

DOI:10.13364/j.issn.1672-6510.20220112

海参筋中海参皂苷提取分离及结构分析

王松军, 张 民

(天津科技大学食品科学与工程学院, 天津 300457)

摘要: 海参皂苷是由苷元和糖基侧链组成的结构复杂的糖基类化合物. 本研究以海参筋为原料进行海参皂苷的提取, 以 D101 大孔吸附树脂和半制备液相色谱仪进行分离纯化, 得到 3 种物质 SCTS-IV-W、SCTS-IV-20 和 SCTS-IV-40. 采用傅里叶变换红外光谱 (FTIR)、气相色谱法 (GC) 以及安装了电喷雾电离源和飞行时间离子阱的串联质谱仪 (ESI-IT/TOF-MS/MS) 分析其结构, 结果表明: 3 种物质含有皂苷类物质的官能团以及奎诺糖、木糖、3-O-甲基葡萄糖和葡萄糖 4 种糖基, 并且发现了其可能的结构.

关键词: 海参筋; 海参皂苷; 提取分离; 结构分析

中图分类号: TS254.1

文献标志码: A

文章编号: 1672-6510(2023)01-0010-06

Extraction, Isolation and Structural Analysis of Sea Cucumber Saponins from Sea Cucumber Tendons

WANG Songjun, ZHANG Min

(College of Food Science and Engineering, Tianjin University of Science & Technology, Tianjin 300457, China)

Abstract: Sea cucumber saponins are glycosyl compounds with complex structures composed of aglycones and glycosyl side chains. In this study, sea cucumber saponins were extracted from sea cucumber tendon as raw material, purified and separated by D101 macroporous adsorption resin and semi-preparative liquid chromatography, and three substances SCTS-IV-W, SCTS-IV-20 and SCTS-IV-40 were obtained. The structures were analyzed by Fourier transform infrared spectroscopy (FTIR), gas chromatography (GC) and tandem mass spectrometer with electric spray ionization and time-of-flight ion trap (ESI-IT/TOF-MS/MS). The results showed that the three substances contained the functional groups of saponins, quinose, xylose, 3-O-methyl glucose and glucose 4 glycosyl groups, and their possible structures were also found.

Key words: sea cucumber tendon; sea cucumber saponins; extraction and separation; structural analysis

海参筋是海参的神经系统, 附着于海参体壁的内部, 是控制运动的部位, 营养成分最为丰富, 蛋白质以及皂苷等成分的含量均高于体壁^[1], 在海参加工过程中很容易脱落并混合在内脏之中, 造成浪费. 目前的文献报道, 几乎没有单纯以海参筋为原料进行生物活性物质的提取、分离并进行应用^[2].

海参皂苷分子的极性较大, 因此可以选择极性较大的溶液进行提取, 例如水、乙醇和正丁醇. 此外, 在加热条件下提取会大大提升提取得率. 目前提取海参皂苷的提取方法主要是在水或醇溶液中进行加热

回流或浸提等^[3]. 经过初步提取的海参粗皂苷含有盐、蛋白质、色素等多种杂质, 为了提高海参皂苷的纯度和后续的结构分析, 需要对其进行纯化. 海参皂苷的纯化方法主要有大孔树脂吸附、薄层色谱分离、正反相硅胶柱分离、离心分配色谱分离、高效离心分配色谱分离、半制备液相色谱分离等方法^[4-5].

海参皂苷的结构主要分为两个部分: 皂苷元和糖基侧链. 海参皂苷种类多且复杂, 不仅包括同分异构体, 还有四环和五环、萜类和甾类、烷型和非烷型等区分, 糖的种类、顺序位置、数量等差异, 以及酯化和

收稿日期: 2022-04-28; 修回日期: 2022-06-28

基金项目: 天津市“131”创新型人才团队资助项目(201926)

作者简介: 王松军(1995—), 男, 河南人, 硕士研究生; 通信作者: 张 民, 教授, zm0102@sina.com

磺化等区别.从官能团来看,海参皂苷元的环状结构上存在不同位置双键;羟基较多,造成极性较大;羟基和糖连接的位点生产连接基团^[6].目前,研究海参皂苷结构的方法主要有傅里叶变换红外光谱(FTIR)、核磁共振(NMR)和质谱法(MS)等.通过核磁共振光谱可以得到海参皂苷的主要结构信息,但是通常需要大量的高纯度样品和多种谱图相互辅助分析,数据量较大,分析过程较为繁琐.在质谱分析时,由于海参皂苷极性较大,通常以电离或激光的形式产生的碎片离子分析物质的结构,例如基质辅助激光解吸电离质谱(MALDI-MS)和电喷雾电离质谱(ESI-MS)等技术^[7],方法灵敏度较高,已成为分析海参皂苷的首选技术.

