

# 獐奶氨基酸和脂肪酸含量分析及奶胃微生物分离鉴定

赵国忠<sup>1</sup>, 胡陆军<sup>1</sup>, 王金美<sup>2</sup>, 姚云平<sup>1</sup>, 郝光飞<sup>1</sup>, 陈卫<sup>1,\*</sup>

(1. 江南大学食品学院, 食品科学与技术国家重点实验室, 江苏无锡 214122;

2. 无锡市动物园管理处, 江苏无锡 214086)

**摘要:**獐奶是幼獐的奶胃形成獐宝的基本物质, 獐的奶胃是形成獐宝的主要场所。为进一步研究獐宝的体外合成机制, 本文采用高效液相色谱和气相色谱法测定了獐奶中氨基酸和脂肪酸含量。并通过传统微生物分离手段对獐的奶胃微生物进行了分离鉴定。通过测定发现, 獐奶中的水解氨基酸含量是牛奶的 2.73 倍。獐奶中丝氨酸、苏氨酸和半胱氨酸等游离氨基酸的含量高于牛奶中的含量, 谷氨酸、天冬氨酸、甘氨酸和丙氨酸的含量却低于牛奶中的含量。獐奶中硬脂酸和亚油酸含量为牛奶的 2 倍多。通过对獐的奶胃微生物的分离和 16S rDNA 手段鉴定获得 20 种细菌, 这些细菌主要为动物类乳杆菌、肠杆菌和肠球菌类, 这些细菌对促进“獐宝”形成起一定的作用。

**关键词:** 獐, 氨基酸, 脂肪酸, 细菌

## Analysis of amino acid and fatty acid in the *Hydropotes inermis* milk and identification of the microorganism in the milk stomach

ZHAO Guo-zhong<sup>1</sup>, HU Lu-jun<sup>1</sup>, WANG Jin-mei<sup>2</sup>, YAO Yun-ping<sup>1</sup>, HAO Guang-fei<sup>1</sup>, CHEN Wei<sup>1,\*</sup>

(1. State Key Laboratory of Food Science and Technology, School of Food Science and Technology, Jiangnan University, Wuxi 214122, China;

2. Zoo Management Office of Wuxi, Wuxi 214086, China)

**Abstract:** *Hydropotes inermis* milk can be synthesized to *Hydropotes inermis* swinhoe in the *Hydropotes inermis* milk stomach. In this study, the contents of amino acid and fatty acid in milk and *Hydropotes inermis* milk were investigated and compared by high performance liquid chromatography and gas chromatography, and the microorganism in the *Hydropotes inermis* milk stomach were also separated for exploring the synthesis mechanism of *Hydropotes inermis* swinhoe. The content of hydrolysis amino acid in *Hydropotes inermis* milk was 2.73 times more than milk. The contents of free amino acids (serine, threonine and cysteine) in *Hydropotes inermis* milk were more, but the free amino acids (glutamic acid, aspartic acid, glycine and alanine) were less than milk. The contents of stearic acid and linoleic acid in *Hydropotes inermis* milk were 2 times more than milk. In addition, 20 kinds of bacterium including animal *Lactobacillus*, *Enterobacter* and *Enterococcus* which play roles in the formation of *Hydropotes inermis* swinhoe were separated and identified by 16S rDNA blasting.

**Key words:** *Hydropotes inermis*; amino acid; fatty acid; bacterium

中图分类号: TS252.54

文献标识码: A

文章编号: 1002-0306(2015)15-0074-05

doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2015.15.007

獐为鹿科动物, 分布于中国长江沿岸和朝鲜, 文献中记载的地点多为江苏省无锡、镇江及苏州。獐, 无角, 成年獐体长约 1 米, 四肢粗壮发达, 耳朵相对较大, 尾巴很短, 毛多为棕黄色、灰黄色, 毛粗而且脆, 上犬齿发达, 雄性獐齿尤其长而且大, 约 5 cm。獐生性胆小, 动作灵敏, 受惊扰时狂奔如兔。獐浑身是宝, 幼獐吮吸獐奶后在胃中凝结而成的乳白色奶

块, 俗称“獐宝”, 是一种名贵药材, 具有增加胃液分泌量和促进胃蛋白酶排出的作用, 主治小儿疳积等消化不良症状。对促进儿童发育、提高智力和补益身体有较好作用, 对中老年有提高抵抗力之功效。獐宝中免疫蛋白质含量约 40%, 含有多种微量元素<sup>[1]</sup>, 17 种氨基酸含量占 39.6%, 谷氨酸、脯氨酸、缬氨酸、亮氨酸和赖氨酸含量尤其高。动物实验也发

