

蓝莓花青素的提取及分离研究进展

徐 青¹, 周元敬², 黄 筑¹, 聂 飞¹, 高贵龙¹

(1. 贵州科学院 贵州省生物研究所, 贵州 贵阳 550009; 2. 贵州科学院 贵州省分析测试研究院, 贵州 贵阳 550002)

摘要: 蓝莓花青素是蓝莓的主要活性成分,具有多种生物活性,在食品、医药、化妆品、保健品等方面有着广阔的应用前景。近年来,有关蓝莓花青素的提取分离已获得深入广泛的研究。作者总结了目前蓝莓花青素提取和分离的技术方法,展望了其发展的趋势,旨在为蓝莓花青素的进一步开发利用和工业化生产提供参考。

关键词: 蓝莓花青素;提取;分离

中图分类号: TS 202.3 **文献标志码:** A **文章编号:** 1673—1689(2016)09—0897—10

Extraction and Separation of Blueberry Anthocyanins

XU Qing¹, ZHOU Yuanjing², HUANG Zhu¹, NIE Fei¹, GAO Guilong¹

(1. Institute of Biology, Guizhou Academy of Sciences, Guiyang 550009, China; 2. Center for Physico-Chemical Test and Analysis, Guizhou Academy of Sciences, Guiyang 550002, China)

Abstract: Blueberry anthocyanins are the major active ingredients of blueberry with a variety of biological activities and widely used in the fields of food, medicine, cosmetics, and so on. The deep investigation of their extraction, separation, and purification has been made in recent years and this article reviewed the advance. The research status of blueberry anthocyanins was summarized and prospected. This work would provide reference for further application and industrial production of blueberry anthocyanins.

Keywords: blueberry anthocyanins, extraction, separation

蓝莓(Blueberry)属多年生灌木小浆果,主要可分为高丛(*V. corymbosum*)、半高丛(*V. angustifolium* X *V. corymbosum*)、矮丛(*V. angustifolium*)和兔眼(*V. ashei*)四大种类,共有约 450 个品种,含有丰富

的营养物质,被世界粮农组织推荐为继苹果和柑桔之后的“世界第三代水果”。蓝莓中的花青素是其主要的生物活性物质,具有防止脑神经老化、保护视力、强心、抗癌、软化血管、增强人体免疫功能等多

收稿日期: 2015-06-20

基金项目: 贵州省自然科学基金重点项目(黔科合 JZ 字[2015]2006 号);贵州省科技计划项目(黔科农 G 字[2013]4006 号);贵州科学院青年基金重点项目(黔科院 J 合字[2014]01 号)。

作者简介: 徐 青(1980—),女,湖北随州人,工学博士,副研究员,博士后,主要从事生物资源开发利用方面的研究。E-mail:xqhaoy@163.com

* 通信作者: 高贵龙(1958—),男,贵州安龙人,农学硕士,研究员,硕士研究生导师,主要从事农作物开发利用方面的研究。

E-mail:gd8298123@126.com

种生理活性功能^[1-8]。

花青素(Anthocyanidins)又称花色素,是一种非常重要的植物水溶性色素,属黄酮类化合物,多以糖苷的形式存在,故也称花色苷(Anthocyanins)^[9]。研究证明花青素是当今人类发现最有效的天然抗氧化生物活性剂,被称为“口服的皮肤化妆品”,其抗氧化性能比维生素E高出50倍,比维生素C高出200倍,且对人体的生物有效性是100%^[10]。蓝莓中的花青素不仅含量高,而且种类丰富,所以对蓝莓中花青素的提取分离已成为目前国内外研究的热点。作者综述了蓝莓花青素提取分离的技术方法,展望了其发展趋势,旨在为蓝莓花青素的进一步开发利用和工业化生产提供依据。

1 蓝莓花青素的提取方法

花青素的提取是其投入生产和使用的前提,由于其活性较高,在提取过程中易氧化变质,所以对花青素的提取具有较高的技术要求,相关的研究报道很多,除了常规的溶剂提取外,近年来一些新的提取技术也得到了较快发展,如微波辅助提取^[11]、加压溶剂萃取(pressurized solvent extraction, PSE)^[12]、超高压辅助提取(extraction assisted by high hydrostatic pressure)^[13]、高压脉冲电场辅助提取(extraction assisted by pulsed electric field, PEF)^[14]、亚临界水提取技术(subcritical water extraction, SWE)^[15]、超临界流体萃取(supercritical fluid extract, SFE)^[16]等。而针对蓝莓果实的特殊结构和组成成分,目前蓝莓花青素的提取技术方法主要有溶剂提取、酶提取、微波辅助提取、超声辅助提取和联合提取技术等。

1.1 溶剂提取

溶剂提取法是蓝莓花青素的常规提取方法,也是报道最多的方法之一,可对蓝莓鲜果、冻干果、蓝莓粉或蓝莓果皮通过浸泡后再萃取^[17-35]。

由于花青素是水溶性的黄酮类化合物,提取溶剂可选择醇、丙酮、水等强极性溶剂或者它们的混合溶剂。为了防止提取过程中非酰基化的花青素降解,常在提取溶剂中加入一定浓度的酸。Barnes等^[17]研究发现,乙醇、丙酮、甲醇是提取蓝莓花青素最有效的溶剂,三氟乙酸和盐酸是最适宜的酸化剂,但在浓缩过程中这些酸会导致酰基化的花青素水解^[36]。

Lee等^[18]用蒸馏水中加柠檬酸、SO₂和加热相结合的方法对蓝莓果和蓝莓果皮中花色苷进行了提取,在80℃、50 μg/g的SO₂和1%柠檬酸条件下,蓝莓果可以得到102.2 mg/100g的花色苷,在50℃、100 μg/g的SO₂和1%柠檬酸条件下,蓝莓果皮可以得到504.5 mg/100g的花色苷。为了提高花青素的收率,可在采摘和提取过程中降低多酚氧化酶的活性。Moyer等^[19]在鲜果采摘后即采取冷冻措施,并利用液氮来完成果实破碎过程,用丙酮提取,得到的花青素含量高于其他方法。

