

# 不同芹菜品种叶与叶柄黄酮含量及其与抗氧化能力的关系

李 琨, 张学杰\*, 张德纯, 单佑习

(中国农业科学院蔬菜花卉研究所, 北京 100081)

**摘 要:** 采用高效液相色谱方法, 开展不同芹菜品种中黄酮的含量和分布研究, 并探讨其与芹菜抗氧化能力的关系。结果表明: 芹菜黄酮主要分布在叶中, 毛地黄黄酮和芹菜素是黄酮的主要成分, 槲皮素含量甚微; 不同品种总黄酮含量差异较大, 5 个品种中, ‘圣洁白芹’的总黄酮含量最高, 达到  $732.21 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ , 其次为 ‘赞比亚西芹’、‘山西紫柄芹’、‘山西岚县芹’, 总黄酮含量分别为  $556.93$ 、 $475.74$  和  $346.48 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ , ‘文图拉西芹’总黄酮含量最低, 为  $241.41 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 。研究发现, 总黄酮分光光度计法检测的芹菜黄酮含量结果是高效液相色谱法检测结果的  $2.64 \sim 7.14$  倍, 且品种黄酮含量排序与液相色谱法不同。在抗氧化方面, DPPH 方法的检测结果表明, 叶柄中总黄酮含量与叶柄清除自由基能力呈高度相关,  $r = 0.843$  ( $P < 0.01$ ); 叶总黄酮含量与叶清除自由基能力呈中度相关,  $r = 0.624$  ( $P < 0.01$ )。FRAP 方法结果表明, 叶柄中总黄酮含量与叶柄总抗氧化能力呈高度相关,  $r = 0.798$  ( $P < 0.01$ ), 但叶总黄酮含量与叶总抗氧化能力之间未表现出相关性。

**关键词:** 芹菜; 黄酮; 液相色谱; 抗氧化性

**中图分类号:** S 636.3

**文献标识码:** A

**文章编号:** 0513-353X (2011) 01-0069-08

## The Quantitation of Flavonoids in Leaf and Stalk of Different Celery Cultivars and the Correlation with Antioxidation Activity

LI Kun, ZHANG Xue-jie\*, ZHANG De-chun, and SHAN You-xi

(Institute of Vegetables and Flowers, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Beijing 100081, China)

**Abstract:** The content and distribution of flavonoids in different celery varieties were investigated by HPLC and spectrophotometer, DPPH and FRAP methods were used to evaluate the correlation between the flavonoids contents and antioxidant capacity of celery. The results showed that flavonoids mainly existed in the celery leaves, composed of luteolin and apigenin, while, quercetin was trace. The contents of flavonoids in celery varieties showed quite different, ‘Shengjie White Stalk’ had the highest content of total flavonoids, reached  $732.21 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ , and followed by ‘Zambia’, ‘Shanxi Purple Stalk’ and ‘Shanxi Lan County’,  $556.93 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ ,  $475.74 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$  and  $346.48 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$  respectively. The total flavonoids in variety ‘Ventura’ was only  $241.41 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ . The results also showed that the contents of total flavonoids detected by spectrophotometer method are  $2.64 \sim 7.14$  folds of that of HPLC which has the different rank of celery varieties. For the celery stalk, the correlation coefficient reached  $0.843$  and  $0.798$  ( $P < 0.01$ ) between

收稿日期: 2010-08-12; 修回日期: 2010-11-25

基金项目: 国家 ‘十一五’ 科技支撑计划重点项目 (2006BAD27B03); 农业部园艺作物遗传改良重点开放实验室项目

\* 通信作者 Author for correspondence (E-mail: zhangxj@mail.caas.net.cn; Tel: 010-82105957)

the total flavonoid content and DPPH scavenging rate and FRAP antioxidant capacity. And for celery leaves, correlation coefficient between the total flavonoid content and DPPH scavenging rate reached 0.624 ( $P < 0.01$ ), and there was no significant correlation between the total flavonoid content and FRAP antioxidant capacity.

**Key words:** celery; flavonoid; HPLC; antioxidant capacity

芹菜 (*Apium graveolens* L.) 中含有黄酮类物质、绿原酸、丁基苯酚等多种活性物质 (周辉 等, 2006), 其中黄酮类物质具有较强的清除超氧阴离子自由基、羟自由基、过氧化氢等的能力, 其清除自由基能力强于维生素C (严建刚, 2004; 聂继云 等, 2010)。目前对芹菜黄酮的提取技术研究已取得一定的进展 (严建刚, 2004; 吉欣 等, 2006; 陈亮, 2007; 蒋新龙, 2007), 发现不同品种的芹菜黄酮含量差异很大 (王克勤 等, 2007)。杨立红 (1998) 的研究表明芹菜叶比叶柄中的总黄酮含量高约3.5倍, 而董钰明等 (2002) 研究表明高5~8倍, 王克勤等 (2007) 报道高3~5倍。目前国内在芹菜黄酮检测上主要采用分光光度计法 (杨立红, 1998; 董钰明 等, 2002; 颜仁梁和刘志刚, 2005; 王克勤 等, 2007), 而国外多采用高效液相色谱法 (Hertog et al., 1992a, 1992b; Crozier et al., 1997)。鉴于分光光度计法的检测结果相差较大, 其是否适用于芹菜黄酮检测及品种评价值得进一步研究。此外, 在芹菜的抗氧化能力方面, 王辰和张金木 (2006) 研究认为芹菜叶提取物具有较强的DPPH (二苯基苦基肼) 清除能力, 严建刚等 (2004) 的研究表明芹菜提取物清除自由基的能力与其黄酮含量有关, 黄酮可能是其清除自由基的主要活性物质; 而郭长江等 (2003) 采用FRAP (三价铁离子还原能力) 法研究表明芹菜黄酮的总抗氧化活性较弱。总的来看, 在对芹菜黄酮检测方法、芹菜黄酮含量与分布及芹菜黄酮含量与其抗氧化性关系尚待进一步研究。

