

# 华中地区不同品种树莓果实成熟过程中特征活性物质的变化

李璐, 徐玉娟, 吴继军, 余元善, 邹波\*, 彭健

(广东省农业科学院蚕业与农产品加工研究所, 农业农村部功能食品重点实验室, 广东省农产品加工重点实验室, 广东广州 510610)

**摘要:** 以华中地区四种不同成熟阶段的树莓果实为研究对象, 采用分光光度法测定其总酚含量、总花色苷含量和超氧化物歧化酶活性; 采用超高效液相色谱-串联质谱仪鉴定其酚类物质, 并用液相色谱仪对其绝对含量进行定量。研究表明, 随着树莓果实的成熟, 四种树莓果实中总酚的含量均呈下降趋势, 与此同时, 其总花色苷的含量均呈上升趋势。美22树莓果实的总酚含量(31.94 mg/g FW)和总花色苷含量(1.31 mg/g FW)均是四种树莓果实中最高的。四种树莓果实中共鉴定出9种酚类物质, 5种花色苷类酚类物质和4种非花色苷类酚类物质, 矢车菊素 3-O-槐糖苷和矢车菊素 3-O-葡萄糖苷为主要的花色苷类酚类物质; Lambertianin C和地榆素 H-6 为主要的非花色苷类酚类物质。此外, 四种树莓果实中超氧化物歧化酶的活性呈下降趋势, 其中天门三号树莓果实超氧化物歧化酶活性降低最多(37%)。该研究为华中地区树莓果实的开发利用提供基础数据。

**关键词:** 树莓果实; 成熟; 多酚; 花色苷; 超氧化物歧化酶

文章编号: 1673-9078(2021)10-145-152

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2021.10.0050

## Ripening-induced Changes in Characteristic Active Compounds of Different Raspberry (*Rubus idaeus*) Cultivars Sourced from Central China

LI Lu, XU Yu-juan, WU Ji-jun, YU Yuan-shan, ZOU Bo\*, PENG Jian

(Sericultural & Agri-Food Research Institute Guangdong Academy of Agricultural Sciences, Key Laboratory of Functional Foods, Ministry of Agriculture and Rural Affairs, Guangdong Key Laboratory of Agricultural Products Processing, Guangzhou 510610, China)

**Abstract:** The total phenolic content, total anthocyanin content, and superoxide dismutase activity of four different cultivars of raspberry from Central China at different stages of ripening were detected by spectrophotometry. Phenolic compounds were identified by ultra-performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry (UPLC-MS/MS), and their absolute contents were determined by high-performance liquid chromatography (HPLC). The total phenolic contents of all four types of raspberry were found to decrease during ripening, whereas their total anthocyanin contents increased. Mei 22 raspberries were found to have the highest total phenolic and anthocyanin contents (31.94 mg/g FW and 1.31 mg/g FW, respectively) among the investigated fruit samples. In addition, a total of nine phenolic compounds were identified in the four raspberry samples, including five anthocyanin phenolic compounds and four non-anthocyanin phenolic compounds. Cyanidin 3-O-sophoroside and cyanidin 3-O-glucoside were found to be the dominant anthocyanin phenolic compounds, with lambertianin C and sanguin H-6 being present as the major non-anthocyanin phenolic compounds. Additionally, the superoxide dismutase activities of the raspberries were observed to reduce during ripening, with the Tianmen No.3 sample

引文格式:

李璐,徐玉娟,吴继,等.华中地区不同品种树莓果实成熟过程中特征活性物质的变化[J].现代食品科技,2021,37(10):145-152

LI Lu, XU Yu-juan, WU Ji-jun, et al. Ripening-induced changes in characteristic active compounds of different raspberry (*Rubus idaeus*) cultivars sourced from central China [J]. Modern Food Science and Technology, 2021, 37(10): 145-152

收稿日期: 2021-01-13

基金项目: 广东省重点领域研发计划资助项目(2020B020225003); 广州市科技民生科技攻关项目(201803020007); 广东省优稀水果创新团队项目(2020KJ116); 科技创新战略专项资金(高水平农科院建设)-优秀博士项目(R2019YJ-YB3008)

作者简介: 李璐(1990-), 男, 博士, 助理研究员, 研究方向: 农产品加工, E-mail: lilu045@163.com

通讯作者: 邹波(1986-), 男, 博士, 副研究员, 研究方向: 农产品加工, E-mail: skzoubo@163.com

exhibiting the largest decrease (37%) among the investigated samples. This study provides basic data for the development and utilization of raspberries from central China.

**Key words:** raspberry; ripening; polyphenols; anthocyanins; superoxide dismutase

树莓 (*Rubus corchorifolius* L. f.), 蔷薇科悬钩子属小浆果, 又称山莓、覆盆子, 是一种重要的园艺作物, 分布于全球温带地区, 尤其是美洲和欧洲<sup>[1,2]</sup>, 在我国主要分布于东北、华北等地区, 其果实营养价值丰富、风味独特广受消费者喜爱<sup>[3]</sup>。树莓果实中富含花青素、黄酮、鞣花单宁等对人体有益的多种活性物质, 具有抗炎、抗氧化、抗糖尿病和抗癌等功效<sup>[4-6]</sup>, 有着“金色水果”的美誉<sup>[5]</sup>。在我国, 树莓自古以来就被广泛用于肾遗尿和尿频的治疗, 具有极高的药用价值<sup>[7]</sup>。然而, 树莓果实保质期极短, 当树莓果实成熟后, 由于其呼吸速率较高, 导致其硬度和新鲜度迅速下降, 极易发生腐烂变质现象<sup>[8]</sup>。将东北、华北地区的树莓运输至华中地区, 腐烂率较一般水果高, 因此, 华中地区市面上可供鲜食的树莓果实较少<sup>[3,9]</sup>。近年来, 树莓在华中地区栽培成功, 减少了运输成本。但不同种植地区树莓果实的营养物质组成和含量存在较大差异, 目前尚未有关于华中地区树莓果实特征性活性物质的研究, 制约了华中地区树莓果实的开发利用。

