

睡莲花露主要成分及抗氧化作用

程茵, 马光耀, 赵莹, 盛玉辉, 李雪青, 周扬, 宋希强, 王健*

(海南大学 热带农林学院/环南海陆域生物多样性研究中心, 海南 海口 570228)

摘要: 以‘蓝鸟’睡莲 (*Nymphaea* ‘Blue Bird’) 花露为材料, 采用液相色谱-质谱 (liquid chromatograph-mass spectrometer, LC-MS) 法, 分析睡莲花露的主要成分, 同时采用 1,1-二苯基-2-三硝基苯肼 (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl, DPPH) 法、铁离子还原/抗氧化能力 (ferric reducing ability of plasma, FRAP) 法、总抗氧化能力 (total peroxyl radical-trapping antioxidant parameter, TRAP) 法测定睡莲花露的抗氧化能力。代谢成分分析结果表明, 睡莲花露的主要成份有葡萄糖酸、马来酸甲麦角新碱、单半乳糖甘油二酯、硫代异鼠李糖甘油二酯、1-十六酰-SN-丙三醇-磷酸胆碱、东莨菪内酯、威严仙皂苷 C、葡萄糖醛酸、槲皮素、肌醇半乳糖苷和香豆素等多种物质。抗氧化能力测试表明, DPPH 法中 350 μL 睡莲花露的自由基清除率为 $(85.19 \pm 1.55) \%$; FRAP 法中测定的睡莲花露抗氧化能力相当于 6.35 mmol/L 的 FeSO_4 的抗氧化能力; TRAP 法中花露加入量与 TRAP 值呈线性相关, 5 μL 的睡莲花露加入量其抗氧化能力相当于 1.425 2 mmol/L 的抗坏血酸钠。

关键词: 睡莲花露; 代谢成分; 抗氧化性; DPPH法; 铁离子还原/抗氧化能力法; 总抗氧化能力法

The Main Metabolites and Antioxidation Effect of Waterlily Stigmatic Exudate

CHENG Yin, MA Guang-yao, ZHAO Ying, SHENG Yu-hui, LI Xue-qing, ZHOU Yang, SONG Xi-qiang,
WANG Jian*

(Institute of Tropical Agriculture and Forestry/Research Centre for Terrestrial Biodiversity of the South China Sea, Hainan University, Haikou 570228, Hainan, China)

Abstract: The main components of the stigmatic exudate of *Nymphaea* ‘Blue Bird’ were analyzed by the LC-MS method with MS-Dial software, and three methods of DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl), FRAP (ferric reducing ability of plasma) and TRAP (total peroxyl radical-trapping antioxidant parameter) were used to determine the antioxidant capacity of waterlily stigmatic exudate. Results showed that the waterlily stigmatic exudate was composed of D-gluconic acid, methergine, monoglycosyldiglycerides, sulphoquinovosyldiglyceride, lysoPC 18:2, 7-hydroxy-6-methoxychromen-2-one, cauloside C, glucuronic acid, quercetin, coumarin and other metabolites. The results of the antioxidant capacity showed that the free radical scavenging activity of 350 μL waterlily stigmatic exudate was $(85.19 \pm 1.55) \%$ by the DPPH method. The antioxidant capacity of waterlily stigmatic exudate was equivalent to the antioxidant capacity of 6.35 mmol/L FeSO_4 by FRAP method. In the TRAP method, the amount of stigmatic exudate was linearly correlated with the TRAP value, and the antioxidant capacity of 5 μL stigmatic exudate was equivalent to 1.425 2 mmol/L ascorbic acid.

Key words: waterlily stigmatic exudate; metabolites; antioxidant capacity; 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) method; ferric reducing ability of plasma (FRAP) method; total peroxyl radical-trapping antioxidant parameter (TRAP) method

基金项目: 海口市重点科技计划项目(2016-022); 海南省重点研发计划项目(ZDYF2017025)

作者简介: 程茵(1996—), 女(汉), 本科, 研究方向: 园艺(花卉与景观设计)。

* 通信作者: 王健(1977—), 男(汉), 教授, 博士, 研究方向: 园林植物。

引文格式:

程茵,马光耀,赵莹,等.睡莲花露主要成分及抗氧化作用[J].食品研究与开发,2019,40(8):108-114

CHENG Yin, MA Guangyao, ZHAO Ying, et al. The Main Metabolites and Antioxidation Effect of Waterlily Stigmatic Exudate [J]. Food Research and Development, 2019, 40(8): 108-114

睡莲(*Nymphaea tetragona*),又称为水芹花、子午莲、瑞莲、水浮花、水洋花或小莲花等,是睡莲目(Nymphaeales)睡莲科(Nymphaeaceae)睡莲属(*Nymphaea*)植物^[1],属多年生水生草本花卉^[2],广泛分布于温带、亚热带及热带地区。根据生态学特征,睡莲可以分为热带睡莲和耐寒睡莲^[3]。睡莲是一种著名的水生花卉,拥有美丽的花朵、优美的姿态、迷人的芳香,招人喜爱,具有很高的观赏价值,是园林水景配置中不可缺少的素材^[4]。

