

不同提取条件对草莓果实抗氧化物质和抗氧化活性的影响

罗 娅, 王小蓉, 张 勇, 刘泽静, 任云南, 杨 涛, 汤浩茹*
(四川农业大学园艺学院, 四川 雅安 625014)

摘 要: 以草莓栽培品种“丰香”(Fragaria ananassa 'Toyonaka')绿熟阶段的果实为试材, 研究提取试剂、温度、时间对草莓果实抗氧化物质和抗氧化活性的影响。结果表明, 甲醇-水-盐酸(体积比 80:19.9:0.1)提取物中总酚、类黄酮、抗坏血酸, DPPH 自由基清除能力和铁还原氧化能力显著高于甲醇、乙醇、甲醇-乙醇-丙酮体积比(1:1:1)和水的提取物。然而, 抗氧化物质提取的最佳条件(60℃, 480min)与获得最高抗氧化活性的提取条件(25℃, 120min)并不一致, 说明抗氧化物质含量的高低并不总是草莓果实提取物抗氧化活性强弱的指示剂。综合抗氧化物质的提取量以及提取物的抗氧化活性, 甲醇-水-盐酸(体积比 80:19.9:0.1)在 25℃进行 120min 草莓果实抗氧化物质的提取更为适合。

关键词: 草莓; 果实提取物; 提取剂; 抗氧化物质; 抗氧化活性

Effect of Extraction Conditions on Antioxidant Components and Antioxidant Activity of Strawberry Fruit Extracts

LUO Ya, WANG Xiao-rong, ZHANG Yong, LIU Ze-jing, REN Yun-nan, YANG Tao, TANG Hao-ru*
(College of Horticultural, Sichuan Agricultural University, Ya'an 625014, China)

Abstract: Strawberry fruits from *Fragaria ananassa* 'Toyonaka' picked at the green maturity stage were extracted with different solvents under varying conditions of temperature and extraction time and the extracts obtained were tested for their antioxidant components and antioxidant activity. The results showed that methanol-water-HCl (80:19.9:0.1, V/V) extract revealed a significant increase in the contents of total phenols, flavonoids and ascorbic acid, DPPH free radical scavenging activity and ferric ions reducing power when compared with methanol, ethanol, methanol: ethanol-acetone (1:1:1, V/V) and water extracts. The optimal extraction conditions (at 60 °C for 480 min) for achieving maximum extraction of antioxidant components did not accord with those (at 25 °C for 120 min) resulting in maximum antioxidant activity, indicating that the contents of antioxidant components did not necessarily represent the antioxidant activity of strawberry fruit extracts. Comprehensively considering the contents of antioxidant components and antioxidant activity of strawberry fruit extracts, we concluded that extraction with methanol-water-HCl mixture (80:19.9:0.1, V/V) for 120 min at 25 °C is more suitable for extracting antioxidant components from Strawberry fruits.

Key words: strawberry; fruit extract; extraction solvent; antioxidant component; antioxidant activity

中图分类号: S668.4

文献标识码: A

文章编号: 1002-6630(2011)14-0108-05

氧化损伤被认为是导致人类癌症和心脏病等慢性疾病发生的主要原因之一^[1]。大量研究表明, 蔬菜和水果的食用有助于降低人类患慢性疾病的可能^[2-3], 其根本原因在于蔬菜和水果中含有丰富的抗氧化物质^[4-5], 从而能保护细胞抵御自由基的攻击, 减轻氧化损伤。

草莓(*Fragaria* × *ananassa* Duch.)是一种美观、可口且富含抗坏血酸、多酚类物质、钾、纤维、单糖

和其他次级代谢产物的水果^[6-7], 其抗氧化能力是苹果、桃、梨、番茄、柑橘和猕猴桃等园艺产品的 2~11 倍^[8-10]。在草莓成熟过程中, 又以绿熟期(坐果后约 7~20d)的草莓果实抗氧化能力最强^[11-12]。然而在生产中为保证草莓品质, 多余的绿熟期小果将被疏掉, 从而产生大量农业废弃物。从环保观点来看, 对农业和食品行业中植物废弃物的再次利用是目前发展的新趋势, 若能对废弃

