

草莓、黑莓、蓝莓中多酚类物质及其 抗氧化活性研究

刘文旭^{1,2}, 黄午阳¹, 曾晓雄², 李春阳^{1,*}

(1.江苏省农业科学院农产品加工研究所, 江苏 南京 210014; 2.南京农业大学食品科技学院, 江苏 南京 210095)

摘 要: 研究草莓、黑莓、蓝莓3种小浆果的总酚、总黄酮、原花青素含量及其总抗氧化能力。结果表明: 蓝莓全果的总酚、总黄酮、原花青素含量在所测3种浆果全果中最高, 分别为9.44mg 没食子酸/g 干质量、36.08mg 芦丁/g 干质量、24.38mg 儿茶素/g 干质量; 其总抗氧化能力也最强, 达14.98mmol Trolox/100g 干质量。草莓的总酚、总黄酮、原花青素含量则最低, 抗氧化能力也最弱。此外, 3种浆果果渣中的总酚、总黄酮、原花青素含量以及总抗氧化能力均高于全果和果汁, 即果渣>全果>果汁。总酚含量、总黄酮含量以及原花青素含量与总抗氧化能力之间的相关性分析表明, 总酚含量与总抗氧化能力之间存在显著线性相关, 相关系数 r 达到0.9704, 表明酚类物质是其抗氧化作用的主要物质基础。

关键词: 草莓; 黑莓; 蓝莓; 酚类物质; 黄酮; 原花青素; 抗氧化活性

Phenolic Content and Antioxidant Capacity of Strawberry, Blackberry and Blueberry

LIU Wen-xu^{1,2}, HUANG Wu-yang¹, ZENG Xiao-xiong², LI Chun-yang^{1,*}

(1. Institute of Agro-food Science and Technology, Jiangsu Academy of Agricultural Sciences, Nanjing 210014, China;

2. College of Food Science and Technology, Nanjing Agricultural University, Nanjing 210095, China)

Abstract: Total phenolic content (TPC), total flavonoid content (TFC) and total proanthocyanin content (TAC) were determined in the whole berries, juice and pomace of strawberry, blackberry and blueberry. Meanwhile, their total antioxidant capacity (trolox equivalent antioxidant capacity, TEAC) was analyzed by an improved ABTS⁺ radical scavenging assay. The results showed that blueberry contained the highest levels of TPC, TFC and TAC, which were 9.44 mg gallic acid/100g dry, 36.08 mg rutin/g and 24.38 catechin mg/g, respectively. Blueberry also possessed the strongest total antioxidant capacity with a TEAC (trolox equivalent antioxidant capacity) value at 14.98 mmol Trolox /100 g. In contrast, strawberry contained the lowest levels of TPC, TFC and TAC as well as the lowest total antioxidant capacity. For all the three varieties of berries, the pomace contained the most TPC, TFC and TAC and revealed the highest level of TEAC, followed by the whole berry and juice. In addition, a significant linear correlation between TPC and TEAC was observed with a correlation coefficient (r) of 0.9704, suggesting that phenolic compounds in berries were mostly responsible for their antioxidant activity.

Key words: strawberry; blackberry; blueberry; phenolics; flavonoids; proanthocyanins; antioxidant capacity
中图分类号: TS 255.1 文献标识码: A 文章编号: 1002-6630(2011)23-0130-04

小浆果, 包括蓝莓、树莓、黑莓、草莓等, 以其独特的风味与营养活性风靡世界。小浆果富含天然酚类活性物质成分, 具有抗氧化、清除自由基等功能^[1]。草莓富含酚酸、多酚、花青素、黄酮类物质等活性成

分, 具有较强的抗氧化、清除自由基能力, 可滋补胃肠道、营养皮肤, 对防治动脉硬化、冠心病也有较好的疗效^[2]。黑莓含有大量鞣花酸、鞣质、单宁、槲皮素、没食子酸、花青素等, 具有抗氧化、调节代谢

