

沙棘浆果中酚类物质含量与自由基清除能力相关分析

陈道国¹, 张国昀¹, 张彤¹, 张建国^{1,2}, 何彩云^{1*}

(1. 中国林业科学研究院林业研究所, 国家林业和草原局林木培育重点实验室, 北京 100091;

2. 南京林业大学南方现代林业协同创新中心, 江苏 南京 210037)

摘要: [目的] 本研究分析沙棘 (*Hippophae rhamnoides* L.) 果实中芦丁、槲皮素、异鼠李素、山奈酚、杨梅素、柚皮素和维生素 E 这 7 种酚类物质与羟自由基清除能力的关系, 为探讨酚类物质对羟自由基清除能力提供参考。 [方法] 以沙棘丰宁和向阳 2 栽培品种 3 个时期 (绿果期、变色期和成熟期) 的果实为实验材料, 利用气相色谱-质谱联用 (GC-MS) 技术测定芦丁、槲皮素、异鼠李素、山奈酚、杨梅素、柚皮素和维生素 E 这 7 种酚类物质含量, 同时利用分光光度计法测定沙棘果的羟自由基清除能力, 随后将 7 种酚类物质与羟自由基清除能力进行相关性分析。 [结果] 表明: 丰宁羟自由基清除能力显著高于向阳, 且羟自由基清除能力在绿果期、变色期和成熟期依次降低, 而向阳在绿果期羟自由基清除能力最强, 变色期最弱; 丰宁果肉中芦丁、槲皮素、异鼠李素、山奈酚、杨梅素和柚皮素 6 种酚类物质含量高于向阳, 其中, 芦丁和杨梅素含量在 3 个不同时期均显著高于向阳 ($P < 0.05$); 另外, 果实 3 个不同发育时期中槲皮素、异鼠李素、柚皮素和杨梅素这 4 种物质含量在 2 沙棘品种中均表现出先上升后下降的趋势, 而芦丁、维生素 E 和山奈酚这 3 种物质在 2 沙棘品种中变化趋势不同。相关性分析发现: 芦丁、槲皮素、异鼠李素、山奈酚、杨梅素和柚皮素与羟自由基清除能力的相关性系数均大于 0.6, 而维生素 E 与羟自由基清除能力相关性系数仅为 0.17。 [结论] 芦丁、槲皮素、异鼠李素、山奈酚、杨梅素和柚皮素的含量与羟自由基的清除具有正相关性, 有助于促进沙棘果实中羟自由基的清除。

关键词: 沙棘; 羟自由基清除能力; 酚类物质含量; 气质联用

中图分类号: S793.6

文献标识码: A

文章编号: 1001-1498(2019)05-0027-07

羟自由基作用于体内蛋白质、核酸、脂类等生物分子, 造成细胞结构和功能受损, 进而导致代谢紊乱引起疾病^[1-2]。羟自由基清除能力是评价抗氧化能力的重要指标之一, 在抗氧化类保健品和药品研究中得到广泛应用^[3-5]。研究人员在梨 (*Pyrus* L.)、软枣猕猴桃 (*Actinidia arguta* Planch. ex Miq.)、石榴 (*Punica granatum* Linn.)、李 (*Prunus salicina* Linn.)、杏 (*Armeniaca vulgaris* Lam.)、芒果 (*Mangifera indica* Linn.)、柑橘 (*Citrus reticulata* Blanco.)、黑桑 (*Morus nigra* Linn.)、刺山柑 (*Capparis spinosa* L.) 等多种植物研究中发现其果实的羟自由基清除能力与酚类物质含量具有显著相关性^[6-14]。沙棘 (*Hippophae rhamnoides* L.) 属于胡颓子科沙棘属植物, 是

一种药食同源植物, 含有丰富的生物活性物质, 其中酚类物质含量尤其丰富^[15-18]。目前, 对沙棘果实酚类物质的研究主要集中在酚类物质的提取, 酚类物质的测定, 酚类提取物的作用以及沙棘产品的加工^[4,19-25]; 而关于不同酚类物质含量与羟自由基清除能力相关性的研究在沙棘果实中研究较少, 主要集中在梨、猕猴桃、柑橘等树种^[6-7,12]。因此, 本研究以沙棘品种丰宁和向阳不同发育时期果实为研究材料, 对沙棘果实提取物的羟自由基清除能力与酚类物质含量间的相关性进行探索, 将为评估沙棘果实质量提供参考, 同时对于沙棘产品生产加工及沙棘栽培育种过程中的品种选择具有重要意义。

收稿日期: 2018-09-27 修回日期: 2019-06-06

基金项目: 国家自然科学基金面上项目“沙棘果色形成和果实生长发育中非编码 RNA 调控的分子机制 (31470616)”

