

# 多黄酮混合物抗氧化活性的协同与拮抗作用

汤 晓, 方 伟, 沈秀丽, 方振飞, 关亚璠  
(宁波职业技术学院应用化工系, 浙江 宁波 315800)

**摘 要:** 以DPPH自由基清除能力、 $\cdot\text{OH}$ 清除能力、总抗氧化性、还原能力等不同机理的氧化还原反应为评价指标, 分析7种黄酮类化合物中的3种以质量比1:1:1混合后, 混合物体外抗氧化活性的协同与拮抗作用; 用高效液相色谱(high-performance liquid chromatography, HPLC)测定黄酮两两混合物与DPPH自由基反应过程中的结构变化。结果表明: 4-羰基与2,3-双键对多黄酮混合物相互作用的影响大于B环邻二羟基, B环邻二羟基对多黄酮混合物相互作用的影响大于B环仅有一个酚羟基的结构。黄酮之间相互作用的发生, 与氧化还原反应中氧化剂的比例和反应时间有关, 只有当氧化剂比例以及反应时间达到某一程度, 黄酮之间的相互作用才开始发生。在此之前, 抗氧化性更强的黄酮组分先被氧化。

**关键词:** 多黄酮; 抗氧化活性; 协同作用; 拮抗作用; 结构变化

## Synergism and Antagonism of Flavonoid Mixtures on Antioxidant Capacities

TANG Xiao, FANG Wei, SHEN Xiu-li, FANG Zhen-fei, GUAN Ya-fan  
(Department of Chemical Engineering, Ningbo Polytechnic College, Ningbo 315800, China)

**Abstract:** This study investigated antioxidant activities of 1:1:1 (*m/m*) mixtures of three selected from seven flavonoid compounds to evaluate their synergism and antagonism *in vitro*. 2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) radical scavenging activity, hydroxyl radical scavenging activity, total antioxidant activity and reducing power were used as evaluation indicators under different redox reaction mechanisms. HPLC method was used to analyze the structural change of binary flavonoid mixtures during DPPH scavenging reaction. The results indicated that the 2,3-double bond and the 4-oxo had stronger influence on the interactions of mixed flavonoids than the o-dihydroxy structure in the B-ring, and this o-dihydroxy structure had stronger influence than single hydroxy structure in the B-ring. HPLC analysis indicated that the occurrence of interaction among flavonoids was related to reaction time and the ratio of reducing agents in the redox reaction, which can happen only when both conditions reach the required levels. Before that, the component with stronger antioxidant activity in flavonoid mixtures was firstly oxidized.

**Key words:** mixed flavonoids; antioxidant activity; synergism; antagonism; structural change

中图分类号: TS201.2

文献标志码: A

文章编号: 1002-6630(2014)05-0111-05

doi:10.7506/spkx1002-6630-201405022

黄酮类化合物泛指由两个苯环通过中央三碳链相互连接而成的一系列化合物, 它们广泛存在于谷物、蔬菜、水果、红酒、绿茶等食品中。现代医学研究表明, 黄酮类化合物具有抗心律失常、软化血管、降血糖血脂、杀菌、消炎、抗癌等作用; 它们还是一种天然抗氧化剂, 具有清除超氧阴离子自由基、脂质自由基、 $\cdot\text{OH}$ 、抗衰老、增加机体免疫力等生理活性<sup>[1-5]</sup>。

黄酮结构中, B环邻二羟基、2,3-双键与4-羰基以及3,5-羟基是决定其抗氧化活性的重要因素<sup>[6]</sup>。研究发现, 当某些结构的黄酮共存时, 混合物的抗氧化活性显著增强(协同作用)或减弱(拮抗作用), 因此, 研究不同

结构黄酮共存后抗氧化活性的变化, 可为设计含此类天然抗氧化剂的补给膳食或强化膳食, 以及功能性食品提供科学依据。

目前, 对于不同结构黄酮共存后的相互作用对混合物抗氧化活性影响的研究仍然较少, 而且往往采用单一的抗氧化指标加以评价<sup>[7-17]</sup>, 由于黄酮类化合物抗氧化活性的评价取决于自由基性质以及特定反应机理<sup>[18-20]</sup>, 因此, 单一指标并不能确保对黄酮抗氧化活性相互作用判断的准确性。此外, 亦很少有研究关注黄酮混合物参与抗氧化反应过程中的结构变化<sup>[19]</sup>, 因此, 对该类化合物相互作用的反应机理仍有待进一步探讨。本实验前期研

