

山皂荚多糖的提取工艺及抑菌活性

Extraction of polysaccharide from *Gleditsia japonica* miq and its antibacterial activities

高洁¹ 董文宾^{2,3} 王勇⁴ 王燕¹

GAO Jie¹ DONG Wen-bin^{2,3} WANG Yong⁴ WANG Yan¹

(1. 陕西国际商贸学院医药学院, 陕西 咸阳 712046; 2. 陕西科技大学, 陕西 西安 710000;

3. 陕西省食品加工工程技术研究中心, 陕西 西安 710000; 4. 陕西农产品加工技术研究院, 陕西 西安 710000)

(1. College of Medical, Shaanxi Institute of International Trade & Commerce, Xianyang, Shaanxi 712046, China;

2. Shaanxi University of Science & Technology, Xi'an, Shaanxi 710000, China;

3. Shaanxi Research Institute of Food Processing Technology, Xi'an, Shaanxi 710000, China;

4. Shaanxi Research Institute of Agricultural Products Processing Technology, Xi'an, Shaanxi 710000, China)

摘要:以山皂荚多糖为研究对象,在单因素的基础上,以液固比、提取时间、提取温度作为主要影响因素,使用响应面设计法优化了山皂荚多糖的提取工艺,并使用滤纸片扩散法对所提多糖进行抑菌活性试验。结果表明:山皂荚多糖的最佳提取工艺为:液固比 50:1(mL/g),提取温度 65℃,提取时间 80 min,山皂荚多糖的得率可达(31.52±0.54)%;山皂荚多糖溶液浓度为 100 mg/mL 时,对细菌的抑菌效果为:沙门氏菌<大肠杆菌<蜡样芽孢杆菌<枯草芽孢杆菌<金黄色葡萄球菌,山皂荚多糖抑制金黄色葡萄球菌、大肠杆菌、沙门氏菌、枯草芽孢杆菌、蜡样芽孢杆菌的最小抑菌浓度分别为 25, 50, 50, 25, 50 mg/mL。

关键词:山皂荚;多糖;抑菌活性

Abstract: The polysaccharide in *Gleditsia japonica* miq was researched. Based on the single factor level determination, the major factors including liquid/material ratio, extraction temperature and time were investigated by response surface analysis, and then its antibacterial activity was studied by filter paper diffusion method. The results showed that the optimum technology condition were using liquid/material at 50 mL/g, extracted at 65℃ for 80 min. Under these conditions, the yield of polysaccharide was (31.52±0.54)%. Furthermore, when the concentration of polysaccharide was 100 mg/mL, the antibacterial activity was in this order, *S. typhimurium* <

Escherichia coli < *Bacillus cereus* < *Bacillus subtilis* < *Staphylococcus aureus*, and the minimal inhibitory concentrations of polysaccharide against *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *S. typhimurium*, *Bacillus subtilis*, and *Bacillus cereus* were 25, 50, 50, 25, 50 mg/mL, respectively.

Keywords: *Gleditsia japonica* miq; polysaccharide; antibacterial activities

皂荚(*Gleditsia sinensis* Lam.)系豆科苏木亚科(或云实亚科)的多年生木本植物。皂荚中主要含有鞣质、酚性物质、生物碱、有机酸、糖类、油脂等化学成分^[1],其具有抗菌^[2-3]、杀虫^[4]、抗病毒^[5]、免疫调节^[6]等功效,现有的皂荚成分研究多集中在皂苷上,而皂荚中多糖的含量远大于皂苷,皂荚多糖药用价值较高,可提高免疫力^[7]、保肝护肝^[8-9]、抗菌消炎^[10]等。

植物多糖的分离提取方法较多,主要有酶提取法、微波辅助法、超声波提取法等^[11],它们虽优点较多,但有机溶剂使用量大,条件不易控制,且影响因素较多。而水提法相比其他提取方法具有便捷、经济、适合量化生产等特点。本研究拟采用水提取法提取山皂荚多糖,在单因素试验的基础上,采用响应曲面法对提取条件进行优化,并研究不同浓度的山皂荚多糖对 5 种细菌的抑菌效果,旨在为皂荚资源的有效利用及工业化生产提供试验依据。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

1.1.1 材料与试剂

山皂荚:采摘于陕西省安康宁陕县旬阳坝镇平河梁,经

基金项目:陕西省教育厅科研计划项目(编号:12JK1044);陕西省咸阳市科技局科学技术研究项目(编号:2015K04-20)

