

花生衣多酚的纯化工艺优化、成分鉴定 及降血糖活性分析

周文达¹ 印云辉² 伏静轩³

(1. 天津市职业大学, 天津 300350; 2. 南京旅游职业学院, 江苏 南京 211100;
3. 江苏海洋大学, 江苏 连云港 222005)

摘要: [目的] 优化花生衣多酚(peanut skin polyphenols, PSPs)的纯化工艺, 提升纯化效率并探究其体外降血糖活性。[方法] 通过超声辅助醇提法提取 3 种 PSPs(红、白、紫), 并选择 7 种大孔树脂对 PSPs 进行静态吸附—解吸, 筛选出性能最佳的树脂进行单因素试验, 利用 UPLC-ESI-QTOF-MS/MS 对纯化后的 PSPs 进行组分分析, 并以阿卡波糖为阳性对照, 探究 PSPs 对 α -淀粉酶和 α -葡萄糖苷酶的抑制能力和抑制类型。[结果] 紫花生衣的总酚、总黄酮和花青素含量最高, NKA-9 树脂对 PSPs 的吸附—解吸效果最好, 优化后的纯化工艺条件为 PSPs 质量浓度 2.5 mg/mL, 溶液 pH 值为 5, 洗脱液浓度 70%, 上样流速 2 BV/h, 洗脱液流速 1 BV/h, 经该工艺纯化后 PSPs 纯度为 77.42%, 提升了 2.27 倍。纯化后的 PSPs 中共鉴定出原花青素 B₁、B₂、B₄、没食子酸、山奈酚等 19 种酚类物质。PSPs 对 α -淀粉酶和 α -葡萄糖苷酶的半抑制质量浓度(IC₅₀)分别为 96.33, 7.01 μ g/mL, 且均为混合型抑制。[结论] 纯化后的 PSPs 具有优异的体外降糖活性, 可作为降糖食品的功能成分进行加工利用。

关键词: 花生衣多酚; 树脂纯化; 定性分析; 酶活性; 抑制类型

Purification, characterization, and hypoglycemic activity of peanut coat polyphenols

Zhou Wenda¹ Yin Yunhui² Fu Jingxuan³

(1. Tianjin Vocational Institute, Tianjin 300350, China; 2. Nanjing Institute of Tourism and Hospitality, Nanjing, Jiangsu 211100, China; 3. Jiangsu Ocean University, Lianyungang, Jiangsu 222005, China)

Abstract: [Objective] To optimize the purification process of peanut skin polyphenols (PSPs), improve purification efficiency, and investigate their *in vitro* hypoglycemic activity. [Methods] Three types of PSPs (red, white, and purple) were extracted by ultrasound-assisted ethanol extraction. Seven macroporous resins were used for static adsorption and desorption of PSPs, and the resin with the best performance was selected for single-factor experiments. The components of the purified PSPs were analyzed by UPLC-ESI-QTOF-MS/MS. Using acarbose as a positive control, the inhibitory activity and inhibition types of PSPs against α -amylase and α -glucosidase were investigated. [Results] Purple peanut skins exhibited the highest contents of total phenols, total flavonoids, and anthocyanins. NKA-9 resin showed the best adsorption and desorption performance for PSPs. The optimized purification conditions were as follows: PSP concentration of 2.5 mg/mL, solution pH of 5, eluent concentration of 70%, sample loading flow rate of 2 BV/h, and elution flow rate of 1 BV/h. Under these conditions, the purity of PSPs reached 77.42%, representing a 2.27-fold increase. A total of 19 phenolic compounds, including procyanidins B₁, B₂, B₄, gallic acid, and kaempferol, were identified in the purified PSPs. The half-inhibitory concentrations (IC₅₀) of PSPs against α -amylase and α -glucosidase were 96.33 and 7.01 μ g/mL, respectively, and both exhibited mixed-type inhibition. [Conclusion]

基金项目: 江苏省高等学校自然科学研究重大项目(编号:21KJA240004)

通信作者: 伏静轩(1999—), 男, 江苏海洋大学讲师, 硕士。E-mail: fjx0308@163.com

收稿日期: 2025-09-08 **改回日期:** 2026-03-07

引用格式: 周文达, 印云辉, 伏静轩. 花生衣多酚的纯化工艺优化、成分鉴定及降血糖活性分析[J]. 食品与机械, 2026, 42(8): 159-168.

Citation: Zhou Wenda, Yin Yunhui, Fu Jingxuan. Purification, characterization, and hypoglycemic activity of peanut coat polyphenols[J]. Food & Machinery, 2026, 42(8): 159-168.

Purified PSPs exhibit excellent *in vitro* hypoglycemic activity and have potential for development and utilization as functional ingredients in hypoglycemic foods.

Keywords: peanut skin polyphenols; resin purification; qualitative analysis; enzyme activity; inhibition type

花生(*Vigna radiata* L.)为豆科落花生属植物,起源于南美洲的热带和亚热带地区,中国花生种植面积居世界第二^[1]。花生种子是蛋白质、油脂和矿物质的良好来源^[2],常被制成花生酥、盐焗花生米和花生酱等食品,每年有超过 100 万 t 的花生衣被丢弃^[3]。花生衣中含有丰富的多酚、维生素、矿物质和膳食纤维,能发挥抗糖尿病、抗肥胖、抗癌和心血管保护等多种生理作用^[4-5],且花生衣的酚类物质含量与葡萄皮的相似^[6]。然而,主流的提取、纯化工艺得到的酚类物质普遍存在杂质多、纯度低的缺点,亟待优化。

2 型糖尿病(type 2 diabetes mellitus, T2DM)是一种由胰岛素抵抗引起的糖代谢紊乱疾病,已成为世界上最严重的健康问题之一^[7]。目前,T2DM 的治疗主要依赖二甲双胍、噻唑烷二酮类等副作用严重的药物^[8],对安全、有效的天然降糖活性成分需求迫切。近年来,酚类物质对淀粉水解相关酶的抑制活性以及促进糖代谢有益产物产生的能力,被广泛认为具有替代商业降糖药物的潜力。Xu 等^[9]发现,荞麦壳多酚可作为 α -淀粉酶和 α -葡萄糖苷酶的混合型抑制剂,发挥降糖作用。De Paulo Farias 等^[10]也证明了膳食多酚可通过抑制碳水化合物代谢相关酶活性,并激活多种生化途径,从而改善胰腺 β 细胞功能,降低胰岛素抵抗。

试验拟采用超声辅助乙醇溶剂提取花生衣多酚(PSPs),用大孔树脂吸附提升 PSPs 纯度;通过动力学、热力学模型及单因素试验优化纯化工艺,在 UPLC-ESI-QTOF-MS/MS 下鉴定纯化后的 PSPs 成分;以阿卡波糖作为阳性对照,系统评估 PSPs 对 α -淀粉酶与 α -葡萄糖苷酶的抑制活性,并进一步判定其抑制类型。该工作旨在促进花生衣副产品的再开发与再利用,同时为 PSPs 在控糖(降糖)功能食品领域的高附加值应用提供试验依据与理论支撑。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

花生:红、紫、白 3 种花生衣,品种分别为鲁花 11 号、黑丰 1 号、小白莎 1016,市售;

大孔吸附树脂(包括 D101、XAD-7、AB-8、DM301、HPD-500、NKA-9 与 DA201)、没食子酸、福林酚试剂、3,5-二硝基水杨酸(DNS)、 α -淀粉酶(猪胰来源,9 U/mg)、 α -葡萄糖苷酶(33.7 U/mg)以及底物对硝基苯基- β -D-吡喃葡萄糖苷(pNPG):上海源叶生物科技有限公司。

