

都柿在储放过程中花青素含量变化和 抗氧化活性研究

张晓松,李冬梅,冯志彪*,张永忠

(东北农业大学应用化学系,黑龙江哈尔滨 150030)

摘要:都柿(笃斯越桔)是越桔家族中的一员,果实中含有蛋白、脂肪、碳水化合物、矿物质、氨基酸、维生素和多酚等多种营养物质。都柿中含有丰富的花色苷类成分,我们进行了都柿在储放过程中多酚及花青素含量和抗氧化活性的测定。随着都柿储放时间的增加,花青素和总酚含量不断减少,清除自由基能力不断减弱。相关性分析数据证明,在都柿中花青素和总酚含量与清除自由基能力具有较高的相关性。

关键词:都柿,花青素,总酚,抗氧化活性,储放

Changes of anthocyanin content and antioxidant activities during storage of *Vaccinium Uliginosum* L.

ZHANG Xiao-song, LI Dong-mei, FENG Zhi-biao*, ZHANG Yong-zhong

(Application Chemistry Department of Northeast Agriculture University, Harbin 150030, China)

Abstract: *Vaccinium Uliginosum* L. belongs to the family of *Vaccinium* L. There are many nutritive substances in *Vaccinium Uliginosum* L. such as protein, fat, carbohydrate, mineral elements, amino acids, vitamins, polyphenols and abundance of anthocyanin. The contents of polyphenols and anthocyanin and their antioxidant activities were measured. The contents of polyphenols and anthocyanin and their antioxidant activities decreased with the storage time increased. There was altitudinal relativity between the antioxidant activities and the amount of polyphenols and anthocyanin in the fruits of *Vaccinium Uliginosum* L.

Key words: *Vaccinium Uliginosum* L.; anthocyanin; total phenolics; antioxidant activities; storage

中图分类号:TS255.3

文献标识码:A

文章编号:1002-0306(2008)06-0268-04

越桔又名蓝莓,分布于东北地区的野生越桔有3种,即红豆越桔(*Vaccinium vitis-idaea* L.),笃斯越桔(*Vaccinium Uliginosum* L.)和朝鲜越桔(*Vaccinium Koreanum*)。笃斯越桔是越桔家族中的一员,又名笃斯(都柿)、甸果、地果、龙果、黑豆树、蛤塘果等,蒙古名为“讷日苏”,鄂温克人称作“jigda”,它为杜鹃花科(*Ericaceae*)越桔属(*Vaccinium* L.)落叶灌木,生于山地针叶林下、林缘及沼泽湿地上,分布于我国的内蒙古、黑龙江、吉林、辽宁等地。笃斯越桔的果实为浆果,成熟后呈蓝紫色,近球形或倒卵形,直径约1cm,

其成熟果实酸甜可食。据测定^[1],每100g笃斯越桔鲜果含果汁80g,可溶性糖5~11g,可滴定酸2.0~3.0g,维生素C25~53mg,游离氨基酸54.2mg,果胶0.5g。魏金城等^[2]通过测定得出结论:都柿(笃斯越桔)冷藏果中含有丰富的糖类、维生素、氨基酸、微量元素等营养成分。耿星河等^[3]测定发现,笃斯越桔的阴干果实中含有多种营养物质,有粗蛋白、粗脂肪、粗纤维、碳水化合物、多种矿物质元素等,还含有17种氨基酸和多种维生素。很多研究报道了蓝莓果中还含有鞣花酸、鞣花单宁、叶酸、花色苷等多酚类化合物。许多研究^[4,5]表明:因为食品中含有多酚、维生素等具有抗氧化能力的物质,所以,每天摄取一定量的水果和蔬菜可以减少患心血管疾病的几率。尽管一些维生素和氨基酸类物质具有抗氧化能力,然

收稿日期:2007-10-25 *通讯联系人

作者简介:张晓松(1982-),男,硕士,研究方向:农产品加工及贮藏。

基金项目:黑龙江省“十一五”重大科技攻关项目(GA06B402-4)。

[6] A Regattieri, M Gamberi, R Manzini. Traceability of food products: General framework and experimental evidence [J]. Journal of Food Engineering, 2007, 81(2): 347~356.