收稿日期: 2013-09-03

基金项目: 浙江省教育厅2013年度科研计划项目(Y201326641)

作者简介: 汤晓(1981—), 女, 讲师, 硕士, 研究方向为黄酮类化合物的提取与应用。E-mail: laymantang@126.com

究中以DPPH自由基清除能力、 $\cdot\text{OH}$ 清除能力、总抗氧化性、还原能力等为评价指标,探讨了9种抗氧化性较强的黄酮单品两两混合后抗氧化活性的变化<sup>[21]</sup>。本研究进一步以上述黄酮两两混合物中抗氧化活性相对较强,同时协同作用或拮抗作用与其他混合物相比更加显著的混合物为对象,增加黄酮组分,探讨黄酮以质量比1:1:1混合后,混合物抗氧化活性的变化,并探讨黄酮两两混合物在抗氧化反应过程中的结构改变,以期明确黄酮类化合物相互作用的反应机理,为进一步应用于食品的研究奠定基础。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料与试剂

槲皮素(110802)、表儿茶素(110920)、杨梅素(110922)、异槲皮苷(110927)、山萘酚(111013)、芹菜素(130224)、儿茶素(130302),上述标准品均为色谱纯(纯度>98%) 上海融禾医药科技发展有限公司;乙腈、乙酸为色谱纯;其余试剂为分析纯。

### 1.2 仪器与设备

UV759紫外-可见分光光度计 上海精密科学仪器有限公司;LC-20AT高效液相色谱仪 岛津中国上海分公司。

### 1.3 方法

#### 1.3.1 DPPH自由基清除能力的测定

按Blois等<sup>[22]</sup>的方法,3种黄酮标准品按质量比1:1:1混合。结果以对DPPH自由基的清除率达到50%的 $\text{EC}_{50}$ 值( $\mu\text{g/mL}$ )表示<sup>[14]</sup>。

$$\text{DPPH自由基清除能力差异}/\% = 100 - \frac{\text{EC}_{50} \times 300}{\text{EC}_{50\text{A}} + \text{EC}_{50\text{B}} + \text{EC}_{50\text{C}}} \quad (1)$$

式中: $\text{EC}_{50\text{A}}$ 、 $\text{EC}_{50\text{B}}$ 、 $\text{EC}_{50\text{C}}$ 分别为3种黄酮的 $\text{EC}_{50}$ 值。

#### 1.3.2 $\cdot\text{OH}$ 清除能力的测定

按Smirnoff等<sup>[23]</sup>的方法,3种黄酮标准品按质量比1:1:1混合。结果以对 $\cdot\text{OH}$ 的清除率达到50%的 $\text{EC}_{50}$ 值( $\mu\text{g/mL}$ )表示。

