



综述 Reviews

植物黑色素的提取鉴定、生物合成及其功能活性研究进展

袁国丽^{1,2,#}, 张书婷^{1,3,#}, 崔磊^{1,3}, 殷朝敏⁴, 彭昭欣^{1,3}, 矫振彪^{1,3}, 汪李平², 邱正明^{1,3,5},
严承欢^{1,3,*}

¹湖北省农业科学院经济作物研究所, 农业农村部高山蔬菜生态栽培重点实验室, 武汉430064

²华中农业大学园艺林学学院, 果蔬园艺作物种质创新与利用全国重点实验室, 武汉430070

³蔬菜种质创新与遗传改良湖北省重点实验室, 武汉430064

⁴湖北省农业科学院农产品加工与核农技术研究所, 武汉430064

⁵湖北洪山实验室, 武汉430070

#并列第一作者

*通信作者(yanch@hbaas.ac.cn)

摘要: 植物黑色素是一类由酚类化合物聚合而成的大分子物质, 在人类健康领域有重要应用前景。本文综述了目前植物黑色素的提取工艺、结构鉴定方法、生物合成、功能活性及其应用等研究进展, 并展望了其应用基础研究的发展方向, 旨在为植物源天然黑色素的产品开发与应用提供参考。

关键词: 黑色素; 提取; 结构鉴定; 生物合成; 功能活性

Research progress in the extraction and identification, biosynthesis, and functional activity of plant melanins

YUAN Guoli^{1,2,#}, ZHANG Shuting^{1,3,#}, CUI Lei^{1,3}, YIN Chaomin⁴, PENG Zhaoxin^{1,3},
JIAO Zhenbiao^{1,3}, WANG Liping², QIU Zhengming^{1,3,5}, YAN Chenghuan^{1,3,*}

¹Key Laboratory of Vegetable Ecological Cultivation on Highland, Ministry of Agriculture and Rural Affairs, Industrial Crops Institute, Hubei Academy of Agricultural Sciences, Wuhan 430064, China

²National Key Laboratory for Germplasm Innovation & Utilization of Horticultural Crops, College of Horticulture and Forestry Sciences, Huazhong Agricultural University, Wuhan 430070, China

³Key Laboratory of Vegetable Germplasm Innovation and Genetic Improvement, Hubei Province, Wuhan 430064, China

⁴Institute of Agricultural Products Processing and Nuclear-Agricultural Technology, Hubei Academy of Agricultural Sciences, Wuhan 430064, China

⁵Hubei Hongshan Laboratory, Wuhan 430070, China

#Co-first authors

*Corresponding author (yanch@hbaas.ac.cn)

Abstract: Plant melanins are a set of macromolecular substances polymerized from phenolic compounds, which have important application prospects in the field of human health. In this review, we summarized

收稿 2024-10-21 修定 2024-12-03

资助 国家自然科学基金(32372722)、国家大宗蔬菜产业技术体系(CARS-23-B06)、湖北省重点研发项目(2023DJC198)、湖北省乡村振兴项目(2022BBA081)、湖北省农业科技创新中心项目(2021-620-000-001-007)和湖北省农业科学院青年拔尖人才培养计划。

the recent research progress in the extraction methods, structural identification methods, biosynthesis, functional activities, and applications of plant melanins. Additionally, we look forward to the development direction of basic and applied research on plant melanins, aiming to provide basis for the product development and application of plant-derived natural melanins.

Key words: melanin; extract; structural identification; biosynthesis; functional activity

天然黑色素(melanins)是一类化学结构极其复杂、非均质的酚类或吡啶类大分子聚合物。作为一种自然界中丰富的天然色素,黑色素广泛存在于动物、植物、微生物中(Solano 2014; Song等2023)。人们对动物和微生物源黑色素的研究较为深入,而对植物源黑色素形成的物质基础、生物合成及其功能特性等知之甚少(El-Naggar和Saber 2022)。植物黑色素多呈黑色、棕色或褐色,主要由酚类物质通过酶促氧化与聚合反应形成(Glagoleva等2020)。一般认为,植物黑色素具有着色、抗氧化、抗菌抗炎、抗辐射等功能,其形成与保护果实免受取食和抵抗逆境有关(Glagoleva等2020; Solano 2016)。相较于人工合成黑色素,植物黑色素具有来源广泛、安全性高等优点,在食品、化妆品、半导体以及生物医药等领域具有广阔的应用前景。本文综述了植物黑色素的提取方法、结构鉴定、生物合成、功能活性及其应用等方面的研究进展,并展望其应用基础研究领域的发展方向,以期为进一步深入研究植物黑色素的形成机理及相关产品开发提供参考。

1 黑色素的种类与分布

黑色素根据来源可分为酪氨酸来源的真黑色素(eumelanin)、棕黑色素(pheomelanin)、神经黑色素(neuromelanin)、脓黑色素(pyomelanin)和酚类来源的异黑色素(allomelanin)等(Singh等2018)。真黑色素呈黑色或棕色,由吡啶单元组成,主要存在于动物和微生物中;棕黑色素呈红棕色,由含硫单体组成,为高等动物、哺乳动物和鸟类所特有(Solano 2014)。异黑色素不含氮、硫元素,常见于植物和真菌中。进一步,异黑色素可分为DHN-黑色素(1,8-二羟基萘, DHN-melanin)、HPQ-黑色素(1,4,6,7,9,12-六羟基二萘嵌苯-3,10-醌, HPQ-melanin)和儿茶酚-黑色素(catechol-melanin) (D'Ischia等

2015; Song等2023)。前两者主要存在于微生物中,而儿茶酚-黑色素主要存在于植物中。目前,异黑色素的结构式尚不清楚,相关研究认为植物黑色素主要是一类多酚及其相关化合物代谢的终产物(Glagoleva等2020)。植物黑色素资源丰富、分布广泛,在黑豆、黑芝麻、黑燕麦、向日葵等高等植物的果实、种皮等部位中均有发现(图1) (Glagoleva等2020)。值得注意的是,花色苷含量较高的作物如黑米、黑皮花生在色泽上呈紫黑色,有研究者将其归为广义上的黑色素,但其与异质聚合物的黑色素存在较大的差异(Tanaka等2008)。

