

绿茶多糖的乙酰化修饰及其清除自由基、 NO₂⁻活性的研究

梁少茹¹, 肖 雷², 肖 斌^{1,*}

(1.西北农林科技大学园艺学院, 陕西杨陵 712100;

2.北京林业大学林木生物质化学北京市重点实验室, 北京 100083)

摘 要:探讨乙酰化修饰对绿茶多糖清除自由基、NO₂⁻活性的影响,设计正交实验研究乙酰化修饰的最佳反应条件,在此条件下制取乙酰化绿茶多糖,对其修饰前后超氧阴离子(O₂⁻·)自由基、羟自由基(·OH)和NO₂⁻体外清除活性进行比较,并进行不同取代度的乙酰化茶多糖进行自由基及NO₂⁻的清除作用实验,考察清除活性与取代度之间的关系。实验所得乙酰化修饰最优条件为:茶多糖质量(g)与乙酸酐体积(mL)比为1:40,保温时间4h,反应温度为30℃,乙酰化绿茶多糖最大取代度为0.337,乙酰化绿茶多糖对O₂⁻·、·OH和NO₂⁻体外清除活性最大提高率分别为32.06%、36.96%、55.99%,随着取代度的增大,O₂⁻·、·OH及NO₂⁻的清除活性均增大。研究证明乙酰化修饰能够提高绿茶多糖自由基、NO₂⁻清除活性,且取代度与清除活性有关。

关键词:绿茶多糖,乙酰化,自由基,亚硝基,清除活性

Study on acetylated modification and scavenging effect on free radicals, NO₂⁻ of green tea polysaccharides

LIANG Shao-ru¹, XIAO Xiao², XIAO Bin^{1,*}

(1.College of Horticulture, Northwest A&F University, Yangling 712100, China;

2.Beijing Key Laboratory of Lignocellulosic Chemistry, Beijing Forestry University, Beijing 100083, China)

Abstract: The experiments was conducted to study the influence of acetylated modification on scavenging free radicals, NO₂⁻ effect of green tea polysaccharides. Orthogonal experiment was designed to study the optimal conditions of acetylated modification. Acetylated green tea polysaccharides was produced on this optimal conditions, and superoxide anion free radical, hydroxyl free radical and NO₂⁻ scavenging effect *in vitro* were compared before and after modification. Superoxide anion free radical, hydroxyl radical and NO₂⁻ scavenging effect experiments with different substitution degree acetylated tea polysaccharide were conducted, and relationship between the different substitution degree and scavenging activities were analyzed. The optimal conditions of acetylated modification were: mass of tea polysaccharide/volume of acetic anhydride 1:40, holding time 4h, reaction temperature 30℃, the maximum substitution degree was 0.337 in this experiment, and the maximum increased ratios of superoxide anion free radical, hydroxyl free radical and NO₂⁻ scavenging effects were 32.06%, 36.96%, 55.99%. Besides, superoxide anion free radical, hydroxyl radical and NO₂⁻ scavenging activities were increased with the increase of substitution degree. The results showed that acetylated modification could improve the effect of free radicals, NO₂⁻ scavenging activities of green tea polysaccharides and scavenging activities was related with substitution degree.

Key words: green tea polysaccharides; acetylation; free radicals; NO₂⁻; scavenging effect

