

王佳鸾, 赵俸艺, 吴文龙, 等. 黑莓、树莓不同发育时期叶片鞣花酸与抗氧化、糖类物质的相关性分析 [J]. 食品工业科技, 2023, 44(2): 75–82. doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2022030049

WANG Jialuan, ZHAO Fengyi, WU Wenlong, et al. Correlation Analysis of Ellagic Acid with Antioxidant and Carbohydrate Substances in Different Development Stages of Blackberry and Raspberry Leaves[J]. Science and Technology of Food Industry, 2023, 44(2): 75–82. (in Chinese with English abstract). doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2022030049

· 研究与探讨 ·

黑莓、树莓不同发育时期叶片鞣花酸与抗氧化、糖类物质的相关性分析

王佳鸾¹, 赵俸艺¹, 吴文龙¹, 张春红^{1,*}, 李维林^{1,2}

(1.江苏省中国科学院植物研究所, 江苏南京 210014;

2.南京林业大学, 江苏南京 210037)

摘要: 本研究拟在初步揭示悬钩子属浆果不同发育时期叶片中鞣花酸的变化规律。以黑莓、树莓及杂交类型共 21 个品种不同时期叶片为试材, 用超声辅助溶剂提取法提取叶片中鞣花酸, 用紫外分光光度法快速检测鞣花酸含量。在此基础上, 选取其中 5 个品种分析评价了叶片抗氧化能力、抗氧化物质含量及糖类物质含量与鞣花酸含量的关系。结果表明, 黑莓、树莓鞣花酸在嫩叶中含量较高, 随着叶片的发育和衰老呈下降趋势, 以黑莓‘宝森’嫩叶鞣花酸含量最高达 39.622 mg/g, 以树莓‘哈瑞泰兹’老叶中鞣花酸含量最低为 7.649 mg/g。进而分析 5 个品种叶片的抗氧化能力及抗氧化物质含量, 发现其与鞣花酸含量变化趋势相似, 而叶片中糖类物质含量与鞣花酸含量变化呈负相关。研究结果为黑莓、树莓叶片中鞣花酸的功能研究及进一步开发利用提供部分基础理论依据。

关键词: 悬钩子, 不同时期叶片, 鞣花酸, 抗氧化物质, 糖类物质

中图分类号: S666

文献标识码: A

文章编号: 1002-0306(2023)02-0075-08

DOI: 10.13386/j.issn1002-0306.2022030049

本文网刊:



Correlation Analysis of Ellagic Acid with Antioxidant and Carbohydrate Substances in Different Development Stages of Blackberry and Raspberry Leaves

WANG Jialuan¹, ZHAO Fengyi¹, WU Wenlong¹, ZHANG Chunhong^{1,*}, LI Weilin^{1,2}

(1. Institute of Botany, Jiangsu Province and Chinese Academy of Sciences, Nanjing 210014, China;

2. Nanjing Forestry University, Nanjing 210037, China)

Abstract: The purpose of this study was to preliminarily reveal the changes of ellagic acid in leaves of *Rubus* berries at different developmental stages. In this study, leaves of 21 varieties of blackberry, raspberry and the hybrids were used to extract the ellagic acid in the leaves by ultrasonic assisted solvent extraction method, and the content of ellagic acid was rapidly detected by UV spectrophotometry. On this basis, five varieties were selected to analyze and evaluate the relationship between antioxidant capacity, antioxidant content, carbohydrate content and ellagic acid content. The results showed that the content of ellagic acid in the tender leaves of blackberry and raspberry was higher, and it showed a downward trend with the development and aging of the leaves. The content of ellagic acid in the tender leaves of blackberry cv. 'Baosen' was the highest up to 39.622 mg/g, and the content of ellagic acid in the aging leaves of raspberry 'Haritez' was the lowest, which was 7.649 mg/g. Furthermore, the antioxidant capacity and antioxidant content of the leaves of the selected five varieties were analyzed. It was found that the change trend was similar to that of ellagic acid, while the change of carbohydrate content in the leaves was negatively correlated with that of ellagic acid. The results would provide some

收稿日期: 2022-03-04

基金项目: 江苏省现代农业重点科技项目 (BE2020344); 江苏现代农业产业技术体系建设专项资金资助 (JATS[2021]511); 中央财政林业科技推广示范资金 (苏 [2021]TG08)。

作者简介: 王佳鸾 (1996-), 女, 硕士研究生, 研究方向: 悬钩子小浆果种质资源, E-mail: wjl163youxiang@163.com。

* 通信作者: 张春红 (1979-), 女, 博士, 副研究员, 研究方向: 小浆果遗传育种, E-mail: chzhang@cnbg.net。

theoretical basis for the functional research and further development and utilization of ellagic acid in blackberry and raspberry leaves.

Key words: *Rubus* L.; leaves at different growth stages; ellagic acid; antioxidant; carbohydrates

植物界蕴含着丰富的营养物质,为营养物质的天然储藏库。植物中抗氧化途径主要分为酶途径与非酶途径两种。非酶途径主要为抗氧化物质、维生素等,而摄入人体抗氧化活性较高的为非酶途径的抗氧化物质。黑莓(Blackberry)与树莓(Raspberry)同为蔷薇科悬钩子属(*Rubus* L.)多年生果树,果实为聚果型小浆果。黑莓原产于北美^[1],最先由江苏省中国科学院植物研究所在1986年引入国内^[2]。树莓含有多种营养成分与微量元素,含有多种有益于人体健康的活性物质^[3]。黑莓具有优秀的抗氧化活性而被称为抗氧化之王,酚酸类物质为植物体内重要的次生代谢产物,鞣花酸为酚酸类物质之一,为果实中重要的抗氧化活性物质之一。