酚类物质是水果中一类重要的活性物质, 其含量受多种因素影响, 例如生长环境、品种和成熟阶段等<sup>[10]</sup>。有研究表明, 成熟的蔓越莓果实中总酚含量远高于未成熟蔓越莓果实<sup>[11]</sup>, 而成熟苹果中总酚含量显著低于未成熟苹果<sup>[8]</sup>。水果中的酚类物质大体可分为花色苷类和非花色苷类酚类物质。花色苷是影响水果色泽和成熟度的重要因素, 通常在水果成熟过程中积累<sup>[8]</sup>。鞣花单宁是悬钩子属浆果中一类特有的非花色苷类酚类物质<sup>[12]</sup>。研究发现, 花色苷和鞣花单宁是树莓果实中重要的活性物质, 具有清除自由基、抗癌等功能<sup>[6,8]</sup>。其中, 矢车菊素 3-O-槐糖苷、矢车菊素 3-O-葡萄糖苷、地榆素 H-6 和 Lambertianin C 是树莓果实中含量较高的酚类物质<sup>[13]</sup>。然而, 不同品种树莓果实酚类物质的组成和含量具有较大差异<sup>[8]</sup>。

超氧化物歧化酶是一种具有抗氧化活性的金属酶, 是对抗超氧阴离子自由基的第一道防线<sup>[14]</sup>。机体

内超氧阴离子自由基的存在会导致癌症、心血管疾病和衰老。因此, 超氧化物歧化酶被报道具有抗癌、抗衰老的作用<sup>[15]</sup>, 常作为一种外源添加剂添加至医药、饮料和保健食品中<sup>[16]</sup>。目前, 超氧化物歧化酶主要从动物体内获得, 但这存在生物污染和伦理道德问题<sup>[17]</sup>。因此, 研究人员对具有高活性超氧化物歧化酶植物的关注日益增加<sup>[15]</sup>。有研究发现, 超氧化物歧化酶是树莓中主要的抗氧化物质<sup>[18]</sup>。因此, 超氧化物歧化酶可作为树莓果实的特征活性物质。然而, 目前关于树莓果实超氧化物歧化酶的研究较少。基于此, 本研究通过分析四种生长在华中地区的树莓在其果实成熟过程中总酚、总花色苷、花色苷类酚类物质、非花色苷类酚类物质和超氧化物歧化酶的变化, 解析华中地区不同品种树莓果实成熟过程中特征活性物质的变化规律, 为华中地区树莓果实的开发利用提供理论依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料与主要试剂

秋福、美 22、哈尔特兹和天门三号树莓果实采自湖北天门树莓园, 根据表 1 将其成熟过程分为 4 个阶段。密封冷冻避光运回广东省农业科学院蚕业与农产品加工研究所, -20 °C 保藏。标准品: 矢车菊素 3-O-槐糖苷、矢车菊素 3-O-葡萄糖苷、矢车菊素 3-O-芸香苷、天竺葵素 3-O-葡萄糖苷、树莓酮、鞣花酸和没食子酸, 购自于上海源叶生物科技有限公司。其他试剂均购自于广州市泰昌生物科技有限公司。

### 1.2 主要仪器与设备

LLJ-206J 多功能料理机, 江门市贝尔斯顿电器有限公司; UV-1900i 紫外可见分光光度计, 日本岛津公司; Infinite M200pro 酶标仪, 瑞士 TECAN 公司; LC-20AT 高效液相色谱仪, 日本岛津公司; 高效液相色谱四级杆飞行时间质谱联用仪, 加拿大 SCIEX 公司。

表 1 树莓果实成熟阶段的分级标准

Table 1 Grading criteria for raspberry fruits ripening stages

成熟阶段	果实颜色	果实硬度	果实成熟度	果实和枝分离度	果实生长时间/d
S1	绿色	硬	未成熟	未分离	10
S2	粉色	硬	半成熟	未分离	25
S3	红	硬	成熟	可分离	32
S4	深红	软	过成熟	可分离	35

### 1.3 方法

#### 1.3.1 树莓果实活性物质含量测定

##### 1.3.1.1 酚类化合物的提取

将树莓果实均匀制浆,精确称取 10 g 匀浆液加入到 10 mL 提取液(甲醇:盐酸=99:1) 30 °C 超声处理 10 min, 5000 r/min 离心 5 min, 收集上清液, 沉淀继续提取 3 次, 合并上清液, 用于酚类化合物和抗氧化活性的评价<sup>[19]</sup>。

##### 1.3.1.2 总酚含量的测定

采用 Folin Ciocalten 法<sup>[8]</sup>对树莓果实总酚含量进行测定, 将 1 mL 提取液与 2 mL 斐林试剂和 2 mL 碳酸钠溶液混合, 混合液避光反应 60 min, 于 760 nm 处检测其吸光值, 树莓果实总酚含量以每克树莓果实中没食子酸当量(毫克)数计。

##### 1.3.1.3 总花色苷含量的测定

采用 pH 示差法<sup>[8]</sup>对树莓果实总花色苷含量进行测定, 将提取液分别加入到 0.025 mol/L KCl (pH=1.0) 和 0.4 mol/L CH<sub>3</sub>COONa (pH=4.5) 中, 均匀混合后避光反应 15 min, 分别在 510 nm 和 700 nm 处检测吸光值。树莓果实总花色苷含量按照公式(1)进行计算:

$$\text{总花色苷含量}/(\text{mg}/\text{L}) = \frac{A \times MW \times 10^3}{\epsilon \times l} \quad (1)$$

$$A = (A_{510} - A_{700})pH_{1.0} - (A_{510} - A_{700})pH_{4.5} \quad (2)$$

式中:

$MW=449.2$ ;

$\epsilon$ ——矢车菊素 3-葡萄糖苷摩尔消光系数, 29600 L/(mol·cm);

$A_{510}$ 、 $A_{700}$ ——510 nm、700 nm 处的吸光值。

##### 1.3.1.4 鞣花单宁的提取

鞣花单宁的提取参考 MichalSójka 等<sup>[20]</sup>的方法。将树莓果实均匀制浆,精确称取 10 g 匀浆液加入到 30 mL 60%丙酮提取液, 30 °C 超声处理 10 min, 5000 r/min 离心 5 min, 收集上清液, 沉淀继续提取 2 次, 合并提取液, 旋转蒸发去除丙酮后采用 XAD 1600N 大孔吸附树脂对其进行纯化, 收集 40%乙醇洗脱液, 旋转蒸发浓缩后用于鞣花酸和鞣花单宁的结构鉴定。

##### 1.3.1.5 树莓果实中花色苷的结构鉴定

树莓果实中花色苷的结构鉴定使用高效液相色谱四级杆飞行时间质谱联用仪进行, 方法参考 MichalSójka 等<sup>[20]</sup>的方法, 并略有改动。取 1 mL 提取液经 0.22 μm 滤膜过滤后待测。色谱条件: 色谱柱为 Wondasil C18 柱 (250×4.6 mm, 5 μm, 日本岛津); 流动相为 4%磷酸溶液(A)和乙腈(B)。洗脱程序为:

0~10 min, 8% B; 10~55 min, 8%~18% B; 55~65 min, 18%~45% B; 65~65.01 min, 45%~70% B, 65.01~70 min, 70%~70% B。进样量为 10 μL, 流速为 1 mL/min, 检测器为二极管阵列检测器, 柱温为 35 °C。质谱条件: 电喷雾电离离子源 (ESI), 正离子扫描模式, 扫描范围 100~1000 u, 毛细管电压 4.5 kV, 雾化器压力 1.5 bar, 毛细管温度 220 °C, 干燥气体流速 6.0 L/min。

##### 1.3.1.6 树莓果实中鞣花酸和鞣花单宁的结构鉴定

树莓果实中鞣花酸和鞣花单宁的结构鉴定使用高效液相色谱四级杆飞行时间质谱联用仪进行, 方法参考 MichalSójka 等<sup>[20]</sup>的方法。取 1 mL 提取液经 0.22 μm 滤膜过滤后待测。色谱条件同花色苷的结构鉴定。质谱条件: 电喷雾电离离子源 (ESI), 负离子扫描模式, 一级质谱扫描范围 100~2000 u, 二级质谱扫描范围 100~1500 u, 毛细管电压 4.0 kV, 雾化器压力 1.5 bar, 毛细管温度 400 °C, 干燥气体流速 20.0 L/min。

##### 1.3.1.7 树莓果实中酚类化合物的定量分析

采用高效液相色谱法测定树莓果实中酚类化合物的含量。液相色谱条件同结构鉴定, 外标法定量, 根据标准品的浓度和峰面积绘制标准曲线, 标曲浓度范围为 2.5~100 μg/mL, 鞣花单宁以鞣花酸含量定量。

##### 1.3.1.8 树莓果实中超氧化物歧化酶活性的测定

使用比色分析试剂盒(南京建成生物工程研究所有限公司)根据说明书检测树莓果实中的超氧化物歧化酶的活性<sup>[21]</sup>。

### 1.3.2 数据处理

每组实验设置 3 次重复, 数据以为平均值±标准差表示, 采用 Excel、Origin 8.5、SPSS 23、PeakView 对数据进行处理与分析。

## 2 结果与分析

### 2.1 四种树莓果实成熟过程中总酚和总花色苷含量的变化

众所周知, 由于浆果类水果含有丰富的活性物质, 使其具有多种生物活性, 例如抗氧化、抗癌、扩张血管和抗菌等<sup>[22]</sup>。其中, 起主要作用的物质是酚类化合物<sup>[23]</sup>。因此, 评价不同种类树莓成熟过程中总酚含量的变化是尤为必要的。根据树莓果实的颜色将其成熟过程分为四个阶段(表 1): S1 阶段(绿色)、S2 阶段(粉色)、S3 阶段(红)和 S4 阶段(深红)。由图 1a 可知, 随着树莓果实的成熟, 其总酚含量呈下降趋势。树莓果实总酚含量最高的阶段在 S1, 其中美 22 树莓果实中的总酚物质含量最高 (31.94 mg/g FW), 与已

有报道结果是一致的<sup>[8]</sup>。而在 S3 和 S4 阶段，四种树莓果实的总酚含量没有显著性差异。

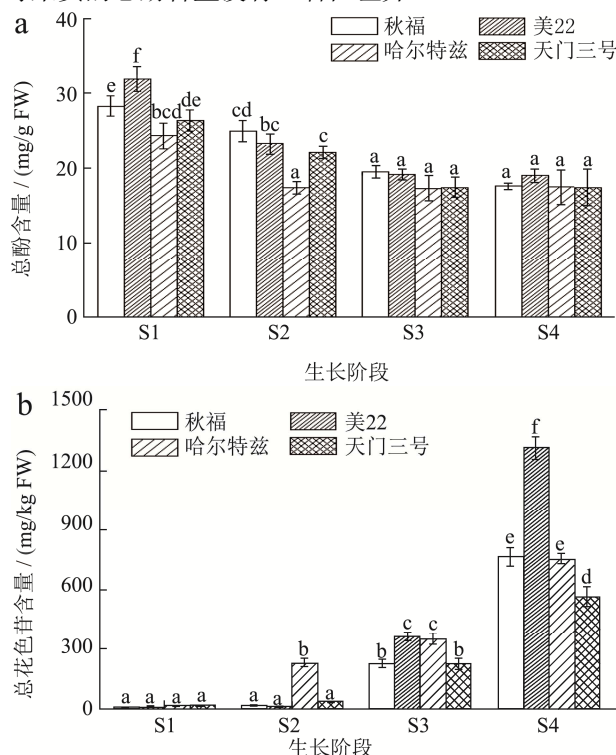


图1 四种树莓果实成熟过程中总酚(a)和总花色苷(b)含量的变化

Fig.1 Changes in total phenolics (a) and total anthocyanins (b) contents of four cultivars during raspberry fruit ripening