由于睡莲具有白天开花夜晚关闭的特性,被人们称之为“花中的睡美人”。近年来国内外对睡莲属植物的研究主要集中在植物的资源分布和分类、化学成分及成分的药理作用和应用、生物活性、对水体的净化效应以及切花保鲜几个方面。研究表明我国原产种有5个,经育种专家长期的选育,现已有品种上千个。研究发现,睡莲属植株主要成分包括黄酮类、酚酸类、生物碱类、木脂素和多糖类等物质,具备抗氧化、抗菌、抗炎、抗辐射、降血糖、降血压等多种生物活性^[5]。研究还发现睡莲的根能汲取水中的重金属有毒物质如铅、汞等,可以使污染的水体得到有效的净化^[6]。此外,睡莲植物还可以作为鲜切花和工艺干花材料,研究表明适当浓度的赤霉素处理利于睡莲的保鲜,能增大花茎和使茎干挺直,从而延长其开花寿命,具有较高的经济价值^[7]。

睡莲的花露是睡莲花朵自然分泌出来的液体物质,可以聚集在睡莲雌蕊上,是睡莲吸引昆虫授粉的主要营养物质,具有甜蜜的味道和芳香的气味,是一种天然的植物精华。一朵睡莲可以产生多达20 mL的花露,具有作为高端营养饮品开发的潜力。但是睡莲花露的主要活性成分目前还不清楚,也不了解其活性功能,特别是其抗氧化能力的强弱,这限制了它的开发和利用。

目前对于睡莲植物提取物抗氧化活性的研究也取得了一些成果^[7]。已有研究证明蓝睡莲植株中含有槲皮素等多种多酚物质,能延长食品的货架期,具有抗氧化、抗衰老、降血脂及降糖等多种生物活性,可作为抗氧化剂和抗糖尿病的物质成分,在功能性食品、病理方面及化妆品等行业有一定的应用价值^[8]。为进一步了解睡莲花露的主要活性成分,并弄清其抗氧化能力强弱,本研究采用液相色谱-质谱法(liquid chromatograph-

mass spectrometer, LC-MS)分析其主要的活性成分,并采用3种方法测定其抗氧化能力,以期对睡莲花露的开发利用提供理论依据。

1 材料与试剂

1.1 材料与试剂

睡莲花露:采自海南荣丰花卉有限公司的‘蓝鸟’睡莲(*Nymphaea* ‘Blue Bird’)。2,4,6-三吡啶基三嗪(2,4,6-tripyridyl-s-triazine, TPTZ)、1,1-二苯基-2-三硝基苯胍(1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl, DPPH)、2,2'-联氮-二(3-乙基-苯并噻唑-6-磺酸)二铵盐[2,2'-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid), ABTS]、2,2'-偶氮-二异丁基脒二盐酸盐(2,2'-azobis[2-methylpropionamide] dihydrochloride, AAPH):Sigma公司;硫化亚铁(六水)、盐酸、甲醇、乙醇、抗坏血酸钠等均为国产分析纯;上海国药集团。

1.2 仪器与设备

Lambda 25 紫外可见分光光度计:美国PerkinElmer公司;HHS 型恒温水浴锅:上海博讯实业医疗设备厂;PHS-3E 酸度计:上海佑科仪器仪表有限公司;AB 5600+ Triple TOF 质谱仪:美国 AB SCIEX 公司。

2 方法

2.1 睡莲花露的采集及前期处理

于晴朗天气早上8:00~10:00,用胶头滴管从睡莲子房中吸取自然分泌产生的花露,在超净工作台上利用高压灭菌过的滤膜(孔径0.22 μm)过滤,得到纯净花露,储存于4℃备用。

2.2 睡莲花露主要代谢成分的测定

吸取200 μL花露样品到EP管中,加入800 μL甲醇/乙腈(1:1,体积比)溶液,涡旋混合30 s,4℃水浴超声破碎10 min,放入液氮1 min,室温(25℃)复温,4℃水浴超声破碎10 min(重复3次),-20℃静置1 h,将样本4℃、13 000 r/min离心15 min;取上清于EP管中,真空抽干,加入150 μL 50%甲醇水溶液涡旋30 s溶解,4℃水浴超声10 min,13 000 r/min离心15 min,去上清进行上机检测。色谱检测采用梯度混合,流动相条件为:A:水:乙腈:甲酸(900:100:1);B:乙腈:水:甲酸(900:100:1);柱温35℃,上样量10 μL。采用AB