本研究以海参筋为原料进行海参皂苷的提取分离和结构分析,提高海参筋的利用率,旨在丰富海参皂苷的种类和结构信息.

1 材料与方法

1.1 材料

海参内脏,百德福生物科技有限公司;乙醇、二氯甲烷、正丁醇,分析纯,国药集团化学试剂有限公司;D101大孔吸附树脂(30~60目),安徽三星树脂科技有限公司;木糖、奎诺糖、葡萄糖、3-O-甲基葡萄糖(纯度 $\geq 98\%$),索莱宝生物科技有限公司.

1.2 方法

1.2.1 提取

海参皂苷的提取参考已有研究方法^[8-9]并略有修改.将海参筋从海参的内脏中挑出、洗净、冷冻干燥、粉碎备用.粉碎的海参筋用乙醇溶液反复进行加热提取,合并提取液,55℃减压旋转蒸发,除去乙醇;再用蒸馏水稀释,二氯甲烷萃取,重复2次,除去蛋白质;用正丁醇萃取水层溶液,重复3次,提取海参皂苷,合并正丁醇部分;65℃减压旋转蒸发除去正丁醇,蒸馏水溶解,冷冻干燥,得到海参筋总皂苷.

1.2.2 紫外分光光度法定量测定海参皂苷

紫外分光光度法测定海参筋总皂苷含量的方法参考Cheok等^[10]的方法并略有修改.

标准品溶液的配制:精确称取5mg薯蓣皂苷,用60%的甲醇溶液定容至25mL,摇匀.

波长的确定:分别精确吸取薯蓣皂苷标准溶液和海参筋皂苷提取液各0.3mL置于25mL具塞试管中,80℃水浴干燥,加入5mL硫酸-甲醇溶液(体积比为7:3),60℃水浴1h,冰水浴冷却,摇匀;在

200~800nm波长范围内进行扫描,用空白对照消除背景误差.薯蓣皂苷标准液与海参筋皂苷提取液的共同吸收峰的波长为海参筋皂苷的测定波长.

标准曲线的绘制:取6支25mL具塞试管,分别加入精确量取的标准品溶液0、0.12、0.24、0.36、0.48、0.60mL,80℃水浴干燥,再分别加入5mL硫酸-甲醇溶液(体积比为7:3),60℃水浴1h,冰水浴冷却,振荡;在测定波长下进行吸光度测定,进行线性回归分析,得到皂苷含量标准计算方程(以薯蓣皂苷计).

海参筋总皂苷含量的计算:薯蓣皂苷的相对分子质量为869,根据海参中5种主要皂苷holothurin A、holothurin A1、holothurin B、echinoside A、24-dehydrochinoside A的含量分布,计算得出海参皂苷平均相对分子质量是1190.33,与薯蓣皂苷相对分子质量相比较,二者的换算系数为1.37.海参筋总皂苷含量的计算公式为:海参筋总皂苷含量=薯蓣皂苷含量 \times 1.37.

1.2.3 分离

D101大孔吸附树脂分离:将预处理好的大孔树脂选用湿法装柱(直径3.2cm,高度28cm).将5mg/mL样品溶液以1.5mL/min的流量进行上样吸附,然后用蒸馏水以及体积分数为10%、30%、50%、70%、90%的乙醇溶液以1mL/min的流量进行洗脱,每份收集10mL,检测收集液,确定海参皂苷含量^[11].

半制备高效液相色谱分离:将D101大孔吸附树脂分离纯化后的各组分海参皂苷利用半制备液相色谱仪进一步分离^[12-13].色谱条件:流动相A和流动相B分别为超纯水和甲醇,色谱柱为ODS-C18(250mm \times 300mm,15 μ m),进样量2mL,检测波长210nm,柱温30℃.洗脱条件:0~20min,0%流动相B;20~35min,20%流动相B;35~50min,40%流动相B;50~55min,流动相B由40%逐渐减少至0%.

1.2.4 结构分析

FTIR分析:将样品彻底干燥,准确称取1mg皂苷样品和150mgKBr置于玛瑙研钵中彻底研磨,压成薄片.使用红外光谱仪进行分析,扫描范围为400~4000 cm^{-1} ,分辨率4 cm^{-1} ,扫描16次,并提交背景以减去空气光谱^[14].

