

## 沙葱多酚提取物抗氧化活性及其对消化酶的抑制作用

卢跃红, 王斌, 刘偲, 祖拜旦·艾买尔, 高春燕\*

(北方民族大学生物科学与工程学院 银川 750021)

**摘要** 通过体外抗氧化和酶抑制测定体系,评价沙葱游离酚和结合酚提取物的抗氧化能力及其对消化酶的抑制作用。分别采用福林-酚法、 $\text{NaNO}_2\text{-AlCl}_3$ 法和香草醛-盐酸法测定总酚、黄酮和缩合单宁含量;利用 DPPH 自由基清除活性、铁还原抗氧化能力(FRAP)、Trolox 等量抗氧化活性(TEAC)和  $\text{HO}\cdot$ 介导的 2-脱氧-D-核糖裂解抑制作用体系,综合评价沙葱多酚提取物的抗氧化能力;采用体外消化酶抑制作用测定方法,评价沙葱多酚提取物对胰脂肪酶和葡萄糖苷酶的抑制作用。结果显示,沙葱多酚提取物总酚、黄酮和缩合单宁的含量范围分别为 251.09~521.27  $\mu\text{g GAE/mg}$ , 148.24~512.94  $\mu\text{g CAE/mg}$  和 121.33~360.56  $\mu\text{g CAE/mg}$ ,且不同产地其含量存在差异。沙葱游离酚提取物 DPPH 自由基清除活性、FRAP 和 TEAC 范围分别为 175.02~248.81  $\mu\text{mol TE/g}$ , 646.22~842.89  $\mu\text{mol Fe(II)/g}$  和 54.95~87.95  $\mu\text{mol TE/g}$ ;结合酚提取物 DPPH 自由基清除活性、FRAP 和 TEAC 范围分别为 447.14~623.95  $\mu\text{mol TE/g}$ , 1 051.78~1 866.22  $\mu\text{mol Fe(II)/g}$  和 441.17~714.50  $\mu\text{mol TE/g}$ 。沙葱游离酚对非定位和定位  $\text{HO}\cdot$ 介导的 2-脱氧-D-核糖裂解抑制作用的  $\text{IC}_{50}$  值范围分别为 1.14~2.27  $\text{mg/mL}$  和 3.39~3.70  $\text{mg/mL}$ ;沙葱结合酚对非定位和定位  $\text{HO}\cdot$ 介导的 2-脱氧-D-核糖裂解抑制作用的  $\text{IC}_{50}$  值范围分别为 0.62~0.94  $\text{mg/mL}$  和 2.80~3.99  $\text{mg/mL}$ 。总体而言,沙葱结合酚提取物的抗氧化能力强于游离酚。沙葱游离酚和结合酚提取物对胰脂肪酶和葡萄糖苷酶的抑制作用均属于混合非竞争性抑制,且游离酚提取物的抑制作用强于结合酚。就酚类物质的含量、抗氧化能力和消化酶抑制活性而言,沙葱结合酚提取物的综合品质高于游离酚。

**关键词** 沙葱; 多酚; 抗氧化; 酶抑制作用

**文章编号** 1009-7848(2024)08-0164-14 **DOI:** 10.16429/j.1009-7848.2024.08.016

过量的活性氧(ROS)和活性氮(RNS)自由基引发的氧化损伤会诱发癌症、心、脑血管疾病等。从植物中获取天然、高效的抗氧化剂,辅助调节人体内的自由基平衡,是预防疾病的有效途径。 $\alpha$ -葡萄糖苷酶是一类促使碳水化合物转化为葡萄糖的水解酶,与肥胖、糖尿病、高血脂等多种代谢性疾病都有关<sup>[1]</sup>。胰脂肪酶是人体内促进消化和吸收膳食中脂肪的主要水解酶之一,当胰脂肪酶的活性被抑制时,可以减少机体对脂肪的吸收,降低血脂水平和体重的增长<sup>[2]</sup>。抑制  $\alpha$ -葡萄糖苷酶和胰脂肪酶的活性,是预防和治疗 2 型糖尿病和肥胖症的有效手段之一<sup>[3]</sup>。

沙葱(*Allium mongolicum* Regel),学名蒙古韭,属被子植物门、百合目(Liliflorae)、百合科(Liliaceae)、葱属(*Allium*),含有粗脂肪、粗灰分、

钙磷、氨基酸、黄酮、多糖、挥发油等成分,野味浓厚、味道独特,可鲜食、腌制、凉拌等,有“大漠野菜”的美称<sup>[4-6]</sup>。沙葱具有免疫调节、抑菌、抗炎、抗氧化等生理功能<sup>[7-9]</sup>。另据《内蒙古植物志》<sup>[10]</sup>和《本草纲目》<sup>[11]</sup>记载,沙葱地上部分可入药。沙葱还可作为优质饲用植物,提高羔羊肉的品质,延长肉的储藏期<sup>[12-13]</sup>。

植物多酚是良好的还原剂、金属离子螯合剂、单线态氧猝灭剂及供氢体,是天然、高效的抗氧化剂<sup>[4]</sup>。同时,具有预防糖尿病和肥胖的潜力<sup>[5]</sup>。以内蒙古(S1)、甘肃(S2)和宁夏(S3)3个产地的沙葱为原料,测定其游离酚和结合酚提取物中总酚、黄酮和缩合单宁的含量,通过 DPPH 自由基清除活性、Trolox 等量抗氧化活性(TEAC)、铁还原抗氧化能力(FRAP),以及对  $\text{HO}\cdot$ 介导的 2-脱氧-D-核糖裂解的抑制作用,评价沙葱多酚提取物的抗氧化活性。同时,研究沙葱多酚提取物对  $\alpha$ -葡萄糖苷酶和胰脂肪酶的抑制活性及抑制动力学,以期对沙葱功能性食品的开发提供借鉴。

收稿日期: 2023-08-21

基金项目: 青年人才培养项目(2021KYQD37);宁夏自然科学基金项目(2022AAC03263)

第一作者: 卢跃红,男,博士,副教授

通信作者: 高春燕 E-mail: gcyxixi@163.com

## 1 材料与方法

### 1.1 材料、试剂与仪器

沙葱,分别于2022年5月采集于内蒙古阿拉善盟阿拉善左旗(S1)、甘肃武威市民勤县(S2)和宁夏中卫市中宁县(S3),分拣,60℃烘箱干燥,粉碎,-20℃保存备用。

6-羟基-2,5,7,8-四甲基色烷-2-羧酸(C<sub>14</sub>H<sub>18</sub>O<sub>4</sub>, Trolox)、1,1-二苯基-2-三硝基苯肼(C<sub>18</sub>H<sub>12</sub>N<sub>5</sub>O<sub>6</sub>, DPPH)、2,2'-联氮-二(3-乙基-苯并噻唑-6-磺酸)二铵盐(C<sub>18</sub>H<sub>24</sub>N<sub>6</sub>O<sub>6</sub>S<sub>4</sub>, ABTS)、2,4,6-三吡啶基三嗪(C<sub>18</sub>H<sub>12</sub>N<sub>6</sub>, TPTZ)、胰脂肪酶、对硝基苯基- $\alpha$ -D-吡喃葡萄糖苷(C<sub>12</sub>H<sub>15</sub>NO<sub>8</sub>, PNPG)、对硝基酚(C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>NO<sub>3</sub>, PNP)、 $\alpha$ -葡萄糖苷酶、4-甲基伞形油酸酯(C<sub>28</sub>H<sub>40</sub>O<sub>4</sub>, 4-MUO)、4-甲基伞形酮(C<sub>10</sub>H<sub>8</sub>O<sub>3</sub>, 4-MU),美国Sigma公司;2-脱氧-D-核糖,阿拉丁生化科技股份有限公司;阿卡波糖,杭州中美华东制药江东有限公司;奥利司他,重庆华森制药有限公司。

722N型可见分光光度计,上海菁华科技仪器有限公司;F96PRO荧光分光光度计,上海棱光技术有限公司。

### 1.2 方法

1.2.1 沙葱多酚的提取与纯化 沙葱游离酚和结合酚按照 Xia 等<sup>[16]</sup>和 Lu 等<sup>[17]</sup>的方法进行提取与纯化,采用超声波辅助溶剂(80%甲醇)法进行提取,以 X-5 大孔树脂进行纯化,经真空冷冻干燥后,得沙葱游离酚和结合酚提取物纯品。

#### 1.2.2 总酚、黄酮和缩合单宁含量的测定

1.2.2.1 总酚的测定 按照 Gao 等<sup>[18]</sup>的方法,采用福林-酚法测定总酚含量。以没食子酸制作标准曲线,得回归方程为  $y = 0.0768x + 0.0302$  (0~6.4  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ),  $R^2 = 0.9966$ 。结果以每毫克提取物没食子酸等量 (Gallic acid equivalent, GAE) 表示 ( $\mu\text{g}$  GAE/mg)。

1.2.2.2 黄酮的测定 按照 Zhang 等<sup>[19]</sup>的方法,采用  $\text{NaNO}_2\text{-AlCl}_3$  法测定黄酮含量。以儿茶素绘制标准曲线,得曲线方程为  $y = 0.0085x + 0.0236$  (0~50  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ),  $R^2 = 0.9982$ 。结果以每毫克提取物儿茶素等量 (Catechin equivalent, CAE) 表示 ( $\mu\text{g}$  CAE/mg)。

1.2.2.3 缩合单宁的测定 按照 Zhang 等<sup>[19]</sup>的方

法,采用香草醛-盐酸法测定缩合单宁含量。以儿茶素做标准曲线,得曲线方程为  $y = 0.0024x + 0.0094$  (0~100  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ),  $R^2 = 0.9951$ 。结果以  $\mu\text{g}$  CAE/mg 表示。

