

壳聚糖季铵盐 对小牛胸腺 DNA 的作用研究

齐 炎,夏彩芬*,胡 帆,卢 焱,黄梦霞
(湖北工程学院化学与材料科学学院,湖北孝感 432000)

摘要:本文采用均相法合成了水溶性壳聚糖季铵盐 (HTCC),利用傅里叶红外 (FTIR) 光谱及核磁共振氢谱 ($^1\text{H NMR}$) 对其结构进行了表征,结果表明,HTCC 为壳聚糖 C_2 位氨基 H 被季铵盐侧链取代的产物。在 pH7.4 的生理条件下,以吖啶橙 (AO) 为荧光探针,采用荧光光谱法、圆二色谱法,并结合小牛胸腺 DNA (ctDNA) 热变性测定等实验手段,初步探讨了 HTCC 与 ctDNA 的相互作用机理,荧光光谱的分析结果表明:HTCC 对 AO-ctDNA 体系有猝灭作用,且符合静态猝灭特征。圆二色谱、热变性曲线分析结果表明:HTCC 主要以嵌插的方式与 ctDNA 结合,使双螺旋结构更紧密。

关键词:壳聚糖季铵盐,小牛胸腺 DNA,光谱法,结合方式,猝灭机理

Study on the interaction between quaternary ammonium salt of chitosan and calf thymus DNA

QI Yan, XIA Cai-fen*, HU Fan, LU Yao, HUANG Meng-xia

(College of Chemistry and Materials Science, Hubei Engineering University, Xiaogan, 432000, China)

Abstract: 2-Hydroxypropyltrimethyl ammonium chloride chitosan (HTCC) were synthesized in heterogeneous system and characterized by IR and NMR spectroscopy. HTCC was the product that the N-H of CS located at C_2 was replaced by quaternary ammonium salt. In the physiological environment (pH = 7.4). The interaction of HTCC with calf thymus DNA (ctDNA) were performed by fluorescence spectra and circular dichroism spectra, using acridine orange (AO) as a molecular probe. The analysis of UV Vis and fluorescence spectra showed that there was strong interaction between HTCC and ctDNA, the addition of HTCC made the fluorescence quenched effectively, which fitted the characteristics of the static fluorescence quenching. The circular dichroism spectra and thermal denaturation experiment proved that they combined with each other through the intercalative binding mode.

Key words: quaternary ammonium salt of chitosan; calf thymus DNA; spectral method; combination mode; quenching mechanism

中图分类号: TS201.1

文献标识码: A

文章编号: 1002-0306(2016)11-0058-05

doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2016.11.003

壳聚糖 (CS) 为天然碱性多糖,具有生物相容性、生物可降解性和低细胞毒性等优点,是极具发展潜力的非病毒性基因载体材料,然而仅能溶解于稀酸溶液中的特点限制了其在生物医药方面的应用^[1-3]。CS 经季铵化后的壳聚糖季铵盐 (HTCC) 在不加入稀酸的条件下也能溶解,且由于 HTCC 分子链上带有永久性正电荷的季铵阳离子,其氨基未在酸性条件下质子化也能够通过季铵阳离子与 DNA 分子中的带负电荷的磷酸骨架发生静电结合作用^[4-5]。

另有大量研究表明:外源物与 DNA 的作用为非共价键结合,作用方式分为嵌插作用、沟槽作用

和静电结合。为了进一步从分子水平上揭示 HTCC 与 DNA 相互作用方式及机理,本文通过化学改性制备 HTCC,并采用紫外光谱法、荧光光谱法和圆二色谱法等研究 HTCC 和小牛胸腺 DNA (ctDNA) 的作用机理,这将为在生物大分子水平上寻求新的具有良好生理活性的药物有着重要的意义,同时也为研究 HTCC 在基因治疗领域的应用提供参考依据。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

