

# 不同规格线纹海马氨基酸构成和降压肽的分析研究

李安然<sup>1</sup>, 潘聪<sup>1</sup>, 任朝宇<sup>1</sup>, 王彦乔<sup>1</sup>, 郭家庆<sup>1</sup>, 慕贺雯<sup>2</sup>, 孙金辉<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>天津农学院水产学院, 天津

<sup>2</sup>山东财经大学燕山学院金融学院, 山东 济南

收稿日期: 2026年1月27日; 录用日期: 2026年2月18日; 发布日期: 2026年3月2日

## 摘要

线纹海马(*Hippocampus erectus*)是如今海马养殖业热门品种, 因其具有高抗病性、繁殖能力强等优势, 逐渐变成了海马养殖业的首选种, 具有极高的药用价值和观赏价值。本文以线纹海马为研究对象, 通过分析测定不同规格的线纹海马氨基酸构成和海马降压肽对血管紧张素转化酶ACE的抑制率来研究线纹海马制备降压肽的条件。结果表明, 高效液相色谱法在料液比为1:15, 加酶量为3%, 酶解温度为37℃的条件下, 酶解时间6 h, 商品规格为12 cm以上的线纹海马抑制率最高, 制备降压肽效果最好。

## 关键词

线纹海马, 氨基酸, 降压肽

## Analysis of Amino Acid Ingredient and Antihypertensive Peptides in the Lined Seahorse with Different Specifications

Anran Li<sup>1</sup>, Cong Pan<sup>1</sup>, Chaoyu Ren<sup>1</sup>, Yanqiao Wang<sup>1</sup>, Jiaqing Guo<sup>1</sup>, Hewen Mu<sup>2</sup>, Jinhui Sun<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>College of Fisheries, Tianjin Agricultural University, Tianjin

<sup>2</sup>School of Finance, Yanshan College, Shandong University of Finance and Economics, Jinan Shandong

Received: January 27, 2026; accepted: February 18, 2026; published: March 2, 2026

## Abstract

The lined seahorse (*Hippocampus erectus*) is a hot variety in the seahorse breeding industry today.

\*通讯作者。

文章引用: 李安然, 潘聪, 任朝宇, 王彦乔, 郭家庆, 慕贺雯, 孙金辉. 不同规格线纹海马氨基酸构成和降压肽的分析研究[J]. 水产研究, 2026, 13(1): 22-34. DOI: 10.12677/ojfr.2026.131005

Because of its advantages of high disease resistance and strong reproductive ability, it has gradually become the preferred species in the seahorse breeding industry, with extreme medicinal value and ornamental value. In this paper, the lined seahorse was selected as the research object, and the conditions for the preparation of the lined seahorse antihypertensive peptide were studied by analyzing the amino acid composition of the lined seahorse of different specifications and the inhibitory rate of the hippocampal antihypertensive peptide on ACE. The results showed that under the conditions of a solid-liquid ratio of 1:15, an enzyme dosage of 3%, an enzymatic hydrolysis temperature of 37°C, and an enzymatic hydrolysis time of 6 hours, the inhibition rate of linear hippocampus with a commercial specification of 12 cm or more was the highest, and the effect of preparing antihypertensive peptides was the best.

## Keywords

The Lined Seahorse, Amino Acid, Antihypertensive Peptide

Copyright © 2026 by author(s) and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY 4.0).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

## 1. 引言

高血压是世界上最常见的严重慢性健康问题之一。世界卫生组织报告称，高血压问题影响了全球约 11.3 亿人。近些年，18 岁以上女性的患病率约为 20%，男性约为 24%。此外，高血压是中风、心力衰竭、冠状动脉疾病和肾功能衰竭的主要危险因素[1]。然而，传统的降压药物具有一定的副作用，且长期使用可能产生耐药性。因此，寻找较为安全、有效的天然药物或功能性食品成为当前研究的热点。

高血压的形成机理是由于动脉血管压力升高，极易引起心脏方面的疾病，要想血压正常必须需要多种因素共同作用，其中最为重要的应属 RAS 系统和 KKS 系统，ACE 是 RAS 系统和 KKS 系统中的关键作用酶，ACE 起到不可或缺的作用。首先，在 RAS 系统中，由于 ACE 的作用使血管紧张素 I 转化为血管紧张素 II，血管紧张素 II 能够刺激血管收缩导致血压升高[2]。其次，在 KKS 系统中，ACE 作用于缓激肽使其失活抑制 ACE 作用的血管紧张素 II 的生成自然而然也就减少，缓激肽的破坏也随之减少，在二者的共同作用下更加有效地降低血压，使病人恢复健康。

线纹海马隶属于海龙科海马属，是一种小型海洋硬骨鱼类，因其特殊的药用价值而被誉为最名贵的中药之一，具有温肾壮阳、散结消肿等功效，在传统医学中应用广泛[3]。氨基酸作为构成蛋白质的基本单位，研究线纹海马中氨基酸的构成不仅可以深入了解其营养价值和药用功效，且对降压肽的研究有望开发出中型的天然降压药物或功能性食品[4] [5]。王等[6]通过采用高效液相色谱法测定了 8 种 C 端含有酪氨酸的降压肽，并对其进行分子对接，结果表明海带作为降压肽原料具有重要的潜在应用价值，为降压药物产业化生产提供了参考依据。大量研究表明降压肽是一种对血管紧张素转换酶具有抑制活性的肽，可以调节生理功能，例如抗高血压、降胆固醇、抗菌、抗氧化和免疫调节活性[7] [8]。先前的研究证明牛奶、植物、肉、鱼和蛋等多种食物来源中分离、纯化和鉴定出许多降压肽[9]。目前，越来越多的报道在探究不同生物中提取降压肽的方法及降压肽改善相关生理功能的潜在机制的研究中均取得一定的进展，但目前关于线纹海马中氨基酸的构成及降压肽的分析鲜见报道。

