

杨梅不同部位单宁含量与结构研究



L IM in

李 敏¹, 向 平¹, 杨志伟^{1,2}, 向 成¹, 林 鹏^{1,2}, 林益明^{1,2*}

(1. 厦门大学 生命科学学院, 福建 厦门 361005;

2. 厦门大学 湿地与生态工程研究中心, 福建 厦门 361005)

摘 要: 对杨梅的叶、枝和树皮的总酚含量与可溶缩合单宁含量进行了测定, 并利用基质辅助激光解吸飞行时间质谱 (MALDI-TOFMS) 详细研究了不同部位中缩合单宁的类型、聚合度及聚合物的分布情况。结果表明: 树皮的总酚含量最高 (43.56%), 叶次之 (34.69%), 枝最低 (18.53%); 树叶的可溶缩合单宁含量最高 (25.67%), 皮次之 (17.93%), 枝最低 (8.01%); 3 组分的缩合单宁都以 (表) 儿茶素-3-O-鞣酸酯 (EGCG/GCG) 为基本结构单元的原翠雀定, 且大部分聚合物的结构单元之间存在 A 型和 B 型两种连接方式, 但其中叶和枝缩合单宁的聚合度要大于树皮。

关键词: 杨梅; 多酚; 缩合单宁; 基质辅助激光解吸飞行时间质谱; 多聚物

中图分类号: TQ943.2

文献标识码: A

文章编号: 0253-2417(2008)03-0055-06

Content and Structure of Tannins in Different Parts of Bayberry (*Myrica rubra* (Lour.) Sieb. et Zucc.)L IM in¹, XIANG Ping¹, YANG Zhi-wei^{1,2}, XIANG Cheng¹, L IN Peng^{1,2}, L IN Yim ing^{1,2}

(1. Department of Biology, School of Life Sciences, Xiamen University, Xiamen 361005, China;

2. Research Centre for Wetlands and Ecology Engineering, Xiamen University, Xiamen 361005, China)

Abstract: Contents of total phenolics and extractable condensed tannins in leaves, branches and bark of *Myrica rubra* (Lour.) Sieb. et Zucc. were determined. In addition, type of condensed tannins, degree of polymerization and distribution of polymer were characterized by matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight mass spectrometry (MALDI-TOFMS). The results were showed as follows: total phenolics content was the highest in bark (43.56%), followed by leaves (34.69%), and then branches (18.53%); while extractable condensed tannins content was the highest in leaves (25.67%), followed by bark (17.93%), and then branches (8.01%). Epigallocatechin-3-O-gallate was invariably the basic unit occurring in the three condensed tannins. A-type and B-type linkages were the common types among the structural units of polymers. Meanwhile tannins in leaves and branches had the larger highest polymerization degree than bark.

Key words: *Myrica rubra* (Lour.) Sieb. et Zucc.; polyphenolics; condensed tannin; matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight mass spectrometry; polymerization

杨梅 (*Myrica Rubra* (Lour.) Sieb. et Zucc.) 系杨梅科杨梅属植物, 原产于我国温带、亚热带湿润气候的山区, 在江苏、浙江、福建、广东和广西等省份均有分布^[1]。它的果实、叶和树皮含有丰富的多酚类物质, 不仅是食品行业重要的原料, 还是植物化学研究的理想对象。在 66 种水果和蔬菜中, 杨梅的总酚含量与抗氧化活性仅次于人心果 (*Manikara zapora*) 等 5 种植物^[2]。它的叶和树皮可分离出杨梅素、槲皮素及槲皮素-3-O-鼠李糖苷等黄酮类化合物^[3], 其中杨梅素能保护肝脏, 缓解酒精中毒, 而原翠雀定 B-2,3,3'-二-O-鞣酸酯则具有抑制癌细胞 A549 carcinoma^[4] 和病毒 herpes simplex virus type 2 (HSV-2)^[5] 的作用。目前, 人们借助高效液相色谱与核磁共振技术对杨梅果实、叶及树皮提取物中的

收稿日期: 2007-05-29

基金项目: 国家自然科学基金 (40376026; 30671646); 教育部新世纪优秀人才支持计划 (NCET-07-0725)

