

参赛队员姓名：刘苾旭、朱恩斯

中学：新疆维吾尔自治区克拉玛依市克拉玛依区第一中学

省份：新疆维吾尔自治区

国家/地区：中华人民共和国

指导教师姓名：宋珊珊、史艳丽

论文题目：红柳烤肉的芳香之谜

本参赛团队声明所提交的论文是在指导老师指导下进行的研究工作和取得的研究成果。尽本团队所知，除了文中特别加以标注和致谢中所罗列的内容以外，论文中不包含其他人已经发表或撰写过的研究成果。若有不实之处，本人愿意承担一切相关责任。

参赛队员：刘蕊旭、朱恩斯 指导老师：宋珊珊、史艳丽

2020 年 8 月 16 日

摘要

多花怪柳 (*Tamarix hohenackeri*) 俗称红柳，是新疆准噶尔盆地常见植物，民间常用其来充当烤肉钎，从而使烤肉焕发出独特的香气，但产生芳香气味的原理却从无人知晓。本文选用多花怪柳为实验材料，干燥粉碎后通过水蒸馏方法提取精油、纯露等物质，利用水、无水乙醇、石油醚采用索氏提取法提取怪柳有效成分，通过纸片法探究多花怪柳蒸馏提取物对大肠杆菌 (*Escherichia coli*)、金黄色葡萄球菌 (*Staphylococcus aureus*) 的抑菌效果。将怪柳中提取的多糖、蛋白质，以不同的比例混合，在不同的温度下进行美拉德反应，并通过紫外分光光度仪进行定量分析。

初步探究出怪柳提取物的对金黄色葡萄球菌有一定的抑制效果，对大肠杆菌效果不明显。怪柳茎干中精油的含量低，纯露呈乳白色透明状，具有甜香气味。怪柳多糖和蛋白提取物能够产生显著的美拉德反应，增加焦香气味和颜色。正交实验所探究出其提取物的美拉德反应最佳条件为蛋白质和糖的比 1: 3，纯露/水比例为 50%，在 200℃ 加热 5min。

关键词：多花怪柳；提取物；抑菌；纯露；美拉德反应

目录

| | |
|---------------------------|----|
| 摘 要 | 3 |
| 1. 前 言 | 5 |
| 2. 实验材料与方法 | 5 |
| 2.1 实验材料 | 5 |
| 2.1.1 实验植物 | 5 |
| 2.1.2 实验微生物 | 6 |
| 2.1.3 实验仪器试剂 | 7 |
| 2.2 实验方法 | 8 |
| 2.2.1 桤柳有效成分的提取 | 8 |
| 2.2.2 桤柳提取物的美拉德反应探究 | 9 |
| 2.2.3 桤柳提取物抑菌性验证 | 10 |
| 3. 实验结果及分析 | 10 |
| 3.1 桤柳有效成分提取结果 | 10 |
| 3.2 美拉德反应结果 | 11 |
| 3.3 抑菌性 | 11 |
| 3.3.1 桤柳不同提取物对金黄色葡萄球菌抑菌效果 | 11 |
| 3.3.2 桤柳不同提取物对大肠杆菌抑菌效果 | 12 |
| 3.4 实验结论 | 13 |
| 4. 创新点 | 13 |
| 5. 展望 | 13 |
| 6. 参考文献 | 13 |
| 7. 致 谢 | 14 |
| 8. 每位作者在本课题研究中的贡献 | 14 |

1. 前言

位于祖国西部边陲的新疆拥有广袤的草原和独特的气候，畜牧业是新疆传统优势产业，优质的牛羊肉使新疆的美食闻名天下，其中烤羊肉串尤为著名。红柳烤肉由于其肉质鲜嫩且具有独特清香，广受人们喜爱。其制作方法的特殊之处，就是用红柳枝条代替普通的金属烤钎。

红柳，多花怪柳的俗称，是中国荒漠地区广泛分布的植物之一，具有较强的适应干旱荒漠环境的特征；不仅是优良的防风固沙植物，同时还是水土保持树种和盐碱地的绿化造林树种，而且还是良好的薪炭、编制和建筑用材。