2 植物黑色素的提取方法

植物黑色素通常易溶于碱性溶液,不溶于酸性溶液和常见有机溶剂如氯仿、乙酸乙酯、乙醇或丙酮等,当pH值<3时易沉淀(Glagoleva等2020)。黑色素常与组织中的多糖、蛋白质形成复合物(Ma等2023),因而使其提取工艺较其他类型色素更为复杂。目前,植物黑色素的提取方法主要包括碱溶酸沉法、超声波浸提法、微波辅助提取法、酶解法、协同辅助提取法等(表1)。碱溶酸沉法是提取植物黑色素的常用方法,先利用碱性溶剂使黑色素从组织中溶解分离,再通过酸性溶剂使其沉淀并进行收集(Wang和Rhim 2019)。该方法操作简便,提取效果好。超声波浸提法是在溶剂提取基础上利用超声波的空化和机械效应,破坏细胞壁,提高细胞通透性,加速有效成分扩散溶出(Zhu等2023)。微波辅助提取法是在微波场中利用微波的选择性加热,破坏细胞或细胞膜,促使色素成分快速溶出,提高色素提取率(Both等2014)。酶解法则通过选择相应的酶作为催化剂来降解和破坏细胞结构,使有效成分溶出(Chen等2008)。超声辅助纤维素酶提取(ultrasound-assisted cellulase extraction, UCE)采用纤维素酶与超声方法联合提取,可以提高酶



图1 不同植物中的黑色素
Fig. 1 Melanins in different plants

第一列(从上至下): 小麦、生菜种子、黑芝麻; 第二列(从上至下): 黑豆、西瓜籽; 第三列(从上至下): 葵花籽、香蕉。

表1 植物黑色素的主要提取方法
Table 1 The main extraction methods of plant melanins

提取方法	步骤	参考文献
碱溶酸沉法	(1) 1 mol·L ⁻¹ NaOH溶液60℃水浴60 min (2) 6 mol·L ⁻¹ HCl溶液调节pH至2, 静置12 h (3)离心收集沉淀获得粗提物 (4)水、氯仿、乙酸乙酯、乙醇洗涤后冷冻干燥	Wang和Rhim 2019
超声波浸提法	(1) 60%乙醇溶液进行脱脂 (2)超声波(温度73℃, 功率273 W)破壁提取 (3) pH调至2.9, 离心30 min, 收集上清 (4) -80℃冷冻干燥72 h	Zhu等2023
微波提取法	(1) NaOH溶液溶解 (2)微波萃取, 离心取上清 (3) HCl溶液酸化沉淀后真空干燥	Both等2014
酶解法	(1)加入纤维素酶, 水浴, 收集上清 (2) HCl溶液调节pH至2, 收集沉淀 (3)水、氯仿、乙酸乙酯、乙醇洗涤后冷冻干燥	Chen等2008
超声辅助纤维素酶提取法	(1)加入纤维素酶, 水浴, 离心后收集沉淀 (2)用1 mol·L ⁻¹ NaOH溶液溶解 (3)超声波辅助浸提40 min (4)上清调节pH至1.5, 收集沉淀 (5)去离子水洗涤4次后冷冻干燥	Liu等2022a

的活性与提取率, 是进行天然植物黑色素提取的新方法之一(Liu等2022a)。

3 植物黑色素结构的鉴定方法

植物黑色素是一种无定型的酚类聚合物, 微溶或不溶于水以及常见溶剂, 多与蛋白质、多糖、脂类等大分子化合物牢固结合在一起(Glagoleva等2020)。基于以上特性, 植物黑色素的结构鉴定是本领域的难点, 目前国内外对天然黑色素结构解析的报道非常少。形态学方法在鉴定黑色素时能够提供直观的形态和结构信息, 但需要复杂的样本制备过程, 且成本较高。常见的光谱技术如紫外-可见光谱法操作简便, 结果直观, 但可能无法区分黑色素与其他具有相似吸收特性的色素类型。傅里叶红外变换法和核磁共振法都能够提供分子结构的详细信息, 但前者对于复杂的黑色素, 可能需要进一步复杂的数据处理和分析, 而后者通常需要较大的样品, 且技术要求复杂, 成本较高。色谱与质谱联用技术能提供分子量和单体单元数等详细信息, 但对于复杂的混合物, 可能需要进行额外的样品处理及解析。以上各类鉴定方法都有其独特的优势和局限性, 仅使用一种方法不能全面地鉴定植物黑色素, 需将多种方法结合以便相互印证, 获得更为全面的结果。在实际应用中我们需要根据研究的具体需求、黑色素的性质以及所需的信息类型来选择合适的方法。

3.1 显微形态分析

扫描电子显微镜(scanning electron microscopy, SEM)是进行不同类型黑色素形态表征的有效途径。根据来源不同, 黑色素颗粒通常为无定形, 大小在30~1 000 nm之间(Nofsinger等2000)。透射电子显微镜(transmission electron microscopy, TEM)具有高分辨率特性, 可用于观察黑色素的聚合分层形态。原子力显微镜(atomic force microscopy, AFM)是一种高分辨率成像技术, 可提供纳米尺度的测量, 为量化黑色素表面粗糙度和大小提供一定程度的表面纹理细节, 其成本比SEM和TEM更高(Pralea等2019)。

3.2 光谱学分析

紫外-可见光谱法(ultraviolet and visible absor-

ption spectroscopy, UV-Vis)是一种解析黑色素结构的基本方法。不同来源的黑色素在紫外-可见光200~600 nm范围内呈现出一致的吸收变化规律, 具体表现为: 黑色素在紫外区表现出很强的吸光率, 在220 nm左右出现特征吸收峰, 随着波长逐渐增大, 吸收值呈下降趋势(Bernsmann等2010)。黑色素对紫外光的高吸收主要是由于其结构中含有大量共轭分子及生色团和助色团对紫外光进行了吸收和散射(Song等2023)。

