



2016 大连民族大学 --- 研究生成果汇编

研究生处

成果目录 (2016)

| 序号 | 论文名称/软件名称 | 刊物/登记号 | 刊号/发表时间 | 第一作者 (研究生) | 专业 | 导师 |
|----|---|--|-----------------------------|---------------|------|-----|
| 1 | 扫描电镜在果蔬保藏中的应用 | 食品与发酵工业 | 2016年第42卷第10期 | 陈妍竹 | 生物工程 | 胡文忠 |
| 2 | 自然发酵与人工接种发酵酸菜的研究进展 | 食品与发酵工业 | 2016年第42卷第3期 | 李晓博 | 生物工程 | 胡文忠 |
| 3 | 纳米材料在食源性致病菌检测中的应用 | 食品与发酵工业 | 2016年第42卷第6期 | 王馨 | 生物工程 | 胡文忠 |
| 4 | Quantitative analysis of protein orientation in membrane environments by kinase activity (SCI) | Journal of Bioscience and Bioengineering | VOL.121, No.2, 242-46, 2016 | 熊文 | 生物工程 | 权春善 |
| 5 | Treatment of Omethoate on Edible Wolfberry by Atmospheric Pressure Air Surface Dielectric Barrier Discharge (SCI) | Plasma Processes and Polymers | 2016, 13, 402-409 | 宗子超 | 生物工程 | 刘东平 |
| 6 | 放牧影响下克氏针茅草原不同物候期土壤酶活性与微生物生物量的变化 | 生态学杂志 | 2016, 35(8):2022-2028 | 徐志超 | 生物工程 | 乌云娜 |
| 7 | 核桃不同部位的活性物质及药用价值研究进展 | 食品工业科技 | Vol.37, No.21, 2016 | 于雪 | 生物工程 | 胡文忠 |
| 8 | 分子生物学方法检测沙门氏菌的研究进展 | 食品工业科技 | Vol.37, No.9, 2016 | 杨柳 | 生物工程 | 胡文忠 |
| 9 | 酸菜发酵工艺与贮藏特性的研究进展 | 食品工业科技 | Vol.37, No.9, 2016 | 宋春璐 | 生物工程 | 胡文忠 |
| 10 | 鲜切果蔬次生代谢产物合成的研究进展 | 食品工业科技 | Vol.37, No.18, 2016 | 邵文俊 | 生物工程 | 胡文忠 |
| 11 | 文冠果主要功效成分研究进展 | 食品工业科技 | Vol.37, No.8, 2016 | 孙录 | 生物工程 | 胡文忠 |
| 12 | 五味子果实的功能作用及主要活性成分研究进展 | 食品工业科技 | Vol.37, No.4, 2016 | 李晓博 | 生物工程 | 胡文忠 |
| 13 | 黑果腺肋花楸营养物质与功效的研究进展 | 食品工业科技 | Vol.37, No.10, 2016 | 于雪 | 生物工程 | 胡文忠 |
| 14 | 黑果腺肋花楸功能作用及食品加工研究进展 | 食品工业科技 | Vol.37, No.9, 2016 | 陈妍竹 | 生物工程 | 胡文忠 |
| 15 | 辽细辛功能成分的研究进展 | 食品工业科技 | Vol.37, No.4, 2016 | 孙录 | 生物工程 | 胡文忠 |
| 16 | 天麻的活性成分及功能性研究进展 | 食品工业科技 | Vol.37, No.8, 2016 | 于雪 | 生物工程 | 胡文忠 |
| 17 | 刺五加主要活性物质及其药理作用的研究进展 | 食品工业科技 | Vol.37, No.6, 2016 | 白雪 | 生物工程 | 胡文忠 |
| 18 | 刺五加活性成分的研究进展 | 食品工业科技 | Vol.37, No.4, 2016 | 白雪 | 生物工程 | 胡文忠 |
| 19 | 短梗五加各部位活性成分及其食药价值研究进展 | 食品工业科技 | Vol.37, No.6, 2016 | 李鹤 | 生物工程 | 胡文忠 |
| 20 | 文冠果种仁油开发和应用的进展 | 食品工业科技 | Vol.37, No.9, 2016 | 白雪 | 生物工程 | 胡文忠 |
| 21 | 芒果果肉抗氧化成分测定及其对自由基清除能力的研究 | 食品工业科技 | Vol.37, No.10, 2016 | 李晓博 | 生物工程 | 胡文忠 |
| 22 | HPLC法测定10个引自北美蓝莓品种果实中的糖酸组分及含量 | 食品工业科技 | Vol.37, No.10, 2016 | 于淼 | 生物工程 | 阮成江 |
| 23 | 石柱参中人参皂苷及其功能特性的研究进展 | 中成药 | 2016年4月第38卷第4期 | 宋春璐 | 生物工程 | 胡文忠 |
| 24 | 采用荧光定量PCR方法快速检测蔬菜中沙门氏菌 | 食品研究与开发 | 2016年4月第37卷第7期 | 郭蕾 | 生物工程 | 江洁 |

| 序号 | 论文名称/软件名称 | 刊物/登记号 | 刊号/发表时间 | 第一作者 (研究生) | 专业 | 导师 |
|----|---|--------------------|------------------|---------------|-------|-----|
| 25 | 玉屏油茶良种果实性状的相关性和主成分分析 | 经济林研究 | 2016年3月第34卷第1期 | 丁桂娇 | 生物工程 | 阮成江 |
| 26 | 玉屏油茶果实性状的相关性和主成分分析 | 湖北农业科学 | 2016年1月第55卷第1期 | 赵月 | 生物工程 | 阮成江 |
| 27 | 玉屏油茶良种果实性状的通径及聚类分析 | 河南农业科学 | 2016,45(2):40-43 | 丁桂娇 | 生物工程 | 阮成江 |
| 28 | 玉屏油茶果实性状的通径和聚类分析 | 大连民族大学学报 | 2016年5月第18卷第3期 | 赵月 | 生物工程 | 阮成江 |
| 29 | 生物强化富锌食品的研究进展 | 大连民族大学学报 | 2016年9月第18卷第5期 | 解彬 | 生物工程 | 江洁 |
| 30 | 手写满文字母采集系统的设计与实现 | 大连民族大学学报 | 2016年9月第18卷第5期 | 王帆 | 计算机技术 | 李敏 |
| 31 | Variable Momentum Controlled by Equalizer Energy based CMA Blind Equalization (ICMMCT 2016) | | 2016年1月 | 孙金宇 | 计算机技术 | 肖瑛 |
| 32 | 网络安全教学系统V1.0 | 2016SR024528 | 2016年2月1日 | 张富彬 | 计算机技术 | 姜楠 |
| 33 | 农业信息服务系统V1.0 | 2016SR258499 | 2016年9月3日 | 张富彬 | 计算机技术 | 姜楠 |
| 34 | 手写满文字母识别系统V1.0 | 2016SR313748 | 2016年11月1日 | 王帆 | 计算机技术 | 李敏 |
| 35 | 字符图像数据人工合成系统V1.0 | 2016SR333466 | 2016年11月16日 | 毕佳晶 | 计算机技术 | 李敏 |
| 36 | 无线探测车控制软件V1.0 | 2016SR193620 | 2016年7月26日 | 王帆 | 计算机技术 | 李敏 |
| 37 | 低频振动激光检测软件V1.0 | 2016SR216203 | 2016年8月12日 | 王帆 | 计算机技术 | 李敏 |
| 38 | 教室多媒体系统管理软件V1.0 | 2016SR060216 | 2016年3月23日 | 秦红霞 | 计算机技术 | 李绍民 |
| 39 | 全国青年大数据大赛二等奖(基于运营商数据的互联网金融创新) | 国家互联网信息办公室、中国计算机学会 | 2016年1月10日 | 毋亚男 | 计算机技术 | 许小可 |
| 40 | 第十二届全国研究生数学建模竞赛三等奖 | 教育部学位与研究生教育发展中心 | | 毋亚男 | 计算机技术 | 许小可 |

扫描电镜在果蔬保藏中的应用

陈妍竹 胡文忠* 刘程惠 孙录 付喜庆 孙佩茗

(大连民族大学 生命科学学院 辽宁 大连 116600)

摘要 随着扫描电子显微镜技术的发展,它已经被成功地应用于医疗、环境、生物、食品研究等各个领域,成为不可缺少的高科技辅助研究技术之一。近年来,越来越多的研究者们将它应用于果蔬保藏方面,以观察果蔬贮藏期内的组织表面形态变化以及微生物侵染果蔬表面过程。文章主要介绍扫描电镜在果蔬采后病害防治及鲜切果蔬保鲜两方面的应用现状,供未来研究者们研究果蔬保鲜及加工做参考。

关键词 扫描电子显微镜; 果蔬; 保藏; 应用

扫描电子显微镜主要是利用电子束在样品表面进行逐点扫描,利用二次电子信号成像来观察样品的表面形态^[1]。因扫描电镜操作简单,图像分辨率高,所呈现的图像富有立体感,且视野广泛,景深长等特点,使其迅速成为各研究方向中必不可少的工具之一。扫描电镜在诸多领域中都有应用,例如在环境领域中可用于研究叶子表面颗粒物分布,研究不同植物的吸附能力^[2]。在生物方面可用来观察昆虫表皮翅膀与甲壳^[3]表面形态,橄榄果皮、角质层蜡及细菌粘附情况^[4],以及 Gagaita 果实提取物在不同烘干条件下粉末形态^[5]。在无机化工材料中可观察纳米二氧化硅微粒以及纳米磷酸锌涂层^[6]。在地质方面通过观察黑色页岩形态进一步分析其微观孔隙类型及演化过程等^[7]。此外,它还在医学、矿物、冶金、电子材料等均有应用^[8-11]。目前扫描电镜也已经作为辅助观察技术应用于果蔬加工及保鲜的研究中,本文将着重介绍扫描电镜在果蔬采后病害防治及鲜切果蔬保鲜方面的应用。

1 扫描电镜的发展及分类

1935年,扫描电子显微镜雏形初现,但在当时并不具有实用价值,2年后其理论获得完善,在1942年 Zworykinetal 制成了第一台扫描电镜,分辨率为1 μm,10年后SEM分辨率已经可以达到50 nm,此后扫描电镜所具备的潜能受到重视。随着技术的发展

与完善,1965年扫描电镜进入市场,进入一个全新发展的时期,此后其相关技术迅猛发展,1975年扫描电镜二次电子图像分辨率已达到6 nm,标志着扫描电镜进入了数字化时代,直至今日,扫描电镜已经成为一种全电子计算机控制、全自动图像分析的数字型扫描电镜^[12]。

目前扫描电子显微镜主要分为五类,具体优缺点详见表1。其中生物样品研究中常使用常规扫描电子显微镜(scanning electron microscope, SEM)和环境扫描电子显微镜(environmental scanning electron microscope, ESEM),与环境扫描电镜相比,常规扫描电镜应用更为广泛。

2 扫描电镜在果蔬采后病害防治中的应用

由于果蔬本身属于鲜活农产品,水分含量较高且营养丰富,在采摘、包装、运输、贮藏中容易发生机械损伤而受到病原菌侵染,发生腐烂变质。因而人们使用化学杀菌剂、物理冷杀菌、生物防治及采用植物提取物对果蔬采后病害进行防治。其中生物防治及植物提取物控制采后病害由于其具有安全、有效等特点也成为近年研究热点之一。通过扫描电镜相辅助,可以深入研究采后病害防治机理,例如拮抗菌附着情况,拮抗菌与病原菌相互作用及它们的表面形态以及植物提取对病原菌丝影响等。

2.1 扫描电镜在拮抗菌控制果蔬采后病害中的应用

自然界存在大量微生物对采后病原菌生长有抑制作用,到目前为止,人们已经从果蔬土壤等分离到多种拮抗菌,这些拮抗菌包括酵母菌、细菌、小型丝状真菌^[25],其中以拮抗酵母菌应用最为广泛。USALL等人^[26]通过普通扫描电镜观察苹果伤口处及表面酵

第一作者: 硕士研究生(胡文忠教授为通讯作者, E-mail: hwz@dlmu.edu.cn)。

基金项目: 国家自然科学基金项目(31471923); 中央高校自主科研基金青年项目(DC201502020402)

收稿日期: 2016-03-01 改回日期: 2016-03-28

霉菌生长状况,图片直观表明伤口处内表面酵母菌生长迅速。而 CHAN 等人^[27]通过普通扫描电镜对拮抗酵母菌与病原菌之间的相互作用进行具体分析,同时还证明 2 种不同拮抗酵母菌(*Pichia membranefaciens* 和 *Cryptococcus albidus*)对病原菌菌丝附着能力不同。研究者们结合扫描电镜研究草莓采前施喷拮抗酵母菌对采后贮藏性能及质量的影响^[28-30],通过扫描电

镜图片都可看出未经酵母菌处理的对照组都有病原菌菌丝,而其他处理组没有,说明拮抗酵母菌可抑制病原菌菌丝体生长,其中毛淑波和 WEI 等人还通过扫描电镜证明酵母菌数量多少与采前施喷次数有关,采摘前 0、3、6 天施喷酵母菌更有利于其在果实表面定殖增长,该处理方法下酵母菌增殖数量最多。

表 1 扫描电镜种类及其优缺点

Table 1 The kinds of SEM and its advantages and disadvantages

| 扫描电镜种类 | 优点 | 缺点 |
|---|---|--|
| 常规扫描电子显微镜 (SEM) | ①应用广泛,国内已自主生产且技术成熟 ^[13] | ①样品前处理繁杂 ②样品脱水后易发生形变 ③样品处理过程中会接触有毒试剂 ^[14] |
| 环境扫描电子显微镜 (ESEM) | ①非导电材料无需镀膜可直接观察 ②可观察含水含油样品,无需脱水 ③可连续观察样品反应的动力学过程 ④可研究微注入液体与样品相互作用 ^[15-17] | ①虽然用途广但仪器较少,不普及 ②环境真空模式下,电镜分辨率较低 ③相对湿度低时会引起样品收缩变形 ④成本较高 ^[17-19] |
| 冷冻扫描电子显微镜 (cryo-scanning electron microscope, Cryo-SEM) | ①可观察含水量丰富的结构组织,观察结果更接近样品原形 ②操作简便省时 ③样品可重复使用且具有选择性刻蚀能力 ^[14] | ①低温固定过程中生物样品温度急剧变化,产生特定热,目前这方面缺乏较为完善的分析以及深入的研究 ②国内该方面设备依赖进口,不够普及 ^[14] |
| 低真空扫描电子显微镜 (low vacuum-scanning electron microscope, LV-SEM) | ①非金属样品分析时不需要喷金 ②显微镜放大倍率误差非常小 ③减轻荷电问题 ^[20-21] | ①图像分辨率下降 ②需要掌握低真空操作模式及实验技巧,才可以得出理想实验结果,难度大 ③长时间低真空模式对灯丝寿命有一定影响 ^[20] |
| 场发射扫描电子显微镜 (field emission scanning electron microscope, FESEM) | ①具有高倍数,超高分辨率扫描图像 ②发射电流稳定,低压性能好 ③定量分析空间分辨率相对常规扫描电镜有所提高 ^[22-23] | ①场发射扫描电镜灯丝价格较高 ②对真空度要求高,样品制备上要注意水汽 ^[24] |

除了使用扫描电镜观察单个拮抗菌的防治效果,扫描电镜也被应用于拮抗菌与物理方法复合控制果蔬采后病害。其中赵妍^[31]通过扫描电镜观察不同处理组番茄果实伤口处病原菌生长情况,发现热空气 38 °C 处理 24 h 后病原菌菌丝数量显著减少,菌丝干瘪皱缩。酵母菌拮抗组与酵母菌复合热空气处理组均能观察到菌丝。说明,虽然复合热空气处理可以增强防治效果,但是仍不能杀灭病原菌。而 ZHAO 等人^[32]在赵妍基础之上还研究热空气处理与酵母菌接种顺序问题,扫描电镜发现,接种酵母菌后再经空气热处理,虽然可以使病原菌菌丝体受损严重,但同时也使酵母菌表面凹陷,因此还是热空气处理后再接种酵母菌较适宜。拮抗菌控制果蔬采后病害目前研究多、应用广。菌本就属于微观世界,虽然普通显微镜也可对其进行观察,但是分辨率、成像质量、放大倍数都远不及扫描电镜,通过扫描电镜不仅可以观察酵母拮抗病原菌,还可观察病原菌侵入植物组织的过

程^[33]或者单种菌的生长繁殖过程,使采后病害的研究更加直观形象。

2.2 扫描电镜在植物提取物控制果蔬采后病害中的应用

利用植物提取物作为植源性杀菌剂,目前已成为国内外研究热点之一,并取得较大进展。研究者将扫描电镜应用于植物提取物控制采后病害的研究中。哈斯格根通过扫描电镜观察中草药北豆根提取物对灰葡萄孢菌与链格孢菌菌丝体的影响^[34],观察发现菌丝的形态与未处理组相比发生明显改变,并且随着中草药浓度的加大,菌丝形态皱缩,干瘪,扭曲,断裂,出现空腔,在最小抑菌浓度下,这 2 种病原真菌菌丝数量均有减少,在最小杀菌浓度处理下,菌丝数量进一步减少且大部分菌丝断裂,部分出现消融。冯武研究肉桂精油对链格孢菌丝生长的影响^[35],将扫描电镜与 PDB 培养基上肉眼观察菌丝生长形态相结合,微观与宏观相结合,使实验更具有可信度。在 300

$\mu\text{L/L}$ 肉桂精油 PDB 培养基中,肉眼可见链格孢长势较差,菌丝颜色较浅,使用扫描电镜观察,该精油浓度下菌丝粗细不一,但菌丝表面光滑。在 $500 \mu\text{L/L}$ 浓度下,链格孢生长量最少,菌丝球颜色变白,扫描电镜观察下菌丝少且干瘪,细胞内容物较少。通过扫描电镜,可以看出植物提取杀菌剂作用于病原菌菌丝体,使其结构遭到破坏,失去增殖侵染能力进而控制病害蔓延。

3 扫描电镜在鲜切果蔬中的应用

随着生活节奏的加快,鲜切果蔬因其方便、快捷、新鲜、营养等特点,深受人们的喜爱。但鲜切果蔬因轻度加工后,与正常完整的果蔬相比,更容易受到病原菌的侵染,也因其加工中去皮、切分等使果蔬组织损伤,色泽发生改变^[36]。扫描电镜很适合应用于鲜切果蔬方面,鲜切果蔬与普通完整果蔬的区别在于鲜切的组织是裸露在外,可通过扫描电镜观察其组织表面形态、切面光滑程度、细胞形态以及不同手段处理保鲜后表面情况。目前,国内对鲜切果蔬的研究大多停留在测定生理生化指标,国外则已经将扫描电镜应用于果蔬保鲜及加工改进的研究。

3.1 扫描电镜观察鲜切果蔬在贮藏时质量变化

在 FUNDO 研究鲜切甜瓜在贮藏期内的质量变化中^[37],扫描电镜作为组织表面分析的一种手段,观察鲜切甜瓜在 0~6 d 贮藏期内其表面变化,第 0 天,细胞排列紧密,细胞壁界限明显,但在贮藏期 4 天后,大部分细胞壁已经分解,其余细胞壁也已经扭曲变形,细胞排列杂乱无章。MISHRA 在研究鲜切茄子褐变程度中通过扫描电镜发现^[38],使用锋利刀片切割茄子会减少其物理性损伤,切割表面比较平滑,与肉眼观察鲜切茄子的褐变程度相结合可看出普通刀切割的茄子褐变程度明显高于锋利刀片切割的。说明目前扫描电镜既可以用于观察鲜切果蔬贮藏期表面变化,还可用于观察不同处理方式,例如加工方式、切割方式等对鲜切果蔬贮藏时期质量的影响。

3.2 扫描电镜在涂膜保鲜中的应用

扫描电镜还可以用于观察鲜切果蔬涂膜后表面形态。例如 MARIA 等人观察蛇果组织表面形态以及植物黏液、生育酚、纳米乳剂等不同膜处理后的表面形态^[39],其中组织表面的涂膜形态取决于分散成膜的粒度大小。VARGAS 等人则观察 3 种不同膜(可食用壳聚糖,可食用壳聚糖+甲基纤维素,可食用壳聚糖+植物油酸)在正常大气压及真空浸渍下的鲜

切胡萝卜表面区别^[40],在常压下进行涂膜,未被膜覆盖面积明显多于真空浸渍处理的,使用真空浸渍有较高的成膜质量,能均匀附着在鲜切胡萝卜表面,同时还观察了涂膜后鲜切胡萝卜薄片在常压及真空下的截面图,在真空处理下涂膜部分浸入组织中。AZARAKHSH 等人通过扫描电镜观察可食用海藻盐结合 3 g/L 柠檬草精油处理鲜切菠萝^[41],在贮藏 8 d 后涂膜处理的鲜切菠萝表面形态与新鲜菠萝相差无几,但未处理的鲜切菠萝细胞壁瓦解,微生物显著生长,说明柠檬草精油结合涂膜处理可显著减少微生物生长,延长鲜切菠萝贮藏期。说明扫描电镜还可以成为鉴别涂膜保鲜效果好坏的一种手段,使对膜好坏的鉴定不在局限于宏观观察褐变程度、是否有菌生长,而是上升到微观世界,从成膜质量、抑菌效果、粒度大小等多方面分析。

3.3 扫描电镜在冷杀菌技术保鲜中的应用

扫描电镜在冷杀菌保鲜中也有一定的应用,既可以用于观察鲜切果蔬杀菌处理后表面形态,观察菌落减少情况,还可以观察杀菌处理后菌的表面形态,推测该种杀菌技术能否对此有效果。有研究者使用酸性或者碱性电解水处理鲜切香菜后,通过扫描电镜观察幸存的微生物种群^[42],其中经过酸性与碱性电解水组合处理的香菜表面微生物最少,且酸性与碱性电解水组合杀菌效果好于单独的酸性处理或弱酸性电解水处理。ALWI 研究臭氧处理鲜切风铃椒可减少沙门氏菌、单增李斯特菌、伤寒沙门氏菌的数量中应用了环境扫描电镜^[43],通过臭氧处理该 3 种细菌的培养基,观察细胞处理前后形态,未处理细胞表面光滑完整,处理后的细菌细胞表面不规则,细胞壁破裂。说明臭氧处理可破坏细菌渗透压平衡使其钝化至灭活。MARTÍNEZ-SÁNCHEZ 等人研究在光照条件下贮藏鲜切生菜对其质量影响^[44],在光照条件下贮藏 10 d 后,生菜表面气孔大都会张开,气孔张开则有利于叶片导水度及植物组织之间气体交换,在此方面研究,大多出版物只是说光照会促使气孔打开,促进气体交换,但是都没人使用扫描电镜对此验证,仅是测定空气组成与失重,猜测光照会影响气孔开度以及呼吸作用,但该作者则通过扫描电镜图片直接说明光照会促使生菜气孔张开,说明扫描电镜在鲜切果蔬各方面的研究是十分必要的,并且所呈现的图像清晰明确,让人一目了然。

4 展望

果蔬采后病害防治、保鲜及贮藏一直是一个研究

热点,果蔬鲜切更是代表着一种新的生活理念,若在研究中结合扫描电镜,会使实验结果更加形象清晰。目前,在国外,扫描电镜已经作为一种普遍的技术手段,除了应用在物理化学材料、生物医学、电子材料方面,在果蔬采后病害防治、鲜切果蔬加工与贮藏^[48-49]等多个方面都有应用,而在国内扫描电镜更多的还是应用于物理及化学材料观察方面,对果蔬采后病害防治方面以及植物生长中拮抗菌筛选方面也有涉及^[45-47],但在鲜切果蔬加工和保鲜方面应用较少。相信随着扫描电镜技术的发展及仪器的普及,扫描电镜不仅能在果蔬采后与鲜切果蔬的研究中得到广泛应用,还将更多地应用于食材新鲜度的鉴定、新型食品的开发^[50]、产品质量鉴别、食品益生菌新物种鉴别等方面。根据各类扫描电镜优缺点,将不同种扫描电镜应用于其最适宜的方向,同时还可以将其与拉曼光谱仪、红外光谱仪相结合,为未来研究者的深入研究提供更好的技术手段支持。

参 考 文 献

- [1] 王蕾,靖丽丽,高春香,等. 扫描电子显微镜在无机材料分析中的应用[J]. 当代化工,2007(3): 318-320.
- [2] WANG Hua, FENG Hao, LUO Ya-guang. Dual-Phase inactivation of *Escherichia coli* O157: H7 with peroxyacetic acid, acidic electrolyzed water and chlorine on cantaloupes and fresh-cut apples[J]. Journal of Food Safety, 2006, 26(4): 335-347.
- [3] CHANDRAN R, WILLIAMS L, HUNG A, et al. SEM characterization of anatomical variation in chitin organization in insect and arthropod cuticles[J]. Micron, 2016, 82(3): 74-85.
- [4] LANZA B, DI SERIO M G. SEM characterization of olive (*Olea europaea* L.) fruit epicuticular waxes and epicarp[J]. Scientia Horticulturae, 2015, 191(6): 49-56.
- [5] DAZA L D, FUJITA A, FÁVARO-TRINDADE C S, et al. Effect of spray drying conditions on the physical properties of Cagaita (*Eugenia dysenterica* DC.) fruit extracts[J]. Food and Bioprocess Technology, 2016, 97(1): 20-29.
- [6] TAMILSELVI M, KAMARAJ P, ARTHANAREESWARI M, et al. Development of nano SiO₂ incorporated nano zinc phosphate coatings on mild steel[J]. Applied Surface Science, 2015, 332(S13-14): 12-21.
- [7] 范二平,唐书恒,张成龙,等. 湘西北下古生界黑色页岩扫描电镜孔隙特征[J]. 古地理学报,2014(1): 133-142.
- [8] ANDERSON M, BOSTRÖM M, PFALLER K, et al. Structure and locomotion of adult in vitro regenerated spiral ganglion growth cones - A study using video microscopy and SEM[J]. Hearing Research, 2006, 215(3): 97-107.
- [9] 于学峰,刘钊. 红原泥炭颗粒物表面形态与矿物组成研究[J]. 地球环境学报,2010(2): 122-125.
- [10] HAO Hua-li, MO Wei, LYU Yong-hu, et al. The effect of trace amount of Ti and W on the powder metallurgy process of Cu[J]. Journal of Alloys and Compounds, 2016, 660(11): 204-207.
- [11] WU Chen, GUO Rui-song, CAI Guang-lan, et al. Ti₃SiC₂ modified Li₃V₂(PO₄)₃/C cathode materials with simultaneous improvement of electronic and ionic conductivities for lithium ion batteries[J]. Journal of Power Sources, 2016, 306(2): 779-790.
- [12] 孙亚飞. 场发射扫描电子显微镜阴极制备工艺研究[D]. 上海:上海师范大学,2013.
- [13] 朱琳. 扫描电子显微镜及其在材料科学中的应用[J]. 吉林化工学院学报,2007(2): 81-84, 92.
- [14] 杨彩婷. 水生动物冷冻扫描电镜技术研究[D]. 上海:华东师范大学,2015.
- [15] 刘彻. 扫描电镜的发展及其在聚合物材料研究中的应用[J]. 中山大学研究生学刊(自然科学·医学版), 2013(4): 7-12.
- [16] 于丽芳,杨志军,周永章,等. 扫描电镜和环境扫描电镜在地质学领域的应用综述[J]. 中山大学研究生学刊(自然科学·医学版), 2008(1): 54-61.
- [17] 洪健,徐正. 环境扫描电镜在生物学上的应用[J]. 杭州电子工业学院学报,2000(3): 48-52.
- [18] 符波,廖潇逸,丁丽丽,等. 环境扫描电镜对废水生物样品形态结构的表征研究[J]. 中国环境科学,2010(1): 93-98.
- [19] 肖媛,李婷婷,周芳,等. 冷冻扫描电镜及其在生命科学中的应用[J]. 电子显微学报,2015(5): 447-451.
- [20] 周广荣. 低真空扫描电镜技术在材料研究中的应用[J]. 分析仪器,2012(6): 39-42.
- [21] 王红,姜艳婧,蒋兵. 低真空扫描电镜在质检和计量中的应用及发展[J]. 科技致富向导,2012(32): 228, 242.
- [22] 李小红,喻佑华. 场发射扫描电镜及能谱仪在材料科学类专业实验教学的探索[J]. 景德镇高专学报,2013(6): 16-17.
- [23] 闫允杰,唐国翌. 利用场发射扫描电镜的低电压高性能进行材料表征[J]. 电子显微学报,2001(4): 275-278.

- [24] 曹艳芬, 宋庆军, 卢慧粉 等. ULTRA PLUS 场发射扫描电子显微镜的日常维护及故障排除[J]. 理化检验(物理分册), 2015(1): 49-51 68.
- [25] 王静, 郑永华. 拮抗菌在果蔬采后病害生物防治中的应用[J]. 生物技术进展, 2013(6): 393-398.
- [26] USALL J, TEIXIDÓ N, TORRES R, et al. Pilot tests of *Candida sake* (CPA-1) applications to control postharvest blue mold on apple fruit [J]. *Postharvest Biology and Technology*, 2001, 21(2): 147-156.
- [27] CHAN Zhu-long, TIAN Shi-ping. Interaction of antagonistic yeasts against postharvest pathogens of apple fruit and possible mode of action [J]. *Postharvest Biology and Technology*, 2005, 36(2): 215-223.
- [28] 秦晓杰, 高梦, 蒋晓玲 等. 采前喷施拮抗酵母菌对草莓采后贮藏性能的影响[J]. 南京农业大学学报, 2015(1): 152-160.
- [29] WEI Ying-ying, MAO Shu-bo, TU Kang. Effect of pre-harvest spraying *Cryptococcus laurentii* on postharvest decay and quality of strawberry [J]. *Biological Control*, 2014, 73(3): 68-74.
- [30] 毛淑波. 罗伦隐球酵母结合热空气处理对草莓采后病害的防治及其机理研究[D]. 南京: 南京农业大学, 2013.
- [31] 赵妍. 拮抗酵母及结合热空气处理对樱桃番茄采后病害的防治及其机理研究[D]. 南京: 南京农业大学, 2010.
- [32] ZHAO Yan, TU Kang, TU Si-cong, et al. A combination of heat treatment and *Pichia guilliermondii* prevents cherry tomato spoilage by fungi [J]. *International Journal of Food Microbiology*, 2010, 137(1): 106-110.
- [33] 柯希望. 黑腐皮壳侵染苹果的组织细胞学及转录组学研究[D]. 杨凌: 西北农林科技大学, 2013.
- [34] 哈斯格根. 中草药提取物对番茄采后主要病原真菌的抑制作用和机理的研究[D]. 呼和浩特: 内蒙古农业大学, 2009.
- [35] 冯武. 植物精油对果蔬采后病害的防治及其防治机理研究[D]. 杭州: 浙江大学, 2006.
- [36] 刘进杰. 国内外鲜切果蔬保鲜技术研究现状[J]. 安徽农业科学, 2007(16): 4 931-4 933.
- [37] FUNDO J F, AMARO A L, MADUREIRA A R, et al. Fresh-cut melon quality during storage: An NMR study of water transverse relaxation time [J]. *Journal of Food Engineering*, 2015, 167(12): 71-76.
- [38] MISHRA B B, GAUTAM S, SHARMA A. Browning of fresh-cut eggplant: Impact of cutting and storage [J]. *Postharvest Biology and Technology*, 2012, 67(7): 44-51.
- [39] MARIA L, ZAMBRANO-ZARAGOZA E G-C. Fresh-cut Red Delicious apples coating using tocopherol/mucilage nanoemulsion: Effect of coating on polyphenol oxidase and pectin methylesterase activities [J]. *Food Research International*, 2014, 62(8): 974-983.
- [40] VARGAS M, CHIRALT A, ALBORS A, et al. Effect of chitosan-based edible coatings applied by vacuum impregnation on quality preservation of fresh-cut carrot [J]. *Postharvest Biology and Technology*, 2009, 51(2): 263-271.
- [41] AZARAKHSH N, OSMAN A, GHAZALI H M, et al. Lemongrass essential oil incorporated into alginate-based edible coating for shelf-life extension and quality retention of fresh-cut pineapple [J]. *Postharvest Biology and Technology*, 2014, 88(2): 1-7.
- [42] HAO Jian-xiong, LI Hui-ying, WAN Yang-fang, et al. Combined effect of acidic electrolyzed water (AcEW) and alkaline electrolyzed water (AlEW) on the microbial reduction of fresh-cut cilantro [J]. *Food Control*, 2015, 50(4): 699-704.
- [43] ALWI N A, ALI A. Reduction of *Escherichia coli* O157, *Listeria monocytogenes* and *Salmonella enterica* sv. Typhimurium populations on fresh-cut bell pepper using gaseous ozone [J]. *Food Control*, 2014, 46(1): 304-311.
- [44] MARTÍNEZ-SÁNCHEZ A, TUDELA J A, LUNA C, et al. Low oxygen levels and light exposure affect quality of fresh-cut Romaine lettuce [J]. *Postharvest Biology and Technology*, 2011, 59(1): 34-42.
- [45] 高菲, 卜春亚, 靳永胜 等. 草莓根腐病拮抗细菌的分离筛选与鉴定[J]. 广东农业科学, 2012(3): 4-8.
- [46] 卜春亚, 贾玉琦, 王有年 等. 黄瓜枯萎病生防芽孢杆菌的定向筛选及其抑菌活性物质特性分析[J]. 中国农学通报, 2013(31): 101-107.
- [47] 张薇. 烟草青枯菌拮抗放线菌的筛选、鉴定及发酵条件研究[D]. 泰安: 山东农业大学, 2009.
- [48] TAGLIANTI A, SEQUI P, CAFIERO C, et al. Hayward kiwifruits and plant growth regulators: Detection and effects in post-harvest studied by magnetic resonance imaging and scanning electron microscopy [J]. *Food Chemistry*, 2011, 126(2): 731-736.
- [49] GONZÁLEZ J, FERRER A, ORIA R, et al. Determination of O₂ and CO₂ transmission rates through microperforated films for modified atmosphere packaging of fresh fruits and vegetables [J]. *Journal of Food Engineering*, 2008, 86(2): 194-201.
- [50] JI Ying, GANG Jie, HU Wen-zhong. Quality of bread containing *Potentilla anserina* L. cultivated in China [J].

Application of SEM in storage of fruits and vegetables

CHEN Yan-zhu , HU Wen-zhong* , LIU Cheng-hui , SUN Lu , FU Xi-qing , SUN Pei-ming

(College of Life Science , Dalian Nationalities University , Dalian 116600 , China)

ABSTRACT With the development of scanning electron microscope technology , it has been successfully applied in the field of medical , environmental , biological research and so on. It has become one of the high-tech assistant research techniques. In recent years , more and more application are used in fruits and vegetables in order to observe the morphological change in tissue surface and process of microorganisms infecting fruits and vegetables. In this paper we discussed the application of SEM in control of postharvest disease and the storage of fresh-cut fruits and vegetables to provide references about fruits and vegetable fresh-keeping and processing.

Key words scanning electron microscope (SEM) ; fruit and vegetable; preservation; application

自然发酵与人工接种发酵酸菜的研究进展

李晓博 胡文忠* 姜爱丽 宋春璐

(大连民族大学生命科学院 辽宁 大连 116600)

摘要 酸菜是一种民族传统的发酵蔬菜制品,分为自然发酵与人工接种发酵两种,在我国居民尤其是东北地区居民饮食中占据重要位置,经常食用,具有良好的保健功效。该文综述了自然发酵及人工接种发酵产品中主要风味成分、有害成分以及感官品质等方面的变化,并展望了酸菜生产研发的主要发展方向。

关键词 酸菜;自然发酵;人工接种发酵;成分;感官品质

酸菜是指新鲜蔬菜在低浓度食盐条件下经过发酵而成的一种传统的发酵食品,含有丰富的维生素、矿物质、膳食纤维及其他营养物质,具有降低胆固醇、调节肠胃及排毒等功效^[1]。作为利用微生物的作用而制得的一类产品,酸菜具有悠久的历史和丰富的内涵^[2],在我国尤其是东北地区居民饮食文化中占据弥足轻重的位置。发酵酸菜主要经历了由家庭坛装自然发酵到作坊式自然发酵,再到人工接种发酵高新技术的三个阶段,可见,酸菜发酵方式分为自然发酵及人工接种发酵两种并由自然发酵逐渐发展为人工接种发酵。目前,随着生产力的提高,东北酸菜产业正处于蓬勃发展的阶段,由于生物技术及自动化技术水平的不断提升,东北酸菜企业占据了全国酸菜市场前十名中的一半,其中,竞争力指数第一的为黑龙江翠花蔬菜集团有限公司^[3]。本文主要针对东北酸菜研究现状,通过对比其主要风味成分、有害成分及感官品质等多个指标在自然发酵与人工接种发酵酸菜产品中的区别,分析了其异同,并总结了解决方法,为产业化生产的东北酸菜的口味及品质优化提供理论支持。

1 自然发酵与人工接种发酵酸菜

自然发酵的酸菜主要是指新鲜蔬菜在少盐的条件下通过自身携带及环境中乳酸菌等微生物的作用进行发酵制成的,发酵工艺为:选料→晾晒→整理、清洗→烫漂→装缸→加盐水(2%)→压石头→封缸→发酵。自然发酵的酸菜使新鲜白菜原有的营养成分

如维生素C、氨基酸以及膳食纤维等得以保留,并且在乳酸菌等功能性微生物的发酵作用下,生成了许多风味物质及功能性成分,使得自然发酵酸菜不仅有酸爽开胃、口感脆嫩、醒酒去腻等特点,还具有可以调节人体肠道菌群状态、降低胆固醇等功效^[4-5]。

人工接种发酵酸菜是由人工接种发酵技术制成,运用人工筛选的发酵剂对表面经过全部或者部分灭菌的新鲜蔬菜进行人工接种,使其在适当温度下进行发酵^[6],其工艺流程为:选料→晾晒→整理、清洗→烫漂(叶烫1 min、帮烫2 min)→冷却→装罐→接种发酵→压罐→灌水封罐→发酵。这种发酵方法优化了自然发酵方法,通过直投或其他方式加入经过筛选制备好的单一乳酸菌或由乳酸单球菌、乳酸杆菌等多种乳酸菌复合的发酵剂^[7-9]。

人工接种发酵法与自然发酵法相比有很多优点:(1)人工接种发酵法直接向蔬菜中投入发酵剂,降低了发酵酸菜中的微生物多样性,避免了由杂菌污染引起的腐败,提高了酸菜的产量及质量;(2)优化了温度、pH值等许多发酵条件,大大缩短了发酵时间;(3)改善了酸菜发酵过程中亚硝酸盐含量过高的问题,降低了酸菜对人体的危害^[10]。

2 风味成分

2.1 有机酸

酸菜发酵过程中经历乳酸发酵与乙酸发酵等发酵方式,由于乳酸菌及酵母菌等微生物的作用,酸菜在这些发酵过程中产生许多有机酸,如酒石酸、苹果酸、乳酸及乙酸等^[11-13],这些有机酸使酸菜风味独特、口感酸爽,提高了酸菜的品质。研究表明,自然发酵酸菜及人工发酵酸菜中均可检出乳酸、乙酸、酒石酸、苹果酸、醋酸、柠檬酸、琥珀酸等^[7,14-15],其中,黄

第一作者:硕士研究生(胡文忠教授为通讯作者,E-mail:hwz@dlnu.edu.cn)。

基金项目:国家科技支撑计划项目(2012BAD38B05)

收稿日期:2015-10-09, 改回日期:2015-11-24

页传等^[14]先检测了人工接种发酵及自然发酵酸菜,发现其中共含有7种有机酸,并检测了各有机酸的含量,发现除苹果酸、乙酸及柠檬酸之外,其他4种在人工发酵酸菜中检出值均高于自然发酵。之后,朱文娴等^[15]使用相同方法检测出酒石酸、乳酸、乙酸、琥珀酸4种常见有机酸,并通过对比发现乙酸含量为人工接种发酵低于自然发酵酸菜,此外,在此研究中,维生素C即抗坏血酸也被检出。乙酸是有刺激性味道的一种有机酸,相反,乳酸、酒石酸及琥珀酸等都具有浓烈并柔和的酸味,且具有一定的新鲜感,以上研究结果可以说明人工接种发酵酸菜中各种有机酸含量的变化是使得其与自然发酵酸菜相比酸味柔和不刺激且具有浓郁的发酵清香的主要原因。

2.2 氨基酸

酸菜中氨基酸主要来自新鲜蔬菜自身携带的蛋白质,含量一般为0.6%~0.9%^[16],在蔬菜发酵成为酸菜的过程中,蛋白质被微生物分解利用或被自身携带蛋白质水解酶水解产生氨基酸。氨基酸是酸菜鲜味的主要来源,酸菜中氨基酸含量越高种类越丰富其鲜味越浓,且每种氨基酸具有不同的呈味特点^[17]。目前,在蔬菜腌制品中发现的氨基酸种类已确定达30多种^[16],近年来,科学研究者对两种发酵方式的酸菜中氨基酸种类及含量做了许多相关研究。黄业传、朱文娴及杜书等^[14-15,18]先后在自然发酵酸菜中发现17种游离氨基酸,其中7种人体必需氨基酸,但是酪氨酸、脯氨酸及半胱氨酸在人工接种产品中未被找到。这17种游离氨基酸在自然发酵酸菜中含量大部分高于人工接种发酵,使得自然发酵酸菜中总游离氨基酸含量较高于人工接种发酵,产生这个现象的原因是自然发酵过程中种类丰富的微生物产生了较多的代谢物质。这些研究表明,两种发酵方式生产的酸菜中17种氨基酸含量变化无明显区别,其中含量最高的为苏氨酸,呈味特征为甜鲜,其次为同样呈甜鲜味的谷氨酸、丝氨酸及丙氨酸,其余呈苦味及其他味道的氨基酸含量均较低,这些氨基酸使得发酵酸菜味道鲜美、营养丰富,并且可以促进食欲。此外,有研究表明,在酸菜发酵过程中,由于微生物生长利用,氨基酸含量逐渐下降,到后期保存贮藏过程中由于温度抑制微生物生长又呈现先下降后上升的趋势^[19]。

2.3 挥发性物质

挥发性风味物质是构成酸菜诱人气味的关键因素,多种挥发性风味物质的综合作用使得酸菜具有独特并复杂的风味及鲜酸香气,这些产生香气的物质挥

发性较强,可以采用蒸馏、萃取、超临界流体萃取及顶空瓶气体捕集等方法收集提取,后可利用气相色谱-质谱联用(GC-MS)法分离及鉴定^[20]。研究人员对发酵蔬菜的挥发性呈味物质研究很多,KIM^[21]研究了Dongchimi中主要风味物质,HA^[22]从Kimchi中检测出26种挥发性风味成分,ZHAO等^[23]研究了新鲜雪里蕻及其腌制品,发现了异硫氰酸稀丙酯(AITC)等成分。

国内学者对酸菜中挥发性风味物质作了详细研究,结果表明,酸菜中挥发性风味物质主要为一些含硫化合物,王娟娟等^[7]通过HS-SPME技术与GC-MS技术联用得到鉴定结果,发现酸菜中含有酯类、醛类、酮类、醇类等,同时确定了乙缩醛、异硫氢酸酯、戊醇等成分的存在,并且发现人工接种发酵酸菜中挥发性成分少于自然发酵,韩国玲等^[6]的研究也证明了这一结果,在其试验中,经过同方法检测得到了两种发酵方式3个样品中100多种挥发性化合物,但由于分析手段等受限,只分析出十几种物质,其中大部分为含硫化合物。挥发性风味物质决定了嗅觉可以感知的酸菜的风味,决定酸菜的品质。随着发酵过程的进行,挥发性风味物质组成也发生着一定程度的变化,且在自然发酵与人工接种发酵过程中的变化存在差别。总体上,经过发酵反应,自然发酵酸菜及其他自然发酵蔬菜的香气组成比人工接种发酵酸菜的更复杂^[15,24-25],这也是传统的自然发酵酸菜风味品质略高于人工接种发酵酸菜的原因之一,在以后的人工发酵技术中可以通过研究多菌系发酵剂接种法来减小这个差距。

3 有害成份

3.1 亚硝酸盐

由于蔬菜是一种富集硝酸盐的植物性食品^[26],在酸菜的天然发酵过程中,由于微生物的作用,硝酸盐转化为亚硝酸盐,使得酸菜中亚硝酸盐产生量较高^[27]。亚硝酸盐主要通过两种方式对人体造成危害:(1)由于胃中氨类物质的存在,发酵酸菜在进入人体后,所含亚硝酸盐进一步被转化为具有强致癌性的亚硝酸胺^[28]。(2)过量的亚硝酸盐导致人体出现缺氧、血脂下降及心跳超速等症状,严重的会出现舌尖、指甲青紫,头痛乏力,恶心呕吐及腹痛腹泻等中毒症状^[29-30]。超标的亚硝酸盐对人体造成伤害,是每年我国出现酸菜中毒的主要原因,也一直是许多国家的食品安全焦点问题^[31-35]。

目前,国内外对酸菜中亚硝酸盐含量问题已有报道,并有学者对其含量的控制及降低方法进行了研究。研究发现,当使用乳酸菌混合其他菌种发酵酸菜时,亚硝酸盐含量到达峰值的时间较短,为24 h,且峰值仅为0.30 mg/kg,发酵8 d后,发酵趋于成熟,亚硝酸盐含量降为零^[36]。以纯种乳酸菌发酵剂发酵的酸菜,亚硝酸盐含量在发酵5 d时才会达到峰值,且同时发酵成熟时间也较混合菌种发酵剂发酵时间长^[37-38],但是,通过改善发酵液成分同时控制发酵温度的方法,可以使亚硝酸盐含量及发酵成熟时间缩短至24 h及4 d^[39]。不论是纯种乳酸菌还是混合菌种发酵,亚硝酸盐的含量到达峰值的时间均远小于自然发酵的8 d左右,且含量也远小于自然发酵,并且在发酵周期内均低于自然发酵。

我国发酵蔬菜历史悠久,但传统发酵方法工艺简单,产品质量、发酵时间受环境因素影响大,使得产品中亚硝酸含量很高,容易引起食物中毒。目前研究出的纯种乳酸菌或乳酸菌混合其他菌种人工接种发酵工艺使得人工接种发酵酸菜中亚硝酸盐含量明显低于自然发酵。除此之外,采用以下方法也可以减少发酵酸菜中亚硝酸盐含量。这些方法包括:(1)在发酵过程中添加外源物质,如抗坏血酸及柠檬酸,发酵时可使亚硝酸盐峰较同条件自然发酵的酸菜提前至4 d,含量降低至3.81 mg/kg^[40]。(2)食用时用水进行浸泡,换水4次、浸泡8 h后可使亚硝酸盐含量降低至原来的10%^[41]。(3)在发酵剂中引入可以降解亚硝酸盐的乳酸菌,包括戊糖乳杆菌 B1、植物乳杆菌 C1、D2,这种方法在盐质量浓度50 g/L、pH值5.5时,在发酵25 h后亚硝酸盐的降解率为92.3%,含量低至0.02 g/100mL^[42]。

3.2 其他

除了亚硝酸盐之外,运输过程中的污染以及酸菜的腐败也会带来很多危害。在酸菜的运输过程中,由于机械操作不规范等原因,会引起外包装袋的破损,外界物质可进入产品中引起污染。酸菜的腐败主要是由杂菌入侵引起,在自然发酵过程中,由于蔬菜自身携带微生物种类较多,易引发微生物污染,而人工接种产品主要为人工操作不当引起的,酸菜产品的腐败主要表现为产膜、异味、菜质软烂以及包装胀气等,这些变化使酸菜失去商品价值,造成大量资源损失。

研究表明,酸菜发酵过程中添加的少量比例的NaCl可以抑制大部分杂菌生长,此时引起自然发酵酸菜变质的微生物主要为大肠杆菌、假单胞菌等细

菌^[43]。在工业生产过程中,还可以添加白酒或者食盐等物质抑制杂菌的生长,同时也有研究表明^[44],有机酸除了可以决定酸菜口感及品质外,还可以作为原始添加剂被适量加入发酵液中通过改变发酵液pH值抑制杂菌生长,改善发酵酸菜因微生物污染引起的腐烂、酸败等问题,间接提高发酵酸菜品质,避免了蔬菜资源的损失及浪费。目前,已有学者研究出一种安全、无毒的新型防腐剂,对大部分微生物均有较好的抑制作用,在酸菜保鲜防腐方面有较高应用价值的Nisin,姜绍通等^[45]研制出复合防腐剂(Nisin质量浓度为0.4 g/L,脱氢醋酸钠质量浓度为0.3 g/L,尼泊金复合酯钠质量浓度为0.2 g/L),在这种防腐剂作用下,酸菜中致腐菌的抑制率都达到了96%以上。

4 感官品质

食品感官品质是可以由人体味觉、嗅觉及视觉等感知的食品的质量体现,可以由食品感官评价人员测定^[46]。酸菜的感官品质包括色泽、滋味、硬度、脆度及咀嚼性等。发酵酸菜的色泽是影响消费者选择的首要因素,在发酵过程中,蔬菜由于受到机械损伤或杂菌污染引起的酶促褐变及腐败变色是影响发酵酸菜色泽的重要因素^[47]。在科学研究中,感官评价人员对两种不同接种方式下的发酵酸菜的感官评分不尽相同,但是差异较小,总体上两种发酵方式下发酵中的酸菜色泽无明显差异,发酵结束后人工接种发酵酸菜的色泽稍优于自然发酵酸菜^[6,48],生产中可以通过超高压处理、外源施用抗褐变物质及抗杂菌污染等方式提高酸菜的色泽品质^[49-50]。在对于自然发酵及人工接种发酵酸菜的滋味研究中,研究人员均发现人工接种发酵酸菜与自然发酵酸菜的酸味都有柔和、浓厚且正宗特点,有明显鲜味,无异味,但是对于人工接种发酵酸菜的评分均稍高于自然发酵酸菜,发现自然发酵酸菜滋味更优。有研究表明自然发酵及人工接种发酵两种发酵方式下发酵的酸菜的硬度、脆度及咀嚼性随着发酵时间的推移均呈现先下降后持平趋势,且根据感官评价结果可知,同一发酵时间下,对于以上3个指标,人工发酵酸菜的评分均略高于自然发酵酸菜^[25,48,51-52]。

5 展望

随着人民生活水平的提高,新鲜蔬菜容易获得,消费者对发酵酸菜的需求点由弥补新鲜蔬菜摄入不足转变为口味的满足,并且随着食品安全意识逐渐深

入人心,消费者对于酸菜的安全性及营养价值要求越来越高。目前,东北酸菜生产上还存在很多问题,如生产企业规模小、技术落后、产品结构不合理及品牌竞争力弱、高端产品少等。目前,国内生产企业主要是从自然发酵酸菜中分离优势乳酸菌,制取发酵剂,在未来的生产中,企业应该更多引进高新技术、研究更适合的发酵剂,在保存自然发酵酸菜中更多挥发性风味物质的同时提高酸菜营养价值。目前,发酵酸菜的原材料主要来源于市场商贩及农民种植,在以后的原料选择上,生产者应该严格控制原料来源及品质,可以建立自己的原料种植基地来改善酸菜质量品质。在产品的贮藏方面,可以研究如气调包装、天然防腐剂等更多保藏方法来代替目前的添加人工防腐剂的方法。目前,市场上出售的酸菜常见的为切成丝的小袋包装,未来,生产企业可以增强品牌意识、发展品牌战略,将酸菜进行深入加工,研发更多新产品,并可以搭配其他营养食品,为居民提供合理健康的饮食,满足消费者越来越高的要求,推动东北酸菜产业的发展。

参 考 文 献

- [1] 栗永乐. 酸菜中乳酸菌的分离鉴定以及益生特性的研究[D]. 呼和浩特: 内蒙古农业大学, 2012.
- [2] 李里特, 李凤娟, 王卉, 等. 传统发酵食品的机遇和创新[J]. 农产品加工(创新版), 2009(8): 61-64.
- [3] 尼海峰, 邓冕, 冯月玲. 东北酸菜产业现状与发展对策[J]. 中国调味品, 2011, 36(6): 10-12.
- [4] 田永峰, 吴天祥, 胡晓瑜, 等. 乳酸菌在酿造和食品工业上的应用[J]. 酿酒科技, 2007(4): 90-93.
- [5] 尹军霞, 沈国娟, 沈蓉, 等. 酸菜汁中降胆固醇乳酸菌的分离鉴定[J]. 中国食品学报, 2008, 8(2): 47-51.
- [6] 韩国玲, 刘安军. 东北酸白菜人工接种发酵工艺及挥发性成分的研究[J]. 食品研究与开发, 2010, 31(3): 126-129.
- [7] 王娟娟, 王顺喜, 马微. 直投式发酵剂生产酸菜及其风味物质的研究[J]. 食品科学, 2008, 29(4): 82-86.
- [8] 贾志成, 成培芳, 韦婉, 等. 酸菜复合发酵剂中乳酸菌的特性研究[J]. 内蒙古农业大学学报(自然科学版), 2012, 33(2): 109-113.
- [9] 孙庆申, 王艺, 杨丽娟, 等. 复合酸菜发酵剂乳酸菌的优选及鉴定[J]. 黑龙江大学学报, 2013, 4(4): 35-39; 46.
- [10] 蒋和体. 四川泡菜袋装发酵研究[J]. 食品科学, 1994, 15(4): 39-40.
- [11] 张玉龙, 胡萍, 湛剑龙, 等. 发酵酸菜的研究及其进展[J]. 食品安全质量检测学报, 2014(12): 3998-4003.
- [12] ABDEL-RAHMAN M A, TASHIRO Y, SONOMOTO K. Lactic acid production from lignocellulose-derived sugars using lactic acid bacteria: overview and limits[J]. Journal of Biotechnology, 2011, 156(4): 286-301.
- [13] NGUYEN D T L, Van HOORDE K, Cnockaert M, et al. A description of the lactic acid bacteria microbiota associated with the production of traditional fermented vegetables in Vietnam[J]. International Journal of Food Microbiology, 2013, 163(1): 19-27.
- [14] 黄业传, 曾凡坤. 自然发酵与人工发酵泡菜的品质对比[J]. 食品工业, 2005, 26(3): 41-43.
- [15] 朱文娟, 周相玲, 张惠, 等. 人工接种泡菜的风味研究[J]. 食品工业科技, 2007, 28(11): 108-110.
- [16] 梁兰兰, 黄华京, 秦燕, 等. 氨基酸组成对食品风味特征的影响[J]. 中国酿造, 1996(3): 17-19.
- [17] 王晓飞. 纯种发酵泡菜及其风味物质的研究[D]. 南京: 南京工业大学, 2005.
- [18] 杜书, 岳喜庆, 武俊瑞, 等. 自然发酵酸菜游离氨基酸的分析[J]. 食品与发酵工业, 2013, 39(2): 174-176.
- [19] 曹秋阁. 发酵酸菜保藏过程中品质变化规律及防腐护色的研究[D]. 哈尔滨: 东北农业大学, 2014.
- [20] 栾天奇. 酸菜发酵剂的制备及酸菜风味成分分析[D]. 天津: 天津科技大学, 2011.
- [21] KIM J H, SOHN K H. Flavor compounds of dongchimi soup by different fermentation temperature and salt concentration[J]. Food Science and Biotechnology, 2001, 10(3): 236-240.
- [22] HA J. Analysis of volatile organic compounds in kimchi absorbed in SPME by GC-AED and GC-MSD[J]. Journal of the Korean Society of Food Science and Nutrition, 2002, 31(3): 543-545.
- [23] ZHAO D, TANG J, DING X. Analysis of volatile components during potherb mustard (*Brassica juncea*, Coss.) pickle fermentation using SPME-GC-MS[J]. LWT-Food Science and Technology, 2007, 40(3): 439-447.
- [24] 周相玲. 自然发酵泡菜卷心菜风味物质的研究[J]. 河南工业大学学报(自然科学版), 2005, 26(2): 72-74.
- [25] 杜书. 酸菜自然发酵过程中风味及质地变化规律研究[D]. 沈阳沈阳农业大学, 2013.
- [26] EICHHOLZER M, GUTZUILER F. Dietary nitrate and N-nitroso-compounds and cancer risk: A review of the epidemiological evidence[J]. Nutrition Review, 1998, 54(4): 95-105.
- [27] TOSHIROU H. The cause on the abnormal accumulation of nitrite in pickles of chinese cabbage (*Brassica pekinensis* Rupr.) [J]. Nippon Shokuhin Kagaku Kogaku Kaishi, 2001, 48(6): 409-415.
- [28] 刘青梅, 杨性民. 腌渍蔬菜亚硝酸盐含量及降低措施研究[J]. 食品科学, 2001, 22(9): 44-46.

- [29] MAJUMDAR D. The Blue Baby Syndrome: Nitrite Poisoning in Humans [J]. *Resonance* 2003 8(10): 20-30.
- [30] SEEL D J, KAWABATA T, NAKAMURA M, et al. N-nitroso compounds in two nitrosated food products in South-west Korea [J]. *Food and Chemical Toxicology*, 1994, 32(12): 1117-1123.
- [31] 李文婷, 车振明. 泡菜中亚硝酸盐安全性研究新进展 [J]. *中国调味品* 2011 36(7): 1-3; 17.
- [32] 雷恩春, 张玉廷, 闫芳. 酸菜中的硝酸盐和亚硝酸盐 [J]. *新农业* 2005 (5): 53.
- [33] 张宝勇. 六种腌制菜中亚硝酸盐含量及食用安全性评价研究 [J]. *中国调味品* 2012 37(9): 96-98.
- [34] 何金奎, 王丹丹. 亚硝酸盐中毒临床分析 [J]. *中国社区医师(医学专业)* 2013(1): 176.
- [35] CABALLERO-SALAZAR S, RIVERÓN-NEGRETE L, ORDÁZ-TÉLLEZ M G, et al. Evaluation of the antimutagenic activity of different vegetable extracts using an in vitro screening test [J]. *Proceeding of the Western Pharmacology Society* 2002 45: 101-103.
- [36] 杨性民, 刘青梅, 徐喜圆, 等. 人工接种对泡菜品质及亚硝酸盐含量的影响 [J]. *浙江大学学报(农业与生命科学版)* 2003 29(3): 57-60.
- [37] 刘广福, 王硕, 朱兴旺, 等. 接种发酵和自然发酵酸菜的亚硝酸盐含量对比分析 [J]. *中国酿造* 2013 32(7): 74-76.
- [38] 崔松林. 乳酸菌接种发酵酸菜的亚硝酸盐含量影响因素研究 [J]. *安徽农业科学* 2014 42(14): 4415-4417.
- [39] 袁亚, 池金颖, 黄丹丹, 等. 人工接种乳酸菌对泡菜感官品质和亚硝酸盐含量的影响 [J]. *食品工业科技* 2012 33(7): 119-122; 126.
- [40] 杨晓民, 郭立斌, 安国民. 降低腌制酸菜中亚硝酸盐方法的研究 [J]. *河北北方学院学报(自然科学版)*, 2009 25(1): 36-38; 48.
- [41] 孟良玉, 兰桃芳, 何余堂. 酸菜中亚硝酸盐含量变化规律及降低措施的研究 [J]. *中国酿造* 2005 24(11): 9-10.
- [42] 苏肖晶. 腌制食品中亚硝酸盐生物降解的研究 [D]. 长春: 吉林农业大学 2014.
- [43] 林颖, 王旭太, 刘仁奉. 酸菜在腌渍过程中的变化及毒理学研究(综述) [J]. *中国食品卫生杂志* 2000 12(5): 38-39.
- [44] 黄琴. 有机酸对发酵蔬菜品质影响的研究 [D]. 重庆: 西南大学 2009.
- [45] 姜绍通, 孙磊, 罗水忠, 等. 复合防腐剂对腌制蔬菜中腐败细菌的抑制效果研究 [J]. *食品科学* 2010 31(9): 54-58.
- [46] 祝美云. 食品感官评价 [M]. 北京: 化学工业出版社, 2007: 15-19.
- [47] 易俊洁, 李琳, 冯仑, 等. 超高压处理酸菜褐变机理初探 [J]. *食品工业科技* 2010 21(12): 97-99; 103.
- [48] 李敏. 不同发酵条件和发酵方式对泡菜感官品质的影响 [J]. *北方园艺* 2012(6): 150-153.
- [49] SOHN K H, LEE H J. Effects of high pressure treatment on the quality and storage of kimchi [J]. *International Journal of Food Science & Technology* 1998 33(4): 359-365.
- [50] PEÑAS E, FRIAS J, GOMEZ R, et al. High hydrostatic pressure can improve the microbial quality of sauerkraut during storage [J]. *Food Control* 2010 21(4): 524-528.
- [51] 燕平梅, 薛文通, 畅晓晖, 等. 自然发酵和接种发酵方法对白菜品质的影响 [J]. *农业工程学报* 2008 24(3): 286-290.
- [52] 岳喜庆, 杜书, 武俊瑞, 等. 酸菜自然发酵过程中的质地变化 [J]. *食品与发酵工业* 2013 39(4): 68-71.

Research and advancement on natural fermented and inoculated fermented sauerkraut

LI Xiao-bo, HU Wen-zhong*, JIANG Ai-li, SONG Chun-lu

(College of Life Science, Dalian Nationalities University, Dalian 116600, China)

ABSTRACT Sauerkraut is a kind of national and traditional fermented vegetable products which can be divided into natural fermented and inoculated fermented products. It occupies an important position in Chinese residents' diet especially in the northeast region and has a good health effects. In this paper, the difference and variety of main chemical composition, harmful composition and sensory quality in natural fermentation and inoculation fermentation sauerkraut were summarized and provide an overview of future research directions for sauerkraut production was provided.

Key words sauerkraut; natural fermented; inoculated fermented; composition; sensory quality

纳米材料在食源性致病菌检测中的应用

王馨¹ 胡文忠^{1*}, 陈晨¹ 冯可^{1,2} 杨柳¹

1(大连民族学院 生命科学学院 辽宁 大连 116600)

2(大连理工大学 辽宁 大连 116024)

摘要 食品安全问题是国内外一直都密切关注的热点问题,与每个人的生活都息息相关,而食源性致病菌则是引发食品安全问题的主要因素之一。快速、准确的检测食源性致病菌是控制这类问题的关键所在。传统的检测方法存在耗时长、特异性和灵敏性较差等问题。而将纳米材料与传统食源性致病菌检测方法相结合,能够有效解决此类问题,极大地促进了致病菌检测的研究进展。文章就几种常见的纳米材料在食源性致病菌检测中的应用进行了综合评述并对其未来的研究方向进行了展望。

关键词 纳米材料; 食源性致病菌; 检测

近年来,国内外由食源性致病菌引发的食品安全问题层出不穷,虽然大多数食源性致病菌在食物中的含量很低,但是产生的危害却极大,因此食源性致病菌的检测在预防和控制此类问题上就显得尤为重要^[1,2]。鉴于检验的符合性和检测结果的稳定性,现在最常使用的检测方法主要有平皿培养分离计数法、聚合酶链式反应法(polymerase chain reaction, PCR)、荧光 PCR 检验法与酶联免疫吸附试验法(enzyme-linked immunosorbent assay, ELISA)^[3-6]。但是,这些方法还是存在步骤繁琐、耗费时间长、检测特异性差、灵敏度低等问题,因此急需研究出一种快速、灵敏的致病菌检测方法。

现今纳米科技已经成为一个世界范围内都在讨论和研究的课题。虽然纳米材料的研究还处于起步阶段,但是国内外学者对于纳米材料的制备、应用等方面的研究也已取得了一定进展。由于纳米材料本身具有许多优良的生物学和理化特性,例如:极好的生物相容性、表面效应、量子尺寸效应等,使得其在生物领域内被广泛使用。国内外学者研究发现功能化的纳米材料在食源性致病菌检测方面能够发挥巨大作用。例如:表面进行生物学修饰后的磁性纳米材料由于其具有顺磁性和特异性,能够对致病菌进行分离、富集和纯化,快速地达到传统检测方法前增菌的

效果,大大缩短检测时间;金纳米颗粒具有优良的光学性能,当其发生粒子团聚时体系颜色会发生相应的变化,可进行致病菌的半定量检测,耗时短,适合做现场检测;量子点纳米材料具有量子效应,受刺激时会产生荧光,灵敏度高,能够对致病菌进行定量的测定。本文综合评述了几种常见的功能化纳米材料在食源性致病菌检测方面的应用,旨在为今后纳米材料在食源性致病菌检测方面的研究提供一定的理论依据。

1 纳米材料

1.1 纳米材料概述

纳米材料的概念最早是由德国科学家 HERBERT 提出的。从广义上来说,纳米材料是指三维空间中至少有一维处于纳米尺度(1~100 nm)范围内的材料,或者是由它们作为基本单元组装而成的材料^[7]。纳米材料比较普遍的分类方法是将其分为纳米颗粒(零维)、纳米纤维(一维)、纳米膜(二维)、纳米块体(三维)等四类^[8],我们现在研究最多的是纳米颗粒。

纳米材料的尺寸极小,属于非常典型的介观领域,即介于微观和宏观之间的一种领域。由于处在这个领域的纳米颗粒的三维尺寸都很小,因此它会在化学、力学、电学、光学、生物学等方面展现出许多特殊的性质和功能^[9]。例如表面效应、量子尺寸效应、小尺寸效应、宏观量子隧道效应、介电限域效应等,并且由此还派生出了许多其他常规材料所不具备的特殊性质,这些特殊的性质和功能使纳米材料在生物、化工、医药等领域都有着极大的竞争力和重大的应用价

第一作者: 硕士研究生(胡文忠教授为通讯作者, E-mail: hwz@dlmu.edu.cn)。

基金项目: 国家科技支撑计划项目(2012BAD38B05); 国家自然科学基金项目(31172009); 国家自然科学基金项目(31471923)

收稿日期: 2016-01-18, 改回日期: 2016-03-15

值。

1.2 纳米材料的制备

纳米金颗粒首先是在 1984 年由原联邦德国的 Saarlands 大学 GLEITER 等人使用惰性气体凝聚和在超高真空条件下原位加压的技术制备出来的,在那之后研究者使用不同技术制备的纳米材料已经有数百种,制备方式也越发多样化、成熟化。目前对纳米材料的制备方式主要有 3 种分类方法:1 种是按照反应物的状态将其分为湿法和干法;第 2 种是按照制备原料的状态分为固体法、液体法及气体法;第 3 种是从制备手段分为物理法和化学法^[10],其中第 3 种分类方法最为常见。

2 纳米材料在食源性致病菌检测中的应用

2.1 磁性纳米材料在食源性致病菌检测中的应用

磁性纳米粒子既具有纳米材料的优点(4 个基本效应:表面效应、量子尺寸效应、小尺寸效应、宏观量子隧道效应)又具有磁性材料的优点(磁导向性、超顺磁性),因此它本身有着独特的物理和化学性质,除此之外它的表面还可以连接生物功能活性基团,因此在食品安全检测的过程中被广泛使用^[11]。

基于磁性纳米材料的特殊性质,在食品安全分析过程中主要是利用它的超顺磁性来进行目标物质的分离、富集和纯化等。GU^[12-13]和 ARNOLD^[14]等在磁性纳米粒子表面进行化学修饰,连接上能够特异性识别细菌的万古霉素,然后使用修饰后的功能化磁性纳米粒子去特异性地识别和分离复杂体系中的革兰氏阳性菌。再在外界磁场的影响下将识别后的细菌进行分离富集,然后使用其它方法来检测分离物的纯度。支援等^[15]使用表面功能化的 γ -Fe₂O₃ 磁性纳米粒子来检测食源性致病菌(阪崎肠杆菌),这个方法是根据抗原抗体的特异性结合,以及量子点荧光标记的高灵敏度来进行的,采用免疫磁珠磁性分离和免疫量子点荧光标记联用的方法,使检测时间缩短至 2 h,灵敏度高达 10² CFU/mL。WANG 等^[16]制备了 2 种特异性的抗体共同修饰的磁性 FeO 纳米粒子用于同时分离菠菜中的金黄色葡萄球菌和沙门氏菌,检测限为 10³ CFU/mL。CHOI 等^[17]使用万古霉素对磁性 FeO 纳米粒子表面进行修饰,并且使用它来分离临床样本中的细菌,实验结果显示,革兰氏阳性菌的捕获效率为(84.84 ± 1.70)%,而革兰氏阴性菌的捕获效率为(48.48 ± 1.79)%。CHEN 等^[18]用庆大霉素对磁性纳米粒子的表面进行修饰,用来从磷酸盐缓冲液

中分离出添加的金黄色葡萄球菌,分离的最低细菌浓度为 0.5 × 10³ CFU/mL。张锦胜等^[19]利用 Fe₃O₄ 纳米材料制备免疫磁珠,特异性地富集目标菌株,并且利用 Fe₃O₄ 的顺磁、超顺磁特性对核磁共振弛豫时间的影响,在一定范围能够定量检测目标菌。JOO^[20]小组使用单克隆抗体修饰超顺磁性 Fe₃O₄ 纳米粒子从牛奶中分离出沙门氏菌,后将此复合物再连接到转化酶上,分散在蔗糖溶剂中,蔗糖水解为葡萄糖与果糖,然后通过血糖仪来测量葡萄糖的浓度来间接测定沙门氏菌的浓度,检测限可达 10 CFU/mL。VARSHNEY 等^[21]使用生物素-链霉亲和素将抗大肠杆菌抗体包被到磁性纳米粒子的表面,来捕获牛肉样本中的大肠杆菌 O157:H7,捕获效率为 94.5%。

通过以上研究综述可知,磁性纳米材料主要是用于食源性致病菌的分离、富集和纯化,它能够有效缩短增菌时间,大幅提高检测效率。

2.2 金纳米颗粒在食源性致病菌检测中的应用

纳米金也称胶体金,它的制备过程简单,在生物液体里化学性质稳定、生物相容性较好、颗粒均一、具有良好的物理化学性质,因此被广泛应用于生物、环境、食品检测等多个领域^[22-23]。金纳米颗粒尺寸通常小于 20 nm,是由几个或几十个原子构成。这种结构非常稳定,受到激发后会产生很强的荧光,可用于荧光探针的设计^[24]。纳米金具有优秀的光学性能,在分散状态时溶液体系呈红色,当金纳米粒子受外界影响发生聚集后颜色会由红色变为蓝色,并且间距越小,蓝色越深,因此在食源性致病金检测时多用于进行半定量的分析。

董静等^[25]将聚酰胺-胺固定于纳米金颗粒上,提高纳米金颗粒的稳定性,再与碳纳米管形成复合材料修饰于电极上,用于对沙门氏菌抗体的检测,最低检测限为 5 × 10² CFU/mL。LI 等^[26]将电感耦合等离子质谱(inductively coupled plasma-mass spectrometry, ICP-MS)与胶体金标记技术相结合来检测食品中的大肠杆菌。此方法对 ICP-MS 高灵敏度的特性以及纳米金放大信号的特性进行了充分的利用,使检测限低至 500 CFU/mL。SU 等^[27]使用巯基乙胺对金纳米粒子的表面进行修饰,当纳米体系中含有大肠杆菌 O157:H7 时,巯基乙胺会通过静电作用力吸引大肠杆菌 O157:H7 并与之相结合,纳米金颗粒发生聚集,颜色也就发生了相应的变化,从红色变为蓝色。这个检测过程只需要 5 min,可以通过观察体系的颜色变化快速完成检测,适用于现场检测。刘阳^[28]等将纳

米金与 PCR 技术相结合,根据副溶血弧菌(VP)的 *toxR* 基因序列,应用 primer6.0 设计一对特异性引物,建立了纳米金 PCR 方法,并对该方法的最佳反应条件、循环数、特异性和灵敏度进行测定,最后结果显示该方法检测的灵敏度比普通 PCR 高 10 倍。YANG 等^[29]将乙二醇修饰在玻璃碳电极上,通过纳米金将沙门氏菌的单克隆抗体(McAbs)固定在电极上,由于沙门氏菌和 McAbs 之间具有相互作用,因此使用电化学阻抗谱(EIS)技术可以直接对沙门氏菌进行检测,检测限为 10^2 CFU/mL。宋靓婧等^[30]利用金纳米材料良好的导电特性和独特的光学性质,构建了 3 种新型的方法对沙门氏菌进行检测。前 2 种方法在纳米金材料上结合沙门氏菌特异寡核苷酸序列作为目标物质,基于 DNA 互补杂交原理实现对沙门氏菌目标 DNA 的检测,进而实现对目标菌的检测;后一种方法是将沙门氏菌适配体序列通过静电作用吸附于纳米金表面,构建纳米金-适配体传感器与沙门氏菌结合,然后通过观察体系颜色变化完成检测。3 种方法操作步骤依次简化、所需时间依次缩短,均达到良好的灵敏度及特异性。

通过以上研究综述可知,纳米金的使用方式很多,主要是利用其光学特性引起的体系颜色变化来完成致病菌的快速检测。

2.3 量子点荧光纳米材料在食源性致病菌检测中的应用

半导体量子点又称量子点,是一种准零维的纳米材料,通常是由 II ~ VI 族或 III ~ V 族元素组成的稳定的、溶于水的、粒径范围在 1 ~ 20 nm 之间的纳米晶体,具有明显的量子效应,能够接受激发光产生荧光的半导体纳米颗粒^[31]与传统有机荧光染料相比,量子点发射光谱的尺寸可调、光稳定性强、表现出高量子产率^[32]、激发波长宽、发射波长窄、同一激发光源可对多个量子点同时激发、斯托克斯位移较大、生物相容性好、荧光寿命长。鉴于量子点的这些优异性能,它在食品安全检测中被广泛使用。

WANG 等^[33]使用量子点和纳米磁珠的荧光免疫分析法对绞碎的牛肉、鸡肉的洗水、鲜切生菜以及西兰花中的单增李斯特菌进行快速检测,检测限为 2 ~ 3 CFU/0.1 mL,说明该方法可对多种食品样品中的致病菌进行有效检测。WANG 等^[34]使用 3 种量子点,发射光波长分别为 620、580、530nm,作为荧光标记物,同时对单增李斯特菌、大肠杆菌 O157:H7 和鼠伤寒沙门氏菌进行免疫磁分离和量子点荧光检测,这

种方法可同时检测到样品中浓度低至 20 ~ 50 CFU/mL 的 3 种菌。李倩倩等^[35]选用三种不同颜色不同发射波长的量子点标记用免疫磁珠富集分离的目标菌,在同一反应体系中同时检测 3 种目标菌,检测限为 10^3 CFU/mL,检测时间小于 2 h。Xu 等^[36]制成了连接有量子点的免疫层析试纸条,能够对空肠弯曲杆菌进行快速检测,检测限能够达到 10^4 CFU/mL,是金试纸条检测灵敏度的 10 倍。HU 等^[37]将免疫磁珠分离技术与量子点荧光探针技术相结合来检测金黄色葡萄球菌,检出限为 10^3 CFU/mL,这个方法的样品不需要进行预处理和分离富集就可以直接进行检测,整个过程只需 3 h。白冰等^[38]将免疫磁珠分离技术和量子点荧光标记技术联用,建立了一种能对金黄色葡萄球菌、福氏志贺氏菌进行快速、定量的免疫荧光检测方法,灵敏度高,可以捕获到 10^1 CFU/mL 浓度的菌液,整个检测过程耗时在 2 h 之内,可以满足实时检测的需求。

通过以上研究综述可知,研究者主要是利用量子点的荧光特性来对食品中的致病菌进行定量测定,降低了检测限,提高了灵敏度。

3 结论与展望

社会的进步和人民生活水平的提高对食品安全检测技术提出了更高的要求,如何从纷杂的各类食品中快速地对各类食源性致病菌进行检测是提高食品安全性、减少食品安全事故发生的一个主要问题。传统的检测方法耗时长、灵敏度低,而近些年纳米技术的飞速发展为解决此类问题提供了一个新的途径。将先进的纳米技术与传统的检测方法相结合,大大提高了食源性致病菌检测的灵敏度和特异性,简化了检测步骤,减少了检测所需的时间,在很大程度上改变了食源性致病菌检测的研究现状。

纳米材料是一种新型材料,而它在食源性致病菌检测方面的应用也还处在一个起步阶段,还存在很大的研究空间。首先,目前纳米材料的制备方法还不成熟,产品质量不均,加工成本较高,且生产规模较小^[39],因此高质量、低成本、大规模的制备方式亟待研究。其次,在致病菌分离富集过程中,磁性纳米材料捕获病原菌的方式很多,但是能够达到特异性捕捉效果的生物亲和分子种类却较少^[40],今后应该继续深入和扩大其种类的研究。另外,纳米材料与电化学技术、生物学技术及分子印迹技术相结合的应用在食品安全领域还不是很普遍^[41],因此还需要结合食品

中污染物的性质和特点来开发出更多的快速、准确、特异性强的实时检测技术。最后,由于食品种类繁多,营养成分复杂,现在能够用于食品前处理的纳米材料种类比较少,因此开发出更多的能够适用于复杂样品前处理纳米材料也是需要继续研究的。未来,将纳米技术进一步结合到传统检测方法中,将研究出更多新型、快速、高质量的检测方法,为食源性致病菌检测提供强有力的技术支持,从而更好地保障人民群众日常生活中的食品安全。

参 考 文 献

- [1] PHILIP B, HENRIQUETMCM B, MARTIN K, et al. Simple bead assay for detection of live bacteria (*Escherichia coli*) [J]. *Analytical Chemistry*, 2011, 83(4): 1 443 - 1 447.
- [2] LANDETE JM, RIVAS BDL, MARCOBAL A, et al. PCR methods for the detection of biogenic amine-producing bacteria on wine [J]. *Annals of Microbiology*, 2011, 61(1): 159 - 166.
- [3] GUILLERMO LÓPEZ-CAMPOS, JOAQUIN V. Martínez-Suárez, et al. Microarray detection and characterization of bacterial foodborne pathogens [M]. *Springer Briefs in Food Health & Nutrition*, 2012.
- [4] ZHENG Ping-guan, YUN Jiang, FENG Gao, et al. Rapid and simultaneous analysis of five foodborne pathogenic bacteria using multiplex PCR [J]. *European Food Research & Technology*, 2013, 237(4): 627 - 637.
- [5] 吕艳芳, 马春颖, 励建荣. 实时荧光定量 PCR 技术在食源性致病菌检测中的应用 [J]. *食品与发酵科技*, 2014, 2(2): 80 - 84.
- [6] 宋丽萍, 姜洁, 李玮, 等. 食源性致病菌快速检测技术研究进展 [J]. *食品安全质量检测学报*, 2015(9): 3 441 - 3 446.
- [7] 张志炬, 崔作林. 纳米技术与纳米材料 [M]. 北京: 国防工业出版社, 2000.
- [8] 冯阳阳. 基于纳米金颗粒和蛋白 A 分子的压电免疫传感器在大肠杆菌 O157:H7 检测中的研究 [D]. 杭州: 浙江大学, 2011.
- [9] 张远. 功能化纳米金的制备及在生物样品检测中的应用 [D]. 青岛: 青岛科技大学, 2014.
- [10] 朱世东, 徐自强, 白真权, 等. 纳米材料国内外研究进展 II——纳米材料的应用与制备方法 [J]. *热处理技术与装备*, 2010(4): 1 - 8.
- [11] LEO ML, FELDMAN MD, TAM JM, et al. Small multi-functional nanoclusters (nanoroses) for targeted cellular imaging and therapy [J]. *Acs Nano*, 2009, 3(9): 2 686 - 2 696.
- [12] GU Hong-wei, HO PL, TSANG KWT, et al. Using bio-functional magnetic nanoparticles to capture vancomycin-resistant enterococci and other gram-positive bacteria at ultra low concentration [J]. *J Am Chem Soc*, 2003, 125(51): 15 702 - 15 703.
- [13] GU Hong-wei, HO PL, TONG E, et al. Presenting vancomycin on nanoparticles to enhance antimicrobial activities [J]. *Nano Lett*, 2003, 3(9): 1 261 - 1 263.
- [14] ARMOLD JK, GALE S, SHANNON R, et al. Vancomycin-modified nanoparticles for efficient targeting and pre-concentration of gram-positive and gram-negative bacteria [J]. *Acs Nano*, 2008, 2(9): 1 777 - 1 788.
- [15] 支援, 孟瑾, 郑小平, 等. 一种快速检测阪崎肠杆菌的新方法-免疫磁性分离荧光标记 [J]. *乳业科学与技术*, 2010, 33(5): 231 - 233.
- [16] WANG Yu-ling, RAVINDRANATH S, IRUDAYARAJ J. Separation and detection of multiple pathogens in a food matrix by magnetic SERS nanoprobe [J]. *Analytical & Bioanalytical Chemistry*, 2011, 399(3): 1 271 - 1 278.
- [17] LEEH J, PARKB J, WANG KK. Photosensitizer and vancomycin-conjugated novel multifunctional magnetic particles as photoinactivation agents for selective killing of pathogenic bacteria [J]. *Chemical Communications*, 2012, 48: 4 591 - 4 593.
- [18] CHEN Long-yan. Bioconjugated magnetic nanoparticles for rapid capture of gram-positive bacteria [J]. *Journal of Biosensors & Bioelectronics*, 2012, 01(S11).
- [19] 张锦胜, 唐群, 赖卫华. 一种基于 Fe₃O₄ 纳米材料的食源性致病菌 NMR 检测方法, CN103207198A [P]. 2013.
- [20] JOO J, KWON D, SHIN HH, et al. A facile and sensitive method for detecting pathogenic bacteria using personal glucose meters [J]. *Sensors & Actuators B Chemical*, 2013, 188(11): 1 250 - 1 254.
- [21] VARSHNEY M, YANG Li-Ju, SU Xiao-Li, et al. Magnetic Nanoparticle-antibody conjugates for the separation of *Escherichia coli* O157:H7 in ground beef [J]. *Journal of Food Protection*, 2005, 68(9): 1 804 - 1 811.
- [22] JANS H, HUO Q. Gold nanoparticle-enabled biological and chemical detection and analysis [J]. *Chem Soc Rev*, 2012, 41(7): 2 849 - 2 866.
- [23] DYKMAN L, KHLEBTSOV N. Gold nanoparticless in biomedical applications: recent advances and perspectives [J]. *Chem Soc Rev*, 2012, 41(6): 2 256 - 2 282.
- [24] 施小琼, 邓豪华, 王菲菲, 等. 荧光金纳米团簇及其在生命分析中的应用 [J]. *世界复合医学*, 2015(3): 72 - 81.

- [25] 董静,马强,艾仕云. 基于纳米金/聚酰胺-胺/多壁碳纳米管免疫传感器对沙门氏菌的检测[C]. 2011, 第十一届全国电分析化学会议.
- [26] LI Feng, ZHAO Qiang, WANG Chuan, et al. Detection of *Escherichia coli* O157: H7 using gold nanoparticle labeling and inductively coupled plasma mass spectrometry [J]. *Analytical Chemistry*, 2010, 82 (8): 3 399 - 3 403.
- [27] SU Hai-chao, MA Qiang, SHANG Kun, et al. Gold nanoparticles as colorimetric sensor: a case study on *E. coli* O157: H7 as a model for Gram-negative bacteria [J]. *Sens Actuators B* 2012, 161 (1): 298 - 303.
- [28] 刘阳,孔繁德,彭小莉,等. 纳米金 PCR 技术检测副溶血弧菌方法的建立与初步应用[J]. *福建畜牧兽医*, 2012, 1(1): 9 - 12.
- [29] 陈丹丹,辛嘉英,张兰轩,等. 纳米金在食品安全检测中的应用[J]. *食品科学* 2014, 35(7): 247 - 251.
- [30] 宋靓婧. 基于纳米金标记的沙门氏菌检测方法研究[D]. 无锡: 江南大学 2014.
- [31] GUO Shao-jun, WANG Er-kang. Functional micro/nano-structures: simple synthesis and application in sensors, fuel cells, and gene delivery. [J]. *Accounts of Chemical Research*, 2011, 44(7): 491 - 500.
- [32] KIM G B, KIM Y P. Analysis of protease activity using quantum dots and resonance energy transfer [J]. *Theranostics*, 2012, 2(2): 127 - 138.
- [33] WANG H, LI Yan-Bin, SLAVIK MF. Rapid detection of *Listeria monocytogenes* in different food samples using magnetic nanobeads and a quantum dots based fluorescent immunosensor method [J]. *Biological Eng*, 2011, 4 (4): 183 - 194
- [34] WANG Hong, LI Yan-bin, WANG A, et al. Rapid, sensitive, and simultaneous detection of three foodborne pathogens using magnetic nanobead-based immunoseparation and quantum dot-based multiplex immunoassay [J]. *Journal of Food Protection*, 2011, 74 (12): 2 039 - 2 047.
- [35] 李倩倩,陈萍,王静,等. 基于多色量子点和免疫磁珠技术检测沙门菌,志贺菌和金黄色葡萄球菌[J]. *卫生研究* 2013, 42: 660 - 663.
- [36] XU F, XU D, MING X, et al. Quantum dot-based immunochromatography test strip for rapid detection of campylobacter je-juni [J]. *Journal of Nanoscience and Nanotechnology* 2013, 13(7): 4 552 - 4 559.
- [37] HU Yao-hua, WANG Cheng-cheng, BAI Bing, et al. Detection of *Staphylococcus aureus* using quantum dots as fluorescence labels [J]. *Int J Agric & Biol Eng*, 2014, 7 (1): 77 - 83.
- [38] 白冰. 基于免疫纳米磁珠和量子点快速检测两种食源性致病菌方法的研究[D]. 杨凌: 西北农林科技大学, 2014.
- [39] 马兴,张静,陈文硕,等. 功能纳米材料在食品污染物检测中应用的研究进展[J]. *食品安全质量检测学报*, 2015(2): 381 - 386.
- [40] 黄小林,许恒毅,熊勇华,等. 磁性纳米材料在食源性致病菌分离中应用的研究进展[J]. *食品科学*, 2014, 35(11): 280 - 285.
- [41] 云雯,邓美林,陈世奇,等. 纳米材料在食品安全检测领域的应用研究进展[J]. *中国调味品*, 2014(3): 115 - 119.

Application of nanomaterials in detection of foodborne pathogenic bacteria

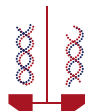
WANG Xin¹, HU Wen-zhong^{1*}, CHEN Chen¹, FENG Ke², YANG Liu¹

1(College of Life Science, Dalian Nationalities University, Dalian 116600, China)

2(Dalian University of Technology, Dalian 116024, China)

ABSTRACT Food safety is a hot issue which has been closely watched all over the world and it really related to every person's life. Foodborne pathogenic bacteria are one of the main factors that lead to food safety issues. For this problem, it is the key that how to detect foodborne pathogenic bacteria rapidly and accurately. Traditional detection methods of foodborne pathogenic bacteria have some problems such as time-costing, poor sensitivity and poor specificity. Combination of nanomaterials with traditional detection methods can solve such problems effectively. It has greatly promoted the research progress of pathogen detection. In this paper, the application of several common nanomaterials in the detection of foodborne pathogens was comprehensively reviewed. Besides, the future research direction has been prospected.

Key words nanomaterials; foodborne pathogenic bacteria; detection



Quantitative analysis of protein orientation in membrane environments by kinase activity

Wen Xiong,^{1,2,‡} Chunshan Quan,^{1,2,*} Xuning Zhang,³ Lina Wang,⁴ Baoquan Liu,^{1,2} Liming Jin,^{1,2} and Shengdi Fan^{1,2}

Department of Life Science, Dalian Nationalities University, Economical and Technological Development Zone, Dalian 116600, China,¹ Key Laboratory of Biotechnology and Resource Utilization, State Ethnic Affairs Commission and Ministry of Education, Dalian Nationalities University, Economical and Technological Development Zone, Dalian 116600, China,² School of Biological Engineering, Dalian Polytechnic University, 1 Qinggongyuan, Dalian 116034, China,³ and Dalian Institute of Chemical Physics, Chinese Academy of Sciences, 457 Zhong-shan Road, Dalian 116023, China⁴

Received 2 March 2015; accepted 10 June 2015

Available online 11 November 2015

AgrC is an integral membrane receptor protein with histidine kinase activity in the accessory gene regulator (agr) quorum-sensing system of *Staphylococcus aureus*. In this study, proteoliposomes were used as a model to investigate AgrC orientation. Many approaches have been described to determine membrane protein orientation, but they are often complicated and time consuming. In this study, AgrC orientation in liposomes was determined by thiol-reactive reagent labeling and a kinase activity assay. Our results suggest use of a kinase activity assay could get an accurate percentage of functional protein orientation and only cost nearly one-sixth of the time compared with the method based on thiol-reactive reagent labeling. We present an effective and rapid method for determining the orientation of membrane protein kinases like AgrC.

© 2015, The Society for Biotechnology, Japan. All rights reserved.

[Key words: AgrC; Protein orientation; Liposome; Thiol-reactive reagent; Kinase activity]

Staphylococcus aureus is a human pathogen that causes many infections, including respiratory disease, skin infections, and food poisoning (1,2). Virulence factors produced by *S. aureus* are strongly related to the accessory gene regulator (agr) quorum-sensing system. AgrC is an integral membrane-embedded histidine kinase that has been described as an essential sensor for recognition and transduction of environmental signals to the cytoplasm (3–5). With the emergence of vancomycin resistant *S. aureus*, treatment of *S. aureus* infection has become a difficult clinical problem, and there is a distinct need to investigate signal transduction mechanisms responsible for pathogenicity and drug resistance to identify new drug targets and antimicrobial agents. AgrC is a promising novel antibacterial target that could combine with antimicrobial agents so as to prevent *S. aureus* infection (6,7).

Cell membranes consist of a phospholipid bilayer with embedded proteins. Studying proteins *in situ* is challenging due to the cell membrane's complex composition. Many researchers have attempted to reconstitute membrane proteins into artificial membranes like liposomes, which is a powerful tool in determining the structure and function of membrane proteins (8,9). The activities of

many membrane proteins are only expressed when correctly inserted and oriented into a liposome (10). More than 50% of anticipated future drugs target membrane proteins, so knowing the orientations and target locations of membrane proteins is an extremely important goal (11). Several studies have addressed AgrC transmembrane topology and ligand specificity (12,13), but there are many unresolved questions about how the AgrC kinase activity and conformation are regulated by extracellular signals that could be resolved in inserting AgrC into a liposome.

Determination of membrane protein orientation by traditional methods used one-sided inhibitors and fluorescence probes to label the protein of interest, and the results were mostly qualitative. The objective of this study was to insert AgrC into a relevant proteoliposome model to determine AgrC's orientation in the membrane and investigate how different variables affected orientation. Topology modeling showed that AgrC consists of seven N-terminal transmembrane segments (residues 1–205) and a C-terminal cytoplasmic kinase domain (residues 206–430). There are two cysteine residues in the AgrC amino acid sequence: one in the transmembrane domain (residue 91), and the other is in the C-terminal cytoplasmic domain (residue 337) (12). In this work, AgrC orientation was determined by using fluorescence probe to label the cysteine residue located in C-terminal cytoplasmic domain and detecting kinase activity which associated with the kinase domain respectively. The objective of our study was to establish an efficient and rapid method to determine the orientation of functional AgrC in the membrane environment quantitatively.

* Corresponding author at: Department of Life Science, Dalian Nationalities University, Economical and Technological Development Zone, Dalian 116600, China. Tel.: +86 411 8765 6219; fax: +86 411 8764 4496.

E-mail addresses: xiongwen-jan@hotmail.com (W. Xiong), mikyeken@dlnu.edu.cn (C. Quan), xuningzhangchina@163.com (X. Zhang), wanglina.gucas@hotmail.com (L. Wang), lbq@dlnu.edu.cn (B. Liu), jlm@dlnu.edu.cn (L. Jin), fsd@dlnu.edu.cn (S. Fan).

‡ The first two authors contributed equally to this work.

MATERIALS AND METHODS

Materials Fos-Choline-12 (Fos) was from Affymetrix. 1,2-Dipalmitoyl-sn-glycero-3-phosphate (DPPA), Dioleoyl-phosphatidyl-choline (DOPC) and cholesterol (chol) were from Avanti Polar Lipids. Thiol-reactive reagents 4-acetamido-4'-maleidylstibene-2, 2'-disulphonic acid (AmdIS), and 5-Iodoacetamidofluorescein (5-IAF) were from Invitrogen. Kinase-Glo Luminescent Kinase Assay Kit was from Promega. Bio-beads SM-2 were from Bio-Rad.

Overexpression and purification of AgrC AgrC expression and purification was as previously described (14). Briefly, *Escherichia coli* C43(DE3) expressing either AgrC or AgrC-GFP were lysed in PBS buffer containing Fos detergent at $10\times$ CMC. Immobilized metal affinity chromatography (IMAC) and size-exclusion chromatography (SEC) were used to purify the proteins. Fractions were analyzed by SDS-PAGE which showed that protein purity was at least 95%. Purified protein was concentrated using an Amicon Ultrafree centrifugal filter (Millipore Corporation, Billerica, MA, USA) with 10 kDa cutoff. Protein concentration was determined by BCA assay (Sangon, Shanghai, China). AgrC protein concentration was 2.5 mg/mL and AgrC-GFP protein concentration was 2 mg/mL.

Liposome preparation A homogeneous mixture of different lipids is necessary for proper liposome formation. Different lipids [2 mM, DPPA: DOPC: chol in a 2: 2: 1 M ratio] were dissolved in chloroform and methanol (2:1 v/v). Once the lipid solution turned clear, the solvent was removed under a gentle nitrogen stream to yield a lipid film. The residual organic solvent was removed by placing the vial in a vacuum overnight. The resulting lipid films were hydrated at a temperature above the gel-liquid crystal transition temperature (T_c) of the lipids by adding a preheated 10 mM HEPES buffer (pH = 7.4) to the vial. The mixture was incubated at the same temperature for 1 h and vortexed at 10 min intervals to form multilamellar vesicles (MLVs). A bath sonicator was used to disrupt MLVs into small, unilamellar vesicles (SUV), by sonicating suspensions at 30 W for 15 min above the T_c of the lipids used. Liposomes were characterized by transmission electron microscopy (TEM, JEM-2100, JEOL, Japan) and dynamic light scattering (DLS, SZ-100, Horiba, Japan).

Reconstitution of proteins into liposomes To reconstitute AgrC and AgrC-GFP in liposomes, protein-free liposomes (2 mM) were solubilized with Fos detergent (50 mg/mL) until the onset of solubilization (condition A) or complete solubilization (condition B) was reached, respectively. After the mixtures equilibrated for 30 min at room temperature, purified proteins were added at a lipid to protein ratio of 250:1 and were incubated for 40 min at room temperature. Detergent was removed by adsorption on SM2 Bio-Beads (15). Briefly, 10 mg of Bio-Beads were added directly to the lipid-protein-detergent solution and agitated for 1 h at 4°C. An equal amount of beads was added for an additional 1 h incubation at 4°C. Samples were incubated with another 10 mg of beads overnight at 4°C. Samples were incubated with a fresh 10 mg bead aliquot for 3 h at 4°C to ensure complete detergent removal. After reconstitution, a drop of proteoliposomes was put on a glass slide, covered with a coverslip, and immediately imaged using a fluorescent microscope (B-51, Olympus, Japan) with magnification of $1000\times$ ($10\times$ Eyepiece \times $100\times$ Objective) and blue excitation light (wavelength 488 nm).

Determining AgrC orientation by thiol-reactive reagent AgrC contains a unique cysteine at amino position of 337 in the cytoplasmic domain. AgrC orientation in liposomes was determined as previously described (16). Two kinds of thiol-reactive reagents (5-IAF and AmdIS) were used. After incubation with each thiol-reactive reagent, proteoliposomes were washed by dilution to 3 mL in HEPES buffer and then centrifuged for 1 h at $200,000\times g$, 4°C at least two times. Pellets were resuspended in HEPES buffer. After reactions, fluorescence was measured using a Synergy2 Multi-Mode Microplate Reader (BioTek, USA). Each experiment was repeated in triplicate three independent times. Results are presented with standard deviation (S.D.).

Determining AgrC orientation by kinase activity AgrC has a kinase active site in the cytoplasmic C-terminal domain (12). AgrC orientation in the liposome was evaluated by assaying for kinase activity. To determine if AgrC was oriented with the C-domain on the extracellular side, proteoliposomes were directly incubated with ATP to interact solely with the external protein (a_1) and an equal volume of empty liposomes was used as a control (a_0). To determine total protein kinase activity, 50 mg/mL Fos was added to solubilize the proteoliposome for 10 min followed by kinase activity detection (b_1) and equal volume of empty liposomes with the same treatment was used as a control (b_0). Kinase activity was detected using the Kinase-Glo Luminescent Kinase Assay Kit in 96-well white plates containing 5 μ M ATP, 10 mM MgCl₂ and 150 pmol AgrC protein in 50 μ L kinase reaction volumes in 10 mM HEPES buffer. Kinase reactions were incubated for 10 min at 37°C and followed by addition of 50 μ L of ATP detection reagent for another 10 min at 37°C. Relative light units (RLU) were measured using the Synergy2 Multi-Mode Microplate Reader (BioTek). RLU was inversely related to kinase activity. Each experiment was conducted in triplicate 3 times, and results are presented with S.D. The AgrC with cytoplasmic-oriented C-domain (ω) was calculated using the following formula:

$$\omega = 1 - \frac{a_0 - a_1}{b_0 - b_1} \times 100\% \quad (1)$$

RESULTS AND DISCUSSION

Proteoliposome preparation To determine the AgrC's orientation, AgrC and AgrC-GFP proteins were purified and inserted into prepared liposomes.

We first prepared liposomes and characterized the morphology, particle size, and surface potential of liposomes by TEM and DLS. Liposomes had an average diameter of 132 nm (Fig. 1A and B). The zeta potential is related to the stability of colloidal dispersions and liposomes with a high zeta potential are electrically stable (17). As detected by DLS, our liposomes had a -61 mV zeta potential, suggesting our liposomes were very stable. Detergent-mediated reconstitution was used to prepare proteoliposomes containing AgrC (18). Fos detergent was used to disintegrate the structure of liposomes before protein insertion. To monitor the state of solubilization of our liposomes, turbidity of liposome suspensions was measured at 400 nm as a function of detergent concentration described by the three stage model (Fig. 2A) (19–22). In stage I, the detergent intercalates into the lipid bilayer until the liposomes are saturated, which is described as the onset of solubilization (condition A). During this stage, liposomes are not disrupted and there is little change in turbidity. During stage II liposomes are gradually solubilized into small lipid-detergent micelles, and turbidity decreases significantly. Stage III is characterized by the complete solubilization of all liposomes into lipid-detergent mixed micelles and the solution becomes optically transparent, referred to as complete solubilization (condition B) (22). Then, the AgrC or AgrC-GFP proteins were incorporated directly into liposomes at the onset

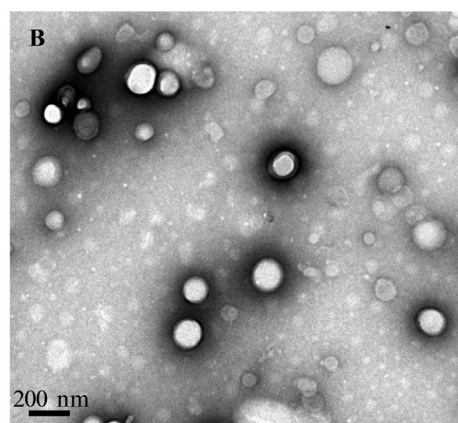
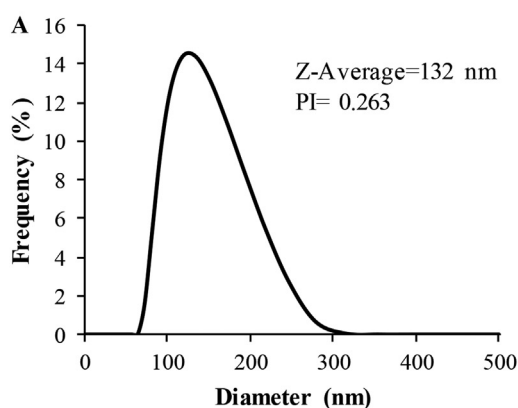


FIG. 1. Properties of prepared liposomes. (A) Size distribution of liposomes. (B) Electron micrograph of prepared liposomes.

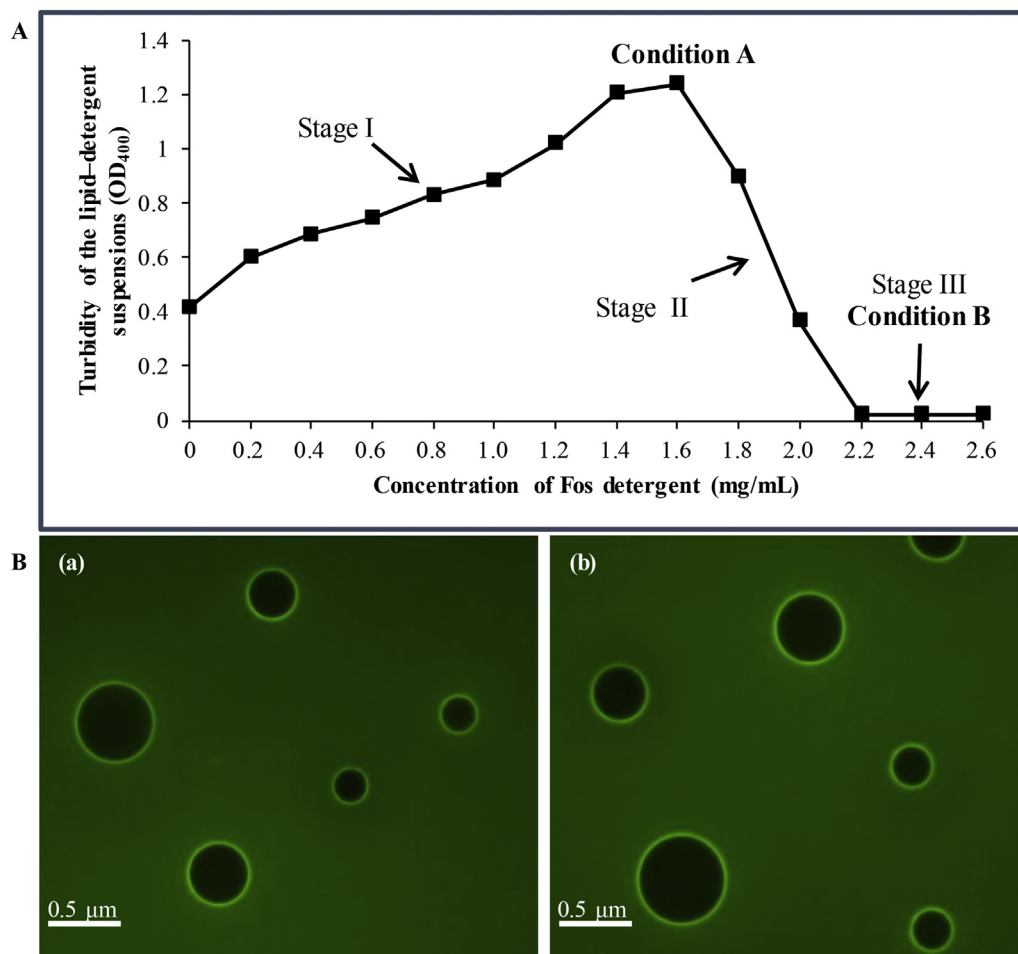


FIG. 2. AgrC proteins were incorporated efficiently into liposomes at different states of solubilization. (A) Liposome solubilization represented by different levels of turbidity. Stage I, the detergent partitions into the lipid bilayer liposomes until it saturates the liposomes. During this stage, detergent addition to preformed liposomes does not disrupt the liposomes and induces slight changes in turbidity. Stage II corresponds to the gradual solubilization of detergent saturated liposomes into small lipid-detergent micelles, inducing a large decrease in turbidity. Stage III is characterized by the complete solubilization of all liposomes into lipid-detergent mixed micelles and the solution becomes optically transparent. Condition A, the onset of solubilization condition of liposomes. Condition B, the complete solubilization condition of liposomes. (B) Fluorescence microscopy dark-field image of AgrC-GFP proteins incorporated into detergent-saturated liposomes at the onset of solubilization (a) and detergent-solubilized liposomes at total solubilization (b).

of solubilization or at complete solubilization to study the AgrC orientation as different stages of liposome formation. GFP expression was monitored to determine whether the protein thoroughly incorporated into the liposome. As shown in Fig. 2B, AgrC-GFP proteins were evenly distributed in the surface of the liposome at both the onset of solubilization and at complete solubilization.

Orientation of AgrC in proteoliposomes depends on liposome solubilization state Because most membrane proteins have vectorial functions, both functional studies and applications require effective control over protein orientation within a lipid bilayer. Membrane protein orientation is influenced by many factors, including lipid composition, bilayer surface charge, proteoliposome formation and so on (10,23). Traditional methods for determining membrane protein orientation depend on using one-sided inhibitors which must be specifically adapted to the membrane protein under study. For membrane kinase proteins, the orientation in lipid bilayer is determined frequently by using fluorescence probe to label those specific groups of the protein, however, almost no use of its functional activities. We used two approaches to assay AgrC orientation in liposomes here.

Scheme of the first method is shown in Fig. 3A. We used 5-IAF and AmdIS as fluorescent and non-fluorescent membrane-impermeable thiol-reactive reagents, respectively. Following

solubilization with Fos, the cysteine residue in the transmembrane domain (residue 91) was still wrapped in the surfactant micelles due to hydrophobicity, but the other C-terminal cytoplasmic cysteine residue was labelled by 5-IAF and represented total AgrC. AgrC oriented with its C-terminal domain outside of the liposome was directly labelled by 5-IAF. AgrC oriented with its C-terminal domain inside of the liposome was determined by blocking the outside-oriented cysteine residue with the AmdIS, solubilizing proteoliposomes with Fos, and then incubating with 5-IAF to label exposed cysteine residues of residual internally oriented AgrC. A standard curve of 5-IAF fluorescence at 518 nm for different concentrations (0–40 μM, $R^2 = 0.9819$) was established (Fig. 4A). Protein orientation was determined through fluorescence detection. At condition A, $72.03 \pm 2.10\%$ AgrC was oriented so that the C-terminal domain faced the inside of the liposome and $21.28 \pm 1.23\%$ AgrC was oriented so that the C-terminal domain was exposed outside of the liposome. At condition B, $29.70 \pm 1.98\%$ AgrC was oriented so that the C-terminal domain faced the inside of the liposome and $62.99 \pm 1.64\%$ AgrC was oriented so that the C-terminal domain was exposed outside of the liposome (Fig. 4B). While this method was quantitative, the experiment took about 6 h to complete.

