

烹饪及贮藏对八种常见叶菜中叶酸含量的影响

梁颖, 张毅, 李艺, 丁莹, 刘贤金

(江苏省食品质量安全重点实验室, 农业部农产品质量安全风险评估实验室(南京), 江苏南京 210014)

摘要: 叶菜是居民膳食叶酸的主要来源, 我国叶菜种类丰富。为探明常见叶菜中叶酸含量及日常烹饪、贮藏对其影响, 以期最大程度保留叶菜中叶酸, 以八种常见叶菜为对象, 液相色谱检测分析叶菜中 5-甲基四氢叶酸和叶酸含量, 并研究水煮、清炒、蒸制及冷藏过程中 5-甲基四氢叶酸及叶酸含量变化。结果表明: 菠菜中 5-甲基四氢叶酸含量最高, 为 75.32 $\mu\text{g}/100\text{g}$, 其它依次为小白菜、大白菜、生菜、紫甘蓝、青菜、甘蓝、油麦菜; 叶菜中叶酸含量远低于 5-甲基四氢叶酸, 甘蓝中甚至无检出; 烹饪方法对叶菜中 5-甲基四氢叶酸和叶酸含量均有不同程度的影响, 蒸制可以较好保持叶菜中叶酸含量, 水煮次之, 清炒效果最差; 从叶酸保持角度考虑, 叶菜 4 $^{\circ}\text{C}$ 贮藏不宜超过 2 d。选择合理烹饪方式及贮藏时间可有效降低叶菜中叶酸损失, 进而有望改善居民叶酸缺乏现状。

关键词: 叶菜; 叶酸; 烹饪处理; 贮藏; 液相色谱

文章编号: 1673-9078(2018)03-173-177

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2018.03.025

Effects of Cooking Methods and Storage on Folate in Eight Common Leafy Vegetables

LIANG Ying, ZHANG Yi, LI Yi, DING Ying, LIU Xian-jin

(Key Laboratory of Food Quality and Safety of Jiangsu Province, Key Laboratory of Risk Assessment for Agro-product Safety and Quality, Nanjing 210014, China)

Abstract: Leafy vegetables are the main source of folate in residents' diets, and there are many kinds of leafy vegetables in china. In order to obtain the folate content in leafy vegetables maximally, the folate contents in common leafy vegetables and the effects of cooking methods and storage on folate contents in common vegetables were investigated. The contents of 5-CH₃-H₄ folate and folate in eight common leafy vegetables were determined by liquid chromatography. The changes of contents of 5-CH₃-H₄ folate and folate in eight leafy vegetables in the process of boiling, frying, steaming and refrigerating were also determined. The results showed that 5-CH₃-H₄ folate content in spinach was highest for 75.32 $\mu\text{g}/100\text{g}$, followed by baby bok choy, Chinese cabbage, romaine lettuce, purple cabbage, green bok choy, white cabbage and long leaf lettuce. Folate contents in leafy vegetables were much lower than that of 5-CH₃-H₄ folate, which were even not detected in white cabbage. The cooking methods had different effects on 5-CH₃-H₄ folate and folate contents in leafy vegetables. Steaming could keep well the folate content in leafy vegetables, boiling second, and the frying was the worst. In consideration of keeping folate, leafy vegetables should not be stored in 4 $^{\circ}\text{C}$ for more than two days. The loss of folate in leafy vegetables could be effectively reduced by choosing reasonable cooking methods and storage time, which was expected to improve the status of folic acid deficiency in residents.