* 通讯作者: 何彩云, 研究员, 从事林木生理生化及分子生物学研究。E-mail: hecy@caf.ac.cn

1 材料与方法

1.1 试验材料

研究材料采自内蒙古磴口县(107°05' E, 40°13' N)的中国沙棘(*H. rhamnoides* subsp. *sinensis*)品种丰宁和蒙古沙棘(*H. rhamnoides* subsp. *mongolia*)品种向阳的果实。沙棘栽植于沙壤土,处于自然条件下,树龄为 12 a。每个品种 3 个生物学重复,从每棵树的的不同部位,东西南北 4 个方向随机分别摘取 3 个不同发育时期(分别为绿果期、变色期和成熟期)的果实。所用的标准品维生素 E(10191-41-0)、芦丁(153-18-4)、槲皮素(117-39-5)、柚皮素(480-41-1)、杨梅素(529-44-2)、山奈酚(520-18-3)、异鼠李素(480-19-3)购买于百灵威公司。

1.2 实验方法

1.2.1 定量方法建立 混标工作液配制:量取 0.5 mL 芦丁($1 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$)和 0.5 mL 异鼠李素($50 \text{ } \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$)溶于 1.0 mL 甲醇配制 2.0 mL 混标溶液 A;量取 0.2 mL 山萘酚($10 \text{ } \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$)、0.2 mL 杨梅素($50 \text{ } \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$)、0.2 mL 柚皮素($50 \text{ } \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$)、0.2 mL 槲皮素($100 \text{ } \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$)和 0.2 mL 维生素 E($500 \text{ } \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$)溶于 1.0 mL 甲醇配制 2.0 mL 混标溶液 B。

衍生化处理:将混标溶液装入衍生化小瓶中,2 个平行,放入快速离心干燥仪中挥干。挥干后的标品中加入 80.0 μL 的甲氧胺盐酸吡啶溶液($15 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$),涡旋震荡 2 min 后,于震荡培养箱中 37°C 脎化反应 90 min,取出后再加入 80.0 μL 的 BSTFA(含 1% TMCS)衍生试剂,涡旋震荡 2 min 后,于 70°C 反应 60 min。取出样本,室温放置 30 min^[26-28]。

气相质谱-色谱(GC-MS)分析:本实验的分析仪器为 Agilent 公司的 7890A-5975C 气相色谱飞行时间质谱联用仪(Agilent, USA),1.0 μL 衍生化后的提取物用无分流模式注入 GC-MS 系统进行分析,样品经非极性的 DB-5MS 毛细管柱(30 m \times 250 μm I. D., J&W Scientific, Folsom, CA)分离后进入质谱检测。载气为高纯氦气,载气流速 $1.0 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$ 。程序升温: $15 \text{ }^\circ\text{C} \cdot \text{min}^{-1}$, 60 ~ 170°C; $5 \text{ }^\circ\text{C} \cdot \text{min}^{-1}$, 170 ~ 305°C; 305°C 维持 6 ~ 7 min。进样口的温度为 260°C, EI 源温度为 230°C, 电压为 70 V。质量扫描范围: m/z 55 ~ 800, 延迟 12 min 开始采集,采集速度为 20 谱 $\cdot \text{s}^{-1}$ ^[26-28]。

标准方程建立:分别吸取不同体积的混标 A、B、

内标溶液(表 1),装入衍生化小瓶中,3 个平行,放入快速离心干燥仪中挥干。挥干后的标品用两步法进行衍生化,进行 GC-MS 分析。标准工作液中色素的质谱响应强度 = 色素特征碎片质谱响应强度/内标特征碎片质谱响应强度;以加入色素量作为自变量 x , 质谱响应强度作为因变量 y , 求取 x 和 y 的函数关系。

表 1 系列浓度混标溶液配制

Table 1 Different concentrations of standard-mix solution

系列浓度 混标 Serial number	A 混标溶液 Mixed standard solution of A	B 混标溶液 Mixed standard solution of B	内标 Internal Standard (L-2-cl-phe, 0.03 $\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$)
1	200	200	40
2	100	100	40
3	50	50	40
4	20	20	40
5	10	10	40
6	5	5	40
7	2	2	40

1.2.2 沙棘样品前处理 60.0 mg 沙棘浆果加入 960.0 μL 的冷甲醇-水(3:1, v/v)和 40 μL 的内标(L-2-氯-苯丙氨酸, $0.03 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$, 甲醇配置), 匀浆(Tissuelyser-192, 上海净信科技公司), 超声提取 30 min, 低温离心 10 min (14 000 rpm, 4°C), 取 700.0 μL 的上清液, 装入玻璃衍生瓶中, 用快速离心浓缩仪挥干后, 向玻璃衍生小瓶中加入 80.0 μL 的甲氧胺盐酸吡啶溶液($15 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$), 涡旋震荡 2 min 后, 于震荡培养箱中 37°C 脎化反应 90 min, 取出后再加入 80.0 μL 的 BSTFA(含 1% TMCS)衍生试剂, 涡旋震荡 2 min 后, 于 70°C 反应 60 min。取出样本, 室温放置 30 min, 进行 GC-MS 分析^[26-28]。

