余越新, 李会珍, 张志军, 等. 低共熔溶剂提取黑芝麻黑色素工艺优化及其活性分析 [J]. 食品工业科技, 2026, 47(2): 287−296. doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2025060277

YU Yuexin, LI Huizhen, ZHANG Zhijun, et al. Optimization of the Extraction Process of Black Sesame Melanin by Deep Eutectic Solvents and Analysis of Its Bioactivities[J]. Science and Technology of Food Industry, 2026, 47(2): 287−296. (in Chinese with English abstract). doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2025060277

· 工艺技术 ·

低共熔溶剂提取黑芝麻黑色素工艺优化及其活性分析

余越新, 李会珍*, 张志军, 周博祥, 张子辰
（中北大学化学与化工学院, 山西太原 030051）

摘　要: 为获得低共熔溶剂提取黑芝麻黑色素优化工艺参数并分析其功能活性，本文以低共熔溶剂（Deep eutectic solvents，DES）为提取溶剂，分别探究了不同 DES 组成、提取时间、DES 含水量、提取温度、DES 摩尔比以及料液比对黑芝麻黑色素得率的影响。在单因素实验基础上，采用响应面法优化黑芝麻黑色素的提取工艺，并对其体外抗氧化和抑菌活性进行功效评价。结果表明，最佳提取工艺为：氯化胆碱:乳酸为 1∶2，反应时间 4.3 h，含水量 39%，摩尔比 1∶2，料液比为 1∶5.6（g/mL），在此条件下黑芝麻黑色素得率为 7.3%。采用 XAD-8 树脂对黑芝麻黑色素进行纯化，纯化后色价由 197.5 提升至 297.25，黑色素含量由 18.08 mg/g 提升至 25.49 mg/g。黑色素清除 DPPH·、$ABTS^{+}$·、羟基自由基及超氧阴离子的 IC_{50} 值分别为 244、111.6、53.67、44.56 μg/mL。黑色素溶液对大肠杆菌、金黄色葡萄球菌和枯草芽孢杆菌的生长有一定抑制作用，最大抑菌圈直径分别为 14.03±0.05、14±0.1、20.1±0.11 mm。本研究为黑芝麻黑色素的绿色提取及功能产品开发利用提供了理论参考。

关键词: 黑芝麻, 黑色素, 低共熔溶剂, 抗氧化活性, 抑菌活性
中图分类号: TS201.2　　**文献标识码:** B　　**文章编号:** 1002−0306(2026)02−0287−10
DOI: 10.13386/j.issn1002-0306.2025060277
本文网刊:

Optimization of the Extraction Process of Black Sesame Melanin by Deep Eutectic Solvents and Analysis of Its Bioactivities

YU Yuexin, LI Huizhen*, ZHANG Zhijun, ZHOU Boxiang, ZHANG Zichen
（College of Chemistry and Chemical Engineering, North University of China, Taiyuan 030051, China）

Abstract: To optimize the extraction process parameters and analyze the functional activity of black sesame melanin, this study employed deep eutectic solvents (DES) as the extraction solvent. The effects of various factors, including DES compositions, extraction times, DES water contents, extraction temperatures, DES molar ratios, and solid-liquid ratios on the yield of black sesame melanin. Based on the single-factor experiments, the extraction process of black sesame melanin was optimized by response surface methodology, and its *in vitro* antioxidant and antibacterial activities were evaluated for efficacy. The results showed that the optimal extraction process was as follows: choline chloride∶lactic acid 1∶2, reaction time 4.3 h, water content 39%, molar ratio 1∶2, and solid-liquid ratio 1∶5.6 (g/mL), under which the yield of black sesame melanin was 7.3%. XAD-8 resin was used to purify the black sesame melanin, and the color value increased from 197.5 to 297.25, and the melanin content increased from 18.08 mg/g to 25.49 mg/g after purification. The IC_{50} values of melanin solution for scavenging DPPH·, $ABTS^{+}$·, hydroxyl radical and superoxide anion were 244, 111.6, 53.67 and 44.56 μg/mL, respectively. The melanin solution had certain inhibitory effects on the growth of *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* and *Bacillus subtilis*, and the maximum inhibition zone diameters were 14.03±0.05, 14±0.1 and 20.1±0.11 mm, respectively. This study provides a theoretical reference for the green extraction of black sesame melanin and the

收稿日期: 2025−06−23
基金项目: 山西省重点研发计划项目特优农业技术创新专项（2022ZDYF123）; 山西省科技成果转化引导专项（202204021301046）。
作者简介: 余越新（2000−）男, 硕士研究生, 研究方向: 植物活性成分研究与产品开发, E-mail: 1324263360@qq.com。
*** 通信作者:** 李会珍（1974−）, 女, 博士, 教授, 研究方向: 植物活性成分研究与产品开发, 生物合成与细胞培养, E-mail: hzli@nuc.edu。

development and utilization of its functional products.

Key words: black sesame seeds; melanin; deep eutectic solvents; antioxidant activity; antibacterial activity

芝麻(*Sesamum indicum* L.)属于胡麻科胡麻属,原产于印度和非洲,西汉传入中国,是世界上最古老也是最重要的油料作物[1]。芝麻根据种皮的颜色差异,被分为黑芝麻、白芝麻、黄芝麻和褐芝麻,其中黑芝麻不仅用于榨油,还用于食疗和保健[2]。黑芝麻是胡麻科胡麻属植物的黑色籽种,它具有许多别称,例如油麻、黑脂麻,巨胜等[3]。黑芝麻,药食同源,不仅含有丰富的蛋白质、维生素、矿物质、脂肪、碳水化合物,还含有丰富的木质素、膳食纤维和黑色素[4]。黑芝麻钙含量极高,富含的不饱和脂肪酸有助于心血管健康,丰富的微量元素对神经系统功能和新陈代谢至关重要。

天然黑色素是一类化学结构极其复杂、非均质的酚类或吲哚类大分子聚合物。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。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,具有较好的抗氧化活性、抑菌性和抗癌性[5]。相较于人工合成黑色素,天然黑色素具有来源广泛、安全性高等优点,在食药领域具有广阔的应用前景。

黑色素的提取技术主要包括碱溶酸沉法和溶剂提取法[6],目前已有学者使用氢氧化钠溶液和甲醇对黑芝麻黑色素进行提取和成分分析[7],但以氢氧化钠溶液和甲醇为提取溶剂,具有一定的挥发性和毒性。低共熔溶剂(Deep Eutectic Solvents, DES)在 2004 年由 Abbott 等人从路易斯酸和碱的混合物中引入,是一种可以代替离子液体的新型绿色溶剂,与传统的溶剂相比,具有更加绿色环保的特性,它们是氢键供体(Hydrogen bond donor, HBD)和氢键受体(Hydrogen bond acceptor, HBA)的组合,有生物可降解性,低毒性和低成本的特点[8]。一些研究人员有使用 DES 提取糖类[9]、有机酸[10] 和多酚类物质[11−12]。本文使用 DES 作为提取溶剂对黑芝麻种皮进行黑色素提取,首先从 5 种 DES 中筛选最佳 DES,在单因素实验基础上,采用响应面法优化 DES 提取黑芝麻种皮黑色素的最佳工艺,进一步研究其体外抗氧化活性和抑菌性,为黑色素的绿色提取及制备提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

黑芝麻种皮　取自山西省晋中市,粉碎过 40 目筛,避光保存备用;氯化胆碱、尿素、乳酸、甘油、1,4-丁二醇、丙三醇、乙醇、氢氧化钠、盐酸　均为分析纯,阿拉丁试剂公司;1-二苯基-2-三硝基苯肼(DPPH,纯度≥98%)、2,2'-联氮-双-3-乙基苯并噻唑啉-6-磺酸(ABTS,纯度≥98%)　分析纯,美国 Sigma 公司;XDA-8 大孔树脂　天津欧瑞生物科技有限公司。