Key words: leafy vegetables; folate; cooking method; storage; liquid chromatograph (LC)

叶酸作为含有蝶酰谷氨酸结构的一类水溶性类维生素, 对人体健康具有至关重要的作用。叶酸与神经系统形成密切相关, 孕妇叶酸摄入不足, 会直接导致胎儿神经系统发育缺陷及巨红细胞性贫血^[1]。普通人

收稿日期: 2017-10-18

基金项目: 公益性行业科研专项 (201303088); 江苏省农业科技自主创新资金 (cx (15) 1016); 国家农产品质量安全风险评估项目 (GJFP201701503)

作者简介: 梁颖 (1980-), 女, 博士, 副研究员, 研究方向: 农产品质量与安全

通讯作者: 刘贤金 (1963-), 男, 博士, 研究员, 研究方向: 农产品质量与安全

群长期处于叶酸缺乏状态会增加罹患心血管疾病、结直肠癌、胰腺癌^[2]以及阿兹海默症^[3]的风险。我国叶酸缺乏较锌、铁、维生素 A 缺乏更普遍^[4], 约有 19.6% 人群叶酸摄入不足^[5], 北方尤其严重, 新鲜绿色叶菜供给不足是其部分诱因^[6,7]。

人体所需叶酸无法自身合成, 必须依赖饮食摄入。尽管合成叶酸膳食补充剂在市场上涌现, 但绝大部分人叶酸摄入还是来源食物。叶酸在食物中分布广泛, 小麦胚芽、动物内脏、酵母以及叶类蔬菜均含有丰富的叶酸^[8], 叶类蔬菜由于在膳食中占据比例远高于其他富含叶酸的食物, 因此叶菜被认为是人群叶酸摄入

主要来源^[9]。目前发现叶酸的存在形式有 150 种左右, 10-甲酰四氢叶酸、5-甲基四氢叶酸、叶酸、四氢叶酸和 5-甲酰四氢叶酸等较为常见^[10], 其中叶菜中 5-甲基四氢叶酸、叶酸占据较大比例^[11,12]。

叶酸并不稳定, 热、光和氧均会使叶酸分裂为没有生物学功能的喋呤和对氨基苯甲酸^[13], 即使叶菜饮食摄入量依然可能叶酸摄入不足^[8], 如何最大程度减少叶菜中叶酸损失是叶菜中叶酸有效利用的重点。烹饪方法对果蔬中叶酸损失有着不同影响, 针对叶菜的研究数据非常有限, 只有菠菜研究相对较多。Holasova 等^[14]研究了水煮对菠菜及甘蓝中 5-甲基四氢叶酸的影响; Bureau 等^[15]报道了水煮及加压蒸煮菠菜碎末中总叶酸变化情况; Delchier 等^[16,17]研究了清洗、水煮、漂烫、蒸制对菠菜中 5-甲基四氢叶酸及其衍生物影响, 清炒尚未见报道。其他叶菜的相关报道^[14]寥寥无几。

我国叶菜种类丰富, 在消费者饮食中占据较大比例, 且多为烹饪后食用。本试验拟以我国八种常见叶菜, 菠菜、生菜、青菜、油麦菜、小白菜、大白菜、甘蓝和紫甘蓝为对象, 研究水煮、清炒、蒸制不同烹饪方法以及贮藏过程中叶酸含量的变化情况, 以期获得八种叶菜中叶酸含量分布及变化规律, 为居民日常膳食中叶酸摄入提供理论参考。

1 材料与方 法

1.1 材料与试剂

新鲜菠菜、生菜、青菜、油麦菜、小白菜、大白菜、甘蓝和紫甘蓝, 购于南京钟灵街苏果超市。

5-甲基四氢叶酸 ($C_{20}H_{25}N_7O_6$, MW459.46, 结构式见图 1 (a)), 叶酸 ($C_{19}H_{19}N_7O_6$, MW441.40, 结构式见图 1 (b), 纯度 $\geq 98\%$), 美国 Sigma 公司; 乙腈、磷酸(色谱纯), 上海安谱试验科技有限公司; 磷酸氢二钾、氢氧化钠(分析纯), 南京寿德试验器材有限公司。

