

费菜不同组织总黄酮抗氧化与抑菌活性的研究

罗洁, 王鸿飞*, 许凤*, 单科开, 李艳霞, 韩爱茹, 邵兴锋, 韦莹莹

宁波大学食品科学与工程系, 宁波 315211

摘要: 本文采用费菜不同组织(嫩叶、老叶、茎、花)中总黄酮进行体外抗氧化能力及抑菌作用的研究。对 Fe^{3+} 还原活性、清除 DPPH·、·OH 进行体外抗氧化活性试验, 并采用两倍稀释法探讨费菜不同组织抑制大肠杆菌、金黄色葡萄球菌、枯草芽孢杆菌的活性。结果表明, 费菜不同组织总黄酮的 Fe^{3+} 还原活性、DPPH· 清除率、·OH 清除率均显著高于 L-抗坏血酸。其中, Fe^{3+} 还原活性可达到 810 $\mu\text{mol TE/mL}$ 以上; 对 DPPH· 以及 ·OH 清除率的 IC_{50} 值最低分别为 0.8 $\mu\text{g/mL}$ (茎)和 14 $\mu\text{g/mL}$ (花)。费菜各组织总黄酮均有一定的抑菌作用, 对金黄色葡萄球菌的抑制效果较好; 对于大肠杆菌, 茎和嫩叶中的总黄酮的抑制效果明显比老叶和花强; 而四个组织总黄酮对枯草芽孢杆菌的抑制作用相当, 其中老叶总黄酮的抑制效果略好。该试验结果为费菜不同组织总黄酮的应用提供理论基础。

关键词: 费菜; 黄酮; 抗氧化; 抑菌活性

中图分类号: R284; Q946

文献标识码: A

DOI: 10.16333/j.1001-6880.2018.11.018

Antioxidant and Antibacterial Activity of Total Flavonoids from Different Parts of *Sedum aizoon* L.

LUO Jie, WANG Hong-fei*, XU Feng*, SHAN Ke-kai, LI Yan-xia, HAN Ai-ru, SHAO Xing-feng, WEI Ying-ying

College of Food Science and Engineering, Ningbo University, Ningbo 315211, China

Abstract: The antioxidant and antibacterial activities of total flavonoids from different parts of *Sedum aizoon* L were studied in this paper. Antioxidant activities of total flavonoids from tender leaves, old leaves, stems and flowers of *Sedum aizoon* L were evaluated by reducing power on Fe^{3+} , DPPH and Hydroxyl Radical scavenging activity assays. *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* and *Bacillus subtilis* were used as experimental strains, the antibacterial activity of different parts were determined by the method of double dilution tests. The results showed that the Ferric Reducing Antioxidant Power, DPPH and Hydroxyl Radical scavenging activity of total flavonoids in different parts of *Sedum aizoon* L. were significantly higher than L-ascorbic acid. The Ferric Reducing antioxidant power of total flavonoids in different parts of *Sedum aizoon* L. could reach up to 810 $\mu\text{mol TE/mL}$ and the IC_{50} values of DPPH free radical clearance and Hydroxyl Radical scavenging activities for stems and flowers were 0.8 and 14 $\mu\text{g/mL}$, respectively. The total flavonoids in various parts of *Sedum aizoon* L. had certain antibacterial effect, and the inhibitory effect on *Staphylococcus aureus* was better. The antibacterial effect of total flavonoids in different parts had good inhibitory effect on *Staphylococcus aureus*; The antibacterial effect of total flavonoids in stems and tender leaves to *Escherichia coli* was significantly better than old leaves and flowers; While the antibacterial effect of total flavonoids in the old leaves to *Bacillus subtilis* was a little better than other parts. The results can provide a scientific basis for the utilization of total flavonoids from different parts of *Sedum aizoon* L.