作者简介:高洁,女,陕西国际商贸学院讲师,硕士。

通信作者:董文宾(1951—),男,陕西科技大学教授,博士生导师,硕士。E-mail:251536749@qq.com

收稿日期:2016—12—26

陕西中医药大学雷国莲教授鉴定为山皂荚 *Gleditsia japonica* Miq.;

无水乙醇:分析纯,西安福晨化学试剂有限公司;
其他试剂均为分析纯;
金黄色葡萄球菌(*Staphylococcus aureus*)、枯草芽孢杆菌(*Bacillus subtilis*)、蜡状芽胞杆菌(*Bacillus cereus*)、大肠杆菌(*Escherichia coli*)、沙门氏菌(*S.typhimurium*):陕西科技大学生物工程实验教学中心;

牛肉膏—蛋白胨琼脂培养基^[12-13]:牛肉膏 3 g,蛋白胨 10 g,琼脂 20 g,氯化钠 5 g,水 1 000 mL,pH 7.0~7.2。

1.1.2 主要仪器设备

真空干燥箱:DZF-6020 型,上海赫田科学仪器有限公司;

电热恒温水浴锅:HH-M4 型,上海赫田科学仪器有限公司;

旋转蒸发仪:RE-52A 型,上海亚荣生化仪器厂;
循环水多用真空泵:SHZ-D(III) 型,郑州长城工贸有限公司;

离心机:TGL-16B 型,上海安亭科学仪器厂;
紫外可见分光光度计:TU-1810 型,北京普析通用仪器有限责任公司;

压力蒸气灭菌锅:YXQ-LS-100A 型,济南捷岛分析仪器有限公司;

电热恒温培养箱:HT-350B 型,上海赫田科学仪器有限公司;

透析袋:MD₂₅(8 000-14 000)型,上海欧韦达仪器科技有限公司。

1.2 试验方法

1.2.1 山皂荚多糖的制备 取去籽后的山皂荚荚果,粉碎过 5 号筛,干燥后得皂荚粉末。用天平称取 5 g,加入体积分数为 80%的乙醇,浸制预处理 10 h,旋转蒸发仪内蒸出乙醇,残留液乙醇洗涤后进行干燥,得预处理山皂荚干粉。称量山皂荚干粉 5 g,蒸馏水回流提取 2 次,合并滤液,纱布过滤,滤液离心(3 000 r/min,10 min)去残渣,收集滤液,3 倍无水乙醇沉淀,脱水干燥,得山皂荚粗多糖。

山皂荚粗多糖采用 sevag 法除蛋白^[14-15],称取一定量的山皂荚粗多糖,蒸馏水溶解后加入 1/5 体积的 sevag 试剂,分液漏斗中混合均匀,除去蛋白层,取脱蛋白后的多糖溶液进行 H₂O₂脱色,将脱色后的多糖溶液置于透析袋中,3 h 换一次水,透析 24 h,透析后的多糖溶液加入 3 倍乙醇,4 ℃沉淀过夜,离心(4 000 r/min,10 min)除清液,沉淀干燥至恒重得山皂荚精多糖。

$$Y = \frac{m}{M} \times 100\%, \tag{1}$$

式中:
Y——山皂荚多糖的得率,%;
m——提取纯化后山皂荚多糖的质量,g;
M——山皂荚干粉质量,g。

1.2.2 单因素试验 以山皂荚多糖得率为考核指标,选取可

能影响多糖得率的液固比、提取时间、提取温度进行单因素试验,确定每个因素对山皂荚多糖得率的影响范围。

(1) 液固比的影响:固定提取温度 60 ℃,回流时间 80 min,回流 2 次,分别设置液固比为 25:1,35:1,45:1,55:1,65:1,75:1,85:1,95:1(mL/g),考察液固比对山皂荚多糖得率的影响。

(2) 提取时间的影响:固定提取温度 60 ℃,液固比 55:1(mL/g),分别回流提取 30,50,70,90,110,130,150,170 min,回流 2 次,考察提取时间对山皂荚多糖得率的影响。

(3) 提取温度的影响:固定液固比 55:1(mL/g),回流提取 2 次,每次 80 min,分别设置温度为 20,30,40,50,60,70,80,90 ℃,考察提取温度对山皂荚多糖得率的影响。

1.2.3 响应曲面法优化提取工艺 综合单因素试验中各个单因素的试验结果,将液固比、提取时间及提取温度 3 个因素作为本次响应面法的主要考察因素,以山皂荚多糖得率为考察指标,根据试验结果进行数据分析,模型确立,从而确定最优提取工艺条件。

