

加热对黑加仑花色苷含量及抗氧化活性的影响

贾娜^{1,2}, 孔保华^{2*}, 刘 骞², 陈 倩², 张红涛²

(1.渤海大学食品科学研究院, 化学化工与食品安全学院, 辽宁省食品安全重点实验室,
食品贮藏加工及质量安全控制工程技术研究中心, 辽宁省高校重大科技平台, 辽宁 锦州 121013;
2.东北农业大学食品学院, 黑龙江 哈尔滨 150030)

摘 要: 通过研究加热温度和加热时间对黑加仑花色苷含量及抗氧化活性的影响, 探讨黑加仑花色苷及其抗氧化能力的热稳定性。将黑加仑花色苷提取物在60、80、100℃分别加热1~5h, 测定不同加热温度和加热时间下的花色苷含量, 分析花色苷热降解动力学; 同时测定DPPH自由基清除率、还原能力和ABTS⁺·清除率, 评价花色苷抗氧化能力的热稳定性。结果表明: 加热处理会导致花色苷含量显著降低($P < 0.05$), 其降解符合一级动力学反应, 随着温度的增加, 反应速率常数 k 增加, 半衰期 $t_{1/2}$ 降低, 反应活化能为71.97kJ/mol; 随着加热温度的升高和加热时间的延长, 花色苷的DPPH自由基清除率、还原能力和ABTS⁺·清除率均有不同程度的下降。因此, 加工过程中应避免长时间、高温处理, 以防止花色苷降解, 从而保护花色苷的抗氧化活性。

关键词: 黑加仑; 花色苷; 加热; 含量; 抗氧化活性

Effect of Heating Temperature and Time on the Content and Antioxidant Activity of Anthocyanins from Black Currant

JIA Na^{1,2}, KONG Bao-hua^{2*}, LIU Qian², CHEN Qian², ZHANG Hong-tao²

(1. Food Safety Key Laboratory of Liaoning Province, Engineering and Technology Research
Center of Food Preservation, Processing and Safety Control of Liaoning Province, Research Institute of Food
Science, College of Chemistry, Chemical Engineering and Food Safety, Bohai University, Jinzhou 121013, China;
2. College of Food Science, Northeast Agricultural University, Harbin 150030, China)

Abstract: The effects of heating time and temperature on the content and antioxidant activity of anthocyanins in black currant extract were investigated in order to evaluate the heat stability and antioxidant stability of anthocyanins. The extract was heated at 60, 80 °C or 100 °C for 1—5 h and afterwards analyzed for the content and thermal degradation kinetics of anthocyanins. Besides, the antioxidant stability was assessed by DPPH free radical scavenging, reducing power and ABTS free radical scavenging assays. The results showed that heat induced a significant reduction in anthocyanin content ($P < 0.05$). The thermal degradation of anthocyanins followed first-order kinetics. The reaction rate constant was increased and the half-time was decreased with increasing heating temperature. The activation energy for the degradation reaction was 71.97 kJ/mol. The scavenging capacities against DPPH and ABTS free radicals as well as reducing power of anthocyanins were attenuated to different extents with increasing heating temperature and time. Accordingly, avoidance of long-term high temperature exposure during processing is necessary to prevent anthocyanin degradation and thus protect its antioxidant activity.

Key words: black currant; anthocyanins; heating; content; antioxidant activity

中图分类号: TS202.3

文献标识码: A

文章编号: 1002-6630(2012)21-0073-05

大量流行病学研究表明, 水果和蔬菜能抗衰老并能降低心血管类疾病、癌症等的发病率^[1-2], 这主要是由于水果和蔬菜中的植物化学物质和VC可以通过清除自由基起到抗氧化作用。很多研究发现小浆果中的抗氧化物质含量尤为丰富^[3-4], 其主要抗氧化成分为VC和一些多酚物

质, 多酚主要包括花色苷、酚酸、黄烷醇类、黄酮醇类和单宁, 其中花色苷在小浆果的抗氧化成分中占有重要地位。

黑加仑具有较高含量的花色苷和较强的抗氧化能力, Koponen等^[5]报道黑加仑花色苷的含量为201mg/100g

收稿日期: 2011-08-29

基金项目: 黑龙江省自然科学基金项目(QC2011C001); 国家公益性行业(农业)科研专项(200903012-02)

