

不同提取方法对类球红细菌超氧化物歧化酶 抗氧化活性的影响

李祖明¹, 安君¹, 惠博棣¹, 高丽萍¹, 白志辉², 杨卫东³, 王栋³

(1. 北京联合大学应用文理学院, 北京 100191) (2. 中国科学院生态环境研究中心, 北京 100085)

(3. 北京天维新探生物科技有限公司, 北京 100176)

摘要: 采用纳米磨法、酶法辅助超声波法、超声波法和研磨法提取类球红细菌超氧化物歧化酶(SOD), 测定SOD活力; 以还原力、ABTS⁺、OH和O₂⁻的清除作用为指标考察这4种提取方法对湿菌体SOD体外抗氧化活性的影响, 并比较了纳米磨法和超声波法对干菌体SOD清除OH和O₂⁻的作用。结果表明, 纳米磨法提取湿菌体和干菌体SOD的活力最高, 分别为36.90±1.25 U/g和214.20±7.72 U/g。这4种提取方法提取湿菌体的SOD均具有体外抗氧化活性; 纳米磨法SOD的抗氧化活性最好, 固液比1:15时, 其对ABTS⁺、OH和O₂⁻的清除率分别为92.1±3.32%、76.90±2.67%和36.90±1.22%, 还原力为11.30±0.35。纳米磨法干菌的SOD抗氧化活性优于超声波法, 固液比1:20时, 其对OH和O₂⁻的清除率分别为57.10±1.96%和79.40±2.71%。类球红细菌SOD具有较强的抗氧化能力, 且与菌体浓度呈量效关系, 纳米磨法是较优的提取方法。

关键词: 类球红细菌; 纳米技术; 超微粉碎; 超氧化物歧化酶; 抗氧化活性

文章编号: 1673-9078(2015)7-205-210

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2015.7.032

Effect of Various Extraction Methods on the Antioxidant Activity of Superoxide

Dismutase from *Rhodobacter sphaeroides*

LI Zu-ming¹, AN Jun¹, HUI Bo-d¹, GAO Li-ping¹, BAI Zhi-hui², YANG Wei-dong³, WANG dong³

(1. College of Arts and Sciences, Beijing Union University, Beijing 100191, China)

(2. The Research Center for Eco-Environmental Sciences, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100085, China)

(3. Beijing Tianweixintan Biotechnology Company Ltd., Beijing 100176, China)

Abstract: Superoxide dismutase (SOD) activity levels were determined for the samples extracted from the biomass of *Rhodobacter sphaeroides* by grinding, ultrasonic extraction, enzyme assisted ultrasonic extraction, and nanomilling. The *in vitro* antioxidant activity of SODs extracted by the four methods from *R. sphaeroides* 3757 wet biomass were evaluated via evaluating their reducing power and scavenging capacity against ABTS⁺, OH, and O₂⁻. The *in vitro* antioxidant activity of SODs extracted by ultrasonic approach and nanomilling from *R. sphaeroides* 3757 dry biomass were compared based on scavenging capacity against OH and O₂⁻. SODs extracted from wet and dry biomass of *R. sphaeroides* 3757 by nanomilling exhibited activities of 36.90 ± 1.25 U/g and 214.20 ± 7.72 U/g, respectively, which were higher than those of any other extraction method. The SOD antioxidant activity observed for nanomilling from wet biomass of *R. sphaeroides* 3757 was higher than that of grinding, ultrasonic extraction, and enzyme assisted ultrasonic extraction. For nanomilling, the reducing power was 11.3 ± 0.35 and the scavenging capacities against ABTS⁺, OH, and O₂⁻ were 92.1 ± 3.32%, 76.90 ± 2.67%, and 36.90 ± 1.22%, respectively, when the solid/liquid ratio was 1:15. The antioxidant activity of SOD extracted by nanomilling from dry biomass of *R. sphaeroides* 3757 was higher than the counterpart extracted by the ultrasonic method. For nanomilling, when solid/liquid ratio was 1:20, the scavenging capacities against OH and O₂⁻ were 57.10 ± 1.96% and 79.40 ± 2.71, respectively. The SODs extracted by different methods from both wet and dry biomass of *R. sphaeroides* 3757 exhibited significant antioxidant activity *in vitro* in a concentration-dependent manner. These results showed that SODs from *R. sphaeroides* 3757 exhibit potent *in vitro* antioxidant activity, and that nanomilling is the optimal extraction method.