[7] 刘英,陈历程. 欧盟及美国的“溯源性”牛肉生产系统简

介[J]. 食品科学, 2003, 24(8): 182~185.

[8] 替林森,郑同超,申光磊,王立国,等. 牛肉安全生产加工全过程质量跟踪与追溯系统研发[J]. 中国农业科学, 2006, 39(10): 2083~2088.

而,一些研究^[6]证明一些类黄酮的抗氧化能力远高于维生素 C、维生素 E 和谷胱甘肽。还有研究^[7,8]表明:一些水果的高的抗氧化活性是由于多酚和类黄酮的存在。笃斯越桔中含有丰富的花色苷类成分,而且,花青素是迄今为止所发现的最有效的天然水溶性自由基清除剂,其淬灭自由基的能力是维生素 C 的 20 倍,维生素 E 的 50 倍。都柿果实具有多种疾病防治及保健功能,如:良好的防脑神经老化、强心、抗癌等保健功能。我们进行了笃斯越桔在储藏过程中多酚及花青素含量和抗氧化活性的测定,研究都柿中花青素和总酚含量与清除自由基能力的相关性,旨在证明都柿中的总酚和花青素是重要的起抗氧化作用的物质。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

盐酸矢车菊色素 (Cyanidin Chloride) 购自 Sigma 公司;其他试剂 均为国产分析纯。

7500UV/可见分光光度计 上海天美科学仪器有限公司;离心机 北京医用离心机厂;电子天平 上海天平仪器厂;超纯水器 UPW-20NE,北京厉元电子仪器公司。

1.2 实验方法

1.2.1 都柿储藏和总酚的提取 避光冷藏,每份 4 颗果粒,储藏时间 0~27d。样品中总酚的提取方法为:每份 4 颗果粒,每次用 3mL,0.1mol/L HCl 乙醇溶液萃取五次,合并萃取液约 13.0mL,为待测样液。

1.2.2 总酚测定方法 Folin-Ciocalteu 试剂法, Folin-Ciocalte 显色剂的配制见参考文献[9]。

1.2.2.1 标准曲线的制作 分别配制 8.33、16.7、25.0、33.3、41.7、50 μ g/mL 焦性没食子酸溶液。取如上浓度焦性没食子酸溶液各 1.2mL,加 1.0mL 稀释 2 倍的 Folin-Ciocalteu 显色剂,加 5mL,1mol/L 碳酸钠溶液避光放置 1h,测 760nm 下的吸光度。绘制标准曲线,总酚含量用焦性没食子酸的重量来表示。

1.2.2.2 总酚测定方法 取加水适当稀释的样液 1.2mL,加 1.0mL 稀释 2 倍的 Folin-Ciocalteu 显色剂,加 5mL,1mol/L 碳酸钠溶液,避光放置 1h,测定 760nm 下的吸光度。

1.2.3 花青素含量测定方法 取储藏 0d 待测样液,在不同 pH 下,扫描其吸收光谱,确定适当的定量分析 pH。

花青素含量以盐酸矢车菊色素含量表示,盐酸矢车菊色素用 0.1mol/L HCl 乙醇溶液配成 2.5~20 μ g/mL 溶液。在波长 540nm 下测吸光度,绘制工作曲线。样液用 0.1mol/L HCl 乙醇溶液稀释,在波长 540nm 下测吸光度。

1.2.4 清除羟基自由基活性测定方法 参照 Fenton 反应原理及陈乃东^[10]等方法进行。在一刻度试管中加 1.0mL,60mmol/L Fe^{2+} ,1.0mL,90mmol/L 水杨酸-乙醇,1.0mL,0.1mol/L HCl 乙醇溶液,定容至 10mL。加 1.0mL,20mmol/L H_2O_2 。10min 后,在波长 520nm 下测吸光度,该吸光度记为 A_0 。于另一刻度试管中加 1.0mL,60mmol/L Fe^{2+} ,1.0mL,90mmol/L 水杨酸-乙醇,1.0mL,样液,定容至 10mL,加 1.0mL,20mmol/L H_2O_2 ,10min 后,

