

# 黑大豆种皮花色苷的提取及其抗氧化作用研究

徐金瑞<sup>1,2</sup>, 张名位<sup>1</sup>, 刘兴华<sup>2</sup>, 陆广欣<sup>1</sup>, 池建伟<sup>1</sup>, 孙 玲<sup>1</sup>

(1. 广东省农业科学院生物技术研究所农业部功能食品重点开放实验室,  
广州 510640; 2 西北农林科技大学食品科学与工程学院, 杨凌 712100)

**摘 要:** 以黑大豆皮为材料, 采用二次回归正交旋转组合设计对其花色苷的提取工艺进行了优化研究。结果表明, 最佳提取参数为温度 60、时间 1 h、乙醇浓度 60%、料液比 1:40。对黑大豆种皮花色苷含量与总抗氧化能力之间的相关性分析表明, 二者之间存在极显著的线性关系 ( $P < 0.01$ ), 且黑大豆种皮花色苷提取物表现出较强的清除  $\text{OH} \cdot$ 、 $\text{O}_2 \cdot$  及有机自由基 DPPH $\cdot$  的体外抗氧化作用, 其清除能力是维生素 C 的 1.6 倍、2.2 倍、1.4 倍。

**关键词:** 黑大豆皮; 花色苷; 提取; 抗氧化作用

**中图分类号:** TS209

**文献标识码:** A

**文章编号:** 1002-6819(2005)08-0161-04

徐金瑞, 张名位, 刘兴华, 等. 黑大豆种皮花色苷的提取及其抗氧化作用研究[J]. 农业工程学报, 2005, 21(8): 161-164

Xu Jinrui, Zhang Mingwei, Liu Xinghua, et al. Extraction and antioxidation of anthocyanin of black soybean seed coat[J]. Transactions of the CSAE, 2005, 21(8): 161-164 (in Chinese with English abstract)

## 0 引言

黑大豆是传统的药食兼用的农产品资源之一, 自古以来民间就有用黑大豆补血、活血和乌发养颜的记载<sup>[1]</sup>, 这提示黑大豆具有较高的研究价值和开发潜力。现代营养素研究进一步发现, 黑色食品中的天然花色苷类物质有极强的防止活性氧危害和抗氧化作用, 可消除机体代谢过程中产生的过多自由基, 具有延缓衰老、预防各种疾病等功能<sup>[2,3]</sup>。黑大豆种皮富含花色苷类化合物, 是天然色素的重要来源。前人已对黑大豆种皮色素的化学结构及稳定性进行了大量研究<sup>[4-5]</sup>, 表明其主要成分为飞燕草-3-葡萄糖苷和矢车菊-3-葡萄糖苷, 其在酸性条件下稳定性较好。Takanori 等<sup>[6-8]</sup>通过体外试验初步得出黑大豆黑色素对脂质过氧化体系具有抑制作用, 但由于黑大豆种皮中抗氧化物质并非只是花色苷一种, 而且提取工艺对花色苷含量和总抗氧化能力 (total antioxidant capacity, TAC) 的影响也有差异, 为全面考察其花色苷的抗氧化作用及各因素对两者的影响, 本研究首次以花色苷含量和总抗氧化能力作为提取指标, 采用二次回归正交旋转设计法对其花色苷的提取工艺进行了系统的优化, 分析了二者之间的相关性, 并进一步探讨了花色苷粗提物清除活性氧和 DPPH 自由基的能力, 旨在为利用黑大豆皮开发天然抗氧化功效因子提供依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料与试剂

黑大豆种皮: 选用广东省农科院生物技术研究所培育的“粤引黑大豆 1 号”, 将其干燥后用粉碎机破碎, 再通过吹风机分离出种皮, 粉碎过 60 目筛备用。

试剂: 1, 1-二苯基-2-苦基苯肼 (1, 1-Diphenyl-2-picrylhydrazyl, DPPH), 3-氨基苯二甲酰肼 (3-Aminophthalhydrazide, Luminol) 购自 Sigma 公司; 三吡啶三吡嗪 (2, 4, 6-tripyridyl-s-triazine, TPTZ) 购自 Fluka 公司; 维生素 C 等试剂均为国产。

### 1.2 主要仪器设备

pH 计 (pHS-3C 型, 上海理达仪器厂); 紫外可见分光光度计 (752C 型, 上海第三分析仪器厂); 手动可调式移液器 (DragonMed 型, 芬兰 Biotec); 电脑发光测试仪 (WDD-2 型, 北京瑞利分析仪器公司) 等。

