

• 论 著 •

柠檬酸所致酸负荷对唾液分泌影响的研究*

王丽辉, 杨 龙, 林传权[△], 李茹柳, 曾 丹, 陈蔚文

(广州中医药大学脾胃研究所, 广州 510405)

摘 要:目的 考察柠檬酸所致酸负荷对唾液分泌相关指标的影响,以优化柠檬酸负荷方法。方法 采集 10 例健康者第 1~90 秒(负荷前)、第 91~120 秒(负荷时)的唾液及第 121~210 秒(负荷后)的唾液;另混合负荷时和负荷后的唾液进行指标检测。各组均检测唾液淀粉酶(sAA)活性、pH 值、唾液流率、总蛋白浓度,并比较各指标酸负荷前后的比值。结果 (1)负荷后 sAA 活性、唾液 pH 值和总蛋白浓度较负荷前明显增高,且负荷后与负荷前的比值均大于 1;(2)但有柠檬酸混合时,sAA 活性、唾液 pH 值、总蛋白浓度均较酸负荷前、后反而降低,其比值均小于 1。结论 柠檬酸本身明显影响酸负荷唾液分泌结果,建议将酸负荷时的唾液分开处理分析。

关键词:柠檬酸; 唾液淀粉酶活性; 唾液 pH 值; 总蛋白浓度

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2016.13.001

文献标识码:A

文章编号:1673-4130(2016)13-1749-04

Study on effects of citric acid induced acid load on salivary secretion*

WANG Lihui, YANG long, LIN Chuanquan[△], LI Ruliu, ZENG Dan, CHEN Weiwen

(Research Institute of Spleen and Stomach, Guangzuou University of Chinese Medicine, Guangzhou, Guangdong 510405, China)

Abstract:Objective To investigate the effects of citric acid on the related indexes of salivary secretion under acid loading in order to optimize the citric acid load method. **Methods** The saliva samples were collected from 10 young healthy volunteers at 1—90 s before, at 91—120 s during and at 121—210 s after citric acid loading. The indexes were detected in saliva with mixed loading and after loading. The salivary alpha-amylase (sAA) activity, pH value, saliva flow rate, total protein concentration in various groups were detected. The ratio values before and after the acid loading were compared among the groups. **Results** (1)The sAA activity, saliva pH value and total protein concentrations after acid loading were significantly increased compared before loading ($P < 0.05$), moreover the ratio of after loading and before loading was greater than 1 ($P < 0.05$); (2) however in the citric acid mixing, the sAA activity, saliva pH value and total protein concentration were decreased compared with before acid loading, its ratio was less than 1 ($P < 0.05$). **Conclusion** Citric acid affects the secretion result of acid loading saliva secretion, it is suggested that the saliva under acid loading is separated treated and analyzed.

Key words: citric acid; salivary alpha-amylase activity; salivary pH value; total protein concentration

唾液淀粉酶(sAA)活性是反映唾液消化功能的重要指标,酸负荷是常用的唾液样品采集方法^[1-3],酸负荷前后 sAA 活性变化能反映腮腺功能^[4]。本研究发现,慢性胃炎和消化性溃疡脾虚证患者柠檬酸负荷前后 sAA 活性比值(酸负荷后/酸负荷前)较健康者明显下降^[5],成为被广泛认可的、能较好反映中医脾虚证的微观指标之一,并被纳入原卫生部颁布的《中药新药临床研究指导原则》脾虚证疗效评价的参考指标^[6]。然而,该指标在研究应用中也存在一定的问题,如不同研究报告的检出率结果差异较明显^[7-8];另外,本研究的健康者中也有相当一部分人出现了酸负荷后 sAA 活性下降的情况。对此,有学者推测,可能与柠檬酸干扰酸负荷后 sAA 活性或与柠檬酸的刺激方法不统一、规范有关。

