孙洋, 张瑜, 王英, 等. 黑莓冻干粉成分分析及其对氧化应激诱导的生殖细胞损伤的保护作用 [J]. 食品工业科技, 2026, 47(13): 11−20. doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2025080099

SUN Yang, ZHANG Yu, WANG Ying, et al. Component Analysis of Blackberry Freeze-dried Powder and Its Protective Effect against Reproductive Cell Damage Induced by Oxidative Stress[J]. Science and Technology of Food Industry, 2026, 47(13): 11−20. (in Chinese with English abstract). doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2025080099

·特邀主编专栏—果蔬基料制造:基础理论、新型加工、质量控制与智能制造（客座主编:徐贞贞、王永涛、李涛;产业顾问:李仁杰）·

黑莓冻干粉成分分析及其对氧化应激诱导的生殖细胞损伤的保护作用

孙　洋[1],张　瑜[2],王　英[2],罗润萌[2],王　帆[2],吴易青[2,3],范琳琳[2],周剑忠[2],钟　良[1],刘小莉[2,*]

（1.江苏悠维有机食品有限公司,江苏镇江 212132;
2.江苏省农业科学院农产品加工研究所,江苏南京 210014;
3.宁夏大学食品与科学工程学院,宁夏银川 750021）

摘　要: 本研究旨在测定黑莓冻干粉（Freeze-dried Blackberry Powder，FDBP）的成分，并探讨其对氧化应激引起的生殖细胞损伤的保护作用。研究采用了去除/不去除黑莓籽的工艺制备得到了黑莓冻干粉，定量分析了黑莓冻干粉的氨基酸、多酚类（花色苷）、维生素（E、叶酸）及微量元素含量，并利用小鼠精母细胞系 GC-2spd 构建 H_2O_2 氧化应激模型，探究 FDBP 对氧化应激引起的生殖细胞损伤的保护作用。结果表明，两种黑莓冻干粉富含丙氨酸、谷氨酸、天冬氨酸和精氨酸等氨基酸，含有镁、铁、锌和硒等微量元素；其中，黑莓冻干粉 1（FDBP-1）的花色苷、维生素 E 和叶酸比黑莓冻干粉 2（FDBP-2）含量高，分别为 6.89±0.13 mg/g、85.54±4.79 μg/g 和 22.94±2.68 μg/g。FDBP-1 的抗氧化活性高于 FDBP-2 的，其 DPPH 自由基清除率和 $ABTS^+$自由基清除率的 IC_{50} 值分别为 126.60±44.78 μg/mL 和 29.84±10.89 μg/mL。在氧化应激条件下，FDBP-1 预处理后的 GC-2spd 细胞相比于氧化损伤组的细胞存活率最高提高 28%，并有效上调了超氧化物歧化酶（SOD）和谷胱甘肽过氧化物酶（GSH-Px）的活性，同时降低了丙二醛（MDA）水平。综上，黑莓冻干粉富含多种生物活性物质，具有优异的体外抗氧化能力，能通过增强细胞内源性抗氧化防御系统，有效保护生殖细胞抵抗氧化损伤。本研究为开发基于黑莓冻干粉、具有生殖健康保护作用的功能性食品或配料提供了重要的科学依据，在食品工业与营养健康领域具有应用潜力。

关键词: 黑莓冻干粉,成分分析,抗氧化活性,氧化应激,生殖细胞保护,功能性食品

中图分类号: R151.3; TS207.3　　**文献标识码:** A　　**文章编号:** 1002−0306(2026)13−0011−10

DOI: 10.13386/j.issn1002-0306.2025080099

本文网刊:

Component Analysis of Blackberry Freeze-dried Powder and Its Protective Effect against Reproductive Cell Damage Induced by Oxidative Stress

SUN Yang[1], ZHANG Yu[2], WANG Ying[2], LUO Runmeng[2], WANG Fan[2], WU Yiqing[2,3], FAN Linlin[2], ZHOU Jianzhong[2], ZHONG Liang[1], LIU Xiaoli[2,*]

（1.Jiangsu Youwei Organic Food Co., Ltd., Zhenjiang 212132, China;
2.Institute of Agro-product Processing, Jiangsu Academy of Agricultural Sciences, Nanjing 210014, China;
3.School of Food Science and Engineering, Ningxia University, Yinchuan 750021, China）

Abstract: This study aimed to systematically determine the composition of freeze-dried blackberry powder (FDBP) and investigate its protective effects against germ cell damage induced by oxidative stress. FDBP was prepared using processes

收稿日期: 2025−08−11

基金项目: 江苏省重点研发计划（现代农业）（BE2022367）;国家自然科学基金（32202038）。

作者简介: 孙洋（1987−）,男,硕士研究生,研究方向:食品生物技术,E-mail:sunyang2160@163.com。

*** 通信作者:** 刘小莉（1981−）,女,博士,研究员,研究方向:食品生物技术,E-mail:liuxiaoli@jaas.ac.cn。

with or without blackberry seed removal. Quantitative analysis was conducted on the contents of key bioactive components including amino acids, polyphenols (anthocyanins), vitamins (E, folate), and trace elements in FDBP. An oxidative stress model was established using the mouse spermatocyte cell line GC-2spd treated with H_2O_2 to explore the protective effect of FDBP against oxidative stress-induced germ cell damage. The results indicated that both types of FDBP were rich in amino acids such as alanine, glutamic acid, aspartic acid, and arginine, and contained trace elements including magnesium, iron, zinc, and selenium. Among them, the thawed and deseeded FDBP (FDBP-1) had higher contents of anthocyanins, vitamin E, and folate compared to the freeze-dried and superfinely ground FDBP (FDBP-2), measuring at 6.89±0.13 mg/g, 85.54±4.79 μg/g, and 22.94±2.68 μg/g, respectively. FDBP-1 demonstrated stronger antioxidant activity than FDBP-2, as evidenced by its lower IC_{50} values for scavenging DPPH radicals (126.60±44.78 μg/mL) and $ABTS^+$ radicals (29.84±10.89 μg/mL). Under oxidative stress conditions, pretreatment with FDBP-1 significantly increased the viability of GC-2spd cells by 28%. Furthermore, it effectively upregulated the activities of superoxide dismutase (SOD) and glutathione peroxidase (GSH-Px), while reducing malondialdehyde (MDA) levels. In conclusion, FDBP is rich in various bioactive compounds and possesses excellent *in vitro* antioxidant capacity. It effectively protects germ cells against oxidative damage by enhancing the cellular endogenous antioxidant defense system. This study provides a crucial scientific basis for developing FDBP-based functional foods or ingredients with reproductive health-protective effects, demonstrating significant application potential in the food industry and nutritional health sectors.

Key words: freeze-dried blackberry powder; component analysis; antioxidant activity; oxidative stress; germ cells protection; functional food

黑莓(*Rubus* spp.)属蔷薇科悬钩子属植物,富含多酚、黄酮类化合物、花青素、维生素和类胡萝卜素等生物活性化合物,被誉为“浆果之王”,已被证实具有良好的抗氧化性能[1−2]。黑莓的抗氧化能力(以 ORAC 值计)高达 39.16 mmol TE/mL,高于蓝莓和草莓[3]。但黑莓含水量高、结构脆弱以及易脱水、受伤和感染而迅速变质,采收后贮藏期短(常温下仅 2~3 d)、运输损耗率高(>30%)、营养损耗高等问题严重制约了产业化发展[4−5]。

近年来,随着食品加工技术的发展,采用冻干技术(Lyophilization)将黑莓低温(−40 ℃ 以下)升华脱水制备成冻干粉,可保留 95% 以上的热敏性成分(如维生素 C、花青素),同时,避免传统热干燥导致的美拉德反应和香气损失[6]。此外,冻干粉便于储存与运输,且多孔结构有利于活性成分的快速复溶,具有开发为功能性食品原料的潜力[7]。目前,黑莓作为富含多酚类化合物的浆果,其抗氧化能力在抗衰老和抗炎领域已得到证实,但针对黑莓冻干粉,现有研究仅关注加工工艺与热敏性成分保留率,对其主要抗氧化成分的系统解析,以及该冻干粉对氧化应激诱导的生殖细胞损伤的保护效应,至今尚未明确。黑莓冻干粉是否通过抗氧化而保护生殖细胞的作用尚不完全清楚。

