

肖泽丰,李晓旭,刘名飞,等. 不同狼毒愈伤组织的抑菌活性及化学成分 GC-MS 分析[J]. 江苏农业科学,2018,46(18):200-204.
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2018.18.051

不同狼毒愈伤组织的抑菌活性 及化学成分 GC-MS 分析

肖泽丰,李晓旭,刘名飞,朱昌叁,郝娜,王俊丽

(中央民族大学生命与环境科学学院,北京 100081)

摘要:以狼毒愈伤组织为材料,研究了不同植物生长调节剂对其抑菌活性和成分积累的影响。研究表明,样品 25 对大肠杆菌的抑制效果好,样品 10 和样品 28 抑制四叠球菌效果较好,样品 10 和样品 28 抑制金黄色葡萄球菌效果较好,样品 8 和样品 25 抑制白色葡萄球菌效果较好,样品 4 抑制枯草芽孢杆菌效果较好。气相色谱-质谱联用(gas chromatography-mass spectrometer,简称 GC-MS)分析表明,培养基中加入萘乙酸(NAA)0.5 mg/L 和苯基噻二唑基脲(TDZ)2.0 mg/L 有利于氨基酸的积累;培养基中加入 NAA 1.0 mg/L 和 6-苄氨基腺嘌呤(6-BA)0.5 mg/L 有利于黄酮类的积累;培养基中加入激动素(KT)2.0 mg/L 有利于甾醇类的积累。

关键词:狼毒;愈伤组织;抑菌活性;生长调节剂;GC-MS 分析

中图分类号: Q945 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2018)18-0200-04

狼毒(*Stellera chamaejasme* L.)又名断肠草,是瑞香科(Thymelaeaceae)狼毒属(*Stellera*)多年生草本植物^[1]。有清热解毒、消肿、泻火等功效。狼毒主要成分有黄酮类^[2]、二萜类^[3-4]、香豆素类及木脂素类^[5-6],具有抗菌、抗病毒、抗氧化、抗肿瘤及免疫调节等多种药理作用^[7-8]。近年来有关狼毒化学成分和抗肿瘤、抗艾滋病方面的研究取得了迅速的发展,狼毒还被用于生物农药,以毒攻毒取得了明显的效果。现阶段国内研究可采用组织培养技术,通过添加不同植物生长调节剂的方式,可刺激狼毒的次生代谢产物的积累,提高有效药物成分的含量。

本研究对不同生长调节剂培养条件下的狼毒愈伤组织进行乙醇提取,通过抑菌圈法探究醇提取物对大肠杆菌(*Escherichia coli*)、四叠球菌(*Micrococcus tetragenus*)、白色葡萄球菌(*Staphylococcus albus*)、金黄色葡萄球菌(*Staphylococcus aureus*)、枯草芽孢杆菌(*Bacillus subtilis*)的抑菌活性进行了分析,并通过 GC-MS 分析其化学成分,以期得出不同植物生长调节剂对其抑菌活性和成分积累的影响,为狼毒的科学应用提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料与菌种

野生狼毒植株采自北京市东灵山海拔 1 800 m 左右的向阳山坡上。所用菌种为大肠杆菌、四叠球菌、白色葡萄球菌、金黄色葡萄球菌、枯草芽孢杆菌。

收稿日期:2017-05-09

基金项目:高等学校学科创新引智计划资助项目(编号:B08044);中央民族大学一流大学一流学科建设项目(编号:ydzxxk201619)。

作者简介:肖泽丰(1993—),男,山东聊城人,硕士研究生,主要从事生物资源保护和利用方面的研究。E-mail:zfxia@foxmail.com。

通信作者:王俊丽,教授,博士生导师,主要从事植物细胞工程和药用植物资源等研究。E-mail:wangjunli1698@163.com。

1.2 方法

1.2.1 愈伤组织醇提物的制备 以狼毒叶片为外植体,通过添加不同浓度的萘乙酸(NAA)、6-苄氨基腺嘌呤(6-BA)、苯基噻二唑基脲(TDZ)、激动素(KT)、2,4-二氯苯氧乙酸(2,4-D)等生长调节剂进行培养,诱导愈伤组织。将诱导出的愈伤组织于 50 ℃ 条件下烘干、粉碎并称质量,用 95% 的乙醇(材料与乙醇比为 1:20)30 ℃ 条件下浸提 3 次,抽滤,风干,计算产率。