壳聚糖 ($M_w = 125680$) 上海沪试化工有限公司; 2,3-环氧丙基三甲基氯化铵 分析纯 上海笛柏化学

收稿日期: 2015-10-14

作者简介: 齐炎 (1994-), 男, 本科, 研究方向: 生物光化学, 生物热化学, E-mail: 775947711@qq.com。

* 通讯作者: 夏彩芬 (1979-), 女, 博士, 研究方向: 生物光化学, 生物热化学, E-mail: xintong7903@126.com。

基金项目: 国家自然科学基金项目 (21503075); 湖北省教育厅科学技术研究项目 (B2015034) 资助。

品有限公司; ctDNA 生物纯 sigma 试剂; 吡啶橙 日本东京化成工业株式会社。

Chirascan 圆二色谱仪 英国应用光物理公司; Nicolet-380 型傅立叶红外光谱仪 美国热电尼高力公司; Varian 600 MHz 核磁共振仪 美国 Varian 公司; TU-1901 双光束紫外可见分光光度计 北京普析通用仪器有限责任公司; FLS920 荧光光谱仪 英国爱丁堡仪器有限公司; JSM-7800F 扫描电镜 日本电子株式会社。

1.2 实验方法

1.2.1 HTCC 的制备 将壳聚糖溶解于 200 mL 2% 乙酸稀溶液中, 用磁力搅拌器搅拌 1 h, 使其充分溶解, 过滤, 调节滤液 pH 至 9, 使壳聚糖析出, 水洗至中性, 然后将得到的壳聚糖置于三口烧瓶中, 加入溶剂异丙醇, 搅拌, 升温, 加入缩水甘油三甲基氯化铵, 80 °C 反应 10 h, 经洗涤、抽滤、透析及冷冻干燥得产物^[6]。

1.2.2 HTCC 取代度的测定 根据公式(1)采用摩尔法计算产品的取代度 DS^[7]:

$$DS = \frac{cV \times 10^{-3}}{cV \times 10^{-3} - (W - cV \times 10^{-3} \times 314) / 162} \quad \text{式(1)}$$

式中: c -AgNO₃ 溶液浓度, mol/L; V -消耗 AgNO₃ 溶液的体积, mL; W -被滴定 HTCC 的质量, g; 162-壳聚糖单元的分子量, g/mol; 314-接上了季铵盐基团的壳聚糖单元的分子量, g/mol。

1.2.3 红外光谱分析 采用压片法, 将待测样与溴化钾按照一定比例研磨混匀, 在油压机中压制成片, 分别测定 CS 和 HTCC 在 4000~500 cm⁻¹ 范围内的红外光谱, 并比较分析。

1.2.4 ¹H-NMR 分析 以氘代氯仿为溶剂, 在室温下采用 Varian Inova 核磁共振波谱仪测定 HTCC 的 ¹H-NMR。

1.2.5 电镜扫描 将 CS、HTCC 进行表面喷金处理, 置于扫描电子显微镜下, 加速电压 10 kV, 放大 1000 倍, 分别对 CS 和 HTCC 进行表面微观结构的观察并比较。

1.3 HTCC 与 ctDNA 的相互作用

1.3.1 紫外可见光谱法 采用吡啶橙(AO)对 ctDNA 染色, 测试波长为 425~525 nm 范围内, HTCC 对 AO-ctDNA 体系紫外可见光谱的影响。

1.3.2 荧光光谱法 配制 10 g/L 的 HTCC 溶液。以 491 nm 为激发波长, 先测试 AO-ctDNA 体系的荧光吸收光谱, 再依次加入一定量的 HTCC 溶液, 分别测试 25、31、37 °C 时各体系的荧光吸收光谱, 根据这些数据计算猝灭常数和结合常数。

1.3.3 HTCC 对 ctDNA 圆二色谱的影响 测定 pH = 7.4 下 ctDNA 和 HTCC-ctDNA 体系的圆二色谱, 分析 HTCC 对 ctDNA 二级结构的影响。

1.3.4 热变性实验 分别测试 ctDNA 及 HTCC-ctDNA 的熔点。以 PBS 作缓冲剂, 测定紫外可见吸收强度, 将恒温槽升温至 50 °C (50~90 °C 间, 每隔 2.5 °C 的温度, 总共 16 组温度), 重复 2 次, 测试溶液紫外可见吸收强度。

