

DOI: 10.13652/j.issn.1003-5788.2021.03.039

黑豆种皮花青素生理功能、分离纯化及应用研究进展

Research progress in physiological function, extraction and application of anthocyanidin from black soybean coat

魏心源 陈虹印 程道梅

WEI Xin-yuan CHEN Hong-yin CHENG Dao-mei

(成都医学院公共卫生学院, 四川 成都 610500)

(Department of Public Health, Chengdu Medical College, Chengdu, Sichuan 610500, China)

摘要: 综述了黑豆种皮花青素的各种生理功能及分离纯化工艺, 概述了黑豆种皮花青素在食品、医药、化妆品等行业的应用现状, 并展望了黑豆种皮花青素未来的研究利用方向。

关键词: 黑豆种皮; 花青素; 生理功能; 分离纯化; 应用

Abstract: Summarized the physiological functions and separation and purification process of anthocyanidins from seed coat of black bean, and its application in food, medicine and cosmetics and other industries, and also prospected the future research and utilization of anthocyanidins from seed coat of black bean.

Keywords: black soybean coats; anthocyanidin; physiological functions; extraction and purification; application

黑豆为大豆科草本类植物, 不仅富含蛋白质、维生素、矿物质等多种营养物质, 还含有丰富的花青素等多酚类化合物。花青素属于类黄酮, 是一种水溶性天然色素, 赋予植物红色、紫色和蓝色。黑豆中的花青素主要存在于种皮中。近年来, 随着对花青素抗肿瘤、抗氧化等生理功能的不断深入研究, 其在预防乳腺癌、改善心血管功能方面得到了广泛应用^[1]。黑豆种皮花青素(Black soybean coats anthocyanidin, BSCA)存在含糖基的花色苷及其降解产物花青素苷元两种形式, 具有抗炎^[2]、抗氧化^[3]、降血糖^[4]、降血脂^[5]、保护认知功能^[6]等多种生理作用, 黑豆种皮花青素提取纯化技术的改善, 使其被广泛用于医

药、食品、化妆品等领域。随着近年来对黑豆种皮花青素越来越多的研究和开发, 已然显示出了其广阔的应用前景, 文章拟就国内外近年来的相关研究进展进行综述, 以期后续开展黑豆种皮花青素的深入研究及开发应用提供参考。

1 黑豆种皮花青素概述

花青素是一类多羟基酚类物质, 其基本的碳骨架结构为 C₆—C₃—C₆, 由一个 2-苯基苯并吡喃环和环上不同取代基组成(图 1)^[7]。花青素稳定性较差, 通常以结构中游离的羟基与糖通过糖苷键结合成为花色苷的形式存在于自然界中。与花青素结合形成糖苷键的糖主要有鼠李糖、木糖、葡萄糖、半乳糖、阿拉伯糖, 花色苷中的糖苷基还可与有机酸通过酯键形成酰基化的花色苷^[8]。

花青素的结构分析方法有紫外—可见光谱法^[9]、高效液相色谱法(HPLC)^[10]、质谱技术^[11]、核磁共振波谱法^[12]等。花青素最常见的结构为矢车菊素、飞燕草素、天竺葵素、芍药素、矮牵牛素和锦葵素^[7], 见表 1。

黑豆种皮中花青素含量非常丰富, 但不同产地黑豆种皮中花青素含量及结构存在差异。张泽生等^[13]研究发现, 山东、湖北、东北、内蒙古、安徽的黑豆种皮中花青素含量分别为 3.61%, 4.99%, 5.03%, 5.58%, 5.59%。Zhang等^[14]对 60 种中国黑豆的鉴定结果表明, 黑豆种皮

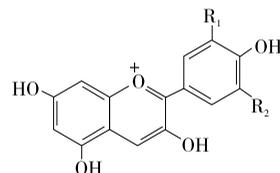


图 1 花青素基本结构

Figure 1 Basic structure of anthocyanidin

基金项目: 四川省教育厅自然科学重点项目(编号: 18ZA0166); 四川省大学生创新创业训练计划项目(编号: 1624430005)

作者简介: 魏心源, 女, 成都医学院在读硕士研究生。

通信作者: 程道梅(1974—), 女, 成都医学院副教授, 博士。

E-mail: hbcdmzx@163.com

收稿日期: 2020-09-17

表 1 6 种常见花青素结构

Table 1 The structure of six common anthocyanidins

名称	R1	R2
天竺葵素	H	H
矢车菊素	OH	H
芍药素	OCH ₃	H
飞燕草素	OH	OH
矮牵牛素	OCH ₃	OH
锦葵素	OCH ₃	OCH ₃

中总花色苷含量为 98.8~2 132.5 mg/100 g,其中矢车菊素-3-葡萄糖苷含量最高,占总花色苷的 48.8%~94.1%。Choung 等^[15]使用 HPLC 法分离鉴定发现韩国 10 个品种的黑豆种皮花色苷含量和结构不同(见表 2),其主要结构为矢车菊素-3-葡萄糖苷。另有研究^[16]发现韩国高海拔地区的黑豆皮中花青素含量高于低海拔地区。

表 2 10 种黑豆种皮中花色苷含量比较^[15]

