

# 花色苷基于分子辅色机制的稳态化制备与应用技术研究进展

邹宇晓, 王思远, 刘凡, 沈维治, 廖森泰, 施英, 穆利霞, 胡腾根

(广东省农业科学院蚕业与农产品加工研究所/农业部功能食品重点实验室/广东省农产品加工重点实验室, 广东广州 510610)

**摘要:** 源于天然植物的花色苷是集着色、增香和保健作用于一体的新一代功能性食品配料,但在食品加工过程中易受多种外界因素的影响而发生水解或去糖基开环反应,导致产品褪色、风味品质劣变及生物活性丧失。而研究发现在自然生化条件下,植物花色苷通过其内部的多重化学成分(多酚、生物碱、核苷酸和金属离子等)的分子辅色作用而维持稳定性,从而实现花色苷食品的色泽、风味和营养的稳态化。目前通过模拟植物花色苷的分子辅色作用也成为研究功能性色素的重要内容之一。本文在分析花色苷分子辅色作用机制基础上,重点综述了近年来的天然植物花色苷基于分子辅色技术的稳态化制备工艺及相关应用技术取得的最新进展,为植物花色苷食品的稳态化加工技术研究提供依据和参考。

**关键词:** 花色苷; 分子辅色; 色素; 稳态化; 食品加工

文章编号: 1673-9078(2016)6-328-339

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2016.6.050

## A Review of Progress in Anthocyanin Stabilization based on Molecular Copigmentation during Preparation and Food Processing

ZOU Yu-xiao, WANG Si-yuan, LIU Fan, SHEN Wei-zhi, LIAO Sen-tai, SHI Ying, MU Li-xia, HU Teng-gen

(Sericultural & Agri-Food Research Institute Guangdong Academy of Agricultural Sciences/Key Laboratory of Functional Food, Ministry of Agriculture/Guangdong Key Laboratory of Agricultural Products Processing, Guangzhou 510610, China)

**Abstract:** Anthocyanins in plants are novel food ingredients with coloring, flavoring, and health-promoting effects. However, anthocyanins are susceptible to hydrolysis or sugar-group removal/ring-opening reactions by external factors, leading to loss of color, deterioration of flavor quality, and loss of bioactivity in foods. Studies have shown that under natural biological conditions, the structural stability of plant anthocyanin molecules is maintained via copigmentation of the various chemical components (polyphenols, alkaloids, nucleotides, metal ions, etc.) inside plants, resulting in the stabilization of color, flavor and nutritional value of anthocyanin foods. Therefore, mimicking the copigmentation effect of plant anthocyanins has become an important part of functional pigment research. This study showed the molecular copigmentation in anthocyanins, and focused on the latest progress in the stabilization of anthocyanins based on molecular copigmentation during preparation as well as the related applications in food processing, providing a basis and reference for the stabilization of natural anthocyanins in food processing.

**Key words:** anthocyanins; molecular copigmentation; pigments; stabilization; food processing

花色苷是高等植物在次生代谢过程中产生的黄酮类化合物之一,其结构特征是含有两个苯环和一个含

收稿日期: 2015-07-15

基金项目:“十二五”国家科技支撑计划项目(2012-BAD36B07);广州市科技计划项目(2014J4500036);公益性行业(农业)科研专项(201403064);现代农业产业技术体系建设专项(CARS-22);广州市珠江科技新星专项(2013087)。

作者简介:邹宇晓(1973-),女,博士,研究员,研究方向:食品营养与化学

氧杂环组成的C6-C3-C6核心骨架,因其强烈吸收可见光而赋予植物花、叶和果实等器官红、紫和蓝等颜色<sup>[1]</sup>。已报道的花色苷广泛分布于自然界27个科,72个属的植物中<sup>[2]</sup>。天然植物花色苷不仅具有鲜艳的颜色和芳香的气味,而且还具有抗氧化<sup>[3]</sup>、抗炎<sup>[4]</sup>、保护视力<sup>[5]</sup>、增强学习和记忆能力<sup>[6]</sup>、降血糖<sup>[7,8]</sup>、降血脂<sup>[9]</sup>和抗动脉粥样硬化<sup>[10]</sup>等诸多生理保健功能,是集着色、增香和保健作用于一体的新一代功能性食品配料,广泛应用于饮料、红酒、乳制品、焙烤食品及多种保

健食品中,深受消费者喜爱。

源于天然植物的花色苷极易受 pH 值、温度、光照、金属离子、酶和微生物等外界因素的影响,因而在食品加工的提取、浓缩、调配、灭菌、包装等环节及贮藏过程中极易发生水解或去糖基开环反应,形成无色的查耳酮或其同分异构体  $\alpha$ -二酮<sup>[11]</sup>,导致产品褪色、风味品质劣变及生物活性丧失。通过分析植物花色苷在自然生长过程中长期保持鲜艳色泽的原因,发现其内部的多种化学成分(多酚、生物碱、核苷酸和金属离子等)可通过复杂的分子辅色作用维持花色苷结构稳定性<sup>[12]</sup>。据此,通过模拟自然生化条件下植物花色苷的分子辅色作用探索花色苷稳态化制备及其在食品加工中的应用技术,已成为现代食品工业研究的重要内容。本文在分析花色苷分子辅色作用机制基础上,重点综述了近年来的天然植物花色苷基于分子辅色技术的稳态化制备工艺及相关应用技术取得的最新进展,为植物花色苷食品的稳态化加工技术研究提供依据和参考。

## 1 分子辅色与花色苷稳定性

分子辅色技术源于植物花色苷在自然生化条件下的稳定呈色机制,是改善并稳定含花色苷食品颜色的一种安全且行之有效的办法<sup>[13]</sup>。花色苷的分子辅色作用方式主要包括分子内辅色、分子间辅色、自身交联和金属络合等4种,其主要作用机制是分子间或分子内部通过氢键、络合、共价结合等作用,阻止发色母核基团的水化转换,实现提高花色苷稳定性和增强其颜色强度效果。

### 1.1 分子内辅色

花色苷因分子内基团相互作用而引发的颜色变化称为分子内辅色作用,主要是通过分子内部不同的基团的旋转、折叠和堆积等空间结构的转换,在花色苷母核阳离子周围形成“保护层”,使易发生亲核反应的C2和C4的活性受到阻碍,防止发色基团免受水分子的亲核攻击和其它降解反应而失色。分子内辅色作用的发生主要与花色苷的分子结构相关。从热力学观点看,分子内辅色由于不必将最初分散在溶液中的分子聚合而具有熵优势,因而比分子间辅色更容易发生。当分子内辅色发生时,分子间辅色很少或几乎不发生<sup>[14]</sup>。

#### 1.1.1 酰基化结构的分子内辅色

花色苷母核上的羟基以及糖苷基上的羟基可以与芳香酸或脂肪酸在酶的催化作用下发生酰基化反应,通过酯键形成酰化花色苷,酰基的空间位阻效应能保护花色苷母核免受水分子的攻击而维持其原有的色

泽。

酰化对花色苷的稳定效应具体地取决于酰基的性质、数目和结合位置。易与花色苷发生酰基化反应的有机酸包括:芳香酸类的

-香豆酸、咖啡酸、五倍子酸、芥子酸、阿魏酸和脂肪酸类的丙二酸、乙酸、苹果酸、琥珀酸和草酸。有机酸对花色苷稳定程度依次为:咖啡酸>阿魏酸>对香豆酸<sup>[15]</sup>。带有芳香酰基的花色苷比带有脂肪族酰基的花色苷稳定<sup>[16]</sup>。多酰化花色苷比单酰化花色苷稳定<sup>[17]</sup>,原因是疏水作用力使花色苷母核和酰基平面芳香族残基形成了上下垂直的多层重叠结构,形成类似“三明治”或“夹心”结构(图1)<sup>[18-21]</sup>。折叠的酰基紧紧缠绕在2-苯基苯并吡喃骨架的表面,通过空间位阻效应保护了夹在两个有机酸分子间的花色苷母核<sup>[22]</sup>。值得注意的是,这种“三明治”结构的形成具有严格的选择性,只有在糖基的特定位置上发生的酰基化才能发生<sup>[23]</sup>。分子内辅色作用由于阻止了水化转换,有明显提高花色苷稳定性和增强其颜色强度的效果<sup>[17]</sup>。与分子间辅色相比较,分子内辅色对花色苷的稳定作用更好<sup>[24]</sup>。

