

元宝枫油的超声提取 及其萌发前后神经酸含量分析

闫莉华¹,陈冬菊¹,李 潜¹,张 川¹,司传领^{2,3},张同存^{1,*}

(1.天津科技大学生物工程学院,工业发酵微生物教育部重点实验室,

暨天津市工业微生物重点实验室,天津 300457;

2.天津科技大学造纸学院,天津市制浆造纸重点实验室,天津 300457;

3.林木遗传育种国家重点实验室,中国林业科学院,北京 100091)

摘 要:以元宝枫种仁为研究对象,油脂得率为评价指标,通过超声功率、超声时间、料液比单因素实验,建立元宝枫油超声提取方法。同时优化元宝枫种子萌发温度,利用气相色谱法分析了萌发前后种仁油中神经酸含量的变化,并通过MTT法分析了萌发前后元宝枫种仁油对神经细胞的影响。结果表明:通过单因素确定的最佳提取工艺条件为:超声功率 200 W、超声温度 25 ℃、料液比 1:12。元宝枫种子人工萌发的最佳温度是 4 ℃,气相色谱分析显示萌发后元宝枫种仁油中神经酸含量显著上升,可达萌发前的 1.5 倍。结果显示元宝枫种仁油能够促进神经细胞的增殖,且萌发后的种仁油作用更强。

关键词:元宝枫,超声辅助提取,神经酸,萌发,增殖

Ultrasonic extraction of *Acer truncatum* Bunge oil and the analysis of the nervonic acid content during the germination

YAN Li-hua¹, CHEN Dong-ju¹, LI qian¹, ZHANG Chuan¹,

SI Chuan-ling^{2,3}, ZHANG Tong-cun¹, LUO Xue-gang^{1,*}

(1.Key Laboratory of Industrial Fermentation Microbiology of the Ministry of Education, Tianjin Key Laboratory of Industrial Microbiology, College of Biotechnology, Tianjin University of Science & Technology, Tianjin 300457, China;

2.Tianjin Key Laboratory of Pulp & Paper, Tianjin University of Science & Technology, Tianjin 300457, China;

3.State Key Laboratory of Tree Genetics and Breeding, Chinese Academy of Forestry, Beijing 100091, China)

Abstract: Firstly, the effect of ultrasonic power, extracting temperature and the solid-liquid ratio on oil yield of *Acer truncatum* Bunge oil was established. The appropriate temperature of artificial germination of seeds was also investigated. The content of nervonic acid in the seeds oil was detected by GC analysis. The effect of the seed oil on the proliferation of nerve cells was detected by MTT. As the results shown, the optimal extraction conditions were as follows: ultrasonic power 200 W, extracting temperature 25 ℃, the solid-liquid ratio 1:12. The seeds of *Acer truncatum* Bunge were germinated at 4 ℃. The results of GC analysis showed that the content of nervonic acid was significantly increased to 1.5 fold after the germination. Nervonic acid could promote the growth of nerve cells, and the oil from the germinated seeds of *Acer truncatum* Bunge was stronger than the dormant seed oil.

Key words: *Acer truncatum* Bunge; ultrasonic-assisted extraction; nervonic acid; germination; proliferation

中图分类号:TS255.1

文献标识码:B

文章编号:1002-0306(2017)16-0178-05

doi:10.13386/j.issn1002-0306.2017.16.033

元宝枫(*Acer truncatum* Bunge)又称元宝槭、华北五角槭、色树、五角树、枫香树,为槭树科(Aceraceae)

的落叶乔木,被称为“生命之树”^[1-2]。元宝枫是只存在于我国的植物,因翅果像我国古代的元宝而得

收稿日期:2017-01-03

作者简介:闫莉华(1990-),女,研究生,研究方向:功能因子的研究与开发,E-mail:yanlihua90@163.com。

* 通讯作者:罗学刚(1981-),男,博士,教授,研究方向:益生菌及功能产品开发与分子药理学研究,E-mail:luoxuegang@tust.edu.cn。

基金项目:林木遗传育种国家重点实验室(中国林业科学院)开放基金(TGB2016002);林木遗传育种国家重点实验室(东北林业大学)开放基金(K2013101);国家高技术研究发展计划(863 计划)资助项目(2012AA022108);长江学者和创新团队发展计划资助项目(IRT1166);天津科技大学生物工程学院工业发酵微生物教育部重点实验室暨天津市工业微生物重点实验室(天津科技大学)开放基金(2016IM003)。

