

# 莴苣茎水溶性多糖的单糖组成及免疫调节活性研究

## Study on monosaccharide component and immunomodulatory activity of water soluble polysaccharides from lettuce stem

汪名春<sup>1</sup> 聂陈志鹏<sup>1</sup> 朱培蕾<sup>2</sup> 赵士伟<sup>1</sup>

WANG Ming-chun<sup>1</sup> NIE Chen-zhi-peng<sup>1</sup> ZHU Pei-lei<sup>2</sup> ZHAO Shi-wei<sup>1</sup>

王乃富<sup>1</sup> 曾晓雄<sup>3</sup> 周裔彬<sup>1</sup>

WANG Nai-fu<sup>1</sup> ZENG Xiao-xiong<sup>3</sup> ZHOU Yi-bin<sup>1</sup>

(1. 安徽农业大学茶与食品科技学院食品科学与工程系, 安徽 合肥 230036;

2. 安徽省农业科学院园艺研究所, 安徽 合肥 230031;

3. 南京农业大学食品科技学院, 江苏 南京 210095)

(1. Department of Food Science and Engineering, College of Tea and Food Technology, Anhui Agricultural University, Hefei, Anhui 230036, China; 2. Institute of Horticulture, Academy of Anhui Agricultural Science, Hefei, Anhui 230031, China; 3. College of Food Science and Technology, Nanjing Agricultural University, Nanjing, Jiangsu 210095, China)

**摘要:**为了探究莴苣茎中多糖类物质,以莴苣茎为原料,水提醇沉法制备得到莴苣茎水溶性多糖,高效液相色谱法分析多糖的单糖组成,小鼠巨噬细胞 RAW264.7 给药试验研究多糖的免疫调节活性。结果表明:莴苣茎水溶性多糖主要由半乳糖醛酸、半乳糖和阿拉伯糖组成,其摩尔比为 22.60 : 30.42 : 17.88;在试验的浓度范围内(5~200  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ),莴苣茎水溶性多糖可以显著提高小鼠巨噬细胞活力和吞噬中性红的能力,并刺激小鼠巨噬细胞分泌产生 NO,表明其具有免疫调节活性。该研究结果可为莴苣茎的高效利用和产品开发提供理论依据。

**关键词:**莴苣;多糖;单糖;巨噬细胞;免疫调节

**Abstract:** In order to study polysaccharides of lettuce stem, lettuce stem was used as materials to prepare water soluble polysaccharides with the method of water extraction-alcohol precipitation. Monosaccharide components and immunomodulatory activities of polysaccharides were measured by using HPLC and administration route of RAW 264.7 macrophage cells. The results demonstrated that lettuce stem polysaccharides were mainly composed of galacturonic acid, galactose and arabinose in a mole ratio of 22.60 : 30.42 : 17.88. In the range of 5~200  $\mu\text{g}/\text{mL}$  of test concentrations, lettuce stem polysac-

charides significantly promoted the proliferation, phagocytosis and NO product of RAW264.7 macrophage cells, which suggested that lettuce stem polysaccharides had a immunomodulatory activity. All the results provided a theory evidence for high utilization and product development of lettuce stem.

**Keywords:** lettuce; polysaccharide; monosaccharide; macrophage cell; immunomodulatory activity

多糖是由醛糖或酮糖通过糖苷键连接在一起的多聚物,是构成生命的四大基本物质之一,在生物体生命活动中发挥着重要功能。研究<sup>[1-3]</sup>表明,多糖具有抗肿瘤、抗衰老、抗氧化和调节机体免疫等多种生物活性功能,其生物活性与多糖的理化特性紧密相关。其中,免疫调节作用是植物多糖最重要的生物活性功能,植物多糖可以通过加强或活化巨噬细胞免疫应答,进而发挥免疫调控的作用<sup>[4-5]</sup>。

莴苣属于菊科莴苣属,是一种茎叶皆可食用的蔬菜。莴苣的营养价值很高,含有丰富的氨基酸、维生素、矿物质以及碳水化合物。中药典籍<sup>[6]</sup>记载莴苣具有利尿、通乳、清热解毒的功效。现代研究<sup>[7-9]</sup>证明,其茎叶中含有的谷甾醇、黄酮及黄酮苷类、三萜类以及倍半萜类等化学成分具有保肝、抗炎、抗菌、抗脑缺血以及抗氧化等生物活性,在生物医药领域具有很高的开发利用价值。目前,文献报道<sup>[7-9]</sup>多集中在莴苣的小分子化学物质及其生物活性的研究上,而其中多糖类物质的研究则鲜见报道。仅有的少量研究<sup>[10]</sup>侧重于多糖提取条件的优化工艺,未对多糖的组成及生物活性进行深入

