

# 8 种猕猴桃抗氧化活性评价及基于 HPLC 与 FT-IR 指纹分析的品种区分

李琛, 张婷, 罗安伟, 焦应申, 唐妙玲, 陈翰, 姚婕  
(西北农林科技大学食品科学与工程学院, 陕西杨凌 712100)

**摘要:** 为探明不同品种猕猴桃的体外抗氧化活性差异, 并对不同猕猴桃品种进行有效区分, 采用高效液相色谱法 (HPLC)、傅里叶变换红外光谱法 (FT-IR) 对猕猴桃进行指纹分析, 分析测定了脐红、金艳等 8 个品种猕猴桃的体外抗氧化能力、多酚组成及 FT-IR 光谱, 并对其进行了方差分析、主成分分析 (PCA) 及系统聚类分析 (CA)。结果表明: 华优的抗坏血酸及总酚含量比其他品种高约 2 倍, 其体外抗氧化活性显著强于其他品种。对抗氧化指标、酚类含量及 FT-IR 数据的主成分分析中前两个主成分累积解释率分别达到 63.49%、55.91%、84.96%。三种聚类分析均可将不同品种猕猴桃进行较好区分, 尤其对金艳、华优、海沃德区分效果最好。基于 FT-IR 数据的品种区分效果优于基于抗氧化指标、酚类含量的区分, 同植物学分类最为一致。基于抗氧化指标的聚类分析对脐红、晚红、徐香的区分效果欠佳。

**关键词:** 猕猴桃; 抗氧化; 高效液相色谱; 傅里叶变换红外光谱; 品种区分

文章编号: 1673-9078(2016)6-288-297

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2016.6.044

## Evaluating Antioxidant Capacity of Eight Kiwi Fruit Cultivars and Identifying Cultivars Based on HPLC and FT-IR Fingerprint Analysis

LI Chen, ZHANG Ting, LUO An-wei, JIAO Ying-shen, TANG Miao-ling, CHEN Han, YAO Jie  
(College of Food Science and Engineering, Northwest A&F University, Yangling 712100, China)

**Abstract:** To analyze the antioxidant capacity of different kiwi fruit cultivars and to distinguish between different kiwi cultivars, high performance liquid chromatography (HPLC) and Fourier transform infrared spectroscopy (FT-IR) were employed to conduct fingerprint analysis for kiwi fruit samples. The antioxidant capacity, phenolic content, and FT-IR spectra of Qihong, Jinyan, and six other kiwi fruit cultivars were measured, and analysis of variance, principal component analysis (PCA), and hierarchical cluster analysis (CA) were conducted. The results showed that the content of ascorbic acid and total phenols in Huayou were about twice as high as those found in other cultivars, and Huayou had the strongest *in vitro* antioxidant capacity. The cumulative proportions of explained variance for the first two principal components from the PCA of antioxidant indices, polyphenolic content, and FT-IR data were 63.49%, 55.91%, and 84.96%, respectively. Three cluster analyses could effectively distinguish between the different cultivars; Jinyan, Huayou, and Hayward were best separated. The separation of cultivars based on FT-IR spectroscopic analysis was better than separation based on antioxidant indexes and phenolic content, and showed a result most similar to botanical classification. The separation using CA based on antioxidant indexes was not effective enough for the Qihong, Wanhong, and Xuxiang cultivars.

**Key words:** kiwi fruit; antioxidant; high performance liquid chromatography (HPLC); Fourier transform infrared spectroscopy (FT-IR); cultivar identification

猕猴桃 (Kiwi fruit), 属猕猴桃科 (Actinidiaceae) 猕猴桃属 (Actinidia Lind), 原产自我国。美味猕猴桃  
收稿日期: 2015-08-01

基金项目: 陕西省农业科技创新与公关项目 (20115NY051); 大学生创新训练计划项目 (201410712080)

作者简介: 李琛 (1991-), 男, 硕士研究生, 研究方向: 食品科学

通讯作者: 罗安伟 (1971-), 男, 博士, 副教授, 主要从事果品蔬菜贮藏与加工技术研究

(*Actinidia deliciosa*)、中华猕猴桃 (*Actinidia Chinensis*)、软枣猕猴桃 (*A. arguta*) 等为我国最主要的商业栽培猕猴桃种<sup>[1-5]</sup>。果蔬常因含有丰富的维生素、多酚类物质等而表现出抗氧化、抗炎症、抗癌等功效<sup>[1,7,8]</sup>。猕猴桃由于含有大量的维生素C (Vc)、多酚类物质, 经常食用可有效降低心血管、癌症等疾病的发病率<sup>[4,9]</sup>。体外抗氧化评价方法较多, DPPH、ABTS 作为稳定的自由基产生原料, 通过显色反应可测定抗

氧化能力,从而进行简单、有效的体外抗氧化评价<sup>[10]</sup>。 $\text{Fe}^{3+}$ 还原能力(FRAP)、 $\text{Cu}^{2+}$ 还原能力(CuPRAC)在一定程度上可表征抗氧化能力。多种方法综合评价体外抗氧化能力更为全面、有效。

因不同品种水果其抗氧化功能性成分含量存在显著差异,所以利用指纹图谱可将大量样本的特征参数进行分类、评价<sup>[11,12]</sup>。采用高效液相色谱(HPLC)、傅里叶变换红外光谱(FT-IR)的指纹图谱分析现已广泛应用于食品材料的分类鉴定。对不同品种猕猴桃指纹图谱的建立及分析国内外少有报道。Sârbu等<sup>[11]</sup>对海沃德、Haenam等4个品种猕猴桃及Kao Paen、Thong Dee等3个品种柚子的HPLC及紫外吸收指纹图谱的研究,证明HPLC等技术作为区分不同品种的手段有效可靠。

本研究以脐红、晚红、金艳、华优等新品种及海沃德、秦美等全球范围栽培传统品种<sup>[6]</sup>为原料,对这8个品种猕猴桃的16个理化、体外抗氧化指标进行测定,同时采用HPLC分析测定了其中多酚类物质组成,采用FT-IR技术对8个品种猕猴桃样品进行了扫描;通过以上测定评价出8个品种猕猴桃抗氧化活性的强弱。通过对理化、抗氧化指标, HPLC及FT-IR测定的主成分分析及系统聚类分析建立起对8个猕猴桃品种区分的模型,为各品种猕猴桃的商业评价与品种区分提供理论依据。

## 1 材料与amp;方法

### 1.1 材料与预处理

海沃德、秦美、徐香、华优采摘于陕西杨凌区夏家沟猕猴桃种植园。脐红、晚红、金香、金艳采摘于西北农林科技大学猕猴桃试验站。中熟品种脐红、晚红、秦美、徐香、华优采摘于2014年9月26日至30日。晚熟品种海沃德、金香、金艳采摘于2014年10月12日至15日。所有品种采收后于阴凉处放置24 h,然后分别在7℃、5℃、3℃下梯度预冷2 d后,在(1±1)℃下冷藏备用。

### 1.2 主要试剂与仪器设备

#### 1.2.1 主要试剂

2,6-二氯酚钠、2,4,6-三吡啶基三嗪(TPTZ)、2,2-联氮-二(3-乙基-苯并噻唑-6-磺酸)二铵盐(ABTS)、1,1-二苯基-2-三硝基苯肼(DPPH),分析纯,上海晶纯生化科技股份有限公司;新亚铜试剂(Neocuproine)、6-羟基-2,5,7,8-四甲基色烷-2-羧酸(Trolox),分析纯, Sigma-Aldrich澳大利亚生产;福

