

银耳菌糠黑色素微波辅助提取工艺 优化及其抗氧化活性

Study on extraction process and antioxidant activity of melanin from
Tremella fuciformis residue

师萱¹ 阎语² 梁旭明¹ 谭红军¹

SHI Xuan¹ YAN Yu² LIANG Xu-ming¹ TAN Hong-jun¹

杨勇¹ 钟耕² 石文娟³

YANG Yong¹ ZHONG Geng² SHI Wen-juan³

(1. 重庆市中药研究院, 重庆 400065; 2. 西南大学食品科学学院, 重庆 400716;

3. 银耳营养食品企业工程技术研究中心, 重庆 409000)

(1. Chongqing Academy of Chinese Materia Medica, Chongqing 400065, China;

2. College of Food Science, Southwest University, Chongqing 400716, China;

3. Enterprise Engineering Research Center for Tremella Nutrition Food, Chongqing 409000, China)

摘要:以微波辅助碱溶酸沉法提取银耳菌糠的天然黑色素, 优化其分离纯化工艺, 并对黑色素的光谱特征和抗氧化活性进行研究。结果表明, 微波辅助碱溶酸沉法提取银耳菌糠黑色素最佳工艺为: 料液比 1 : 40 (g/mL), 提取碱液浓度 1.75 mol/L, 水解时间 2 h, 微波处理时间 60 s, 该条件下黑色素粗提物的色价为 156.6, 经纯化后色价达 316.0。经红外光谱分析, 将银耳菌糠黑色素归为 3, 4-二羟基苯丙氨酸 (DOPA) 类的黑色素。其对 DPPH 自由基的半抑制浓度为 1.74 mg/mL, O_2^- 自由基的半抑制浓度为 1.08 mg/mL。

关键词:银耳菌糠; 黑色素; 微波; 分离纯化; 光谱特性; 抗氧化活性

Abstract: Melanin was extracted by alkali solution and acid extraction method with the assistance of microwave from *Tremella fuciformis* residue. The separation and purification was optimized. The spectral characteristics and antioxidant activities of melanin were researched. The results showed that the optimum process of extracting melanin from *Tremella fuciformis* residue by alkali solution and acid extraction method with the assistance of microwave were as follows: amount of extraction solvent to yield 1 : 40, concentration of NaOH

1.75 mol/L, hydrolyzing time 2 h, microwave treatment time 60 s. In this condition color value of melanin extracted from *Tremella fuciformis* residue was 156.6, and was 316.0 after purification. By spectroscopic, melanin from *Tremella fuciformis* residue was identified to be DOPA. The half clearance rates of DPPH radical and O_2^- radical were 1.74, 1.08 mg/mL, respectively.

Keywords: *Tremella fuciformis* residue; melanin; microwave; separation and purification; spectral properties; antioxidant activity

黑色素 (Melanins) 是目前已知生物色素中含量最多、分布最广的一类色素, 广泛存在于动植物和微生物中^[1-2]。它由酚类和/或吡啶聚合物聚合而成, 一般难溶于水、酸和有机溶剂, 易溶于碱溶液^[3], 具有抗氧化^[4-6]、抗癌^[7]、抗蛇(蝎、蝙蝠)毒^[8]、抗病毒^[9-10]、抗辐射^[11]等作用, 在医学、药学、日用化工、食品及其它领域有很大的应用潜力。

随着银耳生产的产业化、工厂化的蓬勃发展, 中国每年产生的大量银耳菌糠不但得不到合理的利用, 还造成环境污染, 同时也造成资源极大浪费^[12]。2014 年, 中国银耳产量达到 39.5 万 t, 消费量也达到 38 万 t, 每生产 1 kg 的食用菌, 大约可产生 5 kg 的菌糠^[13], 因此如何正确处理和综合利用银耳栽培废料有待于深入开发和研究。银耳栽培过程中存在一种“伴生菌”香灰菌, 当菌丝生长到一定阶段后会产生大量黑色素。天然黑色素由于其来源的多样性和复杂性给提纯带来一定困难^[14], 而且因提纯方法不同黑色素性质也有所

基金项目: 重庆市基本科研业务费计划项目 (编号: 2014cstc-jbky-01902)

作者简介: 师萱, 女, 重庆市中药研究院助理研究员, 硕士。

通信作者: 钟耕 (1964—), 男, 西南大学教授, 博士后。

E-mail: zhongdg@126.com

收稿日期: 2016—08—17

不同。目前,仅有一篇专利报道^[15]银耳菌糠黑色素常规提取、高温高压提取、超声辅助提取方法研究,但未见微波辅助提纯研究以及对所提银耳菌糠黑色素性能分析的报道,其方法存在提取时间长、溶剂耗量大、能源消耗高等不足。

