

菊芋多聚果糖的纯化技术研究

Purification of polyfructose from Jerusalem artichoke

李朝阳¹ 李良玉¹ 刁静静¹ 张丽萍²

LI Chao-yang¹ LI Liang-yu¹ DIAO Jing-jing¹ ZHANG Li-ping²

(1. 黑龙江八一农垦大学国家杂粮工程技术研究中心, 黑龙江 大庆 163319;

2. 黑龙江八一农垦大学食品学院, 黑龙江 大庆 163319)

(1. Coarse Cereals Engineering Research Center, Heilongjiang Bayi Agricultural University, Daqing, Heilongjiang 163319, China; 2. College of Food Science, Heilongjiang Bayi Agricultural University, Daqing, Heilongjiang 163319, China)

摘要:以菊芋多聚果糖粗品为原料,采用模拟移动色谱技术纯化菊芋多聚果糖。在单柱色谱分离设备研究的基础上,研究旋转阀式模拟移动色谱技术与顺序式模拟移动床技术纯化菊芋多聚果糖的工艺参数。结果表明:顺序式模拟移动床技术是纯化菊芋多聚果糖的最优技术,最佳工艺参数为多聚果糖浓度30%,水料比($V_{\text{水}}:m_{\text{料}}$)1.1:1.0 (mL/g),在此条件下菊芋多聚果糖组分浓度为17.9%,含量达到96.9%,收率达到95.8%,较原料提高17.7%。

关键词:多聚果糖;旋转阀式模拟移动色谱;顺序式模拟移动色谱;单柱色谱分离

Abstract: In this study, the Jerusalem artichoke polyfructose was purified by the simulated mobile chromatography (SMC) and sequential simulated mobile bed (SSMB) according to the results of single column chromatographic system, which the parameters of the SMB and SSMB were investigated. Based on the results, the SSMB was the better technology and the optimized process parameters were as follows, feed concentration of 30%, ratio of material to solvent of 1.1:1.0. Under these conditions, the concentration of the Jerusalem artichoke polyfructose was 17.9%, the purity was 96.9%, and the recovery was 95.8%, which was 17.7% higher than the material.

Keywords: polyfructose; simulated mobile chromatography; sequential simulated mobile bed; single column chromatographic system

多聚果糖又名菊粉、菊糖,具有清热解毒、抗菌、降血脂、降血糖和抗病毒等功效^[1-4]。已发现含有多聚果糖的植物约3.6万种,其中菊苣、菊芋中含量最高^[5-9],目前中国已采用菊芋、菊苣生产多聚果糖初级加工产品,但其多聚果糖含量仅80%左右,只能作为多聚果糖的前体原材料,严重限制了多聚果糖作为新食源的发展与应用。曾有学者^[10]尝试采用膜分离、离子交换、制备色谱等方法对多聚果糖进行纯化,但是由于产品含量不高、生产成本高等原因,始终无法实现大规模产业化生产。

目前,模拟移动色谱作为一种高效的分离纯化技术,较传统单柱色谱分离技术有了较大的进步,其应用领域主要包括精细化工、药物分离、生物发酵、食品功能活性物质富集等领域中^[11],但是传统的模拟移动色谱却存在着处理量小、回收率低、产品纯度低等缺陷,无法实现大规模化的产业化应用。而顺序式模拟移动色谱是一种先进的分离技术,可以实现连续、稳态的生产,生产效率^[12-15]高,是目前国际上最为先进的模拟移动色谱设备^[16-18]。但是关于色谱分离方法之间的比较及模拟移动色谱在纯化菊芋多聚果糖上的研究较少,尤其是顺序模拟移动色谱和旋转阀式模拟移动色谱技术在纯化菊芋多聚果糖方面的优劣性尚未知。研究拟采用模拟移动色谱技术纯化菊芋多聚果糖,旨在探索高效低耗的菊芋多聚果糖纯化方法,以实现产业化生产。

1 材料与方法

1.1 试验材料与仪器

菊芋多聚果糖粗品:依安恒新生物工程科技有限公司;

去离子水:实验室自制;

树脂:强酸性阳离子 ZG106Na⁺,杭州争光树脂有限公司;

