 mg/mL 牡丹花瓣乙醇提取液;b. 2 mg/mL 牡丹花瓣乙醇提取液;c. 80 $\mu\text{g/mL}$ Vc 和 200 $\mu\text{g/mL}$ BHT;d. 8 $\mu\text{g/mL}$ Vc 和 20 $\mu\text{g/mL}$ BHT

Fig. 2 Curves of time-scavenging activities of extracts from 6 peonies petals on DPPH radical

a. 20 mg/mL ethanol extract;b. 2 mg/mL ethanol extract;c. 80 $\mu\text{g/mL}$ Vc and 200 $\mu\text{g/mL}$ BHT;d. 8 $\mu\text{g/mL}$ Vc and 20 $\mu\text{g/mL}$ BHT

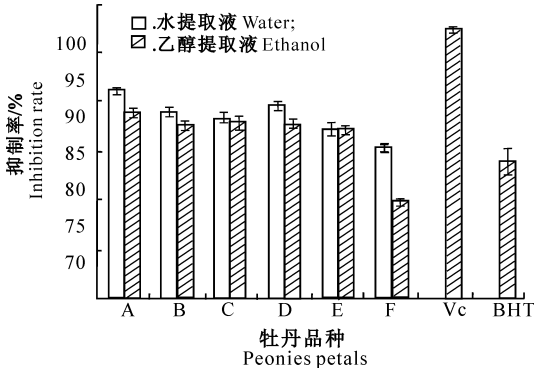


图 3 6 个品种牡丹花瓣提取液清除 DPPH 自由基活性的比较

Fig. 3 Scavenging activities of water extracts from 6 peonies petals on DPPH radical

在反应体系中分别加入 20 mg/mL 花瓣水提取

液、体积分数 50%乙醇提取液,观察牡丹花瓣提取液清除 DPPH 自由基的效果,结果(图 3)表明,6 个牡丹品种花瓣水提液的作用效果高于乙醇提取液,其中水提液清除 DPPH 自由基的活性可达到 85%以上,深色花瓣清除 DPPH 自由基的活性略高于浅色品种;牡丹花瓣提取液清除 DPPH 自由基的活性低于 80 $\mu\text{g/mL}$ Vc,但基本高于 200 $\mu\text{g/mL}$ BHT。表明用 DPPH 法可以快速地测定牡丹花瓣提取液清除 DPPH 自由基的活性。

2.4 不同品种牡丹花瓣水提取液清除超氧阴离子和羟自由基活性的比较

由于乙醇对超氧阴离子和羟自由基反应体系有干扰,因此试验仅分析了牡丹花瓣水提取液清除超氧阴离子和羟自由基的活性。由图 4 可以看出,6

个品种牡丹花瓣水提取液清除超氧阴离子的活性可以达到 75%~85%, 明显高于清除羟自由基的活性。其中“凤丹”花瓣水提取液清除超氧阴离子的活性明显低于其他 5 个品种, 清除羟自由基的活性反而明显高于其他 5 个品种。说明不同品种牡丹花瓣水提取液清除超氧阴离子和羟自由基的活性不同。

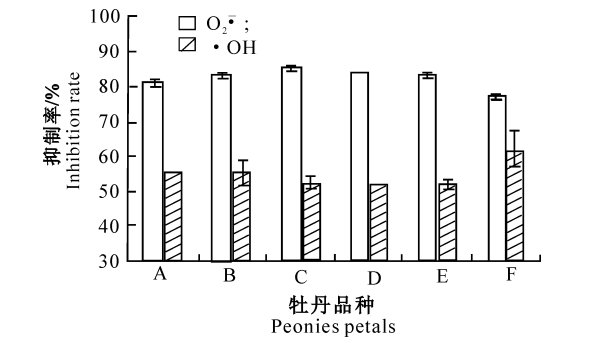


图 4 6 个品种牡丹花瓣水提取液清除超氧阴离子和羟自由基活性的比较

Fig. 4 Scavenging activities of water extracts from 6 peonies petals on $O_2^{\cdot-}$ and $\cdot OH$

3 讨 论

研究表明, 各种鲜花具有一定的抗氧化活性, 不同类型、不同种花卉之间具有显著差异^[13-17]。本研究中, 6 种牡丹花瓣的水和乙醇提取液均具有一定程度的抗氧化活性, 其中深色牡丹品种花瓣的抗氧化活性高于浅色品种, 水提取液的抗氧化活性略高于体积分数 50% 乙醇提取液。已有研究表明, 多酚类物质的酚羟基有很强的还原性, 能有效清除自由基。本研究中, 相关分析表明, 6 个品种牡丹花瓣提取液对 DPPH 的清除能力与花瓣多酚含量呈正相关, 这与前人的研究结果一致^[16, 18-20]。