#### 1.2.3 抗氧化活性的测定

1.2.3.1 DPPH 自由基清除能力的测定 参考 Gao 等<sup>[18]</sup>的方法进行测定。0.5 mL 沙葱游离酚和结合酚甲醇溶液 (160  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ) 与 3.5 mL DPPH 甲醇溶液 (60  $\mu\text{mol}/\text{L}$ ) 混匀,于暗室放置 30 min,待反应结束后于波长 517 nm 处测定吸光度值,并计算清除率,以 10~150  $\mu\text{mol}/\text{L}$  Trolox 绘制标准曲线,得方程为  $y = 0.5314x + 14.662$  ( $R^2 = 0.9951$ )。结果以每克提取物 Trolox 等量 (Trolox equivalent, TE) 表示 ( $\mu\text{mol}$  TE/g)。

1.2.3.2 铁还原抗氧化能力 (FRAP) 测定 参考 Gao 等<sup>[18]</sup>的方法进行测定。0.1 mL 沙葱游离酚和结合酚甲醇溶液 (0.5 mg/mL) 与 1.4 mL 新鲜制备的 FRAP 工作液以及 2 mL 超纯水混匀,37℃保温 30 min,待反应结束后于波长 593 nm 处测定吸光度值,以 100~1 000  $\mu\text{mol}/\text{L}$   $\text{FeSO}_4$  绘制标准曲线,得方程为  $y = 0.0006x + 0.0068$  ( $R^2 = 0.9969$ )。结果以每克提取物  $\text{Fe}(\text{II})$  等量表示 ( $\mu\text{mol}$   $\text{Fe}(\text{II})/\text{g}$ )。

1.2.3.3 Trolox 等量抗氧化活性 (TEAC) 测定 参考 Rumpf 等<sup>[20]</sup>的方法进行测定。将 50  $\mu\text{L}$  一定浓度的沙葱游离酚和结合酚甲醇溶液与 4 mL ABTS<sup>+</sup>工作液 (吸光值  $0.7 \pm 0.02$ ) 混合,于室温放置 6 min,待反应结束后于波长 734 nm 处测定吸光度值,以 100~1 000  $\mu\text{mol}/\text{L}$  Trolox 绘制标准曲线,得方程为  $y = -0.0004x + 0.6958$  ( $R^2 = 0.9961$ )。结果以  $\mu\text{mol}$  TE/g 提取物表示。

1.2.3.4 沙葱多酚提取物对 2-脱氧-D-核糖裂解抑制作用的测定 参考 Wahyudia 等<sup>[21]</sup>的方法进行测定。分别吸取 400  $\mu\text{L}$  系列浓度的沙葱游离酚和结合酚溶液,与 PBS 缓冲液 (1.5 mL, 10 mmol/L, pH=7.4) 混匀,依次加入脱氧核糖 (150  $\mu\text{L}$ , 25 mmol/L)、三氯化铁 (150  $\mu\text{L}$ , 1 mmol/L)、乙二胺四乙酸 (150  $\mu\text{L}$ , 1.04 mmol/L) (定位  $\text{HO}\cdot$  介导的 2-脱氧-D-核糖裂解抑制作用体系中不加)、过氧化氢 (150  $\mu\text{L}$ , 15 mmol/L)、VC (150  $\mu\text{L}$ , 1 mmol/L),混匀,于 37℃水浴放置 30 min,待反应结束后,加入 1 mL 0.028 g/mL 的三氯醋酸和 1 mL 0.005 g/mL

的TBA(硫代巴比妥酸),混匀,煮沸15 min,冷却,于波长532 nm处测定吸光度值,计算抑制率(%).对照管用PBS代替沙葱多酚溶液。

## 1.2.4 消化酶抑制作用的测定

### 1.2.4.1 胰脂肪酶抑制活性的测定

1)  $IC_{50}$ 值的测定 在试管中依次加入系列浓度的沙葱多酚或奥利司他(100  $\mu$ L)、4-MUO(200  $\mu$ L,0.1 mmol/L)、胰脂肪酶(100  $\mu$ L,1 mg/mL),超纯水定容至3 mL,摇匀,37  $^{\circ}$ C保温20 min,待反应结束后,测定荧光光度值(发射波长447 nm、激发波长365 nm),计算抑制率。以沙葱多酚或奥利司他质量浓度为横坐标,抑制率为纵坐标绘制回归曲线,根据曲线方程计算求得 $IC_{50}$ 值<sup>[22]</sup>。

2) 抑制作用动力学测定 标准曲线的绘制:以生成物4-MU浓度( $\mu$ mol/L)为横坐标,以荧光光度值(A)为纵坐标,绘制标准曲线,得曲线方程为 $y = 0.0381x - 0.025$  (10~160  $\mu$ mol/L), $R^2 = 0.9965$ 。

抑制类型的测定方法如下<sup>[22]</sup>:分别将100  $\mu$ L不同质量浓度的沙葱多酚(游离酚:1.0,1.5,2.0 mg/mL;结合酚:2,3,4 mg/mL)、200  $\mu$ L底物4-MUO(0.1 mmol/L)、100  $\mu$ L系列浓度的胰脂肪酶(0.1~1.0 mg/mL)混匀,待反应结束后,测定荧光值。将荧光值代入4-MU标准曲线方程,计算求得4-MU的浓度。酶反应速率( $v$ )以单位时间内生成物的浓度表示,即4-MU浓度( $\mu$ mol/L)/反应时间(min)。以反应速率对酶浓度作图,判断可逆与不可逆抑制作用;分别将100  $\mu$ L不同质量浓度的沙葱多酚(游离酚:1,2 mg/mL;结合酚:2,4 mg/mL)、100  $\mu$ L胰脂肪酶(1 mg/mL),200  $\mu$ L系列浓度的底物4-MUO(20~100  $\mu$ mol/L)混匀,待反应结束后,测定荧光值,计算反应速率。以反应速率的倒数( $1/v$ )为纵轴对底物质量浓度的倒数( $1/[S]$ )作图,绘出Lineweaver-Burk双倒数曲线,根据拟合曲线方程计算出动力学参数米氏常数( $K_m$ )和最大反应速率( $v_{max}$ )。

### 1.2.4.2 葡萄糖苷酶抑制作用的测定

1)  $IC_{50}$ 值的测定 在试管中依次加入系列浓度的沙葱多酚或阿卡波糖(200  $\mu$ L)、PNPG(200  $\mu$ L,2 mmol/L)、 $\alpha$ -葡萄糖苷酶(100  $\mu$ L,1.25 U/mL)、PBS(500  $\mu$ L,pH 6.8,0.1 mmol/L),混匀,37

$^{\circ}$ C保温20 min后,加入碳酸钠(1.5 mL,0.2 mol/L),混匀,于波长405 nm处测定吸光度值,计算抑制率。以沙葱多酚或阿卡波糖质量浓度为横坐标,抑制率为纵坐标绘制回归曲线,根据曲线方程计算求得 $IC_{50}$ 值<sup>[22]</sup>。

2) 抑制作用动力学测定 标准曲线的绘制:分别将1 mL不同浓度的PNP溶液(10~200  $\mu$ mol/L)与1.5 mL 0.2 mol/L  $Na_2CO_3$ 反应,于波长405 nm处测定吸光度值。以PNP浓度( $\mu$ mol/L)为横坐标,以吸光度值(A)为纵坐标,绘制标准曲线,得曲线方程为 $y = 0.007x + 0.1146$  (10~200  $\mu$ mol/L), $R^2 = 0.9937$ 。

抑制类型的测定方法如下<sup>[22]</sup>:分别将200  $\mu$ L不同质量浓度的沙葱多酚(游离酚:0.05,0.10,0.20 mg/mL;结合酚:1.0,1.5,2.0 mg/mL)、200  $\mu$ L底物PNPG(2 mmol/L)、500  $\mu$ L PBS、100  $\mu$ L系列浓度的 $\alpha$ -葡萄糖苷酶(1~3 U/mL)充分混匀,待反应结束后,加入1.5 mL  $Na_2CO_3$ (0.2 mol/L),之后测定吸光度值。将吸光度值代入PNP标准曲线方程,计算求得PNP的浓度。酶反应速率( $v$ )以单位时间内生成物的浓度表示,即PNP浓度( $\mu$ mol/L)/反应时间(min)。以反应速率对酶浓度作图,判断可逆与不可逆抑制作用;分别将200  $\mu$ L不同质量浓度的沙葱多酚(游离酚:0.5,1.0 mg/mL;结合酚:1,2 mg/mL)、200  $\mu$ L系列浓度的底物PNPG(0.125~2 mmol/L)、500  $\mu$ L PBS、100  $\mu$ L  $\alpha$ -葡萄糖苷酶(1.25 U/mL)充分混匀。待反应结束后,加入1.5 mL  $Na_2CO_3$ (0.2 mol/L),之后测定吸光度值,计算反应速率。绘制Lineweaver-Burk双倒数曲线,计算 $K_m$ 和 $v_{max}$ 。

1.2.5 数据处理 数据以( $\bar{x} \pm s$ )进行表示,采用SPSS 25.0统计软件进行单因素ANOVA差异统计学检验和各检测指标之间的相关性分析。采用Excel 2010和Origin进行作图。

## 2 结果与分析

### 2.1 沙葱总酚、黄酮和缩合单宁含量

沙葱总酚、黄酮和缩合单宁含量测定结果见表1。3个产地的沙葱游离酚和结合酚提取物总酚、黄酮和缩合单宁含量范围分别为251.09~433.38,345.49~521.27  $\mu$ g GAE/mg和230.59~512.94,



148.24~401.18  $\mu\text{g CAE/mg}$  以及 121.33~203.56 和 346.67~360.56  $\mu\text{g CAE/mg}$ 。就游离酚提取物而言,总酚、黄酮和缩合单宁的含量都呈现  $S2>S3>S1$  的趋势,且总酚和黄酮含量不同产地间差异均具有统计学意义;就结合酚提取物而言,总酚呈现

