

黑酱油类黑素的提取、光谱性质及功能

郭彩华¹, 林 丽¹, 陈昭华¹, 卢珍华¹, 孙莉萍², 余 菁¹

(1.集美大学生物工程学院, 福建 厦门 361021; 2.厦门夏商淘化大同调味品有限公司, 福建 厦门 361000)

摘 要: 从黑酱油中提取类黑素并对其光谱性质和功能进行研究。结果表明: 经有机溶剂沉淀及脱盐处理, 冷冻干燥获得类黑素粗制品, 得率为 22.8g/100mL; 经 Sephadex G-50 凝胶层析除去小分子物质, 得到分子质量分布在 3000~55000u 的类黑素纯品。紫外和红外光谱扫描结果显示类黑素粗品是美拉德反应和酶促褐变的产物。类黑素粗制品对 DPPH 自由基的清除率最高达 89.0%, 对羟自由基的清除能力达 89.5%, 对亚硝胺合成的抑制率可达 80.0%。提示酱油类黑素粗制品可以作为功能性固体酱油被开发, 类黑色素纯品可开发成为功能性食用色素。

关键词: 黑酱油; 类黑素; DPPH 自由基; 羟自由基

Extraction, Spectral Properties and Bioactive Functions of Melanoidin from Black Soy Sauce

GUO Cai-hua¹, LIN Li¹, CHEN Zhao-hua¹, LU Zhen-hua¹, SUN Li-ping², YU Jing¹

(1. College of Bioengineering, Jimei University, Xiamen 361021, China;

2. Xiamen Seashine Kusu Condiment Co. Ltd., Xiamen 361000, China)

Abstract: Melanoidin was extracted from black soy sauce, and its spectral properties and bioactive functions were studied. The results showed that 22.8 g of crude melanoidin could be obtained from 100 mL black soy sauce by organic solvent precipitation. The crude melanoidin was purified by removing small molecular substances with Sephadex G-50 column. The molecular weight of the purified melanoidin was in the range of 3000 to 55000 u. The UV-Vis and infrared spectra revealed that the crude melanoidin was products of the Maillard reaction and enzymatic browning. The scavenging efficiency of the crude melanoidin on DPPH free radicals and on hydroxyl free radicals were 89.0% and 89.5%, respectively. The inhibitory action on the synthesis of nitrosamine was up to 80.0%. Conclusion: crude melanoidin from soy sauce can be developed as a functional solid soy sauce. Neat melanoidin has great potential to developed as a functional food coloring.

Key words: black soy sauce; melanoidin; DPPH free radical; hydroxyl free radical

中图分类号: TS264.2

文献标识码: A

文章编号: 1002-6630(2012)11-0089-05

酱油是一种富含多种氨基酸和风味物质, 具有特殊香味的调味品。关于酱油健康功效的研究国内外都有报道, 主要是抗癌、抗氧化、预防心血管疾病等。Benjamin 等^[1]发现酱油对苯并芘诱导的小鼠贲门窦瘤形成有抑制作用。Kataoka^[2]报道酱油能降低小鼠肝肿瘤的发生率, 酱油中含有的血管紧张素 I 转换酶抑制剂, 具有抗高血压的功能。新加坡国立大学生物化学系研究人员发现, 黑酱油在人体内产生的抗氧化作用, 比红酒还高, 有助于防止自由基对血管造成的破坏, 降低动脉硬化引发心脏病或中风的危险^[3]。先宏等^[4]通过自旋捕获和电子顺磁共振技术研究了 3 种品牌酱油对活性氧类自由基的清除作用, 发现清除效果显著。

酱油的化学组分十分复杂, 从现有的资料看, 酱油的功效物质主要是色深物质, 或称为类黑素的物质^[5-7],

但是到目前为止国内对酱油类黑素的提取分离应用研究工作报道极少。本实验以黑酱油为原料, 沉淀法提取类黑素并进行纯化, 对类黑素性质进行研究, 进而为酱油类黑素的应用提供可参考的理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

黑酱油由厦门夏商淘化大同调味品有限公司提供。按 SB/T 10313—1999《固稀发酵法酱油酿造工艺规程》酿造。以豆粕、小麦为主要原料, 经过前期固态发酵后期稀发酵, 成熟酱醪压滤分离, 日晒夜露 3 个月后的生酱油。