Table 2 Comparison of anthocyanin contents in seed coats of ten black soybean varieties mg/g

种类	飞燕草素-3-	矢车菊素-3-	矮牵牛素-3-	花色苷
	葡萄糖苷	葡萄糖苷	葡萄糖苷	总量
Heugchong	0.64	0.94	—	1.58
Geomieong 1	—	4.50	—	4.50
Tawon	1.30	2.93	1.03	5.26
Tanbaguro	0.89	5.46	—	6.35
Cheongja	1.56	5.30	0.31	7.16
Peking	—	7.88	—	7.88
Milyang 95	1.98	6.45	1.41	9.83
Geomjeongol	2.78	7.36	0.47	10.62
IT 180220	3.71	14.80	0.30	18.81
YJ 100-1	3.21	15.98	0.99	20.18

2 黑豆种皮花青素生理功能及其作用机制

2.1 抗氧化作用

黑豆种皮花青素许多重要的生理功能以其抗氧化能力为基础。在体外黑豆种皮花青素对 DPPH 自由基、羟自由基、铁离子螯合剂具有较强的清除作用,且呈明显的剂量反应关系^[17]。体内研究^[18]也发现,黑豆种皮花青素在质量浓度为 50 μg/mL 时即可发挥抗氧化作用,并且呈剂量依赖性降低血清中丙二醛、过氧化氢酶含量,提高超氧化物歧化酶及谷胱甘肽过氧化物酶含量。细胞学研究^[3]发现,经矢车菊素-3-葡萄糖苷含量为 67 mg/g 的黑豆种皮提取物预处理可通过激活蛋白质磷酸酶抑制

H₂O₂ 对 HepG2 细胞中 ERK 通路的过度激活,阻止 H₂O₂ 介导的细胞损伤,通过抗氧化应激发挥抗肿瘤作用。良性前列腺增生是一种老年男性的常见疾病,黑豆种皮花青素可通过清除自由基,预防氧化损伤来防治前列腺增生。Jang 等^[19]发现经黑豆种皮花青素处理后,增生的前列腺体积减小,组织形态明显得到改善,其中 80 mg/kg 处理组的作用效果最好,提示黑豆种皮花青素在较低剂量时即可发挥抗氧化作用。黑豆种皮花青素是一种良好的抗氧化剂且安全无毒,可广泛应用于多种环境,对预防疾病、延缓衰老具有重要意义。

2.2 降血糖及改善 2 型糖尿病作用

腺苷酸活化蛋白激酶(AMP-activated protein kinase, AMPK)是预防和治疗 2 型糖尿病的关键物质之一。研究^[20]发现,黑豆种皮花青素可激活 AMPK 通路来增加葡萄糖转运蛋白的表达,激活肝脏中的 AMPK 下调肝脏糖异生酶的产生。Chen 等^[21]用 400 mg/kg 的黑豆种皮提取物(花青素占比为 73.93%)对 2 型糖尿病模型小鼠处理 3~4 周,其降血糖作用程度与罗格列酮一致。且在进食后 30 min,经黑豆种皮提取物处理可抑制血清胰岛素水平异常升高趋势。糖尿病的发生与脂肪细胞的分化密切相关。黑豆中的矢车菊素-3-葡萄糖苷可通过诱导前脂肪细胞分化为更小且对胰岛素敏感的脂肪细胞来改善 2 型糖尿病^[4]。上述研究表明,富含矢车菊素-3-葡萄糖的黑豆种皮提取物可能是一种可用于 2 型糖尿病治疗的功能性食物或药物。中国成人 2 型糖尿病患病率高达 11.6%,糖尿病患者数居全球首位,已成为严峻的公共卫生问题^[22]。营养治疗是 2 型糖尿病的首要治疗方式,因此,可利用黑豆种皮花青素的降血糖作用对 2 型糖尿病患者及高危人群进行饮食干预,达到控制血糖、预防疾病的目的。

2.3 预防肥胖及降血脂作用

人群超重和肥胖是目前广受关注的公共卫生问题,研究发现,黑豆种皮花青素具有潜在的减肥及降血脂功效。Badshah 等^[23]对大鼠每日灌胃黑豆种皮花青素 6 mg/kg 和 24 mg/kg 持续 40 d 后显示,大鼠体重及日摄食量较正常饲料喂养组显著降低,并以剂量依赖性方式减小脂肪组织大小。蛋白质印迹分析表明,黑豆种皮花青素可能通过降低下丘脑神经肽 Y 的表达和上调 γ-氨基丁酸 B1 受体(GABAB1R)的表达来降低大鼠的体重以及日摄食量,从而帮助预防肥胖。Lee 等^[24]对共 63 名超重或肥胖成年韩国居民进行的一项为期 8 周的随机双盲安慰剂对照试验结果显示,在维持高膳食纤维和低胆固醇饮食的情况下,研究对象每日服用富含花青素的黑豆种皮提取物 2.5 g,可使腹部脂肪(以腰围表示)、甘油三酯