$\cdot\text{OH}$ 清除能力差异的计算方法同式(1)。

#### 1.3.3 总抗氧化性的测定

按Prieto等<sup>[24]</sup>的方法,3种黄酮标准品按质量比1:1:1混合。结果以695 nm波长处的吸光度表示。

$$\text{总抗氧化性差异}/\% = 100 - \frac{A \times 300}{A_1 + A_2 + A_3} \quad (2)$$

式中: $A$ 为混合物的吸光度; $A_1$ 、 $A_2$ 、 $A_3$ 分别为3种黄酮的吸光度。

#### 1.3.4 还原能力的测定

按Oyaizu等<sup>[25]</sup>的方法,3种黄酮标准品按质量比1:1:1混合。结果以700 nm波长处的吸光度表示。

还原能力差异的计算方法同式(2)。

### 1.3.5 黄酮的结构鉴定

按Apáti等<sup>[26]</sup>的方法进行测定。

### 1.4 数据分析

所有实验均重复3次,结果以 $\bar{x} \pm s$ 表示,采用单因素方差分析。

## 2 结果与分析

### 2.1 DPPH自由基清除能力

前期已选取槲皮素、异槲皮苷、杨梅素、山萘酚等黄酮醇类,飞燕草素-3-*O*-葡萄糖苷、矢车菊素-3-*O*-葡萄糖苷等花青素类,儿茶素、表儿茶素等黄烷醇类,芹菜素等黄酮类,探讨这些黄酮两两混合后抗氧化活性的相互作用。结果表明,槲皮素与异槲皮苷、槲皮素与山萘酚、槲皮素与儿茶素、表儿茶素与杨梅素、表儿茶素与芹菜素、表儿茶素与槲皮素、表儿茶素与儿茶素、表儿茶素与异槲皮苷、杨梅素与槲皮素、杨梅素与儿茶素、杨梅素与异槲皮苷等组合与其他的黄酮两两混合物相比,协同作用或拮抗作用更加显著(与理论加和值的差异大),且抗氧化活性相对较强<sup>[21]</sup>。此外,这些组合的组成成分彼此有一定关联(如杨梅素与槲皮素、杨梅素与异槲皮苷、槲皮素与异槲皮苷,互为构成的组分),因此,在这些组合基础上,进一步将黄酮组分增加为3种(如槲皮素+异槲皮苷+杨梅素),确定了10种新的组合,按质量比1:1:1混合后,混合物DPPH自由基清除能力如表1所示。

表1 黄酮混合物对DPPH自由基的清除能力  
Table 1 DPPH scavenging activities of flavonoid mixtures

黄酮混合物	$\text{EC}_{50}$ ( $\mu\text{g/mL}$ )	DPPH自由基清除能力差异/%	相互作用
槲皮素+异槲皮苷+表儿茶素	43.67±4.06	23.81±2.69	协同
表儿茶素+儿茶素+杨梅素	47.81±1.93	30.12±1.39	协同
杨梅素+槲皮素+儿茶素	52.28±0.42	8.37±2.85	加和
杨梅素+槲皮素+表儿茶素	52.29±4.87	5.67±1.17	加和
槲皮素+表儿茶素+山萘酚	54.57±3.14	33.35±2.90	协同
表儿茶素+儿茶素+芹菜素	54.76±0.78	40.27±0.43	协同
槲皮素+表儿茶素+芹菜素	57.31±4.09	27.15±4.45	协同
杨梅素+异槲皮苷+表儿茶素	58.55±0.40	9.64±0.89	加和
槲皮素+异槲皮苷+杨梅素	72.64±4.82	-35.55±2.72	拮抗
槲皮素+异槲皮苷+山萘酚	87.88±6.00	-9.67±2.27	加和

注: $P < 0.05$ ,呈协同作用或拮抗作用; $P > 0.05$ ,呈加和作用。下同。

当黄酮两两混合时,槲皮素与异槲皮苷、槲皮素与表儿茶素组合均呈现较强拮抗作用;而当这3种黄酮共存后,却呈协同作用。表儿茶素、儿茶素与杨梅素混合后亦呈协同作用;而这3种黄酮的两两组合却均呈拮抗作用。在杨梅素、槲皮素与表儿茶素,杨梅素、槲皮素与儿茶素,以及杨梅素、异槲皮苷与表儿茶素组合中,

组成的3种黄酮两两之间基本呈拮抗作用；然而，3种黄酮混合后的相互影响却并不显著（ $P>0.05$ ）。但是，槲皮素、异槲皮苷与杨梅素组合却仍呈现显著的拮抗作用，混合物DPPH自由基清除能力与理论加和值的差异达35.55%。槲皮素与山萘酚、表儿茶素与芹菜素组合呈现较强协同作用；当槲皮素、山萘酚与表儿茶素，表儿茶素、芹菜素与儿茶素，以及表儿茶素、芹菜素与槲皮素共存后，混合物也均呈协同作用。

## 2.2 •OH清除能力

表2 黄酮混合物对•OH的清除能力  
Table 2 Hydroxyl radical scavenging activities of flavonoid mixtures