1.2 设备

台式冷冻离心机:H2050R 型,湖南湘仪实验室仪器

开发有限公司;

冷冻干燥设备:YTLG-10A 型,上海叶拓科技有限公司;

旋转蒸发装置:XD-52AA 型,上海贤德实验仪器有限公司;

万分之一分析天平:ME204 型,美国 Mettler 公司;

多功能微孔板检测仪:Epoch 型,美国 Mettler 公司。

1.3 试验方法

1.3.1 PSPs 的提取 参照何玲玲等^[11]的方法,取 3 种颜色的花生衣,洗净,冻干,粉碎,过 100 目筛,按料液比 1:20 (g/mL)加入 70% 乙醇溶液(含 1% 盐酸),25 $^{\circ}\text{C}$ 超声 60 min,离心取上清液,沉淀反复提取 3 次后合并上清液,除部分上清液用作酚类物质测定外,沉淀旋蒸去醇,冻干,-20 $^{\circ}\text{C}$ 保存。

1.3.2 酚类物质含量测定 参照 Xu 等^[12]的方法。

1.3.3 大孔树脂的洗涤与活化 选用 7 种性质不同的大孔吸附树脂(见表 1)。各树脂先分别用 5% 氯化钠溶液和 5% 盐酸溶液依次清洗,随后以去离子水反复漂洗至洗液呈中性。之后将树脂置于无水乙醇中浸泡活化 24 h,再用去离子水充分冲洗至无残留气味,备用。

表 1 7 种大孔吸附树脂的理化参数与性质

Table 1 Physicochemical characteristics/parameters of the seven macroporous resins

树脂类型	极性	平均孔径/ nm	粒径/mm	比表面积/ ($\text{m}^2\cdot\text{g}^{-1}$)
D101	非极性	90~100	0.30~1.25	500~580
XAD-7	非极性	45	0.50~0.71	500
AB-8	弱极性	13~14	0.30~1.25	≥ 480
DM-301	中性	14~17	0.30~1.25	≥ 330
HPD-500	极性	55~75	0.30~1.25	500~550
NKA-9	极性	155~165	0.30~1.25	250~290
DA201	强极性	130~140	0.30~1.25	≥ 220

1.3.4 大孔树脂筛选 参照 Shen 等^[13]的方法测定 7 种大孔树脂填料的静态吸附和脱附容量。分别取各类大孔树脂 1 g,加入 40 mL(质量浓度 2 mg/mL)的提取液,在 120 r/min 条件下振荡吸附 12 h。待体系达到吸附平衡后,收集并保留上清吸附液;随后将树脂以蒸馏水充分漂洗 2 次,再加入 10 mL 70% 乙醇用于后续处理,120 r/min 振荡 12 h,滤掉树脂,保留滤液。分别按式(1)~式(4)计算吸附量和解吸量。

$$A = \frac{(C_0 - C_1) \times V_0}{W}, \quad (1)$$

$$B = \frac{C_0 - C_1}{W} \times 100\%, \quad (2)$$

$$C = \frac{C_2 - V_1}{W}, \quad (3)$$

$$D = \frac{C_2}{C_0 - C_1} \times 100\%, \quad (4)$$

式中:

A ——吸附量, mg/g;

B ——吸附率, %;

C ——解吸量, mg/g;

D ——解吸率, %;

C_0, C_1 ——吸附前后样品质量浓度, mg GAE/mL;

V_0 ——样品溶液体积, mL;

C_2 ——洗脱液中总酚质量浓度, mg GAE/mL;

V_2 ——洗脱液体积, mL;

W ——大孔树脂质量, g。

1.3.5 NKA-9树脂对PSPs的吸附动力学 根据晏俊玲等^[14]的方法并修改。取1 g NKA-9树脂与40 mL PSPs混匀, 120 r/min 摇动3 h。分别在2, 4, 8, 12, 20, 40, 60, 90, 120, 150 min时取样, 每次吸取200 μ L溶液用于测定总酚含量(TPC), 并依据式(1)计算对应的吸附量。以吸附时间为横坐标, 吸附容量为纵坐标绘制静态吸附动力学曲线。静态吸附行为分别采用准一级动力学模型[式(5)]、准二级动力学模型[式(6)]及颗粒内扩散模型[式(7)]进行拟合与表征。

准一级动力学方程:

$$\ln(q_e - q_t) = \ln q_e - k_1 t, \quad (5)$$

准二级动力学方程:

$$\frac{t}{q_t} = \frac{1}{k_2 q_e^2} + \frac{t}{q_e}, \quad (6)$$

颗粒内扩散方程:

$$q_t = k_d t^{1/2} + C, \quad (7)$$

式中:

q_t, q_e —— t 时刻和平衡时刻吸附容量, mg/g干树脂;

k_1, k_2, k_d ——吸附过程的准一级和准二级动力学模型的吸附速率常数。

1.3.6 NKA-9树脂对PSPs的吸附热力学 参照Doğan等^[15]的方法, 将40 mL质量浓度为0.5~2.5 mg/mL的PSPs (0.19~0.96 mg GAE/mL)与NKA-9树脂(1 g)混匀, 分别于25, 35, 45 $^{\circ}$ C下以120 r/min振荡2 h, 测定样品溶液的TPC。绘制PSPs在NKA-9树脂上的吸附等温曲线, 并分别采用Langmuir模型[式(8)]和Freundlich模型[式(9)]对等温数据进行回归拟合, 建立相应的等温吸附方程。

Langmuir方程:

$$q_e = \frac{q_m K_L C_e}{1 + K_L C_e}, \quad (8)$$

Freundlich方程:

$$q_e = K_F C_e^{1/n}, \quad (9)$$

式中:

C_e ——平衡质量浓度, mg/mL;

q_e ——平衡时刻吸附量, mg/g;

q_m ——形成单个分子层的最大吸附量, mg/g;

K_L ——树脂与酚类之间的亲和力常数, mg/mL;

K_F ——树脂的吸附能力, mg/g $\times$ (mL/mg)^{1/n};

1/n——树脂吸附能力常数。

1.3.7 PSPs质量浓度对NKA-9树脂吸附的影响 分别取40 mL不同质量浓度的PSPs溶液(1.5, 2.0, 2.5, 3.0, 3.5 mg/mL), 加入1 g干树脂, 在25 $^{\circ}$ C、150 r/min条件下振荡吸附120 min, 随后测定上清液的总酚含量(TPC)。

1.3.8 溶液pH对NKA-9树脂吸附的影响 取40 mL PSPs溶液(2.5 mg/mL)与1 g树脂混合, 分别用0.1 mol/L HCl或0.1 mol/L NaOH将体系pH调至4, 5, 6, 7, 8; 在25 $^{\circ}$ C、150 r/min条件下振荡120 min后, 测定上清液中的TPC。

1.3.9 洗脱剂浓度对NKA-9树脂解吸的影响 将1 g干树脂加入40 mL PSPs溶液(2.5 mg/mL)中, 于25 $^{\circ}$ C、150 r/min振荡吸附120 min。吸附结束后以去离子水冲洗树脂, 随后加入40 mL不同体积分数乙醇(60%~100%)进行解吸, 测定解吸液的TPC。

1.3.10 上样流速对动态吸附的影响 取80 mL活化后的大孔树脂NKA-9采用湿法装柱, 平衡24 h。以1~4 BV/h的流速梯度上样100 mL PSPs溶液(2.5 mg/mL), 比较不同流速条件下的吸附表现。