鉴于此，本文以线纹海马为研究对象，采用 PITC 柱前衍生 - 高效液相色谱法[10]测定线纹海马体内

氨基酸含量。此外,本实验利用 HHL 与血管紧张素转化酶 ACE 反应生成马尿酸 HA,马尿酸在紫外 228 nm 处有明显吸收峰的原理[11],用高效液相色谱法测定不同商品规格的线纹海马在特定条件下制备样品的抑制率。这些结果为分析不同规格的线纹海马制备降压肽提供解决方案,有利于提高线纹海马的药用价值,满足市场对高品质海产品及天然药物的需求。

## 2. 实验方法

### 2.1. 海马中蛋白质的测定

海马蛋白质含量的测定采用凯氏定氮法。称取 1 g 海马粉末于 500 mL 洁净干燥的消化烧瓶,向消化烧瓶中依次加入 0.5 g 硫酸铜、5 g 硫酸钾、10 mL 浓硫酸,在通风橱中自动消化 3 h;待消化烧瓶冷却至室温,将混合指示剂(0.1%甲基红乙醇溶液:0.1%溴甲酚绿乙醇溶液 = 1:5)加入锥形瓶中,使用凯氏定氮仪进行测定。

用 0.1 mol/L 盐酸滴定,蓝色变为微红即为滴定终点。做三次平行,记录数据。最后标定 0.1 mol/L 盐酸,经标定得,  $C = 0.0725 \text{ mol/L}$ 。

按照如下公式去计算:

$$X(\%) = \frac{(V - V_{\text{空白}})CM}{1000m} \times F \times 100\% \quad (1)$$

其中:  $X$ ——样品蛋白质百分含量(%);

$V$ ——样品滴定消耗盐酸标准溶液体积(mL);

$V_{\text{空白}}$ ——空白滴定消耗盐酸标准溶液体积(mL);

$C$ ——盐酸标准滴定溶液浓度(mol/L);

$F$ ——氮换算为蛋白质的系数, 6.25;

$M$ ——氮的摩尔质量, 14.0 g/mol。

### 2.2. 海马中氨基酸的测定与分析

#### 2.2.1. 高效液相色谱法测定样品中氨基酸的组成

利用 Venusil AA 氨基酸分析色谱柱(4.6 × 250 mm, 5 μm)进行测定,测定参数设置为:流速 1 mL/min,柱温 40℃,波长 254 nm,进样量 10 μL。流动相 A 为乙酸钠乙腈,流动相 B 为 80%乙腈。梯度洗脱程序,见表 1。

**Table 1.** Gradient elution program table

**表 1.** 梯度洗脱程序表

时间(min)	流动相 A (%)	流动相 B (%)
0~2	100	0
2~15	100~90	0~10
15~25	90~70	10~30
25~38	70~55	30~45
33~33.1	55~0	45~100
33.1~38	0~95	100~5
38~45	95	5

### 2.2.2. 氨基酸的衍生

氨基酸混合标准品的衍生：准确量取氨基酸标准品 200  $\mu\text{L}$  于 1.5 mL 离心管中；加入 20  $\mu\text{L}$  正亮氨酸内标液、两个衍生试剂各 100  $\mu\text{L}$ ，充分混匀，室温放置 1 h；加入 400  $\mu\text{L}$  环己烷，振摇，静置 10 min；取下层氨基酸衍生溶液，经 0.45  $\mu\text{m}$  针式滤器过滤；取滤液 200  $\mu\text{L}$  于进样瓶，加入 800  $\mu\text{L}$  水稀释，摇匀，供检测备用。

内标物正亮氨酸：分别准确量取 20  $\mu\text{L}$ 、200  $\mu\text{L}$  正亮氨酸内标液于 1.5 mL 离心管中，衍生方法同上。

### 2.2.3. 海马样品氨基酸的测定

大、中、小海马分别干燥冷冻，研磨成粉，过 40 目筛；分别称取大、中、小海马各 1.5 g，置于 25 mL 消解管中；加入 20 mL 6 mol/L 盐酸(含 0.1% 的苯酚)，振摇，使海马样品粉末完全浸于液体中；将消解管做好样品标记，在 110 $^{\circ}\text{C}$  环境的烘箱中水解 24 h；将消解管取出，待冷却到室温后，每个消解管取 1 mL 水解液，氮吹仪吹干；加入 1 mL 的 0.1 mol/L HCl 使氮吹仪干燥后的样品充分溶解，用 0.45  $\mu\text{m}$  滤膜过滤于 1.5 mL 离心管，-20 $^{\circ}\text{C}$  冷藏备用。

样品的衍生方法同氨基酸混合标准品的衍生。

### 2.2.4. 海马氨基酸 A/E 值的计算

海马单个必需氨基酸含量与必需氨基酸总量比值(A/E)按如下公式计算：

$$A/E = \frac{I_{EAA}}{T_{EAA}} \times 100 \quad (2)$$

其中： $I_{EAA}$ ——海马样品单个必需氨基酸含量；

$T_{EAA}$ ——海马样品必需氨基酸总量。

## 2.3. 线纹海马降压肽的研究

### 2.3.1. 海马干粉的酶解

称取 1.0 g 海马干粉，加入 15 mL 蒸馏水，将底物在摇床中 37 $^{\circ}\text{C}$  水浴条件下预热 10 min，加入 E/S 为 3% 的中性蛋白酶进行酶解，待酶解到达预定的时间后，在沸水浴条件下煮 5 min，将中性蛋白酶灭活，100 $^{\circ}\text{C}$  沸水灭活 5 min 终止酶解反应。待冷却至室温后，3000 r/min 离心 10 min，取上清液分装放于冰箱 -20 $^{\circ}\text{C}$  冷冻备用。

### 2.3.2. 紫外分光光度计测定 ACE 抑制活性方法的研究

反应物加入的顺序不同对实验也有重要影响，相比 Ko 等人[12]与 Qu 等人[13]的研究报告，发现二者的 HHL 和 ACE 的加入顺序相反，得到不同的结果。本文参考赵谋明等人[14]的研究结果采取先加入 HHL 后加入酶解液的方法。采用 Cushman 等人[15]的方法进行体外 ACE 抑制率的检测。

