

美洲大蠊油脂成分测定及抗氧化活性研究

查伦贵^{1,2}, 顾庆慧², 吴明一², 胡琳¹

(1. 云南民族大学 民族药学院 民族药资源化学国家民委-教育部重点实验室, 云南 昆明 650500;
2. 中国科学院昆明植物研究所 植物化学与天然药物全国重点实验室, 云南 昆明 650201)

摘要: 采用乙醇提取获得美洲大蠊(*Periplaneta americana*)醇提取物, 经分离纯化得到油脂成分, 并测定其脂肪酸种类、质量分数及其抗氧化活性。所得油脂经皂化和甲酯化方法处理后, 采用GC-MS法分析其脂肪酸种类和质量分数。以维生素E为阳性对照, 测定3批油脂清除DPPH自由基的能力。结果显示, 3批油脂均鉴定出20种脂肪酸, 以油酸、亚油酸、棕榈酸和硬脂酸为主。3批油脂的抗氧化活性均优于维生素E。研究结果为美洲大蠊的综合利用提供了参考依据。

关键词: 美洲大蠊; 油脂; 脂肪酸; 抗氧化

中图分类号: R932 **文献标志码:** A **文章编号:** 1672-8513(2025)02-0123-05

美洲大蠊(*Periplaneta americana*)属昆虫纲, 蜚蠊目, 蜚蠊科, 俗称蟑螂。蜚蠊科动物全世界已知约44属525种, 我国记载10属39种。明代李时珍在《本草纲目》中对蜚蠊科入药动物作了“身似蚕蛾, 腹背俱赤, 两翅能飞”的描述, 而这是美洲大蠊独有的特征。有关蜚蠊品种最早描述于汉末《名医别录》^[1], 在中国现存最早药学专著《神农本草经》^[2]记载:“活血散瘀, 解毒消痞, 利尿消肿。用于症瘕积聚, 小儿疳积, 脚气水肿, 疔疮、肿毒及虫蛇咬伤”, 此后历代本草多有入药记录。美洲大蠊具有“活血、散瘀、化积、消痞、解毒、利尿、消肿”等功效^[1]。现在药理研究^[2-11]表明, 其具有提高免疫力、抗菌、抗炎、抗肿瘤、抗氧化等作用。上市药物包括康复新液、心脉龙注射液和肝龙胶囊^[12]。本文对美洲大蠊油脂成分进行提取、分离、纯化, 采用GC-MS法分析其脂肪酸组成, 并测定油脂清除DPPH自由基能力, 以评估其抗氧化活性, 以期为美洲大蠊资源的综合利用奠定基础。

1 实验材料与仪器

1.1 材料与试剂

美洲大蠊, 云南强蠊生物科技有限公司; 色谱级甲醇, MREDA; 色谱级正庚烷、色谱级异辛烷、分析级甲基叔丁基醚, 上海麦克林生化科技有限公司; 氯化钠, 天津市鼎盛鑫化工有限公司; 无水硫酸钠、氢氧化钠, 天津市大茂化学试剂厂; 硫酸氢钠, 天津风船化学试剂科技有限公司; 三氟化硼, 上海阿拉丁生化科技股份有限公司; 体积分数为95%乙醇, 云南利妍科技有限公司; 1,1-二苯基-2-苦基肼自由基(DPPH), 梯希爱(上海)化成工业发展有限公司。

1.2 实验仪器

KQ5200B型超声波清洗器, 江苏昆山市超声仪器有限公司; YDF-5L型玻璃反应釜, 巩义市予华仪器有限责任公司; RCT basic加热型磁力搅拌器, 德国IKA公司; MX-S涡旋振荡器, 美国SCILOGEX公司; JA5003B电子天平(千分之一), 上海天美天平仪器有限公司; 7890A GC/5975C型号气相色谱-质谱联用仪,

收稿日期: 2023-02-22.

基金项目: 云南省基础研究计划项目(202301AV070008); 云南省院士专家工作站(2020005AF150067).

作者简介: 查伦贵(1998-), 男, 硕士. 主要从事天然药物化学研究.

通信作者: 吴明一(1982-), 男, 博士, 研究员. 主要从事天然药物化学及其生物活性研究.

