

黑果枸杞花色苷的提取、纯化及降解动力学研究

连敏, 高艺玮, 年新, 王梦泽

Study on Extraction, Purification and Degradation Kinetics of Anthocyanins from *Lycium ruthenicum*

LIAN Min, GAO Yiwei, NIAN Xin, and WANG Mengze

在线阅读 View online: <https://doi.org/10.13386/j.issn1002-0306.2023080105>

您可能感兴趣的其他文章

Articles you may be interested in

超声辅助酶法提取薰衣草花色苷及其热降解动力学

Ultrasonic-assisted Enzymatic Extraction and Thermal Degradation Kinetics of Anthocyanins from Lavender

食品工业科技. 2020, 41(1): 150-157 <https://doi.org/10.13386/j.issn1002-0306.2020.01.025>

超声辅助提取黑果枸杞花色苷的工艺优化

Process optimization for ultrasonic-assisted extraction of anthocyanins from *Lycium ruthenicum* Murray

食品工业科技. 2017(14): 227-231 <https://doi.org/10.13386/j.issn1002-0306.2017.14.044>

紫甘蓝花色苷的热降解动力学研究

Thermal degradation kinetics of anthocyanins from red cabbage

食品工业科技. 2018, 39(4): 33-37,43 <https://doi.org/>

静乐黑枸杞花青素的纯化及其抗氧化特性

Purification and Antioxidant Properties of Anthocyanins from Jingle *Lycium ruthenicum*

食品工业科技. 2021, 42(9): 173-178 <https://doi.org/10.13386/j.issn1002-0306.2020070221>

紫甘蓝花色苷稳定性及热降解动力学研究

Stability and Degradation Kinetics of Anthocyanins from Red Cabbage

食品工业科技. 2021, 42(5): 51-59 <https://doi.org/10.13386/j.issn1002-0306.2020050071>

铁皮石斛花色苷稳定性及热降解动力学研究

Stability and Degradation Kinetics of Anthocyanins from *Dendrobium officinale*

食品工业科技. 2019, 40(16): 50-57 <https://doi.org/10.13386/j.issn1002-0306.2019.16.009>



关注微信公众号, 获得更多资讯信息

连敏, 高艺玮, 年新, 等. 黑果枸杞花色苷的提取、纯化及降解动力学研究 [J]. 食品工业科技, 2024, 45(6): 24-31. doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2023080105

LIAN Min, GAO Yiwei, NIAN Xin, et al. Study on Extraction, Purification and Degradation Kinetics of Anthocyanins from *Lycium ruthenicum*[J]. Science and Technology of Food Industry, 2024, 45(6): 24-31. (in Chinese with English abstract). doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2023080105

· 特邀主编专栏—枸杞、红枣、沙棘等食药同源健康食品研究与开发 (客座主编: 方海田、田金虎、龚桂萍) ·

黑果枸杞花色苷的提取、纯化及降解动力学研究

连敏, 高艺玮, 年新, 王梦泽*
(宁夏大学食品科学与工程学院, 宁夏银川 750021)

摘要:以花色苷提取量为主要考察指标, 通过单因素和正交试验优化冻干黑果枸杞花色苷提取工艺, 并在此条件下研究花色苷纯化工艺及其降解动力学, 探讨不同温度、pH 下花色苷提取量的变化。结果表明, 提取最佳工艺条件为: 料液比 1:25 (g:mL)、乙醇浓度 60%、pH4、提取时间 2 h, 此条件下花色苷提取量达 36.507±0.325 mg/g。研究显示 AB-8 大孔树脂纯化黑果枸杞花色苷效果最好, 对花色苷吸附量和解吸量的影响效果最佳, 其最佳条件为: 上样液浓度 200 mg/100 g, 解吸乙醇浓度 80%, 上样流速 2 mL/min, 洗脱流速 2 mL/min, 上样体积为 5 BV, 纯化率为 90.02%。降解动力学研究结果表明: 相同 pH 下, 随着温度升高花色苷的降解速率增大、半衰期减少; 此外, 花色苷在酸性环境中较稳定, 在碱性环境下易降解, 当 pH 为 3, 50 °C 时花色苷稳定性最好, $t_{1/2}$ 最大为 38.5 h, E_a 最大为 41.89 kJ/mol。因此黑果枸杞花色苷提取量与其提取、纯化及温度、pH 的工艺条件密切相关, 本研究为黑果枸杞花色苷的提取及饮品开发提供技术支撑。

关键词:黑果枸杞, 花色苷, 提取, 纯化, 降解动力学

中图分类号: TS218

文献标识码: A

文章编号: 1002-0306(2024)06-0024-08

DOI: 10.13386/j.issn1002-0306.2023080105



本文网刊:

Study on Extraction, Purification and Degradation Kinetics of Anthocyanins from *Lycium ruthenicum*

LIAN Min, GAO Yiwei, NIAN Xin, WANG Mengze*

(College of Food Science and Engineering, Ningxia University, Yinchuan 750021, China)

Abstract: In this study, taking the amount of anthocyanin extraction as the main index, the extraction process of lyophilized *Lycium ruthenicum* anthocyanin was optimized by one-way and orthogonal tests, and the purification process of anthocyanin and its degradation kinetics were studied under these conditions, to explore the changes of the extraction amount of anthocyanin under different temperatures and pH. The results showed that the optimal conditions for the extraction process: The material-liquid ratio was 1:25 (g:mL), the ethanol concentration was 60%, the pH was 4, and the extraction time was 2 h, which resulted in a purification rate of 90.02%. The amount of anthocyanosides extracted under these conditions amounted to 36.507±0.325 mg/g. In addition, the study showed that AB-8 macroporous resin was the most effective in purifying anthocyanin from *Lycium ruthenicum*, and it had the best effect on the adsorption and desorption of anthocyanin. The optimal conditions were: The concentration of the sample solution was 200 mg/100 g, the concentration of desorbed ethanol was 80%, the flow rate of the sample was 2 mL/min, the flow rate of elution was 2 mL/min, and the volume of the sample was 5 BV. The results of the degradation kinetics study showed that the degradation rate of

收稿日期: 2023-08-11

基金项目: 拔尖人才项目 (030103032208)。

作者简介: 连敏 (1999-), 女, 硕士研究生, 研究方向: 果蔬加工与品质控制, E-mail: 12072787539@163.com。

* 通信作者: 王梦泽 (1981-), 男, 博士, 讲师, 研究方向: 果蔬加工与品质控制, E-mail: wangmengze@nxu.edu.cn。

anthocyanin increased with increasing temperature and the half-life decreased at the same pH. Moreover, anthocyanosides were more stable in acidic environment and easily degraded in alkaline environment, and the stability of anthocyanosides was the best with the maximum of $t_{1/2}$ of 38.5 h and the maximum of E_a of 41.89 kJ/mol at pH3 and 50 °C. Therefore, the content of *Lycium ruthenicum* anthocyanin is closely related to its extraction, purification and stability of process conditions, this study provides technical support for the extraction of wolfberry anthocyanin and the development of beverages.