2 结果与讨论

2.1 HTCC 的结构分析

2.1.1 HTCC 取代度的测定 由公式(1)可得, HTCC 平均取代度为 114.8%, 结果显示本实验合成了取代度比较高的壳聚糖季铵盐。

2.1.2 FTIR 和 ¹H NMR 表征 CS/HTCC FTIR 分析: 曲线 a 和 b 十分相似, 不同的是 a 中位于 1587 cm⁻¹ 处的伯胺 N-H 面内弯曲振动强吸收峰在 b 中消失, b 中出现了位于 1476 cm⁻¹ 的 -CH₃ 的 C-H 弯曲振动强吸收峰, 这说明在 N 上引入了羟丙基三甲基氯化铵的季铵盐侧链^[8-9]。

HTCC ¹H NMR 分析: $\delta = 4.80$ 、2.46、3.59、3.70、2.87、4.22、3.35、3.90、3.18 ppm 各峰分别为 H₁、H₂、H₃、H₅、H_{1'}、H_{2'}、H_{3'}、羟甲基质子和季铵盐支链三个甲基上质子的信号, 可以认为: HTCC 主要为壳聚糖 C₂ 位氨基上发生取代反应的产物。

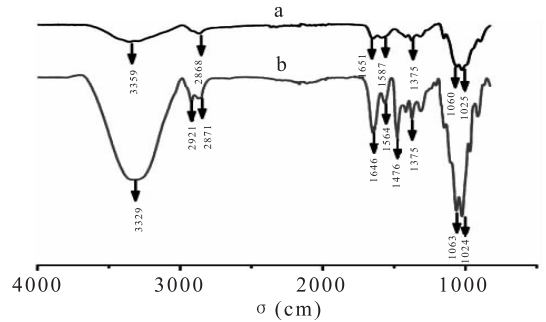


图1 CS(a)/HTCC(b) FTIR 分析

Fig.1 FTIR analysis of CS(a) and HTCC(b)

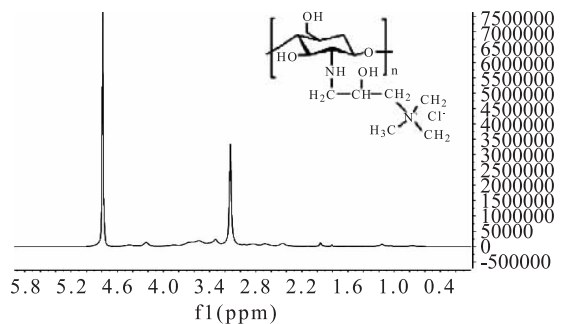


图2 HTCC 的氢谱分析

Fig.2 ¹H NMR analysis of HTCC

2.1.3 SEM 结果 从图 3 中可以看出 CS 的颗粒粒度较大, 表面极不均匀, 而 HTCC 则呈现出较为均匀、规整的层状外观形貌, 且粒度较小, 二者在外貌和粒度形状上有显著的差异。

2.2 HTCC 与 AO-ctDNA 的相互作用

2.2.1 HTCC 对 AO-ctDNA 紫外可见吸收光谱的影响 增色效应和减色效应是与 DNA 双螺旋结构和空间构型密切相关的特有光谱性质, 增色效应是 HTCC 与 DNA 碱基作用, DNA 双螺旋结构改变的结果; 而减色效应是小分子与 DNA 的磷酸基团静电作用, 使 DNA 空间轴向收缩的结果^[10-11]。

由图 4 可知, HTCC 几乎没有紫外吸收, 随着 HTCC 的加入, 体系紫外可见吸收增强, 有明显的增色效应。说明 HTCC 可能嵌入到 DNA 的碱基对中, 从而引起 DNA 的碱基对与嵌入的 HTCC 产生较强的电子相互作用。

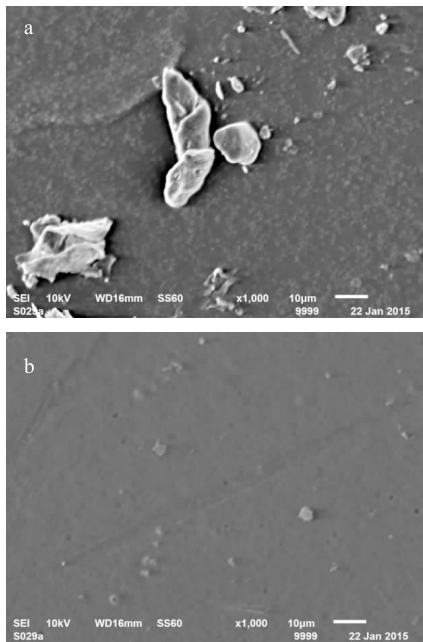


图3 CS(a)/HACC(b)SEM
Fig.3 SEM of CS(a) and HTCC(b)