林酚试剂,分析纯,北京索莱宝科技有限公司;儿茶素、表儿茶素、原儿茶酸、没食子酸、槲皮素、咖啡酸、芦丁、绿原酸、阿魏酸、根皮苷、鞣花酸、对香豆酸、山奈酚,色谱纯,成都曼斯特生物科技有限公司。

#### 1.2.2 仪器设备

配备二极管阵列(DAD)检测器的岛津LC-2010A高效液相色谱仪,日本岛津公司;UV-1240紫外分光光度计,日本岛津公司;TA-XTplus型质构分析仪,英国SMS公司; TENSOR27中红外光谱仪,德国BRUKER公司; LGJ-25C型冷冻干燥机,北京四环仪器厂; L-420低速离心机,长沙湘仪离心机仪器有限公司; PHS-3C型精密pH计,上海精密科学仪器有限公司; KQ-250DE数控超声波清洗器,昆山市超声仪器有限公司。

### 1.3 试验方法

#### 1.3.1 样品理化指标及体外抗氧化活性测定

##### 1.3.1.1 理化测定

使用手持糖度计测定可溶性固形物(SSC)含量,每一品种至少取5个猕猴桃,全果研磨,沉淀10 min后取上清液测定,单位%。用TAXT PLUS/50物性测定仪在TPA模式下测定硬度。探头: P5; 测试模式: Messure Force in Compression,参数设置为: 预压速度1.00 mm/s,下压速度5.00 mm/s,压后上行速度5.00 mm/s,两次压缩中间停顿5.00 s,探头直径为0.5 cm,单位为 $\text{kg}/\text{cm}^2$ 。按照“GBT 12456-2008 食品中总酸的测定”对不同品种猕猴桃总酸进行分析测定。

参照“GB/T 6195-1986 水果、蔬菜维生素C含量测定法(2,6-二氯酚钠滴定法)”对不同品种猕猴桃VC含量进行测定。按照Antonio等<sup>[13]</sup>的方法对样品总酚及总黄酮含量进行测定。按照张丽华等<sup>[5]</sup>的方法对色素含量进行测定。

##### 1.3.1.2 样品体外抗氧化测定预处理

取适量猕猴桃研磨液用95%乙醇定容至100 mL,80%功率超声波辅助提取30 min后于4000 r/min离心10 min,分别取上清液进行体外抗氧化测定。

##### 1.3.1.3 清除DPPH能力测定

参照Bursal与Gülçin<sup>[14]</sup>的方法进行适当调整,测定猕猴桃清除DPPH能力。取2 mL样液加入0.2 mol/L DPPH 2 mL,准确反应30 min,于517 nm波长下测吸光度。测定结果用半抑制浓度(IC<sub>50</sub>)表示,单位为 $\mu\text{g}/\text{g}$ 。

##### 1.3.1.4 还原能力(FRAP)测定

参考Yong-Seo等<sup>[15]</sup>的方法,由0.3 mol/L醋酸盐缓冲液(pH=3.8) 25 mL, 10 mmol/L TPTZ工作液(用

40 mmol/L盐酸溶解) 2.5 mL, 25 mmol/L FeCl<sub>3</sub>溶液2.0 mL组成。现用现配。100 μL样品提取液加入1 mL蒸馏水和3.0 mL TPTZ溶液, 混匀后37 °C反应10 min, 在593 nm比色, 结果以μmol/L Trolox当量表示。

#### 1.3.1.5 ABTS<sup>+</sup>·清除试验

按照Yong-Seo等<sup>[15,16]</sup>的方法, 取7 mmol/L的ABTS溶液5 mL与20 mmol/L过硫酸钾水溶液800 μL混合, 常温避光反应12 h。ABTS<sup>+</sup>工作液使用前用95%乙醇稀释至734 nm下吸光度为0.70±0.02。3.5 mL ABTS<sup>+</sup>工作液与35 μL样品提取液避光反应6 min后立即于734 nm下测定吸光度。结果用μmol/L Trolox当量表示。

#### 1.3.1.6 OH清除试验

参照王胜利<sup>[17]</sup>的方法, 取样品提取液、9 mmol/L FeSO<sub>4</sub>、9 mmol/L水杨酸乙醇溶液各1 mL, 再加入0.1%的H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 1 mL, 于37°C下水浴30 min后, 于510 nm波长下测定吸光度。测定结果以μmol Vc当量/g鲜重表示。

#### 1.3.1.7 Cu<sup>2+</sup>还原能力测定

参照Yong-Seo等<sup>[15]</sup>及Bursal与Gülçin<sup>[14]</sup>的方法, 将0.5 mL 10 mmol/L CuCl<sub>2</sub>、0.5 mL 7.5 mmol/L新亚铜溶液、2.5 mL水与0.5 mL样品充分混匀, 室温反应30 min, 于450 nm波长下测定吸光度。结果以μmol Trolox当量/g鲜重表示。

### 1.3.2 猕猴桃多酚的高效液相色谱(HPLC)测定

将不同品种猕猴桃样品50%甲醇超声波辅助提取液进行上样测定。色谱柱: Wondasil C18 (5 μm, 250 mm×4.6 mm)分析柱; 柱温30 °C; 进样量20 μL; 流动相流速0.8 mL/min; 运行时间50 min; 检测波长280 nm。流动相A: 0.1%磷酸水溶液, 流动相B: 甲醇。起始B浓度0%, 10 min时B浓度30%, 20 min时B浓度48%, 28 min时B浓度53%, 40 min时B浓度57.5%, 42 min时B浓度70%, 45 min时B浓度0%。

### 1.3.3 猕猴桃样品的傅里叶变换中红外光谱(FT-IR)扫描

参考Y.S.等<sup>[11]</sup>、Gorinstein等<sup>[18]</sup>的方法, 将不同品种猕猴桃鲜果切碎打浆后预冷12 h, 之后真空冷冻干燥12 h。取约1 mg经冷冻干燥样品粉末与约100 mg KBr充分研磨均匀后压片测定。设定光谱扫描范围为500~4000 cm<sup>-1</sup>, 光谱采样间隔4 cm<sup>-1</sup>。

## 1.4 数据处理

1.3.1中所有理化及体外抗氧化测定每个样品均至少重复试验3次。HPLC测定每个样品重复试验2次, FT-IR扫描每个样品扫描16次取平均光谱为该样品的光谱。试验数据用Excel 2013、OriginPro 9.1、SPSS 19、

The Unscrambler 10.1进行分析, 采用Duncan's新复极差法进行差异性检验, 显著性水平 $p < 0.05$ , 极显著 $p < 0.01$ 。

