

酶法提取刺五加干果花色苷工艺优化及其组成分析

赵晨雨^{1,2}, 李慧敏^{1,2}, 王新媛^{1,2}, 杨天佑^{1,2}, 马辉^{1,2}, 朱丹³, 牛广财^{1,2*}

(1. 黑龙江八一农垦大学食品学院, 大庆 163319; 2. 黑龙江省农产品加工工程技术研究中心, 大庆 163319;
3. 黑龙江八一农垦大学生命科学技术学院, 大庆 163319)

摘要: **目的** 优化刺五加干果花色苷的提取条件, 并对该花色苷的组成进行分析。 **方法** 通过单因素试验研究酶的种类、液料比、酶添加量、酶解温度和酶解时间对提取液中花色苷含量的影响, 利用响应面法优化刺五加干果花色苷的提取工艺, 并利用超高效液相色谱-串联三重四级杆飞行时间质谱法 (ultra performance liquid chromatography-tandem triple-time of flight mass spectrometry, UPLC-Triple-TOF/MS) 对刺五加干果花色苷进行结构鉴定。 **结果** 刺五加干果花色苷提取的最佳工艺条件为: 液料比 18:1 (mL/g), 果胶酶的添加量 4.2%, 酶解温度 55 °C, 酶解时间 3.0 h, 在此条件下刺五加干果的花色苷含量达到 6.00 mg/g; 其主要花色苷为矢车菊素 3-O-(2-O-β-D-吡喃木糖基)-β-D-吡喃葡萄糖苷。 **结论** 利用果胶酶法来制备刺五加干果花色苷是可行的, 所得刺五加干果花色苷为矢车菊素 3-O-(2-O-β-D-吡喃木糖基)-β-D-吡喃葡萄糖苷。

关键词: 刺五加; 果胶酶; 花色苷; 提取; 响应面优化; 组成分析

Optimization of enzymatic extraction and composition analysis of anthocyanins from *Acanthopanax senticosus* dried fruit

ZHAO Chen-Yu^{1,2}, LI Hui-Min^{1,2}, WANG Xin-Yuan^{1,2}, YANG Tian-You^{1,2}, MA Hui^{1,2},
ZHU Dan³, NIU Guang-Cai^{1,2*}

(1. Food College, Heilongjiang Bayi Agricultural University, Daqing 163319, China; 2. Agri-food Processing and Engineering Technology Research Center of Heilongjiang Province, Daqing 163319, China; 3. College of Life Science and Technology, Heilongjiang Bayi Agricultural University, Daqing 163319, China)

ABSTRACT: Objective To optimize the extraction conditions of anthocyanins from dried *Acanthopanax senticosus* dried fruit, and analyze the composition of anthocyanins. **Methods** The effects of enzyme type, liquid-to-material ratio, enzyme dosage, enzymolysis temperature and enzymolysis time on the content of anthocyanins in the extract were discussed by single factor experiment. The extraction process of anthocyanins from *Acanthopanax senticosus* dried fruit was optimized by response surface methodology, and the structure of anthocyanins from *Acanthopanax senticosus* dried fruit was identified by ultra performance liquid chromatography-tandem triple-time of flight mass spectrometry (UPLC-Triple-TOF/MS). **Results** The optimal extraction conditions

基金项目: 国家级大学生创新创业训练计划项目(202010223033)、黑龙江八一农垦大学“三横三纵”平台支持计划项目(PTJH201904)

Fund: Supported by the National College Student Innovation and Entrepreneurship Training Program (202010223033), and the "Three Horizontal and Three Vertical" Platforms Support Projects of Heilongjiang Bayi Agricultural University (PTJH201904)

*通信作者: 牛广财, 博士, 教授, 主要研究方向为食品贮藏与加工。E-mail: gcnui@126.com

*Corresponding author: NIU Guang-Cai, Ph.D, Professor, Food College, Heilongjiang Bayi Agricultural University, Daqing 163319, China. E-mail: gcnui@126.com

of anthocyanin from *Acanthopanax senticosus* dried fruit were as follows: Liquid-material ratio 18:1 (mL/g), pectinase addition 4.2%, enzymolysis temperature 55 °C, and enzymolysis time 3.0 h. Under these conditions, the anthocyanin content in *Acanthopanax senticosus* dried fruit reached 6.00 mg/g. The main anthocyanin was procyanidin 3-O-(2-O- β -D-xylopyranosyl)- β -D-glucopyranoside by UPLC-Triple-TOF/MS. **Conclusion** It is feasible to prepare anthocyanin from *Acanthopanax senticosus* dried fruit by pectinase method. The anthocyanin from *Acanthopanax senticosus* dried fruit is cyanidin 3-O-(2-O- β -D-xylopyranosyl)- β -D-glucopyranoside.