现代医学认为,酶活性受酸碱性的影响,偏酸或偏碱都可使酶活性降低^[9-10];据此,柠檬酸可能对酸负荷前、后 sAA 活性变化结果存在一定的影响,并可能同时影响唾液其他生化指标如唾液 pH 值、总蛋白浓度等结果。为此,本实验采用口中转动棉柱法采集柠檬酸负荷前、负荷过程及负荷后 3 个阶段的

唾液样品,检测唾液流率、pH 值、sAA 活性、唾液总蛋白浓度,并分析指标与酸负荷前的比值,以评价柠檬酸对酸负荷后唾液分泌的影响程度,为分析酸负荷前、后 sAA 活性比值结果差异较大产生原因,优化柠檬酸负荷方法等提供科学实验数据,这也为开展唾液分泌相关研究及中医“脾主涎”理论内涵研究提供参考。

1 资料与方法

1.1 一般资料 从广州中医药大学脾胃研究所研究生中筛选体检无明显异常及体质良好的 10 例健康志愿者,其中男 5 例,女 5 例,年龄 22~34 岁,平均(26.8±3.2)岁,无心、肝、肾等器质性疾,经临床医师(中级)诊断并排除其他全身性疾病,无既往病史,无家族遗传史,无烟酒等嗜好,签署知情同意书。

1.2 仪器与试剂

1.2.1 仪器 电子天平(赛多利斯科学仪器有限公司;TP-313)、冷冻高速离心机(Thermo Scientific 公司;Multifuge X1R)、酸度计(Mettler Toled 公司;FE20)、电热恒温水槽(上海一恒科技有限公司;DK-8D 型)、电热恒温水浴锅(上海精宏

* 基金项目:国家自然科学基金资助项目(81403297);教育部博士点基金新教师系列项目(20124425120017);广州中医药大学优秀青年学者科研基金项目(2013-07);华南协同创新中心中医药防治脾胃脑病创新研究团队项目(粤财教[2014]488 号);财政部特色重点学科项目(财教[2013]339 号);广州中医药大学“青年英才培养工程”资助项目(QNYC20140114)。

作者简介:王丽辉,女,主要从事脾胃病虚实证本质研究。△ 通讯作者,E-mail:88531138@qq.com。

实验设备有限公司;PK-S26 型)、紫外分光光度计(Shimadzu 公司;UVmin-1240)。

1.2.2 试剂耗材 磷酸二氢钠(广州化学试剂厂;批号 20090701-1)、氯化钠(天津市大茂化学试剂厂;批号 20130903)、氢氧化钠(天津市大茂化学试剂厂;批号 20140420)、酒石酸钾钠(天津市大茂化学试剂厂;批号 20131115)、二硝基水杨酸(国药集团化学试剂有限公司;批号 F20110923)、可溶性淀粉(天津市大茂化学试剂厂;批号 20140414)、麦芽糖(Sigma-Aldrich 公司;Pcode1001555806)、滤纸(杭州特种纸业产品;型号 102)、唾液棉柱采集管(Sarstedt, Numbrecht, Germany)、BCA 定量试剂盒(货号: CW0014;批号:00101504)。

1.3 方法

1.3.1 试验前准备 事先说明本研究目的,并征得志愿者同意参加试验。注意事项包括:唾液采集前 1 h 内不能进食、饮酒、喝含咖啡因饮料、抽烟、运动、剧烈情绪波动等。唾液排出方法:采集前半小时喝室温下的饮用水约 200 mL,在柠檬酸负荷前、负荷时和负荷后分 3 次采集唾液,即为酸负荷前、酸负荷时和酸负荷后的唾液。