基金项目:黑龙江八一农垦大学校内培育课题(编号:XZR2017-17);国家重点研发计划(编号:2018YFE0206300)

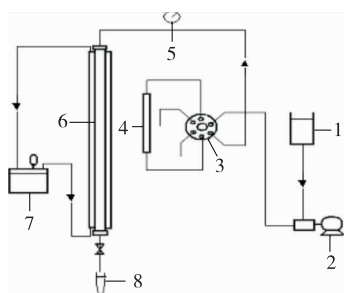
作者简介:李朝阳,男,黑龙江八一农垦大学助理研究员,硕士。

通信作者:张丽萍(1957—),女,黑龙江八一农垦大学教授,博士研究生导师,博士。E-mail:zlp77@126.com

收稿日期:2020-05-10

装柱机:RPL-ZD10 型,大连日普利科技仪器有限公司;
单柱色谱分离设备(见图 1)、旋转阀式模拟移动色谱分离设备(见图 2)、顺序式模拟移动色谱分离设备(见图 3);实验室自制;

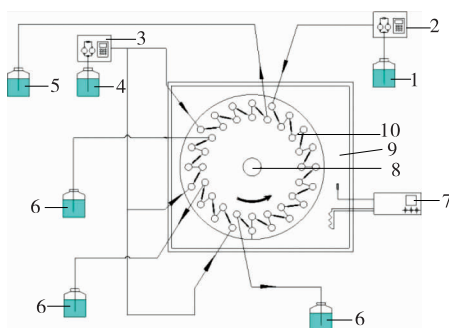
高效液相色谱仪:Nexera Quaternary 型,日本岛津公司。



1. 解吸剂 2. 计量泵 3. 六通切换阀 4. 定量管 5. 压力表
6. 吸附柱 7. 恒温水浴 8. 采集管

图 1 制备色谱分离系统流程图

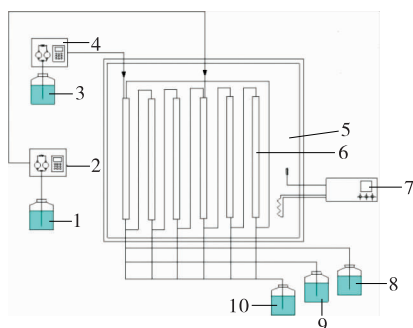
Figure 1 Flow chart of preparative chromatography separation system



1. 原料 2. 原料泵 3. 水洗泵 4. 超纯水 5. 产品 6. 废液
7. 操作系统 8. 旋转阀 9. 柱温箱 10. 色谱柱

图 2 旋转阀式模拟移动色谱系统流程图

Figure 2 Flow chart of rotating valve simulating mobile chromatographic system



1. 原料 2. 原料泵 3. 超纯水 4. 解析泵 5. 柱温箱 6. 色谱柱 7. 操作系统 8. AD 9. BD 10. CD

图 3 顺序式模拟移动色谱系统流程图

Figure 3 Flow chart of sequential simulation mobile chromatography system

1.2 试验方法

1.2.1 检测方法

- (1) 糖浓度:采用 WYT 糖度计测定。
- (2) 菊芋多聚果糖含量:采用液相色谱法测定^[19]。
- (3) 收率计算:

$$W = \frac{\rho_1 \times V_1 \times C_1}{\rho_0 \times V_0 \times C_0} \times 100\%, \quad (1)$$

式中:

W ——收率,%;

C_1 ——纯化后样品总糖浓度,mg/mL;

C_0 ——原料总糖浓度,mg/mL;

ρ_1 ——纯化后菊芋多聚果糖含量,%;

ρ_0 ——原料液中菊芋多聚果糖含量,%;

V_1 ——分离后溶液体积,mL;

V_0 ——原料液体积,mL。

- (4) 分离度计算:

$$Rs = \frac{2 \times (t_2 - t_1)}{W_2 + W_1}, \quad (2)$$

式中:

Rs ——分离度;

t_2 ——杂糖的保留时间,min;

t_1 ——菊芋多聚果糖的保留时间,min;

W_1 ——菊芋多聚果糖色谱峰峰宽,min;