**基金项目:**安徽省自然科学基金(编号:1408085QC58);安徽农业大学稳定和引进人才项目;安徽农业大学青年基金重点项目

**作者简介:**汪名春,男,安徽农业大学讲师,博士。

**通讯作者:**周裔彬(1967—),男,安徽农业大学教授,博士。

E-mail: zhouyibin@aahu.edu.cn

**收稿日期:**2016-02-27

研究。本研究拟通过水提醇沉法制备莴苣茎水溶性多糖,采用高效液相色谱法和 RAW264.7 小鼠巨噬细胞给药试验分别研究其单糖组成和免疫调节活性,旨在为莴苣的高效利用和产品开发提供理论依据。

## 1 材料与方 法

### 1.1 原料与试剂

新鲜莴苣茎:茎干用莴苣茎,购于安徽省涡阳县农贸市场;

小鼠巨噬细胞 RAW264.7:中科院细胞库;

乙醇、氯仿、三氟乙酸、1-苯基-3-甲基-5-吡唑琳酮(PMP)、对氨基苯磺酸、亚硝酸钠、苯酚、盐酸、磷酸、二甲基亚砜(DMSO):分析纯,国药集团化学试剂有限公司;

萘胺、中性红、噻唑蓝(MTT):北京索莱宝生物技术有限公司;

各单糖标准品(鼠李糖、岩藻糖、阿拉伯糖、木糖、甘露糖、葡萄糖、半乳糖、葡萄糖醛酸、半乳糖醛酸): $\geq 99\%$ ,美国 Sigma-Aldrich 公司;

脂多糖(LPS):Premium 级,美国 Sigma-Aldrich 公司;

甲醇、乙腈:色谱纯,美国 Sigma-Aldrich 公司;

DMEM 液体培养基、PBS、胎牛血清、丙酮酸钠、HEPES、青霉素和链霉素:上海普飞生物技术有限公司。

### 1.2 仪器与设备

高效液相色谱仪:Waters 1525 Binary 型,美国 Waters 公司;

电子天平:CP224C 型,奥豪斯仪器(上海)有限公司;

集热式磁力加热搅拌器:DF-101S 型,金坛市金甫仪器制造有限公司;

紫外可见分光光度计:V-1600 型,上海美谱达仪器有限公司;

数显鼓风干燥箱:GZX-9070MBE 型,上海博迅实业有限公司医疗设备厂;

低速台式大容量离心机:TDL-40B 型,石家庄现代仪器仪表化工有限公司;

旋转蒸发仪:YRE-5299 型,巩义市予华仪器有限公司;

冷冻干燥机:Alpha 1-2 型,英国 Labconco 公司;

三目倒置生物显微镜:37XB 型,上海光学仪器厂;

低速离心机:SC-2556 型,安徽中科中佳科学仪器有限公司;

净化工作台:SW-CJ-2D 型,苏州净化设备有限公司;

二氧化碳培养箱:FORMA 3111 型,赛默飞世尔科技(中国)有限公司;

酶标仪:iMark 型,美国 Bio-Rad 公司;

立式压力蒸汽灭菌器:LDZX-50KBS 型,上海申安医疗器械厂。

### 1.3 方法

1.3.1 原料预处理 将新鲜莴苣茎洗净,切碎后置于 55 °C 条件下烘干并研磨粉碎。莴苣茎粉末以 1:10(g/mL)的料液比用 75% 的酒精在 70 °C 条件下回流提取两次,每次