1.2.4 抑菌试验

(1) 供试溶液制备:将 1.2.1 提取所得的山皂荚精多糖用无菌水分别配置成 25,50,75,100 mg/mL 的多糖溶液,滤膜过滤,备用。

(2) 菌悬液的的制备:将试验菌接入斜面培养基中进行活化(置于 37 ℃恒温箱中,培养 24 h),然后制备菌悬液(挑取活化菌种于生理盐水中),菌悬液浓度约为 10⁶~10⁷ CFU/mL。

(3) 抑菌效果测定:采用滤纸片扩散法^[16-18],将细菌培养基倒入培养皿中,待凝固后,吸取 0.2 mL 菌悬液于培养皿内,涂抹均匀,用镊子取出经不同浓度皂荚多糖溶液浸泡过的滤纸片(6 mm 滤纸圆片,经 160 ℃干热灭菌 2 h),每个平皿放 3 个滤纸片,用无菌水浸泡的滤纸片做对照,每种菌重复做 3 次,每个浓度平行做 5 个。倒置于水循环式恒温培养箱中 37 ℃,培养 24 h 后,测量抑菌圈的直径。

1.2.5 数据处理方法 采用 Design-Expert 8.0.6 对山皂荚多糖提取结果进行处理,对试验数据进行回归分析,对模型进行显著性分析,从而得出最优提取工艺条件。

2 结果与分析

2.1 山皂荚多糖提取单因素试验

2.1.1 液固比的影响 由图 1 可知,山皂荚多糖的得率会随着液固比的增大而有明显的升高趋势,当液固比为 55:1(mL/g)时皂荚多糖得率最大,而当液固比再持续增大后,皂荚多糖得率未见增加,而呈现出下降趋势。这是由于液固比的大小决定固液两相的混合情况,从而改变传质速率。当液固比较小时,固相浓度较低,不利于整体得率的提高,当液固比较高时,会出现搅拌不均匀,固液两相混合不彻底的现象,且醇沉不彻底,从而使得率降低,因此,适宜固液比为 55:1(mL/g)。

2.1.2 提取时间的影响 由图 2 可知,山皂荚多糖得率在提

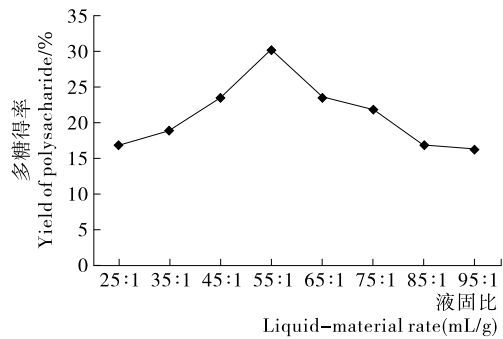


图 1 液固比对山皂荚中多糖得率的影响
Figure 1 Effect of liquid/material rate on yield of polysaccharide in *Gleditsia japonica* miq

取初始随着提取时间的增加而明显提高,提取时间的延长有助于多糖的充分浸提,当提取时间为 80~90 min 时,多糖得率最大,继续延长提取时间后,由于多糖结构部分发生了破坏和降解,使山皂荚多糖得率不再增加,并且呈现下降趋势,综合考虑山皂荚多糖得率和节能,适宜提取时间为 80 min。

2.1.3 提取温度的影响 由图 3 可知,在反应初始阶段,皂荚多糖得率会随着提取温度的升高而有明显的增大,说明温度较高有助于破坏细胞结构,使多糖能够较好地浸出;当温度为 60 ℃时,皂荚多糖得率达到最大,之后开始下降,温度过高可使皂荚多糖糖链发生断裂,生物活性受损,得率下降,因此,适宜提取温度为 60 ℃。

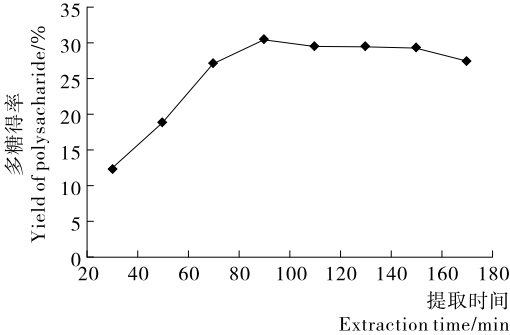


图 2 提取时间对山皂荚中多糖得率的影响
Figure 2 Effect of extraction time on yield of polysaccharide in *Gleditsia japonica* miq

