

氯化三辛基甲胺/氯仿/正丁醇反胶束萃取地木耳多糖

罗光宏¹, 张斌^{2,3}, 张喜峰^{2,3*}¹河西学院凯源生物技术开发中心; ²甘肃省河西走廊特色资源利用重点实验室;³河西学院农业与生物技术学院, 张掖 734000

摘要: 采用阳离子表面活性剂氯化三辛基甲胺(TOMAC)/氯仿/正丁醇反胶束体系萃取地木耳中的多糖。分析有机溶剂氯仿与助表面活性剂正丁醇比例、TOMAC浓度、多糖粗提液浓度、促溶剂盐酸胍浓度、盐离子种类和浓度对前萃取率的影响。结果表明:向0.5 mg/mL多糖粗提液中加入10 mmol/L盐酸胍(GuHCl)和0.06 mol/L NaCl,与等体积25 mmol/L TOMAC/氯仿-正丁醇(V:V=3:1)的反胶束体系混合,地木耳多糖前萃取率为53.21%;反萃时水相中NaCl浓度为0.14 mol/L,盐酸胍浓度为0.6 mol/L,在此条件下地木耳多糖反萃取率为93.2%。

关键词: 反胶束; 前萃取; 反萃取; 地木耳多糖

中图分类号: TS201.4

文献标识码: A

DOI: 10.16333/j.1001-6880.2017.2.004

Extraction of Polysaccharides from *Nostoc commune* Vauch by Reversed Micelles of Trioctylammonium Chloride/Chloroform/n-butane

LUO Guang-hong¹, ZHANG Bin^{2,3}, ZHANG Xi-feng^{2,3*}¹Kaiyuan Bio-Tech Development Center, Hexi University; ²Key Laboratory of HexiCorridor Resources Utilization of Gansu; ³College of Agriculture and

Biotechnology, Hexi University, Zhangye 734000, China

Abstract: In this work, *Nostoc commune* Vauch polysaccharide was extracted by reverse micelles. The reverse micellar systems were formed by trin octylmethylammonium chloride (TOMAC), chloroform and n-butane. The effects of TOMAC concentration, the volume of organic solvent chloroform and co-solvent n-butane, crude polysaccharides extract concentration, guanidine hydrochloride concentration (GuHCl), and the species and concentration of salts on the forward extraction efficiency of *N. commune* polysaccharides were investigated. The forward extraction efficiency of *N. commune* polysaccharides was determined to be 53.21% by 25 mmol/L TOMAC/chloroform/n-butane (V:V=3:1), crude polysaccharides concentration 0.5 mg/mL, NaCl concentration 0.4 mol/L, GuHCl concentration 10 mmol/L. Under these conditions, the backward extraction yield was 93.2% by 0.14 mol/L NaCl solution, GuHCl concentration 0.6 mol/L.

Key words: reversed micelles; forward extraction; backwards extraction; *Nostoc commune* Vauch polysaccharides

地木耳(*Nostoc commune* Vauch)为念珠藻科念珠藻属。地木耳生存能力较强、是一种常见野生蔬菜资源^[1]。多糖是地木耳中主要营养成分之一。国内外研究表明其具有多种功能特性^[2];若能寻找一种既简单又高效的提取多糖的方法,这对提高植物多糖提取率具有重要的意义。

范群艳^[3]和张唐伟^[4,5]分别采用水提法优化地木耳多糖提取条件,地木耳多糖得率分别为7.7%

和13.75%;这些方法仅对地木耳多糖进行了粗提取,未进行后续工艺的研究^[6]。反胶团萃取利用表面活性剂在有机相中形成一种纳米级的反胶束进行萃取的技术,反胶束内部包含有水溶液,生物大分子可进入反胶束内部的亲水环境,且能保持生物学活性,为生物大分子提取和分离开辟了一条新的途径。咎丽霞等^[7]利用AOT/异辛烷反胶束萃取牡丹籽蛋白,获得了较好萃取效果;刘瑞等^[8]对溶菌酶的反胶团提取条件进行了优化,萃取过程中溶菌酶不易变性失活;然而反胶束萃取多糖的研究相对较少。

本实验采用阳离子表面活性剂氯化三辛基甲胺(TOMAC)/氯仿/正丁醇反胶束体系萃取地木耳中

收稿日期:2016-08-02 接受日期:2016-11-01

基金项目:甘肃省中小企业创新基金(1047GCCG001);甘肃省河西走廊特色资源利用省级重点实验室资助(XZ1607)

