

原红霞, 侯倩宜, 杜姗, 等. 静乐黑枸杞花青素的纯化及其抗氧化特性 [J]. 食品工业科技, 2021, 42(9): 173-178. doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2020070221

YUAN Hongxia, HOU Qianyi, DU Shan, et al. Purification and Antioxidant Properties of Anthocyanins from Jingle *Lycium ruthenicum*[J]. Science and Technology of Food Industry, 2021, 42(9): 173-178. (in Chinese with English abstract). doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2020070221

· 工艺技术 ·

静乐黑枸杞花青素的纯化及其抗氧化特性

原红霞^{1,2}, 侯倩宜^{1,2}, 杜 姗¹, 田 欢¹, 李青山^{1,2,*}

(1.山西中医药大学中药与食品工程学院, 山西晋中 030619;

2.基于炎症反应的重大疾病创新药物山西省重点实验室, 山西晋中 030619)

摘要:目的: 探讨静乐黑枸杞花青素的纯化工艺及其抗氧化活性。方法: 比较 HPD100、D101、NKA、AB-8、HPD400 等五种树脂对静乐黑枸杞花青素的吸附与解析性能, 筛选最佳树脂, 并优化其纯化条件; 采用 DPPH 自由基、OH 自由基和 ABTS 自由基法, 比较黑枸杞样品纯化前后的抗氧化活性。结果: HPD100 大孔树脂对于静乐黑枸杞花青素有良好的纯化性能, 适宜的工艺条件为: 静乐黑枸杞粗提液上样浓度为 0.2 mg/mL (含生药量)、上样体积为 49 mL、洗脱剂为 75% 的乙醇溶液、洗脱剂用量 42 mL, 在此条件下, 纯化后花青素的纯度由 2.38% 提高至 17.82%。静乐黑枸杞具有较好的抗氧化能力, 其粗提液和纯化液清除 DPPH· 的 IC₅₀ 值分别为 0.208 和 0.011 mg/mL; 对 ABTS⁺ 清除能力的 IC₅₀ 值分别为 0.476 和 0.064 mg/mL; 纯化液清除·OH 的 IC₅₀ 值为 6.24 mg/mL。结论: 大孔树脂吸附法分离纯化静乐黑枸杞花青素工艺合理, 且纯化后抗氧化活性明显提高。

关键词: 黑枸杞, 花青素, 大孔吸附树脂, 纯化, 抗氧化性

中图分类号: TS255.1

文献标识码: B

文章编号: 1002-0306(2021)09-0173-06

DOI: 10.13386/j.issn1002-0306.2020070221

Purification and Antioxidant Properties of Anthocyanins from Jingle *Lycium ruthenicum*

YUAN Hongxia^{1,2}, HOU Qianyi^{1,2}, DU Shan¹, TIAN Huan¹, LI Qingshan^{1,2,*}

(1.School of Chinese Medicine and Food Engineering, Shanxi University of Chinese medicine, Jinzhong 030619, China;

2.Shanxi Key Laboratory of Innovative Drug for the Treatment of Serious Diseases Basing on the Chronic Inflammation, Jinzhong 030619, China)

Abstract: Objective: To investigate the purification technology and antioxidation ability of *Lycium ruthenicum* anthocyanins from Jingle. Methods: Based on the adsorption properties of selected five macroporous resins (HPD100, D101, NKA, AB-8, HPD400) for *Lycium ruthenicum* anthocyanins from Jingle, the optimum purification resins were screened and the purification parameters were optimized. The antioxidant activity of crude and purified *Lycium ruthenicum* anthocyanins from Jingle were investigated by DPPH, hydroxyl and ABTS free radical scavenging assay. Results: HPD100 resin had good separation and purification effect. The optimum purification parameters were as follows: Sample concentration 0.2 mg/mL, sample volume 49 mL, elution volume 42 mL with 75% ethanol. After purification, the anthocyanins content was from 2.38% to 17.82%. The crude and purified *Lycium ruthenicum* anthocyanins from Jingle showed good antioxidant activity, the IC₅₀ values of DPPH· scavenging capacity were 0.208 and 0.011 mg/mL respectively, the IC₅₀ values of ABTS⁺ scavenging capacity were 0.476 and 0.064 mg/mL respectively, the IC₅₀ value of purified *Lycium ruthenicum* anthocyanins for ·OH scavenging capacity was 6.24 mg/mL. Conclusion: The macroporous resin method for purifying *Lycium ruthenicum* anthocyanins has good purification effect. The antioxidant capacity of the purified *Lycium ruthenicum* anthocyanins was significantly improved compared with the crude extracts.

