

蛇莓果实花色苷的稳定性及其降解动力学

蔡祎, 狄晓可, 万美玉, 白亚楠, 史海龙, 崔嘉纹, 李洋*

(华北理工大学药学院, 河北唐山 063210)

摘要: 探究蛇莓果实花色苷在多种条件下的稳定性及降解动力学。采用 pH 示差法测定不同 pH 值、温度、光照强度、氧化剂、还原剂、金属离子对花色苷稳定性的影响。研究表明, 不同 pH 条件下蛇莓果实花色苷热降解符合一级动力学模型, 花色苷在强酸性条件下的稳定性高于弱酸和中性条件; 蛇莓果实花色苷的热稳定性较差, 随着环境温度升高, 降解速率 k 增大, 半衰期和递减时间 D 值缩短, pH 值 2.0 时活化能最大为 68.65 kJ/mol, pH 值 5.0 时活化能最小为 42.35 kJ/mol, 其降解为吸热非自发反应; 6 000 lx 光照和 H_2O_2 均会加快蛇莓果实花色苷的降解, 且花色苷在光照和 H_2O_2 条件下降解均符合一级动力学模型, 在光照条件下的降解速率为 0.0123 d^{-1} , 半衰期 56.35 d, H_2O_2 条件下降解速率随 H_2O_2 体积分数的升高而增大; 质量分数 0.20% 的 Na_2SO_3 对蛇莓果实花色苷的降解有抑制作用; Na^+ 、 K^+ 对蛇莓果实花色苷无影响, 而 Al^{3+} 、 Cu^{2+} 、 Fe^{3+} 可显著破坏蛇莓果实花色苷的稳定性。综上, 蛇莓果实花色苷应尽量在酸性、低温、避光且无氧化剂及 Fe^{3+} 的条件下生产加工, 以避免大量降解。

关键词: 蛇莓果实; 花色苷; 稳定性; 降解动力学; 一级动力学模型

文章编号: 1673-9078(2023)06-61-69

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2023.6.0645

Stability and Degradation Kinetics of Anthocyanins in Mockstrawberry

CAI Yi, DI Xiaoke, WAN Meiyu, BAI Ya'nan, SHI Hailong, CUI Jiawen, LI Yang*

(School of Pharmacy, North China University of Science and Technology, Tangshan 063210, China)

Abstract: To investigate the stability and degradation kinetics of anthocyanins in mockstrawberry under various conditions, the effects of different pHs, temperatures, light intensities, oxidizing agents, reducing agents and metal ions on the stability of anthocyanins were determined by the pH differential method. The research showed that the thermal degradation of anthocyanins in mockstrawberry under different pH conditions conformed to the first-order kinetic model, and the stability of anthocyanins under strong acid conditions was higher than those under weak acid and neutral conditions; The thermal stability of anthocyanins in mockstrawberry was poor. With the increase of ambient temperature, the degradation rate k increased, and the half-life and the decline time D value shortened. The maximum activation energy was 68.65 kJ/mol at pH 2.0, and the minimum activation energy was 42.35 kJ/mol at pH 5.0. The thermal degradation was an endothermic and non-spontaneous reaction; Both 6 000 lx light and H_2O_2 could accelerate the degradation of anthocyanins in mockstrawberry, and the degradation of anthocyanins under light and H_2O_2 conditions conformed to the first-order kinetic model. The degradation rate under lighting condition was 0.0123 d^{-1} , with the half-life being 56.35 d; the degradation rate increased with the increase of H_2O_2 volume fraction under H_2O_2 ; Na_2SO_3 with a mass fraction of 0.20% had an inhibitory effect on the degradation of anthocyanins in mockstrawberry; Na^+ and K^+ had no effect on the stability of anthocyanins in mockstrawberry, whilst Al^{3+} , Cu^{2+} and Fe^{3+} could significantly destroy the stability of anthocyanins in mockstrawberry. In summary, the anthocyanins of mockstrawberry should be produced and processed under the conditions of acidic pH, low temperature, light avoidance, and absence of oxidants and Fe^{3+} to avoid a great deal of degradation.

Key words: mockstrawberry; anthocyanin; stability; degradation kinetics; first-order kinetic model

引文格式:

蔡祎,狄晓可,万美玉,等.蛇莓果实花色苷的稳定性及其降解动力学[J].现代食品科技,2023,39(6):61-69.

CAI Yi, DI Xiaoke, WAN Meiyu, et al. Stability and degradation kinetics of anthocyanins in mockstrawberry [J]. Modern Food Science and Technology, 2023, 39(6): 61-69.

收稿日期: 2022-05-21

基金项目: 河北省自然科学基金项目(H2021209059); 华北理工大学大学生创新创业训练计划项目(X2019292); 华北理工大学博士科研启动基金项目(25759799)

作者简介: 蔡祎(1999-), 女, 学士, 研究方向: 天然产物功能性成分, E-mail: 2060889641@qq.com

通讯作者: 李洋(1983-), 男, 博士, 讲师, 研究方向: 天然产物功能性成分, E-mail: yangli@ncst.edu.cn

蛇莓 (*Duchesnea indica* Focke) 别名鸡冠果、地莓等, 为蔷薇科蛇莓属植物, 分布于辽宁以南各地, 生长适应性强, 产量大, 具有抗肿瘤^[1]、抗炎^[2]、抑菌^[3]、抗氧化^[4]等多种活性。成熟蛇莓果实为鲜艳的红色, 花色苷是其主要呈色物质。研究表明, 蛇莓果实中主要含有3种花色苷, 含量最高的是矢车菊素-3-O-芸香糖苷^[5]。