W_2 ——杂糖色谱峰峰宽,min。

1.2.2 制备色谱评价菊芋多聚果糖纯度试验 采用装柱机装置装柱,在柱温 60 °C,通过六通定量阀进料 10 mL 30% 的多聚果糖,纯净水为洗脱剂,洗脱流速 1.6 mL/min,并 2 min/管收集一个样品,测其糖浓度与样品的含量^[20]。制备色谱系统流程:解吸剂通过计量泵进入六通切换阀将定量管中菊芋多聚果糖原料顶入吸附柱中,通过自动收集器收集流出液体。

1.2.3 模拟移动色谱试验 将菊芋多聚果糖用去离子水进行稀释,稀释至 30% 左右,以达到进料的要求;将预处理好的多聚果糖放入原料罐中进行预热,同时预热洗脱剂,然后设定工艺参数进行模拟移动色谱连续分离,一般需要连续分离 24 h 以上;膜过滤进行浓缩,喷雾干燥,得到多聚果糖成品。

1.2.4 旋转阀式模拟移动色谱纯化菊芋多聚果糖 采用自制的旋转阀式模拟移动色谱(16 mm×500 mm)分离设备进行试验,在制备色谱试验的基础上设计分区,再根据单柱色谱分离设备与旋转阀式模拟移动色谱的转化方法来确定初始参数。根据不断检测流出液浓度及含量来计算菊芋多聚果糖的收率,更改进料的流速和运行时间来优化菊芋多聚果糖分离的工艺参数,得到纯化的最佳工艺参数^[21]。旋转阀式模拟移动色谱工艺流程:原料和解吸剂水通过计量泵进入柱子,在吸附区进料,在解吸区出

料,每个区域同时进行。

1.2.5 顺序式模拟移动色谱纯化菊芋多聚果糖 采用实验室自制的顺序式模拟移动色谱(35 mm×1 000 mm)进行分离试验。采用顺序式模拟移动色谱纯化的工艺流程中首先进行大循环 S_1 ,之后进行小循环 S_2 ,最后进行全进全出 S_3 ^[22]。顺序式模拟移动色谱工艺流程:原料 F 和洗脱剂水 D 通过计量泵进入吸附柱,按照设定好的工艺路线,通过电磁阀控制,经过流量计流出 AD、BD、CD。

1.2.6 统计处理 试验平行 3 次,采用 SAS 软件进行单因素方差分析及 Duncan 分析。

2 结果与分析

2.1 原料液分析

由图 4 和表 1 可以看出,试验所用菊芋原料中多聚果糖的含量为 79.202 8%,其他杂糖(蔗糖和单糖)的含量为 20.797 2%,由此可以看出试验原料为常规的菊芋多聚果糖粗品。

2.2 制备色谱单柱评价试验

从图 5 可以看出,菊芋多聚果糖的保留时间在 24 min 左右而杂糖的保留时间在 34 min 左右,两者的保留时间相差较大,说明两种物质的分离度越高。经计算菊芋多聚果糖与杂糖分离度为 0.35,虽然两者在制备色谱上没有完全分离,但通过模拟移动床色谱工艺可以延长分离过程,增加两者的富集度,将两者有效的分离。

2.3 旋转阀式模拟移动色谱纯化菊芋多聚果糖

考虑树脂对菊芋多聚果糖与单糖、双糖吸附能力的

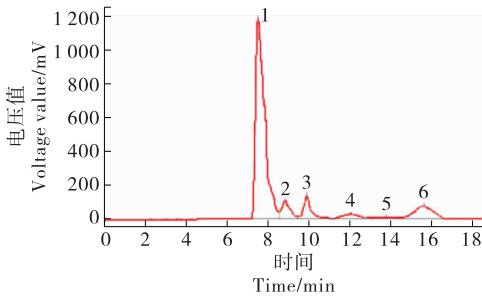


图 4 菊芋多聚果糖原料分析图谱
Figure 4 HPLC chromatography profile of inulin polyfructose

表 1 菊芋多聚果糖原料分析结果
Table 1 HPLC analysis of inulin polyfructose

峰号	保留时间/min	化合物	含量/%
1	7.492	多聚果糖	73.135 8
2	8.843	多聚果糖	6.067 0
3	9.886	蔗糖	6.687 4
4	12.019	葡萄糖	3.308 1
5	13.789	未知糖	1.086 0
6	15.623	果糖	9.715 7

