

大枣多糖抗氧化及抗炎活性的研究

展锐¹, 邵金辉²

(1. 新疆农业科学院农业质量标准与检测技术研究所, 新疆农产品质量安全重点实验室, 新疆乌鲁木齐 830091)

(2. 新疆大学生命科学与技术学院, 新疆乌鲁木齐 830046)

摘要: 本研究通过建立 1,1-二苯基-2-苦基肼基(DPPH)自由基、2,2'-联氮-二(3-乙基-苯并噻唑-6-磺酸)二铵盐 (ABTS) 自由基、羟基自由基、还原力等 4 种体外模型研究大枣多糖的抗氧化活性; 建立脂多糖 (LPS) 诱导的巨噬细胞 RAW264.7 模型研究大枣多糖的抗炎活性。实验结果表明, 大枣多糖具有较强的抗氧化活性, 对 DPPH 自由基、ABTS 自由基、羟基自由基的半抑制浓度 IC₅₀ 分别为 0.9、2.8、1.1 mg/mL; 总还原力为 1.0 时, 对应的 Vc 和大枣多糖浓度分别为 0.08 mg/mL 和 2.95 mg/mL, 大枣多糖的抗氧化活性呈浓度依赖性。高剂量的大枣多糖能够显著降低 RAW264.7 细胞中炎症因子如环氧合酶-2 (COX-2), 肿瘤坏死因子- α (TNF- α), 白细胞介素-1 β (IL-1 β) 和白细胞介素-6 (IL-6) 的含量, 表明大枣多糖具有较强的抗炎活性。大枣多糖可望作为抗氧化剂和抗炎制剂应用于功能性食品和医药工业。

关键词: 大枣; 多糖; 自由基; 抗氧化活性; 抗炎活性

文章篇号: 1673-9078(2017)12-38-43

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2017.12.006

Antioxidant and Anti-inflammatory Activities of Polysaccharide from

Zizyphus jujuba Mill

ZHAN Rui¹, SHAO Jin-hui²

(1. Institute of Quality Standards & Testing Technology for Agro-Products, Xinjiang Academy of Agricultural Sciences, Urumqi 830091, China)(2. College of Life Science and Technology, Xinjiang University, Urumqi 830046, China)

Abstract: In this study, antioxidant activity of a jujube polysaccharide from *Zizyphus jujuba* Mill was investigated by establishing 4 kinds of *in vitro* models, including 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH), 2,2'-azinobis-(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) (ABTS), and hydroxyl radical (\cdot OH) scavenging activities as well as reducing power assay. The model of macrophage RAW264.7 induced by lipopolysaccharide (LPS) was established to study the anti-inflammatory activity of jujube polysaccharide. The results showed that jujube polysaccharide had strong antioxidant activity and the IC₅₀ of jujube polysaccharide on the DPPH·, ABTS and \cdot OH free radicals were 0.9, 2.8 and 1.1 mg/mL, respectively. The antioxidant activity of jujube polysaccharide exhibited a dose-dependent manner. When the value of total reducing power reached 1.0, the corresponding Vc and jujube polysaccharide concentrations were 0.08 mg/mL and 2.95 mg/mL, respectively. High doses of jujube polysaccharide could significantly reduce the levels of inflammatory cytokines including cyclooxygenase-2 (COX-2), tumor necrosis factor-alpha (TNF- α) and interleukin-1 beta (IL-1 β) and interleukin-6 (IL-6) in RAW264.7 cells, which showed that jujube polysaccharide had strong anti-inflammatory activity. Jujube polysaccharide was expected as an antioxidant and anti-inflammatory agents used in functional food and medicine industry.

Key words: *Zizyphus jujuba* Mill.; polysaccharide; free radicals; antioxidant activity; anti-inflammatory activity

大枣是鼠李科植物枣 (*Zizyphus jujuba* Mill.) 的成熟果实, 是传统的药食同源果品, 在多种中药复方配伍使用, 起到缓和药性的作用。大枣多糖是大枣中的一类重要活性成分, 研究表明, 大枣多糖具有抗氧化^[1~3]、降血脂^[4]、保肝^[2]和免疫调节^[5~8]等多种生理活性^[9], 更深入的研究发现大枣多糖可以降低氧化应激

收稿日期: 2017-07-26

基金项目: 新疆农业科学院青年基金项目 (xjnkq-2014027)

