

超声解聚对大粒车前子多糖流变性质、 溶液构象及活性的影响

夏强, 黄丹菲, 余强, 聂少平, 谢明勇*

(南昌大学食品科学与技术国家重点实验室, 江西南昌 330047)

摘要:研究超声波对大粒车前子多糖溶液流变性质、分子量及分子量分布、溶液构象、抗氧化活性、体外免疫活性功能的影响。用流变仪检测其静态动态流变性质。通过光散射凝胶色谱联用检测多糖分子量及溶液构象。使用红外光谱对多糖结构进行表征。通过体外抗氧化模型: DPPH 自由基清除, 铁离子还原, 氧自由基清除评价抗氧化能力。通过小鼠巨噬细胞 RAW264.7 增殖, 中性红吞噬及 NO 分泌评价体外免疫活性。结果表明超声之后大粒车前子多糖表观粘度急剧下降, 流体性质从假塑性流体变成牛顿性流体; 弹性模量 G' 与粘性模量 G'' 均发生下降, 凝胶性质减弱; 分子量下降, 分子量分布先变宽后变窄; 结构参数 ρ 下降, Mark-Houwink α 值增大, 溶液构象从高支化结构向无归线团转变; 特性粘度 $[\eta]$ 下降, 多糖在溶液中的构象更紧凑; 主要吸收峰没变, 多糖的主要官能团并未改变; DPPH 自由基清除能力和铁离子还原能力显著提高, 氧自由基清除能力变化不显著; 促进巨噬细胞吞噬、增殖、分泌 NO 的能力均显著提高。

关键词: 多糖, 超声波降解, 流变性质, 溶液构象, 抗氧化, 免疫调节

Effects of ultrasonic depolymerization on the rheological property, solution conformation and activities of polysaccharides isolated from the seeds of *plantago asiatica* L.

XIA Qiang, HUANG Dan-fei, YU Qiang, NIE Shao-ping, XIE Ming-yong*

(State Key Laboratory of Food Science and Technology, Nanchang University, Nanchang 330047, China)

Abstract: To study the ultrasonic degradation's effects on rheological properties, molecular weight and molecular weight distribution, conformation in solution, antioxidant activity and *in vitro* immune of polysaccharide isolated from the seeds of *Plantago asiatica* L. (PLCP), rheometer was used to detect static and dynamic rheological property of these treated samples, GPC/SEC-MALS system was used to detect molecular weight and solution conformation, infrared spectroscopy was used to characterize the structure of the polysaccharide. *In vitro* antioxidant activities were evaluated by DPPH radicals scavenging capacity, ferric ion reducing antioxidant capacity, and oxygen radical absorbance capacity. The *in vitro* immunoregulatory activities was detected by macrophage RAW264.7 proliferation assay, neutral red phagocytosis test and NO production test. Ultrasonic degradation's effects on PLCP were as follow: the apparent viscosity was sharply declined, rheological property was changed from pseudoplastic fluid into Newtonian fluid. The elastic modulus G' and the viscous modulus G'' were reduced, gel properties were decreased. Molecular weight was degraded, the molecular weight distribution was narrowed after the first widen. Structural parameters ρ was decreased, Mark-Houwink α value was increased. Solution conformation changed from highly branched structure into a random coil. The intrinsic viscosity $[\eta]$ was decreased. The solution had more compact conformation. The main infrared absorption peak did not changed, the main polysaccharide functional groups did not changed. DPPH radical scavenging and ferric reducing ability was increased, oxygen free radical scavenging capacity did not changed significantly, ability for promoting macrophage phagocytosis, proliferation, secrete NO were significantly increased.

Key words: polysaccharides; ultrasonic depolymerization; rheological property; solution conformation; antioxidant activity; immunoregulatory activity

收稿日期: 2016-03-16

作者简介: 夏强 (1992-), 男, 硕士研究生, 研究方向: 食品化学, E-mail: huakaijianwo2009@163.com。

* 通讯作者: 谢明勇 (1957-), 男, 博士, 教授, 研究方向: 食品化学、食品营养与安全, E-mail: myxie@ncu.edu.cn。

基金项目: 国家自然科学基金重点资助项目 (31130041); 国家自然科学基金资助项目 (31260364); 江西省教育厅青年科学基金项目 (GJJ11050); 食品科学与技术国家重点实验室青年骨干研究基金项目 (SKLF-QN-201107)。

中图分类号: TS201.2

文献标识码: A

文章编号: 1002-0306(2016)17-0081-06

doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2016.17.007

车前子为车前的干燥成熟种子,是我国传统中医用药之一,根据我国药典记载,车前子有“清热利尿通淋,渗湿止泻,明目,祛痰”的功效。车前子种皮含有的黏性多糖,是车前子的主要有效成分,常被称为车前子多糖或车前子胶^[1]。