收稿日期: 2014-09-22

作者简介: 赵国忠(1983-), 男, 博士研究生, 讲师, 研究方向: 食品微生物学, E-mail: zgziangnan@163.com。

\* 通讯作者: 陈卫(1966-), 男, 博士, 教授, 研究方向: 食品生物技术, E-mail: chenwei66@jiangnan.edu.cn。

基金项目: 国家自然科学基金青年基金项目(31401682); 江南大学 2013 年校级本科教育教学改革研究立项项目(JGB2013071)。

现,獐宝对于提高鼠胃蛋白酶的活力,提高鼠血清胃泌素含量及小肠蠕动有很好的作用<sup>[2-4]</sup>。

獐属于国家二级保护野生动物。目前,国内已经建立了许多专门饲养獐的基地,靠人工养殖,科学的“活体取宝”,既保护了物种,又能保证獐宝的质量,大大提高了獐宝的产量<sup>[5]</sup>。獐宝由獐乳而来,但是獐乳却没有獐宝的功效。獐乳经过小獐奶胃各种消化酶及微生物的作用以后,即赋予如此功效,可见小獐奶胃中的微生物起着至关重要的作用<sup>[6]</sup>。如果能实现小獐奶胃微生物的体外培养,在体外条件下实现獐宝的合成,那么对于减轻獐痛苦和提高獐宝产量将会有巨大的作用。本文对獐乳的氨基酸和脂肪酸含量进行了比较分析,并且对獐奶胃微生物进行了筛选鉴定,为獐宝形成的理论研究提供了科学的依据。

## 1 材料与方 法

### 1.1 材料与仪器

獐奶 采自无锡市阳山镇;牛奶 购于无锡天姿乳业。

配置培养基、脂肪酸提取所用试剂 均为市售分析纯;17种氨基酸标品和脂肪酸标品 均为色谱纯;Taq 酶、三磷酸脱氧核糖核苷(deoxyribonucleoside triphosphate, dNTP) 购自 Tiangen 公司。

氨基酸专用高效液相色谱仪 美国 Agilent 公司;GC 气相色谱仪 日本岛津公司;BX51 光学显微镜 日本 OLYMPUS 公司;琼脂糖凝胶电泳仪 美国 Bio-Rad 公司;电泳槽 北京市六一仪器厂;凝胶成像仪 美国 Bio-Rad 公司。

### 1.2 实验方法

1.2.1 氨基酸分析样品处理 游离氨基酸:取獐乳 1 mL 10% 三氯乙酸等体积混合,放置 1 h,用双层滤纸过滤,取滤液 1 mL 于 1.5 mL 离心管中,10000 r/min 离心 10 min 后取上清液 500  $\mu$ L 于 Agilent 专用样品瓶内,备用<sup>[7]</sup>。

水解氨基酸:称样(准确称取 1.0 g 样品放入水解管中),然后水解(加入 1 mL 浓盐酸和 6 mL 的 4 mol/L 盐酸,边抽真空边封管,封好后的水解管统一放入设定温度为 110  $^{\circ}$ C 的烘箱,水解 22 h),定容(水解液用 25 mL 容量瓶定容,然后用两层滤纸过滤,去滤液 1 mL 于 25 mL 小烧杯中,放入真空干燥器中过夜干燥),蒸酸、取样(取出蒸干后的小烧杯,加入 0.02 mol/L 盐酸,静置 1 h 后,用玻璃棒搅拌后直接倒入 1.5 mL 离心管内,10000 r/min 离心 10 min 后取上清液 500  $\mu$ L 于 Agilent 专用样品瓶内,备用)<sup>[8]</sup>。

1.2.2 氨基酸分析 色谱柱:(250 mm  $\times$  4.6 mm), 5  $\mu$ m ODS HYPERSIL;柱温:40  $^{\circ}$ C;流动相:A 相:称取 8.0 g 结晶乙酸钠于 1000 mL 烧杯中,加入 1000 mL 水搅拌至溶解,再加入 225  $\mu$ L 三乙胺,搅拌并滴加 5% 醋酸,将 pH 调到 7.20  $\pm$  0.05,加入 5 mL 四氢呋喃,混合后备用;B 相:称取 8.0 g 结晶乙酸钠于 800 mL 烧杯中,加入 400 mL 水搅拌至溶解,滴加 2% 醋酸,将 pH 调到 7.20  $\pm$  0.05,将此溶液加入 800 mL 乙腈和 800 mL 甲醇混合备用<sup>[7]</sup>。