(TG)、低密度脂蛋白胆固醇(LDL-C)和非高密度脂蛋白胆固醇(non-HDL-C)及动脉硬化指标 TC/HDL-C、LDL-C/HDL-C 均显著下降。该结果提示,食用花青素含量丰富的食物,可能能够减少体内脂肪的蓄积,富含黑豆种皮花青素的黑豆种皮可被开发为预防腹部肥胖的功能性食物。实际应用中需要注意的是,黑豆种皮花青素预防肥胖及降血脂作用机制利用的是低剂量、长时期的累积效应来预防和减少脂肪的沉积,因此可能需要较长的周期。

2.4 抗炎、抑菌作用

炎症是机体发挥自愈功能的一种非特异性免疫反应,慢性炎症则有可能引发多种疾病。丝裂原活化蛋白激酶(mitogen activated protein kinases, MAPKs)在炎症介质表达的信号转导过程中具有重要的作用^[25]。Kim等^[26]利用脂多糖诱导巨噬细胞(RAW264.7 细胞)产生炎症因子,经质量浓度为 12.5 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 黑豆种皮花青素预处理可显著抑制 RAW264.7 细胞 NO 的生成,且呈剂量依赖性地抑制促炎细胞因子 TNF α 和 IL-6 含量的增加以及前列腺素 E2 和 MAPKs 的磷酸化。这些结果表明黑豆种皮花青素可能通过抑制活性氧生成和随后的 MAPK 信号传导而发挥抗炎活性,从而抑制炎症反应。Yoon等^[27]对大鼠滴注大肠埃希氏菌诱导慢性细菌性前列腺炎后,分别给予环丙沙星、黑豆种皮花青素、黑豆种皮花青素+环丙沙星联合治疗,研究发现,与环丙沙星组相比,黑豆种皮花青素+环丙沙星组的细菌生长显著减少,前列腺炎显著改善。这些结果表明黑豆种皮花青素可能具有抗炎和抑菌作用,且与环丙沙星存在协同作用。

2.5 神经保护作用

神经退行性疾病是老龄化社会面临的重大公共卫生问题,其发生机制主要是神经元和/或其髓鞘的丧失,随时间推移发生恶化,进而导致功能障碍。现有研究显示黑豆种皮花青素具有神经保护作用。用 4 mg/kg 的黑豆种皮花青素对成年雄性大鼠进行灌胃 12 h 即能抵抗淀粉样 β 蛋白处理引起的细胞活力下降,使细胞内的线粒体膜电位和 Ca^{2+} 水平恢复正常,并减少神经元细胞的死亡^[28]。矢车菊素-3-葡萄糖苷可显著抑制暴露于氧糖剥夺环境的大鼠初级神经元中活性氧的过度生成,剂量依赖性地阻止氧化应激造成的细胞膜损伤,对大鼠皮质神经元发挥神经保护作用^[29]。黑豆种皮花青素还可通过抑制 ASK1-JNK/P38 通路的激活、清除活性氧、刺激血红素氧合酶-1 表达以及上调 Neu1 唾液酸酶的基因表达来动员细胞游离唾液酸,从而发挥针对氧化应激的脑神经保护作用^[30]。上述研究提示黑豆种皮花青素可能是治疗阿尔兹海默症等神经退行性疾病的潜在候选药物。

2.6 视觉保护作用

视网膜变性可引起光感细胞死亡,从而导致失明。

《本草纲目拾遗》中即有黑豆可明目的记载,现代研究发现其主要功效成分为黑豆中的花青素。Paik等^[31]每日经口给予 N-甲基-N-亚硝基脲(MNU)诱导的视网膜变性大鼠 50 mg/kg 黑豆种皮花青素 4 周后发现,黑豆种皮花青素处理组大鼠视网膜中光感受器所在的外核层被很好地保存,视网膜电图反应显著增加。提示黑豆种皮花青素可保护视网膜神经元的结构和功能。Mok等^[32]研究发现,经黑豆种皮花青素预处理可剂量依赖性地抑制 H_2O_2 诱导的晶状体上皮细胞凋亡以及形态学改变,且随着黑豆种皮花青素含量的增加,形态学异常的细胞比例下降。黑豆种皮花青素发挥视觉保护作用的相关机制尚不明确,但有研究发现桑果中提取的矢车菊素-3-葡萄糖苷通过促进视网膜视杆细胞中视紫红素再生和增强视网膜毛细血管微循环等途径发挥对视觉功能的保护作用^[33]。中国成人糖尿病视网膜病变患者数为 3 200 万~4 800 万,儿童青少年近视检出率高达 50% 以上,且近视增速的峰值年龄不断提前^[34],因此,可以预期黑豆种皮花青素在视力保护方面的应用将会是其相应产品开发的一大热点。

2.7 其他

2.7.1 抗酪氨酸酶活性 酪氨酸酶可催化人皮肤中黑色素的合成,因此抑制酪氨酸酶的合成可有效抑制黑色素在人类皮肤沉着。Jhan等^[35]利用人酪氨酸酶评价黑豆种皮提取物的抗酪氨酸酶潜力,研究表明,黑豆种皮提取物中的总酚类含量、总黄酮含量、矢车菊素-3-葡萄糖苷含量与抗人酪氨酸酶活性间存在良好的相关性,且矢车菊素-3-葡萄糖苷含量与抗人酪氨酸酶活性的相关性最强。

