Doi:10.14067/j.cnki.1003-8981.2022.01.016 http: //qks.csuft.edu.cn

蓝靛果花色苷的分离纯化及抗氧化能力

李梦莎，周 琳，王 化，朱良玉，何丹娆，周丽萍
（黑龙江省科学院 自然与生态研究所，黑龙江 哈尔滨 150040）

摘 要：【目的】比较分析不同纯化方法对蓝靛果花色苷的提取得率及抗氧化能力的影响情况，以筛选出最佳的纯化工艺，为蓝靛果花色苷的深加工与高值化利用提供理论参考依据。【方法】以蓝靛果栽培品种‘蓝精灵’的成熟果实为研究对象，采用超声波辅助乙醇提取法制备其提取液后，采用色谱柱层析技术与静态吸附解析法，筛选能适用于其花色苷分离与纯化的固定相介质；再采用动态吸附和洗脱试验，对分离与纯化的工艺条件进行优化；然后分别测定纯化后各组分中花色苷的含量及其清除羟自由基和 DPPH 自由基能力与总抗氧化能力，并分析了花色苷的抗氧化能力与其纯度之间的相关性。【结果】1）筛选出的效果最优的大孔树脂为 XDA-7 型树脂，其达到吸附平衡和解析平衡的时间分别为 30 与 90 min，其吸附率与解析率分别达到 83.5% 和 85.3%；最适宜的洗脱体积为 3 BV，最适用的洗脱液是体积分数为 70% 的乙醇水溶液；通过纯化得到花色苷的 4 个组分，根据洗脱顺序将其分别命名为 L1、L2、L3、L4，将其粗提物命名为 L0。2）花色苷各组分的纯度由大到小依次为 L2 ＞ L3 ＞ L1 ＞ L4 ＞ L0；纯化后的蓝靛果花色苷各组分的总抗氧化能力由大到小依次为 L2 ＞ L3 ＞ L1 ＞ L4，其对羟自由基的清除能力由强至弱依次为 L1 ＞ L4 ＞ L3 ＞ L0，其对 DPPH 自由基的清除能力由强至弱依次为 L4 ＞ L2 ＞ L3 ＞ L1 ＞ L0。3）花色苷的纯度与其总抗氧化能力之间呈显著正相关；而与其清除羟自由基、DPPH 自由基的 IC_{50} 值之间均呈负相关，但其相关性均不显著（$P < 0.05$）。【结论】采用优化得到的纯化工艺提取花色苷，具有较高的提取率，且蓝靛果花色苷的纯度与其抗氧化能力之间呈现出正相关关系。优化得到的纯化工艺是一种可用于其深加工的较为理想的纯化工艺。

关键词：蓝靛果；花色苷；大孔树脂；纯化；体外抗氧化
中图分类号：S663；S609^{+}.2 **文献标志码：**A **文章编号：**1003—8981(2022)01—0142—08

Separation and purification and antioxidant activity of anthocyanin from *Lonicera caerulea*

LI Mengsha, ZHOU Lin, WANG Hua, ZHU Liangyu, HE Danrao, ZHOU Liping
（Institute of Nature and Ecology, Heilongjiang Academy of Sciences, Harbin 150040, Heilongjiang, China）

Abstract:【Objective】By comparing the effects of different purification methods on the extraction yield and antioxidant capacity of anthocyanins in *Lonicera edulis*, and screen the optimal purification technology in order to provide theoretical reference for the deep processing and high value utilization of anthocyanins in *L. edulis*.【Method】Taking the mature fruit of *L. edulis* cultivar as the research object, the extract was prepared by ultrasonic-assisted ethanol extraction method, and then the suitable separation and purification stationary phase medium was selected by column chromatography technology and static adsorption analysis; the recapture dynamic adsorption and elution test optimizes the separation and

收稿日期：2021-09-20
基金项目：国家“十三五”重点研发项目（2016YFC500304-07）；黑龙江省科学院青年创新基金项目（CXJQ2019ZR02；CXJQ2020ZR02）；黑龙江省自然科学基金联合引导项目（LH2019C078）；黑龙江省院所基本应用技术研究专项（ZNBZ2020ZR05）；黑龙江省科学院院基金国际合作重点项目（GH2021-ZR01）。
第一作者：李梦莎（lms19861004@163.com），副研究员，博士。 **通信作者：**周丽萍（zhoulipingnefu@ 163.com），副研究员，博士。
引文格式：李梦莎 , 周琳 , 王化 , 等 . 蓝靛果花色苷的分离纯化及抗氧化能力 [J]. 经济林研究 ,2022,40(1):142-149,177.
LI M S, ZHOU L, WANG H, et al. Separation and purification and antioxidant activity of anthocyanin from *Lonicera caerulea*[J]. Non-wood Forest Research,2022,40(1):142-149,177.

(C)1994-2023 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

purification conditions. The anthocyanin content, hydroxyl free radical scavenging ability, DPPH free radical scavenging ability and total reducing ability in the purified components were determined respectively and analyzed the correlation between the antioxidant capacity of anthocyanins and their purity.【Result】1) The most effective macroporous resin was XDA-7, which reached adsorption equilibrium at 30 minutes; reached analytical equilibrium at 90 minutes; and its adsorption rate and resolution rate are 83.5% and 85.3%, respectively; the best elution volume was 3 BV, and the best elution liquid integral was 70% ethanol aqueous solution. Optimized through purification conditions, four anthocyanin components were obtained, which were named as L1, L2, L3 and L4 according to the elution order, and the crude extract was named as L0. 2) In terms of the antioxidant effect of purified *L. edulis* anthocyanins, the total antioxidant capacity of each component was L2 > L3 > L1 > L4 > L0; the total antioxidant capacity of the purified anthocyanins from *L. indigo* was L2 > L3 > L1 > L4, and the scavenging ability to hydroxyl radicals was L1 > L4 > L3 > L0, as well as its scavenging ability to DPPH free radicals was L4 > L2 > L3 > L1 > L0. 3) There was a significant positive correlation between the purity of anthocyanins and total antioxidant capacity. There was negative correlation between the purity of anthocyanins and IC_{50} value of scavenging hydroxyl radical and DPPH radical, but the correlation was not significant ($P < 0.05$).【Conclusion】The optimized purification process has a higher extraction rate of anthocyanins, and there is a positive correlation between anthocyanin purity and antioxidant capacity of *L. edulis*. It is an ideal method for further deep processing and purification.