Key words: *Lycium ruthenicum*; anthocyanins; extraction; purification; degradation kinetics

黑果枸杞(*Lycium ruthenicum*)是西北地区特有的耐盐抗旱茄科枸杞^[1],属多棘刺生灌木的一种荒漠植物^[2-4]。富含花色苷、多糖、维生素 E、 β -胡萝卜素等多种抗氧化物质,具有缓解非酒精性脂肪肝,保护皮质神经元、改善阿尔茨海默病,延缓衰老及滋补肝肾等功效^[5-6]。花色苷作为黑果枸杞的主要功效成分,其含量为 6.14~21.79 mg/g^[7-9],花色苷具有强抗氧化性、抑制炎症^[10]、预防心血管疾病、抗肿瘤^[11]、预防糖尿病和明目等功效^[12-14]。

国内外对黑果枸杞花色苷的提取研究主要集中在传统干果为原料,通过溶剂^[15]、微波辅助^[16]、超声波辅助及超临界流体进行提取,其中溶剂提取是最常规的方法^[17-19],而在花色苷纯化及降解方面报道较少。花色苷在黑果枸杞传统干果干燥过程中氧化降解较高、活性较低^[20],且单一的溶剂提取效率低,花色苷不能完全释放、提取时间长^[21]。因此,本文以冻干黑果枸杞为原料,通过单因素、正交试验得到花色苷提取最佳工艺,研究了大孔树脂对黑果枸杞花色苷静态、动态吸附解吸特性及纯化效果,并对花色苷在不同温度、pH 条件下降解动力学进行了探讨,旨在为黑果枸杞花色苷开发利用提供理论依据,促进西北优势特色植物资源高值化利用与乡村振兴。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

冻干黑果枸杞(以鲜果为原料) 宁夏森森科技集团;无水乙醇 分析纯,广东光华科技股份有限公司;乙酸钠、氯化钾 分析纯,上海阿拉丁生物科技股份有限公司;AB-8、D101、HDP100、X5、D130、DA201 大孔树脂 天津光复精细化工研究院。

DXF-10D 型超微粉碎机 广州市大祥电子机械设备有限公司;JA 2003 型电子分析天平 上海菁海仪器有限公司;DF-2 型磁力搅拌器 常州诺基仪器有限公司;754PC 型紫外-可见分光光度计 上海菁华科技仪器有限公司。

1.2 实验方法

1.2.1 材料预处理 选取大小均一、品质优良的鲜果冻干黑果枸杞,采用超微粉碎研磨成粉,过 40 目筛,-80 °C 避光保存,使用前密封恢复至室温。

1.2.2 黑果枸杞花色苷提取工艺 准确按照一定料液比称取黑果枸杞粉于锥形瓶中,以乙醇溶液为提取剂,设置超声功率 300 W,在一定的超声温度下提取

一定时间,得到黑果枸杞总花色苷的提取液。

1.2.3 单因素实验设计 准确称取黑果枸杞粉于锥形瓶中,采用乙醇溶液为提取剂,以黑果枸杞花色苷的含量为参考指标。以料液比 1:20 g/mL、乙醇浓度 60%、pH3、提取时间 2 h 为固定值,研究了料液比(1:5、1:10、1:15、1:20、1:25 g/mL),乙醇溶液的体积分数(20%、40%、60%、80%、90%),pH(1.0、2.0、3.0、4.0、5.0),提取时间(1.5、2、2.5、3、3.5 h)。

1.2.4 正交试验 根据单因素实验结果,以黑果枸杞花色苷含量为考察指标,选取四个影响因素 3 水平设计正交试验 $L_9(3^4)$ 对黑果枸杞花色苷提取工艺进行优化,正交因素水平设计如表 1 所示。

表 1 正交试验设计
Table 1 Orthogonal experimental design

水平	因素			
	A 料液比(g/mL)	B 乙醇浓度(%)	C pH	D 提取时间(h)
1	1:15	60	2	2.0
2	1:20	80	3	2.5
3	1:25	90	4	3.0

1.2.5 总花色苷提取量的测定 取 0.2 mL 的提取产物,分别用 pH1.0 氯化钾溶液与 pH4.5 醋酸钠缓冲溶液稀释,室温避光静置适当时间,得 pH1.0 和 pH4.5 供试品溶液,在 510 nm 和 700 nm 处测定吸光值,采用 pH 示差法计算花色苷提取量^[22]:

$$\text{TAC}(\text{mg/g}) = \frac{A}{\epsilon L} \times \text{Mw} \times \text{DF} \times \frac{V}{m} \quad \text{式 (1)}$$

式中: TAC 表示总花色苷提取量(Total anthocyanin content, TAC), A(吸光值)=($A_{\lambda_{\text{max}}} - A_{700 \text{ nm}}$)_{pH1.0} - ($A_{\lambda_{\text{max}}} - A_{700 \text{ nm}}$)_{pH4.5}; Mw(分子量)=449.2 g/mol,以矢车菊素-3-O-葡萄糖苷计; DF(稀释因子)=20; ϵ (摩尔消光系数)=26900 L/(mol·cm),以矢车菊素-3-O-葡萄糖苷计; L(比色皿光径长度)=1 cm; V: 提取产物体积; m: 提取样品质量。