2500Y 粉碎机　北京普朗新技术科学仪器有限公司;HJ-6B 双数显恒温磁力搅拌器　常州市苏璃仪器有限公司;H2K-FA210 电子天平　华志电子科技有限公司;CTL550 离心机　上海卢湘仪仪器有限公司;N-1300 旋转蒸发仪　上海爱朗仪器有限公司;UV7600 紫外可见光分光光度计　上海棱光技术有限公司;SPX-250B-Z 生化培养箱　上海博讯实业有限公司。

1.2 实验方法

1.2.1 DES 的制备　根据 Siddiqui 等[13] 的方法制备 DES,将氯化胆碱作为氢键受体,尿素、乳酸、甘油、1,4-丁二醇、丙三醇作为氢键供体。将氢键受体和氢键供体按照一定摩尔比例混合,在 80 ℃ 的水浴锅中加热搅拌至形成澄清透明溶液,常温放置 24 h,无新结晶颗粒形成即得不同种类的 DES,使用前加入一定比例的去离子水搅拌混匀,即得具有一定含水量的 DES,室温避光保存。具体配比方法见表 1。在 HBA 与 HBD 摩尔比为 1∶2 的条件下筛选最佳溶剂。

表 1　低共熔溶剂的组成

Table 1　Composition of deep eutectic solvents

组号	组分	配比
DES1	氯化胆碱∶尿素	1∶2
DES2	氯化胆碱∶乳酸	1∶2
DES3	氯化胆碱∶甘油	1∶2
DES4	氯化胆碱∶1,4-丁二醇	1∶2
DES5	氯化胆碱∶丙三醇	1∶2

1.2.2 黑芝麻种皮黑色素的提取　黑芝麻种皮用蒸馏水洗涤,50 ℃ 鼓风干燥箱内烘干,高速粉碎机粉碎过 40 目筛,备用。称取一定量的黑芝麻种皮,按照一定料液比混合,磁力搅拌器 600 r/min 搅拌一定时间,高速离心机 4000 r/min 离心 20 min,收集上清液,滤渣重复提取 2 次,将收集的上清液混合、抽滤,抽滤液加 4 倍体积去离子水,水沉 12 h,有明显沉淀,混合液 4000 r/min 离心 20 min,弃上清液,向沉淀中加一定量的去离子水,漩涡震荡器震荡 5 min,4000 r/min 离心 5 min 除去 DES,沉淀于 60 ℃ 烘箱烘干,即得黑色素。

1.2.3 单因素实验

1.2.3.1 提取时间对黑芝麻黑色素得率的影响　将 DES 的含水量、料液比、摩尔比和提取温度分别固定为 40%、1∶10(g/mL)、1∶2 和 25 ℃,考察不同提取时间(3、4、5、6、7 h)对黑芝麻黑色素得率的影响。

1.2.3.2 DES 含水量对黑芝麻黑色素得率的影响　将提取时间、料液比、摩尔比和提取温度分别固定

为 4 h、1∶10(g/mL)、1∶2 和 25 ℃ 考察不同 DES 含水量(30%、40%、50%、60%、70%)对黑芝麻黑色素得率的影响。

1.2.3.3　提取温度对黑芝麻黑色素得率的影响　将 DES 的含水量、料液比、提取时间和摩尔比分别固定为 40%、1∶10(g/mL)、4 h 和 1∶2，考察不同提取温度(20、25、30、35、40 ℃)对黑芝麻黑色素得率的影响。

1.2.3.4　摩尔比对黑芝麻黑色素得率的影响　将 DES 的含水量、料液比、提取时间和提取温度分别固定为 40%、1∶10(g/mL)、4 h 和 25 ℃，考察不同摩尔比(1∶1、1∶2、1∶3、1∶4、1∶5)对黑芝麻黑色素得率的影响。

1.2.3.5　料液比对黑芝麻黑色素得率的影响　将 DES 的含水量、摩尔比、提取时间和提取温度分别固定为 40%、1∶2、4 h 和 25 ℃，考察不同料液比(1∶4、1∶6、1∶8、1∶10、1∶12(g/mL))对黑芝麻黑色素得率的影响。

1.2.4　响应面试验设计　基于单因素实验结果，选取对黑芝麻黑色素得率影响较大的三个因素时间(A)、料液比(B)及含水量(C)为自变量，利用 Box-Behnken 设计三因素三水平响应面优化试验，以黑芝麻种皮黑色素得率为响应值，进行响应面优化试验设计，因素和水平见表 2。

表 2　响应面试验因素水平设计

Table 2　Level of response surface test factors

水平	因素		
	A提取时间(h)	B料液比(g/mL)	C含水量(%)
−1	3	1∶4	30
0	4	1∶6	40
1	5	1∶8	50

1.2.5　黑色素得率计算　称取 W(g)经清洗烘干的黑芝麻种皮，经 1.2.2 的实验步骤对黑芝麻种皮中的黑色素进行提取，经过 60 ℃ 烘干可得黑芝麻黑色素 M(g)。

$$得率(\%)=\frac{M}{W}\times 100 \qquad 式（1）$$

式中，M：烘干后的黑色素质量(g)；W：黑芝麻种皮质量(g)。

1.2.6　黑芝麻种皮黑色素的纯化、紫外吸收特征、色价及含量测定

1.2.6.1　黑芝麻种皮黑色素的纯化　选择 XAD-8 树脂柱对黑芝麻黑色素进行纯化[14]，使用无水乙醇浸泡树脂 4~6 h，使树脂充分溶胀，使用 3 BV 的无水乙醇按 1 BV/h 的流速冲洗树脂，直至流出液无色透明，之后用去离子水冲洗树脂，直至流出液无醇味。将 2 BV，2% 的稀盐酸按 1 BV/h 的流速冲洗树脂柱，用去离子水冲洗树脂柱，直至流出液 pH 为中性。用 2 BV，5% 的氢氧化钠溶液按照 1 BV 的流速冲洗树脂柱，再用去离子水冲洗树脂柱，直到流出液为中性。

将一定量的黑色素溶解于 0.1 mol/L 的氢氧化钠溶液中，配制浓度为 0.5 mg/mL 的黑色素溶液，设置上样流速为 0.5 BV/h，吸附 1 BV 黑色素溶液，使用 2 BV 的去离子水按 1 BV/h 的流速水洗除蛋白和多糖。选择不同体积分数(30%、40%、50%、60%、70%)的乙醇溶液进行解吸附，将洗脱液旋蒸浓缩，60 ℃ 烘箱烘干，测定黑色素得率。

1.2.6.2　黑芝麻种皮黑色素的紫外吸收特征　参考文献 [15−16] 的方法稍作修改，称取 10 mg 黑色素，用 0.1 mol/L 的氢氧化钠溶液 10 mL 将其溶解，并稀释一定倍数，以 0.1 mol/L 的氢氧化钠溶液做参比，使用紫外分光光度计对黑色素溶液进行全波长扫描(200~800 nm)，制作扫描图谱，得出最大吸收峰。

1.2.6.3　黑芝麻种皮黑色素的色价及含量测定　使用 1.2.6.2 的方法将黑芝麻种皮黑色素稀释一定倍数，并记录其浓度，在最大吸收峰下测定其吸光度 A，根据式(2)计算色价[17]。

$$E=\frac{A}{C}\times\frac{1}{100} \qquad 式（2）$$

式中，E 表示色价；A 表示最大吸收峰下吸光度值；C 表示溶液稀释后的浓度，g/mL。

配制 0.2~1 mg/mL 的不同浓度的黑色素溶液，在其特征吸收峰下测定不同浓度溶液的吸光度值，得出其线性回归方程为 y=1.3455x-0.1831，(R^2=0.9994)，将提取的黑色素溶液在最大吸收峰下测定其吸光度，代入回归方程得出其含量。