活性多糖的分子量(Mw)对其生物活性有一定的影响,且存在满足多糖活性的最佳相对分子质量范围,通常较高分子量的多糖降解为较低分子量,能显著提高活性^[2]。最近的研究表明,超声波处理能够有效降低多糖溶液的粘度并提高其水溶性^[3]。超声处理可以降低多糖的分子量,进而影响流变性和凝胶性质;随着超声处理时间的延长,多糖凝胶力较弱,流变学特性发生明显的变化,流体性质逐步趋向于牛顿流体^[4]。

本课题组前期从大粒车前子中提取获得车前子多糖,主要含有木糖、阿拉伯糖、半乳糖、葡萄糖等单糖。大粒车前子多糖可以促进树突状细胞 DCs 的功能及表型的成熟,从而对机体的免疫功能起到促进作用,同时还可以形成弱凝胶起到增稠作用^[5-7]。胡婕伦研究发现通过微波及高压均质对车前子多糖进行降解,均能大幅度提高车前子多糖的生理活性^[8]。因此,本文拟在上述研究的基础上,探讨超声波对大粒车前子多糖的降解作用对于车前子多糖的流变性质、凝胶性质、溶液构象、抗氧化能力、巨噬细胞的免疫调节功能的影响,并为进一步探讨大粒车前子多糖及其降解后组分的结构和活性打下基础。对全面深入研究车前子的价值有着重要意义,也可为研究我省的特产资源做出贡献。

1 材料和方法

1.1 材料与仪器

大粒车前子 江西省吉安市永和县(经江西中医学院范崔生教授鉴定为车前 *Plantago asiatica* L. 的种子)。

小鼠巨噬细胞系 RAW264.7 上海中科院细胞库; LPS 脂多糖、DPPH、TPTZ、荧光黄、AAPH、Trolox 美国 Sigma 公司; DMEM 培养液、胎牛血清 美国 Gibco 公司; 一氧化氮(NO)试剂盒 南京建成生物有限公司。

ARES-2 流变仪 美国 TA 公司; Sonic VCX-800 超声波细胞粉碎机 美国 Sonic 公司; Wyatt GPC/SEC-MALS 多角度激光散射凝胶色谱联用系统 美国 Wyatt 公司; 全波长扫描式多功能读数仪 美国 Thermo 公司; Nicolet 5700 傅里叶红外仪 美国 Thermo 公司。

1.2 实验方法

1.2.1 超声波处理多糖 大粒车前子精制多糖制备^[9] (*Plantago asiatica* L. crude polysaccharide, PLCP): 取大粒车前子经乙醇浸泡,沸水浴提取,醇沉,经酶法, savage 法脱蛋白,透析冻干后制得。

超声处理方案在文献的基础上稍作修改^[10], 称

取大粒车前子精制多糖配成 10 mg/mL 水溶液取 8 mL 于反应容器,超声温度使用冰水浴控制,探头直径 7 mm,功率 300 W,探头插入液面下 1 cm。前期摸索发现超声 2 min 以上的大粒车前子多糖表观粘度均接近于 0,且不随剪切速率的变化而变化,故采用以下超声处理方案:脉冲时间 5 s,间隔时间 5 s,处理次数分别为 0, 3, 6, 12, 24, 冻干后得超声时间为 0, 15, 30 s, 1, 2 min 的大粒车前子多糖。

1.2.2 静态流变学性质测试 称取 1.2.1 所得的样品,加水溶解至浓度为 1%,静置 12 h,用 ARES-2 流变仪检测静态流变学性质。测定条件:直径 50 mm 不锈钢平板,测试温度 25 °C,剪切速率 1~1000 s⁻¹,夹具及样品台的距离(gap) 1 mm。测定超声波处理 0 s, 15 s, 30 s, 1 min, 2 min 的 1% 的车前子多糖溶液的表观粘度。

1.2.3 动态流变学测试 动态流变学性质测定:在线性粘弹区用 ARES-2 (50 mm 不锈钢平板, 25 °C) 流变仪测定不同超声时间下多糖的弹性模量 G'、粘性模量 G'' 及相位角正切 tan δ 随频率的变化。

1.2.4 HPSEC-MALLS 检测多糖分子量、分子量分布及多糖在水溶液中的构象参数 1.2.1 制得到的样品用流动相配制成 0.5 mg/mL 溶液,使用 Wyatt GPC/SEC-MALS 多角度激光散射凝胶色谱联用系统分析多糖的分子量,分子量分布及溶液构象。HPSEC 串联的检测器有多角度激光光散射检测器(MALLS, DAWN HELLEOS-II),粘度检测器(DP, ViscoStar-II),视差检测器(RI, Optilab T-rEX)。Model 1500HPLC 泵连接两个分析柱:SB-806HQ, SB-804HQ(Shodex OHPak, 8 mm × 300 mm, Showa Denko K.K., 日本)。色谱柱检测器温度保持在 45 °C,流动相为过了 0.45 μm 膜的 0.02% NaN₃ 水溶液,流速为 0.6 mL/min。ASTRA 6.1 software 采集和分析数据。

