

4 种红肉苹果提取液花青苷含量及体外抗氧化研究

张翔¹, 孙晓红², 柏素花², 薄怀霞³, 侯鸿敏¹, 孙欣¹, 张玉刚¹

(1. 青岛农业大学园艺学院/青岛市园艺植物遗传改良与育种重点实验室, 山东青岛 266109;

2. 青岛农业大学生命科学学院/山东省植物生物技术重点实验室; 3. 日照市岚山区园林绿化管理处, 山东日照 276800)

摘要:以红肉苹果‘新疆1号’, ‘红勋1号’, ‘黛红’和‘红爱’在幼果期, 发育期和成熟期果实的 HCL/甲醇提取液为试材, 测定其花青苷含量及体外抗氧化性能。结果: ‘新疆1号’幼果期果肉提取液颜色鲜红, 花青苷含量最高, 为 680 mg/kg, ‘红爱’果肉提取液中花青苷含量是‘黛红’的 10 倍。不同品种/品系红肉苹果发育时期果肉提取液对 DPPH 自由基的清除率均较高, 显著高于 VC 的清除能力, 对羟基自由基和超氧阴离子的清除率则较低。其中‘红爱’和‘新疆1号’对 DPPH 的清除率随提取液浓度的升高而增加, 分别由 25% 和 49% 增加到 76% 和 85%; ‘黛红’和‘红勋1号’对 DPPH 自由基的清除率随提取液浓度的变化保持在 80%~90%。发育期‘黛红’果肉提取液浓度为 10 mg/kg 时, 对三种氧化自由基的清除上都高于‘红爱’。不同红肉苹果品种/品系的不同发育时期提取液中花青苷含量差异极大, 对 DPPH 自由基的清除能力最强。

关键词:红肉苹果; 提取液; 花青苷含量; 抗氧化

中图分类号: S661.1

文献标识码: A

DOI: 10.3969/J. ISSN. 1674-148X. 2018. 03. 003

Anthocyanin Content and Antioxidant Activity in Vitro of Red Flesh Apple Extracts

ZHANG Xiang¹, SUN Xiaohong², BAI Suhua²,

BO Huaixia³, HOU Hongmin¹, SUN Xin¹, ZHANG Yugang¹

(1. College of Horticulture, Qingdao Agricultural University/ Qingdao Key Laboratory of Genetic Development and Breeding in Horticultural Plants, Qingdao 266109, China; 2. College of life science, Qingdao Agricultural University/Key Laboratory of Plant Biotechnology of Shandong Province; 3. Landscaping Department of Lanshan District, Rizhao 276800, China)

Abstract: The HCL/methanol extracts from fruits of red flesh apple ‘Xinjiang No. 1’, ‘Hongxun No. 1’, ‘Daihong’ and ‘Red love’ at different developmental stages including young, developmental and mature period were used as test materials to determine anthocyanin content and antioxidant activity in vitro. Result: The young fruit extract of ‘Xinjiang No. 1’ with bright red color had the highest anthocyanin content that is 680 mg/kg. In addition, the anthocyanin content of ‘Red love’ was ten times of ‘Daihong’. The DPPH free radical scavenging rate of pulp extracts was all significantly higher than that of VC scavenging ability in different cultivars/strains of red flesh apple during the developmental period. However, the clearance rate of hydroxyl radicals and superoxide anions were lower than that of DPPH. The removal rates of DPPH from ‘Red Love’ and ‘Xinjiang No. 1’ increased with the increasing of extracts concentration, which increased from 25% and 49% to 76% and 85%, respectively; and the clearance rate of ‘Daihong’ and ‘Hongxun No. 1’ on the DPPH radical scavenging rate was maintained at 80% to 90%. When content of anthocyanin was 10 mg/kg, the scavenging rate of three free radicals of developmental ‘Daihong’ was

收稿日期: 2018-04-22

基金项目: 国家现代苹果产业技术体系(CARS-27); 国家自然科学基金(31372032); ‘泰山学者’建设工程与青岛市民生科技计划项目(15-9-2-99-nsh)

作者简介: 张翔(1994-), 男, 汉族, 山东胶州人, 在读硕士, 主要研究方向: 苹果育种。E-mail: 18306391375@163.com

通讯作者: 张玉刚(1973-), 男, 汉族, 山东枣庄人, 教授, 博士, 主要研究方向: 果树遗传改良与育种, E-mail: zyg4458@163.com

higher than that of 'Red love'. The content of anthocyanin in the extracts of different red flesh apple varieties/strains at different developmental stages varied greatly, and the scavenging ability of DPPH free radicals was the strongest.