## 2 结果与讨论

### 2.1 不同品种猕猴桃抗氧化活性差异

对不同品种猕猴桃鲜果理化指标及体外抗氧化活性测定结果如表1所示。不同品种猕猴桃的品质特性、抗氧化活性成分含量及体外抗氧化活性均有显著性差异。在采收初期金艳可溶性固形物含量明显高于其他品种。同时金艳的糖酸比在各个品种猕猴桃中也最高, 为5.86。猕猴桃在常温放置后熟过程中, 随着糖分积累, 有机酸降解, 各个品种糖酸比(计算方法为可溶性固形物含量%与总酸含量%相比)均有不同程度的上升。其中金艳达到15.77, 为最高。脐红也达到13.73, 而秦美仅为5.90, 为最低。其余品种后熟后糖酸比分别为海沃德8.31、晚红9.08、徐香7.57、华优11.21、金香9.80。故金艳、脐红、华优为风味较好的品种, 秦美、徐香风味较差。晚红、徐香采收硬度高于传统品种海沃德, 因此采收后直接销售的货架期可能比海沃德更长。与传统销售品种海沃德相比, 晚红、脐红、华优更高的糖含量, 且采收硬度较高, 使其具有很好的推广优势。

不同品种猕猴桃Vc、总酚、总黄酮含量差异很大。华优Vc、总酚含量显著高于其他品种, Vc含量比第二位的金香含量高121.48%。不同品种猕猴桃色素含量也存在一定的差异, 但相对于Vc、总酚、总黄酮含量而言差异较小。华优因其丰富的Vc含量进行鲜食或果汁加工均有更高的营养价值。

DPPH清除能力IC<sub>50</sub>表示抑制DPPH 50%时样品的浓度, 8种猕猴桃中金艳与秦美清除DPPH的能力最强, 而华优猕猴桃清除ABTS<sup>+</sup>、OH能力及Fe<sup>3+</sup>、Cu<sup>2+</sup>还原能力均最强。这是因为华优猕猴桃中VC、总酚含量显著高于其他品种, 而VC、总酚在体外抗氧化中表现出明显的作用。

### 2.2 不同品种猕猴桃体外抗氧化活性的主成分分析与聚类分析

为了解以上不同指标之间的相关性, 并从整体上了解、区分不同品种, 对2.1中的试验结果进行主成分分析与聚类分析, 结果如图1、图2。

主成分分析中, 前两个主成分的方差累积解释率达到63.49%, 前4个达到86.10%。主成分1表述了Fe<sup>3+</sup>、

Cu<sup>2+</sup>还原能力, ABTS<sup>+</sup>、OH清除能力, Vc、总酚含量及硬度。主成分2表述了叶绿素a、b、总叶绿素、类胡萝卜素及可溶性固形物含量。主成分3表述 OH清除

能力, pH, 总黄酮含量。主成分4表述DPPH 清除能力与总酸。各主成分之间保持了较好的独立性。

表 1 不同品种猕猴桃理化指标及体外抗氧化活性

Table 1 Physicochemical indexes and *in vitro* antioxidant capacities of various kiwi fruit cultivars

	脐红	晚红	秦美	徐香
SSC/%	7.73±0.06 <sup>d</sup>	6.30±0.1 <sup>e</sup>	9.33±0.06 <sup>b</sup>	7.23±0.06 <sup>e</sup>
pH	3.92±0.00 <sup>a</sup>	3.63±0.01 <sup>b</sup>	2.98±0.01 <sup>e</sup>	2.99±0.02 <sup>f</sup>
总酸/%	1.89±0.17 <sup>b</sup>	1.68±0.05 <sup>d</sup>	1.64±0.20 <sup>e</sup>	1.44±0.04 <sup>g</sup>
硬度/(kg/cm <sup>2</sup> )	3.96±0.82 <sup>c</sup>	6.11±1.47 <sup>a</sup>	4.57±0.75 <sup>bc</sup>	5.22±0.76 <sup>b</sup>
Vc/(mg/100 g)	76.45±0.51 <sup>f</sup>	88.71±0.34 <sup>d</sup>	91.99±0.14 <sup>c</sup>	66.02±0.29 <sup>g</sup>
总酚/(mg/100 g)	114.79±2.48 <sup>c</sup>	120.97±2.20 <sup>d</sup>	140.32±0.85 <sup>c</sup>	198.77±0.93 <sup>b</sup>
总黄酮/(mg/100 g)	139.87±6.41 <sup>a</sup>	94.41±1.51 <sup>f</sup>	115.70±1.91 <sup>d</sup>	125.40±1.90 <sup>c</sup>
叶绿素 a/(μg/g)	15.24±2.42 <sup>ab</sup>	16.97±1.14 <sup>a</sup>	7.02±0.14 <sup>d</sup>	13.73±0.94 <sup>b</sup>
叶绿素 b/(μg/g)	12.75±1.65 <sup>bc</sup>	11.14±0.61 <sup>c</sup>	7.37±0.10 <sup>d</sup>	17.02±1.56 <sup>a</sup>
总叶绿素/(μg/g)	32.81±0.22 <sup>ab</sup>	28.08±0.53 <sup>a</sup>	14.97±1.15 <sup>d</sup>	30.73±1.48 <sup>b</sup>
类胡萝卜素/(μg/g)	5.73±0.71 <sup>b</sup>	6.70±0.05 <sup>a</sup>	1.08±0.14 <sup>e</sup>	4.40±0.30 <sup>c</sup>
DPPH/(μg/g)	6621.19±276.24 <sup>b</sup>	6498.99±381.89 <sup>bc</sup>	4617.04±106.99 <sup>e</sup>	6224.76±97.88 <sup>c</sup>
FRAP/(μmol Trolox 当量/g)	12.85±0.36 <sup>cd</sup>	13.32±0.29 <sup>c</sup>	19.16±0.4 <sup>b</sup>	19.67±0.09 <sup>b</sup>
ABTS <sup>+</sup> /(μmol Trolox 当量/g)	5.17±0.51 <sup>de</sup>	6.60±0.37 <sup>c</sup>	7.70±0.53 <sup>b</sup>	4.43±0.44 <sup>e</sup>
OH/(μmol Vc 当量/g)	49.45±1.86 <sup>d</sup>	51.70±2.08 <sup>cd</sup>	61.80±1.12 <sup>a</sup>	59.30±2.92 <sup>ab</sup>
CuPRAC/(μmol Trolox 当量/g)	1.88±0.06 <sup>f</sup>	3.58±0.13 <sup>c</sup>	3.32±0.14 <sup>d</sup>	2.46±0.04 <sup>e</sup>
	华优	海沃德	金香	金艳
SSC/%	7.03±0.06 <sup>f</sup>	8.57±0.01 <sup>c</sup>	7.40±0.20 <sup>e</sup>	10.20±0.20 <sup>a</sup>
pH	3.31±0.01 <sup>d</sup>	2.79±0.01 <sup>h</sup>	3.24±0.01 <sup>e</sup>	3.53±0.01 <sup>c</sup>
总酸/%	1.43±0.13 <sup>g</sup>	1.59±0.02 <sup>f</sup>	2.52±0.01 <sup>a</sup>	1.74±0.11 <sup>c</sup>
硬度/(kg/cm <sup>2</sup> )	5.14±0.82 <sup>b</sup>	1.71±1.26 <sup>e</sup>	2.99±0.44 <sup>d</sup>	2.25±0.68 <sup>e</sup>
Vc/(mg/100 g)	215.54±0.14 <sup>a</sup>	51.74±0.25 <sup>h</sup>	97.32±0.74 <sup>b</sup>	77.70±0.16 <sup>e</sup>
总酚/(mg/100 g)	266.11±1.37 <sup>a</sup>	109.10±1.40 <sup>f</sup>	123.67±1.78 <sup>d</sup>	120.94±2.10 <sup>d</sup>
总黄酮/(mg/100 g)	133.40±1.16 <sup>b</sup>	109.86±1.60 <sup>e</sup>	108.29±1.22 <sup>e</sup>	74.58±1.37 <sup>g</sup>
叶绿素 a/(μg/g)	10.21±1.05 <sup>c</sup>	8.54±0.64 <sup>cd</sup>	15.07±0.93 <sup>ab</sup>	3.62±0.58 <sup>e</sup>
叶绿素 b/(μg/g)	14.25±1.12 <sup>b</sup>	7.47±1.36 <sup>d</sup>	12.40±0.79 <sup>bc</sup>	2.01±0.69 <sup>e</sup>
总叶绿素/(μg/g)	27.06±3.76 <sup>c</sup>	14.92±0.82 <sup>cd</sup>	28.02±1.66 <sup>ab</sup>	5.62±1.00 <sup>e</sup>
类胡萝卜素/(μg/g)	3.87±0.06 <sup>e</sup>	2.48±0.25 <sup>d</sup>	4.06±0.26 <sup>c</sup>	2.62±0.21 <sup>d</sup>
DPPH/(μg/g)	5649.63±28.77 <sup>d</sup>	7912.22±94.06 <sup>a</sup>	4465.37±215.02 <sup>e</sup>	4441.11±41.47 <sup>e</sup>
FRAP/(μmol Trolox 当量/g)	24.03±0.34 <sup>a</sup>	6.99±0.33 <sup>f</sup>	12.64±0.19 <sup>d</sup>	10.76±0.21 <sup>e</sup>
ABTS <sup>+</sup> /(μmol Trolox 当量/g)	12.62±0.69 <sup>a</sup>	1.34±0.16 <sup>g</sup>	5.82±0.21 <sup>d</sup>	2.11±0.10 <sup>f</sup>
OH/(μmol Vc 当量/g)	61.52±2.30 <sup>a</sup>	42.95±2.72 <sup>e</sup>	55.21±4.45 <sup>bc</sup>	43.47±1.06 <sup>e</sup>
CuPRAC/(μmol Trolox 当量/g)	6.42±0.03 <sup>a</sup>	1.06±0.04 <sup>g</sup>	2.33±0.10 <sup>e</sup>	4.09±0.03 <sup>b</sup>

