

# 矢车菊-3-葡萄糖苷提取纯化、生物活性及稳态化技术的研究进展

高琦<sup>1,2</sup>, 孙铭阳<sup>1</sup>, 袁兴铃<sup>1</sup>, 彭雪<sup>1</sup>, 王宁<sup>1</sup>, 薛友林<sup>1\*</sup>

(1. 辽宁大学轻型产业学院, 辽宁沈阳 110036) (2. 中共辽宁省委党校, 辽宁沈阳 110161)

**摘要:** 矢车菊-3-葡萄糖苷 (Cyanidin-3-glucoside, C3G) 是自然界中分布最为广泛的一种花青素, 富含于水果、蔬菜和谷物中, 具有抗氧化、抗癌、抗炎以及维持视觉健康等生理功能, 在食品、医药等行业备受关注。提取纯化是利用 C3G 的重要步骤, 但 C3G 在储存、加工过程中易受外界环境的影响而失去原有的颜色和生理价值。为促进 C3G 在食品领域的应用, 该文汇总了 C3G 在不同食物中的含量及常见的提取纯化方法, 概述了 C3G 抗氧化、抗癌、抗炎以及维持视觉健康等生物活性, 并从生物大分子复合和分子修饰两个方面介绍了 C3G 的稳态化方法, 为未来研究和综合开发利用 C3G 提供理论依据。

**关键词:** 矢车菊-3-葡萄糖苷; 提取; 纯化; 生理功能; 稳定性保持

文章编号: 1673-9078(2024)06-318-326

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2024.6.0409

## Research Progress on the Extraction, Purification, Biological Activities and Stabilization Techniques of Cyanidin-3-glucoside

GAO Qi<sup>1,2</sup>, SUN Mingyang<sup>1</sup>, YUAN Xingling<sup>1</sup>, PENG Xue<sup>1</sup>, WANG Ning<sup>1</sup>, XUE Youlin<sup>1\*</sup>

(1. Collage of Light Industry, Liaoning University, Shenyang 110036, China)

(2. Party School of Liaoning Provincial Party Committee, Shenyang 110161, China)

**Abstract:** Cyanidin-3-glucoside (C3G) is one of the most widely distributed anthocyanins in nature. It is abundant in fruits, vegetables and cereals, and has many physiological functions such as anti-oxidant, anti-cancer, anti-inflammatory and visual health maintenance functions, thereby attracting much attention in the food and pharmaceutical industries. The extraction and purification are important steps in the utilization of C3G, but C3G tends to lose its original color and physiological value due to its vulnerability to external environments during storage and processing. In order to promote the application of C3G in the food field, this paper presents the contents of C3G in different foods as well as the common extraction and purification methods, summarizes the physiological functions biological activities of C3G such as anti-oxidant,

引文格式:

高琦, 孙铭阳, 袁兴铃, 等. 矢车菊-3-葡萄糖苷提取纯化、生物活性及稳态化技术的研究进展[J]. 现代食品科技, 2024, 40(6): 318-326.

GAO Qi, SUN Mingyang, YUAN Xingling, et al. Research progress on the extraction, purification, biological activities and stabilization techniques of cyanidin-3-glucoside [J]. Modern Food Science and Technology, 2024, 40(6): 318-326.

收稿日期: 2023-04-05

项目基金: 教育部新农科研究与改革实践项目 (2020128); 教育部产学合作协同育人项目 (202002115014; 202102654021; 230701160144419; 230701160144419); 辽宁省“兴辽英才计划”项目 (XLYC1807270); 辽宁省教育厅基本科研服务地方项目 (LJKFZ20220183); 泰州市高层次创新创业人才引进计划项目 (202149)

作者简介: 高琦 (1980-), 女, 硕士, 副教授, 研究方向: 农产品加工, E-mail: gaoqi0925@163.com

通讯作者: 薛友林 (1980-), 男, 博士, 教授, 研究方向: 农产品加工及食物营养, E-mail: xueyoulin@lnu.edu.cn

anti-cancer, anti-inflammatory and visual health maintenance functions, and introduces the C3G stabilization techniques from the aspects of macromolecular complexation and molecular modification, which provides a theoretical basis for future research and comprehensive development and utilization of C3G.

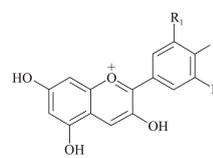
**Key words:** cyanidin-3-glucoside (C3G); extraction; purification; physiological function; stability maintaining methods

花青素是植物界分布最广的天然色素之一，是植物特有的类黄酮化合物，广泛存在于瓜果蔬菜中，其主要结构是2-苯基苯并吡喃阳离子。目前的研究中已有635种花青素被检出，其中，植物中最常见的花青素苷元有6种，分别是矢车菊素(Cyanidin, Cy)、天竺葵素(Pelargonidin, Pg)、牵牛素(Petunidin, Pt)、飞燕草素(Delphinidin, Dp)、锦葵素(Malvidin, Mv)和芍药素(Peonidin, Pn)<sup>[1,2]</sup>，其化学结构及分子量如表1所示。矢车菊-3-葡萄糖苷(Cyanidin-3-glucoside, C3G)是目前研究最为广泛的花青素之一，富含于水果、蔬菜和谷物中，其在不同植物中的含量如表2所示<sup>[6-27]</sup>。

C3G具有抗氧化、抗炎症、抗癌、抗心血管疾病、维持视觉健康、抗过敏、辅助减肥等多种生物活性<sup>[3-5]</sup>。目前，对C3G的提取纯化及生理功能研究已成为国内外的热点，但C3G的稳定性较差<sup>[2]</sup>，因此，本文综述了C3G提取纯化、生理功能以及提高其理化稳定性的方法，以期对C3G的进一步研究和应用提供参考。

