

鸡腿菇多糖硫酸酯化条件的优化及抗氧化活性研究

李国荣^a, 刘娜女^b, 张 静^a, 李建科^a

(陕西师范大学 a 食品工程与营养科学学院, b 物理与信息技术学院, 陕西 西安 710062)

[摘 要] 【目的】研究硫酸酯化修饰对鸡腿菇多糖(WPC)抗氧化活性的影响,为天然抗氧化剂的开发利用提供理论依据。【方法】采用氯磺酸-吡啶法,制备硫酸酯化多糖(SWPC);以取代度为指标,采用单因素试验对制备 SWPC 的酯化条件进行优化;采用邻苯三酚自氧化法和邻二氮菲-金属铁离子-H₂O₂体系,研究 SWPC 的体外抗氧化活性。【结果】最佳酯化条件为:酯化试剂体积比(V(氯磺酸):V(吡啶))1:3,反应温度 90 ℃,反应时间 2 h。SWPC 对羟自由基和超氧阴离子自由基均具有清除能力;与 WPC 相比,SWPC 清除羟自由基的能力显著提高,但清除超氧阴离子自由基的能力有所下降。【结论】SWPC 对羟自由基和超氧阴离子自由基均具有一定的清除能力,但对不同基团的敏感性差异明显。

[关键词] 鸡腿菇;多糖;硫酸酯化;抗氧化活性

[中图分类号] R284.5;Q505

[文献标识码] A

[文章编号] 1671-9387(2010)11-0127-07

Optimization on the sulfated modification of polysaccharides from *Coprinus comatus* and evaluation of antioxidant activity

LI Guo-rong^a, LIU Na-nü^b, ZHANG Jing^a, LI Jian-ke^a

(a Collage of Food Engineering and Nutritional Science, b College of Physiscs and Information,

Shaanxi Normal University, Xi'an, Shaanxi 710062, China)

Abstract: 【Objective】The effects of Sulfated modification on Polysaccharides from *Coprinus comatus* were studied to provide a basis for natural antioxidants' development. 【Method】Polysaccharides from *C. comatus* extracted by hot-water(WPC) was sulfated as the chlorosulfonic acid-Pyridine method. According to the degree of substitution, single factor experiment was operated to optimizing the sulfated modificia-tion. The effects of sulfated *C. comatus* polysaccharides(SWPC) on superoxide anion radicals and scavenging hydroxyl radicals were determined by pyrogallol autoxidation and phenanthroline-metal iron-H₂O₂ system respectively. 【Result】The result showed that 1:3 volume ratio of chlorine sulfonic acid and pyri-dine, 90 ℃, 2 h were the optimum conditions. The effects on both scavenging hydroxyl radicals and super-oxide anion radicals could be shown evidently. Compared with WPC, the effect of SWPC on scavenging hy-droxyl radicals had been improved a lot, while diminished on scavenging superoxide anion radicals. 【Conclu-sion】SWPC can scaveng both hydroxyl radicals and superoxide anion radicals, but the sensitive effects on them are quite different.

Key words: *Coprinus comatus*; polysaccharide; sulfation; antioxidant activity

* [收稿日期] 2010-04-14

[基金项目] 国家自然科学基金资助项目(10874108);陕西省自然科学基金基础研究计划资助项目(SJ08A16);陕西师范大学校级大学生创新性实验基金资助项目

[作者简介] 李国荣(1985—),女,山西交城人,在读硕士,主要从事食品营养与卫生研究。E-mail:lgr@stu.snnu.edu.cn

[通信作者] 张 静(1959—),女,陕西西安人,副教授,硕士生导师,主要从事食品及天然药物化学研究。

E-mail:zhangjin@snnu.edu.cn

鸡腿菇(*Coprinus comatus*)学名毛头鬼伞,又名鸡腿蘑,属真菌门、担子菌亚门、层菌纲、伞菌目、鬼伞科、鬼伞属,因其形如鸡腿、味似鸡丝而得名,是近年来人工开发生产的一种具有商业潜力的珍稀食用菌新品^[1-2]。

鸡腿菇多糖是鸡腿菇中的有效活性成分,生物学效应和应用前景非常广阔。余杰等^[3]从鸡腿菇子实体中提取纯化多糖,对多糖结构进行了初步光谱分析;Fang 等^[4]从鸡腿菇菌丝体中提取出水溶性多糖,并确定了其化学结构。刑福国等^[5]研究发现,鸡腿菇发酵液胞外多糖和胞内多糖,对小鼠腹腔巨噬细胞的吞噬活性和过氧化物酶活性具有一定的刺激作用;李师鹏等^[6]证明,鸡腿菇多糖具有较高的免疫活性和抗肿瘤活性。此外,鸡腿菇子实体含有治疗糖尿病的有效成分^[7]。目前,关于鸡腿菇多糖的研究主要集中在药用学价值、发酵培养条件和分离提纯等方面,而有关鸡腿菇多糖的化学结构修饰以及抗氧化活性等生理活性作用的研究还较少。