注: 其中体外抗氧化阳性对照Vc对DPPH 的清除能力IC<sub>50</sub>为(6.66±0.19) μg/g, 对ABTS<sup>+</sup> 的清除能力为(3.30±0.11) mmol Trolox 当量/g。Vc的FRAP试验结果为(12.19±0.01) mmol Trolox当量/g, CuPRAC试验结果为(13.47±0.08) mmol Trolox当量/g。

由图1a可知, 不同测试指标在主成分1、2上表现出一定的相关性。ABTS<sup>+</sup>、OH清除能力, Fe<sup>3+</sup>、Cu<sup>2+</sup>还原能力, Vc、总酚含量均处于第四象限。其中Vc含量与总酚含量的相关系数为0.811, 极相关。Fe<sup>3+</sup>还

原力、ABTS<sup>+</sup>清除能力、Cu<sup>2+</sup>还原力与Vc含量的相关系数分别为0.717、0.855、0.857, 而这三个测定指标与总酚含量的相关系数分别为0.874、0.719、0.719, 均为极相关。因此Fe<sup>3+</sup>还原力, ABTS<sup>+</sup>清除能力, Cu<sup>2+</sup>

还原能力可作为考察不同品种猕猴桃体外抗氧化活性的主要指标。不同品种猕猴桃体外抗氧化活性的强弱主要取决于其Vc、总酚含量。

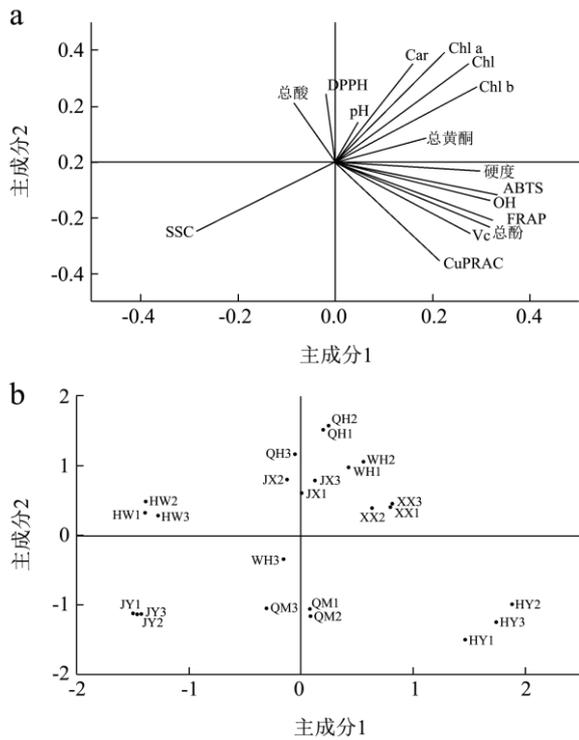


图1 体外抗氧化活性的主成分分析载荷图(a)与得分图(b)

Fig.1 Loading plot (a) and score plot (b) of *in vitro* antioxidant capacities of kiwi fruit

注: b中QH、WH、QM、XX、HY、HW、JX、JY分别为脐红、晚红、秦美、徐香、华优、海沃德、金香、金艳的缩写表示, 1、2、3为试验次数。

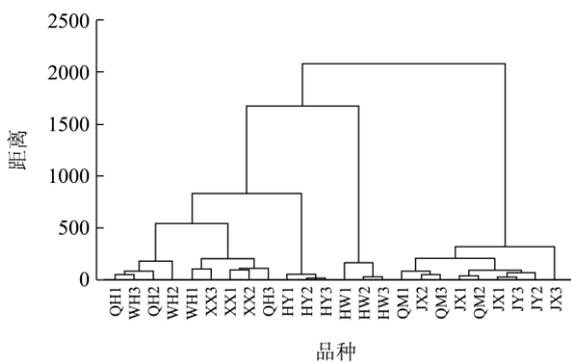


图2 体外抗氧化活性的聚类分析树状图

Fig.2 Dendrogram from CA of antioxidant capacities of kiwi fruit

注: QH、WH、QM、XX、HY、HW、JX、JY分别为脐红、晚红、秦美、徐香、华优、海沃德、金香、金艳的缩写表示, 1、2、3为试验次数。

由图1b知, 华优在主成分1上得分最高, 其抗氧化能力在8个品种中最强, 其次是徐香、晚红、脐红、金香、秦美, 海沃德、金艳在8个品种中抗氧化活性最

弱。主成分1、2可对不同品种猕猴桃进行较显著的区分。海沃德虽然作为全球种植面积最广的猕猴桃品种, 在前人的研究中具有耐贮藏的优点<sup>[19]</sup>。但在本试验中海沃德表现出较其他品种较弱的抗氧化特性, 并且在口感上海沃德同样较一般。

