

莲房原花青素提取方法、生理功能及其在食品工业中应用的研究进展

王满生^{1,2,3}, 王发祥¹, 杨晶^{2,3}, 王延周^{2,3,*}

(1.湖南省水生资源食品加工工程技术研究中心,湖南长沙 410004;

2.中国农业科学院麻类研究所,湖南长沙 410205;

3.农业部麻类生物学与加工重点实验室,湖南长沙 410205)

摘要:莲房是莲科植物莲的成熟花托,是莲的重要组成部分,在民间常被作为一种化瘀止血药使用。研究发现莲房中存在含量较多的原花青素,可作为原花青素提取的重要原料来源,有望替代葡萄籽、树莓籽等作物提取原花青素,以此能够将莲房变废为宝,降低原花青素生产成本,最终实现莲房资源的最大化利用。本文针对性地归纳了近年来有关莲房中原花青素提取工艺方法,分析了各方法的优缺点;以实例方式介绍了莲房中原花青素的主要生理功能;最后根据功能简要介绍了莲房中原花青素在食品工业中应用情况。本文研究结果将对莲房中原花青素的深入研究和莲房资源的最大化合理开发利用提供一定的理论依据。

关键词:莲房原花青素,提取,生理功能,应用

Research Progress in Extraction, Physiological Function of Lotus Seedpod Procyanidins and Their Application in Food Industry

WANG Mansheng^{1,2,3}, WANG Faxiang¹, YANG Jing^{2,3}, WANG Yanzhou^{2,3,*}

(1.Hunan Provincial Engineering Research Center for Food Processing of Aquatic Biotic Resources, Changsha 410004, China;

2.Institute of Bast Fiber Crops, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Changsha 410205, China;

3.Key Laboratory of Biological and Processing for Bast Fiber Crops, MOA, Changsha 410205, China)

Abstract: Lotus seedpod is the mature receptacle of lotus, which is an important part of lotus. It is often used as a blood stasis and hemostatic medicine in the folk. There were lots of procyanidins in the lotus seedpod, which can be used as one of the important raw material of procyanidins extraction, and are expected to replace the crops, such as grape seed, raspberry seed, and so on. And then the waste lotus seedpod will eventually be maximized used, which can reduce the costs of procyanidins production finally. In this paper, the methods of extracting procyanidins from lotus seedpod in recent years are summarized and their advantages and disadvantages are also analyzed. In addition, the main physiological functions of procyanidins in lotus seedpod are introduced by many examples. Finally, the application of procyanidins in food industry is introduced too. The results of this study provide some theoretical basis for the further study of procyanidins in the lotus seedpod and the rational development and utilization of the lotus seedpod.

Key words: lotus seedpod procyanidins; extraction; physiological function; application

中图分类号:TS201.1 文献标识码:A 文章编号:1002-0306(2021)05-0349-08

doi:10.13386/j. issn1002 - 0306. 2020050042

引文格式:王满生,王发祥,杨晶,等.莲房原花青素提取方法、生理功能及其在食品工业中应用的研究进展[J].食品工业科技,2021,42(5):349-356.

WANG Mansheng, WANG Faxiang, YANG Jing, et al. Research Progress in Extraction, Physiological Function of Lotus Seedpod Procyanidins and Their Application in Food Industry[J]. Science and Technology of Food Industry, 2021, 42(5):349-356. (in Chinese with English abstract) <http://www.spgykj.com>

原花青素(Procyandin, PC)也被称为缩合单宁,是一种存在于植物中的多酚类化合物^[1-2],是由不同

收稿日期:2020-05-06

作者简介:王满生(1987-),男,博士,助理研究员,研究方向:农产品加工及植物资源饲料化利用,E-mail:wms198704@163.com。

*通信作者:王延周(1978-),男,硕士,副研究员,研究方向:饲草资源利用与加工,E-mail:wyzhcf@163.com。

基金项目:湖南省水生资源食品加工工程技术研究中心开放课题(2018KJZ01);国家重点研发计划课题(2018CT5010);湖南省自然科学基金(2020JJ5640);中国农业科学院科技创新工程(ASTIP-IBFC02);中央级公益性科研院所基本科研业务费专项(1610242020004)。

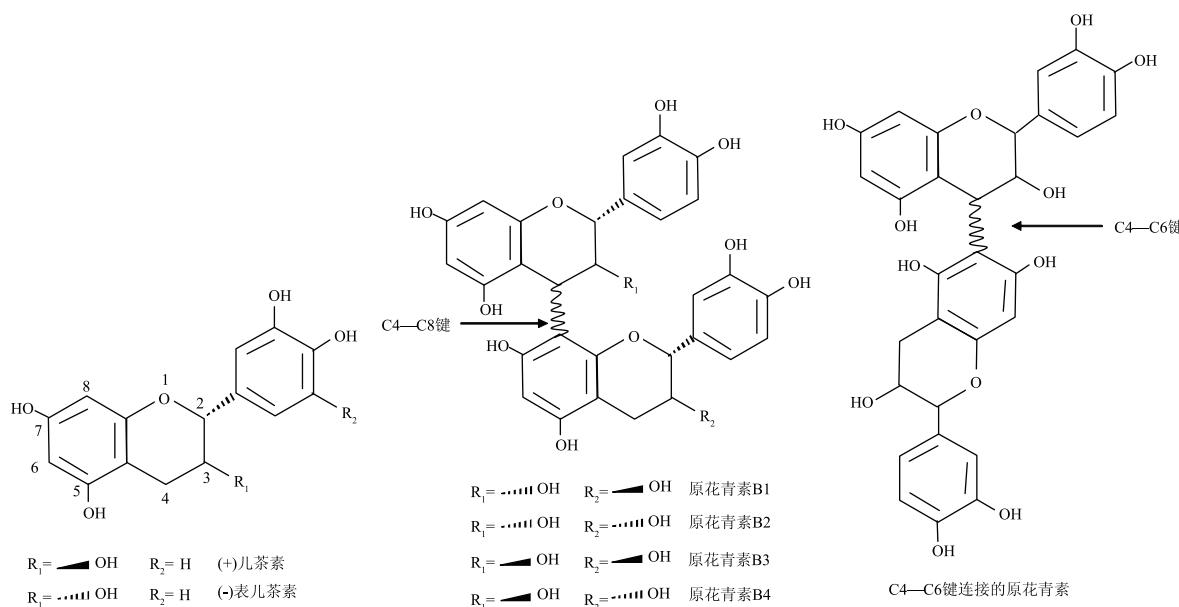


图1 原花青素的化学结构

Fig.1 Chemical construction of procyanidin

数量的儿茶素(catechin)或表儿茶素(epicatechin)通过C₄-C₆或C₄-C₈键连接而成的二聚体^[3],其结构如图1所示^[4]。其中C₄-C₈连接而成的二聚体分别为B1、B2、B3、B4,C₄-C₆连接而成的二聚体分别为B5、B6、B7、B8,在8种异构体中B2是活性最强的一个二聚体^[5]。原花青素按聚合度划分,一般可分为低聚体(平均聚合度≤4)和高聚体(平均聚合度>4),且低聚体的抗氧化活性远远高于高聚体^[6]。