中图分类号: TS201.2

文献标识码: A

文章编号: 1002-0306(2015)11-0084-05

doi:10.13386/j.issn1002-0306.2015.11.009

茶多糖(Tea Polysaccharides, TPS)是茶叶中一类与蛋白质结合在一起的酸性多糖或一种酸性糖蛋

白,是一种具有生物活性的复合多糖^[1]。茶多糖清除自由基功能早已有相关报道。陈海霞等研究^[2]发现

收稿日期:2014-09-09

作者简介:梁少茹(1987-),女,硕士研究生,研究方向:茶叶生物化学。

*通讯作者:肖斌(1957-),男,学士,教授,主要从事茶叶生理生态及茶叶生物化学研究。

基金项目:国家茶叶产业技术体系(CARS-23);陕西省科技统筹工程计划难题招标(2013KTZB02-01-01)。

茶叶多糖具有清除羟自由基和超氧阴离子自由基的作用。于淑池和侯金鑫^[3]研究发现龙井茶多糖具有清除自由基和 NO₂⁻ 作用。多糖的分子修饰是指通过物理、化学、生物学等手段对多糖分子进行结构改造,以期获得理化性质改变或产生新的生物学功能的多糖衍生物,多糖的分子修饰方法主要包括化学法、物理法和酶法,多糖的化学修饰主要有:如硫酸化、乙酰化、羧甲基化、硒化、甲基化、磷酸酯化、双基团衍生化等^[4-7]。近年来,乙酰化修饰已经成为开发多糖生物活性重要手段之一。梁进等^[8]研究发现乙酰化茶多糖能显著延长人体血浆的 APTT 值。乙酰化修饰使虎奶菇菌核多糖超氧阴离子自由基和 DPPH 自由基清除率有所增高^[9]。本研究以绿茶为原料,分离纯化茶多糖并对茶多糖进行乙酰化修饰,采取体外实验的方法,对茶多糖及其乙酰化产物对自由基、NO₂⁻ 的清除活性进行初步探讨,以期为化学修饰提高茶多糖生物活性及茶多糖的开发利用提供参考。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

绿茶 来自西北农林科技大学茶叶实验站;无水乙醇、95%乙醇、氯仿、正丁醇、乙醚、丙酮、氢氧化钠、过氧化氢、乙酸酐、邻二氮菲、邻苯三酚、无水对氨基苯磺酸、盐酸萘乙二胺、硫酸亚铁、亚硝酸钠、盐酸羟胺、柠檬酸、柠檬酸钠、磷酸二氢钾、醋酸钠等试剂均为国产分析纯。

AL-204 分析天平电子天平 梅特勒-托利多(上海)仪器有限公司;UV3802 准双光束紫外可见分光光度计 上海尤尼柯仪器有限公司;SHB-III 循环水式多用真空泵 郑州长城科工贸有限公司;RE-52AA 旋转蒸发器 上海亚荣生化仪器厂;DK-S26 型电热恒温水浴锅 上海森信实验仪器有限公司;TGL-18M 高速冷冻离心机 上海卢湘仪离心机仪器有限公司等。

1.2 实验方法

1.2.1 绿茶多糖的提取与纯化 绿茶多糖的提取与纯化方法^[10-11]如下:绿茶茶叶粉碎,过 30 目筛,按茶水比 1:20 在 55℃ 下水浸提 2.5h,趁热过滤,55℃ 温度条件下减压浓缩至原体积的三分之一,加入 3 倍体积 95% 乙醇沉淀,沉淀物用丙酮、无水乙醇、乙醚交替洗涤 3 次,经 Sevag 法脱蛋白、过氧化氢脱色,再经透析后冻干即为纯化茶多糖(TPS)。

1.2.2 茶多糖的乙酰化修饰及最佳修饰条件确定 茶多糖乙酰化修饰方法^[8]如下:取绿茶多糖样品 0.5g 加入到 10mL 蒸馏水中并混匀,用 0.5mol/L 氢氧化钠调 pH 为 9.0,一定温度(20~40℃)保温,其间交替向溶液中加入一定量的乙酸酐和 0.5mol/L 的氢氧化钠以保持溶液 pH 为 8.0。反应期间温度控制在 20~40℃,乙酸酐加入量为 10~20mL,保温时间为 3~5h。反应结束后,用 5mol/L 盐酸调整溶液的 pH 为 7.0,冷却后将混合液置于透析袋中流水透析 3d,再经减压浓缩、醇沉、冷冻干燥后即得乙酰化茶多糖(Acetylated tea polysaccharides, A-TPS)。乙酰化多

糖的取代度采用碱性羟胺比色法^[12]进行测定,先绘制乙酰基浓度与其吸光度(A=540nm)的标准曲线,测出样品中乙酰基含量,然后计算取代度。取代度计算公式:

$$\text{取代度(DS)} = \frac{162 \times W}{4300 - (43 - 1) \times W}$$

式中,W 为茶多糖中乙酰基含量。

通过分析比较,保温时间(A)、茶多糖与乙酸酐的体积比(B)、反应温度(C)是影响反应进程的主要因素^[13],以取代度为指标,通过单因素实验对各因素进行考察,得出各因素水平取值。选择这 3 个指标作为实验三因素,设计三因素三水平的正交实验,参照上述乙酰化茶多糖修饰方法,按 L₉(3⁴) 正交表进行实验,研究得到最高取代度乙酰化茶多糖的反应条件。正交实验因素水平表见表 1。