1.3.2 标本采集 参照本团队前期优化的口中转动棉柱法采集唾液^[11-12],在光线良好、周围环境安静情况下,志愿者采取坐位、头稍前倾、眼睛睁开的体位。每人取 2 个“唾液棉柱采集管”和 1 个普通 EP 管,酸负荷前将该管配备的棉柱放进口腔,每次均用舌头在口腔左右两侧轻轻转动棉柱 1.5 min(经预实验得知此时间段可收集到约 2 mL 的唾液量),左右来回循环转动频率为 6 次/分,不咀嚼或咬棉柱,1.5 min 后将棉柱和剩余唾液吐入采集管原位置。然后用 1 cm×1 cm 的 10%柠檬酸滤纸贴于舌尖部 30 s,结束后吐出滤纸及口中唾液于普通 EP 管中。紧接着立即用棉柱采集管采集酸负荷后的唾液 1.5 min,方法如酸负荷前。采集完毕后马上离心(5 000 r/min,10 min),离心后液体即为酸负荷前、酸负荷时和酸负荷后唾液标本(采集时间段分别为第 1~90 秒、第 91~120 秒和第 121~210 秒),紧接着马上用酸度计检测其 pH 值,然后将酸负荷前、后唾液各取出 40 μL 备用,并混合剩余唾液,时间段为第 91~210 秒,同样检测其 pH 值。

1.3.3 唾液流率 唾液流率的计算采用称质量法^[13],即样品收集前采集管称质量 m_1 (单位 mg),再称重采集唾液后的采集管质量 m_2 (单位 mg),然后用 $m_2 - m_1$ 即为唾液样品的质量,唾液密度约等于水的密度,唾液密度以 1.0 mg/mL 计算。唾液流率(mL/min) = $(m_2 - m_1) / (t \times 1)$ 。

1.3.4 单位体积 sAA 活性 sAA 活性测定采用 Bernfeld 法^[14],按说明操作,并在分光光度计 540 nm 处检测吸光度值,建立标准曲线并计算相应的单位体积 sAA 活性。活性单位定义:1 活性单位(U)为在 37 ℃、pH 6.9 的情况下 3 min 淀粉酶消化淀粉释放 1 mg 麦芽糖。后文将单位体积 sAA 活性简称 sAA 活性。

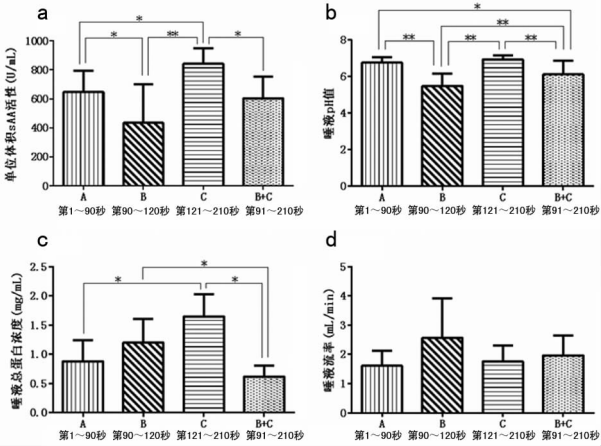
1.3.5 唾液总蛋白浓度 采用 BCA 定量试剂盒检测。

1.4 统计学处理 采用 SPSS 17.0 统计软件,组间比较用单因素方差分析,不服从正态分布的用秩和检验,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 各组唾液指标结果 图 1 结果可知,酸负荷后唾液 pH 值、sAA 活性和总蛋白浓度较酸负荷前明显增高,反映了健康

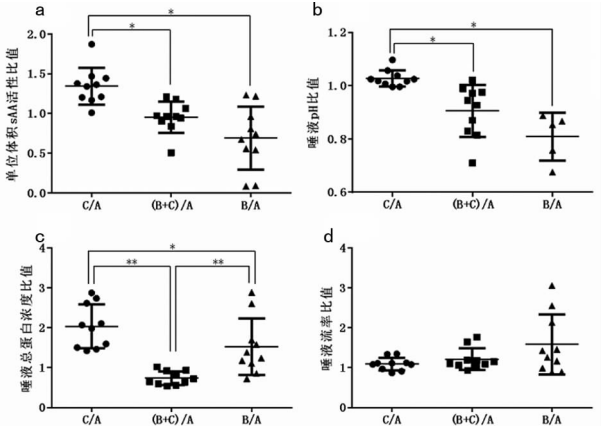
人受酸负荷后的正常应激能力,提示该酸负荷方法可以用于后续研究。但在有柠檬酸混合时,唾液 pH 值、sAA 活性、总蛋白浓度均较酸负荷前、后降低;此外,在混有柠檬酸的酸负荷时标本 pH 值较其他三组低,表明此份标本中柠檬酸的浓度较其他标本高,且酸负荷时的 sAA 活性较负荷前、后均明显下降,这些结果均提示柠檬酸混入唾液后增加了唾液的酸度,也对 sAA 活性和唾液总蛋白浓度产生了明显影响。