1.2.2 抑菌活性的测定

1.2.2.1 抑菌实验样品及对照品的配制 称取一定量的乙醇提取物,配制成为 100.00 mg/mL 的甲醇溶液,再分别以甲醇为溶剂配制成为 5.00 mg/mL 和 10.00 mg/mL 的溶液;配制 5.00 mg/mL 和 10.00 mg/mL 的青霉素钠溶液。

1.2.2.2 菌悬液的制备 将大肠杆菌、四叠球菌、白色葡萄球菌、金黄色葡萄球菌、枯草芽孢杆菌接种培养(37 ℃ 摇床活化培养 24 h)后,用无菌生理盐水稀释成含菌量为 $10^6 \sim 10^7$ CFU/mL 的菌悬液备用。

1.2.2.3 抑菌圈法测定 将直径为 0.6 cm 的无菌滤纸片贴在已涂布 0.2 mL 菌悬液的培养基上,用移液枪在每个滤纸片上加入 20 μ L 不同浓度的甲醇样品溶液,37 ℃ 恒温培养 24 h 后测量抑菌圈直径。重复 3 次,取平均值。青霉素钠作为阳性对照。

1.2.3 样品的 GC-MS 分析

1.2.3.1 柱前衍生化 取一定量乙醇提取物于 1.5 mL 离心管,加入足量无水 CaCl_2 ,75 ℃ 放置 1 h 使提取物彻底干燥。每份样品加入 250 μ L 硅烷化试剂[双(三甲基硅烷基)三氟乙酰胺(BSTFA)与吡啶比为 5:1],75 ℃ 衍生化 1.5 h。

1.2.3.2 测试条件 使用 AGILENT 5975/6890N 型气质联用仪测定提取物的化学组分。毛细管柱为 HP-35 ms (30.0 m \times 0.25 mm \times 0.25 μ m),载气为 He,流速为 1 mL/min,进样量为 1 μ L,进样口温度为 280 ℃。测定程序:

柱温 60 ℃,保持 1 min;10 ℃/min 升温至 180 ℃,保持 1 min;再以 20 ℃/min 升温至 280 ℃,保持 5 min。质谱条件:电子轰击源(EI),电压 70 eV,扫描范围 20 ~ 800 u,根据质谱数据库 NISTOS 结合标准化合物,进行乙醇提取物主要成分分析。

2 结果与分析

2.1 不同材料醇提物的产率

表 1 不同材料醇提物的产率

| 样品 | 材料类型 | 生长调节剂 (mg/L) | 材料干质量 (g) | 浸膏干质量 (g) | 产率 (%) |
|----|-------|------------------------|--------------|--------------|-----------|
| 1 | 愈伤组织 | NAA 0.50 + 6 - BA 0.25 | 5.213 | 0.636 | 12.20 |
| 2 | 愈伤组织 | NAA 0.50 + 6 - BA 0.50 | 4.709 | 0.509 | 10.81 |
| 3 | 愈伤组织 | NAA 1.00 + 6 - BA 0.25 | 3.211 | 0.447 | 13.92 |
| 4 | 愈伤组织 | NAA 1.00 + 6 - BA 0.50 | 3.725 | 0.696 | 18.68 |
| 5 | 愈伤组织 | NAA 1.00 + 6 - BA 1.00 | 5.973 | 0.856 | 14.33 |
| 6 | 愈伤组织 | NAA 2.00 + 6 - BA 1.00 | 7.712 | 1.099 | 14.25 |
| 7 | 愈伤组织 | NAA 0.50 + TDZ 0.50 | 8.592 | 1.169 | 13.61 |
| 8 | 愈伤组织 | NAA 0.50 + TDZ 2.00 | 6.408 | 0.481 | 7.51 |
| 9 | 愈伤组织 | NAA 1.00 + TDZ 1.00 | 7.953 | 1.095 | 13.77 |
| 10 | 愈伤组织 | NAA 2.00 + TDZ 2.00 | 6.775 | 1.133 | 16.72 |
| 11 | 愈伤组织 | TDZ 0.50 | 7.099 | 0.556 | 7.83 |
| 12 | 愈伤组织 | TDZ 1.00 | 7.568 | 0.759 | 10.03 |
| 13 | 愈伤组织 | TDZ 2.00 | 2.801 | 0.456 | 16.28 |
| 14 | 愈伤组织 | TDZ 4.00 | 7.183 | 0.964 | 13.42 |
| 15 | 愈伤组织 | 6 - BA 0.50 | 4.997 | 0.791 | 15.83 |
| 16 | 愈伤组织 | 6 - BA 1.00 | 5.606 | 0.860 | 15.34 |
| 17 | 愈伤组织 | 6 - BA 2.00 | 4.375 | 0.991 | 22.65 |
| 18 | 愈伤组织 | 6 - BA 4.00 | 1.607 | 0.262 | 16.30 |
| 19 | 愈伤组织 | NAA 0.50 | 1.009 | 0.101 | 10.00 |
| 20 | 愈伤组织 | NAA 1.00 | 2.753 | 0.609 | 22.12 |
| 21 | 愈伤组织 | NAA 2.00 | 4.804 | 1.118 | 23.27 |
| 22 | 愈伤组织 | NAA 4.00 | 3.641 | 0.793 | 21.78 |
| 23 | 愈伤组织 | KT 0.50 | 4.925 | 0.965 | 19.59 |
| 24 | 愈伤组织 | KT 1.00 | 6.500 | 0.782 | 12.03 |
| 25 | 愈伤组织 | KT 2.00 | 9.667 | 0.625 | 6.47 |
| 26 | 愈伤组织 | KT 4.00 | 3.340 | 0.606 | 18.14 |
| 27 | 愈伤组织 | 2,4 - D 0.50 | 1.602 | 0.286 | 17.85 |
| 28 | 愈伤组织 | 2,4 - D 1.00 | 3.587 | 0.743 | 20.71 |
| 29 | 愈伤组织 | 2,4 - D 2.00 | 1.863 | 0.378 | 20.29 |
| 30 | 愈伤组织 | 2,4 - D 4.00 | 0.699 | 0.141 | 20.17 |
| MS | 愈伤组织 | | 7.603 | 0.857 | 11.27 |
| W | 野生狼毒根 | | 5.000 | 1.157 | 23.14 |

