

周文文, 刘晖, 徐志佳, 等. 酸枣仁不同极性部位成分含量与抗氧化活性及其相关性分析 [J]. 食品工业科技, 2023, 44(16): 288–296. doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2022090054

ZHOU Wenwen, LIU Hui, XU Zhijia, et al. Content and Antioxidant Activity of Components in Different Polar Parts of Semen Ziziphi Spinosae and Their Correlation Analysis[J]. Science and Technology of Food Industry, 2023, 44(16): 288–296. (in Chinese with English abstract). doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2022090054

· 分析检测 ·

酸枣仁不同极性部位成分含量与抗氧化活性及其相关性分析

周文文¹, 刘 晖¹, 徐志佳¹, 肖凤琴¹, 李 波¹, 杨亦柳¹, 李光哲^{1,*}, 严铭铭^{1,2,*}

(1. 长春中医药大学, 吉林长春 130117;

2. 吉林省中药保健食品科技创新中心, 吉林长春 130117)

摘 要:目的: 以酸枣仁为研究对象, 探究其不同溶剂萃取部位中化学成分含量及抗氧化活性, 并分析其相关性。方法: 采用水煎煮法提取酸枣仁, 依次用石油醚、氯仿、乙酸乙酯、正丁醇对提取液进行萃取, 分别得到水提取物 (S1)、石油醚萃取物 (S2)、氯仿萃取物 (S3)、乙酸乙酯萃取物 (S4)、正丁醇萃取物 (S5) 5 种极性部位。应用紫外分光光度法、高效液相色谱法对不同极性部位总酚酸、总黄酮、总多糖、总皂苷、酸枣仁皂苷 A 及斯皮诺素等成分进行含量测定, 同时应用经典体外抗氧化和 H₂O₂ 细胞氧化损伤法对各极性部位抗氧化活性进行研究, 并采用偏最小二乘回归法对 6 种化学成分与抗氧化活性之间进行相关性分析。结果: 比较同一部位不同成分, 在 S1、S2、S3 萃取部位总多糖成分含量最高, 分别为 (17.40±0.47)、(5.38±0.05)、(5.43±0.01) mg/g, 在 S4、S5 萃取部位中总黄酮成分含量最高, 分别为 (17.49±0.47)、(23.18±0.20) mg/g。各萃取部位均具有良好的抗氧化活性, 其中正丁醇萃取部位 (S5) 抗氧化能力最强, 呈明显量效关系。相关性分析得出总皂苷 (X₂)、总多糖 (X₃)、斯皮诺素含量 (X₅) 对酸枣仁发挥抗氧化能力影响较大。结论: 酸枣仁正丁醇萃取部位抗氧化能力最强, 起到抗氧化作用的活性成分为总皂苷、总黄酮和斯皮诺素。本研究为酸枣仁作为天然抗氧化剂和抗氧化食品的深入研究和开发利用提供理论依据。

关键词: 酸枣仁, 极性部位, 抗氧化活性, 相关性分析, 偏最小二乘回归

中图分类号: R917

文献标识码: A

文章编号: 1002-0306(2023)16-0288-09

DOI: 10.13386/j.issn1002-0306.2022090054



本文网刊:

Content and Antioxidant Activity of Components in Different Polar Parts of Semen Ziziphi Spinosae and Their Correlation Analysis

ZHOU Wenwen¹, LIU Hui¹, XU Zhijia¹, XIAO Fengqin¹, LI Bo¹, YANG Yiliu¹, LI Guangzhe^{1,*},
YAN Mingming^{1,2,*}

(1. Changchun University of Traditional Chinese Medicine, Changchun 130117, China;

2. Jilin Traditional Chinese Medicine Health Food Science and Technology Innovation Center, Changchun 130117, China)

Abstract: Objective: Using Semen Ziziphi Spinosae as the research subject, the antioxidant activity and chemical composition in various solvent extraction sections were investigated, and their correlation was examined. Methods: Semen Ziziphi Spinosae was extracted by the water decoction method, the extracts were successively extracted with petroleum ether, chloroform, ethyl acetate, and n-butanol, and five polar parts were obtained, including water extract (S1), petroleum

收稿日期: 2022-09-08

基金项目: 国家重点研发计划 (2017YEC1702100); 吉林省科技计划项目 (20210401096YY); 长春市科技计划项目 (21ZGY15); 长春中医药大学 2022 年大学生创新创业训练计划项目 (S202210199004X)。

作者简介: 周文文 (1998-), 女, 硕士研究生, 研究方向: 主要从事天然药物化学及新药开发方面的研究, E-mail: 1625972335@qq.com。

*** 通信作者:** 李光哲 (1972-), 男, 博士, 教授, 研究方向: 主要从事药物化学、中药化学及保健食品开发方面的研究, E-mail: ligz@nenu.edu.cn。

严铭铭 (1968-), 女, 博士, 教授, 研究方向: 具有重要生物活性天然先导结构的发现与研究, 创制新药的应用基础和应用开发研究, E-mail: yanmm595@yahoo.com.cn。

ether extract (S2), chloroform extract (S3), ethyl acetate extract (S4), and n-butanol extract (S5). The contents of total phenolic acids, total flavonoids, total polysaccharides, total saponins, jujuboside A and spinosa in different polar parts were determined by ultraviolet spectrophotometry and high-performance liquid chromatography. The antioxidant activities of different polar parts were studied by classical *in vitro* antioxidant and H_2O_2 cell oxidative damage methods. The correlation between six chemical components and antioxidant activities was analyzed by partial least squares regression. Results: Compared with other components in one part, the contents of total polysaccharides in S1, S2, S3 extraction parts were the highest, which were (17.40 ± 0.47) , (5.38 ± 0.05) and (5.43 ± 0.01) mg/g, respectively. The content of total flavonoids in S4 and S5 extraction parts was the highest, which were (17.49 ± 0.47) and (23.18 ± 0.20) mg/g, respectively. Each extraction site had good antioxidant activity, and the n-butanol extraction site (S5) had the strongest antioxidant capacity, showing a significant dose-effect relationship. Correlation analysis showed that total saponins (X_2), total polysaccharides (X_3), and spinosa content (X_5) had a great influence on the antioxidant capacity of Semen Ziziphi Spinosae. Conclusion: The n-butanol extract of Semen Ziziphi Spinosae had the strongest antioxidant capacity. The active ingredients with an antioxidant effect were total saponins, total flavonoids, and spinosa. This study would provide a theoretical basis for the in-depth research and development of wild Semen Ziziphi Spinosae as a natural antioxidant and antioxidant food.