Key words: *Sedum aizoon* L.; flavonoid; antioxidant; antimicrobial activity

费菜 (*Sedum aizoon* L.) 系景天科野生草本植

物, 性平、味酸, 具有宁心、活血、止血、消肿、解毒等功效^[1,2], 对心脑血管疾病、癌症、炎症等都有较好的治疗效果。费菜营养价值较高, 含有多种活性成分, 主要有多酚类、黄酮类、生物碱、多糖、齐墩果酸、谷甾酸、多种氨基酸及维生素^[3,4]。

自由基在人体正常代谢下处于清除与产生的动态平衡中, 有一定的免疫和信号传递的功能, 但过量

收稿日期: 2018-04-24 接受日期: 2018-08-23

基金项目: 浙江省自然科学基金(LY16C200003); 浙江省重点研发计划(2017C02021); 宁波市自然科学基金(2015A610273)

* 通信作者 Tel: 86-574-87609573; E-mail: wanghongfei@nbu.edu.cn, xufeng1@nbu.edu.cn

的自由基会导致生物膜上脂质过氧化, 损害核酸和蛋白质等生物大分子, 引起人体细胞和组织的损伤, 进而导致机体衰老加速以及多种疾病的发生^[5]。黄酮类化合物具有多种生物学功能, 主要通过影响细胞内的氧化还原状态发挥抗氧化功能特性; 其酚羟基能与自由基反应生成较为稳定的半醌式自由基, 导致自由基链式反应结束, 这是黄酮类化合物清除自由基的主要作用机制^[6]。

此外, 已有文献报道黄酮类物质具有一定的抑菌作用, 对环境中很多病原微生物都有抑制其生长和杀灭的功能^[7,8], 且在一定浓度范围内黄酮的浓度越高其抑菌效果越好, 因此黄酮类化合物可以作为抗菌剂使用。目前对费菜黄酮抗氧化作用及抑菌活性的研究很少, 并且对不同组织进行生物活性的研究尚未见报道, 本文以费菜不同组织(老叶、嫩叶、茎和花)总黄酮提取物为研究对象, 对其体外抗氧化活性进行考察, 包括还原三价铁离子能力、DP-PH 自由基清除能力、·OH 清除能力; 采用两倍稀释法^[9]考察其对大肠杆菌、金黄色葡萄球菌和枯草芽孢杆菌的抑菌效果, 为费菜总黄酮抗氧化剂的开发以及在防腐保鲜方面的运用提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料、试剂与仪器

样品: 费菜嫩叶、老叶、茎及花 采自宁波大学食品科学与工程实验基地, 8 月上旬采摘颜色嫩绿者(叶龄约 5~10 天)为嫩叶, 同期采摘叶片萎缩颜色发黄(叶龄约 100~120 天)的老叶、茎及花; 菌种: 金黄色葡萄球菌(*Staphylococcus aureus*)、大肠杆菌(*Escherichiacoli*)、枯草芽孢杆菌(*Bacillus subtilis*) 均购于中国工业微生物菌种保藏管理中心。

芦丁标准品(含量 $\geq 98\%$) LOT: Y05M6S1, 上海源叶生物科技有限公司; 三羟甲基氨基甲烷($\geq 99.99\%$), 国药集团化学试剂有限公司; 邻二氮菲分析纯($\geq 99\%$), 上海三爱思试剂有限公司; DPPH (1,1-二苯基-2-三硝基苯肼), 日本和光纯药工业株式会社; TPTZ (三吡啶三吡嗪) 分析纯($\geq 99\%$) 美国 Sigma-Aldrich 公司; 邻苯三酚、 $\text{FeSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ (30%)、三氯化铝、无水乙醇等, 均为分析纯国药集团化学试剂有限公司。

Cary50Scan 紫外分光光度计, 美国瓦里安技术中国有限公司; WK-200B 高速药物粉碎机, 山东青州市精诚机械有限公司; SB3200D 超声波清洗机,

宁波新芝生物科技股份有限公司; SW-CJ-2FD 型双人单面净化工作台, 苏州净化设备有限公司; DNP-9162 型电热恒温培养箱, 宁波江南仪器厂; AFX-2001-U 超纯水机, 上海纯浦实业有限公司。

1.2 实验方法

1.2.1 样品的制备

采用乙醇超声波辅助提取法^[7]制备抗氧化能力评价和抑菌作用的样品溶液。费菜嫩叶、老叶、茎及花经 70 °C 烘干后粉碎, 过 80 目筛, 105 °C 下干燥 2 h 得不同组织干粉。取烘干至恒重的干粉, 用 90% 乙醇按 1:50 (w/v) 料液比超声波辅助提取 50 min, 然后 60 °C 水浴浸提 2 h, 趁热抽滤, 蒸发浓缩得到总黄酮浓缩液。浓缩液加入两倍体积无水乙醇于 4 °C 静置过夜, 除去多糖; 滤过, 浓缩, 石油醚萃取, 收集下层溶液浓缩至干, 加入 30% 乙醇溶解, 除去脂溶性杂质; 经 AB-8 大孔树脂分离纯化得到费菜不同组织总黄酮提取液样品。

