

基于广泛代谢组学分析慈竹笋营养成分及其提取物的抗氧化活性

唐昊, 李沅秋, 甘晓凤, 罗朝兵

(乐山师范学院生命科学学院, 四川乐山 614000)

摘要: 本研究运用气相色谱-质谱联用 (GC-MS) 和液相色谱-串联质谱 (LC-MS/MS) 广泛代谢组手段全面分析慈竹笋的营养成分组成, 并从清除自由基、相对还原力、总抗氧化能力、羟自由基清除能力和超氧自由基清除能力方面系统研究其抗氧化活性。结果表明, GC-MS 代谢组共鉴定到 75 种代谢物, 其中含量超过 10% 的主要为糖类物质, 如葡萄糖 (34.98%)、果糖 (19.18%) 和蔗糖 (14.99%), 且另有 9 种代谢物的相对含量大于 1%。LC-MS/MS 代谢组共检测出 226 种代谢物, 相对含量最高的是有机酸, 16 种代谢物相对含量大于 0.5%, 其中相对含量大于 1% 的代谢物共有 9 种。抗氧化活性结果表明, 慈竹笋提取物含量与自由基清除能力、相对还原能力、总抗氧化能力成正相关, 其中 1 mg/mL 提取物 DPPH 自由基清除率为 82.70%, 羟自由基清除率为 89.70%, 超氧自由基清除率为 43.80%, 相对还原力为 27.90%, FRAP 值为 100.10 $\mu\text{mol/L}$ 。基于慈竹笋富含糖类、有机酸、氨基酸等成分并表现出较高的抗氧化活性, 因而在加工成功能性食品上具有很大的前景。

关键词: 慈竹竹笋; 营养成分; 抗氧化; 气相色谱-质谱联用; 液相色谱-串联质谱

文章编号: 1673-9078(2021)06-304-311

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2021.6.1007

Analyze Nutritional Components of *Bambusa emeiensis* Shoots and Antioxidant Activity of Its Extracts based on Widely Targeted Metabolomics

TANG Hao, LI Yuan-qiu, GAN Xiao-feng, LUO Chao-bing

(College of Life Sciences, Leshan Normal University, Leshan 614000, China)

Abstract: In the present study, the nutritional components of *Bambusa emeiensis* shoots were analyzed by gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS) and liquid chromatography tandem mass spectrometry (LC-MS/MS), and the antioxidant activity was systematically investigated by elimination of DPPH, $\text{O}_2^{\cdot-}$ and OH^{\cdot} , reducing power and total oxidation resistance. The results showed that a total of 75 metabolites were identified in GC-MS metabolome, among which the main metabolites with more than 10% content were carbohydrate, such as glucose (34.98%), fructose (19.18%) and sucrose (14.99%), and the relative contents of another 9 metabolites were more than 1%. A total of 226 metabolites were detected in LC-MS/MS metabolome, the highest relative content of which was organic acids. The relative content of 16 metabolites was greater than 0.5%, and there were 9 metabolites whose relative content was greater than 1%. The antioxidant activity results showed that the content of the extracts was positively correlated with the free radical scavenging capacity, relative reducing capacity and total antioxidant capacity, among which the DPPH scavenging rate of the 1 mg/mL extract was 82.70%, the hydroxyl radical scavenging rate was 89.70%, the superoxide radical scavenging rate was 43.80%, the relative reducing power was 27.90%, and the FRAP value was 100.10 mol/L.

引文格式:

唐昊,李沅秋,甘晓凤,等.基于广泛代谢组学分析慈竹笋营养成分及其提取物的抗氧化活性[J].现代食品科技,2021,37(6):304-311

TANG Hao, LI Yuan-qiu, GAN Xiao-feng, et al. Analyze nutritional components of *Bambusa emeiensis* shoots and antioxidant activity of its extracts based on widely targeted metabolomics [J]. Modern Food Science and Technology, 2021, 37(6): 304-311

收稿日期: 2020-10-31

基金项目: 四川省科技计划项目 (2019YGF0239); 竹类病虫害防控与资源开发四川省重点实验室开放项目 (ZLKF1902); 乐山师范学院科技资助项目 (TDZZ202003)

作者简介: 唐昊 (1989-), 男, 博士, 讲师, 研究方向: 竹类资源开发与昆虫分子生物学

通讯作者: 罗朝兵 (1991-), 男, 硕士, 实验师, 研究方向: 竹类资源开发与昆虫分子生物学

B. emeiensis shoots are rich in sugars, organic acids, amino acids and other components and exhibit high antioxidant activity, so they have a great prospect in the processing of functional food.

Key words: *Bambusa emeiensis* shoots; nutritional components; antioxidant; gas chromatography mass spectrometry (GC-MS); liquid chromatography-tandem mass spectrometry (LC-MS/MS)

竹子为多年生禾本科常绿植物,竹笋为竹子的嫩芽部分,除了富含蛋白质、糖类、维生素、氨基酸和膳食纤维等,还含有有机酸类、三萜类、酚类物质和大量的黄酮类物质,因此具有极高的食用价值及药理价值^[1-3]。目前,关于竹笋营养成分的研究进展主要使用传统的生理生化方法,如陈松河等^[2]比较了5种牡竹属笋用竹竹笋营养成分,发现牡竹属笋富含氨基酸、蛋白质和粗纤维。牛兆辉等^[3]测定了小佛肚竹竹笋的营养成分,表明其主要成分组成为粗纤维、粗脂肪和蛋白质。此外,还发现龙竹竹笋富含蛋白质、总糖、粗脂肪、粗纤维和单宁等物质^[4]。这些研究大多针对竹笋的几类营养物质,并未全面的了解竹笋的营养成分,因此利用代谢组学的方法对其营养价值进行全面研究是十分必要的。