表1 常见花青素的化学结构和分子量

Table 1 Chemical structure and molecular weights of common anthocyanidins

基本结构	花青素	R1	R2	R3	分子量
	天竺葵素	H	OH	H	271
	芍药素	OCH <sub>3</sub>	OH	H	301
	矢车菊素	OH	OH	H	287
	锦葵素	OCH <sub>3</sub>	OH	OCH <sub>3</sub>	331
	牵牛素	OCH <sub>3</sub>	OH	OH	317
	飞燕草素	OH	OH	OH	303

## 1 C3G的提取、纯化及检测

C3G由花青素分离纯化得来，花青素最常用的提取方法为有机溶剂提取法，目前此法已广泛用于蓝莓、桑葚等植物中花青素的提取分离，常用的有机溶剂有乙醇、丙酮等<sup>[28]</sup>，并且使用盐酸以维持花色苷在酸性环境的稳定性<sup>[24]</sup>。因盐酸安全性较差，最新的研究发现，可以使用氨基磺酸作为盐酸的替

代品<sup>[2]</sup>。由于单一提取法具有局限性，许多学者开始采用多种联合辅助提取方法（超声辅助、微波辅助、酶辅助）优化花青素的提取，优化后花青素提取量与提取速率有明显提升，并且耗时更少且易于批量提取。此外，还可以采用超临界CO<sub>2</sub>法，此法能避免提取物的热降解，提取率和纯度更高，但设备价格昂贵，无法满足工业化生产的需要<sup>[29]</sup>。

表2 C3G在不同食物中的含量

Table 2 Quantity of C3G in different foods

植物名称	含量/(mg/kg)	参考文献	
蓝莓	275.7~306.1	[6]	
蓝靛果	1 076.3~4 001.1	[7]	
黑果腺肋花楸	78.0~996.6	[8,9]	
桑葚	450.0~1 041.6	[10,11]	
黑加仑	124.8~285.6	[12]	
梅子	79.3~1 039.3	[12]	
黑树莓	359.0~890.0	[12]	
红树莓	29.0~251.2	[12]	
水果	接骨木果	2 141.0~7 398.0	[12]
	醋栗	0.5~54.2	[12]
	野樱桃	16.9~376.0	[12]
	樱桃	5.0~58.3	[13,14]
	草莓	134.0~332.0	[15]
	黄刺玫果	180.4~211.9	[16]
	红梨	10.0~1 370.0	[17]
	越橘	16.2~63.8	[18]
	阿萨伊果(冻干粉)	115.8~166.3	[19]
	紫包菜	6.04~86.8	[20,21]
蔬菜	紫背天葵	250.0~680.0	[22]
	甘薯(块根)	2.4~72.8	[23]
	黑米	572.5~1 045.0	[24,25]
谷物	紫米	220.6~598.0	[26]
	紫玉米	17.1~38.2	[27]

花青素的纯化通常采用柱层析法、高速逆流色谱法以及联合技术法，其中最常见的是柱层析法(大孔树脂法和离子交换树脂法)，高纯度C3G通

常采用反向 C<sub>18</sub> 硅胶色谱柱制备, 但该方法样品处理量小, 填充料昂贵且生产成本较高<sup>[30]</sup>。大孔树脂法操作简单, 可多次利用减少成本, 树脂种类多, 可根据不同物质性质进行选择, 是大规模生产的主流选择。此外有研究表明, 可以将大孔树脂与葡聚糖凝胶 / 聚酰胺树脂联合进行纯化, 可以显著提高 C3G 的纯度, 并且处理量较大, 处理能力强, 效率较高, 适合工业化生产, 在 C3G 的分离纯化方面具有较好的应用前景<sup>[30,31]</sup>。最新研究表明, 采用高速逆流色谱法分离纯化黑果腺肋花楸中的花青素, 最终获 C3G 的纯度达到 85.65%<sup>[32]</sup>。

目前, 常用的花色苷的定量方法有 HPLC<sup>[33]</sup>和可见分光光度法, 其中, 常用的分光光度法包括: 差减法<sup>[34]</sup>、pH 示差法<sup>[35]</sup>和单一 pH 法。此外还可以选择超高效液相色谱 (Ultra Performance Liquid Chromatography, UPLC) 法<sup>[36]</sup>、超高效液相色谱-质谱联用法 (Ultra Performance Liquid Chromatography-Mass Spectrometry, UPLC-MS/MS)<sup>[37]</sup>等, 超高效液相色谱串联质谱具有灵敏度高、选择性好、重复性好等优点, 可通过其质谱数据获得糖苷的分子量、糖苷配基的种类、数量以及其他信息。

## 2 C3G的生理功能

C3G 具有抗氧化、抗炎、抗癌以及维持视觉健康等多种生理功能, 其作用途径如表 3 所示。

### 2.1 抗氧化作用

C3G 具有强抗氧化作用, 可通过提高细胞活力、增强谷胱甘肽 (Glutathione, GSH) 和超氧化物歧化酶 (Superoxide Dismutase, SOD)、谷胱甘肽过氧化物酶 (Glutathione Peroxidase, GSH-Px) 和过氧化氢酶 (Catalase, CAT) 等抗氧化酶活力水平、抑制自由基氧化等途径实现对细胞氧化应激损伤的保护作用<sup>[38-42]</sup>。

### 2.2 抗炎效应

慢性炎症是糖尿病、老年痴呆症、动脉粥样硬化等疾病的重要病理反映, 这些疾病主要由于巨噬细胞产生过量的促炎症细胞因子、促炎症酶和炎症介素, 导致了疾病的发生。参与维持炎症最重要的酶包括诱导性的一氧化氮合成酶 (iNOS) 和环氧化酶 (Cyclooxygenase, COX) 等诱导酶<sup>[1]</sup>, 而