2.7.2 预防放射性皮肤纤维化 Park等^[36]在放射处理前后 5 d,每天对小鼠注射一次 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的黑豆种皮花青素。试验结束后对小鼠真皮成纤维细胞用 50 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 和 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的黑豆种皮花青素进行处理,发现在 48 h 时细胞内活性氧的生成显著减少,在 72 h 时辐射诱导的细胞凋亡明显减少。此外,辐照 72 h 后,100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 黑豆种皮花青素显著降低 Smad3 mRNA 表达并增加 Smad7 mRNA 表达。说明以 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 黑豆种皮花青素治疗小鼠,会显著减少辐照后皮肤损伤的程度、表皮厚度和胶原沉积。

2.8 黑豆种皮花青素发挥生理功能的剂量

黑豆种皮花青素在发挥各种生理功能时有使用剂量上的差异,表 3 汇总了使用大鼠对各种生理功能进行体内研究时所用的黑豆种皮花青素剂量和时间,在降血糖研究中所使用的黑豆种皮花青素剂量较大,其他生理功能研究中黑豆种皮花青素剂量相差不大,作用时长均在 4 周以上。

表 3 黑豆种皮花青素发挥生理功能的剂量

Table 3 The dose of BSCA to play physiological functions

生理功能	作用剂量/(mg·kg ⁻¹)	作用时长/d	文献来源
抗氧化	80	28	[19]
降血糖	400	28	[21]
改善肥胖	24	40	[24]
抗炎抑菌	60	49	[2]
视觉保护	50	28	[32]

3 黑豆种皮花青素分离纯化及改性工艺

黑豆种皮花青素具有较高的药用价值和广泛的应用前景,然而由于其粗提物含蛋白质等其他成分,影响花青素的稳定性和品质,因此,黑豆种皮花青素的提取纯化方法及稳定性保护研究备受关注。

3.1 乙醇浸提法

曹柏营等^[17]利用响应面法得到的乙醇浸提法的最佳工艺条件为:乙醇浓度 60%,提取温度 60℃,提取时间 3 h,料液比($m_{\text{黑豆种皮}} : V_{\text{乙醇}}$)1 : 15 (g/mL),提取率为(1.101±0.101) mg/g。乙醇浸提法存在溶剂用量大、耗时长、花青素提取率低等缺点,近年相继出现了多种辅助提取及纯化技术,改进了黑豆种皮花青素的提取工艺。

3.2 微波辅助提取

利用萃取体系中不同组分对微波的吸收能力不同的特性可使黑豆种皮花青素从萃取体系中分离,进入到微波吸收能力较弱的萃取剂中^[37]。此外,微波辐射能够破坏细胞,使有效成分在较短时间溶出。Kumar 等^[38]发现微波辅助提取法优于酶辅助提取法和乙醇浸提法,使用功率为 569.46 W 的微波辅助提取黑豆种皮花青素的最佳条件为:乙醇浓度 59.99%,料液比($m_{\text{黑豆种皮}} : V_{\text{乙醇}}$)1 : 40 (g/mL),提取时间 262.54 s,提取率为 5 094.9 mg/L。微波辅助提取技术设备简单、操作方便,与传统浸提法相比,提取时间更短、提取率更高。

3.3 超声波辅助提取

超声提取法是通过超声波产生的强烈振动、空化效应及机械效应,使植物组织局部高温、高压,从而使植物细胞壁破碎而提高花青素的提取率^[39]。李秀花等^[40]研究发现超声辅助提取法的提取率为 85.69%,优于普通乙醇浸提法(61.64%),在超声辅助下的最佳提取条件为:乙醇浓度 70%,料液比($m_{\text{黑豆种皮}} : V_{\text{乙醇}}$)1 : 40 (g/mL),提取时间 30 min。溶剂也是影响提取率的重要因素,离子液体被认为是可代替乙醇作为超声辅助提取天然产物的溶剂^[41]。苏适等^[42]采用离子液体—超声辅助法提取黑豆种皮花青素,提取率为 4.118 mg/g,高于乙醇超声辅助

法。最佳提取参数为:离子液体浓度 0.9 mol/L,料液比($m_{\text{黑豆种皮}} : V_{\text{离子液体}}$)1 : 51 (g/mL),提取温度 44℃,提取时间 45 min。

3.4 纯化工艺

黑豆种皮花青素粗提物中含有淀粉、蛋白质等杂质,对其进行纯化处理可以提高黑豆种皮花青素的品质。大孔树脂吸附法是一种被广泛用于工业化生产天然色素,操作简单、纯化效果好的纯化方法^[43]。利用大孔吸附树脂对黑豆种皮花青素粗提物进行纯化处理,可有效去除粗提物中的杂质。朱学伸等^[44]用 AB-8 型大孔树脂吸附纯化黑豆种皮花青素粗提物,最佳纯化条件为粗提液上样流速 1.0 mL/min,吸附平衡时间 4 h,60%的乙醇溶液作为洗脱液,洗脱流速 1.5 mL/min,解析时间 3 h。吴艳立等^[45]筛选出 DM301、ADS-17、HPD-417 3 种不同型号的大孔树脂两两组合,对黑豆种皮花青素粗提物进行纯化,得到的最佳组合方法和纯化条件为:DM301+HPD-417($m_{\text{DM301}} : m_{\text{HPD-417}} = 4 : 1$)的大孔树脂组合湿法装柱,粗提物以 0.5 mL/min 流速进行上样,吸附饱和后,以 pH 3.5、浓度为 65%的乙醇溶液以 1.5 mL/min 流速进行洗脱。