1.3.11 洗脱流速对动态解吸的影响 在PSPs洗脱参数优化中, 保持装柱条件不变, 先以1 BV/h恒定流速对100 mL(2.5 mg/mL)的PSPs溶液进行动态吸附; 随后用去离子水冲洗至流出液无色以去除杂质。之后以70%乙醇作为洗脱剂, 在1~4 BV/h的梯度流速下进行解吸, 分段收集洗脱液并测定其中TPC。

1.3.12 纯化后PSPs的UPLC-ESI-QTOF-MS/MS定性分析 参照Zheng等^[16]的方法, 将Shimadzu LC20系统与SCIEX Triple TOF 5600质谱仪相结合, 用于PSPs中酚类成分鉴定。采用反相C₁₈色谱柱(150 mm $\times$ 2.1 mm, 3.5 μ m), 以流动相A(乙腈)和流动相B(0.1%甲酸水溶液)组成的梯度洗脱: 0~2 min, 99% B; 2~5 min, 99%~88% B; 5~30 min, 88%~75% B; 30~37 min, 75%~50% B; 37~42 min, 50%~5% B; 42~44 min, 5% B; 44~44.1 min, 5%~99% B; 44.1~48 min, 99% B, 流速0.3 mL/min, 进样体积3 μ L, 检测波长为280, 520 nm, 于50~1 200 (m/z)范围内以正离子和负离子模式采集质谱。

1.3.13 纯化后 PSPs 对 α -淀粉酶与 α -葡萄糖苷酶的抑制活性 参照谢冰宗等^[17]的方法并作适当调整。取 0.5 mL α -淀粉酶溶液 (9 mg/mL, 以磷酸盐缓冲液 PBS, pH 6.8 配制) 与 0.5 mL PSPs 溶液或阿卡波糖溶液 (0.04~0.12 mg/mL) 混合, 在 37 °C 条件下预孵育 10 min。随后加入 0.5 mL 1% 淀粉底物溶液, 于 37 °C 继续反应 10 min。反应结束后加入 1 mL 3,5-二硝基水杨酸 (DNS) 试剂终止并显色, 置沸水浴加热完成显色过程; 取出后用流水迅速冷却至室温并定容。采用酶标仪测定 40 nm 处吸光度, 并依据式 (10) 计算 α -淀粉酶的抑制率。

参照 Zhu 等^[18]的方法测定 α -葡萄糖苷酶抑制活性。将 0.5 mL 含有 2 U/mL α -葡萄糖苷酶的 PBS (pH 6.8) 与 0.5 mL PSPs 或阿卡波糖 (0.04~0.12 mg/mL) 混匀, 37 °C 水浴中静置 10 min 后, 加入 pNPG 底物溶液 (5 mmol/L) 1 mL, 水浴 30 min, 加入 1 mL Na_2CO_3 后, 终止反应。测定 405 nm 处吸光度, 并按式 (10) 计算抑制率。

$$R = \frac{A_c - A_s}{A_c} \times 100\%, \quad (10)$$

式中:

R ——抑制率, %;

A_c ——空白对照吸光度;

A_s ——PSPs 的吸光度。

1.3.14 纯化后 PSPs 对 α -淀粉酶和 α -葡萄糖苷酶的抑制类型 参照刘钊庆等^[19]的方法。对于 α -淀粉酶, 取 100 μL PSPs (0~0.12 $\mu\text{g/mL}$) 和酶液 (9 mg/mL) 于 37 °C 孵育 10 min 后, 与 800 μL 不同浓度的淀粉混匀, 加入 DNS 试剂后于沸水浴中加热显色, 冷却并定容, 随后在 540 nm 处测定吸光度。针对 α -葡萄糖苷酶抑制试验, 取 20 μL PSPs 溶液 (0~0.12 mg/mL) 与 20 μL α -葡萄糖苷酶溶液 (2 U/mL) 混合, 再加入 20 μL 不同浓度的 pNPG 底物 (2, 5, 8, 11, 14 mmol/L), 混匀后于 37 °C 孵育 30 min。随后加入 90 μL PBS, 并以 Na_2CO_3 溶液终止反应, 在 405 nm 处读取吸光度。以反应速率倒数 ($1/V$) 作为纵坐标、底物终浓度倒数 ($1/[S]$) 作为横坐标绘制 Lineweaver-Burk 双倒数曲线, 并据此计算米氏常数 K 与最大反应速率 $V_{\max}$ 。

1.4 数据处理

所有试验均至少进行 3 次重复, 数据以均值 $\pm$ 标准差表示。统计分析采用 IBM SPSS Statistics 22.0 完成, 图表中小写字母不同代表组间差异达到显著水平 ($P < 0.05$)。图形绘制由 Origin 2023 软件完成。

2 结果与分析

2.1 PSPs 的酚类物质含量

由表 2 可知, 紫花生衣的 TPC、总黄酮 (TFC)、抗氧化能力 (AC) 分别为 386.77, 291.37, 28.93 mg/g, 在 3 种花生衣中含量最高, 这与 Xu 等^[12]的研究结果一致, 故选择紫花生

表 2 3 种花生衣的 TPC、TFC 和 AC 值

Table 2 TPC, TFC, and AC contents of three peanut skins

原料	TPC/ (mg GAE·g ⁻¹)	TFC/ (mg RE·g ⁻¹)	AC/ (mg C3G·g ⁻¹)
紫花生衣	386.77 $\pm$ 1.43 ^a	291.37 $\pm$ 1.01 ^a	78.93 $\pm$ 1.55 ^a
白花生衣	290.13 $\pm$ 1.66 ^c	251.67 $\pm$ 1.33 ^b	10.31 $\pm$ 1.23 ^c
红花生衣	312.11 $\pm$ 0.70 ^b	248.85 $\pm$ 1.71 ^c	24.42 $\pm$ 1.37 ^b

衣进行后续试验。

2.2 7 种大孔树脂的吸附—解吸性能

当溶质吸附到吸附剂上时, 溶质、吸附剂和溶剂之间会发生相互作用, 其中涉及范德华力、氢键和 π - π 的相互作用, 含有苯环和羟基的酚类化合物因其特定结构通常表现出极性特性而容易被极性树脂吸附^[20]。此外, 不同树脂的吸附效率也受孔径、比表面积和树脂结构等化学因素的显著影响。

由图 1 可知, NKA-9 是一种对 PSPs 具有高吸附 (92.46%, 35.7 mg) 和解吸 (89.48%, 31.9 mg) 性能的树脂, 而 XAD-7 的吸附 (49.72%, 19.1 mg) 和解吸能力 (51.59%, 9.9 mg) 最弱。这可能是 NKA-9 树脂为极性树脂, XAD-7 为非极性树脂, 且树脂对 PSPs 的吸附效果与其极性程度密切相关, 这种现象可归因于“同类溶性”原理^[21]。PSPs 中含有大量极性物质 (羟基、糖苷键), 进而更容易与极性大孔树脂相互吸附。综上, 选择 NKA-9 树脂进行后续 PSPs 纯化试验。

2.3 NKA-9 大孔树脂对 PSPs 的吸附动力学分析

由图 2(a) 可知, 吸附量随时间的延长逐渐增加, 并在 40 min 后达到平衡。树脂的吸附过程呈现 3 个阶段: 第 1 阶段 (2~15 min), 树脂吸附呈线性快速增加趋势; 第 2 阶段 (15~40 min), 树脂填料的吸附量增加较为缓慢; 第 3 阶段 (40 min 后), 树脂吸附渐趋于饱和, 基本达到吸附平衡。因此, NKA-9 树脂是一种快速吸附型树脂。

