DOI:10.12441/spyswjs.20240517002 [文章编号] 1673-1689(2025)02-0122-11

蓝靛果花色苷的提取纯化及稳定性研究

张会敏[1] 任李宁[1] 刘国宸[1] 琚萌萌[1] 陶涤扬[2] 孙爱东[1*]

(1. 北京林业大学生物科学与技术学院,北京 100091; 2. 山东泰安市徂徕山林场,山东 泰安 271029)

摘要:【目的】探究环境因素对蓝靛果(*Lonicera caerulea*,*L. caerulea*)花色苷稳定性的影响,以期为富含花色苷饮料的加工和贮藏提供理论依据,并扩大蓝靛果在食品加工中的应用范围。**【方法】**采用超声辅助提取和大孔树脂纯化的方法提取蓝靛果花色苷,根据pH示差法测定蓝靛果花色苷在不同温度(50~90 ℃)、pH(1.0~7.0)、光照、氧化还原剂、防腐剂、糖类和金属离子条件下的保留率并探讨其环境稳定性,同时根据不同pH和温度下的降解动力学分析其热力学特性。**【结果】**蓝靛果花色苷对温度和pH敏感,随着pH和温度的增大,花色苷保留率逐渐降低,且降解过程符合一级动力学方程,在pH 2.0和pH 3.0条件下,花色苷表现出较强的热稳定性,且花色苷的热降解过程是一个非自发的吸热反应,光照、氧化还原剂以及防腐剂均会对花色苷稳定性产生不同程度的不利影响。低质量浓度和短时间作用下蔗糖较葡萄糖更有利于保持花色苷稳定性,高质量浓度下葡萄糖较蔗糖更有利于花色苷的稳定。Zn^{2+}、Ca^{2+}和Mg^{2+}对花色苷起到增色作用,Fe^{2+}、Fe^{3+}、Cu^{2+}和Al^{3+}破坏了花色苷的颜色。**【结论】**温度、pH、光照、氧化还原剂和防腐剂等环境因素会对花色苷的稳定性产生不利影响,糖类的添加质量浓度、种类及金属离子种类会对花色苷的稳定性产生不同的影响,该研究为蓝靛果花色苷在食品加工中的应用提供了科学依据。

关键词:蓝靛果;花色苷;提取纯化;降解动力学;稳定性

Extraction, Purification, and Stability of Anthocyanins from *Lonicera caerulea*

ZHANG Huimin[1] *REN Lining*[1] *LIU Guochen*[1] *JU Mengmeng*[1] *TAO Diyang*[2] *SUN Aidong*[1*]

(1. School of Biological Science and Technology, Beijing Forestry University, Beijing 100091, China; 2. Taian Culai Mountain Forest Farm, Taian 271029, China)

Abstract: [**Objective**] The influences of environmental factors on the stability of *Lonicera caerulea* (*L. caerulea*) anthocyanins were studied to provide a theoretical basis for the processing and storage of anthocyanin-rich beverages and expand the application of *L. caerulea* in food processing. [**Method**] Anthocyanins of *L. caerulea* were obtained by ultrasonic-assisted extraction and macroporous resin purification. The retention rates of *L. caerulea* anthocyanins at different temperatures, pH, light conditions, oxidation-reducing agents, preservatives, sugars, and metal ions were determined by the pH differential method, and the environmental stability of *L. caerulea* anthocyanins was analyzed. At the same time, the thermodynamic characteristics of *L. caerulea* anthocyanins were analyzed according to the degradation kinetics at different pH and temperatures. [**Result**] Anthocyanins were sensitive to 50~90 ℃ and pH 1.0~7.0. The retention rate of anthocyanins decreased with the increases in pH and temperature, and the degradation conformed to the first-order kinetic equation. The thermal stability of anthocyanins exhibited strong at pH 2.0 and pH 3.0, and the thermal degradation of anthocyanins was a non-spontaneous endothermic reaction. Light, oxidation-reducing agents, and preservatives exerted adverse

基金项目:国家自然科学基金面上项目(32172222,32372370);国家“十四五”重点研发计划项目(2023YFD2201804)。

通信作者:孙爱东(1968—),女,博士,教授,博士研究生导师,主要从事天然产物中生理活性物质的功能评价及开发应用、现代食品加工新技术以及食品风味研究。E-mail:adsun@bjfu.edu.cn

收稿日期:2024-05-17 **修回日期:**2024-06-12

effects on the stability of anthocyanins. Sucrose outperformed glucose in maintaining the stability of anthocyanins at low concentrations and within a short time period. At high concentrations, glucose was more conducive to the stability of anthocyanins than sucrose. The color of anthocyanins was enhanced in the presence of Zn^{2+}, Ca^{2+}, and Mg^{2+}. In contrast, Fe^{2+}, Fe^{3+}, Cu^{2+}, and Al^{3+} destroyed the color. [**Conclusion**] Environmental factors such as temperature, pH, light, oxidation-reducing agents, and preservatives have adverse effects on the stability of anthocyanins, and the concentrations and types of sugars added and the types of metal ions have different effects on the stability of anthocyanins. The findings provide a scientific basis for the application of anthocyanins in food processing.

Keywords: *Lonicera caerulea*; anthocyanins; extraction and purification; degradation kinetics; stability

蓝靛果作为小浆果的一种，富含天然活性成分。王仪等[1]对比蓝莓、树莓、黑莓、蔓越莓、黑果腺肋花楸和蓝靛果的营养成分时发现，蓝靛果中的总氨基酸、总酚、总黄酮以及花色苷含量均高于其他浆果，是优质的花色苷来源。研究表明，蓝靛果中的花色苷含量约为蓝莓的5倍，为黑果腺肋花楸和树莓的14倍[2]。蓝靛果花色苷作为一种天然水溶性色素，不仅使食物呈现鲜明的色泽，还作为典型的多酚类物质发挥多种生物活性，如抗癌、抗氧化、抗炎、降血糖、降血脂、预防心脑血管疾病和改善认知功能等[3-4]。但由于花色苷中存在多个活性羟基和含正离子的母核，化学性质活泼，容易导致颜色变化或活性降低[5]。

许多学者证明了温度对花色苷稳定性的不利影响[6-7]。在加工和贮藏过程中，温度升高会加速花色苷降解，其降解机制为花色苷发生水解或开环反应生成查尔酮或同分异构体，进一步降解为醛类及酚酸[8]。在热降解过程中，花色苷易受溶液pH影响，其在低pH的酸性介质中比在高pH的碱性介质中更稳定，并呈现出不同的颜色[9]。强酸环境下花色苷呈现红色，随着pH增大，颜色变为紫色或蓝色[10]。

