

鱼腥草浸泡酒的多酚和香味成分分析及其抗氧化活性

杨占南^{1,2}, 孙一铭¹, 罗世琼², 谌金吾¹, 余正文², 孙 敏¹

(1.西南大学生命科学学院, 三峡库区生态环境教育部重点实验室, 重庆 北碚 400715; 2.贵州师范大学生命科学学院, 贵州省山地环境信息系统和生态环境保护重点实验室, 贵州 贵阳 550001)

摘要: 利用顶空固相微萃取(HS-SPME)结合气相色谱-质谱联用仪(GC-MS)分析鱼腥草浸泡酒中香味成分以及紫外分光光度计(UV)测定其多酚含量及 1,1-二苯基-2-三硝基苯肼(DPPH)自由基清除能力。结果表明,主要香味成分为羧酸及羧酸酯、醇类、萜类以及醛酮类物质,其中己酸乙酯占检出成分的 66.94%,丁酸乙酯(6.55%),月桂烯(4.51%),戊酸乙酯(2.00%),并检测出药理学活性的甲基正壬酮和乙酰龙脑等物质;多酚含量为 1.92 mg/mL,自由基清除率为 62.00%。结果表明,因鱼腥草有较独特的化学以及丰富的营养成分,使得鱼腥草浸泡酒具有较丰富的营养及药理成分物质,具有一定的保健功能。

关键词: 鱼腥草; 浸泡酒; 多酚; 香味成分; 抗氧化活性

中图分类号: TS262.91; TS261.4; TS261.7; S567 **文献标识码:** A **文章编号:** 1001-9286(2012)10-0040-03

Analysis of Phenolics and Flavoring Compositions of *Houttuynia cordata* Thunb Steeping Liquor & Study of Its Antioxidant Properties

YANG Zhannan^{1,2}, SUN Yiming¹, LUO Shiqiong², CHEN Jinwu¹, YU Zhengwen² and SUN Min¹

(1.School of Life Science, Southwest University, Key Lab of Eco-environments in Three Gorges Reservoir Region (MOE), Chongqing 400715; 2.Key Lab for Information System of Mountainous Area and Protection of Ecological Environment of Guizhou Province, Guizhou Normal University, Guiyang, Guizhou 550001, China)

Abstract: Phenolics content in *Houttuynia cordata* Thunb steeping liquor was measured and its DPPH radical removal capacity was evaluated by HS-SPME coupled with GC-MS. The results showed that main flavoring compositions of *Houttuynia cordata* Thunb steeping liquor were carboxylic acids and carboxylic esters, alcohols, terpene, aldehydes and ketone including ethyl caproate (66.94%), ethyl butyrate (6.55%), myrcene (4.51%) and ethyl valerate (2.00%). Besides, some bioactive compositions such as 2-undecanone and bornyl acetate were detected. The content of phenolics was 1.92 mg/mL and DPPH radical removal capacity was 62%. This study proved that *Houttuynia cordata* Thunb contains specific chemical compositions and rich nutrients, which makes healthcare functions of *Houttuynia cordata* Thunb steeping liquor.

Key words: *Houttuynia cordata* Thunb; steeping liquor; phenolics; flavoring compositions; antioxidant properties

鱼腥草 (*Houttuynia cordata* Thunb) 属三白草科 (*Saururaceae*) 蕺菜属,既是重要传统中药材,又是产于民间特味美食。鱼腥草作为中药被中国药典 2010 版所收载,其干品具有清热解毒,消痈排脓,利尿通淋之功效^[1],主要成分含有挥发油、黄酮类、生物碱类、木质素类、有机酸、甾醇和多酚类等 6 类物质^[2-4],并表现出抗氧化、抗白血细胞、抗突变、抗炎作用以及促进免疫系统广泛的生理活性^[5-7]。最近研究表明,鱼腥草显著抑制 SARS 的生理活性^[8],鱼腥草在我国及东南亚国家常用作蔬菜,是民间的特味美食。我国台湾及泰国等一些东南亚国

家,把鱼腥草鲜叶制成鱼腥草茶作为保健食品^[9]。随着生活水平的提高,人们对功能食品越来越关注。开始出现利用功能植物的浸泡酒,如玛咖浸泡酒等^[10]。但鱼腥草浸泡酒还缺乏系统报道。

本实验分别利用 GC-MS 和 UV 分析鱼腥草浸泡酒的香味成分及其多酚含量以及抗氧化活性,为进一步开发和利用鱼腥草浸泡酒提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料、仪器及试剂