Key words: *Rhodobacter sphaeroides*; nanotechnology; superfine grinding; superoxide dismutase; antioxidant activity

收稿日期: 2014-08-03

基金项目: 国家科技部“十二五”国家科技支撑计划项目(2012BAK17B11), 北京市教育委员会科技计划面上项目(KM201311417007); 北京市教育委员会科技成果转化和产业化项目(PXM2013_014209_07-000082); 作者简介: 李祖明(1968-), 男, 博士, 副教授, 研究方向: 食品科学与安全

超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD), 是一种广泛存在于动物、植物及微生物中的金属酸性蛋白酶, 能够催化超氧阴离子发生歧化反应, 具有抗氧化、抗衰老、抗辐射、抗肿瘤、抗衰老和消炎等功能, 可以作为食品、药品及日用化工产品的添加剂^[1]。目前超氧化物歧化酶(SOD)主要从动物组织中提取, 比如牛肝和红细胞等; 不过微生物发酵生产 SOD 具有其优势, 比如产率、成本、纯化和生产安全等; Dellomonaco 等^[2]利用霉菌 *Kluyveromyces marxianus* L3 发酵生产 SOD, 但至今未有大规模利用微生物发酵生产 SOD。Liu 等^[3]纯化了 *Thermus thermophilus* HB27 所产 SOD, 并研究了性质。当前在国外, 光合细菌已在保健食品中应用, 在国内光合细菌沼泽红假单胞菌已获准用于饲料添加剂; 可见光合细菌在保健食品和药品中应用已具有一定基础^[4-5]。类球红细菌 (*Rhodobacter Sphaeroides*) 是一种光合成细菌, 属于细菌域中紫色细菌群的 α 亚群, 具有广泛的代谢方式, 可在多种条件下生长。它可以经发酵生产辅酶 Q10、类胡萝卜素和 SOD 等生物活性物质; 大量研究文献表明, 该菌已成为一种极具工业化开发潜力的微生物^[5-7]。

纳米技术被认为是 21 世纪的革命性技术, 纳米粒子是从零到几百纳米的超细粒子^[8]。纳米粒子处于原子簇和宏观物体交界的过渡区域, 比表面积较高, 具有量子尺寸效应、小尺寸效应、表面效应和宏观量子隧道效应, 可以有效提高其生物利用度和靶向性; 近年来, 纳米材料已在食品等诸多领域引起了广泛重视, 被认为是 21 世纪最有前途的材料之一^[8,9]。超微粉碎技术是一项新型的食品加工技术, 通过将物料微细化, 可使物料的粒度达到纳米级, 是制备纳米粒子常用方法之一。物料经超微粉碎后粉体表面积和孔隙率增加, 具有独特的物理和化学性质, 如良好的溶解性、分散性、吸附性、化学活性等, 是一种理想的食物加工手段; 有利于原料中营养和功能性成分的释放与吸收, 提高了其生物活性和吸收利用率, 还可保证原料成分的完整性^[8-10]。课题组从土壤中分离到 1 株类球红细菌菌株, 本文采用纳米磨法分别提取类球红细菌湿菌体和干菌体中 SOD, 并研究其抗氧化活性; 同时与超声波法、酶法辅助超声波法和研磨法等常见提取方法进行比较, 考察不同提取方法和菌体浓度对类球红细菌 SOD 抗氧化活性的影响, 为将类球红细菌开发为功能(保健)食品提供理论依据。

1 材料和方法

1.1 材料、设备、培养基和试剂

1.1.1 材料

类球红细菌 (*Rhodobacter sphaeroides*) 3757 菌株, 保藏于中国微生物菌种保藏管理委员会普通微生物中心, 编号 CGMCC NO.3757。