另外，光源、光照时间和光照强度均与花色苷的降解有关。李安等[11]发现蓝莓果酒花色苷在不同光照条件下的保留率依次为：室内避光>室内自然光>室外自然光。同时，花色苷易被氧化，稳定性较低。Ali等[12]发现2.21 mmol/L的H_2O_2使草莓花色苷含量在6 h内显著降低，且降解程度与氧化剂浓度呈正相关。赵慧芳等[13]发现Na_2SO_3可迅速破坏蓝莓花色苷，3 min内花色苷保留率降至14.58%，且影响大于H_2O_2。防腐剂和糖也会影响花色苷稳定性。付世涛等[14]研究发现，苯甲酸钠和山梨酸钾均能降低紫甘蓝花色苷的稳定性，而蔗糖可提高其稳定性，其中20 g/L蔗糖水溶液可将紫甘蓝花色苷保留率提升至119.48%。杨俊峰等[15]在黑果腺肋花楸中分别添加蔗糖和葡萄糖，发现其对花色苷稳定性均会产生影响，且葡萄糖的影响更大。金属离子可与花色苷螯合形成复合物。研究表明，Zn^{2+}、Ca^{2+}、Mg^{2+}和K^{+}对蓝莓色素的稳定性有积极作用，可增强其辅色效应[16-17]，而Na^{+}、Cu^{2+}和Fe^{2+}对花色苷稳定性有不利影响[13]。

因此，作者探究了外界因素（温度、pH、光照、氧化还原剂、防腐剂、糖类以及金属离子）对蓝靛果花色苷稳定性的影响，并进行了不同温度和pH下蓝靛果花色苷的降解动力学研究，以期为蓝靛果花色苷深加工产品的开发和资源化利用提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

蓝靛果：产区吉林延边；福林酚试剂（分析纯）：上海源叶生物有限公司；硝酸铝（分析纯）：天津市福晨化学试剂厂；氢氧化钠、蔗糖和葡萄糖（均为分析纯）：西陇化工股份有限公司；盐酸、KCl、氢氧化钾、Na_2SO_3、碳酸氢钠、磷酸氢二钠、柠檬酸、H_2O_2、亚硫酸氢钠（均为分析纯）：北京化工厂有限责任公司；无水乙醇（分析纯）：国药集团化学试剂有限公司。

1.2 仪器与设备

超声破碎仪：KQ3200DE型，昆山市超声仪器有限公司；低速离心机：L3660D型，北京天林恒泰科技有限公司；打浆机：MJ-BL2583型，广东美的生活电器制造有限公司；电热恒温水浴锅：XMTB型，余姚市东方电工仪器厂；紫外可见分光光度

计：UV-6100 型，上海元析仪器有限公司；旋转蒸发仪：RV10DS96 型，德国 IKA 集团；冷冻干燥机：FD-18 型，北京德天佑科技发展有限公司；摇床：TS-100B 型，上海天呈实验仪器制造有限公司；恒流泵：HL-2S 型，上海青浦沪西仪器厂。

1.3 方法

1.3.1 蓝靛果花色苷的提取纯化

参照安小琦[18]的方法，将-20 ℃冷冻的蓝靛果解冻后打浆破碎，将体积分数 0.1% 的盐酸与体积分数 60% 的乙醇混合后作为提取液，按料液比 1 mg∶10 mL 加入提取液，40 ℃超声辅助提取 60 min，过滤后离心取上清液，合并蓝靛果渣，再按照料液比 1 mg∶15 mL，40 ℃超声辅助提取 30 min，离心后合并 2 次收集的上清液，40 ℃下旋转蒸发直至乙醇除净，得到蓝靛果花色苷粗提液。参照李恩惠[19]的方法，分别用 NKA-9、AB-8、D101 大孔树脂纯化花色苷粗提液，采用湿法装柱（层析柱规格 1.6 cm×20 cm），进样后静置 2 h，分别用 4~5 倍柱体积的蒸馏水和 4 倍柱体积的乙醇（体积分数为 95%）洗脱蓝靛果花色苷，将洗脱液旋转蒸发后冷冻干燥，得到黑紫色花色苷粉末。

1.3.2 蓝靛果总花色苷质量分数测定

采用 pH 示差法测定总花色苷质量分数[20]。在 2 份 0.3 mL 蓝靛果花色苷溶液中各加入 2.7 mL KCl（25 mmol/L，pH 1.0）和 0.4 mol/L CH_3COONa 缓冲液（pH 4.5），混匀后常温避光平衡 1 h 后测定 510 nm 和 700 nm 处的吸光度。根据式（1）~（2）计算总花色苷质量分数。

$$A=(A_1-A_2)-(A_3-A_4) \quad (1)$$

$$\omega=(A\times M_w\times V\times n)/(\varepsilon\times L\times m) \quad (2)$$

式中：

A——溶液最终吸光度；

A_1——pH 为 1.0 时，溶液在 510 nm 处的吸光度；

A_2——pH 为 1.0 时，溶液在 700 nm 处的吸光度；

A_3——pH 为 4.5 时，溶液在 510 nm 处的吸光度；

A_4——pH 为 4.5 时，溶液在 700 nm 处的吸光度；

ω——总花色苷质量分数，%；

M_w——矢车菊素-3-O-葡萄糖苷（C3G）相对分子质量，449.2；

V——待测液体积，mL；

n——稀释倍数；

ε——C3G 消光系数，26 900 L/（mg·cm）；

L——光程，1 cm；

m——样品质量，g。

1.3.3 总酚和色价测定

参考李斌等[21]的方法，取 1 mL 待测液，加入 5 mL 蒸馏水、1 mL 福林酚显色液和 3 mL 质量分数 7.5% 的 Na_2CO_3，混匀避光平衡 1 h，于 765 nm 处测定吸光度。得到没食子酸标准曲线，线性回归方程 y=0.012 8x+0.015 3（R^2=0.999 5），通过标准曲线计算总酚质量浓度，代入式（3）计算多酚质量分数。

$$X=C\times V\times n/m\times 100\% \quad (3)$$

式中：

X——样品总酚质量分数，%；

C——标准曲线对应的总酚质量浓度，mg/mL；

V——待测液体积，mL；

n——稀释倍数；

m——样品质量，mg。

配制 pH 为 3.0、质量浓度为 1 mg/mL 的花色苷溶液并稀释 5 倍，以 pH 为 3.0 的柠檬酸钠缓冲液作为空白，于 510 nm 处测定吸光度，根据式（4）计算色价。

$$E_{1\,cm}^{1\%}=A_5\times n/m \quad (4)$$

式中：

$E_{1\,cm}^{1\%}$——色价；

A_5——吸光度；

n——稀释倍数；

m——样品质量，g。

1.3.4 蓝靛果花色苷降解动力学分析

用磷酸氢二钠-柠檬酸缓冲液配制 1 mg/mL 的花色苷溶液，分别取 20 mL 不同 pH（1.0、2.0、3.0、4.0、5.0、6.0、7.0）的花色苷溶液置于密闭离心管中，并将其在黑暗条件下于不同温度（50、60、70、80、90 ℃）水浴 4 h，每隔 1 h 测定一次花色苷质量浓度。