出于对红柳烤肉的喜爱和对生物学的兴趣，笔者通过文献查阅发现，对于红柳的研究多集中在其生态影响、生长条件、种属关系研究，对于其化学成分中只有黄酮提取物的研究报告，未有人具体研究红柳中化学成分，及其对食物的影响。笔者便决定通过研究分析来找出红柳改变烤肉口感的原理。

综上所述，本课题将着力于研究导致红柳烤肉的芳香的成分和原理，同时努力通过理论实验和数据分析计算出，作为各种反应所需要的红柳提取物的最佳浓度，并对饮食的调味料的使用和制作的具体方法提供指导，同时补充及完善此方面的知识。

2. 实验材料与amp;方法

2.1 实验材料:

2.1.1. 实验植物:

红柳，学名怪柳，本实验采用克拉玛依地区常见的多花怪柳。多花怪柳（*Tamarix hohenackeri Bunge*），灌木或小乔木；老枝树皮灰褐色，二年生枝条红紫色；绿色营养枝上的叶小，线状披针形或卵状披针形；木质化生长枝上的叶几抱茎。春季夏季为其花季；其花苞片条状长圆形，花萼片卵圆形，齿牙状；花瓣玫瑰色或粉红色；花盘暗紫红色花药心形。^[1]

怪柳主要分布在中国新疆、青海、甘肃、宁夏和内蒙古等地。生于荒漠河岸林中,荒漠河、湖沿岸沙地广阔的冲积淤积平原上的轻度盐渍化土壤上。苏联、伊朗和蒙古也有分布。多花怪柳可作荒漠地区绿化固沙造林之用。

怪柳的化学成分主要有黄酮类、三萜类、甾体类、酚酸类、挥发油等。能够消除炎症，降低由炎症引发的各种疼痛，抑制细菌生长，抑制酶活性等药理作用^[2]。



图 1、怪柳模式图



图 2 桤柳野外拍摄图

2.1.2. 实验微生物

大肠杆菌 (*Escherichia coli*)，金黄色葡萄球菌 (*Staphylococcus aureus*)。



图 3 大肠杆菌 (*Escherichia coli*) 电镜照片

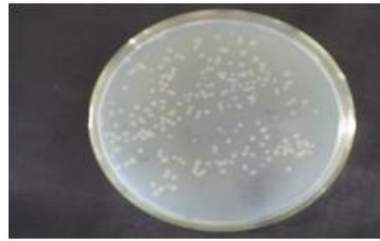


图 4 大肠杆菌 (*Escherichia coli*) 菌落

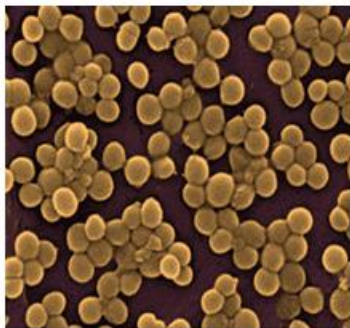


图 5 金黄色葡萄球菌 (*Staphylococcus aureus*) 电镜照片



图 6 金黄色葡萄球菌 (*Staphylococcus aureus*) 菌落

2.1.3.实验仪器试剂

无菌超净工作台、烘干箱、灭菌锅、蒸馏提取装置、滤纸片，绞磨机，无水乙醇，密封膜，抽滤机，电子秤，声波振荡仪，无菌培养皿。



图 7~12 超滤装置 无菌操作台 超声波震荡仪 纯露提取装置 自动旋转蒸馏器
高压蒸汽灭菌锅

2.2 实验方法

本研究实验主要由包括芳香物质及多糖、化合物的提取实验；提取物抑菌性探究实验；和美拉德反应比例正交实验。

2.2.1. 桉柳有效成分的提取：

先取多花桉柳枝条全部打成粉末，分别取 3 组每组 200g 分别以水、无水乙醇、石油醚浸泡 8h 之后取上清液，烘干。^[3]

1kg 桉柳粉碎加入 5L 水，浸泡 8h，90℃蒸馏 45min，蒸馏出精油和纯露。^[4]

先以 80%乙醇脱脂（八倍量回流提取 120 min），加热将乙醇挥发完全，蒸馏水回流提取两次过滤，合并滤液，加热浓缩，以 70%乙醇醇沉，4℃冰箱冷藏 12h，取下层乳浊液干燥，提出多糖^[5]。