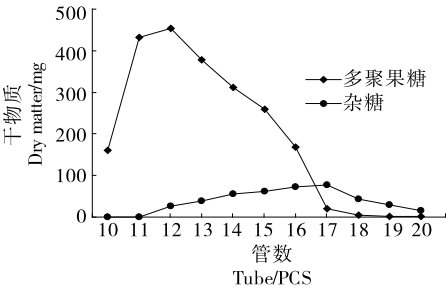


图 5 洗脱曲线图
Figure 5 Elution curve of inulin polyfructose

不同,根据实际情况,确定模拟移动色谱分离区各区的分配方式为吸附区 4 根柱,精馏区与解吸区各 3 根柱,缓冲区 2 根柱。根据单柱色谱分离评价试验结果,以及单柱色谱分离与旋转阀式模拟移动色谱间的等效性,初步确定纯化的初始旋转阀式模拟移动色谱理论工作参数,并通过条件的优化得到最佳的工艺参数,见表 2。

旋转阀式模拟移动色谱纯化菊芋多聚果糖分析图谱见图 6,菊芋多聚果糖原料分析结果见表 3。

在该条件下,菊芋多聚果糖组分的浓度为 8.2%,含量为 92.5%,收率为 91.5%,利用旋转阀式模拟移动色谱虽然将菊芋多聚果糖的含量提高到了 92.5%,但仍低于

表 2 旋转阀式模拟移动色谱最佳工作参数
Table 2 Theoptertimized operation parameters of simulated mobile chromatography

参数	单位	数值
操作温度	℃	65
进料浓度	%	20
切换时间	s	348
进料液流量	mL/h	110
洗脱液流量	mL/h	385
萃取液流量	mL/h	195
萃余液流量	mL/h	298

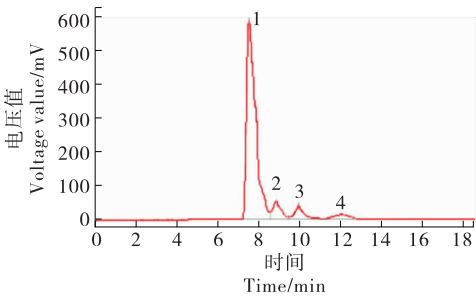


图 6 旋转阀式模拟移动色谱纯化菊芋多聚果糖分析图谱
Figure 6 Analysis of Jerusalem artichoke polyfructose purified by rotary valve simulation by mobile chromatography

表 3 菊芋多聚果糖原料分析结果

Table 3 HPLC analysis of inulin polyfructose

峰号	保留时间/min	化合物	含量/%
1	7.487	多聚果糖	85.068 2
2	8.855	多聚果糖	7.431 8
3	9.968	蔗糖	4.865 2
4	12.056	葡萄糖	2.634 8

95%，而且收率和产品的浓度较低，相对成本较高，不适用于工业化生产。这主要是由于旋转阀式模拟移动色谱的进料方式为连续性的，对色谱柱进行了分区，导致树脂不能充分利用，因此产品含量低、收率低；此外这种方式的进料浓度不高，其需要大量的洗脱剂进行洗脱，造成产品浓度低。

2.4 顺序式模拟移动色谱分离工艺参数优化结果

由表 4 可看出，最佳分离工艺参数为第 4 组试验参数，此时出口浓度为 17.9%，含量达到 96.9%，收率达到

95.8%。利用顺序式模拟移动色谱显著提高了菊芋多聚果糖的含量，此外其收率高、产品的浓度高，相对成本较低，可用于工业化生产。顺序式模拟移动床色谱是间接式的进料方式，树脂利用率高，产品含量及收率高；此外这种方式的进料浓度高，洗脱剂相对较少，出口产品浓度高，生产成本低。