### 1.3 试验方法

#### 1.3.1 二次回归正交旋转组合设计优化黑大豆种皮花色苷的浸提工艺

以黑大豆种皮为材料, 对浸提温度 ( $X_1$ )、浸提时间 ( $X_2$ ) 和乙醇浓度 ( $X_3$ )、料液比 ( $X_4$ ) 4 个因素进行四因子二次回归正交旋转组合设计<sup>[9]</sup>, 因素水平见表 1。方

表 1 正交试验因素水平表

Table 1 Factors and levels of the orthogonal regression tests

规范变量 $Z_j$	浸提温度 $X_1/$	浸提时间 $X_2/h$	乙醇浓度 $X_3/\%$	料液比 $X_4/g \cdot mL^{-1}$
上星号臂 (2)	100	5	100	1:40
上水平 (1)	80	4	80	1:30
零水平 (0)	60	3	60	1:20
下水平 (-1)	40	2	40	1:10
下星号臂 (-2)	20	1	20	1:4*
变化区间 $\Delta_j$	20	1	20	1:10

注: \* 理论计算下星号臂为 0, 试验中实际按 1:4 取值。

收稿日期: 2005-01-06 修订日期: 2005-03-25

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (No: 30200171)

作者简介: 徐金瑞 (1976-), 女, 陕西宝鸡人, 博士生, 研究方向为生物活性物质。广州 广东省农业科学院生物技术研究所农业部功能食品重点开放实验室, 510640。Email: xujr343@sina.com

通信作者: 张名位 (1967-), 男, 湖北荆州人, 博士, 研究员, 博士生导师, 研究方向为植物活性物质。广州 广东省农业科学院生物技术研究所农业部功能食品重点开放实验室, 510640。

Email: mw\_zhh@163.net

法是称取 2.0 g 黑大豆皮, 按试验设计条件, 用 2 mol/L 的盐酸调溶液 pH 值至 3.5, 水浴浸提后趁热过滤, 然后用 pH 3.5 的与提取相应浓度的乙醇溶液补充至提取前的体积, 备用。

### 1.3.2 花色苷的定量

参考董爱文等<sup>[10]</sup>的方法, 将适量提取液用相应浓度的 pH 3.5 的乙醇溶液定容至适当体积, 以对应的乙醇溶液作参比, 于 535 nm 处测  $A_{535\text{nm}}$  值, 其计算公式为:

$$MF = \frac{A_{535\text{nm}} \cdot V \cdot N}{98.2m}$$

式中  $MF$ ——种皮花色苷质量分数,  $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$ ;  
 $A_{535\text{nm}}$ ——吸光值;  $V$ ——定容体积, mL;  $N$ ——稀释倍数; 98.2——花色苷在 535 nm 处的平均消光系数;  
 $m$ ——黑大豆种皮质量, g。

### 1.3.3 总抗氧化能力(TAC)测定

采用 FRAP 法<sup>[11-13]</sup>, 实际加样量扩大了 20 倍, 即 0.2 mL 样品 + 0.6 mL 水 + 6 mL 预热至 37℃ 的 FRAP 工作液 (10 mmol/L TPTZ, 20 mmol/L  $\text{FeCl}_3$ , 0.3 mmol/L 醋酸钠缓冲液以 1:1:10 的比例混合), 摇匀后放置 4 min, 于 593 nm 测其吸光值; 另以 0.1~1.0 mmol/L  $\text{FeSO}_4$  的标准溶液代替样品作标准曲线, 得到回归方程  $y = 0.3117x - 0.006$ , 相关系数  $R^2 = 0.9994$ 。样品的总抗氧化能力以毫摩尔  $\text{FeSO}_4$ /每克提取物表示, 单位为  $\text{mmol} \cdot \text{g}^{-1}$ 。

### 1.3.4 邻菲罗啉- $\text{Cu}^{2+}$ -抗坏血酸- $\text{H}_2\text{O}_2$ 体系检测 $\text{OH} \cdot$ 清除能力

向测量管中依次加入 50  $\mu\text{L}$  待测样品 (用 50  $\mu\text{L}$  60% 乙醇作空白), 50  $\mu\text{L}$   $1 \times 10^{-3} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$   $\text{CuSO}_4$  溶液, 20  $\mu\text{L}$   $1 \times 10^{-3} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$  抗坏血酸溶液, 50  $\mu\text{L}$   $1 \times 10^{-3} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$  邻菲罗啉溶液, 780  $\mu\text{L}$  pH 9.0 的硼砂-硼酸溶液, 最后加入 50  $\mu\text{L}$  0.15%  $\text{H}_2\text{O}_2$  溶液启动发光, 每 6 s 记录一次发光值, 连续测量 8 次<sup>[14]</sup>。