黄酮混合物	EC <sub>50</sub> / (μg/mL)	•OH清除能力差异/%	相互作用
槲皮素+异槲皮苷+表儿茶素	101.84±7.96	-59.25±9.95	拮抗
表儿茶素+儿茶素+杨梅素	100.8±21.57	-38.25±0.76	拮抗
杨梅素+槲皮素+儿茶素	94.61±2.95	-31.55±2.25	拮抗
杨梅素+槲皮素+表儿茶素	99.90±5.77	-33.30±5.08	拮抗
槲皮素+表儿茶素+山萘酚	90.87±8.46	-37.93±10.30	拮抗
表儿茶素+儿茶素+芹菜素	85.85±4.71	-23.93±5.51	拮抗
槲皮素+表儿茶素+芹菜素	95.99±4.29	-38.40±4.30	拮抗
杨梅素+异槲皮苷+表儿茶素	84.84±1.68	-13.23±2.85	拮抗
槲皮素+异槲皮苷+杨梅素	69.61±5.94	4.58±0.33	加和
槲皮素+异槲皮苷+山萘酚	99.00±1.66	-48.22±2.06	拮抗

如表2所示，与DPPH自由基清除能力不同的是，这些组合的•OH清除能力几乎都呈拮抗作用。其中，槲皮素、异槲皮苷与表儿茶素组合的•OH清除能力与理论加和值之间的差异达59.25%。尽管槲皮素与山萘酚两两混合时的•OH清除能力呈协同作用<sup>[21]</sup>，但槲皮素、山萘酚与表儿茶素，以及槲皮素、山萘酚与异槲皮苷组合却均呈现较强拮抗作用。

## 2.3 总抗氧化性

表3 黄酮混合物的总抗氧化性  
Table 3 Total antioxidant capacities of flavonoid mixtures

黄酮混合物	吸光度	总抗氧化性差异/%	相互作用
槲皮素+异槲皮苷+表儿茶素	0.317±0.050	33.79±4.96	协同
表儿茶素+儿茶素+杨梅素	0.545±0.002	46.96±0.29	协同
杨梅素+槲皮素+儿茶素	0.419±0.025	70.79±5.02	协同
杨梅素+槲皮素+表儿茶素	0.418±0.002	40.96±1.64	协同
槲皮素+表儿茶素+山萘酚	0.276±0.015	-0.86±0.06	加和
表儿茶素+儿茶素+芹菜素	0.396±0.004	12.20±0.323	协同
槲皮素+表儿茶素+芹菜素	0.282±0.069	-9.43±0.82	加和
杨梅素+异槲皮苷+表儿茶素	0.421±0.024	52.63±5.55	协同
槲皮素+异槲皮苷+杨梅素	0.321±0.015	92.78±0.88	协同
槲皮素+异槲皮苷+山萘酚	0.231±0.002	56.30±4.30	协同

如表3所示，在表儿茶素、儿茶素与杨梅素，以及表儿茶素、儿茶素与芹菜素等组合中，尽管表儿茶素或儿茶素与其他黄酮两两混合时的总抗氧化性多呈拮抗作用<sup>[21]</sup>，但加入第3种黄酮组分后，混合物的总抗氧化性却未受拮抗作用影响。

## 2.4 还原能力

如表4所示，多数混合物的还原能力与理论加和值相

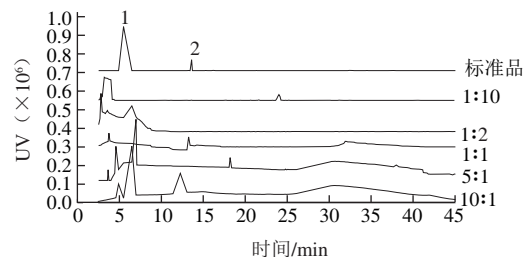
比，并无显著差异，而组成的3种黄酮两两混合后，却多呈协同作用<sup>[21]</sup>。