1.1.2 设备

MLS-3750 高压灭菌锅, 日本 SANYO; 恒温培养箱, 美国 SHELLAB; HZ-9210K 恒温摇床, 江苏太仓科教仪器厂; FD-1A-50 冷冻干燥机, 北京博医康实验仪器有限公司; CJM-SY-A 高能纳米冲击磨, 秦皇岛市太极环纳米制品有限公司; VCX 130 PB-VCX 130 FSJ 超声波破碎仪, 美国 SONICS & MATERIALS INC; J2-HS Centrifuge 高速低温离心机, 美国 BECKMAN 等。

1.1.3 培养基和试剂

固体培养基: 葡萄糖 2%, 胰蛋白胨 1%, 酵母浸粉 1%, NaCl 0.5%, 琼脂 2%, pH 8.5。

种子培养基: 葡萄糖 2%, 胰蛋白胨 1%, 酵母浸粉 1%, NaCl 0.5%, pH 7.2。

发酵培养基: 苹果酸 0.3%, 胰蛋白胨 0.4%, K_2HPO_4 0.09%, KH_2PO_4 0.06%, $MgSO_4$ 0.02%, $CaCl_2$ 0.0075%, $FeSO_4$ 0.0012%, EDTA 0.002%, pH7.5, 生长因子溶液 1%, 微量元素溶液 1%, 微量元素溶液配方: H_3BO_3 0.28%, $MnSO_4$ 0.16%, Na_2MoO_4 0.076%, $ZnSO_4$ 0.024%, $CuSO_4$ 0.004%; 其中生长因子溶液配方: 维生素 B1 0.1%, 烟酰胺(VPP) 0.1%, 生物素 0.0016%, 对氨基苯甲酸 0.1%; 生长因子过滤除菌, 其他培养基于 121 °C 高压蒸汽灭菌 20 min。

2,2-联氮-二(3-乙基-苯并噻唑-6-磺酸)二铵盐 (ABTS), Sigma 公司; 溶菌酶, Sigma 公司。其余试剂均为分析纯或生化试剂。

1.2 实验方法

1.2.1 菌种活化

类球红细菌 3757 菌株平板划线后, 37 °C 培养 3-5 d; 挑取单菌落接种斜面, 37 °C 培养 3-5 d, 菌落长成后置于冰箱中保存备用。

1.2.2 菌体制备

将活化的类球红细菌 3757 菌株接种到液体种子培养基中, 32 °C, 180 r/min 培养 24 h, 得种子液; 将种子液按 5% 接种量接种到液体发酵培养中, 32 °C, 150 r/min 培养 24 h, 得发酵液; 将发酵液于 10000 r/min 离心 20 min, 收集菌体, 弃上清, 再用蒸馏水清洗菌

体 2 次, 得湿菌体; 将湿菌体在 $-50\text{ }^{\circ}\text{C}$, 压力小于 1 Pa 的条件下冷冻干燥 72 h 得干菌体。

1.2.3 菌体 SOD 提取

1.2.3.1 研磨法

湿菌体加石英砂研磨 15 min , 研磨成匀浆, 按适宜固液比添加 $\text{pH } 7.8$ 磷酸缓冲液震荡 30 min , 其中菌体: 石英砂的质量比为 $1:5$ 。

1.2.3.2 超声波法

取湿菌体或干菌体按适宜固液比添加 $\text{pH } 7.8$ 磷酸缓冲液, 震荡混匀后用冰浴超声波处理: 振幅 30% 、工作/间隔时间 $1\text{ min}/1\text{ min}$, 超声波总时间 15 min , 最后震荡 30 min 。

1.2.3.3 酶法辅助超声波法

溶菌酶添加量为 0.1 mg 溶菌酶/g 湿菌体, 按适宜固液比添加磷酸缓冲液, 酶解温度 40 , 酶解 $\text{pH } 7$, 酶解时间 60 min ; 然后进行冰浴超声波处理: 振幅 30% 、工作/间隔时间 $1\text{ min}/1\text{ min}$, 超声波总时间 15 min ; 最后震荡 30 min , 调节 $\text{pH } 7.8$ 。