莲房为睡莲科植物莲的成熟花托,在我国主要产自江西、湖南、福建、江苏、浙江等省,呈倒圆锥状或漏斗状,直径5.0~8.0 cm,高4.5~6.0 cm,鲜品为石绿色,干品表面灰棕色至紫棕色,质地疏松,破碎面呈海绵样^[7]。莲房原花青素(Lotus Seedpod Procyanidin,LSPC)是莲房的主要活性成分之一,是一种具有特殊分子结构的类黄酮,具有改善睡眠、提高认知记忆、抑制肿瘤、保护心血管系统、抗辐射、抗氧化损伤等多种生理功能^[8~10],还具有抗脂质氧化、抑制丙烯酰胺生成、抑制亚硝酸盐、抑制糖基化终末产物等功效^[11]。莲房中富含原花青素(干重中含量高达7.8%),而在民间除作药用,多将莲房丢弃,造成了资源的大量浪费。目前原花青素主要应用在包括食品、药品和化妆品等领域或行业,且主要来源于葡萄籽和蓝莓等,由于原料成本比较高,加之提取效率低下,使得原花青素价格普遍偏高。因此,最大限度开发利用莲房及其原花青素将有利于拓宽原花青素来源,降低原花青素生产成本,进而实现原花青素的规模化应用。本文归纳总结了目前莲房原花青素的主要提取方法,综述了莲房原花青素的主要生理功能及其在食品工业中的主要应用,这将有利于原花青素新资源的积极开发,最终助力于莲房资源最大化利用,变废为宝。

1 莲房原花青素的提取工艺

目前,LSPC的提取方法主要有传统有机溶剂法、酶提取法、超声波辅助提取法、脉冲超声辅助提

取法、微波辅助提取法等,现介绍如下:

1.1 传统有机溶剂法

回流、渗漉和恒温水浴等几种方法都是较为常用的传统有机溶剂提取法。几种常用的试剂的极性强弱次序为甲醇>乙醇>丙酮。其中乙醇因其价格实惠,来源充足,在提取原花青素中最为常见。适当浓度(50%~75%)的甲醇和丙酮的水溶液对原花青素都有较强溶解性,常用于原花青素测定时的提取剂。例如,崔倩等^[12]利用正交试验优化了莲房中原花青素的最佳提取工艺,即提取温度50℃,提取溶剂60%乙醇,料液比1:30,提取时间30 min,在此条件下测定了莲房粉中原花青素的干基含量为7.58%。陈卫航等^[13]借助响应面分析法优化了莲房中原花青素的提取工艺参数,即乙醇体积分数50%、液料比25 mL/g、提取温度55℃、提取时间60 min,在此条件下提取1次,原花青素的实际提取量可达6.67 mg/100 g。宋连军等^[14]又利用正交试验优化了LSPC提取的最佳工艺条件,即8倍量50%乙醇回流提取2次,每次3 h,在此工艺条件下,原花青素提取率91.3%。此外,肖俊松等^[4]采用甲醇-水作为提取溶剂,利用回流装置优化了LSPC的提取工艺条件,即甲醇体积分数60%、提取温度60℃、提取时间1 h、料液比1:20(m/V)、提取pH2.0,在此条件下原花青素提取率达到7.65%。

有机溶剂一般不被单独使用,原因在于单纯的有机溶剂渗透性差,而水恰好充当着传质剂,因此使用水与有机溶剂混合使用能改良渗透性差的缺点。而且使用有机提取剂存在一些缺点,主要是提取过程耗时长,容易破坏热不稳定组分,提取物中杂质较多,后期较难纯化,且消耗有机试剂多,容易污染环境,不利于环保。因此越来越多的科学家都在致力于研究新型提取方法。

1.2 酶提取法

酶反应过程能够在较温和条件下分解植物组

织,同时也有很好的回收率,被认为是一种从植物中获得有效成分,特别是热敏性功效成分的良好方法。在众多酶中,纤维素酶是目前最为常用的,因为植物细胞壁多为纤维素,细胞壁内存在着细胞的活性成分,纤维素酶能够使植物细胞壁受到破坏,从而使细胞内容物释放出来,进而提高提取率。

禹华娟等^[15]运用纤维素酶和果胶酶对莲房组织进行酶解预处理,探讨了酶法辅助对原花青素提取率的影响,通过正交试验优化了酶解时间、加酶量和酶解温度等提取工艺参数,即纤维素酶添加量为0.7%,果胶酶添加量0.1%,酶解温度55℃,酶解时间2.5 h,且优化后的提取工艺与直接醇提法相比,能将原花青素的提取率提高约48%,达到4.334 mg/mL。类似地,汪志慧等^[16]利用Box-Behnken中心组合试验设计及响应面分析,研究了双酶法(果胶酶和纤维素酶)提取LSPC的最佳工艺参数,即酶解温度53℃、酶解时间1.6 h、pH4.8、果胶酶:纤维素酶=1:1.1,在此工艺参数下原花青素的提取率为5.20%,且优化后的工艺相对于单一乙醇法的提取率(3.84%)有明显的提高。使用酶法提取原花青素是一种环境友好型的提取方式,条件温和,耗能低,不会破坏环境,是值得后续继续深入研究的方法。

1.3 超声波辅助提取法

超声波辅助提取是一项新型的天然产物辅助溶剂提取中较为常见的技术,它利用超声波的空化作用、热效应、机械作用加速细胞壁的破碎,使胞外溶剂更容易进入细胞内,从而促使胞内物质向溶液内渗出,提取效率比较高,在提取原花青素之类的热敏性物质方面展现出了良好的效果。李佳桥等^[17]以乙醇为提取剂,利用超声波辅助提取法提取了莲房中原花青素,优化了提取工艺参数,发现各因素对原花青素得率的影响大小顺序为:乙醇体积分数>液料比>超声波功率>超声时间,且优化后的最佳工艺条件为:乙醇体积分数45%、液料比21:1(v/w)、超声波功率700 W、超声时间15 min,在此条件下,原花青素得率达到最大值(6.81%)。超声波辅助提取可以大大缩短提取时间,从而提高生产效率,同时操作也较简单。