名^[3-4]。作为一种优质的木本油料,种仁含油量约达50%,其中约含6.0%的神经酸使其价值远高于其它油料,因此元宝枫油已于2011年被我国卫生和计划生育委员批准为新资源食品^[5-6]。

神经酸是目前已发现的唯一能促进受损神经组织修复和再生的天然活性物质,是大脑神经纤维和神经细胞的核心天然成分,在脑组织和神经组织中含有很高,是发育大脑所需的必需营养元素,对提高脑神经的活跃程度有很大作用^[7-9]。但是神经酸最早发现于鲨鱼的神经组织中,由于鲨鱼数量稀少,并且大规模捕杀鲨鱼会破坏生态系统,导致神经酸的获取受到限制^[10-12]。目前神经酸的生产方法主要有天然提取法、有机化学合成法及生物催化合成法等。其中,有机化学合成法主要是将芥酸甲酯等通过化学合成的方法得到神经酸,这类方法合成得率较低,副产物较多^[13];生物催化合成法则以酶为催化剂或直接采用微生物发酵的方式,以芥酸等作为底物进行生物催化合成,这类方法因工艺路线较长、得率低而缺乏实用性^[14-15]。随着油脂化学的发展,科学家们检测出某些植物的果实和种子油中富含神经酸,这一发现使得以植物等非保护性生物资源为原料的天然提取法更加为人们所重视^[16-19]。

本研究以富含神经酸的元宝枫种子为研究材料,探索其种仁油提取率及种子萌发的最适条件,通过超声提取、气相分析等方法,探讨元宝枫种子萌发过程中神经酸含量变化及其对神经细胞的作用,以期生产相关药物、保健品的开发提供新思路。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

元宝枫种子 陕西省杨凌金道种子分公司;石油醚(沸程60~90℃) 江天化工;大鼠神经胶质瘤细胞C6 购自中国科学院典型培养库保藏委员会细胞库;D-MEM/低糖培养基 Life Technologies Gibco 公司;Nervonic acid - analytical standard SIGMA - ALDRICH 中国分公司;MTT 索莱宝生物技术公司;正己烷、二甲基亚砜(DMSO) 为国产分析纯。

JJ200 型精密电子天平 上海精天仪器有限公司;7890A 气相色谱仪 Agilent 公司;HF-10B 超声提取器 弘龙祥生物技术有限公司;R-3 HB 旋转蒸发仪 BUCHI 公司;SHZ-D(Ⅲ)型循环水真空泵 巩义市英峪高科仪器厂。

1.2 实验方法

1.2.1 元宝枫种仁油超声提取法的建立

1.2.1.1 工艺流程 准确称取经高速粉碎机充分研磨的元宝枫种仁粉5.0 g,粉颗粒度约为1.0 mm,放入带盖的容器中,用石油醚(沸程60~90℃)为提取剂,进行超声波辅助提取,提取结束后用减压抽滤法将提取液与残渣分离,收集所得滤液置于-0.08 MPa,转速为120 r/min 的真空旋转蒸发仪中蒸发,并在35℃水浴中将溶剂挥发后得油脂,再置于干燥器中至恒重,称取提取油脂的重量,计算油脂得率。

1.2.1.2 超声提取参数的确定 本实验选择超声功率、超声温度、料液比为研究因素。a.超声功率的确定:

在提取溶剂为石油醚溶液,料液比1:12(m:v),超声温度25℃,超声时间40 min 的条件下,考察超声功率50、200、350、500 W 对元宝枫种仁粉残留油脂提取的影响;b.超声温度的确定:在提取溶剂为石油醚溶液,料液比1:12(m:v),超声功率200 W,超声时间40 min 的条件下,考察超声温度15、25、35、45、55℃对元宝枫种仁粉残留油脂提取的影响;c.料液比的确定:在提取溶剂为石油醚溶液,超声功率200 W,超声温度25℃,超声时间40 min 条件下,考察料液比(m:v)1:4、1:8、1:12、1:16、1:20 对元宝枫种仁粉残留油脂提取的影响,其他程序如上。每组实验重复3次,计算油脂得率,取平均值。