随着工业化进程的加速和生活方式的改变,环境污染、化学添加剂等因素导致外源性或内源性活性氧(Reactive Oxygen Species, ROS)在体内过度积累,引发氧化应激反应,进而造成细胞损伤、组织功能紊乱甚至器官衰竭[8−9]。氧化应激是男性不育、卵巢功能早衰及胚胎发育异常的关键诱因[10]。生殖细胞(精子、卵母细胞)及早期胚胎因缺乏高效的 DNA 修复机制和抗氧化酶储备,更易受 ROS 攻击,过量 ROS 不但降低细胞内 ATP 含量、削弱线粒体膜电位、破坏线粒体基因组完整性,并引发线粒体分裂与融合稳态失衡而导致精子损伤[11];也会导致关键酶(如超氧化物歧化酶(Superoxide Dismutase, SOD)、过氧化氢酶(Catalase, CAT))失活,削弱抗氧化防御能力[12];造成 8-羟基脱氧鸟苷等氧化标志物积累,甚至诱发生殖细胞染色体畸变[12−13]。因此,抗氧化剂有希望改善氧化应激导致的不孕不育。膳食来源的生物活性化合物,包括维生素和植物化学物质,其中不乏抗氧化作用,具有多靶点、低毒性及协同效应等特点[14]。例如,维生素 C、维生素 E、多不饱和脂肪酸、微量元素、肉碱、N-乙酰半胱氨酸及辅酶 Q10 等生物活性食品成分可以缓解氧化应激[15−17],有希望成为缓解生殖系统氧化应激损伤的潜在食疗方案。

基于此,本研究旨在深入解析黑莓冻干粉的成分,明确黑莓冻干粉中的主要抗氧化成分及其含量;评估黑莓冻干粉对生殖细胞抗氧化的影响,以确定黑莓冻干粉对氧化应激导致的生殖细胞损伤的保护作用。本研究将为黑莓冻干粉在食品、保健品等领域的应用提供科学依据,推动相关产业的发展。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

黑莓冻干粉 1(Freeze-dried Blackberry Powder 1, FDBP-1)、黑莓冻干粉 2(Freeze-dried Blackberry Powder 2, FDBP-2)　黑莓品种均为悠维 1 号(完全成熟采摘,呈深紫色),产自江苏悠维有机食品有限公司;GC-2spd　中国科学院细胞库;DMEM 培养基、PBS、0.25% 胰酶消化溶液(2000 U/mg)、CCK-8　凯基生物科技有限公司;胎牛血清　北京全式金生物技术股份有限公司;ABTS、DPPH、过氧化氢溶液　分析纯,上海麦克林生化科技股份有限公司;甲醇　色谱纯,美国天地有限公司;MDA 试剂盒、SOD 试剂盒、GSH-Px 试剂盒　北京雷根生物技术有限公

司；福林酚、叶酸含量检测试剂盒、维生素 E 含量检测试剂盒　北京索莱宝生物科技有限公司；葡萄糖、没食子酸、芦丁　分析标准品，上海源叶生物科技有限公司。

3K-15 冷冻离心机　西格玛奥德里奇(上海)贸易有限公司；S433D 全自动氨基酸分析仪　德国 SYKAM 公司；E-poch 酶标仪　美国 BIO-TEK 公司；FD-1A-50 真空冷冻干燥机　北京博医康实验仪器有限公司；Vario macro cube 元素分析仪　艾力蒙塔贸易(上海)有限公司。

1.2　实验方法

1.2.1　黑莓冻干粉制备流程　FDBP-1 制备：将黑莓冻果常温下解冻，采用打浆去籽，将去籽后的黑莓转移至真空冷冻干燥机中，在冷阱温度−50 ℃、真空度低于 10 Pa 的条件下进行冷冻干燥，冻干时间为 28 h，以确保水分含量降至 5% 以下，以获得结构疏松的多孔状黑莓冻干块。将黑莓冻干块放入超微粉碎机中，粉碎主机转速 4500 r/min，分级器频率调至 200 目(75 μm)。

FDBP-2 制备：将黑莓冻果直接放置于真空冷冻干燥机中，采用冷阱温度−50 ℃、真空度低于 10 Pa 的条件下进行冷冻干燥，冻干时间为 28 h。将冻干块放入普通粉碎机中进行粗碎，过 60 目筛，再将粉碎粉末放入气流磨中，调节分级轮转速，将粒度分布严格控制在中位径(D50)≤15 μm(即约 1000 目)。

上述两种黑莓冻干粉的过筛粉末均进行真空充氮包装，封装后的产品置于 4 ℃ 阴凉避光处贮藏备用。

1.2.2　黑莓冻干粉主要营养成分检测　黑莓冻干粉的蛋白、脂质、灰分和水分检测分别参照国家标准 GB 5009.5-2025《食品安全国家标准 食品中蛋白质的测定》、GB 5009.6-2025《食品安全国家标准 食品中脂肪的测定》、GB 5009.4-2016《食品安全国家标准 食品中灰分的测定》和 GB 5009.3-2016《食品安全国家标准 食品中水分的测定》。

1.2.3　总糖检测　采用苯酚-硫酸法测定样品中总糖含量[18]。以无水葡萄糖作为标准品精准称取 0.1 g，加入蒸馏水定容至 10 mL，此时浓度为 10 mg/mL，配制成浓度分别为 0、0.1、0.2、0.4、0.6、0.8、1 mg/mL 的标准工作液。准确吸取各浓度标准工作液 200 μL 加入对应标记试管，再对应加入 0.2 mL 0.5% 苯酚混匀后加入 1 mL 浓硫酸，避光静置 20 min 使其显色反应完成，测定 $OD_{490\ nm}$。以无水葡萄糖质量浓度(x)为横坐标，吸光度值(y)为纵坐标绘制葡萄糖标准曲线，标准曲线回归方程为 y=3.2546x+0.7215，R^2=0.9997。测定样品时，称取 0.1 g 粉末溶于 10 mL 的蒸馏水中，再采用蒸馏水稀释 300 倍，取 200 μL 稀释液加入 0.2 mL 0.5% 苯酚溶液，混匀；加入 1.0 mL 浓硫酸，振荡混匀；室温避光静置 20 min 后检测 $OD_{490\ nm}$，将测得的样品吸光度值代入上述线性回归方程以计算样品总糖含量。

1.2.4　总酚的测定　采用 Folin-Ciocalteu 法测定黑莓样品中的总酚含量[19−20]。以没食子酸作为标准品，精确称取 0.050 g，用 60% 乙醇溶液溶解并定容至 50 mL，配制成浓度为 1 mg/mL 的标准储备液。使用前，将储备液用 60% 乙醇逐级稀释，配制成浓度分别为 0、20、40、60、80、100 μg/mL 的标准工作液。测定样品时，精确称取 0.1 g 黑莓冻干粉，加入 10 mL 60% 乙醇溶液，于 50 ℃ 超声辅助提取 30 min，冷却后，5000 r/min 离心 10 min，收集上清液并作合理稀释。分别准确吸取各浓度标准工作液和样品稀释液 200 μL，加入 1.5 mL 预先稀释 10 倍的 Folin-Ciocalteu 试剂，涡旋混匀后，于室温避光静置 5 min。随后，加入 1.5 mL 7.5%(w/v)的碳酸钠溶液，再次涡旋混匀。将全部反应液置于 75 ℃ 水浴中加热 10 min 进行显色反应，随后立即冰浴冷却至室温。在 765 nm 波长下测定各管的吸光度值。以没食子酸浓度(x)为横坐标，吸光度值(y)为纵坐标绘制标准曲线，标准曲线回归方程为 y=3.6485x+0.0145，R^2=0.9996。将测得的样品吸光度值代入标准曲线计算总酚含量，结果以毫克没食子酸当量每克样品质量(mg GAE/g)表示。