1.4 脉冲超声辅助提取法

与传统的连续超声场相比,脉冲超声场对细胞壁的破坏作用更强。段玉清等^[18]利用脉冲超声技术辅助提取了莲房中的多酚类化合物,研究了温度、超声时间、超声功率、料液比对原花青素得率的影响,发现莲房多酚最佳提取工艺条件为:温度55℃,超声功率1000 W,超声时间35 min,料液比1:35。在此条件下,LSPC的得率为6.60%,比70%丙酮回流提取法高2.9倍,同时建立了原花青素得率与温度、超声功率、超声时间、料液比关系的数学模型。脉冲超声辅助提取同样可以大大缩短提取时间而提高生产效率,提取效果较好。

1.5 微波辅助提取法

微波辅助提取法是由细胞内的极性物质(多为水分子)在微波辐射下散发大量的热,造成水气化的

压力冲破细胞膜和细胞壁,造成许多小孔,后续的加热过程又会使胞内和胞壁的水分散失,造成细胞收缩,胞壁裂开。因为小孔的形成和胞壁的裂开,外部溶剂更容易渗进细胞,最终使得原花青素被释放出来。微波辅助提取时使用的频率一般都比较高,可以深入到物体内部,对细胞的形态造成破坏,且微波能在短时间内快速高效提升物体温度。因此微波提取时间被大大缩短,显著地提高提取效率。

段玉清等^[19]利用正交试验优化了微波辅助丙酮提取莲房中多酚类化合物的工艺条件,即提取时间90 s,微波输出功率700 W,丙酮体积分数为60%,料液比1:25(w/v),在此条件下,LSPC的提取率为5.58%,是体积分数60%丙酮回流提取法的2.6倍,且根据红外光谱图和液相色谱图的对比分析,发现与60%丙酮回流提取法相比,微波处理对莲房多酚类物质的结构和组成无影响,说明微波辅助法比较适合用于LSPC的提取。

微波辅助提取法优缺点明显,提取时间因设备差异而不同,少则几分钟多则几十分钟,操作较优越,提取剂仍需用到有机试剂,故也会有一定的溶剂残留风险。

2 莲房原花青素的主要生理功能

2.1 改善睡眠

随着生活节奏的加快和精神压力的增加,失眠、睡眠不足已成为我国主要的公共卫生问题之一。药物治疗虽即时效果不错,但存在不同程度的副作用和依赖性。许多研究表明,一氧化氮/非对称性-二甲基精氨酸/二甲基精氨酸-二甲胺水解酶(NO/ADMA/DDAH)途径可能与失眠有关。Xiao等^[20]利用健康大鼠和失眠症大鼠模型,探究了莲房原花青素B2对失眠的抑制效果,发现原花青素B2能通过抑制氧化应激而调节NO/ADMA/DDAH途径,进而改善睡眠障碍。

2.2 提高认知记忆

认知障碍(AI)指与学习记忆以及思维判断有关的大脑高级智能加工过程出现异常,从而引起严重学习、记忆障碍,同时伴有失语或失用或失认或失行等改变的病理过程。认知的基础是大脑皮层的正常功能,任何引起大脑皮层功能和结构异常的因素均可导致认知障碍。LSPC作为一种可以通过血脑屏障的药物,能够抑制脑组织脂质过氧化反应、蛋白质的氧化反应和年龄相关的DNA氧化损伤,可能对老年认知功能障碍具有一定改善作用^[21]。Xu等^[22]研究发现,LSPC能够改善东莨菪碱所致的小鼠学习障碍,并通过抑制脑组织乙酰胆碱酯酶(AChE)活性而提高脑组织内乙酰胆碱(ACh)水平。此外,LSPC还能够降低老年认知障碍大鼠海马诱导型一氧化氮合酶的表达和活性,通过调节海马神经元型一氧化氮合酶磷酸化抑制年龄相关性的NO过表达,增加海马NO-sGC-cGMP信号转导,从而改善AI大鼠的认知功能^[23]。同时LSPC也可通过细胞外信号调控激酶介导的通路活化海马CREB来改善AI大鼠的空间学习记忆能力^[24]。

另有研究表明,LSPC 还可能通过调节大脑海马组织血红素氧合酶(HO)表达水平来发挥神经保护作用,进而提高认知记忆能力。例如,Raju 等^[25]研究发现位于血红素氧合酶 HO-2 基因启动区域的功能性皮质类固醇反应元件(GRE)能够调控脑组织 HO-2 表达水平,GRE 与 GRs 的结合可激活 HO-2 基因的转录,并认为 HO 系统可以作为痴呆的干预靶点。而且聂淑科等^[26]通过选用自然衰老的认知功能障碍的 SD 大鼠模型,研究了 LSPC 对老年脑老化大鼠学习记忆能力的影响,也发现 LSPC 可明显改善老年脑老化大鼠的记忆功能。

2.3 抑制肿瘤

近年来,肿瘤的发病率逐年增高,其死亡率在众多疾病中居首位,特别是恶性肿瘤,目前的治疗手段多为手术切除并放、化疗,这种治疗方式副作用大,患者生存质量差,而且大部分患者治疗效果都较差,患者往往在发病后 3~5 年内死亡,所以人们迫切需要找到一种新的肿瘤治疗手段。而近几年来相关的研究发现,原花青素可通过凋亡途径抑制多种肿瘤细胞生长或诱导其死亡,且可拮抗化疗药物对正常细胞的毒性作用^[27],具有较好的抗癌效果。有实验证实原花青素对皮肤癌、结肠癌、乳腺癌细胞、肺癌、胰腺癌都有预防作用,同时对人口腔鳞癌细胞及涎腺癌细胞也有不同程度的毒性。针对莲房中特有的有效成分原花青素,国内外学者们就 LSPC 在 Hela 肿瘤、肝癌、黑色素瘤等肿瘤细胞抑制方面开展了大量工作,也取得了较好的效果,介绍如下:

2.3.1 Hela 肿瘤 Hela 细胞是一种宫颈癌细胞,宫颈癌是全球妇女中最常见的恶性肿瘤之一,仅次于乳腺癌而居于第二位,在发展中国家尤为常见,且近年来年轻妇女宫颈癌发病率有升高趋势。王小红等^[28]采用噻唑蓝比色法、吉姆萨染色法和吖啶橙荧光染色法对比研究了 LSPC、葡萄籽多酚和茶多酚对 Hela 肿瘤细胞株的体外抑制作用,结果发现,在一定的浓度范围内,这三种植物多酚对 Hela 细胞均有明显的抑制作用,存在良好的剂量-效应关系,且 LSPC 对 Hela 肿瘤细胞株的半数抑制浓度 IC₅₀ 为 190.8 μg/mL,其抑制效果介于葡萄籽多酚和茶多酚之间;而且 Hela 细胞经 LSPC 等作用后,细胞形态发生明显的变化,可见凋亡小体,荧光强度增强,细胞呈现凋亡现象。这说明莲房原花青素对 Hela 细胞具有较强的抑制作用,是可供进一步开发和利用的植物源药物。