Keywords: *Lonicera caerulea*; anthocyanin; macroporous; resin purifying; antioxidant activity

蓝靛果 *Lonicera caerulea* L. 是忍冬科忍冬属蓝果忍冬的变种，为落叶灌木，又称为羊奶子果、山茄子果、黑瞎子果等 [1-3]。蓝靛果浆果（新鲜或者冷藏）被审定为新型食品。蓝靛果具有能抵抗寒冷、虫害和土壤酸化的特点。其在波兰、斯洛文尼亚、捷克共和国和斯洛伐克等欧洲国家和中国的东北地区、内蒙古、河北、山西、宁夏都有广泛的种植 [4-6]。近几年，有关蓝靛果的研究内容主要集中于抗癌、抗炎、抗氧化活性等方面 [5-8]。蓝靛果的这些保健功用与其果实中含有的花色苷类、黄酮类、多酚类等植物化学成分有关，而蓝靛果中植物化合物的含量和功能特性与品种、基因型和采收地点均密切相关 [9-10]。

目前，如何从食物源中寻找抗氧化活性强的物质已成为相关研究的重要主题，因为含有抗氧化剂的浆果对癌症、肿瘤和炎症性疾病具有很强的抑制功效 [11-13]。而有关研究结果表明，蓝靛果浆果是自由基清除剂的优质来源物；Halvorsen 等 [14] 研究认为，黑莓、草莓、覆盆子和蓝莓都是抗氧化能力极强的浆果；Rupasinghe 等 [15] 在一项体外试验中证明，蓝靛果的抗氧化活性通常比草莓、蓝莓或黑莓的更强。在酚类化合物中，花色苷作为抗氧化剂，能够有效减轻紫外线辐射、糖尿病和神经退行性疾病带来的负面影响，且对肝脏和心脏具有保护作用。此外，Zhao 等 [16] 的研究结果表明，抗氧化活性与生物活性化合物的提取方式密切相关，甲醇提取物比乙酸乙酯或二氯甲烷提取物具有更强的抗氧化活性。目前，国内外关于蓝莓、笃斯越桔、蔓越莓等浆果中的花色苷的研究报道很多，但是，关于蓝靛果中花色苷抗氧化活性的研究报道却较少 [17-18]。‘蓝精灵’*Lonicera caerulea* 是新近培育出的蓝靛果品种，近几年其栽培面积不断扩大，已形成规模化的生产格局，对其分离纯化及生理功能展开研究，可为花色苷产品的深加工与高值化利用提供理论参考依据，以推动其产业的快速发展 [19-22]。为此，本研究以蓝靛果为原料，对色谱柱层析分离纯化蓝靛果花色苷的工艺条件进行研究，并对分离纯化前后不同花色苷组分抗氧化活性进行比较分析，以期获得纯度较高、抗氧化活性较强的花色苷类化合物，为蓝靛果资源的进一步开发利用提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 材 料

供试原料为采摘于哈尔滨市宾县河西村浩北蓝莓基地的蓝靛果栽培品种‘蓝精灵’的成熟果实。

1.2 方 法

1.2.1 样品的制备

参照有关文献 [23] 中介绍的方法制备花色苷的提取物，以体积分数为 70% 的乙醇作为提取剂，采用超声辅助的方法进行提取。

1.2.2 花色苷含量的测定

采用高效液相色谱法测定提取物和纯化后蓝靛果各组分中的花色苷，以矢车菊 -3-O 葡萄糖苷

(C)1994-2023 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

为标准品，建立标准曲线进行测定。

1.2.3 固定相介质的选择

从 XDA 系列和 LX 系列树脂中选用适用于多酚类物质分离的 XDA-7、XDA-4、LX-28 和 LX-17 这 4 种类型的树脂，各种树脂的物理参数详见表 1，并对各种树脂进行活化处理。

表 1 4 种类型大孔吸附树脂的物理参数

Table 1 Physical parameters of four types of macroporous resins

树脂型号 Resin model	粒度 Granularity /mm	比表面积 Surface area /(m·g^{-1})	形状及颜色 Appearance	含水量 Water content /%	湿视密度 Wet apparent density /(g·mL^{-1})	用途 Purpose
XDA-7	0.315 ～ 1.250	≥ 600	乳白色至浅黄色颗粒	60 ～ 70	0.65 ～ 0.75	多用于脱色等
XDA-4	0.315 ～ 1.250	≥ 500	白色球状固体颗粒	55 ～ 65	0.62 ～ 0.72	多用于制药行业
LX-28	0.315 ～ 1.250	650 ～ 700	乳白色至浅黄色颗粒	65 ～ 75	0.68 ～ 0.75	适用于黄酮类物质
LX-17	0.315 ～ 1.250	≥ 400	乳白色至粉色颗粒	60 ～ 75	0.65 ～ 0.75	适用于多酚类物质

1.2.4 静态吸附与解析试验设计

分别称取已活化好的 4 种树脂，每种树脂各 10.00 g，将其分别置于 150 mL 的具塞锥形瓶中，然后分别加入在 525 nm 处其吸光值（A）为 1.000 的蓝靛果花色苷样品液 100 mL。将锥形瓶放入恒温振荡器中，于室温、转速为 100 r·min^{-1} 的条件下振荡吸附。在振荡开始后，每间隔 0.5 h 量取 2.5 mL 的花色苷样品液，在 525 nm 下测定吸光值（A_0），直至树脂颗粒达到吸附饱和状态、加入的蓝靛果花色苷提取溶液在 525 nm 处的吸光值（A_1）保持不再下降为止。然后滤除瓶中花色苷液体，再加入 70% 的乙醇水溶液 100 mL 进行解析试验；在解析开始后，每间隔 0.5 h 量取花色苷样品液 2.5 mL，在 525 nm 下测定吸光值（A_2），直至吸光值无显著增加为止，这才完成静态解析试验。吸附率（adsorption rate，R_a）和解析率（resolution rate，R_r）的计算公式分别如下：

$$R_a(\%)=(A_0V_0-A_1V_1)/A_0V_0\times 100\%; \quad (1)$$

$$R_r(\%)=A_2V_2/(A_0V_0-A_1V_1)\times 100\%。 \quad (2)$$

上列 2 个公式中：R_a 表示吸附率，R_r 表示解析率；A_0 表示花色苷原液的吸光值，A_1 表示吸附后滤液的吸光值，A_2 表示解析后滤液吸光值；V_0 表示花色苷原液的体积，V_1 表示吸附后滤液的体积，V_2 表示解析后滤液的体积。