傅里叶红外光谱法(Fourier transform infrared spectroscopy, FT-IR)是一种常用的检测有机结构的方法, 它不破坏样品的结构, 可以揭示样品中化学键和官能团等结构信息, 是现阶段用于鉴别黑色素的最广泛使用的光谱技术(Song等2023)。研究表明, 天然黑色素在红外区间具有明显的特征吸收峰, 通过波段扫描可以识别和鉴定聚合物的特征官能团(Roy和Rhim 2019)。黑色素的FT-IR光谱通常包括3 600~2 800、1 650~1 600和1 500~1 400 cm^{-1} 等特征波段。在3 600~2 800 cm^{-1} 范围内观察到的强而宽的吸收带是由吡咯和吡啶结构中O-H和N-H基团的伸缩振动引起(Mbonyiriyivuze等2015)。一些黑色素在2 950~2 850 cm^{-1} 之间具有吸收峰, 说明分子中存在脂肪族C-H基团的拉伸振动(Selvakumar等2008)。在1 600~1 500 cm^{-1} 范围内的吸收峰是由黑色素典型吡咯结构中N-H的弯曲振动和C-N的拉伸振动引起(Sawant等2011)。采用FT-IR在6 000~400 cm^{-1} 扫描波长范围内鉴定出黑萝卜根皮的黑色素含有C-H、C-N、COOH、N-H和COH等官能团(Zhang等2024)。值得注意的是, FT-IR目前仅作为一种鉴定黑色素种类和基本组分特征的辅助工具, 并不能用于准确鉴定其结构。

3.3 核磁共振(nuclear magnetic resonance, NMR)分析

NMR分析是一种不破坏黑色素结构的检测方法。该方法对样品前处理简单, 且样品制备量少, 不需要分离不同的样品成分, 可获得原子层面上的结构信息。NMR可用于鉴定黑色素中是否存在芳香族氢和碳、与氮或氧原子相连的甲基、与吡咯相连的N-H基团、烷基片段(Fan和Zhang 2018), 这些信息有助于进一步了解其化学性质及其结构

功能之间的关系。化学位移在 $6.0 \times 10^9 \sim 2.4 \times 10^{11}$ Hz之间的谱峰主要对应于黑色素的脂肪碳, $3.0 \times 10^{11} \sim 6.6 \times 10^{11}$ Hz之间的峰主要对应于多糖环碳, $6.6 \times 10^{11} \sim 9.6 \times 10^{11}$ Hz之间的吸收峰主要对应于芳香碳区域(Baker等2022)。李杰等(2020)对黑芝麻黑色素的两个级分Fr1和Fr2进行结构表征, 核磁共振结果表明Fr1结构中含有更多的脂肪氢、碳和羰基, Fr2含有更多的芳香氢、碳。

3.4 色谱与质谱分析

色谱与质谱已被用于表征黑色素, 如高效液相色谱法(high performance liquid chromatography, HPLC)、基质辅助激光解吸/电离飞行时间质谱法(matrix-assisted laser desorption/ionization time of flight mass spectrometry, MALDI-TOF MS)和超高效液相色谱-四级杆飞行时间质谱法(ultra performance liquid chromatography-quadrupole-time of flight-mass spectrometry, UPLC-Q-TOF-MS)等。尹佩玉等(2001)采用气相色谱/质谱联用(GC/MS)技术对黑芝麻中提取的黑色素降解产物分析发现, 该黑色素具有儿茶酚型黑色素的结构特征。Varga等(2016)利用MALDI-TOF MS技术初步将黑燕麦壳中的黑色素判断为3~9个对香豆酸单体形成的均聚物。HPLC/MS液质联用技术用于黑色素分析时通常具有两个作用: 鉴定黑色素种类和通过黑色素降解后标记物的浓度来确定黑色素含量(Song等2023)。Zhang等(2024)对黑萝卜肉质根皮中的黑色素进行了HPLC和UPLC-Q-TOF-MS分析, 并推测其黑色素可能为对香豆酸和有机酸组成的异质聚合物。

3.5 元素分析

元素分析法(elemental analysis)通过分析C、H、O、N、S等元素的含量来研究黑色素重要元素的组成, 进而对黑色素进行分类和结构表征。不同类型的黑色素具有不同的元素组成, 而这些元素的组成和比例对于黑色素的颜色、结构和功能有着决定性的影响。真黑色素含N不含S, 棕黑色素既含N又含S元素, 而异黑色素是高等植物和真菌产生的简单酚类的无N大分子聚合物, 通常既不含N又不含S。因此, 采用元素分析法鉴定得到的黑色素中元素的性质或确定特定元素的摩尔比(如

C:N:S、C:N或S:N), 可用来初步判断黑色素的类型(Pralea等2019)。其中, 鉴定异黑色素的典型特征是含氮量<2% (Sun等2016)。在对黑芝麻黑色素的两个级分Fr1、Fr2的元素分析显示, Fr1的C、N、H、S元素含量均高于Fr2, Fr1的N:C和H:C高于Fr2。与其他元素相比, Fr1、Fr2的S元素含量极低(李杰等2020)。此外, 黑色素的抗氧化和金属螯合能力也与其元素组成密切相关, 如酚羟基、羧基、邻位半醌等(Song等2023)。

4 植物黑色素的生物合成

一般认为植物黑色素是在多酚氧化酶(polyphenol oxidase, PPO)存在下通过酚类物质的氧化聚合形成(Coutinho等2021; Glagoleva等2020)。目前, 人类、哺乳动物和微生物中黑色素的合成机理研究较为充分, 而植物黑色素的生物合成途径研究较少(D'Alba和Shawkey 2019; Glagoleva等2020)。植物黑色素最常见的前体为儿茶酚, 且以儿茶酚-黑色素生物合成途径为主(图2) (D'Ischia等2015; D'Alba和Shawkey 2019)。已有研究报道, 植物黑色素的合成前体物质可能还包括儿茶酚(catechol)、对香豆酸(*p*-coumaric acid)、咖啡酸(caffeic)、原儿茶酸(protocatechuic acid)、阿魏酸(ferulic acid)、香草酸(vanillic acid)、没食子酸(gallic acid)和松柏醇(coniferyl alcohol)等(Dossou等2022; Glagoleva等2020; Li等2024; Panzella等2012)。不同来源的植物黑色素形成过程主要包括两个阶段: 酚类化合物在PPO催化作用下被氧化为中间产物醌, 随后醌通过聚合反应生成黑色素。在完整的植物细胞中, 酚类化合物和PPO分别在液泡和质体中积累, 当膜被破坏时底物和酶接触发生酶促褐变反应, 这一过程常被认为与黑色素形成密切相关(Nicolas等1994)。