代谢组学是通过气相色谱(gas chromatography, GC)、液相色谱(liquid chromatography, LC)与质谱(mass spectrometry, MS)联用等技术手段,采用组学分析方法,研究不同样本的所有代谢物,具有耗时短,准确度高,广覆盖的特点^[5,6]。其中广泛靶向代谢组学是结合了非靶向代谢组学和靶向代谢组学的优点,基于广泛靶向代谢组数据库,采用多反应监测模式,定性、定量样本中代谢物检测方法^[7,8]。因此,可利用广泛代谢组学对食品进行代谢产物的鉴定与分析,有助于全面了解食品的营养价值^[9]。

慈竹(*Bambusa emeiensis*),禾本科慈竹属,地下茎合轴丛生型,低丘或平原地区的地理条件和环境极其适宜生长,尤其是四川、贵州和湖南等地区,是我国西南地区具有较广生长面积和较高经济价值的竹种^[10]。慈竹笋颜色洁白,口感清脆,可被当作鲜菜、笋干及罐头等多类食品^[11]。本研究应用气相色谱-质谱联用(gas chromatography mass spectrometry, GC-MS)和液相色谱-串联质谱(liquid chromatography-tandem mass spectrometry, LC-MS/MS)手段,全面解析慈竹笋营养成分,同时从清除自由基、相对还原力、总抗氧化能力等方面系统研究其抗氧化活性,为促进慈竹笋的全面开发提供部分基础。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

1 m 高的慈竹笋采集于四川省乐山市中区竹林(东经 103.77, 北纬 29.57); 甲醇、乙腈、甲酸铵、甲酸均购于 Sigma 公司; 核糖醇、吡啶、BSTFA+TMCS、甲氧基胺盐酸盐均购于 TCI 公司。

1.2 仪器与设备

Ultimate 3000 液相色谱仪, 赛默飞世尔科技(中国)有限公司; Q Exactive Focus, 赛默飞世尔科技(中国)有限公司; 7890A 气相色谱仪, 安捷伦科技(中国)有限公司; 5975C 质谱仪, 安捷伦科技(中国)有限公司; 53050 真空浓缩仪, 德国艾本德公司; SCIENTZ-48 组织研磨器, 宁波新芝生物科技股份有限公司; H1650-W 冷冻离心机, 德国艾本德公司。

1.3 方法

1.3.1 样本采集及代谢物提取

2019年6月,采集1 m 高的慈竹笋,分别收集竹笋基部、中部和顶部样本各5 g,混合后放置于50 mL 冻存管,液氮速冻后放置于-80 °C冰箱备用,剩余竹笋样本用于粗提物的提取。生物学重复9次。

取竹笋100 mg及5颗钢珠放入5 mL 冻存管中,液氮速冻5 min,使用高通量组织研磨仪在70 Hz 条件下研磨1 min。加入1400 μL 预冷甲醇,涡旋振荡30 s(用于GC-MS检测样本需要加入60 μL 0.2 mg/mL 核糖醇作为内标)。超声波室温处理30 min,加入750 μL 氯仿和1400 μL 预冷 dd H₂O,涡旋振荡1 min,然后14000 r/min 冷冻离心10 min,取上清液1 mL 并转移至1.5 mL 离心管用于真空离心浓缩。

1.3.2 GC-MS

浓缩后的样本加入60 μL 甲氧基溶液涡旋振荡30 s,37 °C条件下反应2 h后加入60 μL BSTFA 试剂(含1%三甲基氯硅烷),37 °C条件下反应90 min。12000 r/min 冷冻离心10 min,取上清液加入检测瓶中。从每个待测样本各取20 μL 混合成QC 样本(校正分析结果偏差及仪器自身造成失误),最后用待测样本进行GC-MS 检测,共测9次。

采用 HP-5MS 毛细管柱(5%苯/95%甲基聚硅氧烷 30 m×250 μm i.d., 0.25 μm film thickness, Agilent J & W Scientific, Folsom, CA, USA),以1 mL/min 的恒流氦气来分离衍生化物质,1 μL 样品以20:1 分流比

通过自动进样器注入。注射温度为 280 °C，接口设置为 150 °C，离子源调整到 230 °C。升温程序以 60 °C 为初始温度，持续 2 min，以 10 °C/min 速率上升至 300 °C 并停留 5 min。质谱采用的是范围从 35 到 750 (m/z) 的全扫描方法。

1.3.3 LC-MS/MS

用 250 μ L 2-氯苯丙氨酸 (0.04 μ g/g) 甲醇水溶液 (1:1, 4 °C) 溶解浓缩样品, 0.22 μ m 膜过滤, 得到待测样本, 进行 LC-MS/MS 上机检测。自每个待测样本各取 20 μ L 混合成 QC 样本, 用待测样本进行 LC-MS/MS 检测, 共测 9 次。

色谱条件: T3 色谱柱 (2.1 mm \times 150 mm, 1.8 μ m), 调整自动进样器温度为 8 °C, 柱温条件为 40 °C, 以 0.25 mL/min 的速度进样 2 μ L, 其中选择正离子 0.1% 甲酸水 (D) -0.1% 甲酸乙腈 (C) 和负离子 5 mM 甲酸铵水 (B) -乙腈 (A) 作为流动相进行梯度洗脱, 具体程序为: 0~1 min, 2% A/C; 1~9 min, 2%~50% A/C; 9~12 min, 50%~98% A/C; 12~13.5 min, 98% A/C; 13.5~14 min, 98%~2% A/C; 14~20 min, 2% C-正模式 (14~17 min, 2% A-负模式)。

质谱条件: 质谱电离方式 ESI, 其中正离子喷雾电压为 3.50 kV, 负离子喷雾电压为 2.50 kV。鞘气的流速 30 arb, 辅助气流速 10 arb, 毛细管温度 325 °C, 70000 的分辨率全扫描且范围是 81~1000, HCD 二级裂解, 碰撞电压 30 eV, 选用动态排除将无关的 MS/MS 信息去除。

