

DOI:10.12171/j.1000-1522.20240288

干燥和储存方式对植物叶片次生代谢物含量的影响

梁昌明 田地 赵常提 陈冰瑞 莫仪恩 夏青霖 霍怡妃

(林木资源高效生产全国重点实验室, 北京林业大学, 北京 100083)

摘要:【目的】本研究通过检测不同干燥和储存预处理后植物叶片总酚、黄酮和单宁含量的变化, 旨在为野外采样、保存和实验过程中植物叶片的预处理方法提供指导。【方法】选取北方常见的草本、灌木、阔叶乔木和针叶乔木等生活型植物的叶片作为研究对象, 采用真空冷冻干燥、烘箱干燥、微波干燥、自然晒干和自然阴干作为干燥预处理方式, 并设置-20和-80℃的储存温度, 以及15和30d的储存时间作为储存预处理方式, 对比分析不同预处理方式对植物叶片总酚、黄酮和单宁含量的影响。【结果】(1)不同干燥方式处理8种植物叶片后, 叶片总酚含量最大值大多出现在真空冷冻干燥和微波干燥; 叶片黄酮含量最大值大多出现在真空冷冻干燥、烘箱干燥和微波干燥; 叶片单宁含量最大值大多出现在真空冷冻干燥和微波干燥。(2)8种植物叶片的总酚、黄酮和单宁含量均随储存时间的增加而降低, -80℃储存条件下测定的次生代谢物含量大多高于-20℃。【结论】检测植物叶片次生代谢物时, 建议在样品采集后尽快完成测定, 推荐采用真空冷冻干燥或微波干燥方式进行样品干燥预处理。如果从野外试验点采样后需要进行长距离运输, 且无法保证-80℃储存条件, 可以在-20℃条件下短期运输和储存。

关键词: 次生代谢物; 预处理方法; 植物叶片; 干燥方式; 储存方式

中图分类号: S718.4 文献标志码: A 文章编号: 1000-1522(2024)12-0082-10

引文格式: 梁昌明, 田地, 赵常提, 等. 干燥和储存方式对植物叶片次生代谢物含量的影响 [J]. 北京林业大学学报, 2024, 46(12): 82-91. Liang Changming, Tian Di, Zhao Changti, et al. Effects of drying and storage methods on contents of secondary metabolites in plant leaves [J]. Journal of Beijing Forestry University, 2024, 46(12): 82-91.

Effects of drying and storage methods on contents of secondary metabolites in plant leaves

Liang Changming Tian Di Zhao Changti Chen Bingrui Mo Yien Xia Qinglin Huo Yifei

(State Key Laboratory of Efficient Production of Forest Resources, Beijing Forestry University, Beijing 100083, China)

Abstract: [Objective] This study aimed to provide guidance on pretreatment methods for plant leaves during field sampling, preservation, and experimentation by detecting changes in the contents of total phenol, flavonoid, and tannin in plant leaves after different pretreatments. [Method] The leaves of herbaceous plants, shrubs, broadleaved trees, and coniferous trees were selected as research objects. The drying pretreatment methods included vacuum freeze-drying, oven drying, microwave drying, natural sun drying, and natural shade drying. The storage pretreatment methods involved storage temperatures of -20 and -80℃ and storage durations of 15 and 30 d. The effects of different pretreatment methods on contents of total phenol, flavonoid, and tannin in plant leaves were compared. [Result] (1) After different drying treatments in the leaves of 8 plant species, the maximum content of total phenol in leaves mostly appeared in vacuum freeze-drying and microwave drying; the maximum flavonoid content of leaves mostly appeared in vacuum freeze-drying, oven drying and microwave drying; the maximum tannin content of leaves mostly appeared in vacuum freeze-drying and microwave drying. (2) The contents of total phenol, flavonoid and

收稿日期: 2024-08-03 修回日期: 2024-11-18

基金项目: 北京市自然科学基金项目(5222018)。

第一作者: 梁昌明. 主要研究方向: 森林学. Email: 872032349@qq.com 地址: 100083 北京市海淀区清华东路35号北京林业大学林学院。

责任作者: 田地, 博士, 副教授. 主要研究方向: 全球变化与森林生态学, 植物生态化学计量学. Email: tiandi@bjfu.edu.cn 地址: 同上。

本刊网址: <http://j.bjfu.edu.cn>; <http://journal.bjfu.edu.cn>

tannin in leaves of 8 species decreased with the increase of storage time, and the contents of secondary metabolites measured at $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ were mostly higher than those stored at $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$. [Conclusion] In experiments detecting the content of foliar secondary metabolites, we recommend to complete the measurement as soon as possible after sample collection. Vacuum freeze-drying or microwave drying methods can be used for sample drying pretreatment. If long-distance transportation is required after sampling from field experiment sites, and storage conditions at $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ cannot be guaranteed, short-term transportation and storage at $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ is acceptable for measurement of the content of foliar secondary metabolites. Microwave drying, as a fast, safe, and efficient drying method, has strong applicability in the pretreatment of plant samples in laboratories.

Key words: secondary metabolites; pretreatment methods; plant leaves; drying methods; storage methods

植物体内的新陈代谢过程可以分为初生代谢过程与次生代谢过程^[1]。初生代谢过程存在于所有植物中,是维持生命活动所必需的代谢过程^[2];次生代谢过程是指植物合成生命非必需物质,并储存次生代谢产物的过程^[3]。总酚、黄酮和单宁是植物体内具有重要作用的 3 类次生代谢物。总酚在高等植物中广泛存在,可以调节植物生长以及用于治疗炎症、肝中毒等^[4];黄酮是植物体内重要的色素物质^[5];单宁可以影响植物的口感,有助于植物免遭食草动物的摄食^[6]。这三类植物叶片次生代谢物已成为植物-动物互动、植物-微生物互动和植物抗性研究中表征化学防御的重要指标^[7]。关于总酚^[8]、黄酮^[9]和单宁^[10]的测定方法,在我国的国家 and 行业标准中已有明确的规定。然而,在这些测定标准中,通常缺乏对前期样品预处理方法的详细说明。

常见的预处理方式包括干燥方式和储存方式。烘箱干燥是目前实验室最常用的干燥方式,其利用循环热风来干燥样品^[11]。自然晒干和自然阴干同样是较为常见的干燥方式,自然晒干方式利用太阳辐射热和自然风力蒸发样品水分^[12],自然阴干方式主要依靠自然风力进行干燥^[13]。微波干燥在食品领域应用较广^[14],其通过微波能量使介质分子转化为热能,从而使样品温度升高,使样品内的水分蒸发^[15]。真空冷冻干燥是将样品冻结至低于共晶点的温度,然后在真空条件下加热,使样品中的水分从固态直接升华为气态,从而去除水分的干燥方式^[16]。实验中常用的储存温度有 $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ 、 $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ 和 $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ 等,低温条件下能较好地保持样品的理化性质^[17]。

针对不同预处理方法对于植物次生代谢物含量的影响,以往的研究已经做了许多积极的探索。例如,陈青等^[18]研究真空冷冻干燥、微波干燥、烘箱干燥和自然晒干对于树莓总酚和黄酮含量的影响,结果表明真空冷冻干燥预处理的结果最优。Park 等^[19]研究了不同烘箱干燥温度和真空冷冻干燥对于食用花卉黄酮类化合物的影响,结果表明 $50\text{ }^{\circ}\text{C}$ 烘箱干