$S3>S2>S1$  的趋势,黄酮呈现  $S2>S3>S1$  的趋势,缩合单宁呈现  $S1>S2>S3$  的趋势,且黄酮含量不同产地间差异具有统计学意义,而缩合单宁不同产地间差异无统计学意义。

表 1 沙葱多酚提取物总酚、黄酮、缩合单宁含量

Table 1 The content of total phenolics, flavonoids and condensed tannins of polyphenol extracts from *A. mongolicum* Regel

多酚提取物	产地	总酚含量/ $(\mu\text{g GAE/mg})$	黄酮含量/ $(\mu\text{g CAE/mg})$	缩合单宁含量/ $(\mu\text{g CAE/mg})$
游离酚	S1	251.09 $\pm$ 6.78 <sup>a</sup>	230.59 $\pm$ 5.19 <sup>a</sup>	121.33 $\pm$ 4.50 <sup>b</sup>
	S2	433.38 $\pm$ 8.19 <sup>c</sup>	512.94 $\pm$ 6.38 <sup>c</sup>	203.56 $\pm$ 2.55 <sup>a</sup>
	S3	341.15 $\pm$ 7.53 <sup>b</sup>	318.82 $\pm$ 7.19 <sup>b</sup>	201.61 $\pm$ 1.92 <sup>a</sup>
结合酚	S1	345.49 $\pm$ 8.19 <sup>a</sup>	148.24 $\pm$ 4.64 <sup>a</sup>	360.56 $\pm$ 5.62 <sup>a</sup>
	S2	361.76 $\pm$ 8.19 <sup>a</sup>	401.18 $\pm$ 6.38 <sup>c</sup>	349.44 $\pm$ 5.73 <sup>a</sup>
	S3	521.27 $\pm$ 9.46 <sup>b</sup>	365.88 $\pm$ 6.96 <sup>b</sup>	346.67 $\pm$ 6.33 <sup>a</sup>

注:同列不同字母表示不同产地差异具有统计学意义( $P<0.05$ )。

此外,不同产地沙葱总酚、黄酮和缩合单宁在不同结合态的多酚提取物中的含量存在差异。就总酚含量而言,S1 和 S3 游离酚提取物中的含量低于结合酚,而 S2 结合酚提取物中的含量低于游离酚;就黄酮含量而言,S1 和 S2 游离酚提取物中的含量高于结合酚,而 S3 结合酚提取物中的含量高于游离酚;就缩合单宁含量而言,3 个产地都是结合酚提取物中的含量高于游离酚。

多酚在植物体内主要通过莽草酸途径和苯丙氨酸途径进行合成与代谢,涉及的酶包括苯丙氨酸解氨酶(PAL)、酪氨酸氨基转移酶(TAT)、4-香豆酸辅酶 A 连接酶(4CL)、肉桂酸-4-羟基化酶(C4H)、查尔酮合酶(CHS)、多酚氧化酶(PPO)等<sup>[23-25]</sup>。低温胁迫、重金属盐、除草剂和调节剂处理以及病毒、真菌和昆虫的攻击都会影响酶的合成或酶的活性<sup>[25]</sup>。3 个产地内蒙(S1)、甘肃(S2)和宁夏(S3)其土壤性质、气候特征存在差异,且栽培条件如灌溉、施肥、农药的使用也不尽相同,影响了酶的合成与活性,从而影响了多酚类物质的合成与代谢,造成了不同产地沙葱多酚类物质含量的差异。

## 2.2 沙葱多酚的抗氧化活性

沙葱游离酚和结合酚提取物的抗氧化活性见表 2~4。采用 DPPH 自由基清除活性、铁还原抗氧化能力、Trolox 等量抗氧化活性以及对非定位和

定位  $\text{HO}\cdot$  介导的 2-脱氧-D-核糖裂解的抑制作用综合评价沙葱的抗氧化活性。结果显示,3 个产地的沙葱游离酚和结合酚提取物 DPPH 自由基清除活性、FRAP 和 TEAC 范围分别为 175.02~248.81, 447.14~623.95  $\mu\text{mol TE/g}$ 、646.22~842.89, 1051.78~1866.22  $\mu\text{mol Fe(II)/g}$  以及 54.95~87.95, 441.17~714.50  $\mu\text{mol TE/g}$ ,均小于阳性对照 VC。就游离酚提取物而言,DPPH 自由基清除活性和 TEAC 都呈现  $S2>S3>S1$  的趋势,而 FRAP 呈现  $S2>S1>S3$  的趋势;就结合酚提取物而言,DPPH 自由基清除活性呈现  $S1>S2>S3$  的趋势,FRAP 呈现  $S2>S1>S3$  的趋势,TEAC 呈现  $S2>S3>S1$  的趋势。

由表 3 可知,在非定位  $\text{HO}\cdot$  介导的 2-脱氧-D-核糖裂解体系中,0.25~4 mg/mL 范围内,沙葱多酚提取物的抑制作用随着质量浓度的增加而增加,呈现良好的对数曲线关系(除 S3 游离酚呈线性), $R^2$  均大于 0.9。S1、S2、S3 的沙葱游离酚和结合酚提取物的  $\text{IC}_{50}$  值分别为 1.54, 1.14, 2.17 mg/mL 和 0.94, 0.62, 0.62 mg/mL, 大于阳性对照 Trolox ( $\text{IC}_{50}$ : 8.31  $\mu\text{g/mL}$ )。由表 4 可知,在定位体系中,0.25~5 mg/mL 范围内,S1、S2、S3 的沙葱游离酚和结合酚提取物质量浓度与抑制作用呈现良好的线性关系, $R^2$  均大于 0.9, $\text{IC}_{50}$  值分别为 3.39, 3.70, 3.58 mg/mL 和 3.99, 2.80, 3.21 mg/mL, 大于阳性对照 Trolox ( $\text{IC}_{50}$ : 7.9  $\mu\text{g/mL}$ ), 表明沙葱多酚提取物

表2 沙葱多酚提取物 DPPH 自由基清除活性、FRAP 和 TEAC

Table 2 DPPH free radical scavenging activity, FRAP and TEAC of polyphenol extracts from *A. mongolicum* Regel

多酚提取物	产地	DPPH 自由基清除活性/( $\mu\text{mol TE/g}$ )	FRAP/[ $\mu\text{mol Fe(II)/g}$ ]	TEAC/( $\mu\text{mol TE/g}$ )
游离酚	S1	175.02 $\pm$ 2.66 <sup>a</sup>	734.00 $\pm$ 31.80 <sup>b</sup>	54.95 $\pm$ 2.17 <sup>a</sup>
	S2	248.81 $\pm$ 7.05 <sup>c</sup>	842.89 $\pm$ 16.44 <sup>c</sup>	87.95 $\pm$ 2.88 <sup>b</sup>
	S3	198.08 $\pm$ 2.66 <sup>b</sup>	646.22 $\pm$ 5.09 <sup>a</sup>	86.45 $\pm$ 1.32 <sup>b</sup>
结合酚	S1	623.95 $\pm$ 17.46 <sup>b</sup>	1 755.11 $\pm$ 35.95 <sup>b</sup>	441.17 $\pm$ 16.65 <sup>a</sup>
	S2	453.29 $\pm$ 7.05 <sup>a</sup>	1 866.22 $\pm$ 7.70 <sup>c</sup>	714.50 $\pm$ 6.61 <sup>c</sup>
	S3	447.14 $\pm$ 14.09 <sup>a</sup>	1 051.78 $\pm$ 40.04 <sup>a</sup>	567.00 $\pm$ 13.92 <sup>b</sup>
VC		8.07 $\times 10^3$	2.23 $\times 10^4$	3.43 $\times 10^3$

注:同列不同字母表示不同产地差异具有统计学意义( $P < 0.05$ )。

表3 沙葱多酚提取物对非定位 HO· 介导 2-脱氧-D-核糖裂解的抑制作用

Table 3 Inhibition of polyphenol extracts from *A. mongolicum* Regel on non-site HO· -mediated

2-deoxyribose degradation

	游离酚/%			结合酚/%		
	S1	S2	S3	S1	S2	S3
0.25 mg/mL	7.29 $\pm$ 0.42	17.40 $\pm$ 0.81	14.00 $\pm$ 1.66	13.23 $\pm$ 1.68	34.33 $\pm$ 3.27	26.27 $\pm$ 1.75
0.5 mg/mL	16.37 $\pm$ 1.95	25.91 $\pm$ 0.68	18.53 $\pm$ 0.61	46.09 $\pm$ 0.85	47.02 $\pm$ 3.74	48.34 $\pm$ 0.31
1 mg/mL	23.75 $\pm$ 1.98	34.61 $\pm$ 2.16	29.31 $\pm$ 2.74	55.51 $\pm$ 2.82	50.99 $\pm$ 3.86	67.00 $\pm$ 2.34
2 mg/mL	68.36 $\pm$ 0.42	69.31 $\pm$ 0.14	46.44 $\pm$ 0.46	62.42 $\pm$ 1.28	73.62 $\pm$ 2.27	74.72 $\pm$ 1.40
4 mg/mL	75.55 $\pm$ 0.42	85.85 $\pm$ 1.35	84.16 $\pm$ 1.37	79.86 $\pm$ 0.99	93.48 $\pm$ 5.46	78.37 $\pm$ 3.43
拟合曲线	$y = 27.198\ln(x) + 38.2637$	$y = 26.013\ln(x) + 46.616$	$y = 18.634x + 9.6085$	$y = 21.583\ln(x) + 51.423$	$y = 20.908\ln(x) + 59.89$	$y = 18.838\ln(x) + 58.94$
相关系数 ( $R^2$ )	0.9000	0.9339	0.9995	0.9195	0.9479	0.9112
IC <sub>50</sub> /(mg/mL)	1.54	1.14	2.17	0.94	0.62	0.62

表4 沙葱多酚提取物对定位 HO· 介导 2-脱氧-D-核糖裂解的抑制作用

Table 4 Inhibition of polyphenol extracts from *A. mongolicum* Regel on site HO· -mediated