1.3.4 竹笋粗提物的制备

将采集的新鲜慈竹笋用蒸馏水冲洗 3 次, 切成 3 cm \times 3 cm 小块, 55 °C 烘干至含水量小于 6%, 将其粉碎后并过 60 目筛, 得竹笋粉。称取竹笋粉 3 g, 加入 120 mL 70% 乙醇, 35 °C 振荡萃取 24 h, 70 °C 水浴回流 1.5 h, 提取上清液。向剩余物中加入 50% 乙醇 60 mL, 70 °C 水浴回流 1.5 h, 提取上清液。将所剩残渣物 4000 r/min 离心 10 min, 提取上清液。将所有上清液合并, 抽滤后经旋转蒸发至粘稠状, 最后放入真空干燥箱中干燥。

1.3.5 抗氧化能力的测定

对慈竹笋粗提物的抗氧化物能力进行了测定, 主要从清除 DPPH 自由基能力、清除羟自由基能力、清除超氧阴离子自由基能力、相对还原力和总抗氧化能力五个方面进行。实验操作和武静文等在对毛竹、麻竹及雷竹的竹笋及笋壳提取物的实验方法一致^[12-17]。

1.3.6 数据处理

采用 SPSS 20.0 软件对实验数据进行统计分析, 并用 EXCEL 绘图。

表 1 慈竹笋代谢物分类及相对含量

Table 1 Metabolite classification and relative abundance of *B. emeiensis* shoot

分类	数量	百分比	
		总类别/%	总含量/%
氨基酸	24	32.00	7.72
有机酸	22	29.33	12.27
糖类	9	12.00	74.30
其他	6	8.00	0.13
磷酸	5	6.67	4.11
多元醇	4	5.33	1.16
脂肪酸	3	4.00	0.17
胺类	2	2.67	0.14

表 2 慈竹笋 GC-MS 代谢组成分

Table 2 Components of *B. emeiensis* shoot metabolome by GC-MS

序号	代谢物	分类	相对含量/%
1	葡萄糖	糖类	34.98 \pm 4.15
2	果糖	糖类	19.18 \pm 2.70
3	蔗糖	糖类	14.99 \pm 6.34
4	奎宁酸	有机酸	7.14 \pm 1.39
5	磷酸	磷酸	3.98 \pm 1.03
6	半乳糖	糖类	3.02 \pm 1.53
7	苹果酸	有机酸	2.46 \pm 1.42
8	天冬氨酸	氨基酸	1.93 \pm 0.43
9	丝氨酸	氨基酸	1.64 \pm 0.41
10	莽草酸	有机酸	1.54 \pm 0.86
11	肌醇	多元醇	1.05 \pm 0.22
12	麦芽糖	糖类	1.04 \pm 0.32
13	谷氨酰胺	氨基酸	0.97 \pm 0.29
14	异麦芽糖	糖类	0.73 \pm 0.16
15	谷氨酸	氨基酸	0.71 \pm 0.16
16	柠檬酸	有机酸	0.64 \pm 0.18
17	天冬酰胺	氨基酸	0.44 \pm 0.41
18	焦谷氨酸	氨基酸	0.44 \pm 0.10
19	丙氨酸	氨基酸	0.39 \pm 0.14
20	缬氨酸	氨基酸	0.26 \pm 0.06
21	苏氨酸	氨基酸	0.21 \pm 0.04
22	海藻糖	糖类	0.17 \pm 0.03
23	龙胆二糖	糖类	0.16 \pm 0.04
24	环庚基甘氨酸	氨基酸	0.16 \pm 0.16
25	脯氨酸	氨基酸	0.16 \pm 0.03
26	乳酸	有机酸	0.12 \pm 0.04
27	乙醇胺	胺类	0.11 \pm 0.06
28	甘油	多元醇	0.10 \pm 0.02

注: 仅列出相对含量大于 0.1% 的代谢物。

表 3 慈竹笋 LC-MS/MS 代谢组成分

Table 3 Components of *B. emeiensis* shoot metabolome by

LC-MS/MS			
序号	代谢物	化学式	相对含量/%
1	苯甲酸	C ₇ H ₆ O ₂	31.44±3.88
2	甜菜碱	C ₅ H ₁₁ NO ₂	21.28±2.90
3	对羟基苯甲醛	C ₇ H ₆ O ₂	12.88±2.20
4	阿洛酮糖	C ₆ H ₁₂ O ₆	6.24±1.52
5	植物鞘氨醇	C ₁₈ H ₃₉ NO ₃	2.24±0.32
6	L-谷氨酸	C ₅ H ₉ NO ₄	1.96±0.45
7	肌苷	C ₁₀ H ₁₂ N ₄ O ₅	1.74±0.25
8	甘油磷酸胆碱	C ₈ H ₂₀ NO ₆ P	1.16±0.27
9	胆碱	C ₅ H ₁₄ NO	1.14±0.38
10	苯乙醛	C ₈ H ₈ O	0.89±0.71
11	反式桂皮酸	C ₉ H ₈ O ₂	0.70±0.25
12	磷酸胆碱	C ₅ H ₁₅ NO ₄ P	0.63±1.38
13	L-苯丙氨酸	C ₉ H ₁₁ NO ₂	0.63±0.13
14	肌酸酐	C ₄ H ₇ N ₃ O	0.56±0.95
15	酮戊二酸	C ₅ H ₆ O ₅	0.55±0.05
16	L-酪氨酸	C ₉ H ₁₁ NO ₃	0.55±0.06