根据表 2 所示，分别加入到 10 mL 离心管中并混匀，37 $^{\circ}\text{C}$  水浴 5 min，加入 ACE 后，37 $^{\circ}\text{C}$  水浴 30 min，到达时间后立即加入 HCl 以终止反应，加入 2 mL 乙酸乙酯进行萃取，使用旋涡混合器混匀，在 3000 r/min、10 min 条件下离心，分别吸取乙酸乙酯层(上清液) 1.6 mL 于另外试管中，分别放入 100 $^{\circ}\text{C}$  的恒温水浴锅中挥发溶剂，将离心管温度降至室温后加入 3 mL 去离子水，充分混匀后在 228 nm 下利用紫外分光光度计测定吸光度值[16]。

$$\text{ACE抑制率} = \frac{A_b - (A_a - A_c)}{A_b} \times 100\% \quad (3)$$

式中： $A_b$  为加入缓冲液样品的峰面积；

$A_a$  为 ACE 和 ACE 抑制剂同时的峰面积；

$A_c$  为提前加入 HCl 终止反应的峰面积。

**Table 2.** *In vitro* detection methods for ACE inhibition rate  
**表 2.** ACE 抑制率体外检测方法

试剂	样品 a ( $\mu\text{L}$ )	样品 b ( $\mu\text{L}$ )	样品 c ( $\mu\text{L}$ )
HCl	0	0	150
ACE	0		25
HHL	75	75	75
酶解液	25	0	25
硼酸钠缓冲液	0	25	0
37°C 水浴 5 min	-	-	-
ACE	25	25	0
37°C 水浴 5 min	-	-	-
HCl	150	150	0

### 2.3.3. 高效液相色谱法测定不同商品规格海马降压肽对 ACE 的抑制率

(1) 液相条件：反应液经 C18 色谱柱(250 mm  $\times$  4.6 mm, 5  $\mu\text{m}$ , Tianhe)进行分析测定；色谱条件：柱温 30°C，流速 1 mL/min；流动相：乙腈:水 = 25:75 等度洗脱，进样体积 10  $\mu\text{L}$ ；检测波长 228 nm，根据 HA 的峰面积计算 ACE 抑制率[17]。

(2) 马尿酸标准曲线：用分析天平称取马尿酸标品 50 mg，加入 50 mL 超纯水，容量瓶定容，溶液即为母液。分取稀释成 5、10、20、50、100、200 和 500  $\mu\text{g}/\text{mL}$  的标液，利用 HPLC 进行分析测定。

(3) HHL 出峰时间：取 50  $\mu\text{L}$  已配置好的 HHL 溶液，稀释成 500  $\mu\text{L}$ ，利用 HPLC 进行分析测定。

(4) 不同长度海马降压肽抑制率的测定：在料液比 1:15，加酶量 3%，酶解时间为 6 h 的条件下，取不同商品规格的海马进行测定操作，选取实验组 a，对照组 b 两组，水浴至室温后，在反应产物中加入 725  $\mu\text{L}$  超纯水经 0.45  $\mu\text{m}$  微膜过滤，进样，通过高效液相 HPLC 图谱马尿酸 HA 的峰面积，代入公式，计算得出不同商品规格的海马的抑制率。

$$\text{ACE抑制率} = \frac{B-A}{B} \times 100\% \quad (4)$$

式中： $A$  为 ACE 及酶解物均参与反应时产生的 HA 质量；

$B$  为酶解物不参与反应时产生的 HA 质量。

## 3. 结果与分析

### 3.1. 海马样品粗蛋白含量测定

根据凯氏定氮法，利用凯氏定氮仪，对海马蛋白质含量进行了测定，具体测定结果见表 3。

**Table 3.** Volume of HCl consumed in titrating hippocampus samples (Unit: mL)

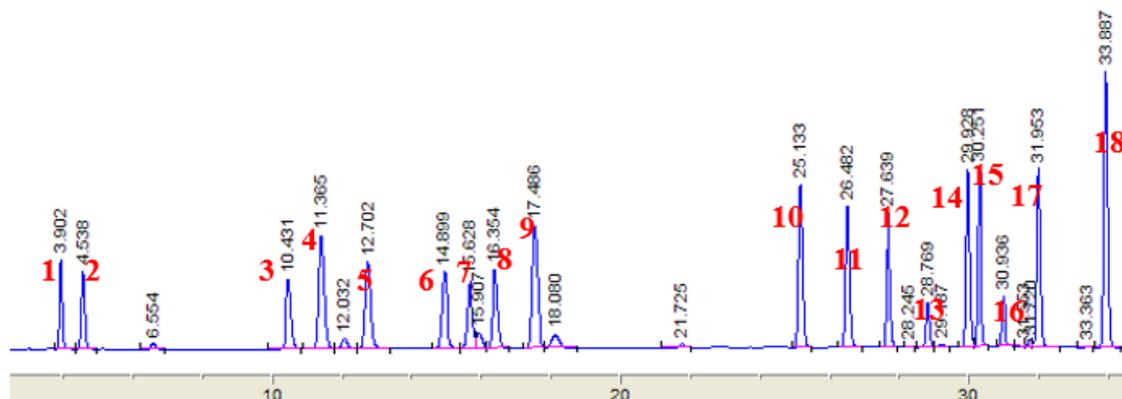
**表 3.** 滴定海马样品所消耗 HCl 的体积(单位: mL)

空白	样品 1 (V1)	样品 2 (V2)	样品 3 (V3)	盐酸平均消耗量( $\bar{v}$ )
2.80	75.30	75.90	76.20	75.80

将盐酸平均消耗量  $\bar{v}$  代入公式(1)中得，海马的粗蛋白含量为 46%。

### 3.2. 氨基酸标准品的线性关系

各取氨基酸混合标准品溶液 5、10、25、50、100、200  $\mu\text{L}$  进行衍生。氨基酸混标出峰图见图 1。



注：图 1 中，1 天冬氨酸，2 谷氨酸，3 丝氨酸，4 甘氨酸，5 组氨酸，6 精氨酸，7 苏氨酸，8 丙氨酸，9 脯氨酸，10 酪氨酸，11 缬氨酸，12 蛋氨酸，13 半胱氨酸，14 异亮氨酸，15 亮氨酸，16 内标物正亮氨酸，17 苯丙氨酸，18 赖氨酸。