3.5 改性工艺

黑豆种皮花青素的稳定性易受 pH、光照、温度、金属离子、酶等因素的影响,使其应用受到限制。花青素的稳定性保护方法有:改变存储环境、添加保护剂、添加辅助色素、金属络合、微胶囊化以及分子修饰等。目前分子修饰法是稳定性提升方法的研究热点^[46],分子结构修饰的主要类型有:① 酰基修饰。经酰基修饰的花色苷可避免受到水的亲核攻击,使其不能转变为无色的查耳酮或蓝色的醌酮,从而保持溶液原有的颜色。张晓圆等^[47]对黑豆种皮花色苷进行酰基修饰,酰化后对 DPPH 自由基的清除能力增强。② 酯基修饰。花色苷酯基修饰的转化率高于酰基修饰。朱宏明等^[48]对黑豆种皮花色苷进行酯基修饰,修饰后花色苷的自由基清除能力、体外抗氧化能力显著提高。③ 吡喃化修饰。吡喃花色苷是花色苷与不饱和小分子物质发生加成或聚合反应后的产物,较花色苷更为稳定。花色苷的吡喃化修饰用时较长,但转化率较高。何静仁等^[49]对多种吡喃花色苷在 6 个月贮藏期内的稳定性进行比较,发现稳定性顺序为黄烷醇型>Vitisin A 型>普通花色苷。

4 黑豆种皮花青素应用现状

黑豆种植范围广泛、价格低廉,且黑豆种皮花青素具有安全无毒的特性,从黑豆种皮中提取花青素的方法较多、效果较好^[50],故现今黑豆种皮花青素已经在许多行业

中得到了应用。

4.1 在食品行业的应用

黑豆种皮花青素有多种生理活性,而黑豆作为可直接食用的食物,成为了保健食品研究开发的热点方向。中国确定的成人花青素日常摄入量为 50 mg/d,可耐受最高摄入量尚未确定^[51]。现在已经研发出了一些以黑豆种皮提取物为主要功能成分的保健食品,如一种生血养血的保健食品^[52]以及一种用于护眼明目的保健食品^[53]。在食品行业中,着色剂是应用极其广泛的一类食品添加剂,天然着色剂更受消费者青睐。黑豆红色素作为一种天然着色剂,具有较高的安全性和一定的营养价值,因此常用于各类饮料、糕点、糖果等食品的着色^[54]。此外,因黑豆种皮花青素安全无毒、抗菌能力强,其在食品防腐剂中的应用前景也将非常广阔。

4.2 在医药行业的应用

黑豆种皮是常见的一味中药材,主要用于治疗虚热、烦躁、血寒、风痹,含黑豆种皮的方剂有风引独活汤、健脾汤等。随着对黑豆种皮花青素生理活性研究的深入,黑豆种皮花青素相关药物的研制也日益引起关注。现在已经研制出一些以黑豆皮为原料之一的药物制剂用于治疗肝硬化^[55]及幽门螺旋杆菌引起的慢性胃炎^[56]等。但目前对黑豆种皮花青素生理功能的开发利用程度还较低,例如对视力保护、神经保护、以及抗炎抑菌药品的研发还较少,因此,在保证黑豆种皮花青素稳定性的条件下充分发挥其药用功能,是医药研究者需面临的重要挑战。

4.3 在美容护肤行业的应用

随着人们审美意识及对肌肤健康的重视提高,对护肤产品的需求越来越大,护肤品行业成为了快速发展的热门行业。人们对于护肤的追求主要是抗氧化和抗衰老,黑豆种皮花青素具有较强的抗氧化活性,其清除 DPPH 自由基和羟自由基的能力均强于维生素 C^[18],其抗氧化特性也可用于化妆品的防腐。目前面世的美白淡斑产品多以烟酰胺为主要成分,鉴于黑豆种皮花青素具有抑制酪氨酸酶活性作用,可预防黑色素沉着形成雀斑、黄褐斑等,含黑豆种皮花青素的淡化面部色斑的中药面霜^[57]为美白产品的研发提供了新思路。以黑豆种皮提取物为主要成分的保湿滋养面膜、黑豆精华液等美容产品也已经在市场上出售。如今消费者对护肤产品的需求大,追求安全、天然,研究者应把握机遇,积极研发以黑豆种皮花青素为主要成分的护肤产品。