1.2.5 动态洗脱试验设计

将选出的比较好的树脂进行动态洗脱试验。采用湿法装柱，柱高 30 cm，直径 1 cm，将树脂装至 20 cm 高处后静置 24 h 进行平衡，然后加入质量浓度为 25 μg·mL^{-1} 的花色苷提取液 3.0 mL，静止吸附 2 h 后，先用 3 BV 的蒸馏水洗脱，然后用 3 BV 的 70% 乙醇洗脱，收集乙醇洗脱液，收集 3 mL 为 1 管，在 525 nm 处测定吸光值，绘制动态洗脱曲线。

1.2.6 流动相优化试验设计

参照前述装柱方法，以乙醇水溶液为洗脱剂，从其浓度为 40% 开始洗脱，以 10% 为一个浓度梯度值，待其浓度为 90% 时收集洗脱液，研究不同浓度乙醇的洗脱效果。

1.2.7 抗氧化指标的测定方法

参照试剂盒上的方法和步骤测定总抗氧化能力；参照有关文献 [24] 中介绍的方法测定蓝靛果花色苷对羟自由基的清除能力；按照包怡红等 [25] 采用的方法测定蓝靛果花色苷对 DPPH 自由基的清除能力。将纯化前后的样品溶液稀释至相同浓度进行测定。

1.2.8 数据分析

使用 IBM SPSS Statistics（Version 19）软件进行数据统计与分析，使用 Excel 软件进行分析与作图。

2 结果与分析

2.1 静态吸附和解析结果

4 种类型大孔树脂对蓝靛果花色苷的吸附率与解析率的测定结果见表 2。由表 2 可知，XDA-7 与 LX-28 型大孔树脂对蓝靛果花色苷的吸附率均较高，分别达到 83.52% 和 76.31%；XDA-7 与 LX-28 型大孔树脂对蓝靛果花色苷的解析率也都较高，都可达到 75% 以上。XDA-7 型大孔树脂对蓝靛果花色苷的吸附率、解析率分别为 83.52%、85.35%，均为最高值，且其差异均有统计学意义（$P < 0.01$）。这一测定结果说明，XDA-7 型大孔树脂为纯化蓝靛果的最佳树脂。

2.2 动态洗脱结果

花色苷的静态吸附曲线如图 1 所示。由图 1 可知，XDA-7 型大孔树脂在吸附 30 min 后基本达到吸附平衡。花色苷的解析曲线如图 2 所示。由图 2 可知，乙醇溶液对 XDA-7 型介质有较好的解

(C)1994-2023 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

析能力，解析 90 min 基本达到解析平衡。绘制的花色苷动态洗脱曲线如图 3 所示。由图 3 可知，以 70% 的乙醇为洗脱剂进行洗脱，当洗脱体积为 15 mL 时，可以获得较纯的蓝靛果花色苷解析液；而当洗脱液体积大于 15 mL 后，花色苷的质量浓度开始下降。这一测定结果说明，15 mL 为最适的洗脱液体积。

表 2　4 种类型大孔树脂的吸附率与解析率
Table 2　Adsorption rate and desorption rate of four types of macroporous resin　%

树脂型号 Resin model	吸附率 Adsorption rate	解析率 Desorption rate
XDA-7	83.52±0.22	85.35±0.60
XDA-4	56.63±0.54	55.33±0.83
LX-28	76.31±0.78	77.15±0.52
LX-17	62.13±0.39	29.42±0.88

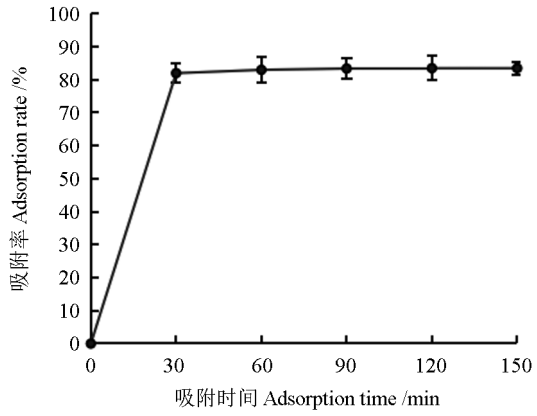

图 1　花色苷的静态吸附曲线
Fig. 1　Static adsorption curve of the anthocyanin

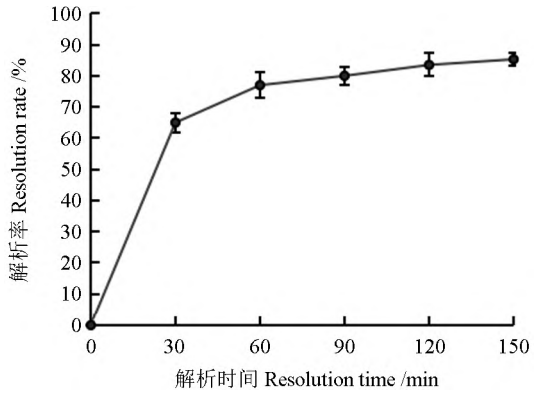

图 2　花色苷的解析曲线
Fig. 2　Analytical curve of anthocyanin

2.3　流动相介质优化研究结果

分别选取 40%、50%、60%、70%、80% 和 90% 的乙醇水溶液作为流动相介质，对已饱和吸附花色苷的 XDA-7 型大孔树脂介质进行解析，计算解析率，结果如图 4 所示。由图 4 可知，当乙醇的体积分数达到 70% 时，花色苷的解析率已达到 82.5%；再继续增加乙醇的体积分数，其解析率与前者的差异并不大。因此，结合经济成本分析确定，最佳流动相介质为 70% 的乙醇水溶液。

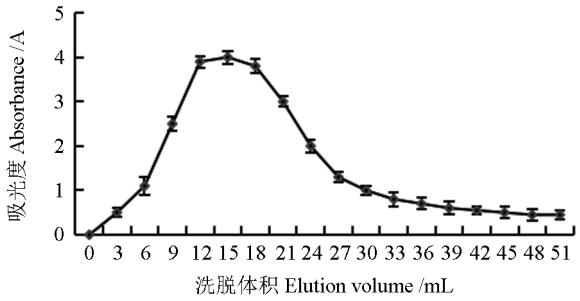

图 3　固定相介质对花色苷的动态洗脱图
Fig. 3　Dynamic elution figure of the stationary phase medium for the anthocyanin