注:a 为各组单位体积 sAA 活性;b 为各组唾液 pH 值;c 为各组唾液总蛋白浓度;d 为各组唾液流率。* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ 。A 为酸负荷前;B 为酸负荷时;C 为酸负荷后。

图 1 各组唾液指标结果

2.2 各组唾液指标与酸负荷前的比值 各指标与酸负荷前的比值大于 1 代表与酸负荷前比较指标结果升高,小于 1 代表结果降低。图 2 可知,酸负荷后与负荷前 sAA 活性、唾液 pH 值和唾液总蛋白浓度的比值均大于 1,体现了健康者在酸负荷后唾液相关指标升高的正常应激反应,提示唾液腺功能正常;但有柠檬酸混合时其比值均小于 1,与健康者受负荷后唾液指标的正常变化方向相反,掩盖了健康者唾液指标的真实反应结果,提示检测结果受到干扰。由于柠檬酸本身就可以刺激唾液分泌增加,所以图 2d 的唾液流率比值在各组大多均大于 1。以上结果表明,柠檬酸对单位体积 sAA 活性、唾液 pH 和唾液总蛋白浓度的比值均有明显影响,这与图 1 研究结果一致。



注:a 为单位体积 sAA 活性比值;b 为唾液 pH 比值;c 为唾液总蛋白浓度比值;d 为唾液流率比值。* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ 。A 为酸负荷前;B 为酸负荷时;C 为酸负荷后。

图 2 各组唾液指标与酸负荷前的比值

2.3 各指标比值大于 1 和小于 1 的分布情况 由表 1 可知,各指标酸负荷后与酸负荷前大于 1 所占比例均较大,而在有柠

柠檬酸混合时 sAA 活性和唾液 pH 值的比值以小于 1 所占比例较大,说明在定性分析时,柠檬酸对 sAA 活性、唾液 pH 值和总蛋白浓度均有明显影响,可使酸负荷前后各指标变化趋势的结果相反,提示柠檬酸对实验结果有干扰作用。

表 1 各指标比值大于 1 和小于 1 的分布情况(n)

检测指标	C/A		(B+C)/A		B/A	
	>1	<1	>1	<1	>1	<1
单位体积 sAA 活性	10	0	3	7	2	8
唾液 pH 值	8	2	1	9	0	10
蛋白浓度	10	0	1	9	8	2
唾液流率	7	3	9	1	7	3

注:A 为酸负荷前;B 为酸负荷时;C 为酸负荷后。

3 讨 论

酸负荷是观察唾液分泌功能、评价交感与副交感神经调节功能的重要方法^[15],但酸负荷的方法却不尽相同,目前的酸负荷方法有柠檬酸滤纸刺激、口中咀嚼酸味固体物、口中含酸味固体物等^[5,16-18],大部分研究对酸负荷方法的尚未有规范化操作,尤其是酸负荷的方式和酸负荷过程唾液的处理等方面^[5,16-18],这很可能是 sAA 活性比值在研究应用中重复性不高和可操作性不强等的重要原因之一。因此,考察柠檬酸对酸负荷前后 sAA 活性及唾液分泌的影响程度,分析酸负荷前、后 sAA 活性比值结果差异较大产生原因,为进一步优化柠檬酸负荷方法等提供科学实验数据,有利于后续科学、客观地开展唾液分泌研究及中医“脾主涎”、“脾虚证”本质研究。

