

# 蓝莓花青素的抗氧化活性对比及其稳定性分析

周理红

(江汉大学生命科学学院, 湖北武汉 430056)

**摘要:** 本文研究不同提取工艺对蓝莓花青素抗氧化活性的影响, 以及对微波波辅助提取得到的蓝莓花青素的稳定性进行了分析。通过 1,1-二苯基-2-苦肼基(DPPH·)、羟基自由基( $\cdot\text{OH}$ )、超氧自由基( $\text{O}_2^{\cdot-}$ )等体外抗氧化实验评价不同提取工艺所提取的蓝莓花青素抗氧化活性, 并分析光照、pH、温度、葡萄糖以及有机酸对蓝莓花青素保存率的影响。结果显示, 乙醇浸取法、丙酮浸取法和微波辅助提取法的蓝莓花青素的得率分别为 4.46%、4.41% 和 4.92%。蓝莓花青素的体外抗氧化活性在 0.25~4.0 mg/mL 范围内有浓度依赖性, 微波辅助提取法获得的蓝莓花青素浓度为 4.0 mg/mL 时, DPPH·清除率、 $\cdot\text{OH}$ 清除率和  $\text{O}_2^{\cdot-}$ 清除率分别为 86.59%、56.85% 和 88.65%, 均显著高于乙醇浸提法、丙酮浸提法 ( $p<0.05$ )。蓝莓花青素在强光、碱性、高温及抗坏血酸存在的环境下较为不稳定, 而葡萄糖和柠檬酸则对蓝莓花青素的稳定性有一定的保护作用。

**关键词:** 蓝莓花青素; 抗氧化活性; 微波辅助提取; 稳定性

文章编号: 1673-9078(2020)03-65-71

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2020.3.009

## Antioxidant Activity Comparison and Stability Analysis of Anthocyanin from Blueberry

ZHOU Li-hong

(Academy of Life Sciences, Jiangnan University, Wuhan 430056, China)

**Abstract:** The effects of different extraction processes on the antioxidant properties of blueberry anthocyanin and the stability analysis of microwave-assisted extraction of blueberry anthocyanin were investigated. The antioxidant activities of blueberry anthocyanin extracted by different extraction processes were evaluated by 1,1-diphenyl-2-bitter hydrazine (DPPH·), hydroxyl free radical ( $\cdot\text{OH}$ ), superoxide free radical ( $\text{O}_2^{\cdot-}$ ). The stability of blueberry anthocyanin obtained by microwave-assisted extraction was tested, and the light, pH, temperature, glucose and organic acid were detected to analyze the effect of anthocyanin preservation rate of blueberry. The results showed that the yield rate of blueberry anthocyanin extracted by ethanol, acetone and microwave-assisted were 4.46%, 4.41% and 4.92%, respectively. The antioxidant activity of blueberry anthocyanin *in vitro* was concentration dependent in the range of 0.25~4.0 mg/mL. When the concentration of blueberry anthocyanin extracted by microwave-assisted was 4.0 mg/mL, the clearance rate of DPPH·,  $\cdot\text{OH}$  and  $\text{O}_2^{\cdot-}$  were 86.59%, 56.85% and 88.65%, respectively, which were significantly higher than that by ethanol extraction and acetone extraction ( $p<0.05$ ). Blueberry anthocyanin was unstable in the environment of strong light, alkaline, high temperature and ascorbic acid, but glucose and citric acid could protect the stability of blueberry anthocyanin.

**Key words:** blueberry anthocyanin; antioxidant activity; microwave-assisted extraction; stability

引文格式:

周理红. 蓝莓花青素的抗氧化活性对比及其稳定性分析[J]. 现代食品科技, 2020, 36(3): 65-71

ZHOU Li-hong. Antioxidant activity comparison and stability analysis of anthocyanin from blueberry [J]. Modern Food Science and Technology, 2020, 36(3): 65-71

蓝莓又被称为蓝浆果、越橘, 属于杜鹃花科越橘属, 常绿灌木或者多年生落叶, 蓝莓果实为扁圆形, 成熟果实为深蓝色<sup>[1]</sup>。蓝莓果实中含有黄酮、纤维素、

收稿日期: 2019-10-15

基金项目: 湖北省自然科学基金面上项目 (2016CFB651)

作者简介: 周理红 (1976-) 女, 博士, 讲师, 研究方向: 多变量分析方法的代谢组学研究

磷、钙、维生素 C、蛋白质、有机酸等矿物质, 具有较高的营养价值<sup>[2]</sup>。在发现蓝莓具有较高的营养价值外, 国内外多数研究人员开始致力于蓝莓功能特性、保健作用的研究。

研究发现<sup>[3]</sup>, 蓝莓果实中除了含有糖外, 还含有较为丰富的活性物质, 包括酚类、花青素等, 其中花青素在蓝莓果中含量最为丰富, 其以糖苷的形式存在,