本研究中作者采用分光光度计法及液相色谱法对5个有代表性的芹菜品种的黄酮含量进行检测, 比较检测方法的差异, 并分析芹菜中黄酮的组成与分布及品种间的区别, 同时采用FRAP和DPPH两种研究方法, 探讨芹菜黄酮含量与其抗氧化性之间的关系。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

试验材料为北京市场销售及地方品种: 圣洁白芹 (法国)、山西紫柄芹 (山西)、赞比亚西芹 (赞比亚)、文图拉西芹 (美国) 和山西岚县芹 (山西)。

于2009年1月5日催芽, 1月15日湿播于穴盘内, 3月31日定植于中国农业科学院蔬菜花卉研究所廊坊实验站, 6月23日采收。

取样时每个品种于田间随机取4株作为1个重复 (称质量并记录), 共3个重复, 每个重复中的每株纵切、四分法取一半, 将其叶柄与叶片分开, 4株混合样品 (称质量并记录) 分别装入编号的塑料袋中密封, 保存在-20℃冰箱中备用。

分析试剂: 盐酸、磷酸二氢钾、氢氧化钠、硝酸铝、亚硝酸钠、乙醇、氯化铁、硫酸亚铁为分析纯, 购于北京万鑫化业; 甲醇为色谱纯 (J. T. Baker); 芦丁 (Rutin, 纯度91.7%) 由中国农业科学院作物科学研究所实验室提供; 槲皮素 (Quercetin)、毛地黄黄酮 (Luteolin)、芹菜素 (Apigenin) 标准品, DPPH、TPTZ (三吡啶三嗪) 购于Sigma-Aldrich公司。

仪器: 高效液相色谱仪岛津LC-10A, 紫外可见检测器SPD-10AV; 分析天平DENVER TB-114; 分光光度计UV/VIS 2802PC; 酸度计Sartorius PB-10。

## 1.2 芹菜黄酮液相检测方法

液相检测条件: 参考 Hertog 等 (1992b) 方法, 流动相及色谱柱有所改变, 采用 Waters Symmetry C18 (5  $\mu\text{m}$ , 4.6 mm  $\times$  250 mm) 色谱柱, 流动相为甲醇: 磷酸水溶液 (体积比) = 55 : 45, pH 3.0, 流速 0.8 mL  $\cdot$  min<sup>-1</sup>; 检测波长 370 nm, 进样量 10  $\mu\text{L}$ , 柱温 25  $^{\circ}\text{C}$ 。

标准曲线的建立: 精密称取槲皮素 1.0 mg、毛地黄黄酮 2.5 mg、芹菜素 5.0 mg, 分别用甲醇溶解后定容至 10 mL, 即得到 100 mg  $\cdot$  L<sup>-1</sup> 槲皮素、250 mg  $\cdot$  L<sup>-1</sup> 毛地黄黄酮和 500 mg  $\cdot$  L<sup>-1</sup> 芹菜素储备液, 使用前配制成不同浓度的工作液。取标样储备液, 再用甲醇稀释, 配制成两组混合标样 (鉴于图 1, B 表明芹菜中槲皮素含量甚微, 因而两组混合标样中均不含槲皮素), 第 1 组用于芹菜叶柄黄酮组分标准曲线的建立: 毛地黄黄酮浓度为 0.25、0.5、1、2 和 4 mg  $\cdot$  L<sup>-1</sup>, 芹菜素浓度为 0.625、1.25、2.5、5 和 10 mg  $\cdot$  L<sup>-1</sup>, 第 2 组用于芹菜叶中黄酮组分标准曲线的建立: 毛地黄黄酮浓度为 20、40、60、80 和 100 mg  $\cdot$  L<sup>-1</sup>, 芹菜素浓度为 50、100、150、200 和 250 mg  $\cdot$  L<sup>-1</sup>。