糖基侧链的单糖组成分析:称取2mg单糖标准品和肌醇、30mg硼氢化钠,加入2mL蒸馏水,室温反应90min;滴加乙酸直到没有气泡产生,用体积分数0.1%的盐酸-甲醇进行洗涤,并用旋转蒸发仪减压蒸发至干燥状态,重复5次.样品在105℃烘箱中加

热 20 min, 保证绝对干燥. 向样品中加入吡啶、乙酸酐各 0.5 mL, 在 105 °C 烘箱中反应 1 h, 生成糖醇乙酸酯衍生物. 称取 10 mg 海参皂苷置于安瓿瓶中, 加入 2 mol/L 的三氟乙酸(TFA) 2 mL, 在 120 °C 烘箱中反应 4 h, 冷却后过滤; 用少量蒸馏水洗涤 3 次, 合并洗涤液, 用旋转蒸发仪减压蒸发至干燥状态, 以少量蒸馏水复溶再干燥, 重复 3 次以除去 TFA. 按照制备单糖标准衍生物的方法制备样品衍生物^[15].

检测条件: 毛细管柱 Rtx-5MS (30 cm × 0.25 mm × 0.25 μm), 样品用氦气(流量 24 mL/min) 进行承载, 进样口温度 280 °C, 分流比 20 : 1, 流量 1 mL/min, 进样量 0.2 μL. 升温步骤为 100 °C 保持 2 min, 然后以 10 °C/min 升至 280 °C, 维持 5 min^[16].

质谱分析: 取 1 mg 样品溶解于 1 mL 的超纯水中, 充分溶解后用无机微孔滤膜过滤, 装入进样小瓶中. 利用安装了电喷雾电离源和飞行时间离子阱的串联质谱仪(ESI-IT/TOF-MS/MS), 以正离子模式对样品进行解离鉴定. 全扫描质谱在相对分子质量范围为 400 ~ 1400, 对可疑的解离物离子进行 MSⁿ 数据采集. 液氮为雾化气体, 其流量为 1.5 L/min. 毛细管和脱脂机的电压分别设置为 4.5 kV 和 1.65 kV. CDL 和热块温度保持在 200 °C. MS/MS 图谱是用氩气作为碰撞气体从选定的前体离子的 CID 中获得的. 相对能量为 50%, 离子积累时间设定为 30 ms, 前体离子的隔离宽度设置为 1. 使用调谐溶液校准后, 所有计算误差都小于 0.000 5%^[17-18].

1.3 数据分析

数据用“平均值 ± 标准差”表示, 采用单因素方差分析方法进行组间比较, 使用 Tukey 方法进行检验, $P < 0.05$ 和 $P < 0.01$ 分别表示组间有显著差异和极显著差异.

2 结果与分析

2.1 海参皂苷的定量分析

选用薯蓣皂苷为标准品, 经检测在 330 nm 处有最大吸收, 故在 330 nm 处测定不同质量浓度样品的吸光度, 标准曲线如图 1 所示.

标准曲线拟合所得的方程为 $y = 44.595x - 0.0136$, $R^2 = 0.9989$. 在随后的海参皂苷的定量分析时, 将海参皂苷的吸光度代入方程, 计算海参皂苷的含量.

2.2 海参皂苷的分离结果分析

海参皂苷的洗脱曲线如图 2 所示.

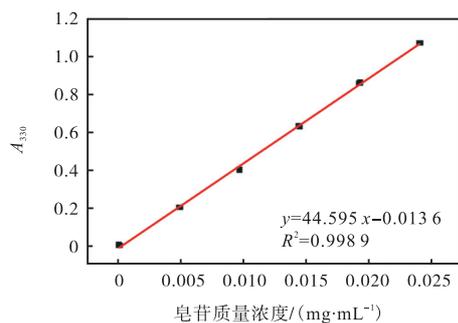


图 1 标准曲线

Fig. 1 Standard curve

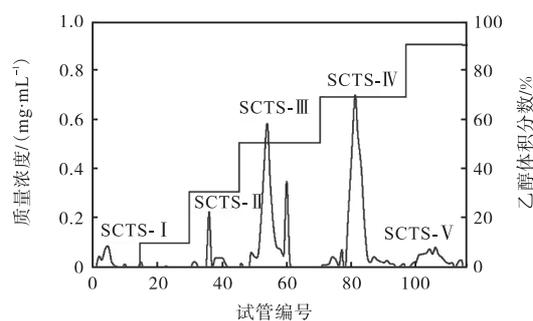


图 2 海参皂苷的洗脱曲线

Fig. 2 Elution curve of sea cucumber saponins

采用 D101 大孔吸附树脂对海参皂苷进行分离, 得到 5 个组分, 将各组分命名为 SCTS-I、SCTS-II、SCTS-III、SCTS-IV 和 SCTS-V. 取各洗脱组分海参皂苷参照 1.2.2 节的方法进行定量分析. 各洗脱组分中海参皂苷的纯度见表 1. 由表 1 可知: 各组分的海参皂苷含量存在很大差异, SCTS-IV 中皂苷含量最高, 其次是 SCTS-III, 其他洗脱组分中海参皂苷的含量较少. 因此, 以 SCTS-IV 为原料进行后续实验.