1.2.6 大孔树脂吸附、解吸试验

1.2.6.1 树脂预处理 使用前,将大孔树脂用无水乙醇溶液浸泡 24 h,然后用无水乙醇溶液洗涤,直至流出液清澈。之后用去离子水洗涤树脂至乙醇被取代,备用。

1.2.6.2 大孔树脂的筛选 在锥形瓶中加入经过预处理的树脂(D130、D101、HPD100、AB-8、X5、

DA201)各 2 g, 再向其中加入 50 mL 用去离子水稀释 2 倍的黑果枸杞花色苷粗提液, 于 25 °C、110 r/min 的恒温振荡器中振荡 24 h, 充分吸附后, 将树脂滤出, 将滤出的树脂用蒸馏水冲洗后, 加入 20 mL 乙醇溶液(80%)置于恒温振荡器上于 25 °C、110 r/min 下振荡 24 h, 充分解吸后, 将树脂滤出, 用 pH 示差法, 采用以下公式计算其吸附量和解吸量^[23]。

$$\text{吸附量}(\text{mg/g}) = \frac{[\text{吸附前浓度} - \text{吸附后浓度}] \times \text{溶液体积}}{\text{树脂质量}} \quad \text{式(2)}$$

$$\text{解吸量}(\text{mg/g}) = \frac{(\text{解吸后溶液中花色苷浓度} \times \text{溶液体积})}{\text{树脂质量}} \quad \text{式(3)}$$

1.2.6.3 AB-8 树脂吸附上样浓度 准确称取 2 g 经过处理的树脂于锥形瓶中, 并向其加入同体积不同浓度的花色苷溶液(10、20、50、100、200、250 mg/100 g), 于 25 °C、110 r/min 下恒温振荡 3 h, 测定其吸附量, 吸附量最大值为 AB-8 吸附的最佳上样浓度^[24]。

1.2.6.4 AB-8 树脂洗脱乙醇浓度 将吸附饱和后的 AB-8 大孔树脂抽滤后置于 100 mL 锥形瓶中, 分别用 40 mL 不同浓度的乙醇溶液(50%、60%、70%、80%、90%)进行洗脱, 置于恒温振荡器, 于 25 °C、110 r/min 振荡 24 h, 充分解吸后过滤, 测定其解吸量, 选择最佳乙醇浓度^[25]。

1.2.6.5 AB-8 树脂上样溶液流速 将 2 mg/mL 花色苷溶液分别采用 0.5、1.0、1.5、2.0、2.5 mL/min 的流速等体积上样, 通过测定其吸附量来选择最佳的上样花色苷浓度^[26]。

1.2.6.6 AB-8 树脂上样体积的确定 以 2 mg/mL 花色苷溶液, 上样溶液流速为 2 mL/min, 上样体积为 1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11 BV 时, 并分别测定其流出液吸光度值。当流出液花色苷吸光度值为上样液吸光度的 1/10 时, 此时树脂达到吸附饱和, 溶液发生泄漏, 以此确定最佳的上样体积^[27]。

1.2.6.7 AB-8 树脂乙醇溶液洗脱流速 将 80% 的乙醇浓度分别用 1、2、3、4、5 mL/min 的流速对已吸附饱和的树脂进行洗脱, 每 10 mL 接一次样, 收集流出液及洗脱液, 测定其花色苷浓度, 选择最佳的洗脱流速^[28]。

1.2.7 pH 和温度对黑果枸杞花色苷降解动力学的研究 分别取 5 份不同 pH(3、4、5、6、7)的纯化黑果枸杞花色苷溶液于离心管中密封, 并将其在不同温度(40、50、60、70、80 °C)下水浴 6 h。每个 1 h 取样一次, 冰水浴, 测定 5 组花色苷含量, 每组三次平行。

假定本实验中黑果枸杞花色苷的降解符合一级动力学模型。根据式(4)计算动力学参数^[29]:

$$\ln(C/C_0) = -kt \quad \text{式(4)}$$

式中: C_0 为溶液的初始花色苷含量, mg/mL; C 为溶液加热 t 时间时的花色苷含量, mg/mL; k 为降解速率, h^{-1} ; t 为加热时间, h。

当 $C/C_0=1/2$ 时, 花色苷残留率为 50%, 降解半衰期为:

$$t_{1/2} = \frac{\ln 0.5}{k} \quad \text{式(5)}$$

采用 Arrhenius 方程求得反应的活化能 E_a :

$$\ln k = \frac{E_a}{RT} + \ln k_0 \quad \text{式(6)}$$

式中: k 为热降解反应常数, h^{-1} ; k_0 为频率常数, h^{-1} ; R 为气体常数 8.314 J/(mol·K); T 为反应温度, K; E_a 为反应活化能, kJ/mol。

花色苷的 Z 值和温度系数 Q_{10} 计算如下:

$$T = -Z \lg t_{1/2} + b \quad \text{式(7)}$$

$$Q_{10} = (K_1/K_2)^{10/(T_1-T_2)} \quad \text{式(8)}$$

其中: T 为温度(°C); b 为线性方程的截距; K 为 T °C 下的降解速率, h^{-1} ; T_1 、 T_2 分别代表不同温度; K_1 、 K_2 分别为温度为 T_1 、 T_2 时的反应速率常数。

通过式(9)、式(10)、式(11)计算焓变 ΔH 、吉布斯自由能 ΔG 和熵变 ΔS :

$$\Delta H = E_a - RT \quad \text{式(9)}$$

$$\Delta G = -RT \ln \frac{K_h}{k_B T} \quad \text{式(10)}$$

$$\Delta S = \frac{\Delta H - \Delta G}{T} \quad \text{式(11)}$$

式中: h 为普朗克常数, 6.6262×10^{-34} J/s; k_B 为玻尔兹曼常数, 1.3806×10^{-23} J/K。

1.3 数据处理

采用 Design-Expert 8.0.6 软件进行正交分析, 采用数据分析软件 Origin 2022 作图。每组实验重复 3 次, 试验结果用平均值±标准差($\bar{x} \pm s$)表示。

2 结果与分析

2.1 单因素实验结果

2.1.1 料液比的确定 不同料液比对花色苷提取量的影响, 如图 1a 所示。当料液比为 1:20 g/mL 时, 花色苷提取量最高, 为 35.047 ± 0.230 mg/g; 料液比为 1:5 g/mL 时, 花色苷提取量最低。随着料液比的增加, 黑果枸杞花色苷提取量先升高后降低, 这是由于花色苷极性较强, 料液比增加扩大了料液接触面积, 加速花色苷的溶出。而料液比为 1:10 与 1:15 g/mL 时, 花色苷提取量无显著差异($P > 0.05$)。随着料液比的继续增加, 花色苷提取量增幅减小, 这是由于相同温度下, 需要加热的液体量增加, 因此物料加热缓慢, 导致花色苷溶出缓慢, 提取量降低^[30]。

