

Study on the chemical constituents of Areca nut

by

ZENG Qi

A Thesis Submitted in Partial Satisfaction of the

Requirements for the Degree of

Master of Engineering

in

Processing and Storage of Agriculture Products Engineering

in

Central South University of Forestry and Technology

498 Shaoshan South Road, Tianxin District

Changsha Hunan 410004, P.R.CHINA

Supervisors

Professors LI Zhong-hai and Zhong Hai-yan

May, 2007



Y1848016

中南林业科技大学

学位论文原创性声明

本人郑重声明：所呈交的论文是本人在导师的指导下独立进行研究所取得的研究成果。除了文中特别加以标注引用的内容外，本论文不包含任何其他个人或集体已经发表或撰写的成果作品，也不包含为获得中南林业科技大学或其他教育机构的学位或证书所使用过的材料。对本文的研究作出重要贡献的个人和集体，均已在文中以明确方式表明。本人完全意识到本声明的法律后果由本人承担。

作者签名： 曾琪

2007年 6月 1日

中南林业科技大学

学位论文版权使用授权书

本学位论文作者完全了解学校有关保留、使用学位论文的规定，同意学校保留并向国家有关部门或机构送交论文的复印件或电子版，允许论文被查阅或借阅。本人授权中南林业科技大学可以将本学位论文的全部或部分内容编入有关数据库进行检索，可以采用影印、缩印或扫描等复制手段保存和汇编本学位论文。

本学位论文属于：

- 1、 保密 ☐，在 年解密后适用本授权书。
- 2、 不保密 ☒.

(请您在以上相应方框打“√”)

作者签名： 曾琪

2007年 6月 1日

导师签名：

2007年 6月 1日

摘 要

槟榔是棕榈科(Palmae)植物槟榔(*Areca catechu* Linn.)的成熟种子,是仅次于烟草、酒精和咖啡因的世界上第四种被广泛使用的嗜好品,在我国则是作为一种常用中药广泛用于临床医学,而在湖南等地区,经过加工的商品槟榔十分流行。因此,深入、系统地对槟榔化学成分的研究分析是具有十分重要的意义。

本实验以海南槟榔、台湾槟榔、越南槟榔鲜果为原料,测定水分、灰分。将3种槟榔在45℃烘干,取果皮、果核粉碎过60目筛,测定3种槟榔的槟榔碱、脂肪酸、氨基酸、无机元素,其主要结果如下:

通过单因素实验和正交实验确定了乙醚超声提取槟榔碱的最佳提取条件:提取时间30 min,功率80 w,料液比(w/v)为1:12。对乙醚超声提取和乙醚加热浸提做了比较,结果显示:超声提取优于溶剂提取。

采用GC-MS分析了槟榔中的槟榔碱,以保留时间、质谱定性,外标法定量。GC-MS测定槟榔碱相对标准偏差2.56%,方法回收率98.6~102.6%。GC-MS对3种槟榔果皮和果核的槟榔碱含量进行了测定,测定结果与容量法进行比较。结果显示GC-MS测得槟榔碱含量为0.12~0.38%,容量法测得的槟榔碱含量为0.32~0.56%。容量法测得的槟榔碱还包括了槟榔中其它的生物碱。两种方法测得的样品中槟榔碱含量高低都是:越南槟榔果核>海南槟榔果核>台湾槟榔果核>台湾槟榔果皮>越南槟榔果皮>海南槟榔果皮。

采用GC-MS测定了3种槟榔果皮和果核中的脂肪酸组成和相对含量,并用主成分分析法对3种槟榔果皮和果核脂肪酸进行综合评价。结果表明:槟榔含辛酸、癸酸、月桂酸、肉豆蔻酸、棕榈油酸、棕榈酸、十七酸、亚油酸、亚麻酸、油酸、硬脂酸。棕榈酸含量27.70~42.28%,亚油酸29.3~33.80%,油酸含量10.15~29.50%,不饱和脂肪酸占总脂肪酸含量51.74~66.84%。槟榔的特征脂肪酸为棕榈酸、油酸、亚油酸、硬脂酸、辛酸、癸酸、月桂酸。3种槟榔果皮和果核脂肪酸综合评价高低为:台湾槟榔果核>台湾槟榔果皮>海南槟榔果皮>越南槟榔果皮>越南槟榔果核>海南槟榔果核。

采用OPA柱后衍生法,高效液相色谱氮测定和分析3种槟榔的氨基酸。结果表明:槟榔含有14种氨基酸,7种必需氨基酸,其中谷氨酸、缬氨酸、亮氨

酸、组氨酸、苯丙氨酸含量较高。海南槟榔、台湾槟榔、越南槟榔氨基酸含量分别为 5.41%、6.06%、5.49%。

测定和比较了 3 种槟榔果皮和果核中几种营养成分。结果表明：3 种槟榔果皮和果核中蛋白质和还原糖的质量分数均没有显著差异；而果核和果皮的粗脂肪质量分数全部达到差异显著水平。测定了 3 种槟榔中的无机元素，结果表明：3 种槟榔均含有多种人体必需的微量元素 Fe、Cu、Mn、Zn 和常量矿质元素 K、Ca、Mg。

关键词：槟榔；GC-MS；槟榔碱；脂肪酸；氨基酸；液相色谱；无机元素；

ABSTRACT

Areca nut is a fruit of *Areca cathchu* Linn., one of the palm species, and it is the most commonly used addictions in the world after tobacco, ethanol and caffeine. In China, it is widely used as a common herbal medicine in clinical medicine. But the commercial chewing nut has been occupied the prevalent market share in Hunan province. Therefore, it's important to study on the chemical constituents of areca nut deeply and systematically.

In this study, the areca nut from Hainan, Taiwan and Vietnam were used as the raw material. The arecoline, fatty acid, amino acid, inorganic elements of areca nut were determined and analysed.

The arecoline of areca nut was extracted of aether with experiments designs of the single factor and orthogonal test. The result showed that the optimum conditions of supersonic extraction technique at 30min, 80w, 1 : 12(solid/liquid,w/v). After comparing the ordinary extraction with the supersonic extraction, we found the supersonic extraction was superior.

The arecoline of areca nut was determined by GC-MS. It was qualitatively analyzed by RT(retention time) and GC-MS, it was quantitatively analyzed by ES(external standard). Recovery and relative standard deviation of this method were 2.56% and 98.6~102.6%. The arecoline of Hainan, Taiwan and Vietnam areca nut were determined and it was compared to the capacity method. The result showed that the content of arecoline was from 0.12% to 0.38% by GC-MS while it was from 0.32~0.56% by capacity method. The content of arecoline by capacity method included other alkaloid in areca nut. The content of arecoline by GC-MS and capacity method from high to low were all: Vietnam seeds, Hainan seeds, Taiwan seeds, Taiwan peels, Vietnam peels, Hainan peels.

The composition and relative contents of fatty acid in areca nut were determined by GC-MS. The fatty acid was appraised by principal component analysis. The result showed that areca nut contain octanoic acid, capric acid, lauric acid, tetradecanoate acid, palmitoieic acid, palmitic acid, heptadecanoic acid, linoleic acid, linolenic acid, oleic acid, stearic acid. The relative contents of palmitic

acid, linoleic acid, oleic acid were 27.70~42.28 %, 29.3~33.80 %, 10.15~29.50 %. The unsaturated fatty acids were 51.74~66.84%. The characteristic fatty acid were palmitic acid, linoleic acid, stearic acid, octanoic acid, capric acid, lauric acid. The appraisement of fatty acid from high to low is: Taiwan seeds, Taiwan peels, Hainan peels, Vietnam peels, Vietnam seeds, Hainan seeds.

A method for determining amino acid by post-column derivatization liquid chromatography with fluorescent detection was studied. The result showed that the areca nut contained 14 kinds of amino acid, 7 kinds of essential amino acids. The content of glutamic acid, valine, leucine, histidine, phenylalanine were higher. Total amino acid of Hainan, Vietnam, Taiwan areca nut were 5.41%, 6.06%, 5.49%, respectively.

The nutrition content of peels and seeds of Hainan, Vietnam, Taiwan areca nut were determined and compared. The result showed: The peels had not positive linear correlation with the seeds on protein and reductive sugar; the peels had positive linear correlation with the seeds on fat. The inorganic elements of areca nut were determined, the result showed: Hainan, Vietnam, Taiwan areca nut all contained Fe, Cu, Mn, Zn which were necessary for human beings and constant mineral element such as K, Ca, Mg.

Key Words: *Areca catechu* Linn; Areca nut; GC-MS; Arecaline; Fatty acid; Liquid chromatogram Amino acid; Inorganic elements.

目 录

摘 要	I
ABSTRACT	III
1 绪论	1
1.1 槟榔概况	1
1.1.1 槟榔种属	1
1.1.2 槟榔的生境与分布	2
1.1.3 槟榔的食用情况	2
1.1.4 槟榔的产销情况	3
1.2 独特的槟榔文化	4
1.2.1 独特的东南亚槟榔文化	4
1.2.2 独特的台湾槟榔文化	5
1.2.3 海南的绿色槟榔文化	5
1.2.4 湖南槟榔文化	5
1.3 槟榔的化学成分国内外研究	6
1.3.1 常规成分的研究	6
1.3.2 槟榔生物碱的研究	7
1.3.3 酚类物质的研究	9
1.4 槟榔生理效应研究进展	10
1.4.1 药理作用和临床应用	10
1.4.2 生物碱的药理作用和临床应用	10
1.4.3 酚类物质的药理作用和临床应用	12
1.4.4 毒性与副作用研究现状	13
1.5 目前对槟榔开发与研究存在的主要问题	13
2 超声提取槟榔中的槟榔碱	15
2.1 材料与方法	15
2.1.1 实验材料	15
2.1.2 实验方法	15
2.2 结果与讨论	17
2.2.1 超声提取槟榔碱的单因素实验	17

2.2.2 超声提取槟榔碱的正交实验及数据分析	19
2.2.3 提取方法的比较	20
2.3 小结	20
3 GC-MS 分析槟榔中的槟榔碱.....	21
3.1 材料与方法	21
3.1.1 实验材料.....	21
3.1.2 实验方法.....	21
3.2 结果与讨论	22
3.2.1 GC-MS 对样品中槟榔碱的定性分析	22
3.2.2 槟榔碱的定量分析.....	26
3.2.3 GC-MS 测定样品中槟榔碱的含量	28
3.2.4 GC-MS 与容量法测定槟榔碱的比较	29
3.3 小结	29
4 槟榔脂肪酸成分分析.....	31
4.1 材料与方法	31
4.1.1 实验材料.....	31
4.1.2 实验方法.....	31
4.2 结果与讨论	32
4.2.1 槟榔脂肪酸组成	32
4.2.2 脂肪酸主成分分析.....	41
4.3 小结	45
5 槟榔中氨基酸的提取与分析	46
5.1 材料与方法	46
5.1.1 实验材料.....	46
5.1.2 实验方法.....	46
5.2 结果与讨论	47
5.2.1 氨基酸标准色谱图与槟榔氨基酸色谱图	47
5.2.2 样品氨基酸含量的测定	48
5.2.3 分离条件的选择	50
5.3 小结	51
6 槟榔常规成分分析	53
6.1 材料与方法.....	53

6.1.1 实验材料.....	53
6.1.2 实验方法.....	53
6.2 结果与讨论.....	53
6.2.1 几种常规成分测定与分析.....	53
6.2.2 无机元素含量测定与分析.....	54
6.3 小结.....	56
7 结论与展望.....	57
7.1 结论.....	57
7.1.1 槟榔碱的超声提取工艺研究.....	57
7.1.2 GC/MS 测定槟榔中槟榔碱的含量.....	57
7.1.3 GC/MS 测定和分析槟榔中的脂肪酸.....	57
7.1.4 槟榔氨基酸含量的测定和分析.....	58
7.1.5 槟榔常规成分的测定和分析.....	58
7.2 展望.....	58
7.3 本研究的创新点.....	59
参 考 文 献.....	60
附录 A:攻读学位期间的主要学术成果.....	67
致谢.....	68

1 绪论

槟榔(*Areca nut*, *Betel nut*) 是棕榈科(*Palmae*)植物槟榔(*Areca Catechu* Linn.)的干燥成熟种子,主产我国于海南岛、台湾、云南河口及西双版纳热带雨林间,广西、广东及福建仅有少量的分布。槟榔含有多种人体所需的营养元素和有益物质,同时也含有多种药理活性成分。位居我国著名四大南药(槟榔、益智、砂仁、巴戟)之首,是 54 种棕榈科植物中唯一一种含有生物碱的植物。

1.1 槟榔概况

1.1.1 槟榔种属

槟榔(*Areca nut*, *Betel nut*)又名大肚子、仁频、突门、洗瘴丹、马金南、国马(云南)、青仔(台湾)、槟门(广东)、榔玉等,是棕榈科(*Palmae*)植物槟榔(*Areca Catechu* Linn.)的干燥成熟种子^[1]。槟榔外果皮未成熟前呈绿色,成熟后变为橙黄色,鲜果剖开后可见到一层较厚并且富含纤维的内果皮包裹着圆锥形有脐孔的种子。槟榔棕榈科药用植物,茎干圆柱形,直立无分枝,高 10-18 cm。叶脱落后形成明显的环纹。叶在茎顶端丛生;羽状复叶,长 1.3-2 m 光滑,叶轴三棱形,小叶披针状形或线形,长 30-60 cm,宽 2.5-6 cm,先端渐尖,有不规则分裂,基部较狭,两面光滑。肉穗花序生长与最下一叶的叶鞘束下,有佛焰苞片,长倒卵形,长达 40 cm,光滑,花序多分枝;花单性,雌雄同株;雄花小,多数,无柄,紧贴分枝的上部,通常单生,花被 6,厚而小,三角状阔卵形,雄蕊 6,花丝短,花药基着,箭形,退化雌蕊 3,丝状;雌花较大而少,无柄,着生于分枝的下部,花被 6,排列成 2 轮,三角状阔卵形,长 12-15 mm,具退化雄蕊 6,花柱 3,短小,柱头小^[2]。槟榔花期 3—8 月,春末至初秋采收成熟果实。

槟榔果、种子、皮、花均入药。槟榔果含有多种生物碱,主要成分为槟榔碱(含量约为 0.5%),是驱虫的有效成分,对猪肉绿虫、姜片虫等肠道寄生虫疗效俱佳。它还具有消积导滞、行气利水的功能,是治积食气滞、腹胀、便秘、痢疾、脚气病等症的良药。其果皮(榔壳)称大腹皮,主治腹胀、水肿、小便不利等症。其皮可治皮肤生疮,有“洗瘴丹”的别称。花苞俗称大肚皮,可治腹水,有健胃、散气滞、止霍乱之疗效。槟榔全身是宝,除药用外还有多种功能。未成熟的果皮用于提取鞣料单宁,供制皮革、染料和药物。加工后的果皮是轻纺工业的原料,可制成优质纤维隔板、绝缘材料或填充物,也可编织毛毯、提取黑色染料。

老的树干通直坚韧,可做房屋梁柱、板材或家具、乐器用材。叶鞘可制刷具扫帚,经久耐用。此外,槟榔树形美观别致,是具有热带情调的风景树^[3]。

1.1.2 槟榔的生境与分布

槟榔性喜高温,要求雨量充沛、空气潮湿,属于热带植物,其生存受热带地理环境的制约。东南亚属于热带地区,故较早就有槟榔种植。世界已知的槟榔品种有 36 种。在中国汉武帝时,包括今越南北部在内的南越之地已有槟榔种植,且被作为异木进献到关中扶荔宫(今陕西韩城境)^[4]。唐宋以后,随着对外交往的频繁开展,有关东南亚一带种植槟榔的记载增多。唐代刘恂的《岭表录异》载:“槟榔,交、广生者,非舶槟榔……交趾豪士皆家园植之。宋代赵汝适的《诸蕃志》也载占城(今越南中南部)、阁婆国(今爪哇岛)、麻逸国(位于今菲律宾)等地区都盛产槟榔。清蔡廷兰《海南杂著》也记载了今越南地区多槟榔,且人们常啖之,故多黑齿^[5]。由此可见,自古以来,今东南亚一带均是盛产槟榔的地区。除了东南亚一带盛产槟榔之外,在中国的云南、广东、海南、台湾等地也种植槟榔。自宋代起,中国海南则成为槟榔的主要生产地之一,据范成大的《桂海虞衡志》载,在海南,“漫山悉槟榔、椰子木”。在我国,台湾和海南是槟榔的主要产地。目前台湾的种植面积约 3.6 万公顷、海南的种植面积 2 万多公顷,年产果 2.8 万吨。广东、广西、福建的部分地区也有少量种植。国外印度尼西亚、马来西亚、菲律宾、资源丰富。印度、斯里兰卡、越南、缅甸、柬埔寨、泰国、巴基斯坦等东南亚国家均有分布^[6]。

1.1.3 槟榔的食用情况

槟榔嚼块(以槟榔果为主加入多种添加物)是当今人们食用槟榔的主要方式,是世界上广泛使用的仅次于咖啡因、酒精、尼古丁嗜好品^[7-9]。据统计世界上约有 2-6 亿人嚼食槟榔嚼块,并且这个数字还在不断增长中^[10]。嚼食槟榔在亚洲已经有很长的一段历史,伴随着人口的迁移渐渐的在非洲,欧洲和美洲北部流行起来^[11]。在巴基斯坦、斯里兰卡、泰国、柬埔寨、马来西亚、印度尼西亚、中国等东南亚国家,一些太平洋岛国及移民人口的国家象南非、东非、英国南美及澳大利亚都有嚼食槟榔嚼块的报道^[12]。

除了均以槟榔果为主料外,由于各地的风俗习惯、宗教文化背景各不相同,槟榔嚼块的制作方法多种多样。主要变异的因素是槟榔果的选择、加工方式和添加物的种类^[13]。未成熟的青绿色槟榔果可直接使用;或水煮并滤水后再以青柴熏干;黄熟的槟榔果则或弃去种皮,只使用种子;或烘烤、水煮后再使

用；某些地区还有将槟榔果发酵的加工方法。常见的添加物包括：①胡椒科胡椒属攀缘植物药酱(*piper betellinn.*)的叶(差叶、萎叶)、花穗(差花)或地下茎(差藤)；②来自于石灰石、贝壳或者珊瑚的熟石灰(slaked lime)；③调味剂：如儿茶(catechu)，中药(如甘草、参叶、肉桂)，饴糖等。④发酵或未经发酵的烟草。新几内、亚巴不亚岛，一般单独地将熟石灰抹在嘴里再嚼食槟榔。在东南亚一些国家的土族中槟榔嚼块常被加入烟草。泰国，在哥伦比亚，缅甸等一些国家的山地族喜欢将丁香，月桂及当地一些植物的根部一起加入槟榔嚼块^[14]。太平洋的一些岛国人们习惯于在未成熟的槟榔青果中加入一半的熟石灰和烟草，并用萎叶包裹。

中国嚼食槟榔的历史悠久。宋代大文豪苏东坡谪居海南时，嚼后写下“两颊红潮增妩媚，谁知依是醉槟榔”的名句，为世人广为传咏。明代琼籍名臣王佐也留下脍炙人口的诗作：“绿玉嚼来风味别，红潮登颊日华匀。”《南方草木状》和《吴都赋注》都有槟榔“味苦涩，以扶留叶、古贲灰(蚬灰)并食，则柔滑而美”的记载。台湾称槟榔为“青仔”，与石灰、桉叶三者合在一起咀嚼^[15]。海南吃槟榔(烟果)很讲究，先把槟榔切成片，然后粉上佐料(用贝壳粉调制成膏状物)卷上萎叶再放进口里慢嚼，初时味涩，并有绿水，待吐完了绿水，又生丹津，吃后面红耳赤目眩，如醉酒一样。湘潭人吃槟榔(青果)也很讲究，买回干果后，用清水洗净，用糖水煮过，用刀把槟榔剖成几瓣，点上用石灰加饴糖熬成的卤水，还点上一滴桂子油，放入口中反复咀嚼，又甜又涩，芳香满口，越嚼越有味，余味悠长。一口好槟榔能嚼得人面颊潮红，浑身燥热，甚至遍体生津^[16]。

1.1.4 槟榔的产销情况

据统计，2002年印度的槟榔产量为33.00万吨，占世界槟榔总产量的50.54%；缅甸次之，占7.89%；排第三和第四的是依次是中国和孟加拉国，分别占7.63%和7.20%。虽然印度的槟榔产量居世界第一位，但东南亚一带在槟榔生产中也占有十分重要的地位。从槟榔出口量来看，印度尼西亚则是世界上最大的槟榔出口国，其槟榔出口量占世界槟榔出口总量的72.76%；泰国次之，占23.70%^[17]。2004年，槟榔产量最大的仍然是印度，占世界槟榔总产量的一半；缅甸次之，占8.58%；接下来是孟加拉国和中国，均为5.10万吨，占7.68%^[18]。印度是最大的槟榔产国，同时也是最大的槟榔消费国，从1990年到2003年，均未见印度出口槟榔^[19-21]，相反，印度还从其它国进口槟榔，以