人们在芝麻、西瓜和水稻等多个物种中利用正向遗传学手段将PPO鉴定为参与黑色素形成的关键基因。Wei等(2015)通过GWAS关联分析将多酚氧化酶*SiPPO*确定为黑芝麻种皮中负责黑色素产生的关键生物合成基因。Wang等(2020)对黑芝麻和白芝麻进行比较转录组学分析发现, 二者之间的差异表达基因显著富集在类黄酮生物合成途

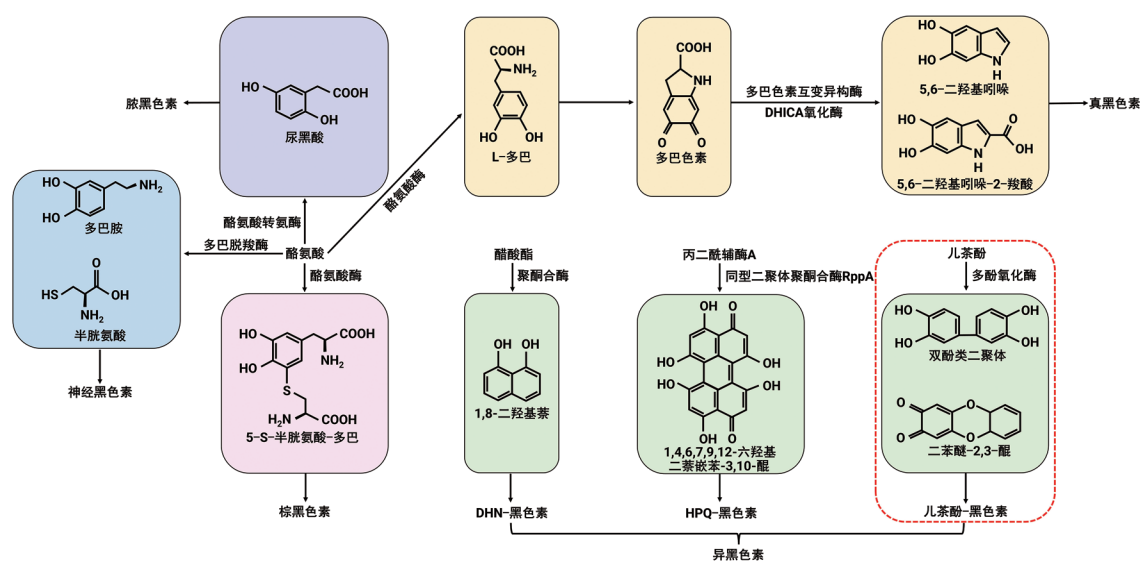


图2 黑色素的合成途径

Fig. 2 Biosynthetic pathways of melanins

DHICA: 5,6-二羟基吲哚-2-羧酸; DHN: 1,8-二羟基萘; HPQ: 1,4,6,7,9,12-六羟基二萘嵌苯-3,10-醌。根据D'Alba和Shawkey (2019)文献修改。红色虚线框代表植物黑色素主要的合成途径。

径。Dossou等(2022)进一步通过综合代谢谱分析初步明确了咖啡酸、原儿茶酸、香草酸等酚酸类化合物为芝麻黑色素的潜在前体物质。Li等(2020)研究表明西瓜黑种皮由一对显性基因控制,通过分子标记将候选基因确定为*CIPPO*,而浅黄色种皮中的*PPO*基因由于单碱基插入导致移码突变和提前终止。Qi等(2020)研究发现黑柿中*PPO*活性在果皮黑色素生成的关键时期显著升高,瞬时过表达*DkPPO*引起果皮中快速积累黑色素。Balarynová等(2022)通过一系列遗传、转录组、代谢组分析表明野生豌豆中存在的功能性*PPO*等位基因与种脐处的色素沉着性状共同分离,该基因控制种皮中没食子儿茶素的氧化和聚合反应。大豆荚颜色是一种典型的驯化性状,野生大豆的豆荚通常为黑色,而现代栽培品种的豆荚多为浅褐色。Lyu等(2023)通过正向遗传学手段鉴定出调控大豆豆荚颜色的关键基因*LI*,该基因编码一个羟甲基戊二酰辅酶A (CoA)裂解酶(HMGL-like)结构域蛋白。生化分析表明该基因编码蛋白具有红果酸合成酶的功能,可促进豆荚着色的重要物质(红果酸和番石榴酸)的生物合成。谷类作物水稻和大麦因黑色

素积累均能形成黑色的颖壳/种皮。在水稻黑壳性状的研究中,研究人员发现只有在同时拥有编码*PPO*的*Phr1*和编码酪氨酸转运蛋白的*Bh4*两个功能基因时才会出现黑壳表型(Fukuda等2012; Zhu等2011)。大麦黑色颖壳性状控制位点*HvBlp*编码一个假定的酪氨酸转运蛋白,与控制水稻黑色颖壳性状的基因*OsBh4*具有高度同源性;该研究还鉴定出了与大麦中黑色素相关的3个关键候选基因(*PPO*、细胞色素P450和过氧化物酶*POD*),并通过转录组与代谢组数据联合分析进一步验证了酪氨酸代谢是大麦黑壳性状形成的关键生物学途径(Li等2024)。对黑萝卜与白萝卜肉质根进行比较转录组与共表达网络分析发现, *R2R3*型*RsMYBs*和多酚氧化酶类基因(漆酶*LACs*和*PODs*)与黑色素的形成紧密相关,在白萝卜肉质根皮部瞬时过表达*RsLAC7*或*RsPOD22-1*均能引起根皮中总酚含量显著增加并产生黑色素类物质(Zhang等2024)。可见,植物黑色素的生物合成是一个复杂的生物学过程,*PPO*和其他氧化还原酶如*LAC*、*POD*等均可氧化酚类物质,在不同物种的黑色素合成过程中起着关键作用。