收稿日期: 2010-09-27

基金项目: 四川省教育厅重点项目(07ZZ023; 09ZB050); 四川农业大学“双支计划”项目(06370501)

作者简介: 罗娅(1979—), 女, 副教授, 博士, 主要从事果树生物技术研究。E-mail: luoya945@163.com

* 通信作者: 汤浩茹(1963—), 男, 教授, 博士, 主要从事果树生物技术研究。E-mail: htang@sicau.edu.cn

的绿熟期草莓果实进行天然抗氧化物质的开发将在生产实践上发挥重要作用。

目前植物抗氧化物质的提取多采用溶剂抽提的方法,其根本原因在于方法简单和成本较低^[13]。水、甲醇、乙醇、丙酮、醋酸乙酯以及有机溶剂与水的混合物是常用的提取试剂^[14-17]。在提取过程中,提取时间、pH 值、温度以及抗氧化物质的化学结构也影响着植物抗氧化物质的提取效率^[18-19],因此探寻较优的提取体系从而获得更高抗氧化活性的提取物是非常必要的。目前,草莓果实抗氧化方面的研究多集中在不同品种抗氧化能力大小和抗氧化物质的组成上^[8-12],有关草莓果实抗氧化物质的提取体系还未见报道。因此,本实验以绿熟期草莓果实为试材,探讨提取试剂、温度和时间等主要因素对其抗氧化物质和抗氧化活性的影响,从而获取草莓果实抗氧化物质较优的提取体系,以期为进一步开发利用废弃的草莓果实提供一定参考。

1 材料与方法

1.1 材料

“丰香”(Fragaria ananassa 'Toyonaka')绿熟期的草莓果实。于2010年4月取自四川农业大学教学科研园区大棚内,采后立即运回实验室,选择大小一致,无病虫害,无损伤的果实为试材,用液氮速冻并研磨成粉后,贮于-80℃超低温冰箱中备用。

1.2 方法

1.2.1 溶剂抽提

称取0.15g来自30个果实的混合样品分别溶于3mL的甲醇、乙醇、水、甲醇-乙醇-丙酮混合液(体积比1:1:1)以及甲醇-水-盐酸混合液(体积比80:19.9:0.1)中,充分振荡后分别放于25℃和60℃密闭的试管中水浴60、120、480min。水浴后10000×g高速冷冻离心10min,取上清液立即进行抗氧化活性与抗氧化物质含量的测定。

1.2.2 总酚的测定

总酚物质含量的测定按照Folin-Denis法^[20],取1mL提取液于Eppendorf管中,分别加入0.5mL福林酚,3mL 2% Na₂CO₃溶液,室温避光2h后,以抽提试剂为对照。用紫外分光光度计测定765nm波长处的吸光度,计算总酚含量,以mg/100g的没食子酸为标准物。

1.2.3 类黄酮的测定

参照王霄霄^[21]的方法,略作修改。取0.1mL提取液于Eppendorf管中,先后加入0.3mL 8% NaNO₂溶液,反应6min,0.3mL 10% Al(NO₃)₃溶液,反应6min,2.0mL 2mol/L NaOH溶液,4.9mL乙醇,混匀静置10min后,10000×g离心10min,收集上清液,以提取试剂

为对照,用紫外分光光度计测定510nm波长处的吸光度,计算类黄酮含量,以mg/100g的芦丁为标准物。

1.2.4 抗坏血酸的测定

参照孙园园^[22]的方法,略作修改。取0.3mL上清液,加入0.75mL含5mmol/L EDTA的磷酸缓冲液(150mmol/L, pH7.4)和0.15mL 10mmol/L DTT。室温放置10min后,加入0.15mL 0.5% N-乙基马来酰亚胺以消除多余的DTT。然后加入0.6mL 10% 三氯乙酸,0.6mL 44% 正磷酸溶液,0.6mL 4% 双吡啶酒精(70%)溶液和0.15mL 0.3% FeCl₃溶液。混匀后40℃水浴40min,测定525nm处的吸光度,计算抗坏血酸含量,以mg/100g的抗坏血酸为标准物。

