



孙晶. 醋栗果实发育中有机酸和类黄酮含量及体外抗氧化活性的动态分析[J]. 黑龙江农业科学, 2021(4):99-103.

醋栗果实发育中有机酸和类黄酮含量及体外 抗氧化活性的动态分析

孙 晶

(黑龙江省农业科学院 乡村振兴科技研究所, 黑龙江 哈尔滨 150028)

摘要:为促进醋栗资源的合理利用,本文以茶藨子属植物醋栗“坠玉”品种为试验材料,测定果实生长发育过程中纵横径、可滴定酸、类黄酮含量及体外抗氧化活性的变化。结果表明:醋栗果实生长发育过程中,果实可滴定酸含量随果实增大而增加;果实类黄酮含量随果实成熟逐渐下降;醋栗果实具有极强的体外抗氧化活性(DPPH、FRAP 和 $\cdot\text{OH}$)。相关性分析显示,类黄酮含量与 DPPH 自由基清除能力呈极显著正相关性($P<0.01$),与 FRAP 自由基清除能力呈显著正相关($P<0.05$),类黄酮含量与清除 $\cdot\text{OH}$ 自由基能力相关性最弱。

关键词:醋栗;果实品质;抗氧化活性;动态分析

醋栗(*Ribes*)又名灯笼果,属茶藨子科(Grossulariaceae)茶藨子属(*Ribes* L.),醋栗亚属的多年生灌木,它与穗醋栗同科同属,但穗醋栗属于茶藨子亚属(Subgen *Ribes*)。从栽培角度看,醋栗和穗醋栗的植物学特性和生物学特性很相近,在栽培管理和利用等方面也基本相同,在遗传方面也表现出高度的杂交亲合性,因此被划分为一个属的 2 个亚属^[1]。

现在常见的作为浆果栽培的茶藨子属植物有黑穗醋栗、红穗醋栗和醋栗^[2]。作为第 3 代新兴

果树,醋栗果实中营养成分极其丰富,其维生素 C 的含量仅次于猕猴桃^[3]。含糖 5%~11%,有机酸 0.9%~2.3%,每 100 g 鲜果中含维生素 55 mg、蛋白质 0.8 g、脂肪 0.2 g 以及微量元素。

相关研究表明,果实中有机酸的含量及种类影响果实的风味及品质,大多数果实在生长发育过程中,有机酸不断积累含量逐渐升高,在逐渐成熟过程中被消耗分解^[4-5]。有机酸含量受到遗传物质、环境条件和栽培状况的影响^[6]。杨咏丽等^[7]研究表明黑穗醋栗整个发育过程中,果实中的各种营养物质在不同阶段变化不同,总糖、有机酸含量随果实成熟逐渐增加,维生素 C、氨基酸的含量随着果实的成熟逐渐减少。

收稿日期:2020-12-26

基金项目:区域特色产业精准扶贫示范与推广(ZY17C07)。

作者简介:孙晶(1987—),女,硕士,研究实习员,从事浆果资源研究与利用。E-mail:407658241@qq.com。

Study on Container Seedling Technology of *Quercus robur* L. for Afforestation in Barren Mountains

SANG Xiao-bo^{1,2}, ZHOU Zhi-qing^{1,2}, ZHANG Yun-shan^{1,2}, DING Yan¹

(1. Linfen Vocational and Technical College, Linfen 041000, China; 2. Shanxi Gu County Red Oak Valley Technology Development Limited Company, Linfen 041000, China)

Abstract: As a drought tolerant broad-leaved tree species, *Quercus robur* L. can be used for afforestation in barren mountains. In order to improve the survival rate, disease and insect resistance and drought resistance of afforestation in arid areas, container nursery experiment was carried out in Xiangfen County of Linfen City to cultivate seedlings with high survival rate and disease and drought resistance. The results showed that the size of 44 mm×44 mm×200 mm, the amount of substrate 380 mL, the ratio of substrate peat soil:perlite:vermiculite=6:2:2 non woven container seedling were the most suitable for afforestation in barren hills.