5 植物黑色素的生理功能及应用

植物黑色素作为次生代谢产物,在生物体的生长发育过程中并不是必需的,却能有效增强生物体的生存和竞争能力,因此,其广泛分布被认为是进化过程中生物体与环境长期相互适应的结果。天然黑色素具有多种重要的生理功能,例如抗氧化、抗辐射、抗菌和抗炎、降血糖和血脂以及金属螯合特性等(图3) (Roy和Rhim 2021; Song等2023),这些功能特性已逐渐成为黑色素活性研究的热点。

5.1 抗氧化能力

黑色素的抗氧化能力是由其顺磁中心(PC)、醌和对苯二酚自由基与半醌自由基的动态平衡所引起的(Song等2023)。黑色素一方面表现出强氧化还原性,可在儿茶酚和醌之间产生大量半醌自由基(Solano 2016),另一方面它还具有很强的阳离子螯合性,可以阻止磷脂的氧化(El-Obeid等2006)。黑色素通过提供或捕获电子来清除自由基、抑制脂质氧化等方式抑制活性氧的积累(Rózanowska等1999)。同时,黑色素还能够通过上调超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)、谷胱甘肽过氧化物酶(glutathione peroxidase)和过氧化氢酶(catalase, CAT)活性、降低丙二醛(malondialdehyde, MDA)含量来实现其抗氧化活性(Hou等2019; Hsieh和Lien 2012)。单良等(2008)研究发现黑芝麻黑色素对DPPH自由基具有较强的清除能力。Panzella等(2012)进一步研究表明黑芝麻黑色素可能是由松柏醇氧化聚合而来,并指出邻甲氧基酚赋予其强抗氧化活性。茶叶中的黑色素可延缓低密度脂蛋白(low density lipoprotein, LDL)的氧化,表现出较强的DPPH自由基清除活性(Sava等2001)。

5.2 抗辐射能力

黑色素是一类具有高度共轭结构的大分子聚合物,表现出较强的光吸收特性,可通过吸收紫外线和可见光来减轻紫外辐射对细胞的伤害。因此,黑色素在光防护和抗氧化方面起着重要的作用。当生物体暴露在紫外辐射下,其体内产生活性氧自由基,进而触发黑色素合成来减轻紫外线引起的皮肤光老化和光致癌损伤(Boo 2020)。植物在应对高剂量紫外辐射胁迫时,通过自身修复机制

诱导黑色素合成相关酶的激活,从而促进黑色素的生成以增强植物抵御紫外辐射的能力(Skobowiat等2011)。植物源提取物已被证明可以减轻因紫外线暴露而产生的炎症反应。竹茹提取物中的酚酸化合物对香豆酸(为植物黑色素合成前体之一)具有强抗氧化活性,可有效减轻暴露于紫外辐射的氧化应激和脂质过氧化反应(Park和Lee 2012)。此外,在防晒产品中加入桂花果实的黑色素提取物后,其防晒系数(SPF)随黑色素含量的增加而增加(Huang等2011)。因此,植物源黑色素不仅可用于光防护面霜等防晒化妆品制作,也可应用于光保护剂与防辐射安全装备的生产。

5.3 抑菌、抗炎以及降血脂血糖能力

黑色素颗粒作为载体与其他物质结合的研究已逐渐成为热点。在食品加工与包装等方面,黑色素能有效抑制部分微生物繁殖,降低包装食品中的病菌存活率,从而延长食品的货架寿命(Kiran等2014; Wang和Rhim 2019)。在银-黑色素纳米颗粒(Ag-SMNPs)对大肠杆菌和金黄色葡萄球菌的抗菌性能测试中发现,SMNPs因富含儿茶酚表现出优良的光热稳定性和氧化还原性,可显著提高其抗菌活性(Liu等2022b)。从黑柿果皮中提取的黑色素具有良好的自由基清除和抑菌能力(Qi等2020)。在对小麦赤霉病病原菌的抗性测试中,相较于黄穗大麦品种,黑穗大麦品种含有更高的总酚含量,因而表现出更强的镰刀菌抗性(Choo等2015)。El-Obeid等(2021)研究发现从黑种草中提取的黑色素对炎症相关疾病具有良好的免疫调节作用。最新研究表明黑色素生成与脂肪酸生物合成、脂滴积累以及糖酵解活动加剧有一定关系(Snyman等2024)。Alam等(2022)研究发现,椰枣果实中的黑色素对 α -葡萄糖苷酶和 α -淀粉酶活性具有较强的抑制作用,同时还对血管紧张素转换酶(ACE)表现出较强的抑制效果。此外,黑色素还表现出潜在的抗癌活性,基于黑色素的纳米颗粒可以在光热疗法的背景下发挥免疫调节作用并促进抗癌反应(Song等2023)。

5.4 金属螯合能力

植物源黑色素通常含有儿茶酚、苯醌等结构,可以有效地螯合 Cu^{2+} 、 Fe^{3+} 、 Zn^{2+} 等金属离子,表现出优良的金属螯合能力(Liu等2024)。山杏种皮黑

