

## 金华佛手精油纳米乳制备及其对 HT-29 细胞体外增殖的抑制作用

孙小涵<sup>1,2</sup>, 寇兴然<sup>1,2</sup>, 吕文平<sup>1,2</sup>, 王洪新<sup>1,2\*</sup>

(1. 食品科学与技术国家重点实验室, 江苏无锡 214000; 2. 江南大学食品学院, 江苏无锡 214000)

**摘要** [目的] 研究制备佛手精油纳米乳的工艺及纳米乳对 HT-29 细胞增殖的抑制作用。[方法] 以佛手精油和 MCT 混合为油相, 吐温 (Tween-80) 为表面活性剂, 通过高压均质法制备佛手精油纳米乳 (O/W 型), 并探讨纳米乳对 HT-29 细胞增殖的抑制作用。以粒径大小和分散性指数 (PDI) 为指标优选高压均质法参数, 采用四甲基偶氮唑蓝 (MTT) 法检测纳米乳对细胞增殖的抑制影响。[结果] 油相质量百分比 10% (佛手精油和 MCT 质量比 4:1), 乳化剂的质量百分比 2.00%, 在均质压力 10 000 Psi, 均质次数 3 次的工艺条件下, 得到的佛手精油纳米乳粒径为 100~120 nm, PDI 在 0.3 以下。[结论] 佛手精油纳米乳对 HT-29 细胞增殖有明显抑制效果, 且呈剂量依赖型。

**关键词** 佛手精油; 纳米乳; 抑制

中图分类号 S-3 文献标识码 A 文章编号 0517-6611(2018)18-0144-06

**Preparation of Jinhua Fingered Citron Essential Oil Nanoemulsion and Its Inhibitory Effect on Proliferation of HT-29 Cells *in vitro***  
SUN Xiao-han<sup>1,2</sup>, KOU Xing-ran<sup>1,2</sup>, LÜ Wen-ping<sup>1,2</sup> et al (1. The State Key Laboratory of Food Science & Technology, Wuxi, Jiangsu 214000; 2. School of Food Science & Technology, Jiangnan University, Wuxi, Jiangsu 214000)

**Abstract** [Objective] To study the process of preparing fingered citron essential oil nanoemulsion, and the inhibitory effect of nanoemulsion on the proliferation of HT-29 cells. [Method] This article studied the process of preparing fingered citron essential oil nanoemulsion (O/W type) by high-pressure homogenization, using fingered citron essential oil and MCT mixed as oil phase and Tween-80 as surfactant. The inhibitory effect of nanoemulsion on the proliferation of HT-29 cells was explored. The parameters of high-pressure homogenization method were used as the index of particle size and PDI, and the inhibitory effect of nanoemulsion on cell proliferation was detected by MTT assay. [Result] The mass percentage of oil phase was 10% (mass ratio of fingered citron essential oil and MCT was 4:1), the mass percentage of emulsifier was 2.00%, and it was obtained under the conditions of homogeneous pressure of 10 000 Psi and 3 times of homogenization. The fingered citron essential oil nanoemulsion had a particle size of 100-120 nm and a PDI less than 0.3. [Conclusion] The fingered citron essential oil nanoemulsion significantly inhibited the proliferation of HT-29 cells in a dose-dependent manner.

**Key words** Fingered citron essential oil; Nanoemulsion; Inhibition

佛手 (fingered citron), 学名 *Citrus medica* L. var. *Sarcodactylis* Swingle, 又名佛手香橼、蜜柑、蜜罗柑、福寿柑、五指柑等, 属芸香科柑橘属香橼的变种, 为常绿小乔木或灌木<sup>[1]</sup>。金华佛手主产于金华市赤松镇山口等地, 其果挥发油含量高达 1.6%, 所得挥发油为无色透明液体, 芳香扑鼻, 香气极为浓郁。有研究表明, 佛手精油主要成分是萜烯类、倍半萜烯类以及高级醇类、醛类、酮类、酯类等多种生理活性物质, 具有较高的药用价值, 具有祛痰、止咳、平喘、抗焦虑、抗菌消炎和去除自由基等作用<sup>[2]</sup>。现代药理学研究表明, 植物精油具有广泛的药理活性, 可有效抑制肝癌、子宫颈癌、肺癌、结肠癌、乳腺癌、人白血病细胞、人卵巢癌细胞等多种癌细胞增殖, 是一类具有开发价值的抗肿瘤中药<sup>[3-6]</sup>。

植物精油常温下不稳定, 易挥发, 在水中的溶解度极低。在储藏过程中散失, 导致其活性降低, 该试验选择纳米乳为基质, 以提高其稳定性和溶解度, 且制备过程在室温下进行, 有效地降低了精油损耗, 从而达到缓释的目的。

纳米乳是一种液相以液滴形式分散于第二相的胶体分散体系, 属于非热力学稳定体系, 颗粒粒度为 50~200 nm<sup>[7-8]</sup>。纳米乳因其纳米级粒径可防止聚集和重力引起的乳液分离, 具有抗沉降和乳析的动力学稳定特性, 精油纳米级乳化体系可以提高精油的水溶性、稳定性和生物利用