Key words: Semen Ziziphi Spinosae; polar part; antioxidant activity; correlation analysis; partial least squares regression

氧化应激(Oxidative stress, OS)是指各种因素造成的活性氧(Reactive oxygen species, ROS)生成过量或降解减少,导致体内氧化与抗氧化作用失衡,具体表现为当机体处于氧化应激态时,体内产生大量的自由基,如超氧化物自由基($O_2^{\cdot-}$)、羟自由基($\cdot OH$)、一氧化氮自由基($\cdot NO$)、单线态氧(1O_2)和过氧化氢(H_2O_2)等,攻击脂质、蛋白质和 DNA 等生物大分子^[1]。研究发现长时间处于氧化应激会造成机体氧化损伤^[2],最终诱导炎症的产生,导致各类慢性疾病及神经退行性疾病的发生和恶化^[3]。

酸枣仁是鼠李科植物酸枣的干燥成熟种子,味酸、甘,平,微温,具有养肝宁心,镇心安神,敛汗生津等作用^[4]。研究发现,酸枣仁在改善睡眠、抗抑郁、增强免疫力、改善记忆、抗氧化方面具有良好的药理活性^[5],临床上常被用于治疗失眠等中枢神经系统疾病。现代研究表明酸枣仁中富含有多种有效活性成分,包括黄酮类、皂苷类、脂肪酸、生物碱以及其他生物物质等 120 多种成分^[6],其中黄酮类^[7]、皂苷类^[8]、酚酸类^[9]是酸枣仁发挥抗氧化活性的主要物质基础,可通过清除自由基、提高抗氧化酶活性等途径发挥一定的抗氧化作用,进而发挥疾病预防以及治疗作用^[10]。同时,酸枣中矿物质、多糖、膳食纤维的含量也非常丰富,有很高的食用价值。酸枣仁因其具有良好的食品功能特性被广泛应用于功能性食品的研究与开发中^[11],如酸枣仁果汁饮品等^[12],属于药食同源资源。

目前,临床对于酸枣仁抗氧化活性的研究多基于酸枣仁单体,有关酸枣仁不同极性部位抗氧化活性的研究内容较少,且对于酸枣仁不同极性部位成分含量对其抗氧化活性的影响尚未见研究报道。因此本研究通过运用偏最小二乘回归分析法(PLS)对酸枣仁不同极性部位的成分含量及抗氧化活性进行研究,解释其内在的相关性,旨在筛选出最佳活性部位,明确酸枣仁发挥抗氧化作用的物质基础。为酸枣仁抗氧化产品的开发利用提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

酸枣仁药材饮片(产地:山西、批号:50918006、执行标准:《中国药典》2020 年版一部、生产企业:河北仁心药业有限公司) 吉林省仙草医药药材有限公司;石油醚、三氯甲烷、乙酸乙酯、正丁醇、 H_2O_2 、过硫酸钾 分析纯,北京化工厂;没食子酸(批号:110831-200302)、芦丁(批号:100080-200707)、酸枣仁皂苷 A(批号:110734-201713)、斯皮诺素(批号:111869-201704)标准品 上海源叶生物科技有限公司;DPPH、ABTS 上海麦克林生化科技有限公司;DME/F-12 1:1(1X)培养基、FBS(胎牛血清)、P/S(青链霉素双抗溶液)、0.25% 胰蛋白酶溶液、二甲基亚砜、1×PBS(磷酸盐缓冲液) 美国 Gibco 公司;人神经母细胞瘤细胞(SH-SY5Y) 武汉普诺赛生命科技有限公司;其他试剂 均为国产分析纯。

AB265-S 型电子分析天平 梅特勒-托利多仪器(上海)有限公司;DT2000 电子天平 美国奥豪斯仪器有限公司;KQ-250B 型超声波清洗器 江苏省昆山市超声仪器有限公司;HH-6 型数显恒温水浴锅 金坛市佳美仪器有限公司;DZF-6053 真空干燥箱 上海市一恒科学仪器有限公司;DZTW 型电子调温电热套 北京市光明医疗仪器有限公司;UV-1700 型紫外分光光度计 日本岛津有限公司;Infinite M200PRO 型全自动酶标仪 瑞士 Tecan 有限公司;CO₂ 培养箱 美国 Thermo 有限公司;SHIMADZU 2010A 型高效液相色谱仪 日本岛津有限公司;Alltech ELSD 6000 型蒸发光散射检测器 美国奥泰有限公司。

1.2 实验方法

1.2.1 酸枣仁不同溶剂部位获取 采用传统的水煎煮法,取酸枣仁饮片,置于圆底烧瓶中,加入 10 倍量蒸馏水,加热煮沸、回流提取 2 次,每次 2 h。过滤,合并滤液,将提取液浓缩至 50 mL。依次使用石油

醚、三氯甲烷、乙酸乙酯、正丁醇萃取,萃取体积比为1:1,振摇1 min,静置20 min后将有机层收集至蒸发皿,每种溶剂萃取三次,合并萃取液,挥干溶剂后分别得水提取物S1(出膏率23.4%)、石油醚萃取物S2(出膏率1.2%)、氯仿萃取物S3(出膏率0.9%)、乙酸乙酯萃取物S4(出膏率2.6%)、正丁醇萃取物S5(出膏率3.3%)。

1.2.2 酸枣仁不同极性部位主要成分含量测定方法

1.2.2.1 总多糖测定 参照万晓莹等^[13]的方法,以葡萄糖为标准品,取样品0.2 mL于10 mL比色管中,加蒸馏水补至2 mL,加入5%苯酚溶液1 mL,混匀,加入浓硫酸5 mL,混匀;37℃加热30 min,立即转入冷水浴中冷却至室温,在488 nm测定吸光度值A。制备得回归方程为 $y=5.7093x-0.0426$ ($R^2=0.9994$),以此计算样品中总多糖含量。

1.2.2.2 总皂苷测定 参考崔小芳^[14]的方法,以酸枣仁皂苷A为标准品,取各样品50 μL于10 mL比色管中,60℃水浴挥干,加入新配制的5%香草醛冰醋酸溶液0.2 mL,高氯酸0.8 mL,混匀,于60℃恒温水浴加热15 min,取出。迅速冷却,加冰醋酸5 mL,摇匀。在472 nm下测定吸光度值A。制备得回归方程为 $y=3.8374x-0.0022$ ($R^2=0.9994$),以此计算样品中总皂苷含量。

1.2.2.3 总黄酮测定 参考Kurkina等^[15]的方法,以芦丁为标准品,取各样品1 mL于10 mL比色管中,加入5% NaNO₂溶液0.3 mL,混匀,静置6 min,再加入10% Al(NO₃)₃溶液0.3 mL,混匀,静置6 min,再加入4% NaOH溶液4.0 mL混匀后静置15 min,最后用80%乙醇定容至10 mL。在510 nm下测定吸光度值A。制备得回归方程为 $y=1.2446x-0.0079$ ($R^2=0.9992$),以此计算样品中总黄酮含量。

1.2.2.4 总酚酸测定 参考杨勇等^[16]的方法,以没食子酸为标准品,取各样品0.5 mL于10 mL比色管中,加入福林酚试剂0.5 mL,混匀,6 min后再加入20% Na₂CO₃溶液1.5 mL,混匀,用蒸馏水稀释至10 mL,室温下反应2 h(避光)。在743 nm下测定吸光度值A。制备得回归方程为 $y=10.412x+0.059$ ($R^2=0.9979$),以此计算样品中总酚酸含量。

1.2.2.5 酸枣仁皂苷A含量测定 参考2020版《中国药典》一部酸枣仁项下的含量测定方法^[17],以酸枣仁皂苷A为标准品,HPLC法测定样品中酸枣仁皂苷A含量,色谱柱为Apollo-C₁₈(250 mm×4.6 mm, 5 μm)。取酸枣仁皂苷A对照品适量,精密称定,加甲醇制成每1 mL含0.1 mg的溶液,即得酸枣仁皂苷A标准品溶液;精密称量5种提取物各1 g,放入具塞锥形瓶中,精密量取50 mL色谱甲醇加入锥形瓶中,超声处理30 min后,用甲醇补重。吸取1 mL,用0.22 μm微孔膜过滤,即所得供试品溶液。分别精