燥的效果最好。吴兆喜等^[20]比较了自然阴干、自然晒干和不同烘箱干燥温度处理下百蕊草(*Thesium chinense*)黄酮醇苷含量的高低,结果表明 $60\text{ }^{\circ}\text{C}$ 和 $80\text{ }^{\circ}\text{C}$ 烘箱干燥温度可以有效地保持百蕊草中两种黄酮醇苷成分。Park 等^[21]发现野甘蓝(*Brassica oleracea*)的总酚和黄酮含量随室温储存时间的延长而显著降低,随低温储存时间的延长而升高。Force 等^[22]发现西蓝花(*B. oleracea* var. *italica*)、萝卜(*Raphanus sativus*)和野甘蓝种子芽中的硫代葡萄糖苷在 $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ 低温储存时没有显著损失,而芝麻菜(*Eruca sativa* subsp. *sativa*)芽的硫代葡萄糖苷在低温储存时显著下降。然而,前人的研究大多集中在食品领域,主要聚焦单一物种,或仅考虑个别预处理因素,研究结果在植物学相关试验中的普适性有待于验证。植物生态学研究常受限于野外艰苦的采样环境,遭遇长距离储存运输的难题,同时缺乏有效的低温储存条件,亟需容易实现、可操作的植物预处理方案。因此,有必要整合次生代谢物含量测定前多个环节的关键影响因素,同时将研究对象拓展至不同生活型的多个物种,为植物生态学中测定次生代谢物含量的预处理方式的选取和优化提供参考。

基于此,本研究在草本、灌木、阔叶乔木和针叶乔木中各选择两种植物叶片作为实验材料,分别为麦冬(*Ophiopogon japonicus*)、玉簪(*Hosta plantaginea*)、大叶黄杨(*Buxus megistophylla*)、连翘(*Forsythia suspensa*)、山杏(*Prunus sibirica*)、碧桃(*Prunus persica* 'Duplex')、圆柏(*Juniperus chinensis*)和白皮松(*Pinus bungeana*),综合前人的预处理方法,对不同生活型的植物叶片采用 5 种干燥方式进行预处理,包括真空冷冻干燥、烘箱干燥、微波干燥、自然晒干和自然阴干。同时对样品进行储存温度和储存时间的预处理,储存温度分别设定为 -20 和 $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$,储存时间分别设定为 15 和 30 d,利用筛选出的干燥方进行干燥处理,进而检测植物叶片总酚、黄酮和单宁含量的变化。研究结果旨在为野

外采样、保存和实验过程中植物叶片的预处理方法提供指导。

1 材料与方法

1.1 实验材料

研究区位于北京林业大学(116°21'E, 40°00'N), 该地区属于温带季风气候, 实验于2023年6月下旬

植物旺盛生长期进行, 平均气温 21~34℃。选取大叶黄杨、连翘、山杏、碧桃、圆柏和白皮松各1株生长良好的成熟植株作为木本植物样本, 每种植物采摘中冠层的一年生健康叶片。选取同一区域生长良好的麦冬和玉簪成熟植株作为草本植物样本, 每种植物采摘一年生健康叶片。8种植物叶片含水率如表1所示。

表1 8种植物叶片的含水率
Tab. 1 Moisture contents of leaves of 8 plant species

植物种类 Plant species	麦冬 <i>O. japonicus</i>	玉簪 <i>H. plantaginea</i>	大叶黄杨 <i>B. megistophylla</i>	连翘 <i>F. suspensa</i>	山杏 <i>A. sibirica</i>	碧桃 <i>P. persica</i> 'Duplex'	圆柏 <i>J. chinensis</i>	白皮松 <i>P. bungeana</i>
含水率 Moisture content/%	69.49 ± 1.35	82.98 ± 3.62	62.91 ± 1.94	75.91 ± 1.00	70.10 ± 1.34	64.85 ± 2.10	63.92 ± 5.91	55.34 ± 5.02

1.2 研究方法

1.2.1 干燥预处理

每种植物分别采摘叶片25g, 并随机分成5份, 每份5g。对每份叶片样品进行不同干燥方式处理, 干燥方法如下。

真空冷冻干燥:真空冷冻干燥机(FreeZone 4.5L)内保持温度-40℃以下连续真空干燥48h。干燥36h后, 每隔2h取出称量1次, 直至质量恒定。**烘箱干燥:**烘箱(DHG-9620A)内80℃连续干燥4h。干燥2h后, 每隔30min取出称量1次, 直至质量恒定^[20]。**微波干燥:**微波炉(Midea M1-L213B)内连续高火(700W)4min、中火(700W)3min、低火(700W)1min进行干燥。干燥7min后, 每隔10s取出称量1次, 直至质量恒定^[23]。**自然晒干:**在阳光条件下自然晾晒15d。干燥10d后, 每日取出称量1次, 直至达到质量恒定。**自然阴干:**在避光条件下自然阴干20d^[24]。干燥10d后, 每日取出称量1次, 直至质量恒定。干燥处理前后观察记录植物叶片形态变化。

1.2.2 储存预处理

每种植物分别采摘叶片20g, 并随机分成4份, 每份5g。对叶片样品进行储存方式实验: 设置储存温度为-20和-80℃, 设置储存时间为15和30d。将储存后的叶片选择上述筛选出的真空冷冻方式进行干燥。

1.2.3 总酚、黄酮和单宁含量测定

将干燥后的叶片样品用研磨仪(上海净信 Tissuelyser-II)粉碎, 随后进行总酚、黄酮和单宁含量的测定, 每组实验重复3次。

总酚含量以没食子酸(Gallic acid, Sigma公司, 美国)为标准物质, 采用Folin-Denis比色法进行测定, 测定波长为765nm^[25]。黄酮含量以芦丁(Routine, Sigma公司, 美国)为标准物质, 采用

Al(NO₃)₃-NaNO₂-NaOH比色法进行测定, 测定波长为510nm^[26]。单宁含量以单宁酸(CAS: 1401-55-4)为标准物质, 采用分光光度法测定, 测定波长为760nm^[27]。

1.3 数据处理及分析

使用SPSS 24.0软件对总酚、黄酮和单宁含量进行数据分析, 计算各指标的算术平均值和标准差。对不同干燥方式、不同储存温度和不同储存时间预处理下的总酚、黄酮和单宁含量进行显著性差异分析, $P < 0.05$ 表示差异具有显著性, 利用Origin 2023软件进行图片绘制。

2 结果与分析

2.1 不同干燥方式处理前后植物叶片形态变化

5种干燥方式预处理后都会对植物叶片的颜色和形态产生影响(图1)。8种植物叶片在干燥后都出现皱缩现象。其中, 玉簪、连翘、山杏和碧桃叶片的皱缩程度较为明显, 山杏的皱缩程度最重; 而麦冬、大叶黄杨、圆柏和白皮松叶片的皱缩程度较轻。玉簪叶片在微波干燥后表面产生破裂气泡。

8种植物叶片均在自然晒干处理后颜色变化最大, 并且出现了明显的褐变和褪色现象, 山杏在烘箱干燥和微波干燥后也出现了明显的褐变现象。麦冬、山杏和碧桃采用自然阴干方式, 玉簪、连翘和圆柏采用微波干燥方式, 大叶黄杨和白皮松采用真空冷冻干燥方式预处理的颜色变化最小(图1)。