样品制备: 取保存在 -20  $^{\circ}\text{C}$  下的芹菜, 四分法后取 100 g 打匀浆, 然后取 5 g 匀浆于 250 mL 磨口三角瓶中, 参照 Hertog 等 (1992b) 的方法, 加入 60% 甲醇水溶液 40 mL (含 2 mol  $\cdot$  L<sup>-1</sup> HCl), 置于 90  $^{\circ}\text{C}$  水浴回流 4 h。用 400 目不锈钢滤网过滤, 滤渣使用 60% 甲醇水溶液浸泡 5 min 后过滤, 合并滤液至 50 mL 容量瓶中, 并用 60% 甲醇水溶液定容, 即为芹菜黄酮提取物。取上述提取液 1 mL, 经 0.45  $\mu\text{m}$  微孔滤膜过滤后作为上机样品, 检测结果根据标准曲线计算黄酮含量。

## 1.3 芹菜黄酮分光光度计检测方法

标准曲线的建立: 精密称取芦丁 2.7 mg, 用甲醇溶解后定容至 25 mL, 即得到 100 mg  $\cdot$  L<sup>-1</sup> 芦丁标准溶液, 参照隋焕平等 (2001) 的测定方法, 取芦丁标准溶液 0.1、0.5、1、3、5 mL 分别置于 10 mL 刻度磨口试管中, 各加入 50% 乙醇溶液至 5 mL 刻度, 精确加入 5% NaNO<sub>2</sub> 0.3 mL, 摇匀后放置 6 min, 加入 10% Al (NO<sub>3</sub>)<sub>3</sub> 0.3 mL, 摇匀再放置 6 min, 加入 20% NaOH 溶液 4 mL, 分别用 50% 乙醇稀释至 10 mL, 摇匀放置 15 min, 于 510 nm 波长检测吸光度, 建立标准曲线。

样品制备: 取叶柄匀浆 10 g, 叶匀浆 5 g, 分别置于 250 mL 磨口三角瓶中, 加入 70% 乙醇溶液 40 mL, 摇匀后置于 80  $^{\circ}\text{C}$  水浴回流 2 h, 共提取 2 次, 分别经不锈钢滤网过滤, 合并滤液, 定容至 100 mL, 即为芹菜黄酮提取液。取芹菜黄酮提取液 2 mL, 替代芦丁标准溶液, 按上述方法操作, 于 510 nm 波长检测吸光度, 根据标准曲线计算黄酮含量。

## 1.4 芹菜黄酮含量的计算

$\omega = (m_1 \times \omega_1 + m_2 \times \omega_2) \times (m_1 + m_2)^{-1}$ 。 $\omega$ : 芹菜黄酮质量分数, mg  $\cdot$  kg<sup>-1</sup>;  $m_1$ : 芹菜叶的质量 (表 1), g;  $\omega_1$ : 芹菜叶中黄酮质量分数, mg  $\cdot$  kg<sup>-1</sup>;  $m_2$ : 芹菜叶柄的质量 (表 1), g;  $\omega_2$ : 芹菜叶柄中黄酮质量分数, mg  $\cdot$  kg<sup>-1</sup>。

## 1.5 芹菜抗氧化能力检测

使用 1.3 节中的叶柄与叶片黄酮提取液进行抗氧化能力测试。检测时, 叶柄黄酮提取液直接进行测试, 叶片黄酮提取液稀释 4 倍后进行测试。

清除自由基能力测定: 参照严建刚 (2004) 的方法, 配制 DPPH 溶液: 准确称取 20 mg DPPH, 无水乙醇溶解并定容于 250 mL 容量瓶, 即得到浓度为  $2 \times 10^{-4}$  mol  $\cdot$  L<sup>-1</sup> 的 DPPH 溶液。分析方法: 取待测样品液、无水乙醇各 2 mL 于具塞试管中, 分别加入 2 mL DPPH 溶液, 摇匀, 静置 30 min, 无水乙醇作参比, 517 nm 测定反应液吸光值, 根据下列公式计算样品液对 DPPH 的抑制率。

抑制率 (%) =  $\{1 - (A_i - A_j) / A_c\} \times 100$ 。 $A_i$ : 样品液与 DPPH 溶液混合后的吸光度;  $A_j$ : 样

品液与无水乙醇混合后的吸光度; Ac: 无水乙醇与 DPPH 溶液混合后的吸光度。

总抗氧化性的测定: 参照 Benzie 和 Strain (1996) 的方法, 配制 TPTZ 工作液 (含  $0.3 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$  醋酸盐缓冲液 25 mL,  $10 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$  TPTZ 溶液 2.5 mL 溶液, 及  $20 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$   $\text{FeCl}_3$  溶液 2.5 mL)。取 0.2 mL 样品上清液 (必要时稀释), 加入 1.8 mL TPTZ 工作液, 混匀后  $37^\circ\text{C}$  反应 10 min, 593 nm 测定吸光值, 以  $1.0 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$   $\text{FeSO}_4$  为标准, 样品的总抗氧化活性以达到同样吸光值所需的  $\text{FeSO}_4$  的毫摩尔数表示。

## 2 结果与分析

### 2.1 高效液相色谱方法的确定

图 1 为黄酮混合标准溶液 (槲皮素、毛地黄黄酮和芹菜素浓度均为  $100 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ ) 及芹菜黄酮提取物的 HPLC 色谱图。可以看出, 标准溶液中的槲皮素、毛地黄黄酮和芹菜素得到较好地分离, 其保留时间分别为 10.82、12.89 和 20.06 min (图 1, A)。