C3G 可以有效抑制这些诱导酶的活性。肝 X 受体  $\alpha$  (LXR $\alpha$ ) 和过氧化酶增殖激活受体  $\gamma$  (PPAR $\gamma$ ) 都是核受体, 这两种核受体的激活可以显著拮抗体外炎症基因的表达。Wang 等<sup>[43]</sup>使用 C3G 预处理 THP-1 巨噬细胞, 可以增强细胞核受体 LXR $\alpha$  和 PPAR $\gamma$  的表达和转录活性, 因此由细菌内毒素脂多糖 (Bacterial Endotoxic Lipopolysaccharide, LPS) 诱导的 iNOS 和 COX-2 在 mRNA 和细胞水平被抑制, 同时还降低了细胞中 NO 和前列腺素 E<sub>2</sub> (Prostaglandin E<sub>2</sub>, PGE<sub>2</sub>) 的含量。此外, C3G 与果胶的复合物可以有效的降低促炎因子肠道氧化应激 mRNA 的表达, 提高抗炎因子水平, 更好地减少细胞凋亡, 对炎症细胞发挥保护作用<sup>[44,45]</sup>。

表 3 C3G的生物活性和作用途径

Table 3 Biological activities and pathways of action of C3G

生理功能	功能效果	作用途径
抗氧化作用	C3G 及其脂质体具有良好的 DPPH 清除能力	抑制自由基氧化
	C3G 通过提高细胞活力来抑制氧化应激诱导的胰腺 $\beta$ 细胞凋亡	提高细胞活力
	C3G 通过增强 GSH、SOD、GSH-Px 和 CATD 的活性从而抑制氧化应激, 增强抗氧化系统	增强抗氧化酶活力水平
抗炎效应	C3G (100 $\mu$ g/mL) 对 COX-1 酶的抑制率为 78%, 对 COX-2 酶的抑制率为 59%。	抑制 COX 活性,
	C3G 预处理可以增强细胞核受体的表达和转录活性, 同时降低了细胞中 NO 和前列腺素 E <sub>2</sub> 的含量	激活核受体从而显著增强拮抗体外炎症基因的表达
抗癌效应	C3G 在 40.88~42.40 $\mu$ g/mL 范围内, 对 SGC7901 细胞生长的抑制率可达 92.66%~93.75%	抑制癌细胞增殖
	C3G 可以抑制 HCT-116、MCF-7、AGS 的增殖	抑制癌细胞增殖
	C3G 可通过调节 Nrf2/HO-1 信号通路的表达, 从而减轻高糖诱导的 HNPCs 细胞凋亡	减轻细胞凋亡
维持视觉健康	C3G 可以抑制 RPE 细胞中 ROS, 并且下调 VEGF 的表达	抑制 ROS 的增长和 A2E 的形成与裂解
	C3G 可以调节 ERS 并激活 Nrf2 通路以促进 RPE 存活	激活 Nrf2/HO-1 抗氧化通路

### 2.3 抗癌效应

大量研究表明 C3G 的抗癌效应主要通过清除自由基、抑制癌细胞增殖、诱导细胞凋亡和细胞分化、激活 II 相解毒酶以及抑制细胞侵入来实现<sup>[46]</sup>。此外,

C3G 在酸性及接近中性时化学性质均较为稳定<sup>[47]</sup>。因此 C3G 是很有潜力的化合物, 可作为抗癌的候选药物。

大量研究表面, C3G 对胃癌细胞 SGC7901、AGS 和 BGC823 有很强的抑制活性, 并呈量效依赖性关系<sup>[48,49]</sup>, 在 40.88~42.40  $\mu\text{g}/\text{mL}$  范围内, 对 SGC7901 细胞生长的抑制率最高, 可达 92.66%~93.75%。Reddy 等<sup>[42]</sup> 的研究表明 C3G 对肺癌细胞 NCI-H460 生长抑制的半抑制浓度  $\text{IC}_{50}$  为 158  $\mu\text{g}/\text{mL}$ , 在 200  $\mu\text{g}/\text{mL}$  质量浓度条件下对结肠癌细胞 (HCT-116)、乳腺癌细胞 (MCF-7)、胃癌细胞 (AGS) 的抑制率分别为 40%、40% 和 25%, 但对中枢神经系统癌细胞 (CNS) 的生长没有影响。C3G 可减轻高糖诱导的人髓核细胞 HNPCs 细胞凋亡, 其机制与 Nrf2/HO-1 信号通路的表达有关<sup>[50]</sup>。值得注意的是, 联合用药实验结果表明不是所有的组合用药都与单一色素的抑制活性相同, 例如甜菜苷与 C3G 联合用药就极大地降低了它们各自的效力, 但食物中的色素是混合存在的, 因而若食物或补充剂中含有这两种色素则可能不会达到预期的保健作用<sup>[46]</sup>。

## 2.4 维持视觉健康

视网膜色素上皮细胞 (Retinal Pigmented Epithelium, RPE) 是位于感光细胞后面的简单立方细胞层, 是维持视网膜视觉功能的重要部位, 也是光损伤的主要位点<sup>[51]</sup>。色素二聚体 (N-retinylidene-N retinyl-ethanolamine, A2E) 的累积、内质网应激 (Endoplasmic Reticulum Stress, ERS) 和活性氧基团 (Reactive Oxygen Species, ROS) 的增长均会引起 RPE 发生细胞凋亡, 导致视网膜光氧化损伤<sup>[52]</sup>。大量研究表明, C3G 对视网膜具有保护作用, 可显著提高 RPE 细胞的活力并抑制 RPE 细胞的凋亡, 其机制可以分为抑制 A2E 光氧化和光裂解、缓解内质网应激、激活 Nrf2/HO-1 抗氧化通路等<sup>[51-57]</sup>。

Wang 等<sup>[51]</sup> 探究了不同结构的花青素对可见光诱导的 RPE 细胞损伤的保护作用, 结果表明, 在 B 环中含有邻羟基的 C3G 在 RPE 细胞中表现出最高的 ROS 抑制能力, 并且可以下调血管内皮生长因子 (Vascular Endothelial Growth Factor, VEGF) 水平的表达, 抑制可见光暴露引起的 RPE 细胞老化过程中  $\beta$ -半乳糖苷酶的增加。进一步研究发现<sup>[52]</sup>, C3G 还可抑制 A2E 的形成与裂解, 阻止谷胱甘肽与光氧化的 A2E 反应。从而有效缓解光氧化诱导的 RPE 细

