

摘要

本文研究红薯茎叶提取物的抑菌作用和抗氧化作用。

按照植物化学研究方法,进行红薯茎叶中次生代谢物的定性检测。结果表明,红薯茎叶中的次生代谢物有黄酮、酚、鞣质、萜醌、甙、甾体、萜、香豆素、萜类内酯、生物碱、有机酸等,还含有多糖及氨基酸和蛋白质等物质。

分别对红薯茎叶系统溶剂提取物和 70%乙醇提取物大孔树脂乙醇梯度(0~100%)洗脱物进行抑菌和抗氧化实验。

选取二苯代苦味酰自由基(DPPH)体系、还原体系、Fenton 体系、邻苯三酚自氧化体系和亚油酸过氧化体系进行抗氧化活性实验。结果表明,丙酮、乙醇和水相提取物具有较强的清除 DPPH 自由基的能力,清除能力大于同浓度对照 V_C ;在六种系统溶剂提取物中,丙酮、乙醇和水相提取物还原能力和清除羟基自由基作用相对较强,但分别小于同浓度对照硫脲和芦丁;石油醚、氯仿和乙酸乙酯相提取物具有相对较强的抑制脂质过氧化能力,但略小于同浓度对照 V_E ;大孔树脂乙醇梯度洗脱物具有较强的清除 DPPH 自由基的能力,十个梯度洗脱物的清除能力均大于同浓度对照 V_C ;在十个大孔树脂乙醇梯度洗脱物中,30%和 40%乙醇洗脱物具有相对较强的还原能力、清除羟基自由基能力和清除超氧阴离子的能力,但分别小于同浓度对照硫脲、芦丁和 SOD;水和 10%乙醇洗脱物对脂质过氧化有相对较好的抑制作用,但略小于对照 V_E 。

系统溶剂提取物和大孔树脂梯度洗脱物的还原能力与清除自由基能力正相关,还原力越强,清除自由基的能力越强。系统溶剂提取物和大孔树脂乙醇梯度洗脱物的抗脂质过氧化能力均逊于清除自由基能力。

选取大肠杆菌、金黄色葡萄球菌、志贺杆菌、葡枝根霉和黑曲霉五种对象菌,以苯甲酸钠和丙酸钙为对照进行抑菌活性实验。结果表明,系统溶剂提取物对大肠杆菌、金黄色葡萄球菌和志贺杆菌具有较好的抑制作用,石油醚和氯仿相提取物对葡枝根霉和黑曲霉有较好的抑制作用,抑制效果均优于同浓度对照苯甲酸钠和丙酸钙;系统溶剂提取物和大孔树脂乙醇梯度洗脱物表现出极性较高的组分抑制细菌效果较好,极性较低的组分抑制霉菌效果较好的共性;系统溶剂提取物之间和大孔树脂乙醇梯度洗脱物之间对大肠杆菌、金黄色葡萄球菌、志贺杆菌、葡枝根霉和黑曲霉的抑制作用均存在显著性差异。

红薯茎叶提取物发挥抗氧化作用和抑菌作用的机理尚有待进一步揭示。

关键词:红薯茎叶,次生代谢物,提取,分离,抗氧化,自由基,抑菌

Abstract

The antioxidant activity and bacteriostasis of extracts of sweet potato stem and leaf (SPSL) were studied in this paper.

According to the methods of plant chemistry, the secondary chemicals in SPSL were determined. The results showed that the SPSL contains the secondary chemicals, which are tannin, organic acid, alkaloid, polysaccharides and glycoside, falcon-oid, steroid, coumarin and terpenoidm and anthraquinone.

There were two kinds of SPSL extracts, one was extracted by systematic solvents, the other was extracted by 70% ethanol and separated by absorbent resin with gradient of ethanol (0~100%). The antioxidant activity and bacrteriostasis were determined using these extracts.

The assays of DPPH radical, reducing power, hydroxyl radical, lipid peroxidation of linoleic acid (LA) and pyrogallol autoxidation were chosen in antioxidant experiments. The results showed that the acetone, ethanol and water extracts of SPSL have a strong effect on scavenging DPPH radical which are stronger than ascorbic acid of same concentration. Also, the acetone, ethanol and water extracts of SPSL have a strong effect on scavenging hydroxyl radical and have a strong reducing power, but a little weaker than the control Et Ac and rutin of same concentration respectively. The petroleum ether, chloroform and ethyl acetate extracts of SPSL are more effective on inhibiting lipid peroxidation of LA, but lower than tocopherol of same concentration. All of the elutions of ten gradients of ethanol have a great effect on scavenging DPPH radical which are stronger than ascorbic acid of same concentration. 30% and 40% alcoholict eluents of SPSL have strong reducing power, abilities of scavenging hydroxyl radical and superoxide anion radical, but none of them better than the control. Water and 10% alcoholict eluents of SPSL displayed the effective function on inhibition of lipid peroxidation of LA, but a little weaker than tocopherol of same concentration.

Extracts of SPSL have similar performances on reducing power assay and scavenging radical assaies, the better reducing power was and the better scavenging radicals was. The effects on inhibiting lipid peroxidation of LA were not as well as scavenging free radicals.

The mildew (*Rhizopus stolonifer* and *Aspergillus niger*) and bacillus (*Escherichia coli*,

Staphylococcus aureus and *Shiga bacillus*) were chosen in bacteriostasis experiments, and calcium propionate and sodium benzoate were used to be control. The results indicated that extracts of SPSL (systematic solvents) were good at restraining *Escherichia coli* , *Staphylococcus aureus* and *Shiga bacillus*. The petroleum ether and chloroform extracts of SPSL were good at restraining *Rhizopus stolonifer* and *Aspergillus niger*, and the effects better than that of calcium propionate and sodium benzoate. The components of weaker polarity were more effective to inhibit mildew, and the components of stronger polarity had strong effect on inhibition of bacillus. There was a striking dissimilarity of bacteriostasis between the extracts of systematic solvents, and so were the extracts of alcoholic eluents by absorbent resin.

The mechanism of antioxidation and bacteriostasis of SPSL extracts should be studied in the future.

Keywords: sweet potato stem and leaf, secondary chemicals, extract, separate, antioxidant activity, radical, bacteriostasis

关于硕士学位论文使用授权的说明

论文题目：红藻蓝细菌的抗氧化性和抑菌性研究

本学位论文作者完全了解大连轻工业学院有关保留、使用学位论文的规定，大连轻工业学院有权保留并向国家有关部门或机构送交论文的复印件和磁盘，允许论文被查阅和借阅，可以将学位论文的全部或部分内容编入有关数据库进行检索，可以采用影印、缩印或扫描等复制手段保存、汇编学位论文，并且本人电子文档的内容和纸质论文的内容相一致。

保密的学位论文在解密后也遵守此规定。

是否保密 (是)，保密期至 年 月 日为止。

学生签名：吴伟南 导师签名：姜伯波

2006年4月10日

第一章 文献综述

地球上的植物不仅品种繁多，资源丰富，而且现代科学研究越来越多地发现了植物中所蕴含的多种活性物质，如生物碱、黄酮、皂甙和萜类等。随着追求天然、健康的消费理念的逐步深入，植物化学物已成为抗氧化剂、着色剂和防腐剂等多种食品添加剂的首选目标，具有广阔的发展前景^[1]。

1.1 红薯

红薯 (*Ipomoea. batata LAM*)，又名山芋、甘薯、红苕、番薯、地瓜等，在植物分类上属于旋花科红薯属红薯种草本植物。生长在热带地区，四季常绿，开花结籽，为多年生；生长在温带地区，茎叶经霜冻枯死，为一年生植物^[2]。

红薯起源于墨西哥与委内瑞拉之间，已有8000~10000年的历史，具有高产、稳产、适应性广等特点，种植范围十分广泛。据联合国粮农组织 (FAO) 统计，世界上共有111个国家栽培红薯，栽培面积主要分布在亚洲、非洲的发展中国家，其次为拉丁美洲，欧洲面积极少。红薯于16世纪中期传到中国，目前我国已经成为世界上最大的红薯生产国。在我国粮食不足时期红薯曾是仅次于水稻、小麦和玉米之后的第四大粮食作物，是倍受关注的“度荒救灾”作物。我国红薯常年种植面积约6.2亿m²，总产1.2亿吨，约占全球红薯种植面积的65%和总量的83% (FAO, 2002)。

国际植物遗传资源委员会 (IBPGR) 与国际马铃薯中心 (CIP) 合作，于1985年在秘鲁总部建立了红薯资源基因库，收集和保存红薯资源5000份，是目前保存红薯品种资源数量最多的机构。此外，美国、日本和中国是拥有红薯品种资源较多的国家，分别有2000份左右^[3]。

1.1.1 红薯块根

1.1.1.1 红薯块根的营养价值

过去一直认为，红薯块根是红薯的可食用部分，在大多数人的印象中，红薯指的就是红薯块根。红薯富含蛋白质、脂肪酸及多种维生素、氨基酸和钙、磷、铁等无机盐类，是“生理碱性”食物，可以中和由肉、蛋、米、面所产生的酸性物质，调节人体内的酸

碱平衡。另外红薯还富含纤维素，有助于加快消化道蠕动，预防痔疮和大肠癌的发生^[4]。美国北科罗拉多红薯委员会研究发现，红薯富含 β -胡萝卜素、 V_E 、 V_{B6} 、铁、钾及膳食纤维；对58种蔬菜的几种营养成分（ V_A 、 V_C 、叶酸、铁、铜、钙和纤维素）的评价，结果表明红薯位居第一。

1.1.1.2 红薯块根的药用价值

我国古代对红薯的药用评价为“性味甘平，有补脾胃、养心神、益气力、活血化痰、清热解毒等功效”。《金薯传习录》记载^[5]，红薯有六种药用价值，一可治痢疾和下血症；二可治酒积热泻；三可治湿热和黄疸；四可治遗精和血浊淋毒；五可治血虚和月经不调；六可治小儿疳积。随着现代医学和营养学研究的深入，人们对红薯的营养保健作用有了进一步的认识，一改过去“粗粮”的概念。

现代医学研究证明，红薯含有的胡萝卜素（1.31mg/100g）、维生素C（30mg/100g）和赖氨酸（26mg/100g）等都是防癌物质^[6]。红薯中的粘液蛋白是多糖和蛋白质的混合物，属于胶原和粘多糖类物质，对人体的消化系统、呼吸系统和泌尿系统各器官、组织的粘膜具有特殊的保护作用，可保持动脉血管弹性，保持关节腔内关节面和浆膜腔的润滑，防止肝脏和肾脏中结缔组织的萎缩，防止胶原病的发生^[7]。红薯制作淀粉后的残渣中，含有抑制癌细胞增殖的糖脂，将它注入子宫癌和皮肤癌的培养液里，可有效抑制癌细胞的增殖。这种糖脂在红薯的叶和块根等部位均存在^[8]。日本国立癌症预防研究所通过对40多种蔬菜抗癌成分的分析以及抑癌实验，从高到低排出了20种对肿瘤有明显抑制作用的蔬菜名单，红薯排在第一位。美国科学家从红薯中分离出一种名为“脱氢表雄甾酮（DHEA）”的活性物质，可预防结肠癌和皮肤癌，同时还发现红薯含有类雌激素成分，可保持人体皮肤细腻，延缓衰老^[9]。

1.1.1.3 红薯制品

红薯制品的开发日益受到青睐，特色产品不断涌现于市场。据资料介绍^[10]，美国每年人均消费红薯制品35 kg，日本为15 kg，韩国为12 kg，我国为0.18 kg。

近年来，国际市场上掀起了“红薯热”。目前，利用红薯加工成的食品包括有粉条、粉丝、粉皮和烤薯等传统食品；薯米（粒）、薯粉、薯面和薯片（条、泥）等方便半成品；膨化薯片、薯脯和薯糖等休闲食品；还有面世时间不长的红薯饮料、红薯罐头和红薯酒等^[11]。

由红薯制成的工业产品也很多，包括色素类、酶制剂类、糖类、氨基酸类和发酵制

品类等。其中高淀粉的红薯品种作为汽车用酒精的生产原料，为能源工业找到了新的生产途径。由于红薯加工综合利用效益较高，红薯加工业目前呈现出较强的发展势头。

1.1.2 红薯茎叶的研究现状

长期以来，人们食用的只是红薯的块根，而我国 480 亿千克红薯叶、50 亿千克红薯藤尖和 470 亿千克红薯藤，除部分地区作为饲料外，多数被抛弃掉。随着现代科学技术的进步和人们生活水平的提高，人们越来越崇尚自然、健康，逐步认识到红薯茎叶的营养价值。目前，市场上的鲜食产品有薯叶、红薯茎尖等；将红薯茎叶切碎压榨后的绿叶浆汁经凝聚^[12]、沉淀、分离后，可得到浓缩叶蛋白，这种叶蛋白可作为糕点和畜禽饲料的添加剂。红薯茎叶还可以加工成速冻产品、保健饮料等。目前，红薯茎叶在美国、日本、台湾和香港等地已成为一种新型蔬菜，在香港更被称为“蔬菜皇后”，在美国、日本也被列为“长寿食品”^[13,14]。

1.1.2.1 红薯茎叶的营养价值

红薯茎叶是红薯的藤部分，包括叶、藤尖及藤。早在 1979 年，英国人 Villareal^[15]就提出了红薯茎尖可以作为蔬菜食用，并高度评价了其营养价值。

红薯茎叶的营养价值远高于红薯^[16]。据测定，每 100g 红薯茎叶中含水分 90.0 g、蛋白质 2.8 g、脂肪 0.8 g、碳水化合物 4.1g、粗纤维 1.1g、钙 16 mg、磷 34 mg、铁 2.3mg，还含有胡萝卜素、核黄素、尼克酸、抗坏血酸等成分^[17]。红薯茎叶蛋白质含量低，能量低，但其必需氨基酸含量丰富，而且氨基酸模式与 FAO 推荐的基本一致，仅蛋氨酸轻微缺乏。红薯茎中中性洗涤纤维、酸性洗涤纤维和木质素的含量很高，半纤维素和木质素含量分别是红薯叶的三倍和两倍。叶柄上面部分比下面部分含有较多的灰分，而下面部分含有较多的蛋白质、脂肪和膳食纤维^[18]。据中国预防医学科学院检测，与菠菜、胡萝卜等 14 种蔬菜相比，在 14 种营养成分中，红薯茎叶的蛋白质、微量元素、维生素等 13 项指标均居首位^[19]。

O'sullivan, J.N.^[20]等提出了评断红薯茎叶中营养物质的标准方法。Imamura^[21]等从西蒙白红薯的叶肉中分离到 V_{K1} ，并测定其含量为 202mg/100g（干基）。最新研究^[22]也证实红薯茎叶中含有高浓度的 V_{K1} ，并且还证实这种 V_{K1} 粉末有较强的抗光分解能力。Koizumi^[23]等测定了红薯块根及茎叶中维生素、矿物质和多酚类物质的含量，并证实茎叶中上述物质的含量与块根中的含量没有必然联系。Ghazi Adel^[24]等从埃及红薯茎叶中分离得到蛋白质，并研究了提取蛋白质的最佳条件。Walter^[25]等从红薯茎叶中浓缩出叶

黄素-蛋白复合物, 并指出尚未发现可以破坏叶黄素的酶。Takebe^[26]等研究了红薯藤和块根中抗坏血酸的含量随其生长的变化, 认为红薯茎叶中抗坏血酸含量与其中蔗糖的含量有关。

1.1.2.2 红薯茎叶的活性成分

国内外对于红薯茎叶功能性成分研究较多的是黄酮类化合物。黄酮类化合物是一种很好的自由基清除剂^[27], 具有多种生理保健功能, 如抗癌、抗炎、提高免疫力、调节内分泌等。刘法锦^[28]等从红薯藤叶中分离出一种黄酮类化合物和两种有机酸, 这种黄酮类化合物经鉴定为7, 3', 4'-三甲氧基槲皮素。向仁德^[29]等从引种的巴西红薯茎叶的乙醇提取物中, 用柱层析和加压柱层析的方法, 得到8个化合物, 其中有5个已确定为黄酮类化合物, 分别是槲皮甙、山奈素-4', 7-二甲醚、商陆黄素、槲皮素和槲皮素-3', 4', 7-三甲醚。邹耀洪^[30]用HPLC, 通过二极管阵列紫外检测器检测和采集光谱, 从国产红薯茎叶中分离出4种黄酮类化合物, 并鉴定了结构, 分别为槲皮素、槲皮素-3-O- β -D-葡萄糖-(6 \rightarrow 1)- α -L-鼠李糖甙、4', 7-二甲氧基山奈酚、槲皮素-3-O- β -D-葡萄糖甙。谭桂山^[31]等也从引种的巴西红薯茎叶中分离出槲皮素, 台湾人Yan-Hwa Chu^[32]从台湾产红薯茎叶中分离出槲皮酮和杨梅黄酮, 且含量达1.43178 mg/kg 和1.55187 mg/kg。

生物碱是植物中含氮的(除氨基酸及维生素以外)碱性有机化合物, 大都具有明显的生理活性^[33]。已有研究定性鉴定出红薯茎叶中含有生物碱类化合物。民间流传的红薯茎叶的某些治疗功能与生物碱的功能相吻合, 但尚缺乏相关深入研究的文献报道。