微波辅助提取黑色素方法具有溶剂耗量较少、安全、污染小、提取率高等优点^[16-17]。本试验拟通过单因素试验与正交试验设计法对银耳菌糠黑色素微波辅助提取工艺进行优化,并对黑色素进行初步纯化、结构鉴定和体外抗氧化活性研究,以期为银耳菌糠功能活性的深入研究、增值利用和产业化应用提供理论和技术支撑。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

1.1.1 材料与试剂

银耳菌糠:重庆黔江朵朵润尔营养食品股份有限公司,于低温避光通风处保存备用;

溴化钾:色谱纯,成都西亚试剂有限公司;
邻二氮菲和连苯三酚:分析纯,成都市科龙化工试剂厂;
DPPH(2,2-二苯基-1-苦基肼):分析纯,上海华蓝化学科技有限公司;

七水合硫酸亚铁、乙二胺四乙酸二钠:分析纯,国药集团化学试剂有限公司。

1.1.2 主要仪器设备

紫外—可见光分光光度计:UV-2450 型,日本 Shimadzu 公司;

数显恒温水浴锅:HH-4 型,金坛市富华仪器有限公司;

真空冷冻干燥机:FD-1 型,北京德天佑科技发展有限公司;

傅里叶变换红外光谱仪:Spectrum GX 型,美国 Perkin-Elmer 公司;

电子分析天平:FA2004A 型,上海恒平科学仪器有限公司;

pH 计:PHS-3C 型,上海盛磁仪器有限公司;
微波快速制样系统:MSA-II 型,上海新仪公司。

1.2 试验方法

1.2.1 菌糠黑色素色价的测定 精确称取菌糠黑色素粗品 0.100 0 g,溶于 pH 8 的 NaOH 缓冲溶液中,并定容至 100 mL,摇匀。从中吸取 5 mL 黑色素溶液,用同样的缓冲溶液定容至 100 mL,在最大吸收波长 209 nm 下测定其吸光度^[18]。黑色素的色价值按式(1)计算:

$$E_{1\text{ cm}}^{1\%} = \frac{A \times r}{m}, \tag{1}$$

式中:
 $E_{1\text{ cm}}^{1\%}$ ——试液浓度为 1%,用 1 cm 比色皿,在最大吸收波长处测得的色价;
 A ——吸光度;
 m ——样品质量,g;
 r ——测定吸光度时所吸取样品的稀释倍数。

1.2.2 提取工艺单因素试验

(1) 料液比对菌糠黑色素提取效果的影响:称取粉碎后的菌糠 5.00 g 于烧杯中,用 1 mol/L 的氢氧化钠溶液分别按料液比 1:10,1:20,1:30,1:40,1:50(g/mL)加入。60 ℃ 水浴浸提 2 h。微波功率 320 W,处理时间 60 s。4 000 r/min 离心 10 min 并过滤。滤液用 1 mol/L 盐酸调 pH 为 2 使黑色素沉降,4 000 r/min 离心 15 min 得沉淀^[19]。沉淀用蒸馏水洗涤,放真空干燥箱 40 ℃ 干燥。测定计算黑色素色价。

(2) 碱液浓度对菌糠黑色素提取效果的影响:称取粉碎后的菌糠 5.00 g 于烧杯中,分别用 0.00,0.50,1.00,1.50,2.00 mol/L 的氢氧化钠溶液按料液比 1:40(g/mL)加入,后续处理同 1.2.2(1)。

(3) 水解时间对菌糠黑色素提取效果的影响:称取粉碎后的菌糠 5.00 g 于烧杯中,按料液比 1:40(g/mL)加入 1 mol/L 的氢氧化钠溶液。分别于 60 ℃ 水浴浸提 1.0,1.5,2.0,2.5,3.0 h,后续处理同 1.2.2(1)。

(4) 微波处理时间对菌糠黑色素提取效果的影响:称取粉碎后的菌糠 5.00 g 于烧杯中,按料液比 1:30(g/mL)加入 1 mol/L 的氢氧化钠溶液。60 ℃ 水浴浸提 2 h。于微波功率 320 W 下,分别处理 0,30,60,90,120 s。后续处理同 1.2.2(1)。

1.2.3 正交试验 系统考查提取工艺参数对提取结果的影响,根据单因素试验结果,选取因素的不同水平,以黑色素色价为评价指标,采用 $L_9(3^4)$ 正交进行正交试验确定最佳提取工艺。

1.2.4 银耳菌糠黑色素的纯化 参考文献[14]和[20],并略有修改。准确称取 5.0 g 黑色素粗提物,放入烧杯并加入 7 mol/L HCl 50 mL,于 60 ℃ 水浴处理 3 h 后(用保鲜膜将烧杯口密封,以解决溶剂减少可能会带来的影响),4 000 r/min 离心沉淀 15 min,沉淀物用蒸馏水洗涤 3 次,溶于 pH 8.0 的氢氧化钠溶液。加入 1 倍体积的氯仿异戊醇(1:5)混合,经多次振荡后离心,收集上层液体,重复操作 3 次。用 1 mol/L 盐酸将所收集液体 pH 调至 2.0,同上离心,沉淀物依次用无水乙醇、95%浓度乙醇、75%乙醇洗涤 3 次,再次同上离心收集沉淀。沉淀物经蒸馏水洗涤 3 次,冷冻干燥,存于-20 ℃ 冰箱备用。