### 1.3.5 邻苯三酚-鲁米诺-碳酸盐缓冲液体系检测 $\text{O}_2 \cdot$ 清除能力

向测量管中依次加入 10  $\mu\text{L}$  待测样品 (以 10  $\mu\text{L}$  60% 乙醇作空白), 20  $\mu\text{L}$   $1 \times 10^{-3} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$  邻苯三酚溶液, 970  $\mu\text{L}$  鲁米诺-pH 10.2 碳酸盐缓冲液混合液 (体积比 1:2) 启动发光, 每 6 s 记录一次发光值, 连续测量 8 次<sup>[14]</sup>。

### 1.3.6 $\text{H}_2\text{O}_2$ -鲁米诺-碳酸盐缓冲液体系检测 $\text{H}_2\text{O}_2$ 清除能力

向测量管中依次加入 50  $\mu\text{L}$  待测样品 (以 50  $\mu\text{L}$  60% 乙醇作空白), 50  $\mu\text{L}$  0.15%  $\text{H}_2\text{O}_2$  溶液, 900  $\mu\text{L}$  鲁米诺-pH 9.5 碳酸盐缓冲液混合液 (体积比为 1:17) 启动发光, 每 6 s 记录一次发光值, 连续测量 8 次<sup>[14]</sup>。

### 1.3.7 发光抑制率的计算

生物化学发光法测定自由基时, 一定浓度范围内发光强度 ( $CP$ ) 与自由基的数量呈正相关, 故可用  $CP$  表示自由基的产生量。清除自由基的物质可以降低  $CP$ , 根据对  $CP$  的抑制率 ( $IR$ ) 可判断物质清除自由基的能力。

一般以  $CP$  被抑制 50% 时对应的样品浓度  $IC_{50}$  值衡量样品清除自由基的能力。

$$IR = [(CP_{\text{对照}} - CP_{\text{样品}}) / CP_{\text{对照}}] \times 100\%$$

### 1.3.8 抑制 DPPH $\cdot$ 的能力

向 2 mL  $2 \times 10^{-4} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$  DPPH $\cdot$  溶液中加入 2 mL 样品 (空白用 60% 乙醇代替), 摇匀于室温下放置 30 min, 用无水乙醇作参比液, 于 517 nm 下测定其吸光值  $A_i$ ; 同时测定 2 mL  $2 \times 10^{-4} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$  DPPH $\cdot$  溶液与 2 mL 无水乙醇混合液的吸光值  $A_c$ ; 再测 2 mL 样品液与 2 mL 无水乙醇混合液的吸光值  $A_j$ , 根据以下公式计算样品对 DPPH $\cdot$  的抑制率<sup>[15]</sup>:

$$IR = [1 - (A_i - A_j) / A_c] \times 100\%$$

式中  $A_i$ ——加样品液时 DPPH $\cdot$  溶液的吸光值;  
 $A_j$ ——样品液在测定波长的吸光值;  $A_c$ ——未加样品液时 DPPH $\cdot$  溶液的吸光值。

## 2 结果与分析

### 2.1 黑大豆种皮花色苷提取的二次回归正交旋转试验结果

浸提温度、时间、乙醇浓度以及料液比等对黑大豆种皮花色苷的提取影响较大, 本研究以花色苷含量和总抗氧化能力为指标, 采用二次回归正交旋转设计对提取工艺进行了优化, 试验结果见表 2。