由图2可知, 系统聚类可依据理化指标及体外抗氧化活性简单地将8个品种猕猴桃进行区分。因为此区分主要依据抗氧化活性差异进行, 故对美味猕猴桃与中华猕猴桃的种间区分效果较差。其中秦美、金香、金艳被归为第一类群。海沃德、华优、脐红、晚红、徐香被归为第二类群。在第二类群中, 海沃德较其他品种不同, 被单独归为一个二级类群, 而华优、徐香、晚红、脐红被归为第二个二级类群。在第二个二级类群中, 华优区别于其余几个品种。系统聚类没有将秦美、金香、金艳进行较好地区分, 也未将脐红、晚红、徐香进行较好地区分。脐红、晚红均属中华猕猴桃亚科红阳的变种, 因此其外形及口感比较接近, 抗氧化特性也比较接近。

### 2.3 不同品种猕猴桃单酚含量的差异及主成分分析、聚类分析

混标(13种酚类标样)及8个品种猕猴桃中的酚类物质的HPLC图谱如图3、图4。

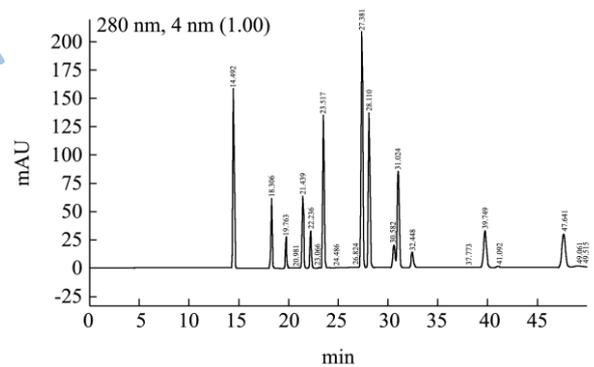


图3 混标的HPLC图

Fig.3 HPLC chromatogram of the standard mixture

注: 图由左至右分别为没食子酸、原儿茶酸、儿茶素、绿原酸、表儿茶素、咖啡酸、对香豆酸、阿魏酸、山奈酚、鞣花酸、根皮苷、芦丁、槲皮素。

由图3、图4及表2可知, 8种猕猴桃中总共检测出12种多元酚, 其中只有没食子酸在15 min前出峰, 原儿茶酸、儿茶素于15~20 min间出峰, 绿原酸、表儿茶素、咖啡酸、对香豆酸、阿魏酸于20~30 min间出峰, 鞣花酸、根皮苷、芦丁、槲皮素于30~40 min间出峰。各个品种总解释面积占总峰面积比均达到60%以上。推测剩余峰为抗坏血酸、柠檬酸等其他有机酸, 未检

测的多元酚以及其他杂质。脐红、晚红未检出芦丁，金香未检出根皮苷，脐红、晚红、华优、海沃德、金艳未检出槲皮素。总体上，儿茶素、表儿茶素、原儿茶酸及绿原酸为各个品种猕猴桃中含量最多的酚类，占所有多元酚总量的90.86%~98.07%。儿茶素为脐红、晚红、华优、海沃德、金香、金艳中含量最多的酚类，但不同品种含量差异较大。

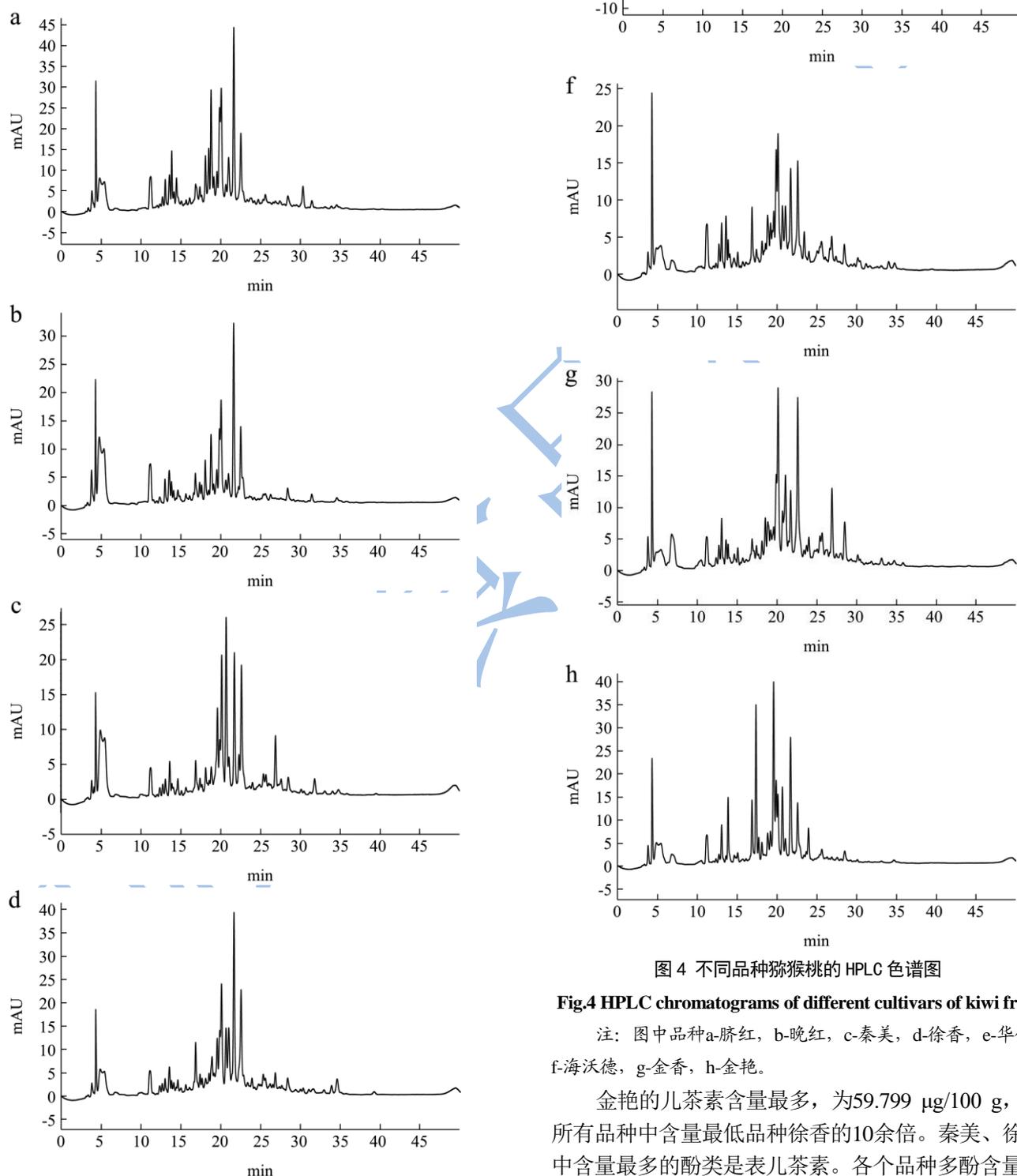


图4 不同品种猕猴桃的HPLC色谱图

Fig.4 HPLC chromatograms of different cultivars of kiwi fruit

注：图中品种a-脐红，b-晚红，c-秦美，d-徐香，e-华优，f-海沃德，g-金香，h-金艳。

金艳的儿茶素含量最多，为59.799  $\mu\text{g}/100\text{g}$ ，是所有品种中含量最低品种徐香的10余倍。秦美、徐香中含量最多的酚类是表儿茶素。各个品种多酚含量总