1.2.2 费菜不同组织总黄酮含量的测定

总黄酮的测定采用 AlCl_3 比色法^[10], 以芦丁标准溶液的质量浓度为横坐标, 吸光值为纵坐标, 进行线性回归分析, 得到回归方程为 $y = 38.631x + 0.0016$ ($R^2 = 0.9999$)。

1.2.3 费菜总黄酮的抗氧化活性测定

1.2.3.1 还原三价铁离子能力的测定

还原三价铁离子能力 (Ferric reducing antioxidant power, FRAP) 的测定参考 Benzie and Strain^[11] 的方法。3 mL 新配的 FRAP 试剂中加入预热至 37 °C 的 100 μL 待测液和 300 μL 蒸馏水后, 37 °C 反应 4 min, 593 nm 处测吸光值。FRAP 试剂以 300 $\mu\text{mol/L}$ 醋酸缓冲液 (pH3.6), 10 mmol/L TPTZ 溶液 (溶剂为 40 mmol/L HCl) 及 20 mmol/L $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 溶液按 10:1:1 的比例配置, 现用现配。试验平行测定三次, FRAP 值表示为每 100 g 中 Fe^{2+} 当量 (FE) 的毫摩尔数 (mmol FE/100 g)。

1.2.3.2 清除 ·OH 能力的测定

清除 ·OH 能力的测定采用 Feton 法^[12]。向具塞试管中依次加入 2 mL 邻菲罗啉溶液 (0.75 mmol/L), 2 mL PBS 缓冲液 (150 mmol/L, pH7.4), 充分摇匀后加入 2 mL 纯水, 2 mL FeSO_4 溶液 (0.75 mmol/L), 37 °C 水浴反应 60 min, 于 536 nm 处测其吸光值为 A_0 ; 同上操作, 1 mL H_2O_2 溶液、1 mL 纯水代替 2 mL 纯水于相同反应条件下测定吸光值 A_1 ; 1 mL H_2O_2 溶

液、1 mL 样品溶液代替 2 mL 纯水测定吸光值 A_2 。以 L-抗坏血酸作对照,根据下述公式计算清除率。

$$\cdot\text{OH 清除率}(\%) = (1 - \frac{A_2 - A_1}{A_0}) \times 100 \quad (1)$$

1.2.3.3 清除 DPPH·能力的测定

清除 DPPH·能力测定:按照涂宗财等^[13,14]的方法略作修改。取费菜总黄酮提取液 2 mL,加入 2 mL 无水乙醇,摇匀,避光放置 30 min,以无水乙醇调零,测定 517 nm 波长处的吸光值(A_1);测定 2 mL 2×10^{-4} mol/L 的 DPPH 溶液与无水乙醇混匀后的吸光值(A_0);测定 2 mL 样品溶液与 2 mL DPPH 溶液混匀后的吸光值(A_2)。根据下式计算清除率。

$$\text{DPPH} \cdot \text{清除率}(\%) = (1 - \frac{A_2 - A_1}{A_0}) \times 100 \quad (2)$$

1.2.4 费菜黄酮抑菌活性测定

1.2.4.1 菌种活化及菌悬液的制备

分别将大肠杆菌、金黄色葡萄球菌及枯草芽孢杆菌菌种接入营养琼脂斜面,于 37 °C 恒温培养箱中培养 24 h 进行活化。挑取活化菌于无菌生理盐水(0.9%),配制成 $10^7 \sim 10^8$ CFU/mL 的菌悬液^[15]。

1.2.4.2 含药培养基及菌苔的制备

含药培养基的制备^[10]:按两倍稀释法将费菜四个组织黄酮提取液原液,稀释成系列的浓度梯度 2.00、1.00、0.50、0.25、0.13、0.06 mg/mL,每个浓度平行 3 次,以无菌水作空白对照。分别取 0.2 mL 梯度浓度黄酮溶液均匀涂布于固体培养基上。