作者简介: 展锐 (1983-), 女, 助理研究员, 研究方向: 功能性成分及资源

引起的肠损伤^[3], 表明大枣有降低氧化应激的作用。氧化应激与炎症密切相关。炎症是机体受到损害时产生的一种生理现象。巨噬细胞受到外界刺激后, 会释放 TNF- α , IL-1 β 和 IL-6 等细胞因子, 并产生活性自由基 (ROS)。ROS 不仅会引起机体氧化损伤, 并能充当炎症介质, 进一步增强炎症反应。炎症可以导致动脉硬化、恶性肿瘤等多种疾病^[10]。TNF- α 是巨噬细胞在炎症反应中产生的主要促炎细胞因子, 可调节细胞的生长分化、增殖, 调节免疫应答。COX-2 是介导

炎症反应的重要酶之一,过量的COX-2会加重炎症反应,并引起身体疼痛^[11]。过去有研究表明,大枣具有抗炎活性,Yu等^[12]从大枣果实中分离出21种化合物,其中7种化合物具有抗炎活性。大枣水醇提取物可以显著减轻角叉菜胶引起的大鼠足肿胀,表明其具有抗炎活性^[13]。Chen等^[14]的研究表明大枣水提物能够降低细胞内TNF- α ,IL-1 β 和IL-6的含量,并通过抑制相关基因的表达抑制NF- κ B炎症信号通路发挥抗炎活性。作为大枣水提物的重要组分之一,大枣多糖是否具有抗炎活性却未见报道。本实验拟通过体外抗氧化模型和脂多糖(LPS)诱导的RAW264.7炎症模型分别对大枣多糖的抗氧化及抗炎活性进行研究,为大枣多糖的进一步开发利用提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

大枣购自新疆,经新疆大学生命科学与技术学院苟萍教授鉴定为(*Zizyphus jujuba* Mill.),粉碎后60℃烘干备用。

1,1-二苯基-2-苦基肼基(1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl,DPPH)、2,2-联氮-二(3-乙基-苯并噻唑-6-磺酸)二铵盐[2,2'-azinobis-(3-ethylbenzthiazoline-6-sulphonate,ABTS)、6-羟基-2,5,7,8-四甲基色烷-2-羧酸,水溶性维生素E(trolox)]和脂多糖均购自美国Sigma公司;DMEM培养液,美国Gibco公司;胎牛血清(FBS)、青霉素、链霉素,美国赛默飞公司;ELISA试剂盒(COX-2、TNF- α 、IL-1 β 及IL-6),上海嘉远生物科技有限公司;RAW 264.7,中科院上海细胞所;Cell Counting Kit-8(CCK-8)试剂盒,日本Dojindo公司;AlCl₃、NaOH、FeSO₄、FeCl₃、水杨酸、抗坏血酸(Vc)、冰乙酸、磷酸氢二钠、磷酸二氢钠和无水乙醇等试剂均为分析纯;实验用水均为蒸馏水。

1.2 仪器与设备

冷冻离心机5810R,德国Eppendorf公司;酶标仪Elx508,美国BioTek公司;CO₂培养箱美国, Thermo公司;旋转蒸发仪N-1001V,日本EYELA公司;紫外/可见分光光度计UV2700,日本岛津公司。

1.3 方法

1.3.1 大枣多糖制备

称取60℃干燥24 h的大枣粉末40 g,90℃蒸馏水回流提取2次,每次2 h。合并提取液,浓缩至一定体积,加入4倍体积的95%乙醇使其沉淀,不断搅拌,

放置过夜。用乙醇沉淀后的多糖液5000 r/min离心,收集沉淀。沉淀依次用乙醇,丙酮,石油醚洗涤,挥干溶剂后得到大枣多糖粉末,得率6.4%。粗多糖用Sevag法脱蛋白、2%活性炭煮沸脱色2 h、透析后,减压浓缩、冷冻干燥得精制大枣多糖,为浅黄色轻质粉末。采用苯酚-硫酸法^[15]测定多糖含量为93.6%。