作者简介: 贾娜(1982—), 女, 讲师, 博士, 研究方向为农产品加工与贮藏工程。E-mail: jiana_2010@163.com

*通信作者: 孔保华(1963—), 女, 教授, 博士, 研究方向为畜产品加工。E-mail: kongbh@163.com

鲜果。Amakura等^[6]研究了黑莓、黑加仑、蓝莓等9种小浆果提取物的酚含量和清除自由基能力,发现黑加仑提取物的DPPH自由基清除能力在9种小浆果中位居第二。Borges等^[7]对黑加仑中VC、类黄酮、酚类物质的含量和抗氧化能力进行了测定,发现花色苷对总抗氧化能力具有73%的贡献,而VC只有18%,因此,黑加仑花色苷具有很好的抗氧化活性。

花色苷的稳定受很多因素影响,如pH值、温度、光照、氧气、金属离子等,而在实际生产过程中,加热是必不可少的加工处理方式,因此,研究黑加仑花色苷的含量和抗氧化活性在加热过程中的保持情况,可以为天然抗氧化剂的生产及其在其他食品中的应用提供参考和指导,否则,仅有优秀的抗氧化性,而没有良好的热稳定性或在使用过程中由于对热稳定温度和时间不了解而导致抗氧化活性消失或降低,也是我们所不希望的。虽然不同来源花色苷的热稳定性已受到国内外一些学者的关注^[8-10],但对黑加仑花色苷热稳定性的研究较少,并且只分析了加热过程中花色苷含量的变化和热降解动力学^[10-11],关于其抗氧化能力热稳定性的研究未见报道。本研究考察了不同加热温度、不同加热时间对黑加仑花色苷含量的影响,同时研究加热对黑加仑花色苷的重要特性——抗氧化性的影响,为黑加仑花色苷的应用提供理论指导。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

黑加仑冻果(*Ribes nigrum* L.),购自哈尔滨高泰食品公司,品种为布劳德,2009年采摘后于-18℃保存。

1,1-二苯基-2-三硝基苯肼(DPPH)、2,2'-氨基-二(3-乙基-苯并噻唑啉磺酸-6)铵盐(ABTS) 美国Sigma公司;三氯乙酸(TCA)、氯化铁、铁氰化钾、氯化钾均为国产分析纯。

1.2 仪器与设备

UT-1800紫外-可见分光光度计 北京普析通用仪器有限公司;DK-8B电热恒温水浴锅 上海精宏实验设备有限公司;AL-104精密电子天平 上海梅特勒-托利多仪器有限公司;PHS-25型pH计 上海精科雷磁仪器厂。

1.3 方法

1.3.1 黑加仑花色苷的提取

按照贾娜等^[12]所述方法提取黑加仑花色苷。提取液于40℃旋转蒸发,所得浓缩液用pH3.0的磷酸盐缓冲液稀释至花色苷含量约为100mg/L。取5mL花色苷稀释液于试管中,盖紧塞子分别于60、80、100℃水浴中加热5h,每隔1h取出一支试管,立即用自来水冷却,测定所得试样的花色苷含量和各项抗氧化指标。

1.3.2 黑加仑花色苷的含量测定及热降解动力学分析

采用pH示差法^[13]测定花色苷含量。取适量花色苷溶液,用pH1.0的KCl-HCl缓冲液(0.025mol/L)和pH4.5的乙酸钠-HCl缓冲液(0.4mol/L)稀释至适当倍数(使pH1.0时的吸光度在0.2~0.7之间),放置15min后,于520nm波长测定吸光度,按公式(1)计算花色苷含量。

$$\text{花色苷含量}/(\text{mg/L}) = \frac{(A_{\text{pH}1.0} - A_{\text{pH}4.5}) \times 449.29 \times \text{DF} \times 1000}{26900 \times L} \quad (1)$$