1.2.3 脂肪酸提取 取 1 mL 样品于瓶 1 中,加入 50  $\mu$ L C17:0 的内标,加入 1 mL 10% 的 HCl-甲醇溶液、0.5 mL 正己烷,振荡混匀,60  $^{\circ}$ C, 3 h,期间每隔 0.5 h 振荡一次。然后,加入 1 mL 正己烷,1 mL 饱和 NaCl,振荡混匀,3000 r/min 离心 3 min,取上清液于瓶 2 中。重复上一步,向瓶 1 中加入 1 mL 正己烷,1 mL 饱和 NaCl,振荡混匀,3000 r/min 离心 3 min,取上清液于瓶 2 中。然后 N<sub>2</sub> 吹干,加入 1 mL 正己烷溶解,备用<sup>[9]</sup>。

1.2.4 脂肪酸分析 用气相色谱进样针吸取 20  $\mu$ L 提取的脂肪酸样品,采用岛津公司的气相色谱仪 AOC-20i 测定,色谱柱条件:DB-WAX (30 m  $\times$  0.32 mm, 0.25  $\mu$ m; 美国 Agilent 公司);氢火焰离子(FID)检测器检测;选用氮气为载气,流量为 2 mL/min,采用分流方式进样 1  $\mu$ L,分流比 15:1,进样口温度为 240  $^{\circ}$ C;升温程序:120  $^{\circ}$ C 保持 30 min,以 5  $^{\circ}$ C/min 升至 190  $^{\circ}$ C,再以 1  $^{\circ}$ C/min 升到 210  $^{\circ}$ C,保持 3 min<sup>[9]</sup>。

1.2.5 微生物分离 用 100 mL 生理盐水清洗獐的奶胃,收集清洗液作为样品。取 10 mL 样品作为原液,分别稀释为 10<sup>-1</sup>、10<sup>-2</sup>、10<sup>-3</sup>、10<sup>-4</sup>、10<sup>-5</sup>、10<sup>-6</sup> 浓度溶液。将每个稀释度溶液各以 100  $\mu$ L 平均点加入到 MRS 平板和 PDA 平板上面,小心地用灭过菌的涂布器涂干。倒置于 37  $^{\circ}$ C 和 30  $^{\circ}$ C 恒温培养箱中,15~24 h 以后取出观察,记录长出的单菌落的不同形态,并用无菌牙签挑出单一菌落的菌株,镜检,三区划线反复 3 次,37  $^{\circ}$ C 和 30  $^{\circ}$ C 恒温过夜培养,并对其进行革兰氏染色镜检。镜检以后的菌株分别接种于 MRS 或 PDA 液体管中进行传代培养,甘油管保存于 -80  $^{\circ}$ C 冰箱,备用。

1.2.6 微生物鉴定 采用 16S rDNA 序列比对的方法,先将甘油管保存菌株过夜培养活化 2 次,离心收集菌体物质。提取该菌株的基因组 DNA 或直接采用菌落 PCR 测定。本实验的 16S rDNA 的聚合酶链反应(polymerase chain reaction, PCR)的引物是采用通用引物序列:上游引物 27F 的序列为:5'-AGAGTTTGATCCTGGCTCA-3',下游引物 1492R 的序列为:5'-GGTACCTTGTTACGACTT-3'。按照 PCR 说明书的步骤进行 PCR。该反应体系为 50  $\mu$ L: 10  $\times$  buffer 5  $\mu$ L; dNTPs 5  $\mu$ L; 上游引物(10  $\mu$ mol/L) 0.5  $\mu$ L; 下游引物(10  $\mu$ mol/L) 0.5  $\mu$ L; 模板 DNA 1.5  $\mu$ L; dd H<sub>2</sub>O 37  $\mu$ L; Taq DNA 聚合酶(250 U) 0.5  $\mu$ L。PCR 扩增条件为:95  $^{\circ}$ C 5 min; 然后 95  $^{\circ}$ C 10s; 55  $^{\circ}$ C 30s; 72  $^{\circ}$ C 1 min, 进行 25 个循环,最后 72  $^{\circ}$ C 延伸 5 min。琼脂糖凝胶电泳检测其产物纯度,条带大小为 1500 bp 左右。送上海桑尼公司测序,测序结果在 NCBI 上的 Blast 功能模块进行物种比对,找出与其相似度最高的种属<sup>[10]</sup>。