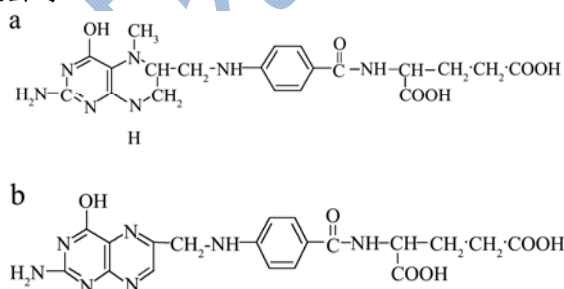


图 1 5-甲基四氢叶酸与叶酸结构式

Fig.1 The structure of 5-CH₃-H₄ folate and folate

注: 叶酸即指一类含有蝶酰谷氨酸结构的物质, 亦指 CAS: 59-30-3, MW=441.40 的物质, 此处为该物质。

1.2 仪器与设备

Agilent 1260 高效液相色谱仪(配有二极管阵列检测器(DAD)及 OpenLAB CDS ChemStation 版工作站), 美国 Agilent 公司; 台式高速冷冻离心机, 美国 Thermo 公司; 氮吹仪, 美国 Organomation Associates 公司。

1.3 方法

1.3.1 叶菜烹饪处理

叶菜清洗切分预处理: 各种叶菜去除不可食用部分, 清水洗涤, 沥干。小白菜、大白菜、甘蓝、紫甘蓝切成约 3×3 cm 小块。各蔬菜样品分为四份, 其中一份置-20 °C 冰箱中冷冻 12 h, 然后真空冷冻干燥机冻干后磨粉, 置-20 °C 冰箱中保存待用。另三份样品分别用于水煮、清炒、蒸制处理, 每个处理重复三次。

水煮处理: 1000 mL 烧杯中加入 500 mL 纯净水, 加热至沸, 将称好的叶菜样品倒入。各种叶菜沸水中处理 1~3 min, 以叶菜变熟且硬度适宜为准。处理后样品沥去表面水分, 迅速降温至室温, 置-20 °C 冰箱中冷冻 12 h, 然后冻干磨粉, 置-20 °C 冰箱中保存待用; 清炒处理: 不锈钢平底锅中加入 2 g 食用油, 加热至约 170 °C 后, 加入叶菜翻炒, 各种叶菜炒制时间 1~4 min, 以叶菜变熟且硬度适宜为准。处理后迅速降温至室温, 沥去水分, 拭去表面油迹, 其它处理同上; 蒸制处理: 蒸锅中加水煮沸, 将各叶菜样品置于玻璃皿中, 放入蒸屉, 1~4 min 后取出, 以叶菜变熟且硬度适宜为准。其它处理同上。

1.3.2 叶菜贮藏处理

各种新鲜叶菜置于塑料保鲜盒内, 冰箱 4 °C 存放 6 d, 每天取样, 样品处理同上, 测定其 5-甲基四氢叶酸及叶酸含量变化。

1.3.3 叶酸测定方法

称取 5 g 叶菜样品粉末置于 50 mL 离心管, 加入 25 mL 0.1 M 磷酸盐缓冲液, 置于氮吹仪上吹氮 15 s, 之后放于 90 °C 水浴 10 min, 离心管取出放入冰浴中冷却后, 转速为 26900 g 高速冷冻离心机上离心 1 min, 上清液过无机滤膜, 进棕色进样瓶中待测, 整个过程尽可能避光操作。

色谱条件: 色谱柱 ZORBAX SB-C₁₈ (4.6×150 mm, 5 μm); 梯度洗脱程序 6%乙腈+94%磷酸盐缓冲液保持 5 min, 随后 25 min 内流动相调整为 25%乙腈+75%磷酸盐缓冲液, 保持 2 min; 流速 0.4 mL/min;