KEY WORDS: *Acanthopanax senticosus*; pectinase; anthocyanin; extraction; response surface optimization; composition analysis

0 引言

刺五加(*Acanthopanax senticosus*)又名刺拐棒、坎拐棒子,为五加科植物,生于海拔 500~2000 m 的落叶阔叶林、针阔混交林或林缘,分布于河北及东北、山西等地^[1]。刺五加作为具有益气健脾^[2]、延年益寿、补肾安神^[3]的可用于保健食品的传统中药,具有良好的药用价值。刺五加果含有糖苷类^[4]、黄酮类^[5]、多糖类^[6]、苯丙素类、多种微量元素及氨基酸等化合物^[7],具有抗炎、抗氧化^[8-9]、护肝降酶、增强免疫力^[10]、抗疲劳^[11-14]、抗肿瘤^[15]等多种药理活性,具有较高的研发价值。

花色苷由自然界中的花青素与不同的糖苷键形成,属黄酮类化合物,具有抗氧化^[16]、降血糖、抗炎抗癌等生物活性^[17-18],作为天然的食用色素广泛应用于医药、食品和化工等行业。花色苷主要的提取方法包括溶剂提取法^[19]、超声波辅助提取法^[20]、微波辅助提取法^[21]、酶解法^[17]以及超临界流体萃取法等^[22-23]。其中,酶解法主要是破坏植物的细胞壁,使花色苷等成分更容易溶出。郑覃等^[24]优化了果胶酶辅助提取黑果枸杞花色苷的工艺条件,花色苷含量达到 24.675 mg/g;赵晓丹等^[25]对比了纤维素酶与果胶酶提取紫薯花色苷的工艺,结果表明使用果胶酶时花色苷得率为 28.6 mg/100 g,提取效果优于纤维素酶;赵月等^[26]研究了 α -淀粉酶与纤维素酶复配使用的提取工艺,得到黑米花色苷的提取率为 209.06 mg/g。

刺五加果呈黑褐色,含有丰富的花色苷。本研究对比了果胶酶、纤维素酶、木聚糖酶、植物水解酶对刺五加干果花色苷含量的影响,从而得到刺五加干果的最佳酶解工艺条件;同时,将采用超高效液相色谱-串联三重四极杆飞行时间质谱法(ultra performance liquid chromatography-tandem triple-time of flight mass spectrometry, UPLC-Triple-TOF/MS)对最优提取条件下得到的刺五加干果花色苷进行分离纯化,对刺五加花色苷的组成进行初步鉴定,以期对刺五加干果的开发与利用提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

刺五加干果,购于黑龙江省尚志市苇河镇。

Pectinex XXL 果胶酶、纤维素酶、木聚糖酶、植物水解酶[酶活均为 10000 U/mL,诺维信(中国)生物技术有限公司]。

1.2 试剂与仪器

甲醇、盐酸、醋酸钠、KCl(分析纯,天津市大茂化学试剂厂);甲醇、乙腈(色谱纯,上海阿拉丁生化科技股份有限公司)。

EX324 型电子天平[奥豪斯仪器(上海)有限公司];HWS24 型电热恒温水浴锅(上海一恒科技有限公司);DGG-9030A 型鼓风干燥箱(上海森信实验仪器有限公司);5804R 高速冷冻离心机(德国 Eppendorf 公司);UV-1100 紫外-可见分光光度计(上海凌析达仪器);UPLC-Triple-TOF/MS 系统、AcquityTM ultra 型高效液相色谱仪、BEH-C₁₈ 色谱柱(美国 Waters 公司);Triple TOF 5600+型飞行时间质谱、配有电喷雾离子源(美国 AB SCIEX 公司);Christ ALPHA 1-2 LD plus 冷冻干燥机(德国 Marin Christ 公司)。

1.3 试验方法

1.3.1 刺五加酶法提取的工艺流程

刺五加干果→称重→加水→破碎匀浆→加酶→保温酶解→灭酶→离心→上清液→含量测定→组成分析。

1.3.2 操作要点

准确称取一定量饱满完好的刺五加干果,在 50 °C 烘箱中干燥 4~5 h,使水分含量达到 5%。按照设定的液料比加入蒸馏水,密封浸泡使其充分吸水软化,用研钵将刺五加干果充分研磨成浆。按照设定的酶添加量,向刺五加果浆中加入不同种类酶,按照设定条件进行酶解处理,灭酶(95 °C, 10 min)后将酶解液置于 10000 r/min 离心机中离心 10 min,得到上清液,进行含量测定及花色苷组成分析。

1.4 刺五加果酶解单因素试验

1.4.1 酶的种类对刺五加干果花色苷含量的影响

当酶添加总量为 3%,酶解温度为 50 °C,酶解时间为 3 h,液料比为 18:1 (mL/g)时,考察不添加酶、添加纤维素酶、果胶酶、纤维素酶:果胶酶(1:1, m:m)、纤维素酶:木聚糖酶(1:1, m:m)、植物水解酶等 6 种酶的酶解情况,根据花

色苷含量确定最适酶的种类。

1.4.2 液料比对刺五加干果花色苷含量的影响

当添加酶种类为果胶酶，酶添加量为 3‰，酶解温度为 50 ℃，酶解时间为 3 h 时，考察液料比分别为 12:1、14:1、16:1、18:1、20:1 (mL/g)对刺五加干果花色苷含量的影响。

1.4.3 酶添加量对刺五加干果花色苷含量的影响

当果胶酶的酶解温度为 50 ℃，酶解时间为 3 h，液料比为 18:1 (mL/g)时，考察酶添加量分别为 1‰、2‰、3‰、4‰、5‰对刺五加干果花色苷含量的影响。

1.4.4 酶解温度对刺五加干果花色苷含量的影响

当果胶酶的添加量为 3‰，酶解时间为 3 h，液料比为 18:1 (mL/g)时，考察酶解温度分别为 40、45、50、55、60 ℃对刺五加干果花色苷含量的影响。

