

# 天然黑色素资源—甘蓝型黑籽油菜种皮黑色素的初步研究

董翠月,王书丽  
(新乡学院,河南新乡 453003)

**摘要:**以甘蓝型黑籽油菜种皮为材料,以人发为标样,通过红外光谱及紫外光谱分析,鉴定了甘蓝型油菜种皮黑色素的特征,以期天然黑色素的利用开发,寻找新的天然黑色素资源提供依据,通过实验初步鉴定甘蓝型黑籽油菜种皮黑色素结构特征为吲哚型和邻苯二酚型混合型黑色素。

**关键词:**甘蓝型黑籽油菜;黑色素;红外光谱;紫外光谱

中图分类号:S565.4 文献标志码:A 论文编号:2009-2268

## Study on the Natural Melanin Resources,Seedcoat of Black Brassicanapus

Dong CuiYue, Wang Shuli

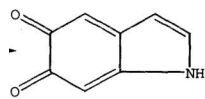
(Xinxiang University, Xinxiang Henan 453003)

**Abstract:**The study analyzed the infrared spectrum and uv-spectrum character of black seedcoat melanin by means of infrared spectrum analysis and uv-spectrum,using black Brassicanapus as Materials and man-hair as reference,so expect provide evidence for using amd looking for natural melanin, Finally we came to the conclusion that the melanin of black seedcoat was structure model of both inodole and catechol from our experiments.

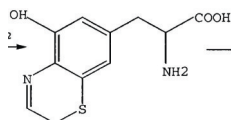
**Key words:** the black Brassicanapus; melanin; infrared spectrum; uv-spectrum

### 0 引言

黑色素是广泛地分布于动物和植物界的黑色难溶物质的总称,对于黑色素的研究已逾半个世纪的历史,但由于黑色素通常与蛋白质和多糖牢固地结合在一起不易分离,以及黑色素对于可见光和紫外光的吸收性质,使黑色素的研究遇到很大困难<sup>[1-2]</sup>。Nicolaus<sup>[3]</sup>等在20世纪60年代根据不同来源的黑色素碱熔或高锰酸钾降解产物的不同,提出降解产物以吲哚、吡咯及其衍生物为主的黑色素属于吲哚型黑色素,以儿茶酚(邻苯二酚)及酚酸类物质为主的属于儿茶酚型黑色素。并进一步提出动物源黑色素多属吲哚型,植物源黑色素多属邻苯二酚型黑色素,人发黑色素是邻苯二酚型和吲哚型混合型黑色素,吲哚型和邻苯二酚型黑色素结构特征如下:



吲哚型黑色素



邻苯二酚型黑色素

黑色素不仅广泛地存在于人和高等动物的皮肤,毛发和眼球组织中,而且在一些植物和昆虫的皮中也可以大量存在,如土豆、苹果、甘薯等被损伤后创伤面暴露在空气中会逐渐变为棕色甚至黑色,这就是黑色素。早在1976年日本的刘米达夫<sup>[4]</sup>就发现蚕豆荚中的多巴在氧化酶的作用下聚合生成黑色素,紫云英、巢菜、金雀花等豆科植物的荚在成熟时变黑就是此因。西瓜种皮的黑色物质也属这类黑色素。尹佩玉等<sup>[5]</sup>对黑芝麻黑色素进行碱熔降解,对其降解产物进行硅烷化衍生,再利用气相色谱/质谱联用分析,证明黑芝麻中的黑色素具有儿茶酚型黑色素的结构特征。王岩<sup>[6]</sup>年对几种黑色素分子进行了红外光谱分析,认为葵花籽皮黑色素属于邻苯二酚型黑色素,是多酚类物质在多酚氧化酶和酚羟基酶的作用下转化为羟基醌,进而聚合而成的。赵肃清等<sup>[7]</sup>测定了香蕉皮黑色素的红外吸收光谱,初步认为香蕉皮中黑色素为邻苯二酚型黑色素。

**第一作者简介:**董翠月,女,1974年出生,讲师,研究方向:植物次生代谢物质。通信地址:河南省新乡市新乡学院生命科学与技术系,E-mail:bluemoon\_168@163.com。

收稿日期:2009-11-03,修回日期:2009-11-17。

天然黑色素是一种宝贵的自然资源,由于其独特的结构特征,具有抗紫外线、抗辐射、抗氧化、抗脱水、抗老化、抗高温、抗感染等保护作用,以及作为天然染色剂,在医药,食品,化妆品,化工方面有着广泛的用途,近年来人们相继对天然黑色素作了深入的研究,为天然黑色素的利用开发,寻找新的天然黑色素资源提供依据,甘蓝型黑籽油菜在我国种植广泛,其种皮黑色素含量丰富,而且种皮又是榨油的残料,如果能从黑籽油菜种皮中提取黑色素加以利用,不仅提供了一条新的黑色素天然来源,又为残料利用提供了新的途径。

