显齿蛇葡萄种皮中花色苷及多糖体外抗氧化活性评价

杨丽丽,石治敏,焦思棋,吴少锦,邹荣灿,余正文*
(贵州师范大学生命科学学院,贵州贵阳 550001)

摘　要:研究显齿蛇葡萄种皮中花色苷及多糖的体外抗氧化活性。分别采用 pH 示差法、紫外可见光分光光度法测定花色苷含量、多糖含量;考察花色苷、多糖对羟基自由基(·OH)、超氧阴离子自由基(O_2^-·)、DPPH 自由基(DPPH·)的清除能力。结果显示花色苷和多糖对 DPPH 自由基的 IC_{50} 值顺序为多糖(0.06 mg/mL) > 花色苷(0.09 mg/mL) > V_C(0.15 mg/mL);·OH、O_2^-·和 DPPH·的 IC_{50} 与花色苷含量之间的相关系数分别为-0.987($p<0.05$)、-0.958($p<0.05$)和-0.995($p<0.01$),而与多糖含量不显著相关。因此,显齿蛇葡萄种皮花色苷及多糖均具有较好的清除 DPPH 自由基能力,尤其是多糖的清除能力最强;花色苷含量及其清除 DPPH 自由基活性之间呈极显著相关性($p<0.01$)。

关键词:显齿蛇葡萄种皮,花色苷,多糖,抗氧化活性

Evaluation of antioxidant activity *in vitro* of anthocyanins and polysaccharides in the seed coat of *Ampelopsis grossedentata*

YANG Li-li, SHI Zhi-min, JIAO Si-qi, WU Shao-jin, ZOU Rong-can, YU Zheng-wen*
(School of Life Sciences, Guizhou Normal University, Guiyang 550001, China)

Abstract: To research antioxidant activity *in vitro* of anthocyanins and polysaccharides in the seed coat of *Ampelopsis grossedentata*. The contents of anthocyanins and polysaccharides were determined by pH differential spectrophotometry and UV visible spectrophotometry respectively. To investigate the scavenging ability of anthocyanins and polysaccharides to ·OH, O_2^-· and DPPH·. It turned out that the order of anthocyanins and polysaccharides on the value of IC_{50} of DPPH· was polysaccharides (0.06 mg/mL) > anthocyanins (0.09 mg/mL) > V_C (0.15 mg/mL). The correlation coefficent of the values of IC_{50} of ·OH, O_2^-· and DPPH· and the content of anthocyanins were -0.987 ($p<0.05$), -0.958 ($p<0.05$) and -0.995 ($p<0.01$), but were not significantly correlated with the content of polysaccharides. Anthocyanins and polysaccharides had better scavenging ability of DPPH·, especially the ability of polysaccharide. It was significant correlation between the content of anthocyanin and its scavenging activity of DPPH radical ($p<0.01$).

Key words: seed coat of *Ampelopsis grossedentata*; anthocyanins; polysaccharides; antioxidant activity
中图分类号:TS255　　**文献标识码**:A　　**文 章 编 号**:1002-0306(2017)16-0065-05
doi:10.13386/j.issn1002-0306.2017.16.013

显齿蛇葡萄[*Ampelopsis grossedentata* (Hand.-Mazz.) W.T.Wang]为葡萄科显齿蛇葡萄属植物[1],具有清热解毒、祛风湿、强筋骨等功效[2]。显齿蛇葡萄嫩叶经杀青、揉捻、烘干而成的类茶饮料藤茶,具有消炎、镇疼、止咳、祛痰、降血压、降脂、抗肿瘤和保肝护肝的功效[3]。花色苷是广泛存在于自然界中的一种植物色素,作为天然食用色素,无毒、无害,资源丰富,具有一定的营养价值和药理作用,在食品、化妆品、医药领域都有巨大的应用价值[4]。多糖分布于自然界高等植物、藻类、微生物与动物体内,是生物有机体的重要组成成分,具有抗氧化[5-6]、抗病毒[7-8]、抗肿瘤[9]以及免疫调节活性。