## 2 结果与分析

### 2.1 牛奶与獐奶氨基酸含量的比较

游离氨基酸能赋予奶类“鲜”的特点,使其味道更加诱人,直接影响其品质。本文通过测定牛奶与獐奶中的游离氨基酸的量,发现獐奶中游离氨基酸

表1 牛奶与犛奶氨基酸含量

Table 1 The amino acid contents of milk and Hydropotesinermis milk

氨基酸	牛奶游离氨基酸 (mg/mL)	牛奶水解氨基酸 (g/100 mL)	犛奶游离氨基酸 (mg/mL)	犛奶水解氨基酸 (g/100 mL)	犛奶/牛奶 游离氨基酸	犛奶/牛奶 水解氨基酸
天冬氨酸	$1.68 \times 10^{-2}$	$2.53 \times 10^{-1}$	$1.46 \times 10^{-2}$	$7.48 \times 10^{-1}$	0.87	2.95
谷氨酸	$6.16 \times 10^{-2}$	$6.94 \times 10^{-1}$	$9.32 \times 10^{-3}$	1.89243	0.15	2.73
丝氨酸	$3.36 \times 10^{-4}$	$1.40 \times 10^{-1}$	$1.03 \times 10^{-3}$	$4.54 \times 10^{-1}$	3.06	3.23
组氨酸	$1.77 \times 10^{-3}$	$8.90 \times 10^{-2}$	$2.36 \times 10^{-3}$	$2.77 \times 10^{-1}$	1.33	3.11
甘氨酸	$1.16 \times 10^{-2}$	$6.45 \times 10^{-2}$	$5.02 \times 10^{-3}$	$2.08 \times 10^{-1}$	0.43	3.23
苏氨酸	$2.30 \times 10^{-2}$	$1.29 \times 10^{-1}$	$4.85 \times 10^{-2}$	$4.23 \times 10^{-1}$	2.11	3.29
精氨酸	$5.90 \times 10^{-3}$	$1.16 \times 10^{-1}$	$5.36 \times 10^{-3}$	$2.55 \times 10^{-1}$	0.91	2.19
丙氨酸	$7.90 \times 10^{-3}$	$1.08 \times 10^{-1}$	$2.41 \times 10^{-3}$	$2.99 \times 10^{-1}$	0.31	2.77
酪氨酸	$3.60 \times 10^{-3}$	$1.30 \times 10^{-1}$	$1.05 \times 10^{-3}$	$3.97 \times 10^{-1}$	0.29	3.05
半胱氨酸	$2.74 \times 10^{-5}$	$7.97 \times 10^{-3}$	$2.37 \times 10^{-4}$	$3.58 \times 10^{-2}$	8.66	4.49
缬氨酸	$4.21 \times 10^{-3}$	$2.17 \times 10^{-1}$	$9.83 \times 10^{-3}$	$6.09 \times 10^{-1}$	2.33	2.80
蛋氨酸	$6.70 \times 10^{-4}$	$8.45 \times 10^{-2}$	$2.42 \times 10^{-4}$	$2.61 \times 10^{-1}$	0.36	3.09
苯丙氨酸	$1.43 \times 10^{-3}$	$1.70 \times 10^{-1}$	$3.82 \times 10^{-5}$	$4.57 \times 10^{-1}$	0.03	2.69
异亮氨酸	$2.19 \times 10^{-3}$	$1.82 \times 10^{-1}$	$1.16 \times 10^{-3}$	$4.46 \times 10^{-1}$	0.53	2.45
亮氨酸	$4.64 \times 10^{-3}$	$3.11 \times 10^{-1}$	$1.60 \times 10^{-3}$	$8.64 \times 10^{-1}$	0.35	2.78
赖氨酸	$7.67 \times 10^{-3}$	$2.53 \times 10^{-1}$	$4.15 \times 10^{-3}$	$7.90 \times 10^{-1}$	0.54	3.12
脯氨酸	$9.34 \times 10^{-3}$	$4.42 \times 10^{-1}$	$3.60 \times 10^{-3}$	$8.23 \times 10^{-1}$	0.39	1.86
总氨基酸	$1.63 \times 10^{-1}$	3.39	$1.11 \times 10^{-1}$	9.24	0.68	2.73

