

苦瓜藤中苦瓜素 I 的分离鉴定和抑菌作用

葛晓环^{1,2}, 余平^{3,*}, 曾哲灵^{1,3,*}, 刘兵³

(1.南昌大学食品科学与技术国家重点实验室,江西南昌 330047;

2.南昌大学生命科学与食品工程学院,江西南昌 330031;

3.南昌大学环境与化学工程学院,江西南昌 330031)

摘要:本文研究苦瓜藤的三萜类化学成分及其抑菌作用。采用 75% (v/v) 乙醇提取及 D101 大孔树脂、硅胶、MCI 树脂和 ODS 硅胶等多种吸附分离方法从苦瓜藤中分离三萜类化合物,经超高效液相、电喷雾质谱、核磁共振测定、分析所得三萜类化合物的纯度、分子量及结构,采用肉汤稀释法测定所得三萜类化合物的抑菌活性。结果表明:苦瓜藤中分离的三萜类化合物经鉴定为 19-Norlanosta-5,24-diene-9-carboxaldehyde,3,7,23-trihydroxy-, (3 β ,7 β ,9 β ,10 α ,23 α)-, 俗名苦瓜素 I; 苦瓜素 I 对大肠杆菌 (*Escherichia coli* AB1157) 无显著抑菌活性, MIC 值大于 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 。其对金黄色葡萄球菌 (*Staphylococcus aureus* Newman) 的生长具有抑制作用, MIC 值达到 12.5~25 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 。

关键词: 苦瓜藤, 苦瓜素 I, 分离, 鉴定, 抑菌

Separation, identification and its antibacterial activity of momordicine I from the vine of *Momordica Charantia* L.

GE Xiao-huan^{1,2}, YU Ping^{3,*}, ZENG Zhe-ling^{1,3,*}, LIU Bing³

(1.State Key Laboratory of Food Science and Technology, Nanchang University, Nanchang 330047, China;

2.School of Life Science and Food Engineering, Nanchang University, Nanchang 330031, China;

3.School of Environmental and Chemical Engineering, Nanchang University, Nanchang 330031, China)

Abstract: The study was aimed to determine the structure and antibacterial activity of triterpenoids from the vine of *Momordica Charantia* L. The 75% ethanol (v/v) was used to extract total triterpenoids from the vine of *Momordica Charantia* L. The monomer compound was separated by means of solvent extraction, D101 macroporous adsorption resin column chromatography followed by MCI gel, silica gel and Octadecylsilyl silica gel (ODS silica gel column chromatography). The structure was determined by UPLC, ESI-MS, 1D-NMR. The compound was identified as 19-Norlanosta-5,24-diene-9-carboxaldehyde,3,7,23-trihydroxy-, (3 β ,7 β ,9 β ,10 α ,23 α)-, whose common name was momordicine I. Then the broth dilution method was used to test the minimum inhibitory concentrations (MIC) of triterpenoids. Momordicine I had no significant antibacterial activity against *Escherichia coli* AB1157. Its MIC were more than 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$. Momordicine I exhibited the inhibitory effect against *Staphylococcus aureus* Newman, its MIC were ranged from 12.5 $\mu\text{g}/\text{mL}$ to 25 $\mu\text{g}/\text{mL}$.

Key words: vine of *Momordica Charantia* L.; momordicine I; separation; identification; antibacterial activity

中图分类号: TS201.1

文献标识码: A

文章编号: 1002-0306(2015)21-0118-04

doi:10.13386/j.issn1002-0306.2015.21.016

苦瓜是一种一年生的攀援草本,茎细长。其作为一种蔬菜广泛种植于热带、亚热带地区。其果实常被用于辅助治疗糖尿病。对其化学成分的研究显示,其果实、茎、叶、根和种子含有大量的葫芦烷型三萜类化合物^[1-5]、少量的甾体化合物^[6]、生物碱及其他

类化合物^[7]。相关药理研究表明苦瓜粗提物和部分三萜类化合物具有降糖作用^[1,8-9]、抗肿瘤作用^[10-12]、抗氧化作用^[3,13]和减肥作用^[14-15]。