菌苔的制备^[16]:取 0.2 mL 活化供试菌接种于营养琼脂培养基上,涂布器涂布均匀,于 37 °C 恒温培养箱培养 24 h 备用。用打孔器制成直径 0.8 mm、厚度为 2 mm 的菌苔后,反接至含药培养皿中央,每个重复 3 次。

1.2.4.3 抑菌率的测定

将移接完的培养皿置于 37 °C 培养箱中培养 24 h,与空白对照对比观察抑菌效果,用十字交叉法测定菌落直径,以平均值计算抑菌率。

$$\text{抑菌率}(\%) = \frac{\text{对照组菌落直径} - \text{处理组菌落直径}}{\text{对照组菌落直径} - \text{菌苔直径}} \times 100 \quad (3)$$

1.2.5 统计分析

采用 SPSS 18.0 和 Origin 9.0 软件进行数据处理分析。One-way ANOVA 进行方差分析,差异显著时用 Duncan's multiple range test 进行多重比较,测定结果表示为平均值 \pm 标准差。实验重复三次,取平均值。

2 结果与分析

2.1 费菜不同组织总黄酮含量

由表 1 可知,费菜不同组织的总黄酮含量之间有明显差异,嫩叶总黄酮含量较高,为 5.63 mg RE/g,其次是茎、老叶、花,其中花总黄酮含量较低,为 2.36 mg RE/g。费菜嫩叶与各组织之间黄酮的含量均有显著性差异($P < 0.05$)。植物不同部位间的次生代谢产物含量不同,陈华珍等^[1]测定费菜中总黄酮的含量在 1.12 ~ 4.08 mg RE/g,并且费菜不同器官总黄酮含量顺序为老叶、嫩叶、花、茎,与本实验结果不同。不同产地及处理、检测方法均可能造成费菜含量测定结果的差异。

表 1 费菜不同组织的总黄酮含量

Table 1 Contents of total flavonoids from different parts of *Sedum aizoon* L.

编号 No.	不同组织 Different parts	总黄酮含量 Total flavonoids (mg RE/g)
1	老叶 Old leaves	4.24 \pm 0.24 ^b
2	嫩叶 Tender leaves	5.63 \pm 0.87 ^a
3	花 Flowers	2.36 \pm 0.13 ^c
4	茎 Stems	4.10 \pm 0.34 ^b

注:同列数据肩标不同字母代表差异显著($P < 0.05$)。

Note: means with different letters in the same column differ significantly ($P < 0.05$).

2.2 费菜不同组织总黄酮抗氧化能力

2.2.1 还原三价铁离子能力

Fe^{3+} 还原活性主要取决于样品的供氢能力,供氢能力越强其 Fe^{3+} 还原活性越强^[17]。如图 1 和图 2 所示,费菜不同组织总黄酮的 Fe^{3+} 还原活性,随其质量浓度的增加而增大。当浓度为 0.01 mg/mL 时,费菜不同组织总黄酮的 Fe^{3+} 还原活性可达到 810 $\mu\text{mol TE/mL}$ 以上,而 L-抗坏血酸仅为 345 $\mu\text{mol TE/mL}$,说明费菜不同部位总黄酮的 Fe^{3+} 还原活性均显著高于 L-抗坏血酸。由图 1 可知,费菜不同部位黄酮的 Fe^{3+} 还原活性不同,在 0.006 ~ 0.016 mg/mL 之间,费菜花的 Fe^{3+} 还原活性显著高于其它组织,而费菜茎与老叶的 Fe^{3+} 还原活性较相近。

2.2.2 DPPH 自由基清除能力

如图 3 所示,当质量浓度在 0.5 ~ 3.0 $\mu\text{g/mL}$ 之间,费菜不同组织黄酮的 DPPH·清除率随着质量浓度的增加而增大。费菜嫩叶、茎、花总黄酮对 DPPH·的清除率均在 0.003 mg/mL 达到最大值,分别为 85.5%、95.7% 和 90.47%,之后趋于平缓,说明

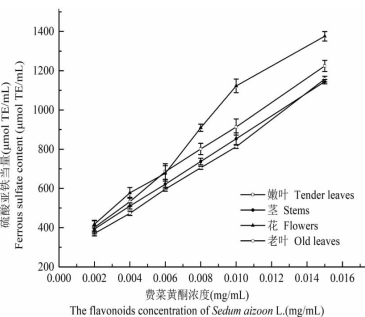


图1 费菜不同组织总黄酮的 Fe^{3+} 还原活性

Fig. 1 Ferric Reducing Antioxidant Power of total flavonoid contents of different parts of *Sedum aizoon* L.