1997/1998 年度为例, 印度进口槟榔由 1994/1995 年度的 545 吨增加到 10 823 吨^[23]。

在我国的台湾岛, 在 20 世纪 80 年代短短的 10 年间, 槟榔神话般地改写了过去数百年的历史, 在人们喜欢嚼槟榔成风的时代, 农民也趁此良机一味扩种。以屏东为例, 1994 年种植槟榔面积已达到 1.3 万公顷, 比 1976 年的 240 公顷提高了 53 倍, 比水稻收益的 20 亿元新台币提高了两倍^[15]; 而台湾省 2003 年的统计数据显示: 全省槟榔年产值达 130 亿新台币, 是仅次于稻米的第二大经济作物。在海南, 槟榔已发展成为一个大产业, 在热带作物中, 跃居第二位, 仅次于橡胶。2003 年海南槟榔种植面积达 64 万亩, 产量 5.5 万吨, 产值十亿元以上, 是海南省东部、中部和南部山区 200 多万农民主要的经济来源之一^[22]; 2004 年海南全省槟榔产量 6.28 万吨, 产值十多亿人民币^[23]。

海南种植槟榔得天独厚并形成一大优势产业, 但加工滞后只能沦为湖南的原料基地。人们常说“一方水土养一方人”, 然而不产槟榔的湖南湘潭却形成了全国最大的槟榔市场。多年来, 海南生产的槟榔和槟榔干果绝大部分都是卖给湖南, 湖南的企业进行初级加工后, 再行销各地, 包括返销到海南。

1.2 独特的槟榔文化

1.2.1 独特的东南亚槟榔文化

在东南亚一带, 人们自古就形成了嚼食槟榔的生活习惯, 且这种风气曾盛极一时。在一些地区, 人们还赋予槟榔更深刻的社会意义^[24]。槟榔吃多了会上瘾, 加之槟榔本身特殊的食用性及药用功效, 这也是咀嚼槟榔习惯在东南亚地区久盛不衰的原因。

越南、泰国、柬埔寨等国家的妇女喜欢吃槟榔, 认为嚼槟榔有美容的功效。而在缅甸, 几乎家家户户都备有槟榔。直到现在, 东南亚仍有以槟榔待客的习惯, 以缅甸为例, 每当客人到来, 主人总要拿出槟榔, 拌茶和雪茄来招待^[25]。婚聘活动中以槟榔为礼的习俗在东南亚部分地区也很流行。马来西亚的马来人新郎所送的聘礼中必备槟榔; 缅甸的达努人、勃欧人和掸人的婚俗中, 槟榔既是接待客人的食品, 也是一种表示情意的信物。泰国人的迎亲游行也称为“槟榔盘迎亲游行”^[25]。

1.2.2 独特的台湾槟榔文化

槟榔在台湾拥有几百亿元的消费市场,产生特殊的台湾槟榔文化是理所当然的事。在台湾,槟榔树随处可见,特别是在乡镇和山村,成片成林。目前,“红唇族”的队伍日益壮大,嚼食槟榔在台湾已成为全民性的嗜好,槟榔也被称作“口香糖”^[26],从以前的男性、老年人、低学历者、蓝领等到现在的不论男女老少、高学历者、白领等都离不开槟榔,这已形成特殊的槟榔文化景观。在台湾的高山族,婚礼喜庆宴客时,好客的高山族人通常都会奉上槟榔,他们视之为招待客人的最好食物,在当今的台湾街头,销售槟榔的摊点林立,达到“五步一摊,十步一铺”。而“槟榔西施”的出现,则将台湾的槟榔文化深植于民众生活之中。槟榔西施的盛行在台湾引发了一定的社会问题,台湾当局期望用5年的时间消除“槟榔文化”,结果能否如愿,令人怀疑,因为台湾的“槟榔文化”早已在民众的心里根深蒂固^[15,27-30]。

1.2.3 海南的绿色槟榔文化

海南的绿色生态槟榔文化在海南民族的文化中具有独特的地位和作用^[31-32]。海南是绿色的宝岛,在海南的民族地区,绿色生态槟榔文化展示出奇特的生态景观,一排排青绿可爱的槟榔树展现出一派绿色的生态,极具观赏价值。海南的槟榔文化从精神生态的视域,展现出美好的精神生态。在海南民间流传的槟榔情歌和槟榔故事,表达了男女青年对爱情的渴望和追求。在黎族男女青年的爱情生活中,槟榔不仅见证了一出出青年男女的悲剧爱情,槟榔也作为爱情的信物,给他们带来爱情的欢乐的幸福,在黎族男女青年的恋爱、婚姻中都扮演着一种特殊的角色。此外,槟榔待客的礼俗在海南的某些地区也被人们传为佳话,广为流传,甚至还有用槟榔来缓和双方矛盾的^[33]。海南是我国的槟榔生产大省,槟榔已深深融入到人们的生活当中。

1.2.4 湖南槟榔文化

任何一种产业都离不开自己的文化,湖南的槟榔产业也不例外,湘潭槟榔业历经几百年而不衰是与其不断创新发展的文化分不开的。湘潭人家里来了客人,或者遇到了熟人、朋友,首先就是用槟榔招待,烟酒不分家成了烟槟榔不分家了。大概是受了湘潭人的影响,现在湖南其他地区的许多人也喜欢上了湘潭槟榔^[34]。槟榔成了湖南人招待亲朋好友的佳品。湘潭人爱嚼槟榔,不仅于敬

客应酬。因为槟榔具有特殊的医药功效,所以关于湘潭人嗜嚼槟榔习惯的由来有许多跟其用于治疗有关的说法^[31,35]。

在槟榔产业发展的早期阶段,精明的商贩们总是采用各种不同的方式把槟榔与文化结合起来,使之脍炙人口,家喻户晓。如:“槟榔越嚼越有劲,这口出来那口进。交朋友打圆台,避瘟开胃解油腻。”、“拜年客人到我家,一口槟榔一口茶”等等。到了80年代后期,业主们充分利用各种现代宣传工具和现代科技手段将槟榔文化推向一个全新的阶段。湘潭槟榔业主们还组建了湖南省槟榔协会,多次举办槟榔文化节活动,将槟榔文化推向高潮,充分展示了槟榔产业兴旺发达的亮丽风采。近年来,槟榔产业作为一个新兴的产业迅速发展,槟榔文化也在不断的完善与成熟,推动着槟榔产业的健康发展^[36-37]。

1.3 槟榔的化学成分国内外研究

槟榔含有多种氨基酸,多聚糖,矿物质,粗纤维,维生素,生物碱和酚类物质^[38]。槟榔果中含总生物碱0.3%-0.6%,其中主要为槟榔碱(Arecoline),其余有槟榔次碱(Arecaidine),去甲基槟榔次碱(Guvacine),去甲基槟榔碱(Guvacoline),槟榔副碱(Arecolidine)、高槟榔碱(Homoarecoline)、异去甲基槟榔次碱(Isoguvacine)等^[39]。此外尚含多酚约15%,脂肪油14—18%,还有甘露糖、半乳糖、 α -儿茶素、无色花青素(leucocyanidin)、红色素槟榔红(areca acid)及皂甙^[40]。

1.3.1 常规成分的研究

Pathak等发现槟榔中所含脂肪的组成,脂肪酸为:月桂酸(Lauric acid)19.5%、肉豆蔻酸(Myristic acid)46.2%、棕榈酸(Palmitic acid)12.7%、硬脂酸(Stearic acid)1.6%、癸酸(Capric acid)0.3%、油酸(Oleic acid)6.2%、亚油酸(Linoleic acid)0.4%、十二碳烯酸(Dodecenoic acid)0.3%、十四碳烯酸(Tetradecenoic acid)0.6%及十六碳烯酸(Hexadecenoic acid)7.2%^[41]。中药志里记载槟榔中所含氨基酸:脯氨酸(Proline)在15%以上、酪氨酸(Tyrosine)10%以上。并含苯丙氨酸(Phenylalanine)和精氨酸(Arginine)及少量色氨酸(Tryptophan)极少量甲硫氨酸(Methionine)^[2]。林兴理等研究结果表明海南岛内槟榔含有多种人体必需氨基酸、药效氨基酸,在17种氨基酸组分中,均以Asp、Glu、Leu、Arg、Val含量高,游历氨基酸组成中,以Glu、Asp、Arg为主要成分^[42]。何和

明等研究表明海南槟榔青果含有 Zn、B、B、Cu、Fe、Al、Mn、Mo、Ni、Pb、Si、Cr、Co、Cd、As 等微量元素^[43]。

1.3.2 槟榔生物碱的研究

生物碱一般是指植物中的含氮有机化合物(蛋白质、肽类、氨基酸及维生素 B 除外)。生物碱是化学家们研究最早的有生物活性的一类天然有机化合物^[44]。槟榔生物碱属于吡啶衍生物类^[44]。

1.3.2.1 槟榔生物碱的提取

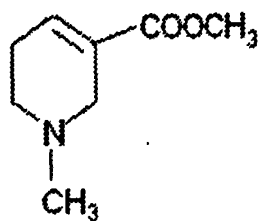
关于槟榔生物碱的提取,学者们一般采用溶剂提取法。最常用的是有机溶剂提取,通常采用 75%乙醇,将槟榔粉末回流提取,或用乙醚或氯仿提取^[45],由于槟榔里生物碱与鞣酸结合在一起,所以提取时先用氨水浸。另外采用的较多的是水或酸水提取,用水或正磷酸^[46]对槟榔粉末进行回流提取。两种方法都能较好的提取槟榔中的生物碱。

槟榔里存在多种结构相似的生物碱,上述方法所提取的是槟榔的总生物碱,需进一步分离和精制,才能得到单体生物碱。高敏等^[47]根据槟榔碱与槟榔次碱的氮原子间位的取代基不同而存在的极性差异,将槟榔生物碱氨性乙醚提取液通过玻璃硅胶柱中分离;洗脱液为石油醚与乙酸乙酯混合液。袁炜等^[48]建立了槟榔中槟榔碱和槟榔次碱的毛细管电泳分析方法,发现在磷酸-磷酸二氢钠缓冲溶液中槟榔碱与槟榔次碱能得到很好的分离。李逢春^[49]在硅胶 G 加 0.7% CMC—Na 溶液,展开剂为氯仿—甲醇—氨水(10:0.2:0.2)的条件下将槟榔碱与其它生物碱分离。

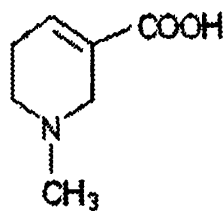
1.3.2.2 槟榔生物碱的鉴定

早在 1950 年就有学者发现槟榔含有至少六种嘧啶生物碱^[50],并确定含有槟榔碱、槟榔次碱、次甲基槟榔碱、次甲基槟榔次碱,槟榔碱和次甲基槟榔碱在碱性条件下水解生成槟榔次碱和次甲基槟榔次碱。Holdsworth 等^[45]用氯仿对槟榔生物碱进行萃取,再通过气相色谱—质谱联用仪对槟榔生物碱粗提物进行分析,发现除槟榔碱和次甲基槟榔碱之外的六种未被确定的生物碱,分别是甲基烟酸酯(Methyl nicotinate)、甲基 N-甲基哌啶-3-羧酸酯(Methyl N-methylpiperidine-3-carboxylate)、乙烷基 N-甲基哌啶-3-羧酸酯(Ethyl N-methyl piperidine-3-carboxylate)、乙烷基烟酸酯(Ethyl nicotinate)、烟碱(Nicotine)、乙烷基 N-甲基-1,2,5,6-四氢-嘧啶-3-羧酸酯(Ethyl

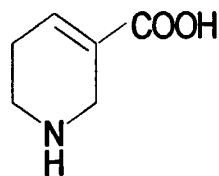
N-methyl-1,2,5,6-tetrahydro-pyridine-3-carboxylate)。最常见的四种槟榔生物碱分子式如下:



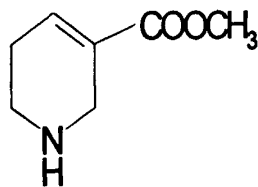
槟榔碱
arecoline



槟榔次碱
arecaidine



次甲基槟榔次碱
guvacine



次甲基槟榔碱
guvacoline

1.3.2.3 槟榔生物碱的测定方法

我国药典^[1]记载槟榔碱含量测定采用滴定法,用碱性乙醚对槟榔粗粉反复提取,再将提取液加甲基红指示剂及硫酸滴定液,用氢氧化钠滴定。滴定法操作简单但结果的准确性较低。

分光光度法主要是采用酸性染料比色法测定槟榔生物碱的含量^[51]。生物碱盐与酸性染料形成离子对,可被氯仿定量提取,加入碱液后酸性染料游离出来。因此用比色法测定该有色溶液的吸光度,以确定生物碱含量,其过程是在槟榔生物碱的粗提液中加入酸性染料溴甲酚绿溶液,在醋酸-醋酸钠缓冲液或乙酸-乙酸钠缓冲液中槟榔碱与这种酸性染料形成离子对,用氯仿定量提取,以氢溴酸槟榔碱为标准溶液,在 618 nm 测定吸光度,此方法具有分析时间短,进样量少,分离效率高的特点。

槟榔生物碱的测定方法还有色谱法。色谱法是一种物理(或物理化学的)分离分析方法,目前使用较多的是液相色谱,因为生物碱能溶解在有机溶剂中,直接经液相色谱进行分离测定,以溴氢酸槟榔碱谱图为标准对照,测定槟榔碱的含量,这种方法专属性好、效能高。陈浩桢^[52]等采用高效液相-紫外检测来

测定槟榔中槟榔碱的含量,选用对生物碱的分离有专属性的阳离子型(scx)高效液相色谱柱,乙腈-磷酸为流动相,在215 nm处测定槟榔碱的含量。Huang等^[53]通过高效液相色谱测定四种主要槟榔生物碱的含量,选用的是阳离子型(scx)高效液相色谱柱,正磷酸-甲醇-水为流动相。Cox等^[54]采用反相高效液相色谱法来测定槟榔嚼食者唾液中的槟榔碱,以槟榔次碱为内标,以正己烷-异戊醇为流动相,在215 nm处测定槟榔碱的含量,此方法灵敏度高,精确性好。

1.3.3 酚类物质的研究

Wang HK 研究发现槟榔鲜果中多酚物质包括缩合单宁(92 mg/g of dry wt),水解单宁(69 mg/g of dry wt),非单宁黄烷(84 mg/g of dry wt)和简单多酚物质(56 mg/g of dry wt)。槟榔中的缩合单宁主要是聚合体和共聚体的儿茶素和无色花色苷;水解单宁主要是多羟基酸或酚类的酸,通常是五倍子酸或鞣酸;非单宁烷醇主要是儿茶素和无色花色苷,花青素;简单酚类物质是羟基酸的衍生物。通过高效液相色谱进一步分析酚类的详细组成:粗酚提取物主要是儿茶素表儿茶素和综合的酚类物质。儿茶素和表儿茶素是主要的非缩合单宁。缩合单宁显示出比其他部分更强的抗氧化能力 10 mg/mL,他们三部分抗氧化能力就差不多了。主要起抗诱变作用的是儿茶素和表儿茶素这些非缩合单宁^[55]。

1.3.3.1 槟榔酚类物质的提取

Wang CK^[46]对槟榔中总酚类物质进行提取。将8 g研细的槟榔样品粉末放置于伟林氏搅切器中,用30 mL80%的丙酮在25℃避光的条件下提取1h,共提取3次。合并三次提取液用80%的丙酮定容到100 mL。

酚类化合物具有多个酚羟基,是极性较强的化合物。按相似相溶原理,可溶于极性化合物,所以对酚类化合物的提取一般采用甲醇、乙醇、丙酮水溶液等极性溶剂。柱层析是分离酚类化合物的一种主要工具。对于酚类化合物的分离纯化现阶段普遍使用的填充料是交联葡聚糖凝胶 LH-20 (Sephadex LH-20),它是一种高度交联的葡聚糖,可以根据分子筛效应将物质以分子大小递减的次序洗脱分离^[56]。

1.3.3.2 槟榔酚类物质的测定方法

对于总酚类含量的测定^[57]:采用 Folin-Ciocalteu 比色法测。取上述酚提取液 50 μ L 于 10 mL 测量瓶中并用水稀释至 2 mL,加入 1 mL Folin-Ciocalteu 酚试剂剧烈振摇后立即加入 5 mL20%的碳酸钠再次剧烈振摇。20 min 后用分光光

度计(U-3000,Hitachi, Japan)在 735 nm 下测其吸光度。在同样的条件下测五倍子酸标准液,结果以 mg 没食子酸当量/g 样品表示。

对于缩合鞣质含量的测定^[58]:采用 Vanillin-HCl(香草醛-盐酸)法测定。取 0.1 mL 的酚提取液加入试管中,用铝箔覆盖,加入 3 mL 4%的香草醛甲醇溶液,剧烈振摇之后马上加入 1.5 mL 的浓盐酸,再次剧烈振摇。待混合物在室温下维持 20 min 不变后,在 500 nm 条件下读取吸光度,结果以 mg 儿茶素当量/g 样品表示。

1.4 槟榔生理效应研究进展

1.4.1 药理作用和临床应用

槟榔作为一种常用中药,是我国著名的四大南药(槟榔、益智、砂仁、巴戟)之一,在历版的《中华人民共和国药典》中均有收录,其雄花蕾、未成熟的果实、果皮均可供药用。槟榔味苦、辛,性温,归胃、大肠经。2005 年版的《中华人民共和国药典》将槟榔的功能与主治归结为:杀虫消积、降气,行水、截疟。用于绦虫、蛔虫、姜片虫病,虫积腹痛、积滞泻痢、里急后重,水肿脚气,疟疾。李时珍《本草纲目》对其的药理记载为:槟榔味厚气轻,沉而降,阴中阳也。苦以破滞、辛以散邪,泄胸中至高之气,使之下行,性如铁石之沉重,能坠诸药至于下极,故治诸气、后重如神也^[59]。《鹤林玉露》载,槟榔的功用有四:一是醒能使之醉,嚼食槟榔后不久,则头晕颊红,似饮酒状;二是醉能使之醒,酒后嚼槟榔,能宽痰下气,醉意顿解;三是饥而食之,则感气盛如饱;四是饱后食槟榔,则食物很快消化^[60]。

1.4.2 生物碱的药理作用和临床应用

1.4.2.1 驱虫灭螺功效

槟榔碱是槟榔的有效驱虫成分,对猪肉、牛肉绦虫有较强的致瘫痪作用,对棘球蚴虫有杀伤作用,氢溴酸槟榔碱有排蠕虫效果^[61]。槟榔碱对钉螺也有杀灭作用,何昌浩等^[62]采用 WHO 公布的“灭螺剂实验室终筛法”中的浸泡法,发现槟榔碱与化学灭螺药合用后,降低了钉螺对药物刺激的敏感性,钉螺上爬率明显降低,灭螺效果显著增强。冯青等^[63]人研究表明槟榔碱与植物灭钉螺药商陆皂甙或化学灭钉螺药五氨酚钠等联合使用,可显著降低二者的投药量。进一

步研究显示较低浓度的槟榔碱可增加钉螺足跖平滑肌的收缩活动,这可能与槟榔碱直接开放钙通道,促使钙离子内流有关^[64]。不同浓度的槟榔碱对门静脉收缩力和心室肌钙通道电流作用都呈双相性,通过阻止钙通道电流使钉螺足平滑肌松弛而发挥灭螺增效作用^[65]。

1.4.2.2 对神经系统的作用

大鼠静脉注射槟榔碱后皮层处于觉醒状态^[66],静脉注射槟榔碱可增加小鼠的活动性以及小鼠脑中乙酰胆碱的浓度^[67]。槟榔碱还可以通过激活下丘脑—垂体—肾上腺皮质轴而增加内源性促肾上腺皮质激素释放激素的释放^[68]。国外新近的研究^[69]指出:槟榔碱通过类胆碱功能受体的激活作用剂量依赖性地抑制大鼠离体肾上腺体中儿茶酚胺的释放。