表4 黄酮混合物的还原能力  
Table 4 Reducing power of flavonoid mixtures

黄酮混合物	吸光度	还原能力差异/%	相互作用
槲皮素+异槲皮苷+表儿茶素	0.173±0.007	3.89±0.92	加和
表儿茶素+儿茶素+杨梅素	0.179±0.022	1.82±0.09	加和
杨梅素+槲皮素+儿茶素	0.207±0.001	13.16±0.93	协同
杨梅素+槲皮素+表儿茶素	0.200±0.010	1.25±0.03	加和
槲皮素+表儿茶素+山萘酚	0.157±0.011	-3.51±0.27	加和
表儿茶素+儿茶素+芹菜素	0.133±0.001	7.36±1.73	加和
槲皮素+表儿茶素+芹菜素	0.122±0.001	-16.77±1.13	拮抗
杨梅素+异槲皮苷+表儿茶素	0.188±0.009	22.14±5.43	协同
槲皮素+异槲皮苷+杨梅素	0.178±0.028	5.44±0.69	加和
槲皮素+异槲皮苷+山萘酚	0.155±0.014	16.41±1.63	协同

## 2.5 抗氧化反应中的黄酮结构变化

黄酮混合物抗氧化活性的协同与拮抗作用，可能与黄酮之间的氢键缔合等相互反应有关<sup>[9,18]</sup>，但目前，鲜有文献报道黄酮相互反应的结构变化。本实验以槲皮素与异槲皮苷组合为对象，通过调整黄酮混合物溶液与DPPH自由基溶液的体积比以及反应时间，探求黄酮间相互作用的机理与条件。



1.异槲皮苷；2.槲皮素。图2同。

图1  $m$ （槲皮素）： $m$ （异槲皮苷）=1:3混合物与DPPH自由基溶液在不同体积比下的HPLC图

Fig.1 HPLC analysis of reaction products from quercetin-isoquercetin mixture (1 : 3,  $m/m$ ) and DPPH at different ratios

前期研究已发现，槲皮素与异槲皮苷组合的DPPH自由基清除能力在黄酮两两混合物中为最高，且具有显著拮抗作用，当 $m$ （槲皮素）： $m$ （异槲皮苷）=1:3混合时，拮抗作用最强<sup>[21]</sup>。调整 $m$ （槲皮素）： $m$ （异槲皮苷）=1:3混合物与DPPH的比例，使 $V$ （黄酮混合物）： $V$ （DPPH自由基）从10:1下降到1:10。图1为 $m$ （槲皮素）： $m$ （异槲皮苷）=1:3混合物与DPPH自由基溶液不同体积比条件下反应5 min时的高效液相色谱图，当 $V$ （黄酮混合物）： $V$ （DPPH自由基）为10:1时，槲皮素结构（标准品保留时间约为14 min）未发生显著变化；异槲皮苷（标准品保留时间约为6 min）则在相邻保留时间内出现两峰；当 $V$ （黄酮混合物）： $V$ （DPPH自由基）从10:1逐渐下降至1:1，异槲皮苷峰逐渐减小，直至消



失 ( $V$  (黄酮混合物) :  $V$  (DPPH自由基) = 1:1时)。当  $V$  (黄酮混合物) :  $V$  (DPPH自由基) = 1:2时, 槲皮素峰消失, 原异槲皮苷保留时间处再次出峰; 当  $V$  (黄酮混合物) :  $V$  (DPPH自由基) = 1:10时, 槲皮素、异槲皮苷峰均消失, 在约26 min处出一峰。

当  $m$  (槲皮素) :  $m$  (异槲皮苷) = 1:3混合物溶液与DPPH自由基溶液体积比以10:1混合时, 不同反应时间的结构变化如图2所示。黄酮混合物与DPPH自由基溶液混合反应5 min, 异槲皮苷在相邻保留时间内出现两峰; 反应10 min后, 槲皮素、异槲皮苷峰消失, 在约26 min处出现一较大峰, 在约42 min处亦有一峰; 反应15 min后, 原有两峰消失, 在12 min内出现较多峰。

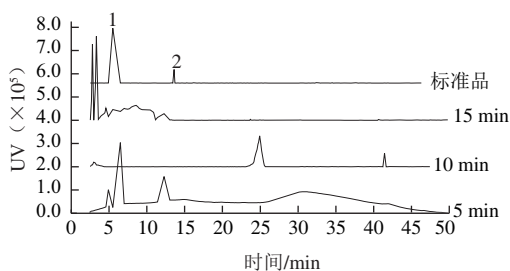


图2  $m$  (槲皮素) :  $m$  (异槲皮苷) = 1:3混合物与DPPH自由基体积比溶液10:1条件下反应不同时间后的HPLC图

Fig.2 HPLC analysis of reaction products from quercetin-isoquercetin mixture (1 : 3) and DPPH after different reaction times (the ratio of flavonoid mixture to DPPH= 10:1)