1.2.3.4 纳米磨法

将湿菌体或干菌体放入高能纳米冲击磨罐中, 经预实验得到较适宜的工作条件为: $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ 下震磨 8 h , 然后按适宜固液比加入 $\text{pH } 7.8$ 的磷酸缓冲液, 震荡 30 min 。

1.2.3.5 菌体 SOD 收集

采用不同提取方法提取湿菌体或干菌体中 SOD 后, 于 $10000\text{ r}/\text{min}$ 离心 20 min , 收集上清液即为菌体 SOD 提取液。

1.2.4 超氧化物歧化酶(SOD)活力测定

按照南京建成总超氧化物歧化酶 (T-SOD) 试剂盒说明进行测定。

1.2.5 清除 ABTS^+ 作用

参照文献^[11~12]方法, 测定样品清除 ABTS 自由基的能力。

$$\text{清除率}(\%) = 1 - \frac{A_{\text{样品}} - A_{\text{样品空白}}}{A_{\text{对照}}} \times 100\%$$

1.2.6 清除 OH^{\cdot} 作用

按照南京建成羟自由基测定试剂盒说明书进行测定。

$$\text{清除率}(\%) = \frac{A_{\text{空白}} - A_{\text{样品}}}{A_{\text{空白}}} \times 100\%$$

1.2.7 清除 $\text{O}_2^{\cdot-}$ 作用

按照南京建成抑制超氧阴离子自由基测试盒说明进行测定。

$$\text{清除率}(\%) = \frac{A_{\text{空白}} - A_{\text{样品}}}{A_{\text{空白}}} \times 100\%$$

1.2.8 还原力测定

参照文献^[11]方法, 测定样品还原力。

$$\text{还原力} = A_{\text{样品}} - A_{\text{空白}}$$

1.2.9 数据分析

利用 SPSS 11.7 和 Origin Pro 8 软件进行数据统计分析及作图, 数据以均值 \pm 标准差 (Means \pm SD) 表示, 显著水平为 $p < 0.05$ 。结果以均数 \pm 标准差 ($X \pm \text{SD}$) 表示。

2 结果与分析

2.1 提取方法对类球红细菌 SOD 活性的影响

纳米技术在食品行业的发展主要集中在食品添加剂、食品包装材料和保健食品领域, 在保健食品的发展方面, 通过将营养补充剂颗粒纳米化, 在改善其生物利用率和生物活性并且降低保健食品的毒副作用方面具有潜在优势^[9]。类球红细菌菌体经高能纳米冲击磨震磨后, 其粒度 87.8% 在 300 nm 以下; 100% 在 620 nm 以下, 基本上达到了破壁的要求。不同提取方法对湿菌体 SOD 活力有明显影响, 如表 1 所示。SOD 活力由高到低分别是纳米磨法、酶法辅助超声波法、超声波法和研磨法; 纳米磨法 SOD 活力为 $36.90 \pm 1.25\text{ U/g}$, 是超声波法的 1.82 倍。另外, 分别采用纳米磨法和超声波法对干菌体进行破壁, 测定 SOD 活性; 结果表明, 纳米磨法 SOD 活力为 $214.20 \pm 7.72\text{ U/g}$, 超声波法为 $120.9 \pm 3.78\text{ U/g}$, 前者是后者的 1.77 倍, 前者明显优于后者。原因可能是纳米磨法可实现对类球红细菌菌体的超微粉碎, 菌体粒度达到纳米级而破壁, 有利于 SOD 从菌体中释放出来; 随粒度减小, 比表面积增大, 破壁菌体与缓冲液的接触更充分, SOD 就能更好地被提取出来。可见, 纳米磨法从类球红细菌菌体中提取 SOD 的活性最高。

表 1 提取方法对湿菌体 SOD 活力的影响

Table 1 Effects of extraction method on SOD activity from wet biomass of *Rhodobacter sphaeroides*