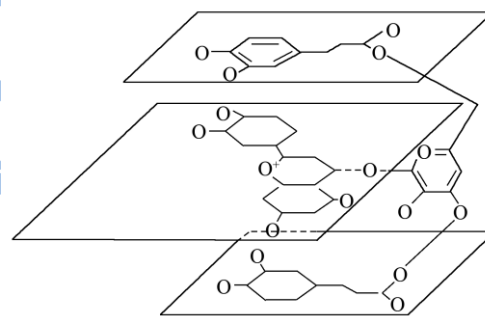


图1 咖啡酰花色苷分子内辅色作用<sup>[19]</sup>

Fig.1 Intramolecular copigmentation of 2-caffeoylquinic anthocyanin<sup>[19]</sup>

#### 1.1.2 糖基化结构的分子内辅色

不稳定的天然花色苷可与不同种类和数量的单糖、双糖和三糖等以糖苷键的形式连接成相对稳定的花色苷。花色苷经糖基化后,糖分子中大量的羟基易与溶液中的水分子形成氢键,改善其水溶性,同时在弱酸性和中性环境中表现出更好的稳定性<sup>[25,26]</sup>。糖基化修饰能提高花色苷的稳定性主要源于两个方面的因素:首先从分子热力学角度来看,由于糖基化可增加花色苷因水化失衡而褪色的活化能,以降低花色苷母核的在中性溶液中的水解速率,阻止有色花色苷水化成无色的甲醇假碱。其次是糖分子中丰富的羟基可以彼此之间或与花色苷母核形成复杂的分子内氢键网络保护花色苷母核,这也是糖基化修饰稳定花色苷的决定性因素<sup>[27]</sup>。糖基化位点、类型及数量与花色苷的稳定性密切相关。在花色苷的C3、C5、C7和C4'等位点

上可连接糖分子,大量研究证明C3位糖基化的花色苷稳定性要优于C5位糖基化,而C7位极少发生糖基化。糖基类型对花色苷稳定性的影响由高到低依次为:葡萄糖>半乳糖>阿拉伯糖<sup>[28]</sup>。随着糖分子数量的增加,花色苷的极性和分子体积也增大,这有利于花色苷的稳定性<sup>[29]</sup>。经糖基化修饰的花色苷其颜色通常会产生“蓝移效应”<sup>[30]</sup>。

### 1.1.3 甲基化结构的分子内辅色

花色苷的甲基化修饰可增加其水化反应的活化能,因而稳定性相对提高<sup>[31]</sup>。由常见的6种花色苷分子结构可知,芍药色素和牵牛花色苷分别是矢车菊素和飞燕草素的甲基化产物,锦葵色素则分别是牵牛花色苷的一次甲基化产物或飞燕草素的二次甲基化产物(图2)<sup>[32]</sup>。甲基化修饰对花色苷的增色效果较复杂,依据发生甲基化反应的位点不同,而表现出“蓝移效应”或“红移效应”的色泽变化<sup>[33]</sup>。

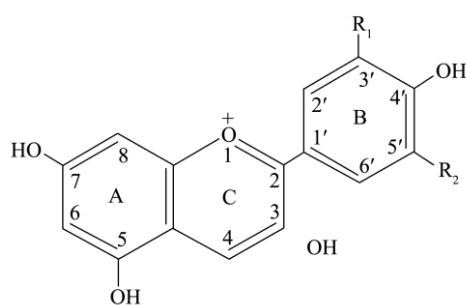


图2 自然界常见6种花色苷的分子结构

Fig.2 Molecular structures of six common anthocyanins in nature

注:  $R_1=H, R_2=H$ : pelargonidin (Pg),  $R_1=OH, R_2=H$ : cyanidin (Cy),  $R_1=OH, R_2=OH$ : delphinidin (Dp),  $R_1=OCH_3, R_2=H$ : peonidin (Pn),  $R_1=OCH_3, R_2=OH$ : petunidin (Pt),  $R_1=OCH_3, R_2=OCH_3$ : malvidin (Mv)<sup>[32]</sup>。

## 1.2 分子间辅色 (Intramolecular Copigment)

花色苷与辅色素之间发生的作用称为分子间辅色<sup>[34]</sup>。目前发现的辅色素包括单宁、多酚、有机酸、核苷酸、多糖、金属离子、生物碱、香豆素、肉桂酸衍生物、蒽醌类、氨基酸和类黄酮及花色苷本身等<sup>[33]</sup>,它们的共有分子结构特征是拥有一个富含电子的 $\pi$ 平面结构<sup>[35]</sup>。相同温度和pH下,花色苷浓度越大分子间共色作用越明显,辅色素与花色苷摩尔比越大共色效应越大<sup>[31]</sup>。Dangles等<sup>[36]</sup>发现花色苷在pH接近1到中性条件下都可发生共色作用。

## 1.3 金属离子络合 (Metal Complexation)

能与金属离子发生络合反应的花色苷,其共同的

分子结构是B环上含有一个以上的自由羟基。金属离子与花色苷络合后可能产生“增色”或“褪色”效应,具体取决于溶液体系中金属离子和花色苷的种类、比例、浓度、pH值和其它辅色素等因素。易与花色苷络合的金属离子包括 $Fe^{2+}$ 、 $Fe^{3+}$ 、 $Cu^{2+}$ 、 $Mg^{2+}$ 、 $K^+$ 、 $Na^+$ 、 $Ca^{2+}$ 和 $Al^{3+}$ 等。

同种金属离子与不同的花色苷,或者同种花色苷与不同的金属离子络合对于花色苷的稳定性和呈色都会带来极其复杂的影响。通过观察金属离子对刺葡萄皮色素的辅色作用,发现各种离子的增色效果强弱顺序为 $Al^{3+}>Cu^{2+}>Zn^{2+}/Ca^{2+}>Mg^{2+}/Mn^{2+}/K^+$ ,其中 $Zn^{2+}$ 和 $Ca^{2+}$ 增色作用存在量效关系, $Fe^{3+}$ 的添加导致花色苷形成黑色沉淀<sup>[37]</sup>。葡萄酒陈酿过程中金属离子与单宁形成络合物可导致褪色<sup>[38]</sup>。分析金属离子对蓝莓花色苷的影响,发现酸性条件下 $Ca^{2+}$ 、 $Cu^{2+}$ 、 $Al^{3+}$ 具有增色作用,对花色苷的稳定性无显著影响;高浓度 $Na^+$ 、 $Zn^{2+}$ 、 $Mn^{2+}$ 具有增色和提高花色苷的稳定性的双重作用; $Fe^{2+}$ 、 $Fe^{3+}$ 和 $Pb^{2+}$ 对花色苷具有破坏作用,且导致溶液生成白色沉淀, $K^+$ 对蓝莓花色苷稳定性无显著影响<sup>[39]</sup>。有趣的是,研究者在观察金属离子对阴香花色苷呈色效应及稳定性时得出了与蓝莓花色苷近乎相反的结论:低浓度 $Na^+$ 、 $Fe^{2+}$ 对阴香花色苷具有增色效果,而 $Cu^{2+}$ 、 $K^+$ 具加速降解的作用,低浓度 $Zn^{2+}$ 、 $Mg^{2+}$ 及 $Ca^{2+}$ 不影响,但高浓度 $Zn^{2+}$ 、 $Mg^{2+}$ 及 $Ca^{2+}$ 促进阴香花色苷降解的作用<sup>[40]</sup>。当体系中存在多种辅色因子时,呈色机制变得更为复杂。如Kunsági-Máté等<sup>[41]</sup>在模式酒中的研究中发现当咖啡酸存在的情况下, $Fe^{2+}$ 和 $Fe^{3+}$ 的辅色作用可以忽略。