胞凋亡。Peng 等<sup>[53]</sup> 探讨了 C3G 对蓝光照射的 RPE 细胞的影响, 并探讨了 ERS 和 Nrf2 通路是否参与其机制。结果表明, C3G 可以调节 ERS 并激活 Nrf2 通路以促进 RPE 存活, 从而保持了 RPE 细胞中正常的 ER 形态, 增强了 RPE 细胞的屏障功能, 并提高了紧密连接蛋白的表达。这与先前的研究发现 C3G 可以通过激活 Nrf2/HO-1 抗氧化途径减轻光诱导的视网膜氧化应激, 对 RPE 细胞和感光细胞具有保护作用<sup>[54]</sup> 的结论保持一致。此外, 还有研究发现, C3G 可以有效减少 N-甲基-N-亚硝基胍诱导的大鼠视网膜变性<sup>[55]</sup> 和脂质过氧化物 4-HNE<sup>[56,57]</sup> 引起的 RPE 损伤。

## 3 C3G的稳态化

C3G 在高温和强酸碱性条件下结构不稳定, 因此在储存、加工过程中易受外界环境的影响而失去原有的颜色, 并且亲脂性低, 不易透过磷脂双分子层的细胞膜到达靶向作用点, 使得其生理价值大大降低<sup>[39]</sup>, 所以研究如何提高 C3G 的稳定性具有重要意义, 目前关于提高花青素稳定性的方法研究报道较多, 但单独对 C3G 稳定性的研究较少, 本文分别从与生物大分子复合和分子修饰两类方法进行阐述。

### 3.1 复合与包埋

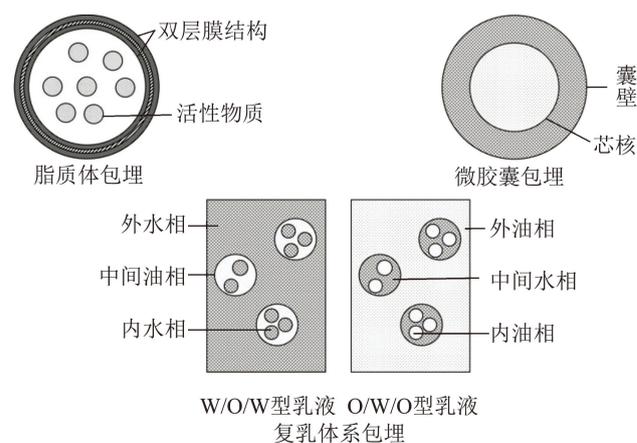


图 1 不同包埋方法示意图

Fig.1 Schematic diagram of different embedding methods

将 C3G 分散在蛋白质、多糖以及环糊精等生物大分子溶液中, 二者基于疏水相互作用和其他较弱的分子间作用力可以形成复合物, 再借助静电吸附法、乳化-热胶凝法、以及喷雾干燥法等实现对 C3G 的封装包埋, 常见的包埋体系主要有: 脂质体

包埋、微胶囊包埋和复乳体系包埋<sup>[58]</sup>，不同包埋方法如图 1 所示。目前研究中最多的将 C3G 与蛋白质进行复合，增强其稳定性和抗氧化能力，并且通过荧光猝灭来判断结合位点数。C3G 与大分子的复合和包埋效果如表 4 所示。

表 4 C3G的复合与包埋

Table 4 Combining and embedding of C3G

材料	主要作用力 / 包埋体系	复合 / 包埋效果
胎牛血清	疏水作用	提高 C3G 的稳定性，半衰期约提升 2 倍
水稻谷蛋白原纤维	疏水作用力和静电力	与 C3G 亲和力较高，提高 C3G 的热稳定，C3G 在 pH 3.5 下的保留率从 55.00% 提高到 67.50%
复合	水稻谷蛋白	疏水作用力和静电力
		提高 C3G 的热稳定，半衰期从 166.62 min 提升到 186.86 min
	丝纤维蛋白	疏水作用力
		C3G 对碱性环境和金属离子 (Cu <sup>2+</sup> ) 的耐受性显著提高，平均半衰期增加了 2.5 倍
	酪蛋白及其水解物	疏水作用
		复合物在进行不同的抗氧化测试 (FRAP、ABTS) 中表现出了协同和拮抗作用
	磷脂酰胆碱	脂质体包埋
		包埋物的稳定性和抗氧化活性提高了 7.7%
包埋	淀粉微凝胶、乳清蛋白、环糊精	微胶囊包埋
		包埋物稳定性提高，在肠消化环境中的降解速率明显降低 (约降低 50%~60%)
	W/O/W 型复乳	复乳体系包埋
		包埋物的稳定性提高，同时具有一定的缓释靶向作用，可将内水相物质靶向释放

研究发现：胎牛血清通过疏水作用于 C3G 结合，从而提高矢车菊素-3-葡萄糖苷的稳定性<sup>[59]</sup>。酸性条件下水稻谷蛋白原纤维 (Rice Glutelin Fibrils, RGFs) 和水稻谷蛋白 (Rice Glutelin, RG) 通过疏水作用力和静电力与 C3G 的结合作用，而 RGFs 由于表面暴露有疏水基团和正电荷，因此表现出与 C3G 更高的亲和力，从而对 C3G 的热稳定性具有较好的保护作用<sup>[60]</sup>。C3G 与丝纤维蛋白 (Silk Fibroin Peptide, SFP) 形成纳米复合材料后，其稳定性和半衰期均得到了增强<sup>[61]</sup>，因此，SFP 可以作为一种稳定剂，扩大了 C3G 作为天然色素和功能成分在酸性和碱性食品系统中的应用。这些结果将有助于设计具有增强抗氧化能力的含 C3G 和蛋白质水解物的功能饮料。相似的研究结果在酪蛋白中也有发现<sup>[62]</sup>，此外，还可以通过将支链淀粉纳米粒与花青素非共价结合从而提高其稳定性<sup>[63]</sup>。

