玫瑰茄花色苷的纯化及其热降解稳定性

余以刚，梁泽明，万志超，梁宇思，余祥雄，王成，张青
（华南理工大学食品科学与工程学院，广东广州 510640）

摘要：本实验以玫瑰茄花色苷为原料，研究了花色苷纯化的条件，以及添加不同稳定剂下花色苷溶液的热降解稳定性。结果表明：纯化花色苷的优化条件为上样浓度为 600 mg/L，平衡 3 h，上样体积为 183 mL；洗脱剂为 60%乙醇，洗脱流速为 1 mL/min。纯化后的玫瑰茄花色苷冻干粉末，其色价为 43.10±2.17，回收率为 83.62%±5.72%，花色苷含量为 216.50±1.83 mg/g。添加 1.0%海藻酸钠、羧甲基纤维素（Carboxymethylcellulose，CMC）和 *β*-环糊精的三组玫瑰茄花色苷溶液在 80、90 和 100 ℃三个温度下的降解均符合一级动力学方程，降解速率常数均随着温度的升高而增大，半衰期随着温度的升高而减小。*β*-环糊精具有很好的延缓花色苷降解的潜力，随着 *β*-环糊精浓度的增加，花色苷的降解速率越来越小。80 ℃下加热 150 min 后，花色苷溶液中 a^*值减小，b^*值增加，*β*-环糊精的浓度增加有利于维持花色苷的红度，其中 1.5% *β*-环糊精组的护色效果最佳。

关键词：玫瑰茄；花色苷；纯化；降解动力学

文章篇号：1673-9078(2018)12-58-66 DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2018.12.010

Purification and Thermal Stability of Anthocyanin from *Hibiscus sabdariffa* L.

YU Yi-gang, LIANG Ze-ming, WAN Zhi-chao, LIANG Yu-si, YU Xiang-xiong, WANG Cheng, ZHANG Qing
(School of Food Science and Engineering, South China University of Technology, Guangzhou 510640, China)

Abstract: In this study, the conditions for the purification of anthocyanins from *Hibiscus sabdariffa* L. and the thermal stability of these anthocyanins in the presence of different stabilizers were investigated using roselle anthocyanins as raw materials. The results showed that the optimized conditions for the purification of anthocyanins were: Loading concentration, 600 mg/L; Equilibrium time, 3 h; Loading volume,183 mL; eluent, 60% aqueous ethanol; elution flow rate, 1 mL/min. The color value of the lyophilized powder of purified anthocyanins was 43.10±2.17, with a recovery of (83.62±5.72)% and anthocyanin content of 216.50±1.83 mg/g. The degradation of three systems containing roselle anthocyanins together with 1.0% sodium alginate, carboxymethylcellulose (CMC) or *β*-cyclodextrin at 80, 90 or 100 ℃ all followed the first-order kinetics. The degradation rate constant increased with elevated temperature while the half-life decreased with increasing temperature. *β*-Cyclodextrin had the potential to delay the degradation of anthocyanins. The degradation rate of anthocyanins became smaller and smaller with an increase of *β*-cyclodextrin concentration. After heating at 80 ℃ for 150 min, the a^* value of the anthocyanin solutions decreased while the b^* value increased. An increase of *β*-cyclodextrin concentration facilitated the maintenance of the redness of anthocyanins, and 1.5% *β*-cyclodextrin exhibited the most effective protection.

Key words: *Hibiscus sabdariffa* L.; anthocyanins; purification; degradation kinetics

玫瑰茄(*Hibiscus sabdariffa* L.)又被称为洛神花、山茄等，是锦葵科本植物，原产于西非和印度[1]。近年来，玫瑰茄被广泛种植于南美洲、中美洲、西亚、东南亚等地，在我国则主要分布于广东、福建和台湾等地区。玫瑰茄属于传统的药食同源植物，商业上的玫瑰茄花主要是指其花期的花萼，其外观紫红黑亮、非常诱人。

玫瑰茄花萼含有丰富的花色苷、有机酸、多酚、矿物质和维生素[2]，被广泛用来制作冷热饮料、茶剂、果酱、果脯、汽水等，是墨西哥和非洲大宗消费品，中国人称其茶剂为洛神花茶。据报道，玫瑰茄花色苷的主要成分是飞燕草素-3-接骨木二糖苷、矢车菊素-3-接骨木二糖苷等[3~6]，是天然安全色素的重要来源。从该植物提取的天然色素可作为食品工业的着色、调味添加剂。玫瑰茄有降血压[7,8]、降血脂[9,10]、抗肿瘤[11,12]、抑制肥胖症[13,14]、糖尿病[15]等功效，具有很高的药用价值。

收稿日期：2018-03-08

基金项目：国家重点研发项目（2018YFD0400805）；广东省科技计划项目（2016B090918103）

作者简介：余以刚(1968-)，男，博士，教授，研究方向：食品质量与安全控制

玫瑰茄花色苷粗提物含有多糖、蛋白等杂质，需要进一步的分离纯化。大孔吸附树脂纯化工艺简单、安全性强、重复利用率高，可以有效地去除其中的杂质。相比于其他树脂，AB-8 型大孔树脂具有价格低廉、纯化效率高等特点，在纯化花色苷上应用十分广泛。因此本实验选择 AB-8 型大孔树脂来纯化玫瑰茄花色苷，并对其纯化的条件进行优化。此外，花色苷不稳定，在食品贮藏与加工过程中受到温度、pH、氧化剂和金属离子等因素的影响易发生降解[16~19]。尤其是温度，花色苷对温度非常敏感，在热加工的过程中容易发生降解[20~23]。据报道，花色苷在热降解的过程中遵循一级动力学[24,25]。海藻酸钠、羧甲基纤维素（Carboxymethylcellulose，CMC）和 *β*-环糊精具有良好的食用安全性及生物相容性，是食品工业中应用极其广泛的稳定剂。这些稳定剂能有效地减缓光、热等外界不利因素对花色苷的破坏。在水溶液中，稳定剂分子中间会形成相对疏水的空腔，有机化合物能够部分或完全进入该空腔中而形成包埋络合物[26]。稳定剂也可以作为风味载体而降低风味物质氧化、光热诱导分解的风险。此外，稳定剂还可以延长食品的保质期并掩盖食品中不良风味。在花色苷溶液中添加稳定剂，既可以起到增稠、改善口感的作用，又能增强花色苷的稳定性。研究表明[27]，在玫瑰茄花色苷溶液中添加 *β*-环糊精，能有效地减缓了花色苷的热降解和氧化降解。