2-deoxyribose degradation

	游离酚/%			结合酚/%		
	S1	S2	S3	S1	S2	S3
0.25 mg/mL	18.57 $\pm$ 0.53	8.07 $\pm$ 0.28	13.93 $\pm$ 2.70	10.57 $\pm$ 1.52	10.31 $\pm$ 0.37	14.73 $\pm$ 0.62
0.5 mg/mL	22.70 $\pm$ 0.80	11.61 $\pm$ 0.28	19.85 $\pm$ 0.06	15.05 $\pm$ 1.27	15.68 $\pm$ 1.10	25.57 $\pm$ 1.75
1 mg/mL	29.27 $\pm$ 2.12	19.39 $\pm$ 0.42	27.23 $\pm$ 0.90	23.92 $\pm$ 0.63	19.41 $\pm$ 0.49	32.01 $\pm$ 0.62
2 mg/mL	37.71 $\pm$ 2.57	31.40 $\pm$ 1.81	37.70 $\pm$ 2.58	34.86 $\pm$ 0.63	34.58 $\pm$ 1.84	41.53 $\pm$ 0.37
4 mg/mL	52.35 $\pm$ 2.62	54.04 $\pm$ 2.09	52.82 $\pm$ 0.52	48.75 $\pm$ 0.51	68.98 $\pm$ 0.49	58.73 $\pm$ 1.25
5 mg/mL	67.45 $\pm$ 1.19	64.27 $\pm$ 3.20	63.30 $\pm$ 1.16	59.05 $\pm$ 0.63	86.66 $\pm$ 2.21	64.64 $\pm$ 0.87
拟合曲线	$y = 9.5066x + 17.807$	$y = 11.778x + 6.4356$	$y = 9.7448x + 15.1$	$y = 9.6576x + 11.512$	$y = 15.999x + 5.2709$	$y = 9.6563x + 19.016$
相关系数 ( $R^2$ )	0.9865	0.9974	0.9837	0.9786	0.9960	0.9585
IC <sub>50</sub> /(mg/mL)	3.39	3.70	3.58	3.99	2.80	3.21

的抑制作用弱于 Trolox。在非定位体系中,游离酚提取物的抑制作用呈现 S2>S1>S3 的趋势,结合酚提取物呈现 S2 和 S3 相同,且强于 S1 的趋势;在

定位体系中,游离酚提取物的抑制作用呈现 S1>S3>S2 的趋势,结合酚提取物呈现 S2>S3>S1 的趋势。

在非定位体系中,EDTA 与  $\text{Fe}^{2+}$  络合, Fenton 反应产生的  $\text{HO}\cdot$  以“游离”的形式存在, 通过扩散作用攻击核糖分子, 使其裂解为丙二醛, 沙葱多酚提取物通过直接清除  $\text{HO}\cdot$  来抑制脱氧核糖的裂解。在定位体系中, 不加 EDTA,  $\text{Fe}^{2+}$  能够直接结合到核糖分子上, 在特定位点产生  $\text{HO}\cdot$ , 使核糖分子发生裂解, 沙葱多酚提取物通过络合  $\text{Fe}^{2+}$  来抑制脱氧核糖的裂解。结果显示, 沙葱多酚提取物对非定位  $\text{HO}\cdot$  介导的 2-脱氧-D-核糖裂解的抑制作用强于定位  $\text{HO}\cdot$ , 这可归因于两种体系反应机理的差异, 且说明沙葱多酚提取物清除  $\text{HO}\cdot$  的能力强于络合  $\text{Fe}^{2+}$  的能力。

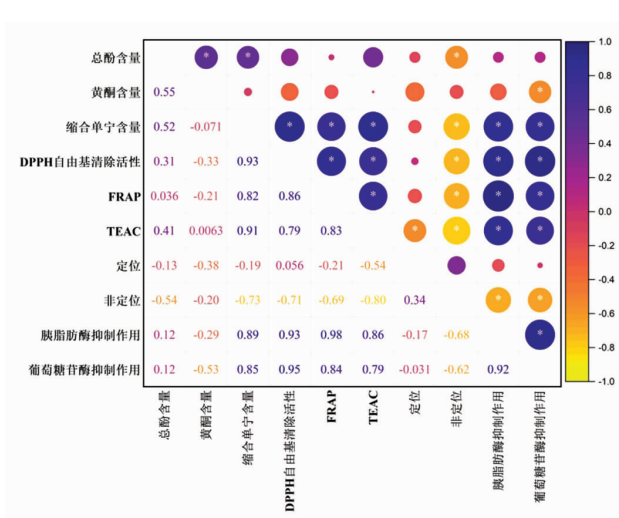
相关性分析结果表明(图 1), 沙葱多酚提取物黄酮含量与 5 种抗氧化体系均无显著相关性, 总酚含量仅与非定位  $\text{HO}\cdot$  介导的 2-脱氧-D-核糖裂解的抑制作用显著相关, 而缩合单宁除定位羟自由基体系外, 与其它 4 种抗氧化能力均具有显著的相关性( $P < 0.05$ ), 表明缩合单宁对沙葱多酚提取物的抗氧化能力具有显著的贡献。同时, DPPH 自由基清除活性、FRAP、TEAC、非定位  $\text{HO}\cdot$  介导 2-脱氧核糖裂解的抑制作用之间具有显著的正相关性( $P < 0.05$ ), 这可能与均是基于单电子转移的反应机理有关。

此外, 除了对定位  $\text{HO}\cdot$  介导的 2-脱氧-D-核糖裂解的抑制作用, 沙葱结合酚提取物的抗氧化能力均强于游离酚。萨茹丽<sup>[26]</sup>鉴定出芦丁、槲皮苷、3', 4'-环氧基-7-O-5-甲氧基黄酮醇、7-O-5, 4'-二甲氧基-3'-羟基黄酮是沙葱中主要的黄酮类物质, 而关于沙葱结合酚提取物中酚类化合物单体的组成尚未见报道。沙葱游离酚和结合酚提取物抗氧化活性的差异, 可归因于其总酚、黄酮和缩合单宁含量的不同以及提取物中酚类化合物单体组成的差异。

## 2.3 沙葱多酚对消化酶的抑制作用及动力学

### 2.3.1 抑制作用

沙葱多酚提取物对胰脂肪酶的抑制作用见表 5。在 0.25~4 mg/mL 范围内, 沙葱游离酚提取物质量浓度与抑制作用呈现良好的线性关系,  $R^2$  均大于 0.9,  $\text{IC}_{50}$  值范围为 2.5076~3.0939 mg/mL; 在 1~16 mg/mL 范围内, 与游离酚提取物相同, 沙葱结合酚提取物质量浓度与抑制作用也呈现良好的线性关系,  $R^2$  均大于 0.9,  $\text{IC}_{50}$  值范围为



注: “\*”表示  $P \leq 0.05$ 。

图 1 相关性分析热图

Fig.1 Heat map of correlation analysis

7.8453~13.7271 mg/mL。结果表明, 沙葱游离酚和结合酚提取物对胰脂肪酶的抑制作用弱于阳性对照奥利司他( $\text{IC}_{50}$ : 0.3637 mg/mL)。抑制胰脂肪酶是改变体内脂肪吸收的有效途径, 已有研究表明, 类黄酮和单宁具有胰脂肪酶抑制活性<sup>[27-28]</sup>, 这些分子可以通过与酶的非特异性结合使脂肪酶失活<sup>[29]</sup>。沙葱多酚提取物对胰脂肪酶的抑制作用表明其具有抑制脂肪吸收, 预防和治疗肥胖的潜力。

沙葱多酚提取物对葡萄糖苷酶的抑制作用见表 6。在 0.5~8 mg/mL 范围内, 沙葱游离酚和结合酚提取物浓度与抑制作用呈现良好的对数曲线关系,  $R^2$  均大于 0.9,  $\text{IC}_{50}$  值范围分别为 1.1530~2.0592, 3.6660~5.1354 mg/mL, 低于阳性对照阿卡波糖( $\text{IC}_{50}$ : 6.7645 mg/mL), 表明沙葱多酚提取物对葡萄糖苷酶的抑制作用强于阿卡波糖, 具有防治糖尿病的潜力。沙葱多酚提取物中多酚类物质化学结构中的羟基与葡萄糖苷酶结合, 可能改变了酶的二级结构和活性部位<sup>[30-31]</sup>, 从而抑制了其活性。

相关性分析结果显示(图 1), 提取物总酚含量与消化酶抑制作用无显著相关性, 黄酮含量与葡萄糖苷酶抑制活性显著相关, 缩合单宁含量与胰脂肪酶和葡萄糖苷酶抑制作用显著相关, 胰脂肪酶与葡萄糖苷酶抑制作用之间具有显著相关性。沙葱多酚提取物对葡萄糖苷酶和胰脂肪酶的

抑制作用与其所含的不同酚类化合物单体以及这些单体物质与酶的结合位点和相互作用方式有关<sup>[29-31]</sup>。此外,与结合酚提取物相比,游离酚提取物

表现出更强的酶抑制作用,这可归因于两种多酚提取中多酚类物质组成的差异。

表5 沙葱多酚提取物对胰脂肪酶的抑制作用

Table 5 Inhibitory effect of polyphenol extracts from *A. mongolicum* Regel on pancreatic lipase