1.4.5 酶解时间对刺五加干果花色苷含量的影响

当果胶酶的添加量为 3‰，酶解温度为 50 ℃，液料比为 18:1 (mL/g)时，考察酶解时间分别为 1.5、2.0、2.5、3.0、3.5、4.0 h 对刺五加干果花色苷含量的影响。

1.5 响应面优化设计试验

由单因素试验结果，依据 Box-Behnken 设计原理，以刺五加干果花色苷含量为响应值，选取酶解时间、酶解温度、酶添加量和液料比设计响应面试验，以优化刺五加干果花色苷提取工艺，其因素与水平如表 1 所示。

表 1 响应面试验因素与水平表

Table 1 Factors and levels of response surface experiment

水平	A 酶添加量 /‰	B 液料比 (mL/g)	C 酶解温度 /℃	D 酶解时间 /h
-1	3	16 : 1	45	2.5
0	4	18 : 1	50	3.0
1	5	20 : 1	55	3.5

1.6 花色苷含量测定

参照兰永丽^[27]的 pH 示差法测定。取 2 份同一酶解后的刺五加样品 2 mL，分别加入 pH 1.0 的 KCl 溶液和 pH 4.5 的醋酸钠溶液 8 mL，混匀并静置 15 min 后，分别测定样品在 520 nm 和 700 nm 处的吸光度。

刺五加花色苷含量计算公式(1)为:

$$Y=[\Delta A \times N \times MW \times V / (\varepsilon \times L \times W)] \times 100 \quad (1)$$

式中， ΔA 表示($A_{520}-A_{700}$) pH_{1.0}-($A_{520}-A_{700}$) pH_{4.5}, mg/L; N 表示稀释倍数; MW 代表矢车菊-3-葡萄糖苷的摩尔质量, 449.2 g/mol; V 表示果汁的体积, mL; ε 为矢车菊-3-葡萄糖苷的摩尔消光系数 26900; L 为比色皿光程, cm; W 为样品质量, g。

1.7 刺五加花色苷成分测定

将刺五加干果花色苷提取液冻干后，称取样品 20 mg，加 2 mL 的 50%甲醇水溶解，离心取上清液，待测。

1.7.1 液相测定条件

流动相: A: 1%甲酸水溶液, B: 乙腈, 流速: 0.4 mL/min; 检测波长: 520 nm; 色谱柱: BEH-C₁₈ 色谱柱(2.1 mm×100 mm, 1.7 μm); 进样量: 3 μL; 柱温箱: 40℃; 梯度洗脱程序: 0~15 min, 95%~80% A, 5%~20% B; 15~17 min, 80%~5% A, 20%~95% B。

1.7.2 质谱测定条件

质谱条件: UPLC-Triple-TOF 5600+飞行时间液质联用仪: 正负离子扫描模式; 扫描范围: 100~1500 m/z ; 雾化气 1:50 psi, 雾化气 2:50 psi; 气帘气: 35 psi; 离子源温度: 550 ℃(负)/600 ℃(正); 离子源电压: -4500 V(负)/5500 V(正); 一级扫描: 去簇电压: 100 V; 聚焦电压: 10 V; 二级扫描: 使用质谱产物离子分析模式采集质谱数据, 碰撞诱导解离能量为-20、-40 和-60 V, 进样前用校准传输系统泵做质量轴校正, 使质量轴误差小于 2 mg/kg。

1.8 数据处理

单因素试验数据采用 Excel 2013 作图; 响应面试验采用 Design Expert 8.0.6 软件进行设计和数据处理。

2 结果与分析

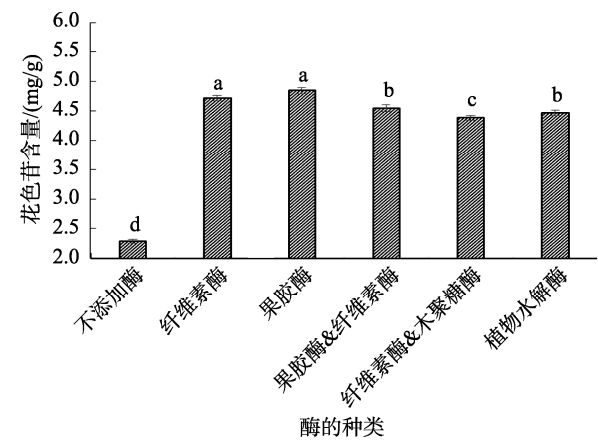
2.1 单因素试验结果分析

2.1.1 酶种类对刺五加干果花色苷的影响

酶水解具有专一性与高效性。由图 1 可知，相对于不添加酶及添加其他酶类来说，添加果胶酶的试验组的刺五加干果花色苷提取量最高，此时，刺五加干果花色苷为 4.84 mg/g。纤维素酶的效果次之，该酶酶解后刺五加花色苷提取量为 4.72 mg/g。尽管两者无显著差异 ($P>0.05$)，但是果胶酶处理后的花色苷提取量要高于纤维素酶的提取量。因此，本研究选择果胶酶进行刺五加干果酶解的后续试验。