1.5 h。提取结束后离心得到的料渣在 60 °C 下烘干至恒重,经粉碎得到莴苣茎干粉置于干燥器中保存备用。

1.3.2 多糖提取 处理好的莴苣茎干粉,按照料液比 1:30 (g/mL)用去离子水在 85 °C 的条件下提取 120 min。提取液离心(5 000 r/min,15 min)取上清后,将料渣按照同样方法再重复提取 2 次。将 3 次提取的上清液合并,在 55 °C 条件下旋转蒸发浓缩至原体积的 1/8。向浓缩液中加入 3 倍体积的无水乙醇(乙醇终浓度为 75%),并置于 4 °C 冷藏过夜以沉淀多糖,离心(5 000 r/min,15 min)后取沉淀多糖加适量的水溶解并旋转蒸发去除残余的酒精,冷冻干燥后复溶。按文献[11]中 S-8 大孔吸附树脂脱蛋白操作条件对多糖溶液进行处理,处理后的溶液浓缩后冷冻干燥,即得到莴苣茎水溶性多糖。

1.3.3 单糖组成分析 采用 PMP 柱前衍生化—高效液相色谱法<sup>[12-13]</sup>。

1.3.4 细胞培养 小鼠巨噬细胞 RAW264.7 用含有 10% 胎牛血清、1 mmol/L 丙酮酸钠、10 mmol/L HEPES、100 IU/mL 青霉素和 100 μg/mL 链霉素的 DMEM 完全培养基培养<sup>[14]</sup>,置于 37 °C、5% CO<sub>2</sub> 细胞培养箱中,每隔 1~2 d 传代一次保持细胞对数生长。

1.3.5 细胞接种与给药处理 收集对数生长期 RAW264.7 细胞,调整细胞浓度为  $1 \times 10^5$  个/mL<sup>[15]</sup>,以每孔 100 μL 接种于 96 孔板,96 孔板的四周边孔不接种细胞,选取 5 个边孔加入 100 μL DMEM 完全培养基,其余边孔均加入等体积的 PBS。接种好的 96 孔板置于细胞培养箱中培养 24 h。

取出 96 孔板,吸去培养液,每孔加入 100 μL 多糖溶液(DMEM 完全培养基配置,0.22 μm 无菌滤膜过滤除菌),使得终浓度分别为 5,10,50,100,200 μg/mL,各浓度梯度设 5 个平行,阳性对照组加入 100 μL LPS(终浓度为 2 μg/mL),空白对照组加入 100 μL DMEM 完全培养基。加样结束后,将 96 孔细胞培养板置于细胞培养箱中培养 24 h。

1.3.6 MTT 法检测细胞活力 给药培养结束后,取出 96 孔板,每孔加入 10 μL MTT(浓度 5 mg/mL,PBS 配置),继续于细胞培养箱中培养 4 h 后,吸去上清液,每孔加入 100 μL DMSO,轻振摇匀使蓝紫色结晶溶解完全,酶标仪 490 nm 检测吸光度。样品及空白对照的吸光度之比即为刺激指数。

1.3.7 NO 产量测定 标准曲线绘制:取 50,100,150,200,250 μL 1 mmol/L 的 NaNO<sub>2</sub> 标准溶液于离心管中,加水至 5 mL,各取上述标准液 50 μL 于 96 孔板中,然后加入 50 μL Griess 试剂(1% 对氨基苯磺酸溶液与 0.1% 萘胺的 3% H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> 溶液 1:1 混合,现用现配),摇匀,室温反应 10 min,酶标仪 490 nm 测吸光度,制得标准曲线。其曲线方程为  $y = 256.22x - 6.1307 (R^2 = 0.991)$ 。

给药培养结束后,取出 96 孔板,吸取 50 μL 培养液至新的 96 孔板中用于检测 NO 产量(96 孔板细胞用于接下来测定吞噬活性)。向装有 50 μL 培养液的 96 孔板中各孔加入 50 μL Griess 试剂,摇匀,室温反应 10 min,酶标仪 490 nm 测吸光度,根据标准曲线计算培养液中 NO 产量。

1.3.8 细胞吞噬活性测定 取 1.3.7 中 96 孔细胞培养板,弃

去剩余培养液,孔底贴壁细胞用 100  $\mu\text{L}$  PBS 清洗两遍,然后加入 100  $\mu\text{L}$  0.075% 的中性红试剂,培养箱中培养 1 h,随后吸去上清液,PBS 清洗两遍以除去未被吞噬的中性红,最后每孔各加入 100  $\mu\text{L}$  细胞裂解液(1 mol/L 冰醋酸和乙醇 1:1 混合),放置过夜,酶标仪 490 nm 检测吸光度。样品及空白对照的吸光度之比即为吞噬指数。