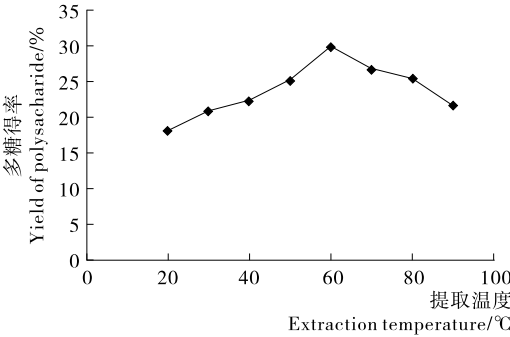


图 3 提取温度对山皂荚中多糖得率的影响
Figure 3 Effect of the extraction temperature on yield of polysaccharide in *Gleditsia japonica* miq

2.2 响应曲面法优化皂荚多糖提取工艺试验结果

在单因素试验的基础上,采用 Box-Behnken 设计法制定试验方案,对影响多糖得率的液固比、提取时间、提取温度 3 个因素进行因素水平设计,得到 17 个试验点的设计方案,试验设计与结果见表 1、2。

表 1 中心组合试验 Box-Behnken 设计因素和水平编码值

Table 1 Experimental levels employed for Box-Behnken design			
水平	A 液固比(mL/g)	B 提取时间/min	C 提取温度/℃
-1	30 : 1	40	30
0	50 : 1	75	60
1	70 : 1	110	90

表 2 试验设计与结果

Table 2 Box-Behnken design and observed responses

试验号	A	B	C	Y 得率/%
1	0	0	0	31.32
2	0	1	1	29.58
3	1	1	0	22.54
4	1	0	1	23.15
5	0	0	0	31.23
6	-1	1	0	21.98
7	0	0	0	31.48
8	1	1	0	23.69
9	-1	-1	0	21.07
10	0	-1	1	28.06
11	-1	0	-1	20.69
12	1	0	-1	21.81
13	0	0	0	31.46
14	0	-1	-1	27.98
15	0	0	0	31.52
16	-1	0	1	21.34
17	0	1	-1	27.82

使用 Design-Expert 8.0.6 软件进行试验结果分析,以山皂荚多糖得率为响应值,得到多元回归方程为:

$$Y=31.40+0.76A-0.43B+0.48C-7.85A^2-1.23B^2-1.81C^2+0.06AB+0.17AC+0.42BC(R^2=0.999\ 6)。(2)$$

由表 2、3 可知,在方差分析中模型的 $F=1\ 786.56<0.000\ 1$ 与 $P<0.000\ 1$,山皂荚多糖得率失拟项 $P=0.321\ 4>0.05$,表明此模型拟合度较好,试验误差小,可利用本模型来表示响应值与自变量的多元回归关系,模型的调整相关系数 (R^2_{adj}) 为 0.999 0,说明 99.90% 的响应值的变化都可通过该模型进行解释。同时,由表 3 所示的系数显著性可看出,A、B、C、 A^2 、 B^2 、 C^2 极显著 ($P<0.000\ 1$),对山皂荚中多糖得率影响的大小因素顺序为:液固比>提取温度>提取时间。

2.3 皂荚多糖提取工艺的响应曲面法分析

由图 4 可知,液固比对响应值的影响较提取时间图形陡,液固比的曲线呈现先升高后降低的趋势,且变化幅度较

表 3 回归方程方差分析[†]

Table 3 Result of variance (ANOVA) analysis for the fitted quadratic polynomial model

变异源	平方和	自由度	均方	F 值	P 值
模型	302.18	9	33.58	1 786.56	< 0.000 1 **
A	4.67	1	4.67	248.30	< 0.000 1 **
B	1.46	1	1.46	77.80	< 0.000 1 **
C	1.83	1	1.83	97.57	< 0.000 1 **
AB	0.014	1	0.014	0.77	0.410 4
AC	0.12	1	0.12	6.33	0.040 0 *
BC	0.71	1	0.71	37.54	0.000 5 *
A ²	259.28	1	259.28	13 796.28	< 0.000 1 **
B ²	6.42	1	6.42	341.57	< 0.000 1 **
C ²	13.75	1	13.75	731.75	< 0.000 1 **
残差	0.13	7	0.019		
失拟项	0.072	3	0.024	1.61	0.321 4
误差项	0.060	4	0.015		
总和	302.31	16			