国内对蓝莓花青素的溶剂提取方法进行了大量的研究,主要针对2个方面的技术:1)提取液的选取和配比;2)提取过程的参数优化。在提取液的选取和配比方面,典型的研究如李颖畅等^[20]从几种提取剂(蒸馏水、酸溶液、乙醇-酸溶液等)中筛选出乙醇为蓝莓果花色苷较好的提取溶剂,用60%的乙醇(pH 3)按1 g:15 mL的料液比,40℃提取2 h,提取2次得到花青素的含量约为358 mg/100 g鲜果。石光等^[26]以人工栽培蓝莓果为原料,从不同的溶剂体系中,筛选出80%的甲醇(pH 2)为最佳提取剂,按1 g:15 mL的料液比,40℃提取1 h,提取2次得到蓝莓花青素的提取率为78.2%。

对蓝莓花青素溶剂提取方法的提取过程参数优化方面的研究较多,如丁九斤等^[27]研究了越橘花色苷的醋酸溶液提取工艺,发现越橘花色苷提取工艺为醋酸浓度20%按1:10(g:mL)的料液比,在40℃提取60 min,提取2次可得到92.8%的提取率。姜艳霞等^[31]运用正交实验法以95%乙醇-盐酸(pH 3.0)为溶剂提取长白山区野生越橘中花色苷,得出1 g:5 mL的料液比,在60℃下提取30 min,提取3次,得到的花色苷纯度可达到8.64%。孟宪军等^[34]采用酸性乙醇为提取剂,采用响应面分析优化各因素及其相互作用的最佳组合,得出最佳提取参数为:60.65%乙醇, pH 3.0, 料液比1 g:20.65 mL, 提取时间122.53 min, 提取温度50℃, 提取2次, 得到蓝莓冻果花色苷含量约为327.35 mg/100 g。马养民和逯文静^[35]采用单因素试验和正交实验研究蓝莓果中花青素的乙醇提取最佳工艺条件为:60%的乙醇溶液(pH 1.0)按1 g:15 mL的料液比,在50℃提取2 h得到花青素的提取量为2.18 g/L。

在蓝莓花青素的溶剂提取中,由于蓝莓品种、产地、采收季节、提取部位等的不同,采用的提取参

数也各异,但总体上综合上述实验数据可得:1)由于盐酸的酸性较强,所以酸化剂通常选用乙酸或柠檬酸,溶剂则以乙醇为主;2)萃取体系的酸度一般为 pH 2~4,酸性太强会破坏花色苷结构,酸性太弱花色苷本身又不稳定;3)溶剂使用量通常保持在 1 g:10~20 mL 的料液比,萃取时间 1~2 h 为宜,萃取两次较好,萃取次数太多,萃取液杂质较多。

虽说溶剂提取法有利(方法原理简单,对设备要求较低)有弊(有机溶剂具有一定的毒副作用,存在安全隐患,提取率低),但是科研工作者,特别是国内科研工作者对该方法还是情有独钟,他们也尽力采取措施规避不利的因素,并尽量利用一些现代化的分析优化方法来提高提取率。

1.2 酶提取

由于花青素大部分存在于蓝莓果皮中,通过简单的溶剂萃取是难以最大限度地将其提取出来的^[37]。酶水解可以较温和地将植物组织分解,加速有效成分的释放,从而提高天然植物成分的提取率。向道丽^[38]首次报道用纤维素酶提取越桔果渣花色苷,并传统乙醇提取的方法进行比较,得出酶法提取工艺比乙醇浸提越桔果渣花色苷色价提高了 30%。石文娟等^[39]通过 L16(44)正交试验优化纤维素酶提取长白山野生笃斯越桔中花青素的工艺条件,得出加酶量 2%,按 1 g:50 mL 的料液比,在 pH 1.5,温度 60 °C 下酶解 1 h,花青素提取率为 6.105%。李颖畅等^[40]比较了纤维素酶、果胶酶及二者的复合对蓝莓果中花色苷的提取效果,发现纤维素酶的提取效果较好。在酶用量 5 mg/g,料液比 1 g:8 mL, pH 5.0,提取 1 h,酶解温度 45 °C,提取两次的优化条件下,蓝莓果中花色苷含量约为 350 mg/100 g 鲜果。马永强等^[41]比较了纤维素酶、果胶酶以及复合果汁酶对蓝莓果浆的酶解效果,确定果汁酶具有最佳的提高花色苷溶出率的能力。在酶添加量 0.2 g/L,酶解温度 60 °C,酶解时间 1 h 的优化条件下,酶解得到的蓝莓果清汁中花色苷质量浓度达到 410 mg/L,花色苷的提取率达到 14.1%,较未经酶处理蓝莓果清汁中花色苷的提取率提高了 2.17 倍。王谷媛等^[42]用 RAPIDASE RINTENSE 果胶酶来提高蓝莓果的出汁率,并用 70% 的乙醇浸提,得到蓝莓花青素的得率为 4.8%。

酶提取蓝莓花色苷法因其具有条件温和、酶用量少、提取率高等优点,一经提出就受到广大研究

者的青睐。但由于生物酶的专一性较强,现有针对蓝莓花青素的酶种数量较少,而且价格较贵,使得提取成本较高,况且酶提取法的技术要求较高,而目前相关的研究还比较少,所以酶法提取蓝莓花青素在工业化生产中的应用受到很大限制。就现有的研究来看,用于蓝莓花青素提取的酶,效果较好的是纤维素酶,较优的工艺参数为:提取料液比 1 g:8~10 mL, pH 4~5,酶解温度 45~55 °C,酶解时间 1~2 h。

1.3 微波辅助提取法

微波辅助提取是利用微波辐射,使植物细胞内的极性物质吸收大量微波能,进而产生大量热量,使细胞内的温度迅速上升,液态水汽化时产生的压力会冲破细胞膜和细胞壁,表面出现微小的孔洞;进一步加热,会使细胞内部和细胞壁水分减少,导致细胞收缩,表面出现裂纹。孔洞和裂纹的出现使胞外溶剂容易进入细胞内,溶解并释放出胞内产物,从而有利于提取过程的进行。