2.3.2 肝癌 许多资料报道 LSPC 具有较强的抗肿瘤作用,为进一步探讨 LSPC 抑制细胞增殖的机制,有必要开展 LSPC 诱导人肝癌细胞株 SMMC-7721 细胞凋亡的相关研究。例如,梁慧敏等^[29]用 MTT 法观察了 LSPC 对人肝癌细胞株 SMMC-7721 细胞增殖的抑制作用,发现 LSPC 在 0.25~250 μg/mL 的剂量范围内对 SMMC-7721 细胞凋亡有极显著的抑制作用($P < 0.01$),且抑制率呈浓度和时间依赖性并随浓度增加而增高,这说明 LSPC 可能通过诱导细胞凋亡而抑制了人肝癌细胞增殖。另外,杜宏等^[30]以四甲基噻唑蓝分析了不同浓度 LSPC 对人肝癌细胞 HepG2

存活率的影响,采用流式细胞术分析了细胞周期和细胞凋亡情况,利用 RT-PCR 分析了 LSPC 引起的生长抑制和 DNA 损伤基因 GADD45β、GADD153、GADD34 表达水平的变化,发现 LSPC 可诱导 HepG2 细胞凋亡,抑制其生长,进而促使其凋亡($P < 0.05$),且呈浓度依赖性;生长抑制损伤基因 GADD45β、GADD153、GADD34 表达水平随着 LSPC 浓度增加而增加,这也说明 LSPC 可抑制人肝癌细胞 HepG2 增殖。段玉清等^[31]又利用 MTT 法检测了 LSPC 对肝癌 HepG2 细胞的生长抑制作用,采用 Hoechst 33258 染色、Annexin V-FITC/PI 双染流式细胞术、彗星实验、JC-1 染色、Western blotting 法等一系列方法研究了 LSPC 诱导肝癌 HepG2 细胞凋亡的作用机制,发现 LSPC 对人肝癌 HepG2 细胞增殖有显著抑制作用,并且主要是通过激活线粒体介导的内源性 Caspase 途径来诱导细胞凋亡,具体表现为染色质固缩、凋亡小体形成等。这些研究结果为 LSPC 等传统中药在肿瘤治疗的临床应用中提供了一定的理论依据。

2.3.3 黑色素瘤 黑色素瘤是由于皮肤或黏膜内的黑色素发生恶变而引起的恶性肿瘤。临幊上常見于皮肤,亦見于黏膜、眼脉络膜等部位。由于黑色素瘤的恶性度较高,临幊上容易出现远隔转移,黏膜黑色素瘤不易发现,预后也较差。因此,越来越多的学者关注从天然植物中寻找预防和治疗黑色素瘤的新途径。段玉清等^[32]给黑色素瘤 B16 模型小鼠灌胃莲 LSPC,计算抑瘤率并进行了形态学观察,并通过组织免疫化学观察了瘤细胞内 HMB45 和 S-100 蛋白表达,采用流式细胞术检测了细胞凋亡情况,发现一定剂量的 LSPC 能抑制黑色素瘤 B16 细胞的生长增殖,且以 120 mg/kg·bw LSPC 组最显著($P < 0.01$),抑瘤率可达 55.3%,并有亚二倍凋亡峰。此外,周密等^[33]采用 MTT 法测定了 LSPC 对黑色素瘤 B16 细胞的体外抑制作用,又以荷黑色素瘤的 C57BL/6J 小鼠为体内研究对象,通过瘤体积和瘤重测定,探讨了体内抑瘤作用,也发现 LSPC 体外对黑色素瘤 B16 细胞有较强的抑制作用,抑制率为 87.4%;体内能显著减小瘤体积和减轻瘤重,抑瘤率为 55.3%。另外,Duan 等^[34]研究了 LSPC 抗癌活性的体外试验,发现 LSPC 可以明显减弱小鼠黑色素瘤 B16 的细胞毒性。

由此可知,LSPC 能通过降低肿瘤细胞毒性而对肿瘤细胞的生长有积极抑制效果,也能通过诱导凋亡而抑制肿瘤细胞的增殖,在一定程度上将有助于癌症的积极治疗。

2.4 保护心血管系统

高脂血症在动脉粥样硬化(AS)以及由其所致的心脑血管疾病的发生和发展中起重要作用。临床和实验研究表明高脂血症和 AS 患者的过氧化脂质水平增高,且脂质过氧化与冠心病的发生、发展关系十分密切^[35]。许多研究表明,LSPC 保护心血管系统的作用机制可能与其抗氧化作用和改善血管内皮功能有关。例如,唐瑛等^[36]考察了 LSPC 对高脂血症模型大鼠瘦素和肿瘤坏死因子(TNF-α)的影响,发现与对照组相比,高脂血症模型组中血清总胆固醇(TC)、

甘油三酯(TG)、低密度脂蛋白(LDL-C)水平显著升高;血清中瘦素和TNF- α 含量明显增高,心肌中TNF- α 含量也明显增加,而心肌瘦素含量明显降低。LSPC高剂量组和LSPC低剂量组血清中瘦素和TNF- α 含量明显降低,心肌中TNF- α 含量也明显降低,而心肌瘦素含量明显升高,但对血脂水平无显著性影响,这说明瘦素和TNF- α 在高脂血症的病理和生理过程中起着重要作用。接着唐瑛等^[37]又研究了LSPC对食饵性高脂血症模型大鼠脂质过氧化和内皮素1(ET-1)的调节作用,检测分析了大鼠血脂及血浆SOD、MDA、一氧化氮(NO)、ET-1的变化,结果与对照组相比,高脂血症模型组血清总胆固醇(TC)、甘油三酯(TG)、低密度脂蛋白(LDL-C)水平显著升高;血浆中MDA和ET-1含量明显增高,而SOD活性和NO含量明显降低。LSPC高剂量组和LSPC低剂量组血浆SOD活性和NO含量显著升高,MDA和ET-1含量明显降低,但对血脂水平无显著性影响。这些研究结果均说明LSPC通过增加心肌对瘦素调节的敏感性,降低了血清和心肌组织中TNF- α 含量,控制着炎症反应,进而发挥对心血管系统的保护作用,也能通过调节MDA和ET-1含量来保护心血管组织。