[†] ** 表示极显著(P<0.01), * 表示显著(P<0.05)。

大;提取时间的曲线较平缓,表明其对多糖得率的影响较小,且交互作用不显著。由图 5 可知,液固比对响应值的影响较提取温度图形陡,曲线先升高后降低,变化幅度较大,提取温度图形走向较为平缓,表明其对多糖得率变化的影响不大。由图 6 可知,提取温度和提取时间的曲线均较平缓,表明其对多糖得率的影响较不明显。

本试验根据响应曲面设计所得山皂荚多糖的最优提取工艺条件为:液固比 51.02 : 1(mL/g),提取温度 64.77 ℃,提取时间 82.02 min,在该提取工艺条件下得率最大可达 31.502 5%。考虑到在实际操作条件,会有一定的限制,所以将以上结果优化为:液固比 50 : 1(mL/g),提取时间 80 min,提取温度 65 ℃,在此提取条件下平行实验 3 次,测得皂荚多糖得率为(31.52±0.54)%,与预测值基本一致,说明本次响应面法所得到的山皂荚多糖提取工艺参数准确可用。

2.4 山皂荚多糖抑菌活性

由表 4 可知,当皂荚多糖浓度为 100 mg/mL 时,对金黄色葡萄球菌和枯草芽孢杆菌抑制效果最好,抑菌圈分别为 14.5,12.0 mm;该浓度下多糖对沙门氏菌、大肠杆菌与蜡样芽孢杆菌也具有一定的抑制作用,抑菌圈均在 7 mm 以上。同时可看出,随着多糖浓度的增加,抑菌圈直径呈增大趋势。

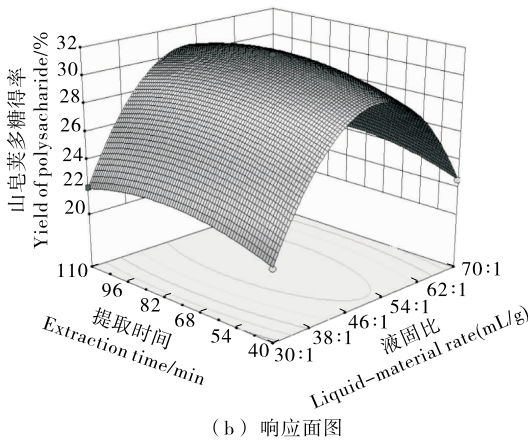
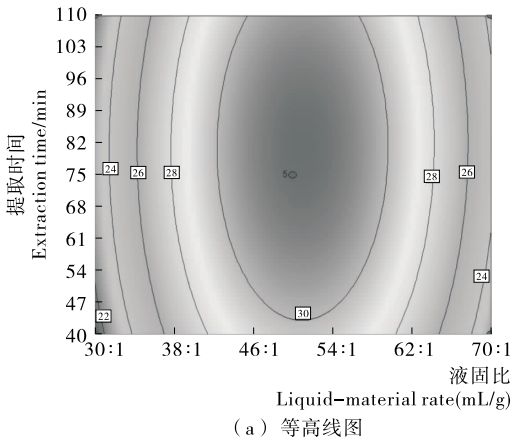


图 4 液固比与提取时间相互作用等高线图和响应面图

Figure 4 Response surface and contour plots for the interaction effects of liquid /material and extraction time

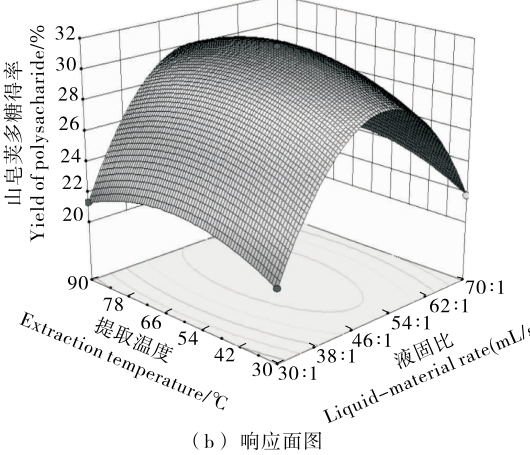
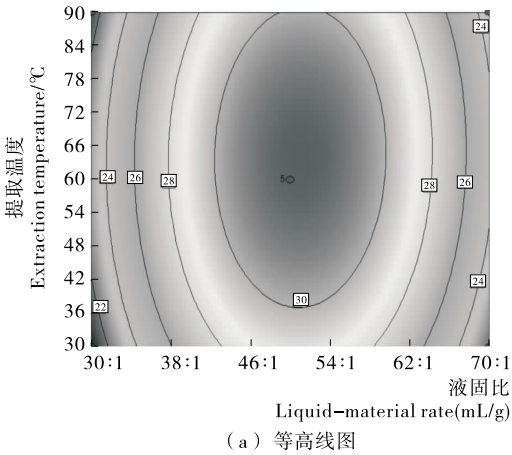