本试验对大孔树脂分离纯化玫瑰茄花色苷的条件进行了优化并研究了添加海藻酸钠、羧甲基纤维素、*β*-环糊精对玫瑰茄花色苷热稳定性的影响，建立其热降解动力学模型并探究热加工过程中花色苷的 L^*、a^*、b^*值的变化，为有效控制玫瑰茄花色苷在加热过程中的降解提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

玫瑰茄，采自湖南高产奇和医药合富农业有限公司，去核后冻干备用；AB-8 型大孔树脂，天津波鸿树脂科技有限公司；乙酸钠、氯化钾、无水乙醇、盐酸和氢氧化钠等均为分析纯。

DFY-500 型中药粉碎机，上海新诺仪器设备有限公司；层析柱(1.8 cm×30 cm)，上海亚荣生化仪器厂；7110 型酸度计，德国 WTW；分析天平，欧洲 RADWAG；2L-AREI 旋转蒸发器，上海皓庄仪器有限公司；SHZ-D(Ⅲ)循环水式真空泵，巩义市予华仪器有限责任公司；6000LDI 恒流泵，美国康诺(CoMetro)；SCIENTZ-10N 型真空冷冻干燥机，北京松源华兴生物技术有限公司；HYGRPLAB CR-400 手持色差仪，Konica Minolta 公司。

1.2 方法

1.2.1 玫瑰茄花色苷提取

将玫瑰茄冻干花萼粉碎后过 20 目筛，按料液比 1:30 加入 60%乙醇浸提过夜（约 12 h）。真空抽滤后继续用 60%乙醇冲洗滤渣，合并两次滤液。40 ℃下旋蒸并冷冻干燥后得到花色苷粗提物。

1.2.2 玫瑰茄花色苷纯化

树脂预处理：AB-8 大孔树脂先用无水乙醇浸泡 24 h，充分溶胀，然后用无水乙醇冲洗至无白色浑浊现象为止，最后用蒸馏水洗至无醇，再抽滤吸干树脂中水分。

静态吸附测定：准确称取已预处理树脂 5.0 g 于锥形瓶中，称取 0.1 g 玫瑰茄冻干粉末，用蒸馏水稀释至 100 mL，520 nm 下测其浓度 C_0。将锥形瓶置于恒温振荡器上 30 ℃、100 r/min 振荡 24 h，待充分吸附后，抽滤，得滤液的浓度 C_1，吸附率 $\alpha=(C_0-C_1)/C_0\times100\%$。

静态吸附动力学曲线测定：准确称取已预处理树脂 5.0 g 于锥形瓶中，称取 0.1 g 冻干粉末，用蒸馏水稀释至 100 mL，520 nm 下测其浓度 C_0。将锥形瓶置于恒温振荡器上 30 ℃、100 r/min 振荡，每 30 min 测定溶液的浓度 C_j，绘制静态吸附动力学曲线。

吸附等温线：准确称取已预处理树脂 5.0 g 于锥形瓶中，加入不同浓度的花色苷溶液各 50 mL，置于振荡器 30 ℃、100 r/min 上下振荡 3 h，待吸附平衡后测定溶液的平衡质量浓度，并计算吸附量，以吸附量对浓度作图，绘制吸附等温曲线。

上样流速对 AB-8 大孔树脂吸附效果的影响：称取 0.1 g 冻干粉末，用蒸馏水稀释至 100 mL，520 nm 下测其浓度 C_0。然后取 100 mL 的稀释粗提液流经 AB-8 树脂柱，分别采用不同的流速（0.5、1.0、1.5、2.0、2.5 mL/min），待样品液全部通过树脂柱后，测定流出液的浓度 C_1，通过 $(C_0-C_1)/C_0\times100\%$计算吸附率。

泄漏曲线的测定：称取 5 g 预处理的树脂，湿法装柱，用一定浓度的花色苷溶液进行吸附，流出液用接收器接收，每 10 mL 收集一次流份，测定其浓度，当流出液的浓度达到上样液浓度的 1/10 时认为已经有花色苷类物质透过，停止上样，绘制泄漏曲线。

乙醇浓度对 AB-8 大孔树脂解吸的影响：已吸附饱和的树脂分别用体积分数为 20%、40%、60%、80%和 100%的乙醇溶液进行洗脱，静态解析时用 100 mL

乙醇解析 3 h，动态解析时用 100 mL 乙醇以 1 mL/min 的流速冲柱洗脱，记录洗脱的花色苷溶液的浓度。

解吸流速对 AB-8 大孔树脂解吸效果的影响：原始浓度 C_0 的花色苷 V_0 被吸附饱和后，用 100 mL 60% 的乙醇洗脱饱和吸附树脂，分别控制不同的流速（0.5、1.0、1.5、2.0、2.5 mL/min），记录洗脱的花色苷溶液的浓度 C_1 和体积 V_1，通过（C_1 *V_1）/（C_0 *V_0）×100% 计算吸附率。

1.2.3 色价测定[28]

精确称取自制的花色苷产品 0.1 g，用 pH 1.0 氯化钾缓冲液稀释至 100 mL，再吸取 10 mL，用氯化钾缓冲液稀释至 100 mL，在最大吸收波长处测定其吸光值，计算公式为：

色价=$A\times r/W$

式中：A 为吸光度，W 为样品的质量（g），r 为测定吸光度时所吸取样品的稀释倍数。

1.2.4 花色苷回收率测定

纯化后回收的过程中，需要计算花色苷回收率，计算公式如下：

回收率（%）=实际回收花色苷质量/理论回收花色苷质量

1.2.5 不同稳定剂的玫瑰茄花色苷溶液的热处理

称取一定量的纯化后的玫瑰茄花色苷冻干粉，配制成 1 g/L 的花色苷溶液，用 0.2 mol/L Na_2HPO_4 和 0.1 mol/L 柠檬酸缓冲液配制成 pH=2.2 的花色苷溶液，分装 5 个带帽试管中，每个试管中的花色苷溶液体积均为 20 mL，其中海藻酸钠、CMC 和 β-环糊精均按浓度比取 1.0%，分别放置在 80 ℃、90 ℃恒温水浴锅和 100 ℃的恒温油浴锅中，避光加热 150 min，每隔 30 min 测定 5 组花色苷含量的变化。为避免溶液在加热过程中水分蒸发而引起浓度变化，每次取样后，标记好水位线，下次取样测量前用相同温度的蒸馏水将花色苷溶液补充至前一次取样后的水位线。