## 2 结果与分析

### 2.1 莴苣茎水溶性多糖的单糖组成

经衍生化后的混合标准单糖液相色谱图见图 1。由图 1 可知,在试验条件下,9 种标准单糖均达到了完全分离。

用高效液相色谱仪检测经酸水解和衍生化后的莴苣茎水溶性多糖样品,得到如图 2 所示的液相色谱图。经过与图 1 中标准单糖的出峰时间对比分析可以看出,莴苣茎水溶性多糖至少由 8 种以上单糖组成,包括甘露糖、鼠李糖、葡萄糖醛酸、半乳糖醛酸、葡萄糖、半乳糖、木糖和阿拉伯糖等,其中以半乳糖醛酸、半乳糖和阿拉伯糖为主要组分,此 3 种单糖的摩尔比为 22.60:30.42:17.88。

### 2.2 莴苣茎水溶性多糖的免疫调节活性

2.2.1 莴苣茎水溶性多糖对巨噬细胞 RAW264.7 活力的影响 采用 MTT 法测定细胞活力时,样品与空白对照的吸光度之比定义为刺激指数,该值的大小即表明细胞活力的强弱。刺激指数大于 1 即表明细胞增殖,活力得到提升,小于 1

即表明细胞增殖受到抑制,活力有所下降。由图 3 可知,莴苣茎水溶性多糖对巨噬细胞增殖的刺激指数均大于 1,且和空白对照相比有极显著差异( $P < 0.01$ )。在浓度为 5~50  $\mu\text{g}/\text{mL}$  时,其对巨噬细胞增殖作用的影响呈剂量依赖关系,刺激指数在作用浓度 50  $\mu\text{g}/\text{mL}$  时达到最高,之后随浓度的升高又有所下降。以上结果表明,在试验的浓度范围内,莴苣茎水溶性多糖能够促进巨噬细胞 RAW264.7 增殖,增强细胞活力,且无细胞毒性。

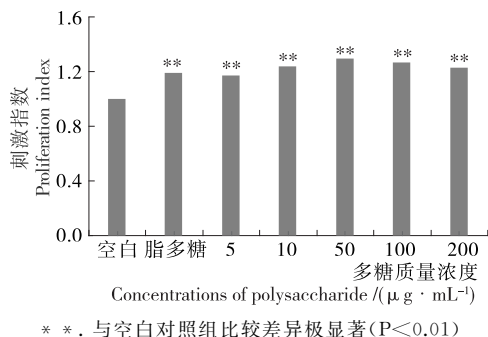


图 3 莴苣茎水溶性多糖对巨噬细胞 RAW264.7 活力的影响

Figure 3 Effects of lettuce stem polysaccharides on proliferation of RAW264.7 macrophage cells

2.2.2 莴苣茎水溶性多糖对巨噬细胞 RAW264.7 释放 NO 的影响 由于细胞释放的 NO 化学性质活泼、不稳定,可迅速和水、氧以及机体中的超氧阴离子反应生成硝酸盐和亚硝酸盐<sup>[16]87</sup>,因此采用 Griess 试剂法检测细胞培养上清液中亚硝酸盐的量来间接反映巨噬细胞 RAW264.7 释放的 NO 产量。由图 4 可知,在试验的浓度范围内,经多糖给药处理后的巨噬细胞释放 NO 的量均有不同程度的增加( $P < 0.01$ ),且随浓度升高逐渐增加,呈良好的剂量依赖关系。结果说明莴苣水溶性多糖具有激活巨噬细胞释放 NO 的能力。

2.2.3 莴苣茎水溶性多糖对巨噬细胞 RAW264.7 吞噬作用的影响 采用巨噬细胞吞噬中性红法研究了莴苣茎水溶性多糖对巨噬细胞 RAW264.7 吞噬作用的影响。由图 5 可知,巨噬细胞的吞噬指数随着多糖浓度的增加呈先上升后下降