基金项目 国家自然科学基金(No. 31060056)。

收稿日期: 2012-06-29

作者简介 杨占南(1974-),男,副教授,主要从事分析化学和植物生物学方面的研究, E-mail: yangzhannan@163.com。

通讯作者 孙敏,男,教授,博士生导师,主要从事植物生物技术方面的研究, E-mail: jwscm@swu.edu.cn。

优先数字出版时间 2012-08-02; 地址: <http://www.cnki.net/kcms/detail/52.1051.TS.20120802.1453.001.html>。

样品:新鲜鱼腥草,贵州师范大学实验基地;白酒:酿自毕节大曲(酒精度 53 %vol),贵州三源喜酒有限公司。

仪器:气相色谱-质谱联用仪(GCMS-QP2010,日本岛津公司);GCMS solution 色谱工作站,日本岛津公司;HP-FFAPms 弹性石英毛细管色谱柱(30 m×0.25 mm×0.25 μm),惠普公司;顶空固相微萃取(HS-SPME)装置,美国 Supelco 公司;100 μm 聚乙烯二甲基硅氧烷萃取头(PDMS),美国 Supelco 公司;5 mL 顶空瓶;UV-2450 型紫外可见分光光度计,日本岛津公司;分析天平,梅特勒-托利多仪器有限公司。

试剂:Folin-ciocalteu 试剂和 1,1-二苯基-2-三硝基苯肼(DPPH)购买于 Sigma 公司,其他试剂均为分析纯。

1.2 实验方法

1.2.1 鱼腥草浸泡酒的制备

取鲜鱼腥草全株洗净,称取 100 g 浸泡到 1000 mL 白酒中,避光密闭浸泡 20 d,为鱼腥草浸泡酒,过滤去滤液为供试样品。

1.2.2 顶空固相微萃取(HS-SPME)

取 1 mL 供试样品置于 5 mL 顶空瓶中加入 2 g 无水硫酸钠密闭,用 PDMS 100 μm 黑色萃取头提取,在 60 ℃ 水浴下加热,萃取时间为 40 min,GC 解吸 1 min,用于 GC-MS 分析。

1.2.3 气相色谱-质谱联用(GC-MS)分析条件

气相色谱(GC)条件:升温程序:初始温度 30 ℃ 保持 3 min,以 8 ℃/min 至 80 ℃,以 10 ℃/min 至 220 ℃,保持 10 min。载气:氦气(99.999 %);流速:0.56 mL/min;分流比:20:1;进样口温度:220 ℃。

质谱条件:离子源为 EI;电离电压:70 eV;离子源温度 200 ℃;溶剂延迟时间:5 min;质谱范围:33~450;扫描周期:0.5 scan/s,离子源电压 1.2 kV,接口温度 240 ℃。

香味成分的鉴定:香味成分的 GC-MS 鉴定是基于质谱 NIST147 和 NIST27 标准谱库(Hewlett Packard, Palo Alto, California, USA)检索与样品质谱特征比对的可信度确定的,有些不确定的化合物是根据参考文献以及保留时间证实。

数据处理及统计分析:所有样品重复分析 3 次,用 Excel (2003) 程序(Microsoft Office)对数据进行处理,所报道的数据都是 3 次分析的平均值(n=3),香味成分的相对含量是总离子的峰面积归一化法计算。

1.2.4 多酚的测定

参照文献^[11]准确吸取供试样品 0.1 mL 于 20 mL 具塞比色管中,加 1 mL Folin-ciocalteu 试剂,摇匀后再加入 18.9 mL 4 %的 Na₂CO₃ 溶液,在室温下静置 2 h,相同条件

配制空白样。在 760 nm 处测定吸光值,根据线性方程计算出供试样品多酚的含量。

1.2.5 清除 DPPH 活性的测定

参照文献方法^[12-13],准备 DPPH 52 μg/mL 乙醇溶液;取供试样品溶液 5 mL 用乙醇定容到 25 mL 为 DPPH 活性的供试样品;分别取 1 mL 供试样品与 4 mL DPPH 溶液(A_j),4 mL DPPH 溶液与 1 mL 甲醇(A₀)和 1 mL 供试样品与 4 mL 甲醇(A_i),混合摇匀。在 37 ℃ 下避光放置 30 min,以乙醇为空白在 517 nm 处分别测定其吸光值。按公式计算抑制率:抑制率(%)={[1-(A_i-A_j)]/A₀}×100 (A_j 是为了消除浸提液颜色的干扰)。