	游离酚/%				结合酚/%		
	S1	S2	S3		S1	S2	S3
0.25 mg/mL	14.17 ± 0.70	19.82 ± 0.71	10.22 ± 0.21	1 mg/mL	5.84 ± 1.09	10.04 ± 0.00	24.48 ± 1.71
0.5 mg/mL	18.88 ± 0.01	22.31 ± 1.33	18.01 ± 0.85	2 mg/mL	10.21 ± 1.34	16.01 ± 1.18	29.09 ± 1.17
1 mg/mL	25.76 ± 0.60	25.37 ± 0.52	27.68 ± 1.96	4 mg/mL	16.96 ± 2.31	20.24 ± 2.27	36.25 ± 0.18
2 mg/mL	46.87 ± 1.91	39.30 ± 0.03	40.73 ± 0.51	8 mg/mL	28.98 ± 2.37	32.58 ± 2.36	50.38 ± 1.22
4 mg/mL	71.16 ± 0.05	59.68 ± 1.48	64.75 ± 1.13	16 mg/mL	58.29 ± 2.61	59.77 ± 2.06	79.77 ± 3.84
拟合曲线	$y = 15.338x + 11.552$	$y = 10.682x + 16.951$	$y = 13.93x + 10.687$	拟合曲线	$y = 3.4466x + 2.6883$	$y = 3.2289x + 7.7077$	$y = 3.6507x + 21.359$
相关系数( $R^2$ )	0.9877	0.9926	0.9823	相关系数( $R^2$ )	0.9986	0.9965	0.9997
IC <sub>50</sub> /(mg/mL)	2.5076	3.0939	2.8222	IC <sub>50</sub> /(mg/mL)	13.7271	13.0981	7.8453

表6 沙葱多酚提取物对葡萄糖苷酶的抑制作用

Table 6 Inhibitory effect of polyphenol extracts from *A. mongolicum* Regel on  $\alpha$ -glucosidase

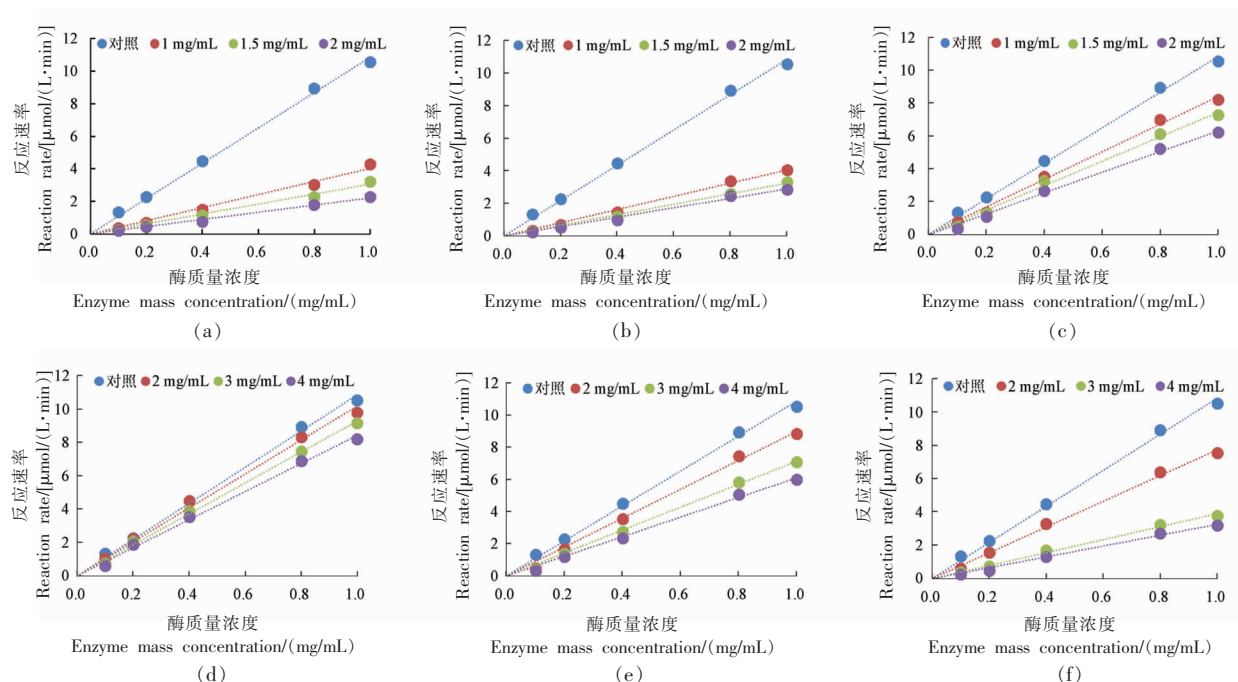
	游离酚/%				结合酚/%		
	S1	S2	S3		S1	S2	S3
0.5 mg/mL	11.84 ± 2.39	27.48 ± 3.08	15.66 ± 1.77	10.69 ± 1.30	10.48 ± 0.36	10.99 ± 1.87	
1 mg/mL	29.29 ± 4.82	42.80 ± 2.37	30.10 ± 1.12	19.75 ± 1.96	19.34 ± 1.73	16.91 ± 1.08	
2 mg/mL	46.36 ± 2.39	69.42 ± 1.47	57.49 ± 3.44	29.50 ± 2.20	34.20 ± 1.22	35.57 ± 2.37	
4 mg/mL	65.97 ± 1.75	85.14 ± 2.21	83.10 ± 4.29	42.89 ± 0.67	63.72 ± 2.46	64.22 ± 0.53	
8 mg/mL	92.38 ± 1.21	98.01 ± 0.39	97.07 ± 1.23	70.26 ± 1.23	88.17 ± 1.55	91.61 ± 1.68	
拟合曲线	$y = 28.531\ln(x) + 29.392$	$y = 26.458\ln(x) + 46.232$	$y = 31.136\ln(x) + 35.102$	$y = 7.5575x + 11.189$	$y = 10.319x + 11.191$	$y = 10.846x + 10.239$	
相关系数( $R^2$ )	0.9911	0.9851	0.9870	0.9844	0.9514	0.9576	
IC <sub>50</sub> /(mg/mL)	2.0592	1.1530	1.6136	5.1354	3.7609	3.6660	

2.3.2 抑制作用动力学 由图2和图3可以看出,在不同沙葱游离酚(1~2 mg/mL)和结合酚(2~4 mg/mL)质量浓度下,分别以反应速率(纵坐标)对酶质量浓度(横坐标)作图,所得曲线均为一组通过原点但斜率不同的直线,且随着多酚质量浓度的增加,直线斜率逐渐减小,表明其属于可逆抑制类型。沙葱多酚提取物与胰脂肪酶或葡萄糖苷酶以非共价键结合而引起酶活力降低或丧失,采用一些物理方法如透析、凝胶过滤或超滤除去沙葱多酚提取物后,酶的活性可以复活。

由图4和图5可以看出,双倒数作图直线相交于第3象限,斜率和截距均随多酚质量浓度的

增大而增加;根据表7和表8中的数据可以看出, $K_m$ 和 $v_{max}$ 均随着多酚质量浓度的增加而减小,表明沙葱多酚对胰脂肪酶和葡萄糖苷酶的抑制类型属于混合非竞争性抑制<sup>[32]</sup>。沙葱多酚提取物可以与酶以及酶底物复合物结合生成酶底物多酚抑制剂复合物,而不是一个催化位点。已有报道称,蚕豆游离态、结合态多酚对 $\alpha$ -葡萄糖苷酶的抑制作用类型为非竞争性抑制<sup>[33]</sup>,而海菜花多酚提取物对 $\alpha$ -葡萄糖苷酶的抑制作用类型为混合非竞争性抑制,对胰脂肪酶的抑制作用类型为竞争性抑制。由于提取物中酚类化合物单体组成的差异,与酶的结合方式不同,致使抑制类型存在差异。

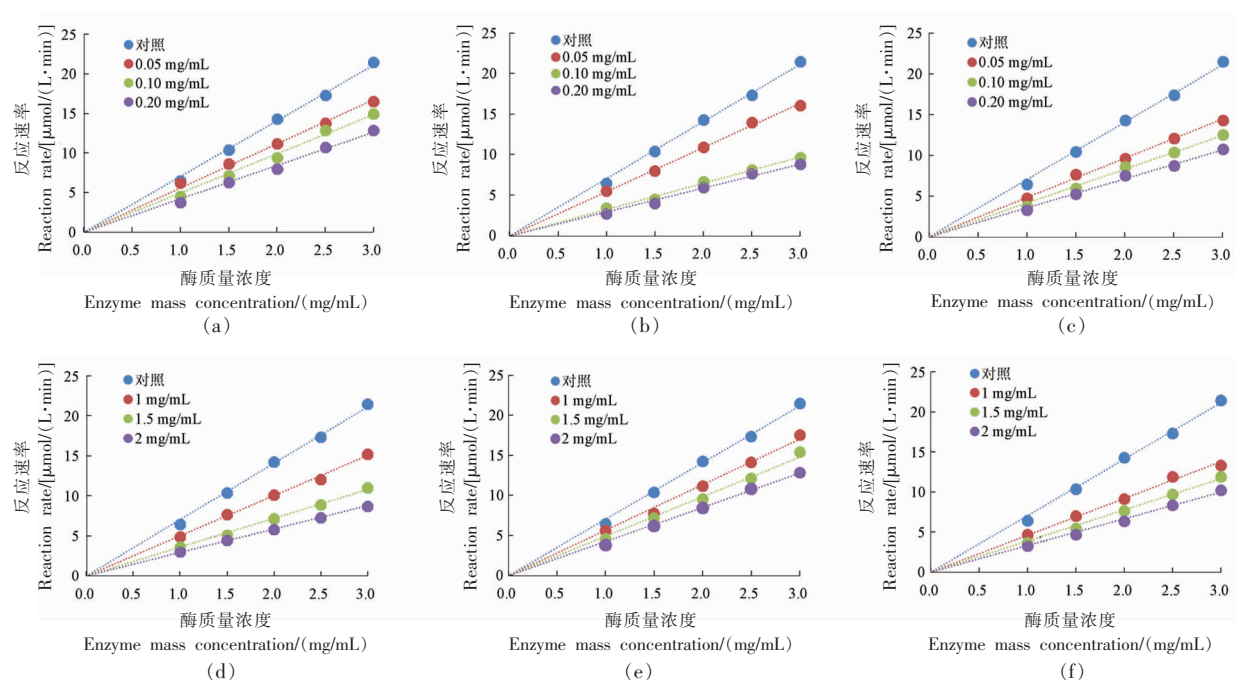




注:a~c 分别为 S1~S3 沙葱游离酚提取物,d~f 分别为 S1~S3 沙葱结合酚提取物。

图 2 沙葱多酚提取物胰脂肪酶可逆抑制作用曲线

Fig.2 Reversible inhibition curve for the inhibition of lipase of *A. mongolicum* Regel polyphenol extracts

