

# 四种小浆果浆汁活性成分 及其抗氧化活性

王纯, 甘庆萌, 孟菲, 杨洁茹, 延海莹, 江晓路\*  
(中国海洋大学食品科学与工程学院, 山东青岛 266003)

**摘要:** 为了对树莓、蓝莓、黑果腺肋花楸及蓝靛果四种小浆果浆汁进行初步活性评价, 测定了四种小浆果浆汁的多酚、超氧化物歧化酶(SOD)、花色苷及总黄酮含量, 并研究其体外抗氧化活性。结果发现, 蓝靛果的多酚(4.659 mg/mL)、SOD(115.38 mg/mL)及总黄酮(10.717 mg/mL)是其他三种小浆果含量的1.5~7倍, 花色苷(3.768 mg/mL)则是黑果腺肋花楸含量的14倍左右。以V<sub>C</sub>作阳性对照, 蓝靛果体外抗氧化效果最优, 对·OH、DPPH·自由基的清除及对脂质过氧化的抑制作用的IC<sub>50</sub>值分别为2.066 mg/mL、61.342 μg/mL和181.590 μg/mL, 对O<sub>2</sub><sup>-</sup>·自由基的清除效果并没有明显优势。活性成分含量与抗氧化活性相关性分析表明, 四种小浆果浆汁中多酚、花色苷、SOD及总黄酮含量与对·OH、O<sub>2</sub><sup>-</sup>·、DPPH·自由基的清除率及对脂质过氧化的抑制率均呈正相关性, 且相关性显著。四种小浆果浆汁均具有较好的体外抗氧化活性, 蓝靛果显示了最佳的抗氧化活性。

**关键词:** 浆果, 活性成分, 抗氧化活性, 相关性分析

## Active Components and Antioxidant Activities of Four Kinds Small Berry Juices

WANG Chun, GAN Qing-meng, MENG Fei, YANG Jie-ru, YAN Hai-ying, JIANG Xiao-lu\*

(College of Food Science and Engineering, Ocean University of China, Qingdao 266003, China)

**Abstract:** The main purpose of this paper was to evaluate the activities preliminarily of four kinds of small berry such as *Rubus corchorifolius* L. f., *Vaccinium* Spp., *Sorbuspohuashanensis* H and *Lonicera edulis*. The content of polyphenols, superoxide dismutase(SOD), anthocyanins and total flavonoids was determined in the four small berry juices, and their antioxidant activities *in vitro* were studied. The results showed that the contents of polyphenols(4.659 mg/mL), SOD(115.38 U/mL) and total flavonoids(10.717 mg/mL) in *Lonicera edulis* were 1.5~7 times higher than that of the other three small berries, the content of anthocyanin(3.768 mg/mL) was about 14 times higher than that of *Sorbuspohuashanensis* H. Using V<sub>C</sub> as the positive control, the *Lonicera edulis* had the best antioxidation effect *in vitro*, and the IC<sub>50</sub> values for the scavenging of ·OH, DPPH· radicals and lipid peroxidation were 2.066 mg/mL, 61.342 μg/mL and 181.590 μg/mL respectively. There was no obvious advantage in the scavenging of O<sub>2</sub><sup>-</sup>· free radical. The correlation analysis showed that the content of polyphenols, anthocyanins, SOD and total flavonoids in the four small berry juices and the clearance rate of ·OH, O<sub>2</sub><sup>-</sup>·, DPPH· radicals and the inhibition rate of lipid peroxidation were positively correlated with a significant correlation. The four kinds small berry juices all had good antioxidant activities *in vitro* and the *Lonicera edulis* showed the best antioxidant activities.

**Key words:** berry; active component; antioxidant activity; correlation analysis

中图分类号: TS255.4

文献标识码: A

文章编号: 1002-0306(2019)05-0071-06

doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2019.05.013

引文格式: 王纯, 甘庆萌, 孟菲, 等. 四种小浆果浆汁活性成分及其抗氧化活性[J]. 食品工业科技, 2019, 40(5): 71-76.

小浆果是一种多汁肉质单果, 浆果类果树种类很多, 多分布于我国北方地区, 尤其是东北地区<sup>[1]</sup>。除了具有独特的鲜食风味, 还具有丰富的保健营养价值, 具有抗氧化、抗癌、改善肝脏解毒等功效<sup>[2]</sup>, 是近些年来世界上发展最为迅速的“第三代”新兴水果,

受到市场的青睐与欢迎。其中蓝莓(*Vaccinium* Spp.)、树莓(*Rubus corchorifolius* L. f.)、花楸(*Sorbuspohuashanensis* H.)、蓝靛果忍冬(*Lonicera caerulea* L.)、草莓(*Fragaria ananassa* Duch.)等小浆果富含水溶性色素如花青素, 相比沙棘(*Hippophae*

收稿日期: 2018-06-06

作者简介: 王纯(1995-), 女, 硕士研究生, 研究方向: 生物工程, E-mail: wangchun\_95@163.com。

\* 通讯作者: 江晓路(1959-), 女, 本科, 教授, 研究方向: 应用微生物工程, E-mail: jiangxl@ouc.edu.cn。

基金项目: “十三五”海洋经济创新发展示范城市项目(2016QD003); 海藻活性物质国家重点实验室开放基金项目(SKL-BASS1701)。

rhamnoides L.)、枸杞(*Lycium barbarum* L.)的脂溶性色素更易被人体利用吸收,成为替代人工合成色素的潜力资源<sup>[3]</sup>。