由表 1 可知,生长调节剂影响着醇提物的产率,30 个愈伤组织样品中有 25 个产率高于 MS 培养基诱导的愈伤组织的产率,培养基中加入 NAA 2.0 mg/L 的样品 21 产率最高,为 23.27%,加入 KT 2.0 mg/L 的样品 25 产率最低,为 6.47%。研究结果表明。NAA 2.0 mg/L 最有利于愈伤组织干物质积累。

2.2 抑菌活性的测定

2.2.1 不同样品对大肠杆菌的抑制作用 对 32 个样品进行了抑菌活性分析,研究发现 4、24、25、MS、W 这 5 个样品对大肠杆菌的抑制效果好(表 2)。其中 W(野生狼毒根)各浓度抑菌效果最强,其最小抑菌浓度(MIC)为 0.78 mg/mL;其次是样品 25(添加 KT 2.0 mg/L)与 MS(无生长调节剂),MIC 均为 12.50 mg/mL;样品 4(添加 NAA 1.0 mg/L + 6 - BA 0.5 mg/L)和样品 24(添加 KT 1.0 mg/L)的 MIC 均为 25.00 mg/mL,抑菌活性最差。

2.2.2 不同样品对四叠球菌的抑制作用 32 个样品中 8、10、28、MS、W 这 5 个样品抑制四叠球菌效果较好。其中样品 W(野生狼毒根)的 MIC 为 3.13 mg/mL,抑菌效果最好;样品 8(添加 NAA 0.5 mg/L + TDZ 2.0 mg/L)的 MIC 为

25.00 mg/mL;样品 10(添加 NAA 2.0 mg/L + TDZ 2.0 mg/L)与样品 28(添加 2,4 - D 1.0 mg/L)的 MIC 均为 12.50 mg/mL。样品 MS(无生长调节剂)在浓度为 6.25 mg/mL 时,就具有抑菌活性,与野生根相差最小。

2.2.3 不同样品对金黄色葡萄球菌的抑制作用 通过研究发现,8、10、14、25、28、W 这 6 个样品抑制金黄色葡萄球菌效果较好。其中效果最好的为 W(野生狼毒根),其 MIC 为 1.56 mg/mL;样品 10(添加 NAA 2.0 mg/L + TDZ 2.0 mg/L)与样品 28(添加 2,4 - D 1.0 mg/L)的 MIC 均为 6.25 mg/mL;样品 8(添加 NAA 0.5 mg/L + TDZ 2.0 mg/L)样品 14(添加 TDZ 4.0 mg/L)和样品 25(添加 KT 2.0 mg/L)的 MIC 约为 12.50 mg/mL;在较高浓度下,样品 8、10、14 和 28 的抑菌圈较大,抑菌效果随着浓度的降低显著下降。而 W(野生狼毒根)