活性多糖是公认的功能食品因子, 具有抗感染、降血糖、降血脂、抗癌等多种功能性作用。目前已发现红薯多糖III具有提升血小板作用^[34]。

红薯茎叶中还可能存在未被开发或发现的其他功能性化合物^[35,36], 如甙类、萜醌类、香豆素类、萜类等。

1.2 天然植物的抗氧化作用

1.2.1 生物体内的抗氧化作用

1.2.1.1 氧自由基及其作用特点

自由基(free radicals)是任何包含一个未成对电子的原子或原子团。未成对电子, 指那些在原子或分子轨道中未与其它电子配对而独占一个轨道的电子。自由基具有三个显

著特点：一是反应性强，二是具有顺磁性，三是寿命短。

氧气作为三重态，在一般状态下不会与物质进行强烈的反应，但在接受一定的能量后可以生成三线基态氧、超氧阴离子和单线态氧。氧气在有机体内代谢还原，提供生物能量，最后生成水。在这一还原过程中，每接受一个电子就生成一个氧自由基或活性氧(ROS)。氧气一电子还原生成超氧阴离子自由基，二电子还原生成过氧化氢，三电子还原生成羟基自由基，四电子还原生成水。在此过程中产生的自由基，统称为氧自由基。

(1) 超氧阴离子自由基 ($O_2^{\cdot-}$)

基态氧接受一个电子生成超氧阴离子自由基。它是所有氧自由基中的第一个自由基，可以通过一系列反应产生其他自由基，因此具有特别重要的意义。超氧阴离子自由基在水溶液中以其质子化形式 ($HOO\cdot$) 存在，它可以启动脂质过氧化，容易穿透细胞膜。此外，超氧阴离子自由基还可以使过氧化氢酶(CAT)、谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-Px)和肌酸激酶失活。超氧阴离子自由基不仅具有重要的生物功能，而且与多种疾病有密切关系^[37]。

(2) 羟基自由基 ($OH\cdot$)

$OH\cdot$ 是目前所知化学性质最活泼的ROS，是自由基链式反应的主要引发剂。它带有一个不成对电子，性质极活泼，反应性和毒性都很强，对生物体的损害也最大，几乎可以破坏生物细胞中的所有分子。

(3) 氧自由基与脂质过氧化

一般称不饱和脂肪酸的变质为脂质过氧化。脂质氧化的过程是产生自由基，并且有自由基参与的链式反应，它包括链的启动、链的扩展和链终止，每一步都有氧自由基的参与与产生。所谓链启动，就是在氧自由基的作用下，抽去不饱和脂肪酸亚甲基上的一个氢原子，形成脂自由基(L·)，在有氧条件下L·还可以生成脂质过氧化自由基($LOO\cdot$)。LOO·能从邻近的另一个不饱和脂肪酸抽氢，然后生成新的脂自由基。这就是脂质氧化的链扩展阶段。

1.2.1.2 氧自由基与疾病和衰老

氧自由基几乎和人类大部分常见疾病都有关系，从死亡率最高的心脑血管疾病，到人类最恐惧的癌症，以及近年来对人类造成巨大威胁的艾滋病，无一不和氧自由基有着密切的关系。

Tate^[38]等证实了氧自由基是前列腺素合成酶活性的强烈选择抑制剂，并可刺激凝血恶烷的合成，引起两者的平衡失调，导致血小板凝聚和血栓的形成，最终发生动脉粥样

硬化。Burton^[39]研究发现, 心肌缺血时产生的氧自由基可以迅速与心肌细胞磷脂膜上的不饱和脂肪酸作用, 使膜脂质产生过氧化反应, 从而造成细胞膜、肌质网膜及线粒体膜的广泛损伤。也有人认为^[40]氧自由基参与充血性心力衰竭的形成和发展。

1955年, Harman^[41]提出了衰老自由基理论, 认为衰老是由自由基对细胞成分的危害进攻造成的。这里所说的自由基, 主要就是氧自由基。四十多年来, 很多人对此进行了深入研究, 并提供了大量实验事实支持这一理论。脂质过氧化物易与蛋白质和酶发生交联, 形成不溶性的蛋白质多聚物, 导致结缔组织中的胶原缩短变硬, 失去张力和弹性, 使皮肤形成皱纹。自由基引起的结缔组织大分子的交联会阻碍营养物质的扩散并损伤组织的活力。OH·能与蛋白质、DNA和脂质体等反应, 产生蛋白质氧化、DNA链断裂、脂质氧化等细胞凋亡的特征。脂质过氧化物进一步氧化, 其代谢产物丙二醛(MDA)呈红色, 能与磷脂、蛋白质或核酸结合形成复合物, 称为脂褐素, 沉积于细胞中, 形成老年斑, 阻碍细胞代谢活动, 导致细胞衰老凋亡。

1.2.1.3 体内抗氧化系统

凡能干扰氧自由基链式反应的启动和蔓延过程, 阻断自由基反应过程的物质都称为抗氧化剂或自由基清除剂。按来源可分为内源性(正常情况下自身可以产生)与外源性(必须从外界摄取)两种。

机体内自由基的清除可通过自由基相互碰撞而淬灭, 也可通过与体内天然的自由基清除剂或抗氧化剂反应而终止链式反应而实现。一般来说, 自由基对组织器官的损伤, 主要表现在细胞膜系统的氧化反应等。机体中有许多内源性物质能抵消自由基对生物系统的氧化作用。

内源性物质主要有两类: 酶促防御系统, 如超氧化物歧化酶(SOD)、CAT、过氧化物酶(POD)、GSH-P_x、谷胱甘肽还原酶(GSH-R)等, 它们均能有效地清除ROS并终止自由基链式反应; 非酶系统为一些水溶性或脂溶性维生素、肽和蛋白质等, 有V_E、V_C、V_A及β-胡萝卜素、谷胱甘肽、茶多酚和黄酮类化合物。

1.2.1.4 评价体外抗氧化能力的自由基体系

随着对氧化、自由基、衰老与疾病的越发关注, 相关研究也在不断深入。用于体外抗氧化实验的自由基体系逐渐形成和完善。

(1) DPPH 自由基体系

二苯代苦味酰自由基(DPPH·)是一种稳定的以氮为中心的有机合成的自由基, 若

受试物能将其清除,则提示其具有清除羟自由基、烷自由基或过氧化自由基的能力,因此常作为基质评价某物质的抗氧化能力。1958年, Blois 将其应用于抗氧化剂筛选的研究^[69]。之后,国外又有很多关于应用此法研究清除自由基的物质的报道^[70]。

DPPH乙醇溶液呈紫色,在517nm附近有强吸收,当DPPH溶液中加入自由基清除剂时,其孤对电子被配对,颜色由紫色向黄色变化,在517nm处的吸光度变小,可依据吸光度的变化计算清除率。清除率越大,其抗氧化能力越强^[71]。DPPH法简便易行,灵敏可靠,重现性好,不易受外界干扰因素的影响,尤其适合于大批样品的筛选工作。

(2) 还原体系

还原物质的抗氧化活性是通过提供氢原子中断自由基链,阻止过氧化物的形成而实现的。

测定物质的还原能力可以采用铁氰化钾还原法。

(3) Fenton 体系

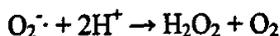
邻二氮菲- Fe^{2+} 是一种氧化还原指示剂,其呈色变化可反映溶液中氧化还原状态的改变。通过 Fenton 反应所产生的 $\text{HO}\cdot$, 可以使邻二氮菲- Fe^{2+} 水溶液氧化为邻二氮菲- Fe^{3+} , 从而使邻二氮菲- Fe^{2+} 在 536nm 处的最大吸收峰消失,据此可以推知系统中 $\text{HO}\cdot$ 数量的变化。

(4) 亚油酸过氧化体系

亚油酸氧化产生亚油酸过氧化物,这些氧化产物与硫酸亚铁反应产生硫酸铁,然后可以与硫氰酸铵形成血红色的硫氰酸铁,硫氰酸铁在 500nm 附近有强吸收。存在可以抑制亚油酸氧化的物质时,可以减少亚油酸过氧化物的产生,与硫氰酸铵形成的血红色的硫氰酸铁也随之减少,在 500nm 处的吸光度变小,由此可以计算抑制率,用来评价该物质的抗氧化活性。

(5) 邻苯三酚自氧化体系

邻苯三酚在碱性条件下能迅速氧化,不断生成并积累 $\text{O}_2\cdot^-$, 同时生成在 320nm 处有强烈吸收的有色中间产物,吸光度在反应开始后一段时间内随时间变化呈线性增加。自由基清除剂的存在,能将 $\text{O}_2\cdot^-$ 歧化,发生如下反应^[77]:



抗氧化物质的加入可以阻止中间产物的积累,据此可测定清除自由基活性的大小。在反应时间内,测定含被测物反应液吸光度随时间的变化率,即自氧化速率,通过与对照比较可得出样品对 $\text{O}_2\cdot^-$ 的清除能力。

1.2.2 天然植物抗氧化剂

天然植物抗氧化剂一般指从植物中提取的具有抗氧化活性的物质^[42]。现已发现多种植物均含有抗氧化成分。随着自由基和抗氧化剂理论研究的深入,天然抗氧化剂的应用越来越受到人们的重视^[43, 44],目前主要使用合成抗氧化剂丁基羟基茴香醚(BHA)和二丁基羟基甲基(BHT),但合成抗氧化剂的安全性受到质疑,动物实验^[45]表明它们具有一定的毒性和致癌作用。在日本,BHA只能用于棕榈油和棕榈仁油,美国、欧共体等国已禁止使用合成抗氧化剂,许多国家对其添加量也已加以限制。 β -胡萝卜素等天然抗氧化剂具有高效、安全、无副作用等特点,已成为开发食品添加剂的方向。天然抗氧化剂的作用机理、化学结构、抗氧化活性及稳定性是今后研究的重点。

1.2.2.1 多酚类物质的抗氧化性

多酚类化合物广泛存在于植物界,是目前倍受关注的天然活性产物之一,就其化学结构的不同,可分为单(聚)体和多聚体(单宁)两大类,包括黄酮、花色素、单宁、鞣花酸等多种化合物。

早在60年代,黄酮体对于抗油脂过氧化的活性就已经被证实。80年代以来,对黄酮类化合物的研究逐渐转向其对ROS自由基的清除和对老年病的防治功效上。迄今认为其作用机制至少包括三方面^[46],通过酚羟基与自由基进行抽氢反应生成稳定的半醌自由基,从而中断链式反应;通过抗氧化剂的还原作用直接给出电子而清除自由基;通过抗氧化剂对金属离子的络合,降低若干需金属离子催化的反应速度,从而实现间接抗氧化作用。

研究证实,槲皮素、异槲皮苷及芦丁可清除人体中性白细胞释放的 $O_2\cdot^-$ 及 $OH\cdot$ 。黄酮类化合物清除羟自由基活性与苯环上的羟基取代数目有关,酚羟基少时,清除效力明显下降^[47]。

阿魏酸、鞣花酸和绿原酸等通常以单体存在,也可与糖形成苷,均具有较强的抗氧化活性,可再生 V_E 并与 V_E 起协同作用^[48]。桉树皮和叶的提取物中的没食子酸、鞣花酸及其苷^[49],榄仁树叶中的鞣花酸^[50],竹叶提取物中的绿原酸、咖啡酸,毛地黄黄酮苷^[51],小麦与大麦的麸皮、麦芽根提取物中的阿魏酸、香豆酸和红薯与马铃薯提取物中的绿原酸、异绿原酸和新绿原酸^[52]等,均具有较强的抗氧化活性。

鞣质又称单宁,通常指分子质量在500~3000Dal的植物多酚,许多富含鞣质的植物提取物具有很强抗氧化活性^[53]。其抗氧化性主要体现在通过还原反应降低环境中氧含量,或作为氢供体与环境中的自由基结合,终止自由基引发的连锁反应^[54]。在25种鞣质酸及其相关化合物中,发现有23种鞣质酸有不同程度的抗氧化作用。多数鞣质酸在5 μ g/mL

时就可显著抑制过氧化脂质 (LPO) 升高, 其 ID_{50} 小于 V_E 。可水解性鞣质酸的抗氧化作用强于缩合型鞣质酸, 其抑制活性与酚羟基的位置和数目有关。鞣质对动植物油脂具有明显的抗氧化作用, 其抗氧化能力强于相同浓度的茶多酚^[55]。

1.2.2.2 多糖的抗氧化性

现代研究发现, 多糖可通过直接清除ROS、络合产生ROS所必需的金属离子等途径实现抗氧化作用。海藻多糖的抗氧化活性的研究比较深入, 特别是海洋硫酸多糖具有多种生理活性, 银耳多糖-FeIII能降低膜的脂质过氧化反应, 并能阻抑膜蛋白发生交联, 维持膜的正常流动性。体外实验结果提示多糖对细胞膜无损伤而具有保护作用^[56]。黄芪多糖明显拮抗内毒素中毒小鼠肝脏MDA, 并能升高还原型谷胱甘肽 (GSH), 对线粒体结构损伤有保护作用。枸杞多糖对四氯化碳所致小鼠肝脂质过氧化损伤有保护作用^[57]。

1.2.2.3 氨基酸及蛋白质的抗氧化性

氨基酸和蛋白质在植物体内除以游离形式存在外, 更多的是以与多糖、酚类化合物等结合的形式存在^[58]。植物蛋白质、多肽和氨基酸与多糖、酚类化合物等形成的复合物生物亲和力大、活性强。从蓝绿藻提取得到的藻胆蛋白和藻青蛋白, 从大蒜提取的S-烯丙基半胱氨酸、S-烯丙基巯基半胱氨酸^[59]和从竹叶提取的 δ -羟基赖氨酸等均具有抗氧化活性。鞣质-蛋白质复合物也可清除自由基^[60]。

1.2.2.4 木脂素的抗氧化性

木脂素具有显著的抗脂质过氧化和清除氧自由基的作用, 酚羟基的存在可能使抗氧化活性增加。五味子酸、五味子丙素和五味子乙素等7种木脂素对大鼠肝微粒体诱发氧化有明显抑制作用。对乙醇引起的小鼠肝脏 LPO 升高也有抑制作用。对过氧化氢诱发的大鼠红细胞溶血有保护作用, 使小鼠肝脏胞浆中 SOD 和 CAT 活性显著升高。

1.2.2.5 其他

蕊木宁能抑制四氯化碳引起的肝微粒体脂质过氧化产物 MDA 的生成, 阻断四氯化碳对膜结构的损伤。千金藤素等多种双苄基异喹啉类生物碱有抑制膜脂质过氧化的作用, 这类药物可抑制豚鼠多形核白细胞产生超氧自由基。

V_E 、 V_C 及其衍生物既是营养素, 又可作为抗氧化剂。 V_E 是脂溶性小分子抗氧化剂的代表, 可通过清除羟基自由基而中断链式反应, 同时与一些植物抗氧化剂具有协同作用^[61]。类胡萝卜素的抗氧化活性会因氧压力的不同而改变, 低压时是高效抗氧化剂, 而在高压时成为氧化强化剂^[62]。 β -胡萝卜素或番茄红素可与过氧化氢自由基反应生成碳自由基。 V_C 和尿酸是人体血浆中主要的水溶性低分子抗氧化剂, V_C 在血液中是一种强抗

氧化剂，并与其他抗氧化剂具有协同作用，尿酸是嘌呤的代谢产物，在水相中对 ROS 具有很强的抗氧化活性。

1.3 天然植物的抗菌作用

抗菌防腐是食品加工、贮藏的关键环节之一，在不断推出新的合成防腐剂的同时，人们始终没有放弃对天然防腐剂的寻找开发。在对食品安全日益关注的今天，从天然植物中提取具有抗菌防腐活性的物质更是突显现实意义。

1.3.1 食品有害菌

1.3.1.1 大肠杆菌

大肠细菌 (*E. coli*) 为埃希氏菌属 (*Escherichia*) 的代表菌。无芽胞，有动力，有普通菌毛与性菌毛，有些菌株有多糖类包膜，革兰氏阴性杆菌。

大肠杆菌一般多不致病，为人和动物肠道中的常居菌，在一定条件下可引起肠道外感染，在适合条件下可使牛乳及乳制品腐败产生一种不洁净或粪便气味。某些血清型菌株的致病性强，引起腹泻，统称致病性大肠杆菌。大肠菌群是食品被粪便污染的指标，反映食品的一般卫生质量，也反映对人体健康危害性的大小。

1.3.1.2 金黄色葡萄球菌

金黄色葡萄球菌 (*Staphylococcus*)，无芽胞、鞭毛，大多数无荚膜，革兰氏阳性菌。对营养要求不高，在普通培养基上生长良好，需氧或兼性厌氧，最适生长温度 37℃，最适 pH7.4。

金黄色葡萄球菌可污染食品产生毒素，使人食物中毒。它广泛分布于空气、土壤、水及食具，人和动物具有较高的带菌率。健康人的咽喉、鼻腔、皮肤、头发等常带有产肠毒素的菌株，故易于经手或空气污染食品。金黄色葡萄球菌中毒多见于春夏季，中毒食品种类多，如奶、肉、蛋、鱼及其制品。金黄色葡萄球菌是人类化脓感染中最常见的病原菌，可引起局部化脓感染，也可引起肺炎、伪膜性肠炎、心包炎等，甚至导致败血症、脓毒症等全身感染。