1.2.5 FRAP(ferric reducing antioxidant power, 铁还原氧化能力)法测定抗氧化能力

参照杨冬梅等^[20]的方法,取20μL上清液,加入1.8mL TPTZ工作液(由0.3mol/L 醋酸盐缓冲液25mL, 10mmol/L TPTZ溶液2.5mL, 20mmol/L FeCl₃溶液2.5mL组成),混匀后37℃反应30min,测定593nm波长处的吸光度。以1.0mmol/L FeSO₄为标准,样品抗氧化活性(FRAP值)以达到同样吸光度所需的FeSO₄的毫摩尔数表示。

1.2.6 DPPH(1,1-diphehyl-2-picrylhydrazyl, 1,1-二苯代苦基苯肼)自由基清除率的测定

参照杨冬梅等^[20]的方法,略作修改。将2.8mL 60μmol/L DPPH-乙醇溶液与20μL上清液混合,30min后测定反应液在517nm波长处的吸光度,对照以80%乙醇代替样品。DPPH自由基清除率计算公式:

$$\text{DPPH 自由基清除率} \% = \frac{A_{\text{对照}} - A_{\text{样品}}}{A_{\text{对照}}} \times 100$$

1.2.7 数据分析

采用SPSS 13.0软件进行统计分析,数据结果以“平均值±标准差”(n=3)表示,并进行显著性检验(P≤0.05),实验重复3次。

2 结果与分析

2.1 绿熟期草莓果实提取物抗氧化物质含量

绿熟期草莓果实抗氧化物质的提取量随提取试剂、提取时间和温度有所差异,其中提取试剂的影响最大(表1)。在5种提取试剂中,甲醇-水-盐酸(体积比80:19.9:0.1)是草莓果实总酚最有效的提取试剂,其次是甲醇、甲醇-乙醇-丙酮(体积比1:1:1)、乙醇和水。5种提取试剂在60℃条件下总酚的提取量较25℃高,然而提取时间对总酚提取量的影响并没有表现出规律性的变化。从表1分析得出,甲醇-水-盐酸溶液(80:19.9:0.1)在60℃,480min的条件下,总酚提取量最多(1058mg/100g),是相

表1 绿熟期草莓果实提取物抗氧化物质含量

Table 1 Contents of total phenols, flavonoids and ascorbic acid in different solvent extracts from strawberry fruits