大枣多糖稀释到0~10 mg/mL等不同浓度,作为测定抗氧化活性的供试液;大枣多糖稀释到0~200 μg/mL,作为测定抗炎活性的供试液。

1.3.2 DPPH自由基清除活性的测定

参照Shimada^[16]的方法。称取DPPH粉末,用无水乙醇配置成浓度为0.1 mM的DPPH储备液。试管中依次加入DPPH储备液3 mL,不同浓度的Vc或大枣多糖溶液1 mL,剧烈振摇,室温放置30 min,反应液于517 nm处测吸光度值。以Vc为对照,计算出清除率,IC₅₀是清除率为50%时对应的样品浓度。

$$\text{清除率 } s\% = [1 - (A_{\text{样}} - A_{\text{控}})/A_{\text{空白}}] \times 100\%$$

其中A_{空白}为空白对照;A_样为反应液的吸光度值;A_控为不加DPPH时多糖自身的吸光度值。

1.3.3 ABTS自由基清除活性的测定

采用TEAC法^[17]。10 mL、7 mM的ABTS水溶液加入179 μL 140 mM过硫酸钠,室温下避光反应16 h得到ABTS⁺·母液。ABTS⁺·母液稀释至在734 nm下的吸光度值为0.700±0.050,为ABTS⁺储备液。5 mL一次性离心管中加入0.1 mL的不同浓度的样品,后加入3.9 mL ABTS⁺储备液,盖上离心管盖,强烈振摇,避光反应6 min,反应液于734 nm处测吸光度值,以Vc和trolox做阳性对照。以Vc为对照,计算出清除率,IC₅₀是清除率为50%时对应的样品浓度。同时,以trolox当量表示抗氧化能力。

$$\text{ABTS自由基清除率 } s\% = [1 - (A_{\text{样}} - A_{\text{控}})/0.7] \times 100\%$$

其中A_样为反应液的吸光度值;A_控为不加ABTS⁺储备液时多糖自身的吸光度值。

1.3.4 羟自由基(-OH)清除活性的测定

采用Fenton法^[18],H₂O₂和Fe²⁺混合发生Fenton反应,生成具有很高反应活性的·OH,·OH能被水杨酸有效的捕获,并生成有色物质,但若加入具有清除作用的物质,便会与水杨酸竞争,有色产物的生成量减少。向试管中加入不同浓度的大枣多糖溶液2 mL,依次加6 mmol/L的Fe(SO₄)₂溶液2 mL,2.4 mmol/L的H₂O₂溶液2 mL,摇匀,静置10 min,再加入6 mmol/L的水杨酸溶液2 mL摇匀,然后37℃水浴30 min,离心(3000 r/min,10 min),取上清液于500 nm测吸光值。以Vc为对照,计算出清除率,IC₅₀是清除率为50%时的样品浓度。

羟自由基($\cdot\text{OH}$)清除率 $s\% = [1 - (\text{A}_i - \text{A}_j)/\text{A}_0] \times 100\%$

其中 A_0 为空白对照; A_i 为反应液的吸光度值; A_j 为不加水杨酸时提取液自身的吸光度值。

1.3.5 总还原力的测定^[18]

取 2.5 mL 不同浓度的大枣多糖溶液于试管中, 依次加入 2.5 mL、0.2 mol/L PBS 缓冲溶液 (Phosphate buffer saline, PBS, pH 6.6) 5 mL 1% 铁氰化钾溶液, 于 50 ℃ 中保温 20 min 后快速冷却, 再加入 2.5 mL 10% 冰乙酸溶液终止反应, 以 5000 r/min 的转速离心 10 min, 取上清液 2.5 mL, 依次加入 2.5 mL 蒸馏水, 0.5 mL 0.1% 三氯化铁(FeCl_3), 充分混匀, 静置 10 min 后, 在 700 nm 测吸光度值 A (以蒸馏水作参比溶液), 吸光度值越高还原力越强, 以 Vc 为对照。

1.3.6 细胞培养与炎症模型建立

用含 10% 胎牛血清、100 U/mL 青霉素及 100 U/mL 链霉素的 DMEM 培养基 (37 ℃、5% CO_2) 培养小鼠巨噬细胞系 RAW264.7, 并对其进行分组。空白组: 不含 LPS 和多糖; 模型组: 以 10 mg/L 的 LPS 处理; 实验组: 10 mg/L 的 LPS 与不同浓度 (25、50、100 和 200 $\mu\text{g}/\text{mL}$) 的大枣多糖溶液。