## 1 材料与方法

### 1.1 供试材料

甘蓝型黑籽油菜种子,人发。取甘蓝型黑籽油菜10 g,镊子剥取种皮,烘干待用。取天然黑色人发20 g,剪碎待用。主要试剂有甲醇,氢氧化钠,盐酸,乙醚(分析纯)。主要仪器有高速离心机、uv-vis紫外可见光分光光度计(天津天美科学仪器有限公司),傅立叶变换红外光谱仪。

### 1.2 方法

1.2.1 油菜种皮黑色素的提取 参照周旭章<sup>[8]</sup>的方法,取甘蓝型黑籽油菜种皮粉碎,加入20 mL 20%的NaOH在100℃水浴锅水浴10 h,过滤,取滤液,残渣用同样方法再提取1次,合并两次提取液,所得提取液即为黑色素的粗提液。

1.2.2 油菜种皮黑色素的纯化 取上述粗提液用HCl调pH≤3,静置过夜,有大量沉淀产生,离心,取沉淀。所得沉淀再用乙醚反复洗涤以除去小分子杂质,再用蒸

馏水反复洗涤至洗涤液用考马斯亮蓝检测不到蛋白质,最后所得固体沉淀物即为较纯的黑色素。

1.2.3 头发黑色素的提取 参照吴鸣声<sup>[9]</sup>的方法:取洗净并晾干的人发20 g,置圆底烧瓶中加40 mL 30%的浓盐酸用带有吸收氯化氢的回流装置在110℃加热回流4 h,滤渣为黑色素粗品。

1.2.4 头发黑色素的纯化 上述所得滤渣用2% NaOH溶解,溶液再用HCl调pH≤3,离心得沉淀,沉淀用乙醚反复洗涤,纯化方法同1.2.2。

1.2.5 黑色素的分离 用甲醇溶解上述所得黑色素,发现黑色素分为两部分,极小部分溶解于甲醇,大部分不溶于甲醇,取黑色素的甲醇溶解液。另一部分不溶物反复用甲醇洗涤,再用蒸馏水反复洗涤,所得物质为较纯的黑色素。

1.2.6 黑色素红外光谱分析 黑色素甲醇溶液(液膜法)和黑色素甲醇不溶物(KBr压片法)分别在傅里叶变换红外光谱仪上测其红外吸收光谱(波数500 cm<sup>-1</sup>~4000 cm<sup>-1</sup>)。

1.2.7 黑色素的紫外光谱鉴定 取上述黑色素的醇溶液的甲醇溶液在紫外分光光度仪上进行200~900 nm波长扫描。取黑色素甲醇不溶物2%氢氧化钠溶液溶解,在紫外分光光度仪上进行200~900 nm波长扫描。

## 2 结果与分析

### 2.1 黑色素的红外光谱分析

图1分别为人发、黑籽的甲醇不溶物红外光谱简图溴化钾压片法测定,由二者红外光谱图可知,二者结构相似,解析如下:

黑籽在3368 cm<sup>-1</sup>,人发在3278 cm<sup>-1</sup>处有较强吸

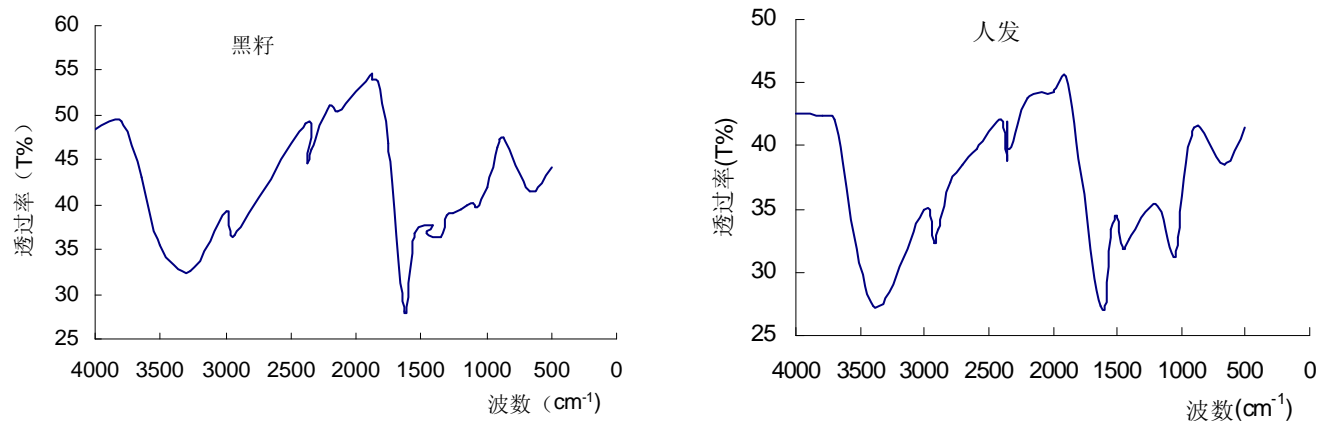


图1 黑色素甲醇不溶物红外光谱图

收,且峰带较宽,说明此处为缔合的—OH的伸缩振动,由于羟基数目及氢键缔合程度的不同,导致它们的吸收波数略有差异;2937 cm<sup>-1</sup>较强吸收为饱和—CH的伸缩振动吸收;2342和2364 cm<sup>-1</sup>较强的吸收为结

构 -C(=O)-C(=O)- 的伸缩振动吸收;1631 cm<sup>-1</sup>的强吸收为苯环骨架振动吸收;1458 cm<sup>-1</sup>附近的吸收为饱和—CH的弯曲振动吸收;671 cm<sup>-1</sup>较弱的吸收为芳烃—CH的弯曲振动吸收。

综合以上分析此物质为含有苯环,羟基,邻醌式结构的物质,因为此物质有苯环和醌式结构,所以此物质也只能是邻苯二酚型黑色素,在油菜种皮内是由多酚类物质转化而来的。

图2分别为样品人发,黑籽黑色素甲醇溶解物甲醇溶液的红外光谱简图,液膜法测定,从红外光谱图可得二者结构相似,解析如下:

从结构光谱图可以看出,人发在 $3364\text{ cm}^{-1}$ 处有强

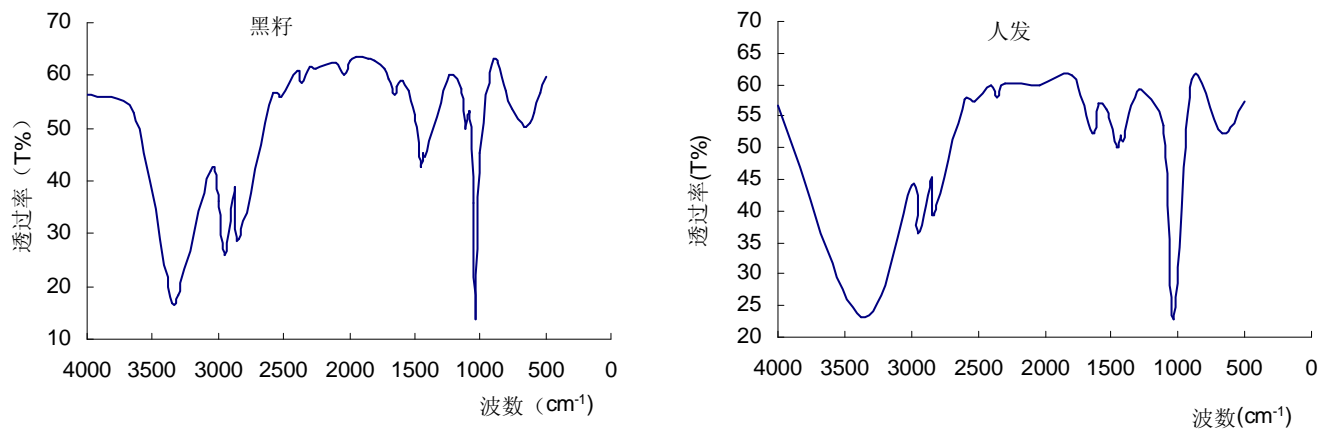


图2 黑色素甲醇溶解物红外光谱图

吸收且锋带较宽,黑籽在 $3378\text{ cm}^{-1}$ 处有强的吸收,吡啶中游离的-NH在 $3490\text{ cm}^{-1}$ 有强吸收,分子间氢键常常使-NH伸缩振动吸收波数降低, $3378\text{ cm}^{-1}$ 附近的强吸收为分子间缔合的-NH的伸缩振动产生的,又知在红外光谱测定中液体样品或高浓度溶液中波数较稀溶液中的波数低约在 $100\text{ cm}^{-1}$ 以内<sup>[10]</sup>。由上可以判定黑籽、人发在此处都是吡啶环中缔合的-NH产生的强吸收,波数稍有差异可能是所测溶液浓度不同