收稿日期: 2011-01-14

基金项目: 江苏省农业科技自主创新基金项目(cx(10) 231; cx(10) 441)

作者简介: 刘文旭(1985—), 男, 硕士研究生, 研究方向为功能食品与活性物质。E-mail: liuwenxu52@yahoo.com.cn

* 通信作者: 李春阳(1966—), 男, 副研究员, 博士, 研究方向为食品生物化学, 农产品精深加工。

E-mail: lichunyang968@126.com

机能、延缓衰老、消除疲劳和提高免疫力等作用,特别是具有降低胆固醇含量、防治心脏疾病和抗癌等独特功效^[3]。蓝莓为暗紫色浆果,其花青素被认为是自然界最有效的抗氧化剂,清除自由基的能力远高于其他水果,对缓解视疲劳具有显著功效^[4]。

活性氧自由基,如超氧阴离子自由基、过氧化氢、羟自由基,可引起细胞结构和功能分子的氧化损伤。研究表明,氧化作用是导致癌症、糖尿病、心血管疾病、神经性疾病等疾病的一个主要原因^[5]。小浆果中酚类物质能够减少或消除氧自由基,通过调节细胞氧化还原状态,有效抑制活性氧自由基,从而减少机体的损伤和疾病的发生^[6]。酚类物质是小浆果代谢过程中的次生副产物,存在于浆果的茎叶、果肉以及种皮中,其含量仅次于纤维素、半纤维素和木质素^[7]。随着天然抗氧化剂开发以及酚类物质食用安全、活性功能多样等特点的发现,草莓、黑莓、树莓、蓝莓等浆果中的酚类物质逐渐成为当前研究的热点,受到广大研究者和消费者的高度重视。

据统计,2008年我国草莓种植面积达8.33万公顷,产量达200万t,居世界首位。我国以草莓为代表的小浆果种植面积虽然很大,但小浆果产业发展却十分缓慢,产品主要是国内鲜销和冷冻出口,大部分以冻果的形式出口海外市场,少量的加工为小浆果类果汁、果酒等^[8]。国内对小浆果的贮藏、采后保鲜研究很多,对草莓等小浆果的活性物质及其生理功能的研究还处于开始阶段,与国际先进水平还有一定差距^[8],需进一步开发有市场前景的小浆果酚类活性产品^[9-10]。本实验以酚类物质含量和抗氧化能力为指标,对草莓、黑莓、蓝莓体外抗氧化活性进行较为系统的研究,以期对小浆果的深度开发提供一定参考。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

草莓、黑莓、蓝莓均采于南京新得力食品有限公司果场,品种分别为从日本引进的草莓“丰香”、从美国加州引进的黑莓“赫尔”和蓝莓“灿烂”。所有小浆果从果园中随机采摘,去杂后挑选无伤、成熟度基本一致的,立即-20℃速冻。

Trolox(6-hydroxy-2,5,7,8-tetramethylchromate-2-carboxylic acid)标准品、ABTS试剂(2,2'-azinobis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) diammonium sal)、Folin-Ciocalteu试剂、儿茶素、芦丁 美国Sigma公司;没食子酸标准品、碳酸钠、氢氧化钠、亚硝酸钠、六水合氯化铝、香草醛、甲醇、盐酸、过硫酸钾等其

他药品试剂均为分析纯。

1.2 仪器与设备

UV-2100型紫外-可见分光光度计 Unico上海仪器有限公司;THZ-Q型台式冷冻恒温振荡器 太仓市华美生化仪器厂;PL303型电子分析天平 梅特勒-托利多公司;DD-5M型低速离心机 湘仪离心机有限公司;Eyela FDU-1200冻干机 日本Tokyo Rikakikai公司。