## 1.4 自聚作用 (Self-association)

当花色苷分子浓度达到一定程度时发生单体花色苷的自聚作用,是通过芳香族的发色团和结合的糖中分子间氢键的堆叠作用的精密配合实现的<sup>[42]</sup>。Fernandes等<sup>[43]</sup>利用核磁共振技术研究了锦葵素-3-O-(6-香豆酸葡萄糖甙)和锦葵素-3-O-葡萄糖甙在pH 1.0条件下的自聚行为,发现锦葵素-3-O-(6-香豆酸葡萄糖甙)分子中的香豆酸基团折叠在锦葵素发色团上,形成疏水 $\pi$ 键的堆积,进而产生增色效应,同时还发现锦葵素-3-O-(6-香豆酸葡萄糖甙)与锦葵素-3-O-葡萄糖甙相比,显示出更强的自聚能力。González-Manzano等<sup>[44]</sup>率先在模式酒中确证了锦葵素-3-葡萄糖苷、飞燕草素-3-葡萄糖苷和芍药色素-3-葡萄糖苷的自聚行为,发现B环的甲基化程度与花色苷自聚程度成正比,当花色苷的浓度在50~600 mg/L范围内时,依据其种类和浓度的不同,对模式酒520

nm 处吸光度的贡献率为 8%~60%。

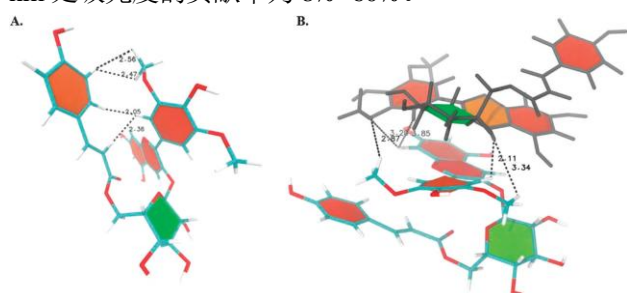


图3 锦葵素-3-O-香豆酸葡萄糖甙分子自聚作用

Fig.3 Self-dimerization of malvidin-3-O-(6-coumaroyl)glucoside

注: A. 分子内自聚作用, B. 分子间自聚作用<sup>[43]</sup>。

Limsitthichakoon 等<sup>[45]</sup>利用富含矢车菊素的紫玉米提取物和富含飞燕草素的蝶豆提取物与姜黄素、咖啡酸、胡椒碱、安息香醛和锌离子等辅色素按不同比例混合后制备成 4 种花色苷混合物, 结果发现 4 种花色苷混合物的最大吸收波长都发生了“红移”, 且增色效应与辅色素的添加比例呈正相关, 包含所有辅色素的组合处理的增色效应及色素的稳定性都是最好的。由此可见, 分子辅色是一个多因素共同作用的极为复杂的理化过程, 在葡萄酒、浆果饮料等富含天然花色苷的食品体系中, 以及在发酵、杀菌、贮藏或陈酿的过程中可能有多种分子辅色机制起作用。

## 2 分子辅色对花色苷生物活性的影响

### 2.1 抗氧化活性

酰基化修饰不仅能增强花色苷的稳定性, 还对其抗氧化活性有积极的影响。张智等<sup>[46]</sup>以 Vc 为对照, 比较了酰基化修饰前后的蓝靛果花色苷对 DPPH、OH、O<sub>2</sub>、H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 的清除能力、抗脂质过氧化能力、总抗氧化以及总还原能力, 结果发现蓝靛果花色苷经酰基化修饰后体外抗氧化活性显著增强。花色苷酰基化基团的不同会导致其抗氧化活性的差异。Matera 等<sup>[47]</sup>报道了萝卜芽汁中分离到的 9 种酰基化花色苷均能有效捕获羟自由基, 抑制亚油酸的自氧化, 其中与芥子酸发生酰化反应的花色苷比与阿魏酸发生酰化反应的花色苷其抗氧化能力最强。

花色苷糖基化的位点及数量与抗氧化活性密切相关。Jing 等<sup>[48]</sup>观察了中国牛角茄中 5 种飞燕草素花色苷衍生物的在肠细胞中抗氧化活性, 结果发现 C3 位发生糖基化的飞燕草素 (如飞燕草素-3-葡萄糖苷、飞燕草素-3-芸香糖苷和飞燕草素-3-桑布双糖苷) 比 C3 和 C5 位同时糖基化的飞燕草素 (飞燕草素-3, 5-双葡萄糖苷 > 飞燕草素-3-芸香糖苷-5-葡萄糖苷) 具有更强的自由基还原能力, 活性最差的是 C3 和 C5 位糖基化且 C3

位酰基化的飞燕草素 (飞燕草素-3-[(4'')-反式-*p*-香豆酰)-鼠李糖基 (1→6)葡萄糖苷]-5-葡萄糖苷)。糖基化修饰后的花色苷极性增大, 这给其穿过细胞磷脂膜带来困难, 有研究表明细胞膜上可能存在一些特殊的转运蛋白协助其进入细胞发挥抗氧化活性。Bornsek 等<sup>[49]</sup>通过细胞抗氧化实验 (CAA) 在人肠癌细胞 (Caco-2), 肝癌细胞 (HepG2), 上皮细胞 (EA.hy926) 和大鼠血管平滑肌细胞 (A7r5) 研究了欧洲越橘和蓝莓花色苷的抗氧化活性, 结果发现低浓度花色苷 (<1 μg/L) 能被吸收进入细胞, 清除细胞内自由基发挥抗氧化作用。

花色苷与其它蛋白分子通过共价键连接后抗氧化活性也有所提高。在中性条件下, 酵母甘露糖蛋白能与花色苷形成络合物, 通过疏水作用防止花色苷的水合反应, 经 80℃ 和 126℃ 加热 30 min 后, 其 DPPH 清除能力显著高于对照组 ( $p < 0.05$ ), ABTS 自由基清除能力与未经巴氏灭菌处理的花色苷组相当 ( $p > 0.05$ )<sup>[50]</sup>。

### 2.2 抗炎

炎症与心血管疾病、糖尿病和骨质疏松等多种慢性疾病的发生发展密切相关。花色苷的抗炎活性已经通过体内和体外的多项研究获得证实。Zhu 等<sup>[51]</sup>通过人体双盲随机对照试验 (RCT) 发现酰基化飞燕草素 (delphinidin-3-O-β-glucoside, Dp-3g) 和矢车菊素 (cyanidin-3-O-β-glucoside, Cy-3g) 混合物可极显著降低高胆固醇血症患者血浆超敏 C 反应蛋白 (high sensitivity C-reactive protein), 可溶性血管细胞黏附分子-1 (soluble vascular cell adhesion molecule-1) 和白介素 IL-1β 等炎症因子水平 ( $p < 0.05$ ), 同时在发现降低了 HepG2 细胞白介素 IL-6 和 IL-1β 诱导的 C 反应蛋白生成, 减少了脂多糖刺激的猪髓上皮细胞血管细胞黏附分子-1 的分泌, 抑制了炎症反应 ( $p < 0.05$ )。

花色苷的糖基化修饰的单糖种类对花色苷的抗炎活性有影响。Huang 等<sup>[52]</sup>比较了锦葵素-3-葡萄糖苷和锦葵素-3-半乳糖苷对上皮细胞炎症因子的影响。2 种锦葵素糖苷可在蛋白和基因水平上抑制肿瘤坏死因子刺激的单核细胞趋化因子-1、细胞间粘附因子-1 和血管细胞粘附分子-1 的表达, 抑制核因子 kappaB (NF-κB) 抑制蛋白 α 的降解, 阻断核转录蛋白 p65 的核转移, 其机制为核因子 kappaB 介导的抗炎机制, 两者相比锦葵素-3-葡萄糖苷的各项抗炎指标均优于锦葵素-3-半乳糖苷。

参与分子辅色有机酸种类对花色苷的抗炎活性有影响。Szymanowska 等<sup>[53]</sup>报道在紫罗勒种植过程中向植株喷撒含有花生四烯酸、茉莉酸和 β-氨基丁酸的溶液, 紫罗勒花色苷与外源有机酸可形成 4 种稳定的酰

基化产物,对应4种花色苷提取物对脂氧合酶和环氧合酶-2的半数抑制浓度均显著低于未处理对照组,表现出良好的抗炎活性。其中对脂氧合酶的刺激活性依次为:茉莉酸>花生四烯酸> $\beta$ -氨基丁酸;对环氧合酶-2的刺激活性依次为:花生四烯酸> $\beta$ -氨基丁酸>茉莉酸。

### 2.3 抑制肿瘤增殖

花色苷糖基化的位点及糖的种类与抑制肿瘤增殖活性密切相关。脂肪氧合酶的表达水平是肿瘤发生和发展的重要监测指标之一。通过观察芍药素、矢车菊素和锦葵素及其不同的糖基化产物对花色苷对人嗜中性粒细胞的5-脂氧合酶及大豆1-脂氧合酶的抑制活性,发现C3位连接葡萄糖或半乳糖的花色苷的半数抑制浓度最低<sup>[54]</sup>。由于花色苷抗肿瘤的机制主要包括两个方面:(1)机体氧化还原状态的调整;(2)干预细胞基本功能(如细胞周期、凋亡、炎症、血管新生、浸润转移)等。因此,抗氧化活性高的花色苷分子结构如酰基化修饰和C3位点的糖基化修饰等,也显示出更好的抑制肿瘤增殖、转移和浸润等活性<sup>[55]</sup>。