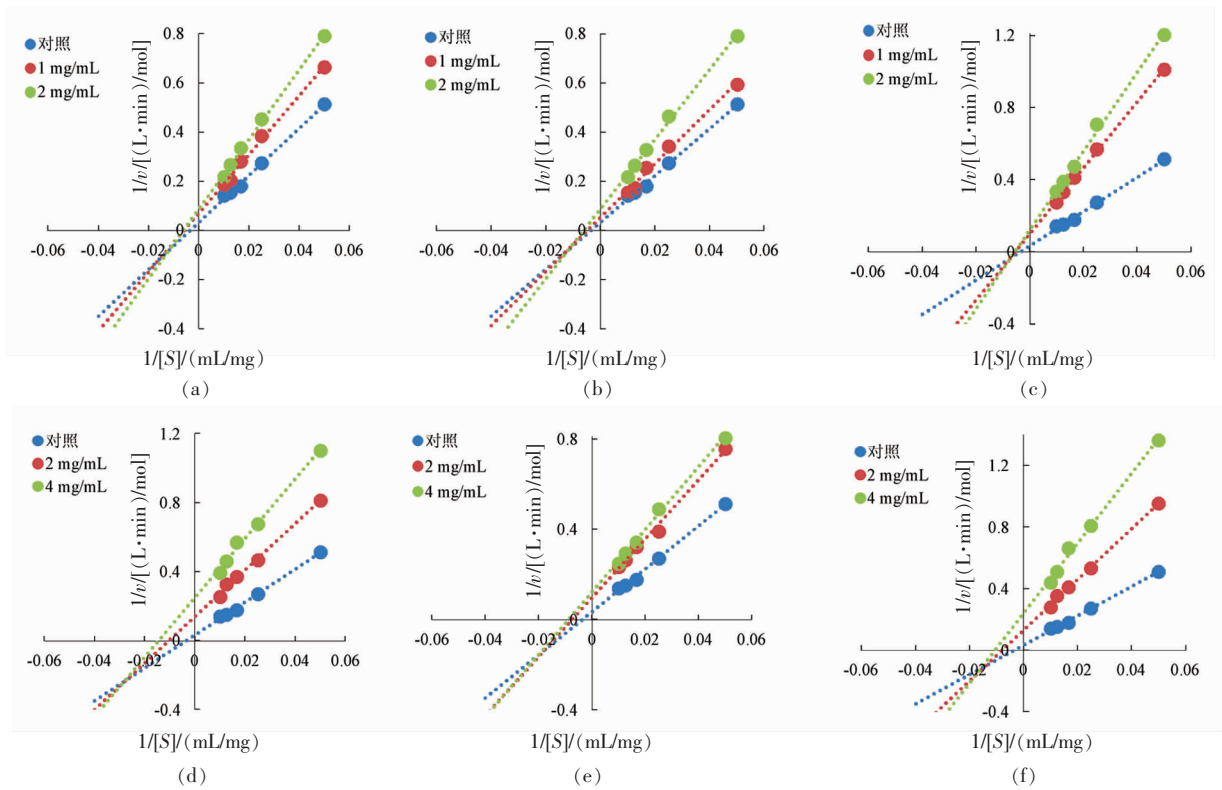


注:a~c 分别为 S1~S3 沙葱游离酚提取物,d~f 分别为 S1~S3 沙葱结合酚提取物。

图 3 沙葱多酚提取物葡萄糖苷酶可逆抑制作用曲线

Fig.3 Reversible inhibition curve for the inhibition of glucosidase of *A. mongolicum* Regel polyphenol extracts

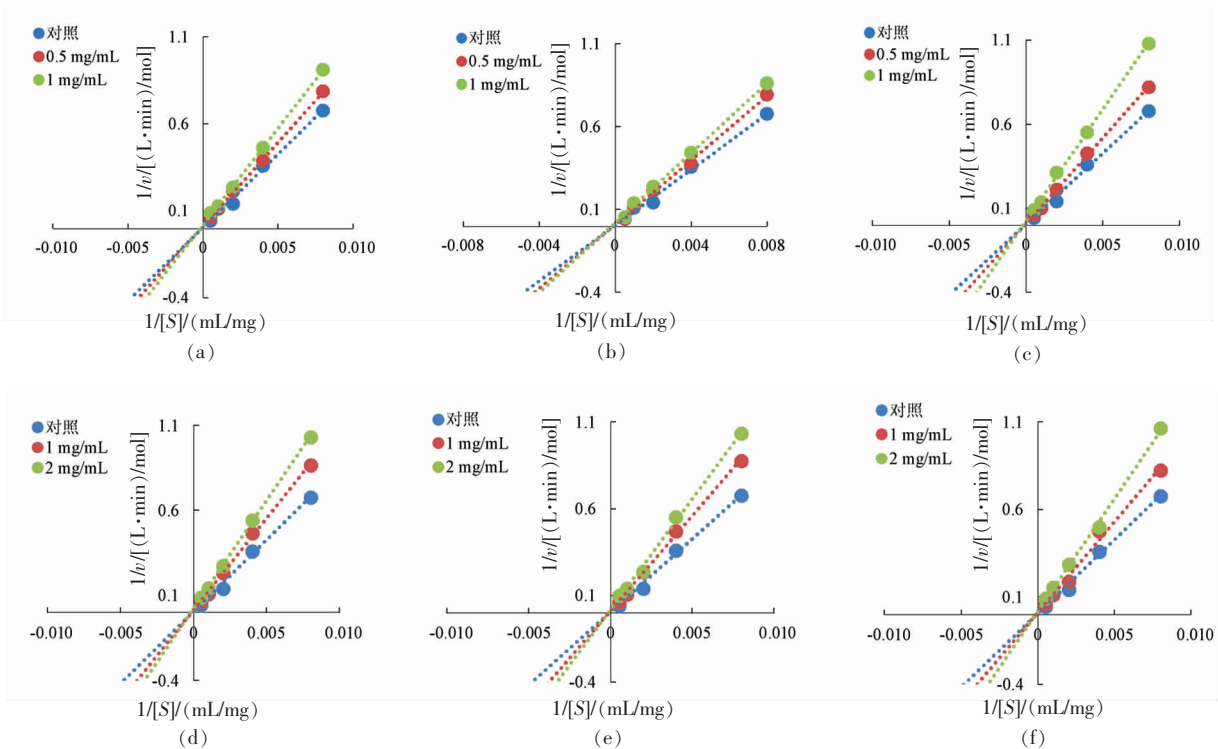




注:a-c 分别为 S1~S3 沙葱游离酚提取物,d-f 分别为 S1~S3 沙葱结合酚提取物。

图 4 沙葱多酚提取物胰脂酶抑制作用的 Lineweaver-Burk 曲线

Fig.4 Lineweaver-Burk double-reciprocal plots for the inhibition of lipase of *A. mongolicum* Regel polyphenol extracts



注:a-c 分别为 S1~S3 沙葱游离酚提取物,d-f 分别为 S1~S3 沙葱结合酚提取物。

图 5 沙葱多酚提取物葡萄糖苷酶抑制作用的 Lineweaver-Burk 曲线

Fig.5 Lineweaver-Burk double-reciprocal plots for the inhibition of  $\alpha$ -glucosidase of *A. mongolicum* Regel polyphenol extracts

表 7 沙葱多酚提取物胰脂肪酶抑制作用动力学参数

Table 7 Kinetic properties for the inhibition of lipase by the polyphenol extracts from *A. mongolicum* Regel

动力学参数	游离酚			结合酚		
	S1	S2	S3	S1	S2	S3
$K_m/(\mu\text{mol/L})$	280.48	280.48	280.48	280.48	280.48	280.48
$K_m'/(\mu\text{mol/L})$	168.37	190.02	180.33	95.84	135.46	124.88
	(1 mg/mL)	(1 mg/mL)	(1 mg/mL)	(2 mg/mL)	(2 mg/mL)	(2 mg/mL)
$K_m'/(\mu\text{mol/L})$	158.85	160.45	177.44	69.3	115.04	93.58
	(2 mg/mL)	(2 mg/mL)	(2 mg/mL)	(4 mg/mL)	(4 mg/mL)	(4 mg/mL)
$v_{\max}/[\mu\text{mol}/(\text{L}\cdot\text{min})]$	29.41	29.41	29.41	29.41	29.41	29.41
$v_{\max}'/[\mu\text{mol}/(\text{L}\cdot\text{min})]$	14.08	17.33	9.85	7.12	10.38	7.59
	(1 mg/mL)	(1 mg/mL)	(1 mg/mL)	(2 mg/mL)	(2 mg/mL)	(2 mg/mL)
$v_{\max}'/[\mu\text{mol}/(\text{L}\cdot\text{min})]$	11.24	11.31	8.12	4.02	8.30	4.13
	(2 mg/mL)	(2 mg/mL)	(2 mg/mL)	(4 mg/mL)	(4 mg/mL)	(4 mg/mL)
抑制类型	混合非竞争性抑制			混合非竞争性抑制		

注:括号内数值表示沙葱多酚提取物质量浓度。

表 8 沙葱多酚提取物  $\alpha$ -葡萄糖苷酶抑制作用动力学参数Table 8 Kinetic properties for the inhibition of  $\alpha$ -glucosidase by the polyphenol extracts from *A. mongolicum* Regel