1.3 方法

1.3.1 样品的制备

速冻小浆果用冻干机冻干。冻干后的各样品粉碎,分别用80%甲醇进行提取,28℃振荡提取24h,3500r/min离心15min,取上清液用滤纸过滤后装入棕色瓶中-4℃保存备用。果汁与果渣由全果自然解冻15min后用榨汁机破碎后榨汁,榨出的汁液即果汁,固体部分即果渣,果汁榨出后浓缩,果汁和渣都冻干,酚类物质提取步骤同全果。

1.3.2 总酚含量的测定

总酚含量的测定是采用Cai等^[11]改进的Folin-Ciocalteu比色法。取过滤后适当稀释的样品溶液(0.2mL)分别加入2mL 0.5mol/L Folin-Ciocalteu试剂,混匀后在室温下静置4min,然后用2mL饱和碳酸钠(75g/L)中和。室温条件下在暗处放置2h后用分光光度计在760nm波长处测定其吸光度。在相同条件下测定不同质量浓度的没食子酸吸光度,绘制标准曲线,结果以没食子酸当量表示(mg没食子酸/g干质量)。

1.3.3 总黄酮含量的测定

总黄酮含量的测定采用Chun等^[12]改良的比色法。过滤后适当稀释的样品溶液2mL与0.2mL 5g/100mL亚硝酸钠溶液混合。6min后,加入0.2mL 10g/100mL $\text{AlCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 溶液,混合摇匀。5min后加入2mL 1mol/L氢氧化钠,待反应液充分混匀,15min后在510nm波长处测定吸光度。根据芦丁标准曲线计算总黄酮含量,结果以芦丁当量表示(mg芦丁/g干质量)。

1.3.4 原花青素含量的测定^[13]

用锡箔将试管包裹严,仅留管口用于加样。向管内加入试样0.5mL,再加3.0mL 4g/100mL香草醛甲醇液混合,然后加入1.5mL浓盐酸,彻底混匀,室温条件下在暗处显色15h,最后在500nm波长处比色。按以上操作步骤制得儿茶素标准曲线,再根据标准曲线进行定量。结果以mg儿茶素/g干质量表示。

1.3.5 总抗氧化力的测定

总抗氧化能力测定方法采用改进的ABTS法^[14]。7mmol/L ABTS和2.45mmol/L过硫酸钾溶液在黑暗条件下

放置 16h 产生的 ABTS^{•+}，再用 80% 乙醇稀释至 734nm 波长处的吸光度为 0.700 ± 0.005 。3.9mL ABTS 溶液(吸光度为 0.700 ± 0.005)加入到 0.1mL 的测试样品，并与之混合均匀。在室温下放置 6min，立即记录在 734nm 波长处的吸光度。在相同条件下测定不同质量浓度的 80% 乙醇稀释的 Trolox 标准溶液，根据吸光度绘制标准曲线。样品产生的吸光度与标准 Trolox 进行对照。结果表述为 Trolox 当量抗氧化能力 (trolox equivalent antioxidant capacity, TEAC)，即 mmol Trolox/100g 干质量。

1.4 数据处理

所有的测试都平行测量 3 次，数据采用平均值±标准差。相关性与显著性差异采用 SPSS18.0 统计软件进行分析。

2 结果与分析

2.1 总酚、总黄酮和原花青素的含量

表 1 3 种小浆果总酚、总黄酮和原花青素含量

Table 1 Total contents of phenolics, flavonoids and anthocyanins in the three varieties of berries

样品	总酚含量/(mg 没食子酸/g 干质量)	总黄酮含量/(mg 芦丁/g 干质量)	原花青素含量/(mg 儿茶素/g 干质量)
蓝莓			
全果	9.44 ± 0.22^b	36.08 ± 0.56^b	24.38 ± 0.74^b
果渣	19.74 ± 0.88^a	71.79 ± 0.89^a	62.64 ± 2.12^a
果汁	3.47 ± 0.32^d	7.07 ± 0.11^f	2.69 ± 0.13^{de}
黑莓			
全果	5.58 ± 0.18^c	11.83 ± 0.24^c	3.99 ± 0.08^d
果渣	9.10 ± 0.45^b	16.06 ± 0.11^c	11.82 ± 0.39^c
果汁	2.70 ± 0.09^{de}	12.56 ± 0.22^c	2.43 ± 0.05^{de}
草莓			
全果	2.72 ± 0.18^{de}	7.04 ± 0.59^f	1.16 ± 0.12^e
果渣	4.61 ± 0.35^{cd}	14.23 ± 0.40^d	3.89 ± 0.22^d
果汁	0.30 ± 0.02^e	3.56 ± 0.23^g	0.81 ± 0.15^f