### 2.4 防止DNA损伤

花色苷对紫外线致诱发的细胞DNA损伤具有一定保护及修复作用,其活性强弱与分子辅色发生的位点及化合物种类关系密切。中国牛角茄中5种飞燕草素花色苷衍生物对人结肠癌细胞HT-29的DNA作用结果显示,C3和C5连接了糖基的飞燕草素衍生物——飞燕草素-3-[(4'-反式-p-香豆酰)-鼠李糖基(1→6)葡萄糖苷]-5-葡萄糖苷及其脱酰产物比其它衍生物更能抑制细胞的DNA损伤,且存在量效关系<sup>[48]</sup>。Zhang等<sup>[56]</sup>首次发现,矢车菊素(Cy)和矢车菊素-3-葡萄糖苷(C3G)与小牛胸腺DNA可通过氢键和疏水键结合后形成复合物,保护小牛胸腺DNA免受羟自由基损伤,而且经C3位糖基化修饰的矢车菊素-3-葡萄糖苷的保护作用要显著优于矢车菊素。Renis等<sup>[57]</sup>在人肠癌细胞Caco-2中比较了氯化矢车菊素(CY)及其糖基化产物矢车菊素-3-O- $\beta$ -吡喃葡萄糖苷(CY3G)对细胞应激状态下DNA损伤和应激蛋白表达的影响,发现两者均可抑制Caco-2细胞的生长与增殖,且CY3G的抑制效果优于CY,但两者的作用机制不同,即是否依赖于ROS生成。

### 2.5 其它

除抗氧化、抗炎和抗肿瘤等生物活性外,花色苷的抗糖尿病<sup>[58]</sup>、抗动脉粥样硬化<sup>[59]</sup>和改善视力<sup>[5]</sup>等生

物活性也有大量基于细胞学、动物学和人体试验的积极结果,暂时未有直接从构效关系的角度探讨这些活性的研究报道,但其作用机制均与花色苷突出的抗氧化活性密切相关。因此,可以推断花色苷的分子结构对上述其它生物活性也存在重要影响。

## 3 基于分子辅色机制的稳态化制备技术

由于现代食品中有相当大一部分呈中性或微酸性,同时人体的生理环境也接近中性,如何保持花色苷在中性或微酸性体系中的结构和功能的稳定性成为一个亟待解决的问题。分子辅色技术因其接近或模拟了植物在自然生化状态下的稳定呈色机制,其安全性和有效性已为生产企业和消费者所认可,因而是一种极有前途的加工技术<sup>[60]</sup>。根据花色苷的分子结构及其呈色特性,在食品加工过程中通过添加有机酸、黄酮、生物碱、多糖、金属离子等辅色素,或结合生物技术和纳米微胶囊技术,可以大幅提升花色苷在食品中的稳定性,维持食物鲜艳的色泽与生物活性功能。

### 3.1 食品添加剂

#### 3.1.1 有机酸

Yawadio等<sup>[61]</sup>向黑米汁中添加p-香豆酸、芥子酸,阿魏酸、硫辛酸以及单宁酸,发现这些有机酸与黑米花色苷形成了新的复合物,在饮料贮藏期间对花色苷起到不同程度的增色和提高稳定性的作用。葡萄酒发酵前添加有机酸已成为一种应用非常广泛的辅色技术。Glabgen等<sup>[62]</sup>率先证实羟基肉桂酸-葡萄糖可作为酰基供体与花色苷作用生成酰化花色苷。在红酒预发酵前添加芦丁等辅色物质与红酒花色苷发生辅色反应,可赋予红酒更好的色泽和风味<sup>[63]</sup>。咖啡酸和阿魏酸被证实是非常有效共色素,能增强产品花色苷颜色并提高其稳定性<sup>[64]</sup>。Teixeira等<sup>[65]</sup>研究了红葡萄酒中的主要花色苷—锦葵色素-3- $\beta$ -葡萄糖苷与一些结构比较复杂的外源多酚的相互作用,通过计算其与表儿茶素、表焙儿茶素、原飞燕草素B3及锦葵色素-3- $\beta$ -葡萄糖苷-儿茶素二聚体的结合常数,发现与锦葵色素-3- $\beta$ -葡萄糖苷-儿茶素二聚体结合能最低,增色效果最佳。

#### 3.1.2 黄酮

芸香苷、槲皮素、芦丁等黄酮类化合物都是植物体内与花色苷共存的天然、有效的辅色素,可与花色苷络合成稳定性较高的色素,使植物保持鲜艳的色泽。在果汁加工过程中添加植物黄酮提取物,合理控制提取物与原汁花色苷的比例,对于保质果汁色泽和风味稳定起到较好作用。在草莓汁的加工过程中添加富含山奈素和槲皮苷的玫瑰提取物显著提高了草莓汁花色

苷的热稳定性(花色苷:辅色素=1:2),且不影响果汁的口感和风味<sup>[66]</sup>。以富含牡荆素、荜草素等类黄酮的木豆叶提取物添加蓝莓果汁(花色苷:辅色素=1:1),观察热处理条件下色泽的稳定性,发现木豆黄酮提取物的添加不仅能显著延长色泽的稳定时间,而且在贮藏期间的色素半衰期延长了62%~87%,果汁的总酚含量和DPPH自由基清除能力也显著提升<sup>[67]</sup>。李永强等<sup>[68]</sup>发现贮藏期间杨梅花色苷最大吸收波长发生蓝移,黄酮含量与色调角、最大吸收波长和花色苷含量成极显著正相关,证明杨梅黄酮与花色苷存在明显的分子间辅色效应,这有利于保持杨梅酒色泽和风味的稳定。

### 3.1.3 多糖或糖蛋白

Howard等<sup>[69]</sup>研究了 $\beta$ -环糊精对阿龙尼亚苦味果(chokeberry)果汁花色苷在巴氏杀菌加工和贮藏稳定性的影响,结果发现当果汁pH在3.6-2.8范围变动时,不添加 $\beta$ -环糊精,花色苷损失严重;而在果汁自然酸度(pH 3.6)条件下添加3%的 $\beta$ -环糊精后分别在25℃和4℃贮藏8个月,结果花色苷的保存率分别为81%和95%。降低果汁pH(pH<3.6)和 $\beta$ -环糊精浓度(<3%)均不利于花色苷保存。Wu等<sup>[50]</sup>在中性条件下(pH=7.0)模拟食品巴氏杀菌工艺,考察了酵母甘露糖蛋白对花色苷的保护作用,结果表明酵母甘露糖蛋白的添加降低了花色苷的降解速率,延长其半衰期(4~5倍),经80℃和126℃加热30 min后,酵母甘露糖蛋白组的花色苷是对照组的4~5倍,研究结果拓展了花色苷在中性食品中的应用范围。

### 3.1.4 其它食品添加剂

防腐剂作为一类常规的食品添加剂,对花色苷的稳定性也存在重要影响。孟宪军等对蓝莓花色苷稳定性的研究认为,利用蓝莓加工的食品适合在酸性条件下(pH<3)使用和保存,防腐剂苯甲酸钠及蔗糖、葡萄糖等对蓝莓花色苷有一定的护色作用<sup>[70]</sup>。Augustine等<sup>[71]</sup>研究发现0.1%苯甲酸钠、2.0 kGy的 $\gamma$ -射线电离辐射和低温(4±1℃,90~95%相对湿度)储藏,对葡萄渣中花色苷的保护作用最佳(较对照组高9.11%),比对照组可延长16天保藏期,这种原汁处理方法为葡萄采后的快速保鲜处理提供了一种简便实用的技术。Moldovan等<sup>[72]</sup>报道了苯甲酸钠和山梨酸钾2种防腐剂在不同的贮藏温度下对欧亚山茱萸果汁的花色苷的影响结果,提出添加适当比例的防腐剂并结合低温(2℃)贮藏,可以有效延长花色苷降解的半衰期。

根据花色苷的理化性质与呈色特点,在不影响产品风味品质的前提下,在原料预处理或加工过程中直接添加有机酸、黄酮、多糖、糖蛋白等物质,它们通过分子间的相互作用(氢键或酰基化反应)与花色苷