目前,所用的抗氧化剂大多为人工合成,对人体具有潜在的危害[10]。天然抗氧化剂来源于植物,无毒无害,安全可靠。花色苷、多糖具有抗炎,增强免疫活性,抗衰老等作用[11-12],可作为天然抗氧化剂。国内外主要集中于对显齿蛇葡萄叶花色苷、多糖的提取分离、稳定性分析及生物活性等方面的研究[13-14],对种皮的研究鲜有报道。本文测定显齿蛇葡萄种皮中花色苷、多糖的含量,并测定其体外抗氧化活性,为显齿蛇葡萄种皮后续综合利用提供依据。

收稿日期:2016-12-20
作者简介:杨丽丽(1990-),女,硕士研究生,研究方向:药用植物的开发与利用,E-mail:18198217620@163.com。
*通讯作者:余正文(1973-),男,博士,教授,研究方向:药用植物的开发与利用,E-mail:yuzhengwen2001@126.com。
基金项目:国家自然科学基金(31460068);贵州省教育厅自然科学研究项目(黔教合 KY 字[2015]335)。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

显齿蛇葡萄种皮 1 号为原产地母株果实(贵州省贞丰县挽澜乡窑上村,海拔:1299 m),2~4 号均为母株扦插后栽培 1 年的子株果实(贵州省兴仁县新龙场镇大屯村科研基地,海拔:1434 m),-18 ℃保存备用;维生素 C 青岛贺阳化玻有限公司;硫酸亚铁 济宁宏明化学试剂有限公司;30% 的双氧水溶液 天津市东丽区华明街北于堡工业小区;水杨酸 成都联禾化工医药有限责任公司;EDTA 重庆化学试剂总厂;三羟甲基氨基甲烷 南京化学试剂总厂;盐酸 广西浙创化工有限公司;连苯三酚 湖南洪江棓雅生物科技有限公司;DPPH 合肥博美生物科技有限公司;葡萄糖 天津市鲁鑫化工科技有限公司;以上试剂 均为分析纯。

KQ-500DE 型超声波清洗器 昆山市超声仪器有限公司;分析天平(十万分之一) 梅特勒一托利多仪器有限公司;超纯水系统 LAB-BIOGEN 倍捷科技;电子恒温不锈钢水浴锅 上海宜昌仪器纱筛厂;EYELA N1001 旋转蒸发仪 BIOGEN 倍捷科技;UV759CRT 紫外可见分光光度计 上海佑科仪器仪表有限公司。

1.2 实验方法

1.2.1 显齿蛇葡萄种皮花色苷、多糖的提取 显齿蛇葡萄种皮分别为 1 号、2 号、3 号、4 号共四个样品。

1.2.1.1 花色苷的提取 分别称取显齿蛇葡萄种皮样品 15.0000 g,加入 150 mL 提取剂($V_{乙醇}$:$V_{盐酸}$:$V_{水}$=60:1:39),于 35 ℃下浸提 2 h,抽滤,减压浓缩得浸膏[15],50 mL 容量瓶定容,待用。

1.2.1.2 多糖的提取 分别称取显齿蛇葡萄种皮样品 15.0000 g,加适量石油醚加热提取 2 h,抽滤得脱脂种皮。按 1:10 的料液比加蒸馏水,功率 250 W 超声提取 30 min,重复超声提取 3 次,合并滤液,减压浓缩得浸膏[16],50 mL 容量瓶定容,待用。

1.2.2 花色苷含量测定 采用 pH 示差法[17]测定花色苷含量。分别用 KCl-HCl 缓冲液(0.025 mol/L,pH=1.0)和乙酸钠-HCl 缓冲液(0.4 mol/L,pH=4.5)稀释至适当倍数(使 pH=1.0 时的吸光度在 0.2~0.7 之间),放置 15 min 后,于波长 520 nm 处测定吸光度。计算公式如下:

$$\text{花色苷含量(mg/100 g)} = \frac{(A_{\text{pH1}}-A_{\text{pH4.5}})\times 449.29\times DF\times V}{26900\times m\times 1}\times 100$$