鞣花酸为没食子酸二聚体^[4],是一种天然的多酚二内酯^[5],其广泛存在于多种植物体内^[6-9]。鞣花酸具有多种生物活性如:抗氧化活性^[10-11]、抗癌活性^[12-15]、缓解糖尿病^[16-17]、抗炎活性^[18-20]以及保健功效^[21-23]等,对保持人体健康具有一定的辅助作用。由于鞣花酸同时具有亲水与亲脂结构这种特殊的理化性质,导致鞣花酸在多种溶剂中溶解度较差^[24],导致鞣花酸在工业生产以及日常生活中使用较少。总酚为酚类物质的总称,除抗氧化活性外还具有抗癌^[25]、抗炎^[26]、抑菌^[27]等活性。类黄酮物质在植物体内为重要的次生代谢产物,黄酮为膳食中含量最为丰富的酚酸类物质^[28],对植物的生长发育与抵御逆境胁迫均发挥重要作用。维生素C为水溶性维生素,其具有很强的还原性^[29],同时也具有一定的抗癌活性^[30]。氧化是衰老和部分疾病产生的重要影响因素之一^[31-33],这使得机体抗氧化尤为重要,而抗氧化物质的摄入对此大有裨益。糖类物质为主要的生理指标,鞣花酸合成途径为莽草酸途径,鞣花酸可以与糖类物质结合成糖苷,糖类物质的含量对游离鞣花酸含量具有一定影响。

目前对黑莓、树莓的研究主要集中在果实,包括果实品质、果实贮藏等^[34-35],而目前对叶片中鞣花酸含量的研究报道较少。鞣花酸广泛存在于多种植物体内,且在植物的不同部位均有所分布,但其在植物体内的不同部位含量与分布均有所不同。目前有文献报道鞣花酸含量种子<果汁<果皮<叶片^[36]。叶片作为种植业中的副产品,较果实更为便宜、量大且更易获得,具有一定的潜在经济利用价值。本文对不同品种黑莓、树莓不同生长时期叶片中鞣花酸含量进行测定,并对不同发育时期抗氧化物质以及糖类物质含量进行测定,旨在初步揭示叶片中鞣花酸含量与抗氧化特性的变化趋势及关系,对悬钩子属小浆果叶片的潜在利用价值进行综合分析,以期为后续叶片开发

利用、鞣花酸的深入研究以及抗氧化产品的研发提供部分理论基础。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

黑莓、树莓不同发育时期叶片 主要为江苏省主要种植品种以及自主繁育的优良品种,均采自江苏省中国科学院植物研究所溧水科学基地,选取正常生长无病虫害的完整叶片,擦干表面水分-30℃保存待用。叶片按其生长发育时期分为:嫩叶期(从顶端起1~3片)、伸展叶期(从顶端起3~8片,完全伸展生长的功能叶片)以及老叶期三个时期;鞣花酸标准品(含量>96%) 叶源生物公司;NaOH 分析纯,西陇科学;乙醇 分析纯,华大公司;DPPH 自由基清除能力试剂盒、总抗氧化能力测定试剂盒、维生素C测定试剂盒、类黄酮试剂盒、可溶性糖试剂盒、蔗糖试剂盒、葡萄糖试剂盒、果糖试剂盒 南京建成生物有限公司。

Centrifuge 5804 R 低温高速离心机 德国 Eppendorf; 759-紫外分光光度计 上海菁华科技仪器有限公司; Multiskan Sky 酶标仪 德国 Thermo Scientific; FA1004 电子天平 舜宇公司; HH-2 数显恒温水浴锅 常州润华电器有限公司; KQ-300DE 超声清洗仪 昆山市超声仪器有限公司。

1.2 实验方法

1.2.1 鞣花酸提取与含量测定 鞣花酸提取方法主要为溶剂提取法,一般采用超声波辅助^[37]、酸辅助水解^[38]以提高提取率。参照文献^[39]方法,本实验采用超声辅助溶剂提取法。取冷冻保存叶片1g,剪碎液氮研磨成粉末,准确称取0.100g叶片粉末,加入2mL 40%乙醇作为提取溶剂,80℃超声提取20min,超声提取后7000r/min离心10min,取其澄清上清液待测。

鞣花酸含有酯基和酚羟基,容易与碱发生反应^[24],采用紫外分光光度法能够快速检测鞣花酸含量。根据陈笏鸿等^[40]的方法,在待测液中加入0.1mol/L NaOH,其可与鞣花酸发生反应并且在357nm处有最大吸收峰,该方法根据统计学分析可信度为95%,误差较小,可用于鞣花酸的快速检测。1.2.1中获得的待测上清液与稀碱按1:4(v:v)混匀后室温反应15min,用蒸馏水调零,测定吸光度值,通过标准曲线 $y=0.0504x+0.003$ ($R^2=0.999$)计算待测样品中鞣花酸含量。

1.2.2 抗氧化物质与糖类物质含量测定 取冷冻保存的叶片,液氮研磨成粉。配制0.1mol/L pH7.4的PBS作为缓冲液,按照料液比为1:9(g:mL)涡旋混

匀, 7000 r/min 离心 5 min 取上清液。采用试剂盒比色法测定不用发育时期叶片中总抗氧化能力、DPPH 自由基清除能力, 黄酮、维生素 C、可溶性糖、果糖、葡萄糖、蔗糖等含量。

叶片总酚含量测定采用 Folin-Ciocalteu 法^[41], 将研磨的叶片粉末按照料液比为 1:20 加入 50% 乙醇, 35 ℃ 超声提取 20 min, 离心 7000 r/min 离心 5 min 除杂, 取 1 mL 上清液加入 0.5 mL 福林酚试剂、2 mL 7.5% 碳酸钠溶液和 6.5 mL 蒸馏水, 涡旋混匀, 静置 2 h 后, 750 nm 处测定吸光度值, 通过标准曲线 $y=0.128x+0.00045(R^2=0.999)$ 计算样品中总酚含量。

1.3 数据处理

采用 SPSS17.0 对实验数据进行分析, 采用 Excel 2013 进行数据统计和绘图分析。

2 结果与分析

2.1 树莓、黑莓叶片中鞣花酸含量

对溧水实验基地中黑莓、树莓、黑莓树莓杂交种, 共 21 个品种叶片的三个生长时期中鞣花酸含量进行测定后发现, 鞣花酸含量随叶片的生长发育呈下降趋势, 其中嫩叶中鞣花酸含量最高。‘宝森’不同生长时期的叶片中鞣花酸含量均较高, ‘宝森’嫩叶中鞣花酸含量最高为 39.622 mg/g FW。红树莓‘哈瑞泰兹’伸展叶中鞣花酸含量高于嫩叶中含量为 28.066 mg/g FW。‘赫尔’、‘纳瓦荷’与红树莓品种中嫩叶与伸展叶中鞣花酸含量相近, 而‘赫尔’与‘纳瓦荷’老叶中鞣花酸含量有所降低, ‘哈瑞泰兹’老叶中的