由图 7(a)和表 5 可知，杂糖组分(出口 A)中多聚果糖含量 9.76%，浓度只有 4.5%，说明多聚果糖的损失很少，收率较高；由图 7(b)和表 6 可知，多聚果糖组分(出口 B)中多聚果糖的含量达到了 99.84%，含量高；由图 7(c)和表 7 可知，多聚果糖组分(出口 C)中多聚果糖的含量为 96.66%，含量较高；由图 7(d)和表 8 可知，多聚果糖组分(出口 B、C 混合液)中多聚果糖的含量为 96.92%，含量较高。

2.5 不同方式纯化菊芋多聚果糖效果的对比

制备色谱分离、旋转阀式模拟移动色谱与顺序式模拟移动色谱纯化菊芋多聚果糖效果的对比分析结果见表 9。

表 4 顺序式模拟移动色谱分离操作条件和试验结果[†]

Table 4 The opertimized small scale operation parameters of sequential simulated moving chromatography

序号	进料量/(g·h ⁻¹)	进水量/(g·h ⁻¹)	循环量/mL	浓度/%	菊芋多聚果糖含量/%	菊芋多聚果糖收率/%
1	728.00	1 092.00	328.80	18.4±0.3 ^a	93.8±0.1 ^e	96.1±0.3 ^{ab}
2	728.00	1 456.00	328.00	15.1±0.3 ^d	93.6±0.3 ^{ef}	96.3±0.2 ^a
3	910.00	1 365.00	319.00	14.2±0.4 ^e	96.1±0.3 ^d	95.4±0.2 ^d
4	910.00	1 000.00	319.00	17.9±0.5 ^b	96.9±0.1 ^c	95.8±0.1 ^{bc}
5	546.00	655.00	309.00	15.8±0.2 ^c	97.5±0.3 ^{ab}	94.1±0.4 ^f
6	546.00	819.00	309.00	13.9±0.6 ^{ef}	97.6±0.3 ^a	94.7±0.2 ^e