式中: $A_{\text{pH}1.0}$ 和 $A_{\text{pH}4.5}$ 是样品在pH 1和pH 4.5的缓冲液中的吸光度;449.29是矢车菊-3-葡萄糖苷的摩尔质量浓度/(g/mol);DF是稀释倍数;26900是矢车菊-3-葡萄糖苷的摩尔消光系数/(L/(mol·cm));L是比色皿的光路长度/cm。

一级反应速率常数 k 按照公式(2)计算。

$$\ln(\rho_t/\rho_0) = -k \times t \quad (2)$$

式中: k 是热降解反应速率常数/ h^{-1} ; ρ_0 是花色苷起始含量/(mg/L); ρ_t 是加热到 t 时刻的花色苷含量/(mg/L); t 是加热时间/h。

半衰期 $t_{1/2}$ (h)按照公式(3)计算。

$$t_{1/2} = -\ln(0.5 \times k^{-1}) \quad (3)$$

反应活化能 E_a (kJ/mol)根据阿伦乌斯(Arrhenius)方程 $k = k_0 \times e^{(-E_a/RT)}$ 计算。方程两边同时取对数,得 $\ln k = \ln k_0 - E_a/RT$,以 $\ln k$ 为纵坐标, $1/T$ 为横坐标作图,斜率即为 $-E_a/R$,由斜率可求出活化能 E_a 。其中, k 为热降解反应速率常数; k_0 为频率常数; R 为气体常数8.314J/(mol·K); T 为热力学温度/K。

1.3.3 还原能力的测定

采用Oyaizu等^[14]的方法。0.5mL待测液与2.5mL磷酸盐缓冲液(pH6.6, 0.2mol/L)和2.5mL 1%铁氰化钾混合,50℃保温20min,快速冷却后,加入10% TCA 2.5mL,3000r/min离心10min,取上清液5mL,加入5mL蒸馏水和1mL 0.1%氯化铁溶液,混匀后放置10min,于700nm波长处测定吸光度。用吸光度 $A_{700\text{nm}}$ 直接表示还原力,吸光度越大还原能力越强。

1.3.4 DPPH自由基清除能力的测定

参照Yang Zhendong等^[15]的方法。0.1mL待测液与3.0mL 0.1mmol/L的DPPH乙醇溶液混合,室温避光反应30min,517nm波长处测定吸光度,按式(4)计算清除率。

$$\text{DPPH自由基清除率}/\% = \frac{A_c - A_s}{A_c} \times 100 \quad (4)$$

式中: A_c 为对照的吸光度; A_s 为样品的吸光度。

1.3.5 ABTS⁺清除能力的测定

参照Ozgen等^[16]的方法并稍加改动。7.0mmol/L ABTS与终浓度为2.45mmol/L的过硫酸钾混合,室温避光放置12~16h。用pH4.5的乙酸钠溶液(20mmol/L)稀释至734nm处的吸光度为0.70±0.02。取3mL该溶液与20μL待测液混

合, 放置6min, 于734nm波长处测定吸光度, 按照式(5)计算自由基清除率。

$$\text{ABTS}^+ \cdot \text{清除率}/\% = \frac{A_c - A_s}{A_c} \times 100 \quad (5)$$

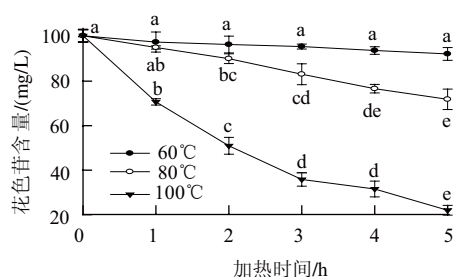
式中: A_c 为对照的吸光度; A_s 为样品的吸光度。

1.4 统计分析

每个实验重复3次, 结果表示为平均值±标准差。数据统计分析采用Statistix 8.1(分析软件, St Paul, MN)利用软件包中 Linear Models 程序进行, 差异显著性($P < 0.05$)分析使用Tukey HSD程序。