度<sup>[9]</sup>。笔者研究了佛手精油纳米乳的制备工艺及其对 HT-29 细胞体外增殖的抑制作用。

## 1 材料与方法

**1.1 材料与试剂** 鲜金华佛手 (浙江金手宝生物科技有限公司); 聚氧乙烯山梨醇酐单油酸酯 (Tween-80) (化学纯, 上海国药集团); 磷酸二氢钠、十二水合磷酸氢二钠、无水硫酸钠、二甲基亚砜 (分析纯, 上海国药集团); 亚甲基蓝、苏丹红 (指示剂, 上海国药集团); 中链甘油三酯 (MCT, 上海慈太龙实业有限公司); 人结肠癌细胞株 HT-29 (中国科学院典型培养物保藏委员会细胞库); 绵羊血 (无菌, 杭州新锐生物工程有限公司); RPMI-1640 基础培养基、青霉素/链霉素溶液、胎牛血清 (美国 Gibco 公司); MTT 细胞增殖及细胞毒性检测试剂盒 (碧云天生物技术有限公司)。

**1.2 仪器与设备** 纳米粒度及 Zeta 电位分析仪 (Zetasizer nano ZS) (英国马尔文公司); 高速剪切机 (德国 IKA 公司); NanoFast-15A 型高压均质机 (MORGE 公司); HZT-A600 型电子天平 (福州华志科学仪器有限公司); JEM-2010HT 透射电子显微镜 (日本电子株式会社); DG250 小型厌氧工作站 (英国 DWS 公司); 生物安全柜 (美国 Labconco 公司); BD150L 三气培养箱 (德国 Bingd 公司); PYX-DHS 隔水式恒温培养箱 (上海一恒科技有限公司); 磁力搅拌器 (德国 IK-A 公司); MLS-3750 高压蒸汽灭菌锅 (日本三洋公司); 通风橱 (上海飞域公司); Leica DM2000 显微镜 (德国 Leica 光学仪器公司); HEPA Class 100 型细胞培养箱 (美国赛默飞公司); UV-2100 紫外可见分光光度计 (优尼科上海有限公司); 5242R 型高速冷冻离心机 (德国 Eppendorf 公司); 细胞培养

**基金项目** 中央高校基本科研业务费专项 (JUSRP51501)。  
**作者简介** 孙小涵 (1992—), 女, 山东肥城人, 硕士研究生, 研究方向: 食品营养与功能因子。\* 通讯作者, 教授, 博士, 从事食品营养与功能因子研究。  
**收稿日期** 2018-03-27; **修回日期** 2018-04-08

板(美国 Corning 公司);DK-S12 恒温水浴锅(上海森信实验仪器有限公司);SP-250 生化培养箱(南京实验仪器厂)。

**1.3 佛手精油的制备** 称取适量的成熟新鲜金华佛手,洗净切块,经高速组织捣碎机破碎后转移至烧瓶中,加入适量的去离子水,加入沸石,连接挥发油测定器与回流冷凝管。用电热套缓缓并保持微沸约 4 h。收集精油,加入适量的无水硫酸钠,在 6 000 r/min、4 min、25 °C 的条件下离心进行油水分离,即可得到佛手精油产品。

**1.4 佛手精油纳米乳的制备** 将 MCT 和佛手精油按比例混合即为油相,向其中加入适量的 Tween-80,混合均匀后将混合液倒入磷酸缓冲液(pH=7,0.5 mmol)中,使样品总质量达 50 g。用高速剪切机 10 000 r/min 剪切 5 min,得粗乳,使用高压均质机 10 000 Psi,均质 3 次,即得佛手精油纳米乳。

### 1.5 佛手精油纳米乳的质量评价

**1.5.1 佛手精油纳米乳类型的鉴定。**通过染色法<sup>[10]</sup>鉴定纳米乳类型。分别将油溶性的苏丹红溶液和水溶性的亚甲基蓝溶液滴到制备好的纳米乳中,观察 2 种染色剂在纳米乳中的扩散速度,如果苏丹红的扩散速度大于亚甲基蓝,该乳液为油包水型(W/O);如果亚甲基蓝的扩散速度大于苏丹红,该乳液为水包油型(O/W);二者扩散速度相同则为双连续型。

**1.5.2 佛手精油纳米乳形态观察。**取适量的佛手精油纳米乳样品,用磷酸缓冲液稀释 100 倍后,滴加在覆盖碳膜的铜网上,用质量分数为 2.0%的磷酸钨酸染 30 s,自然挥干,在透射电镜下观察纳米乳的形态<sup>[11]</sup>。

**1.5.3 佛手精油纳米乳的稳定性。**将制备好的纳米乳装入玻璃瓶中,密封,在 4、25、40 °C 的条件下,放置 0.5、10 d,取适量稀释后的纳米乳于离心管中,15 000 r/min 离心 20 min,观察是否出现絮凝、聚结、分层絮凝现象。

### 1.6 佛手精油纳米乳抑制 HT29 细胞体外增殖作用

**1.6.1 细胞培养。**将 HT-29 细胞加冻存液保存于液氮(-196 °C)中。复苏时,置于细胞培养瓶中,加入 RPMI-1640 细胞完全培养液,于 5%CO<sub>2</sub> 培养箱中 37 °C 培养,每 2 d 换液 1 次,当细胞融合至 70%~80%,用 0.25%胰酶-EDTA 消化传代,细胞贴壁生长,通常 2 d 更换培养液,4 d 进行传代,传代 5 次左右进行试验。

**1.6.2 精油及其纳米乳对 HT-29 细胞形态学影响的观察。**将生长融合至 70%~80%的 HT-29 细胞进行消化,调整浓度至 2×10<sup>5</sup>个/mL,将无菌盖玻片放置在 6 孔细胞培养板中,每孔加入 2 mL 细胞培养悬液,于 5% CO<sub>2</sub> 培养箱中 37 °C 培养,待细胞长至单层时,用 PBS 清洗 3 次,加入含有精油及其纳米乳的 RPMI-1640 完全培养液(精油及其纳米乳的浓度梯度为 0.31.25、62.50、125.00、250.00 μg/mL),于 5% CO<sub>2</sub> 培养箱中 37 °C 培养 24 h,取出盖玻片后于倒置显微镜下观察细胞的形态。