色素浓度的测定采用 pH 示差法[29]，含量由等量矢车菊素-3-葡萄糖苷(Cyd-3-G)表示，计算公式如下：

$C=(A\times MW\times DF\times 1000)/(\varepsilon\times 1)$

式中：C 为花色苷浓度(mg/L)；A 为 pH 1.0 时花色苷在 520 nm 与 700 nm 的吸光值之差减去 pH 4.5 时花色苷在 520 nm 与 700 nm 的吸光值之差；MW 为 Cyd-3-G 的分子量 449.2 g/mol；DF 为稀释倍数；1000 为将单位由 g 转化为 mg 的倍数；ε 为摩尔消光系数 26900 L/(mol·cm)；1 为比色皿宽度(cm)。

1.2.6 不同剂量 β-环糊精对花色苷热降解稳定性的影响

分别取 0.5%、1.0%和 1.5%的 β-环糊精添加至玫瑰茄花色苷溶液并分别放置在 80 ℃、90 ℃恒温水浴锅和 100 ℃的恒温油浴锅中，避光加热 150 min，每隔 30 min 测定花色苷含量的变化。

1.2.7 降解动力学计算

应用一级动力学模拟不同条件下花色苷的降解[30]。动力学公式如下：

一级动力学方程：$\ln(C_t/C_0)=-kt$

式中：C_0 为花色苷的初始浓度(mg/mL)，t 为加热时间(h)，C_t 为 t 时刻玫瑰茄花色苷的浓度（mg/mL），k 为速率常数。

玫瑰茄花色苷半衰期 $t_{1/2}(h)$ 计算公式为：$t_{1/2}=\ln(0.5)/k$

式中：k 为速率常数。

1.2.8 色泽测定

花色苷溶液的 L^*、a^*和 b^*值用手持色差仪测定。其中 L^*值表示亮度，值越大则亮度越大；a^*值表示红色（$+a^*$）和绿色（$-a^*$）的程度；b^*值表示黄色（$+b^*$）和蓝色（$-b^*$）的程度。

1.2.9 数据统计分析

每组实验重复三次，分别采用 Origin 软件作图和 SPSS 软件进行差异显著性分析。

2 结果与讨论

2.1 AB-8 静态吸附曲线

通过测定溶液中原始花色苷的浓度以及经过不同时间后残留的花色苷浓度来研究 AB-8 大孔树脂对玫瑰茄花色苷的静态吸附效果。由图 1 可知，在前 2 h 内，AB-8 大孔树脂对花色苷的吸附速率迅速上升，随后逐渐下降，并在 3 h 时趋于平衡，因此 AB-8 大孔树脂的静态吸附饱和时间约为 3 h。

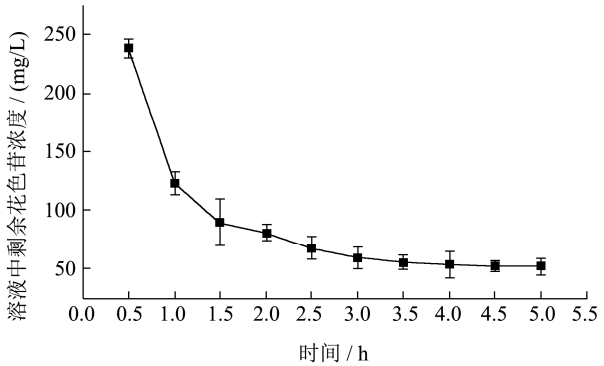


图 1 AB-8 吸附花色苷的动力曲线

Fig.1 Adsorption kinetics curve for anthocyanins on AB-8

2.2 吸附等温线

花色苷分子中存在大量羟基，在低浓度下，花色苷在 AB-8 大孔吸附树脂上是单分子层吸附，而在高

浓度下花色苷也可以通过多分子层吸附[31,32]。如图 2 所示。室温下，AB-8 大孔树脂对玫瑰茄花色苷的吸附量随着上样浓度增加而上升，至 600 mg/L 趋于饱和，故最佳的平衡花色苷浓度为 600 mg/L。

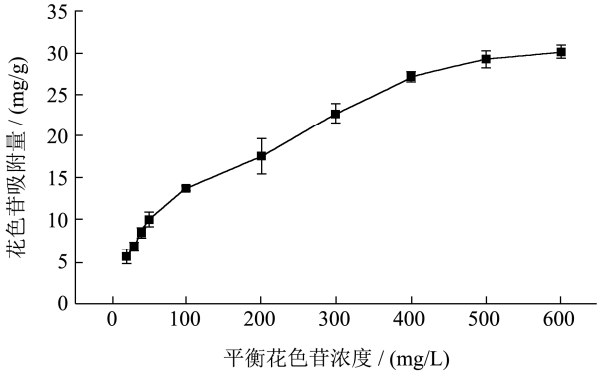


图 2 25 ℃下 AB-8 吸附花色苷的动力曲线

Fig.2 Adsorption kinetics curve for anthocyanins on AB-8 at 25 ℃

2.3 树脂动态泄露曲线的测定

在树脂纯化过程中，常常需要通过泄漏曲线来确定所需树脂的量、上样体积和上样流速[33]。当流出液的浓度达到上样液浓度的 1/10 的时候，可以认为树脂的吸附量已达到饱和，此时的上样体积为最佳上样体积。从图 3 可以看出，树脂对花色苷的吸附效果随上样液体积的增加而下降，最佳上样体积达到 183 mL。