动力学参数	游离酚			结合酚		
	S1	S2	S3	S1	S2	S3
$K_m/(\mu\text{mol/L})$	12.22	12.22	12.22	12.22	12.22	12.22
$K_m'/(\mu\text{mol/L})$	5.61	7.87	11.48	6.11	8.97	8.17
	(0.5 mg/mL)	(0.5 mg/mL)	(0.5 mg/mL)	(1 mg/mL)	(1 mg/mL)	(1 mg/mL)
$K_m'/(\mu\text{mol/L})$	4.78	4.95	5.24	4.81	6.97	6.16
	(1 mg/mL)	(1 mg/mL)	(1 mg/mL)	(2 mg/mL)	(2 mg/mL)	(2 mg/mL)
$v_{\max}/[\mu\text{mol}/(\text{L}\cdot\text{min})]$	144.93	144.93	144.93	144.93	144.93	144.93
$v_{\max}'/[\mu\text{mol}/(\text{L}\cdot\text{min})]$	58.48	81.30	112.36	56.82	81.97	78.74
	(0.5 mg/mL)	(0.5 mg/mL)	(0.5 mg/mL)	(1 mg/mL)	(1 mg/mL)	(1 mg/mL)
$v_{\max}'/[\mu\text{mol}/(\text{L}\cdot\text{min})]$	43.10	46.95	39.53	38.02	54.64	47.85
	(1 mg/mL)	(1 mg/mL)	(1 mg/mL)	(2 mg/mL)	(2 mg/mL)	(2 mg/mL)
抑制类型	混合非竞争性抑制			混合非竞争性抑制		

注:括号内数值表示沙葱多酚提取物质量浓度。

## 2.4 主成分分析

基于提取物总酚含量、黄酮含量、缩合单宁含量、抗氧化能力和消化酶抑制活性,采用主成分分析对沙葱游离酚和结合酚提取物的品质进行综合评价,结果见表 9。在 10 个变量指标中共提取了 3 个主成分(特征值>1),主成分 1(F1)的特征值为 6.182,特征贡献率为 61.825%,主要综合了缩合单宁含量、DPPH 自由基清除能力、FRAP、TEAC 和消化酶抑制作用;主成分 2(F2)的特征值为 2.113,特征贡献率为 21.13%,主要综合了总酚含量和黄酮含量;主成分 3(F3)的特征值为 1.045,

特征贡献率为 10.45%,主要综合了对定位 HO·介导的 2-脱氧-D-核糖裂解的抑制作用。构建各主成分的线性模型,得出 3 个主成分的表达式分别为  $F1=0.141Z_1 - 0.069Z_2 + 0.384Z_3 + 0.382Z_4 + 0.369Z_5 + 0.377Z_6 - 0.099Z_7 - 0.327Z_8 + 0.387Z_9 + 0.370Z_{10}$ ;  $F2=0.489Z_1 + 0.632Z_2 + 0.065Z_3 - 0.141Z_4 - 0.109Z_5 + 0.160Z_6 - 0.398Z_7 - 0.258Z_8 - 0.133Z_9 - 0.240Z_{10}$ ;  $F3=0.551Z_1 + 0.051Z_2 + 0.157Z_3 + 0.221Z_4 - 0.190Z_5 - 0.197Z_6 + 0.730Z_7 - 0.064Z_8 - 0.093Z_9 + 0.032Z_{10}$ 。

表9 主成分特征向量、特征值、方差贡献率及累计方差贡献率

Table 9 Principal component eigenvectors, eigenvalues, variance contribution rate and cumulative variance contribution rate

变量	指标	F1	F2	F3
Z <sub>1</sub>	总酚含量	0.141	0.489	0.551
Z <sub>2</sub>	黄酮含量	-0.068	0.632	0.051
Z <sub>3</sub>	缩合单宁含量	0.384	0.065	0.157
Z <sub>4</sub>	DPPH 自由基清除能力	0.382	-0.141	0.221
Z <sub>5</sub>	FRAP	0.369	-0.109	-0.190
Z <sub>6</sub>	TEAC	0.377	0.160	-0.197
Z <sub>7</sub>	定位 HO· 介导的 2-脱氧-D-核糖裂解的抑制作用	-0.099	-0.398	0.730
Z <sub>8</sub>	非定位 HO· 介导的 2-脱氧-D-核糖裂解的抑制作用	-0.327	-0.258	-0.064
Z <sub>9</sub>	胰脂肪酶抑制作用	0.387	-0.133	-0.093
Z <sub>10</sub>	葡萄糖苷酶抑制作用	0.370	-0.240	0.032
	特征值	6.182	2.113	1.045
	方差贡献率/%	61.825	21.130	10.450
	累计贡献率/%	61.825	82.955	93.407

F1、F2 和 F3 这 3 个主成分从不同方面体现了沙葱游离酚和结合酚的品质,按照各主成分的方差贡献率占所提取的主成分的累计方差贡献率的比重,对主成分得分进行加权求和,得综合得分表达式为  $F_{合}=0.618F1+0.211F2+0.105F3$ 。由表

10 可知,综合得分最高的是 S2 产地的结合酚提取物,得分最低的是 S1 产地的游离酚。整体而言,结合酚综合得分高于游离酚,表明就酚类物质的含量、抗氧化能力和消化酶抑制活性而言,沙葱结合酚提取物的综合品质高于游离酚。

表 10 沙葱多酚提取物主成分得分、综合得分和排名

Table 10 Principal component scores, comprehensive score and ranking of polyphenol extracts from *A. mongolicum* Regel

提取物	F1	F2	F3	综合得分	排名
S1 游离酚	-7.86	-3.2	-3.07	-5.85	6
S2 游离酚	-5.54	4.28	3.03	-2.21	4
S3 游离酚	-7.97	-1.38	0.09	-5.2	5
S1 结合酚	8.27	-6.96	2.64	3.91	3
S2 结合酚	8.18	2.79	-4.74	5.15	1
S3 结合酚	4.9	4.5	2.06	4.2	2

### 3 结论

沙葱游离酚和结合酚提取物含有丰富的总酚、黄酮和缩合单宁,且由于土壤、气候、栽培条件的差异,不同产地其含量存在差异。沙葱多酚提取物具有一定的 DPPH 自由基清除活性、FRAP、TEAC、抑制非定位和定位 HO· 介导的 2-脱氧-D-核糖裂解的作用,且总体而言,沙葱结合酚提取物的抗氧化能力强于游离酚。沙葱多酚提取物对胰脂肪酶和  $\alpha$ -葡萄糖苷酶的抑制作用均属于混合非竞争性抑制,且对葡萄糖苷酶的抑制作用强于

阿卡波糖。同时,游离酚提取物对消化酶的抑制作用强于结合酚。就酚类物质的含量、抗氧化能力和消化酶抑制作用而言,沙葱结合酚提取物的综合品质高于游离酚,应加大对结合酚单体组成的分析及功能活性的评价。

### 参 考 文 献

- [1] 阎成灿,郭崇真,林建阳. 新型  $\alpha$ -葡萄糖苷酶抑制剂筛选及药理作用研究进展[J]. 药物评价研究,

- 2021, 44(2): 440–443.
- YAN C D, GUO C Z, LIN J Y. Research progress of screen and pharmacological effect for novel  $\alpha$ -glucosidase[J]. Drug Evaluation Research, 2021, 44(2): 440–443.
- [2] 侯旭东, 胡情, 马丽娟, 等. 源于中药的胰脂肪酶抑制剂研究进展[J]. 药学学报, 2020, 55(7): 1478–1493.
- HOU X D, HU Q, MA L J, et al. Recent advances on pancreatic lipase inhibitors from Chinese herbs[J]. Acta Pharmaceutica Sinica, 2020, 55(7): 1478–1493.
- [3] SIEGIEŃ J, BUCHHOLZ T, POPOWSKI D, et al. Pancreatic lipase and  $\alpha$ -amylase inhibitory activity of extracts from selected plant materials after gastrointestinal digestion *in vitro*[J]. Food Chemistry, 2021, 355(1): 129414.
- [4] 康乐乐, 刘旺景, 赵霞芳, 等. 刈割期及产地对沙葱常规营养成分的影响[J]. 农业科技与信息, 2022(4): 91–94.
- KANG L L, LIU W J, ZHAO X F, et al. Effect of cutting period and origin on the conventional nutrients of *Allium mongolicum* [J]. Agricultural Science–Technology and Information, 2022(4): 91–94.
- [5] 王国泽, 高山, 李昊虬, 等. 沙葱的生理特性、功能性成分及开发利用[J]. 湖北农业科学, 2013, 52(15): 3482–3484.
- WANG G Z, GAO S, LI H Q, et al. Physiological characteristics, functional components, and development and utilization of *Allium mongolicum* Regel[J]. Hubei Agricultural Sciences, 2013, 52(15): 3482–3484.
- [6] 张青, 孙志惠, 付华. 沙葱生物活性成分的研究进展[J]. 食品安全导刊, 2018(15): 124–126.
- ZHANG Q, SUN Z H, FU H. Research progress of bioactive constituents of *Scalaria sinensis* [J]. Food Safety Guide, 2018(15): 124–126.
- [7] 刘玉蓉. 不同组分沙葱黄酮对小鼠免疫、抗氧化及肠道形态结构的影响[D]. 呼和浩特: 内蒙古农业大学, 2022.
- LIU Y R. Effects of different components of flavones from *Allium Mongolicum* Regel on immunity, antioxidation and intestinal morphology in mice [D]. Hohhot: Inner Mongolia Agricultural University, 2022.
- [8] 屈欢, 郭震, 马莉, 等. 沙葱内生菌的分离鉴定及抑菌活性[J]. 中国植保导刊, 2023, 43(1): 16–20.
- QU H, GUO Z, MA L, et al. Isolation, identification, and antifungal activity of endophytes from *Allium mongolicum* Regel [J]. China Plant Protection, 2023, 43(1): 16–20.
- [9] 敖长金. 沙葱及其提取物的抗氧化、抗炎和免疫调节作用[J]. 饲料工业, 2021, 42(11): 1–6.
- AO C J. Effects of *Allium mongolicum* Regel and its extracts on anti-oxidant, anti-inflammation and immunomodulation in animals [J]. Feed Industry, 2021, 42(11): 1–6.
- [10] 马毓泉. 内蒙古植物志 (第5卷)[M]. 第2版. 呼和浩特: 内蒙古人民出版社, 1994: 489–491.
- MA Y Q. Flora of Inner Mongolia (Vol.5)[M]. 2<sup>nd</sup> ed. Hohhot: Inner Mongolia People's Publishing House, 1994: 489–491.
- [11] 李时珍. 本草纲目下[M]. 北京: 中国卫生出版社, 1982: 1588.
- LI S Z. Compendium of materia medica[M]. Beijing: China Health Publishing House, 1982: 1588.
- [12] LIU W J, TANG D F, AO C J. Adding of *Allium mongolicum* Regel extracts to lamb feedlot diets influences 4-alkyl-branched fatty acids deposition and the meat quality during storage [J]. Meat Science, 2022, 193: 108951.
- [13] DING H, LIU W J, ERDENE K, et al. Effects of dietary supplementation with *Allium mongolicum* Regel extracts on growth performance, serum metabolites, immune responses, antioxidant status, and meat quality of lambs [J]. Animal Nutrition, 2021, 7(2): 530–538.
- [14] 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.
- [15] AHANGARPOUR A, SAYAHI M, SAYAHI M. The antidiabetic and antioxidant properties of some phenolic phytochemicals: A review study[J]. Diabetes & Metabolic Syndrome: Clinical Research & Reviews, 2019, 13(1): 854–857.
- [16] XIA C, YANG K, ZHU Y Q, et al. Distribution of free and bound phenolic compounds,  $\beta$ -glucan, and araboxylan in fractions of milled hullless barley [J]. LWT – Food Science and Technology, 2022, 169: 113935.