1.2.7　黑芝麻黑色素抗氧化活性研究

1.2.7.1　DPPH·清除能力测定　称取 3.2 mg 黑芝麻黑色素，加入 20 mL、50% 的乙醇溶液配制成 160 μg/mL 的样品母液，采用二倍稀释法将母液稀释为 10、20、40、80、160 μg/mL 的样品溶液，用于抗氧化活性的测定。

根据文献 [18−19] 的方法稍作修改，精确称取 7.88 mg DPPH 粉末、100 mL 无水乙醇，配制成 0.2 mmol/L 的 DPPH 溶液，分别取 1 mL 样品溶液、4 mL DPPH 溶液加入试管中，摇匀，室温避光反应 30 min，反应完成后在 517 nm 处测定吸光度值(A_1)。将 1 mL 样品溶液和 4 mL 无水乙醇混合均匀并测定吸光度(A_2)、1 mL 样品溶剂与 4 mL DPPH 的吸光度(A_0)、根据式(3)计算样品对 DPPH 自由基的清除率。

$$DPPH自由基清除率(\%)=\left(1-\frac{A_1-A_2}{A_0}\right)\times 100 \qquad 式（3）$$

式中，A_0 表示 1 mL 溶剂+4 mL DPPH 的吸光度；A_1 表示 1 mL 样品溶液+4 mL DPPH 溶液反应后的吸光度；A_2 表示 1 mL 样品溶液+4 mL 无水乙

醇的吸光度。

1.2.7.2 $ABTS^{+}$·清除能力测定 根据文献 [20−21] 的方法略作调整，精确称取 66.23 mg 过硫酸钾溶于 100 mL 蒸馏水中配制成浓度为 2.45 mmol/L 的溶液，再精确称取 19.2 mg ABTS 溶于 5 mL 过硫酸钾溶液中，配制成 7 mmol/L 的 ABTS 储备液，避光保存 12~16 h，产生丰富的 $ABTS^{+}$。将 ABTS 储备液在 734 nm 处以 70% 的乙醇溶液稀释到吸光度为 0.7±0.02。

将 1 mL 黑色素溶液与 3 mL ABTS 混合摇匀，避光反应 6 min，在 734 nm 处测吸光度(A_1)，同时测定 1 mL 70% 的乙醇溶液与 3 mL ABTS 的混合液吸光度(A_0)、1 mL 样品与 3 mL 70% 的乙醇溶液(A_2)，根据式(4)计算样品对 $ABTS^{+}$自由基清除率。

$$ABTS^{+}\text{自由基清除率}(\%)=\left(1-\frac{A_1-A_2}{A_0}\right)\times 100 \quad \text{式（4）}$$

式中，A_0 表示 1 mL 70% 乙醇+3 mL ABTS 的吸光度；A_1 表示 1 mL 样品+3 mL ABTS 反应后的吸光度；A_2 表示 1 mL 样品+3 mL 70% 乙醇的吸光度。

1.2.7.3 羟基自由基清除能力测定 根据文献 [22−23] 的方法稍作调整，称取一定量的磷酸氢二钠和磷酸二氢钠，配制 pH7.4，0.4 mmol/L 的磷酸缓冲液、2.5 mmol/L 的邻菲罗啉溶液、2.5 mmol/L 的硫酸亚铁溶液、20 mmol/L 的双氧水溶液。试验设样品组(A_2)、空白组(A_1)和对照组(A_3)。样品组试管中依次加入磷酸缓冲液、邻菲啰啉溶液、样品溶液、硫酸亚铁溶液各 1 mL、双氧水溶液 0.5 mL；空白组中用 1 mL 超纯水代替样品溶液；对照组中用 0.5 mL 超纯水代替双氧水，用 1 mL 溶剂代替溶液。37 ℃ 恒温水浴锅反应 1 h，在 536 nm 处测定各组别的吸光度值，根据式(5)测定样品溶液对羟基自由基清除率。在实验过程中应当先将邻菲罗啉和磷酸缓冲液混合均匀，加入硫酸亚铁之后也应当立即混匀，避免局部颜色过深影响实验测定。

$$\text{羟基自由基清除率}(\%)=\left(\frac{A_2-A_1}{A_3-A_1}\right)\times 100 \quad \text{式（5）}$$

式中，A_1 表示空白组的吸光度；A_2 表示 1 mL 样品+0.5 mL H_2O_2 反应后的吸光度；A_3 表示 1 mL 样品+0.5 mL 纯水的吸光度。

1.2.7.4 超氧阴离子清除能力测定 参考文献 [24−25] 的方法稍作调整，称取一定量的磷酸氢二钠和磷酸二氢钠，配制 0.1 mmol/L、pH8 的磷酸缓冲液、0.4 mg/mL 的邻苯三酚溶液，避光保存。精密量取 5 mL PBS、0.2 mL 邻苯三酚溶液于 10 mL 容量瓶中定容至 10 mL，反应 5 min，以 PBS 为空白对照，进行紫外全波长扫描，确定最大吸收峰波长。在最大吸收峰下，每隔 5 min 测定一次吸光度，共测定 50 min，将吸光度作为时间 t 的因变量，做线性关系图，选择线性关系最佳的一段时间作为自反应时间，斜率为邻苯三酚的自氧化速率 V_0，确定邻苯三酚的自氧化速率和时间。

精密量取 5 mL PBS 和 0.2 mL 邻苯三酚，分别加入不同浓度的黑色素溶液 1 mL，去离子水定容至 10 mL，反应 5 min 后，以 PBS 为空白对照，在 318 nm 处每隔 5 min 测定一次吸光度，共测定 30 min，以吸光度为纵坐标，时间为横坐标，斜率为 V_i，代入式(6)计算样品溶液对超氧阴离子的清除能力。

$$\text{超氧阴离子清除率}=\left(1-\frac{V_i}{V_0}\right)\times 100 \quad \text{式（6）}$$

式中，V_i 表示不同浓度黑色素与邻苯三酚反应后的自氧化速率；V_0 表示邻苯三酚的自氧化速率。

1.2.8 黑芝麻黑色素溶液抑菌能力的测定 使用滤纸片法测定抑菌圈，将黑芝麻黑色素溶液配制成 1、2、3、4、5 mg/mL 的溶液，以 0.1% 的阿莫西林作为阳性对照，将大肠杆菌[26]、金黄色葡萄球菌[27]、枯草芽孢杆菌[28] 在 LB 培养基中活化，在 327 nm 处测定培养基的吸光度值，当 OD 值为 0.2~0.4 之间时，用生理盐水将其稀释 10^3 倍，向每个平板加入 100 μL 的菌悬液，利用平板涂布器将菌液涂布均匀，在涂布好的平板上均匀放置 3 个 6 mm 的滤纸片，一个作为阳性对照，其余两个分别滴加不同浓度的样品溶液 30 μL，倒置培养 20 h，测量其抑菌圈直径[29]，每组做三个平行。

1.3 数据处理

实验结果采用平均值±标准差的形式表示。采用 SPSS16.0、Design-Expert13、Origin2024 进行数据分析处理。

2 结果与分析

2.1 DES 的选择

由图 1 可知，不同种类 DES 对黑芝麻种皮黑色素的得率大小为：DES2>DES3>DES1>乙醇>DES4>DES5，DES2 得率最高。不同的 HBA 与 HBD 组合