ATP has different dissociation constants at different pHs. In a neutral solution, ionized ATP exists mostly as ATP^{4-} , and a small

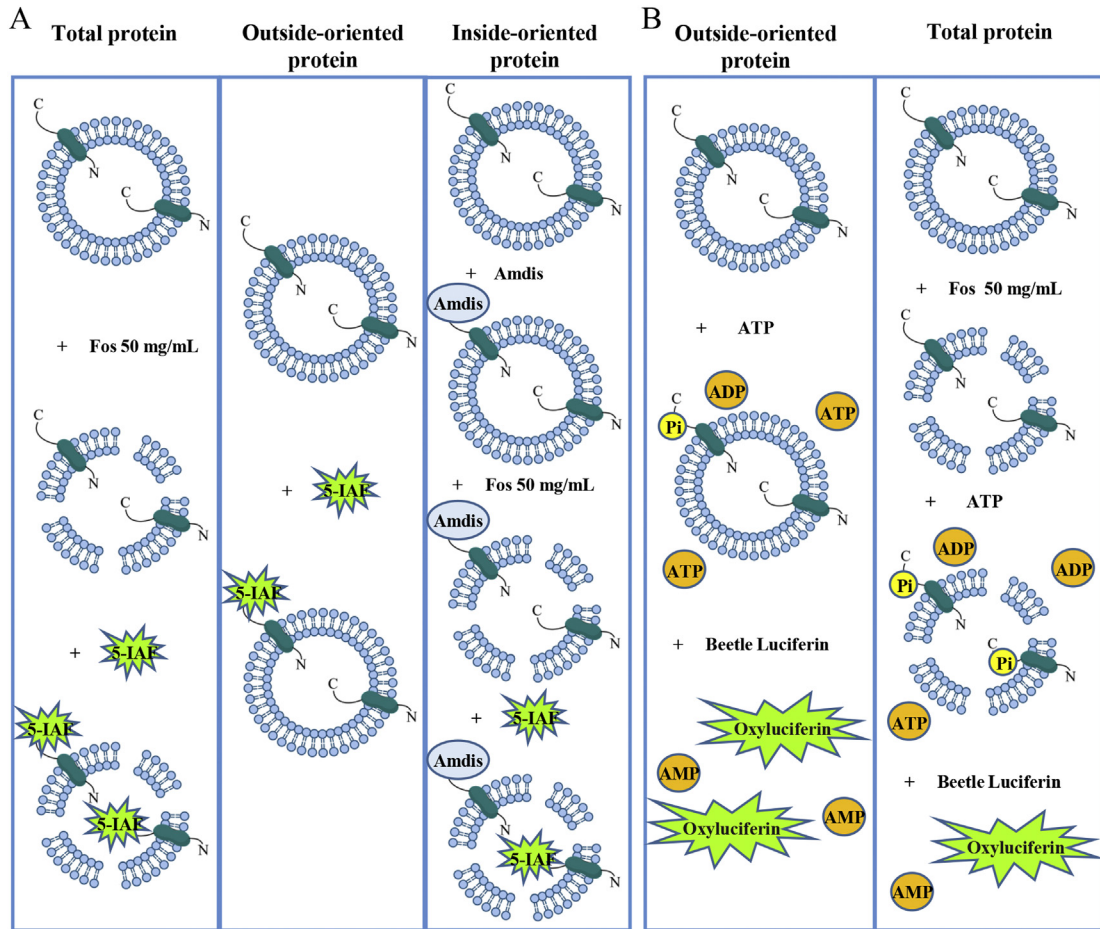


FIG. 3. Diagrams of procedure for determining orientation using (A) a thiol-based reagent, or (B) a kinase activity assay. (A) Total protein labeling: after proteoliposomes solubilization with Fos, cysteine residues located in C-terminal cytoplasmic domain were labelled by 5-IAP. Outside-oriented protein labeling: the outside-oriented cysteine residue was blocked with the Amdis, solubilizing proteoliposomes with Fos, and then exposed cysteine residues of residual internally oriented AgrC was labelled with 5-IAP. (B) For AgrC C-terminal cytoplasmic kinase domain, if the domain was outside-oriented, ATP could be combined with the active site directly, and that inside-oriented part of domains could combine with ATP after detergent solubilization. ATP remaining after reacting with the kinase domain was used as a substrate by the luciferase to catalyze the formation of light from ATP and luciferin. Luminescence is inversely related to kinase activity.

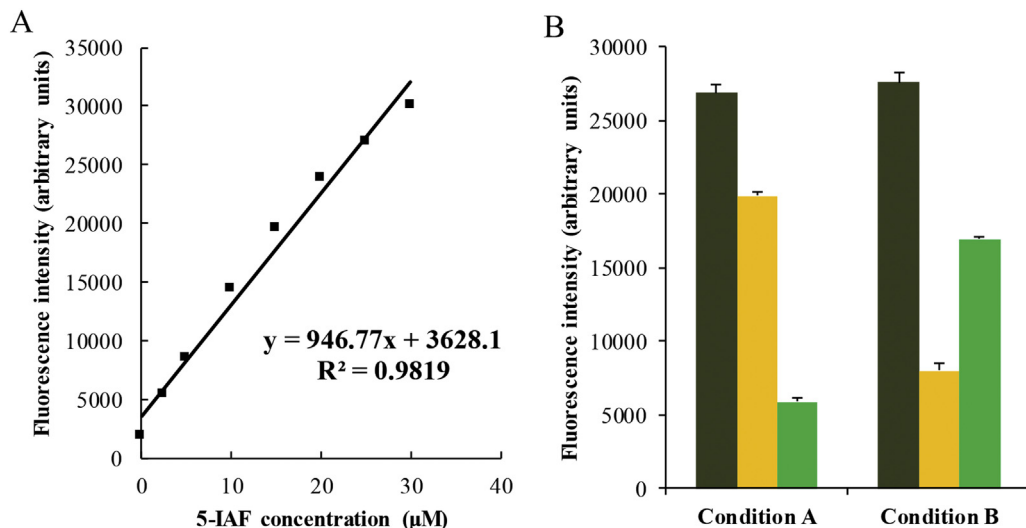


FIG. 4. Orientation of AgrC into liposomes determined by using a thiol-reactive reagent. (A) Standard curve fluorescence intensity corresponding to of 5-IAP concentration. (B) Orientation of AgrC at either onset of solubilization or at total solubilization. Brown column, total protein. Yellow column, AgrC oriented with C-terminal domain facing inside of liposome. Green column, AgrC oriented with C-terminal exposed outside of liposome.

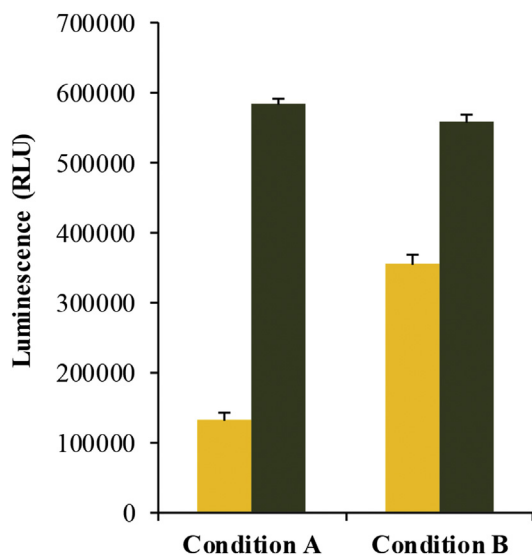


FIG. 5. Orientation of AgrC determined by a kinase activity assay at either onset of solubilization or at total solubilization. Brown column, b_0 - b_1 ; yellow column, a_0 - a_1 .

percentage exists as ATP³⁻ (24). Like other hydrophilic and strongly charged anions, lipid bilayers are highly impermeable to ATP molecules (25,26). Based on these properties, we determined AgrC orientation using an assay that relied on kinase activity (Fig. 3B). If the AgrC orients with the C-terminal cytoplasmic domain on the extracellular side of the liposome, ATP interacts with the active site. If the AgrC orients with the C-terminal cytoplasmic domain on the cytoplasmic side of the liposome, ATP can only interact with the active site upon solubilization. ATP remaining following interaction with AgrC is used as a luciferase substrate to produce luminescence. Thus, luminescence is inversely related to kinase activity. As shown in Fig. 5, 77.54 ± 1.52% of AgrC proteins were oriented with the C-terminal domain facing into the liposome at condition A and 36.47 ± 2.15% of AgrC proteins were oriented with the C-terminal domain facing into the liposome at condition B.

Collectively, our results suggest that the final orientation of AgrC depends on the state of liposome solubilization, which provides a unique toolset to control the orientation of AgrC depending on application. Assessment of orientation was more effective by evaluating kinase activity rather than using a thiol-reactive reagent. Some variability between the two processes was observed, and was likely due to extra washing steps through centrifugation in the thiol-based assay. Overall, the kinase-based assay provided advantages over the thiol-based assay. First, the thiol-based reagent did not provide information about protein functionality. Using the kinase-based assay allowed functional characterization of the AgrC with respect to orientation. Additionally, the kinase activity assay was more efficient and was significantly shorter than the thiol-based assay. Our results suggest that we have established an efficient and rapid method to determine the orientation of AgrC in liposomes. Additionally, we present an efficient and rapid procedure for studying membrane protein kinase orientation in artificial membrane environments.

ACKNOWLEDGMENTS

This work was supported by the National Natural Science Foundation of China (grant No. 21272031 and grant No. 21172028).

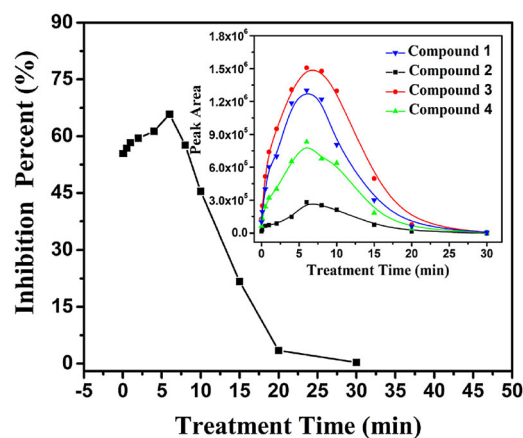
References

- Chambers, H. F. and DeLeo, F. R.: Waves of resistance: *Staphylococcus aureus* in the antibiotic era, *Nat. Rev. Microbiol.*, **7**, 629–641 (2009).
- Klevens, R. M., Morrison, M. A., Nadle, J., Petit, S., Gershman, K., Ray, S., Harrison, L. H., Lynfield, R., Dumyati, G., Townes, J. M., and other six authors: Invasive methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* infections in the United States, *JAMA*, **298**, 1763–1771 (2007).
- Novick, R. P.: Autoinduction and signal transduction in the regulation of staphylococcal virulence, *Mol. Microbiol.*, **48**, 1429–1449 (2003).
- Stauff, D. L. and Skaar, E. P.: The heme sensor system of *Staphylococcus aureus*, *Contrib. Microbiol.*, **16**, 120–135 (2009).
- Cheung, A. L., Nishina, K. A., Trotonda, M. P., and Tamber, S.: The SarA protein family of *Staphylococcus aureus*, *Int. J. Biochem. Cell Biol.*, **40**, 355–361 (2008).
- Gordon, C. P., Williams, P., and Chan, W. C.: Attenuating *Staphylococcus aureus* virulence gene regulation: a medicinal chemistry perspective, *J. Med. Chem.*, **56**, 1389–1404 (2013).
- Gray, B., Hall, P., and Gresham, H.: Targeting agr- and agr-like quorum sensing systems for development of common therapeutics to treat multiple gram-positive bacterial infections, *Sensors (Basel)*, **13**, 5130–5166 (2013).
- Lévy, D., Gulik, A., Bluzat, A., and Rigaud, J. L.: Reconstitution of the sarcoplasmic reticulum Ca²⁺-ATPase: mechanisms of membrane protein insertion into liposomes during reconstitution procedures involving the use of detergents, *Biochim. Biophys. Acta*, **1107**, 283–298 (1992).
- Rigaud, J. L., Pitard, B., and Lévy, D.: Reconstitution of membrane proteins into liposomes: application to energy-transducing membrane proteins, *Biochim. Biophys. Acta*, **1231**, 223–246 (1995).
- Hickey, K. D. and Buhr, M. M.: Lipid bilayer composition affects transmembrane protein orientation and function, *J. Lipids*, **2011**, 208457 (2011).
- Overington, J. P., Al-Lazikani, B., and Hopkins, A. L.: How many drug targets are there? *Nat. Rev. Drug Discov.*, **5**, 993–996 (2006).
- Wang, L., Quan, C., Xiong, W., Qu, X., Fan, S., and Hu, W.: New insight into transmembrane topology of *Staphylococcus aureus* histidine kinase AgrC, *Biochim. Biophys. Acta*, **1838**, 988–993 (2014).
- Geisinger, E., George, E. A., Muir, T. W., and Novick, R. P.: Identification of ligand specificity determinants in AgrC, the *Staphylococcus aureus* quorum-sensing receptor, *J. Biol. Chem.*, **283**, 8930–8938 (2008).
- Wang, L., Quan, C., Liu, B., Xu, Y., Zhao, P., Xiong, W., and Fan, S.: Green fluorescent protein (GFP)-based overexpression screening and characterization of AgrC, a receptor protein of quorum sensing in *Staphylococcus aureus*, *Int. J. Mol. Sci.*, **14**, 18470–18487 (2013).
- Holloway, P. W.: A simple procedure for removal of Triton X-100 from protein samples, *Anal. Biochem.*, **53**, 304–308 (1973).
- Sanowar, S. and Moual, H. L.: Functional reconstitution of the *Salmonella typhimurium* PhoQ histidine kinase sensor in proteoliposomes, *Biochem. J.*, **390**, 769–776 (2005).
- Hanaor, D. A. H., Michelazzi, M., Leonelli, C., and Sorrell, C. C.: The effects of carboxylic acids on the aqueous dispersion and electrophoretic deposition of ZrO₂, *J. Eur. Ceram. Soc.*, **32**, 235–244 (2012).
- Wang, L., Quan, C., Liu, B., Wang, J., Xiong, W., Zhao, P., and Fan, S.: Functional reconstitution of *Staphylococcus aureus* truncated AgrC histidine kinase in a model membrane system, *PLoS One*, **8**, e80400 (2013).
- Lichtenberg, D.: Characterization of the solubilization of lipid bilayers by surfactants, *Biochim. Biophys. Acta*, **821**, 470–478 (1985).
- Lichtenberg, D., Robert, J. R., and Edward, A. D.: Solubilization of phospholipids by detergents structural and kinetic aspects, *Biochim. Biophys. Acta*, **737**, 285–304 (1983).
- Lambert, O., Lévy, D., Ranck, J. L., Leblanc, G., and Rigaud, J. L.: A new “gel-like” phase in dodecyl maltoside-lipid mixtures: implications in solubilization and reconstitution studies, *Biophys. J.*, **74**, 918–930 (1998).
- Rigaud, J. L. and Lévy, D.: Reconstitution of membrane proteins into liposomes, pp. 65–86, in: Duzgunes, N. (Ed.), *Methods in enzymology*, vol. 372. Academic Press (2003).
- Tunuguntla, R., Bangar, M., Kim, K., Stroeve, P., Ajo-Franklin, C. M., and Noy, A.: Lipid bilayer composition can influence the orientation of proteorhodopsin in artificial membranes, *Biophys. J.*, **105**, 1388–1396 (2013).
- Storer, A. and Cornish-Bowden, A.: Concentration of MgATP²⁻ and other ions in solution. Calculation of the true concentrations of species present in mixtures of associating ions, *Biochem. J.*, **159**, 1–5 (1976).
- Alberts, B., Johnson, A., Lewis, J., Raff, M., Roberts, K., and Walter, P.: *Molecular biology of the cell*, in: Principles of membrane transport, 4th ed. Garland Science, New York (2002).
- Lodish, H., Berk, A., Zipursky, S. L., Matsudaira, P., Baltimore, D., and Darnell, J.: Diffusion of small molecules across phospholipid bilayers, section 15.1, in: *Molecular cell biology*, 4th ed. W. H. Freeman, New York (2000).

Treatment of Omethoate on Edible Wolfberry by Atmospheric Pressure Air Surface Dielectric Barrier Discharge

Zichao Zong, Renwu Zhou, Dongping Liu,* Ying Song, Jinhai Niu

In this study, the effect of atmospheric-pressure air surface dielectric barrier discharge (SDBD) on the degradation of Omethoate smeared edible wolfberry was investigated by gas chromatography and mass spectrometry (GC–MS). The degradation efficiency of SDBD on Omethoate is shown to be strongly dependent on the discharge voltage and plasma treatment time. The plasma-induced degradation mechanisms were studied through identification of the intermediates or by-products generated during SDBD plasma treatment. The results show that the degradation efficiency may be higher than 99% under the optimum discharge conditions, i.e., at the applied voltage of 10 kV and the treatment time of 30 min. It is concluded that the atmospheric-pressure SDBD plasma may degrade pesticide residue into nontoxic species (such as PO_4^{3-} , H_2O , SO_4^{2-} , and CO_2) during the plasma treating process.



1. Introduction

Organophosphorus (OP) pesticides, a group of cholinesterase inhibiting insecticides, have been widely used in agriculture for controlling pests and improving agricultural productivity.^[1] However, the extensive application and moderate persistence of OP pesticides may result in the presence of pesticides in a typical diet and drinking water.^[2–5] Therefore, concerns on environmental quality and health issues require development of effective techniques for eliminating pesticide residues.^[6–10]

Z. Zong, D. Liu, Y. Song, J. Niu
Liaoning Key Lab of Optoelectronic Films and Materials, School of Physics and Materials Engineering, Dalian Nationalities University, Dalian 116600, People's Republic of China
R. Zhou, D. Liu
Fujian Key Laboratory for Plasma and Magnetic Resonance, School of Physics and Mechanical and Electrical Engineering, Xiamen University, People's Republic of China
E-mail: Dongping.liu@dlnu.edu.cn

Naturally, many degradation methods have been used to remove OP pesticides, such as Fenton oxidation, photocatalysis, hydrolysis, ozonation, and electrochemical degradation.^[11–16] Nevertheless, the efficiencies of methods mentioned above are limited or undesired due to the formation of undesirable by-products. In addition, the lack of chemistry control and the problems of fast and complete decomposition or detoxification of pesticides have been the major shortage in conventional methods. Non-thermal plasma (NTP) is a relatively novel technology and may be an alternative method to solve these problems since it is effective on degradation and detoxification of the contaminants on fresh foods while it produces no secondary pollutants during the process.^[17,18] Reactive oxygen species (such as OH , O , O_3 , H_2O_2), UV photons, electrons, and ions generated by plasma can directly or indirectly cause organic compound degradation through bond scissions or oxidative processes that take place in its electronically excited states, and result in the formation of certain smaller organic and inorganic molecules.^[19–21]

Previously, we have designed a cold atmospheric-pressure air surface dielectric barrier discharge (SDBD)

device for large-area sterilization applications at room temperature.^[22] In the current paper, an AC power source driven SDBD device was designed to generate large-area homogeneous plasma in ambient air, and Omethoate was selected as the representative organophosphate pesticide residues on Edible wolfberry. This specially-designed plasma device can generate a strong electric field between discharge electrodes, and initiate a large-area air surface discharge at room pressure. The Omethoate degradation behavior and pathways on edible wolfberry were investigated by GC–MS through analyzing the intermediates and products obtained during plasma treatment. Moreover, the degradation of Omethoate on edible wolfberry was also quantified to demonstrate the high degradation efficiency of the large-area surface discharge in a glass shade by GC–MS analysis.

2. Experimental Section

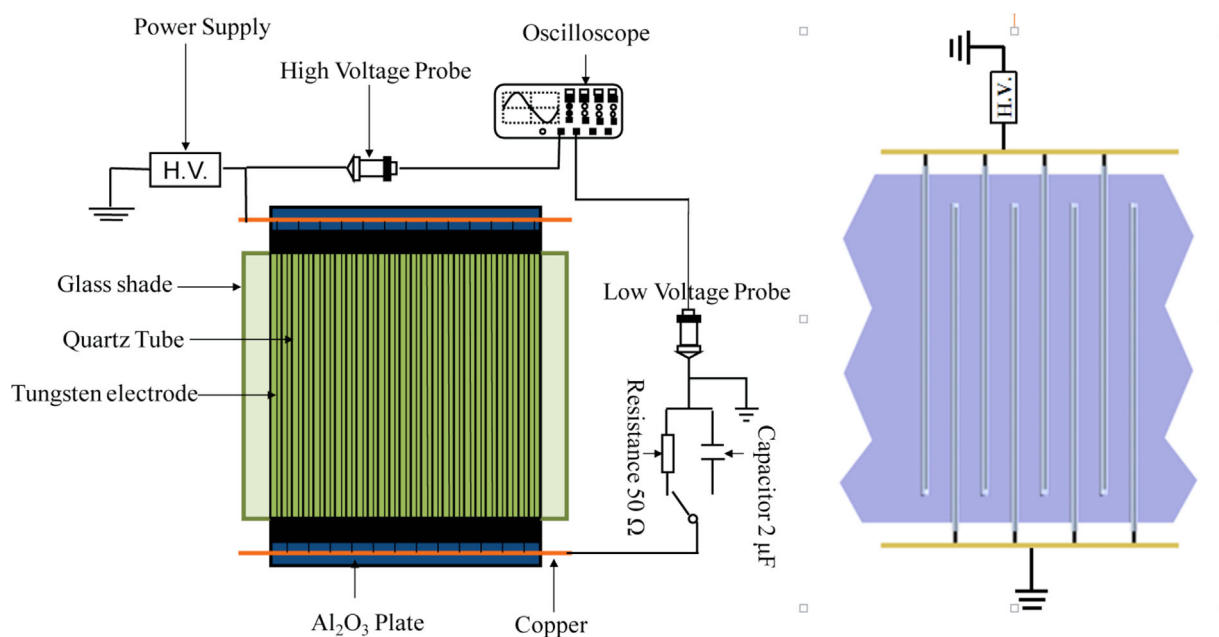
As shown in Figure 1, the plasma device has two sets of electrodes (60 electrodes for each set), i.e., the powered and the grounded tungsten electrodes (135 μm in diameter). Both electrodes are covered by micro-hollow quartz fibers (150/1000 μm in inner/outside diameter, 300 mm in length, and sealed at their ends) and placed in parallel and alternately in Figure 1(b). These hollow fibers are embedded in a specially designed multiple-groove Al_2O_3 plate, and placed into a glass shade with its length of 260 mm, height of 40 mm, and width of 240 mm, as shown in Figure 1(a). The advantage of this electrode configuration is that the atmospheric-pressure non-equilibrium air plasmas can be generated in an economic and reliable way. Due to the existence of the quartz dielectric layer, the transformation from filament discharge to arc

discharge can be effectively avoided in a wide range of the applied voltages and/or the driving frequencies. The power supply is capable of supplying bipolar AC output with a peak voltage (V_p) of 0–20 kV at an AC frequency of 9.0 kHz.

The discharge voltage and current were monitored by using a high-voltage probe (Tektronix P6015A) and a low-voltage probe (Tektronix P2220) with a resistor of 50 Ω , respectively. Here, the resistor can be replaced by a capacitor (2.0 μF) to measure the Lissajous figure, i.e., the relationship between the charges across the capacitor and the applied voltage across the discharge chamber, from which the discharge power can be calculated.^[23]

Gas chromatography coupled to mass spectrometry (GC–MS) is widely used for the analysis of highly volatile pesticides. Analysis of the intermediates and by-products during plasma degradation of Omethoate was performed using a Shimadzu gas chromatograph (2010 plus), equipped with an Rxi-5MS column (30 m \times 0.25 mm \times 0.25 μm). The GC–MS column was operated under a programmed temperature mode, with an initial temperature of 50 $^\circ\text{C}$ holding for 3 min and then ramping up to 280 $^\circ\text{C}$ at a rate of 10 $^\circ\text{C} \cdot \text{min}^{-1}$, the final temperature was held for 2 min. The injector, interface and ion source temperatures were set at 230, 250, and 200 $^\circ\text{C}$, respectively. Helium was used as the carrier gas with a flow rate of 1 mL $\cdot \text{min}^{-1}$. A 1.0 μL sample was injected into GC–MS and the fragmentation ions and/or retention time of the sample were determined. Mass spectra were obtained by electron-impact (EI) at 70 eV using the full-scan mode in the range of 20–800 (m/z).

Photobacterium Phospholum was used to examine the toxic properties of the samples collected within a specified plasma treatment. The bacteria were in freeze-dried form, and then activated prior to use by a salt solution (3% NaCl). The pH values of the samples were adjusted to 7 ± 1 by adding the 0.1N HCl or 0.1N NaOH solutions. Luminescent bacteria can emit light as a by-product in the cellular respiration and metabolic processes. By directly contacting the target compounds, the reduction of the



■ Figure 1. (a) Schematic of the experimental setup and (b) the sectional electrode.

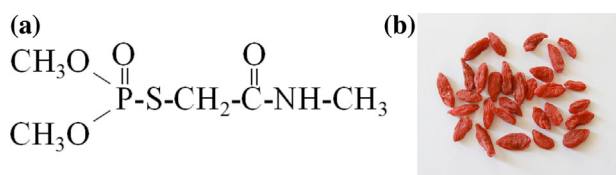


Figure 2. (a) Chemical structural formula of Omethoate and (b) picture of edible wolfberry.

light emission shows a decreased rate of respiration caused by the presence of the toxin. The inhibition of *Photobacterium Phospholum* was measured by the Microtox test system (Microtox 500 Analyzer, SDI) within 15 min.

Figure 2(a) shows the chemical structural formula of Omethoate (O, O-dimethyl-S-methyl-carbamoyl-methylthiophosphate) with the molar mass of 213.2 g/mol and the molecular formula of $C_5H_{12}NO_4PS$. The CAS registry number of Omethoate is 1113-02-6, the acute oral LD_{50} in rats is 50 mg/kg of body weight, and its acceptable daily intake (ADI) is $0.0003 \text{ mg kg}^{-1} \text{ day}^{-1}$. Omethoate standard solution was prepared with acetone at a concentration of 1 mmol/L, and Edible wolfberry was immersed into Omethoate solution for 24 h. Edible wolfberry, as one of health care products, which has many medicinal values, such as immunoregulation, improving eyesight, tonifying kidney, is becoming more and more popular among people. The picture of wolfberry is shown in Figure 2(b). However, considering some safety problems, pesticide residue is the most urgent one to be resolved. In this study, wolfberries were selected uniformly with the averaged length of 2 cm and the weight about 0.3 g, as shown in Figure 2(b). Fifty dried edible wolfberries were treated by SDBD plasma species after being contaminated Omethoate, and edible wolfberry was tiled statically in the experimental device. After plasma treatment, each sample was collected by solid phase extraction,^[24] and then 1.5 mL extracted sample was drawn for GC-MS analyses. In addition, a seven point calibration curve was constructed for Omethoate covering a range of 1.0–7.0 $\mu\text{g/L}$.

3. Results and Discussion

In the study, GC-MS analysis was performed to analyze the edible wolfberry samples smeared by Omethoate with different treatment time. Figure 3 shows the mass spectra of Omethoate and its degradation productions (C_1 – C_5) by the plasma treatment. Table 1 displays the intermediates derived from Omethoate degradation, the retention time, and the characteristic mass to charge ratios. As shown in Figure 3 and Table 1, five compounds can be detected as possible degradation intermediates after air SDBD plasma treatment. C_1 is identified as O,O-dimethyl phosphonic ester, with more than 90% matching at m/z 109 and 79, corresponding to the characteristic of the phosphate esters, which belong to the groups of $[(CH_3O)_2P(O)]^+$ and $[CH_3O-POH]^+$, respectively. C_2 is identified as O,O,O-trimethyl phosphorothioate with more than 80% matching at m/z of 140, 110, 95, and 79, which belong to the groups of $[(CH_3O)_3P(O)]^+$, $[(CH_3O)_2P(OH)]^+$, $[CH_3OP(O)OH]^+$, and $[CH_3O-P-OH]^+$, respectively. Similarly, C_3 is identified as O,O,S-trimethyl phosphorothioate with more than 90% matching at m/z of 156, 141, 126, 110, 95, and 79, belonging to the groups of $[(CH_3O)_2(CH_3S)P(O)]^+$, $[(CH_3O)_2P(O)S]^+$, $[(CH_3O)_2-P(O)OH]^+$, $[(CH_3O)_2P(OH)]^+$, $[CH_3OP(O)OH]^+$, and $[CH_3OPOH]^+$, respectively. In addition, C_4 is identified as N-methyl-2-sulfanylacetamide with a peak at m/z 105, which corresponds to the molecular ion $[M]^+$, and the characteristic ions at m/z 73 and 58 correspond to the loss of HS- and $HSCH_2$ -fragments, respectively. The five pesticides are identified at the retention time of 4.15, 4.90, 6.47, 10.20, and 12.40 minutes, respectively.

Figure 4 shows the GC spectra for Omethoate standard solution covering a range of 1.0–7.0 $\mu\text{g/L}$ (a), and the

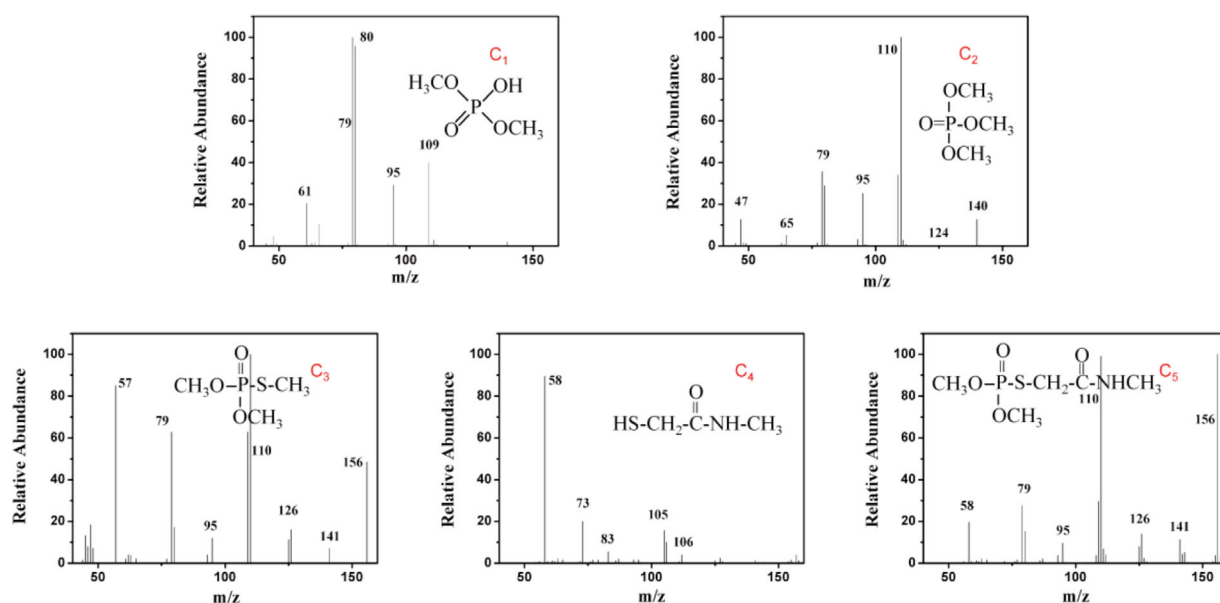


Figure 3. Mass spectra of Omethoate and degradation products formed due to plasma treatment.

Table 1. GC-MS retention time (Rt) and special characteristics of Omethoate identified intermediates.

| Pesticide/intermediate | Rt(min) | characteristic ions (m/z) |
|---|---------|---------------------------------|
| Omethoate | | |
| C ₁ , O,O-dimethyl phosphonic ester | 4.15 | 109, 95, 80, 79 |
| C ₂ , O,O,O-trimethyl phosphoric ester | 4.90 | 140, 110, 95, 79 |
| C ₃ , O,O,S-trimethylphosphorothiate | 6.47 | 156, 141, 126, 110, 95, 79 |
| C ₄ , N-methyl-2-sulfanylacetamide | 10.20 | 87, 105, 73, 58 |
| C ₅ , Omethoate | 12.40 | 213, 156, 141, 126, 110, 79, 58 |

calibration curve of Omethoate standard solution (b). With the standard concentration of Omethoate from 1.0 to 7.0 $\mu\text{g/L}$, the corresponding peak value increases by four times at the retention time of 12.40 min. The peak area values are obtained with different concentrations of Omethoate, which are fitted theoretically by using proportional function ($y = kx$), as shown in Figure 4(b). This fitting

leading to $k = 2804.32$, and shows good agreement between the measured values, and the resulting correlation coefficient is higher than 0.991. Quantification of Omethoate pesticide based on peak area data is possible by using this curve.

Figure 5(a) shows GC spectra of Omethoate degradation on edible wolfberry with different plasma treatment times.

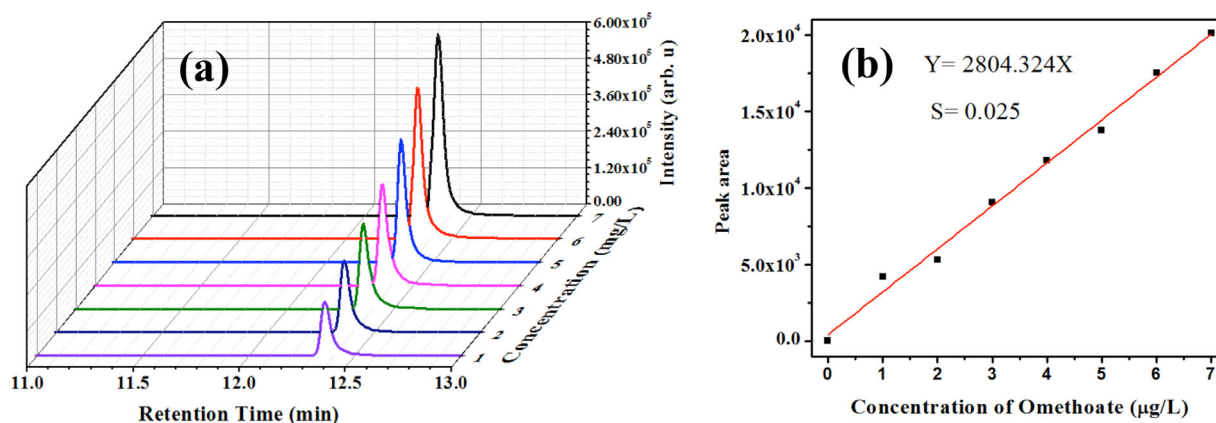


Figure 4. (a) GC analysis for Omethoate standard solution covering a range of 1.0–7.0 $\mu\text{g/L}$ and (b) calibration curve of Omethoate standard solution.

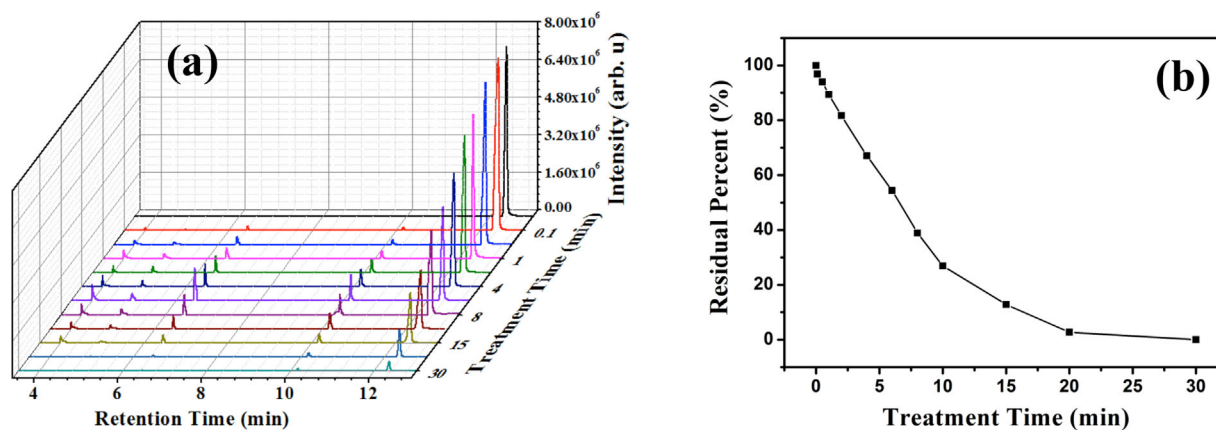


Figure 5. (a) The GC spectra of Omethoate as the function of plasma treatment time and (b) the residual percent of Omethoate.

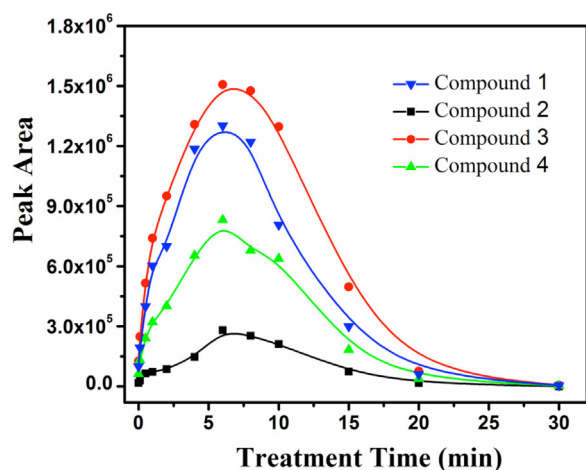


Figure 6. The temporal evolution profile of degradation products in Omethoate solution by plasma treatment.

At $V_{pp} = 10$ kV, edible wolfberry smeared by Omethoate is treated by air plasma for 0, 0.1, 0.5, 1, 2, 4, 8, 10, 15, 20, and 30 min. In GC spectra, the height of Omethoate (C_5) peak at 12.40 min decreases with the increase of the plasma treatment time. Reactive species generated by air SDBD device can react with the Omethoate molecules, resulting in the degradation of Omethoate. Increasing treatment time causes more Omethoate to be decomposed. With the plasma treatment time of 30 min, the Omethoate peak almost disappears, which means the Omethoate on the edible wolfberry appears to be reduced quickly and decomposed. Based on the calibration curve of Omethoate standard solution in Figure 4(b) and the peak area values of Omethoate with different treatment time in Figure 5(a), the degradation percent of Omethoate as the function of plasma treatment time is given in Figure 5(b). When the treatment time (t) increases from 0 to 10 min, the residual

percent value linearly decreased, and then it turns to decrease slowly at $t > 10$ min. The rapid decrease of residual percent shows that Omethoate is efficiently degraded on the edible wolfberry by the plasma at this initial stage, and the Omethoate residual percent on the edible wolfberry may fall below 5% at $t > 20$ min.

In addition, the temporal evolution profile of Omethoate degradation products on the edible wolfberry by plasma is presented in Figure 6. It is clear that the concentrations of all degradation products, such as O,O-dimethyl phosphonic ester (C_1), O,O,S-trimethyl phosphorothioate (C_2), O,O,S-trimethyl phosphorothioate (C_3), and N-methyl-2-sulfonylacamide (C_4) increase when the plasma treatment time varies from 0 to 6.0 min, and their concentrations decrease slowly with further increasing the treatment time. After being treated for 20 min, C_1 , C_2 , C_3 , and C_4 almost disappear, as shown in Figure 6. This may be attributed to the enhanced degradation of C_5 , which generates secondary intermediates. With the further treatment of Omethoate on edible wolfberry by SDBD plasma, oxidation effect may play a significant role in degradation process, and the most intermediates as well as Omethoate will be completely decomposed.

Both applied voltage and treatment time play a crucial role in the Omethoate degradation. Figure 7(a) shows the GC-peak intensity comparison between sample treated for 10 min at different V_{pp} values and untreated sample ($V_{pp}=0$). Results show that increasing V_{pp} values may result in a significant increase in the degradation efficiency. The Omethoate on the edible wolfberry is degraded to 20% by the air plasma generated at $V_{pp}=10$ kV within the treatment time of 10 min. The degradation rate of Omethoate as a function of applied discharge voltage is given according to calibration curve in Figure 7(a). Figure 7(b) shows the residual percent of Omethoate as a function of the discharge voltage. With increasing the discharge voltage from 6 to

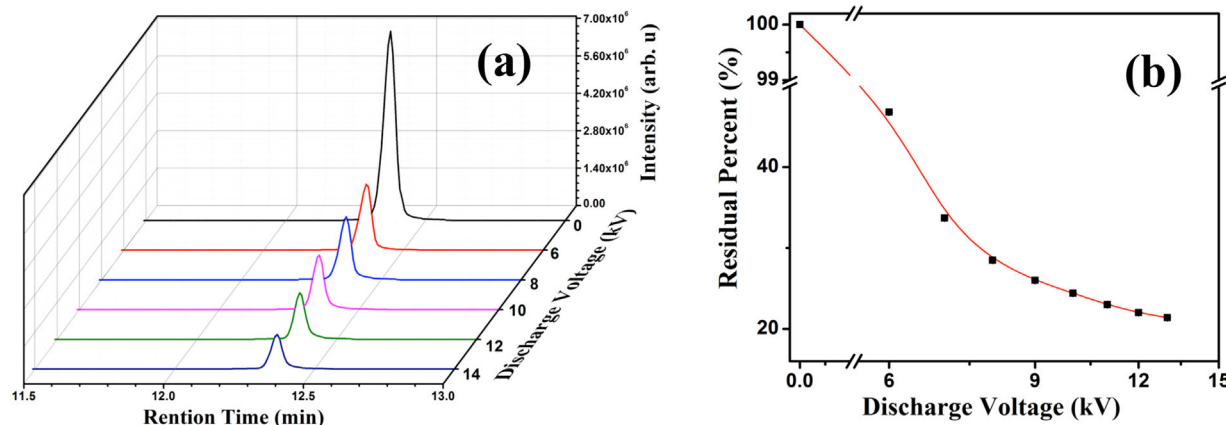


Figure 7. (a) Comparison between the GC-peak intensity measured within the treatment time of 10 min at different V_{pp} values and (b) the residual percent of Omethoate.

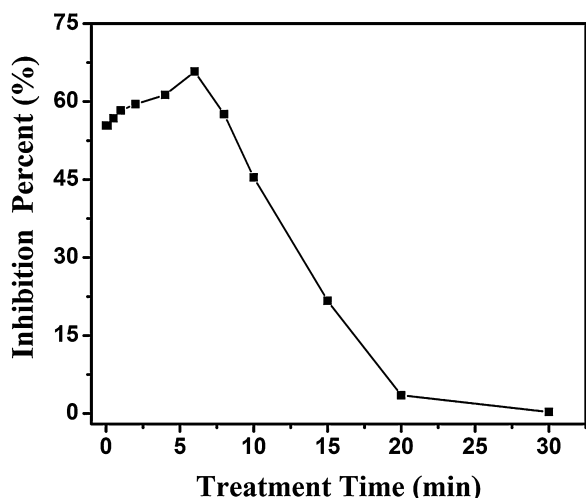


Figure 8. Toxicity evolution as a function of plasma treatment time in Omethoate solution.

14 kV, the residual percent value decreases from 0.67 to 0.20 at $t = 10$ min. This predicts that the density of ROS and/or electrons generated by air SDBD plasma can be greatly improved at an increasing V_p , resulting in the rapid degradation of Omethoate.

In our study, each sample was withdrawn by solid phase extraction^[24] after different plasma treatment time, same sample as Figure 5, and then 1.5 mL extracted sample was utilized for toxicity measurements. The toxicity of the samples collected from different stages of the plasma treatment was measured using the Microtox test. The experimental data obtained after 15 min exposure of the bacteria to the samples are presented in Figure 8. With increase of the plasma treatment from 0 to 6.0 min, the toxicity exhibited a slight increase from 53 to 65% inhibition. This resulted from the increase in C_3 (LD50 1–20 mg/kg) which could enhance the toxicity of the reaction mixture. Finally, it was observed that toxicity decreased and finally reached a 1–2% of inhibition which was in agreement with the above findings. Therefore, the degradation of the organic compounds by plasma is a promising method for eliminating these compounds from food products.

To clarify the degradation pathways of Omethoate on edible wolfberry, a simple model is proposed according to the GC/MS analysis and other experimental results mentioned above. It can be seen in Figure 9 that the air SDBD plasma degradation mechanisms for Omethoate are radical-reaction-initiated through (i) one-electron transfers to the π bond within P=O (pathway I) and (ii) radicals attacks on the Omethoate molecules (pathway II). It is interesting to notice that C_1 and C_2 are identified as the intermediates during plasma degradation of Omethoate, and they are also detected as identified intermediates

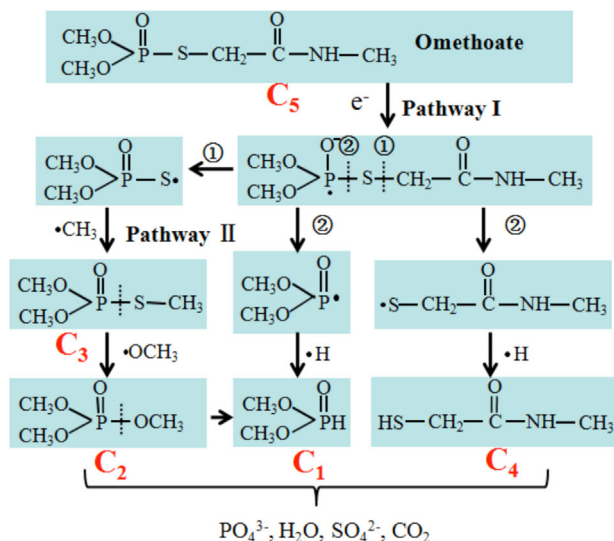


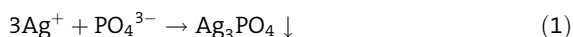
Figure 9. Potential degradation pathways of Omethoate during air SDBD plasma treatment.

during advanced oxidation of various OP pesticides.^[25–28] Due to the cleavage of P–S bonds, the formations of C_1 and C_2 , resulting in several intermediates are proposed to arise by the attack of energetic electrons, followed by various radicals, such as hydroxyl and methyl radicals. The main sequential steps of Omethoate by the air SDBD plasma are given in Figure 9. Degradation pathways of Omethoate molecules by plasma start with the attack of high-energy electrons on ①P–S and ②C–S bond. The scission of the P–S bond leads to the formation of $^*SCH_2C(O)-NHCH_3$ radicals that are the precursor of C_1 and C_4 (① route). The cleavage of C–S bonds followed by the rearrangement of methyl radicals is an evidence from the detections of C_3 (② route). Continuous cleavage of the P–S bond in the C_3 molecule, followed by adding the methoxy group could lead to the formation of C_1 and C_2 . Finally, these intermediates could be easily oxidized into small unarmful molecules such as PO_4^{3-} , H_2O , SO_4^{2-} , and CO_2 .

Therefore, the relative significance of the C–S cleavage and P–S cleavage in degradation depends on not only on the energies provided by reactive species from air plasma, but also on the nature of the intermediates generated during the plasma degradation processing. Based on the experimental results mentioned above, reactive oxygen species and high-energy electrons may play an important role in the degradation of Omethoate. In addition, the sterilization by reactive nitrogen species (RNS) generated by plasma has been reported previously^[29,30] but whether RNS may decompose Omethoate cannot be identified from previous results. Therefore, we need to further study the degradation mechanism(s) of Omethoate by SDBD treatment.

When OP pesticide molecules are exposed to air plasma, energetic electrons generated inside the air SDBD plasma provide sufficient energy to dissociate the molecules of the feed gas or of the OP pesticide, produce radicals ($\cdot\text{O}$, $\cdot\text{OH}$ and so on) and initiate chemical reactions by the excited species. Then, chemical reactions are formed at low temperature, which promotes various desired conversions of OP pesticides to liberate harmless or less hazardous compounds. In addition, UV photons from the air SDBD plasma may also enhance the degradation efficiency of OP pesticides. When the OP pesticide absorbs UV photons, it can be degraded through bond scissions or oxidations processes that take place through its electronically excited states. Therefore, a combination of physical and chemical unit processes of NTPs is very attractive and actively employed to ensure the reduction of OP pesticide residues.

Furthermore, in order to explore the plasma degradation pathways of Omethoate, another effective method was used to detect the mineralization products of Omethoate, i.e., the phosphate and sulfate ions. Here, the determination of phosphate and sulfate ions was analyzed by the precipitation method. Phosphate ion is determined by AgNO_3 solution, and sulfate ion is determined by $\text{Ba}(\text{NO}_3)_2$ solution. Their ionic equations can be given



As shown in Figure 10, in order to verify oxidation products, Omethoate solution (1 mL, $1 \mu\text{mol/L}$) was directly treated 30 min by another self-made setup.^[31] Firstly, when an excess AgNO_3 solution is added to treated solution, a yellowish buff precipitate can be observed in Figure 10(b), according to equation (1). In addition, if HNO_3 solution is put into Omethoate solution in advance and the excess $\text{Ba}(\text{NO}_3)_2$ solution is added subsequently, a white precipitate can be observed in Figure 10(c), according to equation (2). The result indicates that Omethoate is decomposed and finally oxidized into

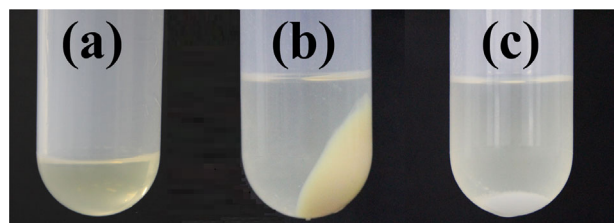


Figure 10. The determination of mineralization products of Omethoate with air plasma treatment. (a) Omethoate solution with plasma treatment time of 30 min, (b) plasma-treated Omethoate solution mixed with AgNO_3 solution, (c) plasma-treated Omethoate solution mixed with $\text{Ba}(\text{NO}_3)_2$ solution.

inorganic compounds, such as phosphate and sulfate ions, as discussed above.

4. Conclusion

We investigated the degradation pathway of air SDBD plasma on Omethoate smeared edible wolfberry. Results indicate that plasma-generated ROS radicals can play an important role in the degradation of Omethoate. In particular, the degradation efficiency is greater than 99% under the optimum degradation parameters: at the applied voltage of 10 kV and the treatment time of 30 min. This study provides a fundamental understanding for detoxification process of pesticide-contaminated foods and suggests that plasma degradation can become a potential alternative to the conventional methods in the future.

Received: April 19, 2015; Revised: August 28, 2015; Accepted: October 10, 2015; DOI: 10.1002/ppap.201500067

Keywords: atmospheric pressure plasma; discharge; edible wolfberry; gas chromatography and mass spectrometry

- [1] V. L. Garau, A. Angioni, A. A. Del Real, M. Russo, P. Cabras, *J. Agr. Food Chem.* **2002**, *50*, 1929.
- [2] J. F. Garcia-Reyes, B. Gilbert-Lopez, A. Molina-Diaz, A. R. Fernandez-Alba, *Anal. Chem.* **2008**, *80*, 8966.
- [3] Y. H. Bai, L. Zhou, J. Wang, *China Food Chem.* **2006**, *98*, 240.
- [4] R. J. Gilliom, *Environ. Sci. Technol.* **2007**, *41*, 3408.
- [5] C. Lu, D. B. Barr, M. A. Pearson, L. A. Waller, *Environ. Health Perspect.* **2008**, *116*, 537.
- [6] S. C. Gupta, H. R. Siddique, N. Mathur, R. K. Mishra, D. K. Saxena, D. K. Chowdhuri, *Toxicology* **2007**, *238*, 1.
- [7] L. G. Costa, *Clin. Chim. Acta.* **2006**, *366*, 1.
- [8] G. Romero-Navarro, T. Lopez-Acevesa, A. Rojas-Ochoaa, C. F. Mejia, *Life Sci.* **2006**, *78*, 1015.
- [9] A. Dekundy, R. M. Kaminski, E. Zielinska, W. A. Turski, *Toxicol. Appl. Pharmacol.* **2007**, *219*, 114.
- [10] P. Dolaro, M. Salvadori, T. Capobianco, F. Torricelli, *Mutat. Res. Lett.* **1992**, *283*, 113.
- [11] M. I. Badawy, M. Y. Ghaly, T. A. Gad-Allah, *Desalination.* **2006**, *194*, 166.
- [12] R. X. Li, C. P. Yang, H. Chen, G. M. Zeng, G. L. Yu, J. Y. Guo, *J. Hazard. Mater.* **2009**, *167*, 1028.
- [13] P. Oancea, T. Oncescu, *J. Photochem. Photobiol. A.* **2008**, *199*, 8.
- [14] C. L. Wu, K. G. Linden, *Water Res.* **2010**, *44*, 3585.
- [15] J. G. Wu, C. Y. Lan, G. Y. S. Chan, *Chemosphere* **2009**, *76*, 1308.
- [16] Y. Samet, L. Agengui, R. Abdelhédi, *J. Electroanal. Chem.* **2010**, *650*, 152.
- [17] N. N. Misra, B. K. Tiwari, K. S. M. S. Raghavarao, P. J. Cullen, *Food Eng. Rev.* **2011**, *3*, 159.
- [18] B. A. Niemira, *Annu. Rev. Food Sci. T.* **2012**, *3*, 125.
- [19] U. Kogelschatz, B. Eliasson, W. Egli, *J. Phys. IV France.* **1997**, *7*, C4-47.
- [20] U. Kogelschatz, B. Eliasson, W. Egli, *Pure Appl. Chem.* **1999**, *71*, 1819.
- [21] J. Lou, N. Lu, J. Li, T. C. Wang, Y. Wu, *Chem. Eng. J.* **2012**, *180*, 99.

- [22] D. C. Wang, D. Zhao, K. C. Feng, X. H. Zhang, D. P. Liu, S. Z. Yang, *Appl. Phys. Lett.* **2011**, *98*, 161501.
- [23] N. De Geyter, R. Morent, L. Gengembre, C. Leys, E. Payen, S. V. Vlierberghe, E. Schacht, *Plasma Chem. Plasma Process.* **2008**, *28*, 289.
- [24] L. Li, F. Liu, C. Qian, *J. Aoac Int.* **2007**, *90*, 271.
- [25] R. Andreozzi, G. Ialongo, R. Marotta, R. Sanchirico, *J. Hazard. Mater. B.* **1999**, *64*, 283.
- [26] S. Chiron, A. Fernandez-Alba, A. Rodriguez, E. Garcia-Calvo, *Water Res.* **2000**, *34*, 366.
- [27] J. D. Schramm, I. Hua, *Water Res.* **2001**, *35*, 665.
- [28] S. O. Pehkonen, Q. Zhang, *Crit. Rev. Environ. Sci. Technol.* **2002**, *32*, 17.
- [29] R. W. Zhou, X. H. Zhang, Z. C. Zong, Z. B. Yang, J. X. Li, D. P. Liu, S. Z. Yang, *Chin. Phys. B.* **2015**, *24*, 085201.
- [30] R. Pompl, F. Jamitzky, T. Shimizu, B. Steffes, W. Bunk, H. U. Schmidt, M. Georgi, K. Ramrath, W. Stolz, R. W. Stark, T. Urayama, S. Fujii, G. E. Morfill, *New J. Phys.* **2009**, *15*, 115023.
- [31] R. W. Zhou, X. H. Zhang, Z. Z. Bi, Z. C. Zong, J. H. Niu, Y. Song, D. P. Liu, S. Z. Yang, *Appl. Environ. Microb.* **2015**, *81*, 01287.

放牧影响下克氏针茅草原不同物候期土壤酶活性与微生物生物量的变化

徐志超¹ 宋彦涛¹ 乌云娜^{1*} 霍光伟¹ 王晓朦¹ 道日娜^{1,2}

(¹大连民族大学环境与资源学院, 辽宁大连 116600; ²内蒙古大学生命科学学院, 呼和浩特 010000)

摘要 研究了内蒙古呼伦贝尔克氏针茅草原不同放牧强度下土壤脲酶、脱氢酶、蔗糖酶、过氧化氢酶活性及土壤微生物生物量在不同物候期的动态变化。结果表明,返青期、抽穗期、开花期及种子成熟期中度放牧区土壤脱氢酶活性显著高于轻度放牧区 ($P < 0.05$); 返青期、抽穗期、开花期以及种子成熟期,轻度、中度放牧土壤中过氧化氢酶活性显著高于重度放牧梯度 ($P < 0.05$)。轻度放牧区土壤微生物生物量碳在种子成熟期显著高于抽穗期 ($P < 0.05$),土壤微生物生物量氮在抽穗期及种子成熟期显著高于返青期、开花期 ($P < 0.05$); 中度放牧区土壤微生物生物量碳在返青期显著高于抽穗期、开花期及种子成熟期 ($P < 0.05$),土壤微生物生物量氮在返青期显著高于抽穗期、开花期及种子成熟期 ($P < 0.05$); 重度放牧区种子成熟期土壤微生物生物量碳显著高于返青期、抽穗期及开花期 ($P < 0.05$),种子成熟期土壤微生物生物量氮显著高于返青期、抽穗期及开花期 ($P < 0.05$)。相关性分析表明,土壤过氧化氢酶活性与土壤微生物生物量氮呈显著正相关,土壤微生物生物量碳与微生物生物量氮呈极显著正相关。

关键词 克氏针茅草原; 放牧梯度; 物候期; 土壤酶活性; 土壤微生物生物量

Effect of grazing intensities on soil enzyme activities and soil microbial biomass of *Stipa krylovii* steppe in different phenological periods. XU Zhi-chao¹, SONG Yan-tao¹, WU Yun-na^{1*}, HUO Guang-wei¹, WANG Xiao-meng¹, DAO Ri-na^{1,2} (¹College of Environment and Resources, Dalian Nationalities University, Dalian 116600, Liaoning, China; ²College of Life Science, Inner Mongolia University, Hohhot 010000, China).

Abstract: The effects of grazing intensities on soil enzyme activities (urease, dehydrogenase, sucrase, catalase) and soil microbial biomass were studied in a *Stipa krylovii* steppe in Hulunbuir of Inner Mongolia during different phenological periods. The results showed that soil dehydrogenase activity in moderately grazed plots was significantly higher than that in lightly grazed plots in periods of seedling establishment, heading, flowering and seed maturation ($P < 0.05$). Catalase activity in lightly and moderately grazed plots was significantly higher than in heavy grazed plots in periods of seedling establishment, heading, flowering and seed maturation ($P < 0.05$). Under the light grazing, soil microbial biomass carbon was significantly lower in heading period than in seed maturation period ($P < 0.05$), and soil microbial biomass nitrogen was significantly higher in heading and seed maturation periods than in seedling establishment and flowering periods ($P < 0.05$). Under moderate grazing, soil microbial biomass carbon was significantly higher in seedling establishment than in heading, flowering and seed maturation periods ($P < 0.05$), and soil microbial biomass nitrogen was significantly higher in seedling establishment period than in heading, flowering and seed maturation periods ($P < 0.05$). Under heavy grazing, soil microbial biomass carbon was significantly higher in seed maturation period than in seedling establishment,

国家自然科学基金项目(31470504, 31170402, 31500366)、中央高校基本科研业务费项目(DC201501070101, DC201501070402)和东北草地植物资源调查专项(2014FY210300)资助。

收稿日期: 2016-01-13 接受日期: 2016-05-21

* 通讯作者 E-mail: wuyunna@dlnu.edu.cn

heading and flowering periods ($P < 0.05$), and soil microbial biomass nitrogen was significantly higher in seed maturation period than in seedling establishment, heading and flowering periods ($P < 0.05$). Correlation analysis showed that soil catalase activity was positively correlated with soil microbial biomass nitrogen, and soil microbial biomass carbon was positively correlated with soil microbial biomass nitrogen.

Key words: *Stipa krylovii* steppe; grazing intensity; phenological phrase; soil enzyme activity; soil microbial biomass.

呼伦贝尔草原是我国典型的温带草原之一,其生态功能的正常发挥对于维持全球生态系统平衡起到至关重要的作用。但是近十几年来由于过度放牧以及不合理的开发利用,导致呼伦贝尔草原退化日趋严重。草原退化不仅是地上植被生物量的退化,其核心问题是草原土壤的退化(闫瑞瑞等 2011)。

草原土壤中不仅储存了生态系统中能量流动和物质循环所需要的能量,并且是牧草和家畜的重要载体(高英志等 2004)。放牧是草原最主要的利用方式之一,家畜通过采食、践踏、排泄物及这三者的综合作用直接或间接影响草原土壤(曹淑宝等, 2012)。研究表明,适当的放牧有助于改变土壤质量,增加地上植被的生物量,但过度的放牧和不合理的草地管理方式会加速草原的退化(张堰青, 1990; 袁建立等 2004)。

土壤中进行的一切生理生化反应是陆地生态系统维持生态平衡的关键,这些生化反应能进行的原因是土壤酶的存在。土壤酶参与了土壤中的各种物质代谢和能量转换的过程,研究显示,土壤酶活性与土壤养分之间存在密切的关联,虽然土壤酶不直接参与土壤结构的组成,但已有研究表明土壤酶在这方面具有重要作用(周华坤等 2005)。近年来,土壤酶活性作为衡量土壤质量的生物活性指标已被广泛认可,土壤酶活性的变化能够在一定程度上反映出土壤质量在一定环境下的变化及某一时刻土壤质量的状况(曹慧等 2003; Hamel *et al.* 2005)。目前,国内外学者对不同放牧梯度上土壤酶活性的变化进行了大量的研究(闫瑞瑞等 2011),研究表明,不同放牧强度对土壤微生物量产生不同的影响,禁牧和适当的放牧有助于提高土壤微生物生物活性,过度

放牧则会导致土壤微生物生物活性降低。

草本植物物候期是记录其完成生活史的重要标志,植物的生理生态特征在各个物候期都有显著的变化。而物候的变化直接影响生物生产,对生态系统的生产力和碳循环具有关键性作用(王力等, 2012)。随着物候期的进程,草原土壤酶活性和微生物生物量也会发生改变,尤其在放牧干扰下。本研究以内蒙古呼伦贝尔克氏针茅草原为研究区域,以优势种克氏针茅为判定物候期的标准,研究放牧强度、物候期对草原土壤酶活性与土壤微生物生物量的影响,进而为呼伦贝尔草原生态保护提供科学依据。

1 研究地区与研究方法

1.1 研究区概况

研究区域位于内蒙古自治区呼伦贝尔市新巴尔虎右旗境内的克鲁伦河流域,地理位置为 $47.05^{\circ} \text{N} - 53.20^{\circ} \text{N}$, $115.31^{\circ} \text{E} - 126.04^{\circ} \text{E}$, 年均降水量 339 mm, 年平均气温 $-5 \sim 2^{\circ} \text{C}$, 海拔在 650 ~ 700 m。地带性植被类型为克氏针茅草原,主要物种有克氏针茅 (*Stipa krylovii*)、糙隐子草 (*Cleistogenes squarrosa*) 和羊草 (*Leymus chinensis*) 等,地带性土壤为栗钙土(表 1)。

1.2 样品采集

2013 年植物生长季对研究区克氏针茅草原进行野外调查(以克氏针茅作为区分物候期标准植被)。在野外调查的基础上,通过对草原周边的实地勘探了解 3 个样地的放牧强度,从而确定轻度放牧、中度放牧和重度放牧 3 个不同的放牧强度样地,3 个样地的本底类型一致。轻度放牧草原围栏封育时间为 2001 年,为季节性放牧,在生长季不受人为

表 1 不同放牧强度样地的基本信息

Table 1 Information of plots under different grazing intensities

| 研究样地 | 放牧强度 | 地理位置 | 群落类型 | 土壤类型 |
|---------|------|--|--------|------|
| 兰旗庙优质牧场 | 轻度放牧 | $117^{\circ}00'11.7'' \text{E}$ $48^{\circ}32'58.9'' \text{N}$ | 克氏针茅群落 | 栗钙土 |
| 兰旗庙家庭牧场 | 中度放牧 | $117^{\circ}00'10.4'' \text{E}$ $48^{\circ}32'30.0'' \text{N}$ | 糙隐子草群落 | 栗钙土 |
| 兰旗庙公共牧场 | 重度放牧 | $116^{\circ}56'52.4'' \text{E}$ $48^{\circ}37'52.3'' \text{N}$ | 多根葱群落 | 栗钙土 |

干扰,优势种为克氏针茅;中度放牧草原为轮牧活动,优势种为糙隐子草,重度放牧草原为自由放牧区,常年受到放牧影响,优势种为多根葱(*Allium polyrhizum*) (林璐等 2013)。

在克氏针茅的返青期、抽穗期、开花期以及种子成熟期分别采用样线法进行土壤样品的采集。在每个放牧梯度上,分别设定 3 条 50 m 样线,每条样线间隔 5 m 监测一个样方,样方面积为 1 m×1 m,调查并记录样方内的种类组成,在每个放牧梯度的 3 条样线上均选取 1 条 50 m 样线,在这条样线的 0、10、30 m 处的样方内成对角线方向取 3 环刀土壤样品混匀带回室内(孟凡栋等 2013)。一部分土样进行风干,过 0.5 mm 筛,剔除大的根和茎,用于土壤酶活性的测定;另一部分置于冰箱内(4 ℃)保存,用于土壤微生物生物量的测定。

1.3 实验方法

采用苯酚-次氯酸钠比色法测定土壤脲酶活性、2,3,5-三苯基四氮唑氯化物(TTC)比色法测定脱氢酶活性、比色法测定蔗糖酶的活性、高锰酸钾滴定法测定过氧化氢酶活性;采用熏蒸提取-容量分析法测定土壤微生物生物量碳(MBC)(孟凡栋等 2013)、氯仿熏蒸浸提法测定土壤微生物生物量氮(MBN)(关松荫,1986)。

1.4 数据处理

数据采用 SPSS 18.0 统计软件进行单因素方差分析、双因素方差分析和 Pearson 相关性分析。

2 结果与分析

2.1 不同放牧梯度上各物候期土壤酶活性的变化

土壤脲酶活性、脱氢酶活性、蔗糖酶活性及过氧化氢酶活性在放牧梯度上差异性显著;土壤脲酶活性、脱氢酶活性及过氧化氢酶活性在物候期差异性显著,土壤蔗糖酶活性在物候期差异性不显著;土壤脱氢酶活性、蔗糖酶活性在物候期和放牧梯度上存在交互作用,土壤脲酶活性、过氧化氢酶活性在物候期和放牧梯度上不存在交互作用(表 2)。

物候期发生变化时,返青期土壤脲酶活性显著高于抽穗期、开花期及种子成熟期($P < 0.05$),种子成熟期土壤脲酶活性显著高于抽穗期、开花期($P < 0.05$);不同放牧强度上,土壤脲酶活性在重度放牧区显著高于轻度、中度放牧区($P < 0.05$)(表 3)。

表 2 放牧强度和物候期对土壤酶活性影响的双因素方差分析

Table 2 Two-factor variance analysis of soil enzyme activity by grazing intensity and phenological period

| 酶活性 | 源 | III型平方和 | df | 均方 | F | P |
|-------|----------|---------|----|--------|--------|-------|
| 脲酶 | 放牧强度 | 0.457 | 2 | 0.228 | 36.779 | 0.000 |
| | 物候期 | 0.420 | 3 | 0.140 | 22.557 | 0.000 |
| | 放牧强度×物候期 | 0.049 | 6 | 0.008 | 1.321 | 0.286 |
| 脱氢酶 | 放牧强度 | 0.000 | 2 | 0.000 | 95.312 | 0.000 |
| | 物候期 | 0.000 | 3 | 0.000 | 27.434 | 0.000 |
| | 放牧强度×物候期 | 0.000 | 6 | 0.000 | 10.443 | 0.000 |
| 蔗糖酶 | 放牧强度 | 49.750 | 2 | 24.875 | 7.893 | 0.002 |
| | 物候期 | 2.476 | 3 | 0.825 | 0.262 | 0.852 |
| | 放牧强度×物候期 | 106.680 | 6 | 17.780 | 5.641 | 0.001 |
| 过氧化氢酶 | 放牧强度 | 0.580 | 2 | 0.290 | 65.060 | 0.000 |
| | 物候期 | 0.060 | 3 | 0.020 | 4.499 | 0.012 |
| | 放牧强度×物候期 | 0.050 | 6 | 0.008 | 1.888 | 0.124 |

不同物候期,轻度放牧区土壤脱氢酶活性在抽穗期、种子成熟期显著高于返青期($P < 0.05$),种子成熟期土壤脱氢酶活性显著高于开花期($P < 0.05$);中度放牧区,土壤脱氢酶活性在开花期、种子成熟期显著高于返青期、抽穗期($P < 0.05$);重度放牧区,土壤脱氢酶活性在开花期、种子成熟期显著高于返青期($P < 0.05$)。返青期、抽穗期、开花期及种子成熟期,中度放牧区土壤脱氢酶活性显著高于轻度放牧区($P < 0.05$),抽穗期、开花期及种子成熟期,中度放牧区土壤脱氢酶活性显著高于重度放牧区($P < 0.05$),开花期,土壤脱氢酶活性在重度放牧区显著高于轻度放牧区($P < 0.05$),种子成熟期,土壤脱氢酶活性在不同放牧梯度上差异性均显著($P < 0.05$)(表 3)。

物候期发生变化时,中度放牧区,土壤蔗糖酶活性在种子成熟期显著高于返青期($P < 0.05$);重度放牧区,土壤蔗糖酶活性在返青期、开花期显著高于抽穗期、种子成熟期。返青期,重度放牧区土壤蔗糖酶活性显著高于轻度、中度放牧区($P < 0.05$);开花期,土壤蔗糖酶活性在重度放牧区显著高于轻度、中度放牧区($P < 0.05$)(表 3)。

物候期发生变化时,土壤过氧化氢酶活性在返青期、种子成熟期显著高于开花期($P < 0.05$);返青期土壤过氧化氢酶活性显著高于抽穗期($P < 0.05$);土壤过氧化氢酶活性在轻度、中度放牧区显著高于重度放牧区($P < 0.05$)(表 3)。

表 3 不同放牧强度上各物候期土壤酶活性的动态变化

Table 3 Changes of soil enzyme activity under different grazing intensities in different phenological periods

| 酶类 | 物候期 | 轻牧 | 中牧 | 重牧 | 均值 |
|--|-------|--------------------|---------------------|--------------------|------------------|
| 脲酶 ($\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$) | 返青期 | 0.5088±0.0113 | 0.4642±0.0113 | 0.7469±0.0171 | 0.5734±0.1321 c |
| | 抽穗期 | 0.2560±0.0148 | 0.3009±0.1505 | 0.5015±0.0159 | 0.3528±0.1363 a |
| | 开花期 | 0.1668±0.0144 | 0.2712±0.1762 | 0.4345±0.0156 | 0.2909±0.1467 a |
| | 种子成熟期 | 0.4419±0.0114 | 0.3158±0.1376 | 0.6354±0.0165 | 0.4634±0.1558 b |
| | 均值 | 0.3434±0.1443 A | 0.3381±0.1389 A | 0.5796±0.1268 B | |
| 脱氢酶 ($\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$) | 返青期 | 0.2738±0.0007 a | 0.2755±0.0003 cde | 0.2747±0.0003 abc | - |
| | 抽穗期 | 0.2751±0.0007 bcd | 0.2764±0.0006 e | 0.2754±0.0003 cd | - |
| | 开花期 | 0.2742±0.0003 ab | 0.2794±0.0007 f | 0.2758±0.0006 de | - |
| | 种子成熟期 | 0.2755±0.0003 cde | 0.2794±0.0007 f | 0.2758±0.0006 de | - |
| | 均值 | - | - | - | - |
| 蔗糖酶 ($\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$) | 返青期 | 7.9295±0.1166 ab | 7.8517±1.5219 a | 14.9261±1.6170 e | - |
| | 抽穗期 | 8.9401±0.2427 abc | 11.2723±2.1670 abcd | 10.1451±0.1166 abc | - |
| | 开花期 | 9.0956±1.1161 abc | 8.7846±0.5511 abc | 13.5268±3.8634 de | - |
| | 种子成熟期 | 11.3112±1.3993 bcd | 11.5444±1.9892 cd | 9.5620±2.3812 abc | - |
| | 均值 | - | - | - | - |
| 过氧化氢酶 ($\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$) | 返青期 | 0.7800±0.0200 | 0.8000±0.0200 | 0.5400±0.0529 | 0.7067±0.1288 c |
| | 抽穗期 | 0.7600±0.1113 | 0.7400±0.1400 | 0.400±0.0600 | 0.6333±0.1999 ab |
| | 开花期 | 0.6600±0.0200 | 0.6400±0.0346 | 0.5000±0.0400 | 0.6000±0.0806 a |
| | 种子成熟期 | 0.7867±0.0231 | 0.7867±0.1006 | 0.4600±0.0200 | 0.6778±0.1716 bc |
| | 均值 | 0.7467±0.0730 B | 0.7417±0.1000 B | 0.4750±0.0667 A | |

脲酶和过氧化氢酶 不同大写字母表示同一行差异显著 小写字母表示同一列差异显著; 脱氢酶和蔗糖酶 不同小写字母表示差异显著($P<0.05$)。

2.2 不同放牧梯度上各物候期土壤微生物生物量的变化

土壤中 MBN 在放牧梯度上差异性显著, 土壤中 MBC、MBC/MBN 在放牧梯度上差异性不显著; 土壤中 MBC、MBN 及 MBC/MBN 在不同物候期上差异性显著; 土壤中 MBC、MBN 在物候期和放牧梯度上存在交互作用, 土壤中 MBC/MBN 在物候期和放牧梯度上不存在交互作用(表 4)。

轻度放牧区 种子成熟期土壤 MBC 显著高于抽穗期($P<0.05$); 中度放牧区 土壤 MBC 在返青期显著高于抽穗期、开花期及种子成熟期($P<0.05$); 重度放牧区 种子成熟期土壤 MBC 显著高于返青期、

抽穗期及开花期($P<0.05$)。返青期, 土壤 MBC 在中度放牧区显著高于轻度、重度放牧区($P<0.05$); 土壤 MBC 在种子成熟期重度放牧区显著高于中度放牧区($P<0.05$) (图 1)。

轻度放牧区, 土壤 MBN 在抽穗期、种子成熟期显著高于返青期、开花期($P<0.05$)。中度放牧区, 土壤 MBN 在返青期显著高于抽穗期、开花期及种子成熟期($P<0.05$), 抽穗期土壤 MBN 显著高于开花期及种子成熟期($P<0.05$), 土壤 MBN 在开花期显著高于种子成熟期($P<0.05$); 重度放牧区, 种子成熟期土壤 MBN 显著高于返青期、抽穗期及开花期($P<0.05$)。土壤 MBN 在返青期、开花期中度放牧区显著高于轻度、重度放牧区($P<0.05$), 而在种子成熟期恰恰相反; 在抽穗期时, 中度放牧区土壤 MBN 显著高于重度放牧区($P<0.05$) (图 1)。

轻度放牧区, 开花期土壤 MBC/MBN 显著高于抽穗期($P<0.05$); 中度放牧区, 土壤 MBC/MBN 在种子成熟期显著高于返青期、抽穗期及开花期($P<0.05$), 土壤 MBC/MBN 在返青期、抽穗期及开花期差异性不显著($P>0.05$); 重度放牧区, 土壤 MBC/MBN 差异性不显著(图 2)。

2.3 土壤酶活性与微生物生物量碳氮的相关性分析

土壤脲酶活性与过氧化氢酶活性呈极显著负相

表 4 放牧强度和物候期对土壤微生物生物量影响的双因素方差分析

Table 4 Two-factor variance analysis of grazing intensity and phenological period effect on soil microbial biomass

| 项目 | 源 | III型平方和 | df | 均方 | F | P |
|------|----------|------------|----|-----------|--------|-------|
| MBC | 放牧强度 | 8525.185 | 2 | 4262.593 | 1.355 | 0.277 |
| | 物候期 | 74505.005 | 3 | 24835.002 | 7.897 | 0.001 |
| | 放牧强度×物候期 | 107034.732 | 6 | 17839.122 | 7.897 | 0.001 |
| MBN | 放牧强度 | 1419.208 | 2 | 709.604 | 17.370 | 0.000 |
| | 物候期 | 664.003 | 3 | 221.334 | 5.418 | 0.005 |
| | 放牧强度×物候期 | 3375.605 | 6 | 562.601 | 13.772 | 0.000 |
| MBC/ | 放牧强度 | 193.058 | 2 | 96.529 | 2.411 | 0.111 |
| MBN | 物候期 | 493.135 | 3 | 164.378 | 4.106 | 0.017 |
| | 放牧强度×物候期 | 385.916 | 6 | 64.319 | 1.606 | 0.189 |

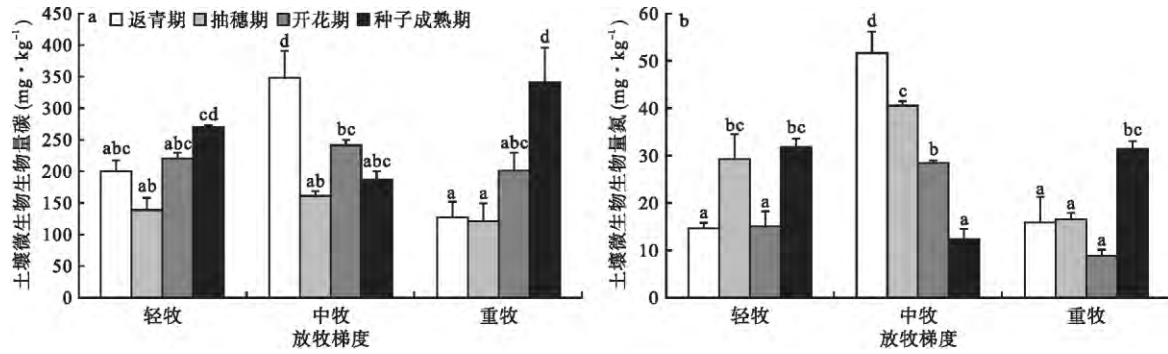


图 1 不同放牧梯度上各物候期土壤微生物生物量碳、微生物生物量氮的动态变化

Fig.1 Dynamic changes of soil microbial biomass carbon and nitrogen under different grazing intensities in different phenological periods

不同小写字母表示不同处理间差异显著。

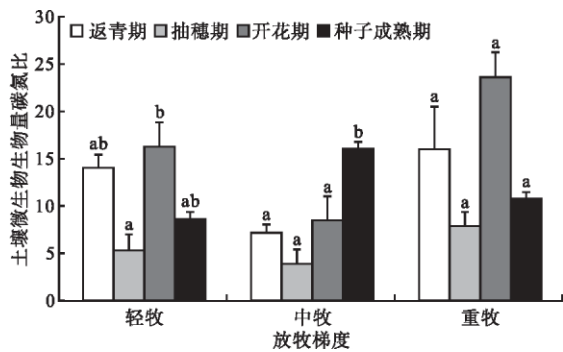


图 2 不同放牧梯度上各物候期土壤微生物生物量碳氮比
Fig.2 Changes of soil microbial biomass carbon and nitrogen ratio under different grazing intensities in different phenological periods

同一放牧梯度上不同小写字母表示差异显著。

表 5 土壤酶活性与微生物生物量的相关性
Table 5 Correlation coefficient among soil microbial biomass carbon and nitrogen and soil enzyme activities

| | 脲酶 | 脱氢酶 | 蔗糖酶 | 过氧化氢酶 | MBC | MBN |
|---------|----------|--------|--------|--------|---------|----------|
| 脱氢酶 | -0.328 | | | | | |
| 蔗糖酶 | 0.264 | -0.009 | | | | |
| 过氧化氢酶 | -0.457** | 0.130 | -0.236 | | | |
| MBC | 0.065 | 0.042 | -0.237 | 0.164 | | |
| MBN | -0.056 | 0.042 | -0.321 | 0.342* | 0.433** | |
| MBC/MBN | 0.139 | -0.057 | 0.276 | -0.237 | -0.013 | -0.705** |

* 在 0.05 水平(双侧) 上显著相关; ** 在 0.01 水平(双侧) 上极显著相关。

关; 土壤过氧化氢酶活性与土壤 MBN 呈显著正相关; 土壤 MBC 与 MBN 呈极显著正相关; 土壤 MBC/MBN 与 MBN 呈极显著负相关(表 5)。

3 讨论

3.1 放牧强度、物候期的变化对土壤酶活性的影响

土壤酶主要来源于动植物、微生物的分泌及其残体等(王启兰等, 2007) , 是土壤中一切生化反应

的主要参与者, 其活性的大小表征了土壤中物质代谢的旺盛程度(Brookes *et al.*, 1985; Powlson *et al.*, 1987; 万忠梅等, 2005)。脲酶是一种专属酶, 能够促进土壤中有有机化合物尿素分子酰胺碳氮键的水解, 水解生成的氨是植物氮素的主要来源, 其活性强度常用来表征土壤氮素供应强度(Su *et al.*, 2005)。本研究中, 土壤脲酶活性在不同物候期均在重度放牧区最大, 原因可能是脲酶活性与土壤肥力有关(文都日乐等, 2010) , 放牧破坏草地土壤结构, 降低了土壤肥力, 导致土壤脲酶活性降低, 而随着牲畜量在一定范围内增大, 虽然土壤结构遭到破坏, 但是牲畜的排泄物增大了部分土壤肥力从而使土壤中脲酶活性增大。当放牧强度不发生变化时, 土壤脲酶活性随着物候期的变化呈现先减小后增大的变化趋势, 这与高雪峰等(2011) 的研究中脲酶活性变化在时间变化梯度上结果一致。土壤微生物对有机物的降解实质上是微生物经过一系列的酶的催化作用下的生物氧化还原反应, 脱氢酶是参加生化氧化反应最重要的酶之一, 脱氢酶能酶促脱氢反应, 它起着氢的中间传递体的作用(王涵等, 2010) , 当物候期发生变化时, 土壤脱氢酶活性在中度放牧区显著高于轻度放牧区, 原因可能是, 适当增加放牧强度使土壤微生物的生化氧化反应加强, 从而使脱氢酶活性增大。蔗糖酶可以水解蔗糖成果糖和葡萄糖。本研究中, 在返青期, 重度放牧区土壤蔗糖酶活性显著高于轻度、中度放牧区, 原因可能是土壤蔗糖酶催化蔗糖水解为果糖和葡萄糖的过程中, 其酶活性与土壤有机质的积累和腐殖化的程度有关, 在轻度放牧区, 牲畜的采食降低了草地有机质的积累和腐殖化, 但其排泄物在一定程度上增大了草地有机质的累积, 而中

度放牧区增大了牲畜的采食,两者之间的平衡遭到破坏,从而使土壤蔗糖酶的活性降低,随着放牧强度的进一步增大,尽管降低了草地有机质的积累和腐殖化,但是牲畜大量的排泄物增大了土壤有机质含量,使得在重度放牧区土壤蔗糖酶活性增大(牛得草等,2013)。过氧化氢酶是在生物呼吸和有机物各种生物化学氧化反应过程中形成的,它可以表示土壤氧化过程的强度(鲁萍等,2002),在同一物候期下,轻度、中度放牧区土壤过氧化氢酶活性显著高于重度放牧区,原因可能是一定的放牧强度下,家畜的排泄物增加了土壤营养物质的含量,从而促进了有机物各种生化氧化反应,增加了土壤中过氧化氢酶活性,但是随着放牧强度的持续性增大,超出了草原生态系统的最适负荷范围,破坏了土壤的结构,导致营养物质的流失,从而阻碍了有机物的生化反应,致使土壤过氧化氢酶活性减小。

3.2 放牧强度、物候期的变化对土壤微生物生物量的影响

土壤微生物生物量是地上植被所需营养元素的转化因子,常被作为土壤生化状况的重要指标(吴秀臣等,2007)。土壤微生物生物量氮是土壤有机氮中最活跃的部分,是土壤有机氮和无机氮转换的关键。在返青期、抽穗期以及开花期阶段,随着放牧强度的增加,土壤微生物生物量呈现先增加然后逐渐降低,可能是由于放牧对土壤微生物生物量的影响是双向的,在某一强度的放牧条件下,随着放牧强度的增大,土壤表层牲畜的排泄物增加,随之表层营养物质增多,所以会呈现出随着放牧强度的增加土壤微生物量的增大,这与曹淑宝等(2012)的研究一致;土壤微生物生物量碳占土壤有机碳比例较小(1%~4%),但是能够有效地反映出土壤全碳的细微变化,是地上植被所需的营养元素的来源,并能够促进土壤养分的有效化,在植被的生长和土壤质量演变的过程中具有重要的作用。在不同的放牧梯度上,土壤微生物生物量碳在抽穗期阶段显著低于返青期、开花期及种子成熟期,原因可能是抽穗期标志着植物由营养生长(根和茎、叶等的生长)转向生殖生长(开花与结果),也就是营养生长和生殖生长旺盛的并进阶段,这是植物一生中生长发育最快,对养分、水分、温度、光照要求最多的时期。

3.3 土壤酶活性和土壤微生物生物量的相关性

陆地生态系统中物质循环和能量流动在很大程度上依赖于土壤酶,土壤酶能够加速底物的转化,良

好的土壤质量能够增加土壤酶的活性(王启兰等,2007)。本研究中,土壤微生物生物量氮与土壤过氧化氢酶活性呈显著正相关,这与曹淑宝等(2012)的研究结果相同。吕桂芬等(2010)在荒漠草原不同退化阶段土壤微生物、土壤养分及酶活性的研究中发现,土壤微生物生物量碳与脲酶活性无相关关系,同样,闫瑞瑞等(2011)在呼伦贝尔草原研究不同放牧强度下土壤微生物生物量碳和氮与土壤酶活性的关系时,也发现土壤微生物生物量碳、土壤微生物生物量氮与脲酶活性无相关关系,这与本研究的结果一致;本研究中,土壤微生物生物量碳与氮呈极显著正相关,这与李世卿等(2013)在研究短期放牧对青藏高原东北边缘高寒草甸土壤及微生物生物碳氮的影响的研究结果一致。以上结果表明,草地生态系统中土壤酶活性、土壤微生物生物量碳氮之间有复杂的关系,需要更大时空尺度上的研究,为草地生态系统的科学管理和退化草地生态系统恢复提供科学依据。

参考文献

- 曹慧,孙辉,杨浩,等. 2003. 土壤酶活性及其对土壤质量的指示研究进展. 应用与环境生物学报, 9(1): 105-109.
- 曹淑宝,刘全伟,王立群,等. 2012. 短期放牧对草甸草原土壤微生物与土壤酶活性的影响. 微生物学通报, 39(6): 741-748.
- 高雪峰,韩国栋. 2011. 利用强度对草原土壤酶活性和养分影响的动态研究. 干旱区资源与环境, 25(4): 166-170.
- 高英志,韩兴国,汪诗平. 2004. 放牧对草原土壤的影响. 生态学报, 24(4): 791-797.
- 关松荫. 1986. 土壤酶及其研究法. 北京: 中国农业出版社.
- 李世卿,王先之,郭正刚,等. 2013. 短期放牧对青藏高原东北边缘高寒草甸土壤及微生物碳氮含量的影响. 中国草地学报, 35(1): 55-66.
- 林璐,乌云娜,田村宪司,等. 2013. 呼伦贝尔典型退化草原土壤理化与微生物性状. 应用生态学报, 24(12): 3407-3414.
- 鲁萍,郭继勋,朱丽. 2002. 东北羊草草原主要植物群落土壤过氧化氢酶活性的研究. 应用生态学报, 13(6): 675-679.
- 吕桂芬,吴永胜,李浩,等. 2010. 荒漠草原不同退化阶段土壤微生物、土壤养分及酶活性的研究. 中国沙漠, 30(1): 104-109.
- 孟凡栋,王长顺,张振华,等. 2013. 青藏高原高寒草地群落植物多样性和地上生物量监测方法的比较研究. 西北植物学报, 33(9): 1923-1929.
- 牛得草,江世高,秦燕,等. 2013. 围封与放牧对土壤微生物和酶活性的影响. 草业科学, 30(4): 528-534.

- 万忠梅, 吴景贵. 2005. 土壤酶活性影响因子研究进展. 西北农林科技大学学报: 自然科学版, **33**(6): 87-92.
- 王 涵, 高树芳, 罗 丹, 等. 2010. Cd、Pb 污染土壤中蛋白酶酸性磷酸酶脱氢酶活性的变化. 农业环境科学学报, **29**(3): 500-505.
- 王 力, 李凤霞, 周万福, 等. 2012. 气候变化对不同海拔高山嵩草物候期的影响. 草业科学, **29**(8): 1256-1261.
- 王启兰, 曹广民, 王长庭. 2007. 放牧对小嵩草草甸土壤酶活性及土壤环境因素的影响. 植物营养与肥料学报, **13**(5): 856-864.
- 吴秀臣, 孙 辉. 2007. 川西亚高山红桦幼苗土壤蔗糖酶活性对温度和大气二氧化碳浓度升高的响应. 应用生态学报, **18**(6): 1225-1230.
- 闫瑞瑞, 闫玉春, 辛晓平, 等. 2011. 不同放牧梯度下草甸草原土壤微生物和酶活性研究. 生态环境学报, **20**(2): 259-265.
- 袁建立, 江小蕾, 黄文冰, 等. 2004. 放牧季节及放牧强度对高寒草地植物多样性的影响. 草业学报, **13**(3): 16-21.
- 张堰青. 1990. 不同放牧强度下高寒灌丛群落特征和演替规律的数量研究. 植物生态学与地植物学学报, **14**(4): 358-365.
- 周华坤, 赵新全, 周 立, 等. 2005. 青藏高原高寒草甸的植被退化与植被退化特征研究. 草业学报, **4**(3): 52-56.
- Brookes PC, Landman A, Pruden G. 1985. Chloroform fumigation and the release of soil nitrogen: A rapid direct extraction method to measure microbial biomass in soil. *Soil Biology and Biochemistry*, **17**: 837-842.
- Hamel C, Vujanovic V, Jeannotte R, et al. 2005. Negative feedback on a perennial crop: Fusarium crown and root rot of asparagus is related to changes in soil microbial community structure. *Plant and Soil*, **268**: 75-87.
- Powelson DS, Brookes PC, Christensen B. 1987. Measurement of soil microbial biomass provides an early indication of changes in total soil organic matter due to straw incorporation. *Soil Biology and Biochemistry*, **19**: 159-164.
- Su YZ, Li YL, Cui JY, et al. 2005. Influences of continuous grazing and livestock exclusion on soil properties in a degraded sandy grassland, Inner Mongolia northern China. *Catena*, **59**: 267-278.

作者简介 徐志超,男,1991年生,硕士研究生,主要从事恢复生态学研究。E-mail: 908010459@qq.com
责任编辑 魏中青

核桃楸不同部位的活性物质 及药用价值研究进展

于雪 胡文忠* 金黎明 侯梦阳 李鹤
(大连民族大学生命科学学院 辽宁大连 116600)

摘要: 核桃楸是我国重要的药源植物,具有良好的生物活性和药用价值,其叶、果和皮均可入药。本文对核桃楸皮、叶和果中的化学成分以及药用价值进行了总结,结合近几年国内外关于核桃楸挥发油、醌类化合物、多糖、蛋白质和黄酮类化合物等的研究进展进行综述,并介绍了核桃楸的抗肿瘤、抗炎抑菌和抗氧化等作用,旨在为研究核桃楸相关的药用价值以及保健功能提供一定的理论依据。

关键词: 核桃楸 化学成分 药用价值

Research of the progress in bioactive substance and medicinal value of different parts of *Juglansmandshurica Maxim*

YU Xue HU Wen-zhong* JIN Li-ming HOU Meng-yang LI He

(College of Life Science, Dalian Nationalities University, Dalian 116600, China)

Abstract: *Juglansmandshurica maximis* is an important medicinal plant in China with good biological activity and medicinal value. All its leaves, fruit, and skin could be used as medicine. At first the chemical component and medicinal value of its leaves, fruit and skin were summarized. Then this paper further states their values on the basis of research on walnut catalpa volatile oil, quinone compounds, polysaccharides, proteins and flavonoids at home and abroad in recent years. Besides, *Juglansmandshurica maximis*'s medicinal functions such as resisting tumor, resisting inflammation and antibacterial and resisting oxidation were listed clearly, too. It tried to provide a theoretical basis for the development of *Juglansmandshurica maximis*'s related medicinal value and healthcare function.

Key words: *Juglansmandshurica maximis*; chemical composition; medicinal value

中图分类号: TS255.1

文献标识码: A

文章编号: 1002-0306(2016)21-0368-05

doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2016.21.063

核桃楸(*Juglansmandshurica Maxim*),又名胡桃、羌桃、胡桃楸、山核桃等,是一种胡桃科的胡桃属植物。核桃楸主要分布于我国东北的长白山、小兴安岭和辽宁东部、河北、山西等地,苏联的远东地区、朝鲜北部也有分布,在我国东北是有名的三大硬阔之一,是非常重要的药源植物,具有很高的开发价值^[1]。核桃楸皮、核桃楸的青龙衣及未成熟的核桃楸果均可作为入药的成分^[2]。在我国民间早有记载,核桃楸叶具有改善人体的代谢以及强壮机体的药理功能^[3-4]。近几年,国内外一些研究人员结合体内外的实验,及生物学实验等研究手段对核桃楸的化学成分和药理活性进行研究,发现核桃楸粗提物和其所含的化学成分都具有很好的生物活性^[5]。研究发现从核桃楸的皮、叶、果等各个部位提取分离出的活性成分含量及其相关功能性各不相同,如果仁中富含

多种不饱和脂肪酸,已被开发成多种功能性油脂产品,其蛋白质含量15%~20%,氨基酸种类齐全,氨基酸模式与人体的较为接近,所以可以用来研发具有良好开发利用和现实意义的脱脂饼粕蛋白产品^[6]。核桃楸叶中富含丰富的鞣质类化合物和黄酮类物质,在抗肿瘤^[6]、抗炎抑菌^[7]以及抗氧化等方面有显著的药理活性。核桃楸皮中富含丰富的醌类、挥发性成分可被广泛应用于医药及食品深加工领域。本文从核桃楸皮、叶、果等实际应用部位出发,对国内外核桃楸的各部位活性成分及其相关研究成果做一综述,旨在为该植物更深入的研究提供参考,同时为核桃楸资源的合理利用及相关产品的高效开发提供新的思路。

1 核桃楸皮中的化学成分

1.1 醌衍生物类

在中药中把具有醌式结构的化学成分叫做醌类

收稿日期: 2016-05-10

作者简介: 于雪(1990-)女,在读硕士,研究方向:食品加工与质量安全控制, E-mail: yuxuedlnu@163.com。

* 通讯作者: 胡文忠(1959-)男,博士,教授,研究方向:食品加工与质量安全控制, E-mail: hwz@dlnu.edu.cn。

基金项目: 国家自然科学基金项目(31471923);中央高校基本科研业务费专项资金重大项目(DC201501020101)。

表1 不同方法提取核桃楸中的胡桃醌^[11-13]

Table 1 In order to extract the juglone of *Juglansmandshurica maximis* in different methods^[11-13]

| 项目 | 回流法 | 超声法 | 冷浸法 | 索氏提取法 |
|-----------|---------|---------|---------|----------|
| 提取量(μg/g) | 664.050 | 603.140 | 565.005 | < 500.00 |

化合物,四种主要的类型为萘醌、苯醌、葱醌和萘醌,目前的研究报道发现核桃楸皮中有十余种以上的萘醌及其苷类化合物^[8]。其中胡桃醌(又名5-羟基-1,4-萘醌和5-羟基-1,4-萘二酮) α -1,4-萘,3,3'-双胡桃醌,3,6'-双胡桃醌等被研究的较多^[9-10]。已有胡桃醌的提取工艺方法有超声法、冷浸法、回流法和索氏提取法,比较而言,回流法提取胡桃醌的效果较好^[11]。

1.2 挥发油

核桃楸皮中含有丰富的挥发油,其具有抗菌、消炎、抗肿瘤的生物学活性^[14]。近年来有关于核桃楸皮中挥发油成分鉴定的报道鲜少,王淑萍^[15]等采用水蒸气蒸馏法对核桃楸皮中挥发油成分进行了提取,鉴定出挥发油成分包含烃、酮、呋喃、醇、蒽、酚、酯七大类39种化合物。香豆素类、石竹烯类和倍半萜类,三类已被确认为药用成分,可用在轻工医药业、合成香料和口服抗凝药物。李金凤^[16]等通过对水蒸气蒸馏法和汽汽萃取法进行比较,对核桃楸皮中挥发油成分进行了提取,其中汽汽萃取法提取出34种有效成分,而蒸汽蒸馏法只提取出19种有效成分。汽汽萃取法能够提取出低沸点易挥发的成分,包括1,1-二乙氧基乙烷,顺-Z- α -环氧化红没药烯,异喹啉等成分。这一方法为后续提取核桃楸皮中低沸点挥发油类等生物活性成分提供了一定的理论依据,为研发抗氧化、抗肿瘤、抑菌抗炎等保健功能产品的开发提供了一种新的方法。

1.3 多糖

有很多报道显示,核桃楸皮中的多糖具有抑制肝癌细胞^[17]、清除自由基^[18]和保护肝脏损伤^[5]等作用。梁启超^[19]等采用水提醇沉法提取鉴定出核桃楸皮中四种均一的多糖为核桃楸多糖-1、核桃楸多糖-2a、核桃楸多糖-2b和核桃楸多糖-3。雷涛^[18]等采用索氏提取器乙醇回流提取核桃楸皮中的粗多糖,并分别对提取液的羟基自由基和超氧阴离子清除能力进行了研究,结果表明,核桃楸皮中的粗多糖可为临床上研发抗氧化药物提供一定的科学依据。

1.4 其他

核桃楸皮中的生物活性成分除醌类衍生物、多糖和挥发油之外还含有黄酮类、二芳基庚酸类化合物、鞣质、多酚类等物质。徐为峰等以核桃楸皮中槲皮素为标准品进行总黄酮含量测定方法的优化,验证核桃楸皮中黄酮类化合物中的主要药效成分为槲皮素、异槲皮素和杨梅苷等^[20-21]。在核桃楸皮中发现了3,3'-二甲氧基鞣花酸、山核桃酚和4,8-二羟基萘酚-1-O- β -D-[6'-O-(3",5"-二甲氧基-4"-羟基苯甲酰基)]吡喃葡萄糖苷等多酚类物质^[22]。研究表明,黄酮类、多酚类等化合物具有良好的抗氧化、抗菌、抗炎等作用,可用在医药、化妆品和食品香料等

行业^[23]。

2 核桃楸叶中的化学成分

2.1 总鞣质

鞣质类成分的结构复杂,人工合成不易,目前国内主要从植物中提取。核桃楸皮中的总鞣质含量仅次于葱醌类和黄酮类化合物,核桃楸皮中总鞣质的提取方法主要有回流法、超声法和冷浸法,而关于核桃楸叶中总鞣质的提取以及研究的报道甚少^[24],尚作华^[25]等通过对核桃秋叶的总鞣质的大孔树脂纯化工艺的研究,实验采用干酵母法对核桃楸叶中总鞣质的含量进行测定,在760 nm处进行波长检测。王添敏^[26]等通过对核桃楸不同药用部位的鞣质进行测定,发现不同部位的鞣质含量如表2,结果表明,核桃楸中鞣质的含量大小为叶>根>茎>皮。核桃楸叶中的鞣质含量丰富是否可以在临床上作为抗肿瘤治疗的辅助药物,其具体的药理作用还需要进一步的开发研究。

表2 核桃楸不同部位鞣质的含量^[26]

Table 2 The content of tannin in *Juglansmandshurica maximis*' different place^[26]

| 部位 | 核桃楸根 | 核桃楸茎 | 核桃楸叶 | 核桃楸皮 |
|------------|-------|-------|-------|------|
| 鞣质含量(mg/g) | 45.66 | 23.40 | 58.24 | 3.58 |

2.2 黄酮类

核桃楸叶作为新的药用部位,富含丰富的黄酮类物质,其中典型的代表化合物有槲皮素和山奈酚。谢健^[27]等通过HPLC法测定了核桃秋叶中的槲皮素和山奈酚的含量,并比较了不同产地核桃楸叶中槲皮素和山奈酚的含量。这一测定方法的探究为后续研究槲皮素和山奈酚在抗肿瘤、抗氧化等活性提供一定的方法依据。任晓蕾^[28]等采用75%乙醇回流法提取了核桃楸中的总黄酮物质。实验测得核桃楸中不同药用部位的总黄酮含量因采收时间不同而呈现出不同,均呈现叶>皮>茎。孙墨珑^[29]等采用常规提取法、索氏提取法和超声波提取法浸提了核桃楸中的总黄酮。通过对核桃楸叶中总黄酮的含量进行测定实验,对核桃楸新的药用部位进行功能产品研发,可提升核桃楸药用价值。

2.3 其他

核桃楸叶中除了含有黄酮、鞣质等主要活性成分外,还含有没食子酸和单宁等成分。尚作华等^[30]采用HPLC方法测定核桃楸叶中没食子酸的含量为1.469~1.482 mg/g。咎志惠等^[23]采用磷钼酸-磷钨酸比色法对核桃楸叶中的单宁进行了测定,并就其抗氧化活性进行了实验,结果表明核桃秋叶中的单宁具有较强的抗氧化性。核桃楸叶中富含药用活性成分,可在机体抗氧化等方面进行药物研发。

3 核桃楸果的化学成分

3.1 蛋白质

目前国外关于核桃楸的研究主要集中在过敏原、核桃楸根、皮、叶方面的提取物,核桃楸种仁蛋白的研究鲜有报道,在国内虽有关于核桃楸蛋白提取工艺条件优化的相关文献报道,但是对核桃楸蛋白水解肽的抗氧化性研究鲜少,孙琳琳^[31]通过碱提酸沉法对核桃楸种仁中的蛋白进行了提取,在优化提取工艺后采用 Osborn^[32]法对蛋白组分进行分析,初步确定谷蛋白为核桃楸种仁蛋白的重要组分。同时对其进行了抗氧化性实验,核桃楸种仁分离蛋白酶解产物对 DPPH 和 ABTS 具有较强的清除作用,这一实验的研究为开发新的植物源型抗癌活性产品提供了一定的理论基础,可以用来制作具有抗癌性类的保健品。李京京^[33]等采用 Shotgun 蛋白质组学方法对核桃楸种仁提取出的蛋白进行组分分析,鉴定识别出 61 个蛋白质,并就其具有功能作用的分子进行了分类。可进一步对核桃楸种仁的医药价值进行研发,开发新型的功能食品。

3.2 核桃楸油

核桃楸种仁中不仅含有丰富的蛋白质和氨基酸,同时还含有硬脂酸、棕榈酸和豆蔻酸三种饱和脂肪酸,还含有亚麻酸、油酸、亚油酸和花生四烯酸等不饱和脂肪酸,可用来降低血液中胆固醇的含量,防止动脉粥样硬化和心脑血管疾病^[34]。核桃楸种仁油的提取方法主要有有机溶剂浸提法、压榨法、水酶法、水剂法和超临界溶剂萃取法^[35],宁宇^[35]等采用超声辅助法提取核桃楸种仁油脂,并对其脂肪酸组成进行了分析,确定核桃楸油中不饱和脂肪酸的含量达 80%。核桃楸油富含丰富的不饱和脂肪酸,既可以作为辅助治疗血栓的药物,也可作为高级食用油,同时又能开发保健产品。

3.3 其他

周媛媛等^[35]先后通过硅胶柱色谱和大孔吸附树脂分离出核桃楸果皮中 37 种化合物,其中豆甾-5-烯-3 β -醇、豆甾-4-烯-3-酮、(24R)-5 α -豆甾烷-3 β -二酮、二氢去氢二愈创木基醇、内消旋二氢愈创木脂酸、松柏醇-9-O- β -D-葡萄糖苷、massonioside D、5-羟基-3,7,3',4'-四甲氧基黄酮、(2S)-5,7,4'-三羟基二氢黄酮、对甲氧基苯乙酸、对苯二酚、达玛烷-20,24-二烯-3 β -醇、2 α ,3 β ,23-三羟基-12-烯-28-齐墩果酸、2 α ,3 β -23-三羟基-12-烯-28-熊果酸、齐墩果酸、熊果酸为首次从胡桃属植物中分离得到^[35-36]。

4 药用价值

4.1 抗肿瘤性

大量的报道显示核桃楸提取物具有良好的抗肿瘤性,Zhu^[37]等对核桃楸提取物进行体外培养 EVC-304 细胞实验,验证核桃楸提取物对由内源过氧化氢诱导的细胞损伤和凋亡是否有抑制作用,实验表明,EVC-304 细胞的内源过氧化氢减少,早期细胞的凋亡比例增加,说明核桃楸对保护内源性过氧化氢诱导的细胞损伤和凋亡有显著作用。Xu^[38]等对核桃楸

皮提取物胡桃醌进行了分子实验,通过 MTT 法检测得出胡桃醌对雄激素敏感的前列腺癌细胞 LNCaP 有诱导抑制作用。这项实验结果的公布为后续研发治疗前列腺癌疾病奠定了基础,为后续分子机制的研究提供了理论指导。Yao^[39]等核桃楸树皮中分离出一种天然蒽醌 1,5-二羟基-9,10-蒽醌-3-羧基酸(JC)通过对 JC 结构活性关系的实验研究,发现 JC 对 HepG2(肝癌)细胞的抑制作用明显,且与 JC 呈剂量关系,JC 抑制 HepG2 细胞增殖与 S 期阻滞有关,降低增殖标记 Ki67 蛋白的表达,可明显通过增加染色质凝聚和 DNA 片段引起 HepG2 细胞凋亡的作用,结果表明 JC 可以有有效的抑制增殖、诱导肝癌 HepG2 细胞凋亡。近来有报道指出,从核桃楸中分离出两种新的萜化合物,分别鉴定为 4-丁氧基-5,8-二羟基-3,4-二氢-萘酚和 4-乙氧基-5,8-二羟基-3,4-二氢-萘酚,二者在抗肿瘤上有显著的功效,可为进一步研发新型的抗肿瘤药物制剂^[40]。

4.2 抗炎抑菌性

核桃楸不同部位具有不同的药理特性,核桃楸叶不同极性部分具有不同的抗菌作用,有研究报道,核桃楸叶有机石油醚相萃取物对金黄色葡萄球菌、大肠杆菌和绿脓杆菌的有最低浓度的抑菌作用效果最好,最低浓度分别为 5.0、2.5、5.0 mg/mL^[41]。核桃和核桃楸同属于胡桃属植物,孙广仁等^[42]采用室内模拟实验、平板菌落计数法测得核桃楸青果皮对空气中的表皮葡萄球菌、黄色葡萄球菌、猪霍乱沙门氏菌、肺炎球菌、痢疾志贺氏菌 5 种人类致病细菌有抑制作用。核桃楸叶乙醇提取物及其乙酸乙酯萃取物对杨树叶枯病和樟子松枯梢病均有抑菌活性^[43]。核桃楸叶和青果皮中不同的提取物对不同种类的致病细菌有不同的抑菌作用。这一抑菌活性可用来开发新型的抑菌制剂以用于果蔬等的杀菌。

4.3 抗氧化性

雷涛等^[18]研究核桃楸皮粗多糖体外清除自由基的能力,实验采用羟基自由基和超氧阴离子分别检测了核桃楸皮粗多糖的体外清除自由基的能力,当样品浓度为 1.87 mg/mL 时,羟基自由基清除率可达到 78.2%,超氧阴离子的清除率可达 71.4%。竺志惠等^[23]研究核桃楸外果皮和叶中的单宁体外清除羟基自由基、超氧阴离子和亚硝酸根离子的能力,比较了对三种自由基的清除效果,结果表明清除 3 种自由基的 IC₅₀ 值大小顺序为:超氧阴离子 > 羟基自由基 > 亚硝酸根离子,其中清除超氧阴离子的 IC₅₀ 值分别为 4.62 mg·mL⁻¹。孙琳琳等^[31]研究了核桃楸种仁分离蛋白酶解产物对羟基自由基和超氧阴离子的清除能力,在加酶量为 4510 U/g,底物浓度为 4.6% 时对羟基自由基和超氧阴离子清除率可达到 90% 以上。核桃楸的外果皮、种仁以及叶中均含有丰富的抗氧化成分,是一种天然的抗氧化剂,医药价值前景开阔,相关的抗氧化保健药物有待开发。

5 结语

核桃楸作为一种传统的中药植物,分布广泛,资源丰富,是其未成熟果皮、根皮、外壳及叶片均可入

药,因此有较大的开发潜力。近年来,随着人们对天然药物成分的关注,核桃楸皮中胡桃醌的抗氧化、抗菌、抗肿瘤和抗炎作用的相关报道越来越多。而目前核桃楸产业在我国的发展面临着核桃楸产品资源利用率低、品种单一的问题,而核桃楸种仁中富含丰富的亚麻酸和亚油酸,可以用来研发高级食用油,可防止皮肤的老化。核桃楸的叶以及青皮的提取物和核桃一样具有丰富的营养物质,可用来研发罐头、蛋白粉等食品,充实核桃楸产品的市场。随着核桃楸各化学成分被陆续鉴定出,各反应机理已被研发,在未来可以在优化加工工艺的基础上将核桃楸产品的生产进行多元化。核桃楸的皮、叶、果以及根茎均具有药物活性,依据不同药用活性进行相关保健产品的研发具有良好的开发前景。

参考文献

- [1]李志美.核桃的开发利用[J].林业调查规划,2004,31:199-201.
- [2]于海玲.核桃楸的研究进展[J].延边大学医学学报,2005(2):154-156.
- [3]宛蕾,陈秀芬,杜江.胡桃青皮抗炎及镇痛作用的研究[J].中药药理与临床,1999(2):30-31.
- [4]陈奇.中药药理研究方法的发展概况与特点[J].中国药理学学会第十次全国学术会议专刊,2009:6.
- [5]Zhao P, Qia C, Wang G, et al. Enrichment and purification of total flavonoids from Cortex Juglandis Mandshuricae extracts and their suppressive effect on carbon tetrachloride-induced hepatic injury in Mice [J]. Journal of Chromatography B, 2015, 1007(15):8-17.
- [6]宋华,包永明,张红梅,等.核桃楸叶提取液对肿瘤细胞的抑制作用[J].大连轻工业学院学报,2001,20(02):109-111.
- [7]高岳芳,张丽,韩颖,等.核桃属植物叶的化学成分及生物活性研究进展[J].西北林学院学报,2010(04):165-169,180.
- [8]吴威,李巍,张易,等.胡桃科植物的化学成分与生物活性研究进展[J].中草药,2013(17):2480-2488.
- [9]许绍惠,唐婉屏,韩志环.核桃楸毒性成分研究[J].沈阳农业大学学报,1986,17(2):34-39.
- [10]图尔贡江·伊力亚则,孙宇,倪慧,等.核桃青皮的研究进展[J].中国现代中药,2015,17(1):77-81.
- [11]王雨萌,时东方,李赛男,等.核桃楸树皮中胡桃醌提取工艺优化[J].北方园艺,2015(05):141-144.
- [12]冯迟,王舒雅,高俊,等.核桃楸青果皮中胡桃醌的提取工艺[J].江苏农业科技,2016,44(5):340-342.
- [13]王文泽,刘洪章,刘淑英,等.核桃楸青果皮中胡桃醌的提取工艺研究[J].北方园艺,2013(15):153-157.
- [14]张伟,卢引,顾雪竹,等.地锦草挥发性成分的HS-SPME-GC-MS分析[J].中国实验方剂学杂志,2012(21):66-68.
- [15]王淑萍,孟祥颖,齐晓丽,等.核桃楸皮挥发油化学成分分析[J].分析化学,2005(7):961-964.
- [16]李金凤,施勃,杜瑞娟,等.不同方法提取核桃楸皮挥发油的气质联用分析[J].中国实验方剂学杂志,2013(9):62-65.
- [17]雷涛,潘艳明,孟繁钦,等.核桃楸皮粗多糖抑制小鼠肝癌细胞H_(22)研究[J].实验室科学,2014(3):30-31,34.
- [18]雷涛,孟令锴,吴宜艳.核桃楸皮粗多糖清除自由基研究[J].实验室科学,2012(02):93-95.
- [19]梁启超,邵桂华,刘爽,等.核桃楸皮多糖的分离纯化及抗瘤活性研究(英文)[J].天然产物研究与开发,2015(08):1340-1345.
- [20]石建辉,王金辉,袁征,等.核桃楸皮的化学成分[J].沈阳药科大学学报,2006(08):501-504.
- [21]徐为峰,王帅,孟宪生,等.中药核桃楸皮中总黄酮含量测定显色条件优化研究[J].辽宁中医药大学学报,2016,18(3):34-37.
- [22]王金兰,张淑霞,李铁军,等.山核桃树皮化学成分研究[J].中草药,2008,39(4):490-493.
- [23]咎志惠,高艳梅,孙墨珑.核桃楸单宁提取及其抗氧化性[J].植物研究,2015(03):431-435.
- [24]姜金慧,霍金海,王伟明.核桃青皮中总鞣质的提取工艺优化[J].中国实验方剂学杂志,2013(02):14-16.
- [25]尚作华,霍金海,王伟明.核桃楸叶总鞣质的大孔树脂纯化工艺考察[J].中国实验方剂学杂志,2014(16):36-38.
- [26]王添敏,孙晓丽,彭雪,等.胡桃楸的根、茎枝、叶和果皮中总鞣质的含量测定[J].中国中药杂志,2011(01):32-36.
- [27]谢健,霍金海,王伟明.HPLC法测定核桃楸叶中槲皮素、山奈酚含量[J].黑龙江中医药,2014(02):54-55.
- [28]任晓蕾,曹贵阳,初东君,等.核桃楸不同药用部位总黄酮含量测定及变化规律[J].中国实验方剂学杂志,2012,24:104-106.
- [29]孙墨珑,宋湛谦,方桂珍.核桃楸总黄酮及胡桃醌含量测定[J].林产化学与工业,2006(02):93-95.
- [30]尚作华,霍金海,王伟明.HPLC法测定核桃楸叶中没食子酸的含量[J].黑龙江中医药,2014(05):67-68.
- [31]孙琳琳.长白山核桃楸种仁蛋白功能性质及其酶解产物的抗氧化活性研究[D].长春:吉林农业大学,2014.
- [32]Liu Y, Zhao G L, Ren J Y, et al. Effect of denaturation during extraction on the conformational and functional properties of peanut protein isolate [J]. Innovative Food Science & Emerging Technologies, 2011, 12(3):375-380.
- [33]李京京,刘春雷,闵伟红,等.利用Shotgun蛋白组学策略分析长白山核桃楸(Juglans mandshurica Maxim)蛋白[J].现代食品科技,2015(09):256-262.
- [34]苏玖玲.核桃楸油的提取、稳定性及降血脂功能研究[D].哈尔滨:东北林业大学,2008.
- [35]周媛媛,蒋艳秋,孟颖,等.青龙衣活性部位的化学成分研究[J].中成药,2015(02):332-335.
- [36]宁宇,蔺立杰,王丰俊.超声波辅助提取核桃楸油及其脂肪酸分析[J].食品科技,2014(10):184-188.
- [37]Zhu W H, Zhang W, Qin Y X, et al. Protective Effects of the Extract of Juglans mandshurica Maxim on Endothelial Cell Damage [J]. Advanced Materials Research, 2014, 912-914:1965-1968.
- [38]XU H, YU X, QU S, et al. Juglone, isolated from Juglans mandshurica Maxim, induces apoptosis via down-regulation of AR expression in human prostate cancer LNCaP cells [J]. Bioorganic (下转第376页)

sausage and its relation to the amount of sodium chloride added [J]. Meat Science 2006 74(3): 557-563.