鞣花酸含量最低约为 7.649 mg/g FW, 其下降趋势较为明显, 详细结果见表 1。

2.2 抗氧化物质含量分析

本文从 21 个品种中选取鞣花酸含量较高、较低以及不同发育期内鞣花酸含量变化较大的品种进行后续实验分析。选取‘宝森’、‘卡依娃’、‘宁植 2 号’、红树莓‘哈瑞泰兹’、‘纳瓦荷’等品种对其进行抗氧化指标分析, 对叶片的总抗氧化能力、DPPH 自由基清除能力, 总酚、类黄酮、维生素 C 等含量变化进行测定, 旨在进一步评价悬钩子属小浆果叶片的潜在利用价值。测定叶片中除红树莓‘哈瑞泰兹’外, DPPH 自由基清除能力变化规律与总抗氧化能力相似均随叶片的生长发育呈现下降的趋势, 均以嫩叶中含量高, 结果详见图 1。其中‘宝森’、‘卡依娃’、‘宁植 2 号’叶片中抗氧化能力与 DPPH 自由基清除能力均为嫩叶最高老叶中最低而‘纳瓦荷’品种中为伸展叶中最低。红树莓‘哈瑞泰兹’为伸展叶中总抗氧化能力与 DPPH 自由基清除能力均较嫩叶中高, 分别约为 331.738 U/mg prot FW 和 1121.784 mg Trolox/g FW。‘纳瓦荷’的伸展叶中抗氧化能力与 DPPH 自由基清除能力均较其他发育时期低, 分别为 92.600 U/mg prot FW 和 420.691 mg Trolox/g FW。

黑莓、树莓叶片中抗氧化物质含量测定如图 2 所示, 叶片中总酚含量均表现为随叶片发育生长呈下降趋势, 嫩叶中最高, 老叶中含量最低。‘宝森’嫩叶中总酚含量最高为 161.306 mg/g FW, ‘哈瑞泰兹’老

表 1 不同品种黑莓、树莓叶片不同生长时期鞣花酸含量

Table 1 Ellagic acid content in leaves of different varieties of blackberry and raspberry at different growth stages

分类	品种	老叶含量(mg/g FW)	伸展叶含量(mg/g FW)	嫩叶含量(mg/g FW)
黑莓	早黑‘10-2n-1’	21.694±0.141 ^{aA}	19.649±0.277 ^{bB}	26.013±0.064 ^{cC}
	硕丰2号‘10-6n-1-1’	12.566±0.091 ^{dC}	21.209±0.215 ^{dB}	31.992±0.543 ^{cA}
	品系‘10-5n-2’	15.125±0.209 ^{cC}	23.821±0.234 ^{bB}	35.506±0.170 ^{aA}
	宁植2号‘Ningzhi 2’	11.679±0.107 ^{cC}	19.532±0.337 ^{bB}	22.912±0.495 ^{cA}
	宁植3号‘Ningzhi 3’	20.693±0.160 ^{bC}	27.147±0.297 ^{AB}	29.364±0.224 ^{dA}
	宁植4号‘Ningzhi 4’	21.880±0.470 ^{aC}	24.589±0.443 ^{bB}	33.374±0.222 ^{bA}
	乔克多‘Choctaw’	11.055±0.181 ^{cC}	17.674±0.182 ^{bB}	26.276±0.157 ^{dA}
	肯马克‘Comanche’	12.138±0.221 ^{dC}	18.391±0.524 ^{dB}	27.510±0.216 ^{cA}
	卡依娃‘Kiowa’	21.257±0.248 ^{bC}	25.679±0.556 ^{AB}	34.672±0.243 ^{aA}
	萨尼‘Shawnee’	12.567±0.312 ^{dC}	21.470±0.195 ^{bB}	30.376±0.203 ^{bA}
	阿洛巴荷‘Arapaho’	23.570±0.342 ^{aB}	17.345±0.025 ^{cC}	27.623±0.347 ^{cA}
	布莱兹‘Brazos’	18.540±0.386 ^{cC}	22.484±0.184 ^{bB}	26.798±0.493 ^{dA}
	赫尔‘Hull’	17.093±0.310 ^{aB}	28.077±0.087 ^{bA}	28.498±0.020 ^{bA}
	纳瓦荷‘Navaho’	17.417±0.554 ^{aC}	22.491±0.218 ^{bB}	23.616±0.236 ^{cA}
黑莓树莓杂交种	切斯特‘Chester’	16.960±0.249 ^{aC}	29.515±0.170 ^{AB}	32.689±0.327 ^{aA}
	宁植1号‘Ningzhi 1’	20.577±0.161 ^{cB}	30.958±0.292 ^{bA}	30.461±0.406 ^{bA}
	无刺红‘Young’	23.060±0.425 ^{bC}	25.947±0.364 ^{bB}	28.027±0.572 ^{cA}
	宝森‘Boysen’	28.064±0.177 ^{aC}	32.076±0.307 ^{AB}	39.622±0.091 ^{aA}
	哈瑞泰兹‘Heritage’	7.649±0.130 ^{cC}	28.066±0.116 ^{aA}	27.757±0.142 ^{AB}
树莓	智利黑树莓‘Bristol’	17.350±0.397 ^{aC}	20.966±0.304 ^{bB}	23.033±0.216 ^{bA}
	金秋黄树莓‘Colde Summit’	15.757±0.068 ^{bC}	16.317±0.108 ^{bB}	24.890±0.198 ^{cA}