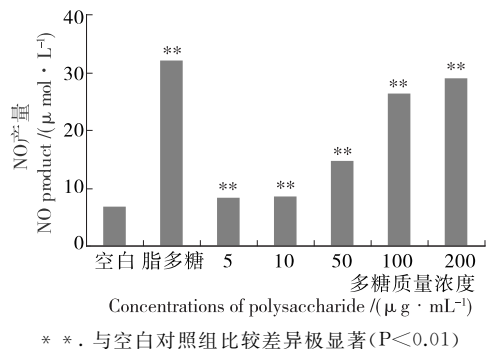
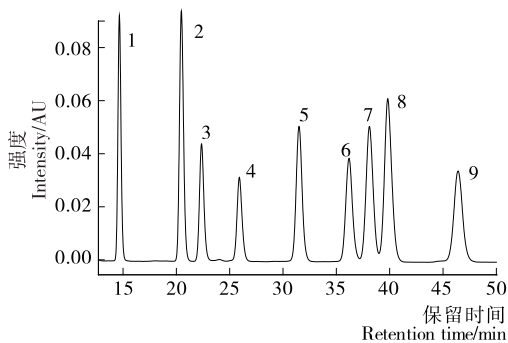


图 4 莴苣茎水溶性多糖对巨噬细胞 RAW264.7 释放 NO 的影响

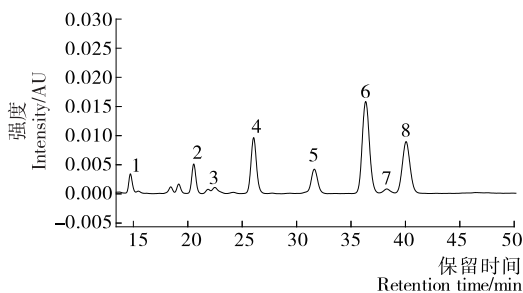
Figure 4 Effects of lettuce stem polysaccharides on NO product of RAW264.7 macrophage cells



1. 甘露糖 2. 鼠李糖 3. 葡萄糖醛酸 4. 半乳糖醛酸 5. 葡萄糖  
6. 半乳糖 7. 木糖 8. 阿拉伯糖 9. 岩藻糖

图 1 混合标准单糖的液相色谱图

Figure 1 HPLC chromatogram of standard monosaccharide



1. 甘露糖 2. 鼠李糖 3. 葡萄糖醛酸 4. 半乳糖醛酸 5. 葡萄糖  
6. 半乳糖 7. 木糖 8. 阿拉伯糖

图 2 莴苣茎水溶性多糖的液相色谱图

Figure 2 HPLC chromatogram of lettuce stem polysaccharides

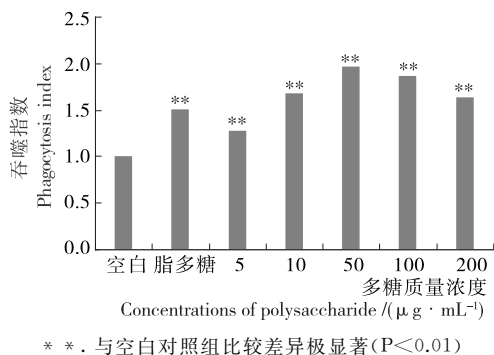


图5 莴苣茎水溶性多糖对巨噬细胞 RAW264.7 吞噬作用的影响

Figure 5 Effects of lettuce stem polysaccharides on phagocytosis of RAW264.7 macrophage cells

的趋势,其中在浓度为 50  $\mu\text{g}/\text{mL}$  时达到最大,但所有浓度组的巨噬细胞吞噬指数均大于 1,且与空白对照组相比有极显著差异 ( $P < 0.01$ ),这说明莴苣茎水溶性多糖具有较强地激活巨噬细胞、提高其吞噬作用的能力。

巨噬细胞是机体重要的免疫细胞,具有吞噬杀伤微生物、提呈抗原和分泌细胞因子等多种功能,在机体固有和适应性免疫功能中起着重要作用。巨噬细胞发挥其免疫功能的基础是细胞的存活,其存活状态直接影响着其功能的发挥及应答的强弱<sup>[17]</sup>。巨噬细胞吞噬外来病原体是其发挥免疫作用的途径之一,其吞噬作用的强弱可以反映其活化的程度、也可以间接反映其免疫活性的高低<sup>[16]92</sup>。此外,NO 是激活的巨噬细胞杀灭侵入病原体及肿瘤细胞的主要效应分子,其可以作为一种反映巨噬细胞活化程度的量化指标<sup>[18]</sup>。因此,细胞活力、吞噬能力以及 NO 产量是反映巨噬细胞免疫功能和免疫状态的重要指标。本研究中,在试验的浓度范围内,莴苣水溶性多糖可以显著提高巨噬细胞的活力和吞噬能力,刺激巨噬细胞分泌产生 NO,表明莴苣水溶性多糖可以通过激活巨噬细胞起到免疫调节功能。