抽提试剂	25℃、60min	25℃、120min	25℃、480min	60℃、60min	60℃、120min	60℃、480min
总酚(以没食子酸计, mg/100g)	甲醇 675.33 ± 32.28 ^a 乙醇 336.06 ± 13.38 ^d 甲醇-乙醇-丙酮(1:1:1) 553.56 ± 17.51 ^b 甲醇-水-盐酸(80:19.9:0.1) 705.07 ± 48.68 ^a 水 423.06 ± 8.16 ^c	675.33 ± 32.28 ^a 853.11 ± 42.22 ^b 422.41 ± 11.48 ^d 523 ± 18.93 ^c 967.73 ± 22.31 ^a 265.53 ± 17.80 ^e	675.33 ± 32.28 ^a 728.67 ± 52.54 ^b 360.83 ± 19.27 ^d 568.56 ± 22.63 ^c 975.73 ± 12.86 ^a 318.86 ± 25.33 ^d	675.33 ± 32.28 ^a 549.41 ± 57.28 ^{cd} 741.14 ± 40.31 ^b 572.44 ± 29.45 ^c 1056.4 ± 17.09 ^a 490.72 ± 20.55 ^d	675.33 ± 32.28 ^a 784.22 ± 56.35 ^b 408.44 ± 5.82 ^e 556.89 ± 9.64 ^c 1047.73 ± 21.6 ^a 476.40 ± 3.08 ^d	675.33 ± 32.28 ^a 917.56 ± 27.31 ^b 536.70 ± 32.46 ^d 673 ± 39.69 ^e 1058.4 ± 26.91 ^a 494.67 ± 16.50 ^d
类黄酮(以芦丁计, mg/100g)	甲醇 13.93 ± 0.93 ^a 乙醇 6.80 ± 0.00 ^e 甲醇-乙醇-丙酮(1:1:1) 8.42 ± 0.25 ^b 甲醇-水-盐酸(80:19.9:0.1) 8.73 ± 0.12 ^b 水 3.96 ± 0.54 ^d	13.93 ± 0.93 ^a 7.96 ± 0.34 ^c 11.96 ± 0.51 ^b 11.29 ± 0.42 ^b 3.9 ± 0.22 ^d	13.93 ± 0.93 ^a 7.32 ± 0.45 ^c 6.35 ± 0.78 ^d 10.67 ± 0.18 ^b 2.92 ± 0.08 ^e	13.93 ± 0.93 ^a 17.40 ± 1.02 ^b 8.80 ± 0.08 ^{cd} 20.09 ± 1.11 ^a 7.59 ± 0.78 ^d	13.93 ± 0.93 ^a 13.79 ± 1.65 ^a 7.15 ± 1.47 ^b 13.77 ± 0.97 ^a 4.90 ± 0.57 ^b	13.93 ± 0.93 ^a 18.75 ± 1.93 ^b 9.79 ± 0.67 ^c 25.37 ± 0.62 ^a 9.10 ± 1.23 ^c
抗坏血酸(以抗坏血酸计, mg/100g)	甲醇 8.47 ± 0.06 ^d 乙醇 14.52 ± 0.52 ^b 甲醇-乙醇-丙酮(1:1:1) 11.16 ± 0.17 ^c 甲醇-水-盐酸(80:19.9:0.1) 25.31 ± 0.95 ^a 水 14.66 ± 1.31 ^b	8.47 ± 0.06 ^d 12.61 ± 0.67 ^c 15.79 ± 0.75 ^b 31.15 ± 1.00 ^a 13.22 ± 0.55 ^c	8.47 ± 0.06 ^d 8.79 ± 0.58 ^c 21.54 ± 0.80 ^a 21.5 ± 0.78 ^a 15.19 ± 1.48 ^b	8.47 ± 0.06 ^d 12.44 ± 0.81 ^b 15.30 ± 0.94 ^a 15.44 ± 0.95 ^a 10.77 ± 1.17 ^b	8.47 ± 0.06 ^d 13.37 ± 0.58 ^a 9.37 ± 1.04 ^c 8.63 ± 0.96 ^c 11.80 ± 0.94 ^b	8.47 ± 0.06 ^d 14.31 ± 0.62 ^a 11.76 ± 1 ^b 13.68 ± 0.70 ^a 9.52 ± 0.06 ^e

注: 肩标不同字母表示在 $P < 0.05$ 水平上差异显著。下同。

同条件下其他4种提取试剂的1.15~2.14倍。

提取物中包括类黄酮在内的酚类物质和抗坏血酸等抗氧化物质。在25℃时,类黄酮在甲醇溶液中的提取效果最好,提取量在13.93~15.83mg/100g之间,其次是甲醇-水-盐酸(8.73~11.29mg/100g),甲醇-乙醇-丙酮(6.35~11.96mg/100g),乙醇(6.80~7.96mg/100g)和水(2.92~3.96mg/100g)。提取时间(60~480min)对类黄酮提取量的影响也无规律性的变化,除水在60min时获得较高含量的类黄酮提取物外,其余4种提取试剂均在120min时获得较高含量的类黄酮。在60℃时,草莓果实类黄酮的提取量几乎均高于在25℃时的提取量,除甲醇-乙醇-丙酮(1:1:1)外,其他4种提取试剂均在60℃,480min的条件下获得最高含量的类黄酮。在此条件下,又以甲醇-水-盐酸溶液(80:19.9:0.1)的提取效果最好(25.37mg/100g),是其他4种提取试剂类黄酮提取量的1.35~2.79倍。