表 1 各洗脱组分中海参皂苷的纯度

Tab. 1 Purity of sea cucumber saponins in each elution fraction

组分	纯度/%	组分	纯度/%
样品溶液	36.35 ± 3.58	SCTS-III	55.08 ± 2.26
SCTS-I	8.43 ± 0.04	SCTS-IV	86.01 ± 2.84
SCTS-II	35.37 ± 1.59	SCTS-V	13.50 ± 0.36

SCTS-IV 组分经过半制备液相分离得到 4 个洗脱峰, 包括 2 个水洗脱峰、1 个 20% 甲醇溶液洗脱峰和 1 个 40% 甲醇溶液洗脱峰(图 3). 采用面积归一化法计算可得, 2 个水洗脱峰占比为 20.97% 和 18.04%, 20% 甲醇溶液洗脱峰占比 12.77%, 40% 甲醇溶液洗脱峰占比 43.83% (表 2). 由于水洗脱组分的 2 个峰距离较近, 在收集过程中不易区分, 所以将 2 个峰合并收集, 其余 2 个洗脱峰单独收集, 3 个收集物分别命名为 SCTS-IV-W、SCTS-IV-20 和 SCTS-IV-40.

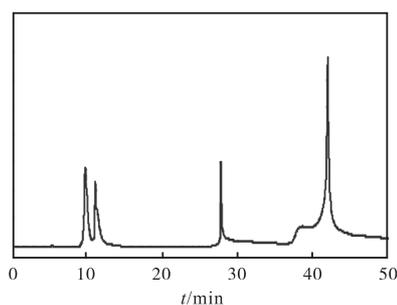


图3 SCTS-IV组分半制备液相洗脱峰

Fig. 3 Semi-preparative liquid phase elution peak of the eluted components of SCTS-IV

表2 SCTS-IV组分半制备液相峰表

Tab. 2 Semi-preparative liquid phase peak table of the eluted components of SCTS-IV

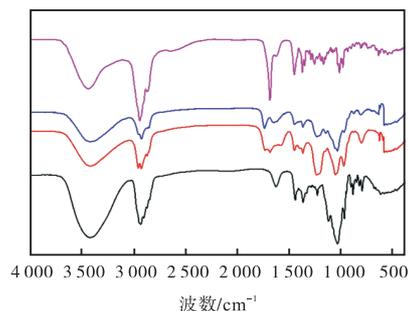
编号	保留时间/min	峰面积	占比/%
1	5.339	7 609	0.170
2	6.158	2 051	0.045
3	7.707	2 439	0.054
4	9.743	950 903	20.97
5	11.066	818 096	18.04
6	27.708	579 026	12.77
7	38.531	186 970	4.12
8	41.868	1 987 343	43.83

2.3 海参皂苷的结构分析

2.3.1 FTIR 分析

研究^[19]表明,海参皂苷中含有羟基、烷基、醚和酯等.利用傅里叶变换红外光谱仪对薯蓣皂苷标准品、SCTS-IV-W、SCTS-IV-20和SCTS-IV-40进行分析,结果如图4所示.4种皂苷在 3425 cm^{-1} 附近均存在羟基(—OH)伸缩振动吸收峰,说明它们都含有羟基官能团. 2926 cm^{-1} 附近是亚甲基(—CH_2)的吸收峰,其中SCTS-IV-20和SCTS-IV-40在此处的吸收较弱. 2863 cm^{-1} 附近是甲基(—CH_3)的对称伸缩振动吸收峰,其中SCTS-IV-W没有此吸收峰,表明SCTS-IV-W中没有甲基(—CH_3). 1748 cm^{-1} 附近是羰基(C=O)的伸缩振动吸收峰,其中薯蓣皂苷标准品在此处的吸收效果较强,而SCTS-IV-20和SCTS-IV-40吸收效果较弱,SCTS-IV-W在此处没有吸收峰. 1162 cm^{-1} 附近是吡喃环上碳—氧—碳(C—O—C)结构的振动吸收峰,这是苷元和单糖连接形成的糖苷键,表明存在苷元和单糖的连接. 1049 cm^{-1} 附近为吡喃环结构的振动吸收峰,SCTS-IV-W、SCTS-IV-20和SCTS-IV-40均含有吡喃环结构.研究^[20]表明,甾体皂苷在 $680\sim 980\text{ cm}^{-1}$ 范围内会出现小的吸收峰,这些微弱的吸收峰代表了化合物的指纹区.对比薯蓣皂苷标准品,3种海参皂苷均在此范围内出现

了小的吸收峰,所以待测物质为皂苷类物质.