图 5 液固比与提取温度相互作用等高线图和响应面图

Figure 5 Response surface and contour plots for the interaction effects of liquid /material and extraction temperature

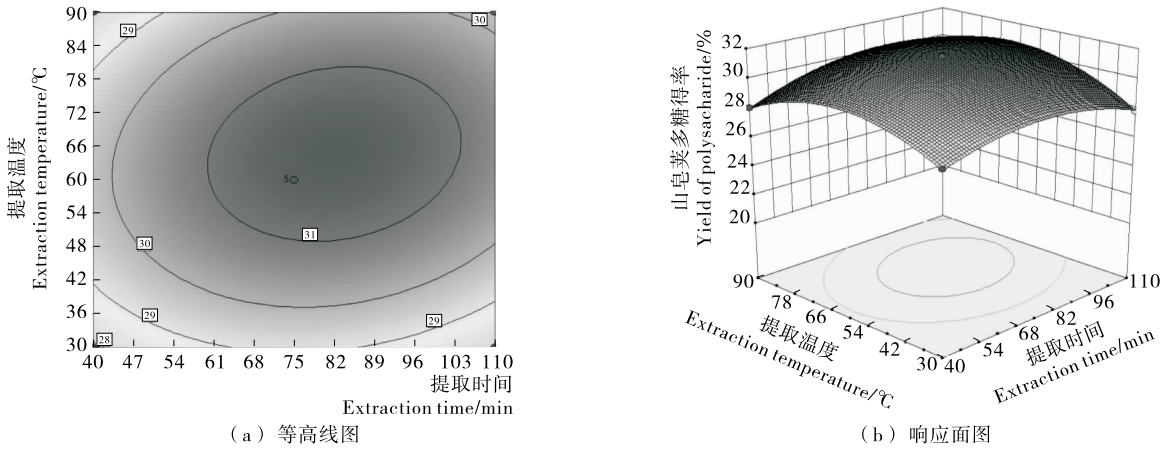


图 6 提取时间与提取温度相互作用等高线图和响应面图

Figure 6 Response surface and contour plots for the interaction effects of extraction time and extraction temperature

当皂荚多糖溶液浓度为 100 mg/mL 时,多糖溶液对细菌的抑菌效果为:金黄色葡萄球菌>枯草芽孢杆菌>蜡样芽孢杆菌>大肠杆菌>沙门氏菌。整体而言,山皂荚多糖对革兰氏阳性菌的抑菌作用较革兰氏阴性菌强。

由表 5 可知,山皂荚多糖对供试菌有不同程度的抑制作用,其抑菌活性随着多糖浓度的降低而逐渐减弱,当多糖浓度在 15 mg/mL 时,对 5 种供试菌均无抑菌活性,当多糖浓度在 50 mg/mL 及以上时,抑菌作用较为显著。山皂荚多糖的最小抑菌浓度 MIC 分别为:金黄色葡萄球菌 25 mg/mL,大肠杆菌 50 mg/mL,沙门氏菌 50 mg/mL,枯草芽孢杆菌 25 mg/mL,蜡样芽孢杆菌 50 mg/mL。

3 结论

采用应用响应曲面分析法对山皂荚多糖的水提取工艺进行优化,得到较为理想的多糖提取条件:液固比为 50 : 1 (mL/g),提取时间为 80 min,提取温度为 65 ℃,在此提取条件下山皂荚多糖的得率为(31.52±0.54)%,相较于其他提取方法,水提法是一种较为方便经济的方法;抑菌试验表明山皂荚多糖具有一定的抑制金黄色葡萄糖菌、大肠杆菌、沙门氏菌、枯草芽孢杆菌、蜡样芽孢杆菌生长的作用,但影响山皂荚多糖抑菌效果的因素较多,本试验只选用了一种品系的皂荚多糖和一种提取方法,下一步可对不同品系和不同提取方法的皂荚多糖抑菌效果展开系统全面的研究。