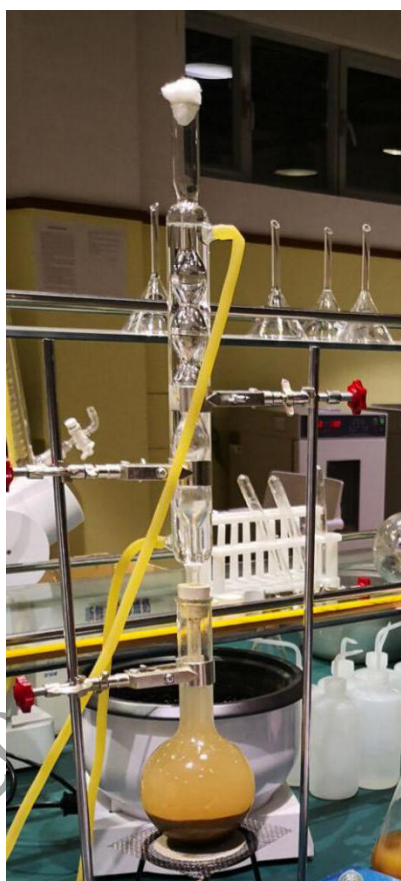


图 13 多糖的提取

以 1:20 液料比(蒸馏水)加入纤维素酶调制 30~40℃过 24h, 调节 pH 至 10.0, 超声波震荡萃取 (1.2h, 70℃, 200w), 过滤取上层清液, 干燥, 取得蛋白质^[6]。

2.2.2 柘柳提取物的美拉德反应最佳配方的正交实验探究

将 2,3 中的蛋白与多糖按 1:1、1:2、1:3 在 100℃、150℃、200℃，加热时间 5min、10min、15min 和水、半水半纯露、纯露浸泡此因素和水平下下测美拉德反应^[7]的正交实验，在 320nm 分光光度仪下检测^[8]。

表一 美拉德反应正交实验设计表

| 因素 | 温度 | 时间 | 糖/蛋白质 | 水: 提取物 |
|------|------|-------|-------|--------|
| 实验 1 | 100℃ | 5 分钟 | 1: 1 | 2: 0 |
| 实验 2 | 100℃ | 10 分钟 | 1: 2 | 1:1 |
| 实验 3 | 100℃ | 15 分钟 | 1: 3 | 0:2 |
| 实验 4 | 150℃ | 5 分钟 | 1: 2 | 0:2 |
| 实验 5 | 150℃ | 10 分钟 | 1: 3 | 2:0 |
| 实验 6 | 150℃ | 15 分钟 | 1: 1 | 1:1 |
| 实验 7 | 200℃ | 5 分钟 | 1: 3 | 1:1 |
| 实验 8 | 200℃ | 10 分钟 | 1: 1 | 0:2 |
| 实验 9 | 200℃ | 15 分钟 | 1: 2 | 2:0 |

2.2.3.柘柳提取物的抑菌性验证

用滤纸片扩散法测定提取物的抗菌活性。^[9]实验步骤如下:

(1) 测试菌培养基制备

在无菌操作台中,取活化好大肠杆菌、金黄色葡萄球菌分别用无菌蒸馏水稀释成约 10⁷ 菌/mL 的菌悬液。将已灭菌的琼脂 LB-培养基冷却至培养及凝固,接入 10%的上述菌悬液,混匀后倒入已灭菌的 90 mm 直径培养皿中^[10]。

(2) 滤纸片扩散法测定提取物抗菌活性

吸取不同浓度的待测样液 10 μL,滴加到已灭菌、直径为 6 mm 的滤纸片上。每种待测样液作 3 组平行实验。纸片中 1 个阴性对照(滤纸片滴加 10 μL 无菌蒸馏水)和 1 个阳性对照(滤纸片滴加 10 μL、适当浓度测试菌敏感抗生素),于 37℃ 恒温培养箱中培养 24 h 后,观察滤纸片周围抑菌圈的大小,并测量抑菌圈的直径。于 37℃ 恒温培养箱中培养 24 h 后,观察滤纸片周围抑菌圈的大小,并测量抑菌圈直径。^[11]