— SCTS-IV-W — SCTS-IV-20 — SCTS-IV-40 — 薯蓣皂苷

图4 薯蓣皂苷、SCTS-IV-W、SCTS-IV-20和SCTS-IV-40的傅里叶变换红外光谱图

Fig. 4 FTIR of diosgenin, SCTS-IV-W, SCTS-IV-20 and SCTS-IV-40

2.3.2 糖基侧链部分的单糖组成分析

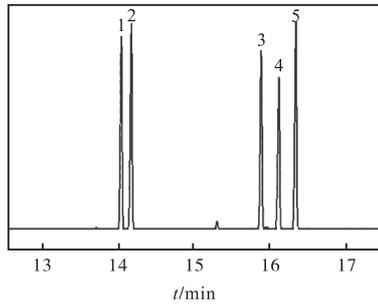
将SCTS-IV-W、SCTS-IV-20和SCTS-IV-40糖基部分单糖组成结果与单糖标准品衍生物的出峰时间进行比较可知,3种海参皂苷糖基部分的单糖主要有奎诺糖、木糖、3-O-甲基葡萄糖和葡萄糖(图5).其中葡萄糖的响应值最高,其次是奎诺糖和木糖,含量相对较少的是3-O-甲基葡萄糖.根据面积归一法计算得出海参皂苷糖基部分的单糖成分物质的量百分比(表3).由表3可知,SCTS-IV-W、SCTS-IV-20和SCTS-IV-40的糖基部分均由奎诺糖、木糖、3-O-甲基葡萄糖和葡萄糖组成,物质的量之比分别是 $34.33 : 17.49 : 11.70 : 36.48$ 、 $26.98 : 27.35 : 24.51 : 21.16$ 和 $16.43 : 11.68 : 1.69 : 70.20$.

2.3.3 ESI-IT/TOF-MS/MS 分析

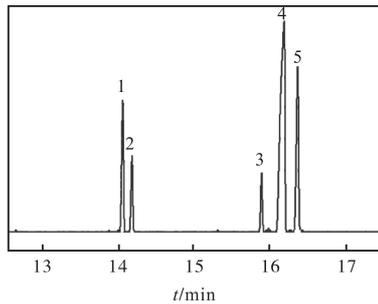
由于化合物在裂解过程中存在不唯一性,在分析本实验结果时,参照糖基部分的单糖组成结果以及谱图中碎片离子的峰强度和皂苷结构特征进行推断,并将化合物最有可能的裂解途径在谱图中用带箭头的实线进行标注.海参皂苷的ESI-IT/TOF-MS/MS解离图如图6所示,海参皂苷的裂解方式如图7所示.

SCTS-IV-W:如图6(a)所示,SCTS-IV-W物质的母离子 $[\text{M} + \text{Na}]^+$ 的 m/z 为 1313.6521 . $[\text{M} + \text{Na}]^+$ 解离生成 m/z 为 1145.2796 和 969.3767 的离子碎片,失去皂苷 α 糖链末端的葡萄糖单元(相对分子质量为 162)和3-O-甲基葡萄糖单元(相对分子质量为 176).进一步解离生成 m/z 为 873.6389 和 669.2813 的离子碎片,丢失 β 糖链末端的木糖单元(相对分子质量为 132)和葡萄糖单元.继续解离丢失奎诺糖单元(相对分子质量为 146)后,生成 m/z 为 523.3380 的离子碎片,是皂苷元部分的特征离子碎片.化合物