在抗坏血酸的提取过程中,仍然是甲醇-水-盐酸

溶液(80:19.9:0.1)的提取效果最好。温度对抗坏血酸的提取效果影响较大,25℃比60℃更适合抗坏血酸的提取(表1)。在60℃、480min的条件下,甲醇-水-盐酸溶液(80:19.9:0.1)对抗坏血酸的提取量仅有13.68mg/100g,而在25℃,120min的条件下,甲醇-水-盐酸溶液(80:19.9:0.1)对抗坏血酸的提取量达到最大值31.15mg/100g。比较草莓果实提取物抗氧化物质的含量发现,提取物中总酚含量远远高于类黄酮与抗坏血酸的含量(表1),认为总酚是草莓果实提取物中主要的抗氧化物质。

2.2 绿熟期草莓果实提取物抗氧化活性

DPPH和FRAP法是广泛用于测定果蔬抗氧化能力的两种方法。本实验采用这两种方法来探讨绿熟期草莓果实提取物的抗氧化活性,所有提取物均表现出抗氧化活性,并且两种方法的测定结果具有一致性(表2)。当提取条件在25℃,120min时,甲醇-水-盐酸(80:19.9:0.1)提取物表现出最强的DPPH自由基清除能力(71.25%)和铁

表2 绿熟期草莓果实提取物抗氧化活性

Table 2 Antioxidant activities of different solvent extracts from strawberry fruits

抽提试剂	25℃、60min	25℃、120min	25℃、480min	60℃、60min	60℃、120min	60℃、480min
DPPH 自由基清除率/%	甲醇 26.12 ± 1.86 ^b 乙醇 19.02 ± 1.18 ^{bc} 甲醇-乙醇-丙酮(1:1:1) 23.93 ± 3.01 ^b 甲醇-水-盐酸(80:19.9:0.1) 53.33 ± 7.71 ^a 水 16.07 ± 0.98 ^c	26.12 ± 1.86 ^b 33.39 ± 1.90 ^d 20.33 ± 1.01 ^e 40.37 ± 1.16 ^b 71.25 ± 0.96 ^a 37.46 ± 0.76 ^c	26.12 ± 1.86 ^b 40.43 ± 3.44 ^b 16.83 ± 5.08 ^d 39.56 ± 6.88 ^b 62.19 ± 2.79 ^a 25.03 ± 2.37 ^c	26.12 ± 1.86 ^b 38.37 ± 3.55 ^{ab} 18.36 ± 3.13 ^c 38.47 ± 10.05 ^{ab} 52.24 ± 6.72 ^a 27.87 ± 12.70 ^{bc}	26.12 ± 1.86 ^b 41.75 ± 4.76 ^{bc} 24.92 ± 3.42 ^d 46.67 ± 6.88 ^{ab} 53.22 ± 3.73 ^a 35.74 ± 6.63 ^c	26.12 ± 1.86 ^b 42.84 ± 2.45 ^{bc} 28.31 ± 5.65 ^d 50.82 ± 2.15 ^b 62.30 ± 11.53 ^a 32.46 ± 2.36 ^{cd}
FRAP/(mmol FeSO ₄ /100g)	甲醇 0.15 ± 0.01 ^b 乙醇 0.12 ± 0.00 ^b 甲醇-乙醇-丙酮(1:1:1) 0.14 ± 0.02 ^b 甲醇-水-盐酸(80:19.9:0.1) 0.31 ± 0.04 ^a 水 0.17 ± 0.01 ^b	0.15 ± 0.01 ^b 0.15 ± 0.02 ^b 0.11 ± 0.02 ^c 0.19 ± 0.03 ^b 0.36 ± 0.01 ^b 0.15 ± 0.00 ^b	0.15 ± 0.01 ^b 0.16 ± 0.02 ^b 0.10 ± 0.03 ^c 0.19 ± 0.03 ^b 0.28 ± 0.03 ^a 0.16 ± 0.01 ^b	0.15 ± 0.01 ^b 0.19 ± 0.01 ^b 0.09 ± 0.01 ^d 0.16 ± 0.01 ^b 0.27 ± 0.04 ^a 0.18 ± 0.03 ^b	0.15 ± 0.01 ^b 0.16 ± 0.03 ^b 0.13 ± 0.04 ^b 0.17 ± 0.03 ^b 0.27 ± 0.06 ^a 0.18 ± 0.01 ^b	0.15 ± 0.01 ^b 0.20 ± 0.01 ^b 0.14 ± 0.02 ^c 0.22 ± 0.01 ^b 0.36 ± 0.02 ^a 0.19 ± 0.02 ^b