2 结果与分析

2.1 慈竹笋成分组成及分析

2.1.1 GC-MS

运用 GC-MS 平台共检测到 75 个代谢物, 根据化学结构分为氨基酸、糖类、核苷酸、有机酸、脂肪酸、磷酸、胺类、多元醇以及其他等九大类 (表 1)。其中氨基酸数量最多, 有 24 个代谢物, 比例为 32.00%, 相对含量为 7.72%; 有机酸数量仅次于氨基酸, 达到 22 个, 占比为 29.33%, 相对含量为 12.27%; 相对含量最高的是糖类 (74.30%), 共有 9 个代谢物, 占比为 12.00%; 其余代谢物相对含量较低, 仅占总含量的 5.71%。

进一步分析表明, 相对含量在 1% 以上的代谢物有 12 种 (表 2)。相对含量在 1% 以上的代谢物有 12 种, 其中相对含量最多的是糖类物质, 包括葡萄糖 (34.98%)、果糖 (19.18%)、蔗糖 (14.99%)、半乳糖 (3.02%) 和麦芽糖 (1.04%); 有机酸 3 种: 奎宁酸 (7.14%)、苹果酸 (2.46%) 和莽草酸 (1.54%); 氨基酸 2 种: 天门冬氨酸 (1.93%) 和丝氨酸 (1.64%); 磷酸 1 种: 磷酸 (3.98%); 多元醇 1 种: 肌醇 (1.05%)。

2.1.2 LC-MS/MS

当通过 LC-MS/MS 共检测鉴定出 226 种代谢物,

其中相对含量最高的是有机酸。由表 3 可知, 占总量 0.5% 以上的代谢物共有 16 种, 包括苯及取代并苯衍生物类 3 种: 苯甲酸 (31.44%)、对羟基苯甲醛 (12.88%) 和苯乙醛 (0.89%); 羧酸 1 种: 反式桂皮酸 (0.71%); 嘌呤核苷类 1 种: 肌苷 (1.74%); 脂肪酰基类 3 种: 甘油磷酸胆碱 (1.14%)、胆碱 (1.12%) 和磷酸胆碱 (0.66%); 氨基酸 4 种: L-谷氨酸 (1.96%)、L-苯丙氨酸 (0.63%)、肌酸酐 (0.56%) 和 L-酪氨酸 (0.55%); 糖类 2 种: 阿洛酮糖 (6.24%) 和酮戊二酸 (0.55%); 生物碱类 1 种: 甜菜碱 (21.28%); 未知类 1 种: 植物鞘氨醇 (2.24%)。

2.1.3 成分分析

大量的研究表明, 竹笋中含有丰富的糖类、有机酸、氨基酸和多肽类等物质^[18-20]。在本研究中, GC-MS 的结果显示, 慈竹笋的代谢物种糖类的相对含量达到了 74.30%。且有其他研究表明, 如在 *Yushania alpina* 竹笋中, 蔗糖、果糖和葡萄糖含量分别达到了 0.58 g/100 g、0.62 g/100 g 和 0.77 g/100 g^[21]。Wang 等^[22]的论述也表明竹笋因其含有的丰富糖类可以作为一种蔬菜为人类的生存提供能量和营养。另外, 在 GC-MS 和 LC-MS/MS 的结果中, 有机酸的相对含量都较高, 其中含量最高的为苯甲酸, 其次是甜菜碱和对羟基苯甲醛, 相对含量均大于 10%。苯甲酸在许多植物中参与了非生物因素的反应, 如在大豆和番茄中能诱导植物对寒冷、干旱、和热产生耐受性^[23], 与水胁迫协同作用可以进一步导致小麦幼苗生长高度变低^[24], 苯甲酸还可以与肉桂酸协同作用解除氨基乙酰乙酸的抑花作用^[25], 此外, 苯甲酸常用于食品防腐剂, 对腐败微生物具有良好的抑制作用^[26]。甜菜碱具有良好的抗氧化作用^[27,28], 具有降血脂的作用, 而对羟基苯甲醛对由氧化应激导致血脑屏障具有保护作用^[29]。这些结果表明慈竹笋是一种营养丰富的功能性食品原料, 同时其含有的有机酸在竹笋的保鲜领域可能具有一定的潜在开发价值。通过这两种色谱方法, 还鉴定出多种相对含量较高的氨基酸, 如在本研究中发现的天冬氨酸和谷氨酸相对含量均较高 (>1%), 与五种牡竹属竹种中检测到的鲜味呈味氨基酸含量较高具有一定的一致性, 表明慈竹笋中这两种氨基酸可能与慈竹的鲜味程度相关^[2]; 此外, 天冬氨酸、丝氨酸及苯丙氨酸等在其他研究的代谢组中也被检测到^[30,31], 其中对于苯丙氨酸而言, 其在多种竹种中被认为与竹笋的苦味密切相关^[2,30], 这些成分暗示了慈竹笋中的氨基酸在食品应用上, 除了提供营养还可能影响慈竹笋的品尝感官。对于竹笋种含有的脂肪类物质, 其含量都相对较少, 在 GC-MS 结果中, 脂肪酸类物质仅含 0.17%, 且在