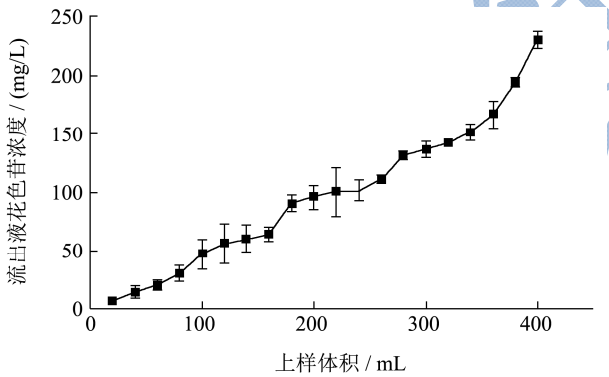


图 3 花色苷吸附泄漏曲线

Fig.3 The curve of adsorption leak of anthocyanins

2.4 乙醇浓度对解吸的影响

乙醇可作为洗脱剂减弱被吸附物质与树脂之间吸附力的作用，使大孔树脂溶胀而释放出花色苷。树脂吸附平衡以后，用酸化蒸馏水洗净树脂表面的多糖和蛋白等杂质，再使用不同浓度(20%、40%、60%、80%、100%)的酸化乙醇溶液进行解吸。结果如图 4 所示。无论是静态洗脱还是动态洗脱，使用 60%～80%浓度的酸化乙醇的洗脱效果均为最好，考虑经济效益和实际效果，故确定最佳解吸乙醇浓度为 60%。

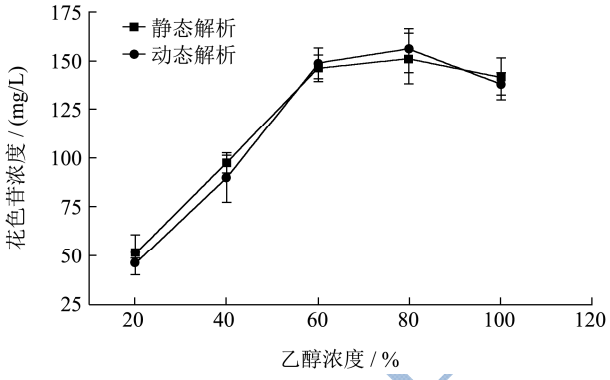


图 4 乙醇浓度对花色苷解析的影响

Fig.4 The effect of ethanol concentration on the desorption of anthocyanin

2.5 花色苷溶液进样流速和乙醇溶液解析流速分别对吸附和解吸效果的影响

从图 5 可以看出，随流速的增加，树脂对花色苷的解吸效果越来越差，可能是流速过快导致乙醇不能与被吸附的花色苷充分作用而将其从树脂上洗脱出来。但是流速太慢会导致解析的时间延长，故选择 1 mL/min 作为洗脱流速。

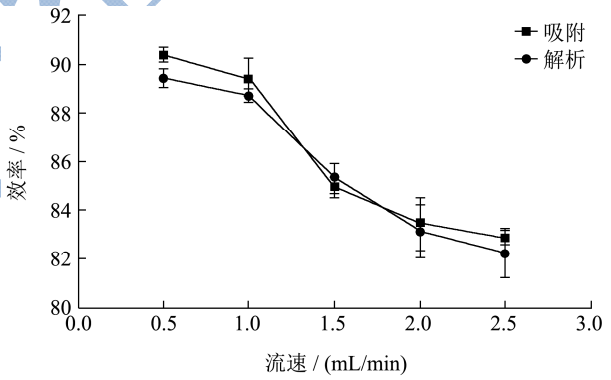


图 5 流速对吸附和解析的影响

Fig.5 The effect of elution velocity on adsorption and desorption

2.6 纯化效果分析

纯化前后玫瑰茄提取物冻干粉末中花色苷浓度、蛋白质和糖浓度、色价以及花色苷回收率如表 1 所示，纯化后，玫瑰茄花色苷的颜色更加鲜艳，其色价为 43.10±2.17，约为纯化前的 6 倍；花色苷回收率为（83.62±5.72）%，用 pH 示差法测得冻干粉末中花色苷含量为 216.50±2.17 mg/g，约为纯化前的 8 倍。同时，经过纯化后蛋白质和多糖的浓度显著下降（p<0.05），表明该方法能有效地除去杂质。这与范碧琴等人[34]在用 Sp 850 树脂对玫瑰茄花色苷纯化的研究结果相似。

表 1 玫瑰茄冻干粉末纯化前后品质对比

Table 1 Comparison of the quality of Hs freeze-dried powder before and after purification

项目	花色苷浓度/（mg/g）	蛋白质浓度/%	糖浓度/%	色价	花色苷回收率/%
纯化前	26.08±2.17^{b}	0.41±0.07^{a}	2.67±0.38^{a}	6.84±1.38^{b}	-
纯化后	216.50±1.83^{a}	未检出	0.05±0.01^{b}	43.10±2.17^{a}	83.62±5.72

注：同一列显著性差异由小写字母 a，b，c 表示（p<0.05）。

2.7 温度对花色苷稳定性的影响

在加热的过程中，花色苷会发生水解或去糖基开环反应，形成查耳酮或其同分异构体 α-二酮，然后降解为酚酸和醛类[35]。据报道[5]，玫瑰茄花色苷中的两种主要成分飞燕草素-3-接骨木二糖苷、矢车菊素-3-接骨木二糖苷的降解均遵循一级反应动力学，飞燕草素-3-接骨木二糖苷对温度升高的敏感性要明显高于矢车菊素-3-接骨木二糖苷，它们热降解分裂生成原儿茶酸、没食子酸和 2,4,6-三羟基苯甲醛。本实验主要研究添加不同稳定剂对花色苷溶液在 80、90 和 100 ℃下热稳定性的影响，旨为花色苷溶液的热加工提供一种可行的方案。

表 2 为添加了 1.0%海藻酸钠、CMC 和 β-环糊精的玫瑰茄花色苷溶液在 80~100 ℃下的降解动力学参数。由图 6、7、8 可知，添加不同稳定剂的三组玫瑰茄花色苷溶液在 80、90 和 100 ℃三个温度条件下的降解均符合一级动力学方程，推测其降解过程应属于裂解反应，即花色苷被裂解为糖基和花色素基元两部分[35]。这与报道文献中黑米[36]、蓝莓[37]花色苷热降解动力学过程研究结果相吻合。

添加不同稳定剂的三种溶液中，玫瑰茄花色苷的降解速率常数均随着温度的升高而增大，半衰期随着温度的升高而减小。结果说明低温条件下有利于玫瑰茄花色苷的稳定。在 80、90 和 100 ℃三个温度下添加稳定剂组的降解动力学参数均比空白组小，而且半衰期也都比空白组大。说明添加稳定剂能有效延缓花色苷的降解。这可能是因为花色苷分子被包埋在稳定剂的空腔中，在热处理下比游离花色苷更加稳定、不易被裂解为糖基和花色素基元。