注: 大写字母为同一品种内不同发育期显著性差异($P<0.05$); 小写字母为同一发育时期不同品种间显著性差异($P<0.05$)。

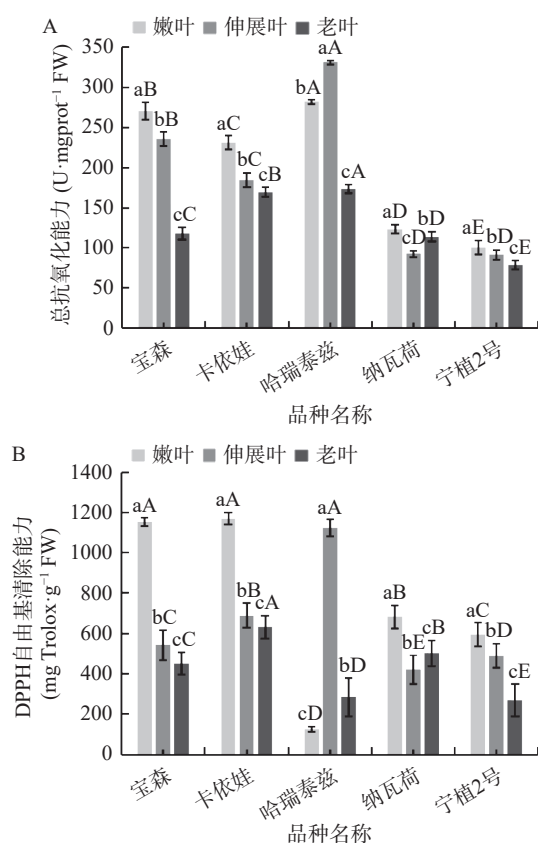


图1 黑莓叶片抗氧化能力测定

Fig.1 Determination of antioxidant capacity of blackberry leaves

注:小写字母为品种内不同发育期显著性差异($P < 0.05$);大写字母为同一发育时期不同品种间显著性差异($P < 0.05$);图2~图3同。

叶中总酚含量最低为 78.361 mg/g FW。类黄酮为酚酸类物质为重要的次生代谢产物,为膳食摄取的主要酚酸类物质之一,其含量变化与总抗氧化能力变化趋势相似。‘宝森’、‘卡依娃’、‘宁植2号’黄酮含量随叶片生长而逐渐降低,其中‘卡依娃’嫩叶中类黄酮含量最高为 22.557 mg/g FW。红树莓‘哈瑞泰兹’伸展叶中类黄酮含量相较其余两个发育时期高,为 11.391 mg/g FW。‘纳瓦荷’伸展叶与老叶中类黄酮含量接近,分别为 9.023 和 9.648 mg/g FW。维生素C为水溶性抗氧化物质,‘宝森’品种叶片中维生素C含量总体较高,其嫩叶中最高为 193.533 mg/g FW。综合测定结果表明‘宝森’、‘卡依娃’品种嫩叶以及‘哈瑞泰兹’伸展叶的抗氧化能力与抗氧化物质含量较高,抗氧化能力较强。

2.3 糖类物质含量分析

糖类物质为重要的能源物质,参与众多代谢活动,为测定重要生理指标之一。黑莓、树莓叶片中鞣花酸含量随叶片的生长发育整体为下降趋势。据报道,鞣花酸合成通路为莽草酸途径,鞣花酸合成始于4-磷酸赤藓糖和磷酸烯醇式丙酮酸的缩合,而磷酸烯醇式丙酮酸可参与糖类物质的合成代谢^[42],同时鞣花酸可以与糖结合形成糖苷,虽糖苷也具有丰富的

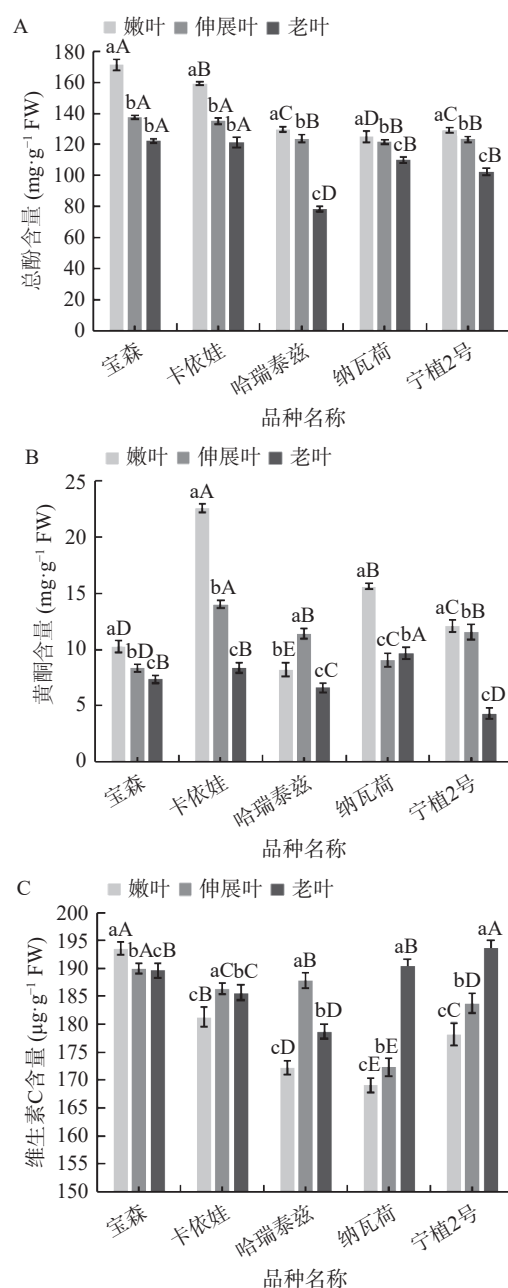


图2 黑莓叶片抗氧化物质含量测定

Fig.2 Content determination of antioxidant substances in blackberry leaves

生物活性^[43],但糖类物质对游离鞣花酸含量具有一定影响。本文采用试剂盒法对黑莓不同发育时期叶片中可溶性糖、果糖、葡萄糖、蔗糖等含量进行测定。结果如图3所示,发现叶片中糖类物质含量随叶片的生长发育呈现上升的趋势,嫩叶中糖类物质含量普遍较低,老叶和伸展叶中含量较高。测定发现叶片中可溶性糖含量整体呈上升趋势,‘宝森’老叶中可溶性糖含量最高为 19.395 mg/g FW,而‘卡依娃’嫩叶中含量最低为 7.834 mg/g FW。黑莓叶片中蔗糖含量为嫩叶中最低,其中‘宁植2号’嫩叶中含量最低为 0.813 mg/g FW,而其伸展叶中蔗糖含量最高为 2.841 mg/g FW。果糖与葡萄糖含量除红树莓外总体为上升趋势,‘哈瑞泰兹’中伸展叶中果糖与葡萄糖含量均较低分别为 4.591 和 3.923 mg/g FW。‘哈瑞泰