总量比牛奶中的少,谷氨酸、天冬氨酸、甘氨酸、丙氨酸等氨基酸含量都较低(表1)。谷氨酸和天冬氨酸具有鲜味,是最主要的鲜味氨基酸。甘氨酸、丙氨酸和丝氨酸能赋予甜味,是主要的甜味氨基酸<sup>[11]</sup>。犛奶中游离的丝氨酸、苏氨酸和半胱氨酸都比牛奶中的高出很多。其中半胱氨酸是牛奶中的8倍多。丝氨酸为牛奶苏氨酸具有一种焦糖的风味<sup>[12]</sup>,半胱氨酸为一种含硫氨基酸,具有可口的肉香<sup>[12]</sup>。游离氨基酸不仅能直接赋予食品以滋味,而且它也是其它风味物质的前体物质,氨基酸代谢形成的物质可以与脂类等物质进行反应。

通过对水解氨基酸的测定,不仅能检测奶中蛋白质含量的多少,而且也能了解各种氨基酸所占的比例。犛奶总的水解氨基酸含量是牛奶的2.73倍,并且几乎各种氨基酸含量都是牛奶的2倍以上(表1)。犛奶中氨基酸含量比牛奶高许多,可见其营养价值很高。

## 2.2 牛奶与犛奶脂肪酸含量的比较

脂类具有重要的代谢生理功能,脂肪酸是人体必需的一种营养素。脂肪酸可以促进细胞膜的形成,组成细胞重要的结构单元,同时它也是构成机体重要的信号物质以及能量的来源之一<sup>[13]</sup>。脂肪酸的测定以C17:0作为内标,气相色谱检测后发现,牛奶(图1)和犛奶(图2)中硬脂酸和亚油酸的含量差别最大。经过比较发现,牛奶中硬脂酸(C18:0)含量为90.93  $\mu\text{g/mL}$ ,亚油酸(C18:2)含量为77.43  $\mu\text{g/mL}$ 。犛奶中硬脂酸含量为193.96  $\mu\text{g/mL}$ ,亚油酸含量为168.82  $\mu\text{g/mL}$ ,硬脂酸和亚油酸含量都为牛奶的2倍多。亚油酸为多不饱和脂肪酸,是一种人体所必需的脂肪酸,对于降低胆固醇和预防心肌梗塞具有一