表 1 因素水平表
Table 1 Factors and levels

实验水平	实验因素		
	A 保温时间(h)	B 茶多糖质量与乙酸酐体积比(g/mL)	C 反应温度(℃)
1	3	1:20	20
2	4	1:30	30
3	5	1:40	40

1.2.3 茶多糖及其乙酰化产物清除超氧阴离子(O₂⁻)自由基活性的测定 采用邻苯三酚自氧化法^[14]测定茶多糖及其乙酰化产物清除 O₂⁻ 活性并略有改动:分别取 1mL 不同浓度(0.2、0.4、0.6、0.8、1.0mg/mL)的茶多糖或其乙酰化产物溶液加入 3mL 50mmol/L Tris-HCl(pH8.2)缓冲液,置于 25℃ 水浴 20 min,取出后加入 25℃ 预热过的 10mmol/L 邻苯三酚(以 10mmol/L HCl 配制)0.1mL,精确反应 4min,立即滴入 0.1mL 6mol/L HCl 终止反应,在 325nm 波长处测定吸光值。以等体积 10mmol/L HCl 代替邻苯三酚溶液调零,对照组以蒸馏水代替茶多糖样品溶液。清除率计算公式:

$$\text{超氧阴离子清除率} = (A_0 - A_1) / A_0 \times 100\%$$

式中,A₀ 为对照组吸光值,A₁ 为样品组吸光值。

1.2.4 茶多糖及其乙酰化产物清除羟自由基(·OH)活性的测定 茶多糖及其乙酰化产物清除·OH 活性的测定采用邻二氮菲-Fe 氧化法^[15]进行:精确移取 5mmol/L 邻二氮菲溶液(用蒸馏水将 50mmol/L 邻二氮菲无水乙醇溶液稀释制得)1.5mL,加入 50mmol/L pH7.4 磷酸缓冲液 2.0mL,充分混匀,滴加 1.0mL 7.5mmol/L FeSO₄ 溶液,加好后立即混匀,分别加 1mL 不同浓度(0.2、0.4、0.6、0.8、1.0mg/mL)茶多糖或其乙酰化产物溶液,最后加 0.1% H₂O₂ 1.0mL 启动反应,以水补充体积至 10mL 作为样品管,损伤管中加 H₂O₂ 不加样品溶液,未损伤管两者均不加,损伤管、未损伤管均以水补充体积至 10mL,各管反应液均置于 37℃ 保温 60min,取出后在波长 536nm 处测吸光值。根据下式计算羟自由基清除率:

$$\text{羟自由基清除率} = (A_2 - A_1) / (A_0 - A_1) \times 100\%$$

式中,A₀ 为未损伤管吸光值,A₁ 为损伤管吸光

值, A_2 为样品管吸光值。

1.2.5 茶多糖及其乙酰化产物清除 NO_2^- 活性的测定

采用重氮偶合比色法^[16]测定清除 NO_2^- 活性:分别移取 $10\mu\text{g/mL}$ NaNO_2 溶液 0、0.4、0.8、1.2、1.6、2.0mL 置于 50mL 容量瓶,加入 30mL 蒸馏水,再加 4mg/mL 对氨基苯磺酸溶液 2mL,摇匀,静置 5min 后加 2mg/mL 盐酸萘乙二胺溶液 1mL,用蒸馏水定容至刻度,摇匀,静置 15min 后于波长 540nm 处测其吸光度,以容量瓶中亚硝酸钠浓度为横坐标,相应吸光值为纵坐标做标准曲线。取不同浓度 (0.2、0.4、0.6、0.8、1.0mg/mL) 的茶多糖或其乙酰化产物溶液 1.0mL,分别加入 2.0mL 柠檬酸缓冲液 (pH3.0) 和 2.0mL $10\mu\text{g/mL}$ NaNO_2 标准溶液,在 37°C 恒温水浴中反应 60min,取出后按上述方法测定吸光度,通过标准曲线求出对应 NaNO_2 含量,并按下式计算 NO_2^- 清除率:

$$\text{NO}_2^- \text{清除率} = (\text{NaNO}_2 \text{加入量} - \text{NaNO}_2 \text{残留量}) / \text{NaNO}_2 \text{加入量} \times 100\%$$