槟榔次碱缺少槟榔碱所具有的典型的拟副交感神经作用^[70],亦能影响小鼠的行为,可以降低小鼠的自主活动和探究行为^[70]。有研究表明槟榔次碱和去甲基槟榔次碱在大鼠脑切片上具有 γ -氨基丁酸(GABA)重摄取抑制剂的活性^[71]。另一项研究^[72]采用猫脊髓切片指出槟榔次碱能够增强 GAGB 和 β -丙氨酸的抑制活性,而去甲基槟榔次碱能够增加 GAGB 的抑制性而对甘氨酸的活性无影响。此研究还发现,静脉注射槟榔次碱后却对 GAGB 的活性无影响,这说明槟榔次碱本身可能无法通过血脑屏障发生作用,而槟榔次碱对中枢神经的作用可能是通过 GAGB 以外的递质系统发挥作用的。

嚼食槟榔可以增强记忆功能在民间是家喻户晓的事, Maiese 等^[73]研究指出临床注射槟榔碱能改善 AD 病人的认知能力,改善他们的记忆力。Michiko 等^[74]人通过建立实验动物模型进一步研究证明槟榔碱做为一种类胆碱功能的药物成分对老龄鼠的时间知觉损伤有削弱作用,能够改善阿尔茨海默老年性痴呆症。此外,槟榔碱还可以通过激活非选择性毒蕈碱 2(M_2)受体而发挥兴奋作用^[75]。还有研究指出槟榔中的生物碱可用于治疗精神分裂症及精神抑郁症,患有精神分裂症的槟榔嚼食者与不嚼者相比,阳性与阴性症状量表评定比分显著降低^[76]。而槟榔碱,包括槟榔中另外三种主要的生物碱,可以通过激活非选择性毒蕈碱 1(M_1)受体产生止痛的效果^[77]。

1.4.2.3 对消化系统的影响

杜志敏等^[78]研究表明,槟榔碱能显著提高小鼠小肠推进率,推测其作用机理可能与兴奋肠道平滑肌 M 受体有关。陈潮燕^[79]研究发现槟榔碱对胃肠道平滑肌活动可能有兴奋作用,其对小鼠的安全剂量为 95.2 mg/kg。倪依东等^[80]观察

槟榔水煎液和槟榔碱纯品水溶液对大鼠胃底肌条、结肠及家兔十二指肠、回肠的离体肠管实验自发或激发运动的影响,比较两者作用所产生的效果异同。结果表明槟榔水煎液及槟榔碱纯品水溶液对上述离体胃肠标本的收缩运动均有明显的增强作用,主要表现在张力的增加和振幅的变化。

类胆碱功能药物,包括乙酰胆碱酯酶(AChE)抑制性物质,能促进肠内波状运动及肠内容物蠕动,但 Gilani 等^[81]人研究发现槟榔碱不具有抑制 AChE 的活性,指出槟榔碱与类胆碱作用有关的一些医学性质可能不是由于槟榔碱的存在而起作用的。

1.4.2.4 其它方面作用

槟榔碱亦可以抗动脉粥样硬化,防止心脑血管疾病。陈冬梅等^[82]发现槟榔碱可剂量依赖性对抗血栓形成;山丽梅等^[83]从细胞水平深入探讨了槟榔碱抗动脉粥样硬化的分子机制,发现,槟榔碱能抑制血液及血管组织中动脉粥样硬化相关重要因子的表达,可以激活血管内皮细胞乙酰胆碱激靶标,从而防止心脑血管疾病。韩容等^[84]通过建立吗啡诱导的小鼠行为敏化模型,观察槟榔碱对行为敏化形成、表达的影响发现,槟榔碱能增强小鼠吗啡诱导的急性高活动性和吗啡行为敏化的形成。

1.4.3 酚类物质的药理作用和临床应用

1999 年 Lee 等^[85]人筛选 150 多种药用植物,发现槟榔提取物有显著的抗弹性蛋白酶作用,还发现槟榔的醇提物具有抗氧化、清除自由基、抗透明脂酸的活性,它的抗氧化能力比丁基羟基甲苯(butylated hydroxytoluene)弱,与维生素 E 相似,比维生素 C 强,同时槟榔提取物通抑制的酪氨酸酶的活性来阻碍黑色素的形成,并且这种能力比曲酸弱(arbutin)比熊果甙强。槟榔提取物安全性通过人类纤维原细胞毒性和皮下注射进行评价,安全剂量为 50 mg/mL。

2001 年 Lee 等^[86]人进一步分离和鉴别这些具有生物学活性的成分,将溶剂溶解的每一部分进一步通过硅胶柱色谱,薄层色谱,反相高效液相色谱纯化。反相高效液相色谱的物质再通过 UV 和 IR 测定出的物质与抗弹性蛋白酶的结构一致,鉴定出为酚类物质。Lee 等人还发现这些酚类物质通过竞争性的抑制透明质酸酶来抑制人嗜中性粒细胞膜弹性蛋白酶(HNE)和猪胰腺弹性蛋白酶而起到保护组织蛋白抗衰老的效用。

1.4.4 毒性与副作用研究现状

很多文献指出槟榔中的生物碱是槟榔具有毒性的主要原因。大鼠腹腔注射槟榔碱和槟榔次碱的半数致死量(50% lethal dose, LD₅₀)分别是 40 和 800 mg/kg·BW^[87]。槟榔碱可能具有抗生育的作用^[88], 对雄性小鼠的生殖功能也可能有影响^[89]。新近在西班牙的一项调查研究显示: 孕妇在婴儿出生之前长期接触槟榔碱具有很高的反出生率, 会导致胎儿的畸形^[90], 亦会造成“胎便”。

槟榔碱可以缓和血管紧张, 但是高剂量时则抑制内皮细胞生长^[91], Lee 等^[92]也研究指出延长接触槟榔碱的时间抑制人类 kB 上皮细胞生长, 使细胞循环反常。槟榔生物碱的毒副作用, 研究最多是其对细胞的影响, 而这主要又集中在口腔细胞, 槟榔也因此被科研工作者认为是引发口腔癌的主要病源因子。以口腔黏膜下纤维性变(Oral Submucous Fibrosis, OSF)为例, 槟榔碱在该病变中的作用已被研究的比较深入与透彻。槟榔生物碱可诱导口腔黏膜造纤维细胞增生(fibroblast proliferation)并且增加胶原质的合成。Harvey 等^[93]在体外使用槟榔提取物或者化学纯化的槟榔碱对人类造纤维细胞所做的研究也支持造纤维细胞增生以及增加胶原质形成这一理论。槟榔碱水解后生成对造纤维细胞有显著作用的槟榔次碱。当将造纤维细胞分别置于槟榔碱和槟榔次碱中时胶原质的合成呈现剂量依赖性, 并且槟榔次碱的刺激总是大一些。槟榔碱亦可能抑制造纤维细胞的胶原质吞噬作用而抑制结缔组织中细胞外基质(extracellular matrix, ECM)的生理修复。此外, 槟榔碱还对一些与纤维化有关的酶、细胞激素及生长因子等有影响。最近有研究^[94]指出槟榔碱能够刺激口腔黏膜纤维原细胞类胰岛素生长因子(Insulin-like growth factor-1, IGF-1)的表达, 疑 OSF 的一个发病机理与 IGF-1 的合成有关。

槟榔中的单宁, 包括儿茶多酚能够使胶原质的结构变得更稳定。用槟榔粗提物或从槟榔中分离并纯化的单宁处理再生的胶原质纤维及大鼠真皮片断发现其剂量依赖性的增加对人类及细菌胶原酶的抵抗力^[95]。同样的机制可能在 OSF 病人中起作用, 导致受损的口腔上皮细胞下纤维化。另一份研究^[96]也支持上述的观点, 该研究指出槟榔中存在的大量的单宁通过抑制胶原酶的活性而减少胶原质的分解, 并且提出了如下纤维化的理论: 纤维化是单宁减少胶原质分解与槟榔碱增加胶原质合成两者复合作用的结果。

1.5 目前对槟榔开发与研究存在的主要问题

由上可见,在国内,目前对槟榔的研究主要还是集中在加工工艺上,市场上的商品槟榔不外乎以下四种:烟果、青果、绿果和鲜果,发展如此之快的槟榔产业产品仍然比较单一,均只用于咀嚼食用,对口腔带来一定的损害作用,同时很多人嗜嚼槟榔,却亦有不少人嚼槟榔时乱吐口水及槟榔渣,对环境也产生了一定的负面影响。含有槟榔成分的食品在市场上几乎是一片空白,而且与国内其它加工业相比,槟榔的生产与研究仍然处于相对较低的水平。

国内外的学者对槟榔的研究主要在其毒性、致口腔癌及对生殖功能的影响等一些负面作用上,而对槟榔的化学成分及其正面效应的系统研究比较少,位居我国四大南药之首的槟榔的有效成分及其临床药理价值没有得到充分的利用。

2 超声提取槟榔中的槟榔碱

槟榔碱是槟榔中的主要药理活性成分,与其它药用植物及中草药中的生物碱相似,具有一定的药用价值,为进一步促进槟榔碱的开发利用,对其有效成分提取方法的研究是十分必要的。目前常用的槟榔碱的提取工艺大多采用室温浸泡,热回流法,但是这些方法的提取时间长、溶剂用量大、提取效率低并且操作复杂。近年来发展起来的超声波法提取生物碱。超声提取时由于超声波振动空化、机械粉碎、搅拌等作用,在震荡过程中,空化泡周围的微流对溶液材料产生的切向力以加速溶剂向细胞中渗透,低频超声不仅可使细胞周围形成微流,还可使植物细胞产生胞内环流,从而提高细胞膜和细胞壁的通透性,有利于溶剂浸入细胞中,加速药材中有效成分进入溶剂,以增加有效成分在溶剂中的溶解度,以便有效成分的提取^[97],所以超声振动促进了溶剂向细胞中的浸透,因此缩短提取时间,节约成本,还提高产品的质量和产量。目前尚无槟榔碱超声提取工艺方面的报道,本实验以每 4 g 槟榔中槟榔碱量为指标,考察液料比、超声时间、超声功率 3 个因素对槟榔碱提取工艺的影响。

2.1 材料与方法

2.1.1 实验材料

海南产槟榔鲜果,越南产槟榔鲜果,台湾产槟榔鲜果(简称海南槟榔、越南槟榔、台湾槟榔)。将 3 种槟榔在 45℃ 烘干,分别取果皮、果仁粉碎过 60 目筛。

主要仪器:METTLER AE 163 电子天平(瑞典梅特勒-拖利多仪器有限公司);KQ-500DB 超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司);Laborota 4000/4001 efficient 旋转蒸发仪(Heidolph Instruments GMBH & CO KG)。

试剂:乙醚、乙醇、磷酸、氨水、氯仿、无水硫酸钠、滑石粉均为分析纯。

2.1.2 实验方法

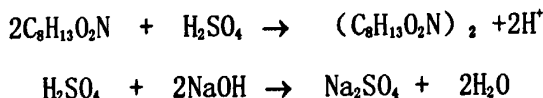
2.1.2.1 槟榔碱的超声提取

按药典^[1]方法提取槟榔碱,将溶剂浸提改为超声提取。精确称取槟榔粉末 4.00 g,置具塞锥形瓶中,按比例加入乙醚超声处理,再加 2 mL 氨水,振摇 10 分钟,加无水硫酸钠 5 g,振摇 5 min,静置沉淀,分取乙醚液,置分液漏斗

中,残渣用乙醚洗涤3次,每次5 mL,合并醚液,加滑石粉0.5 g,振摇3 min,加水2.5 mL振摇3 min,静置,至上层醚液澄清时,分取醚液,水层用少量乙醚洗涤,合并醚液,减压低温浓缩至20 mL。

2.1.2.2 容量法测定槟榔碱的含量

按药典^[1]容量法测定槟榔碱的含量。将按2.1.2.1浓缩好的样品溶液移置分液漏斗中,精密加入硫酸滴定液(0.01 mol/L)20 mL,振摇提取,静置待分层后,分取醚层(或混合溶剂层),醚层(或混合溶剂层)用水振摇洗涤3次,每次5 mL,合并洗脱液与酸液,过滤,滤器用水洗涤,合并洗液与酸液,加甲基红指示液数滴,用氢氧化钠滴定液(0.02 mol/L)滴定,当颜色变成黄色30 s不褪色为终点,即得每1 mL硫酸滴定液(0.01 mol)相当于3.104 mg 槟榔碱($C_8H_{13}NO_2$)。化学反应式为:



反应中槟榔碱以氮碱的形式与强酸反应,生成生物碱的硫酸盐形式,过量的硫酸再用氢氧化钠中和,这样来完成整个定量过程。

$$\text{槟榔碱含量(mg/g)} = \frac{(V_1 - V_2) \times 3.104}{m} \dots\dots\dots (1.1)$$

V_1 ——0.01 mol/L H_2SO_4 标准溶液体积, mL;

V_2 ——0.02 mol/L NaOH 标准溶液体积, mL;

m ——槟榔重量, g。

2.1.2.3 超声提取槟榔碱的单因素实验

槟榔中槟榔碱的提取率与料液比、超声时间、超声功率等因素有关,分别取这些因素的不同水平,研究其对槟榔中槟榔碱提取率的影响。

精密称取海南槟榔果皮粉末4.00g,在超声功率70w下分别超声提取10min, 20min, 30min, 40min, 50min。

精密称取海南槟榔果皮粉末4.00g,加入40 mL乙醚,分别在60w, 70w, 80w, 90w, 100w下超声提取30 min。

精密称取海南槟榔果皮粉末4.00g,在超声功率80 w、按料液比1:6, 1:8, 1:10, 1:12, 1:16分别加入乙醚,超声时间30 min。

2.1.2.4 超声提取槟榔碱工艺条件的优化。

在单因素实验的基础上,采用 $L_9(3^4)$ 正交实验设计进行实验,对结果进行方差分析和显著性检验,以确定最佳的提取工艺。

表2.1 $L_9(3^3)$ 正交实验因素水平表

Table 2.1 The results of $L_9(3^4)$ orthogonal experiment

水平	因素			
	超声时间	超声功率	料液比	空白
	(min)	(w)	(g/mL)	
1	30	70	1: 8	
2	40	80	1: 10	
3	50	90	1: 12	

2.1.2.5 槟榔碱的加热浸提

精确称取海南槟榔果皮粉末 4.00 g,置具塞锥形瓶中,加入 48 mL 乙醚,30℃加热提取 60 min,再加 2 mL 氨水,振摇 10 分钟,加无水硫酸钠 5 g,振摇 5 min,静置沉淀,分取乙醚液,置分液漏斗中,残渣用乙醚洗涤 3 次,每次 5 mL,合并醚液,加滑石粉 0.5 g,振摇 3 min,加水 2.5 mL 振摇 3 min,静置,至上层醚液澄清时,分取醚液,水层用少量乙醚洗涤,合并醚液,减压低温浓缩至 20 mL。按 2.1.2.2 容量法测定槟榔碱的含量

2.2 结果与讨论

2.2.1 超声提取槟榔碱的单因素实验

2.2.1.1 超声提取时间对槟榔碱提取率的影响

图 2.1 表明,随着超声时间的增加,槟榔碱提取率不断提高,但超声时间超过 30 min 时,提取率反而下降,其原因可能是由于处理时间超过 30 min 后会 导致纤维素结构松散使槟榔碱进入纤维素结构中而不易浸出。所以确定最佳超 声时间为 30 min。

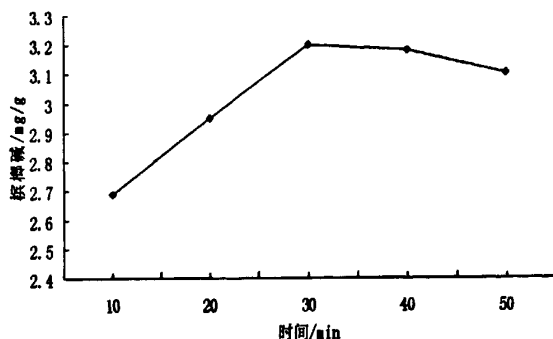


图 2.1 超声时间对槟榔碱提取的影响

Fig 2.1 Effects of extracting time on arecoline

2.2.1.2 超声功率对槟榔碱提取率的影响

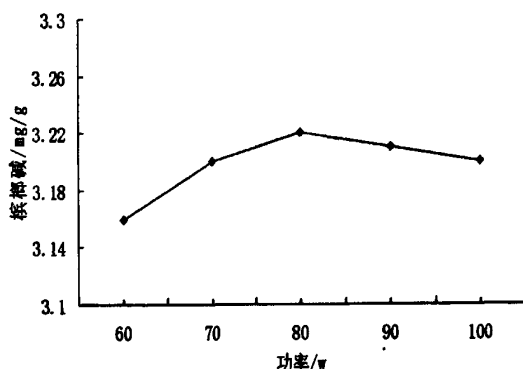


图 2.2 超声功率对槟榔碱提取的影响

Fig 2.2 Effects of sonic power on the arecoline

图 2.2 表明，槟榔碱提取率随着超声功率的增加而增加，在 80 W 时槟榔碱提取率最高，之后略有下降，所以本实验选择较佳的功率 80 W。

2.2.1.3 料液比对槟榔碱提取率的影响

图 2.3 表明，当料液比 (g/mL) 为 1:10 时，槟榔碱的提取率最高，1:10 后逐渐减小，可能是料液比过大，会增加超声波破碎细胞的阻力，使细胞破碎程度下降，从而降低有效成分的提取率；而料液比过小，就没有足够的溶剂带出槟榔碱，同样也会使提取率降低。所以，本实验选择较佳料液比 (g/mL) 为 1:10。

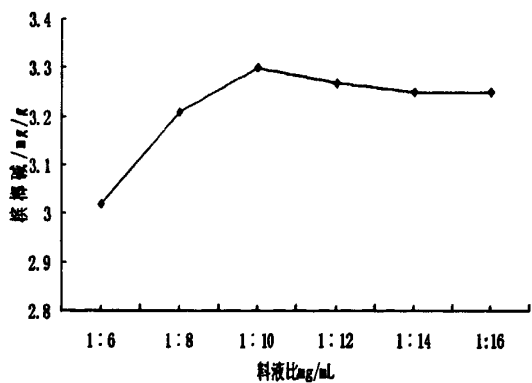


图 2.3 料液比对槟榔碱提取的影响
Fig 2.3 Effects of solid to liquid ratio on arecoline

2.2.2 超声提取槟榔碱的正交实验及数据分析

由表 2.2 正交试验结果显示，影响槟榔碱提取率的因素的主次顺序是A>C>B，即时间影响最大,其次是料液比，功率影响最小。从直观分析和实验结果都表明，最佳工艺为 A₁B₂C₃，即最佳的工艺条件为：提取时间 30 min，功率 80w，料液比为 1：12。

表 2.2 L₉(3⁴)正交实验结果及数据分析
Tab.2.2 Results and data analysis of orthogonal experiment

实验号	因素				槟榔碱含量 mg/g
	A	B	C	D	
1	1	1	1	1	3.14
2	1	2	2	2	3.40
3	1	3	3	3	3.31
4	2	1	2	3	3.08
5	2	2	3	1	3.17
6	2	3	1	2	2.99
7	3	1	3	2	3.02
8	3	2	1	3	2.96
9	3	3	2	1	2.94
K ₁	3.283	3.080	3.030	3.083	
K ₂	3.080	3.177	3.140	3.137	
K ₃	2.973	3.080	3.167	3.117	
R	0.310	0.097	0.137	0.054	

2.2.3 提取方法的比较

由表 2.3 可见, 超声提取槟榔碱的提取率比加热浸提高, 且所需的时间为加热浸提的一半, 所以超声提取提高了工作效率。

表2.3 超声提取法与常规浸提法的比较

Tab2.3 The comparison of supersonic extraction and ordinary extraction

提取方法	提取时间 (min)	槟榔碱含量 (mg/g)
加热浸提	60	3.21
超声提取	30	3.30

2.3 小结

单因素实验表明: 超声提取槟榔碱时, 槟榔碱的提取率随着超声时间增加而增加, 但时间超过 30 min 时, 槟榔碱提取率呈下降趋势; 槟榔碱提取率随着超声功率的增加而增加, 在 80 W 时槟榔碱提取率最高, 之后略有下降。槟榔碱的提取率随料液比的增加而增加, 但料液比超过 1 : 10 后, 提取率逐渐减小。

采用 $L_9(3^4)$ 正交试验, 结果表明, 最佳工艺为 $A_1B_2C_3$, 即最佳的工艺条件为: 提取时间 30 min, 功率 80 w, 料液比为 1 : 12。