表2 不同样品对大肠杆菌的抑菌作用

| 样品 | 抑菌圈直径(mm) | | | | | | | | |
|----|--------------|-------------|-------------|-------------|------------|------------|------------|------------|------------|
| | 100.00 mg/mL | 50.00 mg/mL | 25.00 mg/mL | 12.50 mg/mL | 6.25 mg/mL | 3.13 mg/mL | 1.56 mg/mL | 0.78 mg/mL | 0.39 mg/mL |
| 4 | 11.2 ± 0.2 | 8.5 ± 0.2 | 7.1 ± 0.2 | 6.1 ± 0.1 | 6.0 ± 0.1 | | | | |
| 24 | 8.2 ± 0.2 | 7.3 ± 0.1 | 6.9 ± 0.1 | 6.0 ± 0.0 | | | | | |
| 25 | 15.2 ± 0.1 | 10.5 ± 0.2 | 8.0 ± 0.2 | 7.3 ± 0.1 | 6.0 ± 0.1 | | | | |
| MS | 9.0 ± 0.2 | 8.3 ± 0.1 | 8.0 ± 0.1 | 6.7 ± 0.1 | 6.0 ± 0.1 | | | | |
| W | 13.5 ± 0.3 | 16.0 ± 0.3 | 12.0 ± 0.3 | 11.3 ± 0.1 | 10.0 ± 0.1 | 9.5 ± 0.2 | 7.3 ± 0.1 | 6.8 ± 0.1 | 6.1 ± 0.1 |
| 甲醇 | 6.1 ± 0.1 | 6.2 ± 0.1 | 6.0 ± 0.1 | 6.1 ± 0.0 | 6.0 ± 0.0 | 6.0 ± 0.1 | 6.0 ± 0.0 | 6.1 ± 0.1 | 6.1 ± 0.0 |

表3 不同样品对四叠球菌的抑制作用

| 样品 | 抑菌圈直径(mm) | | | | | | | |
|----|--------------|-------------|-------------|-------------|------------|------------|------------|------------|
| | 100.00 mg/mL | 50.00 mg/mL | 25.00 mg/mL | 12.50 mg/mL | 6.25 mg/mL | 3.13 mg/mL | 1.56 mg/mL | 0.78 mg/mL |
| 8 | 10.3 ± 0.5 | 8.5 ± 0.4 | 6.9 ± 0.3 | 6.0 ± 0.0 | | | | |
| 10 | 7.1 ± 0.2 | 7.7 ± 0.4 | 7.5 ± 0.4 | 7.0 ± 0.1 | 6.1 ± 0.1 | | | |
| 28 | 9.0 ± 0.2 | 8.3 ± 0.3 | 7.8 ± 0.6 | 7.2 ± 0.2 | 6.0 ± 0.1 | | | |
| MS | 10.5 ± 0.4 | 8.2 ± 0.3 | 7.8 ± 0.5 | 7.0 ± 0.4 | 6.7 ± 0.3 | 6.0 ± 0.0 | | |
| W | 9.6 ± 0.5 | 10.0 ± 0.5 | 9.5 ± 0.5 | 9.0 ± 0.4 | 8.0 ± 0.3 | 7.0 ± 0.2 | 6.0 ± 0.0 | |
| 甲醇 | 6.1 ± 0.1 | 6.0 ± 0.1 | 6.0 ± 0.0 | 6.0 ± 0.0 | 6.1 ± 0.1 | 6.0 ± 0.0 | 6.0 ± 0.1 | 6.0 ± 0.1 |