相关研究<sup>[15, 18-20]</sup>表明,在多糖类物质作用下,巨噬细胞活力显著增强,且随多糖浓度的增加先逐渐上升,而后在较高作用浓度时又呈下降趋势。本研究结果表明,莴苣茎水溶性多糖对巨噬细胞 RAW264.7 活力的影响呈现出类似的现象。究其原因,主要与多糖类物质激活巨噬细胞释放大量 NO 进而引起细胞本身凋亡有关<sup>[21-22]</sup>,这一推测可以从本研究中多糖激活巨噬细胞释放 NO 的试验中得到验证,即随多糖浓度的增加,激活的巨噬细胞持续不断地大量释放 NO。而过量释放的 NO 则可能进一步引起了巨噬细胞的凋亡,从而在 MTT 检测细胞活力时呈现细胞活力下降的现象。此外,本研究中激活的巨噬细胞吞噬中性红的能力也随多糖浓度的升高先增强后减弱,与巨噬细胞活力的变化趋势相一致,该现象也可以解释为在较高浓度多糖作用下,巨噬细胞吞噬能力的增强效应恰好被过量 NO 导致的细胞凋亡抵消。所以理论上高浓度多糖作用下巨噬细胞吞噬能力应不断增强,而实际上却呈现为减弱趋势。

### 3 结论

从莴苣茎中提取得到莴苣茎水溶性多糖,高效液相色谱法分析结果表明其是由甘露糖、鼠李糖、葡萄糖醛酸、半乳糖醛酸、葡萄糖、半乳糖、木糖和阿拉伯糖等至少 8 种单糖组成的多糖,其中半乳糖醛酸、半乳糖和阿拉伯糖为主要单糖组分,其摩尔比是 22.60 : 30.42 : 17.88。小鼠巨噬细胞 RAW264.7 给药试验显示莴苣茎水溶性多糖可以显著的提高巨噬细胞的活力和吞噬能力,刺激巨噬细胞分泌产生 NO,表明莴苣茎水溶性多糖可以通过激活巨噬细胞起到免疫调节功能。本试验为莴苣茎水溶性多糖的探索研究,探明了莴苣茎水溶性多糖的单糖组成与免疫调节活性。在后续的研究中,将对多糖的精细结构、免疫调节作用机理以及构效关系等做进一步深入的探索。

### 参考文献

- [1] 聂少平, 黄丹菲, 殷军艺, 等. 食物中多糖组分的结构表征与活性功能研究进展[J]. 中国食品学报, 2011, 11(9): 46-57.
- [2] 贾林, 陆金健, 周文雅, 等. 桔梗多糖对环磷酰胺诱导的免疫抑制小鼠的免疫调节[J]. 食品与机械, 2012, 28(3): 112-114.
- [3] 刘山, 李楠, 傅卉, 等. 利用电子自旋共振技术研究黄海水藻体壁多糖的体外抗氧化活性[J]. 食品与机械, 2015, 31(4): 155-158.
- [4] 尚庆辉, 解玉怀, 张桂国, 等. 植物多糖的免疫调节作用及其机制研究进展[J]. 动物营养学报, 2015, 27(1): 49-58.
- [5] 催倩倩, 刘朝奇, 袁丁. 植物多糖对巨噬细胞免疫调控影响的研究进展[J]. 广东医学, 2015, 36(6): 968-970.
- [6] 李时珍. 本草纲目[M]. 北京: 档案出版社, 1998: 1 281.
- [7] 杜鹤. 莴苣黄酮类化合物的抗氧化性研究[J]. 吉林医药学院学报, 2013, 34(3): 176-178.
- [8] 白意晓, 谭静, 王翔, 等. 莴苣属化学成分及药理活性研究进展[J]. 新乡医学院学报, 2013, 30(2): 149-151.
- [9] 杨晓, 余志, 高立伟, 等. 叶用莴苣抗氧化物及其生物活性研究进展[J]. 中国蔬菜, 2015(2): 17-24.
- [10] 张钟, 徐上辰, 李凤霞, 等. 苔干水溶性粗多糖提取工艺及理化性质的研究[J]. 包装与食品机械, 2007, 25(4): 44-47.
- [11] Liu Jun, Luo Jian-guang, Ye Hong, et al. A simple method for simultaneous decoloration and deproteinization of crude levan extract from *Paenibacillus polymyxa* EJS-3 by macroporous resin[J]. Biore-source Technology, 2010, 101(15): 6 077-6 083.
- [12] Dai Jun, Wu Yan, Cheng Shang-wei, et al. Sugar compositional determination of polysaccharides from *Dunaliella salina* by modified RP-HPLC method of precolumn derivatization with 1-phenyl-3-methyl-5-pyrazolone [J]. Carbohydrate Polymers, 2010, 82(3): 630-633.
- [13] 杨慧, 戴军, 陈尚卫, 等. 灵芝子实体多糖的分离纯化、组成及其免疫活性研究[J]. 食品与机械, 2015, 31(1): 132-136.
- [14] Wang Ming-chun, Jiang Chang-xing, Ma Li-ping, et al. Preparation, preliminary characterization and immunostimulatory activity of polysaccharide fractions from the peduncles of *Hovenia dulcis*[J]. Food Chemistry, 2013, 138(1): 41-47.