2.1.2 乙醇浓度的确定 不同乙醇浓度对花色苷提取量的影响, 如图 1b 所示。当乙醇浓度从 20% 升到 80% 时, 花色苷的含量逐渐升高, 且乙醇浓度在 80%

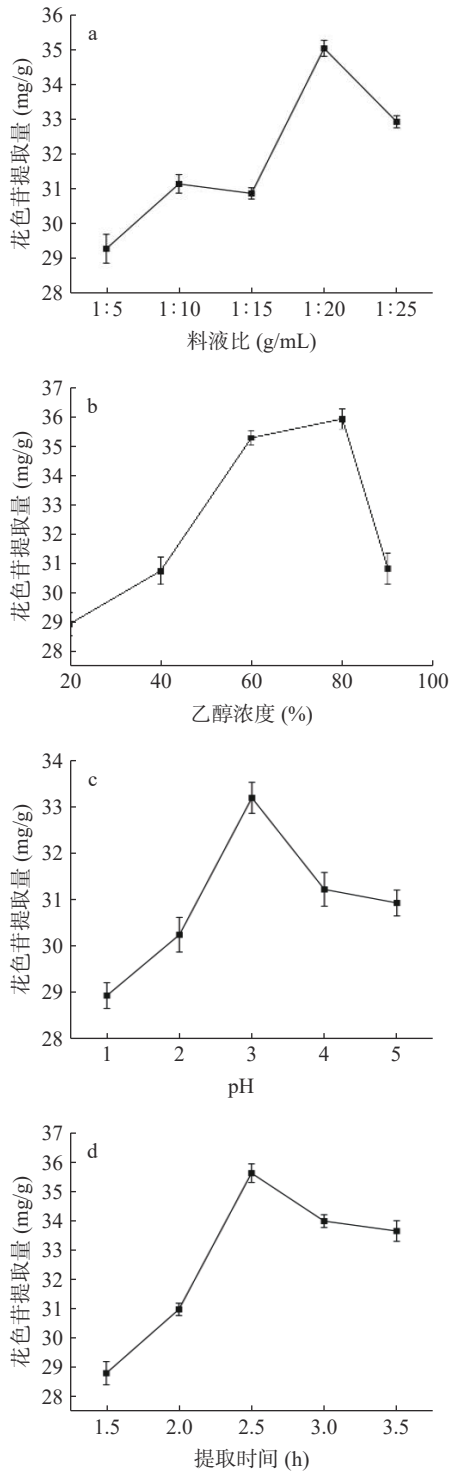


图 1 料液比、乙醇浓度、pH 和提取时间对花色苷提取量的影响

Fig.1 Effects of solid-liquid ratio, ethanol concentration, pH and extraction time on the amount of anthocyanoside

时, 花色苷的含量达到最大, 为 35.907 ± 0.340 mg/g; 乙醇浓度从 80% 到 90% 变化时, 花色苷的含量逐渐降低, 这是由于乙醇浓度太高, 破坏花色苷结构, 导致其含量降低^[22]。因此, 乙醇浓度为 80% 为提取花色苷的最佳提取溶剂。

2.1.3 pH 的确定 不同 pH 对花色苷提取量的影响, 如图 1c 所示。随着 pH 的增大, 花色苷提取量逐渐增大, pH 为 3 时达到最大, 为 33.207 ± 0.335 mg/g,

继续增大 pH, 花色苷提取率反而有所降低, 这是由于随着 pH 的增大, 花色苷稳定性降低, 导致结构发生改变^[31]。

2.1.4 提取时间的确定 不同提取时间对花色苷提取量的影响, 如图 1d 所示。随着提取时间的延长花色苷提取量先增大后减小, 当提取时间为 2.5 h, 其花色苷的提取量达到最大, 为 35.637 ± 0.316 mg/g。但随着提取时间的延长, 花色苷含量降低, 这是由于提取时间过长, 导致花色苷氧化降解^[32], 因此, 2.5 h 作为最佳提取时间。

2.2 正交试验结果

2.2.1 正交设计试验结果 正交试验结果如表 2 所示, 极差结果表明, 影响冻干黑果枸杞花色苷提取量的主次因素顺序为: 乙醇浓度>料液比>提取时间>pH。由表 3 可知, 各因素对花色苷提取量表现出极显著差异 ($P < 0.01$), 综合指标最优组合为 $A_3B_1C_3D_1$, 即最佳提取条件为料液比 1:25 g/mL、乙醇浓度 60%、pH4、提取时间 2 h。

表 2 正交试验结果
Table 2 Orthogonal test results

实验号	A料液比	B乙醇浓度	C pH值	D提取时间	花色苷含量(mg/g)
1	1	1	1	1	29.72
2	1	2	3	2	25.95
3	1	3	2	3	26.97
4	2	1	3	3	32.53
5	2	2	2	1	33.13
6	2	3	1	2	30.12
7	3	1	2	2	33.75
8	3	2	1	3	25.58
9	3	3	3	1	36.33
k1	27.55	32.00	28.47	32.40	
k2	31.26	27.55	30.62	29.94	
k3	31.89	31.14	31.60	28.36	
R	4.342	4.447	3.130	4.032	

表 3 正交试验方差分析

Table 3 Analysis of variance of orthogonal experiment

因素	偏差平方和	自由度	均方	F值	显著性
A料液比	99.159	2	49.579	91.018	**
B乙醇浓度	100.148	2	50.074	91.926	**
C pH	46.101	2	23.05	42.316	**
D提取时间	74.329	2	37.165	68.227	**
误差	9.805	18	0.545		-

注: “-”表示未检测到; “**”表示极显著 ($P < 0.01$)。

2.2.2 最优提取条件验证试验 在最优提取工艺条件为料液比 1:25 g/mL、乙醇浓度 60%、pH4、提取时间 2 h 时进行验证试验, 平行三次, 得黑果枸杞中花色苷含量为 36.507 ± 0.325 mg/g, 相较于正交试验中最优组合所得花色苷提取量更高, 表明此条件具有可行性。