假设蓝靛果花色苷降解过程遵循零级或一级动力学方程，按照式（5）~（6）计算。

零级动力学方程：

$$C_t-C_0=-kt \quad (5)$$

一级动力学方程：

$$\ln\left(C_t/C_0\right)=-kt \quad (6)$$

式中：

C_0——蓝靛果花色苷的最初质量浓度，mg/mL；

t——蓝靛果花色苷的加热时间，h；

C_t——加热到t时的蓝靛果花色苷质量浓度，mg/mL；

k——速率常数，h^{-1}。

利用式（7）计算蓝靛果花色苷半衰期。

$$t_{1/2}=-\ln 2/k \quad (7)$$

式中：

k——速率常数，h^{-1}；

$t_{1/2}$——花色苷半衰期，h。

按照式（8），利用Arrhenius方程计算活化能。

$$\ln k=\ln K_0-(E_a/RT) \quad (8)$$

式中：

k——速率常数，h^{-1}；

E_a——活化能，kJ/mol；

R——气体常数，8.314 J/（mol·K）；

T——绝对温度，K；

K_0——频率因子，min^{-1}。

蓝靛果花色苷的递减时间D值、温度系数Q_{10}和Z值按照式（9）~（11）计算。

$$D=-\ln 10/k \quad (9)$$

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

$$T=-Z\lg t_{1/2}+b \quad (11)$$

式中：

D——在一定条件和热力致死温度下，杀死90%的特定微生物所需要的时间，h；

k——速率常数，h^{-1}；

Q_{10}——温度系数，特定条件下，温度每增加10 ℃，杀灭微生物速率的增加倍数；

k_1——温度T_1下的速率常数，h^{-1}；

k_2——温度T_2下的速率常数，h^{-1}；

T_1——较低的温度，℃；

T_2——较高的温度，℃；

Z——杀菌时间改变10倍所需的温度变化数，℃；

T——温度，℃；

$t_{1/2}$——花色苷半衰期，h；

b——线性方程截距。

通过式（12）~（14）计算各温度下的焓变ΔH、吉布斯自由能ΔG和熵变ΔS。

$$\Delta H=E_a-RT \quad (12)$$

$$\Delta G=-RT\times\ln\left(\frac{kh}{k_BT}\right) \quad (13)$$

$$\Delta S=(\Delta H-\Delta G)/T \quad (14)$$

式中：

ΔH——焓变，kJ/mol；

ΔG——吉布斯自由能，kJ/mol；

ΔS——熵变，kJ/（mol·K）；

E_a——活化能，kJ/mol；

h——普朗克常数，$6.626\ 2\times10^{-34}$ J/s；

k_B——玻尔兹曼常数，$1.380\ 6\times10^{-23}$ J/K；

R——气体常数，8.314 J/（mol·K）；

T——绝对温度，K；

k——速率常数，h^{-1}。

1.3.5 蓝靛果花色苷的稳定性试验

配制pH 3.0、质量浓度为1 mg/mL的蓝靛果花色苷溶液作为稳定性试验的样品溶液。

1）光照的影响：将等量花色苷样品溶液分别置于自然光和室温避光条件下，每隔2 d取一次样，测定花色苷质量分数，计算光照和避光条件下花色苷保留率的变化。

2）氧化还原剂的影响：2组花色苷样品中分别添加H_2O_2（最终体积分数分别为0、0.5%、1.0%、1.5%、2.0%、2.5%）和Na_2SO_3（最终质量分数分别为0、0.05%、0.10%、0.15%、0.20%、0.25%），室温避光放置，H_2O_2组和Na_2SO_3组分别每隔20 min和2 h取样，测定花色苷质量分数并计算花色苷保留率。

3）防腐剂的影响：花色苷样品中分别加入山梨酸钾和苯甲酸钠，使2组防腐剂终质量浓度为0、0.05、0.10、0.20、0.30 g/dL，室温避光静置10 h后测定花色苷质量分数并计算保留率。

4）糖的影响：2组花色苷样品中分别加入蔗糖和葡萄糖，使其终质量浓度分别为0、2、4、6、8、10 g/dL，室温避光静置10 h，每隔2.5 h取样，测定花色苷质量分数并计算保留率。

5）金属离子的影响：向花色苷样品中加入不同的金属离子，使各金属离子终浓度均为

0.03 mol/L，静置 8 h 后测定 510 nm 处的吸光度并记录溶液颜色。

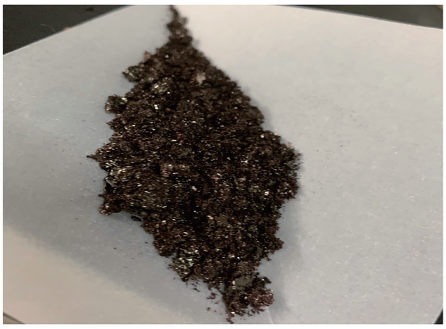
1.4 数据处理

所有测定均重复 3 次，统计分析采用单因素方差分析（ANOVA），P<0.05 表示差异显著。使用 Origin 2021 软件绘图。

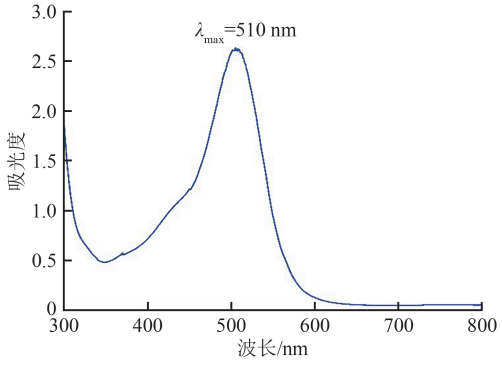
2 结果与讨论

2.1 蓝靛果花色苷最大吸收波长的确定

如图 1（a）所示，提取物经过 AB-8 大孔树脂分离纯化后冻干，得到黑紫色蓝靛果花色苷冻干粉末，对其进行全波长扫描，测得最大吸收波长为 510 nm，见图 1（b）。