准一级模型通常适用于阐述初始阶段物理吸附作用下的吸附过程, 而准二级模型常适用于阐述化学吸附作用下的吸附过程^[22]。由表 3 可知, 准二级动力学模型的相关性 (0.962 6) 明显高于准一级动力学模型 (0.991 7) 和颗粒内扩散方程 (0.779 8), 并通过准二级动力学方程计算出的理论吸附量为 34.73 mg/g, 与试验结果 (35.86 mg/g) 高度吻合。因此, 准二级动力学模型是研究 NKA-9 树脂对 PSPs 吸附过程更有效的动力学模型。

颗粒内扩散动力学模型常用于阐明树脂的整个吸附过程, 其相关性系数较准一级和准二级模型的偏低, 原因是颗粒内扩散曲线包含不同阶段的吸附阶段, 整个吸附过程为非线性的^[23]。由图 2(b) 可知, NKA-9 树脂的颗粒内扩散曲线在 2~120 min 内整体呈现弱线性趋势。整个吸附过程可分为 3 个阶段: 第 1 阶段 (2~15 min), 属于表面扩散, PSPs 快速吸附到树脂中; 第 2 阶段 (15~40 min), 树

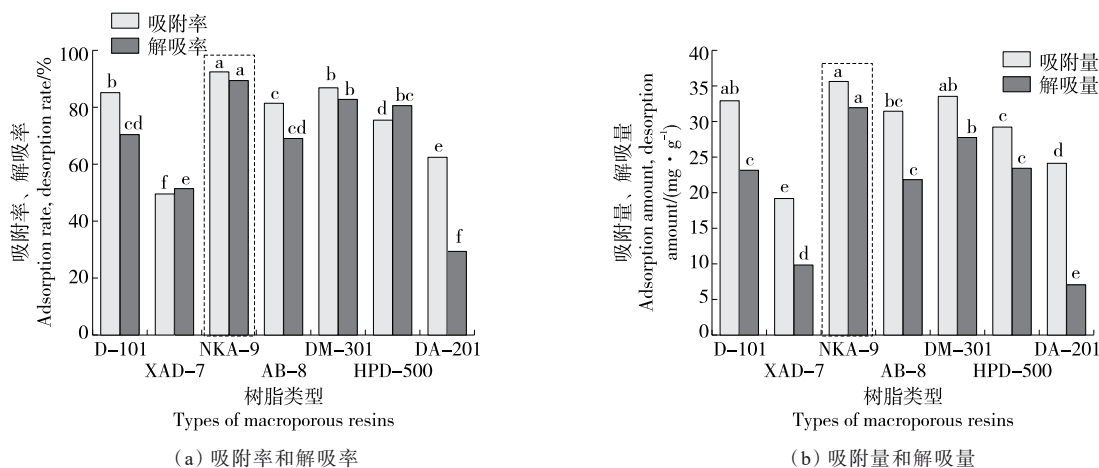


图1 7种树脂的吸附—解吸性能

Figure 1 Adsorption-desorption rates (capacity) of the seven resins

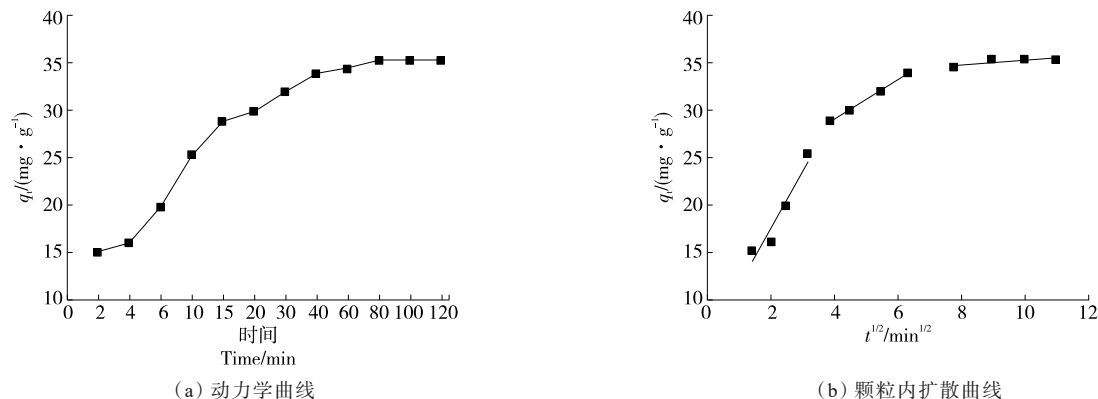


图2 NKA-9树脂吸附PSPs的动力学曲线和颗粒内扩散曲线

Figure 2 Kinetic adsorption curve and intraparticle diffusion curve of PSPs on NKA-9 resin

脂吸附速率逐渐缓慢,此时颗粒内扩散的速率受到限制;第3阶段(30~120 min),属于最终平衡阶段,树脂吸附饱和。动力学和颗粒内扩散图像均未穿过原点,表明NKA-9树脂对PSPs的吸附主要受到表面扩散和颗粒内扩散的控制,与杨清韵^[24]的研究结果类似。

2.4 NKA-9大孔树脂吸附PSPs的热力学分析

为解析NAK-9树脂对PSPs的吸附热力学并确定最佳吸附温度,绘制吸附等温线^[15]。由图3(a)可知,随着吸

附温度的升高,NKA-9树脂的吸收量明显降低,对PSPs的平衡吸附量随温度的降低而升高,溶液平衡浓度随温度的升高而上升。在25℃条件下,NKA-9树脂对PSPs的吸附容量达到最大。该结果说明该吸附行为更符合放热特征,高温会削弱树脂对PSPs的结合与富集能力,从而不利于吸附过程的进行。

Langmuir和Freundlich模型常用于表征树脂与多酚的相互作用^[19]。由图3(b)、图3(c)和表4可知,不同温度下Freundlich方程的 R^2 (0.995 0, 0.994 6, 0.980 8)高于Langmuir方程的(0.985 5, 0.935 4, 0.837 8),说明前者能更好地描述NKA-9树脂对PSPs的吸附行为,且NKA-9树脂对PSPs的吸附过程为多分子层吸附,其吸附行为是物理而非化学行为,与王紫印等^[25]的研究结果类似。当树脂吸附温度从25℃升高到35℃时, q_m 从69.97 mg/g降至53.36 mg/g,表明PSPs的吸附量在高温下降低。 $1/n$ 值均 <0.7 ,说明NKA-9树脂容易对PSPs产生吸附行为^[15],25℃时, $1/n$ 值最低,说明在较低温度下NKA-9树脂对

表3 NKA-9大孔树脂吸附动力学模型的拟合结果与参数
Table 3 Model-fitting results/parameters for adsorption kinetics on NKA-9 macroporous resin

动力学方程	方程	相关系数 (R^2)	动力学 参数
准一级动力学	$y = -0.033\ 26x + 3.547\ 60$	0.962 6	
准二级动力学	$y = 0.087\ 89x + 0.028\ 79$	0.991 7	$q_e = 34.73$ $k_2 = 0.884\ 7$
颗粒内扩散	$y = 2.075\ 23x + 16.915\ 4$	0.779 8	