1.2.5 FI-IR 扫描多糖红外光谱 采用 Nicolet 5700 红外光谱仪测定红外光谱。取冻干样品 KBr 混均匀,压片,扫描的波长范围 4000~400 cm⁻¹。

1.2.6 DPPH 自由基清除能力检测 使用 96 孔板法分析样品的清除 DPPH 自由基能力^[11]。将 25 μL 0.5 mg/mL 超声前后的多糖样品或 Trolox 标准溶液加入到 96 孔板中,再对应加入 200 μL 350 mmol/L 的 DPPH 乙醇溶液,混合均匀后,避光静置 6 h,检测 517 nm 处吸光度值,甲醇作空白。绘制 Trolox 浓度对吸光度的标准曲线,多糖的自由基清除能力以每克样品对 Trolox 标准的当量(μmol TE/g)表示。所有实验三次平行,结果用平均值 ± 标准方差表示。

1.2.7 铁离子还原能力检测(FRAP) 使用 96 孔板法检测超声前后的的大粒车前子多糖的铁离子还原能力^[11]。新鲜的 FRAP (Ferric reducing antioxidant power) 试剂配制:将醋酸盐缓冲溶液(300 mmol/L, pH3.6)、TPTZ 溶液(40 mmol/L HCl 溶解、浓度 10 mmol/L)和 20 mmol/L 的 FeCl₃按体积比 10:1:1 混合。将 300 μL 新鲜的 FRAP 试剂与 10 μL 抗坏血

酸标品或多糖溶液,充分混匀,37 °C下孵育2 h,用酶标仪测定593 nm处的吸光度。FRAP用每克样品对每 μmol 抗坏血酸当量(μmol AAE/g)表示,所有实验重复三次,结果用平均值 \pm 标准方差表示。

1.2.8 氧自由基清除能力(ORAC) 氧自由基清除能力的检测方法在文献报道的方案基础上稍作调整^[12]。将25 μL 样品、Trolox、磷酸盐缓冲溶液(75 mmol/L, pH=7.4)加入96孔板,然后分别加入150 μL 荧光黄溶液(8.68×10^{-8} mol/L),混匀后37 °C孵育30 min。每孔加入25 μL APPH试剂(153 mmol/L)震荡10 s后,使用多功能酶标仪每分钟采集一次荧光强度(激发波长/发射波长=484/528 nm),持续2 h,得荧光强度变化曲线,ORAC值使用面积大小计算。氧自由基清除能力用每克样品对Trolox标准的当量(μmol TE/g)表示。所有实验三次平行,结果用平均值 \pm 标准方差表示。

1.2.9 细胞增殖能力 取对数生长期细胞,计数稀释至 $3.2 \times 10^4/\text{mL}$,接种于96孔板,每孔100 μL 。培养4 h后洗去未贴壁细胞,用50 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 超声0 s,15 s,30 s,1 min,2 min的多糖刺激细胞,同时设置1 $\mu\text{g}/\text{mL}$ LPS和不加多糖的空白对照组,培养24 h后加入CCK-8(10 $\mu\text{L}/\text{孔}$),培养箱中孵育2 h后,酶标仪检测其450 nm处吸光度值。

增殖率按下式计算:

细胞相对增殖率(%) = (实验组吸光度 - 对照组吸光度) / 对照组吸光度 \times 100

1.2.10 中性红吞噬能力 取细胞以 $8 \times 10^5/\text{mL}$ 浓度接种于96孔板,每孔100 μL 。分组和加多糖处理同1.2.8,培养24 h之后,弃去培养液并以PBS洗涤2次,加入10 mg/mL的中性红生理盐水溶液,继续培养30 min。倾去上清液,用PBS洗3遍,每孔加入细胞裂解液(乙醇:冰醋酸=1:1)100 μL ,室温下放置2 h,待细胞溶解后,在酶标仪上测定540 nm处吸光度。

吞噬率按下式计算:

细胞吞噬率(%) = (实验组A值 - 空白组A值) / (对照组A值 - 空白组A值) \times 100

1.2.11 NO分泌 取对数生长期细胞按每孔 5×10^5 个细胞加入96孔板,培养过夜,换液,加入多糖刺激24 h,吸上清,按照试剂盒说明书测NO含量。

2 结果与分析

2.1 静态流变学测试

图1为超声波解聚对多糖溶液表观粘度的影响,从测定的结果可以看出,超声波处理后浓度为1%的大粒车前子多糖表观粘度急剧下降,超声2 min后表观粘度接近于0。未经超声的大粒车前子多糖(0 s)表观粘度值很大,并随剪切速率的增大而急剧下降,出现剪切稀化现象,呈假塑性流体性质。随着超声处理的进行,表观粘度下降的同时,剪切速率对表观粘度影响越来越小,剪切稀化现象越来越不明显,当超声波处理时间达到1、2 min时,剪切速率对表观粘度基本上没有影响,表现牛顿性流体性质。