Keywords: *Quercus robur* L.; container nursery; seedling technique

醋栗和其他虎耳草科醋栗属植物一样都具有丰富的抗氧化物质,果实中不但含有高浓度的抗坏血酸盐,而且含有大量的多酚化合物和黄酮类化合物^[8],它们除具有抵抗心血管疾病^[9-10]的功能外,还具有抗癌、抗肿瘤^[11],调节免疫力、减缓衰老等作用^[12-15]。目前用于测定食品抗氧化活性最简单快速的方法是体外评价^[16]。由于不同体外抗氧化活性评价方法各具有不同的反应特点、优势及缺点,因此一般选择2种以上的方法同时测定,以便更加准确客观地评价抗氧化活性物质^[17-19]。

目前国内外对穗醋栗各品种的叶片及果实品质、抗氧化能力方面的研究报道较多^[20-22],但对醋栗的相关研究很少,其果实生物活性成分含量及变化规律尚不明确,并且科研中缺乏果实品质评价系统的标准和方法,在育种上也缺少优良品种。本研究以醋栗“坠玉”品种为试验材料,通过对醋栗果实生长发育过程中果实状态进行动态测定分析,了解营养成分成分的变化积累规律,明确各成分含量峰值的生长时期,为开发利用醋栗果实功能活性成分提供一定的理论依据,拓宽醋栗开发利用渠道,为合理利用醋栗资源提供理论依据和数据支持。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 植物材料 供试醋栗优良品种“坠玉(Pixwell)”,1981年引自美国,原产加拿大,母本为欧美杂交种 Oregon,父本为美洲种 *Ribes missouriense*,1991年由吉林省农作物品种审定委员会审定。该品种适应性广,生长势旺,抗病能力强,果实大、品质好,且具有果皮薄,果实柔软多汁,丰产性好等特性。

1.1.2 供试仪器 SB25-12D 超声波清洗机(宁波新芝生物科技股份有限公司)、HC-2518R 高速冷冻离心机(安徽中科中佳科学仪器有限公司)、UV-5200 紫外可见分光光度计(上海元析仪器有限公司)、RE-2000B 旋转蒸发仪(上海亚荣生化仪器厂)、SHZ-III 型循环水真空泵(上海亚荣生化仪器厂)、DHG-9240S 电热鼓风干燥箱(宁波乐电仪器制造有限公司)、GZX-9140MBE 电热鼓风干燥器(上海博迅实业有限公司医疗设备厂)、YS3060 型分光色差仪(深圳市三恩时科技有限

公司)。

1.1.3 供试试剂 氢氧化钠、无水甲醇、盐酸、亚硝酸钠、六水硝酸铝、乙醇均为国产分析纯,购自国药集团化学试剂有限公司。

1.2 方法

1.2.1 试验设计 试验于2018年在黑龙江省农业科学院乡村振兴科技研究所野生资源种质圃内进行,挑选5株长势良好、树冠大小基本一致的移栽6年的“坠玉”植株进行取材。花后7d开始采果,每隔7d采集1次,直至果实完全成熟,共采集6次,液氮速冻,-40℃保存备用。各时期采集果实的状态分别为:果小绿色、膨大绿色、膨大绿色、少量着红、成熟、过熟。

1.2.2 测定项目及方法 采用电子数显卡尺测量各取样时期鲜果纵径、横径,每个时期重复3个数,取平均值,结果精确到0.001mm。根据每次观测记录的平均值,绘制果实纵、横径生长曲线。

可滴定酸含量的测定采用NaOH溶液滴定法^[23];类黄酮含量的测定采用亚硝酸钠—硝酸铝比色法^[24],以标准品芦丁为参照获取标准曲线。

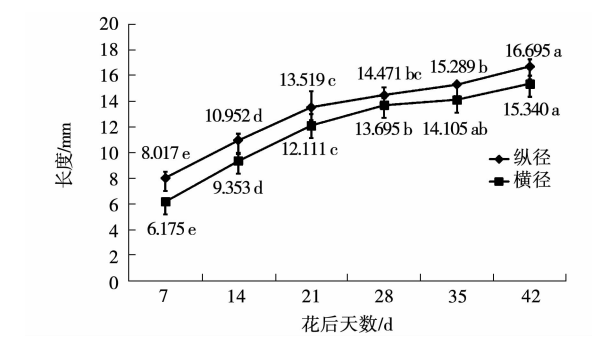
DPPH 自由基清除能力的测定参照 Blois^[25]的方法;羟自由基($\cdot\text{OH}$)清除能力的测定参照徐建国等^[26]采用的水杨酸钠络合法。