胡琳(1976-), 女, 博士, 副教授. 主要从事天然活性成分研究.

Agilent Technologies 公司; L535R-1 台式低速冷冻离心机, 长沙高新技术产业开发区湘仪离心机仪器有限公司; Multiskan FC 型酶标仪, 赛默飞世尔(上海)仪器有限公司。

2 实验部分

2.1 脂肪酸质量分数测定

2.1.1 供试品的制备

油脂的提取参照文献[13-16]方法, 选取两月龄内的美洲大蠊成熟成虫, 单独饲养 8~10 d, 期间供水不供食物, 确保其体内无外源性成分, 置于 80 °C 烤箱烘烤 1 h 处死。用蒸馏水清洗 3 次洗净体表杂质, 烘干并确保除尽水分。采用打粉机将成虫打粉, 粉末以料液比 1:5 g/mL 加入 95% 乙醇充分混合, 于反应釜中 90 °C 回流提取 3 h, 反应结束, 冷却至室温。所得提取液离心 (4 000 r/min × 15 min), 收集上清液。按照上述方法重复提取 3 次, 最后合并提取液。将提取液浓缩至浸膏状后, 使用去离子水清洗, 再次离心去除水溶性部分, 得油脂 A。按照上述方法重复提取 2 次, 分别得到油脂 B 和 C。3 批油脂均保存于 4 °C 备用。

2.1.2 实验方法

参考文献[17-18]方法略作修改。称取油样 A、B、C 样品各 250.0 mg 于 100 mL 烧瓶中, 加入 5 mL 的 2% 氢氧化钠甲醇溶液, (80 ± 1) °C 水浴回流直至油滴消失, 反应 12 min。冷却至室温后, 加入 5 mL 的 14% 三氟化硼甲醇溶液, (80 ± 1) °C 水浴中继续回流 2 min, 冷却至室温。加入 5 mL 异辛烷, 振摇 2 min, 再加入饱和氯化钠水溶液 20 mL, 塞住烧瓶猛烈振摇 30 s, 静置分层。吸取上层异辛烷提取溶液大约 4 mL, 至试管中, 加入 2 g 无水硫酸钠, 振摇 1 min, 静置 5 min, 吸取上层溶液过 0.22 μm 的滤膜到进样瓶中待测定。

GC 条件如下: 进样器温度设置为 250 °C; 初始温度 80 °C 持续 1 min 后, 以 20 °C/min 速率升至 180 °C 后, 以 10 °C/min 升至 220 °C, 然后再以 1 °C/min 升至 250 °C, 保持 5 min。载气为氮气; 分流比为 40:1; 流速 1 mL/min; 进样体积 1 μL。

MS 条件参照文献[19-20]设置如下: 电离源为 EI 电子源, 电子能量 70 eV, 传输线温度 290 °C, 离子源温度 230 °C, 四极杆温度 150 °C, 质量范围 50~600 Da。

2.2 抗氧化活性测定

DPPH 法有稳定性好、灵敏度高、操作简单等优点^[21-22]。参考文献[23-26]的实验方法, 测定油脂的抗氧化活性。

按照体积比 1:1 的无水乙醇: 甲基叔丁基醚为各取 50 mL 制备成混合溶液, 4 °C 保存备用。称取油脂样品和阳性对照维生素 E 各 1 g, 分别溶解于 1 mL 无水乙醇与甲基叔丁基醚的混合溶液中, 配制成质量浓度为 1 000 mg/mL 的母液。上述样品母液进行 4 倍梯度稀释, 共稀释 5 个质量浓度梯度, 备用。称取 DPPH 样品 6.4 mg, 加 8 mL 无水乙醇与甲基叔丁基醚混合溶液, 超声 5 min, 涡旋震荡使其充分溶解, 临用前稀释 10 倍, 得到 0.2 mmol/L 的 DPPH 溶液, 于 4 °C 避光保存备用。吸取受试样品 100 μL, 加入 96 孔板中, 加入 100 μL 的 DPPH 溶液, 轻微震荡避光反应 30 min 后, 于 540 nm 波长处测定吸光度值, 每组样品平行做 3 次, 计算平均值。样品清除自由基 DPPH 的活性 (I_{DPPH}) 按以下公式(1)计算。

$$I_{\text{DPPH}} = \frac{A_c - (A_s - A_d)}{A_c} \times 100\% \quad (1)$$

其中, A_c 表示 100 μL 溶剂 + 100 μL DPPH 反应 30 min 后的吸光度值; A_s 表示 100 μL 样品 + 100 μL DPPH 反应 30 min 后的吸光度值; A_d 表示 100 μL 样品 + 100 μL 溶剂混合反应 30 min 后的吸光度值。