1.2.6 数据处理 正交实验结果分析用 Minitab15 进行分析,使用 SPSS statistics 19 进行显著性分析,文中其他图表使用 EXCEL 完成。

2 结果与分析

2.1 乙酰化茶多糖的合成制备及修饰条件的优化

水提醇沉法提取绿茶多糖得粗茶多糖提取率为 2.07%,经过脱色和 6 次除蛋白得到初步纯化茶多糖。以保温时间 (A)、茶多糖质量与乙酸酐体积比 (B)、反应温度 (C) 作为实验三因素,以制得的纯化多糖为原料,参照表 1 各因素水平进行正交实验。表 2 为实验因素水平表和正交实验结果及极差分析表,正交实验重复三次,表 2 中取代度为三次实验平均值。

表 2 正交实验结果及极差分析表

Table 2 Results of orthogonal test and range analysis

实验号	A	B	C	取代度
1	1	1	1	0.113
2	1	2	2	0.212
3	1	3	3	0.269
4	2	1	2	0.183
5	2	2	3	0.260
6	2	3	1	0.325
7	3	1	3	0.162
8	3	2	1	0.232
9	3	3	2	0.303
k_1	0.198	0.152	0.223	
k_2	0.256	0.235	0.233	
k_3	0.232	0.299	0.230	
R	0.058	0.146	0.009	

由表 2 可知,三个实验因素对取代度的影响作用由大到小依次为:茶多糖质量与乙酸酐体积比 (B) > 保温时间 (A) > 反应温度 (C),正交实验得到的最适条件为茶多糖质量与乙酸酐体积比为 1:40,保温

时间 4h,反应温度为 30°C 。在最优条件下进行验证实验,制得乙酰化茶多糖的取代度为 0.337,表明该优选条件稳定可行,重复性良好。以该正交实验获得的最佳反应条件制取乙酰化茶多糖,并进行以下清除自由基及亚硝基的实验。

2.2 茶多糖及乙酰化茶多糖对超氧阴离子 ($\text{O}_2^- \cdot$) 自由基的清除作用

超氧阴离子 ($\text{O}_2^- \cdot$) 自由基能通过歧化作用和其他类型的反应产生过氧化氢和羟自由基,是体内形成自由基的来源,且 $\text{O}_2^- \cdot$ 可通过破坏 DNA 和细胞膜导致机体严重损害^[17]。本实验采用邻苯三酚自氧化法测定茶多糖及乙酰化茶多糖对 $\text{O}_2^- \cdot$ 的清除作用,实验结果见图 1。

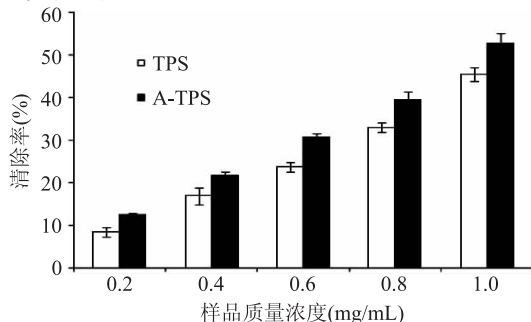


图 1 茶多糖与乙酰化茶多糖对超氧阴离子自由基的清除作用

Fig.1 Superoxide anion free radical scavenging effect of TPS and acetylated TPS

由图 1 可知,茶多糖与乙酰化茶多糖对 $\text{O}_2^- \cdot$ 均有清除作用且随溶液浓度增大清除活性均增大,乙酰化修饰茶多糖清除活性高于茶多糖。经乙酰化修饰后清除 $\text{O}_2^- \cdot$ 活性的提高率在 13.74% ~ 32.06% 之间,且低浓度时活性提高更明显,这与刘阿娟等研究虎奶菇菌核多糖对 $\text{O}_2^- \cdot$ 清除作用提高趋势并不完全一致^[9],这有可能是多糖种类不同造成的,此外,乙酰化对 $\text{O}_2^- \cdot$ 清除作用提高原理尚待进一步研究。经 LSD-t 检验,乙酰化修饰前后 $\text{O}_2^- \cdot$ 清除活性达到差异极显著水平 ($p < 0.01$),表明乙酰化修饰能够提高茶多糖对 $\text{O}_2^- \cdot$ 的清除活性。