进样量 20 μL; 检测波长 285 nm; 柱温 25 °C。

1.3.4 数据统计处理

采用 Excel 2010 软件统计数据, 数据均为三次重复实验的均值和标准方差, 并进行差异显著性分析。

2 结果与分析

2.1 叶菜中 5-甲基四氢叶酸及叶酸含量

八种叶菜中 5-甲基四氢叶酸及叶酸含量见表 1。由表中数据可知, 叶菜中 5-甲基四氢叶酸含量远高于叶酸, 所占比例 89.57%以上。菠菜中 5-甲基四氢叶酸含量最高, 为 75.32 μg/100 g, 小白菜和大白菜含量分别为 64.20 μg/100 g、59.35 μg/100 g, 其他依次为生菜、紫甘蓝、青菜、甘蓝、油麦菜。菠菜中 5-甲基四氢叶酸含量显著高于小白菜 ($p < 0.05$), 小白菜和大白菜中含量差异不显著 ($p > 0.05$), 大白菜中含量显著高于紫甘蓝 ($p < 0.05$), 而紫甘蓝、生菜、甘蓝、青菜和油麦菜中含量差异均不显著 ($p > 0.05$)。叶酸亦是在菠菜中含量最高, 为 8.77 μg/100 g, 其他依次为生菜、青菜、大白菜、小白菜、紫甘蓝、油麦菜, 甘蓝中无叶酸检出。菠菜中叶酸含量显著高于生菜 ($p < 0.05$), 生菜、青菜、大白菜和小白菜中含量差异不显著 ($p > 0.05$), 小白菜中叶酸显著高于紫甘蓝 ($p < 0.05$), 而紫甘蓝和油麦菜中叶酸差异不显著 ($p > 0.05$)。

表 1 叶菜中 5-甲基四氢叶酸及叶酸含量

Table 1 Contents of 5-CH₃-H₄ folate and folate in leafy vegetables

叶菜	5-甲基四氢叶酸/(μg/100 g)	叶酸/(μg/100 g)
菠菜	75.32±0.95 ^a	8.77±0.56 ^a
小白菜	64.20±3.18 ^b	2.88±0.54 ^b
大白菜	59.35±2.19 ^b	3.14±0.96 ^b
紫甘蓝	51.36±3.26 ^c	0.37±0.11 ^c
生菜	50.18±1.39 ^c	4.22±0.26 ^b
甘蓝	43.76±1.54 ^c	-
青菜	42.36±2.08 ^c	3.26±0.91 ^b
油麦菜	38.79±1.52 ^c	0.16±0.10 ^c

注: 不同字母表示 0.05 水平下不同叶菜中 5-甲基四氢叶酸、叶酸含量差异显著。

2.2 烹饪方法叶菜中 5-甲基四氢叶酸含量变化

不同烹饪方法对叶菜中 5-甲基四氢叶酸含量影响结果见图 2。烹饪过程中叶菜中 5-甲基四氢叶酸有不同程度的损失。水煮过程叶菜中 5-甲基四氢叶酸保持

率在 57.39~72.45%之间, 菠菜保持率最高, 其次为甘蓝、青菜、紫甘蓝, 生菜、小白菜、油麦菜, 大白菜保持率最低, 水煮均显著降低了八种叶菜中 5-甲基四氢叶酸 ($p < 0.05$); 清炒过程叶菜中 5-甲基四氢叶酸保持率在 47.60~67.58%之间, 大白菜保持率最高, 其他依次为菠菜、生菜、紫甘蓝、青菜、小白菜、油麦菜, 甘蓝最低, 清炒均显著降低了八种叶菜中 5-甲基四氢叶酸 ($p < 0.05$); 蒸制过程中叶菜中 5-甲基四氢叶酸保持率在 83.47~97.42%之间, 其中油麦菜保持率最高, 其它依次为甘蓝、菠菜、青菜、小白菜、紫甘蓝、生菜, 大白菜最低, 蒸制仅显著降低了生菜、大白菜中 5-甲基四氢叶酸含量 ($p < 0.05$), 其他叶菜蒸制前后均无显著差异 ($p > 0.05$)。烹饪方法除对大白菜中 5-甲基四氢叶酸含量影响次序为水煮>清炒>蒸制, 其他叶菜均为清炒>水煮>蒸制, 蒸制对于保持叶菜中 5-甲基四氢叶酸含量效果较好, 水煮次之。

