

文章编号: 1004-4353(2016)02-0119-04

# 蓝莓果酒和蓝莓浸泡酒的抗氧化及降血脂活性研究

张玲<sup>1</sup>, 李影<sup>1</sup>, 曹思明<sup>1</sup>, 金铁岩<sup>1,2\*</sup>

( 1. 延边大学理学院 化学系, 吉林 延吉 133002; 2. 延边大学农学院 食品科学系, 吉林 延吉 133002 )

**摘要:** 以 pH 示差法及 Folin-Ciocalteu 法测定并比较了蓝莓果酒和蓝莓浸泡酒中花青素和多酚的含量,并以维生素 C 为阳性对照,测定了蓝莓果酒和蓝莓浸泡酒对自由基的清除能力及其总抗氧化能力,结果发现蓝莓果酒比浸泡酒具有更多的花青素和多酚,以及更强的抗氧化性;以脂肪乳复制高血脂动物模型,测定了蓝莓果酒对小鼠血清总胆固醇(TC)、甘油三酯(TG)、高密度脂蛋白(HDL-C)含量变化,结果表明蓝莓果酒能显著降低 TC 和 TG 水平,升高 HDL-C 水平.

**关键词:** 抗氧化活性; 花青素; 蓝莓果酒; 降血脂; 多酚

**中图分类号:** TS262.7      **文献标识码:** A

## Study on antioxidant and activity of reducing lipid of blueberry wine and soaked wine

ZHANG Ling<sup>1</sup>, LI Ying<sup>1</sup>, CAO Siming<sup>1</sup>, JIN Tieyan<sup>1,2\*</sup>

( 1. Department of Chemistry, College of Science, Yanbian University, Yanji 133002, China; 2. Department of Food Science and Engineering, College of Agricultural, Yanbian University, Yanji 133002, China )

**Abstract:** The contents of polyphenols and anthocyanins in blueberry wine and soak wine were detected and compared by using pH differential method and Folin-Ciocalteu method. And free radical scavenging capacity and total antioxidant capacity of blueberry wine and blueberry soak wine were determined and vitamin C was used as positive control. The results showed that the content of anthocyanins and polyphenols in blueberry wine were higher than that in soak wine, and blueberry wine had a better antioxidant capacity. The change of total cholesterol (TC), triglyceride (TG) and high density lipoprotein (HDL-C) of mice serum blueberry wine were detected basing on animal model with high blood fat in which that fat milk to discuss the hypolipidemic effect of blueberry wine. The further study indicted that blueberry wine have a significantly effect on reducing the level of TC, TG and enhance level of HDL-C.

**Keywords:** antioxidant; anthocyanins; blueberry wine; reducing lipid; polyphenols

蓝莓原产于北美,营养丰富,除直接鲜食外,现在市场上已有其各种加工制品<sup>[1]</sup>. 蓝莓果酒是以人工种植或野生的蓝莓为原材料,糖类为辅料,经过挑选、破碎、发酵或浸泡等一系列工艺酿制而成的低酒精度饮料<sup>[2]</sup>. 蓝莓果酒酸甜适中,口感醇厚,不仅保留了水果中原有的糖类、维生素、矿物质和氨基酸等营养物质,还具有调节人体新陈代谢、促进血液循环、降低心脑血管类疾病的发病率、增强人体免疫力、控制体内胆固醇水平、抗氧化、抗衰老等医疗保健作用<sup>[3-4]</sup>,因此受到人们的喜爱.

基于蓝莓果的良好发展前景,近年来学者们不断加大了对蓝莓的研究,包括蓝莓的商业化栽培、蓝莓加工制品的研发及蓝莓果实中功能成分的提取等.刘庆忠等对蓝莓的生产与利用进行研究,筛选和培育了高产品种<sup>[5]</sup>.李颖畅等研究了蓝莓花色苷的降血脂和抗氧化作用,发现其能够显著降低高脂血症大鼠的血脂水平和动脉粥样硬化指数,并能够增强超氧化物歧化酶(SOD)活性<sup>[6]</sup>;陈亮等在蓝莓发酵期间对其抗氧化能力进行了研究,发现随着发酵时间的延长蓝莓果酒中花青素和总酚的含量不断下降,同时其还原力和自由基清除能力不断降低,但达到一定程度后趋于稳定<sup>[7]</sup>.

蓝莓浸泡酒制作工艺简单,将新鲜蓝莓果实按比例浸泡于高度白酒中,在室温下浸泡 3 个月即可.蓝莓浸泡酒的酒精度较高,与普通粮食酿造酒相比,其具有较强的抗氧化性<sup>[8]</sup>.为了研究蓝莓果酒和浸泡酒的抗氧化性以及降血脂活性,本文首先测定了蓝莓果酒和蓝莓浸泡酒中花青素和总酚的含量,然后通过测定·DPPH 清除率、·OH 清除率、·O<sub>2</sub><sup>-</sup>清除率及总抗氧化能力来评价蓝莓果酒和浸泡酒的抗氧化能力;给小鼠饲喂高脂乳剂建立高脂动物模型,然后对小鼠灌胃一定量的蓝莓酒,以此探讨蓝莓酒在降血脂方面的功效.