花色苷是高等植物的次生代谢产物, 展现出由蓝到紫一系列颜色, 是最重要的一类水溶性天然食用色素。花色苷由花色素通过糖苷键和各种糖连接在一起, 属黄酮类化合物, 表现出多种生物活性, 是食品保健和医药领域研究的热点化合物。但由于花色苷结构不稳定, 极易受 pH 值、温度、光照、氧气等环境因素影响而降解、褪色, 极大限制了其在食品保健及医药工业中的应用。国内外针对花色苷稳定性的研究有大量报道, 发现不同来源组成、不同环境因素作用下的花色苷稳定性和降解动力学均有所差异。Ekici 等^[6]考察了葡萄皮、黑胡萝卜和紫甘蓝中的花色苷在不同温度下的热稳定性, 发现 70 °C 下分别损失 11.82%、9.36% 和 2.57%, 差异较大, 且温度越高损失量越大。红树莓、紫土豆、黑莓等的花色苷降解符合一级动力学模型^[7-9], 而含有与蛇莓果实相同成分矢车菊素-3-O-芸香糖苷的桑椹花色苷, 其自身的热降解符合一级动力学模型, 但在葡萄糖、果糖、蔗糖体系中 (70 °C 时的葡萄糖体系除外), 降解均不符合一级动力学模型^[10]。因而, 需要对不同植物花色苷的稳定性和降解动力学分别进行考察, 以促进其开发利用。

蛇莓果实花色苷应用前景广阔, 但对其稳定性的研究报道较少。本实验在不同 pH、温度、光照强度、氧化剂、还原剂、金属离子等条件下探讨其稳定性, 计算降解动力学参数, 为蛇莓果实花色苷在食品保健、医药领域的开发应用提供理论支持。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

成熟蛇莓果实, 采自华北理工大学校园内, 挑选规格均匀的蛇莓果, 于 -80 °C 超低温冰箱中保存。

无水乙醇, 天津市津东天正精细化学试剂厂; 氢氧化钠、冰乙酸、氯化钠、氯化钾、氯化铝、二水合氯化铜、氯化铁, 天津市致远化学试剂有限公司; 盐酸 (体积分数 36%~38%), 北京化工厂有限责任公司; $\varphi=30\%$ 双氧水, 天津市永大化学试剂有限公司; 所有试剂均为分析纯。XDA-8 型大孔吸附树脂, 西安蓝晓科技新材料股份有限公司。

1.2 仪器与设备

ICC control eco18 型恒温器, 德国 IKA 公司; Lambda 35 型紫外可见分光光度计, 美国 PerkinElmer 公司; FDU-1200 型冷冻干燥机, 日本东京理化器械株式会社; PB-10 pH 计, 美国 Sartorius 公司; LS-5000 低温光照仪, 北京恒奥德仪器仪表有限公司。

1.3 方法

1.3.1 蛇莓果实花色苷的制备

根据何晨阳等^[11]的方法, 称取适量蛇莓果实, 按料液比 1:10 (g:mL) 加入体积分数 80% 乙醇溶液, 在 36 °C 下浸提 93 min。将浸提液过滤、浓缩除去乙醇, 浓缩液用预处理过的 XDA-8 树脂吸附 3 h 至溶液接近无色, 用大量去离子水冲洗树脂, 再用体积分数 60% 乙醇溶液解吸, 解吸液浓缩除去乙醇后在 -80 °C 冰箱过夜, 冷冻干燥后得花色苷粉末, 测定其花色苷含量为 133.9 mg/g。

1.3.2 不同 pH 值蛇莓果实花色苷溶液的热处理

称取花色苷粉末配制成 1.00 g/L 的花色苷溶液。用 2 mol/L NaOH 溶液或 2 mol/L HCl 溶液调节 pH 值, 分别配制 pH 值为 1.0、2.0、3.0、4.0、5.0、6.0、7.0 的花色苷溶液, 各取 15.00 mL 分别置于 7 支具塞试管中, 分别放置于 40、50、60、70、80、90 °C 的恒温器中, 避光加热 5 h, 每隔 1 h 测定花色苷含量, 平行测定 3 次。

1.3.3 光照处理蛇莓果实花色苷溶液

配制 pH 值为 2.0、质量浓度为 1.00 g/L 的花色苷溶液, 各取 40.00 mL 置于 2 支透光性良好的具塞试管中。分别将 2 支试管放于 6 000 lx 光照强度的光照仪和暗箱中, 4 °C 放置 18 d, 每 2 d 取样测定花色苷含量, 平行测定 3 次。

1.3.4 氧化剂与还原剂对蛇莓果实花色苷的影响

配制 pH 值为 2.0、质量浓度为 1.00 g/L 的花色苷溶液, 各取 15.00 mL 分别置于 5 支具塞试管中, 向各试管中分别加入 H₂O₂ 溶液至体积分数为 0.0%、0.5%、1.0%、1.5%、2.0%。室温避光放置 60 min, 每 15 min 测定花色苷含量, 平行测定 3 次。

配制 pH 值为 2.0、质量浓度为 1.00 g/L 的花色苷溶液, 各取 15.00 mL 分别置于 5 支具塞试管中, 向各试管中分别加入 Na₂SO₃ 溶液至质量分数为 0.00%、0.05%、0.10%、0.15%、0.20%。室温避光放置 10 h, 每 2 h 测定花色苷含量, 平行测定 3 次。

1.3.5 金属离子对蛇莓果实花色苷的影响

配制 pH 值为 2.0、质量浓度为 1.00 g/L 的花色苷

溶液,各取 10.00 mL 分别置于 6 支具塞试管中,分别向各试管中加入等体积的 5 mmol/L Na^+ 、 K^+ 、 Al^{3+} 、 Cu^{2+} 、 Fe^{3+} 溶液和去离子水,室温避光放置 5 d,每隔 1 d 测定花色苷含量,平行测定 3 次。

1.3.6 蛇莓果实花色苷含量的测定

取 2 份 1.00 mL 蛇莓花色苷溶液,分别加入 4.00 mL 的 KCl-HCl 缓冲液 (pH 值 1.0) 和 NaAc-HAc 缓冲液 (pH 值 4.5),避光静置 20 min,之后分别在 527、700 nm 处测定吸光度 (A) 值。用 pH 示差法按式 (1) (2) 计算花色苷含量^[11]。

$$A = (A_{10} - A_{20}) - (A_1 - A_2) \quad (1)$$

$$\rho = \frac{A \times M_w \times D_F}{\varepsilon \times l} \quad (2)$$

式中:

A_{10} 、 A_{20} ——蛇莓花色苷溶液加入 KCl-HCl 缓冲液后分别在 527、700 nm 处吸光度值;

A_1 、 A_2 ——蛇莓花色苷溶液加入 NaAc-HAc 缓冲液后分别在 527、700 nm 处吸光度值;

ρ ——花色苷的质量浓度, g/L;