**1.6.3 MTT 法测定精油及其纳米乳对 HT-29 细胞体外增殖的抑制。**采用 0.25%胰酶-EDTA 消化生长融合至 70%~80%的 HT-29 细胞,调整浓度至 1×10<sup>4</sup>个/mL,每孔加入 200 μL

细胞培养悬液于 96 孔板中,5%CO<sub>2</sub> 培养箱中 37 °C 培养 24 h 后,弃去培养上清液,PBS 清洗 3 次,加入含精油及其纳米乳的 RPMI-1640 完全培养液(精油及其纳米乳的浓度梯度为 0.31.25、62.50、125.00、250.00 μg/mL),每种浓度设置 6 个复孔,并设置空白纳米乳和空白对照组,37 °C、5%CO<sub>2</sub> 培养箱中孵育 24 h 后,每孔加入 MTT 溶液 10 μL,继续培养 4 h 后,小心吸去上清液,每孔加入 DMSO 150 μL,室温置于微量振荡器上振荡 10 min,自动酶标仪(570 nm)下测量各孔的吸光度值,按下列公式计算细胞抑制率:

$$\text{细胞抑制率} = \left(1 - \frac{\text{精油孔平均吸光度值}}{\text{对照组平均吸光度值}}\right) \times 100\%$$

## 2 结果与分析

### 2.1 佛手精油纳米乳的制备

**2.1.1 不同油相比对佛手精油纳米乳粒径和 PDI 的影响。**将 MCT 与佛手精油按照 1:0、4:1、2:1、1:1、1:2、1:4、0:1 的比例混合均匀,即为油相,再加入质量分数为 2.00%的 Tween-80,充分混合后,将混合物加入到一定量的磷酸缓冲液中,使体系总质量为 50 g。用高速剪切机 10 000 r/min 剪切 5 min,得粗乳,高压均质机 10 000 Psi,均质 3 次,测定粒径和 PDI 的变化。

由图 1 可知,当油相仅为 MCT 时,即可制得纳米级别乳液。随着佛手精油占油相比比例的增大,纳米乳的粒径保持在 100~120 nm,较为稳定,并呈逐渐减小的趋势,当 MCT 与佛手精油的质量比为 1:4 时,达到最小粒径 108.18 nm。当油相仅为佛手精油时,乳液的平均粒径突然大幅度增长,达到微米级别。由此可以说明,MCT 与佛手精油作为油相形成纳米乳时存在最佳配比关系。同时在佛手精油中加入 MCT,可能降低了奥氏熟化现象,有助于佛手精油纳米乳颗粒的形成。

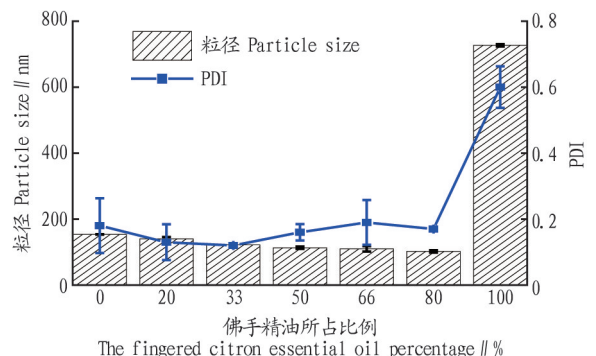


图 1 佛手精油百分比对粒径和 PDI 的影响

Fig.1 Effects of the fingered citron essential oil percentage on the nanoemulsion particle size and PDI

**2.1.2 不同乳化剂添加量对佛手精油纳米乳粒径和 PDI 的影响。**将 MCT 与佛手精油按照 1:4 的比例混合均匀,再分别加入质量分数为 0.10%、0.25%、0.50%、1.00%、2.00%、3.00%、4.00%、5.00%的 Tween-80,充分混合,将混合物加入到一定量的磷酸缓冲液中,使体系总质量为 50 g。用高速剪切机 10 000 r/min 剪切 5 min,得粗乳,高压均质机 10 000 Psi,均质 3 次,测定粒径和 PDI 的变化。

由图 2 可知,随着 Tween-80 用量增加,纳米乳粒径急剧



减小。当 Tween-80 添加量为 0.10%~0.25% 时乳液粒径较大,这是由于乳液滴界面不能饱和和吸附所以不能形成紧密的界面膜,无法获得较小粒径的纳米乳液,当 Tween-80 添加量为 0.50%~2.00% 时,由于表面活性剂比例升高导致纳米乳形成时界面张力减小从而导致纳米乳粒径减小<sup>[12]</sup>。而当表面活性剂过高,会使油相和水相比例降低,分散相过小会使小乳滴之间距离过近而发生碰撞结合,形成的纳米乳不够稳定。所以在制备纳米乳时,需要选择合适浓度的表面活性剂<sup>[13-15]</sup>。