Liang 等<sup>[38]</sup>通过反相蒸发法以磷脂酰胆碱包埋 C3G，制备了 C3G 脂质体，结果表明脂质体可保护 C3G 免受外部环境的影响，从而提高 C3G 的稳定性和抗氧化活性，但脂质体仍旧存在一些问题，如包封率较低、稳定性易受环境影响以及无法控制释放物质的速率和时间等。微胶囊化是通过淀粉、糊精、乳清蛋白以及海藻胶提取物类等生物大分子对花色苷进行包埋，包埋物在肠消化环境中的降解速率明显降低<sup>[64,65]</sup>，并且对 C3G 溶液具有抗共色作用，促进了其作为食品着色剂的使用<sup>[66]</sup>。微胶囊化效果好，包埋率高，微胶囊化后稳定性明显提高，但微囊体系粒径较大、缓释效果不理想，不利于包埋物质在体内的靶向释放<sup>[67-69]</sup>。W/O/W 型复乳两面三相的特殊结构为包埋物质创造了一个内水相微环境，利用优化得到的 W/O/W 型复乳体系包裹 C3G，发现复乳对 C3G 有良好的包裹能力，包封率为 98.08%，且包埋后提高了复乳内水相渗透压和 C3G 的稳定性，同时具有一定的缓释靶向作用，可将内水相物质靶向释放<sup>[70]</sup>。

### 3.2 分子修饰

C3G 通过分子修饰往往具有更高的稳定性，目前 C3G 的分子修饰主要集中在酰化方面。酰化指 C3G 的糖基与芳香族或脂肪族取代基进行酰化反应，是花青素最常见的修饰之一。酰化可以降低 C3G 极性，增加分子大小，改变其空间结构，从而使 C3G 有更高的稳定性、显色性以及抗氧化活性<sup>[71]</sup>。酰化主要包括化学酰化和酶法酰化两种。采用化学酰化时，常选择适当的酰基供体与催化剂和花青素反应；酶法酰化时，因酶具有较高的专一性和选择性，可对花青素选择性定向酰化，与化学酰化相比，具有目标产物单一，分离、纯化简单的特点<sup>[72]</sup>，不同酰化条件及效果如表 5 所示。

常见的酰基化反应以芳香酸和月桂酸为酰基供体，由于酰基的稳定性高于羟基，酰化后的 C3G 稳定性明显增强。芳香酸酰基化可以显著提高 C3G 的呈色、光稳定性、热稳定性以及抗过氧化氢能力<sup>[73]</sup>，以月桂酸<sup>[74,75]</sup>为酰基供体，反应温和且选择性高。用脂肪酶催化不同脂肪酸对 C3G 进行酰基化修饰，含中链脂肪酸的酰化衍生物表现出更强的热稳定性和紫外光稳定性，虽然酰化后的 C3G 体外抗氧化活性降低，但由于其亲脂性增加，其细胞内抗氧化活性相对于 C3G 显著增强<sup>[76]</sup>。以饱和脂肪酸 (C4~C12) 对 C3G 进行酶促酰化反应，并考察其

在不同 pH 值下的热稳定性, 总体而言, 酰化 C3G 在 pH 值 3~7 的 SDS 胶束溶液中表现出更好的颜色稳定性和对热降解的敏感性<sup>[77]</sup>。Guimarães 等<sup>[78]</sup>以叔戊醇为反应介质, 反应温度 60 °C, 用南极假丝酵母脂肪酶 B (Candida Antarctica Lipase B, CalB) 和不同的脂肪酸对 C3G 进行酰化, 发现丁酸酰化的效果最好, 酰化产物表现出较好的亲脂性和热稳定性, 后续又创新地采用薄膜固定 CalB 作为催化剂, 对 C3G 进行酰化, 增大底物与酶的接触面积, 产物的酰化率提高到 2.5 倍, 并且薄膜固定酶体系可以在更短的时间内达到最大酰化率<sup>[79]</sup>。

表 5 C3G 酰化反应条件及反应效果

Table 5 Acylation conditions and effects of C3G

酰基供体	酶	酰化条件	效果
芳香酸	/	介质: 叔戊醇, 60 °C 反应	提高了 C3G 的呈色、光稳定性、热稳定性以及抗过氧化氢能力
月桂酸	/	介质: DMF, 缩合剂, 避光 4 °C 反应 48 h	反应温和且选择性高, 酰化的 C3G 稳定性明显增强 (约提升 20%)
芳香酸、月桂酸	CalB	介质: 叔丁醇, 60 °C 振荡反应 72 h	C3G 稳定性和胞内抗氧化性增强 (约提升 16.7%~33.3%)
饱和脂肪酸 (C4-C12)	CalB	介质: 叔戊醇, 60 °C 热循环反应 14 h	C3G 的酰化产物表现出较好的亲脂性和热稳定性, 半衰期增加了 2 倍
饱和脂肪酸 (C4-C12)	薄膜固定 CalB	介质: 叔戊醇, 60 °C 热循环反应 14 h	相较于未固定 CalB, 酰化率提高 2.5 倍且稳定性更好

注: DMF 为 N,N-二甲基甲酰胺 (N,N-dimethylformamide), CalB 为南极假丝酵母脂肪酶 B (Candida Antarctica Lipase B)。

## 4 展望

C3G 来源丰富, 广泛存在于自然界的许多植物中, 若尽可能考虑从果蔬的加工副产品如苹果皮渣、桑葚渣等提取 C3G 加以利用, 可实现资源的最大化利用。由于 C3G 的抗氧化、抗炎、抗癌以及维持视觉健康等生理功能, 其具有极大的应用前景, 尤其是在食品和保健品中, 因此, 在 C3G 的提取及分离纯化的工艺上, 为了让其能在食品及保健品中更广泛地应用, 应考虑到用于提取的有机溶剂及离子液体的残留, 进而探索更适合于食品级 C3G 提取的工艺, 如酶法提取、超声法提取等。C3G 易受环境因素和食品加工条件影响, 使其降解并失去生物活性, 可以通过多种方法提高 C3G 的稳定性和脂溶性, 使其更易被人体利用, 目前对 C3G 的稳态化研究, 主