2.1.2 液料比对刺五加干果花色苷含量的影响

不同的液料比对花色苷提取量有着很大的影响。在其他条件相同的情况下，因为液料比的提高，使得花色苷成分不断溶出且有助于酶的扩散，所以花色苷的提取量呈现上升的趋势，当液料比为 18:1 (mL/g)时，花色苷提取量达到最大值 5.72 mg/g，然后随着液料比的不断提高，刺五加干果花色苷的提取量出现下降，原因是过多的溶剂使得更多的杂质成分析出，影响了花色苷的提取量^[28]，并且影响后续的浓缩过程，因此本研究选择最佳的液料比为 18:1 (mL/g)。



注: 不同字母表示具有显著性差异($P<0.05$)。

图 1 酶的种类对刺五加花色苷含量的影响($n=3$)

Fig.1 Effects of enzyme types on the content of anthocyanin from *Acanthopanax senticosus* ($n=3$)

2.1.3 酶添加量对刺五加干果花色苷含量的影响

研究结果显示, 随着果胶酶添加量的提高, 花色苷提取量呈现先增加后下降的趋势。当加酶量小于 4‰时, 底物浓度大于酶浓度, 因而随着加酶量不断地增加, 花色苷的提取量不断增加; 而当加酶量大于 4‰时, 酶浓度与底物浓度达到饱和, 故而花色苷提取率不再增加, 并有下降趋势, 此研究结果与张晓旭等^[29]研究结果一致。当酶的添加量为 4‰时, 刺五加干果的花色苷提取量达到最大值 5.57 mg/g。

2.1.4 酶解温度对刺五加干果花色苷含量的影响

温度能够影响酶的稳定性及其活性。由研究结果可知刺五加干果的花色苷提取量随温度的升高而升高。随着温度的升高, 分子运动速率加快, 花色苷的溶解与扩散速度加快^[30]; 并且酶活性与温度有着直接的关系, 随着酶解温度的上升, 酶活性不断增加直至达到酶活性的最适温度。在不同的温度下花色苷提取量的上升率并不相同。在 50 ℃时, 花色苷提取量为 4.30 mg/g, 相较于 45 ℃的 3.131 mg/g

上升了 37.34%, 而 55 ℃时的花色苷提取量为 4.42 mg/g, 较 50 ℃时的花色苷提取量只升高了 2.79%。随温度的继续升高, 曲线趋于平缓。因此选择酶解温度为 50 ℃, 既可以保证花色苷的溶出率, 还可以减少生产过程中的成本。

2.1.5 酶解时间对刺五加干果花色苷含量的影响

随着酶解时间的增加, 刺五加干果花色苷提取量呈先增加后下降的趋势。当酶解时间达到 3.0 h 时, 花色苷提取量达到最大值, 为 5.51 mg/g, 此时刺五加干果内容物基本析出, 当时时间超过 3.5 h 时花色苷提取量呈现下降趋势, 原因可能是酶解时间过长, 导致花色苷降解。因此, 酶解时间选择 3.0 h 为宜。

2.2 响应面优化试验结果分析

2.2.1 响应面试验结果

在单因素试验结果基础上, 刺五加果浆中添加果胶酶, 以酶添加量(A)、液料比(B)、酶解温度(C)和酶解时间(D)为自变量, 刺五加干果的花色苷含量(Y)作为响应值, 响应面试验结果见表 2。对表 2 的结果进行多元回归, 拟合得到刺五加花色苷含量的二次多项回归方程如公式(2), 相关系数为 0.9997。

$$Y=5.72+0.027A+0.29B+0.40C-0.11D+0.81AB+0.24AC-0.75AD-0.42BC-0.16BD-0.29CD-1.38A^2-1.00B^2-0.16C^2-1.36D^2 \quad (2)$$

2.2.2 回归模型方差分析及显著性

回归模型的方差分析见表 3。由表 3 可知, 该模型的 F 值为 3119.74, $P<0.01$, 表明刺五加干果花色苷含量的模型极显著。该模型的一次项 A 、 B 、 C 、 D 、二次项 A^2 、 B^2 、 C^2 、 D^2 影响极显著($P<0.01$)。 AB 、 AC 、 AD 、 BC 、 BD 、 CD 交互作用极显著($P<0.01$), 失拟项不显著($P>0.05$)。通过方差分析, 结合 4 个因素的 F 值可以得出 4 个因素对刺五加干果花色苷含量的影响次序为: A 酶添加量 $<D$ 酶解时间 $<B$ 液料比 $<C$ 酶解温度。

表 2 响应面试验结果与分析

Table 2 Results and analysis of response surface experiment

试验号	A 酶添加量/%	B 液料比(mL/g)	C 酶解温度/℃	D 酶解时间/h	花色苷含量/(mg/g)
1	3	20:1	50	3.0	2.77
2	4	20:1	45	3.0	4.86
3	3	18:1	50	2.5	2.32
4	5	20:1	50	3.0	4.41
5	4	16:1	55	3.0	5.09
6	4	18:1	50	3.0	5.71
7	4	20:1	50	3.5	3.40
8	4	16:1	50	2.5	3.00
9	5	18:1	45	3.0	3.58
10	4	20:1	50	2.5	3.92
11	4	18:1	50	3.0	5.72
12	4	18:1	50	3.0	5.67

表 2(续)