我国蓝莓栽培起始于20世纪80年代,期间蓝莓产业发展突飞猛进,截止2017年底,我国蓝莓种植面积达70余万亩,预计未来3~5年内,蓝莓的种植面积将达300万亩,树莓在国外栽培历史悠久,但近年来中国的树莓产量也逐年提高,尤其是华北与东北地区<sup>[4-5]</sup>。蓝靛果和黑果腺肋花楸作为两种新兴的小浆果,由于较高的营养价值及保健功能,近年来也引起了人们的注意。树莓含有大量鞣花酸、单宁、槲皮素、没食子酸、花青素等,具有抗氧化、延缓衰老、消除疲劳和抗癌等作用<sup>[6-7]</sup>。蓝莓除了含常规的糖、酸、矿物质元素和维生素外,还富含花青素、蛋白质、超氧化物歧化酶(SOD)、熊果苷等成分,具有保护视力、延缓衰老、有效降低胆固醇、防止动脉粥样硬化、预防癌症等功效<sup>[8-9]</sup>。蓝靛果营养丰富,富含糖类、氨基酸、多酚、花青素等,具有抗病毒、抗癌、改善高血压、抵御疲劳、抗氧化等功效<sup>[10]</sup>。黑果腺肋花楸含有多种维生素和矿物质,还富含黄酮、花青素和多酚等物质,对心脑血管疾病具有特殊疗效,还具有抗炎、降血糖血脂、抗氧化等保健功能<sup>[11-12]</sup>。小浆果富含很多天然活性成分,有利于减少机体的损伤和疾病的发生,是活性氧清除的潜在来源,并逐渐成为小浆果研究的热点<sup>[8]</sup>。

国内小浆果大多以冻果形式出口海外市场,目前在小浆果的栽培和繁育技术上研究报道很多,针对小浆果的高值化研究还不足。本实验选取了两种目前市场上火热的小浆果蓝莓和树莓以及两种新兴小浆果蓝靛果和黑果腺肋花楸作为研究对象,通过酶法制备成浆汁,对其多酚、SOD、花色苷及总黄酮含量进行考察,以维生素C做阳性对照,采用不同的自由基清除体系及脂质过氧化探讨了其抗氧化活性,并对活性成分含量与抗氧化活性相关性分析,以期作为功能性产品的开发提供理论依据,能使其广泛应用于功能食品、医疗保健及化妆品行业。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料与仪器

蓝靛果、树莓、蓝莓、黑果腺肋花楸浆果均购自东北长白山,鲜果成熟采摘后冷冻保存;果胶酶(酶活力为60000 U/mL)和 $\beta$ -葡萄糖苷酶(酶活力为4000 U/mL)宁夏夏盛实业集团有限公司;芦丁 国药集团化学制剂有限责任公司;Folin-Ciocalteu试剂、1,1-二苯基-2-三硝基苯肼(DPPH)和邻苯三酚 Sigma公司;抗坏血酸、水杨酸、无水乙醇、甲醇、FeSO<sub>4</sub>、Tris碱、没食子酸、CH<sub>3</sub>COONa、EDTA·2Na等均为国产分析纯。

L5S紫外可见分光光度计 上海仪电分析仪器有限公司;ESH105电子水分测定仪 上海舜宇恒平科学仪器有限公司;L530离心机 湖南湘仪实验室仪器开发有限公司;HWS24型电热恒温水浴锅 上海一恒科学仪器有限公司;THZ-82A水浴恒温振荡器 苏州威尔实验用品有限公司;BXS07-WYA-2S

数字阿贝折射仪 北京北信科远仪器有限责任公司。

### 1.2 实验方法

1.2.1 样品的处理 将冷冻保存的四种小浆果于常温下自然解冻30 min后,按照实验室之前优化的最佳酶解工艺,向鲜果中加入质量比1:1的蒸馏水、质量分数为0.02%的果胶酶和0.1% $\beta$ -葡萄糖苷酶,在38℃下不断搅拌复合酶解3 h完成后于4000 r/min离心20 min,得到上清即为小浆果浆汁样品。

1.2.2 固形物含量的测定 根据NY/T 2637-2014<sup>[13]</sup>测定浆果中固形物含量来确定质量浓度。取2~3滴浆果浆汁均匀分布于棱镜表面,对准光源,记录折射仪读数。

1.2.3 多酚含量的测定 采用GB/T 31740.2-2015<sup>[14]</sup>对茶多酚含量检测方法。分别取1 mL没食子酸标准液、水(空白对照)及四种浆果浆汁与5 mL的Folin-Ciocalteu试剂充分混匀,静置3~8 min后加入4 mL 7.5% Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>水溶液混匀,60 min后,在765 nm下测定样液吸光值。以没食子酸作为标准品绘制标准曲线来定量小浆果中多酚,得到回归方程 $y = 0.0132x + 0.039$ , $R^2 = 0.9996$ ,其中 $y$ 代表吸光度, $x$ 代表没食子酸浓度( $\mu\text{g/mL}$ ),计算多酚含量。

$$\text{多酚含量}(\text{mg/mL}) = \frac{A \times d}{\text{SLOPE}_{\text{std}} \times 10^3}$$