2.5 抗辐射

随着自动化、电气化的家用电器的大量使用,各种不同频率、强度的电磁场对人类及生物的负面效应不断显现,包括以非热效应为主的非电离辐射极低频电磁场(ELF-EMF)等。研究表明,在特定环境下ELF-EMF可以对机体的免疫功能产生一定的不利影响^[38-40]。由于传统的辐射防护剂有一定的毒副作用,故人们越来越重视中草药和天然食品的抗辐射作用,寻找高效、低毒抗辐射剂已引起人们的极大兴趣。据资料报道,LSPC因其分子聚合度低,生物利用率高,在抗辐射方面表现出显著的生理活性^[41]。张海晖等^[42]探究了LSPC对ELF-EMF致小鼠免疫功能损伤的影响,并通过半体外法研究了LSPC对脾脏淋巴细胞增殖、NK细胞活性以及血浆和肝脏中细胞因子IL-4和INF- γ 的影响,结果发现ELF-EMF辐照后小鼠免疫脏器指数降低,脾脏T、B淋巴细胞增殖和NK细胞活性受到抑制,血清和肝脏中IL-4和INF- γ 浓度降低;而LSPC可以刺激促进小鼠脾淋巴细胞的增殖,显著增强NK细胞活性,并且可以有效地刺激IL-4和INF- γ 的分泌,进而调节机体的细胞免疫和体液免疫功能及非特异性免疫功能,对ELF-EMF致免疫损伤具有良好的预防作用。

为探讨LSPC对细胞氧化损伤修复的影响,张瑞等^[43]以原代培养的SD大鼠星形胶质细胞建立了ELF-EMF损伤模型,检测了经LSPC预处理前后的细胞生存率、星形胶质细胞内活性氧(ROS)、SOD、MDA和Ca²⁺含量,发现经5、10、20 μg/mL LSPC预处理后,细胞生存率分别为65.09%、75.34%和90.78%,与辐射模型组相比显著上升($P < 0.05$);同时能有效阻止SOD活力下降并显著抑制MDA、ROS和Ca²⁺含量的上升($P < 0.05$),说明LSPC对ELF-

EMF导致的星形胶质细胞氧化损伤有明显的预防作用。此外,也有学者报道了LSPC对ELF-EMF致雄性小鼠生殖系统损伤和致大鼠海马神经元损伤的预防作用^[44-45]。

2.6 抗氧化损伤

某些有害物质(如As、H₂O₂、乙醇)可以诱导机体发生氧化应激,进而产生大量活性氧(reactive oxygen species, ROS),引起脂质过氧化;同时会导致GSH、SOD、CAT、GSH-Px等大量消耗。而原花青素进入机体后会被氧化释放大量H⁺,它可与多种活性氧自由基竞争性结合,阻断自由基链式反应,减少机体内各种抗氧化物质的消耗,提高抗氧化酶活性。杜宏等^[46]研究了LSPC对乙醇诱导的人胚肝细胞株L-02氧化损伤的保护作用。采用200 mmol·L⁻¹乙醇,5、10、25 mg·L⁻¹的LSPC,5、10、25 mg·L⁻¹的LSPC与200 mmol·L⁻¹乙醇共同作用于肝细胞L-02 24 h后,运用单细胞凝胶电泳(SCGE)实验和微核实验(MNT)观察了DNA和染色体损伤情况,并用流式细胞术(FCM)分析了凋亡率的变化以及用活性氧探针(2,7-二氯荧光素)探测了细胞内ROS水平的变化,发现LSPC组与正常对照组比较,差异无显著性意义($P > 0.05$)。纯乙醇组与正常对照组比较,差异有显著性意义,与乙醇组相比,5和10 mg·L⁻¹LSPC能显著降低olive尾矩(OTM)、微核率(MNF)、凋亡率和ROS的水平,但高剂量组(25 mg·L⁻¹)对乙醇引起的肝细胞损伤保护作用不明显。这说明适量浓度的LSPC对乙醇诱导的肝细胞L-02的氧化损伤有一定保护作用,且其作用机制可能与LSPC的抗氧化活性有关。

3 莲房原花青素在食品工业中应用

目前国内外市场上的原花青素功能食品主要是从葡萄籽或松树皮中提取的原花青素低聚物胶囊和片剂,经试验应用证明能有效清除体内自由基,从而预防并治疗与自由基有关的心脏病、动脉硬化、静脉炎等。原花青素还可作为一种天然防腐剂,被用来延长食品的货架期,不仅符合人们回归自然的要求,而且消除了合成防腐剂可能带来的食品安全风险。此外,莲房原花青素因其特殊生理活性,在食品领域有着令人可期的应用前景。

3.1 抗脂质氧化

油脂氧化是影响食品品质的主要原因之一,油脂在储藏过程中易发生氧化且氧化过程中形成的脂质自由基和许多疾病的发病机制有关。抗氧化剂是一类能延缓或减慢油脂氧化的物质^[47]。目前油脂中主要的合成抗氧化剂有2,6-二叔丁基-4-甲基苯酚(BHT)、丁基羟基茴香醚(BHA)以及叔丁基对苯二酚(TBHQ),但由于其可能的毒性及其在代谢过程中可能产生对身体不利的影响,它们的用量均被限制在200 mg/kg之内。因此,寻找并探究新型无毒副作用的天然抗氧化剂就成了学者们的研究热点。禹华娟等^[48]通过添加不同浓度的原花青素,研究了原花青素在油酸和各类动植物油脂中的抗氧化作用,发现原花青素对油酸和动植物油脂均显示不同程度的

抗氧化效果,对试验所用的油脂抗氧化效果依次为:茶籽油>猪油>棉籽油>豆油,其中茶籽油的氧化诱导期延长了2.2倍,在抑制脂肪氧合酶活性方面,原花青素与茶多酚有着相同的效果。李肖朋等^[49]以LSOPC为添加物,考察了其在菜籽油中的抗氧化作用以及菜籽油在氧化过程中的主要变化,发现0.02%的LSOPC在油脂中的抗氧化性相当于0.02%的BHT。

此外,LSPC还能通过抑制肉中脂肪氧化而改善肉类品质。李欣等^[50]研究了LSPC对冷鲜牛肉脂肪氧化及色泽的影响,通过分析冷鲜牛肉的亮度值(L^* 值)和红度值(a^* 值)、肌红蛋白含量、酸价、硫代巴比妥酸值(TBARS值)等理化指标,发现LSPC能显著提高冷鲜牛肉的 L^* 值和 a^* 值,抑制氧合肌红蛋白(OMb)含量降低和高铁肌红蛋白(MMb)含量增加;LSPC处理组的TBARS值和酸价明显低于空白对照组,且LSPC浓度为0.05%时效果最佳,护色与抗脂肪氧化作用与LSPC浓度不呈线性相关。