关于多糖结构修饰在赋予或增强天然多糖的活性、降低某些药物的毒副作用等方面的研究,已取得了一定进展^[8]。通过化学修饰,将某些功能基团引入多糖中,进而研究其构效关系和活性中心,对多糖类资源的开发和利用具有重要意义。硫酸酯化是多糖修饰的重要方法之一,即在水多糖链上引入硫酸基,形成聚阴离子化合物,增加分子质量,并且使多糖的立体构象发生变化,进而产生广泛的生物学效应,如抗病毒、抗肿瘤、抗艾滋病等。氯磺酸-吡啶法是硫酸酯化最常用的方法之一,具有产物回收方便的特点^[9-12]。

本研究对鸡腿菇多糖(WPC)硫酸酯化修饰条件进行了优化,并研究了硫酸酯化鸡腿菇多糖(SW-PC)清除超氧阴离子自由基和羟自由基的能力,以期了解化学修饰对多糖抗氧化活性的影响,为鸡腿菇多糖及其衍生物的抗氧化机理和天然抗氧化剂的开发利用提供相关的理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

1.1.1 材料 鸡腿菇多糖,由陕西师范大学食品分析检测实验室制备。

1.1.2 试剂 主要试剂包括吡啶、氯磺酸、二甲基甲酰胺、硫酸钾、氢氧化钠、无水乙醇、盐酸、三氯乙酸、氯化钡、明胶、邻苯三酚、三羟甲基氨基甲烷、邻二氮菲、磷酸氢二钾、磷酸二氢钾、 FeSO_4 、双氧水

等,均为分析纯。

1.2 仪器

U-3010 Spectrophotometer 紫外分光光度计,日本日立公司制造;E-52AA 型旋转蒸发仪,上海亚荣生化仪器厂生产;LXJ-II B 型低速大容量多管离心机,上海安亭科学仪器厂生产;ALPHA 1-4 型真空冷冻干燥机,德国 CHRIST 公司生产;HH-S4 型电热恒温水浴锅,北京科伟永型仪器有限公司生产;Avatar360E. S. P. FTIR 型傅立叶变换红外光谱仪,尼高力仪器公司生产。

1.3 试验方法

1.3.1 SWPC 的制备 采用氯磺酸-吡啶法制备硫酸酯化多糖^[13]。将吡啶加入附有冷凝管和搅拌装置的 50 mL 三颈瓶中,冰浴冷却和搅拌条件下,用分液漏斗慢慢滴入氯磺酸,约 30 min 内滴加完毕。温度保持在常温以下,待烧瓶中出现大量淡黄色固体时,撤去冰水浴。用 30 mL 二甲基甲酰胺溶解 0.5 g 鸡腿菇多糖,然后将样品加入三颈瓶中,并在水浴下恒温搅拌一定时间。冷却至室温,加入 50 mL 冰水,用 2.5 mol/L NaOH 调至中性,加入 3 倍体积无水乙醇静置过夜,离心收集沉淀,并将沉淀溶于适量蒸馏水中,用去离子水透析 3 d,透析液冷冻干燥即得到 SWPC。

1.3.2 SWPC 的红外光谱分析 采用傅立叶红外光谱扫描,将 2.0 mg SWPC 与 KBr 研磨后压片,在 $500\sim 4\,000\text{ cm}^{-1}$ 区间进行扫描。

1.3.3 硫酸基含量的测定 硫酸基的含量与产物的生物活性功能有直接关系,因此,准确、可靠地分析测定 SWPC 中的硫酸基含量非常重要。

1) 硫酸基含量标准曲线的绘制。采用氯化钡浊度法测定硫酸基含量^[14]。称取于 $105\text{ }^{\circ}\text{C}$ 干燥至恒质量的硫酸钾 108.75 mg,用 1 mol/L 盐酸定容至 100 mL,得到 0.6 mg/mL 的硫酸基标准溶液;同时配制 30 g/L 三氯乙酸溶液和氯化钡-明胶溶液(氯化钡 10 g/L,明胶 5 g/L)。分别准确吸取硫酸基标准溶液 0.08, 0.16, 0.24, 0.32 和 0.40 mL,各以 HCl 溶液补至 0.40 mL,以 0.40 mL HCl 溶液作为空白;向上述各管中分别加入三氯乙酸 7.6 mL 和氯化钡-明胶溶液 2.0 mL,摇匀;室温静置 15 min,于波长 360 nm 处测定吸光值 A_1 ;再以相同体积的 5 g/L 明胶溶液代替氯化钡-明胶溶液,依上法操作,于波长 360 nm 处测定吸光值 A_2 。以 $x(x=A_1-A_2)$ 对硫酸基含量(y)做标准曲线(图 1)。经检测,硫酸基含量(y)标准曲线线性良好,线性回归方程为:

$y=4.827\ 4x+0.001\ 2,R^2=0.998\ 8$ 。

2)硫酸基含量的测定^[15]。精确称取 SWPC 250 mg,溶于 250 mL 盐酸(1 mol/L)中,100 ℃水浴 3 h,按 1.3.3(1)中的方法,在波长 360 nm 处测定吸光值 A1 和 A2,然后按照硫酸基含量的线性回归方程,计算 SWPC 中的硫酸基含量。

取代度(DS)的计算公式为:

$$DS=(1.62\times S)/(32-1.02\times S)。$$

式中,S 为样品中硫酸基的百分含量。

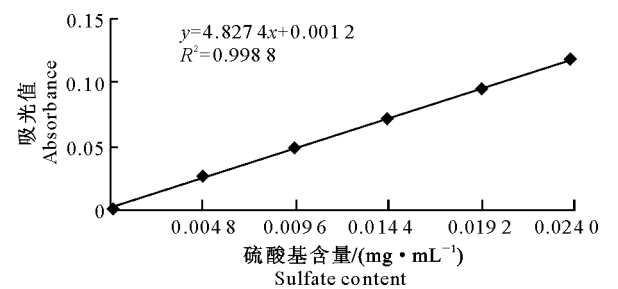


图 1 硫酸基含量的标准曲线

Fig. 1 Standard curve of sulfate content

1.3.4 酯化条件的优化 1)酯化试剂体积比对

表 1 邻苯三酚自氧化法加样表					
Table 1 Protocol of pyrogallol autoxidation system					
测试管 Test tube	0.5 mmol/L Tris-HCl/mL	蒸馏水/mL Distilled water	80 mmol/L 邻苯三酚/mL 80 mmol/L Pyrogallol	多糖样液/mL Polysaccharides sample	总体积/mL Total volume
空白管 Blank tube	4.5	0.5	—	—	5
对照管 Competitive tube	4.5	0.4	0.1	—	5
样品管 Sample tube	4.5	—	0.1	0.4	5

2)对羟自由基的清除能力。采用邻二氮菲-金属铁离子-H₂O₂ 体系(表 2)测定^[19],体系中 WPC 和 SWPC 的质量浓度分别为 1,2,4,6,8 mg/mL。其原理为通过 Fenton 反应生成羟自由基,促使邻二氮菲-Fe²⁺ 被氧化为邻二氮菲-Fe³⁺,造成其水溶液

表 2 邻二氮菲-金属铁离子-H ₂ O ₂ 体系加样表						
Table 2 Protocol of the phrnanthroline-metal iron-H ₂ O ₂ system						
测试管 Test tube	pH7.4 PBS/mL	5.0 mmol/L 邻二氮菲/mL 5.0 mmol/L 1,10-Phenanthroline	7.5 mmol/L FeSO ₄ /mL	1 g/kg H ₂ O ₂ /mL	多糖样液/mL Polysaccharides sample	蒸馏水/mL Distilled water
空白管 Blank tube	2.0	—	—	—	—	8.0
未损伤管 Undamaged tube	2.0	1.5	1.0	—	—	5.5
损伤管 Damaged tube	2.0	1.5	1.0	1.0	—	4.5
样品管 Sample tube	2.0	1.5	1.0	1.0	1.0	3.5

2 结果与分析

2.1 鸡腿菇多糖硫酸酯化条件的优化

2.1.1 酯化试剂体积比对 SWPC 取代度的影响

由图 2 可以看出,随着酯化试剂体积比由 1 : 1 到 1 : 3,再到 1 : 5,SWPC 取代度呈先升高后下降的

SWPC 取代度的影响。按照 1.3.1 中的方法,调节酯化试剂体积比(V(氯磺酸) : V(吡啶))分别为 1 : 1,1 : 3,1 : 5,在反应温度 90 ℃和反应时间 3 h 条件下,测定不同酯化试剂体积比下硫酸酯化多糖的取代度。

2)反应温度对 SWPC 取代度的影响。按照 1.3.1 中的方法,将酯化试剂体积比和反应时间分别设定为 1 : 3 和 3 h,反应温度为 50,70,90 ℃,测定不同温度下硫酸酯化多糖的取代度。

3)反应时间对 SWPC 取代度的影响。按照 1.3.1 中的方法,将酯化试剂体积比和反应温度分别设定为 1 : 3 和 90 ℃,分别反应 1,2,3 h,测定不同反应时间下硫酸酯化多糖的取代度。

1.3.5 SWPC 抗氧化活性的测定^[16] 1)对超氧阴离子(O₂⁻)自由基的清除能力。采用邻苯三酚自氧化法(表 1)^[17-18],测定波长 320 nm 处 1,2,4,6,8 mg/L WPC 和 SWPC 对邻苯三酚自氧化的抑制作用,表征其对超氧阴离子自由基的清除能力。