在波长 520nm 下测吸光度,该吸光度记为 A_1 。样液在此条件下,有背景颜色,做一不加 H_2O_2 的空白,在波长 520nm 下测吸光度,记为 A_2 。

$$\text{羟基自由基清除率} = 1 - (A_1 - A_2) / A_0$$

1.2.5 清除氧自由基活性测定方法

1.2.5.1 邻苯三酚自氧化速率的测定 在 25℃ 的恒温水浴锅中,将 pH8.2, Tris-HCl 缓冲液和 50mmol/L 邻苯三酚在水浴中分别保温 10min 后,取 2.8mL, pH8.2, Tris-HCl 缓冲液,加 0.1mL, 50mmol/L 邻苯三酚,摇匀,在 420nm 下立即测定,每隔 0.5min 测一次吸光度(以 pH8.2, Tris-HCl 缓冲液为空白),平行实验三次,得三组数据取平均值,根据所测数值绘制时间 t-A 值曲线。计算抑制率以测定 3.0min 平均吸光度(A_0)计。

1.2.5.2 样品抗氧化能力测定 取 2.8mL, pH8.2 Tris-HCl 缓冲液,加待测样品 0.1mL,加 0.1mL, 50mmol/L 邻苯三酚,摇匀,立即同上测定吸光度($A_{\text{测定}}$)。同时,取 2.8mL, pH8.2 Tris-HCl 缓冲液,加待测样品 0.1mL,加 0.1mL, 0.1mol/L HCl,摇匀,测定 420nm 下吸光度($A_{\text{对照}}$),以消除样品颜色影响。

1.2.5.3 结果计算

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

$$\text{式中: } A_1 = A_{\text{测定}} - A_{\text{对照}}$$

2 结果与讨论

2.1 总酚测定标准曲线

总酚测定标准曲线见图 1。总酚测定标准曲线方程为 $y = 0.032x + 0.0197$, 相关系数 $R^2 = 0.9988$, y 为吸光度, x 为焦性没食子酸溶液(μ g/mL)。

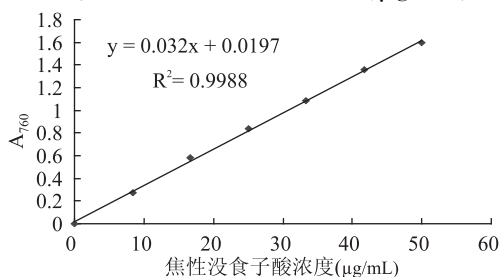


图1 总酚标准曲线

2.2 花青素含量测定工作曲线

花青素吸光度大小与 pH 密切相关,花青素提取液的吸光度随着 pH 变化情况见图 2。

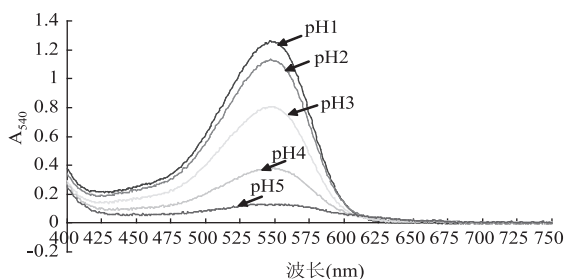


图2 不同 pH 下花青素提取物的吸收曲线

可见,随着测定 pH 的减小,花青素的吸光度不断增大。也就是说,较小的 pH 时,花青素的摩尔吸光系数较高,因此,待测试样均用 0.1mol/L HCl 乙醇溶液稀释测定。

盐酸矢车菊色素标准溶液工作曲线见图 3, 方程为 $y = 0.0315x + 0.0012$, 相关系数 $R^2 = 0.9991$, y 为吸光度, x 为盐酸矢车菊色素浓度 $\mu\text{g/mL}$ 。