3.2 抑制丙烯酰胺生成

2002年,瑞典国家食品管理局和斯德哥尔摩大学研究发现,含有丰富碳水化合物的食品在高温下加工可能会产生丙烯酰胺^[51]。丙烯酰胺具有强烈的致癌性,同时也具有神经毒性、生殖毒性、遗传毒性等^[52]。丁城等^[53]利用葡萄糖-天门冬酰胺(Glu-Asn)模拟体系,研究发现LSPC的浓度-抑制率关系均呈非线性关系,且当LSPC的添加量0.1 mg·mL⁻¹时,丙烯酰胺的抑制率达到最大,为76.60%±3.20%。陈媛媛等^[54]利用真实食品体系(薯条和油条),研究了浸渍时间和浸渍浓度对丙烯酰胺抑制作用的影响,发现在浸渍时间分别为90 s和60 s,添加剂量为0.5% (w/w) 和0.1% (w/w) 时,抑制率分别达到57.59%和67.38%,且此时感官上与对照组无明显差别。此外,也有学者的研究表明,LSPC虽对丙烯酰胺的形成过程具有显著性影响,但在反应后期对丙烯酰胺并无抑制作用^[52]。

3.3 抑制亚硝酸盐形成

泡菜在腌制和发酵过程中,蔬菜本身所含的硝酸盐被一些有害细菌还原为亚硝酸盐,所以会对人体健康带来潜在的危害性^[55]。已有研究表明,V_c、茶多酚等水溶性抗氧化剂对泡菜发酵过程中产生的亚硝酸盐有抑制作用^[56-57]。而LSPC与V_c及茶多酚同为水溶性抗氧化剂,都具有多羟基结构,其清除自由基的能力是V_c的20倍^[58]。因此,在泡菜制作过程中若适当添加一定量的LSPC,可能也会对降低泡菜制品中的亚硝酸盐。例如,肖珍等^[59]在模拟紫甘蓝泡菜发酵条件下测定了LSPC溶液以及V_c溶液对亚硝酸钠的清除率和对亚硝胺合成的阻断率,发现:LSPC对亚硝酸钠的清除率可达81.15%,为V_c的12倍;对亚硝胺合成的阻断率可达80.29%,为V_c的6倍以上。

3.4 抑制糖基化终末产物

晚期糖基化终末产物(AGEs)是在非酶促条件下,由还原糖羰基与氨基酸或蛋白质、脂质或核酸等

大分子物质的游离氨基经过缩合、重排、裂解、氧化修饰后产生的一组稳定的终末产物,即通过美拉德反应形成的化学危害物^[60-61]。大量研究表明,体内AGEs的积累与糖尿病、肾脏疾病、动脉粥样硬化、衰老、心血管疾病和阿尔茨海默病等疾病的发病机理有着密切的关系^[62]。因此通过降低食品中生成的AGEs含量将会是预防AGEs相关疾病的有效途径^[63]。吴茜等^[64]通过建立含有不同饱和度脂肪酸的乳糖-赖氨酸模拟加热体系,探讨了LSOPC对AGEs生成的抑制作用,发现在各模拟体系中,LSOPC对AGEs的抑制率均随LSOPC质量浓度增加而增加,且低温加热模式下的抑制率和抑制速率比高温加热模式下大;且低温(100 °C)时,添加LSOPC后各种模拟体系生成的气味物质之间无明显差异,高温(180 °C)时,则有显著差异,这说明LSOPC对含有不同饱和度脂肪酸的乳糖-赖氨酸模拟体系中AGEs的生成有一定的抑制作用,具有剂量依赖关系,且与加热温度和时间以及脂肪酸种类相关。同时Wu等^[65]又探究了乳糖-赖氨酸模拟加热体系中LSOPC浓度、溶液pH和金属离子等对AGEs形成的影响,结果表明,LSOPC在较高浓度,较低温度下可有效抑制AGEs的形成,且由于LSOPC的高抑制活性,还能逆转金属离子对AGEs形成的促进作用。

4 结语

莲房中富含原花青素,由于其自身具有强大的自由基清除能力、广泛的生理活性以及较好的使用安全性,在医药、食品、日用化学品等诸多领域的应用日渐广阔。就目前而言,一方面,尽管我国从事原花青素研发与生产的单位众多,但普遍存在规模较小,且很少利用莲房作为提取原料来源,原花青素产品总量远远不能满足市场的需求。另一方面,原花青素产品还存在不少问题,例如提纯还不够、提取率也相对较低,且产品在水或醇溶液中溶解性较差、抗氧化功效发挥的不够理想等。

近年来,鉴于莲房被认为可作为原花青素重要来源之一,且对于莲房原花青素的药理研究也有了较大程度的进展,因此接下来应加强对莲房中原花青素高效提取、功效验证方面的研究,以提高原花青素产品的质量,促进其在食品、医药等行业的进一步发展,同时最大化将莲房这一资源变废为宝。

参考文献

- [1] 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.
- [2] Prior R L, Gu L W. Occurrence and biological significance of proanthocyanidins in the American diet [J]. Phytochemistry, 2005, 66(18):2264-2280.
- [3] 杨志娟,曾真,吴晓萍.火龙果皮原花青素提取纯化及定性分析[J].食品科学,2015,36(2):75-79.
- [4] 肖俊松,谢笔钧,曹雁平,等.莲房原花色素的纯化分级和结构鉴定[J].食品科学,2012,33(19):172-177.