密吸取对照品溶液5、20 μL,供试品溶液10 μL,注入液相色谱仪,测定,用外标两点法对数方程计算,测定各样品中酸枣仁皂苷A含量。

1.2.2.6 斯皮诺素含量测定 参考2020版《中国药典》一部酸枣仁项下斯皮诺素含量测定的方法^[17],以斯皮诺素为标准品,HPLC法测定样品中斯皮诺素含量,色谱柱为Apollo-C₁₈(250 mm×4.6 mm, 5 μm)。取斯皮诺素对照品适量,精密称定,加甲醇制成每1 mL含0.1 mg的溶液,即得斯皮诺素标准品溶液。精密称量5种提取物各1 g,放入具塞锥形瓶中,精密量取50 mL色谱甲醇加入锥形瓶中,超声处理30 min后,用甲醇补重。吸取1 mL,用0.22 μm微孔膜过滤,即得供试品溶液。分别精密吸取对照品、供试品溶液各10 μL,注入液相色谱仪,测定各样品中斯皮诺素含量。

1.2.3 抗氧化能力测定 样品预处理:分别取各样品称量0.2、0.4、0.6、0.8、1.0、1.2 mg,溶于1 mL蒸馏水中,超声30 min,12000 r/min离心10 min,取上清液作为待测溶液。

1.2.3.1 超氧阴离子清除率测定 采用邻苯三酚自氧化法^[18]。Tris-HCl(50 mmol/L, pH8.2)和邻苯三酚溶液(浓度为6 mmol/L)于25℃预热20 min。在96孔板中加入150 μL Tris-HCl、30 μL样品溶液、30 μL预热过的邻苯三酚,25℃保温4 min,加20 μL浓盐酸,于420 nm处测定吸光度值A₁。以蒸馏水替代样品溶液作为A₀。以蒸馏水代替邻苯三酚作为样品对照A₂。按下式计算超氧阴离子的清除率:

$$\text{清除率}(\%) = (A_0 - A_1 + A_2) / A_0 \times 100$$

1.2.3.2 羟基自由基清除率测定 采用水杨酸法^[19]测定对羟基自由基的作用,取96孔板,每孔分别加入50 μL样品、50 μL硫酸亚铁溶液(6 mmol/L)、50 μL过氧化氢(6 mmol/L),于37℃恒温加热10 min后加入50 μL水杨酸(6 mmol/L),于37℃恒温加热30 min后在510 nm处测定吸光度值A₁。以蒸馏水代替样品液,测定吸光度值A₀;以1 mL蒸馏水代替过氧化氢溶液,测定吸光度值A₂。羟基自由基清除率计算公式同1.2.3.1。

1.2.3.3 DPPH自由基清除率测定 参照陈冰丹等^[20]的实验方法,在96孔板中,每孔加入100 μL样品水溶液,100 μL DPPH溶液,于暗室反应30 min,在517 nm处测定吸光度值A₁;以甲醇代替DPPH溶液作为样品对照组,测定吸光度值A₂;以蒸馏水代替样品液作为空白对照组,测定吸光度值A₀。DPPH自由基清除率计算公式同1.2.3.1。

1.2.3.4 ABTS⁺自由基清除率测定 参照羌宇等^[21]的实验方法,将2 mL 7.4 mmol/L ABTS储备液与35.2 μL 2.6 mmol/L K₂S₂O₈混匀,静置12~16 h,配成ABTS工作液。取1 mL ABTS工作液,用pH为7.4的PBS溶液稀释,要求在常温下734 nm处吸光

值为 0.7 ± 0.2 。将 0.2 mL ABTS 工作液与 $10 \mu\text{L}$ 不同浓度样品混合, 常温避光反应 6 min , 在 734 nm 波长测定吸光度, 平行 3 次。ABTS⁺ 自由基清除能力由下式计算:

$$\text{ABTS}^+ \text{ 自由基清除率}(\%) = [(A_0 - A_1)/A_0] \times 100$$

式中, A_1 为样品+ABTS 溶液吸光度值, A_0 为 PBS 溶液+ABTS 溶液的吸光度。

1.2.3.5 对 H_2O_2 所致 SH-SY5Y 细胞氧化损伤保护能力测定 参考张妹等^[22] 方法, 采用 DME/F-12 1:1 培养基 (10% FBS, 1% P/S) 培养 SH-SY5Y 细胞, 取对数生长期的 SH-SY5Y 细胞以 5×10^3 个/孔均匀接种于 96 孔板中, 待细胞贴壁后, 弃去培养液, 分别称取 S1、S2、S3、S4、S5, 溶于培养基中, 按生药量记母液浓度为 1.2 g/L , 用培养基稀释至 5、10、20、40、60 mg/L , 每孔给药 $10 \mu\text{L}$ 。用酸枣仁不同提取部位对细胞预保护 6 h, 再与 $250 \mu\text{L}$ H_2O_2 共同作用于 SH-SY5Y 细胞株 24 h 后, 采用 CCK-8 法检测细胞活力。

1.3 数据处理

使用 SPSS 22.0 统计学软件对数据进行统计学分析, 应用方差分析进行显著性分析, 以 $P < 0.05$ (双侧) 为差异有统计学意义。采用皮尔逊法进行相关性分析; 运用 SPSS 26.0 进行偏最小二乘回归分析^[23]。