(a) 纯化后的蓝靛果花色苷冻干粉末



(b) 紫外可见光谱图

图 1 蓝靛果花色苷的纯化及最大吸收波长

Fig. 1 Purification of anthocyanins from *L. caerulea* berries and their maximum absorption wavelength

2.2 蓝靛果总花色苷和总酚质量分数

如表 1 所示，蓝靛果提取物分别经 NKA-9、AB-8、D101 树脂纯化并冻干，结果发现，AB-8 纯化后的总花色苷质量分数最高，达到 24.046%。测得蓝靛果提取物中总酚质量分数为 38.075%。计算得出总花色苷占总酚质量的 63.15%，证实了蓝靛果提取物中主要多酚类物质为花色苷类化合物。

表 1 蓝靛果提取物总花色苷、总酚质量分数及色价

Table 1 Mass fractions of total anthocyanins and total phenols, and color value of *L. caerulea* extract

大孔树脂名称	总花色苷质量分数/%	总酚质量分数/%	色价
NKA-9	22.694	—	—
AB-8	24.046	38.075	66.06
D101	22.343	—	—

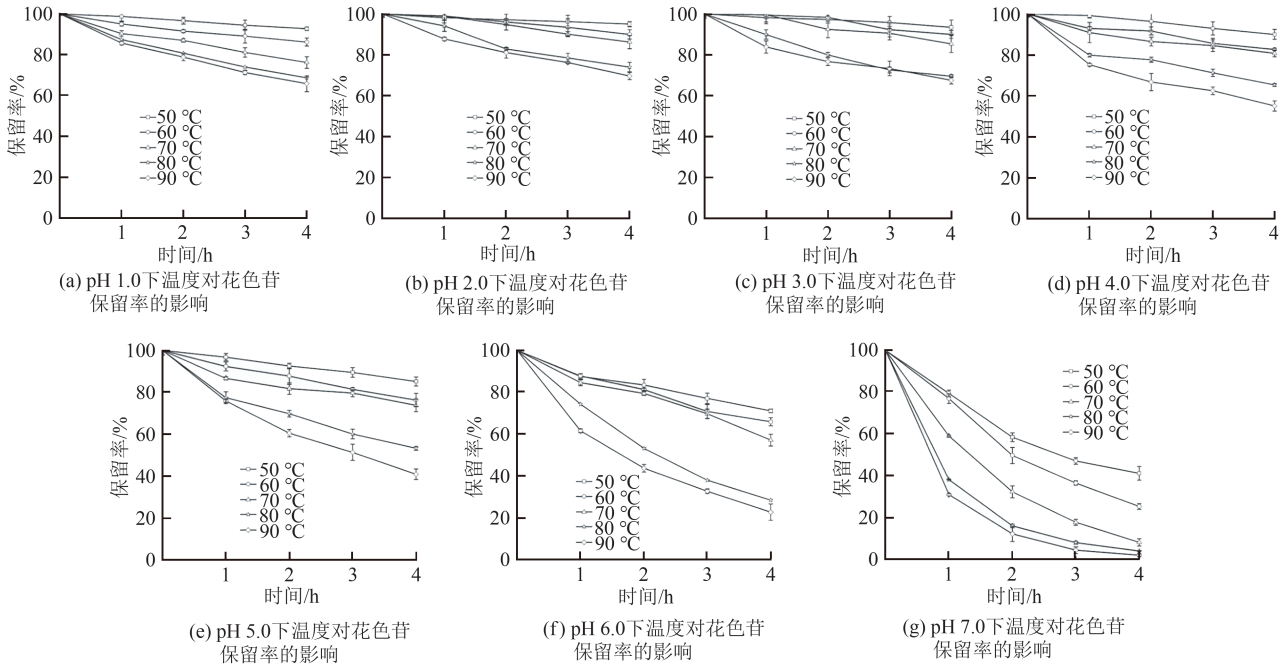
注：“—”表示未检测到。

2.3 pH 和温度对蓝靛果花色苷稳定性的影响

由图 2 可知，在同一 pH 下，随着加热温度的升高，蓝靛果花色苷保留率降低，且酸性较强的花色苷溶液受温度影响更小。其中，pH 2.0 时花色苷溶液最稳定，在 90 ℃最低保留率达 75.36%；其次为 pH 3.0 体系，最低保留率为 67.44%；pH 7.0 时花色苷溶液稳定性最差，保留率最低仅 1.43%。花色苷溶液稳定性随着温度的升高和加热时间的增加逐渐降低，且降解速率增加，这与紫薯花色苷热稳定性降低趋势相同[22]。

假定蓝靛果花色苷的降解遵循零级或一级动力学方程，通过计算得出花色苷降解速率并进行线性回归，确定其降解动力学模型。由表 2 可知，蓝靛果花色苷的降解遵循一级动力学方程（R^2>0.9）。D 值代表在一定条件和热力致死温度下，杀死 90% 的特定微生物所需要的时间，D 值越大表明耐热性越强。Z 值指杀菌时间改变 10 倍所需的温度变化数。温度系数 Q_{10} 指特定条件下，温度每增加 10 ℃，杀灭微生物所需时间的变化，Q_{10} 越大，温度效应越明显[23]。

由表 2 可知，随着温度升高，花色苷速率常数 k 增大，对应的半衰期 $t_{1/2}$ 和 D 值呈下降趋势，说明高温会破坏花色苷稳定性且在弱酸环境中破坏程度更大。pH 为 2.0~6.0 时，3 个温度范围（50~70、50~90、70~90 ℃）下的 Q_{10} 呈增长趋势，表明温度越高，则每升高 10 ℃使花色苷产生的变化更大，温度效应越明显。在 pH 为 7.0 时，Q_{10} 随着温度的升高而降低，可能是由于花色苷在中性环境中结构发生转化而改变了其稳定性[24]。pH 为 1.0~7.0 时，E_a 为 35~125 kJ/mol，符合花色苷降解区



(a) pH 1.0下温度对花色苷保留率的影响　(b) pH 2.0下温度对花色苷保留率的影响　(c) pH 3.0下温度对花色苷保留率的影响　(d) pH 4.0下温度对花色苷保留率的影响