1.2.5 银耳菌糠黑色素的光谱特征分析

(1) 紫外—可见光谱扫描:称取少量纯化黑色素溶于 0.01 mol/L 氢氧化钠溶液中,超声波辅助溶解,取波长 190~550 nm 处进行紫外—可见光谱扫描^[21]。

(2) 傅里叶红外变换光谱扫描:采用溴化钾压片法。黑色素和溴化钾按 1:20 的质量比例混匀,研成细粉,压片。在 500~4 000 cm^{-1} 范围内测定其红外吸收光谱^[22]。

1.2.6 银耳菌糠黑色素抗氧化活性研究

(1) DPPH 自由基清除能力:根据文献[23],修改如下:取一定浓度(0.1~2.0 mg/mL)的样品甲醇溶液 3 mL,加入 5 mL 6.34×15 mol/L DPPH·乙醇溶液,混匀后在室温下静置 30 min,测定 517 nm 处的吸光值 A 。DPPH 自由基清除率按式(2)计算:

$$R = \frac{A_0 - A_1}{A_0} \times 100\% , \tag{2}$$

式中:

R——清除率,%;

A₀——空白在 517 nm 处的吸光度;

A₁——样品在 517 nm 处的吸光度。

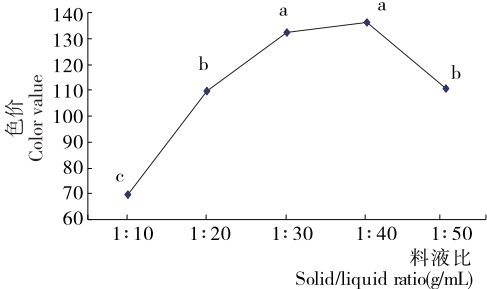
(2) O₂⁻ 自由基清除能力试验:根据文献[24]。

1.2.7 数据分析 每组试验在相同条件下平行 3 次,数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,P<0.05 为差异显著,P<0.01 为差异极显著。

2 结果与分析

2.1 银耳菌糠黑色素提取单因素试验结果

2.1.1 料液比对银耳菌糠黑色素提取效果的影响 由图 1 可知,随着提取料液比增大,黑色素色价也随之升高,并在料液比为 1:40(g/mL)时达到最大,这是因为随着提取溶剂使用量的增大,银耳菌糠中黑色素完全被湿润,提取溶剂促使黑色素溶解饱和。若提取溶剂量过大,将会产生过多的杂质,影响下一步的酸沉,同时可能造成不必要的浪费。因此,初步选定料液比 1:40(g/mL)。

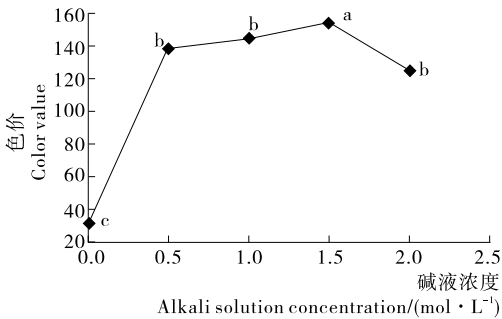


不同的小写字母表示在 0.05 水平上差异显著(n=3)

图 1 料液比对黑色素提取的影响

Figure 1 Effect of solid/liquid ratio on melanin extraction

2.1.2 碱液浓度对银耳菌糠黑色素提取效果的影响 由图 2 可知,随着提取溶剂碱液的增加,黑色素色价增加到一定值后增速缓慢,在 1.5 mol/L 达到最大,但考虑到黑色素因提取碱液浓度增大继而溶出杂质越多,甚至引发黑色素与别的物质反应,同时碱液浓度过大不利于下一步的酸沉和纯化,因此,初步选定碱液浓度为 1.5 mol/L。

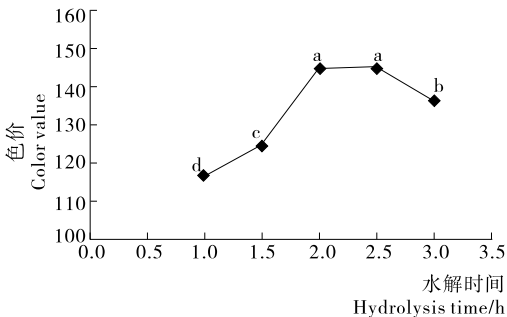


不同的小写字母表示在 0.05 水平上差异显著(n=3)