1.2.3 方法学考察 取 1.5 g 沙棘果实, 匀浆, 分装于 20 个 1.5 mL 离心管中, 每管 60.0 mg, 采用样品加标准品的方式进行方法学考察, 加标是采用低(混标 6)、中(混标 4)、高(混标 2)3 种加标量(表 1), 作为本底的样本不加标, 每种样品 5 个平行。按照“1.2.2”中描述的前处理方法进行处理, 并进行 GC-MS 分析。加标液的质谱响应强度 = (加标样本的质谱响应强度 - 本底的质谱响应强度)/内标的质谱响应强度。将加标液的质谱响应强度代入标曲的方程中可以得到计算的标准品量; 准确度 = 标准品计算值/实际加入量 $\times 100\%$ ^[26-28]。

1.2.4 羟自由基清除能力测定 $\text{H}_2\text{O}_2/\text{Fe}^{2+}$ 通过 Fenton 反应产生羟自由基, 将邻二氮菲- Fe^{2+} 水溶液中 Fe^{2+} 氧化为 Fe^{3+} , 导致 536 nm 吸光度下降, 样品

对 536 nm 吸光度下降速率的抑制程度,反映了样品清除羟自由基的能力,采用羟自由基清除能力检测试剂盒(BC1325,北京索莱宝科技公司)对羟自由基清除能力进行测定。

1.2.5 数据统计处理 运用 Excel 2013 整理数据及作图,采用 SPASS 17.0 软件分析得到酚类物质定量标准方程,利用单因素方差分析判断果实不同发育时期酚类物质含量和羟自由基清除能力的差异,用相关分析方法分析酚类物质含量与羟自由基清除能力之间的相关关系。

2 结果与分析

2.1 待测物定量信息及标准方程建立

本实验利用芦丁、槲皮素、异鼠李素、山奈酚、杨梅素、柚皮素和维生素 E 7 种标准品,配制系列混标溶液(表 1),衍生化处理后,进行 GC-MS 分析。得到相应物质保留时间及特征碎片离子后,选出特异性

好且丰度高的特征碎片离子作为此物质定量离子(表 2)。根据定量离子建立标准曲线用于样品中相应物质定量分析,其中,标准工作液中标定物的质谱响应强度 = 标定物特征碎片质谱响应强度/内标特征碎片质谱响应强度;以加入标定物量作为自变量 x ,质谱响应强度作为因变量 y ,绘制工作曲线并拟合得到标准方程(表 3)。

表 2 待测物定量信息

Table 2 Quantitative information of standard substrates

名称 Compound	保留时间 Retention time/min	特征碎片离子 Characteristic fragment ion	定量离子 Quant mass
L-2-cl-苯丙氨酸(2-cl-phe)	12.39	218,147,125,100,89	218
芦丁(Rutin)	22.00	217,204,175,147,129	217
柚皮素(Naringenin)	29.76	545,532,459,219,147	545
山萘酚(Kaempferol)	31.80	559,487,272,193,147	559
槲皮素(Quercetin)	32.68	647,559,487,193,147	647
维生素 E(Vitamin E)	32.60	502,277,237,221,208	237
杨梅素(Myricetin)	32.85	735,647,393,207,147	735
异鼠李素(Isorhamnetin)	33.80	589,559,515,279,207	589

表 3 标准方程建立

Table 3 Establishment of standard equation

色素名称 Compound	保留时间 Retention time/min	定量碎片 Quantmass	线性范围 Range/ μg	方程 Equation	相关性 系数 R^2	检测限 LOD/ μg
芦丁(Rutin)	22.00	332	1.250~50.000	$y = 0.009x + 0.0068$	0.9972	0.250
柚皮素(Naringenin)	29.76	217	0.050~5.000	$y = 0.0057x - 0.0007$	0.9952	0.010
山萘酚(Kaempferol)	31.80	545	0.005~0.200	$y = 0.1407x - 0.0006$	0.9985	0.001
槲皮素(Quercetin)	32.68	559	0.250~10.000	$y = 0.0122x - 0.004$	0.9966	0.050
维生素 E(Vitamin E)	32.60	647	0.500~50.000	$y = 0.0315x - 0.034$	0.9914	0.100
杨梅素(Myricetin)	32.85	237	0.025~1.000	$y = 0.0366x - 0.0004$	0.9998	0.005
异鼠李素(Isorhamnetin)	33.80	735	0.063~2.500	$y = 0.0374x - 0.002$	0.9990	0.012

2.2 方法学考察结果

以低、中、高 3 个加标水平考察定量方法的准确度和精密度。3 种不同添加浓度水平下考察的准确度为 91.36%~109.13%;日内精密度和日间精密度的相对标准偏差(RSD)均小于 10%(表 4)。结果显示:整个定量方法准确、稳定、可靠。