5600+ Triple TOF 质谱仪,在控制软件(Analyst TF 1.7, AB Sciex)控制下基于 IDA 功能进行一级、二级质谱数据采集,一级扫描范围 m/z (50~1 000),二级扫描范围 m/z (25~1 000),一级轰击能量:10 eV,二级轰击能量:30 eV。ESI 离子源参数设置如下:雾化气压(GS1):55 Pa,辅助气压:55 Pa,气帘气压:40 Pa,温度:550 ℃(正离子模式);450 ℃(负离子模式),喷雾电压:±5 500 V(正负离子模式)。得到的数据首先使用 Analysis Base File Converter 转换为.abf 格式,再通过 MSDIAL 软件,在对转换成的 abf 文件里对代谢物离子峰进行峰寻找、峰提取、鉴定等数据处理,同时基于一级与二级图谱搜索 MassBank、MassBank of North America (MoNA)、Respect、Global Natural Products Social Molecular Networking (GNPS)数据库,得到鉴定结果,最终得出花露主要的成分。

2.3 睡莲花露抗氧化能力的测定

2.3.1 DPPH 法测定

DPPH 测试液的配制方法参照宾宇波等^[9]的方法:称取 DPPH 0.017 g,加入 100 mL 的甲醇进行充分溶解。取 2 mL DPPH 溶液加入到小试管中,加 1 mL 甲醇试剂,混合之后,在 517 nm 处测 A 值(空白对照组),记为 A_0 。另外取 2 mL DPPH 测试液,分别加入 250、300、350、400 μL 睡莲花露,加入甲醇补齐到 3 mL,在 517 nm 处的吸光值 A ,每个处理进行 3 次重复试验。根据以下公式求得睡莲花露对 DPPH 自由基的清除率^[10-12]。

$$\text{清除率}/\%=(A_0-A)/A_0 \times 100$$

式中: A_0 为未加样品的 DPPH 测试液的吸光值; A 为加入样品后测得的吸光值。

2.3.2 FRAP 法测定

FRAP 工作液的配制参照郭长江等^[13]的方法:①称取 408 g 乙酸钠(三水),加 16 mL 冰醋酸,定容至 100 mL (调整 pH=3.6)。②称取 TPTZ 粉末 31.2 mg,溶于 10 mL 40 mmol/L HCl 溶液中,溶液澄清透明。③称取 1.35 g $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$,用 25 mL 水溶解,取 1 mL 溶液加入 9 mL 的去离子水,得到 10 mL 溶液。将以上①②③步配好的 100、10、10 mL 3 种溶液混合,得到 FRAP 工作液。称取 695 mg $\text{FeSO}_4 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$,用去离子水定容到 25 mL,此浓度为 100 mmol/L,然后分别稀释成 1、2、3、4、5、10 mmol/L 的浓度溶液,取 2 mL 的 FRAP 工作液与 3 mL 的不同浓度的 FeSO_4 溶液进行反应,测定反应后溶液的吸光度 A 值,用 3 mL 乙醇和 2 mL FRAP 工作液的混合溶液作为空白组进行调零,绘制 FRAP 标准曲线。最后测定 3 mL 睡莲花露与 2 mL FRAP 工作液反应后溶液的吸光度,代入标准曲线的回归方程,得到睡莲花露的抗氧化能力(以达到同样吸光度所需的 FeSO_4 毫摩尔

数表示)^[14-15],并且进行 3 次重复试验。

2.3.3 TRAP 法测定

AAPH 与 ABTS 的醋酸盐缓冲液的配制参照田玉红等^[16];称取少量醋酸钠,加入醋酸调节 pH 值约 4.3,用此醋酸盐缓冲液将 0.02 g ABTS 和 0.27 g AAPH 分别溶解,再一起定容到 500 mL。然后取 5、10、15、20、25、30、35 μL 的睡莲花露,分别加入到 5 mL 的配制的混合液中,然后在 734 nm 下测吸光度值,以 5 mL 的 1 mmol/L 抗坏血酸钠溶液作为标准参照,根据以下公式求得 TRAP 值后,绘制花露加入量与 TRAP 值的线性相关曲线^[16-17]。

$$\text{TRAP 值}(\text{mmol/L})=(A_{\text{样}}-A_0)/(A_{\text{标准}}-A_0) \times C_{\text{标准}}$$

式中: $A_{\text{样}}$ 是睡莲花露测得的吸光值; A_0 是空白对照液的吸光值(此处 $A_0=0$), $C_{\text{标准}}$ 是标准参照的浓度(此处 $C_{\text{标准}}=1$), $A_{\text{标准}}$ 是标准参照(抗坏血酸钠)的吸光值,TRAP 值是指相当于多少 mmol/L 的抗坏血酸钠。