分子形成复合的结构,释放能量,形成更稳定的花色苷分子结构,促使产品颜色更稳定或更鲜艳。这种操作简单,不增加操作步骤,仅依靠外源辅色剂与花色苷的自然相互作用完成,生产成本相对较低,是目前使用最广泛的一种辅色技术,不足之处是大部分外源添加剂与花色苷之间的相互作用方式为氢键,结合力较弱,辅色效果稳定性还有待提高。

## 3.2 稳态化加工技术

制约花色苷食品产业发展的因素有两个方面,一是花色苷对温度、光照、pH等外界条件敏感,产品风味品质易发生变化;其次是由于花色苷属于水溶性色素,不易穿过磷脂双分子层到达细胞内部,影响肠道对其吸收利用。科学家们正在尝试建立各种营养载体体系,通过将营养物质和载体材料以特定方式结合,可实现提高营养物质稳定性或生物利用率的双重目的。研究较多的营养载体体系脂质体、微胶囊和纳米微球等。

### 3.2.1 微胶囊技术

微胶囊技术就是利用各种天然的或合成的高分子化合物连续薄膜(壁或外相)将某一目的物(芯或内相)完全包覆起来的技术。利用微胶囊技术可巩固改善芯材稳定性、控制释放、改变物性,防止各种组分之间的相互干扰。微胶囊的直径一般为1~500  $\mu\text{m}$ ,壁的厚度为0.5~150  $\mu\text{m}$ 。

Sonja等<sup>[73]</sup>分别以桔皮果胶、咖啡因和甜菜果胶对花色苷进行分子辅色处理后制备芯材,以虫胶-麦芽糊精的双层壁材对其进行微胶囊化包埋,在模拟胃液中发现花色苷微胶囊的释放速率与其水结合能力呈明显负相关。水结合能力最高和最低的分别是花色苷-桔皮果胶复合物和花色苷-甜菜果胶复合物。果胶酯化程度越高,延缓花色苷释放能力越强。Yunia等<sup>[74]</sup>通过水解和酯化反应制备普通玉米淀粉和蜡质玉米淀粉的衍生物,以之为壁材包埋紫玉米花色苷,40℃条件下贮藏30 d后,普通玉米淀粉衍生物制备的花色苷微胶囊包埋率和花色苷保存率都更高。Floirendo等<sup>[75]</sup>利用乳清分离蛋白和阿拉伯树胶为壁材,制备蓝莓花色苷微胶囊颗粒,发现阿拉伯树胶-花色苷微胶囊颗粒复水后其总花色苷含量较高,但 $\text{Fe}^{3+}$ 还原能力下降。乙醇提取物的总花色苷含量最高,甲醇提取物抗氧化能力最强。模拟消化试验显示胃液消化过程中阿拉伯树胶-花色苷微胶囊的花色苷释放速率和抗氧化能力最强,乳清分离蛋白-花色苷微胶囊的花色苷释放速率稍慢,但在完成全部消化试验后显示出最好的抗氧化能力。Mahdavee等<sup>[76]</sup>利用阿拉伯胶和2种不同水解度的麦芽

糊精按照不同比例混合后制备壁材,与藏红花花色苷提取物混合后经冷冻包埋工艺获得微胶囊颗粒,35℃条件下贮藏10周,结合pH差示法和计算机视觉技术分析产品的理化特性,发现麦芽糊精:阿拉伯胶比例最高的壁材制备的微胶囊颗粒花色苷稳定性最好。Mohd等<sup>[77]</sup>利用微波辅助的微胶囊工艺,考察不同的阿拉伯胶、麦芽糊精及其1:1混合物等壁材对紫甘薯花色苷的包埋效果,结果表明混合物包埋效果最佳,水分含量和水分活度均最低,产品的色泽和粒子形态也较好。

### 3.2.2 脂质体

脂质体可定义为数种液体或水溶液隔间受双层类脂所包围,它拥有与细胞膜相似的结构<sup>[78]</sup>。水溶性的物质可以包陷在脂质体的水相中,而脂溶性的物质可以包陷在油相中。赵圣书等<sup>[79]</sup>以大豆卵磷脂和胆固醇为膜材,通过薄膜-超声法制备黑加仑花色苷脂质体,包封率达72.9%。Hwang等<sup>[80]</sup>制备玫瑰茄花色苷脂质体,并以玫瑰茄花色苷提取物为对照,在人类黑色素细胞A375s中观察了两种样品对细胞黑色素含量、酪氨酸酶活力、小眼珠相关转录因子(MITF)和酪氨酸酶等与黑色素瘤的发生发展相关的生化指标的影响,结果表明相同浓度条件下,玫瑰茄花色苷脂质体的DPPH自由基清除能力和抑制的黑色素生成能力要显著优于玫瑰茄花色苷( $P<0.01$ ),作用机制是通过抑制小眼珠相关转录因子(MITF)和酪氨酸酶的表达实现的,证明脂质体包埋技术可有效提高水溶性花色苷的生物利用率和活性。Bonarska-Kujawa等<sup>[81]</sup>利用二棕榈酰磷脂酰胆碱,二棕榈酰磷脂酰胆碱/胆固醇和蛋黄卵磷脂包埋源于阿龙尼亚苦味果和草莓的2种主要花色苷(氯化葡萄糖苷天竺葵素和氯化半乳糖苷矢车菊素)制备脂质体,考察样品的抗氧化行为对红细胞形态和磷脂双分子层亲水相的堆积次序、疏水相流动性,以及脂质体的相变温度等指标的影响,发现花色苷脂质体不影响磷脂双分子层流动性,对其相变温度有轻微改变。从增加的棘状红细胞数量来看,2种花色苷均是进入红细胞膜的外层,改变其外形和规程次序。结果表明成分只能穿入红细胞膜的外层。花色苷有是效的抗氧化剂,抗氧化能力与生育酚相当。Monika等<sup>[82]</sup>利用微射流均质技术在醋酸缓冲液(pH 3.5,压强22,500 psi)中制备大豆卵磷脂包埋的玫瑰茄花色苷脂质体,粒子直径<46 nm,花色苷浓度63%-72%。通过分层静电沉积法制备壳聚糖和果胶的多层界面膜,经壳聚糖包埋后脂质体z均粒径增至65 nm,经果胶二次包埋增至200 nm,脂质体的 $\zeta$ -电势由在第一层壳聚糖包埋后由-26 mV 跃至70 mV,经第二层果胶包埋后又降至-20 mV。脂质体中卵磷脂浓度升高易导致颗粒的聚

集。本法制备的花色苷双层脂质体可有效抑制包埋材料的脂质过氧化,同时维持花色苷的抗氧化活性。

### 3.2.2 生物工程技术

Konczak等<sup>[83]</sup>采用甜薯的植物细胞,通过基因调控使细胞内酚酸大量表达,培养生产出了稳定性高、生理活性强、花色苷含量高的花色苷植株,为通过基因工程生产稳定性高的花色苷奠定了基础。科学家们利用生物技术在玫瑰、康乃馨和菊花中引入外源的类黄酮-3',5'-羟化酶基因促进呈蓝色的飞燕草素花色苷的合成,使花瓣呈现出特殊的蓝紫色,这种蓝色相对缺乏稳定性。在3'-或7位拥有酰基化基团的多酰化花色苷与非酰化花色苷相比能呈现更稳定的蓝色。蓝紫色飞燕草素花色苷的生物合成,7位多元酰化反应是在液泡中在葡萄糖基转移酶和酰基转移酶作用下完成的,这两种酶葡萄糖基转移酶和酰基转移酶是依赖于乙酰-葡萄糖的酶,分别属于水解酶家族1和丝氨酸羧基酶类蛋白家族。C7位多酰基化反应是在这些酶的催化下交替进行糖基化和羟基苯甲酰化反应进行的。对-羟基苯甲酰-葡萄糖是作为糖基化和羟基苯甲酰化反应的供体合成一个在C7位被对-羟基苯甲酰-葡萄糖修饰的花色苷连环体,使花瓣呈现出稳定的蓝色<sup>[84]</sup>。

王振宇等利用木霉(*Trichoderma viride*)、黑曲霉(*Aspergillus niger*)、青霉(*Penicillium*)、立枯丝核菌(*Rhizoglyphia Solani*)、固氮菌(*Azotobacter vinelandii*)与富含锦葵色素的大花葵粉共培养,结果发现这些纤维素降解菌不仅能降解大花葵粉纤维促进花色苷的释放,其代谢产物乙酸还能与大葵花色苷发生酰基化反应,提取的大葵花色苷稳定性要好于常规提取方法<sup>[85]</sup>。

