

2.2 超高压杀菌最佳条件的优化

如果把超高压杀菌技术应用于食品工业,因考虑到食品原料污染的微生物指数一般不大于 10^6 cfu/g·ml,由回归模型(3)来预测杀灭 10^6 cfu/g·ml的最优条件,利用统计软件Design Expert分析,结果见表5。

从表5可知,杀灭6个数量级的枯草芽孢杆菌的杀菌条件温度: $X_1=31.10\sim 59.03^\circ\text{C}$,压力: $X_2=435.23\sim 562.21\text{MPa}$,保压时间: $X_3=10.11\sim 19.53\text{min}$,优化出10组杀菌工艺参数。

2.3 模型的检验

经上述分析,按表6中 X_1 、 X_2 、 X_3 的10组参数进行超高压杀菌验证,表6统计了按回归模型所预测的10组杀菌工艺参数的验证结果。

从表6可以看出:按照该10组杀菌工艺参数进行超高压试验,结果枯草芽孢杆菌 *Bacillus subtilis* AS.1.1731 死亡数量级Y值皆大于6,平均相对误差为2.57%,证明应用响应曲面法(RSM)优化的超高压杀菌工艺是可行的。

3 结论

首次将响应面分析法(RSM)用于超高压杀菌条件的优化,获得良好的结果。经响应曲面法(RSM)优化的杀灭6个数量级枯草芽孢杆菌 *Bacillus subtilis* AS.1.1731 的优化条件见表5,经检验证明该10组杀菌工艺参数是合理可靠的。

参考文献:

- [1] 园池耕一郎.食品工业.1994,(4):27-32.
- [2] Hite B H. The effect of pressure in the preservation of milk[J]. Bull W Va Univ Agric Exp Stn.1899,(58):15-35.
- [3] 姜春玲,等.超高压对病毒影响的研究进展[J].国外医学病毒学分册.
- [4] Marquis R F, Matsumura P. Microbial life under pressure. In: Kushner D J ed. Microbial life in Extreme Environments[M]. New York: Academic press, 1978. 105-158.
- [5] Chetel J C. Review: High-pressure, microbial inactivation and

- food preservation[J]. Food Sci Technol Int 1995,(1):75-90.
- [6] Knorr D. Effects of high-hydrostatic-pressure processes on food safety and quality[J]. Food Technology, 1993,(6):156-161.
- [7] Mertens B. High-hydrostatic-pressure treatment of food: equipment and processing[M]. In: G W Gould (Ed.), New Methods of Food Preservation, Blackie, London, 1995. 135-158.
- [8] Mertens B, Knorr D. Developments of nonthermal processes for food preservation[J]. Food Technol, 1992,(46):124-133.
- [9] Hayashi R. Application of high pressure to food pressing and preservation: philosophy and development. In W.E. Spores and H. Shubert (ed). Engineering and food. Elsevier Applied science London United kingdom, 1989. 815-826.
- [10] Fair D. High pressure technology in the food industry[J]. Trends Food Science and Technology, 1990,(1):15-16.
- [11] Shirakawa T. Kenkyu Hokoku-kagawaken Shoduhin Shikenjo/Kagawa-ken Hakkō Shokuhin Shikenjo, 1991,(84):33-42.
- [12] Smelt J P P M. Recent advances in the microbiology of high pressure processing[J]. Trends Food Science Technology, 1998,(9):152-158.
- [13] Nakayama A. Comparison of pressure Resistances of spores of Six Bacillus Strains with their Heat Resistances in appl[J]. Environ. Microbiol. 1996,(62):3897-3900.
- [14] Sojka B, Ludwig H. Effect of pressure changes on the inactivation of *Bacillus subtilis* Spores in pharm[J]. ind, 1997,59:436-438.
- [15] Myers R H. Response surface methodology[M]. Ann Arbor Edwards Brothers, 1976.
- [16] Montgomery D C. Design and analysis of experiments. 2nd ed[M]. New York: John Wiley, 1991.
- [17] Annadurai G, Raju V. Use of Box-Behnken design experiments in the determination of adsorption equilibrium: reactive dye on chitin. In proceeding of the Advances in Chemical Engineering-97. October 22-24, pp. 18-20. Bhabha Atomic Research Center, Mumbai-400 085, India, 1997.
- [18] Annadurai G, Sheeja R Y. Use of Box-Behnken design of experiments for the adsorption of verofix-red using Biopolymer. Bioprocess Eng, 1998,18:463-466.