1,1-二苯基-2-三硝基苯肼(DPPH)、细胞色素 C、牛血清白蛋白、卵清蛋白、氨基酸标准溶液 美国 Sigma

收稿日期: 2011-08-28

基金项目: 福建省教育厅科研项目(JA09155)

作者简介: 郭彩华(1963—), 女, 副教授, 硕士, 主要从事食品生物化学研究。E-mail: chguo@jmu.edu.cn

公司; Sephadex G-50、蓝色葡聚糖 2000 美国 Pharmacia 公司; 其余试剂为国产分析纯。

1.2 仪器与设备

L-8900 氨基酸分析仪 日本日立公司; FT/IR-400/600 傅里叶变换红外光谱仪 Jasco 日本分光公司; 冷冻干燥机 美国 Thermo 公司; CARY50 紫外-可见分光光度计 美国 Varian 公司; Milli-Qcentury 超纯水系统 美国 Millipore 公司。

1.3 方法

1.3.1 类黑素的沉淀提取工艺

生酱油→加入无水乙醇→上层清液→加入丙酮→合并沉淀物→加水溶解, 沉淀物与水比例为 1:2(m/V)→重复无水乙醇和丙酮沉淀→固形物→挥发溶剂→加水溶解, 冷冻干燥→类黑素粗制品

得到下层深棕色黏稠状固体

提取工艺关键点的说明: 常温下将酱油和无水乙醇以体积比 1:1.75 混匀, 静置 24h。上层清液和丙酮以体积比 1:1 处理。加水溶解, 沉淀物与水以 1:2(m/V) 处理, 目的是脱盐。

1.3.2 Sephadex G-50 分子筛柱层析法纯化类黑素

根据文献[8-9]的报道, 黑色素的质量浓度与 400nm 波长处的吸光度成线性关系, 因此, 实验中配制不同质量浓度的类黑素溶液, 测定其在 400nm 波长处的吸光度。结果发现, 在质量浓度为 0~10.0g/L 范围内, 酱油类黑素溶液质量浓度(x, g/L)与吸光度(y)之间呈良好的线性关系, $y = 0.1637x + 0.028$ ($R^2 = 0.9995$)。由此实验中类黑素含量的变化以 400nm 波长处测定的吸光度表示。

将 1g 类黑素粗制品溶于 5mL 超纯水。过 Sephadex G-50 柱(1.0cm × 30cm), 上样量 0.5mL, 用超纯水进行洗脱, 流速 2mL/min, 自动部分收集仪收集洗脱液, 每管收集 1mL, 在 400nm 波长处测吸光度。重复 10 次, 合并相同编号的洗脱液冷冻干燥, 得到纯化的类黑素。

1.3.3 类黑素分子质量分布的测定

采用分子排阻色谱法测定类黑素分子质量分布^[10-11], 分别将已知相对分子质量的蓝色葡聚糖 2000(2000000u)、细胞色素 C(13000u)、牛血清白蛋白(67000u)、卵清蛋白(43000u)溶解于超纯水中, 质量浓度为 4.0g/L。上 Sephadex G-50 凝胶柱(1.0cm × 30cm), 以超水洗脱, 上样量 0.5mL, 流速 0.5mL/min, 自动部分收集仪收集洗脱液, 根据颜色和 280nm 波长的吸光度, 计算各自的洗脱体积。蓝色葡聚糖 2000 的洗脱体积记作 V_0 , 细胞色素 C、牛血清白蛋白、卵清蛋白的洗脱体积记作 V_0 , 绘制分子质量标准曲线。根据类黑素溶液的洗脱体积, 确定类黑素分子质量的分布。

1.3.4 类黑素的成分测定

1.3.4.1 基本成分

总氮测定: 采用凯氏定氮法^[12]; 总糖含量测定: 采用直接滴定法^[12]; 氯化钠含量测定: 采用 GB/T 5009.39—2003《酱油卫生标准的分析方法》测定。

1.3.4.2 氨基酸测定

采用氨基酸自动分析仪法^[12], 试样经 LC-18 柱 (Supelclean LC-18 SPE 小柱, 型号规格 500mg/3mL) 过滤至无色, 取滤液 20μL 于 L-8900 氨基酸分析仪自动连续进样器进行氨基酸测定。采用外标法定量。