吕春茂等^[43]运用微波辅助提取法对越橘果实花色苷进行提取,以含盐酸 1% 的乙醇溶液为提取剂,结合单因素试验和响应面法,得出越橘果实花色苷的最佳提取工艺条件为微波功率 500 W、提取时间 7 min、乙醇体积分数 55%、温度 51 °C。在最优工艺条件下,越橘果实花色苷的提取量为 1.47 mg/g。Zheng 等^[44]研究了微波辅助提取蓝莓粉花青素的特征和最佳参数,发现料液比对花青素的动力学提取是最重要的,其次是乙醇体积分数、提取温度,影响最小的是提取时间。在提取时间为 7 min,提取温度为 47 °C,乙醇体积分数为 55.5%,料液比为 1 g:34 mL 的条件下,得到 73.73% 的花色苷。朱文赫等^[45]以长白山笃斯越橘为原料,分别采用酸性乙醇法、超声提取法及微波提取法提取花色苷,通过结果比较分析,得到以微波提取工艺结果最佳,在微波提取功率为 100 W,提取时间为 60 s,料液比为 1 g:5 mL 的微波提取条件下,花色苷的产量达到了 0.402 mg/g(湿重),较酸性乙醇法(0.298 mg/g)及微波提取法(0.316 mg/g)得到的产量显著提高。

微波法具有对植物细胞破壁能力强、提取效率高、操作简便等特点,在实际生产过程中又具有安全、节能的优点,所以将微波技术应用于蓝莓花青素的浸取过程中,可在一定条件下提高产物收率,降低生产成本,在工业生产中应用越来越广泛。

1.4 超声波辅助提取法

超声波提取法是采用超声波辅助溶剂进行提取,通过超声波产生高速、强烈的空化效应和搅拌作用破坏植物药材的细胞,使溶剂渗透到药材细胞中,可缩短提取时间,提高提取率。近年来,超声波提取法的应用越来越广泛,已经成为美国环保局提取植物中有效成分的基本方法之一,已在天然植物研究中得到高度重视。

在蓝莓花青素的提取方面,超声波辅助提取法也得到了一定的应用^[46-51]。如郝文博等^[46]利用响应面分析法对蓝莓花青素的提取工艺进行了优化。在单因素试验基础上选取试验因素与水平,根据中心组合(Box-Behnken)试验设计原理,采用三因素三水平的响应面分析法对各个因素的显著性和交互作用进行分析。结果表明,蓝莓花青素提取的最佳工艺条件为超声功率 640 W、超声时间 15 min、料液比 1 g:30 mL、乙醇体积分数 63%。采用最佳工艺参数提取蓝莓中花青素,平均得率为 6.51%,与响应面分析法优化花青素得率预测值 6.52%接近。孟宪军等^[48]利用响应面法对超声波提取蓝莓花色苷的工艺进行优化,得出在 52.28%乙醇中,39.27 °C提取 37.17 min,提取 2 次得到蓝莓冻果花色苷含量约为 335.95 mg/100 g。

超声波和微波法提取法在思路上基本是一致的,都是借助外界较强的能量来破碎植物细胞,使细胞内的汁液迅速释放从而提高提取效率,只是两种方法破碎植物细胞的方式不同而已。它们都具有提取时间短、提取效率高、适用范围广、节能环保等优点,但同时又有各自的缺点使其应用受到一定的限制。微波法在提取过程中如操作不当易造成局部过热而使蓝莓花青素氧化降解,而且微波法对提取容器的要求较高,一般的金属容器不能满足微波的要求。超声波提取法受超声波衰减因素的制约,超声有效作用区域不均一,在容器壁附件会形成超声空白区,且超声输出功率较大,一般设备难以满足。

1.5 联合提取技术

由以上结果可知,传统的醇水提取法在蓝莓花青素的提取中应用普遍,但仍有提高潜力,而酶法、超声波提取、微波辅助提取等方法目前在生产中应用还不广泛,但随着这些技术的成熟,多种提取方法的联合使用已成为一种发展趋势。赵尔丰等^[52]以

蓝莓果渣为原料,采用单因素试验法对提取工艺条件进行优化,确定了酶-超声波辅助提取蓝莓果渣中花青素的最佳工艺条件为:先用 5 mg/g 的纤维素酶,按 1 g:10 mL 的料液比,在 200 W 超声波中 50 °C 振荡培养提取 20 min,然后补充加入乙醇,使得体系中乙醇体积分数为 40%,再在超声波下强化提取 10 min,可得到 4.12% 的提取率。

联合提取技术是以溶剂提取为基础,联合酶法、微波或超声波法为辅助手段,集成各种方法的优点,同时可有效弥补各种方法的不足之处,其优势远远强于单一的提取技术。鉴于花青素主要存在于蓝莓果皮中^[57],纤维素酶、果胶酶可以降解纤维素和果胶,破坏细胞壁,从而可使花青素得到充分释放;蓝莓色素在油脂中溶解度小,在甲醇和乙醇中溶解度大,甲醇有毒性,而乙醇既安全无毒又对蓝莓花青素有很好的萃取效果;用柠檬酸代替盐酸来调节提取液的 pH 值,可防止花青素的降解。我们前期的研究表明^[53],将蓝莓鲜果在室温下喷洒 0.02% 的纤维素酶和果胶酶形成的复合酶,避光保存 2~3 h 后,按料液比 1:10 加入 pH 3.0 的柠檬酸和乙醇,搅拌 2 h,萃取两次,滤液减压浓缩,得到的粗提取物经分离纯化,最后所得蓝莓花色苷的提取率达到 20% 以上,比目前文献报道的提取率高 8% 左右,这种联合提取蓝莓花青素的技术预测将有很好的工业化生产前景。

2 蓝莓花青素的分离

提取后的花青素溶液中,还含有很多淀粉、果胶、糖类等杂质,产品色价低,稳定性差,很难对其进行鉴定和长期储存,所以需要进行分离纯化。目前,花青素的纯化多采用大孔树脂法、液相萃取法、固相萃取法、柱层析、离子交换法和综合技术法等。其中大孔树脂吸附是近年来最常用的花青素提纯方法之一,而新的纯化方法例如高速逆流色谱、电泳法还处于起步发展阶段。对于蓝莓花青素的提取,报道的方法有大孔树脂法、高速逆流色谱法和综合技术法。

2.1 大孔树脂法

大孔树脂法是利用吸附解吸原理对有效成分进行分离的一种方法,常用的填料除了大孔树脂外,还有硅胶、聚酰胺、葡聚糖凝胶等。该方法分离过程易于控制,并且树脂洗脱后可反复使用,节约