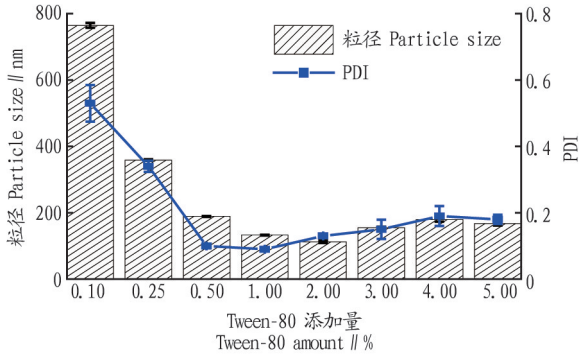


图2 Tween-80 添加量对粒径和 PDI 的影响

Fig.2 Effect of the Tween-80 amount on the nanoemulsion particle size and PDI

**2.1.3 不同均质压力对佛手精油纳米乳粒径和 PDI 的影响。**将 MCT 与佛手精油按照 1:4 的比例混合均匀,再加入质量分数为 1.00% 的 Tween-80,充分混合,将混合物加入到一定量的磷酸缓冲液中,使体系总质量为 50 g。用高速剪切机 10 000 r/min 剪切 5 min,得粗乳,高压均质机分别用 4 000、6 000、8 000、10 000、12 000 Psi 的压力,均质 3 次,测定粒径和 PDI 的变化。

由图 3 可知,随着均质压力的增加,纳米乳粒径逐渐减小,当压力达 10 000 Psi 时,粒径达最小值 111.3 nm,当压力达 12 000 Psi 时,乳液粒径增大。这是由于在均质的过程中均质压力过高,使乳液液滴过小,小颗粒之间因为彼此的布朗运动速率加快、相互碰撞次数增多而发生液滴聚集现象,降低了均质效果。由此说明并不是压力越大均质效果越好。

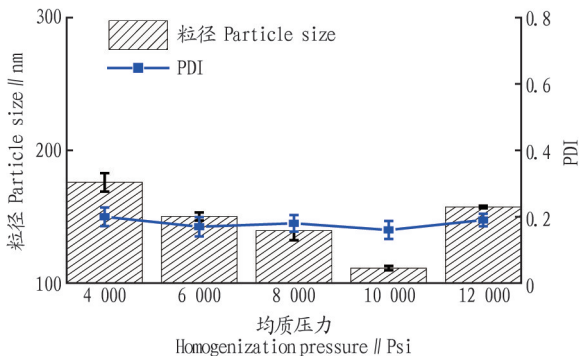


图3 均质压力对粒径和 PDI 的影响

Fig.3 Effects of the homogenization pressure on the nanoemulsion particle size and PDI

**2.1.4 不同均质次数对佛手精油纳米乳粒径和 PDI 的影响。**

将 MCT 与佛手精油按照 1:4 比例混合均匀,即为油相,再加入质量分数为 1.00% 的 Tween-80,充分混合后,加入一定量的磷酸缓冲液中,使体系总质量为 50 g。用高速剪切机 10 000 r/min 剪切 5 min,得粗乳,高压均质机 10 000 Psi,分别均质 1、2、3、4、5、6、7、8 次,测定粒径和 PDI 的变化。

由图 4 可知,随着均质次数的增加,纳米乳粒径在 3 次内呈逐渐减小的趋势,随着均质次数增加,部分机械能转化为热能,被均质乳液温度升高,部分乳液因温度升高发生相转变,从而影响乳液的平均粒径,使得乳液稳定性发生变化。

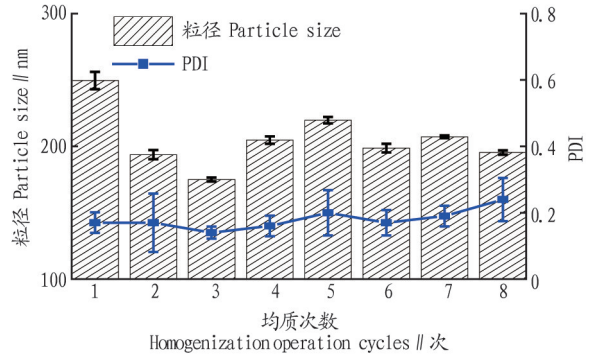


图4 均质次数对粒径和 PDI 的影响

Fig.4 Effects of the homogenization operation cycles on the nanoemulsion particle size and PDI

## 2.2 佛手精油纳米乳的质量评价

**2.2.1 佛手精油纳米乳类型鉴定。**通过染色法鉴定纳米乳的类型,在佛手精油纳米乳中,亚甲基蓝的扩散速度明显大于苏丹红,可以确定该纳米乳为水包油型(O/W)。

**2.2.2 佛手精油纳米乳形态观察。**通过透射电子显微镜(TEM)观察纳米乳形态,如图 5 所示,其乳液液滴分布均匀,呈圆球形,表明佛手精油纳米乳分散较好。纳米乳平均粒径为 90 nm,比与动态光散射法测得的稍小一点,由于动态光散射测得的是水合半径,此结果符合实际规律。

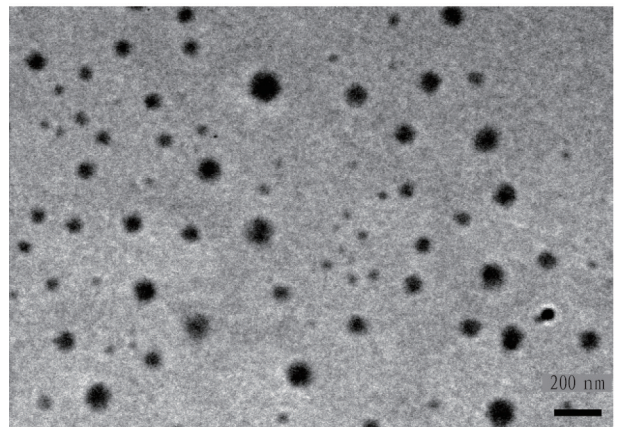


图5 佛手精油纳米乳透射电镜照片( $\times 60\ 000$ )