1.3.5 类黑素的光谱性质研究

类黑素粗制品配制成不同质量浓度的水溶液, 用 CARY50 紫外-可见分光光度计, 在室温条件下以超纯水做基线校正, 分别于 200~1000nm 和 200~450nm 波长范围内进行光谱扫描。类黑素粗制品 3mg 用 300mg KBr 压片后做红外光谱扫描, 范围为 4000~400cm⁻¹。

1.3.6 类黑素的功能研究

1.3.6.1 类黑素对 DPPH 自由基的清除活性测定

参照文献[13]的方法做一定的修改后进行。精确移取 2.00mL 待测的类黑素粗制品溶液于 10mL 试管中, 加入 2.00mL 0.16mmol/L DPPH 95% 乙醇溶液, 使总体积为 4.00mL, 摇匀, 室温放置 30min 后, 记录 517nm 吸光度为 A_i 。以 VC 作阳性对照, 测 IC_{50} (自由基清除率达 50% 时的清除剂质量浓度)。根据公式(1)计算样品清除率。

$$\text{清除率}/\% = \frac{A_0 - (A_i - A_j)}{A_0} \times 100 \quad (1)$$

式中: A_i 是 2mL DPPH 溶液和 2mL 待测溶液的吸光度; A_j 是 2mL 待测溶液和 2mL 95% 乙醇的吸光度; A_0 是 2mL DPPH 溶液和 2mL 水的吸光度。

1.3.5.2 类黑素对羟自由基清除能力的测定

羟自由基的产生和测定按文献[14]所描述的方法进行。以不加 H_2O_2 溶液的作为参比溶液, 于 510nm 波长处测定的吸光度为 A_0 。类黑素羟自由基清除能力的测定是在羟自由基的产生的基础上分别加入不同质量浓度的类黑素粗制品溶液 1mL, 然后再进行测定, 于 510nm 波长处的吸光度记作 A_s (参比实验不加 H_2O_2 溶液)。根据公式(2)计算样品清楚率。

$$\text{清除率}/\% = \frac{A_0 - A_s}{A_0} \times 100 \quad (2)$$

1.3.5.3 类黑素对亚硝酸合成的抑制实验

取 20 个 25mL 容量瓶, 分为两组(每组 10 个), 吸取不同量的类黑素粗制品溶液, 加入 pH 3.0 的柠檬酸-磷酸氢二钠缓冲液 10mL, 其中一组加入 1mmol/L 的 $NaNO_2$ 溶液 1.0mL, 1mmol/L 的二甲胺溶液 1.0mL, 另

一组不加作为参比溶液,用超纯水稀释至刻度,在37℃条件下恒温1h。然后按文献[15]所描述的紫外光解法操作,在525nm波长处测吸光度 A_x 。同时以超纯水替代类黑素溶液做空白实验测 A_0 。根据公式(3)计算样品的抑制率。

$$\text{抑制率}/\% = \frac{A_0 - A_x}{A_0} \times 100 \quad (3)$$

2 结果与分析

2.1 酱油类黑素的提取纯化结果

2.1.1 酱油及类黑素粗制品的基本营养成分比较

取100mL黑酱油经乙醇、丙酮沉淀,经加水脱盐处理及冷冻干燥后,可得(22.8±2.02)g类黑素粗制品,其为棕褐色带有浓郁酱香味的固形物。酱油及类黑素粗制品的基本营养成分比较见表1。

表1 酱油及类黑素粗制品的基本营养成分比较($\bar{x} \pm s$, $n=3$)

Table 1 Basic nutritional components in soy sauce and crude melanoidin ($\bar{x} \pm s$, $n=3$)

样品	全氮/g	总糖/g	氯化钠/g
酱油(100mL)	2.321 ± 0.034	8.462 ± 0.205	20.12 ± 0.105
类黑素粗制品(100g)	4.732 ± 0.038	12.041 ± 0.186	11.56 ± 0.068