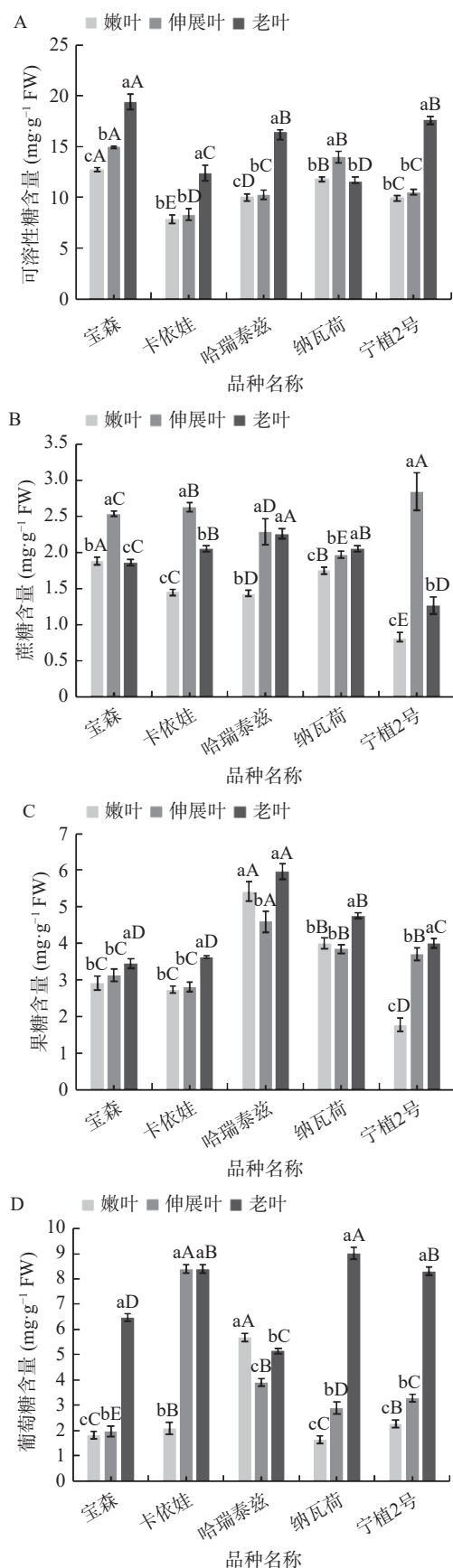


图3 黑莓、树莓叶片糖类物质含量测定

Fig.3 Determination of carbohydrate content in blackberry and raspberry leaves

兹’老叶中果糖含量最高为 5.957 mg/g FW, ‘纳瓦荷’老叶中葡萄糖较高为 9.016 mg/g FW。

2.4 叶片发育进程鞣花酸与其他抗氧化、糖类指标相关性分析

对本文黑莓、树莓共五个品种叶片发育进程中鞣花酸含量与其他指标含量相关性进行相关性分析(表2), 随叶片的生长发育鞣花酸含量逐渐下降其嫩叶中含量最高, 而在此生长发育过程中鞣花酸与其他测定的抗氧化物质总体呈现正相关且变化趋势相同, 其中鞣花酸与总酚含量在极显著水平上呈现正相关。由于维生素 C 在叶片中变化趋势为先下降后上升, 在‘卡依娃’、‘纳瓦荷’、‘宁植2号’品种中与鞣花酸含量呈现负相关。糖类物质在叶片中变化趋势为上升趋势, 在嫩叶中含量最低, 但在部分品种中伸展叶中糖类物质含量较高, 可能是由于伸展叶功能活性较强导致。鞣花酸与糖类物质含量总体呈现负相关, 且部分指标在显著的水平上呈现负相关。

2.5 不同物种叶片鞣花酸含量分析

鞣花酸为酚酸类物质之一, 为重要的次生代谢产物, 引起具有多种优秀的生物性而被广泛研究。对其他不同物种叶片中鞣花酸含量进行统计如下表3, 石榴叶片中鞣花酸含量较低, 因生长环境以及品种的不同, 鞣花酸含量也有所差异。常见园艺果实草莓中其干叶片中鞣花酸含量较高且最高可到 32.300 mg/g。树莓‘秋福’与石榴‘泰山红’叶片中鞣花酸含量较低分别为 0.519 与 0.622 mg/g。

3 讨论与结论

随着社会的发展与进步, 人们愈来愈关注自身健康, 食补也备受重视。黑莓、树莓因其果实具有丰富的营养物质而被广泛关注, 有研究表明经常食用富含酚酸类物质的食物对慢性疾病的发生具有积极的影响^[47-48], 所以发现膳食生活中鞣花酸以及酚酸类物质含量较高的食品, 对保持人体健康具有深远的意义。唐莹等^[49]将树莓叶片炮制成叶片茶后, 经检测其茶香滋味鲜醇且具有良好的抗氧化以及抑菌效果, 而叶片为生产加工中的副产品, 其较于果实更易获得且价格低廉, 可作为鞣花酸提取研究样品, 对黑莓、树莓鞣花酸以及酚酸类物质的研究具有一定的意义, 同时嫩叶可以开发成叶片茶具具有一定的潜在经济利用价值。