注: a、b、c、d、e、f表示不同组之间的显著性差异( $p < 0.05$ )。

有研究表明，树莓果实含有较高的花色苷含量，使其具有较强的抗氧化活性<sup>[23]</sup>。因此，针对四种树莓果实成熟过程中总花色苷含量的变化也进行了研究。由图1b可知，四种树莓果实成熟过程中总花色苷含量呈上升趋势，从其颜色的变化也可看出，树莓果实成熟过程中其颜色逐渐由绿变红；在 S4 阶段，四种树

莓果实的总花色苷含量均达到最高，其中美 22 树莓果实总花色苷含量最高 (1311.27 mg/kg FW)，这表明树莓果实中花色苷的形成和积累主要发生在树莓果实成熟过程中的 S4 阶段。Yang 等<sup>[8]</sup>也发现树莓果实成熟过程中总花色苷含量不断升高，尤其在树莓果实成熟的末期，其总花色苷含量急剧升高。

## 2.2 树莓果实酚类物质的结构鉴定

花色苷是一类重要的天然有机化合物，广泛存在于浆果中，它不仅可用于食用型色素，而且对预防肿瘤、心血管等疾病有重要作用<sup>[5]</sup>。鞣花单宁与花色苷均是树莓果实的代表性酚类化合物。为进一步研究树莓果实成熟过程中特征活性物质的变化，采用高效液相色谱联合四级杆飞行时间质谱对树莓果实单体酚进行解析。根据一级质谱分子量、二级碎片以及紫外可见光谱、标准品的保留时间及参考文献，共鉴定出 9 种单体酚，包括 5 种花色苷，矢车菊素 3-O-槐糖苷、矢车菊素 3-(2"-O-葡萄糖)芸香苷、矢车菊素 3-O-葡萄糖苷、矢车菊素 3-O-芸香苷和天竺葵素 3-O-葡萄糖苷；3 种鞣花单宁，Lambertianin C，地榆素 H-6(sanguin H-6)，鞣花酸；树莓酮 (表 2)。

酚类化合物的结构鉴定以矢车菊素 3-O-槐糖苷为例，其他化合物的结构鉴定类似。根据[M+H]<sup>+</sup>精确母离子分子量 611.16068 u 推测其分子式为 C<sub>27</sub>H<sub>31</sub>O<sub>16</sub>，二级碎片 ms/287 为典型的矢车菊素分子量，ms/449 与 ms/287 相差 162 u，推测为矢车菊素六碳糖苷，ms/611 与 ms/449 相差 162 u，推测为矢车菊素-六碳糖-六碳糖苷，然后根据标准品的保留时间，以及标准品相同的紫外可见光谱图 ( $\lambda_{max}$  279 nm 和 515 nm)，确定其为矢车菊素 3-O-槐糖苷。

表 2 液相质谱联用鉴定树莓果实中花色苷类和非花色苷类酚类化合物

Table 2 LC-MS Identification of anthocyanin and non- anthocyanin phenolic compounds in raspberry fruit

物质种类	保留时间/min	$\lambda_{max}/nm$	MS( $m/z$ )	MS/MS( $m/z$ )	分子式
花色苷类酚类化合物					
矢车菊素 3-O-槐糖苷	28.824	279, 515	611.16068 ([M+H] <sup>+</sup> )	449, 287	C <sub>27</sub> H <sub>31</sub> O <sub>16</sub>
矢车菊素 3-(2"-O-葡萄糖)芸香苷	31.619	279, 515	757.21853 ([M+H] <sup>+</sup> )	611, 287	C <sub>33</sub> H <sub>41</sub> O <sub>20</sub>
矢车菊素 3-O-葡萄糖苷	33.163	279, 515	449.10712 [M+H] <sup>+</sup>	287, 137	C <sub>21</sub> H <sub>21</sub> O <sub>11</sub>
矢车菊素 3-O-芸香苷	36.258	280, 517	595.16506 [M+H] <sup>+</sup>	449, 287	C <sub>27</sub> H <sub>31</sub> O <sub>15</sub>
天竺葵素 3-O-葡萄糖苷	38.580	275, 501	433.11250 [M+H] <sup>+</sup>	271	C <sub>21</sub> H <sub>21</sub> O <sub>10</sub>
非花色苷类酚类化合物					
Lambertianin C	51.797	281	1401.03468 [M-2H] <sup>2-</sup>	1869, 1567, 1265, 1103, 933, 301	C <sub>123</sub> H <sub>80</sub> O <sub>78</sub>
地榆素 H-6	52.98	280	1869.15813 [M-H] <sup>-</sup>	1567, 1265, 1103, 933, 631, 301	C <sub>82</sub> H <sub>54</sub> O <sub>52</sub>
鞣花酸	57.394	254, 367	301.00635 [M-H] <sup>-</sup>	257, 229	C <sub>14</sub> H <sub>6</sub> O <sub>8</sub>
树莓酮	55.62	276	165.07216 [M+H] <sup>+</sup>	107, 77	C <sub>10</sub> H <sub>12</sub> O <sub>2</sub>

表3 四种树莓果实成熟过程中5种花色苷酚类化合物的含量(mg/kg FW)

Table 3 Quantification of 5 anthocyanin phenolic compounds in four cultivars at different ripening stages of raspberry fruit