图 2 碱液浓度对黑色素提取的影响

Figure 2 Effect of alkali solution concentration on melanin extraction

2.1.3 水解时间对银耳菌糠黑色素提取效果的影响 由图 3 可知,随着水解时间的延长,黑色素色价逐渐增大,水解时间为 2.5 h 时黑色素色价达到最高,但水解时间 2.0~2.5 h 黑色素色价变化不明显,随之黑色素色价值降低,可能在水解过程中改变了黑色素的化学结构[25],导致黑色素色价值下降。虽然水解时间 2.0~2.5 h 时黑色素色价值差异不显著,但也存在缓慢的增长趋势,因此,初步选定水解时间为 2.5 h。



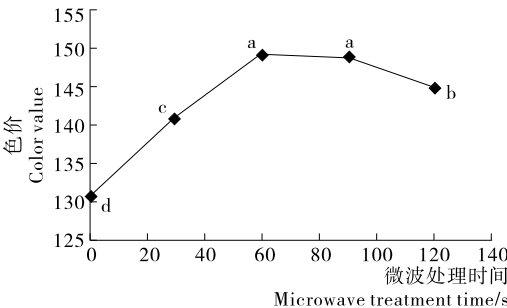
不同的小写字母表示在 0.05 水平上差异显著(n=3)

图 3 水解时间对黑色素提取的影响

Figure 3 Effect of hydrolysis time on melanin extraction

2.1.4 微波处理时间对银耳菌糠黑色素提取效果的影响

由图 4 可知,随着微波处理时间的增加,黑色素色价呈现先增大后减小的趋势,在 60 s 时达到最大,并随着微波处理时间的延长,黑色素色价呈现明显的降低趋势。这可能是较长时间的微波处理导致温度升高,破坏了黑色素成分。因此,初步选定微波处理时间为 60 s。



不同的小写字母表示在 0.05 水平上差异显著(n=3)

图 4 微波处理时间对黑色素提取的影响

Figure 4 Effect of microwave treatment time on melanin extraction

2.2 银耳菌糠黑色素提取工艺优化的正交试验

根据单因素试验的结果,选取影响黑色素提取效果的因素水平做正交试验,并对结果进行极差分析,以确定最佳的提取条件。采用 L₉(3⁴) 正交表,以料液比、碱液浓度、水解时间、微波处理时间作为 4 个考察因素,选取 3 个水平(见表 1)进行试验。按表 1 的正交因子水平设计 L₉(3⁴) 正交试验,结果见表 2。由表 2 可知,各因素对银耳菌糠黑色素提取效果的影响程度顺序为:碱液浓度>料液比>水解时间>微波处理时间,最优的因素水平组合为 A₃B₃C₃D₂。为了确定正交试验最佳组合的再现性,进行最佳组合的平行验证实验,即

表 1 正交试验因素水平表

Table 1 Design of orthogonal factors and levels				
水平	A 料液比 (g/mL)	B 碱液浓度/ (mol·L ⁻¹)	C 水解时 间/h	D 微波处理 时间/s
1	1 : 35	1.25	2.0	30
2	1 : 40	1.50	2.5	60
3	1 : 45	1.75	3.0	90

表 2 L₉(3⁴)正交试验结果

Table 2 Optimization test results of L ₉ (3 ⁴)					
试验号	A	B	C	D	色价
1	1	1	1	1	133.6
2	1	2	2	2	140.8
3	1	3	3	3	148.0
4	2	1	2	3	140.8
5	2	2	3	1	149.2
6	2	3	1	2	156.6
7	3	1	3	2	145.6
8	3	2	1	3	151.2
9	3	3	2	1	153.4
K ₁	422.4	420.0	441.4	436.2	
K ₂	446.6	441.2	435.0	443.0	
K ₃	450.2	458.0	442.8	440.0	
R	27.8	38.0	7.8	6.8	

料液比 1 : 45(g/mL), 氢氧化钠浓度 1.75 mol/L, 水解时间 3 h, 微波处理时间 60 s, 此条件下黑色素的平均色价为 153.5。与正交试验 6 号测得的黑色素色价的组合 156.6 相比, 最佳的提取条件所得黑色素的色价较低。这说明在优化的同等试验条件下料液比过大和水解时间过长时, 反而影响银耳菌糠中提取效果, 致使黑色素的色价值更低, 可能是因为用碱液作溶剂提取黑色素的过程其实也是一个化学过程, 当碱液浓度和水解时间适宜时, 可以获得较多黑色素, 但当碱液浓度过大和水解时间过长时, 可能会出现更多的杂质或者引发黑色素与别的物质反应, 与陈松等^[26]试验结论相一致, 同时与单因素试验结论相吻合。因此, 银耳菌糠黑色素最好的提取条件为料液比 1 : 40(g/mL), 氢氧化钠浓度 1.75 mol/L, 水解时间 2 h, 微波处理时间 60 s。