的抑菌圈大小则是随浓度的减小有先增加后降低的趋势,说明野生狼毒根醇提物在一定浓度范围内表现出较强的抑菌活

性。由表4可知,对金黄色葡萄球菌的抑菌活性最好的为样品10和样品28。

表4 不同样品对金黄色葡萄球菌的抑制作用

| 样品 | 抑菌圈直径(mm) | | | | | | | | |
|----|--------------|-------------|-------------|-------------|------------|------------|------------|------------|------------|
| | 100.00 mg/mL | 50.00 mg/mL | 25.00 mg/mL | 12.50 mg/mL | 6.25 mg/mL | 3.13 mg/mL | 1.56 mg/mL | 0.78 mg/mL | 0.39 mg/mL |
| 8 | 11.2 ± 0.3 | 8.5 ± 0.5 | 7.1 ± 0.4 | 6.5 ± 0.4 | 6.1 ± 0.0 | | | | |
| 10 | 12.0 ± 0.3 | 10.0 ± 0.5 | 8.0 ± 0.4 | 7.1 ± 0.3 | 6.7 ± 0.3 | 6.0 ± 0.1 | | | |
| 14 | 10.0 ± 0.3 | 8.2 ± 0.3 | 7.0 ± 0.2 | 6.8 ± 0.4 | 6.1 ± 0.1 | | | | |
| 25 | 8.3 ± 0.4 | 8.0 ± 0.3 | 7.5 ± 0.3 | 6.8 ± 0.1 | 6.0 ± 0.0 | | | | |
| 28 | 10.2 ± 0.3 | 8.0 ± 0.2 | 7.8 ± 0.2 | 6.9 ± 0.2 | 6.5 ± 0.3 | 6.0 ± 0.1 | | | |
| W | 8.2 ± 0.2 | 8.5 ± 0.2 | 10.0 ± 0.3 | 10.0 ± 0.1 | 8.0 ± 0.2 | 8.0 ± 0.2 | 7.0 ± 0.2 | 6.0 ± 0.1 | |
| 甲醇 | 6.1 ± 0.0 | 6.1 ± 0.1 | 6.0 ± 0.1 | 6.0 ± 0.0 | 6.1 ± 0.0 | 6.0 ± 0.0 | 6.0 ± 0.0 | 6.1 ± 0.1 | 6.1 ± 0.1 |

2.2.4 不同样品对枯草芽孢杆菌的抑制作用 在32个样品中,4、22、MS、W这4个样品抑制枯草芽孢杆菌效果较好。其中效果最好的为样品W(野生狼毒根),其MIC为

3.13 mg/mL;样品MS的MIC为6.25 mg/mL;样品4(添加NAA 1.0 + 6-BA 0.5 mg/L)与样品22(添加NAA 4.0 mg/L)的MIC分别为12.50 mg/L和25.00 mg/mL(表5)。

表5 不同样品对枯草芽孢杆菌的抑制作用

| 样品 | 抑菌圈直径(mm) | | | | | | | |
|----|--------------|-------------|-------------|-------------|------------|------------|------------|------------|
| | 100.00 mg/mL | 50.00 mg/mL | 25.00 mg/mL | 12.50 mg/mL | 6.25 mg/mL | 3.13 mg/mL | 1.56 mg/mL | 0.78 mg/mL |
| 4 | 8.0 ± 0.1 | 7.2 ± 0.1 | 7.0 ± 0.1 | 6.4 ± 0.2 | 6.0 ± 0.0 | | | |
| 22 | 7.8 ± 0.4 | 7.2 ± 0.3 | 6.7 ± 0.3 | 6.0 ± 0.1 | | | | |
| MS | 9.0 ± 0.2 | 11.2 ± 0.4 | 10.1 ± 0.2 | 7.5 ± 0.3 | 6.7 ± 0.3 | 6.0 ± 0.1 | | |
| W | 10.0 ± 0.1 | 9.3 ± 0.1 | 9.0 ± 0.2 | 9.2 ± 0.3 | 8.0 ± 0.2 | 6.5 ± 0.3 | 6.0 ± 0.0 | |
| 甲醇 | 6.1 ± 0.1 | 6.0 ± 0.0 | 6.0 ± 0.0 | 6.1 ± 0.1 | 6.1 ± 0.1 | 6.0 ± 0.1 | 6.0 ± 0.1 | 6.0 ± 0.01 |

2.2.5 不同样品对白色葡萄球菌的抑制作用 研究表明,4、8、17、21、22、24、25、W这8个样品抑制白色葡萄球菌效果较好。其中效果最好的为W(野生狼毒根),其MIC为0.39 mg/mL;其次是样品25(添加KT 2.0 mg/L)与样品8(添加NAA 0.5 mg/L + TDZ 2.0 mg/L),其MIC均为3.13 mg/mL;样品4(添加NAA 1.0 mg/L + 6-BA 0.5 mg/L)、样品21(添加NAA 2.0 mg/L)和样品22(添加NAA 4.0 mg/L)的MIC均为6.25 mg/mL;样品17(添加6-BA 2.0 mg/L)的MIC为12.50 mg/mL;样品24(添加KT 1.0 mg/L)的抑菌效果最差, MIC为25.00 mg/mL(表6)。

2.2.6 不同样品的GC-MS分析 如表7所示,多个样品含有短链的醇和酸,并且相对含量差异较大,如丁二酸在样品25中的相对含量为10.426%,但在样品4中则只有0.068%,说明添加KT 2.0 mg/L的培养基有利于狼毒愈伤组织产生丁二酸。在样品4、8、13及21中均检测到木脂素类化合物,其中样品8的相对含量最高,为9.740%,说明MS + NAA 0.5 mg/L + TDZ 2.0 mg/L培养基有利于木脂素的积累。