超声提取法与常规浸提法的比较表明: 超声提取槟榔碱的提取率比加热浸提高, 且所需的时间为加热浸提的一半, 所以超声提取提高了工作效率。

3 GC-MS分析槟榔中的槟榔碱

槟榔碱 (Arecoline) 属于生物碱, 是一种含氮杂环的有机物, 有类似碱的性质。分子式 $C_8H_{13}O_2N$, 沸点 209°C , 溶于醇、醚、氯仿和苯等有机溶剂, 不溶于水。槟榔碱属于弱极性碱, 且沸点也不高, 因此可以通过气相色谱分离后再通过质谱定性定量, 因此我们采用外标法, GC/MS 精确测定槟榔碱含量。近年来计算机技术的发展、质谱仪扫描速度的加快, 使得质谱分析方法发展迅速, 很多已经成为了标准方法。用各个质谱特征离子及质量色谱图, 可以区分重叠峰中的不同化合物, 使分析中的分离工作不再是难点。GC/MS 方法比气相色谱选择性检测器法更准确, 可以对方法的有效性进行确证。

3.1 材料与方方法

3.1.1 实验材料

实验材料: 海南槟榔鲜果, 越南槟榔鲜果, 台湾槟榔鲜果。将三种槟榔在 45°C 烘干, 分别取果皮、果核粉碎过 60 目筛。

主要药品: 槟榔碱标准品: 氢溴酸槟榔碱 (中国药品生物制品鉴定所) 乙醚、乙醇、磷酸、氨水、无水硫酸钠、滑石粉均为分析纯; 氯仿为色谱纯。

主要仪器: Laborota 4000/4001 efficient 旋转蒸发仪(Heidolph Instruments GMBH & CO KG,); Agilent Technologies 6890N (Network GC system), Agilent Technologies 5975 insert(Mass selective Detector)MSD 气质联用仪。

3.1.2 实验方法

3.1.2.1 槟榔碱的提取

精确称取槟榔粉末 4.00 g, 置具塞锥形瓶中, 加入 48 mL 乙醚, 在超声功率 80w 下超声提取 30min, 再加 2mL 氨水, 振摇 10 分钟, 加无水硫酸钠 5g, 振摇 5 min, 静置沉淀, 分取乙醚液, 置分液漏斗中, 残渣用乙醚洗涤 3 次, 每次 5 mL, 合并醚液, 加滑石粉 0.5g, 振摇 3 min, 加水 2.5 mL 振摇 3 min, 静置, 至上层醚液澄清时, 分取醚液, 水层用少量乙醚洗涤, 合并醚液, 减压低温浓缩至 20 mL。

3.1.2.2 槟榔碱的 GC-MS 定性定量方法

槟榔碱的定性方法：保留时间、相对保留时间、GC-MS 进行定性。

槟榔碱定量方法：外标法进行定量。

槟榔碱定性定量色谱条件：色谱柱：HP-5MS，30 m × 0.25 μm × 0.25 mm；柱温：采用程序升温，50 °C 保持 1 min，以 5 °C/min 升至 200 °C；检测器：MS；载气 He，流速 1 mL/min；进样口温度 250 °C；传输线温度 280 °C；不分流进样；扫描范围：全扫描；离子源温度 250 °C；进样 1 μL。

3.2 结果与讨论

3.2.1 GC-MS 对样品中槟榔碱的定性分析

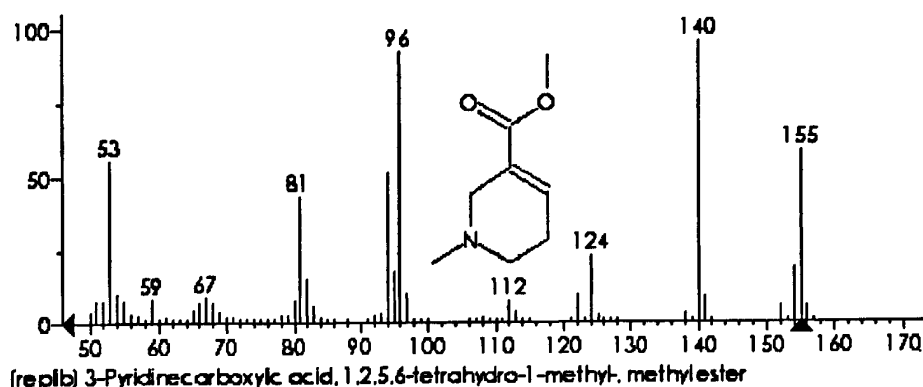
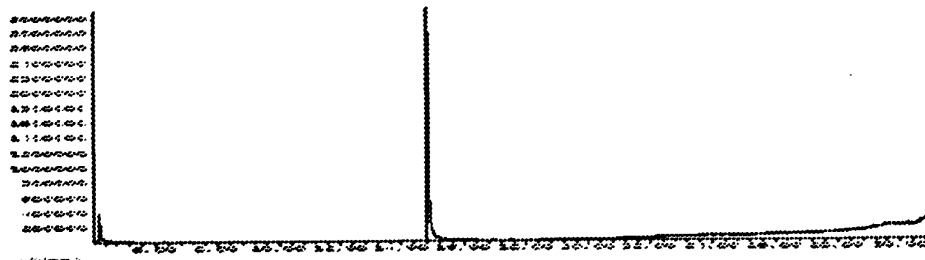


图 3.1 NIST 库中槟榔碱标准品质谱图

Fig 3.1 a Standard mass spectrum of arecoline in NIST;



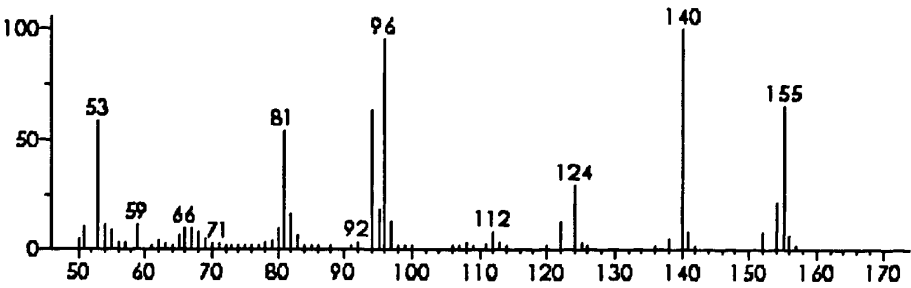


图 3.2 槟榔碱标样总离子流图和保留时间 14.754 min 时的质谱图

Fig 3.2 Total ion current and mass spectrum at 14.754 min of standard arecoline and a mass spectrum of standard arecoline

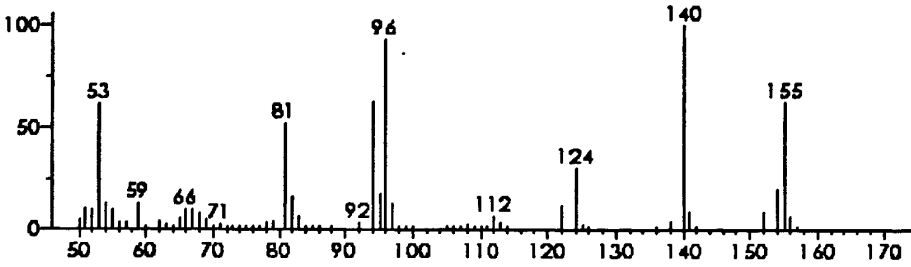
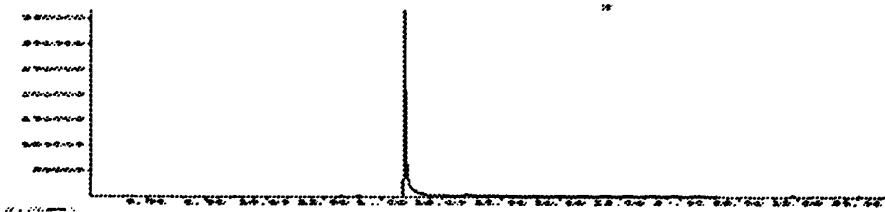


图 3.3 海南槟榔果皮槟榔碱总离子流图和保留时间 14.746 min 时的质谱图

Fig 3.3 Total ion current and mass spectrum at 14.746 min of Hainan areca nut peels



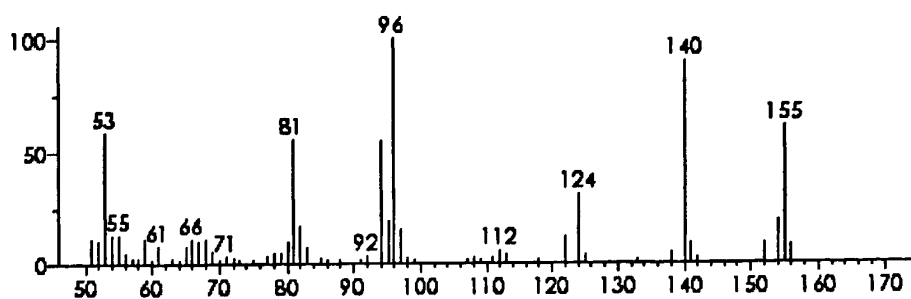


图 3.4 海南槟榔果核总离子流图和保留时间 14.745 min 时的质谱图

Fig3.4 Total ion current and mass spectrum at 14.745 min of Hainan areca nut seeds

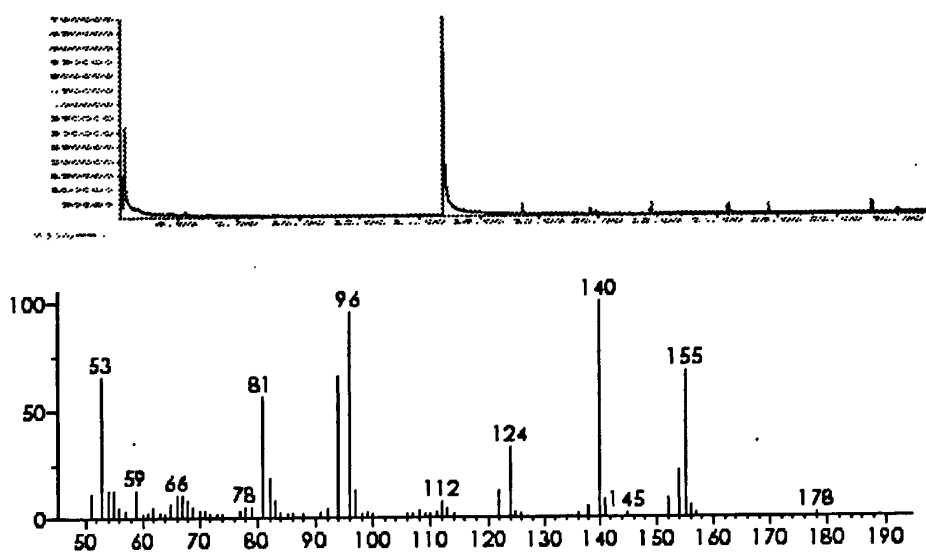
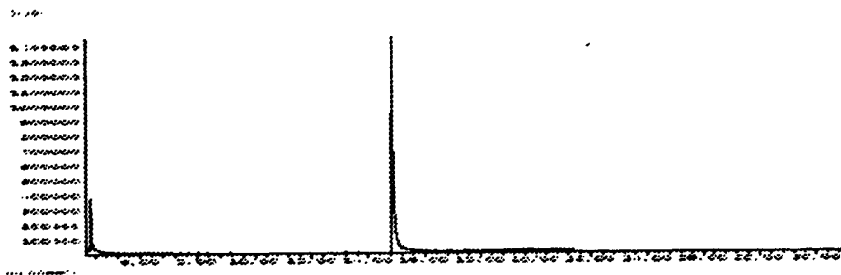


图 3.5 台湾槟榔果皮总离子流图和保留时间 14.767min 的质谱图

Fig 3.5 Total ion current and mass spectrum at 14.767 min of Taiwan areca nut peels



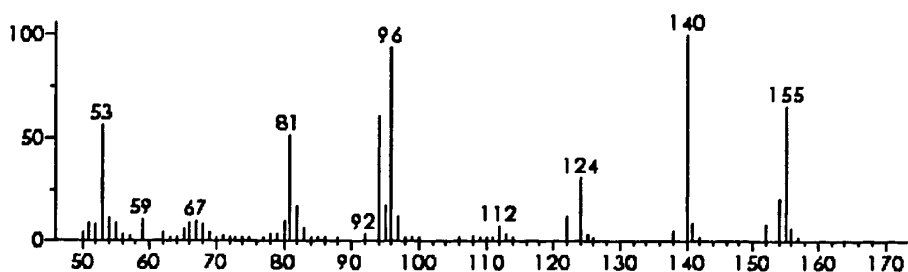


图 3.6 台湾槟榔果核总离子流图和保留时间 14.768 min 时的质谱图

Fig3.6 Total ion current and mass spectrum at 14.768 min of Taiwan Areca nut seeds

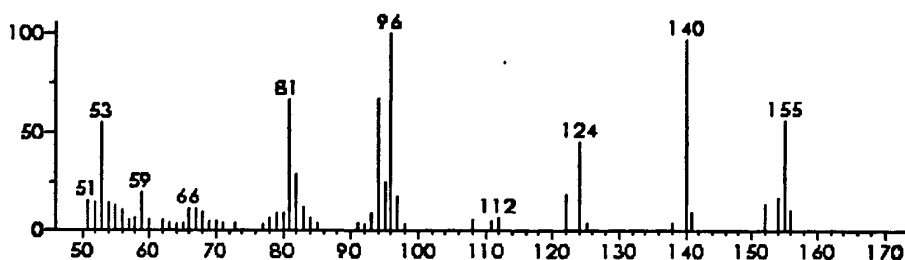
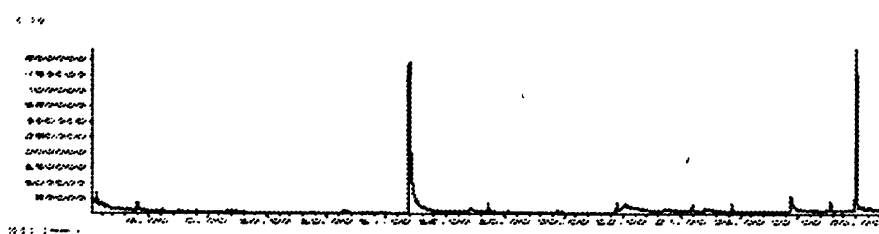
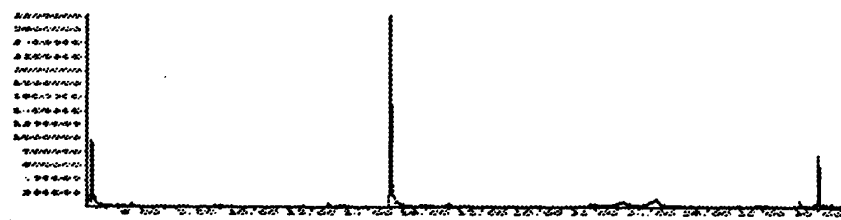


图 3.7 越南槟榔果皮总离子流图和保留时间 14.763 min 时的质谱图

Fig3.7 Total ion current and mass spectrum at 14.763 min of Vietnam areca nut peels



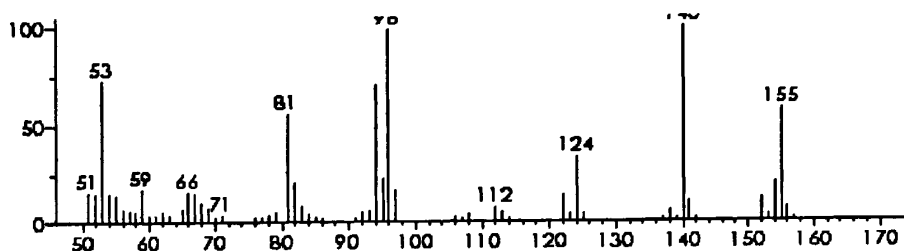


图 3.8 越南槟榔果核总离子流图和保留时间 14.767 min 时的质谱图

Fig3.8 Total ion current and mass spectrum at 14.767 min of Vietnam areca nut seeds

从以上各种槟榔总离子流图可以看出，主要峰的保留时间在 14.754 min 左右，因此对此处的峰进行分析。首先把 7 个保留时间在 14.754 min 附近峰的质谱图跟槟榔碱的标准质谱图进行比较。

从标准质谱图和槟榔碱及六种槟榔的质谱图可以看出，在丰度大于 10% 以上的碎片峰完全出现，它们的丰度大小都非常接近，而且表示槟榔碱的分子离子峰完全吻合，同时通过谱库检索，得到标准品和 6 个质谱与标准质谱的匹配率分别是 94.7%、84.4%、84.1%、83.7%、84.2%、83.7%、84.5%，这也说明在质谱匹配度上远远大于分析的 50%，因此可以准确定性出 3 种槟榔里均含有槟榔碱。

3.2.2 槟榔碱的定量分析

3.2.2.1 槟榔碱工作曲线

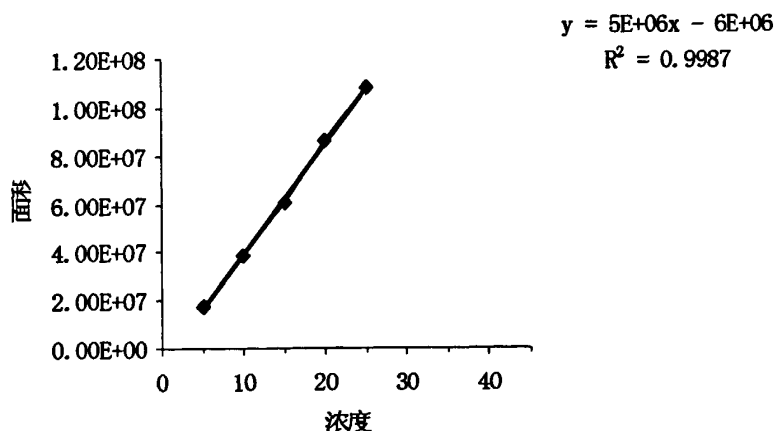


图 3.9 槟榔碱工作曲线

Fig 3.9 Standard curve of arecoline

精确称取 25 mg 槟榔碱,用氯仿溶解,并定容到 25 mL。分别移取 0.5、1.0、1.5、2.0、2.5、3.0 mL 槟榔碱标样溶液于 100 mL 容量瓶,用氯仿定容,取 1 μ L,在 3.1.2.2 的 GC-MS 条件下分析。工作曲线见图 3.9。

由图 3.9 可以看出,槟榔碱在该定量范围内浓度与峰面积呈现较好的线形关系。

3.2.2.2 回收率实验

回收率(%)指用该方法测定的结果与真实值接近的程度,在已知被测成分含量的供试品中再精密加入一定量的已知纯度的被测成分对照品,用实测值与供试品中含有量之差,除以加入对照品量计算回收率。取海南槟榔果皮作为样品,分别加入不同浓度的制备标准样品,配成三种不同浓度的样品,按 3.1.2.1 提取槟榔碱,3.1.2.2 GC-MS 条件下进行测定,测定结果如表 3.1 所示。

表 3.1 GC 回收率的测定
Tab.3.1 Recovery of GC

初始值(g/mg)	加入量(g/mg)	检出量(g/mg)	回收率(%)
1.27	2.32	3.65	102.61
	3.58	4.80	98.66
	2.86	4.11	99.38

从表中可以看出,槟榔碱 GC 回收率在 98.6~102.6%,这说明该方法准确度比较高。

3.2.2.3 精密度实验

精密度是指在测试条件下,同一均匀样品,经多次取样测定所得结果之间的接近程度。取台湾槟榔果核粉末作为样品,按 3.1.2.1 提取槟榔碱,3.1.2.2GC-MS 条件下测定,自动进样器进样连续 6 次进行精密试验,以峰面积计算,得到 RSD=2.56%,槟榔碱用此法测定精密度良好。

表 3.2 精密度测定
Table 3.2 Precesion of the method

槟榔碱峰面积						RSD%
1	2	3	4	5	6	
7459194	7105883	6952977	6994449	7220891	7102248	2.56%

3.2.2.4 槟榔碱稳定性实验

试样对时间的稳定性,是指在不同时间段测得试样的浓度。取海南槟榔果皮作为样品,按 3.1.2.1 提取槟榔碱,在 3.1.2.2GC-MS 条件下,分别在 1h、2h、3h、4 h、5 h、7 h 测定槟榔碱含量,得到时间与峰面积的稳定性图

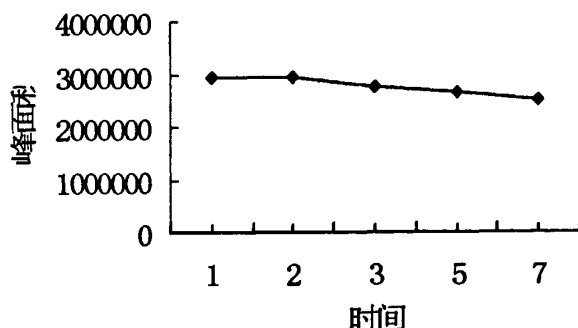


图 3.10 槟榔稳定性试验

Fig 3.10 Stability examination of arecoline

结果说明, 槟榔碱对于时间在乙醚溶液中的稳定性比较好, 随着时间延长稳定性有稍微有下降趋势, 这可能也说明槟榔碱本身的不稳定性, 需要以盐的形式存在或存在于溶剂中。