通过 DPS 数据分析软件对表 2 中的花色苷含量进行处理, 方差分析结果见表 3。由表 3 可知, 料液比和乙醇浓度的二次项对花色苷的提取在 0.01 水平达极显著, 乙醇浓度、浸提温度的二次项及料液比和乙醇浓度的交互作用在 0.05 水平显著, 各因素对提取时花色苷含量的影响大小顺序为: 料液比 > 乙醇浓度 > 提取温度 > 提取时间。由于各因素对提取时花色苷含量的影响不是简单的线性关系, 为了更明确各因子对其的影响, 采用 DPS 软件对表 2 中花色苷含量数据进行多元回归分析, 可得到如下回归数学模型:

$$Y_1 = 1.02783 + 0.07992X_1 + 0.05333X_2 + 0.10358X_3 + 0.17367X_4 - 0.08327X_1^2 + 0.04098X_2^2 - 0.19177X_3^2 - 0.01115X_4^2 + 0.03387X_1X_2 - 0.03600X_1X_3 + 0.07775X_1X_4 - 0.04712X_2X_3 + 0.04537X_2X_4 - 0.11400X_3X_4$$

回归方程  $F > F_{0.01}(14, 21) = 3.03$ , 即得到的回归方程在 0.01 水平显著。通过 DPS 软件的优化功能, 进一步可以得到黑大豆种皮花色苷的最佳提取工艺条件为, 浸提温度 60℃、提取时间 1 h、乙醇浓度 60%、料液比 1:40。对该优化条件进行试验验证, 在该最优条件下, 其粗提物得率 12.5%, 折算其种皮花色苷含量为 1.32 mg/g, 与回归数学模型估算的种皮中花色苷含量 1.38 mg/g, 二者相对差仅为 4.6%, 表明试验优化得到的工艺参数基本是可靠的, 可以为黑大豆种皮花色苷的工业化生产提供技术依据。

表 2 黑大豆种皮花色苷二次回归正交旋转组合设计试验及结果

Table 2 Results of quadric regression orthogonal rotary tests of anthocyanin of black soybean seed coat						
试验号	浸提温度 $X_1$	浸提时间 $X_2$	乙醇浓度 $X_3$	料液比 $X_4$	花色苷含量 $Y_1$ $/\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$	TAC $Y_2$ $/\text{mmol} \cdot \text{g}^{-1}$
01	1	1	1	1	1.321	1.017
02	1	1	1	-1	1.122	0.957
03	1	1	-1	1	1.236	1.005
04	1	1	-1	-1	0.608	0.756
05	1	-1	1	1	1.057	0.786
06	1	-1	1	-1	0.918	0.895
07	1	-1	-1	1	1.235	1.345
08	1	-1	-1	-1	0.359	0.351
09	-1	1	1	1	0.821	0.843
10	-1	1	1	-1	0.614	0.691
11	-1	1	-1	1	0.846	1.091
12	-1	1	-1	-1	0.297	0.312
13	-1	-1	1	1	0.798	0.795
14	-1	-1	1	-1	1.035	0.982
15	-1	-1	-1	1	0.324	0.576
16	-1	-1	-1	-1	0.245	0.301
17	-2	0	0	0	0.895	0.918
18	2	0	0	0	0.416	0.484
19	0	-2	0	0	1.056	0.865
20	0	2	0	0	1.249	1.113
21	0	0	-2	0	0.234	1.006
22	0	0	2	0	0.209	0.223
23	0	0	0	-2	0.512	0.476
24	0	0	0	2	1.376	1.179
25	0	0	0	0	0.998	1.021
26	0	0	0	0	1.094	1.094
27	0	0	0	0	0.929	0.945
28	0	0	0	0	0.98	0.929
29	0	0	0	0	1.142	0.998
30	0	0	0	0	1.064	0.98
31	0	0	0	0	1.035	1.142
32	0	0	0	0	0.968	1.064
33	0	0	0	0	1.045	1.035
34	0	0	0	0	1.026	1.104
35	0	0	0	0	0.972	1.047
36	0	0	0	0	1.081	1.023

表 3 黑大豆种皮花色苷含量方差分析

Table 3 Variance analysis of anthocyanin content of black soybean seed coat					
变异来源	平方和	自由度	均方	比值 $F$	显著水平 $P$
$X_1$	0.1533	1	0.1533	3.58657	0.07211
$X_2$	0.0683	1	0.0683	1.59736	0.22013
$X_3$	0.2575	1	0.2575	6.02538	0.02291*
$X_4$	0.7238	1	0.7238	16.93706	0.00049**
$X_1^2$	0.2219	1	0.2219	5.19194	0.03326*
$X_2^2$	0.0537	1	0.0537	1.25739	0.2748
$X_3^2$	1.1768	1	1.1768	27.53651	0.00003**
$X_4^2$	0.004	1	0.004	0.09302	0.76338
$X_1X_2$	0.0184	1	0.0184	0.42961	0.5193
$X_1X_3$	0.0207	1	0.0207	0.4852	0.49372
$X_1X_4$	0.0967	1	0.0967	2.26316	0.14738
$X_2X_3$	0.0355	1	0.0355	0.83141	0.37221
$X_2X_4$	0.0329	1	0.0329	0.77081	0.3899
$X_3X_4$	0.2079	1	0.2079	4.86545	0.03868*
回归	3.0716	14	0.2194	$F = 5.134$	
剩余	0.8975	21	0.0427	$F > F_{0.01}(14, 21) = 3.03$	
总和	3.969	35			