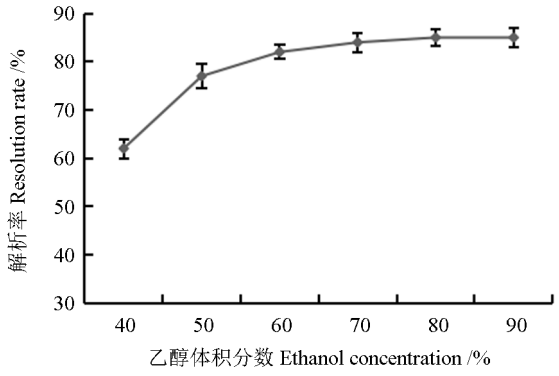

图 4　流动相介质的洗脱效果
Fig. 4　Elution effect of mobile phase medium

2.4　纯化后花色苷的纯度分析结果

经过优化纯化条件对蓝靛果花色苷粗提物进行洗脱与纯化，结果得到了蓝靛果花色苷的 4 个组分，根据洗脱顺序，将其分别命名为 L1、L2、L3、L4，而将其粗提物命名为 L0，花色苷各组分的纯度如图 5 所示。由图 5 可知，花色苷 4 个组分的纯度均在 20% 以上，其中，L2 组分的纯度最高，达到了（45.91%±0.32%），与粗提物 L0 的纯度（7.64%±0.26%）相比，L2 组分的纯度提高了 6 倍。各组分的纯度由大到小依次为 L2 ＞ L3 ＞ L1 ＞ L4 ＞ L0。

2.5　蓝靛果花色苷体外抗氧化能力的测定结果

2.5.1　蓝靛果花色苷总抗氧化能力

蓝靛果中含有多种生物活性物质，其有较强的体外抗氧化活性。一般情况下，总抗氧化能力表示待测样品中所有抗氧化剂的抗氧化能力之和。蓝靛果花色苷果实中的总抗氧化能力的测定结果如图 6 所示。由图 6 可知，纯化后蓝靛果中花色苷各组分的总抗氧化能力均高于其粗提物的，说

(C)1994-2023 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net

明纯化有利于增强待测样品的抗氧化能力。抗氧化剂常分为阻止型抗氧化剂和断链型抗氧化剂，植物体内存在的花色苷类物质一般属于断链型抗氧化剂，通过释放活泼氢与自由基或氢离子或电子结合，转化为稳定的非自由基产物。纯化后，由于极性的不同，除去了花色苷组分中的糖、蛋白质等成分，使得花色苷等抗氧化组分的含量有所增加，从而增强了其抗氧化能力。纯化后花色苷不同组分的总抗氧化能力不同，这可能与不同组分花色苷的结构不同有直接关系。花色苷 4 种组分的纯化产物的总抗氧化能力随着花色苷质量浓度的增大而增强。其中，花色苷 L2 组分的总抗氧化能力最强，当花色苷的质量浓度达到 0.1 mg·mL^{-1} 时，其总抗氧化能力为 5.77 U·mL^{-1}，花色苷 L3、L1、L4 组分的总抗氧化能力依次次之。

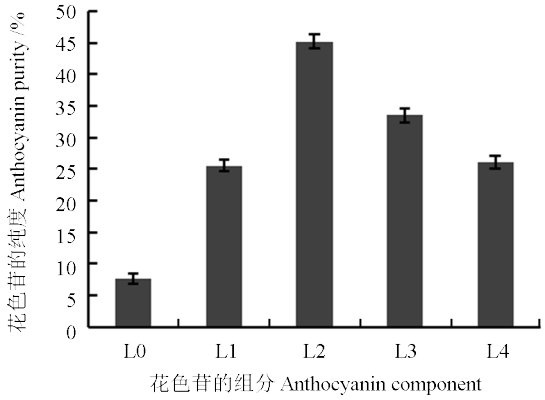

图 5 花色苷不同组分的纯度

Fig. 5 The purity of anthocyanins in different components

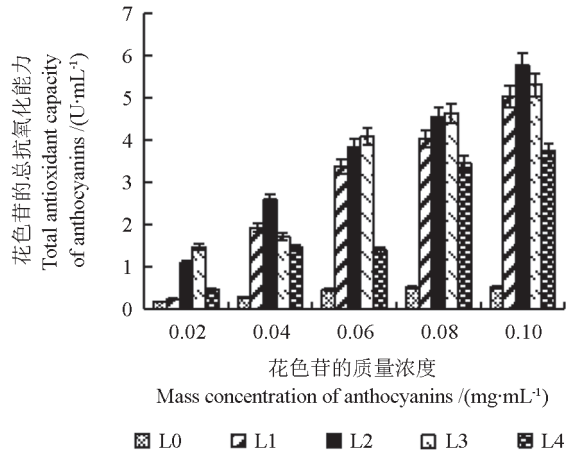

图 6 蓝靛果花色苷各组分的总抗氧化能力

Fig. 6 Total antioxidant capacity of each component of *L. caerulea* anthocyanins

2.5.2 蓝靛果花色苷清除羟自由基的能力

蓝靛果花色苷各组分清除羟自由基能力的检测结果如图 7 所示。由图 7 可知，随着蓝靛果花色苷各纯化组分质量浓度的增大，花色苷大部分组分清除羟自由基的能力均增强。这一结果说明，蓝靛果花色苷各纯化组分的质量浓度与其清除羟自由基能力之间呈现量效关系。清除羟自由基能力最强的是 L2 组分，当其质量浓度为 0.8 mg·mL^{-1} 时，其对羟自由基的清除率达到 93%；其次是 L1 组分的，其清除率达到 91%；L3 和 L4 组分对羟自由基的清除率分别为 80% 与 76%。

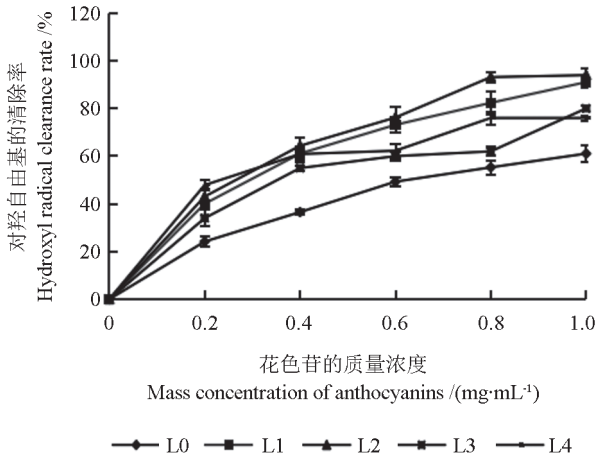

图 7 蓝靛果花色苷各组分清除羟自由基能力的比较

Fig. 7 Comparison of scavenging ability of anthocyanins from *L. caerulea* to hydroxyl free radicals