3.实验结果及分析

3.1 桤柳有效成分提取结果

桤柳枝条提取的纯露透明澄清略显乳白色^{[9][10][11][12][13]}，有香甜气味。桤柳中多糖、蛋白质成分丰富。

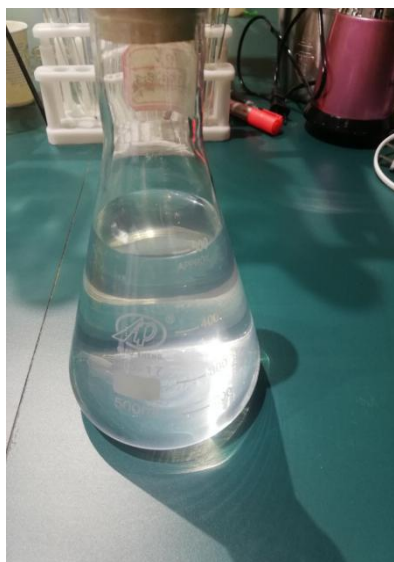


图 14 桤柳的纯露



图 15 红柳多糖成分

3.2 美拉德反应结果

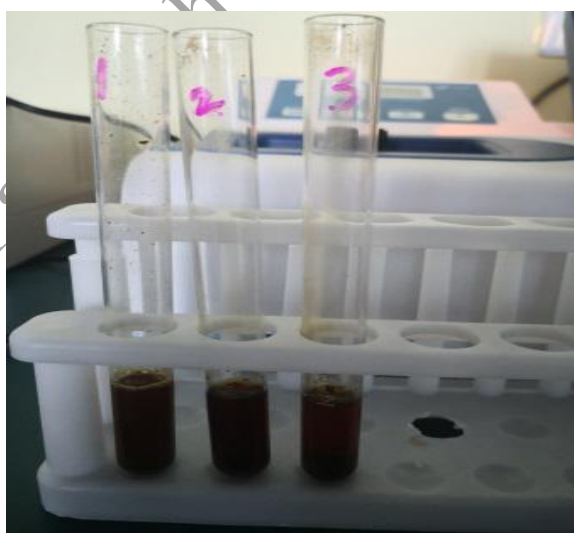


图 16 美拉德反应结果

桤柳提取物的美拉德反应会产生红褐色产物和焦香气味。

表二 美拉德反应结果表

| 因素 | 温度 | 时间 | 糖/蛋白质 | 水: 提取物 | 实验结果 |
|------|-------|-------|-------|--------|-------|
| 实验 1 | 100℃ | 5 分钟 | 1: 1 | 2: 0 | 0.151 |
| 实验 2 | 100℃ | 10 分钟 | 1: 2 | 1:1 | 0.184 |
| 实验 3 | 100℃ | 15 分钟 | 1: 3 | 0:2 | 0.253 |
| 实验 4 | 150℃ | 5 分钟 | 1: 2 | 0:2 | 0.187 |
| 实验 5 | 150℃ | 10 分钟 | 1: 3 | 2:0 | 0.195 |
| 实验 6 | 150℃ | 15 分钟 | 1: 1 | 1:1 | 0.289 |
| 实验 7 | 200℃ | 5 分钟 | 1: 3 | 1:1 | 0.395 |
| 实验 8 | 200℃ | 10 分钟 | 1: 1 | 0:2 | 0.265 |
| 实验 9 | 200℃ | 15 分钟 | 1: 2 | 2:0 | 0.317 |
| 均值 1 | 0.496 | 0.244 | 0.235 | 0.221 | |
| 均值 2 | 0.224 | 0.215 | 0.229 | 0.289 | |
| 均值 3 | 0.326 | 0.286 | 0.281 | 0.235 | |
| 极差 | 0.130 | 0.071 | 0.052 | 0.068 | |

由结果可知影响桤柳提取物美拉德反应的最大因素是加热温度。桤柳蛋白质和糖的比 1: 3, 纯露比例 50% 加热 200 摄氏度 5min 为最佳方案。^[12]

3.3 桤柳提取物的抑菌性效果验证

表二 桤柳不同提取剂所得提取物对金黄色葡萄球菌的抑菌圈半径大小

| | 水提 | 醇提 | 石油醚提 |
|-------|--------|--------|--------|
| 实验组 | 0.71cm | 0.80cm | 0.86cm |
| 阳性对照组 | 2.42cm | 3.08cm | 2.88cm |
| 阴性对照组 | 0cm | 0cm | 0cm |