(e) pH 5.0下温度对花色苷保留率的影响　(f) pH 6.0下温度对花色苷保留率的影响　(g) pH 7.0下温度对花色苷保留率的影响

图2　pH和温度对蓝靛果花色苷溶液稳定性的影响

Fig. 2　Effects of pH and temperature on the stability of anthocyanins from *L. caerulea*

间[8]。在pH为2.0和3.0时，E_a较大且Z值较小，表明在此pH下降解所需的能量较高，热稳定性较好，反之，pH 7.0条件下热稳定较差。强酸（pH 1.0）或酸性较弱（pH 4.0~6.0）条件下都会加速花色苷的降解。

花色苷在不同pH下热降解的ΔH、ΔS和ΔG变化如表3所示。同一pH不同温度下，蓝靛果花色苷热降解的ΔH数值相近，说明降解能量势垒的高度和温度没有直接关系。$\Delta H>0$，说明降解过程为非自发的吸热反应，高温加快了络合物形成[25]，pH为2.0或3.0时，ΔH较大，说明此pH下花色苷较稳定。测定结果中ΔG均为正值，且变化幅度（83.19~96.63 kJ/mol）很小，说明蓝靛果花色苷的降解为非自发反应。$\Delta S<0$表明过渡态的分子比反应开始时的分子组织性更高[26]。蓝靛果花色苷热降解的ΔS均小于0，说明活化络合物自由度低于初始状态。ΔS绝对值大时，表明体系离热力学平衡状态较远。酸性环境时，系统生成活化络合物的速度更快，系统初始状态与热力学平衡状态之间的差距较小，因此蓝靛果花色苷降解的可能性也会变小。在同一pH不同温度下，ΔS数值相近，说明温度变化对蓝靛果花色苷降解的ΔS影响较小。

2.4　光照对蓝靛果花色苷稳定性的影响

光照对蓝靛果花色苷稳定性的影响见图3。随着放置时间的延长，避光和自然光均使蓝靛果花色苷溶液出现不同程度的降解，避光储存能更好地保留蓝靛果花色苷，原因是光照使花色苷的碳原子变得更活泼，降低了花色苷稳定性[27]。存放16 d后，避光组降解率为28.65%，自然光照组降解率为35.60%。避光和自然光照条件下的降解均符合一级动力学方程，k分别为8.79×10^{-4}、11.46×10^{-4} h^{-1}，$t_{1/2}$分别为812.4、604.8 h，这与李恩惠等[28]的结论一致。

2.5　氧化还原剂对蓝靛果花色苷稳定性的影响

氧化还原剂对蓝靛果花色苷稳定性的影响见图4。随着H_2O_2体积分数的增加，蓝靛果花色苷的保留率降低，且与作用时间呈负相关。体积分数为0.5%的H_2O_2作用20 min后花色苷保留率为51.66%，80 min时保留率达10.95%。H_2O_2处理的蓝靛果花色苷的降解符合一级动力学方程，体积分数0~2.5%的H_2O_2处理后，花色苷的k分别为0.048、1.656、2.442、2.724、2.940、2.988 h^{-1}，$t_{1/2}$分别为14.219、0.418、0.284、0.255、0.236 h。H_2O_2攻击花色苷结构的C位导致吡喃阳离子被破坏形成查尔酮，可能是引起花色苷降解的主要原因[29]。

表 2 不同 pH 下蓝靛果花色苷溶液在 50~90 ℃时的降解动力学参数

Table 2 Kinetic parameters of anthocyanin degradation from *L. caerulea* at different pH and 50~90 ℃

pH	T/K	k/h^{-1}	R^2	$t_{1/2}$/h	E_a/(kJ/mol)	D 值/h	Z 值/℃	温度/℃	Q_{10}
1.0	323	0.018 5	0.907 7	37.47	44.34	124.5	47.3	50~70	1.94
	333	0.039 1	0.918 2	17.73		58.9			
	343	0.069 9	0.966 1	9.92		32.9		50~90	1.56
	353	0.098 9	0.995 6	7.01		23.3			
	363	0.110 8	0.979 6	6.26		20.8		70~90	1.26
2.0	323	0.013 4	0.915 8	51.73	49.70	171.8	43.9	50~70	1.60
	333	0.024 0	0.909 9	28.88		95.9			
	343	0.034 3	0.999 2	20.21		67.1		50~90	1.63
	353	0.079 2	0.910 5	8.75		29.1			
	363	0.094 1	0.901 5	7.37		24.5		70~90	1.66
3.0	323	0.015 9	0.911 7	43.59	49.11	144.8	43.2	50~70	1.54
	333	0.025 8	0.900 8	26.87		89.2			
	343	0.037 7	0.959 4	18.39		61.1		50~90	1.59
	353	0.099 1	0.974 7	6.99		23.2			
	363	0.100 4	0.987 0	6.90		22.9		70~90	1.63
4.0	323	0.024 2	0.959 5	28.64	43.90	95.1	49.3	50~70	1.50
	333	0.049 3	0.946 8	14.06		46.7			
	343	0.054 7	0.979 9	12.67		42.1		50~90	1.58
	353	0.111 7	0.992 4	6.21		20.6			
	363	0.152 6	0.991 7	4.54		15.1		70~90	1.67
5.0	323	0.039 0	0.933 5	17.77	42.99	59.0	50.3	50~70	1.40
	333	0.068 2	0.904 4	10.16		33.8			
	343	0.076 3	0.909 5	9.08		30.2		50~90	1.56
	353	0.164 5	0.995 8	4.21		14.0			
	363	0.228 8	0.996 1	3.03		10.1		70~90	1.73
6.0	323	0.088 1	0.966 6	7.87	38.72	26.1	53.1	50~70	1.22
	333	0.108 4	0.992 5	6.39		21.2			
	343	0.131 8	0.993 7	5.26		17.5		50~90	1.44
	353	0.316 1	0.998 7	2.19		7.3			
	363	0.380 0	0.998 0	1.82		6.1		70~90	1.70
7.0	323	0.236 3	0.972 5	2.93	36.96	9.7	54.6	50~70	1.59
	333	0.337 7	0.983 6	2.05		6.8			
	343	0.594 1	0.996 3	1.17		3.9		50~90	1.43
	353	0.822 3	0.999 9	0.84		2.8			
	363	0.987 9	0.996 9	0.70		2.3		70~90	1.29