在稳定剂组内，β-环糊精组在 80 ℃和 90 ℃时的降解速率常数为 0.1521 和 0.1768，显著小于海藻酸钠（$k_{80\ ℃}$=0.1630 和 $k_{90\ ℃}$=0.1824）和（CMC $k_{80\ ℃}$=0.1655 和 $k_{90\ ℃}$=0.2166），说明 β-环糊精在 80、90 ℃下的稳定效果要优于其他两种稳定剂。在 100 ℃时，三组稳定剂的降解速率常数的大小依次为：CMC>β-环糊精>海藻酸钠，海藻酸钠的稳定效果最好，其次为 β-环糊精。添加稳定剂组和空白组中，Q_{10} 随着温度的升高而增大（CMC 例外），表明温度高时每升高 10 ℃的处理温度会导致花色苷降解速率比温度低条件下增加更大的比例。添加 1.0% β-环糊精组花色苷 E_a 最大，表明此条件下花色苷发生热降解需要能量最高，热稳定性最好。而空白组 E_a 最小，热稳定性最差，花色苷降解反应对温度变化敏感性比较弱。综上，选择 β-环糊精进行进一步的研究。

表 2 添加稳定剂的花色苷的降解动力学参数

Table 2 Degradation kinetic parameters of anthocyanins added with stabilizers

稳定剂	k (h^{-1})		
	80 ℃	90 ℃	100 ℃
海藻酸钠 1.0%	0.1630±0.0002^{cC}	0.1824±0.0001^{cB}	0.2572±0.0002^{dA}
CMC 1.0%	0.1655±0.0001^{bC}	0.2166±0.0004^{bB}	0.2695±0.0003^{bA}
β-环糊精 1.0%	0.1521±0.0002^{dC}	0.1768±0.0001^{dB}	0.2689±0.0002^{cA}
空白	0.3576±0.0002^{aC}	0.3764±0.0003^{aB}	0.5480±0.0002^{aA}

稳定剂	$t_{1/2}$ (h)			Ea/(kJ/mol)	Q_{10}	
	80 ℃	90 ℃	100 ℃		80~90 ℃	90~100 ℃
海藻酸钠 1.0%	4.25	3.8	2.69	26.60	1.13	1.44
CMC 1.0%	4.19	3.2	2.57	25.34	1.29	1.23
β-环糊精 1.0%	4.56	3.92	2.58	32.20	1.20	1.50
空白	1.94	1.84	1.26	23.22	1.06	1.45

注：同一列显著性差异由小写字母 a，b，c 表示；同一行显著性差异由大写字母 A，B，C 表示（p <0.05）。

2.8 不同剂量 β-环糊精对花色苷热降解稳定性的影响

表 3 添加不同浓度 β-环糊精的花色苷的降解动力学参数

Table 3 Degradation kinetic parameters of anthocyanins added with different concentrations of β-cyclodextrin

β-环糊精	k (h^{-1})			$t_{1/2}$ (h)			Ea/(kJ/mol)	Q_{10}	
	80 ℃	90 ℃	100 ℃	80 ℃	90 ℃	100 ℃		80~90 ℃	90~100 ℃
0.5%	0.2001 ± 0.0002^{bC}	0.253 ± 0.0002^{bB}	0.3574 ± 0.0003^{bA}	3.46	2.74	1.94	32.20	1.25	1.44
1.0%	0.1521 ± 0.0002^{cC}	0.1768 ± 0.0001^{cB}	0.2689 ± 0.0001^{cA}	4.56	3.92	2.58	32.20	1.20	1.50
1.5%	0.0886 ± 0.0003^{dC}	0.1208 ± 0.0001^{dB}	0.1857 ± 0.0002^{dA}	7.82	5.74	3.73	40.93	1.33	1.58
空白	0.3576 ± 0.0002^{aC}	0.3764 ± 0.0003^{aB}	0.5480 ± 0.0002^{aA}	1.94	1.84	1.26	23.22	1.06	1.45

注：同一列显著性差异由小写字母 a，b，c 表示；同一行显著性差异由大写字母 A，B，C 表示（$p<0.05$）。

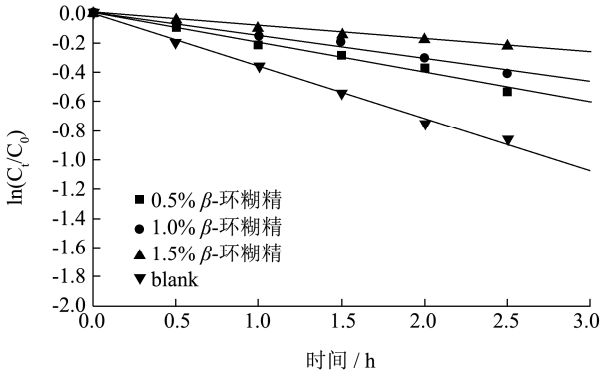


图 6 添加不同剂量 β-环糊精对花色苷在 80 ℃时降解的影响

Fig.6 Effect of different dosages of β-cyclodextrin on the degradation of anthocyanins at 80 ℃

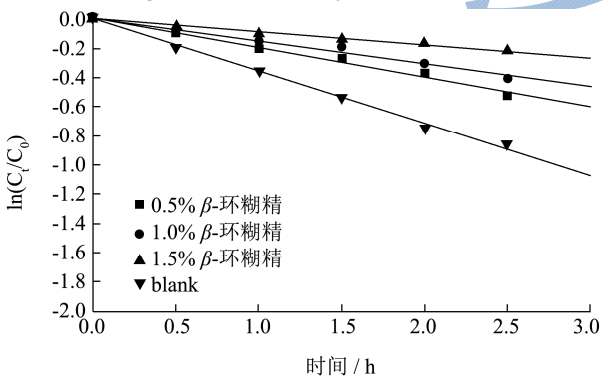


图 7 添加不同剂量 β-环糊精对花色苷在 90 ℃时降解的影响

Fig.7 Effect of different dosages of β-cyclodextrin on the degradation of anthocyanins at 90 ℃