成本,已在蓝莓花青素的分离中得到广泛应用^[54-63]。

AB-8 型大孔吸附树脂是苯乙烯型弱极性共聚体,最适宜水溶性、具有弱极性物质的提取、分离、纯化,在蓝莓花色苷的纯化方面得到了广泛的研究^[54-58]。如孟宪军、李颖畅等利用 AB-8 大孔树脂对蓝莓果花色苷进行纯化,经过纯化花色苷的色价达到 54.10,产率为 88.20%^[54,56]。邹阳等^[57]对提取的蓝莓花色苷粗制品进行 AB-8 大孔树脂纯化,色价高达 175,是国际色素色价的 40 多倍。黄月鹏等^[57]通过实验发现当花色苷溶液的流速为 10 mL/min,样品量为树脂量的 1/3 BV 时,AB-8 树脂对花色苷的吸附效果最好,当用流速为 5 mL/min 的 40%乙醇洗脱时,洗脱效果最好,得到花色苷的纯度为 38.1%。

为了寻找到更好的纯化条件,尽可能地提高花色苷的色价和回收率,各种各样的树脂填充料对花色苷的纯化研究相继得到报道。如董怡等^[29]分别采用 AB-8 大孔树脂、聚酰胺树脂及 AB-8 大孔树脂与聚酰胺树脂联用 3 种方法对笃斯越橘花青素提取液进行纯化,纯度分别为 13.4%、37%、13.2%。可以看出,用聚酰胺树脂纯化后的花青素纯度明显高于用 AB-8 大孔树脂及其联合纯化的花青素纯度,纯度提高了 23%。赵彦杰^[59]以高灌蓝莓果为原料,研究了 D101-A、D101-C 等几种树脂对蓝莓果色素的分离效果,发现 D101-A 树脂的效果较好,用 60%乙醇洗脱 100 min 得到的产品质量较好,色价达 42,产品收率为 0.256%;且 D101-A 树脂重复使用 20 次后吸附率仅降低 1.24%。权静等^[60]研究了 HPD-500、NKA-2 等 6 种树脂对蓝莓粗提液的分离效果,发现 NKA-2 树脂的效果最好,70%乙醇洗脱得到紫黑色粉末,色价达 57.82。吕春茂等^[61]优化得到 HPD-700 型大孔树脂对野生越橘花色苷的分离效果最佳,以 60%乙醇洗脱可得到紫黑色粉末,色价为 62.40,回收率为 86.20%。赵慧芳等^[62]对用 0.5% HCl 的 50%乙醇溶液提取得到的蓝莓色素粗提物进行大孔树脂纯化,得到 HPD-100B 或 LS-305 树脂为最优的树脂,其中 HPD-100B 树脂至少可重复利用 7 次,得到蓝莓总花色苷含量 14.77%,提取率为 81.3%。郑红岩等^[63]以蓝莓果提取液为原料,发现经 XDA-7 树脂纯化冷冻干燥所得产品为紫黑色粉末,花色苷纯度由 2.20%提高到 24.54%,花色苷得率为 70.2%,产品色价为 121。

根据蓝莓花色苷的特性,结合大孔树脂的性质,对不同品种的蓝莓进行花色苷分离纯化时,国内一般选择的是用大孔树脂法,用得较好的是 AB-8 大孔树脂、聚酰胺树脂等,花色苷的纯度可达到 38.1%。

2.2 高速逆流色谱法

高速逆流色谱法是一种无载体的液液分配色谱,在分离柱体内不加入任何固态载体或支持体,因而完全排除了载体对分离过程的影响,在色谱过程中,样品在一对互不混溶(或很少混溶)的溶剂相中分配、传递,各组分依据它在这两相中的分配系数的差异实现分离。Du 等^[64]用一台柱容量 364 mL (PC. Inc,柱内径 2.6 mm)的高速逆流色谱仪分离了越橘(*Vaccinium myrtillus*)中的花色苷,所用溶剂系统是甲基叔丁基醚-正丁醇-乙腈-水-三氟乙酸,体积比为 1:4:1:5:0.01,流速为 1.5 mL/min。进样 500 mg 越橘的花色苷粗提取物可分离得到 130 mg 飞燕草色素-3-O- β -d-葡萄糖-(2 $\rightarrow$ 1)- β -d-木糖苷和 77 mg 矢车菊色素-3-O- β -d-葡萄糖-(2 $\rightarrow$ 1)- β -d-木糖苷。

由于目前利用高速逆流色谱法分离蓝莓花色苷的研究较少,报道的方法中用到的分离溶剂成份复杂且昂贵,因此该方法有待进一步研究开发。

2.3 联合分离技术

目前,联合的分离技术也开始慢慢地应用到蓝莓花青素的分离纯化中。如张亚红^[65]采用 D101 大孔树脂和相对分子质量 6 000 的超滤膜纯化技术对野生蓝莓花青素进行纯化,花青素纯度可达 35% 以上。

由于提取后的蓝莓花青素溶液中,还含有大量的淀粉、果胶、糖类等杂质,直接大孔树脂层析,既浪费时间精力、又增加了生产成本,同时还会使花青素大量地流失。我们前期的研究表明^[53,66],将蓝莓花青素粗提物溶解于适量的 pH 3.5 的柠檬酸溶液中,用乙酸乙酯萃取 3 次,非脂层加入到 D101 大孔树脂柱中,先用超纯水洗脱,再用乙醇-水体系洗脱,收集 50%的乙醇洗脱液,减压浓缩,冷冻干燥,得到的蓝莓花青素采用 2%盐酸-乙醇降解法,利用紫外分光光度计测得花青素含量高达 49%以上,比目前文献报道的花青素纯度高将近 10%,而且利用化学修饰的方法可以有效增强蓝莓花青素的抗氧化性能,将具有很好地工业化生产前景。

3 展望

花青素作为一种天然水溶性食用色素,不仅色泽鲜艳、安全、无毒,而且还具有很好的营养和保健功效,在食品、化妆品、医药等方面已显示出巨大的应用潜力。蓝莓作为花青素含量最丰富的资源之一,研究其提取分离和开发利用具有重要的意义。虽说目前在蓝莓花青素的提取分离及应用方面的研究已取得了很大的进展,但随着人们生活水平的提高,对天然产品的需求量越来越大,天然的花青