2.5.3 蓝靛果花色苷清除 DPPH 自由基的能力

蓝靛果花色苷清除 DPPH 自由基能力的测定结果如图 8 所示。由图 8 可知，当花色苷的质量浓度为 0.2 ～ 0.8 mg·mL^{-1} 时，蓝靛果花色苷清除 DPPH 自由基的能力随其质量浓度的增加而增强。这一结果说明，花色苷的质量浓度与其清除羟自由基能力之间呈现量效关系。而当其质量浓度大于 0.8 mg·mL^{-1} 时，花色苷 L3、L4 组分清除 DPPH 自由基的能力反而减弱。这一结果说明，花色苷的质量浓度与其清除羟自由基能力之间存在一个动态平衡的状态和量效的关系。

2.5.4 蓝靛果花色苷不同组分清除自由基能力的比较分析

半数抑制浓度即 IC_{50} 值可以反映抗氧化剂对自由基的清除能力，IC_{50} 值越小，表明抗氧化剂的抗氧化能力越强。计算 IC_{50} 值（指自由基抑制率达到 50% 时花色苷的质量浓度），比较分析不同抗氧化剂的 IC_{50} 值的大小，有利于比较分析其抗氧化能力的强弱。蓝靛果花色苷不同组分清除羟自由基、DPPH 自由基的 IC_{50} 值的测定结果见表 3。由表 3 可知，蓝靛果花色苷 L2 组分清除羟自由基的 IC_{50} 值最小，为 0.358 mg·mL^{-1}；而其粗提物 L0 清除羟自由基的 IC_{50} 值最大，为 0.715 mg·mL^{-1}；不同组分清除羟自由基的 IC_{50} 值

(C)1994-2023 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

从小到大的顺序为 L2 ＜ L1 ＜ L4 ＜ L3 ＜ L0。蓝靛果花色苷 L4 组分清除 DPPH 自由基的 IC_{50} 值最小，为 0.510 mg·mL^{-1}；而其粗提物 L0 清除 DPPH 自由基的 IC_{50} 值最大，为 0.726 mg·mL^{-1}；不同组分清除 DPPH 自由基的 IC_{50} 值从小到大的顺序为 L4 ＜ L2 ＜ L3 ＜ L1 ＜ L0。

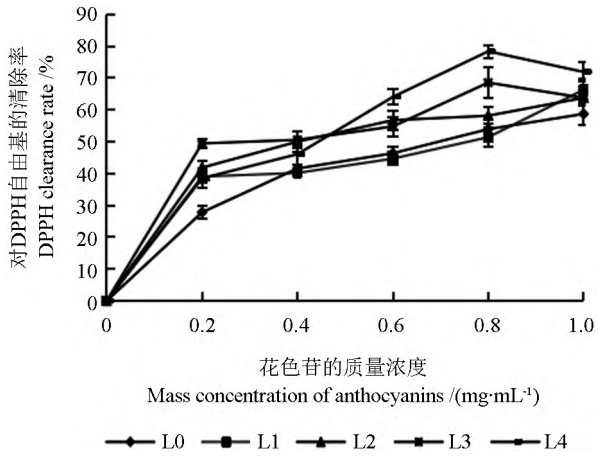

图 8　蓝靛果花色苷不同组分清除 DPPH 自由基能力的比较
Fig. 8　Comparison of scavenging ability of anthocyanins from *L. caerulea* to DPPH

表 3　蓝靛果花色苷不同组分清除羟自由基、DPPH 自由基的 IC_{50} 值
Table 3　IC_{50} value of hydroxyl free radicals and DPPH scavenging activity by anthocyanins in *L. caerulea*

mg·mL^{-1}

蓝靛果花色苷的组分 Anthocyanin components of *L. caerulea*	清除羟自由基的 IC_{50} 值 IC_{50} value of hydroxyl free radicals	清除 DPPH 自由基的 IC_{50} 值 IC_{50} value of DPPH
L0	0.715	0.726
L1	0.402	0.688
L2	0.358	0.531
L3	0.536	0.547
L4	0.449	0.510

2.6　花色苷的纯度与其体外抗氧化能力间的相关性分析

花色苷的纯度与其体外抗氧化能力间的相关系数见表 3。由表 3 可知，花色苷的纯度与其总抗氧化能力间呈显著正相关；而与其清除羟自由基、DPPH 自由基的 IC_{50} 值之间均呈负相关，但其相关性均不显著（P ＜ 0.05）。

表 3　花色苷的纯度与其总抗氧化能力、清除羟自由基和 DPPH 自由基能力间的相关性分析结果
Table 3　Correlation analysis between anthocyanin purity and total antioxidant capacity, scavenging ability of hydroxyl radicals and DPPH

分析项目 Analysis item	总抗氧化能力 Total antioxidant capacity	清除羟自由基的 IC_{50} 值 IC_{50} value of hydroxyl free radicals	清除 DPPH 自由基的 IC_{50} 值 IC_{50} value of DPPH
花色苷的纯度与其各抗氧化指标间的相关系数 Correlation coefficient between anthocyanin purity and various antioxidant indexes	0.932*	-0.816	-0.754
皮尔森相关性系数 (P ＜ 0.05) Pearson correlation coefficient (P ＜ 0.05)	0.021	0.092	0.141

蓝靛果花色苷的纯度与其各抗氧化指标之间的相关性分析结果如图 9 所示。因为羟自由基清除率与 IC_{50} 值之间呈负相关关系，因此可以得出，随着花色苷纯度的逐渐增加，其清除自由基的能力逐渐降低。花色苷的总抗氧化能力与其含量的线性关系方程中的 R^2 值最高，为 0.868，表明两者间具有一定的相关性，这说明花色苷的总抗氧化能力随着花色苷纯度的增加而增加，因此花色苷的纯度可以用作花色苷总抗氧化能力评价的参考指标。

3　结论与讨论

本研究采用大孔吸附树脂提取并纯化蓝靛果中的花色苷，根据 4 种大孔树脂的含水率、吸附率、解析率的测定结果，筛选出的效果最优的大孔树脂为 XDA-7 型树脂；动态吸附和解析试验结果均表明，XDA-7 型树脂在吸附 30 min 时达到平衡状态；XDA-7 型树脂在解析 90 min 时达到平衡状态；3 BV 为 XDA-7 型树脂最适的洗脱体积。纯化后蓝靛果各组分的抗氧化活性均优于其纯化前的；纯化后蓝靛果各组分的总抗氧化能力随着其质量浓度的增大均增强，其中，L2 组分的最强，且其总抗氧化能力与其质量浓度之间呈现出良好的线性关系；清除羟自由基能力最强的组分是 L2 组分，当其质量浓度达到 0.8 mg·mL^{-1} 时，其对羟自由基的清除率达到 93%；而其清除 DPPH 自由基的 IC_{50} 值，L2 组分的为 0.531 mg·mL^{-1}，L4 组分的为 0.510 mg·mL^{-1}，前者略低于后者。研究结果表明，纯化可以大大增强花色苷的抗氧化能力，其中 L2 组分的综合抗氧化能力最强，这一结果可为后续的深入研究提供参考依据。