2.3 沙棘果实发育过程中 7 种酚类物质的变化规律

本研究中选择对丰宁和向阳 2 品种绿果期、变色期和成熟期 3 个时期沙棘果实的 7 种酚类物质含量进行测定。在沙棘 2 品种果实中,芦丁、杨梅素、槲皮素、异鼠李素、柚皮素、山奈酚这 6 种酚类物质含量在 3 个时期中丰宁均高于向阳,维生素 E 含量在变色期和成熟期丰宁高于向阳,其中,在绿果期,芦丁、杨梅素、柚皮素、山奈酚含量差异显著($P < 0.05$);在变色期,7 种酚类物质含量均差异显著(P

< 0.05);在成熟期,芦丁、杨梅素、槲皮素含量差异显著($P < 0.05$)。在沙棘果实不同发育时期 7 种酚类物质含量变化明显,对丰宁 7 种酚类物质含量分析显示:从绿果期到变色期芦丁、槲皮素、异鼠李素、维生素 E、山奈酚和杨梅素 6 种酚类物质含量显著升高($P < 0.05$),柚皮素含量显著降低($P < 0.05$);从变色期到成熟期 7 种酚类物质含量均显著降低($P < 0.05$)。对向阳 7 种酚类物质含量分析显示:从绿果期到变色期槲皮素、异鼠李素、杨梅素 3 种酚类物质含量升高但差异不显著,芦丁、柚皮素、维生素 E、山奈酚 4 种酚类物质含量降低且柚皮素含量有显著变化($P < 0.05$);从变色期到成熟期芦丁含量显著升高($P < 0.05$),槲皮素、异鼠李素、柚皮素、维生素 E、山奈酚、杨梅素 6 种物质含量降低,其中,芦丁、槲皮素、异鼠李素、维生素 E、山奈酚含量具有显著变化($P < 0.05$)(图 1)。

表4 7种酚类物质准确度与精密度结果

Table 4 Results of seven phenolic substrate with relative standard deviation and accuracy

物质名称 Compound	加标量 Spiked/ μg	检测量 Observed/ μg	准确度/% Accuracy ($n=5$)	精密度 RSD/%	
				日内 (Intra-day, $n=5$)	日间 (Inter-day, $n=5$)
芦丁 (Rutin)	25.000	23.307 \pm 1.209	93.23 \pm 3.67	5.44	5.45
	5.000	5.161 \pm 0.436	103.21 \pm 7.89	9.09	9.31
	1.250	1.240 \pm 0.967	99.21 \pm 6.32	3.37	4.91
柚皮素 (Naringenin)	2.500	2.357 \pm 0.023	94.30 \pm 8.98	2.91	5.40
	0.500	0.517 \pm 0.057	103.57 \pm 7.56	4.63	7.34
	0.125	0.115 \pm 0.008	92.38 \pm 7.35	3.46	3.40
山奈酚 (Kaempferol)	0.100	0.104 \pm 0.009	104.23 \pm 3.22	2.13	4.79
	0.020	0.020 \pm 0.008	101.29 \pm 3.56	1.34	2.02
	0.005	0.005 \pm 0.001	107.58 \pm 4.12	7.71	8.40
槲皮素 (Quercetin)	5.000	4.777 \pm 0.345	95.54 \pm 7.34	3.10	5.62
	1.000	1.037 \pm 0.124	103.79 \pm 4.67	4.67	5.84
	0.250	0.228 \pm 0.012	91.36 \pm 5.67	2.20	4.53
维生素 E (Vitamin E)	25.000	25.817 \pm 1.318	103.27 \pm 2.12	1.29	3.93
	5.000	5.033 \pm 0.476	100.67 \pm 7.67	3.29	5.93
	1.250	1.231 \pm 0.114	98.54 \pm 8.26	5.54	7.13
杨梅素 (Myricetin)	0.500	0.489 \pm 0.013	97.90 \pm 1.90	2.18	4.38
	0.100	0.106 \pm 0.012	106.58 \pm 7.34	5.03	6.94
	0.025	0.027 \pm 0.017	109.13 \pm 8.67	9.19	9.04
异鼠李素 (Isorhamnetin)	1.250	1.235 \pm 0.011	98.80 \pm 4.67	2.49	4.96
	0.250	0.261 \pm 0.012	104.54 \pm 3.89	2.24	3.94
	0.063	0.064 \pm 0.004	102.34 \pm 6.89	7.53	7.75

2.4 沙棘果实发育过程中羟自由基清除能力变化规律

2种沙棘品种间的羟自由基清除能力差异明显。在绿果期,沙棘品种丰宁的羟自由基清除能力是沙棘品种向阳的4倍;在变色期,沙棘品种丰宁的羟自由基清除能力为沙棘品种向阳的23倍;在成熟期沙棘品种丰宁的羟自由基清除能力是沙棘向阳的9倍。由图2可知:在沙棘品种丰宁中,绿果期的羟自由基清除能力最强,其次为变色期,成熟期最弱;在沙棘品种向阳中,绿果期的羟自由基清除能力最强,其次为成熟期,变色期最弱。