1.2.1.3 油脂得率的计算

油脂得率(%) = 提取油脂质量/元宝枫种仁粉质量 × 100

1.2.2 种子萌芽处理及萌芽率的测定 选取饱满的元宝枫种子,进行无菌消毒,置于45℃烘箱中30 min,然后再在25℃生化培养箱中放置36 h(每隔6 h 换一次灭菌水)进行催芽处理;将处理后的元宝枫种子均匀放置在平皿中,并分别在4、15、25℃下避光培养,每隔3 d 查看一下种子的萌发情况,并对其进行记录,计算其发芽率。

1.2.3 气相色谱(GC)法分析元宝枫种仁萌发前后神经酸含量变化 将萌发前后的元宝枫种仁去壳,超声破碎后取混匀的神经酸油样0.6 mL 于15 mL 离心管中,加入5 mL 正己烷,摇匀,再加入0.25 mL 2 mol/L KOH-CH₃CH₂OH 溶液,65℃恒温孵育1 h,400 r/min 摇动。冷却至室温,静置20 min,取上清。

选用色谱柱为HP-5,汽化室温度270℃,氢火焰离子化检测器(FID)温度320℃,色谱柱温度200℃,载气为高纯氮气,分流比为1:50,进样量为1.0 μL。

程序升温:初始温度200℃,以2℃/min 升至230℃,再以8℃/min 升至270℃,保持15 min。

1.2.4 MTT 法检测元宝枫油对神经细胞的作用 用含10%胎牛血清的DMEM 培养基,收集细胞,稀释细胞浓度为1 × 10⁵/mL 的C6 细胞100 μL 接种于96 孔细胞培养板中,分别加入5 × 10⁻⁷、5 × 10⁻⁸、5 × 10⁻⁹、5 × 10⁻¹⁰ g/mL 不同浓度梯度的神经酸标品、对照组(DMSO)、元宝枫种仁油,于37℃、5% CO₂ 的培养箱中培养48 h,用MTT 法在490 nm 波长测定细胞密度。增殖倍数的计数公式如式(2)所示(A 代表吸光度):

$$\text{增殖倍数} = \frac{A_{570} \text{加药} - A_{630} \text{加药}}{A_{570} \text{对照} - A_{630} \text{对照}} \quad \text{式(2)}$$

1.2.5 数据分析 每个样品设3个平行,测定结果以平均值 ± 标准差表示,采用Origin 8.0 软件进行数据统计分析,以p < 0.05 为差异显著。

2 结果与讨论

2.1 元宝枫油超声提取方法的建立

2.1.1 超声功率的选择 由图1可知,其他条件不变,随着超声波功率的增大,元宝枫种仁油得率增加,在超声功率200 W 时,油脂得率最大,达到

28.88% ± 3.11%。随着功率继续增加,油脂得率反而下降。液体空化作用越强烈,植物细胞壁破裂越容易,从而分子扩散速度越大,加快了脂溶性物质的溶出速度。但当空化趋于饱和时,即超过 200 W 功率,得率会略有所下降。

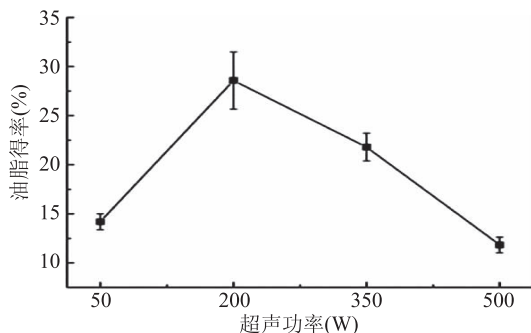


图1 不同超声功率对得率的影响

Fig.1 The impact of different ultrasonic power for oil extraction rate

2.1.2 超声温度的选择 超声温度对元宝枫种仁油得率的影响如图2所示。在 25 ℃ 时,油脂得率最大,达到 37.46% ± 4.40%。但当超声温度超过 25 ℃ 后,油脂得率呈现下降趋势,可能由于超声温度过高,从而加快了溶剂挥发,导致油脂渗出率降低。

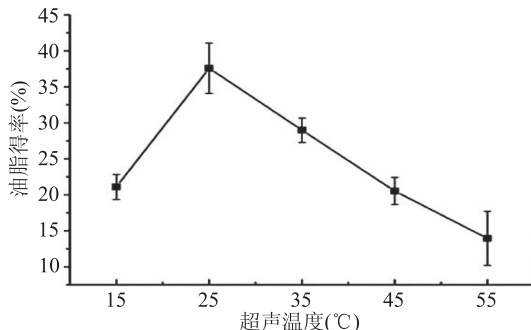


图2 不同超声温度对得率的影响

Fig.2 The impact of different ultrasonic temperature for oil extraction rate

2.1.3 料液比的选择 由图3可知,在一定物料的前提下,随着料液比例增加,种仁粉与溶剂的接触面浓度差增大,脂溶性成分渗出率增大。当达到 1:12 时,油脂得率最大,达到 37.59% ± 3.46%。此后,油脂浸出几乎饱和,使得浸出率下降。