种类	成熟阶段	矢车菊素 3-O-槐糖苷	矢车菊素 3-(2"-O- 葡萄糖)芸香苷	矢车菊素 3-O-葡萄糖苷	矢车菊素 3-O-芸香苷	天竺葵素 3-O-葡萄糖苷
秋福	S1	ND	ND	8.39±1.12 <sup>a</sup>	ND	ND
	S2	ND	ND	16.95±0.84 <sup>a</sup>	ND	ND
	S3	100.06±8.96 <sup>b</sup>	27.01±3.24 <sup>b</sup>	71.5±6.54 <sup>c</sup>	28.23±1.16 <sup>b</sup>	ND
	S4	239.11±6.58 <sup>d</sup>	163.73±13.24 <sup>d</sup>	192.48±15.48 <sup>e</sup>	171.14±10.58 <sup>e</sup>	ND
美 22	S1	ND	ND	11.92±0.46 <sup>a</sup>	ND	ND
	S2	ND	ND	10.91±1.58 <sup>a</sup>	ND	ND
	S3	134.01±11.38 <sup>c</sup>	ND	230.91±8.96 <sup>f</sup>	ND	ND
	S4	463.93±20.45 <sup>e</sup>	8.23±2.64 <sup>a</sup>	797.94±30.58 <sup>h</sup>	21.75±0.46 <sup>b</sup>	19.45±1.54
哈尔特兹	S1	ND	ND	17.54±1.55 <sup>a</sup>	ND	ND
	S2	144.18±14.23 <sup>c</sup>	ND	87.85±6.54 <sup>c</sup>	ND	ND
	S3	226.58±20.03 <sup>d</sup>	ND	126.78±8.54 <sup>d</sup>	ND	ND
	S4	473.05±10.58 <sup>e</sup>	ND	278.75±14.23 <sup>g</sup>	ND	4.16±0.84
天门三号	S1	ND	ND	14.26±2.26 <sup>a</sup>	2.31±0.23 <sup>a</sup>	ND
	S2	ND	ND	26.42±3.58 <sup>a</sup>	7.78±0.88 <sup>a</sup>	ND
	S3	62.91±5.34 <sup>a</sup>	55.47±4.86 <sup>c</sup>	50.29±2.44 <sup>b</sup>	57.94±12.34 <sup>c</sup>	ND
	S4	132.44±16.98 <sup>c</sup>	196.48±8.12 <sup>c</sup>	77.49±9.67 <sup>c</sup>	159.32±14.58 <sup>d</sup>	ND

注: 所有数值表示为平均值±标准差, n=3; ND 表示未测出; 同一列中标有相同小写字母表示组间无显著性差异 ( $p>0.05$ ), 不同小写字母表示组间有显著性差异 ( $p<0.05$ )。

### 2.3 树莓果实成熟过程中花色苷的变化

从表3可以看出, 品种和成熟阶段对树莓果实花色苷组成和含量影响较大; 矢车菊素 3-O-槐糖苷, 矢车菊素 3-O-葡萄糖苷, 矢车菊素 3-(2"-O-葡萄糖)芸香苷和矢车菊素 3-O-芸香苷是树莓果实中主要的花色苷, 与已有研究结果是相同的<sup>[13,24]</sup>。矢车菊素 3-O-槐糖苷和矢车菊素 3-O-葡萄糖苷在四种树莓果实中均可检测到, 在秋福、美 22 和天门三号树莓果实中均可检测到矢车菊素 3-(2"-O-葡萄糖)芸香苷和矢车菊素 3-O-芸香苷, 而天竺葵素 3-O-葡萄糖苷仅在美 22 和哈尔特兹树莓果实中检测到。5 种花色苷类化合物在树莓果实的成熟过程中均呈上升趋势。四种树莓果实完全成熟时, 花色苷含量为美 22 (1311.3 mg/kg FW) > 秋福 (766.46 mg/kg FW) > 哈尔特兹 (755.96 mg/kg FW) > 天门三号 (565.73 mg/kg FW); 秋福中矢车菊素 3-O-芸香苷的含量最高 (171.14 mg/kg FW); 美 22 树莓果实中矢车菊素 3-O-葡萄糖苷和天竺葵素 3-O-葡萄糖苷的含量最高, 分别为 797.94 和 19.45 mg/kg FW; 哈尔特兹树莓果实中矢车菊素 3-O-槐糖苷的含量最高 (473.05 mg/kg FW); 天门三号树莓果实中矢车菊素 3-(2"-O-葡萄糖)芸香苷的含量最高 (196.48 mg/kg FW)。以上结果表明, 不同品种树莓果实成熟

过程中其花色苷组成和含量存在差异<sup>[25]</sup>。Chen 等<sup>[26]</sup>研究了 15 种树莓果实中花色苷的含量和组成, 根据花色苷的组成和含量可将 15 种树莓果实分为 3 组, 深红色和黑色树莓果实组的花色苷含量均达 4633 mg/100 g DW, 且其主要的花色苷类酚类化合物为矢车菊素 3-O-葡萄糖苷和矢车菊素 3-O-芸香苷; 而粉红色组树莓果实花色苷含量仅有 704 mg/100 g DW, 其主要花色苷类为矢车菊素 3-O-槐糖苷和矢车菊素 3-(2"-O-葡萄糖)芸香苷。Yang 等<sup>[8]</sup>也发现不同成熟阶段树莓果实中花色苷类化合物组成和含量有较大差异。

### 2.4 四种树莓果实成熟过程中非花色苷酚类物质含量的变化

从四种树莓果实中共鉴定出 4 种非花色苷类酚类物质, 分别是 Lambertianin C、地榆素 H-6、树莓酮和鞣花酸 (表 4)。其中, 鞣花酸、Lambertianin C 和地榆素 H-6 属于鞣花单宁类物质<sup>[20]</sup>。而树莓酮是唯一一种能够产生天然树莓果实果香的物质, 可有效促进脂质代谢, 从而达到减脂的作用<sup>[27]</sup>。四种树莓果实中 Lambertianin C 和地榆素 H-6 的含量均远高于鞣花酸的含量, 与已有报道结果一致<sup>[23]</sup>, 鞣花鞣质类化合物只有经酸解或碱解后才会大量形成鞣花酸。Gasperotti