2.5 沙棘果实羟自由基清除能力与7种酚类物质关系

将羟自由基清除能力与芦丁、槲皮素、异鼠李素、山奈酚、杨梅素、柚皮素和维生素E这7种酚类物质含量进行相关性分析,结果(表5)显示:除维生素E外,其它6种酚类物质(芦丁、槲皮素、异鼠李素、山奈酚、杨梅素、柚皮素)与羟自由基的清除能力具有极显著正相关关系($r > 0.6, P < 0.01$)。

3 讨论

果实的羟自由基清除能力(抗氧化能力)是影

表5 7种酚类物质与沙棘果实羟自由基清除能力相关性

Table 5 Correlations for seven phenolic compounds related to hydroxyl radical scavenging capacity in seabuckthorn fruit

	羟自由基清除能力 SA/%	芦丁 Rutin	槲皮素 Quercetin	异鼠李素 Isorhamnetin	山奈酚 Kaempferol	杨梅素 Myricetin	柚皮素 Naringenin	维生素 E Vitamin E
羟自由基清除能力 SA/%	1.000	—	—	—	—	—	—	—
芦丁 (Rutin)	0.611 **	1.000	—	—	—	—	—	—
槲皮素 (Quercetin)	0.663 **	0.905 **	1.000	—	—	—	—	—
异鼠李素 (Isorhamnetin)	0.628 **	0.874 **	0.990 **	1.000	—	—	—	—
山奈酚 (Kaempferol)	0.763 **	0.686 **	0.853 **	0.851 **	1.000	—	—	—
杨梅素 (Myricetin)	0.663 **	0.902 **	0.965 **	0.950 **	0.875 **	1.000	—	—
柚皮素 (Naringenin)	0.768 **	0.168	0.312	0.308	0.657 **	0.377	1.000	—
维生素 E (Vitamin E)	0.170	0.516 *	0.581 *	0.538 *	0.392	0.493 *	-0.152	1.000

注: * 在 0.05 水平(双侧)上显著相关, ** 在 0.01 水平(双侧)上显著相关。

Notes: * Indicates significant differences at 0.05 level, ** Indicates significant differences at 0.01 level.