为此,本研究考察了负荷前、负荷时、负荷后及负荷时与负荷后混合唾液的 pH、sAA 活性、流率和总蛋白浓度等指标,并且将各指标结果与酸负荷前指标进行比值分析,结果表明,酸负荷条件下,sAA 活性、唾液流率及 pH 值等不同程度升高,与国外报道结果一致^[19],提示纳入的健康者唾液腺分泌功能正常,说明本检查方法可反映健康者受酸负荷后的应激能力,可用于后续研究。但混有柠檬酸时的唾液 pH 值、sAA 活性和总蛋白浓度较酸负荷前均明显降低,与健康者应有的结果相反,可能是由于柠檬酸的酸性直接降低了唾液 pH 进而降低了 sAA 活性^[9-10]。在各指标与酸负荷前比值中,各指标酸负荷后与酸负荷前比值均大于 1,但在有柠檬酸混合时,在 sAA 活性、唾液 pH 值和总蛋白浓度的比值均显示小于 1。上述结果说明柠檬酸混合进入唾液标本对于分析酸负荷唾液分泌的研究结果有干扰作用,这也为酸负荷前、后 sAA 活性比值结果差异较大产生原因提供了实验数据分析,去除此影响因素将有助于提高标本采集方法的客观化、规范化。

上述结果提示,柠檬酸混入酸负荷后的唾液标本明显影响健康者唾液分泌及 sAA 活性的研究结果,容易导致对酸负荷前、后唾液分泌功能的错误评价。因此,对于酸负荷后唾液标本的采集,建议检测酸负荷后 1.5 min 的唾液标本指标,以评价 sAA 活性和唾液 pH 值等,而对于唾液流率,选用酸负荷过程 30 s 标本量与酸负荷后 1.5 min 标本量相加,以真实反映唾液分泌量的流率。由此,提出了具体的、统一的酸负荷前后唾液采集方法,即口中转动棉柱法采集酸负荷前唾液 1.5 min,再以 1 cm×1 cm 10%柠檬酸滤纸贴于舌尖部 30 s 后吐出独立容器中,马上采集酸负荷后唾液 1.5 min;酸负荷时与酸负荷后唾液用于计算唾液流率,酸负荷前和酸负荷后唾液用于检测唾

液分泌的其他指标如唾液 pH 值、sAA 活性和唾液总蛋白浓度等。本研究运用该方法采集后(10 例),健康者单位体积 sAA 活性酸负荷后与酸负荷前比值大于 1 的例数远远大于混合后与酸负荷前比值大于 1,明显降低了假阳性判断的误差。

综上所述,柠檬酸作为评价唾液腺分泌功能的刺激因素,如有富余柠檬酸混合入酸负荷后唾液标本将明显干扰负荷后唾液腺分泌结果,尤其是对 sAA 活性、唾液 pH 值和总蛋白浓度,可分别单独采集酸负荷时、酸负荷结束后的唾液标本,以消除柠檬酸因素对负荷后唾液分泌研究结果的干扰。

参考文献

[1] 程兴群,邓盟,徐欣,等.唾液组学与疾病早期诊断[J]. 国际口腔医学杂志,2014,41(2):213-219.

[2] Arregger AL, Contreras LN, Tumilasci OR, et al. Salivary testosterone: a reliable approach to the diagnosis of male hypogonadism[J]. Clin Endocrinol, 2007, 67(11): 656-662.

[3] Chen LH, Yang ZM, Chen WW, et al. Attenuated acute salivary α -amylase responses to gustatory stimulation with citric acid in thin children[J]. Br J Nutr, 2015, 118(8): 1-8.

[4] Arhakis A, Karagiannis V, Kalfas S. Salivary alpha-amylase activity and salivary flow rate in young adults[J]. Open Dent J, 2013, 7(12): 7-15.

[5] 广州中医学院脾胃研究组. 脾虚患者唾液淀粉酶活性初步研究[J]. 中华医学杂志, 1980, 60(5): 290-292.

[6] 郑筱萸. 中药新药临床研究指导原则[M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2002: 91-95.

[7] 张邦能, 张东鹏. 30 例脾虚型 2 型糖尿病患者唾液淀粉酶含量测定[J]. 中医研究, 2012, 25(3): 20.