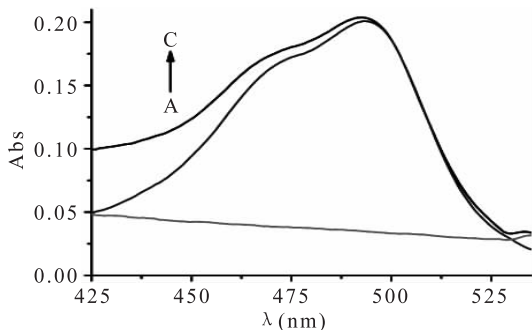


图4 HTCC对AO-ctDNA紫外及可见吸收光谱的影响

Fig.4 UV of HTCC-AO/ctDNA

注:A:ctDNA;B:AO-ctDNA;C:HTCC-ctDNA-AO,
 $c_{ctDNA} = 0.04 \text{ g/L}; c_{AO} = 9.66 \times 10^{-4} \text{ g/L}; c_{HTCC} = 0.5 \text{ g/L}_0$

2.2.2 HTCC对AO-ctDNA体系稳态荧光的影响

由图5可知:随着HTCC浓度的增大,体系的荧光强度不断降低,说明HTCC对AO-DNA体系有明显的猝灭作用。由此可推测HTCC、AO与ctDNA的结合中存在竞争反应,HTCC可将与ctDNA发生嵌插作用的AO部分挤出,被挤出的AO处于游离状态而发生猝灭,进一步表明HTCC与ctDNA可能是嵌插结合。

2.2.3 HTCC对AO-ctDNA体系变温荧光的影响

为了研究体系的猝灭机理,我们考察了不同温度(25、31、37℃)条件下,HTCC对ctDNA/AO的荧光猝灭情况:

由图6可知,根据Stern-Volmer方程计算得:HTCC对AO-DNA在25、31、37℃时的猝灭常数 K_{sv} 分别是0.305、0.295、0.176 L/g,随着温度的升高,HTCC-ctDNA/AO体系的 K_{sv} 降低,这表明HTCC对ctDNA/AO荧光的猝灭不属于分子间的碰撞引起的动态猝灭,而可能是由于与ctDNA结合形成了新的复合物而引起的静态猝灭。据此,可推断HTCC对AO-ctDNA体系荧光猝灭主要是静态猝灭^[12]。

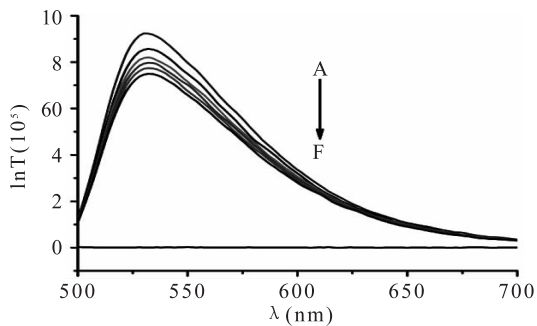


图5 HTCC对AO/ctDNA体系荧光强度的影响

Fig.5 Fluorescence spectrum of HTCC-AO/ctDNA

注: $c_{ctDNA} = 0.04 \text{ g/L}; c_{AO} = 9.66 \times 10^{-4} \text{ g/L};$
 $c_{HTCC} (A-F) = 0, 0.1, 0.2, 0.3, 0.4, 0.5 \text{ g/L}_0$