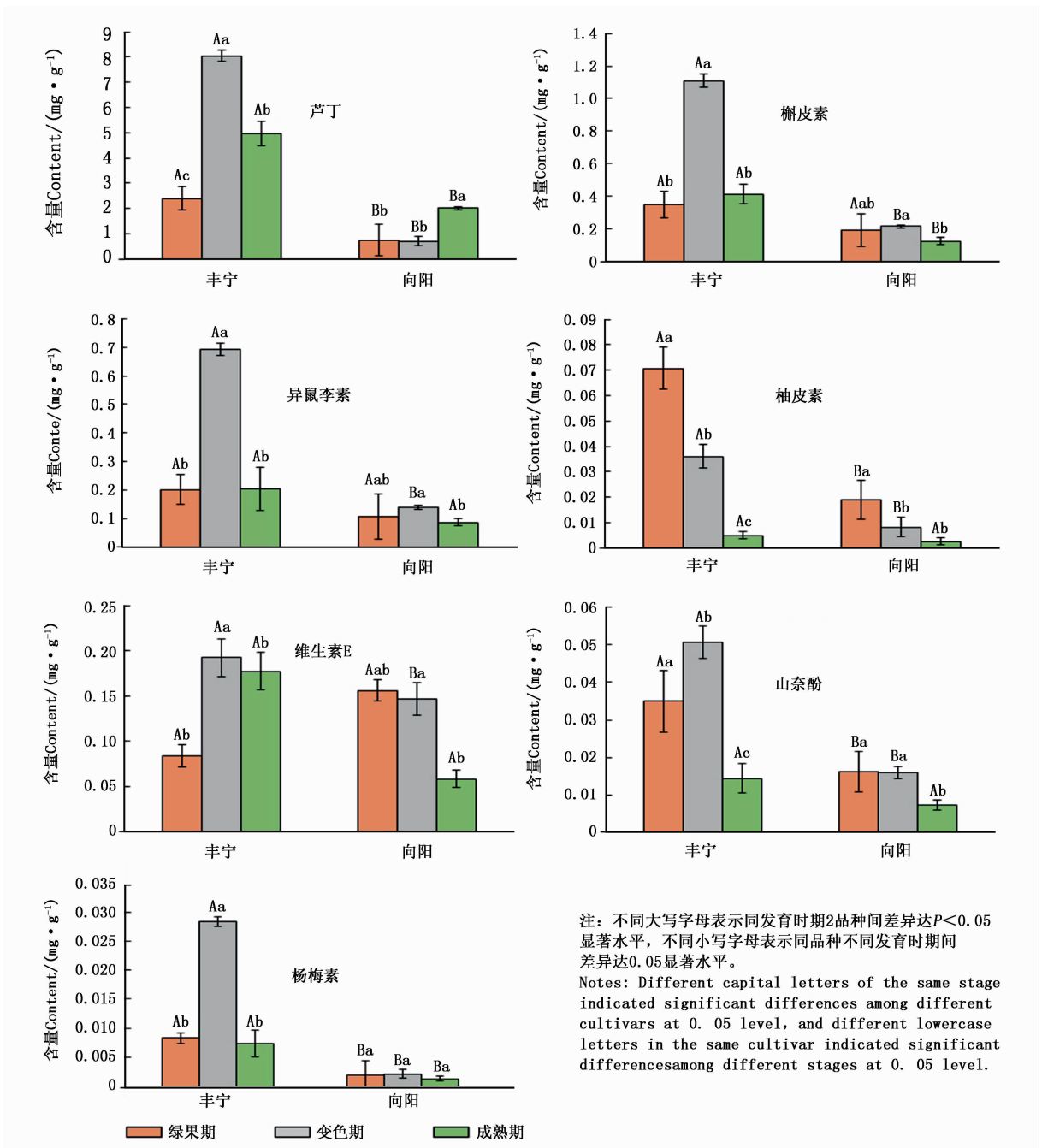


图1 两沙棘品种果实发育过程中7种酚类物质含量变化

Fig.1 Tendency of seven phenolic substrates between 2 *Hippophae rhamnoides* L. cultivars during fruit ripening

响果实品质的一个重要因素。对石榴、李、猕猴桃 (*Actinidia* Lindl.)、杏等植物果实的抗氧化能力研究结果显示:羟自由基清除能力与酚类物质的含量呈显著的正相关^[8,9,30-31]。本研究表明:沙棘中芦丁、槲皮素、异鼠李素、山奈酚、杨梅素、柚皮素这6种酚类物质与羟自由基清除能力呈极显著正相关($r > 0.6, P < 0.01$),与石榴、李、猕猴桃等植物的研究结果一致。因此,芦丁、槲皮素、异鼠李素、山奈酚、杨梅素和柚皮素这6种酚类物质的含量可以为沙棘果

实的质量评价提供参考。

选择对沙棘果实3个不同时期进行研究,比之柑橘、猕猴桃、杏、树莓 (*Rubus idaeus* Linn.)中仅选择成熟期进行研究,更能反应在发育过程中酚类物质与羟自由基清除能力之间的关系;但在本研究中选择的沙棘品种数比之柑橘、猕猴桃、杏、树莓有所不足^[12,29-32]。因此,为了更好的对沙棘优良品种的选择提供参考,尚需选择更多沙棘品种做进一步的研究。

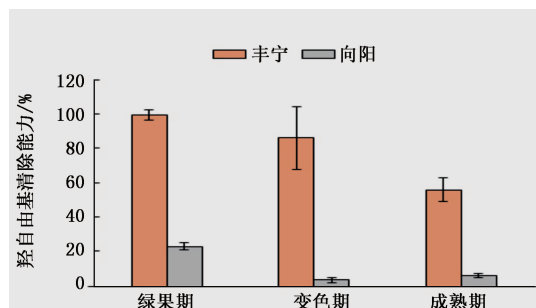


图2 两沙棘品种果实发育过程中羟自由基清除能力

Fig.2 Capacity of hydroxyl radical scavenging between 2 *Hippophae rhamnoides* L. cultivars during fruit ripening

尽管本研究中仅对沙棘果实羟自由基清除能力与部分酚类物质含量之间的相关性关系进行了分析,然而果实中除这些酚类物质外,提取物中的其他成分如胡萝卜素类、维生素类、生物碱类以及原花青素、单宁等物质,也可能共同参与了羟自由基的清除,而这些物质与羟自由基清除能力之间的关系,尚需进一步的研究^[30-33]。同时,本研究仅从生理角度探讨了沙棘果中酚类物质与羟自由基清除能力之间的关系,并未深入到其分子调控,因此,在接下来的工作中需要从沙棘转录水平、代谢水平等多个分子层面对沙棘的抗氧化能力进行研究。

4 结论

沙棘中芦丁、槲皮素、异鼠李素、山奈酚、杨梅素、柚皮素这6种酚类物质与抗氧化能力具有极显著正相关性($r > 0.6$, $P < 0.01$),其含量可以为沙棘果实质量的评价提供参考。

参考文献:

[1] Halliwell B. Free radicals, antioxidants, and human disease: curiosity, cause, or consequence? [J]. *Lancet*, 1994, 344(8924):721-724.

[2] Lucia R, Marek O, Daniela K, et al. Free radical scavenging activity and lipoxygenase inhibition of Mahonia aquifolium extract and isoquinoline alkaloids [J]. *Journal of Inflammation*, 2007, 4(1):15.