2.3 银耳菌糠黑色素纯化及其结构分析

2.3.1 黑色素纯化 经分离纯化后的黑色素呈深黑色, 无定形粉末, 带有金属光泽。纯化后黑色素的色价为 316.0, 是纯化前的 200%, 表明纯化后黑色素的色价有了很大提高。

2.3.2 黑色素的紫外—可见光谱特征 由图 5 可知, 黑色素在紫外光区有着较强的吸收, 290~295 nm 范围内有最大特征吸收峰。从最大吸收峰位置开始, 随着波长的逐渐增大, 吸光度呈下降趋势, 是典型的黑色素紫外吸收图像, 与 P Manivasagan 等^[27]报道的黑色素紫外扫描图是一致的。

2.3.3 黑色素的红外光谱特征 黑色素是一种生物大分子物质, 其红外光谱是由多种官能团振动所形成的宽而强吸收峰, 相对缺乏官能团特征性。由图 6 可知, 银耳菌糠黑色素

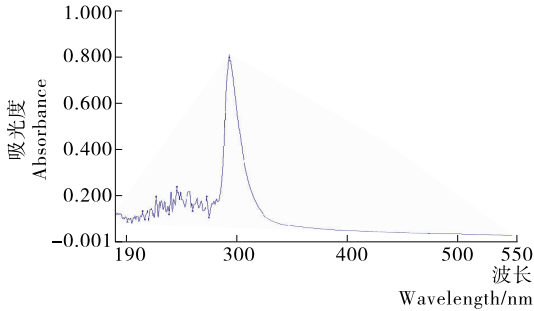


图 5 黑色素的紫外—可见光谱图

Figure 5 UV spectrum of melanins

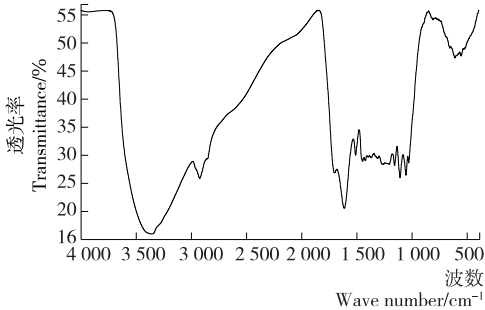


图 6 黑色素红外扫描图谱

Figure 6 Infrared spectrum of melanins

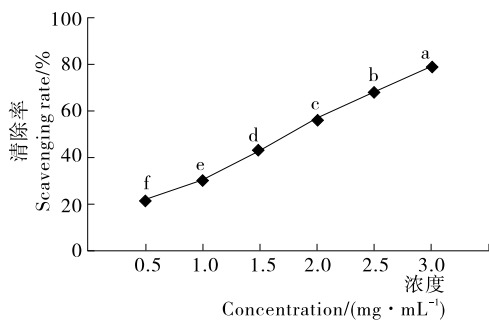
在 1 617.90, 1 514.39 cm⁻¹ 附近有较强的吸收峰, 是由芳环骨架振动引起, 在 860~650 cm⁻¹ 范围内的吸收带变弱, 是由于芳环被取代并形成共扼体系, 芳氢随之相对减少; 在 3 250.66 cm⁻¹ 附近存在较宽较强共扼吸收峰, 可能是一OH 和一NH 之间的氢键连接及基团伸缩振动引起, 说明分子中含有羟基(—OH)和氨基(—NH)结构; 在 1 650~1 710 cm⁻¹ 的较强吸收峰, 说明分子中有羧基(—COO)结构, 3 400 cm⁻¹ 处的强吸收峰, 与大量的芳环基团(C=O, C=C)的振动有关, 说明羧酸根(—COOH)官能团的存在^[19,28]。从红外谱图类似性的官能团初步推断银耳菌糠黑色素归为 3,4-二羟基苯丙氨酸(DOPA)类的黑色素。

2.4 黑色素抗氧化活性分析

2.4.1 DPPH 自由基的清除能力 由图 7 可知, 提纯的黑色素对 DPPH 自由基的清除能力随浓度升高而增强, 黑色素浓度与 DPPH 自由基清除率的线性回归方程为: y = 23.84x + 8.424, r² = 0.997, 通过计算, 得出该黑色素对 DPPH 自由基的半抑制浓度(IC₅₀)为 1.74 mg/mL。

2.4.2 O₂⁻ 自由基清除能力 由图 8 可知, 提纯的黑色素对 O₂⁻ 自由基的清除能力随浓度升高而增强, 黑色素浓度与 O₂⁻ 自由基体系清除率的线性回归方程为: y = 42.54x + 4.204, r² = 0.998, 通过计算, 得出该黑色素对 O₂⁻ 自由基的半抑制浓度为 1.08 mg/mL。