地蚕中低聚糖的提取及其诱导植物抗病性的研究

黄洁¹, 宋纪蓉¹, 王阳², 李振岐^{2*}, 徐抗震¹, 尹涛¹

(1. 西北大学食品科学与工程系, 陕西 西安 710069;

2. 西北农林科技大学植保学院植病研究所, 陕西 杨陵 712100)

摘要: 采用多级水提醇沉法来提取地蚕中低聚糖, 通过实验确定了从地蚕中提取低聚糖的工艺条件: 料液比为10:1, 80℃下溶煮2h, 提取率可达80%。采用不同浓度梯度的乙醇进行多级沉淀得到不同成分的低聚糖, 并用提取的低聚糖喷雾处理小麦植株, 诱导小麦对条锈病的抗病性, 实验结果表明, 用90%乙醇提取的低聚糖处理后病指下降百分率最高, 平均可达80%以上。

关键词: 低聚糖; 地蚕; 提取; 小麦条锈病

收稿日期: 2003-08-03

作者简介: 黄洁(1969-), 女, 在读博士, 从事食品工程和生物发酵工程方面的研究。

李振岐(1922-), 男, 教授, 博导, 中国工程院院士, 从事植物病理和植物免疫方向的研究。

Extraction of Oligosaccharides from *Stachys geobombicis* and

Its Application on the Disease Resistance of Plant

HUANG Jie¹ SONG Ji-rong¹ WANG Yang² LI Zhen-q^{2*} XU Kang-zhen¹ YIN Tao¹

(1. Department of Food Science and Engineering, Northwest University, Xi'an 710069, China;

2. Department of Plant Protection, Northwest Agricultural University, Yangling 712100, China)

Abstract: Oligosaccharide was extracted from *Stachys geobombicis* with hot water and alcohol. The *Stachys geobombicis* was boiled at 80°C for 2.5 h with liquid-to-solid ratio of 10:1 ml/g and the content of total polysaccharide in supernatant fluid could reach 80% after filtration. Alcohol in different concentration was used to treat the filtrate liquor through a fractionated precipitation way to get the different oligosaccharide, which was then used to treat wheat to induce the resistance to wheat stripe rust. Results show that the alcohol in higher concentration could get the oligosaccharide, which is more helpful to induce the resistance of wheat to stripe rust.

Key words: oligosaccharide *Stachys geobombicis*; extract; wheat stripe rust disease

中图分类号: O629.1

文献标识码: B

文章编号: 1002-6630(2004)03-0106-04

地蚕属于被子植物唇形科水苏属, 为多年生草本植物。据《中国植物志》记载: 地蚕的拉丁属名为: *Stachys*, 拉丁科名为: Labiales。地蚕原产于中国北部, 据记载已有3000余年的栽培历史。17世纪末传入日本, 1882年引入欧洲, 1900年传到美国。地蚕在中国各地都有零星种植, 分布较广, 但栽培面积不大, 产量不多, 稍成规模的有江苏扬州市, 年产量仅8~10万kg; 河南省偃师县, 栽培面积不足20公顷; 湖北省荆门, 产量也很有限。