M_w ——蛇莓果实花色苷主要成分矢车菊素-3-*O*-芸香糖苷的摩尔质量 595.2 g/mol;

D_F ——稀释倍数 5;

ε ——矢车菊素-3-*O*-芸香糖苷的摩尔消光系数, $\varepsilon=7000 \text{ L}/(\text{mol} \cdot \text{cm})$;

l ——光程 1 cm。

1.3.7 降解动力学数据计算

按式 (3) 计算蛇莓果实花色苷的残留率 r 。

$$r = \frac{\rho_t}{\rho_0} \times 100\% \quad (3)$$

式中:

r ——蛇莓果实花色苷的残留率, %;

ρ_t —— t 时刻花色苷的质量浓度, g/L;

ρ_0 ——花色苷的初始质量浓度, g/L。

将残留率 r 代入零级动力学方程[式 (4)]和一级动力学方程[式 (5)]计算降解速率常数 k 并进行线性回归,根据相关系数确定反应级数。

$$\rho_t = \rho_0 \times (-kt) \quad (4)$$

$$\rho_t = \rho_0 \times e^{-kt} \quad (5)$$

式中:

ρ_t —— t 时刻花色苷的质量浓度, g/L;

ρ_0 ——花色苷的初始质量浓度, g/L;

k ——速率常数, h^{-1} 。

由 k 值计算蛇莓果实花色苷的半衰期 $t_{1/2}$ [式 (6)]、递减时间 D 值[式 (7)]。根据 Arrhenius 方程[式 (8)],以 $\ln k$ 对 $1/T$ 作图则曲线斜率为 $-E_a/R$, 计算活化能^[12]。

$$t_{1/2} = \frac{\ln 2}{k} \quad (6)$$

$$D = \frac{\ln 10}{k} \quad (7)$$

$$\ln k = \ln K_0 - \frac{E_a}{RT} \quad (8)$$

式中:

$t_{1/2}$ ——半衰期,即花色苷降解 50% 所需时间, h;

D ——递减时间,即在一定温度下,花色苷初始浓度降低 10 倍所需时间, h;

E_a ——活化能, kJ/mol;

R ——气体常数, $R=8.314 \text{ J}/(\text{mol} \cdot \text{K})$;

T ——反应温度, K;

K_0 ——频率因子, h^{-1} 。

温度系数 Q_{10} 和 z 值按式 (9)、(10) 计算^[13]。

$$Q_{10} = \left(\frac{k_2}{k_1} \right)^{10/(T_2-T_1)} \quad (9)$$

$$z = \frac{10 \ln 10}{\ln(Q_{10})} \quad (10)$$

式中:

Q_{10} ——温度系数,即温度升高 10°C 时花色苷的降解情况;

T ——反应温度, $^\circ\text{C}$;

k —— T 温度下的降解速率, h^{-1} ;

z ——值表示导致降解速率变化 10 倍的温度区间, $^\circ\text{C}$ 。

1.3.8 热力学参数计算

各温度下的热力学参数焓变 ΔH 、Gibbs 自由能 ΔG 和熵变 ΔS 按式 (11)、(12) 和 (13) 计算^[14]。

$$\Delta H / (\text{kJ}/\text{mol}) = E_a - RT \quad (11)$$

$$\Delta G / (\text{kJ}/\text{mol}) = -RT \ln \frac{kh}{k_B T} \quad (12)$$

$$\Delta S / (\text{kJ}/(\text{mol} \cdot \text{K})) = \frac{\Delta H - \Delta G}{T} \quad (13)$$

式中:

h ——普朗克常数, $h=6.626 \times 10^{-34} \text{ J} \cdot \text{s}$;

k_B ——玻尔兹曼常数, $k_B=1.380 \times 10^{-23} \text{ J}/\text{K}$;

T ——反应温度, K;

k ——降解速率, h^{-1} 。

1.3.9 数据分析

采用 SPSS 25.0 软件,结果用平均值 \pm 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示,组间比较采用单因素方差分析,并用 Origin 软件对数据制图, $P < 0.05$ 表示差异具有统计学意义。

2 结果与分析

2.1 温度和 pH 值对蛇莓果实花色苷稳定性的影响

影响

2.1.1 温度和 pH 值对残留率的影响

在相同 pH 条件下, 加热时间越长、温度越高, 蛇莓果实花色苷的降解量越大, 如图 1 所示, 40 °C 加热 5 h, pH 值 1.0~7.0 溶液的花色苷残留率分别为 90.62%、91.48%、90.88%、89.13%、88.13%、81.27%、73.77%, 而 90 °C 加热 5 h 后, pH 值 1.0~7.0 溶液中的花色苷仅有 23.56%、28.12%、22.34%、20.41%、16.09%、6.63%、0.49%。可见蛇莓果实花色苷在低温环境中更稳定, 适宜在较低温度下处理。