2.2 不同干燥方式下植物叶片次生代谢物含量差异

2.2.1 总酚含量差异

8种植物叶片中, 总酚含量的最大值出现在真空冷冻干燥和微波干燥条件下(图2)。具体来说, 玉簪、大叶黄杨、圆柏和白皮松叶片采用真空冷冻干燥后测得的总酚含量最高。其中, 玉簪叶片的结果存在显著差异($P < 0.05$), 而大叶黄杨叶片真空冷冻干

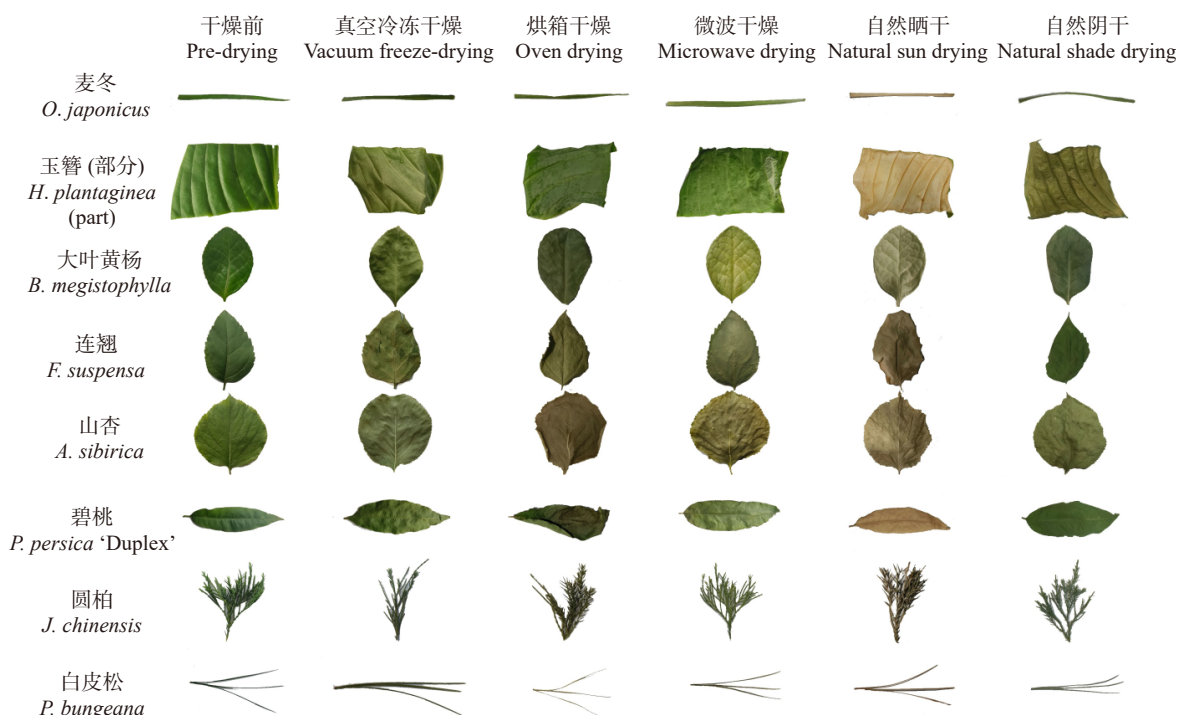


图 1 不同干燥方式处理前后植物叶片形态变化

Fig. 1 Changes in plant leaf morphology before and after treatment with different drying methods

燥与烘箱干燥、微波干燥、自然阴干的结果差异不显著,圆柏叶片真空冷冻干燥与烘箱干燥的结果差异不显著,白皮松叶片真空冷冻干燥与烘箱干燥、自然阴干的结果差异不显著($P > 0.05$)。麦冬、连翘、山杏和碧桃叶片采用微波干燥后时测得的总酚含量最高。其中,麦冬和山杏叶片微波干燥与烘箱干燥的结果差异不显著,连翘叶片微波干燥与自然阴干的结果差异不显著,碧桃叶片微波干燥与真空冷冻干燥、烘箱干燥的结果差异不显著($P > 0.05$)。

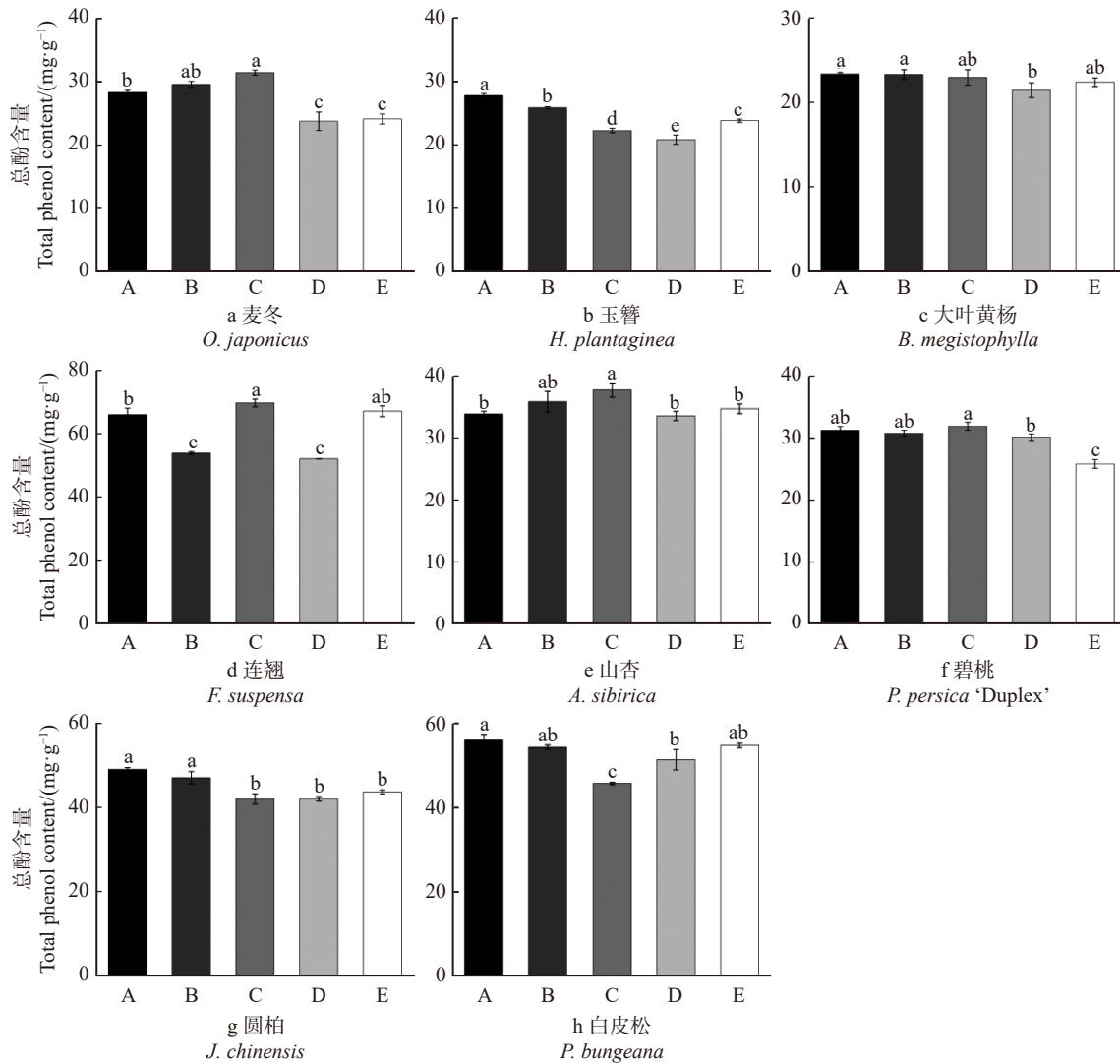
8种植物叶片中,总酚含量的最小值出现在微波干燥、自然晒干和自然阴干条件下(图2)。圆柏和白皮松叶片采用微波干燥后测得的总酚含量最低,其中,白皮松叶片的结果存在显著差异($P < 0.05$),而圆柏叶片微波干燥与自然晒干、自然阴干的结果差异不显著($P > 0.05$)。麦冬、玉簪、大叶黄杨、连翘和山杏采用自然晒干后测得的总酚含量最低,其中,玉簪叶片的结果存在显著差异($P < 0.05$),而麦冬叶片自然晒干与自然阴干的结果差异不显著,大叶黄杨叶片自然晒干与微波干燥、自然阴干的结果差异不显著,连翘叶片自然晒干与烘箱干燥的结果差异不显著,山杏叶片自然晒干与真空冷冻干燥、烘箱干燥、自然阴干的结果差异不显著($P > 0.05$)。碧桃叶片采用自然阴干后测得的总酚含量最低,结果存在显著差异($P < 0.05$)。