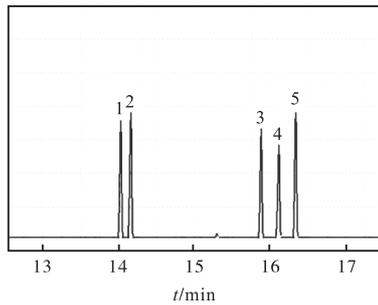
可能的裂解方式如图 7(a) 所示。



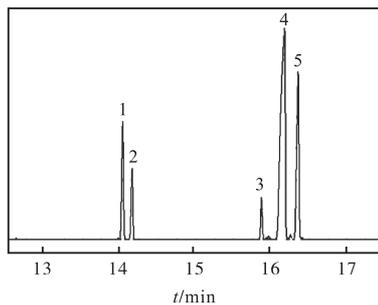
(a) 混标



(b) SCTS-IV-W



(c) SCTS-IV-20



(d) SCTS-IV-40

1. 奎诺糖; 2. 木糖; 3. 3-O-甲基葡萄糖; 4. 肌醇; 5. 葡萄糖

图 5 单糖组成的气相色谱图

Fig. 5 Gas chromatograms of monosaccharide composition

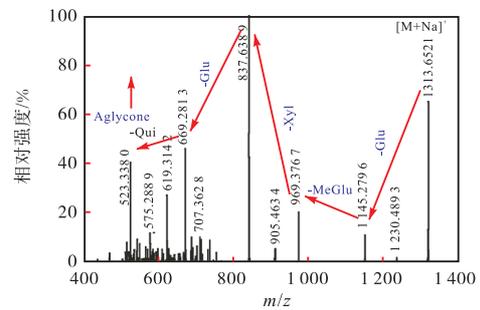
SCTS-IV-20: 如图 6(b) 所示, SCTS-IV-20 物质的母离子 $[M + Na]^+$ 的 m/z 为 1141.166 8. $[M + Na]^+$ 解离生成 m/z 为 961.198 3 的离子碎片, 失去皂苷糖链末端的葡萄糖单元; 然后解离生成 m/z 为 829.818 3

的离子碎片, 失去木糖单元; 进一步解离生成 m/z 为 653.621 4 的离子碎片, 失去 3-O-甲基葡萄糖单元; 最后解离失去与苷元相连的奎诺糖单元, 生成 m/z 为 507.237 4 的离子碎片, 是皂苷元部分的特征离子碎片. 化合物可能的裂解方式如图 7(b) 所示。

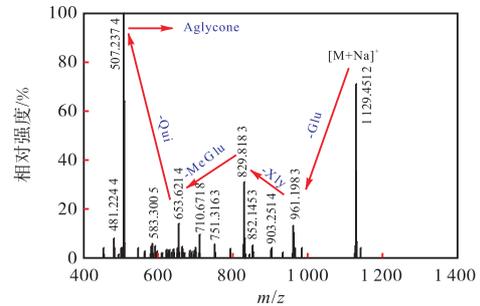
表 3 SCTS-IV-W、SCTS-IV-20 和 SCTS-IV-40 的单糖组成物质的量百分比

Tab. 3 Mole percentage of monosaccharide of SCTS-IV-W, SCTS-IV-20 and SCTS-IV-40

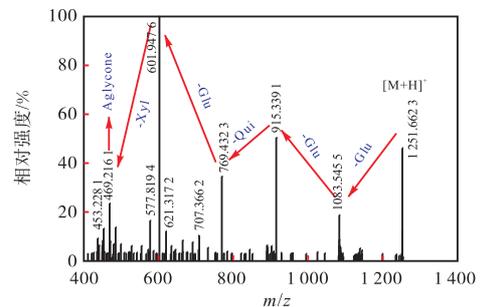
样品	SCTS-IV-W	SCTS-IV-20	SCTS-IV-40
奎诺糖/%	34.33	26.98	16.43
木糖/%	17.49	27.35	11.68
3-O-甲基葡萄糖/%	11.70	24.51	1.69
葡萄糖/%	36.48	21.16	70.20



(a) SCTS-IV-W



(b) SCTS-IV-20



(c) SCTS-IV-40

图 6 海参皂苷的 ESI-IT/TOF-MS/MS 解离图

Fig. 6 ESI-IT/TOF-MS/MS spectra of sea cucumber saponins

SCTS-IV-40: 如图 6(c) 所示, SCTS-IV-40 物质的母离子 $[M + H]^+$ 的 m/z 为 1251.662 3. $[M + H]^+$ 解离

生成 m/z 为 1083.5455 的离子碎片,此时是皂苷失去 α 糖链的葡萄糖单元;进一步解离生成 m/z 为 915.3391、769.4323、601.9476 的离子碎片,依次裂解失去 β 糖链末端的葡萄糖单元、奎诺糖单元和葡萄

糖单元;继续解离失去和苷元相连的木糖单元后,生成 m/z 为 469.2161 的离子碎片,该碎片是皂苷元部分特征离子碎片.化合物可能的裂解方式如图 7(c)所示.