Key words: Red flesh apple; Extract; Anthocyanin content; Antioxidation

红肉苹果 (*Malus sieversii* f. *neidzwetzkyana* (Dieck) Langenf) 为蔷薇科 (Rosaceae) 苹果属 (*Malus* Mill) 果树, 是我国珍贵树种, 该果树开花早, 结果早, 丰产, 抗逆性强, 其花、叶、果实等器官由于富含花青苷^[1], 而带有不同程度的红色。花青苷 (Anthocyanin) 属类黄酮化合物^[2], 在植物细胞质中合成在液泡中存储^[3]。花青苷类化合物具有强极性, 溶于水, 易溶于乙醇、甲醇等有机溶剂, 此外, 花青苷由于其结构上含有大量的酚羟基而呈弱酸性。

花青苷类物质具有很强的抗氧化^[4-6]、抗癌^[7]和体外清除自由基能力^[8]。在动物实验中, 红肉苹果花青苷提取物能够挽救 Rosup 对猪卵巢颗粒细胞造成的氧化损伤^[9]。此外花青苷还具有增强抵抗力^[10], 恢复视力障碍^[11], 增强血管弹性^[12], 预防心血管疾病^[13]等作用。花青苷清除自由基的能力主要体现在对 1,1-二苯基-2-苦基苯肼 (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl, DPPH) 和羟基自由基 ($\cdot\text{OH}$) 的清除^[14]。活性氧是一类化学性质活泼、氧化能力很强的含氧物质的总称, 主要有: 超氧阴离子自由基、过氧化氢、羟自由基、脂质自由基等^[15]。自由基过量产生和抗氧化剂缺乏导致生物体产生氧化应激反应, 氧化应激在维持生物体稳态方面发挥着关键作用。水果花青苷抗氧化作用和清除自由基能力已得到科学证明^[8,16], 这对于富含类黄酮花青苷类水果的大量培育和推广起着重要作用。

目前国内外已有红肉苹果育种^[17]以及红肉苹果营养成分及生物活性物质分析的报道^[18], 但红肉苹果不同发育时期果皮和果肉提取物体外抗氧化的报道不多。本研究以红肉苹果 '新疆 1 号', '红勋 1 号', '黛红' 和 '红爱' 在幼果期、发育期和成熟期果实的 HCL/甲醇提取液为试材, 分析其总花青苷含量, 运用体外模型评价不同浓度的红肉苹果提取液对 DPPH 自由基、羟基自由基和超氧阴离子的清除能力, 这对不同发育时期红肉苹果抗氧化作用的研究和天然抗氧化剂开发具有重要意义。

1 材料与方法

1.1 试验材料

试验树栽植于青岛农业大学胶州现代农业科技示范园, 选取的 '新疆 1 号' (Xinjiang No. 1, XJ1)、'红勋 1 号' (Hongxun No. 1, HX1)、'黛红' (Daihong, DH)、'红爱' (Red love, RL) 嫁接在八棱海棠上, 树龄 5 年。分别在 2017 年的 5 月 18 日 (幼果期)、7 月 12 日 (发育期) 和 8 月 30 日 (成熟期) 从四种果树的外围采摘果实, 用冰盒带回实验室后, 果皮和果肉剥离, 在液氮研磨成粉, 用 1% 的 HCL/甲醇为浸提液, 按料液比 1:10 的比例避光 4 °C 浸提 15 h, 抽滤得红肉苹果提取液^[19]。提取液测定花青苷含量后, 通过旋转蒸发得到浓缩膏, 用蒸馏水稀释成 10 mg/kg、30 mg/kg 和 50 mg/kg 的提取液浓度, 以同等浓度的 VC 溶液作为对照, 用于体外抗氧化试验。

1.2 试验方法

1.2.1 总花青苷含量测定

用双波长 pH 示差法^[20]进行红肉苹果总花青苷含量的测定。取 1 mL 花青苷提取液分别加入 9 mL 0.025 mol/L 的氯化钾缓冲液 (pH 1.0) 和 9 mL 0.4 mol/L 的醋酸钠缓冲液 (pH 4.5), 摇匀后避光放置 60 min, 分别在 510 nm 和 700 nm 下测定其吸光度值。按下式计算:

$$\text{花青苷含量 (mg/kg)} = A \times MW \times DF / (\epsilon \times W)$$

式中, A 是吸光度的计算值; MW=449.2, 是矢车菊素-3-葡萄糖苷的分子量; DF 是稀释倍数; $\epsilon=26\,900$, 是矢车菊素-3-葡萄糖苷的摩尔消光系数; W 是样品重。

1.2.2 DPPH 自由基清除

红肉苹果花青苷提取液清除 DPPH 自由基的试验步骤参考 Kano 等^[21]方法并进行少许修改。分别取 2 mL 0.2 mmol/L 的 DPPH 溶液移入装有 1 mL 不同浓度提取液中, 在 515 nm 波长下测定 DPPH 反应开始时吸光度值和反应 30 min 后吸光度值。

红肉苹果花青苷提取液清除 DPPH 自由基率计算如下:

$$\text{清除率 (\%)} = [(DPPH_{t=0} - DPPH_t) / DPPH_{t=0}] \times 100\%$$

式中, $DPPH_{t=0}$: 反应开始时的吸光度值; $DPPH_t$:

PH_t : 反应 30 min 的吸光度值。

1.2.3 羟基自由基清除

采用修改后的邻二氮菲- Fe^{2+} 氧化法^[22], 测定红肉苹果花青苷提取液对羟基自由基的清除能力。试验分三组, 分别为损伤组, 未损伤组和样品组。取 1.5 mL 5 mmol/L 邻二氮菲溶液, 加入 9 mL 0.01M 的 PBS 缓冲液(pH 7.4), 混匀, 加入 7.5 mmol/L 硫酸亚铁溶液 1 mL, 混匀。损伤组和未损伤组加入 2.5 mL 蒸馏水, 样品组加 2.5 mL 红肉苹果提取液, 混匀。损伤组和样品组加 1 mL1% 过氧化氢溶液, 未损伤组加 1 mL 蒸馏水, 充分混匀, 将三组试管放入 37 °C 水浴 1 h, 536 nm 波长下测定各管吸光度值。