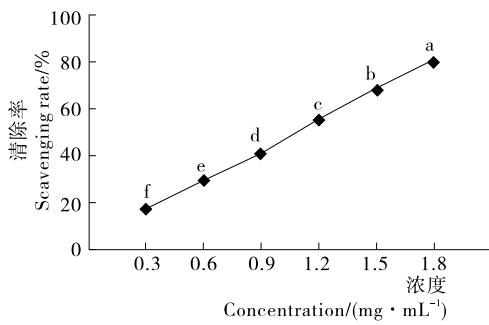
上述抗氧化活性试验表明: 当银耳菌糠黑色素浓度为 0.5 mg/mL 时, DPPH 自由基清除率为 21.04%, 低于吴晨霞等^[29]报道木耳黑色素同浓度时对 DPPH 自由基清除率为 94%; 当银耳菌糠黑色素浓度为 3 mg/mL 时, DPPH 清除率为 80.04%, 高于郑淑英等^[30]报道乌饭树叶黑色素浓度为



不同的小写字母表示在 0.05 水平上差异显著($n=3$)

图 7 黑色素对 DPPH 自由基的清除能力

Figure 7 The scavenging capacity of melanins on DPPH radical



不同的小写字母表示在 0.05 水平上差异显著($n=3$)

图 8 黑色素对 O_2^- 自由基的清除能力

Figure 8 The scavenging capacity of melanins on O_2^- radical

5 mg/mL 时对 DPPH 清除率为 38.24%;当银耳菌糠黑色素浓度为 1.0 mg/mL 时, O_2^- 自由基清除率为 46.33%,低于邹宇^[31]报道黑木耳黑色素同浓度时对 O_2^- 自由基清除率为 80%。通过抗氧化数据比较分析,说明银耳菌糠黑色素具有抗氧化活性,但其抗氧化活性偏低,这与银耳的伴生菌——香灰菌有关,银耳栽培初期香灰菌生长旺盛产生较多黑色素,但随着银耳栽培时间延长黑色素易遇光热较不稳定,所以,导致银耳菌糠所提的黑色素抗氧化活性偏低。

3 结论

本研究采用单因素与正交试验对银耳菌糠黑色素微波辅助碱溶酸沉法的提取工艺参数进行了优化,其最佳提取工艺条件为料液比 1 : 40(g/mL)、提取碱液浓度 1.75 mol/L、水解时间 2 h 和微波处理时间 60 s,在此条件下所得黑色素粗提物的色价为 156.6,纯化后的黑色素色价达到 316.0。本研究证实了此方法有助于银耳菌糠黑色素提取纯化,新增有效提取银耳菌糠黑色素的方法,具有提取时间较短、能耗较低、溶剂消耗较低等优点,在提取过程中也同样表现出黑色素的不稳定性,易改变黑色素的结构,从而影响黑色素的提取效果,同时,银耳菌糠因培养基不同而不同,黑色素的提取工艺研究工作需更深入、更细致。

本研究初步将银耳菌糠黑色素归为 3,4- 二羟基苯丙氨酸(DOPA)类的黑色素,具有一般吡咯黑色素的典型光谱性

质,DPPH 自由基的半抑制浓度为 1.74 mg/mL, O_2^- 自由基的半抑制浓度为 1.08 mg/mL,具有一定的抗氧化活性。银耳菌糠黑色素的抗氧化活性因与银耳的栽培过程有关,造成所得黑色素的抗氧化能力不高,若充分利用其抗氧化活性,应在银耳栽培 3 茬后及时进行二次生物质资源的有效利用。今后研究中应加强银耳菌糠黑色素生物安全性研究,以便拓展银耳菌糠黑色素的应用领域。