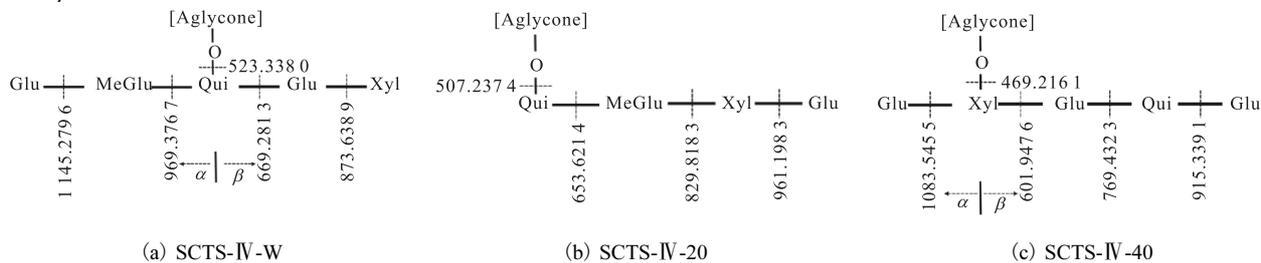


图 7 海参皂苷的裂解方式

Fig. 7 Cleavage pattern of sea cucumber saponins

3 结论

本研究表明, D101 大孔吸附树脂和半制备高效液相色谱可以很好地分离海参皂苷并得到 3 种物质 SCTS-IV-W、SCTS-IV-20 和 SCTS-IV-40. 3 种物质中含有羟基、甲基、亚甲基内酯醚等以及皂苷所特有的指纹峰,表明它们均为皂苷类化合物. SCTS-IV-W 和 SCTS-IV-20 的糖基部分为奎诺糖、木糖、3-O-甲基葡萄糖和葡萄糖,物质的量之比分别是 34.33 : 17.49 : 11.70 : 36.48 和 26.98 : 27.35 : 24.51 : 21.16. SCTS-IV-40 的糖基部分是由奎诺糖、木糖、3-O-甲基葡萄糖和葡萄糖组成,物质的量之比为 16.43 : 11.68 : 1.69 : 70.20,缺少了 3-O-甲基葡萄糖. SCTS-IV-W 的母离子 $[M+Na]^+$ 的 m/z 为 1313.6521, SCTS-IV-20 的母离子 $[M+Na]^+$ 的 m/z 为 1141.1668, SCTS-IV-40 的母离子 $[M+H]^+$ 的 m/z 为 1251.6623. 单糖组成和比例与气相色谱结果一致.

参考文献:

- [1] 陈慕雁,郑颖秋,丛潇. 棘皮动物神经肽的研究进展[J]. 中国海洋大学学报,2021,51(4):21-34.
- [2] LIU Z, OLIVEIRA A C M, SU Y C. Purification and characterization of pepsin-solubilized collagen from skin and connective tissue of giant red sea cucumber (*Parastichopus californicus*) [J]. Journal of agricultural food chemistry, 2010, 58(2): 1270-1274.
- [3] ZHAO Y C, XUE C H, ZHANG T T, et al. Saponins from sea cucumber and their biological activities[J]. Journal of agricultural food chemistry, 2018, 66(28): 7222-7237.
- [4] IMAMICHI Y, YOKOYAMA Y. Purification and characterization of a lectin from the starfish *Asterias amurensis* [J]. Fisheries science, 2013, 79(6): 1007-1013.
- [5] 袁炜辉,李赫宇,李倩,等. 海参皂苷的分离提取及分析方法研究进展[J]. 食品研究与开发,2017,38(7): 220-224.
- [6] 于林芳. 八种海参中主要海参皂苷的结构特性研究[D]. 青岛:中国海洋大学,2011.
- [7] XIAO G, SHAO X, ZHU D, et al. Chemical synthesis of marine saponins[J]. Natural product reports, 2019, 36(5): 769-787.
- [8] BAHRAMI Y, ZHANG W, CHATAWAY T, et al. Structural elucidation of novel saponins in the sea cucumber *Holothuria lessona* [J]. Marine drugs, 2014, 12(8): 4439-4473.
- [9] VAN DYCK S, GERBAUX P, FLAMMANG P. Elucidation of molecular diversity and body distribution of saponins in the sea cucumber *Holothuria forskali* (Echinodermata) by mass spectrometry[J]. Comparative biochemistry physiology part B: biochemistry molecular biology, 2009, 152(2): 124-134.
- [10] CHEOK C Y, SALMAN H A K, SULAIMAN R. Extraction and quantification of saponins: a review[J]. Food research international, 2014, 59: 16-40.
- [11] BAHRAMI Y, ZHANG W, FRANCO C. Discovery of novel saponins from the viscera of the sea cucumber *Holothuria lessona* [J]. Marine drugs, 2014, 12(5): 2633-2667.
- [12] KHATTAB R A, ELBANDY M, LAWRENCE A, et al. Extraction, identification and biological activities of saponins in sea cucumber *Pearsonothuria graeffei* [J].