图 1, B 表明, 芹菜中黄酮的主要组分是毛地黄黄酮和芹菜素, 因槲皮素含量为微量, 故不再对槲皮素含量进行检测。

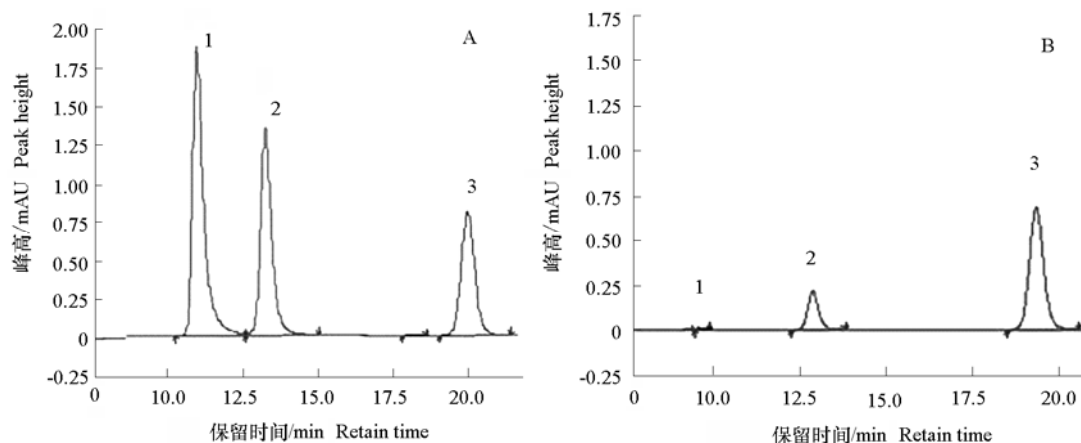


图 1 黄酮混合标准溶液 (A) 和芹菜提取物 (B) 的色谱图

1. 槲皮素; 2. 毛地黄黄酮; 3. 芹菜素。

Fig. 1 HPLC chromatogram of standard samples (A) and celery flavonoids extractions (B)

1. Quercetin; 2. Luteolin; 3. Apigenin.

在本研究条件下, 毛地黄黄酮和芹菜素的回收率分别达到  $83.56\% \sim 103.09\%$  和  $88.63\% \sim 98.52\%$ ; 回收率的 RSD (相对标准偏差) 分别为  $7.4\%$  和  $1.4\%$ ; 重复性的 RSD 分别为  $0.9\%$  和  $3.3\%$ ; 精密度的 RSD 分别为  $2.9\%$  和  $3.1\%$ ; 毛地黄黄酮和芹菜素的检出限为  $0.05 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 。

以上结果表明本色谱条件能够满足芹菜黄酮的分析要求。芹菜叶柄和叶中的毛地黄黄酮含量分别在  $0.25 \sim 4 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  和  $20 \sim 100 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  范围内, 与峰面积呈良好的线性关系, 回归方程分别为  $y = 21\,653x + 372.4$  ( $r = 0.999$ ),  $y = 22\,499x + 27\,013$  ( $r = 0.998$ ); 芹菜叶柄和叶中的芹菜素含量分别在  $0.625 \sim 10 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  和  $50 \sim 250 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  范围内, 与峰面积呈良好的线性关系, 回归方程分别为  $y = 18\,340x - 431$  ( $r = 0.999$ ),  $y = 17\,586x + 94\,618$  ( $r = 0.998$ )。

## 2.2 不同品种芹菜黄酮的含量、组成与分布

### 2.2.1 不同品种芹菜粗黄酮的含量与分布

本文中分光光度计法检测的黄酮以“粗黄酮”表示。表 1 为 5 个不同品种芹菜粗黄酮的含量与分布，可以看出，芹菜粗黄酮含量最高的品种是圣洁白芹，其次为山西岚县芹、山西紫柄芹、赞比亚西芹，文图拉西芹的粗黄酮含量最低；芹菜粗黄酮主要分布在叶中，其含量是叶柄的 7~25 倍。

表 1 分光光度计法检测芹菜粗黄酮含量

Table 1 The contents of crude flavonoids in celery detected by spectrophotometer

品种 Cultivars	质量/g Mass		粗黄酮含量/(mg · kg <sup>-1</sup> FW) The content of crude flavonoids		
	叶柄 Stalk	叶 Leaf	叶柄 Stalk	叶 Leaf	平均含量 Average content
文图拉西芹 Ventura	643.17	136.50	473.64 ± 47.69 c	5 386.22 ± 396.66 c	1 333.71 ± 48.20 d
山西紫柄芹 Shanxi Purple	342.33	117.83	840.31 ± 23.31 a	6 263.05 ± 734.26 c	2 228.88 ± 187.11 c
圣洁白芹 Shengjie White Stalk	245.50	122.83	571.19 ± 26.70 b	8 879.61 ± 749.92 b	3 341.87 ± 257.81 a
山西岚县芹 Shanxi Lan County	441.33	106.67	443.36 ± 32.44 c	11 482.26 ± 1 086.19 a	2 592.12 ± 191.23 b
赞比亚西芹 Zambia	390.17	124.83	328.99 ± 17.48 d	5 441.89 ± 387.39 c	1 568.30 ± 95.84 d

注：同列数据后不同字母表示在 5%水平上的差异显著性。下同。

Note: The data within a column followed by different letters indicated significant difference at 5% level. The same below.