[27] Casquete R, Benito M J, Martín A, et al. Effect of autochthonous starter cultures in the production of "salchichón", a traditional Iberian dry-fermented sausage, with different ripening processes [J]. Lebensmittel - Wissenschaft und - Technologie 2011 44(7): 1562-1571.

[28] Casquete R, Benito M J, Martín A, et al. Role of an autochthonous starter culture and the protease EPg222 on the sensory and safety properties of a traditional Iberian dry-fermented sausage "salchichón" [J]. Food Microbiology 2011 28(8): 1432-1440.

[29] Giulia T, Fabio C, Cristiana C, et al. Effects of starter cultures and fermentation climate on the properties of two types of typical Italian dry fermented sausages produced under industrial conditions [J]. Food Control 2012 26(2): 416-426.

[30] Simon - Sarkadia L, Pásztor - Huszár K, Dalmadib I, et al. Effect of high hydrostatic pressure processing on biogenic amine content of sausage during storage [J]. Food Research International 2012 47(2): 380-384.

[31] Bover-Cid S, Miguelez-Arrizado J, Latorre-Moratalla L, et al. Freezing of meat raw materials affects tyramine and diamine accumulation in spontaneously fermented sausages [J]. Meat Science 2006 72(1): 62-68.

[32] Rabie M A, Siliha H, Saidy S E, et al. Effects of γ -irradiation upon biogenic amine formation in Egyptian ripened sausages during storage [J]. Innovative Food Science and Emerging Technologies 2010 11(4): 661-665.

[33] Ruiz-Capillas C, Jimenez-Colmenero F. Effect of an argon containing packaging atmosphere on the quality of fresh pork sausages during refrigerated storage [J]. Food Control 2010 21(10): 1331-1337.

[34] 孙钦秀, 董福家, 孔保华, 等. 添加亚硝酸钠和维生素 E 对哈尔滨风干肠中亚硝酸盐的影响 [J]. 食品工业科技, 2015, 12: 296-301 + 306.

[35] 邢必亮, 徐幸莲. 降低腌肉亚硝酸盐含量的复合抗氧化剂研究 [J]. 食品科学 2011 32(1): 104-107.

[36] 李妍姣. 洋葱黄酮类物质对亚硝酸盐生成阻断活性的研究 [D]. 长春: 吉林农业大学 2014.

[37] Liu J, Lin S, Wang Z, et al. Supercritical fluid extraction of flavonoids from Maydis stigma and its nitrite-scavenging ability [J]. Food and Bioproducts Processing 2011 89(4): 333-339.

[38] 刘近周, 林希蕴, 吴孔叨, 等. 大蒜阻断亚硝酸盐合成机理的研究 [J]. 营养学报, 1986 04: 327-334

(上接第 371 页)

& Medicinal Chemistry Letters 2013 23(12): 3631-3634.

[39] Yao Y, Zhang Y W, Sun L G, et al. Juglanthraquinone C, a novel natural compound derived from Juglans mandshurica Maxim, induces S phase arrest and apoptosis in HepG2 cells [J]. Apoptosis 2012 17(8): 832-841.

[40] Li - Na GUO, Rui ZHANG, et al. Xue - Ying GUOb, Identification of new naphthalenones from Juglans mandshurica and evaluation of their anticancer activities [J]. Chinese Journal of

[39] Choi S Y, Chung M J, Lee S J, et al. N-nitrosamine inhibition by strawberry, garlic, kale, and the effects of nitrite-scavenging and N-nitrosamine formation by functional compounds in strawberry and garlic [J]. Food Control, 2007, 18(5): 485-491.

[40] 黄娟, 鲍小丹, 赖强, 等. 紫外光解法研究醌类光敏剂对亚硝酸盐合成的阻断作用 [J]. 辐射研究与辐射工艺学报, 2009, 05: 303-308

[41] 滕涛, 李娟, 陆静, 等. 提取条件对橘皮醇提物在模拟胃液中清除亚硝酸盐能力的影响 [J]. 食品科技, 2016, 02: 255-259.

[42] 李暮春. 风干肠中亚硝酸盐的动态变化及控制研究 [D]. 哈尔滨: 东北农业大学 2014.

[43] 魏萌, 吕玲珠, 刘黄友, 等. 蓝莓对蒸煮火腿中亚硝酸盐和亚硝酸盐的抑制作用研究 [J]. 食品安全质量检测学报, 2014, 5(11): 3610-3614.

[44] 林燕如. 黄皮果不同部位提取液清除亚硝酸盐和阻断亚硝酸盐合成的研究 [J]. 食品工业, 2014(9): 50-53.

[45] Ahn H J, Kim J H, Jo C, et al. Effects of gamma irradiation on residual nitrite, residual ascorbate, color, and N-nitrosamines of cooked sausage during storage [J]. Food Control 2004 15(3): 197-203.

[46] Byun M W, Ahn H J, Kim J H, et al. Determination of volatile N-nitrosamines in irradiated fermented sausage by gas chromatography coupled to a thermal energy analyzer [J]. Journal of Chromatography A 2004 1054(1): 403-407.

[47] Wei Fx, Xu G, Zhou G, et al. Irradiated Chinese rugao ham: changes in volatile N-nitrosamine, biogenic amine and residual nitrite during ripening and post ripening [J]. Meat Science 2009, 81(3): 451-455.

[48] 李木子, 孔保华, 黄莉, 等. 弯曲乳杆菌对风干肠发酵过程亚硝酸盐降解及其理化性质的影响 [J]. 中国食品学报, 2016, 03: 95-102.

[49] 黄耀. 饮用水处理中亚硝酸盐类物质的生物降解研究 [D]. 新乡: 河南师范大学 2014.

[50] Webster T S, Condee C, Hatzinger P B. Ex situ treatment of N-nitrosodimethylamine (NDMA) in groundwater using a fluidized bed reactor [J]. Water research 2013 47(2): 811-820.

[51] Wijekoon K C, Fujioka T, McDonald J A, et al. Removal of N-nitrosamines by an aerobic membrane bioreactor. [J]. Bioresource Technology 2013 141(7): 41-45.

[52] Homme C L, Sharp J O. Differential microbial transformation of nitrosamines by an inducible propane monooxygenase [J]. Environmental science & technology 2013 47(13): 7388-7395.

Natural Medicines 2015 13(9): 707-710.

[41] 孙庆灵, 霍金海, 谢健, 等. 核桃楸叶提取物不同极性部位的抗菌活性研究 [J]. 黑龙江中医药 2014(02): 51-52.

[42] 孙广仁, 姚大地, 由士江. 山核桃青果皮对几种人类致病细菌的抑制作用 [J]. 东北林业大学学报 2009 37(1): 92-93.

[43] 孙墨珑, 宋湛谦, 方桂珍. 核桃楸叶乙醇提取物的抑菌活性及活性成分分析 [J]. 林产化学与工业 2007 27(增刊): 81-84.

分子生物学方法 检测沙门氏菌的研究进展

杨 柳¹ 胡文忠^{1*} 姜爱丽¹ 冯 可^{1,2} 王 馨¹

(1.大连民族大学生命科学学院 辽宁大连 116600;

2.大连理工大学生命科学与技术学院 辽宁大连 116024)

摘 要: 沙门氏菌是一种能引起人畜共患病的病原菌,由其引起的食物中毒事件屡居首位。在食品致病菌的检测中,沙门氏菌的检测是尤为重要的。本文针对目前检测食品中的沙门氏菌常用的分子生物学方法,包括三种 PCR 技术、基因芯片技术、环介导等温技术和焦磷酸测序技术进行了综述,对分子生物学快速检测技术与其他学科技术的联合使用做简单的介绍,并对这些技术的未来发展进行展望。

关键词: 分子生物学;沙门氏菌;聚合酶链式反应;检测技术

Research progress in molecular biology methods for detection of *Salmonella*

YANG Liu¹, HU Wen-zhong^{1,*}, JIANG Ai-li¹, FENG Ke^{1,2}, WANG Xin¹

(College of Life Science, Dalian Nationalities University, Key Laboratory of Biochemical Engineering,
The State Ethnic Affairs Commission-Ministry of Education, Dalian 116600, China;

2.College of Life Science and Biotechnology, Dalian University of Technology, Dalian 116024, China)

Abstract: *Salmonella* is a kind of pathogenic bacteria that can cause human and animal diseases and it is the first place that the food poisoning incidents caused by them. This paper make a simple summary that aim at the methods of molecular biology for the detection of *Salmonella* in food, include three PCR technology, gene chip technology, loop mediated isothermal technology and pyrosequencing, to do a simple introduction of rapid testing of molecular biology technology in conjunction with other disciplines, and to prospects for the future development of these technologies.

Key words: molecular biology; *Salmonella*; PCR; detection technology

中图分类号: TS207.4

文献标识码: A

文章编号: 1002-0306(2016)09-0372-05

doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2016.09.065

沙门氏菌是一种革兰氏阴性杆菌,菌群的种类众多,由于沙门氏菌对营养的要求不高,所以其分布很广泛,是一种能够引起人和畜患病的病原体。肉类(尤其是禽肉)、海产品、蛋类等许多食品都与沙门氏菌病有关,原因是这些食品中含有的营养成分非常丰富,使沙门氏菌生长繁殖速度快,人类摄入含大量沙门氏菌的食品就会引起细菌性感染,进而引发食物中毒^[1]。在很多相关的报道中指出生肉是沙门氏菌污染的主要食品^[2-4]。在我国,每年发生的细菌性食物中毒事件中,由沙门氏菌引起的食物中毒屡居首位,约占40%^[5]。

沙门氏菌的检测在食源性致病菌的检测中处于

一个重要的位置。目前,包括我国在内的许多国家对沙门氏菌的检验普遍采用传统培养方法,得出检验结果大致需4~5 d^[6],该方法耗时长,操作复杂,无法满足市场需求。近几十年来,随着分子生物学持续快速地发展,分子生物学方法用于鉴定食源性致病菌的研究也越来越深入,如今多重PCR检测和分子生物学基础上研发试剂盒已经成为国内外研究的热点,在该领域的研究者也倾向于把分子生物学与微型计算机相结合研发新的检测技术,各种生物传感器检测致病菌的方法也在不断地被挖掘。常用于检测沙门氏菌的分子生物学方法主要包括聚合酶链式反应(PCR)、荧光定量PCR、基因芯片技术、环

收稿日期: 2015-11-24

作者简介: 杨柳(1989-),女,硕士研究生,研究方向:食源性致病菌检测, E-mail: 771084886@qq.com。

* 通讯作者: 胡文忠(1959-),男,博士,教授,研究方向:采后生物学与技术, E-mail: hwz@dlnu.edu.cn。

基金项目: 国家科技支撑计划项目(2012BAD38B05); 国家自然科学基金项目(31172009); 大连市科技计划项目(2012E13SF106); 大连市金州区科技计划项目(2012-A1-049)。

介导等温扩增技术等^[7-9]。

1 聚合酶链式反应(PCR)技术

1.1 常规 PCR 技术

聚合酶链式反应是一种用于放大扩增特定 DNA 片段的分子生物学技术,是 DNA 在体外模拟体内进行快速复制的过程。宫强等人^[10]根据鼠伤寒沙门氏菌的 *ompC* 基因序列设计合成了一对特异性引物对该基因进行特异性扩增,最低检测限达到了 $1 \text{ pg}/\mu\text{L}$,减少了实验成本和实验时间。Radhika 等^[11]用 *invA* 基因设计一对引物并特异性地检测出了致病性的沙门氏菌,而在非沙门氏菌中并没有发现 *invA* 基因。当实验中只有一种基因进行检测的时候,检出限相对较低,并且其特异性也很强。武晓松等人^[12]建立了应用于检测蔬菜中沙门氏菌的 PCR 检测方法,对 180 份市售蔬菜样品进行检测,6 份样品检出沙门氏菌,检出率为 3.33%。经过实验人员的检测并将这些实验方法运用于食品的检测中发现,与传统的生化检测方法相比,PCR 技术检测致病菌更加省时,灵敏度方面也有了很大的提高,但是其成本还是相对较高,而且有假阳性的现象产生。

1.2 多重 PCR 技术

多重 PCR 是指在一个反应体系中,加入与所测目标菌对应的多对特异性引物,如果能够得到与这些引物特异性互补的模板,则可同时在同一反应体系中扩增出多条目的基因片段。其反应原理与常规 PCR 一样,只是所用的引物为多对。李凤梅等人^[13]对沙门氏菌的 *invA* 基因、*fliC* 基因和 *spvR* 基因设计三对特异性引物,建立了一个同时检测鸡源致病性沙门氏菌的多重 PCR 体系,并且得到的检出限为 $4.5 \times 10^2 \text{ cfu}/\text{mL}$ 。冯飞等人^[14]分别根据沙门氏菌 16S rRNA,质粒毒力基因 *spvC* 和致病基因 *invB*、*fimA* 设计 4 对引物对沙门氏菌进行检测,实验中经过一次扩增,并能实现 12 h 内在人工污染的食品样品中检测出沙门氏菌,且灵敏度达到了 $10^2 \text{ cfu}/\text{mL}$ 。闫晗等人^[15]以大肠杆菌的 *phoA* 基因、金黄色葡萄球菌的 *nucA* 基因和沙门氏菌的 *invA* 基因对乳中的这三种致病菌进行多重 PCR 实验,结果表明多重 PCR 检测方法与国家标准中常规的细菌学检测方法相比在时间上缩短了 12~24 h。研究中,实验者用多种具有同源性的基因进行了测试,实验结果都表明了多重 PCR 大大缩短了检测时间,提高了检测的灵敏度,减少了成本,并且在实验中对实验条件进行优化后基因条带都明显得到扩增而没有出现杂带,说明其具有很强的抗干扰性。

多重 PCR 技术是在单重 PCR 技术的基础上进行改良优化的。常规的 PCR 反应只检测一种致病菌,而多重 PCR 实现了在同一个反应体系中同时检测两种或两种以上的致病菌。在这样多种致病菌同时检测的情况下,大大减少了检测所需要的时间,降低了成本。引物的设计对多重 PCR 实验成功的影响很大,各引物之间是否设计得合理,是否会造相互污染是必须考虑的首要问题。食物中的各种成分也会对实验的结果造成不同程度的影响,所以在进行

PCR 实验时,尽量避免人为的污染,以减少实验误差。

1.3 荧光定量 PCR 技术

荧光定量 PCR 是指在 PCR 反应体系中加入荧光物质,利用荧光信号的积累实时监测整个 PCR 过程,最后通过绘制已知浓度的标准液的标准曲线对被测模板进行定量分析的方法。传统的定量 PCR 从细菌的培养到扩增再到电泳,这个过程非常耗时,只能在终点检测,而实时荧光定量 PCR 不需要加入内标,并有效地解决了传统定量 PCR 只能在终点检测的劣势。现今,荧光定量 PCR 实验也发展到了多重检测的阶段,多重荧光定量 PCR 实验也是国内外近年来一直在积极研究的一个方向。魏琼^[16]选择沙门氏菌的 *invA* 基因、志贺氏菌的 *ipaH* 基因和金黄色葡萄球菌的 *nuc* 基因进行三重荧光定量 PCR 实验,其利用建立好的体系直接检测模拟感染细菌样品,最低检出限为 $10^2 \text{ cfu}/\text{g}$ 。杨美荣^[17]等人将荧光定量 PCR 技术应用于饲料中沙门氏菌的检测中,将荧光定量 PCR 技术检测三种样品的检测结果与国家标准方法检测结果进行对比,结果表明了荧光定量 PCR 技术的特异性更强,其检测结果与国家标准方法检测的实验结果相符,能对饲料进行有效的检测,具有省时省力的特点。与行业标准 SNT1059.7-2010^[18]中对沙门氏菌增菌液检测的检出限 $240 \text{ cfu}/\text{mL}$ 相比,研究人员对实时荧光定量 PCR 技术进行了优化,实验结果表明检出限远低于标准中所规定的检出限。

与多重 PCR 检测技术相比,荧光定量 PCR 技术是菌的扩增和检测做到了一步完成,省去了电泳的过程,更快地得到检测结果。而且这个的操作更简单且自动化的程度更高,同时也不需要后期的处理。与普通 PCR 技术相比,该方法人为污染的可能性更低。但是 Jacobsen 等^[19]研究表明,以 DNA 为基础的荧光定量 PCR 不能有效地区别死菌和活菌,所以这种检测技术不适用于含有加热致死的菌体的样品,如加工肉制品、即食食品中的沙门氏菌的检测,比较适用于生鲜食品的检测。

2 基因芯片技术

1991 年 Fodor 等人提出了生物芯片的概念^[20]。基因芯片属于这其中最早的一种芯片,是指 DNA 片段经过 PCR 扩增之后,将这些基因序列标记为未知靶基因序列,将其与集合了大量已知序列探针的基因芯片上特定的基因位点上的探针进行杂交,再通过检测杂交信号来对基因信息进行分析^[21-22]。基因芯片技术在医学、植物基因检测、生命科学研究、食品研究及检测等方面应用也比较广泛^[23-26]。陈昱等人^[27]通过设计志贺氏菌 *ipaH* 基因、沙门氏菌 *stx* 基因和大肠杆菌 O157 的 *stx* 基因的三对特异性引物,用多重 PCR 技术和基因芯片技术相结合对人工模拟样品和实际样品进行检测,实验结果表明这两种方法相结合检测这三种菌的灵敏度都可达到 $50 \text{ cfu}/\text{mL}$,而多重 PCR 电泳的检测的灵敏度为 $500 \text{ cfu}/\text{mL}$ 。通过对比实验发现基因芯片技术不仅在自动化的程度上高于 PCR 技术,其在检测灵敏度上也相对较高。基

因芯片技术是分子生物学与计算机应用的一种融合,只是目前还没有具体的标准对基因芯片技术进行一个综合性的说明。

3 环介导等温扩增技术

环介导等温扩增技术简称 LAMP 技术,是利用具有链置换活性的 BstDNA 聚合酶,通过识别靶序列上 6 段特异区域的 2 条内引物(FIP 和 BIP)和 2 条外引物(F3 和 B3)在恒温条件下短时间内催化合成新的链,并通过靶基因的扩增产物产生反应出现的焦磷酸镁的白色沉淀来判断靶基因是否存在^[28-30]。田楨干等人^[31]运用 LAMP 技术针对沙门氏菌的 *agfA* 基因进行引物设计,并对 54 株临床分离的阳性样本加以验证,实验结果表明分离样本的符合率达到 100%。LAMP 技术不仅在检测的准确率上很高,而且它的灵敏度与普通 PCR 技术相比也要高出很多。王润鑫^[32]针对沙门氏菌的 *invA* 基因进行 LAMP 引物的改良并检测,而庞心怡等人^[33]用沙门氏菌的特异性基因 *invA* 设计引物,并用 LAMP 技术和 PCR 技术对人工污染的样品和实际样品进行检测,他们的结果表明都表明 LAMP 技术的灵敏度可以达到普通 PCR 技术的 100 倍。相对于其他的实验方法,LAMP 技术操作更简单,灵敏度和准确性更高,而且其所需的仪器和试剂相对于 PCR 技术更低,耗时短^[34-35]。

在此基础之上衍生出了实时荧光 LAMP 技术。实时荧光 LAMP 技术是在 LAMP 反应体系中加入发光的荧光基团,利用荧光信号对 LAMP 反应进行实时监测,该方法快捷方便、特异性和灵敏度高,并且可以在源头上控制气溶胶对反应的污染^[36]。虽然 LAMP 技术一直在改良,但是这一技术还是存在很多问题。比如在引物上的设计它相对于 PCR 技术来说要难,而且要筛选出合适的引物还需要大量的工作来验证引物的可靠性,不合理的引物放在同一个管内反应出现假阳性的可能性比较大^[37]。如今 LAMP 技术与实时监测、酶联免疫吸附实验、纳米金技术、电化学传感器、芯片实验室等技术的联用,促进了 LAMP 技术的推广,通过改良,实验检测的过程更简单、而且自动化的程度更高,结果也更加直观和准确,使其在引物设计与产物的特异性检测和分离等方面的缺陷得到了更好的改进和发展,在简便性、敏感性以及快速性等方面的优点更加突出,更加适用于基层和实地使用^[36, 38-39]。

4 焦磷酸测序技术

焦磷酸测序技术是近年发展起来的基于分子水平上的一项快速、准确检测 DNA 短序列的微生物检测技术,并广泛地应用于病毒检测^[40]、微生物检测^[41]和 SNP 分析^[42]等方面。Islam 等人^[43]使用新一代 16s rRNA 基因焦磷酸测序技术,发现了门变形菌门主导 OSPW 和生物膜,进一步深入分析显示较高丰度的 α -和 γ -变形菌序列。曹冬梅等人^[44]设计了测序引物和扩增引物对鼠伤寒沙门氏菌的特异性序列进行了检测,该实验耗时短,与 GenBank 中已知的鼠伤寒沙门氏菌 DNA 序列相比,检测所得的序列的匹配率为 100%。焦磷酸测序技术做到了将微生物进

行最本质的序列检测,这样在很大程度上提高了检测结果的准确性。

5 分子生物学方法检测致病菌的发展前景

本文中的快速检测方法均为研究人员经过实验条件的优化最终得到了较为理想的结果,这些分子生物学快速检测方法在其最优的反应和实验条件下,实验结果表明了其检出限低,检测时间与传统生化检测时间相比大大减少,灵敏度和准确率都达到了一个理想的水平。目前,致病菌快速检测的标准基本上均为行业标准而没有上升到国家标准,只有部分检测标准说明了在该标准所优化的实验条件下的检出限比如 SNT1059.7-2010^[18]。在检测标准如 GBT13091-2002^[45]、SNT2641-2010^[46]、SN/T2651-2010^[47]等中只对结果的判定方法进行了说明,而没有对实验的稳定性、准确度和抗干扰性等进行一个系统的规定。

经过几十年的发展,分子生物学方法的优势越来越明显,但是单一的分子生物学检测方法检测沙门氏菌都还存在很多待解决的问题,比如在检测中如何减少甚至避免假阳性的出现或者通过某一种方法达到只检测出活菌而避免,实验的准确性需要进一步提高,实验过程中出现的人为误差是造成实验失败的主要原因,所以检测技术实现自动化以及计算机与分子生物技术的结合对未来致病菌的检测尤为重要。近年来,分子生物学方法与其他学科进行结合并对检测方法不断地进行改良取得了可喜的研究进展。比如盛翔宇等人^[47]用 PCR-HRM 方法对 32 株沙门氏菌的 *fljB*、*gyrB* 和 *ycfQ* 3 个目的基因进行分型,其分析正确率为 96.9%。金玉娟等人^[48]运用液相芯片技术联合多重 PCR 检测副溶血性弧菌 *tdh* 基因、沙门菌 *invA* 基因、单增李斯特氏菌 *hlyA* 基因和肠出血性大肠埃希氏菌的 *stx1* 基因和 *stx2* 基因也取得了很好的实验结果。沙门氏菌的快速检测方法在不断发展,很多试剂盒在不断被开发。比如姜彦君等人^[49]根据沙门氏菌的 *invA* 基因、大肠杆菌 O157 的 *fliC* 基因和金黄色葡萄球菌的 *Nuc* 基因设计特异性引物,建立了一套快速而且能准确检测这三种致病菌的试剂盒,这一试剂盒的稳定性强、准确度高、所耗时间少。目前,国内对致病菌的 PCR 试剂盒的研发也有很高的关注,针对沙门氏菌的各种商品试剂盒就有十来种,但是这一技术相对于国外来说还不是很成熟,所以在试剂盒的建立上还有很大的发展空间。基于分子生物学技术开发的试剂盒的使用和分子生物学与其他检测技术的联合,更简便、快捷的检测食品中沙门氏菌的污染情况,各学科间的相互借鉴对沙门氏菌的快速检测可能会成为今后的研究热点。

参考文献

- [1] Foley S L, Lynne A M, Nayak R. Salmonella challenges: prevalence in swine and poultry pathogenicity of such isolates [J]. Journal of Animal Science; 2008, 86(14): 149-162.
- [2] Li R C, Lai J, Wang Y, et al. prevalence and characterization of Salmonella species isolated from pigs, ducks and chickens is

- Sichun Province, China [J]. International Journal of Food Microbiology 2013, 163(1): 14-18.
- [3] Cui S H, Li J Y, Sun Z Y, et al. Characterization of Salmonella enterica isolates from infants and toddlers in Wuhan, China [J]. Journal of Antimicrobial Chemotherapy 2009, 63(1): 87-94.
- [4] 陈玲, 张菊梅, 杨小鹏, 等. 南方食品中沙门氏菌污染调查及分型[J]. 微生物学报, 2013, 53(12): 1326-1333.
- [5] Yang B W, Qu D, Zhang X L, et al. Prevalence and characterization of Salmonella Serovars in retail meats of marketplace in Shanxi, China [J]. International Journal of Food Microbiology 2010, 141(12): 63-72.
- [6] 鄢志刚, 徐锋, 王建, 等. 食源性沙门氏菌快速检测技术的应用研究[J]. 上海畜牧兽医通讯, 2008, 01: 19-20.
- [7] 赫英英, 李凤琴, 于红霞. 基于基因水平的沙门菌检测、鉴定及分型研究进展[J]. 卫生研究, 2015, 44(3): 511-515.
- [8] 张萍, 冯芳. 沙门氏菌的检测技术和方法的研究进展[J]. 食品安全质量检测学报, 2015, 6(5): 1834-1841.
- [9] 曹际娟. 肠道沙门氏菌分子检测与分子分型[M]. 中国质检出版社, 中国标准出版社, 2013, 7.
- [10] 宫强, 李战丽, 牛明福, 等. 鼠伤寒沙门氏菌 ompC 基因 PCR 的检测方法[J]. 食品科学, 2015, 36(16): 251-254.
- [11] Radhika M, Saugata M, Murali H S, et al. A novel multiplex PCR for the simultaneous detection of Salmonella enterica and Shigella species [J]. Brazilian Journal of Microbiology, 2014, 45(2): 67-668.
- [12] 武晓松, 江洁, 何煜波, 等. 沙门氏菌 PCR 检测方法的建立及其在蔬菜检测中的应用[J]. 食品工业科技, 2014, 35(15): 320-323.
- [13] 李凤梅, 施开创, 许心婷, 等. 鸡源致病性沙门菌多重 PCR 检测方法的建立及应用[J]. 动物医学进展, 2015, 36(8): 17-23.
- [14] 冯飞, 谢振文, 曾慕衡. 鼠伤寒沙门氏菌多重 PCR 检测方法的研究[J]. 中国生物工程杂志, 2011, 31(1): 65-69.
- [15] 闫晗, 吕国钦, 张洋, 等. 乳品中 3 种常见细菌多重 PCR 检测方法的建立[J]. 食品与发酵工业, 2015, 41(7): 149-154.
- [16] 魏琼. 沙门氏菌、志贺氏菌和金黄色葡萄球菌多重荧光定量 PCR 快速检测方法的研究[D]. 长春: 吉林农业大学, 2011.
- [17] 杨美荣, 马超越. 实时荧光 PCR 技术检测饲料中沙门氏菌的应用研究[J]. 中国畜牧兽医文摘, 2015, 31(8): 217, 175.
- [18] SNT1059.7-2010. 进出口食品中沙门氏菌检测方法实时荧光 PCR 法[S]. 中华人民共和国国家质量监督检验检疫总局, 2010.
- [19] Jacobsen C S, Holben W E. Quantification of m RNA in Salmonella sp. seeded soil and chicken manure using magnetic capture hybridization RT-PCR [J]. Journal of Microbiological Methods 2007(69): 315-321.
- [20] Fodor S P A, Read J L, Pirun GM C. Light directed, spatially addressable parallel chemical synthesis [J]. Science, 1991, 251: 767-773.
- [21] 霍金龙, 苗永旺, 曾养志. 基因芯片技术及其应用[J]. 生物技术通讯, 2007, 18(2): 329-332.
- [22] 程亚楼. 猪的六种常见致病菌基因芯片检测技术的研究[D]. 郑州: 河南农业大学, 2013.
- [23] 熊伟. 基因芯片技术在生命科学研究中的应用进展及前景分析[J]. 生命科学仪器, 2010, 8(4): 32-36.
- [24] 连冬生, 赵树进. 基因芯片技术及其在医药领域的应用[J]. 中国药事, 2008, 22(12): 1097-1104.
- [25] 袁文龙, 康占海, 陶晔, 等. 基因芯片技术及其在植物中的应用[J]. 安徽农业科学, 2010, 38(26): 14279-14280, 14297.
- [26] 于婷婷, 韩飞, 周孟良. 基因芯片在食品研究及检测领域中的应用[J]. 现代农业科技, 2009, 14: 318-319 + 321.
- [27] 陈昱, 潘迎捷, 赵勇, 等. 基因芯片技术检测 3 种食源性致病微生物方法的建立[J]. 微生物学通报, 2009, 36(2): 285-291.
- [28] 叶宇鑫. 沙门氏菌分子生物学快速检测方法研究[D]. 广州: 华南理工大学, 2011.
- [29] Shao Y, Zhu S, Jin C, et al. Development of multiplex loop-mediated isothermal amplification - RFLP (m LAMP - RFLP) to detect Salmonella spp. and Shigella spp. in milk [J]. International Journal of Food Microbiology, 2011, 148(2): 75-79.
- [30] Kokkinos PA, Ziros PG, Bellou M, et al. Loop-mediated isothermal amplification (LAMP) for the detection of Salmonella in food [J]. Food Analytical Methods, 2014, 7: 512-526.
- [32] 王润鑫. 环介导等温扩增技术快速检测肉中沙门氏菌的研究[D]. 保定: 河北农业大学, 2010.
- [33] 庞心怡, 满朝新, 赵玥明, 等. 环介导等温扩增技术快速检测肉中沙门氏菌[J]. 中国食物与营养, 2015, 21(8): 12-15.
- [34] 熊春蓉, 殷旭仁, 宋丽君, 等. 环介导同温 DNA 扩增法 (LAMP) 与解剖-显微镜检法检测血吸虫感染性钉螺效果的比较[J]. 中国病原生物学杂志, 2014, 9(12): 1084-1087.
- [35] 张凤玉, 胡丹, 吕恒, 等. 2 型猪链球菌 89K 毒力岛 IV 型分泌系统 LAMP 检测方法的建立[J]. 中国病原生物学杂志, 2014, 9(2): 113-116 + 121.
- [36] 王保娟. 实时荧光环介导等温扩增技术检测肉中沙门氏菌的研究[D]. 保定: 河北农业大学, 2013.
- [37] 何晓华, 赖玉慧, 卢力, 等. LAMP 技术在肠杆菌科致病菌检测中的研究进展[J]. 食品科学, 2014.
- [38] Ravan H, Yazdanparast R. Development and evaluation of a loop-mediated isothermal amplification method in conjunction with an enzyme-linked immunosorbent assay for specific detection of Salmonella serogroup D [J]. Analytica Chimica Acta, 2012, 6(733): 64-79.
- [39] Seetang-Nun Y, Jaroenram W, Sriurairatana S, et al. Visual detection of white spot syndrome virus using DNA-functionalized gold nanoparticles as probes combined with-mediated isothermal amplification [J]. Molecular and Cellular Probes, 2013, 27(2): 71-79.
- [40] Xiujie Chen, Keng-Ling Wallin, Meng Duan, et al. Prevalence and genotype distribution of cervical human papillomavirus (HPV) among women in urban Tianjin, China [J]. Journal of Medical Virology, 2015, 87(11): 1966-1972.
- [41] 卢熠川, 徐杨, 刘宇, 等. 食品中肠道沙门菌焦磷酸测序方法检测[J]. 中国公共卫生, 2014, 30(6): 835-838.

(下转第 379 页)

题的探讨[J].吉林蔬菜 2012 7:45-48.

[7] Ahmad S. Value Addition and Preservation by Fermentation Technology [M]. Food Processing: Strategies for Quality Assessment. Springer New York 2014: 335-349.

[8] 武俊瑞, 岳喜庆, 石璞, 等. PCR-DGGE 分析东北自然发酵酸菜中乳酸菌多样性[J]. 食品与生物技术学报 2014 33(2): 127-130.

[9] 段楠, 赵金海. 优质天然发酵东北酸菜中乳杆菌的分离、筛选与鉴定[J]. 黑龙江科技信息 2013 25: 137-138.

[10] 张玉龙, 胡萍, 湛剑龙, 等. 发酵酸菜的研究及其进展[J]. 食品安全质量检测学报 2014 5(12): 3998-4003.

[11] 李超, 张力群, 刘通, 等. 东北酸菜传统自然发酵过程中的真核微生物多样性[J]. 东北农业大学学报 2015 46(9): 52-58.

[12] Jung J Y, Lee S H, Kim J M, et al. Metagenomic analysis of kimchi, a traditional Korean fermented food [J]. Applied and Environmental Microbiology 2011 77(7): 2264-2274.

[13] Jung J Y, Lee S H, Lee H J, et al. Effects of Leuconostoc mesenteroides starter cultures on microbial communities and metabolites during kimchi fermentation [J]. International Journal of Food Microbiology 2012 153(3): 378-387.

[14] Xiong T, Li X, Guan Q, et al. Starter culture fermentation of Chinese sauerkraut: Growth, acidification and metabolic analyses [J]. Food Control 2014 41: 122-127.

[15] 杜书. 酸菜自然发酵过程中风味及质地变化规律研究[D]. 沈阳: 沈阳农业大学 2013.

[16] 杨洪岩, 李超, 刘通, 等. 传统东北酸菜发酵过程中的细菌动态及多样性[J]. 食品工业科技 2015 36(1): 154-159, 165.

[17] 邹慧芳, 渠畅, 吴昊, 等. 酸菜发酵过程中微生物多样性的研究进展[J]. 中国调味品 2013 38(11): 107-112.

[18] 岳喜庆, 杜书, 武俊瑞, 等. 酸菜自然发酵过程中的质地变化[J]. 食品与发酵工业 2013 39(4): 68-71.

[19] 崔松林. 乳酸菌接种发酵酸菜的亚硝酸盐含量影响因素研究[J]. 安徽农业科学 2014 42(14): 4415-4417.

[20] Luan TQ. Suan Cai starter culture preparation and its flavour components analysis [D]. Tianjin: Tianjin University of Science and Technology 2011.

(上接第 375 页)

[42] 颜茂华, 许斌, 赵立来, 等. 焦磷酸测序用于 COL1A1 基因多态性与骨肉瘤易感性关系分析[J]. 中国现代医生 2015 35(3): 19-22.

[43] Islam M, Shahinoor, Zhang Yanyan, McPhedran Kerry N, et al. Next-Generation Pyrosequencing Analysis of Microbial Biofilm Communities on Granular Activated Carbon in Treatment of Oil Sands Process-Affected Water [J]. Applied and Environmental Microbiology 2015 81(12): 4037-4048.

[44] 曹冬梅, 倪长鹏, 刘宇, 等. PCR-焦磷酸测序法快速鉴定食品中肠炎沙门菌[J]. 大连: 大连工业大学学报 2015 34(1): 29-33.

[45] GBT13091-2002. 饲料中沙门氏菌的检测方法. 中华人民共和国国家质量监督检验检疫总局 2002.

[21] Xu L, Dai YZ. Effects of different lactic acid bacteria in sour soup on volatile flavor compounds [J]. Food Sci 2008 29(11): 505-509.

[22] 赵金海, 高玉荣, 段楠. 不同发酵条件对人工接种酸菜品质的影响[J]. 黑龙江科学 2014 5(4): 12-14.

[23] 肖然, 陈文珊, 李春. 直接发酵剂对酸菜发酵品质影响的研究[J]. 食品科技 2011 36(1): 64-67.

[24] Wu C, Zheng J, Huang J, et al. Reduced nitrite and biogenic amine concentrations and improved flavor components of Chinese sauerkraut via co-culture of Lactobacillus plantarum and Zygosaccharomyces rouxii [J]. Annals of Microbiology 2014 64(2): 847-857.

[25] 弓志青, 王文亮. 果蔬采后酶促褐变机理及影响褐变的因素研究进展[J]. 中国食物与营养 2012 18(2): 30-33.

[26] 王静. 果蔬采后酶促褐变控制的研究进展[J]. 保鲜与加工 2014 14(4): 49-52+58.

[27] 夏琪娜, 侯俊财, 韩晶, 等. 发酵酸菜护色方法的研究[J]. 中国调味品 2015 40(3): 17-20.

[28] 刘春丽, 刘岩. 袋装酸菜末的防褐变方法研究[J]. 食品科技 2007 7: 225-228.

[29] 励慧敏. 提高酸菜风味包保存期品质的研究[J]. 食品研究与开发 2011 32(8): 53-55.

[30] 吴锦铸, 余小林, 李筱瑜. 延长泡菜和酸菜保质期的研究[J]. 食品与发酵工业 1999 25(3): 41-44.

[31] 陈兵, 原韬. 酸菜水分离提取小肽类天然防腐剂[J]. 黑龙江生态工程职业学院学报 2011 24(2): 36-37.

[32] 曹秋阁. 发酵酸菜保藏过程中品质变化规律及防腐护色的研究[D]. 哈尔滨: 东北农业大学 2014.

[33] 曹秋阁, 夏琪娜, 侯俊财, 等. 响应面法优化酸菜抑菌配方的研究[J]. 食品工业 2014 35(5): 86-89.

[34] 尼海峰, 邓冕, 冯月玲. 东北酸菜产业现状与发展对策[J]. 中国调味品 2011 36(6): 10-12.

[35] 吴兴壮, 陈玉成, 张华, 等. 东北酸菜产业发展现状与对策[J]. 农业工程技术: 农产品加工业 2015 4: 24-26.

[36] 陈家琦, 赵爽. 绿色酸菜生产技术方案[J]. 黑龙江纺织 2013 2: 26-28.

[37] 李恒, 陈功, 李国斌, 等. 营养酸菜新产品的生产工艺研究[J]. 食品与发酵科技 2011 47(6): 1-4+21.

[46] SNT2641-2010. 食品中常见致病菌检测 PCR-DHPLC 法. 中华人民共和国国家质量监督检验检疫总局 2010.

[47] SN/T2651-2010. 肉及肉制品中常见致病菌检测方法基因芯片法. 中华人民共和国国家质量监督检验检疫总局 2010.

[48] 盛翔宇, 张智杰, 薛文成, 等. 聚合酶链反应-高分辨率溶解曲线技术在常见沙门菌分型中的应用研究[J]. 中华实验和临床感染病杂志: 电子版 2015 9(3): 409-413.

[49] 金玉娟, 陈应坚, 甘莉萍, 等. 应用液相芯片技术联合多重 PCR 快速检测四种常见食源性致病菌的研究[J]. 热带医学杂志 2015 15(6): 735-740.

[50] 姜彦君, 都启晶, 范颖华, 等. 食源性致病菌快速检测试剂盒的研制与应用[J]. 中国食品学报 2014 14(1): 224-231.

酸菜发酵工艺与贮藏特性的研究进展

宋春璐 胡文忠* 陈 晨 李晓博
(大连民族大学生命科学学院 辽宁大连 116600)

摘 要: 酸菜作为我国传统的发酵蔬菜制品,在国内尤其是在东北地区深受人们喜爱,有着悠久的历史。经发酵后酸菜不仅保留蔬菜原有的营养成分,而且具有清新爽口,开胃促消化等优点。本文主要对酸菜的发展现状、发酵工艺以及护色、防腐等贮藏特性进行了总结归纳,剖析了我国酸菜产业当前存在的主要问题,并对酸菜产业的发展前景作出展望,以期为我国酸菜产业更快速更稳定的发展提供理论支撑参考。

关键词: 酸菜,发酵工艺,护色,防腐

Research of fermentation and storage characteristics in Chinese sauerkraut

SONG Chun-lu, HU Wen-zhong*, CHEN Chen, LI Xiao-bo

(College of Life Science, Dalian Nationalities University, Dalian 116600, China)

Abstract: Sauerkraut as a Chinese traditional fermented vegetable products, in China especially loved by the people in the northeast of China, and it also has a long history and culture. Fermented sauerkraut not only retain the original nutrients, but also has the advantages of appetizing and refreshing, promoting digestion. Its development situation, fermentation and storage characteristics has been summarized in this paper. We also referred its problems about its processing. It will make a reference for the more rapid and more stable development of sauerkraut in china.

Key words: sauerkraut; fermentation; color protection; preservative

中图分类号: TS255.1

文献标识码: A

文章编号: 1002-0306(2016)09-0376-04

doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2016.09.066

酸菜主要是以大白菜、甘蓝为主要原料,通过微生物发酵作用而成的一种发酵食品。作为我国蔬菜加工产品中产量较多的一种,酸菜在我国有着千年的悠久历史,最早可追溯到我国的周朝时期,但真正的发展是在建国之后,尤其是近20年来,我国的酸菜工业化进程得到长足发展。自然发酵的酸菜贮藏时间可达半年左右^[1],早年间在我国东北和华北各地,特别是东北地区,由于冬季时间较长,新鲜蔬菜较少且不宜贮藏而广泛采用这种方法。酸菜味道咸酸,口感脆嫩,不但能够使人增进食欲、助于消化,还可以促进人体对铁元素的吸收。此外,酸菜不仅保留了蔬菜原有的营养成分如维生素C、氨基酸以及膳食纤维等营养物质,而且还含有乳酸菌等功能性微生物^[2]。近年来,国内外研究学者主要对酸菜的发酵工艺,发酵过程中细菌动态,发酵优良菌株的筛选,风味质地的变化以及护色贮藏等进行研究^[3-5]。本文主要对我国酸菜的发酵工艺以及其贮藏特性进行了总结归纳,并综合论述了目前酸菜工业化生产过程中存在的问题。

1 酸菜的发展概况

从古至今,酸菜便一直深受人们的喜爱,人们利用发酵方法制作酸菜的历史可追溯至周朝。北魏贾思勰在《齐民要术》中详细介绍了用白菜等腌渍酸菜的方法;东汉时期许慎在《说文解字》中提到“菹菜者,酸菜也”,菹即是酸菜^[6]。此后随着文化等方面的交流,传统酸菜的制作工艺也流传到了其他国家和地区^[7]。唐代高僧鉴真东渡日本,将我国酸菜制作之法传入日本;1300年前,腌渍酸菜传入韩国的韩半岛并与当地民族的饮食文化结合而发展形成了著名的韩国泡菜;欧洲腌渍蔬菜的历史可追溯到公元1世纪,当时Plinius首次描述了用白菜、小黄瓜制成酸泡菜腌制品的方法^[8]。由此可以看出我国酸菜对整个世界的饮食文化起到一定的影响作用。随着历史的变迁,酸菜在制作工艺、品种、以及配料上均取得了很大的发展,从而在国内出现了许多具有地方特色的发酵蔬菜制品。常见的酸菜品种有东北酸菜、涪陵榨菜、浙江榨菜、四川泡菜、扬州酱菜、北京酱菜、河南酸菜、山西酸菜等。

我国酸菜的发展主要经历了3个阶段:第一阶段是家庭坛装自然发酵酸菜,即将原料进行晾晒、去

收稿日期: 2015-11-24

作者简介: 宋春璐(1991-),女,硕士在读,研究方向:食品加工与质量安全控制, E-mail: scl1862@163.com。

* 通讯作者: 胡文忠(1959-),男,博士,教授,研究方向:采后生物学与技术, E-mail: hwz@dlnu.edu.cn。

帮、热烫处理后,利用其天然的微生物群在无氧、低温的自然环境下发酵而成;第二阶段为作坊式自然发酵酸菜,即将原料进行去帮处理,加入食盐后自然发酵,为防止酸菜腐败变质而添加防腐剂并用巴氏杀菌处理的酸菜;第三阶段已发展到高新技术的引进——益生菌乳酸菌制剂快速发酵的新型冷链型酸菜^[9],即在作坊式基础上提高发酵设备水平并采用人工接种发酵剂进行发酵的酸菜。现如今随着生物技术和自动化技术的不断提升,我国酸菜产业也随之迅速地发展。其中酸菜产业发展较为突出的地区为我国东北地区。据统计全国酸菜市场的前十名中,东北酸菜企业就占了一半,其中黑龙江翠花蔬菜集团有限公司以竞争力指数 36822.16 位居第一名,与第二名浙江斜桥榨菜食品有限公司 16101.43 相比,产品竞争力指数达到 2.4 倍,以竞争力指数为准,前十名中东北酸菜占到近 64% 之多^[10]。

2 酸菜的发酵工艺

2.1 自然发酵

菌科细菌及假单胞菌属细菌等^[11],经研究发现自然发酵过程中乳酸菌起着最主要和决定性的作用^[12-13],且参与发酵的菌种类类繁多^[14]。除了菌种,温度、厌氧等重要发酵条件之外,食盐在酸菜发酵过程中同样起着十分重要的作用,不同浓度的盐溶液具有不同的渗透压力,不仅可以抑制有害微生物的生长还可以促进发酵,所以严格控制食盐的添加量是保证酸菜质量的重要环节^[15]。随着经济和人们生活节奏的飞速发展,人们对酸菜需求量越来越大,质量要求也越来越高,家庭坛装自然发酵的酸菜已经无法满足人们的需求,为了扩大酸菜的生产规模,目前我国绝大多数酸菜加工企业采用工业发酵池进行自然发酵。

近年来,人们对酸菜自然发酵过程中微生物多样性及其动态、产品风味和质地变化等做了较多研究。杨洪岩和邹慧芳^[16-17]等人研究发现,在平均发酵温度为 16℃ 的条件下,自然发酵酸菜的 pH 在 8 d 内下降到最低值并达到稳定;可溶性糖的消耗主要发生在发酵的前 18 d;亚硝酸盐浓度在发酵的第 6 d 达到最高;发酵的主要有机酸为乳酸,且乳酸菌是发酵的主体细菌,发酵前期以异型发酵乳酸菌 *Leuc.mesenteroides* 为主,发酵中后期, *Lact.curvatus* 占据主导优势。岳喜庆^[18]等人研究结果表明,随着发酵时间的延长,酸菜的硬度、脆度、回复性、凝聚性、咀嚼性在整体上都呈现下降的趋势,且在发酵第 40~60 d 时出现质构特性的临界阶段,酸菜在发酵 40~60 d 时食用品质最佳。

自然发酵的酸菜因晾晒、热烫等传统的加工工艺加上天然发酵条件使其具有口感酸爽、质地脆嫩的独特的风味。但因自然发酵需依赖自然环境,所以自然发酵酸菜同时存在发酵周期较长、质量不稳定、无法批量生产、工业化等缺点。

2.2 工业发酵

工业发酵与自然发酵工艺相比,最显著的区别就是发酵菌种的来源和接种方式。采用人工接种的方式发酵酸菜,具有发酵进程快,发酵周期短,受季

节影响小品质易于控制等优点。我国酸菜工业发酵采用的方法主要为纯种乳酸菌接种发酵和直投式发酵两种。纯种乳酸菌接种发酵工艺是指在接种前杀死部分或全部附着在蔬菜表面上的自然源微生物,随后接种纯种乳酸菌进行发酵;而直投式乳酸菌发酵技术是在纯种乳酸菌发酵技术基础上,将发酵乳酸菌菌种制成粉末状(如菌的冻干粉),直接喷洒或散布于蔬菜表面进行发酵^[19]。

目前,国内外对于采用工业发酵的研究主要集中在发酵剂的配比和发酵工艺参数选择上。相关研究发现^[22-21],人工接种发酵接入的菌种主要有 *Lactobacillus plantarum*、*Lactobacillus mesenteroides*、*Lactobacillus casei* 或 *Lactobacillus plantarum* 与 *Lactobacillus acidophilus* 组成的混合菌群等。赵金海^[22]等人研究表示人工接种发酵酸菜在发酵剂添加量为 3%、菌种比例 L03:L10=1:2、发酵温度为 20℃、发酵时间 16 d,所生产的酸菜色泽、质地和口感均达到最佳。肖然^[23]针对直投式发酵方法在不同发酵条件下的酸菜品质进行了研究,结果表明,温度在 37℃、食盐添加量为 2%、发酵剂接种量为 1% 的条件下发酵 7 d,产品品质、营养含量以及降解亚硝酸盐均达到最佳状态。此外,Chongde Wu^[24]等人利用植物乳杆菌和鲁氏酵母混合接种发酵酸菜,并将其发酵的酸菜鱼自然发酵酸菜进行对比,结果表明:混合接种发酵的酸菜其亚硝酸盐含量与自然发酵过程相比显著降低,而且混合发酵能够使酸菜减少生物胺的形成。

工业发酵摆脱了自然发酵依赖自然环境的缺陷,能够控制酸菜的发酵条件、加快发酵进程、缩短发酵周期;此外,采用人工接种方式发酵还可以减少其他微生物对酸菜品质的影响,保证了产品的稳定性。但目前我国采用工业发酵的酸菜产品在风味和口感上依然达不到传统自然发酵的酸菜。此外,部分酸菜产品仍然存在涨袋、褐变等贮藏问题,这些问题仍然需要我们进行深入的探究。

3 酸菜的贮藏特性

3.1 酸菜护色的研究

色泽是消费者对于食品感官评定的第一步,所以食品的色泽是消费者选择产品时主要考量因素之一。色泽鲜艳健康的食品能够带给消费者愉快的感觉,还可增加食欲,提升消费者的购买意愿。因此,如何保持酸菜天然色泽是生产过程中特别需要注意的问题。褐变是食品在加工过程中一种比较普遍的变色现象,一般是指食品尤其是果蔬原料在贮藏、加工过程中受到机械损伤后所引起的颜色变化。褐变主要分为由酶催化引起的褐变(酶促褐变)和非酶催化引起的褐变(非酶促褐变)^[25]。相关研究发现^[26],果蔬组织中多酚氧化酶和酚类化合物的浓度、氧含量、pH 和温度等因素均对果蔬褐变有一定影响,而人们通常采用热处理、调节 pH、隔绝氧气及硫处理等方法对酶促褐变进行抑制。

在护色剂的选择方面,夏琪娜^[27]等人对市场上常见的 D-异抗坏血酸钠、焦亚硫酸钠两种护色剂进

行实验,得到的最佳添加量分别为0.1%、0.004%,实验表明两种护色剂均能够有效的抑制发酵酸菜的褐变。刘春丽^[28]等人研究了袋装酸菜未在贮藏过程中褐变和霉变的原因及防治方法,实验结果证明,采用护色剂0.05%柠檬酸、0.03%焦亚硫酸钠、与酸菜末以1:1比例浸泡0.5 h后采用真空包装,各种护色剂添加量均按GB2760-2011《食品添加剂使用卫生标准》规定的使用限量添加,在90~95℃下杀菌3 min或者在微波炉中火力100杀菌10 s处理,室温下保藏两个月后产品未发生褐变和霉变现象,同时样品的理化指标及口感也均未发生明显变化。目前国内针对发酵酸菜如何护色的相关研究较少,所以,如何在既不影响酸菜的风味和口感的前提下保证其品质仍然是我们需要努力的方向。

3.2 酸菜的防腐研究

近年来,频繁发生的食品中毒事件和食源性疾病让人们越加关注食品的质量问题。因此,如何防止食品腐败变质以及怎样延长食品的保质期是食品企业最为关注的问题。酸菜产品易发生腐败变质主要是由酸菜中存在的微生物菌群所导致的。酸菜贮藏过程中防止其腐败变质的方法主要有调节酸菜的pH、酸度值、盐度值,控制酸菜的贮藏温度,加热杀菌,采用真空包装以及在产品中加入防腐剂等。励慧敏^[29]研究探讨了不同盐度、酸度、杀菌条件及包装材料对酸菜保存期品质的影响,结果表明高盐度和高酸度有利于酸菜的贮藏,当酸菜在酸度(总酸)为1%、盐度为7%、铝箔膜真空包装、85℃下灭菌15 min的条件下保存6周,产品保持良好的风味和品质。吴锦铸^[30]等人研究表明,酸菜在真空包装以及低温(0~4℃)条件下贮藏品质较佳,且加热杀菌对酸菜的质地、风味和色泽会造成不同程度的影响,所以发酵酸菜不适合做加热杀菌处理。在利用防腐剂防腐方面,陈兵^[31]等人利用紫外分光光度计、Urea-SDS-PAGE凝胶电泳法对酸菜发酵液开展研究,结果发现,酸菜发酵液中的小分子肽类具有良好的抑菌防腐效果,属于抑菌防腐物质。此外,曹秋阁^[32-33]等人选取了脱氢乙酸钠、双乙酸钠、苯甲酸钠、山梨酸钾、壳聚糖、焦亚硫酸钠6种防腐剂对包装前的酸菜进行喷淋,各种防腐剂添加量均按GB2760-2011《食品添加剂使用卫生标准》规定的使用限量添加,包装贮藏后在7、14 d时分别测定菌落总数,结果表明6种防腐剂中脱氢乙酸钠、双乙酸钠和山梨酸钾及苯甲酸钠对酸菜中的微生物抑制效果较好,且双乙酸钠、苯甲酸钠及山梨酸钾三种样品中菌落总数出现降低。随后将优化选取的脱氢乙酸钠、双乙酸钠和山梨酸钾用响应面法确定了发酵酸菜的防腐配方为:脱氢乙酸钠0.016%、双乙酸钠0.266%和山梨酸钾0.032%。

4 酸菜产业存在的主要问题

酸菜作为我国传统的发酵食品,历史悠久,具有独特的风味及口感,能够起到增进食欲、促进消化等作用。近年来,随着市场需求的不断扩大,酸菜的产量也随之增加,使得我国酸菜产业不论从设备、原

料、加工、销售、废料处理以及产品质量控制等方面均出现诸多问题^[34-35]。

4.1 原料缺乏且处理过程简单

近年来,随着酸菜销量的不断增加,原料的需求也随之增大,出现原料供应不足的问题。为了满足市场需求量,各地酸菜加工厂从全国各地大量购进原料,但由于农民白菜生产品种的不断变化,不同品种间微生物群有所不同,容易导致酸菜在发酵过程中出现杂菌污染等问题。

4.2 发酵设施简陋且不规范

目前,国内大多数酸菜加工厂采用为水泥发酵池、树脂罐、泥窖等的发酵设施,这些设施虽然具有成本低、产量大、发酵时间长等优点,但是由于设施体积过大而不易清洗,混入杂菌对酸菜发酵造成一定影响,导致酸菜质量不稳定。

4.3 部分产品仍然存在涨袋、褐变情况

由于发酵工艺不完善,导致目前部分酸菜产品仍出现涨袋、褐变等贮藏问题。因此,如何提高酸菜的品质,延长酸菜货架期依然是我们努力的方向。

4.4 综合利用程度低,发酵液后处理差

在工厂化生产中,切分原料留下的白菜帮、叶及酸菜梗等只有少部分被利用,绝大部分以垃圾形式扔掉,造成资源浪费和环境污染。

5 展望

酸菜作为我国传统的发酵蔬菜食品,应该具有更好的发展前景。未来,我国酸菜产业的发展应朝着从原料、发酵、加工再到运输、销售的“一站式”方向发展。建立自己的原料基地,严格控制原料的品种,确保原料的质量过关。采用L-乳酸菌或益生菌代替其他菌发酵,完善、优化发酵设施;准确掌握酸菜的发酵条件,确保产品的质量稳定^[36]。采用全程冷链运输模式,确保产品在运输过程中的质量安全。此外,在国内外现有的技术和资源基础之上,对产品生产的全过程实施监控,加强新型产品的研发^[37],为酸菜产业更快更稳的发展做出更大的努力。

参考文献

- [1] 韩国玲,刘安军.东北酸白菜人工接种发酵工艺及挥发性成分的研究[J].食品研究与开发,2010,3:126-129.
- [2] 张鲁冀,孟祥晨.自然发酵东北酸菜中乳杆菌的分离与鉴定[J].东北农业大学学报,2010,41(11):125-131.
- [3] Palani K, Harbaum-Piayda B, Meske D, et al. Influence of fermentation on glucosinolates and glucobrassicin degradation products in sauerkraut[J]. Food chemistry, 2016, 190: 755-762.
- [4] Yu Z, Zhang X, Li S, et al. Evaluation of probiotic properties of Lactobacillus plantarum strains isolated from Chinese sauerkraut[J]. World Journal of Microbiology and Biotechnology, 2013, 29(3): 489-498.
- [5] Wu R N, Wu Z X, Zhao C Y, et al. Identification of lactic acid bacteria in suancai, a traditional Northeastern Chinese fermented food, and salt response of Lactobacillus paracasei LN-1[J]. Annals of Microbiology, 2014, 64(3): 1325-1332.
- [6] 李宝树,杨文铎.关于东北酸菜(酸渍大白菜之一)若干问

题的探讨[J].吉林蔬菜 2012, 7: 45-48.

[7] Ahmad S. Value Addition and Preservation by Fermentation Technology [M]. Food Processing: Strategies for Quality Assessment. Springer New York 2014: 335-349.

[8] 武俊瑞, 岳喜庆, 石璞, 等. PCR-DGGE 分析东北自然发酵酸菜中乳酸菌多样性[J]. 食品与生物技术学报 2014, 33(2): 127-130.

[9] 段楠, 赵金海. 优质天然发酵东北酸菜中乳杆菌的分离、筛选与鉴定[J]. 黑龙江科技信息 2013, 25: 137-138.

[10] 张玉龙, 胡萍, 湛剑龙, 等. 发酵酸菜的研究及其进展[J]. 食品安全质量检测学报 2014, 5(12): 3998-4003.

[11] 李超, 张力群, 刘通, 等. 东北酸菜传统自然发酵过程中的真核微生物多样性[J]. 东北农业大学学报 2015, 46(9): 52-58.

[12] Jung J Y, Lee S H, Kim J M, et al. Metagenomic analysis of kimchi, a traditional Korean fermented food [J]. Applied and Environmental Microbiology 2011, 77(7): 2264-2274.

[13] Jung J Y, Lee S H, Lee H J, et al. Effects of Leuconostoc mesenteroides starter cultures on microbial communities and metabolites during kimchi fermentation [J]. International Journal of Food Microbiology 2012, 153(3): 378-387.

[14] Xiong T, Li X, Guan Q, et al. Starter culture fermentation of Chinese sauerkraut: Growth, acidification and metabolic analyses [J]. Food Control 2014, 41: 122-127.

[15] 杜书. 酸菜自然发酵过程中风味及质地变化规律研究[D]. 沈阳: 沈阳农业大学 2013.

[16] 杨洪岩, 李超, 刘通, 等. 传统东北酸菜发酵过程中的细菌动态及多样性[J]. 食品工业科技 2015, 36(1): 154-159, 165.

[17] 邹慧芳, 渠畅, 吴昊, 等. 酸菜发酵过程中微生物多样性的研究进展[J]. 中国调味品 2013, 38(11): 107-112.

[18] 岳喜庆, 杜书, 武俊瑞, 等. 酸菜自然发酵过程中的质地变化[J]. 食品与发酵工业 2013, 39(4): 68-71.

[19] 崔松林. 乳酸菌接种发酵酸菜的亚硝酸盐含量影响因素研究[J]. 安徽农业科学 2014, 42(14): 4415-4417.

[20] Luan TQ. Suan Cai starter culture preparation and its flavour components analysis [D]. Tianjin: Tianjin University of Science and Technology 2011.

(上接第 375 页)

[42] 颜茂华, 许斌, 赵立来, 等. 焦磷酸测序用于 COL1A1 基因多态性与骨肉瘤易感性关系分析[J]. 中国现代医生 2015, 35(3): 19-22.

[43] Islam M, Shahinoor, Zhang Yanyan, McPhedran Kerry N, et al. Next-Generation Pyrosequencing Analysis of Microbial Biofilm Communities on Granular Activated Carbon in Treatment of Oil Sands Process-Affected Water [J]. Applied and Environmental Microbiology 2015, 81(12): 4037-4048.

[44] 曹冬梅, 倪长鹏, 刘宇, 等. PCR-焦磷酸测序法快速鉴定食品中肠炎沙门菌[J]. 大连: 大连工业大学学报 2015, 34(1): 29-33.

[45] GBT13091-2002. 饲料中沙门氏菌的检测方法. 中华人民共和国国家质量监督检验检疫总局 2002.

[21] Xu L, Dai YZ. Effects of different lactic acid bacteria in sour soup on volatile flavor compounds [J]. Food Sci 2008, 29(11): 505-509.

[22] 赵金海, 高玉荣, 段楠. 不同发酵条件对人工接种酸菜品质的影响[J]. 黑龙江科学 2014, 5(4): 12-14.

[23] 肖然, 陈文珊, 李春. 直接发酵剂对酸菜发酵品质影响的研究[J]. 食品科技 2011, 36(1): 64-67.

[24] Wu C, Zheng J, Huang J, et al. Reduced nitrite and biogenic amine concentrations and improved flavor components of Chinese sauerkraut via co-culture of Lactobacillus plantarum and Zygosaccharomyces rouxii [J]. Annals of Microbiology 2014, 64(2): 847-857.

[25] 弓志青, 王文亮. 果蔬采后酶促褐变机理及影响褐变的因素研究进展[J]. 中国食物与营养 2012, 18(2): 30-33.

[26] 王静. 果蔬采后酶促褐变控制的研究进展[J]. 保鲜与加工 2014, 14(4): 49-52+58.

[27] 夏琪娜, 侯俊财, 韩晶, 等. 发酵酸菜护色方法的研究[J]. 中国调味品 2015, 40(3): 17-20.

[28] 刘春丽, 刘岩. 袋装酸菜末的防褐变方法研究[J]. 食品科技 2007, 7: 225-228.

[29] 励慧敏. 提高酸菜风味包保存期品质的研究[J]. 食品研究与开发 2011, 32(8): 53-55.

[30] 吴锦铸, 余小林, 李筱瑜. 延长泡菜和酸菜保质期的研究[J]. 食品与发酵工业 1999, 25(3): 41-44.

[31] 陈兵, 原韬. 酸菜水分离提取小肽类天然防腐剂[J]. 黑龙江生态工程职业学院学报 2011, 24(2): 36-37.

[32] 曹秋阁. 发酵酸菜保藏过程中品质变化规律及防腐护色的研究[D]. 哈尔滨: 东北农业大学 2014.

[33] 曹秋阁, 夏琪娜, 侯俊财, 等. 响应面法优化酸菜抑菌配方的研究[J]. 食品工业 2014, 35(5): 86-89.

[34] 尼海峰, 邓冕, 冯月玲. 东北酸菜产业现状与发展对策[J]. 中国调味品 2011, 36(6): 10-12.

[35] 吴兴壮, 陈玉成, 张华, 等. 东北酸菜产业发展现状与对策[J]. 农业工程技术: 农产品加工业 2015, 4: 24-26.

[36] 陈家琦, 赵爽. 绿色酸菜生产技术方案[J]. 黑龙江纺织 2013, 2: 26-28.

[37] 李恒, 陈功, 李国斌, 等. 营养酸菜新产品的生产工艺研究[J]. 食品与发酵科技 2011, 47(6): 1-4+21.

[46] SNT2641-2010. 食品中常见致病菌检测 PCR-DHPLC 法. 中华人民共和国国家质量监督检验检疫总局 2010.

[47] SN/T2651-2010. 肉及肉制品中常见致病菌检测方法基因芯片法. 中华人民共和国国家质量监督检验检疫总局 2010.

[48] 盛翔宇, 张智杰, 薛文成, 等. 聚合酶链反应-高分辨率溶解曲线技术在常见沙门菌分型中的应用研究[J]. 中华实验和临床感染病杂志: 电子版 2015, 9(3): 409-413.

[49] 金玉娟, 陈应坚, 甘莉萍, 等. 应用液相芯片技术联合多重 PCR 快速检测四种常见食源性致病菌的研究[J]. 热带医学杂志 2015, 15(6): 735-740.

[50] 姜彦君, 都启晶, 范颖华, 等. 食源性致病菌快速检测试剂盒的研制与应用[J]. 中国食品学报 2014, 14(1): 224-231.

鲜切果蔬次生代谢产物合成的研究进展

邵文俊 胡文忠* 姜爱丽 杨 柳

(大连民族大学生命科学学院 辽宁大连 116600)

摘要: 果蔬组织在切割后产生次生代谢物形成愈伤组织,同时也发生乙烯生理效应,致使组织本身的代谢增强,呼吸速率增加,从而加速组织解体与衰老。次生代谢物还会引起酶催化反应和脂膜代谢,导致果实软化。本文主要介绍了由鲜切果蔬的次生代谢产物所引发的愈伤组织形成、呼吸代谢及酶促褐变、脂膜代谢等反应,同时对鲜切果蔬次生代谢中存在的问题进行了归纳,对鲜切果蔬未来发展前景进行展望,为鲜切果蔬的研究提供一定的理论依据。

关键词: 苯丙烷代谢,木质化,愈伤组织,乙烯,脂膜代谢

The research progress in synthesis of secondary metabolites in fresh-cut fruit and vegetable

SHAO Wen-jun, HU Wen-zhong*, JIANG Ai-li, YANG Liu

(College of Life Science, Dalian Nationalities University, Dalian 116600, China)

Abstract: After cutting organizations form callus produce secondary metabolites, meanwhile it happens physiological effects of ethylene, causes the enhancement of metabolism, increases breathing rate, so as to speed up the dissolution of the organization and aging. Secondary metabolism will cause enzymatic reactions and lipid metabolism, resulting in fruit softening. This paper described the fresh-cut fruit and vegetable callus formation, secondary metabolite synthesis, respiration and enzymatic browning, lipid metabolism, and the physiological and biochemical reactions that occur in the fresh-cut fruits and vegetables in the problems and prospects discussed, and it provided a theoretical basis for the study.

Key words: benzene propane metabolism; lignifications; callus; ethylene; the metabolism of lipid membrane

中图分类号: TS255.2

文献标识码: A

文章编号: 1002-0306(2016)18-0362-05

doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2016.18.061

鲜切果蔬是遭受人为机械损伤的生命有机体。果蔬组织在鲜切后造成了极大的伤害,组织结构遭到了破坏,与一般的局部机械伤害不同,鲜切对植物生理代谢、风味品质以及安全性都产生了较大影响。植物组织在经历伤害后,受伤部位会产生信号分子,诱导一系列具有抗菌活性的低分子量次生代谢产物的合成,从而对受伤部位进行防御调控,一方面产生愈伤组织愈合伤口,另一方面阻止进一步伤害发生。同时,还会诱导其他反应发生,如乙烯的生理效应,呼吸褐变。本文综述了果蔬在鲜切伤害后发生的一系列反应,主要在苯丙烷代谢产生的次生代谢产物,为鲜切果蔬加工和保鲜提供了一定的理论依据,对进一步研究鲜切果蔬产生的次生代谢产物具有理论价值和实际意义。

1 次生代谢产物合成

果蔬在鲜切后伤口产生次生代谢物,次生代谢物是一类非生长发育所需的小分子化合物,如酚类、萜类化合物、生物碱、有机酸等,其中研究最多的是

酚类物质。

1.1 酚类物质的合成

在果蔬中含有大量的酚类物质,这种次生代谢产物与木质素和酚类色素的合成、细胞发育、组织褐变及抵抗外界病原微生物侵染等都有着密切的联系^[1]。积累酚类物质即可以修复伤害,同时又促进褐变的发生。刘程慧等^[2]对甘薯进行鲜切实验,发现切割后酚类物质会随着苯丙氨酸解氨酶的活性增加而增加。郁志芳等^[3]研究表明,莲藕经过鲜切后产生大量酚类物质,主要是儿茶酚,储藏过程中含量呈先上升后下降的趋势,是鲜切莲藕褐变的主要原因。罗海波等^[4]实验表明,鲜切茭白冷藏期间酚类物质总峰面积呈先下降后上升的趋势。果蔬经过鲜切后会影响到酚类物质的表达,酚类物质的增加会影响果蔬伤口处褐变等一系列反应,同时促进愈伤组织的生成。

1.2 萜类化合物

萜类化合物是一类天然烃类化合物,又称类异

收稿日期: 2016-03-23

作者简介: 邵文俊(1993-),女,在读硕士研究生,研究方向:食品加工与质量安全控制, E-mail: 494715420@qq.com。

* 通讯作者: 胡文忠(1959-),男,教授,研究方向:食品加工与质量安全控制, E-mail: hwz@dlnu.edu.cn。

基金项目: 国家自然科学基金项目(31471923, 31340038)。

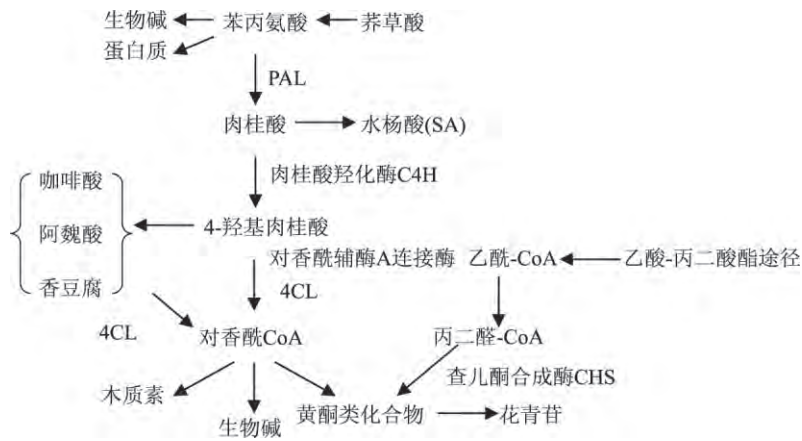


图1 苯丙烷代谢途径

Fig.1 Benzene propane metabolism pathway

戊二烯,广泛存在于植物体内。植物中的萜类物质可以分为初生代谢物和次生代谢物,其中初生代谢物有赤霉素、醌类、植物激素、胡萝卜素等,其作用是保证生物膜系的完整性,也在植物生长发育及传递细胞膜上电子等;次生代谢萜类物质主要是植物与环境间相互作用^[3]。近年来,萜类化合物成为植物次生代谢领域的研究热点之一,通过研究萜类化合物的生物合成途径和关键酶,运用基因工程等手段大量获取萜类化合物。

2 次生代谢相关反应

2.1 苯丙烷代谢

植物组织在受到机械伤害后主要通过苯丙烷代谢产生酚类物质,同时苯丙烷代谢在植物防御过程中也发挥至关重要的作用,其中酶和产物(如植保素、木质素、类黄酮、酚酸等)的变化与果蔬的抗性密切相关^[5]。图1为苯丙烷代谢过程示意图^[6]。

2.2 苯丙氨酸解氨酶

苯丙氨酸解氨酶(PAL)是连接初级代谢和苯丙烷类代谢的寡聚酶,对植物有着重要的生理意义。PAL主要存在于细胞质、线粒体、叶绿体等细胞器。在苯丙烷类代谢途径中,中间产物是肉桂酸、对香豆酸、咖啡酸等,这些产物既可转化为水杨酸、香豆素等,也可形成对香豆酰辅酶A酯,再经过多种反应转化为木质素、黄酮类化合物、生物碱、花青苷等次生代谢产物,这些产物对植物的生长发育起到至关重要的作用。苯丙氨酸代谢活性增强是果蔬诱导抗性增加后的典型反应,PAL参与了多种激发诱导反应的抗性,其活性的增强可以有效增强植物对病原侵染抵抗能力,与多酚氧化酶(PPO)协同作用的代谢产物木质素可作为植物的防御屏障^[7]。

在植物和少数微生物中,L-苯丙氨酸被PAL催化脱氨生成肉桂酸和氨^[8],PAL是苯丙烷类反应过程中的限速酶。研究发现,茄子^[9]、甘薯^[9]和胡萝卜^[10]受到机械损伤后,PAL活性均呈现先升后下降的趋势。原因主要是逆境伤害诱导机体产生植保素等作用于修复伤害,而当次生代谢物质较多时会反馈抑制PAL,阻止植物组织中营养物质的进一步消耗^[11]。潘永贵等^[12]研究发现,在鲜切莲藕、荸荠贮藏过程

PAL活性一直在增加,特别是在贮藏初期和末期的活性上升速度较快。调整贮藏温度、加入化学试剂、运用气调包装以及涂膜均作为影响PAL活性的方法。魏敏等^[13]研究发现2℃的低温贮藏环境可以有效降低鲜切苹果中PAL的活性。同时,利用50℃温水浸泡处理,也可以使鲜切芹菜中的PAL活性降低,保持产品品质。除此之外,0.3~0.9 mol/L甘露醇溶液浸泡可抑制鲜切生菜中PAL活性的增加^[14]。将0.1、2、4 mmol/L水杨酸(SA)和1.2 g/100 mL壳聚糖分别涂膜鲜切莲子表面后于4℃贮藏,结果发现PAL活性因此可以控制^[15-16]。温度、机械伤害、光、病原菌侵染、生长素、乙烯等都会在转录水平上诱导PAL的基因表达。

研究发现,PAL在植物的木质化组织中活性较高。Nakashima等^[17]通过观察百日草叶肉细胞研究苯丙烷类代谢酶类与木质化的关系,发现PAL活性随着木质素合成的增加而提高,在木质化期间微粒体和细胞壁的PAL活性快速增强,细胞溶质中的PAL活性也急速上升。

2.3 苯丙烷代谢的影响因素

2.3.1 茉莉酸对苯丙烷代谢的影响 茉莉酸(JA)是一类脂肪酸的衍生物,鲜切果蔬的组织细胞感受到切割伤害刺激后,能够刺激信息传递,引起JA及其衍生物含量显著增加。JA作为感知伤害信号分子,会使一系列防御反应有关的基因进行表达,也能间接诱导植物中次生代谢物质的产生,如苯丙烷类代谢中的关键酶PAL,进而影响苯丙烷类代谢^[18]。在脂膜氧化过程中,亚麻酸被脂氧合酶(LOX)等酶催化生成茉莉酸甲酯(MeJA),其具有JA相同的性质,而且更为稳定。闫媛媛等^[18]研究表明,对于鲜切富士苹果,MeJA处理组与空白对照组比较可以显著提高PAL活性,说明MeJA可以提高苹果内部植保素和木质素的生成速率,来修复鲜切对植物的伤害。

2.3.2 水杨酸对苯丙烷代谢的影响 水杨酸(邻羟基苯甲酸,SA)是存在于植物体内的酚类化合物,与植物抗机械伤害和抗病性密切相关的信号分子。水杨酸参与调控植物体内的许多生理生化过程,如细胞生长、呼吸作用、气孔开闭、衰老、种子萌发、幼苗发育等,在植物对生物及非生物胁迫中起到重要作

用,诱导植物产生抗性。果蔬经受伤害(机械伤害、病原伤害等)后促进SA的合成,诱导多种基因的表达和抗病有关的蛋白质,如蛋白酶抑制剂等^[19]。SA能影响细胞膜的特性,果蔬在经过鲜切后细胞膜破裂,伤害部位的细胞壁破损,同时发生木质化,产生木质素来保护细胞组织^[20]。

2.3.3 内源乙烯对苯丙烷代谢的影响 植物在开始生长时产生乙烯,伤口也会诱导乙烯迅速增加,即伤乙烯形成^[21]。乙烯不仅是一种调节植物组织后熟衰老的植物激素,还是介导植物产生抗病防御反应的第二信使^[22]。乙烯通过促进PAL和过氧化物酶(POD)活性的升高,使富含羟脯氨酸的糖蛋白在细胞壁中积累以及提高植保素和木质素的合成率等方式提高植物的抗病防御能力^[23-24]。同时,乙烯还能促使单宁的迅速生成^[25],合成的单宁能与蛋白紧密结合,因此具有很好的防御功能,另外单宁的聚合物-类黄酮以及单宁的水解产物-没食子酸都是苯丙烷代谢途径的产物,都具有优良的抗氧化和防御能力^[26]。所以乙烯可以直接和间接的影响苯丙烷类代谢途径。

姜爱丽等^[26]实验证明,乙烯处理对蓝莓既有催熟作用又能引发防御反应,较高浓度的乙烯处理会引起内源乙烯量的增加,具体表现为促进呼吸代谢的加速和衰老进程的加快,而较低浓度的乙烯(如1 mL/L)处理没有引起内源乙烯合成量的增加,表现为抗性和贮藏效果的提高。可见适当浓度的乙烯处理能引发蓝莓果实的防御反应,从而提高保鲜效果,延长保质期。有研究显示,外源乙烯处理能降低脱落酸(ABA)的浓度,而脱落酸是诱发细胞发生栓化作用的主要原因^[21]。

2.4 木质化

当果蔬遭受机械伤害(包括鲜切)后,其受伤害部位邻近细胞的细胞壁通过苯丙烷代谢积累木质素,由此发生栓化或木质化,如胡萝卜、马铃薯、柑桔类等,同时栓化层下面细胞会分裂形成创伤周皮,形成愈伤组织^[27]。刘国强等^[28]研究表明,在冷藏期间枇杷的肉桂酸、香豆酸和咖啡酸含量明显下降,这与果肉组织发生木质化的进程基本一致,三者含量的变化与木质素合成密切相关。愈伤组织的形成有利于防止组织脱水和避免病菌入侵,如Neubauer^[29]等在实验中证实,马铃薯的伤口木质化形成的木栓形成层能有效地避免微生物的侵染并降低蒸腾失水的速率。研究表明,许多果蔬品质劣变的直接原因是木质化,如枇杷果实、竹笋、绿芦笋及胡萝卜等^[30-33]。

木质素属于酚类化合物,产生于植物次生代谢,是构成细胞壁次生结构的主要成分,在植物贮藏过程中木质素含量增加导致组织质地老化^[34]。木质素主要通过四种途径阻止真菌在细胞中生长:第一,木质素能降低真菌对细胞的机械穿透能力;第二,伤口处细胞壁的木质化可以降低真菌酶的溶解力,从而机械的避免细胞壁的糖类物质被真菌酶分解;第三,木质化还可以阻止真菌中酶和毒素进一步侵染寄主,阻止真菌获得寄主的水分和养分;第四,木质素

的低分子量前体和聚合过程中产生的自由基能够使真菌细胞酶和毒素钝化,减少对寄主的伤害^[34]。

目前已经证实草本植物木质素与多糖的交联结构来自于阿魏酸酯或脱氢双阿魏酸酯与木质素单体或低聚体的偶联反应^[35],即阿魏酸或阿魏酸酯常作为木质化过程中的成核位置,它们的共聚合使得游离的木质素单体能够在木质化早期通过自由基聚合的方式固定于细胞壁上。因此,有足够的证据认为阿魏酸或阿魏酸酯也是木质素形成初期的天然成分^[36]。

2.5 呼吸代谢与酶促褐变

鲜切的果蔬组织发生次生代谢后,会在表面形成愈伤组织,对空气起到一定的隔绝作用,同时表皮的气孔会被鲜切果蔬表面溢出的汁液堵塞,降低了气体扩散的速率,导致局部二氧化碳与氧气的比值升高,当达到一定程度后会诱发无氧呼吸,大量积累乙醛和乙醇,缩短产品货架寿命,风味发生变化。阻隔氧气可以很好地抑制鲜切莴笋因氧化褐变、氧化V_C而品质下降,也可以很好的抑制好氧微生物的繁殖,从而延长贮藏期^[37]。

果蔬遭受鲜切伤害后,促进PAL生成,导致酚类物质的积累,一方面酚类物质通过木质化完成对伤口的修复,另一方面氧化酚类物质会造成果蔬组织的褐变^[38-39]。Shen等^[40]研究发现,采后竹笋在贮藏前4 d酚类物质略有上升,随后迅速下降,同时木质素含量和褐变指数持续上升,呈现良好的相关性。郁志芳等^[41]对鲜切芦蒿酚类物质与褐变的相关性研究表明,鲜切芦蒿贮藏期间总酚含量在贮藏前期稍有下降,后期急速升高,与鲜切芦蒿褐变联系紧密。

PPO可以将酚类物质催化成醌,形成抗营养机制的保护性屏蔽,还可以在次生代谢中催化木质素及其他酚类物质氧化产物的形成,以此抵御病原菌入侵^[42]。

POD主要通过合成芳香族氨基酸、吲哚乙酸、肉桂酸、香豆素和木质素中的莽草酸途径中间体来实现参与植物防御机制^[43]。有人认为当存在H₂O₂时,POD可作为催化剂,使酚类、类黄酮等物质发生氧化和聚合,导致植物组织褐变。有研究表明,导致鲜切茭白褐变的主要酶就是POD^[44]。此外,POD会引起果蔬组织中膜脂过氧化,促进植物合成乙烯,使植物加速成熟衰老,因此POD可作为鲜切果蔬成熟和衰老的一个重要指标^[42]。

2.6 脂膜代谢

果蔬组织经受机械损伤后,细胞膜降解破裂,导致细胞和组织结构的区域化改变,正常功能丧失,引发了许多次级代谢,如组织酶促褐变、产生异味以及伤呼吸的产生。膜脂氧化的最终分解产物是丙二醛(MDA)。丙二醛可与蛋白质上的氨基酸发生化学反应,形成西弗碱,同时产生氧化自由基,使细胞膜结构损伤,干扰了正常生理代谢(包括水分代谢)^[45]。甘薯受到鲜切伤害后,细胞膜系统丧失完整性,细胞壁发生降解,POD活性明显增大,更容易和单酚、多酚化合物等底物结合^[3]。但是并非所有的果蔬都在受机械伤害后表现出膜脂的降解,如胡萝卜、鳄梨和

香蕉等果蔬切割后就不会表现出膜脂的降解。果蔬经鲜切后那些正常条件下活性较低的酶会被活化,例如细胞壁、细胞膜代谢的酶。

3 展望

目前,鲜切果蔬已经在鲜切果蔬次生代谢产物已有多方面的研究,在其机理方面的研究也已取得了不少进展,但是关于鲜切后信号分子及其转导机制还尚未明确,其中一些反应可能的机理还有待进一步的实验证实,对于次生代谢物具体合成途径、中间产物以及伴随反应和运输途径都有待进一步的深究。随着采后生物学研究的深入,鲜切果蔬生理生化机理将被进一步揭示,从而为鲜切果蔬贮运保鲜新方法的建立奠定理论基础。

参考文献

- [1] Zhiyong He, Yadan Tao. High pressure homogenization processing, thermal treatment and milk matrix affect *in vitro* bioaccessibility of phenolics in apple, grape and orange juice to different extents [J]. Food Chemistry 2016, 200: 107-116.
- [2] 刘程惠, 胡文忠, 王艳颖, 等. 不同贮藏温度下鲜切甘薯的生理生化变化 [J]. 食品工业科技, 2012(17): 342-345, 349.
- [3] 占爱瑶, 由香玲, 詹亚光. 植物萜类化合物的生物合成及应用 [J]. 生物技术通讯, 2010, 21(1): 131-135.
- [4] Chen J, He H, Jiang F. Expression of PAL and HSPs in fresh-cut banana fruit [J]. Environmental & Experimental Botany 2009, 66(6): 31-37.
- [5] 罗海波, 包永华, 何雄, 等. 鲜切茭白酚类物质测定及 POD 特性研究 [J]. 食品工业科技, 2012, 33(15): 127-132.
- [6] 李书倩. 软枣猕猴桃采后生理及软化差异蛋白质组学和 PG 酶学性质 [D]. 沈阳: 沈阳农业大学, 2014.
- [7] Wang K, Peng J, Shang H. Effect of methyl jasmonate in combination with ethanol treatment on postharvest decay and antioxidant capacity in Chinese bayberries [J]. Journal of Agricultural & Food Chemistry 2010, 58(17): 9597-9604.
- [8] 丛莹, 黄铭茜, 刘明月, 等. 高效液相色谱法同时测定生物转化液中 L-苯丙氨酸和反式肉桂酸 [J]. 广东化工, 2015, 17: 157-159.
- [9] 程双, 胡文忠, 马跃, 等. 鲜切果蔬酶促褐变发生机理的研究 [J]. 食品工业科技, 2010, 31(1): 74-77.
- [10] 马跃, 胡文忠, 程双, 等. 鲜切胡萝卜生理生化及品质变化的研究 [J]. 食品工业科技, 2009, 30(12): 352-355.
- [11] 李正国, 高雪, 樊晶, 等. 奉节脐橙果实苯丙氨酸解氨酶活性及其基因表达与果皮褐变的关系 [J]. 植物生理与分子生物学学报, 2006, 32(3): 381-386.
- [12] 潘永贵, 陈维信. 鲜切荸荠组织中与褐变相关酶活性研究 [J]. 安徽农业科学, 2007, 35(31): 9856-9857.
- [13] 魏敏, 周会玲, 陈小利, 等. 低温贮藏对鲜切富士苹果褐变的影响 [J]. 西北林学院学报, 2011(5): 131-134, 144.
- [14] An J, Zhang M, Lu Q. Changes in some quality indexes in fresh-cut green asparagus pretreated with aqueous ozone and subsequent modified atmosphere packaging [J]. Journal of Food Engineering 2007, 78(1): 340-344.
- [15] Peng L, Jiang Y. Exogenous salicylic acid inhibits browning of fresh-cut Chinese water chestnut [J]. Food Chemistry 2006, 94(4): 535-540.
- [16] Guilherme L Dotto, Mery L Vieira. Use of chitosan solutions for the microbiological shelf life extension of papaya fruits during storage at room temperature [J]. LWT - Food Science and Technology 2015, 64(1): 126-130.
- [17] 高雪. 植物苯丙氨酸解氨酶研究进展 [J]. 现代农业科技, 2009(1): 30-33.
- [18] 闫媛媛, 胡文忠, 姜爱丽, 等. 茉莉酸甲酯和乙烯利处理对鲜切富士苹果抗氧化酶活力和苯丙烷代谢的影响 [J]. 食品工业科技, 2015(16): 324-327, 332.
- [19] 穆师洋, 胡文忠, 姜爱丽. 水杨酸的信号分子作用及其在鲜切果蔬中的应用 [J]. 食品安全质量检测学报, 2015(7): 2434-2438.
- [20] Larbat R, Paris C, Bot J L, et al. Phenolic characterization and variability in leaves, stems and roots of Micro-Tom and patio tomatoes in response to nitrogen limitation [J]. Plant Science, 2014, 224(13): 62-73.
- [21] Lulai E, Suttle J. The involvement of ethylene in wound-induced suberization of potato tuber (*Solanum tuberosum* L.): a critical assessment [J]. Postharvest Biology and Technology 2004, 34(1): 105-112.
- [22] Bisson, Groth G. Targeting Plant Ethylene Responses by Controlling Essential Protein-Protein Interactions in the Ethylene Pathway [J]. Molecular Plant 2015, 8(8): 1165-1174.
- [23] Argus Cezar da Rocha Neto, Caroline Luiz. Efficacy of salicylic acid to reduce *Penicillium expansum* inoculum and preserve apple fruits [J]. International Journal of Food Microbiology 2016, 221: 54-60.
- [24] Zeinali F, Homaei A, Kamrani E. Sources of marine superoxide dismutases: Characteristics and applications [J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2015, 79: 627-637.
- [25] Siriporn Amornputti, Saichol Kets. 1-Methylcyclopropene (1-MCP) inhibits ethylene production of durian fruit which is correlated with a decrease in ACC oxidase activity in the peel [J]. Postharvest Biology and Technology 2016, 114: 69-75.
- [26] 姜爱丽, 孟宪军, 胡文忠, 等. 外源乙烯处理对采后蓝莓感官性状和呼吸代谢的影响 [J]. 食品工业科技, 2011(9): 375-378, 383.
- [27] 马跃, 胡文忠, 程双, 等. 鲜切对果蔬生理生化的影响及其调控方法 [J]. 食品工业科技, 2010(2): 338-341.
- [28] 刘国强, 吴锦程, 唐朝晖, 等. 枇杷采后酚类物质代谢与果肉木质化的关系 [J]. 中国农学通报, 2008, 24(1): 247-251.
- [29] Neubauer J D, Lulai E C, Thompson A L, et al. Wounding coordinately induces cell wall protein, cell cycle and pectin methyl esterase genes involved in tuber closing layer and wound periderm development [J]. Journal of Plant Physiology, 2012, 169(6): 586-595.
- [30] Chong Xu Chang. Accumulation of lignin in relation to change in activities of lignification enzymes in loquat fruit flesh after harvest [J]. Postharvest Biology & Technology 2006, 40(2): 163-169.
- [31] Chauhan O P, Raju P S, Ravi N, et al. Effectiveness of ozone in combination with controlled atmosphere on quality characteristics including lignification of carrot sticks [J]. Journal of Food Engineering 2011, 102(1): 43-48.
- [32] Luo Z, Xu X, Cai Z, et al. Effects of ethylene and

- 1-methylcyclopropene (1-MCP) on lignification of postharvest bamboo shoot [J]. Food Chemistry 2007, 105(2): 521-527.
- [33] Sothornvit R, Kiatchanapaibul P. Quality and shelf-life of washed fresh-cut asparagus in modified atmosphere packaging [J]. LWT - Food Science and Technology, 2009, 42(9): 1484-1490.
- [34] 周琦, 陈季旺, 高俊, 等. 鲜切雷竹笋冷藏过程中木质化机理的研究 [J]. 食品科学 2012(14): 307-311.
- [35] Himmel M E. Biomass recalcitrance: deconstructing the plant cell wall for bioenergy [J]. Biomass Recalcitrance Deconstructing the Plant Cell Wall for Bioenergy 2008: 213-305.
- [36] 路瑶, 魏贤勇, 宗志敏, 等. 木质素的结构研究与应用 [J]. 化学进展 2013(5): 838-858.
- [37] 高必达, 陈捷. 生理植物病理学 [M]. 北京: 科学出版社, 2006: 157-160, 206.
- [38] Toivonen P M A, Brummell D A. Biochemical bases of appearance and texture changes in fresh-cut fruit and vegetables [J]. Postharvest Biology & Technology 2008, 48(1): 1-14.
- (上接第343页)
- [2] 张宇, 饶景萍, 孙允静, 等. 1-甲基环丙烯对甜柿贮藏中冷害的控制作用 [J]. 园艺学报 2010, 37(4): 547-552.
- [3] 刘美艳, 魏景利, 刘金, 等. '泰山早霞' 苹果采后 1-甲基环丙烯处理对其软化及相关基因表达的影响 [J]. 园艺学报, 2012, 39(5): 845-852.
- [4] Lee J, Rudell D R, Davies P J, et al. Metabolic changes in 1-methylcyclopropene (1-MCP)-treated 'Empire' apple fruit during storage [J]. Metabolomics 2011, 8(4): 742-753.
- [5] 李梅, 王贵禧, 梁丽松, 等. 1-甲基环丙烯处理对西洋梨常温贮藏的保鲜效果 [J]. 农业工程学报, 2009, 25(12): 345-350.
- [6] 樊秀彩, 张继澍. 1-甲基环丙烯对采后猕猴桃果实生理效应的影响 [J]. 园艺学报 2001, 28(5): 399-402.
- [7] Vijay Paul, Rakesh Pandey. Delaying tomato fruit ripening by using 1-methylcyclopropene (1-MCP) for better postharvest management: current status and prospects in India [J]. Indian Journal of Plant Physiology 2013, 18(3): 195-207.
- [8] 邢淑婕, 张宇航, 刘开华. 含茶多酚的大豆分离蛋白涂膜对豇豆保鲜效果的影响 [J]. 食品工业 2015, 37(9): 192-195.
- [9] 王利斌, 姜丽, 石韵, 等. 气调对豇豆贮藏期效果的影响 [J]. 食品科学 2013, 34(10): 313-316.
- [10] 谢晓娜, 沈少芸, 陈圆圆, 等. 热水处理对豇豆贮藏品质的影响 [J]. 广东农业科学 2011, 47(1): 104-107.
- [11] 马晓, 王兰菊, 陈刚. 6-BA 处理对豇豆贮藏效果的影响 [J]. 河南农业科学 2009, 37(8): 117-119, 124.
- [12] 陈刚, 王兰菊, 马晓. 不同包装对贮藏豇豆营养品质的影响 [J]. 安徽农业科学 2009, 49(33): 16531-16532.
- [13] 张福平. 温度对豇豆采后保鲜效果影响的研究 [J]. 食品研究与开发 2008, 29(2): 146-148.
- [14] 李里特, 赵朝辉, 方胜. 高压静电场下黄瓜和豇豆的保鲜实验研究 [J]. 中国农业大学学报, 1999, 45(2): 107-110.
- [15] Inskeep W P, Bloom P R. Extinction coefficients of chlorophyll a and B in n, n-dimethylformamide and 80% acetone [J]. Plant Physiology, 1985, 77(2): 483-485.
- [16] 曹建康, 姜微波, 赵玉梅. 果蔬采后生理生化实验指导 [M]. 北京: 中国轻工业出版社 2007: 93-100.
- [17] 李合生. 植物生理生化实验原理和技术 [M]. 北京: 高等教育出版社 2000: 267.
- [18] 张志良, 瞿伟菁, 李小方. 植物生理学实验指导 [M]. 北京: 高等教育出版社 2009: 126-127.
- [19] 李仲芳. 植物生理学实验指导 [M]. 成都: 西南交通大学出版社 2012: 44-45.
- [20] 蔡永萍. 植物生理学实验指导 [M]. 北京: 中国农业大学出版社 2014: 134-136.
- [21] 史树德. 植物生理学实验指导 [M]. 北京: 中国林业出版社 2011: 126.
- [22] 潘冰燕, 鲁晓翔, 张鹏, 等. 1-MCP 处理对线椒常温贮藏品质和风味物质的影响 [J]. 食品与发酵工业 2015, 41(7): 231-237.
- [23] Bo Sun, Huizhuan Yan, Na Liu, et al. 1-MCP 处理对芥蓝采后品质、抗氧化物及芥子油甙含量的影响 [J]. 保鲜与加工, 2012, 12(2): 55.
- [24] Chuanwan, Xiaofeng, Lianzhen, et al. 1-MCP 对芥蓝采后品质的影响 [J]. 保鲜与加工 2010, 11(5): 55.
- [25] 祝美云, 李小月, 梁丽松, 等. 1-MCP 处理和打蜡处理对 '早红考密斯' 西洋梨贮藏期和货架期保护性酶活性的影响 [J]. 食品科学 2015, 36(24): 307-312.
- [26] 王波, 潘永贵, 赵宇, 等. 1-MCP 处理对苦瓜果实贮藏品质和采后生理的影响 [J]. 食品工业科技, 2015, 37(20): 348-353.
- [27] 李锦利. 壳聚糖与 1-MCP 处理对大樱桃贮藏期品质的影响 [J]. 食品工业 2015, 37(4): 70-74.
- [28] 付亮, 刘诗扬, 徐方旭. 不同浓度 1-MCP 对草莓果实货架期品质的影响 [J]. 辽宁大学学报: 自然科学版, 2015, 42(3): 280-284.
- [29] 李江阔, 曹森, 张鹏, 等. 1-MCP 采前处理对葡萄采后相关酶活性与品质的影响 [J]. 食品科学, 2014, 35(22): 270-275.

文冠果主要功效成分研究进展

孙 录,胡文忠*,刘程惠,白 雪,陈妍竹
(大连民族大学生命科学学院,辽宁大连 116600)

摘 要:文冠果是我国特有的木本油料植物,文冠果油不仅可以作为高级食用油,同时还可以作为生物燃油。本文针对文冠果的主要成分及其功效进行综述,并进一步对文冠果中的文冠果油的成分、功效、应用状况及提取方法进行了论述。最后对文冠果及文冠果油在未来的开发和应用前景予以展望,以为文冠果未来发展应用的科学研究提供参考。

关键词:文冠果,文冠果油,成分,功效

Research advance of main efficacy components of *Xanthoceras sorbifolia* Bunge

SUN Lu, HU Wen-zhong*, LIU Cheng-hui, BAI Xue, CHEN Yan-zhu

(College of Life Science, Dalian Nationalities University, Dalian 116600, China)

Abstract: *Xanthoceras sorbifolia* Bunge was unique woody oil plants in China, the *Xanthoceras sorbifolia* Bunge oil not only could be used as a senior cooking oil, but also could be used as the biofuel. In this paper the main ingredients and efficacy of *Xanthoceras sorbifolia* Bunge were reviewed. The composition, efficacy, current application situation and extraction methods of the *Xanthoceras sorbifolia* Bunge oil also were discussed. Finally, the article predicted the development and application of the *Xanthoceras sorbifolia* Bunge oil in the future. This paper would provide certain reference for the scientific research of *Xanthoceras sorbifolia* Bunge in the future.

