

四川内江两种野生天冬品质及去皮前后活性成分分析

勾凤杰, 李博*

中国农业大学食品科学与营养工程学院 (北京 100083)

摘要 此研究分析了四川内江两种野生天冬的形态特征和活性成分含量, 结果发现: 大天冬的块长8~14 cm, 直径2.2~3 cm, 平均质量在60 g左右; 总多糖、总皂苷、游离氨基酸含量分别为16.17, 3.63和1.98 g/100 g, 优于目前其他种植产地的天冬。这表明, 野生大天冬可作为日后大规模人工栽培的优质品种。此研究还分析了去皮对大天冬活性成分含量的影响, 结果发现去皮导致大天冬总多糖含量下降近22%, 总皂苷降低约32.5%, 游离氨基酸总量下降约15.6%。这表明, 天冬药材在加工过程中可以考虑不再进行去皮处理, 一方面能节省药材资源, 另一方面也能为日后药材加工方式的改善提供理论依据。

关键词 野生天冬; 品质; 去皮; 活性成分

Quality of Two Wild *Asparagus cochinchinensis* in Neijiang, Sichuan Province and Analysis of Their Active Components before and after Peeling

GOU Fengjie, LI Bo*

College of Food Science and Nutritional Engineering, China Agricultural University (Beijing 100083)

Abstract In this research, the morphological characteristics and active components content of two wild *Asparagus cochinchinensis* in Neijiang, Sichuan Province were compared. We found that the length was about 8–14 cm, the diameter was 2.2–3 cm, and the average weight was about 60 g of the large *Asparagus cochinchinensis*. The contents of total polysaccharides, total saponins and free amino acids were 16.17 g/100 g, 3.63 g/100 g and 1.98 g/100 g, respectively, which were superior to those in other planting areas. This result indicated that the large *Asparagus cochinchinensis* could be used as a high-quality variety for large-scale artificial cultivation in the future. In addition, the impact of peeling on the amount of active ingredients in the large *Asparagus cochinchinensis* was examined. It was discovered that after peeling, the contents of total polysaccharides, total saponins, and total free amino acids decreased by nearly 22%, about 32.5%, and 15.6%, respectively. This result suggested that it could be considered not to peel the medicinal materials of *Asparagus cochinchinensis* in the processing process. On the one hand, it could save medicinal materials resources, and on the other hand, it could provide a theoretical basis for improving the processing method of medicinal materials in the future.

Keywords wild *Asparagus cochinchinensis*; quality; peel-removing; active components

天冬 (*Radix asparagi*) 是百合科植物天门冬 [*Asparagus cochinchinensis* (Lour.) Merr.] 的干燥块根, 是一种传统中药, 具有养阴润燥、清肺生津的功效, 主要用于肺燥干咳、顿咳痰黏、咽干口渴、肠燥便秘等症状^[1]。随着中药研究的深入, 人们发现天冬中含有多糖类、皂苷类、氨基酸等多种活性成分^[2], 具有抗癌^[3-4]、抗衰老^[5-6]、抗炎^[7-8]、降血糖^[9]、调节肠道菌群^[10]、神经保护^[11-12]等多种药理功效, 但天冬中的活性成分含量因产地和品种的不同具有较大的差异^[13-16], 因此目前对于天冬药材质量尚未有统一的评价标准。

四川省内江市是天冬的主产地之一, 该地种植天冬的历史悠久, 规模庞大, 有“中国天冬之乡”的美誉^[17]。除了大片天冬种植园外, 研究人员还发现该地存在一些野生天冬, 这些野生天冬生长环境偏僻, 不易查寻。此研究是以此地发现的两种野生天冬为试验

材料, 测定其水分、灰分、淀粉、蛋白质等基础成分和多糖、皂苷、游离氨基酸等活性成分指标, 从而筛选出更为优良的野生天冬品种, 为其是否适合进行大规模人工栽培提供理论依据。此外, 天冬药材在炮制过程中往往有“去皮”这一步骤^[18], 而有研究表明天冬皮中也含有较多的活性成分, 这样做会降低天冬的利用价值^[14], 因此, 此研究还测定了去皮前、后天冬中总多糖、总皂苷、游离氨基酸等活性成分的含量, 探究去皮的操作是否会显著改变天冬中活性成分的含量, 旨在为今后天冬药材的制作方法提供一定的参考依据。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