2.2.2 黄酮含量差异

8种植物叶片中,黄酮含量的最大值出现在真

空冷冻干燥、烘箱干燥和微波干燥条件下(图3)。对于玉簪、大叶黄杨和圆柏叶片,采用真空冷冻干燥后测得的黄酮含量最高,其中,圆柏叶片的结果存在显著差异($P < 0.05$),而大叶黄杨叶片5种干燥方式的结果均不存在显著差异,玉簪叶片真空冷冻干燥与自然阴干的结果差异不显著($P > 0.05$)。对于碧桃和白皮松叶片,采用烘箱干燥后测得的黄酮含量最高,其中,碧桃叶片烘箱干燥与微波干燥的结果差异不显著,白皮松叶片烘箱干燥与真空冷冻干燥、自然阴干的结果差异不显著($P > 0.05$)。对于麦冬、连翘和山杏叶片,采用微波干燥后测得的黄酮含量最高,结果均存在显著差异($P < 0.05$)。

山杏叶片采用真空冷冻干燥后测得的黄酮含量最低,结果存在显著差异($P < 0.05$)。麦冬和连翘叶片采用烘箱干燥后测得的黄酮含量最低。其中,麦冬叶片烘箱干燥与自然晒干、自然阴干的结果差异不显著,连翘叶片烘箱干燥与自然晒干的结果差异不显著($P > 0.05$)。圆柏和白皮松叶片采用微波干燥后测得的黄酮含量最低。其中,圆柏叶片的结果存在显著差异($P < 0.05$),而白皮松叶片微波干燥与自然晒干的结果差异不显著($P > 0.05$)。玉簪和大叶黄杨叶片在自然晒干后测得的黄酮含量最低。其中,大叶黄杨叶片5种干燥方式的结果均不存在显著差异,玉簪叶片自然晒干与微波干燥的结果差异不显著($P > 0.05$)。碧桃叶片采用自然阴干后测得的黄酮含量最低,结果存在显著差异($P < 0.05$)。



A. 真空冷冻干燥; B. 烘箱干燥; C. 微波干燥; D. 自然晒干; E. 自然阴干。不同小写字母表示不同干燥方式后叶片总酚含量在 $P < 0.05$ 水平上差异显著。下同。A, vacuum freeze-drying; B, oven drying; C, microwave drying; D, natural sun drying; E, natural shade drying. Different lowercase letters indicate statistically significant differences in total phenol content among varied drying methods at $P < 0.05$ level. The same below.

图2 不同干燥方式检测植物叶片总酚含量

Fig. 2 Detection of total phenolic contents in plant leaves using different drying methods

2.2.3 单宁含量差异

8种植物叶片中,单宁含量的最大值在5种干燥方式下均有出现(图4)。玉簪和大叶黄杨叶片在真空冷冻干燥后单宁含量最高,结果均存在显著差异($P < 0.05$)。山杏叶片在烘箱干燥后单宁含量最高,结果存在显著差异($P < 0.05$)。麦冬、连翘和圆柏叶片在微波干燥后单宁含量最高,结果均存在显著差异($P < 0.05$)。碧桃叶片在自然晒干后单宁含量最高,其结果与微波干燥的差异不显著($P > 0.05$)。白皮松叶片在自然阴干后单宁含量最高,结果存在显著差异($P < 0.05$)。

8种植物叶片中,单宁含量的最小值出现在微波干燥、自然晒干和自然阴干条件下(图4)。白皮松叶片在微波干燥后单宁含量最低,其结果与自然晒干的差异不显著($P > 0.05$)。玉簪、大叶黄杨、连翘

和圆柏叶片在自然晒干后单宁含量最低。其中,玉簪、大叶黄杨和圆柏叶片的结果存在显著差异($P < 0.05$),而连翘叶片自然晒干与烘箱干燥的结果差异不显著($P > 0.05$)。麦冬、山杏和碧桃叶片在自然阴干后单宁含量最低。其中,麦冬和碧桃叶片的结果存在显著差异($P < 0.05$),而山杏叶片自然阴干与真空冷冻干燥的结果差异不显著($P > 0.05$)。

2.3 不同储存温度和储存时间下植物叶片次生代谢物含量变化

本研究选择干燥预处理前后对植物叶片影响较小的干燥方式,即对叶片的颜色、形态和次生代谢物保留较好的真空冷冻干燥进行干燥预处理,以进一步研究储存方式对植物叶片次生代谢物含量的影响。结合表2和图2~4结果(储存0 d,立即检测),8种植物叶片的总酚、黄酮和单宁含量均随储存时