通过营养载体体系将花色苷包埋在脂质体和微胶囊等特殊的颗粒中,既能在空间结构上防止花色苷直接与水分子接触后水化失活,也能通过外围的特殊壁材,改善花色苷的释放速度,保持原有的生物活性,大幅提高其生物利用率。因此根据各种花色苷分子的理化性质,研发配套的营养载体体系,可以实现护色与活性保存的双重目的,这种技术需要配套专业设备才能进行产业化生产,生产成本相对较高,但依然是花色苷稳态化加工技术研发的重要趋势。研究花色苷的生物合成代谢通路,挖掘调控其合成的核心基因,通过生物工程技术实现花色苷的稳定表达,这也是一个重要的研究方向,而且已经有成功的先例如开蓝花的玫瑰、康乃馨和菊花等,这种新的转基因品种呈色效果非常稳定,也是技术发展的趋势,但主要用于高档花卉及观赏植物的新品种选育,在食品加工中使用极少。

## 4 展望

4.1 色泽是食物的重要感官特征,直接影响消费者对产品的选择。色泽美观的食品既能促进人们的食欲,还能提高食品的商业价值,因此色素已成为现代食品工业不可或缺的部分。人工合成色素具有色泽鲜艳、性能稳定、着色力强和成本低廉,目前依然是食品工业中应用的主流产品。然而越来越多的科学研究结果证明几乎所有的合成色素都不能向人体提供营养物质,某些合成色素甚至会危害人体健康,导致生育力下降、畸胎、腹泻和智力发育障碍等,偶氮化合物类合成色素甚至在人体内可能转换成致癌物质。因此,研发安全、营养的天然色素及其配套的稳态化应用技术,是现代食品产业发展的迫切需求。

4.2 分子辅色技术模拟植物花色苷在自然生化条件下的稳定呈色机制,在红酒、饮料等产品中已有应用,在改善和稳定花色苷食品的色泽和风味方面表现出良好的应用前景。总体而言,分子辅色在基础研究方面已经积累了相当丰富的研究成果,通过系统解析花色苷的分子结构和复杂的呈色、增色、褪色或变色等分子机制,科学家们通过添加外源辅色剂、制备营养载体体系和生物基因育种等手段,在花色苷的稳态化加工技术方面取得了长足的进步。目前,外源辅色剂的添加方式还主要在普通食品加工中应用,操作简单、生产成本低但辅色效果还有待提高。花色苷营养载体体系的研发与应用已经有一定的规模,主要在一些高档的营养食品或膳食补充剂中使用,操作复杂,对设备要求高,辅色效果较好。通过基因工程的方法选育呈色稳定的花卉新品种的技术应用面相对较窄,技术难度大、时间长,产品呈色效果极佳。

4.3 综上所述,通过比较上述技术的特点,在花色苷分子辅色技术应用方面可从以下几个方面深入研究:

(1)在分子辅色素新产品的研发方面,科学家们研究的重点正在由原来的单体化合物转向混合物,如源自天然植物的多酚类提取物正在成为研究的热点。通过混合物中多种成分的复杂作用,使产品发生“增色”或“增味”的效应<sup>[45,66,67]</sup>,但其机制还有待进一步的深入研究。(2)在分子辅色技术方面,越来越多的研究强调联合使用基于不同辅色机制的多种辅色素。如多糖与多酚、多酚与金属离子、防腐剂与黄酮等。通过多种机制的协同作用,发挥更好的稳定色泽甚至“增色”的效果<sup>[50,69-73]</sup>。(3)在加工与贮藏技术方面,根据花色苷的分子结构及分子辅色机制,结合产品的加工、运输和贮藏等环节,联合使用多种分子辅色技术、高效营养载体技术、改变杀菌技术、改进包装材料和控

制贮藏温度等多种技术手段实现的<sup>[71,80-82]</sup>。

4.4 通过系统研究花色苷的分子结构及其基于分子辅色的呈色机制,对于提高花色苷食品的加工水平具有重要意义。

## 参考文献

- [1] Galvano F, La Fauci L, Lazzarino G, et al. Cyanidins: metabolism and biological properties [J]. *Journal of Nutritional Biochemistry*, 2004, 15(1): 2-11
- [2] Mazza Q, Miniati E. *Anthocyanins in fruits, vegetables and grains* [M]. Boca Raton, Morden: CRC Press, 1993
- [3] Zafra-Stone S, Yasmin T, Bagchi M, et al. Berry anthocyanins as novel antioxidants in human health and disease prevention [J]. *Molecular Nutrition & Food Research*, 2007, 51(6): 675-683
- [4] Zhu Y, Ling W, Guo H, et al. Anti-inflammatory effect of purified dietary anthocyanin in adults with hypercholesterolemia: a randomized controlled trial [J]. *Nutrition Metabolism Cardiovascular Diseases*, 2013, 23(9): 843-849
- [5] Mok J W, Chang D J, Joo C K. Antiapoptotic effects of anthocyanin from the seed coat of black soybean against oxidative damage of human lens epithelial cell induced by H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> [J]. *Current Eye Research*, 2014, 39 (11): 1090-1098
- [6] Varadinova M, Docheva-Drenska D, Boyadjieva N. Effects of anthocyanins on active avoidance test of rats exposed to disruption of diurnal rhythm [J]. *American Journal Therapeutics*, 2013, 20(2): 172-177
- [7] Matsukawa T, Inaguma T, Han J, et al. Cyanidin-3-glucoside derived from black soybeans ameliorate type 2 diabetes through the induction of differentiation of preadipocytes into smaller and insulin-sensitive adipocytes [J]. *Journal of Nutritional Biochemistry*, 2015, 26(8): 860-867
- [8] 张朝红,柏广玲,李巨秀,等.桑椹花色苷对晚期糖基化末端产物抑制作用及其分析机制[J].*现代食品科技*, 2014, 30(5): 38-43  
ZHANG Chao-hong, BAI Guang-ling, LI Ju-xiu, et al. Inhibitory effect of mulberry fruit anthocyanons on advanced glycation end-product formation [J]. *Modern Food Science and Technology*, 2014, 30(5): 38-43
- [9] Zhang P W, Chen F X, Li D, et al. A consort-compliant, randomized, double-blind, placebo-controlled pilot trial of purified anthocyanin in patients with nonalcoholic fatty liver disease [J]. *Medicine (Baltimore)*, 2015, 94(20): 758
- [10] Aboonabi A, Singh I. Chemopreventive role of anthocyanins