需氧生物在代谢过程中, 不可避免地会产生活性氧自由基, 其中 $O_2^{\cdot-}$ 、 $\cdot OH$ 是非常强的氧化剂, 几乎可以与所有的细胞成分发生反应, 从而导致细胞衰老、死亡和机体病变。本研究通过比较牡丹花瓣提取液对 3 种自由基的清除能力, 认为深色牡丹品种花瓣的抗氧化活性高于浅色品种, 这与前人的研究结果相一致^[15, 17]。与人工合成的抗氧化剂相比, 天然抗氧化剂由于具有安全、无毒、抗癌和抗衰老等特点而显示出较强的优势, 日益受到人们的关注。本研究结果表明, 牡丹花瓣富含黄酮和酚类化合物, 其提取液初步显示出良好的抗氧化功效, 可以作为天然的抗氧化剂, 这为进一步探讨牡丹花瓣的生物活性提供了科学依据。

[参考文献]

[1] Harman D. University of California radiation laboratory report [R]. California: California Radiation Lab, 1955: 3078.

[2] Aruoma O I. Free radicals, oxidative stress, and antioxidants in human health and disease [J]. J Amer Chem Soc, 1998, 75: 192-212.

[3] Honer K, Cervellati R. Measurements of the antioxidant capacity of fruits and vegetables using the BR reaction method [J]. Eur Food Res Technol, 2002, 215: 437-442.

[4] Cichewicz R H, Nair M G. Isolation and characterization of stelladerol, a new antioxidant naphthalene glycoside, and other antioxidant glycosides from edible daylily (*Hemerocallis*) flowers [J]. J Agric Food Chem, 2002, 50(1): 87-91.

[5] 林植芳, 李双顺, 张东林, 等. 采后荔枝果皮色素、总酚及有关酶活性的变化 [J]. 植物学报, 1988, 30(1): 40-45.
Lin Z F, Li S S, Zhang D L, et al. The changes of pigments, phenolics contents and activities of polyphenol oxidase and phenylalanine ammonia-lyase in pericarp of postharvest litchi fruit [J]. Acta Botanica Sinica, 1988, 30(1): 40-45. (in Chinese)

[6] 张尔贤, 俞丽君, 周意琳, 等. Fe^{2+} 诱发脂蛋白 PUFA 过氧化体系及对若干天然产物抗氧化作用的评价 [J]. 生物化学与生物物理学报, 1996, 28(2): 218-222.
Zhang E X, Yu L J, Zhou Y L, et al. Studies on the peroxidation of polyunsaturated fatty acid from lipoprotein induced by iron and the evaluation of the anti-oxidative activity of some natural products [J]. Acta Biochemica et Biophysica Sinica, 1996, 28(2): 218-222. (in Chinese)

[7] 彭长连, 陈少薇, 林植芳, 等. 用清除有机自由基 DPPH 法评价植物抗氧化能力 [J]. 生物化学与生物物理进展, 2000, 27(7): 658-661.
Peng C L, Chen S W, Lin Z F, et al. Detection of antioxidative-capacity in plants by scavenging organic free radical DPPH [J]. Progress in Biochemistry and Biophysics, 2000, 27(7): 658-661. (in Chinese)

[8] Yokozawa T, Dong E, Natagawa T. *In vitro* and *in vivo* studies on the radical scavenging activity of tea [J]. J Agric Food Chem, 1998, 46(6): 2143-2150.

[9] Larrauri J A, Sanchez-Moreno C, Saura-Calixto F. Effect of temperature on the free radical scavenging capacity of extracts from red and white grape pomace peels [J]. J Agric Food Chem, 1998, 46(7): 2694-2697.

[10] 史国安, 郭香凤, 吴庭才, 等. 茵陈水提液的体外抗氧化活性 [J]. 植物资源与环境学报, 1999, 8(4): 7-10.
Shi G A, Guo X F, Wu T C, et al. Antioxidation of water extract from *Artemisia capillaris* Thunb. *in vitro* [J]. Journal of Plant Resources and Environment, 1999, 8(4): 7-10. (in Chinese)

[11] Stewart R C, Bewley J D. Lipid peroxidation associated with accelerated aging of soybean axes [J]. Plant Physiol, 1980, 65: 245-248.

[12] Smirnoff N, Cumbs Q J. Hydroxyl radical scavenging activity

of compatible solutes [J]. *Phytochem*,1989,28:1057-1060.

[13] 许申鸿,杭 瑚. 29 种鲜花提取液对羟自由基的清除作用 [J]. *植物资源与环境学报*,1999,8(3):59-60.

Xu S H, Hang H. Scavenging effects of fresh flower extracts of 29 plant species to •OH radical [J]. *Journal of Plant Resources and Environment*,1999,8(3):59-60. (in Chinese)

[14] 廖立新,彭永宏,李 玲. 35 种鲜花的抗氧化活性 [J]. *植物资源与环境学报*,2002,11(2):21-24.

Liao L X, Peng Y H, Li L. Antioxidant activities of 35 kinds of fresh flowers [J]. *Journal of Plant Resources and Environment*,2002,11(2):21-24. (in Chinese)

[15] 郭香凤,史国安. 牡丹花水提液对氧自由基的清除作用 [J]. *植物生理学通讯*,2004,40(1):37-38.