1.3.1.3 志贺杆菌

志贺氏菌属 (*Shigella*) 因 1898 年被 Shiga 首先发现而得名。它是革兰氏阴性杆菌，无鞭毛、动力，怕酸、怕热、耐冷（可在冰块中存活 96 天），易形成抗药性。

志贺杆菌能引起细菌性痢疾，通称痢疾杆菌。幼儿可因其毒素引起中毒性菌痢，病死率非常高。志贺杆菌随饮食进入体内，潜伏期 1~3 天。其主要来源为沙拉、牛奶和奶制品及不干净的水。

1.3.1.4 葡枝根霉

根霉隶属接合菌亚门，毛霉目，根霉属。菌丝无色透明，无隔膜，不长气生菌丝，只产生假根，产生孢囊。是中温喜湿性杂菌，适宜生长温度是 30℃，相对湿度大于 90%。

葡枝根霉 (*Rhizopus stolonifer*) 引起采后软腐极为普遍，香蕉、番木瓜、苹果、梨、葡萄、草莓、油桃、杏、李、番茄和辣椒等果蔬均可被葡枝根霉侵染，引起软腐。葡枝根霉是典型的高温性病害，只有在高于 10℃ 的温度下才能生长，在 20~25℃ 下生长快速。主要以孢囊孢子通过空气、培养料等进行传播。

1.3.1.5 黑曲霉

曲霉 (*aspergillus spp.*) 隶属半知菌亚门。黑曲霉 (*Aspergillus niger* V.Tiegh) 菌落初为白色，之后变黑。分生孢子头褐黑色放射状，顶囊球形，双层小梗，分生孢子为褐色球形。最适生长温度 37℃，pH 值近中性，最低相对湿度为 88%。

黑曲霉是能使含水量高的粮食霉变发热，同时具有很强的分解粮粒有机物的能力，产生多种有机酸，受害后会造大批粮食霉变。

1.3.2 食品防腐剂

食品防腐剂 (food preservatives) 是能防止由微生物引起的腐败变质、延长食品保藏期的食品添加剂，由于兼有防止微生物繁殖引起的食物中毒的作用，又称抗微生物剂 (antimicrobials) [63]。食盐、糖、醋以及香辛料等虽然也有防腐作用，但通常不归入食品添加剂而算作调味料。

目前，世界各国所用的食品防腐剂约有 30 多种。按作用分为杀菌剂和抑菌剂，两者常因浓度、作用时间和微生物性质等因素而不易区分，但常用的杀菌剂很少直接加入食品。

食品防腐剂按照性质可分为有机化学防腐剂和无机化学防腐剂两类。有机化学防腐剂主要包括苯甲酸及其盐类、山梨酸及其盐类、对羟基苯甲酸的酯类等，苯甲酸及其盐类、山梨酸及其盐类等均是通过未解离的分子起抗菌作用，它们均需转变成相应的酸后才有效，故称为酸型防腐剂；无机化学防腐剂主要包括二氧化硫、亚硫酸盐、及亚硝酸

盐等。除以上两类食品防腐剂外，还有乳酸链球菌素，它是一种由乳链球菌产生的含 34 个氨基酸的肽类抗菌素。

在防腐剂的应用历史中，人们不断发现某些防腐剂对人体的危害作用。硼砂、甲醛、水杨酸、焦碳酸二乙酯等虽已经被禁用，但消费者对合成防腐剂的反感仍是与日俱增。现在使用的合成食品防腐剂虽然在限量范围内是绝对安全的，但适用范围越来越窄，如苯甲酸（钠）可与甘氨酸形成马尿酸而排出体外，但仍然有一定的毒性，且有叠加中毒的报道。很多防腐剂在使用上仍具有争议。

1.3.3 植物来源的食品防腐剂

从植物中提取的具有保持食品新鲜度的添加剂，从功能上来说，可粗略地分为食品防腐剂和食品保鲜剂两类，这两者之间其实并无严格的区别。有些防腐效果较强，可视同为“食品防腐剂”，如日本厚朴提取物、辣根提取物、芥菜籽提取物、连翘提取物、安息香提取物、毛嵩提取物、果胶分解物和罗汉柏浸提物等；有些防腐效果较弱，能使食品的新鲜度得以延长，可作为“食品保鲜剂”，如桂皮提取物、桑树皮提取物、无花果叶提取物、蓼抽取液、补骨脂提取物、葡萄柚籽提取物、牛至叶提取物、姜提取物和竹提取物等。

植物提取物成分组成复杂，通常抑菌性成分主要为生物碱、黄酮类、鞣质（内含焦性没食子酸和焦性儿茶酚）、没食子酸的衍生物和有机酸等。植物的抑菌作用受温度、pH、溶剂等各种提取条件的影响^[64]。从来源上来说，一类是从传统的香辛料植物提取出来的，另一类来自于其他非香辛料植物^[65]。

近年来，从植物中提取出的一些具有抑制微生物生长繁殖作用的食物保鲜剂已成功应用于食品生产中。随着对天然添加剂需求的日益增加，对天然防腐剂的研究与开发将具有更广阔的前景。

1.4 本论文的研究内容

1.4.1 研究背景

红薯茎叶在生长期内，几乎不受病虫害的侵袭；民间将红薯茎叶煮水用来治疗习惯性便秘和干眼病；鲜嫩红薯叶与鸡内金加水煮服可治小儿疳积……从有限的关于红薯茎叶化学组成的报道中可以推断，红薯茎叶抵抗病害，具有某些治疗功能一定与其中的一

个或多个成分有关,但目前相关的基础研究还比较少见。

张侠^[85]等将红薯茎叶经系统溶剂浸提后,对所得到的浸提物进行抗脂质过氧化研究,结果表明红薯茎叶中存在抗氧化活性物质。

有关红薯茎叶抗菌性及其功能因子的报道较少。谢丽玲^[66]等研究了红薯茎叶水提取物对五种致病菌的抑制作用,发现有些品种的红薯茎叶提取物对大肠杆菌、枯草杆菌、金黄色葡萄球菌、白色葡萄球菌、普通变形杆菌具有抑制作用。

我国年产红薯茎叶约1亿吨以上,目前基本上作为废弃物被抛弃,对红薯茎叶的研究,可以从其功能性入手,确定各种生理功能的物质基础,进而研究其生长发育的环境条件、生育期进程和有效成分积累的关系,最终实现对红薯资源更有效的利用,实现更高的经济价值。

1.4.2 研究内容

按照植物化学研究方法,进行红薯茎叶中次生代谢物的定性实验,确定红薯茎叶中次生代谢物的种类。

采用系统溶剂法获得红薯茎叶的石油醚、氯仿、乙酸乙酯、丙酮、乙醇和水提取物;采用大孔吸附树脂分离红薯茎叶70%乙醇浓缩液,获得0%、10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%和100%洗脱液,并分别使用上述两类提取物进行抗氧化作用和抑菌作用实验。

通过体外抗氧化实验研究红薯茎叶提取物的抗氧化性,评价其在不同的抗氧化体系中的作用效果,同时研究提取方法对抗氧化活性的影响。

选取大肠杆菌、金黄色葡萄球菌、志贺杆菌、葡枝根霉和黑曲霉为对象菌,研究红薯茎叶提取物的抑菌活性,一方面寻找红薯茎叶的抑菌谱,同时研究提取方法对抑菌效果的影响。

第二章 红薯茎叶次生代谢物的定性检识

2.1 红薯茎叶提取物的制备

2.1.1 原料

大地 1 号红薯茎叶 (SPSL), 大连鸿洲种植业有限公司提供。

2.1.2 系统溶剂提取物的制备

原料 → 粉碎 → 浸提 → 过滤 → 浓缩 → 备用

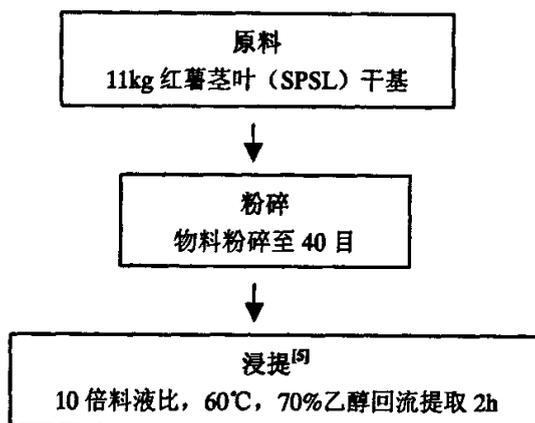
(1) 取 60 克红薯茎叶干粉 (含水分 13%) 粉碎至 40 目;

(2) 用 600mL 石油醚在 60°C 下回流浸提 3h, 过滤并浓缩滤液得到 I* 浸膏 0.4128g, 滤渣挥干溶剂^[5];

(3) 上述滤渣依次再用氯仿、乙酸乙酯、丙酮、乙醇和水进行同 (2) 操作, 并依次得到 II* 浸膏 0.5003g、III* 浸膏 0.3688g、IV* 浸膏 0.6119g、V* 浸膏 1.0584g、VI* 浸膏 15.6894g, 分别配制成浓度为 4×10^{-3} g/mL 和 4×10^{-2} g/mL, 将相同浓度的对照样苯甲酸钠和丙酸钙溶液编号为 VII* 和 VIII*。

2.1.3 大孔树脂分离物的制备

2.1.3.1 红薯茎叶提取物的制备



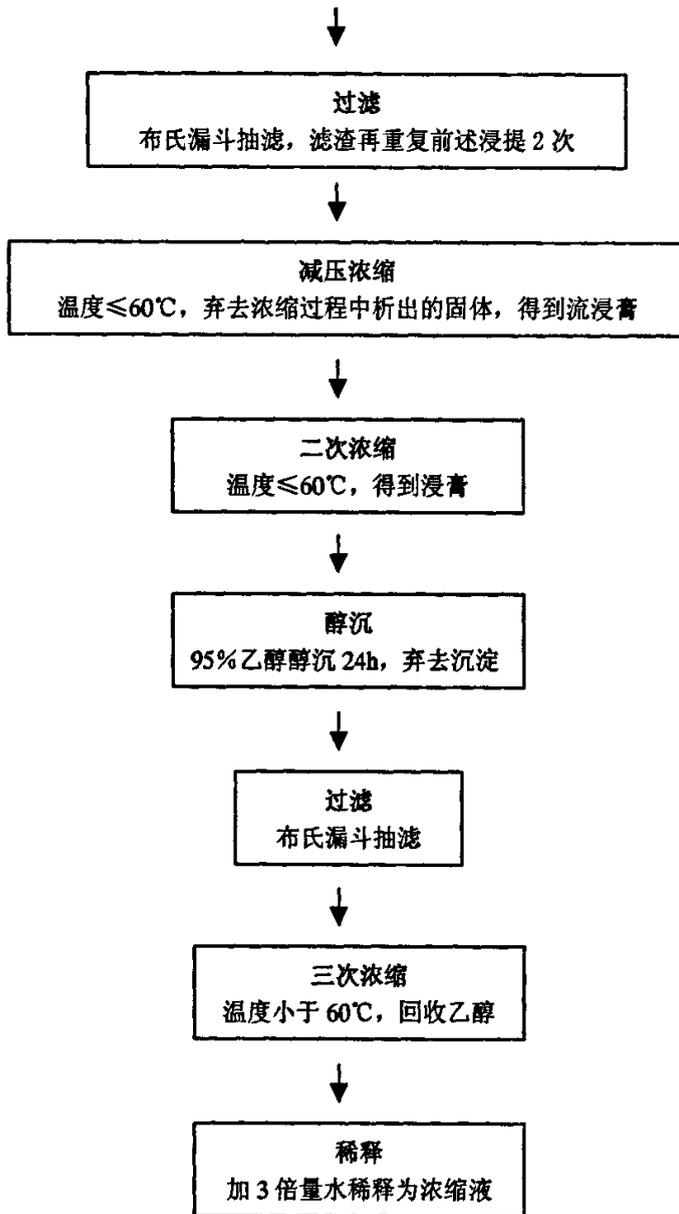


图 2-1 红薯茎叶 70%乙醇提取浓缩液制备流程图

Figure 2-1 Preparation of concentration of SPSL extracted by 70% ethanol

2.1.3.2 大孔树脂分离

首先进行树脂预处理,用去离子水洗去杂质,再用95%乙醇浸泡洗脱,进行树脂的再生,洗至酒精与水等量混合无白色混浊后,再水洗至无酒精味,备用^[67]。

量取400mL样液,反复上样三次,然后依次用水、10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%和100%乙醇洗脱,浓缩后分别得到1~10[#]浸提物,配制成4×10⁻²g/mL的样液,备用。配制同等浓度的苯甲酸钠和丙酸钙溶液作为阳性对照,编为11[#]和12[#]。

2.2 材料与方法

2.2.1 仪器

HH-6 数显恒温水浴锅	江苏金坛市荣华仪器制造有限公司
RE-52A 旋转蒸发器	上海亚荣生化仪器厂
SHZ-D (III) 循环水式真空泵	巩义市英峪予华仪器厂
AL104 电子分析天平	梅特勒-托利多仪器(上海)有限公司
电热恒温干燥箱	上海跃进医疗器械厂
冰箱	海尔集团电冰箱厂
XW-80A 漩涡混合器	上海精科实业有限公司
系列层析柱 Φ2.5cm×60cm	上海沪西分析仪器厂
粉碎机	东港时代农机厂
荧光灯	

2.2.2 试剂

铁氰化钾	天津市化学试剂一厂	硼酸	沈阳试剂一厂
碘化钾	北京化工厂	对氨基苯磺酸	北京化学试剂三厂
氢氧化钾	北京化工厂	对甲苯磺酸	沈阳市试剂三厂
亚硝基铁氰化钠	天津市化学试剂一厂	苦味酸	沈阳试剂五厂
亚硝酸钠	北京化工厂	氨水	上海试剂三厂
碳酸钠	北京化工厂	石油醚	天津化学试剂研究所

氢氧化钠	北京化工厂	氯仿	天津化学试剂批发公司
酒石酸钾钠	天津市化学试剂一厂	乙酸乙酯	天津天和化学试剂厂
醋酸镁	北京化学试剂三厂	乙醇	大连市华中试剂厂
氯化铝	北京化学试剂三厂	甲醇	沈阳试剂五厂
氯化铁	天津市化学试剂一厂	丙酮	天津天和化学试剂厂
硫酸铜	沈阳试剂五厂	茚三酮	沈阳市试剂三厂
氯化汞	广东金砂化工厂	溴酚蓝	上海试剂三厂
硝酸银	北京化工厂	香草醛	天津天河化学试剂厂
三氯化锑	天津市天和化学试剂厂	α -萘酚	上海试剂三厂
盐酸	天津市化学试剂一厂	氯胺 T	北京化学试剂公司
浓硫酸	天津化学试剂批发公司	吲哚醌	天津市化学试剂三厂
冰醋酸	沈阳试剂一厂	盐酸羟胺	长春市化学试剂厂
三氯醋酸	北京化工厂	吡啶	北京化学试剂公司
醋酐	沈阳市新西试剂厂	荧光素	北京新光化学试剂厂

以上试剂均为分析纯。

锌粉	天津化学试剂批发公司
AB-8 大孔吸附树脂	天津南开大学化工厂

2.2.3 检测方法

植物次生代谢物种类繁多，有代表性的包括酚类、有机酸、生物碱、甙体和皂甙等十几类。通过查阅相关资料^[9]，选择十一类物质进行检测，具体方法见表 2-1。

分别取红薯茎叶粉末用十倍量乙醇于 60℃ 加热回流 1h，得到滤液，用石油醚除色素，备用。

表 2-1 红薯茎叶次生代谢物检测方法

Table 2-1 Testing methods of secondary chemicals in SPSL

项 目	方 法
酚类化合物和鞣质	香草醛-盐酸法；三氯化铁-铁氰化钾法；对氨基苯磺酸重氮盐法
有机酸	pH 试纸法；溴酚蓝溶液法
生物碱	碘化汞钾试剂法
氨基酸，肽和蛋白质	茚三酮试剂法；吲哚醌溶液法；双缩脲反应法
糖，多糖和甙	费林溶液法； α -萘酚试剂法；氨性硝酸银试剂法
黄酮	1%三氯化铝乙醇溶液法；浓氨水溶液法
皂甙	醋酐-浓硫酸反应法；氯胺 T-三氯醋酸反应法
甾体	三氯化锑（Carr-Price 试剂）试剂法；醋酐硫酸反应法
香豆素与萜类内酯化合物	内酯化合物的开环与闭环反应；羟胺反应；呈色反应
强心甙	苦味酸试剂法；亚硝基铁氰化钠-氢氧化钠（Legal）法
蒽醌类	1%硼酸水溶液法；10%氢氧化钾水溶液法；0.5%醋酸镁甲醇溶液法

2.3 结果

2.3.1 红薯茎叶大孔树脂洗脱物的提取率

红薯茎叶总量为 10.940kg（干基），采用大孔树脂将红薯茎叶提取物进行分离，得到的十个洗脱物的提取率干膏质量与红薯茎叶干基总质量的比值计算，结果见表 2-2。