2.3 黑果枸杞花色苷的纯化

2.3.1 大孔树脂的筛选 6 种不同大孔树脂对黑果

枸杞花色苷吸附量和解吸量的影响,如图2所示,AB-8树脂的吸附能力最好,其吸附量为 26.933 ± 0.252 mg/g,解吸量为 25.200 ± 0.316 mg/g,这是由于AB-8树脂极性弱,与黑果枸杞花色苷结构中的弱极性基团结合能力较好^[33]。因此,选择AB-8树脂开展冻干黑果枸杞花色苷纯化试验。

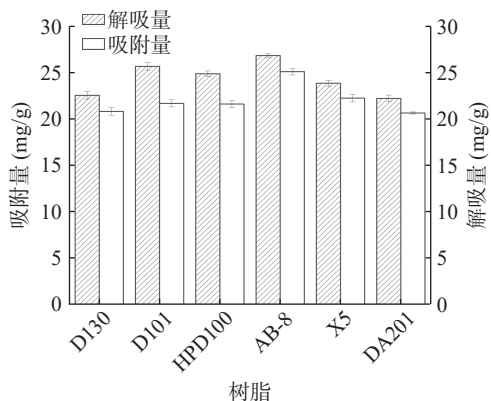


图2 树脂对花色苷吸附量和解吸量的影响
Fig.2 Effects of resins on adsorption and resolution of anthocyanins

2.3.2 AB-8树脂吸附上样浓度 不同花色苷浓度对AB-8树脂吸附花色苷的影响,如图3所示。在一定范围内,吸附量随着花色苷浓度增大而增大,当花色苷浓度达到200 mg/100 g后吸附量趋于稳定,这是由于上样液浓度过大,上样液会产生絮凝和沉淀,造成树脂污染和阻塞^[34],其次是花色苷浓度过大,树脂吸附饱和,多余花色苷流出^[33]。因此,200 mg/100 g是最适合动态吸附黑果枸杞花青素的样品浓度。

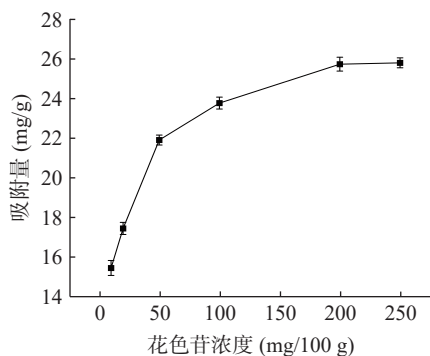


图3 花色苷上样浓度对吸附量的影响
Fig.3 Effect of anthocyanin loading concentration on adsorption capacity

2.3.3 AB-8树脂洗脱乙醇浓度 乙醇浓度对解吸量的影响,如图4所示,随着乙醇浓度的提高,黑果枸杞花色苷的解吸量不断增加,当乙醇浓度为80%时,黑果枸杞花色苷的解吸量达到最大。由于洗脱液与花色苷相似相容原理,80%的乙醇极性和黑果枸杞花色苷的极性相似,吸附在AB-8树脂上面的花色苷溶解于洗脱液中,进而被洗脱下来^[35],因此,选取浓度为80%的乙醇溶液作为解吸黑果枸杞花色苷的洗脱

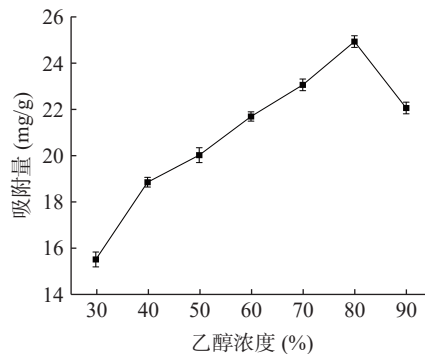


图4 乙醇浓度对解吸量的影响

Effect of ethanol concentration on desorption capacity 溶剂。

2.3.4 动态吸附溶液上样流速的确定 上样流速对黑果枸杞花色苷吸附效果的影响如图5所示。随着上样速度的增大,吸附量呈显著($P < 0.05$)的增加趋势,当上样流速达到2 mL/min后,吸附量有明显下降,根据实验结果最终确定上样流速为2 mL/min。上样流速是影响大孔树脂吸附效率的关键因素,若上样速度过快,会使得原花色苷吸附量减少,导致花色苷样品的浪费;若上样流速太慢,虽然可以使大孔树脂充分吸附花色苷,但是耗时较长,影响效率^[36]。

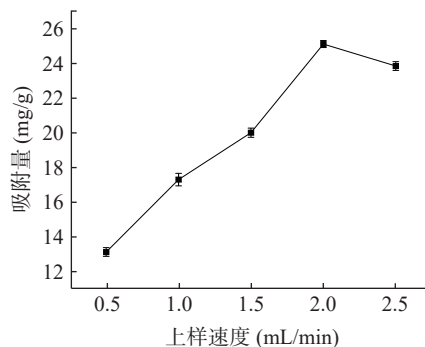


图5 上样速度对AB-8树脂吸附量的影响
Fig.5 Effect of loading rate on adsorption capacity of AB-8 resin

2.3.5 上样体积的确定 上样体积对吸附量的影响,如图6所示。随着上样体积的增加,流出液吸光度值呈增加的趋势,当流出液体积为10 BV时AB-8大孔树脂对花色苷的吸附基本达到饱和。当上样体

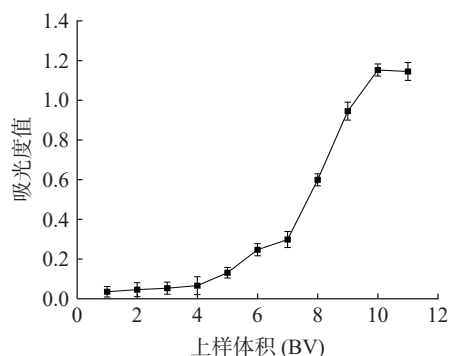


图6 吸附泄露曲线
Fig.6 Adsorption leakage curve

积为 5 BV 时, 吸光度值为上样液吸光度的 1/10, 认为此时为泄漏点。

2.3.6 动态洗脱流速的确定 洗脱流速对解吸量的影响, 如图 7 所示, 当解吸流速为 1 mL/min 时, AB-8 大孔树脂对黑果枸杞花色苷的解吸量为 24.200±0.400 mg/g, 洗脱流速为 2 mL/min 时解吸量为 24.933±0.321 mg/g。考虑到洗脱流速越小, 效率降低, 因此, 选择洗脱流速为 2 mL/min。