2 结果与分析

2.1 香味成分的分析

GC-MS 分析见图 1 和表 1。图 1、表 1 结果显示,共检出 31 个化学成分,其中 13 个为羧酸及羧酸酯:己酸乙酯占检出成分的 66.94 %,其次为丁酸乙酯(6.55 %),戊酸乙酯(2.00 %),戊酸丁酯(1.11 %),乳酸乙酯(1.39 %),辛酸乙酯(1.16 %)和己酸(1.00 %)等;4 醇类化合物:主要为正丁醇(1.31 %);4 个萜类化合物:β-蒎烯(2.16 %),桉桉(1.17 %),月桂烯(4.51%)和柠檬烯(2.70 %);3 个醛酮类:呋喃醛(0.43 %),苯甲醛(0.02 %)和甲基正壬酮(0.28 %),5 个萘及其同系物和 2 个其他类化合物。甲基正壬酮和乙酰龙脑是具有药理学活性物质,表明长期适量饮用对人体健康有益。

2.2 多酚的含量分析

按照 1.2.4 分别配制 0、0.008 mg/mL、0.016 mg/mL、0.024 mg/mL 和 0.032 mg/mL 的咖啡酸标准溶液进行测定,以标准溶液的含量为横坐标(Y),以吸收值为纵坐标(X),其线性回归方程为:Y=0.1021X+0.002, r²=0.9987,在 0.008~0.032 mg/mL 呈良好的线性关系。测定供试样品的结果为 1.92 mg/mL,结果表明,鱼腥草浸泡酒中含丰富的多酚类物质。

2.3 抗氧化活性分析

按照 1.2.4 测定供试样品的清除率,其测定鱼腥草浸泡酒的清除率为 62.00 %。结果表明,鱼腥草浸泡酒中具有较好的自由基清除能力。

3 结论

目前的工作基于 GC-MS 分析鱼腥草浸泡酒中的香味成分并测定其多酚及抗氧化活性。因鱼腥草有较独特的化学以及丰富的营养成分。使得鱼腥草浸泡酒具有较丰富的营养及药理成分物质,具有一定的保健功能,此初步工作对于进一步开发和利用具有重要的价值。

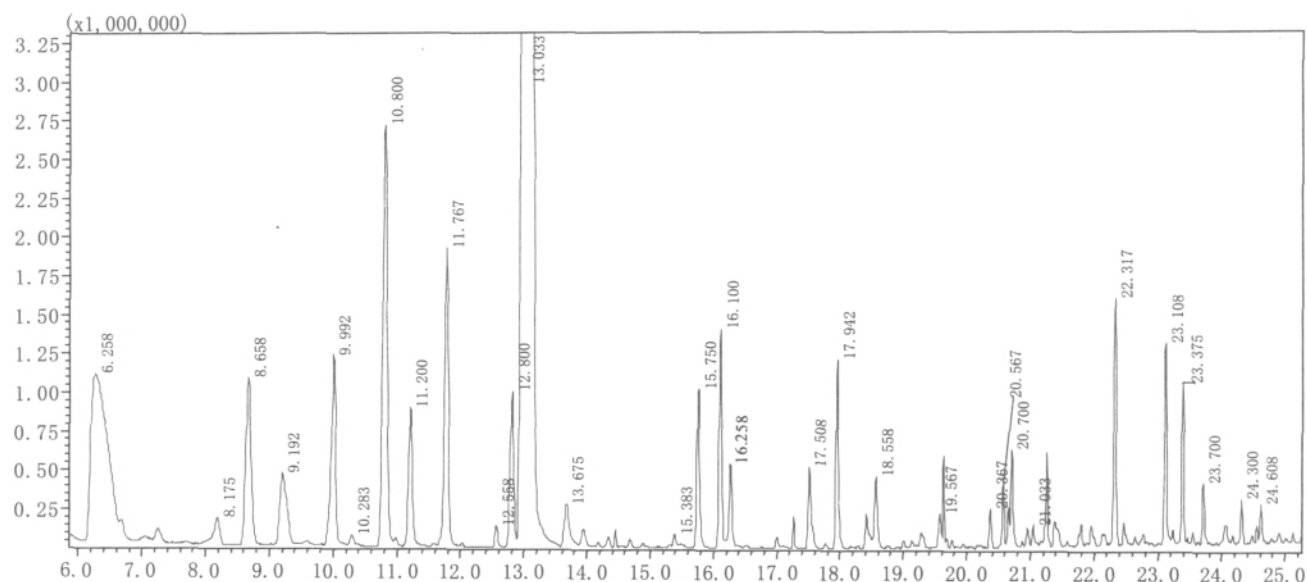


图 1 鱼腥草浸泡酒中香味成分的 GC-MS 总离子流图

表 1 鱼腥草浸泡酒中香味成分(n=3)