1.3.7 细胞活性测定

采用 CCK-8 试剂盒法。取对数生长期细胞, 使用 0.25% 胰酶消化制备细胞悬液, 接种细胞到 96 孔细胞培养板, 每孔添加 100 μL 细胞悬液, 细胞数目为 1×10^5 , 于 37 ℃、5% 的 CO_2 培养箱中孵育 24 h 后, 按照终浓度添加各组药物。之后, 每孔加入 10 μL 的 CCK-8 溶液; 将培养板在培养箱内 (37 ℃ 和 5% 的 CO_2 浓度) 孵育 4 h, 使用酶标仪测定在 450 nm 处的吸光度。依照公式计算出细胞相对增值率。依照细胞活性实验结果, 选取出没有细胞毒性的浓度范围进行后续实验。

1.3.8 抗炎活性的测定

采用酶联免疫吸附法(ELISA 法)测定。RAW264.7 细胞用不同浓度大枣多糖处理 1 h, 之后加入 1 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的脂多糖(LPS) 反应 24 h。然后用胰蛋白酶溶解细胞, 细胞悬液 12000 g 离心 10 min, 取上清液。按照试剂盒说明书测定环氧合酶(COX-2), 肿瘤坏死因子 α (TNF- α)、白介素 1 β (IL-1 β)、白介素 6(IL-6) 的含量。

1.3.9 数据分析

实验结果以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 抗氧化活性采用 Origin Pro 8.5 软件作图; 抗炎活性采用 GraphPad Prism 6 统计学软件进行配对 t 检验、单因素方差分析, $*p < 0.05$ 为差异显著, $**p < 0.01$ 为差异极显著。

2 结果与分析

2.1 大枣多糖的抗氧化作用

2.1.1 DPPH 自由基清除活性

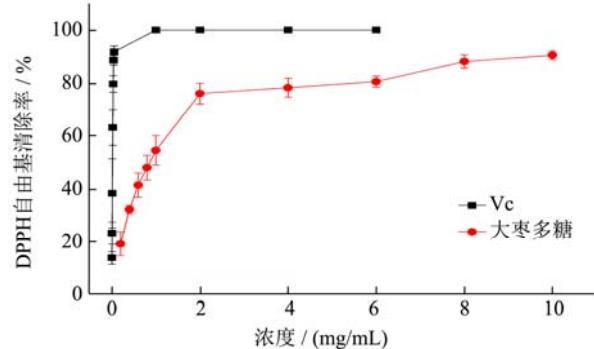


图 1 大枣多糖对 DPPH 自由基的清除活性

Fig.1 The DPPH radical scavenging activity of jujube polysaccharide

DPPH 自由基是一种稳定的有机自由基, 常用来测定样品是否具有抗氧化活性。以 Vc 为对照测定了大枣多糖对 DPPH 自由基的清除率(图 1)。大枣多糖在浓度为 0~10 mg/mL 时对 DPPH 自由基的清除率与多糖浓度呈剂量关系。Vc 及大枣多糖的 IC_{50} 分别为 0.013 mg/mL 及 0.9 mg/mL。当大枣多糖浓度达到 10 mg/mL 时, 清除率达到 90.56%。

2.1.2 ABTS 自由基清除活性

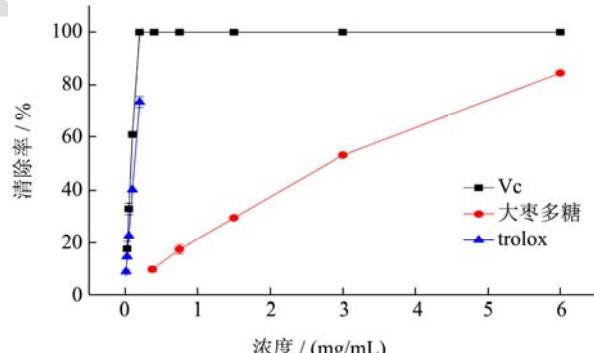


图 2 大枣多糖对 ABTS 自由基的清除活性

Fig.2 The ABTS radical scavenging activity of jujube polysaccharide

ABTS 自由基被广泛应用于测定样品的抗氧化能力。ABTS 经氧化时形成相对稳定的蓝绿色自由基, 在 734 nm 下有吸收峰。当加入具有抗氧化能力的样品时, 溶液会褪色, 吸光度值降低。大枣多糖在浓度为 0~10 mg/mL 时对 ABTS 自由基的清除率存在剂量依赖性(图 2)。Vc 及大枣多糖的 IC_{50} 分别为 0.013

mg/mL 及 2.8 mg/mL, 并计算得大枣多糖的 trolox 当量为 186.88 μmol trolox 当量/g 多糖。当大枣多糖浓度达到 10 mg/mL 时, 对 ABTS 自由基的清除率达到 80.43%。