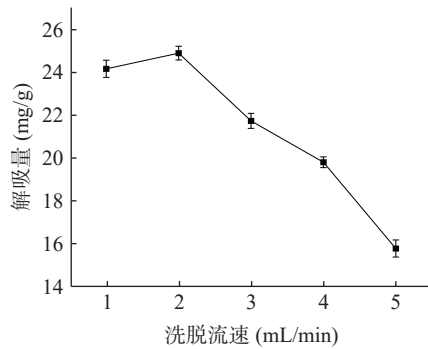


图 7 洗脱流速对解吸量的影响

Fig.7 Effect of elution velocity on desorption

2.4 不同 pH 和温度下黑果枸杞花色苷降解动力学

由式(4)计算在不同 pH 和温度下黑果枸杞花色苷的降解速率, 并进行线性回归, 结果见表 4。结果表明, 不同 pH 和温度下, 纯化后黑果枸杞花色苷的降解符合一级动力学反应模型($R^2 > 0.96$)。

如表 4 显示, 相同 pH 下, 随着温度的升高黑果

表 4 黑果枸杞花色苷在不同 pH 和温度下的动力学参数

Table 4 Kinetic parameters of anthocyanins in *Lycium barbarum* at different pH and temperature

pH	T (°C)	k (10 ⁻⁴ min ⁻¹)	t _{1/2} (h)	E _a (kJ/mol)	D(h)	Z(°C)	温度范围 (°C)	Q ₁₀
3.0	40	2	57.8	41.89 (R ² =0.9913)	0.0192	49.5	40~60	1.55
	50	3	38.5		0.0128		60~80	1.57
	60	5	23.1		0.0080		40~80	1.58
	70	8	14.4		0.0048		60~80	1.58
4.0	40	3	38.5	30.23 (R ² =0.9874)	0.0128	69.69	40~60	1.41
	50	4	28.9		0.0096		40~60	1.41
	60	6	19.3		0.0064		40~80	1.38
	70	8	14.4		0.0048		40~80	1.38
5.0	40	3	38.5	36.77 (R ² =0.9932)	0.0145	60.7	40~60	1.63
	50	4	28.9		0.0096		40~60	1.63
	60	7	16.5		0.0055		40~80	1.49
	70	9	12.8		0.0043		40~80	1.49
6.0	40	7	16.5	36.3 (R ² =0.9947)	0.0058	61.46	40~60	1.45
	50	9	12.8		0.0043		40~60	1.45
	60	14	8.3		0.0027		40~80	1.46
	70	23	5.0		0.0017		40~80	1.46
7.0	40	7	16.5	37.39 (R ² =0.9935)	0.0058	55.12	40~60	1.83
	50	9	12.8		0.0043		40~60	1.83
	60	14	8.3		0.0027		40~80	1.49
	70	23	5.0		0.0017		40~80	1.49

枸杞花色苷的降解速率常数 k 增大, 半衰期 t_{1/2} 随着温度的升高而降低, 花色苷稳定性降低。说明在一定范围内, 温度越低, 花色苷结构越稳定。相同温度条件下, 花色苷的降解速率随 pH 的增大而加快, pH3.0 时, 黑果枸杞花色苷活化能 E_a 最小, Z 值最大, 说明其降解所需能量最大, 花色苷最稳定。

温度系数 Q₁₀ 结果表明, pH3.0 时, Q₁₀ 随着温度的升高而增加, 这是由于高温促进了花色苷的降解速率, 在 pH4.0~7.0 时, Q₁₀ 随着温度的升高而降低, 这是弱酸或中性条件下, 由于花色苷结构发生改变, 导致其热稳定性改变^[37]。在黑果枸杞加工时, 尽可能避免高温处理。

黑果枸杞花色苷在不同 pH 和温度下的热力学参数, 如表 5 所示, ΔH 代表反应前后的能量势垒。ΔH 表明花色苷降解反应均为吸热反应, 高温提供了更多花色苷降解所需的能量, 活化络合物的形成加快, 使得达到能量屏障所需的时间减少^[38]。相同 pH 下, 黑果枸杞花色苷热降解的 ΔH 相似, 这表明在一定范围内的温度变化不影响黑果枸杞花色苷降解的能量势垒。pH 为 3 时, ΔH 最大, 说明花色苷最稳定。

表 5 黑果枸杞花色苷在不同 pH 和温度下的热力学参数

Table 5 Thermodynamic parameters of anthocyanins in *Lycium barbarum* at different pH and temperature

pH	T (°C)	ΔH(kJ/mol)	ΔG(kJ/mol)	ΔS(kJ/mol)
3	40	41.56	96.32	-0.17
	50	41.47	101.10	-0.18
	60	41.39	103.01	-0.19
	70	41.31	104.74	-0.18
4	80	41.22	106.69	-0.19
	40	29.90	97.89	-0.22
	50	29.81	100.33	-0.22
	60	29.73	102.40	-0.22
5	70	29.65	104.74	-0.22
	80	29.56	106.94	-0.22
	40	36.44	98.22	-0.20
	50	36.35	100.33	-0.20
6	60	36.27	101.97	-0.20
	70	36.19	104.40	-0.20
	80	36.10	106.45	-0.20
	40	35.97	95.83	-0.19
7	50	35.88	98.15	-0.19
	60	35.80	100.05	-0.19
	70	35.72	101.73	-0.19
	80	35.63	104.00	-0.19
8	40	37.06	92.17	-0.18
	50	36.97	93.50	-0.17
	60	36.89	94.90	-0.17
	70	36.81	97.09	-0.18
80	36.72	99.61	-0.18	

纯化后, 黑果枸杞花色苷热降解的 ΔG 在同一 pH 不同温度下变化不大(95.83~106.94 kJ/mol), 这表明花色苷热降解是非自发的。

ΔS 反映体系中分子的无序化, 在同一 pH 环境下, ΔS 变化范围极为接近, 说明温度对花色苷降解

的 ΔS 影响较小。pH为3时, ΔS 的绝对值的变化范围明显低于pH为5时的值,说明pH为3时,黑果枸杞花色苷最不易被降解。

3 结论

本文以冻干黑果枸杞为原料,确定了黑果枸杞花色苷最佳提取、分离纯化工艺,并研究了花色苷降解动力学。最佳提取工艺为料液比1:25(g/mL)、乙醇浓度60%、pH4、提取时间2 h,在此条件下,提取量高达 36.507 ± 0.325 mg/g; AB-8型大孔树脂纯化黑果枸杞花色苷效果最好最佳工艺参数为上样液浓度为200 mg/100 g,上样流速为2 mL/min,洗脱流速为2 mL/min,上样体积为5 BV;降解动力学结果表明:黑果枸杞花色苷的热降解符合一级动力学模型,不同pH下黑果枸杞花色苷热稳定性不同,随pH的降低,其稳定性加强。本研究在后续将对黑果枸杞花色苷组分进行定性和定量分析,探索花色苷降解主要组分,通过研究多糖、蛋白等大分子与花色苷单组分的相互作用,以提高花色苷稳定性,为黑果枸杞花色苷深度开发与应用奠定了理论与技术基础。