Key words: *Xanthoceras sorbifolia* Bunge; *Xanthoceras sorbifolia* Bunge oil; ingredients; efficacy

中图分类号: TS201.1

文献标识码: A

文章编号: 1002-0306(2016)08-0396-04

doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2016.08.074

文冠果(*Xanthoceras sorbifolia* Bunge)是无患子科文冠果属植物,是中国特有的古老的木本油料树木类型,已有200多年的种植历史,又被称作“北方油茶”。它在生态、能源、食用、药用以及观赏等方面均具有很高的价值。文冠果可生长在海拔52~2260 m范围内的山地以及丘陵地区,在我国内蒙古、河南、新疆等地区广泛种植。文冠果具有超强的生命力,不管是在草沙地、黄土丘陵、沟壑,亦或是在悬崖边上均可以顽强地生存^[1]。有耐寒、耐旱、耐土壤瘠薄的特性,这让人们在进行山区绿化、退耕还林、防风固沙工作的时候,首先考虑的就是此类树种^[2-3]。目前,文冠果的全国种植面积为6.67万hm²,1 hm²文冠果产油量为2250 kg,高于油茶和油用牡丹^[4]。文冠果油被许多地区作为食用油食用已有很悠久的历史,随着人们对文冠果油的不断研究和探索,发现文冠果种子含油量高、食用品质好,不仅能够当作高级食用油,亦能够被应用于食品医药化工等领域^[5],近些年文冠

果种子油也被研究用于制作生物燃油,但工艺并不娴熟,生产成本相对较高,因此有待开发以缓解我国生物能源的短缺。

1 文冠果的主要成分及功效

文冠果的主要有效成分来自文冠果油,文冠果油是其种子经加工所得。文冠果种子含油率约为30.40%,种仁含油率约为66.39%,蛋白质含量为25.75%,非氮物质的含量为3.7%,粗纤维的含量为1.6%^[6]。文冠果的其他组织也富含很多有效的化合物,如黄酮类和杨梅树皮苷等。文冠果中的这些主要成分都有其特定的功效,例如文冠果中的黄酮类物质具有极强的抗氧化活性和保护心脑血管系统功效,杨梅树皮苷具有杀菌、止血、降胆固醇等功效^[7]。

1.1 文冠果油的有效成分和功效

文冠果油主要来自文冠果种仁,精炼的I级文冠果油呈淡黄色,碘值114.9、皂化值187.7^[8],文冠果油含有很多有效成分,主要包括脂肪酸、甾醇类、皂

收稿日期:2015-11-24

作者简介:孙录(1990-)女,硕士研究生,研究方向:食品加工与质量安全控制,E-mail:sunlu0921@163.com。

*通讯作者:胡文忠(1959-)男,教授,研究方向:食品加工与质量安全控制,E-mail:h wz@dlnu.edu.cn。

基金项目:满族医药与特色食品的研发(DC201501020101)。

苷等。

1.1.1 脂肪酸 文冠果油中含有大量的脂肪酸,其构成成分以油酸、亚油酸为主,脂肪酸构成(%)为棕榈酸5.0、硬脂酸2.0、油酸30.4、二十碳烯酸7.2、芥酸9.1、二十四碳烯酸2.6、亚油酸42.9、二十碳二烯酸0.9、亚麻酸0.3^[8],肉豆蔻酸、花生酸以及二十四碳烷酸均为极少量。黄玉广^[9]对文冠果油与高不饱和脂肪酸油(如核桃油、沙棘油和玉米油等)比较,得到文冠果油里的不饱和脂肪酸占有比例最大,高达94%,可以称得上为“不饱和之王”。不饱和程度越大,则脂肪越软,越容易被人体吸收,具有越好的降胆固醇的作用,对预防心血管系统的疾病也越有益。共轭亚油酸(CLA)有着广泛的生物活性,对于癌症、动脉粥样硬化等方面有着非常好的医疗效果,而且共轭亚油酸可以保障动物不会受到癌症的侵入,是仅有的一类动物食物相关联的能够抵御癌症的食物^[10]。CLA是将亚油酸经甲酯化和纯化后得出的^[11],因文冠果亚油酸含量较高,则可推测文冠果中可提炼的共轭亚油酸含量也较高。文冠果油还可以用来制造生物燃油,因为其中脂肪酸碳链的长度和组成成分会对生产的生物柴油的品质造成直接的影响,碳链长度位于C17~C19之间最适宜制造生物柴油^[12]。

1.1.2 甾醇类 甾醇类物质是文冠果种仁油非皂化部分的重要组成部分,具有非常良好的抵抗细菌的属性^[13]。曹立强等^[14]曾用碱液用量14:1 mL/g,温度75℃,皂化时间40 min作为提取精炼后的文冠果油中甾醇的条件,可得出甾醇的提取率为3%,并利用文冠果油中提出来的甾醇粗提取物就大肠杆菌、枯草芽孢杆菌、毛霉以及青霉的抗菌性质进行验证,得出文冠果中的甾醇物质对于毛霉以及青霉而言虽然没有显著的遏制效果,但是就大肠杆菌以及枯草芽孢杆菌来说效果显著,这进一步验证了文冠果油中的甾醇是良好的抗菌剂。文冠果甾醇类与其衍生物不但能够直接被用来降低血脂、抑制溃疡以及抵抗癌症,并且也是当下全球甾体药品所亟需的主要药品来源^[15],根据其3%的提取率可知每吨的废油饼可生产30 kg的粗甾醇^[14],其市场前景和经济效益都比较可观,所以文冠果种仁C的甾醇类有待深入研发探究。

1.1.3 皂苷 文冠果种仁中的总皂苷含量为0.5%^[16],精炼的文冠果油可用于提取文冠果皂苷,孙静丽^[17]利用文冠果皂苷所做的动物实验研究表明,文冠果皂苷可以提高普通老鼠的学习记忆能力,也验证了其具有较强的生物活性,具备提升记忆力、抗氧化、抗疲惫等功效^[8]。文冠果中的皂苷类可被开发制成提升记忆力、抗氧化等拥有保护健康作用的功能型饮品。Lili Yu等^[18]通过提取分离文冠果子油发现并得到了五种新的三萜皂苷,并且经过验证,三萜皂苷类对人体有一定的抗肿瘤^[19]的作用。

1.2 文冠果其他组织中的成分和功效

有研究表明在文冠果树各组织中发现大量化合物^[20-23]。表1可以看到在文冠果的各组织中含有多种化合物。

文冠果的其他组织中的成分也有很多功效,由

表1 文冠果树各组织所含化合物

Table 1 *Xanthoceras sorbifolia* Bunge groups contain compounds

| 文冠果树组织 | 化合物 |
|--------|---------------------|
| 叶片 | 多种皂苷、黄酮类、香豆素 |
| 茎和芯材 | 杨梅素、dl-白藜素、表茶精、槲皮素等 |
| 果壳和果柄 | 多种甾醇、脂肪酸、三萜皂苷、香豆素糖苷 |
| 种皮 | 十九烷酸、豆甾醇、香豆素类等 |

表1可知文冠果有许多药用价值,它的枝、叶、果柄和种仁均可入药,因此已有有用文冠果枝制成医疗风湿病的中成药,例如“风湿灵”、“风湿贴膏”等。另外叶片不仅具有降动脉血压的功效^[24],还具有消除脂肪的功效,可以利用文冠果叶制成减肥茶及减肥饮品^[25]。文冠果种仁能够用来治疗血管病、智力低下和老年痴呆症等药品^[26-27]。文冠果花萼中的萜皮甙有解热、安眠、抗痒作用^[28],果壳乙醇提取物中的总皂苷可以改善记忆障碍^[29]。动物实验和临床实验表明文冠果的某些特殊成分具有神奇功效,例如Ma等^[30]对其果木单体化合物的研究表明,文冠果的三萜类化合物具有抗HIV-1蛋白酶活性。其果仁在脱脂后能够制成治疗儿童遗尿症的高效药物,100例初期临床结果数据表明,它的有效率高达93%^[9]。邹莉波等^[31]的动物实验探究表明,文冠果壳提炼出来三萜皂苷类——文冠果壳苷可以改进Aβ1-42致痴呆模型小鼠学习记忆障碍,有可能制成抗痴呆类新药。

2 文冠果油的应用及提取方法

2.1 文冠果油的应用

文冠果油为高级食用油,为半干性油,凝固点很低,为-37℃,适合炒、凉拌等烹调方式,也可直接食用,不适于高温烹调使用。文冠果油是具有很强的乳化稳定性,可被用来当作乳化香料的基础性材料,开发相关系列的乳化香味料,作为固态食品的调香调味使用。文冠果油对于人体健康十分有益,可以提供前列腺素合成前体,保障正常生长发育,推动胆固醇的降解,防治动脉粥样硬化,防止皮肤和肾受侵害^[32]。文冠果油的碘值较低,碘值作为油不饱和度的象征,为油中饱和脂肪酸的比率高低的指标,碘值低就意味着饱和脂肪酸的比例低,饱和脂肪酸比例低的油对身体健康有好处。文冠果油的酸值较小,游离脂肪酸含量通常是0.52,符合I级食用植物油标准。文冠果油的亚油酸含量大,亚油酸对心血管疾病具有显著疗效,市面上已有主要成分为亚油酸的用于治疗高血脂、高血压的中成药,例如:“益寿宁”、“亚油酸滴丸”等^[33],通过文冠果油的这些特点与功效,可以说明文冠果油具有极好的医疗保健功效。

2.2 文冠果油的提取方法

文冠果籽油的提取方法有很多,主要有五种,具体见表2,表2分别描述了四种方法所需原料质量、时间、温度和得率。

综合比较这四种常用的文冠果籽油提取方法可知,超声波辅助提取方法的提取率为63.78%,相对较高,用时较短。冷榨提取法用时较长为6~8 h,得率最低为40.44%。而得率最高的为索氏提取,65.08%。微

表2 文冠果种子油的提取方法比较

Table 2 The extracting method of *Xanthoceras sorbifolia* Bunge oil

| 方法 | 原料(g) | 时间 | 温度(°C) | 得率(%) |
|----------------------------|-------|--------|--------|-------|
| 冷榨提取 ^[34] | 500 | 6~8 h | 20~25 | 40.44 |
| 索氏提取 ^[35] | 30 | 8 h | 60~90 | 65.08 |
| 超声波辅助提取 ^[36-37] | 30 | 35 min | 60~90 | 63.78 |
| 微波辅助萃取 ^[38-39] | 12 | 20 min | 60~90 | 55.21 |
| 水酶法 ^[40] | 30 | 5 h | 50 | 81.60 |

波辅助提炼方法的得率是55.21% ,用时最短是20 min。Ji Lia^[40]用水酶法所提取的文冠果油 ,观察其扫描电镜的显微结构可知经此法提取的文冠果油的粒子更为密集 ,油质更好 ,说明水酶法可以用来提取高品质的文冠果油。综合时间和得率两方面 ,应该选择超声波辅助提取方法来作为实验室提取文冠果籽油的最优方法。

3 结论与展望

文冠果的全身都是宝 ,其新鲜的果实能够直接进食 ,种仁经过炒制后能够被食用。其种仁具有较之核桃仁含量更高的蛋白质 ,还富含粗纤维、非氮物质等益于人体的物质 ,是优质的绿色食品^[33]。文冠果油为可食用油 ,颜色品相均为油中佳品 ,在常温下为金黄色 ,澄清透明 ,煎炒香味扑鼻 ,凉拌爽滑可口 ,色、香、味俱全 ,为食用油中的一等品。文冠果的种壳、果壳可被开发制作成活性炭、木糖醇、酒精等物质。文冠果树木料紧实 ,纹路优美细腻 ,气味芳香 ,能够被制造成为各种家具。文冠果的花期长 ,流蜜量大 ,可制成相关的蜜源食物^[41]。此外 ,文冠果油中富含不饱和脂肪酸 ,具有很强的皮肤渗入能力 ,常用作按摩底油^[42]。

未来研究可对文冠果的保健功能进行开发 ,在不破坏其功效成分的基础上 ,推出具有提高记忆力、抗衰老、安眠等功能的保健食品 ,这类保健食品将具有可观的市场前景。文冠果的种皮以及果壳等其他组织也有待开发研究 ,以便其在保健食品、功能食品、医药工业领域得到更好的运用。近几年 ,文冠果油可直接被用来裂解为生物柴油 ,代替菜籽油作生物柴油原料。伴随生物提炼加工技术以及生物质能源工程技术能力的持续提高 ,采用生物质能转换科技 ,运用文冠果油等生物质能源 ,利用其无污染性 ,制造各类型的清洁燃料 ,代替石油以及天然气等矿物能源是未来发展的不可逆的趋势 ,对于促进国民经济快速平稳发展、保障国家能源安全有着十分重要的意义^[8]。

参考文献

[1] 李春光,安国勇,曹得宽,等.文冠果资源培育与开发利用研究[J].北方园艺,2008(11):64-66.
 [2] 高启明,侯江涛,李阳.文冠果的栽培利用及开发前景[J].中国林副特产,2005(2):56-57.
 [3] 郑立文,宋福林,孙明远,等.木本油料树种——文冠果[J].落叶果树,2006(2):12-13.

[4] 文冠果油粕行业标准明年6月发布[J].粮油加工(电子版),2015(11):72-73.
 [5] 孔维宝,梁俊玉,马正学,等.文冠果油的研究进展[J].中国油脂,2011,36(11):67-72.
 [6] 麻起,谷克仁,杜雪丽.文冠果油的超临界CO₂萃取工艺研究[J].粮油食品科技,2013,21(4):36-40.
 [7] 商庆辉,孙妍.文冠果的化学成分和药理作用研究进展[J].中国药房,2015,26(30):4316-4320.
 [8] 刘丽,何勇,田建保.文冠果的利用价值与开发前景[J].安徽农学通报(上半月刊),2009,15(1):111-112,93.
 [9] 黄玉广,乔荣群,赵军.文冠果营养及综合加工[J].食品研究与开发,2004,25(3):73-76.
 [10] 张英锋,李长江,包富山.共轭亚油酸的结构、生理功能及来源[J].化学教育,2005,10:6-9.
 [11] 宋于洋,南立军.文冠果种仁中共轭亚油酸提取工艺及其氧化性研究[J].林产化学与工业,2008,28(6):29-33.
 [12] 牟洪香,侯新村,刘巧哲.不同地区文冠果种仁油脂脂肪酸组分及含量的变化规律[J].林业科学研究,2007,20(2):193-197.
 [13] 李占林,李铄,李宁,等.文冠果果壳的化学成分[J].沈阳药科大学学报,2005,22(4):271-272,288.
 [14] 曹立强,李丹丹,邓红,等.文冠果油中植物甾醇的提取及其抑菌特性研究[J].天然产物研究与开发,2010(2):334-338.
 [15] 刘军海,裘爱泳,张海晖.植物甾醇酯和植物甾烷醇酯的制取和应用研究进展[J].中国油脂,2004,29(2):43-46.
 [16] 戚建华,姚增玉.生物柴油原料树种文冠果的化学成分与综合利用研究进展[J].林产化学与工业,2012,32(2):47-54.
 [17] 孙静丽.文冠果皂苷对小鼠学习记忆功能及海马内胆碱酯酶和颌下腺内神经生长因子活性的影响[D].沈阳:中国医科大学,2001.
 [18] Lili Yua, Xiaolong Tanga, Lixia Chena et al. Oleanane-type triterpenoid saponins from *Xanthoceras sorbifolia* Bunge [J]. Fitoterapia, 2012, 83(8):1636-1642.
 [19] Lili Yu, Xiaobing Wang, Xingchuan Wei et al. Triterpenoid saponins from *Xanthoceras sorbifolia* Bunge and their inhibitory activity on human cancer cell lines[J]. Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters, 2012, 22(16):5232-5238.
 [20] Zhang WenXia, Bao Wen Fang. Studies on the chemical constituents of *Xanthoceras sorbifolia* Bunge[J]. Acta Pharmaceutica Sinica, 2000, 35(2):124-127.
 [21] 王红斗.文冠果的化学成分及综合利用研究进展[J].中国野生植物资源,1998(1):15-18.
 [22] 崔承彬,姚新生,陈英杰,等.文冠木中五种黄酮类成分的NMR研究[J].沈阳药学院学报,1991(1):36-38,57.
 [23] Chao Mei Ma, Norio Nakamura, As'ari NAWAWI et al. A Novel Protoilludane sesquiterpene from the Wood of *Xanthoceras sorbifolia*[J]. Chinese Chemical Letters, 2004, 15(1):65-67.
 [24] Song NanJin, Jin FuWen, Hye YoomKim, et al. Vascular relaxation by ethanol extract of *Xanthoceras Sorbifolia* via Akt-and SOCE-eNOS-cGMP pathways[J]. Journal of Ethnopharmacology, 2010, 132(1):240-245.
 [25] 孙萍,南定,金廷文,等.简述文冠果的生物特征、经济价值及发展前景[J].农业科技与信息,2012,23:51-54.
 [26] 王力川.文冠果化学成分·综合利用及栽培技术[J].安徽

- 农业科学 2006 34(9) :1850-1851.
- [27] 特格喜 乌力吉. 文冠果治疗糖尿病120例临床观察[J]. 中国民族医药杂志 1997 3(1) :19.
- [28] 匡荣 包文芳 赵明宏 等. 文冠果木正丁醇提取物的抗炎作用[J]. 沈阳药科大学学报 2001 18(1) 53-56.
- [29] 孙静丽. 文冠果皂甙对小鼠学习记忆功能及海马内胆碱酯酶和颌下腺内神经生长因子活性的影响[D]. 沈阳:中国医科大学 2002.
- [30] Ma CM Nakamura N Hattori M et al. Inhibitory effects on HIV-1 protease of constituents from the wood of *Xanthoceras sorbifolia* Bunge[J]. J Nat Prod 2002 63(2) 238-242.
- [31] 邹莉波 王立华 迟天燕 等. 文冠果壳苷对侧脑室注射 A β 1-42致痴呆模型小鼠学习记忆障碍的改善作用[A]. 中国药学会、河北省人民政府. 2008年中国药学会学术年会暨第八届中国药师周论文集[C]. 中国药学会、河北省人民政府 2008 9.
- [32] 王力华. 文冠果的食用和药用价值[J]. 中国医药指南 2006 10 41-43.
- [33] 尚宏芹. 文冠果综合利用研究进展[J]. 生物学教学 2010 35(7) :16-17.
- [34] 朱文鑫 胡群亮 相海 等. 油菜籽直接冷榨制油工艺的研究与应用[J]. 中国油脂 2005 30(3) :16-18.
- [35] 邓红 孙俊 张媛 等. 不同方法提取的文冠果籽油的GC-MS分析[J]. 食品科学 2007 28(8) 354-358.
- [36] PAN Xue-jun NIU Guo-guang LIU Hui-zhou. Microwave-assisted extraction of tea polyphenols and tea caffeine from green tea leaves[J]. Chemical Engineering and Processing 2003(42) :129-133.
- [37] YOUN Yuen Shu , MING Yu Ko , YUAN Shiun Chang. Microwaveassisted extraction of ginsenosides from ginseng root [J]. Microchemical Journal 2003 74 :131-139.
- [38] ZHANG Ying , WANG Zhen-yu , CHEN Xiao-qiang. Ultrasound-associated extraction of seed oil of Korean pine[J]. Journal of Forestry Research 2005 16(2) :140-142.
- [39] Li H Z , Lesler P , Jochen W. High intensity ultrasound-assisted extraction of oil from soybeans[J]. Food Research International 2004 37(7) :731-738.
- [40] Ji Lia ,Yuan-Gang Zua ,Meng Luo a et al. Aqueous enzymatic process assisted by microwave extraction of oil from yellow horn (*Xanthoceras sorbifolia* Bunge.) seed kernels and its quality evaluation[J]. Food Chem 2013 138(4) 2152-2158.
- [41] 闫冬佳. 我国文冠果资源及可开发利用研究[J]. 山西农业科学 2007 35(3) :15-17.
- [42] 赵彩云 宿华 赵英顺. 文冠果的综合开发利用价值[J]. 内蒙古林业调查设计 2008 31(6) :118-119.

(上接第395页)

- [32] 申博 高鸿 贾利蓉 等. 加工和贮藏条件对天麻提取物抗氧化活性的影响[J]. 食品科技 2015 9(40) 204-208.
- [33] 王昭君. 天麻素对快速衰老小鼠大脑组织衰老相关基因表达的影响[J]. 解剖科学进展 2007 13(4) 353-357.
- [34] 薛慧. 天麻若干保健功能的研究进展[J]. 食药用菌 2015 23(2) 92-94.
- [35] 黄秀兰 孟庆勇. 天麻注射液对小鼠脾淋巴细胞转化的影响[J]. 广西中医药 2003 26(2) 52.
- [36] 汪肇植 容辉 段和平. 天麻多糖对小鼠免疫功能的影响[J]. 中国民族民间医药杂志 2007 18(8) :112-113.
- [37] Zhao Shuangshuang Naren Lia Yongzhan Zhen. Protective effect of gastrodin on bile duct ligation-induced hepatic fibrosis in rats[OL]. Food and Chemical Toxicology 2015.
- [38] 周诗晶 贺红成 黄磊 等. 天麻素联合川芎嗪治疗老年性眩晕症的临床疗效观察[J]. 药物与临床 2015 9(5) :178-179,184.
- [39] 张芸. 天麻素联合前列地尔及甲钴胺治疗糖尿病周围神经病变的疗效观察[J]. 中国医药指南 2015 13(1) 221-222.
- [40] 刘晓琳. 天麻素联合舒血宁治疗椎基底动脉供血不足性眩晕的临床疗效探讨[J]. 中外医疗 2015 4 :118-119.
- [41] 李娟娟 刘志涛 王晓雯 等. 天麻的研究现状与展望[J]. 中国民族民间医药 2014(14) :16-17.
- [42] Baral S Pariyar R Yoon Chi-Su et al. Effects of Gastrodia rhizoma on proliferation and differentiation of human embryonic neural stem cells[J]. Asian Pacific Journal of Tropical Medicine , 2015 8(10) :792-797.
- [43] 李红月 孙志伟 王淑琴. 天麻素在神经系统的药理作用研究概况[J]. 中国医药 2015(11) :1047-1050.
- [44] Wang Q Shen L Ma S Y et al. Determination of the levels of two types of neurotransmitter and the anti-migraine effects of different dose-ratios of Ligusticum chuanxiong and *Gastrodia elata*[OL]. Journal of Food and Drug Analysis 2015.
- [45] 薛慧. 天麻若干保健功能的研究进展[J]. 食药用菌 2015 23(2) 92-94.

全国中文核心期刊
轻工行业优秀期刊

五味子果实的功能作用 及主要活性成分研究进展

李晓博¹, 胡文忠^{1,*}, 李婧², 姜爱丽¹, 穆师洋¹, 宋春璐¹

(1.大连民族大学生命科学学院, 辽宁大连 116600;

2.大连理工大学, 辽宁大连 116024)

摘要:五味子为药食同源传统中药材,多以果实入药,具有很高的保健及药用价值。本文就五味子果实的药理及保健作用及其具有保健作用的主要活性成分的提取及组成分析进行了综述,并对五味子果实相关保健产品的开发及未来应用方向进行展望,为五味子果实相关保健产品的研制及资源的利用提供参考。

关键词:五味子 药理及保健作用 生物活性成分 提取鉴定

Review on the extraction of main effective active ingredients and function of *Schisandra chinensis*(Turcz.)Baill.

LI Xiao-bo¹, HU Wen-zhong^{1,*}, LI Jing², JIANG Ai-li¹, MU Shi-yang¹, SONG Chun-lu¹

(1.College of Life Science, Dalian Nationalities University, Dalian 116600, China;

2.Dalian Nationalities University, Dalian 116024, China)

Abstract: *Schisandra chinensis*(Turcz.) Baill. has high health value and biological activity as Chinese traditional and edible herbal medicine of which the fruit is used as medicine. In this paper, the pharmacology and health care effects, the extraction and identification of main bioactive ingredients which had health care effects, the development health care products in the future and the direction of bioactive components were discussed to provide reference and basis for exploitation and the research of new products of *Schisandra chinensis*(Turcz.) Baill. resources.

Key words: *Schisandra chinensis*(Turcz.)Baill.; pharmacology and health care effect; bioactive ingredients; extraction and identification

中图分类号:TS201.4

文献标识码:A

文章编号:1002-0306(2016)04-0386-05

doi:10.13386/j.issn1002-0306.2016.04.070

五味子[*Schisandra chinensis*(Turcz.)Baill.]又名山花椒、五梅子等,为木兰科植物,是我国传统中药材,应用历史悠久。五味子的干燥成熟果实为一种滋补性传统中药^[1],始载于东汉《神农本草经》,位列上品。《中华人民共和国药典》收录两种五味子药材,分别为北五味子[*Schisandra chinensis*(Turcz.)Baill.]和南五味子[*Schisandra sphenanthera* Rehd.Etwils.]的成熟果实^[2],前者主产于东北三省、内蒙古、河北等地,质量最佳,为传统使用的正品;后者在长江流域以南均有种植及生产,二者的果实均可入药,简称为北五味子及南五味子,统称五味子。五味子果实药理作用广泛,可以镇静催眠、保护中枢神经系统、宁心安神;保护人体五脏尤其是肝脏,抑制肿瘤生长,降血脂、血糖,对血管有保护作用,对多种微生物具有抑制生

长作用,并且可以增强人体免疫力等。五味子果实成分复杂,含有丰富的对机体起上述功效的活性多糖、木脂素、挥发油这三种成分,另外,五味子果实中也含有蛋白质、脂肪、有机酸、果胶、胡萝卜素、氨基酸等其他物质,营养丰富。作为传统中药材,国内外研究工作者对五味子果实的药理功能性及其活性成分的提取及鉴定研究日趋成熟,本文就五味子的重要功能作用及具有这些功能作用的三种主要活性成分的提取及分析展开论述,以期对未来五味子的研究及保健产品开发提供参考。

1 五味子果实的功能作用

1.1 镇静催眠作用

我国传统中医常建议患者日常饮用五味子水或将五味子果实浸泡于白酒中一段时间后每日适量饮

收稿日期:2015-07-24

作者简介:李晓博(1991-),女,在读硕士研究生,研究方向:食品加工与质量安全控制,E-mail:690381251@qq.com。

*通讯作者:胡文忠(1959-),男,教授,研究方向:食品加工与质量安全控制,E-mail:h wz@dlnu.edu.cn。

基金项目:满族医药与特色食品的研发(DC201501020101)。

用,用于治疗失眠及神经紧张等病症,他们认为,五味子果实具有较好的镇静催眠功效,可以有效地保护中枢神经系统。现代学者对五味子果实进行了药理研究发现:南、北五味子果实均有镇静催眠的作用。通过比较五味子果实中7种木脂素成分对小鼠神经纤维动作电位的抑制活性, Lee等^[3]发现7种成分均有抑制神经纤维动作电位的作用,且抑制活性最强的组分分别为五味子醇甲和戈米辛N,说明五味子果实木脂素确实有镇静心神和保护中枢神经系统的功效。林蔚等^[4]用中药五味子果实袋泡茶为原料对小鼠进行直接睡眠实验、催眠实验及延长睡眠时间等实验,实验发现,在这种处理方法下,小鼠的睡眠时间明显延长而且睡眠潜伏期缩短,这表明五味子果实具有改善小鼠睡眠的作用。石绘等^[5]将一定剂量的五味子果实木脂素灌喂小鼠后发现,其果实木脂素可抑制大脑皮层兴奋性,说明五味子果实具有显著的镇静和促进睡眠的作用。上述成果说明五味子果实醇提物与水提物都对机体有镇静催眠作用,且作用效果相近,具有镇静催眠作用的成分主要集中于木脂素。

1.2 对肝脏的作用

五味子果实中某些药理组分对肝脏有许多作用,如抗氧化、抗肝损伤、增强肝脏解毒功能及改善肝脏脂质等。现代科学研究已经对五味子果实以上功能进行了验证,为五味子果实用于慢性肝炎的治疗、许多肝脏疾病的预防及肝脏的保护提供了科学依据。在测试五味子果实的抗氧化作用时,杜鹃等^[6]将雄性小鼠随机分为不同小组作为研究对象,连续喂食五味子果实醇提物,研究发现五味子果实醇提物能够维持肝脏内微量元素的水平,进而发挥其抗氧化功能,使得小鼠肝脏抗氧化能力获得提高。一定剂量的五味子还可以对多种类型原因引起的肝损伤起到保护作用,如酒精性急性肝损伤、型糖尿病造成的肝损伤及人为注射CCl₄干预所致肝细胞的化学损伤^[7-9]等。Wang等^[10]将连续灌喂60 d 50%酒精处理的雄性小鼠作为研究对象灌喂五味子果实木脂素,发现一定剂量的五味子木脂素可以改善血清和肝脏的脂质,增强肝脏抗酒精毒性的功能,说明五味子果实可以保护机体肝脏并增强肝脏功能。

1.3 抗肿瘤作用

目前,对五味子果实的抗肿瘤作用的研究日趋深入,Zhao等^[11]研究了五味子果实水溶性低分子多糖的体内和体外抗肿瘤和免疫调节活性,发现这种成分可以提高机体免疫功能,进一步可以表现出抗肿瘤的特性。为了验证五味子果实的抗肿瘤作用,于赫等^[12]采用H22荷瘤小鼠作为实验对象,用五味子果实多糖高、中、低三浓度剂量给药处理一周发现不同浓度剂量均对小鼠H22肝癌移植瘤具有抑制作用,同时发现高浓度五味子果实多糖能够从器官水平上增强小鼠的免疫能力,从而起到间接的抗肿瘤的作用。黄玲等^[13]通过实验研究也发现较高浓度的五味子果实多糖能够较好的抑制肿瘤生长,更有研究表明^[14]50~100 mg/L浓度的五味子乙素能明显抑制胃癌细胞株

SGC-8901的增殖。可见,五味子果实对肿瘤形成及生长有抑制作用,并且可以通过提高机体免疫力间接抑制肿瘤生长,可以被研究开发为抗肿瘤新型保健产品。

1.4 对心血管的作用

科学研究表明,五味子果实对心血管的药理及保健作用主要表现为对心血管的保护强健及疾病的治疗作用,目前,医学研究中常见的是将五味子果实入药,用于高血压、高血脂、冠心病、心力衰竭等疾病的防治。末川守^[15]在常压缺氧环境中的动物实验中发现,五味子果实的提取液能够有效延长其存活时间,保护动物避免因缺氧或急性心肌缺血带来的影响,可以显著改善由于心肌缺血再灌注对心血管引起的损伤,更有减轻心肌梗死的作用。五味子果实总木脂素还可以显著地降低机体血液中血脂含量,可以显著降低高血脂症模型大鼠的血清甘油三酯、总胆固醇及高密度脂蛋白胆固醇的水平^[16],对高脂肪油腻饮食导致的血脂高的症状具有良好的预防及治疗作用。

1.5 其他作用

除上述功效外,五味子果实挥发油具有较强的镇咳作用,可以有效地缓解咳嗽症状,临床可用于治疗久咳虚喘。同时五味子果实的体外抗菌作用也很显著,马廉兰等^[17]通过对比研究发现五味子果实对肠道致病菌及绿脓杆菌的抑制作用高于其他多种中草药,说明五味子果实对肠道致病菌群具有良好的抑制效果,可以改善肠道菌群,因此可以用于消化系统疾病的防治。除此之外五味子果实提取物对其他菌株同样具有一定的抑制作用,如大肠杆菌、痢疾杆菌、金黄色葡萄球菌及多种皮肤癣菌等。近代研究还表明,五味子果实可以保护呼吸系统、消化系统、泌尿生殖系统,提高免疫力,抑制溃疡、增强体能,还可以滋阴消渴,缓解自汗、盗汗等症状,并可以治疗久泻不止等,是一种不可多得的保健功能型药品。

2 五味子果实主要功能活性成分提取及分析

2.1 活性多糖

五味子活性多糖又名五味子多糖,广泛存在于五味子果实中,由于其具有广泛的生物学功能和生物活性,五味子活性多糖的提取研究已受到诸多学者的重视,并已成为新药的发展方向之一。目前,提取五味子果实中多糖的方法有很多,常见的包括水提法、超声波提取法、酶解法、微波辅助提取法、超声波辅助酶提取法及微波辅助酶提取法等。高晓旭等^[18]用超声波提取法,优化提取北五味子果实中多糖,经计算得到22.30%提取率,比传统提取法高36.58%。可成友等^[19]使用酶解法提取北五味子粗多糖中的多糖,通过正交实验法得出最佳提取条件为缓冲液pH6.0,提取时间3 h,提取温度55℃,加酶量1%,在如此条件下提取率可高达25.15%,经过对比发现,酶解法的平均提取率比传统的水法提高16.79%。Ye等^[20]通过正交实验优化了水提法来提取五味子果实中粗多糖,确定的最佳提取条件为料液比1:8,循环提取4次,每次1.5 h,此方法将提取率提

高为68.79%。程振玉等^[21-22]先后使用微波辅助提取法、超声波辅助酶法对北五味子果实预处理所得粗多糖中多糖进行提取,在确定了最佳提取条件后,均获得了较高的提取率,提取效果明显优于传统的回流法等。综合上述结果,对于五味子果实多糖,浸提法基础上加入适量的酶进行水解的酶解法具有最高的提取率,适量的酶明显增加了提取率及提取效率。

五味子果实中活性多糖是由多种单糖组成的,通过高效毛细管电泳(HPCE)及高效液相色谱(HPLC)等方法可分析鉴定各单糖组分,国内外学者先后利用这些方法对单糖成分进行了鉴定与分析。王艳杰等^[23]优化条件后首先使用HPCE法从五味子果实多糖中鉴定出鼠李糖(Rha)、半乳糖(Gal)、葡萄糖(Glc)和阿拉伯糖(Ara)这几种单糖组分。汪艳群^[24]随后利用HPLC、气相色谱结合多糖的经典化学分析的方法,对经多次洗脱蛋白、酶解及纯化后所得五味子果实多糖的化学组成及结构进行了初步研究及鉴定,发现五味子果实中的多糖含有Rha、Glc、Ara及甘露糖(Man)。Ye等^[20]改善了HPLC法条件,发现五味子果实的多糖中,除了上述成分外还含有半乳糖醛酸这一单糖组分。综合以上多人研究,可以得出五味子果实中多糖主要是由Rha、Gal、Glc、Ara、Man、半乳糖醛酸等单糖成分组成的。除此之外,五味子果实粗多糖中还含有丰富的氨基酸及多种微量元素,在五味子果实中总含量约为5%^[25]。

2.2 木脂素

木脂素是五味子果实中主要的活性物质,是一类主要通过酚基苯乙烯单体氧化耦合而成的、在植物中广泛分布的小分子量次生代谢产物,具有抗

氧化、保肝护心、抗菌等多种功效。由于木脂素成分结构类型多,且具有较高的生物活性,因此已有众多学者对该领域展开研究并积累了较丰富的研究资料。

近年来,五味子果实中木脂素的提取工艺日渐成熟,从传统的水提法等发展为有机溶剂提取法、超高压提取法、超临界CO₂萃取法、微波提取法、超声波提取法及双水相协同超声提取法等。表1为近些年学者应用不同提取方法获得不同产地五味子果实的木脂素的提取最佳条件及得率。由表1可知,无论北五味子或南五味子果实,超临界CO₂提取法均为木脂素的最佳提取方法,而且在相同的提取方法下,北五味子果实中木脂素的提取率明显高于南五味子,这说明从木脂素含量的角度分析,北五味子果实质量优于南五味子,为最佳入药品种。

另外,也有学者通过研究新的提取方法分别提取了五味子果实的木脂素中的五味子醇甲、五味子酯甲及五味子甲素等成分,提取率较高。其中,Guo等^[31]研究双水相协同超声提取法,采用分配系数和恢复率较高的19%乙醇和25% (NH₄)₂SO₄双水相溶剂,确定了料液比为1:20,提取功率为800 W,提取时间61.1 min,分离提取出13.10 mg/g五味子醇甲,1.87 mg/g五味子酯甲和1.84 mg/g脱氧-五味子醇甲。Liu等^[32]比较了超高压提取法、超声和热回流提取法,提取木脂素中 γ -五味子素和五味子甲素,结果发现,超高压提取法具有提取率高,提取时间短等优势,并且提取物的生物活性得到了很好的保护。

目前,科研工作者发现多种方法可以鉴定五味子果实中木脂素类化合物,包括薄层色谱法(TLC)、液相色谱质谱联用法(LC-MS)、HPLC、分光光度法

表1 五味子果实木脂素的提取

Table 1 Extraction of lignanoid in *Schisandra chinensis*(Turcz.)Baill. fruits

| 果实名称 | 材料来源 | 提取方法 | 最佳工艺 | 总木脂素提取率 | 参考文献 |
|------|------------|-----------------------|--|---------|---------------------|
| 北五味子 | 安徽亳州医药市场 | 超临界CO ₂ 提取 | 提取压力 25 MPa 提取温度 35 ℃ CO ₂ 流量 2 L/min | 13.0% | 戴军 ^[26] |
| 南五味子 | 镇江江扬国药公司 | 超临界CO ₂ 提取 | 提取压力 25 MPa 提取温度 35 ℃ CO ₂ 流量 2 L/min | 9.2% | 戴军 ^[26] |
| 北五味子 | 辽宁 | 超声波提取法 | 超声功率 :1050 W 料液比 :1:20 提取温度 :70℃ 提取时间 :120 min | 6.25% | 高冷 ^[27] |
| 南五味子 | 西安 | 超声波提取法 | 提取溶剂 :70%乙醇 料液比 :1:14 冷浸时间 :12 h 超声时间 :30 min 提取温度 :50 ℃ | 1.577% | 刘少静 ^[28] |
| 北五味子 | 龙铭申土特产品加工厂 | 超声波辅助提取法 | 提取溶剂 :90%乙醇 料液比 :1:8 提取时间 :50 min/次 提取次数 :2次 | 3.06% | 毛婷 ^[29] |
| 五味子 | 吉林 | 超声辅助乙醇提取法 | 提取溶剂 :85%乙醇 超声时间 :34 min 料液比 :1:146 | 1.13% | 张悦怡 ^[30] |

等,在这些方法的基础上,国内外研究者已经从在五味子科植物中分离出的200多个化学成分中鉴定出150个木脂素化合物。其中,Deng等^[33]运用LC-MS法检测了来自中国不同产地的五味子,发现了15种木脂素类成分,有五味子醇甲、戈米辛D、巴豆酰戈米辛H、前五味辛、 γ -五味子素等。建立了HPLC分析方法并优化其条件后,程振玉^[34]精密分离并测定了产地不同的十种五味子果实木脂素中各成分,结果表明,虽然含量各不相同,但是这些木脂素中均含有五味子醇甲、五味子酯甲、五味子甲素、五味子乙素和五味子丙素。这一研究结果验证了五味子果实的活性成分木脂素主要由五味子酯甲、五味子甲素、五味子乙素、五味子醇甲等构成。

2.3 挥发油

五味子植株的藤茎、叶、果实和种子均含有丰富的挥发油,且果实中含量最高。挥发油具有广泛的生物学活性,目前可用的提取方法为水蒸气蒸馏法、油脂吸收法、溶剂萃取法、超临界流体萃取法和冷压法等。

目前,对于五味子果实中挥发油的研究较少,且其中多数研究集中于五味子果实挥发油的提取。为了筛选水浸泡提取法对五味子果实中挥发油进行提取的最佳条件,周玲等^[35]经过多组实验,最终确定了最佳条件是浸泡时间为4.3 h,料液比1:10,提取时间5.5 h,在此条件下挥发油得率为1.3 mL/100 g。通过研究超临界流体CO₂提取法对五味子果实挥发油的提取,毛日文等^[36]确定了最佳提取工艺为提取时间3 h、提取温度40℃、提取压力15 MPa,得到的南五味子果实挥发油提取率为8.2%。Ma等^[37]运用无溶剂微波提取法提取含68%水分的五味子果实,最佳提取时间30 min,提取功率385 W,挥发油提取率可达11 mL/kg。经过分析可知提取时间最短的为无溶剂微波提取法,但是无溶剂微波提取法所用的五味子为含68%水分的新鲜五味子果实,市售五味子大部分为五味子干燥果实,此方法实验材料受限,因此,实际应用中,提取时间较短且用于实验的干燥五味子果实的超临界流体CO₂提取法是提取五味子果实中挥发油的较理想方法。

五味子果实挥发油成分复杂,其中大部分为萜类物质,包括单萜类、倍半萜类、含氧单萜类、含氧倍半萜类等,此外还含有少量的醇、酯、醛、酮以及苯和苯的衍生物,如 α -蒎烯、蒎烯、4-蒎烯、月桂烯、 α -蒎品烯、柠檬烯等^[38],这些化学成分都是医疗、日用化工及食品行业不可缺少的原料来源。李慧等^[39]采用超临界CO₂萃取和3级分子蒸馏相结合的方法分离提纯北五味子果实中挥发油,经过气相色谱-质谱联用(GC-MS)对其化学成分分析后发现,五味子果实挥发油的3级化学成分主要为长叶松香芹酮、去氢白菖烯、亚油酸-2-氯乙酯、9,12-十八碳二烯酸甲酯和9,12-十八二烯酸。通过GC-MS技术,李昕等^[40]分别分析了南北五味子果实挥发油成分的区别,鉴定结果为南五味子果实挥发油中有54种化合物,而北五味子果实挥发油中有55种化合物,且其中大部分为

萜类物质,这与之前刘亚敏等^[41]学者的研究成果不同,刘亚敏等从南五味子果实挥发油中鉴定出51个化合物,北五味子中鉴定出40个,经过比较可以发现GC-MS技术虽然可以鉴定出较多的成分,但其鉴定分析条件仍需进一步优化及完善。此外,Liu等^[42]将五味子果实的果肉及种子分离开来并分别提取了挥发油,结果从五味子种子挥发油中鉴定出52种化合物组分,从五味子浆果果肉提取的挥发油中鉴定出55种化合物,同时两种样品提取出的木脂素含量较高的组分也不相同,种子挥发油为衣兰烯和 β -雪松烯,果肉挥发油为4,11-蛇床二烯和 α -杜松醇。

3 展望

五味子作为一种传统的中药材,具有悠久的历史,良好的保健作用,其具有药理作用的成分多集中于木脂素、粗多糖及挥发油等。作为国家卫生部公布的“药食同源”产品之一,五味子在保健食品方面具有良好的应用前景,其营养丰富、毒性小、有广泛的原材料来源。近年来,对于五味子的研究多为对其药理功效及有效活性成分提取工艺的考察,对于其功能性成分保健功效及保健产品的研究鲜有报道,为这方面的深入研究提供了广阔的空间。

目前,五味子多以药用形式为主,市面上已有护肝片、五味子素片等中成药出现,未来对于五味子的研究应多集中于开发其保健产品及保健食品,便于对五味子进行更深的认识和进一步的利用。已有科学研究者将研究目光聚焦于五味子与其他功能性食品结合的产品的开发上,研制了五味子复合保健茶,五味子、龙眼、姜、红茶复合保健饮料,五味子黑木耳复合乳酸菌饮料^[43-45]等,另外,也有果酪、果糕、果汁、饮料、果冻、棒冰^[46]等产品出现。未来,可在各学者的研究基础上充分吸收最新理论成果,结合社会对健康产品的需要,利用现代科学技术手段研发及研究最佳程度富集五味子有效成分的功能性保健品,如可以安神助眠、降压降脂、保护肝脏的五味子果酒、五味子糖浆、五味子饮料等一系列保健品,应注意着眼于产品的开发,强化产品的保健作用,在产品的加工工艺上,保证产品口感的同时,还要保证五味子有效成分不被破坏,发挥其保健功效。

参考文献

- [1] Wang B, Hu J, Tan W, et al. Simultaneous quantification of four active schisandra lignans from a traditional Chinese medicine *Schisandra chinensis* (Wuweizi) in rat plasma using liquid chromatography/mass spectrometry[J]. Journal of Chromatography B 2008, 865(1-2): 114-120.
- [2] 国家药典委员会编. 中华人民共和国药典[M]. 北京: 化学工业出版社, 2000: 48-197.
- [3] Lee LS, L HK, D NT. Lignans with Inhibitory Activity Against NFAT Transcription from *Schisandra chinensis*[J]. Plant a Medica (English) 2003, 69(1): 63-64.
- [4] 林蔚, 黄宗锈, 陈冠敏, 等. 中药五味子改善小鼠睡眠作用的研究[J]. 海峡预防医学杂志, 2009, 15(4): 51-52.
- [5] 石绘, 万丽华, 李贺, 等. 北五味子木脂素对小鼠镇静催眠

- 作用的实验研究[J]. 中国老年保健医学, 2012, 10(5): 27-28.
- [6] 杜鹃, 宋春梅, 陈希, 等. 五味子醇提物对小鼠肝脏抗氧化系统及微量元素含量的影响[J]. 安徽农业科学, 2011, 39(6): 3274-3275.
- [7] 王春梅, 李贺, 李生, 等. 北五味子木脂素对小鼠酒精性肝损伤的保护作用[J]. 食品科学, 2014, 35(13): 262-265.
- [8] 柴思佳, 邓翀, 董媛媛. 南五味子对2型糖尿病大鼠肝脏保护作用的研究[J]. 中南药学, 2014, 12(8): 758-761.
- [9] 王昌, 张东杰. 五味子木脂素类成分中护肝主活性成分的体外筛选[J]. 黑龙江八一农垦大学学报, 2010, 22(2): 80-84.
- [10] Wang O, Cheng Q, Liu J, et al. Hepatoprotective effect of *Schisandra chinensis*(Turcz.) Baill. lignans and its formula with *Rubus idaeus* on chronic alcohol-induced liver injury in mice[J]. Food & Function, 2014, 5(11): 3018-3025.
- [11] Zhao T, Mao G, Mao R et al. Antitumor and immunomodulatory activity of a water-soluble low molecular weight polysaccharide from *Schisandra chinensis*(Turcz.) Baill[J]. Food and Chemical Toxicology, 2013(55): 609-616.
- [12] 于赫, 李冀, 齐彦. 五味子多糖对肝癌小鼠肿瘤生长的抑制作用及其免疫学机理初探[J]. 中医药信息, 2010, 27(2): 26-27.
- [13] 黄玲, 张捷平, 陈华. 五味子多糖对S-(180)荷瘤小鼠抑瘤作用的研究[J]. 福建中医学院学报, 2003, 13(3): 22-23.
- [14] 刘晓霞, 张承玉, 李月珍, 等. 复方五味子素B及其成分体外抑制胃癌细胞的增殖[J]. 世界华人消化杂志, 2007, 15(23): 2526-2529.
- [15] 末川守. 五味子对动物药理作用的实验观察[J]. 药学杂志, 2010, 107(9): 720.
- [16] 孙潇, 姜恩平, 陈建光. 北五味子总木脂素对高脂血症大鼠心肌缺血再灌注损伤的保护作用及其机制[J]. 吉林大学学报(医学版), 2009, 35(2): 276-279, 397.
- [17] 马廉兰, 李娟, 刘志春, 等. 五味子等中草药对肠道致病菌和条件致病菌的抗菌作用[J]. 赣南医学院学报, 2003, 23(3): 241-244.
- [18] 高晓旭, 李继海, 姜贵全, 等. 北五味子多糖超声波提取及对油脂的抗氧化性能[J]. 东北林业大学学报, 2009(4): 34-36.
- [19] 可成友, 梁宏斌, 边蕾, 等. 北五味子多糖的酶法提取工艺研究[J]. 现代中药研究与实践, 2010(2): 47-50.
- [20] Ye C, Han N, Teng F, et al. Extraction optimization of polysaccharides of *Schisandrae Fructus* and evaluation of their analgesic activity[J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2013(57): 291-296.
- [21] 程振玉, 杨英杰, 刘治刚. 微波辅助提取北五味子多糖工艺研究[J]. 吉林化工学院学报, 2014, 31(3): 18-22.
- [22] 程振玉, 杨英杰, 刘治刚. 超声波辅助酶法提取北五味子多糖工艺研究[J]. 中国酿造, 2014, 33(3): 104-108.
- [23] 王艳杰, 吴勃岩, 梁颖, 等. 五味子多糖提取、含量测定及多糖组分分析[J]. 中医药信息, 2009, 26(6): 30-32.
- [24] 汪艳群. 五味子多糖的分离、结构鉴定及免疫活性研究[D]. 沈阳: 沈阳农业大学, 2012.
- [25] Rong Tao, Li Zhi Ying, Weng Jian Xin, Pu et al. Chemical constituents from *Schisandra sphenanthera*[J]. Chinese Chemical Letters, 2008(6): 696-698.
- [26] 戴军, 徐佐旗, 赵婷, 等. 超临界CO₂提取五味子木脂素的工艺研究[J]. 食品与药品, 2010, 12(9): 312-315.
- [27] 高冷, 龚殿鹏, 王谷媛, 等. 超声波法提取北五味子木脂素条件研究[J]. 黑龙江科技信息, 2010(3): 8.
- [28] 刘少静, 杨黎彬, 王小宁, 等. 五味子中总木脂素的提取工艺优化研究[J]. 应用化工, 2014, 43(6): 1071-1073.
- [29] 毛婷, 刘翼翔, 唐苗苗, 等. 五味子木脂素的提取优化及乳化稳定性研究[J]. 食品工业科技, 2012, 33(18): 290-294.
- [30] 张悦怡, 刘勇慧, 赵岩, 等. 响应面法优化超声辅助乙醇提取五味子木脂素工艺研究[J]. 食品安全质量检测学报, 2014, 6(6): 1855-1861.
- [31] Guo Y X, Han J, Zhang D Y, et al. Aqueous two-phase system coupled with ultrasound for the extraction of lignans from seeds of *Schisandra chinensis* (Turcz.) Baill.[J]. Ultrasonics sonochemistry, 2013, 20(1): 125-132.
- [32] Liu C, Zhang S, Wu H. Non-thermal extraction of effective ingredients from *Schisandra chinensis* Baill and the antioxidant activity of its extract[J]. Natural Product Research, 2009, 23(15): 1390-1401.
- [33] Deng X, Chen X, Cheng W, et al. Simultaneous LC-MS quantification of 15 lignans in *Schisandra chinensis* (Turcz.) Baill. Fruit[J]. Chromatographia, 2008, 67(7-8): 559-566.
- [34] 程振玉. 北五味子木脂素和多糖提取工艺研究[D]. 长春: 东北师范大学, 2014.
- [35] 周玲, 王学魁, 沙作良, 等. 北五味子挥发油的优化提取条件及过程动力学[J]. 辽宁中医杂志, 2012, 39(10): 2030-2033.
- [36] 毛日文, 张敏, 徐佐旗, 等. 超临界流体CO₂提取法与水蒸汽蒸馏法提取南五味子挥发油的成分比较[J]. 食品与药品, 2011, 13(5): 189-191.
- [37] Ma C, Yang L, Zu Y, et al. Optimization of conditions of solvent-free microwave extraction and study on antioxidant capacity of essential oil from *Schisandra chinensis*(Turcz.) Baill. [J]. Food chemistry, 2012, 134(4): 2532-2539.
- [38] 闫丽丽, 白军昌. 五味子化学成分研究进展[J]. 中国新技术新产品, 2011(7): 17.
- [39] 李慧, 姜利峰, 李秀歌. 北五味子挥发油分离提纯及成分分析[J]. 食品科学, 2014, 35(14): 73-75.
- [40] 李昕, 聂晶, 高正德, 等. 超声微波协同水蒸气蒸馏-GC-MS分析南、北五味子挥发油化学成分[J]. 食品科学, 2014, 35(8): 269-274.
- [41] 刘亚敏, 刘玉民, 李鹏霞. 超临界CO₂流体萃取-GC-MS分析南北五味子挥发油成分[J]. 食品科学, 2011, 32(6): 204-208.
- [42] Liu C, J Zhang S, Q Zhang J, S et al. Chemical composition and antioxidant activity of essential oil from berries of *Schisandra chinensis* (Turcz.) Baill.[J]. Natural product research, 2012, 26(23): 2199-2203.
- [43] 曹焯, 张影. 北五味子复合保健茶的研制[J]. 黑龙江农业科学, 2012(10): 118-121.
- [44] 陈晶. 五味子、龙眼、姜、红茶复合保健饮料的研制[J]. 江苏农业科学, 2012, 40(12): 273-275.
- [45] 崔福顺, 李官浩, 李晓波, 等. 五味子黑木耳复合乳酸菌饮料的研制[J]. 食用菌, 2009(4): 67-68.
- [46] 尹佳, 王大为. 五味子棒冰的研制[J]. 食品科技, 2006, 31(9): 204-206.

黑果腺肋花楸营养物质与功效的研究进展

于雪 胡文忠* 姜爱丽 陈妍竹 刘星伯
(大连民族大学生命科学学院 辽宁大连 116600)

摘要: 黑果腺肋花楸是一类富含脂肪、碳水化合物、蛋白质、维生素、矿物质和有机酸等营养物质的蔷薇科落叶灌木植物,具有抗氧化、抗癌、抗炎、抗病毒和抗高血压等功效。黑果腺肋花楸的多酚类物质主要是花青素和原花青素,能清除自由基。本文是在国内、外黑果腺肋花楸的营养物质、功效成分和功效作用的研究基础上,对黑果腺肋花楸的产品、临床应用等进行了综述,旨在为开发黑果腺肋花楸保健食品提供一定的理论基础。

关键词: 黑果腺肋花楸 营养物质 功效成分 保健食品

Research progress of nutrient elements and the efficacy of *Aronia melanocarpa*

YU Xue HU Wen-zhong* JIANG Ai-li CHEN Yan-zhu LIU Xing-bo

(College of Life Science, Dalian Nationalities University, Dalian 116600, China)

Abstract: *Aronia melanocarpa* is a rosaceae deciduous shrub, which is rich in fat, carbohydrate, protein, vitamins, minerals and organic acids, and other nutrients, with antioxidant, anti-carcinogenic, anti-inflammatory, antiviral and anti-hypertensive efficacy. *Aronia melanocarpa* polyphenols is mainly anthocyanins and procyanidins, that is an expert in cleaning free radical. This paper was on the basis of domestic and foreign *Aronia melanocarpa* nutrients, ingredients and efficacy, black chokeberry products and clinical application were reviewed, in order to provide a certain theoretical basis for the development of *Aronia melanocarpa* functional health food.

Key words: *Aronia melanocarpa*; nutrient substance; efficacy component; health food

中图分类号: TS255.1

文献标识码: A

文章编号: 1002-0306(2016)10-0396-05

doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2016.10.074

黑果腺肋花楸 (*Aronia melanocarpa*, *Aronia prunifolia*, *Aronia mitschurini*), 又名野樱莓、不老莓, 属蔷薇科植物, 其原产地为北美的东部, 后被前苏联及欧洲引入^[1]。最早在我国辽西地区定植的黑果腺肋花楸是上世纪九十年代被引入的^[2]。近年来在国外黑果腺肋花楸的研究集中于其功效作用的研究, 如通过大鼠模型实验验证黑果腺肋花楸中的多酚类物质对长期暴露在镉环境下女性的骨代谢有积极的影响, 能够控制因骨钙素、碱性磷酸酶、骨保护素吸收不好带来的骨代谢紊乱^[3-5]。将黑果腺肋花楸多酚类化合物和微量元素硒结合, 研究其有助于维持免疫系统稳态功能和防止氧化应激等炎症的发生^[6]。以及通过对人体外周血细胞组织血管紧张素 II 的诱导来预防冠状动脉疾病, 降低端粒酶活性^[7]。已有研究报道黑果腺肋花楸具有保肝^[8]、降血糖^[9]、抗突变^[10]等功效。

在我国, 黑果腺肋花楸的研究是基于其栽培技术的提升, 在其功效成分和功效作用方面的研究报道甚少, 相关产品的研发处于起步阶段, 国外已有的

保健型果汁饮料、果茶、果酱、保健胶囊、片剂等产品在我国尚未被生产销售^[6], 目前没有相应的深加工产品, 如保健功能食品、药用功能食品等。

黑果腺肋花楸作为我国引种的一种果树, 其果实富含脂肪、蛋白质、有机酸、碳水化合物、多种维生素和矿物质元素、糖类等丰富营养物质, 同时含有大量的多酚类、黄酮类、芳香类等功效成分, 本文对国内、外黑果腺肋花楸的研究现状进行了综述, 旨在能够为黑果腺肋花楸的研究、产品开发和深加工提供一定的依据。

1 黑果腺肋花楸的营养物质

黑果腺肋花楸富含多类营养物质, 如脂肪、蛋白质、有机酸、碳水化合物等主要营养物质, 还含有多种维生素和矿物质元素, 能够补充人体维生素和膳食纤维、矿物质、糖类, 增强人体免疫力, 增加人体活力, 提高睡眠质量^[7]。

实验研究表明, 黑果腺肋花楸果实中还含有多种胡萝卜苷类化合物如叶酸、核黄素、果胶、维生素 E 等^[14], 果实中还含有多种有机酸, 如奎宁酸、苹果酸、

收稿日期: 2015-10-26

作者简介: 于雪(1990-) 女, 在读硕士研究生, 研究方向: 食品加工与质量安全控制, E-mail: yuxuedlnu@163.com。

* 通讯作者: 胡文忠(1959-) 男, 教授, 研究方向: 食品加工与质量安全控制, E-mail: hwz@dlnu.edu.cn。

基金项目: 满族医药与特色食品的研发(DC201501020101)。

莽草酸、龙胆酸、原儿茶酸、香草酸、对羟基苯甲酸、阿魏酸、咖啡酸、对香豆酸等^[15]。

表1 黑果腺肋花楸中各类营养物质含量(每100g)^[8, 12-13]
Table 1 The content of various nutrients in aroniamelanocarpa(per 100 g)^[8, 12-13]

| 成分 | 含量 |
|--------------------|--------------|
| 蛋白质 | 0.7 g |
| 脂肪 | 0.14 g |
| 纤维素 | 5.62 g |
| 烟酸 | 100~510 μg |
| 维生素 C | 5~100 mg |
| 维生素 B ₁ | 25~90 μg |
| 维生素 B ₂ | 25~110 μg |
| 维生素 B ₅ | 50~380 μg |
| 维生素 B ₆ | 30~85 μg |
| 锌 | 2.85 mg |
| 钙 | 0.1~0.2 mg |
| 锰 | 4.56~9.64 mg |
| 铜 | 0.81~2.97 mg |
| 钼 | 0.38~0.71 mg |
| 碘 | 6~10 mg |

2 黑果腺肋花楸的功效成分

多酚类化合物主要存在于植物源性食品中,而食品中酚类化合物的抗氧化活性是判断其是否有益于健康的一项重要指标^[16]。黑果腺肋花楸中多酚类物质一般是由单体多酚和聚合多酚组成。单体多酚由花青素及其糖苷类化合物(56.7%~75.2%)、类黄酮及其甙类化合物(2.5%~2.9%)、酚酸(21.8%~27.2%)组成。其中,花青素及其糖苷类化合物在单体多酚中所占比例最高,也是主要呈色物质。聚合多酚为原花青素,占总酚的43.2%~55.6%^[17]。黑果腺肋花楸果实中高含量的多酚类化合物是其具有超强抗氧化活性的根本原因。黑果腺肋花楸中还含有咖啡酸、绿原酸、新绿原酸和儿茶酚等多种功效成分。

2.1 花青素

病理学研究表明,日常饮食中摄入花青素可预防人体动脉高血压、抗炎症等,黑果腺肋花楸果实中富含高浓度的花青素^[10]。黑果腺肋花楸的总酚中花青素占25%^[18],主要结构物质为3-氧-半乳糖苷(68.9%)、3-氧-阿拉伯糖苷(27.5%)、3-氧-木糖苷(2.3%)和3-氧-葡萄糖苷(1.3%)^[19]。不同状态的黑果腺肋花楸中,各类结构的花青素含量不同,其中花青素的主要以3-氧-半乳糖苷的形式存在^[20]。在欧洲国家,黑果腺肋花楸果汁、果酱和果酒已被大规模生产^[21-22],遗留的副产物果渣中仍含有大量的花青素,Leandro^[23]等对绿色超声辅助方法(UAE)萃取黑果腺肋花楸果渣中花青素的工艺进行了优化,所得到的提取物表现出很高的抗氧化能力,可作为添加剂用于食品和化妆品,也可作为天然抗氧化剂和天然色素而取代合成抗氧化剂、着色剂等。黑果腺肋花楸不仅可以作为一种水果,同时也可以作为一种

药用植物。Andrzej^[24]等提取了黑果腺肋花楸中的花青素,通过实验发现花青素可以通过控制人体外周血细胞组织血管紧张素 II 来预防冠状动脉疾病,降低端粒酶的活性。

2.2 原花青素

原花青素是复杂的类黄酮聚合物,存在于谷物、豆类种子及一些水果中。原花青素受到广泛关注是源于其强大的抗氧化能力,对人类的健康有保护作用^[7]。原花青素通过控制自由基的反应,可降低心血管、癌症和血液凝结等疾病的风险^[25-28]。黑果腺肋花楸中的原花青素是其主要的酚类物质,其存在的形式有单体(0.78%)、二聚体(1.88%)、三聚体(1.55%)、4~6聚体(6.07%)、7~10聚体(7.96%)和大于10个的多聚体(81.72%)^[29],实验测得的黑果腺肋花楸的果实中总原花青素的含量分别为5182、3992、664 mg/100 g,而在黑果腺肋花楸的果渣中的含量为8192 mg/100 g,在果汁中的含量却仅为1579 mg/100 g^[30]。黑果腺肋花楸的果渣中含原花青素最高。

3 黑果腺肋花楸的功效作用

3.1 抗氧化

花青素和原花青素越来越多的被关注是源于其在人类营养健康中发挥的重要作用,更是与其天然的抗氧化潜力和预防癌症、冠心病、糖尿病等作用相关联的^[10]。花青素(原花青素)的抗氧化活性主要通过清除人体自由基的能力大小来体现,自由基与存在细胞中的有机质发生链式反应,导致大量的过氧化物在人体内堆积,让细胞无法完成正常的生理活动,从而引发机体的病变。黑果腺肋花楸中的花青素(原花青素)的含量与国内传统的药用抗癌类植物相比是极高的,其抗氧化活性也是药用抗癌类植物无法比拟的。Kahkonen等^[31]对92种植物的抗氧化性进行实验,结果表明抗氧化活性和总酚含量(GAE 20 mg/g)最高的是黑果腺肋花楸。

黑果腺肋花楸的药用价值具体表现在高含量的多酚类物质的抗氧化活性和对自由基清除能力的大小。Nechifor等人^[32]为了研究心血管疾病新的自然疗法相似体,对黑果腺肋花楸、玫瑰果、欧洲越橘和山楂进行了抗氧化性的测定,结果表明:黑果腺肋花楸果实的抗氧化性(6.38 gtrolox/g)大于玫瑰果(6.36 gtrolox/g)和欧洲越橘(5.97 gtrolox/g),但小于山楂(7.73 gtrolox/g)。Kulling^[33]等将黑果腺肋花楸果实与其它富含多酚的水果在清除自由基能力方面进行了对比,其结果表明:在富含酚类物质的水果中,尤其是深蓝色或红色的水果中含有的抗氧化活性物质最高^[34],黑果腺肋花楸中多酚类ORAC值为158.2~160.2 μmol TE/g,明显高于蓝莓、黑莓、黑加仑、越橘等水果,在常见的水果中,黑果腺肋花楸的抗氧化活性最高。

3.2 保肝作用

非酒精性脂肪肝(NAFLD)是一种慢性肝疾病,仅在美国影响到95百万人^[35]。非酒精性脂肪肝是由脂肪积累而非因过量饮酒所导致的肝细胞受损^[8]。

随着科技的进步,人们的饮食结构发生重大改变,尤其是年轻人对高脂肪含量食物的摄入越来越多,随之引发了一些非酒精性脂肪肝的发生,连续六周通过对小鼠喂食高脂食物和黑果腺肋花楸果粉,研究发现,同时喂食果粉和高脂食物的小鼠体内固醇结构蛋白(SREBP)、乙酰辅酶A羧化酶和脂肪酸合酶的mRNA表达受到不同程度的影响^[36]。目前另一类困扰人们的疾病——酒精性脂肪肝,是由于长期饮酒导致人体血浆蛋白、谷丙转氨酶、谷草转氨酶等发生改变所致,有研究报道将黑果腺肋花楸果汁喂食饮用酒的大鼠,测试由四氯化碳所致的脂质过氧化反应产生的丙二醛,发现喂食黑果腺肋花楸果汁的大鼠体内丙二醛含量明显降低,具有缓解酒精性脂肪肝的作用^[37]。多项研究表明,黑果腺肋花楸的果粉和果汁对预防酒精性脂肪肝和非酒精脂肪肝均有显著的疗效,未来可以用在治疗肥胖病上^[38]。研发相应的保健食品,会受到大家的广泛关注。

3.3 其他

在体外和体内实验研究表明,黑果腺肋花楸有潜在的保肝、保护心脏、降血糖和抗突变等作用^[33,39]。有研究表明,患有轻度高胆固醇血症的男性坚持六周每日摄入250 mL的黑果腺肋花楸的果汁,可以显著降低血清中总胆固醇、低密度脂蛋白,达到治疗的效果^[40]。黑果腺肋花楸同时能够降低心血管疾病的患病风险,对心肌梗死的发病有抑制作用,为二次治疗提供临床应用^[40]。黑果腺肋花楸的花青素对II型糖尿病有预防和控制的作用,糖尿病患者连续3个月每日摄入200 mL的黑果腺肋花楸果汁,可有效的降低血糖水平(空腹)^[41-42]。花青素不仅可以单独使用达到相应的治疗效果,近来Kurt^[6]的实验是将黑果腺肋花楸的提取物与微量元素硒结合,通过协同作用来对抗炎症的发生,在硒维持机体免疫自我平衡的同时发挥花青素抗氧化的功能来降低炎症的发生。目前从黑果腺肋花楸中提取的花青素多用在临床医学上,关于保健功能食品的研发报道甚少,可通过对黑果腺肋花楸中花青素含量、结构性质和医学特效的研究,研发出具有保健功能和药用价值的产品是值得在未来市场开发的。

4 结语

目前黑果腺肋花楸的研究已经进入到分子细胞水平,基于黑果腺肋花楸积极作用,关于对人类健康影响的研究越来越多。黑果腺肋花楸的果汁能够强效刺激内皮依赖性舒张冠状动脉的内皮一氧化氮合酶的氧化还原发生^[43]。黑果腺肋花楸中的花青素和酚酸类化合物是抑制 α -淀粉酶和脂肪酶催化反应的化合物,绿原酸是抑制胰腺 α -淀粉酶最有效的成分,花色苷是抑制脂肪酶最有效的成分,黑果腺肋花楸可作为一种功能性食品,有助于减肥^[44]。在非酒精性脂肪肝方面,黑果腺肋花楸果汁能够影响小鼠体内固醇结构蛋白(SREBP)、乙酰辅酶A羧化酶和脂肪酸合酶的mRNA表达^[36]等等,这些研究为今后黑果腺肋花楸在临床应用方面提供相应的理论基础,可以依据黑果腺肋花楸的功效特性研发辅助治

疗肝脏、癌症、心脏病等疾病的保健品。

目前黑果腺肋花楸的相关产品,如保健型果汁饮料、果茶、果酱、保健胶囊、片剂等^[6]已有销售,加工工艺相对单一粗糙,未来可以在优化已有的加工技术的同时开发新的工艺,将黑果腺肋花楸果实、果汁和果渣中的有效成分得到最大化的利用。同时可以研发果醋、果干、果粉等系列产品,在提供日常所需营养的同时不失口感与风味。Milica^[45]等通过优化黑果腺肋花楸中的多酚物质提取条件,研发了黑果腺肋花楸副产品——水果滤茶干蛋糕。也有报道黑果腺肋花楸可用于制作功能的点心和早餐麦片,这种高温、短时间的挤压加工技术是一种独特的以谷物为基础的产品加工技术^[46]。在未来,基于已有的工艺和研究结果,开发具有保健功效的功能性食品,用于一些慢性疾病的辅助治疗和营养膳食的补充。

参考文献

- [1] Salló Tivadar, Varga Erzsébet. A feketegyümölcs berkenye (*Aronia melanocarpa* Michx. Elliot) fitokémiai vizsgálata [J]. Orvostudományi értesít 2008 81(2): 134-136.
- [2] 马兴华. 优良的经济树种-黑果腺肋花楸[J]. 林业科技通讯, 1992(11): 31-34.
- [3] Choi J H, Rhee I K, Park KY, et al. Action of green tea catechin on bone metabolic disorder in chronic cadmium-poisoned rats [J]. Life Science 2003(73): 1479-1489.
- [4] Paik M K, Lee H O, Chung H S, et al. Genistein may prevent cadmium-induced bone loss in ovariectomized rats [J]. Journal of Medical Food 2003(6): 337-343.
- [5] Malgorzata M, Brzóska J, R Malgorzata GS. Protective effect of *Aronia melanocarpa* polyphenols against cadmium-induced disorders in bone metabolism: A study in a rat model of lifetime human exposure to this heavy metal [J]. Chemico-Biological Interactions 2015(229): 132-146.
- [6] Kurt A, Peter M, Estrella M, et al. Chokeberry (*Aronia melanocarpa* (Michx.) Elliot) concentrate inhibits NF- κ B and synergizes with selenium to inhibit the release of pro-inflammatory mediators in macrophages [J]. Fitoterapia, 2015(105): 73-82.
- [7] 陈群. 脑电生物反馈治疗仪与睡眠分期的研究[D]. 广东: 广东工业大学, 2013.
- [8] Santos-Buelga C, Scalbert A. Proanthocyanidins and tannin-like compounds—nature, occurrence, dietary intake and effects on nutrition and health [J]. Journal of the Science of Food and Agriculture 2000 80(7): 1094-1117.
- [9] Shyangdan D, Clar C, Ghouri N, et al. Insulin sensitizers in the treatment of non-alcoholic fatty liver disease: a systematic review [J]. Health Technology Assessment 2011(15): 1-110.
- [10] Aedin C, Éilis J O' R, Colin K, et al. Habitual intake of flavonoid subclasses and incident hypertension in adults [J]. The American Journal of Clinical Nutrition 2011 93(2): 338-347.
- [11] Gasiorowski K, Szyba K, Brokos B, et al. Antimutagenic activity of anthocyanins isolated from *Aronia melanocarpa* fruits [J]. Cancer Letter, 1997(119): 37-46.

- [12]李军祥,李元亭,黄永红.亚热带水果与北方水果营养物质含量的比较研究[J].中国园艺文摘,2010(9):24-25.
- [13]赵明优.黑果腺肋花楸的开发利用价值及栽培技术[J].陕西林业科技,2012(7):100-102.
- [14]于于明,李锐.黑果腺肋花楸幼苗的化学成分[J].沈阳药科大学学报,2006(7):17-18,26.
- [15]Taruscio T G,Barney D L,Exon J.Content and profile of flavanoid and phenolic acid compounds in conjunction with the antioxidant capacity for a variety of northwest Vaccinium berries [J].Journal of Agricultural and Food Chemistry,2004,52(10):3169-3176.
- [16]严娜,高雪燕,王汝华,等.稻米中多酚类化合物研究进展[J].食品工业科技,2015,36(19):374-378.
- [17]王鹏.国外黑果腺肋花楸多酚类物质功能性研究进展[J].林业科技,2014(7):67.
- [18]Oszmiański J,Sapis J C.Anthocyanins in Fruits of Aronia melanocarpa(Chokeberry) [J].Journal of Food Science,1988,53(4):1241-1242.
- [19]Strigl A W,Leitner E,Pfannhauser W. Qualitative und quantitative Analyseder Anthocyane in Schwarzen Apfelbeeren (Aronia melanocarpa Michx Ell) mittels TLC,HPLC and UV/VIS-Spectrometrie [J].Z Lebensm Unters Forsch,1995(201):266-268.
- [20]Kähkönen M P,Hopia A I,Vuorela H J,et al. Antioxidant activity of plant extracts containing phenolic compounds [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry,1999(47):3954-3962.
- [21]Molina E G,Moreno D A,García-Viguera C. Aronia-enriched lemon juice: a new highly antioxidant beverage [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry,2008(56):11327-11333.
- [22]Kokotkiewicz A,Jremicz Z,Luczkiwicz M. Aronia plants: a review of traditional use,biological activities and perspectives for modern medicine [J].Journal of Medicinal Food,2010,13(2):255-269.
- [23]Leandro G D,Krasimir D,Peggy V. Kinetics of ultrasound assisted extraction of anthocyanins from Aronia melanocarpa (black chokeberry) wastes [J].Chemical Engineering Research and Design,2014,92(10):1818-1826.
- [24]Andrzej P,Aleksandra O,Agnieszka B,et al. Anthocyanin-rich Aronia melanocarpa extract possesses ability to protect endothelial progenitor cells against angiotensin II induced dysfunction [J].Phytomedicine,2015,22(14):1238-1246.
- [25]Reed J,Cranberry F. Atherosclerosis and cardiovascular health [J].Critical Reviews in Food Science and Nutrition,2002,42(Suppl):301-316.
- [26]Steinberg F,Bearden M,Keen C. Cocoa and chocolate flavonoids: Implications for cardiovascular health [J].Journal of the American Dietetic Association,2003(103):215-223.
- [27]Bagchi D,Bagchi M,Stohs S J,et al. Lack of carcinogenicity and increased survival in F344 rats treated with 5-fluorouracil for 2 years [J]. Food and Chemical Toxicology,2000,38(2-3):187-193.
- [28]Murphy K J,Chronopoulos A K,Singh I,et al. Dietary flavanols and procyanidin oligomers from cocoa (*Theobroma cacao*) inhibit platelet function [J].The American Journal of Clinical Nutrition,2003(77):1466-1473.
- [29]Wu X L,Gu L W,Prior R L,et al. Characterization of anthocyanins and proanthocyanidins in some cultivars of Ribes, Aronia and Sambucus and their antioxidant capacity [J].Journal of Agricultural and Food Chemistry,2004(52):7846-7856.
- [30]Oszmianski J,Wojdylo A. Aronia melanocarpa phenolics and their antioxidant activity [J]. European Food Research and Technology,2005,221(6):809-813.
- [31]Hakkinen S H,Karenlampi S O,Heinonen M,et al. Content of the flavonols quercetin,myricetin and kaempferol in 25 edible berries [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry,1999(47):2274-2279.
- [32]Nechifor A C,Neagu M P,Pascu D L,et al. Different spectrophotometric methods for antioxidant activity assay of four herbs [R].Recent Researches in Environment and Biomedicine,2013,3(7):120-125.
- [33]Kulling S E,Rawel H M. Chokeberry (*Aronia melanocarpa*) - a review on the characteristic components and potential health effects [J].Planta Medica,2008(74):1625-1634.
- [34]Wu X,Beecher G,Holden J,et al. Lipophilic and hydrophilic antioxidant capacities of common foods in the United States [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry,2004(52):4026-4037.
- [35]Federico A,Zulli C,Sio I,et al. Focus on emerging drugs for the treatment of patients with non-alcoholic fatty liver disease [J]. World Journal of Gastroenterol,2014(20):16841-16857.
- [36]Parka H,Liu Y N,Kimb H S,et al. Chokeberry attenuates the expression of genes related to de novo lipogenesis in the hepatocytes of mice with non-alcoholic fatty liver disease [J]. Nutrition Research,2015,Accepted Manuscript,10.
- [37]Valcheva K S,Borisova P,Galunska B,et al. Hepatoprotective effect of the natural fruit juice from Aronia melanocarpa on carbon tetrachloride-induced acute liver damage in rats [J]. Experimental and Toxicologic Pathology,2004(56):195-201.
- [38]Zielinska-Przyjemka M,Olejnik A,Dobrowolska-Zachwieja A,et al. Effects of Aronia melanocarpa polyphenols on oxidative metabolism and apoptosis of neutrophils from obese and non-obese individuals [J]. Acta Scientiarum Polonorum. Technologia Alimentaria,2007(6):75-87.
- [39]Denev P N,Kratchanov C G,Ciz M,et al. Bioavailability and antioxidant activity of black chokeberry (*Aronia melanocarpa*) polyphenols: *In vitro* and *in vivo* evidences and possible mechanisms of action: A review [J]. Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety,2012(11):471-489.
- [40]Skoczynska A,Jedrychowska I,Poreba R,et al. Influence of chokeberry juice on arterial blood pressure and lipid parameters in men with mild hypercholesterolemia [J]. Pharmacological Reports,2007(59):177-182.
- [41]Valcheva K S,Kuzmanov K,Tancheva S,et al. Hypoglycemic

and hypolipidemic effects of Aronia melanocarpa fruit juice in streptozotocin-induced diabetic rats [J]. Methods and Findings in Experimental and Clinical Pharmacology 2007(29): 101-105.

[42] Simeonov S B, Botushanov N P, Karahanian E B, et al. Effects of Aronia melanocarpa juice as part of the dietary regimen in patients with diabetes mellitus [J]. Folia Medica (Plovdiv), 2002(44): 20-23.

[43] Kima J H, Augera C, Kuritaa I, et al. Aronia melanocarpa juice, a rich source of polyphenols, induces endothelium-dependent relaxations in porcine coronary arteries via the redox-sensitive activation of endothelial nitric oxide synthase [J]. Nitric Oxide 2013(35): 54-64.

[44] Worsztynowicz P, Napierała M, Białasa Wojciech.

Pancreatic α -amylase and lipase inhibitory activity of polyphenolic compounds present in the extract of black chokeberry (*Aronia melanocarpa* L.) [J]. Process Biochemistry, 2014, 49(9): 1457-1463.

[45] Milica R, Senka V, Zoran Z, et al. Modeling and optimization of ultrasound-assisted extraction of polyphenolic compounds from Aronia melanocarpa by-products from filter-tea factory [J]. Ultrasonics Sonochemistry 2015(23): 360-368.

[46] Mario H, Rebecca P, Esther M, et al. Influence of HTST extrusion cooking process parameters on the stability of anthocyanins, procyanidins and hydroxycinnamic acids as the main bioactive chokeberry polyphenols [J]. LWT - Food Science and Technology 2015 62(1): 511-516.

(上接第395页)

[36] Udhayashree N, Senbagam D, Senthilkumar B, et al. Production of bacteriocin and their application in food products [J]. Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine, 2012, 2: S406-S410.

[37] Martinez R C R, Wachsmann M, Torres N I, et al. Biochemical, antimicrobial and molecular characterization of a noncytotoxic bacteriocin produced by *Lactobacillus plantarum* ST71KS. [J]. Food Microbiology 2013 34(2): 376-381.

[38] Martinez R C R, Staliano C D, Vieira A D S, et al. Bacteriocin production and inhibition of *Listeria monocytogenes* by *Lactobacillus sakei* subsp. *sakei* 2a in a potentially synbiotic cheese spread [J]. Food Microbiology 2015 48: 143-152.

[39] Junior A A D O, Moura T R D, Barbosa A A T, et al. Stability, antimicrobial activity and effect of nisin on the physico-chemical properties of fruit juices [J]. International Journal of Food Microbiology 2015 211: 38-43.

灵芝产品被捧为“抗癌” 功效被夸大

4月17日是“世界肿瘤日”。记者从广西肿瘤防治办公室了解到,近30多年来,广西恶性肿瘤的发病率和死亡率均呈上升趋势,肺癌、肝癌等高发肿瘤已成为广西的常见病、多发病,并成为新世纪危害广西居民健康和生命的主要因素。

据了解,恶性肿瘤已成为导致居民死亡的“第一杀手”,超过了之前分列二、三位的脑血管病和心脏病。对此,有人说,灵芝能抗癌吗?目前,市场上一些灵芝孢子粉和灵芝孢子油被一些商家吹捧为“抗癌产品”。为此,记者在網上搜索了一下关键词“灵芝孢子粉和灵芝孢子油”,发现该产品宣称,可以“治疗肿瘤”,售价不菲。

记者了解到,现实中有不少肿瘤患者对灵芝及其产品都抱有一种幻想,以为吃了这些药品或保健品,就可以治好肿瘤。事实上,灵芝真的能抗癌吗?对此,广西医科大学附属肿瘤医院副院长韦长元认为,市场上出售的很多灵芝顶多只是保健品,可以提高身体的免疫力,但其宣传上却称能“抗癌”的功效远被夸大。因为,目前野生灵芝已很少,市面上的灵芝绝大多数是人工培植的,其功效远没有宣传的那么神奇,治疗肿瘤也没多大效果,确切的抗癌作用还需进一步临床证实。而癌症是一大类疾病的统称,每种癌症的发病机制都不相同,因此不能简单依靠某一类保健品抗癌,还应因人而异,具体病情具体分析。

而广西中医药大学附属瑞康医院肿瘤科二区莫苑君医生认为,从中医上讲,灵芝具有补益全身气血的作用,扶正以抗癌。灵芝辅助治疗癌症是通过扶助人体正气、整体调节机体免疫力、改善生存质量而言。从西医上讲,灵芝是多孔菌科赤芝或紫芝的干燥子实体,其化学成分主要含麦角甾醇、多种氨基酸、多肽及多糖类,灵芝在增强人体免疫力、调节血糖、控制血压、辅助肿瘤放疗、化疗、保肝助眠等方面具有一定疗效。

专家介绍,美国饮食营养及癌症委员会的调查表明:结肠癌、乳腺癌、食管癌、胃癌及肺癌最有可能通过改变饮食习惯加以预防。事实上,合理的膳食,特别是植物类食品中含有各种各样的防癌成分,可能对大部分癌都有预防作用。

大多数具有癌症预防作用的膳食主要是由植物来源的食物组成,是指富含营养、膳食纤维(也富含非淀粉多聚糖)以及低能量的植物性食物为主的膳食。非淀粉类蔬菜和水果由于能量密度低,有益于预防体重增加,可能对某些癌症的预防有益。非淀粉类蔬菜包括绿叶蔬菜、西兰花、茄子、油菜(不包括土豆、芋头、白薯)。非淀粉类根茎类和块茎类食物包括胡萝卜、蕉青甘蓝和萝卜,这些食物含有大量膳食纤维和各种微量元素,并且能量密度低,有利于保持健康体重,这些以及非动物来源的食物是专家重点推荐的每餐食品。

摘自当代生活报讯

黑果腺肋花楸功能作用 及食品加工研究进展

陈妍竹, 胡文忠*, 姜爱丽, 刘程惠, 于雪, 刘星伯
(大连民族大学生命科学学院, 辽宁大连 116600)

摘要: 黑果腺肋花楸果实中富含大量多酚、黄酮、花青素、酚酸、维生素及矿物质等功能成分, 其果实具有一定的保健功能, 其中抗氧化作用最为显著。但由于果实自身单宁含量较高, 生食苦涩, 不受消费者喜爱, 因此可将果实进行深加工, 改善口感。本文就黑果腺肋花楸果实的功能作用以及食品加工进展进行了综合论述, 为未来我国对其相关产品的开发研究提供参考。

关键词: 黑果腺肋花楸, 果实, 食品加工, 功能作用

Food processing and functional character of *Aronia melanocarpa*

CHEN Yan-zhu, HU Wen-zhong*, JIANG Ai-li, LIU Cheng-hui, YU Xue, LIU Xing-bo

(College of Life Science, Dalian Nationalities University, Dalian 116600, China)

Abstract: *Aronia melanocarpa* fruit contains lots of functional components, such as polyphenol, flavonoid, anthocyanin, phenolic acid, vitamins and minerals. The fruit has a certain hygienical function and strong antioxidant. The raw fruit tastes bitter because of its high content of tannin and it is not popular in consumers. So fruit can be deeply processed and improved its taste. In this paper we discussed the function of *Aronia melanocarpa* and its application in food processing and development, in order to provide references about the further researches in related products in China.

Key words: *Aronia melanocarpa*; fruit; food processing; functional effect

中图分类号: TS255.1

文献标识码: A

文章编号: 1002-0306(2016)09-0397-04

doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2016.09.071

黑果腺肋花楸(*Aronia melanocarpa* Elliot), 又叫不老莓, 野樱莓, 是蔷薇科(Rosaceae)腺肋花楸(*Aronia*)属多年生落叶灌木, 树高1.8~3.0 m, 耐寒, 耐旱^[1], 其果实浑圆, 成熟后呈紫黑色, 原产于北美东部和加拿大^[2], 是集食用、药用、园林、生态等价值于一体的经济树种。我国本土并无此树种, 自1989年起辽宁省干旱地区造林研究所先后从国外引进8个品种, 发展至今我国已经拥有较丰富的种植资源。黑果腺肋花楸果实含有丰富营养成分和生物活性物质, 据报道它的果汁具有很强的抗氧化性, 还有抗癌^[3]、抗炎^[4]、防止尿路感染^[5]、治疗糖尿病^[6]、保肝^[7]、治疗肥胖^[8]的作用, 其提取物对防治心脑血管疾病效果显著^[9]。但由于黑果腺肋花楸果实中含有大量单宁, 生食果实味道酸涩, 口感不佳, 不易被消费者接受, 因此可将果实进行深加工, 用于制作果汁、果酒、果粉、果冻和天然食品色素等^[10]。黑果腺肋花楸有很强的抗氧化性, 且各类营养物质丰富, 近年来国内对其功能性研究增多, 但

食品开发加工方面仍处于起步阶段, 远不及国外。随着黑果腺肋花楸种植的推广以及人们对其保健功能的认识不断加深, 果实深加工研究进一步深入与完善, 相信黑果腺肋花楸果实加工产品会越来越受消费者关注, 得到保健行业的重视。本文就黑果腺肋花楸功能特性及食品加工进展方面展开论述, 以为未来黑果腺肋花楸食品研究及保健产品开发提供参考。

1 黑果腺肋花楸的功能成分

黑果腺肋花楸果实中富含大量营养物质, 例如膳食纤维、糖类、蛋白质、多酚类化合物, 其中最重要的物质是酚类物质^[11]。多酚类化合物如酚酸、原花青素、花青素、黄酮醇等含量丰富, 且与黑果腺肋花楸的生物活性密切相关。其中花青素占主导地位, 约占总酚的25%^[12], 可保护机体免受自由基损伤, 有防癌、护肝等多种作用。因此黑果腺肋花楸果实也具有一定的保健作用。

收稿日期: 2015-11-23

作者简介: 陈妍竹(1992-), 女, 在读硕士, 研究方向: 食品加工与质量安全控制, E-mail: 756842874@qq.com。

* 通讯作者: 胡文忠(1959-), 男, 博士, 教授, 研究方向: 食品加工与质量安全控制, E-mail: h wz@dlnu.edu.cn。

基金项目: 满族医药与特色食品的研发(DC201501020101)。

2 黑果腺肋花楸的功能作用

2.1 抗氧化作用

黑果腺肋花楸果实含有高浓度的花色苷、咖啡酸及咖啡酸衍生物等多酚类化合物,因此具有较强的抗氧化活性^[13-14],其中主要的抗氧化成分是矢车菊素 3-O- β -D-半乳糖苷^[15]。Pascu 等人^[16]对 4 种抗氧化性较强的水果进行测定比较,结果表明:山楂抗氧化性>黑果腺肋花楸>玫瑰果>欧洲越橘。Zheng 等人^[15]将腺肋花楸与蔓越莓、蓝莓以及越橘进行氧化自由基吸收能力的测定,其中腺肋花楸果实中抗氧化能力(ORAC)最强,可达到 158.2~160.2 $\mu\text{mol of TE/g}$,明显高于其他三种浆果。随后 Kulling 等人^[11]将 20 余种富含多酚的鲜果进行抗氧化能力的对比,发现腺肋花楸清除自由基能力最强,明显高于黑加仑、草莓、橘子等水果。众多医学研究以及各种临床实验证明,体内自由基产生过多或者清除自由基能力下降是疾病与衰老之源^[17],自由基是氧化的产物,它们极其不稳定,四处抢夺细胞蛋白质上的电子,使其成为畸变分子,而畸变分子由于自己缺少电子又去抢夺临近细胞的电子,进而临近细胞又失去电子,恶性循环下,就会产生大量畸变分子,癌症就是这么产生的。体内过多的活性氧簇(ROS)可产生氧毒性,与许多疾病都密切相关,如心血管疾病,癌症,帕金森症,糖尿病等^[18]。综上各研究发现,黑果腺肋花楸有较强清除自由基的能力,因此可用来研发新型抗氧化产品。

2.2 抗肿瘤作用

黑果腺肋花楸果汁也具有一定抗肿瘤抗癌作用。Skarpańska-Stejnborn 等人^[19]通过人体实验发现,饮用黑果腺肋花楸果汁的人在剧烈运动后,与对照组相比,血液中肿瘤坏死因子- α 显著减少,铁含量与抗氧化能力显著增加。说明黑果腺肋花楸果汁能提高血浆抗氧化能力,降低肿瘤坏死因子- α 在血液中水平。Šavikin 等人^[20]选用干燥的腺肋花楸果实,覆盆子、黑加仑子,采用煎煮浸提的常用方法做成水果茶,测定酚类与细胞毒活性。这三种浆果类果茶对子宫癌、胎记瘤、慢性髓细胞性白血病有一定的抑制作用,其中腺肋花楸抑制性最强。通过 Gasiorowski 研究^[21],黑果腺肋花楸中提取的花青素还有一定抗诱变作用,花青素的抗诱变作用主要是通过清除自由基的同时抑制原诱变因素的酶活,这些原始数据有可能成为其抗诱变抗癌方面重要佐证。可见黑果腺肋花楸有一定的抗癌抗突变的作用,因此可被研究开发成为一种新型的抗癌保健食品。

2.3 抗炎作用

腺肋花楸还具有一定的抗炎作用。Martin^[22]在动物实验中发现其提取物能抑制未受刺激的脾细胞脂多糖和 IL-6 的分泌,以及诱导 IL-10 的分泌,这些细胞因子与自身炎症性疾病发展密切相关。Appel 等人研究发现^[23],黑果腺肋花楸浓缩汁能使人体外周单核细胞分泌 TNF α , IL-6 和 IL-8 的量减少,并且对 NF- κ B 有激活作用,其中发现腺肋花楸与亚硒酸

钠结合能显著提高抗炎效果。硒是一种有益的微量元素,具有抗癌抗氧化,增强人体免疫力等多种功能,因此未来可将黑果腺肋花楸与硒结合开发一种新的抗炎药物。

2.4 其他作用

除上述功效外,黑果腺肋花楸还对糖尿病有一定作用。黑果腺肋花楸含有丰富的花青素^[24],许多研究表明花青素有利于治疗糖尿病,对胰岛素分泌有促进作用。Badescu 等人对植物体内多酚类物质对糖尿病影响的研究表明^[6],从黑果腺肋花楸中提取的天然多酚类物质可调节糖尿病,减少胰腺胰岛炎症,对胰岛素分泌有促进作用。同时腺肋花楸对降血压也效果显著,Hellström 等人通过动物实验表明^[25],冻干腺肋花楸果汁在自发性高血压大鼠中使用,舒张压和收缩压均有减少,说明腺肋花楸有降血压的功效。除此之外,化验室及临床资料显示,黑果腺肋花楸产品可能会成为对氧化应激疾病有作用的功能性产品^[26]。因此,对黑果腺肋花楸产品进行深度开发前景广阔,可开发作为一种保健型药品。

3 黑果腺肋花楸果实的加工进展

黑果腺肋花楸果实有很强的保健功效,但由于其本身原因口感不佳,大众难以接受,果实的深加工就显得尤为重要。目前国内对黑果腺肋花楸研究最多的是栽培技术或者成分分析,其食品加工方面主要以果酒为主,其他方面少有涉及,而国外果汁研发已经处于商业化,成品浓缩果汁已经出现在市面上。

3.1 果汁

黑果腺肋花楸属浆果类,榨汁率基本为 70%^[27]。因此可将黑果腺肋花楸果实制成果汁,解决其口感问题,随着加工工艺的成熟还能最大限度保存原料中的营养成分。黑果腺肋花楸果汁的价值也不仅仅体现在高营养方面,它还具有良好的混合性能,能与其他果汁混合,制成混合型果汁,更进一步提高抗氧化能力,例如 Gironés-Vilaplana 等人^[28]向柠檬汁中加入 5% w/v 的黑果腺肋花楸果汁,比单独柠檬汁或者黑果腺肋花楸果汁的抗氧化能力更强。混合果汁理论上可起胆碱酯酶的作用,对神经退行性疾病也有一定抑制作用,因此可能会成为一种可加入食物中的新型天然的 AChE 和 BuChE 抑制剂,该混合果汁具有成为营养健康产品的潜力。同时 González-Molina 等人对此也有研究^[29],柠檬汁混合 5% v/v 腺肋花楸果汁,混合果汁能保存更高的花青素含量,以及具有更强的抗氧化活性,是对人身体健康有益的一种产品。随着社会水平的提高,人们越来越重视食品健康方面,大众更倾向于选择健康营养的果汁。目前国内对其果汁研究尚浅,几乎未见商业化,因此黑果腺肋花楸果汁加工方面很有市场前景,在国内具有很大的发展潜力。

3.2 果酒

各种果酒深受中国消费者的喜爱,其中葡萄酒是大众普遍消费对象,是餐桌聚会上不可或缺的酒类产品之一。果酒具有低酒度、高营养的特点^[30]。

黑果腺肋花楸可与酿酒活性干酵母结合,将果实进行筛选清洗处理发酵成低酒精度的果酒,其发酵生产的果酒具有非常高的营养价值。目前国内对酒的加工工艺研究较多,在黑果腺肋花楸果酒酿造前期,果汁需要经过 SO_2 处理,以达到抑制杂菌生长、护色、澄清等目的^[31],用 0.4% 明胶作为澄清剂,果酒稳定性保持时间约为 1 年^[32]。王鹏等人^[33]还对黑果腺肋花楸果酒发酵条件进行了优化,加工高度黑果腺肋花楸干红最佳条件为 22 °C,含糖量为 26.2%, pH4.0,加工低度黑果腺肋花楸干红,最佳条件温度 22 °C,含糖量 19.4%, pH4.0。黑果腺肋花楸果实可根据不同发酵条件加工成口感柔和,色泽诱人的果酒。Witkowska 等人^[34]则对果酒中成分进行分析,将黑加仑、腺肋花楸、接骨木果、醋栗果和红葡萄酒进行对比,测定九种酒中的化学成分,其中腺肋花楸有四种指标居于最高,抗氧化性最强,总抗氧化能力 (TEAC) 为 34.0 mmol/L,总酚含量最高为 4.10 g/L,总花青素含量最高为 1.39 g/L, V_c 含量最高为 134.4 mg/L。由此可见,与其他果酒相比,黑果腺肋花楸果酒的营养价值很高,其果酒系列产品在国内有着可观的开发前景。

3.3 果粉

目前,市面上有许多种类果蔬粉,但是营养价值及抗氧化能力均不如黑果腺肋花楸,色泽也不如黑果腺肋花楸鲜艳。黑果腺肋花楸果实呈天然紫黑色,其果汁呈暗红宝石色,有报道称可将其干燥后的果粉用作食品添加剂^[9]。将果实制成果粉有两种方法,第一将腺肋花楸果汁通过喷雾干燥、冷冻干燥或者 40~80 °C 真空干燥制成粉末状,三种方法制成的粉末中均含有较高含量的多酚,其中通过喷雾干燥处理后,总酚、总黄酮、原花青素及矢车菊素葡萄糖苷含量最高^[35],该技术较适合用于保存腺肋花楸。第二将黑果腺肋花楸果实榨汁后,留下的果渣干燥后制成果粉,含籽的部分富含 13.9% 脂肪、24% 蛋白质和无机化合物。无籽部分含有大量的总膳食纤维,原花青素(12000 mg/100 g)和花青素(1200 mg/100 g)^[36]。这样果汁可用来制成商业果汁,而剩下的果渣也会得到充分的利用,使黑果腺肋花楸的价值最大化。制成的果粉可以添加到面包、蛋糕等中,健康又营养。也可以独立包装,做成冲剂,随用随冲,携带方便,为忙碌的都市人提供健康方便的营养补充剂。

3.4 果冻

果冻是一种市面常见的甜食之一,呈半固体状,外观晶莹,口感柔滑,深受小孩子与大人人们的喜爱。通过 Ciurzyńska 等人研究^[37],可将草莓粉与黑果腺肋花楸浓缩果汁相结合制作果冻,配方为 7% 草莓粉,0.05% 乳酸钙再添加 5.2% 黑果腺肋花楸浓缩果汁,所得产品品质最高。由黑果腺肋花楸制成的果冻色泽鲜艳,更易吸引小孩子,同时果冻几乎不含蛋白质、脂肪等任何能量营养素,又适合减肥或想保持身材的爱美人士。果冻与黑果腺肋花楸结合,既能满足大众口味,又能满足爱美者在减肥同时补充多种维生素,矿物质等。

4 结语

随着人们生活水平的提高,如何吃得健康营养,逐渐成为消费者们日益关心的问题。人们对各种花样美食无法抗拒,日常饮食中摄入脂类过多,醇类过多,各种维生素及矿物质摄取不足,心血管疾病如影随形。社会进步,人们消费观念的不断加强,营养保健型食品备受青睐。目前黑果腺肋花楸可做成果汁、果酒、果粉等,未来在优化已有果实加工的方法同时,也可以开发新的加工工艺。近年来,市场上的乳酸发酵型饮料深受各年龄段人群喜爱,因此可将黑果腺肋花楸果实经榨汁后,利用乳酸菌对其进行乳酸发酵,制成乳酸型饮料。乳酸菌是一种有益菌种,能够改变人体肠道菌群,预防肠道疾病,防癌防便秘,提高人体免疫力。也可以开发果醋饮品系列、果汁软糖、果酱、果干等,在提供营养的同时又不失风味与口感。黑果作为新一代的健康水果,营养价值毋庸置疑,我国目前对黑果腺肋花楸的研究及应用较少,市面上的产品也寥寥无几,因而其产品开发将具有良好的市场发展前景及经济效益,对研究黑果腺肋花楸加工新技术也具有十分重要的意义。

参考文献

- [1]姜镇荣.黑果腺肋花楸栽培技术[J].防护林科技,2009(3):118-122.
- [2]Mayer-Miebach E,Adamiuk M,Behnsilian D.Stability of Chokeberry Bioactive Polyphenols during Juice Processing and Stabilization of a Polyphenol-Rich Material from the By-Product[J].Agriculture,2012,2(3):244-258.
- [3]Zhao C,Giusti MM,Malik M,et al.Effects of commercial anthocyanin-rich extracts on colonic cancer and nontumorigenic colonic cell growth.J Agric Food Chem 2004;52:6122-8.
- [4]Ohgami K,Ilieva I,Shiratori K,et al.Anti-inflammatory Effects of Aronia Extract on Rat Endotoxin-Induced Uveitis[J].Investigative Ophthalmology Vis Sci 2005,46(1):275-81.
- [5]Handeland M,Grude N,Torp T,et al.Black chokeberry juice (*Aronia melanocarpa*) reduces incidences of urinary tract infection among nursing home residents in the long term—a pilot study[J].Nutrition Research,2014,34(6):518-525.
- [6]Badescu M,Badulescu O,Badescu L,et al.Effects of Sambucus nigra and Aronia melanocarpa extracts on immune system disorders within diabetes mellitus[J].Pharmaceutical Biology,2015,53(4):533-539.
- [7]Jankowski A,Jankowka B,Niedworok J.The influence of Aronia melanocarpa in experimental pancreatitis[J].Pol Merkuriusz Lek,2000,5(4):469-481.
- [8]Zielinska-Przyjemka M,Olejnik A,Dobrowolska-Zachwieja A,et al.Effects of Aronia Melanocarpa Polyphenols on Oxidative Metabolism and Apoptosis of Neutrophils from Obese and Non-obese Individuals[J].ActaSci.Pol.Technol.Aliment,2007,6(3):75-87.
- [9]韩文忠,姜镇荣,马兴华,等.国内外腺肋花楸产业和技术发展概况[J].防护林科技,2007(3):57-58.
- [10]任立学.我国黑果腺肋花楸发展中存在的问题与解决途径[J].林业科技通讯,2015(2):21-22.

- [11] Sabine E.Kulling ,Harshadai M.Rawel.Chokeberry (*Aronia melanocarpa*) – A Review on the Characteristic Components and Potential Health Effects [J]. *Planta Med* 2008 ,74 (10) : 1625–1634.
- [12] Benvenuti S ,Pellati F ,Melegari M ,et al.Polyphenols , Anthocyanins ,Ascorbic Acid ,and Radical Scavenging Activity of *Rubus* ,*Ribes* ,and *Aronia* [J]. *Journal of Food Science* ,2004 ,69 (3) : FCT164–FCT169.
- [13] 玄永浩 ,金英善 .黑果腺肋花楸化学成分及药理活性研究进展[J]. *现代农业科技* 2009(20) : 101–102 ,104.
- [14] 于明 .黑果腺肋花楸和头花蓼的化学成分及其生物活性的研究[D]. 沈阳: 沈阳药科大学 2006.
- [15] Zheng W ,Wang S Y.Oxygen Radical Absorbing Capacity of Phenolics in Blueberries , Cranberries , Chokeberries , and Lingonberries [J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* , 2003 ,51(2) : 502–509.
- [16] Pascu M ,Pascu D – E ,Trăistaru G ,et al.Different spectrophotometric methods for antioxidant activity assay of four Romanian herbs [J]. *Journal of the Iranian Chemical Society* , 2014 ,11(2) : 315–321.
- [17] 解温品 ,秦士新 .自由基医学研究进展[J]. *中华损伤与修复杂志(电子版)* 2012(2) : 194–196.
- [18] Valko M ,Leibferitz D ,Moncol J ,et al.Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease [J]. *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology* , 2007 ,39(1) : 44–84.
- [19] Skarpańska–Stejnborn A ,Basta P ,Sadowska J ,et al.Effect of supplementation with chokeberry juice on the inflammatory status and markers of iron metabolism in rowers [J]. *Journal of the International Society of Sports Nutrition* 2014 ,11(1) : 1–10.
- [20] Šavikin K ,Zdunić G ,Janković T ,et al.Berry fruit teas: Phenolic composition and cytotoxic activity [J]. *Food Research International* 2014 ,62: 677–683.
- [21] Gasiorowski K ,Szyba K ,Brokos B ,et al.Antimutagenic activity of anthocyanins isolated from *Aronia melanocarpa* fruits [J]. *Cancer Letters* ,1997 ,119(1) : 37–46.
- [22] Martin D A ,Taheri R ,Brand M H ,et al.Anti-inflammatory activity of aronia berry extracts in murine splenocytes [J]. *Journal of Functional Foods* 2014 ,8: 68–75.
- [23] Appel K ,Meiser P ,Millán E ,et al.Chokeberry (*Aronia melanocarpa* (Michx.) Elliot) concentrate inhibits NF- κ B and synergizes with selenium to inhibit the release of pro-inflammatory mediators in macrophages [J]. *Fitoterapia* ,2015 , 105: 73–82.
- [24] Ochimian I ,Grajkowski J ,Smolik M.Comparison of some morphological features ,quality and chemical content of four cultivars of chokeberry fruits (*Aronia melanocarpa*) [J]. *Not Bot Horti Agrobo* 2012 ,40(1) : 253–260.
- [25] Hellström J K ,Shikov A N ,Makarova M N ,et al.Blood pressure-lowering properties of chokeberry (*Aronia mitchurinii* , var.Viking) [J]. *Journal of Functional Foods* ,2010 ,2 (2) : 163–169.
- [26] Chrubasik C ,Li G ,Chrubasik S.The clinical effectiveness of chokeberry: a systematic review [J]. *Phytotherapy Research* 2010 , 24(8) : 1107–1114.
- [27] 王鹏 ,姜镇荣 ,张平 ,等 .黑果腺肋花楸果实的经济价值及其开发前景[J]. *农产品加工* 2009(9) : 55–57.
- [28] Gironés – Vilaplana A ,Valentão P ,Andrade P B ,et al.Phytochemical profile of a blend of black chokeberry and lemon juice with cholinesterase inhibitory effect and antioxidant potential [J]. *Food Chemistry* 2012 ,134(4) : 2090–2096.
- [29] González–Molina E ,Moreno D A ,García–Viguera C.Aronia – Enriched Lemon Juice: A New Highly Antioxidant Beverage [J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* ,2008 ,56(23) : 11327–11333.
- [30] 杨艳 ,邹洪涛 ,陈世军 .我国天然果酒的研究与开发[J]. *酿酒科技* 2006(10) : 82–85.
- [31] 马艳丽 .黑果腺肋花楸汁酿造果酒的初步研究[J]. *林业科技* 2012(4) : 31–33.
- [32] 王鹏 ,马兴华 ,韩文忠 ,等 .黑果腺肋花楸果酒澄清处理及稳定性研究[J]. *北华大学学报: 自然科学版* ,2014(1) : 116–121.
- [33] 王鹏 ,马兴华 ,韩文忠 ,等 .黑果腺肋花楸果酒发酵条件优化研究[J]. *辽宁林业科技* 2014(2) : 24–25 + 48 + 50.
- [34] Witkowska A M ,Zujko M E ,Borawska M H ,et al.Antioxidant Properties and Selenium Content of Wines [J]. *Polish Journal of Environmental Studies* ,2006 , 15 (2A) : 208–211.
- [35] Horszwald A ,Julien H ,Andlauer W.Characterisation of Aronia powders obtained by different drying processes [J]. *Food Chemistry* 2013 ,141(3) : 2858–2863.
- [36] Sójka M ,Kołodziejczyk K ,Milala J.Polyphenolic and basic chemical composition of blackchoke berry industrial by-products [J]. *Industrial Crops and Products* 2013 ,51: 77–86.
- [37] Ciużyńska A ,Lenart A ,Traczyk W.Influence of Chemical Composition and Structure of Strawberry Gels on the Chosen Physical Properties of Freeze – Dried Final Product [J]. *Italian Journal of Food Science* 2013 ,25(2) : 149–159.
- [38] 王鹏 ,马兴华 ,韩文忠 ,等 .黑果腺肋花楸果酒的综合评价[J]. *植物分类与资源学报* 2013 ,35(5) : 630–640.
- [39] 蒋青娣 ,王金刚 .文冠果的应用领域及发展前景[J]. *甘肃科技* 2011 ,27(15) : 134–135.
- [40] GB/T 20828 – 2014 ,燃油机燃料调和用生物柴油 (BD100) [S].北京: 中国标准出版社 2014
- [41] 郝一男 ,王喜明 ,丁立军 .文冠果籽油制备生物柴油的工艺研究[J]. *内蒙古农业大学学报: 自然科学版* 2011 ,32(2) : 224–229.
- [42] 敖妍 ,段劼 ,于海燕 ,等 .文冠果研究进展[J]. *中国农业大学学报* 2012 ,6(6) : 197–203.
- [43] 刘丽 ,何勇 ,田建保 .文冠果的利用价值与开发前景[J]. *安徽农学通报* 2009 ,15(1) : 111–112.
- [44] 郝一男 .文冠果种仁油的提取及其生物柴油合成的研究[D]. 呼和浩特: 内蒙古农业大学 2011.

辽细辛功能成分的研究进展

孙 录¹, 胡文忠^{1,*}, 刘程惠¹, 李 婧², 白 雪¹
 (1. 大连民族大学生命科学学院 辽宁大连 116600 ;
 2. 大连理工大学 辽宁大连 116024)

摘要: 辽细辛为细辛属中药材, 本文主要针对辽细辛的功能成分及其功效和应用情况进行综述。结合其药理功效, 阐述了辽细辛的镇静、抑菌、抗衰老和抗肿瘤等功效。对辽细辛所具有的药用及食用价值进行了说明和展望, 进一步对其挥发油的提取方法进行了论述。随着医学的发展, 辽细辛有待于进一步开发利用, 本文为辽细辛未来的应用前景提供了一定的参考。

关键词: 辽细辛 功能性成分 功效 提取方法

Advances in functional ingredients in Liao Asarum

SUN Lu¹, HU Wen-zhong^{1,*}, LIU Cheng-hui¹, LI Jing², BAI Xue¹

(1. College of Life Science, Dalian Nationalities University, Dalian 116600, China ;
 2. Dalian University of Technology, Liaoning 116024, China)

Abstract: The Liao Asarum for asarum belongs to tradition Chinese medicine. In this paper, the application situation and functions of Liao Asarum functional components were summarized. The Liao Asarum pharmacological functions which included the sedation, anti-aging and anti-tumor functions were described primarily. The medicinal and edible value of Liao Asarum were illustrated and prospected, and then the extraction methods of volatile oil were discussed. With the development of medicine, Liao Asarum remains to be further development and utilization. This paper provides a certain reference for the future application prospect of Liao Asarum.