作者简介: 李 敏 (1984-), 男, 福建龙岩人, 硕士生, 主要从事植物单宁化学研究工作

* 通讯作者: 林益明, 博士生导师, 研究领域: 植物生态学; E-mail: linyim@xmu.edu.cn

黄酮类化合物已有了较深入的了解,但是对杨梅不同部位中缩合单宁的组成与结构还未见报道。本研究着重探讨了杨梅不同部位总酚含量与缩合单宁含量的差异,并利用 MALDI-TOFMS详细分析了其中缩合单宁的基本组成结构和连接方式,缩合单宁的聚合度及聚合物的分布情况,为其开发利用提供了理论基础。

1 材料与方法

1.1 材料和仪器

材料:杨梅叶、树枝和树皮(-20℃保存),2006年7月份采自福建省漳州市厦门大学校区。甲醇、无水乙醇、草酸、盐酸、磷酸、氨水、丙酮、正丁醇、三氯化钼、三氯化铁、氢氧化钙、铁氰化钾、阿拉伯胶均为分析纯;三氟醋酸铯,纯度99%;实验用水为二次去离子水。

仪器:SHZ-B循环水真空泵,上海;SENCO旋转蒸发仪,上海;DK-526电热恒温水浴锅,上海;UV-2100紫外可见分光光度计,上海;FD-1冷冻干燥机,北京;Bruker Reflex 基质辅助激光解吸/飞行时间质谱仪,德国。

1.2 实验方法

1.2.1 单宁的提取与纯化 取原料样品20g,加入200mL丙酮-水(下文除特别交待,丙酮-水体积比均为7:3)后用组织捣碎机捣碎,浸提30min,抽滤,取上清液。往残渣中加入150mL丙酮-水并浸提30min,重复2次。用1mol/L氨水将滤液的pH值调至7.0左右,同时加入100mL的40g/L Yb^{3+} 溶液,避光静置2h。离心去上清液,将沉淀物分别用体积比7:3的丙酮-水洗3次,再用体积比9:1的丙酮-水洗1次,丙酮洗1次,并在每次洗涤后离心除去清洗液。将沉淀物溶解于50mL蒸馏水中,用0.2mol/L草酸调节pH值至1.96,避光静置2h。抽滤,取上清液并加入饱和的氢氧化钙溶液将pH值调至4.0,避光静置2h。抽滤,取上清液。在35℃下把滤液中的有机溶剂旋转蒸干,剩下的溶液冷冻干燥处理,最后得到的单宁纯化物于-20℃保存备用。

1.2.2 样品溶液的制备 取0.1g新鲜样品,与5mL左右丙酮-水混合后研磨成浆。转移到50mL容量瓶中,蒸馏水定容,室温下避光保存备用。

1.2.3 总酚的测定^[6] 取0.1mL样品溶液,加入2.9mL蒸馏水后充分混匀。加入1mL浓度为0.016mol/L铁氰化钾溶液,并立即加入1mL含1mol/L盐酸的浓度为0.02mol/L三氯化铁溶液,混合完全后,置于(24±1)℃条件下反应15min。然后加入3mL 6.02mol/L的磷酸溶液,充分混合后放置2min,加入2mL 1%阿拉伯胶,充分混合,3~5min后在700nm下用分光光度计测定吸光值,蒸馏水作参比。

标准曲线的绘制:将 Yb^{3+} 沉淀法提取的杨梅单宁配成质量浓度梯度为0、8、16、24、32、40mg/L的水溶液,各取3mL,按以上步骤依次加入铁氰化钾溶液、三氯化铁溶液等试剂,最后测定吸光值并绘制成相应的标准曲线。

1.2.4 可溶缩合单宁的测定^[7] 取1mL样品溶液,加入6mL盐酸-正丁醇(体积比5:95,下同),沸水浴75min。冰水冷却后在550nm下用分光光度计测定吸光值,空白液用水。

标准曲线的绘制:将 Yb^{3+} 沉淀法提取的杨梅单宁配成质量浓度梯度为0、40、80、120、160、200mg/L的水溶液,各取3mL,按以上步骤加入6mL盐酸-正丁醇反应,最后测定吸光值并绘制成相应的标准曲线。