2.3 茶多糖及乙酰化茶多糖对羟自由基 ($\cdot\text{OH}$) 的清除作用

羟自由基是一种氧化活性很强的氧化剂,可直接损伤各种生物膜,导致多种疾病的发生, $\cdot\text{OH}$ 清除率是抗氧化作用的重要指标^[3]。本实验采用邻二氮菲-Fe 氧化法测定绿茶多糖及其乙酰化产物对 $\cdot\text{OH}$ 的清除作用,实验结果见图 2。

由图 2 可知,茶多糖及其乙酰化产物对 $\cdot\text{OH}$ 的清除作用与溶液浓度正相关,且乙酰化茶多糖清除活性均高于未修饰前, $\cdot\text{OH}$ 清除活性最大提高率达 36.96%。此外,当溶液浓度为本实验范围内最大即 1mg/mL 时,乙酰化茶多糖的 $\cdot\text{OH}$ 清除率达到最大值 60.36%,说明乙酰化茶多糖具有较强的 $\cdot\text{OH}$ 清除活性,表明乙酰化修饰能够有效地提高茶多糖对 $\cdot\text{OH}$ 的清除活性。

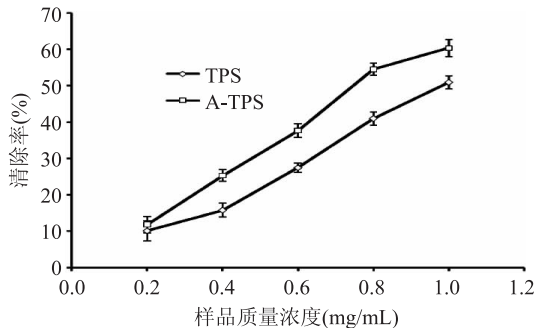


图2 绿茶多糖与乙酰化绿茶多糖对羟自由基的清除作用
Fig.2 Hydroxyl free radical scavenging effect of TPS and acetylated TPS

2.4 茶多糖及乙酰化茶多糖对亚硝基 (NO₂⁻) 的清除作用

亚硝酸盐在胃酸作用下与蛋白质分解产物二级胺反应生成亚硝胺,亚硝胺具有强烈的致癌作用^[18],因此研究对 NO₂⁻ 的清除作用具有重要意义。本研究采用重氮偶合比色法测定在模拟胃酸条件下 NO₂⁻ 清除活性。经实验测得 NO₂⁻ 浓度 (C) 与吸光度 (A) 线性回归方程为 $A = 0.8261C + 0.005$ ($R^2 = 0.9977$),由此方程及清除率计算公式可得实验结果,如图3所示。

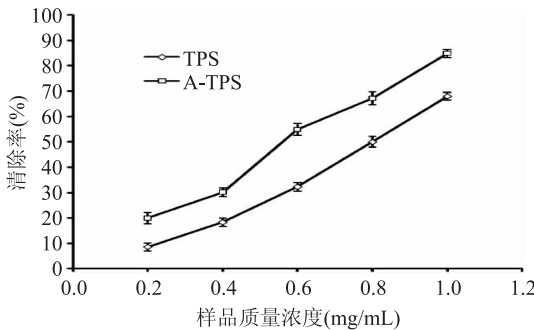


图3 绿茶多糖与乙酰化绿茶多糖对亚硝基的清除作用
Fig.3 NO₂⁻ scavenging effect of TPS and acetylated TPS

由图3可知,茶多糖及其乙酰化产物对 NO₂⁻ 均有较强的清除作用且清除作用随溶液浓度增大明显增强,同时乙酰化修饰使 NO₂⁻ 清除活性明显提高,当浓度为 0.2mg/mL 清除活性提高率达到最大为 55.99%。当乙酰化茶多糖溶液浓度为 1mg/mL 时亚硝基清除率为 84.87%,说明乙酰化绿茶多糖具有很强的 NO₂⁻ 清除活性,表明乙酰化修饰对茶多糖的 NO₂⁻ 清除活性提高明显。