Key words: Asarum heterotropoides Fr.; functional ingredients; efficacy; extraction method

中图分类号: TS201.1 文献标识码: A 文章编号: 1002-0306(2016)04-0391-04
 doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2016.04.071

细辛(*Asarum sieboldii* Miq.) 为马兜铃科植物北细辛、汉城细辛或华细辛的干燥根及根茎^[1]。北细辛和汉城细辛主产于东北三省, 而辽宁产的细辛具有分布面广、产量多、质量好等特点, 故有“辽细辛(*Asarum heterotropoides* Fr. Schmidt var. *mandshuricum* (Maxim.) Kitag)”之称, 辽细辛生于山坡林下、灌丛阴湿处。细辛味辛, 温, 归肺、肾经, 具有消炎镇痛、开窍化饮、强心降压等作用, 主治风冷头痛、鼻渊、牙痛、痰饮咳逆、风湿痹痛等症。挥发油是辽细辛的有效成分, 主要含有甲基丁香酚和黄樟醚等^[2]。本文主要叙述了辽细辛的主要功能性成分及其功能作用, 并对辽细辛功能成分的几种提取方法进行了比较说明,

为将来对辽细辛这种中药材的研发提供依据。

1 辽细辛的功能性成分及其功能

1.1 功能性成分

挥发油是辽细辛的主要功能成分, 它占辽细辛成分的3%^[3]。甲基丁香酚、榄香脂素、黄樟醚可视为细辛属的特征性成分^[4-5]。经刘东吉等^[6]对五个主要产地(辽宁本溪、桓仁、宽甸、新宾以及吉林通化)的辽细辛进行挥发油成分的测定发现, 其主要成分为甲基丁香酚和黄樟醚。如表1可以看到细辛属植物的挥发油中还含有萜类成分, 包括单萜类、含氧单萜类、倍半萜及含氧倍半萜类, 其次为3,5-二甲氧基甲苯、肉豆蔻醚、优香芹醇、榄香素^[7]。辽细辛的产地不同,

表1 辽细辛的组成成分

Table 1 The components of Liao Asarum

| 成分 | 主要成分 | 次要成分 |
|------|-------------------|--------------------------|
| 挥发油类 | 甲基丁香酚、黄樟醚、萜类 | 3,5-二甲氧基甲苯、肉豆蔻醚、优香芹醇、榄香素 |
| 非挥发类 | L-细辛脂素、L-芝麻脂素、卡枯醇 | 甲乌药碱、N-异丁基十二碳四烯酰胺 |

收稿日期: 2015-07-24

作者简介: 孙录(1990-), 女, 在读硕士研究生, 研究方向: 食品加工与质量安全控制, E-mail: sunlu0921@163.com。

* 通讯作者: 胡文忠(1959-), 男, 教授, 研究方向: 食品加工与质量安全控制, E-mail: hzw@dlnu.edu.cn。

基金项目: 满族医药与特色食品的研发(DC201501020101)。

则挥发油的化学成分及其含量也不完全相同。张磊等^[8]的研究表明辽细辛中的非挥发性物质也有一定的功能作用,主要成分包括去甲乌药碱、N-异丁基十二碳四烯酰胺、L-细辛脂素、L-芝麻脂素和卡枯醇等。辽细辛的挥发油类和非挥发类都有一定的功能成分,分别有其特定的功效作用。

1.2 功能作用

辽细辛的主要功能成分有甲基丁香酚、黄樟醚、L-细辛脂素、L-芝麻脂素、卡枯醇,这些成分有很多功能疗效,例如镇静、抑菌、麻醉等功效,另外辽细辛的提取物能起到抗衰老、刺激毛发生长和抗肿瘤等特效作用。

1.2.1 镇静作用 细辛属植物的挥发油中含有苯丙素类化合物^[6-10],主要包括细辛C酚、甲基丁香酚、榄香脂、黄樟醚、卡枯醇类^[9-11]、肉豆蔻醚等。根据蒋莹等^[12]的实验研究表明,甲基丁香酚具有一定的镇痛作用。周惠秋等^[13]的动物实验研究表明甲基丁香酚有镇咳的作用。甲基丁香酚和榄香脂素具有麻醉作用,黄樟醚可起到抗惊厥、降体温的功效^[14],卡枯醇具有镇咳^[15]的作用。复方细辛配剂局部作用是其中多种成分协同作用的结果^[16],李仪奎等^[17]的动物实验研究表明,采用不同方式注入不同剂量的辽细辛挥发油会有一定的镇痛作用。辽细辛的挥发油亦可完全对抗电惊厥,显著延长戊四氮惊厥潜伏及死亡时间^[18]。细辛挥发油有明显的中枢抑制作用,可协同闭下剂量的戊巴比妥钠发挥催眠作用^[19]。因此,通过许多实验研究证明,辽细辛的特征成分都有相应的药理功效。

1.2.2 抑菌作用 辽细辛有抗菌抗病毒的作用,黄樟醚是辽细辛抑菌作用的主要成分,辽细辛挥发油中的黄樟醚对链格孢菌(*Alternaria alternata*)、黄曲霉(*Aspergillus flavus*)、黑曲霉(*Aspergillus niger*)、土曲霉(*Aspergillus terreus*)、焦曲霉(*Aspergillus ustus*)、白色念珠菌(*Candida Albicans*)等真菌株有明显的杀灭作用,是一种较强的光谱抗真菌化学成分^[20]。辽细辛的非挥发性物质中的L-细辛脂素、L-芝麻脂素、卡枯醇对细菌具有较强的抑菌活性,研究表明辽细辛中的L-细辛脂素、L-芝麻脂素、卡枯醇对大肠杆菌、金黄色葡萄球菌、肺炎克雷伯菌、铜绿假单胞菌和白色念珠菌均有抑制作用^[8]。辽细辛的非挥发性成分中的L-细辛脂素和L-芝麻脂素具有抗病毒和抗结核杆菌的作用,临床观察对气管炎具有一定的疗效作用^[21],另有Huang等^[22]的研究发现辽细辛中含有新的化合物——四氢呋喃类型木酚素,具有一定的抑菌抗炎活性。

1.2.3 抗衰老作用 目前有研究表明,辽细辛还有一定的抗衰老作用,辽细辛可通过提高机体一氧化氮合酶(iNOS)的活性,降低丙二醛(MDA)含量,清除自由基,增加一氧化氮(NO)含量,并且能减少小鼠组织过氧化脂质(LOP)含量,减轻氧自由基对细胞脂质的破坏程度。同时还能提高超氧化物歧化酶(SOD)活性,增强机体对自由基的清除能力,减少自由基对机体的损伤。细辛还能显著提高老龄小鼠心、

肝组织中谷胱胱过氧化物酶(GSH-Px)的活性,抑制自由基反应。因而,细辛具有抗氧化作用,从而起到抗衰老作用^[23-24]。辽细辛的提取物可以通过抗衰老、增强记忆力从而达到治疗老年痴呆症的作用^[25],由此未来有可能利用辽细辛制成抗痴呆类新药。

1.2.4 抗肿瘤作用 Cai Shao-Qing等^[26]采用辽细辛的提取物对一些肿瘤细胞系的细胞毒活性进行了相应的研究,主要研究了辽细辛提取物对4种肿瘤细胞株(HL-60、BGC-823、KB和Bel-7402)的抑制活性,研究表明辽细辛提取物具有抗肿瘤的特效功能。同时,辽细辛中的马兜铃酸也具有一定的抗肿瘤特性,马兜铃酸主要存在于辽细辛的地上部分。20世纪60年代对马兜铃酸的动物实验研究结果表明,其有抗肿瘤活性和增强机体白细胞吞噬能力的作用^[27],但马兜铃酸类物质被证实具有肾毒^[28]、致癌和致基因突变作用^[29-30]。2005版《中国药典》已改为根及根茎入药^[31],目前也有一些办法可以优化辽细辛的种子资源,筛选出马兜铃酸含量少的辽细辛种子,培育出优质地道药材辽细辛^[32]。因而通过选育优质的辽细辛品种,利用马兜铃酸含量在限度内的辽细辛制成抗肿瘤类新药。

2 应用状况

辽细辛目前主要应用于药品领域,因辽细辛具有祛风散寒、通窍止痛、温肺化饮等功效,常用于治疗风寒感冒、头痛、牙痛、鼻塞鼻渊等病症^[33],辽细辛也可制成具有多种功效的中成药,用于治疗某些顽疾,例如:美尼尔氏综合征、血管神经性偏头痛、三叉神经痛、冠心病、口腔溃疡、荨麻疹^[34]。现市面上已有多种含辽细辛的中成药,包括咳化痰丸、正天丸、江南度世丸、醒脑再造丸等^[35]。辽细辛的功能性成分有很多,因此服用方法不同和与之相配的药物不同,则会产生不同的应用功效。也有现代药理实验表明,细辛可扩张血管,与其他药配伍,治疗手足冰冷,达到祛散寒邪温暖手足的目的^[36],因此可与不同药材配伍制成预防感冒类的保健饮品或祛寒暖手足类保健饮品。有研究显示细辛的提取物有治疗老年痴呆症、刺激毛发生长治疗脱发^[37]和抗肿瘤的特效。另外,辽细辛精油对植物的病虫害也有一定的抑制作用,据王桂清^[38]的研究表明,辽细辛精油可对离体条件下的玉米病害、花卉病害、蔬菜病害等致病菌的菌丝生长和孢子萌发具有较好的抑制作用。同时Hyun-Jung Park等^[39]的动物实验研究表明,辽细辛精油的香味可改变抑郁的症状,可以考虑制成治疗抑郁的药物。Perumalsamy H等^[40-41]发现细辛对淡色库蚊的成蚊与幼蚊具有杀灭作用。同时还可以应用于化妆品、防腐剂等方面。

3 功能成分的提取及测定方法

挥发油为辽细辛的主要功能成分,目前有很多提取挥发油的方法。比较常见的为超临界流体萃取法、微波辅助萃取法、水蒸气蒸馏法、分子蒸馏法、超声波提取法和溶剂提取法^[42]。表2对这六种提取方法进行了说明和比较。

通过表2对挥发油提取方法的原理、优缺点的对

表2 挥发油的几种提取方法
Table 2 Several extraction methods of the essential oil

| 提取方法 | 原理 | 优点 | 缺点 |
|----------|---|-----------------------|----------------------------|
| 超临界流体萃取法 | 超临界流体密度与压力和温度的关系实现选择性萃取 | 所需时间短、温度低、提取率高、无溶剂残留等 | 高压容器和高压泵、投资成本高 |
| 微波辅助萃取法 | 离子迁移和偶极子转动里外并加热且对体系中的不同组分选择性加热使目标组分直接从基体中分离出来 | 提取速度快、选择性好、能耗低、污染小 | 严格控制微波辐射时间和微波功率、否则会破坏挥发油成分 |
| 水蒸气蒸馏法 | 挥发油与水不相溶的特性 | 操作简便、无污染、无有机溶剂残留 | 加热需高能耗、高温易降低挥发油质量 |
| 分子蒸馏法 | 较低温度下高真空将比重不同的分子分离 | 易操作、浓缩率高、分离效果好 | 设备复杂、成本较高 |
| 超声波提取法 | 超声波对媒质产生空化和机械振动破坏药材细胞使其化学组分溶于媒质、分离提纯得到所需化学成分 | 操作简便、提取时间短、温度低、收率高等 | 噪声污染严重、对设备要求较高 |
| 溶剂提取法 | 较低沸点有机溶剂在连续提取器中加热药材低温蒸去提取液中的溶剂 | 设备简便、便于工业生产 | 有机溶剂易残留、提纯难度高 |

比表明,六种方法都有各自的优点,这几种方法都可以用于挥发油的提取,但实验室主要采用的是以下三种:水蒸气蒸馏法、微波萃取法和超临界CO₂萃取法。

曾虹燕^[43]通过用水蒸气蒸馏法、微波萃取法和超临界CO₂萃取法这三种方法对挥发油进行萃取,实验结果的对比可知微波萃取法的萃取率最高,并且用时最短。还可以通过气相色谱-质谱联用仪(gas chromatography-mass spectrometry, GC-MS)对不同产地栽培辽细辛的挥发油进行分离测定各成分的相对含量。孙海英等^[44]先通过水蒸气蒸馏的方法得到挥发油,然后再采用GC-MS的方法测得辽细辛的挥发油中甲基丁香酚占46.9%,黄樟醚占13.69%。鄢景森^[45]采用水蒸气蒸馏法提取辽细辛挥发油,应用气相色谱法对来源于辽宁的10个不同产地辽细辛挥发油的中药指纹图谱进行了详细研究,建立了辽细辛挥发油的指纹图谱测定方法,这种实验方法不仅可用于辽细辛药材的鉴定,还可用于挥发油中有效成分甲基丁香酚及致癌物质黄樟醚含量的测定。张磊等^[6]以醋酸乙酯为溶剂,对辽细辛药材粉末进行超声提取,采用RP-HPLC法对辽细辛中的L-细辛脂素、L-芝麻脂素和卡枯醇进行同时定量测定。结合反复重结晶等分离手段,用70%乙醇对辽细辛回流提取后的氯仿层进行分离纯化,得到了4个化合物。通过理化性质和波谱分析的方法确定了其非挥发性物质中含有3个化合物分别为:L-细辛脂素、L-芝麻脂素和卡枯醇。

4 前景展望

通过对辽细辛主要成分的了解,可以针对辽细辛的功能成分进行研发,制成一些特效药或特效剂从而使辽细辛发挥特效功能,例如:抗肿瘤和刺激毛发等特效药。根据辽细辛精油香味抗抑郁的特殊功效,可对辽细辛精油进行开发研究,推向市场。因辽细辛资源短缺,野生辽细辛逐年枯竭,而医药市场对辽细辛的需求增加,现主要依靠种植,所以辽细辛的市场价格将逐渐上升。综合而言,辽细辛成分多、功效广,根据各学者对辽细辛的研究成果,可以对其进

一步应用开发,探索其更多功能。通过与其他药材配伍,可制成一些中成药,也可制成一些功能型保健品饮品。因辽细辛的功能成分有抗衰老、抗抑郁等功效,针对这些功效,因市面上还未曾推出辽细辛的此类功能保健品,可以开发此类功效的保健品,未来辽细辛在医药、保健食品和化妆品领域会有更多市场,使其更多的功能被开发利用。

参考文献

- [1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典:一部[S]. 北京:中国医药科技出版社, 2012.
- [2] 杨春澍, 孙建宁, 黄建梅. 细辛属和八角属中药研究与应用[M]. 北京:人民卫生出版社, 2006.
- [3] 张亚玉, 王英平, 赵兰坡. 北细辛的研究现状[J]. 特产研究, 2004(4): 50-54.
- [4] 王栋, 王喜军, 夏晓晖. 北细辛不同生长期甲基丁香酚和黄樟醚的气相色谱法定量分析[J]. 色谱, 1997(1): 87-88.
- [5] 王璇, 隆长锋, 蔡少青, 等. 大叶马蹄香根的化学成分研究[J]. 中草药, 2000, 30(12): 888-890.
- [6] 刘东吉, 刘春生. 不同产地栽培辽细辛的挥发油研究[J]. 中国实验方剂学杂志, 2010(9): 79-82.
- [7] 许磊, 吕帅, 孙博航, 等. 辽细辛地上部分化学成分的分离与鉴定[J]. 沈阳药科大学学报, 2008(9): 699-701, 727.
- [8] 张磊, 陈晓辉, 刘玉磊, 等. RP-HPLC法同时测定辽细辛中L-细辛脂素、L-芝麻脂素和卡枯醇[J]. 中草药, 2008, 39(7): 1098-1100.
- [9] 蔡少青, 王禾, 陈世忠, 等. 北细辛非挥发性化学成分的研究[J]. 北京医科大学学报, 1996, 28(3): 328-230.
- [10] 杨志铃, 颜冬兰, 李福双, 等. 城南细辛化学成分研究(I)[J]. 中南药学, 2005, 3(5): 304-305.
- [11] 杨志铃, 蒋梅香, 李福双, 等. 城南细辛化学成分研究(II)[J]. 中药材, 2006, 29(3): 130-131.
- [12] 蒋莹, 刘国卿, 马俊儒, 等. 甲基丁香酚的药理研究[J]. 药学报, 1982, 17(2): 87-92.
- [13] 周惠秋, 于滨, 乔婉红, 等. 甲基丁香酚药理作用研究[J]. 中医药学报, 2000(2): 79-80.
- [14] Dan Y, Liu H, Gao W, et al. Activities of essential oils from

Asarum heterotropoides var. *mandshuricum* against five phytopathogens[J]. *Crop Protection* 2010 29(3) 295-299.

[15] 贾超,刘凤云,赵怀清. 细辛的研究进展[J]. *中南药学*, 2009, 7(5) 366-368.

[16] 黄顺旺. 细辛的药理毒理和临床应用[J]. *安徽医药* 2003, 7(6) 477-479.

[17] 李仪奎,姜名瑛,李锐,等. *中药药理学*[J]. 北京:中国中医药出版社,1992,112.

[18] 刘兴隆,贾波,黄秀深,等. 细辛药理研究概况[J]. *江苏中医药* 2005 26(7) 59-61.

[19] 宋娜丽,照日格图,却翎,等. 细辛的化学成分和生物活性研究概况[J]. *中国民族民间医药* 2008(4) 50-52.

[20] 周勇,姚三桃,吴琦,等. 细辛挥发油抗真菌作用及其有效成分黄樟醚的研究[J]. *中医杂志*,1981(12) 62-64.

[21] 郭增军,刘辉,王利. HPLC法测定不同品种商品细辛中细辛脂素和芝麻脂素的含量[J]. *中药材* 2001(4) 273-274.

[22] Huang Jian, Wang Hui-Qing, Zhang Cui, et al. A new tetrahydrofuran-type lignan with anti-inflammatory activity from *Asarum heterotropoides* Fr. Schmidt var. *mandshuricum* [J]. *Journal of Asian Natural Products Research* 2014 16(4) 387-392.

[23] 费可,胡瑕瑜,邹璐,等. 细辛临床应用与药理作用研究进展[J]. *上海中医药大学学报* 2010 24(6) 87-90.

[24] 戎玲勤. 细辛的药理作用及临床应用[J]. *海峡药学* 2011, 23(2) 94-95.

[25] Yong Han Sung-Jin Kim. Memory enhancing actions of *Asiasari radix* extracts via activation of insulin receptor and extracellular signal regulated kinase (ERK) I/II in rat hippocampus[J]. *Brain Research* 2003 9741.

[26] Cai Shao-Qing, Yu Jie, Wang Xuan et al. Cytotoxic activity of some *Asarum* plants.[J]. *Fitoterapia* 2008 794.

[27] De Swet P A, Peter A G, Bowen I H et al. Adverse effects of herbal Drugs[J]. *Spring Verlag Berlin Heidelberg*, 1992, 3(2) : 154-158.

[28] 吴艳蓉,王庆,孙启时. 不同产地辽细辛质量比较[J]. *中国现代中药* 2015 17(2) 118-121.

[29] Schmeiser H H, Pool B L, Wiessler M. Identification and mutagenicity of metabolites of aristolochic acid formed by rat liver[J]. *Carcinogenesis* 1986 7 59.

[30] KOHARA A, SUZUKI T, HONMA M et al. Mutagenicity of aristolochic acid in the lambda/lacZ transgenic mouse (Muta TM Mouse)[J]. *Mutat Res* 2002 63 515.

[31] 李明刚,肖美莲. 东北细辛林下人工栽培技术[J]. *中国林副特产* 2012(6) 71-72.

[32] 吴艳蓉,王庆,孙启时. 不同产地北细辛的种质特征[J]. *沈阳药科大学学报* 2014 31(4) 309-312.

[33] 栾永福,李晓骄阳,孙蓉. 基于功效和物质基础的细辛毒性研究进展[J]. *中国药物警戒* 2012 9(3) 170-173.

[34] 何全磊. 毛细辛提取物体外抗氧化活性研究[D]. 杨凌:西北农林科技大学,2012.

[35] 丁立威. 辽细辛后市或持续上涨[J]. *特种经济动植物* 2014 (5) 22-25.

[36] 李耀利,俞捷,曹晨,等. 细辛类药材原植物资源和市场品种调查[J]. *中国中药杂志* 2010 35(24) 3237-3241.

[37] Seok-Seon Roh, Chang Deok Kim, Min-Ho Lee et al. The hair growth promoting effect of *Sophora flavescens* extract and its molecular regulation[J]. *Journal of Dermatological Science* 2002 : 301.

[38] 王桂清,孙华. 离体条件下辽细辛精油对灰葡萄孢菌细胞壁降解酶活性的影响[J]. *华中农业大学学报* 2009 28(6) : 675-679.

[39] Hyun-Jung Park, Eun-Ju Lim, Rong Jie Zhao et al. Effect of the fragrance inhalation of essential oil from *Asarum heterotropoides* on depression-like behaviors in mice[J]. *BMC Complementary and Alternative Medicine* 2015 15(1) :1472-6882.

[40] Perumalmy H, Kim N J, Ahn Y J. Larvicidal activity of compounds isolated from *Asarum heterotropoides* against *Culex pipiens pallens*, *Aedes aegypti* and *Ochlerotatus togoi* (Diptera: Culicidae)[J]. *Biol Control* 2009 46(6) :1420-1423.

[41] Perumalmy H, Chang K S, Park C et al. Larvicidal activity of *Asarum heterotropoides* root constituents against insecticide susceptible and resistant *Culex pipiens pallens* and *Aedes aegypti* and *Ochlerotatus togoi*[J]. *J Agric Food Chem* 2010 58(18) : 10001-10006.

[42] 王晓丽,金礼吉,续繁星,等. 中草药细辛研究进展[J]. *亚太传统医药* 2013 9(7) 68-71.

[43] 曾虹燕,金永钟,包罗涛,等. 不同方法提取的辽细辛挥发油指纹图谱分析[J]. *测试技术学报* 2004 18(3) 232-236.

[44] 孙海英,陈海生. 辽细辛挥发油的气相-质谱分析[J]. *第二军医大学学报* 1993 14(2) :193-195.

[45] 鄢景森,李景辉,贾超,等. 辽细辛挥发油气相色谱指纹图谱研究[J]. *安徽农业科学* 2011 39(35) 21657-21659.

因本刊已被《中国知网》(包括“中国知网”优先数字出版库)独家全文收录,所以所付稿酬中已包含该网站及光盘应付的稿酬。

天麻的活性成分及功能性研究进展

于雪,胡文忠*,姜爱丽,李鹤,杨柳,宋春璐
(大连民族大学生命科学学院,辽宁大连 116600)

摘要:天麻是生长于海拔1200~1800 m的林下阴湿、腐殖质较厚的土壤兰科天麻属植物,是我国传统的中药材。天麻中有天麻素、天麻多糖、蛋白质、多种氨基酸、维生素A以及铬、锰、铁、钴、镍、铜、锡等微量元素,具有镇静催眠、抗抑郁、抗癫痫、降血压、抗血栓、抗衰老、抗氧化以及改善学习记忆和微循环的作用。本文综述了天麻的各类活性物质以及活性成分的功能作用,并对天麻未来的研究方向及应用前景予以展望。

关键词:天麻;活性成分;功能作用

Research on the active constituents and functional properties of *Gastrodia elata*

YU Xue, HU Wen-zhong*, JIANG Ai-li, LI He, YANG Liu, SONG Chun-lu

(College of Life Science, Dalian Nationalities University, Dalian 116600, China)

Abstract: *Gastrodia elata* was growth in altitude 1200~1800 m forest damp, humus thick local orchid *gastrodia elata* plants of the genus, is a traditional Chinese medicine. There was a number of elements in the *gastrodia elata*, such as protein, vitamin A, chromium, manganese, iron, cobalt, nickel, copper and tin. It impacts on sedation and hypnosis, anti-depression, anti-epilepsy, blood pressure, anti-thrombosis, anti-aging, anti-oxidation and the improvement of learning and memory and microcirculation. The function of various active substances and active components in the research of the future research directions and application prospects of the research were summarized in this article.

Key words: *Gastrodia elata*; active ingredient; function

中图分类号: TS255.1

文献标识码: A

文章编号: 1002-0306(2016)08-0392-05

doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2016.08.073

天麻(*Gastrodia elata*),又名鬼督邮、赤箭、神草、离母、赤箭脂、合离草、独摇芝、自动草、独摇、定风草、明天麻、水洋芋等,生长于海拔1200~1800 m的林下阴湿、腐殖质较厚的土壤的兰科天麻属植物^[1-2]。天麻在亚洲东部的中国、朝鲜、日本,以及前苏联远东地带均有出产,中国产量最多,主要分布于贵州、云南、四川、陕西等地^[3]。天麻、原天麻、细天麻、南天麻和疣天麻是我国已发现的天麻属植物。其中疣天麻在云南省中部地区被发现,云南省丽江、石屏及四川省峨边的高山区分布的是原天麻,台湾省则是细天麻、南天麻主要分布地^[2]。天麻富含酚类物质、天麻素、天麻多糖、蛋白质、多种氨基酸、维生素A以及铬、锰、铁、钴、镍、铜、锡等微量元素,具有镇痛、抗抑郁、降血压、减肥、抗癫痫、抗炎、抗血栓、抗氧化、抗衰老以及改善学习记忆和微循环的作用,还具有增强细胞免疫和机体非特异性免疫的作用^[4-6]。天麻作为我国的一大产业,如何充分利用现有的资源提高天麻

产品的附加值,是目前急需解决的问题。天麻作为一种传统的本土中药植物,对其特有的活性成分以及功能功效的研究具有重要的现实意义,其在临床医学和保健产品开发等方面的应用具有良好的前景。本文就天麻的活性成分、活性成分的功能作用进行了综述,为天麻的保健功效及临床应用研究提供一定的理论依据。

1 天麻的活性成分

1.1 天麻素

天麻素(Gastrodin),又名天麻甙,化学组成为对-羟甲基苯-β-D-吡喃葡萄糖,用苦杏仁酶水解,可得对羟甲基苯醇苷元。目前的研究认为天麻素是天麻的主要活性成分,是评价天麻质量标准的首要指标,被《中国药典》定为质量控制目标成分^[7]。经过实验测定,一定范围内天麻素的提取率与提取溶剂和提取时间呈线性关系,因天麻素溶于乙醇和甲醇溶液,相关实验测得用50%浓度的甲醇溶液提取天

收稿日期:2015-11-24

作者简介:于雪(1990-)女,硕士研究生,研究方向:食品加工与质量安全控制,E-mail:yuxuedlnu@163.com。

*通讯作者:胡文忠(1959-)男,教授,研究方向:食品加工与质量安全控制,E-mail:h wz@dlnu.edu.cn。

基金项目:满族医药与特色食品的研发(DC201501020101)。

麻素效率最高,而超声提取60 min即可完成天麻药材中的天麻素提取^[8]。

天麻素有治疗高血压、抗自由基和治疗眩晕症等功效。Tang Chunlan等^[9]对天麻素的药理学动力进行了研究,天麻素可与多种多酚类物质结合,形成共轭化合物,在适当的时机释放天麻素,为药理实验和临床用药剂型设计提供了坚实的基础。天麻素可使体外“缺血性再灌注”损伤神经细胞内的LDH减少,维持细胞膜的流动性,从而对再灌注性神经损伤有缓解作用^[10]。天麻素可通过影响血管内皮细胞分泌的缩血管因子内皮素(ET)的平衡来维持血管收缩的平衡,当血压升高时,会损伤血管内皮,血管紧张素在循环中增加,超氧化物灭活NO生成,NO含量下降,间接使血管收缩,血管内皮功能减退会导致高血压病情加重^[11]。天麻素不仅具有神经保护作用,还可对高血压病起到调节控制的目的,在临床上可用作辅助药物治疗高血压等疾病,在保健功能上可开发新型的咀嚼片、饮料等。

1.2 天麻苷元

天麻苷元,别名4-羟基苯甲醇(4-hydroxybenzyl alcohol, 4-HBA),亦称对羟基苯甲醇,是一类由香草派生出的酚类化合物。Yu Shanshan等^[12]通过使用体外缺血模型剥夺氧气和葡萄糖进行实验,观察相关的神经保护机制,得到天麻苷元有减少神经元损伤,降低脑梗塞大小和提高脑缺血后的行为参数等相关结论。Matthias等^[13]研究不同剂量的4-羟基苯甲醇对结肠癌细胞的生存能力、迁移、侵袭性和蛋白表达的影响,验证了天麻苷元可用于临床治疗癌症。苏逸^[5]通过对羟基苯甲醇对大鼠杏仁核点燃形成过程的研究,证实高剂量的HBA能够抑制大鼠杏仁核点燃模型发作,具有抑制GFAP活化作用,并可能通过多种途径发挥神经保护作用,补充了尚未有HBA治疗癫痫的相关报道。郭莹莹等^[14]通过以花生四烯酸(AA)、二磷酸腺苷(ADP)为诱导剂,探讨了天麻苷元是否影响体外、体内抗血小板聚集活性,实验得出在体外、体内天麻苷元均具有显著的抗血小板聚集活性,其作用机制可能是通过抑制内钙释放和外钙内流达到抑制血小板聚集作用。研究药物抗血小板活化聚集的发病机制,可以用来防治相关疾病以及新药的开发^[15]。

1.3 天麻多糖

天麻多糖(*Gastrodia elata* Polysaccharide),溶于水但不溶于乙醇、丙酮、甲醇有机溶剂的白色粉末状

固体,朱晓霞等^[16]通过实验测定天麻多糖的糖链为 α -(1-4)吡喃型D-葡萄糖,主要由葡萄糖构成,含有少量的鼠李糖和甘露糖,是不含蛋白质的非淀粉多糖。

天麻多糖能有效调节机体免疫力,还具有抗辐射、延缓衰老、抗炎及降低血压的作用^[9,17]。从目前研究状况来看,天麻多糖可开发可应用的价值前景广阔^[18]。对天麻多糖工艺提取的研究也有大量的报道^[19-20]。汪瑞敏等^[21]通过对60目天麻粉末为样品,使用不同的方法提取天麻多糖,并对其抗氧化活性进行了实验,表1中数据表明,微波处理结合超声波法提取得到的天麻多糖率最高,抗氧化活性也最好。目前天麻多糖的产品为粗制品,水溶性差,不能够用来研发相应的保健类产品和临床应用,因此,将来源于中药植物中的天麻多糖进行工艺优化,结构分析是必要的,可为开发新药和保健产品提供理论依据。

1.4 其他

天麻中不仅有丰富的天麻素、天麻多糖等主要活性成分,还含有丰富的矿质元素、氨基酸等物质。李金玲等^[22]测得天麻中的矿质元素含量是可观的。矿质元素作为植物生长的物质基础,其含量多少影响着其生长发育和产量、质量。天麻中Fe的含量是最多的,其次是Mn、B、Zn等,这些矿质元素不仅能够为天麻自身生长提供原料,同时能够补充人体所需的微量元素,且具有相应的保健功效。涂雪莲等^[23]通过氨基酸自动分析仪测定了不同产地天麻中氨基酸的含量,检测到15种氨基酸,有6种人体必需的氨基酸,9种人体非必需氨基酸,其中甘氨酸和脯氨酸的含量最多,可用于抗高压治疗,而天冬氨酸能解除氨中毒,精氨酸能够促进创伤愈合,谷氨酸可解除人体代谢的游离氨^[24]。天麻中丰富的氨基酸在提升天麻的营养价值的同时可以开发保健产品和提升医用价值。

天麻中还含有维生素A、蔗糖、腺嘌呤等其他的物质,柠檬酸、棕榈酸、琥珀酸等有机酸,其丰富的营养元素含量为开发天麻的保健和医药价值提供了天然的保障。

2 不同产地天麻活性成分的比较

不同地方天麻的活性成分含量不同,单鸣秋^[25]和王韬等^[26]通过实验测定了来自不同产地的天麻中活性成分的含量。实验结果显示,天麻活性成分的含量受相应的种植条件的影响,不同的种植产地可以开发天麻的不同功能产品,云南的天麻可以用来研

表1 天麻多糖不同提取方法的抗氧化活性比较^[21]

Table 1 The different extraction methods of *Gastrodia elata* and comparison of the antioxidant activity^[21]

| 提取方法 | 原理 | 粗多糖提取率 (%) | DPPH清除率 (%) | O ₂ 清除率 (%) | ·OH清除率 (%) | H ₂ O ₂ 清除率 (%) |
|--------------|-------------------------------------|------------|-------------|------------------------|------------|---------------------------------------|
| 热水提取法 | 将预处理完的样品进行提取,提取物抽滤两次 | 10.11 | 50.10 | 10.90 | 55.10 | 16.70 |
| 微波前处理法 | 将预处理后的原料在500 W微波下处理 | 10.40 | 50.10 | 10.30 | 49.80 | 15.98 |
| 超声波提取法 | 将预处理后的原料在250 W超声波下处理 | 57.15 | 67.58 | 20.03 | 76.32 | 21.94 |
| 微波处理结合超声波提取法 | 将原料在500 W微波下处理120 s后在超声波100%功率条件下处理 | 61.27 | 67.59 | 23.50 | 75.80 | 20.80 |

究天麻素的功能产品,贵州的天麻可以用来研制天麻苷元相关的医药产品等。

表2 不同产地天麻活性成分的含量^[25-26]

Table 2 The content of active constituents of *Gastrodia elata* in different habitats^[25-26]

| | 天麻素 (mg·g ⁻¹) | 天麻苷元 (mg·g ⁻¹) | 天麻多糖 (%) | 香荚兰醇 (mg·g ⁻¹) | 香荚兰醛 (mg·g ⁻¹) |
|----|------------------------------|-------------------------------|-------------|-------------------------------|-------------------------------|
| 安徽 | 4.396 | 0.507 | 11.6 | 0.04932 | 0.02218 |
| 云南 | 4.781 | 0.707 | 18.3 | 0.02458 | 0.02594 |
| 陕西 | 4.345 | 0.452 | 9.54 | 0.00471 | 0.02311 |
| 贵州 | 2.970 | 4.701 | 9.81 | 0.09415 | 0.02926 |

由于天麻不能直接从土壤中吸收营养物质,因此种植天麻对土地没有要求,但是需要选择湿润透气、渗水性良好、疏松、腐殖质含量丰富的地方^[27]。从以上的实验数据来看,天麻在温暖潮湿的南方地区生长良好,其活性物质含量也会大大提高。

3 天麻活性成分的功能作用

3.1 神经保护

Kumar等^[28]发现,天麻素能够调节SH-SY5Y细胞中由MPP+刺激产生的自由基、Bax/Bcl-2 mRNA、caspase-3和PARP对神经的损伤,这一调节作用与剂量呈依赖性关系,也能改善亚慢性MPTP小鼠PD模型运动迟缓和运动障碍,可有效防止神经元凋亡。Huang等^[29]发现天麻提取物能够激活A_{2A},保护因血清剥夺诱导的大鼠嗜铬细胞瘤(PC12)细胞的凋亡,防止亨斯顿(HTT)的聚集,从而用来作为亨斯顿性神经损伤疾病的治疗。天麻提取物能够显著降低脑组织梗死面积的皮质和纹状体,抑制神经元损害引起的短暂性脑缺血,影响再灌注性脑缺血的抗氧化蛋白基因的表达,可用于临床上的应用^[30]。还有研究^[31]发现,天麻素可降低阿尔茨海默病小鼠神经胶质细胞内致炎因子IL-1 β 、TNF- α 的表达水平,从而减轻炎症造成的神经元凋亡。

3.2 抗氧化

申博等^[32]测得天麻提取物清除·OH和O₂·的能力以及抗氧化能力受温度、pH、光照和金属离子浓度的影响,因此天麻提取物应避光保存并避免使用铜材料制品,否则将会影响其抗氧化功效。

天麻的抗氧化性活力主要通过清除人体自由基的能力大小来体现,冠心病、心脑血管、早发性痴呆以及癌症等70多种疾病都与体内的自由基相关。自由基的链式反应物是存在于细胞中的有机质,大量的过氧化物堆积在人体无法排出,使得细胞的正常生理活动受损,从而引发机体的病变。天麻素发挥其

控制衰老的作用主要是能够对控制衰老的部分基因进行调控,但是,学者对于其作用的机理还没有进行深层次的研究,有待后续的深入研究以揭示天麻抗衰老的作用机理^[33]。

3.3 机体非特异性免疫

大量实验表明,天麻可有效全面的增强人体免疫能力,保护生物机体。其作用主要通过自身细胞免疫和体液免疫两个方面实现^[34]。黄秀兰等^[35]发现影响小鼠转化淋巴细胞能力的因素是天麻素浓度的大小。汪肇植等^[36]研究发现能够使小鼠的免疫球蛋白IgG、IgA、IgM含量得到抑制的物质是天麻多糖,同时天麻多糖能够显著升高小鼠脾脏指数和胸腺指数的免疫能力。天麻中天麻多糖具有免疫调节的作用,因此深入研究天麻在临床医学上的价值,确认相应的反应机理,将天麻这类天然的药物应用于临床医学和开发天然保健功能产品是非常有必要的。

3.4 其他

天麻作为一种传统的东方国家的植物已被证明有可能作为一种天然药物用于肝纤维化的治疗或预防。赵双双等^[37]的实验结果表明,天麻能改善肝功能和组织病理学,减少胶原纤维面积和羟脯氨酸含量,抑制炎症和氧化应激的能力,天麻可能是潜在的治疗肝纤维化的药物,进一步的研究需要阐明天麻的分子目标及相关通路来帮助识别其他肝纤维化的潜在治疗靶点。目前也有学者将天麻与其他的药材进行结合,将其应用于临床医学。周诗晶等^[38]通过中西药结合将天麻素与川芎嗪联合治疗老年性眩晕症,通过实验观察其效果显著。张芸^[39]通过将前列地尔及甲钴胺和天麻素联合用来治疗糖尿病周围神经病变,得出二者联合能够在临床上发挥更好的疗效,能使得患者运动神经的传导速度加快和提升感觉神经传导速度。刘晓琳^[40]将天麻素联合舒血宁用于治疗椎基底动脉供血不足性眩晕,研究没有发现不良反应,可以在临床上得以应用。

4 前景展望

随着科技和经济的快速发展,天麻这类传统的中药已被作为原材料用以生产茶、酒、食品及化妆品,在临床上已被加工成的产品有胶囊、口服液、丸剂、片剂、注射液等,以及天麻与其他中药组方的复方产品^[41]。天麻多糖具有特殊的细胞免疫功能,然而目前天麻多糖的制剂多为粗制品,且没有成型的加工工艺,因此,天麻多糖今后的研究方向主要是多糖构效关系、纯化工艺以及活性开发。天麻作为一类品种优良的中药材,如何将其粗糙的加工工艺进行精细化,并将具有创新性、科技性的技术推广到云南、贵州、四川等盛产天麻的地方,在基础加工技术上进

表3 不同条件对天麻提取物清除·OH和O₂·和抗氧化能力的影响^[32]

Table 3 The effect of *Gastrodia elata* extract clearing ·OH and O₂· and antioxidant capacity in different conditions^[32]

| | 温度(°C) | pH | 光照12 d | 金属离子(同一浓度) |
|----------------------|--------|-----|--------|--|
| 清除·OH能力 | 60 | 6~7 | 持续下降 | Cu ²⁺ <Zn ²⁺ <Ca ²⁺ <Mg ²⁺ <K ⁺ |
| 清除O ₂ ·能力 | 100 | 5~6 | 持续下降 | Cu ²⁺ <Zn ²⁺ <Mg ²⁺ <Ca ²⁺ <K ⁺ |
| 总抗氧化能力 | 20 | 8~9 | 持续下降 | Cu ²⁺ <Ca ²⁺ <Zn ²⁺ <Mg ²⁺ <K ⁺ |

行技术改良,开发新型的、适合于临床应用的保健食品是我国目前亟待解决的问题。

目前,国内外关于天麻的研究已经进行到细胞水平,Baral等^[42]通过研究天麻对来自人类神经干细胞的胚胎干细胞的增殖分化影响,研究发现天麻70%乙醇提取物对干细胞的增殖分化起到调节作用,可用于神经干细胞基础治疗、神经退行性疾病和脑损伤神经再生等相关疾病的治疗。随着生活节奏的加快,工作压力的加大,越来越多的年轻人受到偏头痛的困扰,然而偏头痛的发病机制并不明确,研究者比较认可的学说有血管活性物质5-羟色胺(5-HT)学说、三叉神经血管学说、内源性疼痛控制系统障碍等^[43]。有学者以小鼠做实验表明,将不同剂量的川穹和天麻联用,研究发现通过影响大鼠脑内的血清素和兴奋性氨基酸的活性,从而来控制偏头痛的发作^[44],这一发病机制的成功研发为开发天然的新型的偏头痛药提供了理论指导。药食同源,中国历来就有食用天麻的习惯,将天麻的药理作用结合临床研究,并进一步探讨其作用机制,研发具有预防和治疗的天麻制剂,适宜于各类人群长期食用的保健品具有良好的发展前景^[45]。

参考文献

- [1] 陈娟,徐海丽,甄承,等.天麻素提取工艺研究进展[J].广州化工,2015,43(15):14-15.
- [2] 易思荣,肖波,黄娅,等.中药材天麻的现代栽培技术研究进展[J].中国现代医药,2013,15(8):677-679.
- [3] 区焕财,李宏涛,甘梦阳,等.天麻种植工艺及机械化生产技术体系探讨[J].安徽农业科技,2013,41(21):8869-8871.
- [4] Qiu F, Liu T T, Qu Z W, et al. Gastrodin inhibits the activity of acid-sensing ion channels in rat primary sensory neurons[J]. Eur J Pharmacol, 2014(731):50-57.
- [5] 苏逸.对羟基苯甲醇对大鼠杏仁核点燃的影响[D].杭州:浙江大学,2013.
- [6] Wang H N, Zhang R G, Qiao Y T, et al. Gastrodin ameliorates depression-like behaviors and up-regulates proliferation of hippocampal-derived neural stem cells in rats: involvement of its anti-inflammatory action[J]. Behav Brain Res, 2014(266):153-160.
- [7] 徐顶巧.汉中地区天麻品质分析[D].陕西:陕西理工学院,2014.
- [8] 王海燕,陈琼,李娟.天麻药材中天麻素含量测定的样品制品方法比较[J].信阳农林学院学报,2014,24(1):127-128.
- [9] Tang C L, Wang L, Liu X X, et al. Comparative pharmacokinetics of gastrodin in rats after intragastric administration of free gastrodin, parishin and *Gastrodia elata* extract[J]. Journal of Ethnopharmacology, 2015(174):49-54.
- [10] 何晶.天麻素的药理作用及临床应用[J].天津药学,2006,18(5):62-63.
- [11] 张建江,易著文.血管内皮细胞损伤及修复的研究进展[J].临床心身疾病杂志,2007,13(2):183-185.
- [12] Yu Shanshan, Zhao Jing, Wang Xiaoyan, et al. 4-Hydroxybenzyl Alcohol Confers Neuroprotection Through Up-Regulation of Antioxidant Protein Expression[J]. Neurochemical Research, 2013, 38(7):1501-1516.
- [13] Matthias W L, Antonia E V, Christina Körbel, et al. 4-Hydroxybenzyl alcohol: A novel inhibitor of tumor angiogenesis and growth[J]. Life Sciences, 2013, 93(1):44-50.
- [14] 郭莹莹,蒋石,林青,等.天麻中对羟基苯甲醇抗血小板聚集的作用及机制研究[J].时珍国医国药,2014,25(1):4-6.
- [15] De Meyer SF, Deckmyn H, Vanhoorelbeke K, et al. Von Willebrand factor to the rescue[J]. Blood, 2009, 113(21):5049-5057.
- [16] 朱晓霞,张勇,罗学刚.天麻多糖的结构表征[J].食品研究与开发,2010,31(9):52-56.
- [17] Komatsu T, Kido N, Sugiyama T, et al. Antiviral activity of acidic polysaccharides from *Coccomyxa gloeobotrydiformis* a green alga against an *in vitro* human influenza A virus infection[J]. Immunopharmacology and Immunotoxicology, 2013, 35(1):1-7.
- [18] 刘明学,李梁,牛靖娥.天麻及其种质资源研究进展[J].科技视界,2014(26):33-34.
- [19] Wei X, Chen M, Xiao J, et al. Composition and bioactivity of tea flower polysaccharides obtained by different methods[J]. Carbohydrate Polymers, 2010, 79(2):418-422.
- [20] Zhong K, Wang Q. Optimization of ultrasonic extraction of polysaccharides from dried longan pulp using response surface methodology[J]. Carbohydrate Polymers, 2010, 80(1):19-25.
- [21] 汪瑞敏,朱秋劲,张春花,等.不同提取方法对天麻多糖抗氧化活性的影响[J].食品科技,2015,40(3):208-211.
- [22] 李金玲,赵致,刘红昌,等.基于主成分分析的天麻矿物质元素含量研究[J].中国中药杂志,2015,40(6):1123-1128.
- [23] 涂雪莲,范巧佳.不同产地天麻氨基酸的含量测定[J].氨基酸和生物资源,2013,35(4):64-67.
- [24] 颜孙安,林香信,钱爱萍,等.闽产柑橘果实氨基酸含量及组成分析[J].中国食物营养,2012,18(6):66-70.
- [25] 单鸣秋,张丽,于生.HPLC-MS法同时测定天麻饮片中8种活性成分[J].中草药,2015,46(16):2087-2091.
- [26] 王韬,仇全雷,杜艳仓.云南昭通天麻多糖含量测定[J].西南林业大学学报,2011,31(1):31-33.
- [27] 赵伟棉.天麻的栽培技术[J].河北林业,2013(2):30-31.
- [28] Kumar H, Kim IS, More SV, et al. Gastrodin protects apoptotic dopaminergic neurons in a toxin-induced Parkinson's disease model[J]. Evid Based Complement Alternat Med, 2013, 514095-59101.
- [29] Huang C L, Yang J M, Wang K C, et al. *Gastrodia elata* prevents huntingtin aggregations through activation of the adenosine A2A receptor and ubiquitin proteasome system[J]. Journal of Ethnopharmacology, 2011, 138(1):162-168.
- [30] Jivad N, Rabiei Z. Review on herbal medicine on brain ischemia and reperfusion[J]. Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine, 2015, 5(10):789-795.
- [31] Yikui Hu, Chengyan Li, Wei Shen. Gastrodin alleviates memory deficits and reduces neuropathology in a mouse model of Alzheimer's disease[J]. Neuropathology, 2014, 34:370-377.

(下转第399页)

- 农业科学 2006 34(9) :1850-1851.
- [27] 特格喜, 乌力吉. 文冠果治疗糖尿病120例临床观察[J]. 中国民族医药杂志, 1997, 3(1) :19.
- [28] 匡荣, 包文芳, 赵明宏, 等. 文冠果木正丁醇提取物的抗炎作用[J]. 沈阳药科大学学报, 2001, 18(1) :53-56.
- [29] 孙静丽. 文冠果皂甙对小鼠学习记忆功能及海马内胆碱酯酶和颌下腺内神经生长因子活性的影响[D]. 沈阳: 中国医科大学, 2002.
- [30] Ma CM, Nakamura N, Hattori M, et al. Inhibitory effects on HIV-1 protease of constituents from the wood of *Xanthoceras sorbifolia* Bunge[J]. J Nat Prod, 2002, 63(2) :238-242.
- [31] 邹莉波, 王立华, 迟天燕, 等. 文冠果壳苷对侧脑室注射 A β 1-42致痴呆模型小鼠学习记忆障碍的改善作用[A]. 中国药学会、河北省人民政府. 2008年中国药学会学术年会暨第八届中国药师周论文集[C]. 中国药学会、河北省人民政府, 2008 :9.
- [32] 王力华. 文冠果的食用和药用价值[J]. 中国医药指南, 2006, 10 :41-43.
- [33] 尚宏芹. 文冠果综合利用研究进展[J]. 生物学教学, 2010, 35(7) :16-17.
- [34] 朱文鑫, 胡群亮, 相海, 等. 油菜籽直接冷榨制油工艺的研究与应用[J]. 中国油脂, 2005, 30(3) :16-18.
- [35] 邓红, 孙俊, 张媛, 等. 不同方法提取的文冠果籽油的GC-MS分析[J]. 食品科学, 2007, 28(8) :354-358.
- [36] PAN Xue-jun, NIU Guo-guang, LIU Hui-zhou. Microwave-assisted extraction of tea polyphenols and tea caffeine from green tea leaves[J]. Chemical Engineering and Processing, 2003(42) :129-133.
- [37] YOUN Yuen Shu, MING Yu Ko, YUAN Shiun Chang. Microwave-assisted extraction of ginsenosides from ginseng root[J]. Microchemical Journal, 2003, 74 :131-139.
- [38] ZHANG Ying, WANG Zhen-yu, CHEN Xiao-qiang. Ultrasound-associated extraction of seed oil of Korean pine[J]. Journal of Forestry Research, 2005, 16(2) :140-142.
- [39] Li H Z, Lesler P, Jochen W. High intensity ultrasound-assisted extraction of oil from soybeans[J]. Food Research International, 2004, 37(7) :731-738.
- [40] Ji Lia, Yuan-Gang Zua, Meng Luo, et al. Aqueous enzymatic process assisted by microwave extraction of oil from yellow horn (*Xanthoceras sorbifolia* Bunge.) seed kernels and its quality evaluation[J]. Food Chem, 2013, 138(4) :2152-2158.
- [41] 闫冬佳. 我国文冠果资源及可开发利用研究[J]. 山西农业科学, 2007, 35(3) :15-17.
- [42] 赵彩云, 宿华, 赵英顺. 文冠果的综合开发利用价值[J]. 内蒙古林业调查设计, 2008, 31(6) :118-119.

(上接第395页)

- [32] 申博, 高鸿, 贾利蓉, 等. 加工和贮藏条件对天麻提取物抗氧化活性的影响[J]. 食品科技, 2015, 9(40) :204-208.
- [33] 王昭君. 天麻素对快速衰老小鼠大脑组织衰老相关基因表达的影响[J]. 解剖科学进展, 2007, 13(4) :353-357.
- [34] 薛慧. 天麻若干保健功能的研究进展[J]. 食药用菌, 2015, 23(2) :92-94.
- [35] 黄秀兰, 孟庆勇. 天麻注射液对小鼠脾淋巴细胞转化的影响[J]. 广西中医药, 2003, 26(2) :52.
- [36] 汪肇植, 容辉, 段和平. 天麻多糖对小鼠免疫功能的影响[J]. 中国民族民间医药杂志, 2007, 18(8) :112-113.
- [37] Zhao Shuangshuang, Naren Lia, Yongzhan Zhen. Protective effect of gastrodin on bile duct ligation-induced hepatic fibrosis in rats[OL]. Food and Chemical Toxicology, 2015.
- [38] 周诗晶, 贺红成, 黄磊, 等. 天麻素联合川芎嗪治疗老年性眩晕症的临床疗效观察[J]. 药物与临床, 2015, 9(5) :178-179, 184.
- [39] 张芸. 天麻素联合前列地尔及甲钴胺治疗糖尿病周围神经病变的疗效观察[J]. 中国医药指南, 2015, 13(1) :221-222.
- [40] 刘晓琳. 天麻素联合舒血宁治疗椎基底动脉供血不足性眩晕的临床疗效探讨[J]. 中外医疗, 2015, 4 :118-119.
- [41] 李娟娟, 刘志涛, 王晓雯, 等. 天麻的研究现状与展望[J]. 中国民族民间医药, 2014(14) :16-17.
- [42] Baral S, Pariyar R, Yoon Chi-Su, et al. Effects of *Gastrodia rhizoma* on proliferation and differentiation of human embryonic neural stem cells[J]. Asian Pacific Journal of Tropical Medicine, 2015, 8(10) :792-797.
- [43] 李红月, 孙志伟, 王淑琴. 天麻素在神经系统的药理作用研究概况[J]. 中国医药, 2015(11) :1047-1050.
- [44] Wang Q, Shen L, Ma S Y, et al. Determination of the levels of two types of neurotransmitter and the anti-migraine effects of different dose-ratios of *Ligusticum chuanxiong* and *Gastrodia elata*[OL]. Journal of Food and Drug Analysis, 2015.
- [45] 薛慧. 天麻若干保健功能的研究进展[J]. 食药用菌, 2015, 23(2) :92-94.

全国中文核心期刊
轻工行业优秀期刊

刺五加主要活性物质及其药理作用的研究进展

白雪¹, 胡文忠^{1,*}, 姜爱丽¹, 李婧², 宋春璐¹
(1.大连民族学院生命科学学院, 辽宁大连 116600;
2.大连理工大学, 辽宁大连 116024)

摘要:对刺五加中的苷类、三萜类化合物、多糖、黄酮等主要活性物质及其抗肿瘤、抗疲劳、降血糖、保护心脑血管等药理作用进行了归纳和总结,同时对刺五加在未来食品和药品领域的应用进行了展望,为刺五加新型保健用品的开发提供了参考。

关键词:刺五加;活性物质;药理作用;研究进展

Research advance on main active substance and pharmacological action of *Acanthopanax*

BAI Xue¹, HU Wen-zhong^{1,*}, JIANG Ai-li¹, LI Jing², SONG Chun-lu¹
(1.College of Life Science, Dalian Nationalities University, Dalian 116600, China;
2.Dalian University of Technology, Dalian 116024, China)

Abstract: Some research advances on main active substance of *Acanthopanax*, including glycosides, polysaccharides, flavonoids and other elements had been introduced briefly. Their pharmacological actions contain anti-tumor, anti-fatigue, hypoglycemic, protecting blood vessel of brain were also reported. The applications of *Acanthopanax* in food and medicine which not only provide a reference for the further research of *Acanthopanax* but also make a big move for the development of its healthcare productions were also discussed.

Key words: *Acanthopanax*; active substance; pharmacological; research advance

中图分类号: TS201.1 文献标识码: A 文章编号: 1002-0306(2016)06-0396-04
doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2016.06.071

刺五加(*Eleutherococcus senticosus*)是五加科植物,栽植技术简便,优势明显,在中国特别是黑龙江小兴安岭、吉林、辽宁、河北、山西等地分布广泛^[1]。刺五加也是中国传统中药之一,其茎、叶、皮、果实均可以入药,富含多种活性成分,医疗领域已将其看作与人参具有相似作用的药物应用于临床,刺五加根有益智安神的功效,刺五加皮有祛风湿、壮筋骨的作用^[2]。刺五加中富含多种活性物质,其可调节机体的新陈代谢,增强机体的抗性,治疗脾肾阳虚,食欲不振,失眠多梦等疾病^[3],在治疗心脑血管疾病、血管动脉硬化等方面的技术已经日益成熟^[4]。本文对刺五加主要活性物质及其药理作用的研究进展做一综述,旨在为刺五加的临床应用和新型保健产品的开发提供参考。

1 刺五加的活性物质

1.1 苷类

苷类物质是由糖类或糖的衍生物与另一非糖物

质通过端基碳原子链接而成的一类化合物,极性很大,脂溶性小,进入人体后,会在肠道中脱去糖基,转化为苷元后发挥作用^[5]。三萜类化合物则是分布在不同种天然植物中的可以与苷元结合成三萜苷并作为多种中药植物有效成分的苷类物质^[6]。刺五加苷和刺五加三萜皂苷都是刺五加主要的活性成分,刺五加苷主要分布在刺五加的根部和茎部,刺五加三萜皂苷则大多存在于在刺五加叶片中^[7],目前已经从刺五加根茎中分离出的刺五加苷有8种,从叶片中分离出的三萜类苷有29种^[8]。

1.2 多糖

多糖是广泛存在于自然界的天然高分子化合物,大多溶于水,难溶于极性大的溶剂,分布于动植物及微生物的细胞壁中^[9]。天然产物中分离出的多糖类化合物有300多种,具体可以分为水溶性多糖和碱性多糖两大类,而中草药中提取的多糖则以水溶

收稿日期:2015-07-27

作者简介:白雪(1992-),女,在读硕士研究生,研究方向:食品加工与质量安全控制, E-mail: xbbxnzb@163.com。

* 通讯作者:胡文忠(1959-),男,教授,研究方向:食品加工与质量安全控制, E-mail: h wz@dlnu.edu.cn。

基金项目:满族医药与特色食品的研发(201501020101)。

性多糖居多^[10]。刺五加多糖由葡萄糖、果糖、阿拉伯糖等七种单糖构成^[11],是刺五加主要的活性成分之一。

1.3 黄酮

黄酮类化合物又被称为黄酮体,大都呈黄色,在植物的花、叶、果实、茎及根中较为常见^[12]。黄酮存在的形式可以分为两种,一种是以游离的状态存在于植物中,另一种则通过与糖类物质结合变为苷的状态存在。中草药中的黄酮类化合物主要包含10多个大类,有双黄酮、查尔酮、黄烷醇等,总计8000多种^[13]。刺五加黄酮是从刺五加中提取的具有生物活性的物质,主要包含金丝桃苷、芦丁等^[14]。

1.4 木脂素

木脂素化合物是一类主要通过酚羟基苯乙炔单体氧化耦合而成的、在植物中广泛分布的小分子量次生代谢产物,刺五加不同部位分离得到的木脂素种类存在差别,刺五加茎叶中主要是联双四氢呋喃类木脂素、二苯基丁烷衍生物类木脂素^[15]。刺五加木脂素在不同的分离条件下呈现的状态不同,主要有芝麻脂素、丁香树脂酚两种^[16]。

1.5 其他

刺五加中含有16种氨基酸,其中7种属于人体所必需,还包含K、Na、Mg和Fe、Mn、Cu等微量元素^[17]。研究还发现其包含少量的白桦脂酸、苦杏仁苷、槲皮素-芦丁糖、油酸乙酯、芝麻素、肉豆蔻酸棕榈酸、甾醇、香豆素^[18]等活性物质。

2 刺五加活性物质的药理作用

2.1 保护心脑血管作用

刺五加在保护心脑血管疾病开发方面应用广泛,其包含的苷类物质,特别是刺五加苷B,对于心脏病的治疗具有明显的作用。于化江等^[19]以心脏病家兔作为实验对象,让其服用刺五加黄酮提取物并监测家兔的身体指标变化,结果表明,刺五加中的黄酮能够增大家兔心脏中的血流量、减缓家兔血压升高量,有助于改善家兔心肌缺血病症,对家兔的心脏起到了保护的作用。徐耀等^[20]利用刺五加多糖类提取物进行实验,研究刺五加多糖类物质对大鼠神经元的作用效果,研究比对发现,服用刺五加多糖提取物的脑缺血组大鼠神经元的超微结构损伤有所减轻,其证明刺五加多糖具有减缓全脑缺血损伤的疗效。有关刺五加对脑梗患者血液流变数据变化的临床研究结果显示,注射液中的刺五加多糖成分有助于减少人体的活性氧自由基以及羟基自由基,并同时降低人体的红细胞聚集指数,帮助血管疏通血栓且疗效十分显著,治疗有效率高达91.7%^[21]。王晓琳^[22]对年龄在48~75岁的69例心脏病患者进行临床实验,设置有男有女的对照组进行刺五加注射液的治疗处理,结果发现治疗组曾患有的胸部刺痛,头晕,心悸的症状都有好转,证明刺五加注射液中的多糖以和苷类物质有助于减缓心肌复极的不均一性,减少心室早博症状出现的几率,增强冠脉的血液流量,防止缺血再灌注室性心律失常的发生,同时能够提高再

灌注心肌组织中SOD活性,保持心肌细胞膜结构的完整^[23]。刺五加中的活性物质具有明显降低炎症因子的水平的功能,减少由于炎症细胞的增强聚集与浸润导致心力衰竭状况发生的次数,有助于抗异位心律,起到对心脏的保护作用^[24]。

2.2 抗肿瘤作用

近些年来,对刺五加抗肿瘤作用的研究日趋深入,研究证明刺五加可以提高机体的免疫调节、诱导肿瘤细胞凋亡、甚至逆转肿瘤细胞耐药性。陈忠林等^[25]利用刺五加多糖提取物饲喂小鼠,通过与对照组比对发现刺五加多糖对肉瘤小鼠的抑瘤效果显著,能够明显抑制肿瘤细胞的生长,促进部分肿瘤细胞的凋亡,抑制比例高达30.42%~47.38%。贾照志^[26]通过测定小鼠接种肿瘤细胞的移植阳性率指标发现,刺五加中的芝麻素具有很好的抗肿瘤功效,服用刺五加活性物质的小鼠体内的尿烷含量明显降低,从而由于尿烷引发的肺腺肿瘤细胞的数目受到了抑制。孙永杰^[27]动物实验研究将对照组小白鼠的甲状腺肿瘤细胞和骨髓白细胞与空白组小白鼠的测定结果比对发现,刺五加苷类提取物和黄酮成分能够充分抑制小鼠的自发性白血病的发生,同时降低甲状腺肿瘤细胞的扩散比例、缓解抗癌药物在使用过程中对小白鼠的毒副作用,降低抗癌药物诱发小白鼠肿瘤出现的比率。靳祎^[28]通过对比宫颈癌体外增殖肿瘤细胞DNA的凝胶电泳条带发现,刺五加多糖对对照组肿瘤细胞的生长会受到抑制,其抑制率会伴随多糖试剂的质量浓度的增大而增加,肿瘤细胞凋亡数据也同样显示出,刺五加多糖会促进肿瘤细胞数目的减少。刺五加中的水溶性多糖成分在肿瘤细胞的增殖、生长和诱导凋亡过程中,可以促使细胞的生长被阻滞于S期,从而减少正常细胞的凋亡率,对于人类肿瘤的预防与治疗有重要意义^[29]。

2.3 治疗糖尿病

刺五加在糖尿病的临床治疗中也已有研究和应用,其药物制剂可以改善糖尿病患者的血流动力学状态,使高血糖患者的血液指标降低到健康数值,又有助于低血糖患者的血糖水平恢复至正常水平。在刺五加苷制剂对糖尿病大鼠脂质过氧化物的实验研究中发现^[30],刺五加苷类物质会促进实验糖尿病大鼠的脂质过氧化物的水平降低,其血糖水平和血浆含量与空白对照组的患病大鼠相比也有下降,而肝、胰腺的SOD活性成分却明显呈现上升趋势,就此发现刺五加药物制剂对降低糖尿病大鼠的血糖、提高胰岛素的抵抗力,减轻血管内皮损伤均有帮助。张新根^[31]在实验中将确诊糖尿病并血流动力学异常的56例患者随机分为对照组和治疗组2组,并在注射500 mg刺五加静脉注射液14 d后测量患者血流动力学的各项指标,结果显示,治疗组患者的红细胞比容、血液中血小板聚集率、血浆比粘度均有所下降,其血液细胞的凝胶电泳实验时间也有所缩短,就此证明富含黄酮类化合物和三萜类化合物的刺五加静脉注射液可以有效降低人体血液粘度,改善血红细胞的流动性,抑制血管中血栓的形成。王一涵^[32]采取连续八周

给糖尿病患病大鼠灌胃刺五加苷的方式观测大鼠身体状况的各项指标,结果测得大鼠血液中红细胞的变形能力、组织细胞的耗氧量和组织代谢都有增加,血液流速有所上升,糖尿病大鼠的高血糖症状也有所改善。刺五加中活性成分特别是多糖物质在医疗方面已经有了显著的应用,其对人体内四氧啼啉、葡萄糖及肾上腺所引起的高血糖病症均具有显著的抑制作用,在降低人体血糖水平,减轻人体糖尿病症状的同时还有助于保护胰岛素B细胞,帮助糖尿病患者提高自身的调节能力^[33]。

2.4 抗疲劳功效

刺五加中富含天然生物活性物质,研究发现其可以抑制体内肾上腺皮质酮分泌,减少蛋白质的分解,从而达到舒缓压力,抵抗疲劳的目的^[34]。徐峰等^[35]将小鼠分为4组,注射不同量的刺五加苷类物质提取物,15 d后测定小鼠负重游泳的体质指数,研究结果表明,对照组小鼠与实验组小鼠的体重并无明显差异,但是注射刺五加苷类提取物的小鼠体内血液的乳酸值明显低于对照组,伴随刺五加注射剂量的增大,刺五加对血乳酸的清除量会逐渐增加,小鼠体内肝糖原储备量也逐步增大。可见刺五加有助于机体摄氧量的增加以及CO₂的减少,帮助小鼠降低呼吸熵,节省肌糖原。戎立保^[36]将雌雄各半60只小鼠分为两组,喂养刺五加7 d后观察小鼠的身体状况,结果表明,小鼠剧烈运动后,刺五加制剂可以提高小鼠的抗缺氧能力,显著延长小鼠常压下耐缺氧的存活率,减少体内尿素及乳酸的产生,增加小鼠体内脂肪的供能,提高小鼠运动耐力。尹红^[37]在测定刺五加提取液对大鼠下丘脑-垂体-肾上腺调节作用的实验中发现,刺五加中的活性物质可以延长大鼠运动力竭的时间,增加大鼠腺皮质激素释放素及皮质酮血清浓度,提高小鼠在低压和常压缺氧环境下的存活率,有助于调节小鼠机体由于长期运动疲劳导致的慢性应激现象,改善小鼠分泌系统功能的紊乱,抑制了大强度运动造成大鼠体内激素分解代谢持续增加,起到改善小鼠对疲劳的抗性以及小鼠神经系统的稳定。刺五加中的活性成分有助于调节机体内的氧化和抗氧化系统,可以促进激动蛋白的合成,帮助人体内血乳酸水平的平衡,起到氧化状态下对机体的保护功能从而达到缓解疲劳的功效。

2.5 其他功能

刺五加除了具有保护心脑血管、抗肿瘤、治疗糖尿病、抗疲劳的功效以外,还具有提高机体免疫力、抗氧化、止咳祛痰、保护肝脏等药理作用^[38]。刺五加同样具有解毒功效,在一定程度上缓解甲醛对机体的毒性,减弱甲醛对体内血红蛋白含量的影响,增强运动心肌组织抗自由基氧化防御系统的功能^[39]。刺五加同时能与黛力新共用,协助治疗脑卒患者的中后抑郁,起到镇静安神的作用^[40]。刺五加有助于机体益气养血,增强子宫平滑肌收缩频率和振幅,帮助机体活血化瘀,治疗虚寒夹淤、对产后血亏有着非常好的治疗效果^[41]。刺五加也具有抵抗细胞凝集、抗菌、提高免疫调节能力的功效,其木脂素成分有助于减

少器官移植过程中产生的排斥,达到抗炎的效果^[42]。刺五加皂苷中的E苷和紫丁香苷还有助于提高体内谷胱甘肽还原酶的活性,帮助机体积累细胞色素、NAD、谷胱甘肽,减少体细胞的氧化凋亡^[43]。刺五加中活性物质丰富,研究发现苷B、苷E的代谢产物不能够被肠道菌群继续代谢,由此证明其活性物质很容易被机体吸收并发挥效用,对人体的利用率高^[44]。

3 前景与展望

刺五加作为传统中药,多用于强身健体、祛寒养生,随着中药现代化进程的不断深入,相关的药品如刺五加胶囊、刺五加黄酮滴丸等制品在市面中也经常出现。除此之外,刺五加酒、刺五加功能性饮料等刺五加饮品也早已上市销售并被大家认可。现代医药研究的迅猛发展使得刺五加中的活性物质在医疗中的应用范围逐步扩大,其不仅可以作为降血糖、抗衰老及抗肿瘤药物的原料,还可以作为增强体质的保健用品。刺五加化学成分多种多样,近些年有关刺五加的研究也愈来愈深入,新活性成分发现同样给新型药理作用带来多种被应用和开发的可能,这也必将是未来新型刺五加相关产品开发研究的重点。随着人们生活水平的不断提高,人们对身体健康的追求标准也在逐渐上升,刺五加也广泛的被用于人参的替代品来滋补身体,而现代研究中有关刺五加活性物质的保健用品开发却还甚少,未来的研究则可以朝着扩大刺五加活性成分药理作用的应用范围展开,使其展现出强大的生命力,为保健用品的开发注入新型血液,为保护人们的身体健康、维持生命活力作出更大的贡献。

参考文献

- [1] 金爽,张迎,李月. 刺五加的研究进展[J]. 黑龙江中医药, 2011, 40(1): 54-55.
- [2] 杨羽,王琦,宋凤瑞,等. 刺五加叶的研究进展[J]. 吉林农业, 2011(4): 325-326.
- [3] Wang Z B, Gao H Y, Xu F M, et al. Three new compounds from the leaves of *Acanthopanax senticosus* Harms[J]. Chinese Chemical Letters, 2010, 21(6): 702-705.
- [4] SN Z L X, L F, et al. Cerebral potential biomarkers discovery and metabolic pathways analysis of α -synucleinopathies and the dual effects of *Acanthopanax senticosus* Harms on central nervous system through metabolomics analysis[J]. Journal of Ethnopharmacology, 2015, 163(4): 264-272.
- [5] 王瑶,季宇彬,陈明苍. 中药与肠道菌群相互作用的研究进展[J]. 中国医药导报, 2012, 9(2): 12-14.
- [6] 刘江亭,蒋海强. 三萜类化合物药理作用研究进展[J]. 中国中医药咨询, 2011, 10(3): 32.
- [7] 龚婧如,王书芳. 刺五加的化学成分研究[J]. 中草药, 2012, 43(12): 2337-2341.
- [8] 郭冷秋,张博,李廷利. 刺五加总苷的提取及纯化研究进展[J]. 中国医药学报, 2012, 40(4): 127-129.
- [9] 孙玉艳,崔玉海,李绍铭,等. 刺五加多糖的研究进展探究[J]. 中国新技术新产品, 2012, 53(7): 2-3.
- [10] Huang LZ, Zhao HF, Huang BK, et al. *Acanthopanax*

- senticosus review of botany[J]. Chemistry and Pharmacology, Pharmazie 2011, 66(2): 83-97.
- [11] 刘树民, 张娜. 刺五加多糖的现代研究进展[J]. 中医药信息 2014, 31(2): 116-119.
- [12] Hu HB, Zhu JH. Flavonoid constituents from the roots of *Acanthopanax brachypus*[J]. Chem Pharm Bull 2011, 59(1): 135-139.
- [13] 王知斌, 高慧媛, 吴立军. 刺五加叶中黄酮类成分的分离与鉴定[J]. 沈阳药科大学学报 2010, 27(7): 533-538.
- [14] 于化江, 张英锋, 李荣焕, 等. 刺五加黄酮类化合物的研究现状及发展[J]. 渤海大学学报 2009, 30(2): 105-109.
- [15] 吴立军, 郑健, 刘湘杰, 等. 刺五加中新的木脂素的结构鉴定[J]. 中国药物化学杂志, 1997, 7(4): 274.
- [16] 范惠霞. 刺五加中主要活性成分的药动学研究[D]. 济南: 济南大学 2014.
- [17] 门薇, 陈颖, 李玉洁, 等. 肠道菌群对中药有效成分的生物转化研究进展[J]. 中国实验方剂学杂志 2015, 21(2): 229-234.
- [18] Xu Y, Li Y, Yang Z, et al. Determination of inorganic elemental concentrations in *Acanthopanax*[J]. Analytical Letters, 2014, 48(1): 154-166.
- [19] 于化江, 张英锋, 李荣焕, 等. 刺五加黄酮类化合物的研究现状及发展[J]. 渤海大学学报 2009, 30(2): 105-109.
- [20] Y X, B Z, Y Z. Protective effects of *Acanthopanax* polysaccharides on cerebral ischemia-reperfusion injury and its mechanisms[J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2014, 72c: 946-950.
- [21] 聂凯. 刺五加注射液治疗糖尿病合并脑梗死疗效观察[J]. 药物与人 2014, 27(7): 67-67.
- [22] 王晓琳. 刺五加注射液治疗心脏神经症的临床疗效观察[J]. 内蒙古中医药 2014, 36(8): 10.
- [23] Zhang JY, Pu SB, Qian SH, et al. Studies on the chemical constituents in fruits of *Acanthopanax gracilistylus*[J]. Journal of Chinese Medicinal Materials 2011, 34(2): 226-229.
- [24] Chen R, Meng F, Liu Z, et al. Antitumor activities of different fractions of polysaccharide purified from *Ornithogalum caudatum* Ait[J]. Carbohydrate Polymers 2010, 80(3): 845-851.
- [25] 陈忠林, 蔡宇. 刺五加多糖诱导S180肉瘤细胞凋亡和*bax*基因表达的影响[J]. 中华实用中西医杂志 2005, 18(1): 578-579.
- [26] 贾照志. 刺五加的主要功效及临床应用[J]. 医学信息, 2011, 7(7): 3316-3317.
- [27] 孙永杰. 刺五加茎叶中总黄酮的提取及其抗氧化功效研究[D]. 吉林: 吉林农业大学 2012.
- [28] 靳祯, 刘超, 范林林, 等. 刺五加多糖对人宫颈癌HeLa细胞体外增殖和凋亡作用的实验研究[J]. 中成药 2014, 36(1): 162-164.
- [29] Chen R, Liu Z, Zhao J, et al. Antioxidant and immunobiological activity of water-soluble polysaccharide fractions purified from *Acanthopanax senticosu*[J]. Food Chemistry 2011, 127(2): 434-440.
- [30] SH P, SG L, SK K, et al. *Acanthopanax senticosus* reverses fatty liver disease and hyperglycemia in ob/ob mice[J]. Archives of Pharmacal Research 2006, 29(9): 768-776.
- [31] 张新根. 刺五加注射液对糖尿病患者血流动力学的影响[J]. 医学信息 2010, 5(11): 3288.
- [32] 王一涵. 刺五加中苷类成分的研究[D]. 延吉: 延边大学, 2014.
- [33] Fu J, Yuan J, Tu Y Y, et al. A polysaccharide from *Acanthopanax senticosus* improves the antioxidant status in alloxan-induced diabetic mice[J]. Carbohydrate Polymers 2012, 88(2): 517-521.
- [34] Guan S, Ma J, Chu X, et al. Effects of Total Flavones from *Acanthopanax senticosus* on L-type Calcium Channels, Calcium Transient and Contractility in Rat Ventricular Myocytes [J]. Phytotherapy Research 2015, 29(4): 533-539.
- [35] 徐峰, 赵江燕, 刘天硕. 刺五加提取物抗疲劳作用的研究[J]. 食品科学 2006, 26(9): 453-456.
- [36] 戎立保. 刺五加水提物对小鼠抗疲劳及抗缺氧能力的影响[J]. 内蒙古中医药 2014, 33(29): 55.
- [37] 尹红, 朱丰海, 辛海量. 刺五加提取液对慢性疲劳模型大鼠下丘脑-垂体-肾上腺轴的调节作用[J]. 药学服务与研究, 2014, 14(5): 372-384.
- [38] Huang L Z, Huang B K, Ye Q, et al. Bioactivity-guided fractionation for anti-fatigue property of *Acanthopanax senticosus* [J]. Journal of Ethnopharmacology 2011, 133(1): 213-219.
- [38] JB L, T T, K H, et al. Characterization and biological effects of two polysaccharides isolated from *Acanthopanax sciadophylloides* [J]. Carbohydrate Polymers 2015, 116(13): 159-166.
- [39] 贾文娟. 刺五加对甲醛致运动大鼠心肌氧化损伤的保护作用研究[J]. 辽宁体育科技 2014, 36(1): 34-36.
- [40] 崔吉峰, 郑运宵, 宋贺. 刺五加联合黛力新治疗脑卒中后抑郁的前瞻性研究[J]. 西部医学 2014, 26(1): 69-71.
- [41] 何欣欣. 五加生化胶囊的药理及临床应用[J]. 吉林医学, 2014, 35(1): 92-93.
- [42] 张德花. 刺五加叶生药学及其制剂研究[D]. 长春: 长春中医药大学 2012.
- [43] 韩翰. 人参多糖抗肿瘤活性及机理研究[D]. 长春: 东北师范大学 2011.
- [44] 孙敏, 曲苗, 王涛, 等. 刺五加苷B, 苷E在大鼠体内肠道菌群中的代谢[J]. 中医药信息 2014, 31(2): 12-14.

(上接第395页)

- 广州: 华南理工大学 2013.
- [51] Wang L, Hou GG, Hsu Y-H, et al. Effect of phosphate salts on the Korean non-fried instant noodle quality[J]. Journal of Cereal Science 2011, 54(3): 506-512.
- [52] Ribotta PD, Colombo A, León AE, et al. Effects of soy protein on physical and rheological properties of wheat starch[J]. Starch-Stärke 2007, 59(12): 614-623.
- [53] Teo C, Karim AA, Cheah P, et al. On the roles of protein and starch in the aging of non-waxy rice flour[J]. Food Chemistry, 2000, 69(3): 229-236.
- [54] Zhang G, Maladen MD, Hamaker BR. Detection of a novel three component complex consisting of starch, protein and free fatty acids[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry 2003, 51(9): 2801-2805.

刺五加活性成分的研究进展

白雪¹, 胡文忠^{1,*}, 姜爱丽¹, 李婧², 李晓博¹
 (1.大连民族学院生命科学学院, 辽宁大连 116600;
 2.大连理工大学, 辽宁大连 116024)

摘要:本文对刺五加中苷类、黄酮、多糖等活性成分及功效进行了简述,同时对刺五加主要的活性成分在不同的生长环境、收获时间、取样部位以及提取方法等方面进行对比,阐述这些方面对刺五加活性成分含量的影响,为刺五加未来开发与利用提供了理论依据。

关键词:刺五加, 活性成分, 含量, 影响因素

Research advance on acanthopanax structure and the content of active ingredient

BAI Xue¹, HU Wen-zhong^{1,*}, JIANG Ai-li¹, LI Jing², LI Xiao-bo¹

(1.College of Life Science, Dalian Nationalities University, Dalian 116600, China;
 2.Dalian University of Technology, Dalian 116024, China)

Abstract: In this paper, some research advances on the acanthopanax active ingredients and its functions had been introduced briefly. While the different growing conditions, harvest time, different parts and different extraction methods that could influence the contents of acanthopanax active ingredients were also compared. It could provide a theoretical basis for the acanthopanax screening and application in future studies.

Key words: acanthopanax; active ingredient; content; factors

中图分类号: TS255.1 文献标识码: A 文章编号: 1002-0306(2016)04-0378-04
 doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2016.04.068

刺五加(*Eleutherococcus senticosus*)属五加科五加属,是一种传统的药用植物,药学名称为五加皮刺拐棒,在日本历史中被看做药食性珍惜植物^[1],在中国数百年的传承中也一直被看作典型的中草药之一。刺五加属于多年生的落叶灌木,其根、茎、叶、皮、果实均可以入药。近些年的研究发现,刺五加富含多种活性成分且自身毒性弱、副作用小,在全球医学界的应用已得到广泛关注^[2]。目前,国内外已经将刺五加与人参类比,应用于临床,治疗脾肾阳虚、体虚乏力、食欲不振、腰膝酸痛、失眠多梦等疾病^[3]。如今针对刺五加资源分布、生药鉴定、化学成分、生化药理的研究已日渐成熟,证明其包含多种活性成分,服用后可以“补中、益气、坚筋骨、强意志”,实现多种保健功能,帮助机体提高免疫力、抵抗疲劳、保护中枢神经系统和心脑血管的健康^[4]。本文对刺五加中的主要生物活性物质及其影响含量的因素进行综述,旨在为今后研究刺五加化学成分及其药理活性,刺五加药用及食用价值等方面提供依据,为刺五加的进一步开发与利用奠定基础。

1 刺五加的活性成分

1.1 刺五加苷

刺五加苷是刺五加中最主要的生物活性成分之一。刺五加中分离出的主要苷类有7种^[5],分别为:胡萝卜苷、紫丁香苷、乙基半乳糖苷、丁香树脂酚单葡萄糖苷、丁香树脂酚双葡萄糖苷以及以齐墩果酸为苷元的刺五加苷F和刺五加苷G。这7种苷类在刺五加中的含量比例为8:30:10:12:4:2:1,其中紫丁香苷与丁香树脂酚双葡萄糖苷是刺五加苷的重要活性成分,丁香树脂酚单葡萄糖苷与丁香树脂酚双葡萄糖苷互为异构体^[6]。

刺五加苷类物质具有多种活性功能,丁香树脂酚双葡萄糖苷可以显著提高超氧化物歧化酶以及谷胱甘肽还原酶的活性,帮助人体组织积累细胞色素、谷胱甘肽等活性物质,减少体细胞的氧化凋亡^[7],从而达到抗氧化的功效。紫丁香苷具有降低肝脏中谷草转氨酶和谷丙转氨酶的活性的功效,降低肝损伤中MDA的含量^[8],达到保护肝脏的作用。紫丁香苷和丁香树脂酚双葡萄糖苷的共同作用则有助于降低心肌耗氧量,抵抗心肌缺血,目前也已经被应用于临床心脏

收稿日期: 2015-05-04

作者简介: 白雪(1992-)女,硕士研究生,研究方向:食品加工与质量安全控制, E-mail: xbbxnb@163.com。

* 通讯作者: 胡文忠(1959-)男,教授,研究方向:食品加工与质量安全控制, E-mail: h wz@dlnu.edu.cn。

基金项目: 满族医药与特色食品的研发(DC201501020101)。

病的治疗领域^[9],其作为刺五加中具有显著疗效的生物活性成分,具有抗压、抗疲劳、抗辐射^[10]、抗胃溃疡、阻止神经炎细胞萎缩,保护神经细胞、保护蛋白质,抵抗缺血的功效^[11]。刺五加丁香树脂酚单葡萄糖苷可以抑制NFAT转录因子的活性,抑制其表达,减小器官移植排斥情况的发生,同时起到抗炎的作用^[12]。

1.2 刺五加多糖

刺五加多糖是从刺五加植物根和根茎中分离得到的一种植物多糖,多糖中大部分是碳水化合物,含量为89.47%,还包含7.45%的糖醛酸和七种单糖^[13]。七种单糖分别为鼠李糖、木糖、葡萄糖、甘露糖、阿拉伯糖、半乳糖、葡萄糖醛酸七种单糖,摩尔比^[14]为:7.45:18.63:25.15:0.93:8.35:2.79:5.69。刺五加多糖大体分为水溶性多糖和碱溶性多糖两大类^[15],包含5种水溶性多糖及2种碱溶性多糖,其在刺五加中的含量分别占2%~6%和2.3%~5.7%^[16]。

刺五加多糖具有较强的抗氧化作用,是一种潜在的天然抗氧化剂,有助于清除机体内活性氧自由基和羟基自由基^[17],可以帮助机体抵抗衰老,加快体能恢复。刺五加多糖在医疗领域也得到了广泛的应用,其对肾上腺引发的高血糖疾病具有显著的疗效,不仅降低血糖指数,同时还能提高肝脏血清中胰岛素的含量和胰腺中的SOD活性^[18],帮助提高胰腺细胞抗自由基损伤的能力,保持胰腺细胞膜结构的完整性,保护胰岛素B细胞。刺五加多糖还可以提高机体的免疫力,促进炎症因子的释放,在细胞的增殖周期中,可以使细胞的生长被阻滞于生长期的S期,从而大大减少了细胞的凋亡,起到了对肿瘤的预防作用^[19]。刺五加多糖还可以直接作用于肿瘤细胞的细胞膜,干扰肿瘤细胞生长过程中的信号传递,同时激活体内淋巴细胞的活性,诱导肿瘤抑制因子及干扰素的产生,调节巨噬细胞的活性,达到治疗癌症及肿瘤的效果^[20]。

1.3 刺五加黄酮

刺五加黄酮又被称为刺五加黄酮体,大多数颜色呈黄色,是从刺五加的花朵、叶片和果实中提取的具有生物活性的物质,其在刺五加中的含量高达30%。研究发现构成刺五加黄酮的主要物质是金丝桃苷,其是研究分离得到的首个刺五加中的类黄酮物质^[21],同时在刺五加中也发现槲皮黄素、芸香苷、槲皮苷以及槲黄苷等同属于刺五加黄酮成分的活性物质^[22]。

刺五加黄酮具有镇痛安神,解痉及抗衰老的作用^[23],在临床血液治疗方面有着较好的疗效,其可以增加血管中的血液流量,降低心脏心肌的耗氧率,从而起到镇定神经,舒缓压力,提高人体对刺激抵抗力的作用^[24]。研究发现刺五加黄酮不仅可以降低血压、减缓心率,还可以增加血管中的血流量,降低心肌缺血的发病率,其还具有止咳化痰、镇咳解毒、促进代谢及组织再生、抗菌、抗病毒、抗过敏等功效,在人类癌症的预防与治疗领域也具有明显的治疗效果。刺五加黄酮可以降低肿瘤细胞的扩散,减缓癌症患者的病痛^[25],同时抑制自发性白血病的发生,降低罹患

白血病的几率,其对人体无毒无害,同时降低其他药物诱发肿瘤生成的概率^[26],对人体的健康起到保护作用。

1.4 刺五加其他类活性物质

刺五加中含有许多种大量元素(K、Na、Ca)和微量元素(Fe、B、Sr)^[27]。除此之外还包含维生素C、维生素E、氨基酸、甾醇、木脂素、三萜类化合物、有机酸、挥发油、异嗪皮啶、生物碱^[28]等功能成分。这些活性物质使刺五加具有抗疲劳^[29],补肝肾,提高抵抗力,改善血管动脉硬化^[30],活血化瘀,促进血液循环,预防慢性支气管炎,减少体内蛋白质分解,提高体脂利用率的功效,其还可以治疗下肢萎弱,足跟痛,神经衰弱,气亏缺血,皮肤湿肿,口感舌涩等常见症状^[31]。

2 不同条件刺五加活性成分的比较

2.1 种植产地

刺五加在世界各地都有分布,主要分布在俄罗斯东部边缘地区、日本的北海道、朝鲜、韩国等地^[32]。而在我国黑龙江小兴安岭、吉林、辽宁、河北、山西等地区的分布则较为集中^[33]。通过对黑河、抚远、铁力、北安、通河、尚志、穆稜、蛟河、辉南、新宾、凤城几个刺五加种植产地的调查发现,刺五加苷类物质的含量受地域的影响不大,不论是种植坡向还是种植纬度,其含量变化都不明显,但其含量的多少却与种植产地的降水量呈现正相关,在一定范围内,随着种植产地降水量的增加,刺五加苷类物质的含量也有所上升,刺五加的质量也较好。刺五加中的有机酸特别是绿原酸含量则对种植坡向的敏感性不高,但随着种植纬度的增加会呈现边缘效应,种植纬度增大则其含量增加^[34]。刺五加中异嗪皮啶的含量则对种植产地的种植坡向较为敏感,种植坡向越偏向正西方,其在刺五加中含量越高。除此之外,有研究对刺五加的密集种植分布区进行刺五加质量的评估,比对发现刺五加的最佳种植地点为黑龙江省北部和辽宁省南部^[35]。所以,在挑选刺五加苷类物质入药时,则需要考虑其种植产地的降水量,提取刺五加中的绿原酸等有机酸物质时,则筛选纬度较大种植地区的刺五加作为提取原料,挑选异嗪皮啶入药时则采摘陡坡种植产地的刺五加最为合适。

2.2 收获时间

刺五加的嫩茎叶、皮、果实中富含多种活性成分,其均可入药,且有较好的疗效。但研究发现,伴随种植时间及收获时间的不同,其内部活性成分的含量也会发生变化。研究表明刺五加中的活性物质若要达到高效入药的要求则采收期应在十月之前较合适^[36],其中微量元素含量在6月5日至6月21日达到最高,苷类物质,特别是紫丁香苷和丁香树脂酚双葡萄糖苷则在春秋两季最为富集^[34]。刺五加中不仅茎叶、皮、果实含有黄酮,其全株都富含黄酮类化合物,且黄酮类化合物的含量随着收获月份的变化而有所改变,以七月时收获得到的刺五加黄酮物质含量最高^[37]。研究还发现,刺五加叶片总黄酮在5月中下旬林分郁闭之前含量达到最高,而茎干中的总黄酮则呈现一个峰值变化,在春季较高,夏季降低,而到晚秋时含

量最高,但刺五加地下部分总黄酮的含量随季节变化不明显^[38]。所以,若要获得优质的刺五加黄酮类物质,则需要5月中旬挑选其叶片提取,或者在晚秋时节从其茎干中获得。

2.3 收获部位

刺五加中的活性物质在刺五加不同部位的含量及分布不同,所以其入药的比重和比例也存在差异。在挑选刺五加作为药材原料的过程中发现,刺五加木脂素类物质多数是以游离的状态存在于刺五加根中^[39],刺五加三萜类化合物、刺五加黄酮类物质则以刺五加叶中含量最高^[40],刺五加总的苷类物质在刺五加根和刺五加茎中的含量也有区别,其分别占干药材重量的0.6%~0.9%和0.6%~1.5%,刺五加丁香树脂酚单葡萄糖苷主要存在于茎干系统中,在刺五加枝条中的含量最高,可达2.94%,刺五加茎中的紫丁香苷和丁香树脂酚双葡萄糖苷的含量也比刺五加根部含量高^[41]。除此之外,刺五加多糖类物质则与黄酮类物质的分布类似,在刺五加整株都有分布,经测定表明,其在刺五加根部的含量为0.182%,刺五加叶中的含量为1.85%,刺五加果实中的含量为2.23%,可见刺五加多糖在刺五加果实中含量最高,若要制备刺五加多糖类药物制剂,则需要挑选刺五加果实入药^[42]。

2.4 提取方法

刺五加苷类物质的提取方法有很多种,不同种苷类的提取方法也有所差异,目前常见的一些提取方法有水提法、甲醇提法、乙醇回流提取法和超临界萃取法。通过对刺五加苷类物质,特别是刺五加丁香树脂酚单葡萄糖苷和丁香树脂酚双葡萄糖苷的多组提取实验的对比,最终发现,水提法和乙醇提法的提取率最高,效果最佳。具体操作步骤是:原料采用刺五加根或茎粗粉,以10倍量的80%乙醇回流提取3次,每次2 h,或者用水回流提取3次,每次2.5 h,效果最佳,成本低,工艺稳定可行,重现性好,简单易操作,还可以为刺五加的生产实践提供理论依据。超声法提取虽然总的提取率比常规提取率显著提高,含量高达18.59%,但操作较为复杂,不适用于工业化生产^[43-44]。刺五加黄酮的提取方法多为室温浸泡法、超声法、高压提取法、索氏提取法、加热回流等方法,通过对提取率的测定结果比对发现,高压提取法提取到的黄酮比率最高,比回流法和超声法分别提高了31%和11%,且提取时间分别只有二者的1/24和1/6^[45-46]。可见,在一定范围内适当增加压力有助于提高黄酮物质的提取效率。

3 前景与展望

近年来,刺五加作为传统中药的应用已经越来越广泛,现有研究表明刺五加中的活性成分含量会受到采摘时节、种植地点、提取部位、提取方法的影响,而刺五加活性成分的提取方法、纯化工艺以及活性成分的功能应用方面还需进一步研究,此方面也必将成为刺五加在未来应用过程中的研究重点。

刺五加中的苷类、黄酮类、多糖类物质的结构复杂,化学分子式相近相似,异构体存在较多,倘若对其进行深入的研究,可采用适当的方法改变其化学

键的连接方式或连接位置,在一定程度上可以促进新物质的发现与形成,使刺五加在治疗糖尿病、颈椎病、心脏疾病等疾病的现代医学领域中做出更突出的贡献,帮助刺五加饮料、刺五加酒、刺五加保健食品的开发,为未来刺五加相关新产品的开发与应用带来更广阔的前景。

参考文献

- [1] Lee J B, Tanikawa T, Hayashi K, et al. Characterization and biological effects of two polysaccharides isolated from *Acanthopanax sciadophylloides*[J]. *Carbohydrate Polymers* 2015, 116 :159-166.
- [2] 陈思, 孙春玉, 王义. 药用植物刺五加研究进展[J]. *园艺与种苗* 2011(4) :108-111.
- [3] Xie Y, Zhang B, Zhang Y. Protective effects of *Acanthopanax* polysaccharides on cerebral ischemia reperfusion injury and its mechanisms[J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2015, 72 :946-950.
- [4] 赵丹江. 刺五加的药用价值[J]. *中医药信息* 2011, 28(5) :115-117.
- [5] 郭冷秋, 张博, 李廷利. 刺五加总苷的提取及纯化研究进展[J]. *中医药学报* 2012, 40(4) :127-129.
- [6] 龚婧如, 王书芳. 刺五加的化学成分研究[J]. *中草药* 2012, 43(12) :2337-2341.
- [7] Yang G E, Li W, Huang C, et al. Phenolic constituents from the stems of *Acanthopanax senticosus*[J]. *Chemistry of Natural Compounds* 2011, 46(6) :876-879.
- [8] Cai XF, Lee IS, Dat NT, et al. Inhibitory lignans against NFAT transcription factor from *Acanthopanax koreanum*[J]. *Arch Pharm Res* 2004, 27(7) :738-741.
- [9] Shohaie A M, Ali M B, Yu K W, et al. Effect of temperature on secondary metabolites production and antioxidant enzyme activities in *Eleutherococcus senticosus* somatic embryos [J]. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture* 2006, 85(2) :219-228.
- [10] Guo S, Yan L, Lin Z, et al. Effects of Eleutheroside B and Eleutheroside E on activity of cytochrome P450 in rat liver microsomes. [J]. *Bmc Complementary & Alternative Medicine*, 2014, 14(1) :746-746.
- [11] Bai Y, Tohda C, Zhu S, et al. Active components from Siberian ginseng (*Eleutherococcus senticosus*) for protection of amyloid beta (25-35)-induced neuritic atrophy in cultured rat cortical neurons[J]. *Journal of Natural Medicines* 2011, 65(3-4) :417-423.
- [12] Choi HS, Kim HJ, Nam SG, et al. Lupane glycosides from the leaves of *Acanthopanax koreanum*[J]. *Chem Pharm Bull* 2008, 56(11) :1613-1616.
- [13] Chen R, Liu Z, Zhao J, et al. Antioxidant and immunobiological activity of water-soluble polysaccharide fractions purified from *Acanthopanax senticosu*[J]. *Food Chemistry* 2011, 127(2) :434-440.
- [14] 刘树民, 张娜. 刺五加多糖的现代研究进展[J]. *中医药信息* 2014(2) :116-119.
- [15] 侯团章. 中药提取物(第一卷)[M]. 北京:中国医药科技出版社, 2004 :119-120.

- [16] 孙玉艳, 崔玉海, 李绍铭, 等. 刺五加多糖的研究进展探究[J]. 中国新技术新产品, 2012(7): 2-3.
- [17] 朱立刚, 李志峰. 刺五加的化学成分研究[J]. 中国中医药, 2013(5): 65-66.
- [18] Fu J, Yuan J, Tu Y Y, et al. A polysaccharide from *Acanthopanax senticosus* improves the antioxidant status in alloxan-induced diabetic mice[J]. *Carbohydrate Polymers* 2012, 88(2): 517-521.
- [19] Li XL, Zhou AG, Li XM. Inhibition of *Lycium barbarum* polysaccharides and *Ganoderma lucidum* polysaccharides against oxidative injury induced by irradiation in rat liver mitochondria[J]. *Carbohydrate Polymers* 2007, 69(1): 172-178.
- [20] 陈忠林, 蔡宇. 刺五加多糖诱导S180肉瘤细胞凋亡和bax基因表达的影响[J]. 中华实用中西医杂志, 2005, 18(1): 578-579.
- [21] Zhang JY, Pu SB, Qian SH, et al. Studies on the chemical constituents in fruits of *Acanthopanax gracilistylus*[J]. *Journal of Chinese Medicinal Materials* 2011, 34(2): 226-229.
- [22] 王知斌, 高慧媛, 吴立军. 刺五加叶中黄酮类成分的分离与鉴定[J]. 沈阳药科大学学报, 2010, 27(7): 533-538.
- [23] Hu HB, Zhu JH. Flavonoid constituents from the roots of *Acanthopanax brachypus*[J]. *Chem Pharm Bull* 2011, 59(1): 135-139.
- [24] 于化江, 张英锋, 李荣焕, 等. 刺五加黄酮类化合物的研究现状及发展[J]. 渤海大学学报, 2009, 30(2): 105-109.
- [25] 孙永杰. 刺五加茎叶中总黄酮的提取及其抗氧化功效研究[D]. 长春: 吉林农业大学, 2012.
- [26] Wang ZB, Gao HY, Xu FM, et al. Three new compounds from the leaves of *Acanthopanax senticosus* Harms[J]. *Chinese Chemical Letters* 2010, 21(6): 702-705.
- [27] 白云, 刘莉莉, 刘萍, 等. 刺五加的研究进展[J]. 黑龙江科技信息, 2014, 21: 102.
- [25] Li ZF, Xu N, Feng BM, et al. Two diketopiperazines from *Acanthopanax senticosus* Harms[J]. *Journal of Asian Natural Products Research* 2010, 12(1): 51-55.
- [28] 张德花. 刺五加叶生药学及其制剂研究[D]. 长春: 长春中医药大学, 2012.
- [29] 杨智慧, 张崇禧, 蔡恩博, 等. 栽培与野生无梗五加叶中黄酮及多糖含量的比较研究[J]. 包装与食品机械, 2011, 29(2): 10-13.
- [30] 张晶, 刘芳芳, 陈彦池, 等. 刺五加化学成分及药理学研究进展[J]. 中国野生植物资源, 2008, 27(2): 6-10.
- [31] Zhao Z, Xu X, Ye Q, et al. Ultrasound extraction optimization of *Acanthopanax senticosus* polysaccharides and its antioxidant activity[J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2013, 59: 290-294.
- [32] 范惠霞. 刺五加中主要活性成分的药动学研究[D]. 济南: 济南大学, 2014.
- [33] 孟祥才, 于冬梅, 杨国辉, 等. 刺五加根茎活性成分与生态因子的相关性[J]. 中医药现代化, 2009(3): 423-427.
- [34] 孟祥才, 颜丙鹏, 孙晖, 等. 不同性别类型刺五加根茎和茎有效成分季节积累规律的研究[J]. 时珍国医国药, 2012, 23(3): 601-603.
- [35] 杨羽, 王琦, 宋凤瑞, 等. 刺五加叶的研究进展[J]. 吉林农业, 2011(4): 262.
- [36] 蔡恩博, 张崇禧, 雷冰, 等. 不同采收期刺五加叶与无梗五加叶活性成分分析[J]. 中国药学杂志, 2010(3): 175-178.
- [37] 金爽, 张迎, 李月. 刺五加的研究进展[J]. 黑龙江中医药, 2011, 40(1): 54-55.
- [38] 涂正伟, 周渭渭, 单淇, 等. 刺五加的研究进展[J]. 药物评价研究, 2011, 34(3): 213-216.
- [39] 石建功. 木脂素化学[M]. 北京: 化学工业出版社, 2010.
- [40] 刘江亭, 蒋海强. 三萜类化合物药理作用研究进展[J]. 中国中医药咨询, 2011, 10(3): 32.
- [41] 王一涵. 刺五加中苷类成分的研究[D]. 延边: 延边大学, 2014.
- [42] Li Z F, Xu N, Feng B M, et al. Two diketopiperazines from *Acanthopanax senticosus* Harms[J]. *Journal of Asian Natural Products Research* 2010, 12(1): 51-55.
- [43] 邵佳锋, 刘树民, 牟洪, 等. 刺五加根及根茎中紫丁香苷[J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 17(4): 5-7.
- [44] Hwang Y C, Jeong I K, Ahn K J, et al. The effects of *Acanthopanax senticosus* extract on bone turnover and bone mineral density in Korean postmenopausal women[J]. *Journal of Bone and Mineral Metabolism* 2009, 27(5): 584-590.
- [45] Chen R, Meng F, Liu Z, et al. Antitumor activities of different fractions of polysaccharide purified from *Ornithogalum caudatum* Ait[J]. *Carbohydrate Polymers* 2010, 80(3): 845-851.
- [46] Zhao Z, Xu X, Ye Q, et al. Ultrasound extraction optimization of *Acanthopanax senticosus* polysaccharides and its antioxidant activity[J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2013, 59: 290-294.

因本刊已被《中国知网》(包括“中国知网”优先数字出版库)独家全文收录,所以所付稿酬中已包含该网站及光盘应付的稿酬。

短梗五加各部位活性成分及其食药价值研究进展

李 鹤, 胡文忠*, 姜爱丽, 刘程惠, 白 雪, 李晓博, 于 雪
(大连民族学院生命科学学院, 辽宁大连 116600)

摘 要:短梗五加(*Acanthopanax sessiliflorus* Seem)属于五加科五加属头序五加组植物,各部位因其活性成分的差异而均具有不同的食药价值。本文分别对短梗五加的根、茎、叶、果中的黄酮类、苷类、木脂素类、挥发油类等主要活性成分及其功效的研究现状进行了综述,并对其研究开发前景进行了展望,为短梗五加资源的高效合理利用提供理论依据。

关键词:短梗五加,活性成分,食药价值,研究进展

Research advance on the active constituents of different parts of *Acanthopanax sessiliflorus* and its edible and medicinal values

LI He, HU Wen-zhong*, JIANG Ai-li, LIU Cheng-hui, BAI Xue, LI Xiao-bo, YU Xue

(College of Life Science, Dalian Nationalities University, Dalian 116600, China)

Abstract: *Acanthopanax sessiliflorus* Seem was the typical plants of the genus *Acanthopanax* in Araliaceae and its different parts have various edible and medicinal values. This paper summarized the research about the main active constituents (such as flavonoids, glycosides, lignans, volatile oil, et al.) in the roots, stems, leaves, fruits and related functions of *Acanthopanax sessiliflorus*. The paper also prospected for the development of *Acanthopanax sessiliflorus* and provided theoretical basis for future exploitation of it.