2.1.3 羟自由基($\cdot\text{OH}$)清除活性

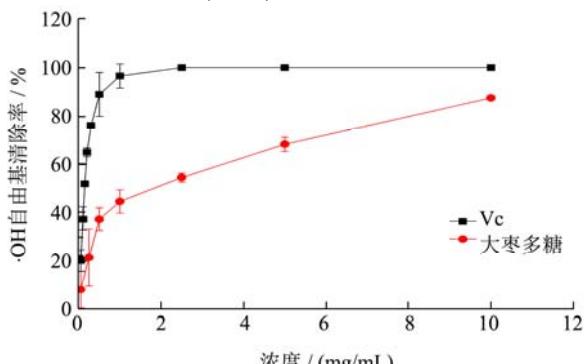


图 3 大枣多糖对 $\cdot\text{OH}$ 自由基的清除活性

Fig.3 The $\cdot\text{OH}$ radical scavenging activity of jujube polysaccharide

羟基自由基($\cdot\text{OH}$)是最活泼、毒性最大的自由基, 它可与活细胞中的任何分子发生反应, 引发组织细胞病变, 导致各种疾病发生和加速机体衰老。以 Vc 为对照测定了大枣多糖对羟基自由基的清除率(图 3)。Vc 及大枣多糖的 IC_{50} 分别为 0.013 mg/mL 及 1.1 mg/mL。大枣多糖在浓度为 0~10 mg/mL 时对 $\cdot\text{OH}$ 的清除率随提取物浓度的升高而增加, 当大枣多糖浓度为 10 mg/mL 时, 清除率达到最大 87.52%。

2.1.4 总还原力

通过还原力测定可以检测样品是否为良好的电子供体。还原力强的物质, 可以提供更多的电子, 其供应的电子除了可使 Fe^{3+} 还原为 Fe^{2+} 外, 也可参与自由基反应, 使自由基形成稳定的物质。以 Vc 为参照测定了大枣多糖的总还原力(图 4 和图 5)。总还原力随大枣多糖浓度的增加而升高。总还原力为 1 时, 对应的 Vc 和大枣多糖浓度分别为 0.08 mg/mL 和 2.95 mg/mL。