### 3 讨论

#### 3.1 黄酮结构对多黄酮混合物抗氧化活性的影响

前期研究表明, 杨梅素、槲皮素、异槲皮苷、儿茶素、表儿茶素等含较多B环羟基的黄酮两两混合后更易发生拮抗作用<sup>[21]</sup>。但是, 多黄酮混合物(质量比1:1:1)的抗氧化活性, 并非是黄酮两两混合物作用的简单叠加, 其相互影响仍与组成的黄酮结构有关。

DPPH自由基与 $\cdot\text{OH}$ 清除是黄酮类化合物清除自由基能力的表征, 而总抗氧化性与还原能力是黄酮还原金属离子能力的表征。其中,  $\cdot\text{OH}$ 清除的反应机理为氢原子转移, 其他3种方法的机理为单电子转移<sup>[14]</sup>。在不同机理的实验中发现儿茶素或表儿茶素在黄酮两两混合物中的拮抗作用, 可能会由于其他黄酮的介入, 而在多黄酮混合物中被减弱。例如, 在槲皮素、异槲皮苷与表儿茶素组合中, 尽管表儿茶素与槲皮素混合物的总抗氧化性呈现较强拮抗作用<sup>[21]</sup>, 但加入异槲皮苷后, 多黄酮的总抗氧化性却呈协同作用(表3); 而表儿茶素与槲皮素混合物DPPH自由基清除能力的拮抗作用, 表儿茶素与异槲皮苷混合物还原能力的协同作用, 均未在槲皮素、异槲皮

苷与表儿茶素组合中得以体现(表1、4)。同理, 在杨梅素、槲皮素与儿茶素组合中, 儿茶素与槲皮素、儿茶素与杨梅素混合物DPPH自由基清除能力的拮抗作用, 儿茶素与槲皮素混合物 $\cdot\text{OH}$ 以及还原能力的拮抗作用<sup>[21]</sup>, 均未在杨梅素、槲皮素与儿茶素组合中得以体现(表1、2、4)。在表儿茶素、儿茶素与芹菜素, 以及表儿茶素、儿茶素与杨梅素组合中, 表儿茶素与儿茶素之间的拮抗作用<sup>[21]</sup>, 也未对多黄酮混合物的抗氧化活性产生显著影响(表1、3、4)。在不含儿茶素、表儿茶素的多黄酮组合中, 情况则不同。如槲皮素、异槲皮苷与杨梅素组合的DPPH自由基清除能力呈拮抗作用, 总抗氧化性呈协同作用(几乎达100%), 而这3种黄酮两两混合后的DPPH自由基清除能力亦呈拮抗作用, 总抗氧化性也呈现较强协同作用<sup>[21]</sup>。

比较儿茶素、表儿茶素与其他5种黄酮类化合物的结构可知, 这两种黄酮缺乏4-羰基与2,3-双键, 由此推测, 对黄酮抗氧化活性影响较大的结构中, 4-羰基与2,3-双键对多黄酮混合物相互作用的影响可能大于B环邻二羟基。此外, 山萘酚对黄酮两两混合物的协同作用, 可能会由于除儿茶素、表儿茶素外的其他黄酮的介入(如槲皮素、异槲皮苷与山萘酚组合), 而在多黄酮混合物中被减弱(表1、2)。由此推测, B环邻二羟基对多黄酮混合物相互作用的影响大于B环仅有一个酚羟基的结构。