式中:449.29 是矢车菊-3-葡萄糖苷的摩尔质量(g/mol);DF 是稀释倍数;V 是提取溶剂的体积(mL);26900 是矢车菊-3-葡萄糖苷的摩尔消光系数(L·mol/cm);m 是显齿蛇葡萄的质量(g);1 是比色皿的光路长度(cm)。

1.2.3 多糖含量的测定

1.2.3.1 多糖标准曲线绘制 采用紫外可见光分光光度法测定多糖含量。精密吸取 0.2031 mg/mL 葡萄糖标准溶液 0.0、0.1、0.2、0.3、0.4、0.5、0.6 mL 分置于具塞试管中,加蒸馏水至体积为 2.0 mL,再加 5% 的苯酚 1.0 mL,迅速摇匀后滴加浓硫酸 5.0 mL,置沸水浴中加热 15 min,取出冷却至室温。于 490 nm 处测吸光度,绘制葡萄糖标准曲线。实验得标准回归曲线方程:A=12602c+0.0459,R^2=0.9998。式中:A 为多糖的吸光度;c 为多糖浓度,mg/mL。

1.2.3.2 多糖含量测定 精密量取多糖提取液,稀释至实验所需浓度(0.01、0.10、0.30、0.50、1.00、1.50、2.00 mg/g),按照 1.2.3.1 方法测定。

1.2.4 羟自由基清除能力的测定 参照文献[18],向试管中依次加入 2.0 mL、6 mmol/L 硫酸亚铁溶液、2.0 mL 不同浓度(0.01、0.10、0.30、0.50、1.00、1.50、2.00 mg/g)的花色苷、多糖或 V_C 溶液,2.0 mL、6 mmol/L双氧水溶液,混匀,静置 10 min。再 2.0 mL、6 mmol/L水杨酸溶液,混匀,静置 30 min,测定其在 510 nm 处的吸光值 $A_{样品}$;以蒸馏水取代水杨酸溶液,测定 $A_{对照}$;以蒸馏水取代花色苷、多糖溶液或 V_C 溶液,测定 $A_{空白}$。

$$\cdot OH\text{ 清除率(\%)} = \frac{1-(A_{样品}-A_{对照})}{A_{空白}}\times 100$$

1.2.5 超氧阴离子自由基清除能力的测定 参照文献[19],取 2.95 mL Tris-HCl 缓冲液(含 1×10^{-3} mol/L EDTA,pH=7.4)于比色皿中,再加入 0.05 mL、60 mmol/L连苯三酚溶液,立即混匀,以 Tris-HCl 缓冲液为参比,每隔 0.5 min 测定 325 nm 处吸光度 A_t,至 5 min 为止。取 0.03 mL 不同浓度(0.01、0.10、0.30、0.50、1.00、1.50、2.00 mg/g)花色苷、多糖或 V_C 溶液,再加 2.92 mL Tris-HCl 缓冲液和 0.05 mL 连苯三酚溶液,立即混匀,以相同方法测定 $A_{花,t}$ 和 $A_{V_C,t}$。做直线回归分析,得到斜率 V_0 为连苯三酚自氧化速率、V 为花色苷、多糖和 V_C 清除 $O_2^-\cdot$ 的速率。按照下式计算清除率。

$$O_2^-\cdot\text{清除率(\%)} = \frac{V_0-V}{V_0}\times 100$$

1.2.6 DPPH 自由基清除能力的测定 参照文献[20],取 2.0 mL、不同浓度(0.01、0.10、0.30、0.50、1.00、1.50、2.00 mg/g)花色苷、多糖或 V_C 溶液分别与 2.0 mL 的 DPPH·乙醇溶液(0.2000 mmol/L)、蒸馏水混合均匀,室温避光静置 1 h,测定其在 517 nm 处的吸光值 $A_{样品}$ 和 $A_{空白}$;再将 2.0 mL DPPH·乙醇溶液与等体积蒸馏水混匀,以相同方法测定 $A_{对照}$。

$$\text{DPPH 清除率(\%)} = \frac{1-(A_{样品}-A_{空白})}{A_{对照}}\times 100$$

1.3 数据处理

实验数据分别由 Excel,Origin 9.0 和 SPSS 软件处理。

2 结果与讨论

2.1 花色苷、多糖含量

经测定 1 号、2 号、3 号、4 号四个样品的花色苷含量分别为 0.79、1.05、1.35、1.02 mg/g;多糖含量分别为 106.3、101.5、91.2、99.9 mg/g。研究表明,一般随海拔高度的增加,紫外线加强,果实着色度和着色率明显提高[21]。而多糖的代谢积累与海拔高度关系要复杂些,如人参多糖的量随海拔的升高而增加