清除率/%=[(对照自氧化速率-样品自氧化速率)/对照自氧化速率]×100。

表 1 邻苯三酚自氧化法加样表					
Table 1 Protocol of pyrogallol autoxidation system					
测试管 Test tube	0.5 mmol/L Tris-HCl/mL	蒸馏水/mL Distilled water	80 mmol/L 邻苯三酚/mL 80 mmol/L Pyrogallol	多糖样液/mL Polysaccharides sample	总体积/mL Total volume
空白管 Blank tube	4.5	0.5	—	—	5
对照管 Competitive tube	4.5	0.4	0.1	—	5
样品管 Sample tube	4.5	—	0.1	0.4	5

在波长 510 nm 处最大吸收峰消失,以此测算其清除率。羟自由基清除率的计算公式为:

羟自由基清除率/%=[(A_{样品}-A_{损伤})/(A_{未损}-A_{损伤})]×100。

以上指标均测定 3 次,取其平均值。

表 2 邻二氮菲-金属铁离子-H ₂ O ₂ 体系加样表						
Table 2 Protocol of the phrnanthroline-metal iron-H ₂ O ₂ system						
测试管 Test tube	pH7.4 PBS/mL	5.0 mmol/L 邻二氮菲/mL 5.0 mmol/L 1,10-Phenanthroline	7.5 mmol/L FeSO ₄ /mL	1 g/kg H ₂ O ₂ /mL	多糖样液/mL Polysaccharides sample	蒸馏水/mL Distilled water
空白管 Blank tube	2.0	—	—	—	—	8.0
未损伤管 Undamaged tube	2.0	1.5	1.0	—	—	5.5
损伤管 Damaged tube	2.0	1.5	1.0	1.0	—	4.5
样品管 Sample tube	2.0	1.5	1.0	1.0	1.0	3.5

变化趋势。酯化试剂体积比为 1 : 3 时,SWPC 取代度较高。氯磺酸是亲电试剂,提供硫酸基团,其用量会对产物的取代度产生一定影响。酯化试剂体积比为 1 : 1~1 : 3 时,取代度随着氯磺酸用量的减少而增大;之后,反应体系中氯磺酸含量继续减少,酯化不完全,进而导致 SWPC 的取代度呈下降趋势。

2.1.2 反应温度对 SWPC 取代度的影响 由图 3 可以看出,随着反应温度的升高,SWPC 的取代度先降低后升高。反应温度为 90 ℃时,SWPC 的取代度

较高,为 1.174。这是因为在一定温度范围内,随着反应温度的升高,分子运动速度加快,取代反应的几率增加,故 SWPC 的取代度增大。

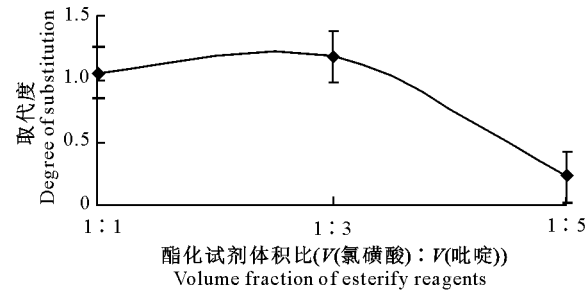


图 2 酯化试剂体积比对 SWPC 取代度的影响

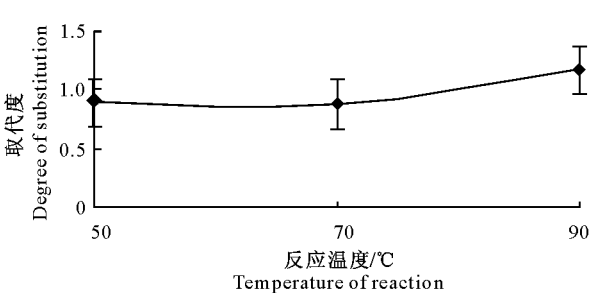


图 3 反应温度对 SWPC 取代度的影响

Fig. 2 Effects of esterify reagents on DS of SWPC
2.1.3 反应时间对 SWPC 取代度的影响 由图 4 可以看出,随着反应时间的增加,SWPC 取代度先上升后下降,其中反应时间为 2 h 时取代度较高,为 1.733。可见在一定的时间范围内,反应时间越长,反应越充分;但随着反应时间的不断延长,负反应增加,进而降低 SWPC 的取代度。

Fig. 3 Effects of temperature on DS of SWPC
收峰,以及 1 240 cm⁻¹ 附近—O—SO₃ 的 S=O 伸缩振动吸收峰,可以定性判断鸡腿菇多糖残基上已经连接了硫酸基团^[20]。

2.2 最优条件下制备的 SWPC 的红外光谱表征

在酯化试剂体积比为 1 : 3、反应时间 2 h、反应温度 90 ℃的条件下,制备得 SWPC- I ,测定其红外光谱,结果见图 5。由图 5 可知,糖链上主要取代基的特征谱为分子间、内氢键使糖羟基在波长3 600~3 200 cm⁻¹处出现一宽峰。根据红外光谱图在波长 860~800 cm⁻¹处糖环 C—O—S 伸缩振动的特征吸