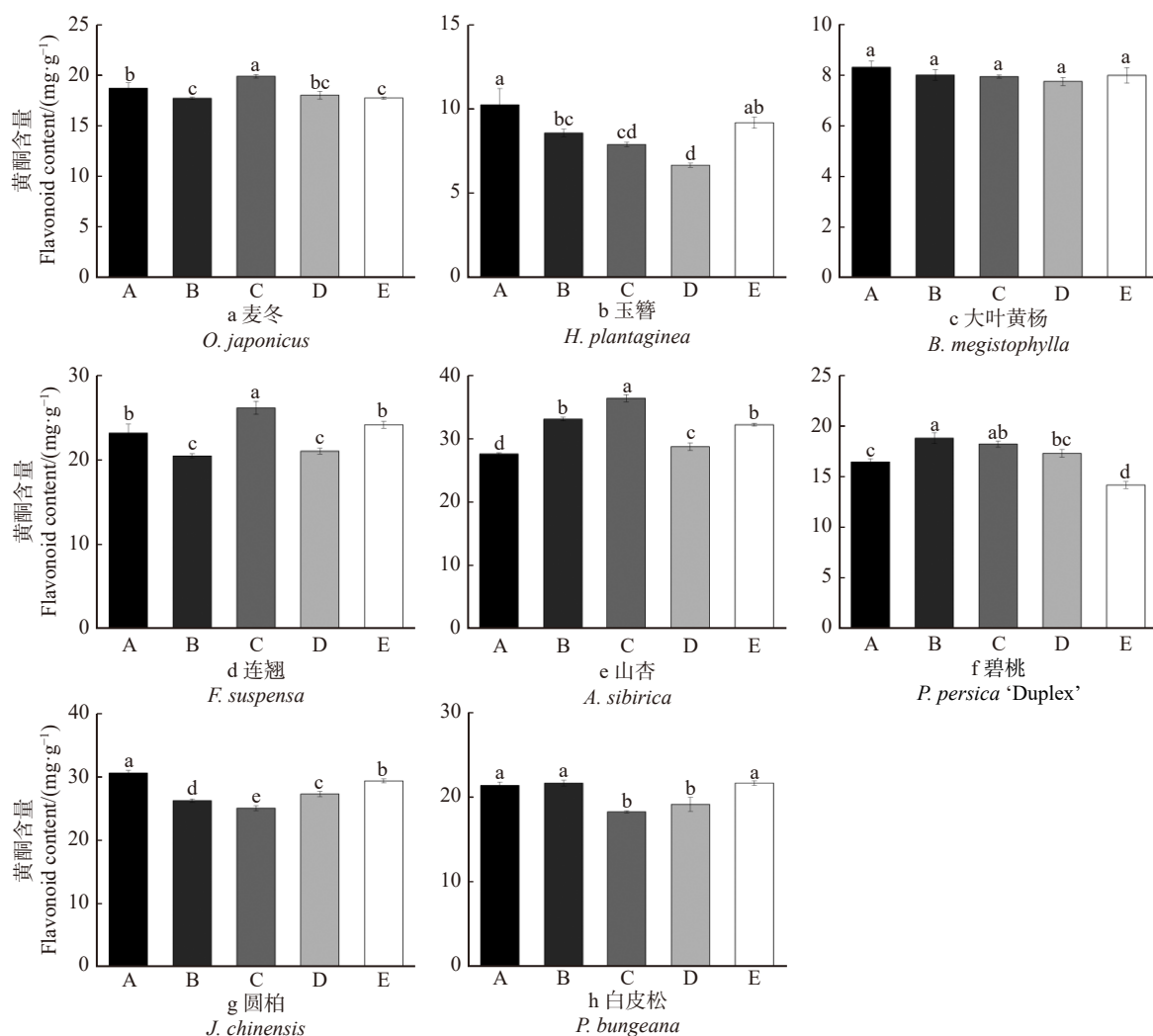


图 3 不同干燥方式检测植物叶片黄酮含量

Fig. 3 Detection of flavonoid contents in plant leaves using different drying methods

间的增加而降低,且大多叶片样品在 $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ 储存条件下测得的总酚、黄酮和单宁含量高于 $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ 。

3 讨 论

3.1 不同干燥方式对植物叶片次生代谢物含量的影响

研究表明,不同干燥方式对植物叶片次生代谢物含量存在不同影响。总酚含量的最大值出现在真空冷冻干燥和微波干燥条件下,最小值出现在微波干燥、自然晒干和自然阴干条件下;黄酮含量的最大值出现在真空冷冻干燥、烘箱干燥和微波干燥条件下,最小值在5种干燥方式下均有出现。单宁含量的最大值在5种干燥方式下均有出现,最小值出现在微波干燥、自然晒干和自然阴干条件下。本研究中,同种生活型植物进行不同干燥方式预处理后,未表现出一致的特性。推测原因是样本植物形态结构性状差异较大,如:草本植物的麦冬和玉簪,在叶面积和含水率方面存在显著差异;灌木植物的大叶黄杨和连翘,在叶片形态和含水率方面差异较

大。白皮松采用微波干燥后测得的次生代谢物含量较低,因为白皮松等针叶植物叶片与其他植物叶片不同,叶片表面有较厚的角质层^[28],微波干燥时不利于内部水分蒸发,叶片表面容易发生焦化现象^[29],因此不适合微波干燥方式。

酚类化合物化学性质不稳定,在干燥过程中降低的原因主要有高温降解、氧化、光降解和合成酶被破坏等^[30]。本研究中表明,真空冷冻干燥对植物叶片次生代谢物含量的保存效果良好,且该干燥方法能够极好地保留叶片的颜色和形态。总酚、黄酮和单宁在环境中容易发生氧化和聚合等反应^[31],真空冷冻干燥提供的真空环境能够显著降低氧化反应的发生^[32]。微波干燥对植物叶片次生代谢物含量的保存效果较好,微波干燥可能使黄酮和碳水化合物等大分子之间的共价键断裂,从而有利于黄酮的溶出和提取,高温还能使分解黄酮的氧化酶失去活性,进一步减少黄酮的损失^[23]。自然阴干和自然晒干这两种干燥方式耗时较长,增加了植物叶片与空气的接