[3] GórnasP, Miš ina I, Krasnova I, et al. Tocopherol and tocotrienol contents in the sea buckthorn berry beverages in Baltic countries: Impact of the cultivar [J]. *Fruits*, 2016, 71(6):399-405.

[4] Olas B, Zuchowski J, Lis B, et al. Comparative chemical composition, antioxidant and anticoagulant properties of phenolic fraction (a rich in non-acylated and acylated flavonoids and non-polar compounds) and non-polar fraction from *Elaeagnus rhamnoides* (L.) A. Nelson fruits [J]. *Food Chemistry*, 2018, 247:39-45.

[5] Pemin A, Dubois-Brissonnet F, Roux s, et al. Phenolic compounds can

delay the oxidation of polyunsaturated fatty acids and the growth of *Listeria monocytogenes*: structure-activity relationships [J]. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 2018,98(14):5401-5408.

[6] 曾少敏,杨健,王龙,等. 梨果实酚类物质含量及抗氧化能力 [J]. *果树学报*, 2014, 31(1):39-44.

[7] 仇占南,张茹阳,彭明朗,等. 北京野生软枣猕猴桃果实品质综合评价体系 [J]. *中国农业大学学报*, 2017, 22(2):45-53.

[8] 冯立娟,尹燕雷,焦其庆,等. 不同石榴品种果实酚类物质及抗氧化活性研究 [J]. *核农学报*, 2016, 30(4):710-718.

[9] 周丹蓉,方智振,叶新福,等. 李果实中多酚含量及其抗氧化能力研究 [J]. *园艺学报*, 2017, 44(3):422-430.

[10] 王华磊,冯建荣,樊新民,等. 新疆17个杏品种的抗氧化指标与总酚含量的测定 [J]. *果树学报*, 2008, 25(6):828-831.

[11] 李晓博,胡文忠,姜爱丽,等. 芒果果肉抗氧化成分测定及其对自由基清除能力的研究 [J]. *食品工业科技*, 2016, 37(10):161-164.

[12] 张华,周志钦,席万鹏. 15种柑橘果实主要酚类物质的体外抗氧化活性比较 [J]. *食品科学*, 2015, 36(11):64-70.

[13] 王传宏,刘超,刘静,等. 新疆药用植物黑桑的抗氧化性(英文) [J]. *林业科学*, 2014, 50(8):53-59.

[14] 蒋雯雯,马森,郭艳,等. 刺山柑多酚类物质含量及其抗氧化活性研究 [J]. *西北植物学报*, 2012, 32(3):555-558.

[15] 范惠玲,白生文,张芬琴,等. 河西走廊5种沙棘果主要活性成分及对ROS清除作用比较分析 [J]. *天然产物研究与开发*, 2016(1):107-111.

[16] Cheng J, Kondo K, Suzuki Y, et al. Inhibitory effects of total flavonoids of *Hippophae rhamnoides* L. on thrombosis in mouse femoral artery and in vitro platelet aggregation. [J]. *Life Sciences*, 2003, 72(20):2263-2271.

[17] Lavola A, Karjalainen R, Julkuentiitto R. Bioactive polyphenols in leaves, stems, and berries of Saskatoon (*Amelanchier alnifolia* Nutt.) cultivars. [J]. *Journal of Agricultural & Food Chemistry*, 2012, 60(4):1020-1027.

[18] Shahidi F, Ambigaipalan P. Phenolics and polyphenolics in foods, beverages and spices: Antioxidant activity and health effects-A review [J]. *Journal of Functional Foods*, 2015, 18:820-897.

[19] Arimboor R, Kumar K S, Arumughan C. Simultaneous estimation of phenolic acids in sea buckthorn (*Hippophae rhamnoides*) using RP-HPLC with DAD [J]. *Journal of Pharmaceutical & Biomedical Analysis*, 2008, 47(1):31-38.

[20] Tian Y, Liimatainen J, Alanne A L, et al. Phenolic compounds extracted by acidic aqueous ethanol from berries and leaves of different berry plants [J]. *Food Chemistry*, 2017, 220:266-281.

[21] 张元元,吕珊,陈梦杰,等. 沙棘酚类特征成分含量测定及其特征图谱质量表征关联分析研究 [J]. *北京中医药大学学报*, 2018,41(5):383-394.

[22] Róžalska B, Sadowska B, Zuchowski J, et al. Phenolic and Nonpolar Fractions of *Elaeagnus rhamnoides* (L.) A. Nelson Extracts as Virulence Modulators—In Vitro Study on Bacteria, Fungi, and Epithelial Cells [J]. *Molecules*, 2018, 23(7):1498-1517.

[23] 何志勇,夏文水. 壳聚糖澄清对沙棘果汁酚类成分的影响 [J]. *食品科学*, 2005, 26(5):108-111.