要以物理包埋法、酰化法达到提高稳定性、亲脂性、抗氧化性等目的, 但这些研究还处于起步阶段, 后续应尝试测定其在实际产品体系中的性能指标, 如包埋和分子修饰后的 C3G 在实际产品中稳定性, 对于拓展 C3G 在食品、营养和保健品行业中的应用具有重要的意义。

## 参考文献

- [1] 夏渊. 低剂量花色苷干预小鼠结肠炎的效果及其机制研究[D]. 济南: 山东大学, 2019.
- [2] 艾晓莉, 冯艳林, 刘达玉, 等. 复合谷物花色苷提取工艺及成分分析[J]. 中国调味品, 2022, 47(1): 190-194.
- [3] 刘迪, 孙宏宇, 时文艳, 等. 矢车菊素-3-O-葡萄糖苷对 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 诱导细胞氧化损伤的保护作用[J]. 食品工业科技, 2019, 40(6): 273-278.
- [4] 王丽, 刘锋瑞, 刘亚娟, 等. 矢车菊素-3-O-葡萄糖苷(C3G)通过靶向 TOPK 抑制结肠癌细胞的增殖[J]. 细胞与分子免疫学杂志, 2019, 35(12): 1101-1108.
- [5] WU X L, RONALD L. P. Systematic identification and characterization of anthocyanins by HPLC-ESI-MS/MS in common foods in the united states: fruits and berries [J]. Journal of Agricultural & Food Chemistry, 2005, 53(7): 2589-2599.
- [6] 陈海龙, 陈静, 翟丹云, 等. HPLC 测定不同溶剂提取蓝莓花青素中 C3G 含量[J]. 食品工业, 2019, 40(8): 285-288.
- [7] 乔锦莉, 秦栋, 郭良川, 等. 蓝果忍冬的生物活性物质及其功效研究进展[J]. 食品科学, 2020, 41(9): 276-284.
- [8] 胡文泽, 李淼, 郭东旭, 等. 黑果腺肋花楸研究进展[J]. 食品与发酵工业, 2020, 46(23): 316-322.
- [9] RODRIGUEZ WM, WINTERHALTER P, ESATBEYOGLU T. Phenolic composition, radical scavenging activity and an approach for authentication of aronia melanocarpa berries, juice, and pomace [J]. Journal of Food Science, 2019, 84(7): 1791-1798.
- [10] 龚大刚, 杜鸿, 曲都, 等. 不同桑品种桑椹花青素及可溶性糖含量差异研究[J]. 四川林业科技, 2020, 41(4): 64-68.
- [11] 陈亮, 辛秀兰, 袁其朋. 野生桑葚中花色苷成分分析[J]. 食品工业科技, 2012, 33(15): 307-310.
- [12] CARA R W, WU Q L, JAMES E S. Recent advances in anthocyanin analysis and characterization [J]. Current Analytical Chemistry, 2008, 4(2): 75-101.
- [13] 魏海蓉, 谭钺, 宗晓娟, 等. 不同色泽甜樱桃果实花色苷积累与其相关酶活性之间的关系[J]. 植物生理学报, 2017, 53(3): 429-436.
- [14] KARAASLAN N M, YAMAN M. Determination of anthocyanins in cherry and cranberry by high-performance liquid chromatography-electrospray ionization-mass spectrometry [J]. European Food Research and Technology, 2016, 242(1): 127-