注：同列肩标字母不同表示差异显著($P < 0.05$)。下同。

由表 1 可知，对于全果来说，蓝莓总酚含量分别是黑莓、草莓的 1.7、3.5 倍，其总黄酮含量分别是黑莓、草莓的 3、5.1 倍，原花青素含量远远高于黑莓、草莓，分别是其 6.1、21 倍。在 3 种果实中总酚、总黄酮和原花青素的含量为蓝莓>黑莓>草莓。与苹果等水果相比^[15]，3 种小浆果的总酚含量是其 10 倍甚至上百倍。其中，蓝莓中原花青素含量远高于各类常见的蔬菜水果。黑莓含有多种非花色苷类多酚类物质，主要为黄烷醇和黄酮醇等。草莓中酚酸较多，总酚含量虽比蓝莓、黑莓少，仍与蔬菜中含量最高的藕相当^[18]。蓝莓果渣总酚、全果总酚、果汁总酚的含量分别为 9.44、5.58、2.72 mg 没食子酸/100g 干质量，总酚含量大小顺序为果渣>全果>果汁。3 种小浆果果渣中总酚、总黄酮、原花青素含量均高于全果和果汁。

2.2 草莓、蓝莓、黑莓及其渣、汁的抗氧化能力比较

表 2 3 种小浆果总抗氧化能力

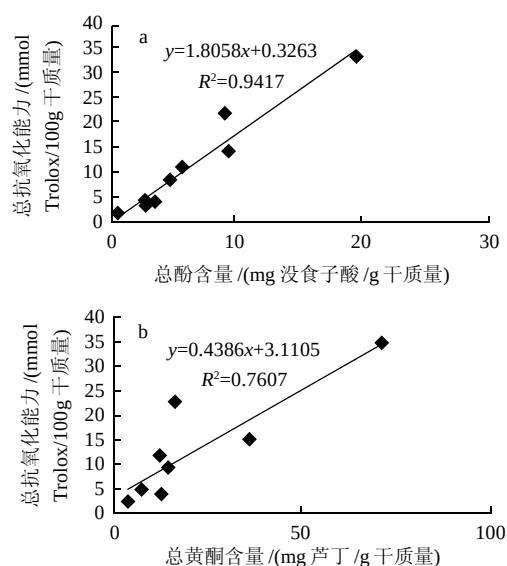
Table 2 Total antioxidant capacity of the three varieties of berries

	mmol Trolox/100g 干质量		
品种	全果	果渣	果汁
蓝莓	14.98 ± 0.49^e	34.71 ± 4.02^a	4.19 ± 0.72^f
黑莓	11.48 ± 1.32^d	22.78 ± 1.45^b	3.62 ± 0.23^f
草莓	4.44 ± 0.45^f	8.85 ± 0.45^e	1.98 ± 0.10^f

由表 2 可知，在 3 种小浆果中，蓝莓表现出最高的总抗氧化能力，黑莓次之，草莓的总抗氧化能力最低。蓝莓、黑莓、草莓的总抗氧化能力分别为 14.98、11.48、4.44mmol Trolox/100g 干质量。三者都表现出较高的抗氧化能力。蓝莓和黑莓的抗氧化能力相差不显著，与草莓比较有显著差别。蓝莓的总抗氧化能力分别是黑莓、草莓的 1.3、3.4 倍。蓝莓、黑莓的抗氧化能力都优于草莓。Hosseinian 等^[16]研究草莓、蓝莓等 6 种浆果中的酚类化学物质的含量和抗氧化活性，用 ORAC 法测定了水果果汁和果肉提取物的亲油和亲水性抗氧化能力，发现蓝莓具有比其他浆果更高的抗氧化活性，这与本实验得到的结果一致。