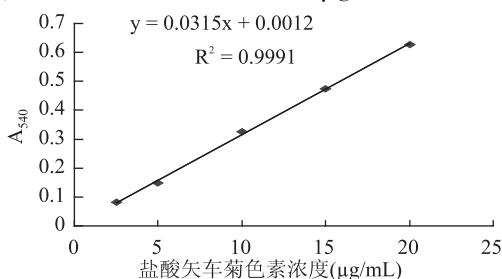


图 3 盐酸矢车菊色素标准溶液工作曲线

2.3 都柿储放过程中总酚和花青素含量变化

都柿储放过程中总酚含量变化结果见图 4, 花青素含量变化结果见图 5。

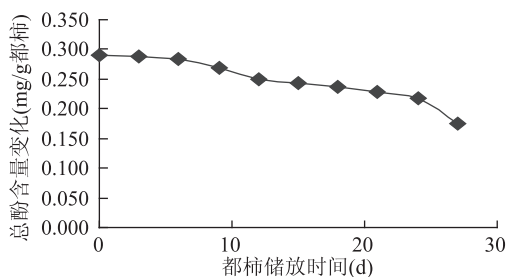


图 4 都柿储放过程中总酚含量变化曲线

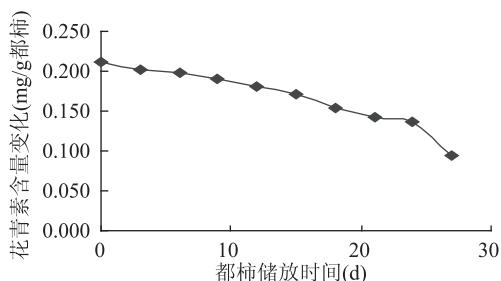


图 5 都柿储放过程中花青素含量变化曲线

都柿避光冷藏总酚和花青素含量均不断下降, 但花青素含量下降速度较总酚含量下降的快。都柿避光冷藏 27d 后, 总酚含量下降了 40%, 花青素含量下降了 55%。

2.4 花青素提取物清除超氧自由基的能力

邻苯三酚会发生自动氧化反应, 其自氧化反应速率被抑制的大小显示超氧自由基被清除作用的强弱。邻苯三酚自氧化是一类链式反应, 在自氧化过程中, 超氧自由基不断消失又不断生成, 达到稳态时, 其浓度保持恒定。邻苯三酚在自氧化过程中, 形成一系列在 400~420nm 处有光吸收的中间产物。当 $\text{pH} < 9$ 时, 邻苯三酚的自氧化率与超氧阴离子浓度呈正相关^[11]。邻苯三酚自氧化的曲线、都柿花青素提取液对邻苯三酚氧化的抑制曲线见图 6。可见, 都柿花青素提取液对邻苯三酚氧化的抑制作用非常明显。