收稿日期: 2020-07-20

基金项目: 晋药综合开发利用协同创新中心项目 (2017-JYXT-16); 山西中医药大学科技创新团队建设项目 (2018TD-002); 山西中医药大学学科建设 (中药/天然药物化学 1008Z1)。

作者简介: 原红霞 (1982-), 女, 博士研究生, 研究方向: 天然产物, Email: yuanhongxia609@163.com。

* 通信作者: 李青山 (1965-), 男, 博士研究生, 研究方向: 天然产物, Email: sxlqs2012@163.com。

Key words: *Lycium ruthenicum*; anthocyanins; macroporous resins; purification; antioxidant

花青素, 又称花色素, 是存在于自然界深色植物中的一类水溶性黄酮类化合物, 具有抗衰老、保护心血管、抗炎、抗氧化、预防癌症等药理作用^[1]。茄科枸杞属多棘刺灌木黑枸杞, 含有较丰富的花青素。现代药理研究表明, 黑枸杞花青素具有降糖、降脂、保护神经、提高记忆力、抗炎、抗氧化、防辐射、治疗肠炎、治疗非酒精性脂肪肝炎等作用^[2-8]。因此, 黑枸杞花青素的开发具有较大的研究价值和应用前景。

大孔吸附树脂具有化学稳定、吸附容量大、选择性良好、操作条件简单等优点, 被广泛应用于花青素、多酚、黄酮等天然活性化合物的分离和纯化^[9-11]。赵文娟等^[12]采用 D101 树脂对黑果枸杞(新疆产)的原花青素进行了分离纯化, 纯化后样品含量增加了 2.17 倍; 吕玉姣等^[13]采用 HP-2MGL 型树脂对黑果枸杞(新疆产)的花青素进行了分离纯化, 纯化后样品含量增加了 3.07 倍; 顾子扬等^[14]采用 Amberlite XAD-7HP 型树脂对黑枸杞(青海产)的花青素进行了分离纯化, 纯化后样品峰面积均明显增加, 但未见对 2012 年山西静乐县引进试种的黑枸杞^[15]中的花青素的研究报道。因此, 本文以静乐黑枸杞^[16]为研究对象, 考察国产 5 种大孔吸附树脂(型号分别为 HPD100、D101、NKA、AB-8、HPD400)对黑枸杞花青素的吸附和解析性能, 筛选最佳树脂, 并确定最佳分离纯化工序, 同时测定粗提物和纯化产物对 DPPH·、·OH 和 ABTS⁺的清除能力, 以期对山西静乐县黑枸杞的进一步开发加工提供实验依据。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

黑枸杞的成熟干燥果实 山西静乐县, 粉碎, 过 40 目筛; HPD100 大孔树脂 东鸿化工有限公司; D101、NKA 大孔树脂 陕西乐博生化科技有限公司; AB-8、HPD400 大孔树脂 陕西乐博生化科技有限公司; 1,1-二苯基-2-三硝基苯肼(DPPH) 东京化成工业株式会社; 总抗氧化能力检测试剂盒(ABTS 法) 碧云天生物科技有限公司; 水 蒸馏水; 其余试剂 均为分析纯。

RE-3000A 型旋转蒸发仪 上海亚荣生化仪器厂; Ph-610 型 pH 计 Wiggins 公司; ZXY-48 型气浴恒温振荡器 常州润华电器有限公司; 6100S 型紫外可见分光光度计 上海元析仪器有限公司; Scientz-N 型真空冷冻干燥机 宁波新芝生物科技有限公司。

1.2 实验方法

1.2.1 黑枸杞花青素的提取 称取静乐黑枸杞粉末适量, 精密称定, 加入 50% 乙醇(10 倍量), 45 °C 超声 0.5 h, 过滤, 取上清液, 重复两次, 合并三次提取的上清液, 减压浓缩除去乙醇, 冷冻干燥, 置于 4 °C 冰

箱保存, 备用。临用前加适量水全部溶解得黑枸杞粗提液。

1.2.2 黑枸杞花青素得率的测定 采用 pH 示差法^[17], 按下式计算花青素浓度:

$$\text{花青素浓度}(\text{mg/mL}) = \Delta A \times M_w \times DF / \varepsilon$$

$$\Delta A = (A_{\lambda_{pH1.0}} - A_{700pH1.0}) - (A_{\lambda_{pH4.5}} - A_{700pH4.5})$$