总抗氧化能力评价，蓝莓果渣、全果、果汁的总抗氧化能力分别为 34.71、14.98、4.19mmol Trolox/100g 干质量，果渣的抗氧化能力分别是全果、果汁的 2.3、8.3 倍。黑莓、草莓也呈现这样的趋势，结合蓝莓中总酚、总黄酮等的分布规律，可以发现小浆果总抗氧化能力也遵循这个规律：果渣>全果>果汁。由此可见，小浆果果渣中含有大量的酚类物质，具有很强的抗氧化活性。随着经济的发展和产业结构的调整，我国小浆果产业得到迅猛发展，果汁加工必然产生大量的果渣。果渣作为垃圾处理，即浪费资源又污染环境。若能充分利用果渣提取酚类物质，则可充分利用小浆果资源，拓宽果品利用范围。

2.3 小浆果总酚、总黄酮、原花青素含量与总抗氧化能力的相关性



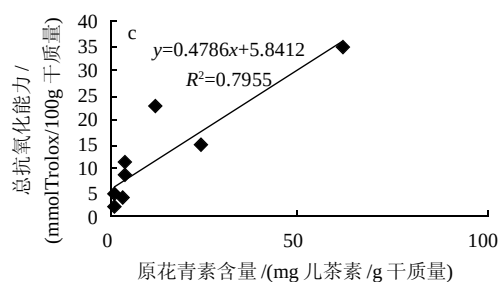


图1 总酚、总黄酮、原花青素含量与总抗氧化能力的相关性
Fig.1 Correlation between total contents of phenolics, flavonoids and anthocyanins and total antioxidant capacity

许多研究表明, 酚类物质是蔬菜、水果中的主要抗氧化成分^[17]。由图1可知, 3种小浆果抗氧化能力与其总酚含量、总黄酮含量、原花青素含量之间存在一定线性关系, 总抗氧化能力与总酚含量的相关系数为0.9704($R^2 = 0.9417$)、与总黄酮含量的相关系数为0.8721($R^2 = 0.7607$)、与原花青素含量相关系数为0.8919($R^2 = 0.7955$)。3种小浆果总抗氧化能力与其总酚含量、总黄酮含量以及原花青素含量存在明显的正相关关系, 其中与总酚含量的相关性最显著, 表明小浆果的抗氧化作用主要与其所含酚类物质有关。除黄酮类、原花青素类物质以外, 其他酚类物质如酚酸类物质也具有抗氧化活性。陈玉霞等^[18]分析比较了天津地区常见25种蔬菜的体外抗氧化活性, 发现抗氧化活性与总多酚、总类黄酮含量之间相关性较大, 但与VC含量之间相关性不大。王志远等^[19]测定了苹果、石榴、橄榄、芒果、香蕉、菠萝、葡萄和龙眼的壳、肉及核中的多酚含量及其抗氧化活性, 表明提取液中多酚和单宁的含量均与其抗氧化活性成正相关关系。结合上述结果, 可以推断小浆果酚类物质是其抗氧化作用的主要物质基础。

3 结 论

本实验研究了草莓、黑莓、蓝莓中的总酚、总黄酮、原花青素含量及其总抗氧化能力。结果表明: 三者都有较高的总酚、总黄酮、原花青素含量和较强的抗氧化能力。其中蓝莓最强, 依次为蓝莓>黑莓>草莓。对草莓、黑莓、蓝莓多酚含量与总抗氧化能力之间的相关性分析表明, 二者之间存在极显著的线性关系, 相关系数达到0.9704($R^2 = 0.9417$), 表明小浆果的抗氧化作用主要与其所含的多酚类物质有关, 即小浆果多酚类物质可能是其抗氧化的主要物质基础。通过对3种小浆果果渣、果汁、全果体外抗氧化性的研究表明,