有关苦瓜及其藤中生物活性物质抑菌作用的研究报道仅限于苦瓜提取物和总皂苷^[16-19]、苦瓜叶提取

收稿日期:2014-08-20

作者简介:葛晓环(1988-),女,硕士研究生,研究方向:食品科学,E-mail:15879173869@163.com。

*通讯作者:余平(1982-),男,博士,讲师,研究方向:药食同源植物资源开发,E-mail:cpu_yuping@126.com。

曾哲灵(1965-),男,博士,教授,研究方向:食物资源开发与生物质转化,E-mail:zljengix@163.com。

基金项目:南昌大学科研启动经费(06301081)。

物^[20], 苦瓜藤提取物^[20-21], 还未见有关苦瓜藤中三萜类单体化合物抑菌作用的研究报道。研究苦瓜藤中三萜类化合物的抑菌作用, 对充分利用苦瓜藤资源, 变废为宝具有重要意义。本文采用萃取、吸附分离方法自苦瓜藤中分离出三萜类化合物, 采用超高效液相、电喷雾质谱、核磁共振—维谱等方法分析所得三萜类化合物结构, 并采用肉汤稀释法研究化合物的抑菌作用。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

苦瓜藤粉末(过40目筛) 产于江西吉安; 大肠杆菌(*Escherichia coli* AB1157), 金黄色葡萄球菌(*Staphylococcus aureus* Newman) 由国家新药筛选中心提供; D101 大孔吸附树脂 安徽三星树脂科技有限公司; GF₂₅₄ 硅胶板, 柱层析硅胶 青岛海洋化工厂分厂; MCI 树脂 日本三菱化学株式会社; 十八烷基键合硅胶(Octadecylsilyl silica gel, ODS silica gel) 日本 YMC 有限公司; 甲醇, 二氯甲烷, 三氯甲烷, 硫酸, 乙醇, 氯化钠, 二甲亚砜 广东西陇化工股份有限公司, 分析纯; 高氯酸 天津市鑫源化工有限公司, 分析纯; 香草醛 天津市大茂化学试剂厂, 分析纯; 乙腈 德国 CNW 公司, 色谱纯; 氘代吡啶 美国 Cambridge Isotope Laboratories 公司; 96 孔板(透明) 美国 coming 公司, 对照样品 DMSO 溶液为卡那霉素(30 mg/mL)、万古霉素(4 mg/mL)、四环素(5 mg/mL) 由国家新药筛选中心提供。

超高效液相色谱仪(Ultra Performance Liquid Chromatography(UPLC) Agilent1290, 配蒸发光散射检测器(Evaporative Light Scattering Detector, ELSD) 美国 Agilent 公司; 超高效液相色谱-质谱联用仪(UPLC-MS(Mass Spectrum)), Agilent 6538 Q-TOF System) 美国 Agilent 公司; 核磁共振仪(Nuclear Magnetic Resonance(NMR), Bruker Avance III 600 MHz) 德国 Bruker 公司; 50L 双层玻璃提取罐 武汉世纪超杰实验仪器有限公司; SW-CJ-2F 超净工作台 苏州净化设备总厂; WFZ765PC 型紫外可见分光光度计 上海光谱仪器有限公司; BS223S 型电子天平 北京赛多利斯科学仪器有限公司; Synergy H1 多功能酶标仪 美国伯腾仪器有限公司; GeneQuant 100 紫外分光光度计 美国 GE 公司。

1.2 实验方法

1.2.1 苦瓜藤中三萜类化合物的提取分离 称取 16 kg 苦瓜藤粉末分批置于 50 L 提取罐中, 在提取温度为 60 ℃、料液比(苦瓜藤粉:乙醇)为 1:10 的条件下, 用 75% (v/v) 乙醇浸提 2 h, 过滤, 然后在滤渣中继续加入 75% (v/v) 乙醇浸提, 过滤, 反复提取直至用香草醛-高氯酸法^[22]检测不出滤液中三萜类化合物为止, 合并滤液, 真空浓缩得粗提物浸膏 1312 g。

浸膏上预先处理好的 D101 大孔吸附树脂柱^[22](16 cm × 100 cm), 先用蒸馏水洗去水溶性杂质。再用 20% (v/v)、40% (v/v)、60% (v/v)、80% (v/v)、95% (v/v) 的乙醇梯度洗脱(每个梯度洗脱 50 L), 分别收集各洗脱部分, 真空浓缩干燥, 采用香草醛-高氯

酸法测定三萜类化合物含量, 结果显示: 80% (v/v) 乙醇洗脱部分(200 g) 含有大量三萜类化合物。

取该洗脱部分甲醇溶解, 硅胶拌样, 旋干后上预处理好的硅胶色谱柱, 用 0% (v/v)~30% (v/v) 的甲醇-二氯甲烷溶剂体系梯度洗脱, 采用薄层层析法(TLC)跟踪合并 R_f 值和显色均相同的洗脱液, 5% (v/v) 的甲醇-二氯甲烷溶剂体系洗脱部分共计 41.2 g。