## 1 材料与方法

### 1.1 材料与试剂

蓝莓果酒(利用 ferminvin 酵母进行低温发酵);蓝莓浸泡酒(体积分数为 60% 的食用酒精添加 30% 蓝莓鲜果汁,在室温条件下浸泡 3 个月);小白鼠:CL 级 KM 种小鼠,雌雄各半,延边大学动物实验基地提供;高脂乳剂由蛋黄 10 g、油 15 g、胆盐 8 g、聚山梨脂 2 g、丙二醇 1.5 mL 并加蒸馏水至 100 mL 制成;二甲基噻唑蓝和二甲基亚砷均由 Sigma 公司生产.

### 1.2 仪器设备

ST-360 型酶标仪,上海科华试验系统有限公司生产;RE-52AA 型旋转蒸发仪,上海亚荣生化仪器厂生产;U-3900 型紫外分光光度计,日本日立高科技公司生产;TGL-18 型台式离心机,湖南

星科科学仪器有限公司生产.

### 1.3 实验方法

**1.3.1 蓝莓酒抗氧化能力的测定** 测定花青素采用 pH 示差法<sup>[9]</sup>,根据花青素在不同 pH 值条件下对不同波长的紫外光吸收程度不同进行测定;根据 Folin-Ciocalteus 法<sup>[10]</sup>并稍作改动测定总酚;采用 Kilani 法<sup>[11]</sup>以乙醇为参比液测定·DPPH 清除能力;·OH 清除能力的测定采用水杨酸法<sup>[12]</sup>,利用 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 与 Fe<sup>2+</sup> 反应产生羟自由基,在体系内加入水杨酸产生有色物质后利用紫外分光光度计进行测定;·O<sub>2</sub><sup>-</sup>清除能力的测定采用邻苯三酚自氧化的方法<sup>[13]</sup>;蓝莓酒总抗氧化能力的测定以叔丁基茴香醚(BHA)以及维生素 C(Vc)作为对照<sup>[14]</sup>.

**1.3.2 小鼠饲养及管理** 将小鼠分为普通对照组、高血脂对照组、蓝莓酒降血脂试验组,每组 10 只.3 组小鼠都喂养普通饲料,自由饮水,饲养 30 d.高血脂对照组、蓝莓酒降血脂试验组同时灌胃高脂乳剂,普通对照组和高血脂对照组每天均灌胃 0.5 mL/20 g,蓝莓酒降血脂试验组每天灌胃等量的蓝莓果酒.

**1.3.3 理化指标检测** 将饲养 30 d 后的小白鼠禁食不禁水 12 h,颈总动脉采血,离心后取其上清液得血清,然后按照试剂盒要求的测定条件和程序测定 TC、TG 和 HDL-C 含量<sup>[15-16]</sup>.

## 2 结果与分析

### 2.1 蓝莓酒中花青素与总酚的含量

由表 1 可知,蓝莓果酒中花青素与总酚类的含量都显著高于蓝莓浸泡酒,可见利用微生物发酵的方法可使蓝莓果实中的活性成分更好地溶出<sup>[17]</sup>.

表 1 蓝莓酒中花青素与总酚类含量

样品	花青素含量/ (mg/100 mL)	总酚含量/ (mg/100 mL)
蓝莓果酒	9.52±1.06 <sup>a</sup>	86.75±3.06 <sup>a</sup>
蓝莓浸泡酒 (0.3 g/mL)	4.74±0.51 <sup>b</sup>	43.21±2.54 <sup>b</sup>

注:1)平均值±标准偏差(n=3);2)同列具有不同肩标字母的指标具有差异显著(P<0.05).

### 2.2 蓝莓酒清除·DPPH 的能力

利用 SPSS 软件对数据进行处理,用 IC<sub>50</sub> 表

示抗氧化能力大小,IC<sub>50</sub>值越小,表示样品的抗氧化能力越强. 蓝莓果酒和蓝莓浸泡酒的 IC<sub>50</sub> 分别为 14.32 μg/mL 和 20.51 μg/mL,Vc 的 IC<sub>50</sub> 为 11.24 μg/mL,多重比较后三者都存在显著性差异,其中 Vc 的抗氧化能力最强,其次是蓝莓果酒,如表 2 中所示,由此可见蓝莓中的营养成分能在发酵过程中较好地溶解在果酒里.