式中: A-吸光度; λ -最大吸收波长; DF-稀释倍数; ε -矢车菊花青素-3-葡萄糖苷的消光系数, 26900; M_w (分子量), 449.2。

1.2.3 黑枸杞花青素的纯化

1.2.3.1 大孔树脂的预处理 无水乙醇浸泡大孔树脂 24 h 后, 无水乙醇反复洗涤至乙醇液与等体积的水混合不产生白色浑浊时, 用水洗至无醇味; 再 5%NaOH 浸泡大孔树脂 12 h 后, 水洗至中性; 最后用 5%HCL 浸泡大孔树脂 12 h 后, 水洗至中性, 备用^[11-12]。

1.2.3.2 最佳树脂的筛选 a. 静态吸附试验: 称取已处理好的 HPD100、D101、NKA、AB-8、HPD400 型树脂各 3.00 g, 各加入 30 mL 黑枸杞花青素提取液(含生药 0.1 mg/mL), 置气浴恒温振荡器(25 °C, 120 r/min)中振荡吸附 24 h, 采用 pH 示差法测定原液和吸附液中黑枸杞花青素的含量, 计算公式如下:

$$\text{吸附率}(\%) = (C_0 - C_1) / C_0 \times 100$$

$$\text{吸附量}(\text{mg/g}) = (C_0 - C_1) \times V / m$$

式中: C_0 和 C_1 分别为原液和吸附后溶液中花青素的浓度(mg/mL); V: 加入体积(mL); m: 树脂量(g)。

b. 动态吸附试验: 称取 5 种型号的大孔树脂各 5.00 g, 湿法装柱(柱径×柱长: 2.0 cm×30.0 cm), 分别将 50 mL 黑枸杞提取液(含生药 0.1 mg/mL)以相同流速 4 BV (bed volume, 柱床体积, 7 mL)/h 通过各型号树脂, 采用 pH 示差法测定吸附液中花青素的浓度, 计算树脂的吸附量, 计算同静态吸附法。将上述已吸附的大孔树脂先用 4 BV 的纯化水水洗除杂, 再用 4 BV 的 75% 乙醇洗脱, 采用 pH 示差法测定解析液中花青素的含量, 解吸率计算如下:

$$\text{吸附量}(\text{mg/g}) = (m_0 - m_1) / m$$

$$\text{吸附率}(\%) = (m_0 - m_1) / m_0 \times 100$$

$$\text{解吸率}(\%) = m_2 / (m_0 - m_1) \times 100$$

式中, m_0 、 m_1 和 m_2 分别为原液、吸附液、解吸液中花青素的质量(mg); m 为树脂的质量(g)。

1.2.3.3 树脂动态吸附-解吸试验 a. 上样质量浓度的确定: 将 50 mL 不同浓度的黑枸杞提取液(含生药 0.025、0.05、0.1、0.2、0.3、0.5 g/mL)以相同流速(4 BV/h)通过树脂柱, 动态吸附后, 采用 pH 示差法测定吸附液中花青素的浓度, 计算其吸附率。

b. 上样体积的确定: 将黑枸杞提取液(0.2 g/mL)以 4 BV/h 的流速注入树脂柱中, 同时收集吸附液(7 mL/管)。采用 pH 示差法测定吸附液中花青素的

浓度, 绘制泄露曲线, 确定最佳的上样体积。

c. 解析液浓度的确定: 将 49 mL 黑枸杞提取液 (浓度为 0.2 g/mL), 加入树脂柱中, 以 4 BV/h 的流速进行吸附, 采用 pH 示差法测定吸附液中花青素的浓度, 计算吸附率。分别用浓度为 30%、45%、60%、75% 和 90% 的乙醇溶液以 4 BV/h 的流速洗脱, 收集解析液, 采用 pH 示差法测定解析液中花青素的浓度, 计算解吸率。

d. 洗脱剂用量的确定: 将 49 mL 黑枸杞提取液 (浓度为 0.2 g/mL), 加入树脂柱中, 以 4 BV/h 的流速进行吸附, 再用 75% 乙醇洗脱, 洗脱速度为 4 BV/h, 采用 pH 示差法测定解析液中花青素的浓度, 绘制洗脱曲线。

1.2.4 黑枸杞花青素体外抗氧化活性测定

1.2.4.1 DPPH·清除能力测定 取 2 mL 的 DPPH 溶液 (浓度约为 0.05 mg/mL), 加入等量的黑枸杞粗提液或纯化液, 混匀, 暗处反应 0.5 h, 于分光光度计 515 nm 处测量, 测得值为 A_s , 控制样本用 2 mL 无水乙醇代替提取物, 测得值为 A_0 。黑枸杞粗提液或纯化液对 DPPH·的清除率^[18] $S(\%) = (A_0 - A_s) / A_0 \times 100$, 并计算 IC_{50} 值。