素在食品、化妆品、保健品、医药等领域的应用日益广泛,探寻新的高效、快速、方便的提取分离方法,能够适合大规模生产的提取分离技术显得极为重要。国外市场花青素提取物高端产品的含量可以达到40%左右,可作为制药原料,其提取技术一直为少数厂家所垄断。然而我国高效、快速的提取分离综合技术还处于初级研究阶段,大规模的工业化生产技术也还有很长的路要走,这些都需要广大学者进一步地努力。

参考文献:

- [1] SUN L Q, DING X P, QI J, et al. Antioxidant anthocyanins screening through spectrum-effect relationships and DPPH-HPLC-DAD analysis on nine cultivars of introduced rabbiteye blueberry in China[J]. **Food Chem**, 2012, 132(2): 759-765.
- [2] BORNSEK S M, ZIBERNA L, POLAK T, et al. Bilberry and blueberry anthocyanins act as powerful intracellular antioxidants in mammalian cells[J]. **Food Chem**, 2012, 134(4): 1878-1884.
- [3] GRACE M H, RIBNICKY D M, KUHN P, et al. Anthocyanins extracted from Chinese blueberry (*Vaccinium uliginosum* L.) and its anticancer effects on DLD -1 and COLO205 cell[J]. **Chin Med**, 2010, 123(19): 2714-2719.
- [4] LAU F C, BIELINSKI D F, JOSEPH J A. Inhibitory effects of blueberry extract on the production of inflammatory mediators in lipopolysaccharide-activated BV2 microglia[J]. **J Neurosci Res**, 2007, 85(5): 1010-1017.
- [5] BURDULIS D, Sarkinas A, Jasutienė I, et al. Comparative study of anthocyanin composition, antimicrobial and antioxidant activity in bilberry (*Vaccinium myrtillus* L.) and blueberry (*Vaccinium corymbosum* L.) fruits [J]. **Acta Pol Pharm-Drug Research**, 2009, 66(4): 399-408.
- [6] THANGTHAENG N, MILLER M, POULOSE S, et al. Differential effects of blueberry polyphenols on age-associated neuroinflammation and cognition[J]. **FASEB J**, 2015, 29(1): 756-758.
- [7] 孟宪军, 宋德群, 史琳, 等. 蓝莓花色苷对环磷酸胺致大鼠心脏损伤保护作用[J]. 中国公共卫生, 2015, 31(2): 187-190.
MENG Xianjun, SONG Dequn, SHI Lin, et al. Protective effect of blueberry anthocyanins on cyclophosphamide-induced cardiac injury in rats[J]. **Chin J Public Health**, 2015, 31(2): 187-190.
- [8] 马萍, 纪中, 纪长伟, 等. 蓝莓花色苷预处理对大鼠心肌梗死的保护作用[J]. 中国比较医学杂志, 2013, 23(6): 49-52.
MA Ping, JI Zhong, JI Changwei, et al. Protective effect of blueberry anthocyanins pretreatment on myocardial infarction in rats [J]. **Chinese Journal of Comparative Medicine**, 2013, 23(6): 49-52. (in Chinese)
- [9] Castaneda-Ovando A, Pacheco L, Pérez-Hernández M E, et al. Chemical studies of anthocyanins: A review[J]. **Food Chem**, 2009, 113(4): 859-871.
- [10] BAGCHI D, BAGCHI M, STOHS S J, et al. Free radicals and grape seed proanthocyanidin extract: Importance in human health and disease prevention[J]. **Toxicology**, 2000, 148(2): 187-197.
- [11] ZHENG X, XU X, LIU C, et al. Extraction characteristics and optimal parameters of anthocyanin from blueberry powder under microwave-assisted extraction conditions[J]. **Sep Purif Technol**, 2013, 104: 17-25.
- [12] ARAPITSAS P, TURNER C. Pressurized solvent extraction and monolithic column-HPLC/DAD analysis of anthocyanins in red cabbage[J]. **Talanta**, 2008, 74(5): 1218-1223.
- [13] CORRALES M, TOEPFL S, BUTZ P, et al. Extraction of anthocyanins from grape by products assisted by ultrasonics high hydrostatic pressure or pulsed electric fields: A comparison[J]. **Innov Food Sci Emerg Technol**, 2008, 9: 85-91.
- [14] López N, Puértolas E, Condón S, et al. Effects of pulsed electric fields on the extraction of phenolic compounds during the fermentation of must of Tempranillo grapes[J]. **Innovat Food Sci Emerg Tech**, 2008, 9: 477-482.
- [15] Luque-Rodríguez J M, Luque de Castro M D, Pérez-Juan P. Dynamic superheated liquid extraction of anthocyanins and other