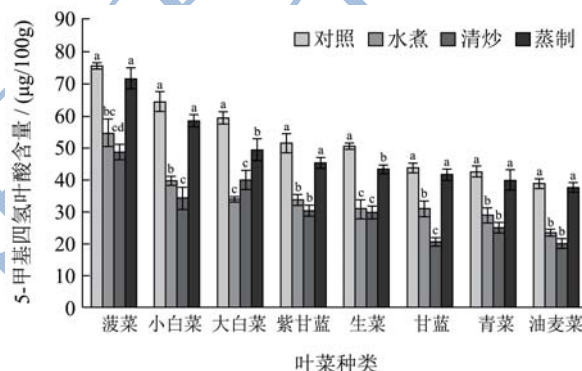


图 2 不同烹饪方法叶菜中 5-甲基四氢叶酸含量变化

Fig.2 Effects of different cooking treatments on 5-CH₃-H₄ folate content of leafy vegetables

注: 不同字母表示 0.05 水平下不同处理叶菜中 5-甲基四氢叶酸含量变化差异显著。

2.3 烹饪方法叶菜中叶酸含量变化

不同烹饪方法对叶菜中 5-甲基四氢叶酸含量影响结果见图 3。叶菜中叶酸含量较低, 各烹饪方法对其影响较大。水煮过程叶菜中叶酸保持率在 0~60.66%之间, 生菜保持率最高, 其次为小白菜、青菜、菠菜、大白菜, 油麦菜和紫甘蓝中叶酸无检出; 清炒过程叶菜中叶酸保持率在 0~31.36%之间, 菠菜保持率最高, 其他为生菜和大白菜, 青菜、油麦菜、小白菜、紫甘蓝中无叶酸检出; 蒸制过程中叶菜中叶酸保持率在 0~100%之间, 其中青菜保持率最高, 其它依次为菠菜、小白菜、生菜和大白菜, 油麦菜和紫甘蓝中无叶酸检出。除蒸制对青菜中叶酸影响不显著 ($p > 0.05$) 外, 其他各烹饪方法均显著降低了八种叶菜中叶酸含量 ($p < 0.05$)。

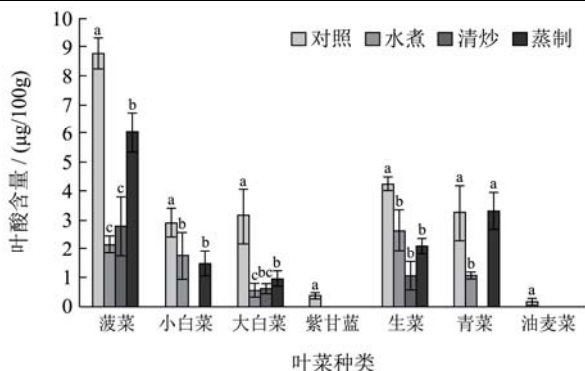


图3 不同烹饪方法叶菜中5-甲基四氢叶酸含量变化

Fig.3 Effects of different cooking treatments on folate content of leafy vegetables