在样品21、25、29及W中检测到甾醇类,添加KT 2.0 mg/L的培养基中样品相对含量最高,为1.225%,高于W的含量(0.857%)。已有研究表明植物甾醇在降低血液胆

表6 不同样品对白色葡萄球菌的抑制作用

| 样品 | 抑菌圈直径 (mm) | | | | | | | | | |
|----|--------------|-------------|-------------|-------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|
| | 100.00 mg/mL | 50.00 mg/mL | 25.00 mg/mL | 12.50 mg/mL | 6.25 mg/mL | 3.13 mg/mL | 1.56 mg/mL | 0.78 mg/mL | 0.39 mg/mL | 0.20 mg/mL |
| 4 | 7.7 ± 0.3 | 7.5 ± 0.1 | 7.2 ± 0.3 | 7.2 ± 0.2 | 7.0 ± 0.1 | 6.1 ± 0.1 | | | | |
| 8 | 7.8 ± 0.3 | 7.1 ± 0.2 | 8.0 ± 0.1 | 7.5 ± 0.3 | 7.3 ± 0.1 | 6.2 ± 0.1 | 6.0 ± 0.0 | | | |
| 17 | 7.9 ± 0.1 | 7.5 ± 0.3 | 7.0 ± 0.3 | 6.8 ± 0.3 | 6.0 ± 0.0 | | | | | |
| 21 | 10.0 ± 0.3 | 9.5 ± 0.2 | 7.8 ± 0.3 | 7.1 ± 0.1 | 6.7 ± 0.2 | 6.1 ± 0.1 | | | | |
| 22 | 8.8 ± 0.3 | 7.6 ± 0.2 | 7.5 ± 0.1 | 7.2 ± 0.1 | 6.9 ± 0.2 | 6.0 ± 0.1 | | | | |
| 24 | 9.0 ± 0.3 | 7.9 ± 0.2 | 7.0 ± 0.2 | 6.1 ± 0.1 | | | | | | |
| 25 | 9.2 ± 0.3 | 8.0 ± 0.1 | 7.5 ± 0.1 | 7.1 ± 0.1 | 7.0 ± 0.1 | 6.2 ± 0.1 | 6.0 ± 0.0 | 6.1 ± 0.1 | | |
| W | 10.0 ± 0.2 | 10.0 ± 0.1 | 10.0 ± 0.1 | 9.0 ± 0.1 | 9.0 ± 0.1 | 8.1 ± 0.1 | 7.2 ± 0.2 | 7.0 ± 0.2 | 6.7 ± 0.2 | 6.0 ± 0.1 |
| 甲醇 | 6.1 ± 0.1 | 6.0 ± 0.1 | 6.0 ± 0.0 | 6.1 ± 0.0 | 6.1 ± 0.1 | 6.0 ± 0.0 | 6.0 ± 0.0 | 6.0 ± 0.1 | 6.1 ± 0.1 | 6.0 ± 0.0 |

表7 不同样品的化学成分及相对含量

| 成分 | 相对含量 (%) | | | | | | | | | |
|---------------------|----------|-------|--------|--------|--------|--------|-------|--------|--------|--|
| | 样品4 | 样品8 | 样品13 | 样品17 | 样品21 | 样品25 | 样品29 | MS | W | |
| 乙醇酸 | 0.074 | | 0.403 | 0.339 | 0.194 | | 0.277 | | | |
| 3-羟基丙酸 | 0.037 | | 0.234 | 0.364 | 0.171 | 0.685 | 0.098 | | | |
| 5-烯丙基-2,3-羟基-1-甲氧基苯 | | | | | | 0.661 | | | | |
| 丙三醇 | 1.147 | 3.254 | 0.894 | 4.987 | 1.756 | 0.735 | 0.578 | 3.251 | 1.345 | |
| 三羟丁酸 | 0.081 | | | | | | | | | |
| 表儿茶素 | 0.603 | | | | | | | | | |
| N-乙酰-D-丙氨酸 | | | | | | 1.099 | | | | |
| 2-(二甲基氨基)乙醇 | | 1.548 | | | | | | | | |
| D-丙氨酸 | | 0.374 | | | | | | | | |
| 2-氨基-3-甲基丁酸 | | 0.650 | | | | | | | | |
| 丁二酸 | 0.068 | 0.481 | 0.346 | 1.126 | 0.479 | 10.426 | 0.327 | | | |
| L-2-氨基-3-羟基丙酸 | | 0.309 | | | | | | | | |
| 2,3-二羟基丙酸 | 0.142 | 0.188 | 0.405 | 0.440 | 0.301 | 2.543 | 0.330 | | | |
| 苏氨酸 | | 0.442 | | | | | | | | |
| 3,4-二羟基丁酸 | 0.156 | | | 0.486 | 0.369 | 0.654 | | | | |
| 1,2,3-丁三醇 | | 0.213 | | | | | | | | |
| 3-羟甲戊二酸 | 0.722 | | 0.507 | | | 1.334 | | | | |
| 棕榈酸 | 0.361 | 0.990 | 1.109 | 2.434 | 1.857 | 0.975 | 0.429 | 2.705 | 0.631 | |
| 3-羟基-3-甲基-己二酸 | | 3.389 | | | | | | | | |
| 硬脂酸 | | 1.201 | | | | | | | | |
| 吡喃葡萄糖苷 | 60.377 | 1.915 | 14.018 | 28.399 | 15.234 | 2.303 | 2.384 | 18.737 | 56.660 | |
| 牛蒡子苷元 | 1.140 | 9.740 | 2.946 | | 1.765 | | | | | |
| 果糖嗉 | | | | | 1.126 | | 0.825 | | | |
| 植物甾醇 | | | | | 0.945 | 1.225 | 0.663 | | 0.857 | |
| 菜油甾醇 | | | | | | 2.527 | | | | |
| 葡萄籽油 | | | | | | 1.839 | | | 0.767 | |