2 结果与分析

2.1 酸枣仁不同极性部位成分含量分析结果

酸枣仁皂苷 A、斯皮诺素含量测定 HPLC 色谱图见图 1、图 2。由表 1 可知, 在五种不同极性萃取

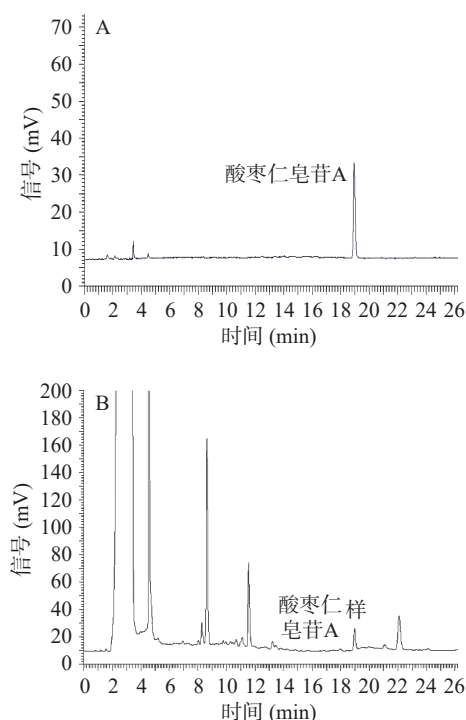


图 1 酸枣仁皂苷 A 高效液相色谱图

Fig.1 High performance liquid chromatogram of jujuboside A

注: A: 对照品; B: 样品; 图 2 同。

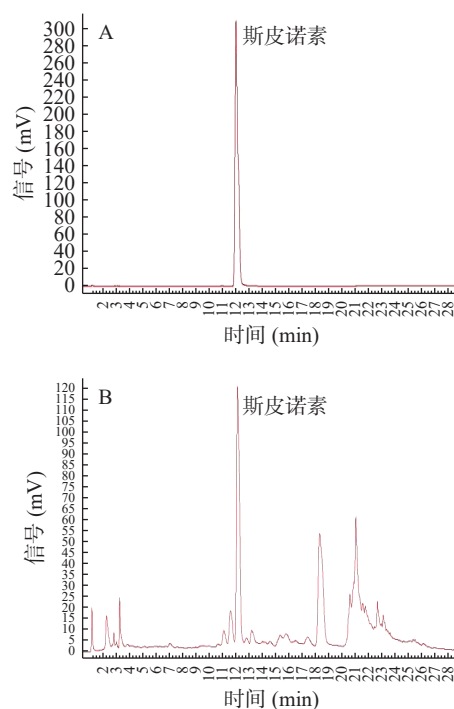


图 2 斯皮诺素高效液相色谱图

Fig.2 High performance liquid chromatogram of spinosol

部位中, 总黄酮、总皂苷、酸枣仁皂苷 A、斯皮诺素在 S5 萃取部位中成分含量最高, 分别为 (23.18 ± 0.20) 、 (21.62 ± 0.23) 、 (0.3119 ± 0.017) 、 $(0.70 \pm 0.024) \text{ mg/g}$, 根据相似相溶原理, 说明酸枣仁中所含有的总黄酮类、皂苷类、酸枣仁皂苷 A、斯皮诺素被中强极性 (正丁醇) 溶剂富集, 可能是因为这些物质属于中强极性物质; 总酚酸、总多糖在 S1 萃取部位成分含量最高, 分别为 (7.52 ± 0.09) 、 $(17.40 \pm 0.47) \text{ mg/g}$, 说明酸枣仁中所含有的酚酸、多糖类化学物质可被强极性 (水) 溶剂富集, 推测这些物质属于强极性物质。

2.2 酸枣仁不同极性部位的抗氧化活性

2.2.1 酸枣仁不同极性部位对 DPPH 自由基的清除作用 由表 2 可知, 酸枣仁不同极性部位提取物对 DPPH 自由基均有一定的清除能力。随着浓度的增加, 不同提取物对 DPPH 自由基清除率与其浓度呈良好的线性正相关关系。在相同浓度下不同极性部位对 DPPH 自由基清除能力大小顺序为: $V_C > S5 > S1 > S2 > S3 > S4$, 其中在浓度为 1.2 mg/mL 时, S5 萃取部位对 DPPH 自由基清除能力最强, 为 87.94% , 接近于阳性对照组 V_C 的清除能力。这可能是由于在酸枣仁 S5 萃取部位中总黄酮类、总皂苷类化学物质成分含量较高, DPPH 自由基可与其很好地结合, 因此对 DPPH 自由基的清除能力较强。该结果与谢红^[24] 酸枣仁皂苷体外抗氧化活性研究结果一致, 具有一定科学性。表明酸枣仁 S5 萃取部位对 DPPH 自由基有较强的清除能力。

2.2.2 酸枣仁不同极性部位对 ABTS⁺ 自由基的清除作用 提取物溶液加入 ABTS⁺ 自由基溶液后, ABTS⁺ 自由基溶液会与提取物抗氧化成分发生反应, 生成稳

表 1 酸枣仁不同极性部位成分含量

Table 1 Contents of components in different polar parts of Semen Ziziphi Spinosae

成分	含量(mg/g)				
	S2	S3	S4	S5	S1
总酚酸	0.54±0.04*	0.71±0.02	4.82±0.65**	5.86±0.10**	7.52±0.09**
总皂苷	0.32±0.06	0.23±0.03	2.75±0.06**	21.62±0.23**	6.74±0.20**
总多糖	5.38±0.05	5.43±0.01	6.22±0.09*	11.49±0.32**	17.40±0.47**
总黄酮	0.22±0.01**	1.27±0.03	17.49±0.47**	23.18±0.20**	12.91±0.19**
酸枣仁皂苷A	0.0827±0.0039	0.0932±0.0031	0.1259±0.0021*	0.3119±0.017**	0.1531±0.0036**
斯皮诺素	0.14±0.012*	0.20±0.016	0.63±0.013**	0.70±0.024**	0.58±0.029*

注: 与S3相比, *差异显著, $P<0.05$; **差异极显著, $P<0.01$; 表2~表5同。

表 2 酸枣仁不同极性部位对 DPPH 自由基清除能力

Table 2 Ability of different polar parts of Semen Ziziphi Spinosae to remove DPPH free radicals

浓度(mg/mL)	DPPH自由基清除率(%)					
	S2	S3	S4	S5	S1	V _C
0.2	7.49±0.35**	4.45±0.31	4.97±0.55	25.29±0.58**	12.08±0.15*	76.90±0.75**
0.4	11.92±0.18*	10.44±0.27	9.57±0.50*	38.03±0.14**	22.17±0.53**	82.50±0.46**
0.6	12.70±0.45**	16.34±0.25	14.58±0.46*	63.86±0.40**	45.00±0.61**	85.68±0.82**
0.8	13.37±0.29**	25.44±0.38	23.86±0.57*	73.82±0.47**	52.43±0.43**	90.56±0.67**
1.0	15.76±0.56*	46.82±0.30	38.87±0.77**	85.95±0.52**	65.51±0.45**	93.75±0.42**
1.2	23.22±0.16*	58.50±0.25	55.30±0.83*	87.94±0.20**	74.87±0.64**	94.04±0.31**

定化合物, 溶液褪色, 因此说明清除能力越好抗氧化活性越高^[25]。由表 3 可知, 酸枣仁不同极性部位提取物对 ABTS⁺ 自由基均有较强的清除作用, 且在 0.2~1.2 mg/mL 范围内时, 酸枣仁不同极性部位提取物对 ABTS⁺ 自由基清除活性随质量浓度的增加而增强。在相同浓度下不同极性部位对 ABTS⁺ 自由基清除能力大小顺序为: V_C>S5>S1>S4>S3>S2, 其中浓度为 1.2 mg/mL 时, S5 萃取部位对 ABTS⁺ 自由基清除率最高, 为 93.25%±0.74%, 接近于 V_C 标准品。表

明 S5 萃取部位具有较强的 ABTS⁺ 自由基清除能力, 可以进一步地研究开发。

2.2.3 酸枣仁不同极性部位对超氧阴离子自由基的清除作用 由表 4 可知, 在 0.2~1.2 mg/mL 范围内, 酸枣仁不同极性部位提取物对超氧阴离子自由基清除率与其浓度呈较好的正相关关系。其中, S5 萃取物清除能力最强, 相同浓度下优于及其他萃取物, 当浓度达到 1.2 mg/mL 时具有最高清除活性, 清除率为 64.27%±0.31%; 对超氧阴离子自由基清除能力较

表 3 酸枣仁不同极性部位对 ABTS⁺ 自由基的清除能力Table 3 Ability of different polar parts of Semen Ziziphi Spinosae to remove ABTS⁺ free radicals

浓度(mg/mL)	ABTS ⁺ 自由基清除率(%)					
	S2	S3	S4	S5	S1	V _C
0.2	3.78±0.17	4.02±0.34	10.52±0.12**	26.14±0.57**	15.69±0.52**	72.87±0.72**
0.4	7.13±0.20*	11.82±0.30	15.59±0.25*	41.41±0.37**	24.92±0.31**	78.84±0.66**
0.6	12.29±0.43*	15.23±0.21	24.92±0.54**	52.26±0.66**	32.34±0.41**	86.94±0.42**
0.8	14.73±0.55*	21.42±0.61	29.15±0.28*	64.29±0.71**	39.14±0.42*	89.98±0.37**
1.0	21.84±0.59*	25.73±0.23	47.28±0.61*	93.37±0.15**	67.07±0.38**	92.70±0.86**
1.2	24.84±0.26*	29.46±0.45	78.41±0.81**	93.25±0.74**	82.38±0.36**	95.51±0.57**