2 结果与分析

2.1 加热温度和时间对黑加仑花色苷含量的影响及其热降解动力学



在同一温度下, 字母不同表示差异显著($P < 0.05$)。下同。

图1 加热对黑加仑花色苷含量的影响

Fig.1 Effect of heating temperature and time on the content of anthocyanins

由图1可知, 60℃加热对花色苷含量的影响不显著($P > 0.05$), 而80℃加热导致含量显著降低($P < 0.05$), 100℃加热使花色苷含量降低的幅度增加, 加热1h时, 由原来的(100.37±2.81)mg/L降为(70.67±1.43)mg/L($P < 0.05$), 降低了29.59%, 加热5h时, 含量为(21.99±2.19)mg/L($P < 0.05$), 降低了78.09%, 可见, 加热温度越高、时间越长, 花色苷含量降低的越多。

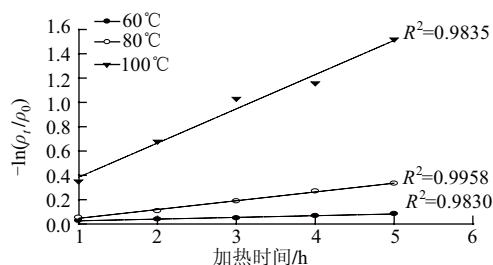


图2 加热过程中黑加仑花色苷的热降解

Fig.2 Thermal degradation curves of anthocyanins

已有研究表明不同来源花色苷的降解符合一级动力学反应, 如石榴汁花色苷^[8]、牡丹花色苷^[9]等的降解动力

学。为了研究黑加仑花色苷的热降解动力学, 以 $-\ln(\rho_t/\rho_0)$ 对加热时间 t 作图, 结果见图2。分别进行线性回归分析, 可知 $-\ln(\rho_t/\rho_0)$ 与加热时间 t 具有良好的线性关系, R^2 均大于0.98, 所以黑加仑花色苷的降解符合一级动力学反应, 其降解动力学参数见表1, 可以看出, 随着加热温度的升高, 一级反应速率常数 k 增加, 半衰期减小, 说明温度增加, 花色苷的反应速率加快, 降解加速, 稳定性降低。黑加仑花色苷的反应活化能为71.97kJ/mol。

表1 黑加仑花色苷热降解动力学参数

Table 1 Thermal degradation parameters for black currant anthocyanins

温度/℃	反应速率常数 k /h	半衰期/h	反应活化能/(kJ/mol)
60	0.0198	35.07	
80	0.0611	11.35	71.97
100	0.3253	2.13	

2.2 加热对黑加仑花色苷抗氧化能力的影响

2.2.1 加热温度和时间对DPPH自由基清除率的影响

DPPH是一种稳定的自由基, 在515~528nm具有吸收峰, 当接受电子或自由基时, 由紫色变为黄色, 吸光度降低, 由于DPPH自由基能在较短时间内与很多样品融合并且对较低浓度样品也很敏感, 因此广泛应用于水果和蔬菜汁或其提取物清除自由基能力的检测^[17]。

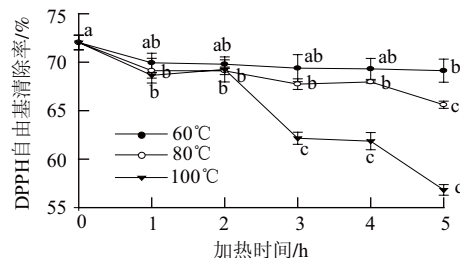


图3 加热温度和时间对DPPH自由基清除率的影响

Fig.3 Effect of heating temperature and time on DPPH radical scavenging activity

由图3可知, 60℃和80℃加热1~5h时, DPPH自由基清除率变化较平稳; 100℃加热1~2h时, 降低幅度较小, 而加热3~5h时, 清除率降低幅度急剧增加, 5h时, 由最初的72.03%降为56.83%($P < 0.05$), 降低了21.11%。说明加热降低了黑加仑花色苷清除DPPH自由基的能力, 并且加热温度越高、加热时间越长, 对DPPH自由基清除能力的破坏越大。

2.2.2 加热温度和时间对还原能力的影响

提供电子是多酚类物质抗氧化特性的一个重要机理, Fe^{3+} 的还原反应常被用来检测多酚的这一特性, 并且 Fe^{3+} 的还原反应与其他抗氧化性具有很好的相关性^[18]。