3 结果与分析

3.1 睡莲花露主要成分

对代谢物离子峰进行峰寻找、峰提取及鉴定,得出睡莲花露的正离子峰数有 167,负离子峰数有 205,结果如表 1 所示。

表 1 代谢物质保留峰数目

Table 1 The number of retention peaks of metabolic substances

成份	正离子峰	负离子峰
睡莲花露	167	205

由睡莲花露成分分析得到的正负离子流图见图 1、图 2。

由质谱分析得到睡莲花露的主要成分里面含有 D-葡萄糖酸、3,9,10-三羟基-4-(甲氧基甲基)-1,7-二甲基-6-氧代苯并[b][1,4]苯并二氧杂环庚二烯-2-羧酸、马来酸甲麦角新碱、硫代异鼠李糖甘油二酯、单半乳糖甘油二酯、威严仙皂苷 C、槲皮素、葡萄糖醛酸、肌醇半乳糖苷、3-(8-二氧基)苯酚等多种化合物。包括多糖类、酸类、萜类、酯类、黄酮类以及氨基酸和维生素类物质,结果如表 2 所示。

3.2 DPPH 法测定试验结果

结果表明:睡莲花露对 DPPH 自由基存在清除能力,花露加入体积 250 μL 和 300 μL 以及 350 μL 其吸光值差异达到极显著水平,而 350 μL 与 400 μL 之间差异不显著,由此可得花露加入量到 350 μL 时,DPPH 自由基清除率达到稳定水平,通过公式计算清除率为 $(85.19 \pm 1.55)\%$,如图 3 所示。