1.2.3 数据分析 所得数据采用 Excel 2003 与 SAS 9.2 软件进行处理和分析,所有样品3次重复,测定结果以平均值±标准差表示。

2 结果与分析

2.1 果实发育过程中纵径和横径的变化

由图1可知,果实发育过程中果实纵径、横径都呈“S”型变化,分成3个时期,花后7~21d为果实生长期,21~35d为果实膨大期,35~42d为果实完全成熟期。在果实生长期纵径增长速度明显大于果实膨大期,膨大期到成熟期过程中果实纵径仍在增长,最大纵径达到16.695mm。果实横径在花后7~28d果实生长期过程中横径增长速度很快,28~35d膨大期增长较平缓,35~42d果实完全成熟过程中横径仍在增加。果实横径的增长速度明显快于果实纵径的增长,花后42d完全成熟时最大横径达15.340mm,与纵径相接近,故果实成熟时呈近圆形。



注:不同小写字母代表 $P<0.05$ 水平差异显著,下同。
图1 果实生长发育过程中纵径、横径变化

2.2 果实发育过程中可滴定酸含量变化

由图2可知,果实生长发育过程中,可滴定酸含量随着果实膨大而逐渐增加,呈指数趋势增长趋势。花后7~35 d可滴定酸含量增长速度快,35 d达到峰值2.555%,在花后35 d开始到果实完全成熟(42 d)果实可滴定酸含量保持平稳。

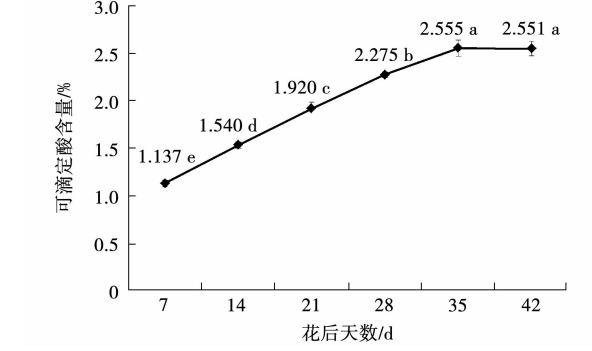


图2 果实生长发育过程中可滴定酸含量变化

2.3 果实发育过程中类黄酮含量变化

由图3可知,在果实发育过程中,果实类黄酮含量呈现由高到低的变化趋势。果实类黄酮含量最高值出现在花后7 d,即果实幼果期,达到 $8.493\text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$;随果实成熟有逐渐下降趋势,最低值出现在果实发育中后期,为 $3.367\text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$ 。在花后21~42 d,果实类黄酮含量出现不同程度的上升和下降的波动。

2.4 果实体外抗氧化能力测定

2.4.1 DPPH和·OH自由基清除能力

由图4可知,醋栗果实发育过程中,果实对DPPH自由基清除能力随果实生长呈下降趋势。在花后7 d果实DPPH自由基清除率最高,为57.070%,随着果实生长逐渐由高到低,果实膨大期(花后28 d)开始逐渐趋于平稳,平均在32%左右。而果实对·OH清除能力随果实膨大呈波动降低。花后7 d时羟自由基清除能力最高46.95%,随着果实生长