表 4 酸枣仁不同极性部位对超氧阴离子自由基清除能力

Table 4 Removal ability of superoxide anion free radicals in different polar parts of Semen Ziziphi Spinosae

浓度(mg/mL)	超氧阴离子清除率(%)					
	S2	S3	S4	S5	S1	V _C
0.2	7.69±0.43*	16.97±0.50	15.01±0.26*	20.59±0.35**	10.39±0.51*	71.85±0.54**
0.4	13.89±0.40**	24.88±0.36	26.44±0.46*	32.79±0.44**	17.21±0.53*	73.37±0.33**
0.6	19.17±0.53*	29.21±0.50	29.45±0.41	37.93±0.31**	20.86±0.45**	81.58±0.26**
0.8	24.68±0.92*	31.66±0.4	34.45±0.62**	43.78±0.55**	31.25±0.49	89.47±0.85**
1.0	31.61±0.12*	35.78±0.20	45.78±0.24**	47.03±0.44**	40.95±0.35**	91.95±0.34**
1.2	36.43±0.20**	42.11±0.25	51.26±0.29**	64.27±0.31**	/	93.87±0.28**

差的为 S2 与 S1, 在浓度 1.2 mg/mL 时清除率仅为 36.43%±0.20%、55.33%±0.52%。该结果可能与正丁醇萃取物中的黄酮类成分具有活泼的酚羟基, 在遇到活性氧自由基时, 易失去酚羟基上的氢, 具有直接清除或淬灭超氧阴离子、羟基自由基、H₂O₂ 等活性氧、自由基的作用有关^[26]。

2.2.4 酸枣仁不同极性部位羟基自由基分析结果
由表 5 可知, 酸枣仁不同极性部位提取物对羟基自由基有良好清除能力, 且在 0.2~1.2 mg/mL 范围内, 随着质量浓度的增加清除能力逐渐增强。在相同浓度下不同极性部位对羟基自由基清除能力大小顺序为: V_C>S5>S1>S4>S3>S2, 其中, 在 1.2 mg/mL 时, S5 的清除能力最强, 为 78.86%±0.45%, 接近于 V_C 标准品。以上研究结果表明, 酸枣仁不同极性部位均具有一定的羟基自由基清除能力, 其中 S5 萃取部位效果最好。

2.2.5 酸枣仁不同极性部位清除自由基 IC₅₀ 值分析结果
如表 6 所示酸枣仁不同极性部位清除自由基的 IC₅₀ 值可知, S5(正丁醇部位)对 DPPH 自由基、羟基自由基、ABTS⁺ 自由基和超氧阴离子自由基的清除率 IC₅₀ 值均低于其他部位的 IC₅₀ 值, 该研究表明酸枣仁正丁醇部位具有更强的抗氧化活性。

2.2.6 酸枣仁不同极性部位细胞氧化损伤保护能力分析结果
除上述对酸枣仁不同极性部位抗氧化能力进行测定外, 本研究通过测定不同给药组的细胞相对活力, 来比较酸枣仁不同极性部位对 H₂O₂ 所致 SH-SY5Y 细胞氧化损伤保护能力的大小, 旨在选出酸枣仁对氧化损伤细胞保护的 best 活性部位。如图 3 所示, 相比于模型组, SH-SY5Y 细胞在空白组正常贴壁状态下呈上皮样, 有短触角延伸, 成簇生

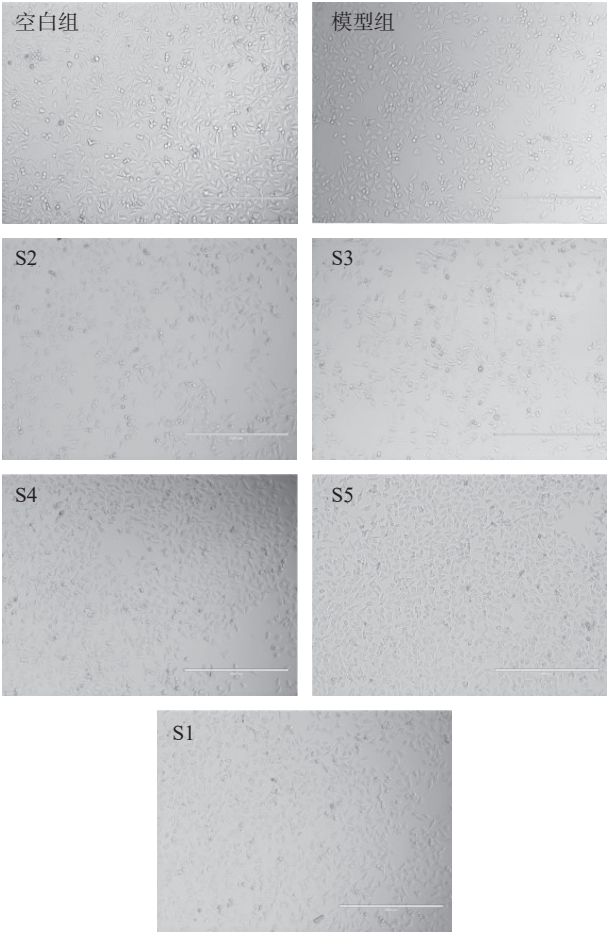


图 3 酸枣仁不同极性部位对 H₂O₂ 所致 SH-SY5Y 细胞氧化损伤保护能力对比图

Fig.3 Comparison of the protection ability of SH-SY5Y cells caused by H₂O₂ in different polar parts of Semen Ziziphi Spinosae

长。在应用 H₂O₂ 诱导损伤后, 细胞形态变大变圆, 轮廓不清晰。给药处理后, 镜下见细胞形态接近于正

表 5 酸枣仁不同极性部位的羟基自由基清除能力

Table 5 Removal ability of hydroxyl radicals in different polar parts of Semen Ziziphi Spinosae

浓度(mg/mL)	羟基自由基清除率(%)					
	S2	S3	S4	S5	S1	V _C
0.2	8.77±0.11*	13.76±0.20	13.46±0.53	11.57±0.51*	10.77±0.47*	64.30±0.23**
0.4	15.52±0.51*	25.70±0.17	19.69±0.55*	28.16±0.50*	19.77±0.42*	78.18±0.45**
0.6	23.46±0.54*	29.93±0.26	25.70±0.16*	31.11±0.52**	21.95±0.26*	83.32±0.67**
0.8	29.70±0.29	31.35±1.25	28.28±0.80*	42.75±0.64*	43.71±0.63	89.47±0.92**
1.0	32.63±0.68*	41.50±0.71	34.46±0.53*	67.06±0.31**	57.51±0.10**	92.14±0.73**
1.2	40.52±0.24*	45.49±0.44	43.36±0.28*	78.86±0.45**	60.32±0.33**	94.62±0.58**

表 6 酸枣仁不同极性部位抗氧化活性 IC₅₀ 值

Table 6 IC₅₀ value of antioxidant activity of different polar parts of Semen Ziziphi Spinosae