值差别也较大, 金艳含量最高, 是含量最低的秦美的3.09倍。HPLC测定与福林酚法测定的总酚含量存在一定差异。因为除了多酚类, 抗坏血酸等物质也可

发生福林酚反应显色[10], 且本试验只对含量相对较高的多酚进行了HPLC分析。

表 2 不同品种猕猴桃中的单酚组成

Table 2 Monophenolic content of different kiwi fruit cultivars

μg/100 g	脐红	晚红	秦美	徐香
没食子酸	0.566±0.076 <sup>a</sup>	0.163±0.006 <sup>c</sup>	0.221±0.013 <sup>c</sup>	0.057±0.008 <sup>d</sup>
原儿茶酸	5.403±0.187 <sup>b</sup>	2.815±0.119 <sup>c</sup>	0.720±0.048 <sup>f</sup>	1.494±0.009 <sup>d</sup>
儿茶素	37.357±0.029 <sup>b</sup>	21.885±0.285 <sup>f</sup>	7.553±0.007 <sup>g</sup>	4.191±0.018 <sup>h</sup>
绿原酸	11.213±0.087 <sup>b</sup>	8.504±0.296 <sup>c</sup>	5.910±0.011 <sup>g</sup>	11.513±0.008 <sup>a</sup>
表儿茶素	8.456±0.395 <sup>e</sup>	5.186±0.054 <sup>f</sup>	9.910±0.041 <sup>d</sup>	16.756±0.072 <sup>b</sup>
咖啡酸	0.249±0.038 <sup>c</sup>	0.023±0.002 <sup>f</sup>	0.057±0.000 <sup>e</sup>	0.273±0.010 <sup>c</sup>
对香豆酸	0.050±0.08 <sup>d</sup>	0.002±0.000 <sup>d</sup>	0.614±0.086 <sup>b</sup>	0.232±0.009 <sup>c</sup>
阿魏酸	0.036±0.006 <sup>g</sup>	0.351±0.009 <sup>e</sup>	0.281±0.006 <sup>f</sup>	0.515±0.000 <sup>b</sup>
鞣花酸	3.773±0.289 <sup>a</sup>	0.153±0.001 <sup>c</sup>	0.213±0.009 <sup>c</sup>	0.607±0.064 <sup>b</sup>
根皮苷	0.405±0.011 <sup>a</sup>	0.076±0.004 <sup>de</sup>	0.066±0.001 <sup>e</sup>	0.163±0.001 <sup>c</sup>
芦丁	-	-	0.956±0.006 <sup>a</sup>	0.285±0.019 <sup>b</sup>
槲皮素	-	-	0.062±0.006 <sup>b</sup>	0.314±0.004 <sup>a</sup>
总计	67.505±0.785 <sup>b</sup>	39.155±0.405 <sup>c</sup>	26.562±0.066 <sup>g</sup>	36.396±0.093 <sup>f</sup>

μg/100 g	华优	海沃德	金香	金艳
没食子酸	0.089±0.002 <sup>d</sup>	0.320±0.002 <sup>b</sup>	0.314±0.006 <sup>b</sup>	0.156±0.002 <sup>c</sup>
原儿茶酸	6.839±0.074 <sup>a</sup>	1.428±0.000 <sup>d</sup>	1.215±0.006 <sup>e</sup>	0.788±0.004 <sup>f</sup>
儿茶素	23.985±0.342 <sup>e</sup>	25.561±0.011 <sup>d</sup>	32.389±0.004 <sup>c</sup>	59.799±0.004 <sup>a</sup>
绿原酸	6.712±0.067 <sup>e</sup>	3.436±0.005 <sup>h</sup>	6.347±0.009 <sup>f</sup>	7.875±0.015 <sup>d</sup>
表儿茶素	0.012±0.001 <sup>g</sup>	9.880±0.001 <sup>d</sup>	24.245±0.000 <sup>a</sup>	11.612±0.004 <sup>c</sup>
咖啡酸	0.077±0.002 <sup>e</sup>	0.523±0.009 <sup>b</sup>	0.136±0.001 <sup>d</sup>	0.924±0.001 <sup>a</sup>
对香豆酸	0.165±0.001 <sup>c</sup>	0.035±0.001 <sup>d</sup>	0.835±0.064 <sup>a</sup>	0.054±0.004 <sup>d</sup>
阿魏酸	0.268±0.013 <sup>f</sup>	0.448±0.006 <sup>c</sup>	0.935±0.010 <sup>a</sup>	0.383±0.006 <sup>d</sup>
鞣花酸	0.663±0.010 <sup>b</sup>	0.141±0.002 <sup>c</sup>	0.163±0.001 <sup>c</sup>	0.320±0.013 <sup>c</sup>
根皮苷	0.080±0.003 <sup>d</sup>	0.221±0.004 <sup>b</sup>	-	0.053±0.006 <sup>f</sup>
芦丁	0.228±0.001 <sup>c</sup>	0.131±0.001 <sup>d</sup>	0.089±0.010 <sup>e</sup>	0.050±0.001 <sup>f</sup>
槲皮素	-	-	0.035±0.001 <sup>c</sup>	-
总计	39.115±0.341 <sup>e</sup>	42.121±0.021 <sup>d</sup>	66.701±0.062 <sup>c</sup>	82.010±0.002 <sup>a</sup>

注: “-”表示未检出。

为了从整体上对不同品种猕猴桃多元酚含量差异进行分析, 对以上数据进一步进行主成分分析与聚类分析, 结果见图5、图6。

在对不同品种猕猴桃多酚含量的主成分分析中, 前两个主成分的累积方差解释率为55.91%, 前三个主成分的累积方差解释率达到72.04%。由图5-a知主成分1对鞣花酸、根皮苷、原儿茶酸、阿魏酸、绿原酸、表儿茶素等解释较好, 主成分2对儿茶素、芦丁、咖啡酸、槲皮素等解释较好。

图5-b中通过主成分分析可知, 秦美、徐香较相似,

晚红与华优较相似, 其他品种间互不相同。由图6可知, 系统聚类分析将8个品种猕猴桃依据酚类组成成分成两大类群, 金艳单独一类, 其他品种为另一类群。对于这7个品种, 秦美、徐香被归为一类群。而脐红、晚红、华优、海沃德、金香被归为另一个二级类群。对于这5个品种, 金香与脐红、晚红、华优、海沃德差异较大。分析与S âbu等<sup>[11]</sup>的研究表现出了相似的结果, 证明依靠HPLC对酚类的测定进行的品种区分有一定的意义。由于分类依据多酚类的含量, 因此不可用于区分中华猕猴桃与美味猕猴桃的种间区分。