根据上述实验结果,将元宝枫种仁油的超声提取参数分别确定为:超声功率 200 W、超声温度 25 ℃、料液比 1:12。在此条件下再次重复验证三次,结果显示元宝枫种仁油得率为 32.83% ± 1.85%。

2.2 元宝枫种子萌芽条件的确定

文献报道[21-23],元宝枫种子适宜在较低温度下萌发,故本文摸索了元宝枫种子发芽的最佳温度,分别测定了 4、15、25 ℃ 三个温度下,42 d 内 200 粒元宝枫种子的发芽率。通过对不同天数萌发种子计数,本文绘制了元宝枫种子在三个不同培养温度下的发芽率曲线,由图4可知,元宝枫种子在 4 ℃ 下发芽率最高,而且生长状况良好。故本文选择 4 ℃ 作为元宝枫的发芽温度进行后续实验。

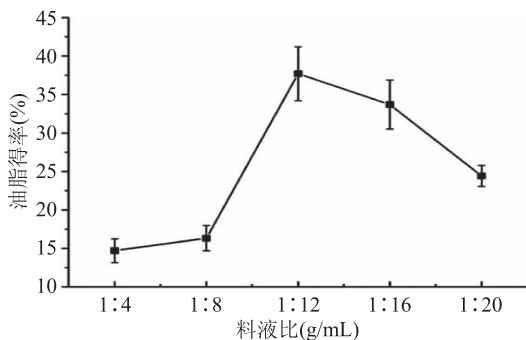


图3 不同料液比对得率的影响

Fig.3 The impact of different solid-liquid ratio for oil extraction rate

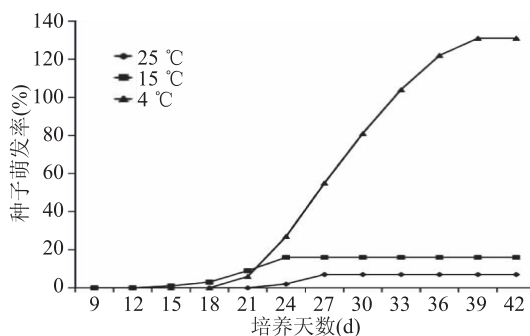


图4 元宝枫种子的萌发曲线

Fig.4 Germination curve of *Acer truncatum* Bunge seeds

2.3 元宝枫种仁萌发前后神经酸含量变化分析

本研究推测在元宝枫种子萌发中很可能伴有神经酸含量的增加,为证实这一点,本文利用气相色谱法检测了其萌发前后的含量差异。由神经酸标品的气相色谱分析可知,神经酸的保留时间约为 21.5 min,如图5(a)所示。故本文对比了萌发前后元宝枫种仁油中,神经酸含量的差异如图5(b、c)所示。对比萌发过程中,神经酸含量变化,萌发前,1 g 的元宝枫种仁可以提取 805.86 μg 神经酸;萌发后,1 g 的元宝枫种仁可以提取 1245.81 μg 神经酸。结果表明,萌发后的元宝枫种仁油中神经酸含量上升,约达到萌发前 1.5 倍。从表达水平证明了元宝枫种子的萌发过程中长链不饱和脂肪酸的含量也是随之增加的。

2.4 MTT 法检测元宝枫种仁油对神经细胞的作用

文献报道[24-27],神经酸对神经细胞的增殖具有促进作用。故为了探讨元宝枫萌发后种仁油是否能够促进神经细胞的增殖,本文利用 MTT 法检测了元宝枫萌发前后种仁油处理的 C6 神经细胞的细胞活性。结果如图6所示。由图6可知,神经酸标准品可剂量依赖性促进 C6 神经细胞增殖。在均为 1×10^{-7} (V/V) 用量下,未萌发的元宝枫种仁油未能促进 C6 神经细胞增殖,而萌发后的元宝枫种仁油,则有明显的促进作用,究其原因,可能是萌发前神经酸含量较低而萌发后神经酸含量升高有关。