式中, $A$ 为765 nm处的吸光值; $\text{SLOPE}_{\text{std}}$ 为没食子酸标准曲线的斜率; $d$ 为稀释因子。

1.2.4 SOD活性的测定 根据邻苯三酚在碱性下会自氧化,参照GB/T 5009.171-2003<sup>[15]</sup>。在25℃下,在10 mL比色管中依次加入A液(pH8.2的0.1 mol/L Tris-HCl缓冲液)2.35 mL,蒸馏水2 mL,B液(4.5 mmol/L邻苯三酚盐酸溶液)0.15 mL,加入B液后立即混匀倒入比色皿,在325 nm波长下测定初始和1 min后吸光值,二者之差即为邻苯三酚自氧化速率 $\Delta A_{325}(\text{min}^{-1})$ 。抑制邻苯三酚自氧化操作同上,使四种小浆果浆汁和蒸馏水的体积分别为2 mL不变,抑制邻苯三酚自氧化速率标记为 $\Delta A'_{325}$ ,SOD活力公式如下:

$$\text{SOD活力}(\text{U/mL}) = \frac{\frac{\Delta A_{325} - \Delta A'_{325}}{\Delta A_{325}} \times 100\%}{50\%} \times 4.5 \times \frac{1}{V} \times D$$

式中, $\Delta A_{325}$ 为邻苯三酚自氧化速率, $\Delta A'_{325}$ 为样品抑制邻苯三酚自氧化速率, $\text{min}^{-1}$ ;V为加入到反应体系中样品体积,mL;D为样液稀释倍数。

1.2.5 花色苷含量的测定 根据花色苷特有性质,参照pH示差法<sup>[16]</sup>稍作修改来测定样品中花色苷含量。四种小浆果浆汁分别用pH1.0的氯化钾缓冲溶液(0.2 mol/L KCl:0.2 mol/L HCl=25:67)和pH4.5的醋酸钠缓冲溶液(1 mol/L CH<sub>3</sub>COONa:1 mol/L HCl:H<sub>2</sub>O=100:60:90)稀释10倍,对应空白组以溶剂代替样品,在510 nm和700 nm处测吸光值。以矢车菊-3-葡萄糖苷表示总花色苷含量,计算公式如下:

$$C(\text{mg/g}) = \frac{A \times 449 \times n}{29600 \times 10} \times 100$$

$$A = (A_{510} - A_{700})_{\text{pH}1.0} - (A_{510} - A_{700})_{\text{pH}4.5}$$

式中  $C$  为花色苷含量,  $\text{mg/g}$ ;  $A_{510}$  为 510 nm 处吸光值,  $A_{700}$  为 700 nm 处吸光值;  $n$  为稀释倍数; 449 为矢车菊-3-葡萄糖苷的相对分子质量; 29600 为矢车菊-3-葡萄糖苷的消光系数。

1.2.6 总黄酮含量的测定 参照 GB/T 20574-2006, 采用  $\text{NaNO}_2 - \text{Al}(\text{NO}_3)_3$  比色法测定总黄酮含量<sup>[17]</sup>。以芦丁为标样, 在碱性条件下于 510 nm 处测定显色液的吸光度确定样液中总黄酮的含量。分别吸取四种小浆果浆汁 2 mL 和 30% 乙醇溶液 3 mL 于试管中, 加入 5%  $\text{NaNO}_2$  溶液 0.3 mL 摇匀, 放置 6 min 后加入 10%  $\text{Al}(\text{NO}_3)_3$  溶液 0.3 mL 摇匀, 6 min 后加入 1 mol/L  $\text{NaOH}$  溶液 4 mL 加水 0.4 mL 摇匀, 于 510 nm 下测定吸光值, 同时以 2 mL 样液和 8 mL 乙醇溶液作为对照溶液, 空白组将样液替换成乙醇溶液。根据吸光值, 利用芦丁标准曲线来计算样品中总黄酮的含量, 得到回归方程  $y = 1.2028x - 0.0111$ ,  $R^2 = 0.9998$ , 其中  $y$  代表吸光度,  $x$  代表芦丁浓度,  $\mu\text{g/mL}$ , 计算总黄酮含量。

$$\text{总黄酮含量}(\text{mg/mL}) = Y \times n$$

式中,  $Y$  为从回归方程求得的芦丁浓度,  $\mu\text{g/mL}$ ;  $n$  为样液稀释倍数;  $V$  为样品体积,  $\mu\text{L}$ 。

1.2.7  $\cdot\text{OH}$  自由基的清除 参考 Li 等<sup>[18]</sup> 的方法来测定样品对羟自由基的清除效果。向试管中加入 1 mL  $\text{FeSO}_4$  (9 mmol/L)、1 mL 水杨酸-乙醇 (9 mmol/L) 和 1 mL 不同浓度的四种小浆果浆汁及  $V_c$  溶液, 随后加入 1 mL  $\text{H}_2\text{O}_2$  (8 mmol/L) 启动反应, 涡旋混匀后于 37 °C 水浴锅反应 30 min, 在 510 nm 下测定吸光值。对  $\cdot\text{OH}$  自由基的清除作用公式如下:

$$\text{清除率}(\%) = \frac{A_0 - (A_1 - A_{A_0})}{A_0} \times 100$$

式中,  $A_1$  为样品吸光值,  $A_{A_0}$  为以蒸馏水代替  $\text{H}_2\text{O}_2$  测定的样品本底吸收值,  $A_0$  为以蒸馏水代替样品溶液测定的空白对照吸光值。