属于一种广泛存在于植物中的天然色素,由牵牛花色素、锦葵色素、飞燕草色素、矢车菊色素、芍药色素等5种花青素苷元及其各自与乙酰阿拉伯糖、半乳糖、乙酰葡萄糖、葡萄糖、阿拉伯糖连接所形成的花青素糖苷组成。研究发现<sup>[4,5]</sup>,蓝莓花青素具有保肝、抗氧化活性、抗过敏、抗肿瘤活性、免疫调节、保护视力等药理作用,安全无毒,具有较高的营养、药理作用,目前已经广泛应用于药品、保健、食品等领域。因此蓝莓花青素的制作工艺备受关注,是目前研究的热点。

目前研究认为,提取方法的选择与蓝莓花青素自身性质、组成、提取的目的相关,若将花青素自蓝莓中提取出后还需定量、定性分析,以选择最佳的一种使所提取的花青素处于天然状态,不影响其抗氧化性能的制作工艺<sup>[6]</sup>。在本文研究中分析不同提取工艺对蓝莓花青素抗氧化性能的影响,寻找较为合适的提取工艺,在最大程度上保留蓝莓花青素的天然作用;同时,对提取得到的蓝莓花青素进行稳定性分析,探索蓝莓花青素的最佳保存方式。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

研究原料:市售蓝莓。

主要试剂:丙酮,天津市凯通化学试剂有限公司;香草醛、甲醇、儿茶素、硫酸、乙醇、盐酸、氢氧化钠,天津市东丽区天大化学试剂厂;葡萄糖、柠檬酸、苹果酸、抗坏血酸,上海阿拉丁生化科技股份有限公司;DPPH, Sigma公司;硝基四氮蓝、吩嗪硫酸甲酯、还原型辅酶I,北京鼎国生物技术有限责任公司。

### 1.2 方法

#### 1.2.1 提取方法

取新鲜蓝莓(去除未成熟和破碎的蓝莓)放置于温度为-20℃的冰箱中保存,在使用时取出,并使用组织捣碎机捣为匀浆待用。

乙醇浸提法:准确称取5.0g蓝莓匀浆,置于提取瓶中,加入蓝莓浆8倍体积的pH 3.0±0.1的酸化乙醇提取剂(乙醇终体积分数75%)在(50±0.5)℃、(150±5) r/min的条件浸提150 min,接着将浸提液在10000 r/min、4℃条件下离心10 min,取上清液得到蓝莓花青素粗提液;然后将蓝莓花青素粗提液通过AB-8树脂吸附,再用60%乙醇洗脱,收集乙醇洗脱流出液,50℃减压浓缩除去乙醇后冷冻干燥即得到花青素。

丙酮浸提法:准确称取5.0g蓝莓匀浆,加入50%的丙酮溶液,料液比为1:3在4℃的温度下水浴中封

口震荡1h,震荡结束后过滤,按照上述方法对花青素进行精制,另以紫外-可见分光光度计在最大吸收波长下对吸光度进行测定,之后测定花青素含量。

微波辅助提取法:将所购买的蓝莓加入50%的丙酮溶液,使用微波合成/萃取仪性微波辐射提取,加入提物液在4℃的温度下水浴中浸提,经过精制处理后得到所需要的溶液,最大吸收波长下对吸光度进行测定,之后测定花青素含量。

#### 1.2.2 蓝莓花青素得率测定

取10 mL硫酸溶于甲醇溶液中定容至100 mL制备10% (V/V)硫酸甲醇溶液,另外取1.0g香草醛溶于甲醇溶液中定容至100 mL制备1.0% (m/V)香草醛-甲醇溶液。在使用显色剂时将硫酸甲醇溶液、香草醛-甲醇溶液1:1混合,现用现配。配置0.05 mg/mL、0.10 mg/mL、0.15 mg/mL、0.20 mg/mL、0.25 mg/mL等五个不同浓度的儿茶素甲醇溶液作为标准溶液,取上述溶液各1 mL,分别加入5 mL显色剂,混合均匀后在温度为30℃的水浴中放置0.5 h,在波长为500 nm下对吸光度进行测定,空白样为显色剂溶液,绘制标准曲线(纵坐标:吸光度,横坐标:标准溶液)。冷却离心过滤的蓝莓花青素提取液,取1 mL加入5 mL显色剂,混合均匀后在温度为30℃的水浴中放置0.5 h,在波长为500 nm下对吸光度进行测定,空白样为显色剂溶液。

$$\text{蓝莓花青素得率}(\%) = \frac{C \times V_1 \times V_2}{m \times V_3} \times 100\%$$

其中:C-标准曲线方程中所得到的花青素浓度,mg/mL;V<sub>1</sub>-提取液样品加显色剂的总体积,mL;V<sub>2</sub>-离心过滤所得花青素提取液体积,mL;m-所取的蓝莓质量,g;V<sub>3</sub>-提取液样品的体积,mL。

#### 1.2.3 蓝莓花青素抗氧化活性测定

将不同提取工艺所提取的冷冻干燥的花青素准确配置为0.25 mg/mL、0.5 mg/mL、1.0 mg/mL、2.0 mg/mL、4.0 mg/mL等不同浓度的水溶液,做蓝莓花青素体外抗氧化性能测定。