该部分配制 1 g/mL 的甲醇溶液后过滤, 滤液上预处理好的 MCI 树脂柱, 10% (v/v)~100% (v/v) 的甲醇-水溶剂体系梯度洗脱, TLC 跟踪合并 R_f 值和显色均相同的洗脱液, 90% (v/v) 的甲醇-水溶剂体系洗脱部分标记为 A, (27g); A 部分重复上样、梯度洗脱, TLC 跟踪合并 R_f 值和显色均相同的洗脱液, 80% (v/v)~85% (v/v) 的甲醇-水溶剂体系洗脱部分标记为 A1, 共计 20.8 g。

取 1.5 g A1 部分甲醇复溶后上预处理好的 ODS 色谱柱, 30% (v/v)~100% (v/v) 的甲醇-水溶剂体系梯度洗脱, TLC 跟踪合并 R_f 值和显色均相同的洗脱液, 得到单体化合物 T2(325 mg), 计算得率约为 0.028%。

1.2.2 化合物 T2 的纯度及结构分析

1.2.2.1 UPLC 测定化合物 T2 的纯度 根据文献^[23]的方法并稍加改动。称取 5.0 mg 化合物 T2, 溶于 5 mL 甲醇中, 配制成 1.0 mg/mL 的溶液, 过滤, 待测。采用 UPLC 测定化合物 T2 的纯度。UPLC 测试条件为: 色谱柱: ZORBAX SB-C₁₈, 1.8 μm, 50 × 2.1 mm; 流速: 0.3 mL/min; 温度 25 ℃; 时间: 25 min; 流动相: 乙腈:水(10:90~100:0); 进样量: 3 μL; 检测器: 蒸发光散射检测器(ELSD), 喷雾器流速 1.8 L/min, 喷雾器温度 30 ℃, 漂移管温度 40 ℃。

1.2.2.2 MS 测定化合物 T2 的分子量 称取 1.0 mg 化合物 T2, 溶于 5 mL 甲醇中, 配制成 0.2 mg/mL 的溶液, 过滤, 待测。采用 MS 测定化合物 T2 的分子量。MS 测试条件为: 离子源: 电喷雾(ESI); 雾化压力: 40psi; 干燥器流速: 10 L/min; 干燥器温度: 350 ℃; 分流比: 1:3; 添加少量甲酸。

1.2.2.3 NMR 测定化合物 T2 的结构 称取 5 mg 化合物 T2 溶于 0.5 mL 氘代吡啶(pyridine-d₅) 中, 得 10 mg/mL 的待测样品溶液, 采用 NMR 测定该化合物的氢谱(¹H-NMR)、碳谱(¹³C-NMR)、无畸变极化转移增强谱(DEPT)。

1.2.3 化合物 T2 的抑菌作用 根据文献^[24]的方法测定化合物的抑菌作用。称取化合物 T2 1 mg 左右, 用 DMSO 溶解至 10 mg/mL 母液, -20 ℃ 保存。分别取 *S.aureus* Newman、*E.coli* AB1157 单克隆在 37 ℃ 过夜培养; 分光光度计测定 OD₆₀₀ 值, 分别用相应培养基稀释菌液至 OD₆₀₀ = 0.01, 37 ℃ 继续培养 5~8 h, 至 OD₆₀₀ = 0.6 (所对应的菌落个数大概在 (5~10) × 10⁷ 个/毫升); 化合物按照相应培养基稀释到工作浓度; 菌液稀释 400 倍后, 取 50 μL 加至透明底微孔板上 50 μL 含有化合物的培养基中, 37 ℃ 过夜培养, 16 h 后酶标仪测定 OD₆₀₀ 值, 确定有无细菌生长, 计

算 MIC。

2 结果与分析

2.1 结构分析

2.1.1 化合物 T2 的理化性质 化合物 T2 为白色无定形粉末,易溶于甲醇、乙醇,紫外 254 nm 处无吸收,采用两种展开剂展开,均为一个点(展开剂:三氯甲烷:甲醇 = 100:8,三氯甲烷:丙酮 = 3:1)。香草醛-高氯酸法显色呈蓝紫色,提示为三萜类化合物。

2.1.2 化合物 T2 的纯度 UPLC-ELSD 结果如图 1 所示:化合物 T2 的保留时间(t_R)为 11.748 min,且纯度高于 99%,达到进行核磁共振检测所需纯度。