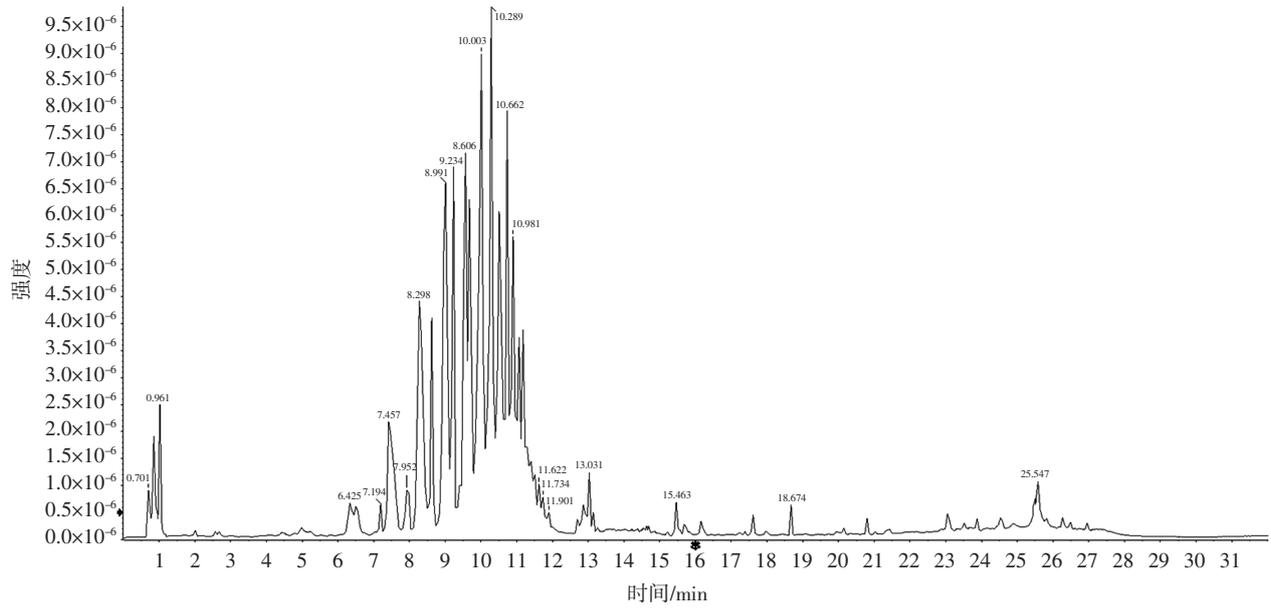


图 1 睡莲花露成份正离子模式总离子流图

Fig.1 Total ion flow diagram of positive ion mode of waterlily stigmatic exudate

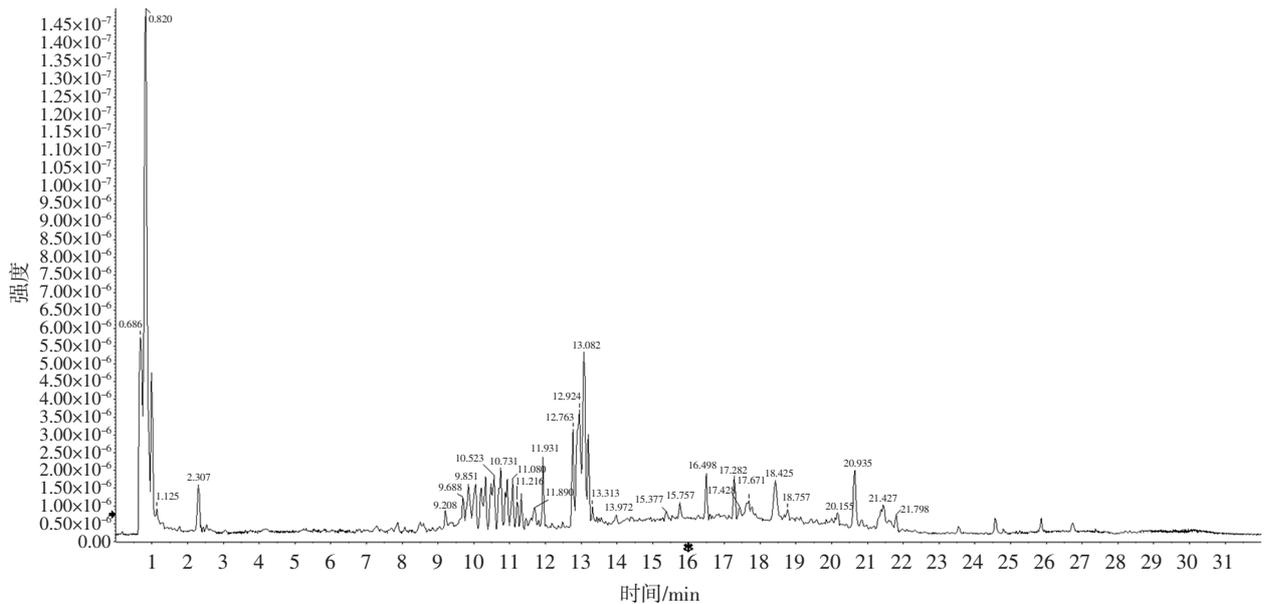


图 2 睡莲花露成份负离子模式总离子流图

Fig.2 Total ion flow diagram of negative ion mode of waterlily stigmatic exudate

表 2 睡莲花露的主要代谢成分

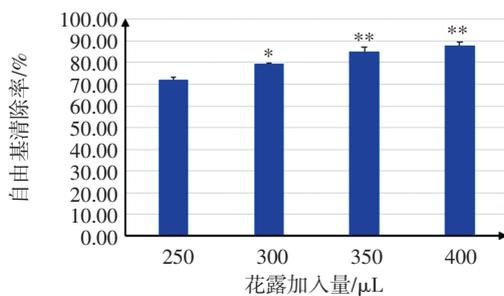
Table 2 The main metabolites of waterlily stigmatic exudate

保留时间/min	化合物名称	分子式	化合物成相对含量/%
0.803 0	D-葡萄糖酸	C ₆ H ₁₂ O ₇	12.01
0.834 0	3,9,10-三羟基-4-(甲氧基甲基)-1,7-二甲 基-6-氧代苯并[b][1,4]苯并二氧杂环庚-2-烯- 2-羧酸	C ₁₈ H ₁₀ O ₉	11.21
10.510 8	马来酸甲麦角新碱	C ₂₄ H ₂₉ N ₅ O ₆	7.57
10.233 0	单半乳糖甘油二酯		5.97
10.296 8	硫代异鼠李糖甘油二酯		5.27
9.233 7	1-十六酰-SN-丙三醇-磷酸胆碱		5.20

续表 2 睡莲花露的主要代谢成分

Continue table The main metabolites of waterlily stigmatic exudate

保留时间/min	化合物名称	分子式	化合物成分相对含量/%
0.803 0	东莨菪内酯	C ₁₀ H ₈ O ₄	3.43
10.930 7	威严仙皂 C 苷	C ₄₁ H ₆₆ O ₁₃	3.27
0.803 0	葡萄糖醛酸	C ₆ H ₁₀ O ₇	2.30
9.812 1	槲皮素	C ₁₅ H ₁₀ O ₇	2.68
6.446 3	猪去氧胆酸	C ₂₄ H ₄₀ O ₄	1.6
0.834 0	麦芽三糖	C ₁₈ H ₃₂ O ₁₆	1.39
0.803 0	4,4'-二羟基二苯硫醚	C ₁₂ H ₁₀ O _{2S}	1.15
0.834 0	阿瑞吡坦	C ₂₃ H ₂₁ F ₇ N ₄ O ₃	1.06
25.856 4	软脂酸(十六烷酸)	C ₁₆ H ₃₂ O ₂	0.82
20.185 2	土木香内酯	C ₁₅ H ₂₀ O ₂	0.83
11.324 2	大豆皂苷	C ₄₈ H ₇₈ O ₁₈	0.69
21.438 8	十二烷基苯磺酸	C ₁₈ H ₃₀ O _{3S}	1.30
0.834 0	乙酸异丁酯	C ₆ H ₁₂ O ₂	0.55
0.834 0	可的松	C ₂₁ H ₂₈ O ₅	0.45
17.717 4	苯甲酰-β-丙氨酸	C ₁₀ H ₁₁ NO ₃	0.33
20.124	3-(8-二氧基)苯酚	C ₁₄ H ₁₈ O ₂	0.28
0.834 0	氟丙菊酯	C ₂₆ H ₂₁ F ₆ NO ₅	0.45
24.817 5	亚油酸	C ₁₈ H ₃₂ O ₂	0.26
0.772 3	谷氨酰胺	C ₅ H ₁₀ N ₂ O ₃	0.15
11.930 5	维生素 B(叶酸)	C ₁₉ H ₁₉ N ₇ O ₆	0.13
4.214 1	色氨酸	C ₁₁ H ₁₂ N ₂ O ₂	0.17
10.455 3	L-瓜氨酸	C ₆ H ₁₃ N ₃ O ₃	0.47
20.041 2	十二酰异丙醇胺	C ₁₅ H ₃₁ NO ₂	0.37
24.475 7	十二环吗啉	C ₁₈ H ₃₅ NO	0.27
15.573 7	十二烷基二甲基氧化胺	C ₁₄ H ₃₁ NO	0.25
25.517 3	邻苯二甲酸二丁酯	C ₁₆ H ₂₂ O ₄	0.40
12.975 4	香豆素	C ₉ H ₆ O ₂	0.11