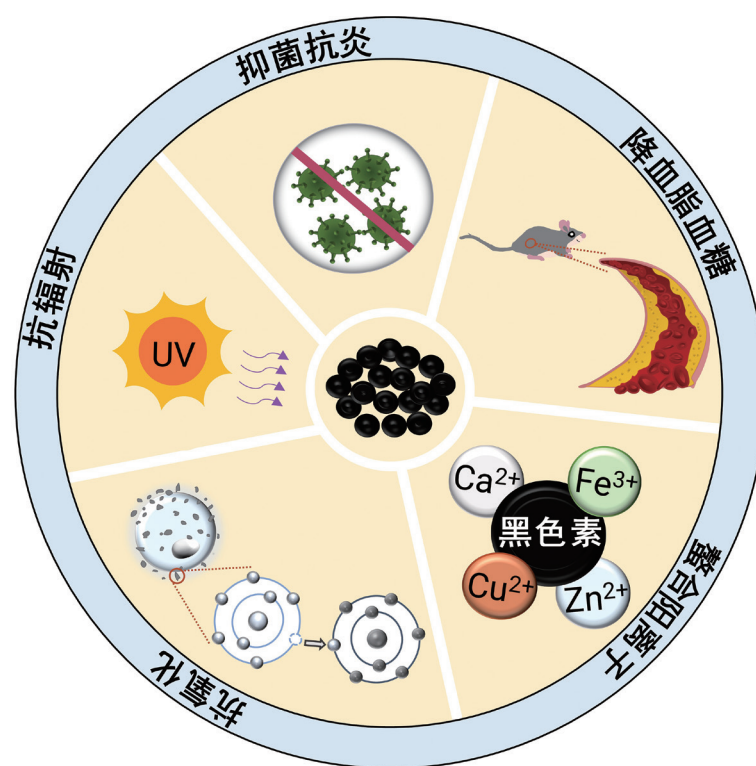


图3 植物黑色素的不同生理功能

Fig. 3 Different physiological functions of plant melanins

色素中羰基主要与 Cu^{2+} 和 Zn^{2+} 发生络合作用, 氨基和羟基也参与其中(姚增玉等2008)。Gao等(2022a)对黑芝麻黑色素-铁配合物BM-Fe进行结构表征, 结果表明黑色素中的羧基、羰基参与 Fe^{3+} 的螯合, 该黑色素-金属配合物有望成为一种新型的综合多功能补铁剂。从杏仁中分离出的黑色素合成的纳米颗粒(NMNP-PEG)在pH值为7.4的生理条件下, 其金属离子螯合速率随时间的增加而增加, 并在12 h达到峰值, 对 Cu^{2+} 、 Fe^{3+} 、 Zn^{2+} 的最大螯合量分别为2.99、0.75和0.33 $\text{mmol} \cdot \text{g}^{-1}$ (Gao等2022b)。基于这一功能特性, 植物黑色素可应用于工业废液净化处理中对重金属进行螯合吸附, 从而达到净化水质的作用。此外, 植物黑色素的金属螯合性会通过阻断一些金属离子在脂质氧化过程的催化活性, 使生物体免受氧化胁迫伤害(Cho等2017)。

6 展望

植物黑色素难溶于常见的无机和有机溶剂,

异质性高且聚合结构复杂, 因此表征植物黑色素的精确结构是本领域的重难点。在过去20年里, 科学家们在植物黑色素的提取鉴定、生物合成及其功能活性研究方面取得了一些进展, 但仍有许多问题亟待进一步解决。一是许多植物黑色素的精细结构有待解析, 它们的生物合成过程与调控还需深入研究。采用多组学分析方法结合结构鉴定技术将有助于我们精确解析植物黑色素的生物合成过程与关键调控因子。进一步采用基因编辑技术将为快速创制新型植物黑色素种质提供可能, 从而为植物黑色素的产业化研究与产品开发提供物质基础。二是黑色素在植物体中的生物学功能尚不明晰, 自然界中植物黑色素的产生机制与进化驱动力值得关注。使用大规模基因组分析方法解释植物黑色素产生的进化规律, 通过合适的自然群体遗传分析方法将有助于我们破解植物黑色素获得性遗传的成因及其生物学功能。三是目前对植物黑色素优良的金属螯合性、光热稳定性、

抗氧化、抗辐射等功能具有较好的了解,然而对植物黑色素导电性与催化活性的产生机制的认识相对有限。同时,植物黑色素的化学结构复杂且具有弱溶解性的特性,在应用上具有一定的限制。因此,提高黑色素的溶解性将是未来该领域的热门研究方向之一。未来随着植物黑色素的检测、提取纯化、递送系统等技术进步及其生物学功能的研究深入,我们将逐步揭开植物黑色素的神秘面纱,为天然植物黑色素的应用与产品开发奠定坚实的基础。

参考文献(References)