* 通讯作者 E-mail:464690924@qq.com

的多糖,分析氯仿与正丁醇比例、TOMAC 浓度、多糖粗提液浓度、盐酸胍浓度、盐离子种类和浓度对前萃取率的影响,初步确定多糖的前萃取较优条件,在此基础上对反萃取条件进行了分析,以期地为木耳多糖提取及高效利用开辟一个新的途径。

1 材料与方法

1.1 材料、试剂与仪器

地木耳采自张掖市临泽县,水洗,晾干,粉碎。氯化三辛基甲胺、盐酸胍、氟化钠等均为分析纯。

JA2003 电子天平(常熟衡器厂),723PC 型可见分光光度计(上海现科分光仪器有限公司),恒温鼓风干燥箱,TQHZ-2002A 全温度振荡培养箱,小型粉碎机。

1.2 实验方法

1.2.1 地木耳中多糖粗提液的制备

称取一定量地木耳粉末,以 1:60(g/mL) 比例用水溶解,90 °C 水浴浸提 3 h,过滤,上清液为地木耳多糖的初提液^[4]。

1.2.2 反胶束溶液的制备

将一定量的 TOMAC 溶于不同体积比的氯仿和正丁醇的混合液中,用等体积 pH = 7.0 磷酸盐缓冲液洗涤,得到透明澄清的 TOMAC 反胶束溶液。

1.2.3 前萃取和反萃取过程

分别吸取不同提取条件下的地木耳多糖的初提液 5 mL 和等体积反胶束溶液混合后置于振荡培养箱充分混合,分层后,量取上、下两相体积(mL)。测定水相中多糖的浓度,根据下列公式计算前萃取率;将前萃取后反胶束溶液与含有一定浓度盐溶液等体积混合后,方法同 1.2.3,测定水相中多糖的浓度,按照以下公式计算反萃取率:

$$\text{前萃取率}(E) = \frac{C_0 \times V_0 - C_1 \times V_1}{C_0 \times V_0} \times 100\%$$

$$\text{反萃取率}(E') = \frac{C_2 \times V_2}{C_0 V_0 - C_1 V_1} \times 100\%$$

式中:E 和 E' 分别为地木耳多糖的前萃取率和反萃取率(%); C_0 和 V_0 分别为地木耳多糖料液质量浓度(mg/mL)和体积(mL); C_1 和 V_1 分别为前萃取萃余相多糖的质量浓度(mg/mL)和体积(mL); C_2 和 V_2 分别为反萃取萃取相中多糖的含量(mg/mL)和体积(mL)。

1.2.4 多糖含量测定

采用苯酚-浓硫酸法^[9]对地木耳多糖含量进行

测定。取 6 支比色管分别加入 0、0.2、0.4、0.6、0.8、1.0 mL 100 $\mu\text{g/mL}$ 葡萄糖标准溶液,加入蒸馏水补足至 2 mL,加入 6% 苯酚 1 mL 和浓硫酸 5 mL,充分混匀,待冷却后在 490 nm 测定吸光值。其横坐标是溶液质量浓度(X , mg/mL)纵坐标是吸光值(A),得到回归方程 $A = 9.12X - 0.0049$ ($R^2 = 0.9891$)。

1.2.5 多糖纯度的测定

将地木耳多糖粗提液和反胶束萃取后地木耳多糖分别加入 3 倍体积无水乙醇,4 °C 静置 3 h 以上,5000 rpm 离心 5 min,沉淀经真空干燥得地木耳多糖;准确称取 0.1 g 地木耳多糖,加入蒸馏水定容至 1 L,按照 1.2.4 方法测定地木耳多糖含量,计算多糖质量为 M ,根据以下公式计算纯度。

$$\text{多糖纯度} = \frac{M}{0.1} \times 100\%$$

其中:0.1 g 为沉淀真空干燥后称取的地木耳多糖。

1.2.6 数据处理

实验数据均平行测定 3 次,采用 Excel2003 和 DPS6.55 软件进行处理。

2 结果与讨论

2.1 反胶团萃取地木耳多糖前萃取过程分析

2.1.1 反胶束溶液中不同体积比的氯仿和正丁醇对地木耳多糖前萃取的影响

在 20 mmol/L TOMAC/氯仿/正丁醇反胶束溶液中,改变氯仿与正丁醇体积比为 1:1、2:1、3:1、4:1、5:1,分别与 1 mg/mL 地木耳多糖初提液等体积充分混合,按照 1.2.3 方法进行操作,计算多糖前萃取率,分析反胶束溶液中不同体积比的氯仿和正丁醇对地木耳多糖前萃取的影响,结果如图 1 所示。