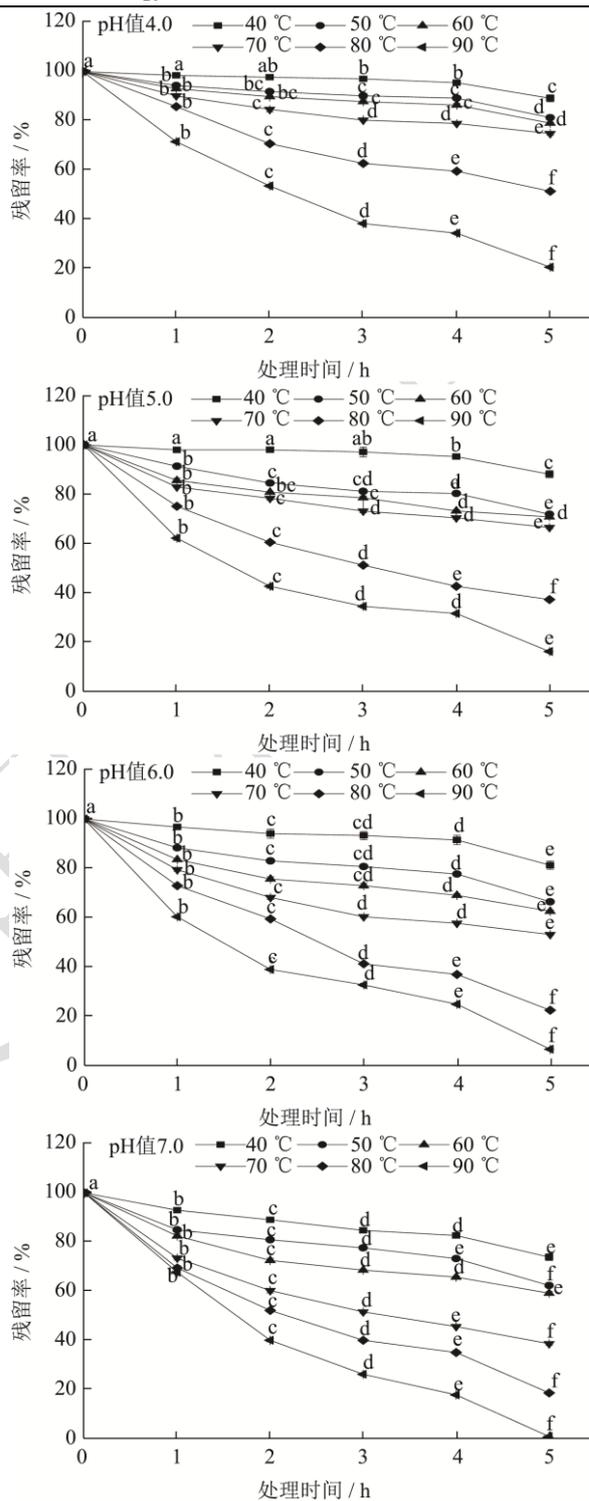
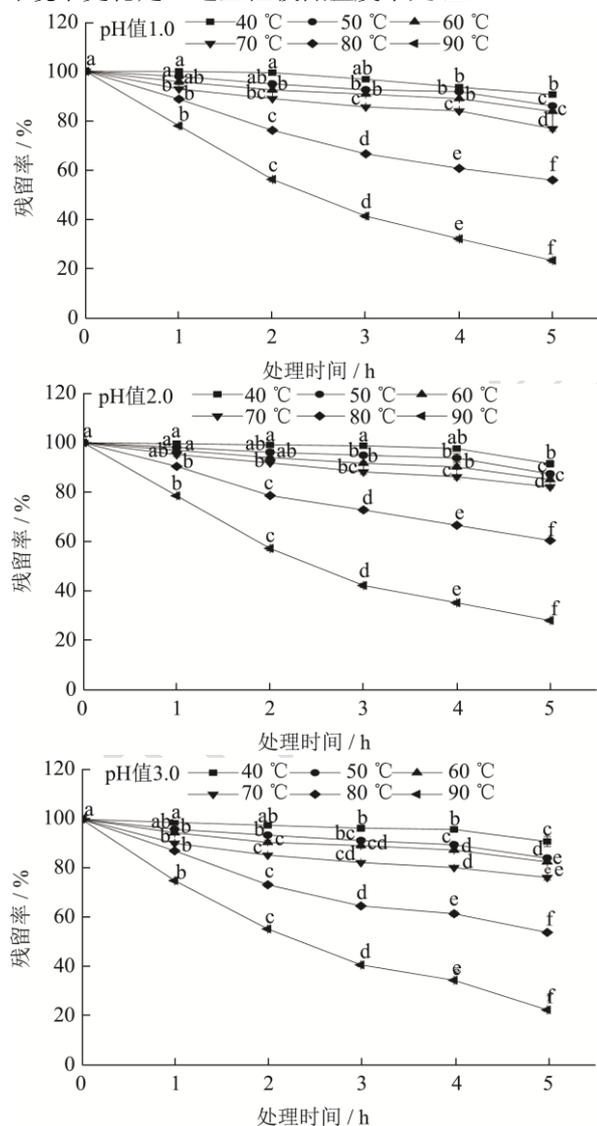


图 1 蛇莓果实花色苷在不同 pH 值、不同温度下加热 5 h 残留率的变化

Fig.1 Changes in the residual rate of anthocyanins from mockstrawberry fruits heated for 5 h at different pH values and different temperatures

注: 相同温度不同小写字母表示 $P < 0.05$ 水平差异显著。

将不同 pH 值条件下的蛇莓果实花色苷分别在 40~90 °C 处理 5 h 后, 花色苷均出现了降解, 如图 1, 同一温度下, 强酸条件下的花色苷残留率大于弱酸和中性条件下, 表明 pH 值对蛇莓果实花色苷稳定性影响较大。这可能是因为不同 pH 值条件下, 花色苷的结构随之改变, 从而使其稳定性发生了变化。在 pH 值小于 2.0 时, 花色苷主要以氧鎇阳离子形式存在, 稳定性较好; 随着 pH 值升高, 水在 C2 位置进行亲核攻击, 阳离子形成具有半缩醛结构的无色甲醇假碱, 随后 C 环打开逐渐形成无色查耳酮; 当 pH 值升高到 5.0 以上时, 氧鎇阳离子在微酸性至中性条件下发生去质子化, 生成紫色的中性醌式碱, 稳定性较差^[15]。结果表明强酸环境有利于蛇莓果实花色苷结构的稳定。

2.1.2 不同 pH 值下蛇莓果实花色苷的降解动力学

大量试验表明, 花色苷的热降解多符合零级或一级动力学模型, 如铁皮石斛花色苷^[16]、蓝莓花色苷符合一级动力学模型^[17], 黑橄榄花色苷符合零级动力学模型^[18]。本实验分别采用两种模型计算, 结果见表 1。

降解速率常数 k 越大则降解速度越快, 相关系数 R^2 可判断花色苷降解反应级数。据表 1 可知, 蛇莓果实花色苷的降解更加符合一级动力学模型 ($R^2 > 0.9$)。在相同 pH 值下, 随温度升高 k 值增大, 花色苷降解速度加快。因此, 在相对低温条件下蛇莓果实花色苷更为稳定。