清除能力逐渐下降,花后35 d达到最低值27.44%,果实完全成熟时(42 d)又略升高至36.71%。

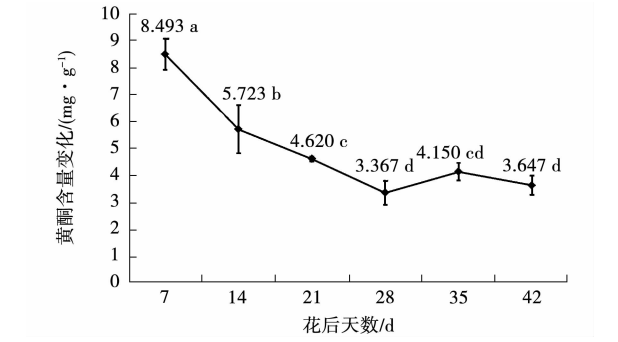


图3 果实生长发育过程中黄酮化合物含量变化

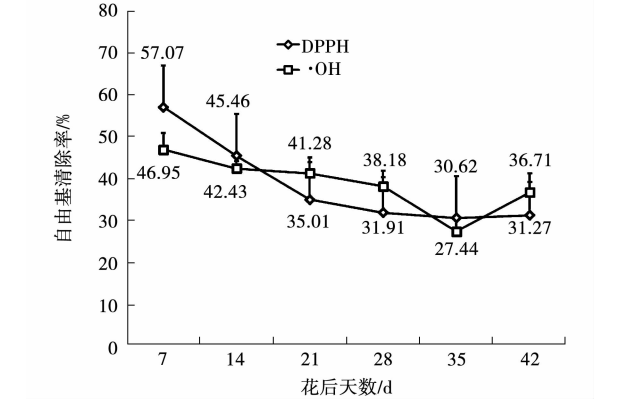


图4 果实生长发育过程中DPPH和·OH自由基清除能力

2.4.2 FRAP自由基清除能力

由图5可知,果实生长发育中,FRAP铁离子还原能力随着果实生长而逐渐下降,花后7 d果实抗氧化能力最强,为1.135,花后14~42 d铁离子还原能力呈现先降低后升高的变化,在花后35 d时出现最低点。

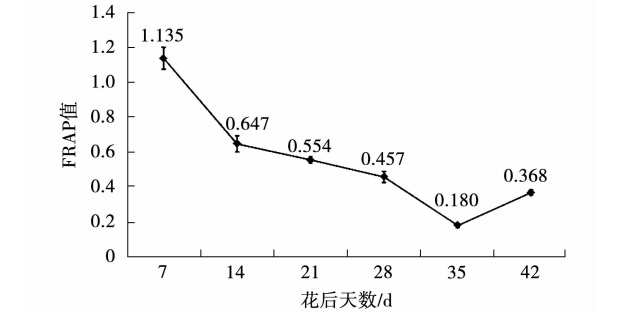


图5 果实生长发育过程中FRAP自由基清除能力

2.5 醋栗果实发育过程中抗氧化活性与类黄酮含量的相关性分析

由表1可以看出,醋栗果实中类黄酮含量与

FRAP 值、清除 DPPH 能力、清除·OH 能力之间均存在相关性。其中,类黄酮含量与清除 DPPH 能力存在极显著相关关系($P<0.01$),与 FRAP 值存在显著相关关系($P<0.05$),说明类黄酮清除 DPPH 自由基能力最强。这说明类黄酮是醋栗果实中主要的抗氧化活性成分。

表 1 醋栗果实抗氧化活性与类黄酮含量的相关性分析

项目	DPPH	FRAP	·OH
类黄酮	0.9756**	0.9120*	0.6927

注: ** 表示极显著相关关系($P<0.01$), * 表示显著相关关系($P<0.05$)。

3 讨论

醋栗果实从落花坐果到果实成熟一般需要 45 d 时间。从外观品质上看,果实的生长发育前期(花后 7~21 d),颜色从绿色到浅绿色,主要进行膨大生长,果实硬度较大,味道酸涩;在果实生长发育中后期(花后 21~35 d),果实颜色从绿黄相间到全部着红,果实仍继续膨大,纵横径逐渐接近为近圆形,硬度显著下降,味道酸脆,达到可采成熟期;35 d 后果实转为深红色,果实变得柔软,味道变甜,这时为过熟状态。

果实中有机酸的组分与含量是决定果实风味品质的重要因素,也是影响果实鲜食及果品加工过程中的一个重要决定性因素^[4]。各类浆果果实中有机酸含量和组分各不相同。醋栗果实有机酸含量在花后 35 d 达到峰值 2.56%,从 35 d 开始到果实完全成熟(42 d)果实可滴定酸含量保持平稳。这与前文中杨咏丽等^[7]在黑穗醋栗的研究结果一致。与红树莓研究结果相似,杨国慧^[27]等对不同类型树莓果实发育期间有机酸变化进行了研究,结果表明红树莓总酸含量先增加后减少,在花后 28 d 达到最高值。即有机酸在幼果期期间含量逐渐增加,在果实接近成熟时含量达到最高,在果实完全成熟后趋于平稳。

类黄酮(flavonoids)是具有生物活性的次生代谢产物。醋栗果实中黄酮类化合物在幼果中含量最高 $8.5 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$,完全成熟时为 $4 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$ 左右,含量均高于树莓和猕猴桃果实中类黄酮含量。醋栗果实类黄酮含量变化与猕猴桃、树莓变化趋势一致^[28],均为幼果期含量高,随着果实成熟含量逐渐下降。不同植株品种及不同组织器官中类黄酮含量不同。不同树莓品种叶片的黄酮类化合物