- 135.
- [15] 李飞鹤,韩波,余梅,等.草莓中矢车菊素-3-O-葡萄糖苷含量测定的方法学研究[J].山西中医药大学学报,2020,21(5):349-351.
- [16] 杨莹莹,王晓燕,冯夏珍,等.HPLC测定黄刺玫果中主要花青素的成分及其含量[J].中国食品添加剂,2018,10:173-178.
- [17] 肖长城,李甲明,姚改芳,等.不同红梨品种果皮中花色苷组分及含量特征分析[J].南京农业大学学报,2014,37(4):60-66.
- [18] 臧慧明,吴林,徐德冰,等.云南丽江和吉林靖宇11种越橘果实花色苷组分的分析[J].食品工业科技,2018,39(18):209-213,217.
- [19] 王玉杰,李伟,王林元,等.高效液相色谱法测定阿萨伊冻干粉中矢车菊素-3-O-葡萄糖苷的含量[J].食品工业科技,2019,40(9):258-263
- [20] 李敏.不同花青素提取物的组成、稳定性及抗氧化性比较研究[D].江南:南京财经大学,2013.
- [21] 蒋晓岚,石渝凤,付周平,等.紫甘蓝矢车菊素的分析及其苷元的制备[J].食品科学,2019,40(10):257-264.
- [22] 邵考珍,何淑莹.HPLC法测定紫背天葵中矢车菊素-3-O-葡萄糖苷含量的研究[J].新中医,2016,48(12):204-206.
- [23] 殷丽琴,彭云强,钟成,等.高效液相色谱法测定8个彩色马铃薯品种中花青素种类和含量[J].食品科学,2015,36(18):143-147
- [24] 王艳龙,石绍福,韩豪,等.中国黑米花色苷研究现状及展望[J].中国生化药物杂志,2010,31(1):63-66.
- [25] 王婧,周有祥,严伟,等.黑米中矢车菊素-3-葡萄糖苷的鉴定与含量分析[J].湖北农业科学,2014,53(23):5836-5838,5842.
- [26] 贺江,李博恩,苗严龙,等.有色大米中花青素UPLC测定方法的建立[J].粮食与油脂,2019,32(10):70-73.
- [27] 张辉,刘奕廷,张宏林,等.16种含花青素植物经济价值评估[J].吉林中医药,2019,39(07):944-948.
- [28] ARUSA C, MAXINEM T, RONALDE W. Characterization and quantification of anthocyanins and polyphenolics in blue honeysuckle (*Lonicera caerulea* L.) [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2004, 52(4): 848-852.
- [29] FIKRET P, ERINC K, FUNDA T, et al. Extraction of anthocyanins from grape pomace by using supercritical carbon dioxide [J]. Journal of Food Processing and Preservation, 2020, 45(8): 14950.
- [30] 闫征,王四维,李春阳.聚酰胺树脂分离纯化黑米中矢车菊素-3-葡萄糖苷工艺研究[J].粮食与饲料工业, 2016,4:31-36.
- [31] KOUP, WANN, WANG L T, et al. A sustainable and efficient preparation process of anthocyanins from blue honeysuckle fruit and comprehensive bioactivity assessment [J]. Journal of the Taiwan Institute of Chemical Engineers, 2020, 116: 3-10.
- [32] 黄靖,韩耀濂,汤昊,等.黑果腺肋花楸中花色苷的分离纯化及其抗氧化活性[J].东北林业大学学报,2022,50(5):122-128,139.
- [33] JUNGMINL, CHRISTOPHER R, RONALD E. W. Correlation of two anthocyanin quantification methods: HPLC and spectrophotometric methods [J]. Food Chemistry, 2008, 110(3): 782-786.
- [34] 翦祎,韩舜愈,张波,等.单一pH法、pH示差法和差减法快速测定干红葡萄酒中总花色苷含量的比较[J].食品工业科技,2012,33(23):323-325,423.
- [35] 耿然,刘贵巧,王慧真,等.pH示差法测定黑小麦全麦粉花色苷及其体外抗氧化性[J].食品工业科技,2020,41(1):6-11.
- [36] STERN N P, RANA J, CHANDRA A, et al. Mass spectral characterization and UPLC quantitation of 3-deoxyanthocyanidins in sorghum bicolor varieties [J]. Journal of AOAC International, 2018, 101(1): 242-248.
- [37] WANG S L, WANG B W, DONG K, et al. Identification and quantification of anthocyanins of 62 blueberry cultivars via UPLC-MS [J]. Biotechnology & Biotechnological Equipment, 2022, 36(1): 587-597
- [38] LIANG T S, GUAN R F, WANG Z, et al. Comparison of anticancer activity and antioxidant activity between cyanidin-3-O-glucoside liposomes and cyanidin-3-O-glucoside in Caco-2 cells *in vitro* [J]. RSC Advances, 2017, 7(59): 37359-37368.
- [39] MINS L, BONGGIL, KYONGE P, et al. Dieckol enhances the expression of antioxidant and detoxifying enzymes by the activation of Nrf2-MAPK signalling pathway in HepG2 cells [J]. Food Chemistry, 2015, 174: 538-546.
- [40] 刘迪,张浩,孙宏宇,等.矢车菊素-3-O-葡萄糖苷的细胞抗氧化活性研究[J].营养学报,2019,41(3):293-297.
- [41] SPECIALE A, ANWAR S, CANALI R, et al. Cyanidin-3-O-glucoside counters the response to TNF-alpha of endothelial cells by activating Nrf2 pathway [J]. Molecular Nutrition & Food Research, 2013, 57(11): 1979-1987.
- [42] MUNTHA K R, RUBYL A, MURALEEHARANG N. Relative inhibition of lipid peroxidation, cyclooxygenase enzymes, and human tumor cell proliferation by natural food colors [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2005, 53(23): 9268-9273.
- [43] WANG Q, XIA M, LIU C, et al. Cyanidin-3-O-glucoside inhibits iNOS and COX-2 expression by inducing liver X receptor alpha activation in THP-1 macrophages [J]. Life Sciences, 2008, 83(5): 176-184.
- [44] TAN C, KONG Y, TONG Y, et al. Anti-apoptotic effects of high hydrostatic pressure treated cyanidin-3-glucoside and blueberry pectin complexes on lipopolysaccharide-induced inflammation in Caco-2 cells [J]. Journal of Functional Foods, 2021, 86: 104709-104721.