1.2.5　总黄酮的测定　采用硝酸铝络合分光光度法测定黑莓样品中的总黄酮含量[21]。精确称取标准品芦丁 0.010 g，溶于 60% 乙醇并定容至 25 mL，配制成浓度为 0.4 mg/mL 的标准储备液。使用前，将储备液用 60% 乙醇逐级稀释，配制成浓度分别为 0、20、40、60、80、100 μg/mL 的标准工作液。称取 0.1 g 黑莓冻干粉，按上述总酚检测方法中的提取流程获得提取液。将样品稀释适当倍数后，分别取 0.5 mL 不同浓度的标准工作液和样品稀释液，依次向每管中加入 1.5 mL 60% 乙醇、100 μL 5%(w/v)亚硝酸钠溶液，涡旋混匀后静置 6 min。随后，加入 100 μL 10%(w/v)硝酸铝溶液，再次混匀后静置 6 min。最后，加入 1.0 mL 4%(w/v)氢氧化钠溶液和 700 μL 60% 乙醇，将反应体系总体积补足至 4 mL，立即涡旋混匀。室温避光放置 15 min 使其充分显色后，在 510 nm 波长下测定各管的吸光度值。以芦丁浓度(x)为横坐标，吸光度值(y)为纵坐标绘制标准曲线，标准曲线回归方程为 y=3.9523x+0.0287，R^2=0.9978。将测得的样品吸光度值代入线性回归方程计算总黄酮含量，结果以毫克芦丁当量每克样品质量(mg RE/g)表示。

1.2.6　花色苷检测　使用 pH 示差法检测样品中的花色苷含量[22−23]。具体为，准确称取样品约 0.5 g 于烧杯中，加入适量蒸馏水重悬，超声 10 min 后 5000 r/min 离心 10 min 取上清液检测。上清液分别采用 pH 为 1.0 和 4.5 的缓冲液稀释以获得相同的稀释倍数。室温避光静置 2 h 后，分别测定上清液在 pH1.0 和 4.5 缓冲液中的 510 nm 和 700 nm 处的吸

光度，然后，按照下列公式进行计算：

$$\text{花色苷含量(mg/g)} = \frac{((A_{510}-A_{700})_{pH1.0}-(A_{510}-A_{700})_{pH4.5})\times MW\times DF\times V}{\varepsilon\times 1\times M}$$

式（1）

式中：MW 为矢车菊素-3-O-葡萄糖苷的摩尔质量（449 g/mol），DF 为稀释因子，V 为样品体积（mL），ε 为矢车菊素-3-O-葡萄糖苷的摩尔消光系数（29600 L/(cm·mol)），M 为样品的质量(g)。

1.2.7 维生素 E 含量测定 维生素 E 待测样品处理、标品配制和液相色谱分析条件均参见《维生素 E 含量检测试剂盒说明书》(Solarbio, BC4894)。

1.2.8 叶酸检测 叶酸待测样品处理、标品配制和液相色谱分析条件均参见《叶酸含量检测试剂盒说明书》(Solarbio, BC4834)。

1.2.9 氨基酸含量分析 参照国家标准 GB 5009.124-2016《食品安全国家标准 食品中氨基酸的测定》，采用 S433D 全自动氨基酸分析仪进行分析。

1.2.10 金属元素分析 金属元素分析参照 GB 5009.268-2025《食品安全国家标准 食品中多元素的测定》，采用 Vario macro cube 元素分析仪分析。

1.2.11 DPPH 自由基清除率检测 参照李瑞娟等[24]的方法，以维生素 C 为对照，称取维生素 C 粉末 0.64 g 溶于 10 mL 蒸馏水中，将其稀释为 5、10、20、40、80、160、320 和 640 μg/mL 的系列 V_C 对照溶液；称取黑莓冻干粉 0.1 g 溶于 10 mL 60% 乙醇溶液中，将其稀释为 38、75、150、300、600、900、1200 和 1500 μg/mL 的系列待测溶液，吸取 1 mL 稀释液加入 1 mL 0.2 mmol/mL DPPH 溶液，混合均匀，空白对照为无水乙醇 1 mL 加 1 mL 的 DPPH 溶液，所有样品避光反应 30 min，于波长 517 nm 处测定吸光度。采用公式（2）计算不同浓度 FDBP 的 DPPH 自由基清除率，并用 Origin 拟合出 IC_{50} 值。

$$\text{DPPH自由基清除率}(\%) = \left(1-\frac{A_1-A_2}{A_0}\right)\times 100$$

式（2）

式中：A_0 为空白对照的吸光度；A_1 为样品的吸光度；A_2 为样品背景对照的吸光度。

1.2.12 $ABTS^+$自由基清除率检测 参照张旭伟等[25]的方法，将 0.3 mol/L ABTS 溶液与 0.1 mol/L $K_2S_2O_8$ 溶液等体积混合，4 ℃ 避光反应 12 h，采用无水乙醇稀释 ABTS 混合液约 30 倍。以维生素 C 为对照，其配制方法同 1.2.11。称取黑莓冻干粉 0.1 g 溶于 10 mL 蒸馏水中，将其稀释为 4.7、9.4、18.8、37.5、75、150、300 和 600 μg/mL 的系列溶液，吸取 1 mL 样品系列溶液，与 1 mL ABTS 稀释液混合均匀，空白对照为 1 mL 无水乙醇与 1 mL ABTS 稀释液混合，所有样品室温避光反应 20 min 后测定 734 nm 处吸光度。采用公式(3)计算 $ABTS^+$自由基清除率，并用 Origin 拟合出 IC_{50} 值。

$$ABTS^+\text{自由基清除率}(\%) = \left(1-\frac{A_1-A_2}{A_0}\right)\times 100$$

式（3）

式中：A_0 为空白对照的吸光度；A_1 为样品的吸光度；A_2 为样品背景对照的吸光度。

1.2.13 GC-2spd 细胞培养 GC-2spd 细胞采用含有 10% FBS 的 DMEM 完全培养基培养，将细胞消化后铺板到 96 孔板中，调节细胞数量为 5000 个/孔，置于 CO_2 培养箱中 37 ℃ 培养过夜培养，分别加入与培养基等体积的浓度为 0、3、12、48、192、768 和 3072 μg/mL 的黑莓冻干粉溶液（PBS 溶解），每个浓度设置 6 个平行孔。继续培养 24 和 48 h 后，采用 CCK-8 方法检测细胞存活情况。

1.2.14 氧化损伤 GC-2spd 细胞 按照 1.2.13 的方法培养细胞，并且分别等体积加入浓度为 0、3、12、48、192 和 768 μg/mL 的黑莓冻干粉溶液，每个浓度设置 6 个复孔，继续培养 24 h 后，加入 1200 μmol/L H_2O_2 培养 4 h，诱导 GC-2spd 形成氧化损伤模型，采用 CCK-8 方法检测细胞存活状况。

1.2.15 生化指标检测 用胰蛋白酶消化对数生长期的 GC-2spd 细胞，室温 1000 r/min 离心 5 min，去除上清液收集细胞，重悬细胞将其密度调整为 4×10^5 个/mL，接种到 6 孔板培养，每孔加入 1 mL 细胞悬液。待细胞过夜贴壁后，空白对照组（CON）加入 1 mL 的无血清 DMEM 培养基，而 FDBP-1 组加入 1 mL 48 μg/mL 培养基稀释的 FDBP-1 溶液，FDBP-2 组加入 1 mL 196 μg/mL 培养基稀释的 FDBP-2 溶液。培养 24 h 后，弃去上清，H_2O_2 诱导的组（H_2O_2+）的孔中加入 2 mL 的 1200 μmol/L H_2O_2 培养 4 h 诱导 GC-2spd 形成氧化损伤模型，而无 H_2O_2 诱导的组（H_2O_2−）则加入 2 mL PBS 同样培养 4 h，之后弃去上清液加入 2 mL 的 PBS 溶液清洗细胞，并采胰酶消化后 1000 r/min 离心 5 min 收集细胞沉淀，加入细胞裂解液破碎细胞，根据 SOD、GSH-Px 和 MDA 试剂盒说明书的步骤检测细胞相关指标。