### 2.2.2 不同品种芹菜总黄酮的含量与分布

鉴于 Hertog 等 (1992b) 采用 HPLC 法研究认为芹菜黄酮主要是由毛地黄黄酮和芹菜素组成，本文中 HPLC 法检测的毛地黄黄酮和芹菜素含量之和以“总黄酮”表示。从表 2 可以看出，芹菜素为芹菜黄酮的主要组分，其含量是毛地黄黄酮含量的 2~3 倍左右。表 2 还表明，芹菜黄酮主要分布在叶中，叶中总黄酮含量为叶柄的 29~139 倍；圣洁白芹的总黄酮含量最高，其次为赞比亚西芹、山西紫柄芹、山西岚县芹，文图拉西芹的总黄酮含量最低。

表 2 不同品种芹菜不同部位毛地黄黄酮和芹菜素含量

Table 2 The contents of luteolin and apigenin and its distribution in different celery varieties / (mg · kg<sup>-1</sup> FW)

品种 Cultivars	叶柄 Stalk		叶 Leaf		平均总黄酮含量 Average content
	毛地黄黄酮 Luteolin	芹菜素 Apigenin	毛地黄黄酮 Luteolin	芹菜素 Apigenin	
文图拉西芹 Ventura	2.93 ± 0.25 d	6.82 ± 0.84 d	319.86 ± 19.09 c	1 036.05 ± 78.53 c	243.44 ± 10.40 e
山西紫柄芹 Shanxi Purple Stalk	15.03 ± 0.97 a	34.39 ± 3.09 b	485.23 ± 39.64 b	1 300.93 ± 63.20 b	492.19 ± 28.44 c
圣洁白芹 Shengjie White Stalk	16.57 ± 1.24 a	56.54 ± 1.76 a	475.46 ± 36.48 b	1 647.16 ± 91.21 a	752.78 ± 37.42 a
山西岚县芹 Shanxi Lan County	8.13 ± 0.67 c	15.40 ± 1.30 c	519.47 ± 44.10 ab	1 211.86 ± 64.07 b	354.49 ± 14.02 d
赞比亚西芹 Zambia	11.93 ± 1.02 b	34.13 ± 4.49 b	577.86 ± 30.52 a	1 646.97 ± 87.07 a	572.33 ± 14.38 b

## 2.3 不同品种芹菜黄酮含量与抗氧化能力的关系

表 3 表明，不同品种芹菜黄酮提取物的抗氧化能力存在差异。叶柄抗氧化能力较强的品种是圣洁白芹，其次是山西紫柄芹；叶的抗氧化能力最强的品种是山西岚县芹，其次是圣洁白芹和山西紫柄芹，文图拉西芹叶柄与叶的黄酮提取物不论是清除 DPPH 自由基还是总抗氧化能力均较弱。

表 4 表明，以 DPPH 清除能力作评价时，芹菜叶柄的总黄酮含量与清除 DPPH 自由基能力之间存在高度相关  $r = 0.862$  ( $P < 0.01$ )，芹菜叶的总黄酮含量与其清除自由基能力呈中度相关  $r = 0.624$  ( $P < 0.01$ )；以 FRAP 总抗氧化能力作评价时，芹菜叶柄中总黄酮含量与其总抗氧化能力呈高度相关  $r = 0.799$  ( $P < 0.01$ )，芹菜叶的总黄酮含量与其总抗氧化能力未表现出相关性。

表 3 不同品种芹菜叶柄与叶片抗氧化性检测结果

Table 3 The antioxidant activities of different varieties of celery petioles and leaves

品种 Cultivars	叶柄 Stalk		叶片 Leaf	
	DPPH 清除率/% DPPH scavenging rate	FRAP 总抗氧化能力/ (mmol · L <sup>-1</sup> ) FRAP antioxidant capacity	DPPH 清除率/% DPPH scavenging rate	FRAP 总抗氧化能力/ (mmol · L <sup>-1</sup> ) FRAP antioxidant capacity
文图拉西芹 Ventura	21.9 ± 2.0 c	0.081 ± 0.008 c	50.3 ± 3.3 c	0.280 ± 0.029 c
山西紫柄芹 Shanxi Purple Stalk	44.6 ± 1.6 b	0.196 ± 0.021 a	69.4 ± 6.6 b	0.347 ± 0.022 ab
圣洁白芹 Shengjie White Stalk	55.7 ± 4.3 a	0.175 ± 0.015 a	70.5 ± 3.0 b	0.331 ± 0.039 b
山西岚县芹 Shanxi Lan County	43.5 ± 3.7 b	0.117 ± 0.010 b	81.1 ± 1.5 a	0.383 ± 0.015 a
赞比亚西芹 Zambia	41.9 ± 2.7 b	0.126 ± 0.008 b	74.2 ± 5.8 ab	0.210 ± 0.010 d