3.2.3 GC-MS 测定样品中槟榔碱的含量

精确称取样品 4.00 g, 加入乙醚 48mL, 在功率 80 w 下超声提取 30 min, 按 3.1.2.2GC-MS 条件测定样品中槟榔碱的含量

表 3.3 GC 测得三种槟榔中的槟榔碱含量

Table 3.3 Determine arecoline content of each Areca nut in GC

槟榔组分	槟榔质量(g)	峰面积	槟榔碱含量(mg/g)
海南槟榔果皮	4.0164	2953488	1.23
海南槟榔果核	4.0077	8030490	3.34
台湾槟榔果皮	4.0132	5038387	2.49
台湾槟榔果核	4.0012	7105982	2.96
越南槟榔果皮	4.0021	3020263	1.26
越南槟榔果核	4.0900	9225313	3.76

由表 3.3 可知, 测得槟榔样品中槟榔碱的含量在 0.12~0.38 %, 含量高低为: 越南槟榔果核>海南槟榔果核>台湾槟榔果核>台湾槟榔果皮 >越南槟榔果皮>海南槟榔果皮。

3.2.4 GC-MS 与容量法测定槟榔碱的比较

3.2.4.1 容量法测定槟榔碱的含量

精确称取样品 4.00 g, 加入乙醚 48 mL, 在功率 80 w 下超声提取 30 min, 按 2.1.2.2 容量法测定槟榔中槟榔碱的含量, 结果见表 3-4。

表 3.4 槟榔碱含量(mg/g)

Tab.3.4 The content of arecoline in areca nut (mg/g)

	海南槟榔 果皮	海南槟榔 果核	越南槟榔 果皮	越南槟榔 果核	台湾槟榔 果皮	台湾槟榔 果核
槟榔生物 碱含量	3.21	5.27	3.51	5.58	4.01	4.79

由表 3.4 可见, 容量法测定的槟榔样品中槟榔碱的含量在 0.32~ 0.56%, 与药典容量法测定槟榔碱含量相符。样品中槟榔碱含量高低为: 越南槟榔果核>海南槟榔果核>台湾槟榔果核>台湾槟榔果皮 >越南槟榔果皮>海南槟榔果皮。

3.2.4.2 GC-MS 与容量法测定槟榔碱的比较

GC-MS 测定槟榔碱的含量为 0.12~0.38%, 容量法测定槟榔碱的含量为 0.32~ 0.56%。根据药典记载, 容量法测定含醚容性生物碱以槟榔碱计, 既容量法测定的槟榔碱含量还包括其它生物碱, 而在 GC-MS 测定中槟榔碱能与槟榔中其它生物碱分离, 准确测定出了样品中槟榔碱的含量。GC-MS 可以达到分离槟榔碱的目的, 该方法可靠, 专属性强, 为槟榔碱研究提供了科学依据。

3.3 小结

采用 GC-MS 分析了槟榔中的槟榔碱, 以保留时间、质谱定性, 外标法定量。GC-MS 对 3 种槟榔果皮和果核的槟榔碱含量进行了测定, 测定结果与容量法进行比较。结果显示 GC-MS 测得槟榔碱含量为 0.12~0.38%, 容量法测得的槟榔碱含量为含量为 0.32~ 0.56%。根据药典记载, 容量法测定含醚容性生物碱以槟榔碱计, 既容量法测定的槟榔碱还包括其它生物碱, GC-MS 可以达到分离槟榔碱的目的, 准确测定出了样品中槟榔碱的含量。两种方法测得的样品中槟榔碱含量高低都是: 越南槟榔果核>海南槟榔果核>台湾槟榔果核>台湾槟榔果皮 >越南槟榔果皮>海南槟榔果皮。

实验采用 GC-MS 可以达到分离槟榔碱的目的, 使槟榔中的槟榔碱与槟榔中其它生物碱分离, 经计算机检索系统和质谱理论, 准确定性出 6 个样品均含有

槟榔碱，样品测定的相对标准方差（RSD） $2.56\% < 3.0\%$ ，回收率在 $98.6 \sim 102.6\%$ ，表明 GC-MS 可以达到分离槟榔碱的目的，该方法可靠，专属性强，为槟榔碱研究提供了科学依据。

4 槟榔脂肪酸成分分析

目前,人们对于槟榔的研究多侧重于其食用价值,而对于其营养价值的研究报道很少,尤其是用 GC-MS 对不同种槟榔中脂肪酸组成和含量测定还未见报道。为能充分了解、利用槟榔价值,我们对槟榔的脂肪酸成分进行测定和分析。并用主成分分析法对不同槟榔的脂肪酸进行综合评价。主成分分析是一种最古老的多元统计分析技术^[98]。主成分分析是一种降维或把多个指标化为少数几个综合指标的一种统计分析方法^[99-100]。主成分分析方法的基本步骤是:(1)对原始指标进行标准化处理,以消除量纲不同的影响;(2)求无量纲后的相关系数矩阵 R ;(3)求 R 的特征值、特征向量和贡献率;(4)确定主成分的个数,本文按照特征值大于 1 以及和累积贡献率(即主成分解释的方差占总体方差的比例)大于 85% 的原则提取主成分因子;(5)对主成分因子的意义作解释,一般由权重较大的几个指标的综合意义来确定;(6)求各主成分的得分并计算综合得分。在主成分分析中,一般认为大于 0.30 的载荷就是显著的^[101]。

4.1 材料与方法

4.1.1 实验材料

海南槟榔鲜果,越南槟榔鲜果,台湾槟榔鲜果。将三种槟榔在 45℃ 烘干,分别取果皮、果仁粉碎过 60 目筛。

主要实验仪器:美国 FINNIGAN TRACE DSQ 质谱仪,美国 FINNIGAN GC ULTRA 气相色谱仪,色谱柱:DB-5 30 m $\times$ 0.25 μ m $\times$ 0.25 mm; aborota4000/4001efficient 旋转蒸发仪 (Heidolph Instruments GMBH & CO KG,); FZ102 微型植碎机(天津泰斯特仪器有限公司); TDL—40B 离心机(上海安亭科学仪器厂)。

主要实验试剂:甲醇、氯仿、正己烷均为国产分析纯试剂,用前重蒸。

4.1.2 实验方法

4.1.2.1 脂肪的提取及甲酯化

浸提:在 6 个研钵中分别加入海南槟榔果皮、海南槟榔果仁、越南槟榔果皮、越南槟榔果仁、台湾槟榔果皮、台湾槟榔果仁样品 5.000 g 和 30 mL 的甲醇:氯仿(V:V)为 2:1 的混合溶剂,浸泡 2 h 后再添加 10 mL 的混合溶剂,研

磨 10 min, 转入小试管, 高速离心 5 min, 取上清液, 残渣用混合溶剂洗涤 2 次, 高速离心后取上清液, 合并上层清液, 用 20 mL 的 $(\text{NaCl}) = 1\%$ 的 NaCl 水溶液两次洗涤, 将有机层转入大试管中, 真空旋转蒸发得到总脂。

酯化: 总脂用 10 mL 甲醇溶解后转移至分液漏斗中, 用 15 mL 正己烷分 3 次洗涤, 所得甲醇溶液转移到大试管中, 加入 4 mL (KOH) 甲醇溶液, 60℃ 水浴加热 15 min, 冷却后加入 5 滴 $(\text{BF}_3) = 20\%$ 的 BF_3 乙醚溶液, 静置 10 min 酯化。

制样: 酯化后的样品加入 5 mL 的重蒸正己烷和 10 mL 的水, 分去水层, 有机层用 10 mL 水洗涤, 取 20.0 μL 的有机层加入到含有 1.0 mL 正己烷的具塞试管中备用, 作为进行色谱分析的样品。

4.1.2.2 分析脂肪酸的 GC-MS 条件

柱温: 采用程序升温, 70℃ 保持 2 min, 以 10℃/min 升至 150℃, 以 2℃/min 升至 180℃, 保持 17 min, 以 100℃/min 升至 260℃, 保持 10 min; 载气: He, 流速 1 mL/min; 进样口温度 230℃; 传输线温度 280℃; 不分流进样; 分流比 50:1; 扫描范围: 40-600, 全扫描; 源温度 230℃; 进样: 2 μL 。

脂肪酸的鉴定: 经计算机检索 NIST 02 质谱标准图库, 人工解析及查对有关资料, 定量分析采用总离子流图峰面积归一化法。

4.1.2.3 脂肪酸组成成分综合评价

脂肪酸分析采用主成分分析法, 用 SPSS11.5 处理数据。主成分分析是一种有效的降维方式, 它能够将多个变量的信息用少数几个相互独立的主成分表示, 从而使结果更加清晰明了。

4.2 结果与讨论

4.2.1 槟榔脂肪酸组成

槟榔的脂肪酸甲酯的总离子流图见图 4.1—4.6。用峰面积归一化法得出各组相对含量。色谱峰相应的质谱图检索采用 NIST02 谱库进行检索, 并逐个解析各峰相应的质谱图, 其结果见表 4.1—4.6。

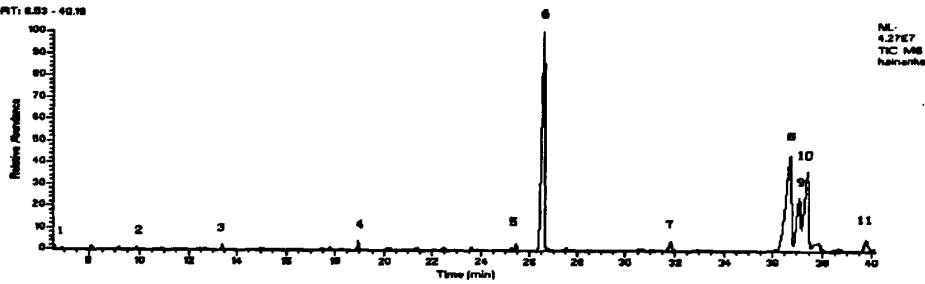


图4.1 海南槟榔果皮脂肪酸甲酯GC-MS总离子流图

Fig 4.1 Total ion chromatogram of methyl fatty acid ester in Hainan areca nut peels

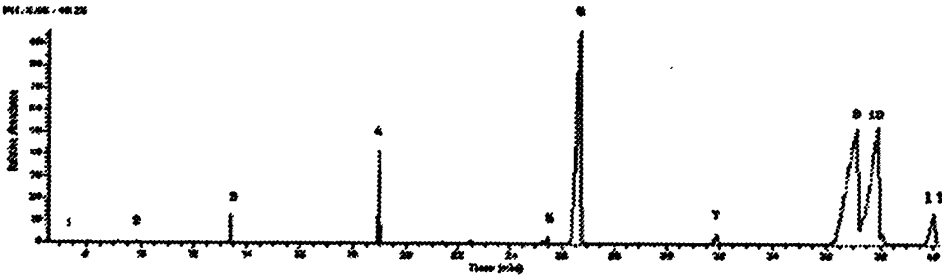


图4.2 海南槟榔果核脂肪酸甲酯GC-MS总离子流图

Fig 4.2 Total ion chromatogram of methyl fatty acid ester in Hainan areca nut seeds

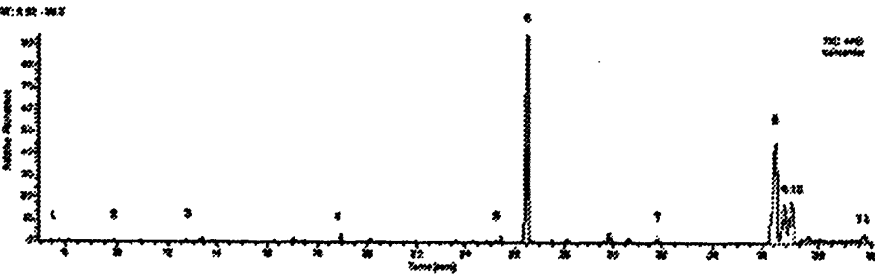


图4.3 台湾槟榔果皮脂肪酸甲酯GC-MS总离子流图

Fig 4.3 Total ion chromatogram of methyl fatty acid ester in Taiwan areca nut peels

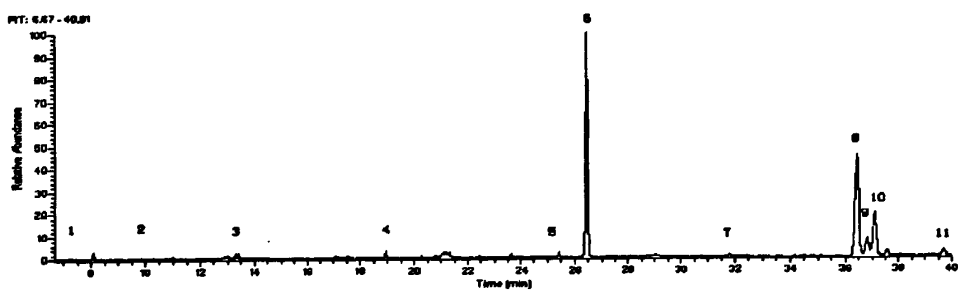


图4.4台湾槟榔果核脂肪酸甲酯GC-MS总离子流图

Fig 4.4 Total ion chromatogram of methyl fatty acid ester in Taiwan areca nut seeds

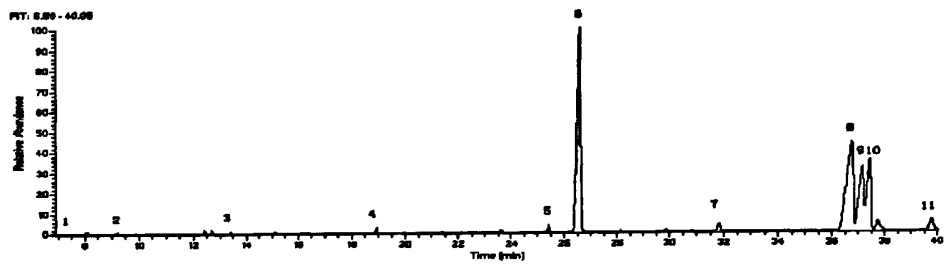


图4.5越南槟榔果皮脂肪酸甲酯GC-MS总离子流图

Fig 4.5 Total ion chromatogram of methyl fatty acid ester in Vietnam areca nut peels

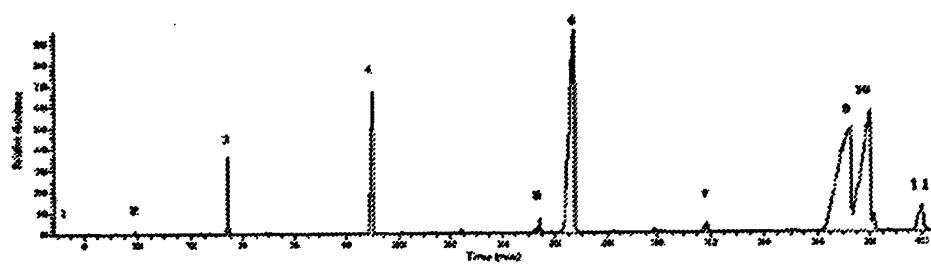


图4.6 越南槟榔果核脂肪酸甲酯GC-MS总离子流图

Fig 4.6 Total ion chromatogram of methyl fatty acid ester in Vietnam areca nut seeds

表4.1海南槟榔果皮脂肪酸组成

Fig 4.1 Fatty acid composition of Hainan areca nut peels

峰号 No	脂肪酸 Fatty Acid	分子式 Molecular Formula	分子量 Molecular Weight	相对含量 content %
1	辛酸 Octanoic acid	$C_8H_{16}O_2$	144	0.03
2	癸酸 Capric acid	$C_9H_{18}O_2$	158	0.07
3	月桂酸 Lauric acid	$C_{12}H_{24}O_2$	200	0.25
4	肉豆蔻酸 Tetradecanoate	$C_{14}H_{28}O_2$	228	0.62
5	棕榈油酸 Palmitoleic acid	$C_{16}H_{30}O_2$	254	0.89
6	棕榈酸 Palmitic acid	$C_{16}H_{32}O_2$	256	36.81
7	十七碳酸 Heptadecanoic acid	$C_{17}H_{34}O_2$	270	1.27
8	亚油酸 Linoleic acid	$C_{18}H_{32}O_2$	280	29.56
9	亚麻酸 Linolenic acid	$C_{18}H_{30}O_2$	278	11.85
10	油酸 Oleic acid	$C_{18}H_{34}O_2$	282	16.62
11	硬脂酸 Stearic acid	$C_{18}H_{36}O_2$	284	2.03

表 4.2 海南槟榔果核脂肪酸组成

Fig4.2 Fatty acid composition of Hainan areca nut seeds

峰号 No	脂肪酸 Fatty Acid	分子式 Molecular Formula	分子量 Molecular Weight	相对含量 Content %
1	辛酸 Octanoic acid	$C_8H_{16}O_2$	144	0.02
2	癸酸 Decanoic acid	$C_{10}H_{20}O_2$	172	0.04
3	月桂酸 Lauric acid	$C_{12}H_{24}O_2$	200	0.24
4	肉豆蔻酸 Tetradecanoate	$C_{14}H_{28}O_2$	228	4.32
5	棕榈油酸 Pentadecanoic acid	$C_{16}H_{30}O_2$	254	0.54
6	棕榈酸 Palmitic acid	$C_{16}H_{32}O_2$	256	27.7
7	十七碳酸 Heptadecanoic acid	$C_{17}H_{34}O_2$	270	0.84
8	亚油酸 Linnolcie acid	$C_{18}H_{32}O_2$	280	32.12
9	亚麻酸	$C_{18}H_{30}O_2$	278	未检出
10	油酸 Olieic acid	$C_{18}H_{34}O_2$	282	29.50
11	硬脂酸 stearic acid	$C_{18}H_{36}O_2$	284	4.68

表 4.3 台湾槟榔果皮脂肪酸组成
Fig 4.3 Fatty acid composition of Taiwan areca nut peels

峰号 No	脂肪酸 FattyAcid	分子式 Molecular Formula	分子量 Molecular Weight	相对含量 Content %
1	辛酸 Octanoic acid	$C_8H_{16}O_2$	144	0.12
2	癸酸 Decanoic acid	$C_{10}H_{20}O_2$	172	0.14
3	月桂酸 Lauric acid	$C_{12}H_{24}O_2$	200	0.48
4	肉豆蔻酸 Tetradecanoate	$C_{14}H_{28}O_2$	228	0.90
5	棕榈油酸 Pentadecanoic acid	$C_{16}H_{30}O_2$	254	0.88
6	棕榈酸 Palmitic acid	$C_{16}H_{32}O_2$	256	42.28
7	十七碳酸 Heptadecanoic acid	$C_{17}H_{34}O_2$	270	0.66
8	亚油酸 Linnolcie acid	$C_{18}H_{32}O_2$	280	31.08
9	亚麻酸 Linolenic acid	$C_{18}H_{30}O_2$	278	9.63
10	油酸 Olieic acid	$C_{18}H_{34}O_2$	282	10.15
11	硬脂酸 Stearic acid	$C_{18}H_{36}O_2$	284	1.02

表 4.4 台湾槟榔果核脂肪酸组成

Fig.4.4 Fatty acid composition of Taiwan areca nut seeds

峰号 No	脂肪酸 Fatty Acid	分子式 Molecular Formula	分子量 Molecular Weight	相对含量 Content %
1	辛酸 Octanoic acid	$C_8H_{16}O_2$	144	0.19
2	癸酸 Decanoic acid	$C_{10}H_{20}O_2$	172	0.13
3	月桂酸 Lauric acid	$C_{12}H_{24}O_2$	200	1.32
4	肉豆蔻酸 Tetradecanoate	$C_{14}H_{28}O_2$	228	0.91
5	棕榈油酸 Pentadecanoic acid	$C_{16}H_{30}O_2$	254	1.16
6	棕榈酸 Palmitic acid	$C_{16}H_{32}O_2$	256	40.67
7	十七碳酸 Heptadecanoic acid	$C_{17}H_{34}O_2$	270	0.97
8	亚油酸 Linnolcie acid	$C_{18}H_{32}O_2$	280	33.80
9	亚麻酸 Olieic acid	$C_{18}H_{30}O_2$	278	5.58
10	油酸 Olieic acid	$C_{18}H_{34}O_2$	282	13.57
11	硬脂酸 Stearic acid	$C_{18}H_{36}O_2$	284	1.74