1.2.5 MALDI-TOFMS分析 参考向平等的研究^[8],采用如下条件:氮激光波长337nm,激光脉冲宽度3ns;在反射模式下,加速电压为20.0kV,反射电压为23.0kV;以Angiotensin(相对分子质量(M_r)1046.5),Bombesin(M_r 1619.8),ACTHclip 18~39(M_r 2465.2)和Somatostatin 28(M_r 3147.47)为外标。DHB(10g/L)为基质,基质和样品(7.5g/L)以体积比1:3混合后取1.5μL在靶上点样。基质和样品溶液均用Amberlite RP64离子交换树脂进行去离子处理。适当比例的三氟醋酸铯分别加入到基质/样品溶液中以促进形成单离子加合物($[M+C_s]^+$)。

1.2.6 统计分析 数据统计分析采用 SPSS for Windows 13.0,多组间比较用 One-Way ANOVA。

2 结果与讨论

2.1 杨梅总酚及可溶缩合单宁含量

从表 1 的数据可知,枝的总酚含量最低,叶次之,树皮最高。相关研究表明:在相同条件下,植物提取物的抗氧化活性与其总酚含量呈正相关性^[2, 9-10]。由此,可以推测杨梅不同部位的抗氧化活性为:树皮 > 叶 > 枝。再比较杨梅不同部位的可溶缩合单宁含量,发现枝的可溶缩合单宁仅占总干物质质量的 18.53%,分别是叶的 1/3 和树皮的 1/2。产生这种现象的原因可能为:1) 枝处于生长发育的早期,细胞内次生代谢物较少,单宁含量也相应较低;2) 组织中缩合单宁的可溶部分含量较少;3) 受盐酸正丁醇法本身的限制,可溶缩合单宁未完全反应。

2.2 杨梅缩合单宁的基本结构与连接方式

缩合单宁是以黄烷醇及其衍生物为结构单元所组成的聚合物,按照酚羟基的数目和取代位置差异可分成原花青定、原翠雀定和原菲瑟定等^[11]。其中原花青定在植物中的分布最广泛,数量也最多;而原翠雀定和原菲瑟定分布较窄,且经常与原花青定共存。迄今为止,人们尚未确定杨梅各组织中缩合单宁的类型,但以往研究^[2-3, 10, 12-14]分离出的化合物大部分为原翠雀定的结构单元——(表) 槲儿茶素及其槲酸酯(见图 1),尚未见到分离出其它类型缩合单宁的报道。

表 1 杨梅不同部位的总酚及可溶缩合单宁含量¹⁾

Table 1 Contents of total phenolics and extractable condensed tannins of different parts of *M. rubra*

部位 parts	总酚含量 / % total phenolics	可溶缩合单宁含量 / % extractable condensed tannins
树叶 leaf	34.69 ± 0.08	25.67 ± 1.38
树枝 branch	18.53 ± 2.02	8.01 ± 1.85
树皮 bark	43.56 ± 0.07	17.93 ± 1.32

1) 不同部位间总酚及可溶缩合单宁的含量差异显著 the contents of total phenolics and extractable condensed tannins show significant differences between different parts ($P < 0.05$)