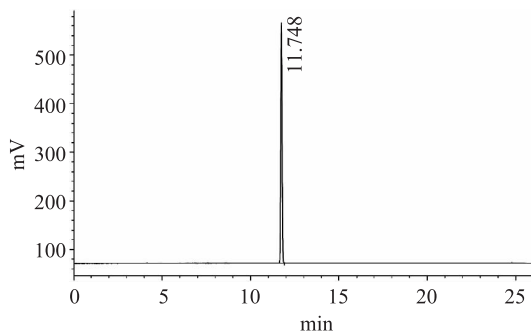


图 1 化合物 T2 的 UPLC-ELSD 图谱

Fig.1 The UPLC-ELSD chromatogram of compound T2

2.1.3 化合物 T2 的分子量 化合物 T2 的高分辨 ESI-MS 结果显示:准分子离子峰 m/z 为 495.3353 $[M + Na]^+$ 、507.3291 $[M + Cl]^-$ 。

2.1.4 化合物 T2 的结构解析 ^1H-NMR 谱显示:该化合物存在 7 个甲基,四个甲基连在季碳上(0.90, 0.95, 1.21, 1.51),2 个甲基连在烯碳上(1.71, 1.73),1 个甲基连在次甲基上(1.18(d, $J = 6$ Hz)),3 个质子连在结构上有羟基的碳上(3.85(1H, brs), 4.39(1H, d, $J = 6$ Hz), 4.85(1H, m)),其中至少有一个紧挨着烯碳,有一个连在季碳上的醛基质子(10.70), $^{13}C-NMR$ 谱和 DEPT 谱显示:有三个羟甲基碳(76.2, 66.2, 65.6),四个三取代双键碳(146.2, 124.8, 132.4, 131.3)和一个醛基碳(208.3)。这些数据提示该化合物为葫芦烷型三萜类化合物。氢谱,碳谱,结合高分辨率质谱 m/z 507.3291 $[M + Cl]^-$ (计算值 507.3241),可得分子式为 $C_{30}H_{48}O_4$ 。化合物氢谱 δ_H 值,碳谱 δ_C 值与已报道的化合物 19-Norlanosta-5, 24-diene-9-carboxaldehyde, 3, 7, 23-trihydroxy-, ($3\beta, 7\beta, 9\beta, 10\alpha, 23\alpha$)-^[25-26]的数据一致,故确定化合物 T2 与该化合物结构一致,俗名为苦瓜素 I (momordicine I)(图 2)。

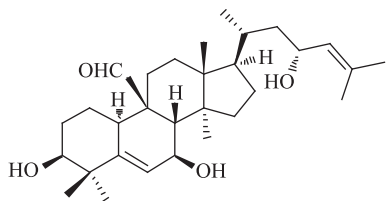


图 2 苦瓜素 I 的化学结构式

Fig.2 Chemical structure of momordicine I

2.2 抑菌作用分析

由表 1 可知,苦瓜素 I 对大肠杆菌(*Escherichia coli* AB1157)无显著抑菌活性, MIC 值大于 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 。其对金黄色葡萄球菌(*Staphylococcus aureus* Newman)的生长具有抑制作用,其 MIC 值达到 12.5~25 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 。Rakholiya 等人^[21]发现苦瓜藤叶水提取物和醇提取物对金黄色葡萄球菌等多种菌株有抑制作用,且醇提取物对金黄色葡萄球菌的抑制作用比水提取物要好。这与本实验结论一致。而且本实验进一步阐明了苦瓜藤脂溶性提取物抑菌作用的物质基础包括苦瓜素 I。张静雅等人^[27]发现苦瓜的 70% 乙醇提取物对革兰氏阳性菌的抑菌活性明显优于革兰氏阴性菌,对金黄色葡萄球菌的抑制效果强,对大肠杆菌抑制作用较弱。由于苦瓜皂苷的苷元部分结构^[1,28-29]与苦瓜素 I 相同或相似,提示苦瓜素 I 和苦瓜皂苷的抑菌作用可能有相同的作用机制。

表 1 苦瓜素 I 的 MIC 测定
Table 1 The MIC of momordicine I

样品名称	菌株名称	
	大肠杆菌 (<i>Escherichia coli</i> AB1157)($\mu\text{g}/\text{mL}$)	金黄色葡萄球菌 (<i>Staphylococcus aureus</i> Newman)($\mu\text{g}/\text{mL}$)
卡那霉素	<9.38	<9.38
万古霉素	>10.00	1.25~2.5
四环素	<1.56	<1.56
苦瓜素 I	>100	12.5~25