(1)蓝莓花青素对DPPH的清除活性测定:分别取不同浓度的样本溶液50 μL,放置于96微孔板中,加入20 μL的DPPH溶液(0.4 mmol/L),混合均匀后在避光下放置0.5 h,在波长为517 nm下对吸光度进行检测,计算蓝莓花青素对DPPH清除率,以抗坏血酸(Vc)为阳性对照。

$$\text{DPPH清除率} = [1 - (A_1 - A_2) / A_0] \times 100\%$$

其中:A<sub>1</sub>-样品实验的吸光度;A<sub>2</sub>-无水乙醇代替DPPH溶液的吸光度;A<sub>0</sub>-空白对照实验(水代替花青素溶液)的吸光度。

(2)蓝莓花青素对·OH的清除活性测定:分别

取不同浓度的样本溶液 50  $\mu\text{L}$ ，放置于 96 微孔板中，分别加入 0.07 mL 的  $\text{H}_2\text{O}_2$  (6.0 mmol/L)、0.1 mL 的  $\text{FeSO}_4$  溶液 (1.5 mmol/L)、0.03 mL 的水杨酸溶液 (20 mmol/L)，混合均匀后在温度为 37  $^\circ\text{C}$  水浴中恒温处理 1 h，在波长为 562 nm 下对吸光度进行检测，计算蓝莓花青素对  $\cdot\text{OH}$  清除率，以 Vc 为阳性对照。

$$\cdot\text{OH} \text{ 清除率} = [1 - (A_1' - A_2') / A_0'] \times 100\%$$

其中： $A_1'$ -样品实验的吸光度； $A_2'$ -不加入水杨酸溶液的吸光度； $A_0'$ -空白对照实验（水代替花青素溶液）的吸光度。

(3) 蓝莓花青素对  $\text{O}_2\cdot$  清除能力测定：分别取不同浓度的样本溶液 50  $\mu\text{L}$ ，放置于 96 微孔板中，分别加入 0.05 mL 的硝基四氮蓝溶液 (0.15 mmol/L)、0.05 mL 的吩嗪硫酸甲酯溶液 (0.06 mmol/L)、0.05 mL 的还原型辅酶 I 溶液 (0.47 mmol/L)，混合均匀后在温度为 25  $^\circ\text{C}$  水浴中处理 5 min，在波长为 510 nm 下对吸光度进行检测，计算蓝莓花青素对  $\text{O}_2\cdot$  清除率，以 Vc 为阳性对照。

$$\text{O}_2\cdot \text{ 清除率} = [1 - (A_1'' - A_2'') / A_0''] \times 100\%$$

其中： $A_1''$ -样品实验的吸光度； $A_2''$ -0.1 mol/L pH=7.0 的磷酸盐缓冲溶液代替 NBT 溶液的吸光度； $A_0''$ -空白对照实验（水代替花青素溶液）的吸光度。

#### 1.2.4 蓝莓花青素的稳定性测定

参考前文<sup>[7]</sup>中的方法研究光、pH 值、温度、葡萄糖、有机酸对花青素稳定性的影响，按照下述公式计算花青素的保存率。

将冷冻干燥的花青素准确配置 0.5 mg/mL 的水溶液，进行稳定性实验。利用 pH 示差法检测花青素的吸光度值，并通过下式计算蓝莓花青素的保存率。

$$\text{花青素保存率} (\%) = \frac{A_i}{A_j} \times 100\%$$

其中： $A_i$  是保存后花青素吸光度值； $A_j$  是保存前花青素吸光度值。

### 1.3 统计学处理

采用 SPSS 21.0 统计软件进行分析，计数资料采用频数和百分比表示，组间比较采用  $\chi^2$  检验， $p < 0.05$  则说明差异具有统计学意义。

## 2 结果与讨论

### 2.1 不同提取工艺对蓝莓花青素的提取率比较

目前蓝莓花青素的常用提取方法包括微波法、超声波提取法、溶剂提取法、超临界萃取法等，溶剂提取法属于一种天然色素提取方法，此种方法的关键为溶剂的选择，对于溶剂来说既要保证在最大程度上溶

解有效成分，还要避免溶解杂质<sup>[6,8]</sup>。微波辅助提取法属于一种利用微波提高物质获得率的新技术，在物质提取过程中利用微波辐射可促进植物细胞中极性物质吸收大量的微波能，以产生大量的热量，升高细胞温度，此时细胞壁、细胞膜会被液态水汽化时所产生的压力冲破，使得细胞表面出现较多的微小孔洞，进一步加热后减少细胞水分，使得细胞收缩，细胞表面出现裂纹，而细胞出现裂纹和孔洞可促进细胞外溶剂的渗入，将细胞内产物溶解并释放，利于物质的提取。潘利华等<sup>[9]</sup>在其研究中认为选择合适的提取工艺可提高蓝莓花青素提取率。石柱珍等<sup>[10]</sup>在其研究中在其研究中同样认为选择合适的提取工艺可提高蓝莓花青素提取率，其研究发现，在酸性条件下，乙醇浓度 60%、料液比 1:10 (g/mL)、提取温度 50  $^\circ\text{C}$ 、提取时间 90 min 时，蓝莓花青素提取量达 343.30 mg/100 g。