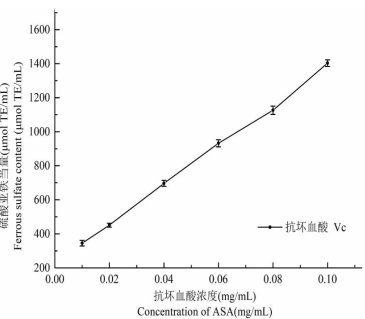


图2 L-抗坏血酸 Fe^{3+} 还原活性

Fig. 2 Ferric Reducing Antioxidant Power of L-ascorbic acid

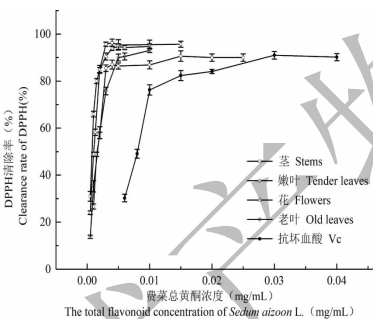


图3 费菜不同组织总黄酮对 DPPH 自由基清除率

Fig. 3 Clearance rate of DPPH of the total flavonoids from different parts of *Sedum aizoon* L.

溶液中大部分 DPPH 自由基已被清除^[18];而费菜老叶在 0.005 mg/mL 时达到最大值,清除率为 90.02%。对比 L-抗坏血酸,费菜不同组织黄酮在非常低的浓度值时清除率就可快速达到 90% 以上,抗氧化能力均高于 L-抗坏血酸,并且有显著的差异 ($P < 0.05$)。费菜黄酮表现较高的清除率可能是纯化后抗氧化活性较高的黄酮成分得到富集,从而显著提高了抗氧化活性^[19]。此外,各样品 DPPH 自由基清除率的 IC_{50} 值由小到大依次是:0.8 $\mu\text{g/mL}$ (费菜茎),1.4 $\mu\text{g/mL}$ (花),2.5 $\mu\text{g/mL}$ (老叶),2.9

$\mu\text{g/mL}$ (嫩叶)和 9.9 $\mu\text{g/mL}$ (L-抗坏血酸)。

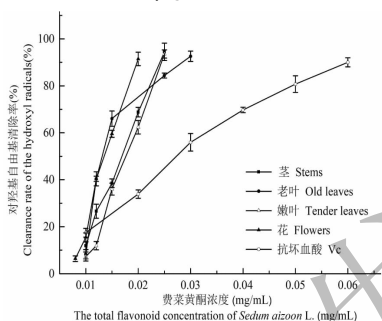


图4 费菜不同组织总黄酮对 $\cdot\text{OH}$ 清除率

Fig. 4 Clearance rate of hydroxyl of the total flavonoids from different parts of *Sedum aizoon* L.

2.2.3 $\cdot\text{OH}$ 清除能力

如图 4 所示,费菜不同组织黄酮对 $\cdot\text{OH}$ 清除率随着质量浓度的增加而增大。当样品质量浓度小于 0.015 mg/mL 时,费菜老叶和花的对 $\cdot\text{OH}$ 清除率速度增加较快;当样品质量浓度大于 0.015 mg/mL 时,费菜不同组织黄酮对 $\cdot\text{OH}$ 清除率均显著高于 L-抗坏血酸。各样品对 $\cdot\text{OH}$ 清除率的 IC_{50} 值由小到大依次为:14 $\mu\text{g/mL}$ (费菜花),16.5 $\mu\text{g/mL}$ (老叶),16.8 $\mu\text{g/mL}$ (茎),17.7 $\mu\text{g/mL}$ (嫩叶)和 29.7 $\mu\text{g/mL}$ (L-抗坏血酸)。通过纯化可能去除了影响反应体系的物质,如自氧化物质^[20],以及蛋白质、纤维素等杂质,从而提高费菜黄酮的抗氧化能力。