注: 不同字母表示 0.05 水平下不同处理叶菜中叶酸含量变化差异显著。

2.4 贮藏过程叶菜中 5-甲基四氢叶酸及叶酸含量变化

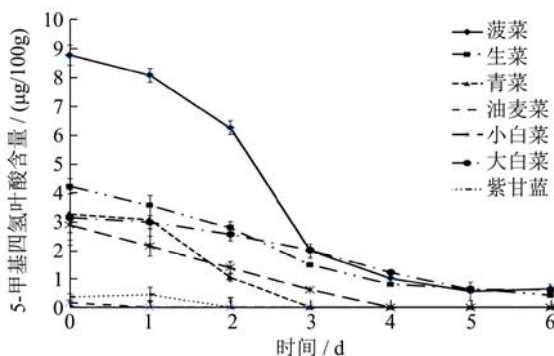


图4 贮藏过程叶菜中5-甲基四氢叶酸及叶酸含量变化

Fig.4 Effects of storage on 5-CH₃-H₄folate in leafy vegetables

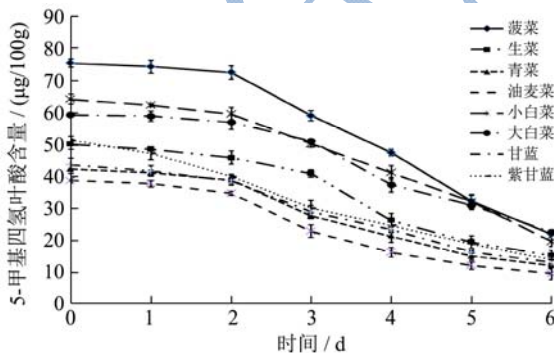


图5 贮藏过程叶菜中叶酸含量变化

Fig.5 Effects of storage on folate in leafy vegetables

贮藏过程叶菜中 5-甲基四氢叶酸及叶酸含量变化见图 4 及图 5。随着贮藏时间延长, 5-甲基四氢叶酸和叶酸含量逐渐降低。由图 2 可以看出, 5-甲基四氢叶酸含量下降曲线基本符合 S 型曲线, 贮藏初期下降缓慢, 然后加速, 接下来再次进入缓慢下降阶段。不

同叶菜 5-甲基四氢叶酸加速下降拐点不同, 紫甘蓝贮藏 1 d 后 5-甲基四氢叶酸含量下降即加速, 生菜贮藏 3 d 后下降加速, 其他叶菜均为贮藏 2 d 后 5-甲基四氢叶酸含量下降加速。甘蓝中未检出叶酸, 而油麦菜和紫甘蓝中叶酸分别在贮藏 1 d、2 d 内即无检出, 小白菜中叶酸呈稳定下降趋势, 第 4 d 内无检出, 菠菜、生菜中叶酸加速下降拐点出现在第 2 d, 大白菜出现在第 3 d。从营养保持角度考虑, 叶菜 4 °C 贮藏不宜超过 2 d。

3 讨论与结论

3.1 叶菜作为居民膳食中叶酸摄入的主要来源, 具有非常重要的地位。叶菜自身脆嫩易变质, 叶酸又不稳定, 而我国居民传统叶菜消费均经烹饪处理, 居民通过叶菜食用摄入叶酸量不仅受各叶菜品种的影响, 同样受烹饪方法及贮藏的影响。本实验检测了八种常见叶菜中 5-甲基四氢叶酸及叶酸含量及烹饪和贮藏前后其含量变化情况, 以期从叶酸保持角度推荐居民叶菜种类、烹饪方法以及贮藏时间的合理选择。

3.2 目前叶菜中叶酸含量研究较多的有菠菜和生菜, 其他叶菜寥寥无几。Zhang 等^[18]测定多批次菠菜中 5-甲基四氢叶酸均值为 84.2 µg/100 g, Hefni 等^[19]发现埃及菠菜中四氢叶酸含量为 79 µg/100 g, 生菜为 51 µg/100 g, Shohag 等^[20]对中国常见蔬菜中叶酸组成及含量的研究中显示 5-甲基四氢叶酸在甘蓝、生菜及菠菜中占据主要比例, 菠菜含量最高, 为 74.33 µg/100 g, 其次为生菜和甘蓝, 这与本文研究结果及趋势基本一致。邵丽华等^[21]研究发现多种蔬菜叶酸含量在 0.85~1.96 µg/g 范围内, 数值较本文结果高, 究其原因可能是其检测采用荧光分光光度计, 叶酸本身荧光弱, 氧化衍生后荧光增强, 但氧化剂作用特异性差, 从而可能导致所测叶酸量偏高^[22]。

3.3 我们居民叶菜消费多经过烹饪处理, 烹饪过程中不同热传递介质, 如水、汽和锅, 以及不同传递形式包括传导、对流均会影响叶菜中叶酸含量。Bureau 等^[15]对热烫后菠菜碎末经烹饪处理后发现蒸制可以较好保留叶酸总量, 这与本实验结果一致; 而水煮导致叶酸总量 94% 的损失, 远高于本文结果, 这可能由于样品处理不同, 菠菜热烫切碎使细胞膜破坏, 而叶酸水溶性好从而流失严重而导致^[23]; Delchier 等^[16]和 Mckillop 等^[24]研究发现水煮可保留菠菜中约一半的叶酸总量, 蒸制效果优于水煮, 叶酸总量没有显著降低; Fabbrin 等^[25]在综合多文献分析后认为蒸制可能是保留蔬菜中叶酸的烹饪方法, 由此可佐证本文实验结果。关于清炒对蔬菜中叶酸含量的影响尚未见报道,