1.2.8  $\text{O}_2^- \cdot$  自由基的清除 参考高凝轩<sup>[19]</sup> 和 Liu<sup>[20]</sup> 的方法进行调整测定样品对超氧阴离子的清除能力。向试管中加入 4.5 mL  $\text{Tris} - \text{HCl}$  (50 mmol/L, pH8.2) 置于 25 °C 预热 25 min 后, 加入 1 mL 不同浓度的四种小浆果浆汁及  $V_c$  溶液, 0.3 mL 的邻苯三酚 (3 mmol/L, 用 10 mmol/L 的  $\text{HCl}$  配制), 在 25 °C 下反应 5 min, 迅速加入 1 mL 的 8 mol/L 的  $\text{HCl}$  停止反应, 于 325 nm 下测定吸光值  $A_1$ 。以 10 mmol/L 的  $\text{HCl}$  代替邻苯三酚测定样品的本底吸收值  $A_0$ 。对  $\text{O}_2^- \cdot$  自由基的清除作用公式如下:

$$\text{清除率}(\%) = \frac{A_0 - (A_1 - A_{A_0})}{A_0} \times 100$$

式中,  $A_1$  为样品吸光值,  $A_{A_0}$  为测定的样品本底吸收值,  $A_0$  为以蒸馏水代替样品溶液测定的空白对照吸光值。

1.2.9 DPPH  $\cdot$  自由基的清除 根据 Carmona - Jimenez 等<sup>[21]</sup> 和 Marecek 等<sup>[22]</sup> 的方法测定样品对 DPPH  $\cdot$  自由基清除活性。向试管中加入 2 mL DPPH

溶液 (2 mmol/L, 甲醇配制) 和 2 mL 不同浓度的四种小浆果浆汁及  $V_c$  溶液, 涡旋混匀, 于室温黑暗条件下反应 30 min, 于 517 nm 下测定吸光值。对 DPPH  $\cdot$  自由基的清除作用公式如下:

$$\text{清除率}(\%) = \frac{A_0 - (A_1 - A_{A_0})}{A_0} \times 100$$

式中,  $A_1$  为 2 mL DPPH 溶液 + 2 mL 样品溶液的吸光值,  $A_{A_0}$  为 2 mL 样品溶液 + 2 mL 甲醇的本底吸光值,  $A_0$  为 2 mL DPPH 溶液 + 2 mL 甲醇的吸光值。

1.2.10 抗卵黄脂蛋白过氧化 按照赵丽<sup>[23]</sup> 的方法, 采用  $\text{Fe}^{2+}$  诱发脂质体的氧化来验证抗脂质过氧化功能。向试管中加入 0.1 mL 稀释至 25 倍的卵黄悬液 (用 pH7.45 0.1 mol/L 的 PBS 配制), 加入不同浓度的四种小浆果浆汁及  $V_c$  溶液, 加入 0.1 mL  $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  溶液 (25 mmol/L), 随后用 PBS 补足至 2 mL。其对照组不加样品溶液, 其他同上。在 37 °C 下水浴振荡 15 min。然后加入 0.5 mL 20% 的三氯乙酸, 静置 10 min, 在 3500 r/min 下离心 10 min, 取 2 mL 上清液加入 1 mL 0.8% 的硫代巴比妥酸, 在 100 °C 下沸水浴 15 min, 冷却后在 532 nm 下测定吸光值, 用 PBS 调零。对脂质过氧化的抑制作用公式如下:

$$\text{抑制率}(\%) = \frac{A_0 - A_1}{A_0} \times 100$$

式中,  $A_0$  为空白对照液的吸光值,  $A_1$  为加入样品溶液后的吸光值。

### 1.3 数据处理

采用 SPSS 22 统计软件对数据进行处理, 实验结果以平均值  $\pm$  标准差 ( $\bar{x} \pm s$ ) 表示, 组间比较采用单因素方差分析, 两组均数之间采用  $q$  检验, 实验重复 3 次, 结果取平均值。相关性分析及显著性分析采用 SPSS 22 统计软件进行分析。

## 2 结果与分析

### 2.1 四种小浆果浆汁的固形物含量

蓝靛果、树莓、蓝莓、黑果腺肋花楸四种小浆果按照相同的制备方式得到浆汁样品, 测得可溶性固形物含量依次为 153.2、116.1、188.1 和 127.2  $\text{mg/mL}$ , 后续的活性实验通过将其稀释合适的倍数得到的固形物含量来作为参与反应的质量浓度。

### 2.2 四种小浆果浆汁活性成分比较

四种小浆果浆汁的活性成分研究结果见表 1。四种小浆果浆汁的活性成分含量差异显著 ( $p < 0.05$ ), 同时, 与树莓、蓝莓、黑果腺肋花楸相比, 蓝靛果的多酚、SOD 活力、花色苷以及总黄酮含量都是最高的, 有相关文献报道花青素-3-葡萄糖苷是浆果品种中最突出的花青素, Chen 等人<sup>[24]</sup> 发现蓝靛果中花青素-3-葡萄糖苷含量高于其他浆果, 如蓝莓, 黑莓和覆盆子, Hwang 等人<sup>[25]</sup> 也发现蓝靛果提取物总多酚含量显著高于花楸果和蓝莓提取物, 这与本实验结果是一致的, 从表 1 的数据可以看出蓝靛果的多酚、SOD 酶和总黄酮是其他三种小浆果含量的 1.5~7 倍, 花色苷 (3.768  $\text{mg/mL}$ ) 则是黑果腺肋花楸含量的 14 倍左右, 说明蓝靛果含有更丰富的天然活性成分, 凸显了其在医疗、保健食品、化妆品行业中