Figure 1. The mixed peaks of amino acids

图 1. 氨基酸混标出峰图

各浓度氨基酸混合标准品峰面积结果见表 4。

Table 4. Results of peak areas of amino acid mixed standards at various concentrations ( $\mu\text{mol/mL}$ )

表 4. 各浓度( $\mu\text{mol/mL}$ )氨基酸混标峰面积结果

氨基酸	0.0125	0.025	0.0625	0.125	0.25	0.5
天冬氨酸	25.1	83.9	226.9	373.3	628.6	1295.6
谷氨酸	25.4	74.2	225.6	372.4	628.6	1433.8
丝氨酸	30.1	92.4	286.9	464.2	931.9	1949.5
甘氨酸	29.2	96.3	289.8	525.1	1314.5	3245.4
组氨酸	32.8	137.2	266.5	518.7	1142.8	2448.4
精氨酸	29.9	96.5	279.5	485.0	887.8	2223.0
苏氨酸	33.2	91.5	257.0	449.7	812.3	1980.2
丙氨酸	31.7	83.4	255.1	505.4	929.8	1786.2
脯氨酸	34.8	106.4	300.6	566.3	1445.6	3683.0
酪氨酸	35.7	106.1	310.5	587.8	1295.3	3458.0
缬氨酸	36.0	111.9	309.2	578.3	1240.3	2963.2
蛋氨酸	45.6	104.8	299.9	563.7	1210.2	2835.0
半胱氨酸	4.1	16.2	57.06	235.3	463.9	657.0
异亮氨酸	61.6	136.1	322.0	604.8	1241.2	3336.8
亮氨酸	31.8	112.7	327.4	576.1	1224.4	3297.0
苯丙氨酸	40.9	110.1	295.0	606.2	1349.0	3478.4
赖氨酸	60.6	172.0	524.2	1442.9	2337.8	5638.2
正亮氨酸	601.8	590.2	592.4	583.6	580.3	588.7

按照横坐标为氨基酸混合标准品的实际浓度, 纵坐标为混标中各氨基酸与内标物正亮氨酸峰面积的比值, 做出线性回归方程, 结果见表 5。

**Table 5.** Linear regression equations of seventeen amino acids in the amino acid mixed standard  
**表 5.** 氨基酸混标中 17 种氨基酸线性回归方程

氨基酸	线性回归方程	相关系数 R <sup>2</sup>
天冬氨酸(Asp)	$y = 0.0108x + 0.0477$	0.9968
谷氨酸(Glu)	$y = 0.0119x + 0.0067$	0.9935
丝氨酸(Ser)	$y = 0.0165x - 0.0073$	0.9983
甘氨酸(Gly)	$y = 0.0275x - 0.2452$	0.9901
组氨酸(His)	$y = 0.0209x - 0.0694$	0.9978
精氨酸(Arg)	$y = 0.0186x - 0.0804$	0.9893
苏氨酸(Thr)	$y = 0.0165x - 0.0462$	0.9910
丙氨酸(Ala)	$y = 0.0152x + 0.0282$	0.9980
脯氨酸(Pro)	$y = 0.0315x - 0.3165$	0.9863
酪氨酸(Tyr)	$y = 0.0294x - 0.2764$	0.9835
缬氨酸(Val)	$y = 0.0203x - 0.007$	0.9991
蛋氨酸(Met)	$y = 0.024x - 0.1315$	0.9943
半胱氨酸(Cys)	$y = 0.006x + 0.0193$	0.9482
异亮氨酸(Ile)	$y = 0.028x - 0.2082$	0.9826
亮氨酸(Leu)	$y = 0.0279x - 0.2365$	0.9830
苯丙氨酸(Phe)	$y = 0.0296x - 0.2623$	0.9871
赖氨酸(Lys)	$y = 0.0479x - 0.2341$	0.9924

结果表明, 天冬氨酸、谷氨酸、丝氨酸、甘氨酸、组氨酸、精氨酸、苏氨酸、丙氨酸、缬氨酸、蛋氨酸、赖氨酸在 0.0125~0.5  $\mu\text{mol/L}$  与峰面积比具有良好的线性关系。

### 3.3. 不同规格海马氨基酸含量的测定

分别取不同规格的海马, 对其进行样品的前处理及衍生。测定出不同氨基酸的峰面积分别代入表 5 对应氨基酸的线性回归方程, 结果见表 6。

**Table 6.** Detection results of various amino acids in hippocampus  
**表 6.** 海马中各种氨基酸检测结果

氨基酸	峰面积			含量(mg/g)		
	大	中	小	大	中	小
天冬氨酸	780.5	730.6	472.3	0.68	0.57	0.38
谷氨酸	2044.7	1168.1	573.7	1.72	0.87	0.44
丝氨酸	1214.3	707.4	297.5	0.57	0.30	0.13
甘氨酸	6097.1	524.4	362.3	1.25	0.12	0.09
组氨酸	2082.6	280.2	135.7	1.16	0.15	0.09

续表

精氨酸	529.1	568.5	368.4	0.39	0.37	0.26
苏氨酸	4823.0	1239.2	366.3	2.58	0.6	0.19
丙氨酸	4704.0	2344.0	424.3	2.03	0.89	0.16
脯氨酸	1325.6	750.0	485.8	0.40	0.22	0.16
酪氨酸	835.4	744.6	775.1	0.44	0.36	0.38
缬氨酸	1948.7	808.9	23.55	0.83	0.31	0.01
蛋氨酸	1237.0	545.7	454.8	0.59	0.25	0.22
半胱氨酸	677.0	546.1	55.4	0.50	0.35	0.03
异亮氨酸	1219.7	965.2	707.5	0.45	0.33	0.26
亮氨酸	794.9	2141.7	1343.1	0.31	0.70	0.47
苯丙氨酸	1385.9	1038.55	861.225	0.62	0.43	0.38
赖氨酸	3642.0	2888.5	2222.3	0.84	0.6	0.49

### 3.4. 不同规格海马样品必需氨基酸含量的分析

(1) 大、中、小海马必需氨基酸含量差异见表 7。

**Table 7.** Contents of essential amino acids (excluding tryptophan) in large, medium and small hippocampus (mg/g)  
**表 7.** 大、中、小海马必需氨基酸(除色氨酸)含量(mg/g)

