

基于广泛靶向代谢组学分析黑老虎种子中 氨基酸和脂质组分

高渐飞¹, 周玮², 刘妮¹, 杨艳³

(1. 贵州科学院 贵州省山地资源研究所, 贵阳 550001; 2. 贵州工业职业技术学院, 贵阳 550008;
3. 贵州省中国科学院天然产物化学重点实验室, 贵阳 550014)

摘要: 为探究黑老虎种子作为新兴植物油料资源的潜力, 利用广泛靶向代谢组学技术检测分析其氨基酸和脂质组分。结果表明: 在基于鉴定出的代谢物结构配置分类下, 黑老虎种子含脂质类、氨基酸及衍生物类化合物分别为 121 种和 89 种, 前者数量和相对含量(30.7%) 在 11 类成分中最高, 后者数量居其次, 相对含量(17.8%) 位于第三; 鉴定出 20 种基础氨基酸和 8 种人体必需氨基酸, 其中 *L*-脯氨酸、*L*-天冬氨酸、*L*-丝氨酸等 7 种药效氨基酸和 *L*-亮氨酸、*L*-苏氨酸、*L*-异亮氨酸、*L*-苯丙氨酸和 *L*-赖氨酸 5 种人体必需氨基酸含量较高; 黑老虎种子中富含亚油酸、 γ -亚麻酸、 α -亚麻酸等脂肪酸和以溶血磷脂酰胆碱 18:2 和 18:2(2*n* 异构) 为主的磷脂。黑老虎种子氨基酸类和脂质类组分丰富, 多种高度富集成分具有突出的营养功能、活性作用和药用功效, 在优质植物油脂开发等领域具有较高的价值。

关键词: 黑老虎种子; 氨基酸及衍生物; 脂肪酸; 磷脂; 利用价值

中图分类号: TQ646; TS222 文献标识码: A 文章编号: 1003-7969(2023)01-0087-07

Analysis of amino acids and lipids in *Kadsura coccinea* seed by widely targeted metabolomics

GAO Jianfei¹, ZHOU Wei², LIU Ni¹, YANG Yan³

(1. Guizhou Mountainous Resources Institute in Guizhou Academy of Sciences, Guiyang 550001, China;
2. Guizhou Industry Polytechnic College, Guiyang 550008, China; 3. The Key Laboratory of Chemistry for
Natural Products of Guizhou Province and Chinese Academy of Sciences, Guiyang 550014, China)

Abstract: In order to explore the potential of *Kadsura coccinea* seed as a new plant oil resource, the amino acids and lipids were detected and analyzed by widely targeted metabolomics. The results showed that under the classification based on the identified metabolite structure configuration, the *Kadsura coccinea* seed contained 121 lipid and 89 amino acid and derivative compounds, respectively, and the number and the relative content (30.7%) of the former was the highest among the 11 types of components, the number of the latter was the second, and the relative content (17.8%) was the third. 20 kinds of basic amino acids and 8 kinds of essential amino acids were identified. The contents of 7 kinds of medicinal amino acids (such as *L*-proline, *L*-aspartic acid and *L*-serine) and 5 kinds of essential amino acids (such as *L*-leucine, *L*-threonine, *L*-isoleucine, *L*-phenylalanine and *L*-lysine) were higher. *Kadsura coccinea* seed was rich in fatty acids such as linoleic acid, γ -linolenic acid and α -linolenic acid, as well as phospholipids dominated by lysophosphatidylcholines 18:2 and 18:2 (2*n* isomer). In conclusion, *Kadsura coccinea* seed is rich in amino acids and lipids, and a variety of highly enriched components have outstanding nutritional functions, activities

and medicinal effects, and have high value in the development of high-quality vegetable oils and other fields.

Key words: *Kadsura coccinea* seed; amino acid and derivative; fatty acid; phospholipid; utilization value

收稿日期: 2021-09-17; 修回日期: 2022-09-07

基金项目: 贵州省科技计划重大专项(黔科合平台人才[2017]5411号); 国家重点研发计划课题(2016YFC0502601)

作者简介: 高渐飞(1985), 男, 高级工程师, 硕士, 主要从事生态治理与植物资源利用研究(E-mail) gaojf2010@163.com。

黑老虎(*Kadsura coccinea* Lem.)又名冷饭团、布福娜、大叶五味子等,为五味子科南五味子属植物,广泛分布于我国贵州、广西、云南等地。现代生物与医学研究表明,黑老虎具有抗肿瘤、抗 HIV、抗炎、保肝、抗氧化等活性作用^[1-4],因此受到广泛关注。黑老虎根是一种重要的中药材,可用于治疗胃溃疡、十二指肠溃疡、急性肠胃炎、风湿性关节炎、跌打肿痛、痛经等^[5-6]。黑老虎果实为集合果,单果质量 50~580 g,由 30~70 个小浆果聚合而成,每个小浆果含 2~3 粒种子,形状呈心形或卵状心形,表面近平滑、微皱,颜色为浅黄褐色,千粒质量(213.01±2.30)g。近 10 年来,黑老虎作为新型水果规模化种植,果实主要直接食用,而种子则和果皮一起进入“垃圾桶”。研究显示^[7-8],黑老虎种子中多糖、黄酮、皂苷含量较高,富含维生素及人体必需的铁、锌等微量元素,并且在种子油中检测到多种饱和脂肪酸(癸酸、月桂酸、豆蔻酸等)和不饱和脂肪酸(棕榈油酸、油酸、亚油酸和 α -亚麻酸),其中不饱和脂肪酸含量占比与大豆油、葵花籽油、橄榄油相当,具有较高的利用价值。