* 表示差异显著, $p < 0.05$; ** 表示差异极显著, $p < 0.01$ 。

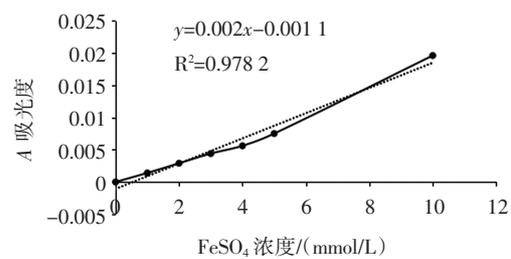
图 3 不同花露体积加入量对清除率的影响

Fig.3 The free radical scavenging activity of different volumes of waterlily stigmatic exudate

3.3 FRAP 法测定试验结果

FeSO_4 标准曲线见图 4。

由图 4 可知, FeSO_4 浓度与 A 吸光度呈正向线性相关, 回归方程为 $y = 0.002x - 0.0011$, $R^2 = 0.9782$ 。加入样品反应测得的 A 的平均值 = 0.0116, 根据标准曲线可以求得 $y = 6.35$, 即花露抗氧化能力相当于 6.35 mmol/L

图 4 FeSO_4 标准曲线Fig.4 The standard curve of FeSO_4

的 FeSO_4 。

3.4 TRAP 法测定试验结果

通过 TRAP 法测定睡莲花露的氧化能力, 见图 5。

由图 5 可知, 睡莲花露样的 TRAP 值与花露加入的体积呈正向线性相关, $y = 0.0399x + 1.2219$, R^2 达到 0.9939。花露不同体积的加入量其抗氧化能力可以用抗坏血酸钠的浓度表示, 其中 5 μL 睡莲花露其抗氧化能力相当于 1.4252 mmol/L 的抗坏血酸盐, 且随着花

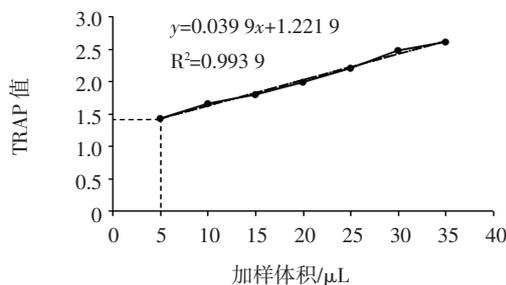


图5 加样体积对 TRAP 值的影响

Fig.5 The effect of sample volume on TRAP value

露体积的增加,抗氧化能力线性上升。

4 结论与讨论

综上所述,睡莲花露主要成分包括 D-葡萄糖酸、硫代异鼠李糖甘油二酯、威严仙皂苷 C、二氢叶酸还原酶抑制剂、槲皮素、葡萄糖醛酸、肌醇半乳糖苷、3-(8-二氧基)苯酚、香豆素等多种化合物,大多数为酚酸类、萜类、酯类、黄酮类、多糖类以及氨基酸和维生素类物质。通过 3 种方法对睡莲花露抗氧化能力的测定得到: DPPH 法中,睡莲花露对 DPPH 自由基的清除率达到 85%; FRAP 法中, 2 mL 的睡莲花露的抗氧化能力相当于 6.35 mmol/L 的 FeSO₄; TRAP 法中, 5 μL 睡莲花露的抗氧化能力相当于 1.425 2 mmol/L 的抗坏血酸钠,综合来看,睡莲花露的抗氧化能力较强。