2.5 不同取代度对乙酰化多糖清除自由基、NO₂⁻ 活性影响

取代度能够反映分子改性的程度。以不同取代度的乙酰化茶多糖溶液(浓度均为 1mg/mL)进行清除 O₂^{·-}、·OH 及 NO₂⁻ 的清除作用实验,考察清除活性与取代度之间的关系,实验中取代度的取值点为正交实验所得取代度值。实验结果如图4所示。

如图4可知,在实验范围的取代度内(0.117~0.332),随着取代度的增大,O₂^{·-}、·OH 及 NO₂⁻ 的清除活性均有上升趋势,其中 NO₂⁻ 的清除活性随取代度

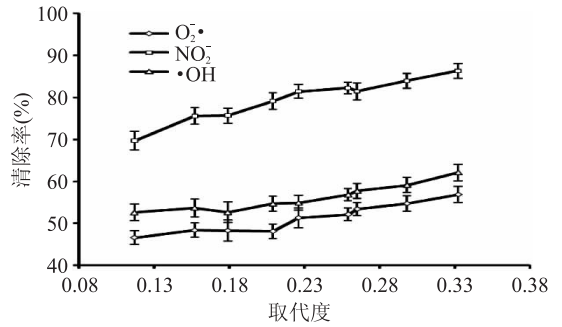


图4 乙酰化修饰茶多糖取代度与清除活性的关系
Fig.4 Relationship between modification degree and scavenging effect of acetylated tea polysaccharides

增大的趋势最为明显。实验结果说明在实验范围内取代度与自由基、NO₂⁻ 清除活性正相关。

3 讨论

绿茶多糖具有清除 O₂^{·-}、·OH 及 NO₂⁻ 的活性,通过本实验研究结果表明,乙酰化修饰能使其清除活性不同程度增强,其中对 NO₂⁻ 清除活性提高最为明显,同时实验表明乙酰化修饰茶多糖的生物活性与取代度有关。多糖主链和支链的性质以及高级结构影响多糖的生物学活性^[19],茶多糖经乙酰化修饰后,多糖主链和支链的空间结构发生改变,多糖链中的支链上的羟基暴露,提高了茶多糖的水溶性^[20],从而使清除自由基、NO₂⁻ 活性增强。茶多糖的乙酰化修饰对于研究多糖构效关系,进而探寻多糖的活性中心、阐明结构与功能的关系及茶多糖的开发与应用具有重要的意义。乙酰基的取代位置、取代度大小、乙酰化产物的空间构象等均可影响其生物活性,目前其构效关系和作用规律尚不清楚,仍有待进一步研究。

4 结论

实验所得乙酰化绿茶最大取代度为 0.337,制得最大取代度反应参数为茶多糖质量与乙酸酐体积比为 1:40,保温时间 4h,反应温度为 30℃。乙酰化修饰能使绿茶多糖清除 O₂^{·-}、·OH 及 NO₂⁻ 的活性不同程度增强,最大提高率分别为 32.06%、36.96%、55.99%。此外,随着取代度的增大,O₂^{·-}、·OH 及 NO₂⁻ 的清除活性均增大。

参考文献

- [1] 宛晓春.茶叶生物化学[M].北京:中国农业出版社,2003,54-55,419-420.
- [2] Chen H X, Zhang M, Xie B J. Components and antioxidant activity of polysaccharide conjugate from green tea [J]. Food Chemistry, 2005, 90(1-2): 17-21.
- [3] 于淑池, 侯金鑫. 龙井茶多糖对自由基和 NO₂⁻ 清除作用研究[J]. 食品研究与开发, 2012, 33(4): 28-31.
- [4] 钱宾宾. 多糖化学修饰方法探究[J]. 科技创新导报, 2012(8): 137.
- [5] 麻冬滨, 东方, 季宇彬. 多糖结构修饰研究进展[J]. 黑龙江科技信息, 2013(3): 53-54.
- [6] 陈新仁, 吴琼, 郑成. 银耳多糖的分子修饰及抗氧化作用