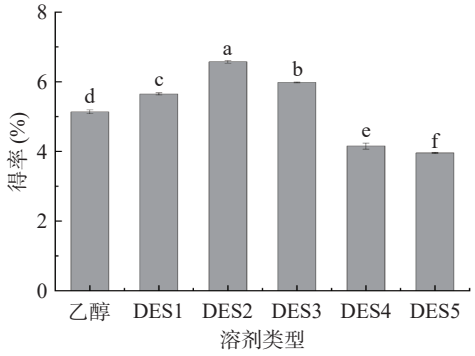


图 1 不同种类 DES 对黑色素得率的影响

Fig.1 Influence of different types of DES on the extraction rate of melanin

注：不同小写字母表示在 $P<0.05$ 水平差异显著；图 2~图 6、图 8 同。

会影响两种组分间的相互作用力、黏度、表面张力、极性等性质，这些性质会显著影响 DES 与目标物之间的提取效果[30]。黑芝麻黑色素中的多羟基与 DES2 中的羧基基团相互作用，使亲和力增加，酸型 DES 的极性高于多羟基 DES 和氨基 DES，更有利于提取极性较强的酚类物质，酸性也可以保护多酚的结构，后续实验选择 DES2 作为提取溶剂。

2.2　单因素实验结果

2.2.1　提取时间对黑色素得率的影响　由图 2 可知，黑芝麻种皮黑色素的得率随着提取时间的增加呈现先增高后降低的趋势，在提取时间为 4 h 时达到最大为 4.8%，随着时间的增加，黑色素溶出较多，但当提取时间大于 4 h 时，黑芝麻种皮中其他物质溶出，导致得率下降。

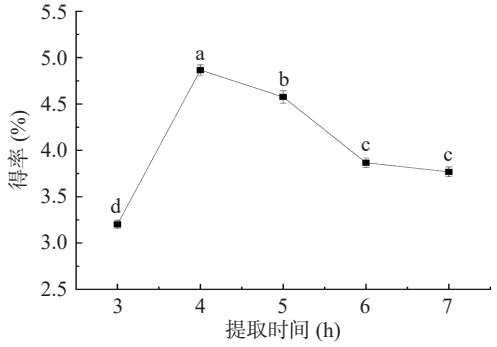


图 2　提取时间对黑色素得率的影响

Fig.2　Influence of extraction time on the yield of melanin

2.2.2　DES 含水量对黑色素得率的影响　DES 的含水量影响溶液的黏度、表面张力和极性等性质，进而影响提取性能[31]，由图 3 可知，当 DES 含水量从 30% 增加到 40% 时，黑色素得率从 2.73% 显著增加到 5%（P<0.05），继续增加 DES 含水量则得率下降。原因可能是在一定范围内随着含水量的增加，DES 的黏度降低，加强了分子扩散，促进了黑芝麻黑色素的溶出。水是强极性物质，DES 中较高的含水量会改变 DES 的极性，降低 DES 中的氢键作用[32]，导致提取效率降低。

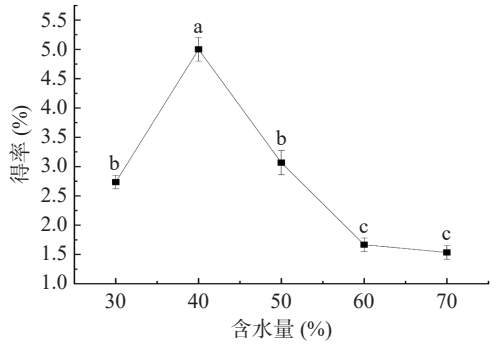


图 3　不同含水量对黑色素得率的影响

Fig.3　Influence of different water contents on the yield of melanin

2.2.3　提取温度对黑色素得率的影响　由图 4 可知，随着温度的增高黑色素的得率呈现先增加后降低的趋势，20~25 ℃ 时，温度升高增加了分子间相互运动，在 25 ℃ 时黑芝麻黑色素的得率最高为 5.33%。温度会影响 DES 的极性、密度、张力，温度持续升高导致 DES 的密度降低，黏度降低，影响 DES 与黑芝麻黑色素的相互作用力，导致得率降低[33]。

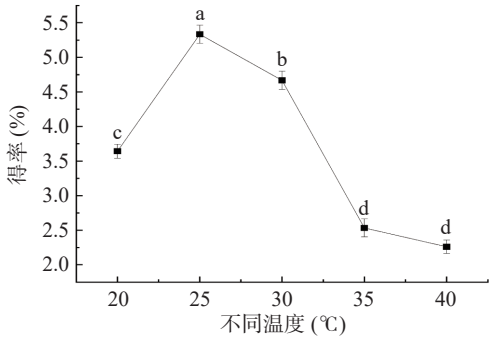


图 4　不同温度对黑色素得率的影响

Fig.4　Influence of different temperatures on the yield of melanin

2.2.4　不同摩尔比对黑色素得率的影响　由图 5 可知，黑色素得率随着摩尔比的增加呈现先升高后降低的趋势，当氯化胆碱∶乳酸为 1∶2 时得率最高为 6.8%。原因可能是，增加乳酸含量可以降低 DES 的表面张力，改变 DES 中的氢键网络结构[34]，提高黑芝麻黑色素向 DES 的扩散转移能力，但是随着乳酸含量的进一步增加，氯化胆碱在 DES 中的组分含量减少，导致黑色素与 DES 的相互作用力减弱。因此最佳摩尔比为氯化胆碱∶乳酸为 1∶2。

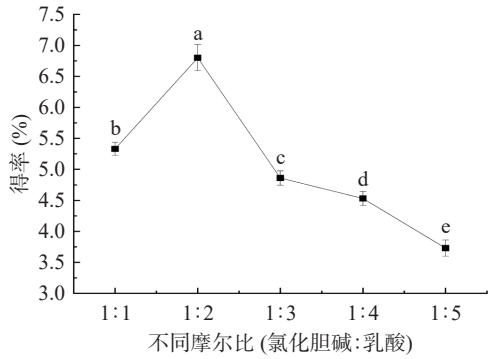


图 5　不同摩尔比对黑色素得率的影响

Fig.5　Influence of different molar ratios on the yield of melanin

2.2.5　料液比对黑色素得率的影响　由图 6 可知，黑色素的得率在料液比 1∶4~1∶6（g/mL）之间呈现显著上升趋势（P<0.05），当料液比为 1∶6（g/mL）时，得率最高为 6.7%，随后得率显著下降。当 DES 的用量较少时，黑芝麻种皮与 DES 的接触不充分，黑色素不能完全溶出，导致得率较低，增加 DES 的量后，黑色素的溶出能力增加，提取效果增加，但是过量的 DES 会导致其他物质溶出，使黑色素的得率降低[35]。

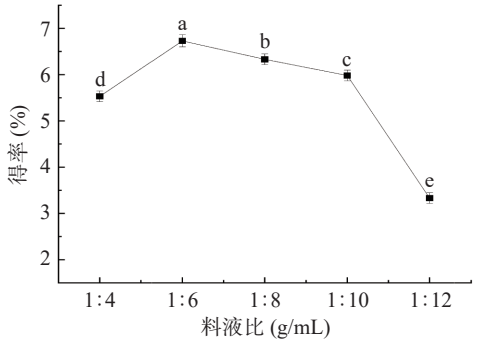


图 6 料液比对黑色素得率的影响

Fig.6 Influence of the ratio of material to liquid on the yield of melanin

2.3 响应面试验

2.3.1 响应面试验结果及方差分析 响应面试验结果见表 3，方差分析结果见表 4。通过 Design-Expert13 软件进行分析，以黑芝麻种皮黑色素的得率（Y）为目标函数的二次回归方程模型为：$Y=0.0726+0.0029A-0.0048B-0.0015C-0.0010AB+0.0031AC+0.0077BC-0.0062A^2-0.0072B^2-0.0180C^2$。由方差分析表可知，回归模型的 $P<0.0001$，极显著，表明模型的拟合程度良好；失拟项 $P=0.0682>0.05$ 说明数据拟合误差小，$R^2=0.9985$ 表明该模型对影响因子与响应值的分析准确性较高，可以利用该模型对 DES 提取黑芝麻黑色素工艺进行优化。各因素对黑芝麻黑色素得率的影响大小依次是：C>B>A，即含水量>料液比>提取时间。