- [24] Paganen A, Kallio H, Schaich K M, *et al.* Red/green currant and sea buckthorn berry press residues as potential sources of antioxidants for food use[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2018;66(13):3426–3434.
- [25] Nowak D, Gośliński M, Wojtowicz E, Przygoński K. Antioxidant Properties and Phenolic Compounds of Vitamin C-Rich Juices[J]. *J Food Sci*, 2018;83(8):2237–2246.
- [26] 段礼新, 漆小泉. 基于 GC-MS 的植物代谢组学研究[J]. *生命科学*, 2015, 27(8): 971–977.
- [27] Caceres L A. A study of volatile organic compounds from transgenic *Arabidopsis thaliana* and *Solanum lycopersicum* plants and analytical characterization of pyrolysis bio-oil[D]. London, Ontario: School of Graduate and Postdoctoral Studies, University of Western Ontario, 2015:1–207.
- [28] 崔美玉. 碳纤维微富集/顶空原位衍生化方法同时 GC/MS 检测多种植物激素[R]. 中国化学会第 28 届学术年会, 2012.
- [29] 赵金梅, 高贵田, 薛敏, 等. 不同品种猕猴桃果实的品质及抗氧化活性[J]. *食品科学*, 2014, 35(9):118–122.
- [30] 夏乐哈, 陈玉玲, 冯义彬, 等. 不同品种杏果实发育过程中类黄酮、总酚和三萜酸含量及抗氧化性研究[J]. *果树学报*, 2016, 33(4):425–435.
- [31] 王友升, 谷祖臣, 张帆. 不同品种和成熟度树莓和黑莓果实的氧化和抗氧化活性比较[J]. *食品科学*, 2012, 33(9):81–86.
- [32] 徐洪宇, 王军辉, 黄晓华, 等. 12 个楸树无性系叶片多酚含量与抗氧化活性[J]. *林业科学研究*, 2015, 28(2):297–301.
- [33] He C, Zhang G, Zhang J, *et al.* Integrated analysis of multiomic data reveals the role of the antioxidant network in the quality of sea buckthorn berry[J]. *Food Journal*, 2017, 31(5):1929–1938.

Correlation Analysis of Phenolic Compound Content and Hydroxyl Radical Scavenging Capacity in Seabuckthorn Berry

CHEN Dao-guo¹, ZHANG Guo-yun¹, ZHANG Tong¹, ZHANG Jian-guo^{1,2}, HE Cai-yun¹

(1. Key Laboratory of Tree Breeding and Cultivation of National Forestry and Grassland Administration, Research Institute of Forestry, Chinese Academy of Forestry, Beijing 100091, China; 2. Collaborative-Innovation Center of Sustainable Forestry in Southern China, Nanjing Forestry University, Nanjing 210037, Jiangsu, China)

Abstract: [Objective] The relationship between hydroxyl radical scavenging capacity and seven phenolic substances in Seabuckthorn fruits was analyzed to provide reference for exploring the hydroxyl radical scavenging capacity of phenolic substances. [Method] The sea buckthorn fruits of Fengning cultivar and Xiangyang cultivar in three development stages (green fruit stage, discoloration stage and mature stage) were used as experimental materials. The contents of seven phenolic substances such as rutin, quercetin, isorhamnetin, kaempferol, myricetin, naringenin and vitamin E were determined by gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS) technique. The hydroxyl radical scavenging ability of sea buckthorn fruit was determined by spectrophotometry. Then the correlation between the seven phenolic substances and hydroxyl radical scavenging capacity was analyzed. [Result] The results showed that the hydroxyl radical scavenging ability of Fengning cultivar was significantly higher than that of Xiangyang cultivar, the hydroxyl radical scavenging ability of Fengning cultivar decreased successively in the three development stages, while that of Fengning cultivar was the strongest in green fruit stage and the weakest in discoloration stage. The contents of rutin, quercetin, isorhamnetin, kaempferol, myricetin and naringenin in the sarcocarp of Fengning cultivar were higher than those in Xiangyang cultivar. The contents of rutin and myricetin in the sarcocarp of Fengning cultivar were significantly higher than those in Xiangyang cultivar during the three stages ($P < 0.05$). In addition, the contents of quercetin, isorhamnetin, naringenin and myricetin increased at first and then decreased in the three developmental stages, while the changes of rutin, vitamin E and kaempferol were different between the two cultivars. The correlation analysis showed that the correlation coefficients between rutin, quercetin, isorhamnetin, kaempferol, myricetin and naringenin and hydroxyl radical scavenging ability were all greater than 0.6, while the correlation coefficients between vitamin E and hydroxyl radical scavenging ability were only 0.17. [Conclusion] The hydroxyl radical scavenging ability are strongly correlated with the contents of rutin, quercetin, isorhamnetin, kaempferol, myricetin and naringenin, which were helpful to promote the scavenging of hydroxyl radicals in seabuckthorn fruit.

Keywords: *Hippophae rhamnoides* L.; hydroxyl radicals scavenging; phenolic compound; GC-MS