(下转第 99 页)

间 2.2h, 提取温度 40℃, 酸浸液浓度 1.2mol/L, 料液比 1:22。在此优化条件下进行三次验证实验, 得到的植酸平均含量为 1.215%, 与预测值相符, 且重现性好, 说明响应面法优化提取植酸的工艺结果可靠。

研究发现, 麦麸植酸提取液对食品中常见的 4 种致病菌均有明显抑制作用, 其中对大肠杆菌的抑制效果最好; 植酸提取液对大肠杆菌、金黄色葡萄球菌、枯草芽孢杆菌和沙门氏菌的最小抑菌浓度依次为 2.17、2.89、3.61、3.61 μg/mL; 随植酸提取液浓度增加, 抑菌效果增强; 当将不同浓度的 Na⁺、K⁺、Mg²⁺ 和 Ca²⁺ 与植酸提取液混合后, 抑菌效果受到抑制; 经 0、65、121℃ 处理后的植酸提取液抑菌效果变化较小; 与乙醇、丙二醇、丙三醇混合后的植酸提取液抑菌效果也受到抑制。优化后植酸平均含量低于单因素结果可能是由于麦麸的吕种或批次差异。

参考文献

- [1] 赵玉生, 于然. 植酸的食品保鲜机理及应用[J]. 中国食品添加剂, 2007(1): 147-150.
- [2] 欧仕益, 陈喜德, 符莉, 等. 利用黑曲霉发酵麦麸制备阿魏酸、肌醇和低聚糖的研究[J]. 粮食与饲料工业, 2003, (5): 31-32.
- [3] Beom J L, Deloy G H. Phytic acid protective effect against beef round muscle lipid peroxidation [J]. Journal of Food Science, 1995, 2: 241-244.
- [4] 杨文玉. 植酸制取工艺研究现状与展望[J]. 中国油脂, 2003, 28(4): 46-48.
- [5] 戴传波, 李建桥, 李建秀. 植酸制取的研究进展[J]. 食品工业科技, 2007, 28(2): 293-241.
- [6] 张清华, 郭沛荣, 许光映. 酶法测定亚麻籽中的植酸含量[J]. 农产品加工学刊, 2012, (10): 59-61.
- [7] 时侯清, 沙超, 姚维东, 等. 双吡啶分光光度法测定小麦植酸含量研究[J]. 安徽科技学院学报, 2009, 23(6): 10-14.
- [8] 曾雪灵, 陈永欣, 叶明立, 等. 加速溶剂萃取-离子色谱测定油菜籽饼中的植酸[J]. 浙江大学学报(理学版), 2006, 33(6): 667-670.
- [9] 贾鹏禹, 申书昌, 郑连忠. 离子色谱法测定米糠中植酸含量[J]. 齐齐哈尔大学学报, 2009, 25(1): 82-84.
- [10] 李丽, 吴波, 李庆龙. 磷钼黄比色法测定小麦麸中的植酸[J]. 粮食与饲料工业, 2008, (4): 11-12.
- [11] 王国蓉, 万文贵, 王丽. 三氯化铁滴定法测定植酸含量方法的优化及改进研究[J]. 食品科学, 2009, 30(10): 188-190.
- [12] 罗仓学, 史兰, 李振尧. 响应面法优化菜籽粕中植酸提取工艺研究[J]. 食品与发酵工业, 2013, 49(5): 51-55.
- [13] 倪清艳, 李燕, 张海涛. ε-聚赖氨酸的抑菌作用及在保鲜中的应用[J]. 食品科学, 2008, 29(9): 102-105.
- [14] 彭益强, 方柏山. 植酸抑菌保鲜作用的研究[J]. 福建化工, 2002(4): 39-41.
- [15] 王放银, 段林东, 赵良忠. 夏枯草抗菌成分的提取及其抑菌效果研究[J]. 西南农业大学学报, 2004, 26(6): 773-775.
- [16] 谢永, 周南进, 李弼民, 等. 不同浓度和 pH 的壳聚糖对幽门螺杆菌抑菌作用的影响[J]. 中华微生物和免疫学志, 2002, 22(1): 13-14.
- [17] 付慧, 杨萍, 汪秋宽. 茶多酚的制备及其抑菌活性的研究[J]. 食品科技, 2012, 37(6): 273-276.
- [18] 李淑彬, 周仁超, 钟英长. 金属离子对黄柄曲霉生长和抗真菌抗生素合成的影响[J]. 微生物学通报, 2002, 29(3): 20-24.
- [19] 廖爱琳, 吴晓萍, 易蜀婷, 等. 壳聚糖对金黄色葡萄球菌抑菌活性的研究[J]. 中国食物与营养, 2011, 17(4): 40-43.
- [20] 常丽新, 贾长红, 高曼, 等. 丁香叶黄酮的抑菌作用研究[J]. 食品工业科技, 2010(10): 126-128.
- [21] 秦慧民, 朱思明, 于淑娟. 橙皮苷及铜配合物的抑菌抗氧化活性研究[J]. 食品科技, 2006(6): 81-83.
- [22] 杨敏, 袁佳依, 陈文学. 胡椒提取物抑菌活性研究[J]. 食品工业科技, 2013, 24(4): 125-129.
- [14] 张海容. 修饰多糖的抗氧化自由基活性及其与 DNA 结合机理的荧光法研究[D]. 广州: 华南理工大学, 2003: 54.
- [15] 彭永华. 茶多糖的化学修饰及其衍生物的降血糖活性研究[D]. 无锡: 江南大学, 2006: 35.
- [16] 焦中高, 刘杰超, 周红平, 等. 硫酸化修饰对红枣多糖自由基和亚硝基清除活性的影响[J]. 中国食品学报, 2007, 7(2): 17-21.
- [17] Macdonald J, Galley H F, Webster N R. Oxidative stress and gene expression in sepsis [J]. British journal of anaesthesia, 2003, 90(2): 221-232.
- [18] 林桂兰, 许学书, 连文思. 食用菇多糖提取物体外抗氧化性能研究[J]. 华东理工大学学报: 自然科学版, 2006, 32(3): 278-281.
- [19] Frazier C E, Wendler S L, Glasser W. Long chain branched celluloses by mild trans-glycosidation [J]. Carbohydrate Polymers, 1996, 31(1-2): 11-18.
- [20] 张难, 吴远根, 周剑丽, 等. 多糖的分子修饰及其在功能性食品中的应用展望[J]. 食品研究与开发, 2007, 28(8): 159-163.