野生鲜天冬 (四川省内江市山区), 于传统收获季节采挖并经由中国农业大学食品科学与营养工程学

院李博教授鉴定。

C10J9Q52616标准品薯蓣皂苷元(上海源叶生物科技有限公司); SLCJ4452氨基酸混合标准液[西格玛奥德里奇(上海)贸易有限公司]; C10421163 D-无水葡萄糖(上海麦克林生化科技股份有限公司); 甲醇、乙醇、乙腈(色谱纯, 美国Thermo Fisher公司); 冰醋酸(国药集团化学试剂有限公司); 蒽酮、香兰素、福林酚(北京索莱宝科技有限公司); 浓硫酸、高氯酸、正丁醇、盐酸(分析纯, 北京化工厂); 无水碳酸钠(西陇化工股份有限公司); 石油醚[现代东方(北京)科技发展公司]。

1.2 仪器与设备

DTM-4T高温马弗炉(上海儒一恒温设备中心); DHG-9023A电热鼓风干燥箱(上海一恒科学仪器有限公司); UV-5100紫外分光光度计(上海精密仪器仪表有限公司); KDN-04A自动凯氏定氮仪[闽测仪器设备(厦门)有限公司]; LC-15C高效液相色谱系统[岛津国际贸易(上海)有限公司]; MS204S电子分析天平(瑞士Mettler Toledo公司)。

1.3 方法

1.3.1 样品前处理及形态特征比较

将采集到的新鲜天冬用冰袋运至实验室, 待洗净晾干后进行长度、直径、重量的测定。之后对样品进行切片、烘干、制成粉末和过筛, 备用。

1.3.2 水分、灰分、淀粉、蛋白质的测定

水分测定按照GB 5009.3—2016^[19]《食品中水分的测定》中的第一法; 灰分测定依据GB 5009.4—2016^[20]《食品中灰分的测定》中的第一法; 淀粉的含量按照GB 5009.9—2016^[21]《食品中淀粉的测定》中的第一法进行测定; 蛋白质的含量按照GB 5009.5—2016^[22]《食品中蛋白质的测定》中的第一法测定。

1.3.3 天冬总多糖的测定^[16]

绘制标准曲线: 精密称取10 mg D-无水葡萄糖标准品, 加水溶解, 随后转移至25 mL容量瓶中定容, 摇匀, 即为对照品溶液。分别精密吸取0.1, 0.2, 0.3, 0.4, 0.5和0.6 mL无水葡萄糖标准溶液置于具塞试管中, 加水至2 mL, 缓慢滴加8 mL 0.2%蒽酮-硫酸溶液, 混匀, 置沸水浴中水浴10 min, 取出, 置冰水浴中冷却10 min, 空白对照为水。采用紫外-可见分光光度法在576 nm处测定溶液吸光度, 以吸光度为纵坐标, 无水葡萄糖质量为横坐标, 绘制标准曲线, 得到回归方程, 如图1所示。

样品溶液制备: 精密称取1 g天冬粗粉(过0.425 mm筛), 置200 mL具塞锥形瓶中, 加100 mL石油醚, 回流提取至提取液无色, 药渣挥干溶剂; 再加入100 mL体积分数为80%的乙醇, 水浴回流1 h, 趁热过滤, 将残渣及滤纸置锥形瓶中, 加80 mL水, 于100 ℃水浴回流1.5 h, 趁热滤过, 残渣及锥形瓶用热水10

mL洗涤1次, 滤液加水定容至100 mL容量瓶中。精密量取0.5 mL待测样, 加水至2 mL, 按标准曲线绘制项下的方法显色和测定, 以对照品计算各样品中天冬总多糖的含量。

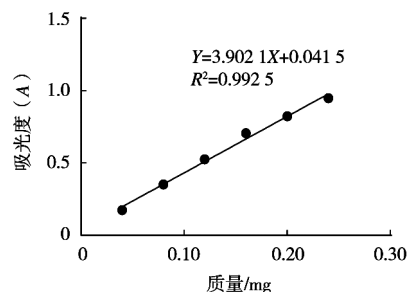


图1 D-无水葡萄糖标准曲线

1.3.4 天冬总皂苷的测定^[16]