由图 4(b)可知，当 Na_2SO_3 质量浓度大于 0.10 g/dL 时，花色苷稳定性下降，保留率随着 Na_2SO_3 质量浓度和时间的增加而降低，0~0.25 g/dL 的 Na_2SO_3 作用 8 h 后，花色苷保留率分别为 95.75%、93.11%、72.92%、69.56%、59.01%、57.11%，且花色苷降解符合一级动力学方程，对应的 k 分别为 0.005 4、0.008 9、0.039 5、0.045 4、0.065 9、0.070 0 h^{-1}，对应 $t_{1/2}$ 分别为 127.55、77.69、17.56、15.28、10.51、9.90 h。Na_2SO_3 对花色苷的降解可能是花色苷和亚硫酸氢盐、糠醛等物质发生加成反应或缩合反应后生成了无色物质，导致其褪色[30]。

2.6 防腐剂对蓝靛果花色苷稳定性的影响

防腐剂对蓝靛果花色苷稳定性的影响见图 5。随着防腐剂质量浓度的增加，花色苷保留

表3　不同pH和温度下蓝靛果花色苷溶液的降解热力学参数

Table 3　Thermodynamic parameters of anthocyanin degradation from *L. caerulea* at different pH and temperatures

pH	*T*/℃	Δ*H*/(kJ/mol)	Δ*G*/(kJ/mol)	Δ*S*/(kJ/(mol·K))
1.0	50	41.66	90.04	−149.78
	60	41.57	90.84	−147.94
	70	41.49	91.99	−147.24
	80	41.41	93.74	−148.25
	90	41.32	96.14	−151.00
2.0	50	47.01	90.90	−135.88
	60	46.93	92.19	−135.91
	70	46.85	94.02	−137.54
	80	46.76	94.39	−134.92
	90	46.68	96.63	−137.60
3.0	50	46.42	90.44	−136.29
	60	46.34	91.99	−137.08
	70	46.25	93.75	−138.48
	80	46.17	93.73	−134.74
	90	46.09	96.43	−138.69
4.0	50	41.21	89.31	−148.91
	60	41.13	90.19	−147.33
	70	41.05	92.69	−150.56
	80	40.97	93.38	−148.49
	90	40.88	95.17	−149.55
5.0	50	40.31	88.03	−147.76
	60	40.22	89.30	−147.36
	70	40.14	91.74	−150.44
	80	40.06	92.25	−147.84
	90	39.97	93.95	−148.69
6.0	50	36.03	85.84	−154.22
	60	35.95	88.01	−156.35
	70	35.87	90.18	−158.36
	80	35.78	90.33	−154.52
	90	35.70	92.42	−156.25
7.0	50	34.28	83.19	−151.45
	60	34.19	84.87	−152.17
	70	34.11	85.89	−150.95
	80	34.03	87.52	−151.54
	90	33.95	89.53	−153.13

率逐渐降低。当质量浓度为0.30 g/dL的山梨酸钾和苯甲酸钠处理10 h后，花色苷保留率分别降到90.69%和92.56%，相较于对照组分别下降了4.59%和3.65%。与苯甲酸钠相比，山梨酸钾对蓝靛果花色苷的影响更大，这是因为山梨酸钾中

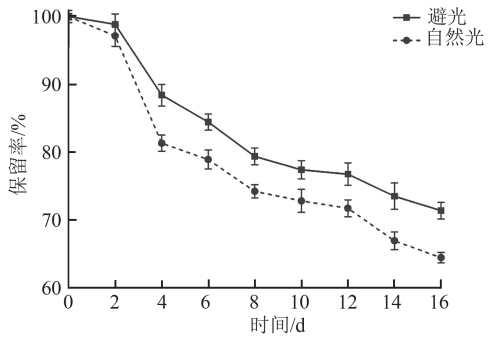


图3　光照对蓝靛果花色苷稳定性的影响

Fig. 3　Effect of light on the stability of anthocyanins from *L. caerulea*

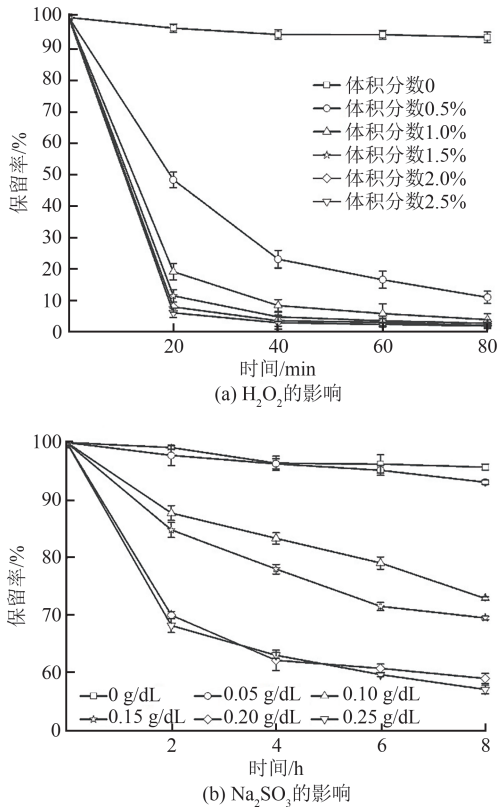


图4　氧化还原剂对蓝靛果花色苷稳定性的影响

Fig. 4　Effects of redox agent on the stability of anthocyanins from *L. caerulea*

的高活性钾离子能够与花色苷发生络合反应使其褪色，而苯甲酸钠中的苯环共轭效应可与蓝靛果花色苷形成氢键，造成高空位阻来提高花色苷稳定性[14]。

2.7　糖类对蓝靛果花色苷稳定性的影响

糖类对蓝靛果花色苷稳定性的影响见图6。低质量浓度蔗糖进行短时间作用可以提高花色苷保留率。与空白组2.5 h和5.0 h的花色苷保留

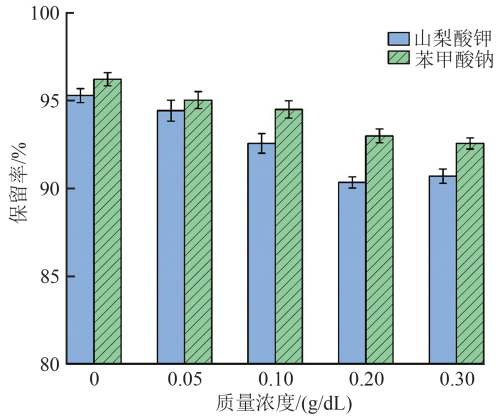


图 5　防腐剂对蓝靛果花色苷稳定性的影响

Fig. 5　Effects of preservative on the stability of anthocyanins from *L. caerulea*