- in atherosclerosis via activation of Nrf2-ARE as an indicator and modulator of redox [J]. *Biomed Pharmacother*, 2015, 72: 30-36
- [11] Faria A, Fernandes I, Norberto S, et al. Interplay between anthocyanins and gut microbiota [J]. *Journal of Agricultural Food Chemistry*. 2014, 62(29): 6898-6902
- [12] Iwashina T. Contribution to flower colors of flavonoids including anthocyanins: a review [J]. *Natural Produce Communications*. 2015, 10(3): 529-544
- [13] Rein M J. Copigmentation reactions and color stability of berry anthocyanins [D]. Helsinki(Finland): University of Helsinki, Department of Applied Chemistry and Microbiology, 2005
- [14] Sari P, Wijiaya C H, Sajuthi D, et al. Colour properties, stability, and free radical scavenging activity of jambolan (*Syzygium cumini*) fruit anthocyanins in a beverage model system: natural and copigmented anthocyanins [J]. *Food Chemistry*, 2012, 132(4): 1908-1914
- [15] Matsufuji H, Kido H, Misawa H, et al. Stability to light, heat, and hydrogen peroxide at different pH values and DPPH radical scavenging activity of acylated anthocyanins from red radish extract [J]. *Journal of Agricultural Food Chemistry*. 2007, 55(9): 3692-3701
- [16] Bakowska-Barczak A. Acylated anthocyanins as stable, natural food colorants-a review [J]. *Polish Journal of Food and Nutrition Sciences*, 2005, 14(2): 107-116
- [17] Saito N, Nakamura M, Shinoda K, et al. Covalent anthocyanin-flavonol complexes from the violet-blue flowers of *Allium 'Blue Perfume'* [J]. *Phytochemistry*, 2012, 80: 99-108
- [18] 李绍文.生态生物化学[M].北京:北京大学出版社, 2001  
LI Shao-wen. *Ecological biochemistry* [M]. Beijing: Beijing University Press, 2001
- [19] 钟瑞敏.花色苷结构与稳定性的关系及其应用研究[J].韶关学院学报:自然科学版,2001,22(12):79-83  
ZHONG Rui-min. Applied studies on the internal relationship between the structure and stability of anthocyanins [J]. *Journal of Shaoguan University: Natural Science edition*, 2001, 22(12): 79-83
- [20] 方芳,吴奇辉,郭慧,等.紫色马铃薯皮花色苷的结构鉴定[J].现代食品科技,2014,30(5):92-97  
FANG Fang, WU Qi-hui, GUO Hui, et al. Identification of anthocyanins from the peel of purple of purple-fleshed potato [J]. *Modern Food Science and Technology*, 2014, 30(5): 92-97
- [21] 李平凡,姚勇芳.萝卜花色苷的结构研究[J].现代食品科技,2014,30(4):40-43  
LI Ping-fan, YAO Yong-fang. Chemical structures of anthocyanins in red radishes [J]. *Modern Food Science and Technology*, 2014, 30(4): 40-43
- [22] Tatsuzawa F, Saito N, Shinoda K, Shigihara A, Honda T. Acylated cyanidin 3-sambubioside- 5-glucosides in three garden plants of the Cruciferae [J]. *Phytochemistry*, 2006, 67(12): 1287-1295
- [23] Giusti M M, Wrolstad R E. Acylated anthocyanins from edible sources and their applications in food systems [J]. *Biochemistry Engineering Journal*, 2003, 14(3): 217-225
- [24] Brouillard R. Chemical structure of anthocyanin. In: P. Markakis ed. *Anthocyanins As Food Colors* [M]. New York: Academic Press, 1982
- [25] Kim D M, Bae J S, Lee D S, et al. Positive effects of glycosylated anthocyanin isolated from an edible berry fruit (*Acanthopanax sessiliflorum*) on its antioxidant activity and color stability [J]. *Food Research International*, 2011, 44(7): 2258-2263
- [26] Fraser-Reid B O, Tatsuta K, Thiem J, et al. *Glycoscience: v. 1-3: chemistry and chemical biology* [M]. Springer-Verlag Berlin and Heidelberg GmbH & Co. K; 2<sup>nd</sup> ed. 2008
- [27] Castañeda-Ovando A, Pacheco-Hernández M. Chemical studies of anthocyanins: a review [J]. *Food Chemistry*, 2009, 113: 859-871
- [28] Trost K, Golc-Wondra A, Prosek M, et al. Anthocyanin degradation of blueberry-aronia nectar in glass compared with carton during storage [J]. *Journal of Food Science*, 2008, 73(8): 405-411
- [29] Wu X, Beecher G R, Holden J M, et al. Concentrations of anthocyanins in common foods in the United States and estimation of normal consumption [J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2006, 56: 4069-4075
- [30] Stintzing F C, Carle R. Functional properties of anthocyanins and betalains in plants, food, and in human nutrition [J]. *Trends in Food Science & Technology*, 2004, 15: 19-38
- [31] Mazza G, Brouillard R. The mechanism of copigmentation of anthocyanins in aqueous solutions [J]. *Phytochemistry*, 1990, 29(4): 1097-1102
- [32] Zhao C L, Chen Z J, Bai X S, et al. Structure-activity relationships of anthocyanidin glycosylation [J]. *Molecular Diversity*. 2014, 18(3): 687-700
- [33] Mazza G, Brouillard R. Recent developments in the stabilization of anthocyanins in food products [J]. *Food*

- Chemistry, 1987, 25(3): 207-225
- [34] Jordheim M, Måge F, Andersen Ø M. Anthocyanins in berries of ribes including gooseberry cultivars with a high content of acylated pigments [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2007, 55(14): 5529-5535
- [35] Asen S, Stewart R N, Norris K H. Co-pigmentation of anthocyanins in plant tissues and its effect on color [J]. Phytochemistry, 1972, 11(3): 1139-1144
- [36] Dangles O, Broillard R. Polyphenol interactions. The copigmentation case: thermodynamic data from temperature variation and relaxation kinetics medium effect [J]. Canadian Journal of Chemistry, 1992, 70(8): 2174-2189
- [37] 邓洁红,谭兴和,王锋,等.金属离子及辅色剂对刺葡萄皮色素稳定性的影响[J].食品研究与开发,2009,30(11):48-53  
DENG Jie-hong, TAN Xing-he, WANG Feng, et al. Effects of metal ions and copigments on the stability of *vitis* skin pigment [J]. Food Research and Development, 2009, 30(11): 48-53
- [38] 任玉林,李华,邴贵德,等.天然食用色素-花色苷[J].食品科学,1995,16(7):22-27  
REN Yu-lin, LI Hua, BING Ze-de, et al. Natural edible pigment-anthocyanin [J]. Food Science, 1995, 16(7): 22-27
- [39] 李颖畅,齐凤元,冯彦博.金属离子对蓝莓花色苷的影响[J].食品工业科技,2009,25(4):52-55  
LI Ying-chang, QI Feng-yun, FENG Yan-Bo. Effects of metal ions on the blueberry anthocyanins [J]. Food & Machinery, 2009, 25(4): 52-55
- [40] 黄思梅,张镜,张京维.物理因子及无机盐对阴香花色苷稳定性的影响[J].食品科学,2010,31(13):69-73  
HUANG Si-mei, ZHANG Jing, ZHANG Jing-wei. Effects of physical factors and mineral salts on stability of anthocyanins from *cinnamomum burmannii* fruits [J]. Food Science, 2010, 31(13): 69-73
- [41] Kunsch M, Stampel E, Koll L, et al. The effect of the oxidation state of iron ions on the competitive complexation of malvidin by caffeic or ellagic acid [J]. Food Research International, 2008, 41: 693-696
- [42] 邓洁红,位佳静,刘永红,等.刺葡萄花色苷自聚合条件及水合动力学特性的研究[J].现代食品科技,2015,31(4):144-150  
DENG Jie-hong, WEI Jia-jing, LIU Yong-hong, et al. Self-association conditions and hydration kinetics of spine grape anthocyanins [J]. Modern Food Science and Technology, 2015, 31(4): 144-150
- [43] Fernandes A, Brás N F, Mateus N, et al. A study of anthocyanin self-association by NMR Spectroscopy [J]. New Journal of Chemistry, 2015, 39, 2602-2611
- [44] González-Manzano S, Santos-Buelga C, Dueñas M, et al. Colour implications of self-association processes of wine anthocyanins [J]. European Food Research and Technology, 2008, 226(3), 483-490
- [45] Limsitthichakoon S, Saodaeng K, Priprem A, et al. Anthocyanin complex: characterization and cytotoxicity studies [J]. International Journal of Biological, Food, Veterinary and Agricultural Engineering, 2015, 9(2): 147-153
- [46] 张智,臧云,王群.酰基化蓝靛果花色苷的抗氧化性研究[J].现代食品科技,2013,29(3):534-538, 486  
ZHANG Zhi, ZANG Yun, WANG Qun. Study on antioxidation property of acylated anthocyanins from *Lonicera edulis* turcz [J]. Modern Food Science and Technology, 2013, 29(3): 534-538, 486
- [47] Matera R, Gabbanini S, Berretti S, et al. Acylated anthocyanins from sprouts of *Raphanus sativus* cv. Sango: isolation, structure elucidation and antioxidant activity [J]. Food Chemistry, 2015, 166: 397-406
- [48] Jing P, Qian B, Zhao S, et al. Effect of glycosylation patterns of Chinese eggplant anthocyanins and other derivatives on antioxidant effectiveness in human colon cell lines [J]. Food Chemistry, 2015, 172: 183-189
- [49] Bornsek S M, Zibera L, Polak T, et al. Bilberry and blueberry anthocyanins act as powerful intracellular antioxidants in mammalian cells [J]. Food Chemistry, 2012, 134(4): 1878-1884
- [50] Wu J, Guan Y, Zhong Q. Yeast mannoproteins improve thermal stability of anthocyanins at pH 7.0 [J]. Food Chemistry, 2015, 172: 121-128
- [51] Zhu Y, Ling W, Guo H, et al. Anti-inflammatory effect of purified dietary anthocyanin in adults with hypercholesterolemia: a randomized controlled trial. Nutrition Metabolism Cardiovascular Diseases, 2013, 23(9): 843-849
- [52] Huang W Y, Liu Y M, Wang J, et al. Anti-inflammatory effect of the blueberry anthocyanins malvidin-3-glucoside and malvidin-3-galactoside in endothelial cells [J]. Molecules, 2014, 19(8): 12827-12841
- [53] Szymanowska U, Złotek U, Karaś M, et al. Anti-inflammatory and antioxidative activity of anthocyanins from purple basil leaves induced by selected abiotic elicitors [J]. Food Chemistry. 2015, 172: 71-77
- [54] Knaup B, Oehme A, Valotis A, et al. Anthocyanins as lipoxygenase inhibitors. Molecular Nutrition & Food