红肉苹果提取液对羟基自由基的清除率计算如下:

$$\text{清除率}(\%) = (A_{\text{样品}} - A_{\text{损伤}}) / (A_{\text{未损}} - A_{\text{损伤}}) \times 100\%$$

其中, $A_{\text{样品}}$: 样品组的吸光度值; $A_{\text{损伤}}$: 损伤组的吸光度值; $A_{\text{未损}}$: 未损伤组的吸光度值。

1.2.4 超氧阴离子自由基清除

采用邻苯三酚自氧化法^[16] 测定红肉苹果提取液对 O_2^- 的清除能力。试验设定空白组和样品组,

在两组反应管中分别加入 4.5 mL pH 8.0 的 Tris-HCL 缓冲液, 空白组加入 0.1 mL 的蒸馏水, 样品组加入 0.1 mL 的红肉苹果提取液, 配制邻苯三酚溶液, 将上述溶液 25 °C 水浴 20 min 后, 加入 2.5 mmol/L 的邻苯三酚 0.4 mL 反应 5 min, 立即加入 2 滴 8.0 mol/L 的 HCL 终止反应。在 325 nm 波长下测定吸光度值。

红肉苹果花青苷提取液对超氧阴离子清除率计算如下:

$$\text{清除率}(\%) = (A_{\text{空白}} - A_{\text{样品}}) / A_{\text{空白}} \times 100\%$$

其中 $A_{\text{空白}}$: 空白组的吸光度值; $A_{\text{样品}}$: 样品组的吸光度值。

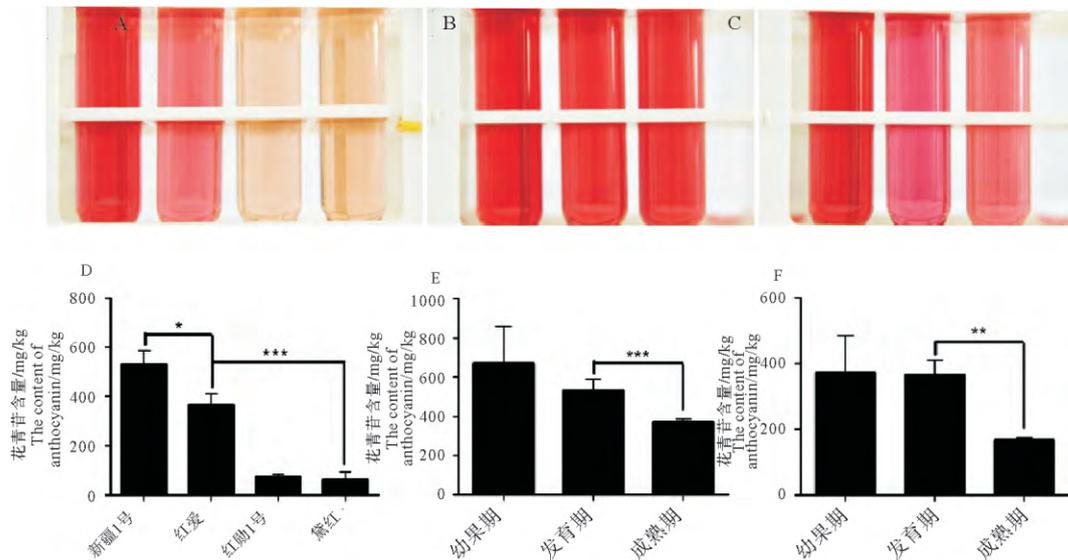
1.3 数据处理

每个样品设置三个重复试验, 试验数据利用 Excel (2013) 进行统计分析和绘图。

2 结果与分析

2.1 四种红肉苹果果肉提取液的花青苷含量

采用 HCL/甲醇浸提得到的红肉苹果果肉提取液颜色见图 1-A, B, C 及提取液花青苷含量见图 1-D, E, F。图 1-A, D 所示, 在四种红肉苹果果实的发育期, ‘新疆 1 号’ 提取液颜色鲜红, 花青苷含量



注: A. 四个红肉苹果品种/品系发育期果肉提取液; B. ‘新疆 1 号’ 三个生理期的果肉提取液; C. ‘红爱’ 三个生理期果肉提取液; D. 四个红肉苹果品种/品系发育期果肉提取液花青苷含量; E. ‘新疆 1 号’ 三个生理期果肉提取液花青苷含量; F. ‘红爱’ 三个生理期果肉提取液花青苷含量。A、B 和 C 中样品顺序与 D、E 和 F 图中样品顺序相对应。下同

Note: A. The flesh extracts of four red flesh apple varieties / strains in developmental period; B. The flesh Extracts of ‘Xinjiang No. 1’ in three physiological periods; C. The flesh Extracts of ‘Red love’ in three physiological periods; D. Content of anthocyanin from flesh extracts of four red flesh apple varieties / strains in developmental period; E. Content of anthocyanin from flesh extracts of ‘Xinjiang No. 1’ in three physiological periods; F. Content of anthocyanin from flesh extracts of ‘Red love’ in three physiological periods; Order of samples in D, E and F plots is corresponding to the order of samples in A, B and C respectively. The same below.