Fig.5 Transmission electron micrograph of fingered citron essential oil nanoemulsion ( $\times 60\ 000$ )

**2.2.3 佛手精油纳米乳稳定性。**由表 1 可知,不同条件下储存,纳米乳的外观未发生变化。经稀释后,乳液澄清透明有淡蓝色的乳光,且有丁达尔效应。

## 2.3 纳米乳抑制 HT-29 细胞体外增殖作用

**2.3.1 佛手精油及其纳米乳对细胞形态学影响的观察。**人结肠癌上皮细胞 HT-29 细胞模型能够模拟人体肠道环境,可用于研究植物精油纳米乳诱导癌细胞凋亡以及抑制癌细胞增殖的作用。采用倒置显微镜观察不同精油及其纳米乳液作用 HT-29 结肠癌细胞 24 h 后的细胞形态变化。

由图 6 可知,倒置显微镜下观察空白对照组细胞,细胞硕大且丰满,呈扁平的圆形、三角形、多角形,胞质中央处有圆形的细胞核,细胞完整,细胞之间紧密相靠、互相衔接,细胞增殖旺盛。

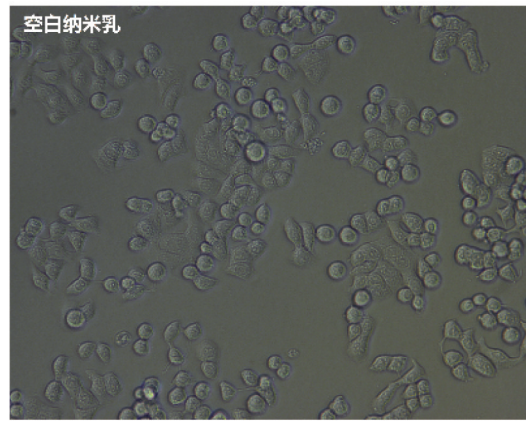
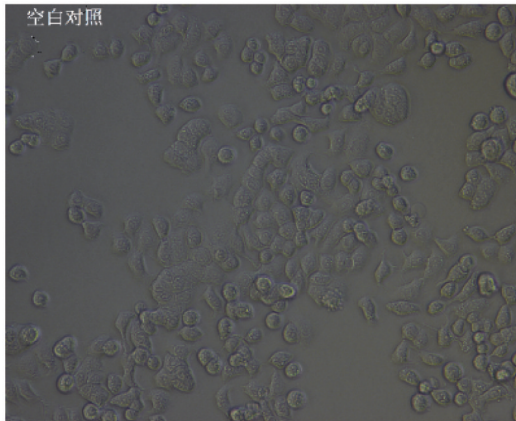


图 6 试验对照组

Fig.6 Control group

由图 7 可知,经佛手精油纳米乳作用后 HT-29 细胞呈现出体积缩小、胞质浓缩、胞核固定、细胞折光率明显增加等典型的凋亡特征。随剂量增加、时间延长,凋亡细胞增多。用 31.25 和 62.50  $\mu\text{g}/\text{mL}$  的佛手精油纳米乳处理癌细胞后,细胞形态变化不是很明显;125.00  $\mu\text{g}/\text{mL}$  的佛手精油纳米乳处理癌细胞后,细胞生长密度降低,产生大量细胞碎片,细胞皱缩,胞浆浓缩聚集,细胞核固缩,部分细胞核碎裂,呈现出典型的晚期凋亡特征;250.00  $\mu\text{g}/\text{mL}$  的佛手精油纳米乳处理癌细胞后,细胞膜破裂,胞浆外溢,但细胞核形态完整,结构正常,表明细胞已坏死。对于单纯的佛手精油而言,各浓度处理 24 h 后均对细胞形态的影响不大,同等浓度下佛手精油纳米乳对细胞形态的影响远大于佛手精油。

柠檬精油纳米乳同时被作为对照进行了研究。由图 7 可知,细胞在柠檬精油纳米乳的最低浓度 (31.25  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ) 下处理 24 h 后便体现出明显的凋亡特征,其效果高于佛手精油纳米乳。

**2.3.2 MTT 法测定佛手精油及其纳米乳对 HT-29 细胞的生长抑制作用。**HT-29 结肠癌细胞线粒体内的琥珀酸脱氢酶可将四唑盐类物质 (MTT) 还原为紫色的结晶物,沉淀在细胞周围,而死细胞无此功能,二甲基亚砜能溶解细胞中的结晶物,用酶标仪读取吸光度值,从而检测到细胞增殖状态,这种方法快速、灵活,是一种比较常用的检测细胞增殖的手段。

由图 8 可知,不同浓度的佛手精油和佛手精油纳米乳 (31.25、62.50、125.00、250.00  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ) 作用于 HT-29 细胞后,

表 1 佛手精油纳米乳稳定性试验

Table 1 Stability test of nanoemulsion of fingered citron essential oil

试验条件 Condition// $^{\circ}\text{C}$	天数 Days//d	外观 Appearance
4	0	澄清透明,有淡蓝色乳光
	5	澄清透明,有淡蓝色乳光
	10	澄清透明,有淡蓝色乳光
25	0	澄清透明,有淡蓝色乳光
	5	澄清透明,有淡蓝色乳光
	10	澄清透明,有淡蓝色乳光
40	0	澄清透明,有淡蓝色乳光
	5	澄清透明,有淡蓝色乳光
	10	澄清透明,有淡蓝色乳光