综上所述, 相较于前人研究, 本文测定品种叶片中鞣花酸含量相对较高, 在测定的 21 个品种中‘宝森’和‘卡依娃’品种叶片中鞣花酸含量较高且嫩叶中含量最高为 39.622 mg/g FW, 显著高于表格中测定品种, 但由于测定方法以及叶片发育时期的不同, 鞣花酸含量也存在一定差异, 但可以肯定的是黑莓嫩叶中鞣花酸含量丰富, 具有一定的研究以及经济利用价值。在对总抗氧化活性, 自由基清除能力、以及抗氧化物质含量测定中‘宝森’和‘卡依娃’品种均含量较高, 其中‘卡依娃’品种中黄酮含量最高为 22.557 mg/g FW, ‘哈瑞泰兹’叶片中鞣花酸含量为伸展叶最高, 除黄酮含量外其余抗氧化指标均为伸展叶

表 2 黑莓、树莓叶片发育进程中各品质指标与鞣花酸含量的相关性分析

果实品质指标	鞣花酸含量				
	宝森	卡依娃	哈瑞泰兹	纳瓦荷	宁植2号
总抗氧化能力	0.888**	0.985**	0.957**	-0.036	0.989**
DPPH自由基清除能力	0.740*	0.885**	0.374	0.304	0.900**
总酚	0.995**	0.997**	0.990**	0.940**	0.987**
黄酮	0.763*	0.998*	0.764*	0.563	0.969**
维生素C	0.936**	-0.836**	0.122	-0.990**	-0.996**
可溶性糖	-0.933**	-0.846**	-0.977**	0.446	-0.971**
蔗糖	-0.136	-0.607	-0.248	-0.825**	0.013
果糖	-0.763	-0.837**	-0.737*	-0.886**	-0.991**
葡萄糖	-0.784*	-0.917**	-0.230	-0.991**	-0.987**

注: *和**分别表示在0.05水平和0.01水平上显著相关。

表 3 不同物种叶片中鞣花酸含量

Table 3 Ellagic acid content in leaves of different species

物种	品种名称	叶 (mg/g)	检测方法	参考文献
石榴	泰山红‘Taishanhong’	0.622~0.132	HPLC法	[44]
Pomegranate	泰山三白‘Taishansanbaitian’	0.425~0.980		
树莓	波尔卡‘Porlka’	0.907	HPLC法	[36]
Raspberry	秋福‘Autumn Bliss’	0.519	HPLC法	
	布莱克墨‘Blakemore’	15.410	HPLC法	
	切塞纳‘Cesena’	17.900	HPLC法	
草莓Strawberry(dry weight)	巨丰‘Delite’	20.050	HPLC法	[45]
	礼物‘Tribute’	32.300	HPLC法	
	安娜‘Dana’	12.730	HPLC法	
	珍珠‘Zhenzhu’	0.396	UPLC-MS/MS法	
番石榴Guava	水蜜‘Shuimi’	0.507	UPLC-MS/MS法	
	红宝石‘Hongbaoshi’	0.355	UPLC-MS/MS法	[46]
	西瓜‘Xigua’	0.363	UPLC-MS/MS法	

中较高。在糖类物质的测定中,糖类物质与鞣花酸等抗氧化物质呈负相关,均为嫩叶中最低,这主要是因为糖类物质的合成、鞣花酸和其他酚酸类物质合成、黄酮类物质的合成均与磷酸烯醇式丙酮酸相关,磷酸烯醇式丙酮酸在酶的作用下生成丙二酰 CoA,为黄酮类物质合成的起始物质,磷酸烯醇式丙酮酸为鞣花酸合成起始物质之一,同时也参与糖类物质的代谢与合成。近年来,对悬钩子果实中鞣花酸合成通路以及中间代谢产物均有研究^[42],但对叶片中鞣花酸累积规律鲜有报道,鞣花酸在植物体内不同部位含量分布不同,叶片中鞣花酸含量较高且具有一定开发利用价值,本文旨在为后续黑莓、树莓叶片的深入研究与开发利用提供部分理论基础。

参考文献

[1] 吴文龙, 顾嫻. 新经济植物黑莓的引种[J]. 植物资源与环境, 1994(3): 45-48. [WU W L, GU Y. Blackberry introduction and cultivation[J]. Journal of Plant Resources and Environment, 1994(3): 45-48.]

[2] 孙醉君, 顾嫻, 蔡剑华. 黑莓引种十年的回顾与展望[J]. 江苏林业科技, 1998(3): 48-50, 56. [SUN Z J, GU Y, CAI J H. Re-

view and prospect of ten years introduction of blackberry[J]. Journal of Jiangsu Forestry Science and Technology, 1998(3): 48-50, 56.]

[3] TAMAR T, MERAB J, LEVAN G, et al. Effect of ascorbic acid treatment on some quality parameters of frozen strawberry and raspberry fruits[J]. *Annals of Agrarian Science*, 2017, 15(3): 370-374.

[4] ROMMEL A, WROLSTAD R. Ellagic acid content of red raspberry juice as influenced by cultivar, processing, and environmental factors[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 1993, 41(11): 1951-1960.

[5] 张立华, 郝兆祥, 董业成. 石榴的功能成分及开发利用[J]. 山东农业科学, 2015, 47(10): 133-138. [ZHANG L H, HAO Y X, DONG Y C. Functional components and development and utilization of pomegranate[J]. *Shandong Agricultural Sciences*, 2015, 47(10): 133-138.]

[6] USTA, OZDEMIR, SCHIARITI, et al. The pharmacological use of ellagic acid-rich pomegranate fruit[J]. *International Journal of Food Sciences and Nutrition*, 2013, 64(7): 907-913.

[7] SAYEDALIREZA M, SAYEDMOJTABA M. Benefits of ellagic acid from grapes and pomegranates against colorectal cancer[J]. *Caspian Journal of Internal Medicine*, 2017, 8(3): 226-227.