试验号	<i>A</i> 酶添加量/‰	<i>B</i> 液料比(mL/g)	<i>C</i> 酶解温度/℃	<i>D</i> 酶解时间/h	花色苷含量/(mg/g)
13	4	18:1	50	3.0	5.73
14	4	20:1	55	3.0	4.84
15	4	18:1	45	3.5	3.98
16	4	18:1	55	3.5	4.17
17	3	16:1	50	3.0	3.85
18	5	18:1	50	3.5	2.14
19	5	18:1	55	3.0	4.85
20	5	16:1	50	3.0	2.27
21	4	16:1	45	3.0	3.44
22	4	18:1	55	2.5	4.97
23	4	18:1	45	2.5	3.61
24	3	18:1	45	3.0	3.98
25	4	16:1	50	3.5	3.11
26	3	18:1	55	3.0	4.29
27	4	18:1	50	3.0	5.76
28	3	18:1	50	3.5	3.58
29	5	18:1	50	2.5	3.86

表 3 回归模型的方差分析
Table 3 Variance analysis of regression model

方差来源	平方和	自由度	均方	<i>F</i> 值	<i>P</i> 值
模型	32.85	14	2.35	3119.74	< 0.0001
<i>A</i>	8.53E-03	1	8.53E-03	11.35	0.0046
<i>B</i>	0.99	1	0.99	1311.10	< 0.0001
<i>C</i>	1.89	1	1.89	2510.34	< 0.0001
<i>D</i>	0.14	1	0.14	187.24	< 0.0001
<i>AB</i>	2.59	1	2.59	3446.29	< 0.0001
<i>AC</i>	0.23	1	0.23	306.32	< 0.0001
<i>AD</i>	2.22	1	2.22	2951.70	< 0.0001
<i>BC</i>	0.7	1	0.7	926.98	< 0.0001
<i>BD</i>	0.099	1	0.099	131.92	< 0.0001
<i>CD</i>	0.34	1	0.34	455.00	< 0.0001
<i>A</i> ²	12.42	1	12.42	16508.96	< 0.0001
<i>B</i> ²	6.5	1	6.5	8642.70	< 0.0001
<i>C</i> ²	0.17	1	0.17	230.77	< 0.0001
<i>D</i> ²	12.06	1	12.06	16035.13	< 0.0001
残差	0.011	14	7.52E-04		
失拟项	6.25E-03	10	6.25E-04	0.58	0.7766
净误差	4.28E-03	4	1.07E-03		
总离差	32.86	28			

2.2.3 验证试验

通过 Design Expert 8.0.6 软件优化分析, 可得到刺五加干果花色苷的理论最佳酶解工艺参数为: 果胶酶添加量 4.15%, 液料比 18.02:1 (mL/g), 酶解温度 55 °C, 酶解时间 2.91 h, 此时提取刺五加干果中花色苷的理论值为 6.01 mg/g。考虑实际操作的便利性, 将上述最佳酶解工艺参数调整为: 果胶酶添加量 4.2‰, 液料比为 18:1 (mL/g), 酶解温度 55 °C, 酶解时间 3.0 h。在此条件下进行 3 次平行试验, 提取刺五加干果中花色苷的平均值为 6.00 mg/g, 实际值与理论值非常相近, 说明该响应面模型与实际拟合结果较好, 该模型可靠, 可以用于刺五加干果花色苷提取工艺的优化。

2.3 刺五加干果花色苷提取液中花色苷组成的初步鉴定

花色苷结构与黄酮比较类似, 在日常质谱解析时易混淆, 因此本研究采用正负离子检测, 利用负离子 $[M-2H]^-$ 、 $[M-2H+H_2O]^-$ 和正离子 $[M]^+$ 的一级质谱规律来判别是否有花色苷存在。刺五加干果花色苷提取液中的花色苷化合物的出峰时间为 4.18 min, $[M]^+$ 为 m/z 581.1492, 根据高分辨质谱结果拟合的分子式为 $C_{26}H_{29}O_{15}$ 。根据二

级质谱, 该化合物的母核为 287, 为矢车菊素(cyaniding), 其结构中存在一个六碳糖和一个五碳糖结构, 对比参考文献^[31], 根据 Scifinder 和 Reaxy 数据库检索, 推测该化合物为 cyanidin 3-O-(2-O- β -D-xylopyranosyl)- β -D-glucopyranoside, 该矢车菊素 3-O-(2-O- β -D-吡喃木糖基)- β -D-吡喃葡萄糖苷的一级质谱图、二级质谱图(正负)和可能结构式见图 2、3。

3 结 论

本研究在单因素试验的基础上, 根据 Box-Behnken 响应面试验设计, 建立了刺五加干果花色苷含量的回归方程, 以此优化刺五加干果花色苷的果胶酶法提取工艺。本研究模型拟合度高, 模型极显著($P < 0.01$)。经过验证试验得出刺五加干果花色苷提取的最优工艺参数为: 液料比 18:1 (mL/g)、果胶酶添加量 4.2‰、酶解温度 55 °C、酶解时间 3.0 h, 在该条件下刺五加花色苷含量为 6.00 mg/g。经超高效液相色谱-串联三重四极杆飞行时间质谱鉴定, 刺五加干果中花色苷为矢车菊素 3-O-(2-O- β -D-吡喃木糖基)- β -D-吡喃葡萄糖苷, 这为刺五加干果花色苷的工业生产提供了理论基础。