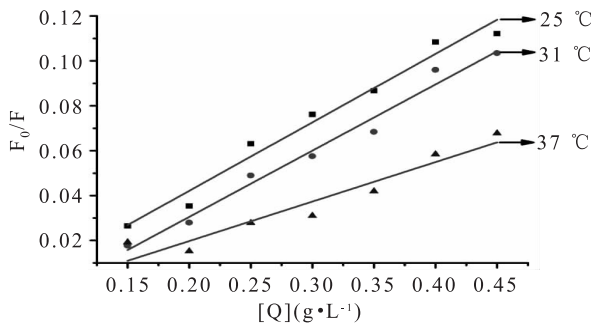


图6 不同温度下HTCC对AO/ctDNA的Stern-Volmer关系图

Fig.6 Stern-Volmer plots of

HTCC-AO/ctDNA at different temperatures

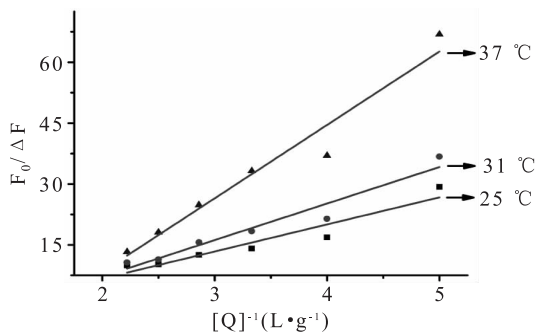


图7 不同温度下HTCC与ctDNA作用修正的Stern-Volmer关系图

Fig.7 Modified Stern-Volmer plots of

HTCC-AO/ctDNA at different temperatures

对于静态猝灭体系,其荧光猝灭数据可用修正的Stern-Volmer方程进行处理。Stern-Volmer方程:

$$\frac{F_0}{\Delta F} = \frac{1}{f_a K_a [Q]} + \frac{1}{f_a} \quad \text{式(2)}$$

式中, F_0 为不存在猝灭剂时体系的荧光强度, ΔF 为加入猝灭剂前后体系荧光强度的变化, $[Q]$ 为猝灭剂浓度, f_a 为猝灭分数, K_a 为结合常数。不同温度下HTCC与ctDNA作用修正的Stern-Volmer关系如上图7所示。

由修正的Stern-Volmer方程计算得:HTCC对AO-ctDNA在25、31、37℃时的结合常数 K_a 是0.1510、0.1174、0.1052 L/g,随着温度的升高,结合常

数明显降低,与猝灭常数 K_{sv} 的变化是一致的。因此,可以进一步确定 HTCC 与 ctDNA 形成了稳定的复合物,猝灭机理为静态猝灭^[12-13]。由 Van't Hoff 方程^[13]:

$$\Delta G = -RT \ln K \quad \text{式(3)}$$

$$\ln K = -\frac{\Delta H}{RT} + \frac{\Delta S}{R} \quad \text{式(4)}$$

求得热力学参数 $\Delta G = 5.414 \text{ KJ/mol}$ 、 $\Delta H = -32.50 \text{ KJ/mol}$ 、 $\Delta S = -93.34 \text{ J} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{K}^{-1}$,表明该作用过程是不可逆的、放热、熵减少的,HTCC 与 ctDNA 作用的主要驱动力为氢键和范德华力。

2.3 圆二色谱分析

CD 光谱对分子的非对称性很敏感,对于 DNA 而言,虽然碱基本身具有一个对称平面,但是在 DNA 的非对称环境中会产生 CD 光谱,因此,CD 光谱可以作为研究 DNA 二级结构变化的有力方法^[13]。DNA 的 CD 谱中的正峰是由碱基堆积引起的,负峰则是由于 DNA 螺旋结构的 B 型构象引起的^[14]。由图 8 可知,HTCC 的加入使 DNA 的正峰升高且红移、负峰降低,说明 HTCC 嵌入进 ctDNA 后加强了碱基的堆积,使双螺旋更加紧密,构象发生改变^[10,14-15]。