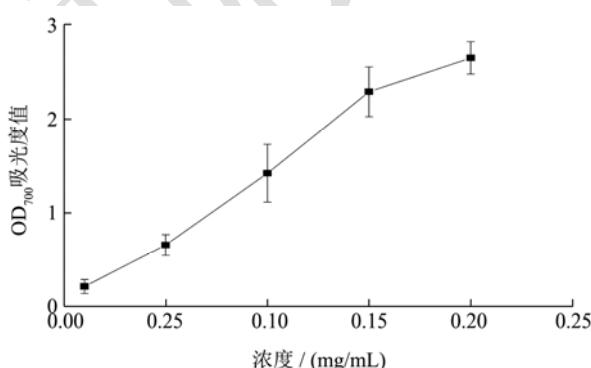


图 4 Vc 的总还原力

Fig.4 The total reducing power of Vc

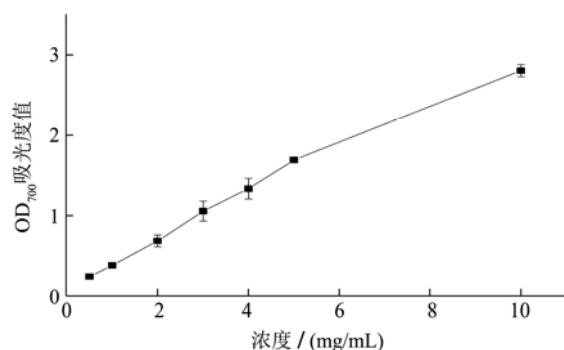


图 5 大枣多糖的总还原力

Fig.5 The total reducing power of jujube polysaccharide

2.2 大枣多糖的抗炎活性

多糖是自然界广泛存在的一类生物大分子, 具有无毒、副作用小的优点, 近年从天然产物中分离出多种多糖, 体内抗炎活性实验表明, 牛肝菌多糖^[19]和杨桃果胶多糖^[19]可以显著减轻角叉菜胶致使的大鼠足肿胀症状; 体外抗炎活性实验表明, 一些传统中药如板蓝根^[20]、一些真菌如樟芝^[21]、杏鲍菇^[22]以及一些农业废弃物如褐藻多糖^[23]、阿月浑子壳多糖^[24]可通过抑制 LPS 刺激巨噬细胞 RAW264.7 的吞噬作用、NO 的释放及细胞因子的表达发挥其抗炎作用。本研究拟通过建立 LPS 诱导的巨噬细胞 RAW264.7 模型评价大枣多糖的抗炎活性。

2.2.1 大枣多糖对 LPS 诱导的巨噬细胞 RAW264.7 活性影响

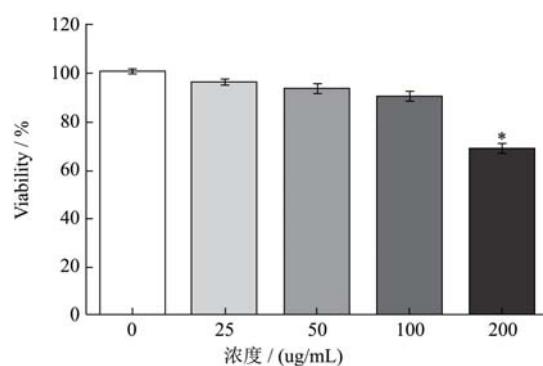


图 6 大枣多糖对 RAW264.7 细胞活性的影响

Fig.6 Effects of different concentrations of jujube polysaccharide on the viability of RAW264.7 cells

本研究采用 CCK-8 试剂盒研究大枣多糖对 LPS 诱导的巨噬细胞 RAW264.7 的影响。如图 6 所示, 在大枣多糖浓度 0~100 $\mu\text{g/mL}$, 对细胞活性没有显著影响, 当大枣多糖浓度 200 $\mu\text{g/mL}$, 对细胞活性有显著性抑制作用 ($*p < 0.05$), 故选择 0~100 $\mu\text{g/mL}$ 的大枣多糖作为测定抗炎活性的浓度范围。

表1 大枣多糖对 COX-2、TNF- α 、IL-1 β 及 IL-6 含量的影响Table 1 Effects of jujube polysaccharide on the levels of COX-2, TNF- α , IL-1 β and IL-6 ($\bar{x}\pm s$, n=3)

组别	质量浓度/(ug/L)	COX-2/actin	TNF- α /actin	IL-1 β /actin	IL-6/actin
空白对照组	-	1.00±0.22	1.00±0.11	1.00±0.18	1.00±0.05
LPS 组	-	13.09±3.95	32.43±4.97	21.74±2.88	13.44±1.72
	25	7.84±1.74	18.52±5.02	15.26±3.26	9.80±1.54
LPS+大枣多糖组	50	3.23±1.26*	2.57±0.4**	2.4±0.88**	2.02±0.29**
	100	1.86±1.08**	1.45±0.12**	2.13±0.46**	2.69±0.57**

注: 与 LPS 诱导的模型组比较, * $p<0.05$, ** $p<0.01$ 。

2.2.2 大枣多糖对 LPS 诱导的 RAW264.7 细胞中炎症因子含量的影响

为评价大枣多糖的抗炎活性, 我们用浓度分别为 25 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、50 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 和 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 三个剂量组的大枣多糖处理 LPS 诱导的 RAW264.7 细胞 (表 1)。