3 结果与讨论

3.1 脂肪酸质量分数测定

对 3 批美洲大蠊油脂分别进行 GC-MS 分析, 并经 GC-MS NIST11 数据库检索发现, 每个油脂各鉴定出 20 个化合物(图 1), 3 批油脂的脂肪酸类型基本一致。

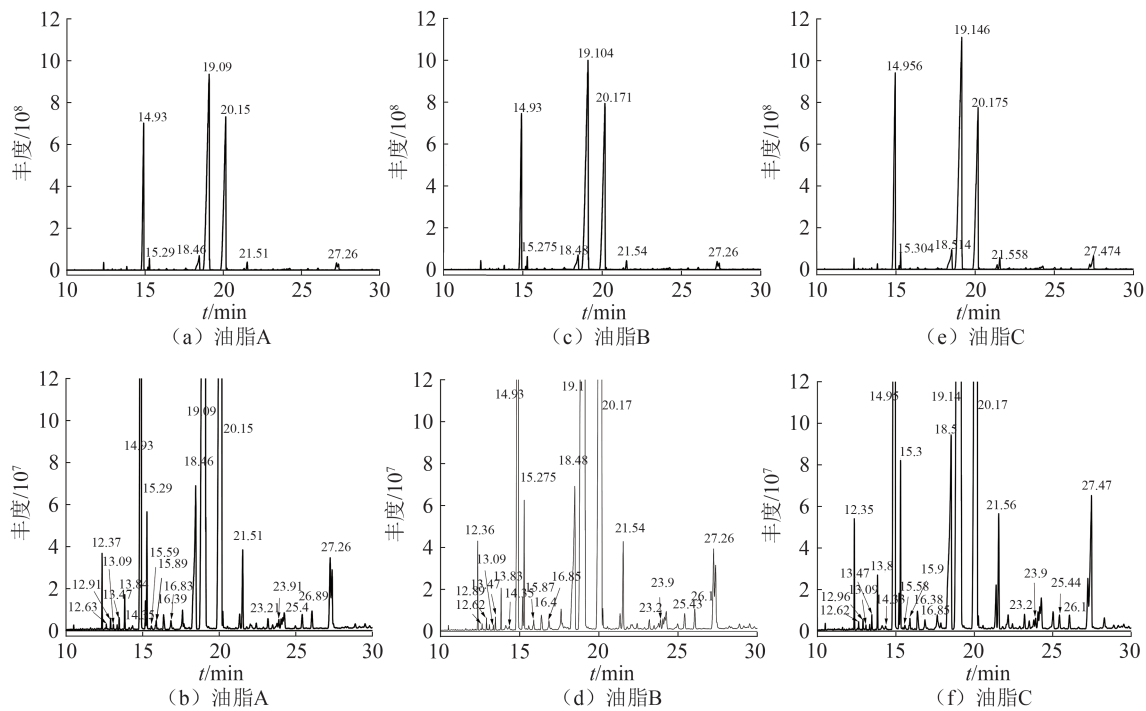


图1 美洲大蠊油脂的GC-MS总离子流图

采用面积归一化法对脂肪酸进行平均相对质量分数计算,结果见表1. 表1显示,美洲大蠊油脂中鉴定出20种脂肪酸,其中油酸(平均相对质量分数46.8%)、亚油酸(31.0%)、棕榈酸(15.6%)和硬脂酸(2.8%)为主要成分,占总脂肪酸的95%以上,其中不饱和脂肪酸的质量分数大于75%. 3批油脂的主要脂肪酸质量分数相对稳定,表明该提取方法重复性较好.