率（97.92% 和 96.68%）相比，添加 2 g/dL 蔗糖可将花色苷保留率提高到 99.79% 和 98.76%。蔗糖添加量超过 2 g/dL 时，花色苷稳定性随着蔗糖质量浓度和作用时间的增加而降低。与蔗糖相比，葡萄糖添加量为 4 g/dL 时可使花色苷保留率提高，继续增加葡萄糖质量浓度和作用时间，花色苷保留率同样呈现出下降趋势。由结果可知，在低质量浓度和短时间时，蔗糖较葡萄糖更能保持花色苷稳定性，原因可能是蔗糖通过降低水分活度对花色苷的发色团起到保护作用。在高质量浓度下，葡萄糖较蔗糖更有利于花色苷的稳定，这可为富含花色苷饮料中糖分的添加提供指导。

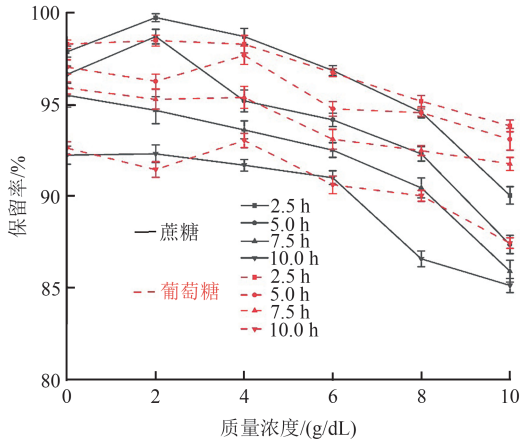


图 6　糖类对蓝靛果花色苷稳定性的影响

Fig. 6　Effects of carbohydrates on the stability of anthocyanins from *L. caerulea*

2.8　金属离子对蓝靛果花色苷稳定性的影响

金属离子对蓝靛果花色苷稳定性的影响见表 4。在蓝靛果花色苷溶液中加入 0.2 mol/L 的金属离子后，Zn^{2+}、Ca^{2+}和 Mg^{2+}可使溶液吸光度增大，溶液颜色加深，其中，Zn^{2+}增色作用最明显。Na^{+}和 K^{+}对溶液颜色影响不大，推测是 Na^{+}和 K^{+}的电荷数以及不易引发氧化反应的化学性质，使其不易与花色苷分子中的羟基或羧基形成稳定络合物，故不会导致花色苷分子结构明显改变或降解。Fe^{2+}、Fe^{3+}、Cu^{2+}和 Al^{3+}使蓝靛果花色苷溶液颜色发生明显变化，对蓝靛果花色苷有不利影响。可能是由于花色苷中的酚羟基或羟基与离子发生螯合作用导致其稳定性降低，因此在制备和贮藏花色苷产品时应尽量避免与金属离子接触。

表 4　金属离子对蓝靛果花色苷稳定性的影响

Table 4　Effects of metal ions on the stability of anthocyanins from *L. caerulea*

金属离子溶液	吸光度	颜色
空白	0.394 00±0.001 20	酒红色
$FeCl_3$	0.606 00±0.002 03	褐绿色
$FeCl_2$	0.903 00±0.002 18	黑紫色
$MnCl_2$	0.338 00±0.002 83	酒红色
$ZnSO_4$	0.416 00±0.003 25	酒红色
$CaCl_2$	0.407 00±0.002 11	酒红色
NaCl	0.388 00±0.002 97	酒红色
KCl	0.389 00±0.002 62	洋红色
$MgCl_2$	0.398 00±0.003 01	洋红色
$CuSO_4$	0.883 00±0.003 49	深红褐色
$AlCl_3$	1.232 00±0.004 47	深紫色

3　结论

以蓝靛果为原料提取花色苷，经 AB-8 大孔树脂纯化后冻干，提取纯化得到总花色苷、总酚质量分数分别为 24.046% 和 38.075% 的蓝靛果花色苷提取物，进而对其稳定性进行分析。结果表明，蓝靛果花色苷的降解遵循一级动力学方程，在相同 pH 下花色苷的保留率随温度升高而降低；在 pH 为 2.0 和 3.0 时花色苷稳定性最强，中性条件下稳定性最差。由热力学结果可知，蓝靛果花色苷的热降解是非自发的吸热反应。光照、氧化还原剂以及防腐剂均对花色苷稳定性产

生不同程度的不利影响。在低质量浓度和短时间时，蔗糖较葡萄糖更利于保持花色苷稳定性，添加高质量浓度糖时，葡萄糖较蔗糖更有利于花色苷的稳定。Zn^{2+}、Ca^{2+}和Mg^{2+}对花色苷有增色作用；Fe^{2+}、Fe^{3+}、Cu^{2+}和Al^{3+}会破坏花色苷溶液的颜色。该研究为富含花色苷饮料的加工和贮藏提供理论指导，有利于提升蓝靛果花色苷在食品加工中的应用。

参考文献

[1] 王仪，珺萌萌，李雨浩，等. 混合浆果汁抗氧化能力及果汁杀菌方法的比较[J]. 食品与发酵工业，2023，49(3)：205-212.
WANG Y，JUN M M，LI Y H，et al. Comparison of antioxidant capacity of mixed berry juice and juice sterilization methods[J]. Food and Fermentation Industries，2023，49(3)：205-212.(in Chinese)

[2] 王纯，甘庆萌，孟菲，等. 四种小浆果浆汁活性成分及其抗氧化活性[J]. 食品工业科技，2019，40(5)：71-76.
WANG C，GAN Q M，MENG F，et al. Active components and antioxidant activities of four kinds small berry juices[J]. Science and Technology of Food Industry，2019，40(5)：71-76.(in Chinese)

[3] ZHANG H M，JIA C L，XIAO Y H，et al. Enhanced stability and bioavailability of mulberry anthocyanins through the development of sodium caseinate-konjac glucomannan nanoparticles [J]. Food Chemistry，2024，439：138150.

[4] QI Q Q，CHU M J，YU X T，et al. Anthocyanins and proanthocyanidins：chemical structures，food sources，bioactivities，and product development[J]. Food Reviews International，2023，39(7)：4581-4609.

[5] WIJESEKARA T，XU B J. A critical review on the stability of natural food pigments and stabilization techniques [J]. Food Research International，2024，179：114011.