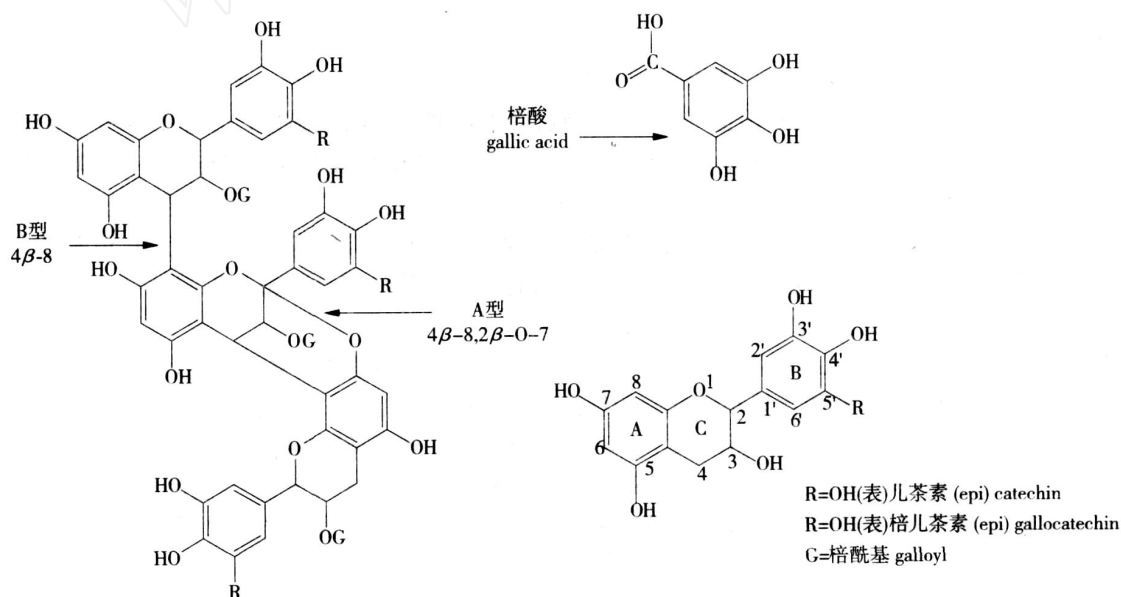


图 1 缩合单宁的结构单元及其连接方式

Fig 1 Structural units and types of linkages of proanthocyanidin

2.2.1 缩合单宁类型 在反射模式下,利用 MALDI-TOF 质谱以 DHB 为基质对杨梅不同部位的缩合单宁进行了检测。由实验结果可知(见图 2),质谱图中相邻两个离子峰之间存在的固定差值为 152 u,并非 288 u (288 为原花青定结构单元(表) 儿茶素的 M_r)。考虑到缩合单宁与一个槲酰基发生酯化反应时增加的 M_r 为 152 u,相当于原翠雀定基本结构单元——(表) 槲儿茶素 M_r 的一半,可以认为:杨梅的树叶、树枝和树皮的缩合单宁不是原花青定,而很可能是原翠雀定。此外, MALDI-TOF 质谱检测的结

果还显示杨梅组织不含有原花青定与原翠雀定的杂聚物。因为(表)儿茶素在 B 环的 C5 位置上比(表)槲儿茶素少一个 M_r 为 16 的氧原子(见图 1),如果杨梅组织中存在原花青定与原翠雀定的杂聚物,那么质谱图中会产生两个差值为 16 u 的离子峰,但作者并未观测到这一现象(见图 2)。

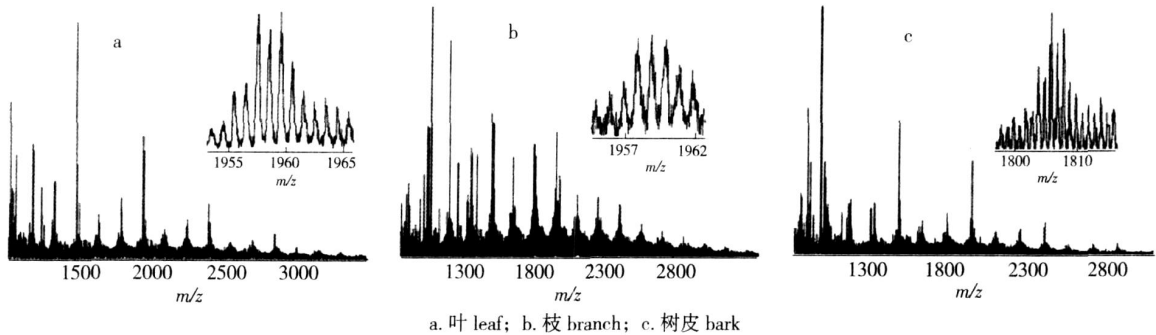


图 2 杨梅不同部位缩合单宁的 MALDI-TOF 质谱图和四聚体(c)、五聚体(a、b)放大图

Fig 2 MALDI-TOF MS of condensed tannins of different parts of *M. rubra* and the enlarged spectra of the polyflavan-3-ol tetramer (c) and pentamer (a, b)

通过计算发现:图 2(a)的所有离子峰能够分成 3 个序列,每个序列内相邻聚体的固定差值 456 u 正好等于 EGCG/GCG 的 M_r 。其中 1501.36、1957.45、2413.67 和 2869.59 序列的离子峰强度最大,另外两个序列 1349.34、1805.41、2261.54、2716.80 和 1197.31、1653.41、2109.57、2563.47 较小。因此,猜测杨梅树叶中含有以 EGCG/GCG 为结构单元的原翠雀定,其中每一聚体内相邻两个聚合物之间的差值 152 u 是由于杂聚物和均聚物之间构成单元的差异产生的。在均聚物中,当 1 个构成单元 EGCG/GCG 被(表)槲儿茶素替换时,所生成的杂聚物会比均聚物小 152 u;相应地,当 2 个构成单元 EGCG/GCG 被(表)槲儿茶素替换时, M_r 则少了 304 u。这反映在质谱图中就产生了 3 个 M_r 相差 152 u 的离子峰序列。