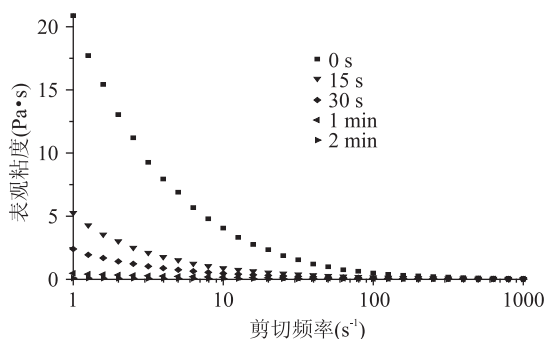


图1 超声波解聚对表观粘度的影响
Fig.1 Effect of Ultrasonic depolymerization on apparent viscosity of PLCP

2.2 动态流变学测试

多糖溶液具有粘弹性,PLCP在一定浓度下具有成胶性,可以用弹性模量 G' 、粘性模量 G'' ^[13]来反映凝胶强度。 G' 反映类固体性质, G'' 反映类液体性质。损耗角正切 $\tan \delta$ 是复合模量中粘性分量与弹性分量的比值。

图2为超声时间对PLCP弹性模量和损耗模量的影响,未处理的原样在所测的频率范围内, G' 大于 G'' , $\tan \delta$ 最小值约为0.1,随着频率的提高而迅速提高,说明PLCP为弱凝胶,这与文献报道相吻合^[14];超声时间延长, G' 与 G'' 下降至接近0,且对于频率的依赖性减小,说明多糖的凝胶性质发生了改变;随着超声时间的延长,弹性模量 G' 比粘性模量 G'' 下降的更快,损耗角正切 $\tan \delta$ 大幅度提高,多糖从开始的弹性模量 G' 占优势逐渐变成粘性模量 G'' 占优势。

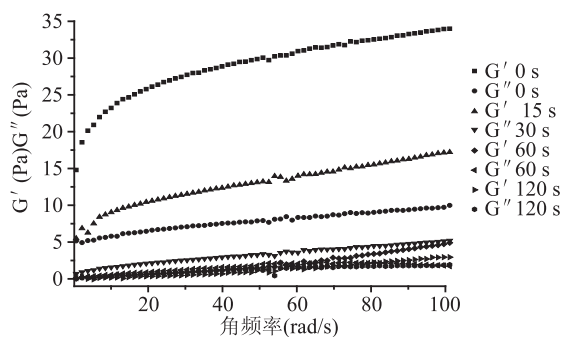


图2 超声时间对PLCP的弹性模量 G' 和粘性模量 G'' 的影响
Fig.2 Effect of ultrasonic duration on elastic modulus(G') and viscous modulus(G'') on PLCP

2.3 HESEC-MALS分析超声波降解车前子多糖分子量分布与溶液构象的变化

HESEC-MALS是在传统光散射基础上发展出来的分析高分子溶液的一种技术,它不仅可以检测高分子绝对分子量 M_w 和回旋半径 R_g ,还可以分析分子量分布和分子的形状。

数据见表1,超声后多糖分子量急剧下降,超声2 min后多糖分子量从 3.870×10^6 u下降到了 0.651×10^6 u;超声后多糖的多分散性指数(M_w/M_n)先增大后减小说明多糖的分子量分布也是先变宽后变小。分子量下降可能是因为超声使多糖分子链发生了断裂,超声处理刚开始时由于产生的分子量较小

的断裂片段造成分子量分布变宽,而随着超声的继续进行,多糖分子断裂的更加细碎所以分子量分布更加平均,所以多分散系数随着超声时间的延长先增大后减小。

结构参数 ρ ($\rho = R_g/R_h$) 是反映聚合物构象的重要参数^[15]。对于均匀球状构象, $\rho < 1$; 对于柔性的线性无规线团, $\rho = 2.05$; 对于高支化得的无规结构, ρ 会超过 2; ρ 远大于 2 时, 为刚性链^[16]。由结果可知, 多糖的流体力学半径 R_h 、回旋半径 R_g 在超声处理之后均有下降, 说明超声后多糖在水溶液中的聚集状态被破坏。文献报道了超声、加热、加碱、加盐等消除多糖在溶液中聚集的方法, 其中超声、加热、加碱可以部分降解多糖^[17]。PLCP 的 ρ 为 2.400, 属于高支化结构, 超声后 ρ 下降, 超声 2 min 多糖的 ρ 为 2.042 为线性无规线团构象。