总皂苷标准曲线绘制: 精密称取5 mg薯蓣皂苷元对照品, 加甲醇定容至25 mL容量瓶中, 摇匀即得。分别精密吸取0.3, 0.4, 0.5, 0.6, 0.7和0.8 mL对照品溶液于具塞试管中, 置水浴中挥干甲醇液体, 之后分别加入0.2 mL 5%香草醛-冰醋酸溶液和0.8 mL高氯酸溶液, 盖上试管塞混匀, 在60 ℃水浴加热显色15 min, 结束之后冷却5 min, 再加入5 mL冰醋酸稀释, 摇匀。空白对照为甲醇, 用相同方式显色, 采用紫外-可见分光光度法在456 nm处测定吸光度。以吸光度为纵坐标, 薯蓣皂苷元质量为横坐标, 绘制标准曲线, 得到回归方程, 如图2所示。

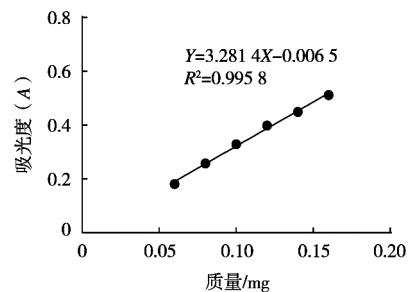


图2 薯蓣皂苷元标准曲线

样品溶液制备: 精密称取1 g天冬粗粉(过0.425 mm筛), 置于100 mL的具塞锥形瓶中, 精密吸取50 mL 48%乙醇, 摇匀, 超声61 min, 过滤后取25 mL续滤液, 沸水浴蒸干, 加水转移至10 mL容量瓶中并定容, 用水饱和正丁醇(每次约10 mL)萃取3次, 萃取液合并后减压回收至干, 残渣加甲醇转移至25 mL容量瓶中并定容, 作为样品溶液。精密吸取一定量的样品溶液, 按标准曲线绘制项下的方法显色和测定, 以对照品计算各样品中天冬总皂苷的含量。

1.3.5 天冬游离氨基酸的测定^[23]

采用HPLC-异硫氰酸苯酯(PITC)柱前衍生法测定, 包括样品处理、柱前衍生、液相分析及含量计算

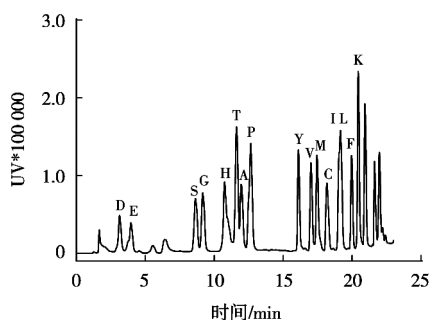
四部分。

样品处理：参考刘梦迪^[16]试验方法，并加以修改。精密称取1 g（精确至0.001 g）大天冬粗粉，置250 mL具塞锥形瓶中，加入80 mL水，在90 ℃水浴80 min，趁热滤过，残渣及锥形瓶用10 mL热水洗涤后，收集滤液，加水定容至100 mL，摇匀，即得样品溶液。

柱前衍生：衍生前先将样品溶液用水系滤膜过滤（去除水系杂质），之后将100 μL 0.1 mol/L异硫氰酸苯酯、100 μL 1 mol/L三乙胺与200 μL样品混合于离心管中，漩涡振荡均匀，室温黑暗条件下1 h，结束后，向上述反应体系中加入400 μL正己烷，漩涡振荡1 min，静置10 min，用移液枪吸取下层溶液，并用0.22 μm有机滤膜过滤，滤液进行HPLC分析。

HPLC分析：流动相A：10 mmol/L磷酸氢二钠，10 mmol/L硼酸钠，用盐酸调节pH至8.2；流动相B：甲醇-乙腈-水（45：45：10，V/V）。采用岛津LC-15C，Agilent C₁₈柱（250 mm×4.6 mm），流速0.7 mL/min，室温，检测波长254 nm，进样量0.7 μL。

氨基酸含量计算：以0.1 mol/L盐酸稀释的氨基酸为标准品，制备一系列浓度的氨基酸标液（0.125，0.25，0.5，1和2 μmol/mL），得到各氨基酸峰面积相对于其浓度的标准曲线方程，以计算氨基酸含量。氨基酸混合标准品色谱图如图3所示。