- [17] LU Y H, TIAN C R, GAO C Y, et al. Phenolic composition, antioxidant capacity and inhibitory effects on  $\alpha$ -glucosidase and lipase of immature faba bean seeds[J]. International Journal of Food Properties, 2018, 21(1): 2366–2377.
- [18] GAO C Y, LU Y H, TIAN C R, et al. Main nutrients, phenolics, antioxidant activity, DNA damage protective effect and microstructure of *Sphallerocarpus gracilis* root at different harvest time[J]. Food Chemistry, 2011, 127(2): 615–622.
- [19] ZHANG B, DENG Z, DAN RAMDATH D, et al. Phenolic profiles of 20 Canadian lentil cultivars and their contribution to antioxidant activity and inhibitory effects on  $\alpha$ -glucosidase and pancreatic lipase[J]. Food Chemistry, 2015, 172: 862–872.
- [20] RUMPF J, BURGER R, SCHULZE M. Statistical evaluation of DPPH, ABTS, FRAP, and Folin-Ciocalteu assays to assess the antioxidant capacity of lignins[J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2023, 233: 12470.
- [21] WAHYUDIA L D, RATNADEWIA A A I, SISWOYO T A. Potential antioxidant and antidiabetic activities of Kayu Kuning (*Arcangelisia flava*)[J]. Agriculture and Agricultural Science Procedia, 2016, 9: 396–402.
- [22] LU Y H, TIAN C R, GAO C Y, et al. Phenolic profile, antioxidant and enzyme inhibitory activities of *Ottelia acuminata*, an endemic plant from Southwestern China [J]. Industrial Crops & Products, 2019, 138: 111423.
- [23] LIU A L, WANG Y H, WANG T Y, et al. Comparative metabolomic profiling of secondary metabolites in different tissues of *Euryale ferox* and functional characterization of phenylalanine ammonia-lyase[J]. Industrial Crops and Products, 2023, 195: 116450.
- [24] TRÓCSÁNYIA E, GYÖRGYA Z, ZÁMBORINÉ-NÉMETH É. New insights into rosmarinic acid biosynthesis based on molecular studies[J]. Current Plant Biology, 2020, 23: 100162.
- [25] LU Y H, TIAN C R, GAO C Y, et al. Nutritional profiles, phenolics, and DNA damage protective effect of *Lycopus lucidus* Turcz. root at different harvest times[J]. International Journal of Food Properties, 2017, 20(sup3): S3062–S3077.
- [26] 萨茹丽. 沙葱黄酮提取工艺优化、结构鉴定及其相关生物活性研究[D]. 呼和浩特: 内蒙古农业大学, 2014.
- SA R L. Studies on extraction process, structural identification and related biological activity of *Allium mongolicum* Regel flavonoids [D]. Hohhot: Inner Mongolia Agricultural University, 2014.
- [27] WORSZTYNOWICZ P, NAPIERAŁA M, BIAŁAS W, et al. Pancreatic  $\alpha$ -amylase and lipase inhibitory activity of polyphenolic compounds present in the extract of black chokeberry (*Aronia melanocarpa* L.) [J]. Process Biochemistry, 2014, 49(9): 1457–1463.
- [28] SUGIYAMA H, AKAZOME Y, SHOJI T, et al. Oligomeric procyanidins in apple polyphenol are main active components for inhibition of pancreatic lipase and triglyceride absorption[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2007, 55(11): 4604–4609.
- [29] TAN Y, CHANG S K C, ZHANG Y. Comparison of alpha-amylase, alpha-glucosidase and lipase inhibitory activity of the phenolic substances in two black legumes of different genera[J]. Food Chemistry, 2017, 214: 259–268.
- [30] LI H, YANG J C, WANG M, et al. Studies on the inhibition of  $\alpha$ -glucosidase by biflavonoids and their interaction mechanisms [J]. Food Chemistry, 2023, 420: 136113.
- [31] JUSTINO A B, MIRANDAB N C, FRANCO R R, et al. *Annona muricata* Linn. leaf as a source of antioxidant compounds with *in vitro* antidiabetic and inhibitory potential against  $\alpha$ -amylase,  $\alpha$ -glucosidase, lipase, non-enzymatic glycation and lipid peroxidation [J]. Biomedicine & Pharmacotherapy, 2018, 100: 83–92.
- [32] ALKAZAZ M, DESSEAUX V, MARCHIS-MOUREN G, et al. The mechanism of porcine pancreatic  $\alpha$ -amylase: Kinetic evidence for two additional carbohydrate binding sites[J]. European Journal of Biochemistry, 1996, 241(3): 787–796.
- [33] 钱敏. 蚕豆多酚的组成结构及其生理活性功能研究[D]. 南京: 南京农业大学, 2020.
- QIAN M. The composition of polyphenols from *Vicia faba* L. and their physiological activity[D]. Nanjing: Nanjing Agricultural University, 2020.

## Antioxidant Activities and Inhibitory Effects on Digestive Enzyme of Polyphenolic Extracts from *Allium mongolicum* Regel

Lu Yuehong, Wang bin, Liu Cai, Zupaidano Aimaier, Gao Chunyan\*  
(College of Bioscience and Engineering, North Minzu University, Yinchuan 750021)

**Abstract** The antioxidant capacities and digestive enzyme inhibitory effects of free and bound phenolic extracts from *Allium mongolicum* Regel were studied through antioxidant and enzyme inhibition assays *in vitro*. The methods of Folin-Ciocalteu,  $\text{NaNO}_2\text{-AlCl}_3$  and vanillin-hydrochloric acid were used for the determination of total phenolics, flavonoids and condensed tannins, respectively. DPPH radical scavenging activity, ferric reducing antioxidant power (FRAP), trolox equivalent antioxidant capacity (TEAC) and inhibitory effects on  $\text{HO}\cdot$  mediated 2-deoxyribose degradation assays were used to comprehensively evaluate the antioxidant capacity. *In vitro* digestive enzyme inhibitory test assay was used to evaluate the inhibitory effects of polyphenol extracts from *A. mongolicum* Regel on  $\alpha$ -glucosidase and pancreatic lipase. The content of total phenol, flavone and condensed tannin of polyphenol extracts from *A. mongolicum* Regel were in the range of 251.09–521.27  $\mu\text{g GAE/mg}$ , 148.24–512.94  $\mu\text{g CAE/mg}$  and 121.33–360.56  $\mu\text{g CAE/mg}$ , respectively, and their contents varied from different origins. The DPPH radical scavenging activity, FRAP and TEAC of free phenolic extracts from *A. mongolicum* Regel were in the range of 175.02–248.81  $\mu\text{mol TE/g}$ , 646.22–842.89  $\mu\text{mol Fe (II)/g}$  and 54.95–87.95  $\mu\text{mol TE/g}$ , respectively. The DPPH radical scavenging activity, FRAP and TEAC of bound phenolic extracts from *A. mongolicum* Regel were in the range of 447.14–623.95  $\mu\text{mol TE/g}$ , 1 051.78–1 866.22  $\mu\text{mol Fe (II)/g}$  and 441.17–714.50  $\mu\text{mol TE/g}$ , respectively. The  $\text{IC}_{50}$  values of free phenolic extracts for the inhibition of non-site and site hydroxyl radical-mediated 2-deoxyribose degradation ranged from 1.14 to 2.27 mg/mL and 3.39 to 3.70 mg/mL respectively. The  $\text{IC}_{50}$  values of bound phenolic extracts for the inhibition of non-site and site hydroxyl radical-mediated 2-deoxyribose degradation ranged from 0.62 to 0.94 mg/mL and 2.80 to 3.99 mg/mL, respectively. In general, the antioxidant capacity of the bound phenolic extract was stronger than that of free phenolics. The free and bound phenolic extracts inhibited the pancreatic lipase and glucosidase in a mixed non-competitive manner, and the inhibitory effect of free phenolics was stronger than of bound phenolics. In terms of the phenolic content, antioxidant capacity and digestive enzyme inhibition activity, the comprehensive quality of the bound phenolic extract was better than that of free phenolics.

**Keywords** *Allium mongolicum* Regel; polyphenol; antioxidant; enzyme inhibitory effect