HPSEC 串联 RI、MALLS、DP 检测器, 可对所测定的样品建立 M_w 与 $[\eta]$ 、 R_g 的关系并通过 Mark-Houwink 公式建立关系: $[\eta] = KM^\alpha$, 算得的 α 值见表 1。 α 在 0.5~0.8 之间, 分子为柔性的无规线团, $\alpha < 0.3$ 时, 多糖为球状结构, 而高支化结构的 α 一般在 0.20~0.34 之间^[18]。多糖 α 值为 0.354, 表明车前子多糖为典型的高支化结构^[19]。经过超声, α 值逐渐增大, 超声 30 s、1 min、2 min 的多糖 α 值均在 0.5~0.8 之间, 说明超声使多糖构象向无规线团转变。

对于大分子的多糖分子结构, 特性粘度 $[\eta]$ 越大表明结构越伸展^[20], 超声后 PLCP 的特性粘度下降, 说明超声使多糖分子链的构象更加紧凑。

结合多糖结构参数 ρ 、 α 值、特性粘度超声前后的变化, 可以知道超声后多糖发生了降解, 其在溶液中的聚集状态被破坏, 分子构象从舒展的高支化结构向无规则线团转变。这可能是超声过程中, 多糖分子链断裂和超声时产生的剧烈扰动破坏多糖分子间的氢键从而破坏了分子的聚集状态共同造成的。

2.4 红外光谱

超声降解前后多糖主要官能团的变化通过 FT-IR 进行分析, 分析结果见图 3。可看出, 1042.1 cm^{-1} 处的强吸收为吡喃糖还的伸缩动。 903.1 cm^{-1} 附近的吸收峰表示末端糖苷键为 β 型。 1616.1 cm^{-1} 吸收峰, 表明糖醛酸的存在。 3393.0 cm^{-1} 处的吸收峰为 C-H 伸缩震动。 2927.2 cm^{-1} 和 1419.5 cm^{-1} 也是 C-H 伸缩震动。可以看出车前子多糖超声前后主要红外吸收峰保持一致, 说明超声波降解后, 多糖的结构变

化并没有涉及到其主要官能团。

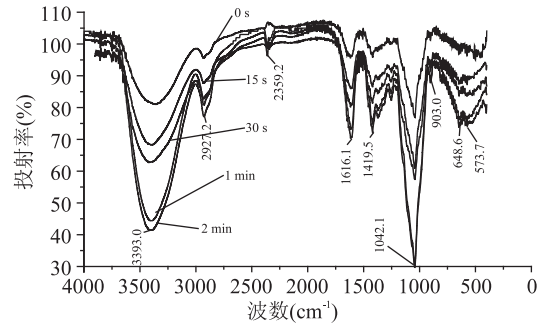


图3 超声对大粒车前子多糖红外图谱的影响

Fig.3 Effect of ultrasonic duration on FT-IR spectra of PLCP

2.5 超声降解对大粒车前子多糖抗氧化能力的影响

结果如图 4 所示, 未超声的大粒车前子多糖在 DPPH 自由基能力、铁离子还原能力、氧自由基清除能力三个评价体系中均具有良好的抗氧化能力, 与之前的报道一致^[9]。超声降解之后, 车前子多糖的抗氧化能力均有一定的提升。

超声 30 s、1 min、2 min 的多糖的 DPPH 与超声前相比有显著提高; 超声 15 s、30 s、1 min、2 min 样品的 FRAP 值比超声前均有显著提高; 超声后样品的 ORAC 值虽然有所提升, 但是差异不显著。

超声能够显著提高大粒车前子多糖的 DPPH 自由基清除能力, 铁离子还原能力, 对 ORAC 的影响并不显著。

2.6 超声降解对大粒车前子多糖体外免疫活性的影响

为了研究超声前后多糖对 RAW264.7 巨噬细胞的刺激作用, 本实验采用 CCK-8 法检测多糖对细胞增殖的影响。从图 5A, 表明超声降解 15 s、30 s、1 min、2 min 均能使大粒车前子多糖促进巨噬细胞增殖的能力显著提高。

巨噬细胞是宿主抵御外源性感染及防止癌症发生的第一道防线, 吞噬是巨噬细胞抵御外源性物质侵袭的第一步。采用中性红吞噬实验检验巨噬细胞的吞噬功能。由图 5B 可知, 超声可以使多糖促进细胞吞噬中性红的能力增强, 且当超声时间到 1 min 和 2 min 时, 具有显著性差异。

NO 是巨噬细胞产生的主要效应分子, 发挥非特异性免疫的细胞毒效应, 由图 5C 可知, 超声 30 s、

表 1 HPSEC-MALS 测得的降解前后车前子多糖溶液分子参数

Table 1 Molecular parameters detected with SEC-MALS

超声时间	重均分子量 M_w (10^6 u)	数均分子量 M_n (10^6 Da)	多分散系数 (M_w/M_n)	流体力学半径 R_h (nm)	回旋半径 R_g (nm)	结构参数 (R_g/R_h)	特性粘度 [η] (l/g)	马克·豪温 α 参数
0 s	3.870	2.446	1.582	96.264	231.0	2.400	1.301	0.354
15 s	2.472	1.168	2.117	74.457	167.4	2.248	1.003	0.427
30 s	1.667	0.877	1.902	61.157	134.4	2.198	0.809	0.549
1 min	1.007	0.561	1.794	47.131	97.1	2.060	0.604	0.656
2 min	0.651	0.421	1.558	37.211	76.0	2.042	0.444	0.753