极性部位	DPPH·(mg/mL)	ABTS ⁺ ·(mg/mL)	·OH(mg/mL)	·O ₂ ⁻ (mg/mL)
S2	3.47	2.35	2.35	1.66
S3	1.11	1.98	1.98	1.57
S4	1.21	0.95	0.95	1.17
S5	0.51	0.54	0.54	0.93
S1	0.77	0.80	0.80	1.17
V _C	0.13	0.14	0.16	0.14

常状态。如表 7 所示,酸枣仁不同萃取部位对 H_2O_2 诱导的 SH-SY5Y 细胞氧化损伤有保护能力。与模型组相比,各组样品均提高了细胞存活率。表明,酸枣仁不同极性萃取部位可以改善 H_2O_2 诱导的细胞氧化损伤,其中 S5 萃取部位对细胞氧化损伤保护能力相对最强,而 S2 萃取部位最弱。

2.3 酸枣仁不同极性部位抗氧化活性及成分含量相关性分析结果

2.3.1 酸枣仁不同极性部位各项指标相关性分析结果 皮尔逊相关系数^[27]是描述 2 个定距变量间联系紧密程度,衡量变量 X 和 Y 之间的线性相关关系的参数,其值介于-1 与 1 之间,一般用 r 表示,该算法运算效率高且实用性强。由表 8 可知,酸枣仁 6 个化学组分含量和 4 个抗氧化活性指标以及保护氧化损伤细胞能力之间存在一定的线性相关性,其中 $ABTS^+$ 自由基 IC_{50} 值与总酚酸、总黄酮呈高度线性负相关且显著($P<0.05$),与斯皮诺素含量呈高度线性负相关且极显著($P<0.01$),相关系数分别为 0.938、0.950、0.982;超氧阴离子自由基 IC_{50} 值与总酚酸呈高度线性负相关且显著($P<0.05$),与总黄酮、斯皮诺素含量呈高度线性负相关且极显著($P<0.01$),相关系数分别为 0.884、0.983、0.982;保护氧化损伤细胞能力与总黄酮、斯皮诺素含量呈高度线性正相关且极

显著($P<0.01$),相关系数分别为 0.995、0.961。上述研究结果表明,酸枣仁中 6 个化学组分含量与 4 个抗氧化指标均为线性相关关系,推测上述组分均具有良好的抗氧化活性,其中总黄酮、斯皮诺素与抗氧化活性指标和保护氧化损伤细胞能力之间线性关系显著,这可能是因为酸枣仁中总黄酮、斯皮诺素为主要抗氧化活性部位。

2.3.2 酸枣仁不同极性部位抗氧化活性与功能成分偏最小二乘回归分析结果 PLS 方法中,通常通过变量投影重要性指标(VIP)^[28]来表征各成分含量对抗氧化活性指标的解释能力大小,其值越大说明该自变量对因变量的解释能力越强,基于 VIP 对各成分含量进行筛选后再采用 PLS 建模。由表 9 可知总黄酮、总酚酸、斯皮诺素变量重要性值较大,在解释变量 Y 时具有显著重要性;总皂苷、总多糖变量重要性值较小。

采用偏最小二乘回归分析法,对酸枣仁不同极性部位抗氧化活性进行分析,选择酸枣仁不同极性部位成分含量作为自变量 X,其中 X_1 为总酚酸含量、 X_2 为总皂苷含量、 X_3 为总多糖含量、 X_4 为总黄酮含量、 X_5 为斯皮诺素含量、 X_6 为酸枣仁皂苷 A,其抗氧化指标作为因变量,其中 Y I 为 DPPH 自由基清除率、Y II 为 $ABTS^+$ 自由基清除率、Y III 为羟基自由

表 7 酸枣仁不同极性部位的细胞相对活力

Table 7 Relative cell viability of different polar parts of Semen Ziziphi Spinosae

浓度(mg/L)	细胞相对活力(%)				
	S2	S3	S4	S5	S1
模型组	53.96±1.27	56.77±1.34	53.63±0.45	52.97±0.27	56.47±0.51
5	54.65±0.81	58.09±2.21*	56.16±1.35*	61.41±0.66*	59.72±0.69*
10	57.88±0.62	61.43±3.24*	62.42±2.41*	73.75±0.75**	66.15±2.28*
20	59.91±1.51*	65.27±1.61*	69.73±3.34*	82.04±2.43**	74.89±2.33**
40	63.36±1.57*	72.82±1.82**	84.37±2.73*	96.41±1.82**	81.45±1.50**
60	69.79±2.01**	78.93±1.41**	90.98±1.40**	119.51±1.57**	103.53±2.65**

注:与模型组相比,*差异显著, $P<0.05$;**差异极显著, $P<0.01$ 。

表 8 酸枣仁不同极性部位各项指标的皮尔逊相关系数及其相关性检验结果

Table 8 Pearson correlation coefficients and correlation test results of different polar parts of Semen Ziziphi Spinosae

考察指标	总酚酸含量	总皂苷含量	总多糖含量	总黄酮含量	酸枣仁皂苷 A 含量	斯皮诺素含量	DPPH· IC_{50} 值	$ABTS^+$ · IC_{50} 值	·OH IC_{50} 值	O_2^- IC_{50} 值	保护氧化损伤 细胞能力
总酚酸含量	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
总皂苷含量	0.602	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
总多糖含量	0.856	0.507	—	—	—	—	—	—	—	—	—
总黄酮含量	0.830	0.792	0.489	—	—	—	—	—	—	—	—
酸枣仁皂苷 A 含量	0.613	0.996**	0.482	0.825	—	—	—	—	—	—	—
斯皮诺素含量	0.910*	0.711	0.591	0.981**	0.744	—	—	—	—	—	—
DPPH· IC_{50} 值	-0.691	-0.558	-0.542	-0.666	-0.603	-0.713	—	—	—	—	—
$ABTS^+$ · IC_{50} 值	-0.938*	-0.737	-0.684	-0.950*	-0.768	-0.982**	0.810	—	—	—	—
·OH IC_{50} 值	-0.696	-0.860	-0.803	-0.604	-0.842	-0.603	0.683	0.71	—	—	—
O_2^- IC_{50} 值	-0.884*	-0.820	-0.607	-0.983**	-0.849	-0.982**	0.767	0.985**	0.717	—	—
保护氧化损伤细胞	0.775	0.782	0.407	0.995**	0.817	0.961**	-0.608	-0.914*	-0.545	-0.960**	—

注:*表示相关性显著, $P<0.05$;**表示相关性极显著, $P<0.01$ 。

表 9 自变量 VIP(累积投影重要性)汇总
Table 9 Summary of independent variable VIP (importance of cumulative projection)

变量	DPPH· IC ₅₀ 值	ABTS ⁺ · IC ₅₀ 值	·OH IC ₅₀ 值	·O ₂ ⁻ IC ₅₀ 值	保护氧化损伤 细胞能力
总酚酸含量	0.968	0.947	0.954	0.969	0.969
总皂苷含量	1.029	0.971	0.973	0.919	0.919
总多糖含量	0.776	0.912	0.917	0.869	0.869
总黄酮含量	1.092	1.096	1.088	1.102	1.102
斯皮诺素含量	1.101	1.099	1.092	1.078	1.078
酸枣仁皂苷A含量	0.999	0.959	0.962	1.041	1.041