表 1 蛇莓果实花色苷在不同 pH 值和温度下的零级和一级降解速率常数和相关系数

Table 1 The zero- and first-order degradation rate constants and correlation coefficients of anthocyanins from mockstrawberry fruits at different pH values and temperatures

pH 值	T/K	零级		一级	
		k/h^{-1}	R^2	k/h^{-1}	R^2
1.0	323	2.193 0 ^d	0.970 4	0.022 9 ^d	0.972 2
	333	2.722 0 ^d	0.959 1	0.028 9 ^d	0.965 3
	343	3.939 0 ^e	0.938 9	0.043 2 ^c	0.950 0
	353	10.060 0 ^b	0.983 8	0.128 3 ^b	0.994 0
	363	17.190 0 ^a	0.973 8	0.289 2 ^a	0.997 9
2.0	323	1.556 5 ^e	0.983 6	0.016 1 ^e	0.985 7
	333	2.488 8 ^d	0.983 8	0.026 2 ^d	0.986 9
	343	3.455 7 ^c	0.981 1	0.037 3 ^c	0.986 0
	353	8.438 2 ^b	0.979 2	0.102 9 ^b	0.990 0
	363	16.982 0 ^a	0.975 0	0.282 3 ^a	0.997 5

续表 1

pH 值	T/K	零级		一级	
		k/h^{-1}	R^2	k/h^{-1}	R^2
3.0	323	2.540 2 ^d	0.969 8	0.026 9 ^d	0.975 2
	333	3.036 8 ^d	0.920 3	0.032 6 ^d	0.929 4
	343	4.729 9 ^c	0.906 6	0.053 0 ^c	0.923 6
	353	9.950 1 ^b	0.953 8	0.127 1 ^b	0.971 1
	363	16.548 0 ^a	0.954 3	0.274 5 ^a	0.991 0
4.0	323	2.578 9 ^d	0.890 5	0.027 4 ^c	0.900 0
	333	3.250 4 ^d	0.899 1	0.035 1 ^d	0.911 0
	343	5.210 2 ^c	0.917 8	0.059 0 ^c	0.933 4
	353	10.419 0 ^b	0.942 9	0.135 4 ^b	0.964 0
	363	16.422 0 ^a	0.930 4	0.275 3 ^a	0.975 7
5.0	323	4.966 2 ^d	0.904 7	0.055 8 ^c	0.917 6
	333	6.052 6 ^c	0.886 9	0.070 8 ^d	0.912 4
	343	6.901 9 ^c	0.872 5	0.082 8 ^c	0.903 9
	353	13.877 0 ^b	0.945 0	0.209 1 ^b	0.987 8
	363	16.457 0 ^a	0.846 9	0.289 6 ^a	0.929 3
6.0	323	5.233 2 ^c	0.887 9	0.059 6 ^c	0.908 9
	333	7.247 3 ^d	0.874 2	0.087 6 ^d	0.905 0
	343	10.364 0 ^c	0.904 5	0.137 4 ^c	0.941 3
	353	15.786 0 ^b	0.9476	0.256 3 ^b	0.980 2
	363	17.787 0 ^a	0.867 1	0.339 5 ^a	0.962 8
7.0	323	6.104 6 ^e	0.879 5	0.071 6 ^e	0.907 2
	333	8.284 9 ^d	0.879 2	0.103 0 ^d	0.911 2
	343	13.126 0 ^c	0.913 8	0.193 7 ^c	0.966 6
	353	15.993 0 ^b	0.916 1	0.266 6 ^b	0.975 7
	363	20.668 0 ^a	0.940 8	0.444 7 ^a	0.997 4

注: 同一列相同 pH 值条件下肩标字母不同表示 $P < 0.05$ 水平差异显著。

活化能 E_a 为热降解反应的能垒, E_a 越大热降解需要的能量越高, 据表 2 可知, 蛇莓果实花色苷在 pH 值 2.0 时 E_a 最大且 z 值最小, 表明该条件下花色苷热降解需要的能量最高, 热稳定性最好; 在 pH 值 5.0 时 E_a 最小, 可见在此条件下花色苷的热稳定性最差。在相同 pH 值下, 随着温度的升高, 半衰期 $t_{1/2}$ 和 D 值均减小, 表明温度越高, 花色苷结构稳定的时间越短。在 pH 值 1.0~6.0 的环境中, Q_{10} 随温度的升高增大, 表明在温度较高时, 每升高 10 °C 降解速率增大的更多, 而 pH 值 7.0 时, Q_{10} 随温度的升高而减小, 可能因为在该环境中, 花色苷结构转变为醌式碱, 使其热稳定性改变, 从而影响了降解速率的变化速度。

表2 蛇莓果实花色苷在不同 pH 值和温度下的动力学参数

Table 2 Kinetic parameters of anthocyanins from mockstrawberry fruits at different pH values and temperatures

pH 值	T/K	$t_{1/2}/h$	$E_a/(kJ/mol)$	D/h	$z/^\circ C$	温度范围/ $^\circ C$	Q_{10}
1.0	323	30.26	63.39	100.54	32.84	50~70	1.37
	333	23.98		79.60			
	343	16.04		53.30		70~90	1.45
	353	5.40		17.90			
	363	2.39		7.96			
2.0	323	43.05	68.65	143.02	30.97	50~70	2.04
	333	26.46		87.88			
	343	18.58		61.73		70~90	2.75
	353	6.73		22.37			
	363	2.45		8.16			
3.0	323	25.76	58.06	85.59	36.41	50~70	1.40
	333	21.26		70.63			
	343	13.07		43.44		70~90	1.78
	353	5.45		18.11			
	363	2.52		8.38			
4.0	323	25.29	57.74	84.03	37.26	50~70	1.46
	333	19.74		65.60			
	343	11.74		39.03		70~90	1.78
	353	5.11		17.00			
	363	2.51		8.36			
5.0	323	12.42	42.35	41.26	48.53	50~70	1.22
	333	9.79		32.52			
	343	8.37		27.81		70~90	1.51
	353	3.31		11.01			
	363	2.39		7.95			
6.0	323	11.63	44.36	38.63	50.03	50~70	1.51
	333	7.91		26.28			
	343	5.04		16.76		70~90	1.54
	353	2.70		8.98			
	363	2.04		6.78			
7.0	323	9.68	44.85	32.16	49.61	50~70	1.64
	333	6.72		22.35			
	343	3.57		11.88		70~90	1.58
	353	2.59		8.63			
	363	1.55		5.17			