基于前期研究结果，在本研究中对对比分析乙醇浸提法、丙酮浸取法与微波辅助提取法对蓝莓花青素的提取率的影响，重复测量 3 次，以明确最佳提取方法。结果如表 1 所示，乙醇浸取法对蓝莓花青素的平均提取率为 4.46%，丙酮浸取法对蓝莓花青素的平均提取率为 4.41%，微波辅助提取法对蓝莓花青素的平均提取率为 4.92%。可见，微波辅助提取法对蓝莓花青素提取率高于丙酮浸提法、乙醇浸提法，具有统计学差异 ( $p < 0.05$ )，此结果说明，与乙醇浸提法、丙酮浸取法相比，微波辅助提取法更利于蓝莓花青素的提取。

表 1 不同提取工艺对蓝莓花青素的得率比较

Table 1 Comparison of extraction rate of anthocyanin from blueberry by different processing technology

组别	得率/%
乙醇浸提法	4.46 $\pm$ 0.20 <sup>a</sup>
丙酮浸提法	4.41 $\pm$ 0.19 <sup>a</sup>
微波辅助提取法	4.92 $\pm$ 0.08 <sup>b</sup>

注：右上角标注字母不同表示差异性显著， $p < 0.05$ 。

### 2.2 不同提取方法的蓝莓花青素的 DPPH·清除率比较

研究发现，蓝莓花青素抗氧化活性可要通过多种途径实现，如阻止脂质过氧化反应、通过作用于  $\text{O}_2\cdot$  反应对氧自由基活性起到抑制作用等<sup>[11-14]</sup>。DPPH·属于一种较为稳定的自由基，以氮为中心，通过测定物质对 DPPH·的清除能力可反应出物质是否具有烷自由基、羟基自由基、过氧自由基，其作用为终止脂质过氧化链反应<sup>[15]</sup>。DPPH·自由基清除能力评价抗氧化性能的敏感度较高、稳定型较好，目前已经广泛应用

于临床物质抗氧化活性的评价中<sup>[16]</sup>。谭莉等<sup>[17]</sup>在其研究中采用 DPPH·清除能力评价蓝莓花青素抗氧化活性,研究表明,蓝莓花青素对 DPPH·清除率由 37.50% 升高至 71.6%, 上述研究表明蓝莓花青素对 DPPH·清除率越高, 蓝莓花青素抗氧化活性越强。在本文研究中分析不同提取工艺所提取的不同浓度蓝莓花青素对 DPPH·的清除能力, 以评价蓝莓花青素抗氧化性能, 结果如图 1 所示。

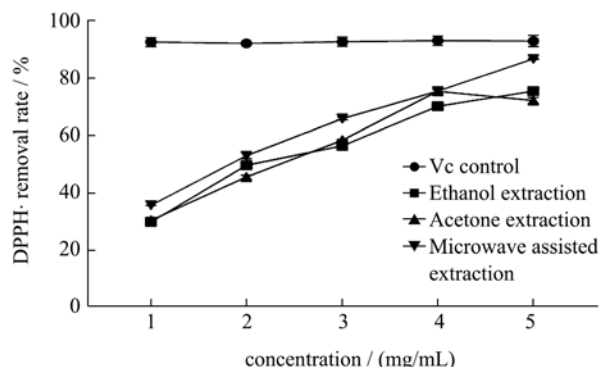


图 1 不同提取方法的蓝莓花青素 DPPH·清除率比较

Fig.1 Comparison of DPPH· scavenging rate of blueberry anthocyanin extracted by different processing technology

由图 1 可知, 两种方式提取的蓝莓花青素均具有较强的抗氧化性, 其中微波辅助提取法得到的花青素抗氧化性高于丙酮浸提法、乙醇浸提法, 且三种方式提取的蓝莓花青素对 DPPH·的清除率均随着 DPPH·浓度的升高而增大, 具有统计学差异 ( $p < 0.05$ ), 但是均低于 Vc 对 DPPH·的清除率。

### 2.3 不同提取方法的蓝莓花青素对·OH 的清除率比较

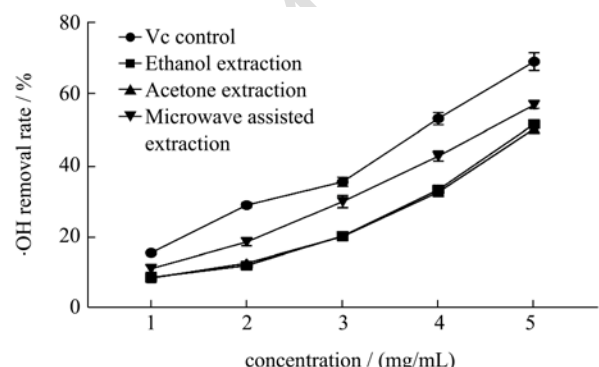


图 2 不同提取工艺的蓝莓花青素对·OH 的清除率比较

Fig.2 Comparison of ·OH scavenging rate of of blueberry anthocyanin extracted by different processing technology

·OH 自由基的氧化能量较强, 可使得电子发生转移作用, 反应速度较为迅速, 对机体的损伤较为严重<sup>[18]</sup>。·OH 可夺取蛋白质、核酸等生物大分子中的 O,