花色苷的纯化，主要采用大孔树脂柱层析法

(C)1994-2023 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net

进行。近几年，常用的蓝浆果花色苷纯化树脂类型分别有 X-5 与 AB-8 型。本研究筛选出了一种可适用于花色苷分离与纯化的 XDA-7 新型树脂，其吸附率与解析率分别达到 83.5% 和 85.3%。其吸附率与解析率均高的原因可能是，花色苷分子结构中含有极性糖基和非极性母核，总体显示出弱极性，而 XDA-7 型树脂亦为弱极性，因此其吸附率与解析率均高。

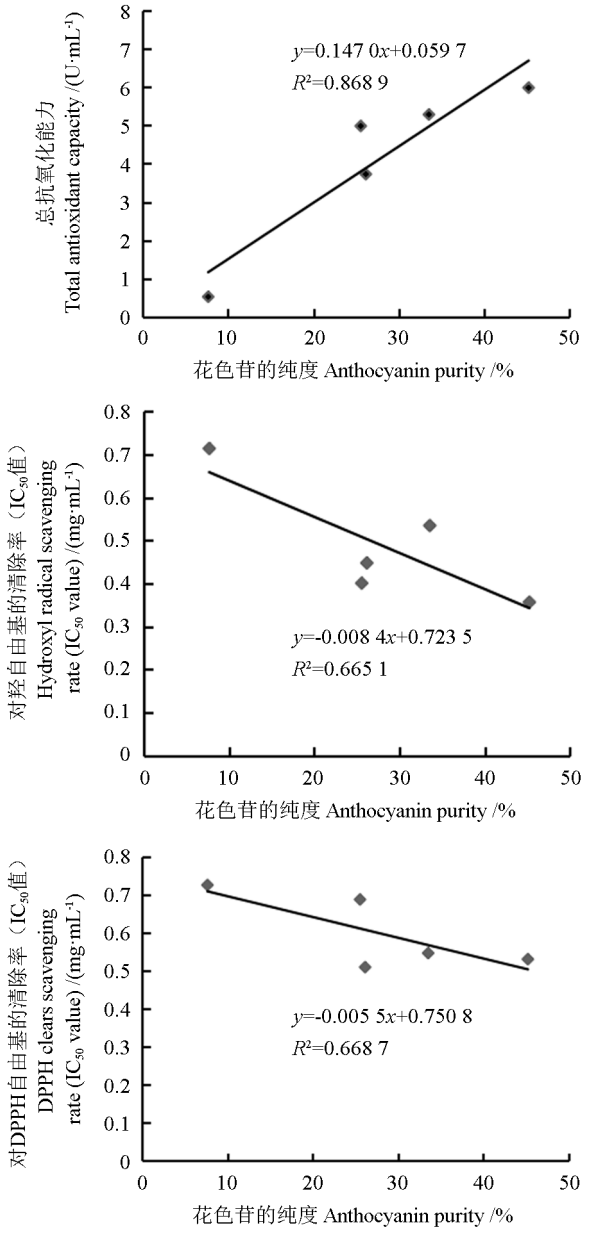

图 9 花色苷的纯度与各抗氧化指标之间的相关性分析结果
Fig. 9 Correlation between anthocyanin purity and each antioxidant indexes

花色苷属于生物类黄酮物质，而黄酮物质最主要的生理活性功能是自由基清除能力和抗氧化能力。因此，花色苷整体纯度越高，则有可能具有越高的抗氧化能力。本研究采用目前最常用的总抗氧化能力、清除 DPPH 自由基能力、清除羟自由基能力等 3 种评价指标，分析评价了纯化后不同组分的抗氧化活性，结果表明，花色苷纯化产物的质量浓度与其抗氧化能力之间呈现正相关性，这一分析结果证明了纯化产物中的物质大部分为具有抗氧化活性的黄酮类物质。此外，纯化产物的纯度与其抗氧化活性之间也呈正相关，说明以这 3 种指标评价其抗氧化能力具有协同性与相似性，也进一步验证了结果的可靠性，这与有关研究者对其他小浆果 [26] 的研究结果一致。据此可根据黄酮含量的高低初步判定其种质中抗氧化活性的强弱。但是，纯化产物的纯度虽然与其清除羟自由基、DPPH 自由基的 IC_{50} 值之间均呈现负相关性，可其相关性均不显著。因此说明，除纯度外，花色苷的结构对于其抗氧化能力同样具有决定作用，所以如何进一步鉴定纯化产物中花色苷的结构是后续相关研究中亟待解决的问题。胥萍等 [27] 的研究结果表明，D101 型大孔树脂对血橙中的花色苷具有良好的吸附与解析能力，其对 DPPH 自由基和 ABTS 自由基都有一定的清除作用，且其作用随其质量浓度的增加而增强；包智影等 [28] 研究了以微生物法提取黄精多糖的工艺条件。这些研究结果与本研究结果均相似。

综上所述，采用 XDA-7 型树脂纯化蓝靛果提取物，可以得到较高纯度的花色苷，同时能获得具有抗氧化活性强的花色苷组分和生物活性物质。这一研究结果可为我们从经济林中获取高价值的除木材以外的生物产品及经济林产品的高值化利用 [29] 奠定理论基础。但是，本研究仅采用初步纯化方法进行试验，在后续的相关研究中，可进一步对筛选出的 L2 组分进行二次纯化与结构鉴定，以获得纯度更高、品质更优的花色苷产品。

参考文献：

[1] 唐敬思 , 王红梅 , 佟锰 , 等 . 蓝靛果忍冬花色苷的研究进展 [J]. 食品研究与开发 ,2020,41(16):220-224.
TANG J S, WANG H M, TONG M, et al. Research progress on anthocyanins of *Lonicera caerulea* L.[J]. Food Research and Development,2020,41(16):220-224.

[2] 孙晶 .3 个蓝靛果品种果实生物活性物质含量及抗氧化性的比较 [J]. 经济林研究 ,2019,37(3):95-100.
SUN J. Comparison of bioactive component contents and antioxidant activities in three varieties of *Lonicera caerulea* fruits[J]. Non-wood Forest Research,2019,37(3):95-100.

[3] 关莹 , 霍俊伟 , 丁健 . 蓝靛果忍冬酿酒工艺及稳定性研究 [J]. 食品工业科技 ,2014,35(2):206-209.
GUAN Y, HUO J W, DING J. Study on brewing technology and stability of blue honeysuckle[J]. Science and Technology of Food

(C)1994-2023 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

Industry,2014,35(2):206-209.