Guo X F, Shi G A. The scavenging of oxygen free radical by the water extracts of peony flowers [J]. *Plant Physiology Communications*,2004,40(1):37-38. (in Chinese)

[16] 曾佑伟,徐良雄,彭永宏. 45 种花卉清除自由基能力的比较 [J]. *应用与环境生物学报*,2004,10(6):699-702.

Zeng Y Y, Xu L X, Peng Y H. Comparative study on free radical scavenging activities of 45 fresh flowers [J]. *Chinese Journal of Applied and Environmental Biology*,2004,10(6):699-702. (in Chinese)

[17] 史国安,郭香凤,包满珠. 不同类型牡丹花的营养成分及体外抗氧化活性分析 [J]. *农业机械学报*,2006,37(8):111-114.

Shi G A, Guo X F, Bao M Z. Analysis of nutritional components and antioxidant capacities in flowers of peony [J]. *Transactions of the Chinese Society for Agricultural Machinery*,2006,37(8):111-114. (in Chinese)

[18] Germano M P, Pasquale R D, Angelo V D, et al. Evaluation of extracts and isolated fraction from *Capparis spinosa* L. buds as an antioxidant source [J]. *J Agric Food Chem*, 2002, 50(5):1168-1171.

[19] Kahkonen M P, Hoppia A I, Heinonen M. Berry phenolics and their antioxidant activity [J]. *J Agric Food Chem*, 2001, 49(8):4076-4082.

[20] Hung C Y, Yen G C. Antioxidant activity of phenolic compounds isolated from *Mesona procumbens Hemsl* [J]. *J Agric Food Chem*,2002,50(10):2993-2997.

(上接第 204 页)

[10] Xavier V, Fabienne L, Stéphanie K, et al. Sugar sensing and Ca²⁺-calmodulin requirement in *Vitis vinifera* cells producing anthocyanins [J]. *Phytochemistry*,2000,53:659-665.

[11] Alain D, Pierre W T, Tristan R, et al. Galloylated catechins and stilbene diglucosides in *Vitis vinifera* cell suspension cultures [J]. *Phytochemistry*,2002,60:795-798.

[12] Cassandrine S S, Tristan R. ¹³C NMR analysis of polyphenol biosynthes for enhancement of anthocyanin biosynthesis in *Vitis vinifera* suspension cultures [J]. *Plant Science*, 2002, 162:459-468.

[13] Zhang W, Curtin C, Kikuchi, M, et al. Integration of jasmonic acid and light irradiation is in grape cells; Impact of various inducing fact [J]. *Analytica Chimica Acta*, 2006, 563: 137-144.

[14] 曲均革,虞星炬,张 卫,等. 前体饲喂、诱导子和光照联合使用对葡萄细胞培养合成花青素的影响 [J]. *生物工程学报*, 2006,22(2):299-305.

Qu J G, Yu X J, Zhang W, et al. Significant improved anthocyanins biosynthesis in suspension culture of *Vitis vineifera* by process intensification [J]. *Chinese Journal of Biotechnology*, 2006,22(2):299-305. (in Chinese)

[15] 刘庆昌,吴国良. *植物细胞组织培养* [M]. 北京:中国农业大学出版社,2002.

Liu Q C, Wu G L. *Plant cell tissue culture* [M]. Beijing:Publishing Company of Chinese Agriculture University,2002. (in Chinese)

[16] 王雅梅. 酿酒葡萄体细胞胚的诱导和保存 [D]. 甘肃 兰州:甘肃农业大学,2005.

Wang Y M. Induction and preservation of somatic embryo in wine grapevine [D]. Lanzhou, Gansu: Gansu Agriculture University,2005. (in Chinese)

[17] 高金辉,王 玲,张厚良,等. 山葡萄组织培养方法 [J]. *东北林业大学学报*,2007,35(7):37-39.

Gao J H, Wang L, Zhang H L, et al. Tissue culture of vitis amurensis [J]. *Journal of Northeast Forestry University*, 2007,35(7):37-39. (in Chinese)

[18] 胡 萍,李淑颖,元英进,等. 南方红豆杉细胞悬浮培养条件的优化研究 [J]. *天然产物研究与开发*,1997,11(4):30-35.

Hu P, Li S Y, Yuan Y J, et al. Optimization of plant cell suspension culture of *taxus chinesis* var. *mairei* [J]. *Natural Product Research and Development*, 1997, 11(4): 30-35. (in Chinese)

[19] 郑 媛,肖娅辛. 烟草脆散型愈伤组织获取及其细胞悬浮培养 [J]. *亚热带植物科学*,2005,34(1):63.

Zheng Y, Xiao Y P. Acquisition of friable calli from leaves and establishment of the cell suspension culture of tobacco [J]. *Subtropical Plant Science*,2005,34(1):63. (in Chinese)