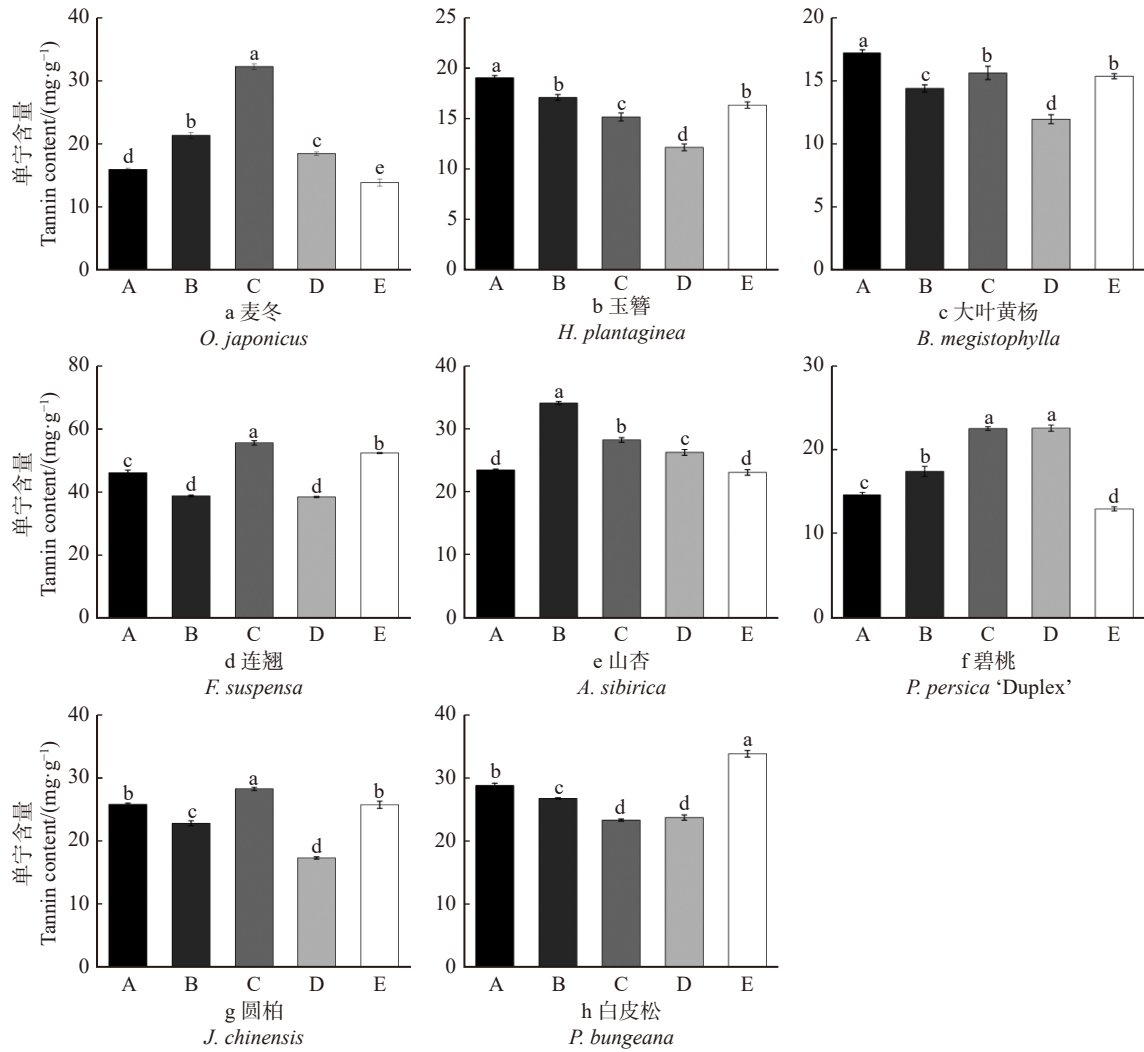


图4 不同干燥方式检测植物叶片单宁含量

Fig. 4 Detection of tannin contents in plant leaves using different drying methods

表2 不同储存温度下植物叶片总酚、黄酮和单宁含量变化

Tab. 2 Changes in total phenol, flavonoid and tannin contents in plant leaves at different storage temperatures

指标 Index	储存时间 Storage time/d	储存温度 Storage temperature/°C	麦冬 <i>O. japonicus</i>	玉簪 <i>H. plantaginea</i>	大叶黄杨 <i>B. megistophylla</i>	连翘 <i>F. suspensa</i>	山杏 <i>A. sibirica</i>	碧桃 <i>P. persica</i> 'Duplex'	圆柏 <i>J. chinensis</i>	白皮松 <i>P. bungeana</i>
总酚含量 Total phenol content/ (mg·g ⁻¹)	15	-20	18.75 ± 0.26	22.40 ± 1.35	21.31 ± 1.06	42.73 ± 1.00	33.24 ± 1.22	25.83 ± 0.55	41.24 ± 0.51	46.46 ± 1.43
		-80	18.88 ± 1.00	23.22 ± 0.40	21.40 ± 0.51	42.68 ± 0.14	33.55 ± 0.70	25.55 ± 0.17	41.41 ± 0.66	45.07 ± 0.92
	30	-20	16.97 ± 0.45	16.89 ± 0.13	19.51 ± 0.49	38.68 ± 0.56	27.30 ± 0.09	14.51 ± 0.45	33.80 ± 0.23	34.47 ± 0.51
		-80	17.41 ± 0.35	19.79 ± 0.74	19.98 ± 0.54	39.30 ± 0.35	28.10 ± 0.44	15.02 ± 0.52	34.42 ± 0.18	35.10 ± 0.54
黄酮含量 Flavonoid content/ (mg·g ⁻¹)	15	-20	9.97 ± 0.31	7.54 ± 0.19	7.73 ± 0.37	17.95 ± 0.81	25.61 ± 0.10	14.18 ± 0.38	25.70 ± 0.28	19.51 ± 0.28
		-80	8.79 ± 0.13	8.00 ± 0.13	7.97 ± 0.25	18.18 ± 1.08	26.02 ± 0.31	14.07 ± 0.25	29.01 ± 0.55	19.79 ± 0.31
	30	-20	6.11 ± 0.33	3.98 ± 0.35	6.66 ± 0.23	16.14 ± 0.72	23.94 ± 0.33	5.39 ± 0.15	22.83 ± 0.20	14.55 ± 0.06
		-80	6.27 ± 0.23	5.36 ± 0.18	6.90 ± 0.42	16.31 ± 0.78	24.25 ± 0.33	5.72 ± 0.30	23.74 ± 0.25	16.31 ± 0.22
单宁含量 Tannin content/ (mg·g ⁻¹)	15	-20	11.13 ± 0.29	17.14 ± 0.33	12.79 ± 0.51	30.22 ± 0.07	21.51 ± 0.16	16.01 ± 0.61	23.01 ± 0.38	29.05 ± 0.59
		-80	12.62 ± 0.23	18.21 ± 0.32	13.94 ± 0.22	29.73 ± 0.57	21.78 ± 0.30	15.95 ± 0.20	26.17 ± 0.22	27.28 ± 0.50
	30	-20	7.12 ± 0.23	5.91 ± 0.32	7.49 ± 0.38	21.88 ± 0.54	9.98 ± 0.53	8.07 ± 0.26	12.25 ± 0.41	14.16 ± 0.38
		-80	7.61 ± 0.30	7.82 ± 0.35	8.05 ± 0.29	23.42 ± 0.56	10.43 ± 0.54	8.42 ± 0.36	13.65 ± 0.19	14.18 ± 0.44

触时间,且光照会导致部分酚类化合物降解^[33],因此测得的总酚、黄酮和单宁含量一般低于3种快速干燥方法测得的结果。

3.2 储存温度和储存时间对植物叶片次生代谢物含量的影响

本研究8种植物叶片的总酚、黄酮和单宁含量均随储存时间的增加而降低。通常情况下,为了更好地保持植物样品理化性质的稳定,采摘后会将其置于 $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ 的低温条件下进行储存^[34]。然而,本研究却发现,即使将8种样品置于 $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ 极低温环境中储存,其次生代谢物含量在较短储存时间内(15 d)也会发生明显的下降。尽管 $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ 低温储存的结果略优于 $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ 低温储存的结果,但两者差异并不显著。这一发现与以往认为在极低温下储存可以保持植物化学成分含量相对稳定的传统结论不同。Mulinacci等^[35]也提出,叶片在经历冷冻和解冻过程中,部分酚类化合物的含量会迅速降低。原因是酚类化合物化学性质不稳定,在储存、冷冻和解冻过程中酶可能会发生变化,冷冻后叶片的抗氧化活性显著低于干燥叶片^[35]。因此,在检测植物叶片总酚、黄酮和单宁含量时,为确保最终实验结果的准确性,建议采摘后尽快进行测定。如果需要运输和储存,将样品置于 $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ 储存的效果略优于 $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ 储存。然而在野外环境中,鉴于 $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ 储存条件的实际困难,可以选择 $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ 作为替代储存方案来保存样品。