以降低机体抵抗力, 属于一种活性做强的活性氧自由基, 因此目前认为<sup>[19]</sup>, ·OH 清除能力是评价抗氧化物质的抗氧化性能的重要指标。谭莉等<sup>[17]</sup>、林晓玲等<sup>[20]</sup>分别在其研究中采用·OH 清除能力评价蓝莓花青素抗氧化活性, 谭莉等研究发现, 蓝莓花青素对·OH 清除率由 11.2% 升高至 50.5%, 林晓玲等研究发现, 蓝莓花青素对·OH 清除率由 30.5% 升高 96.7%, 上述研究表明蓝莓花青素对·OH 清除率越高, 蓝莓花青素抗氧化活性越强。在本文研究中分析不同提取工艺所提取的不同浓度蓝莓花青素对·OH 的清除能力, 以评价蓝莓花青素抗氧化性能, 结果如图 2 所示。

由图 2 可知, 在不同浓度下, 不同工艺提取出的蓝莓花青素的对·OH 的清除率依然是微波辅助提取法最高, 丙酮浸提法与乙醇浸提法均较低, 且随着蓝莓花青素浓度的提高, 清除率也相应提高。

### 2.4 不同提取方法的蓝莓花青素对 O<sub>2</sub><sup>-·</sup> 的清除率比较

O<sub>2</sub><sup>-·</sup> 具有较弱的活泼性, 可通过歧化反应产生 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>、羟自由基, 属于一种可产生生物体中的自由基根源<sup>[20]</sup>。另外研究显示<sup>[22]</sup>, O<sub>2</sub><sup>-·</sup> 自由基形成时间最早, 其对人体的危害跃居第二, 仅次于·OH 自由基, 因此可通过分析物质对 O<sub>2</sub><sup>-·</sup> 的清除能力来评价物质的抗氧化性能。谭莉等<sup>[17]</sup>在其研究中采用 O<sub>2</sub><sup>-·</sup>清除能力评价蓝莓花青素抗氧化活性, 其研究发现, 蓝莓花青素对 O<sub>2</sub><sup>-·</sup>清除率由 55.9% 升高至 97.2%, 表明蓝莓花青素对 O<sub>2</sub><sup>-·</sup>清除率越高, 蓝莓花青素抗氧化活性越强。在本文研究中分析不同提取工艺所提取的不同浓度蓝莓花青素对 O<sub>2</sub><sup>-·</sup>的清除能力, 以评价蓝莓花青素抗氧化性能, 结果如图 3 所示。

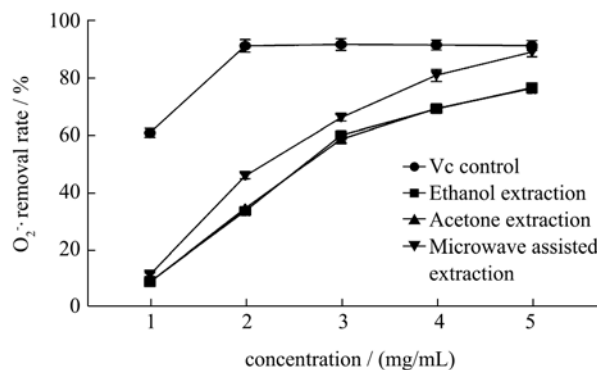


图 3 不同提取工艺的蓝莓花青素对 O<sub>2</sub><sup>-·</sup> 的清除率比较

Fig.3 Comparison of O<sub>2</sub><sup>-·</sup> removal rate of of blueberry anthocyanin extracted by different processing technology

由图 3 可知, 在不同浓度下, 不同工艺提取出的蓝莓花青素的对 O<sub>2</sub><sup>-·</sup>的清除率结果是微波辅助提取法

高于丙酮浸提法、乙醇浸提法。Vc 浓度为 0.25 mg/mL 时,  $O_2\cdot^-$  的清除率为 60.50%, 在低浓度的时候已经显示出对  $O_2\cdot^-$  有较高的清除率, 当 Vc 浓度超过 0.5 mg/mL,  $O_2\cdot^-$  的清除率均维持在 90% 以上, 且变化不大。而文中三种不同工艺提取出来的蓝莓花青素对  $O_2\cdot^-$  的清除率随着花青素浓度的升高呈现出稳定增加的趋势, 说明花青素浓度对  $O_2\cdot^-$  的清除率的影响较大。

## 2.5 蓝莓花青素的稳定性比较

根据 2.1 和 2.2 的实验结果可知, 采用微波辅助提取得到的蓝莓花青素得率最高、抗氧化活性最好。因此, 将微波辅助提取得到的蓝莓花青素按照 1.2.4 的方法进行稳定性测试, 结果见图 4~图 8。