(下转第 22 页)

- the enzymatic browning and nutritional quality of dried fig: combined use of biochemical and ATR-FTIR analyses[J]. *Vibrational spectroscopy*, 2021, 115: 103269.
- [22] DONG T, CAO Y, LI G, et al. A novel aspartic protease inhibitor inhibits the enzymatic browning of potatoes[J]. *Postharvest biology and technology*, 2021, 172: 111353.
- [23] SOGVAR O B, RAZAVI F, RABIEI V, et al. Postharvest application of *L*-cysteine to prevent enzymatic browning of “Stanley” plum fruit during cold storage[J]. *Journal of food processing and preservation*, 2020, 44(10): e14788.
- [24] AL-AMRANI M, AL-ALAWI A, AL-MARHOB I, et al. Assessment of enzymatic browning and evaluation of antibrowning methods on dates[J]. *International journal of food science*, 2020, 2020(6): 8380461.
- [25] MIN T, XIE J, ZHENG M, et al. The effect of different temperatures on browning incidence and phenol compound metabolism in fresh-cut lotus (*Nelumbo nucifera* G.) root[J]. *Postharvest biology and technology*, 2017, 123: 69–76.
- [26] DONG T, SHI J, JIANG C, et al. A short-term carbon dioxide treatment inhibits the browning of fresh-cut burdock[J]. *Postharvest biology and technology*, 2015, 110: 96–102.
- [27] LIU X, LU Y, YANG Q, et al. Cod peptides inhibit browning in fresh-cut potato slices: a potential anti-browning agent of random peptides for regulating food properties[J]. *Postharvest biology and technology*, 2018, 146: 36–42.
- [28] CANTOS E, TUDELA J A, GIL M I, et al. Phenolic compounds and related enzymes are not rate-limiting in browning development of fresh-cut potatoes[J]. *Journal of agriculture and food chemistry*, 2002, 50(10): 3015–3023.
- [29] ASSIS J S, MALDONADO R, MUÑOZ T, et al. Effect of high carbon dioxide concentration on PAL activity and phenolic contents in ripening cherimoya fruit[J]. *Postharvest biology and technology*, 2001, 23(1): 33–39.

责任编辑: 郎婧

(上接第 15 页)

- Combinatorial chemistry high throughput screening, 2018, 21(3): 222–231.
- [13] 张然. 仿刺参 (*Apostichopus japonicus*) 中 HolotoxinA₁ 的定量分析及不同海参的皂苷特征图谱研究[D]. 青岛: 中国海洋大学, 2013.
- [14] BAHRAMI Y, FRANCO C M M. Structure elucidation of new acetylated saponins, lessoniosides A, B, C, D, and E, and non-acetylated saponins, lessoniosides F and G, from the viscera of the sea cucumber *Holothuria lessona*[J]. *Marine drugs*, 2015, 13(1): 597–617.
- [15] SAVYCH A, MARCHYSHYN S, MILIAN I. Determination of carbohydrates in the herbal antidiabetic mixtures by GC-MC[J]. *Acta pharmaceutica*, 2021, 71(3): 429–443.
- [16] HANG L T T, CHAU H B, NAM T V H, et al. A survey on acid hydrolysis in analyzing the monosaccharide composition of exopolysaccharide from *Ophiocordyceps sinensis*[J]. *International journal of agricultural technology*, 2020, 16(3): 619–628.
- [17] MONDOL M M, SHIN H J, RAHMAN M A, et al. Sea cucumber glycosides: chemical structures, producing species and important biological properties[J]. *Marine drugs*, 2017, 15(10): 317–352.
- [18] POPOV R S, AVIOV S A, SILCHENKO A S, et al. Cucumariosides F₁ and F₂, two new triterpene glycosides from the sea cucumber *Eupentacta fraudatrix* and their LC-ESI MS/MS identification in the starfish *Patiria pectinifera*, a predator of the sea cucumber[J]. *Biochemical systematics and ecology*, 2014, 57: 191–197.
- [19] ALMUTAIRI M S, ALI M. Direct detection of saponins in crude extracts of soapnuts by FTIR[J]. *Natural product research*, 2015, 29(13): 1271–1275.
- [20] YANG Y, JIN H, ZHANG J, et al. Determination of total steroid saponins in different species of Paris using FTIR combined with chemometrics[J]. *Journal of AOAC international*, 2018, 101(3): 732–738.

责任编辑: 郎婧