2.3 费菜不同组织总黄酮抑菌能力

费菜不同组织总黄酮对三种试验菌均具有不同程度的抑制作用,随着黄酮浓度的增加,抑菌率也随之提高。由表 2 可知,在较高浓度 2.00 mg/mL 时,费菜茎和嫩叶对大肠杆菌的抑制效果较强,分别达到 80.97% 和 82.68%,老叶和花总黄酮抑制效果则较弱,仅为 43.04% 和 41.53%。在低浓度(0.06 ~ 0.12 mg/mL)时,嫩叶仍保持较高的抑制活性,而茎总黄酮对大肠杆菌抑制作用较弱。

由表 3 可知,对于金黄色葡萄球菌,各个组织在较低浓度即可达到明显的抑制效果,其中费菜花黄酮在 0.06 mg/mL 抑制率可达到 60.41%,但随着浓度的增加抑菌率增幅不明显;总黄酮浓度达到 2.00 mg/mL 时,茎的抑制率可高达 94.25%,老叶、花以及嫩叶对其抑制率可达 62% 以上。低浓度时费菜各个组织抑制率均高于 34%,表明费菜总黄酮对金黄色葡萄球菌有较好的抑制作用,这与马士巧等^[21]

的结果相似。黄酮对金黄色葡萄球菌的抑制活性较高,可能是黄酮作用于菌体细胞膜,造成细胞膜损

伤,干扰细胞新陈代谢以及导致胞内物质泄露进而导致细胞死亡有关^[9]。

表2 费菜不同组织总黄酮对大肠杆菌抑菌活性(抑制率%表示)

Table 2 Antibacterial effect of the total flavonoids from different parts of *Sedum aizoon* L. against *E. coli* (Diameters of inhibition rate)

总黄酮浓度 Concentration of total flavonoids (mg/mL)	老叶 Old leaves	花 Flowers	茎 Stems	嫩叶 Tender leaves
2.00	43.04 ± 0.88 ^a	41.53 ± 0.26 ^a	80.97 ± 0.57 ^a	82.68 ± 0.74 ^a
1.00	33.11 ± 0.87 ^a	33.52 ± 0.37 ^b	56.39 ± 0.32 ^b	61.31 ± 0.80 ^b
0.50	28.57 ± 0.26 ^{ab}	23.30 ± 0.30 ^c	42.12 ± 0.52 ^c	55.21 ± 0.57 ^c
0.25	20.44 ± 0.39 ^b	20.72 ± 0.31 ^d	32.88 ± 0.54 ^d	52.62 ± 0.58 ^d
0.12	19.60 ± 0.29 ^c	17.24 ± 0.29 ^c	20.08 ± 0.13 ^e	33.46 ± 0.97 ^c
0.06	19.38 ± 0.37 ^d	11.28 ± 0.48 ^f	8.38 ± 0.29 ^f	32.95 ± 0.51 ^e

注:同列数据肩标不同字母代表差异显著($P < 0.05$)。

Note: Means with different letters in the same column differ significantly ($P < 0.05$).

表3 费菜不同组织总黄酮对金黄色葡萄球菌抑菌活性(抑制率%表示)

Table 3 Antibacterial effect of the total flavonoids from different parts of *Sedum aizoon* L. against *S. aureus* (Diameters of inhibition rate)

总黄酮浓度 Concentration of total flavonoids (mg/mL)	老叶 Old leaves	花 Flowers	茎 Stems	嫩叶 Tender leaves
2.00	62.69 ± 0.25 ^a	66.79 ± 0.30 ^a	94.25 ± 0.56 ^a	72.66 ± 0.74 ^a
1.00	61.13 ± 0.49 ^b	62.64 ± 0.54 ^b	82.98 ± 0.42 ^b	61.67 ± 0.46 ^b
0.50	51.33 ± 0.84 ^b	62.03 ± 0.23 ^{ab}	69.76 ± 0.55 ^c	53.86 ± 0.79 ^c
0.25	42.96 ± 0.74 ^c	61.74 ± 0.17 ^c	49.21 ± 0.45 ^d	48.92 ± 0.49 ^d
0.12	41.88 ± 0.51 ^{cd}	61.37 ± 0.07 ^c	48.36 ± 0.29 ^d	37.28 ± 0.42 ^e
0.06	39.31 ± 0.13 ^d	60.41 ± 0.26 ^d	34.82 ± 0.44 ^e	34.03 ± 0.35 ^f

注:同列数据肩标不同字母代表差异显著($P < 0.05$)。

Note: Means with different letters in the same column differ significantly ($P < 0.05$).