还原氧化能力(0.36mmol/100g),乙醇提取物的抗氧化能力最弱,DPPH 自由基清除能力和铁还原氧化能力仅有甲醇-水-盐酸(80:19.9:0.1)提取物的28.53%和30.56%。甲醇-水-盐酸(80:19.9:0.1)提取物的抗氧化活性对温度非常敏感,当提取温度在60℃时,DPPH 自由基清除能力和铁还原氧化能力几乎均低于25℃时的抗氧化活性,而其他4种提取试剂的提取物几乎随提取温度和时间的增加其抗氧化活性也随着增加。然而,从表1分析得出,仍然是25℃、120min时,甲醇-水-盐酸溶液(80:19.9:0.1)的提取物抗氧化活性最强。

3 讨 论

溶剂极性对植物抗氧化物质的提取有着较大的影响。由于不同溶剂对植物抗氧化物质的溶解能力不同,从而导致提取物中抗氧化物质含量显著不同,因此选择适当的提取试剂是获得高含量抗氧化物质的重要因素之一。本实验选用几种较为常用的提取试剂对绿熟期草莓果实抗氧化物质进行提取,研究表明,总酚是草莓果实提取物中主要的抗氧化物质,并且甲醇-水-盐酸(80:19.9:0.1)是总酚提取较为适合的提取溶剂,甲醇、乙醇-丙酮(1:1:1)、乙醇和水的效果次之(表1)。González-Montelongo 等^[18]研究认为水提取物总酚含量低的原因可能是由于多酚氧化酶氧化酚类化合物所致,而含有甲醇或乙醇的溶液则抑制了多酚氧化酶的活性,从而提取物中总酚含量较高。

提取时间对绿熟期草莓果实抗氧化物质提取的影响并没有表现出规律性的变化,而温度却有着明显的影响。在25℃时更适合抗坏血酸的提取,而在60℃时则更有利于总酚和类黄酮的提取。这在葡萄皮、杨桃和香蕉皮抗氧化物质的提取过程中也有类似的报道^[23-25]。大量研究认为,温度升高有助于提高溶剂的提取效率,其原因主要是扩散系数和溶剂中提取物的溶解性增大所致^[18,26-27]。然而,并不是所有抗氧化物质的提取效率均在高温下更高。柑橘皮中酚类化合物含量并没有随提取温度的升高(40~100℃)而增加^[28]。Liyana-Pathirana 等^[29]研究认为,在高温下,热稳定的抗氧化物质的提取速度高于难溶的抗氧化物质的降解速度是提取效率增加的主要原因。因此,只有含有较高比例热稳定的抗氧化物质样品才更适合在高温下进行抗氧化物质的提取^[23]。