由图4可知, 加热温度越高、时间越长, 黑加仑花色苷还原能力降低的越多。60℃和80℃加热到5h的过程中, 还原能力变化不显著($P > 0.05$); 100℃加热1h

后, 还原能力显著降低($P < 0.05$), 加热5h时, 由原来的 1.383 ± 0.001 降为 1.323 ± 0.004 ($P < 0.05$), 降低了4.39%, 但与此时的DPPH自由基清除率降低百分率(21.11%)相比, 降低幅度较小, 因此, 黑加仑花色苷的还原能力对加热相对比较稳定。

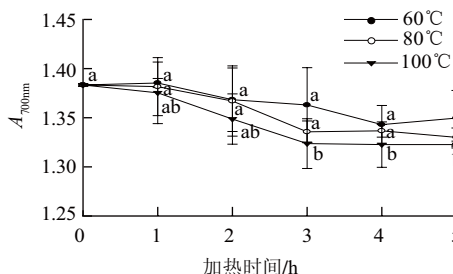


图4 加热温度和时间对还原能力的影响

Fig.4 Effect of heating temperature and time on reducing power

2.2.3 加热温度和时间对清除ABTS⁺·能力的影响

因为所选用的自由基体系对实验结果具有一定的影响, 因此, 在研究抗氧化能力时, 有必要选择两个或多个自由基体系对自由基清除能力进行评价^[19]。

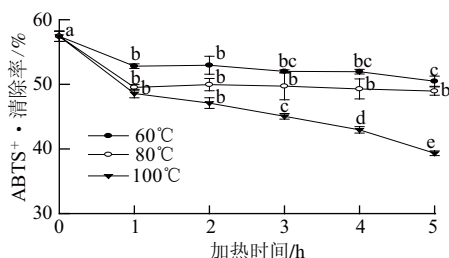


图5 加热温度和时间对ABTS⁺·清除率的影响

Fig.5 Effect of heating temperature and time on ABTS free radical scavenging activity

由图5可知, 加热温度越高、时间越长, ABTS⁺·清除率降低的越多。60°C和80°C加热1h后, ABTS⁺·清除率显著降低($P < 0.05$), 随后随着加热时间的延长, 清除率变化较小; 100°C加热对ABTS⁺·清除能力的影响较大, 加热时间越长, 清除率降低的幅度越大, 100°C加热1h后, 由原来的57.43%降为48.57% ($P < 0.05$), 降低了15.43%, 加热5h时, 降为39.33% ($P < 0.05$), 降低了31.51%。

3 讨论

本研究发现60°C加热使黑加仑花色苷含量略有降低, 但不显著($P > 0.05$), 这可能是由于在酸性条件下(pH3)花色苷比较稳定, 但较高温度导致含量显著降低($P < 0.05$), 因此, 在加工过程中应避免高温和长时间加热, 以防止花色苷降解。Rubinskiene等^[10]在研究加热对水提取的黑加仑花色苷吸光度的影响时发现, 75°C加热150min对花色苷影响不大, 85°C加热150min使吸光度降

低了20%, 95°C加热150min降低了53%, 这与本实验的研究结果相似, 即加热温度越高对花色苷的破坏越大。

半衰期是衡量花色苷热稳定性的一个重要参数, 即花色苷降解50%所需的时间。Harbourne等^[11]研究了黑加仑花色苷在模拟果汁体系(含有黑加仑、蔗糖、柠檬酸、山梨酸钾和矿物质水)中的热降解动力学, 发现60°C和80°C时, 花色苷的半衰期分别为32h和9h, 低于本实验黑加仑花色苷在60°C和80°C的半衰期35.07h和11.35h, 这是由于不同的体系中的组分不同, 对黑加仑花色苷稳定性的影响也不同。酸樱桃果汁花色苷在60°C和80°C的半衰期分别为54.3h和8.1h^[17]; 黑莓果汁在60°C和80°C时的半衰期分别为16.7h和4.7h^[18], 可见不同来源花色苷的稳定性不尽相同, 这可能是由于所含的花色苷单体种类和含量不同所致。