图 1 红肉苹果果肉提取液及花青苷含量

Fig. 1 Extracts and anthocyanin content of red flesh apple

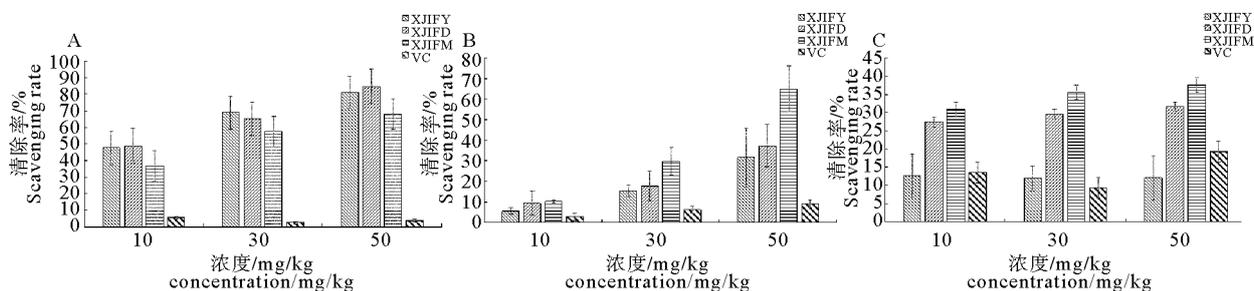
为 531 mg/kg,‘红爱’提取液颜色粉红,花青苷含量为 366 mg/kg,‘红勋 1 号’和‘黛红’提取液颜色淡红,花青苷含量分别为 72 mg/kg 和 63 mg/kg,差异具有显著性。图 1-B,E 显示‘新疆 1 号’果实在发育进程中,果肉提取液红色程度减少,花青苷含量呈下降趋势,幼果期为 669 mg/kg,成熟期为 373 mg/kg,差异极其显著。图 1-C,F 显示‘红爱’果肉提取液颜色由鲜红转变为淡红,花青苷含量由幼果期的 389 mg/kg 降至成熟期的 168 mg/kg。

2.2 ‘新疆 1 号’果实三个发育时期果肉提取液的体外抗氧化

如图 2 所示,‘新疆 1 号’幼果期、发育期和成熟期果肉提取液对 DPPH 和羟基自由基的清除率随提取液浓度的增加而呈现上升的趋势,对超氧阴离子的清除率随提取液浓度的增加变化不显著。

图 2-A 显示在对 DPPH 自由基的清除中,相

同浓度的‘新疆 1 号’幼果期和发育期果肉提取液对 DPPH 的清除能力相似,在浓度是 50 mg/kg 时,二者都维持在 82.0% 左右,而成熟期果肉提取液的清除率略低于前两个时期,在 50 mg/kg 时为 68.1%。图 2-B 显示‘新疆 1 号’幼果期和发育期对羟基自由基的清除率差异不显著,在提取液浓度为 50 mg/kg 时,清除率维持在 34.0% 左右。成熟期果肉提取液对羟基清除率随浓度的增加发生较为显著的变化,在浓度为 10 mg/kg 时,清除率是 10.1%,与前两个时期差异不显著,在 50 mg/kg 时清除率是 64.9%,明显高于前两个时期。对照 VC 对羟基自由基的清除率始终保持较低的水平。从对超氧阴离子自由基的清除结果来看(图 2-C),‘新疆 1 号’果实发育期和成熟期果肉提取液的清除率为 37.6% 和 31.7%,高于幼果期和 VC 的清除率。



注:A:对 DPPH 自由基的清除率;B:对羟基自由基的清除率;C:对超氧阴离子的清除率。

XJ1FY:‘新疆 1 号’幼果期果肉;XJ1FD:‘新疆 1 号’发育期果肉;XJ1FM:‘新疆 1 号’成熟期果肉;VC:对照。下同

A: Scavenging rate for DPPH free radical; B: Scavenging rate for Hydroxyl free radical;

C: Scavenging rate for Superoxide anion free radical. XJ1FY: The young

fruit flesh of ‘Xinjiang No. 1’; XJ1FD: The developmental fruit flesh of ‘Xinjiang

No. 1’; XJ1FM: The mature fruit flesh of ‘Xinjiang No. 1’; VC: Control. The same below.

图 2 ‘新疆 1 号’果实三个发育时期果肉提取液的体外抗氧化

Fig. 2 In vitro antioxidant activity of flesh extracts of ‘Xinjiang No. 1’ in three developmental periods

2.3 ‘红爱’果实三个发育时期果肉提取液的体外抗氧化

如图 3-A 所示,‘红爱’果实的三个发育时期果肉提取液对 DPPH 清除能力显著高于 VC,且随提取液浓度的增加而呈上升趋势。三个发育时期相比较,幼果期果肉提取液在浓度相对较低(10 mg/kg)的情况下,对 DPPH 清除率可达 69.8%,在提取液浓度为 30 mg/kg 以上时,幼果期果肉提取液的对 DPPH 清除率达 85.8%。成熟期果肉提取液对 DPPH 清除能力较低,在 50 mg/kg 时清除率为