- Alam MZ, Ramachandran T, Antony A, et al (2022). Melanin is a plenteous bioactive phenolic compound in date fruits (*Phoenix dactylifera* L.). *Sci Rep*, 12: 6614
- Baker RP, Chrissian C, Stark RE, et al (2022). *Cryptococcus neoformans* melanization incorporates multiple catecholamines to produce polytypic melanin. *J Biol Chem*, 298 (1): 101519
- Balarynová J, Klčová B, Sekaninová J, et al (2022). The loss of polyphenol oxidase function is associated with hilum pigmentation and has been selected during pea domestication. *New Phytol*, 235 (5): 1807–1821
- Bernsmann F, Ersen O, Voegel JC, et al (2010). Melanin-containing films: growth from dopamine solutions versus layer-by-layer deposition. *Chemphyschem*, 11 (15): 3299–3305
- Boo YC (2020). Emerging strategies to protect the skin from ultraviolet rays using plant-derived materials. *Antioxidants*, 9 (7): 637
- Both S, Chemat F, Strube J (2014). Extraction of polyphenols from black tea-conventional and ultrasound assisted extraction. *Ultrason Sonochem*, 21 (3): 1030–1034
- Chen SR, Jiang B, Zheng JX, et al (2008). Isolation and characterization of natural melanin derived from silky fowl (*Gallus gallus domesticus* Brisson). *Food Chem*, 111 (3): 745–749
- Cho S, Park W, Kim DH (2017). Silica-coated metal chelating-melanin nanoparticles as a dual-modal contrast enhancement imaging and therapeutic agent. *ACS Appl Mater Interfaces*, 9 (1): 101–111
- Choo TM, Vigier B, Savard ME, et al (2015). Black barley as a means of mitigating deoxynivalenol contamination. *Crop Sci*, 55 (3): 1096–1103
- Coutinho JW, Rodrigues AC, Appezzato-da-Glória B, et al (2021). Plastid role in phytomelanin synthesis in *Piptocarpha axillaris* (Less.) baker stems (Asteraceae, Veroniceae). *Protoplasma*, 258 (5): 963–977
- D'Alba L, Shawkey MD (2019). Melanosomes: biogenesis, properties, and evolution of an ancient organelle. *Physiol Rev*, 99 (1): 1–19
- D'Ischia M, Wakamatsu K, Cicoira F, et al (2015). Melanins and melanogenesis: from pigment cells to human health and technological applications. *Pigment Cell Melanoma Res*, 28 (5): 520–544
- Dossou SSK, Luo Z, Wang Z, et al (2022). The dark pigment in the sesame (*Sesamum indicum* L.) seed coat: isolation, characterization, and its potential precursors. *Front Nutr*, 9: 858673
- El-Naggar NE-A, Saber WEIA (2022). Natural melanin: current trends, and future approaches, with especial reference to microbial source. *Polymers*, 14 (7): 1339
- El-Obeid A, Al-Harbi S, Al-Jomah N, et al (2006). Herbal melanin modulates tumor necrosis factor alpha (TNF- α), interleukin 6 (IL-6) and vascular endothelial growth factor (VEGF) production. *Phytomedicine*, 13 (5): 324–333
- El-Obeid A, Yahya W, Almuzzaini B, et al (2021). Herbal melanin induces interleukin-1 β secretion and production by human THP-1 monocytes via Toll-like receptor 2 and p38 MAPK activation. *Exp Ther Med*, 22 (4): 1081
- Fan K, Zhang M (2018). Recent developments in the food quality detected by non-invasive nuclear magnetic resonance technology. *Crit Rev Food Sci Nutr*, 59 (14): 2202–2213
- Fukuda A, Shimizu H, Shiratsuchi H, et al (2012). Complementary genes that cause black ripening hulls in F_1 plants of crosses between *Indica* and *Japonica* rice cultivars. *Plant Prod Sci*, 15 (4): 270–273
- Gao L, Liu LL, Liu PP, et al (2022a). Preparation and related properties of melanin iron supplement. *Food Funct*, 13 (7): 4009–4022
- Gao L, Yang L, Guo LX, et al (2022b). Improving the solubility of melanin nanoparticles from apricot kernels is a potent drug delivery system. *J Appl Biomater Funct Mater*, 20: 22808000221124418
- Glagoleva AY, Shoeva OY, Khlestkina EK (2020). Melanin pigment in plants: current knowledge and future perspectives. *Front Plant Sci*, 11: 770
- Hou RL, Liu X, Yan JJ, et al (2019). Characterization of natural melanin from *Auricularia auricula* and its hepatoprotective effect on acute alcohol liver injury in mice. *Food Funct*, 10 (2): 1017–1027
- Hsieh PH, Lien TF (2012). Study of the physico-chemical properties and antioxidant activity of extracted melanins. *J Agric Sci*, 4 (9): 217–229
- Huang SW, Pan YM, Gan DH, et al (2011). Antioxidant activities and UV-protective properties of melanin from the berry of *Cinnamomum burmannii* and *Osmanthus fragrans*.

- grans*. Med Chem Res, 20 (4): 475–481
- Kiran GS, Dhasayan A, Lipton AN, et al (2014). Melanin-templated rapid synthesis of silver nanostructures. J Nano-biotechnol, 12 (1): 18
- Li B, Jia Y, Xu L, et al (2024). Transcriptional convergence after repeated duplication of an amino acid transporter gene leads to the independent emergence of the black husk/pericarp trait in barley and rice. Plant Biotechnol J, 22 (5): 1282–1298
- Li BB, Lu XQ, Gebremeskel H, et al (2020). Genetic mapping and discovery of the candidate gene for black seed coat color in watermelon (*Citrullus lanatus*). Front Plant Sci, 10: 1689
- Li J, Jia XC, Zhang RF, et al (2020). Isolation, structural characterization and antioxidant activity of black sesame melanin. Sci Agr Sin, 53 (12): 2477–2492 (in Chinese with English abstract) [李杰, 贾栩超, 张瑞芬等(2020). 黑芝麻黑色素的分离纯化、结构表征及体外抗氧化活性. 中国农业科学, 53 (12): 2477–2492]
- Liu HM, Lei SN, Tang W, et al (2022a). Optimization of ultrasound-assisted cellulase extraction from *Nymphaea hybrid* flower and biological activities: antioxidant activity, protective effect against ROS oxidative damage in HaCaT cells and inhibition of melanin production in B16 cells. Molecules, 27 (6): 1914
- Liu S, Ding R, Yuan JX, et al (2024). Melanin-inspired composite materials: from nanoarchitectonics to applications. ACS Appl Mater Interfaces, 16 (3): 3001–3018
- Liu WJ, Cheng W, Zhou M, et al (2022b). Construction of multifunctional UV-resistant, antibacterial and photothermal cotton fabric via silver/melanin-like nanoparticles. Cellulose, 29 (13): 7477–7494
- Lyu XG, Li YH, Li YF, et al (2023). The domestication-associated *L1* gene encodes a eucomic acid synthase pleiotropically modulating pod pigmentation and shattering in soybean. Mol Plant, 16 (7): 1178–1191
- Ma YP, Zhang PQ, Dai XD, et al (2023). Extraction, physico-chemical properties, and antioxidant activity of natural melanin from *Auricularia heimuer* fermentation. Front Nutr, 10: 1131542
- Mbonyiriyivuze A, Mwakikunga B, Dhlamini SM, et al (2015). Fourier transform infrared spectroscopy for sepia melanin. Phys Mater Chem, 3 (2): 25–29
- Nicolas JJ, Richard-Forget FC, Goupy PM, et al (1994). Enzymatic browning reactions in apple and apple products. Crit Rev Food Sci Nutr, 34 (2): 109–157
- Nofsinger JB, Forest SE, Eibest LM, et al (2000). Probing the building blocks of eumelanins using scanning electron microscopy. Pigment Cell Res, 13 (3): 179–184
- Panzella L, Eidenberger T, Napolitano A, et al (2012). Black sesame pigment: DPPH assay-guided purification, anti-oxidant/antinitrosating properties, and identification of a degradative structural marker. J Agric Food Chem, 60 (36): 8895–8901
- Park KH, Lee MW (2012). Anti-oxidative, anti-inflammatory and whitening effects of phenolic compounds from *Bambusae caulis* in Liquamen. Nat Prod Res, 26 (18): 1687–1691
- Pralea IE, Moldovan RC, Petrache AM, et al (2019). From extraction to advanced analytical methods: the challenges of melanin analysis. Int J Mol Sci, 20 (16): 3943
- Qi YW, Liu J, Liu YF, et al (2020). Polyphenol oxidase plays a critical role in melanin formation in the fruit skin of persimmon (*Diospyros kaki* cv. 'Heishi'). Food Chem, 330: 127253
- Rózanowska M, Sarna T, Land EJ, et al (1999). Free radical scavenging properties of melanin interaction of eu- and pheo-melanin models with reducing and oxidising radicals. Free Radic Biol Med, 26 (5–6): 518–525
- Roy S, Rhim JW (2021). New insight into melanin for food packaging and biotechnology applications. Crit Rev Food Sci Nutr, 62 (17): 4629–4655
- Roy S, Rhim JW (2019). Agar-based antioxidant composite films incorporated with melanin nanoparticles. Food Hydrocolloids, 94: 391–398
- Sava VM, Yang SM, Hong MY, et al (2001). Isolation and characterization of melanic pigments derived from tea and tea polyphenols. Food Chem, 73 (2): 177–184
- Sawant SD, Baravkar AA, Kale RN (2011). FT-IR spectroscopy: principle, technique and mathematics. Int J Pharma Bio Sci, 2 (1): 513–519
- Selvakumar P, Rajasekar S, Periasamy K, et al (2008). Isolation and characterization of melanin pigment from *Pleurotus cystidiosus* (telomorph of *Antromycopsis macrocarpa*). World J Microbiol Biotechnol, 24 (10): 2125–2131
- Shan L, Xu LP, Jin QZ, et al (2008). Stability and free radical scavenging activities of black sesame melanin. J Anhui Agric Sci, 36 (26): 11527–11531 (in Chinese with English abstract) [单良, 徐利萍, 金青哲等(2008). 黑芝麻黑色素的稳定性及自由基清除活性. 安徽农业科学, 36 (26): 11527–11531]
- Singh D, Kumar J, Kumar A (2018). Isolation of pyomelanin from bacteria and evidences showing its synthesis by 4-hydroxyphenylpyruvate dioxygenase enzyme encoded by *hppD* gene. Int J Biol Macromol, 119: 864–873
- Skobowiat C, Dowdy JC, Sayre RM, et al (2011). Cutaneous hypothalamic-pituitary-adrenal axis homolog: regulation by ultraviolet radiation. Am J Physiol Endocrinol Metab, 301 (3): E484–E493
- Snyman M, Walsdorf RE, Wix SN, et al (2024). The metabo-