参考文献

- [1] RILEY P A. Melanin[J]. The International Journal of Biochemistry and Cell Biology, 1997, 29(11): 1 235-1 239.
- [2] FOGARTY R V, TOBIN J M. Fungal melanins and their interactions with metals[J]. Enzyme and Microbial Technology, 1996, 19(4): 311-317.
- [3] 朱方,倪治明,张莹,等.泰和乌鸡黑色素提取工艺的研究[J].食品与机械,2012,28(3): 144-147.
- [4] WU Yao, SHAN Lin-jun, YANG Shuang-xi, et al. Identification and antioxidant activity of melanin isolated from Hypoxylon archeri, a companion fungus of Tremella fuciformis [J]. Journal of Basic Microbiology, 2008, 48(3): 217-221.
- [5] LIU Jian-hua, TIAN Ying-gang, WANG Yong-wang, et al. Characterization and in vitro antioxidation of papain hy-drolysate from backbone silky fowl (Gallus gallus domesticus Brisson) muscle and its fractions[J]. Food Research International, 2011, 44(1): 133-138.
- [6] SURESH S, PRITHIVIRAJ E, PRAKASH S. Effect of Mucuna pruriens on oxidative stress mediated damage in aged rat sperm [J]. Int J Androl, 2010, 33(1): 22-32.
- [7] EL-OBEID A, AL-HARBI S, AL-JOMAH N, et al. Herbal melanin modulate tumor necrosis factor Alpaha (TNF-a), interleukin 6(IL-6) and vascular endothelial growth factor production [J]. Phytomedicine, 2006, 13(5): 324-333.
- [8] HUNG Yaoching, VASYL Sava, HONG Mengyen, et al. Inhibitory effects on phospholipase A_2 and antivenin activity of melanin extracted from Thea sinesis Linn[J]. Life Sciences, 2004, 74 (16): 2 037-2 047.
- [9] MANNING J T, BUNDRED P E, HENZI P. Melanin and HIV in sub-Saharan Africa[J]. Journal of Theoretical Biology, 2003, 223(1): 131-133.
- [10] 张晓玲,杨桥,代俊,等.黑色素及谷胱甘肽通过抑制 NF- κ B 途径的激活可有效抑制 H5N1 禽流感病毒感染[J].中国生物化学与分子生物学报,2009,25(4): 364-372.
- [11] GENG Jing, YU Sheng-bing, WAN Xia, et al. Protective action of bacterial melanin against DNA damage in full UV spectrums by a sensitive plamid-based noncellular system[J]. Journal of Biochemical and Biophysical Methods, 2008, 70(6): 1 151-1 155.
- [12] 杜新华.古田凤埔:银耳蒂头废料再利用[N].福建日报,2008-12-17(006).
- [13] 李亚欢,田平平,王杰,等.干燥方式对银耳加工与贮藏过程中品质的影响[J].中国农业科学,2016,49(6): 1 163-1 172.

(下转第 174 页)

11%、辣椒籽乙醇提取物浓度为 0.12%时抗氧化效果最好,PF 值分别达到 1.45,2.14,1.23。但由于各浓度辣椒籽提取物之间的抗氧化效果差距不大,从抗氧化系数角度,以 0.02%浓度乙醇提取物的抗氧化效果接近 0.02% BHA 的 30%。从添加方式来看,直接添加辣椒籽或辣椒籽粉能够达到抗氧化目的,且辣椒籽粉的添加效果要明显强于辣椒籽粒,可见,辣椒籽中的活性物质的释放会随着粒度的减小而增加。但在生产上,辣椒籽或辣椒籽粉的去除较为困难,且用量较大,造成浪费,相比之下添加低浓度提取物的方式最为可取。

虽然与人工抗氧化剂 BHA 相比较仍具有一定差距,但辣椒籽成本低廉,对食品具有增香作用,天然安全性,足具开发潜力。本研究结果可为辣椒籽的进一步开发与研究提供理论依据。

参考文献

[1] 王庆波. 谷糠油的提取与氧化机理研究[D]. 济南: 齐鲁工业大学, 2014: 5.

[2] 王伯帅, 王宝维. 天然抗氧化剂在油脂中的应用研究进展[J]. 肉类工业, 2010(10): 54-56.

[3] 张继红, 周兴旺, 杨代明, 等. 油脂及油炸食品中四种抗氧化剂的同时测定[J]. 食品与机械, 2010, 26(3): 79-81.

[4] 杨崇武. 植物源性天然抗氧化物质对食物抗氧化保护研究进展[J]. 安徽农业科学, 2013, 41(17): 7 676-7 678.

[5] 翟柱成, 吴克刚, 柴向华, 等. 天然抗氧化剂对葵花籽油抗氧化作用的研究[J]. 食品工业科技, 2010, 31(3): 148-150.

[6] 谢思宇, 薛余兴, 陈丽贤, 等. 宁德本地生姜精油提取工艺及其抗氧化性研究[J]. 宁德师范学院学报: 自然科学版, 2015, 27

(4): 395-397.

[7] 王硕, 司建志, 龚小妹, 等. 八角茴香总黄酮抗氧化活性研究[J]. 食品工业科技, 2015, 36(23): 75-78.

[8] 王知松, 李达, 丁筑红, 等. 贵州主要品种辣椒籽营养成分分析[J]. 中国调味品, 2010, 35(5): 93-96.

[9] 李达, 王知松, 丁筑红, 等. 辣椒籽品质分析及黄酮提取工艺研究[J]. 中国调味品, 2010, 35(4): 49-51.

[10] 韩文杰, 张俊强, 袁新英, 等. 辣椒籽油的抗氧化性和生产方法的研究进展[J]. 食品研究与开发, 2015, 36(4): 149-152.

[11] 李加兴, 孙金玉, 陈双平, 等. 猕猴桃籽油的抗氧化稳定性研究[J]. 食品与机械, 2006, 22(4): 88-93.

[12] 俞灵芳, 沈勇根, 上官新晨, 等. 超声波辅助提取辣椒碱的工艺研究[J]. 中国食品学报, 2015, 15(1): 158-163.