脂肪酸和氨基酸的组分和含量是决定植物油料品质的重要指标,是维持人体生长发育和新陈代谢的重要营养素,是脂质与蛋白质等大分子的组成单位,对于机体新陈代谢有重要调节作用^[9-12]。目前关于黑老虎种子中脂质和氨基酸组分了解还不多,采用广泛靶向代谢组学技术能够高通量精准定性定量样本中的代谢成分,已被广泛用于检测食品营养与风味物质、中药活性成分的多样性和积累量^[13-15]。本研究基于广泛靶向代谢组学技术分析黑老虎种子中氨基酸和脂质组分及相对含量,为推动其在植物油脂、新型食品原料或药品领域的开发利用提供参考。

1 材料与方法

1.1 实验材料

1.1.1 原料与试剂

实验所用黑老虎果实为人工培育的 6 年植株所结,植株栽植于覆盖 80% 遮阳网的塑料大棚,位于贵州省贵阳市乌当区下坝镇普渡村,定期管理,长势良好,随机采摘数十株的成熟果实,选果型端正,果大(单果质量大于 50 g)的 9 个果实作为样品。

甲醇、乙腈(色谱纯),德国默克公司;标准品(色谱纯),西格玛奥德里奇(上海)贸易有限公司。

1.1.2 仪器与设备

Scientz-100F 冻干机,宁波新芝生物科技股份有限公司;MM 400 研磨仪,德国 RETSCH(莱驰)公司;4500 QTRAP 超高效液相色谱-串联质谱联用

仪,美国 Applied Biosystems 公司。

1.2 实验方法

1.2.1 样品的处理和提取

果实经自来水洗净后用纯净水冲洗 3 次,从每个果实中随机取 9 个小浆果置于小板上,用手术刀剖开剥离出果肉、果皮,用纱布包裹揉搓种子使其干净,将所得种子合并,装入 10 mL 离心管中,编号为种子 KD1-3,然后迅速置于液氮中,干冰保存转运至 -80 °C 超低温冰箱中备用。

将种子真空冷冻干燥,研磨(30 Hz,1.5 min)至粉末状。准确称取 100 mg 粉末,溶解于 1.2 mL 70% 甲醇溶液中,每 30 min 涡旋 1 次,每次持续 30 s,共涡旋 6 次,提取液置于 4 °C 冰箱过夜。将提取液以 12 000 r/min 离心 10 min 后,吸取上清液,用有机微孔滤膜(0.22 μ m)过滤于进样瓶中,用于超高效液相色谱-串联质谱(UPLC-MS/MS)分析。

1.2.2 UPLC-MS/MS 条件

UPLC 条件:Agilent SB-C18 色谱柱(1.8 μ m, 2.1 mm×100 mm);流动相 A 相为超纯水(加入 0.1% 的甲酸),B 相为乙腈(加入 0.1% 的甲酸);洗脱梯度为 0.00 min B 相比比例为 5%,9.00 min 内 B 相比比例线性增加到 95%,维持 1 min,10.00~11.10 min 内 B 相比比例降至 5%,并维持 14 min;流速 0.35 mL/min;柱温 40 °C;进样量 4 μ L。

MS 条件:离子源温度 550 °C;涡轮喷雾,离子喷雾电压 5 500 V(正离子模式)、-4 500 V(负离子模式);离子源气体 I(GSI)、气体 II(GSII)和帘气(CUR)压力分别设置为 345.414 kPa 和 172 kPa,参数设置为高。

1.2.3 质控样本

质控样本(QC)由样本提取物混合制备而成,用于分析样本在相同处理方法下的重复性。在仪器分析过程中,每 3 个检测分析样本中插入一个质控样本,以监测分析过程的重复性。

1.2.4 数据分析

基于迈维(武汉)生物技术有限公司自建的 MVDB V 2.0 数据库和代谢物信息公共数据库,根据二级质谱信息对物质进行定性,采用三重四极杆质谱多反应监测模式(MRM)对物质进行定量。获得不同样本的代谢物质谱分析数据后,利用软件 Analyst 1.6.3 对物质质谱峰进行峰面积积分,并对其中同一代谢物在不同样本中的质谱出峰面积进行积分校正^[16]。

2 结果与分析

2.1 质控样本

通过对样本质谱检测的 MRM 代谢物多峰图(即多物质提取的离子流谱图,XIC)进行重叠展示

分析(见图1),可以看到重复样本不同物质的离子峰重叠性比较好,说明检测具有稳定性和可靠性。

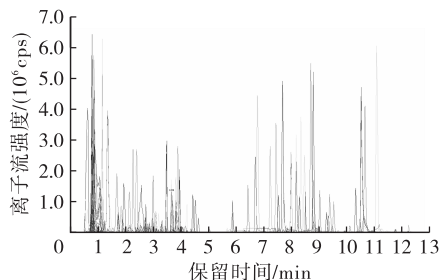


图1 MRM代谢物多峰图

2.2 黑老虎种子中代谢物总体分布

黑老虎种子中共鉴定出598种代谢物,基于结构配置,将其归属为11类,其中脂质数量最多,为121种,占代谢物总数的20.2%,其次是氨基酸及衍生物(89种),占14.9%。具体的代谢物类别及含量见图2。