表1 四种小浆果浆汁活性成分含量

Table 1 Active components content of four kinds of small berry juices

活性成分	小浆果种类			
	蓝莓果	黑果腺肋花楸	蓝莓	树莓
多酚 (mg/mL)	4.659 ± 0.004 <sup>a</sup>	2.949 ± 0.003 <sup>b</sup>	1.612 ± 0.004 <sup>c</sup>	1.415 ± 0.006 <sup>d</sup>
SOD 酶活力 (U/mL)	115.38 ± 0.061 <sup>a</sup>	58.12 ± 0.036 <sup>c</sup>	39.78 ± 0.045 <sup>d</sup>	58.86 ± 0.075 <sup>b</sup>
花色苷 (mg/mL)	3.768 ± 0.003 <sup>a</sup>	0.264 ± 0.007 <sup>c</sup>	0.626 ± 0.006 <sup>b</sup>	0.278 ± 0.005 <sup>c</sup>
总黄酮 (mg/mL)	10.717 ± 0.026 <sup>a</sup>	3.391 ± 0.004 <sup>b</sup>	1.895 ± 0.003 <sup>c</sup>	1.555 ± 0.005 <sup>d</sup>

注: 同行肩标字母不同表示差异显著 ( $p < 0.05$ )。

潜在的应用价值。

### 2.3 四种小浆果浆汁体外抗氧化活性比较

2.3.1  $\cdot\text{OH}$  自由基的清除能力  $\cdot\text{OH}$  自由基被看作氧化代谢的有毒副产物, 在生物体内具有极高的反应活性, 是活性氧中最活泼的自由基, 能够导致细胞代谢、功能和结构的改变<sup>[26]</sup>。以  $V_c$  为阳性对照, 四种小浆果浆汁对  $\cdot\text{OH}$  自由基的清除效果如图1所示, 由图可知, 各浆果浆汁及  $V_c$  对  $\cdot\text{OH}$  自由基的清除率随质量浓度增加而增大, 四种小浆果浆汁的清除活性存在一定的差异, 效果均低于  $V_c$ ,  $V_c$  对  $\cdot\text{OH}$  自由基的  $IC_{50}$  值为 0.213 mg/mL (50% 清除率所需样品浓度), 蓝莓果、黑果腺肋花楸、树莓和蓝莓  $IC_{50}$  值分别为 2.066、3.017、11.208 和 9.641 mg/mL。当加入的质量浓度为 4 mg/mL 时, 蓝莓果和黑果腺肋花楸对  $\cdot\text{OH}$  自由基清除率可达到 93.27% 和 70.45%, 对  $\cdot\text{OH}$  自由基清除效果具有明显优势。

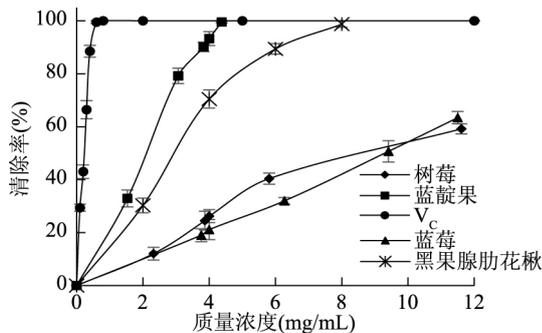
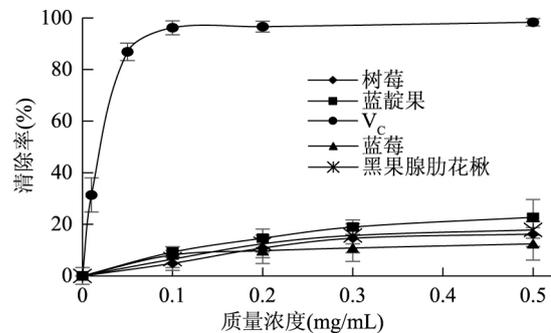
图1 四种小浆果浆汁对 $\cdot\text{OH}$ 自由基的清除作用

Fig1 Scavenging effect of four kinds of small berry juices on OH radical

2.3.2  $O_2\cdot$  自由基的清除能力  $O_2\cdot$  自由基是基态氧接受一个电子产生的第一个氧自由基, 可以经过一系列反应生成其他氧自由基, 能引发体内脂质过氧化, 加快机体衰老过程, 可诱发癌症疾病, 危害人体健康<sup>[27]</sup>。由图2所示, 与  $V_c$  相比, 四种小浆果浆汁对  $O_2\cdot$  自由基的清除效果并不明显, 随着质量浓度的增大, 小浆果浆汁本身颜色对实验造成的影响也越来越大, 可能掩盖了样品本身的活性。

2.3.3 DPPH $\cdot$  自由基的清除能力 由图3可以看出, 四种小浆果浆汁对 DPPH $\cdot$  自由基的清除率随质量浓度的增加而增强, 且具有明显的量效关系,  $V_c$  亦之。四种浆果浆汁之间清除活性存在一定差异,  $V_c$  对 DPPH $\cdot$  自由基的清除效果要优于这四种小浆果浆汁,  $V_c$  的  $IC_{50}$  值为 17.999  $\mu\text{g/mL}$ , 蓝莓果、黑果腺肋

图2 四种小浆果浆汁对 $O_2\cdot$ 自由基的清除效果Fig2 Scavenging effect of four kinds of small berry juices on  $O_2\cdot$  radical