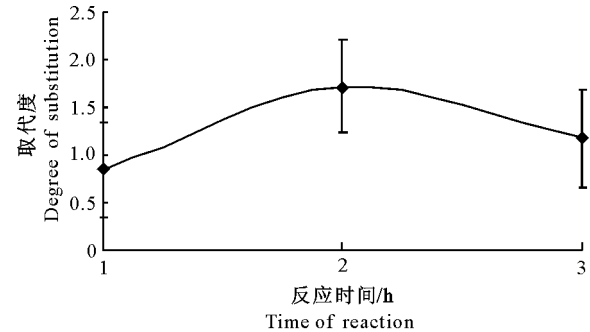


图 4 反应时间对 SWPC 取代度的影响

Fig. 4 Effects of time on DS of SWPC

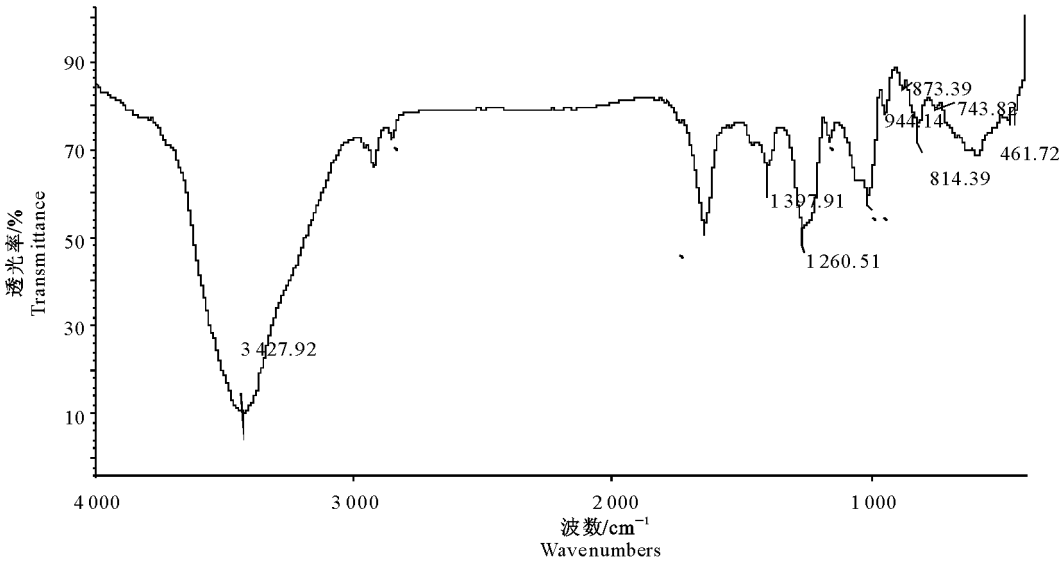


图 5 SWPC- I 的红外光谱

Fig. 5 The IR spectrum of SWPC- I

2.3 硫酸酯化鸡腿菇多糖的抗氧化活性

测定最优硫酸酯化条件下制备的 SWPC 的抗氧化活性,结果见图 6 和图 7。

2.3.1 对超氧阴离子(O₂⁻)自由基的清除能力 超

氧阴离子自由基(O₂⁻)是基态氧接受 1 个电子后形成的第 1 个氧自由基,会攻击各种细胞、器官并使之受伤,从而加速机体老化,诱发各种疾病。

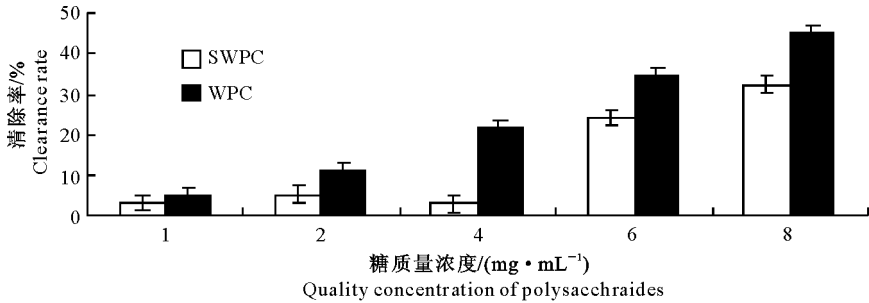


图 6 SWPC 和 WPC 对超氧阴离子自由基的清除率
Fig. 6 Rate of scavenging superoxide anion radicals of SWPC and WPC

图 6 表明,WPC 和 SWPC 均有清除超氧阴离子自由基的能力,在一定范围内均表现出剂量依赖性关系,即抗氧化性随着糖质量浓度的增加而增大,其中当 WPC 和 SWPC 的质量浓度为 8 mg/mL 时,清除率均较高,分别为 45.1%和 32.43%。在质量浓度相同时,SWPC 的清除能力小于 WPC,可能是