睡莲花露的主要成分中葡萄糖醛酸属于多糖类物质,是葡萄糖的氧化产物,是肝脏解毒的物质之一,具有重要的生物活性^[18]。槲皮素属于黄酮醇类物质^[19],具有抗氧化、降血压、抗癌杀菌等多种生物活性^[20]。另外成份中含有的威严仙皂苷、大豆皂苷等皂苷类物质,具有溶血,降低血脂等药用功能^[21]。另外成分里的香豆素(coumarin),其衍生物具有抗氧化、抗癌等多种生理活性^[22]。因此从成分上来看,睡莲花露具备较多的生物活性,也有一定的抗氧化能力。

DPPH 法可以测定提取物中的黄酮类、酚类、萜类等有效成分的抗氧化活性,包括多种植物所含的多糖和挥发性油的抗氧化活性^[23]。由试验结果知, 350 μL 睡莲花露对 DPPH 自由基的清除率为(85.19±1.55)%,与 100 μL 的 1 g/mL 淫羊藿提取液抗氧化性大小相当^[10],具有较强的抗氧化作用。

FRAP 法的试验原理是 Fe³⁺ 与 TPTZ 溶液结合后可被样品中还原性物质还原为 Fe²⁺ 的形式,并且溶液会变成蓝色,在 593 nm 处吸光值达到最大。试验结果可知:睡莲花露抗氧化能力相当于 6.35 mmol/L 的 FeSO₄ 的抗氧化能力,已有研究表明浓度 10% 左右的鲜枣的果肉 FRAP 值为 6.98±0.29,浓度 10% 猕猴桃的

果肉 FRAP 值为 4.38±0.20^[13],由此可以看出,睡莲花露的抗氧化性与鲜枣果肉和猕猴桃果肉这类高维生素 C 含量的水果相当,具有较强的抗氧化能力。

TRAP 法是通过样品的抗氧化成分与 ABTS 稳定的自由基反应后的溶液在 735 nm 处的吸光值会变小,以抗坏血酸盐作为标准参照,从而定量测出其总的抗氧化值,即 TRAP 值越大,表示抗氧化能力越大。试验得到 5 μL 的睡莲花露测得 TRAP=1.425 2,相当于 1.425 2 mmol/L 的抗坏血酸盐。研究表明,市场上销售的新鲜啤酒,其 80 μL 的加入量得到 TRAP=1.056^[16],可知睡莲花露的抗氧化能力强于啤酒。同时试验显示 TRAP 值与花露加入量有很强的线性关系,且需要的加入的样品量较低,因此可以作为未来检测睡莲花露抗氧化能力的有效方法。

需要注意的是,睡莲花露中检测出了马来酸甲麦角新碱^[24],该成分是麦角新碱的半合成衍生物,对子宫平滑肌有高度选择性,可用于产后或流产后预防和治疗由于子宫收缩无力或缩复不良所致的子宫出血,因此睡莲花露还有用于制造该类药物的开发潜力。因其特殊的药理作用,在开发花露食品时,应进一步确定其精确的含量,并考虑孕妇、冠心病、妊娠中毒症及高血压病患者禁止饮用。

参考文献:

- [1] 许瑞波,曹晓英,王明艳,等.睡莲叶黄酮的提取及其抑菌活性研究[J].食品科技,2009,34(4):190-192,197
- [2] 章玉平,罗剑雄,刘靖国. GA3 等 5 种植物生长调节剂对睡莲切花的保鲜效应[J].园艺学报,2004(3):392-394
- [3] 石凝,刘晓静,杜凤凤,等.热带睡莲鲜花中挥发油成分的 GC-MS 分析[J].植物资源与环境学报,2017,26(4):104-106
- [4] 张海平,房伟民,陈发棣,等.部分睡莲属植物形态性状的多样性分析[J].南京农业大学学报,2009,32(4):47-52
- [5] 赵军,徐芳,吉腾飞,等.睡莲属植物化学成分及生物活性研究进展[J].天然产物研究与开发,2014,26(1):142-147,141
- [6] 唐宇力,钱萍,张海珍,等. 8 种观赏水湿生植物对重金属 Cd 和 Pb 的吸收固定能力[J].环境工程学报,2017,11(9):5313-5319
- [7] 沈旭丹,吴月德,庞凤,等.几种植物提取物的抗氧化活性比较[J].杭州师范大学学报(自然科学版),2016,15(1):34-39
- [8] 景赞,曾维才,黄毅娜,等.蓝睡莲多酚类物质抗氧化与降糖作用的研究[J].食品科技,2010,35(7):237-241
- [9] 宾宇波. 铁皮石斛多糖结构及抗氧化性初步研究[D]. 北京:北京林业大学,2014
- [10] 陈玉霞,刘建华,林峰,等. DPPH 和 FRAP 法测定 41 种中草药抗氧化活性[J].实验室研究与探索,2011,30(6):11-14
- [11] 韦献雅,殷丽琴,钟成,等. DPPH 法评价抗氧化活性研究进展[J].食品科学,2014,35(9):317-322
- [12] OZAROWSKI M, KUJAWSKI R, MIKOTAJCZAK P, et al. Comparison of antioxidant activities of fractionated extracts from seedlings and