3 结论

本论文以元宝枫种仁为研究对象,首先确定了元宝枫种仁油的超声提取条件为超声功率 200 W、超

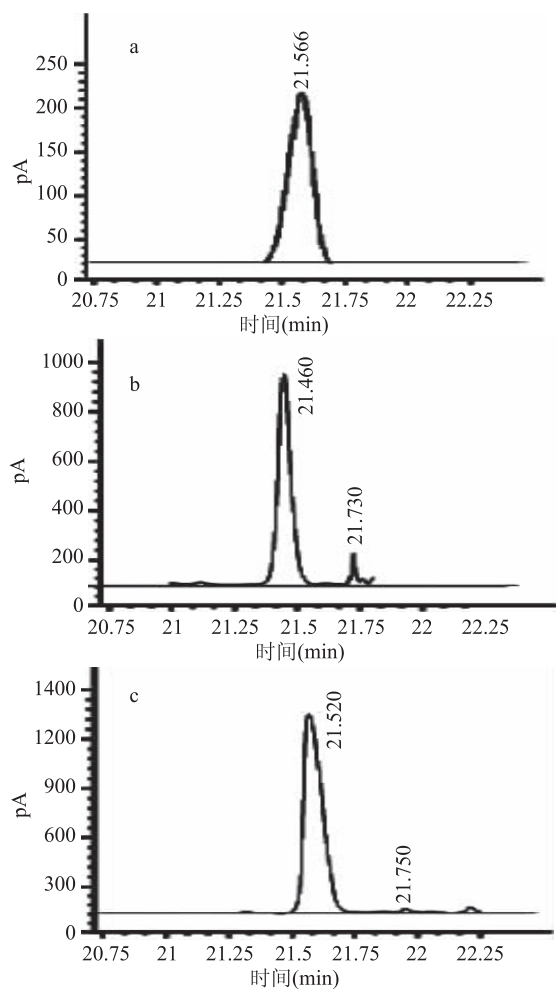


图5 萌发前后元宝枫种仁油的气相色谱分析

Fig.5 The analysis of nervonic acid in the *Acer truncatum* Bunge oil before and after germination by gas chromatography

注:a.神经酸标准品;b.萌发前元宝枫种仁油;
c.萌发后元宝枫种仁油。

声温度 25 ℃、料液比 1:12,在此条件下元宝枫种仁油得率为 32.83% ± 1.85%。对萌发前后种仁油的性质进行了分析,在此研究过程中得到如下结论:元宝枫种子在 4 ℃下发芽率最高,而且生长状况良好;萌发后的元宝枫种仁油中神经酸含量有明显上升;以神经酸标准品为对照,发现萌发后的元宝枫种仁油能够增强 C6 细胞的细胞活性。这些研究提示低温促萌发处理或许可以作为提高元宝枫提取制备神经酸得率的一个有效的前处理手段,从而为相关药品及功能食品的研发提供了新的参考。此外,本研究也为深入了解元宝枫种仁萌发过程中的脂肪酸的生物合成奠定了一定基础。

参考文献

[1] 吴裕,段安安.元宝枫研究现状及未来发展趋势[J].西南林学院学报,2006,26(3):71-74.
[2] 傅立国,陈潭清,郎楷永,等.中国高等植物(第八卷)[M].青岛:青岛出版社,2001:319.
[3] 顾振瑜,胡景江,文建雷,等.元宝枫对干旱适应性研究[J].西北林学院学报,1999,14(2):1-6.

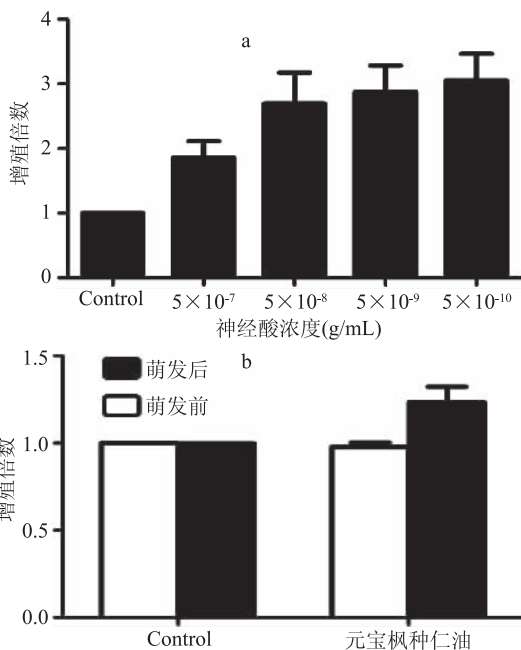


图6 萌发前后元宝枫种仁油对 C6 神经细胞增殖能力的影响

Fig.6 The effect of *Acer truncatum* Bunge oil before and after germination on the proliferation of C6 nerve cells