- phenolics from red grape skins of winemaking residues[J]. **Bioresour Technol**, 2007, 98(14): 2705-2713.
- [16] Vatai T, Skerget M, Knež Z. Extraction of phenolic compounds from elder berry and different grape marc varieties using organic solvents and/ or supercritical carbon dioxide[J]. **J Food Eng**, 2009, 90: 246-254.
- [17] BARNES J S, NGUYEN H P, SHEN S, et al. General method for extraction of blueberry anthocyanins and identification using high performance liquid chromatography-electrospray ionization-ion trap time of flight-mass spectrometry[J]. **J Chromatogr A**, 2009, 1216(23): 4728-4735.
- [18] LEE J, WROLSTAD R E. Extraction of anthocyanins and polyphenolics from blueberry processing waste [J]. **J Food Sci**, 2004, 69(7): 564-573.
- [19] MOYER R A, HUMMER K E, FINN C E, et al. Anthocyanins, phenolics, and antioxidant capacity in diverse small fruits: *Vaccinium*, *Rubus*, and *Ribes*[J]. **J Agric Food Chem**, 2002, 50(3): 519-525.
- [20] 李颖畅, 孟宪军, 修英涛, 等. 蓝莓果中花色苷的提取工艺研究[J]. 食品科技, 2007, 11: 73-76.
LI Yingchang, MENG Xianjun, XIU Yingtao, et al. Study on the processing of the extraction of anthocyanin from the fruit of blueberry[J]. **Food Science and Technology**, 2007, 11: 73-76. (in Chinese)
- [21] 高梓淳, 吴涛, 陈卫, 等. 蓝莓花色苷提取与纯化工艺的研究[J]. 食品与发酵科技, 2013, 49(3): 1-5.
GAO Zichun, WU Tao, CHEN Wei, et al. Extraction and purification research of anthocyanins of blueberry [J]. **Food and Fermentation Technology**, 2013, 49(3): 1-5. (in Chinese)
- [22] 王继萍, 柏广新, 李劲然, 等. 溶剂萃取法提取蓝莓中花色苷[J]. 分析化学, 2012, 40(12): 1952-1953.
WANG Jipin, BAI Guangxin, LI Jinran et al. Solvent extraction for determination of blueberry anthocyanins [J]. **Chinese Journal of Analytical Chemistry**, 2012, 40(12): 1952-1953. (in Chinese)
- [23] 权静. 蓝莓花色苷提取工艺及稳定性研究[J]. 广州化工, 2012, 40(16): 113-115.
QUAN Jin. Studying of process and stability of blueberry anthocyanin extraction [J]. **Gumgzhou Chemical Industry**, 2012, 40(16): 113-115. (in Chinese)
- [24] 陈健, 孙爱东, 高雪娟, 等. 蓝莓花青素的提取及抗氧化性的研究[J]. 北京林业大学学报, 2011, 33(2): 126-129.
CHEN Jian, SUN Aidong, GAO Xuejuan, et al. Extraction and antioxidation of anthocyanins from blueberry [J]. **Journal of Beijing Forestry University**, 2011, 33(2): 126-129. (in Chinese)
- [25] 刘红锦, 刘小莉, 周剑忠. 蓝莓中花色苷提取及其抗氧化活性研究[J]. 江苏农业学报, 2009, 25(6): 1347-50.
LIU Hongjing, LIU Xiaoli, ZHOU Jianzhong. The anthocyanins extracted and antioxidant activity of blueberry [J]. **Jinagsu J of Agr Sci**, 2009, 25(6): 1347-1350. (in Chinese)
- [26] 石光, 张春枝, 陈莉, 等. 蓝莓果实中花色苷提取工艺的研究[J]. 食品研究与开发, 2008, 29(4): 7-10.
SHI Guang, ZHANG Chunzhi, CHEN Li, et al. The extraction of anthocyanin from cultivated blueberry [J]. **Food Research and Developent**, 2008, 29(4): 7-10. (in Chinese)
- [27] 丁九斤, 穆春, 罗洲飞, 等. 醋酸溶液提取蓝莓花色苷工艺的研究[J]. 中国酿造, 2008, 22: 62-64.
DING Jiujiu, MU Chun, LUO Zhoufei, et al. The extraction of anthocyanin with acetic acid solution from blueberry [J]. **China Brewing**, 2008, 22: 62-64. (in Chinese)
- [28] 徐美玲, 赵德卿. 蓝莓花青素的提取及理化性质的研究[J]. 食品研究与开发, 2008, 29(9): 187-189.
XU Meiling, ZHAO Deqing. Study on the extraction and physico-chemical property of blueberry anthocyanidin [J]. **Food Research and Development**, 2008, 29(9): 187-189. (in Chinese)
- [29] 董怡, 林松毅, 刘艳丰, 等. RP-HPLC 法优化笃斯越橘花青素提取、纯化技术研究[J]. 食品科学, 2008, 29(10): 349-352.
DONG Yi, LIN Songyi, LIU Yanfeng, et al. Study on optimization of extraction and purification of anthocyanidins from *Vaccinium uliginosum* L. by RP-HPLC[J]. **Food Science**, 2008, 29(10): 349-352. (in Chinese)
- [30] 王兆雨, 徐美玲, 朱蓓薇. 蓝莓花青素的提取工艺条件[J]. 大连轻工业学院学报, 2007, 26(3): 196-198.
WANG Zhaoyu, XU Meiling, ZHU Beiwei. Optimum conditions for extraction of anthocyanidin from blueberry [J]. **Journal of Dalian Institute of Light Industry**, 2007, 26(3): 196-198. (in Chinese)
- [31] 姜艳霞, 吕士杰, 田志杰, 等. 正交实验法优选长白山野生越橘中花色苷的提取工艺 [J]. 时珍国医国药, 2009, 20(5): 1183-1184.
JIANG Yanxia, LYU Shijie, TIAN Zhijie, et al. Study on the extraction process of anthocyanin from *Vaccinium uliginosum* in