等<sup>[28]</sup>也发现 Polka 和 Polana 树莓品种果实中的 Lambertianin C 和地榆素 H-6 含量占总鞣花单宁类物质含量的 64%。除秋福树莓果实外,美 22、哈尔特兹和天门三号树莓果实在其成熟过程中 Lambertianin C, 地榆素 H-6 和树莓酮的含量均呈逐渐下降的趋势。而

鞣花酸在四种树莓果实成熟过程中均呈先下降后上升的趋势。当四种树莓果实完成成熟时,美 22 树莓果实中 Lambertianin C、地榆素 H-6、树莓酮和鞣花酸的含量均为最高,分别为 166.27、208.93、2.64 和 33.02 μg/g FW。

表 4 四种树莓果实成熟过程中 4 种非花色苷酚类物质的含量 (μg/g FW)

Table 4 Quantification of 4 non-anthocyanin phenolic compounds in four cultivars at different ripening stages of raspberry fruit

种类	成熟阶段	Lambertianin C	地榆素 H-6	树莓酮	鞣花酸
秋福	S1	135.51±10.58 <sup>bc</sup>	209.86±12.64 <sup>de</sup>	2.74±0.40 <sup>b</sup>	95.33±4.32 <sup>g</sup>
	S2	387.35±20.45 <sup>h</sup>	368.16±20.34 <sup>f</sup>	3.68±0.15 <sup>c</sup>	26.70±7.23 <sup>bcd</sup>
	S3	216.35±5.56 <sup>f</sup>	194.23±20.36 <sup>cd</sup>	0.64±0.20 <sup>a</sup>	11.33±1.33 <sup>a</sup>
	S4	124.77±16.34 <sup>ab</sup>	117.51±6.54 <sup>b</sup>	0.48±0.08 <sup>a</sup>	15.13±0.84 <sup>ab</sup>
美 22	S1	459.06±20.58 <sup>i</sup>	687.78±35.46 <sup>i</sup>	9.55±1.32 <sup>c</sup>	123.13±8.64 <sup>h</sup>
	S2	316.56±12.66 <sup>g</sup>	399.00±8.45 <sup>g</sup>	5.65±0.85 <sup>d</sup>	37.03±6.42 <sup>d</sup>
	S3	192.21±8.46 <sup>ef</sup>	236.09±20.14 <sup>e</sup>	2.30±0.30 <sup>b</sup>	16.94±3.22 <sup>ab</sup>
	S4	166.27±10.12 <sup>de</sup>	208.93±16.58 <sup>de</sup>	2.64±0.16 <sup>b</sup>	33.02±4.84 <sup>cd</sup>
哈尔特兹	S1	427.36±34.22 <sup>i</sup>	362.19±20.67 <sup>f</sup>	4.39±0.28 <sup>c</sup>	53.56±7.62 <sup>e</sup>
	S2	142.21±12.45 <sup>bcd</sup>	110.32±13.44 <sup>b</sup>	0.61±0.06 <sup>a</sup>	11.11±2.32 <sup>a</sup>
	S3	135.88±8.36 <sup>bc</sup>	114.78±10.62 <sup>b</sup>	0.55±0.12 <sup>a</sup>	9.46±1.48 <sup>a</sup>
	S4	105.73±10.84 <sup>d</sup>	77.09±8.88 <sup>a</sup>	0.40±0.08 <sup>a</sup>	19.13±3.36 <sup>abc</sup>
天门三号	S1	388.46±26.43 <sup>h</sup>	740.22±16.44 <sup>j</sup>	2.46±0.42 <sup>b</sup>	184.32±20.32 <sup>i</sup>
	S2	322.42±16.54 <sup>g</sup>	435.52±30.48 <sup>h</sup>	1.08±0.13 <sup>a</sup>	79.07±15.48 <sup>f</sup>
	S3	160.33±5.24 <sup>cd</sup>	210.81±8.64 <sup>de</sup>	0.67±0.09 <sup>a</sup>	18.02±2.32 <sup>ab</sup>
	S4	122.95±6.88 <sup>ab</sup>	171.39±11.32 <sup>c</sup>	0.59±0.07 <sup>a</sup>	20.18±4.55 <sup>abc</sup>

注: 所有数值表示为平均值±标准差, n=3; ND 表示未测出; 同一列中标有相同小写字母表示组间无显著性差异 (p>0.05), 不同小写字母表示组间有显著性差异 (p<0.05)。

## 2.5 四种树莓果实成熟过程中超氧化物歧化酶活性的变化

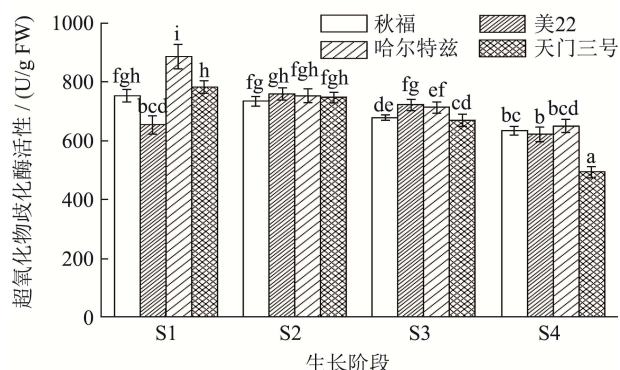


图 2 四种树莓果实成熟过程中总超氧化物歧化酶活性的变化  
Fig.2 Changes in superoxide dismutase activity of four cultivars during raspberry fruit ripening