参考文献

- [1] 郑章. 黑果枸杞花色苷的提取、纯化及活性组分研究[D]. 天津:天津商业大学,2018. [ZHENG Q. Extraction, purification and active components of anthocyanin from *Lycium barbarum*[D]. Tianjin: Tianjin University of Commerce, 2018.]
- [2] 刘超. 黑果枸杞花色苷的提取及其稳定性和抗氧化活性的研究[D]. 重庆:重庆大学,2018. [LIU C. Study on extraction of black *Lycium barbarum* and its stability and antioxidant activity[D]. Chongqing: Chongqing University, 2018.]
- [3] MO X L, GUO D K, JIANG Y G, et al. Isolation, structures and bioactivities of the polysaccharides from *Radix hedysari*: A review[J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2022, 199: 212–222.
- [4] 陈浩, 杨帅杰, 焦婵媛. 黑果枸杞中花青素类物质的研究进展[J]. *现代食品*, 2020(5): 57–59. [CHEN H, YANG S J, JIAO C Y. Research progress of anthocyanin analogues in *Lycium barbarum*[J]. *Modern Food*, 2020(5): 57–59.]
- [5] YANG D. In Situ Stability of anthocyanins in *Lycium ruthenicum* murray[J]. *Molecules*, 2021, 26(23): 7073.
- [6] 睦静怡, 王敏, 徐丽萍. 黑果枸杞活性成分的提取、开发利用研究进展[J]. *现代食品*, 2023, 29(3): 49–51, 58. [SUI J Y, WANG M, XU L P. Research progress on extraction, development and utilisation of active ingredients of *Lycium barbarum*[J]. *Modern Food*, 2023, 29(3): 49–51, 58.]
- [7] 闫亚美, 戴国礼, 冉林武, 等. 不同产地野生黑果枸杞资源果实多酚组成成分分析[J]. *中国农业科学*, 2014, 47(22): 4540–4550. [YAN Y M, DAI G L, RAN L W, et al. Analysis of polyphenol composition of fruits of wild *Lycium barbarum* resources from different origins[J]. *Chinese Agricultural Science*, 2014, 47(22): 4540–4550.]
- [8] 宋亮, 李建颖, 王佳. 超声辅助提取野生与人工栽培黑果枸杞花色苷含量研究[J]. *天然产物研究与开发*, 2018, 30(6): 1002–1008. [SONG L, LI J Y, WANG J. Ultrasound-assisted extraction of anthocyanin content in wild and artificially cultivated *Lycium barbarum*[J]. *Natural Products Research and Development*, 2018, 30(6): 1002–1008.]
- [9] 宋瑞龙, 王紫薇, 章海凤. 黑果枸杞与红枸杞营养及活性成分比较[J]. *美食研究*, 2021, 38(1): 84–87. [SONG R L, WANG Z W, ZHANG H F. Comparison of nutritional and active components between *Lycium barbarum* and red wolfberry[J]. *Gourmet Research*, 2021, 38(1): 84–87.]
- [10] 滕慧, 米亚妮, 何远菊, 等. 酰基稳态化花色苷的制备及其热降解特性和抗氧化活性[J]. *食品科学*, 2023, 44(6): 49–56. [TENG H, MI Y N, HE Y J, et al. Preparation of acyl-stabilized anthocyanosides and their thermal degradation properties and antioxidant activities[J]. *Food Science*, 2023, 44(6): 49–56.]
- [11] 唐榕. 桑葚主要活性成分稳定性研究及花色苷微胶囊的制备[D]. 南宁:广西大学,2018. [TANG R. Study on the stability of main active ingredients of mulberry and preparation of anthocyanin microcapsules[D]. Nanning: Guangxi University, 2018.]
- [12] WANG L W, WAN G M, WANG G, et al. Anthocyanin from *Lycium ruthenicum* in the qaidam basin alleviates ultraviolet-Induced apoptosis of human skin fibroblasts by regulating the death receptor pathway[J]. *Clinical, Cosmetic and Investigational Dermatology*, 2022, 15: 2925–2932.
- [13] 张元. 黑糯米酒中花色苷稳定性研究[D]. 广州:仲恺农业工程学院,2018. [ZHANG Y. Study on the stability of anthocyanin in black glutinous rice wine[D]. Guangzhou: Zhongkai Agricultural Engineering College, 2018.]
- [14] NOMI Y, IWASAKI-KURASHIGE K, MATSUMOTO H. Therapeutic effects of anthocyanins for vision and eye health[J]. *Molecules*, 2019, 24(18): 3311.
- [15] LI X, ZHU F Y, ZENG Z W. Effects of different extraction methods on antioxidant properties of blueberry anthocyanins[J]. *Open Chemistry*, 2021, 19(1): 138–148.
- [16] 徐文决, 刘漾伦, 刘宇, 等. 响应面法优化红豆越橘花色苷的微波辅助提取工艺[J]. *化学与生物工程*, 2023, 40(4): 53–57. [XU W Y, LIU Y L, LIU Y, et al. Optimisation of microwave-assisted extraction process of red bean lingonberry anthocyanosides by response surface method[J]. *Chemical and Biological Engineering*, 2023, 40(4): 53–57.]
- [17] XUE H K, TAN J Q, FAN L L, et al. Optimization microwave-assisted extraction of anthocyanins from cranberry using response surface methodology coupled with genetic algorithm and kinetics model analysis[J]. *Journal of Food Process Engineering*, 2021, 44(6): e13688.
- [18] JARI HEINONEN, HENGAMEH, et al. Extraction and purification of anthocyanins from purple-fleshed potato[J]. *Food & Bioproducts Processing*, 2016, 99: 136–146.
- [19] 金丽梅, 朱成成, 杨斯琪, 等. 超声辅助法提取红豆种皮中花色苷的工艺研究[J]. *保鲜与加工*, 2022, 22(11): 41–47. [JIN L M, ZHU C C, YANG S Q, et al. Process study on extraction of anthocyanosides from red bean seed coat by ultrasound-assisted method[J]. *Freshness and Processing*, 2022, 22(11): 41–47.]
- [20] 王月, 赵彦巧, 李建颖. 超声辅助提取紫苏叶花色苷及其抗氧化活性研究[J]. *食品研究与开发*, 2022, 43(4): 128–135. [WANG Y, ZHAO Y Q, LI J Y. Ultrasound-assisted extraction of perilla leaf anthocyanin and its antioxidant activity[J]. *Food Research and Development*, 2022, 43(4): 128–135.]
- [21] WU C Y, WANG H, FAN X H, et al. Waste euryale ferox salisb. leaves as a potential source of anthocyanins: extraction optimization, identification and antioxidant activities evaluation[J]. *Waste and Biomass Valorization*, 2020, 11(8): 4327–4340.
- [22] 于世莹, 王文秀, 马倩云, 等. 紫马铃薯花色苷的提取、纯化及其稳定性研究[J]. *食品工业科技*, 2020, 41(21): 156–163.