(100~800 m);人参多糖的量随海拔的升高而减少(1200~1450 m)[22]。本研究的海拔高度内(1200~1450 m),花色苷含量随海拔高度的增加而增加;多糖的含量随海拔高度的增加而减小。

2.2 羟自由基清除能力

显齿蛇葡萄花色苷、多糖提取物对·OH 的清除能力见图1、图 2。

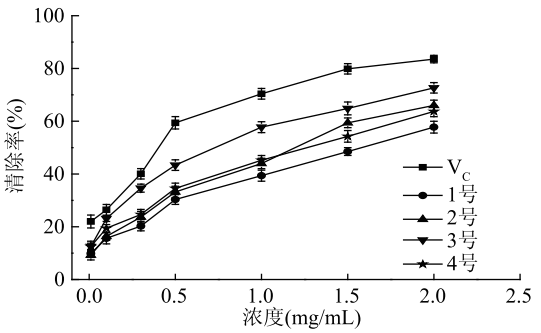

图 1 花色苷对羟自由基清除能力

Fig.1 Scavenging activity of anthocyanins to hydroxy radical

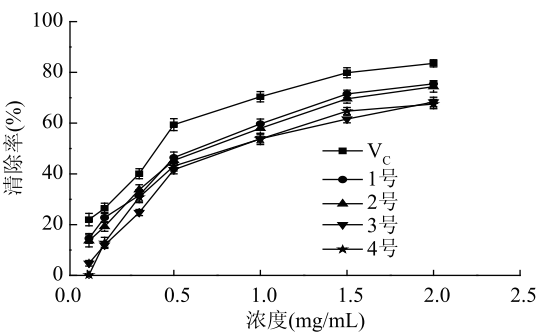

图 2 多糖对羟自由基清除能力

Fig.2 Scavenging activity of polysaccharides to hydroxy radical

从图 1、图 2 可以看出:在实验浓度范围内,显齿蛇葡萄花色苷、多糖提取物对·OH 均有清除能力,且随着浓度的增加,清除率也随之增加,都低于 V_C。且花色苷、多糖含量越高,·OH 清除能力越强。

2.3 超氧阴离子自由基清除能力

显齿蛇葡萄花色苷、多糖提取物对 O_2^-·的清除能力见图3、图 4。

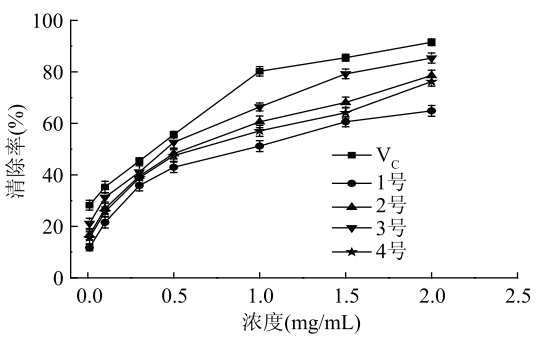

图 3 花色苷对超氧阴离子自由基清除能力

Fig.3 Scavenging activity of anthocyanins to superoxide

从图 3、图 4 可以看出:在实验浓度范围内,显齿蛇葡萄花色苷、多糖提取物对 O_2^-·均有清除能力,且随着浓度的增加,清除率也随之增加,但都低于 V_C;花色苷、多糖的含量越高,清除 O_2^-·自由基的能力越强。