果渣具有很强的抗氧化能力。但要确定是多酚和黄酮中的哪种成分主要起到抗氧化的作用, 还需要进一步深入研究。

参考文献:

- [1] KALT W, FORNEY C F, MARTIN A, et al. Antioxidant capacity, vitamin C, phenolics, and anthocyanins after fresh storage of small fruits [J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 1999, 47(11): 4638-4644.
- [2] TULIPANI S, MEZZETTI B, CAPOCASA F. Antioxidants, phenolic compounds, and nutritional quality of different strawberry genotypes[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2008, 56(3): 696-704.
- [3] SELLAPPAN S, AKOH C C, KREWER G. Phenolic compounds and antioxidant capacity of Georgia-grown blueberries and blackberries[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2002, 50(8): 2432-2438.
- [4] 顾娟, 贺善安. 蓝浆果与蔓越橘[M]. 北京: 中国农业出版社, 2001: 1-6.
- [5] 邵芳芳, 尹卫平, 梁菊. 重要的植物多酚及其抗氧化性能的研究概况[J]. *西北药学杂志*, 2010(1): 66-68.
- [6] HUANG Wuyang, CAI Yizhong, ZHANG Yanbo. Natural phenolic compounds from medicinal herbs and dietary plants: potential use for cancer prevention[J]. *Nutrition and Cancer*, 2009, 62(1): 1-20.
- [7] 石碧, 狄莹. 植物多酚[M]. 北京: 科学出版社, 2002: 5-30.
- [8] 王忠和. 中国草莓生产现状及发展建议[J]. *中国农村小康科技*, 2008(11): 21-22; 27.
- [9] KUMARAN A, KARUNAKARAN R J. Activity-guided isolation and identification of free radical-scavenging components from an aqueous extract of *Coleus aromaticus*[J]. *Food Chemistry*, 2007, 100(1): 356-361.
- [10] 陈欣欣, 许时婴. 黑莓渣提取物中多酚类化合物抗氧化活性的研究[J]. *食品工业*, 2007, 28(3): 3-6.
- [11] CAI Yizhong, LUO Qiong, SUN Mei, et al. Antioxidant activity and phenolic compounds of traditional Chinese medicinal plants associated with anticancer[J]. *Life Sciences*, 2004, 74(17): 2157-2184.
- [12] CHUN O K, KIM D O, LEE C Y. Superoxide radical scavenging activity of the major polyphenols in fresh plums[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2003, 51(27): 8067-8072.
- [13] NAKAMURA Y, TSUJI S, TONOGAI Y. Analysis of proanthocyanidins in grape seed extracts, health foods and grape seed oils[J]. *Health Sciences*, 2003, 49: 45-54.
- [14] SINGH S, SINGH R P. *in vitro* methods of assay of antioxidants: an overview[J]. *Food Reviews International*, 2008, 24(4): 392-415.
- [15] 庞伟. 苹果多酚的分离纯化及抗氧化性研究[D]. 西安: 西北大学, 2007.
- [16] HOSSEINIAN F S, BETA T. Saskatoon and wild blueberries have higher anthocyanin contents than other Manitoba berries[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2007, 55(26): 10832-10838.
- [17] 雷昌贵, 孟宇竹, 刘蒙佳, 等. 食品中多酚类化合物测定方法研究进展[J]. *粮油食品科技*, 2007, 15(4): 61-63.
- [18] 陈玉霞, 郭长江, 杨继军, 等. 常见25种蔬菜抗氧化活性的比较研究[J]. *河南工业大学学报: 自然科学版*, 2007, 28(5): 37-41.
- [19] 王志远, 李清彪, 杨翠娟, 等. 八种水果中的多酚含量及其抗氧化性[J]. *天然产物研究与开发*, 2007, 19(6): 1040-1043; 1023.