本试验结果认为清炒对于保持叶菜中叶酸含量效果最差。

3.4 目前冷冻对菠菜中叶酸影响的报道较多, Czarnowska 等^[26]研究发现菠菜经冷冻后 5-甲基四氢叶酸含量下降 26.2%, Delchier 等^[17]和 Phillips 等^[27]实验认为冷冻不会显著降低菠菜中总叶酸含量, 极有可能是叶菜中 5-甲基四氢叶酸相对其他结构叶酸受温度影响较大。冷冻菠菜在欧美饮食中较为常见, 但不符合我国居民消费习惯。我国居民多采用新鲜叶菜直接或经冷藏后烹饪食用, 关于冷藏对叶菜中叶酸含量变化尚未见报道。本实验结果认为叶菜 4℃贮藏不宜超过 2 d, 2 d 后叶酸含量下降加剧。

3.5 本研究提供了我国八种常见叶菜中 5-甲基四氢叶酸及叶酸含量, 叶菜中 5-甲基四氢叶酸含量占比远高于叶酸, 菠菜中叶酸总量最高, 其次为小白菜、大白菜、生菜、紫甘蓝、青菜、甘蓝、油麦菜。烹饪过程中叶菜中 5-甲基四氢叶酸和叶酸均有不同程度的损失, 综合分析可认为蒸制对于叶菜中叶酸总量保持效果最佳, 其次为水煮, 清炒效果最差。从叶酸保持角度考虑, 叶菜 4℃贮藏不宜超过 2 d。叶菜是日常饮食中叶酸的主要来源, 合理贮藏及烹饪可大大降低叶菜中叶酸损失, 对于改善我国居民叶酸摄入不足现状具有重要意义。

参考文献

- [1] Yang H, Lee M, Hong K, et al. Efficacy of folic acid supplementation in cardiovascular disease prevention: an updated meta-analysis of randomized controlled trials [J]. *European Journal of Internal Medicine*, 2012, 23(8): 745-754
- [2] Jennings B A, Willis G. How folate metabolism affects colorectal cancer development and treatment; a story of heterogeneity and pleiotropy [J]. *Cancer Letters*, 2015, 356(2): 224-230
- [3] Luchsinger J A, Tang M X, Miller J W, et al. Higher folate intake is related to lower risk of Alzheimer's disease in the elderly [J]. *Journal of Nutrition Health & Aging*, 2008, 12(9): 648-650
- [4] De Steur H, Gellynck X, Storozhenko S, et al. Health impact in China of folate-biofortified rice [J]. *Nature Biotechnology*, 2010, 28(6): 554-556
- [5] Hao L, Ma J, Stampfer M J, et al. Geographical, seasonal and gender differences in folate status among chinese adults [J]. *Journal of Nutrition*, 2003, 133(11): 3630-3635
- [6] Hao L, Ma J, Zhu J, et al. High Prevalence of Hyperhomocysteinemia in Chinese Adults Is Associated with Low Folate, Vitamin B-12, and Vitamin B-6 Status [J]. *Journal of Nutrition*, 2007, 137(2): 407-413
- [7] Blancquaert D, Storozhenko S, Loizeau K, et al. Folates and folic acid: from fundamental research toward sustainable health [J]. *Critical Reviews in Plant Sciences*, 2010, 29(1): 14-35
- [8] Delchier N, Herbig A, Rychlik M, et al. Folates in fruits and vegetables: contents, processing, and stability [J]. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 2016, 15(3): 506-528
- [9] Lafay L. Étude Individuelle Nationale des Consommations Alimentaires 2 (INCA) 2 (2006-2007). <http://www.anses.fr/Documents/PASER-Ra-INCA2.pdf>. (in french)
- [10] Rebeille F, Ravanel S, Jabrin S, et al. Folates in plants: biosynthesis, distribution, and enhancement [J]. *Physiologia Plantarum*, 2006, 126(3): 330-342
- [11] Wang C, Riedl K M, Schwartz S J, et al. Fate of folates during vegetable juice processing-Deglutamylation and interconversion [J]. *Food Research International*, 2013, 53(1): 440-448
- [12] Ringling C, Rychlik M. Analysis of seven folates in food by LC-MS/MS to improve accuracy of total folate data [J]. *European Food Research and Technology*, 2013, 236(1): 17-28
- [13] Scott J M, Rebeille F, Fletcher J, et al. Folic acid and folates: the feasibility for nutritional enhancement in plant foods [J]. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 2000, 80(7): 795-824
- [14] Holasova M, Fiedlerova V, Vavreinova S, et al. Determination of folates in vegetables and their retention during boiling [J]. *Czech Journal of Food Sciences*, 2008, 26(1): 31-37
- [15] Bureau S, Mouhoubi S, Touloumet L, et al. Are folates, carotenoids and vitamin C affected by cooking? Four domestic procedures are compared on a large diversity of frozen vegetables [J]. *LWT - Food Science and Technology*, 2015, 64(2): 735-741
- [16] Delchier N, Reich M, Renard C M, et al. Impact of cooking methods on folates, ascorbic acid and lutein in green beans (*Phaseolus vulgaris*) and spinach (*Spinacea oleracea*) [J]. *LWT - Food Science and Technology*, 2012, 49(2): 197-201
- [17] Delchier N, Ringling C, Grandois J L, et al. Effects of industrial processing on folate content in green vegetables [J]. *Food Chemistry*, 2013: 815-824
- [18] Zhang G F, Storozhenko S, Der Straeten D V, et al.