LC-MS/MS 结果中, 只有胆碱 (1.12%) 和甘油磷酸胆碱 (1.14%) 两种脂类物质相对含量大于 1%, 表明慈竹笋成分中脂类物质含量少。

2.2 慈竹笋提取物抗氧化分析

2.2.1 DPPH 自由基清除能力的测定

通过检测待测物质和 DPPH 反应后的吸光度, 获得反应前后 DPPH 的浓度变化, 可判断待测物质的清除 DPPH 自由基能力。如图 1 所示, 慈竹笋提取物对 DPPH 自由基有较强的清除能力, 且随着剂量的增加, DPPH 自由基清除率相应增加, 并成剂量依赖关系。当粗提物的浓度为 0.1 mg/mL 时, 清除率为 15.50%, Vc 的清除率为 78.10%; 浓度为 0.2 mg/mL 时, 清除率达到 28.20%, Vc 清除率为 83.70%; 浓度增加到 1.0 mg/mL 时, 清除率达到 82.70%, Vc 为 93.40%。武静文等的研究显示, 当毛竹、麻竹及雷竹粗提物浓度在 0.1 mg/mL~0.8 mg/mL 之间时, 随着浓度的增加, 对自由基的清除作用增幅较大, 而当粗提物浓度达到 0.8 mg/mL 时, 增幅变缓^[12]。此外, 陈晓燕等的研究结果也表明当竹笋多糖含量对 DPPH 自由基的清除作用也随着多糖浓度的升高而增强, 并在多糖浓度到 1.0 mg/mL 后趋近于平缓^[32]。结合慈竹笋 GC-MS 代谢物分析结果中糖类物质的含量最为丰富, 且经多种酶水解或裂解后产生大量的多糖, 因此, 我们推测可能是慈竹笋提物中含有的多糖对 DPPH 自由基的清除发挥了较强的作用。

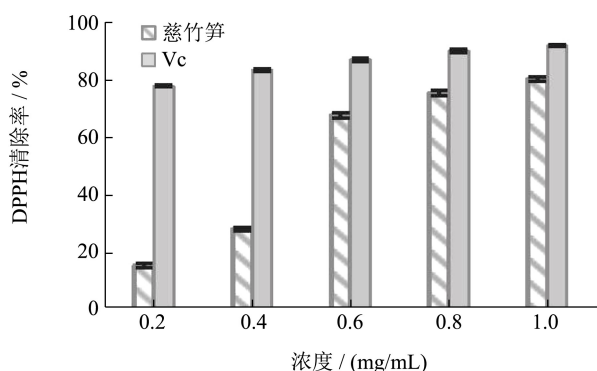


图 1 慈竹竹笋提取物对 DPPH 自由基的清除作用

Fig.1 The elimination of DPPH· of extracts from *B. emeiensis* shoot

2.2.2 羟自由基清除能力的测定

羟自由基清除率的大小可反映慈竹竹笋的抗氧化能力。由图 2 所示, 随着提取物浓度的升高, 对羟自由基清除能力也随之增强, 说明提物浓度与其羟自由基清除能力有一定量效关系。慈竹笋提取物羟自由基清除率较高, 且高于 Vc, 表明其具有强的羟自由基清除抗氧化能力。当提物的浓度为 0.1 mg/mL 时, 竹笋

的羟自由基清除率为 73.40%, Vc 的清除率为 68.80%, 二者的清除能力均超过 50%; 而当提取物的浓度达到 1.0 mg/mL 时, 竹笋的清除率为 89.70%, Vc 的清除率为 84.10%, 由此可见, 慈竹笋提取物具有较高的羟自由基基础清除能力, 且与毛竹春笋提取物在相应浓度对羟自由基的清除率接近^[12]。

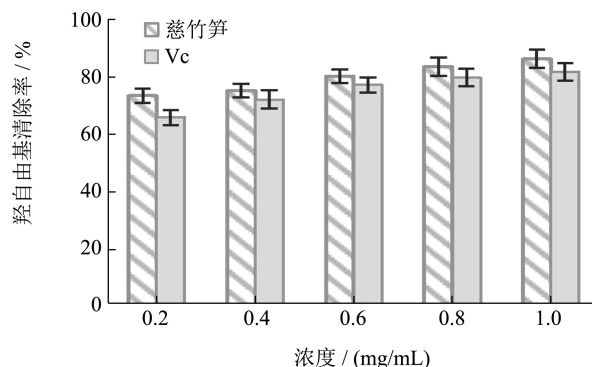


图 2 慈竹竹笋提取物羟自由基清除能力

Fig.2 The elimination of OH· of extracts from *B. emeiensis* shoot

2.2.3 超氧自由基清除能力的测定

如图 3 所示, 随着竹笋提取物浓度的增加, 超氧自由基清除能力呈上升趋势, 表明浓度与其存在一定量效关系。竹笋提物清除超氧自由基能力明显弱于 Vc, 当竹笋粗提物浓度为 1 mg/mL 时, 其清除能力仅有 43.80%, 而 Vc 清除能力达到 89.50%。由此可见, 慈竹笋提取物对超氧自由基清除能力介于麻竹笋和雷竹笋提取物之间, 低于毛竹笋提取物; 此外, 毛竹笋、麻竹笋、雷竹笋提取物对超氧自由基清除能力显著弱于 Vc^[12], 表明竹笋具有较弱的超氧自由基清除能力。

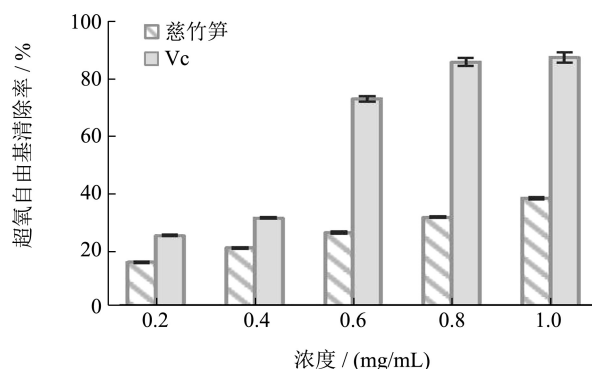


图 3 慈竹竹笋提取物超氧自由基清除能力

Fig.3 The elimination of O₂·- of extracts from *B. emeiensis* shoot

2.2.4 相对还原力的测定

样品相对还原力由 Fe²⁺和 Fe³⁺之间转移来表示, 吸光值越高, 还原力越强。如图 4 所示, 随着提取物浓度的增加, 相对还原力逐渐增强, 说明提取物浓度与相对还原力呈一定量效关系。提取物相对还原力整体较弱, 当浓度为 0.1 mg/mL 时, 相对还原力仅为