Extraction methods	Grinding	Ultrasonic	Ultrasonic assisted with zymolysis	Nano milling
SOD activities/(U/g)	16.40 ± 0.46	20.30 ± 0.67	29.70 ± 1.09	36.90 ± 1.25

2.2 类球红细菌 SOD 对 ABTS^+ 清除作用

ABTS^+ 清除法是一种广泛应用于生物样品总抗氧化能力测定方法, 具有操作简单、快速等优点。

ABTS⁺是很稳定的有色人工自由基,在734 nm下有最大吸收,其与自由基清除剂作用后,使反应体系中ABTS⁺减少,颜色变浅,吸光值降低,由此计算样品对ABTS⁺的清除能力^[11-13]。不同提取方法从湿菌体中提取的SOD对ABTS⁺均具有清除作用,如表2所示。纳米磨法的SOD对ABTS⁺的清除率最高,为92.10±3.32%,依次分别为酶法辅助超声法、超声波法

表2 湿菌体SOD对ABTS⁺的清除作用

Table 2 ABTS⁺ scavenging capacity of SOD from wet biomass of *Rhodobacter sphaeroides*

Extraction methods	Grinding	Ultrasonic	Ultrasonic assisted with zymolysis	Nano milling
ABTS ⁺ scavenging activity	69.20 ± 1.75	79.00 ± 2.19	83.30 ± 2.56	92.10 ± 3.32

2.3 类球红细菌SOD清除OH作用

OH是已知的存在于需氧生物代谢过程中的氧化性强的氧自由基,因其在氧原子上含有一个未配对的电子,因此具有较强的夺取电子的能力,几乎可以和所有的生物大分子发生不同类型的反应,具有非常高的速率常数,其危害大,能够引起膜脂、蛋白质和核酸的氧化损伤,导致细胞衰老、死亡和机体病变^[14]。

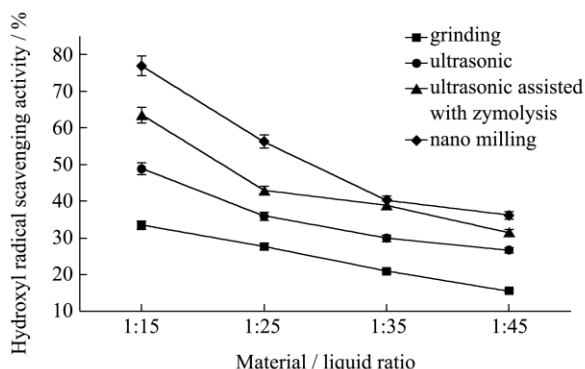


图1 湿菌体SOD对OH的清除作用

Fig.1 OH scavenging capacity of SOD from wet biomass of *Rhodobacter sphaeroides*

不同提取方法对类球红细菌湿菌体和干菌体SOD清除OH的能力均有明显影响,如图1和图2所示。固液比相同时,湿菌体SOD清除OH能力由高到低分别是纳米磨法、酶法辅助超声波法、超声波法和研磨法;当固液比为1:15时,它们对OH的清除率分别为76.90±2.67%、63.50±2.12%、48.90±1.64%和33.50±1.16%。相同提取方法时,湿菌体和干菌体SOD清除OH的能力随菌体浓度的增加而增加,菌体浓度与OH清除率呈量效关系。由图2可知,纳米磨法从干菌体提取的SOD对OH的清除作用优于超声波法;当固液比为1:20时,它们对OH的清除率分别为57.10±1.96%和46.80±1.82%。其原因正是由于纳米化样品粒径尺寸大幅降低,比表面积增加,造成具有抗氧化活性物质的溶解度增加而大幅提高了其抗氧化能力

和研磨法。可能因为纳米磨法经超微粉碎使菌体粒度达到纳米级,菌体表面积和孔隙率增加,破壁效果较好,SOD提取率和活力较高,导致其提取的SOD清除ABTS⁺的能力最强。李华等^[13]报道葡萄籽超微粉具有很高的清除ABTS⁺的能力,这同本文的结果相似。可见,纳米磨法从类球红细菌湿菌体中提取的SOD对ABTS⁺具有很好的清除作用。