表1 美洲大蠊油脂中脂肪酸组成分析结果

序号	化合物	分子式	相对质量分数/%			(均值 ± 标准差)/%
			油脂 A	油脂 B	油脂 C	
1	油酸	C ₁₉ H ₃₆ O ₂	47.174	46.514	46.784	46.824 ± 0.350
2	亚油酸	C ₁₉ H ₃₄ O ₂	31.357	31.602	30.183	31.047 ± 0.555
3	棕榈酸	C ₁₇ H ₃₄ O ₂	15.414	15.753	15.656	15.608 ± 0.145
4	硬脂酸	C ₁₉ H ₃₈ O ₂	2.646	2.517	3.119	2.761 ± 0.438
5	花生四烯酸	C ₂₁ H ₃₄ O ₂	0.876	0.894	1.572	1.114 ± 0.458
6	亚麻酸	C ₁₉ H ₃₂ O ₂	0.664	0.674	0.733	0.690 ± 0.043
7	9(Z)-十六碳烯酸	C ₁₇ H ₃₂ O ₂	0.764	0.770	0.807	0.780 ± 0.027
8	肉豆蔻酸	C ₁₅ H ₃₀ O ₂	0.280	0.292	0.317	0.296 ± 0.021
9	5,11,14-顺-二十碳三烯酸	C ₂₁ H ₃₆ O ₂	0.188	0.191	0.108	0.162 ± 0.029
10	十七碳酸	C ₁₈ H ₃₆ O ₂	0.152	0.147	0.160	0.153 ± 0.007
11	顺-11,14-二十碳二烯酸	C ₂₁ H ₃₈ O ₂	0.151	0.154	0.105	0.137 ± 0.032
12	花生酸	C ₂₁ H ₄₂ O ₂	0.103	0.091	0.111	0.102 ± 0.011
13	顺式-11-二十碳烯酸	C ₂₁ H ₄₀ O ₂	0.087	0.081	0.074	0.081 ± 0.007
14	10C-十七烯酸	C ₁₈ H ₃₄ O ₂	0.082	0.079	0.070	0.077 ± 0.007
15	顺式7,10-十六碳二烯酸	C ₁₇ H ₃₀ O ₂	0.071	0.080	0.069	0.073 ± 0.007
16	十五烷酸	C ₁₆ H ₃₂ O ₂	0.058	0.060	0.057	0.058 ± 0.002
17	14-甲基十五烷酸	C ₁₇ H ₃₄ O ₂	0.033	0.030	0.018	0.027 ± 0.006
18	14-甲基十六烷酸	C ₁₈ H ₃₆ O ₂	0.028	0.027	0.021	0.025 ± 0.004
19	12-甲基十四烷酸	C ₁₆ H ₃₂ O ₂	0.023	0.023	0.015	0.020 ± 0.005
20	1,8-辛二酸二甲酯	C ₁₀ H ₁₈ O ₄	0.017	0.021	0.021	0.020 ± 0.003

3.2 美洲大蠊油脂抗氧化活性测定

测定数据用GraphPad Prism 8软件进行绘制油脂清除自由基DPPH的IC₅₀曲线图(图2),并计算油脂DPPH清除能力IC₅₀值(图3). 维生素E、油脂A、油脂B和油脂C的IC₅₀值分别为:(3.137 ± 0.046)、(1.146 ±

0.017)、 (1.856 ± 0.094) 和 (2.23 ± 0.208) mg/mL.

如图2所示,美洲大蠊油脂对DPPH自由基有显著的清除作用,且清除效果随浓度增加而增强,呈现浓度依赖性.图3数据显示,3批美洲大蠊油脂对DPPH自由基清除率达到50%时的质量浓度均低于维生素E的质量浓度,表明其抗氧化活性优于维生素E;不同提取批次所得油脂的抗氧化能力有所相同,3批油脂抗氧化能力由大到小排序为:美洲大蠊油脂A > 美洲大蠊油脂B > 美洲大蠊油脂C > 维生素E,以油脂A清除自由基能力为最强.