由表 1 可知, LPS 组中 COX-2、TNF- α 、IL-1 β 和 IL-6 含量与空白对照组相比显著升高, 说明造模成功。与 LPS 组相比, 在 0~100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 范围内, 大枣多糖 LPS 诱导的 RAW 264.7 细胞中 COX-2 的活性以及细胞炎症因子 TNF- α 、IL-1 β 和 IL-6 的分泌有抑制作用, 且呈剂量依赖性。当大枣多糖浓度达到 50 $\mu\text{g}/\text{L}$ 时和 100 $\mu\text{g}/\text{L}$ 时, 能够显著抑制巨噬细胞中 COX-2 的活性, 并能显著降低炎症因子 TNF- α 、IL-1 β 和 IL-6 的含量。大枣多糖可以通过抑制 COX-2 活性, 从而下调 COX-2 依赖途径细胞信号通路发挥抗炎活性。我们的结果表明, 大枣多糖同样可以抑制 TNF- α 、IL-1 β 和 IL-6 炎症因子的分泌, 暗示大枣多糖是大枣水提物中发挥抗炎活性的重要部分。不仅如此, 大枣多糖还对多种活性自由基有清除能力, 阻断了炎症反应中关键靶点, 更进一步促进了其抗炎活性。大枣多糖可能通过抑制细胞核内 TNF- α 、IL-1 β 和 IL-6 基因的表达, 进而抑制 NF- κ B 或 MAPK 等炎症信号通路发挥抗炎活性^[11,23]。

3 结论

3.1 大枣多糖同时具有抗氧化和抗炎活性, 目前还没有相关文献报道其抗炎活性, 我们的结果延伸了大枣多糖的应用前景。

3.2 大枣多糖不仅可以显著降低细胞中 COX-2 的活性, 而且能显著降低炎症因子 TNF- α 、IL-1 β 和 IL-6 的含量, 从而发挥抗炎活性。

3.3 多糖的活性与其分子量, 糖醛酸的含量有关, 但目前还没有大枣均一多糖抗炎活性的研究, 下一步计划对大枣多糖进行分离纯化和结构表征, 研究其对炎症信号通路中靶点的影响, 为开发出安全可靠的抗炎

药物或功能性食品提供科学依据。

参考文献

- Qu C, Yu S, Jin H, et al. The pretreatment effects on the antioxidant activity of jujube polysaccharides [J]. Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy, 2013, 114(10): 339-343
- Wang D, Zhao Y, Jiao Y, et al. Antioxidative and hepatoprotective effects of the polysaccharides from Zizyphus jujube cv. Shaanbeitanzao [J]. Carbohydrate Polymers, 2012, 88(4): 1453-1459
- Wang B. Chemical characterization and ameliorating effect of polysaccharide from Chinese jujube on intestine oxidative injury by ischemia and reperfusion [J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2011, 48(3): 386-391
- Zhao Y, Yang X, Ren D, et al. Preventive effects of jujube polysaccharides on fructose-induced insulin resistance and dyslipidemia in mice [J]. Food & Function, 2014, 5(8): 1771
- Cui G, Zhang W, Wang Q, et al. Extraction optimization, characterization and immunity activity of polysaccharides from Fructus Jujubae [J]. Carbohydrate Polymers, 2014, 111(20): 245-255
- 张庆,雷林生,杨淑琴,等.大枣中性多糖对小鼠腹腔巨噬细胞分泌肿瘤坏死因子及其 mRNA 表达的影响[J].南方医科大学学报,2001,21(8):592-594
- ZHANG Qing, LEI Lin-sheng, YANG Shu-qin, et al. Effects of jujube date polysaccharide on tumor necrosis factor production and its mRNA expression in peritoneal macrophages in mice [J]. Journal of First Mill Medical University, 2001, 21(8): 592-594
- Zhang J, Chen J, Wang D, et al. Immune-enhancing activity comparison of sulfated ophiopogonpolysaccharide and sulfated jujube polysaccharide [J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2013, 52(1): 212
- Chi A, Kang C, Zhang Y, et al. Immunomodulating and antioxidant effects of polysaccharide conjugates from the