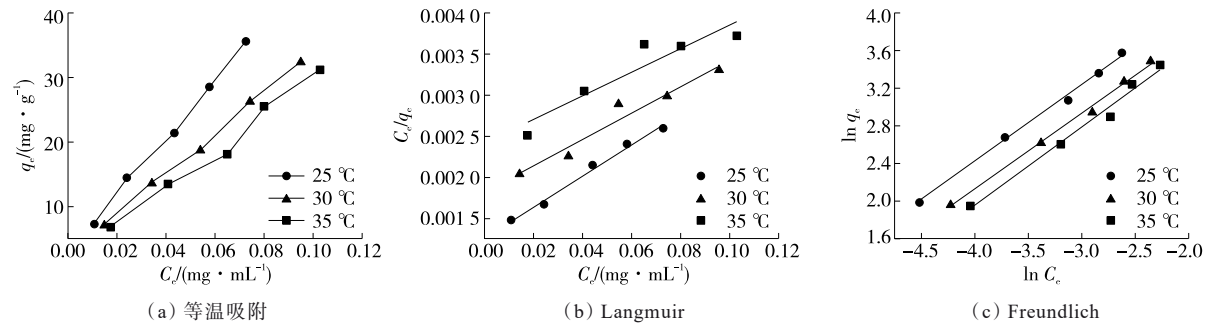


图 3 大孔树脂对 PSPs 的等温吸附行为及 Langmuir/Freundlich 模型拟合曲线

Figure 3 Isotherm adsorption of PSPs on macroporous resin and curve fitting with the Langmuir and Freundlich models

表 4 NKA-9 大孔树脂的 Langmuir 与 Freundlich 等温模型方程拟合结果及相关热力学参数

Table 4 Isotherm model equations (Langmuir and Freundlich) and associated thermodynamic parameters for NKA-9 macroporous resin

温度/ ℃	Langmuir 吸附等温方程			Freundlich 吸附等温方程		
	q_m	K_L	R^2	K_F	$1/n$	R^2
25	69.979 0	5.929 4	0.985 5	290.107 0	0.513 1	0.995 0
30	62.266 5	8.872 9	0.935 4	206.283 2	0.600 2	0.994 6
35	53.361 7	14.755 9	0.837 8	198.016 4	0.635 1	0.980 8

PSPs 的富集更有效,与吸附等温曲线的研究结论一致,再次证明 25 °C 吸附温度下,NAK-9 树脂为 PSPs 理想的吸附介质。

2.5 单因素试验

2.5.1 静态吸附—解吸因素对 NKA-9 树脂吸附性能的影响 如图 4(a) 所示,随着 PSPs 溶液质量浓度由 1.5 mg/mL 提高至 2.5 mg/mL, NKA-9 对其吸附率由 85.7% 显著上升至 93.7%。这可能与体系中多酚含量增加有关:更高的溶质水平可提升树脂与酚类组分的接触机会,从而促进吸附发生。然而,当 PSPs 浓度继续升高并超过 2.5 mg/mL 后,吸附率反而明显回落,并迅速降至 89.3%。这可能源于溶液中的非酚杂质增加,与酚类物质

竞争和树脂的结合空间。李晓洁等^[26]研究发现,过高浓度的杂质会形成絮状物,堵塞树脂,进而影响树脂对多酚的吸附性能。

由图 4(b) 可知, NKA-9 树脂的吸附率随着 pH 的增加呈先上升后下降趋势。酚类物质是一类含有多个酚羟基的复杂混合物,其存在形态(分子态/离子态)、溶解度、不同组分稳定性(黄酮类、花青素类)以及分子间作用力均强烈依赖于溶液的 pH, 这些变化直接影响其与大孔树脂的相互作用机理,进而影响树脂对多酚的吸附性能。在 pH 5 下,树脂的吸附率最高,可能得益于 PSPs 中大量的花青素成分,这些成分的酚羟基在酸性环境下更稳定,更有利于被树脂吸附。随着环境 pH 的增加, PSPs 的离子化强度上升,树脂吸附率降低。

洗脱液体积分数对酚类与树脂的相互作用影响显著^[26]。由图 4(c) 可知,当乙醇体积分数从 60% 增加到 70% 时, PSPs 的解吸率从 83.32% 上升到 86.89%;当乙醇体积分数 > 70% 时,吸附率快速下降,可能是因为 70% 乙醇下,洗脱液与 PSPs 的极性相似,降低了范德华力等非共价键的干扰,使得 PSPs 易扩散至洗脱液中;随着洗脱液体积分数的增加,非共价键介导的相互作用力增加,亲醇类脂质、色素等物质的扩散增大, PSPs 的洗脱效率降低。

2.5.2 动态吸附—解吸因素对 NKA-9 树脂吸附性能的影响 样品溶液上样流速和洗脱液流速显著影响树脂对多

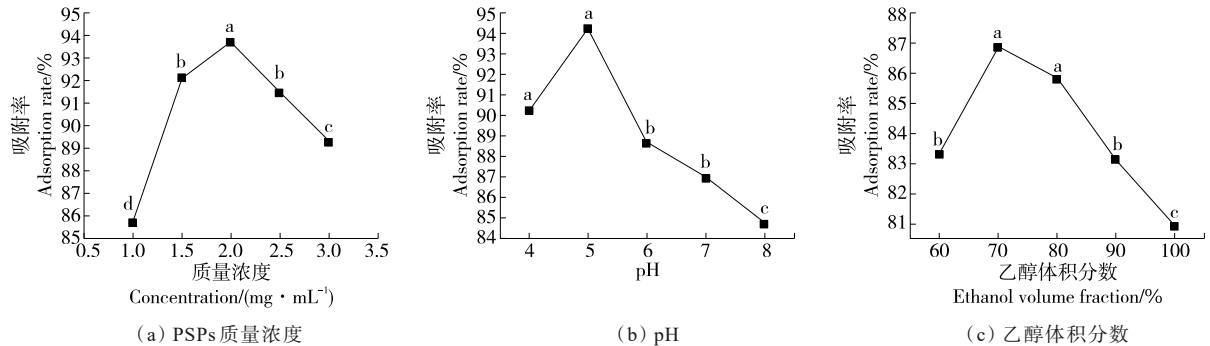


图 4 各因素对 NKA-9 树脂性能的影响

Figure 4 Effect of factors on adsorption performance of NKA-9 resin

酚的纯化性能^[24]。由图 5(a)可知,当样品上样流速从 1 BV/h 上升到 2 BV/h 时,吸附率达到最高,之后随着上样流速的增加吸附率逐渐下降。这可能与 2 BV/h 条件下 PSPs 与 NKA-9 树脂之间接触更充分有关,二者相互作用更易发生,从而提高了吸附率。相反,当上样流速进一步增大时,溶液在柱内停留时间缩短,PSPs 与树脂的有效接触几率随之降低,导致吸附效果减弱、吸附率下降。由图 5(b)可知,随着洗脱流速从 1 BV/h 增加到 4 BV/h,解吸率呈下降趋势,可能是因为酚类物质溶解到乙醇相中需要一定的时间,而较慢的洗脱速率下,洗脱液有充分的机会干扰多酚与树脂的结合,使得酚类物质脱离树脂溶入洗脱液中,呈现较高的解吸率;而较快的流速只能带离部分与 NKA-9 树脂结合不牢的 PSPs,使得解吸率明显下降。

综合各因素结果,确定最佳纯化条件为:PSPs 质量浓度 2.5 mg/mL、溶液 pH 为 5、洗脱剂乙醇体积分数 70%,上样流速控制为 2 BV/h,洗脱流速设定为 1 BV/h。在该优化工艺下获得的 PSPs 纯度达到了 77.42%,较纯化前提高