注: a、b、c、d、e、f 表示不同组之间的显著性差异 (p<0.05)。

水果中天然存在的内源性酶对其质构、风味和颜色有较大影响,例如酯酶和果胶酶能够直接影响水果

的成熟度和风味<sup>[29,30]</sup>。超氧化物歧化酶也是一种水果中常见的内源性酶,它可以用来反映水果的抗氧化活性,具有抗癌、抗心血管疾病和延缓衰老等功能<sup>[14]</sup>。因此,研究树莓果实过程中超氧化物歧化酶活性的变化是尤为必要的。如图 2 所示,除美 22 树莓果实外,其他三种树莓果实成熟过程中超氧化物歧化酶的活性均呈下降趋势,而美 22 树莓果实成熟过程中超氧化物歧化酶的活性呈先上升后下降的趋势。当树莓果实完全成熟后,天门三号树莓果实中超氧化物歧化酶的活性是最低的,仅有 495.01 U/g FW。以上结果表明,四种树莓果实成熟过程中超氧化物歧化酶活性总体呈下降趋势。

## 3 结论

本研究解析了不同成熟阶段四种树莓果实中总酚、总花色苷、花色苷类酚类物质、非花色苷类酚类物质、超氧化物歧化酶的变化规律,在四种树莓果实成熟过程中,总酚含量和超氧化物歧化酶活性呈下降趋势,而其总花色苷含量呈上升趋势;采用超高效液

相色谱-串联质谱仪鉴定出 9 种单体酚类物质, 分别为矢车菊素 3-O-槐糖苷、矢车菊素 3-(2"-O-葡萄糖)芸香苷、矢车菊素 3-O-葡萄糖苷、矢车菊素 3-O-芸香苷、天竺葵素 3-O-葡萄糖苷、Lambertianin C、地榆素 H-6、树莓酮和鞣花酸; 通过对单体酚定量分析发现, 矢车菊素 3-O-槐糖苷和矢车菊素 3-O-葡萄糖苷是树莓果实主要的花色苷类酚类物质, Lambertianin C 和地榆素 H-6 是树莓果实主要的非花色苷类酚类物质。以上研究结果表明, 树莓果实的品种和成熟阶段对其特征活性物质有较大的影响, 根据不同的需求选择合适的树莓果实。本研究为我国中部地区树莓果实的开发利用提供了理论依据。

### 参考文献

- [1] Foster T M, Bassil N V, Dossett M, et al. Genetic and genomic resources for *Rubus* breeding: a roadmap for the future [J]. Horticulture Research, 2019, 6(1): 116
- [2] Giovanelli G, Limbo S, Buratti S. Effects of new packaging solutions on physico-chemical, nutritional and aromatic characteristics of red raspberries (*Rubus idaeus* L.) in postharvest storage [J]. Postharvest Biology and Technology, 2014, 98: 72-81
- [3] Yao J, Chen J, Yang J, et al. Free, soluble-bound and insoluble-bound phenolics and their bioactivity in raspberry pomace [J]. LWT - Food Science and Technology, 2021, 135: 109995
- [4] Noratto G D, Chew B P, Atienza L M. Red raspberry (*Rubus idaeus* L.) intake decreases oxidative stress in obese diabetic (db/db) mice [J]. Food Chemistry, 2017, 227: 305-314
- [5] Teng H, Fang T, Lin Q, et al. Red raspberry and its anthocyanins: bioactivity beyond antioxidant capacity [J]. Trends in Food Science & Technology, 2017, 66: 153-165
- [6] Lin B, Gong C, Song H, et al. Effects of anthocyanins on the prevention and treatment of cancer [J]. British Journal of Pharmacology, 2017, 174(11): 1226-1243
- [7] Yu G, Luo Z, Wang W, et al. *Rubus chingii* Hu: a review of the phytochemistry and pharmacology [J]. Frontiers in Pharmacology, 2019, 10: 799
- [8] Yang J, Cui J, Chen J, et al. Evaluation of physicochemical properties in three raspberries (*Rubus idaeus*) at five ripening stages in northern China [J]. Scientia Horticulturae, 2020, 263: 109146
- [9] Stavang J, Freitag S, Foito A, et al. Raspberry fruit quality changes during ripening and storage as assessed by colour, sensory evaluation and chemical analyses [J]. Scientia Horticulturae, 2015, 195: 216-225
- [10] Ponder A, Hallmann E. The effects of organic and conventional farm management and harvest time on the polyphenol content in different raspberry cultivars [J]. Food Chemistry, 2019, 301: 125295
- [11] Oszmiański J, Lachowicz S, Gorzelany J, et al. The effect of different maturity stages on phytochemical composition and antioxidant capacity of cranberry cultivars [J]. European Food Research and Technology, 2018, 244(4): 705-719
- [12] Klewicka E, Sójka M, Klewicki R, et al. Ellagitannins from raspberry (*Rubus idaeus* L.) fruit as natural inhibitors of *Geotrichum candidum* [J]. Molecules, 2016, 21(7): 908
- [13] Zhang X, Sandhu A, Edirisinghe I, et al. An exploratory study on red raspberry (*Rubus idaeus* L.) (Poly) phenols/metabolites in human biological samples [J]. Food & Function, 2018, 9(2): 806-818
- [14] Hou Z, Zhao L, Wang Y, et al. Effects of high pressure on activities and properties of superoxide dismutase from chestnut rose [J]. Food Chemistry, 2019, 294: 557-564
- [15] Selvaraj K, Katare D P, Kumar P, et al. *Juglans regia* and *Ribes nigrum* as potential nutraceuticals: source of thermostable superoxide dismutase enzyme [J]. Journal of Food Biochemistry, 2019, 43(5): 12823
- [16] Grene A R, Neval E, Heath L S. Role of superoxide dismutases (SODs) in controlling oxidative stress in plants [J]. Journal of Experimental Botany, 2002, 53(372): 1331-1341
- [17] Kengen S W, Luesink E J, Stams A J, et al. Purification and characterization of an extremely thermostable beta-glucosidase from the hyperthermophilic archaeon *Pyrococcus furiosus* [J]. European Journal of Biochemistry, 2010, 213(1): 305-312
- [18] 韩红娟,杨静,陈晓,等. 树莓叶片中主要抗氧化物质提取工艺优化研究[J]. 云南大学学报, 2018, 194(2): 321-331  
HAN Hong-juan, YANG Jing, CHEN Xiao, et al. Study on optimization of extraction process of main antioxidant substances from raspberry leaves [J]. Journal of Yunnan University, 2018, 194(2): 321-331
- [19] 陈思睿,贾仕杰,刘畅,等. 东北 6 种红树莓叶酚类化合物的鉴定及抗氧化活性分析[J]. 食品科学, 2019, 40(20): 227-233  
CHEN Si-rui, JIA Shi-jie, LIU Chang, et al. Phenolic compounds and antioxidant capacities of six varieties of red raspberry leaves from northeast China [J]. Food Science, 2019, 40(20): 227-233
- [20] Micha, Sójka, Jakub, et al. Transfer and mass balance of ellagitannins, anthocyanins, flavan-3-ols, and flavonols