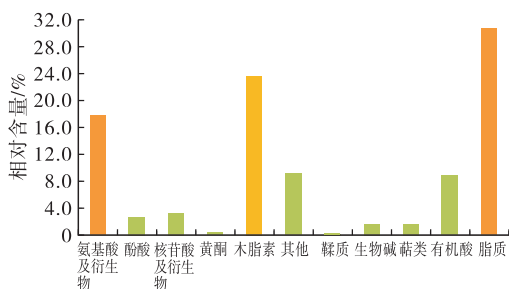


图2 黑老虎种子中代谢物类别及相对含量

由图2可知:黑老虎种子中脂质的相对含量为30.7%,居11类之首;木脂素的相对含量次之,为23.7%;氨基酸及衍生物的相对含量为17.8%,居第三。

2.3 氨基酸及衍生物组成

表1为黑老虎种子中含有的氨基酸类成分及相对含量。由表1可看出,在黑老虎种子中鉴定出89种氨基酸及衍生物,含有20种基础氨基酸和8种人体必需氨基酸。其中:*L*-脯氨酸的相对含量最高,为16.8%;*L*-天冬氨酸次之,为12.2%;其余相对含量较高的还有2-氨基异丁酸(5.4%)、*L*-丝氨酸(5.3%)等。在相对含量较高的12种氨基酸类成分中有5种为必需氨基酸,分别是*L*-亮氨酸、*L*-苏氨酸、*L*-异亮氨酸、*L*-苯丙氨酸和*L*-赖氨酸。有7种为药效氨基酸,分别是*L*-脯氨酸、*L*-天冬氨酸、*L*-甲硫氨酸亚砷、2-氨基异丁酸、*L*-丝氨酸、环亮氨酸和*L*-谷氨酰胺。这些高度富集的氨基酸及衍生物,具有很高的应用价值。例如,*L*-脯氨酸是氨基酸注射液(用于营养不良、蛋白质缺乏症、严重肠胃道疾患及外科手术后的蛋白质补充)、阿扎那韦(治疗HIV的感染)及制备疏甲丙脯酸(血管紧张素转移酶抑制剂)的主要原料。此外,*L*-脯氨酸在合成工业上可作为催化剂参与诱导不对称反应,在食品工业上可作为添加剂,在农业上可促进农作物提质增产^[17-18]。*L*-天冬氨酸亦是广泛应用于食品中的营养增补剂、合成甜味剂、肝功能促进剂、氨解毒剂和疲劳恢复剂等,还是合成多种药物的主要原料或中间体^[19-23]。环亮氨酸具有抗焦虑和抑制细胞作用^[24]。这表明黑老虎种子中的氨基酸类成分相对含量高,种类全,具有丰富的营养价值、活性作用和药用功效。

表1 黑老虎种子中氨基酸类成分及相对含量

序号	质荷比	离子模式	化合物	相对含量/%	序号	质荷比	离子模式	化合物	相对含量/%
1	76.04	[M+H] ⁺	<i>L</i> -甘氨酸	0.057	18	130.05	[M-H] ⁻	<i>N</i> -丙酰甘氨酸	0.010
2	88.05	[M-H] ⁻	<i>L</i> -丙氨酸	0.002	19	132.07	[M+H] ⁺	反-4-羟基- <i>L</i> -脯氨酸	0.261
3	88.04	[M-H] ⁻	<i>N</i> -甲基甘氨酸	0.003	20	132.10	[M+H] ⁺	<i>L</i> -亮氨酸*	4.119
4	104.07	[M+H] ⁺	<i>N,N</i> -二甲基甘氨酸	1.841	21	132.10	[M+H] ⁺	<i>L</i> -异亮氨酸*	3.870
5	104.07	[M+H] ⁺	2-氨基异丁酸	5.412	22	133.06	[M+H] ⁺	<i>L</i> -天冬酰胺	1.335
6	106.00	[M+H] ⁺	<i>L</i> -丝氨酸	5.260	23	133.00	[M+H] ⁺	<i>L</i> -鸟氨酸	0.037
7	112.09	[M+H] ⁺	组胺	0.115	24	132.03	[M-H] ⁻	<i>L</i> -天冬氨酸	12.207
8	116.07	[M+H] ⁺	<i>L</i> -脯氨酸	16.775	25	138.09	[M+H] ⁺	<i>L</i> -酪胺	0.007
9	116.04	[M-H] ⁻	<i>N</i> -乙酰- <i>L</i> -甘氨酸	0.009	26	144.10	[M+H] ⁺	环戊基甘氨酸	2.628
10	116.10	[M-H] ⁻	乙酸胍	0.006	27	144.10	[M+H] ⁺	1-甲基哌啶-2-羧酸	0.036
11	118.09	[M+H] ⁺	<i>L</i> -缬氨酸	2.474	28	144.10	[M] ⁺	脯氨酸甜菜碱	0.015
12	118.09	[M+H] ⁺	5-氨基戊酸	0.006	29	146.08	[M+H] ⁺	<i>N</i> -甲基-反式-4-羟基- <i>L</i> -脯氨酸	0.514
13	120.07	[M+H] ⁺	<i>L</i> -苏氨酸	4.077	30	147.08	[M+H] ⁺	<i>L</i> -谷氨酰胺	3.130
14	120.02	[M-H] ⁻	<i>L</i> -半胱氨酸	0.016	31	147.11	[M+H] ⁺	<i>L</i> -赖氨酸	3.116
15	128.04	[M-H] ⁻	5-氧代- <i>L</i> -脯氨酸	0.003	32	146.05	[M-H] ⁻	<i>L</i> -苏式-3-甲基天冬氨酸	1.914
16	130.09	[M+H] ⁺	环亮氨酸*	4.625	33	148.06	[M+H] ⁺	<i>L</i> -谷氨酸	2.087
17	130.09	[M+H] ⁺	哌啶酸*	0.425	34	148.06	[M+H] ⁺	<i>O</i> -乙酰丝氨酸	0.107