2.1.2 酱油及类黑素粗制品的氨基酸组成及必需氨基酸含量比较

经L-8900氨基酸分析仪分析,酱油和类黑素粗制品中都测出含有天冬氨酸、苏氨酸、丝氨酸、谷氨酸、脯氨酸、甘氨酸、丙氨酸、半胱氨酸、缬氨酸、蛋氨酸、异亮氨酸、亮氨酸、酪氨酸、苯丙氨酸、赖氨酸、组氨酸、精氨酸等17种氨基酸,经外标法确定酱油的总氨基酸含量4.08g/100mL;类黑素粗制品的总氨基酸含量为10.98g/100g干品。酱油及类黑素粗制品的必需氨基酸(EAA)含量比较见表2。

表2 酱油及类黑素粗制品的必需氨基酸含量比较

Table 2 Essential amino acids in soy sauce and crude melanoidin

样品	蛋氨酸	赖氨酸	缬氨酸	异亮氨酸	亮氨酸	苯丙氨酸	苏氨酸	组氨酸
酱油(100mL)	0.0405	0.321	0.287	0.125	0.195	0.06	0.228	0.0771
类黑素粗品(100g)	0.0241	0.8285	0.3535	0.1096	0.1689	0.2167	0.5575	0.1741

2.1.3 Sephadex G-50柱层析的洗脱结果及洗脱物的分子量分布

Sephadex G-50柱层析法即凝胶过滤法,目的是除去小分子物质,这里主要是氨基酸和氯化钠。由图1可知, A_{400nm} 从低到高,在第18号管时达到最大为1.930,之后 A_{400nm} 下降,至第27号管时 A_{400nm} 是0.140。1g类

黑素粗制品经Sephadex G-50分子筛层析纯化并冷冻干燥后可获得(877.6±4.1)mg纯品,得率为87.76%。

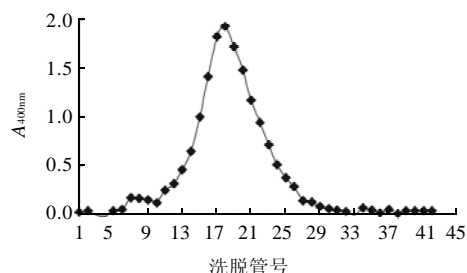


图1 类黑素粗制品Sephadex G-50层析洗脱曲线

Fig.1 Elution curve of crude melanoidin on Sephadex G-50 column

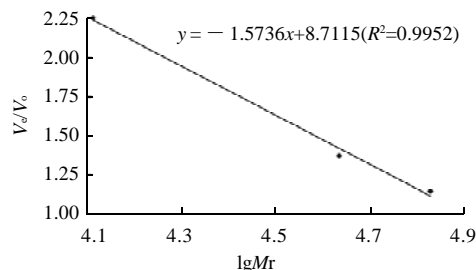


图2 类黑素粗制品的相对分子质量标准曲线

Fig.2 Standard curve of relative molecular weights

在分子排阻色谱法实验中,以类黑素相对分子质量的对数($\lg Mr$)为横坐标, V_0/V 为纵坐标,绘制的相对分子质量标准曲线为 $y = -1.5736x + 8.7115$ ($R^2 = 0.9952$)。可知,酱油类黑素分子质量主要分布在3000~55000u之间。各类黑素样品的颜色特点为:11、12、21~27号管样品为浅棕色,13、14、20号样品为棕色,15~19号管样品颜色最深,为棕褐色;第11~20号管样品有光泽,第21~27号管样品无光泽。

2.2 酱油类黑素的光谱性质

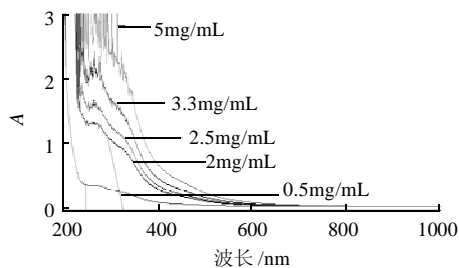


图3 不同质量浓度类黑素粗制品在200~1000nm的吸收光谱

Fig.3 UV-Vis spectrum of crude melanoidin at 200 to 1000 nm

由图3可知,类黑素质量浓度不同,光谱图有一定的差异,总的趋势是在紫外波长处有吸收,最大吸收峰在215nm波长处,与Bell等^[16]报道的类黑精紫外吸收特征一致。类黑素的质量浓度大于2mg/mL时,在近