表 4 山皂荚多糖对供试菌的抑菌活性

Table 4 Bacteriostatic activity of antibacterial activity of polysaccharide in *Gleditsia japonica*.miq

山皂荚多糖浓度/ (mg · mL ⁻¹)	抑菌圈的直径/mm				
	金黄色葡萄球菌	大肠杆菌	沙门氏菌	枯草芽孢杆菌	蜡样芽孢杆菌
100	14.5	7.1	7.0	12.0	8.6
75	11.2	6.2	6.6	11.0	6.0
50	7.3	2.4	2.2	6.4	2.0
25	2.6	0.0	0.0	2.0	0.0
空白对照(生理盐水)	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0

表 5 山皂荚多糖对供试菌的最小抑菌浓度(MIC)[†]

Table 5 MIC of antibacterial activity of polysaccharide in *Gleditsia japonica*.miq

山皂荚多糖浓度/ (mg · mL ⁻¹)	抑菌圈				
	金黄色葡萄球菌	大肠杆菌	沙门氏菌	枯草芽孢杆菌	蜡样芽孢杆菌
100	+	+	+	+	+
75	+	+	+	+	+
50	+	+	+	+	+
25	+	—	—	+	—
15	—	—	—	—	—
空白对照(生理盐水)	—	—	—	—	—

[†] “+”表示有抑菌圈,“—”表示无抑菌圈。

[108] KISKINI A, KAPSOKEFALOU M, YANNIOTIS S, et al. Effect of different iron compounds on wheat and gluten-free breads[J]. Journal of the Science of Food and Agriculture, 2010, 90(7): 1 136-1 145.

[109] KISKINI A, KAPSOKEFALOU M, YANNIOTIS S, et al. Effect of Iron Fortification on Physical and Sensory Quality of Gluten-Free Bread [J]. Food and Bioprocess Technology, 2012, 5(1): 385-390.

[110] URSZULA K K, AGNIESZKA T, NATALIA B, et al. Effect of organic calcium supplements on the technological characteristic and sensory properties of gluten-free bread[J]. European Food Research and Technology, 2011, 232(3): 497-508.

[111] JEONG S, KANG W S, SHIN M. Improvement of the quality of gluten-free rice pound cake using extruded rice flour[J]. Food Science and Biotechnology, 2013, 22(1): 173-180.

[112] CLERICI M T P S, AIROLDI C, EL-DASH A A. Production of acidic extruded rice flour and its influence on the qualities of gluten-free bread[J]. LWT - Food Science and Technology,

2009, 42(2): 618-623.

[113] MEZAIZE S, CHEVALLIER S, LEBAIL A, et al. Gluten-free frozen dough: Influence of freezing on dough rheological properties and bread quality[J]. Food Research International, 2010, 43(8): 2 186-2 192.

[114] MÄKINEN O E, ZANNINI E, ARENDT E K. Germination of Oat and Quinoa and Evaluation of the Malts as Gluten Free Baking Ingredients [J]. Plant Foods for Human Nutrition, 2013, 68(1): 90-95.

[115] SHIN D J, KIM W, KIM Y. Physicochemical and sensory properties of soy bread made with germinated, steamed, and roasted soy flour [J]. Food Chemistry, 2013, 141(1): 517-523.

[116] 李次力, 王茜. 发芽糙米面包的研制[J]. 食品科学, 2009, 30(18): 436-439.

[117] CORNEJO F, ROSELL C M. Influence of germination time of brown rice in relation to flour and gluten free bread quality[J]. Journal of Food Science and Technology, 2015, 52(10): 6 591-6 598.

(上接第 149 页)

参考文献

[1] 梁静谊, 安鑫南, 蒋建新, 等. 皂荚化学组成的研究[J]. 中国野生植物资源, 2003, 22(6): 44-46.

[2] 张凤娟, 李继良, 徐兴友, 等. 皂荚和五角枫挥发性物质组成及其对空气微生物的抑制作用[J]. 园艺学报, 2007, 34(4): 973-978.

[3] 李端, 周立刚, 姜微波, 等. 皂荚提取物对植物病原菌的抑制作用[J]. 植物病理学报, 2005, 35(S1): 86-90.

[4] 邵金良, 袁唯. 皂荚的功能作用及其研究进展[J]. 食品研究与开发, 2007, 26(2): 48-51.

[5] 李玉奇, 刘敏艳, 胡冠芳, 等. 皂角提取物的杀虫活性及其对粘虫的作用方式研究[J]. 西南农业学报, 2012, 25(1): 161-165.