约 2.27 倍。

2.6 基于 UPLC-ESI-QTOF-MS/MS 鉴定 PSPs 的组成成分

由表 5 可知,紫花生衣中共鉴定出 19 种酚类化合物。总体而言,PSPs 主要由原花青素、黄酮和酚酸等酚类物质组成,原花青素 B₁、原花青素 B₂ 和原花青素 B₄ 均存在于样本中。原花青素为紫花生衣中最丰富的酚类成分,且大多数为低聚物^[27]。儿茶素和表儿茶素为 PSPs 中主要的黄酮类物质,其他黄酮化合物还有槲皮素、异槲皮素、山柰酚、木犀草素等。酚酸是 PSPs 中的次要成分,例如 2,5 羟基苯甲酸和没食子酸等广泛存在于各类花生衣中,其中没食子酸可以转化为儿茶素、表儿茶素或表没食子儿茶素等物质^[15]。综上,PSPs 中含有丰富的酚酸、黄酮、原花青素等物质,是一种具有天然抑制淀粉酶活性的功能活性成分^[11]。

2.7 PSPs 对 α -淀粉酶及 α -葡萄糖苷酶的抑制作用与活性评价

由图 6 可知,随着 PSPs 质量浓度的上升,两种酶的抑制活性增加显著,呈现明显的剂量依赖。当 PSPs 质量浓

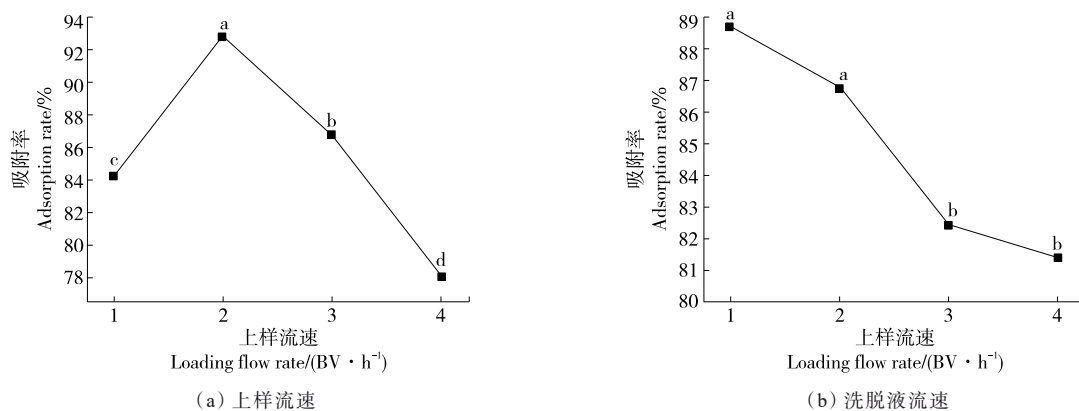


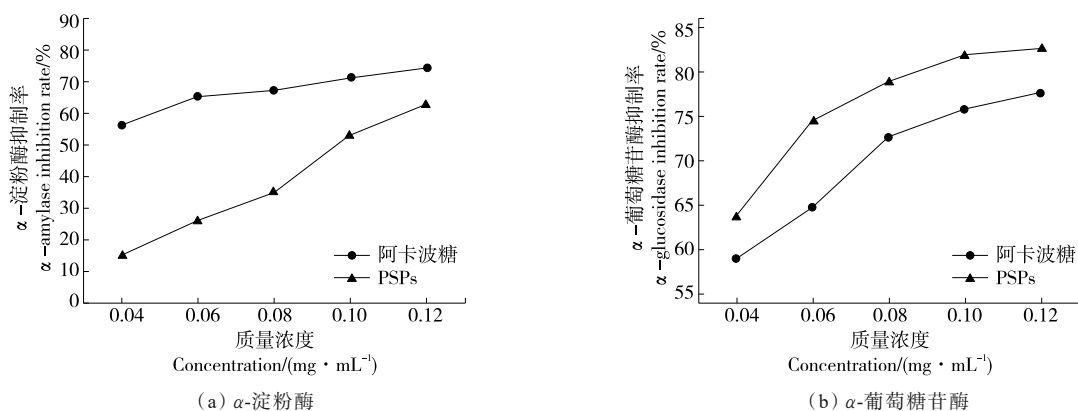
图 5 上样流速和洗脱液流速对 NKA-9 树脂性能的影响

Figure 5 Effect of sample loading flow rate and eluent flow rate on the performance of NKA-9 resin

表 5 纯化后 PSPs 物质的成分鉴定

Table 5 Identification of components of purified PSPs

化合物	保留时间/min	理论值 (m/z)	实测值 (m/z)	化学式	化合物	保留时间/min	理论值 (m/z)	实测值 (m/z)	化学式
芦丁	8.33	609.146 1	609.146 3	C ₂₇ H ₃₀ O ₁₆	异槲皮素	18.77	463.088 2	463.087 8	C ₂₁ H ₂₀ O ₁₂
表儿茶素	9.13	289.071 8	289.071 8	C ₁₅ H ₁₄ O ₆	杨梅苷	18.77	463.088 2	463.087 8	C ₂₁ H ₂₀ O ₁₂
儿茶素	9.13	289.071 8	289.071 8	C ₁₅ H ₁₄ O ₆	槲皮素	32.61	301.035 4	301.035 1	C ₁₅ H ₁₀ O ₇
2,5 二羟基苯甲酸	7.06	153.019 3	153.019 5	C ₇ H ₆ O ₄	槲皮素-3-O-葡萄糖	18.77	463.088 2	463.087 8	C ₂₁ H ₂₀ O ₁₂
表儿茶醛	7.06	153.019 3	153.019 5	C ₇ H ₆ O ₄	次野鸢尾黄素	40.48	385.092 9	385.091 1	C ₂₀ H ₁₈ O ₈
原花青素 B ₁	13.65	577.135 2	577.135 2	C ₃₀ H ₂₆ O ₁₂	水仙苷	22.10	623.161 7	623.166 2	C ₂₈ H ₃₂ O ₁₆
原花青素 B ₂	13.65	577.135 2	577.135 2	C ₃₀ H ₂₆ O ₁₂	没食子酸	5.41	169.014 3	169.014 4	C ₇ H ₆ O ₅
原花青素 B ₄	13.65	577.135 2	577.135 2	C ₃₀ H ₂₆ O ₁₂	金丝桃苷	18.77	463.088 2	463.087 8	C ₂₁ H ₂₀ O ₁₂
山柰酚-3-O-槐糖苷	8.33	609.146 1	609.146 3	C ₂₇ H ₃₀ O ₁₆	木犀草素	32.56	285.040 5	285.040 4	C ₁₅ H ₁₀ O ₆
山柰酚-3-O-龙胆二糖苷	8.33	609.146 1	609.146 3	C ₂₇ H ₃₀ O ₁₆					

图6 阿卡波糖、PSPs对 α -淀粉酶和 α -葡萄糖苷酶的抑制作用Figure 6 Inhibiting effect of acarbose and PSPs to α -amylase and α -glucosidase

度为 0.12 mg/mL 时,对 α -淀粉酶活性抑制率达 62.91%,接近于同质量浓度下阿卡波糖的 (74.21%)。PSPs 对 α -葡萄糖苷酶活性的最大抑制率为 84.11%,高于阿卡波糖的 (82.02%),同质量浓度下,PSPs 对 α -葡萄糖苷酶具有更为突出的抑制活性。花青素、芦丁、槲皮素、没食子酸等酚类物质对碳水化合物水解酶均表现出良好的抑制活性^[28-29],而 PSPs 中含有丰富的酚类物质,这可能是其发挥良好降糖活性的原因。