或它们分子内氢键缔合程度不同所致。

### 2.2 黑色素紫外光谱分析

图3分别为人发和籽的甲醇溶解物的紫外光谱,人发黑色素和黑籽黑色素紫外光谱相似,又知吡啶衍生物在 $220\text{ nm}$ 和 $288\text{ nm}$ (或肩峰)处有特征峰,结合以上红外光谱特征,可以判定为吡啶类物质。图3 黑色素甲醇溶解物的紫外光谱图

图4分别为人发和黑籽黑色素不溶于甲醇部分的

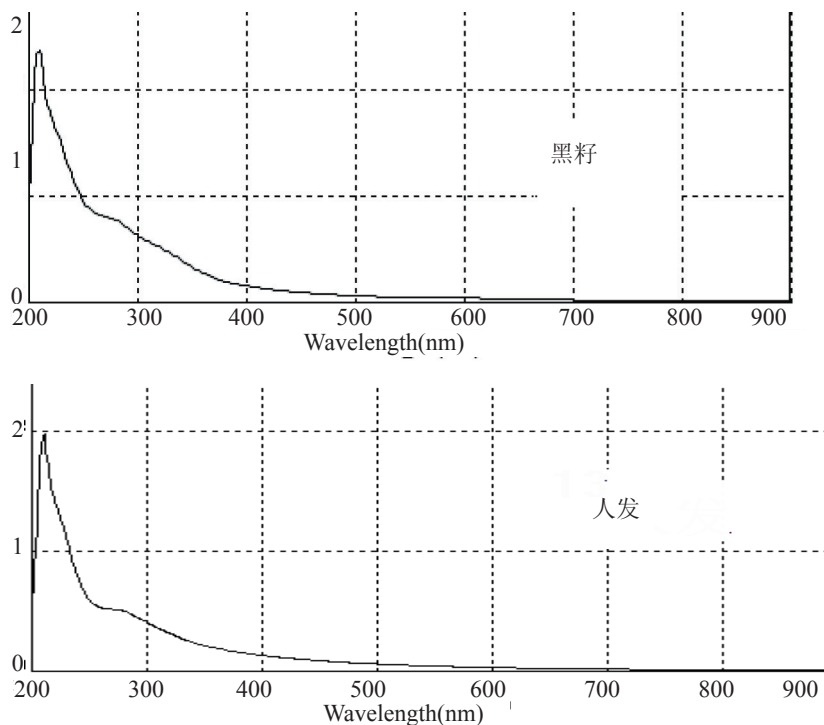


图3 黑色素甲醇溶解物的紫外光谱图

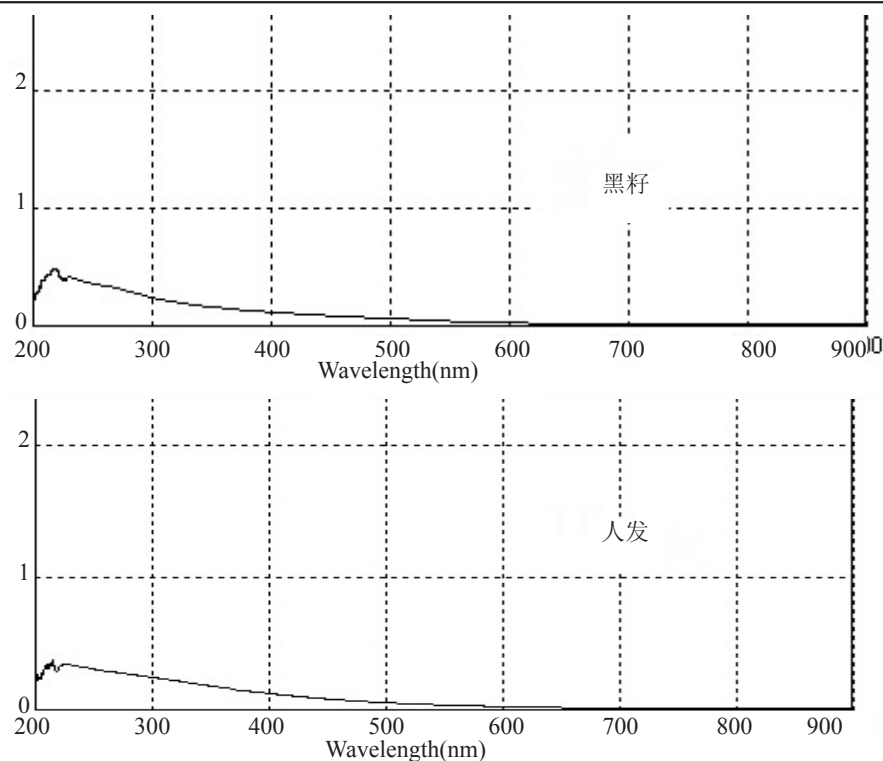


图4 黑色素甲醇不溶物的紫外光谱图(溶于2%氢氧化钠溶液)

氢氧化钠水溶液的紫外光谱。由于其溶剂是氢氧化钠,溶剂对结构影响较大,所以不易判定其特征峰,但我们能很直观地看出二者结构相似,所以它们在其结构类型上没有大的差别。结合以上红外光谱特征可以判定此类醇不溶黑色素为邻苯二酚型黑色素。

### 3 讨论

Nicolaus通过研究认为自然界的黑色素分为邻苯二酚型和吲哚型二种类型,并认为植物源黑色素为邻苯二酚型黑色素,动物源黑色素为吲哚型黑色素,而同为动物源的人发黑色素及同为植物源的甘蓝型黑籽油菜种皮黑色素为何是邻苯二酚型和吲哚型混合型黑色素,这还有待于后人作进一步研究。

此试验通过红外光谱及紫外光谱特征分析,推断甘蓝型黑籽油菜种皮黑色素中有吲哚环及苯环的存在。此试验只是参照前人的结果,对其结构特征的推断,其结果只能推断其大致的结构类型,其精细结构还需要用更先进的质谱,核磁共振及相关技术作进一步的分析。

### 4 结论

通过以上试验,得出如下结论:

1) Nicolaus认为人发黑色素为邻苯二酚型和吲哚型混合型黑色素,此实验再次验证了这个结论

2) 试验中发现人发及油菜种皮黑色素可分为两部分,一部分溶于甲醇,这部分物质有吲哚环的结构,别

一部分不溶于甲醇,这部分物质有苯环的结构。