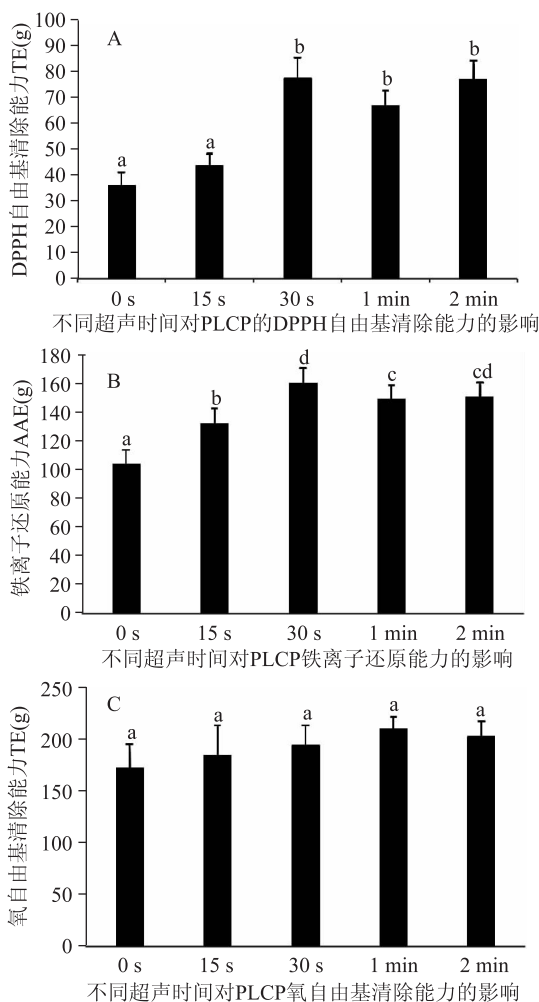


图4 不同超声时间的大粒车前子多糖的抗氧化能力
Fig.4 The antioxidant activities of PLCP

with different ultrasonic duration

注:采用 LSD 法多重比较,

凡无相同字母均为差异显著($p < 0.05$)。

1 min、2 min 可以显著提高多糖促进巨噬细胞分泌 NO 的能力。

3 结论与讨论

超声波降解聚合物,主要是利用了超声波的空化效应和自由基效应。超声波破坏液体结构平衡,产生空穴,而空穴坍塌引起周围液体产生微射流,微射流与聚合物摩擦产生的剪切力引起降解^[21]。空穴变化产生的强烈的温度变化和局部高压,同时为自由基的产生提供了条件。

本实验通过对超声前后的大粒车前子多糖溶液进行流变学测试,红外光谱,分子量及分子量分布,溶液构象参数进行测定,发现:超声波解聚能够降低车前子多糖溶液表观粘度,减弱剪切稀化现象,使流体的性质从假塑性流体性质向牛顿型流体性质转变;超声降解会降低大粒车前子多糖粘性模量、弹性模量,使其从弹性模量占优势转变成粘性模量占优势,从而改变多糖的成胶性质;超声使大粒车前子多糖分子量降低,分子量分布发生变化;超声后流体力学半径 R_h 、回旋半径 R_g 均下降,说明多糖在溶液中的聚集状态被破坏;超声前后 ρ ($\rho = R_g/R_h$)、Mark-