[4] 霍俊伟 , 杨国慧 , 睢薇 , 等 . 蓝靛果忍冬 (*Lonicera caerulea*) 种质资源研究进展 [J]. 园艺学报 ,2005,32(1):159-164.
HUO J W, YANG G H, SUI W, et al. Review of study on germplasm resources of blue honeysuckle (*Lonicera caerulea* L.) [J]. Acta Horticulturae Sinica,2005,32(1):159-164.

[5] 周丽萍 . 蓓蕾蓝靛果花色苷分离纯化及抗肿瘤作用研究 [D]. 哈尔滨 : 东北林业大学 ,2017.
ZHOU L P. Isolation, purification and antitumor activity of anthocyanins from *Lonicera caerulea* 'Beilei' fruit[D]. Haerbin: Northeast Forestry University,2017.

[6] 高洪娜 , 张武杰 , 刘凤芝 , 等 . 蓝靛果忍冬引种栽培的研究 [J]. 中国林副特产 ,2019(5):14-20.
GAO H N, ZHANG W J, LIU F Z, et al. Study on introduction and cultivation of *Lonicera caerulea* L.[J]. Forest By-Product and Speciality in China,2019(5):14-20.

[7] ZHOU L P, WANG H, YU J J, et al. Anti-tumor properties of anthocyanins from *Lonicera caerulea* 'Beilei' fruit on human hepatocellular carcinoma: *in vitro* and *in vivo* study[J]. Biomedicine & Pharmacotherapy,2018,104:520-529.

[8] 李仲叶 , 韩豪 , 江海 , 等 . 花色苷抗氧化活性的研究现状及展望 [J]. 食品工业 ,2019,40(8):238-243.
LI Z Y, HAN H, JIANG H, et al. Research status and prospects of the antioxidant activity of anthocyanins[J]. The Food Industry,2019,40(8):238-243.

[9] 李凤凤 , 张秀玲 , 柳晓晨 , 等 . 响应面优化微波辅助提取蓝靛果花色苷工艺及其抗氧化活性 [J]. 食品工业科技 ,2019,40(2):198-214.
LI F F, ZHANG X L, LIU X C, et al. Optimization of microwave-assisted extraction of anthocyanins from *Lonicera edulis* and its antioxidant activity by response surface methodology[J]. Science and Technology of Food Industry,2019,40(2):198-214.

[10] 李圣桡 , 李若萌 , 陈博朴 , 等 . 蓝靛果的营养价值与加工技术研究进展 [J]. 农产品加工 ,2020(1):68-73.
LI S R, LI R M, CHEN B P, et al. Research progress on nutritional value and processing technology of blue rime fruit[J]. Farm Products Processing,2020(1):68-73.

[11] 郭红辉 , 凌文华 . 花色苷类植物化学物对心血管系统的保护作用 [J]. 生命科学 ,2015,27(4):495-503.
GUO H H, LING W H. Protective role of anthocyanins on cardiovascular diseases[J]. Chinese Bulletin of Life Sciences,2015,27(4):495-503.

[12] 赖灯妮 , 江玉琴 , 田艳 , 等 . 果蔬中的花色苷及其防治 2 型糖尿病作用机制研究进展 [J]. 食品与机械 ,2018,34(12):172-177.
LAI D N, JIANG Y Q, TIAN Y, et al. Research progress on the mechanism of dietary anthocyanins on preventing and treating type 2 diabetes mellitus[J]. Food & Machinery,2018,34(12):172-177.

[13] 郭雪琦 , 吴涛 , 刘锐 , 等 . 花色苷对高脂膳食诱导肥胖的干预作用研究进展 [J]. 食品科学 ,2016,37(23):267-272.
GUO X Q, WU T, LIU R, et al. Progress in research on the effect of anthocyanin intervention on obesity induced by high-fat diet[J]. Food Science,2016,37(23):267-272.

[14] HALVORSEN B L, CARLSEN M H, PHILIPS K M, et al. Content of redox-active compounds (ie, antioxidants) in foods consumed in the United States[J]. American Journal of Clinical Nutrition,2006,84:95-135.

[15] RUPASINGHE H P V, YU L J, BHULLAR K S, et al. Short communication: haskap (*Lonicera caerulea*): A new berry crop with high antioxidant capacity[J]. Canadian Journal of Plant Science,2012,92:1311-1317.

[16] ZHAO L, LI S, ZHAO L, et al. Antioxidant activities and major bioactive components of consecutive extracts from blue honeysuckle (*Lonicera caerulea* L.) cultivated in China[J]. Journal of Food Biochemistry,2015,39:653-662.

[17] 罗晓玲 , 徐嘉红 , 杨武斌 , 等 . 蓝莓花色苷抗氧化功能及稳定性研究进展 [J]. 食品工业科技 ,2018,39(4):312-317.
LUO X L, XU J H, YANG W B, et al. Research progress in antioxidant function and stability of blueberry anthocyanins[J]. Science and Technology of Food Industry,2018,39(4):312-317.

[18] 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.
ZHOU P, ZHENG J. Modification of anthocyanins for extended application: a review[J]. Food Science,2021,42(3):346-354.

[19] 韩春然 , 宋晨鑫 , 马蕊 . 响应面法优化蓝靛果酒低温二氧化碳浸渍工艺 [J]. 食品研究与开发 ,2021,42(1):117-123.
HAN C R, SONG C X, MA R. Response surface methodology to optimize the low-temperature carbon dioxide impregnation process of *Lonicera caerulea* dry wine[J]. Food Research and Development,2021,42(1):117-123.

[20] 蒋一苇 , 郭娜 , 刘志国 , 等 . 蓝靛果籽油提取工艺优化及其脂肪酸组成分析 [J]. 林产化学与工业 ,2020,40(6):30-36.
JIANG Y W, GUO N, LIU Z G, et al. Optimization of extraction technology of blue honeysuckle seed oil and analysis of its fatty acid composition[J]. Chemistry and Industry of Forest Products,2020,40(6):30-36.

[21] 周丽萍 , 何丹娆 , 李梦莎 , 等 . 笃斯越桔活性物质功能研究进展 [J]. 国土与自然资源研究 , 2019(6):77-79.
ZHOU L P, HE D R, LI M S, et al. Research progress on the function of active substances in *Vaccinium uliginosum*[J]. Territory & Natural Resources Study,2019(6):77-79.