花楸、树莓和蓝莓的  $IC_{50}$  值分别为 61.342、79.190、114.453 和 127.536  $\mu\text{g/mL}$ 。蓝莓果和黑果腺肋花楸对 DPPH $\cdot$  自由基具有良好的清除活性, 当质量浓度为 150  $\mu\text{g/mL}$  时, 蓝莓果和黑果腺肋花楸对 DPPH $\cdot$  自由基的清除率可达到 96.01% 和 86.94%。由于小浆果的浆汁仍只是粗提取, 若做进一步纯化处理, 将会缩小与  $V_c$  的差距。

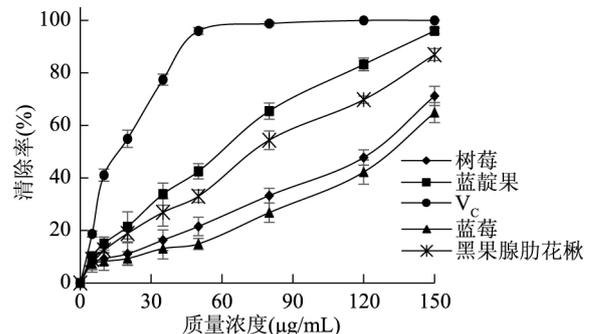


图3 四种小浆果浆汁对DPPH·自由基的清除效果

Fig3 Scavenging effect of four kinds of small berry juices on DPPH radical

2.3.4 抗卵黄脂蛋白过氧化能力 脂质过氧化会产生有细胞毒性的脂质过氧化物, 会破坏人体细胞正常生理功能, 促使人体衰老和诱发癌症。由图4可知, 以  $V_c$  为阳性对照, 四种小浆果浆汁对卵黄脂蛋白过氧化均有抑制效果, 且随着质量浓度的增大抗氧化活性也在增强。四种小浆果抗脂质过氧化活性存在差异, 当质量浓度为 100  $\mu\text{g/mL}$  时, 蓝莓果、黑果腺肋花楸、树莓和蓝莓对脂质过氧化抑制率分别为 42.78%、29.35%、10.44% 和 6.91%, 而相同质量浓度下  $V_c$  对脂质过氧化抑制率为 9.44%。随着质量

浓度的增大,  $V_c$  的抗氧化效果明显增强, 而小浆果抑制氧化反而不够明显, 可能是由于浆果浆汁本身的颜色干扰了吸光度的测定, 从而影响了活性结果。蓝靛果和黑果腺肋花楸具有较明显的优势, 其中  $V_c$  的  $IC_{50}$  值为  $160.856 \mu\text{g/mL}$ , 蓝靛果、黑果腺肋花楸、树莓和蓝莓的  $IC_{50}$  值分别为  $181.590$ 、 $196.732$ 、 $321.342$  和  $394.421 \mu\text{g/mL}$ 。

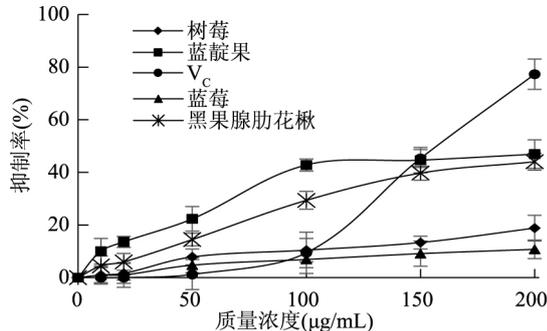


图4 四种小浆果浆汁抗脂质过氧化效果

Fig.4 Anti-lipid peroxidation effect of four kinds of small berry juices

2.3.5 活性成分含量与体外抗氧化能力的相关性 四种小浆果浆汁的多酚含量、花色苷含量、SOD 酶活力及总黄酮含量与对  $\cdot\text{OH}$ 、 $\text{O}_2^{\cdot-}$ 、 $\text{DPPH}\cdot$  自由基的清除率及脂质过氧化的抑制率的相关系数进行相关性分析, 结果如表 2 所示。

表2 活性成分含量与抗氧化活性的相关性

Table 2 Correlation between active components content and antioxidant activities

指标	$\cdot\text{OH}$ 清除率	$\text{O}_2^{\cdot-}$ 清除率	$\text{DPPH}\cdot$ 清除率	脂质过氧化抑制率
多酚含量	0.686**	0.684**	0.960**	0.942**
花色苷含量	0.694**	0.704**	0.684**	0.720**
SOD 酶活力	0.485*	0.926**	0.943**	0.847**
总黄酮含量	0.772**	0.836**	0.842**	0.868**

注: \*\* 为极显著相关 ( $p < 0.01$ ); \* 为显著相关 ( $p < 0.05$ )。

由表 2 可知, 四种小浆果浆汁中多酚、花色苷、SOD 活力及总黄酮与对  $\cdot\text{OH}$ 、 $\text{O}_2^{\cdot-}$ 、 $\text{DPPH}\cdot$  自由基的清除率及对脂质过氧化的抑制率均呈正相关, 除了 SOD 活力与  $\cdot\text{OH}$  自由基清除率显著相关 ( $p < 0.05$ ), 其他均极显著相关 ( $p < 0.01$ ), 这也符合文献报道的量效关系。