- [5] 关亚飞, 陈媛媛, 冯年捷, 等. 原花青素金属配合物合成、表征以及抗氧化性的探究 [J]. 中国调味品, 2018, 43(8): 158-162, 166.
- [6] Ou K Q, Gu L W. Absorption and metabolism of proanthocyanidins [J]. Journal of Functional Foods, 2014, 7: 43-53.
- [7] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典:一部 [M]. 2010 版. 北京: 中国医药科技出版社, 2010; 401-1247.
- [8] Cotelle N. Antioxidant properties of hydroxy-flavones [J]. Free Radical Biology and Medicine, 1996, 20(1): 35-43.
- [9] Bagchi D, Bagchi M, Stohs S J, et al. Free radicals and grape seed proanthocyanidin extract: Importance in human health and disease prevention [J]. Toxicology, 2000, 148(2/3): 187-197.
- [10] Xu J Q, Rong S, Xie B J, et al. Rejuvenation of antioxidant and cholinergic systems contributes to the effect of procyanidins extracted from the Lotus seedpod ameliorating memory impairment in cognitively impaired aged rats [J]. European Neuropsychopharmacology, 2009, 19(12): 851-860.
- [11] 凌智群. 莲房原花青素及其生物、药理活性研究 [D]. 武汉: 华中农业大学, 2001.
- [12] 崔倩, 蒋益虹, 戴蕾, 等. 莲房原花青素的提取纯化技术研究 [J]. 食品工业科技, 2011, 32(8): 238-241.
- [13] 陈卫航, 谭美亭, 张婕. 响应曲面法优化莲房原花青素提取工艺研究 [J]. 郑州大学学报(工学版), 2012, 33(2): 31-35.
- [14] 李连军, 雷后亮, 周芸, 等. 莲房原花青素提取纯化工艺研究与抗氧化活性评价 [J]. 中国现代应用药学, 2015, 32(9): 1069-1073.
- [15] 禹华娟, 孙智达, 谢笔钧. 酶辅助提取莲房原花青素工艺及其抗氧化活性研究 [J]. 天然产物研究与开发, 2010, 22(1): 154-158.
- [16] 汪志慧, 孙智达, 谢笔钧. 响应曲面法优化双酶法提取莲房原花青素 [J]. 食品科学, 2011, 32(4): 64-68.
- [17] 李佳桥, 余修亮, 曾林晖, 等. 响应面试验优化超声波辅助提取莲房原花青素工艺 [J]. 食品科学, 2016, 37(12): 40-45.
- [18] 段玉清, 张海晖, 李金凤, 等. 脉冲超声辅助提取莲房多酚的工艺 [J]. 农业工程学报, 2009, 25(S1): 193-197.
- [19] 段玉清, 闫永胜, 张海晖, 等. 莲房多酚的微波辅助提取技术 [J]. 江苏大学学报(自然科学版), 2009, 30(5): 437-440.
- [20] Xiao H B, Wang Y S, Liang L, et al. Procyanidin B₂ from Lotus seedpod regulate NO/ADMA/DDAH pathway to treat insomnia in rats [J]. Fundamental & Clinical Pharmacology, 2019, 33(5): 549-557.
- [21] Bagchi D, Garg A, Krohn R L, et al. Protective effects of grape seed proanthocyanidins and selected antioxidants against TPA-induced hepatic and brain lipid peroxidation and DNA fragmentation, and peritoneal macrophage activation in mice [J]. General Pharmacology: the Vascular System, 1998, 30 (5): 771-776.
- [22] Xu J Q, Rong S, Xie B J, et al. Procyanidins extracted from the Lotus seedpod ameliorate scopolamine-induced memory impairment in mice [J]. Phytotherapy Research, 2009, 23(12): 1742-1747.
- [23] Xu J Q, Rong S, Xie B J, et al. Changes in the nitric oxide system contribute to effect of procyanidins extracted from the Lotus seedpod ameliorating memory impairment in cognitively impaired aged rats [J]. Rejuvenation Research, 2011, 14(1): 33-43.
- [24] Xu J, Rong S, Xie B, et al. Memory impairment in cognitively impaired aged rats associated with decreased hippocampal CREB phosphorylation: Reversal by procyanidins extracted from the Lotus seedpod [J]. The Journals of Gerontology Series A: Biological Sciences and Medical Sciences, 2010, 65A(9): 933-940.
- [25] Raju V S, McCoubrey W K, Maines M D. Regulation of heme oxygenase - 2 by glucocorticoids in neonatal rat brain: Characterization of a functional glucocorticoid response element [J]. Biochimica et Biophysica Acta, 1997, 1351(1/2): 89-104.
- [26] 聂淑科, 高慧, 许继取, 等. 莲房原花青素改善老化大鼠学习记忆功能的机制 [J]. 中国神经免疫学和神经病学杂志, 2018, 25(4): 279-283.
- [27] 王威, 陈景红, 王新宁, 等. 葡萄籽原花青素诱导人肝癌 HepG2 细胞凋亡及自噬性死亡 [J]. 暨南大学学报(自然科学与医学版), 2011, 32(2): 181-187.
- [28] 王小红, 王一娴, 曹艳妮, 等. 几种植物多酚对 HeLa 细胞抑制作用的初步研究 [J]. 现代食品科技, 2009, 25(1): 10-14.
- [29] 梁慧敏, 时小燕, 随裕敏, 等. 莲房花青素诱导人肝癌细胞 SMMC-7721 凋亡的研究 [J]. 中国实用医药, 2011, 6(19): 37-38.
- [30] 杜宏, 张娜, 高霞, 等. 莲房原花青素对人肝癌细胞 HepG2 生长及凋亡的作用 [J]. 实用医学杂志, 2008, 24(6): 891-893.
- [31] 段玉清, 许慧, 曲文娟, 等. 莲房原花青素通过线粒体介导的内源性 Caspase 途径诱导 HepG2 细胞凋亡 [J]. 现代食品科技, 2016, 32(9): 1-7, 34.
- [32] 段玉清, 张海晖, 吴佳, 等. 莲原花青素对小鼠黑色素瘤的体内抑制作用及机制研究 [J]. 食品科学, 2007, 28(4): 332-335.
- [33] 周密, 段玉清, 王文兵, 等. 莲原花青素抗黑色素瘤的研究 [J]. 食品科学, 2009, 30(11): 223-226.
- [34] Duan Y Q, Zhang H H, Xu F F, et al. Inhibition effect of procyanidins from Lotus seedpod on mouse B₁₆ melanoma *in vivo* and *in vitro* [J]. Food Chemistry, 2010, 122(1): 84-91.
- [35] Spiteller G. Is atherosclerosis a multifactorial disease or is it induced by a sequence of lipid peroxidation reactions? [J]. Annals of the New York Academy of Sciences, 2005, 1043: 355-366.
- [36] 唐瑛, 黄光华, 吴建军, 等. 莲房原花青素对高脂血症大鼠瘦素及 TNF- α 的影响 [J]. 华南国防医学杂志, 2008, 22(4): 5-8.
- [37] 唐瑛, 黄光华, 吴建军, 等. 莲房原花青素对高脂血症大鼠脂质过氧化及内皮素 1 的影响 [J]. 华南国防医学杂志, 2008, 22(4): 9-11.
- [38] Frahm J, Lantow M, Lupke M, et al. Alteration in cellular functions in mouse macrophages after exposure to 50 Hz magnetic fields [J]. Journal of Cellular Biochemistry, 2006, 99(1):

168–177.

[39] Frahm J, Mattsson M O, Simkó M. Exposure to ELF magnetic fields modulate redox related protein expression in mouse macrophages [J]. Toxicology Letters, 2010, 192(3): 330–336.

[40] Gobba F, Bargellini A, Scaringi M, et al. Extremely low frequency-magnetic fields (ELF-EMF) occupational exposure and natural killer activity in peripheral blood lymphocytes [J]. Science of the Total Environment, 2009, 407(3): 1218–1223.

[41] 段玉清, 张海晖, 唐瑛, 等. 莲房原花青素对⁶⁰Co-γ射线致亚急性辐射损伤防护的研究 [J]. 营养学报, 2005, 27(6): 491–493.