图 17 醚提产物抑菌效果

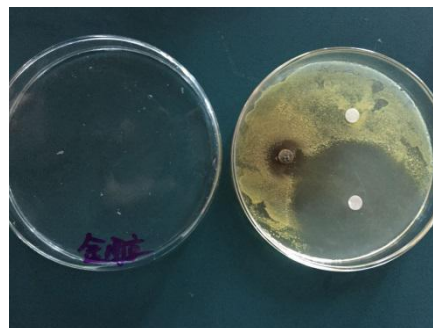


图 18 醇提产物抑菌效果



图 19 水提产物抑菌效果

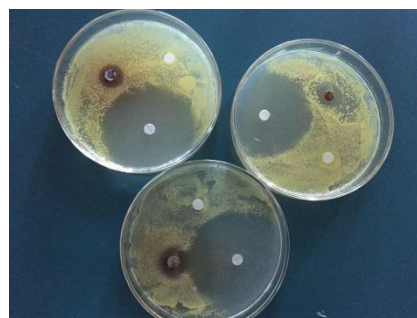


图 20 抑菌效果对比

桉柳的水、醇、石油醚粗提取物能够抑制金黄色葡萄球菌生长。

(2) 大肠杆菌

表三 桉柳不同提取剂所得提取物对大肠杆菌的抑菌圈半径大小

| | 水提 | 醇提 | 醚提 |
|-------|--------|--------|--------|
| 实验组 | 0cm | 0cm | 0cm |
| 阳性对照组 | 1.24cm | 1.55cm | 1.40cm |
| 阴性对照组 | 0cm | 0cm | 0cm |



图 21 醚提产物抑菌效果



图 22 醇提产物抑菌效果



图 23 水提产物抑菌效果



图 24 抑菌效果对比

桉柳的水、醇、石油醚粗提取物没有抑制金黄色葡萄球菌生长。

3.4.实验结论及讨论

桉柳中的中有效成分含量丰富，作用广泛。用水蒸馏法得到的红柳纯露气味香甜，有进一步开发的潜力。红柳多糖和蛋白提取方便，产量较高。

桉柳的水、醇、石油醚粗提取物能够抑制金黄色葡萄球菌生长，但不能有效抑制大肠杆菌的生长。微生物繁殖是肉质腐败的重要原因，红柳提取物对细菌有一定的抑制作用，对防止肉质腐败，保持肉质鲜美具有一定作用。

美拉德反应中桉柳蛋白质和糖的比 1: 3 加热 200℃ 5min 为最佳方案，可以提高食物色泽和风味。红柳富含多糖及蛋白质，在高温炙烤效果下，能够产生美拉德反应，增添肉质风味。

2020 S.-T. Yau High School Science Award

4. 创新点

4.1 采用多角度探究揭开红柳烤肉香味之谜。

红柳烤肉的香味可能是桤柳所含的物质的作用，也可能是在红柳炙烤过程中产生了化学反应，也可能是抑制了肉类变质过程。本文从多角度进行探究，采用对照和定量的方式，对该新疆特色食物进行深入研究。

4.2 用正交实验的方法，探究最佳方案

食物制作过程中，加热温度、加热时间、调味料比例等因素均对食物产生影响。本文用正交实验方法，进行科学探究，探究出最佳方案，有利于提高产品的稳定性。

4.3 关注新疆特色，为新疆资源开发产业发展提供新思路

本研究课题通过将红柳中成分取出再提纯并按照一定比例重新加入食物来达到提鲜提香效果，同时又开发出红柳的其他作用，并给食品业提供新方向和思路，也为之后学生的生物课题研究提供了方向和实验操作经验。

5. 展望

本实验虽从多角度对桤柳枝条对烤肉的影响进行了探究，但由于疫情原因，还有很多未尽事宜：该课题虽初步验证了桤柳提取物具有抑菌效果，但未探明对具体抑菌成分和原理，可采用色谱法对抑菌成分进行进一步分析；课题虽提取了具有香甜气味的桤柳纯露，未得到精油，希望改良实验提取出桤柳精油；本实验通过正交实验探究出桤柳多糖和蛋白美拉德反应的最优方案，但未将此配方与羊肉结合，未检测该配方改良后的桤柳烤肉效果。若再次获得时间和机会希望能够更加深入研究。