续表 1

序号	质荷比	离子模式	化合物	相对含量/%	序号	质荷比	离子模式	化合物	相对含量/%
35	150.06	[M+H] ⁺	L-甲硫氨酸	0.656	63	198.08	[M+H] ⁺	3,4-二羟基-L-苯丙氨酸(左旋多巴)	0.037
36	156.08	[M+H] ⁺	L-组氨酸	0.213	64	203.15	[M+H] ⁺	NG,NG-二甲基-L-精氨酸	0.252
37	159.08	[M-H] ⁻	L-丙氨酰-L-丙氨酸	0.021	65	203.08	[M-H] ⁻	L-色氨酸	0.304
38	160.06	[M-H] ⁻	N-乙酰-L-苏氨酸	0.013	66	206.08	[M-H] ⁻	N-乙酰-L-苯丙氨酸	0.064
39	161.05	[M-H] ⁻	3-羟基-3-甲基谷氨酸	2.528	67	217.13	[M+H] ⁺	N-乙酰-L-精氨酸	0.007
40	162.04	[M-H] ⁻	4-羟基-L-谷氨酸	0.060	68	217.08	[M-H] ⁻	5-L-谷氨酰-L-氨基酸	0.005
41	164.07	[M+H] ⁺	L-高甲硫氨酸	0.025	69	219.13	[M+H] ⁺	L-丝氨酰-L-异亮氨酸	0.648
42	166.05	[M+H] ⁺	L-甲硫氨酸亚砷	5.743	70	223.11	[M+H] ⁺	L-甘氨酰-L-苯丙氨酸	0.569
43	166.09	[M+H] ⁺	L-苯丙氨酸	3.162	71	229.15	[M+H] ⁺	L-脯氨酰-L-亮氨酸	0.735
44	170.09	[M+H] ⁺	3-甲基-L-组氨酸	0.005	72	231.16	[M+H] ⁺	L-缬氨酰-L-亮氨酸	0.607
45	173.09	[M+H] ⁺	L-甘氨酰-L-脯氨酸	0.009	73	235.10	[M+H] ⁺	L-赖氨酸丁酸酯	0.005
46	174.11	[M+H] ⁺	N-乙酰-L-亮氨酸	0.005	74	237.12	[M+H] ⁺	L-丙氨酰-L-苯丙氨酸	0.126
47	173.11	[M-H] ⁻	N- α -乙酰基-L-鸟氨酸	0.279	75	241.03	[M+H] ⁺	L-胱氨酸	0.010
48	175.12	[M+H] ⁺	L-精氨酸	1.196	76	245.18	[M+H] ⁺	L-亮氨酰-L-亮氨酸	0.087
49	174.04	[M-H] ⁻	N-乙酰-L-天冬氨酸	0.063	77	245.09	[M-H] ⁻	N-乙酰-L-色氨酸	0.202
50	176.10	[M+H] ⁺	L-瓜氨酸	0.284	78	247.13	[M+H] ⁺	L-异亮氨酰-L-天冬氨酸	0.400
51	178.00	[M+H] ⁺	N-甲酰-L-蛋氨酸	0.334	79	265.15	[M+H] ⁺	L-缬氨酰-L-苯丙氨酸	0.245
52	182.08	[M+H] ⁺	L-酪氨酸	0.247	80	269.06	[M+H] ⁺	L-高胱氨酸	0.047
53	187.07	[M-H] ⁻	N-乙酰-L-谷氨酰胺	0.266	81	279.17	[M+H] ⁺	L-亮氨酰-L-苯丙氨酸	0.088
54	189.12	[M+H] ⁺	N6-乙酰-L-赖氨酸	0.016	82	281.11	[M+H] ⁺	L-天冬氨酰-L-苯丙氨酸	0.015
55	189.12	[M+H] ⁺	N-甘氨酰-L-亮氨酸*	1.131	83	304.15	[M+H] ⁺	烟胺	0.807
56	189.12	[M+H] ⁺	L-甘氨酰-L-异亮氨酸*	0.943	84	306.08	[M-H] ⁻	谷胱甘肽还原型	0.002
57	189.13	[M+H] ⁺	高精氨酸	0.099	85	313.15	[M+H] ⁺	L-苯丙氨酰-L-苯丙氨酸	0.003
58	189.13	[M+H] ⁺	N-单甲基-L-精氨酸	0.527	86	322.11	[M+H] ⁺	S-甲基谷胱甘肽	0.231
59	188.06	[M-H] ⁻	N-乙酰-L-谷氨酸	0.064	87	385.13	[M+H] ⁺	S-(5-腺苷)-L-高半胱氨酸	0.009
60	190.12	[M+H] ⁺	L-高瓜氨酸	0.002	88	399.20	[M+H] ⁺	S-腺苷-L-蛋氨酸	0.003
61	191.10	[M+H] ⁺	2,6-二氨基庚二酸	0.052	89	611.14	[M-H] ⁻	氧化谷胱甘肽	0.040
62	190.10	[M-H] ⁻	N-乙酰-L-蛋氨酸	0.008					