表 2 蓝莓酒对 ·DPPH 的清除率 μg/mL

样品	·DPPH 清除率(IC <sub>50</sub> )
蓝莓果酒	14.32±1.17 <sup>b</sup>
蓝莓浸泡酒(0.3 g/mL)	20.51±1.46 <sup>a</sup>
Vc(0.1 mg/mL)	11.24±0.53 <sup>c</sup>

注:1)平均值±标准偏差(n=3);2)同列具有不同肩标字母的指标具有差异显著(P<0.05).

2.3 蓝莓酒清除 ·OH 和 ·O<sub>2</sub><sup>-</sup> 的能力

·OH 是最活泼的一类活性分子,具有极强的氧化性能,是对机体危害最大的自由基.超氧阴离子 ·O<sub>2</sub><sup>-</sup> 是第一个生成的活性氧自由基,不仅自身具有毒性,还可以经过一系列化学反应转化为其他所有的氧自由基,从而进一步对生物体进行损害.由表 3 可知,2 种蓝莓酒对 ·OH 和 ·O<sub>2</sub><sup>-</sup> 的清除能力都高于 0.1 mg/mL 的 Vc 溶液对二者的清除能力,其中蓝莓果酒对 ·OH 和 ·O<sub>2</sub><sup>-</sup> 的清除率分别为 54.8% 和 38.52%,表现出较好的抗氧化性.

表 3 蓝莓酒对 ·OH 和 ·O<sub>2</sub><sup>-</sup> 的清除率

样品	·OH 清除率/%	·O <sub>2</sub> <sup>-</sup> 清除率/%
蓝莓果酒	54.80±1.24 <sup>a</sup>	38.52±2.05 <sup>a</sup>
蓝莓浸泡酒(0.3 g/mL)	33.26±0.96 <sup>b</sup>	13.66±0.75 <sup>b</sup>
Vc(0.1 mg/mL)	28.16±0.31 <sup>c</sup>	12.20±0.52 <sup>b</sup>

注:1)平均值±标准偏差(n=3);2)同列具有不同肩标字母的指标具有差异显著(P<0.05).

2.4 蓝莓酒总抗氧化能力

以 Vc 和 BHA 测定蓝莓果酒和蓝莓浸泡酒的总抗氧化能力,由表 4 可知蓝莓果酒的总抗氧化能力显著高于浸泡酒.可见,与浸泡的方法相比较,发酵的方法能够更好地保留及合成花青素、酚类等抗氧化物质,使果酒具有较强的抗氧化能力.

表 4 蓝莓酒总抗氧化能力

样品	抗氧化能力/(mg/g)	
	以 Vc 计	以 BHA 计
蓝莓果酒	237.22±3.92 <sup>a</sup>	348.54±8.03 <sup>a</sup>
蓝莓浸泡酒(0.3 g/mL)	146.47±4.26 <sup>b</sup>	179.41±7.18 <sup>b</sup>

注:1)平均值±标准偏差(n=3);2)同列具有不同肩标字母的指标具有差异显著(P<0.05).

2.5 蓝莓果酒对高脂血症小鼠血脂水平的影响

由表 5 可以看出,高血脂对照组的 TC 和 TG 含量均明显高于普通对照组,分别从正常值 2.56 mmol/L 升高到 4.02 mmol/L,0.72 mmol/L 升高到 1.13 mmol/L.这说明高脂乳剂引起了小鼠 TC 和 TG 含量的升高,导致小鼠高脂血症,由此可知成功地建立了高血脂动物模型.经过蓝莓果酒灌胃后小鼠的 TG、TC 及 LDL-C 含量显著低于高血脂对照组,而 HDL-C 含量相比其他两组都略有升高.由此可见,蓝莓果酒具有降低高血脂小鼠血清中 TG、TC、LDL-C 和 HDL-C 含量的作用,可一定程度地抑制动脉粥样硬化等心脑血管疾病的发生.

3 结论

通过测定蓝莓酒中花青素、总酚类的含量表明,蓝莓果酒中的花青素、总酚类的含量均高于蓝莓浸泡酒;蓝莓浸泡酒和蓝莓果酒对 ·DPPH 的清

表 5 蓝莓果酒对高脂血症小鼠血脂水平的影响

组别	mmol/L			
	TG	TC	HDL-C	LDL-C
普通对照组	0.72±0.018 <sup>c</sup>	2.56±0.31 <sup>c</sup>	1.88±0.15 <sup>a</sup>	0.51±0.026 <sup>c</sup>
高血脂对照组	1.13±0.030 <sup>a</sup>	4.02±0.26 <sup>a</sup>	1.76±0.23 <sup>a</sup>	1.08±0.031 <sup>a</sup>
蓝莓酒试验组	0.87±0.032 <sup>b</sup>	3.60±0.45 <sup>b</sup>	1.93±0.17 <sup>a</sup>	0.82±0.068 <sup>b</sup>

注:1)平均值±标准偏差(n=3);2)同列具有不同肩标字母的指标具有差异显著(P<0.05).