[13] 董新荣, 刘宇光, 李本祥. 芝麻酚对茶油抗氧化活性研究[J]. 食品研究与开发, 2008, 29(7): 19-21.

[14] 樊亚苏. 四种含笑提取物抗氧化作用研究[D]. 南京: 南京林业大学, 2007: 30-31.

[15] 李莉, 田士林. 苹果多酚抗氧化性的测定[J]. 安徽农业科学, 2006, 34(21): 5 659-5 717.

[16] 郭娇娇, 方敏, 林利美, 等. 苹果多酚的提取及抗氧化活性的研究[J]. 食品科学, 2011, 32(20): 95-98.

[17] 李杨, 张雅娜, 王欢, 等. 水酶法提取大豆油与其他不同品种大豆油品质差异研究[J]. 中国粮油学报, 2014, 29(6): 46-51.

[18] 蔡亭. 苦荞加工方式对其多酚类活性成分的影响研究[D]. 长沙: 中南林业科技大学, 2015: 6-7.

[19] 刘彩丽, 马雪平, 王瑞霞, 等. 辣椒籽甲醇提取物的抗氧化性能的研究[J]. 中国粮油学报, 2006, 21(3): 277-279.

[20] 丁筑红, 张汝练, 蒋航. 辣椒籽提取物对菜籽油的抗氧化作用[J]. 食品科技, 2004(9): 56-58.

(上接第 165 页)

[14] 马养民, 王改利, 杨秀芳. 植物黑色素的研究进展[J]. 西北农林科技大学学报: 自然科学版, 2013, 41(8): 189-194.

[15] 马爱民, 李琦, 蒋志武, 等. 一种从银耳栽培废料中提取黑色素的方法: 中国, 102229754 A[P]. 2011-11-02.

[16] 张吉祥, 白晓杰, 周秋香. 正交试验法对黑米黑色素的微波提取工艺研究[J]. 中国农学通报, 2010, 26(3): 86-89.

[17] 马萍, 郭希娟, 郭增旺. 黑米黑色素微波辅助提取工艺优化[J]. 食品与机械, 2014, 30(5): 229-231.

[18] 陶浚, 乔李娜, 童晶晶, 等. 蚂蚁黑色素的提取、纯化及抗氧化活性研究[J]. 天然产物研究与开发, 2012(24): 873-876, 915.

[19] 李琦, 侯丽华, 刘鑫, 等. 黑木耳黑色素鉴定及提取工艺优化[J]. 食品科学, 2010, 31(16): 87-92.

[20] 吴尧, 马爱民, 吕国涵, 等. 香灰菌黑色素的分离及抗氧化活性研究[J]. 天然产物研究与开发, 2007(19): 470-473.

[21] 袁丽, 高瑞昌, 薛长湖等. 超声波对鲑鱼墨黑色素成分和物理结构的影响[J]. 农业工程学报, 2011, 12(增 2): 376-380.

[22] 邹宇, 尹冬梅, 江洁, 等. 黑木耳黑色素组分分析及其抗氧化活性研究[J]. 食品科学, 2013, 34(23): 138-141.

[23] 卫强, 纪小影, 龙先顺, 等. 滁菊叶化学成分及其体外抗氧化活性研究[J]. 中药材, 2015, 38(2): 305-310.

[24] LI Xi-can. Improved Pyrogallol Autoxidation Method: A reliable and cheap superoxide scavenging assay suitable for all antioxidants[J]. J. of Agricultural and Food Chemistry, 2012, 60(25): 6 418-6 424.

[25] KUMAR C G, MONGOLLA P, POMBALA S, et al. Physico-chemical characterization and antioxidant activity of melanin from a novel strain of Aspergillus bridgeri ICTF-201[J]. Lett Appl Microbiol, 2011, 53(3): 350-358.

[26] 陈松, 韦万兴, 刘志平, 等. 从藜豆中提取天然黑色素的工艺研究[J]. 应用化工, 2011, 40(11): 1 915-1 917.

[27] MANIVASAGAN P, VENKATESAN J, SENTHILKUMAR K, et al. Isolation and characterization of biologically active melanin from Actinoalloterichus sp. MA-32[J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2013(58): 263-274.

[28] 袁丽, 高瑞昌, 郭雪霞, 等. 几种物理处理法对鲑鱼墨黑色素理化特性的影响[J]. 食品与机械, 2011, 27(5): 36-38.

[29] 吴晨霞, 陈萍, 金晖, 等. 木耳黑色素的提取及其抗氧化研究[J]. 食用菌, 2013, 35(4): 73-75.

[30] 郑淑英. 乌饭树叶黑色素抗氧化性及其着色能力初步研究[J]. 宁德师范学院学报: 自然科学版, 2016, 28(2): 169-173.

[31] 邹宇, 尹冬梅, 江洁, 等. 黑木耳黑色素组分分析及其抗氧化活性研究[J]. 食品科学, 2013, 34(23): 138-141.