5.30%；当浓度达到 1.0 mg/mL 时，其相对还原能力也仅有 27.90%。本研究显示慈竹笋提取物相对还原能力较弱，但与毛竹笋多糖提取物的相对还原力随多糖浓度增加，相对还原力缓慢增强的趋势相似^[33]，此外，慈竹笋提取物相对还原力仍低于毛竹笋、麻竹笋和雷竹笋的笋壳提取物，当笋壳粗提物浓度达到 1 mg/mL 时，提取物相对还原能力均高于 50%^[12]，表明在相对还原力方面，笋壳比笋肉可能具有更好的表现。

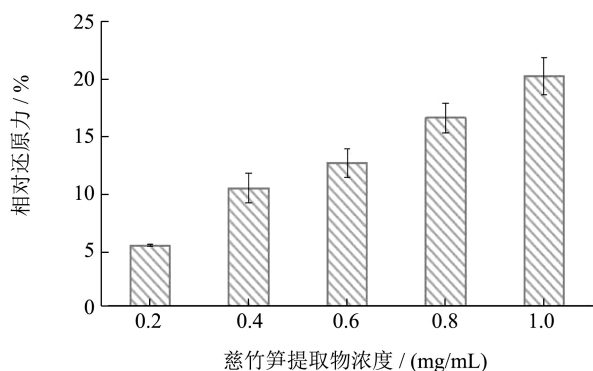


图 4 慈竹竹笋提取物相对还原力

Fig.4 Reducing power of extracts from *B. emeiensis* shoot

2.2.5 总抗氧化能力的测定

如图 5 所示，竹笋提物总抗氧化能力明显弱于 Vc。1 mg/mL 的竹笋的吸光度平均值为 0.43，FRAP 值为 100.10 $\mu\text{mol/L}$ 。而 1 mg/mL 的 Vc 的吸光度平均值为 2.85，FRAP 值为 996.20 $\mu\text{mol/L}$ 。研究发现毛竹笋提取物 FRAP 值为 353.80 $\mu\text{mol/L}$ ，麻竹笋和雷竹笋总抗氧化能力低于毛竹笋^[12]。结果表明慈竹笋提物总抗氧化能力远高于毛竹笋、麻竹笋和雷竹笋，但仍低于 Vc。

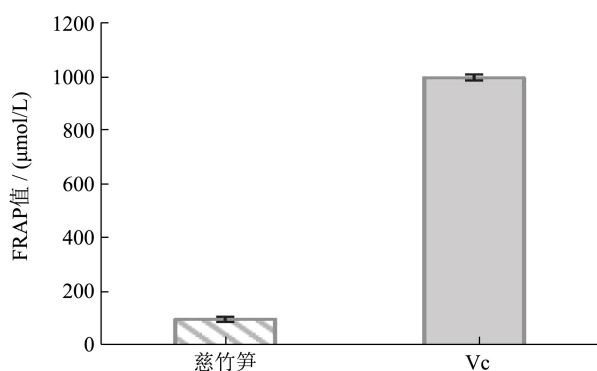


图 5 慈竹竹笋提取物总抗氧化活性

Fig.5 Total oxidation resistance of extracts from *B. emeiensis* shoot

3 结论

本研究运用 GC-MS 和 LC-MS/MS 广泛靶向代谢组学手段，对慈竹笋营养成分进行成分鉴定与分析，并从清除自由基、相对还原力、总抗氧化能力等方面

系统研究了其抗氧化活性。通过 GC-MS 代谢组结果鉴定出 75 种代谢物，其中相对含量最高的三类物质依次为糖类（74.30%）、有机酸（12.27%）和氨基酸（7.72%），另通过 LC-MS/MS 鉴定出 226 种代谢物，其中苯甲酸、对羟基苯甲醛和苯乙醛等相对含量最高，代谢组鉴定结果说明慈竹笋包含大量的糖类物质、多种的氨基酸和有机酸，可以用于营养慈竹笋，特定风味的慈竹笋食品的开发。此外，对慈竹笋提取物浓度达到 1 mg/mL 时，其抗氧化活性分析表明其对 DPPH 自由基清除率和羟自由基清除率较高，可达到 80% 以上，超氧自由基清除率为 43.80%，但相对还原力较弱且 FRAP 值为同等浓度水平下 Vc 的 1/10。综上，慈竹笋是一种营养丰富的功能性食品原料，对 DPPH 自由基清除和羟自由基的清除能力较强，因而本研究的结果可以为慈竹笋后期的食品加工利用提供一定的理论参考信息。

参考文献

- [1] Nirmala C, Bisht M, Haorongbam S. Nutritional properties of bamboo shoots: potential and prospects for utilization as a health food [J]. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 2011, 10: 153-168
- [2] 陈松河, 马丽娟, 丁振华, 等. 5 种牡竹属笋用竹竹笋营养成分之比较[J]. *竹子学报*, 2018, 37(4): 4-8, 19
CHEN Song-he, MA Li-juan, DING Zhen-hua, et al. Comparison of nutritional components in bamboo shoots of five *Dendrocalamus* species [J]. *Journal of Bamboo Research*, 2018, 37(4): 4-8, 19
- [3] 牛兆辉, 唐国建, 张丽雅, 等. 小佛肚竹竹笋的营养成分分析[J]. *西部林业科学*, 2017, 46(5): 35-39
NIU Zhao-hui, TANG Guo-jian, ZHANG Li-ya, et al. Analysis of nutritional components of *Bambusa ventricosa* shoots [J]. *Journal of West China Forestry Science*, 2017, 46(5): 35-39
- [4] 王茜, 王曙光, 邓琳, 等. 不同种源版纳甜龙竹竹笋营养成分分析[J]. *西南林业大学学报(自然科学)*, 2017, 37(5): 188-193
WANG Qian, WANG Shu-guang, DENG Lin, et al. Nutrient analysis of *Dendrocalamus hamiltonii* shoots from different provenances [J]. *Journal of Southwest Forestry University (Natural Sciences)*, 2017, 37(5): 188-193
- [5] Wishart D S, Feunang Y D, Marcu A, et al. HMDB 4.0: the human metabolome database for 2018 [J]. *Nucleic Acids Research*, 2018, 46(D1): D608-D617
- [6] Hong J, Yang L T, Zhang D B, et al. Plant metabolomics: an indispensable system biology tool for plant science [J].