1.3 数据处理

所有测试均独立进行至少 3 次，结果以平均值±标准差表示，采用 Origin 2020 64 Bit 软件进行作图，GraphPad prism 进行实验数据显著性分析，组间差异通过单因素方差分析（One-way ANOVA）检验，*表示 $P<0.05$，为显著差异，**表示 $P<0.01$，为高度显著差异，***表示 $P<0.001$，为极显著差异。不同字母表示具有显著性差异，$P<0.05$。

2 结果与分析

2.1 黑莓冻干粉主要营养成分分析

黑莓作为功能性食品原料，其加工过程中营养组分的保留率直接决定了产品的最终品质与应用潜力。两种黑莓冻干粉（FDBP-1、FDBP-2）的外观图见图 1，

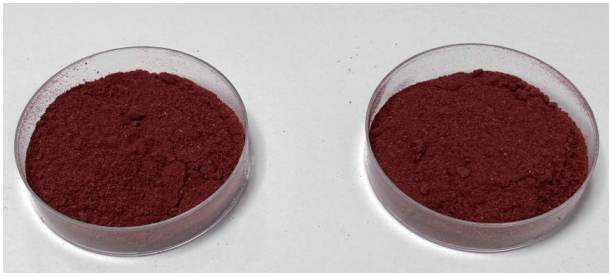


图 1　两种黑莓冻干粉外观

Fig.1　Appearance of two types of blackberry freeze-dried powder

注：左：FDBP-1；右：FDBP-2。

两种黑莓冻干粉呈深红色粉末，质地细腻，均有轻微结块现象。两种黑莓冻干粉的主要营养成分检测结果见表 1。两种黑莓冻干粉（FDBP-1 与 FDBP-2）的基础营养成分（灰分和总糖）无显著差异（P>0.05），但蛋白质含量在 FDBP-1 中极显著增加（5.73% vs. 4.72%，P<0.001），而脂质含量却高度显著降低（1.15% vs. 1.42%，P<0.01）。蛋白质的降低可能与美拉德反应或热变性有关，而脂质含量可能是因为 FDBP-2 加工中未去除黑莓籽而增加了油脂成分。两种黑莓粉的功能性成分存在显著区别，具体为 FDBP-1 在多项关键生物活性物质含量上显著优于 FDBP-2，FDBP-1 的总酚（8.25±0.19 mg/g）、总黄酮（4.22±0.24 mg/g）、花色苷（6.89±0.13 mg/g）和维生素 E（85.54±4.79 μg/g）的含量均显著高于 FDBP-2（总酚 7.78±0.15 mg/g，总黄酮 3.56±0.17 mg/g，花色苷 6.31±0.18 mg/g，维生素 E 57.05±6.11 μg/g）（P<0.05）；在 FDBP-1 中检测到叶酸为 22.94±2.68 μg/g，而 FDBP-2 中未检出，上述差异可能是在超微粉碎处理过程存在温度过高和时间过长导致了总酚、总黄酮、花色苷、维生素 E 和叶酸的部分降解，这表明 FDBP-2 的加工过程可能影响冻干粉的稳定性。

表 1　黑莓冻干粉营养成分分析

Table 1　Analysis of the components in FDBPs

成分	FDBP-1	FDBP-2
蛋白(%)	5.73±0.22	4.72±0.17***
脂质(%)	1.15±0.12	1.42±0.11**
灰分(%)	2.68±0.18	2.78±0.15
水分(%)	3.01±0.19	2.85±0.13
总糖(g/g)	2.62±0.23	2.64±0.14
总酚(mg/g)	8.25±0.19	7.78±0.15**
总黄酮(mg/g)	4.22±0.24	3.56±0.17**
花色苷(mg/g)	6.89±0.13	6.31±0.18*
维生素E(μg/g)	85.54±4.79	57.05±6.11***
叶酸(μg/g)	22.94±2.68	N.D

注：与FDBP-1组相比，*表示P<0.05，为显著差异，**表示P<0.01，为高度显著差异，***表示P<0.001，为极显著差异；N.D表示未检出。

2.2　黑莓冻干粉氨基酸组成分析

氨基酸是构成蛋白质的基本单位，在调节机体代谢、抗氧化应激及维持生理平衡等方面具有重要作用，其组成特征影响食品的功能特性[26]。研究对两种黑莓冻干粉（FDBP）的氨基酸组成进行系统分析（表 2），结果显示其均富含 17 种氨基酸，FDBP-2 的总氨基酸含量（13.716 g/100 g）显著高于 FDBP-1（12.984 g/100 g）（P<0.05），表明不同冻干工艺对氨基酸保留存在差异性影响。从氨基酸分类角度看，FDBP-1 的必需氨基酸占比（30.31%）高于 FDBP-2（22.21%），而 FDBP-1 的非必需氨基酸占比（69.69%）低于 FDBP-2（77.79%），FDBP-1 更接近 WHO/FAO 提出的理想蛋白标准（必需氨基酸占总氨基酸的 40% 以上）[27]。

表 2　黑莓冻干粉氨基酸含量分析

Table 2　Analysis of amino acid content in FDBPs

氨基酸种类	FDBP-1		FDBP-2	
	含量(g/100 g)	占比(%)	含量(g/100 g)	占比(%)
天冬氨酸(Asp)	1.476±0.054	11.37	1.633±0.029*	11.91
苏氨酸(Thr)#	0.532±0.033	4.10	0.445±0.012*	3.24
丝氨酸(Ser)	0.713±0.013	5.49	0.700±0.014	5.10
谷氨酸(Glu)	1.688±0.011	13.00	2.324±0.033***	16.94
甘氨酸(Gly)	0.657±0.013	5.06	0.638±0.016	4.65
丙氨酸(Ala)	2.209±0.006	17.01	2.811±0.059***	20.49
半胱氨酸(Cys)	0.283±0.008	2.18	0.298±0.013	2.17
缬氨酸(Val)#	0.749±0.023	5.77	0.592±0.016***	4.32
甲硫氨酸(Met)#	0.067±0.002	0.51	0.054±0.002**	0.39
异亮氨酸(Ile)#	0.476±0.012	3.67	0.373±0.007***	2.72
亮氨酸(Leu)#	0.863±0.021	6.65	0.662±0.019***	4.83
酪氨酸(Tyr)	0.432±0.004	3.33	0.403±0.006**	2.94
苯丙氨酸(Phe)#	0.476±0.006	3.67	0.370±0.016**	2.70
赖氨酸(Lys)#	0.774±0.017	5.96	0.551±0.004***	4.02
组氨酸(His)	0.282±0.008	2.17	0.260±0.004*	1.90
精氨酸(Arg)	0.797±0.006	6.14	1.046±0.011***	7.63
脯氨酸(Pro)	0.511±0.012	3.94	0.557±0.026	4.05
非必需氨基酸含量	9.048±0.124	69.69	10.669±0.187***	77.79
必需氨基酸含量	3.936±0.094	30.31	3.047±0.066***	22.21
总氨基酸含量	12.984±0.218	100.00	13.716±0.253*	100.00

注：#代表必需氨基酸；与FDBP-1相比，*表示P<0.05，为显著差异，**表示P<0.01，为高度显著差异，***表示P<0.001，为极显著差异。

两种 FDBP 中含量排名前五的氨基酸包括丙氨酸（Ala）、谷氨酸（Glu）、天冬氨酸（Asp）、精氨酸（Arg）这四种，表明冻干工艺的差异显著影响黑莓冻干粉的氨基酸组成。本研究检测到的多种氨基酸被文献报道与雄性生殖健康密切相关。例如，D'Aniello 等[28] 研究发现，在少弱精子和无精子症患者的精液中，天冬氨酸的浓度水平低于正常样本，提示其浓度与精液质量存在相关性，可能参与精子成熟过程。类似地，Hosseini 等[29−30] 的研究显示，在畸形精子症中，包括天冬氨酸、精氨酸在内的多种氨基酸代谢通路出现紊乱。这些发现提示，FDBP 中富含的这些氨基酸可能为其潜在的生殖健康益处提供了部分物质基础。