参考 Knueger 等^[15]和 Yang 等^[16]的研究,可建立方程式 $m/z = 458 + 456a + 152b + 133$ 计算原翠雀定在质谱图中的理论核质比,若实验值与计算值一致,则能证明猜想的正确性。方程中,458 和 456 分别代表 EGCG/GCG 作为原翠雀定末端单元及延伸单元时的 M_r ,152 代表缩合单宁与一个槲酰基发生脂化反应时增加的 M_r ,133 代表铯的相对原子质量,a 和 b 则分别代表了 EGCG/GCG 与槲酰基的聚合度。将实验数据与根据方程式计算得到的数值比较,能够发现实验值和计算值基本吻合(表 2),说明杨梅树叶缩合单宁是以 EGCG/GCG 为结构单元的原翠雀定,且每一聚体的聚合物都与不同数目的槲酰基相连。同理,杨梅树枝和树皮的缩合单宁也是如此。

2.2.2 结构单元的连接方式 将图 2 的实验数据与根据 2.2.1 节方程式计算得到的理论值进行比较,发现许多杨梅缩合单宁的核质比要小于它们的理论值,而且两者的差值常常是 2 u 的倍数。若逐个放大并仔细观察这些缩合单宁的质谱图(图 2),不仅可能从其中找到和理论值相等的离子峰,还会发现包括理论离子峰在内的核质比差值为 2 u 的序列。这种现象在高粱缩合单宁中^[15]也曾出现,它不是在 MALDI-TOF 质谱检测过程中因样品破碎或脱水产生的离子峰^[17],而是源于结构单元之间的不同连接方式。

植物缩合单宁除了通过 4→8 位(B 型)或 4→6 位的 C—C 键连接之外,还能够以一个 C—C 键及一个 C—O—C 键的双连键(A 型)形成多分散聚合物^[8](图 1)。当聚合度不变时,每增加一个 A 型连接都会比 B 型连接多丢失 2 个氢原子, M_r 也相应的减少 2。如果某一聚体的不同聚合物之间结构单元的连接方式各不相同,那么在质谱图中就可能观测到一系列差值为 2 u 的对应离子峰序列。从表 2 数据可知:树叶、树枝和树皮的缩合单宁中,存在 A 型与 B 型两种连接方式而且相同聚体的不同聚合物之间结构单元的连接方式各不相同。

2.3 杨梅不同部位缩合单宁的聚合度及聚合物的分布

缩合单宁的聚合度及聚合物的分布在自然界是多样的,它们随着植物的种类和组织的不同而有所

差异。MALDI-TOF质谱就是植物单宁研究者获取这项结构信息的重要手段。由图 2 和表 3 可知,树叶、树枝和树皮的缩合单宁都是以 EGCG/GCG 为结构单元的均聚物,每一聚体内的聚合物都存在由于酰基化的程度不同或结构单元间连接方式不同产生的差异。其中树叶和树枝的缩合单宁是从二聚体 (m/z 1 045. 71) 到七聚体 (m/z 3 325. 40、3 325. 31) 分布的寡聚和多聚物,但树皮的缩合单宁中最高聚合度的聚合物仅为六聚体 (m/z 2 872. 05)。此外,树枝缩合单宁的质谱图中,离子峰强度最大的寡聚物为二聚体 (m/z 1 199. 32),而树叶和树皮的缩合单宁中离子峰强度最大的寡聚物则是三聚体 (m/z 1 501. 36、1 501. 65)。以上现象说明:1) 树叶和树枝缩合单宁的最高聚合度要大于树皮;2) 树枝的缩合单宁主要以二聚体形式的寡聚物存在,树叶和树皮的缩合单宁则主要以三聚体形式的寡聚物存在。