PSPs 对 α -淀粉酶和 α -葡萄糖苷酶的 IC_{50} 值分别为 96.33, 7.01 $\mu\text{g/mL}$,阿卡波糖阳性对照的 IC_{50} 值分别为 20.17, 10.62 $\mu\text{g/mL}$,表明 PSPs 对 α -淀粉酶的抑制效果低于阿卡波糖,这是由于 PSPs 纯度低于阿卡波糖 (98%),从而产生的抑制活性效果有限。而 PSPs 对 α -葡萄糖苷酶的 IC_{50} 值显著高于阳性对照,说明 PSPs 是一类强大的 α -葡萄糖苷酶抑制剂,与绿豆多酚^[10]和荞麦皮多酚^[16]的抑制结果类似。

综上,PSPs 是一种良好的碳水化合物水解酶抑制剂,与阿卡波糖等降糖药物相比,PSPs 的来源安全,不会引起胀气、皮疹等副作用,可被视为潜在的天然淀粉酶抑制剂。

2.8 PSPs 对 α -淀粉酶和 α -葡萄糖苷酶的抑制类型

由图 7 可知,PSPs 与 α -淀粉酶和 α -葡萄糖苷酶的反应

曲线在不质量浓度下均显示出良好的线性关系。两种酶在不同 PSPs 质量浓度下的图像分别相交于二、三象限,且其动力学参数 K_m 随着 $V_{\max}$ 的降低而增加,表明 PSPs 对两种酶的抑制均为包含竞争性和非竞争性的混合型抑制^[10]。潘玥等^[30]报道的蓝莓叶多酚对淀粉酶具有完整且单一的抑制位点,Liu 等^[31]发现金银花果多酚可与底物竞争淀粉酶活性中心位点,以上结论均与试验结果一致,表明 PSPs 可通过与两种淀粉酶及酶—底物复合物进行相互作用,竞争酶活性中心的结合位点,进而降低淀粉酶活性。王紫印等^[25]研究表明,米氏常数 K_m 与抑制剂的抑制能力有关。而表 6 中 PSPs 对 α -淀粉酶的 K_m 值总体上小于 α -葡萄糖苷酶的,说明 PSPs 对后者的抑制能力更显著,与 PSPs 对 α -淀粉酶的抑制活性低于 α -葡萄糖苷酶的结果一致。综上,PSPs 对两种酶的混合型抑制发挥了良好的降糖活性。

3 结论

研究系统性优化了花生衣多酚的树脂纯化工艺,并就纯化后的花生衣多酚体外淀粉酶抑制活性和类型进行了初步探索。结果表明,NKA-9 大孔树脂为花生衣多酚

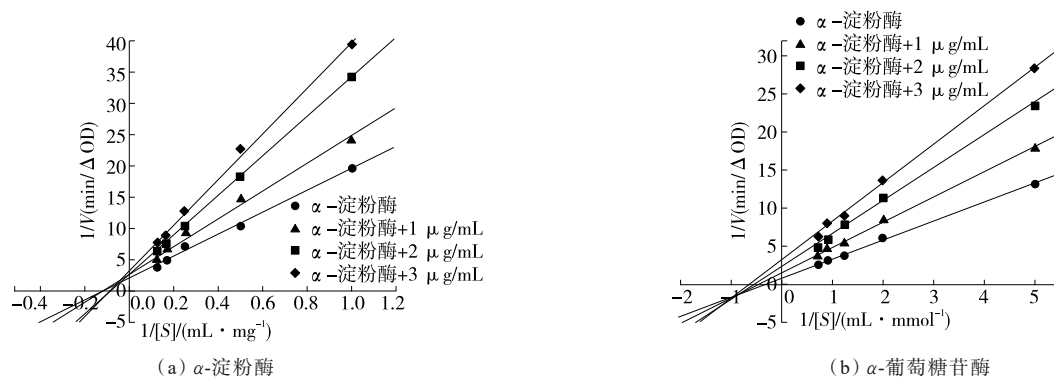
图7 PSPs对 α -淀粉酶和 α -葡萄糖苷酶的双对数曲线Figure 7 Double logarithmic curve equations of PSPs for α -amylase and α -glucosidase

表6 PSPs对 α -淀粉酶和 α -葡萄糖苷酶的双对数曲线方程Table 6 Double logarithmic curve equations of PSPs for α -amylase and α -glucosidase

消化酶	PSPs/ (mg·mL ⁻¹)	线性回归方程			K_m / (mg·mL ⁻¹)	V_{max} (OD·min ⁻¹)
		斜率	截距	R^2		
α -淀粉酶	0.00	17.505	2.111	0.994	8.292	0.473
	0.04	22.246	2.561	0.986	8.675	0.390
	0.08	31.555	2.633	0.998	11.959	0.379
	0.12	36.449	2.942	0.997	12.389	0.339
α -葡萄糖苷酶	0.00	2.509	1.612	0.996	1.556	0.620
	0.04	3.146	1.904	0.995	1.652	0.525
	0.08	4.218	2.467	0.992	1.709	0.405
	0.12	5.075	2.775	0.997	1.828	0.360

的最佳吸附介质,该吸附是一种微放热过程,且准二级动力学方程最适合描绘该吸附过程。吸附—解吸试验的最优工艺参数为多酚质量浓度 2.5 mg/mL,溶液 pH 5,乙醇体积分数 70%,上样流速 2 BV/h,洗脱流速 1 BV/h,此时 NKA-9 大孔树脂对花生衣多酚的纯化性能最好,纯化物质纯度为 77.42%,提升了 2.27 倍,表明该纯化工艺条件效果显著。纯化后的花生衣多酚通过 UPLC-ESI-QTOF-MS/MS 共鉴定出了原花青素 B₁、原花青素 B₂、原花青素 B₄、山奈酚、没食子酸等 19 种酚类成分,证明了紫花生衣作为多酚提取来源的可能性。体外淀粉酶抑制试验结果表明,花生衣多酚对两种酶的 IC₅₀ 值分别为 96.33、7.01 μ g/mL,具备比阿卡波糖更好地抑制 α -葡萄糖苷酶的能力,且花生衣多酚是一种混合型淀粉酶抑制剂。综上,该研究纯化得到的花生衣多酚纯度高,且具有良好的体外降糖活性,但其在体内的降血糖功能仍未得到充分验证。后续可通过构建糖尿病动物模型,进一步验证其降血糖活性和安全性,探讨其对血糖水平、胰岛素抵抗以及肠道菌群结构的影响。