含量均在幼果期最高,同一品种叶片的黄酮类化合物含量高于果实^[29]。

目前用以测定果实抗氧化活性的方法很多,其中最简单快速便捷的方法就是体外评价。本研究通过检测醋栗果实生长发育过程中清除 DPPH、FRAP 和·OH 的能力来评价醋栗果实的抗氧化活性。DPPH、FRAP 是基于单电子转移反应机制,·OH 是基于氢原子转移反应机制的抗氧化方法。3 种体外抗氧化活性呈现一致的变化规律,在花后 7 d 是清除自由基能力最强,随着果实成熟清除能力逐渐下降。抗氧化活性与果实类黄酮含量的相关性分析显示,醋栗果实中黄酮类物质与抗氧化活性存在正相关关系,类黄酮含量与清除 DPPH 能力存在极显著相关关系($P<0.01$),与 FRAP 值存在显著相关关系($P<0.05$),即说明黄酮类化合物具有强的抗氧化能力。但有研究表明,不同组织类黄酮种类和含量不同,表现的抗氧化能力明显不同。

4 结论

醋栗果实生长发育过程中,幼果期果实横径增长速度快,当果实趋于成熟时纵径增长速度快;果实可滴定酸含量变化与类黄酮含量变化相反,果实可滴定酸含量随果实生长而增加,而类黄酮含量随果实成熟而逐渐下降。醋栗果实在幼果期均表现出极强的体外抗氧化活性。相关性分析显示,醋栗果实中类黄酮含量与自由基的清除能力呈极显著或显著正相关关系,说明类黄酮是醋栗果实抗氧化作用的重要成分。本研究明确醋栗果实活性物质在生长发育过程中含量的变化规律,为醋栗资源的开发利用提供了数据支撑,同时也为醋栗优良资源的选育及推广指明了方向,拓宽了醋栗资源功能性药用价值的利用潜力,促进醋栗资源产业的发展。

参考文献:

- [1] 丁晓东,李广裕.利用 POD 同工酶对黑穗醋栗及有关种亲缘关系的研究[J].东北农业大学学报,1994,25(3):234-238.
- [2] 田贺,张志东,李亚东,等.茶藨属植物果实营养成分分析[J].吉林农业大学学报,2009,31(5):621-623.
- [3] 刘洪章,文联亏,郝瑞,等.黑穗醋栗果实营养成分研究[J].吉林农业大学学报,1998,20(30):1-4.
- [4] 马百全.苹果资源果实糖酸性状评估及酸度性状的候选基因关联分析[D].武汉:中国科学院研究生院(武汉植物园),2016.