壳聚糖对牡蛎ACE抑制肽的脱腥工艺研究

张坦,梁山泉,杨敏,李萌,牟海津*

(中国海洋大学 食品科学与工程学院,山东 青岛 266003)

摘要:运用单因素试验优化牡蛎肽的酶解制备工艺,添加0.6%中性蛋白酶在pH7.0、50℃条件下酶解3h。应用1.0%壳聚糖溶液对优化后的牡蛎酶解液进行絮凝脱腥,4800 r/min离心15s即可达到显著的脱腥脱脂和杂质去除效果,固形物回收率80.5%,蛋白回收率79.5%,脂肪去除率达92.4%。得到透明无腥味的牡蛎多肽后,对多肽分子量进行分析,1000 Da以下的占93.1%,500 Da以下的约占49.7%。对牡蛎多肽的血管紧张素转换酶(angiotensin-converting enzyme, ACE)抑制活性进行研究,IC₅₀为0.475 mg/mL,为开发制备低分子量、高ACE抑制活性的脱腥牡蛎肽提供理论支持。

关键词:脱腥;壳聚糖;血管紧张素转化酶抑制肽;牡蛎;絮凝

Study on the Depurination Process of Oyster ACE Inhibitory Peptides by Chitosan

ZHANG Tan, LIANG Shan-quan, YANG Min, LI Meng, MOU Hai-jin*

(College of Food Science and Engineering, Ocean University of China, Qingdao 266003, Shandong, China)

Abstract: The single-factor experiment was used to optimize the preparation of peptides from oysters. Enzymatic hydrolysis reaction was performed at pH 7.0 and 50℃ by 0.6% of neutral protease for 3 h. The oyster hydrolysis was flocculated and deodorized by 1.0% chitosan solution. After centrifugation at 4800 r/min for 15 s, the significant effect of deodorization, degreasing and removing impurity was achieved. The solid content retention rate was 80.5%, and the protein retention rate was 79.5%. The fat clearance rate reached 92.4%. After obtained the pellucid oyster peptides without fishy smell, the molecular weight was analyzed. The peptides below 1000 Da accounted for 93.1% and below 500 Da accounted for 49.7%. The angiotensin-converting

基金项目:山东省自主创新及成果转化专项计划(2015ZDZX05003)

作者简介:张坦(1994—),女(汉),硕士研究生,研究方向:水产品加工。

*通信作者:牟海津(1973—),男,教授,博士,研究方向:海洋微生物工程。

- herb of *Chelidonium majus* L. using DPPH, ABTS and FRAP methods[J]. *Herba Polonica*,2016,62(4):22-38
- [13] 郭长江,杨继军,李云峰,等. FRAP法测定水果不同部分抗氧化活性[J]. *中国公共卫生*,2003(7):85-87
- [14] 郭长江,杨继军,韦京豫,等.两种方法测定坚果类食物抗氧化活性的比较[J]. *中国食品卫生杂志*,2004(2):135-136
- [15] 赵文恩,李茜倩. FRAP法测定大枣枣皮红色素的总抗氧化能力[J]. *郑州大学学报(工学版)*,2011,32(3):28-30,35
- [16] 田玉红,张宇昕,郝俊光. 啤酒抗氧化指标——TRAP值的测定方法及应用[J]. *酿酒科技*,2009(3):82-83,86
- [17] MANA C, CIAPPINI, FERNANDO S, et al. Determination of Antioxidant Capacity, Flavonoids, and Total Phenolic Content in Eucalyptus and Clover Honeys [J]. *Journal of Apicultural Science*, 2014,58(1): 103-111
- [18] 朱向明,俞颀,惠永正. 葡萄糖醛酸苷的合成研究进展[J]. *有机化学*,2000(2):146-154
- [19] 王胜超,张国刚,米文珍. 紫花苜蓿化学成分及药理活性的研究进展[J]. *沈阳药科大学学报*,2009,26(3):243-248
- [20] 汤晓,焦泽武,龚淑珍,等. 黄酮混合物体外抗氧化活性的相互作用[J]. *食品科技*,2013,38(2):198-206
- [21] 孙彦,龙瑞才,张铁军,等. 紫花苜蓿皂苷研究进展[J]. *草业学报*, 2013,22(3):274-283
- [22] 杨阳. 肉桂酸和香豆素类衍生物的合成及其抗氧化性能的研究[D]. 长春:吉林大学,2014
- [23] 梁蓉蓉,贾振斌,罗辉,等. DPPH在抗氧化活性评价中的应用[J]. *广东化工*,2014,41(20):57-58
- [24] 董凡,薛薇,李扬,等. 中国健康女性受试者单次及多次口服马来酸甲麦角新碱片剂的安全性和耐受性研究 [J]. *中国新药杂志*, 2018,27(5):549-553

收稿日期:2018-07-26