自英国科学家 Harman<sup>[28]</sup> 于 1956 年首次提出了自由基学说以来, 对活性氧和自由基的研究逐渐成为近年来的研究热点, 认为自由基对细胞成分和结缔组织的有害的侧面攻击是老化现象和相关生理疾病的基本原因。氧化应激<sup>[29]</sup> 会导致对重要靶细胞的损伤, 一旦体内自由基产生过多或消除过慢就会引起细胞结构和功能分子的氧化损伤<sup>[30]</sup>, 导致机体疾病的发生。Wang 等人<sup>[31]</sup> 通过氧自由基 (ORAC) 和过氧自由基清除能力 (PSC) 测定研究比较了 14 种蓝莓的总抗氧化活性, 对蓝莓的植物化学特征研究中显示花青素是蓝莓提取物中主要成分, 总黄酮类和总酚类也是新鲜蓝莓中重要的植物化学物质, 抗氧

化活性结果显示 ORAC 值与总酚类含量显著相关 ( $R^2 = 0.883$ ,  $p < 0.01$ ) 与黄酮类化合物有着相同的趋势 ( $R^2 = 0.768$ ,  $p < 0.01$ )。同时 PSC 值与酚类物质相关性为  $R^2 = 0.669$ ,  $p < 0.01$ , 同时 PSC 值与黄酮类化合物含量呈正相关 ( $R^2 = 0.661$ ,  $p < 0.01$ ), 不同品种的蓝莓提取物在体外使用 ORAC 和 PSC 测定的细胞系统中具有较好的抗氧化活性, 也有研究显示蓝莓花色苷能很好清除  $\cdot\text{OH}$ 、 $\text{O}_2^{\cdot-}$ 、 $\text{DPPH}\cdot$  自由基及抑制脂质过氧化<sup>[32]</sup>, 也证实了花色苷与抗氧化活性是正相关的。Wang 等人<sup>[33]</sup> 在对蓝靛果浆果提取物中多酚、花青素和抗氧化能力的比较中发现, ORAC 值与总多酚 ( $R^2 = 0.949$ ) 或总花青素 ( $R^2 = 0.957$ ) 含量显著正相关。

### 3 结论

本实验对小浆果浆汁的活性成分比较研究中发现四种东北特产小浆果浆汁活性成分含量差异显著 ( $p < 0.05$ ) 相比之下蓝靛果含有更高含量的天然活性成分, 蓝靛果的多酚、SOD 酶和总黄酮含量是蓝莓、树莓及黑果腺肋花楸的 1.5~7 倍, 而花色苷含量则高达黑果腺肋花楸的 14 倍左右, 这也符合蓝靛果具有高花青素含量的文献报道。

在四种体外抗氧化体系中, 活性成分含量不同也导致了小浆果浆汁抗氧化效果的差异, 其中对  $\cdot\text{OH}$  和  $\text{DPPH}\cdot$  自由基, 蓝靛果和黑果腺肋花楸表现出了良好的清除活性, 当加入  $4 \text{ mg/mL}$  浆汁样品对  $\cdot\text{OH}$  自由基清除率分别达到  $93.27\%$  和  $70.45\%$ 。对于  $\text{DPPH}\cdot$  自由基, 加入  $150 \mu\text{g/mL}$  的蓝靛果和黑果腺肋花楸浆汁对其的清除率高达  $96.01\%$  和  $86.94\%$ 。对于  $\text{O}_2^{\cdot-}$  自由基, 四种浆果浆汁均没有表现出良好的活性。在抗脂质过氧化方面, 较低浓度区间还有显著高于相同质量浓度  $V_c$  的表现, 蓝靛果的  $IC_{50}$  值为  $181.590 \mu\text{g/mL}$ , 接近于  $V_c$  的  $IC_{50}$  值  $160.856 \mu\text{g/mL}$ , 这将有利于对小浆果高值化研究和功能性产品的开发, 但质量浓度增大时小浆果浆汁抗脂质过氧化效果也不佳, 可能由于浆果浆汁本身的颜色干扰了吸光度的测定, 从而影响了活性结果。不同的抗氧化体系对应机理不同, 导致小浆果对应的抗氧化程度不同, 具体原因还需进一步研究。

相关性分析表明, 抗氧化能力与活性成分含量呈正相关, 除了 SOD 活力与  $\cdot\text{OH}$  自由基清除率显著相关 ( $p < 0.05$ ) 之外, 其他均极显著相关 ( $p < 0.01$ ), 相关系数表明, 小浆果浆汁的这些活性成分可能为其抗氧化的基本物质基础。

### 参考文献

- [1] 吕桂菊. 黑龙江省小浆果产业现状及发展对策研究 [D]. 北京: 中国农业科学院, 2013.
- [2] Tian Ye, Paganen A, Alakomi H L, et al. Antioxidative and antibacterial activities of aqueous ethanol extracts of berries, leaves, and branches of berry plants [J]. Food Research International 2018, 106: 291-303.
- [3] Lu Lilin, Qing Min, Li Faliang. Theoretical investigation on the antioxidative activity of anthocyanidins: A DFT/B3LYP study [J].

Dyes and Pigments 2014 ,103: 175–182.

[4] 吴林. 中国蓝莓 35 年—科学研究与产业发展 [J]. 吉林农业大学学报 2016(1): 1–11.

[5] 于洋. 树莓叶果中黄酮类化合物含量及其生理活性研究 [D]. 哈尔滨: 东北农业大学 2014.

[6] Franceschinis L, Salvatorid M, Sosa N, et al. Physical and functional properties of blackberry freeze – and spray – dried powders [J]. Drying Technology 2014 32: 197–207.