2.5 都柿储放过程中抗氧化能力变化

都柿储放过程中羟基自由基清除率能力结果见图 7, 都柿储放过程中清除超氧自由基能力变化结果见图 8。都柿避光冷藏过程中, 总酚和花青素抗氧化

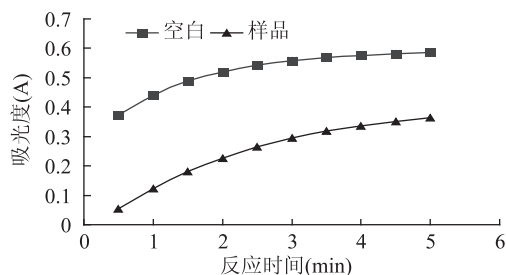


图 6 花青素提取液对邻苯三酚氧化的抑制曲线

能力均不断减弱。

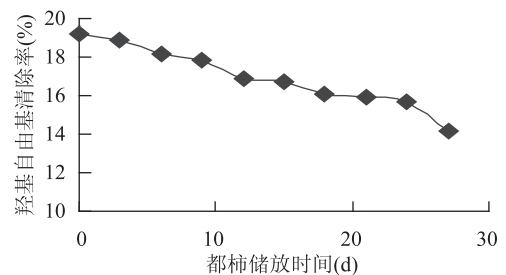


图 7 都柿储放过程中羟基自由基清除率能力结果

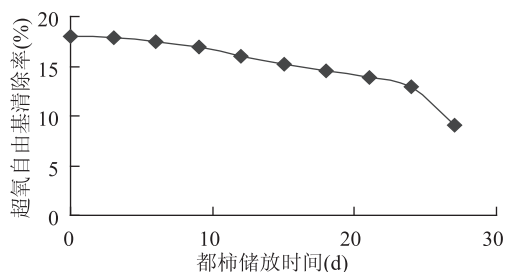


图 8 都柿储放过程中清除超氧自由基能力变化

避光冷藏 27d 后, 清除羟基自由基能力下降了 26%, 清除超氧自由基能力下降了 50%。总的看来, 都柿样品清除羟基自由基能力大于清除超氧自由基能力。

2.6 总酚和花青素含量与清除自由基能力的相关性分析

总酚和花青素含量与清除自由基能力的相关性分析结果见图 9 和图 10。

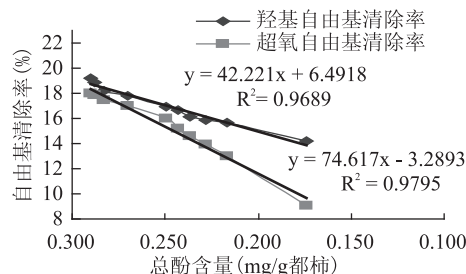


图 9 总酚含量与清除自由基能力的相关性分析

总酚和花青素含量与抗氧化能力有较好的相关性。总酚含量与清除羟基自由基能力相关系数 R 为 0.9843, 与清除超氧自由基能力相关系数 R 为 0.9897; 花青素含量与清除羟基自由基能力相关系数 R 为 0.9761, 与清除超氧自由基能力相关系数 R 为 0.9904。可见, 花青素含量与清除自由基能力相关性略高于总酚含量与清除自由基能力相关性。

相关性分析数据证明, 在都柿中花青素和总酚

(下转第 283 页)

在波长 575nm 下测定。本实验表明,在此条件下的显色稳定,且重现性好。

3.2 香草醛-冰醋酸、高氯酸分光光度法测定甾醇中三萜类化合物,反应非常灵敏,严格控制实验条件是极其重要的。本实验表明高氯酸用量为 1.2mL,新配制的香草醛-冰醋酸溶液 0.2mL,溶剂过多过少都使反应不完全,显色不稳定,误差较大。操作中,使用现用现配的香草醛-冰醋酸溶液,显色效果最佳、最稳定,加热温度控制在 70℃,能保证平行测定稳定,得到良好的线性关系,作出标准曲线。

3.3 采用本法测定,结果稳定,重现性好,且仪器常备,方法简便可靠,实际可行,若在实验中严格控制反应条件,其结果仍较稳定,重现性好,可用于质量控制^[7]。

参考文献:

[1] 吴时敏,吴谋成. 植物甾醇的研究进展与趋向(Ⅰ)——植物甾醇的应用基础和开发研究[J]. 中国油脂,2002,27

(3):73~75.

[2] 吴时敏,吴谋成. 植物甾醇的研究进展与趋向(Ⅱ)——植物甾醇的应用基础和开发研究[J]. 中国油脂,2002,27(3):60~63.

[3] Shuhai Lin, Dongmei Wang, Depo Yang. Characterization of steroidal saponins in crude extract from dioscorea nipponica Makino by liquid chromatography tandem multi-stage mass spectrometry[J]. Analytica Chimica Acta, 2007, 7(7):1~9.

[4] 高学敏,顾鹏,李力. 皂甙分析方法的研究进展[J]. 中国食品添加剂,2000(3):54~57.

[5] Dragomir Dinchev, Bogdan Janda. Distribution of steroidal saponins in Tribulus terrestris from different geographical Regions [J]. 2007, 7(3):1~3.

[6] Dan Jiang, She-Po Shi. Triterpene saponins from the fruits of Akebia quinata [J]. Biochemical Systematics and Ecology, 2007, 6(4):1~4.