[†] 字母不同表示差异显著(P<0.05)。

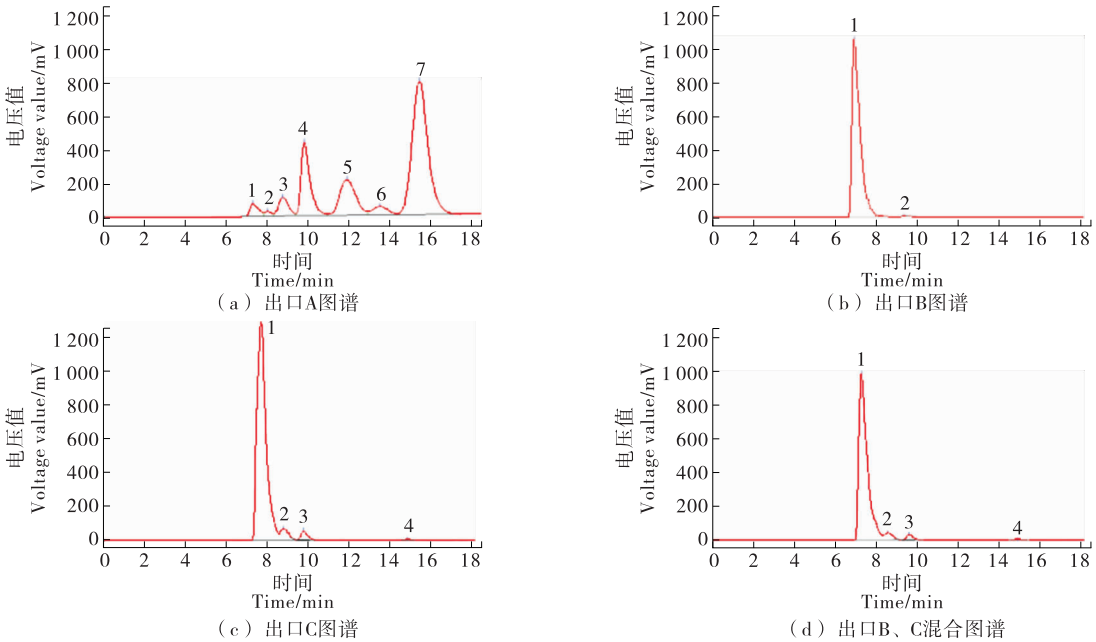


图 7 多聚果糖各组分液相分析图谱

Figure 7 HPLC of inulin polyfructose components

表 5 出口 A 图谱分析结果

Table 5 Analysis results of export A atlas

峰号	保留时间/min	化合物	含量/%
1	7.497	多聚果糖	3.676 8
2	8.025	多聚果糖	1.153 4
3	8.856	多聚果糖	4.929 8
4	9.975	蔗糖	24.768 3
5	11.986	葡萄糖	12.187 9
6	13.569	未知糖	2.248 5
7	15.602	果糖	51.035 3

表 6 出口 B 图谱分析结果

Table 6 Analysis results of export B atlas

峰号	保留时间/min	化合物	含量/%
1	7.135	多聚果糖	99.840 0
2	9.652	蔗糖	0.160 0

表 7 出口 C 图谱分析结果

Table 7 Analysis results of export C atlas

峰号	保留时间/min	化合物	含量/%
1	7.853	多聚果糖	93.090 8
2	8.658	多聚果糖	3.569 2
3	9.789	蔗糖	3.256 8
4	15.065	果糖	0.083 2

表 8 出口 B、C 混合图谱分析结果

Table 8 Analysis results of export B and C mix atlas

峰号	保留时间/min	化合物	含量/%
1	7.348	多聚果糖	93.567 8
2	8.675	多聚果糖	3.352 2
3	9.833	蔗糖	3.023 1
4	15.075	果糖	0.056 9

表 9 3 种方法试验结果比较

Table 9 The experimental results of the three methods were compared

方法	色谱分离 柱数量	树脂添 加量/L	$V_{\text{水}}:m_{\text{料}}$ (mL/g)	进料浓度/ %	处理量/ (kg·d ⁻¹)	菊芋多聚果糖 组分浓度/%	菊芋多聚果 糖含量/%	菊芋多聚果 糖收率/%
制备色谱分离	1	0.1	6.4:1.0	30	0.14	10.3	91.2	86.6
旋转阀式模拟移动色谱	12	1.2	3.5:1.0	20	2.45	8.2	92.5	91.5
顺序式模拟移动色谱	6	6.0	1.1:1.0	30	21.84	17.9	96.9	95.8

由表 9 可知,旋转阀式模拟移动色谱及制备色谱分离工艺的各项指标均低于顺序式模拟移动色谱工艺,单柱色谱是最基础的分离模式,各种指标均低于其他两种,不能进行产业化生产。与顺序式模拟移动色谱相比,旋转阀式模拟移动色谱的色谱柱数量多 6 根,设备投资相对较多;用水量增加 2.4 倍,增加了运行成本;进料浓度和出口浓度低,处理量小,增加了物料浓缩成本。此外,旋转阀式模拟移动色谱工艺的菊芋多聚果糖含量(92.5%)及收率(91.5%)均低于($P<0.05$)顺序式模拟移动色谱工艺的(96.9%和 95.8%),均明显高于制备色谱分离法。而且顺序式模拟移动色谱的自动化程度、运行成本、日处理量较旋转阀式模拟移动色谱有很大的优势,更利于大规模的产业化生产^[23-25]。

3 结论

通过比较分析,认为 3 种方法中顺序式模拟移动色谱技术是最适于菊芋多聚果糖纯化的技术,是一种低耗、高效、环保的纯化技术,能实现大规模的产业化生产。较之前的研究^[26]有一定的进步,可显著降低多聚果糖的生产成本。同时研究尚未对顺序式模拟移动床分离多聚果糖的分离过程进行全面分析,未进行树脂的疲劳试验等,需要进一步的试验研究,以真正实现产业化生产。

参考文献

[1] 陈洪生,刁静静,李洪飞,等. 模拟移动色谱连续分离大豆低聚糖技术研究[J]. 中国食品学报, 2016, 16(10): 87-92.

[2] GALATIUS S, BENTHANSEN L, WROBLEWSKI H, et al. Plasma clearance of polyfructosan and extracellular body fluid distribution in idiopathic dilated cardiomyopathy and after heart transplantation[J]. American Journal of Cardiology, 2000, 85(7): 843-848.