3 结论

本实验结果表明,苦瓜藤中含有的苦瓜素 I 是其粗提物抗菌作用的物质基础之一,苦瓜素 I 对金黄色葡萄球菌(*Staphylococcus aureus* Newman)有抑菌效果。这为苦瓜藤中天然抑菌物质的开发与研究提供了依据。这方面的深入研究有望为苦瓜藤的综合利用开辟一条新的途径。

参考文献

- [1] Tan MJ, Ye JM, Turner N, et al. Antidiabetic activities of triterpenoids isolated from bitter melon associated with activation of the AMPK pathway [J]. *Chemistry & Biology*, 2008, 15 (3): 263-273.
- [2] Chen JC, Liu WQ, Lu L, et al. Kuguacins F-S, cucurbitane triterpenoids from *Momordica charantia* [J]. *Phytochemistry*, 2009, 70(1): 133-140.
- [3] Lin KW, Yang SC, Lin CN. Antioxidant constituents from the stems and fruits of *Momordica charantia* [J]. *Food Chemistry*, 2011, 127(2): 609-614.
- [4] Liu JQ, Chen JC, Wang CF, et al. One new cucurbitane triterpenoid from the fruits of *Momordica charantia* [J]. *European Journal of Chemistry*, 2010, 1(4): 294-296.
- [5] Cheng BH, Chen JC, Liu JQ, et al. Cucurbitane-type triterpenoids from *Momordica charantia* [J]. *Helvetica Chimica Acta*, 2013, 96(6): 1111-1120.
- [6] Begum S, Ahmed M, Siddiqui BS, et al. Triterpenes, a sterol and a monocyclic alcohol from *Momordica charantia* [J].

Phytochemistry, 1997, 44(7): 1313-1320.

[7] Elgengaihi S, Karawya MS, Selim MA, et al. A novel pyrimidine glycoside from *Momordica charantia* L[J]. Pharmazie, 1995, 50(5): 361-362.

[8] Harinantenaina L, Tanaka M, Takaoka S, et al. *Momordica charantia* constituents and antidiabetic screening of the isolated major compounds[J]. Chemical & Pharmaceutical Bulletin, 2006, 54(7): 1017-1021.

[9] Keller AC, Ma J, Kavalier A, et al. Saponins from the traditional medicinal plant *Momordica charantia* stimulate insulin secretion *in vitro* [J]. Phytomedicine, 2011, 19(1): 32-37.

[10] Akihisa T, Higo N, Tokuda H, et al. Cucurbitane - type triterpenoids from the fruits of *Momordica charantia* and their cancer chemopreventive effects [J]. Journal of Natural Products, 2007, 70(8): 1233-1239.

[11] Pitchakarn P, Ogawa K, Suzuki S, et al. *Momordica charantia* leaf extract suppresses rat prostate cancer progression *in vitro* and *in vivo* [J]. Cancer Science, 2010, 101(10): 2234-2240.

[12] Pitchakarn P, Suzuki S, Ogawa K, et al. Induction of G1 arrest and apoptosis in androgen - *Momordica charantia* (bitter melon) reduces obesity - associated macrophage and mast cell infiltration as well as inflammatory cytokine expression in adipose tissues dependent human prostate cancer by Kuguacin J, a triterpenoid from *Momordica charantia* leaf. [J]. Cancer Letters, 2011, 306(2): 142-150.

[13] Liu CH, Yen MH, Tsang SF, et al. Antioxidant triterpenoids from the stems of *Momordica charantia* [J]. Food Chemistry, 2010, 118(3): 751-756.

[14] Hasani-Ranjbar S, Nayebi N, Larijani B, et al. A systematic review of the efficacy and safety of herbal medicines used in the treatment of obesity [J]. World Journal of Gastroenterology, 2009, 15(25): 3073-3085.

[15] Bao B, Chen YG, Zhang L, et al. *Momordica charantia* (bitter melon) reduces obesity - associated macrophage and mast cell infiltration as well as inflammatory cytokine expression in adipose tissues [J]. PLOS One, 2013, 8(12): e84075/1-e84075/13.

[16] 张平平, 刘金福, 王昌禄, 等. 苦瓜提取物的抑菌活性研究 [J]. 天然产物研究与开发, 2008, 20(4): 721-724.