定作用<sup>[14]</sup>。

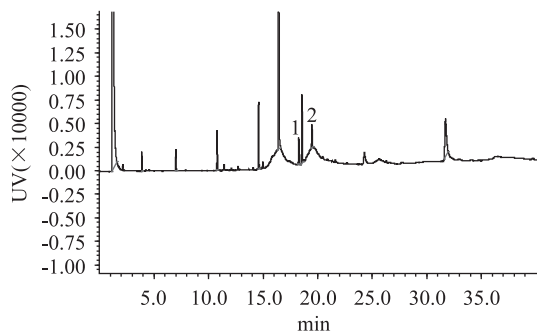


图1 牛奶中脂肪酸色谱图

Fig.1 Chromatogram of fatty acids in milk

注:1.硬脂酸(C18:0);2.亚油酸(C18:2),同2同。

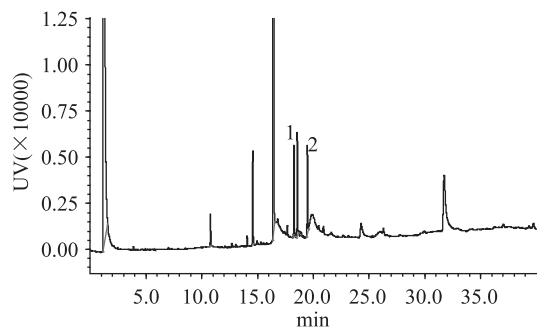


图2 犛奶中脂肪酸色谱图

Fig.2 Chromatogram of fatty acid in the Hydropotesinermis milk

## 2.3 幼犛奶胃微生物的分离

犛有两个胃,一个草胃,另一个为奶胃(图3)。奶胃在幼犛吃奶时期起重要作用,奶胃依靠大量的

表2 菌株序列比对结果  
Table 2 Sequence alignment results of strains

编号	比对结果	编号	比对结果
1	鼠乳杆菌 <i>Lactobacillus murinus</i>	2	马肠链球菌 <i>Streptococcus equinus</i>
3	台湾乳杆菌 <i>Lactobacillus taiwanensis</i>	4	巴黎链球菌 <i>Streptococcus lutetiensis</i>
5	肠道乳杆菌 <i>Lactobacillus faecis</i>	6	盲肠肠球菌 <i>Enterococcus cecorum</i>
7	乳酸乳球菌 <i>Lactococcus lactis</i>	8	大肠杆菌 <i>Escherichia coli</i>
9	融合魏斯氏菌 <i>Weissella confusa</i>	10	耐久肠球菌 <i>Enterococcus durans</i>
11	罗伊氏乳杆菌 <i>Lactobacillus reuteri</i>	12	蒙氏肠球菌 <i>Enterococcus mundtii</i>
13	无枝菌酸棒杆菌 <i>Corynebacterium amycolatum</i>	14	酪黄肠球菌 <i>Enterococcus casseliflavus</i>
15	霍氏肠杆菌 <i>Enterobacter hormaechei</i>	16	多杀巴斯德菌 <i>Pasteurella trehalosi</i>
17	肠杆菌科细菌 <i>Enterobacteriaceae bacterium</i>	18	猪链球菌 <i>Streptococcus suis</i>
19	阴沟肠杆菌 <i>Enterobacter cloacae</i>	20	反硝化硫单胞菌 <i>Brachymonas denitrificans</i>

微生物及消化酶作用于犊奶,是犊宝形成的重要场所。MRS 培养基和 PDA 培养基上生长的菌落圆润光滑,大小不一(图4)。镜检观察发现有一部分菌为杆状,革兰氏染色成紫色的菌有可能为乳酸菌,还有一些菌成球形,这些菌的菌落都不大,可以初步推断为细菌。PDA 平板上生长的菌落也不大,光滑成圆形,也为细菌。



图3 犊草胃和奶胃

Fig.3 Grass stomach and milk stomach of *Hydropotes inermis*

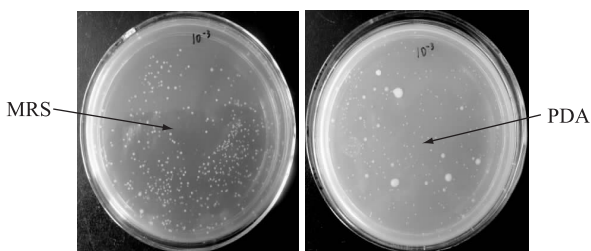


图4 *Hydropotes inermis* swinhoe 微生物在 MRS 培养基和 PDA 培养基的菌落形态

Fig.4 The colonial morphology on MRS medium and PDA medium

## 2.4 幼犊奶胃微生物的鉴定

挑选各个形态大小不同的白色菌落在 MRS 平板和 PDA 平板上三区划线。连续划线 3 次,尽可能保证所挑取的菌落为单一微生物。提取 DNA 后,扩增该细菌的 16S rDNA,测序验证后与 NCBI 数据库比对,序列相似度均大于 99%,得到结果如表 2 所示。从表中可以得出,乳杆菌和一些球菌种类最多,这些乳杆菌从命名来看都属于动物来源,有别于植物乳

杆菌。乳杆菌的存在不仅能抑制有害菌的生长,产生多种抑菌物质<sup>[15]</sup>,而且可以产生消化酶,促进犊宝的形成。肠球菌和肠杆菌在犊奶胃中数量也较多。在犊宝形成的过程中也起到一定的作用。

## 3 结论

本文对犊奶和牛奶中的游离氨基酸、水解氨基酸及脂肪酸含量进行了比较分析。比较发现,犊奶中的游离氨基酸(丝氨酸、苏氨酸、半胱氨酸)含量大于牛奶中游离氨基酸含量的 2 倍。其中半胱氨酸含量高达  $2.37 \times 10^{-4}$  mg/mL,与牛奶中的游离氨基酸形成鲜明对比,是牛奶中的 8.66 倍。水解氨基酸各个氨基酸含量都超过牛奶中的含量,总氨基酸含量为牛奶中的 2.73 倍。另外,犊奶中的硬脂酸和亚油酸含量为牛奶中的 2 倍多,增加比较明显。这些数据都说明犊奶中的营养成分物质要高于牛奶。此外,经过对犊奶胃中微生物的分离鉴定,我们获得了 20 种来源的微生物。其中,动物类的乳杆菌占大多数,另外还有肠杆菌,肠球菌等细菌,在犊宝形成的过程中提供了独特的胃酸环境,其分泌的代谢产物有效促进了犊宝的形成。本文的研究,为尽快实现犊宝的体外合成创造了条件。