64.1%,在 10 mg/kg 的时,仅为 21.8%。从图 3-B 中可以看出,‘红爱’对羟基自由基的清除规律是随着果实的发育,果肉提取液的清除率逐步提高,显著高于 VC 的清除率。但也有例外,如成熟期果肉提取液在浓度为 30 mg/kg 时对羟基自由基的清除率达到 57.8%,50 mg/kg 时反而降低为 22.4%。图 3-C 是对超氧阴离子自由基的清除结果,从图中看出‘红爱’果实的三个发育时期对超氧阴离子的清除率不高,均低于 30%,与 VC 清除率没有显著差异。

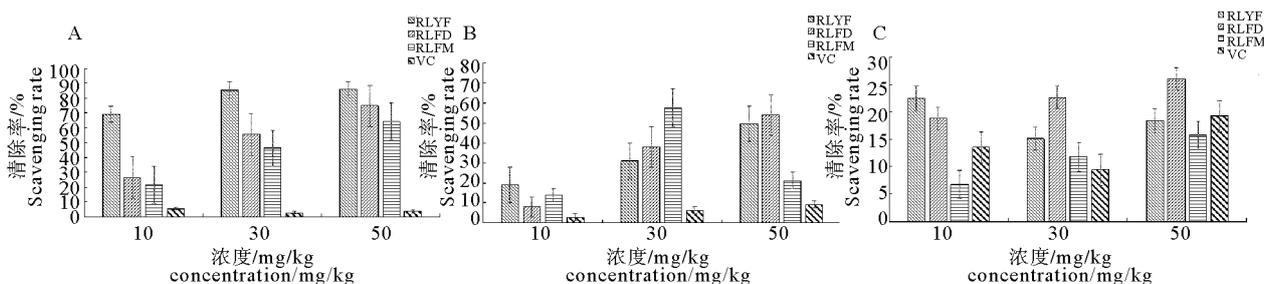


图3 ‘红爱’果实三个发育时期果肉提取液的体外抗氧化

Fig. 3 In vitro antioxidant activity of flesh extracts of ‘Red love’ in three developmental periods

2.4 两种红肉苹果幼果期果肉和果皮提取液的体外抗氧化

图4显示了‘新疆1号’和‘红爱’幼果期的果肉和果皮提取液与VC溶液对三种自由基的清除率。图4—A显示,两个红肉苹果品种幼果期果肉和果皮提取液对DPPH的清除能力随着提取液浓度的增加而呈上升趋势,且显著高于VC的清除能力。‘新疆1号’不同浓度果肉提取液对DPPH的清除能力均高于果皮提取液,果肉和果皮提取液浓度为50 mg/kg时,对DPPH的清除率分别为81.1%和58.7%,是10 mg/kg的1.8和3.4倍。‘红爱’低浓度(10 mg/kg)时果肉提取液对DPPH的清除能力高于果皮提取液,随提取液浓度的增加,二者对DPPH的清除率均大幅提高,趋于一致,稳定在85%左右。图4—B显示对羟基自由基的清除率随着两个红肉苹果品种果肉、果皮提取液浓度的增加而呈现

上升的趋势,且变化幅度较大,品种之间差异明显,‘红爱’高于‘新疆1号’,对照VC溶液对羟基自由基的清除率一直处于较低水平($<8.0\%$)。50 mg/kg的‘红爱’果肉提取液清除率最高,达50.7%,果皮提取液清除率为48.9%,同浓度的‘新疆1号’果肉、果皮提取液清除率仅为31.4%和14.8%。提取液浓度在10 mg/kg时,‘新疆1号’果肉、果皮和‘红爱’果肉、果皮的清除率分别为5.5%、6.4%、18.9%和5.8%。图4—C显示,两个红肉苹果品种幼果期果肉和果皮提取液与对照VC对超氧阴离子自由基的清除能力均不高,在10%~23%之间,且与提取液浓度相关性不大。‘红爱’提取液浓度在10 mg/kg,果肉清除率为22.5%,果皮为10.4%。‘新疆1号’果皮提取液在50 mg/kg时清除率最高,为22.3%,该浓度时果肉提取液清除率为12.7%。

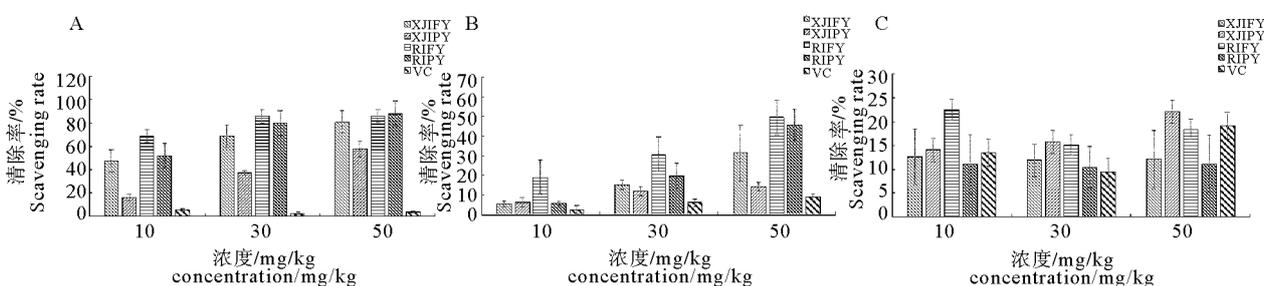


图4 两种红肉苹果幼果期果肉和果皮提取液的体外抗氧化

Fig. 4 In vitro antioxidant activity of extracts from flesh and peel of two red flesh apples in young periods