表 3 响应面试验结果

Table 3 Response surface test design

实验号	A提取时间(h)	B料液比(g/mL)	C含水量(%)	Y得率(%)
1	5	6	30	0.0503
2	4	6	40	0.0731
3	3	6	50	0.0402
4	4	6	40	0.073
5	4	8	30	0.0358
6	4	8	50	0.0495
7	3	4	40	0.0601
8	5	8	40	0.0562
9	4	6	40	0.0722
10	4	4	50	0.0435
11	4	4	30	0.0607
12	3	6	30	0.0506
13	5	4	40	0.0679
14	3	8	40	0.0524
15	4	6	40	0.0723
16	4	6	40	0.0723
17	5	6	50	0.0523

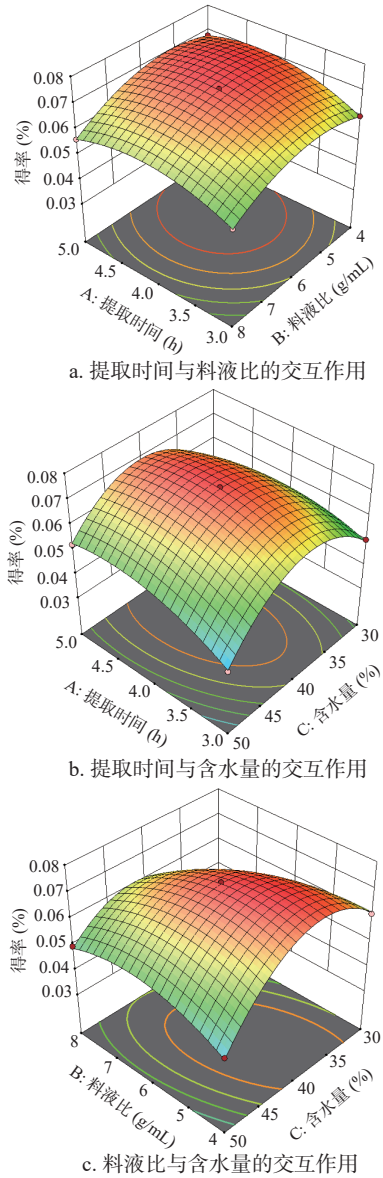
2.3.2 各因素之间交互作用曲面图 响应面图展示了各因素对黑芝麻黑色素的得率的交互作用，提取时间-含水量响应面图有较好的陡峭度，说明两个因素的交互作用对黑芝麻黑色素得率有显著影响。由表 4 和图 7 可知，交互项提取时间-含水量和料液比-含水量对黑芝麻黑色素得率有极显著影响（$P<0.01$），交互项提取时间-料液比对黑芝麻黑色素得率有显著影响（$P<0.05$）。

表 4 拟合方程方差分析结果

Table 4 Analysis of variance results of the fitting equation

来源	平方和	自由度	均方	F值	P值	显著性
模型	0.0024	9	0.0003	501.76	<0.0001	**
A-提取时间	0.0001	1	0.0001	126.57	<0.0001	**
B-料液比	0.0002	1	0.0002	339.06	<0.0001	**
C-含水量	0	1	0	32.73	0.0007	**
AB	0.0000	1	0.0000	7.4	0.0298	*
AC	0	1	0	71.08	<0.0001	**
BC	0.0002	1	0.0002	441.4	<0.0001	**
A^2	0.0002	1	0.0002	301.95	<0.0001	**
B^2	0.0002	1	0.0002	403.9	<0.0001	**
C^2	0.0014	1	0.0014	2523.35	<0.0001	**
残差	0.0000	7	0.0000			
失拟项	0.0000	3	0.0000	5.41	0.0682	
纯误差	0.0000	4	0.0000			
总离差	0.0024	16				
			R^2=0.9985			

注：*表示差异显著（$P<0.05$）；**表示差异极显著（$P<0.01$）。



a. 提取时间与料液比的交互作用

b. 提取时间与含水量的交互作用

c. 料液比与含水量的交互作用

图 7 两因素交互作用响应面图

Fig.7 Response surface plot of two-factor interaction

2.3.3　验证试验　通过 Design-Expert13 软件分析最优提取工艺为：提取时间 4.2978 h、料液比为 1∶5.594 g/mL）、含水量为 38.611%。黑芝麻黑色素得率预测值为 7.3%，根据提取实验的可行性，对最优工艺参数进行修正：提取时间 4.3 h、料液比 1∶5.6(g/mL)、含水量为 39%。在此条件下，经过三次平行实验验证得到的黑色素得率为 7.27%，与模型预测值的相对误差为 0.41%(<5%)，说明该模型对黑芝麻黑色素的得率具有良好的预测能力。

2.4　黑芝麻种皮黑色素的纯化、紫外吸收特征、色价及含量

2.4.1　黑芝麻种皮黑色素的纯化　由图 8 可知，不同质量分数的乙醇作为洗脱液时，从 XAD-8 树脂柱上洗脱下来的黑色素溶液回收率存在差异，其中 50% 的乙醇极性与黑色素相似，所以回收效率最高，因而选择 50% 的乙醇作为洗脱剂。

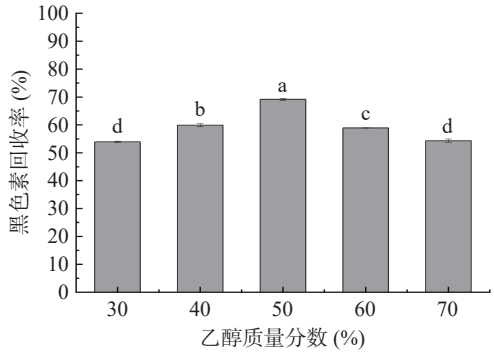


图 8　不同洗脱液的黑色素回收率

Fig.8　Melanin recovery rates of different eluents

2.4.2　黑芝麻种皮黑色素的紫外吸收特征　如图 9 所示，黑芝麻黑色素的紫外可见光谱表明，其在 220~230 nm 处有紫外特征吸收峰，在 270~280 nm 存在一处吸收平台，可见光范围内不存在明显吸收峰。在 226 nm 处存在最大吸收峰，符合黑色素的紫外吸收特征。

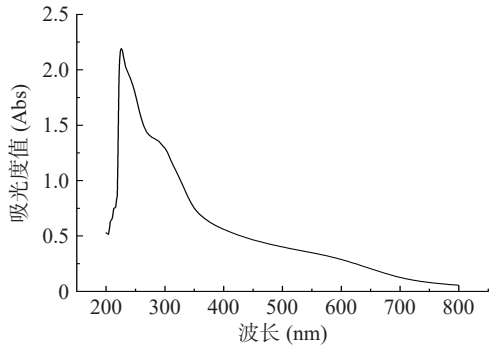


图 9　黑芝麻黑色素的紫外可见吸收光谱

Fig.9　Ultraviolet-visible absorption spectrum of melanin in black sesame seeds

2.4.3　黑芝麻种皮黑色素的色价及含量　在最大吸收峰 226 nm 处测定纯化前后黑色素溶液的吸光度，根据公式(2)计算色价，纯化前的色价为 197.5，纯化后的色价为 297.25。