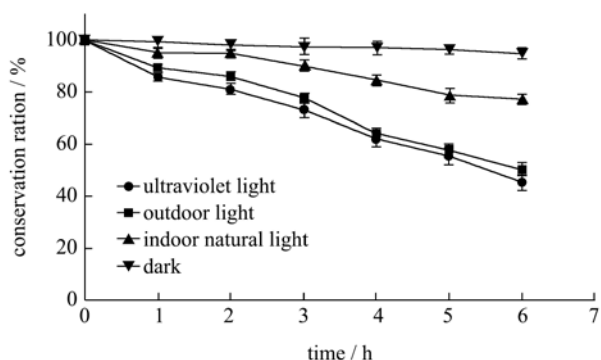


图 4 光对蓝莓花青素稳定性的影响

Fig.4 Effect of light on the stability of anthocyanin from blueberry

由图 4 可知, 光照会对蓝莓花青素稳定性产生较大的影响。在避光条件下, 蓝莓花青素的稳定性较好, 在 0~6 h 内, 花青素的保存率均在 90% 以上, 6 h 所测得的花青素保存率为 94.77%。在室内自然光下, 花青素开始缓慢降解, 2 h 后降解速率加快, 6 h 后测得的花青素保存率为 77.07%。在受到室外阳光直射和紫外光照射下, 花青素遇光便快速降解, 在光照 6 h 后, 两种光照情况下的花青素保存率分别是 50.33%、45.21%。因此, 蓝莓花青素对强光照较为敏感, 不稳定性较强。

由图 5 可知, 在  $pH \leq 3$  时, 蓝莓花青素的稳定性较强, 降解速率较慢, 在 6 h 后,  $pH \leq 3$  的花青素保存率均在 80% 以上, 且三者的降解变化趋势几乎一致。当  $pH=4$  时, 蓝莓花青素随时间变化立刻进入降解状态, 在前 4 h 内, 花青素的保存率下降较快, 4 h 后, 花青素的保存率趋于稳定。而  $pH \geq 5$  时, 花青素随时间变化一直在快速降解, 其保存率在 6 h 后达到最低值, 分别是 61.56%、56.89%, 同时花青素溶液的颜色逐渐变成深紫色。因此,  $pH$  对蓝莓花青素稳定性影响很大, 在强酸性环境下 ( $pH \leq 3$ ) 时, 蓝莓花青素能维

持比较稳定的状态。

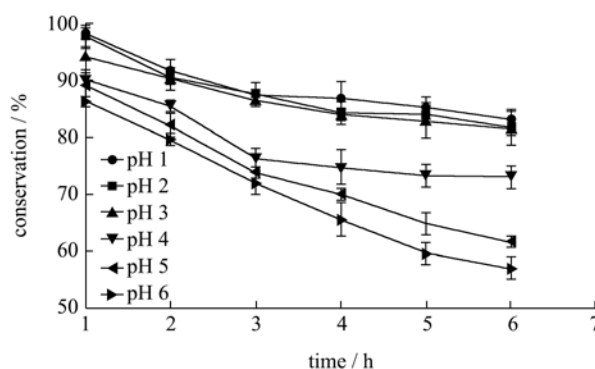


图 5 pH 对蓝莓花青素稳定性的影响

Fig.5 Effect of pH on the stability of anthocyanin from blueberry

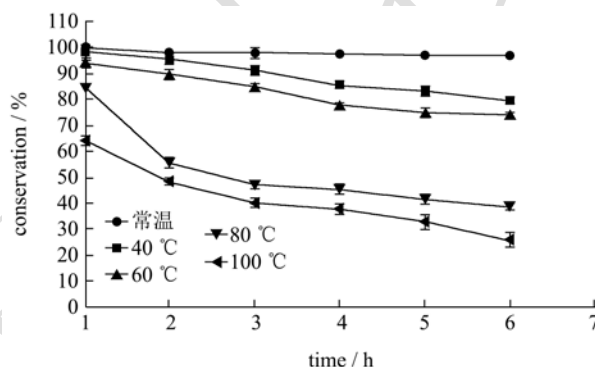


图 6 温度对蓝莓花青素稳定性的影响

Fig.6 Effect of temperature on the stability of anthocyanin from blueberry

由图 6 可知, 常温条件下, 蓝莓花青素比较稳定, 其保存率几乎不变。随着温度的升高, 蓝莓花青素的降解速度相应增快, 其在 80 °C 和 100 °C 时, 花青素的保存率变化最快, 在 2 h 后, 两者的花青素保存率分别下降到 55.61% 和 48.33%, 随后下降速度减慢, 到 6 h 后, 两者的花青素保存率分别是 38.55% 和 25.89%。因此, 蓝莓花青素应避免与过高的温度接触。

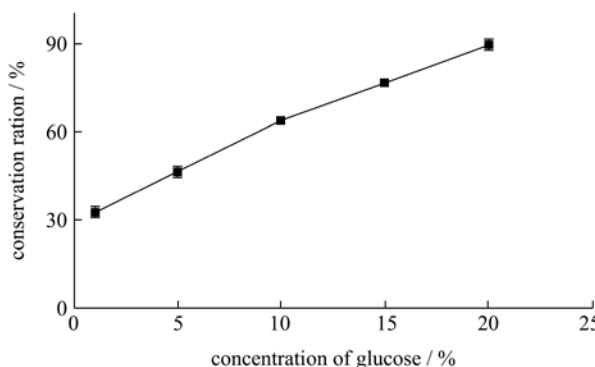


图 7 葡萄糖对花青素稳定性的影响

Fig.7 Effect of glucose on the stability of anthocyanin from blueberry

由图 7 可知, 随着添加葡萄糖量的增加, 花青素

保存率逐渐提高,在葡萄糖浓度为1%时,花青素的保存率仅为32.58%,在葡萄糖浓度为20%时,花青素的保存率提高到89.57%。因此,高浓度的葡萄糖对蓝莓花青素有较强的保护作用。