	大海马	中海马	小海马
必需氨基酸(EAA)含量	6.22	3.22	2.02
非必需氨基酸(NAA)含量	9.5	4.2	2.12
总氨基酸(TAA)含量	15.36	7.42	4.14

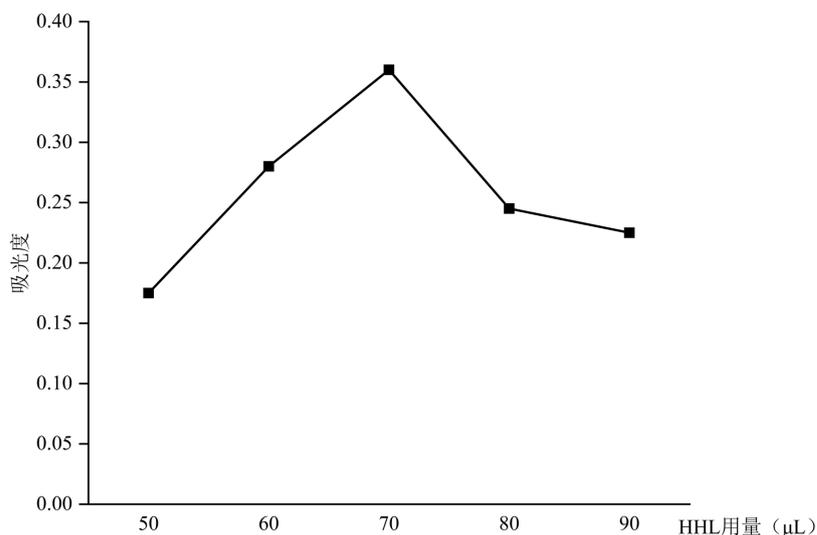
(2) 不同规格海马单个必需氨基酸含量与必需氨基酸总量比值(A/E 值)的计算, 依据表 7 计算所得的各必需氨基酸含量, 按照公式(2)进行计算, 结果见表 8。

**Table 8.** Calculation results of A/E values for large, medium and small hippocampus  
**表 8.** 大、中、小海马 A/E 值计算结果

必需氨基酸	大	中	小
苏氨酸	41.48	18.63	9.41
缬氨酸	13.34	9.63	0.5
蛋氨酸	9.49	7.76	10.89
异亮氨酸	7.23	10.25	12.87
亮氨酸	4.98	21.74	23.27
苯丙氨酸	9.97	13.35	18.81
赖氨酸	13.5	18.63	14.26

### 3.5. 不同剂量的 HHL 对海马降压肽效果的影响

在相同的反应条件, HHL 的加入量分别取 50  $\mu\text{L}$ 、60  $\mu\text{L}$ 、70  $\mu\text{L}$ 、80  $\mu\text{L}$  和 90  $\mu\text{L}$ 。

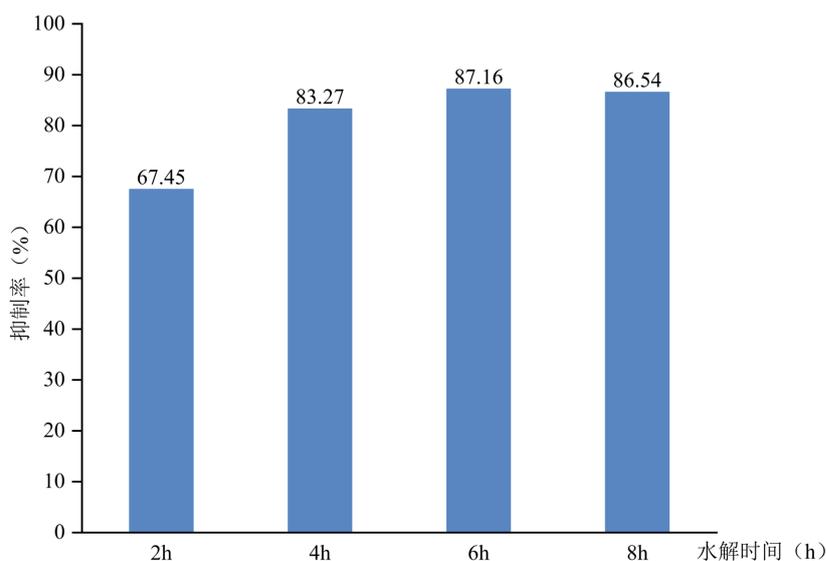


**Figure 2.** Screening of HHL dosage  
**图 2.** HHL 用量的筛选

如图 2 所示, HHL 每次添加的最佳剂量为 70  $\mu\text{L}$ 。随着 HHL 用量的增多, 吸光度的读数先升后降, 在 HHL 的添加量为 70  $\mu\text{L}$  时出现了最高峰, 说明在底物浓度相同时, HHL 的添加量为 70  $\mu\text{L}$  时体系中出现的 HA 浓度达到最高, 随着 HHL 的添加量的增加, 吸光度读数反而减少, 可能是因为反应体系浓度变小, 物质的浓度被稀释, 导致吸光度读数变小。

### 3.6. 不同酶解时间对海马降压肽效果的影响

在料液比 1:15, 加酶量 3% 的条件下, 改变酶解时间, 令其分别为 2 h、4 h、6 h、8 h, 得到的酶解最佳时间为 6 h。



**Figure 3.** Inhibition rates of samples with different enzymatic hydrolysis times  
**图 3.** 不同酶解时间样品的抑制率

如图 3 所示, 随着酶解时间的增加, 抑制率不断上升, 6 h 到 8 h 趋于平缓, 在 6 h 达到顶峰, 随之

又有下降的趋势,随着酶解时间的增加,肽片段不断在变小,降血压的有效物质也随之变少,从而出现了抑制率下降的结果。

### 3.7. 高效液相色谱法测定不同商品规格海马降压肽对 ACE 的抑制率

液相条件:反应液经 C18 色谱柱(250 mm × 4.6 mm, 5 μm, Tianhe)进行分析测定;色谱条件:柱温 30℃,流速 1 mL/min;流动相:乙腈:水 = 25:75 等度洗脱,进样体积 10 μL;检测波长 228 nm。