表 2-2 红薯茎叶大孔树脂洗脱物的提取率

Table 2-2 Extraction rates of SPSL extracts eluted by systematic solvents

水	10%	20%	30%	40%	50%	60%	70%	80%	100%	
提取率 (%)	22.85	6.09	2.45	0.92	0.23	0.79	1.14	0.28	0.070	0.041

2.3.2 红薯茎叶次生代谢物检测结果

实验结果显示,大地1号红薯茎叶中含有酚类、鞣质、有机酸、生物碱和黄酮等物质,由于皂甙检测和强心苷检测结果均为阴性,可以判断,其中不含有这两类物质,具体结果见表2-3。

表 2-3 红薯茎叶次生代谢物检测结果

Table 2-3 Results of determination of secondary chemicals of SPSL

项	目	实 验 现 象	实验结果
酚类化合物和鞣质			有
	香草醛-盐酸试剂	浅红色*	阳性
	三氯化铁-铁氰化钾试剂	蓝色斑点*	阳性
	对氨基苯磺酸重氮盐 (Pauly) 法	黄色*	阳性
有机酸			有
	pH 试纸	浅红色	弱酸性
	溴酚蓝溶液	微黄*	阳性
生物碱			有
	碘化汞钾试剂	白色沉淀	阳性
氨基酸, 肽和蛋白质			有
	茚三酮试剂	紫红色	阳性
	吲哚醌溶液	荧光斑*	阳性
	双缩脲反应	酒红色	阳性
糖、多糖和甙			有
	费林溶液	红色沉淀	阳性
	α -萘酚试剂 (Molish 试剂)	紫红色	阳性
	氨性硝酸银试剂	褐色*	阳性
黄酮			有
	1%三氯化铝乙醇溶液	荧光斑*	阳性
	浓氨水溶液	黄色荧光斑点*	阳性
皂甙			
	醋酐浓硫酸	无现象	阴性
	氯胺 T-三氯醋酸反应	无现象	阴性

续前页

甾体			有
	三氯化锑 (Carr-Price) 试剂	荧光斑*	阳性
	醋酐-硫酸反应	依次呈黄、红、紫、墨绿色	阳性
香豆素与萜类内酯化合物			有
	内酯化合物的开环与闭环反应	浑浊—澄清—浑浊	阳性
	羟胺反应	稍有红色	阳性
	呈色反应	明显蓝色*	阳性
强心甙			
	苦味酸试剂	无红色	阴性
	亚硝基铁氰化钠-氢氧化钠试剂	产生红色, 但红色未消失	阴性
蒽醌类			有
	1%硼酸水溶液	明显荧光	阳性
	10%氢氧化钾水溶液	黄色荧光	阳性
	0.5%醋酸镁甲醇溶液	橘红色荧光*	阳性

注: 有“*”标记者, 见附录2照片。

第三章 红薯茎叶提取物的抗氧化性

3.1 材料与amp;方法

3.1.1 材料

实验材料的制备见 2.1。将系统溶剂提取物浸膏和大孔树脂梯度洗脱物分别配制成 1×10^{-3} g/mL、 5×10^{-4} g/mL 溶液，备用。

3.1.1.1 仪器

HH-6 数显恒温水浴锅	江苏金坛市荣华仪器制造有限公司
XW-80A 漩涡混合器	上海精科实业有限公司
AL104 电子天平	梅特勒-托利多仪器（上海）有限公司
722 型光栅分光光度计	山东高密彩虹分析仪器有限公司
ZD-2A 自动电位滴定仪	上海鹏顺科学仪器有限公司
LD4-2A 低速离心机	北京医用离心机厂
电热恒温培养箱	上海跃进医疗器械厂

3.1.1.2 试剂

乙醇	大连市华中试剂厂	硫氰酸铵	沈阳市试剂三厂
硫脲	江苏胡隶试剂厂	氯化亚铁	上海试剂三厂
芦丁	上海试剂二厂	盐酸	北京化工厂
维生素 C	东北制药总厂一分厂	氯化铁	天津市化学试剂一厂
维生素 E	大连奥森制药厂	硫酸亚铁	沈阳市试剂三厂
SOD	天津生命科学研究所	邻苯三酚	沈阳市试剂一厂
DPPH	Sigma Chemical Co.	磷酸氢二钾	北京化工厂
过氧化氢	沈阳市试剂三厂	磷酸二氢钾	北京化工厂
三氯乙酸	沈阳试剂一厂	铁氰化钾	天津市化学试剂一厂
邻二氮菲	沈阳市试剂三厂	亚油酸	上海精细化工材料研究所

以上试剂均为分析纯。

3.1.2 测定方法

3.1.2.1 DPPH 体系

待测样液浓度为 1×10^{-3} g/mL, 以同浓度的 V_c 做对照。

在 10 mL 比色管中加入 8×10^{-4} mol/L DPPH 溶液 2 mL、样液 1 mL, 摇匀, 室温避光静置 30 min。在 517 nm 处测量吸光度 A_i 。用 1 mL 95% 乙醇代替样液, 测定空白吸光度 A_0 。用 2 mL 无水乙醇代替 DPPH, 测定吸光度值作为 A_j 。每一吸光度均平行测定 3 次, 取平均值。

清除率按公式 3-1 计算^[72]。

$$S_f(\%) = [1 - (\bar{A}_i - \bar{A}_j) / \bar{A}_0] \times 100\% \quad (\text{式 3-1})$$

式中: S_f ——样液在 DPPH 体系中的自由基清除率, %;

A_i ——加入样液后 DPPH 溶液的吸光值;

A_j ——DPPH 溶液的溶剂和样液混合后的吸光值;

A_0 ——未加样液的 DPPH 溶液的吸光值。

3.1.2.2 还原体系

待测样液浓度为 5×10^{-4} g/mL, 以同浓度的硫脲做对照。

取 0.5 mL 样液 (空白用等量蒸馏水代替), 加入 10 mL 比色皿中, 加入 0.2 mol/L (pH 6.6) 的磷酸缓冲溶液 (PBS) 2.5 mL, 1% 铁氰化钾 ($K_3Fe(CN)_6$) 溶液 2.5 mL, 混匀, 50°C 下保温 20 min, 再加入 10% 三氯乙酸 (TCA) 溶液 2.5 mL, 振荡混匀后 4°C 、4000 r/min 离心 10 min。取上清液 2.5 mL, 加入 2.5 mL 蒸馏水和 0.1% $FeCl_3$ 溶液 0.5 mL, 静置 10 min 后体系溶液由黄色变为蓝色, 空白调零后, 在 700 nm 下测定吸光度 $A^{[73]}$ 。

3.1.2.3 Fenton 体系

待测样液浓度为 1×10^{-3} g/mL, 以同浓度的芦丁无水乙醇溶液做对照。

取 0.75 mol/L 邻二氮菲溶液 1 mL 于 10 mL 比色皿中, 加入 pH 7.4 的 0.2 mol/L 磷酸缓冲液 2 mL, 与 1 mL 蒸馏水充分混匀后, 加入 7.5×10^{-3} mol/L 硫酸亚铁溶液 1 mL, 混匀, 再加入 0.1% H_2O_2 溶液 1 mL, 37°C 下保温 60 min, 于 536 nm 处测定吸光度 A_1 。用 1 mL 蒸馏水代替 1 mL H_2O_2 , 测定吸光度 A_2 。用样液 1 mL 代替 1 mL 蒸馏水, 测定吸光度 A_3 。

按公式 3-2 计算清除率^[74]。

$$S_2 (\%) = [(A_3 - A_1) / (A_2 - A_1)] \times 100\% \quad (\text{式 3-2})$$

式中： S_2 ——样液在 Fenton 体系中的自由基清除率，%；

A_1 ——未加样液时的吸光度；

A_2 ——未加反应剂时的吸光度；

A_3 ——加入样液后的吸光度。

3.1.2.4 亚油酸脂质过氧化体系

待测样液浓度为 1×10^{-3} g/mL，以同浓度的 V_E 无水乙醇溶液做对照。

在 10mL 比色管中加入 2mL 样液，再分别加入 0.02mol/L 亚油酸溶液 2mL、50mmol/L 磷酸盐缓冲液 (pH 7.0) 4mL 和蒸馏水 2mL；空白管用 2mL 75%乙醇代替样液。所有比色管均用黑色塑料袋罩住后，放入 40℃ 电热恒温培养箱中加快氧化速度。

在培养的第 3 天和第 7 天内，每间隔 12h 用硫氰酸铁 (FTC) 法测量一组样液的抗氧化性。取 0.1mL 培养液，分别加入 75%乙醇溶液 4.7mL 和 30%硫氰酸铵溶液 0.1mL，再加入 0.02mol/L 氯化亚铁溶液 (含 3.5% HCl) 0.1mL，反应 3min，于 500nm 处测定形成的红色化合物的吸光度，空白调零。

按公式 3-3 计算样液对亚油酸过氧化的抑制率^[75, 76]。

$$S_3 (\%) = [1 - (A_1/A_0)] \times 100\% \quad (\text{式 3-3})$$

式中： S_3 ——样液在亚油酸脂质过氧化体系中的过氧化抑制率，%；

A_1 ——加入样液反应后的吸光度平均值；

A_0 ——空白组的吸光度平均值。

3.1.2.5 邻苯三酚自氧化体系

待测样液浓度 1×10^{-3} g/mL，以同浓度的 SOD 无水乙醇溶液做对照。

取 0.05mol/L (pH 8.2) Tris-HCl 缓冲液 4.5mL，加入 0.1mL 样液，25℃ 水浴保温 20min 后，加入 25℃ 的 5mmol/L 邻苯三酚溶液 0.3mL (含 10mmol/L HCl)，迅速混匀，倒入比色皿中，每隔 30 秒，于 320nm 处测定吸光度。空白组以等量 75%乙醇代替样液，调零。样液与邻苯三酚混合液在 320nm 处吸光度随时间变化曲线的斜率即为邻苯三酚的自氧化速率 $V (\Delta A/\text{min})$ 。

按式 3-4 计算清除率^[78]。

$$S_4(\%) = (V_{\text{空白}} - V_{\text{样液}}) / V_{\text{空白}} \times 100\% \quad (\text{式 3-4})$$

式中： S_4 ——样液在邻苯三酚自氧化体系中的过氧化清除率，%；

$V_{\text{空白}}$ ——空白组吸光度平均值；

$A_{\text{样液}}$ ——加入样液反应后吸光度的平均值。

3.2 结果

3.2.1 系统溶剂提取物的抗氧化性

实验结果见表 3-1。

表 3-1 红薯茎叶系统溶剂提取物的抗氧化作用

Table 3-1 Antioxidant activities of SPSL extracts of systematic solvents

待测物	抗氧化体系			
	DPPH 体系	还原体系	Fenton 体系	脂质过氧化体系
	清除率 (%)	吸光度 (700nm)	清除率 (%)	抑制率 (%)
I [#]	24.2	0.156	-8.2	37.6
II [#]	37.9	0.190	6.6	46.5
III [#]	73.4	0.284	17.4	44.6
IV [#]	93.3	0.488	86.7	15.8
V [#]	92.3	0.475	80.2	17.7
VI [#]	88.1	0.338	48.3	27.7
对照	63.3 (V _C)	1.624 (硫脲)	90.1 (芦丁)	66.3 (V _E)

不同溶剂提取物清除 DPPH 自由基的能力，以丙酮提取物为最强，其次为乙醇提取物、水提取物和乙酸乙酯提取物，它们均高于相同浓度的 V_C 对 DPPH 自由基的清除能力。石油醚提取物和氯仿提取物的清除率很低，仅为 24.2% 和 37.9%。总体来说，红薯茎叶提取物具有较好的清除 DPPH 自由基的能力。

硫脲是一种有强还原力的抗氧化剂，相同浓度 ($5 \times 10^{-4} \text{g/mL}$) 的硫脲的还原力远大于各相红薯茎叶提取物。丙酮相提取物的还原力在 6 种样液中最强，但仅为对照还原力的 38.6%。

芦丁是抗氧化性很强的一种天然黄酮类抗氧化剂，实验中表现出很强的清除羟基自由基的能力。相同浓度 ($1 \times 10^{-3} \text{g/mL}$) 的丙酮相提取物的清除能力与之十分接近，是它的清除能力的 96.2%。乙醇相提取物的清除羟基自由基能力也较高，是芦丁的 89.0%。石油醚相提取物清除率为-8.2%，提示石油醚提取物中可能存在促氧化物质。

各相红薯茎叶提取物的抑制脂质过氧化作用均逊于对照 V_E 。氯仿、乙酸乙酯、石油醚相提取物的抑制率是几种提取物中较高的，但仅是 V_E 抑制率的 55%~70%。在其他抗氧化体系中抗氧化活性较好的丙酮和乙醇相对亚油酸过氧化的抑制能力却较弱。

3.2.2 大孔树脂乙醇梯度洗脱物的抗氧化性

实验结果见表 3-2。

表 3-2 红薯茎叶大孔树脂乙醇梯度洗脱物的抗氧化作用

Table 3-2 Antioxidant activities of alcoholic gradient eluents of SPSL extracts

待测物	抗氧化体系				
	DPPH 体系	还原体系	Fenton 体系	脂质过氧化体系	邻苯三酚自氧化体系
	清除率 (%)	吸光度 (700nm)	清除率 (%)	抑制率 (%)	清除率 (%)
1 [#]	80.4	0.184	5.1	38.5	38.0
2 [#]	94.0	0.811	7.1	32.2	21.4
3 [#]	93.3	1.294	22.4	-2.3	43.7
4 [#]	93.0	1.627	52.8	13.0	62.4
5 [#]	88.6	1.451	39.6	18.0	48.6
6 [#]	94.2	0.817	26.3	2.0	40.3
7 [#]	93.3	0.653	20.7	16.6	34.8
8 [#]	92.0	0.485	17.5	17.0	32.3
9 [#]	90.5	0.256	16.2	18.3	7.8
10 [#]	78.4	0.187	16.6	14.0	1.0
对照	70.7 (V_C)	1.635 (硫脲)	90.7 (芦丁)	64.6 (V_E)	71.1 (SOD)

50%乙醇洗脱液的清除率最高，是 V_C 的 1.33 倍。相同浓度 ($1 \times 10^{-3} \text{g/mL}$) 的 0 到 100% 的乙醇洗脱物对 DPPH 自由基的清除率均大于对照 V_C ，说明大孔吸附树脂不同浓

度乙醇洗脱液对 DPPH 自由基均具有很好的清除能力。

在相同浓度下 (5×10^{-4} g/mL), 30%乙醇洗脱液的还原力最强, 与对照硫脲的还原力相当。40%和 20%乙醇洗脱液的还原力也较好, 说明红薯茎叶乙醇提取物经大孔树脂乙醇梯度洗脱后, 还原力强的成分可能会集中在 20%~40%的乙醇洗脱液中。

对照芦丁清除羟基自由基的能力优于所有样液, 红薯茎叶乙醇提取物经大孔吸附树脂梯度乙醇洗脱后, 30%乙醇洗脱液对羟自由基的抑制效果最好, 但仅为芦丁的 58.3%。

水相洗脱物对抑制亚油酸过氧化的活性最强, 但仅是对照 V_E 的 59.6%。50%乙醇洗脱液的抑制率仅为 2.0%, 几乎没有抗氧化性。20%乙醇洗脱液其抑制率为-2.3%, 说明其中可能存在促进亚油酸过氧化的物质。

30%乙醇洗脱液清除超氧阴离子的能力最强, 而 100%乙醇洗脱液, 几乎没有清除作用。各洗脱液的清除率均小于对照 SOD。SOD 是内源性酶类抗氧化剂, 对超氧阴离子有专门的清除作用, 而红薯茎叶乙醇提取物经大孔吸附树脂洗脱后, 30%乙醇洗脱物对超氧阴离子的清除率仅比 SOD 对超氧阴离子的清除率低 8.7%, 说明它具有良好的清除超氧阴离子自由基的能力, 大孔树脂分离后, 可能将清除超氧阴离子的有效成分集中在 20%~50%乙醇的洗脱液中。

3.3 讨论

本文采用还原体系、羟自由基、超氧阴离子自由基、DPPH 自由基和脂质过氧化体系研究红薯茎叶的抗氧化能力。实验结果表明, 同种红薯茎叶提取液在不同体系中的抗氧化效果不完全相同, 不同的红薯茎叶提取液在同一体系中的抗氧化效果也存在差异。

3.3.1 不同系统溶剂提取物的抗氧化能力

石油醚、氯仿、乙酸乙酯、丙酮、乙醇和水因其极性由高到低的差异, 而成为系统溶剂, 将它们用于红薯茎叶提取中, 根据相似相溶原理, 得到的提取物的极性也是由低到高, 这也成为它们对同一自由基体系的抗氧化能力存在差异的原因。

丙酮和乙醇相提取物具有良好的还原性和极佳的清除自由基的能力, 但抑制脂质过氧化能力较弱。水相提取物的抗氧化活性略低于丙酮与乙醇相。这说明红薯茎叶中清除自由基的主要活性成分溶于丙酮和乙醇中, 是极性稍强的物质, 可能是黄酮类、鞣质等物质。此外水相中含有氨基酸、多糖类、具有酚羟基的醌类衍生物和多羟基的黄酮类物质, 这些都是良好的植物抗氧化成分。而水相在亚油酸过氧化体系中其抑制脂质过氧化