#### 3.2 抗氧化反应试剂与时间对黄酮混合物结构变化的影响

DPPH反应所用试剂简单, 对黄酮结构变化测定的干扰因素较少。在槲皮素与异槲皮苷1:3混合物与DPPH自由基不同比例的反应中, 提高DPPH自由基比例, 抗氧化性更强的异槲皮苷首先发挥抗氧化功能, 结构逐渐发生变化(图1)。当  $V$  (黄酮混合物) :  $V$  (DPPH自由基) = 1:2时, 黄酮混合物的抗氧化压力增大, 槲皮素结构亦发生改变, 槲皮素峰消失, 而异槲皮苷原保留时间处再次出峰, 推测槲皮素在氧化释放电子的过程中, 可能促进了异槲皮苷的再生。当  $V$  (黄酮混合物) :  $V$  (DPPH自由基) = 1:10时, 在约26 min处出一峰, 推测可能为槲皮素、异槲皮苷发生氢键缔合后的产物; 对照图2可见, 当  $V$  (黄酮混合物) :  $V$  (DPPH自由基) = 10:1混合反应时间增至10 min, 亦在约26 min处出一峰。由此推测, 当黄酮混合物与DPPH自由基发生氧化还原反应时, 氧化剂(DPPH自由基)达到一定比例, 或是反应达到一定时间, 黄酮之间才开始发生相互作用, 当反应时间进一步延长, 黄酮间相互作用的产物再次发生改变。

### 4 结论

多黄酮混合物抗氧化活性的相互作用, 与黄酮两两混合后的相互影响并无一定关联, 而仍与黄酮结构有

关。黄酮结构中, 4-羰基与2,3-双键对多黄酮混合物相互作用的影响可能大于B环邻二羟基, 而B环邻二羟基对混合物相互作用的影响则大于B环仅有一个酚羟基的结构。DPPH自由基清除实验表明, 黄酮类化合物之间相互作用的发生, 与氧化还原反应中氧化剂的比例和反应时间有关, 当氧化剂比例以及反应时间达到某一程度, 相互作用才开始发生, 在此之前, 抗氧化性更强的黄酮组分先被氧化。

由于食品中的黄酮组分更加复杂, 富含黄酮的食品之间抗氧化活性的相互作用仍有待进一步研究。此外, 黄酮混合物在抗氧化反应中的结构变化, 仍无法完全阐释清楚, 需要借助其他测试手段进一步加以补充。