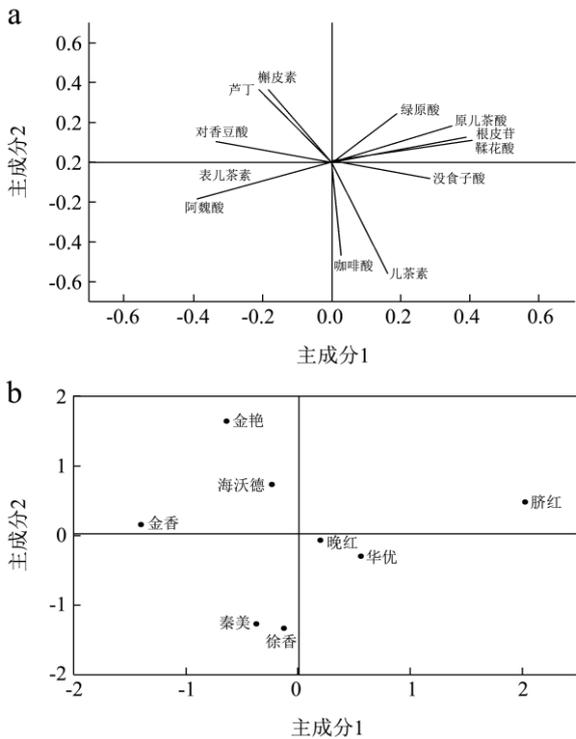


图5 猕猴桃多酚主成分分析载荷图 (a) 与得分图 (b)  
Fig.5 Loading plot (a) and score plot (b) of polyphenolic components of kiwi fruit

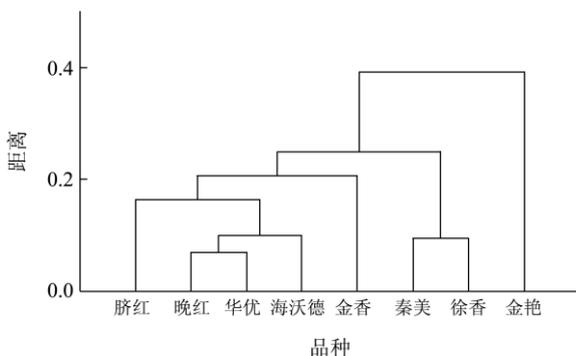


图6 猕猴桃多酚聚类分析  
Fig.6 Dendrogram of polyphenols in kiwi fruit

2.4 不同品种猕猴桃的 FT-IR 光谱测定

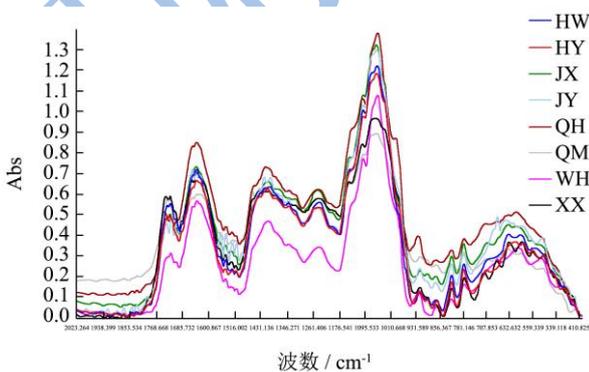


图7 猕猴桃 FT-IR 光谱图  
Fig.7 FT-IR spectra of polyphenols from kiwi fruit

注: QH、WH、QM、XX、HY、HW、JX、JY分别为脐红、晚红、秦美、徐香、华优、海沃德、金香、金艳的缩略表示。

不同品种猕猴桃的冻干粉末与儿茶素、没食子酸标品的FT-IR光谱图如图7、图8所示。

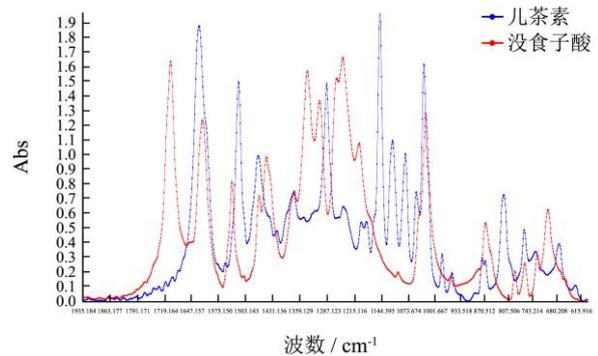


图8 儿茶素与没食子酸的 FT-IR 光谱图

Fig.8 FT-IR spectra of catechin and gallic acid

图8中, 儿茶素在820、1031、1115、1148、1289、1471、1523、1627  $\text{cm}^{-1}$ 处的伸缩振动分别表示了炔C-H、醇-C-O、醇C-OH、芳香族-OH、醇C-O、炔C-H、芳香环C=C、炔C=C; 而没食子酸在869、1032、1245、1470、1523、1627  $\text{cm}^{-1}$ 处有伸缩振动。与Gorinstein等<sup>[18]</sup>及Y.-S.等<sup>[1]</sup>的研究相一致。猕猴桃样品在821、869、1115、1249、1410、1627  $\text{cm}^{-1}$ 处有伸缩振动, 这些波数均表示了多元酚类的伸缩振动基团。不同品种猕猴桃的伸缩振动波数一致, 但振动幅度大小有明显差别。样品除以上的吸收峰外, 其他吸收峰还表示了氨基酸等其他成分基团的振动<sup>[20]</sup>。

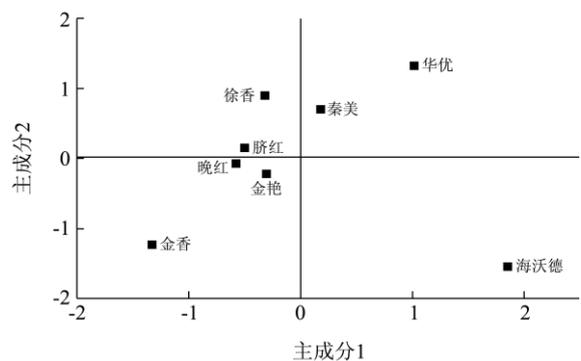


图9 FT-IR 光谱主成分分析得分图

Fig.9 PCA score plot for FT-IR spectra of kiwi fruit

对FT-IR光谱2000~400  $\text{cm}^{-1}$ 的数据分别进行主成分分析与聚类分析, 结果如图9、图10。

主成分分析中前两个主成分对总方差的累积解释率达到84.96%, 依据得分对8个品种猕猴桃的区分与系统聚类分析得到的结论类似。金香与其他7个品种猕猴桃被分为两个类群。对于其余7个品种猕猴桃, 华优与其他6个品种分为两个二级类群, 在这6个品种中,

海沃德与其余5个品种被分为不同类群。对于其余5个品种,系统聚类分析将脐红、晚红归为一类,秦美、徐香归为一类,金艳单独一类。这样的分类结果与这8个品种猕猴桃的植物学分类相一致。秦美、徐香均属美味猕猴桃亚科,脐红、晚红均属中华猕猴桃亚科中红阳的变种。