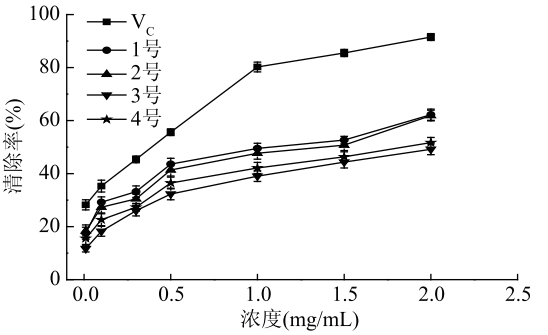

图 4 多糖对超氧阴离子自由基清除能力

Fig.4 Scavenging activity of polysaccharides to superoxide

2.4 DPPH 自由基清除能力

显齿蛇葡萄花色苷、多糖提取物对 DPPH·的清除能力见图5、图 6。

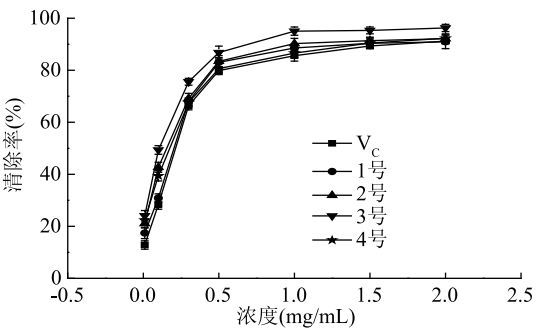

图 5 花色苷对 DPPH 自由基清除能力

Fig.5 Scavenging activity of anthocyanins to DPPH radical

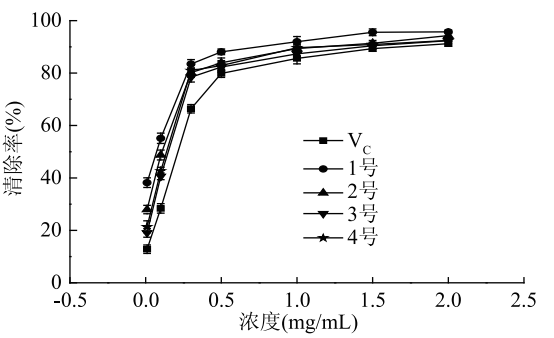

图 6 多糖对 DPPH 自由基清除能力

Fig.6 Scavenging activity of polysaccharides to DPPH radical

从图 5、图 6 可以看出,在实验浓度范围内,显齿蛇葡萄花色苷、多糖提取物对 DPPH·均有清除能力,且随着浓度的增加,清除率也随之增加,均高于 V_C。当浓度为 0.5 mg/mL 时,清除率均高于 80%;且花色苷、多糖的含量越高,DPPH·的清除能力越强。

2.5 花色苷、多糖含量及各模型的 IC_{50} 值

从表 1 可以看出,显齿蛇葡萄种皮中花色苷、多糖的含量与其抗氧化能力存在一定关系,花色苷、多糖的含量越高,IC_{50} 值越小,抗氧化能力越强。花色苷对三个抗氧化模型的 IC_{50} 顺序为 DPPH· > O_2^-· > ·OH,多糖对三个抗氧化模型的 IC_{50} 顺序为 DPPH· > ·OH > O_2^-·;多糖和花色苷对同一抗氧化模型的抗氧化活性各不相同,对·OH 自由基的 IC_{50} 顺序为 V_C > 多糖 > 花色苷,对 O_2^-·自由基的 IC_{50} 顺序为 V_C > 花

表1 花色苷、多糖含量及各模型的 IC_{50} 值

Table 1 Contents of anthocyanins and polysaccharides and value of IC_{50} of each model

测定值	花色苷					V_C	多糖				
	1	2	3	4	平均		1	2	3	4	平均
含量(mg/g)	0.79	1.05	1.35	1.02	1.06		106.30	101.50	91.20	99.90	99.73
IC_{50}值(·OH,mg/mL)	1.91	1.12	0.60	1.27	1.21	0.26	0.51	0.56	0.86	0.79	0.68
IC_{50}值(O_2^-·,mg/mL)	0.79	0.42	0.27	0.50	0.49	0.16	0.99	1.21	2.88	2.45	1.88
IC_{50}值(DPPH·,mg/mL)	0.12	0.09	0.06	0.09	0.09	0.15	0.03	0.06	0.09	0.08	0.06