参考文献

- [1] Machado N M, Nunes Y C, De Lima E P, et al. Peanuts (*Arachis hypogaea* L.) in food industry and their benefits for human health—a review of the current literature[J]. Journal of Food Composition and Analysis, 2025, 143: 107574.
- [2] Sorita G D, Leimann F V, Ferreira S R S. Phenolic fraction from peanut (*Arachis hypogaea* L.) by-product: innovative extraction techniques and new encapsulation trends for its valorization[J]. Food and Bioprocess Technology, 2023, 16(4): 726-748.
- [3] Zhao X Y, Chen J, Du F L. Potential use of peanut by-products in food processing: a review[J]. Journal of Food Science and Technology, 2012, 49(5): 521-529.
- [4] Li M R, Guo S, Ho C T, et al. Review on chemical compositions and biological activities of peanut (*Arachis hypogaea* L.) [J]. Journal of Food Biochemistry, 2022, 46(7): e14119.
- [5] Bodoira R, Cecilia Cittadini M, Velez A, et al. An overview on extraction, composition, bioactivity and food applications of peanut phenolics[J]. Food Chemistry, 2022, 381: 132250.
- [6] Yu J M, Ahmedna M, Goktepe I. Effects of processing methods and extraction solvents on concentration and antioxidant activity of peanut skin phenolics[J]. Food Chemistry, 2005, 90: 199-206.
- [7] Tate A R. Type 2 diabetes[J]. The Lancet, 2018, 391(10 127): 1 261-1 262.
- [8] Lv Y Q, Liu K B, Liu D P, et al. Oral nanomedicine for cure of T2DM through whole-process regulation of glucose uptake/metabolism and mitochondrial repair in hepatocytes[J]. Chemical Engineering Journal, 2025, 520: 166218.
- [9] Xu C H, He M, Jiang Z L, et al. Inhibition mechanism of buckwheat hulls polyphenols on α -amylase and α -glucosidase using kinetics, spectroscopies and molecular docking approaches [J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2024, 280: 136046.
- [10] De Paulo Farias D, De Araújo F F, Neri-Numa I A, et al. Antidiabetic potential of dietary polyphenols: a mechanistic review[J]. Food Research International, 2021, 145: 110383.
- [11] 何玲玲, 胡秦佳宝, 黄斌, 等. 芒果核仁多酚提取纯化工艺优化及体外抗氧化性能分析[J]. 食品与机械, 2026, 42(1): 161-169.
- [12] Xu L J, Wang Z Y, Feng M S, et al. Mechanistic insights into the digestion resistance of wheat starch upon complexation with peanut skin polyphenols[J]. Food Chemistry, 2025, 484: 144468.
- [13] Shen L P, Yang J, Huang Z A, et al. A green process for extracting and purifying coconut mesocarp polyphenols[J]. Sustainable Chemistry and Pharmacy, 2024, 37: 101413.
- [14] 晏俊玲, 郑佳, 张伟建, 等. 酒糟多酚类物质纯化及体外抗氧化活性研究[J]. 食品与机械, 2025, 41(3): 161-170.

- Yan J L, Zheng J, Zhang W J, et al. Purification of polyphenols from distiller's grains and its antioxidant activity *in vitro*[J]. Food & Machinery, 2025, 41(3): 161-170.
- [15] Doğan M, Alkan M, Demirbaş Ö, et al. Adsorption kinetics of maxilon blue GRL onto sepiolite from aqueous solutions[J]. Chemical Engineering Journal, 2006, 124(1/2/3): 89-101.
- [16] Zheng Y T, Liu S, Xie J H, et al. Antioxidant, α -amylase and α -glucosidase inhibitory activities of bound polyphenols extracted from mung bean skin dietary fiber[J]. LWT-Food Science and Technology, 2020, 132: 109943.
- [17] 谢冰宗, 李密, 董彩文, 等. 黄精皂苷与多糖超声辅助提取工艺优化及降血糖活性研究[J]. 食品与机械, 2024, 40(1): 158-166, 196.
- Xie B Z, Li M, Dong C W, et al. Study on the technology of ultrasonic assisted combined extraction of saponins and polysaccharides from *Polygonatum sibiricum* and its hypoglycemic activity[J]. Food & Machinery, 2024, 40(1): 158-166, 196.
- [18] Zhu X A, Yan K B, Ye X Q, et al. Polyphenols from flos trollii inhibit α -amylase and α -glucosidase: kinetic analysis and mechanistic insights[J]. LWT-Food Science and Technology, 2025, 225: 117940.
- [19] 於钊庆, 范文卓, 梁清, 等. 西梅果渣多酚纯化、成分鉴定及体外降血糖活性分析[J]. 食品科学, 2026, 47(10): 63-74.
- Yu Z Q, Fan W Z, Liang Q, et al. Purification, composition identification and *in vitro* hypoglycemic activity analysis of prune pomace polyphenols[J]. Food Science, 2026, 47(10): 63-74.
- [20] Chen Y Y, Zhang D J. Adsorption kinetics, isotherm and thermodynamics studies of flavones from *Vaccinium Bracteatum* Thunb leaves on NKA-2 resin[J]. Chemical Engineering Journal, 2014, 254: 579-585.
- [21] Hou M Y, Zhang L B. Adsorption/desorption characteristics and chromatographic purification of polyphenols from *Vernonia patula* (Dryand.) Merr. using macroporous adsorption resin[J]. Industrial Crops and Products, 2021, 170: 113729.
- [22] Duran C, Ozdes D, Gundogdu A, et al. Kinetics and isotherm analysis of basic dyes adsorption onto almond shell (*Prunus dulcis*) as a low cost adsorbent[J]. Journal of Chemical & Engineering Data, 2011, 56(5): 2 136-2 147.
- [23] Lu Y J, Liu Y, Chang X Y, et al. Efficient purification of polyphenols from *Ascophyllum nodosum* using macroporous resin: adsorption mechanism, kinetics, and enhanced bioactivity[J]. Separation and Purification Technology, 2025, 366: 132704.
- [24] 杨清韵. 薏苡仁麸皮游离型多酚分离纯化、结构鉴定及抗氧化作用机制研究[D]. 广州: 华南理工大学, 2017: 68-70.
- Yang Q Y. Separation, purification and identification of free phenolics in adlay bran phenolic extract and the mechanisms underlying its antioxidant activities[D]. Guangzhou: South China University of Technology, 2017: 68-70.
- [25] 王紫印, 许璐靖, 马恺扬, 等. 大孔吸附树脂纯化绿豆皮多酚的工艺优化及体外降血糖活性分析[J]. 食品工业科技, 2025, 46(8): 253-262.
- Wang Z Y, Xu L J, Ma K Y, et al. Purification optimization of mung bean skin polyphenols by macroporous adsorption resin and its *in vitro* hypoglycemic activity[J]. Science and Technology of Food Industry, 2025, 46(8): 253-262.
- [26] 李晓洁, 刘金鑫, 李建华, 等. 大孔吸附树脂纯化茶多酚的工艺优化及抗氧化活性研究[J]. 食品工业科技, 2023, 44(13): 214-223.
- Li X J, Liu J X, Li J H, et al. Optimization of purification of tea polyphenols with macroporous adsorption resin and research of their antioxidant activity[J]. Science and Technology of Food Industry, 2023, 44(13): 214-223.
- [27] Larrauri M, Zunino M P, Zygodlo J A, et al. Chemical characterization and antioxidant properties of fractions separated from extract of peanut skin derived from different industrial processes[J]. Industrial Crops and Products, 2016, 94: 964-971.
- [28] Bodoira R, Rossi Y, Montenegro M, et al. Extraction of antioxidant polyphenolic compounds from peanut skin using water-ethanol at high pressure and temperature conditions[J]. The Journal of Supercritical Fluids, 2017, 128: 57-65.
- [29] Qin Y J, Chen X A, Xu F, et al. Pectin enhances the inhibition of α -amylase *via* the mixture of rutin and quercetin[J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2025, 285: 138251.
- [30] 潘玥, 刘小莉, 王英, 等. 蓝莓叶多酚对 α -淀粉酶和 α -葡萄糖苷酶的体外抑制活性研究[J]. 天然产物研究与开发, 2022, 34(4): 579-587.
- Pan Y, Liu X L, Wang Y, et al. Inhibitory effect of polyphenols from blueberry leaves on the activity of α -amylase and α -glucosidase *in vitro*[J]. Natural Product Research and Development, 2022, 34(4): 579-587.
- [31] Liu S W, Meng F N, Guo S, et al. Inhibition of α -amylase digestion by a *Lonicera caerulea* berry polyphenol starch complex revealed *via* multi-spectroscopic and molecular dynamics analyses[J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2024, 260: 129573.