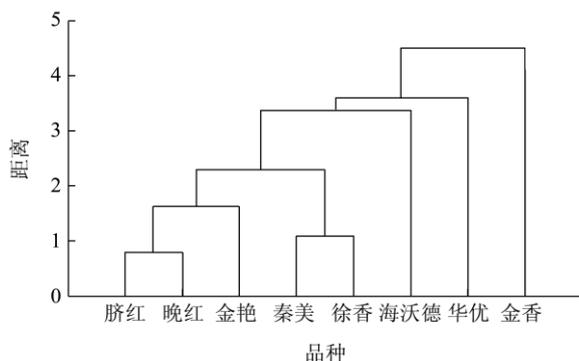


图 10 FT-IR 光谱聚类分析图

Fig.10 Dendrogram showing the CA of FT-IR spectra of kiwi fruit

从理化指标、抗氧化指标, HPLC及FT-IR指纹图谱三个方面对试验选取的8个品种猕猴桃进行区分有明显的差异。其中FT-IR主成分分析模型中前两个主成分对于总方差的累积解释率最高,理化指标、抗氧化指标测定结果及HPLC的主成分分析模型中前两个主成分对于总方差的累积解释率较低。综合评价,三种评价方法均不适于进行美味猕猴桃和中华猕猴桃的种间区分。对于不同品种猕猴桃,FT-IR可进行准确的区分,HPLC的区分分类结果与FT-IR存在一定差异,但仍可进行区分。依据理化特性、抗氧化特性的区分效果较一般,仅对某些品种区分较好。

### 3 结论

3.1 8个品种猕猴桃的体外抗氧化特性存在显著差异。其中,华优的抗氧化特性明显优于其他品种。脐红、金艳等近几年审定的新品种除了在食用特性方面的优异表现,其抗氧化特性均表现一般。海沃德作为全球种植面积最广的商业猕猴桃品种,其抗氧化特性总体较弱。

3.2 不同品种猕猴桃的多酚类组成也有显著差异,大多数猕猴桃品种中儿茶素为含量最多的多酚类物质。儿茶素、表儿茶素、绿原酸、原儿茶酸为猕猴桃中主要的多酚类化合物。

3.3 结合抗氧化、酚类组成及FT-IR测定可对猕猴桃中酚类组成进行全面了解,基于这三项手段的指纹分析可有效将不同品种猕猴桃进行归类区分。

### 参考文献

- [1] Park Y S, Leontowicz H Leontowicz M., et al. Comparison of the contents of bioactive compounds and the level of antioxidant activity in different kiwifruit cultivars [J]. Journal of Food Composition and Analysis, 2011, 24(7): 963-970
- [2] 宋美晶.不同品种猕猴桃的成分研究[D].辽宁师范大学,2012  
SONG Mei-jing. Study on the composition of different varieties of kiwifruit [D]. Liaoning Normal University, 2012
- [3] 赵金梅,高贵田,薛敏,等.不同品种猕猴桃果实的品质及抗氧化活性[J].食品科学,2014,9:118-122  
ZHAO Jin-mei, GAO Gui-tian, XUE Min, et al. Fruit quality and antioxidant activity of different kiwifruit varieties [J]. Food Science, 2014, 9: 118-122
- [4] 杜国荣.猕猴桃、柿和苹果果实的抗氧化能力及其抗氧化活性成分的分析[D].西北农林科技大学,2009  
DU Guo-rong. Study on the total antioxidant capacity and bioactive compounds of kiwi (actinidia), persimmon (diospyros kaki l.) and apple (malus domestica borkh.) fruits [D]. Northwest A&F University, 2009
- [5] 张丽华,李顺峰,刘兴华,等.猕猴桃果浆中叶绿素和颜色的热降解动力学[J].农业工程学报,2012,6:289-292  
ZHANG Li-hua, LI Shun-feng, LIU Xing-hua, et al. Kinetics of chlorophyll degradation and color loss in heated kiwifruit puree [J]. Transactions of the CSAE, 2012, 6: 289-292
- [6] Nunes-Damaceno M, Mu ñoz-Ferreiro N, Romero- Rodríguez M A, et al. A comparison of kiwi fruit from conventional, integrated and organic production systems [J]. LWT - Food Science and Technology, 2013, 54(1): 291-297
- [7] Folmer Florence, Basavaraju Umesh, Jaspars Marcel, et al. Anticancer effects of bioactive berry compounds [J]. Phytochemistry Reviews, 2014, 13(1): 295-322
- [8] Motohashi N, Shirataki Y, Kawase M, et al. Cancer prevention and therapy with kiwifruit in Chinese folklore medicine: a study of kiwifruit extracts [J]. J. Ethnopharmacol., 2002, 81(3): 357-364
- [9] Sun-Waterhouse Dongxiao, Wen Ivy, Wibisono Reginald, et al. Evaluation of the extraction efficiency for polyphenol extracts from by-products of green kiwifruit juicing [J]. International Journal of Food Science & Technology, 2009, 44(12): 2644-2652
- [10] Niki Etsuo. Assessment of antioxidant capacity in vitro and in vivo [J]. Free Radical Biology and Medicine, 2010, 49(4):

- 503-515
- [11] Sârbu Costel, Nașcu-Briciu Rodica Domnica, Kot-Wasik Agata, et al. Classification and fingerprinting of kiwi and pomelo fruits by multivariate analysis of chromatographic and spectroscopic data [J]. *Food Chemistry*, 2012, 130(4): 994-1002
- [12] 解华东,布丽君,李志西.基于紫外指纹图谱技术的食醋品种检测方法[J].*农业机械学报*,2009,4:133-138  
XIE Hua-dong, BU Li-jun, LI Zhi-xi. Method of vinegar detection based on ultraviolet fingerprint technology [J]. *Transactions of the CSAM*, 2009, 4: 133-138
- [13] Fiorentino Antonio, D Abrosca Brigida, Pacifico Severina, et al. Identification and assessment of antioxidant capacity of phytochemicals from kiwi fruits [J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2009, 57(10): 4148-4155
- [14] Bursal Ercan, Gülçin İlhami. Polyphenol contents and in vitro antioxidant activities of lyophilised aqueous extract of kiwifruit (*Actinidia deliciosa*) [J]. *Food Research International*, 2011, 44(5): 1482-1489
- [15] Park Yong-Seo, Namiesnik Jacek, Vearasilp Kann, et al. Bioactive compounds and the antioxidant capacity in new kiwi fruit cultivars [J]. *Food Chemistry*, 2014, 165: 354-361
- [16] Park Yong Seo, Ham Kyung-Sik, Kang Seong-Gook, et al. Organic and conventional kiwifruit, myths versus reality: antioxidant, antiproliferative, and health effects [J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2012, 60(28): 6984-6993
- [17] 王胜利.猕猴桃酒中多酚、抗氧化性及香气成分的研究[D].西北农林科技大学,2013  
WANG Sheng-li. Study on antioxidant activity, phenolic compounds and aroma compounds in kiwifruit wines [D]. Northwest A&F University, 2013
- [18] Gorinstein Shela, Haruenkit Ratiporn, Poovarodom Sumitra, et al. The comparative characteristics of snake and kiwi fruits [J]. *Food and Chemical Toxicology*, 2009, 47(8): 1884-1891
- [19] Wang Mindy Y, MacRae Elspeth, Wohlers Mark, et al. Changes in volatile production and sensory quality of kiwifruit during fruit maturation in *Actinidia deliciosa* 'Hayward' and *A. chinensis* 'Hort16A' [J]. *Postharvest Biology and Technology*, 2011, 59(1): 16-24
- [20] 赵晓辉,聂志矗,张连水,等.茶叶及其组份的红外光谱研究[J].*光学学报*,2009,2:533-536  
ZHAO Xiao-hui, NIE Zhi-chu, ZHANG Lian-shui, et al. Study on tea and its principal components by infrared spectroscopy [J]. *Acta Optica Sinica*, 2009,2: 533-536