[6] 张振宇, 张赤志, 许汉林. 皂荚提取物对人肝癌细胞相关癌基因表达的调控作用及端粒酶的影响[J]. 中西医结合肝病杂志, 2008, 18(2): 93-95.

[7] 胡国华. 功能性食品胶[M]. 北京: 化学工业出版社, 2003: 74-77.

[8] 亓树艳, 王荔, 莫晓燕. 大枣多糖的提取工艺及抗氧化作用研究[J]. 食品与机械, 2012, 28(4): 117-120.

[9] 岳春, 李靖靖, 方永远. 虫草多糖微波辅助提取工艺的优化[J]. 食品与机械, 2014(1): 192-195.

[10] 高洪霞, 刘军海, 李广录. 枸杞多糖提取工艺的研究[J]. 食品与机械, 2008(5): 60-72.

[11] 舒任庚, 蒋跃平, 蔡永红. 植物多糖的提取分离方法探讨[J]. 中国药房, 2011, 22(11): 1 502-1 504.

[12] 蔡信之, 黄君红. 微生物学[M]. 北京: 高等教育出版社, 2002: 394-395.

[13] 刘春兰, 杨逸, 何林, 等. 植物多糖抑菌作用研究方法进展[J]. 时珍国医国药, 2013, 24(7): 1 725-1 727.

[14] 闫文娟, 李泰辉, 唐芳勇, 等. 广东虫草多糖的提取及含量测定[J]. 华南农业大学学报, 2009, 30(4): 53-56.

[15] 刘芳, 赵声兰, 李玲, 等. 皂荚多糖提取工艺及其抗氧化活性的初步研究[J]. 食品工业科技, 2011, 32(8): 255-260.

[16] 李瑜, 周玉, 江冠民. 枸杞多糖与黄芪多糖抑菌活性研究[J]. 现代生物医学进展, 2012, 12(36): 5 061-5 063.

[17] 李志洲, 刘军海, 王俊宏, 等. 猪苓硒多糖连续合成工艺及抑菌性能研究[J]. 食品与机械, 2013, 29(1): 31-35.

[18] 曾红亮, 黄灿灿, 常青, 等. 金柑多糖微波辅助提取工艺优化及抑菌效果[J]. 食品与机械, 2016, 32(9): 154-160.

(上接第 183 页)

[4] 龚钢明, 管世敏. 乳酸菌降解亚硝酸盐的影响因素研究[J]. 食品工业, 2010(5): 6-8.

[5] RHEE S J, LEE J E, LEE C H. Importance of lactic acid bacteria in Asian fermented foods[J]. Microb Cell Fact, 2011, 10(Suppl 1): S5.

[6] 袁亚, 池金颖, 黄丹丹, 等. 人工接种乳酸菌对泡菜感官品质和亚硝酸盐含量的影响[J]. 食品工业科技, 2012(7): 119-122.

[7] 黄业传, 曾凡坤. 榨菜叶酸菜发酵剂的选择[J]. 食品与机械, 2004, 20(1): 5-7.

[8] FLEMING H P. Fermented Foods [M]. New York: Academic Press, 1982: 227-258.

[9] 周相玲, 胡安胜, 王彬, 等. 人工接种泡菜与自然发酵泡菜风味

物质的对比分析[J]. 中国酿造, 2011(1): 159-160.

[10] 陈影, 王锦慧, 张文菱子, 等. 乳酸菌发酵黄瓜泡菜品质的研究[J]. 食品与机械, 2015, 31(4): 208-211.

[11] 刘春燕, 戴明福, 夏姣, 等. 不同乳酸菌接种发酵泡菜风味的研究[J]. 食品工业科技, 2015, 36(7): 154-158.

[12] 侯晓艳. 接种不同乳酸菌发酵对萝卜品质的影响[D]. 雅安: 四川农业大学, 2015: 15-25.

[13] 李海丽. 泡菜的亚硝酸盐控制技术及其贮藏性研究[D]. 保定: 河北农业大学, 2012: 11-12.

[14] 纪晓葵. 优良乳酸菌的筛选及其发酵蔬菜的应用研究[D]. 杭州: 浙江大学, 2014: 36-38.

[15] 陈弦, 张雁, 陈于陇, 等. 发酵蔬菜风味形成机制及其分析技术的研究进展[J]. 中国食品学报, 2014, 14(2): 217-223.