- International Journal of Molecular Sciences, 2016, 17(6): 767
- [7] Chen W, Gong L, Guo Z L, et al. A novel integrated method for largescale detection, identification, and quantification of widely targeted metabolites: application in the study of rice metabolomics [J]. Molecular Plant, 2013, 6(6): 1769-1780
- [8] Sawada Y, Akiyama K, Sakata A, et al. Widely targeted metabolomics based on large-scale MS/MS data for elucidating metabolite accumulation patterns in plants [J]. Plant & Cell Physiology, 2009, 50(1): 37-47
- [9] 许腾,张玥,张海丽,等.代谢组学技术在营养学研究中的应用[J].中国食物与营养,2017,23(11):11-16
- XU Teng, ZHANG Yue, ZHANG Hai-li, et al. Applications of metabonomics in nutriology research [J]. Food and Nutrition in China, 2017, 23(11): 11-16
- [10] 李沅秋,罗朝兵,廖鸿,等.慈竹 ARF 基因的鉴定及虫害胁迫下的表达[J].东北林业大学学报,2019,47(2):56-63
- LI Yuan-qiu, LUO Chao-bing, LIAO Hong, et al. Identification and gene expression under herbivore stress of auxin response factors in *Bambusa emeiensis* [J]. Journal of Northeast Forestry University, 2019, 47(2): 56-63
- [11] 胡霞,陈小美,廖琰,等.正交试验法优选慈竹笋总黄酮提取工艺[J].乐山师范学院学报,2017,32(8):10-14,104
- HU Xia, CHEN Xiao-mei, LIAO Han, et al. Optimization of the extraction technology of total flavonoids from bamboo shoots by orthogonal test [J]. Journal of Leshan Normal University, 2017, 32(8): 10-14, 104
- [12] 武静文,袁艺,王文文,等.不同种竹笋及笋壳提取物抗氧化活性的研究[J].激光生物学报,2011,20(2):245-249,260
- WU Jing-wen, YUAN Yi, WANG Wen-wen, et al. Antioxidant activity of crude extracts from shoots and shells of different bamboos [J]. Acta Laser Biology Sinica, 2011, 20(2): 245-249, 260
- [13] Larrauri J A, Nchez-Moreno C S, Saura-Calixto F. Effect of temperature on the free radical scavenging capacity of extracts from red and white grape pomace peels [J]. Journal of Agricultural & Food Chemistry, 1998, 46(7): 2694-2697
- [14] 谢惠,张丽芬,邵佩兰,等.紫外辐射对红枣色素抗氧化活性的影响[J].食品工业科技,2017,38(23):44-48
- XIE Hui, ZHANG Li-fen, SHAO Pei-lan, et al. Effects of ultraviolet radiation on antioxidant activity of jujube pigment [J]. Science and Technology of Food Industry, 2017, 38(23): 44-48
- [15] 谢明勇,王慧琴,聂少平.红花提取物抗氧化活性研究(英文)[J].食品科学,2006,9:36-40
- XIE Ming-yong, WANG Hui-qin, NIE Shao-ping. Study on antioxidant activities of extract of safflower florets (*Carthamus tinctorius* L.) [J]. Food Science, 2006, 9: 36-40
- [16] 王宁,薛源,孙体健.苋菜红色素对羟自由基和超氧阴离子自由基的清除作用[J].山西医科大学学报,2009,40(5):458-460
- WANG Ning, XUE Yuan, SUN Ti-jian. Scavenging effects of red pigment extracted from edible amaranth on hydroxyl radicals and superoxide anion radicals [J]. Journal of Shanxi Medical University, 2009, 40(5): 458-460
- [17] 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
- ZHAO Wen-en, LI Qian-qian. Determination of total antioxidant capacity of red pigments from Chinese jujube peel by the ferric reducing/antioxidant power assay [J]. Journal of Zhengzhou University (Engineering Science), 2011, 32(3): 28-30, 35
- [18] 李安平,谢碧霞,钟秋平,等.毛竹春笋提取物抗氧化活性研究[J].食品科学,2008,5:97-100
- LI An-ping, XIE Bi-xia, ZHONG Qiu-ping, et al. Evaluation of antioxidant activity of *Phyllostachys pubescens* extracts [J]. Food Science, 2008, 5: 97-100
- [19] Lin Z, Chen J, Zhang J, et al. Potential for value-added utilization of bamboo shoot processing waste-recommendations for a biorefinery approach [J]. Food and Bioprocess Technology, 2018, 11(5): 901-912
- [20] 詹卉,邓琳,何文志,等.不同种源龙竹竹笋营养价值分析[J].西南林业大学学报(自然科学),2017,37(3):204-209
- ZHAN Hui, DENG Lin, HE Wen-zhi, et al. Nutrient analysis of *Dendrocalamus giganteus* shoots from different provenances [J]. Journal of Southwest Forestry University (Natural Sciences), 2017, 37(3): 204-209
- [21] Karabja P N. Physicochemical properties of bamboo shoots of selected species grown in Kenya and utilization as human food [D]. Jomo Kenyatta University of Agriculture and Technology, 2017
- [22] Wang Y, Chen J, Wang D, et al. A systematic review on the composition, storage, processing of bamboo shoots: focusing the nutritional and functional benefits [J]. Journal of Functional Foods, 2020, 71: 104015
- [23] Tissa S, David M, Kingsley D, et al. Benzoic acid may act as the functional group in salicylic acid and derivatives in the induction of multiple stress tolerance in plants [J]. Plant Growth Regulation, 2003, 39(1): 77-81
- [24] Amist N, Singh N B. Comparative effects of benzoic acid and water stress on wheat seedlings [J]. Russian Journal of Plant