编号	保留时间(min)	化合物名称	相对百分含量(%)
1	6.258	Butyric ether(丁酸乙酯)	6.55
2	8.175	1,1-Diethoxy-3-methylbutane(1,1-二甲氧基-3-甲基丁烷)	0.42
3	8.658	β -Pinene(β -蒎烯)	2.16
4	9.192	Sabinene(桉萜)	1.17
5	9.992	Pentanoic acid, ethyl ester(戊酸乙酯)	2.00
6	10.283	2-Pentanol(2-戊醇)	0.10
7	10.800	Myrcene(月桂烯)	4.51
8	11.200	1-Butanol(正丁醇)	1.31
9	11.767	D-Limonene(柠檬烯)	2.70
10	12.558	Butanoic acid, butyl ester(丁酸丁酯)	0.13
11	12.800	Isopentyl alcohol(异戊醇)	1.25
12	13.033	Hexanoic acid, ethyl ester(己酸乙酯)	66.94
13	13.675	Phenethylene(苯乙烯)	0.46
14	15.383	Hexanoic acid, propyl ester(己酸丙酯)	0.06
15	15.750	Heptanoic acid, butyl ester(庚酸丁酯)	1.11
16	16.100	Lactic acid, ethyl ester(乳酸乙酯)	1.39
17	16.258	1-Hexanol(正己醇)	0.51
18	17.508	Hexanoic acid, isobutyl ester(己酸异丁酯)	0.61
19	17.942	Octanoic acid, ethyl ester(辛酸乙酯)	1.16
20	18.558	Furfural(呋喃醛)	0.43
21	19.567	Benzaldehyde(苯甲醛)	0.02
22	20.367	Bornyl acetate(龙脑乙酯)	0.21
23	20.567	2-Undecanone 甲基正壬酮	0.28
24	20.700	Hexanoic acid, hexyl ester(己酸己酯)	0.34
25	21.033	Ethyl 5-methylnonanoate (5-甲基壬酸乙酯)	0.04
26	22.317	Naphthalene(萘)	1.41
27	23.108	Hexanoic acid (己酸)	1.00
28	23.375	1-methyl-Naphthalene(1-甲基萘)	0.77
29	23.700	Benzonorborene(苯甲波二烯)	0.29
30	24.300	2,6-Dimethylnaphthalene(2,6-二甲基萘)	0.2
31	24.608	2,3-Dimethylnaphthalene(2,3-二甲基萘)	0.17

注: 表中的相对含量是去除了乙醇的含量。

参考文献:

[1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典: 第一部[M]. 北京: 中国

(下转第 45 页)