[7] 王文祥,顾振纶. 比色法测定山楂总三萜酸的含量[J]. 中国野生植物资源,2001,20(5):47.

(上接第 270 页)

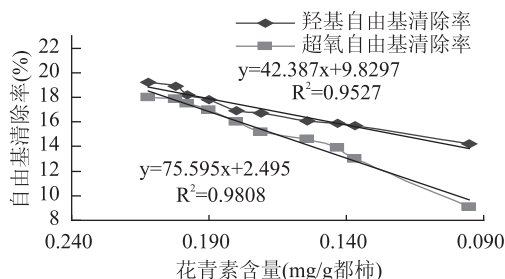


图 10 花青素含量与清除自由基能力的相关性分析

含量与清除自由基能力具有较高的相关性。这个结论与很多高花青素含量水果的相关研究结果一致。Solomon A. 等^[12]研究发现,无花果中花青素和总酚含量与抗氧化能力有较好的相关性。Xu J. R. 等^[13]研究 127 种黑大豆中花青素和总酚含量与抗氧化能力,得出结论为黑大豆种皮中的花青素和总酚是重要的起抗氧化作用的物质。

3 结论

总的来说,随着都柿储放时间的增加,花青素和总酚含量不断减少,清除自由基能力不断减弱。然而,相关性分析数据证明,在都柿中花青素和总酚含量与清除自由基能力具有较高的相关性。因此,我们可以得出结论:都柿中花青素和总酚是重要的起抗氧化作用的物质。

参考文献:

[1] 刘孟军. 中国野生果树[M]. 北京:中国农业出版社,1998. 333~337.

[2] 魏金城,刘庆荣. 都柿果实成分分析[J]. 黑河科技,1994(1):7~8.

[3] 耿星河,苏亚拉图,敖日格尔,等. 笃斯越桔阴干果实的营养成分及其食用价值分析[J]. 内蒙古师范大学学报(自然科学汉文版),2006,35(2):223~225.

[4] Dragsted L O, strube M, Larsen J C. Cancer-protective factors in fruits and vegetables: biochemical and biological background [J]. Pharmacol Toxicol, 1993, 72 (suppl. 1): 116~135.

[5] Genkinger J M, Platz E A, Hoffman S C, et al. Fruit, vegetable, and antioxidant intake and all-cause, cancer, and cardiovascular disease mortality in a community-dwelling population in Washington County [J]. Maryland Am J Epidemiol, 2004, 160: 1223~1233.

[6] Cao G, Alessio H M, Culter R Y. Oxygen-radical absorbance capacity assay for antioxidants [J]. Free radical Biol Med, 1993, 14: 303~311.

[7] Eberhardt M V, Lee C Y, Liu R H. Antioxidant activity of fresh apples [J]. Nature, 2000, 405: 903~904.

[8] Liu R H, Eberhardt M V, Lee C Y. Antioxidant and antiproliferative activities of selected New York apple cultivars [J]. N Y Fruit Q, 2001(9):15~17.

[9] 曹伟,索志荣. Folin-Ciocalteu 比色法测定蜂蜜中总酚酸的含量[J]. 食品与发酵工业,2003,29(12):80~82.

[10] 陈乃东,周守标,王春景,等. 春花胡枝子黄酮类化合物的提取及清除羟自由基作用的研究[J]. 食品科学,2007,28(1):86~91.

[11] 静天玉,赵晓瑜. 用终止剂改进超氧化物歧化酶邻苯三酚测活法[J]. 生物化学与生物物理进展,1995,22(1):84~86.

[12] Solomon A, Golubowicz S, Yablowicz Z, et al. antioxidant activities and anthocyanin content of fresh fruits of common fig (ficus carica L) [J]. J Agric and Food Chem, 2006, 54(20): 7717~7723.

[13] Xu J R, Zhang M W, Liu X H, et al. correlation between antioxidation and the content of total phenolic and anthocyanin in black soybean accessions [J]. Agricultural Sciences in China, 2007, 6(2): 150~158.