精氨酸在两种 FDBP 中含量均超过 6%。现有研究表明，精氨酸在体内作为一氧化氮（NO）的前体，

可能通过激活 Keap1/Nrf2/ARE 等信号通路，增强内源性抗氧化防御[31]；此外，其对维持正常的细胞能量代谢也至关重要[32]。然而，必须指出，黑莓冻干粉作为膳食来源，其含有的精氨酸能否以及在多大程度上能够被利用并直接影响生殖功能，取决于复杂的体内代谢过程。因此，黑莓冻干粉的价值可能不在于提供单一、高剂量的精氨酸，而在于其作为一个复杂的生物活性成分组合体。除精氨酸外，FDBP 中还含有可作为谷胱甘肽合成底物的半胱氨酸和甘氨酸，以及具有抗氧化活性的多酚类物质（如花色苷）和维生素 E，这些组分可能通过协同作用，共同构成一个多靶点的抗氧化和细胞保护网络，这或许是黑莓冻干粉区别于传统蛋白质来源、作为一种功能性食品配料的独特潜力所在。这一推测有待后续研究，特别是体内实验的进一步验证。

2.3 黑莓中微量元素分析

研究针对两种 FDBP 的关键微量元素镁、铁、硒和锌进行定量分析（表 3），结果显示 FDBP-2 的镁含量（6618.37±321.58 μg/kg）为 FDBP-1（943.83±48.21 μg/kg）的 7.0 倍（P<0.001），这表明镁元素可能来源于黑莓籽。镁是细胞生理学的第二个关键元素，是 300 多种酶促反应的辅助因子，同时，镁支持 ATP 酶的功能，为精子运动释放能量[33−34]。而铁的含量 FDBP-1（551.41±25.14 μg/kg）为 FDBP-2（155.55±35.22 μg/kg）的 3.5 倍，铁缺乏已被证明会通过“肠-激素合成轴”机制损害精子发生过程[35]；两种 FDBP 的硒含量（FDBP-1：0.051±0.0021 μg/kg；FDBP-2：0.046±0.0014 μg/kg）均处于痕量水平，无显著差异（P>0.05），其含量均低于 0.1 μg/kg，接近仪器检出限，可能受原料本身低硒特性限制，加工过程对其影响不显著；而锌含量接近（FDBP-1：33.96±5.68 μg/kg；FDBP-2：31.36±3.54 μg/kg），差异无统计学意义（P>0.05），Zn 含量接近，表明两种工艺对锌的保留能力相当，可能与 Zn 在细胞内的结合形态（如金属蛋白）稳定性较高有关。

表 3 黑莓冻干粉矿物元素分析

Table 3 Analysis of the trace element in FDBPs

矿物元素	FDBP-1	FDBP-2
Mg（μg/kg）	943.83±48.21	6618.37±321.58***
Fe（μg/kg）	551.41±25.14	155.55±35.22***
Se（μg/kg）	0.051±0.0021	0.046±0.0014
Zn（μg/kg）	33.96±5.68	31.36±3.54

注：与FDBP-1相比，***表示P<0.001，为极显著差异。

2.4 黑莓冻干粉体外抗氧化活性

黑莓中含有花色苷等多酚类物质赋予其显著的抗氧化能力。DPPH 自由基清除率和 ABTS$^+$自由基清除率广泛应用于植物总抗氧化活性的评估，清除率越高，则其抗氧化性越高。两种黑莓冻干粉的体外抗氧化能力结果如图 2A~图 2B 所示，经过 DPPH 自由基清除率和 ABTS$^+$自由基清除率的计算和线性拟合，以维生素 C 为对照，其 DPPH 和 ABTS$^+$自由基清除率 IC_{50} 值分别为 7.95 μg/mL 和 6.11 μg/mL，显著低于两种黑莓冻干粉。在两种冻干粉之间，FDBP-1 的 DPPH 自由基清除活性（IC_{50}=126.60±44.78 μg/mL）显著强于 FDBP-2（IC_{50}=344.06±73.31 μg/mL）（P<0.05）。然而，两者的 ABTS$^+$自由基清除活性无显著性差异（FDBP-1：29.84±10.89 μg/mL；FDBP-2：33.71±10.09 μg/mL）。在 300~1500 μg/mL 浓度范围内，两种冻干粉的 DPPH 自由基清除率均先随浓度增加而升高，超过临界浓度后出现下降趋势。当 FDBP-2 浓度为 900 μg/mL 时，DPPH 自由基清除率达到峰值（88.35%±1.73%），而 FDBP-1 的清除率更高为 92.19%±3.21%，两者的抗氧化能力差异可能与多酚的种类和含量有关。当浓度大于 900 μg/mL，清除率出现下降，这可能由于多酚等活性成分在极高浓度下发生复杂的分子间相互作用所致[36−37]。在 300~600 μg/mL 的范围内，两种冻干粉的 ABTS$^+$自由基清除率随浓度升高呈下降趋势，这一非典型的浓度-效应关系，可能反映了黑莓冻干粉这一复杂体系在 ABTS$^+$反应动力学上的特殊性。高浓度下，样品的溶解特性、体系黏度或在固定反应时间内未达到平衡等因素，都可能影响最终吸光度的测定值，导致表观清除率随浓度稀释而“升高”[38−40]。综上，两种黑莓冻干粉均保留了显著的体外抗氧化能力，且 FDBP-1 的整体活性优于 FDBP-2，这与前述其更高的多酚、花色苷含量结果相一致。

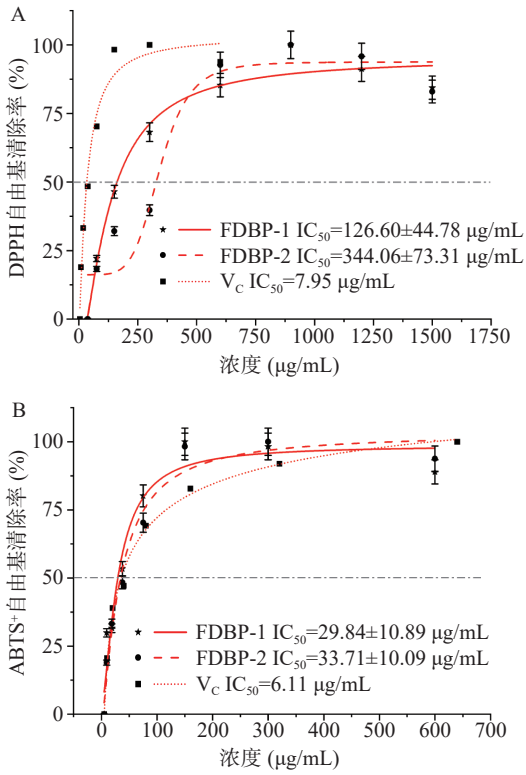


图 2 黑莓冻干粉抗氧化活性

Fig.2 Antioxidant activity of FDBPs

注：A. DPPH 自由基清除率；B. ABTS$^+$自由基清除率。

2.5　基于体外模型的黑莓冻干粉对精子细胞的保护作用研究

上述研究结果初步判定黑莓冻干粉具有丰富的营养成分及抗氧化作用，但是对于是否能够保护精子细胞避免氧化损伤方面的潜在应用尚不清楚。黑莓冻干粉对精子细胞的影响如图 3A~图 3B 所示，当黑莓冻干粉溶液浓度低于 384 μg/mL 时，FDBP-1 和 FDBP-2 能够维持 GC-2spd 细胞的正常生长，特别是在 6~96 μg/mL 的浓度区间以及作用 48 h（图 3A），FDBP-2 作用下的 GC-2spd 细胞的细胞存活率最高可达 138.71%±9.55%，这表明黑莓冻干粉能有效促进精子细胞增殖，显著提高细胞活力，这可能与其中所含的糖、氨基酸等物质相关。