注：氨基酸混合标准液组分为天冬氨酸（Asp，D）、谷氨酸（Glu，E）、丝氨酸（Ser，S）、甘氨酸（Gly，G）、组氨酸（His，H）、苏氨酸（Thr，T）、丙氨酸（Ala，A）、脯氨酸（Pro，P）、酪氨酸（Tyr，Y）、缬氨酸（Val，V）、甲硫氨酸（Met，M）、半胱氨酸（Cys，C）、异亮氨酸（Ile，I）、亮氨酸（Leu，L）、苯丙氨酸（Phe，F）、赖氨酸（Lys，K），浓度均为0.25 mmol/L。

图3 氨基酸混合标准品色谱图

1.4 数据处理

所有试验均设重复、平行各3次，所得数据采用

Microsoft Excel 2016和 SPSS 27.0软件进行数据统计分析，采用Graphpad Prism 8进行标准曲线和氨基酸色谱图的绘制。根据计算得到的数据对两种天冬进行对比，并结合其他文献资料进行综合评价。

2 结果与分析

2.1 两种野生天冬形态特征比较

此试验样品是来自四川内江山区的两种野生鲜天冬，如图4所示。两种天冬均呈长纺锤形，其中大天冬（a）弯曲程度较为明显，而小天冬（b）略有弯曲。大天冬外皮多呈淡黄棕色，半透明；小天冬外皮颜色偏深，且表皮带有深浅不等的纵皱纹。大天冬质地稍软，而小天冬质地较为坚硬；两种天冬断面都有黏性，且中部有不透明的细心，呈黄白色，以上特点均符合天冬特征。如表1所示，大天冬长8~14 cm，直径约为2.2~3 cm，平均质量在60 g左右；小天冬长5~7 cm，直径约为1~2 cm，平均重量为10 g左右。综上可知，大天冬块长约为小天冬2倍，鲜体质量约为小天冬的6倍，表明大天冬个头更大。张先等^[24]测定的贵州产地野生鲜天冬的鲜重为63.31 g，与此研究结果相近，但其直径比大天冬要小。

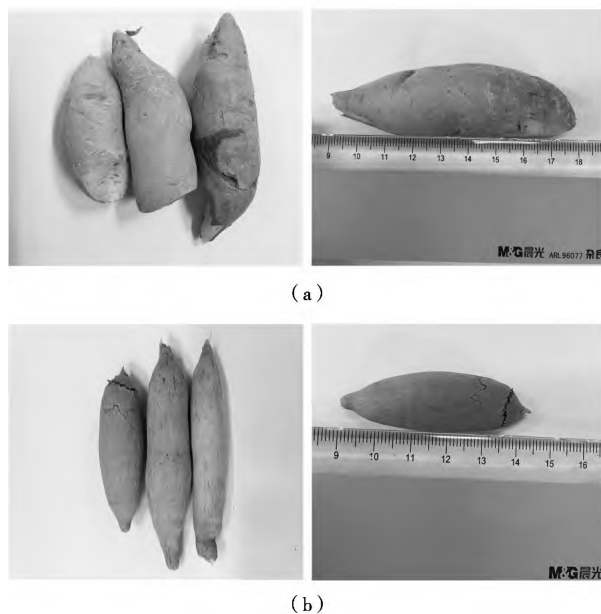


图4 大天冬（a）与小天冬（b）

表1 两种鲜天冬性状特征比较

样品	形态	表面颜色	块长/cm	直径/cm	平均质量/g
大天冬	长纺锤形，有弯曲	呈淡黄棕色，半透明	8~14	2.2~3	60
小天冬	长纺锤形，略有弯曲	呈黄棕色，透明度浅	5~7	1~2	10

2.2 两种野生天冬的基本成分和药理活性成分分析

两种野生天冬的基本成分含量如表2所示。两种天冬的水分含量均在70%以上，且小天冬的水分含

量高于大天冬，二者具有一定的显著性差异（ $P < 0.05$ ）。两种天冬的灰分含量为2.18~2.59 g/100 g，均低于熊大胜等^[25]测定的广西、湖南、云南等产地天冬

的灰分含量3.01~3.17 g/100 g。大天冬中的淀粉含量较高,为29.69 g/100 g,其含量约为小天冬3倍,说明两个品种的淀粉含量差异较大。大天冬、小天冬中的蛋白质含量不存在显著性差异。