- Research, 2009, 53: 617-624
- [55] Castro D D S B D, Teodoro A J. Anticancer properties of bioactive compounds of berry fruits-a review [J]. British Journal of Medicine & Medical Research, 2015, 6(8): 771-794
- [56] Zhang C, Guo X, Cai W, et al. Binding characteristics and protective capacity of cyanidin-3-glucoside and its aglycon to calf thymus DNA [J]. Journal of Food Science, 2015, 80(4): 889-893
- [57] Renis M, Calandra L, Scifo C, et al. Response of cell cycle/stress-related protein expression and DNA damage upon treatment of CaCo2 cells with anthocyanins [J]. British Journal of Nutrition, 2008, 100(1): 27-35
- [58] Guo H, Ling W. The update of anthocyanins on obesity and type 2 diabetes: experimental evidence and clinical perspectives [J]. Reviews in Endocrine & Metabolic Disorders, 2015, 16(1): 1-13
- [59] Aboonabi A, Singh I. Chemopreventive role of anthocyanins in atherosclerosis via activation of Nrf2-ARE as an indicator and modulator of redox [J]. Biomed Pharmacother, 2015, 72: 30-36
- [60] Yan, Q, Zhang, L, Zhang, X, et al. Stabilization of grape skin anthocyanins by copigmentation with enzymatically modified isoquercitrin (EMIQ) as a copigment [J]. Food Research International, 2013, 50: 603-609
- [61] Yawadio R, Morita N. Color enhancing effect of carboxylic acids on anthocyanins [J]. Food Chemistry, 2007, 105(1): 421-427
- [62] GlaBgen W E, Seitz H U. Acylation of anthocyanins with hydroxycinnamic acids via 1-O-acylglucosides by protein preparations from cell cultures of *Daucus carota* L [J]. Planta, 1992, 186: 582-585
- [63] Álvarez I, Aleixandre J L, Garc ía M J, et al. Effect of the prefermentative addition of copigments on the polyphenolic composition of Tempranillo wines after malolactic fermentation [J]. European Food Research and Technology, 2009, 228(4): 501
- [64] Marković J M, Petranović N A, Baranac J M. A spectrophotometric study of the copigmentation of malvin with caffeic and ferulic acids [J]. Journal of Agricultural Food Chemistry, 2000, 48(11): 5530-5536
- [65] Teixeira N, Cruz L, Br á s N F, et al. Structural features of copigmentation of oenin with different polyphenol copigments [J]. Journal of Agricultural Food Chemistry, 2013, 61(28): 6942-6948
- [66] Shikov V, Kammerer D R, Mihalev K, et al. Heat stability of strawberry anthocyanins in model solutions containing natural copigments extracted from rose (*Rosa damascena* Mill.) petals [J]. Journal of Agricultural Food Chemistry, 2008, 56(18): 8521-8526
- [67] Pan Z Y, Guan Y, Wei Z F, et al. Flavonoid C-glycosides from pigeon pea leaves as color and anthocyanin stabilizing agent in blueberry juice [J]. Industrial Crops and Products, 2014, 58: 142-147
- [68] 李永强,杨士花,高斌,等.黄酮对杨梅花色苷的辅色作用[J].食品科学,2011,32(13):37-39  
LI Yong-qiang, YANG Shi-hua, GAO Bin, et al. Co-pigmentation effect and color stability of flavonoids on red dayberry (*Myrica rubra* Sieb. et Zucc) anthocyanins [J]. Food Science, 2011, 32(13): 37-39
- [69] Howard L R, Brownmiller C, Prior R L, et al. Improved stability of chokeberry juice anthocyanins by b-cyclodextrin addition and refrigeration [J]. Journal of Agricultural Food Chemistry, 2013, 61, 693-699
- [70] 孟宪军,于娜,李颖畅,等.蓝莓花色苷稳定性研究[J].北方园艺,2008(8):23-26  
MENG Xian-jun, YU Na, LI Ying-chang, et al. Studies on stability of anthocyanins from blueberry [J]. Northern Horticulture, 2008(8): 23-26
- [71] Augustine S, Kudachikar V B, Vanajakshi V, et al. Effect of combined preservation techniques on the stability and microbial quality and retention of anthocyanins in grape pomace stored at low temperature [J]. Journal of Food Science and Technology, 2013, 50(2): 332-338
- [72] Moldovan B, David L. Influence of temperature and preserving agents on the stability of cornelian cherries anthocyanins [J]. Molecules, 2014, 19(6): 8177-8188
- [73] Sonja B, Manuela B, Eva M H, et al. Influence of different pectins on powder characteristics of microencapsulated anthocyanins and their impact on drug retention of shellac coated granulate [J]. Journal of Food Engineering, 2012, 108: 158-165
- [74] Garc ía-Tejeda Y V, Salinas-Moreno Y, Mart ínez-Bustos F. Acetylation of normal and waxy maize starches as encapsulating agents for maize anthocyanins microencapsulation [J]. Food and Bioproducts Processing, 2015, 94: 717-726
- [75] Flores F P, Singh R K, Kerr W L, et al. Total phenolics content and antioxidant capacities of microencapsulated blueberry anthocyanins during in vitro digestion [J]. Food

- Chemistry, 2014, 153: 272-278
- [76] Mahdavee K K, Jafari S M, Ghorbani M, et al. Application of maltodextrin and gum Arabic in microencapsulation of saffron petal's anthocyanins and evaluating their storage stability and color [J]. Carbohydrate Polymers, 2014, 105: 57-62
- [77] Nawi N M, Muhamad I I, Mohd A M. The physicochemical properties of microwave-assisted encapsulated anthocyanins from Ipomoea batatas as affected by different wall materials [J]. Food Science & Nutrition, 2015, 3(2): 91
- [78] 张冲. 典型脂溶性营养素纳米脂质体的制备和稳定性研究 [D]. 无锡: 江南大学, 2009
- ZHANG Chong. Study on preparation and stability of nanoliposomes encapsulating typical lipophilic nutrients [D]. Wuxi: Jiangnan University, 2009
- [79] 赵圣书, 王振宇. 响应面法优化黑加仑花色苷脂质体制备工艺的研究 [J]. 食品工业科技, 2012, 23(33): 258-262
- ZHAO Sheng-shu, WANG Zheng-yu. Optimization of the preparation of anthocyanin liposome of black currant by response surface methodology [J]. Science and Technology of Food Industry, 2012, 23(33): 258-262
- [80] Hwang J M, Kuo H C, Lin C T, et al. Inhibitory effect of liposome-encapsulated anthocyanin on melanogenesis in human melanocytes [J]. Pharmaceutical Biology, 2013, 51(8): 941-947
- [81] Bonarska-Kujawa D, Pruchnik H, Kleszczyńska H. Interaction of selected anthocyanins with erythrocytes and liposome membranes [J]. Cellular and Molecular Biology Letters, 2012, 17(2): 289-308
- [82] Gibis M, Zeeb B, Weiss J. Formation, characterization, and stability of encapsulated hibiscus extract in multilayered liposomes [J]. Food Hydrocolloids, 2014, 38: 28-39
- [83] Konczak I, Terahara N, Yoshimoto M, et al. Regulating the composition of anthocyanins and phenolic acids in a sweet potato cell culture towards production of polyphenolic complex with enhanced physiological activity [J]. Trends in Food Science & Technology, 2005, 16: 377-388
- [84] Sasaki N, Nakayama T. Achievements and perspectives in biochemistry concerning anthocyanin modification for blue flower coloration [J]. Plant and Cell Physiology, 2015, 56(1): 28-40
- [85] 王振宇, 赵鑫. 微生物降解法提取大葵花色苷及其分子修饰的研究 [J]. 食品工业科技, 2005, 26(6): 62-65
- WANG Zheng-yu, ZHAO Xin. Extraction of anthocyanin from Malva sylvestris by microbial degradation and its molecular modification [J]. Science and Technology of Food Industry, 2005, 26(6): 62-65