β-环糊精分子中间形成相对疏水的空腔，空腔尺寸各异，能选择性地结合客体分子，有机化合物能够部分或完全进入其空腔中而形成包埋络合物[26]。研究表明[27]，β-环糊精与玫瑰茄花色苷发生络合，有效地降低了花色苷的降解速率，二者结合物在加热过程中的抗氧化性相比于游离花色苷也更稳定。由上面 2.7 结论分析可知，β-环糊精具有很好的延缓花色苷降解的潜力，因此设计了三个不同的浓度梯度来进一步分析 β-环糊精对花色苷热降解稳定性的影响。如表 3 和图 6~8 所示，在三个试验温度下，花色苷的降解速率常数随着稳定剂添加量的增加而下降，半衰期随着稳定剂添加量的增加而增加。1.5% β-环糊精在 80 ℃时具有最小的降解速率常数 0.09，以及最大的半衰期 7.82 h。所有 β-环糊精组和空白组中，Q_{10} 随着温度的升高而增大，表明温度高时每升高 10 ℃的处理温度会导致花色苷降解速率比温度低条件下增加更大的比例。此外，添加 1.5% β-环糊精组花色苷 E_a 最大，表明此条件下花色苷热稳定性最好，发生热降解需要能量最高。同样，空白组 E_a 最小，花色苷降解反应对温度变化敏感性比较弱，热稳定性最差。结果表明 β-环糊精能有效地提高花色苷的热稳定性，这与 IOANNIS MOURTZINOS 等人[27]的研究结果相似。而且随着 β-环糊精添加量从 0.5%增加到 1.5%，花色苷在热处理条件下呈现出越来越稳定的趋势。推测可能是因为 β-环糊精添加量的增加提供了更多的空腔位置，有利于更多的花色苷分子与空腔的结合，进而增加了花色苷的热稳定性。综上，1.5% β-环糊精效果最佳。

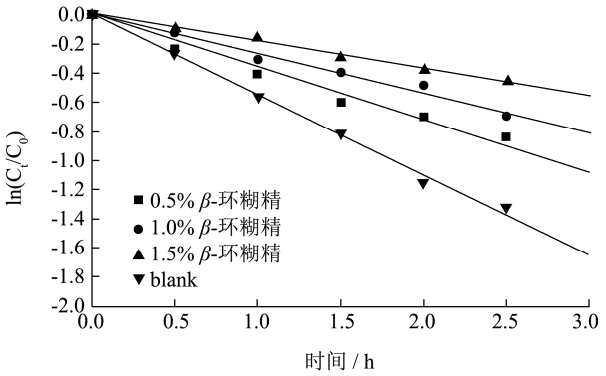


图 8 添加不同剂量 β-环糊精对花色苷在 100 ℃时降解的影响

Fig.8 Effect of different dosages of β-cyclodextrin on the degradation of anthocyanins at 100 ℃

2.9 色泽分析

在食品加工过程中，感官评定扮演着极其重要的角色。色泽是反应食品品质的一个重要指标。一般情况下，花色苷溶液呈现鲜红色，高温蒸煮后则红色变

得越来越淡，这是由花色苷本身的性质决定的。由表 4 可知，玫瑰茄花色苷溶液空白组的 L^*、a^*、b^*值分别为 22.78、15.76、3.60；0.5% β-环糊精组分别为 38.25、18.43、4.07；1.0% β-环糊精组分别为 36.67、18.01、4.14；1.5% β-环糊精组分别为 37.81、16.86、2.86。结果表明，与空白组相比，β-环糊精组具有更高的 L^*值（亮度）、a^*值（红度）以及更低的 b^*值（黄度），并且随着 β-环糊精浓度的增加，a^*值和 b^*值均有下降的趋势。80 ℃下加热 150 min 后，所有组的 a^*值变小，b^*值变大，L^*值也有轻微的减小。意味着加热会降低花色苷溶液的红度，溶液黄度增加。同时，随着 β-环糊精浓度的增加，花色苷溶液红度下降以及黄度上升的趋势均下降，且比空白要好，说明 β-环糊精能有效维持花色苷的红度。这与 ZUHAILI IDHAM 等人[38]的研究结果相似，该研究表明利用麦芽糊精和阿拉伯胶混合物包埋玫瑰茄花色苷时能有效地维持其 a^*值和 b^*值的稳定性。一般来说，在水溶液中玫瑰茄花色苷浓度越大则溶液的 a^*值越大，β-环糊精能有效保持花色苷的 a^*值，说明 β-环糊精能减缓花色苷的降解速率，溶液中最后剩余的花色苷的浓度越大。另一方面，b^*值与溶液黄度相关，花色苷溶液热降解会导致溶液中的 b^*值的上升。而随着 β-环糊精添加量的增加，b^*值上升的趋势减缓，也从另一方面证明了随着 β-环糊精添加量增加，花色苷的热降解速率变小。结果表明，添加 β-环糊精对于延缓花色苷的热降解、维持其红度起到重要的作用，而花色苷溶液诱人的鲜红色能增加人们的接受度，具有重大的市场价值。

表 4 加热前后不同浓度 β-环糊精的花色苷的色度变化

Table 4 Color changes of anthocyanin with different concentrations of β-cyclodextrin before and after heating

色度	加热前				80 ℃加热 150 min			
	空白	β-环糊精 0.5%	β-环糊精 1.0%	β-环糊精 1.5%	空白	β-环糊精 0.5%	β-环糊精 1.0%	β-环糊精 1.5%
L^*	22.78 ± 0.41^{Ac}	38.25 ± 0.37^{Aa}	36.67 ± 0.33^{Ab}	37.81 ± 0.52^{Aa}	20.53 ± 0.42^{Bc}	37.95 ± 0.25^{Aa}	36.18 ± 0.40^{Ab}	38.47 ± 0.76^{Aa}
a^*	15.76 ± 0.24^{Ac}	18.43 ± 0.28^{Aa}	18.01 ± 0.16^{Aa}	16.86 ± 0.45^{Ab}	10.43 ± 0.58^{Bc}	15.66 ± 0.21^{Ba}	14.64 ± 0.92^{Ba}	11.82 ± 0.67^{Bb}
b^*	2.78 ± 0.82^{Bab}	3.45 ± 0.31^{Aa}	2.38 ± 0.18^{Bab}	1.79 ± 0.62^{Ab}	5.7 ± 0.27^{Aa}	4.07 ± 0.41^{Ab}	4.14 ± 0.80^{Ab}	2.86 ± 0.54^{Ac}