表4 费菜不同组织总黄酮对枯草芽孢杆菌抑菌活性(抑制率%表示)

Table 4 Antibacterial effect of the total flavonoids from different parts of *Sedum aizoon* L. against *B. subtilis* (Diameters of inhibition rate)

总黄酮浓度 Concentration of total flavonoids (mg/mL)	老叶 Old leaves	花 Flowers	茎 Stems	嫩叶 Tender leaves
2.00	63.79 ± 0.79 ^a	50.97 ± 0.38 ^a	54.81 ± 0.28 ^a	57.04 ± 0.51 ^a
1.00	57.86 ± 0.37 ^a	41.75 ± 0.72 ^b	34.93 ± 0.27 ^b	45.95 ± 0.47 ^b
0.50	53.76 ± 0.39 ^{ab}	32.97 ± 0.55 ^c	29.27 ± 0.25 ^c	35.56 ± 0.61 ^c
0.25	50.72 ± 0.30 ^b	28.22 ± 0.44 ^d	22.64 ± 0.55 ^d	29.75 ± 0.46 ^d
0.12	49.84 ± 0.52 ^c	21.38 ± 0.23 ^e	21.91 ± 0.15 ^e	27.34 ± 0.40 ^e
0.06	49.75 ± 0.27 ^d	17.55 ± 0.36 ^f	20.23 ± 0.33 ^f	23.25 ± 0.53 ^f

注:同列数据肩标不同字母代表差异显著($P < 0.05$)。

Note: Means with different letters in the same column differ significantly ($P < 0.05$).

由表4可知,费菜不同组织对枯草芽孢杆菌的抑菌活性相当,在0.06~2.00 mg/mL的浓度范围内,老叶的抑菌效果较好。总黄酮浓度0.06 mg/mL时老叶总黄酮的抑制率可达到49.75%,低浓度即可发挥对枯草芽孢杆菌的抑制作用。在总黄酮浓度为2.00 mg/mL时,费菜各组织抑制率均在50%以

上,对枯草芽孢杆菌的抑菌活性依次为老叶>嫩叶>茎>花。

3 结论

本文通过对费菜不同组织中总黄酮进行体外抗氧化实验,研究表明费菜不同组织总黄酮的抗氧化

能力均较强,尤其是还原三价铁离子的能力以及清除 DPPH 自由基的能力。总黄酮浓度 ≥ 0.006 mg/mL 时费菜花 Fe^{3+} 还原活性较高,而 DPPH 的 IC_{50} 值最低仅为 $0.8 \mu\text{g/mL}$ (费菜茎),对 $\cdot\text{OH}$ 的 IC_{50} 值最低为 $14 \mu\text{g/mL}$,各组织间抗氧化能力随着浓度增大而增强并呈现非显著性差异。费菜样品的批次、提取方法以及样品的纯化程度不同均可能影响抗氧化活性的测定结果。经纯化后的黄酮提取液中抗氧化活性较高的黄酮成分得到富集,抗氧化效果增强^[19]。因此,纯化后费菜黄酮具有较强的抗氧化能力,可作为潜在的食品抗氧化剂。

费菜不同组织总黄酮对三种供试病原微生物均具有明显的抑制效果,在 2.0 mg/mL 浓度时抑菌率均在 41.53% 以上,其中对大肠杆菌的抑制率可达 82.68% ,对枯草芽孢杆菌可达 63.79% ,对金黄色葡萄球菌抑制效果最好,可高达 94.25% 。不同组织间的抑菌活性存在差异,可能与抑菌相关黄酮的含量有关。前期研究发现费菜黄酮对细菌有较好的抑制作用,通过膜损伤以及抑制蛋白合成表达达到抑菌效果。本研究对食品致病菌大肠杆菌、金黄色葡萄球菌以及枯草芽孢杆菌均有一定的抑制效果,但具体的抑菌机制仍需要进一步试验加以探究。了解费菜中主要活性物质在致病菌及腐败菌中的抑菌效果,对天然杀菌剂的研发及防腐保鲜方面的运用具有指导性的作用。