注: \* 表示在 0.05 水平显著, \*\* 表示在 0.01 水平显著。

2 2 花色苷含量与总抗氧化能力的相关性

由表 2 中花色苷含量和总抗氧化能力测定结果,可绘制二者之间的关系曲线(见图 1)。由图 1 可知,黑大豆种皮的总抗氧化能力与其花色苷含量存在极显著的线性相关性,相关系数达到 0.8387 ( $P < 0.01$ ),表明黑大豆种皮的抗氧化作用主要与其所含花色苷类物质有关,即黑大豆种皮花色苷类物质可能是其抗氧化的主要物质基础。

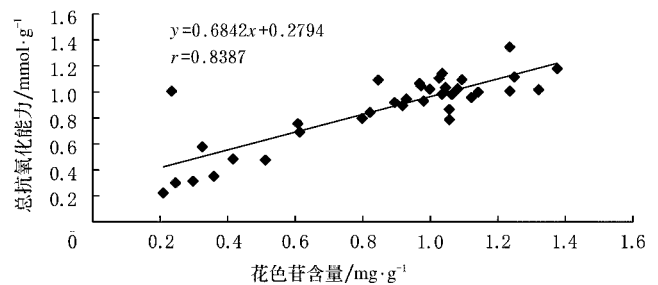


图 1 黑大豆种皮花色苷含量与总抗氧化能力的相关性

Fig 1 Correlation of anthocyanin contents and total antioxidant capacity

2 3 黑大豆种皮花色苷提取物体外清除自由基作用

为了进一步证明花色苷类物质的抗氧化作用,本研究通过体外抗氧化试验,测定了黑大豆皮中花色苷提取物对生物体内常见的氧自由基  $\text{OH} \cdot$ 、 $\text{O}_2 \cdot^-$ 、 $\text{H}_2\text{O}_2$  以及有机自由基  $\text{DPPH} \cdot$  的清除能力,并与维生素 C 标准品进行了对照。清除能力分别以花色苷提取物和维生素 C 标准品对自由基的清除率达到 50% 时对应的浓度  $\text{IC}_{50}$  值表示,结果见表 4。

表 4 黑大豆种皮花色苷和维生素 C 清除自由基能力比较

	清除 $\text{O}_2 \cdot^-$ 能力 $\text{IC}_{50}$ $/\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$	清除 $\text{OH} \cdot$ 能力 $\text{IC}_{50}$ $/\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$	清除 $\text{H}_2\text{O}_2$ 能力 $\text{IC}_{50}$ $/\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$	清除 $\text{DPPH} \cdot$ 能力 $\text{IC}_{50}$ $/\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$
	of Vitamin C and anthocyanin of black soybean seed coat			
花色苷提取物	40.6	13.9	24.2	5.2
标准维生素 C	88.2	21.8	0.9	7.3

$\text{IC}_{50}$  值越小,表示清除能力越大;相反,  $\text{IC}_{50}$  值越大,则表示清除能力越小。表 4 的结果显示,除过氧化氢外,黑豆皮中的花色苷类物质对  $\text{OH} \cdot$ 、 $\text{O}_2 \cdot^-$  以及有机自由基  $\text{DPPH} \cdot$  的清除能力均明显强于维生素 C,其对三种自由基的清除能力分别是维生素 C 的 1.6 倍、2.2 倍、1.4 倍,由此进一步证实黑豆皮中花色苷具有较强的抗氧化作用。

3 结 论

1) 以黑大豆种皮为材料,采用二次回归正交旋转组合设计对其花色苷的提取工艺进行优化,得到最佳的提取工艺参数是:提取温度 60、提取时间 1 h、乙醇浓度 60%、料液比 1:40。