- Chang-Bai Shan Region by orthogonal test [J]. **Li Shi Zhen Medicine and materiamedica Research**, 2009, 20(5):1183-1184. (in Chinese)
- [32] 张兴茂,林松毅,刘静波,等. 长白山笃斯越桔果实原花青素浸提工艺的研究[J]. 食品科学, 2007, 28(11):186-189.
ZHANG Xingmao, LIN Songyi, LIU Jingbo, et al. Study on extracting process of proanthocyanidins from Fruit of *Vaccinium uliginosum* L.[J]. **Food Science**, 2007, 28(11):186-189. (in Chinese)
- [33] 邹阳,张秀玲,石岳. 野生蓝莓果实中花色苷色素提取工艺的研究[J]. 现代食品科技, 2006, 23(1):60-62.
ZOU Yang, ZHANG Xiuling, SHI Yue. The extraction of anthocyanin pigment from wild blueberry [J]. **Modern Food Science and Technology**, 2006, 23(1):60-62. (in Chinese)
- [34] 孟宪军,王冠群,宋德群,等. 响应面法优化蓝莓花色苷提取工艺的研究[J]. 食品工业科技, 2010, 37(7):226-229.
MENG Xianjun, WANG Guanqun, SONG Dequn, et al. Optimization of the extraction technology of blueberry anthocyanins by response surface method[J]. **Science and Technology of Food Industry**, 2010, 37(7):226-229. (in Chinese)
- [35] 马养民,逯文静. 蓝莓果中花青素的乙醇提取工艺研究[J]. 安徽农业科学, 2011, 39(35):21768-21769.
MA Yangmin, LU Wenjing. Study on the ethanol extraction of anthocyanins from the fruits of blueberry [J]. **Journal of Anhui Agri Sci**, 2011, 39(35):21768-21769. (in Chinese)
- [36] KJELL T, vind M A. Color stability of anthocyanins in aqueous solutions at various pH values [J]. **Food Chem**, 2005, 89:427-440.
- [37] LEE J, WROLSTAD R E. Extraction of anthocyanins and polyphenolics from blueberry processing waste [J]. **J Food Sci**, 2004, 69:C564-C573.
- [38] 向道丽. 酶法提取越桔果渣花色苷酶解条件的研究[J]. 中国林副特产, 2005, 12(6):1-3.
XIANG Daoli. Study of enzymatic hydrolysis conditions in enzymatic extraction of *Vaccinium vitis-idaea* fruit residue anthocyanins[J]. **Forest By-Product and Speciality in China**, 2005, 12(6):1-3. (in Chinese)
- [39] 石文娟,林松毅,刘静波,等. 利用纤维素酶提取笃斯越桔花青素的研究[J]. 食品科学, 2007, 28(11):370-373.
SHI Wenjuan, LIN Songyi, LIU Jingbo, et al. Study on extraction of anthocyanins in *Vaccinium uliginosum* L. with cellulase[J]. **Journal of Northeast Agricultural University**, 2007, 28(11):370-373. (in Chinese)
- [40] 李颖畅,孟宪军. 酶法提取蓝莓果中花色苷的研究[J]. 食品工业科技, 2008, 29(4):215-218.
LI Yingchang, MENG Xianjun. Study on enzyme extraction technology of anthocyanins from blueberry fruits[J]. **Science and Technology of Food Industry**, 2008, 29(4):215-218. (in Chinese)
- [41] 马永强,李安,那治国,等. 酶法提高蓝莓果花色苷与总酚溶出率的工艺条件研究[J]. 农产品加工学刊, 2012, 4:48-53.
MA Yongqiang, LI An, NA Zhiguo, et al. Enzyme process to improve the dissolution rates of anthocyanins and total phenol in blueberry[J]. **Academic Periodical of Farm Products Processing**, 2012, 4:48-53. (in Chinese)
- [42] 王谷媛,高冷,龚殿鹏,等. 蓝莓色素提取条件的研究[J]. 长春工业大学学报:自然科学版, 2010, 31(2):202-206.
WANG Guyuan, GAO Leng, GONG Dianpeng, et al. Extraction conditions for blueberry pigment [J]. **Journal of Changchun University of Technology: Natural Science Edition**, 2010, 31(2):202-206. (in Chinese)
- [43] 吕春茂,王新现,董文轩,等. 响应面法优化越橘花色苷微波辅助提取工艺参数[J]. 食品科学, 2011, 32(6):71-75.
LV Chunmao, WANG Xinxian, DONG Wenxuan, et al. Optimization of microwave-assisted extraction process for anthocyanins from bilberry by response surface methodology[J]. **Food Science**, 2011, 32(6):71-75. (in Chinese)
- [44] ZHENG X, XU X, LIU C, et al. Extraction characteristics and optimal parameters of anthocyanin from blueberry powder under microwave-assisted extraction conditions[J]. **Sep Purif Technol**, 2013, 104:17-25.
- [45] 朱文赫,徐俊杰,张巍,等. 长白山笃斯越橘中花色苷不同提取工艺的研究[J]. 食品研究与开发, 2012, 33(4):59-62.
ZHU Wenhe, XU Junjie, ZHANG Wei, et al. Comparison of several different extraction methods for anthocyanin from Changbai Mountains *Vaccinium uliginosum*[J]. **Food Research and Development**, 2012, 33(4):59-62. (in Chinese)
- [46] 郝文博,杨晓宇,车文实. 响应面分析法优化超声波提取蓝莓花青素工艺[J]. 食品工业, 2013, 34(11):147-150.
HAO Wenbo, YANG Xiaoyu, CHE Wenshi. Process optimization for ultrasonic-assisted solvent extraction of anthocyanin from blueberry by response surface analysis[J]. **The Food Industry**, 2013, 34(11):147-150. (in Chinese)
- [47] 伍锦鸣,卓浩廉,普元柱,等. 蓝莓花青素超声提取工艺优化及在卷烟中的应用研究[J]. 食品工业, 2012, 33(4):30-33.
WU Jinming, ZHUO Haolian, PU Yuanzhu, et al. Technology optimization for extracting anthocyanins from blueberry by