根据 1.2.6.3 黑芝麻黑色素的线性回归方程得纯化前的黑色素含量为 18.08 mg/g，纯化后的黑色素含量为 25.49 mg/g，纯化后比纯化前的含量提高了 7.41%。纯化效果良好。

2.5　黑芝麻黑色素体外抗氧化活性检测

2.5.1　黑芝麻黑色素对 DPPH·清除能力　由图 10 可知，黑色素溶液对 DPPH·清除率与浓度呈正相关，随着浓度的增加，清除率不断提高，但同浓度下 V_C 清除自由基的能力始终高于黑色素溶液，当黑色素质量浓度为 320 μg/mL 时，对 DPPH·的清除能力达到 63.66%，黑色素和 V_C 对 DPPH·的半数清除率 IC_{50} 分别为：244 和 18.17 μg/mL，高于 Kumar 等[36] 从尼日尔籽壳中提取黑色素的抗氧化活性。

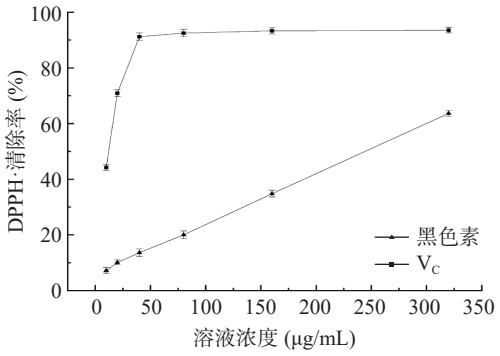


图 10　黑芝麻黑色素对 DPPH·的清除能力

Fig.10　Ability of black sesame melanin to clear DPPH·

2.5.2　黑芝麻黑色素对 $ABTS^+$·清除能力　由图 11 可知，黑色素溶液对 $ABTS^+$·的清除能力随质量浓度的增加而增加，当质量浓度为 160 μg/mL 时，对 $ABTS^+$·的清除率为 69.75%，相同质量浓度下黑色素对 $ABTS^+$·的清除率均低于 V_C。黑色素和 V_C 对 $ABTS^+$·的半数清除率 IC_{50} 分别为 111.6 和 30.9 μg/mL，略高于卢利平等[37] 对天水大红袍花椒籽黑色素的抗氧化活性研究。

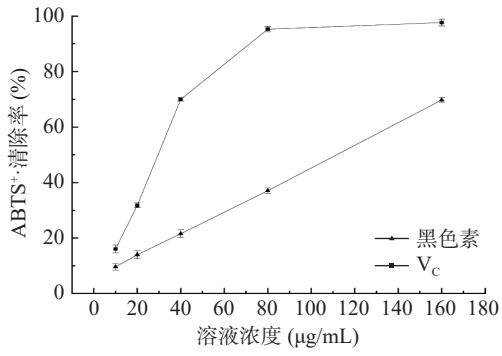


图 11　黑芝麻黑色素对 $ABTS^+$·的清除能力

Fig.11　Ability of black sesame melanin to clear $ABTS^+$·

2.5.3　黑芝麻黑色素对羟基自由基清除能力　由图 12 可知，黑芝麻种皮黑色素和 V_C 对羟基自由基的清除能力都随浓度的增加而升高，且呈一定的浓度

依赖性，当黑芝麻黑色素浓度为 160 μg/mL 时，黑色素对羟基自由基的清除率为 82.32%，黑色素溶液对羟基自由基的半数清除率 IC_{50} 为 53.67 μg/mL，高于黄秦娇等[38] 通过出芽短梗霉发酵产生黑色素的抗氧化活性。

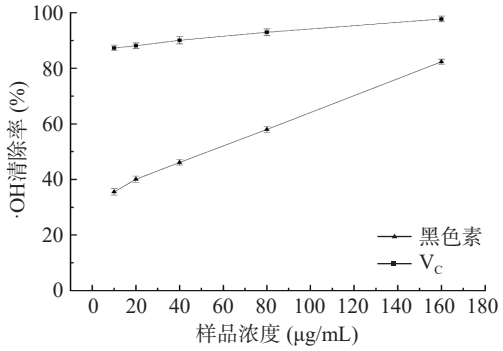


图 12 黑芝麻黑色素对·OH 的清除作用

Fig.12 Ability of black sesame melanin to clear ·OH

2.5.4 黑芝麻黑色素对超氧阴离子自由基清除能力

根据 1.2.7.4 的操作测定邻苯三酚自氧化的吸光度与时间的关系，结果见图 13。由图 13 可知，在 30 min 内，邻苯三酚自氧化过程中，溶液吸光度与时间呈现良好的线性关系，线性回归方程为 y=0.0079x+0.3098，R^2=0.9973，方程斜率为邻苯三酚自氧化速率，且每隔一段时间都有有色中间产物(半醌)以稳定的增量增加，且反应速率趋于稳定，所以确定 V_0=0.0079。

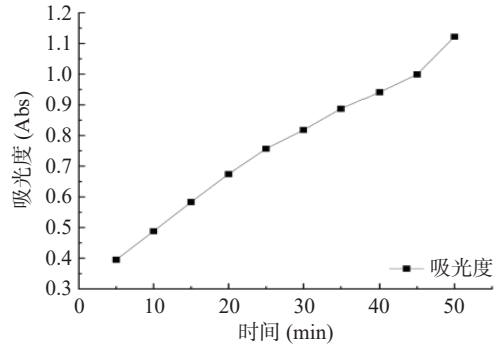


图 13 邻苯三酚自氧化与反应时间关系图

Fig.13 Graph showing the relationship between autooxidation of catechol and reaction time

如图 14，当溶液浓度小于 24.99 μg/mL 时，黑色素溶液对超氧阴离子自由基的清除率高于 V_C，当溶液浓度为 24.99~160 μg/mL 时 V_C 对超氧阴离子自由基的清除能力强于黑色素，随着黑色素溶液浓度的提高，自由基清除率持续提高，当黑色素溶液浓度为 160 μg/mL 时，其对超氧阴离子自由基的清除率为 70.89%，黑色素对超氧阴离子的半数清除率 IC_{50} 为 44.56 μg/mL，姚秀鸽等[39] 通过发酵法从黑木耳中制备黑色素，其对超氧阴离子的半数清除率 IC_{50} 为 900 μg/mL。

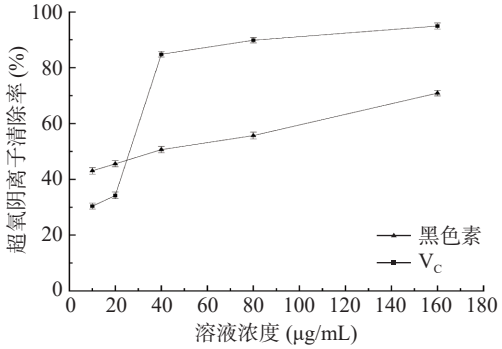


图 14 黑芝麻黑色素对超氧阴离子的清除作用

Fig.14 Ability of black sesame melanin to clear superoxide anion

2.6 黑芝麻黑色素抑菌性

黑色素溶液对三种供试菌种的抑菌圈直径见表 5，图 15 呈现了不同浓度的黑色素溶液对三种供试菌种的抑制效果。由表 5 可知，不同浓度的黑色素溶液对三种供试菌的生长都有一定的抑制作用，且抑菌效果随浓度的增加显著提高(P<0.05)，黑色素溶