紫外区有多个吸收峰(图 3、4)。可以推测类黑素含有美拉德反应高级阶段产生的大量活性小分子物质,如酮类和醛类衍生物^[17]。

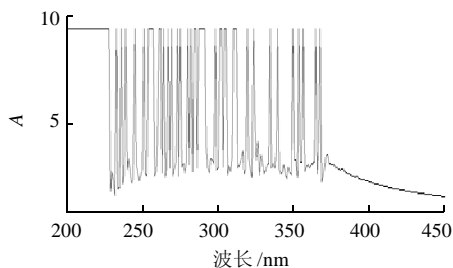


图 4 10mg/mL 类黑素粗制品在 200~450nm 的吸收光谱

Fig.4 UV-Vis spectrum of crude melanoidin at 200 to 450 nm

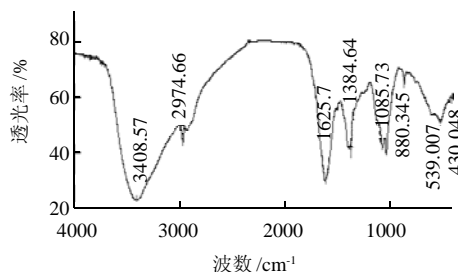


图 5 类黑素粗制品的红外吸收光谱

Fig.5 Infrared spectrum of crude melanoidin from soy sauce

由图 5 可知, 3408cm⁻¹ 宽而强的吸收峰是由分子间多聚缔合的 O—H 和 N—H 伸缩振动产生的; 在 2974cm⁻¹ 附近的弱吸收峰是 C—H 伸缩振动产生的; 1625cm⁻¹ 是由 C=O 变形振动伯酰胺、C=C 共轭伸缩振动、芳环上 C=C 骨架伸缩振动等产生; 1384cm⁻¹ 是由脂肪族和脂环族中—CH 和—CH₃ 对称变形振动产生; 1085cm⁻¹ 是由 C—O 伸缩振动、脂肪 C—O—C 不对称伸缩振动等产生。3400cm⁻¹ 和 1630cm⁻¹ 附近强吸收是咪唑基团^[18]。酱油类黑素粗制品的红外光谱图与天然黑色素^[19] 的很相似, 天然黑色素主要来自酶促褐变。紫外和红外光谱特征说明了发酵酱油中的色素来自生产过程中的美拉德反应和酶促褐变。

2.3 酱类黑素的功能研究结果

2.3.1 酱油类黑素粗制品对 DPPH 自由基的清除能力

由图 6 可知, 随着样品质量浓度的增加, 酱油类黑素粗制品对 DPPH 自由基的清除能力增强, 当类黑素质量浓度到达一定值之后, 清除率不再增加, 清除率

最高达 89%。类黑素粗制品的 IC₅₀ 为(4.876 ± 0.205)g/L, 而 VC 质量浓度为(4.831 ± 0.097)g/L 时的清除率为 97.5%, 可见类黑素粗制品对 DPPH 自由基的清除能力相当于 VC 的一半。

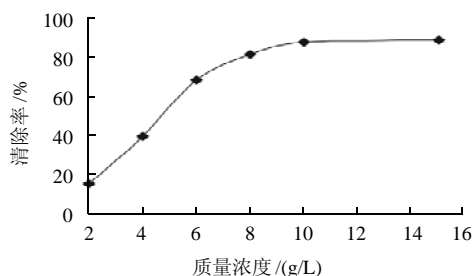


图 6 类黑素粗制品对 DPPH 自由基的清除作用

Fig.6 Scavenging efficiency of crude melanoidin from soy sauce on DPPH free radical

表 3 所示的是酱油类黑素纯品(类黑素的质量浓度为 5g/L)对 DPPH 自由基有清除能力。可见清除能力与类黑素的分子质量及色泽有一定的关联度, 分子质量 6100~26500u 且呈棕褐色的类黑素样品清除率高, 15~23 号管样品的平均清除率为 90.04%, 可见其比类黑素粗制品的清除率高。