注:*表示该物质包含其异构体。下同

2.4 脂质组成

表 2 为黑老虎种子中脂质类成分及相对含量。由表 2 可知,在黑老虎种子中鉴定出 121 种脂质,其中游离脂肪酸(FFA)数量最多,共有 53 种,占脂质代谢物总数的 43.8%,其余依次为溶血磷脂酰胆碱(LPC,28 种,占比为 23.1%)、溶血磷脂酰乙醇胺(LPE,25 种,占比为 20.7%)、甘油酯(8 种,占比为 6.6%)、鞘脂和磷脂酰胆碱(PC)(各 1 种,占比均为 0.8%),另外还有 5 种其他类脂质成分。其中 FFA 中含有饱和脂肪酸 14 种,多不饱和脂肪酸 23 种,单不饱和脂肪酸 16 种。FFA 相对含量最高,为 46.6%,主要的 FFA 有亚油酸、 γ -亚麻酸、 α -亚麻酸、硬脂酸。研究显示,这些高度富集的脂肪酸对人体健康和生长发育非常重要,如:亚油酸为人体必需脂肪酸,具有调整血脂和抗动脉粥样硬化,参与脂肪分解与新陈代谢,增强机体免疫,促进骨组织代谢,减少

冠心病的发病率和病死率等功效^[25-28]; α -亚麻酸也是人体必需脂肪酸,但在玉米油、橄榄油等植物油脂中含量相对较低,是膳食中的短板物质^[29]。因此,黑老虎种子可能成为新的理想植物油脂资源。

由表 2 还可知,黑老虎种子还富含磷脂,其中 LPC 的相对含量为 38.5%,LPC 18:2 和 LPC 18:2(2n 异构)是磷脂的主要组成。磷脂是构成人体生物膜的基本组成部分,是生物体代谢过程中所必需的营养成分。研究表明,从食物中摄取的磷脂对人体健康十分重要,对冠心病、炎症或癌症等有积极影响,且能减少一些药物的副作用^[30]。磷脂在黑老虎种子中相对含量较高,对人体细胞的生存、活化和脏器功能维持起着重要作用,在防治高血脂、高胆固醇、动脉粥样硬化、保肝护肝等方面具有显著功效,还具有促进大脑发育、提高记忆力、预防老年痴呆等保健作用^[31]。由此可见,黑老虎种子在食品、药物制备等领域具有较高利用价值。

表2 黑老虎种子中脂质类成分及相对含量

序号	质荷比	离子模式	化合物	归类	相对含量/%	序号	质荷比	离子模式	化合物	归类	相对含量/%
1	331.28	[M+H] ⁺	单棕榈酸甘油酯	甘油酯	0.002	32	293.21	[M-H] ⁻	13S-羟基-9Z,11E,15Z-十八碳三烯酸	FFA	0.007
2	353.27	[M+H] ⁺	2- α -亚麻酸甘油酯	甘油酯	0.003	33	293.21	[M-H] ⁻	13-羟基-6,9,11-十八碳三烯酸	FFA	0.015
3	353.27	[M+H] ⁺	1- α -亚麻酸甘油酯	甘油酯	0.004	34	293.21	[M-H] ⁻	9-过氧-10E,12Z-十八碳二烯酸	FFA	0.012
4	355.28	[M+H] ⁺	1-亚油酰甘油酯	甘油酯	0.016	35	293.21	[M-H] ⁻	9-羟基-10,12,15-十八碳三烯酸*	FFA	0.010
5	355.28	[M+H] ⁺	2-亚油酰甘油酯	甘油酯	0.016	36	293.21	[M-H] ⁻	13-氧代十八碳-9,11-二烯酸*	FFA	0.010
6	357.30	[M+H] ⁺	单酰甘油酯(18:1)	甘油酯	0.004	37	297.24	[M+H] ⁺	15R-羟基亚油酸*	FFA	0.019
7	483.27	[M-H] ⁻	溶血磷脂酰甘油酯	甘油酯	0.407	38	297.24	[M+H] ⁺	9-氧代-12Z-十八碳烯酸*	FFA	0.019
8	677.37	[M+H] ⁺	2- α -亚麻酸甘油酯-1,3-二-O-葡萄糖苷	甘油酯	0.001	39	295.23	[M-H] ⁻	9S-羟基-10E,12Z-十八碳二烯酸	FFA	0.126
9	185.15	[M-H] ⁻	十一烷酸	FFA	0.199	40	295.23	[M-H] ⁻	13-羟基十八烷基-9,11-二烯酸*	FFA	0.130
10	199.17	[M-H] ⁻	月桂酸	FFA	0.018	41	295.23	[M-H] ⁻	9,10-环氧十八烯酸	FFA	0.088
11	211.13	[M-H] ⁻	12-氧-10E-十二碳烯酸	FFA	0.002	42	295.23	[M-H] ⁻	12,13-环氧-9-十八碳烯酸	FFA	0.040
12	215.17	[M-H] ⁻	12-羟基十二酸	FFA	0.001	43	297.24	[M-H] ⁻	蓖麻油酸	FFA	0.088
13	227.20	[M-H] ⁻	肉豆蔻酸	FFA	3.240	44	299.26	[M-H] ⁻	2R-羟基十八烷酸	FFA	0.009
14	241.22	[M-H] ⁻	十五烷酸	FFA	0.026	45	299.26	[M-H] ⁻	3-羟基十八烷酸	FFA	0.048
15	253.22	[M-H] ⁻	棕榈油酸	FFA	0.004	46	307.26	[M-H] ⁻	二十碳二烯酸	FFA	0.011
16	255.23	[M-H] ⁻	棕榈酸	FFA	0.003	47	309.21	[M-H] ⁻	9-羟基过氧-10E,12,15Z-十八碳三烯酸	FFA	0.042
17	267.23	[M-H] ⁻	10-十七碳烯酸	FFA	0.064	48	309.28	[M-H] ⁻	二十碳烯酸	FFA	0.148
18	279.20	[M+H] ⁺	9E,13E,15Z-十八碳三烯酸	FFA	0.195	49	311.22	[M-H] ⁻	5,8-二羟基-9,12-十八碳二烯酸	FFA	0.036
19	279.23	[M+H] ⁺	石榴酸	FFA	0.069	50	311.10	[M-H] ⁻	13-氢过氧化-9,11-十八碳二烯酸	FFA	0.362
20	277.22	[M-H] ⁻	γ -亚麻酸*	FFA	7.639	51	311.22	[M-H] ⁻	7,8-二羟基-9,12-十八碳二烯酸	FFA	0.002
21	277.22	[M-H] ⁻	顺式-十八碳-9-烯-12-炔酸	FFA	0.011	52	311.22	[M-H] ⁻	9-羟基-12-氧代-15Z-十八碳烯酸	FFA	0.037
22	277.22	[M-H] ⁻	α -亚麻酸*	FFA	6.831	53	311.22	[M-H] ⁻	9S-氢过氧-10E,12Z-十八碳二烯酸	FFA	0.046
23	279.23	[M-H] ⁻	亚油酸	FFA	14.537	54	311.30	[M-H] ⁻	花生酸	FFA	0.401
24	279.23	[M-H] ⁻	9Z,11E-十八碳二烯酸	FFA	0.009	55	313.24	[M-H] ⁻	12,13-二羟基十八烷基-9-烯酸	FFA	0.019
25	281.25	[M-H] ⁻	11-十八碳烯酸	FFA	0.686	56	327.22	[M-H] ⁻	9,12,13-三羟基-10,15-十八碳二烯酸	FFA	0.011
26	281.25	[M-H] ⁻	反油酸	FFA	0.037	57	329.23	[M-H] ⁻	9,10,11-三羟基-12-十八碳烯酸	FFA	0.096
27	281.25	[M-H] ⁻	岩芹酸	FFA	0.706	58	329.23	[M-H] ⁻	9S,12S,13S-三羟基-10E-十八碳烯酸	FFA	0.097
28	283.26	[M-H] ⁻	硬脂酸	FFA	6.044	59	329.23	[M-H] ⁻	9,10,13-三羟基-11-十八碳烯酸	FFA	1.172
29	283.26	[M-H] ⁻	16-甲基十七烷酸	FFA	3.081	60	329.23	[M-H] ⁻	9,10-二羟基-12,13-环氧十八酸	FFA	0.065
30	287.22	[M-H] ⁻	9,16-二羟基棕榈酸	FFA	0.004	61	331.25	[M-H] ⁻	9,10,18-三羟基硬脂酸	FFA	0.002
31	291.20	[M-H] ⁻	12-氧-植物二烯酸	FFA	0.001	62	468.31	[M+H] ⁺	LPC 14:0	LPC	0.019