地蚕为一种中药, 其别名、异名有近二十种之多。主要有地枯牛、草石蚕、银条、地溜儿、土冬虫草、白虫草、肺癆草等。《本草纲目》、《陆川本草》称其“功能近似冬虫草”, “既可为菜为药, 又可充果”。地蚕为多年生宿根草本, 株高30~40cm, 茎具4棱槽, 枝叶被柔毛状刚毛。单叶对生, 叶片长圆状卵形, 长4.5~8cm, 宽约3cm, 边缘有圆齿状锯齿。因其地下根状块茎肉质肥大, 形状似蚕, 故名地蚕。地蚕的块茎黄白色, 长约5~8cm, 尾端稍尖, 粗如铅笔杆, 有6~13个环状节, 节上有小芽眼及膜质、三角状的鳞片。据《中国药用植物简编》称: 其茎性甘、平, 药用有益肾润肺、滋阻补血、清热除痰功能; 《中国植物志》第66卷称其块茎可供食用, 全草入药, 治跌打、疮毒, 祛风毒。地蚕块茎内含大量糖类。据有关分析资料报道^[1], 草石蚕鲜品每100g含蛋白质4.1g, 脂肪0.3g, 碳水化合物23g及大量的水分, 其碳水化合物主要是以水苏糖为主的功能性低聚糖, 与大豆相比地蚕中低聚糖含量较高。本文通过实验研究确定了从地蚕中提取低聚糖的工艺条件, 并且通过低聚糖诱导植物抗病性的实验研究表明, 地蚕中的低聚糖对诱导小麦抗条锈病有很好的效果。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 原料和试剂

地蚕 西安美辰生物技术有限公司提供。

供试植物 小麦品种为辉县红, 由西北农林科技大学植保学院植物病理研究所提供, 对所有的小麦条锈菌生理小种均为高感。

供试病原菌 小麦条锈菌 (*Puccinia Striiformis* f.sp. *tritici*) 夏孢子采自田间自然发病的小麦植株, 在小麦品种辉县红上繁殖备用。

化学试剂 丙酮, 无水乙醇等, 葡萄糖标准品(中国药品生物制品检定所)均为分析纯。

1.1.2 仪器

TU-1901型紫外可见分光光度计; Sigma3-15中速离心机; DZKW-D型恒温水浴锅; SHB-III循环水式多用真空泵; DZF-1型真空干燥箱等; 9FZ-15型机械粉碎机。

1.2 方法

1.2.1 提取方法

地蚕经低温烘干后粉碎机粉碎过筛备用, 准确称取一定量的地蚕粉, 常水法提3次, 水提液减压浓缩至2:1(按生药量计算体积), 加入乙醇, 静置48h。沉淀物经离心机离心后依次用乙醇、丙酮、乙醚抽提, 挥散溶剂至干得到浅棕色多糖粉末, 上清液减压蒸馏浓缩, 低温真空干燥得到低聚糖。

1.2.2 分析方法

总糖含量的测定 硫酸-苯酚比色法^[1]。

1.2.3 诱导抗性实验

将供试种子消毒、浸种、催芽后土壤盆栽, 每盆种植15株左右, 待幼苗长至一叶一心期时, 用提取的系列浓度低聚糖水溶液(加0.1%Tween-20)分别喷至小麦幼苗上, 使植株全部叶片湿润, 同时以喷清水和粉锈宁为对照(加0.1%Tween-20)。处