## 参考文献

- [1] 夏勇,董晓岚,林昕,等.犊宝促进消化作用的实验研究[J].中国预防医学杂志,2007,8(6):738-740.
- [2] 黄对忠.犊宝治疗小儿厌食症 60 例临床观察[J].药学实践杂志,2000,18(2):68-69.
- [3] 楼晓明,章荣华,何升良,等.犊宝提取物对改善儿童生长发育功能的观察[J].浙江预防医学,2007,19(3):46-47.
- [4] 闵琛,许春娣,奚容平,等.犊乳对大鼠胃肠动力影响的研究[J].临床儿科杂志,2005,23(10):699-701.
- [5] 陈江,章荣华,顾昉,等.犊宝提取物促消化吸收作用研究[J].中国卫生检验杂志,2012,22(4):757-759.
- [6] 黄娅琳.12S rRNA 和 Cytb 基因序列测定在犊乳制品鉴定中的应用[J].四川动物,2008,27(6):1111-1114.
- [7] Bergamini CV, Hynes ER, Palma SB, et al. Proteolytic activity of three probiotic strains in semi-hard cheese as single and mixed cultures: *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus paracasei* and *Bifidobacterium lactis* [J]. International Dairy Journal, (下转第 82 页)

种氨基苯硼酸修饰化的聚联乙炔囊泡,修饰后的聚联乙炔囊泡在加入不同的阳离子表面活性剂时显现出明显的颜色变化。CTAC 由蓝色变为深红色,DTAB 由蓝色变为暗橘色,HDBAC 由蓝色变为暗紫色。当加入阴离子表面活性剂和糖类时没有任何颜色变化,非离子表面活性剂表现出很弱的颜色变化,从而成功的实现了这种氨基苯硼酸修饰的聚联乙炔囊泡对阳离子表面活性剂的特异性选择,在食品安全领域中对阳离子表面活性剂的快速检测展现出了良好的应用前景。

### 参考文献

- [1] Ryu S, Yoo I, Song S, et al. A thermoresponsive fluorogenic conjugated polymer for a temperature sensor in microfluidic devices[J]. Journal of the American Chemical Society, 2009, 131(11):3800-3801.
- [2] Sun X M, Chen T, Huang S Q, et al. Chromatic polydiacetylene with novel sensitivity[J]. Chemical Society Reviews, 2010, 39(11):4244-4257.
- [3] Chen X Q, Zhou G D, Peng X J, et al. Biosensors and chemosensors based on the optical responses of polydiacetylenes[J]. Chemical Society Reviews, 2012, 41(13):4610-4630.
- [4] 张玉新, 高希青. 表面活性剂在食品工业中的应用[J]. 食品工业科技, 1985(2):29-34
- [5] 李涛, 魏福祥. 水体中阳离子表面活性剂测定方法的研究进展[J]. 河北工业科技, 2006, 23(5):321-324.
- [6] 郭讯枝, 何剪太, 张阳德, 等. 聚丁二炔纳米粒对大肠埃希氏菌的免疫检测[J]. 中国组织工程研究, 2011, 38(15):7105-7108.
- [7] 安媛媛, 徐祖顺, 吴水林. 苯硼酸类糖敏感材料的研究进展[J]. 高分子通报, 2012(3):98-106
- [8] Gill I, Billeteros A. Immunoglobulin-polydiacetylene sol-gel nanocomposites as solid-state chromatic biosensors[J]. Angewandte Chemie - International Edition, 2003, 42(28):3264-3267.
- [9] Torchilin V P, Weissig V. In Liposomes: A practical approach. Second Edition[M]. 2003:1-396
- [10] Cheng Q, Yamamoto M, Stevens R C. Amino acid terminated polydiacetylene lipid microstructures: Morphology and chromatic transition[J]. Langmuir, 2000, 16(12):5333-5342.