2.1.3 不同 pH 值下蛇莓果实花色苷的降解热力学

热力学研究可以发现化学反应中的能量变化,判断化学反应自发进行的方向。 ΔH 代表反应前后的能量差,即反应发生的能量势垒, ΔH 越小能量势垒越低,反应越容易发生^[19]。据表 3 可知,各条件下的 ΔH 值均大于零,表明蛇莓果实花色苷的降解反应为吸热反应,较高的温度可为降解反应提供更多的能量,加

快反应进度。同一 pH 值条件时,各温度下的 ΔH 相近,表明降解反应的能量势垒值与温度无关。不同 pH 值条件下, pH 值 2.0 时 ΔH 最大,花色苷降解所需能量最高,稳定性最好。

ΔG 是化学反应自发进行的判据^[20]。蛇莓果实花色苷在各条件下降解反应的 ΔG 均大于零,表明降解不能自发进行,需要外界环境提供能量。

ΔS 是系统中物质混乱度的变化值, 较低的绝对值表明物质更接近于其自身的热力学平衡^[19], 表 3 中 ΔS 均小于零, 表明降解反应后分子的自由度降低。在同一 pH 值条件时, 各温度下的 ΔS 非常接近, 温度对 ΔS 影响很小; 将不同 pH 值条件下的 ΔS 相比较, 可见 pH 值 2.0 时 ΔS 的绝对值最小, 热稳定性最高。

表 3 蛇莓果实花色苷在不同 pH 值和温度下的热力学参数

Table 3 Thermodynamic parameters of anthocyanins from mockstrawberry fruits at different pH values and temperatures

pH 值	T/K	ΔH /(kJ/mol)	ΔG /(kJ/mol)	ΔS /[J/(mol K)]
1.0	323	60.71	89.46	-89.01
	333	60.63	91.67	-93.21
	343	60.54	93.36	-95.69
	353	60.46	92.97	-92.10
	363	60.38	93.24	-90.52
2.0	323	65.95	90.41	-75.73
	333	65.87	91.94	-78.29
	343	65.79	93.78	-81.60
	353	65.71	93.62	-79.07
	363	65.62	93.31	-76.28
3.0	323	55.38	89.03	-104.18
	333	55.29	91.33	-108.23
	343	55.21	92.78	-109.53
	353	55.13	93.00	-107.28
	363	55.04	93.39	-105.65
4.0	323	55.06	88.98	-105.02
	333	54.98	91.13	-108.56
	343	54.89	92.47	-109.56
	353	54.81	92.81	-107.65
	363	54.73	93.38	-106.47
5.0	323	26.43	87.07	-187.74
	333	27.26	89.19	-185.98
	343	28.09	91.51	-184.90
	353	28.92	91.54	-177.39
	363	29.75	93.23	-174.88
6.0	323	26.41	86.89	-187.24
	333	27.24	88.60	-184.26
	343	28.07	90.06	-180.73
	353	28.90	90.94	-175.75
	363	29.73	92.75	-173.61
7.0	323	26.41	86.40	-185.73
	333	27.23	88.15	-182.94
	343	28.06	89.08	-177.90
	353	28.89	90.82	-175.44
	363	29.73	91.94	-171.38

2.2 光照对蛇莓果实花色苷稳定性的影响

由图 2 可知, 在 pH 值 2.0、4℃条件下, 6 000 lx 光照及避光分别处理 18 d 后, 蛇莓果实花色苷含量减少了 24.25% 和 8.43%, 可见光照会加速降解, 蛇莓果实花色苷应避光保存。蛇莓果实花色苷在 6 000 lx 光照强度和避光条件下的降解与覆盆子、樱桃中的花色苷一致^[21], 均符合一级动力学, 见表 4。

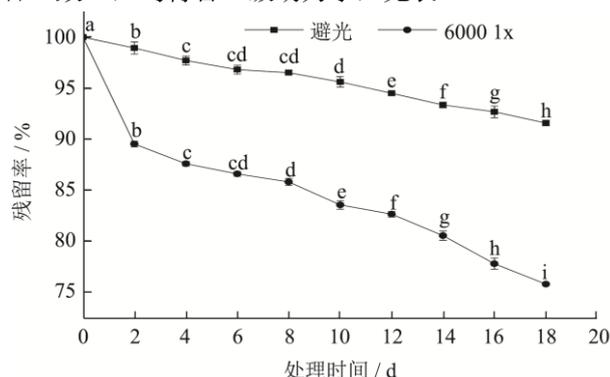


图 2 光照对蛇莓果实花色苷残留率的影响

Fig.2 Effect of light on the residual rate of anthocyanins from mockstrawberry fruits

注: 相同光照不同小写字母表示 $P < 0.05$ 水平差异显著。

表 4 蛇莓果实花色苷在光照处理下的零级和一级降解速率常数、相关系数及半衰期

Table 4 The zero- and first-order degradation rate constants, correlation coefficients and half-lives of anthocyanins from mockstrawberry fruits under light treatment

条件	零级		一级		$t_{1/2}/d$
	k/d^{-1}	R^2	k/d^{-1}	R^2	
6 000 lx	1.060 0 ^a	0.881 6	0.012 3 ^a	0.904 8	56.35
避光	0.560 0 ^b	0.895 4	0.006 0 ^b	0.907 4	115.50

2.3 H₂O₂ 对蛇莓果实花色苷稳定性的影响

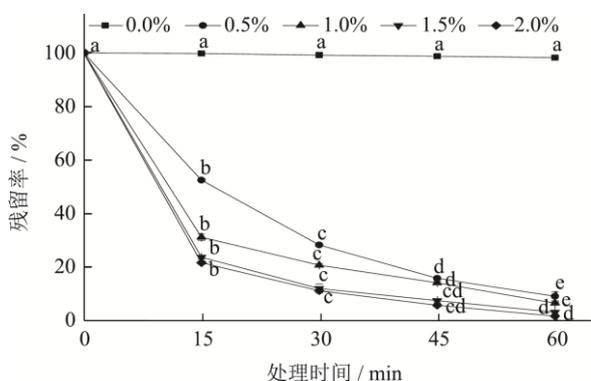


图 3 H₂O₂ 对蛇莓果实花色苷残留率的影响

Fig.3 Effect of H₂O₂ on the residual rate of anthocyanins from mockstrawberry fruits