- Investigation of the extraction behavior of the main monoglutamate folates from spinach by liquid chromatography-electrospray ionization tandem mass spectrometry [J]. *Journal of Chromatography A*, 2005: 59-66
- [19] Hefni M, Ohrvik V, Tabekha M, et al. Folate content in foods commonly consumed in Egypt [J]. *Food Chemistry*, 2010, 121(2): 540-545
- [20] Shohag M J, Wei Y, Yu N, et al. Folate content and composition of vegetables commonly consumed in China [J]. *Journal of Food Science*, 2012, 77(11): 239-245
- [21] 邵丽华,王莉.粮食及果蔬中叶酸含量分析[J].*食品科学*,2014,35(24):290-294
- SHAO Li-hua, WANG Li. Analysis of folic acid contents in main grain crops, fruits and vegetables [J]. *Food Science*, 2014, 35(24): 290-294
- [22] Blanco C C, Carretero A S, Gutierrez A F, et al. Fluorometric determination of folic acid based on its reaction with the fluorogenic reagent fluorescamine [J]. *Analytical Letters*, 1994, 27(7): 1339-1353
- [23] Vahteristo L, Lehtikoinen K, Ollilainen V, et al. Application of an HPLC assay for the determination of folate derivatives in some vegetables, fruits and berries consumed in Finland [J]. *Food Chemistry*, 1997, 59(4): 589-597
- [24] Mckillop D J, Pentieva K, Daly D, et al. The effect of different cooking methods on folate retention in various foods that are amongst the major contributors to folate intake in the UK diet [J]. *British Journal of Nutrition*, 2002, 88(6): 681-688
- [25] Fabbrin A D T, Crosby G A. A review of the impact of preparation and cooking on the nutritional quality of vegetables and legumes [J]. *International Journal of Gastronomy and Food Science*, 2016, 3: 2-11
- [26] Czarnowska M, Gujska E. Effect of freezing technology and storage conditions on folate content in selected vegetables [J]. *Plant Foods for Human Nutrition*, 2012, 67(4): 401-406
- [27] Phillips K M, Wunderlich K M, Holden J M, et al. Stability of 5-methyltetrahydrofolate in frozen fresh fruits and vegetables [J]. *Food Chemistry*, 2005, 92(4): 587-595