[8] 陈治水, 张丽明, 孙九杰, 等. 158 例脾虚型结肠炎患者唾液 pH 值、淀粉酶及钠钾含量分析[J]. 辽宁中医杂志, 1992, 19(10): 4-5.

[9] 许冰, 原媛, 赵文献. pH 值对酶活性影响的实验观察[J]. 临床合理用药, 2010, 3(10): 35.

[10] 刘泽龙. 探究 pH 值对酶活性影响[J]. 中学生物学, 2014, 30(10): 48-49.

[11] Rohleder N, Nater UM. Determinants of salivary alpha-amylase in humans and methodological considerations [J]. Psychoneuroendocrinology, 2009, 34(4): 469-485.

[12] 王丽辉, 林传权, 杨龙, 等. 3 种唾液采集方法对唾液分泌的影响[J]. 上海口腔医学, 2015, 5(24): 563-568.

[13] Siri BJ, Arjan V. Salivary gland dysfunction and xerostomia in Sjögren's syndrome[J]. Oral Maxillofacial Surg Clin N Am, 2014, 26(10): 35-53.

[14] Da Mata AD, Silva Marques DN, Silveria JM, et al. Effects of gustatory stimulants of salivary secretion on salivary pH and flow: a randomized controlled trial[J]. Oral Dis, 2009, 15(3): 220.

[15] 林静, 杨泽民, 卢群. 流率及唾液淀粉酶活性用于评价大鼠酸负荷前后唾液样本采集方法的探讨[J]. 广东药学院学报, 2014, 30(6): 753-757.

[16] Gambon DL, Brand HS, Nieuw AA. Acidic candies affect saliva secretion rates and oral fluid acidity(下转第 1754 页)

续表 2 常见革兰阳性多重耐药菌抗菌药物耐药性[n(%)]

抗菌药物	金黄色葡萄球菌	表皮葡萄球菌	溶血葡萄球菌	肺炎链球菌	其他	合计
氧氟沙星	19(61.29)	7(36.84)	13(76.47)	3(30.00)	2(33.33)	44(53.01)
四环素	15(48.39)	7(36.84)	9(52.94)	4(40.00)	3(50.00)	38(45.78)
庆大霉素	16(51.61)	8(42.11)	10(58.82)	10(100.00)	6(100.00)	50(60.24)
利福平	9(29.03)	6(31.58)	7(41.18)	3(30.00)	2(33.33)	27(32.53)
氯霉素	10(32.26)	8(42.11)	6(35.29)	4(40.00)	1(16.67)	29(34.94)

3 讨 论

多重耐药菌株大多是由于外排膜泵基因突变所致^[4]。此外,病原菌外膜渗透性发生改变或者是产生了超广谱酶也是病原菌产生多重耐药的重要机制^[5]。随着抗菌药物不合理应用以及滥用的增加,微生物的耐药率也在不断升高。由于条件致病菌与抗菌药物的接触机会较多^[6],因此在其细胞内的质粒、染色体等结构上均有可能有耐药基因聚积,因此大多数的多重耐药菌株为机会致病菌^[7]。

外伤患者由于创伤较大,机体抵抗力明显降低;而且由于长期卧床,呼吸道分泌物不能及时排出,容易引起肺内感染;部分患者在术后留置导尿,随着导尿时间的延长也会逐渐增加尿路感染的概率。

在本研究中,以 71 例多重耐药菌株混合感染患者为研究对象,从患者标本中共分离得到多重耐药菌株 205 株。革兰阴性菌检出最多,共检出 119 株,占 58.05%,其中大肠埃希菌、肺炎克雷伯菌、肠杆菌和沙雷菌分别检出 47 株(22.93%)、28 株(13.66%)、22 株(10.73%)和 13 株(6.34%)。这些病原菌普遍对氨苄西林、头孢噻吩、头孢呋辛、阿洛西林、头孢噻肟、头孢哌酮的耐药率较高,分别达到 92.44%、89.08%、89.08%、85.71%、84.03%和 81.51%。而对亚胺培南以及阿米卡星的耐药性则分别仅有 5.88%和 28.5%。