1.2.4.2 ·OH 清除能力测定 精密吸取 PBS 溶液 2.0 mL, 邻二氮菲溶液 (7.5 mmol/L) 0.2 mL, 硫酸亚铁溶液 (7.5 mmol/L) 0.2 mL, 样品液 0.4 mL, 双氧水溶液 (1%) 0.4 mL, 水 3.8 mL, 配置好后 37 °C 水浴加热 1 h, 于分光光度计 510 nm 处测定, 测得值为 $A_{样}$; 以水代替双氧水和样品测得值为 $A_{空}$; 以水代替样品液测得值为 $A_{损}$ 。黑枸杞粗提液或纯化液对 ·OH 的清除率^[19] $S(\%) = (A_{样} - A_{损}) / (A_{空} - A_{损}) \times 100$, 并计算 IC_{50} 值。

1.2.4.3 ABTS⁺清除能力的测定 在 96 孔板中, 每孔加入 ABTS 工作液 200 μ L, 黑枸杞粗提液或纯化液 10 μ L, 混匀, 静置 5 min (避光), 734 nm 处测定吸光度值 $OD_{样品}$, 以空白溶剂代替样品液测得值为 OD_0 。黑枸杞提取物对 ABTS⁺的清除率^[20-21] $S(\%) = (OD_0 - OD_{样品}) / OD_0 \times 100\%$, 并计算 IC_{50} 值。

1.3 数据处理

所有试验均重复三次, 取平均值 \pm 标准差。使用 GraphPad Prism 5.0 进行数据统计分析和绘制图表。

2 结果与分析

2.1 最佳树脂的筛选试验结果

2.1.1 大孔树脂对黑枸杞花青素的静态吸附效果 由图 1 可知, 五种大孔树脂对黑枸杞花青素的静态吸附量和吸附率的差别不明显, 都可作为筛选对象。

2.1.2 大孔树脂对黑枸杞花青素的动态吸附与解吸效果 由图 2 可知, 五种树脂对于黑枸杞花青素的吸附率基本一致, 无显著性差异, 除 AB-8 的解析率偏低外, 其余四种树脂解析率基本一致, 无显著性差异 ($P > 0.05$), 因此, 除 AB-8 的其余四种树脂均可作

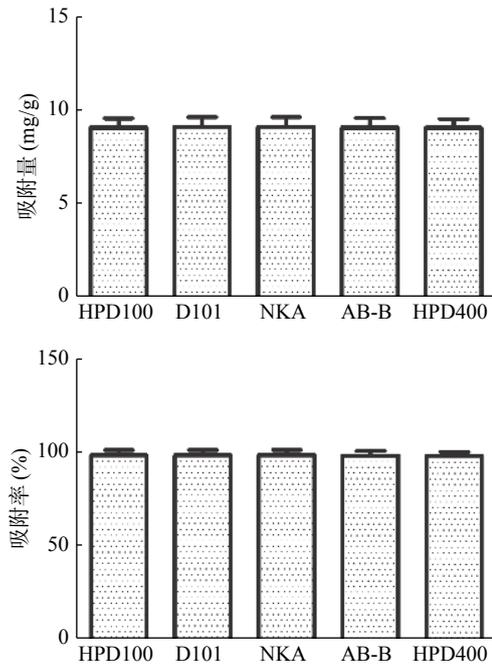


图 1 不同树脂对黑枸杞花青素的静态吸附结果

Fig.1 Results of static adsorption of *Lycium ruthenicum* anthocyanins by different resins

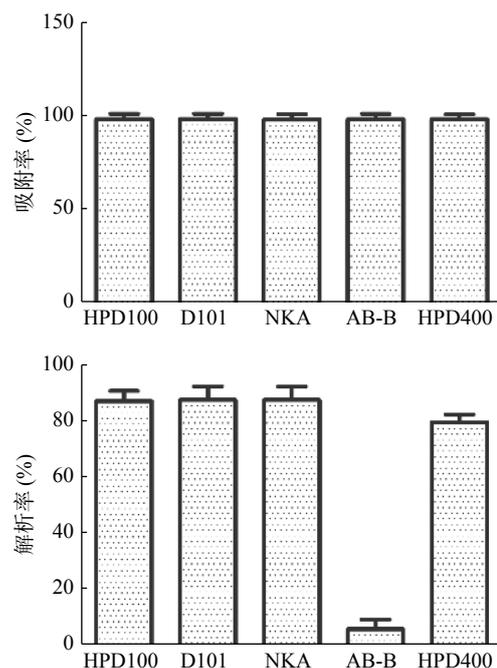


图 2 不同树脂对黑枸杞花青素的动态吸附和解吸结果

Fig.2 Results of dynamic adsorption and desorption of *Lycium ruthenicum* anthocyanins by different resins