5 展望

黑豆种皮中的花青素含量丰富,黑豆种皮花青素有广泛的生理功能、较高的安全性和易获得性,所以对于

黑豆种皮花青素的进一步开发和应用具有较高价值。但黑豆种皮花青素稳定性差,其活性易受到多种因素的影响,目前尚未有标准化的黑豆种皮花青素提取工艺,故如何提高黑豆种皮花青素的稳定性,保障其生理功能的有效发挥,是亟待解决的问题。此外,对黑豆种皮花青素在人体内的吸收、分布、代谢、排泄等影响其生物利用度的研究的缺乏,也是黑豆种皮花青素生理功能利用不足的原因之一。但黑豆种皮花青素发挥某些生理活性的作用机制尚未完全明确,大部分的生理活性也仅进行了体外研究以及试验动物的研究,人体试验及临床研究较少,不同结构黑豆种皮花青素的生理活性及比较研究鲜见报道。因此,如何将黑豆种皮花青素应用于临床也是需要解决的重要问题。总之,对黑豆种皮花青素进行更加深入的研究和产品研发,将有利于更好地利用黑豆种皮花青素,使其应用于更多行业,为促进人类健康作出贡献。

参考文献

- [1] SOMASAGARA R R, HEGDE M, CHIRUVELLA K K, et al. Extracts of strawberry fruits induce intrinsic pathway of apoptosis in breast cancer cells and inhibits tumor progression in mice[J]. *PLoS One*, 2012, 7(10): e47021.
- [2] MIN H K, KIM S M, BAEK S Y, et al. Anthocyanin extracted from black soybean seed coats prevents autoimmune arthritis by suppressing the development of Th17 cells and synthesis of proinflammatory cytokines by such cells, via inhibition of NF- κ B [J]. *PLoS One*, 2015, 10(11): e138201.
- [3] HASHIMOTO N, OKI T, SASAKI K, et al. Black soybean seed coat extract prevents hydrogen peroxide-mediated cell death via extracellular signal-related kinase signalling in HepG2 cells[J]. *J Nutr Sci Vitaminol (Tokyo)*, 2015, 61(3): 275-279.
- [4] TOSHIYA Matsukawa, TETSUYA Inaguma, JUNKYU Han, et al. Cyanidin-3-glucoside derived from black soybeans ameliorate type 2 diabetes through the induction of differentiation of preadipocytes into smaller and insulin-sensitive adipocytes[J]. *The Journal of Nutritional Biochemistry*, 2015, 26(8): 860-867.
- [5] KIM H K, KIM J N, HAN S N, et al. Black soybean anthocyanins inhibit adipocyte differentiation in 3T3-L1 cells[J]. *Nutr Res*, 2012, 32(10): 770-777.
- [6] KIM Y K, YOON H H, LEE Y D, et al. Anthocyanin extracts from black soybean (*Glycine max L.*) protect human glial cells against oxygen-glucose deprivation by promoting autophagy[J]. *Biomol Ther (Seoul)*, 2012, 20(1): 68-74.
- [7] TSUDA T. Dietary anthocyanin-rich plants: Biochemical basis and recent progress in health benefits studies[J]. *Mol*