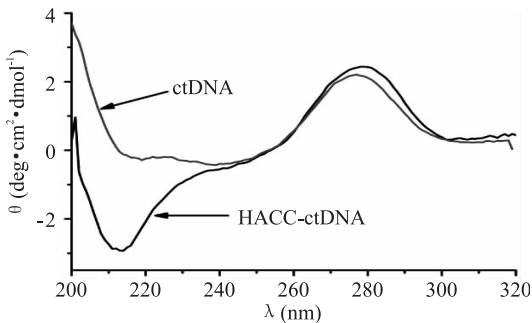


图8 HTCC对ctDNA圆二色谱的影响

Fig.8 Circular dichroism spectra of ctDNA and HTCC-ctDNA

2.4 热变性分析

DNA 主要是通过靠互补碱基的氢键、碱基平面间的疏水性相互作用以及碱基堆积力来维持。在加热时,这些弱相互作用被破坏,使 DNA 双螺旋结构松散,变成单链,在紫外区 260 nm 波长处的吸光值增加。紫外光吸收值(260 nm)达到最大值的 50% (即 DNA 的双螺旋结构失去一半)时的温度称为 DNA 的熔点(T_m)。当药物分子与 DNA 作用时,通常会引起 DNA 的熔点变化,而且变化的大幅度与它们的键合强度有关。因此,测定 DNA 的熔点变化,提供了一种简便有效地研究小分子与 DNA 相互作用的方法^[13,16-17]。

如图 9 所示,随着温度逐渐升高,ctDNA 的双螺旋结构由紧密变松散,在 260 nm 的吸光度就逐渐增加,分析可得其熔点为 72.5 °C。药物与 DNA 相互作用方式有三种:嵌插作用、沟槽作用、静电作用,当小分子与 DNA 以插入模式相结合时,由于能够和 DNA 碱基对之间发生 $\pi-\pi$ 堆积作用,稳定 DNA 双螺旋结构,从而使 DNA 的熔点 T_m 有明显升高,而药物与 DNA 之间仅仅通过简单的沟槽结合、静电或氢键等

弱结合时, ΔT_m 变化则相对要小很多。由图 9 可知,ctDNA 的熔点为 72.5 °C,加入 HTCC 后,ctDNA 的熔点显著上升至 77.5 °C,说明 HTCC 与 ctDNA 主要以嵌插的方式结合,增强了 ctDNA 结构的稳定性。

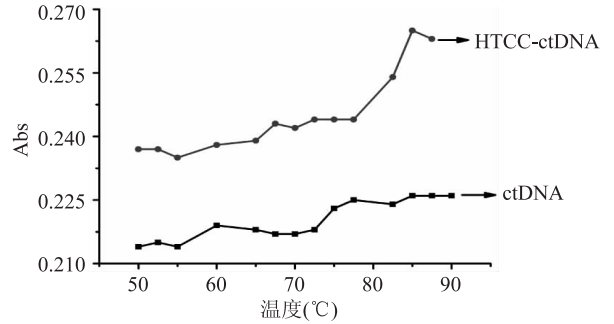


图9 ctDNA/HTCC-ctDNA热变性曲线

Fig.9 Thermal denaturation curve of ctDNA and HTCC-ctDNA

3 结论

本文采用均相法合成了水溶性 HTCC,荧光实验表明 HTCC 对 AO-ctDNA 体系的荧光产生了显著的猝灭,猝灭机理符合静态猝灭;且 HTCC 与 ctDNA 发生相互作用的主要驱动力为氢键和范德华力;圆二色谱和热变性实验表明了 HTCC 与 ctDNA 结合的方式主要为嵌插结合。

参考文献

- [1] Jou C H, Yang M C, Suen M C, et al. Preparation of O-diallylammonium chitosan with antibacterial activity and cytocompatibility[J]. Polym Int, 2013, 62(3): 507-514.
- [2] Balan V, Verestiuc L. Strategies to improve chitosan hemocompatibility: A review[J]. Eur Polym J, 2014, 53: 171-188.
- [3] Napanorn V, Orphan W, Nuttha T, et al. Enhancing antibacterial activity of chitosan surface by heterogeneous quaternization[J]. Carbohydr Polym, 2011, 83(2): 868-875.
- [4] 初立秋, 陈煜, 谭惠民, 等. 新合成壳聚糖季铵盐/DNA 复合物在 Hela 细胞中的转染效率[J]. 中国组织工程研究与临床康复, 2009, 13(38): 7437-7441.
- [5] 张海容, 郭祀远, 李琳, 等. 光谱法研究硫酸酯化壳聚糖与 DNA 的作用机理[J]. 光谱学与光谱分析, 2007, 27(11): 2294-2298.
- [6] Li W, Xiao L, Qin C Q. Synthesis and relevant electrochemical properties of 2-hydroxypropyltrimethyl ammonium chloride chitosan-grafted multiwalled carbon nanotubes[J]. J Mater Sci, 2010, 45(21): 5915-5922.
- [7] Lim S H, Hudson S M. Synthesis and antimicrobial activity of a water-soluble chitosan derivative with a fiber-reactive group[J]. Carbohydr Res, 2004, 339(2): 313-319.
- [8] 权维燕, 李思东, 董静静, 等. 不同取代度壳聚糖季铵盐的制备及其热稳定性研究[J]. 广州化工, 2010, 38(1): 93-95.
- [9] 于晓彩, 于洋, 刘培. 壳聚糖衍生物的合成及其絮凝性能的研究[J]. 环境工程学报, 2009, 3(8): 1386-1390.
- [10] 张爱梅, 贾丽萍, 张娟娟. 光谱法研究阿米卡星与 DNA 的