综上所述,费菜黄酮的还原三价铁离子的能力、清除 $\cdot\text{OH}$ 能力以及清除 DPPH 自由基的活性较高,对金黄色葡萄球菌和大肠杆菌的抑制作用较强,对枯草芽孢杆菌的抑制效果较弱。虽然不同组织费菜黄酮的抗氧化活性和抑菌活性不同,但是在一定浓度范围内与黄酮浓度呈正相关。因此,深入研究费菜黄酮的生物活性,对费菜中活性成分的进一步开发利用具有重要意义。

参考文献

- 1 Chen HZ(陈华珍),Chen JW(陈建伟). The content of total flavonoids in different organs and their TLC identification [J]. *Chin Arch Tradit Chin Med*(中华中医药学刊),2003,21:1867-1867.
- 2 Lin Z,Fang Y,Huang A, et al. Chemical constituents from *Sedum aizoon* and their hemostatic activity[J]. *Pharm Biol*,2014,52:1429-1434.
- 3 Qiang Y(强毅),Wang ZJ(王政军),Chen KK(陈克克), et al. Determination of total polyphenols and antimicrobial activity of methanol extract from *Sedum aizoon* L. [J]. *Sci*

- Technol Food Ind*(食品工业科技),2013,34:53-56.
- 4 Wang QZ,Wang N,Chen ZX. Extraction and deproteinization of polysaccharides from *Sedum aizoon* L. [J]. *Adv Mater Res*,2014,864:460-464.
- 5 Xu HH(徐宏化),Cheng H(程慧),Wang ZJ(王正加), et al. The study of total polyphenols,total flavonoids and antioxidant capacity in pecan [*Carya illinoensis* (Wangenh.) K. Koch] Kernerls [J]. *J Nuclear Agric Sci*(核农学报),2016,30:72-78.
- 6 Hu JW(胡居吾),Han XD(韩晓丹),Fu JP(付建平), et al. Antimicrobial and antioxidant effects of 3 chlorogenic acid extracts [J]. *Nat Prod Res Dev*(天然产物研究与开发),2017,29:1928-1933.
- 7 Xu F,Wang C,Wang H, et al. Antimicrobial action of flavonoids from *Sedum aizoon* L. against lactic acid bacteria *in vitro*, and in refrigerated fresh pork meat [J]. *J Funct Foods*,2018,40:744-750.
- 8 Wang W(王伟),Dai GM(代光明),Li SM(李书明), et al. Optimization of total flavonoid extraction from the invasive plant species *Praxelis clematidea* (Asteraceae) and its antibacterial activity [J]. *Nat Prod Res Dev*(天然产物研究与开发),2017,29:1343-1348.
- 9 Zhang M(张梅). Study on the dynamic variation of the flavonoids contents and the influences of the elicitor on the flavonoids contents and related enzyme activities in *Rhododendron* L. [D]. Fuzhou: Fujian Agriculture and Forestry University(福建农林大学),2012.
- 10 Wang HF(王鸿飞),Liu F(刘飞),Xu C(徐超), et al. Study on anti-microbial activity of total flavonoid and its different polar extracts from *Sedum aizoon* L. [J]. *J Chin Instit Food Sci Technol*(中国食品学报),2013,13:124-128.
- 11 Sun J,Liu RH. Apple phytochemical extracts inhibit proliferation of estrogen-dependent and estrogen-independent human breast cancer cells through cell cycle modulation [J]. *J Agr and Food Chem*,2008,56:11661-11667.
- 12 Dong DD(董迪迪),Wang HF(王鸿飞),Zhou ZQ(周增群), et al. Antioxidant activity and blood lipid regulation of *Myrica rubra* seed oil [J]. *J Chin Cereals Oils Assoc*(中国粮油学报),2014,29:53-57.
- 13 Tu ZC(涂宗财),Fu ZF(傅志丰),Wang H(王辉), et al. Comparison of antioxidant activities of various solvent extracts of sweet potato (*Ipomoea batatas* (L.) Lam.) leaves and identification of antioxidant constituents of the methanol extract [J]. *Food Sci*(食品科学),2015,36:1-6.
- 14 Xie R(谢瑞),Wei YX(魏艳霞),Ding YZ(丁玉竹), et al. Effects of different processing methods on the antioxidant activity of polysaccharide from *Nitraria sibirica* pall [J]. *Nat Prod Res Dev*(天然产物研究与开发),2016,1:41-45.