Key words: *Acanthopanax sessiliflorus*; active constituents; edible and medicinal value; research advance

中图分类号: TS201.1

文献标识码: A

文章编号: 1002-0306(2016)06-0372-05

doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2016.06.066

短梗五加(*Acanthopanax sessiliflorus* Seem), 又被称为无梗五加, 民间俗称“乌鸦子”, 是五加科(Araliaceae)五加属(*Acanthopanax*)头序五加组(Sect. *Cephalopanax*(Baill.) Harms)典型药用植物, 属多年生落叶灌木, 原产于中国的北部、东部地区, 在韩国、日本和俄罗斯的远东地区也有分布^[1]。《神农本草经》中对短梗五加始有记载, 列其为上品。其根皮(俗称“五加皮”)为民间常见中药, 性温, 味辛、苦, 归肝、肾经; 具有抗疲劳、保护肝脏、抗癌、消炎、安神等功效^[2], 此外, 短梗五加果、叶均可入药。作为对人体具有多种益处的滋补药材, 短梗五加在中国、俄罗斯、韩国等地长期被广泛应用。近年来, 国内外对短梗五加中活性成分的研究较多, 发现从短梗五加根、茎、叶、果等各个部位提取分离出的活性成分含量及其相关功能性各不相同, 如根、茎中富含的黄酮类、木脂素类活性成分可用于安神、护肝、抗癌、消炎等, 而叶、果中挥发油、有机酸类、色素等活性成分则被广

泛应用于医药及食品深加工领域^[3]。此外, 国内外学者对五加科属植物的对比研究发现, 短梗五加相比于同科属类植物, 其特定部位还有一些特色功能性成分, 这些新活性成分的分离、鉴定及药理分析也对该科属植物的深入研究具有重要参考价值^[4-5]。本文从短梗五加根、茎、叶、果等实际应用部位出发, 参照短梗五加各部位活性成分及食药价值范围的异同, 对国内外短梗五加的各部位活性成分及其相关研究成果做一综述, 旨在为更深入的研究该植物提供参考, 同时为短梗五加资源的合理利用及相关产品的高效开发提供新的思路。

1 短梗五加根

五加属植物根皮的药用价值十分丰富, 目前研究发现五加皮提取物具有改善记忆障碍、调节神经系统^[6]、抗肿瘤、降脂护肝、消炎^[7]等诸多药用功能。Kim等^[8]发现短梗五加根提取物能够增强秀丽隐杆线虫抗氧化能力、提高经热休克和紫外线照射干扰的

收稿日期: 2015-11-24

作者简介: 李鹤(1989-)女, 在读硕士研究生, 研究方向: 食品加工与质量安全控制, E-mail: hewutaofei@126.com。

* 通讯作者: 胡文忠(1959-)男, 教授, 研究方向: 食品加工与质量安全控制, E-mail: h wz@dlnu.edu.cn。

基金项目: 满族医药与特色食品的研发(DC201501020101)。

线虫生存率,并在不减少繁殖量的前提下延长线虫寿命。可见短梗五加根部提取物在抵抗环境压力和延缓衰老等方面有巨大的研究潜力。目前对短梗五加根中的具体功能成分的划分及分析研究较少,相应成分的抗氧化、延缓衰老等机理尚需进一步考证。短梗五加根中主要活性成分研究情况如下。

1.1 黄酮类

黄酮类化合物在五加属植物中含量丰富,且流行病学相关研究表明,日常饮食定量摄入该类天然成分可对乳腺癌、前列腺癌、结肠癌、肺癌等疾病有一定的预防作用^[9]。在短梗五加根部成分研究过程中已发现的黄酮类成分主要有:槲皮素、表儿茶素、金丝桃苷、安妥苷等。霍晶晶等^[10]采用硅胶柱色谱法用乙酸乙酯提取短梗五加根皮中主要成分,分离得到槲皮素,相关研究表明该成分具有较强的抗氧化及清除自由基的作用,此外,槲皮素还具有抗癌、消炎、调节免疫及保护心血管等功能^[11]。

1.2 木脂素类

广泛存在于五加属植物中的木脂素类成分具有一定的抗氧化、延缓衰老、抑菌活性,是短梗五加根部主要的药效成分。短梗五加根部所含木脂素类成分主要有:松脂醇二葡萄糖苷、台湾脂素C、台湾脂素E、短梗五加苷、芝麻脂素、细辛脂素、洒维宁、赛菊宁黄脂、紫丁香苷等^[5,7]。宋洋等^[15]运用超高效液相色谱-质谱法分别对短梗五加、细柱五加以及刺五加根中的活性成分比较分析,检测出台湾脂素C及台湾脂素E是短梗五加根部所特有的活性成分。于凯等^[12]对短梗五加根中所含有的苯丙素(木脂素)类化合物进行针对性鉴定,在同科植物中首次分离得到松脂素,而表芝麻素和咖啡酸甲酯为同属植物中首次获得。相关研究优化了甲醇体系提取短梗五加根粉末中总木质素含量的方法^[13]。其中芝麻素为抑菌、抗炎^[14]、抗癌的代表性成分,国内外研究表明其具有一定的肝细胞保护作用^[15]。

1.3 其他

萜烯类及其衍生物在短梗五加根的挥发性成分中占据重要地位,其中金合欢醇、香橙烯、反式-橙花叔醇和镰叶芹醇相对含量较高^[16]。金合欢醇作为短梗五加根中挥发油的主要物质,具有消炎、抗菌、健胃等作用,被广泛应用于国内外医药领域^[17]。而具有一定抗肿瘤、抗炎功能的桉木酸等成分,为从短梗五加根部乙酸乙酯提取物中首次分离得到,并采用核磁共振波谱等方法对其进行了鉴定^[18]。此外,属香豆素类的异嗪皮啶是五加属植物中的典型成分,具有一定的镇静安神功效。刘枏等^[19]运用高效液相色谱法对短梗五加及刺五加根中的异嗪皮啶等成分进行比较研究,发现以甲醇-水为流动相在30℃柱温、0.8 mL·min⁻¹流速条件下梯度洗脱色谱柱可使该类成分有较高得率,且短梗五加根中异嗪皮啶含量略低于刺五加根皮中含量。

2 短梗五加茎

短梗五加茎与短梗五加根通常共同作为五加皮主要来源,广泛应用于中医药领域。短梗五加茎中的活性成分相对来说延伸了根的一些成分,故将两个

部位的活性成分进行比较、互补研究具有实际应用价值。Thamizhiniyan V等^[19]对短梗五加茎皮提取物进行人乳腺癌细胞抑制性实验,发现该提取物在相关癌细胞合成过程中的重要酶等物质的活性具有抑制作用,能够在某种程度上诱导并促进癌细胞的凋亡,说明进一步深入研究短梗五加茎中活性物质及其药用机理具有十分重要的意义。目前从短梗五加茎中分离检测出的常见成分有:金丝桃苷、槲皮素、芝麻脂素、β-谷甾醇、胡萝卜苷、咖啡酸、原儿茶酸、没食子酸等,最新发现成分有金合欢素、丁二酸、白桦脂酸、天麻苷、山柰酚、豆甾醇-3-O-β-D-吡喃葡萄糖苷等^[20]。

2.1 苷类

刺五加苷为五加属植物中含量较为丰富的特性成分,主要有紫丁香苷、刺五加苷E等。中国药典中将紫丁香苷(刺五加苷B)定为刺五加质量控制的指标成分。其中紫丁香苷经研究发现具有一定的消炎、镇痛及保护肝脏^[21]等作用,而刺五加苷E则具有预防细胞脂质聚积^[22]、促进睡眠、镇静安神等功效。短梗五加茎中的苷类物质含量相比于其根部有所不同,短梗五加茎皮中的刺五加苷E及异嗪皮啶含量明显高于刺五加茎中所含^[23],可见短梗五加茎部药用开发前景可观。史伟国等^[24]优化短梗五加中苷类物质提取工艺实验发现超声提取40倍稀释短梗五加茎样品75 min,紫丁香苷在52.46%甲醇浓度下有最高得率,相同提取条件下刺五加苷E在49.36%甲醇浓度下有最高得率。在提取刺五加中刺五加苷E及紫丁香苷的众多方法中,离子液体超声波辅助萃取法(ILUAE)是目前应用较为安全、方便、环保的方法^[25]。

2.2 酚酸类

短梗五加茎中有机酸含量丰富,其中酚酸类成分有:香草醛、丹皮酚、丁二酸、水杨酸、香草酸、绿原酸、原儿茶酸和咖啡酸等。用高效液相色谱-二极管阵列检测器-质谱法检测短梗五加茎中原儿茶酸、绿原酸和咖啡酸三种成分,发现同一产地短梗五加茎中绿原酸含量明显高于其余两种有机酸^[26]。

2.3 其他化合物

萜类化合物、多糖以及挥发油等成分在短梗五加茎中含量也较为丰富。GC-MS法分析短梗五加乙醚部分化学成分研究表明:短梗五加茎含有的挥发油类型主要为萜类及其衍生物,其中3,7,11-三甲基-2,6,10-十二碳三烯-1-醇含量较高,达50.21%^[27]。

3 短梗五加叶

短梗五加叶具有药食同源特性,民间多采用短梗五加叶作为制取五加茶的主要原料,其相关产品的研究与开发具有十分可观的市场前景^[28]。短梗五加叶化学成分种类与其根、茎相近,但具体活性成分含量及一些特性成分较根茎等其他部位有一定差异,如槲皮素-3-O-β-D-葡萄糖、3-O-p-香豆酰奎尼酸、腺嘌呤核苷等为短梗五加叶中的特有成分^[29]。实验研究表明,短梗五加叶的不同部分对多种自由基均具有一定的清除能力,且对三价铁离子具较强还原能力,可见短梗五加叶具有很好的抗氧化活

性,可用于天然抗氧化剂开发研究^[30]。相关检测发现短梗五加叶中主要含有金丝桃苷、多糖、 β -谷甾醇、滨蒿内酯、胡萝卜苷、槲皮素、绿原酸及短梗五加苷D等活性成分^[31]。

3.1 黄酮类

金丝桃苷及紫丁香苷为短梗五加叶中研究较为深入黄酮类成分。相关动物实验证明金丝桃苷具有降血糖、降血脂^[32]、镇静、抗抑郁^[33]等药用功效,同时还具有一定的抗癌作用^[34]。金丝桃苷是短梗五加及五加属植物的重要活性物质,常被用作该属植物的鉴定性成分,对于其检测方法国内外也有相关研究报道。Qing-Gong Zhu等^[35]采用多壁碳纳米管复合石墨棒,通过电泳沉积的方法实现了对该类植物中金丝桃苷的快速检测。

3.2 挥发油类

水蒸气蒸馏法获得的短梗五加叶中主要挥发油有:石竹烯类成分、 α -杜松醇、(R)-4-甲基-1-(1-甲基乙基)-3-环己烯-1-醇、古巴烯等成分,且部分成分与其根、茎中挥发油成分相同^[36]。其中石竹烯且石竹烯及其氧化物作为较强的抗炎药物,对淋巴瘤及神经母细胞瘤细胞具有一定的抑制作用^[37]。而古巴烯、杜松醇等其他挥发性物质为食品、日化产业中常用香精、香料的主要香气成分,也可应用于相应香气物质的合成与制备,可见其具有一定的开发研究价值。

3.3 有机酸类

广泛存在于短梗五加叶中的天然有机酸类成分,具有抑菌、利胆、升高白血球等多种生物活性。短梗五加叶中的绿原酸含量丰富,相似生长条件下,短梗五加中绿原酸含量比刺五加中该成分含量平均高出二倍以上^[38]。绿原酸作为咖啡酸的衍生物,Luciana G等^[39]实验研究证明其具有一定的抗氧化、抗癌活性。

4 短梗五加果实

短梗五加果是短梗五加的成熟果实,由于其具有独特风味、良好的生物活性及十分丰富的营养物质,在食品药品生产及研究领域运用广泛。国内外多应用短梗五加果制备果汁、果醋、果酒、果干等产品^[40]。贺小露等^[41]通过动物实验研究发现短梗五加果提取物有良好的镇静剂及催眠剂。短梗五加果中主要的活性成分如下。

4.1 多糖类

天然来源的多糖具有抗肿瘤、抗衰老、抗炎症、降血脂等多种保健功能。多糖提取物相关实验发现短梗五加精多糖ASP具较强的抗氧化活性,且各多糖组分对 $\cdot O_2^-$ 和 $\cdot OH$ 等活性氧均具有较强的清除能力^[42]。此外,管美玉等^[43]通过小鼠力竭游泳实验,观察连续灌胃短梗五加果提取物对小鼠运动后各项指标影响,发现其具有一定程度的抗疲劳功效。

4.2 色素类

短梗五加果中色素类活性成分主要有花色苷、花青素等,可以作为天然色素及制备可食性油墨的良好来源。邵信儒等^[44]对短梗五加果实中花色苷的提取工艺及其相应功能性进行了较系统的研究,研

究发现,短梗五加果中提取出的花色苷类物质具有良好的抗氧化活性,能够在一定程度上清除DPPH自由基、超氧阴离子自由基、羟自由基等多种自由基,并且具有一定的抗脂质过氧化、抵抗油脂氧化等功能,其还原性及相应抗氧化性在一定条件下明显高于维生素C等典型还原性成分。其他相关实验结果显示,矢车菊素-3-桑布双糖苷作为花色苷类物质,通过抑制金属蛋白酶-9的合成及表达等方式,对乳腺癌细胞的生长、转移和入侵具有一定程度的阻碍作用,表明其具有良好的抗癌、防止癌细胞转移活性^[45]。

4.3 三萜类

短梗五加果实中三萜类活性成分含量丰富,目前从其中分离鉴定出十几种该类化学成分。如3-O- β -D-吡喃葡萄糖醛酸-齐墩果酸苷、Chiisanoside、齐墩果酸等成分具有一定的抗血栓、抗血小板凝集活性^[46],Chiisanoside是从短梗五加果中分离得到的3- β -开环-羽扇豆烷型三萜类化合物,具有显著的抗炎、抗菌、抗氧化、抗癌、抗肝毒素以及治疗糖尿病等功能^[47]。同时,齐墩果酸的良好抗氧化性及肝脏保护功效日益受到食品、医疗领域的关注,采用微波消化法快速测定短梗五加果中齐墩果酸含量,可以对短梗五加果进行有效成分定量分析^[48]。

4.4 其他

挥发油类成分作为短梗五加果实中的风味物质,在食品、药品等领域应用范围较广。吴迪等^[49]采用顶空固相微萃取和气质联用的技术对短梗五加果中所含的挥发性成分进行分析,发现其中有挥发性成分56种,其中25种萜烯类成分占总挥发性成分的73.64%,其中典型活性成分如石竹烯、 γ -榄香烯具有很好的抗氧化活性, γ -松油烯、罗勒烯、月桂烯等被广泛应用于食用香料产业。此外,短梗五加果中含有的黄酮类及酚酸类物质,是短梗五加中的典型功能性成分。李春芳等^[50]采用紫外-分光光度法测定短梗五加果中总黄酮、总酚含量,同时运用高效液相色谱法测定短梗五加果中原儿茶酸、绿原酸、金丝桃苷等特定指标性成分,对短梗五加果提取物有效成分的综合评价及相应产品的质量控制在一定程度上具有一定的参考价值。

5 总结与展望

近年来,因为环境的破坏及五加科植物的过量开采与不合理利用,导致多种五加科属类植物处于濒危状态。目前,就短梗五加资源的研究、开发状况来看,针对短梗五加不同部位开发的情况较少,易因资源不合理利用而导致浪费,且其应用多偏重于药理功能及药品开发,而在食品工业领域应用较少,故区分短梗五加根、茎、叶、果的新种类食品的开发与生产工艺研究具有一定的必要性及可行性。我国卫生部2008年第12号文件宣布短梗五加为新资源食品,可见其在功能性食品与营养保健领域均具有广阔的开发前景。

而短梗五加活性物质成分的安全性及相关功能性机理分析是创新性食品发展的必然趋势。同时,对该植物相关活性成分的提取时,多引入醇类等有机

机溶剂,在食品、药品等相关领域的应用安全性有待考证,因此,更安全、快速、高效的提取、纯化方法还需进一步研究,以便为日后安全、健康、机理明确的功能性食品及保健药品的开发创造更好的条件与机遇。

参考文献

- [1] 中国科学院中国植物志编辑委员会. 中国植物志(五十四卷)[M]. 北京: 科学出版社, 1978: 115.
- [2] 王文蜀, 韦善君. 中国民族地区药用植物化学成分与药理作用[M]. 北京: 中央民族大学出版社, 2013: 326.
- [3] SK Jung, HJ Lee, KW Lee, et al. Bioactivities and action mechanisms of *Acanthopanax* species[J]. Food Science and Biotechnology, 2012, 21(5): 1227-1233.
- [4] Jae-Myoung Choi, Jun-Bae Ahn. Functional properties of 50% methanol extracts from different parts of *Acanthopanax sessiliflorus*[J]. Food Science and Technology, 2012, 44(3): 373-377.
- [5] 宋洋, 冯雪松. 无梗五加根化学成分的UPLC-MS/MS分析及与细柱五加、刺五加的比较[J]. 药物分析杂志, 2014(6): 958-965.
- [6] Nam Y, Lee D. Ameliorating effects of constituents from Cortex *Acanthopanax Radicis* on memory impairment in mice induced by scopolamine[J]. Journal of Traditional Chinese Medicine, 2014, 34(1): 57-62.
- [7] 郑婧, 张贵君, 韦敏, 等. 五加皮药材基原、化学成分及药理作用研究进展[J]. 辽宁中医药大学学报, 2015, 17(8): 104-107.
- [8] Kim C K, Park J K, Lee J S et al. Increased resistance to stress and an anti-aging effect due to *Acanthopanax sessiliflorus* roots in *Caenorhabditis elegans*[J]. Food Science & Biotechnology, 2014, 23(5): 1653-1659.
- [9] DF Romagnolo, OI Selmin. Flavonoids and cancer prevention: A review of the evidence[J]. Journal of Nutrition in Gerontology and Geriatrics, 2012, 31(3): 206-238.
- [10] 霍晶晶, 姚大雷, 杨鑫, 等. 短梗五加的化学成分[J]. 延边大学医学学报, 2011, 34(4): 283-284.
- [11] 孙涓, 余世春. 槲皮素的研究进展[J]. 现代中药研究与实践, 2011, 25(3): 85-88.
- [12] Kai YU, Song Y, Yang LU et al. Phenylpropanoids from roots of *Acanthopanax sessiliflorus* (Rupr. et Maxim.) seem[J]. Natural Product Research & Development, 2012, 24(4): 469-472.
- [13] 宋洋, 李晓红. 回流提取无梗五加根总木脂素的正交实验研究[J]. 中国药师, 2014, 17(5): 748-750.
- [14] Thanyaluck Phitak, Peraphan Pothacharoen, Jongkolnee Settakorn et al. Chondroprotective and anti-inflammatory effects of sesamin[J]. Phytochemistry, 2012, 80: 77-88.
- [15] Jie-Qiong Ma, Jie Ding, Li Zhang et al. Hepatoprotective properties of sesamin against CCl₄ induced oxidative stress-mediated apoptosis in mice via JNK pathway[J]. Food and Chemical Toxicology, 2014, 64: 41-48.
- [16] 宋洋, 邓晓岚, 祝娟, 等. 无梗五加根中挥发油指纹图谱的研究[J]. 华西药理学杂志, 2015, 30(1): 67-69.
- [17] Rossana de Aguiar Cordeiro, George Cândido Nogueira, Raimunda Sâmia Nogueira Brillhante et al. Farnesol inhibits *in vitro* growth of the *Cryptococcus neoformans* species complex with no significant changes in virulence-related exoenzymes[J]. Veterinary Microbiology, 2012, 159(3-4): 375-380.
- [18] 刘枫, 韩荣春, 徐保利, 等. 刺五加及短梗五加根皮有效成分含量对比研究[J]. 中国野生植物资源, 2012, 31(6): 37-39.
- [19] Thamizhiniyan V, Young-Woong C, Young-Kyoon K. The cytotoxic nature of *Acanthopanax sessiliflorus* stem bark extracts in human breast cancer cells[J]. Saudi Journal of Biological Sciences, 2015, 22(6): 752-759.
- [20] 雷军, 陈屏, 许旭东, 等. 短梗五加茎的化学成分研究[J]. 中国药理学杂志, 2014, 49(18): 1595-1598.
- [21] Xia Gong, Li Zhang, Rong Jiang, et al. Hepatoprotective effects of syringin on fulminant hepatic failure induced by D-galactosamine and lipopolysaccharide in mice[J]. Journal of Applied Toxicology, 2014, 34(3): 265-271.
- [22] Chang Hwa Jung, Jiyun Ahn, Seok Hyun Heo, et al. Eleutheroside E, an active compound from *Eleutherococcus senticosus* regulates adipogenesis in 3T3-L1 cells[J]. Food Science and Biotechnology, 2014, 23(3): 889-893.
- [23] 刘枫, 李先宽, 徐保利, 等. 刺五加及短梗五加茎皮有效成分含量对比研究[J]. 辽宁中医药大学学报, 2013, 15(9): 52-54.
- [24] 史伟国, 崔立勇, 佟庆, 等. 响应面法优化短梗五加中刺五加苷B和E的超声提取工艺[J]. 安徽农业科学, 2014, 42(18): 5747-5748, 5752.
- [25] Lei Yang, Hongshuang Ge, Wenjie Wang et al. Development of sample preparation method for eleutheroside B and E analysis in *Acanthopanax senticosus* by ionic liquids-ultrasound based extraction and high-performance liquid chromatography detection[J]. Food Chemistry, 2013, 141(3): 2426-2433.
- [26] 金敏婷, 苏瑞, 许鑫, 等. 无梗五加茎中3种酚酸类成分的HPLC-DAD-MS分析[J]. 中成药, 2012(1): 93-97.
- [27] 张崇禧, 马晓静, 丛登立, 等. GC-MS分析短梗五加化学成分[J]. 资源开发与市场, 2010, 26(7): 577-578, 582.
- [28] 何秀苇. 一种刺五加茶的制备方法[P]. 黑龙江: CN103168892A, 2013-06-26.
- [29] 郑颖. 无梗五加叶化学成分的研究[D]. 北京: 中国农业科学院, 2012.
- [30] 郝旭梅, 鲍建才, 杨智慧, 等. 无梗五加叶体外抗氧化活性研究[J]. 包装与食品机械, 2011, 29(4): 1-5.
- [31] Weirong Cai, Yong Chen, Liangliang Xie, et al. Characterization and density functional theory study of the antioxidant activity of quercetin and its sugar-containing analogues[J]. European Food Research and Technology, 2014, 238(1): 121-128.
- [32] Verma Neeraj, Amresh G, Sahu P K et al. Pharmacological evaluation of hyperin for antihyperglycemic activity and effect on lipid profile in diabetic rats[J]. Indian Journal of Experimental Biology, 2013, 51(1): 65-72.
- [33] Haas J S, Stolz E D, Betti A H. The anti-immobility effect

- of hyperoside on the forced swimming test in rats is mediated by the D2-like receptors activation[J]. *Planta Med* 2011, 77(4) : 334.
- [34] 孙时华, 姜荣华, 祝海燕, 等. 金丝桃苷体外抗胃癌作用及其机制研究[J]. *中国临床药理学与治疗学* 2014, 19(9) 979-983.
- [35] Qing-Gong Zhu, Amat Ngilmi Ahmad Sujari Sulaiman Ab Ghani. Electrophoretic deposited MWCNT composite graphite pencils and its uses to determine hyperin[J]. *Journal of Solid State Electrochemistry* 2012, 16(10) 3179-3187.
- [36] 郝旭梅. 复方无梗五加叶片的制备工艺和质量评价[D]. 吉林: 吉林农业大学, 2013.
- [37] Soumyadeep Sain, Pravin K Naoghare, S Saravana Devi et al. Beta Caryophyllene and Caryophyllene Oxide Isolated from *Aegle Marmelos* as the potent Anti-inflammatory agents against Lymphoma and Neuroblastoma Cells[J]. *Anti-Inflammatory & Anti-Allergy Agents in Medicinal Chemistry* 2014, 13(1) 45-55.
- [38] 陆珞. 刺五加叶与无梗五加叶生药学比较研究[D]. 吉林: 吉林农业大学, 2011.
- [39] Luciana G Naso, María Valcarcel, Meritxell Roura-Ferrer et al. Promising antioxidant and anticancer (human breast cancer) oxidovanadium(IV) complex of chlorogenic acid. Synthesis, characterization and spectroscopic examination on the transport mechanism with bovine serum albumin[J]. *Journal of Inorganic Biochemistry* 2014, 135 86-99.
- [40] 孙伟, 崔玉松, 董忠宇. *Acanthopanax sessiliflorus* seem. fruit vinegar beverage and preparation method thereof :CN, CN101775350 B[P]. 2012.
- [41] 贺小露, 张蕊, 孙明亮, 等. 短梗五加果镇静催眠作用实验研究[J]. *中药材* 2013, 36(8) :1329-1331.
- [42] 王晶晶, 冯颖, 孟宪军. 无梗五加果实多糖抗氧化活性研究[J]. *安徽农业科学* 2009, 37(31) :15405-15406.
- [43] 管美玉, 刘玉强, 才谦, 等. 无梗五加果实抗疲劳活性研究[J]. *亚太传统医药* 2015, 11(19) :10-12.
- [44] 邵信儒. 短梗五加果花色苷的制备及其在可食性油墨中的应用[D]. 吉林: 吉林大学, 2015.
- [45] Sang-Jin L, Sungyool H, Sang-Ho Y et al. Cyanidin-3-O-sambubioside from *Acanthopanax sessiliflorus* fruit inhibits metastasis by downregulating MMP-9 in breast cancer cells MDA-MB-231[J]. *Planta Medica* 2013, 79(17) :1636-1640.
- [46] Yang S, Yang C J, Kai Y U. *In vivo* antithrombotic and antiplatelet activities of a quantified *acanthopanax sessiliflorus* fruit extract[J]. *Chinese Journal of Natural Medicines* 2011, 9(2) :141-145.
- [47] 刘向前, 戴玲, 戴秀珍. RP-HPLC法同时测定十种五加属植物叶中三萜Chiisanoside和Chiisanogenin[J]. *天然产物研究与开发* 2013, 25(1) :71-75.
- [48] WANG Xiao tong, LIU Yu qiang, CAI Qian. Determination of oleanolic acid in fruit of *acanthopanax sessiliflorus* by microwave digestion with HPLC[J]. *Chinese Journal of Experimental Traditional Medical Formulae* 2015, 21(7) 61-63.
- [49] 吴迪, 陈亮, 辛秀兰, 等. HS-SPME-GC-MS分析短梗五加挥发性成分[J]. *江苏农业科学* 2012, 40(6) 298-299.
- [50] 李春芳, 刘汶, 曲佳琳, 等. 短梗五加果提取物中总黄酮、总酚及3种指标成分的含量测定[J]. *沈阳药科大学学报*, 2011, 28(10) :801-806.

(上接第371页)

- tapioca starch[J]. *Journal of Food Engineering* 2008, 88(1) : 137-143.
- [50] Feng T, Ye R, Zhuang H, et al. Thermal behavior and gelling interactions of Mesona Blumes gum and rice starch mixture[J]. *Carbohydrate Polymers* 2012, 90(1) 667-674.
- [51] Qiu S, Yadav M P, Liu Y et al. Effects of corn fiber gum with different molecular weights on the gelatinization behaviors of corn and wheat starch[J]. *Food Hydrocolloids* 2016, 53 :180-186.
- [52] Closs C B, Conde-Petit B, Roberts I D et al. Phase separation and rheology of aqueous starch/galactomannan systems [J]. *Carbohydrate Polymers* 1999, 39(1) 67-77.
- [53] Savary G, Handschin S, Conde-Petit B et al. Structure of polysaccharide-starch composite gels by rheology and confocal laser scanning microscopy Effect of the composition and of the preparation procedure[J]. *Food Hydrocolloids* 2008, 22(4) 520-530.
- [54] 李向东, 吕加平, 夏志春, 等. 亚麻籽胶在搅拌型酸奶加工中的应用研究[J]. *食品科学* 2008, 29(12) 331-335.
- [55] 韩亚兰. 百合淀粉-胶复合物的质构特性及其应用研究[D]. 南昌: 南昌大学, 2007.
- [56] Krishnan S, Kshirsagar A, Singhal R. The use of gum arabic and modified starch in the microencapsulation of a food flavoring agent[J]. *Carbohydrate Polymers* 2005, 62(4) 309-315.
- [57] Sikora M, Kowalski S, Tomasik P et al. Rheological and sensory properties of dessert sauces thickened by starch-xanthan gum combinations[J]. *Journal of Food Engineering* 2007, 79(4) : 1144-1151.
- [58] 田颖, 李丽娜. 淀粉衍生物与黄原胶、卡波姆复配凝胶的制备及其在护肤品中的应用研究[J]. *香料香精化妆品* 2013, (6) 37-42.
- [59] Shalviri A, Liu Q, Abdekhodaie M J et al. Novel modified starch-xanthan gum hydrogels for controlled drug delivery : Synthesis and characterization[J]. *Carbohydrate Polymers* 2010, 79(4) 898-907.
- [60] 吴龙婷, 蒲陆梅, 龙海涛. 淀粉黄原胶交联膜的制备及载药性能测定[J]. *化学研究与应用* 2014, 26(2) 218-222.

文冠果种仁油开发和应用的最新研究进展

白雪¹ 胡文忠^{1*} 姜爱丽¹ 萨仁高娃² 钱红梅³ 孙录¹

(1.大连民族学院生命科学学院 辽宁大连 116600; 2.大连理工大学生命科学与技术学院 辽宁大连 116024; 3.大连工业大学食品学院 辽宁大连 116034)

摘要: 文冠果种仁油是以文冠果种仁为原料 经过提取加工得到的在许多领域被广泛应用的一类植物油脂。油脂富含多种生物活性物质 性质符合制成生物燃油的标准 近些年来在许多少数民族地区被作为油料树种大量开发种植。本文对文冠果种仁油的提取方法、营养成分、保健功效及其作为生物燃油、食品添加剂、肥皂等产品生产原料的开发与应用方面进行了总结与归纳 并综述了其种植与加工应用过程中存在的问题 弥补了文冠果种仁油研究领域相关油类开发与应用综述的不足 为今后文冠果种仁油在生物能源领域新产品的开发提供参考 为文冠果种仁油在其它生产领域的开拓应用奠定基础 也为提高民族地区经济水平、促进民族地区农业发展做出了一定的贡献。

关键词: 文冠果种仁油 活性成分 生物柴油 开发应用

Research advance on the development and application of *Xanthoceras Sorbifolia bunge* seed oil

BAI Xue¹ ,HU Wen-zhong^{1*} ,JIANG Ai-li¹ ,SA-ren-gao-wa² ,QIAN Hong-mei³ ,SUN Lu¹

(1.College of Life Science ,Dalian Nationalities University ,Dalian 116600 ,China;
2.College of Life Science and Biotechnology ,Dalian University of Technology ,Dalian 116024 ,China;
3.College of Food Engineering ,Dalian Polytechnic University ,Dalian 116034 ,China)

Abstract: *Xanthoceras sorbifolia bunge* seed oil is a kind of plant oil extracted from *Xanthoceras sorbifolia* seeds.It not only rich in various kinds of bioactive substances ,but also has the properties of generating biodiesel.It cultivated as a kind of oil tree in minority areas in recent years.Its nutrients and health functions have been summarized ,which also could be used as raw materials of producing biodiesel and food additives even soap.The problems about its processing and planting in practice were also be studied.They all make up the insufficient of the study about the development and application in *Xanthoceras sorbifolia bunge* seed oil.It will make a reference for the bio-energy research about *Xanthoceras sorbifolia bunge* seed oil and make a foundation of applications on *Xanthoceras sorbifolia bunge* seed oil in other production areas which has also made a certain contribution to improve the economic level and the agricultural development of the minority regions.

Key words: *Xanthoceras sorbifolia bunge* seed oil; Active ingredients; Biodiesel; Developments and applications

中图分类号: TS201.1

文献标识码: A

文章编号: 1002-0306(2016)09-0393-05

doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2016.09.070

文冠果(*Xanthoceras sorbifolia*) 又叫“北方油茶”, 是中国特有的一类无患子科油料灌木, 广泛分布于北方黄土高原地区, 具有很强的抗性 种植期间病虫害较少 不仅被誉为防风固沙、治理荒漠化的优良树种而且是城镇、园林、高速公路绿化过程中经常被使用的风景树^[1]。文冠果的果仁、果壳、叶片、花、茎干、根等部位包含多种活性物质, 叶片中的蛋白质含量较高 咖啡因含量与花茶接近 经过加工后可以当做茶叶饮用 起到利尿、稳定毛细血管、止血的疗效^[2]。茎干中的甾醇、香豆素、黄酮、鞣质等活性物质食用后同样具有抗炎、改善记忆、抗病毒、抗癌的作用^[3-4]。文冠果种皮可制成活性炭 油渣经加工后可做饲料 木材可加工成高档工艺品。文冠果种仁油中

的不饱和脂肪酸含量较高, 富含的蛋白质品质好 活性成分较丰富 是一种健康的、具有保健价值的理想食用油。文冠果种仁油的油料指标和加工工艺指标符合生物能源的标准 其加工制成的生物柴油也被看作是我国 21 世纪最具潜力的可再生绿色能源^[5]。

1 文冠果种仁油

1.1 种仁的产量

文冠果是我国陕西、山西、河北、河南等地区常见的树种 其对土壤适应力强、耐干旱、耐贫瘠, 又因近些年来人们对健康饮食和生物柴油产业发展的不断重视, 文冠果的种植也作为拉动经济增长, 提高地方生活水平的一项重要举措在宁夏、甘肃、内蒙古等

收稿日期: 2015-09-25

作者简介: 白雪(1992-) 女 在读硕士 研究方向: 食品加工与质量安全控制 E-mail: xbbxnzb@163.com。

* 通讯作者: 胡文忠(1959-) 男 博士 教授 研究方向: 食品加工与质量安全控制 E-mail: hwz@dlnu.edu.cn。

基金项目: 满族医药与特色食品的开发(201501020101)。

少数民族地区迅速展开^[6]。但由于民族地区的种植者经验欠缺,在种植文冠果的过程中存在一定问题,造成的文冠果的落果现象影响着文冠果种仁的产量和种植文冠果的经济价值^[7]。

研究发现,影响文冠果种仁产量的主要因素有文冠果的栽培密度、优秀果树的利用率、数目形态、结果枝类、自交败育和授粉受精不良、树体营养受限制等,其中优质文冠果植株的选择是直接影响文冠果种仁产量的关键因素,对于单株文冠果而言,平茬复壮能够较大幅度的提高文冠果种仁的产量^[8]。白金友^[9]等人在5月份的花期取30株文冠果进行实验,研究表明,每株文冠果施肥0.3斤,灌水2担可明显增加文冠果的座果率,对文冠果进行适当的修剪,使其结果枝的长度在41cm以上,或径粗在0.71cm以上都可以明显提高文冠果的座果率,提高其种仁的产量。还有研究显示文冠果的种植密度在每公顷定植2715株时^[10]种仁产量达最高值,为195kg/hm²,通过人工异花授粉操作也能显著提高文冠果结实率,但需要控制每个花序上的果实数,防止由于营养竞争而出现落果现象^[11]。

1.2 种仁油的提取

石油醚和甲醇混合液提法、亚临界萃取法、微波辅助萃取法、生物酶法等都是文冠果种仁油常用的提取方法。

表1 不同提取方法对文冠果种仁油提取效率的影响

Table 1 Effect of different extraction methods on *Xanthoceras sorbifolia* oil extraction efficiency

| 提取方法 | 提取条件 | 提油得率 (%) |
|----------------------------|--|----------|
| 石油醚混合液法 ^[12] | 提取温度: 90 °C 提取时间: 10 h 料液比: 1: 5 | 62.19 |
| 超声法 ^[13] | 超声功率: 175 W 提取时间: 1.5 h 料液比: 1: 5 提取温度: 50 °C | 59.1 |
| 水酶法(碱性蛋白酶) ^[14] | 提取时间: 5 h 料液比: 1: 5 | 81.6 |
| 超声波辅助石油醚法 ^[15] | 提取温度: 65 °C 提取功率: 300 W 提取时间: 6.5 h 料液比: 1: 7 | 68.6 |
| 超临界萃取 ^[16] | 提取温度: 42 °C 提取压力: 28.02 MPa 提取时间: 3.2 h 料液比: 1: 5 | 81.2 |
| 冷榨法 ^[17] | 提取压力: 55 MPa 提取时间: 8 h 料液比: 1: 9 | 40.44 |
| 索氏提取法 ^[18] | 萃取回流次数: 5次 料液比: 1: 5 | 46 |

不同的提取方法对文冠果种仁油的提取效率不

同,超临界萃取法是常用的文冠果种仁油提取方法,研究发现超临界萃取法中影响种仁油提取效率最主要的因素是萃取的温度和萃取时间,而萃取压力对萃取率的影响效果并不显著^[16]。石油醚混合液法是近些年来研究最多的文冠果种仁油提取方法,Ding^[19]等人证实影响石油醚提取效率的因素主要是提取过程中的料液比和甲醇的用量大小,提取的温度和NaOH的用量多少则对提取效率的影响不大。在采用热盐水法提取文冠果种仁油时发现,当NaCl的添加量不超过10%时,文冠果种仁油提取率与其加入量呈正相关,且搅拌时间在150min时达到最高效果,整个方法使用的仪器可以降低提油过程中的破乳成本,具有较高的经济价值^[12]。

2 文冠果种仁油的成分和功效

2.1 文冠果种仁油的营养成分

文冠果种仁油是从文冠果种仁中提取得到的一类植物油,测定发现其种子含油量为30.4%,去皮后种仁含油率会高出35.99%^[20]。人们生活中经常食用的植物油种类很多,与芝麻油、花生油、橄榄油、菜籽油等这些油类相比,文冠果种仁油能够促进人体健康,富含的营养物质更易被人体吸收,属于植物食用油中的极优品。文冠果种仁油是国家一级食用植物油,色泽金黄,香气怡人,油中蛋白质的含量比核桃油高,蛋白质中氨基酸的种类也比较齐全,共计17种^[21],蛋白质中谷氨酸、精氨酸的含量优于油菜籽油,高出其一倍多^[22],必需氨基酸异亮氨酸、天冬氨酸、丝氨酸等氨基酸评分高达75分,比花生中蛋白质的评分还要高^[23]。文冠果种仁油中富含多种蛋白质、生物碱、粗纤维、甾醇、大黄酚、大黄素、槲皮素、皂苷、维生素B₁、维生素C、维生素E、胡萝卜素等多种维生素及钠、铁、锌、等矿物质元素,可被用作高级药、食兼用植物油,是纯天然的保健品和美容用品^[24]。

文冠果种仁油中富含12种脂肪酸,花生酸、木焦油酸、廿碳二烯-11,14酸、山俞酸这四种脂肪酸的含量占总脂肪酸含量的1%~1.5%,硬脂酸、神经酸、棕榈酸、芥酸、蜜酸占总脂肪酸含量的15%~20%,亚油酸、亚麻酸、油酸这三种脂肪酸含量占总脂肪酸含量的78.5%~84%^[25-26]。文冠果种仁油中的饱和脂肪酸的含量较低,花生油中的饱和脂肪酸含量是文冠果油中的饱和脂肪酸含量的1.9倍,橄榄油中的饱和脂肪酸含量也是文冠果油中饱和脂肪酸含量的1.78倍^[24]。高含量的不饱和脂肪酸是文冠果种仁油优于其他品种食用油的关键因素,文冠果种仁油中的不饱和脂肪酸包含亚油酸、亚麻酸和油酸,亚油酸、亚麻酸是人体自身不能合成,只能从膳食中补充得到的必需脂肪酸;亚油酸在文冠果种仁油中的含量占总不饱和脂肪酸的42.9%,是形成细胞膜、提高细胞活性、改善血液循环并参与人体新陈代谢的重要物质;油酸的含量占文冠果种仁油不饱和脂肪酸含量的52.8%,是帮助人体防止脱发和多种皮肤疾病的有益脂肪酸^[27]。

2.2 文冠果种仁油的保健功效

有关文冠果种仁油的毒性实验研究证实^[28],用文冠果种仁油喂养小鼠,在30 d的实验周期中对小鼠的精子形态、骨髓细胞、脏器重量等指标进行连续测定,研究发现文冠果种仁油的连续食用并不会造成实验动物的明显中毒或死亡,这表明食用文冠果种仁油不会对健康造成伤害。有相关报道表明文冠果具有抑制 HIV^[29]蛋白酶活性功能的效果,所以 Yu^[30]等人将从文冠果种仁油中提取得到的活性物质用于癌细胞毒性的测定,测定的10种活性物质中,5种活性物质对癌细胞都呈现显著毒性,能够杀死癌细胞或抑制癌细胞生长,证实了文冠果种仁油中的天然的抗癌物质可以入药达到预防与治疗肿瘤的功效。在利用小鼠研究文冠果种仁油的抗氧化实验中发现文冠果种仁油可以清除小鼠体内的·OH自由基,阻止其降解红细胞、分解DNA,对小鼠体内的O₂⁻·自由基也有清除作用,能够减少其大量聚集,保护健康细胞免受伤害,延缓衰老^[31]。文冠果种仁油对 DPPH·自由基也具有很强的清除能力,较低的质量浓度下就有较高的清除率,清除力与文冠果种仁油的质量浓度呈正相关^[32]。文冠果种仁油中包含植物甾醇,其对大肠杆菌和枯草芽孢杆菌都具有明显的抑制作用,对大肠杆菌的抑菌效果尤为明显,长期食用可以帮助人体增强抵抗力,降低细菌感染及肠道疾病的患病率,维持身体健康^[33]。

文冠果种仁油中的不饱和脂肪酸可以与血液中的胆固醇结合成脂,降解为胆酸,直接排出体外,具有祛风湿、消肿止痛、治疗高血脂、高血压、消除血栓的保健功能。文冠果种仁油还可以提供前列腺素,促进前体物质的合成帮助人体进行生长发育,在医药领域中,被用于预防、治疗小儿发育不良、尿床、老人滴尿等主要症状^[34]。文冠果种仁油具有调节大脑皮质兴奋性的作用,在协助精神病、神经病的治疗、提神醒脑方面具有显著疗效。文冠果种仁油还具有抑制脂质过氧化反应的效果,可以有效的调节机体代谢、保护器官生物膜、减少细胞病变发生、降低机体神经、器官、组织受损概率。文冠果种仁油富含多种抗氧化皂苷成分,在临床上常被用于记忆力减退、老年痴呆、智力低下等症状的治疗,同时具有消炎、止痛的功能^[35-36]。

3 文冠果种仁油在新能源领域的应用

3.1 文冠果种仁油作为生物柴油的原料

生物柴油是替代化石燃料,且相对石化燃料更为环保的、可再生的、安全性高的、产物绿色的、被广泛开发利用的合成能源用品。张红云^[37]等人认为文冠果可作为生产生物柴油的优先选料,与其它产油作物相比,文冠果种植不用占用耕地,具有很强的抗性,在干燥的气候和一般的土壤中就可以生长的较好,种植3年便可开花结果,树的寿命可达600年,15~20年进入果树的盛果期,盛果期长达一百年之久,产量很高。

文冠果种仁油可作为生产合成一种代替柴油、石油等不可再生资源的生物清洁能源,属于半干性油,酸值较低,为0.52,制备生物柴油时不用预先处

理;碘值很高,可达到125.8,皂化值185.7,硫氰值79.8,各项指标均符合生物柴油加工制造的工艺要求^[38]。文冠果种仁油中的油酸、亚油酸、亚麻酸等主要脂肪酸碳链长度主要集中在C₁₆~C₁₈之间,与生化柴油的C₁₅~C₁₉相近,是理想的柴油替代品^[39]。文冠果种仁油具有良好的理化性能,烃脂类成分含量高,不含S、N等污染环境因子,是合成生物柴油的优质选择,合成的生物柴油含水率为0.035%,硫酸盐灰分为0.014%,符合国家现行的GB/T20828-2014的有关生物柴油质量的规定^[40]。

文冠果种仁油的C₁₆值为37,提取得到后通过碱催化酯交换法、固体酸催化法、生物酶法等手段可合成生物柴油,得到的生物柴油C₁₈相关烃脂占93.4%,总甘油与游离甘油含量极低,在0.2%和0.02%左右,燃烧产生的废气对人体的危害比化石燃油低,本身又具有较高的生物降解性,对环境的污染小,其广泛的应用对降低空气污染、缓解能源危机和维护国家能源安全有重要的意义^[41]。

3.2 文冠果种仁油在工业生产中的应用

文冠果种仁油除了食用和工业生产生物燃油之外,还经常被用作高级润滑油,其制成的高级润滑油可以进行生物降解,不会造成大量的环境污染,是一种环境友好型润滑油制品。文冠果种仁油的蛋白质利用率较高,具有很强的乳化性,凝固点较低为-37℃,乳化后稳定性也较好,所以经常被当做油漆、肥皂、发蜡、护肤品等生活用品的生产原料,有的甚至可以用于食品添加剂的生产^[42]。文冠果种仁油的不饱和脂肪酸含量高、渗透进入皮肤的能力较强,也常被当作按摩推拿用的底油^[43]。文冠果种仁油同样可以用作制造精制甘油的原料,其产物中的甘油含量很高,加工后便可得到纯度大于90%的精制甘油^[44]。

4 展望

文冠果种仁油的营养成分丰富,可以作为优质的日常食用油,又因其含有多种天然抗氧化物质,保健功效明显,其作为药食同源性功能用油也同样具有广泛的开发前景,明确文冠果种仁油中的药理活性物质并将其与现代医学相结合充分应用于医疗工业中,将文冠果种仁榨油后剩下的种粕一同处理回收并寻求一种有效利用的方式都将成为未来文冠果种仁油相关产品研制开发的重点。文冠果种仁油被看作是不可再生的石油资源的理想替代品,而且文冠果种仁油作为生物柴油生产的燃油指标也符合国家标准,其在民族地区也已经被广泛种植,在生产制造的过程中也取得了一定的成功,但是还存着文冠果种仁产量太低、制成的生物柴油的酸值也还不稳定、制备过程中的甲醇的回收效率太低等一系列会增加生物柴油生产成本的问题,这些问题不仅会制约文冠果种仁油制成生物柴油产业的发展,也同样给环境的保护带来了一定程度的压力,而开发研制高效的、绿色的生物柴油产业化的生产工艺,实现文冠果种仁油最大化的利用效率也将成为文冠果种仁应用开发的另一重中之重。本文通过对文冠果种仁产量的提高方法、种仁油中的活性成分、脂肪酸含

量、提取加工的方法、保健功效及其作为生物柴油和工业领域的相关应用进行了分析与总结,为文冠果种仁油的提取应用研究提供更为准确的基础和更好的理论依据,更为完善文冠果种仁油合成生物柴油的生产制备方法、建立完整的质量标准标准体系提供了探索的可能,更为今后新清洁能源物质的开发、能源危机的解决、可再生能源的发展、民族地区的经济发展及环境的保护指明了一定的方向。

参考文献

- [1]孙向宁.山西省文冠果分布现状及发展前景[J].山西林业科技 2011 40(1):53-54.
- [2]马养民,王佩.文冠果叶化学成分的研究[J].中成药, 2010 32(10):1750-1753.
- [3]Wang Y, Jiang S, Meng D L. Advances in study on chemical and biological activity of *Xanthoceras sorbifolia* [J]. *Drugs & Clinic* 2011 26(4):269-273
- [4]Jeong H J, Lee K Y, Hong S Y, et al. Anti-inflammatory Effects of *Xanthoceras sorbifolia* Seeds Oil on RAW 264.7 Macrophages and TPA-Induced Ear Edema Mice [J]. *Journal of Forest & Environmental Science* 2013 29(4):324-330.
- [5]张谦,刘延刚,杨自强,等.文冠果的生物学特性和经济价值及其开发利用前景[J].农业科技通讯 2012 10:202-203.
- [6]王一,段磊,德永军,等.文冠果不同密度播种育苗实验[J].经济林研究 2011 29(1):140-143.
- [7]汪智军,苏志豪,靳开颜.影响文冠果坐果率因素及提高坐果率的研究[J].吉林农业科学 2013 38(1):58-61.
- [8]Hou Y K, Yang-Yuan L I, Zhao S J, et al. Fructification investigation and yield prediction in *Xanthoceras sorbifolia* [J]. *Nonwood Forest Research* 2011 29(1):144-148.
- [9]白金友,孙文生.文冠果产量与有关技术措施关系的初步研究[J].内蒙古林业科技, 1984 6 11-14.
- [10]李旭,陈永年,刘继生,等.不同栽植密度等因素对文冠果生长及种子产量的影响[J].延边大学农学学报 2013 35(3):219-222.
- [11]张燕,郭晋平,张芸香.文冠果落花落果成因及保花保果技术研究进展[J].经济林研究 2012 30(4):180-184.
- [12]Wang L L, Fu Y J, Zhang S. The Process of Extraction Oil from *Xanthoceras sorbifolia bunge*. Seed [J]. *Bulletin of Botanical Research* 2008 28(4):509-512.
- [13]Yu J, F U. Ultrasonic Extraction of Oil from *Xanthoceras sorbifolia* Kernels and Its Composition Analysis by GC-MS [J]. *Bulletin of Botanical Research* 2007 27(5):622-625.
- [14]Deng H, Cao L, F U, et al. Aqueous enzymatic extraction of *Xanthoceras sorbifolia bunge* seed oil [J]. *China Oils & Fats*, 2011 36(1):38-40.
- [15]周泉城,陈浩.提取方法对挤压文冠果种仁油品质和贮藏变化的影响[J].中国粮油学报 2012 27(6):76-78.
- [16]麻起,谷克仁,杜雪丽.文冠果种仁油的超临界 CO₂ 萃取工艺研究[J].粮油食品科技 2013 21(4):36-40.
- [17]Kong W, Liang J, Zheng X, et al. Research advance of *Xanthoceras sorbifolia bunge* oil [J]. *China Oils & Fats* 2011 36(11):67-72.
- [18]汤成龙,郝倩,王世雷,等.文冠果籽油的索式萃取及其组成分析[J].安徽农业科学 2010 38(29):16501-16504.
- [19]Ding L J, Wang X M, Hao Y N, et al. Initial study on single-step technique to accomplish oil extraction and biodiesel synthesis from *Xanthoceras sorbifolia bunge* [J]. *Journal of Inner Mongolia Agricultural University* 2014 35(1):161-164.
- [20]Kong W, Dong M, Wanwu L I, et al. Extraction of kernel oil from *Xanthoceras sorbifolia Bunge* by novel solvent [J]. *China Oils & Fats* 2014 39(6):18-22.
- [21]赵翠格.文冠果种子发育过程中油脂积累规律研究[D].北京:北京林业大学 2010.
- [22]李招娣.文冠果种仁蛋白的反胶团法提取及其蛋白特性研究[D].西安:陕西师范大学 2009.
- [23]Wu L, Zheng Z, Fu F, et al. Nutrients Analysis and Edible Value of *Sorbifolia* [J]. *Academic Periodical of Farm Products Processing* 2010 (11):93-95.
- [24]孙萍,南定,金廷文,等.简述文冠果的生物特征、经济价值及发展前景[J].农业科技与信息 2012 23:51-54.
- [25]刘淑明,孙丙寅,贺安乾,等.西部地区文冠果种群种子特征及主要化学成分的地理变化[J].林业科学 2012 4(4):43-48.
- [26]玉荣,熊淑婷,高英. GC-MS 法对超临界提取文冠果油中总甾醇和脂肪酸的测定[J].北方药学 2014 (11) 5:16-17.
- [27]库宝善.不饱和脂肪酸与现代文明疾病[M].北京:北京大学医学出版社 2013.
- [28]范雪层,邓红,张立云.冷榨文冠果种仁油食用安全性毒理学评价[J].中国油脂 2009 34(5):32-37
- [29]Ma C M, Nakamura N, Hattori M, et al. Inhibitory effects of triterpene-azidothymidine conjugates on proliferation of human immunodeficiency virus type 1 and its protease [J]. *Chemical & Pharmaceutical Bulletin* 2002 50(6):877-880.
- [30]Yu L, Wang X, Wei X, et al. Triterpenoid saponins from *Xanthoceras sorbifolia bunge* and their inhibitory activity on human cancer cell lines. [J]. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters* 2012 22(16):5232-5238.
- [31]邓红,田子卿,范雪层,等.冷榨文冠果种仁油的体外抗氧化活性研究[J].中国油脂 2012 37(1):28-32.
- [32]于学海,李葆春,孟亚雄,等.文冠果种皮黄酮苷的体外抗氧化活性研究[J].食品工业 2014 (1):199-202
- [33]曹立强,李丹丹,邓红,等.文冠果种仁油中植物甾醇的提取及其抑菌特性研究[J].天然产物研究与开发 2010 22(2):334-338.
- [34]Liu L, He Y, Tian J B, et al. Ustiration Value and Deveopment Prospect of *Xanthoceras Sorbifolia* [J]. *Anhui Agricultural Science Bulletin* 2009 15(1):111-112
- [35]王颖,姜生,孟大利,等.文冠果的化学成分与生物活性研究进展[J].现代药物与临床 2011 26(4):269-273.
- [36]方有海,孙林,赵凌泉,等.文冠果的生物生态学特性及其开发利用[J].防护林科技 2010 94(1):96-97.
- [37]张红云,徐卫昌,马志卿.生物柴油生产原料的研究进展[J].农机化研究 2010 32(7):213-216.
- [38]王智,杨珺,谭英,等.云南主要木本生物柴油原料植物

(下转第 400 页)

- [11] Sabine E.Kulling ,Harshadai M.Rawel.Chokeberry (*Aronia melanocarpa*) – A Review on the Characteristic Components and Potential Health Effects [J]. *Planta Med* 2008 ,74 (10) : 1625–1634.
- [12] Benvenuti S ,Pellati F ,Melegari M ,et al.Polyphenols , Anthocyanins ,Ascorbic Acid ,and Radical Scavenging Activity of *Rubus* ,*Ribes* ,and *Aronia* [J]. *Journal of Food Science* ,2004 ,69 (3) : FCT164–FCT169.
- [13] 玄永浩 ,金英善 .黑果腺肋花楸化学成分及药理活性研究进展 [J]. *现代农业科技* 2009(20) : 101–102 ,104.
- [14] 于明 .黑果腺肋花楸和头花蓼的化学成分及其生物活性的研究 [D]. 沈阳: 沈阳药科大学 2006.
- [15] Zheng W ,Wang S Y.Oxygen Radical Absorbing Capacity of Phenolics in Blueberries , Cranberries , Chokeberries , and Lingonberries [J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* , 2003 ,51(2) : 502–509.
- [16] Pascu M ,Pascu D – E ,Trăistaru G ,et al.Different spectrophotometric methods for antioxidant activity assay of four Romanian herbs [J]. *Journal of the Iranian Chemical Society* , 2014 ,11(2) : 315–321.
- [17] 解温品 ,秦士新 .自由基医学研究进展 [J]. *中华损伤与修复杂志(电子版)* 2012(2) : 194–196.
- [18] Valko M ,Leibferitz D ,Moncol J ,et al.Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease [J]. *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology* , 2007 ,39(1) : 44–84.
- [19] Skarpańska–Stejnborn A ,Basta P ,Sadowska J ,et al.Effect of supplementation with chokeberry juice on the inflammatory status and markers of iron metabolism in rowers [J]. *Journal of the International Society of Sports Nutrition* 2014 ,11(1) : 1–10.
- [20] Šavikin K ,Zdunić G ,Janković T ,et al.Berry fruit teas: Phenolic composition and cytotoxic activity [J]. *Food Research International* 2014 ,62: 677–683.
- [21] Gasiorowski K ,Szyba K ,Brokos B ,et al.Antimutagenic activity of anthocyanins isolated from *Aronia melanocarpa* fruits [J]. *Cancer Letters* ,1997 ,119(1) : 37–46.
- [22] Martin D A ,Taheri R ,Brand M H ,et al.Anti-inflammatory activity of aronia berry extracts in murine splenocytes [J]. *Journal of Functional Foods* 2014 ,8: 68–75.
- [23] Appel K ,Meiser P ,Millán E ,et al.Chokeberry (*Aronia melanocarpa* (Michx.) Elliot) concentrate inhibits NF- κ B and synergizes with selenium to inhibit the release of pro-inflammatory mediators in macrophages [J]. *Fitoterapia* ,2015 , 105: 73–82.
- [24] Ochimian I ,Grajkowski J ,Smolik M.Comparison of some morphological features ,quality and chemical content of four cultivars of chokeberry fruits (*Aronia melanocarpa*) [J]. *Not Bot Horti Agrobo* 2012 ,40(1) : 253–260.
- [25] Hellström J K ,Shikov A N ,Makarova M N ,et al.Blood pressure-lowering properties of chokeberry (*Aronia mitchurinii* , var.Viking) [J]. *Journal of Functional Foods* ,2010 ,2 (2) : 163–169.
- [26] Chrubasik C ,Li G ,Chrubasik S.The clinical effectiveness of chokeberry: a systematic review [J]. *Phytotherapy Research* 2010 , 24(8) : 1107–1114.
- [27] 王鹏 ,姜镇荣 ,张平 ,等 .黑果腺肋花楸果实的经济价值及其开发前景 [J]. *农产品加工* 2009(9) : 55–57.
- [28] Gironés – Vilaplana A ,Valentão P ,Andrade P B ,et al.Phytochemical profile of a blend of black chokeberry and lemon juice with cholinesterase inhibitory effect and antioxidant potential [J]. *Food Chemistry* 2012 ,134(4) : 2090–2096.
- [29] González–Molina E ,Moreno D A ,García–Viguera C.Aronia – Enriched Lemon Juice: A New Highly Antioxidant Beverage [J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* ,2008 ,56(23) : 11327–11333.
- [30] 杨艳 ,邹洪涛 ,陈世军 .我国天然果酒的研究与开发 [J]. *酿酒科技* 2006(10) : 82–85.
- [31] 马艳丽 .黑果腺肋花楸汁酿造果酒的初步研究 [J]. *林业科技* 2012(4) : 31–33.
- [32] 王鹏 ,马兴华 ,韩文忠 ,等 .黑果腺肋花楸果酒澄清处理及稳定性研究 [J]. *北华大学学报: 自然科学版* ,2014(1) : 116–121.
- [33] 王鹏 ,马兴华 ,韩文忠 ,等 .黑果腺肋花楸果酒发酵条件优化研究 [J]. *辽宁林业科技* 2014(2) : 24–25 + 48 + 50.
- [34] Witkowska A M ,Zujko M E ,Borawska M H ,et al.Antioxidant Properties and Selenium Content of Wines [J]. *Polish Journal of Environmental Studies* ,2006 , 15 (2A) : 208–211.
- [35] Horszwald A ,Julien H ,Andlauer W.Characterisation of Aronia powders obtained by different drying processes [J]. *Food Chemistry* 2013 ,141(3) : 2858–2863.
- [36] Sójka M ,Kołodziejczyk K ,Milala J.Polyphenolic and basic chemical composition of blackchoke berry industrial by-products [J]. *Industrial Crops and Products* 2013 ,51: 77–86.
- [37] Ciużyńska A ,Lenart A ,Traczyk W.Influence of Chemical Composition and Structure of Strawberry Gels on the Chosen Physical Properties of Freeze – Dried Final Product [J]. *Italian Journal of Food Science* 2013 ,25(2) : 149–159.
- [38] 王鹏 ,马兴华 ,韩文忠 ,等 .黑果腺肋花楸果酒的综合评价 [J]. *植物分类与资源学报* 2013 ,35(5) : 630–640.
- [39] 蒋青娣 ,王金刚 .文冠果的应用领域及发展前景 [J]. *甘肃科技* 2011 ,27(15) : 134–135.
- [40] GB/T 20828 – 2014 ,燃油机燃料调和用生物柴油 (BD100) [S].北京: 中国标准出版社 2014
- [41] 郝一男 ,王喜明 ,丁立军 .文冠果籽油制备生物柴油的工艺研究 [J]. *内蒙古农业大学学报: 自然科学版* 2011 ,32(2) : 224–229.
- [42] 敖妍 ,段劼 ,于海燕 ,等 .文冠果研究进展 [J]. *中国农业大学学报* 2012 ,6(6) : 197–203.
- [43] 刘丽 ,何勇 ,田建保 .文冠果的利用价值与开发前景 [J]. *安徽农学通报* 2009 ,15(1) : 111–112.
- [44] 郝一男 .文冠果种仁油的提取及其生物柴油合成的研究 [D]. 呼和浩特: 内蒙古农业大学 2011.

芒果果肉抗氧化成分测定 及其对自由基清除能力的研究

李晓博, 胡文忠*, 姜爱丽, 刘程惠
(大连民族学院生命科学学院, 辽宁大连 116600)

摘要:以海南金龙芒果为材料,测定了其果肉中总酚、类黄酮、 V_C 及还原型谷胱甘肽(GSH)4种抗氧化成分的含量,并对比了果肉与总酚、类黄酮、 V_C 及GSH对 $\cdot OH$ 、DPPH \cdot 和 $O_2^{\cdot -}$ 的清除能力。结果表明:四种物质含量依次为60、30、80及12 mg/100 g;芒果果肉对三种自由基均具有清除作用,对 $\cdot OH$ 的清除能力优于其他抗氧化剂,对DPPH \cdot 的清除能力高于除 V_C 外其他三种抗氧化剂,相反,对 $O_2^{\cdot -}$ 的清除能力则弱于四种抗氧化剂。
关键词:芒果, 抗氧化剂, 含量, 自由基, 抗氧化能力

Study on the antioxidant components and antioxidant capacity of the *Mangifera indica* Linn pulp

LI Xiao-bo, HU Wen-zhong*, JIANG Ai-li, LIU Cheng-hui

(College of Life Science, Dalian Nationalities University, Dalian 116600, China)

Abstract: The mango Jinlong produced in Hainan was taken as materials, the contents of total phenolics, flavonoids, V_C and GSH in the pulp were determined. The free radical scavenging activity of gallic acid, rutin, V_C and GSH were determined and compared. The results showed that the content of the four were 60, 30, 80 and 12 mg/100 g. Mango pulp had scavenging effect on the three kinds of free radical, the scavenging ability of $\cdot OH$ was stronger than that of the other antioxidants, and that of DPPH \cdot was stronger than that of the other three kinds of antioxidants except V_C , and the scavenging ability of $O_2^{\cdot -}$ was weaker than that of four kinds of antioxidants.

Key words: *Mangifera indica* Linn; antioxidant; content; free radical; antioxidant capacity

中图分类号: TS255.2

文献标识码: B

文章编号: 1002-0306(2016)10-0161-04

doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2016.10.024

芒果(*Mangifera indica* Linn)是漆树科杧果属植株的果实,其色、香、味俱全且营养丰富,素有“热带果王”的美誉。目前已成为继葡萄、香蕉、柑橘、苹果后的世界第五大水果。芒果营养价值很高,其果肉中含有丰富的抗氧化剂,如多酚类、黄酮类、维生素C类、胡萝卜素及还原型谷胱甘肽(GSH)等^[1-3]。Soong^[4]等通过研究得知芒果中的芒果黄酮是一种具有较强的抗氧化活性的抗氧化剂,同时也有研究表明芒果中其他各类型的抗氧化物质含量均很高,如类黄酮及维生素C等^[5]。

广西、广东、海南、云南及台湾等地区均是我国芒果种植较广的区域,芒果果肉除鲜食外,主要用于制作各种加工产品,如果汁、蜜饯、果酱等,利用率低^[6-7]。因此,探究芒果果肉的抗氧化能力对于我国芒果的利用率和居民身体素质及生活质量均有十分重要的意义。本实验以海南金龙芒果为研究对象,

测定其果肉中各类抗氧化物质含量,并在此基础上对比了芒果果肉提取物与几种天然抗氧化剂对自由基的清除能力,为芒果果肉的深加工产品及利用前景提供参考。

1 实验部分

1.1 材料与仪器

芒果 海南金龙芒果,购买于大连开发区超市;没食子酸、芦丁、维生素C、还原型谷胱甘肽、盐酸、氢氧化钠、甲醇、草酸、2,6-二氯酚靛酚溶液、三氯乙酸、番红、EDTA Na_2 、 Fe^{2+} 、5,5'-二硫代双(2-硝基苯甲酸)(DTNB)、邻苯三酚,以上均为分析纯。

T-25型匀浆机 德国IKA公司;BR4i型台式高速冷冻离心机 法国Jouan公司;PL203精密电子天平 梅特勒-托利多仪器上海有限公司;DK-S26型电热恒温水浴锅 上海精宏实验设备有限公司;SIM-F140型制冰机 日本三洋;真空抽滤机 SHZ-D

收稿日期: 2015-11-25

作者简介: 李晓博(1991-),女,在读硕士,研究方向:食品加工与质量安全控制, E-mail: 18842646604@163.com。

* 通讯作者: 胡文忠(1959-),男,教授,研究方向:食品加工与质量安全控制, E-mail: hwz@dlnu.edu.cn。

基金项目: 国家科技支撑计划项目(2012BAD38B05)。

表1 还原型谷胱甘肽标准曲线的制作所用试剂
Table 1 THE reagent of of the standard curve of GSH

| 试剂 | 管号 | | | | | |
|---------------------------------|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| | 0 | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 |
| 100 mg/mL GSH 标准液(mL) | 0 | 0.2 | 0.4 | 0.6 | 0.8 | 1.0 |
| 蒸馏水(mL) | 1.0 | 0.8 | 0.6 | 0.4 | 0.2 | 0 |
| 0.1 mol/L、pH7.7 磷酸缓冲液(mL) | 1.0 | 1.0 | 1.0 | 1.0 | 1.0 | 1.0 |
| 4 mmol/L DNTB 试剂(mL) | 0.5 | 0.5 | 0.5 | 0.5 | 0.5 | 0.5 |
| 相当于 GSH 物质的量(μmol) | 0 | 20 | 40 | 60 | 80 | 100 |

III 予华牌循环水真空泵。

1.2 实验方法

1.2.1 芒果果肉中抗氧化物含量的测定

1.2.1.1 总酚 采用顾海峰^[8]及罗娅等人的方法^[9]并稍作修改。

标准曲线的绘制: 精确称取 0.0170 g 没食子酸, 用 1% 盐酸-甲醇溶液溶解, 定容至 100 mL, 配制成 1 mmol/L 的母液。经 1% 盐酸-甲醇溶液分别稀释成 0.2、0.4、0.6、0.8、1 mmol/L, 于 280 nm 处测吸光值, 以盐酸-甲醇溶液作空白参比调零。

称取 2.0 g 果肉组织, 加入少许经预冷的 1% HCl-甲醇溶液, 冰浴条件研磨匀浆, 转入 20 mL 刻度试管中, 研钵经 1% HCl-甲醇溶液冲洗后一并转移至试管中, 定容至刻度, 混匀, 于 4 °C 避光提取 20 min, 过滤, 收集滤液, 测定波长 280 nm 处吸光值。得线性回归方程 $y = 8.65x + 0.0205$ $R^2 = 0.9955$ 。

利用盐酸甲醇溶液从芒果组织中提取总酚物质, 根据总酚物质的甲醇提取液的吸收光谱特性, 利用紫外可见分光光度计在特定波长下测定吸光值, 进而与标准曲线比较, 计算含量, 此方法简单易行, 重复性好。

1.2.1.2 类黄酮 芦丁标准曲线绘制及类黄酮含量测定方法同 1.2.1.1, 于 325 nm 处测定吸光值。得线性回归方程 $y = 3.7786x + 0.0192$ $R^2 = 0.9816$ 。

1.2.1.3 维生素 C 采用 2,6-二氯酚靛酚法测定芒果果肉中 V_c 的含量^[10], 称取 10.0 g 芒果样品, 加入少量 20 g/L 草酸溶液, 冰浴条件研磨成浆, 用 20 g/L 草酸溶液清洗定容至 1000 mL, 静置 10 min, 收集滤液。准确吸取 10.0 mL 滤液, 用已标定的 2,6-二氯酚靛酚溶液滴至微红色, 静置 15 s 不褪色后即为滴定终点, 以 10 mL 20 g/L 草酸溶液作为空白。每 100 g 芒果果肉中维生素 C 含量计算公式如下:

$$V_c (\text{mg}/100 \text{g}) = \left(\frac{V \times (V_1 - V_0) \times \rho}{V_s \times m} \right) \times 100$$

式中: V 是样品提取液总体积, mL; V_1 为样品滴定消耗染料体积, mL; V_0 是空白滴定消耗染料体积; ρ 是 1 mL 染料溶液相当于抗坏血酸的质量, $\mu\text{g}/\text{mL}$; V_s 是滴定时所取样品溶液体积, mL; m 为样品质量, g。

1.2.1.4 GSH 测定方法采用文献^[11-12]的方法稍加改动。

标准曲线的绘制: 取 6 支试管, 编号, 按照表 1 加入各种试剂, 混匀, 于 25 °C 保温反应 10 min, 以 0 号管为参比调零, 测定显色液在波长 412 nm 处的吸光

值。以吸光值为纵坐标, 还原型谷胱甘肽的质量浓度 (mg/mL) 为横纵标, 绘制标准曲线, 得线性回归方程为 $y = 0.0064x - 0.0192$ $R^2 = 0.9982$ 。

称取 5.0 g 芒果样品置于研钵中, 加入 5.0 mL 经 4 °C 预冷的 50 g/L 三氯乙酸溶液 (含 5 mmol/LEDTA- Na_2), 冰浴匀浆, 于 4 °C、12000 r/min 离心 20 min, 收集上清。取 1 支试管, 依次加入 1.0 mL 去离子水、1.0 mL 0.1 mol/L、pH7.7 磷酸缓冲液及 1.5 mL 0.15 mol/L NaOH 溶液并摇匀, 加入 0.5 mL $\varphi = 0.03$ 甲醛, 摇匀后静置 2 min, 加入 0.5 mL 4 mmol/L DNTB 溶液, 混匀, 以此溶液作为参比在波长 412 nm 处对分光光度计进行调零。此方法因甲醛在碱性溶液中可以有效掩蔽半胱氨酸等含巯基化合物, 可有效避免其干扰测定结果。

另取 2 支试管, 分别加入 1.0 mL 上清液、1.0 mL 0.1 mol/L、pH7.7 磷酸缓冲液。一支试管中加入 0.5 mL 4 mmol/L DNTB 溶液, 另一支试管中加入 0.5 mL 0.1 mol/L、pH6.8 磷酸缓冲液, 置于 25 °C 保温反应 10 min。迅速测定显色液在波长 412 nm 处的吸光值, 分别记作 OD_s 和 OD_c , 从标准曲线上得出相应的 GSH 质量浓度。每 100 g 芒果果肉中 GSH 含量的计算公式:

$$\text{GSH} (\text{mg}/100 \text{g}) = \left(\frac{\rho \times V}{m} \right) \times 100$$

式中: ρ 为由标准曲线查得的溶液中还原型 GSH 物质的量, mg/mL; V 为样品提取液总体积, mL; m 为样品质量, g。

1.2.2 芒果果肉与天然抗氧化剂抗氧化能力的比较研究

1.2.2.1 样品溶液制备 称取 2 g 芒果样品, 用 HCl-甲醇溶液 (含体积比为 1% 的盐酸和 50% 的甲醇) 匀浆, 定容到 40 mL, 避光放置 2 h 后离心, 期间晃动震动数次, 上清液用甲醇稀释 10 倍作为样品溶液。

根据 1.2.1 中测定的实验结果, 配制浓度为 50、30、80 及 12 mg/100 g 的没食子酸、芦丁、 V_c 及 GSH 待用。

1.2.2.2 对 $\cdot\text{OH}$ 清除作用的测定 根据文献^[13], 利用 Fenton 反应检测抗氧化物对羟基自由基的清除作用。按顺序分别取 1.5 mL pH7.4、0.15 mol/L 的磷酸缓冲液、0.2 mL 260 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的番红溶液, 0.7 mL 2 mmol/L 的 EDTA- $\text{Na}_2 - \text{Fe}^{2+}$, 1 mL 样品溶液, 0.8 mL H_2O_2 混匀后于 37 °C 水浴保温 30 min, 在波长 510 nm 处测吸光度 A 。空白组以等体积的去离子水代替样品溶液; 对照组以等体积的 3% H_2O_2 代替样品溶液

和 EDTANa₂-Fe²⁺ 溶液, 每组三个平行, 按下公式计算。

$$\text{清除率}(\%) = \frac{(A_{\text{样品}} - A_{\text{空白}})}{(A_{\text{对照}} - A_{\text{空白}})} \times 100$$

式中: A_{样品} 为样品组吸光度值; A_{对照} 为对照组吸光度值; A_{空白} 为空白组吸光度值。

1.2.2.3 对 O₂⁻·清除作用的测定 根据文献^[14] 利用邻苯三酚自氧化体系测定总抗氧化物对超氧阴离子自由基清除作用。取 4.5 mL 0.05 mol/L, pH8.25 的 Tris-HCl 缓冲液, 加入 1 mL 样品液, 于 25 °C 保温 25 min。加入 0.4 mL 25 °C 预温的 3 mmol/L 的邻苯三酚。空白组以等量 Tris-HCl 代替样品液, 混匀反应 4 min 后加 0.5 mL 的浓盐酸, 迅速测定 325 nm 处吸光值, 每组三个平行。

$$\text{清除率}(\%) = \left(1 - \frac{A_{\text{样品}}}{A_{\text{空白}}}\right) \times 100$$

式中: A_{样品} 为样品的吸光度; A_{空白} 为空白组的吸光度。

1.2.2.4 对 DPPH·清除作用的测定 根据文献^[15-16] 的方法稍加改动, 准确量取 DPPH 纯溶液 49 μL, 溶解于甲醇, 定容于 250 mL 棕色容量瓶。0.5 mL 5 × 10⁻⁴ mol/L DPPH 溶液中加入 1 mL 样品溶液及 1 mL 甲醇溶液, 混匀后避光反应 30 min, 测定 517 nm 处吸光值。空白组用 1 mL 甲醇代替样品溶液, 每组三个平行。按下式计算样品对 DPPH·的清除率。

$$\text{清除率}(\%) = \left(1 - \frac{A_{\text{样品}}}{A_{\text{空白}}}\right) \times 100$$

式中: A_{样品} 为样品的吸光度; A_{空白} 为空白组时的吸光度。

1.3 数据处理

每个样品设 3 个平行, 每次测定重复三次。测定结果以平均数 ± 标准误 (x ± SD) 表示, 显著性检验为 t 检验, 显著性水平为 p < 0.05, 方差分析采用 SPSS 9.0 版本的统计软件进行统计学分析处理。

2 结果与分析

2.1 芒果果肉中抗氧化物的含量

根据上述标准曲线及回归方程, 对芒果果肉中各类抗氧化物含量测定结果如图 1 所示: 芒果果肉中总酚含量为 50 mg/100 g, 类黄酮为 30 mg/100 g, V_c 为 80 mg/100 g, 含量最少的为 GSH 是 12 mg/100 g。由图 1 可知, 芒果果肉中 V_c 含量显著高于总酚、类黄酮及 GSH (p < 0.05), 由高到低依次是: V_c > 总酚类 > 类黄酮 > GSH。

2.2 芒果果肉与抗氧化剂抗氧化能力的比较研究

浓度为 50、30、80 及 12 mg/100 g 的没食子酸、芦丁、V_c 及 GSH 与芒果果肉对三种自由基的清除能力由图 2 所示, 可知芒果果肉对 ·OH 的清除率为 98.36%, 显著高于没食子酸、芦丁、V_c 和 GSH 这四种抗氧化剂 (p < 0.05), 由于物质结构及有效抗氧化浓度等原因, 其他四种抗氧化剂对 ·OH 的清除能力也各不相同, 除维生素 C 外, 其他三种抗氧化剂对 ·OH 的清除率均在 90% 以上。且清除能力大小依次为芒果果肉提取物 > 没食子酸 > 芦丁 > GSH > V_c。可能

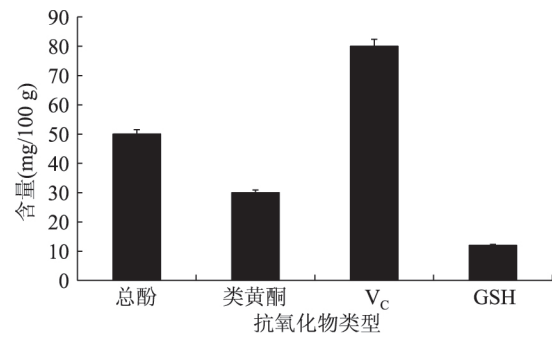


图 1 芒果果肉中各抗氧化成分含量
Fig.1 The antioxidant substances content in the pulp of Mango

因为芒果提取物中不仅含有对 ·OH 清除能力显著的总酚、类黄酮、V_c 及 GSH 这四类物质, 同时也含有 V_e、类胡萝卜素、多糖等其他种类的抗氧化物, 所以其对 ·OH 自由基的清除能力明显强于相当于其体内浓度的其它四种抗氧化物。

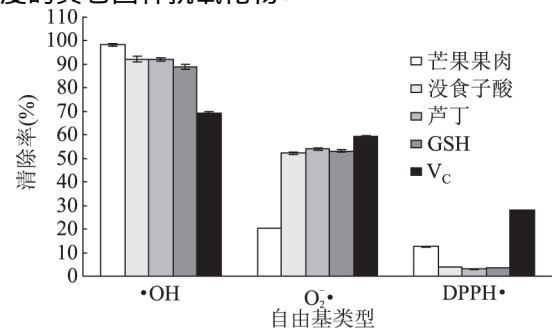


图 2 芒果果肉与抗氧化剂对自由基的清除能力
Fig.2 The scavenging capacity of mango extraction and antioxidant on the free radical

与 ·OH 相反, 芒果果肉对 O₂⁻·的清除能力为 20.35%, 远不及其他抗氧化剂 (p < 0.05), 清除能力大小依次是 V_c > GSH > 芦丁 > 没食子酸 > 芒果提取物。可能原因是芒果果肉提取物中含有对 O₂⁻·自由基具有保护作用的物质, 使其不能被有效地清除。

芒果果肉对 DPPH·的清除能力 12.50%, 低于 V_c, 而明显高于没食子酸、芦丁及 GSH (p < 0.05), 清除能力由大到小依次为: V_c > 芒果提取物 > 没食子酸 > 芦丁 > GSH。其中, V_c 对 DPPH·自由基清除能力较芒果果肉高的原因可能是 V_c 具有破坏 DPPH·本身结构稳定性的功能, 并且提供电子与 DPPH·内部的孤对电子配对, 使 DPPH·得到有效的清除^[17]。由图也可看出芒果果肉及其他各类抗氧化剂对 DPPH·的清除效果不理想, 可能原因是 DPPH·本身结构稳定, 3 个苯环形成了空间障碍, 使得其中心氮原子上不成对的自由基很难进行电子配对, 所以芒果果肉提取物对其清除能力最弱^[18], 其余抗氧化物不能与 DPPH·内部的孤对电子配对, 使其不易被抗氧化物破坏, 故而不能对其进行有效地清除。

3 结论

经测定, 芒果果肉中对自由基具有清除能力的有效抗氧化物质主要有总酚、类黄酮、V_c 及 GSH 等, 且在本文中, 经过测定, 实验所用海南金龙芒果果肉

中含量最高的抗氧化物质为 V_c , 为 80 mg/100 g; 其次为总酚, 含量为 60 mg/100 g; 另外, 类黄酮含量为 30 mg/100 g; 含量最少的为 GSH, 是 12 mg/100 g。

实验结果表明, 芒果果肉与四种天然抗氧化剂对 $\cdot OH$ 、 O_2^- 及 DPPH \cdot 三种自由基的清除能力各不相同, 芒果果肉对 $\cdot OH$ 的清除能力明显优于其他两种自由基, 清除率高达 98.36%。芒果果肉对 $\cdot OH$ 的清除能力优于其他四种抗氧化剂, 其对 DPPH \cdot 的清除能力高于除 V_c 外的其他三种, 对 O_2^- 的清除能力弱于四种抗氧化剂。可见, 芒果是一种具有高效清除自由基作用的抗氧化类水果。

参考文献

- [1] 许丽丽, 黄晓东. 芒果叶多酚的提取工艺筛选 [J]. 贵州农业科学. 2010, 38(3): 170-172.
- [2] 邱松山, 姜翠翠. 混合均匀设计优化微波提取芒果核中多酚类物质的工艺 [J]. 安徽农业科学, 2010, 38(31): 17790-17791.
- [3] 孙延芳, 梁宗锁, 张欣. 芒果多糖的纯化与光谱分析 [J]. 食品科学, 2012, 33(7): 93-95.
- [4] Soong Y Y, Barlow P J. Antioxidant activity and phenolic content of selected fruit seeds [J]. Food Chemistry, 2004, 88(3): 411-417.
- [5] Robles-Sánchez M, Astiazarán-García H, Martín-Belloso O, et al. Influence of whole and fresh-cut mango intake on plasma lipids and antioxidant capacity of healthy adults [J]. Food Research International, 2011, 44(5): 1386-1391.
- [6] 黄艳. 中国芒果产业的发展概况 [J]. 世界热带农业信息, 2008, 5: 1-3.
- [7] 李珍, 覃如日, 梁侠, 等. 广西热带水果产销动态及发展对

(上接第 160 页)

- 医学院学报, 2007, 30(1): 32.
- [7] 吉敏. 中西医结合治疗色素膜炎 15 例疗效观察 [J]. 云南中医中药杂志, 2003, 24(5): 12.
- [8] 干健. 石决明散加减治疗青光眼睫状体炎综合征 [J]. 湖北中医杂志, 2006, 28(10): 41.
- [9] 居明乔. 石决明中和胃酸酸量的研究 [J]. 基层中药杂志, 2001, 15(6): 13.
- [10] 陈忻, 洪祥乐, 李艳丽, 等. 鲍壳甲壳素的提取研究 [J]. 食品科技, 2002, 27(10): 38-39.
- [11] 梁红宝, 郭葳, 董声雄, 等. 鲍鱼壳水溶性基质抗氧化活性研究 [J]. 食品科学, 2010, 31(9): 113-116.
- [12] 郭葳, 梁红宝, 伍久林, 等. 鲍鱼壳水溶性色素稳定性研究 [J]. 食品研究与开发, 2011, 32(6): 58-60.
- [13] Cai Z, Wu J, Chen L, et al. Purification and characterization of aquamarine blue pigment from the shells of abalone (*Haliotis discus hannai* Ino) [J]. Food Chem, 2011, 128: 129-133.
- [14] 陈东科, 孙长贵. 实用临床微生物学检验与图谱 [M]. 北京: 人民卫生出版社, 2011: 769-770.
- [15] 钱存柔, 黄仪秀. 微生物学实验教程 [M]. 北京: 北京大学出版社, 2000: 207-208.
- [16] 刘颖, 潘丽娟, 谢为天, 等. 鼠李糖乳杆菌代谢产物抑菌实验研究 [J]. 中国乳品工业, 2011, 37(10): 27-29.

策 [J]. 中国热带农业, 2011(2): 56-58.

- [8] 顾海峰, 李春美, 钟慧臻, 等. 柿子单宁优化提取工艺探讨 [J]. 食品科技, 2007, 32(2): 133-136.
- [9] 罗娅, 王小蓉, 张勇, 等. 不同提取条件对草莓果实抗氧化物质和抗氧化活性的影响 [J]. 食品科学, 2011, 32(14): 108-112.
- [10] 曹建康, 姜微波, 赵玉梅. 果蔬采后生理生化实验指导 [M]. 北京: 中国轻工业出版社, 2007.
- [11] 赵旭东, 魏东芝, 万群, 等. 谷胱甘肽的简便测定法 [J]. 药物分析杂志, 2000(1): 34-37.
- [12] 刘娟, 王雅琴, 刘刚, 等. 发酵液中还原型谷胱甘肽三种测定方法的改进及其比较 [J]. 北京化工大学学报: 自然科学版, 2004, 31(3): 35-38.
- [13] 张建胜, 王雪梅, 高涛涛, 等. 伸筋草提取物体外清除活性氧自由基及抗氧化作用研究 [J]. 云南中医中药杂志, 2008, 29(3): 38-39.
- [14] 文良娟, 刘昊, 王维. 不同品种芒果总黄酮的抗氧化活性 [J]. 食品科学, 2011, 32(19): 79-82.
- [15] 娄冠群. 香菇多糖提取和 β -葡萄糖苷酶应用研究 [M]. 东北农业大学, 2010.
- [16] 李安林, 熊双丽. 接骨木茎总黄酮的提取及 DPPH 自由基清除活性 [J]. 中国食品添加剂, 2010(5): 113-116.
- [17] Ercan Bursal, İlhami Gülçin. Polyphenol contents and *in vitro* antioxidant activities of lyophilised aqueous extract of kiwifruit (*Actinidia deliciosa*). Food Research International, 2011(44): 1482-1489.
- [18] Gülçin. The antioxidant and radical scavenging activities of black pepper (*Piper nigrum*) seeds [J]. International Journal of Food Sciences and Nutrition, 2011(56): 491-499.

- [17] Hindler J F, Munro S. Evaluating antimicrobial susceptibility test system [M]. In: Clinical microbiology procedures handbook. Isenberg HD, Eds; Washington: ASM Press, 2004, 2.
- [18] 刘伟, 赵婧, 陈冬, 等. 姜酚的抑菌机制研究 [J]. 现代食品科技, 2015, 31(1): 11-22.
- [19] Torres J A, Velazquez G. Commercial opportunities and research challenges in the high pressure processing of foods [J]. Food Engineering, 2005, 67(1-2): 95-112.
- [20] Aertsen A, Van Houdt R, Vanoirbeek K. An SOS response induced by high pressure in *Escherichia coli* [J]. Bacteriology, 2004, 186(18): 6133-6141.
- [21] Sanchez-Moreno C, Cano M P, de Ancos B, et al. Pulsed electric fields - processed orange juice consumption increases plasma vitamin C and decreases F2-isoprostanes in healthy humans [J]. Journal of Nutrition Biochemistry, 2004, 15(10): 601-607.
- [22] 黄森科. 微波溶样原子吸收法测定鲍鱼中 Cu, Zn, Fe 和 Mn 的含量 [J]. 光谱学与光谱分析, 2003, 23(6): 1194-1196.
- [23] 鲍建民. 钙的生理功能及利用 [J]. 微量元素与健康研究, 2006, 23(4): 65-66.
- [24] 应铁进, 傅红霞, 程文虹. 钙和热激处理对无花果的采后生理效应和保鲜效果 [J]. 食品科学, 2003(7): 149-152.

HPLC 法测定 10 个引自北美蓝莓品种果实中的糖酸组分及含量

于 淼 阮成江* 李 贺 张少凤 徐弘灏 刘向前
(大连民族大学环境与资源学院, 资源植物研究所, 辽宁大连 116600)

摘要: 采用 HPLC 法对 10 个引自北美的蓝莓品种果实中糖、酸组分及含量进行测定。结果表明, 蓝莓果实中的可溶性糖以果糖和葡萄糖为主, 果糖含量在 18.916~73.899 mg/g 之间, 葡萄糖含量在 19.194~79.521 mg/g 之间; 有机酸组分有草酸、奎宁酸、苹果酸、维生素 C 和柠檬酸, 其中以柠檬酸为主, 含量在 1.174~15.069 mg/g 之间, 草酸最低, 含量在 0.018~0.046 mg/g 之间。不同品种蓝莓果实的糖、酸含量存在明显差异, 其中果糖和葡萄糖含量最高的品种是北空, 柠檬酸含量最高的品种是伊丽莎白。糖酸比和甜酸比是影响果实风味的重要因素, 10 个蓝莓品种果实的糖酸比在 2.342~27.488 之间, 甜酸比在 285.953~3393.854 之间, 表现为北空 > 芝妮 > 圣云 > 友谊 > 美登 > 北陆 > 蓝光 > 爱国者 > 布丽吉塔 > 伊丽莎白。

关键词: HPLC 法, 蓝莓, 糖, 有机酸, 甜酸比

Components and contents of sugar and acid in 10 blueberry cultivars from the North American using HPLC

YU Miao, RUAN Cheng-jiang*, LI He, ZHANG Shao-feng, XU Hong-hao, LIU Xiang-qian

(Resources and Plant Research Institute, College of Environment and Resources,
Dalian Nationalities University, Dalian 116600, China)

Abstract: The sugars and organic acids of ten blueberry cultivars from the North American were analyzed by HPLC (high performance liquid chromatography) method. The results indicated that the soluble sugars in blueberry were fructose and glucose, fructose content was from 18.916 ~ 73.899 mg/g, glucose content was from 19.194 ~ 79.521 mg/g. The organic acid components in blueberry included oxalic acid, quinic acid, malic acid, vitamin C and citric acid. The content of citric acid was from 1.174 to 15.069 mg/g, much more than others. Oxalic acid content was lowest, from 0.018 to 0.046 mg/g. There were some obvious differences in composition and content of sugar and organic acid among ten blueberry cultivars. Beikong exhibited the highest levels of fructose and glucose in comparison to the others. The berries of Elizabeth contained highest citric acid among all the cultivars. The value of sugars/total acids and sweetness/total acids were important indicator to measure the sweet and sour flavors of blueberry. The sugars/total acids were from 2.342 to 27.488 among ten blueberry cultivars. The sugars/total acids was from 285.953 to 3393.854, and Northsky > Chignecto > St. Cloud > Friendship > Blomidon > Northland > Blueray > Patriot > Brigitta > Elizabeth.

Key words: high pressure liquid chromatography (HPLC); blueberry; sugar; organic acid; ratio of sugar to acid

中图分类号: TS255.7

文献标识码: A

文章编号: 1002-0306(2016)10-0077-05

doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2016.10.006

蓝莓是杜鹃花科(Ericaceae)越橘属(*Vaccinium*)多年生落叶或常绿灌木浆果类果树,原产于北美,主要分布于我国的东北和西南地区^[1-3]。蓝莓果实中含有丰富的花青素、多酚和维生素 C 等营养成分,具有提高记忆力、保护视力和软化血管等保健功能^[4-6]。目前,因其特殊的营养和药用功能,人们对

蓝莓的研究越来越多,主要集中于品种筛选与栽培、果实营养品质等研究。

作为蓝莓果实中的主要风味物质,可溶性糖和有机酸的组成和含量直接影响果实的甜酸风味及口感^[7],是衡量果实品质的重要指标^[8-9]。但是,国内外关于蓝莓果实中糖、有机酸的组成分析的报道不多,

收稿日期: 2015-09-29

作者简介: 于淼(1993-)女,硕士,研究方向:植物资源与生态环境保护, E-mail: yumiao8574@foxmail.com。

* 通讯作者: 阮成江(1972-)男,博士,教授,研究方向:植物资源与生态环境保护, E-mail: ruan@dlnu.edu.cn。

基金项目: 辽宁省自然科学基金(2014020135); 大学生创新创业计划(X201412239)。

魏鑫等^[10]曾对四个蓝莓品种进行了糖、酸组分的测定,葛翠莲等^[11]选用国内10个蓝莓品种对可溶性糖及可滴定酸含量进行分析,徐玉涛等^[12]对大连地区26个蓝莓品种进行了有机酸含量的测定,结果表明不同品种的蓝莓果实糖酸组成及含量存在较大差异。目前,国内对引种于北美的高丛、半高丛及矮丛蓝莓品种果实糖酸组分及含量方面的研究还未见报道。

高效液相色谱法(HPLC法)广泛用于可溶性糖和有机酸酸的分离与测定,可快速、准确地分析植物果实中的糖、酸组成及含量^[13-15]。本文采用高效液相色谱法测定引自美国的10个蓝莓品种果实中的糖、酸组分及含量,计算各品种果实的糖酸比及甜酸比,旨在为蓝莓果实的口感评价及品质评估提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

供试的10个引自北美的蓝莓品种(友谊 Friendship、北陆 Northland、北空 Northsky、圣云 St. Cloud、美登 Blomidon、芝妮 Chignecto、爱国者 Patriot、蓝光 Blueray、布丽吉塔 Brigitta、伊丽莎白 Elizabeth)于2014年6月采自辽宁省瓦房店蓝莓种植基地,实验室中-20℃长期保存;果糖、葡萄糖、蔗糖、奎宁酸、苹果酸、维生素C、柠檬酸标准品和磷酸二氢钾(KH₂PO₄,色谱级,≥99.5%) Sigma-Aldrich(中国)公司;草酸标准品 德国 Dr. Ehrenstorfer GmbH 公司;乙腈和甲醇(均为色谱纯级) 美国 Honeywell Burdick & Jackson 公司;二硫苏糖醇(DTT, ≥99%) 德国 Merk 公司;偏磷酸 国药集团化学试剂有限公司。

Agilent 1260 Infinity 高效液相色谱仪及工作站 美国 Agilent 公司; SB52000 型超声波清洗机 宁波新艺超声设备有限公司; PL203 型电子天平 瑞士 Mettler Toledo 公司; H2100R 型高速冷冻离心机 湖南湘仪离心机仪器有限公司; AD200L-P 型分散匀质机 上海昂尼仪器仪表有限公司。

1.2 实验方法

1.2.1 糖待测样品处理 称取蓝莓鲜果2g左右于离心管匀浆,涡旋振荡2min,超声处理2min后于4℃,13000 r/min,离心15min,上清液置于10mL离心管内,果实残渣加入1mL超纯水重复上述涡旋振荡2min、超声处理2min和离心(4℃,13000 r/min,15min)操作,合并上清液,超纯水定容至5mL,样品液稀释2倍后0.22 μm 滤膜过膜待测。

1.2.2 酸待测样品处理 将1.2.1中糖待测液样品处理方法中的超纯水换为2%偏磷酸(0.1% DTT),另外样品液过膜前不稀释,其他操作同1.2.1。

1.2.3 糖标准溶液配制 准确称取果糖、葡萄糖标准品各500mg,蔗糖标准品200mg,混合定溶于10mL容量瓶,得到果糖50mg/mL、葡萄糖50mg/mL、果糖20mg/mL的混标母液,用超纯水稀释糖混标母液,得到果糖和葡萄糖浓度为10.00、4.00、2.50、1.25、1.00、0.50mg/mL,蔗糖浓度为6.00、2.40、1.50、0.75、0.60、0.30mg/mL的一系列糖混标溶液。

1.2.4 糖组分与含量测定的色谱条件 美国 Agilent 1260 Infinity 高效液相色谱仪,配有RID示差检测器,色谱柱为Zorbax Carbohydrate Analys column(250mm×4.6mm 5mm, Agilent),流动相为乙腈:水=7:3,流速0.7mL/min,柱温30℃,进样量为20 μL。

1.2.5 酸标准溶液配制 准确称取草酸10mg、奎宁酸50mg、苹果酸50mg、维生素C250mg、柠檬酸500mg,混合定溶于10mL容量瓶,得到草酸1mg/mL、奎宁酸5mg/mL、苹果酸5mg/mL、维生素C25mg/mL、柠檬酸50mg/mL的有机酸混标母液,用超纯水稀释有机酸混标母液,得到草酸浓度为0.005、0.01、0.02、0.03mg/mL,奎宁酸、苹果酸浓度为0.10、0.20、0.30、0.50mg/mL,维生素C浓度为0.01、0.02、0.04、0.05mg/mL,柠檬酸浓度为0.50、1.00、1.50、2.00mg/mL的一系列有机酸混标溶液。

1.2.6 酸组分与含量测定的色谱条件 Agilent 1260 Infinity 高效液相色谱仪,配有DAD二极管阵列检测器,色谱柱为Shim-pack VP-ODS column(250mm×4.6mm 5mm, Shimadzu),流动相为40mmol/L磷酸二氢钾(0.1% DTT),流速0.4mL/min,柱温35℃,进样量为20 μL,草酸、奎宁酸、苹果酸和柠檬酸的检测波长为208nm,维生素C的检测波长为245nm。

1.2.7 测定的线性相关性、重复性和回收率实验 对供试的10个蓝莓果实样品平行制作5个待测液进行重复测定,并拟合线性回归方程,以峰面积对浓度求回归方程和相关系数,对回收率的测定本研究采用加标回收法^[16],根据加入标准品的质量浓度和检出质量浓度计算回收率。

1.2.8 糖酸比及甜酸比测定 果实总糖含量为果糖与葡萄糖含量之和,果实总酸含量为草酸等五种有机酸含量之和,果实总糖含量与总酸含量的比值即为果实糖酸比;果实甜度含量与总酸含量的比值即为果实甜酸比,甜度的计算参照梁俊等^[16]和姚改芳等^[17]的方法。将蔗糖甜度定为100,以此为标准进行甜度对比,则果糖为175,葡萄糖为70,甜酸比=(果糖含量×175+葡萄糖含量×70+蔗糖含量×100)/果实总酸含量。

1.2.9 数据处理 实验数据采用SPSS13.0进行平均数、相对标准偏差分析。

2 结果与讨论

2.1 糖、酸测定的线性相关性、重复性和回收率

2.1.1 线性关系和重复性 如表1和表2所示,两种糖的线性回归方程的相关系数在0.9902~0.9918之间;五种有机酸的线性回归方程的相关系数在0.9905~0.9970之间,表明在设定的高效液相色谱条件下各种糖、酸组分的峰面积与其含量有较好的线性相关性,实验方法能在给定的浓度范围内较准确地测定糖、酸组分的含量。糖、酸组分测定的相对标准偏差为分别3.24%~4.31%和0.042%~1.034%,说明本研究所涉及的HPLC方法具有较好的重复性,达到了分析的要求。

2.1.2 回收率 如表3和表4所示,糖、酸组分的回收率为99.863%~100.763%和97.87%~103.86%,满

表1 糖测定的线性回归方程的相关性

Table 1 Linearity and repeatability determination of sugars

| 组分 | 回归方程 | 相关系数 | 相对标准偏差(%) |
|-----|-----------------------------|--------|-----------|
| 果糖 | $y = 177861.72x + 77740.82$ | 0.9918 | 4.31 |
| 葡萄糖 | $y = 181784.75x + 85289.14$ | 0.9902 | 3.24 |

注: 回归方程中 X 代表糖质量浓度, Y 代表峰面积; 表 2 同。

表2 有机酸测定的线性回归方程的相关性

Table 2 Linearity and repeatability determination of organic acids

| 组分 | 回归方程 | 相关系数 | 相对标准偏差(%) |
|-------|------------------------|--------|-----------|
| 草酸 | $Y = 14650.1x + 37893$ | 0.9951 | 1.034 |
| 奎宁酸 | $Y = 768.97x + 1.5211$ | 0.9970 | 0.266 |
| 苹果酸 | $Y = 1519.8x - 60.163$ | 0.9931 | 0.042 |
| 维生素 C | $Y = 12606x - 52.602$ | 0.9960 | 0.219 |
| 柠檬酸 | $Y = 1757.5x + 40.419$ | 0.9905 | 0.451 |

表3 糖测定的回收率

Table 3 Recoveries determination of sugars

| 组分 | 本底值 (mg/mL) | 加入量 (mg/mL) | 测出量 (mg/mL) | 回收率 (%) |
|-----|-------------|-------------|-------------|---------|
| 果糖 | 0.749 | 10 | 10.831 | 100.763 |
| 葡萄糖 | 0.235 | 10 | 10.221 | 99.863 |

表4 酸测定的回收率

Table 4 Recoveries determination of organic acids

| 酸 | 本底值 (mg/mL) | 加入量 (mg/mL) | 测出量 (mg/mL) | 回收率 (%) |
|-------|-------------|-------------|-------------|---------|
| 草酸 | 0.022 | 0.025 | 0.046 | 97.87 |
| 苹果酸 | 0.054 | 1.150 | 1.203 | 99.92 |
| 奎宁酸 | 0.327 | 0.350 | 0.688 | 101.63 |
| 维生素 C | 0.346 | 0.250 | 0.619 | 103.86 |
| 柠檬酸 | 5.882 | 5.000 | 11.023 | 101.30 |

足了分析实验的要求。

2.2 蓝莓果实糖酸组分及含量

2.2.1 糖组分含量 如图 1 所示为糖混合标准品的色谱图, 三种糖组分出峰时间依次为果糖 9.357 min、葡萄糖 10.181 min 和蔗糖 12.466 min, 上述实验条件及方法可以很好地分离 3 种糖。图 2 所示为爱国者

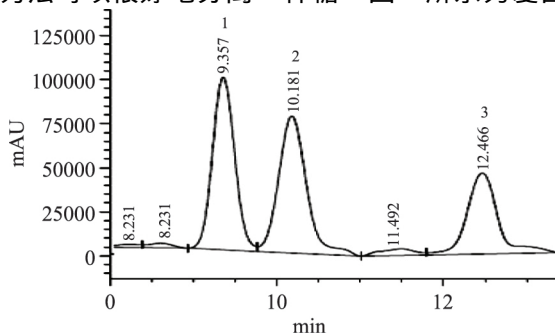


图1 糖混合标准样的色谱图

Fig.1 Chromatogram of mixed sugar standards

注: 1: 果糖 2: 葡萄糖 3: 蔗糖。

果实样品的色谱图, 果糖和葡萄糖分别在 9.238 min 和 10.028 min 出峰, 未检测到蔗糖。

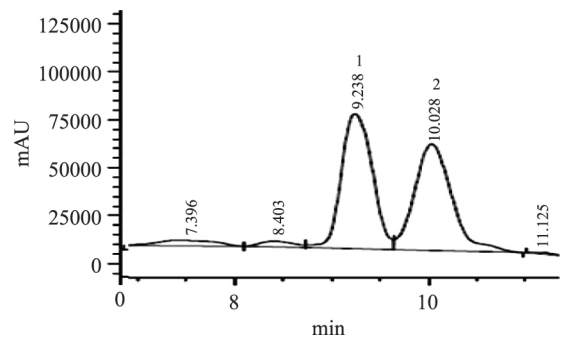


图2 果实样品色谱图

Fig.2 HPLC chromatogram of fruit sample

注: 1: 果糖 2: 葡萄糖。

如表 5 所示, 不同蓝莓品种果实中主要的糖分均为果糖和葡萄糖, 但含量存在一定的差异。这与魏鑫等^[10]的研究结果一致。10 个北美蓝莓品种中, 果糖含量在 18.916~73.899 mg/g 之间, 葡萄糖含量在 19.194~79.521 mg/g 之间。不同品种间两种糖的含量有明显差异, 北空果实的果糖和葡萄糖含量最高, 分别为 73.899 mg/g 和 79.521 mg/g; 友谊、芝妮果实其次, 果糖和葡萄糖含量均在 60~70 mg/g 之间; 伊丽莎白果实中果糖和葡萄糖含量最低, 分别为 18.916 mg/g 和 19.194 mg/g (表 5)。

表5 蓝莓果实糖组分及含量(mg/g)

Table 5 Sugar components and contents of blueberry cultivars (mg/g)

| 品种 | 果糖 | 葡萄糖 |
|------|----------------|----------------|
| 友谊 | 63.592 ± 3.112 | 67.004 ± 5.145 |
| 北陆 | 42.930 ± 4.235 | 43.575 ± 3.268 |
| 北空 | 73.899 ± 3.687 | 79.521 ± 3.005 |
| 圣云 | 50.313 ± 2.417 | 46.587 ± 5.741 |
| 美登 | 57.194 ± 4.008 | 56.807 ± 2.138 |
| 芝妮 | 62.054 ± 5.364 | 64.467 ± 3.512 |
| 爱国者 | 49.585 ± 1.430 | 47.312 ± 4.001 |
| 蓝光 | 34.704 ± 3.215 | 34.067 ± 4.361 |
| 布丽吉塔 | 51.732 ± 2.089 | 55.341 ± 3.851 |
| 伊丽莎白 | 18.916 ± 2.116 | 19.194 ± 2.055 |

2.2.2 有机酸组分含量 图 3 为有机酸混合标准品的色谱图, 五种有机酸在 20 min 内出峰完毕, 出峰时间依次为草酸 6.927 min、奎宁酸 8.374 min、苹果酸 10.229 min、维生素 C 12.154 min 和柠檬酸 17.531 min。图 4 为爱国者果实样品的色谱图, 五种有机酸均在样品中检测到, 依次为草酸 6.954 min、奎宁酸 8.406 min、苹果酸 10.236 min、维生素 C 12.151 min 和柠檬酸 17.843 min (维生素 C 含量在检测波长为 245 nm 时达到最高)。

如表 6 所示, 10 个北美蓝莓品种中, 有机酸组分含量最高的是柠檬酸 (1.174~15.069 mg/g), 奎宁酸、苹果酸和维生素 C 含量差别不大, 草酸含量最低 (0.018~0.046 mg/g)。但北空、美登和爱国者果实的奎宁酸含量明显高于其他品种, 爱国者果实中奎宁

表6 蓝莓果实有机酸组分及含量(mg/g)

Table 6 Components and contents of organic acids in blueberry cultivars(mg/g)

| 品种 | 草酸 | 奎宁酸 | 苹果酸 | 维生素 C | 柠檬酸 |
|------|---------------|---------------|---------------|---------------|----------------|
| 友谊 | 0.039 ± 0.008 | 0.472 ± 0.043 | 0.393 ± 0.012 | 0.484 ± 0.168 | 4.183 ± 0.042 |
| 北陆 | 0.029 ± 0.011 | 0.286 ± 0.012 | 0.218 ± 0.012 | 0.308 ± 0.129 | 5.370 ± 1.128 |
| 北空 | 0.032 ± 0.031 | 2.739 ± 1.055 | 0.489 ± 0.011 | 0.325 ± 0.345 | 3.208 ± 1.106 |
| 圣云 | 0.018 ± 0.015 | 0.774 ± 0.042 | 0.358 ± 0.028 | 0.227 ± 0.117 | 2.865 ± 0.098 |
| 美登 | 0.034 ± 0.018 | 3.290 ± 0.102 | 0.774 ± 0.115 | 0.220 ± 0.078 | 1.174 ± 0.006 |
| 芝妮 | 0.042 ± 0.006 | 1.150 ± 0.101 | 0.346 ± 0.001 | 0.135 ± 0.032 | 3.011 ± 1.304 |
| 爱国者 | 0.024 ± 0.002 | 3.855 ± 0.211 | 0.258 ± 0.018 | 0.251 ± 0.064 | 5.259 ± 0.902 |
| 蓝光 | 0.029 ± 0.025 | 0.265 ± 0.013 | 0.312 ± 0.034 | 0.307 ± 0.014 | 5.513 ± 1.574 |
| 布丽吉塔 | 0.046 ± 0.055 | 0.538 ± 0.024 | 0.250 ± 0.022 | 0.129 ± 0.018 | 11.694 ± 0.465 |
| 伊丽莎白 | 0.030 ± 0.009 | 0.749 ± 0.156 | 0.250 ± 0.006 | 0.178 ± 0.055 | 15.069 ± 0.772 |

表7 10个蓝莓果实品种总糖、总酸含量及其糖酸比

Table 7 Total sugar, total acid content and sugar-acid ratio of 10 blueberry varieties

| 品种 | 总糖(mg/g) | 总酸(mg/g) | 糖酸比 | 甜酸比 |
|------|-----------------|----------------|--------|----------|
| 友谊 | 130.596 ± 8.257 | 5.570 ± 0.273 | 23.447 | 2840.014 |
| 北陆 | 86.505 ± 7.503 | 6.211 ± 1.292 | 13.928 | 1700.693 |
| 北空 | 153.420 ± 6.692 | 5.792 ± 2.548 | 27.488 | 3393.854 |
| 圣云 | 96.901 ± 8.158 | 4.241 ± 0.300 | 22.847 | 2845.054 |
| 美登 | 114.001 ± 6.146 | 5.491 ± 0.319 | 20.761 | 2546.975 |
| 芝妮 | 126.521 ± 8.876 | 4.684 ± 1.444 | 26.013 | 3307.259 |
| 爱国者 | 96.897 ± 5.431 | 9.648 ± 1.197 | 10.043 | 1242.664 |
| 蓝光 | 68.771 ± 7.576 | 6.425 ± 1.660 | 10.704 | 1316.403 |
| 布丽吉塔 | 107.072 ± 5.940 | 12.656 ± 0.584 | 8.460 | 1021.410 |
| 伊丽莎白 | 38.111 ± 4.171 | 16.275 ± 1.018 | 2.342 | 285.953 |

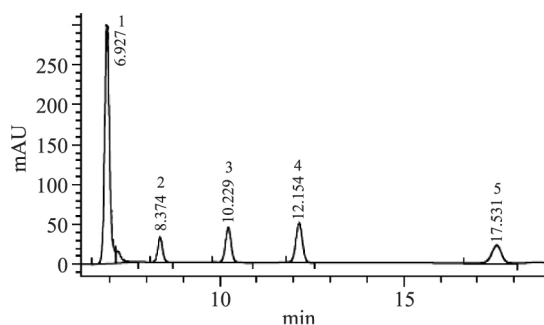


图3 有机酸混合标准品的高效液相色谱出峰图

Fig.3 HPLC chromatogram of mixed organic acids standards

注: 检测波长为 208、245 nm; 1: 草酸; 2: 奎宁酸;
3: 苹果酸; 4: 维生素 C; 5: 柠檬酸; 图 4 同。

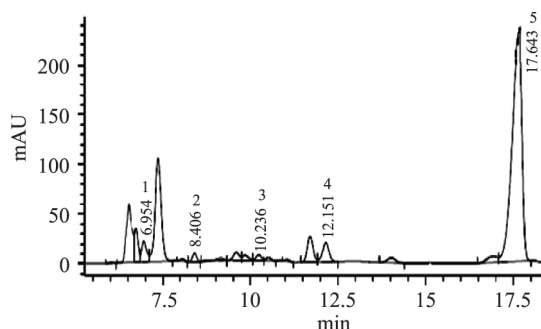


图4 爱国者蓝莓果实有机酸的高效液相色谱出峰图

Fig.4 HPLC chromatogram of Patriot blueberry organic acids

酸含量最高,达到 3.855 mg/g。布丽吉塔和伊丽莎白果实的柠檬酸含量明显高于其他蓝莓品种,说明不同品种间有机酸组分含量存在较大差别。本实验中,伊丽莎白果实柠檬酸含量最高,为 15.069 mg/g;美登果实柠檬酸含量最低,为 1.174 mg/g。徐玉涛等^[12]对蓝莓果实中 8 个有机酸含量进行测定,结果显示柠檬酸含量最高,其次为奎宁酸、苹果酸和草酸,这与本实验研究结果一致。

2.3 果实风味评价

果实糖酸比和甜酸比均是反应果实风味的重要指标。不同的糖其甜度和口感不同,果糖最甜,蔗糖次之,葡萄糖再次之,但其口感最佳。因此用糖酸比来体现果实的口感并不十分准确,故在此基础上选用甜酸比来反应果实的风味品质。如表 7 所示,本研究中 10 个蓝莓品种的糖酸比介于 2.342~27.488,甜酸比介于 285.953~3393.854,表现为北空 > 芝妮 > 圣云 > 友谊 > 美登 > 北陆 > 蓝光 > 爱国者 > 布丽吉塔 > 伊丽莎白,糖酸比与甜酸比呈正相关性。北空果实的甜酸比最高,为 3393.854,伊丽莎白果实的甜酸比最低,为 285.953。因此,对于蓝莓果实来说,糖酸比和甜酸比均是反应果实口感的重要因素和指标,但用甜酸比来反应果实的风味品质则更加准确。

3 结论

蓝莓果实中可溶性糖组分主要为果糖和葡萄糖,有机酸组分包括草酸、奎宁酸、苹果酸、维生素 C

和柠檬酸。不同品种果实糖、酸组成及含量上存在明显的差异。本研究中 10 个北美蓝莓品种中果糖和葡萄糖含量分别约占 49.72% 和 50.28%, 有机酸中柠檬酸含量最高, 平均占总酸含量的 74.48%, 其次为奎宁酸, 平均约占总酸含量的 21.60%, 最少的为草酸, 平均约占总酸含量的 0.42%。糖酸比和甜酸比均是影响蓝莓果实甜酸风味的重要因素, 但用甜酸比反映果实的风味品质更加准确。10 个品种中果实甜酸比较高的是北空、芝妮 (>3300), 最低的是伊丽莎白 (<1000)。

参考文献

- [1] 韩鹏祥, 张蓓, 冯叙桥, 等. 蓝莓的营养保健功能及其开发利用[J]. 食品工业科技, 2015, 36(6): 370-375, 379.
- [2] Marvin P Pritts, James F Hancock. Highbush Blueberry Production Guide [M]. Northeast Regional Agricultural Engineering Service, 1992: 4-7.
- [3] 商晓芳. 蓝莓的生物学特性及栽培技术[J]. 现代农业科技, 2010(2): 135-137.
- [4] 介甫, 李亚东, 徐哲. 蓝莓的主要化学成分及生物活性[J]. 药学学报, 2010, 45(4): 422-429.
- [5] 高畅, 程大海, 高欣, 等. 蓝莓果渣提取物总酚含量及抗氧化活性研究[J]. 植物研究, 2010, 30(2): 253-256.
- [6] Giovanelli G, Buratti S. Comparison of polyphenolic composition and antioxidant activity of wild Italian blueberries and some cultivated varieties [J]. Food Chemistry, 2009, 112(4): 903-908.

(上接第 76 页)

量可能需进一步优化, 避免平菇香气成分中抗氧化物质的过量诱发毒性。

参考文献

- [1] 张松. 食用菌学[M]. 广州: 华南理工大学出版社, 2000: 153.
- [2] 王兰青, 高玉千, 戚元成, 等. 平菇液体菌种摇瓶和发酵罐生长动力学模型比较[J]. 食品与生物技术学报, 2010, 29(6): 927-930.
- [3] Sánchez C. Cultivation of *Pleurotus ostreatus* and other edible mushrooms [J]. Applied microbiology and biotechnology, 2010, 85(5): 1321-1337.
- [4] 许佳妮, 张剑飞, 袁娅, 等. 不同培养基对平菇香气成分的影响[J]. 食品科学, 2015, 36(4): 86-91.
- [5] 覃宝山, 覃勇荣. 新型培养料栽培食用菌研究的现状及展望[J]. 中国农学通报, 2010, 26(16): 223-228.
- [6] 管中华, 李齐激, 王道平, 等. 三种药渣和淫羊藿培育平菇的香味成分研究[J]. 山地农业生物学报, 2014, 33(1): 36-40.
- [7] 李秦, 海洋, 师会勤. 平菇与香菇挥发性香气成分的 GC-MS 分析比较[J]. 化学与生物工程, 2010, 27(2): 87-89.
- [8] 刘冀琴. 两种抗氧化剂对免疫反应影响的实验研究[D]. 石家庄: 河北医科大学, 2004.
- [9] Yehye WA, Rahman NA, Ariffin A, et al. Understanding the chemistry behind the antioxidant activities of butylated hydroxytoluene (BHT): A review [J]. Eur J Med Chem, 2015,

- [7] 吴晓红, 陈宝宏, 李小华. 柑橘类水果中总酸与总糖的测定[J]. 食品研究与开发, 2012, 3(2): 144-149.
- [8] 王庆贺, 杨忠, 李亚东, 等. 生态条件对蓝莓果实品质及产量的影响[J]. 吉林农业大学学报, 2009, 31(5): 561-564, 569.
- [9] 李静芳. 高效液相色谱法检测乳制品中果糖、葡萄糖、蔗糖和乳糖的含量[J]. 食品工业科技, 2011(6): 391-393.
- [10] 魏鑫, 魏永祥, 刘成, 等. 高效液相色谱法测定 4 个蓝莓品种果实中糖酸组分及含量[J]. 中国果树, 2013(3): 64-67.
- [11] 葛翠莲, 黄春辉, 夏思进, 等. 10 个蓝莓品种主要营养成分与色素含量分析[J]. 中国南方果树, 2012, 41(4): 33-35.
- [12] 徐玉涛, 李珂珂, 王贺新, 等. 高效液相色谱法对蓝莓果实中 8 个有机酸含量的测定[J]. 食品科学, 2015, 36(1): 127-131.
- [13] 黄翼飞. 高效液相色谱法测定烟草中的果糖、葡萄糖和蔗糖[J]. 烟草化学, 2010(1): 40-48.
- [14] 逯平杰, 代容春, 叶冰莹, 等. 高效液相色谱法测定甘蔗节间果糖、葡萄糖和蔗糖的含量[J]. 食品科学, 2011, 32(2): 198-207.
- [15] 张其安, 杨少波, 戴建晓, 等. 高效液相色谱-荧光检测法测定蜂蜜中的果糖、葡萄糖和麦芽糖[J]. 食品科学, 2011, 32(14): 249-252.
- [16] 梁俊, 郭燕, 刘玉楚, 等. 不同品种苹果果实中糖酸组成与含量分析[J]. 西北农林科技大学学报: 自然科学版, 2011, 39(10): 163-170.
- [17] 姚改芳, 张绍铃, 曹玉芬, 等. 不同栽培种梨果实中可溶性糖组分及含量特征[J]. 中国农业科学, 2010, 43(20): 4229-4237.

101: 295-312.

- [10] 庄勋, 黄晓冬, 姜声扬, 等. 2,6-二叔丁基对甲酚致大鼠肺巨噬细胞凋亡的作用[J]. 毒理学杂志, 2006(6): 360-363.
- [11] 马宏峰. 亚油酸对高脂小鼠脂质代谢的影响及其机制研究[D]. 合肥: 合肥工业大学, 2007.
- [12] Yuan T, Fan WB, Cong Y, et al. Linoleic acid induces red blood cells and hemoglobin damage via oxidative mechanism [J]. Int J Clin Exp Pathol, 2015, 8(5): 5044-5052.
- [13] 王建新, 朱同胜. 食用香料 1-辛烯-3-醇的合成[J]. 无锡轻工大学学报, 1998(1): 4.
- [14] Hirata T, Kawai T, Hirose H, et al. Palmitic acid-rich diet suppresses glucose-stimulated insulin secretion (GSIS) and induces endoplasmic reticulum (ER) stress in pancreatic islets in mice [J]. Endocr Res, 2015, 13: 1-8.
- [15] 黄劲松, 陈建兵, 杨小红. 杜先锋褐变抑制剂对贮藏期间蘑菇的感官指标及挥发性香气的影响[J]. 食品科学, 2008, 29(7): 448-451.
- [16] Gerald M, John L, Carl H, et al. Organoleptic characteristics of flavor materials [J]. Perfumer and Flavorist, 1996, 21(3): 51-54.
- [17] 孙宝国, 郑福平, 刘玉平. 香料与香精[M]. 北京: 中国石化出版社, 2000: 155-157, 165.
- [18] Chen C C, Wu C M. Volatile components of mushroom (*Agaricus subrufecens*) [J]. Journal of Food Science, 1984, 49: 1208-1209.