[3] DUBOURG L, FERRIER B. Adaptation of an enzymatic polyfructosan assay to clinical practice[J]. Analytical Biochemistry, 2010, 405(2): 266-268.

[4] 罗登林,许威,陈瑞红,等. 菊粉溶解性能与凝胶质构特性试验[J]. 农业机械学报, 2012, 43(3): 118-122.

[5] MARCIO S, LEANDRA Z J. Rheological properties of wheat flour and quality characteristics of pan bread as modified by partial additions of wheat bran or whole grain wheat flour [J]. International Journal of Food Science & Technology, 2012, 47(10): 2 141-2 150.

[6] PERESSINI D, SENSIDONI A. Effect of soluble dietary fibre addition on rheological and breadmaking properties of wheat doughs[J]. Journal of Cereal Science, 2009, 49(2): 190-201.

[7] VERMA A K, BANERJEE R. Dietary fibre as functional ingredient in meat products: A novel approach for healthy liv-

- ing; A review[J]. Journal of Food Science and Technology, 2010, 47(3): 247-257.
- [8] 孙雪梅, 宗渊, 杨世鹏, 等. 菊芋果聚糖合成酶基因 1-SST 启动子克隆与活性研究[J]. 西南农业学报, 2020, 33(2): 241-245.
- [9] 张学英, 黄忠意, 章发盛, 等. 两种检测还原糖方法的比较[J]. 食品与机械, 2017, 33(2): 66-69.
- [10] 周瑞铮. 低聚果糖和菊粉对发酵香肠风味的影响[D]. 扬州: 扬州大学, 2018: 5-10.
- [11] 朱程旭. 木糖水解液糖酸色谱分离技术基础研究[D]. 无锡: 江南大学, 2019: 24-25.
- [12] 董青. EPA-EE 和 DHA-EE 的分离工艺研究[D]. 杭州: 浙江大学, 2018: 8-20.
- [13] 余书奇, 包晓青, 梁明在, 等. 超临界流体萃取与模拟移动床色谱纯化灵芝三萜类化合物[J]. 食品科学, 2019, 40(20): 286-292.
- [14] 刘斌杰. 模拟移动床分离红霉素 A 和红霉素 C 的研究[D]. 上海: 华东理工大学, 2018: 6-20.
- [15] 王绍艳, 魏伯峰, 丛景香, 等. 模拟移动床色谱分离甘草苷和甘草素[J]. 精细化工, 2017, 34(11): 1 260-1 264.
- [16] LEE J W, LEE C H, KEE Y M. Sensitivity analysis of amino acids in simulated moving bed chromatography[J]. Biotechnology & Bioprocess Engineering, 2006, 11(2): 110-115.
- [17] SONG S M, PARK M B, KIM I H. Three-zone simulated moving-bed (SMB) for separation of cytosine and guanine[J]. Korean Journal of Chemical Engineering, 2012, 29(7): 952-958.
- [18] 刘彬. 菊芋菊糖的制备及其降解生产低聚果糖[D]. 无锡: 江南大学, 2016: 21-29.
- [19] 孙蕊, 贾鹏禹, 谭策, 等. 成品菊粉中果聚糖含量的液相色谱快速分析方法[J]. 黑龙江八一农垦大学学报, 2015, 27(3): 71-74.
- [20] 李良玉, 李洪飞, 王学群, 等. 模拟移动床分离高纯果糖的研究[J]. 食品工业科技, 2012, 33(3): 302-304.
- [21] 李良玉, 宋大巍, 孙蕊, 等. 模拟移动色谱法纯化葡萄糖母液的技术研究[J]. 核农学报, 2015, 29(10): 1 970-1 978.
- [22] 李良玉, 孙蕊, 李朝阳, 等. 顺序式模拟移动色谱纯化木糖酵母液[J]. 天然产物研究与开发, 2015, 27(10): 1 789-1 793.
- [23] LU Jian-gang. Numerical simulation of asynchronous simulated moving bed chromatography[J]. Chinese Journal of Chemical Engineering, 2004, 12(3): 415-420.
- [24] 沈圆辉. 对二甲苯模拟移动床分离过程的模拟与优化[D]. 天津: 天津大学, 2016: 10-20.