由于引入硫酸基产生了空间效应,使多糖构象不舒展,羟基被包裹,致使游离基团减少,活性降低所致。
2.3.2 对羟自由基的清除能力 羟自由基是最活泼、反应速度最快的活性氧自由基,能杀死红细胞,降解 DNA,直接损伤各种生物膜,对机体造成严重危害^[21]。

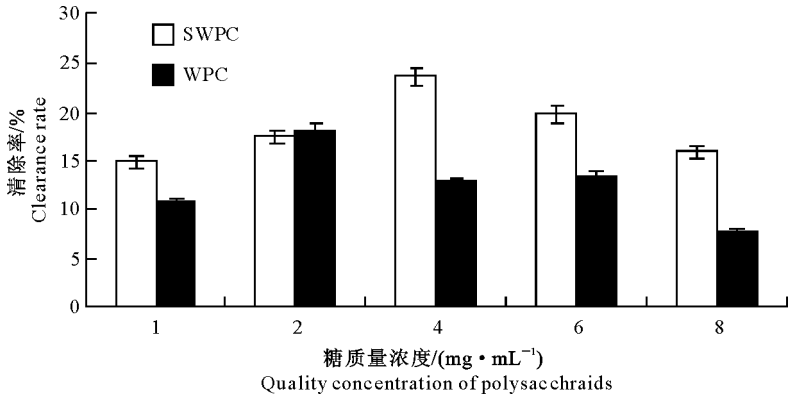


图 7 SWPC 和 WPC 对羟自由基的清除率
Fig. 7 Rate of scavenging hydroxyl radicals

由图 7 可知,WPC 和 SWPC 均有清除羟基自由基的能力。除质量浓度为 2 mg/mL 外,SWPC 对羟自由基的清除作用均大于 WPC,这是因为鸡腿菇多糖链中引入了硫酸基,使糖分子极性增大,溶解度增加,黏度降低,从而增强了与 ·OH 的结合能力。随着糖质量浓度增加,WPC 和 SWPC 对羟自由基的清除能力呈先升高后降低的变化趋势,分别在糖浓度为 2 和 4 mg/mL 时清除率最大,为 18.03%和 23.55%。

3 结论与讨论

本研究采用氯磺酸-吡啶法制取 SWPC,取代度

较理想且产物回收方便。通过单因素试验对硫酸酯化条件进行优化,结果表明,以取代度为考察指标,最佳优化条件为:酯化试剂体积比(V(氯磺酸):V(吡啶))为 1:3,反应温度 90 ℃,反应时间 2 h。
超氧阴离子自由基和羟自由基是最具代表性的活性氧自由基^[22]。SWPC 对羟自由基和超氧阴离子自由基均具有清除能力,但是对不同基团的敏感性差异明显。SWPC 清除羟自由基的能力大于 WPC,并在 SWPC 质量浓度为 4 mg/mL 时清除率较高,为 23.55%。随着质量浓度增加,SWPC 对超氧阴离子的清除率逐渐上升,呈剂量依赖性关系,但其清除作用较 WPC 有所减弱;SWPC 在质量浓度

为 8 mg/L 时,对超氧阴离子的清除率达到 32.43%。

目前,关于硫酸酯化修饰对多糖衍生物的抗氧化活性机理尚无定论。钦传光等^[23]认为,多糖环上的羟基可与产生 $\cdot\text{OH}$ 等所必需的金属离子络合,从而抑制活性氧自由基的产生。沃尔默特^[24]认为,酯化多糖有硫酸基的加入,造成了空间非共价键的重新分布,改变了多糖的构象,使糖链变得舒展,暴露出较多的羟基;也可能是多糖链中引入了硫酸基,使其极性增大,溶解度增加,黏度降低,从而改变了其活性。王利津等^[25]则认为, $\cdot\text{OH}$ 可与多糖碳氢链上的氢原子结合成水,而多糖的碳原子留下成单电子继续氧化形成过氧自由基,后者可进一步分解。郑荣梁^[26]认为,酯化后多糖构象不舒展,使羟基被包裹在分子内部,形成了较多的分子内氢键;也可能是在自由基引发剂的作用下,多糖被诱导自氧化产生的自由基抵消了其清除自由基的量。由此可知,多糖及其衍生物的抗氧化能力的大小,不仅与糖的种类有关,而且与取代位点和硫酸酯化多糖的立体结构密切相关,具体机理尚有待进一步研究。

本研究为鸡腿菇多糖及其衍生物的抗氧化机理和天然抗氧化剂的开发利用提供了一定的理论依据,对鸡腿菇在保健食品开发方面的应用具有促进作用。

[参考文献]