6.参考文献

- [1]周全民. 河西荒漠绿洲型城市园林植物[M]. 2014
- [2]崔颖, 孙超, 任书玉, 屈爱桃, 刘勋, 李洋. 蒙药怪柳属植物化学成分、药理作用研究现状[J]. 内蒙古医科大学学报, 2017
- [3]古丽美克热依·吐尼亚孜. 怪柳黄酮的提取纯化、测定方法及生物活性研究[D]. 新疆师范大学, 2017.
- [4]胡铁, 谷政伟, 钟雄, 朱晓媛, 李楠, 黎继烈. 杉木屑精油提取工艺及成分分析[J]. 湖北农业科学, 2014
- [5]闫巧娟. 蒙古黄芪中多糖、皂甙及活性蛋白的提取分离[D]. 中国农业大学, 2005.
- [6]文芬, 张淼, 邵雪梅, 龚倩, 魏陈. 芝麻饼粕中蛋白质的提取及其应用研究现状[J]. 食品研究与开发, 2018, 39(14): 220-224.
- [7]郑文华, 许旭. 美拉德反应的研究进展 [J]. 化学进展. 2005
- [8]赵丽琴, 彭黔荣, 张荣, 杨敏, 董睿, 陈亭羽. 微波条件下的美拉德反应[J]. 中国食品添加剂, 2019, 30(04): 55-64.
- [9]钟雄. 杉木屑精油提取及抑菌活性的研究[D]. 中南林业科技大学, 2013
- [10]罗彬, 郭明, 牛佳佳, 裴钦键, 王江梅, 王中栋, 王金花. 5种中草药不同提取方法对大肠杆菌和金黄色葡萄球菌的抑菌作用[B]. 海南大学 农学院. 2015
- [11]王天元, 王霞. 香茅纯露抑菌性评价及应用探讨[R]. 北京师范大学珠海分校 广东 珠海 哈尔滨学院 黑龙江 哈尔滨. 2008
- [12]杨楠, 罗凡, 费学谦, 钟海雁. 两种干燥方式对油茶籽美拉德反应的影响[J]. 现代食品科技, 2019, 35(08): 136-141+286.
- [13]纪有华. 烹饪过程中美拉德反应对菜肴的影响[A]. 扬州大学旅游烹饪学院. 2006
- [14]周文富, 黄忠兴, 徐芑, 朱九珍, 刘冬玲. 杉根精油分离及其化学成分测定[J]. 精细化工, 2007(11): 1095-1098.
- [15]沈强, 潘科, 申东, 郑文佳, 孔维婷, 司辉清. 腊梅花精油提取工艺研究[J]. 西南大学学报(自然科学版). 2010

7.致谢

本论文是在宋珊珊老师的悉心指导和关怀下完成的，在这一课题研究期间，从理论学习到论文设计、撰写都倾注了导师无数的心血和汗水。老师严谨的治学态度和兢兢业业、一丝不苟的工作精神以及对本学科发展的洞察力和不断创新、开拓进取的精神深深的影响我、鼓励我、指引我，并从她身上学到很多宝贵的知识和做人的道理，我想，这些都将成为我此生最宝贵的财富！

在实验开展期间，也得到了我校史艳丽老师的帮助，为我创造了众多接受锻炼、学习的宝贵机会，悉心的帮助和点拨为我指明了前进的方向，使我受益匪浅。值此论文完成之际，在此向我敬爱的导师宋珊珊老师以及给予过我帮助和支持的老师和同学致以衷心的感谢和最诚挚的祝福！

谨以此文献给敬爱的老师们、帮助我、关心我的同学们，以及我的母校克拉玛依市第一中学。

8.每位作者在本课题研究中的贡献

刘蕊旭因受到市场启发提出课题设想，并联系到同样对此课题抱有兴趣的朱恩斯，两人成立小组，并由刘蕊旭担任小组组长。两人分别收集文献资料，之后汇总筛选出对课题研究具有启发作用的文献，然后在宋珊珊老师、史艳丽老师的指导下，明确研究方向，并按照框架展开实验，其中刘蕊旭完成纯露、精油提取、微生物培养基的制备、接种以及美拉德反应实验中的材料提取、数据记录，最终撰写论文；朱恩斯则完成培养基的制备、接种和美拉德反应在紫外分光光度仪下的测定等任务，以及最终对刘蕊旭的论文进行修改。