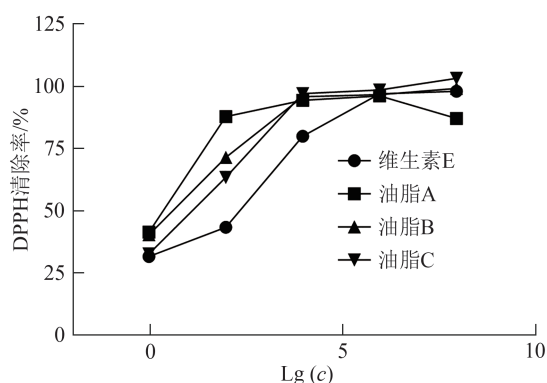


图2 油脂清除自由基DPPH的对数质量浓度曲线

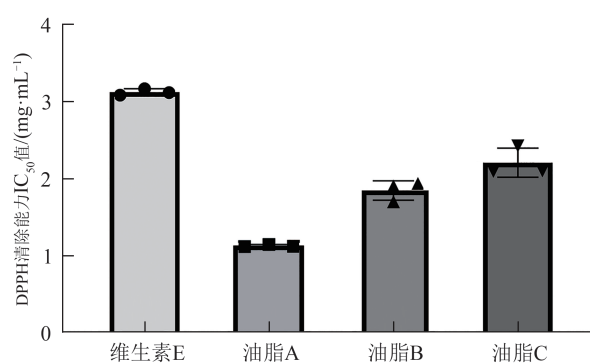


图3 油脂DPPH清除能力IC₅₀值

4 结语

对美洲大蠊粉末醇提取纯化后,制备得到3批美洲大蠊油脂,对其中的脂肪酸成分进行GC-MS分析,结果显示,3批美洲大蠊油脂中均含有20种脂肪酸,其中油酸、亚油酸、棕榈酸和硬脂酸为主要成分.3批美洲大蠊油脂的主要脂肪酸质量分数基本一致,表明提取方法重复性较好.美洲大蠊油脂清除DPPH自由基的活性测定结果显示,3批油脂的抗氧化活性均优于维生素E,表明美洲大蠊油脂具有较强的抗氧化活性.研究结果丰富了美洲大蠊油脂的化学成分及其抗氧化活性的基础数据,为美洲大蠊的综合利用提供了参考依据.

参考文献:

- [1] 尚志钧. 名医别录[M]. 北京:人民卫生出版社,1986.
- [2] 顾观光. 神农本草经[M]. 北京:学苑出版社,2007.
- [3] 桑文涛,邹俊波,杨胜群,等. 美洲大蠊抗菌作用研究现状[J]. 中药与临床,2016,7(5):57-60.
- [4] 袁近津,王亚伦,朱站站,等. 美洲大蠊在免疫调节方面的研究进展[J]. 广东化工,2022,49(2):6-8.
- [5] 肖小芹,汪世平,徐绍锐. 美洲大蠊提取物抗炎镇痛作用的实验研究[J]. 中国病原生物学杂志,2007,2(1):20-22.
- [6] ZHANG H, WEI L, ZHAO G, et al. Periplaneta americana extract used in patients with systemic inflammatory response syndrome[J]. World Journal of Emergency Medicine, 2016,7(1):50.
- [7] 董京千. 美洲大蠊抗肿瘤作用研究进展[J]. 中国中医药现代远程教育,2017,15(6):145-147.
- [8] 张涛,司金光,陈佳欢,等. 美洲大蠊抗氧化活性成分研究[J]. 天然产物研究与开发,2017,29(11):1867-1872.
- [9] 高洁,沈咏梅,岳碧松. 美洲大蠊药理作用及其临床疗效的研究进展[J]. 中药药理与临床,2018,34(4):203-208.
- [10] 廖倩,庞兰,石金凤,等. 基于多肽组学的美洲大蠊肽类组分分析及促创面修复活性多肽筛选[J]. 中草药,2022,53(7):2085-2094.
- [11] 王钦,刘克娜,孔彩华,等. 美洲大蠊有效成分的提取及药理活性研究进展[J]. 中华中医药学刊,2021,39(8):108-111.
- [12] 史未名. 美洲大蠊的药用研究进展[J]. 中国民族民间医药,2012,21(3):50-51.
- [13] 何道峰. 去除美洲大蠊提取物中的油脂及其检测方法:201210446614.3[P]. 2012-11-10.
- [14] 袁东强,何钊,孙龙,等. 美洲大蠊油脂的提取及性质分析[J]. 中国粮油学报,2016,31(3):84-90.
- [15] 罗建蓉,肖怀,张成桂,等. 两种药用蜚蠊油脂成分的GC-MS分析[J]. 中国实验方剂学杂志,2017,23(11):55-58.
- [16] 王青,孙金月,郭淑,等. 7种特种油脂的脂肪酸组成及抗氧化性能[J]. 中国油脂,2017,42(6):125-128.
- [17] 易美华,李根强,肖红,等. 海马、海龙的提取及对油脂抗氧化性的研究[J]. 中国热带医学,2006,(10):1784-1785.
- [18] 刘帅,王爱武,李美艳,等. 脂肪酸甲酯化方法的研究进展[J]. 中国药房,2014,25(37):3535-3537.