[7] Branco I G, Moraes I C F, Argandona E J S, et al. Influence of pasteurization on antioxidant and *in vitro* anti-proliferative effects of jambolan( *Syzygium cumini*( L.) Skeels) fruit pulp [J]. Industrial Crops and Products 2016 89: 225–230.

[8] Wang Huailiang, Guo Xinbo, Hu Xiaodan, et al. Comparison of phytochemical profiles, antioxidant and cellular antioxidant activities of different varieties of blueberry( *Vaccinium* Spp.) [J]. Food Chemistry 2017 217: 773–781.

[9] Istek N, Gurbuz O. Investigation of the impact of blueberries on metabolic factors influencing health [J]. Journal of Functional Foods 2017 38: 298–307.

[10] Wang Yuehua, Zhu Jinyan, Meng Xianjun, et al. Comparison of polyphenol, anthocyanin and antioxidant capacity in four varieties of *Lonicera caerulea* berry extracts [J]. Food Chemistry, 2016, 197: 522–529.

[11] Hwang S J, Yoon W B, Lee O H, et al. Radical-scavenging-linked antioxidant activities of extracts from black chokeberry and blueberry cultivated in Korea [J]. Food Chemistry, 2014, 146: 71–77.

[12] Valcheva – Kuzm S, Kuzmanovb A, Kuzmanovb V et al. *Aronia melanocarpa* fruit juice ameliorates the symptoms of inflammatory bowel disease in TNBS–induced colitis in rats [J]. Food and Chemical Toxicology 2018, 113: 33–39.

[13] NY/T 2637–2014. 水果和蔬菜可溶性固形物含量的测定 折射仪法 [S]. 中华人民共和国农业部 2014.

[14] GB/T 31740.2–2015. 茶制品 第 2 部分: 茶多酚 [S]. 北京: 中国标准出版社 2015.

[15] GB/T 5009.171 – 2003. 保健食品中超氧化物歧化酶 (SOD) 活性的测定 [S]. 北京: 中国标准出版社 2003.

[16] 高梓淳. 蓝莓花色苷提取与纯化工艺初探 [D]. 杭州: 浙江大学 2014.

[17] GB/T 20574–2006. 蜂胶中总黄酮含量的测定方法 分光光度比色法 [S]. 北京: 中国标准出版社 2007.

[18] Li Yanhong, Jiang Bo, Zhang Tao et al. Antioxidant and free radical – scavenging activities of chickpea protein hydrolysate

( CPH) [J]. Food Chemistry 2008, 106: 444–450.

[19] 高凝轩. 黑果腺肋花楸多酚提取纯化工艺及其抗氧化活性与稳定性研究 [D]. 沈阳: 沈阳农业大学 2017.

[20] Liu Ruihai. Whole grain phytochemicals and health [J]. Journal of Cereal Science 2007 46(3): 207–219.

[21] Carmona–Jimenez Y, Garcia–Moreno M V. Simplification of the DPPH assay for estimating the antioxidant activity of wine and wine by–products [J]. Food Chemistry 2014, 165: 198–204.

[22] Marecek V, Mikyska A, Hampel D, et al. ABTS and DPPH methods as a tool for studying antioxidant capacity of spring barley and malt [J]. Journal of Cereal Science 2017 73: 40–45.

[23] 赵丽. *P.fluorens* 发酵生产胞外多糖的结构分析及活性评价 [D]. 青岛: 中国海洋大学 2013.

[24] Chen Liang, Xin Xiulan, Lan Rong, et al. Isolation of cyanidin 3–glucoside from blue honeysuckle fruits by high–speed counter–current chromatography [J]. Food Chemistry 2014, 152: 386–390.

[25] Hwang S J, Yoon W B, Lee H O, et al. Radical–scavenging–linked antioxidant activities of extracts from black chokeberry and blueberry cultivated in Korea [J]. Food Chemistry, 2014, 146: 71–77.

[26] 吴文林, 胡天喜. 几种黄酮类化合物对经自由基引起的 DNA 损伤的保护作用 [J]. 自由基生命科学进展, 1997(5): 101–104.

[27] Nakano T, Nakano K, Sim J S. Extraction of glycosaminoglycan peptide from bovine nasal cartilage with 0.1 M sodium acetate [J]. J Agric Food Chem, 1998, 46(2): 772–778.

[28] Harman D. A theory based on free radical and radiation chemistry [J]. Journal of Gerontology, 1956, 11: 298–300.

[29] Liochev S I. Reactive oxygen species and the free radical theory of aging [J]. Free Radical Biology and Medicine, 2013, 60(10): 1–4.

[30] Aruom O I. Free radicals in tropical diseases [M]. London: Harwood Academic Publishers, 1991: 58–72.

[31] Wang Huailiang, Guo Xinbo, Hu Xiaodan, et al. Comparison of phytochemical profiles, antioxidant and cellular antioxidant activities of different varieties of blueberry( *Vaccinium* spp.) [J]. Food Chemistry 2017 217: 773–781.

[32] 李颖畅. 蓝莓花色苷提取纯化及生理功能研究 [D]. 沈阳: 沈阳农业大学 2008.

[33] Wang Yuehua, Zhu Jinyan, Meng Xianjun, et al. Comparison of polyphenol, anthocyanin and antioxidant capacity in four varieties of *Lonicera caerulea* berry extracts [J]. Food Chemistry, 2016, 197: 522–529.

欢迎光临我们的网站  
www. spgykj. com