表 5 黑色素溶液对各供试菌种的抑菌圈直径

Table 5 Diameters of the inhibition zones of melanin solution against each tested strain

浓度 (mg/mL)	大肠杆菌 (mm)	金黄色葡萄球菌 (mm)	枯草芽孢杆菌 (mm)
0.00	6.20±0.15^e	6.00±0^e	10.00±0.05^f
1.00	6.30±0.11^e	6.00±0^e	12.0±0.05^e
2.00	8.76±0.11^d	9.46±0.05^d	14.00±0.11^d
3.00	11.00±0.1^c	10.96±0.05^c	15.70±0.2^c
4.00	12.16±0.12^b	11.96±0.11^b	18.60±0.05^b
5.00	14.03±0.05^a	14.00±0.1^a	20.10±0.11^a

注：同一列不同字母表示各样品间存在显著性差异(P<0.05，n=3)。

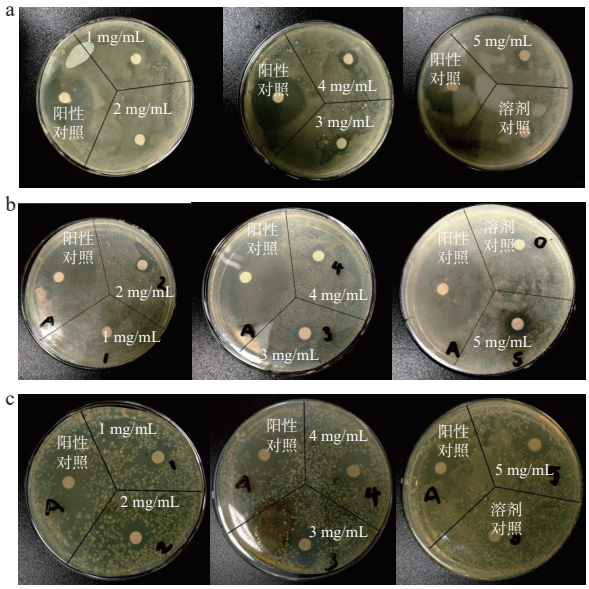


图 15 黑色素对三种供试菌的抑菌能力

Fig.15 Antibacterial ability of melanin against the three tested bacteria

注：a：对大肠杆菌的抑菌能力；b：对金黄色葡萄球菌的抑菌能力；c：对枯草芽孢杆菌的抑菌能力。

液浓度为 5 mg/mL 时对大肠杆菌、金黄色葡萄球菌和枯草芽孢杆菌的抑菌圈直径分别为 14.03±0.05、14.00±0.10 和 20.10±0.11 mm。

3　结论

本研究通过单因素实验和响应面试验确定了 DES 提取黑芝麻黑色素的最佳提取工艺为：氯化胆碱∶乳酸=1∶2，反应时间 4.3 h，含水量 39%，摩尔比 1∶2，料液比为 1∶5.6（g/mL），提取温度 25 ℃，在此条件下黑芝麻黑色素得率为 7.3%。抗氧化实验结果表明，黑芝麻黑色素对 DPPH·、$ABTS^{+}$·、羟基自由基和超氧阴离子都具有一定的清除能力，IC_{50} 值分别为 244、111.6、53.67、44.56 μg/mL。黑芝麻黑色素对大肠杆菌、金黄色葡萄球菌和枯草芽孢杆菌三种供试菌的生长均有一定的抑制作用，抑菌能力与溶液浓度呈显著正相关，在浓度为 5 mg/mL 条件下，最大抑菌圈直径分别为 14.03±0.05、14.00±0.10 和 20.10±0.11 mm。本研究为黑芝麻黑色素的可持续绿色提取提供了新的思路，较强的抑菌性和抗氧化活性有望为黑芝麻黑色素应用于食品防腐和生物材料开发等方面奠定基础。

© The Author(s) 2026. This is an Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License (https://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/).

参考文献

［1］ 秦灵灵，苗红梅，张战有，等. 世界芝麻生产现状与我国芝麻生产发展趋势分析[J]. 中国油脂，2024，49(3)：1−5. ［QIN L L，MIAO H M，ZHANG Z Y，et al. Production status of the world sesame and development trend of sesame production in China[J]. China Oils and Fats，2024，49(3)：1−5.］

［2］ CHANG Y L，QIN Z，ZHANG Z F，et al. Metabolomics analysis of germinated sesame（*Sesamum indicum* L.）seeds：Possibility of incorporating short-term germination treatments into the sesame production process[J]. LWT-Food Science and Technology，2024，213：117036.

［3］ 李杰，贾栩超，张瑞芬，等. 黑芝麻黑色素的分离纯化、结构表征及体外抗氧化活性[J]. 中国农业科学，2020，53(12)：2477−2492. ［LI J，JIA X C，ZHANG R F，et al. Separation，purification，structural characterization and *in vitro* antioxidant activity of melanin from black sesame seeds[J]. Scientia Agricultura Sinica，2020，53(12)：2477−2492.］

［4］ 张祖蛟，沈玉平. 芝麻素酚生理活性功能研究进展[J]. 食品与发酵工业，2024，50(15)：381−388. ［ZHANG Z J，SHEN Y P. Research advances in biological activities of sesaminol[J]. Food and Fermentation Industries，2024，50(15)：381−388.］

［5］ ABD E B S D，TAHA M S M. White and black sesame seed oil and their natural active compounds presenting antifungal properties[J]. International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences，2022，11(2)：361−369.

［6］ FRAGUELA-MEISSIMILLY H，BASTÍAS-MONTE J M，VERGARA，et al. New trends in supercritical fluid technology and pressurized liquids for the extraction and recovery of bioactive compounds from agro-industrial and marine food waste[J]. Molecules，2023，28(11)：4421.

［7］ DOSSOU S S K，LUO Z，WANG Z，et al. The dark pigment in the sesame（*Sesamum indicum* L.）seed coat：Isolation，characterization，and its potential precursors[J]. Frontiers in Nutrition，2022，9：858673.

［8］ TRIPATHI A K，SUTHAR K J. Advances in the extraction of polyphenols using natural deep eutectic solvents：A comprehensive review[J]. Chemical Papers，2025：1−23.

［9］ LI Q，WANG T，WANG C Y，et al. Ultrasonic-assisted DES extraction optimization，characterization，antioxidant and *in silico* study of polysaccharides from *Angelica dahurica* Radix[J]. Arabian Journal of Chemistry，2024，17(12)：106044.

［10］ JAGLAN P，KUMAR M，KAUSHIK D，et al. Optimization of the extraction process of *Moringa oleifera* flower by using deep eutectic solvents（DES）[J]. Results in Chemistry，2024，7：101445.

［11］ LUO Q，ZHANG J R，LI H B，et al. Green extraction of antioxidant polyphenols from green tea（*Camellia sinensis*）[J]. Antioxidants，2020，9(9)：785.

［12］ ZHANG H，ZHAO W，BAI T，et al. Sustainable extraction of polyphenols from millet using switchable deep eutectic solvents[J]. LWT-Food Science and Technology，2022，170：114082.

［13］ SIDDIQUI M，ALAM M S，ALI M. Preparation and characterization of novel polyols-based DESs and their use in efficient sequestration of radioactive iodine[J]. Journal of Molecular Liquids，2024，412：125883.

［14］ NGUYEN K V，LE N T，DANG V T T，et al. Alkaloid Extraction from *Coptis chinensis* Franch. using ultrasound-assisted aqueous solutions of surfactants，organic acids，deep eutectic solvents，and supramolecular deep eutectic solvents[J]. Molecules，2025，30(7)：1418.