- lism of melanin synthesis—from melanocytes to melanoma. *Pigment Cell Melanoma Res*, 37 (4): 438–452
- Solano F (2014). Melanins: skin pigments and much more—types, structural models, biological functions, and formation routes. *New J Sci*, 2014: 498276
- Solano F (2016). Photoprotection versus photodamage: updating an old but still unsolved controversy about melanin. *Polym Int*, 65 (11): 1276–1287
- Song W, Yang HY, Liu S, et al (2023). Melanin: insights into structure, analysis, and biological activities for future development. *J Mater Chem B*, 11 (32): 7528–7543
- Sun SJ, Zhang XJ, Sun SW, et al (2016). Production of natural melanin by *Auricularia auricula* and study on its molecular structure. *Food Chem*, 190: 801–807
- Tanaka Y, Sasaki N, Ohmiya A (2008). Biosynthesis of plant pigments: anthocyanins, betalains and carotenoids. *Plant J*, 54 (4): 733–749
- Varga M, Berkesi O, Darula Z, et al (2016). Structural characterization of allomelanin from black oat. *Phytochemistry*, 130: 313–320
- Wang LF, Rhim JW (2019). Isolation and characterization of melanin from black garlic and sepia ink. *LWT-Food Sci Technol*, 99: 17–23
- Wang LH, Dossou SSK, Wei X, et al (2020). Transcriptome dynamics during black and white sesame (*Sesamum indicum* L.) seed development and identification of candidate genes associated with black pigmentation. *Genes*, 11 (12): 1399
- Wei X, Liu KY, Zhang YX, et al (2015). Genetic discovery for oil production and quality in sesame. *Nat Commun*, 6 (1): 8609
- Yao ZY, Li KY, Zhao Z, et al (2008). Investigation of Cu^{2+} and Zn^{2+} binding in melanin from teatae of *Prunus ameniaca* var. *ansu*. *J Northwest A&F Univ (Nat Sci Ed)*, 36 (3): 197–202 (in Chinese with English abstract) [姚增玉, 李科友, 赵忠等(2008). 山杏种皮黑色素与 Cu^{2+} 和 Zn^{2+} 络合性质的研究. 西北农林科技大学学报(自然科学版), 36 (3): 197–202]
- Yin PY, Lu MS, Sun QS, et al (2001). Structure characterization of melanin in black sesame by GC/MS. *Chin J Chromatogr*, 19 (3): 268–269 (in Chinese with English abstract) [尹佩玉, 陆懋荪, 孔庆山等(2001). 气相色谱/质谱法鉴定黑芝麻中黑色素的类型. 色谱, 19 (3): 268–269]
- Zhang ST, Yuan GL, Peng ZX, et al (2024). Chemical composition analysis and transcriptomics reveal the *R2R3-MYB* genes and phenol oxidases regulating the melanin formation in black radish. *Int J Biol Macromol*, 271: 132627
- Zhu BF, Si LZ, Wang ZX, et al (2011). Genetic control of a transition from black to straw-white seed hull in rice domestication. *Plant Physiol*, 155 (3): 1301–1311
- Zhu LS, Xie CX, Su Y, et al (2023). Process optimization, structural characterization, and antioxidant activities of black pigment extracted from Enshi selenium-enriched *Sesamum indicum* L. *LWT-Food Sci Technol*, 173: 114223