甾醇含量、抑制肿瘤、防治前列腺肥大、抑制乳腺增生和调节免疫等方面都有重要作用^[8]。葡萄籽油属于多酚类,是强抗氧化物质,对冠心病和骨质疏松症都有良好的预防作用。在所测样品中,只有样品25和W含有,而且在样品25中的相对含量为1.839%,高于样品W的含量(0.767%)。

另外,样品8中所检测到的成分多为氨基酸和醇类、酸类,说明添加NAA 0.5 mg/L与TDZ 2.0 mg/L的培养基较其他类型培养基更利于氨基酸的积累。样品4中检测到表儿茶素,表明添加NAA 1.0 mg/L与6-BA 0.5 mg/L的培养基更有利于黄酮类的积累。

3 结论

植物生长调节剂对愈伤组织醇提物的抑菌活性有很大影

响。培养基中添加KT 2.0 mg/L所诱导的愈伤组织(样品25)对大肠杆菌的抑制效果好,培养基中添加NAA 2.0 mg/L + TDZ 2.0 mg/L(样品10)和添加2,4-D 1.0 mg/L(样品28)抑制四叠球菌和金黄色葡萄球菌效果较好,培养基中添加NAA 0.5 mg/L + TDZ 2.0 mg/L(样品8)和KT 2.0 mg/L(样品25)抑制白色葡萄球菌效果较好,培养基中添加NAA 1.0 mg/L + 6-BA 0.5 mg/L(样品4)抑制枯草芽孢杆菌效果较好。

植物生长调节剂对愈伤组织中化合物的合成与积累有一定的影响。NAA 0.5 mg/L与TDZ 2.0 mg/L有利于氨基酸和木脂素类化合物的积累。NAA 1.0 mg/L与6-BA 0.5 mg/L的培养基有利于黄酮类化合物的积累,KT 2.0 mg/L有利于甾醇类的积累。

王 威,张 谦,许 静,等. 赤霞珠葡萄果酱贮藏期间花色苷的动力学研究[J]. 江苏农业科学,2018,46(18):204-207.

doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2018.18.052

赤霞珠葡萄果酱贮藏期间花色苷的动力学研究

王 威¹,张 谦²,许 静¹,李 琼¹,洪晶阳¹,周 彤¹,周筱宣¹,李焕荣¹

(1. 新疆农业大学食品科学与药学院,新疆乌鲁木齐 830052; 2. 新疆农业科学院农产品贮藏加工研究所,新疆乌鲁木齐 830091)

摘要:以赤霞珠葡萄为原料,研究不同配料方式、预处理、浓缩工艺制作的葡萄果酱在贮藏过程中花色苷的稳定性,并构建花色苷降解动力学模型。结果表明,选用果皮和果汁配料、未经微波处理、常压浓缩工艺制作的果酱其花色苷较稳定,采用其他工艺制作的果酱花色苷稳定性相对较差,花色苷损失率较高;在贮藏过程中,葡萄果酱花色苷的降解符合一级反应动力学模型。

关键词:赤霞珠;葡萄;果酱;花色苷;稳定性;贮藏

中图分类号: TS255.3 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2018)18-0204-04