［15］ MA Y，ZHANG P，DAI X，et al. Extraction，physicochemical properties，and antioxidant activity of natural melanin from Auricularia heimuer fermentation[J]. Frontiers in Nutrition，2023，10：1131542.

［16］ FU X，XIE M，LU M，et al. Characterization of the physicochemical properties，antioxidant activity，and antiproliferative activity of natural melanin from *S. reiliana*[J]. Scientific Reports，2022，12(1)：2110.

［17］ 刘增虎，杨伟克，胡昌雄，等. 琥珀蚕茧黑色素的理化性质及其抗氧化活性[J]. 蚕业科学，2024，50(6)：522−530. ［LIU Z H，YANG W K，HU C X，et al. Physicochemical properties and antioxidant activity of melanin from cocoon of *Antheraea assamensis*[J]. Acta Sericologicr Sinicr，2024，50(6)：522−530.］

［18］ ZAMAN S，AHMAD R，BINOBEAD M A，et al. Polyphenolic contents and antioxidant potential in *Nasturtium officinale*[J]. Journal of King Saud University-Science，2024，36(6)：103223.

［19］ LE D D，JANG Y S，TRUONG V，et al. Bioactivities of quinic acids from *Vitex rotundifolia* obtained by supercritical fluid extraction[J]. Antioxidants，2024，13(10)：1235.

［20］ UYSAL S，LONČAR B，KLJAKIĆ A C，de. Optimization of ultrasound-assisted extraction from *Olea europaea* leaves and analysis of their antioxidant and enzyme inhibition activities[J]. Food Bioscience，2025，63：105798.

［21］ VINCI G，D'ASCENZO F，MADDALONI L，de. The influence of green and black tea infusion parameters on total polyphenol content and antioxidant activity by ABTS and DPPH assays[J]. Beverages，2022，8(2)：18.

［22］ XUE H，GAO Y，QIU H，et al. Optimization of microwave assisted aqueous two-phase extraction of polysaccharides from *Malus hupehensis* and evaluation its antioxidant activity[J]. Starch-

Stä rke, 2024, 76(9−10): 2300266.
[23] LIU S, LIU X, ZHANG X, et al. Exploring the potential of water-soluble squid ink melanin: stability, free radical scavenging, and Cd^{2+} adsorption abilities[J]. Foods, 2023, 12(21): 3963.
[24] RITA K, BERNARDO M A, SILVA M L, et al. *Adansonia digitata* L. (Baobab Fruit) effect on postprandial glycemia in healthy adults: A randomized controlled trial[J]. Nutrients, 2022, 14(2): 398.
[25] 陈仕学, 姚元勇, 卢忠英, 等. 邻苯三酚自氧化法对茶叶中茶多酚的抗氧化性能应用研究[J]. 食品研究与开发, 2020, 41(17): 29−36. [CHEN S X, YAO Y Y, LU Z Y, et al. Pyrogallol autoxidation and its application to tea polyphenols activity assay[J]. Food Research and Development, 2020, 41(17): 29−36.]
[26] YANG X, ZHAO S, DENG Y, et al. Antibacterial activity and mechanisms of α-terpineol against foodborne pathogenic bacteria[J]. Applied Microbiology and Biotechnology, 2023, 107(21): 6641−6653.
[27] 于遥, 杨宜笑, 杨检林, 等. 菊花提取物对金黄葡萄球菌及大肠埃希菌的抑制研究[J]. 工业微生物, 2025, 55(1): 58−60. [YU Y, YANG Y X, YANG J L, et al. Study on the inhibitionof *Chrysanthemum* extracton *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*[J]. Industrial Microbiology, 2025, 55(1): 58−60.]
[28] ZHAO Y, LI H, ZHANG Z, et al. Extraction, preparative monomer separation and antibacterial activity of total polyphenols from *Perilla frutescens*[J]. Food & Function, 2022, 13(2): 880−890.
[29] 任志清, 李会珍, 张志军, 等. 不同品种紫苏叶迷迭香酸的提取及其生物活性[J]. 现代食品科技, 2021, 37(1): 92−100. [REN Z Q, LI H Z, ZHANG Z J, et al. Extraction of rosmarinic acid from different varieties of *Perilla* Leaves and its biological activity[J]. Modern Food Science & Technology, 2021, 37(1): 92−100.]
[30] PATRA A, PRASATH V A, PANDISELVAM R. Deep eutectic solvent: An emerging trend for extraction of plant proteins[J]. Journal of Molecular Liquids, 2023, 389: 122887.
[31] LIU X Y, OU H, GREGERSEN H, et al. Deep eutectic solvent-based ultrasound-assisted extraction of polyphenols from *Cosmos sulphureus*[J]. Journal of Applied Research on Medicinal and Aromatic Plants, 2023, 32: 100444.
[32] 赵悦, 褚天旭, 高哲, 等. 超声辅助低共熔溶剂提取欧李原花青素工艺优化及其生物活性[J]. 食品工业科技, 2025, 46(13): 218−232. [ZHAO Y, CHU T X, GAO Z, et al. Optimization of ultrasound-assisted deep eutectic solvent extraction process and biological activities of *Cerasus humilis* proanthocyanidin[J]. Science and Technology of Food Industry, 2025, 46(13): 218−232.]
[33] WANG L, CAO S, GUO G, et al. Simultaneous extraction of total polyphenols and triterpenes from leaves of *Celtis sinensis* by deep eutectic solvent hybrid system combined with response surface methodology[J]. New Journal of Chemistry, 2022, 46(47): 22581−22592.
[34] LV J, XU X, GONG J, et al. Extraction of polyphenols from *Apocynum venetum* leaves using customized deep eutectic solvents: Process optimization and antioxidant evaluation[J]. Process Biochemistry, 2024, 147: 305−317.
[35] SIDDIQUI S A, ALI REDHA A, SALAUDDIN M, et al. Factors affecting the extraction of (poly) phenols from natural resources using deep eutectic solvents combined with ultrasound-assisted extraction[J]. Critical Reviews in Analytical Chemistry, 2025, 55(1): 139−160.
[36] KUMAR B T S, RAOB V S, SWATHI S, et al. Characterization, antioxidant, and antimicrobial activity of melanin extracted from nigerseed hulls[J]. Food Bioscience, 2024, 61: 104929.
[37] 卢利平, 雷佳欣, 杨琦, 等. 天水大红袍花椒籽黑色素的提取工艺及体外抗氧化活性分析[J]. 食品工业科技, 2022, 43(22): 205−213. [LU L P, LEI J X, YANG Q, et al. Optimization of extraction process of melanin from *Zanthoxylum bungeanum* seeds of Tianshui and its antioxidant activity *in vitro*[J]. Science and Technology of Food Industry, 2022, 43(22): 205−213.]
[38] 黄秦娇, 李正龙, 舒琳, 等. 出芽短梗霉来源黑色素的发酵生产及其生物活性研究[J]. 天然产物研究与开发, 2025, 37(5): 944−956. [HUANG Q J, LI Z L, SHU L, et al. Study on fermentation production and bioactivity of melanin from *Aureobasidium melanogenum*[J]. Natural Product Research and Development, 2025, 37(5): 944−956.]
[39] 姚秀鸽, 郭燕, 韩闯, 等. 提高黑色素得率的黑木耳发酵配方优化及黑色素的理化性质研究[J]. 菌物学报, 2024, 43(12): 241−254. [YAO X G, GUO Y, HAN C, et al. Optimization of fermentation medium formula for increasing melanin yield and physicochemical properties of melanin of *Auricularia heimuer*[J]. Mycosystema, 2024, 43(12): 241−254.]