^[8]。李华等^[13]报道葡萄籽超微粉表现出了很好的OH清除能力,这同本文的结果相似。可见,纳米磨法从类球红细菌湿菌体和干菌体中提取的SOD对OH均具有很好的清除作用。

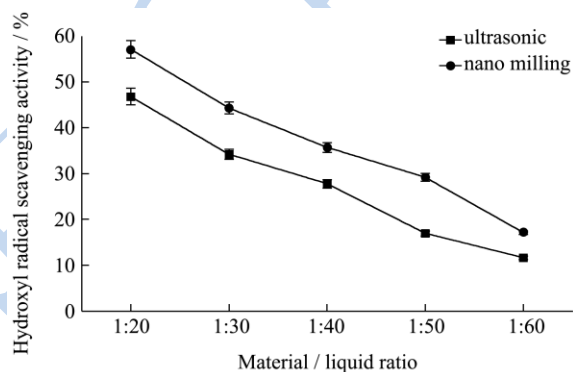


图2 干菌体SOD对OH的清除作用

Fig.2 OH scavenging capacity of SOD from dry biomass of *Rhodobacter sphaeroides*

2.4 类球红细菌SOD清除O₂⁻作用

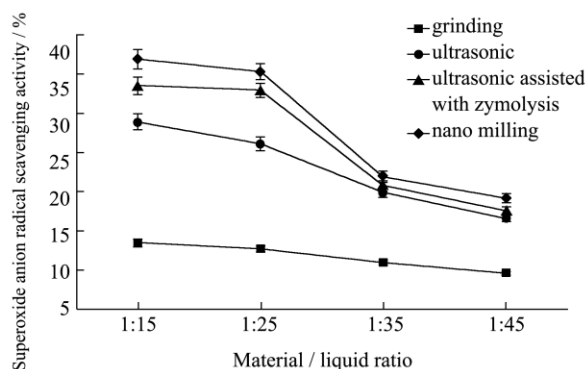


图3 湿菌体SOD对O₂⁻的清除作用

Fig.3 O₂⁻ scavenging capacity of SOD from wet biomass of *Rhodobacter sphaeroides*

超氧阴离子自由基(O₂⁻)本身不太活泼,但可通过歧化反应和其它反应途径产生H₂O₂和OH,是生物体系中自由基产生的根源。人体内有一定数量的O₂⁻存在,不发生化学变化时对人体无害,但是一旦

与羟基(OH)结合后,其产物会导致细胞DNA损坏,破坏人类机体功能。不仅 O_2^- 本身有毒害作用,而且其衍生的自由基也具有细胞毒性,会导致细胞DNA损伤及细胞膜损伤^[14]。相同提取方法时,湿菌体和干菌体SOD清除 O_2^- 的能力随菌体浓度的增加而增加,菌体浓度与 O_2^- 抑制率之间呈量效关系,如图3和图4所示。路祺等报道^[8]纳米化前、后有机木质素的抗氧化能力与木质素浓度正相关,这同本文的结果相似。

不同提取方法对湿菌体SOD清除 O_2^- 的作用有一定影响,如图3所示;固液比相同时,纳米磨法的SOD清除 O_2^- 的作用最好,依次分别是酶法辅助超声波法、超声波法和研磨法;当固液比为1:15时,它们对 O_2^- 的清除率分别为 $36.90\pm 1.22\%$ 、 $33.45\pm 1.17\%$ 、 $28.93\pm 1.03\%$ 和 $13.45\pm 0.49\%$ 。由图4可知,相同固液比时,纳米磨法从干菌体提取的SOD清除 O_2^- 的作用明显优于超声波法;固液比为1:20时,它们对 O_2^- 的清除率分别为 $79.40\pm 2.71\%$ 和 $67.10\pm 2.56\%$ 。路祺等^[8]报道纳米有机木质素的抗氧化能力比未纳米有机木质素有大幅提高,这与本文的情况很相似。原因很可能是由于随粒度的减小,细胞内容物释放增多,具有抗氧化的活性物质溶出,导致其抗氧化活性增加。可见,纳米磨法从类球红细菌湿菌体和干菌体中提取的SOD对 O_2^- 均具有很好的清除作用。