表 2 MALDI-TOFMS 检测杨梅不同部位缩合单宁

Table 2 MALDI-TOFMS of condensed tannins from different parts of *M. rubra*

聚合度 degree of polymn	酰基个数 numbers of galloyl units	A 型连接个数 numbers of A-type bonds	B 型连接个 numbers of B-type bonds	理论 M_r [M + Cs] ⁺ calculated	观测 observed M_r [M + Cs] ⁺		
					树叶 leaf	树枝 branch	树皮 bark
2	0	1	0	1047	1046. 98	1047. 52	1047. 21
	1	1	0	1199	1199. 32	1199. 55	1199. 53
	1	0	1	1197	1197. 31	1197. 23	1197. 24
	2	0	1	1349	1349. 34	1349. 63	1349. 60
3	0	1	1	1501	1501. 36	1501. 71	1501. 65
	1	1	1	1653	1653. 41	1653. 78	1653. 73
	2	0	2	1807	1807. 26	1806. 25	1807. 86
	2	1	1	1805	1805. 41	1804. 82	1805. 41
	2	0	2	1803	1802. 64	1803. 88	1803. 48
	0	3	0	1959	1959. 45	1959. 89	1959. 51
4	0	2	1	1957	1957. 45	1957. 90	1957. 68
	0	1	2	1955	1955. 42	1955. 88	1955. 82
	1	2	1	2109	2109. 57	2108. 85	2107. 68
	1	1	2	2107	2107. 18	2107. 98	2107. 90
	2	2	1	2261	2261. 54	2261. 06	2261. 68
	2	1	2	2259	2259. 30	2258. 84	2259. 96
5	0	3	1	2413	2413. 67	2414. 06	2412. 93
	1	2	2	2567	2567. 39	2566. 06	2566. 06
	1	0	4	2563	2563. 47	2562. 66	2562. 04
	2	4	0	2719	2719. 80	2718. 14	2719. 98
	2	3	1	2717	2716. 60	2716. 72	2716. 56
6	0	5	0	2869	2869. 59	2870. 24	2872. 05
	1	5	0	3023	3022. 45	3022. 17	—
	2	3	2	3171	3171. 01	3171. 12	—
7	0	6	0	3325	3325. 40	3325. 31	—

3 结论

杨梅不同组织的总酚含量与可溶缩合单宁含量差异较大,其中树皮的总酚含量最高,占总干物质质量的 43. 56%,叶次之(34. 69%),枝最低(18. 53%);树叶的可溶缩合单宁含量最高,占总干物质质量的 25. 67%,皮次之(17. 93%),枝最低(8. 01%)。然而,它们缩合单宁的基本结构相同,都是以(表)儿茶素-3-O-酰基酯(EGCG/GCG)为组成单元的原翠雀定,大部分聚合物的结构单元之间还有 A 型和 B 型两种连接方式。

参考文献:

- [1] 中国科学院中国植物志编辑委员会. 中国植物志: (第二十一卷) [M]. 北京: 科学出版社, 1979: 4-6.
 [2] SUDA I, OKITA N, ISHIBA Y, et al. Polyphenol contents and radical-scavenging activity of extracts from fruits and vegetables cultivated in