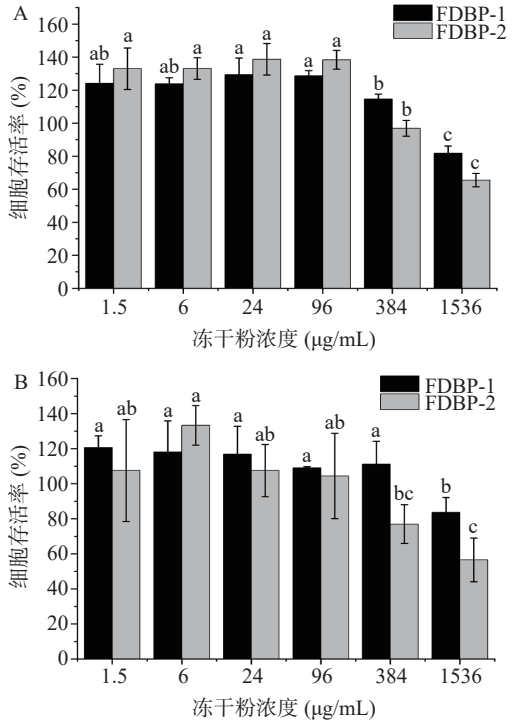


图 3　不同浓度的黑莓冻干粉对 GC-2spd 细胞的存活率的影响

Fig.3　Effect of different concentrations of FDBP on the survival rate of GC-2spd cells

注：黑莓冻干粉处理细胞 48 h（A）和 24 h（B）；不同小写字母表示同一样品不同浓度间具有显著性差异（P<0.05），图 4 同。

在黑莓冻干粉保护下培养 24 h 细胞，再加入 1200 μmol/L H_2O_2 作用 4 h 形成氧化损伤的 GC-2spd 细胞，细胞存活率如图 4 所示，无黑莓冻干粉的细胞存活率为 58.17%±4.83%，而 FDBP-1 浓度为 24 μg/mL 时，细胞存活率最高为 86.35%±3.61%，FDBP-2 浓度为 96 μg/mL 时，细胞存活率最高为 83.34%±3.48%，与损伤组相比均有显著性差异（P<0.05），这表明了黑莓冻干粉能有效地保护精子细胞免受氧化损伤。本研究的结果与既往关于黑莓其他加工制品的报道相互呼应。例如，姚凤丽等[41] 研究发现，酵解的黑莓提取物能对叔丁基过氧化氢诱导的脐静脉内皮细胞氧化应激损伤起到保护作用。邸清茹等[42] 也报道乳酸菌发酵黑莓汁对皮质酮诱导的 PC12 细胞的损伤保护效率，相较于损伤细胞至少提高了 54%。尽管加工方式（冻干、酵解、发酵）与细胞模型不同，但这些研究从不同角度共同佐证：黑莓及其加工产物中蕴含的活性成分具有广泛的细胞保护潜力。本研究首次将这种保护效应具体到未经发酵/酵解转化的黑莓冻干粉在生殖细胞氧化损伤模型中的作用，进一步明确了其作为功能性食品原料在生殖健康领域的应用价值。

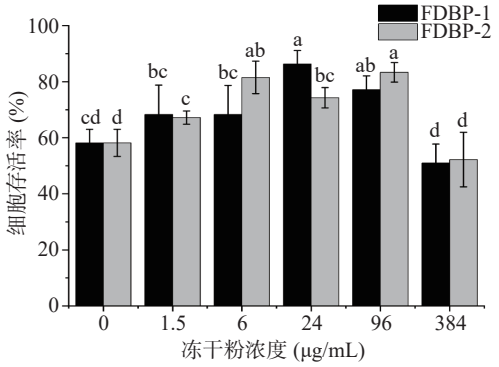


图 4　黑莓冻干粉对氧化损伤的 GC-2spd 细胞的保护作用

Fig.4　Protective effect of FDBP on GC-2spd cells against oxidative damage

2.6　黑莓冻干粉对精子细胞的抗氧化酶活性的影响

基于上述细胞实验的结果，FDBP-1 在更低浓度（24 μg/mL）下表现出比 FDBP-2（96 μg/mL）更优的细胞保护效应。为深入探究这种保护作用的机制，本文分别用 FDBP-1 和 FDBP-2 的最佳保护浓度预处理 GC-2spd 细胞，检测了 H_2O_2 诱导氧化应激后细胞内超氧化物歧化酶（SOD）、谷胱甘肽过氧化物酶（GSH-Px）的活性及丙二醛（MDA）的含量变化。结果如图 5 所示，H_2O_2 处理显著降低了 CON 组细胞的 SOD（0.85±0.020 U/mg 下降到 0.77±0.0073 U/mg）和 GSH-Px（82.85±8.48 U/mg 下降到 69.04±5.85 U/mg）活性，同时使 MDA 水平（2.87±0.42 nmol/mg 增至 4.67±0.32 nmol/mg）显著升高（P<0.05），表明氧化损伤模型构建成功。在施加氧化应激前，经 FDBP 预处理的细胞，其基础的 SOD 和 GSH-Px 活性均显著高于 CON 组（P<0.05），而 FDBP-2 处理细胞后具有更低的 MDA 水平。这表明 FDBP 均能预先提升细胞的抗氧化储备能力。在 H_2O_2 攻击后，绝大部分 FDBP 预处理组的 SOD 和 GSH-Px 活性有所下降，MDA 有所上升，但 FDBP-1 组的 SOD、GSH-Px 活性最终仍显著高于损伤对照组，且 MDA 水平显著更低（P<0.05）。FDBP-2 组也表现出一定的保护作用，但其效果弱于 FDBP-1 组。以上结果说明，黑莓冻干粉尤其是 FDBP-1，预处理细胞后能增强细胞内源性的抗氧化防御能力，并有效抑制脂质过氧化反应，从而缓解氧化应激对生殖细胞造成的损伤。丙二醛（MDA）是氧化应激引起的脂质过氧化的标志性产物，其含量升高与细胞凋亡率密切相关[43]。SOD 是

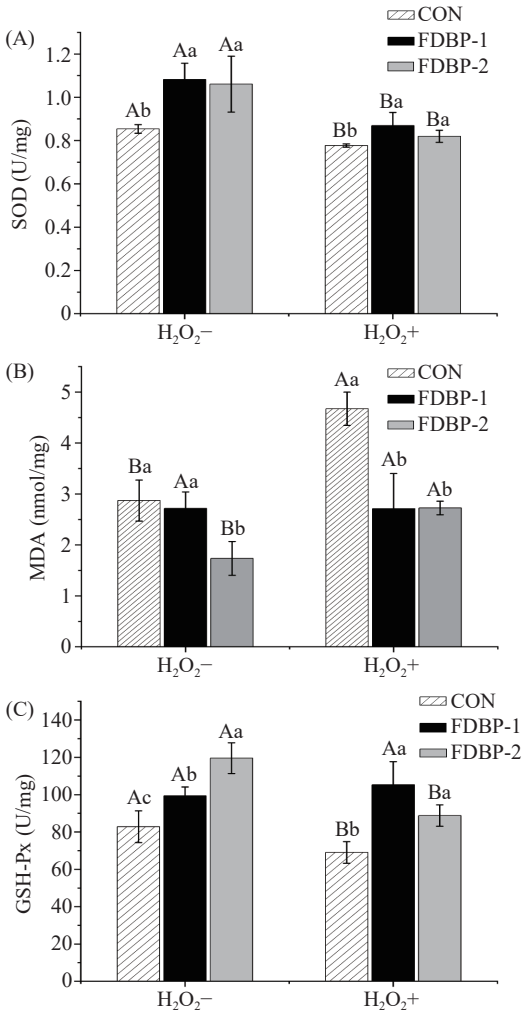


图 5 黑莓冻干粉对氧化损伤的 GC-2spd 细胞的抗氧化酶的影响

Fig.5 Effect of FDBP on antioxidant enzymes in GC-2spd cells under oxidative damage

注: A. SOD; B. MDA; C. GSH-Px; 图中不同小写字母表示相同氧化应激处理下, 不同样品预处理组(CON、FDBP-1 和 FDPB-2)之间具有显著性差异(P<0.05), 不同大写字母表示相同样品预处理下, 有无 H_2O_2 氧化应激处理之间具有显著性差异(P<0.05)。