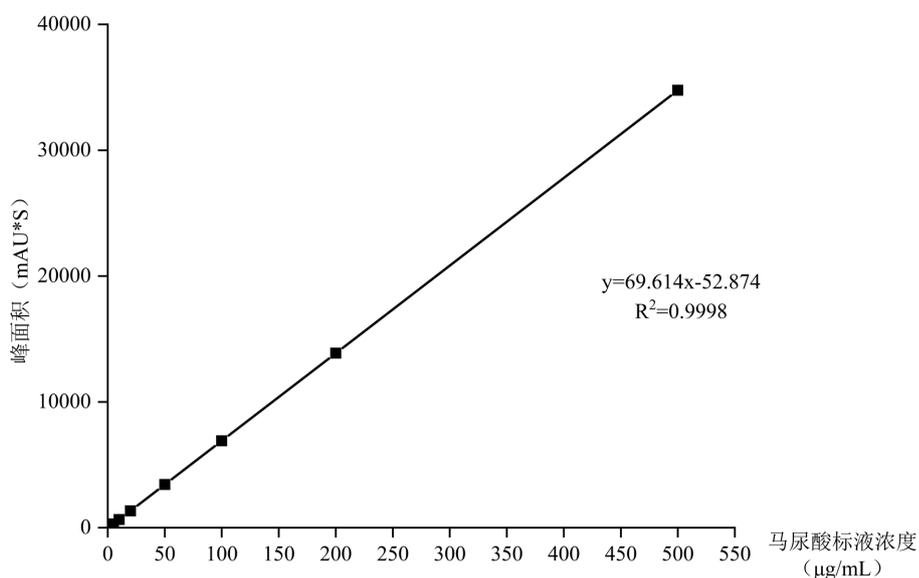


Figure 4. HA standard curve

图 4. HA 标准曲线

如图 4 所示,回归方程为  $y = 69.614x - 52.874$ ,  $R^2 = 0.9998$ , HA 标准曲线线性良好,且峰形良好,具有参考价值。

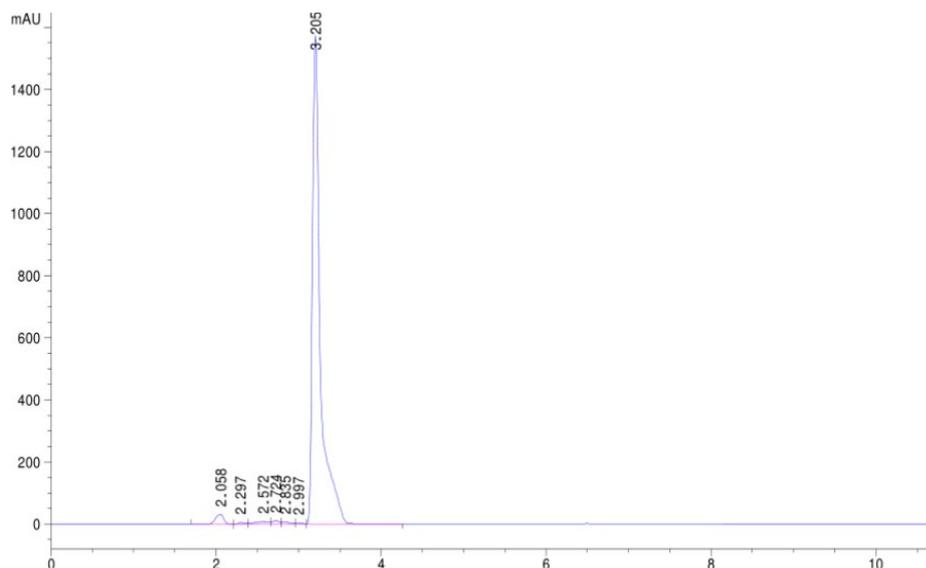


Figure 5. Peak time of HHL

图 5. HHL 出峰时间

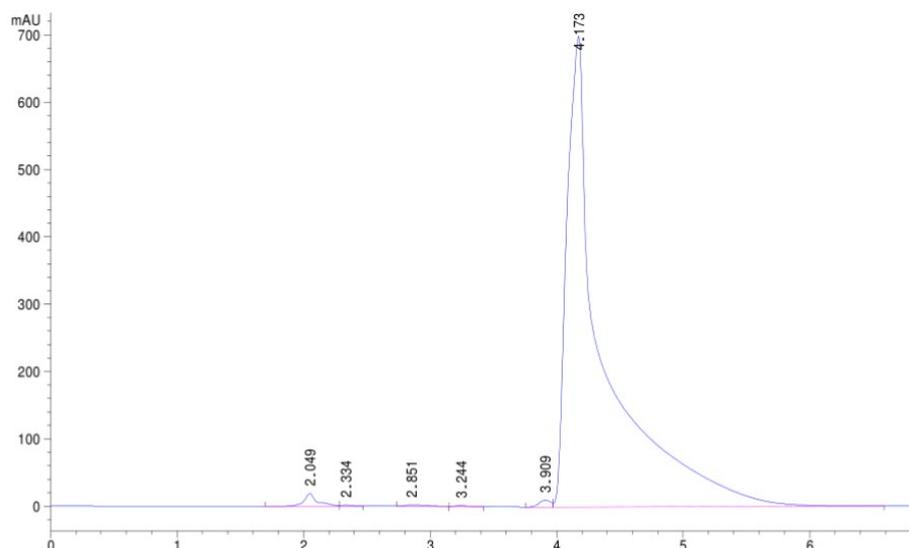


Figure 6. HA peak time

图 6. HA 出峰时间

测定 HA 标准曲线的同时, 避免 HHL 对 HA 峰面积的干扰, 测定了 HHL 的出峰时间(图 5), HHL 的出峰时间在 3.19 min, HA 的出峰时间在 4.16 min (图 6), 对 HA 的峰面积没有影响, 分析图中出现拖尾的现象, 可能是因为测定体系中没有加入三氟乙酸的缘故。表 9 是通过 HA 标曲确定不同商品规格海马 HA 浓度。

Table 9. The production of HA by hippocampal reactions in different product specifications