注：同一处理下不同浓度 β-环糊精间的显著性差异由小写字母 a，b，c 表示；同一浓度 β-环糊精不同处理下的显著性差异由大写字母 A，B，C 表示（$p<0.05$）。

3 结论

3.1 本实验确定的 AB-8 树脂分离纯化玫瑰茄花色苷的最佳条件为：上样花色苷浓度为 600 mg/L，平衡 3 h，上样体积为 183 mL；洗脱剂为 60%乙醇，洗脱流速为 1 mL/min。纯化后的玫瑰茄花色苷，其色价为 43.10±2.17，回收率为(83.62±5.72)%，用 pH 示差法测得冻干粉花色苷含量为 216.50±1.83 mg/g。

3.2 在稳定性实验中，添加 1.0%海藻酸钠、CMC 和 β-环糊精的三组玫瑰茄花色苷溶液在 80、90 和 100 ℃三个温度下的降解均符合一级动力学方程，降解速率常数均随着温度的升高而增大，半衰期随着温度的升高而减小。β-环糊精具有很好的延缓花色苷降解的潜力，在 0.5%、1.0%和 1.5% β-环糊精组中，均表现为温度越高，花色苷的降解速率越大，而随着 β-环糊精添加浓度的增加，花色苷的降解速率越小。80 ℃下加热 150 min 后，β-环糊精组和空白组 a^*值均变小，b^*值变大，L^*值也有轻微的减小。β-环糊精能有效维持花色苷的红度，随着 β-环糊精浓度的增加，花色苷溶液红度的下降以及黄度的上升趋势均下降，在三个浓度中 1.5% β-环糊精组的护色效果最佳。根据本实验的结果，在花色苷溶液加热过程中可适量添加稳定剂，既可以起到增稠、改善口感的作用，又能增强花色苷的热稳定性。添加了稳定剂的花色苷溶液既可以直接作为食品原料加工成饮料又可以作为配料添加到其他食品中，还可以直接通过喷雾干燥生产色素粉末。

参考文献

[1] Domínguezlópez A, Remondettogabriel E, Salvador N G. Thermal kinetic degradation of anthocyanins in a roselle (*Hibiscus sabdariffa* L. cv. 'Criollo') infusion [J]. International Journal of Food Science and Technology, 2008, 43(2): 322-325

[2] Dacostarocha I, Bonnlaender B, Sievers H, et al. *Hibiscus sabdariffa* L.-a phytochemical and pharmacological review [J]. Food Chemistry, 2014, 165(20): 424-443

[3] Zhang B T, Mao G H, Zheng D H, et al. Separation, identification, antioxidant, and anti-tumor activities of *Hibiscus sabdariffa* L. extracts [J]. Separation Science and Technology, 2014, 49(9): 1379-1388

[4] Du C T, Francis F J. Anthocyanins of roselle (*Hibiscus sabdariffa,* L.) J [J]. Journal of Food Science, 2010, 38(5):

810-812

[5] Sinela A, Rawat N, Mertz C, et al. Anthocyanins degradation during storage of *Hibiscus sabdariffa* extract and evolution of its degradation products [J]. Food Chemistry, 2017, 214: 234-241

[6] 刘雪辉,王振,吴琪,等.高速逆流色谱法分离玫瑰茄中的花色苷[J].现代食品科技,2014,30(1):190-194
LIU Xue-hui, WANG Zhen, WU Qi, et al. Isolation of anthocyanin from *Hibiscus sabdariffa* by high speed counter-current chromatography [J]. Modern Food Science and Technology, 2014, 30(1): 190-194

[7] Hopkins A L, Lamm M G, Funk J, et al. *Hibiscus sabdariffa* L. in the treatment of hypertension and hyperlipidemia: A comprehensive review of animal and human studies [J]. Fitoterapia, 2013, 85(1): 84-89

[8] Serban C, Sahebkar A, Ursoniu S, et al. Effect of sour tea (*Hibiscus sabdariffa* L.) on arterial hypertension: a systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials [J]. Journal of Hypertension, 2015, 33(6): 1119-1127

[9] Fernándezarroyo S, Rodríguezmedina I C, Beltrándebón R, et al. Quantification of the polyphenolic fraction and *in vitro* antioxidant and *in vivo* anti-hyperlipemic activities of *Hibiscus sabdariffa* aqueous extract [J]. Food Research International, 2011, 44(5): 1490-1495

[10] Chen J H, Wang C J, Wang C P, et al. *Hibiscus sabdariffa* leaf polyphenolic extract inhibits LDL oxidation and foam cell formation involving up-regulation of LXRα/ABCA1 pathway [J]. Food Chemistry, 2013, 141(1): 397-406

[11] Lin H H, Chan K C, Sheu J Y, et al. *Hibiscus sabdariffa* leaf induces apoptosis of human prostate cancer cells *in vitro* and *in vivo* [J]. Food Chemistry, 2012, 132(2): 880-891

[12] Lin H H, Huang H P, Huang C C, et al. Hibiscus polyphenol-rich extract induces apoptosis in human gastric carcinoma cells via p53 phosphorylation and p38 MAPK/FasL cascade pathway [J]. Molecular Carcinogenesis, 2005, 43(2): 86-99

[13] Dickel M L, Rates S M K, Ritter M R. Plants popularly used for loosing weight purposes in Porto Alegre, South Brazil [J]. Journal of Ethnopharmacology, 2007, 109(1): 60-71

[14] Alarcon-aguilar F J, Zamilpa A, Perez-garcia M D, et al. Effect of *Hibiscus sabdariffa* on obesity in MSG mice [J]. Journal of Ethnopharmacology, 2007, 114(1): 66-71

[15] Peng C H, Chyau C C, Chan K C, et al. *Hibiscus sabdariffa* polyphenolic extract inhibits hyperglycemia, hyperlipidemia, and glycation-oxidative stress while improving insulin resistance [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2011, 59(18): 9901-9909

[16] Castañedaovando A, Pachecohernández M DE L, Páezhernández M E, et al. Chemical studies of anthocyanins: a review [J]. Food Chemistry, 2009, 113(4): 859-871