续表 2

序号	质荷比	离子模式	化合物	归类	相对含量/%	序号	质荷比	离子模式	化合物	归类	相对含量/%
63	480.31	[M+H] ⁺	LPC 15:1	LPC	0.014	93	438.26	[M+H] ⁺	LPE 15:1(2n 异构)	LPE	0.002
64	482.32	[M+H] ⁺	LPC 15:0	LPC	0.010	94	440.28	[M+H] ⁺	LPE 15:0	LPE	0.010
65	482.32	[M+H] ⁺	LPC 15:0(2n 异构)	LPC	0.014	95	440.28	[M+H] ⁺	LPE 15:0(2n 异构)	LPE	0.001
66	492.31	[M+H] ⁺	LPC 16:2(2n 异构)	LPC	0.003	96	452.28	[M+H] ⁺	LPE 16:1	LPE	0.006
67	492.31	[M+H] ⁺	LPC 16:2	LPC	0.003	97	452.28	[M+H] ⁺	LPE 16:1(2n 异构)	LPE	0.002
68	494.32	[M+H] ⁺	LPC 16:1(2n 异构)	LPC	0.022	98	454.29	[M+H] ⁺	LPE 16:0	LPE	2.160
69	494.32	[M+H] ⁺	LPC 16:1	LPC	0.016	99	454.29	[M+H] ⁺	LPE 16:0(2n 异构)	LPE	0.293
70	496.34	[M+H] ⁺	LPC 16:0	LPC	3.729	100	466.29	[M+H] ⁺	LPE 17:1(2n 异构)	LPE	0.002
71	496.34	[M+H] ⁺	LPC 16:0(2n 异构)	LPC	1.341	101	466.29	[M+H] ⁺	LPE 17:1	LPE	0.002
72	506.32	[M+H] ⁺	LPC 17:2	LPC	0.005	102	476.28	[M+H] ⁺	LPE 18:3	LPE	0.006
73	508.34	[M+H] ⁺	LPC 17:1	LPC	0.020	103	476.28	[M+H] ⁺	LPE 18:3(2n 异构)	LPE	0.010
74	510.36	[M+H] ⁺	LPC 17:0	LPC	0.443	104	478.29	[M+H] ⁺	LPE 18:2(2n 异构)	LPE	1.443
75	510.36	[M+H] ⁺	LPC 17:0(2n 异构)	LPC	0.053	105	478.29	[M+H] ⁺	LPE 18:2	LPE	0.810
76	518.32	[M+H] ⁺	LPC 18:3(2n 异构)	LPC	0.036	106	480.31	[M+H] ⁺	LPE 18:1	LPE	0.158
77	518.32	[M+H] ⁺	LPC 18:3	LPC	0.032	107	480.31	[M+H] ⁺	LPE 18:1(2n 异构)	LPE	0.175
78	520.34	[M+H] ⁺	LPC 18:2	LPC	10.711	108	482.32	[M+H] ⁺	LPE 18:0(2n 异构)	LPE	0.052
79	520.34	[M+H] ⁺	LPC 18:2(2n 异构)	LPC	10.428	109	482.32	[M+H] ⁺	LPE 18:0	LPE	0.049
80	522.36	[M+H] ⁺	LPC 18:1(2n 异构)	LPC	3.735	110	500.28	[M+H] ⁺	LPE 20:5	LPE	2.297
81	522.36	[M+H] ⁺	LPC 18:1	LPC	4.261	111	502.29	[M+H] ⁺	LPE 20:4(2n 异构)	LPE	0.029
82	524.37	[M+H] ⁺	LPC 18:0	LPC	3.174	112	502.29	[M+H] ⁺	LPE 20:4	LPE	0.028
83	524.37	[M+H] ⁺	LPC 18:0(2n 异构)	LPC	0.348	113	506.32	[M+H] ⁺	LPE 20:2(2n 异构)	LPE	0.003
84	534.36	[M+H] ⁺	LPC 19:2	LPC	0.003	114	506.32	[M+H] ⁺	LPE 20:2	LPE	0.003
85	534.36	[M+H] ⁺	LPC 19:2(2n 异构)	LPC	0.004	115	318.30	[M+H] ⁺	4-羟基鞘氨醇	鞘脂	0.411
86	536.37	[M+H] ⁺	LPC 19:1	LPC	0.015	116	258.11	[M+H] ⁺	甘磷酸胆碱	PC	4.769
87	548.37	[M+H] ⁺	LPC 20:2	LPC	0.041	117	239.00	[M-H] ⁻	棕榈醛	其他	1.576
88	548.37	[M+H] ⁺	LPC 20:2(2n 异构)	LPC	0.042	118	269.29	[M-H] ⁻	正十八醇	其他	0.020
89	550.39	[M+H] ⁺	LPC 20:1	LPC	0.025	119	275.10	[M+H] ⁺	十二烷基乙醇胺	其他	0.001
90	426.26	[M+H] ⁺	LPE 14:0(2n 异构)	LPE	0.001	120	282.28	[M+H] ⁺	油酸酰胺	其他	0.004
91	426.26	[M+H] ⁺	LPE 14:0	LPE	0.016	121	297.32	[M-H] ⁻	正二十醇	其他	0.093
92	438.26	[M+H] ⁺	LPE 15:1	LPE	0.001						