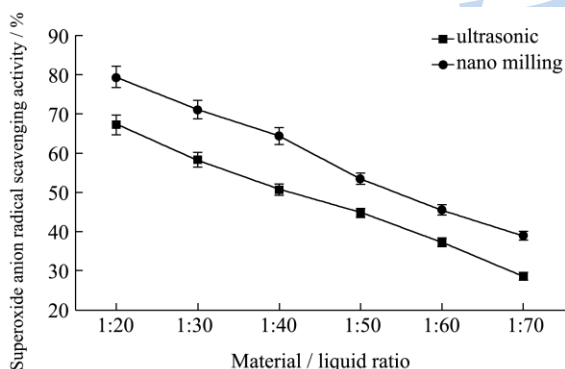


图4 干菌体SOD对 O_2^- 的清除作用

Fig4 O_2^- scavenging capacity of SOD from dry biomass of *Rhodobacter sphaeroides*

2.5 类球红细菌SOD还原力

生物样品的还原力与其抗氧化活性呈显著的正相关,还原力的高低可以反映抗氧化能力的强弱^[11]。由图5可知,相同提取方法下湿菌体SOD的还原力随菌体浓度的增加而增加,菌体浓度与还原力之间呈量效关系。不同提取方法对湿菌体SOD还原力有明显影响;相同固液比时,还原力最好的是纳米磨法,依次分别是酶法辅助超声波法、超声波法和研磨法;固液比为1:15时,其还原力分别为 11.30 ± 0.35 、

7.57 ± 0.27 、 6.13 ± 0.23 和 2.78 ± 0.11 。李华等^[13]报道葡萄籽超微粉具有强的还原能力,这同本文的情况类似。其原因可能是由于随粒度的减小,细胞内容物释放增多,具有抗氧化的活性物质溶出度增加,从而导致其抗氧化活性增加。可见,纳米磨法从湿菌体提取的SOD具有较强的还原能力。

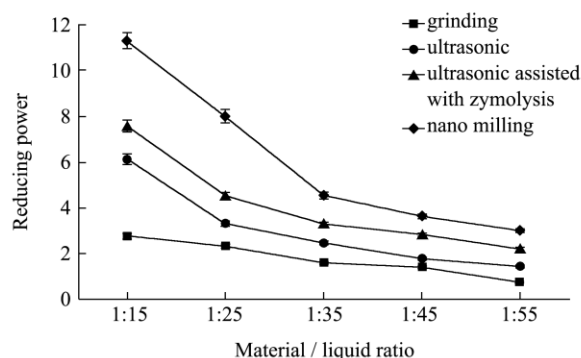


图5 湿菌体SOD还原力

Fig.5 Reducing power of SOD from wet biomass of *Rhodobacter sphaeroides*

3 结论

纳米磨法提取类球红细菌湿菌体SOD的活力最高,依次分别为酶法辅助超声波法、超声波法和研磨法。纳米磨法提取干菌体SOD的活力高于超声波法。湿菌体和干菌体SOD均具有较强的抗氧化能力,且与菌体浓度呈量效关系。这4种提取方法提取湿菌体的SOD均具有良好还原能力以及清除 $ABTS^+$ 、OH和 O_2^- 作用;纳米磨法SOD的抗氧化活性最好。纳米磨法和超声波法从干菌体提取的SOD均具有清除OH和 O_2^- 作用;纳米磨法SOD的抗氧化活性较好。可见,类球红细菌SOD具有较强的抗氧化能力,纳米磨法是较优的提取方法。因此,类球红细菌SOD在食品、医药等行业及天然抗氧化剂研发有应用前景。