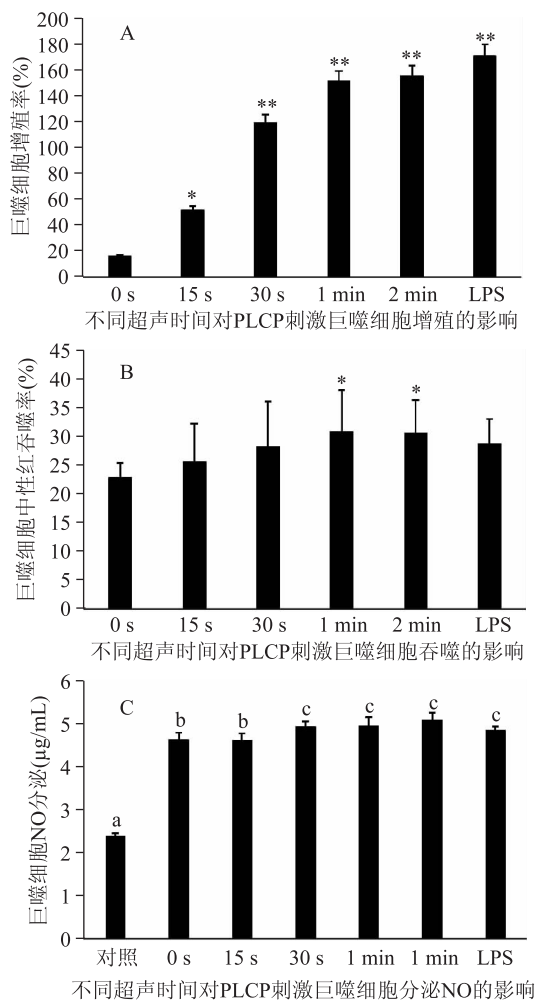


图5 超声时间对 PLCP 刺激 RAW264.7 细胞能力的影响
Fig.5 Effect of ultrasonic duration on capability of

stimulate RAW264.7 of PLCP

注:A、B:与 0 s 对比,*表示差异显著($p < 0.05$),

**表示差异极显著($p < 0.01$).C:采用 LSD 法多重比较,

凡无相同字母均为差异显著($p < 0.05$)。

Houwink 公式得到的 α 值、特性粘度 $[\eta]$ 的变化表明,超声使大粒车前子多糖在溶液中的构象从高支化结构向柔性的无规则线团转变。通过对多糖抗氧化活性及对巨噬细胞 RAW264.7 的活性评价,结果表明大粒车前子多糖具有良好的抗氧化活性,对巨噬细胞的免疫活性,且经过超声均有显著提高。

本研究通过对大粒车前子多糖超声解聚的研究,为进一步研究分析大粒车前子多糖及其解聚产物各组分的活性打下了基础,同时为高粘度多糖的解聚研究提供了参照。而对于车前子多糖解聚各组分的理化性质及其生理活性,仍需要进一步研究。

参考文献

- [1] 王隶书,李明洋,宋柏林,等.车前子多糖研究进展[J].时珍国医国药,2012(2):460-462.
- [2] 孙群,阚健全,赵国华,等.活性多糖构效关系研究进展[J].广州食品工业科技,2004(1):104-106.
- [3] Wang Z, Cheung Y, Leung P, et al. Ultrasonic treatment for improved solution properties of a high-molecular weight exopolysaccharide produced by a medicinal fungus [J].

Bioresource Technology, 2010, 101(14):5517-5522.

[4] Seshadri R, Weiss J, Hulbert G J, et al. Ultrasonic processing influences rheological and optical properties of high-methoxyl pectin dispersions [J]. Food Hydrocolloids, 2003, 17(2): 191-197.

[5] 江乐明, 黄丹菲, 聂少平, 等. 大粒车前子多糖对树突状细胞分泌不同类型细胞因子的影响[J]. 南昌大学学报(工科版), 2011(4):343-347.

[6] 黄丹菲. 植物活性多糖对小鼠树突状细胞和巨噬细胞功能的调节作用[D]. 南昌: 南昌大学, 2009.

[7] Fischer M H, Yu N, Gray G R, et al. The gel-forming polysaccharide of psyllium husk (*Plantago ovata* Forsk) [J]. Carbohydrate Research, 2004, 339(11):2009-2017.

[8] 胡捷伦. 大粒车前子多糖体内外消化与酵解特征体系构建及其促进肠道健康的作用[D]. 南昌: 南昌大学, 2014.

[9] 周超. 车前子多糖的分离纯化及其功能性质研究[D]. 南昌: 南昌大学, 2007.

[10] Zhang L, Ye X, Ding T, et al. Ultrasound effects on the degradation kinetics, structure and rheological properties of apple pectin [J]. Ultrasonics Sonochemistry, 2013, 20(1):222-231.

[11] Wang S, Meckling K A, Marcone M F, et al. Synergistic, Additive, and Antagonistic Effects of Food Mixtures on Total Antioxidant Capacities [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2011, 59(3):960-968.

[12] Huang D, Ou B, Hampsch-Woodill M, et al. High-throughput assay of oxygen radical absorbance capacity (ORAC)

using a multichannel liquid handling system coupled with a microplate fluorescence reader in 96-well format [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2002, 50(16):4437-4444.

[13] 殷军艺. 大粒车前子多糖生物活性、结构和构象特征研究及多糖分离纯化新方法初探[D]. 南昌: 南昌大学, 2012.

[14] 殷军艺. 大粒车前子多糖生物活性、结构和构象特征研究及多糖分离纯化新方法初探[D]. 南昌: 南昌大学, 2012.

[15] Burchard W. Light scattering techniques [M]//Physical techniques for the study of food biopolymers. Springer, 1994: 151-213.

[16] Burchard W. Light scattering from polysaccharides [J]. Polysaccharides: Structural Diversity and Functional Versatility, 2005:189-236.

[17] Guo Q, Wang Q, Cui S W, et al. Conformational properties of high molecular weight heteropolysaccharide isolated from seeds of *Artemisia sphaerocephala* Krasch [J]. Food Hydrocolloids, 2013, 32(1):155-161.