表 9. 不同商品规格海马反应产生 HA 的情况

样品规格	7~8 cm	10~12 cm	12 cm 以上	空白对照
HA 的浓度( $\mu\text{g}/\text{mL}$ )	63.78	56.29	49.44	119.83

根据公式(4)算得图中数据不同商品规格的海马的抑制率。

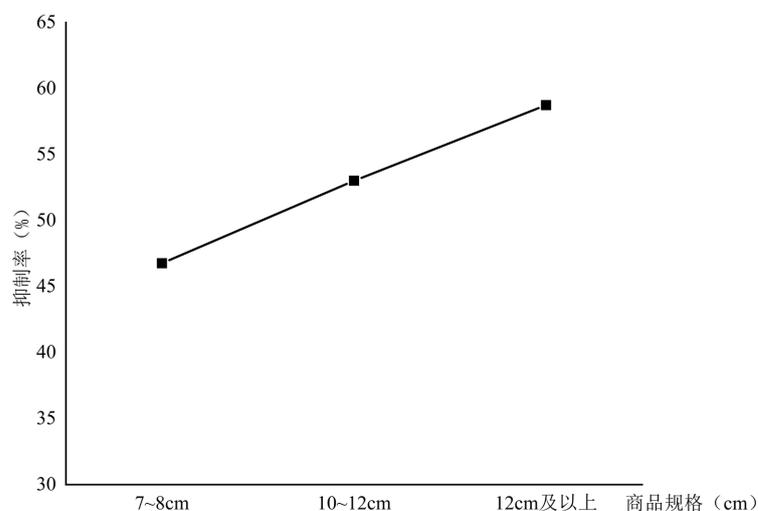


Figure 7. Inhibition rates of hippocampal samples prepared with different commercial specifications

图 7. 不同商品规格海马制备样品抑制率

如图 7 所示抑制率呈上升趋势, 在 12 cm 及以上这个商品规格线纹海马的抑制率最高, 可见选中这个规格的海马制备降压肽效果最好, 浓度在 1.923 g/L 时 7~8 cm 商品规格海马样品抑制率为 46.77%, 10~12 cm 商品规格海马样品抑制率为 53.02%, 12 cm 及以上商品规格海马样品抑制率为 58.74%, 三组存在显著性差异( $p < 0.05$ )。

#### 4. 讨论

降压肽是一类新兴的高血压治疗药物, 它具有良好的降压效果和改善心脏功能和促进血液循环, 从而降低心血管疾病的风险。相较于其他的生物中的降压肽, 线纹海马中提取的降压肽可以有效地调节血管平滑肌的紧张度, 促使血管扩张, 从而显著降低血压[18]。线纹海马中的降压肽不仅仅局限于降压作用, 它们可能还具有抗氧化、抗炎、以及促进心脏健康的功能。此外, 线纹海马降压肽的氨基酸组成和三维结构可能与其它生物中的降压肽不同, 使它们能够与特定受体产生更高的结合亲和力, 从而发挥更为显著的降压效果。

氨基酸作为构成蛋白质的基本单位, 其比例及含量在一定程度上代表着机体的蛋白质营养品质, 是促进机体生长、进行正常代谢以及维持生命的重要物质基础[19]。EAA 是人体无法合成的氨基酸, 必须通过饮食获得。它们对各种身体功能至关重要, 包括组织生长、能量产生和免疫系统支持[20]。线纹海马中的氨基酸种类丰富, 包含了人体无法自行合成或合成速度远不能满足机体需要的 8 种必需氨基酸, 如赖氨酸、色氨酸、苯丙氨酸、甲硫氨酸、苏氨酸、异亮氨酸、亮氨酸、缬氨酸等, 这些必需氨基酸对于维持人体正常生理功能、促进生长发育、修复组织等至关重要。此外, 线纹海马中各种氨基酸的比例相对合理, 与人体的氨基酸需求模式较为接近, 这使得其在被人体摄入后, 能够更好地被吸收和利用, 减少了因氨基酸比例失衡而导致的吸收不良等问题。

为了探索不同规格线纹海马氨基酸构成和降压肽的分析研究, 本文基于线纹海马为研究对象, 采用 PITC 柱前衍生 - 高效液相色谱法, 测定了大、中、小海马中常见的 17 种氨基酸的含量。此外, 本文采用 ACE 抑制活性法和高效液相色谱法, 分析了不同剂量 HHL 和不同酶解时间对海马降压肽效果的影响以及不同规格的线纹海马降压肽对 ACE 抑制率的影响, 为分析和制备线纹海马降压肽提供一个全面的视角。本研究结果反映了特定条件下对不同规格线纹海马降压肽效果的影响, 有利于优化线纹海马降压肽的提取。然而本研究也存在一定的局限性, 如样本量有限; 线纹海马中降压肽的生物活性可能受到多种因素的影响; 现有研究多集中于短期效果, 缺乏对线纹海马降压肽的长期使用安全性和有效性的评估, 难以预测其在长期治疗中的作用; 不同个体对降压肽的反应可能存在显著差异。

#### 5. 结论

本文以线纹海马为研究对象, 首先采用 PITC 柱前衍生 - 高效液相色谱法, 测定了线纹海马中氨基酸含量。通过多次试验, 发现了 Venusil AA 氨基酸分析色谱柱测定海马氨基酸的条件, 且各个氨基酸分离效果较好。本实验测定了大、中、小海马中常见的 17 种氨基酸, 其中包括 7 种必需氨基酸: Thr、Val、Met、Phe、Ile、Leu、Lys; 大、中、小海马中总氨基酸含量分别为: 15.36 mg/g、7.42 mg/g、4.14 mg/g。大、中、小海马必需氨基酸含量分别为: 6.22 mg/g, 3.22 mg/g, 2.02 mg/g, 占 TAA 的比例为 38.5%、43.40%、48.79%。大海马体内 Thr 含量最高, 其次是 Ala; 中海马体内 Ala 含量最高, 其次是 Glu; 小海马体内 Lys 含量最高, 其次是 Leu。大海马 EAA 中 Thr 含量最高, 中海马和小海马含量最多的 EAA 均为 Leu。