除率( $IC_{50}$ )分别为  $20.51 \mu\text{g/mL}$  和  $14.32 \mu\text{g/mL}$ , 说明蓝莓果酒对清除  $\cdot\text{DPPH}$  的能力强于蓝莓浸泡酒. 蓝莓果酒和蓝莓浸泡酒对  $\cdot\text{OH}$  和  $\cdot\text{O}_2^-$  都表现出较好的清除能力, 其中蓝莓果酒的清除能力较强; 蓝莓果酒的总抗氧化能力强于蓝莓浸泡酒, 蓝莓果酒以 Vc 计为  $237.22 \text{ mg/g}$ , 以 BHA 计为  $348.54 \text{ mg/g}$ , 蓝莓浸泡酒以 Vc 计为  $146.47 \text{ mg/g}$ , 以 BHA 计为  $179.41 \text{ mg/g}$ . 蓝莓果酒能够降低高血脂小鼠血清中 TG、TC、LDL-C 的含量, 提高高血脂小鼠血清中 HDL-C 的含量, 由此说明蓝莓果酒具有降血脂的功能.

## 参考文献:

- [1] 贺强, 吴立仁. 蓝莓果实中营养成分的生物学功能[J]. 北方园艺, 2010(24): 222-224.
- [2] 王姗姗, 孙爱东, 李淑燕. 蓝莓的保健功能及其开发应用[J]. 中国食物与营养, 2010(6): 17-20.
- [3] Willy Kalt, Jane E, Mc Doonald, et al. Chemical composition of Lowbush blueberry cultivars[J]. Biological Sciences, 1996, 121(1): 142-146.
- [4] 常福兰, 郑婉霞, 汉翠. 蓝莓的生物学特性和保健作用及市场前景[J]. 黑龙江农业科学, 2013(2): 160-161.
- [5] 刘庆忠, 赵红军, 马怀宇. 北美洲的蓝莓生产与利用[J]. 落叶果树, 2003, 35(6): 55-58.
- [6] 李颖畅, 孟宪军, 孙靖靖, 等. 蓝莓花色苷的降血脂和抗氧化作用[J]. 食品与发酵工业, 2008, 34(10): 44-48.
- [7] 陈亮, 杨志勇, 辛秀兰, 等. 蓝莓果酒发酵期间抗氧化成分及活性研究[J]. 中国酿造, 2013, 27(12): 17-20.
- [8] 何国庆. 食品发酵与酿造工艺学[M]. 2 版. 北京: 中国农业出版社, 2011: 175-176.
- [9] 宋德群, 孟宪军, 王晨阳, 等. 蓝莓花色苷的 pH 示差法测定[J]. 沈阳农业大学学报, 2013, 44(2): 231-233.
- [10] 李静, 聂继云, 王孝娣, 等. Folin-Ciocalteus 法测定葡萄和葡萄酒中的总多酚[J]. 中国南方果树, 2007, 36(6): 86-87.
- [11] 彭长连, 陈少薇, 林植芳, 等. 用清除有机自由基  $\cdot\text{DPPH}$  法评价植物抗氧化能力[J]. 生物化学与生物物理进展, 2000, 27(6): 658-661.
- [12] 陈晨, 胡文忠, 田沛源, 等. 香蕉皮多酚超声辅助提取优化及其抗氧化性的研究[J]. 食品科学, 2014, 35(2): 12-17.
- [13] 张晓璐, 徐凯宏. 山楂叶总黄酮清除  $\cdot\text{DPPH}$  和超氧阴离子自由基的活性研究[J]. 林业科技, 2008, 33(5): 51-54.
- [14] Rimando A M, Cuendet M, Desmarchelier C, et al. Cancer chemopreventive and antioxidant activities of pterostilbene, a naturally occurring analogue of resveratrol[J]. Agric Food Chem, 2002, 50(12): 3453-3457.
- [15] 武金霞, 甄兴航, 刘立军, 等. 蚯蚓冻干粉对高血脂症小鼠的降血脂作用[J]. 河北大学学报(自然科学版), 2008, 28(6): 652-655.
- [16] Barros D, Amaral O B, Izquierdo I, et al. Behavioral and genoprotective effects of *Vaccinium berries* intake in mice[J]. Pharmacol Biochem Behav, 2006, 84(2): 229-234.
- [17] Iwona Scibisz, Marta Mitek. The changes of antioxidant properties in highbush blueberries (*Vaccinium corymbosum* L.) during freezing and long-term frozen storage[J]. Acta Scientiarum Polonorum: Technologia Alimentaria, 2007, 49: 64-65.