- [YU S Y, WANG W X, MA Q Y, et al. Extraction and purification of purple potato anthocyanin and its stability[J]. *Food Industry Science and Technology*, 2020, 41(21): 156–163.]
- [23] SANG J, MA Q, LI B, et al. An approach for extraction, purification, characterization and quantitation of acylated-anthocyanins from *Nitraria tangutorun* Bobr. fruit[J]. *Journal of Food Measurement & Characterization*, 2018, 12: 45–55.
- [24] 栾浩, 周剑丽, 屈午, 等. 蓝莓果渣花色苷大孔树脂纯化工艺研究[J]. *中国酿造*, 2021, 40(12): 138–143. [LUAN H, ZHOU J L, QU W, et al. Study on the purification process of blueberry pomace anthocyanin by macroporous resin[J]. *China Brewing*, 2021, 40(12): 138–143.]
- [25] HEINONEN, JARI, ANSSI L. et al. Extraction and purification of anthocyanins from purple-fleshed potato[J]. *Food and Bio-products Processing*, 2016, 99: 136–146.
- [26] 宋毓晔. 黑胡萝卜花色苷提取纯化及稳态化研究[D]. 淮安: 淮阴工学院, 2022. [SONG Y Y. Extraction and purification of anthocyanin from black carrot[D]. Huai'an: Huaiyin Institute of Technology, 2022.]
- [27] 李鹏. 桑葚花色苷的提取、纯化及生物活性研究[D]. 晋中: 山西农业大学, 2021. [LI P. Extraction, purification and biological activity of mulberry anthocyanosides[D]. Jinzhong: Shanxi Agricultural University, 2021.]
- [28] 梁泽明, 余祥雄, 余以刚. 玫瑰茄花色苷的降解动力学及抗氧化性[J]. *食品工业科技*, 2019, 40(3): 39–47, 53. [LIANG Z M, YU X X, YU Y G. Degradation kinetics and antioxidant properties of anthocyanin from rosehips[J]. *Food Industry Science and Technology*, 2019, 40(3): 39–47, 53.]
- [29] YIN M Y, XIE J, XI C, et al. Extration, identification and stability ananlysis of anthocyanins from organic Guizhou blueberries in China[J]. *Food Science and Technology*, 2022, 42: e33520.
- [30] PEI L A, WI A, ZH A, et al. Isolation, purification, identification, and stability of anthocyanins from *Lycium ruthenicum* Murr [J]. *LWT*, 2020, 126: 109334.
- [31] 温蓓桐. 黑果腺肋花楸花色苷提取纯化及其微胶囊化研究[D]. 锦州: 渤海大学, 2021. [WEN B T. Extraction and purification of anthocyanin from *Rowania nigra* and its microencapsulation [D]. Jinzhou: Bohai University, 2021.]
- [32] 王月. 紫苏叶花色苷提取、分离纯化及体外消化模拟研究[D]. 天津: 天津商业大学, 2022. [WANG Y. Extraction, isolation, purification and *in vitro* digestion simulation of perilla leaf anthocyanosides[D]. Tianjin: Tianjin University of Commerce, 2022.]
- [33] 代佳琳. 紫玉米穗轴花色苷提取纯化及其稳态化复合物研究[D]. 沈阳: 沈阳农业大学, 2022. [DAI J L. Extraction and purification of florigenic glycosides from purple corn cob and their stabilisation complexes[D]. Shenyang: Shenyang Agricultural University, 2022.]
- [34] 李京城. 黑青稞花色苷提取、纯化及抗氧化活性研究[D]. 拉萨: 西藏大学, 2020. [LI J C. Extraction, purification and antioxidant activity of anthocyanin from black barley[D]. Lhasa: Tibet University, 2020.]
- [35] 刘菁, 孙吉祥, 李倩, 等. 黑果小檗果总花色苷提取工艺优化及热降解动力学研究[J]. *农产品加工*, 2022, 552(10): 67–73. [LIU J, SUN J X, LI Q, et al. Optimisation of extraction process and thermal degradation kinetics of total anthocyanosides from *Berberis nigra* fruit[J]. *Agricultural Product Processing*, 2022, 552(10): 67–73.]
- [36] LUAN G S, VILASIA G M. Recovery of phenolic compounds from purple onion peel using bio-based solvents: Thermal degradation kinetics and color stability of anthocyanins[J]. *Journal of Food Processing and Preservation*, 2022, 46(12): e17161.
- [37] 张秀娟, 刘治廷, 杨诗涵, 等. 超声波辅助酶法提取蓝莓果渣花色苷的工艺优化及降解动力学[J]. *精细化工*, 2022, 39(10): 2069–2077, 2098. [ZHANG X J, LIU Z T, YANG S H, et al. Process optimisation and degradation kinetics of ultrasound-assisted enzymatic extraction of anthocyanin from blueberry pomace[J]. *Fine Chemical Industry*, 2022, 39(10): 2069–2077, 2098.]
- [38] KARDILE V. Thermal degradation kinetics of total carotenoid and colour of mixed juice[J]. *Agricultural Research*, 2020, 9(3): 400–409.