- [1] 李素春,何生根.一种极具开发价值的珍稀菇——鸡腿菇[J].广东农业科学,1999(2):25-26.
Li S C, He S G. An extremely rare mushroom of high development value——*Coprinus comatus* [J]. Guangdong Agricultural Sciences, 1999(2): 25-26. (in Chinese)
- [2] Fan J M, Zhang J S, Tang Q J, et al. Structural elucidation of a neutral fucogalactan from the mycelium of *Coprinus comatus* [J]. Carbohydrate Research, 2006, 34(9): 1130-1134.
- [3] 余杰,崔仕超,宋彩霞,等.鸡腿菇子实体多糖分离纯化和光谱分析[J].汕头大学学报:自然科学版,2009,24(1):45-49.
Yu J, Cui S C, Song C X, et al. Purification and spectra analysis of polysaccharide from the sporophore of *Coprinus comatus* [J]. Journal of Shantou University: Natural Science Edition, 2009, 24(1): 45-49. (in Chinese)
- [4] Fang J M, Zhang J S, Tang Q J, et al. Structural elucidation of a neutral fucogaactan from the mycelium of *Coprinus comatus* [J]. Carbohydrate Research, 2006, 341(9): 1130-1134.
- [5] 刑福国,王海霞,韩春超,等.鸡腿菇多糖免疫功能的初步研究[J].食品科学,2003,24(6):139-141.
Xing F G, Wang H X, Han C C, et al. Primary study on immunity of the polysaccharides of *Coprinus comatus* [J]. Food Science, 2003, 24(6): 139-141. (in Chinese)
- [6] 李师鹏,安利国,张红梅.鸡腿蘑多糖对昆明小鼠血清溶菌酶活性影响的研究[J].中国食用菌,2001,20(4):36-38.
Li S P, An L G, Zhang H M. Enhancement of the polysaccharide from *Coprinus comatus* on activity of serum lysozyme in Kunming mice [J]. Edible Fungi of China, 2001, 20(4): 36-38. (in Chinese)
- [7] 黄年来.中国食用菌百科[M].北京:农业出版社,1993.
Huang N L. Encyclopedia of Chinese edible fungi [M]. Beijing: Agricultural Press, 1993. (in Chinese)
- [8] Talarico L B, Zibetti R G, Faria P C, et al. Anti-herpes simplex virus activity of sulfated galactans from the red sesaweeds *Gymnogongrus griffithsiae* and *Cryptonemia crenulata* [J]. Int J Biol Macromol, 2004, 34(1/2): 63-71.
- [9] 王月秋,张昕,魏民,等.几种真菌多糖硫酸酯化修饰前后理化性质的比较研究[J].分子科学学报,2009,25:55-57.
Wang Y Q, Zhang X, Wei M, et al. Studies on physical and chemical properties of several fungi polysaccharides and polysaccharides sulfate [J]. Journal of Molecular Science, 2009, 25: 55-57. (in Chinese)
- [10] 闫亚美,冉林武,刘兰英,等.硫酸酯化多糖生物活性及其构效关系研究进展[J].安徽农业科学,2009,37(24):11374-11375.
Yan Y M, Ran L W, Liu L Y, et al. Progress in sulfated polysaccharides biological activity and structure-activity relationship [J]. Journal of Anhui Agricultural Sciences, 2009, 37(24): 11374-11375. (in Chinese)
- [11] Siddhanta A K, Shanmugam M, Mody K H, et al. Sulphated polysaccharides of *Codium dwarkense* Boergs. from the west coast of India: chemical composition and blood anticoagulant activity [J]. International Journal of Biological Macromolecules, 1999, 26: 151-154.
- [12] Volpi Nicola. Influence of charge density, sulfate group position and molecular mass on absorption of chondroitin sulfate onto coral [J]. Biomaterials, 2002, 23: 3015-3022.
- [13] Sun Y X. Sulfated modification of the water-soluble polysaccharides from *Polyporus albicans* mycelia and its potential biological activities [J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2009, 44: 14-17.
- [14] 丛建波,王长振,李妍,等.褐藻硫酸多糖硫酸基含量测定——硫酸钡比浊法研究[J].解放军药科学学报,2003,19(3):182-183.
Cong J B, Wang C Z, Li Y, et al. Investigation of barium sulfate turbidimetry on determination the sulfated group of sulfated polysaccharides [J]. Pharmaceutical Journal of Chinese People's Liberation Army, 2003, 19(3): 182-183. (in Chinese)
- [15] 燕航,钟耀广,王淑琴,等.硫酸酯化香菇多糖衍生物制备的研究[J].化学与生物工程,2006,22(3):45-62.
Yan H, Zhong Y G, Wang S Q, et al. Studies on preparation of sulfated derivatives of *Lentinan* [J]. Chemistry & Bioengineering, 2006, 22(3): 45-62. (in Chinese)

[16]

陈 畅,罗珊珊,张长铠,等. 3 种虫草抗氧化活性的研究 [J]. 中国升华药物杂志,2004,25(4):212-214.
Chen C,Luo S S,Zhang C K,et al. Study on antioxidant activity of three *Cordyceps* sp [J]. Chinese Journal of Biochemical Pharmaceutics,2004,25(4):212-214. (in Chinese)

[17]

Charles A L,Huang T C. Sweet cassava polysaccharide extracts protects against CCl4 liver injury in Wistar rats [J]. Food Hydrocolloids,2009,23(6):1494-1500.