表 4 芹菜黄酮含量与其抗氧化能力的相关性

Table 4 Correlation between the content of celery flavonoids and antioxidant capacity

黄酮 Flavonoids	DPPH 清除率 DPPH scavenging rate		FRAP 抗氧化能力 FRAP antioxidant capacity	
	叶柄 Stalk	叶 Leaf	叶柄 Stalk	叶 Leaf
毛地黄黄酮 Luteolin	0.896**	0.862**	0.912**	- 0.010
芹菜素 Apigenin	0.839**	0.479*	0.754**	- 0.320
总黄酮 Total flavonoids	0.862**	0.624**	0.799**	- 0.256
粗黄酮 Crude flavonoids	0.262	0.636**	0.749**	0.737**

注: \*\* 在 0.01 水平上呈极显著相关, \* 在 0.05 水平上呈显著相关。

Note: \*\* Correlation is remarked significant at the 0.01 level, \* Correlation is significant at the 0.05 level.

### 3 讨论

#### 3.1 芹菜黄酮组分及其检测方法

芹菜中黄酮的主要组分为芹菜素和毛地黄黄酮 (Hertog et al., 1992b; 徐静 等, 2005), 本研究证实了这一点, 并发现不同品种不同部位, 芹菜素的含量基本上是毛地黄黄酮含量的 2 ~ 3 倍。本研究结果表明, 目前国内的主栽品种, 文图拉西芹的叶柄黄酮含量在 5 个测试品种中最低, 仅为 9.76 mg · kg<sup>-1</sup> FW, 而圣洁白芹的叶柄 (白色) 的黄酮含量最高, 达到 73.11 mg · kg<sup>-1</sup> FW, 从人们日常烹饪习惯来讲, 圣洁白芹的叶柄是更好的芹菜黄酮来源并具有较好的保健价值。对于芹菜叶来说, 圣洁白芹的叶的黄酮含量最高, 达到 752.76 mg · kg<sup>-1</sup> FW, 因而, 从芹菜叶的综合利用角度来看, 圣洁白芹的叶子更适用于黄酮提取。

在检测方法上, 本研究发现, 对于同一品种, 分光光度计法检测的芹菜“粗黄酮”含量远高于液相色谱法检测的“总黄酮”含量, 前者是后者的 2.74 ~ 7.31 倍; 在芹菜品种的黄酮含量排序上按分光光度计法, 由高到低依次为圣洁白芹 > 山西岚县芹 > 山西紫柄芹 > 赞比亚西芹 > 文图拉西芹, 而按 HPLC 法, 赞比亚西芹的总黄酮含量在 5 个品种中排在第 2 位, 而山西岚县芹则排在了第 4 位; 此外, HPLC 法检测的 5 个品种芹菜叶片的黄酮含量是叶柄黄酮含量的 29 ~ 139 倍, 与使用分光光度计法检测芹菜黄酮含量的文献 (杨立红, 1998; 王克勤 等, 2007) 报道的 3 ~ 5 倍有非常大的差异, 这可能与分光光度计法检测黄酮的专属性不强有关 (郭亚健 等, 2002; 陈亮和王克勤, 2006)。综上所述, 作者认为在芹菜黄酮研究方面, 分光光度计法并不能反映芹菜黄酮含量的真实情况, 换句话说, 分光光度计法不适用于芹菜黄酮的检测, 应采用 HPLC 方法进行分析评价。

### 3.2 芹菜黄酮与其抗氧化性的关系

本研究中采用了DPPH和FRAR两种抗氧化能力评价方法,目的是从不同角度探讨芹菜品种的抗氧化能力及芹菜黄酮提取物与其抗氧化能力的关系。通常认为,清除自由基能力只是总抗氧化能力的一部分,芹菜中具有抗氧化能力的成分很多,包括黄酮类、花色苷类、维生素C及不饱和脂肪酸等(王辰和张金木,2006),尽管目前尚不清楚不同芹菜品种及其不同部位的抗氧化及清除自由基的成分与含量如何,但存在差异是肯定的,这导致不同芹菜品种及部位清除自由基能力与总抗氧化能力表现不同,本文证实了这一点。以表3中的赞比亚西芹为例,其叶的清除自由基能力较强,但总抗氧化能力较弱,而山西紫柄芹叶柄的清除自由基能力稍差,但总抗氧化能力较强。方敏等(2008)的研究结果亦表明DPPH和FRAR两种方法在评价不同果蔬品种抗氧化能力上表现出一定的差异性。

尽管本研究中芹菜叶的总黄酮含量与清除DPPH自由基能力及总抗氧化能力之间的相关性表现不一,但芹菜叶柄的总黄酮含量与其均呈现出高度相关( $P < 0.01$ ),相关系数分别达到0.862和0.799;就黄酮成分而言,与芹菜素相比,毛地黄黄酮与芹菜叶柄清除自由基能力及总抗氧化能力的相关性更大(表4),这与毛地黄黄酮和芹菜素的分子结构有关。陈琪等(2003)指出,黄酮清除自由基活性与B环上羟基数目直接相关,随B环上羟基数目的增加而增加。毛地黄黄酮与芹菜素在B环上的4'位均有一个羟基,但毛地黄黄酮在3'位比芹菜素多了一个增效羟基,与4'酚基自由基形成分子内氢键,稳定了酚基自由基,从而增加了B-4'-OH的抗氧化性(张甘良等,2005),使毛地黄黄酮比芹菜素的抗氧化性更强。总的来说,在芹菜不同品种及部位抗氧化能力研究方面还需要进一步开展工作,通过芹菜抗氧化成分的分离、纯化及其抗氧化能力评价,将有助于揭示其真正的相关关系。