注:a.神经酸标准品;b.萌发前后的元宝枫种仁油。

[4] 王性炎,王淑清,李艳菊.元宝枫开发利用研究[M].西安:陕西科学技术出版社,1996:17-21.
[5] 刘祥义,付惠,张加研.云南元宝枫种子含油量及其脂肪酸成分分析[J].天然产物研究与开发,2003,15(1):38.
[6] 史宣明,陈燕,夏辉,等.从元宝枫油中提取神经酸并制备生物柴油的技术研究[J].粮油工程,2012,19(5):16-20.
[7] 呼晓妹.元宝枫中仁油的提取及其神经酸分离纯化的研究[D].北京:北京林业大学,2009,12(1):1-16.
[8] Sargent JR, Coupland K, Wilson R. Nervonic acid and demyelinating disease [J]. Medical Hypotheses, 1994, 42 (4): 237-242.
[9] Eiji O, Katsuharu H, Jun K, et al. Relationships Between Serum Unsaturated Fatty Acids and Coronary Risk Factors: Negative Relations Between Nervonic Acid and Obesity-Related Risk Factors[J].Int Heart J,2005,46(6):975-985.
[10] Yuya Y, Kazuya K, Ryouta M, et al. The Proportion of Nervonic Acid in Serum Lipids is Associated with Serum Plasmalogen Levels and Metabolic Syndrome[J].Journal of Oleo Science,2014,63(5):527-537.
[11] Yoshiyuki M,Shonen Y,Akio M,et al.The inhibitory action of fatty acids on DNA polymerase β [J].Biochimica et Biophysica Acta,1997,1336:509-521.
[12] Umemoto H, Sawada K, Kurata A, et al. Fermentative production of nervonic acid by *Mortierella capitata* RD000969 [J]. Journal of Oleo Science,2014,63(7):671-679.
[13] Hale J B,Lycan W H.Synthesis of nervonic acid[J]. J Am Chem Soc,1930(52):4536-4539.
[14] Sandhir R,Khan M,Chahal A.Localization of nervonic acid biooxidation in human and rodent peroxisomes;impaired exoxidation in Zellweger syndrome andX-linked adrenoleukodys-trophy[J].

(下转第 188 页)

3 结论

本实验以单因素为基础,通过采用 Box-Behnken 实验设计与响应面分析对超声波提取鸡蛋枣原花青素工艺优化,得到了最佳工艺:超声时间 16 min、超声功率为 618 W、超声温度为 65 ℃、料液比为 1:21,得到鸡蛋枣原花青素提取率可以达到 1.82%。与理论预测值相比,其相对误差约为 0.01%,重复性好,说明该模型显著,准确可靠。体外抗氧化实验表明,鸡蛋枣原花青素对 DPPH、羟基自由基的清除效果显著,且其还原力极佳,综合而言优于 V_C。

参考文献

- [1] 郭盛,段金庭,唐于平,等.中国枣属药用植物资源化学研究进展[J].中国现代中药,2012,14(8):1-5.
- [2] 丁胜华,王蓉蓉,吴继红,等.枣果实中生物活性成分与生物活性的研究进展[J].现代食品科技,2016(5):332-348.
- [3] 李勇革.发展“鸡蛋枣”前景光明[J].农家科技,2001(2):41-42.
- [4] 李一凡,王凤玲,唐艳冲.响应面法优化超声波辅助提取玫瑰香葡萄中芪化物的工艺条件[J].食品工业科技,2016,37(20):258-262.
- [5] 孙智达,石翠芳,杨尔宁,等.沙枣果肉原花青素的提取、纯化及清除·OH 能力初探[J].食品工业科技,2006(9):88-90.
- [6] Xiao L X, Zhi-Gui H E, Zhu Y, et al. Optimization of Proanthocyanidin Extraction from Grape Seed[J].Food Science, 2011,32(20):89-94.
- [7] 李佳桥,余修亮,曾林晖,等.响应面实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.
- [8] 徐亚维,赵杨.山东小枣中原花青素的提取及纯化研究[J].江苏农业科学,2010(6):468-470.