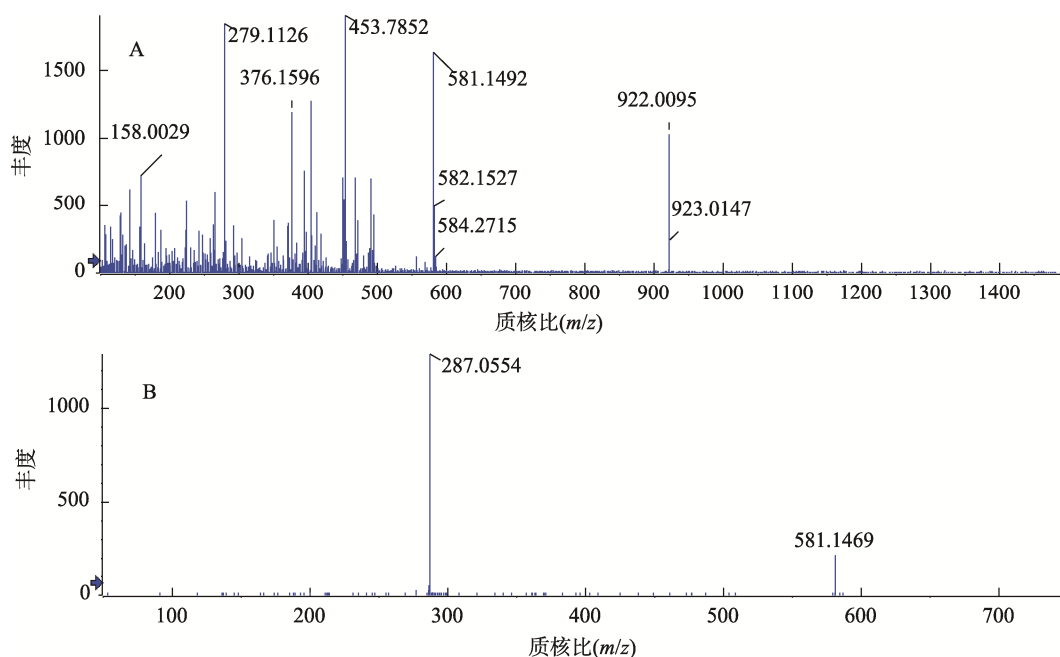


图 2 刺五加干果提取物一级质谱(A)和二级质谱(B)图

Fig.2 Primary mass spectrum (A) and secondary mass spectrum (B) of anthocyanin from *Acanthopanax senticosus* dried fruit

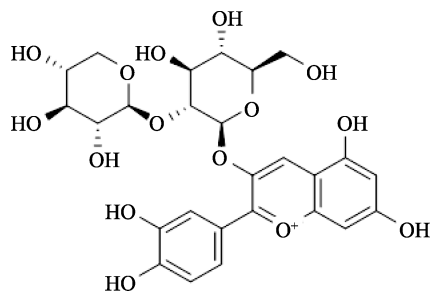


图3 刺五加干果提取物中花色苷可能结构

Fig.3 Possible structure of anthocyanin in that extract of *Acanthopanax senticosus* dried fruit