通过测定加入有机酸的蓝莓花青素溶液在200~380 nm范围内的光谱,发现谱图中均出现了表示花青素已经酸基化的吸收峰<sup>[7]</sup>。由图8可知,添加了柠檬酸的蓝莓花青素在6 h后的保存率能达到74.51%,而对照组中,未添加有机酸的蓝莓花青素在6 h后的保存率为64.87%,因此,添加柠檬酸有利于维持蓝莓花青素的稳定。添加了苹果酸的蓝莓花青素的保存率与对照组在6 h后的测定结果相差不大,而添加了抗坏血酸的蓝莓花青素则随着时间的变化,保存率下降较快,在6 h后的保存率仅为37.54%,说明抗坏血酸能让花青素迅速降解,不利于花青素的保存。

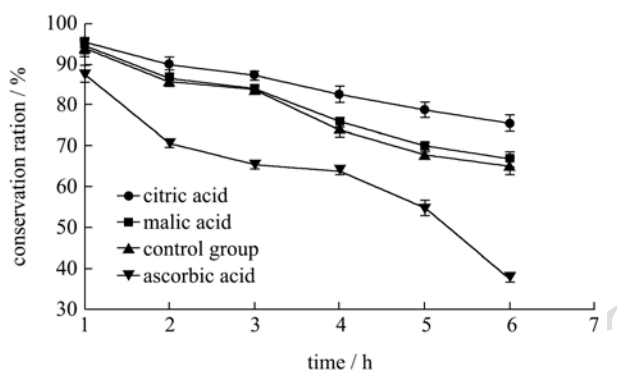


图8 有机酸对花青素稳定性的影响

Fig.8 Effect of organic acid on the stability of anthocyanin from blueberry

### 3 结论

3.1 与乙醇浸取法、丙酮浸取法相比,微波辅助提取法更利于蓝莓花青素的提取,提取率能达到4.92%,乙醇浸取法仅为4.46%,丙酮浸提法仅为4.41%。

3.2 不同提取方法的蓝莓花青素均会对DPPH·、·OH、O<sub>2</sub>·起到清除作用,但运用微波辅助提取法对DPPH·、·OH、O<sub>2</sub>·的清除率较高,因此,微波辅助提取法得到的蓝莓花青素抗氧化性能较强。

3.3 蓝莓花青素受光照、pH、温度、葡萄糖、有机酸的影响,会呈现不同程度的降解,结果显示蓝莓花青素对强光照较为敏感,不稳定性较强;强酸、低温环境下(pH≤3)更有利于花青素的保存;高浓度的葡萄糖对蓝莓花青素有较强的保护作用;添加柠檬酸有利于维持蓝莓花青素的稳定,抗坏血酸能让花青素迅速降解。

3.4 综上所述,微波辅助提取法所提取的蓝莓花青素对其抗氧化性能的影响较小,可保留蓝莓花青素的天然功能,可作为蓝莓中提取花青素的高效方法;同时,提取得到的蓝莓花青素应保存在避光、强酸、低温的环境中,可以适量加入葡萄糖和柠檬酸提高蓝莓花青素的稳定性。

### 参考文献

- [1] Nie Q, Feng L, Hu J, et al. Effect of fermentation and sterilization on anthocyanins in blueberry [J]. J Sci Food Agric. 2017, 97(5): 1459-1466
- [2] Song Y, Huang L, Yu J. Effects of blueberry anthocyanins on retinal oxidative stress and inflammation in diabetes through Nrf2/HO-1 signaling [J]. J Neuroimmunol, 2016, 15:1-6
- [3] Brandenburg JP, Giles LV. Four days of blueberry powder supplementation lowers the blood lactate response to running but has no effect on time-trial performance [J]. Int J Sport Nutr Exerc Metab, 2019, 17: 1-7
- [4] Koh J, Xu Z, Wicker L. Blueberry pectin and increased anthocyanins stability under *in vitro* digestion [J]. Food Chem, 2020, 302(1): 125343
- [5] Lang Y, Li E, Meng X, et al. Protective effects of bovine serum albumin on blueberry anthocyanins under illumination conditions and their mechanism analysis [J]. Food Res Int, 2019, 122: 487-495
- [6] 张莉弘,吴琼,牟莉,等.蓝莓花青素的提取工艺[J].食品研究与开发,2014,35(15):49-51
- [7] ZHANG Li-hong, WU Qing, MOU Li, et al. Extraction of anthocyanin from blueberry [J]. Food Research and Development, 2014, 35(15): 49-51
- [7] 孙倩怡.蓝莓中花青素的提取和稳定性的研究及其脂质体的制备[D].吉林:吉林农业大学,2018:28-33
- [8] SUN Qian-yi. Study on the extraction process and stability of anthocyanin from blueberry and preparation of its liposomes. [D]. Jilin: Jilin Agricultural University, 2018: 28-33
- [8] 杨莉,李珂珂,李沙沙,等.蓝莓果实中花青素类成分的超声波提取工艺研究[J].中国现代中药,2017,19(7):1012-1016
- [9] YANG Li, LI Ke-ke, LI Sha-sha, et al. Ultrasonic extraction of anthocyanins from blueberry fruit [J]. Modern Chinese Medicine, 2017, 19(7): 1012-1016
- [9] 潘利华,王建飞,叶兴乾,等.蓝莓花青素的提取工艺及其免疫调节活性[J].食品科学,2014,35(2):81-86
- [10] PAN Li-hua, WANG Jian-fei, YE Xing-qian, et al. Extraction technology and immunomodulatory activity of anthocyanin from blueberry [J]. Food Science, 2014, 35(2): 81-86
- [10] 石桂珍,李京东,张玉清,等.蓝莓花青素的提取及含量分析[J].食品研究与开发,2016,37(14):55-57,58