为获得较好的提取体系,提取物的抗氧化活性在本实验中也进行了测定与分析。提取物的抗氧化活性在不同溶剂和提取条件下显著不同,说明提取物中存在不同极性的抗氧化物质^[18]。在实验中还观察到,抗氧化物质提取的最佳条件与获得最高抗氧化活性的提取条件并不一致,并且相关性分析表明,总酚含量与抗氧化活性之间的相关性较弱。这在黑糯米^[13]、茜草科植物^[26]和芥

麦^[16]抗氧化物质的提取研究中有类似的结论。高含量的酚类化合物并没有表现出高的抗氧化活性,其原因主要是:第一,抗氧化活性的高低不仅受总酚含量的影响,也受酚类物质化学结构的影响^[13,30];第二,抗氧化物质的协同作用有可能削弱酚类物质与抗氧化活性之间的相关性^[13,26]。因此,总酚含量的高低并不总是草莓果实提取物抗氧化活性强弱的指示剂。

小绿阶段草莓果实中含有丰富的抗氧化物质^[11-12]。甲醇-水-盐酸(80:19.9:0.1)是草莓果实抗氧化物质提取较为适合的提取剂,不仅可以获得高含量的抗氧化物质,而且抗氧化物质的抗氧化活性较高。综合抗氧化物质的提取量以及提取物的抗氧化活性,甲醇-水-盐酸(80:19.9:0.1)在25℃、120min条件下进行草莓果实抗氧化物质的提取更为适合。

参考文献:

- [1] ZHANG Yanjun, SEERAM N P, LEE R, et al. Isolation and identification of strawberry phenolics with antioxidant and human cancer cell antiproliferative properties[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2008, 56(3): 670-675.
- [2] DRAGSTED L O, STRUBE M, LARSEN J C. Cancer-protective factors in fruits and vegetables: biochemical and biological background [J]. Pharmacol Toxicol, 1993, 72(1): 116-135.
- [3] VERLANGIREI A J, KAPEGHIAN J C, EL-DEAN S, et al. Fruit and vegetable consumption and cardiovascular mortality[J]. Med Hypoth, 1985, 16(1): 7-15.
- [4] KRIS-EEHERTON P M, HECKER K D, BONANOME A, et al. Bioactive compounds in foods: their role in the prevention of cardiovascular disease and cancer[J]. American Journal of Medicine, 2002, 113(9): 71-88.
- [5] RUXTON C, GARDNER E, WALKER D. Can pure fruit and vegetable juices protect against cancer and cardiovascular disease too? A review of the evidence[J]. International Journal of Food Science and Nutrition, 2006, 57(3/4): 249-272.
- [6] PERÉZ A G, OLÍAS R, ESPADA J, et al. Rapid determination of sugars, nonvolatile acids, and ascorbic acid in strawberry and other fruits [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 1997, 45(9): 3545-3549.
- [7] WANG S Y, GALLETTA G J. Compositional change in *Colletotrichum* (Anthracnose) infected strawberry fruit[J]. Acta Horticulturae, 2002, 567: 815-819.
- [8] SILVIA T, ELENA D I, DAMIANO R, et al. Antioxidant capacity, ascorbic acid, total phenols and carotenoids changes during harvest and after storage of Hayward kiwifruit[J]. Food Chemistry, 2008, 107(1): 282-288.
- [9] WANG hong, CAO Guohua, PRIOR R L. Total antioxidant capacity of fruits[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 1996, 44(3): 701-705.
- [10] MEYERS K J, WATKINS C B, PRITTS M P, et al. Antioxidant and antiproliferative activities of strawberries[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2003, 51(23): 6887-6892.
- [11] WANG S Y, LIN H S. Antioxidant activity in fruits and leaves of blackberry, raspberry, and strawberry varies with cultivar and development stage[J]. J Agric Food Chem, 2000, 48(2): 140-146.