细胞抑制率分别为 10.8%、20.4%、41.2%、53.7% 和 10.7%、35.9%、71.3%、78.3%。空白对照组与空白纳米乳组之间并无显著性差异。这种现象说明将佛手精油制成纳米乳之后,在相同的浓度下,佛手精油纳米乳抑制细胞增殖的效果大大增强,但是这种增强效果并不是由纳米乳基质造成的。通过和柠檬精油纳米乳对比,佛手精油纳米乳与柠檬精油纳米乳对细胞的抑制率相似。

试验中佛手精油纳米乳对细胞的抑制作用远远大于佛手精油,可能是由于纳米乳的颗粒小、比表面积大、吸附能力更强,可以很快地吸附在细胞表面。由于纳米乳中表面活性剂的亲水亲油性,更有利于精油在水中的溶解。纳米乳作为佛手精油的药物载体,协助精油跨过细胞膜,使细胞内药物浓度相对升高,明显增强药效。

## 3 结论与讨论

近年来的研究发现,细胞凋亡受阻可能是肿瘤发病的重要机制,治疗肿瘤的新思路趋向于诱导肿瘤细胞凋亡。该试验研究了高压均质法制备佛手精油纳米乳的最佳工艺:油相质量分数 10% (MCT:佛手精油为 1:4),乳化剂 2.00%,用高速剪切机 10 000 r/min 剪切 5 min,高压均质机 10 000 Psi,均质 3 次。并采用不同浓度的佛手精油及其纳米乳作用于人结肠癌细胞 HT-29,MTT 法检测不同药物对 HT-29 细胞的生长抑制作用,结果表明 62.50  $\mu\text{g}/\text{mL}$  的佛手精油就可抑制 HT-29 细胞的增殖,同等浓度下,佛手精油纳米乳的抑制效果远高于精油原液。试验测得 3 种纳米乳的  $\text{IC}_{50}$  分别为佛手



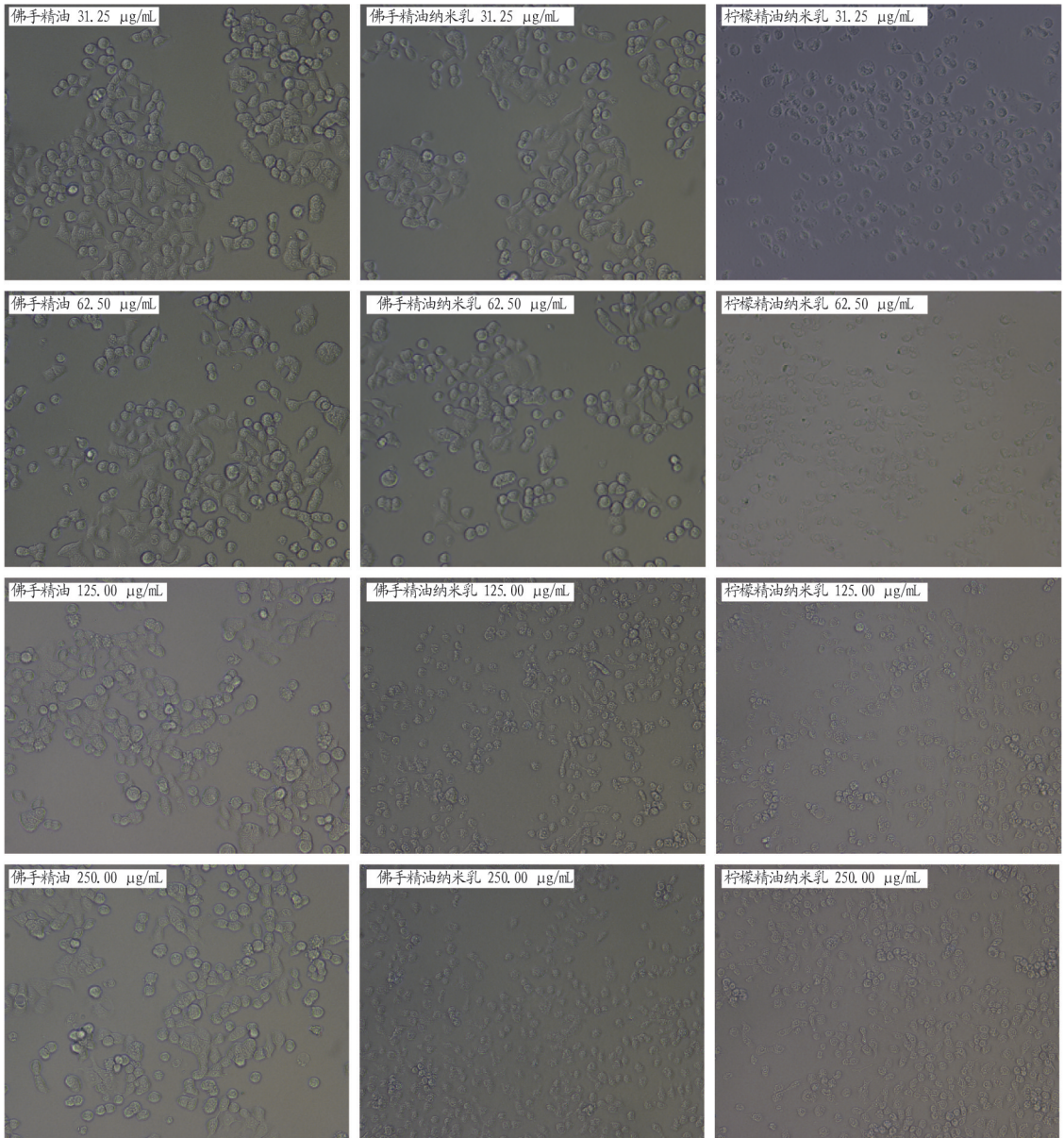
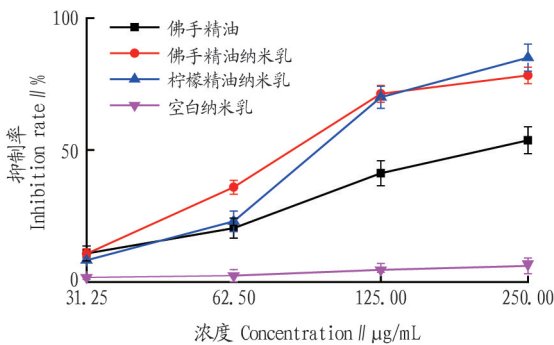
图7 倒置显微镜观察细胞形态( $\times 200$ )Fig.7 Cellular morphology ( $\times 200$ )