- ultrasonic extraction and its application in cigarette[J]. **The Food Industry**, 2012, 33(4): 30-33. (in Chinese)
- [48] 孟宪军,王成,宋德群,等. 响应面法优化超声提取蓝莓花色苷工艺的研究[J]. 食品科技, 2010, 35(9): 249-253.
MENG Xianjun, WANG Cheng, SONG Dequn, et al. Optimization of the ultrasonic extraction technology of blueberry anthocyanins by response surface method[J]. **Food Science and Technology**, 2010, 35(9): 249-253. (in Chinese)
- [49] 杨雪飞,潘利华,罗建平. 蓝莓色素的超声提取工艺及稳定性研究[J]. 食品科学, 2010, 31(20): 251-255.
YANG Xuefei, PAN Lihua, LUO Jianping. Ultrasonic-aided extraction and stability assessment of blueberry pigments [J]. **Food Science**, 2010, 31(20): 251-255. (in Chinese)
- [50] 田喜强,任洪臣,曹修鹤,等. 超声辅助蓝莓色素提取工艺及稳定性研究[J]. 黑龙江大学工程学报, 2014, 5(4): 29-33.
TIAN Xiqiang, REN Hongcheng, CAO Xiuhe, et al. Extration technology of anthocyanins from blueberry ultrasonic assisted and its stability[J]. **Journal of Engineering of Heilongjiang University**, 2014, 5(4): 29-33. (in Chinese)
- [51] 潘利华,贺元康. 不同提取方法对蓝莓色素得率及抗氧化活力的影响研究[J]. 食品安全质量检测学报, 2014, 5(9): 2807-2812.
PAN Lihua, HE Yuankang. Effects of extraction methods on yield and antioxidant capacity of blueberry pigments [J]. **Journal of food Safety and Quality**, 2014, 5(9): 2807-2812. (in Chinese)
- [52] 赵尔丰,高畅,高欣,等. 酶-超声波辅助提取蓝莓果渣中花青素的工艺研究[J]. 东北农业大学学报, 2010, 41(4): 98-102.
ZHAO Erfeng, GAO Chang, GAO Xin, et al. Study on extraction procedure of anthocyanins from blueberry pomace by enzymatic-ultrasonic-assisted extraction[J]. **Journal of Northeast Agricultural University**, 2010, 41(4): 98-102. (in Chinese)
- [53] 徐青,贾强,韩瑜,等. 一种高效提取蓝莓花青素的方法[P]. 中国专利: CN104725341A, 2015-06-24.
- [54] 孟宪军,李颖畅,宣景宏,等. AB-8 大孔树脂对蓝莓花色苷的动态吸附与解吸特性研究[J]. 食品工业科技, 2007, 28(12): 94-99.
MENG Xianjun, LI Yingchang, XUAN Jinghong, et al. Adsorption and desorption of anthocyanins of blueberry fruits with AB-8 macroporous resin[J]. **Science and Technology of Food Industry**, 2007, 28(12): 94-99. (in Chinese)
- [55] 李明瑾,林松毅,王二雷,等. 笃斯越桔花青素的分离纯化研究[J]. 食品科学, 2007, 28(11): 139-141.
LI Mingjin, LIN Songyi, WANG Erlei, et al. Study on isolation and purification of anthocyanidin from *Vaccinium uliginosum* L [J]. **Food Sci**, 2007, 28(11): 139-141. (in Chinese)
- [56] 李颖畅,郑凤娥,孟宪军. 大孔树脂纯化蓝莓果中花色苷的研究[J]. 食品与生物技术学报, 2009, 28(4): 496-500.
LI Yingchang, ZHENG Fenge, MENG Xianjun. Studies on purification of anthocyanins from blueberry fruits by macroporous resins[J]. **Journal of Food Science and Biotechnology**, 2009, 28(4): 496-500. (in Chinese)
- [57] 邹阳,张秀玲,石岳. AB-8 大孔吸附树脂对蓝莓色素吸附和分离的特性研究[J]. 中国食品添加剂, 2007(1): 80-99.
ZOU Yang, ZHANG Xiuling, SHI Yue. Adsorption and separation properties of blueberry pigment on AB-8 resin[J]. **China Food Additives**, 2007(1): 80-99. (in Chinese)
- [58] 黄月鹏,黄翠贤. AB-8 大孔树脂对蓝莓花色苷的纯化研究[J]. 商品与质量, 2012(1): 142-143.
HUANG Yuepeng, HUANG Cuixian. The purification study of blueberry anthocyanin on resin AB-8 [J]. **The Merchandise and Quality**, 2012(1): 142-143. (in Chinese)
- [59] 赵彦杰. 树脂法提取高灌蓝莓果色素的研究[J]. 食品科学, 2008, 29(8): 306-309.
ZHAO Yanjie. Study on extraction technology of pigment from *Vaccinium corymbosum* Fruit by resin method [J]. **Food Sci**, 2008, 29(8): 306-309. (in Chinese)
- [60] 权静,李冰峰,王益明,等. 大孔树脂分离纯化蓝莓花色苷研究[J]. 粮食与油脂, 2011(8): 43-46.
QUAN Jing, LI Bingfeng, WANG Yiming, et al. Separation and purification of blueberry anthocyanins with macroporous absorption resin[J]. **Cereals & Oils**, 2011(8): 43-46. (in Chinese)
- [61] 吕春茂,包静,孟宪军,等. HPD-700 型大孔树脂对野生越橘花色苷分离的研究[J]. 食品科学, 2012, 33(10): 78-83.
LU Chunmao, BAO Jing, MENG Xianjun, et al. Separation of anthocyanins from wild bilberry by HPD-700 macroporous resin [J]. **Food Science**, 2012, 33(10): 78-83. (in Chinese)
- [62] 赵慧芳,姚蓓,吴文龙,等. 蓝莓花色苷色素大孔树脂纯化工艺研究[J]. 食品工业, 2014, 35(12): 45-48.
ZHAO Huifang, YAO Bei, WU Wenlong, et al. Purification of blueberry anthocyanins with macroporous absorption resin[J]. **The Food Industry**, 2014, 35(12): 45-48. (in Chinese)

- [63] 郑红岩,于华忠,刘建兰,等. 大孔吸附树脂对蓝莓花色苷的分离工艺[J]. 林产化学与工业,2014,34(4):59-65.
ZHENG Hongyan, YU Huazhong, LIU Jianlan, et al. Purification of anthocyanin in blueberry by macroporous resin [J]. **Chemistry and Industry of Forest Products**, 2014, 34(4): 59-65. (in Chinese)
- [64] DU Qizhen, JERZ G, WINTERHALTER P. Isolation of two anthocyanins sambubiosides from bilberry (*Vaccinium myrtillus*) by high-speed countercurrent chromatography[J]. **J Chromatogr A**, 2004, 1045(1-2): 59-63.
- [65] 张亚红,刘德文,张新,等. 大孔树脂吸附及超滤膜技术提纯蓝莓花色苷中试研究[J]. 林业科技,2012,37(5):21-24.
ZHANG Yahong, LIU Dewen, ZHANG Xin, et al. Pilot-scale on purification of semen trigonellae anthocyanins by macroporous resin adsorption and ultrafiltration[J]. **Forestry Science & Technology**, 2012, 37(5): 21-24. (in Chinese)
- [66] 徐青,周元敬,贾强,等. 一种蓝莓花青素抗氧化性能增强方法[P]. 中国专利:CN104672196A,2015-06-03.

科技信息

欧盟批准大肠杆菌产苏氨酸作为动物饲料添加剂

2016年7月27日,据欧盟网站消息,欧盟委员会发布(EU)2016/1220实施条例,批准大肠杆菌产苏氨酸(L-threonine)作为动物饲料添加剂。本次新批准的苏氨酸属于“营养添加剂”,功能分组上属于“氨基酸,及其盐与类似物”。

按照新规定,苏氨酸可以作为预混添加剂的一种配料,饲料经营者应该为使用者制定操作规程,以及相关措施告知操作者潜在的风险。

苏氨酸可用于动物的饮用水中。饲料及其预混物产品标签应该标注“如果用于动物饮用水,那么需避免蛋白过剩”。

88/485/EEC指令批准的苏氨酸以及含苏氨酸的预混物可以在2017年5月16日之前按照有关条例继续在市场销售,直至库存耗完为止。

用于产肉动物的饲料产品可以按照有关条例在2017年8月16日之前继续在市场销售,直至库存耗完为止。用于非产肉动物的饲料产品可以按照有关条例在2018年8月16日之前继续在市场销售,直至库存耗完为止。

新条例自发布后第20日起生效。

[信息来源] 食品伙伴网. 欧盟批准大肠杆菌产苏氨酸作为动物饲料添加剂 [EB/OL]. (2016-7-28). <http://news.foodmate.net/2016/07/389171.html>