反应活化能也是决定反应速率的重要因素, 在一定温度下, 活化能越大, 反应越慢, 反之, 活化能越小, 反应越快。本研究黑加仑花色苷的反应活化能为71.97kJ/mol, 高于文献所报道的酸樱桃果汁花色苷的反应活化能68.52kJ/mol^[20]和黑莓果汁的反应活化能58.95kJ/mol^[21], 说明黑加仑花色苷的热稳定性较好, 而Harbourne等^[11]发现黑加仑花色苷在上述模拟果汁体系中的反应活化能为73kJ/mol, 与本实验结果相接近。

目前关于加热对花色苷抗氧化稳定性的影响鲜有报道, 本研究从DPPH自由基、ABTS⁺·清除能力和还原能力三方面对黑加仑花色苷的抗氧化活性进行了评定, 以全面反映加热对其抗氧化能力的影响。结果显示, 加热以后, 黑加仑花色苷的DPPH自由基、ABTS⁺·清除能力和还原能力均有不同程度的下降, 并且随着加热温度的增加和加热时间的延长, 下降程度逐渐增加。张镜等^[22]在研究温度对阴香花色苷清除DPPH自由基能力的影响时发现, 60、70、80°C处理1~8h后, 清除率均无显著变化, 并且110~130°C高温处理30min反而导致清除率增加。史海英等^[23]研究了紫玉米花色苷100°C加热20min后的超氧自由基清除能力和过氧化氢清除能力的变化情况, 发现加热前后, 清除两种自由基的能力均无显著变化, 由此可见, 不同来源花色苷的抗氧化能力稳定性不尽相同, 这可能是由于所含的花色苷种类和含量不同所致。此外, 60、80、100°C加热1~5h的过程中, 花色苷还原能力和DPPH自由基清除能力的降低幅度始终较相同加热条件下的花色苷含量降低的幅度小, 而且ABTS⁺·清除率在80°C加热3h以上和100°C加热时, 降低的幅度较相同加热条件下含量降低的幅度小, 这可能是因为花色苷粗提物是一个相对复杂的体系, 粗提物中的其他成分对抗氧化能力也有一定的贡献, 并且加热可能导致诸如缩合反应之类化学反应的发生, 而这些反应可能对抗氧化能力产生的影响较小。

黑加仑花色苷在60°C具有良好的稳定性, 而60°C接

近巴氏杀菌温度,说明花色苷做为抗氧化剂添加到食品中,经过诸如巴氏杀菌的热处理仍然保持良好的抗氧化活性;花色苷在80℃和100℃短时间加热是稳定的,这也说明花色苷在经过如喷雾干燥、高温瞬时杀菌、短时蒸煮之类的处理时,抗氧化活性仍然稳定。因此,在生产过程中应该按照黑加仑花色苷热稳定的温度和时间选择合适的加热条件。

4 结 论

加热导致黑加仑花色苷的含量降低,其降解符合一级动力学反应,同时,花色苷清除DPPH自由基、ABTS⁺·的能力和还原能力也有不同程度的降低,且加热时间越长、温度越高,降低幅度越大,但总体来说,抗氧化能力降低的程度较相同条件下花色苷含量降低的程度小,这可能是由于黑加仑提取物中其他成分对抗氧化能力也具有一定的贡献。加工利用过程中可以根据实际需要选择适宜的处理条件,避免长时间、高温加热,以防止花色苷的降解和对抗氧化能力的破坏。

参考文献:

- [1] La VECCHIA C, ALTIERI A, TAVANI A. Vegetables, fruit, antioxidants and cancer: a review of Italian studies[J]. *European Journal of Nutrition*, 2001, 40: 261-267.
- [2] BAZZANO L A, SERDULA M K, LIU Simin. Dietary intake of fruit and vegetables and risk of cardiovascular disease[J]. *Current Atherosclerosis Reports*, 2003, 5: 492-499.
- [3] KÄHKÖNEN M P, HOPIA A I, HEINONEN M. Berry phenolics and their antioxidant activity[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2001, 49: 4076-4082.
- [4] BENVENUTI S, PELLATI F, MELEGARI M, et al. Polyphenols, anthocyanins, ascorbic acid, and radical scavenging activity of *Rubus*, *Ribes*, and *Aronia*[J]. *Journal of Food Science*, 2004, 69: 164-169.
- [5] KOPONEN J M, HAPPONEN A M, MATTILA P H, et al. Contents of anthocyanins and ellagitannins in selected foods consumed in Finland[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2007, 55: 1612-1619.
- [6] AMAKURA Y, UMINO Y, TSUJI S, et al. Influence of jam processing on the radical scavenging activity and phenolic content in berries[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2000, 48: 6292-6297.
- [7] BORGES G, DEGENEVE A, MULLEN W, et al. Identification of flavonoid and phenolic antioxidants in black currant, blueberries, raspberries, red currant, and cranberries[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2010, 58: 3901-3909.
- [8] 郭松年,董周永,孙海燕,等. 石榴汁花色苷热稳定性及其降解动力学研究[J]. *农业工程学报*, 2008, 24(3): 256-259.
- [9] 樊金玲,朱文学,巩卫东,等. 蔗糖含量对牡丹花色苷热稳定性和降解动力学的影响[J]. *食品科学*, 2010, 31(3): 74-78.
- [10] RUBINSKIENE M, VISKELIS P, JASUTIENE I, et al. Impact of various factors on the composition and stability of black currant anthocyanins[J]. *Food Research International*, 2005, 38: 867-871.
- [11] HARBOURNE N, JACQUIER J C, MORGAN D J. Determination of the degradation kinetics of anthocyanins in a model juice system using isothermal and non-isothermal methods[J]. *Food Chemistry*, 2008, 111: 204-208.
- [12] 贾娜,孔保华,张洪涛. 黑加仑花色苷的提取及抗氧化活性的研究[J]. *食品科学*, 2011, 32(16): 162-166.
- [13] 唐琳,李子江,赵磊,等. 两种pH值法测定玫瑰花花色苷含量的比较[J]. *食品科学*, 2009, 30(18): 310-313.
- [14] OYAIZU M. Studies on products of browning reaction: antioxidative activity of products of browning reaction prepared from glucosamine[J]. *Journal of Nutrition*, 1986, 44: 307-315.
- [15] YANG Zhendong, ZHAI Weiwei. Identification and antioxidant activity of anthocyanins extracted from the seed and cob of purple corn (*Zea mays* L.)[J]. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 2010, 11: 169-176.
- [16] OZGEN M, REESE R N, TULIO A Z, et al. Modified 2,2'-azino-bis-3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid (ABTS) method to measure antioxidant capacity of selected small fruits and comparison to ferric reducing antioxidant power (FRAP) and 2,2'-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) methods[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2006, 54: 1151-1157.
- [17] ZOU Yanping, LU Yanhua, WEI Dongzhi. Antioxidant activity of a flavonoid-rich extract of *Hypericum perforatum* L. *in vitro*[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2004, 52: 5032-5039.
- [18] DORMAN H J D, PELTOKETO A, HILTUNEN R, et al. Characterization of the antioxidant properties of de-odourised aqueous extracts from selected *Lamiaceae* herbs[J]. *Food Chemistry*, 2003, 83: 255-262.
- [19] YU Liangli, HALEY S, PERRET J, et al. Free radical scavenging properties of wheat extracts[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2002, 50: 1619-1624.
- [20] CEMEROĞLU B, VELIOĞLU S, ISIK S. Degradation kinetics of anthocyanins in sour cherry juice and concentrate[J]. *Journal of Food Science*, 1994, 59(6): 1216-1218.
- [21] WANG Weidong, XU Shiyang. Degradation kinetics of anthocyanins in blackberry juice and concentrate[J]. *Journal of Food Engineering*, 2007, 82: 271-275.
- [22] 张镜,温思霞,廖富林,等. 温度、光照及pH值对阴香花色苷清除DPPH自由基活性的影响[J]. *食品科学*, 2009, 30(13): 120-123.
- [23] 史海英,吕晓玲. 紫玉米花色苷抗氧化能力的稳定性[J]. *天津科技大学学报*, 2008, 23(1): 26-28.