2.3.2 酱油类黑素粗制品清除羟自由基的能力

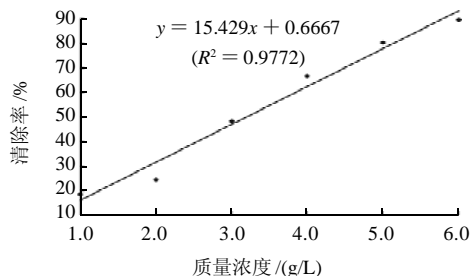


图 7 类黑素粗制品对羟自由基的清除率

Fig.7 Scavenging efficiency of crude melanoidin from soy sauce on hydroxyl free radical

由图 7 可知, 类黑素粗制品对羟自由基的清除能力随着类黑素质量浓度的增大而逐渐增大, 在质量浓度为 1.0~6.0g/L 范围内, 类黑素粗制品质量浓度与清除率之间呈良好的线性相关关系, $y = 15.429x + 0.6667$ ($R^2 = 0.9772$)。这种线性量效关系与文献报道的相一致^[7,20], 获得的清除率达 89.5%。

表 3 不同分子质量范围酱油类黑素纯品对 DPPH 自由基的清除作用

Table 3 Scavenging efficiency of different molecular weight fractions of purified melanoidin from soy sauce on DPPH free radical

样品管号	11 号	12~14 号	15~17 号	18~20 号	21~23 号	24~26 号	27 号
分子质量/u	55166	45945~31869	26542~18410	15333~10635	8858~6144	5117~3549	2956
清除率/%	23.87	74.14	90.66	89.26	90.21	87.68	43.37

2.3.3 酱油类黑素粗制品抑制亚硝胺合成的能力

亚硝胺可引起人和动物的胃、肝脏等多种器官的恶性肿瘤, 阻断或减少亚硝胺的生成是预防肿瘤发生的一个重要措施。二甲胺与 NaNO_2 在模拟人体胃液的条件(pH 3.0, 37℃)下, 可生成二甲基亚硝胺(NDMA)。实验中先加入类黑素溶液, 再依次加入亚硝酸钠与二甲胺时, 类黑素优先同亚硝酸钠作用, 使得二甲胺不能与亚硝酸钠反应, 以达到阻止亚硝胺生成的目的。

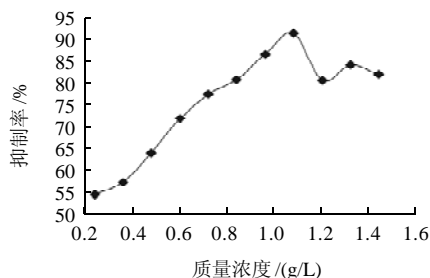


图8 类黑素粗制品对亚硝胺合成的抑制作用

Fig.8 Inhibition of nitrosamine synthesis by crude melanoidin from soy sauce

由图8可知, 类黑素粗制品加入量在 1.08g/L 之前, 随着加入量的增加, 类黑素对亚硝胺合成的抑制率逐渐增大, 说明在模拟人体胃液的条件下, 类黑素可有效地阻断亚硝胺的合成。但当加入量超过 1.08g/L 时, 其对亚硝胺合成的抑制率开始在 80%~84% 之间波动, 这可能是由于酱油类黑素中含有黄酮类物质^[7], 而黄酮质量浓度过高时, 容易发生自身氧化聚合, 而导致活性降低。综合来说, 类黑素抑制亚硝胺合成的抑制率可达 80%。

3 结 论

黑酱油通过有机溶剂沉淀及脱盐处理, 冷冻干燥获得类黑素粗制品, 得率为 22.8g/100mL, 类黑素粗制品的总氨基酸含量为 10.98g/100g 干品。利用 Sephadex G-50 分子筛柱层析法纯化类黑素, 纯化得率为 87.76%。紫外和红外光谱扫描结果显示类黑素是美拉德反应和酶促褐变的产物。类黑素粗制品对 DPPH 自由基的清除率最高达 89%, 对羟自由基的清除率与其质量浓度呈线性关系, 抑制亚硝胺合成的抑制率可达 80%。