- Okinawa, Japan [J]. *Nippon Shokuhin Kagaku Kogaku Kaishi*, 2005, 52(10): 462-471.
- [3] 何新华, 陈力耕, 陈怡, 等. 中国杨梅资源及利用评述 [J]. *果树学报*, 2004, 21(5): 467-471.
- [4] KUO Po-lin, HSU Ya-ling, L N Ta-chen, et al. Prodelphinidin B-2 3, 3'-di-O-gallate from *Myrica nuba* inhibits proliferation of A549 carcinoma cells via blocking cell cycle progression and inducing apoptosis [J]. *European Journal of Pharmacology*, 2004, 501(1/2/3): 41-48.
- [5] CHENG Hua-yew, L N Ta-chen, ISH MARU K, et al. *In vitro* antiviral activity of prodelphinidin B-2 3, 3'-di-O-gallate from *Myrica* [J]. *Planta Medica*, 2003, 69(10): 953-956.
- [6] GRAHAM H D. Stabilization of the prussian blue color in the determination of polyphenols [J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 1992, 40: 801-805.
- [7] TERR LL TH, ROWAN A M, DOUGLAS GB, et al. Determination of extractable and bound condensed tannin concentrations in forage plants, protein concentrate meals and cereal grains [J]. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 1992, 58(3): 321-329.
- [8] 向平, 林益明, 林鹏, 等. 基质辅助激光解吸飞行时间质谱分析缩合单宁的阳离子化问题 [J]. *分析化学*, 2006, 6(7): 1019-1022.
- [9] 夏其乐, 陈键初, 吴丹. 杨梅叶提取物抗氧化活性的研究 [J]. *食品科学*, 2004, 25(8): 80-83.
- [10] BAO Jin-song, CAI Yi-zhong, SUN Mei, et al. Anthocyanins, flavonols, and free radical scavenging activity of Chinese bayberry (*Myrica nuba*) extracts and their color properties and stability [J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2005, 53(6): 2327-2332.
- [11] 孙达旺. 植物单宁化学 [M]. 北京: 中国林业出版社, 1992: 130-131.
- [12] 廖华卫, 刘恩桂, 王定勇. 杨梅树皮的化学成分研究 [J]. *中南药学*, 2006, 4(3): 196-199.
- [13] SUN Da-wang, ZHAO Zu-chun, WONG H, et al. Tannins and other phenolics from *Myrica esculenta* bark [J]. *Phytochemistry*, 1988, 27(2): 579-583.
- [14] FANG Zhong-xiang, ZHANG Min, TAO Guang-jun, et al. Chemical composition of clarified bayberry (*Myrica nuba* Sieb. et Zucc.) juice sediment [J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2006, 54(20): 7710-7716.
- [15] KRUEGER C G, VESTL NG M M, REED J D. Matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight mass spectrometry of heteropolyflavan-3-ols and glucosylated heteropolyflavans in Sorghum [*Sorghum bicolor* (L.) Moench] [J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2003, 51: 538-543.
- [16] YANG Ying, CH IEN Ming-jien. Characterization of grape procyanidins using high-performance liquid chromatography/mass spectrometry and matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight mass spectrometry [J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2000, 48: 3990-3996.
- [17] TAKAHATA Y, OHN ISH IKAMEYAMA M, FURUTA S, et al. Highly polymerized procyanidins in brown soybean seed coat with a high radical-scavenging activity [J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2001, 49: 5843-5847.

(上接 49页)

文章题目	文章题目
四川麻疯树生物柴油研究展望	燃料油植物开发利用现状与发展策略探讨
贵州麻疯树资源及开发利用研究	我国木本油料植物资源及其开发利用现状
河南省燃料油能源树木资源现状及发展策略	我国特有珍稀植物——翅果油树研究与开发进展
黑龙江省生物质能源林发展的对策	生物质转化为方便能源的现状与未来展望
黑龙江省探讨生物质能源林基地建设的必要性及可行性	内蒙古荒漠化地区发展生物质能问题探讨
我国生物质能源利用类型概述	宁夏野生可开发林木生物质能源植物
关于安徽省发展林木生物质能源产业的思考	农林产品废弃物催化热解制备氢气的初步研究
福建山苍子资源及其以生物质能源为主的综合利用初探	我国沙区发展林业生物质能源的优势和问题探讨
福建生物质能源树种现状及其开发前景	中间锦鸡儿 <i>fad 2</i> 基因片段的克隆和反义表达载体的构建及遗传转化初步研究
我国主要木本油料树种资源开发与林业生物能源林建设的探讨	植物热值研究综述
福建生物柴油木本能源植物概况、存在问题及展望	江苏省耐盐生物质能源植物选育和生物柴油制备研究
海南岛能源植物资源及其利用潜力	优良生物质能源树种东京野茉莉及其培育技术
我国热带地区燃料油植物资源的开发和利用	云南省生物质能源树种产业化发展前景
生物燃油——生物质工程前沿与关键技术	湖北省富含油脂林木资源调查初报
鄂尔多斯地区柠条与杨柴的调查及测定	云南干热河谷木本生物柴油树种产业化开发潜力研究
我国主要木本燃料油植物的研究概况与发展建议	黑龙江省国有林区生物质能源发展潜力和对策的研究
林木生物质能源的发展和我国能源林建设	木本生物质能源树种乌桕的种质资源与培育研究进展
林业生物质能开发利用途径、问题与前景分析	
广东林业生物质能源发展现状与对策	