革兰阳性菌检出较少,检出 83 株,占 40.49%,其中金黄色葡萄球菌、表皮葡萄球菌、溶血葡萄球菌和肺炎链球菌分别检出 31 株(15.12%)、19 株(9.27%)、17 株(8.29%)和 10 株(4.88%)。这些病原菌普遍对青霉素 G、苯唑西林、氨苄西林的耐药率分别达到 98.80%、97.59%、95.18%。没有革兰阳性菌对万古霉素耐药,此外对利福平、氯霉素的耐药性也分别仅有 32.53%和 34.94%。

由此可知,虽然多重耐药菌株对多种抗菌药物均具有较高的耐药性,临床治疗确实存在着一定的困难,但无论是革兰阴性菌还是革兰阳性菌均有其耐药性较低的药物。在感染早期,尚不能明确致病微生物的种类时也难以选择敏感的抗菌药物,在这种情况下联合用药是不错的选择。根据本资料革兰阴性菌和革兰阳性菌的耐药性结果,可选择亚胺培南、阿米卡星、万古霉素作为广谱抗菌药物先行治疗。由于用药之后会对病原菌分布以及药物敏感性的检查结果都造成不良的影响,因此在

给药之前务必以无菌方式获取标本,以进行病原菌培养以及药物敏感试验,从而为患者选择敏感性最高的药物,以提高治疗的效果。

参考文献

[1] 纪风兵,卓超.老年卒中相关性肺炎发生多重耐药菌感染的危险因素及病原学分析[J].中国抗生素杂志,2012,37(10):795-800.

[2] Cady NC, Behnke JL, Strickland AD. Copper-Based nano-structured coatings on natural cellulose; nanocomposites exhibiting rapid and efficient inhibition of a Multi-Drug resistant wound pathogen, a. baumannii, and mammalian cell biocompatibility in vitro[J]. Adv Funct Mater, 2011, 21(13):2506-2514.

[3] 周存荣,陆志斌,占根生.手术内固定对钝性胸外伤导致连枷胸合并呼吸困难的观察[J].临床肺科杂志,2013,18(9):1607-1609.

[4] 张昭勇,李晓强,杨宏伟,等.碳青霉烯耐药与非耐药鲍曼不动杆菌多重耐药性分析[J].现代中西医结合杂志,2012,21(7):761-763.

[5] Turki Y, Mehri I, Cherif H, et al. Epidemiology and anti-biotic resistance of Salmonella enterica serovar Kentucky isolates from Tunisia; The new emergent multi-drug resistant serotype[J]. Food Res Intern, 2012, 45(2):925-930.

[6] 马长坡.严重胸外伤并发急性呼吸窘迫综合征患者气管切开时机与预后探讨[J].河北联合大学学报(医学版),2012,14(4):517-518.

[7] Bhattacharya D, Samanta S, Mukherjee A, et al. Antibacterial activities of polyethylene glycol, tween 80 and Sodium dodecyl sulphate coated silver nanoparticles in normal and multi-drug resistant bacteria[J]. J Nanosci Nanotechnol, 2012, 12(3):2513-2521.

(收稿日期:2016-01-09 修回日期:2016-03-22)

(上接第 1751 页)

[J]. Ned Tijdschr Tandheelkd, 2007, 114(8):330-334.

[17] Froehlich DA, Pangborn RM, Whitaker JR. The effect of oral stimulation on human parotid salivary flow rate and alpha-amylase secretion[J]. Physiol Behav, 1987, 41(3):209-217.

[18] 陈龙辉,杨泽民,李茹柳,等.柠檬酸滤纸面积及浓度对刺

激健康人唾液分泌和唾液淀粉酶活性改变的影响[J].广州中医药大学学报,2013,30(2):186-190.

[19] Christensen CM, Brand JG, Malamud D. Salivary changes in solution pH: a source of individual differences in sour taste perception[J]. Physiol Behav, 1987, 40(2):221-227.

(收稿日期:2016-01-15 修回日期:2016-03-26)