[17] 史海英,吕晓玲.紫玉米色素的稳定性研究[J].现代食品科技,2007,23(11):7-10
SHI Hai-ying, LYU Xiao-ling. Study on the stability of the purple corn pigment [J]. Modern Food Science and Technology, 2007, 23(11): 7-10

[18] 赵玉红,贾琳娜,包怡红,等.苹果酸对黑加仑果汁中花色苷稳定性的影响[J].现代食品科技,2016,32(9):127-134
ZHAO Yu-hong, JIA Lin-na, BAO Yi-hong, et al. Effect of malic acid on the stability of anthocyanins in blackcurrant juice [J]. Modern Food Science and Technology, 2016, 32(9): 127-134

[19] 王行,马永昆,于立志,等.贮藏条件对超高压处理蓝莓汁酚类物质及抗氧化活性的影响[J].现代食品科技,2014,30(1):101-107
WANG Xing, MA Yong-kun, YU Li-zhi et al. Effects of storage condition on phenolics and antioxidant activity of high hydrostatic pressure treated blueberry juice [J]. Modern Food Science and Technology, 2014, 30(1): 101-107

[20] Martynenko A, Chen Y. Degradation kinetics of total anthocyanins and formation of polymeric color in blueberry hydrothermodynamic (HTD) processing [J]. Journal of Food Engineering, 2016, 171(4): 44-51

[21] Remini H, Mertz C, Belbahi A, et al. Degradation kinetic modelling of ascorbic acid and colour intensity in pasteurised blood orange juice during storage [J]. Food Chemistry, 2015, 173: 665-673

[22] 邹波,徐玉娟,吴继军,等.贮藏温度对蓝莓汁单个花色苷降解的影响[J].现代食品科技,2015,31(12):256-262
ZOU Bo, XU Yu-juan, WU Ji-jun et al. Effect of storage temperature on single anthocyanin degradation in blueberry juice [J]. Modern Food Science and Technology, 2015, 31(12): 256-262

[23] 张军娜,黄立新.光照和温度对黑玉米花色苷稳定性的影响[J].现代食品科技,2009,25(11):1282-1285
ZHANG Jun-na, HUANG Li-xin. Effect of illumination and temperature on the stability of purple corn anthocyanin [J]. Modern Food Science and Technology, 2009, 25(11): 1282-1285

[24] Patras A, Brunton N P, O'donnell C, et al. Effect of thermal processing on anthocyanin stability in foods; mechanisms

and kinetics of degradation [J]. Trends in Food Science and Technology, 2010, 21(1): 3-11

[25] Krystian M, Sylwia S, Łukasz W, et al. Application of supercritical carbon dioxide for the preservation of strawberry juice: Microbial and physicochemical quality, enzymatic activity and the degradation kinetics of anthocyanins during storage [J]. Innovative Food Science and Emerging Technologies, 2015, 32: 101-109

[26] Szejtli J. Introduction and general overview of cyclodextrin chemistry [J]. Chemical Reviews, 1998, 98(5): 1743-1754

[27] Mourtzinos I, Makris D P, Yannakopoulou K, et al. Thermal stability of anthocyanin extract of *Hibiscus sabdariffa* L. in the presence of beta-cyclodextrin [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2008, 56(21): 10303-10310

[28] Quan Q Z, Dang R Y, Li T S. Adsorbing and separating *Radish* red pigment by X-5 resin [J]. Acta Botanica Boreali-occidentalia Sinica, 2001, 21(6): 1218-1222

[29] Lee J, Durst R W, Wrolstad R E. Determination of total monomeric anthocyanin pigment content of fruit juices, beverages, natural colorants, and wines by the pH differential method: collaborative study [J]. Journal of Aoac International, 2005, 88(5): 1269-1278

[30] Wang W D, Xu S Y. Degradation kinetics of anthocyanins in blackberry juice and concentrate [J]. Journal of Food Engineering, 2007, 82(3): 271-275

[31] 李颖畅.蓝莓花色苷提取纯化及生理功能研究[D].沈阳:沈阳农业大学,2008
LI Ying-chang. Study on extraction, purification and functional characteristic of blueberry anthocyanins [D]. Shenyang: Shenyang Agricultural University, 2008

[32] 张泽生,赵春艳,曹力心,等.大孔吸附树脂分离纯化山楂果中原花青素的研究[J].现代食品科技,2006,22(2):16-19
ZHANG Ze-sheng, ZHAO Chun-yan, Cao Li-xin et al. Separation and purification of proanthocyandins from *Hawthorn* fruit by macroreticular resin [J]. Modern Food Science and Technology, 2006, 22(2): 16-19

[33] Fu Y, Zu Y, Liu W, et al. Optimization of luteolin separation from *pigeonpea* [*Cajanus cajan* L. *Mill* sp.] leaves by macroporous resins [J]. Journal of Chromatography A, 2006, 1137(2): 145-152

[34] 范碧琴,杜静君,赵桃.大孔树脂分离纯化洛神花花色苷的研究[J].食品工业科技,2015,36(1):220-225
FAN Bi-qin, DU Jing-jun, ZHAO Tao. Separation of anthocyanins from roselle by macroporous resins [J]. Science and Technology of Food Industry, 2015, 36(1): 220-225

[35] 郭庆启,张娜,何娇,等.蓝靛果汁花色苷热降解动力学的研究[J].食品与发酵工业,2011,37(9):74-78
GUO Qing-qi, ZHANG Na, HE Jiao, et al. Thermal degradation dynamic of anthocyanins in *Lonicera edulis* turcz juice [J]. Food and Fermentation Industries, 2011, 37(9): 74-78

[36] Hou Z, Qin P, Zhang Y, et al. Identification of anthocyanins isolated from black rice (*Oryza sativa,* L.) and their degradation kinetics [J]. Food Research International, 2013, 50(2): 691-697

[37] Fracassetti D, Del B C, Simonetti P, et al. Effect of Time and storage temperature on anthocyanin decay and antioxidant activity in wild blueberry (*Vaccinium angustifolium*) powder [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2013, 61(12): 2999-3005

[38] Zuhaili I, Idayu M I, Roji S M. Degradation kinetics and color stability of spray-dried encapsulated anthocyanins from *Hibiscus sabdariffa* L. [J]. Journal of Food Process Engineering, 2012, 35(4): 522-542