表 4.5 越南槟榔果皮脂肪酸含量

Fig 4.5 Fatty acid composition of Vietnam areca nut peels

峰号 No	脂肪酸 Fatty Acid	分子式 Molecular Formula	分子量 Molecular Weight	相对含量 Content %
1	辛酸 Octanoic acid	$C_8H_{16}O_2$	144	0.02
2	癸酸 Nonanoic acid	$C_9H_{18}O_2$	158	0.04
3	月桂酸 Lauric acid	$C_{12}H_{24}O_2$	200	0.10
4	肉豆蔻酸 Tetradecanoate	$C_{14}H_{28}O_2$	228	0.37
5	棕榈油酸 Pentadecanoic acid	$C_{16}H_{30}O_2$	254	0.69
6	棕榈酸 Palmitic acid	$C_{16}H_{32}O_2$	256	33.81
7	十七碳酸 Heptadecanoic acid	$C_{17}H_{34}O_2$	270	1.11
8	亚油酸 Linnolcie acid	$C_{18}H_{32}O_2$	280	30.55
9	亚麻酸 Linolenic acid	$C_{18}H_{30}O_2$	278	16.24.
10	油酸 Oleic acid	$C_{18}H_{34}O_2$	284	14.41
11	硬脂酸 Stearic acid	$C_{18}H_{36}O_2$	284	2.68

表 4.6 越南槟榔果核脂肪酸组成

Fig 4.6 Fatty acid composition of Vietnam areca nut seeds

峰号 No	脂肪酸 Fatty Acid	分子式 Molecular Formula	分子量 Molecular Weight	相对含量 Content %
1	辛酸 Octanoic acid	$C_8H_{16}O_2$	144	0.03
2	癸酸 Decanoic acid	$C_{10}H_{20}O_2$	172	0.07
3	月桂酸 Lauric acid	$C_{12}H_{24}O_2$	200	1.98
4	肉豆蔻酸 Tetradecanoate	$C_{14}H_{28}O_2$	228	7.10
5	棕榈油酸 Pentadecanoic acid	$C_{16}H_{30}O_2$	254	0.99
6	棕榈酸 Palmitic acid	$C_{16}H_{32}O_2$	256	30.81
7	十七碳酸 Heptadecanoic acid	$C_{17}H_{34}O_2$	270	0.71
8	亚油酸 Linoleic acid	$C_{18}H_{32}O_2$	280	29.03
9	亚麻酸	$C_{18}H_{30}O_2$	278	未检出
10	油酸 Oleic acid	$C_{18}H_{34}O_2$	282	25.74
11	硬脂酸 Stearic acid	$C_{18}H_{36}O_2$	284	3.53

亚油酸、亚麻酸、油酸的出峰顺序比较反常，有可能是柱子的分流效果比较不好，使得物质间相互影响，物质没有完全分离。建议在今后的实验中采用标样，进一步准确的测定其脂肪酸。

由图 4.1—4.6，表 4.1—4.7 可知，槟榔含辛酸、癸酸、月桂酸、肉豆蔻酸、棕榈油酸、棕榈酸、十七酸、亚油酸、油酸、硬脂酸。三种棕榈酸含量为 27.70 %~42.28 %，亚油酸含量为 29.3 %~33.80 %，油酸含量为 10.15 %~29.50 %。不饱和脂肪酸占总脂肪酸含量 51.74~66.84，不饱和脂肪酸的含量高于饱和脂肪酸。

一般的植物油脂通常是以某一饱和或不饱和脂肪酸为主,例如椰子油中含饱和脂肪酸 91%,其中月桂酸含量接近脂肪酸总量的一半(45%),大豆油中含不饱和脂肪酸 80%,亚油酸含量为一半(51%)。而槟榔的脂肪酸中既含高含量的饱和脂肪酸棕榈酸,有含高含量的多不饱和脂肪酸(亚油酸),棕榈酸对蜡样芽孢杆菌孢子有部分抑制作用,而亚油酸是人体必需但体内不能合成的脂肪酸,它不仅是人体组织、细胞的组成成分,而且与类脂代谢有密切关系同时它对胆固醇代谢也起重要作用,有降低血脂及胆固醇,强固毛细管管壁的作用并且能预防和减轻动脉硬化症的发生和发展,这是槟榔脂肪酸的一个特点。作为一种富有特色的亚热带作物,槟榔所含亚油酸较为丰富。槟榔脂肪酸的开发利用在该植物资源的综合利用中占一定的位置,值得深入探索。

4.2.2 脂肪酸主成分分析

4.2.2.1 数据标准化处理

在主成分分析中,数据的选择和数据的预处理是主成分在主成分分析中,数据的选择和数据的预处理是主成分分析成功与否的一个重要因素,若原始指标变量数量级差异较大,则变量值大的对综合指标(公共因子)的影响也大。本文应用SPSS11.5统计软件包中的因子分析程序对原始数据进行标准化处理后进行主成分分析。

表4.7 脂肪酸相对含量原始数据(%)

Tab.4.7 The original data of fatty acid

样品	辛酸 X_1	癸酸 X_2	月桂酸 X_3	肉豆蔻酸 X_4	棕榈油酸 X_5	棕榈酸 X_6	十七碳酸 X_7	亚油酸 X_8	亚麻酸 X_9	油酸 X_{10}	硬脂酸 X_{11}
海南果皮	0.03	0.07	0.25	0.62	0.89	36.81	1.27	29.56	11.85	16.62	2.03
海南果核	0.02	0.04	0.24	4.32	0.54	27.70	0.84	32.12	-	29.50	4.68
越南果皮	0.12	0.14	0.48	0.90	0.88	42.28	0.66	31.08	9.63	10.15	1.02
越南果核	0.19	0.13	1.32	0.91	1.16	40.67	0.97	33.80	5.58	13.57	1.74
台湾果皮	0.02	0.04	0.10	0.37	0.69	33.81	1.11	30.55	16.24	14.41	2.68
台湾果核	0.03	0.07	1.98	7.10	0.99	30.81	0.71	29.03	-	25.74	3.53

表 4.8 标准化处理结果
Tab.4.8 Result of standardization

样品	辛酸	癸酸	月桂酸	肉豆蔻酸	棕榈油酸	棕榈酸	十七碳酸	亚油酸	亚麻酸	油酸	硬脂酸
海南果皮	-0.541	-0.267	-0.634	-0.638	0.144	0.258	1.453	-0.837	0.705	-0.225	-0.440
海南果核	-0.682	-0.956	-0.647	0.711	-1.454	-1.351	-0.366	0.627	-1.099	1.472	1.561
越南果皮	0.729	1.339	-0.329	-0.536	0.099	1.225	-1.129	0.032	0.367	-1.078	-1.203
越南果核	1.717	1.109	0.784	-0.532	1.378	0.941	0.183	1.589	-0.249	-0.627	-0.659
台湾果皮	-0.682	-0.956	-0.833	-0.730	-0.769	-0.271	0.776	-0.270	1.374	-0.517	0.050
台湾果核	-0.541	-0.267	1.660	1.726	0.601	-0.802	-0.917	-1.141	-1.099	0.976	0.692

4.2.2.2 主成分筛选及其贡献率

主因子分析的目的之一是用尽可能少的因子来解释观测到的变量,主成分的特征根及贡献率是选择主成分的依据,从表4.10中可以看到总方差的91.35%的贡献来自前3个因子,且特征根 $\lambda > 1.000$,即一个3因子模型解释了试验数据91.35%,即它代表了槟榔脂肪酸的91.35%信息。因此,可以用前3个主成分反应槟榔脂肪酸物质信息。

表 4.9 相关系数矩阵
Tab.4.9 Corelation Matrix

	X ₁	X ₂	X ₃	X ₄	X ₅	X ₆	X ₇	X ₈	X ₉	X ₁₀	X ₁₁
X ₁	1.000										
X ₂	0.896	1.000									
X ₃	0.313	0.314	1.000								
X ₄	-0.377	-0.317	0.636	1.000							
X ₅	0.711	0.718	0.708	-0.063	1.000						
X ₆	0.783	0.877	-0.12	-0.695	0.630	1.000					
X ₇	-0.216	-0.369	-0.468	-0.566	-0.053	0.037	1.000				
X ₈	0.716	0.399	-0.061	-0.331	0.136	0.292	-0.71	1.000			
X ₉	-0.027	0.012	-0.605	-0.840	-0.065	0.479	0.609	-0.157	1.000		
X ₁₀	-0.585	-0.651	0.221	0.834	-0.432	-0.921	-0.213	-0.179	-0.760	1.000	
X ₁₁	-0.650	-0.791	0.051	0.710	-0.579	-0.978	-0.114	-0.108	-0.599	0.953	1.000

表 4.10 相关系数的特征根和方差贡献率
Table 4.10 contribution and cumulative contribution percentage

主成分序号 No. PC	特征根 Eigenvalues	贡献率 Contribution(%)	累积贡献率 Cumulative contribution(%)
1	5.511	50.099	50.099
2	3.248	29.531	79.630
3	1.289	11.722	91.352

4.2.2.3 对初始因子载荷阵进行分析

由因子载荷矩阵可知,第一个主因子表明和棕榈酸,癸酸,辛酸高度正相关,和油酸,硬脂酸高度负相关;第二个主因子表现出和月桂酸高度正相关;第三个因子表现出和亚油酸高度正相关,因为总方差 90%以上的贡献来自这三个主因子,所以可以认为棕榈酸、油酸、亚油酸、硬脂酸、辛酸、癸酸、月桂酸是槟榔的特征脂肪酸。

表 4.11 主成分因子负荷矩阵表

Tab.4.11 Component Matrix

变量	ZX1	ZX2	ZX3	ZX4	ZX5	ZX6	ZX7	ZX8	ZX9	ZX10	ZX11
1	0.804	0.828	-0.046	-0.760	0.619	0.986	0.129	0.380	0.531	-0.940	-0.958
2	0.491	0.501	0.878	0.616	0.580	0.056	-0.727	0.228	-0.787	0.249	0.059
3	0.313	0.035	-0.369	-0.198	-0.366	-0.072	-0.102	-0.862	-0.222	0.125	0.23

表 4.12 主成分向量

Tab.4.12 Principal component

	ZX1	ZX2	ZX3	ZX4	ZX5	ZX6	ZX7	ZX8	ZX9	ZX10	ZX11
Z1	0.342	0.353	-0.020	-0.324	0.264	0.420	0.055	0.162	0.226	-0.408	-0.408
Z2	0.272	0.278	0.488	0.342	0.322	0.031	-0.403	0.127	-0.437	0.138	0.033
Z3	0.276	0.031	-0.325	-0.174	-0.322	-0.063	-0.090	0.759	-0.196	0.110	0.211

4.2.2.4 计算主成分得分及综合得分

根据主成分计算公式可以得到三个主成分与原11项指标的线性组合如下

$$F_1=0.342ZX1+0.352ZX2-0.020ZX3-0.324ZX4+0.267ZX5+0.420ZX6+0.055ZX7+0.162ZX8+0.226ZX9-0.400ZX10-0.408ZX11$$

$$F_2=0.272ZX1+0.278ZX2+0.488ZX3+0.342ZX4+0.322ZX5+0.031ZX6-0.403ZX7+0.127ZX8-0.437ZX9+0.138ZX10+0.033ZX11$$

$$F_3=0.276ZX1+0.031ZX2-0.325ZX3-0.174ZX4-0.322ZX5-0.063ZX6-0.090ZX7+0.759ZX8-0.196ZX9+0.110ZX10+0.211ZX11$$

以第一主成分的方差贡献率 α_1 作为 F_1 权数,第二主成分的方差贡献率 α_2 作为 F_2 权数,第三主成分的方差贡献率 α_3 作为 F_3 权数,构建综合评价模型:即 $F=0.501F_1+0.295F_2+0.117F_3$ 。其中, F 为综合评价指标,分别代入,得出 6 个综合评价值 F (表)。

表4.13表明3种槟榔果皮和果核脂肪酸综合评价高低为：台湾槟榔果核>台湾
槟榔果皮>海南槟榔果皮>越南槟榔果皮>越南槟榔果核>海南槟榔果核

表4.13 主成分值，综合排名

Tab.4.13 The mark and place of principal component		
样品	F	排序
台湾槟榔果核	1.87711	1
台湾槟榔果皮	1.30540	2
海南槟榔果皮	-0.39308	3
越南槟榔果皮	-0.57817	4
越南槟榔果核	-0.62139	5
海南槟榔果核	-1.39537	6

4.3 小结

采用极性甲醇和非极性氯仿做溶剂，能将样品组织中结合的脂质变成游离脂肪，此方法能快速将样品中全部脂肪提取出来。

采用GC-MS测定槟榔中脂肪酸组成及含量，鉴定出槟榔含辛酸、癸酸、月桂酸、肉豆蔻酸、棕榈油酸、棕榈酸、十七碳酸、亚油酸、亚麻酸、油酸、硬脂酸。其棕榈酸含量 27.70 %~42.28 %，亚油酸 29.3 %~33.80 %，油酸含量 10.15 %~29.50 %。不饱和脂肪酸占总脂肪酸含量 51.74~66.84。

采用主成分分析法对槟榔脂肪酸组成进行综合评价，得出槟榔的特征脂肪酸为棕榈酸、油酸、亚油酸、硬脂酸、辛酸、癸酸、月桂酸。3种槟榔果皮和果核脂肪酸综合评价高低为：台湾槟榔果核、台湾槟榔果皮、海南槟榔果皮、越南槟榔果皮、越南槟榔果核、海南槟榔果核。

槟榔的脂肪酸中既含高含量的饱和脂肪酸棕榈酸，有含高含量的多不饱和脂肪酸（亚油酸），棕榈酸对蜡样芽孢杆菌孢子有部分抑制作用，而亚油酸是人体必需但体内不能合成的脂肪酸，它不仅是人体组织、细胞的组成成分，而且与类脂代谢有密切关系同时它对胆固醇代谢也起重要作用，有降低血脂及胆固醇，强固毛细血管壁的作用并且能预防和减轻动脉硬化症的发生和发展，这是槟榔脂肪酸的一个特点。此外，作为一种富有特色的亚热带作物，槟榔所含亚油酸较为丰富。因此，槟榔脂肪酸的开发利用在该植物资源的综合利用中占一定的位置，值得深入探索。

5 槟榔中氨基酸的提取与分析

氨基酸是组成人体蛋白质的最小单位, 常见的氨基酸有 20 多种, 其中 8 种是人体必需的, 必需氨基酸人体不能经自身合成, 必需从外界食物中获得。目前, 人们对槟榔氨基酸的测定研究很少, 尤其是用高效液相色谱法测定种槟榔中氨基酸的测定还未见报道。本方法运用高效液相色谱柱后衍生法对不同品种槟榔中的氨基酸取做了系统研究, 得到了不同槟榔品种间氨基酸的含量, 并对其进行了分析。

5.1 材料与方法

5.1.1 实验材料

实验原料: 海南槟榔鲜果, 越南槟榔鲜果, 台湾槟榔鲜果。

主要实验试剂: 15 种氨基酸混合标样: 亮氨酸(Leu)、异亮氨酸(Ilu)、赖氨酸(Lys)、组氨酸(His)、丝氨酸(Ser)、甘氨酸(Gly)、苏氨酸(Thr)、丙氨酸(Ala)、蛋氨酸(Met)、缬氨酸(Val)、谷氨酸(Glu)、苯丙氨酸(Phe)、天门冬氨酸(Asp)、脯氨酸(Pro)、酪氨酸(Thr)(中国药品生物制品鉴定所); 醋酸钠, 甲醇, NaClO, 邻苯二甲醛均为分析纯(上海化学试剂厂)

主要实验仪器: , 10-A 岛津高效液相色谱仪, 配荧光检测器(日本岛津); METTLER AE 163 电子分析天平(瑞典梅特勒-拖利多)。

5.1.2 实验方法

5.1.2.1 色谱条件

色谱柱: SHIMADZU 钠型柱, 150 mm×39 mm(id); 柱温: 60℃恒温; 流速: 0.6ml/min; 检测器: 荧光检测器; 流动相: A: 0.2mol/L 醋酸钠缓冲溶液, pH=6.45, B: 甲醇, C: 0.6%NaOH 溶液; 梯度程序以(t, ϕ)表示, 其中 t 指梯度程序中的运行时间(min), ϕ 指甲醇占整个流动相的体积分数, 程序为(0, 20%), (25, 88%), (32, 40%), (33, 20%)。

5.1.2.2 反应液的配置

反应 A 液: 次氯酸钠缓冲液

硼酸-碳酸缓冲溶液的配制：称取 40.70 gNa₂CO₃，用少量水溶解，再加入 18.80 gK₂SO₄加少量水溶解，最后加入 13.57 gH₃BO₃，加水定容至 1000 mL，此溶液 pH 值为 10.00。

量取 500 mL 硼酸-碳酸缓冲溶液，加入 0.2 mLNaClO。

反应 B 液：邻苯二甲醛缓冲液。

10%的 Brij_35 液的配制：称取 10.00 Brij_35 于 1000mL 广口瓶中，加 500mL 水，将广口瓶浸于温水中让 Brij_35 溶解，冷却后，加水定容到 1000 mL。

称取 0.080gOPA（邻苯二甲醛），用 1.4 mL 的甲醇溶解，加入 0.2 mL2_100μL 巯基乙醇，加入 0.4 mL10%的 Brij_35，加配制好的硼酸-碳酸缓冲溶液定容至 100 mL。

5.1.2.3 反应原理

反应液 A(次氯酸钠缓冲液)、反应液 B(OPA 和巯基乙醇缓冲液)输送到反应盘管内，与分离出的氨基酸快速反应，生成具有强荧光的物质，通过荧光检测器检测。

5.1.2.4 氨基酸标准溶液的配制

2.5μmol/ mL 的氨基酸混标，用 1%HCL 溶液稀释至 0.25μmol/ mL。

5.1.2.5 样品预处理及衍生

将海南槟榔、越南槟榔、台湾槟榔在 45℃烘干，粉碎过 60 目筛，分别取 0.5g 样品于安培瓶中，加入 5 mL50%盐酸封口，于 110℃下水解 12 h。过滤后取 2 ml 水解液定容至 50 ml，取 40 μl 进样分析。

5.2 结果与讨论

5.2.1 氨基酸标准色谱图与槟榔氨基酸色谱图

根据上述样品处理方法及色谱分离条件，得到较佳的三种槟榔的氨基酸的色谱图，样品测定的保留时间与标样基本吻合。除脯氨酸因方法限制不能检出外，其余氨基酸均得到有效分离。

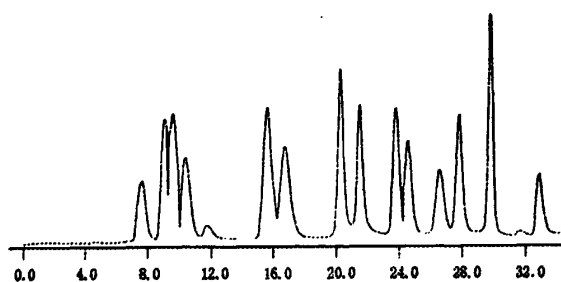


图 5.1 氨基酸标准色谱图

Fig.5.1 Chromatogram of standard amino acids

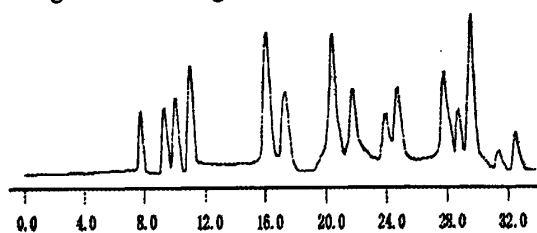


图 5.2 海南槟榔氨基酸色谱图

Fig.5.2 Chromatogram of amino acids in Hainan areca nut

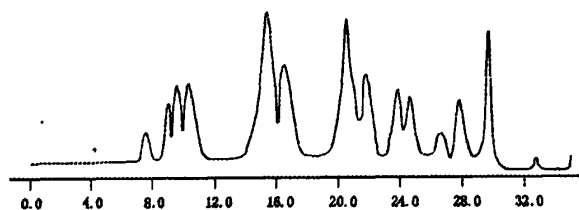


图 5.3 台湾槟榔氨基酸色谱图

Fig.5.3 Chromatogram of amino acids in Taiwan areca nut

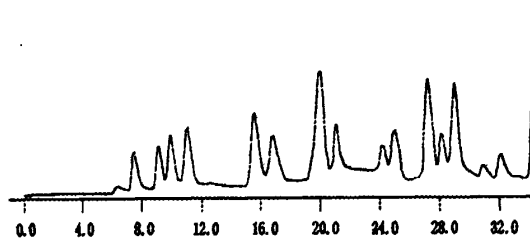


图 5.4 越南槟榔氨基酸色谱图

Fig.5.4 Chromatogram of amino acids in Vietnam areca nut

5.2.2 样品氨基酸含量的测定

表 5.1 槟榔氨基酸含量(%)