- [8] XU Y, CHARLES M T, LUO Z, et al. Preharvest ultraviolet C irradiation increased the level of polyphenol accumulation and flavonoid pathway gene expression in strawberry fruit[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2017, 65(46): 9970–9979.
- [9] DANH V C, PHUC V H, MARK C V, et al. Identification and characterization of phenolic compounds in black walnut kernels[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2018, 66(17): 4503–4511.
- [10] 崔珊珊, 毕凯媛, 吴杰, 等. 响应面法优化树莓鞣花酸提取工艺及其体外抗氧化活性[J]. *食品工业科技*, 2019, 40(1): 149–155, 161. [CUI S S, BI K Y, WU J, et al. Optimization of extraction technology and antioxidative activity of ellagic acid in raspberry by response surface methodology[J]. *Science and Technology of Food Industry*, 2019, 40(1): 149–155, 161.]
- [11] 蒋新龙, 吴小刚, 郭叶莹, 等. 鞣花酸磷脂复合物制备及其对植物油抗氧化作用[J]. *中国粮油学报*, 2021, 36(2): 81–88. [JANG X L, WU X G, GUO Y Y, et al. Preparation of ellagic acid phospholipid complex and its antioxidative effect on vegetable oil[J]. *Journal of the Chinese Cereals and Oils Association*, 2021, 36(2): 81–88.]
- [12] NIZAR A, QOSAY A, MOHAMMAD A, et al. Ellagic acid: A potent glyoxalase-I inhibitor with unique scaffold[J]. *Acta Pharmaceutica*, 2021, 71(1): 115–130.
- [13] MOUAD E, IRINA O, IZUMI O, et al. Ellagic acid induces apoptosis through inhibition of nuclear factor κ B in pancreatic cancer cells[J]. *World Journal of Gastroenterology*, 2008(23): 3672–3680.
- [14] TAN Y H, SHUDO T, YOSHIDA T, et al. Ellagic acid, extracted from *sanguisorba officinalis*, induces G1 arrest by modulating PTEN activity in B16F10 melanoma cells[J]. *Genes to Cells*, 2019, 24(11): 688–704.
- [15] 钟晨. 鞣花酸抑制肝癌的分子机制及其与两种化疗药物协同作用的研究[D]. 哈尔滨: 东北林业大学, 2019. [ZHONG C. The mechanisms of ellagic acid against hepatocellular carcinoma and synergistic effects of its combinations with two chemotherapeutic agents[D]. Harbin: Northeast Forestry University, 2019.]
- [16] FATIMA N, HAFIZUR R M, HAMEED A, et al. Ellagic acid in *emblica officinalis* exerts anti-diabetic activity through the action on β -cells of pancreas[J]. *European Journal of Nutrition*, 2017, 56(2): 591–601.
- [17] JOZAA Z, NORA A, GHEDEIR M, et al. Ellagic acid protects against diabetic nephropathy in rats by regulating the transcription and activity of Nrf2[J]. *Journal of Functional Foods*, 2021, 79: 1–15.
- [18] GONÇALO G, FARIA P T, PAULA P, et al. Bioaccessible raspberry extracts enriched in ellagitannins and ellagic acid derivatives have anti-neuroinflammatory properties[J]. *Antioxidants*, 2020, 9(10): 970–970.
- [19] 吕广. 鞣花酸对脂多糖诱导的炎症反应的抑制作用和机制研究[D]. 长春: 吉林大学, 2016. [LÜ G. Inhibitory effects and mechanisms of ellagic acid on lipopolysaccharide-induced inflammation[D]. Changchun: Jilin University, 2016.]
- [20] GUPTA A, PANDEY A K. Aceclofenac-induced hepatotoxicity: An ameliorative effect of *terminalia bellirica* fruit and ellagic acid[J]. *World Journal of Hepatology*, 2020, 12(11): 949–964.
- [21] MAR L, MARÍA T, JUAN C. Ellagitannins, ellagic acid and vascular health[J]. *Molecular Aspects of Medicine*, 2010, 31(6): 513–539.
- [22] BIALONSKA D, SASHI G, KEVIN K, et al. The effect of pomegranate (*Punica granatum* L.) byproducts and ellagitannins on the growth of human gut bacteria[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2009, 57(18): 8344–8349.
- [23] 焦士蓉, 唐子尧, 孙博瑞, 等. 石榴皮提取物和鞣花酸对脂肪干细胞增殖和分化的影响[J]. *西华大学学报(自然科学版)*, 2019, 38(2): 48–51. [JIAO S R, TANG Z X, SUN B R, et al. Effect of pomegranate peel extract and ellagic acid on human adipose-derived cells proliferation and differentiation[J]. *Journal of Xihua University (Natural Science Edition)*, 2019, 38(2): 48–51.]
- [24] 骆菊文, 蒋新元, 徐佳敏, 等. 鞣花酸的稳定性及其保护研究[J]. *日用化学工业*, 2020, 50(8): 547–552. [LUO J W, JIANG X Y, XU J M, et al. Study on the stability and protection of ellagic acid[J]. *China Surfactant Detergent & Cosmetics*, 2020, 50(8): 547–552.]
- [25] GILL N K, RIOS D, OSORIO C E, et al. Anticancer effects of extracts from three different chokeberry species[J]. *Nutrition and Cancer*, 2020, 73(7): 1168–1174.
- [26] MUJAWAR S B, MURIGENDRA B. Evaluation of *in vitro* antioxidant and anti-inflammatory activities of *Aegle marmelos* leaf extracts[J]. *Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research*, 2020: 209–213.
- [27] 汪瑞敏, 李朝辉, 赵丰年, 等. 不同溶剂对诺丽籽提取物中多酚构成谱和抗氧化能力、抑菌活性的影响[J]. *食品科技*, 2021, 46(10): 169–176. [WANG R M, LI Z H, ZHAO F N, et al. Effect of different extraction solvents on phenolics profile, antioxidant activity and antibacterial activity of noni (*Morinda Citrifolia* L.) seed extracts[J]. *Food Science and Technology*, 2021, 46(10): 169–176.]
- [28] JEFFREY B H, CHRISTINE A W. Advances in flavonoid research since 1992[J]. *Phytochemistry*, 2000, 55(6): 481–504.
- [29] 杨红彭, 李曦, 徐彤, 等. 石榴果实及果皮抗氧化成分的测定[J]. *中国食物与营养*, 2021, 27(9): 39–41. [YANG H P, LI X, XU T, et al. Determination on antioxidant components in fruit and peel from *Punica granatum*[J]. *Food and Nutrition in China*, 2021, 27(9): 39–41.]
- [30] GREBE M, EISELE H J, WEISSMANN N, et al. Antioxidant vitamin C improves endothelial function in obstructive sleep apnea[J]. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine*, 2006, 173(8): 897–901.
- [31] NETH B J, BAUER B A, BENARROCH E E, et al. The role of oxidative stress in Parkinson's disease[J]. *Antioxidants*, 2020, 9: 597.
- [32] ZHANG Y Z, WANG L, ZHANG J J, et al. Vascular peroxide 1 promotes ox-LDL-induced programmed necrosis in endothelial cells through a mechanism involving β -catenin signaling[J]. *Atherosclerosis*, 2018, 274: 128–138.
- [33] ZHANG Y Q, ARCHANA U, SATHYASEELAN S D, et al.