### References

- Crozier A, Lean M E J, McDonald M S, Black C. 1997. Quantitative analysis of the flavonoid content of commercial tomatoes, onions, lettuce, and celery. *J Agric Food Chem*, 45: 590 - 595.
- Benzie I F F, Strain J J. 1996. The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of "Antioxidant Power": The FRAP assay. *Analytical Biochemistry*, 239: 70 - 76.
- Chen Liang, Wang Ke-qin. 2006. Discussion about the method for determination of flavonoids in celery extract. *China Food Additives*, 214 - 217. (in Chinese)
- 陈 亮, 王克勤. 2006. 芹菜中总黄酮测定方法的探讨. *中国食品添加剂*, 214 - 217.
- Chen Liang. 2007. Studies on extraction and enrichment technology of flavonoids from celery. [M. D. Dissertation]. Changsha: Hunan Agricultural University. (in Chinese)
- 陈 亮. 2007. 芹菜黄酮类物质提取与富集工艺研究[硕士论文]. 长沙: 湖南农业大学.
- Chen Qi, Wang Bo-chu, Tang Chun-hong, Duan Chuan-ren. 2003. The relation between structure and antioxygenic activity of flavonoid. *Journal of Chongqing University*, 26 (11): 48 - 51, 55. (in Chinese)
- 陈 琪, 王伯初, 唐春红, 段传人. 2003. 黄酮类化合物抗氧化性与其构效的关系. *重庆大学学报*, 26 (11): 48 - 51, 55.
- Dong Yu-ming, Feng Shi-lan, Duan Sheng-yu, Yue Cui-li. 2002. Determination of flavonoids in different parts of different varieties of celery. *Journal of Lanzhou Medical College*, 28 (3): 32 - 33. (in Chinese)
- 董钰明, 封士兰, 段生玉, 岳翠丽. 2002. 不同品种芹菜及其不同部位中总黄酮含量的测定. *兰州医学院学报*, 28 (3): 32 - 33.
- Fang Min, Wang Yao-feng, Gong Zhi-yong. 2008. Study on antioxidant activities of fifty kinds of fruits and thirty-three kinds of vegetables. *Food Science*, 29 (10): 97 - 100. (in Chinese)
- 方 敏, 王耀峰, 宫智勇. 2008. 15 种水果和 33 种蔬菜的抗氧化活性研究. *食品科学*, 29 (10): 97 - 100.
- Guo Ya-jian, Fan Li, Wang Xiao-qiang, Zhang Lan-zhen. 2002. Discussion about  $\text{NaNO}_2 - \text{Al}(\text{NO}_3)_3 - \text{NaOH}$  colorimetry for determination of total flavonoids. *Chinese Journal of Pharmaceutical Analysis*, 22 (2): 97 - 99. (in Chinese)
- 郭亚健, 范 莉, 王晓强, 张兰珍. 2002. 关于  $\text{NaNO}_2 - \text{Al}(\text{NO}_3)_3 - \text{NaOH}$  比色法测定总黄酮方法的探讨. *药物分析杂志*, 22 (2): 97 - 99.