#### 参考文献:

- [1] CHEN A Y, CHEN Y C. A review of the dietary flavonoid, kaempferol on human health and cancer chemoprevention[J]. Food Chemistry, 2013, 138(4): 2099-2107.
- [2] FIGUEIREDO-GONZÁLEZ M, CANCHO-GRANDE B, BOSO S, et al. Evolution of flavonoids in Mouratón berries taken from both bunch halves[J]. Food Chemistry, 2013, 138(2/3): 1868-1877.
- [3] XU Rongrong, ZHANG Ying, YE Xingqian, et al. Inhibition effects and induction of apoptosis of flavonoids on the prostate cancer cell line PC-3 in vitro[J]. Food Chemistry, 2013, 138(1): 48-53.
- [4] DAM R M, NAIDOO N, LANDBERG R. Dietary flavonoids and the development of type 2 diabetes and cardiovascular diseases: review of recent findings[J]. Current Opinion in Lipidology, 2013, 24(1): 25-33.
- [5] LAMPORT D J, DYE L, WIGHTMAN J D, et al. The effects of flavonoid and other polyphenol consumption on cognitive performance: a systematic research review of human experimental and epidemiological studies[J]. Nutrition and Aging, 2012, 1(1): 5-25.
- [6] VAYA J, TAVORI H, KHATIB S. Structure-activity relationships of flavonoids[J]. Current Organic Chemistry, 2011, 15: 2641-2657.
- [7] CHOUERI L, CHEDEA V S, CALOKERINOS A, et al. Antioxidant/pro-oxidant properties of model phenolic compounds. Part II: studies on mixtures of polyphenols at different molar ratios by chemiluminescence and LC-MS[J]. Food Chemistry, 2012, 133(3): 1039-1044.
- [8] 涂云飞, 杨秀芳, 孔俊豪, 等. 儿茶素及茶黄素单体清除羟自由基能力研究[J]. 天然产物研究与开发, 2012, 24(5): 653-659.
- [9] ABOU SAMRA M, CHEDEA V S, ECONOMOU A, et al. Antioxidant/prooxidant properties of model phenolic compounds: Part I. Studies on equimolar mixtures by chemiluminescence and cyclic voltametry[J]. Food Chemistry, 2011, 125(2): 622-629.
- [10] MENENDEZ C, JIMENEZ R, MORENO L, et al. Lack of synergistic interaction between quercetin and catechin in systemic and pulmonary vascular smooth muscle[J]. British Journal of Nutrition, 2011, 105(9): 1287-1293.
- [11] FERREIRA J F, LUTHRIA D L, SASAKI T, et al. Flavonoids from *Artemisia annua* L. as antioxidants and their potential synergism with artemisinin against malaria and cancer[J]. Molecules, 2010, 15(5): 3135-3170.
- [12] HEO H J, KIM Y J, CHUNG D, et al. Antioxidant capacities of individual and combined phenolics in a model system[J]. Food Chemistry, 2007, 104(1): 87-92.
- [13] PINELO M, MANZOCCO L, NUÑEZ M J, et al. Interaction among phenols in food fortification: negative synergism on antioxidant capacity[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2004, 52(5): 1177-1180.
- [14] ROSSETTO M, VANZANI P, MATTIVI F, et al. Synergistic antioxidant effect of catechin and malvidin-3-glucoside on free radical-initiated peroxidation of linoleic acid in micelles[J]. Archives of Biochemistry and Biophysics, 2002, 408(2): 239-245.
- [15] PIGNATELLI P, PULCINELLI F M, CELESTINI A, et al. The flavonoids quercetin and catechin synergistically inhibit platelet function by antagonizing the intracellular production of hydrogen peroxide[J]. American Journal of Clinical Nutrition, 2000, 72(5): 1150-1155.
- [16] MEYER A S, HEINONEN M, FRANKEL E N. Antioxidant interactions of catechin, cyanidin, caffeic acid, quercetin, and ellagic acid on human LDL oxidation[J]. Food Chemistry, 1998, 61(1/2): 71-75.
- [17] YANG Wenkian, LI Dapeng, LI Jinkui. Synergistic antioxidant activities of eight traditional Chinese herb pairs[J]. Biological and Pharmaceutical Bulletin, 2009, 32(6): 1021-1026.
- [18] HIDALGO M, SÁNCHEZ-MORENO C, PASCUAL-TERESA S. Flavonoid-flavonoid interaction and its effect on their antioxidant activity[J]. Food Chemistry, 2010, 121(3): 691-696.
- [19] WANG Sunan, MECKLING K A, MARCONE M F, et al. Synergistic, additive, and antagonistic effects of food mixtures on total antioxidant capacities[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2011, 59(3): 960-968.
- [20] OZEN T, DEMIRTAS I, AKSIT H. Determination of antioxidant activities of various extracts and essential oil compositions of *Thymus praecox* subsp. *skorpilii* var. *skorpilii*[J]. Food Chemistry, 2011, 124(1): 58-64.
- [21] 汤晓, 焦泽武, 龚淑珍, 等. 黄酮混合物体外抗氧化活性的相互作用[J]. 食品科技, 2013, 38(2): 198-206.
- [22] BLOIS M S. Antioxidant determinations by the use of a stable free radical[J]. Nature, 1958, 181: 1199-1200.
- [23] SMIRNOFF N, CUMBES Q J. Hydroxyl radical scavenging activity of compatible solutes[J]. Phytochemistry, 1989, 28(4): 1057-1060.
- [24] PRIETO P, PINEDA M, AGUILAR M. Spectrophotometric quantitation of antioxidant capacity through the formation of a phosphomolybdenum complex: specific application to the determination of vitamin E[J]. Analytical Biochemistry, 1999, 269(2): 337-341.
- [25] OYAZU M. Studies on products of browning reaction: antioxidative activity of product of browning reaction prepared from glucosamine[J]. Japanese Journal of Nutrition, 1986, 44(6): 307-315.
- [26] APÁTI P, SZENTRNIHÁLYI K, BALÁZS A, et al. HPLC analysis of the flavonoids in pharmaceutical preparations from Canadian goldenrod (*Solidago canadensis*) [J]. Chromatographia, 1992, 56(1): 65-68.