- Physiology, 2018, 65(5): 709-716
- [25] Tomomi H, Kiyotoshi T. The metabolic pathway of salicylic acid rather than of chlorogenic acid is involved in the stress-induced flowering of *Pharbitis nil* [J]. Journal of Plant Physiology, 2003, 160(5): 461-467
- [26] 唐文强,刘长海.天然苯甲酸生物合成机制的研究进展[J].中国调味品,2011,36(8):12-15
TANG Wen-qiang, LIU Chang-hai. Advance on the biosynthesis of natural benzoic acid [J]. China Condiment, 2011, 36(8): 12-15
- [27] 董孝元,喻斌,吴昊,等.苦荞酒中甜菜碱检测方法及其抗氧化性研究[J].酿酒科技,2016,11:37-40
DONG Xiao-yuan, YU Bin, WU Hao, et al. Detection of betaine in tartary buckwheat wine and its antioxidant activity [J]. Liquor-Making Science & Technology, 2016, 11: 37-40
- [28] 金莉莉,于炎巧,朱晓玉,等.甜菜碱及叶酸的降血脂和抗氧化作用[J].辽宁大学学报(自然科学版),2019,46(2):142-150
JIN Li-li, YU Yan-qiao, ZHU Xiao-yu, et al. Effect of betaine and folic acid on reducing blood lipid and anti-oxidation of hyperlipidemia model mice [J]. Journal of Liaoning University (Natural Science Edition), 2019, 46(2): 142-150
- [29] 祝燕平,李欣,杜瑶,等.对羟基苯甲醛对血脑屏障的保护作用及机制研究[J].中国中药杂志,2018,43(5):1021-1027
ZHU Yan-ping, LI Xin, DU Yao, et al. Protective effect and mechanism of p-hydrobenzaldehyde on blood-brain barrier [J]. China Journal of Chinese Materia Medica, 2018, 43(5): 1021-1027
- [30] Gao Q, Jiang H, Tang F, et al. Evaluation of the bitter components of bamboo shoots using a metabolomics approach [J]. Food & Function, 2019, 10(1): 90-98
- [31] 郭子武,杨丽婷,林华,等.沙县苦竹笋外观、营养和食味品质变异的海拔效应[J].生态学杂志,2019,38(1):83-88
GUO Zi-wu, YANG Li-ting, LIN Hua, et al. Effects of altitude on the variation of appearance, nutrition, and taste for bamboo shoots of *Pleioblastus amarus* in Shaxian, Fujian Province [J]. Chinese Journal of Ecology, 2019, 38(1): 83-88
- [32] 陈晓燕,王军辉,姚玉飞,等.竹笋多糖复合酶法辅助提取及抗氧化活性研究[J].广东农业科学,2014,41(4):113-117
CHEN Xiao-yan, YAO Yu-fei, DU Yi-qun, et al. Optimal process of extraction with combined-enzyme method and antioxidant activity of polysaccharide from bamboo shoots [J]. Guangdong Agricultural Sciences, 2014, 41(4): 113-117
- [33] 陈莉华,高文昱,王晓静,等.竹笋总多糖的提取及抗氧化活性研究[J].林产化学与工业,2014,34(5):157-161
CHEN Li-hua, GAO Wen-yu, WANG Xiao-jing, et al. Extraction of total polysaccharides from bamboo shoots and their antioxidative activities [J]. Chemistry and Industry of Forest Products, 2014, 34(5): 157-161

(上接第 149 页)

- [18] Donald, J, Huber. Suppression of ethylene responses through application of 1-methylcyclopropene: a powerful tool for elucidating ripening and senescence mechanisms in climacteric and nonclimacteric fruits and vegetables [J]. Hortscience, 2008, 43(1): 106-111
- [19] Apel K, Hirt H. Reactive oxygen species: metabolism, oxidative stress, and signal transduction [J]. Annu Rev Plant Biol, 2004, 55: 373-399
- [20] 王宝山.生物自由基与植物膜伤害[J].植物生理学报,1988,2:12-16
WANG Bao-shan. Biological free radicals and plant membrane damage [J]. Plant Physiology Journal, 1988, 2: 12-16
- [21] Han C, Zuo J, Wang Q, et al. Effects of 1-MCP on postharvest physiology and quality of bitter melon (*Momordica charantia* L.) [J]. Scientia Horticulturae, 2015, 182: 86-91
- [22] 朱振家,杨瑞.不同类型果蜡对常温贮藏甜瓜保鲜效果的影响[J].农产品加工(学刊),2013,10:18-19,24
ZHU Zhen-jia, YANG Rui. Effects of various kinds of fruit wax coatings on melon fruits under ambient temperature [J]. Academic Periodical of Farm Products Processing, 2013, 10: 18-19, 24
- [23] 胡筱,潘浪,丁胜华,等.1-MCP 作用机理及其在果蔬贮藏保鲜中的应用研究进展[J].食品工业科技,2019,40(8):310-315, 322
HU Xiao, PAN Lang, DING Sheng-hua, et al. Research progress on the mechanism of action of 1-MCP and its application in postharvest fruits and vegetables storage [J]. Science and Technology of Food Industry, 2019, 40(8): 310-315, 322