(上接第 181 页)

- Lipid Research,1998,39:2161-2171.
- [15] 朱东升,何庆国.神经酸的研究进展[J].油脂工程,2007,34(5):65-66.
 - [16] 曹永孝,刘静,刘千勇,等.元宝枫单宁的镇静、催眠、镇痛、抗凝血和止泻作用[J].中药药理与临床,1993,9(特刊):50.
 - [17] 李志云,曾凡骏,曾里.元宝枫的综合开发利用[J].食品与发酵,2004,30(6):90-93.
 - [18] 王性炎.化妆品工业的优质原料—元宝枫油[J].中国油脂,2013,38(7):5-7.
 - [19] 刘琳,杨东福,严胜骄,等.神经酸研究进展[J].云南化工,2009,35(4):40-43.
 - [20] Tanaka K, Shimizu T, Ohtsuka Y, et al. Early dietary treatments with Lorenzo's oil and docosahexaenoic acid for neurological development in a case with Zellweger syndrome[J]. Brain and Development,2007,29(9):586-589.
 - [21] 贺浪冲,高雯.元宝枫油乳液对艾氏腹水癌小鼠的抗肿瘤作用[A].元宝枫开发利用研究[M].西安:陕西科学技术出版社,1996.

- [9] 张娜,雷芳,马娇,等.蒸制对红枣主要活性成分的影响[J].食品工业,2017(1):138-141.
- [10] 游凤,黄立新,张彩虹,等.冬枣各成熟阶段果皮酚类含量变化及其对 DPPH 自由基清除能力的影响[J].食品科学,2013,34(19):62-66.
- [11] 李华,肖付才,袁春龙,等.铁盐催化比色法测定葡萄籽超微粉中的原花青素[J].食品研究与开发,2007,28(9):114-117.
- [12] 吴小燕,王仁才,石浩,等.小米枣黄酮、多糖及其复配物体外抗氧化性评价[J].中南药学,2016(10):1070-1074.
- [13] 张艳,段雪芹,高刚,等.响应面法优化姜黄素的提取工艺及其抗氧化活性的研究[J].食品工业科技,2015,36(6):269-273.
- [14] 朱丽蓉,吴萍萍,杨大伟,等.杜仲雄花茶多糖的响应面优化提取及其抗氧化活性评价[J].食品工业科技,2015,36(3):199-203.
- [15] Guo Y, Guo L, Qilin H U. Optimization of Extraction Process Proanthocyanidins Ultrasonic Method with Response Surface Methodology[J].Journal of Shanxi University,2015.
- [16] Liu X. Ultrasonic Extraction of Proanthocyanidins from SEMEN LITCHI[J].Jornal of Anh Agrlral N,2011.
- [17] 郑洪亮,何飞,腾飞,等.红皮云杉球果原花青素提取优化及抗氧化活性评价[J].食品工业科技,2014,35(10):258-263.
- [18] Zhang Y. Study on Ultrasonic Extraction and Ultrafiltration Membrane Separation of Pine Bark Proanthocyanidins[J].Forestry Science & Technology,2013.
- [19] 刘新,陈卫中,韩琴.响应面法优化超声波辅助提取芒果核中原花青素的研究[J].食品工业科技,2012,33(3):227-231.

- [22] 黄相中,李聪,古昆,等.元宝枫叶提取物的稳定性及抗氧化性活性研究[J].云南大学学报:自然科学版,2003,25(5):442-445.
- [23] 李燕军.元宝枫(*Acer truncatum* Bunge)种子休眠类型与休眠解除方法的研究[D].云南:中国科学院研究生院(西双版纳热带植物园),2009.
- [24] 傅颖,王茵等.神经酸的急性毒性和致突变性研究[J].浙江预防医学,2005,17(12):13-15.
- [25] 王性炎,王姝清.神经酸研究现状与应用前景[J].中国油脂,2010,35(3):1-4.
- [26] 韩锋,王建民,邓邵清,等.食品添加剂新品种—神经酸对改善记忆的影响及在益智食品方面的应用研究进展[J].乳业导刊,2003(1):18-20.
- [27] Gylfason GA, Knútsdóttir E, ásgéirsson B. Isolation and biochemical characterisation of lipid rafts from Atlantic cod (*Gadus morhua*) intestinal enterocytes[J].Comp Biochem Phys B,2010,155(1):86-95.