3.3 微波干燥优势及其应用前景

本研究得出,检测植物叶片次生代谢物含量时,真空冷冻干燥和微波干燥方式的效果较好,然而真空冷冻干燥设备稀少且价格高昂,难以大面积推广与应用。同时,与实验室传统烘箱干燥相比,微波干燥具有显著的优势,其干燥速度极快,烘箱干燥植物叶片一般需要4 h以上,而使用微波炉进行微波干燥仅需6 min即可干燥完全,且测得的叶片次生代谢物含量普遍高于烘箱干燥的结果。为了进一步确定微波干燥叶片的时间,本研究参考石晓晨等^[23]和周晓剑等^[29]的干燥方法,结合微波干燥后期,含水率降低,内部温度升高,容易发生焦化现象^[29]的特性,避免长时间使用高火干燥,选择高火(700 W)、中火(350 W)和低火(70 W)结合作为微波干燥档位。测得麦冬、玉簪、大叶黄杨、连翘、山杏和碧桃等阔叶植物,在微波炉中干燥4 min(高火2 min、中火1 min、低火1 min)即可干燥完全;圆柏和白皮松等针叶植物,在微波炉中干燥6 min(高火3 min、中火2 min、低火1 min)即可干燥完全。

8种植物叶片中,麦冬、大叶黄杨、连翘、山杏和

碧桃叶片使用微波干燥测得的次生代谢物含量整体高于烘箱干燥,但玉簪、圆柏和白皮松叶片测得的含量低于烘箱干燥。推测原因为玉簪叶片的叶面积很大,微波干燥时加热不均匀,且失水过快,容易发生焦化现象。因此对于叶面积大的植物,微波干燥可以采用低火档位进行干燥,且在干燥时不断调整叶片位置,使其受热均匀。针对角质层较厚的圆柏和白皮松等针叶植物叶片,微波干燥时可以采用低火档位,或者采用微波和烘箱联合干燥的方法进行干燥^[36]。目前,微波干燥多应用于食品和药材加工方面,微波干燥作为一种快速干燥方式,因其干燥速度极快和对植物次生代谢物、抗氧化活性^[37]、叶绿素^[38]、色泽等保存良好的特性,在实验室植物样品快速干燥方面有广阔的应用前景。

4 结 论

针对总酚、黄酮、丹宁测定标准中缺乏前期样品预处理方法的详细说明的问题,本研究对比了5种干燥预处理方式(真空冷冻干燥、烘箱干燥、微波干燥、自然晒干和自然阴干),以及不同储存温度(-20 和 $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$)和不同储存时间(15和30 d)的储存预处理方式,对植物叶片总酚、黄酮和单宁含量的影响。发现:(1)不同干燥方式处理后,叶片总酚含量最大值大多出现在真空冷冻干燥和微波干燥;叶片黄酮含量最大值大多出现在真空冷冻干燥、烘箱干燥和微波干燥;叶片单宁含量最大值大多出现在真空冷冻干燥和微波干燥。(2)8种植物叶片的总酚、黄酮和单宁含量均随储存时间的增加而降低, $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ 储存条件下测定的次生代谢物含量大多高于 $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ 。综上,检测植物叶片次生代谢物时,建议在样品采集后尽快完成测定,推荐采用真空冷冻干燥或微波干燥方式进行样品干燥预处理。如果从野外试验点采样后需要进行长距离运输,且无法保证 $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ 储存条件,可以在 $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ 条件下短期运输和储存。

参 考 文 献

- [1] Salam U, Ullah S, Tang Z H, et al. Plant metabolomics: an overview of the role of primary and secondary metabolites against different environmental stress factors[J]. *Life*, 2023, 13(3): 706.
- [2] 高丽君, 崔建华, 刘风云, 等. 植物次生代谢物的应用和开发[J]. *生物学通报*, 2004, 39(7): 15-17.
Gao L J, Cui J H, Liu F Y, et al. Application and development of plant secondary metabolites[J]. *Biological Bulletin*, 2004, 39(7): 15-17.
- [3] 董妍玲, 潘学武. 植物次生代谢产物简介[J]. *生物学通报*, 2002(11): 17-19.
Dong Y L, Pan W X. A brief introduction of plant secondary metabolites[J]. *Bulletin of Biology*, 2002(11): 17-19.