[18]

张 宏,谭竹钧. 四种邻苯三酚自氧化法测定超氧化物歧化酶活性方法的比较 [J]. 内蒙古大学学报,2002(11):677-678.
Zhang H,Tan Z J. A comparison of four pyrogallol autoxidation methods on determining superoxide dismutase activity [J]. Acta Scientiarum Naturalium Universitatis Neimongol,2002(11):677-678. (in Chinese)

[19]

柳 红,张 静. 不同南瓜多糖体外清除羟自由基作用的研究 [J]. 武汉植物学研究,2007,25(4):356-359.
Liu H,Zhang J. Study on the scavenging effect of different pumpkin polysaccharide on hydroxide free radicals *in vitro* [J]. Journal of Wuhan Botanical Research,2007,25(4):356-359. (in Chinese)

[20]

马宝全,黄伟林,康 伟,等. 鲁氏毛霉发酵产物壳聚糖硫酸酯化的研究 [J]. 离子交换与吸附,2007,23(5):451-458.
Ma B Q,Huang W L,Kang W,et al. Studies on preparation of sulfated derivatives of chitosan from *Mucor rouxianus* [J]. Ion Exchange and Adsorption,2007,23(5):451-458. (in Chinese)

[21]

王元凤,金征宇,彭永华,等. 硫酸酯化茶多糖的制备及清除羟自由基活性的研究 [J]. 食品工业,2009(2):1-4.
Wang Y F,Jin Z Y,Peng Y H,et al. Preparation and hydroxyl radical-scavenging activity of sulfated derivatives of tea polysaccharides [J]. The Food Industry,2009(2):1-4. (in Chinese)

[22]

葛 青,张安强,孙培龙. 真菌多糖结构修饰及鉴定研究进展 [J]. 中国食用菌,2008,27(1):5-8.
Ge Q,Zhang A Q,Sun P L. Research progress in structural modifications of polysaccharide in fungi and their identification [J]. Edible Fungi of China,2008,27(1):5-8. (in Chinese)

[23]

钦传光,周 军,赵 文,等. 泥鳅多糖除活性氧和保护 DNA 链的作用 [J]. 生物化学与生物物理学报,2001,33(2):215-218.
Xin C G,Zhou J,Zhao W,et al. Effects of the loach polysaccharide on removal of reactive oxygen species and protection of DNA chains [J]. Acta Biochimica et Biophysica Sinica,2001,33(2):215-218. (in Chinese)

[24]

沃尔默特 B. 高分子化学基础 [M]. 北京:化学工业出版社,1986:117.
Vollmert B. Based on polymer chemistry [M]. Beijing:Chemical Industry Press,1986:117. (in Chinese)

[25]

王利津,徐 强. 黄连解毒汤的抗氧化作用 [J]. 中国药科大学学报,2000,32(1):51-53.
Wang L J,Xu Q. Anti-oxidative activity of Huanglian Jiedu Tang,a traditional Chinese recipe [J]. Journal of China Pharmaceutical University,2000,32(1),51-53. (in Chinese)

[26]

郑荣梁. 自由基生物学 [M]. 北京:高等教育出版社,1992:272-279.
Zheng R L. Free radical biology [M]. Beijing:Higher Education Press,1992:272-279. (in Chinese)

(上接第 126 页)

[9]

沈海月,范文来,徐 岩. 应用顶空固相微萃取分析四种红葡萄酒挥发性成分 [J]. 酿酒,2008,35(2):71-74.
Shen H Y,Fan W L,Xu Y. Determination of volatile compounds in red wine by headspace-solid phase microextraction (SPME) and Gas Chromatography-Mass Spectrometry (GC-MS) [J]. Liquor Making,2008,35(2):71-74. (in Chinese)

[10]

陶永胜,李 华,王 华. 葡萄酒香气成分固相微萃取条件的优化 [J]. 西北农林科技大学学报:自然科学版,2007,35(12):181-185.
Tao Y S,Li H,Wang H. Optimization of wine aroma analysis by solid-phase microextraction [J]. Journal of Northwest A&F University:Nat Sci Ed,2007,35(12):181-185. (in Chinese)

[11]

唐虎利. 新疆玛纳斯县葡萄与葡萄酒产地品质分析 [D]. 陕西杨凌:西北农林科技大学,2009.
Tang H L. The quality analyzed grape & wine from origin producing area in Manasi county of Xinjiang province [D]. Yangling, Shaanxi: Northwest A&F University, 2009. (in Chinese)

[12]

李二虎,惠竹梅,张振文. 8804 果实和干红葡萄酒香气成分的 GC/MS 分析 [J]. 西北农林科技大学学报:自然科学版,2007,35(6):83-88.
Li E H,Xi Z M,Zhang Z W,et al. Analysis of aroma components in the grape and dry red wine of 8804 by GC/MS [J]. Journal of Northwest A&F University:Nat Sci Ed,2007,35(6):83-88. (in Chinese)