- SHI Gui-zhen, LI Jing-dong, ZAHNG Yu-qing, et al. Extraction and content analysis of anthocyanin from blueberry [J]. Food Research and Development, 2016, 37(14): 55-57, 58
- [11] 龚银花,刘悦,刘茜茜,等.蓝莓花青素的提取、分离及微胶囊化研究[J].广州化工,2015,43(18):69-71
- GONG Yin-hua, LIU Yue, LI Qian-qian, et al. Extraction, separation and microencapsulation of anthocyanin from blueberry [J]. Guangzhou Chemical Industry, 2015, 43(18): 69-71
- [12] Huang W, Zhu Y, Li C, et al. Effect of blueberry anthocyanins malvidin and glycosides on the antioxidant properties in endothelial cells [J]. Oxid Med Cell Longev, 2016, 2: 1-10
- [13] Huang W, Yan Z, Li D, et al. Antioxidant and anti-inflammatory effects of blueberry anthocyanins on high glucose-induced human retinal capillary endothelial cells [J]. Oxid Med Cell Longev, 2018, 2: 1-10
- [14] Foti MC. Use and abuse of the DPPH· radical [J]. J Agric Food Chem, 2015, 63(40): 8765-8776
- [15] Sirivibulkovit K, Nouanthavong S, Sameenoi Y. Paper-based DPPH assay for antioxidant activity analysis [J]. Anal Sci, 2018, 34(7): 795-800
- [16] Geoffroy TR, Meda NR, Stevanovic T. Suitability of DPPH spiking for antioxidant screening in natural products: the example of galloyl derivatives from red maple bark extract [J]. Anal Bioanal Chem, 2017, 409(22): 5225-5237
- [17] 谭莉,陈瑞战,彭雨沙,等.蓝莓花青素提取工艺优化及抗氧化活性评价[J].食品工业,2017,38(8):136-141
- TAN Li, CHEN RUI-zhan, PENG Yu-sha, et al. Optimization of extraction process and evaluation of antioxidant activity of anthocyanin from blueberry [J]. Food Industry, 2017, 38(8): 136-141
- [18] Liu J, Pu H, Zhang X, et al. Effects of ascorbate and hydroxyl radical degradations on the structural, physicochemical, antioxidant and film forming properties of chitosan [J]. Int J Biol Macromol, 2018, 114: 1086-1093
- [19] Herraiz T, Galisteo J. Hydroxyl radical reactions and the radical scavenging activity of  $\beta$ -carboline alkaloids [J]. Food Chem, 2015, 172: 640-649
- [20] 林晓玲,刘晨楠,张昕,等.蛋白吸附蓝莓花青素颗粒对其单体的稳定性和抗氧化活性研究[J].安徽农业科学,2015, 43(33):151-155
- LIN Xiao-ling, LIU Chen-nan, ZHANG Xin, et al. Study on the stability and antioxidant activity of blueberry anthocyanin granules adsorbed by protein [J]. Anhui Agricultural Science, 2015, 43(33): 151-155
- [21] Dal Prá V, Dolwitsch C B, da Silveira G D, et al. Supercritical CO<sub>2</sub> extraction, chemical characterisation and antioxidant potential of *Brassica oleracea* var capitata against HO·, O<sub>2</sub>(·-) and ROO·[J]. Food Chem, 2013, 141(4): 3954-3959
- [22] Prasad A K, Mishra P C. Mechanism of action of sulfuraphane as a superoxide radical anion and hydrogen peroxide scavenger by double hydrogen transfer: A model for iron superoxide dismutase [J]. J Phys Chem B, 2015, 119(25): 7825-7836

(上接第 64 页)

- [30] Benjamín C, Cláudia A, Juanmiguel M, et al. High stocking density induces crowding stress and affects amino acid metabolism in Senegalese sole *Solea senegalensis* (Kaup 1858) juveniles [J]. Aquaculture Research, 2010, 39(1): 1-9
- [31] 王彩霞,熊光权,白婵,等.渔用麻醉剂检测方法及其残留安全性评价研究进展[J].食品安全质量检测学报,2018,1:51-56
- WANG Cai-xia, XIONG Guang-quan, BAI Chan, et al. Research progress on detection methods and residue safety evaluation of fishery anesthetics [J]. Journal of Food Safety and Quality, 2018, 1: 51-56
- [32] Li J, Zhang J, Liu Y. Optimization of solid-phase-extraction cleanup and validation of quantitative determination of eugenol in fish samples by gas chromatography-tandem mass spectrometry [J]. Analytical & Bioanalytical Chemistry, 2015, 407(21): 6563-6568