2.5 两种红肉苹果成熟期果肉和果皮提取液的体外抗氧化

如图5所示,两种红肉苹果成熟期果皮和果肉提取液对DPPH和羟基自由基的清除能力都显著高于VC,对超氧阴离子自由基的清除能力和VC清除能力差异不明显。不同浓度的‘红爱’成熟期果皮

提取液对DPPH自由基的清除能力变化不大,均保持在75.1%~88.6%的较高水平(图5—A),‘新疆1号’果肉、果皮和‘红爱’果肉对DPPH自由基的清除能力随提取液浓度的增加而上升,在50 mg/kg时趋于一致,达到65.0%,同浓度VC对DPPH自由基的清除率仅为3.2%。图5—B为各溶液对羟

基自由基的清除结果,‘新疆 1 号’对羟基自由基的清除能力随果肉提取液浓度的增加而提高,由低浓度时的 10.0% 升高到高浓度时的 65.0%。‘红爱’果皮提取液的清除率随提取液浓度的增加而降低,从 48.9% 下降至 5.8%。不同浓度的 VC 对羟基自由基的清除能力均较低,在 2.3%~8.5% 之间。图 5-C 是对超氧阴离子自由基的清除结果,从中看

出,‘新疆 1 号’果肉和‘红爱’果皮对超氧阴离子的清除率随提取液浓度的增加而小幅提高,由低浓度时的 31.2% 和 26.6% 到高浓度时的 37.5% 和 37.0%,是 VC 清除超氧阴离子能力的两倍。‘新疆 1 号’果皮提取液对超氧阴离子的清除率随提取液浓度的增加而降低,10 mg/kg 时 25.0%,50 mg/kg 时降低为 15.0%。

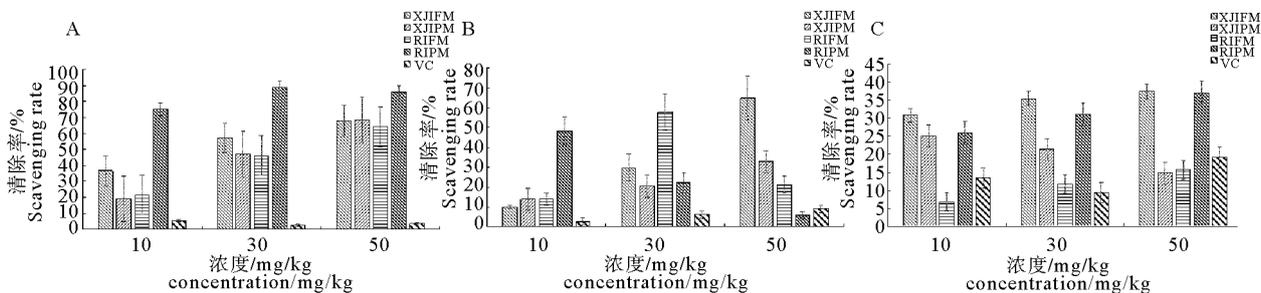


图 5 两种红肉苹果成熟期果肉和果皮提取液的体外抗氧化

Fig. 5 In vitro antioxidant activity of extracts from pulp and peel of two red flesh apples in mature fruit period

2.6 四种红肉苹果品种/品系发育期果肉提取液的体外抗氧化

图 6 比较了‘黛红’、‘红爱’、‘红勋 1 号’和‘新疆 1 号’果实发育期果肉提取液与 VC 对三种自由基的清除率。从图中看出四个红肉苹果品种/品系果肉提取液对 DPPH 和羟基自由基的清除能力显著高于 VC,对超氧阴离子自由基的清除率与 VC 相差不大。图 6-A 显示各溶液对 DPPH 自由基的清除的结果,图中看出,不同浓度的‘黛红’和‘红勋 1 号’发育期果肉提取液对 DPPH 的清除率,始终维持在 85%~90% 的较高水平。‘红爱’和‘新疆 1 号’随着提取液浓度的增加清除率升高,由 10 mg/kg 时的 26.1% 和 49.8% 到 50 mg/kg 时的 74.8%

和 95.6%,分别是同浓度 VC 的 4.2、8.0 和 21.4、1170.0 倍。图 6-B 是各溶液对羟基自由基的清除结果,图中‘红爱’和‘新疆 1 号’发育期果肉提取液对羟基自由基的清除能力随提取液浓度的增加而提高,从低浓度时的 8.1% 和 10.3% 到高浓度时的 54.8% 和 38.5%。‘黛红’果肉提取液对羟基自由基的清除率随提取液浓度的增加而下降,有低浓度时的 28.5% 到高浓度时的 13.7%。不同浓度‘红勋 1 号’果肉提取液对羟基自由基的清除能力变化不明显,维持在 40.0% 左右。不同浓度 VC 对羟基自由基清除率均较低,在 2.2%~10.0% 之间。图 6-C 是各溶液对超氧阴离子的清除结果,从图中看出,四个红肉苹果品种/品系以及对对照 VC 对超氧阴离