- [5] Lamikanra O, Inyang I D, Leong S. Distribution and effect of grape maturity on organic acid content of red muscadine grapes [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 1995, 43(12): 3026-3028.
- [6] 陈发兴, 刘星辉, 陈立松. 果实有机酸代谢研究进展[J]. 果树学报, 2005, 22(5): 526-531.
- [7] 杨咏丽, 崔成东, 周恩. 黑穗醋栗果实成熟过程主要营养成分变化规律[J]. 园艺学报, 1994(1): 21-25.
- [8] Orsavová J, Hlaváčová I, Mlček J, et al. Contribution of phenolic compounds, ascorbic acid and vitamin E to antioxidant activity of currant and gooseberry fruits[J]. Food Chemistry, 2019, 284: 323-333.
- [9] 尹靖东. 类黄酮对蛋鸡胆固醇及氧化物形成的影响[D]. 北京: 中国农业科学院, 2000.
- [10] 齐广海, 郑君杰, 尹靖东, 等. 类黄酮物质对蛋鸡抗氧化和脂质代谢的影响[J]. 营养学报, 2002, 24(2): 153-157.
- [11] 唐传核, 彭志英. 类黄酮的最新研究进展(II)-生理功能[J]. 中国食品添加剂, 2002(1): 5-10, 14.
- [12] 杨风华, 康成, 李淑华. 黄芪水溶性黄酮类对小鼠细胞免疫功能的影响[J]. 时珍国医国药, 2002, 13(12): 718-719.
- [13] 曾庆平, 郭勇. 类黄酮-金属离子螯合模拟 SOD 的研究[J]. 药物生物技术, 1996, 3(4): 210-213.
- [14] 原爱红, 黄哲. 桑叶黄酮的提取及其降糖作用的研究[J]. 中草药, 2004, 11(35): 1242-1243.
- [15] 邵燕燕, 付大海. 灯盏细辛注射液治疗糖尿病肾病 30 例[J]. 陕西中医, 2003, 24(4): 310-311.
- [16] Prior R L, Wu X, Schaich K. Standardized methods for the determination of antioxidant capacity and phenolics in foods and dietary supplements[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2005, 53(10): 4290-4302.
- [17] 张献忠, 黄海智, 钟烈洲, 等. 植物提取物体外抗氧化活性评价方法研究进展[J]. 中国粮油学报, 2012, 27(11): 122-128.
- [18] 徐贵华, 张凤梅, 张磊. 果蔬食品体外抗氧化方法研究进展[J]. 食品研究与开发, 2010, 31(11): 215-219.
- [19] Roginsky V, Lissi E A. Review of methods to determine chain-breaking antioxidant activity in food [J]. Food Chemistry, 2005, 92(2): 235-254.
- [20] 于泽源, 任中杰, 徐雅琴, 等. 黑穗醋栗多糖抗氧化及抑制非酶糖基化活性的研究[J]. 东北农业大学学报, 2012, 43(10): 73-78.
- [21] 徐雅琴, 邵铁华, 付红. 黑穗醋栗(布劳德)叶片中黄酮类物质抗氧化性研究[J]. 东北农业大学学报, 2003(2): 196-198.
- [22] 徐雅琴, 付红, 于泽源. 黑穗醋栗(亮叶)叶片黄酮提取物抗氧化性研究[J]. 食品科技, 2002(7): 38-39.
- [23] 张志安, 张美善, 蔚荣海. 植物生理学实验指导[M]. 北京: 中国农业科学技术出版社, 2004: 157-160.
- [24] 张志昆. 黑穗醋栗叶片中黄酮类化合物的提取、分离纯化及生物活性的研究[D]. 哈尔滨: 东北农业大学, 2012.
- [25] Blois M S. Antioxidant determinations by the use of a stable free radical[J]. Nature, 2002, 26: 1199-1200.
- [26] 徐建国, 胡青平. 决明子水提取物体外清除自由基活性的研究[J]. 食品科学, 2006, 27(6): 73-76.
- [27] 杨国慧, 张伟, 韩德果, 等. 不同类型树莓果实发育期间主要成分的变化[J]. 东北农业大学学报, 2012, 43(10): 61-65.
- [28] 黄春辉, 廖光联, 谢敏, 等. 不同猕猴桃品种果实发育过程中总酚和类黄酮含量及抗氧化活性的动态变化[J]. 果树学报, 2019, 36(2): 174-184.
- [29] 杨国慧, 张岩, 于洋, 等. 树莓叶果黄酮类化合物含量及抗氧化性分析[J]. 湖北农业科学, 2015, 54(18): 4514-4518.

Dynamic Analysis on Organic Acids and Flavonoids Contents and Antioxidant Activity *in vitro* During Gooseberry Fruit Development

SUN Jing

(Institute of Rural Revitalization Science and Technology, Heilongjiang Academy of Agricultural Sciences, Harbin 150028, China)

Abstract: In order to promote the rational utilization of gooseberry resources, the “Zhuiyu” of Ribesiaeae was taken as experimental material, the changes of length of longitudinal diameter and transverse diameter, content of titratable acid, flavonoids and antioxidant activity *in vitro* were determined. The results showed that the content of titratable acid increased with the growth and development of gooseberry fruit. The content of flavonoids in fruits decreased gradually with fruit ripening. The gooseberry fruit had strong antioxidant activity (DPPH, FRAP and $\cdot\text{OH}$) *in vitro*. Correlation analysis showed that the content of flavonoids in gooseberry fruit was extremely significant positive correlated with DPPH free radical scavenging ability ($P < 0.01$), and FRAP radical scavenging ability was significantly positive correlated ($P < 0.05$). The correlation between flavonoid content and $\cdot\text{OH}$ free radical scavenging ability was the weakest.

Keywords: gooseberry; fruit quality; antioxidant activity; dynamic analysis