(下转第 219 页)

- World Journal of Microbiology & Biotechnology, 2014, 30(1): 125-133.
- [47] Ducrey Sanpietro Luis M, Kula M R. Studies of astaxanthin biosynthesis in *Xanthophyllomyces dendrorhous* (*Phaffia rhodozyma*). Effect of inhibitors and low temperature [J]. Yeast, 1997, 14(11): 1 007-1 016.
- [48] 王丽丽. 诱导子对雨生红球藻虾青素含量的影响及其分子机理的初步研究[D]. 宁波: 宁波大学, 2009.
- [49] 张颖鑫, 辛嘉英, 刘书娟, 等. 金属离子对红酵母菌产类胡萝卜素影响的研究[J]. 食品工业科技, 2010, 31(1): 65-70.
- [50] Buzzini P, Martini A, Gaetani M, et al. Optimization of carotenoid production by *Rhodotorula graminis* DBVPG 7021 as a function of trace element concentration by means of response surface analysis[J]. Enzyme and Microbial Technology, 2005, 36(5): 687-692.
- [51] Hsu W J, Poling S M, DeBenedict C, et al. Chemical inducers of carotenogenesis[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 1975, 23(5): 831-834.
- [52] 汪文俊, 宋发军, 孙雅芳. 生化诱导子对红法夫酵母生长和类胡萝卜素合成的影响[J]. 中南民族大学学报: 自然科学版, 2008, 27(2): 14-17.
- [53] 韩建荣, 高宇英, 赵文婧. 几种诱导子对青霉 PT95 菌株固态发酵产生类胡萝卜素的影响[J]. 应用与环境生物学报, 2005, 11(2): 208-210.
- [54] 叶辉, 王兆慧, 陈佩林, 等. 微生物诱导子对诺卡氏菌属 No5205 菌株发酵的影响[J]. 生物技术, 2004, 14(6): 57-58.
- [55] Saini R K, Prashanth K V Harish, Shetty N P, et al. Elicitors, SA and MJ enhance carotenoids and tocopherol biosynthesis and expression of antioxidant related genes in *Moringa oleifera* Lam. leaves[J]. Acta Physiologic Plantarum, 2014, 36(10): 2 695-2 704.
- [56] 齐凤慧, 詹亚光, 景天忠. 诱导子对植物细胞培养中次生代谢物的调控机制[J]. 天然产物研究与开发, 2008(20): 568-573.
- [57] 张坤生, 连喜军, 李红. 红酵母高产 $\beta$ -胡萝卜素营养因子的选择[J]. 食品工业科技, 2004, 25(7): 60-62.
- [58] Pirastru Laura, Darwish Mohamed, Chu Fong Lam, et al. Carotenoid production and change of photosynthetic functions in *Scenedesmus sp* exposed to nitrogen limitation and acetate treatment[J]. Journal of Applied Phycology, 2012, 24(1): 117-124.
- [59] Saha Sushanta Kumar, Moane Siobhan, Murray Patrick. Effect of macro- and micro-nutrient limitation on superoxide dismutase activities and carotenoid levels in microalga *Dunaliella salina* CCAP 19/18 [J]. Biorource Technology, 2013, 147: 23-28.
- [60] Lamers Packo P, Janssen Marcel, De Vos Ric C H, et al. Carotenoid and fatty acid metabolism in nitrogen-starved *Dunaliella salina*, a unicellular green microalga[J]. Journal of Biotechnology, 2012, 162(1): 21-27.
- [61] Farhat Nejia, Rabhi Mokded, Falleh Hanen, et al. Optimization of salt concentrations for a higher carotenoid production in *Dunaliella salina* (chlorophyceae) [J]. Journal of Phycology, 2011, 47(5): 1 072-1 077.
- [62] Liu Wen-hua, Ming Yao, Li Ping, et al. Inhibitory effects of hypo-osmotic stress on extracellular carbonic anhydrase and photosynthetic efficiency of green alga *Dunaliella salina* possibly through reactive oxygen species formation[J]. Plant Physiology and Biochemistry, 2012, 54: 43-48.
- [63] Hagi Tatsuro, Kobayashi Miho, Nomura Masaru. Aerobic condition increases carotenoid production associated with oxidative stress tolerance in *Enterococcus gilvus* [J]. FEMS Microbiology Letters, 2014, 350(2): 223-230.