参考文献

- [1] Miriyala S, Spasojevic I, Tovmasyan A, et al. Manganese superoxide dismutase, MnSOD and its mimics [J]. *Biochimica et Biophysica Acta*, 2012, 1822: 794-814
- [2] Dellomonaco C, Amaretti A, Zaroni S, et al. Fermentative production of superoxide dismutase with *Kluyveromyces marxianus* [J]. *J Ind Microbiol Biotechnol*, 2007, 34: 27-34
- [3] Liu JG, Yin MM, Zhu H, et al. Purification and characterization of a hyperthermostable Mn-superoxide dismutase from *Thermus thermophilus* HB27[J]. *Extremophiles*, 2011, 15: 221-226
- [4] 方立超,魏泓,郑峻松.8株光合细菌的鉴定及其系统进化关

- 系分析[J].中国微生物学杂志,2010,22(5):439-443
- FANG Li-chao, WEI Hong, ZHENG Jun-song. Identification of 8 photosynthetic bacteria strains and analysis of their phylogenetic relation [J]. Chinese Journal of Microecology, 2010, 22(5): 439-443
- [5] Gu ZX, Chen DM, Han YB, et al. Optimization of carotenoids extraction from *Rhodobacter sphaeroides* [J]. LWT, 2008, 41: 1082-1088
- [6] Lu WQ, Shi YJ, He SW, et al. Enhanced production of CoQ10 by constitutive overexpression of 3-demethyl ubiquinone-9 3-methyltransferase under tac promoter in *Rhodobacter sphaeroides* [J]. Biochemical Engineering Journal, 2013, 72: 42-47
- [7] Kho DH, Yoo SB, Kim JS, et al. Characterization of Cu- and Zn-containing superoxide dismutase of *Rhodobacter sphaeroides* [J]. FEMS Microbiology Letters, 2004, 234: 261-267
- [8] 路祺,朱明华,祖元刚,等.高沸醇有机木质素微粉制备及抗氧化性能[J].北京林业大学学报,2011,33(5):69-74
- LU Qi, ZHU Ming-hua, ZU Yuan-gang, et al. Preparation and antioxidant capacity of high boiling solvent lignin nanopowder [J]. Journal of Beijing Forestry University, 2011, 33(5): 69-74
- [9] Gruère GP. Implications of nanotechnology growth in food and agriculture in OECD countries [J]. Food Policy, 2012, 37: 191-198
- [10] 刘素稳,常学东,李航航,等.不同粉碎方法对杏鲍菇超微粉体物化性质的影响[J].现代食品科技,2013,29(11): 2722-2727
- LIU Su-wen, CHANG Xue-dong, LI Hang-hang, et al. Effects of micronization methods on physicochemical properties of *Pleurotus eryngii* powders [J]. Modern Food Science and Technology, 2013, 29(11): 2722-2727
- [11] Liu CJ, Zhao YL, Li XJ, et al. Antioxidant capacities and main reducing substance contents in 110 Fruits and Vegetables Eaten in China [J]. Food and Nutrition Sciences, 2014, 5: 293-307
- [12] 王静波,赵江林,彭镰心,等.苦荞芽中黄酮类化合物含量及其抗氧化性的研究[J].现代食品科技,2013,29(5):965-968
- WANG Jing-bo, ZHANG Jiang-lin, PENG Lian-xin, et al. Development on flavonoids and antioxidant activity of tartary buckwheat sprout [J]. Modern Food Science and Technology, 2013, 29(5): 965-968
- [13] 李华,李佩洪,李勇,等.葡萄籽超微粉体外消化后抗氧化能力的检测[J].食品与发酵工业,2008,34(10):149-152
- LI Hua, LI Pei-hong, LI Yong. The antioxidant capacity of ultra-fine powder of grape seed under conditions of in vitro digestion [J]. Food and Fermentation Industries, 2008, 34(10): 149-152
- [14] 朱松,马朝阳,艾连中,等.酶促乙酰化 EGCG 清除自由基及抗脂质过氧化活性研究[J].现代食品科技,2014, 30(1): 22-27,37
- ZHU Song, MA Chao-yang, AI Lian-zhong, et al. Free radicals scavenging and inhibition of lipid peroxidation activity of the enzymatic acetylated EGCG [J]. Modern Food Science and Technology, 2014, 30(1): 22-27, 37