注:FFA为游离脂肪酸;LPC为溶血磷脂酰胆碱;LPE为溶血磷脂酰乙醇胺;PC为磷脂酰胆碱

3 结论

黑老虎种子中氨基酸类和脂质类种类丰富,富集度高,具有较高的营养价值、活性作用和药用功效,可作为膳食营养补充剂,在保健产品、药物制备等领域具有较高利用价值。同时,黑老虎种子中富含人体必需脂肪酸亚油酸和 α -亚麻酸,且特征成分木脂素相对含量较高,可成为一种潜在的新型理想植物油脂资源。

参考文献:

- [1] SUN J, YAO J, HUANG S, et al. Antioxidant activity of polyphenol and anthocyanin extracts from fruits of *Kadsura coccinea* (Lem.) A. C. Smith[J]. *Food Chem*, 2009, 117(2): 276-281.
- [2] BAN N K, THANH B V, KIEM P V, et al. Dibenzocyclooctadiene lignans and lanostane derivatives from the roots of *Kadsura coccinea* and their protective effects on primary

rat hepatocyte injury induced by *t*-butyl hydroperoxide

[J]. *Planta Med*, 2009, 75(11): 1253-1257.

- [3] 延在昊,成亮,孔令义,等. 黑老虎化学成分及其抗氧化活性研究[J]. *中草药*, 2013, 44(21): 2969-2973.
- [4] 杨艳,高渐飞. 冷饭团不同部位挥发性成分及抗氧化活性分析[J]. *广西植物*, 2018, 38(7): 943-952.
- [5] 国家中医药管理局《中华本草》编委会. 中华本草: 第2册[M]. 上海: 上海科学技术出版社, 1999: 895.
- [6] 舒永志,成亮,杨培明. 黑老虎的化学成分及药理作用研究进展[J]. *中草药*, 2011, 42(4): 805-813.
- [7] 谢玮,杨涛,赵雯霖. 黑老虎籽功能成分分析及其应用前景展望[J]. *食品研究与开发*, 2016, 37(12): 1-5.
- [8] 王丽军,廖苏奇,梁洁,等. 黑老虎种子的营养成分分析及评价[J]. *中国油脂*, 2021, 46(12): 112-117.
- [9] 孔祥峰,印遇龙,伍国耀. 动物功能性氨基酸营养研究进展[J]. *动物营养学报*, 2008(1): 11-17.