(上接第 87 页)

的研究[J]. 安徽农学通报, 2013(17): 17-18, 38.

[7] 魏玉, 王元兰, 何新建. 低分子量 k_卡拉胶的制备、分子修饰及其生物活性研究进展[J]. 食品工业科技, 2009, 30(4): 344-348.

[8] 梁进, 张剑韵, 崔莹莹, 等. 茶多糖的化学修饰及体外抗凝血作用研究[J]. 茶叶科学, 2008, 28(3): 166-171.

[9] 刘阿娟, 张静, 张化朋, 等. 虎奶菇菌核多糖的化学修饰及活性研究[J]. 陕西师范大学学报: 自然科学版, 2014, 42(1): 105-108.

[10] 倪德江, 陈玉琼, 谢笔钧, 等. 绿茶、乌龙茶、红茶的茶多糖组成抗氧化及降血糖作用研究[J]. 营养学报, 2004, 26(1): 57-60.

[11] 余志, 石玉涛, 倪德江. 酶法修饰绿茶多糖对免疫低下模型小鼠免疫活性的影响[J]. 茶叶科学, 2010, 30(1): 567-572.

[12] 郭晓强, 何钢, 姚倩, 等. 乙酰化银耳多糖的制备及其取代度测定[J]. 食品工业科技, 2013, 34(12): 255-257.

[13] 宋道, 张丽华, 赵鹏, 等. 响应面法优选款冬花多糖的乙酰化工艺研究[J]. 中成药, 2013, 35(9): 2030-2033.