- [45] TAN C, WANG M Y, KONG Y W, et al. Anti-inflammatory and intestinal microbiota modulation properties of high hydrostatic pressure treated cyanidin-3-glucoside and blueberry pectin complexes on dextran sodium sulfate-induced ulcerative colitis mice [J]. Food & Function, 2022, 13: 4384-4398.
- [46] 陈亮, 辛秀兰, 袁其朋. 矢车菊-3-葡萄糖的抗癌效应研究进展[J]. 食品科学, 2013(13):339-343.
- [47] FLESCHHUT J, KRATZER F, RECHKEMMER G, et al. Stability and biotransformation of various dietary anthocyanins *in vitro* [J]. European Journal of Nutrition, 2006, 45(1): 7-18.
- [48] SUN C D, ZHENG Y X, CHEN Q J, et al. Purification and anti-tumour activity of cyanidin-3-O-glucoside from Chinese bayberry fruit [J]. Food Chemistry, 2012, 131(4): 1287-1294.
- [49] SHIH P H, YEH C T, YEN G C. Effects of anthocyanidin on the inhibition of proliferation and induction of apoptosis in human gastric adenocarcinoma cells [J]. Food and Chemical Toxicology, 2005, 43(10): 1557-1566.
- [50] BAI X L, LIAN Y, HH C Q, et al. Cyanidin-3-glucoside protects against high glucose-induced injury in human nucleus pulposus cells by regulating the Nrf2/HO-1 signaling [J]. Journal of Applied Toxicology: JAT, 2022, 42(7): 1137-1145.
- [51] WANG Y, ZHANG D, LIU Y X, et al. The protective effects of berry-derived anthocyanins against visible light-induced damage in human retinal pigment epithelial cells [J]. Journal of the Science of Food and Agriculture, 2014, 95(5): 936-944.
- [52] WANG Y, HYE J K, JANET R S. Quercetin and cyanidin-3-glucoside protect against photooxidation and photodegradation of A2E in retinal pigment epithelial cells [J]. Experimental Eye Research, 2017, 160: 45-55.
- [53] PENG W T, WU Y L, PENG Z Z, et al. Cyanidin-3-glucoside improves the barrier function of retinal pigment epithelium cells by attenuating endoplasmic reticulum stress-induced apoptosis [J]. Food Research International, 2022, 157: 111313-111313.
- [54] WANG Y, HUO Y Z, ZHAO L, et al. Cyanidin-3-glucoside and its phenolic acid metabolites attenuate visible light-induced retinal degeneration *in vivo* via activation of Nrf2/HO-1 pathway and NF- $\kappa$ B suppression [J]. Molecular Nutrition & Food Research, 2016, 60(7): 1564-1577.
- [55] SEUNG H, EOJIN J, SUNS P, et al. Cyanidin-3-glucoside extracted from mulberry fruit can reduce N-methyl-N-nitrosourea-induced retinal degeneration in rats [J]. Current Eye Research, 2014, 39(1): 79-87.
- [56] JIN X, WANG C, WU W, et al. Cyanidin-3-glucoside alleviates 4-hydroxyhexenal-induced NLRP3 inflammasome activation via JNK-c-Jun/AP-1 pathway in human retinal pigment epithelial cells [J]. Journal of Immunology Research, 2018, 2018: 5604610.
- [57] WANG Y, QI W, HUO Y, et al. Cyanidin-3-glucoside attenuates 4-hydroxynonenal- and visible light-induced retinal damage *in vitro* and *in vitro* [J]. Food & Function, 2019, 10(5): 2871-2880.
- [58] 徐青, 王代波, 刘国华, 等. 花青素稳定性影响因素及改善方法研究进展[J]. 食品研究与开发, 2020, 41(7): 218-224.
- [59] 麦绮莹, 范亚苇, 邓泽元, 等. 胎牛血清与矢车菊素-3-葡萄糖苷非共价相互作用机制及其抗氧化活性的影响[J]. 食品科学, 2021, 42(5): 1-8.
- [60] LI T, WANG L, ZHANG X X, et al. Complexation of rice glutelin fibrils with cyanidin-3-O-glucoside at acidic condition: Thermal stability, binding mechanism and structural characterization [J]. Food Chemistry, 2021, 363: 130367.
- [61] LI Y W, YAO L, ZHANG L W, et al. Enhanced physicochemical stabilities of cyanidin-3-O-glucoside via combination with silk fibroin peptide [J]. Food Chemistry, 2021, 355: 129479-129489.
- [62] YINZ C, WU Y R, CHEN Y, et al. Analysis of the interaction between cyanidin-3-O-glucoside and casein hydrolysates and its effect on the antioxidant ability of the complexes [J]. Food Chemistry, 2021, 340: 127915.1-127915.9.
- [63] TONG Y Q, DENG H T, KONG Y W, et al. Stability and structural characteristics of amylopectin nanoparticle-binding anthocyanins in *Aronia melanocarpa* [J]. Food Chemistry, 2020, 311: 125687-125695.
- [64] 周蕊. 微/纳淀粉材料的制备、表征及其与两种食品成分的相互作用性能研究[D]. 武汉: 武汉轻工大学, 2019.
- [65] 钱柳, 米亚妮, 陈雷, 等. 乳清蛋白/矢车菊素-3-O-葡萄糖苷纳米粒的制备[J]. 食品科学, 2020, 41(10): 14-20.
- [66] FERNANDES A, SOUSA A, AZEVEDO J, et al. Effect of cyclodextrins on the thermodynamic and kinetic properties of cyanidin-3-O-glucoside [J]. Food Research International, 2013, 51(2): 748-755.
- [67] SAHAR A M, SEID M J, ELHAM A, et al. Microencapsulation optimization of natural anthocyanins with maltodextrin, gum Arabic and gelatin [J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2016, 85: 379-385.
- [68] 刘云海, 刘瑛, 曹小红, 等. 天然食用色素花青素的微胶囊化[J]. 食品工业科技, 2004, 12: 109-110.
- [69] LU M L, LI Z J, LIANG H, et al. Controlled release of anthocyanins from oxidized konjac glucomannan microspheres stabilized by chitosan oligosaccharides [J]. Food Hydrocolloids, 2015, 51: 476-485.
- [70] 袁丽, 孙楚楚, 党庆玲, 等. W/O/W型复乳的制备优化及包埋矢车菊素-3-葡萄糖苷效果分析[J]. 食品科学, 2019, 40(6): 272-280.
- [71] 张丽, 范维娟, 郑臻颖, 等. 花青素糖基化、甲基化和酰基化修饰的研究现状[J]. 分子植物育种, 2023, 21(7): 2378-2387.

- [72] 周萍,郑洁.花色苷改性及应用研究进展[J].食品科学,2021,42(3):346-354.
- [73] 闫征.黑米花色苷的酶法酰基化及产物稳定性研究[D].江苏:南京农业大学,2016.
- [74] CHEN Z, SHEN W, SUN C, et al. Direct acylation of cyanidin-3-glucoside with lauric acid in blueberry and its stability analysis [J]. *International Journal of Food Properties*, 2016, 19(1): 1-12.
- [75] ZHAO L Y, CHEN J, WANG Z Q, et al. Direct acylation of cyanidin-3-glucoside with lauric acid in blueberry and its stability analysis [J]. *International Journal of Food Properties*, 2016, 19(1): 1-12.
- [76] ZHANG P, LIU S, ZHAO Z, et al. Enzymatic acylation of cyanidin-3-glucoside with fatty acid methyl esters improves stability and antioxidant activity [J]. *Food Chemistry*, 2021, 343: 128482.1-128482.8.
- [77] 张萍玲.矢车菊素-3-O-葡萄糖苷酰基化修饰及其活性研究[D].广州:华南理工大学,2020.
- [78] MARTA G, NUNO M, VICTORD F, et al. Improvement of color stability of cyanidin-3-glucoside by fatty acid enzymatic acylation [J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2018, 66(38): 10003-10010.
- [79] MARTA G, MARIAP G, NUNO M, et al. Anefficient method for anthocyanins lipophilization based on enzyme retention in membrane systems [J]. *Food Chemistry*, 2019, 300: 125167.