- [25] MAILEN Fernandez, MANUEL Mirp, HILDA M González, et al. Modulation of mobile phase composition in flow-injection/sequential-injection chromatography exploiting multisyringe flow analysis[J]. Analytical and Bioanalytical Chemistry, 2008, 391(3): 817-825.
- [26] 张银. 菊粉的分离纯化[D]. 青岛: 青岛科技大学, 2016: 47-67.
- (上接第 152 页)
- [7] 黄颖, 谭书明, 陈小敏, 等. 辣木籽多酚提取工艺优化及解酒功效研究[J]. 食品科技, 2019, 44(6): 248-255.
- [8] DAVIES A G, MCINTIRE S L. Using *C. elegans* to screen for targets of ethanol and behavior-altering drugs[J]. Biological Procedures Online, 2004, 6: 113-119.
- [9] STIERNAGLE T. Maintenance of *C. elegans*[J]. Wormbook the Online Review of *C. elegans* Biology, 2006, DOI: 10.1895/wormbook.1.101.1.
- [10] WU Zhong-qin, LI Ke, MA Jin-kui, et al. Effects of ethanol intake on anti-oxidant responses and the lifespan of *Caenorhabditis elegans*[J]. CyTA-Journal of Food, 2019, 17(1): 288-296.
- [11] 许云, 阮秦莉, 纪蕾蕾, 等. 茺花素对模式生物秀丽隐杆线虫的毒性作用[J]. 中国药理学与毒理学杂志, 2017, 31(5): 414-421.
- [12] 曾敏, 魏焘, 李柯, 等. 蓝莓果酒对秀丽隐杆线虫寿命的影响[J]. 食品研究与开发, 2016(11): 14-19.
- [13] 王晗, 米生权, 孙雅焯, 等. 壳寡糖对秀丽隐杆线虫寿命的影响[J]. 食品科学, 2015, 36(1): 229-233.
- [14] DAVIES A G, PIERCE-SHIMOMUR A J T, KIM H, et al. A central role of the BK potassium channel in behavioral responses to ethanol in *C. elegans*[J]. Cell, 2003, 115(6): 655-666.
- [15] ALAIMO J T, DAVIS S J, SONG S S, et al. Ethanol metabolism and osmolarity modify behavioral responses to ethanol in *C. elegans*[J]. Alcoholism Clinical & Experimental Research, 2012, 36(11): 1 840-1 850.
- [16] 刘冰, 王永明, 徐蓉, 等. 辣木籽对大鼠糖尿病脑病的神经保护作用[J]. 长春中医药大学学报, 2010(2): 17-18.
- [17] SOUSA A J S, SOUZA P F N, GIFONI J M, et al. Scanning electron microscopy reveals deleterious effects of *Moringa oleifera* seed exuded proteins on root-knot nematode *Meloidogyne incognita* eggs[J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2020, 154: 1 237-1 244.
- [18] 谷婧, 田利军. 钙调神经磷酸酶在运动中的作用及调节[J]. 山西大同大学学报(自然科学版), 2011, 27(1): 55-57.
- [19] 陈玉艳, 胡长志, 崔汝强. 线虫乙酰胆碱酯酶基因研究进展[J]. 生物灾害科学, 2015, 38(4): 284-289.
- [20] DVIR H, SILMAN I, HAREL M, et al. Acetylcholinesterase: From 3D structure to function[J]. Chemico Biological Interactions, 2010, 187(1/2/3): 10-22.
- [21] 贾明月. 大鼠酒精中毒后大脑皮质、海马、小脑的病理学改变, caspase-3、CaN 的异常表达及离子的变化[D]. 长春: 吉林大学, 2011: 21-23.
- [22] 张梦妍, 彭彦卿, 党好, 等. 两种白酒对小鼠海马乙酰胆碱酯酶活性和纹状体单胺类神经递质含量的影响[J]. 现代预防医学, 2011, 38(12): 2 339-2 341.