注: 相同浓度 H₂O₂ 不同小写字母表示 $P < 0.05$ 水平差异显著。

表 5 蛇莓果实花色苷在 H₂O₂ 处理下的零级和一级降解速率常数、相关系数及半衰期

Table 5 The zero- and first-order degradation rate constants, correlation coefficients and half-lives of anthocyanins from mockstrawberry fruits under H₂O₂ treatment

H ₂ O ₂ 体积分数/%	零级		一级		t _{1/2} /min
	k/min ⁻¹	R ²	k/min ⁻¹	R ²	
0.0	0.030 0 ^e	0.972 5	0.000 3 ^d	0.984 2	2 310.49
0.5	1.460 0 ^a	0.872 2	0.040 0 ^c	0.996 5	17.16
1.0	1.360 0 ^d	0.722 9	0.041 7 ^c	0.957 1	11.38
1.5	1.390 0 ^c	0.667 4	0.053 7 ^b	0.965 6	9.50
2.0	1.420 0 ^b	0.636 8	0.063 5 ^a	0.925 4	8.82

注：同一列肩标字母不同表示 P<0.05 水平差异显著。

如图 3 所示，H₂O₂ 体积分数越大，蛇莓果实花色苷降解越多，2.0%的 H₂O₂ 处理 60 min 后花色苷降解高达 98.88%，这是因为 H₂O₂ 会分解成大量自由基与花色苷发生反应，且 H₂O₂ 自身能催化氧化花色苷生成醌类化合物^[22]。因此蛇莓果实花色苷在使用时应避免接触氧化剂。蛇莓果实花色苷在 H₂O₂ 环境中的降解符合一级动力学模型，见表 5。

2.4 Na₂SO₃ 对蛇莓果实花色苷稳定性的影响

由图 4 可见，Na₂SO₃ 处理 10 h 后，质量分数 0.00%、0.05%、0.10%、0.15%、0.20% Na₂SO₃ 处理组花色苷的残留率依次为 95.62%、95.33%、93.37%、95.34%、96.80%。与 0.00% 组相比，0.05%、0.10%、0.15% 组的残留率分别降低 0.29%、2.25%、0.28%，而 0.20% 组的残留率升高 1.18%，说明质量分数 0.20% 的 Na₂SO₃ 能够减缓蛇莓果实花色苷的降解，具有保护作用。与此相同，马奕瑜等^[16]报道 Na₂SO₃ 对铁皮石斛花色苷也表现出了保护作用。

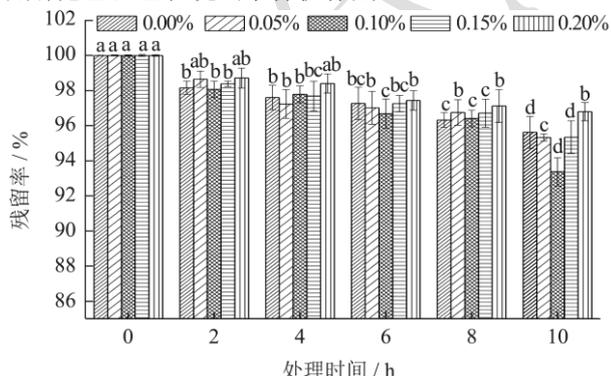


图 4 Na₂SO₃ 对蛇莓果实花色苷残留率的影响

Fig.4 Effect of Na₂SO₃ on the residual rate of anthocyanins from mockstrawberry fruits

注：同一添加量不同小写字母表示 P<0.05 水平差异显著。

2.5 不同金属离子对花色苷稳定性的影响

由图 5 可知，处理 5 d 后，空白组花色苷降解了

3.08%，Na⁺、K⁺、Al³⁺、Cu²⁺、Fe³⁺ 处理组依次降解了 5.67%、3.35%、12.55%、13.46%、80.27%。结果表明，Na⁺、K⁺ 对蛇莓果实花色苷几乎无影响，Al³⁺、Cu²⁺ 可促进降解，而 Fe³⁺ 能大幅降低花色苷的稳定性。这可能由于 Fe³⁺ 具有氧化性，能加快花色苷分解成醌类化合物^[23]。也有文献报道，Fe³⁺、Cu²⁺ 可与花色苷上的酚羟基反应生成沉淀，降低稳定性^[24]；与此相反，Al³⁺、Cu²⁺ 对蓝莓花色苷的稳定性无显著影响^[25]，Fe³⁺ 对红肉桃花色苷还可表现出显著的保护作用^[26]。由此可见，金属离子对不同来源组成的花色苷稳定性的影响不同，对于蛇莓果实花色苷，在加工贮存过程中应注意避免接触 Al³⁺、Cu²⁺，尤其是铁制容器。

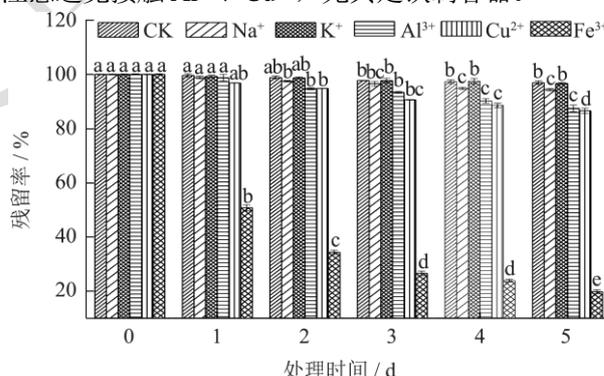


图 5 不同金属离子对蛇莓果实花色苷残留率的影响

Fig.5 Effect of different metal ions on the residual rate of anthocyanins from mockstrawberry fruits

注：同一金属离子不同小写字母表示 P<0.05 水平差异显著。

3 结论

蛇莓果实花色苷的稳定性受温度和 pH 值的影响较大，pH 值 2.0 时稳定性最好，低温强酸环境利于稳定。温度越高，花色苷的降解速率越大，半衰期和 D 值降低。蛇莓果实花色苷的热降解均符合一级动力学模型。不同 pH 值条件下的活化能不同，pH 值 2.0 时花色苷的活化能最大为 68.65 kJ/mol。热力学分析表明热降解为吸热非自发反应。光照影响较大，可加快降解，