- [10] 王蕤, 汤富彬, 钟冬莲, 等. 4种胡桃科坚果中氨基酸和脂肪酸组成分析与营养评价[J]. 中国油脂, 2020, 45(4): 86-91.
- [11] URSIN V M. Modification of plant lipids for human health: development of functional land-based *omega*-3 fatty acids[J]. J Nutr, 2003, 133(12): 4271-4274.
- [12] LIU H L, YIN Z J, XIAO L, et al. Identification and evaluation of ω -3 fatty acid desaturase genes for hyperfortifying α -linolenic acid in transgenic rice seed[J]. J Exp Bot, 2012, 63(8): 3279-3287.
- [13] CHEN W, GONG L, GUO Z L, et al. A novel integrated method for large-scale detection, identification, and quantification of widely targeted metabolites: application in the study of rice metabolomics[J]. Mol Plant, 2013, 6(6): 1769-1780.
- [14] 钱瑞, 任锡毅, 刘永翔, 等. 基于广泛靶向代谢组学的竹黄活性成分分析[J]. 菌物学报, 2019, 38(5): 631-645.
- [15] XU L, XU Z Z, WANG X, et al. The application of pseudotargeted metabolomics method for fruit juices discrimination[J/OL]. Food Chem, 2020, 316: 126278 [2021-09-17]. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.126278>.
- [16] FRAGA C G, CLOWERS B H, MOORE R J, et al. Signature-discovery approach for sample matching of a nerve-agent precursor using liquid chromatography-mass spectrometry, XCMS, and chemometrics[J]. Anal Chem, 2010, 82(10): 4165-4173.
- [17] 王林. 一种高效生产L-脯氨酸的方法: CN201910414709.9 [P]. 2019-08-09.
- [18] 缪正兴, 张仲明, 李宝忠. L-脯氨酸的生产及其应用[J]. 发酵科技通讯, 2004, 33(2): 21-22.
- [19] CHACON J V, ARBELAEZ M I A, JORGE J H, et al. pH-responsive poly(aspartic acid) hydrogel-coated magnetite nanoparticles for biomedical applications[J]. Mat Sci Eng C, 2017, 77(3): 366-373.
- [20] MATHUR N, GOSWAMI G K, PATHAK A N. Structural comparison, docking and substrate interaction study of modeled *endo*-1, 4-*beta* xylanase enzyme of *Bacillus brevis* [J]. J Mol Graph Model, 2017, 74(2): 337-343.
- [21] 胡艳丽, 马拥军, 罗庆平, 等. L-天门冬氨酸诱导叠层碳酸钙微晶的形成[J]. 人工晶体学报, 2010, 39(3): 802-806, 812.
- [22] 邵江娟, 王唯, 陈斌寅, 等. 以牡蛎壳为钙源的L-天冬氨酸螯合钙的合成及其生物利用度研究[J]. 南京中医药大学学报, 2012, 28(4): 371-373.
- [23] 董学伟, 张春枝, 金凤燮. 中空纤维膜反应器转化L-天冬氨酸生成L-丙氨酸[J]. 食品与发酵工业, 2003, 29(1): 32-35.
- [24] GARGIULO A, ACUNA A, GARGIULO M, et al. Effects of cycloleucine in the nucleus accumbens section the elevated plus maze test in rats [J]. Neuropsychobiology, 2020, 79(3): 191-197.
- [25] 张春娥, 张惠, 刘楚怡, 等. 亚油酸的研究进展[J]. 粮油加工, 2010(5): 18-21.
- [26] 范亚苇, 邓泽元, 刘蓉, 等. 共轭亚油酸对动脉粥样硬化老龄大鼠血脂和血浆脂肪酸的影响[J]. 营养学报, 2006(6): 472-474, 478.
- [27] 方志玲, 沈继红, 刘发义, 等. 共轭亚油酸对小鼠免疫功能的影响[J]. 中国海洋药物, 2003(5): 23-26.
- [28] 衣丹, 林学政, 沈继红, 等. 共轭亚油酸降血脂及抗动脉粥样硬化作用的研究[J]. 现代生物医学进展, 2011, 11(7): 1228-1230.
- [29] 吴端, 王力军, 杨仕梅, 等. 植物种子 α -亚麻酸形成及调控机理研究进展[J]. 植物遗传资源学报, 2020, 21(1): 53-66.
- [30] KÜLLENBERG D, TAYLOR L A, SCHNEIDER M, et al. Health effects of dietary phospholipids [J]. Lipids Health Dis, 2012, 11: 3-18.
- [31] 安红, 宋伟明, 张宏波. 磷脂化学及应用技术[M]. 北京: 中国计量出版社, 2006: 85-170.

(上接第83页)

- [13] 罗一甲, 祝赫, 李潇涵, 等. 赤霞珠酿酒葡萄总酚含量的近红外光谱定量分析[J]. 光谱学与光谱分析, 2021, 41(7): 2036-2042.
- [14] 吴剑飞. 基于CARS-PLSR的冬小麦叶片含水量快速无损检测研究[J]. 赤峰学院学报(自然科学版), 2021, 37(7): 22-26.
- [15] 王海龙, 杨国国, 张瑜, 等. 竞争性自适应重加权算法和相关系数法提取特征波长检测番茄叶片真菌病害[J]. 光谱学与光谱分析, 2017, 37(7): 2115-2119.
- [16] 史运涛, 任鹏, 李书钦, 等. 基于长短期记忆神经网络的重大活动中鲜(冻)肉制品铅含量风险预测[J]. 食品安全质量检测学报, 2022, 13(7): 2326-2333.
- [17] 康雁, 徐玉龙, 寇勇奇, 等. 基于Transformer和LSTM的药物相互作用预测[J]. 计算机科学, 2022, 49(S1): 17-21, 205.
- [18] 邹艳均, 武周虎, 任鹏, 等. 人工蜂群优化LM-BP网络在东平湖水水质评价中的应用[J]. 水电能源科学, 2022, 40(4): 66-69, 36.
- [19] 简晓春, 王利伟, 闵峰. 基于LM算法的BP神经网络对汽车排放污染物的预测[J]. 重庆理工大学学报(自然科学版), 2012, 26(7): 11-16.
- [20] 郑毅. 时间序列数据的胶囊式LSTM特征提取算法研究[D]. 上海: 华中师范大学, 2018.
- [21] 柳益君, 古春生, 朱广萍, 等. LM神经网络在环境质量评估中的应用[J]. 江南大学学报(自然科学版), 2010, 9(2): 213-216.