- fruits of *Ziziphus Jujube* on chronic fatigue syndrome rats [J]. Carbohydrate Polymers, 2015, 122: 189-196
- [9] Xie J, Tang W, Jin M, et al. Recent advances in bioactive polysaccharides from *Lycium barbarum* L., *Zizyphus jujuba* Mill, *Plantago* spp., and *Morus* spp.: Structures and functionalities [J]. Food Hydrocolloids, 2016, 60: 148-160
- [10] Palladino M A, Bahjat F R, Theodorakis E A, et al. Anti-TNF-alpha therapies: the next generation [J]. Nature Reviews Drug Discovery, 2003, 2(9): 736-746
- [11] Kang S, Kim K, Lee S, et al. Anti-inflammatory activity of polysaccharide purified from AMG-assistant extract of *Ecklonia cava* in LPS-stimulated RAW 264.7 macrophages [J]. Carbohydrate Polymers, 2011, 85(1): 80-85
- [12] Yu L, Jiang B P, Luo D, et al. Bioactive components in the fruits of *Ziziphus jujuba* Mill. against the inflammatory irritant action of *Euphorbia* plants [J]. Phytomedicine, 2012, 19(3): 239-244
- [13] Goyal R, Sharma P L, Singh M. Possible attenuation of nitric oxide expression in anti-inflammatory effect of *Ziziphus jujuba* in rat [J]. Journal of Natural Medicines, 2011, 65(3): 514-518
- [14] Chen J, Du C Y Q, Lam K Y C, et al. The standardized extract of *Ziziphus jujuba* Fruit (Jujube) regulates pro-inflammatory cytokine expression in cultured murine macrophages: suppression of lipopolysaccharide-stimulated NF- κ B activity [J]. Phytotherapy Research, 2014, 28(10): 1527-1532
- [15] Dubois M, Gilles K A, Hamilton J K, et al. Colorimetric method for determination of sugars and related substances [J]. Analytical Chemistry, 1955, 28(3): 350-356
- [16] Shimada K, Muta H, Nakamura Y, et al. Iron-binding property and antioxidative activity of xanthan on the autoxidation of soybean oil in emulsion [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2004, 52(24): 7457-7462
- Agricultural & Food Chemistry, 1994, 42(8): 1607-1611
- [17] Deetae P, Parichanon P, Trakunleewatthana P, et al. Antioxidant and anti-glycation properties of Thai herbal teas in comparison with conventional teas [J]. Food Chemistry, 2012, 133(3): 953-959
- [18] Pu X, Ma X, Liu L, et al. Structural characterization and antioxidant activity *in vitro* of polysaccharides from angelica and astragalus [J]. Carbohydrate Polymers, 2016, 137: 154-164
- [19] Leivas C L, Nascimento L F, Barros W M, et al. Substituted galacturonan from starfruit: Chemical structure and antinociceptive and anti-inflammatory effects [J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2016, 84: 295-300
- [20] Du Z, Liu H, Zhang Z, et al. Antioxidant and anti-inflammatory activities of radix isatidis polysaccharide in murine alveolar macrophages [J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2013, 58: 329-335
- [21] Cheng J, Chao C, Chang P, et al. Studies on anti-inflammatory activity of sulfated polysaccharides from cultivated fungi *Antrodia cinnamomea* [J]. Food Hydrocolloids, 2016, 53: 37-45
- [22] Li S, Shah N P. Anti-inflammatory and anti-proliferative activities of natural and sulphonated polysaccharides from *Pleurotus eryngii* [J]. Journal of Functional Foods, 2016, 23: 80-86
- [23] Wu G, Shiu S, Hsieh M, et al. Anti-inflammatory activity of a sulfated polysaccharide from the brown alga *Sargassum cristaefolium* [J]. Food Hydrocolloids, 2016, 53: 16-23
- [24] Grace M H, Esposito D, Timmers M A, et al. Chemical composition, antioxidant and anti-inflammatory properties of pistachio hull extracts [J]. Food Chemistry, 2016, 210: 85-95

(上接第 254 页)

- [18] Qin J, Thomasf B, Marka R, et al. Detection of citrus canker using hyperspectral reflectance imaging with spectral information divergence [J]. Journal of Food Engineering, 2009, 93(2): 183-191
- [19] Tuceryan M, Jain A K. Texture analysis [M]. Handbook of pattern recognition & computer vision. World Scientific Publishing Co. Inc. 1993
- [20] Haralick R M. Texture features for image classification [J]. Systems Man & Cybernetics IEEE Transactions on, 1973, smc-3(6): 610-621
- [21] 陈美龙,戴声奎.基于 GLCM 算法的图像纹理特征分析[J].通信技术,2012,45(2):108-111
CHEN Mei-long, DAI Sheng-kui. Analysis of image texture based on Gray-level Co-occurrence Matrix [J]. Communications Technology, 2012, 45(2): 108-111
- [22] 高程程,惠晓威.基于灰度共生矩阵的纹理特征提取[J].计算机系统应用,2010,19(6):195-198
GAO Cheng-cheng, HUI Xiao-wei. GLCM-based texture feature extraction [J]. Computer System Application, 2010, 19(6): 195-198

现代食品科技