为筛选对象, 结合实验室条件, 本次实验选用树脂 HPD100。

2.1.3 树脂动态吸附-解吸试验结果

2.1.3.1 上样质量浓度对吸附率的影响 由图 3 可知, 黑枸杞生药浓度由 0.025 g/mL 增加至 0.2 g/mL 时, 其吸附率逐渐增加且趋于平缓, 其原因可能是浓度增加有利于花青素分子与树脂的接触面积; 但浓度大于 0.2 mg/mL 时, 吸附率反而降低, 其原因可能是

浓度过高时溶液中杂质含量增多,增加了杂质与花青素对树脂的竞争,吸附率下降。因此,最好选择浓度 0.2 g/mL 作为 HPD100 树脂纯化黑枸杞花青素时的初始上样浓度。

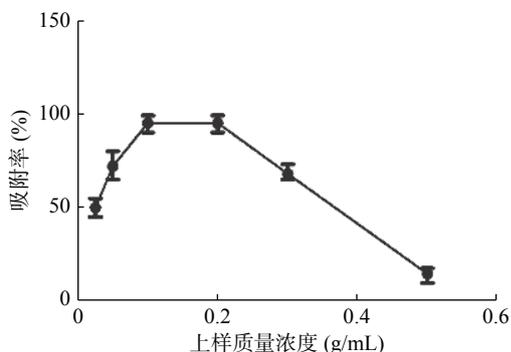


图 3 上样质量浓度对吸附率的影响

Fig.3 Effects of sample concentration on adsorption rate

2.1.3.2 上样体积对树脂吸附性能的影响 由图 4 可知,随上样量增加,流出液中黑枸杞花青素浓度增加,即 HPD100 树脂对花青素的吸附效果随上样量的增加而下降。达到 7 BV 时,花青素出现明显泄露,泄露总量为上样量 5% 时,认为已经出现泄露,此时花青素与树脂的结合基本达到饱和,因此确定上样体积为 7 BV,相当于 49 mL。

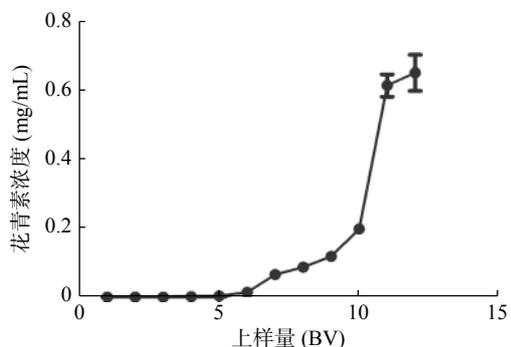


图 4 上样体积对吸附性能的影响

Fig.4 Effects of sample volume on adsorption capacity

2.1.3.3 乙醇浓度对树脂解析效果的影响 由图 5 可知,随着乙醇浓度增大(30%~75%),解吸率也随之增加,当乙醇浓度为 75% 时,解吸率达到最高 92.3%,而乙醇浓度继续增大时,洗脱能力反而减弱,根据相似相溶的原理,可知 75% 乙醇有利于花青素的解吸附,乙醇浓度过低或过高时,可能会影响花青素和大孔树脂之间的相互作用,故选用 75% 乙醇作为洗脱溶剂。

2.1.3.4 洗脱溶剂(75% 乙醇)用量对树脂吸附性能的影响 由图 6 可知,随着洗脱溶剂用量的增加,洗脱剂中花青素的浓度呈先增加后降低的趋势;当洗脱剂用量为 6 BV 时,黑枸杞花青素基本被洗脱,继续增加洗脱剂用量,仍有花青素洗脱下来,但浓度很低。从成本方面考虑,选用 6 BV 的洗脱剂用量。