的能力要优于丙酮和乙醇相，可能是因为水相中含有多糖类物质，多糖类物质具有良好的抑制脂质过氧化能力。

据文献报道，有机酸及其衍生物，如咖啡酸、阿魏酸等具有较强的对二苯代苦味酰基（DPPH）自由基的清除活性和脂质过氧化抑制活性^[79]。乙酸乙酯相提取物在 DPPH 体系中表现出良好的清除自由基的能力，抑制亚油酸过氧化的能力也十分突出，有效成分可能是极性较弱的脂溶性物质，如类胡萝卜素、V_E、游离的黄酮苷元、有机酸等物质。而乙酸乙酯相提取物的还原性和清除羟基自由基的能力却远低于丙酮、乙醇和水相提取物，羟基自由基是目前所知化学性质最活泼的 ROS，它比高锰酸钾和重铬酸钾的氧化性还强。由此可以推测，抑制亚油酸过氧化和清除羟基自由基可能存在不同的机制。

石油醚和氯仿相提取物的清除自由基能力和还原能力均较弱，在清除羟基自由基方面，石油醚相提取物还表现出了促氧化的作用。由此可以推测，红薯茎叶中的抗氧化有效成分大多为强极性物质，易溶于极性强的溶剂中，难溶于弱极性溶剂。但是也应看到，在清除自由基和还原力的实验中（除石油醚相清除羟基自由基外），这两相提取物也表现出一定的抗氧化特性，这可能是因为它们含有生物碱和母核上有羟基和羧基的甙体类化合物，它们都能在一定条件下向体系提供氢原子，起到一定的清除自由基的作用。需要指出的是，石油醚和氯仿相提取物对于亚油酸过氧化有良好的抑制作用，其抑制率与乙酸乙酯相提取物相当，远远高于丙酮、乙醇和水相，这说明红薯茎叶中抗脂质过氧化的有效成分可能包括脂溶性等极性较弱的物质。

3.3.2 大孔树脂分离对红薯茎叶提取物抗氧化性的影响

植物抗氧化成分由于结构、分子量、旋光性、所带官能团等诸多因素的影响，物理性质有很大不同。大孔吸附树脂就是利用各种化学成分在物理性质上的差异进行物质分离的。本实验使用 AB-8 型弱极性大孔树脂对红薯茎叶 70% 乙醇提取液进行分离。研究表明 AB-8 树脂对多酚类的分离、富集能力较好^[80]。

各浓度的乙醇洗脱液对 DPPH 自由基的清除能力均较好，说明经大孔树脂分离存留在各个不同浓度洗脱液的化学成分均对 DPPH 自由基有较强的清除能力，同时也可推断具有清除 DPPH 自由基作用的物质种类较多，既包括极性较强的物质，也包括极性较弱的物质。

据报道，大孔吸附树脂分离淡豆豉总异黄酮的最佳洗脱液为 40% 乙醇，沙棘籽总黄酮为 30% 乙醇洗脱^[81, 82]。红薯茎叶经 70% 乙醇提取、大孔吸附树脂分离、30% 和 40%

乙醇洗脱得到的洗脱液除在亚油酸过氧化体系中的抗氧化活性较低外,在其余四个体系中均表现出较强的抗氧化活性。该洗脱液中可能含有黄酮类、白藜芦醇或其相似化合物、有机酸类,如绿原酸和一些色素等化合物,这些物质均为强极性化合物,并且具有较强的抗氧化活性。而该洗脱液在亚油酸体系中不能有效抑制亚油酸的过氧化,可能是因为脂质过氧化的有效成分应具有脂溶性或为弱极性物质。

3.3.3 红薯茎叶提取物还原性与清除自由基能力之间的关系

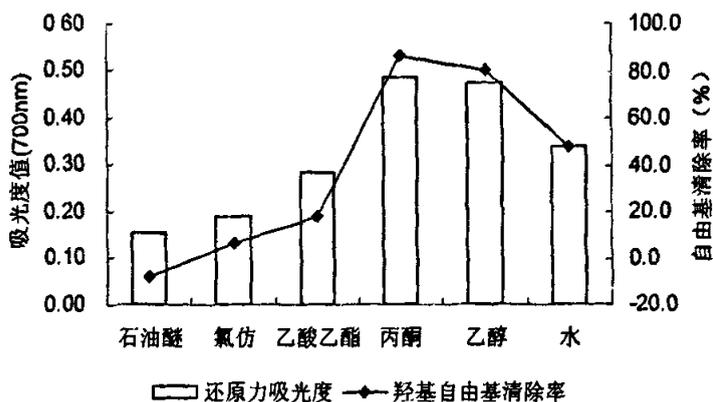


图 3-1 红薯茎叶系统溶剂提取物的还原力与清除羟基自由基的比较

Figure 3-1 Comparison of reducing power and scavenging hydroxyl radical of SPSL extracts

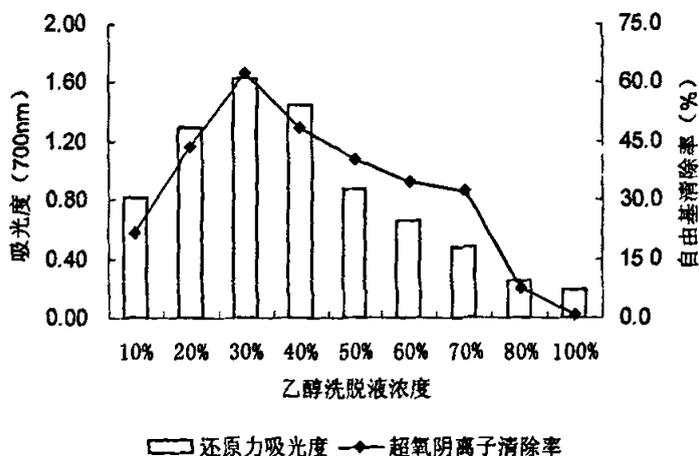


图 3-2 大孔树脂乙醇梯度洗脱物的还原力与清除超氧阴离子的比较

Figure 3-2 Comparison of reducing power and scavenging superoxide anion of alcoholic gradient eluents of SPSL

在本实验中红薯茎叶的各种提取物在清除羟基自由基、超氧阴离子自由基以及还原能力方面表现出差异性,为寻找清除自由基能力的关系,作图 3-1 和 3-2。由图可知,红薯茎叶系统溶剂提取物和大孔吸附树脂乙醇梯度洗脱液的还原力和自由基清除效果的变化趋势相同。由此可以推断红薯茎叶提取物的还原力与清除自由基的能力具有正相关性。

有研究表明,物质的还原能力与抗氧化能力有一定相关性,即二者呈不同程度的正相关^[83]。Tanaka^[84]等指出,天然抗氧化剂的抗氧化性与还原性密切相关,随着还原性的提高,物质抗氧化性也随之提高,如抗坏血酸这种还原性较强的物质,不但可以直接作用于过氧化物,而且可作为前体物质抑制过氧化物的形成,这些论点均与本实验的结果相吻合。但这种规律并非在任何情况下都适用,也有研究发现,还原能力与抗氧化性之间并无相关性,而与该物质的化学成分有关^[85]。

3.3.4 红薯茎叶提取物清除自由基能力与抗脂质过氧化作用的关联性

需要指出的是,无论是系统溶剂法还是大孔树脂吸附法得到的红薯茎叶提取物,在五个抗氧化体系中均出现 4:1 的情况,即抑制脂质过氧化与清除羟自由基、DPPH 自由基、超氧阴离子自由基及还原力方面所表现出的抗氧化活性具有相反的结果。

羟自由基、DPPH 自由基、超氧阴离子自由基体系和还原力体系均属于水溶性体系,而脂质过氧化体系为脂溶性体系,这种差异可能是造成各种提取物抗氧化活性变化规律截然相反的原因。

用极性性较大的溶剂获得的提取物中更多的是极性较大的各类物质,它们较差的脂溶性使其在亚油酸体系中不能充分地保护水油界面的脂质,而无法实现对脂质氧化过程的有效抑制。但对于水溶性体系来说,它们在体系中良好的分散性使其中的抗氧化成分得以更好地发挥作用。

对某种抗氧化物质来说,评价其抗氧化能力需要考虑所采用的评价体系的理化特性,包括极性、pH 值、相组成等多种因素。每种抗氧化物质都应有它特定的发挥最佳抗氧化能力的适宜体系,万能的抗氧化剂是不存在的。

第四章 红薯茎叶提取物的抑菌性

4.1 材料与方法

4.1.1 材料

实验材料见 2.1。将各浸膏配分别配制成 $4 \times 10^{-2} \text{g/mL}$ 和 $4 \times 10^{-3} \text{g/mL}$ 溶液，备用。

4.1.1.1 仪器

XW-80A 漩涡混合器	上海精科实业有限公司
AL104 电子分析天平	梅特勒-托利多仪器（上海）有限公司
ZD-2A 自动电位滴定仪	上海鹏顺科学仪器有限公司
电热恒温培养箱	上海跃进医疗器械厂
电热恒温干燥箱	上海跃进医疗器械厂
冰箱	海尔集团电冰箱厂
生物洁净工作台	哈尔滨东联电子技术开发有限公司

4.1.1.2 试剂

硝酸钠	分析纯	北京化工厂
磷酸氢二钾	分析纯	北京化工厂
氯化钾	分析纯	北京化工厂
七水硫酸镁	分析纯	天津市天和化学试剂厂
七水硫酸亚铁	分析纯	北京化工厂
吐温 40		福建石狮副食品加工厂
蔗糖		北京化工厂
氯化钠		北京化工厂
琼脂		福建石狮副食品加工厂
牛肉膏		成都市华西生化制品厂
蛋白胨		北京奥博星生物技术责任有限公司

4.1.1.3 供试菌株

大肠杆菌 (<i>Escherichia coli</i>)	大连轻工业学院菌种保藏所提供
金黄色葡萄球菌 (<i>Staphylococcus aureus</i>)	大连轻工业学院菌种保藏所提供
志贺杆菌 (<i>Shiga bacillus</i>)	大连轻工业学院菌种保藏所提供
葡枝根霉 (<i>Rhizopus stolonifer</i>)	大连轻工业学院菌种保藏所提供
黑曲霉 (<i>Aspergillus niger</i>)	大连轻工业学院菌种保藏所提供

4.1.2 实验方法

4.1.2.1 菌株的活化

将所有供测试的菌种接入斜面培养基^[86, 87], 细菌置于 37℃ 恒温培养箱内培养 24h, 霉菌、酵母菌于 30℃ 培养 48h 后, 置 0~4℃ 冷藏。

4.1.2.2 平板的制备

细菌培养采用牛肉膏蛋白胨培养基, 霉菌培养采用察氏培养基^[88]。

将配制好的培养基移入 250mL 三角瓶, 121℃ 高压蒸汽灭菌 30min, 冷却至 50℃~60℃, 用无菌移液管取 15mL 加入培养皿中, 冷却为固体培养基, 备用。

4.1.2.3 菌悬液的制备

用接种环挑取 3~4 环菌体或孢子放入装有 50mL 液体培养基的小锥形瓶里, 充分振荡 10min, 制成菌体悬液或孢子悬液备用^[89]。

4.1.2.4 抑菌实验

用无菌移液管取 0.1mL 菌悬液加入平皿中, 用玻璃推棒将菌液涂布均匀, 制成带菌平板^[89]。

依次在各杯中加入阳性对照苯甲酸钠 (4×10^{-2} g/mL)、丙酸钙溶液 (4×10^{-2} g/mL) 和红薯茎叶提取物各 0.2mL。做好标记后, 霉菌 30℃ 恒温培养 48h^[90], 细菌 37℃ 恒温培养 18h 后, 观察菌落生长情况, 测定抑菌圈直径。

各提取物配制为浓度 4×10^{-2} g/mL 和 4×10^{-3} g/mL; 配制同浓度的对照苯甲酸钠和丙酸钙溶液, 分别编为 VII* 和 VIII* (系统溶剂提取物实验), 11* 和 12* (大孔树脂梯度洗脱实验中), 备用。

各组实验均平行实验 3 次。

4.2 结果

4.2.1 系统溶剂提取物的抑菌性

浓度为 $4 \times 10^{-2} \text{g/mL}$ 的各提取物做平均数差异显著性测验^[91]。选择检测水平 α 为 0.01 和 0.05, 作两尾检验。 $t_{(0.01,4)}=4.6041$, $t_{(0.05,4)}=2.7764$ 。当 $0.01=\alpha=0.05$ 时, 认为差异显著, 若受试物优于对照, 标记“+”; 若对照优于受试物, 标记“-”; $\alpha=0.01$ 时, 认为差异非常显著, 若受试物优于对照, 标记“++”; 若对照优于受试物, 标记“--”; $\alpha=0.05$ 时, 认为差异不显著, 受试物与对照的抑菌作用相当。

4.2.1.1 系统溶剂提取物对大肠杆菌的抑制作用

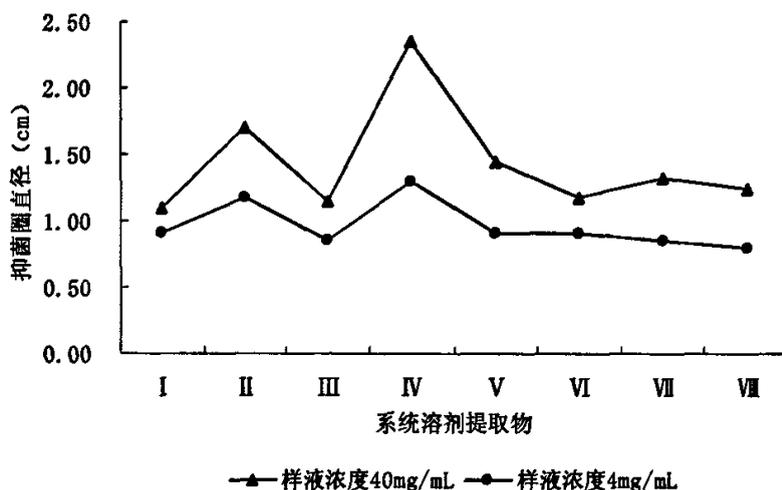


图 4-1 不同浓度红薯茎叶系统溶剂提取物对大肠杆菌的抑制作用

Figure 4-1 Inhibition on *Escherichia coli* of SPSL extracts (systematic solvents) on different concentrations

浓度为 $4 \times 10^{-2} \text{g/mL}$ 的红薯茎叶提取物对大肠杆菌的抑制作用明显好于浓度为 $4 \times 10^{-3} \text{g/mL}$ 的提取物。各溶剂提取物 ($4 \times 10^{-2} \text{g/mL}$) 总平均抑菌圈直径为 1.49cm, 高于两种对照。II* 和 IV* ($4 \times 10^{-2} \text{g/mL}$), 与两种对照相比, 差异极其显著。V* 存在显著差异。

表 4-1 红薯茎叶系统溶剂提取物对大肠杆菌抑制作用的显著性分析

Table 4-1 Levels of significance of inhibition on *Escherichia coli* of SPSL extracts (systematic solvents)

提取物	抑菌圈直径 (cm)	对照 VII		显著性	对照 VIII		显著性
		Sd 值	t 值		Sd 值	t 值	
I*	1.10	0.0751	-3.0626	-	0.0957	-1.5674	
II*	1.70	0.0630	5.8730	++	0.0866	5.1963	++
III*	1.15	0.1217	-1.4790		0.1354	-0.7386	
IV*	2.35	0.1601	6.3710	++	0.1708	6.4403	++
V*	1.45	0.0383	3.1330	+	0.0707	2.8290	+
VI*	1.18	0.0678	-2.2124		0.0902	-0.7761	

注: VII*对照抑菌圈直径为 1.33cm, VIII*对照抑菌圈直径为 1.25cm.