- tetrandra-containing Chinese herb formula SENL on multidrug resistance in lung cancer cell line [J]. *Am J Chinese Med*, 2010, 38(2): 401-413.
- [88] Wright S N. Comparison of aconitine modified human heart (hH1) and rat skeletal (μ 1) muscle Na^+ channels: an important role for external Na^+ ions[J]. *J Physiol*, 2002, 538(3): 759-771.
- [89] Tolstikova T G, Bryzgalov A O, Sorokina I V, et al. Formation of salts with hydrobromic acid determines the antiarrhythmic effect of lappaconitine derivatives [J]. *Dokl Biol Sci*, 2007, 415(3): 265-266.
- [90] 孔古娅, 卿德华, 楚延, 等. 氢溴酸高乌甲素的抗心律失常作用[J]. 四川生理科学杂志, 2002, 24(4): 175-171.
- [91] Bryzgalov A O, Romanov V E, Tolstikova T G, et al. Lappaconitine: influence of halogen substituent on the antiarrhythmic activity [J]. *Cardiovasc Hematol Agents Med Chem*, 2013, 30(7): 621-630.
- [92] Vakhitova V, Farafontova E I, Khisamutdinova R, et al. To the mechanisms of antiarrhythmic action of alapinine [J]. *Bioorg Khim*, 2013, 39(10): 105-116.
- [93] 李芸, 胡昌江, 徐婷, 等. 高乌头炮制前后高乌甲素含量测定及小鼠急性毒性实验 [J]. 中成药, 2016, 38(1): 179-181.
- [94] Polyakov N E, Khan V K, Taraban M B, et al. Complexation of lappaconitine with glycyrrhizic acid: stability and reactivity studies [J]. *J Phys Chem B*, 2005, 109(51): 24526-24530.

石柱参中人参皂苷及其功能特性的研究进展

宋春璐¹, 胡文忠^{1*}, 陈晨¹, 李婧², 孙录¹

(1. 大连民族大学生命科学学院, 辽宁 大连 116600; 2. 大连理工大学, 辽宁 大连 116024)

摘要: 本文对石柱参中的主要活性成分—人参皂苷及其功能特性进行了综述。将不同年限石柱参中人参皂苷的含有量与林下山参、普通园参进行比较, 发现其与林下山参相近, 并且远高于普通园参。由此表明, 该植物在未来的药物与保健应用方面有巨大前景。

关键词: 石柱参; 人参皂苷; 功能特性

中图分类号: R284.1

文献标志码: A

文章编号: 1001-1528(2016)04-0890-04

doi: 10.3969/j.issn.1001-1528.2016.04.037

1 石柱参概况

石柱参 *Chinese Shizhu Panax* 全称石柱参, 产于我国辽宁省丹东市宽甸县下露河乡(现为振东乡)石柱村, 是中国人参野生变家种的一个独具特色的优良品种, 来源于五加科植物人参 *Panax ginseng* C. A. Mey 的干燥根。据考察, 在参园附近有一鹰嘴子, 近处小山角下约有 115 m 左右长的自然石柱, 故取名石柱村, 石柱参也因此而得名^[1]。石柱村位于宽甸县东部丘陵区(东经 125°21′~125°28′, 北纬 40°48′~40°50′), 属长白山余脉, 土壤质地较粗, 含有较多的粗砂, 富含铜、锌、铁、锰、硼、钼等微量元素^[2]。此外, 当地处于四季分明的温带湿润季风气候, 使得其年均气温达 6.5℃, 年均降水量达 1 100 mm, 年均日照时数达 2 400 h, 阴雾天气达 150 d, 无霜期 135 d, 昼夜温差较大, 有利于柱参体内养分的累积。而且, 平均相对湿度为 75%, 降水丰富, 日照少, 阴雾多, 湿度大, 常出现“露水阳”天气, 有利于石柱参的生长发育^[3]。

石柱参药用历史悠久, 距今已有 300 多年的栽培历史^[4], 具有芦细长、体短灵、膀头较圆, 皮老质实等特点, 横纹深而细密, 而且主要集中在参体的上半部。其须细长, 柔软, 清疏, 须根上生有珍珠疙瘩, 体形千姿百态, 酷似野山参^[5]。石柱参虽为人工栽培, 但因独特的生长环境使得其基本保持了山参的特征^[6], 所含有的生物活性成分具有抑制癌细胞扩散、增强人体免疫力、提高记忆力等多种功效, 是人体所必需的良药及补品, 受到了人们的热烈追捧。近年来, 人们对石柱参的研究主要集中在栽培工艺以及活性成分含有量的鉴别与测定上。本文主要将石柱参中活性成分人参皂苷的含有量与林下山参、普通园参进行对比, 并对其功能特性以及相关应用研究进行了综述, 以期对该植物未来在药物与保健食品方面的应用提供更有利的依据。

2 石柱参中人参皂苷及其含有量测定

2.1 人参皂苷化学成分 石柱参中含有丰富生物活性成分

收稿日期: 2015-07-08

基金项目: 中央高校基本科研业务费专项资金项目(DC201501020101)

作者简介: 宋春璐(1991—), 女(蒙古族), 硕士生, 研究方向为食品加工与质量安全控制。Tel: 18624359916, E-mail: scl1862@163.com

* 通信作者: 胡文忠(1959—), 男, 教授, 研究方向为食品加工与质量安全控制。E-mail: hwz@dlnu.edu.cn

一人参皂苷，为人参中具有强身健体功能的活性成分。目前，关于石柱参中化学成分的研究相对较少，而人参的研究较多。本世纪90年代初，我国学者在国内外研究基础上，对人参根及其地上部分的皂苷成分又深入地进行分离鉴定，对单体皂苷的代谢化学、半合成、碱水解及分析方法进行系统研究，从人参茎叶中得到10种新的皂苷成分，分别为20(R)-ginsenoside-Rh₂、-Rh₃、-La、-F₄、25-hydroxy-ginsenoside-Rg₂、25-hydroxy-ginsenoside-Rh₁、-I_a、-I_b、koryoginsenoside-R₁和-R₂^[7-9]。到目前为止，从人参中分离

并已确定结构的皂苷成分有40余种^[10]。

人参中主要的人参皂苷有Rh₂、Rg、Rg₁、Rg₂、Rg₃、Rb₁、Rb₂、Rb₃、Rc、Rh、Rh₁、Ro等^[11]；石柱参作为野生人参变家种的优良品种，同样含有多种人参皂苷，如Ro、Rc、Re、Ra₁、Ra₂、Ra₃、Rb₁、Rb₂、Rb₃、Rf₂₀-gle-Rf、Rg₁₂、Rh₁、20R-Rh₁、Rc、Rd等。近年来研究证明，石柱参中含有的丰富生物活性成分，而且其中人参皂苷的含有量与林下山参相近，并且远高于普通园参。具体见表1。

表1 石柱参、林下山参、普通园参的比较

| 编号 | 种类 | 产地 | 生长年限/年 | 皂苷总含有量/% | 参考文献 |
|----|------|----------|--------|----------|------|
| 1 | 林下山参 | 桓仁县巨户沟村 | 15 | 4.554 | [12] |
| 2 | 石柱参 | 宽甸县石柱村 | 13 | 4.672 | [13] |
| 3 | 普通园参 | 抚松普通人参产区 | 6 | 3.922 | [14] |
| 4 | 普通园参 | 集安边条人参产区 | 6 | 3.992 | [15] |

据相关资料记载，石柱参出圃年限为15~17年^[16-17]，而园参为4~6年^[18]，此时其皂苷含有量将达到最高。由表可知，生长年限为13年的宽甸石柱参中总皂苷含有量为4.672%，与年限为15年的林下山参的4.554%相比，差距不大，但比园参高很多。这一数据表明，石柱参虽为野生变家种，但其活性成分不低于林下山参，并且远高于普通园参^[19]。

此外，石柱参中人参皂苷[Rg₁(C₄₂H₇₂O₁₄) + Re(C₄₈H₈₂O₁₈)]总含有量为1.69%，其成分与野山参极为接近，并且远高于普通园参^[20]。石柱参中除了含有活性成分人参皂苷外，还含有一些抗衰老成分(如麦牙酚)以及多种氨基酸、维生素、人参多糖等，虽然其含有量较少，但可对人体保健功效起到一定的作用。目前，对石柱参中这些活性成分的研究相对较少，这也将成为未来要深入研究

的方向。

2.2 人参皂苷含有量测定

彭绪玲等^[21]利用HPLC法测定出石柱参药材及其片剂中含有5种人参皂苷Rg₁、Re、Rb₁、Rc、Rb₂，其色谱峰与相邻色谱峰分离良好，该方法可用于石柱参药材及其片剂的质量控制。高俊杰等^[22]首次对石柱参中8种人参皂苷Rg₁、Re、Rf、Rg₂、Rb₁、Rc、Rb₃、Rd的含有量进行测定，并建立相关方法，发现其分离度较高，方法学验证符合要求，可作为参类药材中人参皂苷含有量同时测定的方法。Jiang等^[23]建立了一种简单而快速的方法，利用高效液相色谱-电喷雾质谱联用技术对石柱参中10种人参皂苷Rb₁、Rb₂、Rb₃、Rc、Rd、Rg₁、Re、Rf等及三七皂苷R₁同时进行定量测定，并对其不同部位成分的含有量进行了分析，为评价石柱参的一种新型分析方法。具体见表2。

表2 不同参龄石柱参中人参皂苷含有量的比较

| 参龄/年 | 提取方法 | 提取条件 | 含有量/(mg·g ⁻¹) | | | | | | 参考文献 |
|------|------|---------------------------------|---------------------------|------|------|-----------------|------|------|------|
| | | | Rg ₁ | Re | Rf | Rb ₁ | Rc | Rd | |
| 9 | 索氏提取 | 回流时间3 h 超声提取30 min 提取次数2次 | 1.32 | 2.08 | 0.72 | 2.12 | 1.06 | 0.55 | [22] |
| 10 | 索氏提取 | 提取时间30 min/次 提取次数2次 | 2.92 | 3.68 | 1.09 | 6.81 | 3.42 | 1.31 | [24] |
| 12 | 回流提取 | 提取时间2 h/次 提起次数2次 | 4.16 | 3.66 | 1.18 | 5.93 | 5.49 | 1.00 | [13] |
| 13 | 回流提取 | 提取时间30 min/次 提取次数2次 | 6.90 | 4.17 | 1.26 | 7.44 | 2.18 | 0.39 | [23] |
| 14 | 回流提取 | 提取时间2 h/次 提取次数2次 | 4.88 | 4.64 | 1.68 | 8.68 | 5.15 | 1.07 | [13] |
| 17 | 回流提取 | 提取时间2 h/次 | 2.48 | 2.70 | 0.80 | 5.57 | 3.80 | 0.70 | [13] |

由表可知，参龄在9~17年间时，相同产地的石柱参中人参皂苷的含有量随参龄增长而上升，在13~14年间达到高峰，但在17年后有所下降。此外，石柱参中Rg₁、Re、Rb₁等人参皂苷含有量高于其他活性成分，可为未来石柱参功能特性的研究提供依据。

表3为辽宁省宽甸县石柱参与辽宁、吉林、黑龙江三

省其它人参中人参皂苷及总皂苷含有量的比较结果。由表可知，参龄均在5~6年之间的石柱参与其他人参相比，其主要人参皂苷Rg₁、Re、Rf、Rb₁、Rc、Rb₂、Rd等含有量较高，均高于其他产地人参。此外，其总皂苷含有量也不低于其它产地人参，表明石柱参与其它人参相比，具有相当高的药用价值。

表3 石柱参与其他人参中人参皂苷含量的比较

| 产地 | 参龄/年 | 含量/(mg·g ⁻¹) | | | | | | | | 参考文献 |
|------------|------|--------------------------|------|------|-----------------|------|-----------------|------|-------|------|
| | | Rg ₁ | Re | Rf | Rb ₁ | Rc | Rb ₂ | Rd | 总值 | |
| 辽宁宽甸县(石柱参) | 6 | 3.61 | 4.59 | 1.32 | 6.14 | 5.58 | 4.40 | 1.86 | 27.50 | [13] |
| 辽宁抚顺市(人参) | 6 | 1.99 | 3.03 | 2.41 | 3.15 | 1.66 | 0.74 | 0.59 | 13.57 | [25] |
| 吉林通化县(人参) | 5 | 5.57 | 5.29 | 2.47 | 4.77 | 2.84 | 3.85 | 3.60 | 28.39 | [26] |
| 吉林琿春市(人参) | 5 | 3.47 | 7.99 | 1.74 | 5.76 | 2.40 | 4.05 | 1.68 | 27.09 | [26] |
| 牡丹江宁安市(人参) | 6 | 0.99 | 1.96 | 0.89 | 0.98 | 0.40 | 0.21 | 0.17 | 5.60 | [25] |
| 黑龙江绥化市(人参) | 6 | 1.12 | 1.59 | 0.68 | 1.03 | 0.50 | 0.15 | 0.22 | 5.29 | [25] |

3 人参皂苷的功能特性

石柱参具有较强的药用特性,其中栽培13年以上者近似山参^[27]。石柱参中含有丰富的人参皂苷,而且其含量不低于一般山参,还含有大量抗癌单体皂苷Rh₂。目前,国内外鲜有对石柱参功能特性的报道,而对人参的相关研究比较全面。根据人参中皂苷的功能特性,可知石柱参中的活性成分也能起到抗衰老、抗癌、增强大脑记忆力和思维能力、抗疲劳等药理作用,但有待于作进一步研究。此外,石柱参特有的栽培技术及生长环境是否使其具有不同于其他人参的药用功能,将是接下来要研究的方向。

4 石柱参在食品方面的应用前景与展望

我国是人参发展最早、产量最大的国家,但仍需继续寻找和扩大新资源^[28]。随着生活水平的不断提高,人们(尤其是中老年人)对如何增强自身体质、提高自身免疫力越发关注。石柱参因其独特的生长环境,使其具有极为珍贵的药用保健价值^[29],在如今野山参产量逐年减少的形势下,它很可能在未来被代替山参使用。但是,目前人们对石柱参的相关功能特性还不明确,国内外相关研究也很少,除了其显微以及人参皂苷含量测定方面的报道外,有关化学成分功能方面的研究还是空白。此外,市场上有关石柱参的产品也不多见,人们通常只将石柱参作为一种药材使用,而在其他领域中的应用鲜有报道,仅彭绪玲^[30]以石柱参药材为原材料,采用提取纯化技术,制得优良的石柱参咀嚼片。

目前,国内大部分石柱参都是以原药材的形式廉价出口到韩国、日本等国家,这不仅造成资源的浪费,更不利于石柱参的种植生产^[24]。因此,探究石柱参的功能和药用特性,对其在未来药物与保健食品方面的发展和经营具有十分重要的现实意义。并且,石柱参有着野生变家种这一优势,将对保护我国山参资源,缓解市场上野山参产品不足等带来很大帮助。由此,建议国家拓宽石柱参市场,使其不仅是临床良药,更可从农田到餐桌,从原材料到药物保健食品,更多地发挥其功效。

参考文献:

[1] 王荣祥,赵建东,许亮.石柱参的历史考证[J].辽宁中医学院学报,2005,7(3):269.
[2] 韩英.宽甸石柱人参栽培技术[J].农业科技通讯,2013(7):213-214.
[3] 王瑀,谢彩香,陈士林,等.石柱参(人参)产地适宜

性研究[J].世界科学技术:中医药现代化,2008,10(4):77-82.
[4] 王荣祥,许亮,翟延君,等.石柱参考证[J].中药材,2008,32(8):1273-1274.
[5] 王荣祥,许亮,任百林,等.石柱参的性状与显微鉴别[J].中药材,2007,30(9):1076-1078.
[6] 王谷强,吴海峰.道地药材石柱参与人参资源生态研究的几点思考[J].中国现代中药,2009,11(11):8-10.
[7] 陈英杰,王红艳,徐绥绪,等.人参化学成分及其抗癌抗心律失常构效关系的研究[J].中国科学基金,1995(4):46-48.
[8] Zhang S, Takeda T, Zhu T, et al. A new minor saponins from the leaves of *Panax ginseng* [J]. *Planta Med*, 1990, 56(3): 179-181.
[9] Kim D S, Chang Y J, Zedk U. Dammarane saponins from *Panax ginseng* [J]. *Phytochemistry*, 1995, 40(5): 1493-1497.
[10] 窦德强,靳玲,陈英杰.人参的化学成分及药理活性的研究进展与展望[J].沈阳药科大学学报,1999,16(2):151-156.
[11] 徐静,贾力,赵余庆.人参的化学成分与人参产品的质量评价[J].药物评价研究,2011,34(3):199-203.
[12] 张兰兰,高文远,宋兆辉,等.不同年份林下山参叶中皂苷类成分含量变化研究[J].中国中药杂志,2012,37(17):2530-2533.
[13] 曲扬,乔铁,周志勋,等.不同参龄的石柱林下山参外观形态及7种主要人参皂苷的含量测定[J].中华中医药学刊,2014,32(9):2198-2200.
[14] 姜先刚,张惠,王泽玉,等.不同产地、年限人参中8种皂苷含量的比较[J].时珍国医国药,2014,25(11):2764-2766.
[15] 崔丽丽,逢世峰,王英平,等.吉林省不同产地不同年限林下山参皂苷含量比较[J].吉林农业大学学报,2013,35(4):427-432.
[16] 姜海平,窦德强,荆淑琴,等.林下山参的人参皂苷含量分析和指纹图谱研究[J].中国现代中药,2008,10(4):12-15.
[17] Zhou Z X, Qu Y, Dou D Q, et al. The ginsenoside profile of ginseng cultivated under mountainous forest [J]. *J Med Plants Res*, 2011, 5(3): 410-419.
[18] 徐世义,李可欣,史德武,等.野山参、林下山参、趴货、园参性状及显微特征的比较研究[J].中草药,2013,44(16):2304-2307.
[19] 李可强,薛振东,魏汉莲,等.石柱参与林下山参及传统园参成分差异的比较研究[J].辽宁中医杂志,2013,40

- (3): 423-425.
- [20] 吴雪松. 东北不同产地人参及其加工品品质评价[D]. 南京: 南京农业大学, 2012.
- [21] 彭绪玲, 付永慧, 熊志立, 等. HPLC法测定石柱参药材及其片剂中5种人参皂苷的含量[J]. 沈阳药科大学学报, 2010, 27(1): 48-51.
- [22] 高俊杰, 翟延君, 王荣祥, 等. 石柱参中8种人参皂苷的含量测定[J]. 中国中药杂志, 2010, 35(8): 989-991.
- [23] Jiang Q, Zhao L S, Xiong Z L, et al. Simultaneous quantification of 10 saponins in Chinese Shizhu Panax by UPLC-ESI-MS[J]. *Nat Prod Res*, 2015, 29(1): 91-93.
- [24] 高俊杰. 石柱参的生药学研究[D]. 沈阳: 辽宁中医药大学, 2010.
- [25] 李慧, 许亮, 温美佳, 等. 不同产地人参皂苷成分含量 UPLC法测定及质量评价[J]. 中华中医药杂志, 2015, 30(6): 1963-1968.
- [26] 姜先刚, 张惠, 王泽玉, 等. 不同产地、年限人参中8种皂苷含量的比较[J]. 时珍国医国药, 2014, 25(11): 2764-2766.
- [27] 庞立杰, 于淑莲, 陶进贤. 林下繁育石柱人参研究[J]. 人参研究, 2005, 17(1): 24-25.
- [28] 孙三省, 张继, 刘宝玲, 等. 野山参移山参育山参及各类山参伪货的鉴别[J]. 解放军药学学报, 1999, 15(1): 47-51.
- [29] 王贺新. 中国石柱参生长特征研究[J]. 辽宁林业科技, 2001(5): 5-7.
- [30] 彭绪玲. 石柱参咀嚼片制备工艺及质量控制方法研究[D]. 沈阳: 沈阳药科大学, 2009.

采用荧光定量PCR方法快速检测蔬菜中沙门氏菌

郭蕾, 江洁*, 武晓松

(大连民族大学 生命科学学院, 辽宁 大连 116600)

摘要: 为快速检测蔬菜中的沙门氏菌, 建立一种荧光定量 PCR 检测方法。筛选出特异性引物可稳定的扩增沙门氏菌特异性基因 *invA*。利用循环次数 C_q 值和菌落数对数的线性关系得出荧光定量 PCR 方法对沙门氏菌检出最低浓度为 18 cfu/mL。利用建立的荧光定量 PCR 检测方法对大连开发区 3 个地点采样 10 种蔬菜共 60 份样品进行检测, 检测结果显示, 在 60 份样品中有 5 份样品确定存在沙门氏菌, 检出率为 8.33%。试验证明, 荧光定量 PCR 检测方法具有快速简便和高效特异等优势, 并可定量分析, 可用于蔬菜中沙门氏菌的快速检测。

关键词: 沙门氏菌, 蔬菜, 荧光定量PCR

Real Time Fluorescence Quantitative PCR Method for Rapid Detection *Salmonella* in Vegetables

GUO Qiang, GANG Jie*, WU Xiao-song

(College of Life Science, Dalian Nationalities University, Dalian 116600, Liaoning, China)

Abstract: For the rapid detection of *Salmonella* in vegetables, a kind of Real Time PCR method had been established. The *invA* gene was screened as stable *Salmonella*-specific gene. The minimum test concentration of Real Time PCR detection for *Salmonella* was 18 cfu/mL by linear relationship between the Cycles (C_q) and colony count logarithm. 60 samples were detected of 10 kinds of vegetables from Dalian Development Zone by the Real Time PCR method. The results showed that there were 5 samples to determine *Salmonella* in the 60 sam-

基金项目: “十二五”农村领域国家科技计划课题(2012BAD38B05), 2014 年度研究生创新基金项目(YCX20141034)

作者简介: 郭蕾(1991—), 女(汉), 硕士研究生, 研究方向: 食品安全检测。

* 通信作者: 江洁(1965—), 女(满), 教授, 博士, 研究方向: 食品生物技术。

含量差异可能是由于不同品种的种植条件和生长环境等因素造成的。另外苹果果实不同部位, 多酚含量也存在明显差异, 果皮组明显高于果皮加果肉组, 这一试验结果与王皎等^[11]的研究结果是相一致的, 以为后续果汁厂果渣中苹果多酚研究与开发提供一定理论基础。

参考文献:

- [1] 韩菊, 高洪潮, 魏福祥, 等. 苹果多酚的性能研究[J]. 食品科技, 2008(10): 139-142
- [2] 孙红男, 孙爱东, 苏雅静, 等. 苹果多酚抑菌效果的研究[J]. 北京林业大学学报, 2010, 32(4): 280-283
- [3] Y Lu, L Y Foo. Antioxidant and radical scavenging activities of polyphenols from apple pomace[J]. Food Chemistry, 2000, 68(1): 81-85
- [4] Scalbert A, Williamson G. Dietary Intake and Bioavailability of polyphenols[J]. Journal of Nutrition, 2000, 130(8): 2073-2085
- [5] 曲恩超, 魏福祥. 苹果多酚的研究进展[J]. 河北化工, 2006, 29(1): 5-8
- [6] 梁峙. 苹果多酚的功效研究与应用[J]. 农牧产品开发, 1998(6): 18
- [7] 孙平平. 苹果多酚的研究概况[J]. 科技创新导报, 2011(7): 7, 10
- [8] 杨薇. 苹果多酚的提取纯化及抗龋齿活性研究[D]. 北京: 中国农业大学, 2010: 12-14
- [9] 石碧, 狄莹. 植物多酚[M]. 北京: 科学出版社, 2000: 30-31
- [10] A Picinelli, Belén Sua-Rez, Juan José Mangas. Analysis of polyphenols in apple products[J]. European Food Research and Technology, 1997, 204(1): 48-51
- [11] 王皎, 高颖, 赵丽敏, 等. 测定不同品种苹果果皮和果肉中总多酚的含量[J]. 食品研究与开发, 2013, 34(20): 87-89

收稿日期: 2016-01-21

ples, so the detection rate was 8.33%. Experiments showed that the fluorescent quantitative PCR detection method was simple and easy and efficient specific advantages, such as rapid and quantitative analysis, can be used for rapid detection of *Salmonella* in vegetables.

Key words: *Salmonella*; vegetables; Real time quantitative polymerase chainreaction

沙门氏菌作为常见的人兽共患病原菌之一,不仅会引起各种动物疾病,而且与人类多种疾病有关,其中,由沙门氏菌引起的食物中毒显得尤为突出^[1]。沙门氏菌(*Salmonella* spp.)属肠道菌科细菌^[2],革兰氏阴性直杆菌,属兼性厌氧菌^[3]。目前已知的沙门氏菌有2500多个血清型,在中国发现了200多个血清型^[4-5]。沙门氏菌中毒症状一般为出现恶心、呕吐、头痛、发热、腹泻等症状,潜伏期4h~8h不等^[6],欧洲每年有16万多人感染沙门氏菌^[7-8]。同时美国每年也有约140万人感染沙门氏菌^[7-9],占总食源性疾病的30%^[10]。沙门氏菌引起的食物中毒事件经常高居榜首^[11]。因此沙门氏菌检测早在20世纪80年代已得到国内外相关领域的研究和重视。

传统检测沙门氏菌的方法可分为预增菌、选择性增菌及分离鉴定3个不同阶段,全过程至少需要4d~7d才能得出检测结果^[12]。在实际检测中周期较长、工作量大,对致病菌的检测特异性不高、灵敏度低、操作繁琐耗时,不能实现及时有效的监测^[13-14]。实时荧光定量PCR(Real Time PCR)是建立在PCR技术本身的荧光信号的强弱的基础上的检测技术,具体指在PCR反应体系中加入特定的荧光基团作为染料标记,利用荧光基团的荧光信号积累对整个PCR进程进行实时监测,之后通过标准曲线对未知模板的DNA进行定量分析的方法^[15-17]。Real-time PCR技术具有特异性强、准确性高、假阳性低、灵敏度高、可定量检测、误差小、操作简单、自动化程度高、产物的扩增和检测闭管一步完成、交叉污染和污染环境机会少等优点^[18-19]。在荧光定量PCR过程中即可得到目标菌株是否存在的检测结果而不需要常规PCR之后的凝胶电泳处理,因此,荧光定量PCR技术在沙门氏菌检测方法中运用越来越广泛。

近年来沙门氏菌污染蔬菜引起的食物中毒事件屡次发生,得到社会广泛关注,国内外相关研究领域亦开始重视对沙门氏菌污染蔬菜的研究,但是国内相关文献中鲜见有关蔬菜中沙门氏菌检测的报道。本试验成功建立了沙门氏菌Real Time PCR快速检测方法,并通过对大连市售蔬菜中沙门氏菌污染情况进行检测证明该检测方法可行有效。

1 材料与方法

1.1 试验材料

检测菌株:鼠伤寒沙门氏菌(*Salmonella typhimurium*, ATCC 14028),伤寒沙门氏菌(*Salmonella typhi*, CMCC(B)50071),乙型副伤寒沙门氏菌(*Salmonella paratyphoid B*, CMCC(B)50094)。

营养肉汤(NB)固体培养基:蛋白胨10g,牛肉膏5g,氯化钠(NaCl)5g,蒸馏水1000mL,琼脂15g,调节pH7.2,121℃灭菌30min密封备用。

营养肉汤(NB)液体培养基:蛋白胨10g,牛肉膏5g,氯化钠(NaCl)5g,蒸馏水1000mL,调节pH7.2,121℃灭菌30min密封备用。

对照菌株:金黄色葡萄球菌(*Staphylococcus aureus*, ATCC 6538),单核细胞增生李斯特菌(*Listeria monocytogenes*, ATCC 19115),大肠埃希氏菌(*Escherichia coli*, ATCC 8739),大肠埃希氏菌O157:H7(*Escherichia coli* O157:H7, NCTC 12900),痢疾志贺氏菌(*Shigella dysentery*, CMCC(B)51105),蜡样芽孢杆菌(*Bacillus cereus*, CMCC(B)63301)。

本试验引物设计参考相关文献^[20],由大连宝生物公司合成(表1)。

表1 引物序列及PCR产物
Table 1 Primer sequence and Product of PCR

| 扩增基因 | 引物名称 | 引物序列 | 产物大小/bp |
|---------|--------|-----------------------------------|---------|
| hilA 基因 | hilA-F | 5'-CTGCCCGCAGTGTTAAGGATA-3' | 490 |
| | hilA-R | 5'-CTGTCGCCTTAATGCCATGT-3' | |
| hns 基因 | hns-1 | 5'-TACCAAAGCTAAACGCCGAGCT-3' | 152 |
| | hns-2 | 5'-TGATCAGGAAATCTTCCAGTTGC-3' | |
| hut 基因 | hut-1 | 5'-ACTGGCGTTATCCCTTTCTCTGCTG-3' | 495 |
| | hut-2 | 5'-ATGTTGTCCTGCCCTGGTAAGAGA-3' | |
| invA 基因 | invA-1 | 5'-GTGAAATTATCGCCACGTTCCGGGCAA-3' | 284 |
| | invA-2 | 5'-TCATCGCACCGTCAAAGGAACC-3' | |

1.2 试验方法

1.2.1 Real Time PCR 试验方法建立

Real Time PCR 反应体系的DNA模板使用磁珠提取法制备^[21]。

Real Time PCR 反应体系(DR075S)由大连宝生物公司提供,体系主要包括:每20μL反应体系 MightA

mp for Real Time (SYBR plus)(2×) 10 μ L, PCR Forward Primer(10 μ mol/L)、PCR Reverse Primer(10 μ mol/L)各 1 μ L (终始浓度 0.2 μ mol/L), DNA 模板 2 μ L, ddH₂O 加至 20 μ L。Real Time PCR 反应条件:热盖温度 105 $^{\circ}$ C; 98 $^{\circ}$ C 预变性 2 min, 94 $^{\circ}$ C 变性 10 s, 60 $^{\circ}$ C 退火 20 s, 72 $^{\circ}$ C 延伸 40 s, 40 个循环, 72 $^{\circ}$ C 延伸 2 min, 4 $^{\circ}$ C 低温保存。

1.2.2 沙门氏菌的目标引物特异性检测

采用 Real Time PCR 方法对 1.1 中 3 种沙门氏菌和 6 种阴性对照菌株的 DNA 对 *invA* 目标引物进行 Real Time PCR 扩增, 得到扩增曲线。

1.2.3 Real Time PCR 检测鼠伤寒沙门氏菌的检出限

NB 液体培养基 37 $^{\circ}$ C 恒温 80 r/min 振荡液体培养鼠伤寒沙门氏菌 8 h, 取 1 mL 菌悬液倍比稀释, 稀释液在 NB 固体培养基上均匀涂布, 37 $^{\circ}$ C 恒温培养 24 h 数菌落数, 取 1 mL 菌悬液磁珠提取法提取 DNA, 将 DNA 提取液配比稀释, 以 *invA* 引物片段作为目标基因, 采

用 1.2.1 方法进行 Real Time PCR 检测。

1.2.4 应用 Real Time PCR 检测方法调查市售蔬菜中沙门氏菌污染情况

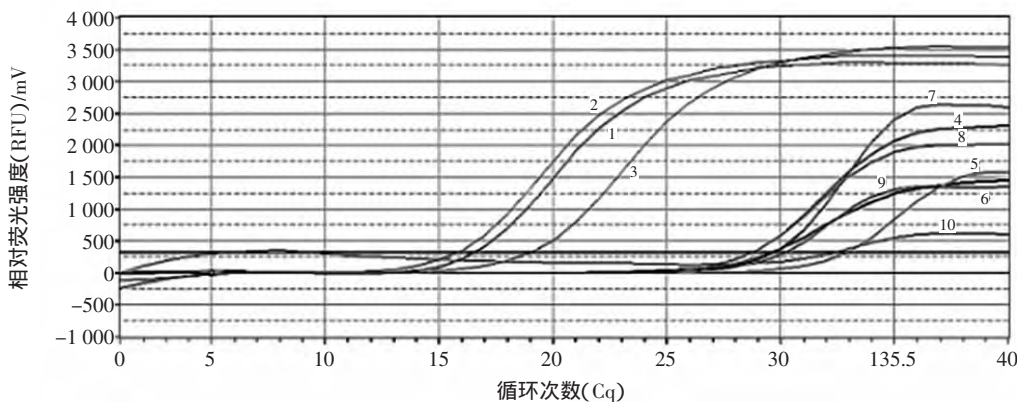
为验证上述研究 Real Time PCR 检测方法和条件是否可以运用到蔬菜样品的实际检测中, 对大连开发区新玛特超市、金马商场、马桥子农贸市场 3 个售卖地点的蔬菜进行取样调查。本调查自大连开发区 3 个地点采样 10 种蔬菜共 60 份样品, 进行 Real Time PCR 快速检测。

2 结果与分析

2.1 沙门氏菌的目标引物特异性检测

采用 1.2.1 方法对 1.1 中 3 种沙门氏菌和 6 种阴性对照菌株的 DNA 对 *invA* 目标引物进行 Real Time PCR 扩增, 所得结果如图 1 所示。

经 10 次以上重复试验, 3 种沙门氏菌均在 26 循



1. 鼠伤寒沙门氏菌(*Salmonella typhimurium*, ATCC 14028) 2. 伤寒沙门氏菌(*Salmonella typhi*, CMCC(B)50071) 3. 乙型副伤寒沙门氏菌(*Salmonella paratyphoid B*, CMCC(B) 50094) 4. 金黄色葡萄球菌(*Staphylococcus aureus*, ATCC 6538) 5. 单核细胞增生李斯特菌(*Listeria monocytogenes*, ATCC 19115) 6. 大肠埃希氏菌(*Escherichia coli*, ATCC 8739) 7. 大肠埃希氏菌 O157:H7(*Escherichia coli* O157:H7, NCTC 12900) 8. 痢疾志贺氏菌(*Shigella dysentery*, CMCC(B) 51105) 9. 蜡样芽孢杆菌(*Bacillus cereus*, CMCC(B) 63301) ;10. 灭菌超纯水。

图 1 特异性引物的 Real Time PCR 检测结果

Fig.1 Initial Real Time PCR test results of specific primers genes

环之前出现荧光现象, 而其他隐形对照菌株和灭菌超纯水均在 26 循环之后出现荧光现象, 出现此种情况, 主要原因可能是荧光染料与双链 DNA 的结合非特异性, 即荧光染料与样品中所有解链 DNA 均可结合, 产生引物二聚体和非特异性扩增产物, 影响荧光检测结果, 但这一干扰因素可以借助分析熔解曲线排除。通过比较熔解曲线峰值高度得知, 沙门氏菌(1 号~3 号)峰值高度达 2 800 以上, 远大于其他阴性对照菌株和灭菌超纯水(4 号~10 号)的峰值高度(400~1 500), 因此该检测结果并不影响对引物的特异性判断。10 次以上重复试验表明, 在 26 个循环之前出现荧光现象且峰值高度达到 2 800 以上的可认定为沙门氏菌, 26 个循环之后的出现荧光现象且峰值高度小于 2 800 的可认定为非沙门氏菌。试验表明, *invA* 目标

引物对沙门氏菌有特异性, 且检测过程应在 26 循环之前出现荧光信号。

2.2 Real Time PCR 检测鼠伤寒沙门氏菌的检出限

NB 液体培养基 37 $^{\circ}$ C 恒温 80 r/min 振荡液体培养鼠伤寒沙门氏菌 8 h, 取 1 mL 菌悬液倍比稀释, 稀释液在 NB 固体培养基上均匀涂布, 37 $^{\circ}$ C 恒温培养 24 h 数菌落数, 取 1 mL 菌悬液磁珠提取法提取 DNA, 将 DNA 提取液配比稀释, 以 *invA* 引物片段作为目标基因, 采用 1.2.1 方法进行检测, 结果如图 2 和图 3 所示。

平板计数显示稀释程度 10^5 菌悬液浓度为 20 cfu/mL, Real Time PCR 的 C_q 结果显示菌株模板浓度与 C_q 值之间呈良好的线性关系, 线性系数(R²)为 0.996, 线性方程为:

$$y = -2.86x + 29.876$$

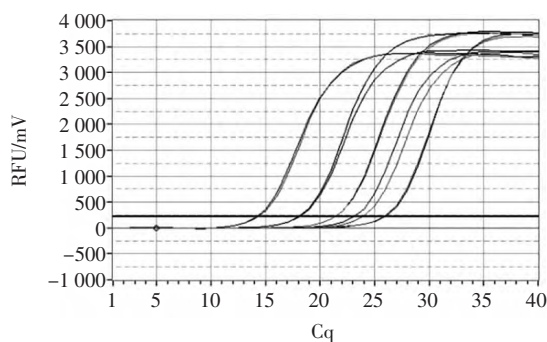


图2 鼠伤寒沙门氏菌 Real Time PCR 检出限检测结果

Fig.2 The experimental results of detection limit of *Salmonella typhimurium* by Real Time PCR technique

式中 \hat{y} 为 C_q 值 \hat{x} 为菌液浓度的对数。最低检测浓度为 18 cfu/mL, 检测准确率为 90%。

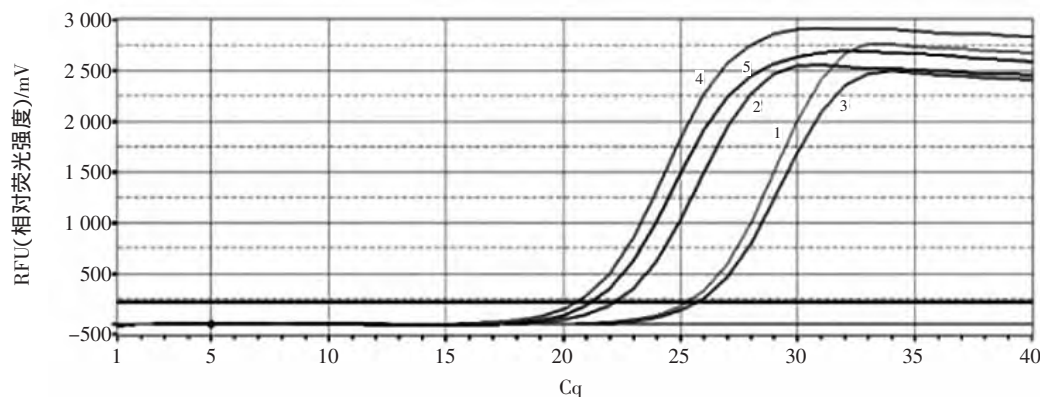
Real Time PCR 检测方法的最低检出浓度远低于普通 PCR 检测方法检出限, 可达到 10¹ 级, 因此, 采用此方法进行样品检测无需对样品进行预增菌, 大大缩短了检测耗时, 且可得到沙门氏菌具体含量(菌落数), 做到通过两步(检测、计算)即可得到定量分析结果。

表2 样品中沙门氏菌 Real Time PCR 技术检测结果

Table 2 The detection results of *Salmonella* on samples by Real Time PCR technology

| 产品种类 | C _q | | | | | | 是(+)否(-)存在沙门氏菌 |
|------|----------------|-------|-------|-------|-------|-------|----------------|
| | A | | B | | C | | |
| 韭菜 | 28.14 | 29.97 | 27.2 | 27.83 | 25.65 | 26.51 | +(C) |
| 大葱 | 27.91 | - | 30.12 | 27.91 | 20.5 | 27.05 | +(C) |
| 香菜 | 30.4 | 27.51 | 26.96 | 25.23 | 21.18 | 27.77 | +(B,C) |
| 芹菜 | 31.15 | 27.39 | - | 27.39 | 28.52 | 30.13 | - |
| 苦苣 | 28.19 | - | - | 28.02 | 28.49 | 28.88 | - |
| 生菜 | - | 29.21 | 28.02 | 22.15 | 27.41 | - | +(B) |
| 大白菜 | - | - | 27.51 | 30.05 | - | 29.3 | - |
| 小白菜 | - | 28.83 | 27.05 | 27.35 | 27.83 | 26.51 | - |
| 樱桃番茄 | - | 31.29 | - | - | - | 31.2 | - |
| 菠菜 | 27.39 | - | 28.34 | 30.3 | - | 27.91 | - |

注:A 为大连开发区新玛特超市,B 为金马商场,C 为马桥子农贸市场,-表示无数据。



1. 香菜(B) 2. 生菜(B) 3. 韭菜(C) 4. 大葱(C) 5. 香菜(C)。

图4 Real Time PCR 检出样品

Fig.4 The test results of samples by Real Time PCR

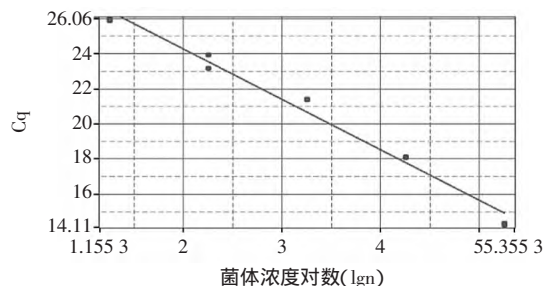


图3 Real Time PCR 检测标准曲线

Fig.3 The standard curve of Real Time PCR

2.3 应用 Real Time PCR 检测方法调查市售蔬菜中沙门氏菌污染情况

为验证上述研究 Real Time PCR 检测方法和条件是否可以运用到蔬菜样品的实际检测中, 对大连开发区新玛特超市、金马商场、马桥子农贸市场 3 个售卖地点的蔬菜进行取样调查。本调查自大连开发区 3 个地点采样 10 种蔬菜共 60 份样品(每个采样地点每种样品采样 2 份)按照 1.2.1 中方法检测, 检测结果如表 2 和图 4 所示。

检测结果显示,60份样品中5份样品确定存在沙门氏菌,检出率为8.33%。通过计算可得出,检出样品和沙门氏菌检出量分别为金马商场的香菜36 cfu/g、生菜501 cfu/g和马桥子农贸市场的韭菜30 cfu/g、大葱1 905 cfu/g和香菜1 096 cfu/g。由表2可知,一部分样品也可在检测中起峰,但由试验分析可得,SYBR法因荧光染料与双链DNA的结合非特异性而存在一定误差,因此 C_q 值在26以后的试验结果不予计算,该试验结果可说明Real Time PCR方法检测更加精确便捷,且可对沙门氏菌数做出定量分析。

3 结论

利用荧光定量PCR(Real Time PCR)技术建立沙门氏菌快速检测方法,经10次重复试验可以证明 $invA$ 基因为沙门氏菌的特异性基因。本研究采用沙门氏菌DNA提取液代替合成质粒,借助沙门氏菌菌悬液浓度的测量结果绘制标准曲线,进行绝对定量,结果可直接换算成 C_q 值与菌落数的比例关系,便于计算。由 C_q 结果和标准曲线可知,Real Time PCR对沙门氏菌检出最低浓度为18 cfu/mL,菌株模板浓度与 C_q 值之间呈良好的线性关系,线性系数(R^2)为0.996,检出准确率为90%。

借助分析溶解曲线排除荧光染料与样品中所有解链DNA均可结合而产生引物二聚体和非特异性扩增产物的干扰因素,通过重复试验得出结论,在26个循环之前出现荧光现象可认定为沙门氏菌,26个循环之后的荧光现象可认定为非沙门氏菌。

利用Real Time PCR检测方法对大连开发区3个地点采样10种蔬菜共60份样品进行检测,检测结果显示,60份样品中5份样品确定存在沙门氏菌,检出率为8.33%。通过计算可得出,检出样品和沙门氏菌检出量分别为金马商场的香菜36 cfu/g、生菜501 cfu/g和马桥子农贸市场的韭菜30 cfu/g、大葱1 905 cfu/g和香菜1 096 cfu/g。试验结果表明,与普通PCR检测方法相比,Real Time PCR检测方法因无需对样品预增菌和对PCR产物电泳而减少耗时,只需通过公式进行一步计算即可定量分析,检测方法更加简单快捷,结果更加精准,是可用于蔬菜中沙门氏菌的快速检测。

参考文献:

- [1] 郭立明,张雪,历华明.沙门氏菌检测方法的研究进展[J].生物技术世界,2014(9):97
- [2] Calvó L,Asunción M P,Joana P B, et al.New Real-Time PCR Assay for the Specific Detection of Salmonella spp. Targeting the $bipA$ [J].

- Gene Food Anal Methods, 2008(1): 236-242
- [3] 江树勋,吴圣静,李寿崧,等.PCR检测沙门氏菌 $invA$ 基因的灵敏度[J].食品科技,2006,10(3): 251-253
- [4] 曹冬梅,袁暮云,史媛媛,等.食品中伤寒沙门氏菌 TaqMan 探针实时 PCR 检测方法[J].检验检疫学刊,2014,3(4):32-36
- [5] 黄金海,孙跃辉,陈瑞,等.食品中沙门氏菌 LAMP 快速检测方法的建立[J].天津大学学报,2012, 45(5):468-472
- [6] 郑秋月,赵彤彤,袁慕云,等.实时荧光 PCR 检测食品中丙型副伤寒沙门氏菌和猪霍乱沙门氏菌[J].食品科技,2014,39(2):297-301
- [7] 徐桂云,樊世杰.家禽沙门氏菌感染现状及不同国家的防治策略[J].中国家禽, 2012, 34(9):7-12
- [8] 张中昌,聂鸿雁.鼠伤寒沙门氏菌所致食物中毒的调查[J].宜春学院学报,2003,25(4):103
- [9] 刘喆,张书萧,王少辉,等.沙门氏菌的检测技术进展[J].中国动物传染病学报, 2012,20(2): 81-86
- [10] Opet N J,Levin R E. Use of β -cyclodextrin and activated carbon for quantification of Salmonella enteritidis from ground beef by conventional PCR without enrichment[J]. Food Microbiology, 2014(38):75-79
- [11] 王勇.食品中三种致病菌的快速检测方法研究[D].吉林:吉林大学,2014:1-128
- [12] 耿士忠,潘志明,刘杰.猪及猪肉中沙门氏菌快速检测的研究进展[J].猪业科学,2010,6(7):100-105
- [13] 韦丽琴.沙门菌实验室检测技术研究进展[J].中国农村卫生事业管理,2014,34(8):962-964
- [14] 何丽,王新为.常见食源性致病菌 PCR 快速检测技术建立[J].中国公共卫生,2014,30(11):1487-1489
- [15] Hong Y, Berrang M E, Liu T, et al. Rapid detection of Campylobacter coli, C. jejuni, and Salmonella enterica on poultry carcasses by using PCR-enzyme-linked immunosorbent assay[J]. Appl Environ Microbiol, 2003, 69(6): 3492-3499
- [16] 宋丽萍,薛晨玉.应用实时荧光 PCR 技术定量检测羊肉中的猪肉成分[J].食品科技,2014,39(10):319-322
- [17] Vincenzina Fusco, Grazia Marina Quero, Maria Morea, et al. Rapid and reliable identification of Staphylococcus aureus harbouring the enterotoxin gene cluster (egc) and quantitative detection in raw milk by real time PCR[J]. International Journal of Food Microbiology,2011, 144(3):528-537
- [18] 吕艳芳,马春颖,励建荣.实时荧光定量 PCR 技术在食源性致病菌检测中的应用[J].食品与发酵科技, 2014, 50(2):80-84
- [19] 赵卫东,郑文杰,贺艳.植物源性食品 DNA 提取方法的建立及几种方法比较[J].食品科技,2012,37(9):306-310
- [20] 王鑫,闰磊,曾庆祝.沙门氏菌的检测技术与方法[J].现代食品科技, 2007,23(5):82-85
- [21] Philippe Corbisier, Wim Brootharets, Sabrina Gioria. Toward Metrological Traceability for DNA Fragment Ratios in GM Quantification. 1. Effect of DNA Extraction Methods on the Quantitative Determination of Bt176 Corn by Real-Time PCR[J]. Agricultural and Food Chemistry,2007,55(9):3249-3257

收稿日期:2015-02-11

玉屏油茶良种果实性状的相关性和主成分分析

丁桂娇¹,阮成江¹,赵月¹,陈文昌²,杨波³,刘四黑⁴

(1. 大连民族大学 资源植物研究所, 辽宁 大连 116600; 2. 玉屏侗族自治县林业局, 贵州 玉屏 554000;
3. 贵州玉屏千林林业投资有限公司, 贵州 玉屏 554000; 4. 玉屏侗族自治县油茶产业发展领导小组办公室,
贵州 玉屏 554000)

摘要:贵州省玉屏侗族自治县为中国油茶之乡。为了选育可在该县推广应用的油茶优良无性系, 对该县油茶良种繁育基地内引进和收集的47个油茶优良无性系的12个果实性状指标分别进行了变异程度、相关性和主成分分析。测定结果表明: 该县引进和选择的油茶优良无性系果实各经济性状间均存在明显的差异; 油茶干籽含油率介于17.22%~42.64%之间, 平均值为34.55%。相关性分析结果表明: 鲜果产量与干籽质量之间呈极显著正相关; 鲜果含油率与干籽含油率间呈极显著正相关, 而与果皮厚度间呈极显著负相关。主成分分析结果表明: 可将12个数量性状归纳为4个主成分(即产量因子、果型因子、含油量因子和单果籽粒数因子), 其累计贡献率为85.705%; 依据各主成分贡献率的大小, 可选择果大、单果籽粒数多、含油率高和结实多的无性系作为油茶优良无性系。

关键词: 油茶; 果实性状; 相关性分析; 主成分分析; 贵州省玉屏侗族自治县

中图分类号: S602.4; S794.4

文献标志码: A

文章编号: 1003—8981(2016)01—0026—07

Correlation and principal component analysis of fruit characteristics in fine *Camellia oleifera* germplasm in Yuping

DING Gui-jiao¹, RUAN Cheng-jiang¹, ZHAO Yue¹, CHEN Wen-chang², YANG Bo³, LIU Si-hei⁴

(1. Institute of Plant Resources, Dalian Nationalities University, Dalian 116600, Liaoning, China;
2. Forestry Bureau of Yuping Dong Autonomous County, Yuping 554000, Guizhou, China;
3. Guizhou Yuping Qian-lin Forest Investment Company Limited, Yuping 554000, Guizhou, China;
4. Oil-tea industrial Development Leading group Office of Yuping Dong Autonomous County, Yuping 554000, Guizhou, China)

Abstract: Yuping Dong Autonomous County is the hometown of Chinese *Camellia oleifera*. To select and breed fine clones, which could be planted in a large-scale in Yuping County, variation degree and correlation of the 12 fruit characteristic indexes of 47 fine *C. oleifera* clones introduced and collected at *C.* seed-breed base were analyzed and principal component analysis was done. The results showed that fruit economic characteristics had significant differences among clones. Oil content in dry seed ranged from 17.22% to 42.64%, with an average of 34.55%. Yield of fresh fruit was very significantly positively correlated with dry seed mass. Oil content in fresh fruit was very significantly positively correlated with oil content in dry seed, and very significantly negatively correlated with peel thickness. The results of principal component analysis showed that 12 quantitative characteristics could be divided into four principal components, which were yield factor, fruit shape factor, oil content factor and single fruit seed number factor, respectively. Their cumulative contribute rate was 85.705%. Based on contribute rate of each principle, the clones with bigger fruit, more

收稿日期: 2015-01-02

基金项目: 贵州省科技成果转化引导基金资助项目(黔科合成转字(2014)5072号), 铜仁市科学技术项目(201487), 中央高校基本科研业务费-自主科研基金重大专项(DC201501070102)。

作者简介: 丁桂娇, 硕士研究生。

通讯作者: 阮成江, 教授, 博士, 博士研究生导师。E-mail: ruan@dlnu.edu.cn

引文格式: 丁桂娇, 阮成江, 赵月, 等. 玉屏油茶良种果实性状的相关性和主成分分析[J]. 经济林研究, 2016, 34(1): 26—32.

seed number, higher oil yield, and higher fruit yield could be select as fine *C. oleifera* clones.

Key words: *Camellia oleifera*; fruit characteristic; correlation analysis; principal component analysis; Yuping Dong
Autonomous County of Guizhou Province

油茶 *Camellia oleifera* 为山茶科山茶属常绿灌木或小乔木, 为我国特有的木本食用油料树种。茶油为珍贵的高级食用油, 被誉为“东方橄榄油”, 长期食用可有效预防心血管疾病^[1-2], 具有很高的经济和社会效益。为了提高油茶产量, 我国学者对油茶的果型和果色^[3]、果实形态变异^[4-5]、果实生长发育特性^[6-7]、果实含油率与果实经济性状间的相关性^[8-9]等方面进行了研究。王湘南等人^[10]对长林系列11个油茶良种干籽含油率的测定结果表明, 干籽含油率介于30%~45%之间, 平均含油率为37.94%。李良等人^[11]对湖北省25个油茶无性系干籽含油率及其主要经济性状指标间的相关性的研究表明, 干籽含油率介于17.4%~39.2%之间, 果实主要经济性状间的相关性由大到小依次为种仁含油率、干籽出仁率、单株产量、冠幅和每平方米冠幅产量。

贵州省铜仁地区的玉屏侗族自治县(以下简称“玉屏县”)已有500多年种植和经营利用油茶的历史, 为1958年周恩来总理亲笔题写的“油茶之乡”, 2001年被国家林业局命名为“全国经济林先进县”, 并授予“中国油茶之乡”的称号。玉屏县是“武陵山片区区域发展与扶贫攻坚规划”中确定的油茶基地, 是贵州省油茶种植面积最大的县, 现有油茶总面积11 940 hm²(其中新油茶林3 867 hm², 老油茶林8 073 hm²), 到2020年油茶面积计划达到13 333 hm², 油茶产业是该县实现农民致富、区域经济社会发展和生态保护共赢的特色高效产业。

为了充分发挥玉屏县作为中国油茶之乡在发展油茶产业上的引领示范作用, 2008年玉屏县从贵州和全国其他油茶利用区引进了油茶优良品种或无性系穗条, 并在茶花泉现代高效农业示范园区的油茶良种繁育基地内进行了嫁接, 以选择适用于玉屏生境的油茶良种或优良无性系, 为解决制约武陵山片区区域发展与扶贫攻坚的油茶低产低效问题提供优良种质。本研究对玉屏油茶良种繁育基地内不同来源地的47个油茶优良无性系的果实性状特征进行了变异程度、相关性和主成分分析, 旨在为选育适于在

玉屏县大面积推广应用的油茶优良无性系提供科学依据。

1 试验地自然概况

玉屏侗族自治县地域地处东经108°34'~109°09', 北纬27°28'~27°31'之间, 属亚热带季风性湿润气候, 冬无严寒, 夏无酷暑。年平均相对湿度79%, 年降水量1 174.1 mm, 年日照时数1 206.7 h。玉屏县地域地处云贵高原向湘西丘陵倾斜的过渡地带, 低山多丘陵间有平地, 海拔多在400~600 m之间。

2 材料与方法

2.1 研究材料

研究材料为玉屏茶花泉现代高效农业示范园区油茶良种繁育基地内引进和收集的47个油茶优良无性系。供试的无性系均为2008年引进或采集的穗条所嫁接, 目前冠幅已达1~2 m², 嫁接穗条的第2年油茶即开始开花, 第3年开始挂果, 第4~5年果实便达到了一定的产量。

2014年10月, 我们对选取的47个油茶优良无性系的果实进行了收集。其中, 玉屏当地的无性系分别为YD-1、YD-2、Y-41、Y-44和DZ-1; 引自贵州等其他地区的无性系有38个, 其编号为1到38; 其余4个分别为长林27号(引自江西)、湘林210(引自湖南)、湘林5号(引自湖南)和岑软11号(引自广西)。

2.2 果实性状指标的测定

测定的果实性状指标共有12个, 包括纵径、横径、纵横径比、果皮厚度、鲜果产量、果数、单果籽粒数、鲜籽质量、鲜果含油率、鲜籽含油率、干籽质量和干籽含油率。

每株优树随机选取3个茶果, 用游标卡尺测量果实纵径(cm)、横径(cm)、果皮厚度(mm), 计算果实的纵横径比。鲜果产量(g)用电子天平称量, 人工计数果数, 每株取5个果实计算单果籽粒数。剥除果皮后, 用天平称量鲜籽质量。干籽含油率的测定方法如下: 取300 g种子置于60 °C的恒温条件下烘干24 h, 用粉碎机粉碎烘干后的种子,

在 60 °C 的恒温条件下烘干 24 h 后, 以索氏抽提方法提取的茶油为标样, 参考董晓丽等人 [12] 采用的方法, 利用 HCY-10 型核磁共振含油量测量仪测定各无性系的干籽含油率。鲜果含油率、鲜籽含油率的计算公式分别如下:

$$\text{鲜籽含油率} = \text{干籽含油率} \times \text{干出籽率};$$

$$\text{鲜果含油率} = \text{鲜籽含油率} \times \text{鲜出籽率}.$$

2.3 统计分析

果实性状特征 (如最大值、最小值、平均

值和变异程度等)、各性状指标间的相关性及性状指标的主成分分析, 均利用 SPSS20.0 软件完成。

3 结果与分析

3.1 果实主要性状特征的分析结果

47 个油茶优良无性系果实性状的频率分布情况如图 1 所示, 其果实主要性状指标的测定结果见表 1。

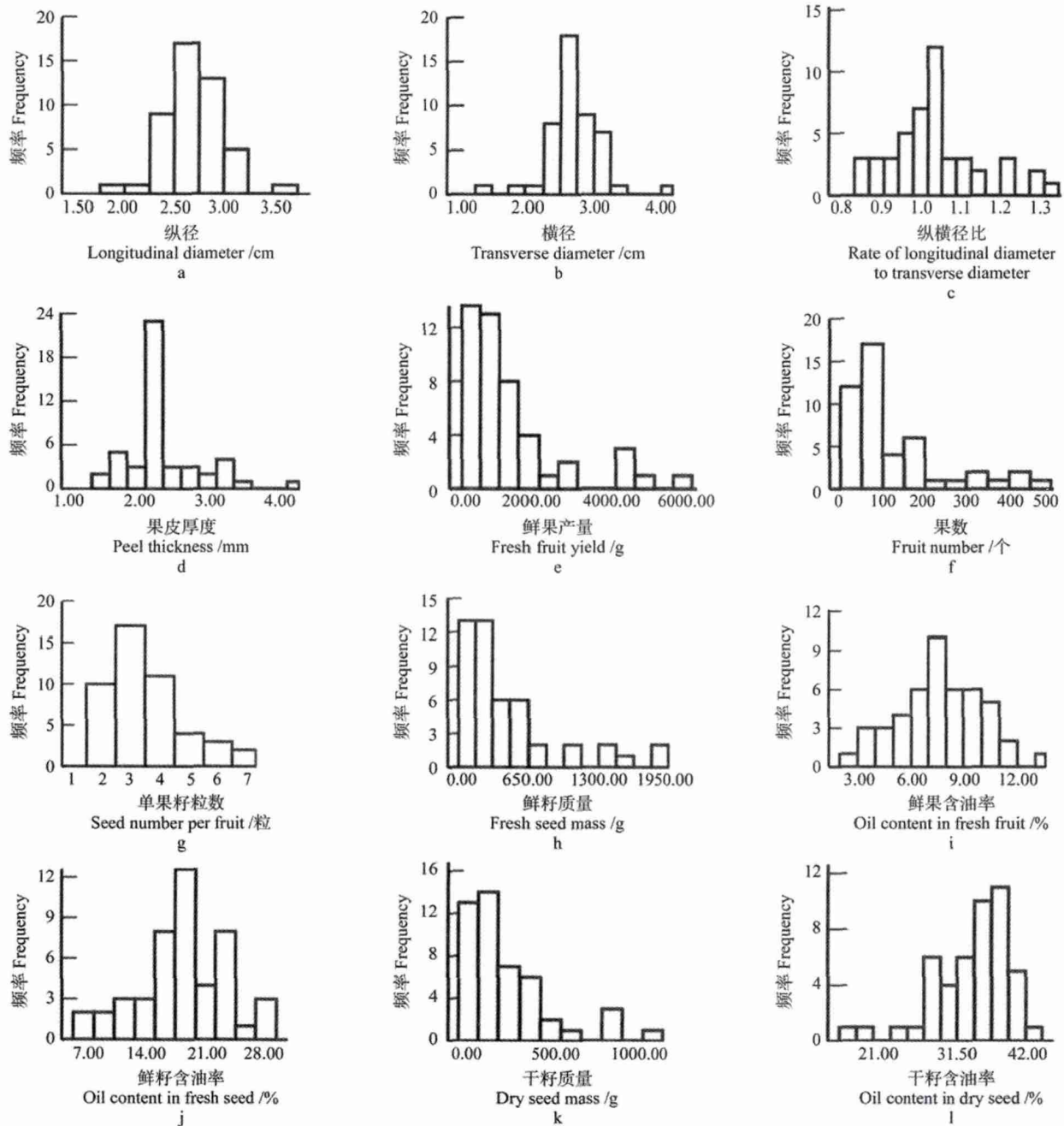


图 1 47 个油茶优良无性系果实主要性状指标的频率分布情况
Fig. 1 Frequency distribution of main fruit characteristic indexes of 47 fine *C. oleifera* clones

在 47 个油茶优良无性系中, 果实最大的为湘林 210, 其横径达 4.25 cm, 纵径达 3.67 cm; 果实最小的为 DZ-1, 其横径仅为 1.49 cm (见表 1)。

根据果实纵横径比, 参考彭绍锋等人 [3] 的分类方法, 可将 47 个油茶优良无性系的果型分为 3 类: 球形 (27 种)、橄榄型 (14 种) 和桔型 (6 种)。47 个

油茶优良无性系的果实厚度在 1.32 ~ 4.49 mm 之间, 平均值为 2.26 mm。

在 47 个油茶优良无性系中, 鲜果产量最高的为 Y-44 (33 207.25 g), 最低的为 DZ-1 (27.37 g)。单株结实最多的无性系为 Y-44 (果实总数为 4 300 个)、最少的为 DZ-1 (果实数仅有 10 个); 单果籽粒数最多的是 YD-2 (7 粒)、最少的为 22 (2 粒)。

在 47 个油茶优良无性系中, 干籽含油率最高

值为 42.64% (无性系 14), 最低值为 17.22% (湘林 210), 大多介于 30% ~ 40% 之间 (如图 11); 鲜籽含油率最大值为 29.38% (无性系 32), 最小值为 5.04% (无性系 15), 大多在 20% 左右 (如图 1j)。

以上分析结果表明, 47 个油茶优良种质果实主要性状指标间均存在明显的差异 (如图 1 和表 1 所示), 其中, 果数变异程度最大, 其次为干籽质量, 然后为鲜籽质量和鲜果产量 (见表 1)。

表 1 47 个油茶优良无性系果实的主要性状指标
Table 1 Main fruit characteristic indexes of 47 fine *C. oleifera* clones

| 性状指标 Characteristic index | 最大值 Maximum | 最小值 Minimum | 平均值 Average | 标准差 Standard deviation | 变异系数 Variation coefficient |
|--|----------------|----------------|----------------|---------------------------|-------------------------------|
| 纵径 Longitudinal diameter /cm | 3.67 | 186.00 | 2.71 | 0.31 | 0.11 |
| 横径 Transverse diameter /cm | 4.25 | 1.49 | 2.70 | 0.42 | 0.15 |
| 纵横径比 Rate of longitudinal diameter to transverse diameter | 1.27 | 0.84 | 1.20 | 0.10 | 0.10 |
| 果皮厚度 Peel thickness /mm | 4.05 | 1.32 | 2.26 | 0.53 | 0.25 |
| 鲜果产量 Fresh fruit yield /g | 33 207.25 | 27.35 | 1 968.59 | 4 789.51 | 2.43 |
| 果数 Fruit number / 个 | 4 300.00 | 10.00 | 216.00 | 612.84 | 2.84 |
| 单果籽粒数 Seed number per fruit / 粒 | 7.00 | 2.00 | 3.55 | 1.32 | 0.37 |
| 鲜籽质量 Fresh seed mass /g | 13 087.25 | 5.40 | 713.82 | 1 870.88 | 2.62 |
| 鲜果含油率 Oil content in fresh fruit /% | 13.64 | 2.03 | 7.59 | 2.62 | 0.32 |
| 鲜籽含油率 Oil content in fresh seed /% | 27.38 | 5.04 | 18.29 | 5.45 | 0.30 |
| 干籽质量 Dry seed mass /g | 7 525.25 | 7.04 | 389.07 | 1 072.95 | 2.76 |
| 干籽含油率 Oil content in dry seed /% | 42.64 | 17.22 | 34.55 | 5.66 | 0.16 |

3.2 果实主要性状指标间的相关性分析结果

47 个油茶优良无性系果实主要性状指标间的相关性分析结果见表 3。由表 3 可知, 果实的纵径和横径间存在极显著正相关 ($r = 0.771$)。果皮厚度与纵径 ($r = 0.695$) 及横径 ($r = 0.695$) 间均存在极显著正相关, 而与单果籽粒数 ($r = 0.292$) 间存在显著相关; 但果皮厚度与鲜果含油率间存在极显著负相关 ($r = -0.426$), 表明果皮越厚, 鲜果含油率越低。鲜果产量与鲜籽质量 ($r = 0.992$)、果数 ($r = 0.987$)、干籽质量 ($r = 0.987$) 间均存在极显著正相关。果数与鲜籽质量 ($r = 0.997$) 和干籽质量 ($r = 0.995$) 间均存在极显著正相关。干籽含油率与鲜籽含油率 ($r = 0.648$) 和鲜果含油率 ($r = 0.550$) 间均存在极显著正相关, 而鲜籽含油率与鲜果含油率 ($r = 0.845$) 间呈极显著正相关, 与纵横径比 ($r = 0.352$) 间呈显著相关, 与横径 ($r = -0.393$) 间呈极显著负相关; 鲜果含油率与果皮厚度 ($r = -0.426$) 和横径 ($r = -0.426$) 间均呈极显著负相关, 而与纵径 ($r = -0.337$) 间呈

显著负相关。

3.3 果实性状的主成分分析

主成分性状分量中的每个权重值代表某一性状对综合指标的贡献值, 即每个性状的联合系数。能充分代表 12 个性状遗传信息的第 1、第 2、第 3 和第 4 主成分被选取, 因其累积贡献率均达 85.705% ($> 85%$) (见表 4)。第 1 主成分中, 鲜籽质量的荷载系数最大 (0.996), 然后是鲜果产量和干籽质量, 这是反映果实及种籽产量的主要因子, 因此, 第 1 主成分可称为产量因子, 其特征值为 4.053, 贡献率为 33.775%; 第 2 主成分可称为果实形状因子, 果实的纵径和横径的荷载系数分别为 -0.870 和 -0.671, 其特征值为 3.601, 贡献率为 30.005%, 累积贡献率为 63.780%; 第 3 主成分可称为含油量因子, 荷载系数为 0.579, 特征值 1.592, 贡献率为 13.267%, 累积贡献率为 77.047%; 第 4 主成分可称为单果籽粒数因子, 荷载系数为 -0.539, 特征值 1.039, 贡献率为 8.658%, 累积贡献率达 85.705%。在主成

表 2 47个油茶优良无性系果实主要性状间的相关性分析结果[†]
Table 2 The correlation analysis results of main fruit characteristics among 47 fine lines of *Camellia oleifera*

| 相关性指标 Correlate characteristic index | 纵径 Longitudinal diameter | 横径 Transverse diameter | 纵横径比 Rate of longitudinal diameter to transverse diameter | 果皮厚度 Peel thickness | 鲜果产量 Fresh fruit yield | 果数 Fruit number |
|--|-----------------------------|---------------------------|--|------------------------|---------------------------|--------------------|
| 横径 Transverse diameter | 0.771** | | | | | |
| 纵横径比 Rate of longitudinal diameter to transverse diameter | - 0.066 | - 0.671** | | | | |
| 果皮厚度 Peel thickness | - 0.695** | 0.672** | - 0.236 | | | |
| 鲜果产量 Fresh fruit yield | - 0.045 | 0.132 | - 0.166 | 0.006 | | |
| 果数 Fruit number | 0.015 | 0.066 | - 0.100 | - 0.047 | 0.987** | |
| 单果籽粒数 Seed number per fruit | 0.140 | 0.233 | - 0.193 | 0.292* | 0.062 | 0.011 |
| 鲜籽质量 Fresh seed mass | 0.049 | 0.120 | - 0.143 | - 0.007 | 0.992** | 0.997** |
| 鲜果含油率 Oil content in fresh fruit | - 0.337* | - 0.426** | 0.226 | - 0.426** | 0.104 | 0.130 |
| 鲜籽含油率 Oil content in fresh seed | - 0.191 | - 0.393** | 0.352* | - 0.216 | 0.023 | 0.052 |
| 干籽质量 Dry seed mass | 0.030 | 0.099 | - 0.128 | - 0.025 | 0.987** | 0.995** |
| 干籽含油率 Oil content in dry seed | - 0.173 | - 0.371* | 0.285 | - 0.206 | 0.075 | 0.111 |

| 相关性指标 Correlate characteristic index | 单果籽粒数 Seed number per fruit | 鲜籽质量 Fresh seed mass | 鲜果含油率 Oil content in fresh fruit | 鲜籽含油率 Oil content in fresh seed | 干籽质量 Dry seed mass |
|--|--------------------------------|-------------------------|-------------------------------------|------------------------------------|-----------------------|
| 横径 Transverse diameter | | | | | |
| 纵横径比 Rate of longitudinal diameter to transverse diameter | | | | | |
| 果皮厚度 Peel thickness | | | | | |
| 鲜果产量 Fresh fruit yield | | | | | |
| 果数 Fruit number | | | | | |
| 单果籽粒数 Seed number per fruit | | | | | |
| 鲜籽质量 Fresh seed mass | 0.039 | | | | |
| 鲜果含油率 Oil content in fresh fruit | - 0.025 | 0.108 | | | |
| 鲜籽含油率 Oil content in fresh seed | - 0.018 | 0.024 | 0.845** | | |
| 干籽质量 Dry seed mass | 0.005* | 0.996** | 0.127 | 0.049 | |
| 干籽含油率 Oil content in dry seed | 0.062 | 0.088 | 0.550** | 0.648** | 0.082 |

[†] “**”表示 $P < 0.01$ 的极显著相关; “*”表示 $P < 0.05$ 的显著相关; 数据前的“-”号表示负相关。
 “**” mean highly significant correlation at the level of 0.01; “*” mean significant correlation at the level of 0.05; “-” mean negative correlation.

表 3 47个油茶优良无性系果实主要性状指标的主成分分析结果
Table 3 The result of principal component analysis of fruit main characteristic indexes of 47 fine *C. oleifera* clones

| 性状指标 Characteristic index | 第 1 ~ 4 主成分的荷载系数 Load factors of 1-4 principle components | | | |
|---|---|--------------------------------|--------------------------------|--------------------------------|
| | 主成分 1 Principle component 1 | 主成分 2 Principle component 2 | 主成分 3 Principle component 3 | 主成分 4 Principle component 4 |
| 纵径 Longitudinal diameter /cm | 0.171 | - 0.670 | 0.505 | 0.451 |
| 横径 Transverse diameter /cm | 0.163 | - 0.870 | 0.307 | - 0.088 |
| 纵横径比 Rate of longitudinal diameter to transverse diameter | - 0.189 | 0.554 | 0.049 | 0.674 |
| 果皮厚度 Peel thickness /mm | 0.0180 | - 0.728 | 0.049 | 0.204 |
| 鲜果产量 Fresh fruit yield /g | 0.993 | - 0.004 | - 0.055 | 0.013 |
| 果数 Fruit number / 个 | 0.991 | 0.059 | - 0.079 | 0.061 |
| 单果籽粒数 Seed number per fruit / 粒 | 0.068 | - 0.233 | 0.474 | - 0.539 |
| 鲜籽质量 Fresh seed mass /g | 0.996 | 0.009 | - 0.062 | 0.041 |
| 鲜果含油率 Oil content in fresh fruit /% | 0.143 | 0.770 | 0.392 | - 0.179 |
| 鲜籽含油率 Oil content in fresh seed /% | 0.063 | 0.725 | 0.579 | 0.016 |
| 干籽质量 Dry seed mass /g | 0.992 | 0.033 | - 0.075 | 0.055 |
| 干籽含油率 Oil content in dry seed /% | 0.114 | 0.628 | 0.519 | - 0.011 |
| 特征值 Eigenvalue (λ) | 4.053 | 3.601 | 1.592 | 1.039 |
| 贡献率 Contribution rate /% | 33.775 | 30.005 | 13.267 | 8.658 |
| 累积贡献率 Cumulative contribution rate /% | 33.775 | 63.780 | 77.047 | 85.705 |

分分析中,分量为负值且值较大,说明分量对该主成分的负面影响越大,分量为正值且值较大,说明对主成分越有利。因而,可依据各主成分贡献率的大小,以主成分为单位选育优质高产的油茶优良无性系。主成分分析结果表明,可选果大、单果籽粒数多、高含油量和结实多的无性系作为优良种质。

4 结论与讨论

4.1 结论

1) 玉屏县引进和选择的47个油茶优良无性系果实主要经济性状间均存在明显的差异,变异程度最大的是果数,其次为干籽质量、鲜籽质量和鲜果产量;干籽含油率最高值为42.64%(无性系14),最低值为17.22%(湘林210),平均值为34.55%;鲜籽含油率最大值为29.38%(无性系32),最小值为5.04%(无性系15),大多在20%左右。

2) 鲜果产量与鲜籽质量、果数及干籽质量之间均存在极显著正相关;果数与鲜籽质量及干籽质量之间均存在极显著正相关;干籽含油率与鲜籽含油率和鲜果含油率间均存在极显著正相关,而鲜籽含油率与鲜果含油率间呈极显著正相关,与果实的纵横径比间呈显著相关,与果实的横径呈极显著负相关;鲜果含油率与果皮厚度和果实横径间均呈极显著负相关,与果实纵径间呈显著负相关。

3) 可将油茶无性系的12个果实性状指标归纳为4个主成分(即产量因子、果实形状因子、含油量因子和单果籽粒数因子),其累积贡献率为85.705%,依据各主成分贡献率的大小,以主成分为单位选育油茶无性系,则可先选择果大、单果籽粒数多、含油量高和结实多的性状组合,结合无性系的品质特征,最后选育优质高产的油茶优良无性系。

4.2 讨论

1) 果实性状的研究可为油茶优良无性系的选育提供科学依据。47个油茶优良无性系鲜果产量与单株产油量的散点分布情况如图2所示。由图2可知,47个油茶优良无性系,除了单株产油量最高的Y-44外,可分为两种类型:Ⅰ类为高产油无性系(单株产油量>260g),此类共有6个,分别为33、YD-2、36、37、34和6;Ⅱ类为低产油无性系(单株产油量<200g),此类共有41个。因此,在油茶选育推广中可选择产量高并

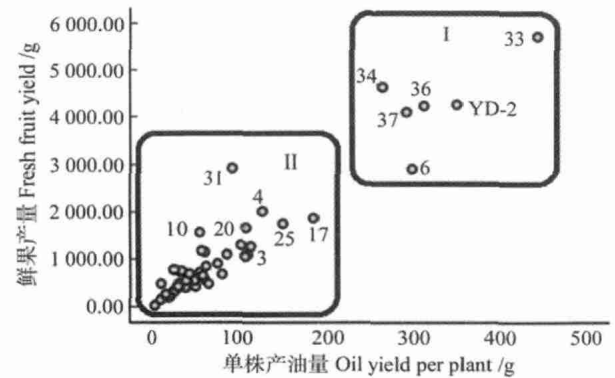


图2 47个油茶优良无性系鲜果产量与单株产油量的散点分布图

Fig. 2 Scatter plot of fresh fruit yield and oil yield per plant of 47 fine *C. oleifera* clones

且单株产油量高的优良无性系作为种质,如Y-44(鲜果产量33207.25g,单株产油量3261g)、33(鲜果产量5723.81g,单株产油量443.60g)、YD-2(鲜果产量4263.74g,单株产油量351.33g)和36(鲜果产量4233.62g,单株产油量312.86g)。

2) 果实性状的研究也可为油茶种质资源的收集、保存及优良品系的培育提供科学依据。可将单株产果量高和干籽含油率高的油茶无性系作为育种的杂交亲本,以选育产油量高的油茶种质。如干籽含油率最高的14(42.64%)与单株鲜果产量最高的Y-44(33207.25g)、17(42.49%)与33(5723.81g)及38(41.64%)与34(4635.6g)等亲本组合;也可将果皮薄的油茶无性系和单株产油量高的无性系作为育种的杂交组合,以选育高产且含油量高的油茶种质,如22(果皮厚度为1.32mm)与Y-44(单株产油量为3261g)及28(果皮厚度为1.5mm)与33(单株产油量为443.60g)等亲本组合。

3) 从其他省区引进的4个油茶优良无性系与其原产地的含油率间均存在一定的差异:长林27号(引自江西)的干仁含油率,在原产地为48.60%^[13],而在玉屏为48.92%;引自广西的岑软11号的干仁含油率,在原产地为33.92%^[14],而在玉屏为36.55%;湘林5号(引自湖南)的干籽含油率,在原产地为33.15%^[10],而在玉屏为33.62%。相反,引自湖南的湘林210的干籽含油率,在原产地为36%~41%^[15],而在玉屏(17.22%)却有显著下降。

参考文献:

- [1] 余才鼎.油茶生产的经济效益和生态效益初探[J].科协论坛,2007,(7):90-91.
- [2] 张规富,谢深喜,薛华.油茶营养成分的分析测定[J].甘肃

- 科学学报,2011,23(3):48—51.
- [3] 彭邵锋,陈永忠,张日清,等.油茶果形果色分类及经济性状[J].中南林业科技大学学报,2007,27(5):34—39.
- [4] 黄勇,姚小华,王开良,等.小果油茶种实形态变异频率及其多样性指数分析[J].江西农业大学学报,2011,33(2):293—299.
- [5] 黄勇,谢一青,李志真,等.小果油茶表型多样性分析[J].植物遗传资源学报,2014,15(2):270—278.
- [6] 周长富,姚小华,林萍,等.油茶果实发育特性及水分、油脂含量动态分析[J].扬州大学学报:农业与生命科学版,2013,34(3):52—53.
- [7] 陈永忠,肖志红,彭邵锋,等.油茶果实生长特性和油脂含量变化的研究[J].林业科学研究,2006,19(1):9—14.
- [8] 黎章矩,华家其,曾燕如,等.油茶果实含油率影响因子研究[J].浙江林学院学报,2010,27(6):935—940.
- [9] 章承林,章建斌,周席华,等.油茶干籽含油率与主要经济性状的相关性[J].经济林研究,2010,28(2):83—85.
- [10] 王湘南,陈永忠,伍利奇,等.油茶种子含油率和脂肪酸组成研究[J].中南林业科技大学学报,2008,28(3):12—17.
- [11] 李良,程军勇,周席华,等.油茶干籽含油率及主要经济性状相关性分析[J].林业科技开发,2011,25(4):56—59.
- [12] 董晓丽,白鹏莉,王金妹,等.核磁共振法与索氏提取法测定能源植物种子含油量的比较研究[J].可再生能源,2011,29(3):21—24.
- [13] 杜洋文,邓先珍,周伟国,等.油茶长林品种引进及综合评价[J].林业科技开发,2014,28(3):96—100.
- [14] 陈金艳,曾祥艳,廖健明,等.广西油茶优良无性系果实经济性状的分析与评价[J].广西林业科学,2011,40(4):256—258.
- [15] 赵琦.推介几个优良无性系油茶品种[J].农村百事通,2009,(24):35—36.

[本文编校: 伍敏涛]

（上接第 25 页）

- [15] 刘树文,何玲,任玉华.葡萄果实中花色素合成及其影响因素[J].中外葡萄与葡萄酒,1999,(2):79—81.
- [16] 李红卫,冯双庆,赵玉梅.冬枣采后果肉和果皮中氧化酶活性变化及乙醇积累的研究[J].农业工程学报,2003,(3):165—165.
- [17] 孙建设,马宝,章文才.富士苹果果皮色泽形成的需光特性研究[J].园艺学报,2000,27(3):213—215.
- [18] Dell J, Molnar E, Mates Z. Carotenoid composition in the fruits of red (capsicum annum varly copersiciforme rubrum) during ripening; biosynthesis of carotenoids in red paprika[M]. J. Agri Food Chem, 2001, 49:1517—1523.
- [19] 原永兵,刘成连,鞠志国,等.苹果果皮红色成的机制[J].园艺学年评,1995,(1):121—132.
- [20] Siegelman HW, Hendricks SB. Photocontrol of anthocyanin synthesis in apple skin[J]. Plant Physiol, 1958,33:185—190.
- [21] Lancaster JE. Regulation of color in apple[J]. Critical Rev Plant Sei, 1992,10:487—502.
- [22] Sauer MC. External control of anthocyanin formation in apple[J]. Scientia Hort, 1990,42:181—218.
- [23] 赵文恩,张劲强.高效液相色谱法测定苹果果皮的类胡萝卜素[J].果树学报,2001,18(2):95—97.
- [24] 鞠志国,刘成连,原永兵,等.莱阳荏梨酚类物质合成的调节及其对果实品质的影响[J].中国农业科学,1993,26(4):44—48.
- [25] 高飞飞,尹金华.荔枝果皮叶绿素、类胡萝卜素、花色苷的形成规律及对果色的影响[J].华南农业大学学报,2000,21(1):16—18.
- [26] Jane EL, Carolyn EL, Peter FR, *et al.* Influence of pigment composition on skin color in a wide range of fruit and vegetables[J]. J Amer Soc Hort sci, 1997, 122(4):594—598.
- [27] Dsnald HV. Relating coloirmeter measurement of plant color to the royal horticultural society color chart [J]. Hortsciene, 1992, 27(12): 1256—1260.
- [28] Chen L J, Hrazdina G. Structural aspects of anthocyanin-flavonoid complex formation and its role in plant color[J]. Phytochem, 1981, 20:297—303.
- [29] Jack Sullivan. Anthaeyanin[J]. CPNewletter, 1998,27(3):26—28.
- [30] Griesbach RJ. Orchid flower color-genetic and cultural interactions[J]. Amer Orchid Soc Bul, 1983,52(10):1056—1061.
- [31] 陆秀君,格根塔娜,梅梅,等.N、P、K配比施肥对美国红枫幼苗生长及叶色变化的影响[J].中南林业科技大学学报,2015,35(5):9—15.
- [32] 韩宏伟,王建友,李勇,等.沙壤土条件下不同施肥水平对成龄枸杞生长及产量的影响[J].中南林业科技大学学报,2015,35(4):46—50.

[本文编校: 闻 丽]

玉屏油茶果实性状的相关性和主成分分析

赵 月¹, 阮成江¹, 丁桂娇¹, 吴应勇², 伍明祥², 吴 娟²

(1.大连民族学院资源植物研究所,辽宁 大连 116600;2.玉屏侗族自治县科学技术局,贵州 玉屏 554000)

摘要:为选育玉屏油茶优良无性系,对自然生长群体的油茶果实性状进行了变异程度、相关性和主成分分析。结果表明,个体间单株鲜子重、鲜果产量及鲜果含油率间存在明显差异,干子含油率最高为42.23%、最低为17.19%;单株鲜果产量与单株总果数间呈极显著正相关($r=0.759$);鲜子含油率与干子含油率呈极显著正相关($r=0.664$),与果皮厚度呈极显著负相关($r=-0.397$);12个数量性状可归纳为4个主成分,分别为产量因子、含油量因子、果型因子和果皮厚度因子,累积贡献率为76.887%。为选育优质高产新品系,可依据各主成分贡献率的大小,以主成分为单位选育优质高产的油茶个体,优先选择果大、皮薄、高干子含油率性状结合的个体作为后代材料。

关键词:油茶(*Camellia oleifera*);自然群体;果实性状;相关性分析;主成分分析

中图分类号:S794.4

文献标识码:A

文章编号:0439-8114(2016)03-0673-05

DOI:10.14088/j.cnki.issn0439-8114.2016.03.032

Correlation and Principal Component Analyses on Characteristics of *Camellia oleifera* Fruit in Yuping County

ZHAO Yue¹, RUAN Cheng-jiang¹, DING Gui-jiao¹, WU Ying-yong², WU Ming-xiang², WU Juan²

(1. Institute of Plant Resources, Dalian Nationalities University, Dalian 116600, Liaoning, China;

2. Science and Technology Bureau of Yuping Dong Autonomous County, Yuping 554000, Guizhou, China)

Abstract: Aiming to breed superior clones of *Camellia oleifera*, variation degree, correlation coefficient and principal component of *C. oleifera*'s fruit traits were analyzed for nature populations. The results indicated that, there were significant differences for weight of fresh seeds, weight of fresh fruits and fresh fruit oil content among different individuals. The highest oil content in dry seeds could reach 42.23%, and the lowest was only 17.19%; Weight of fresh fruits were significantly positively correlated with the number of fruits ($r=0.759$); Fresh seed oil content were significantly positively correlated with dry seed oil content ($r=0.664$), and significantly negatively correlated with peel thickness ($r=-0.397$); Twelve quantitative traits of *C. oleifera* could be divided into 4 principal components by principal component analysis, that was the yield factor, oil content factor, fruit type factor and fruit peel thickness factor, these additive contribute proportions were 76.887%. For the breeding of a new line or variety with high yield and good quality, according to the contribution rate of principal component, principal component could be chosen to breed the individual with high yield and good quality, the line or variety with big fruits and thin peel, high oil content in dry seeds was preferentially selected as progeny materials.

Key words: *Camellia oleifera*; natural populations; fruit traits; correlation analysis; principal component analysis

中国利用的植物食用油中,木本油料所占比重较小。随着生活水平的提高,人们对植物食用油的需求越来越多,但由于中国人多地少,利用更多

土地种植草本油料植物很困难,因此发展木本食用油料是解决食用油供应不足的最好出路^[1]。油茶(*Camellia oleifera*)属山茶科山茶属常绿灌木或小乔

收稿日期:2015-03-14

基金项目:中央高校基本科研业务费-自主科研基金重大专项(DC201501070102);国家民族事务委员会大连民族大学与贵州省玉屏侗族自治县校地合作项目(210005、201487);贵州省科技成果转化引导基金(黔科合成转字[2014]5072号);铜仁市科学技术项目(铜科发[2014]56号)

作者简介:赵 月(1993-),女(蒙古族),内蒙古通辽人,在读硕士研究生,主要从事资源植物分子育种与开发利用研究,(电话)0411-87652536(电子信箱)zy932867@163.com;通信作者,阮成江(1972-),男,教授,博士,博士生导师,主要从事油料能源植物种质创新与开发利用研究,(电话)0411-87652536(电子信箱)ruan@dlnu.edu.cn。

木,是中国南方主要的经济林木,与油棕、橄榄和椰子并称为世界四大木本食用油料树种^[2]。从油茶子中制备的茶油是中国特有的木本油脂^[3],被誉为“东方橄榄油”^[4],长期食用能增强血管弹性和韧性,延缓动脉粥样硬化,增加肠胃吸收功能,促进内分泌腺体激素分泌,防治神经功能下降,提高人体免疫力等^[5]。

为提高油茶产量和改良茶油品质,中国学者在油茶良种选育方面开展了一系列工作,目前全国已选育出优良无性系 300 余个,正在推广使用的品种达 200 多个^[6],这些优良油茶品种为各地区油茶高产稳产发挥了重要作用。玉屏(侗族自治县)种植和经营利用油茶已有 500 多年的历史,现有油茶种植面积 1.2 万 hm^2 。国内关于油茶果实性状遗传变异规律的研究已有较多报道^[7-9],但目前尚未见关于玉屏油茶自然群体果实主要性状变异规律的报道。为此,本研究对玉屏油茶自然生长群体的果实产量特征进行调查观测,对不同单株的产量和种子含油量等果实性状进行了变异程度、相关性和主成分分析,旨在为选育优质高产油茶无性系提供一定的依据。

1 材料与方法

2014 年 10 月,在玉屏油茶自然生长群体中随机选择一片样地,收集样地内 52 个单株(编号为 1~52)的果实,对果型、果色和果实性状进行调查观测。

依据彭邵锋等^[10]的研究结果,果色可分为红色、青色、青红色和青黄色 4 类,果形可分为橄榄形、卵形、球形和橘形 4 种。

果实性状指标主要包括:①果实纵径、横径及果皮厚度。从每个单株果实中随机取 5 个油茶果,用游标卡尺测量果实纵径、横径和果皮厚度,计算平均值;②单株总果数、单株鲜果产量、单株鲜子重、单果种子数和单株干子重;③鲜果含油率、鲜子含油率和干子含油率。以索氏抽提法提取的茶油为对照样,参考董晓丽等^[11]的方法,利用核磁共振含油量测量仪(HCY-10 型)测定各样株的干子含油率。鲜出子率=鲜子重÷鲜果重×100%;干出子率=干子重÷鲜子重×100%;鲜子含油率=干子含油率×干出子率;鲜果含油率=鲜子含油率×鲜出子率。

果实性状的变异程度、相关性和主成分分析运用 SPSS 20.0 软件进行。

2 结果与分析

2.1 果形和果色

参考彭邵锋等^[10]的分类方法,根据果实纵横径比的平均值(x)为 1.10 及标准差(s)为 0.14,得出

$x+s=1.24$ 、 $x-s=0.96$ 。油茶果实分为四类:橄榄形(果实纵横径比 ≥ 1.24),样株包括 1、3、23、28、31、36、39、47 和 51;卵形($1.10 \leq$ 果实纵横径比 < 1.24),样株包括 2、4、5、6、13、18、20、21、26、30、32、33、48、49 和 50;球形($0.96 \leq$ 果实纵横径比 < 1.10),样株包括 8、9、12、14、15、16、17、19、24、25、27、34、37、38、40、42、43、44 和 46;橘形(果实纵横径比 < 0.96),样株包括 7、10、11、22、29、35、41、45 和 52。其中,橄榄形、卵形、球形和橘形的样株数分别占总样株数的 17%、29%、37%和 17%。

52 个油茶样株中,24 个样株的果色为青红色、17 个为青色、2 个为红色、9 个为青黄色,其中果实为青红色和青黄色的样株占总数的 63%。

2.2 果实性状变异程度

从果实性状的变异程度(图 1)可以看出,52 个样株的果实纵径介于 1.43~2.85 cm 之间,平均值为 2.28 cm;果实横径介于 1.43~2.88 cm 之间,平均值为 2.09 cm;果实纵横径比介于 0.84~1.37 之间,平均值为 1.10;果皮厚度介于 1.09~4.26 mm 之间,平均值为 2.18 mm;单株结实最多的为样株 8(果实总数为 1 470 个)、最少的为 17(果实总数为 4 个);单株鲜果产量最高的为样株 7(9 360.60 g),最低的为样株 17(19.77 g);单株鲜子重最高的为样株 27(71 268.70 g),最低的为样株 17(5.72 g);单果种子数最多的为样株 51(4 个)、最少的为样株 13、22 和 30(1 个);单株干子重平均值为 170.20 g,最高的为样株 7(1 609.86 g)、最低的为样株 17(3.68 g);鲜果含油率平均值为 6.51%,最高的为样株 29(17.77%)、最低的为样株 15(1.25%);鲜子含油率平均值为 20.13%,最高的为样株 46(32.68%)、最低的为样株 33(9.15%);干子含油率介于 17%~40%之间,其中有 3 个样株的干子含油率达 40%以上,分别为样株 25(41.32%)、样株 39(42.23%)和样株 40(40.13%);玉屏油茶自然生长群体的 52 个样株 12 个果实性状均存在明显变异(表 1),根据变异系数,其变异类型可划分为两种:强变异型($CV \geq 100\%$),包括 4 个性状指标:单株鲜子重、单株干子重、单株鲜果产量和单株总果数;中变异型($10\% \leq CV < 100\%$),包括 8 个果实性状指标:鲜子含油率、果皮厚度、单果种子数、鲜果含油率、干子含油率、果实纵径、果实横径和果实纵横径比。

2.3 果实性状的相关性分析

从表 2 可以看出,果实纵径和横径间呈极显著正相关($r=0.532$);果皮厚度与果实横径间呈显著正相关($r=0.323$),与鲜子含油率间呈极显著负相关($r=-0.397$),表明果皮越厚,鲜子含油率越低。

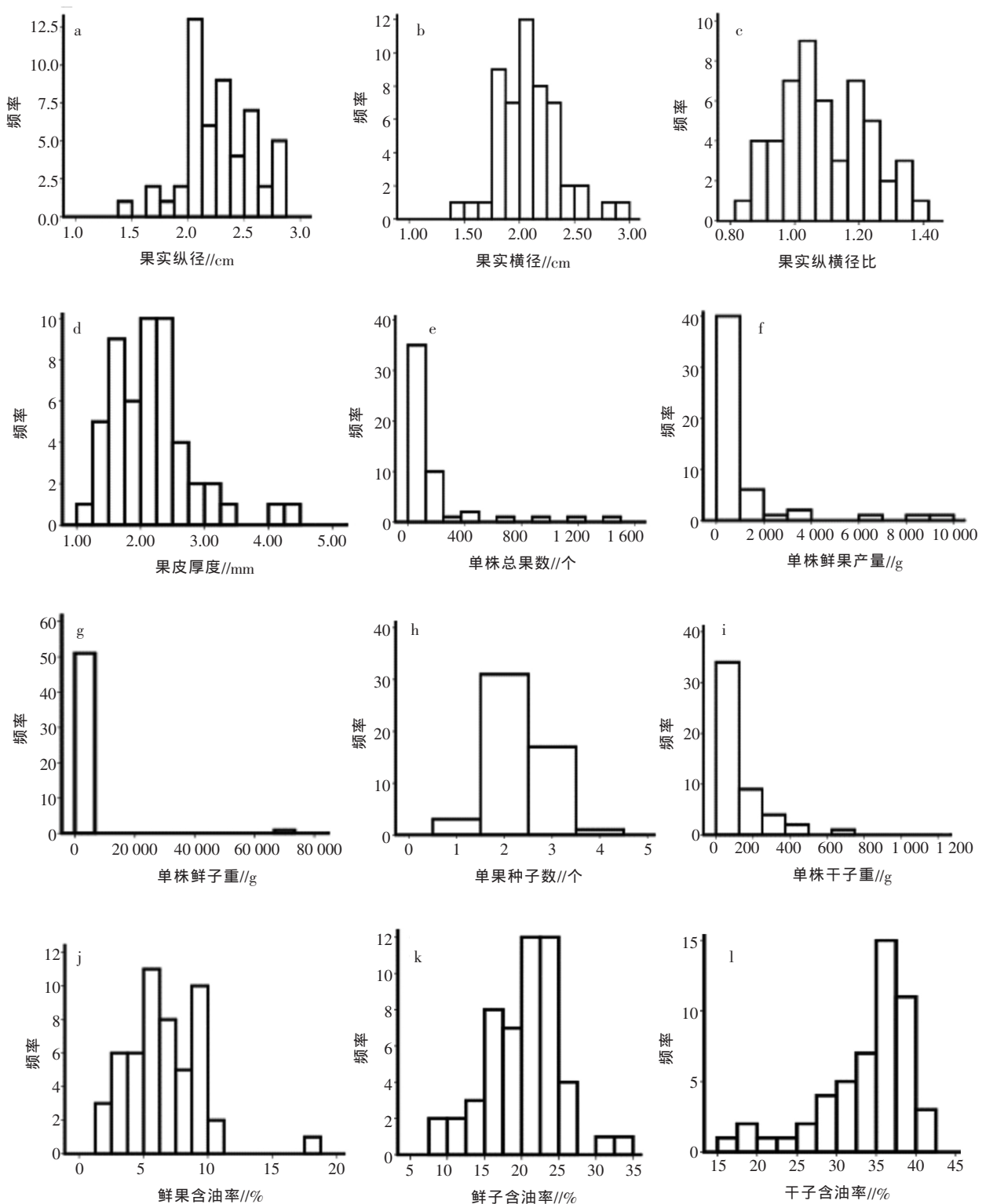


图 1 油茶数量性状的频率分布

单株鲜果产量与单株总果数间呈极显著正相关 ($r=0.759$)。单株总果数与单株鲜子重 ($r=0.446$) 和单果种子数间呈显著正相关 ($r=0.285$)。干子含油率与鲜子含油率间呈极显著正相关 ($r=0.664$)；鲜子含油率则与单株干子重间呈极显著正相关 ($r=0.523$)；鲜果含油率与果实横径间呈显著正相关 ($r=0.332$)，与单株总果数和单株鲜果产量及单果种子数间呈极显

著正相关, 相关系数分别为 0.948、0.803 和 0.361。

2.4 果实性状的主成分分析

主成分性状分量中的每个权重值代表某一性状对综合指标的贡献值, 即每个性状的联合系数。能充分代表 12 个性状遗传信息的第 1、2、3 和 4 主成分被选取, 因其累积贡献率达 76.887% (表 3)。第 1 主成分中, DSW 的系数最大 (0.932), 然后是 FFW

表1 油茶数量性状的方差分析

| 性状 | 最小值 | 最大值 | 均值+标准误 | 变异系数//% | 方差 | 偏度系数 | 峰度系数 |
|-----------|-------|-----------|----------------|---------|---------------|-------|-------|
| 果实纵径//cm | 1.43 | 2.85 | 2.28+0.04 | 13.51 | 0.09 | -0.05 | 0.08 |
| 果实横径//cm | 1.43 | 2.88 | 2.09+0.04 | 13.30 | 0.08 | 0.51 | 1.05 |
| 果实纵横径比 | 0.84 | 1.37 | 1.10+0.02 | 12.46 | 0.02 | 0.24 | -0.84 |
| 果皮厚度//mm | 1.09 | 4.26 | 2.18+0.09 | 29.27 | 0.41 | 1.19 | 2.38 |
| 单株总果数//个 | 4 | 1 470 | 175+40.47 | 166.57 | 85 171.62 | 3.07 | 9.68 |
| 单株鲜果产量//g | 19.77 | 9 360.60 | 1 079.24+66.47 | 178.05 | 3 692 409.00 | 3.23 | 10.58 |
| 单株鲜子重//g | 5.72 | 71 268.70 | 1 648.51+67.52 | 598.20 | 97 247 172.78 | 7.17 | 51.61 |
| 单果种子数 | 1 | 4 | 2.31+0.08 | 26.50 | 0.37 | 0.26 | 0.15 |
| 单株干子重//g | 3.68 | 1 609.86 | 170.20+42.44 | 179.85 | 93 702.02 | 3.59 | 13.96 |
| 鲜果含油率//% | 1.25 | 17.77 | 6.51+0.40 | 44.60 | 8.43 | 0.91 | 3.03 |
| 鲜子含油率//% | 9.15 | 32.68 | 20.13+0.68 | 24.36 | 24.05 | -0.05 | 0.45 |
| 干子含油率//% | 17.19 | 42.23 | 33.73+0.82 | 17.54 | 35.01 | -1.20 | 0.88 |

表2 油茶数量性状的表型相关

| | FLD | TD | FTLDR | PT | FN | FFW | FSW | SFN | FFOC | FSOC | DSW |
|-------|---------|----------|--------|----------|---------|---------|--------|---------|--------|---------|-------|
| TD | 0.532** | | | | | | | | | | |
| FTLDR | 0.536** | -0.422** | | | | | | | | | |
| PT | 0.166 | 0.323* | -0.130 | | | | | | | | |
| FN | 0.075 | 0.232 | -0.138 | -0.122 | | | | | | | |
| FFW | 0.127 | 0.237 | -0.069 | 0.028 | 0.759** | | | | | | |
| FSW | -0.093 | -0.031 | -0.075 | -0.159 | 0.446** | 0.208 | | | | | |
| SFN | 0.431** | 0.253 | 0.209 | -0.175 | 0.285* | 0.245 | -0.049 | | | | |
| FFOC | 0.160 | 0.332* | -0.140 | -0.085 | 0.948** | 0.803** | 0.304* | 0.361** | | | |
| FSOC | -0.019 | 0.067 | -0.098 | -0.397** | 0.071 | 0.076 | 0.084 | 0.270 | 0.102 | | |
| DSW | -0.219 | -0.090 | -0.172 | -0.209 | -0.031 | 0.019 | 0.003 | 0.008 | -0.054 | 0.523** | |
| DSOC | -1.26 | 0.104 | -0.267 | -0.191 | -0.008 | 0.002 | 0.050 | 0.082 | -0.003 | 0.664** | 0.831 |

注:表中FLD表示果实纵径(cm);TD表示果实横径(cm);FTLDR表示果实纵横径比;PT表示果皮厚度(mm);FN表示单株总果数;FFW表示单株鲜果产量(g);FSW表示单株鲜子重(g);SFN表示单果种子数;FFOC表示鲜果含油率(%);FSOC表示鲜子含油率(%);DSW表示单株干子重(g);DSOC表示干子含油率(%);**表示在0.05水平显著相关,***表示在0.01水平显著相关;N=52。

表3 油茶数量性状的主成分分析

| | FLD | TD | FTLDR | PT | FFW | FN | SFN | FSW | FFOC | FSOC | DSW | DSOC | λ | CP//% | ACP//% |
|---|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|-------|--------|--------|-------|-----------|--------|--------|
| 1 | 0.263 | 0.464 | -0.169 | -0.124 | 0.905 | 0.819 | 0.389 | 0.492 | 0.097 | 0.297 | 0.932 | 0.193 | 3.216 | 26.796 | 26.796 |
| 2 | -0.460 | -0.195 | -0.326 | -0.438 | -0.115 | -0.142 | 0.077 | -0.057 | 0.850 | 0.728 | -0.155 | 0.864 | 2.615 | 21.974 | 48.770 |
| 3 | 0.755 | 0.220 | 0.578 | -0.106 | -0.265 | -0.160 | -0.380 | 0.614 | 0.122 | 0.341 | -0.160 | 0.193 | 1.775 | 14.790 | 63.560 |
| 4 | 0.124 | 0.753 | -0.620 | 0.646 | -0.171 | -0.055 | -0.315 | -0.107 | 0.100 | -0.034 | -0.082 | 0.234 | 1.599 | 13.327 | 76.887 |

注:表中 λ 表示特征根;CP表示贡献率;ACP表示累积贡献率。

(0.905)和FN(0.819),这主要反映果实及种子产量因子,因此,第1主成分可称为产量因子,其特征值为3.216,贡献率为26.796%;第2主成分可称为含油量因子,其性状系数大小顺序为DSOC(0.864)>FFOC(0.850)>FSOC(0.728),其特征值为2.615,贡献率为21.974%,累积贡献率为48.770%;第3主成分可称为果形因子,性状系数大小顺序为FLD(0.755)>FTLDR(0.578)>TD(0.220),特征值1.775,贡献率为14.790%,累积贡献率为63.560%;第4主成分可称为果皮厚度因子,性状系数为0.646,特征

值1.599,贡献率为13.327%,累积贡献率达76.887%。

2.5 单株含油量分类分析

依据样株含油量差异可将其分为3类(图2)。高产油单株(单株产油量 ≥ 500 g)包括:21(682.74g)、8(630.65g)和7(504.54g)3个样株;中产油单株($100\text{g} \leq$ 单株产油量 < 500 g)包括:27(266.78g)、6(165.24g)、28(158.55g)、2(157.78g)和39(152.35g)5个样株以及单株产油量不足100g的44个低产油单株。

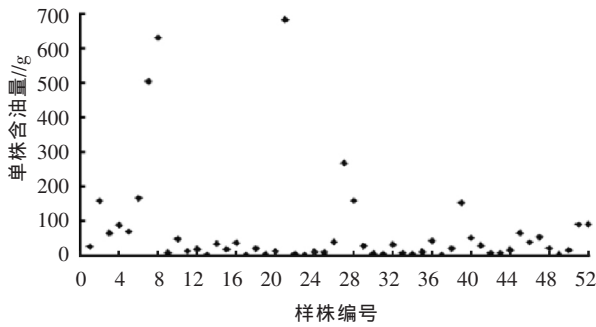


图 2 单株含油量散点图

3 小结

试验结果表明,个体间单株鲜子重、鲜果产量及鲜果含油率间存在显著差异,干子含油率最高为 42.23%、最低为 17.19%;单株鲜果产量与单株总果数间呈极显著正相关($r=0.759$);鲜子含油率与干子含油率呈极显著正相关($r=0.664$),与果皮厚度呈极显著负相关($r=-0.397$);12 个数量性状可归纳为 4 个主成分,分别为产量因子、含油量因子、果形因子和果皮厚度因子,累积贡献率为 76.887%。

贵州省油茶产量普遍偏低,且存在不均匀性^[12],经调查研究发现,油茶自然生长群体不同个体间单株鲜果产量及鲜果含油率间均存在极显著差异,单株鲜果产量大于 6 000 g,干子含油率大于 30%的个体只有 2 个,多数个体单株鲜果产量不足 2 000 g,近 1/3 个体干子含油率不到 30%。因此改善油茶种质资源,提高含油率是目前亟待解决的问题。单株产油量是油茶高产的直接决定因子。本研究为中国油茶之乡玉屏选育高产的油茶优良无性系提供了基础,如高产油茶单株中产油量超过 500 g 的可直接选为优良单株,经过进一步观测调查发展为优良无性系。

评价油茶含油率最常用的指标主要有鲜果含油率和干子含油率,生产和科研上主要使用鲜果含油率,较为直观和易于应用,但其常由很多指标综合计算得到^[13],主要受单株鲜果产量及干子含油率的影响。因此为选育优质高产无性系,可利用单株鲜果产量高的样株 7、21 和 8 结合干子含油率高的样株 38、24 和 39 作为育种亲本组合,以培育高产高含油量的油茶优良无性系。

参考文献:

[1] 唐津平,黄永康.发展前景广阔的油茶产业[J].大众科技,2008(3):99-101.

[2] 陈 丽,刘映良,柳 青,等.油茶果实经济性状及含油率比较[J].贵州农业科学,2012,40(5):162-165.

[3] 李 丽,吴雪辉,寇巧花.茶油的研究现状及应用前景[J].中国油脂,2010,35(3):10-13.

[4] 张规富,谢深喜,薛 华.油茶营养成分的分析测定[J].甘肃科学学报,2011,23(3):48-51.

[5] 吴雪辉,黄永芳,谢治芳.茶油的保健功能作用及开发前景[J].食品科技,2003,24(6):39-43.

[6] 梁跃龙,杨治国,黄红兰.中国油茶育种现状及其发展趋势[J].江西林业科技,2010(2):24-28.

[7] 黄 勇,姚小华,王开良,等.小果油茶种实形态变异频率及其多样性指数分析[J].江西农业大学学报,2011,33(2):292-299.

[8] 丁晓纲,张应中,陈清凤,等.广宁红花油茶果实性状的遗传变异规律[J].经济林研究,2012,30(2):23-27.

[9] 彭丽梅,张 露,胡冬南,等.赣系油茶 10 个无性系始果期果实性状分析[J].江西农业大学学报,2011,33(5):906-910.

[10] 彭邵锋,陈永忠,张日清,等.油茶果形果色分类及经济性状[J].中南林业科技大学学报,2007,27(5):33-39.

[11] 董晓丽,白鹏莉,王金妹,等.核磁共振法与索氏提取法测定能源植物种子含油量的比较研究[J].可再生能源,2011,29(3):21-24.

[12] 罗在柒,戴晓勇,王 进,等.贵州省油茶林地生产力与种群构件特征分析[J].贵州林业科技,2013,41(4):14-18.

[13] 章承林,章建斌,周席华,等.油茶干籽含油率与主要经济性状的相关性[J].经济林研究,2010,28(2):82-85.

(上接第 672 页)

定[J].中药材.2005,28(6):453-455.

[15] 张 伟,吴 波.火焰原子吸收法测定柴胡药材中的五种微量元素[J].广州化工,2011,39(23):95-96.

[16] 曹海禄,魏建和,何春娥,等.不同土壤种植下四种柴胡种质药材中常量及微量元素含量的比较研究[J].光谱学与光谱分析,2010,30(4):1105-1108.

[17] 耿茂林,宋萍萍,徐增莱,等.不同种质来源地上部分的 HPLC 比较研究[J].中国中药杂志,2010,35(5):574-578.

[18] 韩丽琴,董顺福,刘建华.中草药中铁元素与总黄酮含量测定与药效关系分析[J].时珍国医国药,2007,18(11):2647-2648.

[19] 董 冬,董顺福,韩丽琴,等.何首乌中总黄酮与微量元素含量分析及其药效机理研究[J].时珍国医国药,2008,19(9):2218-

2219.

[20] 唐纯翼.麦冬果中微量元素及总黄酮的测定[J].冷饮与速冻食品工业,2005,11(2):35-37.

[21] 董顺福,韩丽琴,赵文秀,等.中药红花总黄酮及微量元素含量的分析研究[J].光谱学与光谱分析,2008,28(1):225-227.

[22] 钟 越,董顺福,雷钧涛,等.柴胡中微量元素和总黄酮测定与清除自由基构效关系分析[J].安徽农业科学,2008,36(19):8137-8138.