参考文献

- [1] 董广民. 本草纲目中药养生速查全书[M]. 北京: 中医古籍出版社, 2015.
- [2] DONG GM. Compendium of materia medica Chinese medicine health quick checkbook [M]. Beijing: Traditional Chinese Medicine Ancient Books Publishing House, 2015.
- [3] 郑单单, 魏文峰, 霍金海, 等. 基于 UPLC-Q-TOF-MS 技术的芪凤固表颗粒血清药理学研究[J]. 中草药, 2021, 52(3): 643–652.
- [4] ZHENG DD, WEI WF, HUO JH, *et al.* Study on serum pharmacokinetics of Qifenggubiao granules based on UPLC-Q-TOF-MS [J]. Chin Tradit Herb Drug, 2021, 52(3): 643–652.
- [5] 王丽红, 孟卓异, 林雨颖, 等. 刺五加-云芝乙醇提取物对小鼠抗抑郁作用[J/OL]. 食品工业科技: 1–11. [2021-06-05]. <https://doi.org/10.13386/j.issn1002-0306.2020040072>
- [6] WANG LH, MENG ZY, LIN LY, *et al.* The effectiveness of *Acanthopanax senticosus*-*Coriolus versicolor* ethanolic extract on anti-depressive in mice [J/OL]. Food Ind Sci Technol: 1–11. [2021-06-05]. <https://doi.org/10.13386/j.issn1002-0306.2020040072>
- [7] 杨阳, 刘玉翠, 韩玉坤, 等. 刺五加成分的多种抗肿瘤作用[J]. 吉林医药学院学报, 2014, 35(5): 366–369.
- [8] YANG Y, LIU YC, HAN YK, *et al.* A variety of antitumor effects of *Acanthopanax acanthopanax* [J]. J Jilin Med Univ, 2014, 35(5): 366–369.
- [9] 王彦博, 石燕, 袁毅君. 麦积山野生刺五加多酚与黄酮的超声辅助提取与体外抗氧化活性的研究[J]. 天然产物研究与开发, 2019, 31(12): 2153–2162.
- [10] WANG YB, SHI Y, YUAN YJ. Ultrasonic-assisted extraction of polyphenols and flavonoids from Maijishan wild *Acanthopanax* and their antioxidant activities *in vitro* [J]. Nat Prod Res Dev, 2019, 31(12): 2153–2162.
- [11] 彭莉, 周燕红, 王丹. 刺五加多糖抗肿瘤作用及其机制研究进展[J]. 湖北科技学院学报(医学版), 2020, 34(6): 546–549.
- [12] PENG L, ZHOU YH, WANG D. Research progress on antitumor effect and mechanism of *Acanthopanax acanthopanax* polysaccharide [J]. J Hubei Univ Sci Technol (Med Ed), 2020, 34(6): 546–549.
- [13] 张宇航, 邱智东, 傅超美, 等. 刺五加化学成分药理学特性及其体内代谢过程研究进展[J]. 食品工业科技, 2020, 41(16): 334–339, 345.
- [14] ZHANG YH, QIU ZD, FU CM, *et al.* Research progress on the pharmacokinetics of *Acanthopanax senticosus* harms chemical constituents and its metabolism *in vivo* [J]. Food Ind Sci Technol, 2020, 41(16): 334–339, 345.
- [15] 张云露, 谢凯恒, 宋泽和, 等. 复方刺五加散对小鼠血清抗氧化功能的影响[J/OL]. 中国畜牧杂志: 1–7. [2021-06-05]. <https://doi.org/10.19556/j.0258-7033.20200828-03>
- [16] ZHANG YL, XIE KH, SONG ZH, *et al.* Effect of compound *Acanthopanax senticosus* powder on antioxidant function of serum in mice [J/OL]. Chin J Anim Sci: 1–7. [2021-06-05]. <https://doi.org/10.19556/j.0258-7033.20200828-03>
- [17] LEE SH, SON DW, RYU JY, *et al.* Anti-oxidant activities of *Acanthopanax senticosus* stems and their lignan components [J]. Arch Pharm Res, 2004, 27(1): 106–110.
- [18] LI WJ, LUO QX, JIN LH. *Acanthopanax senticosus* extracts have a protective effect on *drosophila* gut immunity [J]. J Ethnopharmacol, 2013, 146(1): 257–263.
- [19] ZHANG XL, REN F, HUANG W, *et al.* Anti-fatigue activity of extracts of stem bark from *Acanthopanax senticosus* [J]. Molecules, 2010, 16(1): 28–37.
- [20] HUANG LZ, HUANG BK, YE Q, *et al.* Bioactivity-guided fractionation for anti-fatigue property of *Acanthopanax senticosus* [J]. J Ethnopharmacol, 2011, 133(1): 213–219.
- [21] 盛瑜, 白丽丹, 段懿涵, 等. 北虫草刺五加组合物抗疲劳活性及机理研究[J]. 食品研究与开发, 2020, 41(20): 15–21.
- [22] SHENG Y, BAI LD, DUAN YH, *et al.* Study on the effect and mechanism of CAC for anti-fatigue [J]. Food Res Dev, 2020, 41(20): 15–21.
- [23] 高寒, 徐伟, 张宇航, 等. 基于网络药理学的刺五加总苷抗疲劳作用机制研究[J]. 中草药, 2021, 52(2): 413–421.
- [24] GAO H, XU W, ZHANG YH, *et al.* Anti-fatigue mechanism of *Acanthopanax senticosus* glycosides based on network pharmacology [J]. Chin Tradit Herb Drug, 2021, 52(2): 413–421.
- [25] 张涛, 朴俊虹, 袁蕾, 等. 刺五加化学成分及自由基清除活性研究[J]. 中草药, 2012, 43(6): 1057–1060.
- [26] ZHANG T, PIAO JH, YUAN L, *et al.* Chemical constituents of *Acanthopanax senticosus* and their free radical scavenging activities [J]. Chin Tradit Herb Drug, 2012, 43(6): 1057–1060.
- [27] 刘国凌, 郭红辉, 尚彬. 岗稔果皮花色苷体外抗氧化活性研究[J]. 食品工业, 2014, 35(1): 203–206.
- [28] LIU GL, GUO HH, SHANG B. Antioxidant activity of anthocyanins from the skin of *Rhodomyrtus tomentosa* (Ait.) Hassk *in vitro* [J]. Food Ind, 2014, 35(1): 203–206.
- [29] 廖春燕, 陈妹, 周林, 等. 纤维素酶-微波联合提取岗稔花色苷的工艺优化[J]. 食品科技, 2021, 46(2): 198–204.
- [30] LIAO CY, CHEN S, ZHOU L, *et al.* Optimization of extraction process of anthocyanins from *Rhodomyrtus tomentosa* by the cellulase-microwave combined method [J]. Food Sci Technol, 2021, 46(2): 198–204.
- [31] 王琳, 隋昌海. 大孔树脂分离纯化黑米花色苷的研究[J]. 粮食与油脂, 2021, 34(2): 104–107, 112.
- [32] WANG L, SUI CH. Study on separation and purification of anthocyanins from black rice by macroporous resin [J]. J Cere Oils, 2021, 34(2): 104–107, 112.
- [33] 李娜, 姬欣欣, 贾转转. 枸杞中花色苷的提取工艺研究[J]. 山东化工, 2021, 50(2): 38–40.
- [34] LI N, JI XX, JIA ZZ. The study of extraction technology of anthocyan in