[6] QUAN W，HE W，QIE X J，et al. Effects of β-cyclodextrin，whey protein，and soy protein on the thermal and storage stability of anthocyanins obtained from purple-fleshed sweet potatoes [J]. Food Chemistry，2020，320：126655.

[7] HUANG J Y，HU Z H，CHIN Y，et al. Improved thermal stability of roselle anthocyanin by co-pigmented with oxalic acid：preparation，characterization and enhancement mechanism[J]. Food Chemistry，2023，410：135407.

[8] OANCEA S. A review of the current knowledge of thermal stability of anthocyanins and approaches to their stabilization to heat[J]. Antioxidants，2021，10(9)：1337.

[9] LI S J，WANG X，ZHANG X Q，et al. Interactions between zein and anthocyanins at different pH：structural characterization，binding mechanism and stability[J]. Food Research International，2023，166：112552.

[10] ROY S，RHIM J W. Anthocyanin food colorant and its application in pH-responsive color change indicator films [J]. Critical Reviews in Food Science and Nutrition，2021，61(14)：2297-2325.

[11] 李安，刘小雨，张惟广. 发酵及贮藏条件对蓝莓果酒花色苷稳定性的影响及其抗氧化性研究[J]. 中国酿造，2020，39(2)：146-151.
LI A，LIU X Y，ZHANG W G. Effects of fermentation and storage conditions on the stability of anthocyanin in blueberry wine and its antioxidant activity[J]. China Brewing，2020，39(2)：146-151. (in Chinese)

[12] ALI H M，ATTIA M H，RASHED E N. Enhancing the stability of strawberry anthocyanins complexed to β-cyclodextrin and starch toward heat，oxidation，and irradiation[J]. ACS Omega，2024，9(5)：5319-5329.

[13] 赵慧芳，姚蓓，吴文龙，等. 蓝莓色素的光热和化学稳定性研究[J]. 食品安全质量检测学报，2016，7(12)：4939-4945.
ZHAO H F，YAO B，WU W L，et al. Study on the light，heat and chemical stabilities of blueberry fruit pigment[J]. Journal of Food Safety & Quality，2016，7(12)：4939-4945.(in Chinese)

[14] 付世涛，张剑鸣，曹灿灿，等. 紫甘蓝色素稳定性研究[J]. 大学化学，2024，39(4)：367-372.
FU S T，ZHANG J M，CAO C C，et al. Study on the stability of purple cabbage pigment[J]. University Chemistry，2024，39(4)：367-372.(in Chinese)

[15] 杨俊峰，沈越，张耀丹，等. 黑果腺肋花楸花青素理化性质及抗氧化活性研究[J]. 中国调味品，2023，48(11)：190-195.
YANG J F，SHEN Y，ZHANG Y D，et al. Physicochemical properties and antioxidant activity of anthocyanins from *Aronia melanocarpa*[J]. China Condiment，2023，48(11)：190-195.(in Chinese)

[16] SINILAL B，OVADIA R，NISSIM-LEVI A，et al. Increased accumulation and decreased catabolism of anthocyanins in red grape cell suspension culture following magnesium treatment [J]. Planta，2011，234(1)：61-71.

[17] CZIBULYA Z，HORVÁTH I，KOLLÁR L，et al. Unexpected effect of potassium ions on the copigmentation in red wines [J]. Food Research International，2012，45(1)：272-276.

[18] 安小琦.‘蓓蕾’蓝靛果花色苷组成鉴定及其单体微胶囊稳定性的研究[D]. 沈阳:沈阳农业大学,2017.

[19] 李恩惠. 牛血清白蛋白结合蓝莓花色苷复合物的稳定性及抗氧化活性的研究[D]. 沈阳:沈阳农业大学,2018.

[20] TAGHAVI T,PATEL H,RAFIE R. Comparing pH differential and methanol-based methods for anthocyanin assessments of strawberries[J]. Food Science & Nutrition,2022,10(7):2123-2131.

[21] 李斌,雷月,孟宪军,等. 响应面实验优化超声波辅助提取蓝靛果多酚工艺及其抗氧化活性[J]. 食品科学,2015,36(22):33-39.
LI B,LEI Y,MENG X J,et al. Optimization of ultrasonic-assisted extraction of polyphenols from haskap berries (*Lonicera caerulea* L.) using response surface methodology and their antioxidant capacity[J]. Food Science,2015,36(22):33-39.

[22] MINH N P. Efficacy of thermal treatment on the stability of total phenolic,flavonoid and anthocyanin in purple-fleshed sweet potato (*Ipomoea batatas*)[J]. Research on Crops,2020,21(3):534-537.

[23] 姜溪雨,刘璇,毕金峰,等. 果蔬汁品质监测及货架期预测研究进展[J]. 食品科技,2021,46(4):21-29.
JIANG X Y,LIU X,BI J F,et al. Research progress of fruit and vegetable juice quality monitoring and shelf life prediction[J]. Food Science and Technology,2021,46(4):21-29.(in Chinese)

[24] JIMÉNEZ-GONZÁLEZ O,LÓPEZ-MALO A,GONZÁLEZ-PÉREZ J E,et al. Thermal and pH stability of *Justicia spicigera* (Mexican honeysuckle) pigments:application of mathematical probabilistic models to predict pigments stability[J]. Food Chemistry,Molecular Sciences,2023,6:100158.

[25] 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.

[26] CAI D B,LI X S,CHEN J L,et al. A comprehensive review on innovative and advanced stabilization approaches of anthocyanin by modifying structure and controlling environmental factors[J]. Food Chemistry,2022,366:130611.

[27] LI X S,YUAN K L,ZHANG Y L,et al. The promising stability of carboxylpyranocyanidin-3-O-glucoside during food processing and simulated digestion and its bioavailability research[J]. Journal of the Science of Food and Agriculture,2024,104(4):2372-2382.

[28] 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.
LI E H,JIAO X Y,WANG C G,et al. Degradation kinetics and stability of anthocyanins from blueberry[J]. Food Science,2018,39(5):1-7.(in Chinese)

[29] LI B,WANG L,BAI W B,et al. Modification and stabilization of anthocyanins[M]. Singapore:Springer Nature Singapore,2021:115-140.

[30] FENGER J A,ROUX H,ROBBINS R J,et al. The influence of phenolic acyl groups on the color of purple sweet potato anthocyanins and their metal complexes[J]. Dyes and Pigments,2021,185:108792.

（责任编辑:史润东东）