图8 HT-29 细胞抑制率

Fig.8 Inhibition rate of HT-29 cell

精油 201.039  $\mu\text{g/mL}$ , 柠檬精油纳米乳 98.159  $\mu\text{g/mL}$ , 佛手精油纳米乳 91.246  $\mu\text{g/mL}$ 。随着药物浓度的增加,抑制作用增强,呈现明显的剂量依赖型。说明佛手精油及其纳米乳对人

类结肠癌细胞有一定的抑制作用,但抑制机理还需要进一步的研究。

有研究表明,佛手精油中的主要成分是萜类物质柠檬烯和萜烯。经前期试验,佛手精油的主要成分为 D-柠檬烯,柠檬精油的主要成分为 (-)-柠檬烯,其相对含量分别占 53.26% 和 79.27%。早在 20 世纪 70 年代,人们就发现柠檬烯具有抗肿瘤活性。柠檬烯抗癌机制主要有化学预防作用、抑制细胞周期与诱导细胞凋亡以及抑制肿瘤的侵袭与转移等。近年来,人们对柠檬烯的抗癌活性进行了广泛的研究,并发现其抗癌功效具有广谱性<sup>[16]</sup>,对乳腺癌、肝癌、结肠癌等均具有抑制作用,并能减轻各种癌症带来的损伤<sup>[17]</sup>。麻艳芳等<sup>[18]</sup>研究结果表明,佛手挥发油具有抑制 MDA-MB-435 癌细胞增殖的作用,低、中浓度的佛手挥发油诱导细胞凋亡且将细胞周期阻滞在 S 期和 G2/M 期,而高浓度的佛手挥发油

引起细胞坏死。吕学维等<sup>[19]</sup>研究结果表明佛手挥发油可有效杀伤体外培养的小鼠 B16 黑色素瘤细胞,低中剂量的佛手挥发油可诱导细胞凋亡,高剂量的佛手挥发油可致细胞坏死。

该研究证实了佛手精油及其纳米乳对 HT-29 细胞的抑制作用,随着药物浓度的增加,抑制作用增强,呈现明显的剂量依赖型。说明佛手精油及其纳米乳对人类结肠癌细胞有一定的抑制作用,但抑制机理还需要进一步研究。

## 参考文献

- [1] 王婷婷,谭红军,张和平,等.佛手的应用研究[J].重庆中草药研究,2011(1):38-40,44.
- [2] 赵秀玲.佛手生理活性成分的研究进展[J].食品工业科技,2012,33(21):393-399.
- [3] SHARMA P R, MONDHED M, MUTHIAH S, et al. Anticancer activity of an essential oil from *Cymbopogon flexuosus* [J]. Chemico-biological interactions, 2009, 179(2/3): 160-168.
- [4] BEZERRA D P, MARINHO FILHO J D, ALVES A P, et al. Antitumor activity of the essential oil from the leaves of *Croton regelianus* and its component ascaridole [J]. Chemistry & biodiversity, 2009, 6(8): 1224-1231.
- [5] LEI J C, YU J Q, YU H D, et al. Composition, cytotoxicity and antimicrobial activity of essential oil from *Dictamnus dasycarpus* [J]. Food chemistry, 2008, 107(3): 1205-1209.
- [6] AIT M' BAREK L, AIT MOUSE H, JAËFARI A, et al. Cytotoxic effect of essential oil of thyme (*Thymus broussonetii*) on the IGR-OV1 tumor cells resistant to chemotherapy [J]. Brazilian journal of medical and biological research, 2007, 40(11): 1537-1544.
- [7] 李倩,刘晨光.纳米技术在食品科学中的应用研究进展[J].中国农业科技导报,2009,11(6):24-29.
- [8] 康波,齐军茹,杨晓泉,等.纳米乳液的制备及稳定性研究进展[J].中国