- [2] 赵凯,徐鹏举,谷广辉.3,5-二硝基水杨酸比色法测定还原糖含量的研究[J].食品科学,2008(29):534-536.
- [3] GB/T 15038—2006,葡萄酒、果酒通用分析方法[S].
- [4] Acree T E, Sonoff E P, Splittstoesser D. F. Effect of yeast strain and type of sulfur compound on hydrogen sulfide production[J]. Am. J. Enol. Vitic. 1972(23): 6-9.
- [5] Butzke C E, Park S K. Impact of fermentation rate changes on potential hydrogen sulfide concentrations in wine[J]. J. Microbiol. Biotechnol., 2011(21):519-524.
- [6] Fugelsang K C, Edwards C G. Wine Microbiology. Practical applications and procedures[M]. Second edition. New York: Springer. 2007:18-128.
- [7] Jiranek V P, Henschke P A. Validation of bismuth-containing indicator media for predicting H₂S-producing potential of *Saccharomyces cerevisiae* wine strains under enological conditions [J]. Am. J. Enol. Vitic, 1995 (46):269-281.
- [8] Kumar G R, Ramakrishnan V, Bisson L F. Survey of hydrogen sulfide production in wine strains of *Saccharomyces cerevisiae* [J]. Am. J. Enol. Vitic., 2010(61):365-371.
- [9] Mendes-Ferreira A, Barbosa C, Falco V, Leão C, and Mendes-Faia A. The production of hydrogen sulphide and other aroma compounds by wine strains of *Saccharomyces cerevisiae* in synthetic media with different nitrogen concentrations[J]. J. Ind. Microbiol. Biotechnol., 2009(36):571-583.
- [10] Nowak A, Kusewicz D, Kalinowska H, Turkiewicz M, Patelski P. Production of H₂S and properties of sulfite reductase from selected strains of wine-producing yeasts[J]. Eur. Food Res. Technol., 2004 (219):84-89.
- [11] Park, Seun-Kook. Development of a method to measure hydrogen sulfide in wine fermentation[J]. J. Microbiol. Biotechnol., 2008 (18):1550-1554.
- [12] Rauhut D. Yeast production of sulfur compounds. In: Fleet G. H. (ed.), Wine microbiology and biotechnology[M]. Switzerland: Harwood Academic Publishers, Chur: 1993,183-223.
- [13] Spiropoulos A, Tanaka J, Flerianos I, Bisson L F. Characterization of hydrogen sulfide formation in commercial and natural wine isolates of *Saccharomyces*[J]. Am. J. Enol. Vitic., 2000 (51):233-248.
- [14] Ugliano M, Henschke P. A. Comparison of three methods for accurate quantification of hydrogen sulfide during fermentation [J]. Analytica Chimica Acta, 2010(660):87-91.
- [15] Varela C, Cárdenas J, Melo F, Agosin E. Quantitative analysis of wine yeast gene expression profiles under winemaking conditions[J]. Yeast, 2005(22):369-383.
- [16] Walker M D, Simpson W. J. Production of volatile sulphur compounds by ale and lager brewing strains of *Saccharomyces cerevisiae*[J]. Lett. Appl. Microbiol., 1993(16): 40-44.

(上接第 42 页)

医药科技出版社,2010.

- [2] Bansiddhi J, Techadamrongsin Y, Anulaknapakorn K, et al. *Houttuynia cordata* Thunb[M]. Bangkok, Thailand: The War Veteran Organization Press, 2003:201-205.
- [3] Ch MI, Wen YF, Cheng Y. Gas chromatographic/mass spectrometric analysis of the essential oil of *Houttuynia cordata* Thunb. by using on-column methylation with tetramethylammonium acetate[J]. Journal of AOAC International, 2007, 90: 60-67.
- [4] Meng J, Dong XP, Zhou YS, et al. Studies on chemical constituents of phenols in fresh *Houttuynia cordata*[J]. China Journal of Chinese Materia Medica, 2007, 32: 929-931.
- [5] Toda, S. Antioxidative effects of polyphenols in leaves of *Houttuynia cordata* on protein fragmentation by copper-hydrogen peroxide in vitro[J]. Journal of Medicinal Food, 2005, 8: 266-268.
- [6] Li GZ, Chai OM, Lee MS, et al. Inhibitory effects of *Houttuynia cordata* water extracts on anaphylactic reaction and mast cell activation[J]. Biological and Pharmaceutical Bulletin, 2005, 28: 1864-1868.
- [7] Lu HM, Liang YZ, Yi LZ, et al. Anti-inflammatory effect of *Houttuynia cordata* injection[J]. Journal of Ethnopharmacology, 2006, 104: 245-249.
- [8] Lau, KM, Lee, KM, Koon, CM, et al. Immunomodulatory and anti-SARS activities of *Houttuynia cordata*[J]. Journal of Ethnopharmacology, 2008, 118: 79-85.
- [9] Nuengchamnong N, Krittasilp K, Ingkaninan K. Rapid screening and identification of antioxidants in aqueous extracts of *Houttuynia cordata* using LC-ESI-MS coupled with DPPH assay[J]. Food Chemistry 2009, 117: 750-756.
- [10] 罗堉子, 张弘, 郑华, 等. 玛咖浸泡酒工艺研究[J]. 食品科学, 2012, 33(2): 164-168.
- [11] 刘天质, 曾玩嫻. 白兰地总多酚含量测定方法初探[J]. 酿酒科技, 2010(7): 96-97.
- [12] Wu L. Effect of chlorogenic acid on antioxidant activity of *Flos Lonicerae* extracts[J]. 浙江大学学报(B 卷英文版), 2007, 8(9): 673-679.
- [13] 童珊珊, 徐亚萍, 金花, 等. 绵茵陈提取液中绿原酸的测定及其抗氧化活性研究[J]. 江苏中医药, 2009, 41(4): 57-59.