表 10 酸枣仁不同极性部位抗氧化活性与成分含量最小二乘回归分析结果
Table 10 Results of the partial least squares regression analysis of antioxidant activity and ingredient content in different polar parts of Semen Ziziphi Spinosae

方程	回归方程
I	$Y = -25.931 - 2.78X_1 - 19.944X_2 + 7.702X_3 + 4.914X_4 - 5.822X_5 - 2.964X_6$
II	$Y = 2.014 - 0.419X_1 - 3.103X_2 + 1.161X_3 + 0.704X_4 - 0.9X_5 - 0.457X_6$
III	$Y = -0.595 - 0.248X_1 - 1.533X_2 + 0.564X_3 + 0.393X_4 - 0.447X_5 - 0.228X_6$
IV	$Y = 0.538 - 0.112X_1 - 0.789X_2 + 0.298X_3 + 0.171X_4 - 0.229X_5 - 0.116X_6$
V	$Y = -50.832 - 0.634X_1 - 4.622X_2 + 1.714X_3 + 1.574X_4 - 1.357X_5 - 0.695X_6$

基清除率、Y IV为超氧阴离子清除率、Y V为保护氧化损伤细胞能力。得到回归表 10 所示方程,由表 10 可知,回归系数的正、负代表各成分对抗氧化能力的正相关或负相关,回归系数绝对值越大,表明该自变量对抗氧化能力影响越大。按照回归系数绝对值大小排序,可知各成分含量对 DPPH 自由基、ATBS⁺自由基、羟基自由基清除能力以及保护氧化损伤细胞能力的影响由大到小均为: X₂>X₃>X₅>X₄>X₆>X₁,该结果与表 9 结果一致,因此推测出总酚酸、总黄酮、斯皮诺素含量对酸枣仁发挥抗氧化能力及氧化损伤细胞保护能力影响较大。

3 讨论与结论

本文以体外抗氧化活性及对 H₂O₂ 所致 SH-SY5Y 细胞损伤保护能力结合酸枣仁各部位成分含量变化来挖掘酸枣仁抗氧化能力与酸枣仁不同成分的关系,明确酸枣仁发挥抗氧化作用的物质基础,结果表明酸枣仁不同极性部位均具有良好的抗氧化活性,但抗氧化能力强弱并不一致,其中 S5 萃取部位抗氧化活性优于其他部位,因此推断正丁醇萃取部位可能是酸枣仁抗氧化的主要活性部位。采用紫外分光光度法,HPLC 法测定了酸枣仁不同萃取部位成分含量,发现 S5 部位总黄酮、总皂苷含量较高,说明黄酮类、皂苷类成分在正丁醇部位进行了富集。植物黄酮类成分由于其含多个酚羟基的结构特性,被称为天然的抗氧化活性物质^[29],酸枣仁皂苷因其具有多个氧化和还原官能团,且具有烯丙型稳定结构的多位点活性中心,具较强的抗氧化活性^[30],因此,推断酸枣仁提取物抗氧化活性跟黄酮类、皂苷类成分含量相关。其不同极性部位抗氧化活性的变化趋势与其总黄酮、总皂苷含量具有一致性,因此推断其黄酮类、皂苷成分可能为酸枣仁发挥抗氧化作用的潜在物质

基础。

采用 PLS 相关分析探究各活性部位成分含量与抗氧化指标的对应关系,将各指标与各组分进行相关性分析,各活性部位成分含量对 DPPH 自由基、ABTS⁺自由基、羟基自由基清除能力以及保护氧化损伤细胞能力的影响由大到小均为: X₂>X₃>X₅>X₄>X₆>X₁。由此可说明总皂苷、总黄酮、斯皮诺素含量对酸枣仁发挥抗氧化能力及氧化损伤细胞保护能力影响较大。相关性分析结果表明,不同成分含量之间存在着互相影响、互相牵制的关系,总皂苷、总黄酮等成分含量的变化可能会导致其他成分含量与抗氧化能力的改变;偏最小二乘回归分析研究再次表明酸枣仁中总皂苷、总黄酮、斯皮诺素含量对其抗氧化能力影响最大。因此,本研究不仅测定了酸枣仁中主要成分的含量,而且明确了主要化学成分对抗氧化的影响,可为酸枣仁在保健食品等方面的开发利用提供参考。

参考文献

[1] 蒯云逸, 蒋和浩, 红雷, 等. 岩藻多糖对大鼠肾脏氧化应激、炎症和细胞凋亡的缓解作用[J]. 动物营养学报, 2022, 34(8): 5393-5403. [KYAI Y Y, JIANG H H, HONG L, et al. Effects of *Fucosum* polysaccharide on oxidative stress, inflammation and apoptosis of kidney in rats[J]. Chinese Journal of Animal Nutrition, 2022, 34(8): 5393-5403.]

[2] 倪俊, 袁彩莲, 余容, 等. 细胞代次对 t-BHP 诱导 Caco-2 细胞构建氧化应激模型的影响[J]. 食品工业科技, 2023, 44(5): 60-66. [NI J, YUAN C L, SHE R, et al. Effects of cell passage on oxidative stress model induced by t-BHP in Caco-2 cells[J]. Science and Technology of Food Industry, 2023, 44(5): 60-66.]

[3] MA Y H, DENG W J, LUO Z Y, et al. Inhibition of microRNA-29b suppresses oxidative stress and reduces apoptosis in ischemic stroke[J]. Neural Regeneration Research, 2022, 17(4): 438-439.