据报道,天冬中主要含有多糖、皂苷和游离氨基酸等药理活性成分^[26],其中多糖有抗癌^[27-28]、增强机体免疫活性^[29]等功能。皂苷有抗肿瘤^[30]、抗炎^[31]、治疗便秘^[32]等作用。氨基酸有镇咳平喘^[33]、降血压和降血糖^[34]等功效,因此分析两种野生天冬中的药理活性成分含量十分重要。如表2所示,大天冬的总多糖含量为16.17 g/100 g,总皂苷含量为3.63 g/100 g,游离

氨基酸含量为1.98 g/100 g,其中多糖含量约为小天冬的2倍,皂苷含量高于小天冬,游离氨基酸低于小天冬,且均具有显著性差异($P<0.05$)。熊大胜等^[25]测定了重庆、云南、广西和贵州等不同产地的天冬药材中总多糖、总皂苷及总氨基酸的含量,结果发现多糖含量在9.53~13.46 g/100 g,皂苷含量在1.56~1.77 g/100 g,总氨基酸含量在4.13~9.99 g/100 g范围内,经对比发现,此试验样品野生大天冬含有的多糖和皂苷要显著高于重庆、云南、广西和贵州等地的品种,但游离氨基酸含量要低于其测定的经酸水解后氨基酸的总含量。由此可见,野生大天冬具有更高的药用价值。

表2 两种天冬的营养成分分析

样品	水分/%	灰分/ (g·100 g ⁻¹)	淀粉/ (g·100 g ⁻¹)	蛋白质/ (g·100 g ⁻¹)	总多糖/ (g·100 g ⁻¹)	总皂苷/ (g·100 g ⁻¹)	游离氨基酸/ (g·100 g ⁻¹)
大天冬	70.71±0.21 ^a	2.59±0.04 ^a	29.69±0.14 ^a	5.48±0.05 ^a	16.17±0.41 ^a	3.63±0.06 ^a	1.98±0.04 ^a
小天冬	77.80±0.28 ^b	2.18±0.01 ^b	10.47±0.45 ^b	5.54±0.03 ^a	7.81±0.03 ^b	2.86±0.11 ^b	3.12±0.06 ^b

注:同一列中上标不同字母的表示平均值间差异显著($P<0.05$)。

2.3 大天冬去皮前后药理活性成分分析

在药材炮制过程中,天冬要先进行去皮处理,但去皮可能会导致活性成分的损失^[14]。因此,试验对去皮前、后大天冬中的总多糖、总皂苷的含量及游离氨基酸种类和含量进行了分析。如表3所示,去皮之后大天冬中总多糖、总皂苷及游离氨基酸的含量均出现不同程度的显著下降,其中总多糖含量下降近22%,总皂苷降低约32.5%,游离氨基酸总量下降约15.6%,且去皮前后的总多糖和总皂苷含量之间存在显著性差异($P<0.05$)。李敏等^[14]对产自四川内江种植区天冬药材的表皮进行了多糖和皂苷的成分测定,发现一年半生天冬药材的表皮中皂苷含量约为天冬药材的2倍,同时也含有较高的多糖,这表明天冬皮含有较多的活性成分,与此试验的结果具有一致性。

目前,研究者还尚未探究去皮对天冬中游离氨基酸组成的影响。因此,研究还测定了去皮前、后大天冬中游离氨基酸的种类和含量。如表4所示,去皮前后大天冬所含游离氨基酸种类是一致的,且大多数氨基酸的含量均出现了不同程度的下降。但去皮前,大天冬中甘氨酸最多,占总氨基酸的24.7%;甲硫氨酸最少,占总氨基酸的0.9%。去皮之后,苏氨酸最多,占比25.5%;缬氨酸最少,占比0.7%,这表明去皮导致主要氨基酸的含量发生了变化。综上可知,天冬表皮中也含有较多的多糖、皂苷和游离氨基酸,因此去皮之后会导致这些活性成分的损失,降低其药用活性。

表3 大天冬去皮前后活性成分比较 单位: g/100 g

样品	总多糖	总皂苷	游离氨基酸
去皮前	16.17±0.41 ^a	3.63±0.06 ^a	1.98±0.04 ^a
去皮后	12.63±0.51 ^b	2.45±0.17 ^b	1.67±0.03 ^a