葡萄果实中富含的花色苷主要集中在葡萄果皮中,花色苷含量高低与葡萄果皮颜色呈正相关,并在果实成熟时积累量达到峰值^[1],而温度、光、pH值、糖类、抗坏血酸、氧气等外界因素可促使葡萄花色苷的降解,进而在贮藏过程中破坏花色苷的功能性作用,降低其营养价值,影响其保健功能。赤霞珠葡萄含有丰富的花色苷^[2],是非常好的葡萄果酱及葡萄汁原料,以其为原料制作的葡萄果酱色泽艳丽、花色苷含量高,酸甜适口,老少皆宜。

目前,有关葡萄果酱花色苷功能活性的研究报道相对较多,有关温度、pH值、糖类、抗坏血酸等因素对花色苷稳定性影响的研究有少量报道^[3-6],而葡萄果酱贮藏过程中花色苷自身降解变化的研究鲜见报道。本试验采用化学反应动力学原理建立葡萄果酱花色苷降解情况与贮藏时间关系数学模型,研究贮藏期间葡萄果酱花色苷的稳定性,推导其降解动力学方程,初步建立葡萄果酱花色苷降解的动力学模型,为有效控制花色苷的降解提供理论依据。

收稿日期:2017-02-23

基金项目:新疆维吾尔自治区科技厅重大科技专项(编号:201130102-4)。

作者简介:王 威(1988—),男,河南商丘人,硕士,从事农产品深加工与综合利用研究。E-mail:614677267@qq.com。

通信作者:李焕荣,教授,从事农产品深加工与综合利用研究。

E-mail:lhrgjw@sina.com。

1 材料与方法

1.1 试验材料

选取果实色泽明亮、无病虫害的欧亚种葡萄(*Vitis vinifera* L.)赤霞珠为试验材料。

1.2 主要仪器设备

TU-1810型紫外-可见分光光度计,由北京普析通用仪器有限公司生产;GL-20G-II型高速冷冻离心机,由上海安亭科学仪器厂生产;BC/BD-146HCD型冷柜,由山东青岛海尔集团生产;KQ-250DE型数控超声波清洗器,由江苏省昆山市超声仪器有限公司生产;AL204-1C型电子天平,由梅特勒-托利多仪器(上海)有限公司生产;DHG-9123A型电热恒温鼓风干燥箱,由上海一恒科技有限公司生产。

1.3 试验方法

1.3.1 工艺流程 原料选择→清洗→不同配料方式(全果、果汁+果皮、果汁)→不同热处理方式(未微波处理、微波处理)→打浆→不同浓缩方式(常压熬制浓缩、减压蒸馏熬制浓缩)→装袋、灭菌→冷却。本试验12个处理:(1)未微波处理、常压熬制浓缩、全果;(2)未微波处理、减压蒸馏熬制浓缩、全果;(3)微波处理、常压熬制浓缩、全果;(4)微波处理、减压蒸馏熬制浓缩、全果;(5)未微波处理、常压熬制浓缩、果汁+果皮;(6)未微波处理、减压蒸馏熬制浓缩、果汁+果皮;(7)微波处理、常压熬制浓缩、果汁+果皮;(8)微波处理、减压蒸馏熬制浓缩、果汁+果皮;(9)未微波处理、常压熬制浓缩、果汁;(10)未微波处理、减压蒸馏熬制浓缩、果汁;(11)微

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[M]. 北京:科学出版社,2004.

[2] 阚晓溪,王志鑫,杨乾栩,等. 瑞香狼毒醇提物的抗肿瘤活性研究[J]. 中国中药杂志,2013,38(8):1219-1225.

[3] 张 薇,程政红,刘云国,等. 植物挥发性物质成分分析及抑菌作用研究[J]. 生态环境,2007,16(5):1455-1459.

[4] Ma Q G, Liu W Z, Wu X Y, et al. Diterpenoids from *Euphorbia fischeriana*[J]. Phytochemistry,1997,44(4):663-666.

[5] Wang H B, Chen W, Zhang Y Y, et al. Four new diterpenoids from the roots of *Euphorbia fischeriana*[J]. Fitoterapia,2013,91:211-216.

[6] 王 宁. 瑞香狼毒化学成分与杀虫活性研究进展[J]. 青海农林科技,2005(3):23-24,27.

[7] 孙丽君. 蒙药材瑞香狼毒的化学成分及生物活性研究[D]. 呼和浩特:内蒙古医学院,2010.

[8] Zhang C, Zhou S S, Feng L Y, et al. *In vitro* anti-cancer activity of chamaejasmenin B and neochamaejasmin C isolated from the root of *Stellera chamaejasme* L. [J]. Acta Pharmacologica Sinica,2013,34(2):262-270.