- Nutr Food Res, 2012, 56(1): 159-170.
- [8] 林纪伟. 黑豆皮中多酚类成分分析[D]. 天津: 天津科技大学, 2011: 2.
- [9] 李双伶, 郭俊凌, 杜晓. 茶树紫色芽叶中花青素的提取—层析分离及初步鉴定[J]. 安徽农业科学, 2009, 37(28): 13 799-13 802, 13 809.
- [10] FARZAD M, GRIESBACH R, WEISS M R. Floral color change in *Viola cornuta* L. (Violaceae): A model system to study regulation of anthocyanin production[J]. Plant Science, 2002, 162(2): 225-231.
- [11] 赵贝塔, 赵巍, 刘邻渭. 花青素类化合物分析方法研究进展[J]. 西北农林科技大学学报(自然科学版), 2014, 42(6): 180-188.
- [12] 李鑫, 刘景玲, 李彦, 等. 三叶青原花青素结构分析[J]. 食品科学, 2018, 39(16): 247-255.
- [13] 张泽生, 林纪伟, 王志平, 等. 比色法测定不同产地黑豆皮中花青素含量[J]. 食品研究与开发, 2012, 33(5): 143-145, 156.
- [14] ZHANG Rui-fen, ZHANG Fang-xuan, ZHANG Ming-wei, et al. Phenolic composition and antioxidant activity in seed coats of 60 Chinese black soybean (*Glycine max* L. Merr.) varieties[J]. J Agric Food Chem, 2011, 59(11): 5 935-5 944.
- [15] CHOUNG M G, BAEK I Y, KANG S T, et al. Isolation and determination of anthocyanins in seed coats of black soybean (*Glycine max* (L.) Merr.) [J]. J Agric Food Chem, 2001, 49(12): 5 848-5 851.
- [16] HA T J, LEE J H, SHIN S O, et al. Changes in anthocyanin and isoflavone concentrations in black seed-coated soybean at different planting locations[J]. J Crop Sci, 2009, 12(2): 79-86.
- [17] 曹柏营, 张雅婷, 孙睿彤, 等. 黑豆花青素提取及抗氧化活性研究[J]. 食品研究与开发, 2019, 40(6): 94-99.
- [18] 李玉英, 白金晶, 李新, 等. 黑豆皮中花青素成分鉴定及细胞内抗氧化活性研究[J]. 山西农业科学, 2018, 46(6): 899-904.
- [19] JANG H, HA U S, KIM S J, et al. Anthocyanin extracted from black soybean reduces prostate weight and promotes apoptosis in the prostatic hyperplasia-induced rat model[J]. J Agric Food Chem, 2010, 58(24): 12 686-12 691.
- [20] KURIMOTO Y, SHIBAYAMA Y, INOUE S, et al. Black soybean seed coat extract ameliorates hyperglycemia and insulin sensitivity via the activation of AMP-activated protein kinase in diabetic mice[J]. J Agric Food Chem, 2013, 61(23): 5 558-5 564.
- [21] CHEN Zhong-qin, WANG Cong, PAN Yu-xiang, et al. Hypoglycemic and hypolipidemic effects of anthocyanins extract from black soybean seed coat in high fat diet and streptozotocin-induced diabetic mice[J]. Food Funct, 2018, 9(1): 426-439.
- [22] XU Yu, WANG Li-min, HE Jiang, et al. Prevalence and control of diabetes in Chinese adults [J]. JAMA: the Journal of the American Medical Association, 2013, 310(9): 948-958.
- [23] BADSHAH H, ULLAH I, KIM S E, et al. Anthocyanins attenuate body weight gain via modulating neuropeptide Y and GABAB1 receptor in rat hypothalamus[J]. Neuropeptides, 2013, 47(5): 347-353.
- [24] LEE M, SORN S R, PARK Y, et al. Anthocyanin rich-black soybean testa improved visceral fat and plasma lipid profiles in overweight/obese Korean adults: A randomized controlled trial[J]. J Med Food, 2016, 19(11): 995-1 003.
- [25] LEE S H, LEE S Y, SON D J, et al. Inhibitory effect of 2'-hydroxycinnamaldehyde on nitric oxide production through inhibition of NF-kappa B activation in RAW 264.7 cells[J]. Biochem Pharmacol, 2005, 69(5): 791-799.
- [26] KIM J N, HAN S N, HA T J, et al. Black soybean anthocyanins attenuate inflammatory responses by suppressing reactive oxygen species production and mitogen activated protein kinases signaling in lipopolysaccharide-stimulated macrophages[J]. Nutr Res Pract, 2017, 11(5): 357-364.
- [27] YOON B I, BAE W J, CHOI Y S, et al. Anti-inflammatory and antimicrobial effects of anthocyanin extracted from black soybean on chronic bacterial prostatitis rat model[J]. Chin J Integr Med, 2018, 24(8): 621-626.
- [28] BADSHAH H, KIM T H, KIM M O. Protective effects of anthocyanins against amyloid beta-induced neurotoxicity in vivo and in vitro[J]. Neurochem Int, 2015, 80: 51-59.
- [29] BHUIYAN M I, KIM J Y, HA T J, et al. Anthocyanins extracted from black soybean seed coat protect primary cortical neurons against in vitro ischemia[J]. Biol Pharm Bull, 2012, 35(7): 999-1 008.
- [30] KIM S M, CHUNG M J, HA T J, et al. Neuroprotective effects of black soybean anthocyanins via inactivation of ASK1-JNK/p38 pathways and mobilization of cellular sialic acids[J]. Life Sci, 2012, 90(21/22): 874-882.
- [31] PAIK S S, JEONG E, JUNG S W, et al. Anthocyanins from the seed coat of black soybean reduce retinal degeneration induced by N-methyl-N-nitrosourea[J]. Exp Eye Res, 2012, 97(1): 55-62.
- [32] MOK J W, CHANG D J, JOO C K. Antiapoptotic effects of anthocyanin from the seed coat of black soybean against oxidative damage of human lens epithelial cell induced by H₂O₂[J]. Curr Eye Res, 2014, 39(11): 1 090-1 098.
- [33] 王海, 赵海娇. 视觉相关营养素对视觉功能保护作用的研究进展[J]. 山东医药, 2017, 57(24): 109-112.