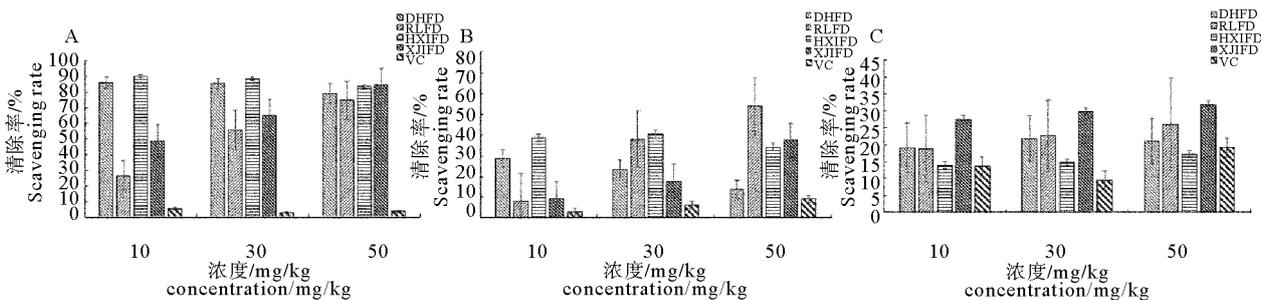


图 6 四种红肉苹果果实发育期果肉提取液的体外抗氧化

Fig. 6 In vitro antioxidant activity of flesh extracts of four red flesh apples in fruit developmental period

子的清除率随溶液浓度的变化而变化,但变化幅度较低。在四种红肉苹果中‘新疆 1 号’对超氧阴离子的清除能力最强,清除率在 30.0%左右,‘红勋 1 号’清除能力最低,在 15.0%。

3 讨论与结论

红肉苹果中多酚、类黄酮包括花青苷的含量与组成与果实的果皮、果肉的呈色^[17,23]密切相关,在人类养生保健方面具有重要的价值。不同红肉苹果品种/品系在同一生理期以及同一品种/品系的不同发育期,其果实的果皮、果肉呈色不同,提取液的花青苷含量也存在极大差异,这与孙晓红等报道的红肉苹果花青苷含量随果实发育过程的变化是受多基因调控的结果^[24]相一致。

红肉苹果果肉、果皮的抗氧化性来自于它所含有的功能性物质,本实验室的项亚采用气质联用技术已鉴定出红肉苹果果皮中 12 种类黄酮组分中的 6 种花青苷^[8],但不同品种不同发育时期其类黄酮和花色苷的含量和组分往往不尽相同,这与本文所研究的四个红肉苹果品种/品系中,‘新疆 1 号’幼果期果肉颜色最深,果肉提取液花青苷含量最高,但其抗氧化能力却不是最高的结果相符合。自由基是具有非偶电子的原子或基团,医学研究和临床试验表明,许多疾病如脑血栓、动脉粥样硬化、肝硬化、癌症等都与过量产生的自由基有关,其中 DPPH 自由基、羟基自由基和超氧阴离子是造成器官损伤的主要自由基。不同抗氧化剂对不同自由基的清除能力存在极大地差异^[25],这种差异不仅与待清除的自由基有关,更与不同发育时期花青苷含量及果肉提取液浓度有关。

综上所述,不同红肉苹果品种/品系在不同发育时期,果实提取液体外抗氧化性能存在着极大差异。本试验中‘黛红’,‘红勋 1 号’,‘新疆 1 号’和‘红爱’在发育不同时期的果肉、果皮提取液对 DPPH 清除能力最强可达 80.0%以上,其次是对羟基自由基的清除率,均高于对照 VC 的清除率。本研究对天然抗氧化剂的开发和利用提供了理论依据。

参考文献:

[1] Zhang YG, Zhu J, Dai HY. Morphological characteristics and pollination compatibility of a new red flesh apple, Hongxun No. 1 [J]. Research on Crops, 2013, 14(1):199-204

[2] Cooper-Driver GA. Contributions of Jeffrey Harborne and co-workers to the study of anthocyanins [J]. Phytochemistry, 2001, 56(3):229-236

[3] 张学英, 张上隆, 骆军, 等. 果实花色素苷合成研究进展[J]. 果树学报, 2004, 21(5): 456-460

[4] Sousa A, Araújo P, Azevedo J, et al. Antioxidant and antiproliferative properties of 3-deoxyanthocyanidins [J]. Food Chemistry, 2016, 192:142-148

[5] Nems' A, P?ksa A, Kucharska A Z, et al. Anthocyanin and antioxidant activity of snacks with coloured potato[J]. Food Chemistry. 2015, 172:175-182

[6] 陈学森, 张晶, 刘大亮, 等. 新疆红肉苹果杂种一代的遗传变异及功能型苹果优株评价[J]. 中国农业科学, 2014, 47(11): 2193-2204

[7] Charepalli V, Reddivari L, Vadde R, et al. Eugenia jambolana (java plum) fruit extract exhibits anti-cancer activity against early stage human HTC-116 colon cancer cells and colon cancer stem cells [J]. Cancers, 2016, 8 (3)

[8] 项亚, 赵瑞雪, 赖方稔, 等. 红肉苹果果皮类黄酮组分及抗氧化活性分析[J]. 植物生理学报, 2016, 52 (9): 1353-1360

[9] Xiang Y, Lai FN, He GF, et al. Alleviation of Rosup-induced oxidative stress in porcine granulosa cells by anthocyanins from red-fleshed apples [J]. Plos one, 2017, <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0184033>

[10] Wang J, Mazza G. Inhibitory Effects of Anthocyanins and Other Phenolic Compounds on Nitric Oxide Production in LPS/IFN- γ -Activated RAW 264.7 Macrophages[J]. J Agric Food Chem, 2002, 50(4): 850-857