4.2.1.2 系统溶剂提取物对金黄色葡萄球菌的抑制作用

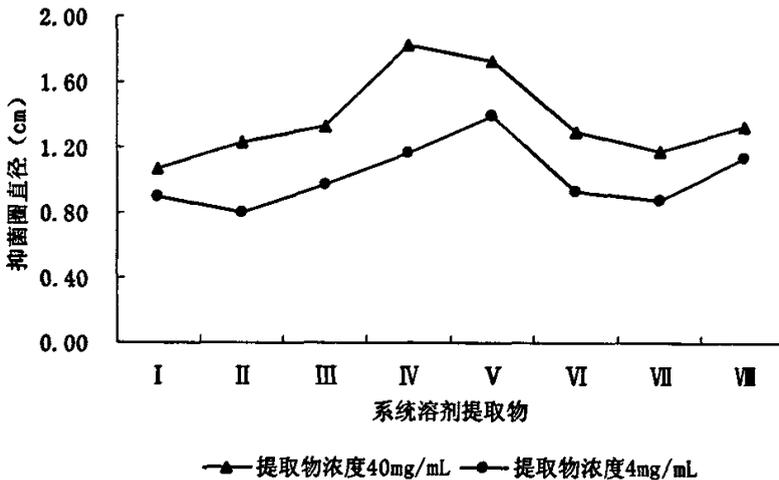


图 4-2 红薯茎叶系统溶剂提取物对金葡菌的抑制作用

Figure 4-2 Inhibition on *Staphylococcus* of SPSL extracts (systematic solvents) on different concentrations

各溶剂提取物 ($4 \times 10^{-2} \text{g/mL}$) 的平均抑菌圈直径为 1.42cm。浓度为 $4 \times 10^{-2} \text{g/mL}$ 的 IV* 和 V* 对金黄色葡萄球菌的抑制效果最好, 与两种对照的差异极其显著, III* 则只与对照 VII 具有显著性差异。

表 4-2 红薯茎叶系统溶剂提取物对金黄色葡萄球菌抑制作用的显著性分析

Table 4-2 Levels of significance of inhibition on *Staphylococcus* of SPSL extracts (systematic solvents)

提取物	抑菌圈直径 (cm)	对照 VII		显著性	对照 VIII		显著性
		Sd 值	t 值		Sd 值	t 值	
I*	1.07	0.0356	-3.0900	-	0.0678	-3.8350	--
II*	1.23	0.0356	1.4045		0.0678	-1.4750	
III*	1.33	0.0542	2.7780	+	0.0792	0.0000	
IV*	1.83	0.1137	5.7170	++	0.1275	3.9220	+
V*	1.73	0.0891	6.1730	++	0.1061	3.7700	+
VI*	1.30	0.0480	2.5000		0.0751	-0.3995	

注: VII*对照抑菌圈直径为 1.18cm, VIII*对照抑菌圈直径为 1.33cm.

4.2.1.3 系统溶剂提取物对志贺杆菌的抑制作用

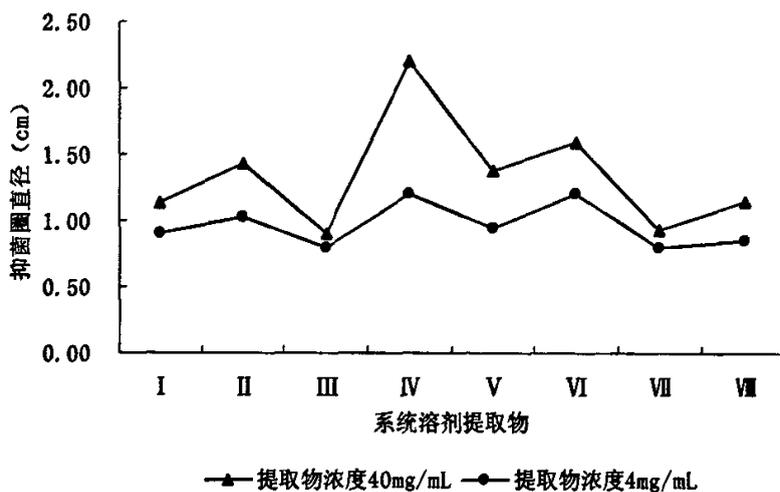


图 4-3 红薯茎叶系统溶剂提取物对志贺杆菌的抑制作用

Figure 4-3 Inhibition on *Shiga bacillus* of SPSL extracts (systematic solvents) on different concentrations

各溶剂提取物 ($4 \times 10^{-2} \text{g/mL}$) 总平均抑菌圈直径为 1.44 cm, 是对照 VII* 的 1.55 倍和对照 VIII* 的 1.25 倍。II*、IV* 和 VI* 与两对照相比均具有差异非常显著的抑菌效果, 且以 IV* 最为突出, 抑菌圈直径达到 2.2cm。

表 4-3 红薯茎叶系统溶剂提取物对志贺杆菌抑制作用的显著性分析

Table 4-3 Levels of significance of inhibition on *Shiga bacillus* of SPSL extracts (systematic solvents)

提取物	抑菌圈直径 (cm)	对照 VII		显著性	对照 VIII		显著性
		Sd 值	t 值		Sd 值	t 值	
I*	1.13	0.0356	5.6180	++	0.0693	-0.2886	
II*	1.43	0.0356	14.0450	++	0.0693	4.0404	+
III*	0.90	0.0751	-0.3995		0.0957	-2.6123	
IV*	2.20	0.0751	16.9108	++	0.0957	10.9718	++
V*	1.38	0.0792	5.6818	++	0.0990	2.3232	
VI*	1.60	0.0480	13.9583	++	0.0764	5.8900	++

注：VII*对照抑菌圈直径为 0.93cm，VIII*对照抑菌圈直径为 1.15cm。

4.2.1.4 系统溶剂提取物对葡枝根霉菌的抑制作用

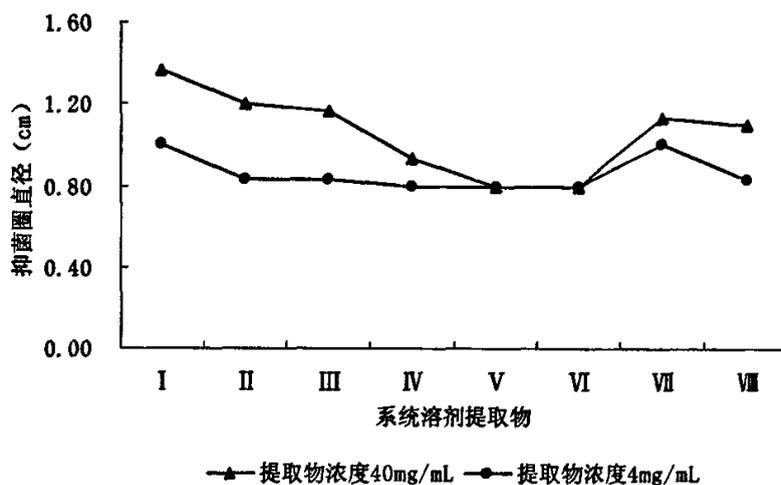


图 4-4 红薯茎叶系统溶剂提取物对葡枝根霉的抑制作用

Figure 4-4 Inhibition on *Rhizopus stolonifer* of SPSL extracts (systematic solvents) on different concentrations

样液浓度为 $4 \times 10^{-2} \text{g/mL}$ 的红薯茎叶提取物对葡枝根霉菌的抑制作用如图 4-4 和表

4-4 所示, 极性弱的化合物对葡枝根霉菌的抑制作用稍强, I* 与对照 VII* 存在极其显著性差异。而 V* 和 VI* 与两种对照相比, 则存在极其显著的负差异。

表 4-4 红薯茎叶系统溶剂提取物对葡枝根霉抑制作用的显著性分析

Table 4-4 Levels of significance of inhibition on *Rhizopus stolonifer* of SPSL extracts (systematic solvents)

提取物	抑菌圈直径 (cm)	对照 VII		显著性	对照 VIII		显著性
		Sd 值	t 值		Sd 值	t 值	
I*	1.37	0.0473	5.0740	++	0.0667	4.0480	
II*	1.20	0.0473	2.9600	+	0.0667	2.5482	
III*	1.17	0.0473	0.8457		0.0667	1.0495	
IV*	0.93	0.0700	-2.8571	--	0.0844	-2.0142	
V*	0.80	0.0334	-9.8802	---	0.0577	-5.1993	---
VI*	0.80	0.0334	-9.8802	---	0.0577	-5.1993	---

注: VII* 对照抑菌圈直径为 1.13cm, VIII* 对照抑菌圈直径为 1.10cm。

4.2.1.5 系统溶剂提取物对黑曲霉的抑制作用

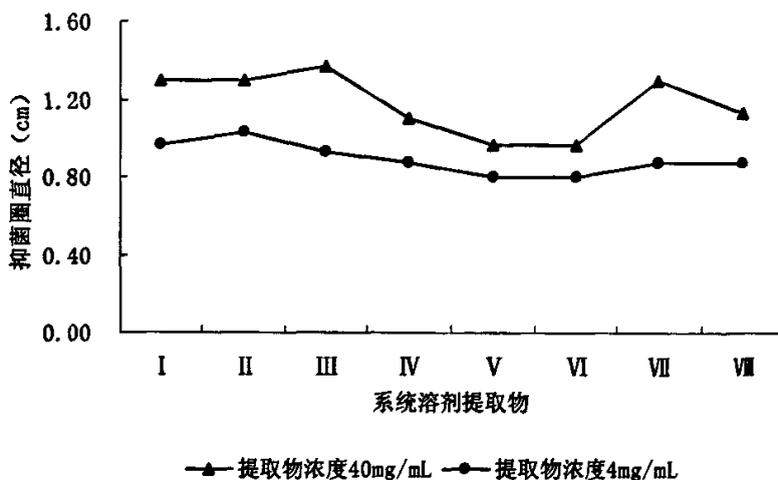


图 4-5 红薯茎叶系统溶剂提取物对黑曲霉的抑制作用

Figure 4-5 Inhibition on *Aspergillus niger* of SPSL extract (systematic solvents) on different concentrations

如图 4-5 所示, 样液浓度为 $4 \times 10^{-2} \text{g/mL}$ 的红薯茎叶提取物对黑曲霉的抑制效果明显优于浓度为 $4 \times 10^{-3} \text{g/mL}$ 的提取物。但总体看, 只有 III* 相对于对照 VIII 具有显著性差异。红薯茎叶提取物抑制黑曲霉的能力较差。

表 4-5 红薯茎叶系统溶剂提取物对黑曲霉抑制作用的显著性分析

Table 4-5 Levels of significance of inhibition on *Aspergillus niger* of SPSL extracts (systematic solvents)

提取物	抑菌圈直径 (cm)	对照 VII		显著性	对照 VIII		显著性
		Sd 值	t 值		Sd 值	t 值	
I*	1.30	0.0816	0.0000		0.0667	2.5487	
II*	1.30	0.1633	0.0000		0.1564	1.0870	
III*	1.37	0.0667	1.0495		0.0473	5.0740	++
IV*	1.10	0.0816	-2.4510		0.0678	-0.4425	
V*	0.97	0.0667	-4.9475	--	0.0473	-3.3827	-
VI*	0.97	0.0667	-4.9475	--	0.0473	-3.3827	-

注: VII* 对照抑菌圈直径为 1.3cm, VIII* 对照抑菌圈直径为 1.13cm。

4.2.2 大孔树脂乙醇梯度洗脱物的抑菌性

实验结果见表 4-6。

红薯茎叶大孔树脂梯度洗脱物对大肠杆菌有较明显的抑制效果, 4* 洗脱液抑菌效果最好, 3* 洗脱液效果也较好。2*、3* 和 4* 洗脱液比同等浓度的苯甲酸钠溶液的抑菌效果好, 1*、2*、3* 和 4* 样液的抑菌效果比同等浓度的丙酸钙溶液的好。

10 个样液对金黄色葡萄球菌的抑制作用较平均, 平均抑菌圈直径为 1.24cm, 抑菌圈的最大直径与最小直径仅相差 0.3cm, 6* 的抑菌效果最好。

红薯茎叶提取物对志贺杆菌具有较好的抑制效果, 以 2* 为最佳, 各洗脱液平均抑菌圈直径为 1.35cm。

8* 和 7* 对葡枝根霉的抑菌效果显著高于两种对照。1* 和 2* 未出现抑菌圈。

经大孔树脂分离的洗脱物对黑曲霉的抑制作用差异较大, 有四种洗脱物未出现抑菌圈, 而 7* 和 8* 的抑菌圈直径大于 12* 对照, 同时 8* 的抑菌圈直径也达到了 11* 对照的水平。

表 4-6 红薯茎叶大孔树脂乙醇梯度洗脱物的抑菌作用
Table 4-6 Bacteriostasis of alcoholic gradient eluents of SPSL extracts

待测物	抑菌圈直径 (cm)				
	大肠杆菌	金黄色葡萄球菌	志贺杆菌	葡枝根霉	黑曲霉
1 [#]	1.25	1.18	1.45	0.80	0.80
2 [#]	1.40	1.20	1.65	0.80	0.80
3 [#]	1.45	1.25	1.35	0.90	1.10
4 [#]	1.58	1.18	1.28	1.20	0.95
5 [#]	1.15	1.20	1.45	0.95	0.95
6 [#]	1.00	1.40	1.57	1.00	0.90
7 [#]	1.13	1.37	1.30	1.45	1.20
8 [#]	1.07	1.17	1.30	1.50	1.30
9 [#]	1.07	1.37	1.10	1.20	0.80
10 [#]	1.07	1.10	1.07	1.10	0.80
对照 1 (苯甲酸钠)	1.33	1.18	0.93	1.17	1.30
对照 2 (丙酸钙)	1.25	1.33	1.15	1.10	1.13

4.3 讨论

4.3.1 系统溶剂对抑制细菌作用的影响

红薯茎叶提取物对大肠杆菌、金黄色葡萄球菌、志贺杆菌的平均抑菌效果均好于相同浓度的对照,说明红薯茎叶对所选细菌菌株具有较好的抑制作用。

丙酮、乙醇和水相提取物抑制细菌的效果较对照显著,这三种溶剂的极性相对较高,提取物中可能含有黄酮类、鞣质、木脂素、有机酸等物质。据文献报道,黄酮类、鞣质和木脂素对抗细菌具有良好效果,从罂粟科 (*Papaveraceae*)、芸香科 (*Rutaceae*) 等植物中提取出的黄酮类物质具有很强的抑菌作用^[92]。由此推论,黄酮类、鞣质和木脂素也极可能是红薯茎叶中具有良好抗菌作用的物质。石油醚、氯仿和乙酸乙酯相提取物的抑

菌效果虽不及上述三种提取物，但还是表现一定的抑菌能力，其中的抑菌功能成分可能是生物碱和萜类物质。

同一红薯茎叶提取物对不同菌株作用效果的差异很大，这与菌种细胞结构有关。革兰氏阴性菌和阳性菌的体外抑菌效果有差异，红薯茎叶提取物对革兰氏阴性菌的抑制作用强于革兰氏阳性菌，这与细菌的细胞壁的结构有关。革兰氏阳性菌的细胞壁较厚，约20~80nm，肽聚糖含量丰富，多达50层，形成坚固致密的三维立体网状结构，膜转运通道少，仅允许水分子、离子自由通过。而革兰氏阴性菌细胞壁较薄，物质的转运通道多，相对而言，红薯茎叶提取成分容易穿过细胞壁，表现为较强的抑菌作用。

各提取物对同种对象菌抑制作用的差异的显著性分析如表4-7所示，六种系统溶剂提取物对包括霉菌在内的每种对象菌的抑制作用均差异显著。说明采用系统溶剂获得红薯茎叶提取物可以实现对其中具有抑菌作用的成分的分。

表4-7 系统溶剂对红薯茎叶抑菌物质分离显著性分析

Table 4-7 Levels of significance of bacteriostasis of SPSL extracts (systematic solvents)

	最大抑菌直径 cm	最小抑菌直径 cm	S 值	μ 值	显著性
大肠杆菌	2.35	1.10	0.479	2.608	*
金黄色葡萄球菌	1.83	1.07	0.298	2.548	*
志贺杆菌	2.20	0.90	0.446	2.914	*
葡枝根霉	1.37	0.80	0.236	2.414	*
黑曲霉	1.37	0.97	0.178	2.243	*

注：确定检测水平 α 为 0.05，作一尾检验。当 $\alpha \leq 0.05$ 时，认为差异显著，标记“*”； $\mu_{(0.05, 9)} = 2.228$ 。

4.3.2 系统溶剂对抑制霉菌作用的影响

红薯茎叶系统溶剂提取物对两种霉菌也具有一定的抑制效果，但总体来看，红薯茎叶提取物对霉菌的抑制效果不及对细菌的抑制效果。

石油醚和氯仿提取物比其他相提取物对葡枝根霉的抑制效果好，说明红薯茎叶中对霉菌有抑制作用的物质极性相对较弱，这些集中存在于石油醚、氯仿相中的物质可能是生物碱、甙体、三萜、游离的黄酮苷等极性较弱或偏中性的物质。据文献报道，甙体、萜类、生物碱类的某些物质具有抗真菌活性^[92]。推测红薯茎叶中也可能是上述物质具有

抗霉菌活性。

4.3.3 系统溶剂提取物对细菌和霉菌抑制作用的关联性

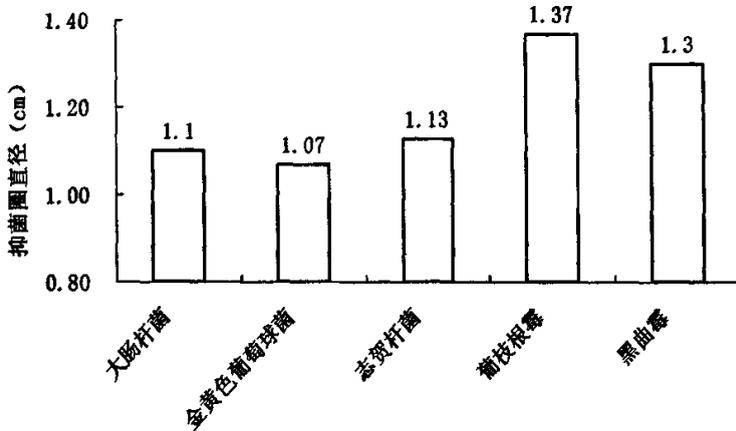


图 4-6 石油醚相提取物的抑菌作用

Figure 4-6 Inhibition on bacillus and mildew of SPSL extracted by Petroleum ether