清除细胞内自由基的关键酶, 负责催化超氧阴离子自由基的歧化反应, 而 GSH-Px 则特异性清除由此产生的过氧化氢等过氧化物[44]。除了花色苷等多酚物质通过提高 SOD 等方式提高细胞内的抗氧化作用外, 研究发现微量元素以及氨基酸等物质也对抗氧化酶也具有重要作用[45]。例如, 补充锌、硒等微量元素已被证实能提高睾丸组织 SOD 活性并降低 MDA 水平[46]。更为重要的是, 一项临床研究显示, 连续补充一种包含左旋肉碱、精氨酸、谷胱甘肽、锌、硒等多种活性物质的复合剂, 可显著提升男性精子质量及相关抗氧化酶活性[47]。该研究提示, 通过多种功能组分的协同作用来改善生殖氧化应激是一种有效的策略。本研究的黑莓冻干粉正是一个天然的复合功能体系, 其保护作用很可能源于花色苷、维生素 E、叶酸、氨基酸及微量元素等物质的协同贡献。这种多组分、多靶点的协同作用机制, 可能是功能性食品配料区别于单一纯化成分的独特优势所在。

3 结论

本研究系统测定了两种工艺制备的黑莓冻干粉(FDBP-1 与 FDBP-2)的基本成分与生物活性物质含量, 并评估了其体外抗氧化活性及对氧化应激损伤的生殖细胞的保护作用。结果表明, FDBP-1 在关键功能性成分(如花色苷、维生素 E、叶酸、总酚及总黄酮)的保留上优于 FDBP-2, 并展现出更强的 DPPH 与 $ABTS^+$自由基清除能力。进一步的细胞实验证实, FDBP-1 能显著缓解 H_2O_2 诱导的 GC-2spd 细胞氧化损伤, 提高细胞存活率, 并有效上调细胞内 SOD 和 GSH-Px 的活性, 同时降低脂质过氧化产物 MDA 的水平。本研究首次建立了黑莓冻干粉的特定成分谱(如高含量的多酚、黄酮、维生素 E 及精氨酸等)与其体外抗氧化活性及细胞保护效应之间的关联。这些效应可能归因于其中丰富的生物活性成分共同作用, 增强了细胞的内源性抗氧化防御系统。

综上所述, 本研究为黑莓冻干粉作为一种具有抗氧化和生殖细胞保护潜力的功能性食品原料提供了直接的实验依据。其保护作用与其特定的成分组成和体外抗氧化能力密切相关。未来的研究可聚焦于其活性成分在体内的代谢过程、具体的分子靶点以及各成分间的协同作用机制。

© The Author(s) 2026. This is an Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License (https://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/).

参考文献

[1] 孙洋, 钟良. 黑莓营养成分及功能研究进展[J]. 江苏调味副食品, 2023(1): 12−16,44. [SUN Yang, ZHONG Liang. Research progress on nutrition compositions and functions of blackberry[J]. Jiangsu Condiment and Subsidiary Food, 2023(1): 12−16,44.]

[2] de SOUZA V R, PEREIRA P A P, Da SILVA T L T, et al. Determination of the bioactive compounds, antioxidant activity and chemical composition of Brazilian blackberry, red raspberry, strawberry, blueberry and sweet cherry fruits[J]. Food Chemistry, 2014, 156: 362−368.

[3] MARHUENDA J, ALEMÁN M D, GIRONÉS-VILAPLANA A, et al. Phenolic composition, antioxidant activity, and *in vitro* availability of four different berries[J]. Journal of Chemistry, 2016, 2016: 5194901.

[4] SAKALDAŞ M, ŞEN F, GUNDOGDU M, et al. Alterations in quality characteristics and bioactive compounds of blackberry fruits subjected to postharvest salicylic acid treatment during cold storage [J]. Food Science & Nutrition, 2024, 12(11): 9123−9135.

[5] OLMEDO G M, PLOTTO A, MATTIA M, et al. Evaluation of modified humidity and controlled-release thymol on the preservation of blueberries and blackberries[J]. Postharvest Biology and Technology, 2025, 219: 113237.

[6] SAMOTICHA J, WOJDYŁO A, LECH K. The influence of different the drying methods on chemical composition and antioxidant activity in chokeberries[J]. LWT-Food Science and Technology, 2016, 66: 484−489.