注:同一列中上标不同字母的表示平均值间差异显著($P<0.05$)。

表4 大天冬去皮前后游离氨基酸种类 单位: mg/g

氨基酸种类	去皮前	去皮后
天冬氨酸	0.75±0.03	0.50±0.01
谷氨酸	0.70±0.04	0.31±0.00
丝氨酸	0.93±0.06	0.27±0.01
甘氨酸	4.90±0.16	3.61±0.07
组氨酸	1.55±0.02	0.94±0.01
*苏氨酸	2.53±0.04	4.25±0.04
精氨酸	0.77±0.02	0.68±0.02
脯氨酸	3.39±0.02	2.89±0.031
酪氨酸	0.69±0.02	0.60±0.02
*缬氨酸	0.24±0.01	0.11±0.00
*甲硫氨酸	0.17±0.01	0.22±0.01
*异亮氨酸	2.20±0.08	1.30±0.04
*苯丙氨酸	0.76±0.01	0.66±0.02
*赖氨酸	0.25±0.02	0.31±0.01
EAA	6.15	6.85
TAA	19.83	16.65
NEAA	13.68	9.8

注:*,必需氨基酸;EAA表示必需氨基酸;TAA表示总氨基酸,NEAA表示非必需氨基酸;以干重计;同一列中上标不同字母的表示平均值间差异显著($P<0.05$)。

3 结论

此试验对四川省内江市山区发现的两种野生天冬进行了活性成分的检测和品质分析。其中野生大天冬长约8~14 cm,直径约为2.2~3 cm,平均质量为60 g。多糖、皂苷和游离氨基酸等药理活性成分含量显著高于小天冬,且优于其他产地天冬药材的相关测定结果。野生大天冬在大小形态和药理活性成分含量等方面均优于其他产地的现有天冬,因此适合进行大规模的人工栽培。此外,此研究还表明去皮会导致天冬总多糖、总皂苷及游离氨基酸等药理活性成分的损失,

因此,在天冬炮制过程中可以考虑省略“去皮”这一步骤,从而最大程度地保留天冬的药理活性成分,同时也可减少人工成本和药材资源的浪费。

参考文献:

- [1] 中华人民共和国国家药典委员会. 中华人民共和国药典(一部)[M]. 北京: 化学工业出版社, 2020.
- [2] 宫兆燕, 张君利. 天冬活性化合物的提取及其药理活性研究进展[J]. 医学综述, 2018, 24(24): 4938-4942.
- [3] 黄懿, 杜浩, 王季石, 等. 贵州产天冬总皂苷提取物对人早幼粒白血病细胞株HL-60的影响[J]. 中国实验方剂学杂志, 2014, 20(2): 137-139.
- [4] 张阔光, 陈刚, 刘力. 天冬多糖的提取及其对人肝癌SMMC-7721细胞生长影响的研究[J]. 介入放射学杂志, 2011, 20(6): 465-469.
- [5] LEI L, CHEN Y, OU L, et al. Aqueous root extract of *Asparagus cochinchinensis* (Lour) Merr has antioxidant activity in D-galactose-induced aging mice[J]. BMC Complementary and Alternative Medicine, 2017, 17(1): 469.
- [6] ONLOM C, PHROMPITTAYARAT W, PUTALUN W, et al. Immunoaffinity knockout of saponin glycosides from *Asparagus racemosus* to assess anti-lipid peroxidation[J]. Phytochemical Analysis, 2017, 28(4): 316-323.
- [7] SUNG J E, LEE H A, KIM J E, et al. Saponin-enriched extract of *Asparagus cochinchinensis* alleviates airway inflammation and remodeling in ovalbumin-induced asthma model[J]. International Journal of Molecular Medicine, 2017, 40(5): 1365-1376.
- [8] LEE H A, KOH E K, SUNG J E, et al. Ethyl acetate extract from *Asparagus cochinchinensis* exerts anti-inflammatory effects in LPS-stimulated RAW264.7 macrophage cells by regulating COX-2/iNOS, inflammatory cytokine expression, MAP kinase pathways, the cell cycle and anti-oxidant activity[J]. Molecular Medicine Reports, 2017, 15(4): 1613-1623.
- [9] 俞发荣, 连秀珍, 郭红云. 天门冬提取物对血糖的调节[J]. 中国临床康复, 2006, 10(27): 57-59.
- [10] SUN Q L, ZHU L X, LI Y X, et al. A novel inulin-type fructan from *Asparagus cochinchinensis* and its beneficial impact on human intestinal microbiota[J]. Carbohydrate Polymers, 2020, 247: 116761.
- [11] JALSRA A, NUMAKAWA T, KUNUGI H, et al. The neuroprotective effects and possible mechanism of action of a methanol extract from *Asparagus cochinchinensis*: *In vitro* and *in vivo* studies[J]. Neuroscience, 2016, 322: 452-463.
- [12] LEE H A, KIM J E, SUNG J E, et al. *Asparagus cochinchinensis* stimulates release of nerve growth factor and abrogates oxidative stress in the Tg2576 model for Alzheimer's disease[J]. BMC Complementary and Alternative Medicine, 2018, 18: 125.
- [13] 张庆红, 马梅芳. 不同产地天冬中多糖的含量比较[J]. 中国药业, 2009, 18(14): 27-28.
- [14] 李敏, 费曜, 李丽霞, 等. 天冬中总皂苷含量测定方法的探讨[J]. 成都中医药大学学报, 2004, 27(4): 46-48.
- [15] 刘亮, 刘英波, 周英信, 等. 天冬中总氨基酸的含量测定[J]. 中国民族民间医药, 2012, 21(15): 45-47.
- [16] 刘梦迪. 天冬饮片产地加工与炮制一体化工艺研究[D]. 合肥: 安徽中医药大学, 2017.
- [17] 廖清兰. 浅谈依托道地内江天冬资源构建东兴产业振兴新格局[J]. 内江科技, 2022, 43(7): 62-63.
- [18] 吕向阳, 陈艾萌, 刘丹, 等. 内江地区天冬栽培技术与加工工艺现状与展望[J]. 现代农业科技, 2019(14): 77-79.
- [19] 中华人民共和国国家卫生和计划生育委员会. 食品安全国家标准 食品中水分的测定: GB 5009.3—2016[S]. 北京: 中国标准出版社, 2019.
- [20] 中华人民共和国国家卫生和计划生育委员会. 食品安全国家标准 食品中灰分的测定: GB 5009.4—2016[S]. 北京: 中国标准出版社, 2019.
- [21] 中华人民共和国国家卫生和计划生育委员会. 食品安全国家标准 食品中淀粉的测定: GB 5009.9—2016[S]. 北京: 中国标准出版社, 2019.
- [22] 中华人民共和国国家卫生和计划生育委员会. 食品安全国家标准 食品中蛋白质的测定: GB 5009.5—2016[S]. 北京: 中国标准出版社, 2019.
- [23] 李金华, 李博, 王成涛. 乳清蛋白磷酸化改性对其营养价值和消化吸收的影响[J]. 中国食品学报, 2020, 20(5): 19-28.
- [24] 张先, 刘红昌, 曾桂萍. 不同施水量对天冬抗性生理及块根外观性状的影响研究[J]. 中国现代中药, 2010, 12(2): 19-22.
- [25] 熊大胜, 唐登浩, 许云香, 等. 不同产地天冬块根与茎藤内药用成分比较研究[J]. 时珍国医国药, 2011, 22(2): 322-324.
- [26] SUNG J E, LEE H A, KIM J E, et al. Therapeutic effect of ethyl acetate extract from *Asparagus cochinchinensis* on phthalic anhydride induced skin inflammation[J]. Laboratory Animal Research, 2016, 32(1): 34-45.
- [27] WENG L L, XIANG J F, LIN J B, et al. *Asparagus* polysaccharide and gum with hepatic artery embolization induces tumor growth and inhibits angiogenesis in an orthotopic hepatocellular carcinoma model[J]. Asian Pacific Journal of Cancer Prevention, 2015, 15(24): 10949-10955.
- [28] ZHANG W S, HE W Z, SHI X D, et al. An *Asparagus* polysaccharide fraction inhibits MDSCs by inducing apoptosis through toll-like receptor 4[J]. Phytotherapy Research, 2018, 32(7): 1297-1303.
- [29] WANG N F, ZHANG X J, WANG S W, et al. Structural characterisation and immunomodulatory activity of polysac-

一种新型双酶体系快速检测葡萄糖的方法

王振涛¹, 许蓓蓓², 程晓宏^{3, 4*}

1. 南通市产品质量监督检验所 (南通 226011); 2. 南通市食品药品监督检验中心 (南通 226006);

3. 南通市疾病预防控制中心 (南通 226007); 4. 南通市食品危害因子分析重点实验室 (南通 226011)