- from *Lycium barbarum* L. [J]. Shandong Chem Ind, 2021, 50(2): 38–40.
- [20] 魏婷, 曾永明, 何伟, 等. 超声波辅助提取伊犁薰衣草花色苷工艺及其抗氧化活性研究[J]. 食品科技, 2018, 43(12): 244–252.
- WEI T, ZENG YM, HE W, *et al.* Ultrasonic-assisted extraction and antioxidant activity of anthocyanins in lavender from Xinjiang [J]. Food Sci Technol, 2018, 43(12): 244–252.
- [21] 卢珊. 响应面设计的紫甘蓝花色苷色素提取技术研究[J]. 中国调味品, 2021, 46(2): 159–162.
- LU S. Study on extraction technology of anthocyanin pigment from purple cabbage by response surface methodology [J]. China Cond, 2021, 46(2): 159–162.
- [22] 秦公伟, 韩豪, 丁小维, 等. 蓝莓果渣中花色苷的超临界二氧化碳萃取工艺优化[J]. 应用化工, 2019, 48(1): 109–112, 117.
- QIN GW, HAN H, DING XW, *et al.* Optimization of supercritical carbon dioxide extraction process for anthocyanins from blueberry pomace [J]. Appl Chem Eng, 2019, 48(1): 109–112, 117.
- [23] 徐智慧, 高作利, 任邵琦, 等. 彩色水稻花色苷的研究进展[J/OL]. 分子植物育种: 1–13. [2021-06-05]. <http://kns.cnki.net/kcms/detail/46.1068.S.20210120.1836.010.html>
- XU ZH, GAO ZL, REN SQ, *et al.* Research progress in anthocyanin of colored rice [J/OL]. Mol Plant Breed: 1–13. [2021-06-05]. <http://kns.cnki.net/kcms/detail/46.1068.S.20210120.1836.010.html>
- [24] 郑覃, 王青霞, 李建颖. 酶法辅助提取黑果枸杞花色苷工艺优化[J]. 食品研究与开发, 2018, 39(8): 35–40.
- HAN T, WANG QX, LI JY. Optimization of enzymatic assisted extraction of anthocyanins from *Lycium ruthenicum* Murr. [J]. Food Res Dev, 2018, 39(8): 35–40.
- [25] 赵晓丹, 李嘉. 纤维素酶及果胶酶法提取紫薯花色苷的工艺优化[J]. 食品科技, 2015, 40(4): 277–281.
- ZHAO XD, LI J. Optimization of extraction process of anthocyanins from purple potato by cellulase and pectinase [J]. Food Sci Technol, 2015, 40(4): 277–281.
- [26] 赵月, 江连洲, 韩翠萍, 等. 复配生物酶法提取黑米花色苷工艺研究[J]. 中国食品学报, 2017, 17(10): 99–106.
- ZHAO Y, JIANG LZ, HAN CP, *et al.* Study on extraction technology of black alpinia by compound bioenzyme [J]. J Chin Inst Food Sci Technol, 2017, 17(10): 99–106.
- [27] 兰永丽. 石榴酒及石榴乳酸饮料发酵工艺优化及机器风味和抗氧化性研究[D]. 杨凌: 西北农林科技大学, 2017.
- LAN YL. Study on optimization of fermentation process and machine flavor and antioxidant of pomegranate liquor and pomegranate lactic acid beverage [D]. Yangling: Northwest A and F University, 2017.
- [28] 李旭, 高博, 赵丽华, 等. 响应面法优化超声波提取蓝靛果花色苷及其抗炎活性的研究[J]. 食品科技, 2021, 46(3): 176–183.
- LI X, GAO B, ZHAO LH, *et al.* Optimization of the ultrasonic-assisted extraction of anthocyanins from *Lonicera edulis* by response surface methodology and its anti-inflammatory activities [J]. Food Sci Technol, 2021, 46(3): 176–183.
- [29] 张晓旭, 连培康, 顾程程, 等. 响应面法优化大枣复合香料的提取及其在卷烟中的应用[J]. 安徽农业科学, 2019, 47(17): 186–189.
- ZHANG XX, LIAN PK, GU CC, *et al.* Optimization of extraction of jujube complex spices by response surface method and its application in cigarettes [J]. Anhui Agric Sci, 2019, 47(17): 186–189.
- [30] 米佳, 禄璐, 罗青, 等. 超声波辅助酶法提取黑果枸杞花色苷的工艺优化及其稳定性研究[J]. 食品科技, 2020, 45(8): 187–191.
- MI J, LU L, LUO Q, *et al.* Extraction and stability of anthocyanin of *Lycium ruthenicum* Murr. by ultrasonic-assisted enzymatic method [J]. Food Sci Technol, 2020, 45(8): 187–191.
- [31] CHEN L, XIN X, FENG H, *et al.* Isolation and identification of anthocyanin component in the fruits of *Acanthopanax sessiliflorus* (Rupr. & Maxim.) seem. by means of high speed counter current chromatography and evaluation of its antioxidant activity [J]. Molecules, 2020, 25(8): 1781.

(责任编辑: 张晓寒 于梦娇)

作者简介



赵晨雨, 主要研究方向为食品科学与工程。

E-mail: 1552187910@qq.com



牛广财, 博士, 教授, 主要研究方向为食品贮藏与加工。

E-mail: geniu@126.com