将处理好的 HPD100 树脂湿法装柱,按上述最

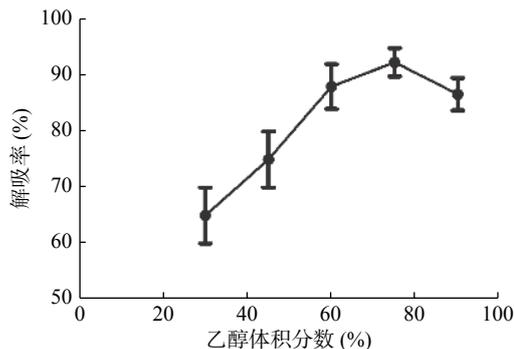


图 5 乙醇浓度对解吸率的影响

Fig.5 Effects of ethanol fraction on desorption rate

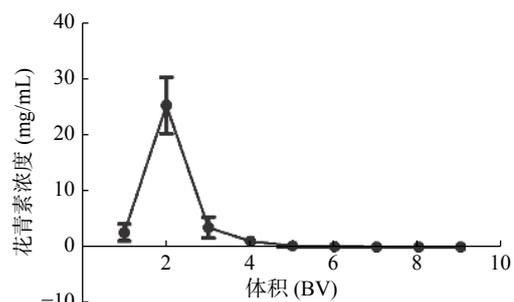


图 6 溶剂用量对吸附性能的影响

Fig.6 Effects of elution amount on adsorption capacity

优条件,对黑枸杞粗提液进行分离纯化,纯化液浓缩后冷冻干燥,备用。采用 pH 示差法测定花青素的含量,结果表明,黑枸杞粗提物中花青素的纯度为 2.38%,纯化后黑枸杞花青素纯度为 17.82%,由此可知,经 HPD100 树脂纯化后,花青素的纯度提高至原来的 7.49 倍,说明此方法纯化效果良好。

2.2 纯化对黑枸杞花青素抗氧化活性的影响

2.2.1 DPPH·清除能力 脂溶性 DPPH·是一种稳定的以 N 为中心的自由基,其清除能力可以用来表征物质的抗氧化能力^[22-23]。物质对 DPPH·的清除率越高,表明其抗氧化能力越强,防止脂质过氧化能力越强^[23]。由图 7 可知,黑枸杞粗提液(未纯化)和纯化后的黑枸杞样品的浓度分别在 0.08~0.24 和 0.003~0.024 mg/mL 时,其清除 DPPH·的能力与其浓度存在明显的量效关系,且呈现出良好的线性关系,由此可计算未纯化和纯化黑枸杞花青素对 DPPH·的半数清除浓度(IC₅₀)分别为 0.208 和 0.011 mg/mL。由此可知,纯化后的黑枸杞样品对 DPPH·的清除能力约是黑枸杞粗提液(未纯化)的 18.9 倍,表明纯化后的黑枸杞样品抗氧化能力明显增强。黑枸杞粗提液(未纯化)清除 DPPH·的能力与文献^[24]报道基本一致,但文献未考察黑枸杞样品的纯化及纯化后对 DPPH·的清除能力。

2.2.2 ·OH 清除能力测定 ·OH 可引起 DNA、细胞膜等生物大分子降解,从而破坏细胞的完整性,是公认的毒性最大的自由基^[24-25]。由图 8 可知,纯化后黑枸杞样品的浓度在 2.4~8.4 mg/mL 时,对·OH 的

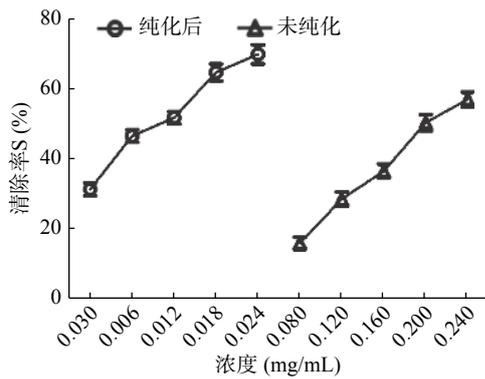


图 7 样液浓度对 DPPH· 的清除率(n=3)

Fig.7 Scavenging ratio of sample concentration on DPPH free radical (n=3)

清除能力与其浓度存在明显的量效关系,且呈现出良好的线性关系,由此可计算其对·OH的 IC_{50} 为6.24 mg/mL。黑枸杞粗提液(未纯化)在2.4~8.4 mg/mL范围内抗氧化呈一定线性关系,但浓度大于7.2 mg/mL时对·OH的清除率不再增加,趋于平缓,在浓度为8.4 mg/mL时,最大清除率仅为38.3%,由此可知,纯化后的黑枸杞样品对·OH的清除率明显增高,抗氧化能力明显增强,保护细胞的能力增强。黑枸杞粗提液(未纯化)与文献^[24]中黑枸杞回流提取液的·OH清除率基本一致,但样品浓度有差异,这与·OH清除率的测定方法不一致有关,本文采用的是邻二氮菲- Fe^{2+} 氧化法,而文献^[24]用的是水杨酸法,二者反应机理不同^[24]。