色苷 > 多糖,对 DPPH 自由基的 IC_{50} 顺序为多糖 > 花色苷 > V_C,表明花色苷及多糖具有较好的清除 DPPH 自由基能力,尤其是多糖的清除最强。

2.6 花色苷、多糖含量与 IC_{50} 值的相关性分析

花色苷含量与羟基自由基的 IC_{50} 值和超氧阴离子自由基的 IC_{50} 值在 0.05 水平上显著相关,与 DPPH 自由基的 IC_{50} 值在 0.01 水平上显著相关;多糖含量与羟基自由基、超氧阴离子自由基和 DPPH 自由基的 IC_{50} 值相关性不显著。

表2 花色苷、多糖含量与 IC_{50} 值相关性(Pearson 系数)

Table 2 Correlation of the content of anthocyanin and polysaccharide and IC_{50} value(coefficient of pearson)

含量	IC_{50}值(·OH)	IC_{50}值(O_2^-·)	IC_{50}值(DPPH·)
花色苷含量	−0.987*	−0.958*	−0.995**
多糖含量	−0.880	−0.885	−0.899

注:** 表示在 0.01 水平(双侧)上显著相关;* 表示在 0.05 水平(双侧)上显著相关。

总之,显齿蛇葡萄种皮花色苷、多糖对·OH、O_2^-·和 DPPH·均有较强的清除能力,并呈剂量依赖性,显示出较强的抗氧化活性。然而,显齿蛇葡萄种皮花色苷、多糖对不同模型的抗氧活性有所差别,尤其以 DPPH 自由基的清除活性最好,这可能与各模型的抗氧化机理不同有关。

3 结论

本研究首次测定显齿蛇葡萄种皮中花色苷、多糖含量,对花色苷、多糖进行清除羟自由基、超氧阴离子自由基和 DPPH 自由基能力测定,并与 V_C 对照来评价花色苷、多糖的体外抗氧化能力。当花色苷、多糖的浓度在 0.01~2.00 mg/mL 范围时,其清除自由基能力与浓度存在量效关系;花色苷与 DPPH 自由基清除活性之间呈极显著负相关($p < 0.01$);显齿蛇葡萄种皮花色苷、多糖对 DPPH 自由基的清除能力优于 V_C,显示出较好的抗氧化活性,可用于开发天然抗氧化剂。

参考文献

[1]张友胜,杨伟丽,熊皓平.显齿蛇葡萄基本成分研究[J].天然产物研究与开发,2001,13(5):46-48.

[2]谭沙,罗静,李建新,等.藤茶研究进展[J].安徽农业科学,2015,43(31):71-73.

[3]侯小龙,王文清,施春阳,等.二氢杨梅素药理作用研究进展[J].中草药,2015,46(4):603-609.

[4]林欢,李修英,杜健,等.花色苷的研究进展[J].中国老年学杂志,2014(20):5917-5919.

[5] Hang Z, Wang X, Zhao M, et al. Optimization of polysaccharides extraction from Clematis huchouensis Tamura and its antioxidant activity[J].Carbohyd Polym, 2014, 111C(20): 762-767.

[6] Wang Z, Zhou F, Quan Y. Antioxidant and immunological activity *in vitro* of polysaccharides from Phellinus nigricans mycelia[J].Int J Biol Macromol,2013,99(2):139-143.

[7] Uvaanjav S, Shuqin H, Komata M, et al. Isolation and antiviral activity of water - soluble Cynomorium songaricum Rupr. Polysaccharides[J].J Asian Nat Prod Res, 2016, 18(2): 159-171.

[8] Nacher-Vazquez M, Ballesteros N, angeles Canales, et al. Dextrans produced by lactic acid bacteria exhibit antiviral and immunomodulatory activity against salmonid viruses[J].Carbohyd Polym,2015,124:292-301.