[17] 耿丽晶, 周围, 张丽艳, 等. 苦瓜总皂苷最小抑菌浓度和

最佳抑菌条件的研究 [J]. 食品工业科技, 2012, 33(11): 79-82.

[18] 文良娟, 张元春, 李英军, 等. 苦瓜提取物的抑菌活性研究 [J]. 食品工业, 2009, 30(4): 33-35.

[19] 王杰. 苦瓜的抑菌作用及其活性物质的提取分离研究 [D]. 杨凌: 西北农林科技大学, 2004.

[20] 胡乔生, 杨衍超, 肖红. 苦瓜藤叶中天然物质的提取与抑菌作用研究 [J]. 江西化工, 2004(2): 70-74.

[21] Rakholiya K, Vaghela P, Rathod T, et al. Comparative study of hydroalcoholic extracts of *Momordica charantia* L. against foodborne pathogens [J]. Indian Journal of Pharmaceutical Sciences, 2014, 76(2): 148-156.

[22] 蔡雄, 刘中秋, 王培训, 等. 大孔吸附树脂富集纯化人参总皂苷工艺 [J]. 中成药, 2001, 23(9): 631-634.

[23] Hsiao PC, Liaw CC, Hwang SY, et al. Antiproliferative and hypoglycemic cucurbitane - type glycosides from the fruits of *Momordica charantia* [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2013, 61(12): 2979-2986.

[24] Wiegand I, Hilpert K, Hancock RE W. Agar and broth dilution methods to determine the minimal inhibitory concentration (MIC) of antimicrobial substances [J]. Nature Protocols, 2008, 3(2): 163-175.

[25] Mekuria DB, Kashiwagi T, Tebayashi SI, et al. Cucurbitane triterpenoid oviposition deterrent from *Momordica charantia* to the leafminer, *Liriomyza trifolii* [J]. Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry, 2005, 69(9): 1706-1710.

[26] Zhang YB, Liu H, Zhu CY, et al. Cucurbitane - type triterpenoids from the leaves of *Momordica charantia* [J]. Journal of Asian Natural Products Research, 2014, 16(4): 358-363.

[27] 张雅静, 文良娟, 王娇, 等. 苦瓜抑菌作用的研究 [J]. 食品工业科技, 2013, 34(18): 132-136.

[28] Zhang LJ, Liaw CC, Hsiao PC, et al. Cucurbitane - type glycosides from the fruits of *Momordica charantia* and their hypoglycaemic and cytotoxic activities [J]. Journal of Functional Foods, 2014, (6): 564-574.

[29] Wang X, Sun W, Cao J, et al. Structures of new triterpenoids and cytotoxicity activities of the isolated major compounds from the fruit of *Momordica charantia* L [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2012, 60(15): 3927-3933.

(上接第 117 页)

米粉为高浓度酒精 [J]. 微生物学通报, 2007, 34(2): 261-264.

[9] Nakamura T, Ogata Y, Hamada S, et al. Ethanol production from Jerusalem artichoke tubers by *Arpergillus niger* and *Saccharomyces cerevisiae*. [J]. Fement Bioeng, 1996, 81: 564-566.

[10] 吴琴燕, 杨敬辉, 潘以楼, 等. 微粉碎甘薯原料的生料发酵 [J]. 中国粮油学报, 2010, 25(2): 50-53.

[11] 孙子羽, 迟乃玉, 王宇, 等. 低温生淀粉糖化酶菌株 RS01 分离及其酶学性质 [J]. 微生物学通报, 2010, 37(6): 798-802.

[12] Li Sen Wang, Xiang Yang Ge, Wei guo Zhang. Improvement of ethanol yield from raw corn flour by *Rhizopus* sp [J]. World J

Microbiol Biotechnol, 2007(23): 461-465.

[13] 吴俊, 李斌, 苏喜生, 等. 玉米淀粉的粒度效应与其微观形貌和性能关系研究 [J]. 中国粮油学报, 2004, 19(5): 23-26.

[14] 缪冶炼, 吴琴燕, 姜岷, 等. 细微玉米粉的低温酶解 [J]. 中国农业工程学报, 2007, 23(9): 220-224.

[15] 张龙翔, 张庭芳, 李令媛. 生化实验方法和技术 [M]. 北京: 高等教育出版社, 2001.

[16] 许越. 化学反应动力学 [M]. 北京: 化学工业出版社, 2004.

[17] 韩丙军, 陈丽霞, 黄华平, 等. 素 A 降解动力学研究 [J]. 热带作物学报, 2008, 29(1): 97-10.