(上接第 116 页)

- 开关切换控制[J]. 食品工业, 2015, 36(6): 238-241.
- [3] 易浩, 廖文大, 杜文, 等. 物料干重控制模式在加香加料及掺配环节中的应用[J]. 烟草科技, 2012(8): 12-14.
- [4] 陈洪. 提高烟草加香加料精度的方法[J]. 重庆与世界, 2012, 29(11): 153-154, 160.
- [5] 许雄文. 高精度加香系统在制丝线的应用[J]. 山东工业技术, 2014(18): 129.
- [6] 张晓峰, 于红丽. 烟草制丝叶片加料系统改造[J]. 设备管理与维修, 2014(2): 54-57.
- [7] 李奇, 姚二民, 郭帅. 提高加香机加香精度及烟丝混合均匀性[J]. 轻工科技, 2014(3): 82-83, 118.
- [8] 李光乐. FFS 包装机伺服电子定量秤研究[J]. 食品与机械, 2013, 29(4): 118-121.
- [9] 阳斌. 伺服技术在枕式包装机中的应用[J]. 食品与机械, 2005, 21(3): 49-51.

(上接第 151 页)

- [15] Sun Zheng-liang, Peng You, Zhao Wei-wei, et al. Purification, characterization and immunomodulatory activity of a polysaccharide from *Celosia cristata* [J]. Carbohydrate Polymers, 2015, 133: 337-344.
- [16] 汪名春. 枳椇肉质果梗多糖的分离纯化、结构分析及生物活性研究[D]. 南京: 南京农业大学, 2011.
- [17] 叶莎莎, 曾耀英, 尹乐乐. 红景天苷对小鼠腹腔巨噬细胞体外增殖、凋亡、吞噬、ROS 和 NO 产生的影响[J]. 细胞与分子免疫学杂志, 2011, 27(3): 237-241.
- [18] Chen Zhi-gang, Zhang Dan-li, Zhu Qu, et al. Purification, preliminary characterization and *in vitro* immunomodulatory activity of tiger lily polysaccharide[J]. Carbohydrate Polymers, 2014, 106: 217-222.
- [19] 韩丽荣, 程代, 王莉蕊, 等. 灰树花胞外多糖的结构及免疫调节活性[J]. 生物工程学报, 2016, 32(8): 1-9.
- [20] 陈榕芳. 浒苔多糖粗提物对巨噬细胞 RAW264.7 免疫调节作用及可能机制研究[D]. 福州: 福建医科大学, 2012: 19.
- [21] 周静, 王秩楠, 柳忠辉, 等. 脂多糖诱导小鼠巨噬细胞系 RAW264.7 细胞的活化凋亡作用[J]. 中国生物制品学杂志, 2009, 22(2): 136-138.
- [22] Sharma J N, Al-Omran A, Parvathy S S. Role of nitric oxide in inflammatory diseases[J]. Inflammopharmacology, 2007, 15(6): 252-259.