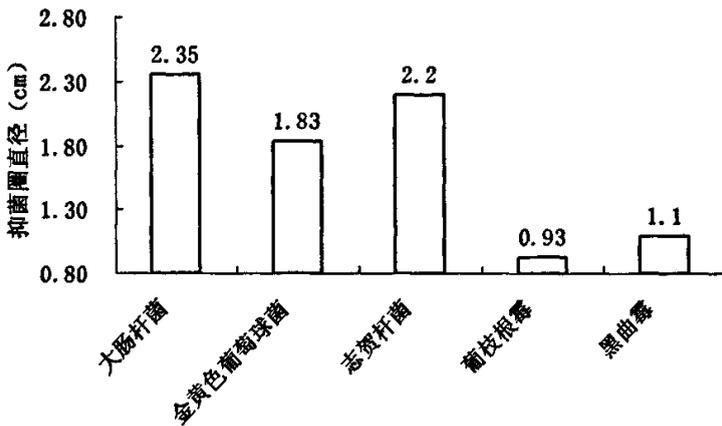


图 4-12 丙酮相提取物的抑菌作用

Figure 4-7 Inhibition on bacillus and mildew of SPSL extracted by Acetone

在系统溶剂中，极性最小的是石油醚，该提取物中物质的极性也最低。从对五种对

象菌的抑制作用看,石油醚提取物对三种细菌的抑制作用明显好于对两种霉菌的抑制作用。而对于极性较高的丙酮来说,该提取物对五种对象菌的抑制效果正相反,即对霉菌的抑制好于细菌,从这种现象可以推断,红薯茎叶中对霉菌和细菌具有抑制作用的是不同种类的物质,而且抑制霉菌活性较强的可能是极性相对较弱的物质,抑制细菌作用较强的是极性相对较强的物质。

4.3.4 大孔树脂分离对抑制细菌作用的影响

经大孔吸附树脂分离,5[#]、4[#]、3[#]、2[#]、1[#]洗脱液中含有的是极性相对较强的物质。4[#]和5[#]洗脱液中可能含有黄酮类、有机酸类和一些色素等化合物,这些化合物均为极性化合物,它们对大肠杆菌较好的抑制效果进一步证实了由系统溶剂提取物的抑菌实验得出的推断,即红薯茎叶中可能是这些物质在发挥抑制大肠杆菌的作用。

在金黄色葡萄球菌抑制性实验中,各样液抑菌结果相差不大,6[#]、7[#]、9[#]等含有极性相对较弱的物质的洗脱液的效果相对较好,这与系统溶剂抑菌实验中的结果略有差异;在志贺杆菌抑菌实验中,2[#]、6[#]、1[#]、5[#]的效果较明显,但洗脱液极性对抑菌效果的影响没有规律性。由这两个结果可做出几种推断,一是大孔树脂对红薯茎叶提取物的分离还不够彻底,二是对不同菌株起抑制作用的功能因子可能不相同,三是需要由几种物质共同作用。

各梯度洗脱物的抑菌效果普遍优于对照苯甲酸钠和丙酸钙,但抑菌效果普遍逊于系统溶剂提取物实验,进一步说明红薯茎叶的抑菌可能是多种物质协同作用的结果。

各大孔树脂梯度洗脱物对同种对象菌的抑制作用的显著性分析如表4-7所示,大孔树脂梯度洗脱物对每种对象菌的抑制作用均存在显著差异,说明采用大孔树脂分离红薯茎叶中70%乙醇提取物可以实现对其中的抑菌性物质的富集作用。

值得一提的是,对三种细菌的抑制效果中,10[#]样液的效果都是最差的,说明100%乙醇洗脱液基本不具有抑制细菌的效果,在今后的实验中,可不再对10[#]样液进行进一步分离。

表 4-8 大孔树脂对红薯茎叶抑菌物质分离显著性分析

Table 4-8 Levels of significance of bacteriostasis of SPSL extracts (absorbent resin)

	最大抑菌直径 cm	最小抑菌直径 cm	S 值	μ 值	显著性
大肠杆菌	1.58	1.07	0.196	2.958	*
金黄色葡萄球菌	1.40	1.10	0.102	2.936	*
志贺杆菌	1.65	1.07	0.185	3.130	*
葡枝根霉	1.50	0.80	0.248	2.821	*
黑曲霉	1.30	0.80	0.182	2.743	*

注：确定检测水平 α 为 0.05，作一尾检验。当 $\alpha \leq 0.05$ 时，认为差异显著，标记“*”， $\mu_{(0.05, 9)} = 2.228$ 。

4.3.5 大孔树脂分离对抑制霉菌作用的影响

在大孔树脂梯度洗脱液抑制葡枝根霉菌和黑曲霉的实验中，8^{*}、7^{*}、4^{*}的抑菌效果相对较好，这几种洗脱液中含有的物质的极性相对较弱，这样的结果与系统溶剂提取物抑菌实验的结果相吻合。

葡枝根霉可以引起果蔬软腐，而红薯在采后也可能出现软腐症状，这种现象可以从一个角度解释各洗脱液对葡枝根霉的抑制效果总体上较差的实验结果。

第五章 结论

5.1 红薯茎叶含有的次生代谢物

红薯茎叶含有黄酮、酚及鞣质、萜醌、甙、甾体、三萜类化合物、香豆素和萜类内酯、生物碱、有机酸等植物次生代谢物，以及多糖、氨基酸及肽和蛋白质等物质。

5.2 红薯茎叶的抗氧化性

5.2.1 红薯茎叶丙酮、乙醇和水相提取物具有较强的清除 DPPH 自由基的能力，清除能力大于同浓度对照 V_C 。

5.2.2 在六种红薯茎叶系统溶剂提取物中，丙酮、乙醇和水相提取物还原能力和清除羟基自由基作用相对较强，但分别小于同浓度对照硫脲和芦丁；石油醚、氯仿和乙酸乙酯相提取物具有相对较强的抑制脂质过氧化能力，但略小于同浓度对照 V_E 。

5.2.3 红薯茎叶 70%乙醇提取物大孔树脂乙醇梯度 (0~100%) 洗脱物具有较强的清除 DPPH 自由基的能力，十个梯度洗脱物的清除能力均大于同浓度对照 V_C 。

5.2.4 在十个红薯茎叶 70%乙醇提取物大孔树脂乙醇梯度 (0~100%) 洗脱物中，30% 和 40%乙醇洗脱物具有相对较强的还原能力、清除羟基自由基能力和清除超氧阴离子的能力，但分别小于同浓度对照硫脲、芦丁和 SOD；水和 10%乙醇洗脱物对脂质过氧化有相对较好的抑制作用，但略小于对照 V_E 。

5.2.5 红薯茎叶系统溶剂提取物和 70%乙醇提取物大孔树脂乙醇梯度 (0~100%) 洗脱物的还原能力与清除自由基能力正相关，还原力越强，清除自由基的能力越强。

5.2.6 红薯茎叶系统溶剂提取物和 70%乙醇提取物大孔树脂乙醇梯度 (0~100%) 洗脱物的抗脂质过氧化能力均逊于清除自由基能力。

5.3 红薯茎叶的抑菌性

5.3.1 红薯茎叶的系统溶剂提取物对大肠杆菌、金黄色葡萄球菌和志贺杆菌具有较好

的抑制作用，石油醚和氯仿相提取物对葡枝根霉和黑曲霉有较好的抑制作用，抑制效果均优于同浓度对照苯甲酸钠和丙酸钙。

5.3.2 红薯茎叶系统溶剂提取物和 70%乙醇提取物大孔树脂乙醇梯度（0~100%）洗脱物表现出极性较高的组分抑制细菌效果较好，极性较低的组分抑制霉菌效果较好的共性。

5.3.3 红薯茎叶系统溶剂提取物之间和 70%乙醇提取物大孔树脂乙醇梯度（0~100%）洗脱物之间对大肠杆菌、金黄色葡萄球菌、志贺杆菌、葡枝根霉和黑曲霉的抑制作用均存在显著性差异。

参考文献

- [1]张英. 竹叶功能成分的研究[D]. 无锡轻工业大学, 1996: 9
- [2]吴小南, 汪家梨. 柿叶茶抗氧化、降血脂保健作用的初步研究实验[J]. 食品科学, 1998, 19(11): 39~41
- [3]邢继英, 杨永嘉, 孙爱根, 等. 甘薯种质资源抗(耐)病毒病评价研究[J]. 江苏农业科学, 2002(2): 46~48
- [4]江苏新医学院. 中药大辞典(下册)[M]. 上海: 上海人民出版社, 1977: 2410
- [5]中国科学院上海药物研究所. 中草药有效成分提取与分离[M]. 上海: 上海科学技术出版社, 1983, 7: 8~22
- [6]蔡南通, 谢春生, 余华, 等. 我国南方甘薯品种资源抗蔓割病鉴定研究[J]. 福建省农科院学报, 1994, 9(1): 23~17
- [7]邬景禹, 陆国权, 盛家廉. 中国甘薯种质资源研究进展[J]. 中国甘薯, 1993(5~6): 3~6
- [8]肖利贞, 杨国红. 河南省红薯生产、加工利用现状及建议[J]. 作物杂志, 1998, 6: 29
- [9]阎文昭, 王大一. 甘薯种质资源黑斑病抗性鉴定与筛选[J]. 西南农业学报, 1996, 9: 102~105
- [10]陆瀚韵, 刘庆昌, 李惟基. 红薯育种学[M]. 北京: 北京中国农业出版社, 1992: 92~95
- [11]黄华宏, 陆国权, 郑遗凡. 不同生育期甘薯块根淀粉糊化特性的差异[J]. 中国农业科学, 2005, 38(3): 462~467
- [12]中国农业科学院作物品种资源研究所. 国家作物种质资源非原生境保存及研究利用[R]. 北京: 中国农业科学院作物品种资源研究所, 1997: 12~14
- [13]郭小丁, 邬景禹, 唐君等. 甘薯品种资源田间耐盐性鉴定研究[J]. 作物品种资源, 1994(3): 34~36
- [14]Roughan, Grattan A. simplified isolation of phosphatidylglycerol [J]. Plant Science. 1986, 43(1): 57~62
- [15]Villareal, R. L., Tsou, S. C. S., Lin S. K., Chiu, S. C. Using of sweetpotato(Ipomoea batatas) leaf tips as vegetables II. [J]. Exp. Agric., 1979, 15(2): 117~22
- [16]Ishida, Hiroshi. Nutritive evaluation on chemical components of leaves, stalks and stems of sweet potatoes (Ipomoea batatas) [J]. Food Chem., 1999, 68(3): 359~367
- [17]张坤. 多糖的提纯及生物活性的研究. 医药化工, 2006(1): 31~37
- [18]Koizumi Hideo Yada Akem. Determination of vitamins poluphenols and minerals in roots of sweet potatoes [J]. Shokuhin Sogo Kenkyusho Kenkyu Hokoku, 1991, 55: 1~8
- [19]林汝湘, 谢春生, 冯祖虾, 等. 我国南方甘薯品种资源部分营养成分分析研究[J]. 中国农业科学, 1995(4): 39~45.
- [20]O'sullivan J. N., Asher C. J., Blamey F. P. C. Diagnostic criteria for nutrition disorders of sweet potato II: critical nutrient concentrations in leaves [J]. ACLAR Proc., 1996: 39~43

- [21]Imamura, Masahiro. Shimon white sweet potato leaf compositions containing vitamin K and their manufacture.[J]. Jpn. Kokai Tokkyo Koho JP, 1999, 2: 11~14
- [22]Sumi, Hiroyuki. High concentration of vitamin K1 proved in the seaweeds and sweet potato leaves [J]. Nippon Shokuhin Kagaku Kogaku Kaishi, 2003, 50(2): 63~66
- [23]Tsukui, Akio. Amounts of dietary fiber and other general components in leaves and stalks of sweet potatoes [J]. Nippon Kasei Gakkaishi, 1993, 44(10):887~91
- [24]Ghazi Adel, Metwali S., Atta M. B. Protein isolates from Egyptian sweet potato leaves [J]. Nutrition, 1989, 33(2): 145~51
- [25]Walter William M, Jr. Purcell, Albert E., etal. Laboratory preparation of a protein-xanthophyll concentrate from sweet potato leaves [J]. J. Agric. Food Chem, 1978, 26(5): 122
- [26]Takebe, Masako, Yoneyama, Tadakatsu. Plant growth and ascorbic acid [J]. Nippon Dojo Hiriyogaku Zasshi, 1992, 63(4):447~454
- [27]Hu C, Zhang Y, Kitts D. Evaluation of antioxidant and prooxidant activities of bamboo *Phyllostachys nigra* var. *henonis* leaf extract in vitro [J]. Agric Food Chem, 2000, 48 (8): 3170~3176
- [28]刘法锦,全幼兰,彭源贵,等. 番薯藤化学成分的研究[J]. 中国中药, 1991,16(9): 551~552
- [29]向仁德,丁健辛,韩英,等. 引种的巴西红薯茎叶化学成分研究[J]. 中草药, 1994. 25(4): 179~181
- [30]邹耀洪. 国产红薯茎叶黄酮类成分研究[J]. 分析测试学报, 1996,15(1): 71~74
- [31]谭桂山. 引种巴西红薯茎叶化学成分研究[J]. 天然产物研究与开发, 1995, 7 (4): 44~46
- [32]Yan-Hwa Chu. Flavonoid content of several vegetables and Agriculture [J]. Agric Food Chem, 2000, 80: 561~566
- [33]Amimazam A.M. Antinutritional factors in sweet potato greens [J]. Journal of Food Composition and Analysis, 1995, 8(4): 363~368
- [34]Gow-Chin Yen, Hui-Yin Chen. Antioxidant Activity of Various Teas Extracts in Relation to Their Antimutagenicity. J. Agric [J]. Food Chem., 1995, 43 (1): 27~32
- [35]韩英. 红薯茎叶的挥发性化学成分的研究[J]. 天然产物开发与研究, 1992. 4(3): 39
- [36]颜德先. 西蒙冲剂及其制备方法[J]. 中国药品专利, 1995 (1): 86
- [37]赵保路. 氧自由基和天然抗氧化剂[M]. 北京: 科学出版社, 1999: 4~11
- [38]Tate R. M. Oxygen metabolites stimulate thromboxane production and vasoconstriction in isolated saline-perfused rabbit lungs [J]. J clin Invest, 1984, 74:68~72
- [39]Burton K. P. Superoxide dismutase enhances recovery following myocardial ischemia [J]. American Physiol. 1985, 248:637~641
- [40]Prasad L. Oxygen angiopathy free radicals and heart failure [J]. Food Chem., 1988, 39:417~423
- [41]Trichopoulou A. Vasilopoulou E, Hollman P. Nutritional composition and flavonoid content of edible wild greens and green peas: A potential rich source of antioxidant nutrients in the mediterranean diet [J]. Food Chemistry, 2000, (70):319~323

- [42]罗建光,孔令义.巴西甘薯叶黄酮类成分的研究[J].中国中药杂志,2005,30(4):516~518
- [43]王洋.苹果多酚抗氧化活性的研究[J].中国食品添加剂,2005,5:9~13
- [44]金杰,李志西,张锋,等.桑葚醋提取物抗氧化性的研究[J].中国酿造,2005,151(10):20~22
- [45]杨洋,韦小英,阮征.国内外天然食品抗氧化剂的研究进展[J].食品工业科技,2002,23(10):137~140
- [46]白凤梅.类黄酮生物活性及其机理的研究进展[J].食品科学,1999,8:11~13
- [47]张红雨,郑纪庆.茶多酚抗氧化作用的理论探讨[J].中国油脂,1998,23(6):45~46
- [48]Zalacain A, Carmona M, Lorenzo C. O., et al. Antiradical efficiency of different vegetable tannin extracts [J]. Journal of the American Leather Chemists' Association, 2002, 97 (4): 137~142
- [49]Bors W, Michel C. Chemistry of the antioxidant effect of polyphenols[J]. Annals of the New York Academy of Sciences, 2002, 957: 57~69
- [50]孔琪,李葵.鞣质对动植物油脂的抗氧化活性研究[J].哈尔滨商业大学学报,2004,20(2):23~24
- [51]周林珠,杨祥良,周井炎,等.多糖抗氧化作用研究进展[J].中国生化药物杂志,2002,23(4):210~212
- [52]辛晓林,刘长海.中药多糖抗氧化作用研究进展[J].北京中医药大学学报,2000,23(5):54~55
- [53]赵梅,丁霄霖.甘薯糖蛋白提取工艺研究[J].食品研究与开发,2005,26(2):77~79
- [54]Kim J. P., Lee I. K., Yun B. S., et al. Ellagic acid rhamnosides from the stem bark of Eucalyptus globules [J]. Phytochemistry. 2001, 57 (4): 587~591
- [55]Amakura Y., Uino Y., Tsuj I. S., et al. Constituents and their antioxidative effects in Eucalyptus leaf extract used as a natural food additive [J]. Food Chemistry, 2002, 77(1): 47~56
- [56]Masuda T, Yonemori S, Oyama Y, et al. Evaluation of the antioxidant activity of environmental plants: activity of the leaf extracts from seashore plants [J]. J Agric Food Chem, 1999, 47 (4): 1749~1754
- [57]刘星塔,江明华,俞正坤.黄芪中清除超氧阴离子成分的分离和检测[J].天然产物研究与开发,1991,3(4):1~6
- [58]李亚娜,阙建全,陈宗道等.红薯糖蛋白的降血脂功能[J].营养学报,2002,24(1):433~434
- [59]Imai J, Ide N, Nagae S, et al. Antioxidant and radical scavenging effects of aged garlic extract and its constituents [J]. Planta Med, 1994, 60 (5): 417~420
- [60]Riedl K M, Hageman A E. Tannin and protein complexes as radical scavengers and radical sinks [J]. J Agric Food Chem, 2001, 49 (10): 4917~4 923.
- [61]Tutour B. Antioxidant activities of algal extracts synergistic effect with vitamin E [J]. Phytochemistry, 1990, 29 (12): 3759~3765
- [62]翁瑞光.萝卜缨萃取物模式系统之抗氧化性[J].食品科学,1998,25(3):268~280
- [63]陆志科,谢碧霞.植物源天然食品防腐剂的研究进展[J].食品工业科技,2003,24(1):94~96
- [64]余纲哲.食品资源化学[M].汕头:汕头大学出版社,1996:130