3) 甘蓝型黑籽油菜种皮黑色素和人发黑色素一样,为邻苯二酚型和吲哚型混合型黑色素。

### 参考文献

- [1] Michael B, Joseph A, Thomas M, et al. Solid-state analysis of eumelanin biopolymers by electron spectroscopy for chemical analysis[J]. *Anal Chem*, 1990, 62: 949-956.
- [2] 赵良仲. 用电子能谱研究头发角蛋白氧化机理[J]. *生物化学与生物物理学进展*, 1981 (5): 18-23.
- [3] Nicolou R A, Piattelli M, Fattorusso E. The structure of melanins and melanogenesis IV. On some natural melanins[J]. *Tetrahedron*, 1964, 20: 1163.
- [4] 刘米达夫. 植物化学, 杨文本译, 北京: 科学出版社, 1976: 39.
- [5] 尹佩玉, 陆懋荪, 孔庆山, 等. 气相色谱/质谱法鉴定黑芝麻中黑色素的结构类型. *色谱*, 2001, 19(3): 268-269.
- [6] 王岩, 刘学惠, 陆懋荪, 等. 几种天然黑色素分子结构的红外光谱表征研究. *分析实验室*, 1996, 15(6): 63-65.
- [7] 赵肃清, 孙远明, 蔡燕飞, 等. 香蕉皮黑色素的鉴定及其抗氧化性作用的研究. *中草药*, 2002, 33(6): 496-498.
- [8] 周旭章, 魏开华, 陈朝辉. 从黑芝麻中提取黑色素的研究. *林产化工通讯*, 1997, 4: 17-19.
- [9] 吴鸣声, 雷海峰, 程建平. 毛发中黑色素的提取、利用及其结构探讨. *日用化学工业*, 19(4): 51-53.
- [10] 谢晶曦. 红外光谱在有机化学和药物化学中的应用, 北京: 科学出版社, 1987: 98-109.