[9] Ke M, Wang H, Zhang M, et al. The anti-lung cancer activity of SEP is mediated by the activation and cytotoxicity of NK cells via TLR2/4 *in vivo*[J]. Biochem Pharmacol, 2014, 89(1): 119-130.

[10]乔凤云,陈欣,余柳青.抗氧化因子与天然抗氧化剂研究综述[J].科技通报,2006,22(3):332-336.

[11]黄韵璇,李海峰,黄泽波.天然药物抗氧化活性物质研究进展[J].广东药学院学报,2016,32(4):532-536.

[12]凌关庭.抗氧化食品与健康[M].北京:化学工业出版社,2004:1-58.

[13]杨依函,蒋燕群,漆姣媚,等.超声波辅助乙醇法提取显齿蛇葡萄总黄酮的工艺研究[J].怀化学院学报,2015,34(11):7-11.

[14]肖浩,郑小江.响应面法优化发酵藤茶黄酮和多糖的提取工艺[J].湖北民族学院学报:自然科学版,2013,(2):132-137.

[15]贾娜,孔保华,张洪涛.黑加仑花色苷的提取及抗氧化活性研究[J].食品科学,2011(16):162-166.

[16]许春平,杨琛琛,郑坚强,等.植物叶多糖的提取和生物活性综述[J].食品研究与开发,2014(14):111-114.

[17]唐琳,李子江,赵磊,等.两种 pH 法测定玫瑰花花色苷含量的比较[J].食品科学,2009,30(18):310-313.

[18] Shine K, Thankappan S R, Jamal M K, et al. Invitro antibacterial, antifungal, antioxidant and functional properties of Bacillus amyloliq-uefaciens[J]. Annals of Clinical Microbiology and Antimicrobials,2015,14(1):9.

(下转第 87 页)

反映菌株在宿主内的粘附情况。

本研究通过构建 *prtP* 基因缺失的突变株 21858Δ,测定其基本生物学特性,发现突变株和亲本株生长曲线类似,说明 *prtP* 基因编码的细胞膜蛋白酶 lactocepin 并不影响菌株的生长。突变株自凝聚率在各个时间点都低于亲本株,且时间越长差距越明显。但本实验中低粘附率的突变株却显示出较高的疏水率,21858Δ 的疏水率为 44.1% ±1.5%,大于 21858 疏水率 23.9% ±0.62%。通过小肠粘液粘附实验 21858 的小肠粘液粘附率 4.638% ± 0.23%,21858Δ 的小肠粘液粘附率 3.665% ± 0.45%。且 21858Δ 对肠粘液的粘附性明显低于 21858($p < 0.05$)。细胞粘附实验也能直观看到在敲除 *prtP* 基因后,对巨噬细胞和脾脏细胞的粘附力下降,提示 *prtP* 基因编码细胞膜蛋白酶 lactocepin 对干酪乳杆菌的粘附能力有重要作用。乳酸菌的粘附能力是筛选益生菌的重要标准。接下来,将通过体内粘附实验及免疫学实验进一步确定 *prtP* 基因与干酪乳杆菌粘附性的关系并探讨相关免疫机制。

参考文献

[1]尹胜利,杜鉴,徐晨.乳酸菌的研究现状及应用[J].食品科技,2012,37(9):25-29.

[2]汪建明,赵仁国,肖东光.高活性干酪乳杆菌粉末发酵剂的初步研究[J].天津科学大学学报,2005,20(2):9-13.

[3]高微娟,张富新,魏怡等.干酪乳杆菌对羊酸奶特性及品质的影响[J].陕西师范大学学报:自然科学版,2011,39(1):98-102.

[4]Seegers J.*Lactobacilli* as live vaccine delivery vectors:progress and prospects [J]. Trends Biotechnology, 2002, 20 (12): 508-515.

[5]刘桂芳.嗜酸乳杆菌和干酪乳杆菌 β-半乳糖苷酶和蛋白水解活性的研究[D].呼和浩特:内蒙古农业大学,2004.

[6]Tuomola EM, Ouwehand AC, Salminen SJ, et al. Chemical, physical and enzymatic pre-treatments of probotc *Lactobacilli* alter their adhesion to human intestinal nlocus glycoproteins[J]. International Journal of Food Microbiology,2000,60(1):75-81.