[23] 边晓丽,王晓理,李金娜,等.6 种抗衰老中药清除氧自由基和脂质过氧化作用的测定[J].西北药学杂志,2001,16(2):68-69.

玉屏油茶良种果实性状的途径及聚类分析

丁桂娇¹ 阮成江^{1*} 赵月¹ 陈文昌² 杨波³ 刘四黑⁴

(1. 大连民族大学 资源植物研究所 辽宁 大连 116600; 2. 玉屏侗族自治县林业局 贵州 玉屏 554000;
3. 贵州玉屏千林林业投资有限公司 贵州 玉屏 554000; 4. 玉屏侗族自治县油茶办 贵州 玉屏 554000)

摘要: 为选育可在贵州玉屏推广应用的油茶优良无性系,对47份油茶种质的果实性状进行了途径和聚类分析。结果表明:干籽质量受果数及鲜籽质量的直接正效应影响,鲜果产量对干籽质量的间接正效应最显著;干籽含油率受鲜籽质量的直接正效应影响最大;单株产油量受鲜果产量、果数及干籽质量的直接正效应影响,鲜籽质量对单株产油量的间接途径系数最大。玉屏油茶优良无性系可分为2个类群,第I、II类均可划分为3个亚类群,各亚类群中干籽含油率相近的无性系多归在不同小亚类群中,说明干籽含油率是油茶果实表型性状中最重要的分类性状。

关键词: 油茶; 果实性状; 途径分析; 聚类分析; 玉屏

中图分类号: S794.4 **文献标志码:** A **文章编号:** 1004-3268(2016)02-0040-04

Path and Cluster Analysis of Fruit Traits on Fine *Camellia oleifera* Germplasm in Yuping

DING Guijiao¹ RUAN Chengjiang^{1*} ZHAO Yue¹ CHEN Wenchang² YANG Bo³ LIU Sihei⁴

(1. Institute of Plant Resources, Dalian Nationalities University, Dalian 116600, China; 2. Forestry Bureau of Yuping Dong Autonomous County, Yuping 554000, China; 3. Guizhou Yuping Qianlin Forest Investment Limited Company, Yuping 554000, China; 4. Office of Oil-tea of Yuping Dong Autonomous County, Yuping 554000, China)

Abstract: To select and breed superior clones of *Camellia oleifera* which could be planted in a large scale in Yuping, Guizhou province, path and cluster analyses of fruit traits on 47 *Camellia oleifera* clones were done in this study. The results showed that fruit number and fresh seed mass had directly positive impact on dry seed mass, and fresh fruit yield had significantly indirectly positive impact on dry seed mass. Dry seed oil content was largely positively impacted by fresh seed mass. Oil yield per plant was positively impacted by fresh fruit yield, fruit number and dry seed mass directly, and significantly impacted by fresh seed mass indirectly. Germplasm of *Camellia oleifera* in Yuping could be divided into two categories, and the two categories both could be divided into three sub-types. According to dry seed oil content, these sub-types could be divided into small groups. This showed that dry seed oil content was the most important category trait in the fruit phenotypic traits of *Camellia oleifera*.

Key words: *Camellia oleifera*; fruit traits; path analysis; cluster analysis; Yuping

油茶(*Camellia oleifera*)为山茶科山茶属常绿灌木或小乔木,为我国特有的木本食用油料树种,在我国湖北、湖南、广西、江西、安徽等南方丘陵地区均有分布。油茶籽制备的茶油为珍贵的高级食用油,被

称为东方橄榄油,长期食用可有效预防心血管疾病^[1-2],具有很高的经济价值和保健功效。为了提高油茶产量,我国学者对油茶的果型和果色^[3]、果实形态变异^[4-5]、果实生长发育特性^[6-7]进行了研

收稿日期:2015-06-30

基金项目:中央高校基本科研业务费—自主科研基金重大培育项目(DC201501070102);贵州省科技成果转化引导基金项目(20145072);铜仁市科学技术项目(201487)

作者简介:丁桂娇(1990-),女,辽宁本溪人,在读硕士研究生,研究方向:资源植物分子育种与开发利用。

E-mail: 623842747@qq.com

* 通讯作者:阮成江(1956-),男,河南信阳人,教授,博士,主要从事油料能源植物种质创新与开发利用研究。

E-mail: yywu@sohu.com

究,并进行了果实性状的通径及聚类分析^[8-9]等。袁军等^[9]对海南省油茶种质资源进行聚类分析,结果表明:海南油茶种质资源在形态、茶油品质等方面具有多样性,与高州油茶和普通油茶具有显著区别,除海南博鳌资源外,其他海南油茶被划分为一类。康志雄等^[10]连续 3 a 对 3 片试验林 74 个油茶无性系的经济性状进行测定,通径和聚类分析表明:干籽率对果实含油率的直接效应最大,红桃、红球、黄桃、黄球等果实类型含油率较高,音桃、音玖等果实类型含油率较低。

贵州省铜仁地区的玉屏侗族自治县(玉屏县)有 500 多年种植和经营利用油茶的历史,为 1958 年周恩来总理亲笔提名的“油茶之乡”,2001 年被国家林业局命名为全国经济林先进县,并授予“中国油茶之乡”称号。玉屏现有油茶总面积为 1.194 万 hm^2 (新油茶林 0.387 万 hm^2 ,老油茶林 0.807 万 hm^2),到 2020 年油茶面积计划达到 1.333 万 hm^2 。玉屏是武陵山片区区域发展与扶贫攻坚规划确定的油茶基地,是贵州省油茶种植面积最大的县,油茶产业是该县实现农民致富、区域经济社会发展和生态保护共赢的特色高效农业。为充分发挥玉屏作为中国油茶之乡在油茶产业发展上的引领示范作用,2008 年从贵州和全国其他油茶利用区引进了油茶优良品种或无性系穗条,并在茶花泉现代高效农业示范园区的油茶良种繁育基地进行嫁接,以选择适于玉屏生境的油茶良种或优良无性系,为解决制约武陵山片区区域发展与扶贫攻坚的油茶低产低效问题提供优良种质。本研究对玉屏油茶良种繁育基地内不同来源的 47 个油茶优良无性系的果实性状特征进行了通径和聚类分析,探讨油茶果实性状的相互关系及类型划分,为选育适宜在玉屏大面积推广应用的油茶优良无性系提供科学依据。

1 材料和方法

1.1 试验地概况及供试材料

玉屏侗族自治县位于 108°34'~109°09'E、27°28'~27°31'N,属亚热带季风性湿润气候,冬无严寒,夏无酷暑。年平均相对湿度 79%,年降水量 1 174.1 mm,年日照时数 1 206.7 h。该自治县地处云贵高原向湘西丘陵倾斜的过渡地带,低山多丘陵间有平地,海拔多在 400~600 m。

供试材料为玉屏茶花泉现代高效农业示范园区油茶良种繁育基地引进和收集的 47 个油茶优良无性系。无性系均为 2008 年引进或采集的穗条所嫁接,目前冠幅已达 1~2 m^2 ,嫁接穗条第 2 年即开始开花,第 3 年开始挂果,第 4~5 年果实达到一定产量。2014 年 10 月对选取的 47 个油茶优良无性系的果实进行收集。其中玉屏当地无性系分别为 YD-1、YD-2、Y-41、Y-44、DZ-1。引自贵州其他地

区的无性系有 38 个,编号为 1~38。其余 4 个分别为长林 27 号(引自江西)、湘林 210(引自湖南)、湘林 5 号(引自湖南)和岑软 11 号(引自广西)。

1.2 果实性状测定

测定的果实性状共 13 个,包括纵径、横径、纵横径比、果皮厚度、鲜果产量、果数、单果籽粒数、鲜籽质量、鲜果含油率、鲜籽含油率、干籽质量、干籽含油率和单株产油量。每株优树随机选取 3 个茶果,用游标卡尺测量果实纵径(cm)、横径(cm)、果皮厚度(mm),计算果实纵横径比。鲜果产量(g)用电子天平称量,人工记数果数,每株取 5 个果实计算单果籽粒数。剥除果皮后,用天平称量鲜籽质量。干籽含油率测定方法为:300 g 种子在 60 °C 恒温下烘干 24 h 后用粉碎机粉碎,60 °C 恒温烘干 24 h 后,以索氏抽提方法提取的茶油为标样,参考董晓丽等^[11]的方法,利用 HCY-10 型核磁共振含油量测量仪测定各无性系的干籽含油率。鲜籽含油率、鲜果含油率及单株产油量的计算方法如下:鲜籽含油率=干籽含油率×干出籽率;鲜果含油率=鲜籽含油率×鲜果出籽率;单株产油量=单株鲜果产量×鲜果含油率。

1.3 数据处理与分析

果实性状间的相关性分析、通径分析及聚类分析利用 SPSS 20.0 软件完成。其中,分别以干籽质量、干籽含油率和单株产油量为因变量,其他果实性状为自变量进行通径分析;对玉屏油茶优良无性系 13 个果实性状进行聚类分析。

2 结果与分析

2.1 果实性状与干籽质量、干籽含油率及单株产油量的通径分析

2.1.1 果实性状与干籽质量的通径分析 从表 1 可以看出,鲜果产量($r=0.987$)、果数($r=0.995$)、鲜籽质量($r=0.996$)与干籽质量呈极显著正相关,并且三者与干籽质量的直接通径系数依次为:鲜籽质量(0.735) > 果数(0.271) > 鲜果产量(-0.007)。其中果数和鲜籽质量均对干籽质量产生直接正效应,并对干籽质量产生较大的间接正效应。而鲜果产量对干籽质量产生直接负效应,但其产生的间接正效应最大,间接通径系数为 0.994。

表 1 果实性状与干籽质量的通径分析

| 性状 | 相关系数 | 直接通径系数 | 间接通径系数 |
|-------|---------|--------|--------|
| 纵径 | 0.030 | -0.081 | 0.111 |
| 横径 | 0.099 | 0.101 | -0.002 |
| 纵横径比 | -0.128 | 0.054 | -0.182 |
| 果皮厚度 | -0.025 | 0.003 | -0.028 |
| 鲜果产量 | 0.987** | -0.007 | 0.994 |
| 果数 | 0.995** | 0.271 | 0.724 |
| 单果籽粒数 | 0.005 | -0.026 | 0.031 |
| 鲜籽质量 | 0.996** | 0.735 | 0.261 |
| 鲜果含油率 | 0.127 | -0.007 | 0.134 |
| 鲜籽含油率 | 0.049 | 0.047 | 0.002 |
| 干籽含油率 | 0.082 | -0.028 | 0.110 |

注: **表示 $P < 0.01$, * 表示 $P < 0.05$,下同。

2.1.2 果实性状与干籽含油率的途径分析 由表 2 可知,干籽含油率与鲜果含油率($r=0.550$)及鲜籽含油率($r=0.648$)均存在极显著正相关,与果实横径($r=-0.371$)存在显著负相关。各果实性状与干籽含油率的直接途径系数依次为:鲜籽质量(3.466) > 纵径(1.615) > 鲜籽含油率(0.736) > 单果籽粒数(0.083) > 果皮厚度(-0.038) > 鲜果含油率(-0.224) > 果数(-0.715) > 鲜果产量(-0.763) > 纵横径比(-1.382) > 干籽质量(-1.899) > 横径(-2.423)。其中,鲜籽质量对干籽含油率产生直接正效应且最大;横径对干籽含油率产生的直接负效应最大,但其产生的间接正效应也最大(2.052),干籽质量(1.981)和纵横径比(1.667)对干籽含油率产生的间接正效应也较大。表明干籽含油率受鲜籽质量的直接正效应最大,受横径的间接正效应最大,干籽质量和纵横径比对干籽含油率的间接正效应较大。

表 2 果实性状与干籽含油率的途径分析

| 性状 | 相关系数 | 直接途径系数 | 间接途径系数 |
|-------|---------|--------|--------|
| 纵径 | -0.173 | 1.615 | -1.788 |
| 横径 | -0.371* | -2.423 | 2.052 |
| 纵横径比 | 0.285 | -1.382 | 1.667 |
| 果皮厚度 | -0.206 | -0.038 | -0.168 |
| 鲜果产量 | 0.075 | -0.763 | 0.838 |
| 果数 | 0.111 | -0.715 | 0.826 |
| 单果籽粒数 | 0.062 | 0.083 | -0.021 |
| 鲜籽质量 | 0.088 | 3.466 | -3.378 |
| 鲜果含油率 | 0.550** | -0.224 | 0.774 |
| 鲜籽含油率 | 0.648** | 0.736 | -0.088 |
| 干籽质量 | 0.082 | -1.899 | 1.981 |

2.1.3 果实性状与单株产油量的途径分析 从表 3 可以看出,单株产油量与鲜果产量($r=0.995$)、果数($r=0.992$)、鲜籽质量($r=0.992$)以及干籽质量($r=0.991$)呈极显著正相关,这 4 个果实性状对单株产油量的直接途径系数依次为:鲜果产量(0.775) > 果数(0.657) > 干籽质量(0.210) > 鲜籽质量(-0.640)。其中,鲜果产量、果数及干籽质量均对单株产油量产生直接正效应,而鲜籽质量对单株产油量产生直接负效应,但鲜籽质量产生的间接正效应最大(1.632)。

表 3 果实性状与单株产油量的途径分析

| 性状 | 相关系数 | 直接途径系数 | 间接途径系数 |
|-------|---------|--------|--------|
| 纵径 | -0.001 | 0.021 | -0.022 |
| 横径 | 0.079 | -0.033 | 0.112 |
| 纵横径比 | -0.138 | -0.035 | -0.103 |
| 果皮厚度 | -0.048 | -0.005 | -0.043 |
| 鲜果产量 | 0.995** | 0.775 | 0.220 |
| 果数 | 0.992** | 0.657 | 0.335 |
| 单果籽粒数 | 0.039 | 0.009 | 0.030 |
| 鲜籽质量 | 0.992** | -0.640 | 1.632 |
| 鲜果含油率 | 0.164 | 0.060 | 0.104 |
| 鲜籽含油率 | 0.072 | -0.013 | 0.085 |
| 干籽质量 | 0.991** | 0.201 | 0.790 |
| 干籽含油率 | 0.102 | -0.015 | 0.117 |

2.2 油茶优良无性系的聚类分析

利用 13 个果实性状,对 47 个玉屏油茶优良无性系进行 Ward 法系统聚类(图 1) 距离系数用欧式距离。在欧氏距离 20 处 47 个油茶优良无性系分为 2 个类群,第 I 类包括 30 个无性系,分别为:9、13、7、38、10、30、3、18、8、14、29、22、27、19、YD-1、28、20、Y-41、26、2、4、长林 27 号、21、11、12、17、32、16、24 及 DZ-1,其中仅长林 27 号引自江西,其他均引自贵州地区;第 II 类包括 17 个优良无性系,分别为:5、23、6、YD-2、25、岑软 11 号、湘林 210、1、33、37、36、35、湘林 5 号、31、34、15 及 Y-44,其中湘林 210 和湘林 5 号引自湖南,岑软 11 号引自广西,YD-2、Y-44 为玉屏当地无性系,其他均引自贵州其他地区。

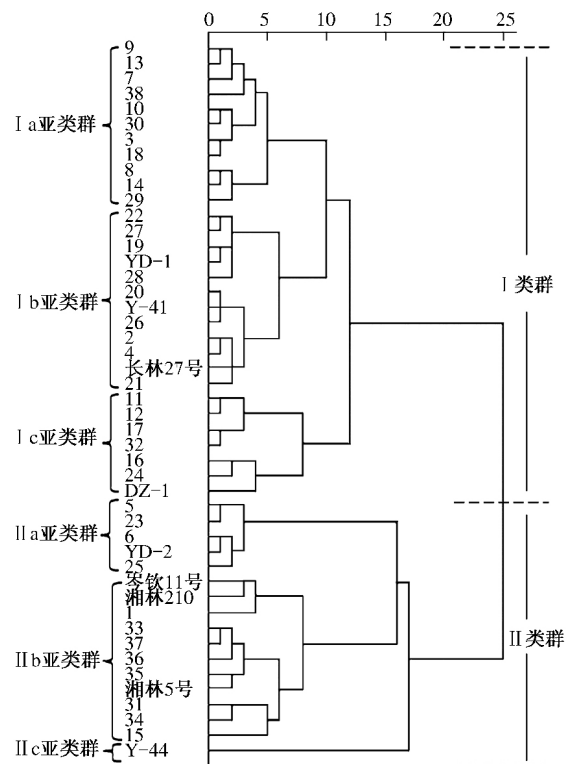


图 1 玉屏油茶果实表型性状聚类分析结果

在欧式距离 15 处第 II 类可分为 3 个亚类群,单果籽粒数多的 5、23、6、YD-2(鲜果产量 4 263.74 g,单株产油量 351.33 g,干籽含油率 39.81%,单果籽粒数 7 个)、25(干籽含油率 39.62%,单果籽粒数 6 个)归在 II a 亚类群,均引自贵州地区;果实大的岑软 11 号、湘林 210、1、33(鲜果产量 5 723.81 g,单株产油量 443.60 g)、37、36(鲜果产量 4 233.62 g,单株产油量 312.86 g)、35、湘林 5 号、31、34、15 归在 II b 亚类群,在 II b 亚类群中干籽含油率低的岑软 11 号、湘林 210 及 1 归在一个亚亚类群中,而干籽含油率高的 31、34、15 归在一个亚亚类群中,其他 5 个干籽含油率中等的优良无性系归在一个亚亚类

群中;高产量和高产油量的居群 Y-44(鲜果产量最高,为 33 207.25 g,单株产油量 3 261 g) 归为 II c 亚类群。

在欧式距离 8 处第 I 类可分为 3 个亚类群,干籽含油率高的 9、13、7、38、10、30、3、18、8、14(干籽含油率最高,为 42.64%)、29 归在 I a 亚类群,干籽含油率中等的 22、27、19、YD-1、28、20、Y-41、26、2、4、长林 27 号、21 同归在 I b 亚类群,11、12、17、32、16、24 及 DZ-1 归在 I c 亚类群,I c 亚类群中干籽含油率高的 11、12、17 及 32 归在一个亚亚类群,干籽含油率低的 16、24、DZ-1 归在一个亚亚类群。说明干籽含油率是玉屏油茶果实表型性状中最重要的分类性状。

3 结论与讨论

通过对玉屏油茶优良无性系的 13 个果实性状进行通径分析,结果表明:干籽质量受果数、鲜籽质量的直接正效应影响较大,影响系数最大的为鲜籽质量,鲜果产量对干籽质量的间接正影响最大;干籽含油率受鲜籽质量的直接正效应影响最大,受横径的间接正效应影响最大,干籽质量和纵横径比对于干籽含油率的间接正影响较大;单株产油量受鲜果产量、果数及干籽质量的直接正效应影响较大,其中直接影响系数最大的为鲜果产量,单株产油量受鲜籽质量的间接正效应影响最大。

47 个玉屏油茶优良无性系可分为第 I、II 类 2 个类群,第 I、II 类又均可划分为 3 个亚类群。各亚类群中干籽含油率相近的无性系多归在不同小亚亚类群中,说明干籽含油率是玉屏油茶果实表型性状中最重要的分类性状。

果实性状的研究可为选育油茶优良无性系(品种)以及油茶种质资源的收集、保存及优良品系培育提供科学依据。在油茶选育推广中可选择产量高并且单株产油量高的优良无性系作为种质,如 Y-44、33、YD-2 和 36;将单株产果量高的油茶无性系和干籽含油率高的无性系作为育种的杂交亲本,可选育产油量高的油茶种质,如干籽含油率最高的 14 与单株鲜果产量最高的 Y-44 杂交;将单果籽粒数多且含油率高的油茶无性系与高产油量无性系作为杂交亲本,可选育高产高出油量的油茶种质,如 YD-2、25 与 Y-44 杂交。

本试验发现,引自其他地区的油茶优良无性系岑软 11 号、湘林 210、湘林 5 号及长林 27 号的含油率与原产地均有一定差异,引自广西的岑软 11 号在原产地的干籽含油率为 33.92%^[12],而在玉屏为 36.55%;湘林 5 号(引自湖南)的干籽含油率在原

产地为 33.15%^[13],而在玉屏为 33.62%;长林 27 号(引自江西)的干籽含油率在原产地为 48.60%^[14],在玉屏为 48.92%;相反,引自湖南的湘林 210 的干籽含油率在原产地为 36%~41%^[15],而在玉屏(17.22%)却有显著下降。说明在引种和推广油茶时,需在进行生态适应性观测调查后,再选择适合本地生态条件的优良无性系(品种)进行推广。

参考文献:

- [1] 张婷,刘双青,董妍玲,等.湖北省油茶种质资源的遗传基础研究[J].河南农业科学,2011,40(11):53-56.
- [2] 张规富,谢深喜,薛华,等.油茶营养成分的分析测定[J].甘肃科学学报,2011,23(3):48-51.
- [3] 彭邵锋,陈永忠,张日清,等.油茶果果色分类及经济性状[J].中南林业科技大学学报,2007,7(5):34-39.
- [4] 黄勇,姚小华,王开良,等.小果油茶种实形态变异频率及其多样性指数分析[J].江西农业大学学报,2011,33(2):293-299.
- [5] 黄勇,谢一青,李志真,等.小果油茶表型多样性分析[J].植物遗传资源学报,2014,15(2):270-278.
- [6] 周长富,姚小华,林萍,等.油茶果实发育特性及水分、油脂含量动态分析[J].扬州大学学报(农业与生命科学版),2013,34(3):52-53.
- [7] 陈永忠,肖志红,彭邵锋,等.油茶果实生长特性和油脂含量变化的研究[J].林业科学研究,2006,19(1):9-14.
- [8] 左继林,张时煌,龚春,等.不同地理起源的油茶无性系品质聚类分析[J].江西林业科技,2010(6):7-9.
- [9] 袁军,韩志强,贺舍予,等.海南省油茶资源主要形态和经济性状及聚类分析[J].植物遗传资源学报,2014,15(6):1388-1391.
- [10] 康志雄,邹达明.油茶经济性状通径分析和聚类分析研究[J].福建林学院学报,1989,9(2):146-151.
- [11] 董晓丽,白鹏莉,王金妹,等.核磁共振法与索氏提取法测定能源植物种子含油量的比较研究[J].可再生能源,2011,29(3):21-24.
- [12] 陈金艳,曾祥艳,廖健明,等.广西油茶优良无性系果实经济性状的分析和评价[J].广西林业科学,2011,40(4):256-258.
- [13] 王湘南,陈永忠,伍利奇,等.油茶种子含油率和脂肪酸组成研究[J].中南林业科技大学学报,2008,28(3):12-17.
- [14] 杜洋文,邓先珍,周伟国,等.油茶长林品种引进及综合评价[J].林业科技开发,2014,28(3):96-100.
- [15] 赵琦.推介几个优良无性系油茶品种[J].农村百事通,2009(24):35-36.

文章编号: 2096 - 1383(2016)03 - 0207 - 05

玉屏油茶果实性状的通径和聚类分析

赵月¹, 阮成江¹, 丁桂娇¹, 吴应勇², 伍明祥²

(1. 大连民族大学 资源植物研究所, 辽宁 大连 116605;

2. 玉屏侗族自治县科学技术局, 贵州 玉屏 554000)

摘要: 为选育玉屏当地油茶优良无性系, 对玉屏自然生长群体的油茶果实性状进行了通径和聚类分析。主要果实性状因子对产量的通径分析表明, 单株产油量的通径系数为 0.867, 单株干籽重的通径系数为 0.413, 鲜果含油率的通径系数为 -0.121, 单株总果数的通径系数为 -0.260。四者对单株鲜果产量的直接影响力为: 单株产油量 > 单株干籽重 > 鲜果含油率 > 单株总果数。聚类分析表明, 自然群体 52 个个体可划分为两个类群, I 类具有高产高含油量特性, II 类具有低产低含油量特性。II 类可分为 IIa 和 IIb 两个亚类群, 各亚类群中干籽含油率相近的无性系多归在同一亚类群中, 说明干籽含油率是油茶果实表型性状中最重要的分类性状。研究结果可为玉屏油茶自然群体种质资源分类以及资源开发利用提供参考。

关键词: 油茶; 自然群体; 果实性状; 通径分析; 聚类分析

中图分类号: S794.4 文献标志码: A

DOI:10.13744/j.cnki.cn21-1431/g4.2016.03.004

Path and Cluster Analysis of Fruit Characteristics of *Camellia Oleifera* in Yuping County

ZHAO Yue¹, RUAN Cheng - jiang¹, DING Gui - jiao¹,

WU Ying - yong², WU Ming - xiang²

(1. Institute of Plant Resources, Dalian Minzu University, Dalian Liaoning 116605, China;

2. Science and Technology Bureau of Yuping Dong Autonomous County,

Yuping Guizhou 554000, China)

Abstract: To select and bred superior clones, path and cluster analysis of *Camellia oleifera*'s fruit traits were studied for nature populations. The path analysis of different fruit characteristics to fresh - fruit yield per plant showed that the path coefficient of oil - production per plant was 0.867, the path coefficient of dry seed weight was 0.413, the path coefficient of oil content in fresh fruit was -0.121 and the path coefficient of fruit number per plant was -0.260. The direct influences on fresh fruit yield per plant of these four factors are oil - production per plant > dry seed weigh > oil content in fresh fruit > fruit number per plant. Cluster analysis showed that the natural populations of 52 individuals were classified into two classes. One group was high fruit yield and high oil content per plant and the other group was low fruit yield and low oil content per plant. The second group could be divided into two sub - types IIa and IIb. In these two sub -

收稿日期: 2015 - 12 - 04; 最后修回日期: 2016 - 03 - 17

基金项目: 中央高校基本科研业务费专项资金资助项目(DC201501070102); 贵州省科技成果转化引导基金项目(20145072); 铜仁市科学技术项目(201487)。

作者简介: 赵月(1993 -), 女, 蒙古族, 内蒙古通辽人, 大连民族大学硕士研究生, 主要从事资源植物分子育种与开发利用研究。

通讯作者: 阮成江(1972 -), 男, 河南新县人, 教授, 博士, 博士生导师, 学校优秀学术带头人, 主要从事油料能源植物种质创新与开发利用研究。

groups, the lines containing close dry seed oil content usually were clustered in the same sub-sub-group. This showed that dry seed oil content was the most important category trait in the fruit phenotypic traits of *Camellia oleifera*. This study would provide theoretical and technical foundation for future classification and resource utilization of *Camellia oleifera* in Yuping.

Key words: *Camellia oleifera*; natural population; fruit traits; path analysis; cluster analysis

油茶(*Camellia oleifera*)是中国南方重要的木本油料树种,栽种面积约为400万 hm^2 。其种子提取的茶油为中国特产^[1],其极富营养价值和保健价值,被誉为“国宝级特色资源”,有“东方橄榄油”美誉^[2]。

为选育油茶优良品种和改良茶油品质,国内学者在油茶种质资源选育方面开展了一系列工作,如姚小华等^[3]采用外业调查和室内检测相结合的方法对所选13片优良林分中的76株优良单株的主要经济性状指标进行了通径、模糊聚类及灰色关联分析,嫁接保存优良种质资源,建成了种质资源库;袁军等^[4]应用聚类分析的方法对海南澄迈等6个主要油茶分布县10个乡镇油茶资源主要形态和经济性状进行调查测定,结果表明:海南油茶种质资源在形态、茶油脂肪酸组成等方面具有多样性。

玉屏侗族自治县为周恩来总理1958年提名的“中国油茶之乡”,而有关玉屏油茶自然群体种质资源评价及筛选的研究还少有报道。为此,本研究通过对玉屏油茶自然生长群体的果实产量特征进行调查观测,对不同单株的产量和种子含油量等果实性状进行了通径和聚类分析,旨在为选育优质高产油茶无性系树种提供科学依据。

1 自然概况与研究方法

1.1 研究区概况

玉屏侗族自治县地处东经 $108^{\circ}34' \sim 109^{\circ}09'$,北纬 $27^{\circ}28' \sim 27^{\circ}31'$,属亚热带季风性湿润气候,冬无严寒,夏无酷暑。年平均相对湿度79%,年降水量1174.1 mm,年日照时数1206.7 h。玉屏县域地处云贵高原向湘西丘陵倾斜的过渡地带,低山多丘陵间有平地,海拔多在400~600 m。

1.2 材料与方法

2014年10月,在玉屏油茶自然生长群体中随机选择一片样地,对样地内的52个单株(编号分别为1—52)的果实进行收集,对果型、果色和果实性状进行调查观测。

依据彭邵锋等^[5]的研究结果,果色可分为四类:红色、青色、青红色和青黄色;果型可分为四

种:橄榄型、卵型、球型和桔型。

果实性状指标主要包括:(1)果实纵径、横径及果皮厚度。从每个单株果实中随机取5个油茶果,用游标卡尺测量果实纵径、横径和果皮厚度,计算平均值。(2)单株总果数、单株鲜果产量、单株鲜籽重、单果种子数和单株干籽重。(3)鲜果含油率、鲜籽含油率和干籽含油率。以索氏抽提法提取的茶油为对照样,参考董晓丽^[6]的方法,利用核磁共振含油量测量仪(HCY-10型)测定各样株的干籽含油率。

$$\text{鲜出籽率} = \text{鲜籽重} \div \text{鲜果重} \times 100\%;$$

$$\text{干出籽率} = \text{干籽重} \div \text{鲜籽重} \times 100\%;$$

$$\text{鲜籽含油率} = \text{干籽含油率} \times \text{干出籽率};$$

$$\text{鲜果含油率} = \text{鲜籽含油率} \times \text{鲜出籽率};$$

$$\text{单株产油量} = \text{单株干籽重} \times \text{干籽含油率}。$$

1.3 统计分析

1.3.1 通径分析

通径系数是用来说明相关性状因子间的因果关系及各性状因子对产量提高的相对重要性^[7-8]。建立在通径系数概念之上的通径分析,比相关分析和回归分析更为精确,可同时考虑到两两相对结果的影响,使多变量的统计分析更为合理^[9-10]。为了研究玉屏油茶自然群体单株鲜果产量与主要果实性状之间的因果关系,对其进行通径分析。在相关分析与回归分析的基础之上,通过通径系数分析方法进一步研究产量与果实性状间的数量关系,并将相关系数分解为直接作用系数和间接作用系数,以揭示主要果实性状对产量的相对重要性。

参与对单株鲜果产量通径分析的果实性状包括:果实纵横径比(X_1)、果皮厚度(X_2)、单株总果数(X_3)、单株鲜籽重(X_4)、单果种子数(X_5)、单株干籽重(X_6)、鲜果含油率(X_7)、鲜籽含油率(X_8)、干籽含油率(X_9)和单株产油量(X_{10})10个指标, (Y) 表示单株鲜果产量。

1.3.2 聚类分析

聚类分析的性状指标包括:果实纵横径比、果皮厚度(mm)、单株总果数(个)、单株鲜果产量

(g)、单株鲜籽重(g)、单果种子数(个)、单株干籽重(g)、鲜果含油率(%)、鲜籽含油率(%)、干籽含油率(%)和单株产油量(g)。

果实性状的通径和聚类分析应用 SPSS20.0 软件进行。

2 结果与分析

2.1 各性状因子对产量的通径分析

影响产量的因素很复杂,各因子间既存在直接相关,又可通过其他因子产生间接相关。通过

对因子间进行通径分析,可以揭示因子间关系,估算出因子间的直接效应和间接效应^[11-16]。设油茶主要果实性状与产量之间的相关系数为 I_{iy} ,根据通径分析理论, I_{iy} 可分解成直接通径系数 P_{iy} 和间接通径系数 P_{ijy} ,即 I_{iy} 为 X_i 对 Y 的总影响力, P_{iy} 为 X_i 对 Y 的直接影响力, P_{ijy} 为 X_j 通过 X_i 对 Y 的间接影响力。因此,通过 I_{iy} 、 P_{iy} 和 P_{ijy} 的分析,可从各果实性状因子中找出影响产量的决定性因子^[17]。油茶主要果实性状因子对产量的直接和间接通径系数见表1。

表1 各性状因子对产量的通径分析结果

| 作用因子 | 直接通径系数 | 各果实性状对单株鲜果产量的间接通径系数 | | | |
|------------|--------|---------------------|------------|------------|------------|
| | | →单株产油量(X10) | →单株干籽重(X6) | →鲜果含油率(X7) | →单株总果数(X3) |
| 单株产油量(X10) | 0.867 | | 0.309 | -0.024 | -0.191 |
| 单株干籽重(X6) | 0.413 | 0.649 | | -0.012 | -0.246 |
| 鲜果含油率(X7) | -0.121 | 0.173 | 0.042 | | -0.018 |
| 单株总果数(X3) | -0.260 | 0.636 | 0.392 | -0.009 | |

玉屏油茶自然群体52个个体主要果实性状对其单株鲜果产量的通径分析结果表明: X10(单株产油量) → Y(单株鲜果产量) 的直接通径系数为0.867,远大于其他性状因子,说明其对单株鲜果产量的正贡献率最大;其次为单株干籽重(X6) → Y(单株鲜果产量) 的通径系数为0.413; X7(鲜果含油率) → Y(单株鲜果产量) 以及 X3(单株总果数) → Y(单株鲜果产量) 的直接通径系数虽然为-0.121与-0.260,说明二者对单株鲜果产量的贡献率为负数,但通过 X10(单株产油量) 对单株鲜果产量(X10 → X7 → Y) 及(X10 → X3 → Y) 的贡献率为0.173与0.636,也呈现出一定的正贡献率。

2.2 聚类分析

对玉屏油茶自然群体52个个体进行聚类分析,在欧式距离为16处52个个体分为两个类群,如图1。I类有4个个体,分别为7、8、27和21,其余48个个体归为II类,见表2。依据各果实性状的平均值见表3。与II类相比I类具有高产高含油量特性;II类具有低产低含油量特性。在欧式距离为13处II类可分为IIa和IIb两个亚类群,在欧式距离为5处IIa又可以分为五个亚亚类群,IIb可分为两个亚亚类群。在IIa亚亚类群中果实纵横径比呈现 IIaiii(1.07) > IIaiv(1.04) > IIai(1.02) > IIaii(0.97) > IIav(0.84); 果皮厚度呈现 IIai(3.05 mm) > IIaiv(2.07 mm) > IIaiii

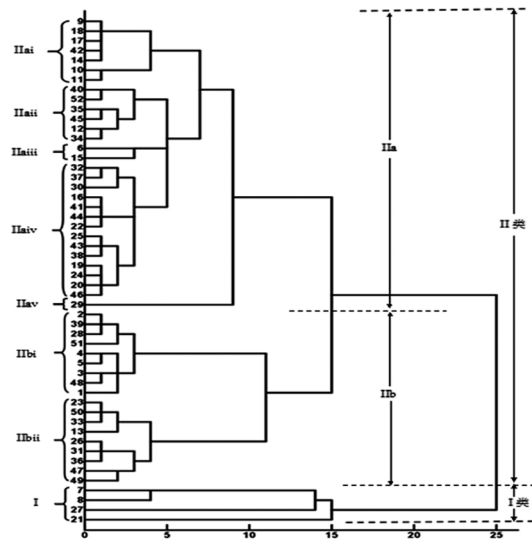


图1 玉屏油茶果实性状聚类分析图

(1.93 mm) = IIav(1.93 mm) > IIaii(1.90 mm); 单株总果数呈现 IIaiiii(540个) > IIaii(139个) > IIai(62个) > IIav(57个) > IIaiv(48个); 单株鲜果产量呈现 IIaiiii(2236.35 g) > IIaii(630.89 g) > IIai(469.7 g) > IIaiv(231.22 g) > IIav(148.94 g); 单株鲜籽重呈现 IIaiiii(616.03 g) > IIaii(185.78 g) > IIai(89.14 g) > IIaiv(67.92 g) > IIav(46.17 g); 单株干籽重呈现 IIaiiii(374.28 g) > IIaii(116.70 g) > IIai(50.51 g) > IIaiv(48.91 g) > IIav(48.09 g); 鲜果含油率呈现 IIav(17.77%) > IIaiv(7.17%) > IIaii(6.95%) >

IIai(4.22%) > IIiii(3.30%); 鲜籽含油率呈现 IIiii(26.61%) > IIaiv(23.81%) > IIav(20.73%) > IIaii(19.75%) > IIai(17.16%); 干籽含油率呈现 IIav(38.98%) > IIaiv(37.65%) > IIiii(36.84%) > IIaii(35.22%) > IIai(31.17%); 单株产油量呈现 IIiii(91.24 g) > IIaii(39.71 g) > IIav(26.47 g) > IIai(18.32 g) > IIaiv(15.79 g)。在 IIb 亚亚类群中除果皮厚度 IIbii(2.28 mm) > IIbi(1.90 mm) 其他果实性状均值均呈现 IIbi > IIbii。

表2 玉屏油茶自然群体聚类组别

| 类别 | 树号 |
|--------|---|
| I | 7 8 27 21 |
| IIai | 9 18 17 42 14 10 11 |
| IIaii | 40 52 35 45 12 34 |
| IIaiii | 6 15 |
| IIaiv | 32 37 30 16 41 44 22 25 43 38 19 24 20 46 |
| IIav | 29 |
| IIbi | 2 39 28 51 4 5 3 48 1 |
| IIbii | 23 50 33 13 26 31 36 47 49 |

表3 聚类分析结果

| 类别 | n | 果实纵横径比 | 果皮厚度/mm | 单株总果数/个 | 单株鲜果产量/g | 单株鲜籽重/g | 单果种子数/个 | 单株干籽重/g | 鲜果含油率/% | 鲜籽含油率/% | 干籽含油率/% | 单株产油量/g |
|--------|----|--------|---------|---------|----------|-----------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|
| I | 4 | 1.03 | 1.98 | 921 | 6 906.43 | 19 347.07 | 3 | 944.88 | 7.8 | 20.38 | 33.97 | 521.18 |
| II | 48 | 1.10 | 2.19 | 113 | 593.64 | 173.63 | 2 | 105.65 | 6.4 | 20.11 | 33.71 | 37.19 |
| IIai | 7 | 1.02 | 3.05 | 62 | 469.7 | 89.14 | 2 | 50.51 | 4.22 | 17.16 | 31.17 | 18.32 |
| IIaii | 6 | 0.97 | 1.90 | 139 | 630.89 | 185.78 | 3 | 116.70 | 6.95 | 19.75 | 35.22 | 39.71 |
| IIaiii | 2 | 1.07 | 1.93 | 540 | 2 236.35 | 616.03 | 2 | 374.28 | 3.30 | 26.61 | 36.84 | 91.24 |
| IIaiv | 14 | 1.04 | 2.07 | 48 | 231.22 | 67.92 | 2 | 48.91 | 7.17 | 23.81 | 37.65 | 15.79 |
| IIav | 1 | 0.84 | 1.93 | 57 | 148.94 | 46.17 | 2 | 48.09 | 17.77 | 20.73 | 38.98 | 26.47 |
| IIbi | 9 | 1.25 | 1.90 | 174 | 1 040.42 | 372.11 | 3 | 219.49 | 9.08 | 22.29 | 36.97 | 91.56 |
| IIbii | 9 | 1.24 | 2.28 | 87 | 466.54 | 113.06 | 2 | 62.28 | 3.30 | 13.21 | 24.01 | 18.3 |

3 讨论

油茶集生态效益、经济效益和社会效益于一身,对于推进山区综合开发,促进农民就业增收,维护国家粮油安全,加快国土绿化进程等具有十分重要的作用^[18]。目前,中国油茶产量普遍偏低,玉屏作为中国油茶之乡之一,如何就玉屏油茶现有的种质资源进行评价和筛选便成了亟待解决的问题。左继林^[19]等以赣无油茶各无性系—产量、果实主要经济性状及其茶油脂肪酸的组成成分为品质指标,对25个无性系进行聚类分析,将油茶25个优良无性系分为三个等级,同时得出油茶无性系存在较大的地理种源上引起的经济性状与油脂成分上的差异,地理种源起源相同的油茶无性系其经济性状与脂肪酸组成含量表现一定程度的相似性。康志雄等^[20]连续3年对3片试验林74个油茶无性系经济性状进行测定,采用通径分析和聚类分析方法,探讨油茶经济性状的相互关系和类型划分,将3片试验林分成高含油类、中含油类、低含油类和大果低含油类4类,并得出干籽含油率对鲜果含油率的直接效应最大的结论。本研究通过对玉屏油茶

自然群体52个个体主要果实性状进行通径和聚类分析,结果表明,单株产油量对单株鲜果产量的贡献最大,其次为单株干籽重,而其他性状因子对单株鲜果产量的影响并不明显。如样株7(单株鲜果产量9 360.60 g,单株产油量504.54 g)、21(单株鲜果产量8 336.31 g,单株产油量682.74 g)和8(单株鲜果产量6 659.4 g,单株产油量630.65 g)。干籽含油率虽然与单株鲜果产量的相关性较弱,但对鲜果含油率有较大的直接效应,故可利用I类中单株鲜果产量高的样株7(9 360.60 g)、21(8 336.31 g)和8(6 659.4 g)结合亚亚类群IIbi中干籽含油率高的样株39(40.13%)以及亚亚类群IIaiv中的样株38(42.23%)和24(41.32%)作为育种亲本组合,以培育高产高含油量的油茶优良无性系。本研究针对油茶主要果实性状进行分析评价,对其遗传关系的深入了解,还需结合基因图谱分析,以便从分子水平研究其性状相关性。

4 结论

通径分析结果表明,单株产油量对产量的贡献最大。虽然其他形状因子对单株鲜果产量的影响并不明显,但笔者认为,要选择高产稳产的油茶

品种 除了丰产性外,还要考虑到采摘成本及今后的发展方向,果大及出籽率高应是油茶良种选育的目的。

由油茶 52 个无性系种质资源材料的层次聚类图可见,根据性状距离远近将供试样本分为高产高含油量类和低产低含油量类 2 个类型。在油茶优良品种育种中选配杂交亲本时,既要考虑各个油茶优良无性系性状之间的互补,又要考虑同一组合的亲本保持一定的距离,进行优势品种间杂交,以便优中选优。依此可为玉屏油茶自然群体种质资源分类以及资源开发提供参考。

参考文献:

- [1] 黄永芳,吴雪辉,陈锡沐,等. 引物对油茶种质资源聚类分析结果的影响 [J]. 河南农业科学, 2005(10): 37-41.
- [2] 罗在荣,王进,邱建生,等. 望谟红球油茶林产量与种群构件特性调查研究 [J]. 贵州林业科技, 2011, 39(4): 23-27.
- [3] 姚小华,黄勇,王开良,等. 小果油茶优良种质资源筛选与综合评价 [J]. 经济林研究, 2012, 30(4): 1-8.
- [4] 袁军,韩志强,贺舍予,等. 海南省油茶资源主要形态和经济性状及聚类分析 [J]. 植物遗传资源学报, 2014, 15(6): 1380-1384.
- [5] 彭邵锋,陈永忠,张日清,等. 油茶果形果色分类及经济性状 [J]. 中南林业科技大学学报, 2007, 27(5): 33-39.
- [6] 董晓丽,白鹏莉,王金妹,等. 核磁共振法与索氏提取法测定能源植物种子含油量的比较研究 [J]. 可再生能源, 2011, 29(3): 21-24.
- [7] 魏飞鹏,黄玉吉. 甜椒主要农艺性状与产量相关及通径分析 [J]. 热带作物学报, 2004, 25(4): 50-53.
- [8] PANDYA N K, GUP S C, NAGDA A K. Path analysis of some yield contributing traits in safflower [J]. Crop Research Hisar, 1996, 11(3): 313-318.
- [9] 吴志庄,梁一池. 肉桂各器官生物量的通径分析与回归模型 [J]. 福建林学院学报, 2004, 24(4): 327-330.
- [10] 张剑亮,何琴,曹干,等. 麻疯树优良单株筛选重要性状评价指标研究 [J]. 热带作物学报, 2011, 32(5): 800-805.
- [11] 王亚玲,师尚礼. 苜蓿种质资源产量与品质构成因子相关性分析及评价 [J]. 甘肃农业大学学报, 2007, 43(6): 42-46.
- [12] GARCIA DEL MORAL L F, RHARRABTI Y, VILLEGAS D, et al. Evaluation of grain yield and its components in durum wheat under Mediterranean conditions: an ontogenic approach [J]. Agronomy Journal, 2003, 95: 266-274.
- [13] MOHAMMADI S A, PRASANNA B M, SINGH N N. Sequential path model for determining interrelationships among grain yield and related characters in Maize [J]. Crop Science, 2003, 43: 1690-1697.
- [14] BALL R A, MCNEUW R W, VORIES E D, et al. Path analyses of population density effects on short-season soybean yield [J]. Agronomy Journal, 2001, 93: 187-195.
- [15] DAS M K, FUENTES R G, TALIAFERRO C M. Genetic variability and trait relationships in switch grass [J]. Crop Science, 2004, 44: 443-448.
- [16] MAMAN N, MASON S C, LYON D J, et al. Yield components of pearl millet and grain sorghum across environments in the Central Great Plains [J]. Crop Science, 2004, 44: 2138-2145.
- [17] 潘华平,刘君昂,周国英. 油茶树体结构与产量关系的研究 [J]. 江西农业大学学报, 2011, 33(1): 58-62.
- [18] 钟永坤. 浅谈山区发展油茶存在的问题与对策 [J]. 农家之友, 2009(8): 22-26.
- [19] 左继林,张时煌,龚春,等. 不同地理起源的油茶无性系品质的聚类分析 [J]. 江西林业科技, 2010(6): 7-9.
- [20] 康志雄,邹达明. 油茶经济性状通径分析和聚类分析研究 [J]. 福建林学院学报, 1989, 9(2): 145-151.

(责任编辑 邹永红)

本刊声明

为适应期刊数字化建设,扩大作者学术交流渠道,本刊已成为中国知网、万方数据、重庆维普、超星期刊域出版平台、中国核心期刊(遴选)数据库等数据库以及德国《数学文摘》、英国《国际农业与生物科学研究中心》收录期刊。来稿一经录用,均视为作者已将该作品全文的数字化方式复制权、发行权、汇编权、翻译权以及信息网络传播权授予本刊编辑部。编辑部已将作者著作权使用费与本刊稿酬一次性结清。作者向本刊提交文章发表的行为即视为接受我刊上述声明的条款。如作者不同意将文章编入该数据库,请在来函中声明,本刊将做适当处理。

生物强化富锌食品的研究进展

解 彬 江 洁 韩 琳 冀春阳 曹 蕾
(大连民族大学 生命科学学院, 辽宁 大连 116605)

摘 要: 生物强化是指在生物生长及其代谢过程中进行营养元素的富集以提高其营养价值。通过生物强化可将外源添加的无机锌转化为生物锌, 获得的富锌食品具有安全可靠、易于吸收、稳定性强的优点。归纳总结了富锌食品的研究意义, 对近年来主要研究的富锌茶、富锌食用菌、富锌酵母、富锌水稻和富锌果蔬等富锌食品的研究进展进行了综述, 表明生物强化富锌食品具有安全稳定的特点, 相比过去对于富锌食品的研究也有显著进展, 以期为未来生物强化富锌食品的研究提供依据。

关键词: 生物强化; 锌; 富集; 食品

中图分类号: TS202.1 文献标志码: A

DOI:10.13744/j.cnki.cn21-1431/g4.2016.05.008

Progress in Biofortification Zinc - enriched Food

XIE Bin, GANG Jie, HAN Lin, JI Chun - yang, CAO Lei

(School of Life Science, Dalian Minzu University, Dalian Liaoning 116605, China)

Abstract: Biofortification is the enrichment of the nutrient elements in the process of biological growth and metabolism to improve their nutritional value. By means of biofortification, the exogenous inorganic zinc can be converted into biological zinc to obtain the zinc - enriched food with the advantages of safe, reliable, easy to absorb, and stable. In this paper, the significance of zinc enrichment food were generalized. The research progresses in zinc - enriched food including zinc - enriched tea, mushroom, yeast, rice, fruits and vegetables in recent years were summarized. Compared to the past research of zinc - enriched food, biofortification zinc - enriched food are safe and stable, which has a significant progress and can be a reference for the future study of microorganism zinc - enriched food.

Key words: biofortification; zinc; enrich; food

1 富锌食品的研究意义

1.1 研究意义

锌是人体必需的微量元素之一, 含量位居于第二位, 仅次于铁元素^[1-2]。锌能够加速儿童的生长发育, 促进伤口愈合, 维持免疫细胞以及其他免疫器官的正常工作, 恢复并且增强成年人的性功能, 减少重金属对身体的伤害等^[3-5]。FAO/

WHO 推荐每人每日需要量为 15 mg, 每人每日允许摄入量为 60 mg。仅靠食物中的锌, 是无法满足人体正常需求的^[6]。全球约有三分之一左右的人口处于锌缺乏状况, 以植物性膳食结构为主的地区尤为明显^[7-9]。人体缺锌会造成脱发、智力下降、食欲减退、免疫力下降等症状^[10-11], 在发展中国家锌的缺乏已经成为疾病和死亡的第五大诱因^[12-13]。如何合理并且安全的补充锌已经引起

收稿日期: 2016 - 03 - 23; 最后修回日期: 2016 - 07 - 11

基金项目: 辽宁省自然科学基金资助项目 (2015020676); 中央高校基本科研业务费专项资金资助项目 (DC201501020301)。

作者简介: 解彬 (1992 -) 女, 内蒙古呼和浩特人, 大连民族大学生命科学学院硕士研究生, 主要从事食品生物技术研究。

通讯作者: 江洁 (1965 -) 女, 黑龙江齐齐哈尔人, 教授, 博士, 主要从事食品生物技术研究, E-mail: gangjie@dlmu.edu.cn。

了人们的广泛关注^[14]。通过饮食补锌,安全放心且没有副作用,因此成为补充锌的理想途径。

1.2 锌补充剂

现有的锌补充剂有无机锌补充剂、有机锌补充剂以及生物锌补充剂。无机锌在消化过程中释放出的金属离子易与肠道内物质结合形成不溶盐,排出体外,从而降低锌的吸收效果,而有机锌与氨基酸或小肽结合,性状相对比较稳定,可以促进锌的吸收,生物利用率也相对较高。生物锌是第三代锌补充剂,在潘丽新的研究中利用生物强化制剂补充锌比有机锌制剂能更好的被人体吸收利用^[15]。以幼仔鸡回肠外翻肠囊为模型的锌补充剂的研究中可以看出,锌吸收率呈现出甘草锌 > 葡萄糖酸锌 > 氨基酸螯合锌 > 钙铁锌 > 硫酸锌^[16]。

生物强化通常是指在农产品生产过程中,通过农业措施在原有基础上提高作物的微量营养元素,生物锌补充剂也属于其中^[17-18]。其不同于营养强化食品,生物强化食品注重的是在农产品生长发育期间富集微量元素以提高其营养价值^[11],这种方式是借助微量元素含量高的土壤或改良工艺的方式,获得安全可靠的产品,因此具有稳定性高,可操控性高的优势^[12]。

2 富锌食品的研究概况

富锌食品目前主要种类有富锌茶、富锌食用菌、富锌米、富锌水果和富锌蔬菜等。此外还有酵母,因其具有较强的富锌能力,富锌酵母被作为功能性食品添加剂而得到应用。

2.1 富锌茶

茶是世界上最流行的饮料之一,具有抗氧化、提神醒脑等保健功效。富锌茶中的锌有助于茶叶中氨基酸的形成,同时还可以提高茶多酚的含量^[4]。因此,富锌茶的抗衰老、杀菌消炎等作用为其他茶类所不及^[19]。

早在20世纪80年代,富锌茶就已经引起了广泛的关注和兴趣。有研究表明,茶树的不同部位的锌含量与土壤有效锌含量成正比^[4],茶叶喷施锌肥对茶叶的品质和产量都有提高^[20]。在茶树中,锌主要存在于生命活动旺盛的部位,尤其是在嫩芽中含量较高,当年新生叶与生长一年以上的老叶中的锌含量有明显差异,新叶中的锌含量是老叶中锌含量的2.3~4倍^[4]。不同品种的茶叶中锌含量最高的是绿茶,其次是红茶,最后是青

茶,优质绿茶中锌含量会比较高。因此,锌可作为预测绿茶品质的重要标准之一^[21]。不仅如此,茶树中的锌与镉具有拮抗作用,从而降低茶叶对镉的吸收,减少对人体的伤害^[22]。茶叶中的锌以有机结合态存在,大部分可溶于热水,安全易吸收。富锌茶叶中的锌含量可提高到 $0.2 \sim 0.3 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$ 。因此,喷施锌肥的富锌茶可以作为安全可靠的锌补充食品^[23]。

2.2 富锌食用菌

食用菌对微量元素有很好的富集作用,锌会与食用菌中的氨基酸结合成有机锌,安全稳定,由于易被人体吸收并且没有毒副作用的特点,食用菌富锌食品越来越受到人们的重视。

在金针菇菌丝体培养过程中,添加 $800 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 的锌,对菌丝体的生长有明显的促进作用。金针菇对醋酸锌的富集能力较好,富锌量可达 $42.43 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ ^[24],其中超过90%的锌以有机态存在。蛋白质是锌的主要结合对象,在有机锌中又有半数以上的以蛋白锌的形态存在,除此之外,适量的增粘剂和柠檬酸都有助于锌元素的富集,在锌的作用下,细胞的生物转化和新陈代谢更为活跃,这对提高金针菇的营养价值十分有利^[25]。

羊肚菌菌丝体对锌的耐受性和富集性都比较高,在 $600 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 质量浓度下,羊肚菌菌丝体的富锌率为23.2%^[26],远高于真姬菇菌丝体的富锌率(7.98%)^[27]。

树舌为灵芝属的药用真菌,含有多种生物活性物质^[28],具有提高免疫力,抗衰老等多种功效,其液体发酵菌丝体和发酵液具有同样甚至更好的功效^[29]。在硫酸锌质量浓度为 $0.2 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 时,可以显著提高胞内有机锌的含量,质量分数超对照组252%,达到 $0.67 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$,胞内有机锌使其抗氧化性有显著的提高,即提高了清除羟自由基、超氧阴离子等的的能力^[30]。在对蛹虫草胞外多糖的研究中,有机锌有助于提高对自由基的清除能力^[31]。富锌姬松茸胞内多糖比不富锌的胞内粗多糖对肿瘤具有更高的抑制作用^[32]。

白灵菇在锌质量浓度为 $325 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 的液体培养基中,菌丝体含锌量可达 $24.79 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$,并且全部为有机锌^[3]。鸡腿菇的最适富锌生长条件为添加 $40 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 硫酸锌的培养基^[5]。

2.3 富锌酵母

酵母是一种单细胞真菌类微生物,含有多种氨基酸、核酸等活性物质,与人类生活密切相关,

从酿制美酒到发酵面食,都离不开酵母,目前酵母更多的被应用到食品、制药、饲料等方面。富锌酵母是在酵母生长过程中通过外加锌源获得含锌量较高的酵母细胞,从而改善无机锌不易被人体吸收的缺点。采用紫外诱变或者超高压诱变方式改变酵母的遗传特性及代谢规律,可使酵母拥有较高的富锌能力^[33]。

培养环境对酵母的富锌能力也有很大的影响。关转飞^[36]研究发现,当锌离子质量浓度为 $500\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 时培养的酵母菌富锌能力最佳;pH3~6的范围内,当pH在4.5时酵母锌含量达到高峰,随着pH的增加,酵母含锌量呈下降趋势;另外,培养酵母时的质量浓度也会影响到酵母的含锌量,在 $0\sim 70\text{ g}\cdot(50\text{ mL})^{-1}$ 的酵母投放范围内, $10\text{ g}\cdot(50\text{ mL})^{-1}$ 的质量浓度最为适宜。由此可见,外部环境对富锌酵母培养的影响是不可以忽略的,在最适环境下培养,可以高效的获得富锌酵母。

富锌酵母与普通酵母相比,氨基酸含量都有较明显的提高,特别是赖氨酸、蛋氨酸、亮氨酸等必需氨基酸的含量。不只是酵母本身,富锌酵母发酵液的抗氧化性也有升高。刘洋洋^[35]在研究中发现,当pH3.6的富锌酵母发酵液稀释至32倍时,对超氧阴离子自由基的清除率高达76.8%,pH6.5的富锌酵母液稀释至64倍时对超氧阴离子自由基的清除率可达79.4%;pH3.6的富锌酵母发酵液稀释至32倍时,对羟自由基的清除率为24.1%,pH6.5的富锌酵母液稀释至64倍时,对羟自由基的清除率为37.2%;对高价铁也具有还原性,pH3.6的富锌酵母发酵液稀释至4倍时最高,随后开始出现下降,pH6.5的富锌酵母液稀释至32倍时最高,再稀释则出现下降;pH6.5的富锌酵母原液和pH6.5的富锌酵母原液对DPPH自由基的清除率最高,随着稀释,会出现下降。

2.4 富锌水稻和小麦

在水稻的生长过程中,锌元素可以提高光合作用,促进生长发育,增加抗性^[36]。随着对富锌水稻的研究,发现酸性土壤可以显著提高稻米米粒的含锌量,早播种的水稻锌含量也比普通水稻会高一些;通过筛选对锌耐受性较高的水稻品种进行富锌栽培,也可以增加水稻培养过程中的锌营养,来达到水稻锌含量的增加;水稻中含有植酸,很容易与锌结合从而影响对锌的吸收,但对锌的吸收不仅仅取决于植酸的含量,还与植酸与锌

的摩尔比有关^[37]。水稻品种的不同其遗传特性也不同。俞超^[38]等人在研究中发现,富锌大米的锌含量超过东北大米、泰国香米锌含量的3倍,氨基酸含量也明显高于东北大米和泰国香米,尤其是赖氨酸含量。

目前水稻的富锌途径主要是施用锌肥:一种是通过基肥施用,在此方法下第二年这片地上的作物不需要再施加锌肥;另一种是叶片喷施,是一种公认的比较有效的富锌途径^[8]。锌肥的不同施用方法对水稻子粒锌含量有着一定程度上的影响,在植物关键生育期进行叶面喷施效果明显高于土壤施用,并且锌可以促进植株氮含量和氮积累量^[39]。张宇^[8]等人在施锌对寒地水稻返青和产量的影响研究中发现,寒地水稻上施锌能显著提高水稻的返青率,并且随着施锌浓度的提高,精米中的锌含量也随之上升,达到食补的作用,改善稻米品质。

发芽糙米是指糙米经过一定的发芽,幼芽以及带糠层胚乳组成的糙米制品,其口感接近于精大米,而营养成分远远高于精大米,富锌后的发芽糙米中锌含量是一般发芽糙米中锌含量的5.5~27.6倍,生物利用率也得到了很大的改善,相比普通发芽糙米有更高的营养价值^[37]。

中国西北地区主要以面食为主,提高小麦锌含量对改善西北人民锌缺乏症有重大影响。有研究表明,不同锌肥使用效果中种肥与喷施配合施加的效果最好,其次是喷施处理,最后是种肥处理^[40]。施加锌肥可以显著提高小麦产量、成熟期各器官氮积累量以及子粒中蛋白质含量^[41]。

2.5 富锌果蔬

在蔬菜的种植过程中适当的施用锌肥不仅可以提高蔬菜的品质,还可以增加产量。以硫酸锌作为豆芽菜的锌源进行培养,所得到的富锌豆芽的锌含量是普通豆芽锌含量的1.84倍^[42]。使用 $400\text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ 锌培养富锌嫩麦芽可有效促进其生长,收率可以达到88%^[43]。富锌培养大豆芽菜,较低质量浓度的锌可以提高其发芽率,促进生长,提高可食部鲜重和品质,过高质量浓度的锌会抑制大豆芽菜的生长,以 $10\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 的锌最为适宜^[44]。蒜的锌生物强化可以提高锌含量,同时可以提高鳞茎的锌营养品质^[7]。甜糯玉米材料间锌含量存在非常显著的差异,糯玉米锌质量分数的平均值为 $36.06\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$,但其最高值和最低值之间相差2.69倍;甜玉米的锌质量分数的平均值

为 $49.77 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$, 最大差值达到 3.16 倍, 相比之下, 甜玉米的锌含量比糯玉米锌含量高^[45]。

在水果中富锌产品也比较常见。苹果是四大水果之一, 锌是苹果树内多种酶的辅助因子, 参与光合、呼吸等生长活动中, 缺锌会导致苹果树器官的生长发育受到抑制; 实验证明, 锌肥可以预防苹果缺锌。增施有机肥、改良酸碱性, 同时施以适量锌肥作为补充, 可以取得理想的防治效果^[46]。而喷施锌肥则可以显著提高果实中的锌含量, 以及果肉硬度和可溶性固形物^[47]。

螺旋藻具有很高的营养价值, 还具有良好的生物富集性, 以硫酸锌为锌源, 达到 $100 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 时, 锌含量为对照组的 66.9 倍, 但螺旋藻细胞生长会受到明显抑制。向小鼠喂食富锌螺旋藻时, 小鼠脏器系数、血清 ALT 等身体指标均在正常水平内, 由此证明了富锌螺旋藻的安全性^[48]。

3 展 望

富锌食品的发展已经引起人们的广泛关注, 人们在重视食物多样性、食品营养结构的同时, 也越来越重视食品的安全性。生物强化富锌由于其稳定、安全的优势, 在富锌食品中也得到了越来越多的重视, 市场需求量大, 前景十分广阔。

但是, 目前生物强化富锌食品大部分仅仅停留在研究阶段, 理论结果和生产实际还没有很好的结合起来。未来市场需要更多品种的富锌食品, 如酸奶、饮料、食用菌和大米等日常食品。通过工业化生产出多种多样的复合型功能食品, 是人们营养素补充的有效途径。随着人们对饮食营养的重视, 锌强化食品的数量会不断增加, 种类也会更加丰富, 因此富锌食品具有广阔的市场发展前景。

参考文献:

[1] TAI C H, KILLILEA D W, SHENVI S V, et al. Acute changes in cellular zinc alters zinc uptake rates prior to zinc transporter gene expression in Jurkat cells[J]. *Biology of Metals*, 2015, 28(6): 987-996.

[2] DISLVESTRO R A, KOCH E, RAKES L. Moderately high dose zinc gluconate or zinc glycinate: effects on plasma zinc and erythrocyte superoxide dismutase activities in young adult women[J]. *Biological Trace Element Research*, 2015, 168(1): 11-14.

[3] 王卉, 张琪林, 左静静 等. 白灵菇液体培养菌丝的富锌能力研究[J]. *中国农学通报*, 2015(28): 85-88.

[4] 刘海燕, 黄彩梅, 周盛勇 等. 茶叶锌、硒含量变化与种植土壤差异的研究[J]. *植物科学学报*, 2015, 33(2): 237-243.

[5] 金萍. 鸡腿菇富锌液体发酵条件的研究[J]. *苏州科技学院学报(自然科学版)*, 2014(2): 47-51.

[6] 熊洋洋, 孔娟, 苏晗 等. 锌与肿瘤[J]. *肿瘤代谢与营养电子杂志* 2015 2(3): 68-72.

[7] 潘斐, 王张民, 刘琦 等. 大蒜锌生物营养强化效应评估[J]. *中国科学技术大学学报*, 2015(11): 953-959.

[8] 张宇, 彭显龙, 罗盛国 等. 施锌对寒地水稻返青和产量的影响[J]. *土壤通报*, 2013(2): 437-441.

[9] WESSLLS K R, SINGH G M, BROWN K H. Estimating the global prevalence of inadequate zinc intake from national food balance sheets: effects of methodological assumptions[J]. *Plos One*, 2012, 7(11): e50565.

[10] ALJEWICZ M, CICHOSZ G. The effect of probiotic *Lactobacillus rhamnosus* HN001 on the invitro availability of minerals from cheeses and cheese-like products[J]. *LWT - Food Science and Technology*, 2015, 60(2): 841-847.

[11] NRIAGU J. Zinc Deficiency in Human Health[M]. Holland: Elsevier Science & Technology, 2011: 789-800.

[12] 张得雯, 王瑞智, 王娜 等. 宁夏富锌水稻种质资源筛选及子粒锌含量的相关分析[J]. *湖北农业科学*, 2016 55(3): 554-563.

[13] WHITE P J, BROADLEY M R. Biofortification of crops with seven mineral elements often lacking in human diets - iron, zinc, copper, calcium, magnesium, selenium and iodine[J]. *New Phytologist*, 2009, 182(1): 49-84.

[14] 王丕玉, 刘海潮. 锌失衡与人体健康[J]. *中国食物与营养*, 2007(7): 50-51.

[15] 潘丽新, 闫秀娟, 郎英杰 等. 生物锌对幼儿生长发育影响的研究[J]. *中国热带医学*, 2006, 6(1): 208-209.

[16] 谭珏, 曲道峰, 韩剑众. 基于外翻肠囊法的补锌制剂生物利用率研究[J]. *中国食品学报*, 2014, 14(10): 198-202.

[17] BOUIS H E, CHRISTINE H, BONNIE M C, et al. Biofortification: a new tool to reduce micronutrient malnutrition. [J]. *Food & Nutrition Bulletin*, 2011, 32(1): 31-40.

[18] 郝元峰, 张勇, 何中虎. 作物锌生物强化研究进展[J]. *生命科学*, 2015(8): 1047-1054.

[19] 刘华, 申雪慧子, 聂兰 等. 贵州凤岗富锌富硒绿茶对小鼠抗氧化抗衰老作用的研究[J]. *安徽农业科学*, 2014(28): 9657-9660.

- [20] 魏波. 铜锌对蒙山茶叶品质的影响[D]. 成都: 四川农业大学, 2009.
- [21] 蔡烈伟, 黄启亮, 李绪品. 宜都天然富锌茶的深度开发探讨[J]. 现代农业科技, 2008(5): 128-129.
- [22] 段继春, 彭克勤, 常硕其. 茶叶中锌元素的研究现状[J]. 贵州茶叶, 2005, 32(1): 15-17.
- [23] 叶忠建. 富锌富硒有机茶园的管理及饮用茶对人体的好处[J]. 现代园艺, 2013(14): 31-31.
- [24] 黄仁术, 李耀亭. 液体培养富锌金针菇锌源与锌添加量的研究[J]. 食品与发酵工业, 2007, 33(12): 48-51.
- [25] 孙希雯, 李奇庚. 金针菇富锌条件及锌结合形态的研究[J]. 微生物学报, 1997(1): 40-46.
- [26] 王艳, 江洁, 金李玲, 等. 羊肚菌菌丝体液体培养富锌条件的优化[J]. 食品工业科技, 2013, 34(3): 281-283.
- [27] 江洁, 金京慧. 真姬菇菌丝体液体发酵富锌条件的优化[J]. 食品工业科技, 2011, 32(6): 226-227.
- [28] 周忠波, 马红霞, 图力古尔. 树舌(*Ganoderma liposense*)化学成分及药理学研究进展[J]. 菌物研究, 2005(1): 35-42.
- [29] 李正鹏, 吴萍, 吴苏青. 树舌胞内多糖抗氧化活性的研究[J]. 食品工业科技, 2010, 31(6): 108-110.
- [30] 李正鹏, 吴萍, 孙玉军, 等. 树舌胞外富锌多糖体外抗氧化活性研究[J]. 热带作物学报, 2012(5): 890-893.
- [31] 陈宏伟, 陈安徽, 邵颖, 等. 蛹虫草胞外锌多糖抗氧化能力的研究[J]. 食品与发酵工业, 2009, 35(6): 54-58.
- [32] 张笑然, 丁重阳, 章克昌. 富锌姬松茸胞内多糖的分离及体内抑制小鼠肝癌的研究[J]. 食品与生物技术学报, 2007, 26(2): 43-48.
- [33] HUANG H W, LUNG H M, YANG B B, et al. Responses of microorganisms to high hydrostatic pressure processing[J]. Food Control, 2014, 40(40): 250-259.
- [34] 关转飞, 贾飞, 王战勇, 等. 利用啤酒废酵母制备富锌酵母[J]. 中国酿造, 2010(4): 178-179.
- [35] 刘洋洋, 张霞, 程富胜. 富锌酵母菌发酵液体外抗氧化作用[J]. 中国兽医学报, 2014(5): 776-780.
- [36] 孙桂芳, 杜明, 慕永红, 等. 水稻锌素营养研究进展[J]. 现代化农业, 2013(3): 20-22.
- [37] 李涛, 梁建芬, 方坚. 富锌发芽糙米的研制及其锌的HCl提取率的变化研究[J]. 食品科技, 2007, 32(10): 64-67.
- [38] 俞超, 周美园, 刘健, 等. 富锌稻米营养成分分析研究[J]. 食品工业科技, 2012, 33(6): 401-402.
- [39] 郭九信, 廖文强, 孙玉明, 等. 锌肥施用方法对水稻产量及籽粒氮锌含量的影响[J]. 中国水稻科学, 2014, 28(2): 185-192.
- [40] 王霞, 池巧凤, 贾茹, 等. 锌硒专用肥对春小麦不同品种子粒品质的影响[J]. 安徽农业科学, 2014(1): 46-47.
- [41] 王巧艳, 赵鹏, 刘红恩, 等. 施锌对不同筋力型小麦产量、氮素积累量和子粒蛋白质含量的影响[J]. 河南农业大学学报, 2015(1): 22-26.
- [42] 吉礼, 车振明. 铁、锌富集营养豆芽的研制[J]. 食品工业科技, 2009(6): 232-234.
- [43] 杨振, 张磊, 邴爱英, 等. 富锌嫩麦芽培植最佳锌浓度的筛选[J]. 食品科技, 2011(4): 280-282.
- [44] 邹涛. 富锌大豆芽菜的生物强化培育及其锌生物利用性研究[D]. 海口: 海南大学, 2013.
- [45] 赵福成, 于永涛, 胡尔良, 等. 我国主要鲜食玉米产区高铁锌含量种质资源的筛选[J]. 作物杂志, 2015(4): 23-26.
- [46] 贾永华, 牛锐敏, 李晓龙, 等. 我国苹果锌营养研究进展[J]. 安徽农业科学, 2013(28): 11261-11263.
- [47] 贾永华, 牛锐敏, 李晓龙, 等. 喷施锌肥对苹果叶片生长及果实品质的影响[J]. 安徽农业科学, 2013(36): 13883-13885.
- [48] 田柳. 富铬、富铁、富锌螺旋藻培养方法和食用安全性研究[D]. 武汉: 湖北工业大学, 2013.

(责任编辑 邹永红)

文章编号: 2096 - 1383(2016)05 - 0513 - 04

手写满文字母采集系统的设计与实现

王帆^a 李敏^b 丁纪峰^b 许爽^b 郑蕊蕊^b

(大连民族大学 a. 计算机科学与工程学院; b. 信息与通信工程学院 辽宁 大连 116605)

摘要: 鉴于目前没有完整的手写满文字母库,在分析当前手写满文字母库的建立方式后,提出了嵌入式搭载触摸屏的手写满文采集方案,设计了基于 STM32F4 处理器的手写满文字母采集系统。该系统以 Keil 5 软件为开发平台,利用 C 语言开发了触摸屏、SRAM 模块、SD 卡和通信模块驱动,编写了手写输入采集、优化后的预处理和特征提取算法,并通过串口实现了与 PC 机的数据传输。系统整体电路采用 Altium Designer 9 软件设计。经测试,系统能够较好地完成所需功能,且界面友好、操作方便、成本低廉、实时性强。

关键词: 满文字母采集; 手写满文字母; 嵌入式; 预处理

中图分类号: TP391 文献标志码: A

DOI:10.13744/j.cnki.cn21-1431/g4.2016.05.018

Design and Implementation of Handwritten Manchu Alphabet Acquisition System

WANG Fan^a, LI Min^b, DING Ji-feng^b, XU Shuang^b, ZHENG Rui-rui^b

(a. School of Computer Science and Engineering; b. School of Information and Communication Engineering, Dalian Minzu University, Dalian Liaoning 116605, China)

Abstract: In view of the fact that there is no complete handwritten Manchu alphabet database currently, after analyzing the organization methods of the existing handwritten Manchu character alphabet database, a novel acquisition method based on the embedded system is proposed with a touch screen as the acquisition device, then a handwritten Manchu character acquisition system based on an STM32F4 microprocessor is designed. Using Keil 5 as developing platform and C as the programming language, driver programs of the touch screen, SRAM module, SD card module and communication module are developed, algorithms of the handwritten input acquisition, the optimized pre-processing and the feature extraction are designed. The data transmission between this system and computer is implemented by the RS-232 serial port. The overall PCB layout of the system is designed by Altium Designer 9. Tests show that the system can accomplish the required functions with friendly interface, convenient operation, low cost and strong real-time performance.

Key words: Manchu alphabet acquisition; handwritten Manchu alphabet; embedded system; pre-processing

在清代近 300 年的统治中,留下了大量涉及政治、文化、经济、军事、外交、天文等各个方面的

满文档案,这些满文档案是研究清代通史和各种专史的第一手资料,也是研究满文取之不尽的宝

收稿日期: 2016 - 05 - 19; 最后修回日期: 2016 - 06 - 02

基金项目: 国家民委科研项目(14DLZ007); 辽宁省自然科学基金项目(2015020084); 辽宁省教育厅科学技术研究项目(L2015127, L2014548); 中央高校基本科研业务费专项资金资助项目(DC201502060202, DC201502060407, DC201502060301)。

作者简介: 王帆(1993 -), 男, 满族, 辽宁丹东人, 大连民族大学计算机科学与工程学院硕士研究生, 主要从事嵌入式图形图像处理研究。

通讯作者: 李敏(1962 -), 辽宁开原人, 教授, 学校优秀教学带头人, 主要从事智能信息处理研究。

库,具有重要的利用和研究价值^[1]。然而自清朝毁灭至今,满文严重流失,懂得满文、能使用满文的凤毛麟角,因此研究满文识别方法对保护和传承清代文化遗产来说显得尤为重要^[2]。

识别处理满文需要大量的基础工作。而建立手写满文字母库^[3]是重要的基础工作之一。目前建立手写满文字母库主要是通过研究人员将各种手写满文文献扫描到计算机中,通过对图片的预处理,包括倾斜校正、行列切分,再将预处理后满文单词进行切分,得到满文字母集合,经整理后得到手写满文字母库^[4-5]。该方案受文献质量和数量的影响,当文献量不足时,得到的满文字母样本量很少,满文库的规模就受到限制。另外这种方案需要大量工作人员来将满文书写在纸上,即需要大量的预处理和整理工作。

鉴于目前还没有一个完整的手写满文字母库,根据对当前满文库建立方案的分析,本文设计了一个可以完整采集满文字母并且直接数字化的手写满文字母采集系统,为后期识别处理满语文字提供了基础。

1 系统组成

系统由外壳结构部分和硬件部分组成。外壳的各部分结构图采用 SOLID - WORKS 软件设计,通过 3D 打印机打印后与电路部分拼装^[6]。

系统硬件部分主要由触摸屏模块、输入控制模块和通信模块组成,整体电路采用 Altium Designer 9 软件设计,如图 1。其中输入控制模块包括电源供电模块、ARM 控制模块、SRAM 存储模块和 SD 卡。触摸屏模块用于系统界面和满文字母手写的输入显示;输入控制模块用于对手写数据的采集、触摸屏同步显示以及数据的转换处理;通信模块主要用于将字母图像处理后的特征值发送到上位机保存。

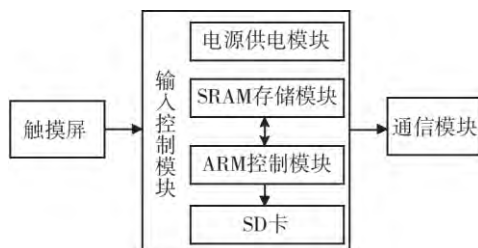


图1 系统硬件组成结构示意图

1.1 触摸屏

选用 ATK - 7' TFTLCD V2 定制电容触摸屏,通过 FT5206 驱动;LCD 屏使用群创 AT070TN92,采用 SSD1963 驱动。屏幕分辨率为 800 × 480,16

位真彩显示,通过 34(2 × 17) 个引脚同外部连接。LCD 接口连接在 STM32F407ZGT6 的 FSMC 总线上面,可以显著提高 LCD 的刷屏速度。为避免撕裂现象,撕裂效应信号通过 LCD 控制器反馈给 MCU 用于指示 LCD 控制器的显示状态,在非显示周期内,撕裂效应信号为高。

1.2 输入控制模块

以 STM32F407ZGT6 为核心的输入控制模块包括连接触摸屏电路、电源电路、连接外扩 SRAM 电路、SD 卡接口电路及最小系统的外围电路。MCU 最小系统电路主要包括 STM32F407ZGT6 及其基本外围电路。STM32F407ZGT6 处理器是由 ARM 专门开发的最新嵌入式处理器,可以满足控制和信号处理功能混合的数字信号处理市场^[7]。其最小系统主要包括复位电路、外部时钟电路、启动模式设置电路及 JTAG 下载电路;系统的电源供电电路采用 AMS1117 - 5.0 芯片,将电源电压降到 5 V 供外围芯片使用,通过 AMS1117 - 3.3 将 5 V 降到 3.3 V 为系统供电。

容量为 1 M 字节的 IS62WV51216 芯片挂在 STM32F407ZGT6 的 FSMC 上,作为系统 MCU 外扩的 SRAM。MCU 芯片本身有 192K 字节内存,通过外扩的 SRAM 芯片可以充分扩展系统内存。系统使用 SD 卡作为数据库保存介质,采用 4 位 SDIO 方式驱动。STM32F4 自带的 SDIO 接口驱动 4 位模式,最高通信速度可达 48 MHz(分频器旁路时),最大速度可以达到 24 MB · s⁻¹^[8] 满足设计需求。

1.3 通信模块

通信模块采用 CH340G 芯片作为 USB 转串口芯片。STM32F407ZGT6 利用其全双工串行 USRT 接口,连接 CH340G 异步传输总线,将满文字符特征序列发送到上位机。采用 USB 接口作为 CH340G 和上位机通信的接口。串口是计算机上一种非常通用的设备通信协议,同时也是仪器仪表设备通用的通信协议,使用这种通信方式可以为数据的采集提供极大的方便。

2 系统程序设计

2.1 TFT 触摸屏部分设计

系统界面分为控制显示、手写输入实时显示、字母图像处理显示三个区域。控制显示区域显示满文字母的选择信息、按键及存储路径信息;手写输入实时显示区域采集并显示满文字母的手写输入轨迹;字母图像处理显示部分主要显示字母图像的处理过程,包括预处理和特征提取,可以对字母图像的处理过程直观地进行分析。

2.1.1 手写输入信号实时采集与显示

手写输入数据的采集主要由输入控制模块完成,其程序流程如图2。当书写笔或手指在手写输入区域划动的时候,输入控制模块从TFT触摸屏读取相应的值,并对这些值进行滤波,去除干扰较大的值,得到触摸点的位置坐标并保存到两个16位无符号整形数组中。两个轨迹数组分别记录触摸点对应的X坐标和Y坐标集合,完成手写输入信号的采集。

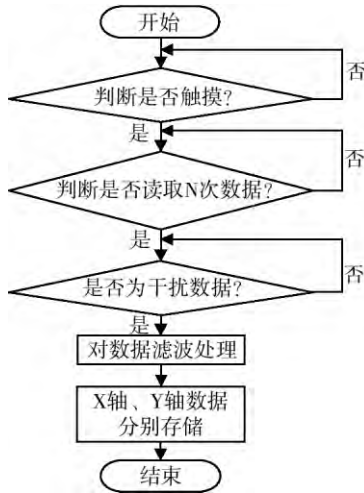


图2 TFT触摸屏数据读取程序流程图

手写输入实时显示位于系统界面右侧,大小为 385×385 。书写时,系统会记录当前的触摸点坐标和上一个触摸点坐标,然后在这两个坐标间画一条黑色粗线。在画线过程中,首先要分析这两个点在X轴或者在Y轴上的增量是否小于线的宽度,如果小于线的宽度,可以视为直线处理,取这两点在单轴上的平均值作为这个轴的坐标,对应另一个轴的长度画一条直线;如果在X轴和Y轴上的增量都大于线的宽度,则对这组坐标不做处理,直接对这两点画粗线。通过这种方法,可以在书写过程中实时显示手写输入轨迹,同时可以使显示的手写字母横平竖直,笔画明显,显示效果好。

2.1.2 控制显示区域

控制显示区域位于界面左侧,大小为 360×430 ,该区域用于显示满文字母的选择框、控制按钮和存储路径,在每次触摸到选择框或按钮时,系统会刷新一次控制区域的显示。存储路径显示区域用来显示存储路径字符串,每一次控制区域显示刷新的时候会先将字符串数组更新一遍。

控制区域包含两部分,满文字母选择区域和手写输入控制区域。满文字母选择区域一共分为三级,第一级为“字母类别”,由6个选择框组成;第二级为“字母样式”,由4个选择框组成;第三级

和第一级相关联,当第一级“字母类别”改变,对应第三级“字母”也会改变。第三级由24个选择框组成,当触摸到相应选择框,该选择框会变为蓝色,系统记录选择信息。当用户点击分类选择框时,系统会经过信息编码、匹配,最终得到路径字符串,利用文件管理系统将截取到的字母图片保存到相应的路径中,完成满文字的采集。

手写输入控制区域设置了“清屏”和“确认采集”两个控制功能。清屏功能会使右侧手写输入区域和图像处理显示区域变为白色,并重新等待书写;确认采集功能通过截屏算法将右侧手写区域图像进行采集,并利用字母分类保存算法存储字母图像,同时对图像进行处理和特征提取。处理后的图像显示在图像处理显示区域,提取的特征值通过通信模块发送。截屏算法利用BMP图片编码将LCD显存保存为BMP格式的图片文件,算法实现步骤如图3。



图3 截屏算法流程图

2.1.3 字母图像处理显示区域

字母图像处理显示部分由5个 64×64 的方框组成,位于系统界面右上部分。当书写完成后,系统会将触摸输入的有序轨迹进行一些预处理,主要包括平滑、直线生成、重采样、归一化。平滑用于消除噪声并且为直线生成做准备;直线生成可以对手写满文字母加入虚拟笔处理;重采样主要是为了减少点的间距的变异以及笔画上点的数目的变异;由于不同的书写风格会导致字体大小不同,因此需要对输入轨迹进行归一化处理,本系统采用线性缩放的方法将样本归一化为 64×64 像素。前4个方框显示预处理后的图像,第5个方框显示8方向特征提取^[9]时的动态切割图。

2.2 串行通信程序设计

系统串行通信采用中断的方式。由于系统要等待对手写输入字母进行特征提取后再发送数据,所以通信模块在系统不采集的时候是不工作的,只有当特征提取结束后进入中断,通过中断处

理程序将采集的特征序列发送,从而提高了系统的显示质量和运行效率。其通信流程图如图 4。

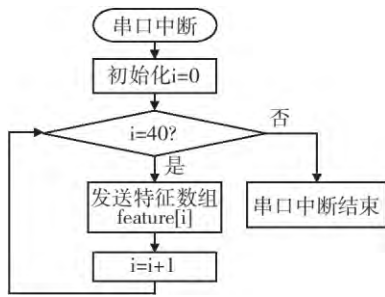


图 4 串口通信程序流程图

3 系统测试

在硬件整体测试中,系统运行界面如图 5 随意选择字母进行采集,图中选择“辅音字母”“独立式”字母“b”,选择后可以发现下端的存储路径发生变化。在右侧书写满文字母后点击采集按钮,按钮会显示“正在采集”等待 1 s 后完成采集。点击清屏按钮后右侧屏幕内所有字母被擦除,可以继续采集。测试过程中系统各个模块运行正常,实时性良好。

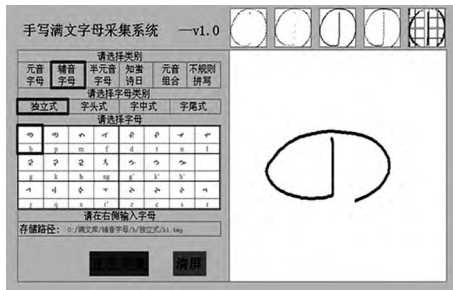


图 5 系统运行界面

利用串口助手软件测试系统的通信模块,包括通讯是否连接、下位机发来特征数据是否正确。测试时,将串口助手波特率设置为 115200、数据位设置为 8 位,利用通信模块接收下位机发送的数据并显示。经测试,上位机数据接收正常,所有特征数据均符合实际检测值,串口助手软件测试情况如图 6。



图 6 串口助手软件测试情况

4 结 语

满文识别技术必须以大量的字母样本为基础,因此建立手写满文字母库是研究满文识别方法的必要条件。本文在分析了手写满文字母库建立的方式后,设计了一个脱机手写满文字母采集系统。系统测试结果显示,通过本系统可以方便地建立一个多样本完整的满文手写字母库,同时对采集后的字母图像进行特征提取并通过通信模块发送到上位机用于训练。对比传统的利用上位机建立满文手写字母库的方式,该系统以手写输入满文字母的方式,利用嵌入式搭载触摸屏便捷地进行采集并数字化,构成简单,操作便捷,成本低廉,能够准确、实时显示手写输入的满文字母并进行保存。

参考文献:

- [1] 许爽,李敏,朱满琼,等. 满文识别技术研究与分析[J]. 大连民族学院学报, 2014, 16(5): 546-551.
- [2] 吴敏. 从满文发展的历史与现状谈保护与发展满文的意义[J]. 满族研究, 2010(99): 62-65.
- [3] 郑蕊蕊,李敏,吴宝春. 基于 MATLAB GUI 的少数民族文字手写体采集系统[J]. 大连民族学院学报, 2014, 16(3): 306-309.
- [4] 周兴华,李敏,郑蕊蕊,等. 印刷体满文文字数据库的构建与实现[J]. 大连民族学院学报, 2015, 17(3): 270-273.
- [5] 张广渊,李晶皎,王爱侠. 脱机手写满文笔画基元的提取和识别[J]. 计算机工程, 2007, 33(22): 200-202.
- [6] PETTIS Bre. Anna Kaziumas France and Jay Shergill. Getting Started with MakerBot [M]. Beijing: Post & Telecom Press, 2013.
- [7] 张勇强,阳泳,于建坤. 基于 STM32 的图像采集与显示系统的设计与实现[J]. 电子世界, 2016(2): 34-36.
- [8] 卢有亮. 基于 STM32 的嵌入式系统原理与设计[M]. 北京: 机械工业出版社, 2014.
- [9] BAI Zhenlong, HUO Qiang. A Study on the Use of 8-directional Features for Online Handwritten Chinese Character Recognition [C]//Proc. of ICDAR' 05. Seoul. Korea: IEEE Computer Society, 2005.

(责任编辑 王楠楠)

Variable Momentum Controlled by Equalizer Energy based CMA Blind Equalization

Jinyu SUN^a, Ying XIAO^b

College of Information and Communication Engineering, Dalian Nationality University, Dalian
116600, China

^a2440452893@qq.com, ^bxiaoying@126.com

Keywords: blind equalization; CMA; momentum; underwater acoustic channel

Abstract. To further improve the performance of CMA blind equalization, an improved algorithm with variable momentum controlled by equalizer weights energy was proposed. The momentum gradient algorithm can improve the convergence rate effectively. However the additional gradient noise would produce by momentum, which results in high steady state residual error after convergence. Hereby, a variable momentum algorithm is designed according to the equalizer weights energy, which the momentum factor adjusted needs no empirical parameters during the iterative process. Therefore, the proposed algorithm is more universal than the other adaptive momentum algorithms. The variable momentum controlled by equalizer weights energy not only can take advantage of the momentum gradient algorithm to improve the convergence rate, but also can avoid the additional gradient noise produce by momentum for CMA blind equalization, and the effectiveness is shown by computer simulation under underwater acoustic channel condition.

Introduction

Blind equalization can compensate and track the communication channel without the training signal, which can remove the inter-symbol interference in the received signal to improve the quality of the communication and save the bandwidth [1], at the same time, it can avoid the unlock of the equalizer effectively. Recently, lots of research achievements of the theory and algorithm of blind equalization have obtained by the relevant experts and scholars. In all kinds of blind equalization algorithms, CMA blind equalization structure is simple and the performance is stable. However, the convergence rate of CMA is slow and the steady state residual error is big. Based on CMA blind equalization, lots of improved algorithms were proposed, which include the momentum CMA blind equalization algorithm. The momentum gradient algorithm can accelerate the convergence rate, and it can avoid falling into the shallow local minimum of the cost function to improve the global convergence performance when the cost function is non-convex [3]. However, the momentum produces additional gradient noise after the algorithm convergence, which leads to the increase of the residual error. To overcome the effect of momentum term on the residual error, the adaptive momentum algorithm is considered as a compromise algorithm in the convergence rate and convergence accuracy. The basic idea of the adaptive momentum algorithm is that the big momentum factor is used to obtain fast convergence rate at the initial stage, and the momentum factor is gradually reduced as the algorithm iterative process to obtain small steady state residual error. The adaptive momentum algorithms proposed by the relevant literature need to design the empirical parameters, for different communication channels of different SNR conditions, the algorithm is poor, and the design of empirical parameters is lack of theoretical basis, such as statistical momentum factor algorithm and adaptive momentum factor controlled by the function of instantaneous error nonlinear transformation. Hereby, an improved algorithm with variable momentum controlled by equalizer weights energy was proposed, variable momentum algorithm is designed according to the equalizer weights energy, which the momentum factor adjusted needs no experience parameters during the iterative process. Therefore, the proposed algorithm is more universal than the other adaptive momentum algorithms. The effectiveness of the proposed algorithm is shown by computer simulation under underwater acoustic channel condition.

The Basic Principle of CMA

The basic principle of CMA is shown in Fig.1 [4]. Where $x(n)$ is the input signal, $h(n)$ is the unknown channel impulse response, $n(n)$ is the Gaussian white noise with zero mean, $y(n)$ is the received signal and $w(n)$ is the blind equalizer weights and $\tilde{x}(n)$ is the output signal of the blind equalizer.

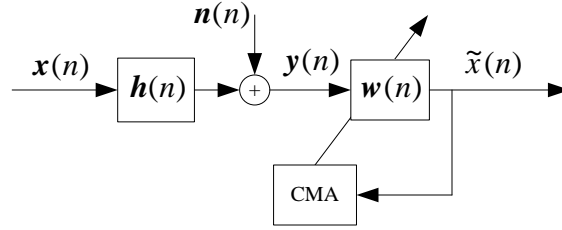


Fig.1 The basic principle of CMA

According to the communication signal transmission process can be known

$$y(n) = h(n)x(n) + n(n) \quad (1)$$

$$\tilde{x}(n) = w^H(n)y(n) \quad (2)$$

CMA blind equalization uses the high order statistics of the transmission signal and its cost function can be given by [5]

$$J(n) = \frac{1}{2} \left[R - |\tilde{x}(n)|^2 \right]^2 \quad (3)$$

Where R is the constant modulus of the transmission signal which is given by

$$R = \frac{E \left[|\tilde{x}(n)|^4 \right]}{E \left[|\tilde{x}(n)|^2 \right]} \quad (4)$$

According to the stochastic gradient descent algorithm, the updating formula of CMA blind equalization can be given by

$$w(n+1) = w(n) + \mu e(n) y^*(n) \tilde{x}(n) \quad (5)$$

Where μ is the study step and $e(n)$ is the instantaneous gradient error which can be given by

$$e(n) = R - |\tilde{x}(n)|^2 \quad (6)$$

Momentum CMA Blind Equalization

The convergence rate of CMA blind equalization is slow, which would waste lots of symbol information to capture the communication channel characteristics, as a result, it causes the error rate in the receiving signal is too high especially in high speed communication or time varying channel conditions. Furthermore, the tracking ability of the channel of CMA blind equalization is reduced sharply. Momentum gradient descent algorithm can significantly improve the convergence rate, while it can avoid the shallow local minimum, so as to improve the global convergence performance of the algorithm for the non-convex cost function. The blind equalizer weights updating formula of blind equalizer based on momentum gradient can be given by [6]

$$w(n+1) = w(n) + \mu e(n) y^*(n) \tilde{x}(n) + \alpha [w(n) - w(n-1)] \quad (7)$$

Where $0 < \alpha < 1$ is the momentum factor and $\alpha [w(n) - w(n-1)]$ is the momentum term. Let $\Delta w(n) = w(n+1) - w(n)$, then the recurrence relation can be given by Eq.8 according to Eq.7.

$$\Delta w(n) = \mu e(n) y^*(n) \tilde{x}(n) + \alpha \Delta w(n-1) \quad (8)$$

Expanding Eq.8 can obtain the result as follow

$$\Delta w(n) = \sum_{i=1}^{n-1} \alpha^{n-i} \nabla J(i) + \alpha^n (w(1) - w(0)) \quad (9)$$

Where $\nabla J(n)$ is the instantaneous gradient of CMA. Eq.9 shows that the momentum factor must

meet the condition as $|\alpha| < 1$ to ensure the convergence of the algorithm. For the momentum cannot rapid the convergence rate when $\alpha < 0$, and then the range of momentum factor is $0 < \alpha < 1$. If the CMA blind equalization meets the ideal convergence condition, it needs $\Delta \mathbf{w}(n) = \mathbf{0}$. According to Eq.7, when CMA blind equalization reaches to ideal convergence rate, the momentum term would produce additional gradient noise, which increases the steady state residual error.

Adaptive momentum gradient algorithm uses the bigger momentum factor in the initial stage of the blind equalizer updating process, which can rapid the convergence rate. With the iterative of the algorithm, the momentum factor reduces gradually to obtain smaller steady state residual error. Thus the adaptive momentum gradient algorithm can obtain a compromise result between convergence rate and convergence accuracy. Some adaptive momentum algorithms can be given by follows [7-9].

$$\alpha(n) = \beta e(n) / \sum_{j=1}^n e(j) \quad (10)$$

$$\alpha(n) = \begin{cases} \frac{2}{3} & E(n) \geq 2 \\ E(n)/3 & E(n) < 2 \end{cases} \quad (11)$$

$$\alpha(n) = \gamma [1 - e^{p-E(n)}] \quad (12)$$

$$\alpha(n) = \gamma [1 - e^{p-|e(n)|^2}] \quad (13)$$

Where β , γ and p are empirical parameters and the reasonable design of empirical parameters has a significant effect on the performance of the algorithm. Although the adaptive momentum algorithm given by Eq.11 without empirical parameters, the factor is $2/3$ or $2/3 E(n)$ without the theoretical basis. Furthermore, it cannot obtain ideal convergence performance for different SNR or different type modulate signal. Where the estimation method of $E(n)$ is given by

$$E(n+1) = \lambda E(n) + (1-\lambda) |\tilde{x}(n) - \hat{x}(n)|^2 \quad (14)$$

Where λ is the forgetting factor and $\hat{x}(n)$ is the decision value of $\tilde{x}(n)$.

The nature of CMA blind equalization is stochastic gradient descent algorithm [10], which achieves the ideal equalization by minimizing the cost function. The instantaneous gradient variation rate is zero and the variation rate of the energy of the equalizer weight is zero when the algorithm meets ideal equalization condition without taking into account the effect of the noise in the channel. The variation rate of the equalizer weights is defined as follow.

$$\Delta \mathbf{w}(n) = \mathbf{w}(n) - \mathbf{w}(n-1) \quad (15)$$

After the algorithm obtains convergence, it can get the following conclusion.

$$\lim_{n \rightarrow \infty} (\Delta \mathbf{w}(n) - \Delta \mathbf{w}(n-1)) = \mathbf{0} \quad (16)$$

Then the energy of the equalizer weights is defined as follow.

$$E_w(n) = \sum_{j=1}^L |w_j(n)| \quad (17)$$

Where L is the length of the equalizer. According to Eq.16 we can get

$$\lim_{n \rightarrow \infty} E_w(n) = \lim_{n \rightarrow \infty} E_w(n-1) \quad (18)$$

According to Eq.16 and Eq.18 we can get

$$\lim_{n \rightarrow \infty} \Delta E_w(n) = \lim_{n \rightarrow \infty} (E_w(n) - E_w(n-1)) = 0 \quad (19)$$

Then the variable momentum CMA blind equalization algorithm based on the equalizer weights energy can be obtained and the momentum factor can be adjusted by

$$\alpha(n+1) = \alpha(n) + \mu_m \left[\frac{|\Delta E_w(n)| - |\Delta E_w(n-1)|}{\max(|\Delta E_w(n)|, |\Delta E_w(n-1)|)} \right] \quad (20)$$

Where μ_m is the study step of the momentum factor, $\max(a,b)$ represents the maximum value of a and b . In the initial stage of the algorithm, $\Delta E_w(n)$ varies during the iterative process and $\Delta E_w(n)$ would larger than $\Delta E_w(n-1)$ in a statistical sense. And then the momentum factor adjusted according to Eq.20 can get a gradually reduced process. Considering the increase of the iterative process, the momentum factor may meet $\alpha(n) < 0$. Therefore, the variation of momentum factor is constrained by the following formula.

$$\alpha(n+1) = \alpha(n) \quad \text{if} \quad \alpha(n+1) < 0 \quad (21)$$

The variable momentum algorithm according to Eq.20 and Eq.21 called energy control variable momentum CMA (ECVMCMA). There are no empirical parameters in ECVMCMA, which can let the proposed algorithm is more universal than the other adaptive momentum algorithms.

Computer Simulation and Analysis

In the simulation, the send signal is modulated by QPSK. The channel is adopted the mix-phase underwater acoustic channel. The channel equivalent baseband impulse response is $h = [0.3132, 0.1040, 0.8908, 0.3143]$ [11]. The channel noise is Gauss white noise with zero mean and the SNR=20dB. The length of the blind equalizer is 16 and the center weight is initialized to 1 and the other weights are initialized to 0. The study step of the equalizer $\mu = 0.001$ and the study step of the momentum factor $\mu_m = 0.002$. The initial value of the momentum factor $\alpha(0) = 0.75$. The performance comparison is evaluated according to residual inter symbol interference (ISI) which is defined as follow [12].

$$ISI(n) = \frac{\sum_i |C_i(n)|^2 - |C_i(n)|_{\max}^2}{|C_i(n)|_{\max}^2} \quad (22)$$

Where $C(n)$ is the combined impulse response vector. The residual ISI convergence result after 500 times Monte Carlo simulations is shown in Fig.2 and the variation curve of the momentum factor is shown in Fig.3.

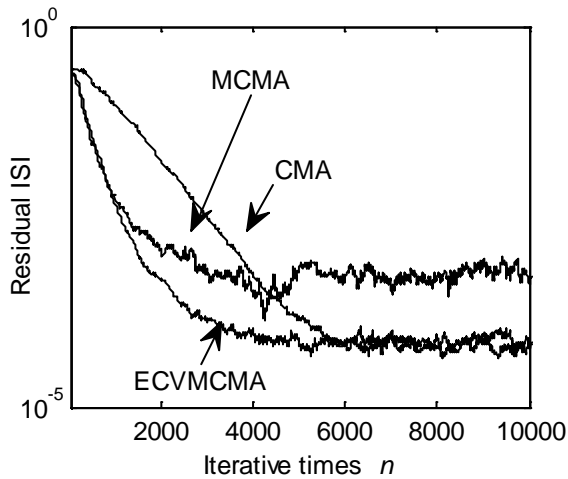


Fig.2 The residual ISI convergence curve

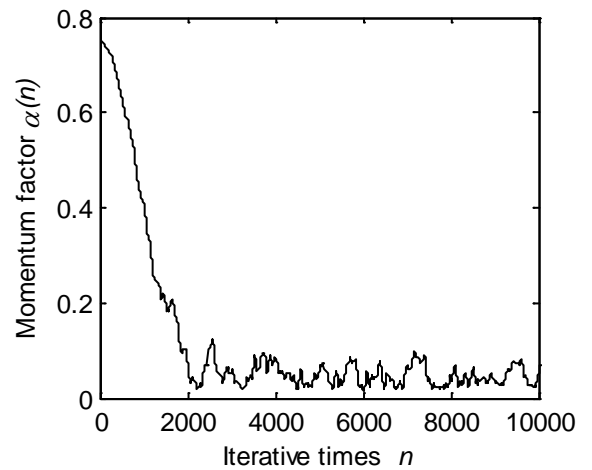


Fig.3 The variation curve of momentum factor

Fig.2 shows that the proposed ECVMCMA blind equalization algorithm has faster convergence rate than the traditional CMA and has the consistent steady stable residual error with the traditional CMA after convergence. The momentum CMA (MCMA) with the constant momentum factor has the fastest convergence rate, but the steady stable residual error is bigger due to the additional gradient noise produced by momentum. Fig.3 shows that the momentum factor reduces gradually with the iterative process and convenience to a small value near to 0 after 2000 times iterative, thus it can avoid the additional gradient noise produced by momentum.

Conclusion

The momentum CMA blind equalization can improve the convergence rate of the algorithm effectively. However, the additional gradient noise produced by momentum increases the steady stable residual error after convergence. Adaptive momentum CMA blind equalization algorithms often need empirical parameters, which results in the degeneration of the universal. This work proposed a variable momentum CMA blind equalization algorithm, which the momentum factor updates according to the variation rate of the energy of the blind equalizer weights and there is no empirical parameters need to set, therefore, the proposed algorithm improves the universal for adaptive momentum CMA. The simulation results show that the proposed algorithm has the approaching convergence rate with MCMA and has the approaching convergence accuracy with the traditional CMA.

Acknowledgement

This work is supported in part by The National Natural Science Foundation of China (61201418), Fundamental Research Funds for the Central Universities (DC201502060302) and Liaoning Province High School Talent Support Program (LJQ2013126).

References

- [1] Mendes Filho J., Miranda M.D., Silva M.T.M. Decision-directed feedback equalisation for QAM signals [J]. *Electronics Letters*, 2012, 48(1): 27-28.
- [2] Y.Sato. A method of self-recovering equalization for multi-level amplitude modulation [J]. *IEEE Transactions on Communication*, 1975, 23(6): 679-682.
- [3] XIAO Ying, RUAN Rui. CMA blind equalization with variable momentum based on nonlinear transformation function [J]. *Applied Mechanics and Materials*, 2014, (602-605): 2658-2661.
- [4] XIAO Ying, YIN Fu-liang. Blind equalization based on direction gradient algorithm under impulse noise environment [J]. *WSEAS Transactions on Communications*, 2014, (13):171-177.
- [5] XIAO Ying, YIN Fuliang. Blind equalization based on RLS algorithm using adaptive forgetting factor for underwater acoustic channel [J]. *China Ocean Engineering*. 2014, 28(3): 401-408.
- [6] HAN Ying-ge, GUO Ye-cai, LI Bao-kun et al. Momentum term and orthogonal wavelet-based blind equalization algorithm [J]. *Journal of System Simulation*, 2008, 20(6): 1559-1562.
- [7] XU Jin-biao, WANG Yu-min. Selecting β in “Stop and GO” decision-directed algorithm and its momentum algorithm [J]. *Journal of Electronics*, 1998, 20(3): 321-329.
- [8] ZHANG Shu-xia, ZHANG Song-yang, JIANG Yu-zhong. Momentum constant modulus algorithm for blind channel equalization [J]. *Journal of Naval University of Engineering*, 2007, 19(2): 99-102.
- [9] XING Li-kun, WU Long, GUO Ye-cai. Variable momentum factor odd symmetry error function blind equalization algorithm [J]. *Computer Engineering and Application*, 2010, 46(27): 117-119.
- [10] A. M. Ragheb, M. Shoaib, S. Alshebeili, et al. Enhanced Blind Equalization for Optical DP-QAM in Finite Precision Hardware [J]. *IEEE Photonics Technology Letters*, 2015, 27(2): 181-184.
- [11] Chung, Wonzool. Ill Convergence of Minimum Output Energy Infinite Impulse Response Equalizer for Digital Vestigial Sideband Signals [J]. *International Journal of Adaptive Control and Signal Processing*, 2012, 26(1): 73-83.

[12]XIAO Ying, Li Min. Recursive Least Squares Fractionally-spaced blind equalization Algorithm for underwater acoustic communication [J]. Journal of Information and Computational Science, 2013, 10(18):6077-6084.

中华人民共和国国家版权局 计算机软件著作权登记证书

证书号： 软著登字第1203145号

软件名称： 网络安全教学系统
V1.0

著作权人： 大连民族大学

开发完成日期： 2015年06月10日

首次发表日期： 未发表

权利取得方式： 原始取得

权利范围： 全部权利

登记号： 2016SR024528

根据《计算机软件保护条例》和《计算机软件著作权登记办法》的规定，经中国版权保护中心审核，对以上事项予以登记。



No. 00955258



中华人民共和国国家版权局 计算机软件著作权登记证书

证书号： 软著登字第1437116号

软件名称： 农业信息服务系统
V1.0

著作权人： 大连民族大学

开发完成日期： 2016年06月10日

首次发表日期： 未发表

权利取得方式： 原始取得

权利范围： 全部权利

登记号： 2016SR258499

根据《计算机软件保护条例》和《计算机软件著作权登记办法》的规定，经中国版权保护中心审核，对以上事项予以登记。



No. 0122911



中华人民共和国国家版权局 计算机软件著作权登记证书

证书号： 软著登字第1492365号

软件名称： 手写满文字母识别系统
V1.0

著作权人： 大连民族大学

开发完成日期： 2016年08月24日

首次发表日期： 2016年08月24日

权利取得方式： 原始取得

权利范围： 全部权利

登记号： 2016SR313748

根据《计算机软件保护条例》和《计算机软件著作权登记办法》的规定，经中国版权保护中心审核，对以上事项予以登记。



No. 01296783



中华人民共和国国家版权局 计算机软件著作权登记证书

证书号： 软著登字第1512083号

软件名称： 字符图像数据人工合成系统
V1.0

著作权人： 大连民族大学

开发完成日期： 2016年05月05日

首次发表日期： 未发表

权利取得方式： 原始取得

权利范围： 全部权利

登记号： 2016SR333466

根据《计算机软件保护条例》和《计算机软件著作权登记办法》的规定，经中国版权保护中心审核，对以上事项予以登记。



No. 01321253



中华人民共和国国家版权局 计算机软件著作权登记证书

证书号： 软著登字第1372237号

软件名称： 无线探测车控制软件
V1.0

著作权人： 大连民族大学

开发完成日期： 2016年05月25日

首次发表日期： 2016年05月25日

权利取得方式： 原始取得

权利范围： 全部权利

登记号： 2016SR193620

根据《计算机软件保护条例》和《计算机软件著作权登记办法》的规定，经中国版权保护中心审核，对以上事项予以登记。



No. 01177228

2016年07月26日

中华人民共和国国家版权局

计算机软件著作权登记证书

证书号： 软著登字第1394820号

软件名称： 低频振动激光检测软件
V1.0

著作权人： 大连民族大学

开发完成日期： 2016年07月06日

首次发表日期： 未发表

权利取得方式： 原始取得

权利范围： 全部权利

登记号： 2016SR216203

根据《计算机软件保护条例》和《计算机软件著作权登记办法》的规定，经中国版权保护中心审核，对以上事项予以登记。



No. 01196980



中华人民共和国国家版权局 计算机软件著作权登记证书

证书号： 软著登字第1238833号

软件名称： 教室多媒体系统管理软件
V1.0

著作权人： 大连民族大学

开发完成日期： 2016年01月20日

首次发表日期： 未发表

权利取得方式： 原始取得

权利范围： 全部权利

登记号： 2016SR060216

根据《计算机软件保护条例》和《计算机软件著作权登记办法》的规定，经中国版权保护中心审核，对以上事项予以登记。



No. 00994777



荣誉证书

“xiaokeeie”代表队在由国家互联网信息办公室网络数据与技术局指导、中国计算机学会主办的二零一五年“中国好创意”全国青年大数据创新大赛中获得

“基于运营商数据的互联网金融创新”赛题 二等奖

特发此证，以资鼓励。

队长 毋亚男
队员 崔丽艳 冉义军
指导老师 许小可
依托单位 大连民族大学

大赛组委会主席

中国计算机学会

二〇一六年一月十日





全国研究生创新实践系列活动

获奖证书

大连民族大学 毋亚男 同学

荣获“中关村青联杯”第十二届全国研究生数学建模竞赛

三等奖



教育部学位与研究生教育发展中心



全国研究生数学建模竞赛组委会



承办单位：北京交通大学