(下转第 66 页)

SDF4 的·OH 清除能力是 SDF1 的 2.9 倍。

挤压-酶解复合处理可能增大了 SDF 提供电子的能力,可以通过提供电子使自由基变为稳定的物质,中断自由基连锁反应;暴露出更多的活性基团,亲水性增大,加大 SDF 供氢体的释放,使·OH 还原,因此 SDF4 体外抗氧化能力增大^[27]。

3 结论

通过对不同处理方法所得 SDF 部分性质的比较研究,结果表明:

豆渣水溶性膳食纤维粒度和黏度大小依次为 SDF4 < SDF2 < SDF3 < SDF1,挤压和酶解处理方法降低了豆渣水溶性膳食纤维粒度和黏度。

与 SDF1 和 SDF3 微观结构相比,SDF2 和 SDF4 颗粒表面形成蜂窝状孔洞、表面结构更疏松,纤维素酶酶解处理对水溶性膳食纤维颗粒表面结构的影响大于挤压处理。

SDF2、SDF3 和 SDF4 的阳离子交换能力、胆固醇吸附能力和体外抗氧化活性高于 SDF1,且 SDF4 功能性最强,挤压和纤维素酶酶解处理能够增强豆渣水溶性膳食纤维的功能性。

参考文献

- [1] Esposito F, Arlotti G, Bonifati AM, et al. Antioxidant activity and dietary fibre in durum wheat bran by-products [J]. Food Research International, 2005, 38(10): 1167-1173.
- [2] Mateos-aparicio I, Mateos-peinado C, Rupérez P. High hydrostatic pressure improves the functionality of dietary fibre in okara by-product from soybean [J]. Innovative Food Science and Emerging Technologies, 2010, (11): 445-450.
- [3] 郭雪霞, 牟建楼, 王颀, 等. 纤维素酶法提取枣渣可溶性膳食纤维的工艺研究 [J]. 中国农业科技导报, 2014, 16(5): 154-159.
- [4] 张丽娜, 谢岩黎, 赵文红. 发酵法提取小麦麸皮可溶性膳食纤维工艺研究 [J]. 食品科技, 2014, 39(10): 170-174.
- [5] Jing Y, Chi Y. Effects of twin-screw extrusion on soluble dietary fibre and physicochemical properties of soybean residue [J]. Food Chemistry, 2013, 138(2013): 884-889.
- [6] Zhang M, Bai X, Zhang Z. Extrusion process improves the functionality of soluble dietary fiber in oat bran [J]. Journal of Cereal Science, 2011, 54: 98-103.
- [7] 梅新, 木泰华, 陈学玲, 等. 超微粉碎对甘薯膳食纤维成分及物化特性影响 [J]. 中国粮油学报, 2014, 29(2): 76-81.
- [8] 王丹丹. 豆渣超高压、超微粉碎及超声波辅助化学处理的研究 [D]. 郑州: 河南农业大学, 2013.