[7]Habimana O,Le Goff C,Juillard V,et al.Positive role of cell wall anchored proteinase *prtP* in adhesion of *Lactococci*[J].BMC Microbiology,2007,7(1):36.

[8] Von Schillde MA, Hormannsperger G, Weiher M, et al. *Lactocepin* Secreted By Lactobacliius Exert Anti-Inflammatory Effects By Selectively Degrading Proinflammatory Chemokines [J]. Cell Host & Microbe,2012,11(4):387-396.

[9]Ling J,Pan H,Gao Q,et al.Aerobactin synthesis genes iucA and iucC contribute to the pathogenicity of avian pathogenic *Escherichia coli* O_2 strain E058[J].PLos One,2013,8(2):1-10.

[10]冯会贤,梅星星,蒋瑞瑞,等.禽用乳酸菌的筛选与功能鉴定[J].西北农林科技大学学报:自然科学版,2016(9):35-41.

[11]Li X J,Yue L Y,Guan X F,et al.The adhesion of putative probiotic *Lactobacilli* to cultured epithelial cells and porcine intestinal mucus[J].Journal of Applied Microbiology,2008,104(4):1082-1091.

[12]Rahman M M,Kim W S,Kumura H,et al.Autoaggregation and surface hydrophobicity of *Bifidobacteria*[J].World Journal of Microbiology and Biotechnology,2008,24(8):1593-1598.

[13]Balcazar J L,Vendrell D.*In vitro* competitive adhesion and production of antagonistic compounds by lactic acid bacteria against fish pathogens [J]. Veterinary Microbiology, 2007, 122 (3):373-380.

[14]Vesterlund S,Ouwehand A C,Palttta J,et al.Measurement of bacterial adhesion *in vitro* evaluation of different methods[J]. Journal of Microbiological Methods,2005,60(2):225-233.

[15]靳彩娟.高粘附性乳酸菌的筛选、鉴定及表面疏水性特性研究[D].扬州:扬州大学,2013:27-28.

[16]Scharzammaretti P,Ubbink J.The Cell Wall of lactic acid bacteria:Surface Constituents and Macromolecular Conformations [J].Biophysical Journal,2003,85(6):4076.

[17]Carasi P,Trejo F M,Pérez P F,et al.Surface proteins from *Lactobacillus kefir*, antagonize invitro, cytotoxic effect of Clostridium difficile, toxins [J]. Anaerobe, 2012, 18 (1): 135-142.

[18]杨振泉,靳彩娟,张咪,等.高粘附性戊糖片球菌的筛选、标记及表面疏水性与自凝聚特性[J].食品与生物技术学报,2015,34(9):927-933.

[19]Ouwehand A,Kirjavainen P,Grnlund M,et al. Adhesion of probiotic micro-organisms to intestinal mucus[J].Int Dairy J, 1999,9(9):623-630.

[20] Del Re B, Sgorbati B, Miglioli M, et al. Adhesion, autoaggregation and hydrophobicity of 13 strains of *Bifidobacterium longum* [J]. Letters in Applied Microbiology, 2000,31(6):438-442.

[21]戴卓捷,杨光明,汪正清.细菌粘附素的分子结构和装配机制[J].微生物学免疫学进展,2001,29(3):55-59.

(上接第 68 页)

[19]Li X C.Improved pyrogallol autoxidation method:a reliable and cheap superoxide-scavenging assay suitable for all antioxidants[J].Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2012,60(25):6418-6424.

[20] Alessandra C P, Daniel G, Neiva D R. Extraction of anthocyanins and polyphenols from black rice(Oryza sativa L.)by modeling and assessing their reversibility and stability[J].Food Chemistry,2016,191:12-20.

[21]刘树文,何玲,任玉华.葡萄果实中花色素合成及其影响因素[J].中外葡萄与葡萄酒,1999(2):79-81.

[22]王寅秀,赵岩,陈文学,等.海拔高度对人参多糖量的影响[J].中草药,2011(4):796-798.