- during the processing of red raspberries (*Rubus idaeus* L.) to juice [J]. *Journal of Agricultural & Food Chemistry*, 2016, 64(27): 5549-5563
- [21] Wen J, Ma L, Xu Y, et al. Effects of probiotic litchi juice on immunomodulatory function and gut microbiota in mice [J]. *Food Research International*, 2020, 137: 109433
- [22] Octavio P, Martha L C, Mónica V, et al. Berries: improving human health and healthy aging, and promoting quality life-a review [J]. *Plant Foods for Human Nutrition*, 2010, 65: 299-308
- [23] Bobinaitė R, Viškelis P, Venskutonis P R. Variation of total phenolics, anthocyanins, ellagic acid and radical scavenging capacity in various raspberry (*Rubus* spp.) cultivars [J]. *Food Chemistry*, 2012, 132(3): 1495-1501
- [24] Dietrich H, Schöppl E, Rasim S, et al. Cultivar, storage conditions and ripening effects on physical and chemical qualities of red raspberry fruit [J]. *Postharvest Biology and Technology*, 2011, 60: 31-37
- [25] de Ancos B, Ibañez E, Reglero G, et al. Frozen storage effects on anthocyanins and volatile compounds of raspberry fruit [J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2000, 48(3): 873-879
- [26] Chen L, Xin X, Zhang H, et al. Phytochemical properties and antioxidant capacities of commercial raspberry varieties [J]. *Journal of Functional Foods*, 2013, 5(1): 508-515
- [27] Jungmin L. Further research on the biological activities and the safety of raspberry ketone is needed [J]. *NFS Journal*, 2016, 2: 15-18
- [28] Gasperotti M, Masuero D, Vrhovsek U, et al. Profiling and accurate quantification of *Rubus* ellagitannins and ellagic acid conjugates using direct UPLC-Q-TOF HDMS and HPLC-DAD analysis [J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2010, 58(8): 4602-4616
- [29] Kohli P, Gupta R. Alkaline pectinases: a review [J]. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 2015, 4(3): 279-285
- [30] Ramírez E, Brenes M, Garcia P, et al. Oleuropein hydrolysis in natural green olives: importance of the endogenous enzymes [J]. *Food Chemistry*, 2016, 206: 204-209

---

(上接第 61 页)

- [25] Suzuki A, Ikegami D, Narita M, et al. Enhanced IL-1 $\beta$  production in response to the activation of hippocampal glial cells impairs neurogenesis in aged mice [J]. *Synapse*, 2010, 64(9): 721-728
- [26] 朱国庆. 5-羟色胺和环磷酸腺苷对睡眠的影响[J]. *中国药理学通报*, 1999, 49(2): 135-140  
ZHU Guo-qing. Effects of serotonin and camp on sleep [J]. *Chinese Pharmacology Bulletin*, 1999, 49(2): 135-140
- [27] 卞勇, 唐向东. 百乐眠胶囊对失眠症小鼠的治疗机制[J]. *中华医学志*, 2014, 94(46): 3671-3674  
BIAN Yong, TANG Xiang-dong. Therapeutic mechanism of Bailemian capsule on insomnia mice [J]. *Chinese Medical Journal*, 2014, 94(46): 3671-3674
- [28] 耿淑婷, 罗鑫磊, 钱倩宇, 等. 天麻水煎剂对慢性束缚应激小鼠行为学和 5-羟色胺含量的影响[J]. *浙江中医药大学学报*, 2020, 44(6): 568-575  
GENG Shu-ting, LUO Xin-lei, QIAN Qian-yu, et al. Effects of Tianma decoction on behavior and serotonin content in mice with chronic restraint stress [J]. *Journal of Zhejiang University of Traditional Chinese Medicine*, 2020, 44(6): 568-575
- [29] 邱麟, 高正伟, 李中秋, 等. 氧化应激及炎症因子与睡眠呼吸暂停低通气综合征患者脑卒中发病的相关性[J]. *神经损伤与功能重建*, 2019, 14(12): 656-657  
QIU Lin, GAO Zheng-wei, LI Zhong-qiu, et al. Correlation between oxidative stress, inflammatory factors and stroke in patients with sleep apnea hypopnea syndrome [J]. *Nerve Injury and Functional Reconstruction*, 2019, 14(12): 656-657
- [30] Kikuchi K, Kawahara K, Tancharoen S, et al. The free radical scavenger edaravone rescues rats from cerebral infarction by attenuating the release of high-mobility group box-1 in neuronal cell [J]. *J Pharmacol Exp Ther*, 2009, 329(3): 865-874