- Guo Chang-jiang, Wei Jing-yu, Yang Ji-jun, Li Yun-feng, Xu Jing, Jiang Yu-gang. 2003. The Antioxidant capacity of 66 vegetables and fruits: A comparative study. *Acta Nutrimenta Sinica*, 25 (2): 203 - 207. (in Chinese)
- 郭长江, 韦京豫, 杨继军, 李云峰, 徐 静, 蒋与刚. 2003. 66 种蔬菜、水果抗氧化活性的比较研究. *营养学报*, 25 (2): 203 - 207.
- Hertog M G L, Hollman P C H, Kahn M B. 1992a. Content of potentially anticarcinogenic flavonoids of 28 vegetables and 9 fruits commonly consumed in the Netherlands. *J Agric Food Chem*, 40 (12): 2379 - 2383.
- Hertog M G L, Hollman P C H, Venema D P. 1992b. Optimization of a quantitative HPLC determination of potentially anticarcinogenic flavonoids in vegetables and fruits. *J Agric Food Chem*, 40: 1591 - 1598.
- Ji Xin, Chen Chang-liang, Zhang Lin, Zhang Li-juan. 2006. Research of extracting flavonoids from celery. *Modern Food Science and Technology*, 22 (1): 61 - 63. (in Chinese)
- 吉 欣, 陈长亮, 张 琳, 张利娟. 2006. 芹菜中黄酮类物质的提取研究. *现代食品科技*, 22 (1): 61 - 63.
- Jiang Xin-long. 2007. Study on extraction techniques of flavone from the leaves of *Spuriopimpinella brachycarpa* (Kom.) . *China Brewing*, (11): 37 - 39. (in Chinese)
- 蒋新龙. 2007. 山芹菜叶黄酮的提取工艺研究. *中国酿造*, (11): 37 - 39.
- Nie Ji-yun, Lü De-guo, Li Jing, Liu Feng-Zhi, Li Hai-fei, Xu Guo-feng, Wu Yong-long. 2010. Studies on composition and content of flavonoids in fruit of 'Nagafu 2' apple. *Acta Horticulturae Sinica*, 37 (10): 1559 - 1566.
- 聂继云, 吕德国, 李 静, 刘凤之, 李海飞, 徐国锋, 毋永龙. 2010. '长富 2 号' 苹果果实类黄酮组成和含量研究. *园艺学报*, 37 (10): 1559 - 1566.
- Sui Huan-ping, Xia Wei, Zhang Yu-mei. 2001. Determination of flavonoids in celery extract. *China Public Health*, 17 (4): 332 - 333. (in Chinese)
- 隋焕平, 夏 薇, 张玉梅. 2001. 芹菜提取物中总黄酮含量测定. *中国公共卫生*, 17 (4): 332 - 333.
- Wang Ke-qin, Chen Jing-ping, Luo Jun-wu, Chen Liang. 2007. Analysis of the overall contents of flavones in local celery varieties in Hunan. *Hunan Agricultural Sciences*, (4): 29 - 31. (in Chinese)
- 王克勤, 陈静萍, 罗军武, 陈 亮. 2007. 湖南地方芹菜品种总黄酮含量的分析研究. *湖南农业科学*, (4): 29 - 31.
- Wang Chen, Zhang Jin-mu. 2006. Study on antioxidant activity of extracts of celery leaf. *Journal of Anhui Agri Sci*, 34 (13): 3174 - 3175, 3177. (in Chinese)
- 王 辰, 张金木. 2006. 芹菜叶提取物抗氧化性的研究. *安徽农业科学*, 34 (13): 3174 - 3175, 3177.
- Xu Jing, Guo Chang-jiang, Wei Jing-yu, Yang Ji-jun, Cheng Shuang, Wu Jian-quan. 2005. The method of HPLC for determination of major flavonoids in vegetables. *Acta Nutrimenta Sinica*, 27 (4): 276 - 279. (in Chinese)
- 徐 静, 郭长江, 韦京豫, 杨继军, 程 霜, 吴健全. 2005. 蔬菜中类黄酮物质的高效液相色谱测定法. *营养学报*, 27 (4): 276 - 279.
- Yan Jian-gang. 2004. The study on extraction of celery flavonoid and hypocholesterolaemia and antioxidation effect. [M. D. Dissertation]. Yangling: Northwest Sci-Tech University of Agriculture and Forestry. (in Chinese)
- 严建刚. 2004. 芹菜黄酮提取及其抗氧化与降血脂作用研究[硕士论文]. 杨凌: 西北农林科技大学.
- Yan Jian-gang, Zhang Ming-wei, Yang Gong-ming, Chi Jian-wei. 2004. Studies on free radical scavenging effect of celery extracts. *Food Science*, 25 (8): 39 - 42. (in Chinese)
- 严建刚, 张名位, 杨公明, 池建伟. 2004. 芹菜提取物清除自由基作用研究. *食品科学*, 25 (8): 39 - 42.
- Yan Ren-liang, Liu Zhi-gang. 2005. Summary of determination of total flavonoids method from Chinese herbal medicine and traditional Chinese medicine. *Guangzhou Medical Journal*, 36 (6): 6 - 9. (in Chinese)
- 颜仁梁, 刘志刚. 2005. 中草药、中药制剂中总黄酮类化合物含量测定方法综述. *广州医药*, 36 (6): 6 - 9.
- Yang Li-hong. 1998. A study of the flavonoid amount in the leaves and petioles of celery. *Journal of Shandong Normal University: Natural Science*, 13 (4): 434 - 436. (in Chinese)
- 杨立红. 1998. 芹菜叶柄与叶片中总黄酮含量的研究. *山东师大学报: 自然科学版*, 13 (4): 434 - 436.
- Zhang Gan-liang, Wang-zhao, Yang Hong-de. 2005. The relationship between chemical structure and bioactivity of bioflavonoids. *Journal of Biology*, 22 (1): 4 - 7. (in Chinese)
- 张甘良, 汪 钊, 鄢洪德. 2005. 生物类黄酮化合物的结构与生物活性的关系. *生物学杂志*, 22 (1): 4 - 7.
- Zhou Hui, Lu Xiang-yang Tian Yun, Huang Chang-jiang. 2006. Advances in studies on chemical constituents and pharmacological activities of *Apium* L. *Amino Acids & Biotic Resources*, 28 (1): 6 - 9. (in Chinese)
- 周 辉, 卢向阳, 田 云, 黄成江. 2006. 芹菜化学成分及药理活性研究进展. *氨基酸和生物资源*, 28 (1): 6 - 9.