摘要 建立一种基于过氧化物模拟酶/葡萄糖氧化酶体系快速检测葡萄糖的方法。重复的富含G碱基结构单元的DNA片段能形成堆积的G-四链体结构(G4), 分子内平行G4-DNA与氯化血红素(hemin)室温孵育成过氧化物模拟酶, 将其与葡萄糖氧化酶偶合成双酶体系, 葡萄糖氧化酶可催化样品中葡萄糖生成过氧化氢, 过氧化物模拟酶可进一步催化生成的过氧化氢与ABTS底物产生颜色变化, 即样品中葡萄糖浓度与最终反应后溶液颜色呈正比。结果表明, 5 min后通过肉眼观察溶液从无色变成绿色, 可快速对葡萄糖的存在进行定性。10 min后通过比较标准色阶卡颜色的深浅, 可半定量样品中葡萄糖含量。该方法具有成本较低, 方法简便, 稳定性和重复性良好等优点, 可满足食品和血清中葡萄糖的定性和半定量分析。

关键词 过氧化物模拟酶; 葡萄糖氧化酶; 葡萄糖; 食品; 血清

A Rapid Determination of Glucose Method based on Novel Double Enzyme System

WANG Zhentao¹, XU Beibei², CHENG Xiaohong^{3, 4*}

1. Nantong Product Quality Supervision and Inspection Institute (Nantong 226011); 2. Nantong Center for Food and Drug Control (Nantong 226006); 3. Nantong Center for Disease Control and Prevention (Nantong 226007);

4. Nantong Key Laboratory of Food Hazards (Nantong 226011)

Abstract Establish a rapid determination of glucose method based on mimetic peroxidase/glucoseoxidase system. Repeated G-base-rich DNA fragments can form a stacked G-quadruplex structure (G4). Mimetic peroxidases were formed by incubating intramolecular parallel G4 DNA with hemin and glucoseoxidase at room temperature. Mimetic peroxidases/glucoseoxidase system was assembled through incubating mimetic peroxidases and glucoseoxidase. Hydrogen peroxide could be catalyzed, when glucose met with glucoseoxidase. Peroxide mimetic enzyme could further catalyze the hydrogen peroxide oxidize ABTS substrate, then the color of solution could be changed from colourless to green. The concentration of glucose in the sample was proportional to the color of the solution after catalytic reaction. The results showed that after 5 min, glucose could be quickly identified with the color of sample solutions changed from colorless to green. It could be quickly quantified with the depth of the standard color scale after 10 min. The established method was cheap, simple, stable and repetitive. It could be used for qualitative analysis and semi-quantitative analysis of glucose in food and blood serum samples.

Keywords mimetic peroxidase; glucoseoxidase; glucose; food; blood serum

葡萄糖是生命活动的重要能量物质, 其浓度水平是糖尿病诊断的一项重要生化指标。糖尿病是由饮

食、遗传等因素共同作用而引起的以糖代谢紊乱为主要症状的慢性病, 可引起失明、肾脏病、心脏病及神

charides from white asparagus skin[J]. Carbohydrate Polymers, 2020, 227: 115314.

[30] LIU B, LI B X, ZHOU D, et al. Steroidal saponins with cytotoxic effects from the rhizomes of *Asparagus cochinchinensis* [J]. Bioorganic Chemistry, 2021, 115: 105237.

[31] LEE H J, PARK J S, YOON Y P, et al. Dioscin and methylprotodioscin isolated from the root of *Asparagus cochinchinensis* suppressed the gene expression and production of airway MUC5AC mucin induced by phorbol ester and growth factor[J]. Phytomedicine, 2015, 22(5): 568-572.

[32] KIM J E, PARK J W, KANG M J, et al. Anti-inflammatory response and muscarinic cholinergic regulation during the laxative effect of *Asparagus cochinchinensis* in loperamide-induced constipation of SD rats[J]. International Journal of Molecular Science, 2019, 20(4): 946.

[33] 鄢贵, 张复中, 施后奎, 等. 天冬化学成分及药理作用研究进展[J]. 广东化工, 2021, 48(21): 116-118, 130.

[34] 陈红艳, 杨新波, 王建华, 等. 天冬降糖胶囊对四氧嘧啶小鼠血液生化指标的影响[J]. 中国中医药信息杂志, 2005, 12(11): 22-23.