［7］ FENG S H, BI J F, LAAKSONEN T, et al. Texture of freeze-dried intact and restructured fruits: Formation mechanisms and control technologies[J]. Trends in Food Science & Technology, 2024, 143: 104267.
［8］ KHOJASTEH A, MIRJALILI M H, ALCALDE M A, et al. Powerful plant antioxidants: A new biosustainable approach to the production of rosmarinic acid[J]. Antioxidants, 2020, 9(12): 1273.
［9］ CHANDIMALI N, BAK S G, PARK E H, et al. Free radicals and their impact on health and antioxidant defenses: A review[J]. Cell Death Discovery, 2025, 11: 19.
［10］ HE Kuo, YANG Yi, LI Zhihong, et al. Delayed reproduction, injury, and regeneration of testes in out-of-season breeding of largemouth bass (*Micropterus nigricans*)[J]. Antioxidants, 2024, 13(9): 1077.
［11］ 王熙, 刘彩凤, 王婧卓, 等. 动物精子线粒体调节精子质量的研究进展[J]. 华中农业大学学报, 2025, 44(6): 222−230. ［WANG Xi, LIU Caifeng, WANG Jingzhuo, et al. Progress on regulation of quality of sperm by mitochondria in animal sperm[J]. Journal of Huazhong Agricultural University, 2025, 44(6): 222−230.］
［12］ DUTTA S, MAJZOUB A, AGARWAL A. Oxidative stress and sperm function: A systematic review on evaluation and management[J]. Arab Journal of Urology, 2019, 17(2): 87−97.
［13］ BEDAIWY M A, ELNASHAR S A, GOLDBERG J M, et al. Effect of follicular fluid oxidative stress parameters on intracytoplasmic sperm injection outcome[J]. Gynecological Endocrinology, 2012, 28(1): 51−55.
［14］ XAVIER J R, SANJAY B S, GUPTA D, et al. Bioactive compounds of foods: Phytochemicals and peptides[J]. Food and Humanity, 2024, 3: 100354.
［15］ MUTALIP S S M, AB-RAHIM S, RAJIKIN M H. Vitamin E as an antioxidant in female reproductive health[J]. Antioxidants, 2018, 7(2): 22.
［16］ BLANER W S, SHMARAKOV I O, TRABER M G. Vitamin a and vitamin E: Will the real antioxidant please stand up?[J]. Annual Review of Nutrition, 2021, 41: 105−131.
［17］ MATORRAS R, PÉREZ-SANZ J, CORCÓSTEGUI B, et al. Effect of vitamin E administered to men in infertile couples on sperm and assisted reproduction outcomes: A double-blind randomized study[J]. F & S Reports, 2020, 1(3): 219−226.
［18］ YUE Fangfang, ZHANG Jinrui, XU Jiaxin, et al. Effects of monosaccharide composition on quantitative analysis of total sugar content by phenol-sulfuric acid method[J]. Frontiers in Nutrition, 2022, 9: 963318.
［19］ 皮西瑞, 王家琪, 康璐瑶, 等. 不同杀菌方式对葡萄汁理化特性、功能性指标及代谢物的影响[J]. 食品工业科技, 2026, 47(8): 20−31. ［PI Xirui, WANG Jiaqi, KANG Luyao, et al. Influence of different sterilization methods on the physicochemical properties, functional components and metabolites of grape juice[J]. Science and Technology of Food Industry, 2026, 47(8): 20−31.］
［20］ BAO Shihan, YIN Dingze, ZHAO Qinyu, et al. Comprehensive evaluation of the effect of five sterilization methods on the quality of black carrot juice based on PCA, TOPSIS and GRA models[J]. Food Chemistry: X, 2023, 17: 100604.
［21］ 李倩, 尹小娟, 陈晓莹, 等. 苦荬茶黄酮纯化工艺及其抗氧化活性的研究[J]. 食品科技, 2025, 50(7): 198−205. ［LI Qian, YIN Xiaojuan, CHEN Xiaoying, et al. Purification process of flavonoids from bitter *Vitex* tea and its antioxidant activity[J]. Food Science and Technology, 2025, 50(7): 198−205.］
［22］ SZYMANOWSKA U, BARANIAK B. Antioxidant and potentially anti-inflammatory activity of anthocyanin fractions from pomace obtained from enzymatically treated raspberries[J]. Antioxidants, 2019, 8(8): 299.
［23］ 张淑淑, 吕想, 刘伟, 等. 果蔬花色苷的理化特性、提取技术及功能活性研究进展[J]. 食品与发酵工业, 2024, 50(2): 360−371. ［ZHANG Shushu, LÜ Xiang, LIU Wei, et al. Research progress on physical and chemical characteristics, extraction technology, and functional activity of anthocyanins from fruits and vegetables[J]. Food and Fermentation Industries, 2024, 50(2): 360−371.］
［24］ 李瑞娟, 梁锦, 王丹, 等. 不同品种猕猴桃汁抗氧化成分及体外抗氧化活性比较[J]. 食品工业科技, 2022, 43(2): 311−318. ［LI Ruijuan, LIANG Jin, WANG Dan, et al. Comparative analysis of antioxidant compounds and antioxidant activities *in vitro* of different kiwifruit juice[J]. Science and Technology of Food Industry, 2022, 43(2): 311−318.］
［25］ 张旭伟, 陈佳慧, 刘玉凤, 等. 超声辅助酶法改性蓝莓果渣纤维及其提升低脂酸奶贮存品质的研究［J/OL］. 食品工业科技, 1−21［2026-05-14］. https://doi.org/10.13386/j.issn1002-0306.202507029O. ［ZHANG X W, CHEN J H, LIU Y F, et al. Research on the modification of blueberry residue fiber by ultrasound-assisted enzymatic method and its improvement of storage quality of low-fat yogurt[J/OL]. Science and Technology of Food Industry, 1−21［2026-05-14］. https://doi.org/10.13386/j.issn1002-0306.2025070290.］
［26］ 张致玮, 李梁, 杨小俊, 等. 茶叶中游离氨基酸的检测与其生物活性研究进展[J]. 食品安全质量检测学报, 2024, 15(10): 82−89. ［ZHANG Zhiwei, LI Liang, YANG Xiaojun, et al. Research progress on detection and biological activity of free amino acids in tea[J]. Journal of Food Safety & Quality, 2024, 15(10): 82−89.］
［27］ JOINT F A O W H O A H E C O E, PROTEIN R, WORLD HEALTH O, et al. Energy and protein requirements: Report of a Joint FAO/WHO ad hoc expert committee［meeting held in Rome from 22 March to 2 April 1971］[Z]. Geneva; World Health Organization. 1973.
［28］ D'ANIELLO G, RONSINI S, GUIDA F, et al. Occurrence of D-aspartic acid in human seminal plasma and spermatozoa: Possible role in reproduction[J]. Fertility and Sterility, 2005, 84(5): 1444−1449.
［29］ HOSSEINI E, AMIRJANNATI N, HENKEL R, et al. Targeted amino acids profiling of human seminal plasma from teratozoospermia patients using LC–MS/MS[J]. Reproductive Sciences, 2023, 30(11): 3285−3295.
［30］ HOSSEINI E, AMIRJANNATI N, BAZRAFKAN M, et al. P-052 Targeted metabolomics (amino acids) profiling of seminal plasma distinguished teratozoospermia from normozoospermic samples[J]. Human Reproduction, 2022, 37(Supplement_1): deac107.048.
［31］ LIANG Mingcai, WANG Zhengxuan, LI Hui, et al. L-Arginine induces antioxidant response to prevent oxidative stress via stimulation of glutathione synthesis and activation of Nrf2 pathway[J]. Food and Chemical Toxicology, 2018, 115: 315−328.
［32］ SAKA W A, ADEOGUN A E, ADISA V I, et al. L-arginine attenuates dichlorvos-induced testicular toxicity in male Wistar rats by suppressing oxidative stress-dependent activation of caspase 3-mediated apoptosis[J]. Biomedicine & Pharmacotherapy, 2024, 178: 117136.
［33］ AL ALAWI A M, MAJONI S W, FALHAMMAR H. Magnesium and human health: Perspectives and research directions[J]. International Journal of Endocrinology, 2018, 2018(1): 9041694.
［34］ CHYRA-JACH D, KALETKA Z, DOBRAKOWSKI M, et

al. Levels of macro- and trace elements and select cytokines in the semen of infertile men[J]. Biological Trace Element Research, 2020, 197(2): 431−439.

[35] ZHANG Fali, YUAN Shuai, DONG Peiyu, et al. Multi-omics analysis reveals that iron deficiency impairs spermatogenesis by gut-hormone synthesis axis[J]. Ecotoxicology and Environmental Safety, 2022, 248: 114344.

[36] SHARMA O P, BHAT T K. DPPH antioxidant assay revisited[J]. Food Chemistry, 2009, 113(4): 1202−1205.

[37] PROCHÁZKOVÁ D, BOUŠOVÁ I, WILHELMOVÁ N. Antioxidant and prooxidant properties of flavonoids[J]. Fitoterapia, 2011, 82(4): 513−523.

[38] CAO G H, SOFIC E, PRIOR R L. Antioxidant and prooxidant behavior of flavonoids: Structure-activity relationships[J]. Free Radical Biology and Medicine, 1997, 22(5): 749−760.

[39] DO Q D, ANGKAWIJAYA A E, TRAN-NGUYEN P L, et al. Effect of extraction solvent on total phenol content, total flavonoid content, and antioxidant activity of *Limnophila aromatica*[J]. Journal of Food and Drug Analysis, 2014, 22(3): 296−302.

[40] SPIEGEL M, CEL K, SROKA Z. The mechanistic insights into the role of pH and solvent on antiradical and prooxidant properties of polyphenols: Nine compounds case study[J]. Food Chemistry, 2023, 407: 134677.

[41] 姚凤丽, 孟少珂, 延海莹, 等. 酵解黑莓提取物对 HUVEC 细胞氧化损伤的保护作用[J]. 中国食品学报, 2022, 22(7): 56−63. [YAO Fengli, MENG Shaoke, YAN Haiying, et al. Protective effect of fermented blackberrry extracts on oxidative damage in HUVEC cells[J]. Journal of Chinese Institute of Food Science and Technology, 2022, 22(7): 56−63.]

[42] 邸清茹, 吴寒, 李思媛, 等. 乳酸菌发酵黑莓汁的主要组分和功能活性[J]. 食品研究与开发, 2024, 45(12): 28−34. [DI Qingru, WU Han, LI Siyuan, et al. Components and functional activities of blackberry juice fermented by lactic acid bacteria[J]. Food Research and Development, 2024, 45(12): 28−34.]

[43] LEI Yiping, WANG Jia, YIN Pengluo, et al. Melatonin ameliorates heat stress-induced oxidative apoptosis in mouse spermatocytes via autophagy and ferroptosis pathways[J]. Cell Stress and Chaperones, 2025, 30(4): 100078.

[44] NGUYEN-POWANDA P, ROBAIRE B. Aging and oxidative stress alter DNA repair mechanisms in male germ cells of superoxide dismutase-1 null mice[J]. Biology of Reproduction, 2021, 105(4): 944−957.

[45] GUO Liangchuan, QIAO Jinli, MIKHAILOVICH M S, et al. Comprehensive structural analysis of anthocyanins in blue honeysuckle (*Lonicera caerulea* L.), bilberry (*Vaccinium uliginosum* L.), cranberry (*Vaccinium macrocarpon* L.), and antioxidant capacity comparison[J]. Food Chemistry: X, 2024, 23: 101734.

[46] MADEJ D, PIETRUSZKA B, KALUZA J. The effect of iron and/or zinc diet supplementation and termination of this practice on the antioxidant status of the reproductive tissues and sperm viability in rats[J]. Journal of Trace Elements in Medicine and Biology, 2021, 64: 126689.

[47] KOPETS R, KUIBIDA I, CHERNYAVSKA I, et al. Dietary supplementation with a novel l-carnitine multi-micronutrient in idiopathic male subfertility involving oligo-, astheno-, teratozoospermia: A randomized clinical study[J]. Andrology, 2020, 8(5): 1184−1193.