Tab.5.1 The contents of combined amino acids in areca nut (%)

氨基酸	海南槟榔	台湾槟榔	越南槟榔
天冬氨酸(Asp)	0.35	0.62	0.29
苏氨酸(Thr) *	0.26	0.20	0.22
丝氨酸(Ser)	0.25	0.30	0.24
谷氨酸(Glu)	0.67	0.72	0.60
脯氨酸(Pro)	—	—	—
甘氨酸(Gly)	0.31	0.37	0.24
丙氨酸(Ala)	0.26	0.26	0.23
缬氨酸(Val) *	0.56	0.57	0.55
蛋氨酸(Met) *	0.10	0.12	0.10
异亮氨酸(Ile) *	0.25	0.36	0.22
亮氨酸(Leu) *	0.49	0.47	0.45
酪氨酸(Thr)	0.43	0.27	1.13
苯丙氨酸(Phe) *	0.53	0.62	0.29
组氨酸(His)	0.61	0.79	0.61
赖氨酸(Lys) *	0.34	0.39	0.32
总氨基酸	5.41	6.06	5.49
必须氨基酸	2.53	2.73	2.15
必须氨基酸占总氨基酸含量	46.77	45.05	39.16

*: 表示必需氨基酸 — : 表示未检出

由表 5.1 可知: 3 种槟榔均含有 14 种氨基酸, 其中包括 7 种人体必需氨基酸, 其氨基酸含量丰富, 为 5.41%~6.06%, 其中必须氨基酸 (EAA) 含量为 2.15%~2.73%, 必须氨基酸占总氨基酸的比值 (EAA/TAA) 为 39.16%~46.77%, 必需氨基酸与非必须氨基酸(EAA/NEAA)含量比值 64.37%~87.80%。据 FAO/WHO 推荐, 质量较好的蛋白质的 EAA NEAA 在 60%以上, EAA/TAA 为 36%以上。槟榔属于比较优秀的蛋白质源^[102]。

槟榔中的氨基酸以谷氨酸、缬氨酸、亮氨酸、苯丙氨酸、组氨酸、酪氨酸为主要氨基酸, 其总量均超过所测氨基酸总量的 55%。其中: 海南槟榔以谷氨酸、组氨酸、缬氨酸、含量较高; 台湾槟榔以谷氨酸、苯丙氨酸、组氨酸为主。越南槟榔中酪氨酸含量最高, 占所测氨基酸 20.58%, 其次是谷氨酸、组氨酸。谷氨酸在人体内具有促进红细胞生成、改善脑细胞营养及活跃思维, 可促进人体内消化液的分泌, 具有预防贫血及解毒作用。异亮氨酸、亮氨酸、缬氨酸这三种必需氨基酸对组织蛋白质合成与分解有调节作用, 可以防治肝、肾功能衰竭, 亮氨酸还有刺激胰岛素的分泌功能。组氨酸有抗溃疡、促进细胞再生作用, 用于贫血及风湿的辅助治疗, 在体内经脱羧生成组胺, 具有降低血压,

扩张血管,促进胃液分泌等作用。槟榔中其它氨基酸含量虽然不高,但这些氨基酸对人体都起着非常重要的作用:赖氨酸是合成核蛋白、血红蛋白及促进大脑神经细胞再生的重要氨基酸,对营养不良、乙型肝炎、支气管炎等有一定的辅助疗效;蛋氨酸是合成表皮中蛋白质及胰岛素所必需的氨基酸,有预防脂肪肝的作用。色氨酸是大脑合成血清素及松果体合成褪黑素的原料;苏氨酸在体内能促进磷脂合成和脂肪酸氧化,具有抗脂肪肝疗效,其铁盐有抗贫血作用;脯氨酸具有抗高血压作用,而乙酰羟基脯氨酸有用作抗风湿药和用于外伤治疗;甘氨酸可治疗重症肌无力等营养失调症。

3 种槟榔氨基酸含量高低是:台湾槟榔>越南槟榔>海南槟榔。不同产地的槟榔、槟榔果仁和果皮所含的氨基酸种类基本一致,其氨基酸含量的差异与其生长环境、生长时间及采收季节等很多因素有关。

5.2.3 分离条件的选择

OPA 柱后衍生化法基本原理是基于 OPA 与巯基试剂(2-巯基乙醇等)在碱性条件下(pH)与第一级氨基酸反应生成 1-硫代-2-烷基异吲哚,该化合物可产生荧光($\lambda_{ex} = 350\text{ nm}$, $\lambda_{em} = 450\text{ nm}$),因此采用荧光检测。但由于脯氨酸不能与 OPA 反应,脯氨酸不能检出。

5.2.2.1 梯度洗脱程序

梯度斜率太小,保留时间较长,且峰形拖尾;斜率太大时,容量因子较小,色谱峰不能达到基线分离。本法选择的洗脱程序以(t , ϕ)表示,程序为(0, 20%), (25, 88%), (32, 40%), (33, 20%),此时分析时间仅为 33 min。除个别氨基酸外,标准混合液中的氨基酸基本达到基线分离;槟榔样品中的氨基酸也得到了满意的分离。

5.2.2.2 柱温

柱温对氨基酸分离影响较大。温度较低时,色谱柱出峰较慢,柱温太高时许多物质都不能实现基线分离。本实验结果表明,柱温在 60 °C 时分离效果较好,本法采用的柱温为 60 °C。

5.2.2.3 流动相 pH 值

pH 值较低时, 保留时间长, 峰面积小, 灵敏度低, 随 pH 值增大, 保留时间缩短, 峰面积增大; 但当 pH 超过 8 时, 衍生物易沉降, 分离度减小, 且流动相缓冲能力较弱。本法选择的最佳 pH 值为 6.45。

5.2.2.4 流速

流速对于色谱柱的出峰时间及分离效果有很大影响。流速太慢时出峰较慢且易脱尾, 太快时虽然减小了分析时间, 但色谱峰的分离效果差。本法选择的最佳流速为 0.6mL/min。

5.3 小结

首次采用 OPA 柱后衍生, 高效液相色谱测定了 3 种槟榔的氨基酸。实验研究发现采用梯度洗脱, 柱温 60 ℃, 流动相 pH 值为 6.45, 流速为 0.6mL/min, 标准混合液中的氨基酸基本达到基线分离; 槟榔样品中的氨基酸也得到了满意的分离。柱后衍生, OPA 以极快的速度与氨基酸反应生成发光荧光物质, 又在很短时间内进入灵敏度很高的荧光检测器检测, 消除了柱前衍生时衍生物不稳定的因素, 且衍生剂不直接进入色谱柱, 使柱寿命延长, 该方法具有较高的分辨率和灵敏度。

通过对海南槟榔、越南槟榔、台湾槟榔中氨基酸的测定和分析表明: 槟榔所含的氨基酸种类比较丰富, 达十四种之多, 其中谷氨酸、缬氨酸、亮氨酸、组氨酸含量、苯丙氨酸含量较高。海南槟榔、台湾槟榔、越南槟榔氨基酸含量分别为 5.41%、6.06%、5.49%。不同产地的槟榔、槟榔果仁和果皮所含的氨基酸种类基本一致, 其氨基酸含量的差异与其生长环境、生长时间及采收季节等很多因素有关。

槟榔中人体必需氨基酸含量较高, 人体不能合成需食物供应的 8 种必需氨基酸中, 槟榔中含 7 种, 其中必须氨基酸 (EAA) 含量为 2.15%~2.73%, 必须氨基酸占总氨基酸的比值 (EAA/TAA) 为 39.16%~46.77%, 必需氨基酸与非必须氨基酸 (EAA/NEAA) 含量比值 64.37%~87.80%。据 FAO/WHO 推荐, 质量较好的蛋白质的 EAA/TAA 在 60% 以上, EAA/NEAA 为 36% 以上。3 种槟榔属于比较优秀的蛋白质源。测定结果显示槟榔是一种对人体具有较高营养价值的天然物质, 其作为中药的药用价值之一在于其所含有的多种氨基酸成分。

在生物体内氨基酸主要用于合成蛋白质, 维持氮平衡, 构成体内各种酶、抗体及某些激素的原料, 并且能调节生理机能, 供给能量, 促进生长发育, 补

充代谢消耗，此外，还可以维持毛细血管的正常渗透压。槟榔含氨基酸种类丰富，且人体必须氨基酸含量较高，对槟榔药效活性有明显的促进作用，是槟榔的有效成分之一。正确利用这些氨基酸，是充分发挥槟榔药用价值的重要因素。

6 槟榔常规成分分析

无机元素和微量元素研究是当前国际上非常活跃的前沿科学,无机元素在中药中广泛存在。无机元素中有一些存在于人体中数量极少的元素,如铁、铜、锌、锰等,又叫微量元素。微量元素在人体内的含量极微,约占人体重量的 0.05%,却发挥着极其重要和特殊的生物活性。本研究对槟榔中无机元素含量进行测定,为研究和开发槟榔资源提供科依据。

6.1 材料与方法

6.1.1 实验材料

海南槟榔鲜果,越南槟榔鲜果,台湾槟榔鲜果测定水分灰分。将三种槟榔在 45℃ 烘干,分别取果皮、果仁粉碎过 60 目筛测定蛋白质、脂肪、还原糖、无机元素。

主要仪器:电热恒温水浴锅(北京市医疗设备厂);DHG-9123 AS 新型电热恒温鼓风干燥箱(宁波江南仪器厂);马福炉(上海实验仪器公司);AFS-930 双道原子荧光光度计;FZ102 微型植碎机(天津泰斯特仪器有限公物)。

6.1.2 实验方法

水份的测定:常压干燥法^[103];

灰分的测定:灼烧法^[103];

还原糖的测定:直接滴定法^[103];

蛋白质:凯氏定氮法测定^[103];

油脂测定:索氏抽提法^[103];

无机元素的测定:采用干灰化法处理样品,用原子吸收分光光度法测定。

数据处理:几种常规成分测定结果采用 SPSS 软件进行分析处理。数据计算平均值及标准差,两组数据均用 t—检验法检测其差异显著性。

6.2 结果与讨论

6.2.1 几种常规成分测定与分析

表 6.1 3 种槟榔水分、灰分含量

Tab.6.1 The moisture and ash of areca nut ($\bar{x} \pm s$, n=3)

样品	鲜果水分%	灰分%
海南果皮	82.32±0.41	4.67±0.14
台湾果皮	79.02±0.97	4.56±0.22
越南果仁	80.28±0.85	4.29±0.24

表 6.2 不同品种槟榔果皮和果核中营养成分的含量测定 (%)

Tab.6-2 Determination of nutrition content in the seeds and peels of different areca nut ($\bar{x} \pm s$, n=3)

样品	海南果皮	海南果核	越南果皮	越南果核	台湾果皮	台湾果核
蛋白质	7.48±0.24	7.64±0.20	6.96±0.33	8.04±0.05	8.91±0.31	8.94±0.08
还原糖	7.57±0.25	6.95±0.07	13.59±0.52	12.68±0.22	5.44±0.23	5.15±0.07
脂肪	3.26±0.38	8.49±0.42	5.34±0.17	9.67±0.13	4.61±0.26	9.94±0.22

表 6.3 不同品种槟榔果皮和果核中营养成分的含量差异显著性检验 (P 值)

Tab.6-3 Difference significance test of nutrition content in the seeds and peels of different areca nut (pvalue)

样品	蛋白质	还原糖	脂肪
海南	0.414	0.041	0.000**
越南	0.027	0.077	0.000**
台湾	0.867	0.097	0.000**

** 为同一品种果皮和果核相比较差异极其显著 (P<0.01)

表 6.2、6.3 表明海南槟榔、越南槟榔、台湾槟榔果皮和果核中蛋白质和还原糖的质量分数均没有显著差异；而果核的粗脂肪的质量分数均明显高于各自果皮的粗脂肪质量分数，全部达到差异极其显著水平。

6.2.2 无机元素含量测定与分析

表 6.4 槟榔无机元素含量(mg/kg)
Table 6.4 The content of trace element in Areca nut (mg/kg)

样品	Zn/mg/kg	Fe/mg/kg	Mn/mg/kg	Cu/mg/kg	Cd/mg/kg	Pb/mg/kg	Ca/%	Mg/%	K/%
海南果皮	15.50	80.55	27.33	6.91	0.00	0.07	0.32	0.23	1.57
海南果核	25.06	98.77	24.84	18.28	0.04	0.10	0.37	0.28	1.62
越南果皮	8.68	42.28	24.65	3.39	0.01	0.05	0.43	0.25	1.45
越南果核	16.73	57.12	48.66	12.24	0.02	0.09	0.52	0.27	1.56
台湾果皮	6.82	32.56	19.63	2.65	0.00	0.03	0.41	0.26	1.84
台湾果核	10.21	24.32	26.81	10.87	0.01	0.06	0.45	0.29	1.87

由表 6.4 可知，3 种槟榔均含有多种人体必需的微量元素 Fe、Cu、Mn、Zn 和常量矿质元素 K、Ca、Mg。

槟榔微量元素中铁的含量最高，Fe 是人体中必需微量元素含量最多的一种，它不仅与造血功能密切相关，还与能量代谢有密切关系，是血红蛋白、肌红蛋白以及某些呼吸酶的主要成分，能提高有机体的免疫力，增强有机体的抗感染能力。缺乏时会引起缺铁性贫血、食欲减退、头晕、记忆力下降、活动后眼花、耳鸣。铁缺乏是全球特别是发展中国家的主要营养缺乏病之一。

槟榔中锌、铜的含量比较高。Zn 是人体必需的微量元素之一^[104]，在人体中含量仅次于铁，居第二位。它是机体正常生长、蛋白质代谢、膜稳定性及 200 余种金属酶发挥功能所需的微量元素。急性缺锌会食欲不振，味觉、嗅觉功能不全；慢性缺锌生长发育缓慢，食欲不振，味觉减退，创伤不易愈合，精神障碍或嗜睡，免疫功能差。Cu 是许多酶的组成成分，能帮助骨骼、血红蛋白、红细胞的形成，并与锌、维生素 C 共同促进弹性蛋白形成。铜还参加伤口的愈合过程、热能的产生、头发与皮肤的色素形成，影响味觉的灵敏度^[105]。缺乏时会导致骨质疏松症、贫血、脱发、腹泻与呼吸功能障碍。

槟榔中富含常量矿物元素钙、镁、钾。钙是人体内最重要的营养元素之一。它除了构成骨骼、牙齿和献宝原生质外，还参与调节神经组织、控制心

脏、凝血以及体内许多代谢作用^[106]。镁(Mg)是人体内一种必需的常量元素,被称为“人体健康催化剂”,参与人体内有机物转化的重要环节—三羧酸循环,如果缺镁,使人产生疲乏,易激动,心跳加快。镁还可以刺激抗毒素的生成,所以钙、镁有解毒的作用。此外,大量研究表明,人体中钙、镁与高血压呈负相关性。提高钙、镁摄入量对预防高血压发生有一定积极作用。

槟榔中 Cd、Pb 含量很少。我国食品卫生标准规定,蔬菜、水果、蛋类 $Pb \leq 0.20 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$, 槟榔中铅的含量符合国家卫生标准。

6.3 小结

本实验的研究结果显示,槟榔果皮和果核中蛋白质和还原糖的质量分数均没有显著差异;而果核的粗脂肪的质量分数均明显高于各自果皮的粗脂肪质量分数,全部达到差异极其显著水平。槟榔中含有多种人体必需的微量元素 Fe、Cu、Mn、Zn 和常量矿质元素 K、Ca、Mg。

7 结论与展望

7.1 结论

通过对大量国内外相关文献的阅读以及本实验的开展可知：槟榔做为一种常用中药，含有多种人体所需的营养元素和有益物质，同时也含有多种药理活性成分。本文仅研究了槟榔碱、脂肪酸、氨基酸、常规成分，获得了较满意的结果。具体内容及基本结论如下：

7.1.1 槟榔碱的超声提取工艺研究

以海南槟榔果皮为原料，乙醚为试剂，通过单因素实验和正交实验，对超声提取槟榔碱提取效果的影响因子进行研究，超声提取槟榔碱的最佳提取条件为：提取时间 30 min，功率 80 w，料液比为 1：12。

实验结果表明：超声提取优于回流提取，可以节省时间，并取得较高的提取率。

7.1.2 GC/MS 测定槟榔中槟榔碱的含量

采用 GC-MS 分析了槟榔中的槟榔碱，以保留时间、质谱定性，外标法定量。GC-MS 测定槟榔碱相对标准偏差 2.56%，方法回收率 98.6~102.6%。GC-MS 对 3 种槟榔果皮和果核的槟榔碱含量进行了测定，测定结果与容量法进行比较。结果显示 GC-MS 测得槟榔碱含量为 0.12~0.38%，容量法测得的槟榔碱含量为 0.32~0.56%。根据药典记载，容量法测定时含醚溶性生物碱以槟榔碱计，即容量法测定的槟榔碱还包括其它生物碱，GC-MS 可以达到分离槟榔碱的目的，准确测定出了样品中槟榔碱的含量。该方法可靠，专属性强，为槟榔碱研究提供了科学依据。

两种方法测得的样品中槟榔碱含量高低都是：越南槟榔果核>海南槟榔果核>台湾槟榔果核>台湾槟榔果皮 >越南槟榔果皮>海南槟榔果皮。

7.1.3 GC/MS 测定和分析槟榔中的脂肪酸

采用极性甲醇和非极性氯仿提取粗脂肪，GC-MS 测定了 3 种槟榔果皮和果核中的脂肪酸组成和相对含量，主成分分析法对 3 种槟榔果皮和果核进行综合评价。结果表明：槟榔含辛酸、癸酸、月桂酸、肉豆蔻酸、棕榈油酸、棕榈酸、十七酸、亚油酸、亚麻酸、油酸、硬脂酸。其棕榈酸含量 27.70~42.28

%, 亚油酸 29.3 ~ 33.80 %, 油酸含量 10.15 ~ 29.50 %, 不饱和脂肪酸占总脂肪酸含量 51.74 ~ 66.84 %。槟榔的特征脂肪酸为棕榈酸、油酸、亚油酸、硬脂酸、辛酸、癸酸、月桂酸。3 种槟榔果皮和果核脂肪酸综合评价高低为: 台湾槟榔果核 > 台湾槟榔果皮 > 海南槟榔果皮 > 越南槟榔果皮 > 越南槟榔果核 > 海南槟榔果核。

实验结果表明槟榔脂肪的开发利用在该植物资源的综合利用中占一定的位置, 值得深入探索。

7.1.4 槟榔氨基酸含量的测定和分析

采用 OPA 柱后衍生化法, 高效液相色谱氮测定和分析槟榔中氨基酸。

实验结果表明槟榔含有 14 种氨基酸, 7 种必需氨基酸, 其中谷氨酸、缬氨酸、亮氨酸、组氨酸含量、苯丙氨酸含量较高。海南槟榔、台湾槟榔、越南槟榔氨基酸含量分别为 5.41%、6.06%、5.49%。槟榔中人体必需氨基酸含量较高, 对该药用植物的药效活性可能有促进作用, 是槟榔的有效成分之一。正确利用这些氨基酸, 是充分发挥槟榔价值的重要因素之一。

7.1.5 槟榔常规成分的测定和分析

测定和比较了槟榔果皮和果核中几种营养成分, 结果表明: 3 种槟榔果皮和果核中蛋白质和还原糖的质量分数均没有显著差异; 而果核的粗脂肪的质量分数均明显高于各自果皮的粗脂肪质量分数, 全部达到差异极其显著水平。测定了槟榔中的无机元素, 结果表明: 3 种槟榔均含有多种人体必需的微量元素 Fe、Cu、Mn、Zn 和常量矿质元素 K、Ca、Mg。

7.2 展望

通过系统的测定和分析 3 种槟榔中槟榔碱、脂肪酸、氨基酸、常规成分, 发现槟榔含有多种人体所需的营养元素和有益物质。本实验为开展槟榔有效成份提取, 充分挖掘槟榔有效成分的经济价值, 槟榔的深度开发与利用打下理论基础。

本研究花费了大量的时间和精力, 但由于作者能力有限以及实验条件的限制, 仍没能对槟榔中的酚类物质及槟榔生物碱的种类进行研究, 这些方面有待于在以后的研究中继续探讨。此外, 槟榔化学成分与生理保健功效关系的机理机制还有待更深入的研究。

7.3 本研究的创新点

槟榔位居四大南药之首，但是其大部分产品却不是走向药材市场，而是用于加工成人们的嗜好品—商品槟榔或槟榔嚼块，目前，世界约有六亿人有过咀嚼槟榔的历史，主要分布在印度、东南亚以及我国的海南、湖南、台湾等地。槟榔的化学成分具有生理正、负效应，减少和消除其负面效应，提高其正面效应是槟榔研究的重要课题。国内外对槟榔的研究当前主要集中在提取槟榔中的生物碱并进行医学研究，而对其它化学成分的研究较少，还未见有关系统的化学成分与药效学方面的研究。本研究首次系统地测定和分析了槟榔中的生物碱、脂肪酸、氨基酸、无机元素，为槟榔保健品的研制，为槟榔的深度开发和利用提供了理论基础。

参 考 文 献

- [1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典(2005年版第一部)[M]. 北京: 化学工业出版社, 2005. 274-275.
- [2] 肖培根. 新编中药志(第二卷)[M]. 北京: 化学工业出版社, 2002. 643.
- [3] 颜炳稳. 漫话海南的槟榔[J]. 生物学教学, 2000, 25(9): 43-44.
- [4] 陈直校. 《三辅黄图校证》卷三[M]. 西安: 陕西人民出版社, 1980. 75.
- [5] (清)蔡廷兰. 《海南杂著》台湾文献丛刊(第八辑)[M]. 台北: 大通书局, 2000. 7、39.
- [6] 王惠清. 中药材产销[M]. 成都: 四川科学技术出版社, 2003. 405.
- [7] Norton SA. Betel: Consumption and consequences[J]. Journal of the American Academy of Dermatology, 1998, 38(1): 81-88.
- [8] Winstock A. Areca nut-abuse, dependence and public health[J]. Addiction Biology, 2002, 7(1): 133-138.
- [9] Warnakulasuriya S, Peters TJ. Biology, medical and socio-economic aspects of areca nut use[J]. Addiction Biology. 2002, 7(1): 75-76.
- [10] Croucher R, Islam S. Socio-economic aspects of areca nut use[J]. Addiction Biology, 2002, 7: 139-146.
- [11] Warnakulasuriya S. Areca nut use following migration and its consequences. Addiction Biology, 2002, 7: 127-132.
- [12] Gupta PC, Warnakulasuriya S. Global epidemiology of areca nut useage. Addict Biology, 2002, 7: 77-83.
- [13] Gupta PC, Ray CS. Epidemiology of Betel Quid Useage[J]. Annals Academy of Medicine, 2004, 33(4): 33-36.
- [14] Awang MN. Areca catechu (betel) nut and oral submucous fibrosis [D]. London: University of London, 1983.23-25.
- [15] 林更新. 台湾的槟榔业极其独特的槟榔文化[J]. 海峡科技与产业, 2002, 2: 19-20.
- [16] 杜毅, 陈晓. 槟榔系列 1 槟榔产业的历史与展望[J]. 中国医学杂志, 2005, 3(7): 406-408.
- [17] 黄循精. 2002 年世界槟榔产销情况[J]. 世界热带农业信息, 2003, (10): 5-6.