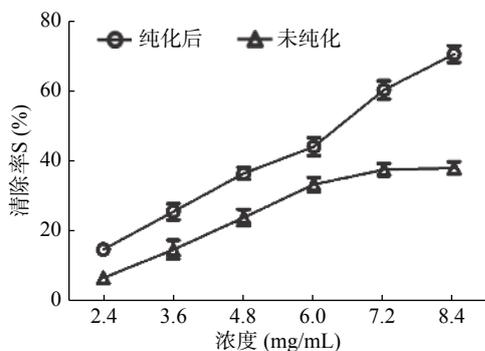


图 8 样液浓度对·OH的清除率(n=3)

Fig.8 Scavenging ratio of sample concentration on ·OH radical (n=3)

2.2.3 ABTS⁺清除率的测定 水溶性 ABTS⁺是一种稳定的绿色自由基,物质对其清除率的能力可以用来表征该物质的总抗氧化能力^[22,26]。由图9可知,黑枸杞粗提液(未纯化)和纯化后的黑枸杞样品分别在0.1~1.0和0.01~0.1 mg/mL范围时,对ABTS⁺的清除能力与其浓度存在明显的量效关系,且呈现出良好的线性关系,由此可计算其对ABTS⁺的 IC_{50} 分别为0.476和0.064 mg/mL。由此可知,纯化后的黑枸杞样品对ABTS⁺的清除能力约是黑枸杞粗提液(未纯化)的7.44倍,表明纯化后的黑枸杞样品抗氧化能力增强,与文献^[14]报道的抗氧化能力增强倍数有所

差异,这可能与文献中用的是没食子酸当量浓度的计算方法有关。

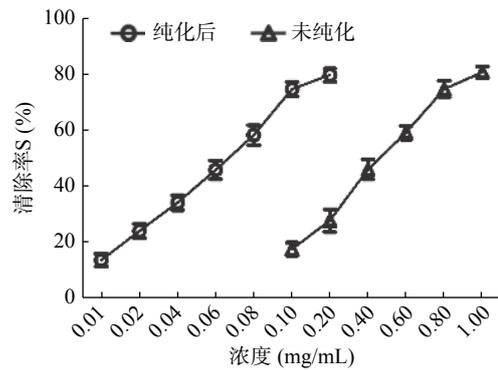
图 9 样液浓度对 ABTS⁺的清除率(n=3)

Fig.9 Scavenging ratio of sample concentration on ABTS free radical (n=3)

3 结论

以2012年山西静乐县引进试种的黑枸杞为研究对象,通过试验研究了六种大孔树脂对黑枸杞花青素纯化效果的影响,选用HPD100树脂作为本实验的筛选对象,当样液初始浓度为0.2 mg/mL、上样体积为49 mL(7 BV)、洗脱剂乙醇浓度为75%、洗脱剂用量为42 mL(6 BV)时,黑枸杞花青素纯度由2.38%上升到17.82%,提高了7.49倍。分别以DPPH·、·OH和ABTS⁺清除法测定黑枸杞提取液纯化前后的自由基清除能力,结果表明黑枸杞粗提液和纯化液DPPH·清除能力的 IC_{50} 值分别为0.208和0.011 mg/mL;对ABTS⁺清除能力的 IC_{50} 值分别为0.476和0.064 mg/mL;黑枸杞粗提液对·OH的最大清除率为38.3%,纯化液对·OH的清除能力 IC_{50} 为6.24 mg/mL;表明经纯化后黑枸杞花青素的抗氧化能力较纯化前有了显著提高。纯化后黑枸杞花青素较强的抗氧化性,故可以作为天然抗氧化剂,且无毒副作用,这对山西静乐县黑枸杞的综合开发利用具有重要意义。

参考文献

- [1] 乔廷廷,郭玲.花青素来源、结构特性和生理功能的研究进展[J].中成药,2019,41(2):388-392.
- [2] 王爱超,李长兴,王琦,等.黑枸杞花青素对C57BL/6小鼠血糖、血脂及脂肪细胞形态的影响[J].青海大学学报,2020,38(3):57-61.
- [3] Zong S, Yang L, Park H J, et al. Dietary intake of *Lycium ruthenicum* Murray ethanol extract inhibits colonic inflammation in dextran sulfate sodium-induced murine experimental colitis[J]. Food & Function, 2020, 11: 2924-2937.
- [4] Peng Y, Yan Y, Wan P, et al. Effects of long-term intake of anthocyanins from *Lycium ruthenicum* Murray on the organism health and gut microbiota *in vivo*[J]. Food Research International, 2020, 130: 108952.
- [5] Peng Y, Yan Y, Wan P, et al. Gut microbiota modulation and anti-inflammatory properties of anthocyanins from the fruits of