[4] 张双, 韩荣欣, 王欣等. 酸枣仁蛋白的不同蛋白酶酶解产物功

- 能特性及抗氧化活性分析[J]. 食品工业科技, 2022, 43(9): 31-39.
- [ZHANG S, HAN R X, WANG X, et al. Analysis of functional characteristics and antioxidant activity of hydrolysates from different proteases of *Zizyphus jujube* Kernel protein[J]. Science and Technology of Food Industry, 2022, 43(9): 31-39.]
- [5] 肖凤琴, 刘晖, 杨亦柳, 等. 生熟酸枣仁及其皮、仁成分差异性与抗氧化活性研究[J]. 食品与机械, 2022, 38(4): 54-57, 140.
- [XIAO F Q, LIU H, YANG Y L, et al. Study on the difference and antioxidant activity of raw and cooked *Zizyphi Spinosae* and its skin and kernel[J]. Food and Machinery, 2022, 38(4): 54-57, 140.]
- [6] 杜军霞, 刘华梁, 王僧虎, 等. 酸枣及其有效活性成分的药理作用综述[J]. 安徽农业科学, 2022(19): 7-10. [DU J X, LIU H L, WANG S H, et al. Review of pharmacological effects of wild jujube and its active ingredients[J]. Anhui Agricultural Sciences, 2022(19): 7-10.]
- [7] 刘乐, 范建凤, 赵二芳. 酸枣仁油提取及其抗氧化活性研究现状[J]. 山东化工, 2018, 47(12): 65-66. [LIU L, FAN J F, ZHAO E L. Research status of extraction and antioxidant activity of jujube kernel oil[J]. Shandong Chemical Industry, 2018, 47(12): 65-66.]
- [8] 王少敏, 李萍, 赵明强. 生物化学发光法测定酸枣仁的抗氧化活性[J]. 中草药, 2003(5): 36-38. [WANG S M, LI P, ZHAO M Q. Determination of antioxidant activity of jujube seed by chemiluminescence method[J]. Chinese Herbal Medicine, 2003(5): 36-38.]
- [9] 马琦. 酸枣仁抗氧化活性物质的提取、分离及其活性的研究[D]. 北京: 北京化工大学, 2011. [MA Q. Study on extraction, separation and activity of antioxidant substances from *Semen Zizyphi Spinosae*[D]. Beijing: Beijing University of Chemical Technology, 2011.]
- [10] ZHANG X, WANG J, GONG G, et al. Spinosin inhibits $A\beta_{1-42}$ production and aggregation via activating Nrf2/HO-1 pathway[J]. Biomolecules & Therapeutics, 2020, 28(3): 259.
- [11] YANG T T, FANG L L, LIN T T, et al. Ultrasonicated sour jujube seed flavonoids extract exerts ameliorative antioxidant capacity and reduces $A\beta$ -induced toxicity in *Caenorhabditis elegans*[J]. Journal of Ethnopharmacology, 2019, 239.]
- [12] 刘淑芳. 酸枣仁复方饮料的制备及其特性研究[D]. 长春: 吉林大学, 2022. [LIU S F. Study on preparation and characteristics of jujube kernel compound beverage[D]. Changchun: Jilin University, 2022.]
- [13] 万晓莹, 刘振丽, 宋志前等. 中药多糖含量测定方法研究[J]. 中国中医基础医学杂志, 2021, 27(7): 1175-1178. [WAN X Y, LIU Z L, SONG Z Q, et al. Study on the determination method of polysaccharide content in traditional Chinese medicine[J]. China Journal of Basic Medicine of Traditional Chinese Medicine, 2021, 27(7): 1175-1178.]
- [14] 崔小芳. 酸枣仁总皂苷的肠道菌群体外代谢转化研究[D]. 晋中: 山西中医药大学, 2020. [CUI X F. Study on the metabolic transformation of total saponins of jujube kernel by intestinal bacteria *in vitro*[D]. Jinzhong: Shanxi University of Traditional Chinese Medicine, 2020.]
- [15] KURKINA A V, SAVEL'EVA A E, KURKIN V A. Quantitative determination of total flavonoids in tagetes patula marigold flowers[J]. Pharmaceutical Chemistry Journal, 2021, 55(2): 165.
- [16] 杨勇, 魏氏, 严露, 等. 野菊药用及非药用部位中总黄酮和总酚酸的质量分数测定[J]. 现代盐化工, 2012, 49(3): 40-43. [YANG Y, WEI M, YAN L, et al. Determination of total flavonoids and total phenolic acids in medicinal and non-medicinal parts of wild chrysanthus[J]. Modern Salt Chemical Industry, 2012, 49(3): 40-43.]
- [17] 国家药典委员会. 中国药典, 一部[M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2020: 382. [National Pharmacopoeia Committee. Chinese pharmacopoeia, volume I[M]. Beijing: China Pharmaceutical Science and Technology Press, 2020: 382.]
- [18] 郭善军, 陈章宝. 木瓜 SOD 的提取及其活性测定方法的优化[J]. 科技资讯, 2020, 18(18): 66-68. [GUO S J, CHEN Z B. Extraction of SOD from papaya and optimization of its activity determination method[J]. Science and Technology Information, 2020, 18(18): 66-68.]
- [19] 刘猛, 吴伟源, 章检明, 等. 核桃青皮甲醇提取物的抗氧化活性研究[J]. 食品研究与开发, 2012, 43(13): 109-113. [LIU M, WU W Y, ZHANG J M, et al. Study on the antioxidant activity of methanol extract of walnut green peel[J]. Food Research and Development, 2012, 43(13): 109-113.]
- [20] 陈冰丹, 陈明. DPPH 自由基清除率检测方法优化及在啤酒中的应用[J]. 中外酒业, 2021(19): 23-30. [CHEN B D, CHEN M. Optimization of DPPH free radical scavenging rate detection method and its application in beer[J]. Chinese and Foreign Wine Industry, 2021(19): 23-30.]
- [21] 无宇, 张耀宗, 余勃等. ABTS 法和 DPPH 法测定类胡萝卜素清除自由基能力的适用性[J]. 南昌大学学报(理科版), 2019, 43(6): 543-549. [QIANG Y, ZHANG Y Z, YU B, et al. The application of ABTS and DPPH methods in the determination of free radical scavenging ability of carotenoids[J]. Journal of Nanchang University (Science Edition), 2019, 43(6): 543-549.]
- [22] 张妹, 张彦青, 解军波等. 6"-阿魏酰斯皮诺素对 $A\beta_{(1-42)}$ 诱导损伤的 SH-SY5Y 细胞保护作用研究[J]. 食品工业科技, 2022(13): 373-380. [ZHANG M, Zhang Y Q, XIE J B, et al. Protective effect of 6"-feruloyl spinosins on SH-SY5Y cells induced by $A\beta_{(1-42)}$ [J]. Science and Technology of Food Industry, 2022(13): 373-380.]
- [23] 丁晓彦, 俎龙辉, 王变利. 偏最小二乘回归分析法在黄芩抑菌谱-效关系及数学模型研究中的应用[J]. 山东科学, 2020(4): 18-23. [DING X Y, ZU L H, WANG C L. Application of partial least squares regression analysis in the study of antibacterial spectrum-effect relationship and mathematical model of *Scutellaria baicalensis*[J]. Shandong Science, 2020(4): 18-23.]
- [24] 谢红. 酸枣仁皂苷的分离纯化及生物活性研究[D]. 广州: 华南理工大学, 2021. [XIE H. Separation, purification and biological activity of *Semen Zizyphi Spinosae*[D]. Guangzhou: South China University of Technology, 2021.]
- [25] 王炯然. 酸枣仁中多种活性成分的分析方法研究[D]. 北京: 北京农学院, 2020. [WANG J R. Study on the analysis method of multiple active ingredients in *Semen Zizyphi Spinosae*[D]. Beijing: Beijing Agricultural University, 2020.]
- [26] 黄比翼, 陈石梅, 黄锁义, 等. 不同极性溶剂的苹果提取物抗氧化活性研究[J]. 右江民族医学院学报, 2021, 43(1): 37-40. [HUANG B Y, CHEN S M, HUANG S Y, et al. Study on antioxidant activity of grass fruit extract with different polar solvents[J]. Journal of Youjiang Medical College for Nationalities, 2021, 43(1): 37-40.]
- [27] 戎晋华, 赵文英, 黄巧燕, 等. 蒲公英抗氧化活性部位研究[J]. 中国林副特产, 2013(2): 1-3. [RONG J H, ZHAO W Y, HUANG Q Y, et al. Study on the antioxidant activity of dandelion[J]. Chinese Forest Products, 2013(2): 1-3.]
- [28] XIANG Q, XIA Y X, SONG J H, et al. Characterization of the key nonvolatile metabolites in Cheddar cheese by partial least squares regression (PLSR), reconstitution, and omission[J]. Food Chemistry, 2023, 403.
- [29] PIETTA P G. Flavonoids as antioxidants[J]. J Nat Prod, 2000, 63(7): 1035-1042.
- [30] 芦晓芳. 酸枣仁皂苷的提取转化及其抗氧化活性研究[D]. 太原: 太原理工大学, 2018. [LU X F. Study on extraction and transformation of *Semen Zizyphi Spinosae* and its antioxidant activity[D]. Taiyuan: Taiyuan University of Technology, 2018.]