- [34] 董彦会, 刘慧彬, 王政和, 等. 2005—2014年中国7~18岁儿童青少年近视流行状况与变化趋势[J]. 中华预防医学杂志, 2017, 51(4): 285-289.
- [35] JHAN J K, CHUNG Y C, CHEN G H, et al. Anthocyanin contents in the seed coat of black soya bean and their anti-human tyrosinase activity and antioxidative activity[J]. Int J Cosmet Sci, 2016, 38(3): 319-324.
- [36] PARK S W, CHOI J, KIM J, et al. Anthocyanins from black soybean seed coat prevent radiation-induced skin fibrosis by downregulating TGF- β and Smad3 expression[J]. Arch Dermatol Res, 2018, 310(5): 401-412.
- [37] VARADHARAJAN V, SHANMUGAM S, RAMASWAMY A. Model generation and process optimization of microwave-assisted aqueous extraction of anthocyanins from grape juice waste[J]. Journal of Food Process Engineering, 2017, 40(3): 27-42.
- [38] KUMAR M, DAHUJA A, SACHDEV A, et al. Evaluation of enzyme and microwave-assisted conditions on extraction of anthocyanins and total phenolics from black soybean (*Glycine max* L.) seed coat [J]. Int J Biol Macromol, 2019, 135: 1 070-1 081.
- [39] 胡云峰, 陈君然, 胡晗艳, 等. 超声波破壁提取葡萄酒酵母泥中多糖的研究[J]. 食品安全质量检测学报, 2013(6): 1 715-1 720.
- [40] 李秀花, 张利. 黑豆花色苷提取工艺的优化[J]. 吉林农业, 2018(19): 72-73.
- [41] 李明英. 离子液体在天然活性物质提取中的应用研究进展[J]. 药学进展, 2015, 39(6): 437-445.
- [42] 苏适, 于德涵, 柴宝丽, 等. 响应面法优化超声辅助离子液体提取黑豆花青素工艺研究[J]. 中国调味品, 2019, 44(7): 154-159.
- [43] 王宏, 付燕秋, 韩静, 等. AB-8大孔树脂吸附黑枸杞中花青素行为研究[J]. 林产化学与工业, 2016, 36(4): 79-86.
- [44] 朱学伸, 赵文, 林淑鑫, 等. 黑豆种皮中原花青素的提取和纯化研究[J]. 现代食品科技, 2018, 34(1): 154-160.
- [45] 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.
- [46] 由璐, 隋茜茜, 赵艳雪, 等. 花色苷分子结构修饰及其生理活性研究进展[J]. 食品科学, 2019, 40(11): 351-359.
- [47] 张晓圆, 汪旭, 陈玥, 等. 黑豆红花色苷的分子修饰和稳定性研究[J]. 食品研究与开发, 2017, 38(11): 26-31.
- [48] 朱宏明, 蒋天龙, 高橙, 等. 黑豆皮花色苷的分子修饰及抗氧化性研究[J]. 浙江树人大学学报(自然科学版), 2015(1): 24-28.
- [49] HE Jing-ren, CARVALHO A R, MATEUS N, et al. Spectral features and stability of oligomeric pyranoanthocyanin-flavanol pigments isolated from red wines[J]. J Agric Food Chem, 2010, 58(16): 9 249-9 258.
- [50] 陈长应. 黑豆皮中花青素的提取及测定的研究[J]. 中国调味品, 2013, 38(12): 91-94.
- [51] 中国居民膳食营养素参考摄入量速查手册[M]. 北京: 中国标准出版社, 2014: 36.
- [52] 李妍. 一种生血养血的保健品及其制备方法与应用: CN201610795905.1[P]. 2017-02-15.
- [53] 温家慧. 一种护眼明目的营养保健品: CN102772572A[P]. 2012-11-14.
- [54] DIAZ-GARCIA M C, CASTELLAR M R, OBON J M, et al. Production of an anthocyanin-rich food colourant from *Thymus moroderi* and its application in foods[J]. J Sci Food Agric, 2015, 95(6): 1 283-1 293.
- [55] 陈令浩. 一种治疗肝硬化的颗粒剂及其制备方法和用途: CN105412847A[P]. 2016-03-23.
- [56] 冯璇, 叶振昊, 黄穗平. 一种治疗幽门螺旋杆菌引起的慢性胃炎的中药组合物、制剂及其制备方法: CN109106882A[P]. 2019-01-01.
- [57] 李文科, 李旦. 一种淡化面部色斑的中药面霜及制备方法: CN109464353A[P]. 2019-03-15.
- (上接第174页)
- [11] 闫涵, 范文来, 徐岩. 单粮和多粮型白酒发酵过程的成分差异分析[J/OL]. 食品科学. (2020-07-22) [2021-01-03]. <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.2206.TS.20200722.1426.110.html>.
- [12] 张杰, 程伟, 彭兵, 等. 一种多粮复合香型白酒的酿造工艺研究[J]. 酿酒, 2020, 47(3): 39-43.
- [13] 高志远, 程伟, 张杰, 等. 一种多粮复合香型白酒的酿造工艺分析与探讨[J]. 酿酒科技, 2019(9): 35-40.
- [14] 黄发琳, 王化斌. 浅析多粮白酒生产工艺[J]. 酿酒, 2016, 43(2): 35-37.
- [15] 寇晨光. 多粮发酵在清香型白酒生产中的应用[J]. 酿酒科技, 2012(11): 72-75.
- [16] 王万能, 王东, 娄国平, 等. 多粮小曲清香型调味酒配方优化[J]. 重庆理工大学学报(自然科学), 2011, 25(9): 20-24.
- [17] 冒德寿, 牛云蔚, 姚征民, 等. 顶空固相微萃取一气相色谱质谱联用和气相色谱嗅闻技术鉴定清香型白酒特征香气物质[J]. 中国食品学报, 2019, 19(7): 251-261.
- [18] ZHANG Qi, YANG Jian-gang, AO Zong-hua, et al. Research progress on the aromatic components of fen-flavor liquor (Baijiu) [J]. Advance Journal of Food Science & Technology, 2017, 13(5): 190-195.
- [19] 何媛媛, 曹燕飞, 李宏军. 挤压高粱酿造白酒发酵工艺参数对出酒率的影响[J]. 中国酿造, 2017, 36(8): 36-40.