- 食品添加剂,2008(3):102-104.
- [9] 侯振建,付子林,陈俊生,等.蜂胶纳米化技术研究[J].食品科学,2008,29(5):199-200.
- [10] HOAR T P, SCHULMAN J H. Transparent water-in-oil dispersions: The oleopathic hydro-micelle [J]. Nature, 1943, 152(3847): 102-103.
- [11] 刘梅雪,欧阳五庆,宋冰,等.百里香酚纳米乳的制备及其稳定性研究 [C]//全国动物生理生化第七届全国代表大会暨第十三次学术交流会论文摘要汇编.北京:中国畜牧兽医学会,2014.
- [12] SABERI A H, FANG Y, MCCLEMENTS D J. Fabrication of vitamin E-enriched nanoemulsions: Factors affecting particle size using spontaneous emulsification [J]. Journal of colloid and interface science, 2013, 391: 95-102.
- [13] RAO J, DECKERE A, XIAO H, et al. Nutraceutical nanoemulsions: Influence of carrier oil composition (digestible versus indigestible oil) on  $\beta$ -carotene bioavailability [J]. Journal of the science of food and agriculture, 2013, 93(13): 3175-3183.
- [14] MCCLEMENTS D J. Crystals and crystallization in oil-in-water emulsions: Implications for emulsion-based delivery systems [J]. Advances in colloid and interface science, 2012, 174: 1-30.
- [15] OSTERTAG F, WEISS J, MCCLEMENTS D J. Low-energy formation of edible nanoemulsions: Factors influencing droplet size produced by emulsion phase inversion [J]. Journal of colloid and interface science, 2012, 388(1): 95-102.
- [16] WHYSNER J, WILLIAMS M. d-Limonene mechanistic data and risk assessment: Absolute species-specific cytotoxicity, enhanced cell proliferation, and tumor promotion [J]. Pharmacology & therapeutics, 1996, 71(1/2): 127-136.
- [17] KAPOOR S. D-Limonene: An emerging antineoplastic agent [J]. Human and experimental toxicology, 2013, 32(11): 1228.
- [18] 麻艳芳,邵邻相,张均平,等.佛手挥发油对 MDA-MB-435 人乳腺癌细胞体外增殖的影响 [J]. 中国药理学杂志, 2010, 45(22): 1737-1741.
- [19] 吕学维,邵邻相,张均平,等.佛手挥发油对 B16 黑色素瘤细胞体外增殖的抑制作用 [J]. 中国粮油学报, 2011, 26(8): 50-54.

(上接第 117 页)

15% 炔草酯 WP 750、900 g/hm<sup>2</sup> 以及 5% 唑啉草酯 EC 900、1 200、2 400 mL/hm<sup>2</sup> 处理小区小麦均出现不同程度的叶片褪绿、发白的药害现象,剂量越高,药害越重。药后 25 d, 5% 唑啉草酯 EC 900、1 200 mL/hm<sup>2</sup> 处理对株高有一定的影响, 5% 唑啉草酯 2 400 mL/hm<sup>2</sup> 处理对小麦的株高、分蘖均有一定的影响。7.5% 啶磺草胺 WG 的安全性相对较好,小区内未出现药害现象。

试验结果表明,7.5% 啶磺草胺 WG 150、187.5 g/hm<sup>2</sup>, 15% 炔草酯 WP 300~600 g/hm<sup>2</sup>, 在冬前茎叶处理后有连续 2 d 的-2~3℃ 的低温情况下,对小麦田硬草均有较好的防效,且安全性好;而 5% 唑啉草酯 EC 900 mL/hm<sup>2</sup> 处理小麦零星出现局部叶片褪绿发白,但在后期不影响小麦的分蘖,且防效较好。

在冬前使用茎叶处理剂进行化学除草,在遇低温的情况

下易出现药害,存在一定的风险<sup>[1]</sup>。该试验中,部分处理小麦出现药害症状,是由于单纯的药剂剂量大引起的还是施药后出现低温引起的或是两者皆有,需要进一步试验探索。因此,播后进行土壤封闭处理显得尤为重要。冬前温度偏低,药效发挥较慢,防效在药后 15 d 表现不明显,正常在药后 30 d 左右杂草出现大面积死亡,这可能与低温天气有关<sup>[4-6]</sup>。

## 参考文献

- [1] 曹敏,张进洪,易红娟,等.麦施达、麦喜防除旱冬小麦田阔叶杂草的效果 [J]. 浙江农业科学, 2011(3): 648-650.
- [2] 李涛,钱振官,温广月,等.七种茎叶处理除草剂防除小麦田大龄硬草的效果及安全性 [J]. 上海农业学报, 2016, 32(5): 97-100.
- [3] 朱宗春,韦龙友,徐国民,等.几种除草剂防除小麦田硬草试验 [J]. 大麦与谷类科学, 2013(4): 60-61.
- [4] 邱学林,何金生,张凯,等.几种新除草剂冬麦田不同施药期除草效果评价 [J]. 杂草科学, 2010(2): 49-50, 54.
- [5] 陈庆华,周小刚,李孝英,等.骠马等防除冬小麦田看麦娘的效果与安全性 [J]. 杂草科学, 2008(4): 56-58.
- [6] 涂鹤龄.麦田杂草化学防除 [M]. 北京:化学工业出版社, 2003: 11-12.

## 科技论文写作规范——缩略语

采用国际上惯用的缩略语。如名词术语 DNA(脱氧核糖核酸)、RNA(核糖核酸)、ATP(三磷酸腺苷)、ABA(脱落酸)、ADP(二磷酸腺苷)、CK(对照)、CV(变异系数)、CMS(细胞质雄性不育性)、IAA(吲哚乙酸)、LD(致死剂量)、NAR(净同化率)、PMC(花粉母细胞)、LAI(叶面积指数)、LSD(最小显著差)、RGR(相对生长率),单位名缩略语 IRRI(国际水稻研究所)、FAO(联合国粮农组织)等。对于文中有些需要临时写成缩写的词(如表及图中由于篇幅关系以及文中经常出现的词而写起来又很长时),则可取各主要词首字母写成缩写,但需在第一次出现处写出全称,表及图中则用注解形式在下方注明,以便读者理解。