(上接第 77 页)

2009, 19(8):467-475

- [8] 李爽, 陈启, 蔡明明, 等. 液相色谱法与氨基酸分析仪法测定人乳中水解氨基酸的比较研究[J]. 食品安全质量检测学报, 2014, 5(7):2073-2079
- [9] Leclercq - Perlat MN, Corrieu G, Spinnler HE. Controlled production of camembert-type cheeses: Part III role of the ripening microflora on free fatty acid concentrations[J]. Journal of Dairy Research, 2007, 74(2):218-225
- [10] Drancourt M, Bollet C, Carlizot A, et al. 16S Ribosomal DNA Sequence Analysis of a Large Collection of Environmental and Clinical Unidentifiable Bacterial Isolates[J]. Journal of Clinical Microbiology, 2000, 38(10):3623-3630
- [11] 李艳逢, 杜垒, 高菲菲, 等. 盐水鸭卤水中游离氨基酸含

[11] Lee S, Lee K M, Lee M. Polydiacetylenes bearing boronic acid groups as colorimetric and fluorescence sensors for cationic surfactants[J]. ACS applied materials & interfaces, 2013, 5(11):4521-4526.

[12] Ahn D J, Chae E H, Lee G S. Colorimetric reversibility of polydiacetylene supramolecules having enhanced hydrogen-bonding under thermal and pH stimuli[J]. Journal of the American Chemical Society, 2003, 125(30):8976-8977.

[13] Zhang H Y, Yao G P, Deng C H, et al. Facile Synthesis of Boronic Acid-Functionalized Magnetic Mesoporous Silica Nanocomposites for Highly Specific Enrichment of Glycopeptides[J]. Chinese Journal of Chemistry, 2011, 29(4):835-839.

[14] Lee J, Jeong E J, Kim J. Selective and sensitive detection of melamine by intra/inter liposomal interaction of polydiacetylene liposomes[J]. Chemical Communications, 2011, 47(1):358-360.

[15] Guo C X, Boullanger P, Liu T, et al. Size effect of polydiacetylene vesicles functionalized with glycolipids on their colorimetric detection ability[J]. The Journal of Physical Chemistry B, 2005, 109(40):18765-18771.

[16] Cheng X Q, Kang S, Kim M J, et al. Thin-film formation of imidazolium-based conjugated polydiacetylenes and their application for sensing anionic surfactants[J]. Angewandte Chemie International Edition, 2010, 49(8):1422-1425.

[17] Won S H, Lee J U, Sim S J. Fluorogenic pH-sensitive polydiacetylene(PDA) liposomes as a drug carrier[J]. Journal of nanoscience and nanotechnology, 2013, 13(6):3792-3800.

[18] Pan X J, Wang Y L, Jiang H, et al. Benzo-15-crown-5 functionalized polydiacetylene-based colorimetric self-assembled vesicular receptors for lead ion recognition[J]. Journal of Materials Chemistry, 2011, 21(11):3604-3610.

[19] Babcock L, Pizer R. Dynamics of boron acid complexation reactions. Formation of 1:1 boron acid-ligand complexes[J]. Inorganic Chemistry, 1980, 19(1):56-61.

[20] Reppy M A, Pindzola B A. Biosensing with polydiacetylene materials: structures, optical properties and applications[J]. Chemical Communications, 2007(42):4317-4338.

[21] Jelinek R, Kolusheva S. Biomolecular sensing with colorimetric vesicles[M]. Springer Berlin Heidelberg, 2007:155-180.

量的变化[J]. 江苏农业学报, 2010, 26(3):607-612.

[12] Wong Kam Huey, Abdul Aziz Suraini, Mohamed Suhaila. Sensory aroma from Maillard reaction of individual and combinations of amino acids with glucose in acidic conditions[J]. International Journal of Food Science and Technology, 2008, 43(9):1512-1519

[13] 陈银基, 鞠兴荣, 周光宏. 饱和脂肪酸分类与生理功能[J]. 中国油脂, 2008, 33(3):35-39.

[14] 肖会敏, 何悦, 杨倩, 等. GC法测定椒目仁油中油酸、亚油酸及 $\alpha$ -亚麻酸[J]. 中成药, 2011, 33(8):1361-1364.

[15] 李明雄, 李妮, 李征, 等. 动物乳杆菌的分离鉴定及其抑菌蛋白的特性分析[J]. 微生物学通报, 2009, 36(7):1001-1007.