- [9] 于畅. 超声波辅助提取绿豆皮中色素和膳食纤维的研究 [D]. 长春: 吉林农业大学, 2012.
- [10] 宋慧, 苗敬芝, 董玉玮. 超声结合酶法提取花生粕中水溶性膳食纤维及其功能性研究 [J]. 食品研究与开发, 2014, 35(5): 44-48.
- [11] 林莹, 王旭清, 杨有, 等. 物理场结合酶法制备的水溶性膳食纤维降血脂作用的研究 [J]. 食品工业, 2010, (5): 16-18.
- [12] Chawla R, Patil G. Soluble dietary fiber [J]. Food Science and Food Safety, 2010, 9: 178-196.
- [13] Cheickna D, Zhang H. Study on functional properties of physically modified dietary fibres derived from defatted rice bran [J]. Journal of Agricultural Science, 2012, 4(9): 85-97.
- [14] 赵丽, 李倩, 朱丹实, 等. 膳食纤维的研究现状与展望 [J]. 食品与发酵科技, 2014, 05: 76-82 + 86.
- [15] 刘昊飞. 豆渣水溶性膳食纤维酶法制备及其应用 [D]. 哈尔滨: 东北农业大学, 2008.
- [16] 徐广超. 豆渣可溶性膳食纤维的制备及功能性的研究 [D]. 无锡: 江南大学, 2005.
- [17] Sağlam D, Venema P, Vries R D, et al. Exceptional heat stability of high protein content dispersions containing whey protein particles [J]. Food Hydrocolloids, 2012, 34: 68-77.
- [18] 钟艳萍. 水溶性膳食纤维的制备及性能研究 [D]. 广州: 华南理工大学, 2011.
- [19] Zhang N, Huang C, Ou S. *In vitro* binding capacities of three dietary fibers and their mixture for four toxic elements, cholesterol, and bile acid [J]. Journal of Hazardous Materials, 2011, 186: 236-239.
- [20] Vasanathan T, Gaosong J, Yeung J, et al. Dietary fiber profile of barley flour as affected by extrusion cooking [J]. Food Chemistry, 2002, 77(2002): 35-40.
- [21] Raghavendra S, Swamy SR, Rastogi N, et al. Grinding characteristics and hydration properties of coconut residue: a source of dietary fiber [J]. Journal of Food Engineering, 2005, 72(3): 281-286.
- [22] 赵梅. 枣渣膳食纤维酶法改性工艺及相关性质研究 [D]. 无锡: 江南大学, 2014.
- [23] 刘阿娟, 张静, 张化朋, 等. 虎奶菇菌核多糖的溶液黏度及构象研究 [J]. 食品工业科技, 2014, (1): 128-132.
- [24] 李焕霞, 王华, 刘树立. 粒度不同对膳食纤维品质影响研究 [J]. 四川食品与发酵, 2007, 43(3): 35-37.
- [25] 刘凌, 孙慧. 桃渣可溶性膳食纤维组成及生理活性 [J]. 食品与发酵工业, 2008, 34(9): 69-72.
- [26] 涂宗财, 段邓乐, 王辉, 等. 豆渣膳食纤维的结构表征及其抗氧化性研究 [J]. 中国粮油学报, 2015, 30(6): 22-26.

(上接第 61 页)

相互作用 [J]. 聊城大学学报(自然科学版), 2008, 21(2): 67-70.

[11] 卢奎, 成红丽, 马丽, 等. L-半胱氨酸二肽与 DNA 的相互作用研究 [J]. 光谱学与光谱分析, 2010, 30(1): 146-149.

[12] 邹雪晴, 周雄威, 邹婷, 等. 二苯甲酮与人血清白蛋白相互作用的研究 [J]. 化学研究与应用, 2014, 26(7): 1048-1452.

[13] 张国文, 周小悦. 多种光谱技术检测积雪草苷与小牛胸腺 DNA 的相互作用 [J]. 南昌大学学报, 2013, 37(2): 140-144.

[14] 李慧青, 任雳君, 魏春英. 三联吡啶及其 Pt(II) 配合物与 i-motif DNA 相互作用的研究 [J]. 化学研究与应用, 2014, 26(7): 1043-1047.

[15] 童裳伦, 胡洲, 刘维屏. 光谱法研究百草枯与小牛胸腺 DNA 的相互作用 [J]. 化学学报, 2010, 68(14): 1404-1410.

[16] 张国文, 付鹏, 王琳, 等. 红景天苷与 DNA 的结合作用研究 [J]. 分析科学学报, 2011, 27(1): 57-60.

[17] 李瑜, 张国文, 潘军辉. 农药西玛津与小牛胸腺 DNA 的相互作用 [J]. 南昌大学学报, 2012, 36(3): 223-227.