- [19] 中国国家标准化管理委员会. 食品安全国家标准:GB 5009. 168—2016[S]. 北京:中国标准出版社, 2016-12-23.
- [20] 彭德姣,刘祝祥,危丽雯,等. 斑点叉尾鮰鱼内脏油脂成分的GC-MS检测[J]. 食品与机械, 2009, 25(3): 91-95.
- [21] JIN J, LI Z, ZHANG F. Scavenging function of mulberry vinegar extractives for 1, 1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH)[J]. Journal of Northwest Sci-Tech University of Agriculture and Forestry, 2006, 34(3): 135-137.
- [22] OZCELIK B, LEE J H, MIN D B, et al. Effects of light, oxygen, and pH on the absorbance of 2, 2-diphenyl-1-picrylhydrazyl[J]. Journal of Food Science, 2003, 68(2): 487-490.
- [23] ESPIN J, SOLER-RIVAS C, WICHES H J, et al. Characterisation of the total free radical scavenger capacity of vegetable oils and oil fractions using 2, 2-diphenyl-1-picrylhydrazyl radical[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2000, 48: 648-656.
- [24] 陈禹寰. 双叉犀金龟不同虫态油脂提取分析及抗氧化活性研究[D]. 长春:吉林农业大学, 2022.
- [25] 和英,顾婷,杨永寿,等. 美洲大蠊提取物抗氧化活性研究[J]. 大理大学学报, 2021, 6(2): 10-14.
- [26] 郭家丞,罗禹,牛红,等. 美洲大蠊化学成分及其抗氧化活性[J]. 中成药, 2021, 43(12): 3355-3359.

Determination of oil composition and antioxidant activity of *Periplaneta americana*

ZHA Lun-gui^{1,2}, GU Qing-hui², WU Ming-yi², HU Lin¹

(1. Key Laboratory of Chemistry in Ethnic Medicinal Resources, State Ethnic Affairs Commission & Ministry of Education, School of Ethnic Medicine, Yunnan Minzu University, Kunming 650500, China; 2. State Key Laboratory of Phytochemistry and Natural Medicines, Kunming Institute of Botany, Chinese Academy of Sciences, Kunming 650201, China)

Abstract: The alcoholic extract of *Periplaneta americana* was obtained by ethanol extraction and its oil composition was purified by separation. Their fatty acids type and content and their antioxidant activity were determined. The oils were treated by saponification and methyl esterification methods, and then analyzed by GC-MS. The ability of three extracted oils to scavenge DPPH free radicals was measured using vitamin E as a positive control. The results show that the three oils contained 20 fatty acids, including oleic, linoleic, palmitic and stearic acids, et al. These oils had stronger antioxidant activity than vitamin E. The research results provide a reference for the comprehensive utilization of American cockroaches.

Key words: *Periplaneta americana*; oil; fatty acid; antioxidant

(责任编辑 周忠顺)

版权声明

本刊已加入清华光盘版(中国知网)、超星期刊出版平台、万方数据——数字化期刊群、重庆维普中文科技期刊数据库、华艺线上图书馆、中国科技论文在线、长江文库等多家权威数据库,凡在本刊发表文章的同时会被以上网站转载,作者向本刊所投稿件,均视为愿意进入上述各期刊数据库,作者著作权使用费已含在本刊所付的稿酬中,凡有异议者,请另投他刊或特别声明。

本刊编辑部