表1 低聚糖诱导小麦抗条锈病的实验结果

试剂浓度 (mmol/L)	第1叶				第2叶			
	发病率 (%)	严重度 (%)	病指	诱抗效果 (%)	发病率 (%)	严重度 (%)	病指	诱抗效果 (%)
清水	100	66.0	66.0	—	100	26.5	26.5	—
50 μ g/ml 粉锈宁	54.55	8.75	4.77	92.77	63.64	5.57	3.54	86.62
A 100 \times	54.55	26.00	14.18	78.52	45.45	12.00	5.45	79.43
A 500 \times	46.70	37.14	17.33	73.74	46.70	12.86	6.0	77.36
B 100 \times	55.60	18.10	10.06	83.32	52.20	13.08	6.83	74.23
B 500 \times	55.60	20.00	11.12	83.15	55.60	14.10	7.83	70.45
C 100 \times	80.00	65.00	52.00	21.21	80.00	14.38	11.5	56.60
C 500 \times	92.31	51.67	47.69	27.74	76.92	6.60	5.08	80.83
D 100 \times	70.00	58.57	41.00	37.88	60.00	24.17	14.5	45.28
D 500 \times	90.91	58.00	52.73	20.11	90.91	13.50	12.27	53.70
E 100 \times	80.00	55.00	44.00	33.33	73.33	14.50	10.73	59.51
E 500 \times	100	58.00	58.00	12.12	60.00	64.17	14.50	45.28
F 100 \times	76.92	12.71	9.78	85.18	39.28	8.86	3.49	86.70
F 500 \times	76.92	13.67	10.51	84.48	43.75	12.03	5.26	80.15

注：乙醇浓度分别为 A=65%、B=70%、C=75%、D=80%、E=85%、F=90%。

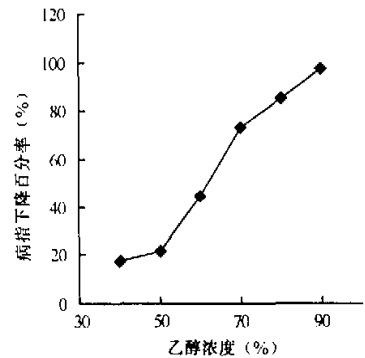


图6 抗病性能随加醇量的变化曲线

加，极性比单糖、低聚糖的极性减小，性质和单糖、低聚糖相差也越来越大。多糖一般为非晶形，无甜味，难溶于冷水，溶于热水成胶状体溶液^[9]。根据极性物质具有较强的亲和能力，“相似者易于吸附”的原理^[6]。同为溶质，在极性比水弱的乙醇中，多糖比低聚糖易被醇析析出。

准确称取5g的地蚕粉10份，用不同浓度的乙醇提取，经分光光度法测定其糖度，结果如图。从图6中可以看出，随着醇浓度的增加，低聚糖质量逐渐减少，相反地，多糖质量在增加。

2.3 低聚糖的诱导抗性研究

将不同浓度乙醇经多级沉淀提取的低聚糖由西北农林科技大学植保学院植病研究所做小麦条锈病的诱导抗性实验，结果如表1所示。

从图6可以看到，随着乙醇浓度的提高，所得到的低聚糖抗病性也在提高。从表1可以看出，用90%的乙醇提取的低聚糖液稀释100倍后喷洒到小麦幼苗上，小麦条锈病发病率低，严重度也相对较低，诱导效果即病情指数下降百分率平均可达80%以上，诱导抗病结果最好。

3 小结

由上述实验可得出结论，地蚕在液料比为10:1，熔煮时间为2h时，水提效果较好。在乙醇浓度为90%时，经多级沉淀提取的低聚糖抗病性能较好，目前需要进一步对提取的低聚糖纯化以确定其成分，对其诱导抗性机理进行深入研究。

参考文献：

[1] 岳振峰，赵谋明，彭志英，等. 功能性低聚糖研究进展[J]. 食品科学，1999，9(5): 21-25.
[2] 李军生. 豆类低聚糖的开发应用[J]. 食品工业，1996，(4): 5-7.
[3] 傅博强，等. 茶叶中多糖含量的测定[J]. 食品科学，2001，22(11): 46-47.
[4] 李振歧，曾士迈. 中国小麦锈病[M]. 北京：中国农业出版社，2002.
[5] 黑龙江省甜菜糖业研究所. 甜菜制糖化学管理统一分析方法[M]. 北京：轻工业出版社，1975.
[6] 高俊凤. 植物生理学试验技术[M]. 西安：世界图书出版社，2000.