- Lycium ruthenicum* Murray in dextran sodium sulfate-induced colitis in mice[J]. *Free Radical Biology and Medicine*, 2019, 136: 96–108.
- [6] Deng K, Li Y, Xiao M, et al. *Lycium ruthenicum* Murr polysaccharide protects cortical neurons against oxygen-glucose deprivation/reperfusion in neonatal hypoxic-ischemic encephalopathy[J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2020, 158: 562–8.
- [7] Lu K, Wang J, Yu Y, et al. *Lycium ruthenicum* Murr. alleviates nonalcoholic fatty liver in mice[J]. *Food Science & Nutrition*, 2020, 8: 2588–2597.
- [8] Peng Q, Liu H, Shi S, et al. *Lycium ruthenicum* polysaccharide attenuates inflammation through inhibiting TLR4/NF-kappaB signaling pathway[J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2014, 67: 330–335.
- [9] 同禄禄, 李梦耀, 许小英, 等. HPD-100 大孔吸附树脂与聚酰胺吸附黄酮的对比研究[J]. *应用化工*, 2016, 45(5): 929–932, 936.
- [10] 马乐, 韩军歧, 张润光, 等. 大孔吸附树脂在植物多酚分离纯化中的应用现状[J]. *食品工业科技*, 2015, 36(12): 364–367, 374.
- [11] 吴艳立, 丁之恩, 闫晗, 等. 黑豆皮中花青素大孔吸附树脂分离纯化工艺研究[J]. *食品研究与开发*, 2016, 37(21): 50–53, 67.
- [12] 赵文娟, 宋扬, 杨洪江. 大孔吸附树脂纯化黑果枸杞中的原花青素[J]. *食品工业科技*, 2017, 38(22): 189–194.
- [13] 吕玉姣, 尹雨芳, 林强. 黑果枸杞花青素提取分离纯化和组分分析[J]. *化学世界*, 2016, 57(10): 659–667.
- [14] 顾子杨, 崔梦迪, 李玉华, 等. 黑枸杞花色苷纯化工艺的优化与评价[J]. *中国药理学通报*, 2018, 34(10): 1373–1379.
- [15] 曹叶霞, 王泽慧, 贺金凤, 等. 静乐黑枸杞多糖的提取及抗氧化性分析[J]. *食品工业科技*, 2019, 40(14): 196–202.
- [16] 郭治羌. 野生黑枸杞人工驯化种植方法 [P]. 2015-10-30, 中国, CN201510720316.2.
- [17] 杨萍, 李哲. pH 示差法与 HPLC 测定黑枸杞花青素方法比较[J]. *中国农机化学报*, 2017, 38(7): 74–78.
- [18] 张玲艳, 王宏权. 黑枸杞花青素的提取及其抗氧化活性研究[J]. *食品工业*, 2014, 35(12): 88–91.
- [19] 熊莹, 樊俊甫, 薛俊文, 等. 茶多酚超声辅助提取工艺优化及抗氧化活性研究[J]. *中国现代应用药学*, 2020, 37(2): 175–179.
- [20] 郑璐, 胡金贵, 张佳智, 等. 扶芳藤提取物体内体外抗氧化作用研究[J]. *天然产物研究与开发*, 2020, 32(5): 742–748.
- [21] Roberta R, Nicoletta P G. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay[J]. *Free Radical Biology and Medicine*, 1999, 26(9/10): 1231–1237.
- [22] 葡萄皮渣中花旗松素提取工艺优化及其抗氧化能力测定[J]. *食品工业科技*, 2021, 42(5): 200–205, 220.
- [23] 周中英, 欧阳玲花, 王丽, 等. 白藜芦醇清除 DPPH 自由基反应的动力学[J]. *食品工业*, 2020, 41(6): 222–226.
- [24] 王超雪, 陈瑞战, 陆娟, 等. 黑枸杞花青素不同提取工艺及抗氧化活性[J]. *食品工业*, 2020, 41(6): 24–28.
- [25] 蔡延渠, 董碧莲, 陈利秋, 等. 桃胶多糖体内体外抗氧化作用的研究[J]. *食品工业科技*, 2020, 41(13): 53–58.
- [26] 许瑞如, 张秀玲, 李晨, 等. 微波提取桔梗根多酚工艺优化及抗氧化特性研究[J]. *食品与发酵工业*, 2020, 46(4): 187–196.