A new role for oxidative stress in aging: The accelerated aging phenotype in Sod1^{-/-} mice is correlated to increased cellular senescence[J]. *Redox Biology*, 2017, 11(C): 30–37.

[34] 何嘉琪, 刘洪霞, 吴文龙, 等. 阿魏酸和那他霉素对采后黑莓果实细胞壁代谢的影响[J]. *北方园艺*, 2021(12): 94–101. [HE J Q, LIU H X, WU W L, et al. Effects of ferulic acid and natamycin on cell wall metabolism of postharvest blackberry fruits[J]. *Northern Horticulture*, 2021(12): 94–101.]

[35] 严志祥, 杨海燕, 樊苏帆, 等. 黑莓果实发育过程中蔗糖磷酸合成酶基因的表达分析[J]. *南京林业大学学报(自然科学版)*, 2022, 46(1): 179–186. [YAN Z X, YANG H Y, FAN S F, et al. Analysis of the expression of sucrose phosphate synthase genes during the development of blackberry fruit[J]. *Journal of Nanjing Forestry University (Natural Sciences Edition)*, 2022, 46(1): 179–186.]

[36] 杨光, 周双, 孙兰英, 等. HPLC法测定秋果型树莓不同部位鞣花酸的含量[J]. *黑龙江农业科学*, 2021(3): 86–89. [YANG G, ZHOU S, SUN L Y, et al. Determination of ellagic acid in different part of raspberry by HPLC[J]. *Heilongjiang Agricultural Science*, 2021(3): 86–89.]

[37] LU J, YUAN Q. A new method for ellagic acid production from pomegranate husk[J]. *Journal of Food Process Engineering*, 2008, 31(4): 443–454.

[38] 邱幼军, 贾光锋. 超声强化提取石榴皮鞣花酸的工艺研究[J]. *现代生物医学进展*, 2010, 10(19): 3703–3705. [DI Y J, JIA G F. Study on the ultrasonic extraction process of ellagic acid from pomegranate Husk[J]. *Progress in Modern Biomedicine*, 2010, 10(19): 3703–3705.]

[39] 王佳慧, 于欣悦, 廖声玲, 等. 树莓中鞣花酸提取工艺的优化[J]. *中国林副特产*, 2017(4): 14–17. [WANG J H, YU X Y, LIAO S L, et al. Optimization of extraction process of ellagic acid from raspberry[J]. *Forest By Production and Speciality in China*, 2017(4): 14–17.]

[40] 陈笏鸿, 吴冬梅, 汪咏梅, 等. 紫外分光光度法测定鞣花酸含量的研究[J]. *生物质化学工程*, 2007(3): 18–20. [CHEN J H, WU D M, WANG Y M, et al. Study on quantitative determination of ellagic acid by UV-spectrophotometry[J]. *Biomass Chemical Engineering*, 2007(3): 18–20.]

[41] 李静, 聂继云, 李海飞, 等. Folin-酚法测定水果及其制品中总多酚含量的条件[J]. *果树学报*, 2008(1): 126–131. [LI J, NIE

J Y, LI H F, et al. On determination conditions for total polyphenols in fruits and its derived products by Folin-phenol methods[J]. *Journal of Fruit Science*, 2008(1): 126–131.]

[42] CHEN Z, JIANG J Y, SHU L Z, et al. Combined transcriptomic and metabolic analyses reveal potential mechanism for fruit development and quality control of Chinese raspberry (*Rubus chingii* Hu)[J]. *Plant Cell Reports*, 2021, 40(10): 1–24.

[43] BALA I, BHARDWAJ V, HARIHARAN S, et al. Analytical methods for assay of ellagic acid and its solubility studies[J]. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 2006, 40(1): 206–210.

[44] 冯立娟, 尹燕雷, 苑兆和, 等. 石榴叶片发育期安石榴苷及其合成相关物质含量的变化[J]. *果树学报*, 2016, 33(3): 314–323. [FENG L J, YI Y L, YUAN Z H, et al. Studies on the contents changes of punicalagin and its synthetic related substance in pomegranate leaf during development[J]. *Journal of Fruit Science*, 2016, 33(3): 314–323.]

[45] MAAS J L, WANG S Y, GALLETTA G J. Evaluation of strawberry cultivars for ellagic acid content[J]. *Hortscience*, 1991, 26(1): 66–68.

[46] 吴妙鸿, 邱珊莲, 林宝妹, 等. 番石榴4个品种叶和幼果的生物活性和酚类成分研究[J]. *热带亚热带植物学报*, 2021, 29(6): 694–702. [WU M H, QIU S L, LIN B M, et al. Biological activities and phenolic constituents in extracts from leaves and young fruits of four guava cultivars[J]. *Journal of Tropical and Subtropical Botany*, 2021, 29(6): 694–702.]

[47] TORUNN E T, LINDA H, SIV K B, et al. Polyphenol-rich juices reduce blood pressure measures in a randomised controlled trial in high normal and hypertensive volunteers[J]. *British Journal of Nutrition*, 2015, 114(7): 1054–1063.

[48] JOSEPH S V, EDIRISINGHE I, BURTON B M. Berries: Anti-inflammatory effects in humans[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2014, 62(18): 3886–3903.

[49] 唐莹, 贾仕杰, 蒋莹, 等. 红树莓叶茶的制备及与红树莓叶片、绿茶品质的比较[J]. *食品科学*, 2021, 42(17): 34–42. [TANG Y, JIA S J, JIANG Y, et al. Preparation of red raspberry leaf tea and comparison of its quality with red raspberry leaves and commercial green tea[J]. *Food Science and Technology*, 2021, 42(17): 34–42.]