其次本文利用 HHL 与 ACE 反应生成马尿酸 HA, 马尿酸在紫外 228 nm 处有明显吸收峰的原理, 用高效液相色谱法测定不同商品规格的线纹海马在料液比 1:15, 加酶量 3%, 酶解温度 37℃, 酶解时间为 6

h 的条件下制备样品的抑制率。比较不同商品规格线纹海马制备降压肽效果的差异性, 结果证明存在显著性差异( $p < 0.05$ ), 12 cm 以上商品规格线纹海马制备样品的 ACE 抑制率最高, 浓度在 1.923 g/L 时抑制率为 58.74%。

## 参考文献

- [1] 王峰, 丁剑玲, 王有昆, 等. 线纹海马的雌雄个体形态差异分析[J]. 水产研究, 2020, 7(4): 188-197.
- [2] 曾涛, 万莉红, 易智慧, 等. 肾素-血管紧张素系统对中枢神经系统疾病的影响[J]. 四川生理科学杂志, 2024, 46(6): 1409-1412.
- [3] Oparil, S., Acelajado, M.C., Bakris, G.L., Berlowitz, D.R., Cifková, R., Dominiczak, A.F., *et al.* (2018) Hypertension. *Nature Reviews Disease Primers*, **4**, 34-47. <https://doi.org/10.1038/nrdp.2018.14>
- [4] Chen, Q., Liu, X., Wang, T., Huang, C., Zhang, Z., Chen, J., *et al.* (2024) The Effect of the Hippocampus Erectus Decoction on Improving Osteoporosis in Zebrafish. *Aquaculture Reports*, **39**, Article 102510. <https://doi.org/10.1016/j.aqrep.2024.102510>
- [5] Chen, L., Wang, X. and Huang, B. (2015) The Genus Hippocampus—A Review on Traditional Medicinal Uses, Chemical Constituents and Pharmacological Properties. *Journal of Ethnopharmacology*, **162**, 104-111. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2014.12.032>
- [6] Wang, J., Ye, X., Su, Z., Zou, P., Pang, J. and Chen, J. (2021) Ace-Inhibitory Peptides from *Laminaria japonica* and Their Potential Anti-Hypertensive Mechanism. *CyTA-Journal of Food*, **19**, 333-340. <https://doi.org/10.1080/19476337.2021.1900923>
- [7] Fitzgerald, R.J. and Murray, B.A. (2010) Bioactive Peptides and Lactic Fermentations. *International Journal of Dairy Technology*, **59**, 118-125. <https://doi.org/10.1111/j.1471-0307.2006.00250.x>
- [8] Iwaniak, A., Minkiewicz, P. and Darewicz, M. (2014) Food-Originating ACE Inhibitors, Including Antihypertensive Peptides, as Preventive Food Components in Blood Pressure Reduction. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, **13**, 114-134. <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12051>
- [9] Meisel, H. (2004) Multifunctional Peptides Encrypted in Milk Proteins. *BioFactors*, **21**, 55-61. <https://doi.org/10.1002/biof.552210111>
- [10] 黄莹, 黄晶, 杨晓, 等. PITC 柱前衍生-高效液相色谱法测大米肽中的 16 种氨基酸含量[J]. 食品工业科技, 2023, 44(24): 279-285.
- [11] Tian, W., Zhang, C., Zheng, Q., Hu, S., Yan, W., Yue, L., *et al.* (2024) *In Silico* Screening of Bioactive Peptides in Stout Beer and Analysis of ACE Inhibitory Activity. *Foods*, **13**, Article 1973. <https://doi.org/10.3390/foods13131973>
- [12] Ko, S., Kang, N., Kim, E., Kang, M.C., Lee, S., Kang, S., *et al.* (2012) A Novel Angiotensin I-Converting Enzyme (ACE) Inhibitory Peptide from a Marine Chlorella Ellipsoidea and Its Antihypertensive Effect in Spontaneously Hypertensive Rats. *Process Biochemistry*, **47**, 2005-2011. <https://doi.org/10.1016/j.procbio.2012.07.015>
- [13] Qu, W., Ma, H., Jia, J., He, R., Luo, L. and Pan, Z. (2012) Enzymolysis Kinetics and Activities of ACE Inhibitory Peptides from Wheat Germ Protein Prepared with SFP Ultrasound-Assisted Processing. *Ultrasonics Sonochemistry*, **19**, 1021-1026. <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2012.02.006>
- [14] 赵谋明, 赖晨戎, 崔春. 高效液相色谱测定 ACE 抑制率方法改进的研究[J]. 现代食品科技, 2013, 29(11): 2742-2746.
- [15] Cushman, D.W. and Cheung, H.S. (1971) Spectrophotometric Assay and Properties of the Angiotensin-Converting Enzyme of Rabbit Lung. *Biochemical Pharmacology*, **20**, 1637-1648. [https://doi.org/10.1016/0006-2952\(71\)90292-9](https://doi.org/10.1016/0006-2952(71)90292-9)
- [16] Cao, X., Zhou, H., Xie, J., Zhang, Z., Guo, S., Luo, J., *et al.* (2025) A Novel Angiotensin I-Converting Enzyme (ACE) Inhibitory Peptide from Wuyi Rock Tea Residue: Preparation, Identification, and Its Potential Molecular Mechanism. *LWT*, **216**, Article 117353. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2025.117353>
- [17] 杨贵兰, 秦松, 王晓艳, 等. 酶法制备阿拉斯加鳕鱼降压肽的工艺优化及其产物的结构鉴定[J]. 食品工业科技, 2020, 41(5): 163-168, 174.
- [18] 廖乾莉, 范小春. 高血压合并心力衰竭一线降压药物治疗的研究进展[J]. 中国医药, 2024, 19(5): 768-772.
- [19] 杨思雨, 王苗苗, 陈焕根. 不同地区小龙虾氨基酸含量及挥发性风味物质成分比较研究[J]. 现代农业科技, 2024(8): 129-133.
- [20] Feng, B., Zhang, H., Zhang, D., Luo, Y., Yang, H., Lin, J., *et al.* (2024) Comprehensive Biochemical Analysis and Nutritional Evaluation of Fatty Acid and Amino Acid Profiles in Eight Seahorse Species (*Hippocampus* Spp.). *Heliyon*, **10**, e33220. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2024.e33220>