[11] Matsumoto H, Nakamura Y, Tachibanaki S, et al. Stimulatory Effect of Cyanidin 3-Glycosides on the Regeneration of Rhodopsin[J]. J Agric Food Chem, 2003, 51(12): 3560-3563

[12] Sun CD, Huang HZ, Xu CJ. Biological activities of extracts from Chinese bayberry (*Myrica rubra* Sieb. et Zucc.) A review [J]. Plant Foods for Human Nutrition, 2013, 68 (2): 97-106

[13] Chen L, Xin XL, Yuan QP, et al. Phytochemical properties and antioxidant capacities of various colored berries [J]. J Sci Food Agric, 2014, 94(2): 180-188

[14] 党娅, 刘水英. 紫甘蓝花青苷提取工艺及抗氧化性研究[J]. 北方园艺, 2015, 1: 128-136

[15] 蒋明义, 荆家海. 植物体内羟自由基的产生及其与脂质过氧化作用启动的关系[J]. 植物生理学通讯, 1993, 29 (4): 300-305

[16] 李安林, 茹宗玲, 张换平. 火棘果红色素的超声提取与抗自由基性能研究[J]. 食品研究与开发, 2008, 29(9): 11-14

[17] 王燕, 陈学森, 刘大亮, 等. ‘紫红 1 号’红肉苹果果肉抗氧化性及花色苷分析[J]. 园艺学报, 2012, 39 (10): 1991-1998

[18] 路滨键, 于克可, 张玉刚, 等. 红肉苹果营养成分及生物活性物质分析[J]. 青岛农业大学学报(自然科学版), 2018, 35 (1): 79-85

[19] 窦玉慧, 孙晓红, 祝军, 等. 响应面分析法优化超声辅助提取红肉苹果花青苷工艺[J]. 中国酿造, 2014, 33(4): 65-70

(下转 199 页)

- [11] 冯仰廉,方有生,莫放,等.中国奶牛饲养标准[M].北京:中国农业出版社,2004
- [12] 杨璽,张新全,李向林,等.应用灰色关联度综合评价17个不同秋眠级苜蓿的生产性能[J].草业学报,2009,18(05):67-72
- [13] 徐春明.不同苜蓿(*Medicago Sativa*L.)品种生长特性分析及评价[D].西北农林科技大学,2003
- [14] 初晓辉,单贵莲,毕玉芬,等.10个引进紫花苜蓿品种生产性能及持久性比较[J].草业科学,2012,29(04):610-614
- [15] 伏兵哲,高雪芹.21个苜蓿品种主要农艺性状关联分析与综合评价[J].草业学报,2015,24(11):174-182
- [16] 陈玲玲,杨秀芳,乌艳红,等.35个紫花苜蓿品种在内蒙古赤峰地区的生产性能评价[J].草业科学,2012,29(05):790-797
- [17] 祁娟,闫伟红,徐长林,等.披碱草属野生种质材料在干旱与半干旱区适应性评价[J].中国草地学报,2013,35(04):40-46
- [18] 殷国梅,张英俊,刘永志,等.21个苜蓿品种主要农艺性状关联分析与综合评价[J].草业学报,2015,24(11):174-182
- [19] 韩路,贾志宽,韩清芳,等.苜蓿种质资源特性的灰色关联度分析与评价[J].西北农林科技大学学报,2003,31(03):59-64
- [20] Kosolapov V M, Bondarev V A, Klimenko V P, et al. Effective method of preserving the energy value of alfalfa[J]. Russian Agricultural Sciences,2009,35(04):237-239
- [21] 杨春,王明利.我国的首蓿生产与奶业发展[J].中国畜牧杂志,2011,47(16):14-16
- [22] 曹宏,章会玲,盖琼辉,等.22个紫花苜蓿品种的引种试验和生产性能综合评价[J].草业学报,2011,20(06):219-229

(上接 185 页)

- [20] Giusti MM, Wrolstad RE. Characterization and measurement of anthocyanins by UV-visible spectroscopy. Current Protocols in Food Analytical Chemistry[M]. New York: John Wiley and Sons Inc, 2001, F1.2.1-F1.2.13
- [21] Kano M, Takayanagi T, Harada K, et al. Antioxidative activity of anthocyanins from purple sweet potato, *Ipomoea batatas* cultivar Ayamurasaki [J]. Biosci Biotech Bioch, 2005, 69(5): 979-988
- [22] 金鸣,蔡亚欣,李金荣.邻二氮菲- Fe^{2+} 氧化法检测 $\text{H}_2\text{O}_2/\text{Fe}^{2+}$ 产生的羟自由基[J].生物化学与生物物理进展,1996,23(6):553-555
- [23] Zhang YG, Zhao RX, Liu WL, et al. The anthocyanins component and the influence factors of contents in red flesh apple Hong-Xun No. 1 [J]. European Journal of Horticultural Science, 2016, 81(5): 248-254
- [24] 孙晓红,刘源露,孙欣,等.红肉苹果果实发育过程中花青苷含量变化及其合成相关基因表达分析[J].植物生理学报,2017,53(8):1507-1514
- [25] Ma T, Hu N, Ding CX, et al. *In vitro* and *in vivo* biological activities of anthocyanins from *Nitraria tangutorun* Bobr. fruits[J]. Food Chemistry J, 2016, 194: 296-303