- [65]岳静, 方红筠. 紫甘薯红色素体外抑菌性初探[J]. 辽宁农业科学, 2005 (2): 47
- [66]谢丽玲, 余纲哲, 李剑欢, 等. 红薯茎叶提取物对五种致病菌的抑制作用[J]. 汕头大学学报, 1996, 11 (2): 78~84
- [67]王寒. 从红薯茎叶提取有效成分的方法[J]. 中国药品专利, 1996, (4): 59
- [68]Cotelle N, Bernier J L, Catteac J P, et al. Antioxidant properties of hydroxy-flavones[J]. Free Radical Biology & Medicine, 1998, 20 (1): 35~43
- [69]Chang W. Choi, Sei C. Kim, Soon S. Hwang, et al. Antioxidant activity and free radical scavenging capacity between Korean medicinal plants and flavonoids by assay-guided comparison[J]. Plant Science, 2002, 163: 1161~1168
- [70]Yinrong Lu, L. Yeap Foo. Antioxidant and radical scavenging activities of polyphenols from apple pomace [J]. Food Chemistry, 2000, 68: 81~85
- [71]许申鸿, 杭瑚. 用 DPPH-分析法研究野生植物的抗氧化活性[J]. 青岛大学学报, 1999, 12(3): 75~78
- [72] K.Sato. Free radical mediated chin oxidation of low density lipoprotein and its synergistic inhibition by vitamin E and vitamin C [J]. Archives of Biochemistry and Biophysics, 1990, 279:402~405
- [73]钦传光, 周军. 泥鳅多糖清除活性氧和保护 NA 链的作用[J]. 生物化学与生物物理学报, 2001, 33(2): 215~218
- [74]Shiow Chyn Huang, Gow-Chin Yen, Lee-Wen Chang, et al. Identification of an Antioxidant, Ethyl Protocatechuate, In Peanut Seed Testa [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2003, 51: 2380~2383
- [75]Jeong-Chae Lee, Hak-Ryul Kim, Ju Kim, et al. Antioxidant Property of an Ethanol Extract of the Stem of *Opuntia ficus-indica* var[J]. Saboten Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2002, 50: 6490~6496
- [76]李春美, 谢笔钧. 茶多酚及其氧化产物清除不同体系产生的活性氧自由基的分光光度法研究[J]. 精细化工, 2000, 17(4): 241~244
- [77]王关林, 田兵, 方宏筠, 等. 芦荟抗氧化物质活性及对红细胞的保护作用[J]. 营养学报, 2002, 24(4): 380~384
- [78]金莹, 孙爱东. 植物多酚的结构及生物学活性的研究[J]. 中国食物与营养, 2005, 9: 27~29
- [79]徐家毅, 郭贤权. 大孔树脂孔结构的测定[J]. 高分子通报, 1999, 6(2): 52
- [80]郭文勇. 大孔树脂吸附层析法提取淡豆豉中总异黄酮的研究[J]. 第二军医大学学报, 2004, 25(9): 36~37
- [81]曹群华. 大孔树脂吸纯化沙棘籽渣总黄酮的研究[J]. 中国中药杂志, 2004, 29(3): 27
- [82]P. Siddhuraju, P.S. Mohan, K. Becker. Studies on the antioxidant activity of Indian Laburnum (*Cassia fistula* L.): a preliminary assessment of crude extracts from stem bark, leaves, flowers and fruit pulp [J]. Food Chemistry, 2002, 79:61~67

- [83]Tanaka, M., Kuei, C.W., Nagashima,Y. et al. Application of antioxidative maillard reaction products from histidine and glucose to sardine products[J]. Nippon Suisan Gakkaishi, 1988, 54:1409~1414
- [84]Joan-Hwa Yang, Jeng- Mau, Pei-Tzu Ko, et al. Antioxidant properties of fermented soybean broth[J]. Food Chemistry, 2000, 71:249~254
- [85]张侠, 马庆一, 熊卫东, 等. 甘薯叶中抗油脂氧化活性成分的研究. 食品科学, 2003, 24 (10): 49~51
- [86]张允刚, 郭小丁, 邬景禹, 等. 抗甘薯茎线虫病优异种质资源的筛选与评价[J]. 作物品种资源, 1998(2): 37~39
- [87]杨立明, 陈赐生. 浅谈红薯综合开发利用[J]. 国外农学——杂粮作物, 1995, (2): 44~45
- [88]江苏省调味副食品科技情报站. 发酵微生物学实验技术[M]. 江苏省调味副食品科技情报站, 1988: 80~95
- [89]沈萍. 微生物学[M]. 高等教育出版社, 2000: 35~40
- [90]周邦靖. 常用中药的抗菌作用及其测定方法[M]. 重庆: 科学技术文献出版社, 1998: 59~63
- [91]刘魁英. 食品研究与数据分析[M]. 北京: 中国轻工业出版社, 1999: 58~63
- [92]王亚琴, 张康健. 杜仲次生代谢物的研究进展[J]. 中草药, 2004, 35 (7): 836
- [93]郑琳, 黄荫成, 高清祥, 等. 白阿魏磨粗提物抗氧化和抗肿瘤活性的研究[J]. 菌物学报, 2005, 24 (1): 71~78

附录 A

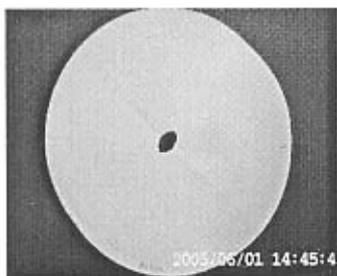
硕士研究生在读期间发表论文及参编著作

1. 红薯茎叶提取物抗氧化性的研究. 《食品科学》2005 年 9 期, 第一作者
2. 红薯茎叶的化学组成及国内外研究进展. 《食品科学》2006 年 3 期, 第二作者
3. 实用食品加工技术. 化学工业出版社, 2005 年, 参编 10 万字

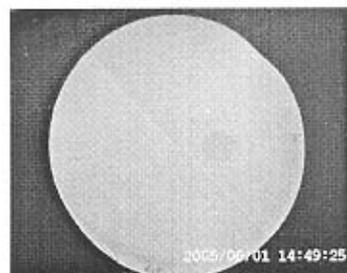
附录 B

红薯茎叶次生代谢物的检测结果

1. 黄酮体

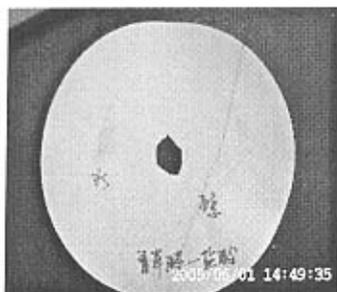


1%三氯化铝乙醇溶液法



浓氨水溶液法

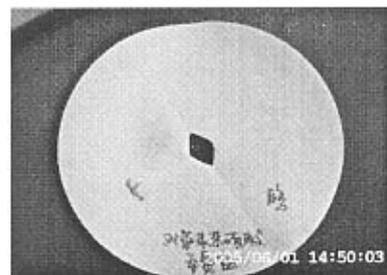
2. 酚类化合物和鞣质



香草醛-盐酸法

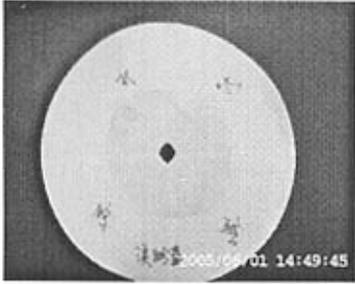


三氯化铁-铁氰化钾法



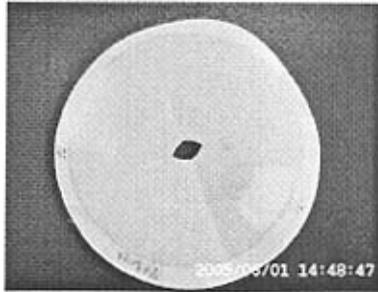
对氨基苯磺酸重氮盐 (Pauly) 法

3. 有机酸



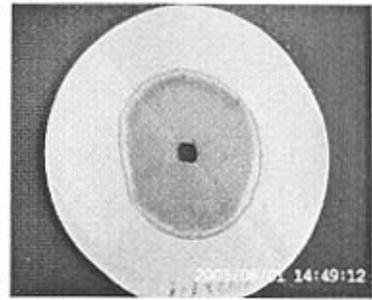
溴酚蓝溶液法

4. 氨基酸, 肽和蛋白质



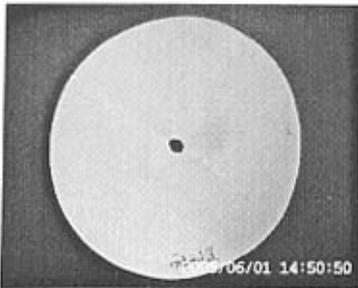
茚哚醌溶液法

5. 香豆素与萜类内酯化合物



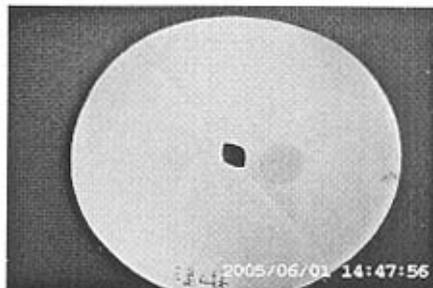
呈色反应

6. 萜醌类



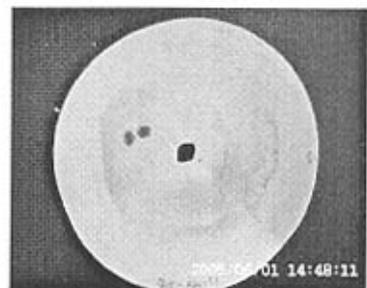
0.5%醋酸镁甲醇溶液法

7. 甾体



三氯化锑 (Carr-Price 试剂) 试剂法

8. 糖, 多糖和甙



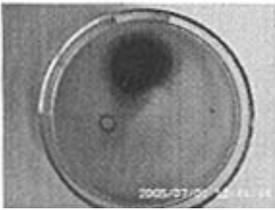
氨性硝酸银试剂法

附录 C

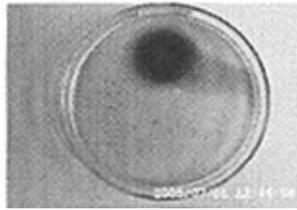
红薯茎叶提取物大孔树脂梯度洗脱物抑菌实验结果

1*~12*分别为水、10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、100%乙醇洗脱物及丙酸钙和苯甲酸钠；受试物浓度均为 40 mg/mL；对照物浓度为 10 mg/mL；顺序为由左到右，由上到下。

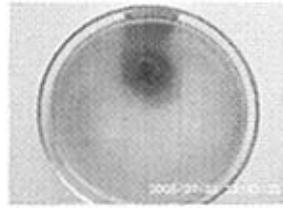
1. 抑制大肠杆菌



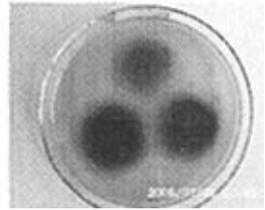
2*、11*、12*



3*、11*、12*

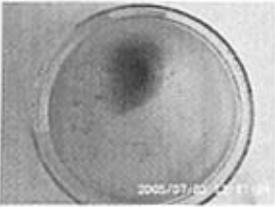


4*、11*、12*

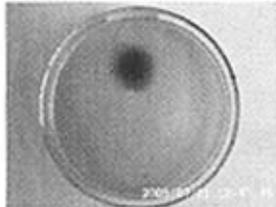


2*、3*、4*

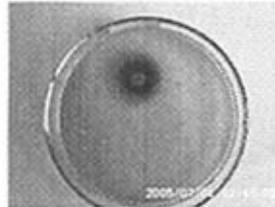
2. 抑制金黄色葡萄球菌



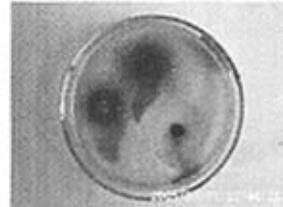
6*、11*、12*



7*、11*、12*

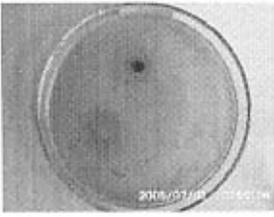


9*、11*、12*

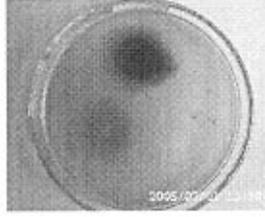


6*、7*、9*

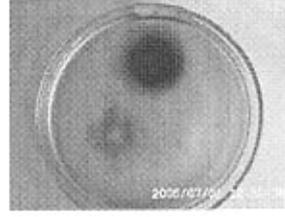
3. 抑制志贺氏菌



1*、11*、12*



2*、11*、12*

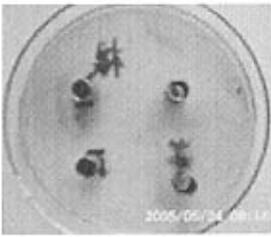


5*、11*、12*

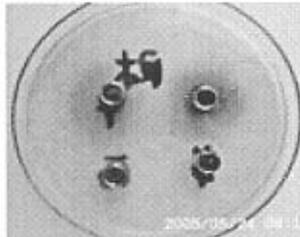


1*、2*、5*、6*

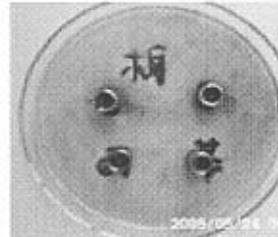
4. 抑制葡枝根霉



2*、1*、11*、12*



4*、3*、11*、12*

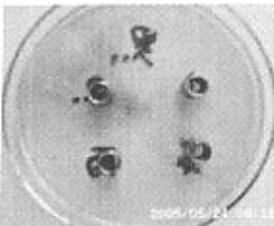


8*、7*、11*、12*

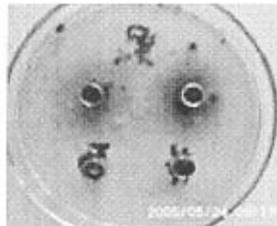


10*、9*、11*、12*

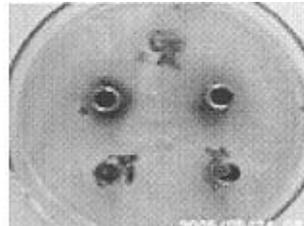
5. 抑制黑曲霉



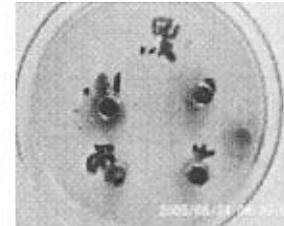
4*、3*、11*、12*



6*、5*、11*、12*



8*、7*、11*、12*



10*、9*、11*、12*

致 谢

感谢我的导师朱蓓薇教授，导师以渊博的学识、敏锐的科学洞察力、严谨细致的治学态度，在潜移默化中加深了我对科学的热爱，再次对导师表示深深的谢意！

本论文是在张彧副教授的悉心指导下完成的，字里行间无不凝聚着恩师的心血，张老师循循善诱的教导和不拘一格的思路给予了我无尽的启迪，并传授了我最值得珍视的进行科学研究的思维方式，她以自己平日里的一言一行感染和教育着我，衷心感谢张老师的教育和培养，两年半的学习生活将使我终身受益！

在整个学习和论文期间，得到朱靖博教授、季瑛高级工程师、董秀萍老师及食品学科所有老师的悉心指导和教诲，以及我的同组同学刘程惠、杨婷婷、刘守峰的支持，在此对他们表示诚挚的谢意！

还要感谢食品 01 级的耿骁璐和王晓楠同学，在完成论文过程中与我愉快的合作。

最后，衷心感谢父母对我的培养和教育，感谢曾经支持我、帮助过我的所有亲人、老师和朋友们！