- [12] FERREYRA R M, VINA S Z, MURIDGE A, et al. Growth and ripening season effects on antioxidant capacity of strawberry cultivar Selva[J]. *Scientia Horticulturae*, 2007, 112(1): 27-32.
- [13] TANANUWONG K, TEWARUTH W. Extraction and application of antioxidants from black glutinous rice[J]. *LWT-Food Science and Technology*, 2010, 43(3): 476-481.
- [14] LAFKA T I, SINANOGLU V, LAZOS E S. On the extraction and antioxidant activity of phenolic compounds from winery wastes[J]. *Food Chemistry*, 2007, 104(3): 1206-1214.
- [15] SHUI G, LEONG L P. Residue from star fruit as valuable source for functional food ingredients and antioxidant nutraceuticals[J]. *Food Chemistry*, 2006, 97(2): 277-284.
- [16] SUN T, HO C. Antioxidant activities of buckwheat extracts[J]. *Food Chemistry*, 2005, 90(4): 743-749.
- [17] NAM S H, CHOI S P, KANG M Y, et al. Antioxidative activities of bran extracts from twenty one pigmented rice cultivars[J]. *Food Chemistry*, 2006, 94(4): 613-620.
- [18] GONZÁLEZ-MONTELONGO R, LOBO M G, GONZÁLEZ M. Antioxidant activity in banana peel extracts: testing extraction conditions and related bioactive compounds[J]. *Food Chemistry*, 2010, 119(3): 1030-1039.
- [19] AWIKA J M, ROONEY L W, WANISKA R D. Anthocyanins from sorghum and their antioxidant properties[J]. *Food Chemistry*, 2005, 90(1/2): 293-301.
- [20] 杨冬梅, 金月亭, 柯乐芹, 等. 12种常见蔬菜抗氧化活性的比较研究[J]. *中国食品学报*, 2007, 7(5): 24-29.
- [21] 王霄霄. 不同品种杨梅果实品质和抗氧化活性的比较[D]. 杭州: 浙江大学, 2007.
- [22] 孙园园. 氮素营养对菠菜体内抗坏血酸含量及其代谢的影响[D]. 杭州: 浙江大学, 2008.
- [23] PINELO M, RUBILAR M, JEREZ M, et al. Effect of solvent temperature and solvent-to-solid ratio on the total phenolic content and antiradical activity of extracts from different components of grapepomace[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2005, 53(6): 2111-2117.
- [24] SHUI G H, LEONG L P. Residue from star fruit as valuable source for functional food ingredients and antioxidant nutraceuticals[J]. *Food Chemistry*, 2006, 97(2): 277-284.
- [25] GONZÁLEZ-MONTELONGO R, LOBO M G, GONZÁLEZ M. The effect of extraction temperature, time and number of steps on the antioxidant capacity of methanolic banana peel extracts[J]. *Separation and Purification Technology*, 2010, 71(3): 347-355.
- [26] THPP Y Y, HO S K, LIANG J Y, et al. Effects of binary solvent extraction system, extraction time and extraction temperature on phenolic antioxidants and antioxidant capacity from Mengkudu (*Morinda citrifolia*)[J]. *Food Chemistry*, 2010, 120(1): 290-295.
- [27] AL-FARSI M A, LEE C Y. Optimization of phenolics and dietary fiber extraction from date seed[J]. *Food Chemistry*, 2008, 108(3): 977-985.
- [28] XU G H, CHEN J C, LIU D H, et al. Minerals, phenolic compounds, and antioxidant capacity of citrus peel extract by hot water[J]. *Journal of Food Chemistry*, 2008, 73(1): 11-18.
- [29] LIYANAI-PATHIRANA C, SHAHIDI F. Optimization of extraction of phenolic compounds from wheat using response surface methodology[J]. *Food Chemistry*, 2005, 93(1): 47-56.
- [30] OZSOY N, YILMAZ T, KURT O, et al. *In vitro* antioxidant activity of *Amaranthus lividus* L[J]. *Food Chemistry*, 2009, 116(4): 867-872.