降解符合一级动力学模型。 H_2O_2 会严重减少蛇莓果实花色苷的含量,且体积分数越大影响越大,花色苷在 H_2O_2 环境中符合一级动力学模型。 Na_2SO_3 的质量分数不同,影响不同,质量分数 0.20% 的 Na_2SO_3 表现出保护作用。 Na^+ 、 K^+ 对蛇莓果实花色苷几乎无影响, Al^{3+} 、 Cu^{2+} 可促进花色苷降解,而 Fe^{3+} 可大幅降低蛇莓花色苷的稳定性,使用时应注意避免接触铁制品。

参考文献

- [1] 李淼,安红梅,沈克平,等.蛇莓抗肿瘤作用及临床应用[J].世界中医药,2019,14(2):505-509
- [2] 庞然,张淑玲,赵雷,等.蛇莓乙醇提取物的体外抗炎机制研究[J].华中科技大学学报(医学版),2009,38(4):481-485.
- [3] 乔芊芊,张景艳,王磊,等.不同方式提取的蛇莓抽提物体外抑菌与抗氧化活性的评价[J].中国兽医科学,2021,51(9): 1190-1198.
- [4] 陈途,陈明,朱荣平,等.蛇莓的抗氧化活性研究[J].海峡药学, 2021,33(3):53-56.
- [5] Qin C G, Li Y, Zhang R J, et al. Separation and elucidation of anthocyanins in the fruit of mockstrawberry (*Duchesnea indica* Focke) [J]. Natural Product Research, 2009, 23(17): 1589-1598.
- [6] Ekici L, Simsek Z, Ozturk I, et al. Effects of temperature, time, and pH on the stability of anthocyanin extracts: prediction of total anthocyanin content using nonlinear models [J]. Food Analytical Methods, 2014, 7(6): 1328-1336.
- [7] Chen J Y, Du J, Li M L, et al. Degradation kinetics and pathways of red raspberry anthocyanins in model and juice systems and their correlation with color and antioxidant changes during storage [J]. LWT, 2020, 128: 109448.
- [8] Reyes L F, Cisneros-Zevallos L. Degradation kinetics and colour of anthocyanins in aqueous extracts of purple- and red-flesh potatoes (*Solanum tuberosum* L.) [J]. Food Chemistry, 2007, 100(3): 885-894.
- [9] Dorila E G, Diner M, Lucas D M, et al. Kinetics drying of blackberry bagasse and degradation of anthocyanins and bioactive properties [J]. Antioxidants (Basel, Switzerland), 2021, 10(4): 548.
- [10] 刘亮,吴悦,曹少谦.桑椹花色苷在不同糖体系中的热降解动力学研究[J].湖北农业科学,2011,50(5):1018-1022.
- [11] 何晨阳,刘明月,时振伟,等.响应面法优化蛇莓花色苷浸提工艺及稳定性研究[J].中草药,2018,49(8):1829-1834.
- [12] Menchaca-Armenta M, Frutos M J, Ramírez-Wong B, et al. The effect of nixtamalization extrusion process and tortillas making on the stability of anthocyanins from blue corn through the kinetic and thermodynamic parameters [J]. Plant Foods for Human Nutrition, 2021, 76: 334-339.
- [13] Peron D V, Fraga S, Antelo F. Thermal degradation kinetics of anthocyanins extracted from juçara (*Euterpe edulis* Martius) and “Italia” grapes (*Vitis vinifera* L.), and the effect of heating on the antioxidant capacity [J]. Food Chemistry, 2017, 232: 836-840.
- [14] Mercali G D, Jaeschke D P, Tessaro I C, et al. Degradation kinetics of anthocyanins in acerola pulp: Comparison between ohmic and conventional heat treatment [J]. Food Chemistry, 2013, 136(2): 853-857.
- [15] Chen B H, Inbaraj B S. Nanoemulsion and nanoliposome based strategies for improving anthocyanin stability and bioavailability [J]. Nutrients, 2019, 11(5): 1052.
- [16] 马奕瑜,陈静慧,王洪新,等.铁皮石斛花色苷稳定性及热降解动力学研究[J].食品工业科技,2019,40(16):50-57.
- [17] 李恩惠,矫馨瑶,王晨歌,等.蓝莓花色苷降解动力学及稳定性[J].食品科学,2018,39(5):1-7.
- [18] Alessio A, Carmine N, Erika S, et al. Antioxidant activity and anthocyanin contents in olives (*cv* Cellina di Nardò) during ripening and after fermentation [J]. Antioxidants, 2019, 8(5): 138.
- [19] Georgieva V, Zvezdova D, Vlaev L. Non-isothermal kinetics of thermal degradation of chitosan [J]. Chemistry Central Journal, 2012, 6: 81.
- [20] Mercali G D, Gurak P D, Schmitz F, et al. Evaluation of nonthermal effects of electricity on anthocyanin degradation during ohmic heating of jaboticaba (*Myrciaria cauliflora*) juice [J]. Food Chemistry, 2015, 171: 200-205.
- [21] Ochoa M R, Kessler A G, Michelis A D E, et al. Kinetics of colour change of raspberry, sweet (*Prunus avium*) and sour (*Prunus cerasus*) cherries preserves packed in glass containers: light and room temperature effects [J]. Journal of Food Engineering, 2001, 49(1): 55-62.
- [22] Sun H L, Cao X Y, Wang X Y, et al. RBOH-dependent hydrogen peroxide signaling mediates melatonin-induced anthocyanin biosynthesis in red pear fruit [J]. Plant Science: an International Journal of Experimental Plant Biology, 2021, 313: 111093.
- [23] 韦红边,李小兰,张明生,等.金铁锁愈伤组织花色苷的稳定性研究[J].山地农业生物学报,2016,35(2):7-14.
- [24] 张志博,李安文,李勤,等.越橘花色苷稳定性研究[J].食品研究与开发,2013,34(19):5-8.
- [25] 李颖畅,孟宪军,周艳,等.金属离子和食品添加剂对蓝莓花色苷稳定性的影响[J].食品科学,2009,30(9):80-84.
- [26] 杨玉,陈为峰,袁野,等.湖南猪血桃花色苷提取工艺优化及抗氧化活性研究[J].江西农业大学学报,2021,43(3):555-565.