酱油类黑色素可以作为固体酱油、食用色素、自由基清除剂以及亚硝胺合成抑制剂等被广泛开发和利用。我国是酱油生产发源地, 有着丰富的酱油资源, 有进行深加工的条件和基础, 类黑素粗制品可以作为功能性固体酱油被开发, 类黑色素纯品可以作为功能性食

用色素而得到开发利用, 从而使酱油的附加值及生产企业的经济效益将有所提高。

参考文献:

- [1] BENJAMIN H, STORKSON J, TALLAS P G, et al. Reduction of benzo[α]pyrene-induced forestomach neoplasms in mice given nitrite and dietary soy sauce[J]. Food and Chemical Toxicology, 1988, 26(8): 671-678.
- [2] KATAOKA S. Functional effects of Japanese style fermented soy sauce (shoyu) and its components[J]. Journal of Bioscience and Bioengineering, 2005, 100(3): 227-234.
- [3] 河川. 新加坡研究发现黑酱油保健作用超过红酒[J]. 食品科技, 2006 (7): 158.
- [4] 先宏, 魏文青, 李妍, 等. 三种品牌酱油对自由基的清除作用[J]. 食品科学, 2005, 26(7): 227-230.
- [5] KATAOKA S, LIU W, ALBRIGHT K, et al. Inhibition of benzo[α]pyrene-induced mouse forestomach neoplasia and reduction of H_2O_2 concentration in human polymorphonuclear leucocytes by flavour components of Japanese-style fermented soy sauce[J]. Food and Chemical Toxicology, 1997, 35(5): 449-457.
- [6] MOON G, LEE M, LEE Y, et al. Main component of soy sauce representing antioxidative activity[J]. International Congress Series, 2002, 1245: 509-510.
- [7] 李莹, 刘敏, 崔春, 等. 酱油抗氧化能力评价及聚类分析[J]. 食品与发酵工业, 2008, 34(1): 14-19.
- [8] 曹志艳, 董金皋, 杨胜勇, 等. 玉米大斑病菌黑色素的一些理化性质和光谱吸收特征[J]. 植物病理学报, 2007, 37(4): 410-417.
- [9] 郑晨娜, 方柏山, 罗菊香, 等. 链霉菌 G-HD-4 产黑色素的提取及理化性质[J]. 华侨大学学报: 自然科学版, 2009, 30(3): 292-296.
- [10] SHINGEL K I, TSARENKOV V M, PETROV P T. Size-exclusion chromatography study of the molecular-weight distribution of gamma-irradiated pullulan[J]. Carbohydrate Research, 2000, 324(4): 283-287.
- [11] 何忠效. 生物化学实验技术[M]. 北京: 化学工业出版社, 2004: 129-137; 354-356.
- [12] 杨月欣. 实用食物营养成分分析手册[M]. 北京: 中国轻工业出版社, 2007: 41-42; 63-64; 45-48.
- [13] WANG Biao-shi, LI Biansheng, ZENG Qingxiao, et al. Antioxidant and free radical scavenging activities of pigments extracted from molasses alcohol wastewater[J]. Food Chemistry, 2008, 107(3): 1198-1204.
- [14] 贾之慎, 郭建敏, 唐孟成. 比色法测定 Fenton 反应产生的羟自由基[J]. 生物化学与生物物理研究进展, 1996, 23(2): 184-186.
- [15] 袁毅骅, 陈析, 陈纯馨, 等. 柚皮提取物对亚硝化反应抑制作用的研究[J]. 化学世界, 2004(1): 26-28.
- [16] BELL A A, WHEELER M H. Biosynthesis and functions of fungal melanins[J]. Annual Review of Phytopathology. 1986, 24: 411-451.
- [17] HODGE J E. Dehydrated foods, chemistry of browning reactions in model systems[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 1953, 1 (15): 928-943.
- [18] 朱淮武. 有机分子结构波谱解析[M]. 北京: 化学工业出版社, 2005: 38-54; 65-67; 245-254.
- [19] 陆慧慈, 尹佩玉, 容蓉, 等. 黑芝麻黑色素的化学结构研究[J]. 食品科学, 2007, 28(11): 91-94.
- [20] 叶明, 许庆平, 陈晓, 等. Lachnum YM-223 产黑色素发酵及其黑色素抗氧化活性研究[J]. 食品科学, 2009, 30(17): 185-189.