- [18] 黄循精. 2004 年世界槟榔的产销简况[J]. 世界热带农业信息, 2005, (2): 18-19.
- [19] 叶茜. 1990~2001 年世界各国槟榔出口情况[J]. 世界热带农业信息, 2003, (2): 27.
- [20] 黄循精. 2002/2003 年度世界槟榔的产销概况[J]. 世界热带农业信息, 2004, (6): 10-12.
- [21] 黄循精. 印度槟榔的生产现状及未来[J]. 世界热带农业信息, 2003, (03): 9-12.
- [22] 杜道林, 甘炳春, 王有生, 等. 槟榔种质初步评价研究[J]. 中国种业, 2005, (7): 37-38.
- [23] 韩 容. 槟榔嚼块对神经系统的影响及其依赖性[J]. 天坛药讯, 2005, 17(2): 50-55.
- [24] 王元林, 邓敏锐. 东南亚槟榔文化探析[J]. 世界民族, 2005, 3: 63-69.
- [25] 张殿英. 东方民俗文化辞典[M]. 安徽: 黄山书社, 1991. 99-115.
- [26] 杨久滕, 徐邦治, 韩鸿志, 等. Betel Nut Induced Milk-Alkali Syndrome-Case Report[J]. 慈济医学杂志, 2005, 17(4): 265-268.
- [27] 孟宪红. 谁不爱槟榔? [J]. 两岸关系, 2003, (8): 60-61.
- [28] 孙 宇. 留红唇齿间——品味台湾槟榔文化[J]. 两岸关系, 2001, (03): 64.
- [29] 谟谦诗文集. 台湾归来话台湾之七——槟榔西施[EB/OL].
<http://yanruyu.com/jhy/author/detail.asp?sendid=54656&page=34>,
2005-7-12/2005-12-8.
- [30] 王静雯. 台湾的“槟榔西施”[J]. 东南亚纵横, 2000, (7): 40-41.
- [31] 琼州大学“海南民族地区生态文化研究”课题组. 绿色生态槟榔文化[J]. 琼州大学学报, 2005, 12(3): 46-50, 58.
- [32] 中国槟榔食品网. 黎族姑娘的爱情信物是槟榔[EB/OL].
<http://www.chinabetelnut.com/zj.asp?id=15&typeid=blyj>,
2005-08-09/2005-12-08.
- [33] (清)屈大均. 广东新语·木语(第二十五卷)[M]. 北京: 中华书局, 1997. 629.
- [34] 陈宏波. 嚼出来的名牌——“小龙王”槟榔[J]. 学习导报, 2003, (3): 43.
- [35] 林晓雷. 风起云涌的湘潭槟榔潮[J]. 光彩, 1996, (3): 18-20.
- [36] 赵建梅, 陈太炳. 小槟榔嚼出大市场[J]. 风采, 2002, (12): 18-19.
- [37] 刘炬(长沙晚报). 湘潭槟榔越嚼越有劲[EB/OL].

<http://news.sina.com.cn/s/2003-06-11/1121209023s.shtml>,

2003-6-11/2005-12-10.

- [38] Mujumder AM, Kapadi AH, Pendse GS. Chemistry and pharmacology of betel nut *Areca catechu* Linn[J]. *J. Plant. Crops* 1979, 7: 69-92.
- [39] 中国医学科学院药物研究所. 中草药有效成分研究(第一分册)[M]. 北京: 人民卫生出版社, 1972. 445.
- [40] 徐国钧. 中草药学(下册)[M]. 南京: 江苏科技出版社, 1980. 1246.
- [41] Pathak SP, et al. The Chemical Constitution of Natural. Fats[J]. *J. Sci. Food Agr.* 1954, 5: 461.
- [42] 何和明, 林兴理, 周建强. 海南岛不同生态型槟榔主要营养成分含量变化的分主要营养成分含量变化的分析[J]. *中国野生植物资源*, 1998, 17(2): 8-12.
- [43] 何和明. 槟榔矿质元素含量测定与分析[J]. *中药材*, 1990, 13(1): 35-36.
- [44] 安银岭. 植物化学[M]. 哈尔滨: 东北林业大学出版社 1996, 195.
- [45] Holdsworth DK, Jones RA, Self R. Volatile Alkaloids from *Areca Catechu*[J]. *Phytochemistry*, 1998, 48(3): 581-582.
- [46] Wang CK, Hwang LS. Study on the separation and hydrolysis of alkaloids from betel nut[J]. *Food. Sci.* 1993, 20: 514-526.
- [47] 高 敏. 光度法测定槟榔中槟榔碱的含量[J]. *化学分析计量*, 2003, 12(1): 28-30.
- [48] 袁 炜, 吕建德, 傅小芸. 槟榔中槟榔碱和槟榔次碱的毛细管电泳分析[J]. *分析化学研究简报*, 2000, 28(6): 749-752.
- [49] 卢英翠, 李逢春, 郑青山. 薄层扫描法测定槟榔中槟榔碱的含量[J]. *山东医药工业*, 2002, 21(4): 17.
- [50] Manske RHF, Holmes HL. *The Alkaloids*. Vol. 1[M]. Academic Press, New York, 1950. 171.
- [51] 徐 洁. 酸性染料比色法测定槟榔中总生物碱的含量[J]. *海峡药学*, 2001, 13(1): 30-31.
- [52] 陈浩桢, 赖宇红, 王晓钰, 等. 高效阳离子交换色谱法测定槟榔中槟榔碱的含量[J]. *中药材*, 2002, 25(1): 27-28.
- [53] Huang JL, Mcleish MJ. High performance liquid chromatographic determination of the alkaloids in betel nut[J]. *J Chromatogr*, 1989, 475:

447-450.

- [54] Cox S, Irina PI, Vickers ER, et al. High-performance liquid chromatographic determination of arecoline in human saliva[J]. *Journal of Chromatography A*, 2004, 1032: 93-95.
- [55] Wang HK, Lee WH. Separation, Characteristics, and Biological Activities of Phenolics in Areca Fruit[J]. *J. Agric. Food Chem*, 1996, 44: 2014-2019.
- [56] 孙建平. 不同葡萄果皮中酚类物质的分离及其生物活性研究[D]. 杨凌: 西北农林科技大学, 2003. 16.
- [57] Wang CK, Lee WH, Peng CH. Contents of Phenolics and Alkaloids in Areca catechu Linn. during Maturation[J]. *J. Agric. Food Chem*, 1997, 45 (4): 1185.
- [58] Butler LG, Price ML, Brotherton JE. Vanillin assay for proanthocyanidins (condensed tannins): modification of the solvent for estimation of the degree of polymerization[J]. *J. Agric. Food Chem*, 1982, 30: 1087-1089.
- [59] (明)李时珍. 本草纲目·校点本下册(第三十一卷)[M]. 北京: 人民卫生出版社, 1982. 1831-1832.
- [60] (明)李时珍. 本草纲目·白话精译[M]. 内蒙古: 内蒙古科学技术出版社, 2004. 355-357.
- [61] 郑虎占. 中药现代研究与应用[M]. 北京: 学苑出版社, 1999. 45-65.
- [62] 何昌浩, 夏国瑾, 李桂玲, 等. 槟榔碱与灭螺药物合用的增效作用研究[J]. *中国血吸虫病防治杂志*, 1999, 11(4): 21.
- [63] 冯 青, 李桂玲, 杨 盈, 等. 槟榔灭钉螺增效成分的研究[J]. *中药材*, 1999, 22(11): 572.
- [64] 李 沈, 夏国瑾, 姚伟星, 等. 低浓度槟榔碱对钉螺足颠平滑肌收缩和对豚鼠心室肌细胞钙内流作用的实验研究[J]. *中国血吸虫病防治杂志*, 2000, 12(2): 94.
- [65] 姚伟星, 夏国瑾, 李 洪, 等. 槟榔碱对大鼠门静脉和钙通道电流的剂量与效应关系[J]. *中国寄生虫病防治杂志*, 2001, 14(2): 139.
- [66] Haubrich DR, Watson DR. Effects of pilocarpine or arecoline administration on acetylcholine levels and serotonin turnover in rat brain[J]. *J Pharmacol Exp Ther*, 1972, 181(1): 19-27.
- [67] Molinengo L, Fundaro AM, Cassone MC. Action of a chronic arecoline administration on mouse motility and on acetylcholine concentrations in the

- CNS[J]. *J Pharm Pharmacol*, 1988, 40: 821-822.
- [68] Calogero AE, Kamilaris TC, Gomez MT, et al. The muscarinic cholinergic agonist arecoline stimulates the rat hypothalamic-pituitary-adrenal axis through a centrally-mediated corticotrophin-releasing hormone-dependent mechanism[J]. *Endocrinology*, 1989, 125: 2445-2453.
- [69] Lim DY, Kim IS. Arecoline inhibits catecholamine release from perfused rat adrenal gland[J]. *Acta Pharmacologica Sinica*, 2006, 27(1): 71-79.
- [70] Nieschulz O. Zur Pharmakologie des Wirkstoffes des Betels[J]. *Arzneimittelforschung*, 1970, 20: 218-229.
- [71] Johnston GAR, Krogsgaard-Larsen P, Stephanson A. Betel nut constituents as inhibitors of γ -aminobutyric acid uptake[J]. *Nature*, 1975, 258(5536): 627-628.
- [72] Lodge D, Johnston GAR, Curtis DR, et al. Effects of the Areca nut constituents arecaidine and guvacine on the action of GABA in the cat central nervous system[J]. *Brain Res*, 1977, 136(3): 513-522.
- [73] Michiko O, Yoshitsugu M, Shigenobu S, et al. Attenuating Effect of Arecoline and Physostigmine on an Impairment of Mealtime-Associated Activity Rhythm in Old Rats[J]. *Physiology & Behavior*, 1995, 57(1): 189-191.
- [74] Maiese K, Holloway HH, Larson DM, et al. Effect of acute and chronic arecoline treatment on cerebral metabolism and blood flow in the conscious rat[J]. *Brain Res*, 1994, 641(1): 65-75.
- [75] Yang YR, Chang KC, Chen CL, et al. Arecoline Excites Rat Locus Coeruleus Neurons by Activating the M2-Muscarinic Receptor[J]. *The Chinese Journal of Physiology*, 2000, 43(1): 23-28.
- [76] Goger JS, John SA, Caleb O, et al. Effects of chewing betel nut (*Areca catechu*) on the symptoms of people with schizophrenia in Palau, Micronesia[J]. *British Journal of Psychiatry*, 2000, 170(2): 174-178.
- [77] Ghelardini C, Galeotti N, Lelli C, et al. M₁ receptor activation is a requirement for arecoline analgesia[J]. *Il Farmaco*, 2001, 56(5-7): 383-385.
- [78] 杜志敏, 万新祥, 伍爱婵, 等. 槟榔碱对小鼠小肠运动的影响[J]. *广州医高专学报*, 1999, 22(1): 27-28.
- [79] 陈潮燕. 槟榔碱的提取分离及其对胃肠道平滑肌收缩作用的影响[J]. *广东药学*, 2000, 10(20): 48-50.

- [80] 倪依东, 王建华, 王汝俊. 槟榔及槟榔碱对胃肠作用的对比研究[J]. 中药药理与临床, 2004, 20(2): 11-12.
- [81] Gilani AH, Ghayur MN, Saify ZS, et al. Presence of cholinomimetic and acetylcholinesterase inhibitory constituents in betel nut[J]. Life Sciences, 2004, 75(20): 2377-2389.
- [82] 陈冬梅, 慕邵峰, 汪海. 激活血管内皮细胞乙酰胆碱作用靶标的抗血栓作用及其分子机制[J]. 中国药理学通报, 2002, 18(5): 527.
- [83] 山丽梅, 张锦超, 赵艳玲, 等. 槟榔碱抗动脉粥样硬化分子机制的研究[J]. 中国药理学通报, 2004, 20(2): 146-151.
- [84] 韩容, 孙艳萍, 李俊旭, 等. 槟榔碱对小鼠吗啡行为敏化的影响[J]. 中国药物依赖性杂志, 2005, 14(3): 39-44.
- [85] Lee KK, Choi JD. The effects of Areca catechu L extract on anti-inflammation and anti-melanogenesis[J]. International Journal of Cosmetic Science, 1999: 275-284.
- [86] Lee KK, Choy JJ, Parka EJ, et al. Anti-elastase and anti-hyaluronidase of phenolic substance from Areca catechu as a new anti-ageing agent[J]. International Journal of Cosmetic Science. 2001, 23: 341-346.
- [87] Boyland E, Nery R. Mercapturic acid formation during the metabolism of arecoline and arecaidine in the rat[J]. Biochem J, 1969, 113(Pt.1): 123-130.
- [88] 郑雪晶, 秦晓民, 郑雪凌. 槟榔碱对未孕和早孕大鼠子宫平滑肌电活动的作用及其机制研究[J]. 中华实用医学杂志, 2005, 18(1): 151-153.
- [89] 胡怡秀, 臧雪冰, 胡余明, 等. 槟榔对雄性小鼠生殖功能的影响[J]. 中华预防医学杂志, 1999, 33(1): 59-60.
- [90] García-Algar O, Vall O, Alameda F, et al. Prenatal exposure to arecoline (areca nut alkaloid) and birth outcomes[J]. Archives of Disease in Childhood—Fetal & Neonatal Edition, 2005, 90(3): 278-277.
- [91] Kuo FC, Wu DC, Yuan SSF, et al. Effects of arecoline in relaxing human umbilical vessels and inhibiting endothelial cell growth[J]. Journal of Perinatal Medicine, 2005, 33(5): 399-405.
- [92] Lee PH, Chang MC, Chang WH, et al. Prolonged exposure to arecoline arrested human KB epithelial cell growth: Regulatory mechanisms of cell cycle and apoptosis[J]. Toxicology, 2006, 220(2-3): 81-89.

- [93] Harvey W, Scutt A, Meghji S, et al. Stimulation of human buccal mucosa fibroblasts in vitro by betel nut alkaloids[J]. Arch Oral Biol, 1986, 31(1): 45-49.
- [94] Tsai CH, Yang SF, Chen YJ, et al. The upregulation of insulin-like growth factor-1 in oral submucous fibrosis[J]. Oral Oncology, 2005, 41(9): 940-946.
- [95] Scutt A, Meghji S, Canniff JP, et al. Stabilisation of collagen by betel nut polyphenols as a mechanism in oral submucous fibrosis[J]. CMLS, 1987, 43(4): 391-393.
- [96] Meghji S, Scutt A, Canniff JP, et al. Inhibition of collagenase activity by areca nut tannins: a mechanism of collagen accumulation in oral submucous fibrosis[J]. J Dent Res, 1982, 61: 545.
- [97] 黄志强, 周民杰, 毛献萍. 黄连中小檗碱的超声波提取工艺及数学模拟[J]. 运用化工, 2006, 35 (7) : 543-544.
- [98] 许禄, 邵学广. 化学计量学方法[M]. 北京: 科学出版社, 2004. 130 - 131.
- [99] 裴金德. 多元统计分析及其应用[M]. 北京: 北京农业大学出版社, 1991. 196 - 256.
- [100] 童其慧. 主要分析方法在指标综合评价中的应用[J]. 北京理工大学学报, 2002, 4 (1) : 59 - 61.
- [101] 卢文岱. SPSS for Windows 统计分析[M]. 北京: 电子出版社, 2000. 401 - 419.
- [102] 李正中. 花粉、灵芝与珍珠中必须氨基酸的定量与分析比较[J]. 氨基酸分析, 1998, 10: 41-43.
- [103] 大连轻工业学院、华南理工大学等合编. 食品分析[M]. 北京: 中国轻工业出版社, 1994. 313.
- [104] 吴平. 食品分析[M]. 北京: 中国轻工业出版社, 2004. 262.
- [105] 黄成林, 杨永峰. 苦竹竹笋主要营养成分和微量元素的研究[J]. 竹子研究汇刊, 2006, 25 (3) : 34-35.
- [106] 孙远明, 余群力. 食品营养学[M]. 北京: 中国农业大学出版社, 2002. 76.

附录A:攻读学位期间的主要学术成果

发表论文

序号	论文作者	论文题目	期刊名称	发表时间 (卷次、页码)
1	曾 琪, 李忠海, 袁列江, 郑锦星	槟榔生物碱的研究现状 及展望	食品与机械	2006, 22(6): 158-161
2	郑锦星, 曾 琪, 赵 兰, 李 靖, 林叶新, 庞国歌	槟榔保健饮料的研制	食品研究与开发	2006, 27 (11): 125-128
3	李忠海, 郑锦星, 袁列江, 曾琪, 钟海雁	槟榔在口腔黏膜下纤维 性变发病机制中的 作用	中南林业科技大学 学报	2006, 26(6): 145-149

致谢

本论文是在导师李忠海教授、钟海雁教授的悉心指导下完成的，它不仅凝结着本人在硕士阶段学习和奋斗的辛勤汗水，更凝聚着导师的谆谆教诲与殷切期望。三年来承蒙导师的教导和无微不至的关怀，在此表示最诚挚的敬意和谢意！

在实验方案的设计与实验的开展过程中，得到了师兄袁列江、孙汉洲的指导与大力支持，以使实验能够顺利完成，特表示谢意！

在实验及论文的完成过程中得到了同学郑锦星、高春花、刘宁露、黄永辉、杨培华、庞国歌、殷艳、赵红梅、刘宗敏、沈盈梅、白婕、张慧等，师妹林叶新、李靖、王岁红等，师弟王层飞、杨检林、姜瑞清等的热情帮助，对他们的无私帮助也表示衷心的感谢！

衷心感谢食品科学与工程学院的老师 and 领导们的关心与培养！感谢研究生部各位领导的关怀与教导

感谢我的父母及家人，没有他们大力的支持我不可能完成我的学业，走完在我生命中重要的三年研究生生涯！

感谢所有关心支持爱护我的人们！

由于本人水平有限，文中难免有不妥和不足之处，敬请各位专家，老师批评斧正！

曾琪
2007年5月于长沙