[22] 王璐 , 王振宇 , 李小雨 . 花色苷的分离鉴定及生物活性综述 [J]. 食品工业科技 ,2012,33(3):395-399.
WANG L, WANG Z Y, LI X Y. Review on the isolation and identification of anthocyanin and its bioactivities[J]. Science and Technology of Food Industry,2012,33(3):395-399.

[23] 周丽萍 , 王化 , 何丹娆 , 等 . 超声波辅助逆流提取蓓蕾蓝靛果花色苷工艺 [J]. 北京林业大学学报 ,2017,39(9):119-125.
ZHOU L P, WANG H, HE D R, et al. Extraction technology of anthocyanin from *Lonicera caerulea* 'Beilei' fruit by ultrasonic-assisted countercurrent extraction[J]. Journal of Beijing Forestry University,2017,39(9):119-125.

[24] 刘敬华 , 王振宇 .pH 试差法测定蓝靛果花色苷及大孔树脂纯化的研究 [J]. 中国林副特产 ,2012(5):28-30.

（下转第 177 页）

(C)1994-2023 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

[23] 刘俊涛 , 王瑞辉 , 沈燕 , 等 . 千年桐盛果期优良单株综合评价选择 [J]. 中南林业科技大学学报 ,2020,40(6):53-62.
LIU J T, WANG R H, SHEN Y, et al. Comprehensive evaluation and selection of excellent individual plants in flourishing fruit period of *Vernicia montana*[J]. Journal of Central South University of Forestry & Technology,2020,40(6):53-62.

[24] 刘青茹 , 王彬 , 周春江 , 等 . 桑叶理化成分及其加工技术研究进展 [J]. 农产品加工 ,2017(12):48-51,53.
LIU Q R, WANG B, ZHOU C J, et al. Research progress on the components and processing technology of mulberry leaves[J]. Farm Products Processing,2017(12):48-51,53.

[25] 鲁慧 , 罗依扎·瓦哈甫 , 李层层 , 等 . 新疆桑叶生物活性成分种属与季节差异性研究 [J]. 食品科技 ,2016,41(2):65-69.
LU H, LUOYIZHA W, LI C C, et al. Differences of species and seasonal on bioactive components of the Xinjiang mulberry leaves[J]. Food Science and Technology,2016,41(2):65-69.

[26] 李有贵 , 储一宁 , 钟石 , 等 .59 份野生桑桑叶中的 DNJ 含量及粗提物对 α- 糖苷酶的抑制活性 [J]. 蚕业科学 ,2010,36(5):729-737.
LI Y G, CHU Y N, ZHONG S, et al. DNJ contents in leaves of 59 wild mulberry species and inhibitive activities of the leaf crude extract to α-Glycosidase[J]. Science of Sericulture, 2010,36(5):729-737.

[27] 杜庆鑫 , 魏艳秀 , 刘攀峰 , 等 . 杜仲雄花主要活性成分含量的多样性 [J]. 林业科学 ,2017,53(2):35-43.
DU Q X, WEI Y X, LIU P F, et al. Diversity of the content of main active components in *Eucommia ulmoides* male flowers[J]. Scientia Silvae Sinicae,2017,53(2):35-43.

[28] 戚嘉敏 , 张鹏 , 奚如春 , 等 . 高州油茶果实性状的遗传变异特征 [J]. 中南林业科技大学学报 ,2018,38(4):108-113.
QI J M, ZHANG P, XI R C, et al. Genetic variation and correlation analysis of fruit characters of *Camellia gauchowensis* Chang [J]. Journal of Central South University of Forestry & Technology,2018,38(4):108-113.

[29] 何应会 , 蒋燚 , 黄荣林 , 等 . 不同种源江南油杉球果种子品质差异 [J]. 中南林业科技大学学报 ,2017,37(11):38-41,83.
HE Y H, JIANG Y, HUANG R L, et al. Differences of seed quality in *Keteleeria cyclolepis* flous from different provenances[J]. Journal of Central South University of Forestry & Technology,2017,37(11):38-41,83.

[30] 张芳 , 罗泽虎 , 韩世玉 , 等 . 不同品种桑叶中 3 种活性物质含量测定及综合评价 [J]. 北方蚕业 ,2018,39(1):8-11.
ZHANG F, LUO Z H, HAN S Y, et al. Determination and comprehensive evaluation of three kinds of active substances in mulberry leaves of different varieties[J]. North Sericulture, 2018,39(1):8-11.

[本文编校：伍敏涛]

（上接第 149 页）

LIU J H, WANG Z Y. Determination the *Anthocyaninin Loniceraedulis* by pH differential spetrophotometry and purification research in resin[J]. Forest By-Product and Spetiality in China,2012(5):28-30.

[25] 包怡红 , 李文星 , 齐君君 , 等 . 提取条件对蓝靛果花色苷抗氧化活性的影响 [J]. 食品科学 ,2010,31(22):20-24.
BAO Y H, LI W X, QI J J, et al. Effect of extraction conditions on antioxidant properties of anthocyanins from the fruits of *Lonicera edulis*[J]. Food Science,2010,31(22):20-24.

[26] 樊梓鸾 , 王振宇 , 程翠林 , 等 . 5 种野生浆果的抗氧化和抗细胞增殖活性 [J]. 食品科学 ,2010,31(17):148-152.
FAN Z L, WANG Z Y, CHENG C L. et al. Antioxidant and antiproliferative activities of five wild berries[J]. Food Science,2010,31(17):148-152.

[27] 胥萍 , 林小靖 , 付红伟 . 血橙花色苷大孔树脂纯化工艺及抗氧化研究 [J]. 南方农业 ,2021,15(1):7-11.
XU P, LIN X J, FU H W. Study on purification process and antioxidant of blood orange anthocyanin macroporous resin[J]. South China Agriculture,2021,15(1):7-11.

[28] 包智影 , 张智 , 杜亚飞 , 等 . 微生物法提取黄精多糖及体外降脂功能评价 [J]. 中南林业科技大学学报 ,2021,41(5):142-151.
BAO Z Y, ZHANG Z, DU Y F, et al. Microbial fermentation technology of *Polygonatum sibiricum* polysaccharides and evaluation of lipid-lowering function *in vitro*[J]. Journal of Central South University of Forestry & Technology,2021,41(5):142-151.

[29] 谭晓风 , 李新岗 , 李建安 , 等 . 经济林学科方向预测及其技术路线图 [J]. 中南林业科技大学学报 ,2020,40(1):1-8.
TAN X F, LI X G, LI J A, et al. Prediction of discipline domain and its technical routine map of non-wood forest in China[J]. Journal of Central South University of Forestry & Technology,2020,40(1):1-8.

[本文编校：伍敏涛]

(C)1994-2023 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net