[42] 张海晖, 程燕翔, 罗孝平, 等. 莲房原花青素对极低频电磁场致免疫功能损伤的预防作用 [J]. 现代食品科技, 2016, 32(7): 1–5, 59.

[43] 张瑞, 段玉清, 武妍, 等. 莲房原花青素对极低频电磁场致星形胶质细胞氧化损伤的预防作用 [J]. 食品工业科技, 2013, 34(5): 49–53.

[44] 张海晖, 樊蓉, 程燕翔, 等. 莲房原花青素对极低频电磁场致雄性小鼠生殖损伤的影响 [J]. 现代食品科技, 2015, 31(6): 13–17.

[45] 张海晖, 段雯怡, 武妍, 等. 莲房原花青素对极低频电磁场致海马神经元损伤的预防机制 [J]. 中国食品学报, 2016, 16(6): 16–22.

[46] 杜宏, 黄家钿, 王艳芳, 等. 莲房原花青素对乙醇诱导的人胚胎细胞株 L-02 氧化损伤的保护作用 [J]. 海峡药学, 2015, 27(1): 218–221.

[47] 谢笔钧, 孙智达. 食品化学(第二版) [M]. 北京: 科学出版社, 2004.

[48] 禹华娟, 孙智达, 谢笔钧. 莲原花青素在油脂体系中的抗氧化作用 [J]. 中国农业科学, 2010, 43(10): 2132–2140.

[49] 李肖朋, 隋勇, 关亚飞, 等. 莲原花青素低聚体对菜籽油抗氧化性的影响 [J]. 华中农业大学学报, 2015, 34(1): 115–122.

[50] 李欣, 段秋虹, 张晶晶, 等. 莲房原花青素对冷鲜牛肉脂肪氧化及色泽的影响 [J]. 黑龙江畜牧兽医, 2020(1): 67–71.

[51] Tareke E, Rydberg P, Karlsson P, et al. Analysis of acrylamide, a carcinogen formed in heated foodstuffs [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2002, 50(17): 4998–5006.

[52] 周梦舟, 丁城, 关亚飞, 等. 原花青素抑制丙烯酰胺的动力学 [J]. 食品科学, 2018, 39(3): 123–128.

[53] 丁城, 周梦舟, 关亚飞, 等. 原花青素对 Glu-Asn 体系中丙烯酰胺的抑制作用研究 [J]. 食品工业科技, 2017, 38(11): 116–121.

[54] 陈媛媛, 丁城, 关亚飞, 等. 原花青素对食品中丙烯酰胺的抑制作用研究 [J]. 食品科技, 2017, 42(8): 257–261.

[55] 饶箐, 尼海峰, 涂雪令, 等. 四川泡菜的产品特点及产业技术发展浅析 [J]. 食品与发酵科技, 2011, 47(4): 1–4, 9.

[56] 赵秋艳, 宋莲军, 张平安, 等. Vc 与茶多酚对自然发酵泡菜中亚硝酸盐含量的影响 [J]. 安徽农业科学, 2010, 38(2): 900–901.

[57] 侯钟令, 周才琼. 茶多酚和维生素 C 清除亚硝酸盐反应的简化模型的构建 [J]. 食品工业科技, 2017, 38(6): 119–123.

[58] 郑立红, 孟军, 张建才, 等. 原花青素、抗坏血酸、蒜泥对低温香肠 NaNO₂ 残留量的影响 [J]. 中国食品学报, 2011, 11(4): 129–133.

[59] 肖珍, 谢笔钧, 孙智达. 莲房原花青素对紫甘蓝泡菜亚硝酸盐的抑制作用 [J]. 食品工业科技, 2018, 39(11): 67–73, 79.

[60] Singh R, Barden A, Mori T, et al. Advanced glycation end-products: A review [J]. Diabetologia, 2001, 44(2): 129–146.

[61] Soman S, Rauf A A, Indira M, et al. Antioxidant and antiglycative potential of ethyl acetate fraction of *Psidium guajava* leaf extract in streptozotocin-induced diabetic rats [J]. Plant Foods for Human Nutrition, 2010, 65(4): 386–391.

[62] Nagai R, Mori T, Yamamoto Y, et al. Significance of advanced glycation end products in aging-related disease [J]. Anti-Aging Medicine, 2010, 7(10): 112–119.

[63] Vlassara H. Advanced glycation in health and disease: Role of the modern environment [J]. Annals of the New York Academy of Sciences, 2005, 1043(1): 452–460.

[64] 吴茜, 董丽红, 李书艺, 等. 莲原花青素对含有不同饱和度脂肪酸的乳糖-赖氨酸体系中晚期糖基化终末产物的抑制作用 [J]. 食品科学, 2015, 36(13): 18–22.

[65] Wu Q, Li S Y, Yang T, et al. Inhibitory effect of Lotus seedpod oligomeric procyandins on advanced glycation end product formation in a lactose-lysine model system [J]. Electronic Journal of Biotechnology, 2015, 18(2): 68–76.

[48] Tegegne W A, Mekonnen M L, Beyene A B, et al. Sensitive and reliable detection of deoxynivalenol mycotoxin in pig feed by surface enhanced Raman spectroscopy on silver nanocubes @ polydopamine substrate [J]. Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy, 2020, 229(1): 117940.

[49] Li Y, Chen Q, Xu X, et al. Microarray surface enhanced Raman scattering based immunosensor for multiplexing detection of mycotoxin in foodstuff [J]. Sensors and Actuators B: Chemical, 2018, 266(1): 115–123.

[50] Zhao Y, Yang Y, Luo Y, et al. Double detection of mycotoxins based on sers labels embedded Ag@ Au core-shell nanoparticles [J]. ACS Applied Materials & Interfaces, 2015, 7(39): 21780–21786.

(上接第 348 页)

的生长 [D]. 济南: 山东大学, 2012.

[44] Yang M, Liu G, Mehedi H M, et al. A universal SERS aptasensor based on DTNB labeled GNTs/Ag core-shell nanotriangle and CS-Fe₃O₄ magnetic-bead trace detection of Aflatoxin B₁ [J]. Analytica Chimica Acta, 2017, 986(1): 122–130.

[45] Sun C, Ji J, Wu S, et al. Saturated aqueous ozone degradation of deoxynivalenol and its application in contaminated grains [J]. Food Control, 2016, 69(1): 185–190.

[46] 袁景. 基于表面增强拉曼光谱的真菌毒素和农药残留的检测及其应用 [D]. 上海: 上海师范大学, 2016.

[47] Yuan J, Sun C, Guo X, et al. A rapid Raman detection of deoxynivalenol in agricultural products [J]. Food Chemistry, 2017, 221(1): 797–802.