- [4] 华晓雨,陶爽,孙盛楠,等.植物次生代谢产物-酚类化合物的研究进展[J].生物技术通报,2017,33(12):8.
Hua X Y, Tao S, Sun S N, et al. Research progress on phenolic compounds of plant secondary metabolites[J]. Biotechnology Bulletin, 2017, 33(12): 8.
- [5] Samanta A, Das G, Das S K. Roles of flavonoids in plants[J]. Carbon, 2011, 100(6): 12-35.
- [6] Moyle J R, Burke J M, Fanatico A, et al. Palatability of tannin-rich sericea lespedeza fed to broilers[J]. Journal of Applied Poultry Research, 2012, 21(4): 891-896.
- [7] 王小菲,高文强,刘建锋,等.植物防御策略及其环境驱动机制[J].生态学杂志,2015,34(12):3542-3552.
Wang X F, Gao W Q, Liu J F, et al. Plant defensive strategies and environment-driven mechanisms[J]. Chinese Journal of Ecology, 2015, 34(12): 3542-3552.
- [8] 宁夏化学分析测试协会.枸杞中总酚含量的测定 分光光度法: T/NAIA 097-2021[S].银川:宁夏标准出版社,2021.
Ningxia Chemical Analysis and Testing Association. Determination of total phenolic content in *Lycium barbarum* L. spectrophotometric method: T/NAIA 097-2021[S]. Yinchuan: Ningxia Standards Press, 2021.
- [9] 中华人民共和国农业部.柑橘类水果及制品中总黄酮含量的测定: NY/T 2010-2011[S].北京:中国标准出版社,2011.
The Ministry of Agriculture of the People's Republic of China. Determination of total flavonoids in citrus fruits and products: NY/T 2010-2011[S]. Beijing: Standards Press of China, 2011.
- [10] 中华人民共和国国家质量监督检验检疫总局.饲料中单宁的测定分光光度法: GB/T 27985-2011[S].北京:中国标准出版社,2011.
General Administration of Quality Supervision, Inspection and Quarantine of the People's Republic of China. Determination of tannins in feeds-spectrophotometric method: GB/T 27985-2011[S]. Beijing: Standards Press of China, 2011.
- [11] 刘颖,刘穗君,李少华,等.烘干法水分测定仪测量物料含水率的预测及修正[J].包装工程,2023,44(增刊2):82-86.
Liu Y, Liu S J, Li S H, et al. Prediction and correction of material moisture content measured by drying moisture meter[J]. Packaging Engineering, 2023, 44(Suppl. 2): 82-86.
- [12] Parihar J S, Kumar S, Kumar L, et al. Development of novel cabinet solar dryer using UV sheet and its performance evaluation: an experimental study[J]. Solar Energy, 2022, 239: 1-9.
- [13] El-Sebaai A A, Shalaby S M. Solar drying of agricultural products: a review[J]. Renewable and Sustainable Energy Reviews, 2012, 16(1): 37-43.
- [14] Zahoor I, Mir T A, Ayoub W S, et al. Recent applications of microwave technology as novel drying of food: review[J]. Food and Humanity, 2023, 1: 92-103.
- [15] 胡静,何劲,杨丽梅,等.微波干燥法快速测定工业无水硫酸钠的水不溶物含量[J].盐科学与化工,2023,52(12):37-40,44.
Hu J, He J, Yang L M, et al. Rapid determination of water-insoluble matter in industrial anhydrous sodium sulfate by microwave drying method[J]. Journal of Salt Science and Chemical Industry, 2023, 52(12): 37-40, 44.
- [16] Colucci D, Maniaci R, Fissore D, et al. Monitoring of the freezing stage in a freeze-drying process using IR thermography[J]. International Journal of Pharmaceutics, 2019, 566: 488-499.
- [17] Kulus D. Managing plant genetic resources using low and ultra-low temperature storage: a case study of tomato[J]. Biodiversity and Conservation, 2019, 28(5): 1003-1027.
- [18] 陈青,王玉珠,梁延群,等.干燥方式对树莓总酚、总黄酮含量及其体外抗氧化活性的影响[J].北方园艺,2019(13):130-134.
Chen Q, Wang Y Z, Liang Y Q, et al. Effect of different drying methods on total polyphenols, flavonoids content and antioxidant activity of *Rubus corchorifolius* L.[J]. Northern Horticulture, 2019(13): 130-134.
- [19] Park C H, Yeo H J, Park C, et al. The effect of different drying methods on primary and secondary metabolites in Korean mint flower[J]. Agronomy, 2021, 11(4): 698.
- [20] 吴兆喜,王黔阳,朱克松,等.不同干燥方式对百蕊草中两种黄酮醇苷含量影响[J].云南农业大学学报(自然科学),2016,31(4):696-699.
Wu Z X, Wang Q Y, Zhu K S, et al. Effect of different drying methods on the two flavonol glycosides content in *Thesium chinense* Turcz[J]. Journal of Yunnan Agricultural University (Natural Science), 2016, 31(4): 696-699.
- [21] Park M H, Seo J M, Kim S J, et al. Changes in the quality and secondary metabolites of kohlrabi during storage[J]. Korean Journal of Food Preservation, 2014, 21(5): 601-608.
- [22] Force L E, O'Hare T J, Wong L S, et al. Impact of cold storage on glucosinolate levels in seed-sprouts of broccoli, rocket, white radish and kohlrabi[J]. Postharvest Biology and Technology, 2007, 44(2): 175-178.
- [23] 石晓晨,王蕾,王尧尧,等.干燥方式对山楂总黄酮总有机酸含量的影响[J].山东科学,2018,31(5):14-19.
Shi X Q, Wang L, Wang Y Y, et al. The effects of four different drying methods on total flavonoids and total organic acid contents in hawthorn[J]. Shandong Science, 2018, 31(5): 14-19.
- [24] Rahimmalek M, Goli S A H. Evaluation of six drying treatments with respect to essential oil yield, composition and color characteristics of *Thymys daenensis* subsp. *daenensis*. Celak leaves[J]. Industrial Crops and Products, 2013, 42: 613-619.
- [25] 买买提依明,徐立,武春,等.新疆药桑黄酮和多酚的提取与分析研究初报[J].北方蚕业,2008,29(4):12-14.
Mai M T Y M, Xu L, Wu C, et al. Xinjiang mulberry flavonoids and polyphenols extraction and analysis of the preliminary report[J]. North Sericulture, 2008, 29(4): 12-14.
- [26] 李佳璐,党辉,杨梦洁,等.不同品种柿子的多酚单宁黄酮含量及其抗氧化活性研究[J].农产品加工,2023(3):57-61.
Li J L, Dang H, Yang M J, et al. Contents of polyphenols tannins flavonoids and their antioxidant activities in different varieties of persimmon[J]. Farm Products Processing, 2023(3): 57-61.
- [27] 王旭娟.高粱单宁测定方法研究[D].郑州:河南工业大学,2020.

- Wang X J. Study on the determination method of sorghum tannin[D]. Zhengzhou: Henan University of Technology, 2020.
- [28] 贾敬鸾, 陈晓松, 陈正华. 云杉针叶的扫描电镜观察 [J]. 云南大学学报 (自然科学版), 1995, 32(增刊 1): 25–27.
- Jia J L, Chen X S, Chen Z H. Observation of spruce needles by scanning electron microscopy[J]. Journal of Yunnan University (Natural Sciences Edition), 1995, 32(Suppl. 1): 25–27.
- [29] 周晓剑, 杜官本. 刨花微波干燥特性研究 [J]. 西南林业大学学报, 2007, 27(5): 73–77.
- Zhou X J, Du G B. Study on microwave drying characteristics of wood flakes[J]. Journal of Southwest Forestry University, 2007, 27(5): 73–77.
- [30] 喻芬, 万娜, 李远辉, 等. 中药材干燥过程中的理化性质变化规律与机制分析 [J]. 中草药, 2021, 52(7): 2144–2153.
- Yu F, Wan N, Li Y H, et al. Analysis on change rule and mechanism in physical and chemical properties of Chinese herbal medicines during drying[J]. Chinese Traditional and Herbal Drugs, 2021, 52(7): 2144–2153.
- [31] Mathieu Y, Vidal J D, Arribas M L, et al. Molecular oxygen lignin depolymerization: an insight into the stability of phenolic monomers[J]. ChemSusChem, 2020, 13(17): 4743–4758.
- [32] 刘曜儒, 邓小银, 宁华清, 等. 不同干燥技术对罗汉果干品质的影响 [J]. 轻工科技, 2017, 33(5): 18–19.
- Liu Y R, Deng X Y, Ning H Q, et al. Effect of different drying techniques on dry quality of monahan fruit[J]. Light Industry Science and Technology, 2017, 33(5): 18–19.
- [33] Vinu R, Poliseti S, Madras G. Dye sensitized visible light degradation of phenolic compounds[J]. Chemical Engineering Journal, 2010, 165(3): 784–797.
- [34] Liu D, Li P, Han Y, et al. Low temperature storage of southern rice black-streaked dwarf virus-infected rice plants cannot sustain virus transmission by the vector[J]. Journal of Economic Entomology, 2016, 109(1): 57.
- [35] Mulinacci N, Innocenti M, Bellumori M, et al. Storage method, drying processes and extraction procedures strongly affect the phenolic fraction of rosemary leaves: an HPLC/DAD/MS study[J]. Talanta, 2011, 85(1): 167–176.
- [36] 王顺民, 谭玉霞, 韩永斌, 等. 热风与微波及其联合干燥对菠菜干制效果的影响 [J]. 食品科学, 2012, 33(20): 80–84.
- Wang S M, Tan Y X, Han Y B, et al. Effect of hot air, microwave and combined drying on the drying effect of spinach[J]. Food Science, 2012, 33(20): 80–84.
- [37] Agustian P, Ruriani E. Some properties of aloe vera gel powder prepared by microwave and oven drying[C]//Proceedings of IOP Conference Series: Earth and Environmental Science. Yogyakarta: IOP Publishing, 2024: 012052.
- [38] 杜传来, 叶洪梅, 康永真. 香椿芽微波干燥特性的研究 [J]. 保鲜与加工, 2007(1): 35–38.
- Du C L, Ye H M, Kang Y Z. Study on microwave drying characteristics of Chinese toon[J]. Preservation and Processing, 2007(1): 35–38.

(责任编辑 吴娟 赵田芸
责任编辑 张会儒)