2) 对黑大豆种皮花色苷含量与总抗氧化能力之间的相关性分析表明,二者之间存在极显著的线性关系。

( $P < 0.01$ ), 且黑大豆种皮花色苷提取物表现出较强的清除 $\text{OH}^\cdot$ 、 $\text{O}_2^\cdot$ 及有机自由基DPPH $^\cdot$ 的体外抗氧化作用, 其清除能力分别是维生素C的1.6倍、2.2倍、1.4倍。

#### [参 考 文 献]

- [1] 常汝镇. 中国黑豆资源及其营养和药用价值[J]. 中国食物与营养, 1998, (5): 38-39.
- [2] 宋国安. 黑色食品开发前景广阔[J]. 山东食品科技, 2000, (6): 2-3.
- [3] 凌关庭. 抗氧化食品与健康[M]. 北京: 化学工业出版社, 2004.
- [4] 陆国权, 吴小容. 黑豆皮色素的提取及其理化性质的研究[J]. 中国粮油学报, 1997, 12(3): 53-58.
- [5] 唐传核. 植物生物活性物质[M]. 北京: 化学工业出版社, 2005.
- [6] Takanori Tsuda, Kaoru Shiga, Katsumi Ohshima. Inhibition of lipid peroxidation and the active oxygen radical scavenging effect of anthocyanin pigments isolated from *Phaseolus vulgaris* L. [J]. Biochemical Pharmacology, 1996, 52(7): 1033-1039.
- [7] 肖湘, 卢刚, 张捷, 等. 黑色食品色素清除活性氧功效及抗氧化活性[J]. 药物生物技术, 2000, 7(2): 112-115.
- [8] 龙盛京. 黑豆色素及多糖对全血化学发光和活性氧的抑制作用[J]. 食品科学, 1999, (9): 9-12.
- [9] 袁志发, 周静芋. 试验设计与分析[M]. 北京: 高等教育出版社, 2000.
- [10] 董爱文, 向中, 李立君, 等. 爬山虎红色素的定性定量分析[J]. 无锡轻工大学学报, 2003, 22(6): 99-102.
- [11] Benzie I F F, Strain J J. The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of "antioxidant power": the FRAP assay[J]. Analytical Biochemistry, 1996, 239: 70-76.
- [12] Tsai Pi-Jen, Huang Hsiao-Ping. Effect of polymerization on the antioxidant capacity of anthocyanins in Roselle[J]. Food Research International, 2004, 37(4): 313-318.
- [13] Griffin S P, Bhagooli R. Measuring antioxidant potential in corals using the FRAP assay [J]. Journal of Experimental Marine Biology and Ecology, 2004, 302: 201-211.
- [14] Lu Y, Foo L Y. Antioxidant and radical scavenging activities of polyphenols from apple pomace [J]. Food chemistry, 2000, 68: 81-85.
- [15] Bernard Fauconneau, Pierre Waffo-Teguo, Francois Hugue, et al. Comparative study of radical scavenging and antioxidant properties of phenolic compound from *Vitis Vinifera* cell cultures using in Vitro tests[J]. Life sciences, 1997, 61(21): 2103-2110.

## Extraction and antioxidant of anthocyanin of black soybean seed coat

Xu Jinrui<sup>1,2</sup>, Zhang Mingwei<sup>1</sup>, Liu Xinghua<sup>2</sup>, Lu Guangxin<sup>1</sup>, Chi Jianwei<sup>1</sup>, Sun Ling<sup>1</sup>

(1. Key Laboratory of Functional Food, Ministry of Agriculture, Biotechnology Research Institute, Guangdong Academy of Agricultural Sciences, Guangzhou 510640, China; 2. College of Food Science and Engineering, Northwest Sci-Tech University of Agriculture and Forestry, Yangling 712100, China)

**Abstract:** The technology for extracting anthocyanins of black soybean seed coat was optimized by quadric regression orthogonal rotary tests. The results showed that the optimum extraction parameters were as follows: temperature 60 °C, time 1 h, ethanol concentration 60%, the ratio of black soybean seed coat mass to ethanol volume 1:40. It also showed that the most significant ( $P < 0.01$ ) correlations existed between total antioxidant capacity and anthocyanins contents. Moreover, the scavenging free radical capacity of anthocyanins in black soybean seed coat to  $\text{OH}^\cdot$ ,  $\text{O}_2^\cdot$  and DPPH $^\cdot$  was 1.6 times, 2.2 times and 1.4 times as large as that of Vitamin C, respectively.

**Key words:** black soybean seed coat; anthocyanins; extraction; antioxidation