[18] 李盛, 许淑琴, 张俐娜. 菌类多糖链构象及其表征方法研究进展[J]. 高分子学报, 2010(12):1359-1375.

[19] Harding S E, Abdelhameed A S, Morris G A. On the hydrodynamic analysis of conformation in mixed biopolymer systems [J]. Polymer International, 2011, 60(1):2-8.

[20] Cui S W. Food carbohydrates: chemistry, physical properties, and applications [M]. CRC Press, 2005.

[21] 张丽芬. 果胶多糖超声波定向降解途径及机理研究[D]. 杭州: 浙江大学, 2013.

(上接第79页)

cadmium biosorption from aqueous solutions using calcined oyster shells [J]. Journal of Environmental Management, 2015, 150: 103-110.

[5] 苏鹂, 伍钧, 杨刚, 等. 改性白果壳对水溶液总重金属镉的吸附研究[J]. 农业环境科学学报, 2014, 33(6):1218-1225.

[6] 张怡. 中国花生生产布局变化研究[D]. 北京: 中国农业大学, 2015.

[7] 俞力家, 李强, 王天贵. 花生壳粉末活性炭成型工艺研究[J]. 化学工程师, 2010, 182(11):13-14, 33.

[8] 黄翔, 宗浩, 陈文祥, 等. 花生壳对水溶液中铜离子的吸附特性[J]. 四川师范大学学报, 2007, 30(3):380-383.

[9] 郭学益, 梁莎, 冯宁川, 等. 巯基乙酸改性橘子皮对 Cu^{2+} 的吸附性能[J]. 环境科学学报, 2009, 29(9):1905-1910.

[10] 郭学益, 梁莎, 肖彩梅, 等. MgCl_2 改性柑橘皮对水溶液中重金属离子的吸附性能[J]. 中国有色金属学报, 2011, 21(9): 2270-2276.

[11] Ho Y S, McKay G. The Kinetics of sorption of basic dyes from aqueous solution by sphagnum moss peat [J]. Can J Chem Eng, 1998, 76(4):822-827.

[12] Langmuir I. The adsorption of gases on plane surfaces of glass, mica and platinum [J]. Journal of American Chemistry Society, 1918, 40(9):1361-1403.

[13] Freundlich H M F. Über die adsorption in Lösungen [J]. Z Phys Chem, 1906, 57:385-470.

[14] 孟启, 舒斌斌, 周峰, 等. 胺化聚苯乙烯树脂的制备及吸附对硝基酚[J]. 化工进展, 2015, 34(6):1714-1719.

[15] GB 11914-89, 化学需氧量的测定-COD标准测定法[S].

[16] 刘文霞, 李佳昕, 王俊丽, 等. 改性泡桐树叶吸附剂对水

中铅和镉的吸附特性[J]. 农业环境科学学报, 2014, 33(6): 1226-1232.

[17] 郭学益, 肖彩梅, 梁莎, 等. 改性柿子粉吸附剂对 Cd^{2+} 的吸附性能[J]. 中南大学学报, 2012, 43(2):412-416.

[18] 苏鹂, 伍钧, 杨刚, 等. 改性白果壳对水溶液总重金属镉的吸附研究[J]. 农业环境科学学报, 2014, 33(6):1218-1225.

[19] 彭小明, 傅大放, 秦庆东. 竹炭表面改性对两种抗生素吸附性能的影响[J]. 东南大学学报, 2014, 44(6):1271-1276.

[20] Khorraei M, Nasemejad B, Edrisi M. Copper biosorption from aqueous solutions by sour orange residues [J]. Journal of Hazardous Materials, 2007, 149(2):269-274.

[21] Krishnani K K, Meng X, Christodoulatos C, et al. Biosorption mechanism of nine different heavy metals onto biomatrix from rice husk [J]. Journal of Hazardous Materials, 2008, 153(3): 1222-1234.

[22] Kweon D K, Choi J K, Kim E K, et al. Adsorption of divalent metal ions by succinylated and oxidized corn starches [J]. Carbohydrate Polymer, 2001, 46(2):171-177.

[23] Areco M M, Saleh-Medina L, Trinelli M A, et al. Adsorption of Cu (II), Zn (II), Cd (II) and Pb (II) by dead *Avena fatua* biomass and the effect of these metals on their growth [J]. Colloids and Surfaces B, 2013, (110):305-312.

[24] Vaughan T, Seo C W, Marshall W E. Removal of selected metal ions from aqueous solution using modified cornbobs [J]. Bioresource Technology, 2001, 78(2):133-139.

[25] Reddad Z, Gernte C, Andres Y, et al. Adsorption of several metal ions onto a low-cost biosorbent: kinetic and equilibrium studies [J]. Environmental Science and Technology, 2002, 36(9): 2067-2073.