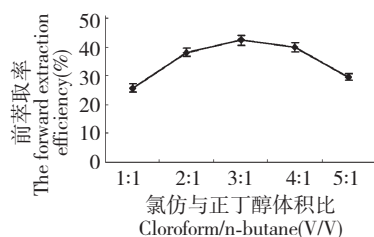


图 1 氯仿和正丁醇的体积比对前萃取率的影响

Fig. 1 The effect of volume ratio of chloroform and n-butane on the forward extraction efficiency

在 TOMAC 阳离子表面活性剂的反胶束中,加入适量醇类助溶剂,可增强表面活性剂在有机溶剂

中的溶解。由图 1 可知,随着反胶束溶液中有溶剂-氯仿和助溶剂-正丁醇比值变大,地木耳多糖的前萃取率先增大后减小,当两者的体积比为 3:1 时,前萃取率达到最高(为 42.35%)。原因可能是:适当的氯仿与正丁醇体积比,使表面活性剂分子之间的内聚力减弱,松懈了表面活性剂排列方式,促使反胶束的形成^[10],提高多糖的前萃取率;当两者的体积比继续增大时,导致正丁醇的浓度过小,从而增加了表面活性剂分子的内聚力,使表面活性剂极性基团(阳离子)之间静电斥力增强,影响反胶束的形成。因此,确定反胶束溶液中氯仿与正丁醇体积比(V/V)为 3:1。

2.1.2 反胶束溶液中 TOMAC 浓度对地木耳多糖前萃取的影响

固定氯仿/正丁醇(V/V)为 3:1,分别加入浓度为 15、20、25、30、35 mmol/L TOMAC,与 1 mg/mL 地木耳多糖初提液等体积充分混合,按照 1.2.3 方法进行操作,计算多糖前萃取率,分析反胶束溶液中不同体积比的氯仿和正丁醇对地木耳多糖前萃取的影响,结果如图 2 所示。

由图 2 可知,当 TOMAC 浓度较低时,多糖的前萃取率随表面活性剂增大而升高,当 TOMAC 的浓度超过 25 mmol/L 后,前萃取率趋于平缓,不再增加。这主要是增加表面活性剂 TOMAC 的浓度会使反胶束水池含水量增加,利于亲水性物质溶解;当 TOMAC 的浓度过高时,表面活性剂极性头之间的静电排斥力增强,促使反胶束极性核变小。因此确定 TOMAC 的浓度为 25 mmol/L。

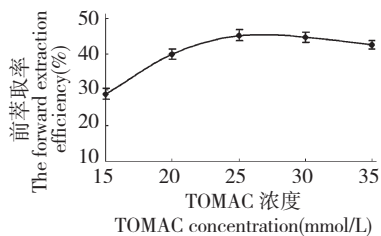


图 2 TOMAC 浓度对前萃取率的影响

Fig. 2 The effect of TOMAC concentration on the forward extraction efficiency

2.1.3 不同浓度多糖粗提液对地木耳多糖前萃取的影响

取不同浓度(0.5、1、1.5、2、2.5 mg/mL)地木耳多糖初提液 5 mL 和等体积 25 mmol/L TOMAC/氯仿/正丁醇(V/V = 3:1)反胶束溶液充分混合,按照

1.2.3 方法进行操作,计算多糖前萃取率,分析不同浓度多糖粗提液对地木耳多糖前萃取的影响,结果如图 3 所示。

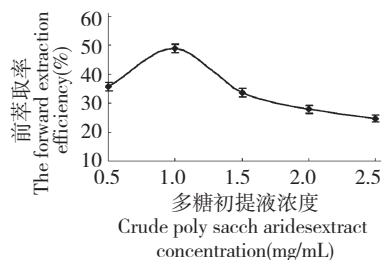


图 3 多糖初提液浓度对前萃取率的影响

Fig. 3 The effect of crude polysaccharides extract concentration on the forward extraction efficiency

由图 3 可知,当多糖粗提液浓度为 1 mg/mL 时,反胶束前萃取率达到最大值(49.02%)。原因可能是 0.5 mg/mL 多糖粗提液中含有较多可溶性蛋白质,在进行前萃取时一部分蛋白质也会进入反胶束中,影响了多糖前萃取效果;当多糖初提液浓度继续增加至 1 mg/mL 后,前萃取率逐渐减小,可能是在一定浓度反胶束溶液中,萃取进入反胶束内多糖数量是一定的^[11];因此,确定多糖粗提液的浓度为 1 mg/mL。

2.1.4 不同浓度盐酸胍对地木耳多糖前萃取的影响

将含有不同盐酸胍浓度(0、10、20、30、40 mmol/L)的地木耳多糖粗提液与等体积 25 mmol/L TOMAC/氯仿/正丁醇(V/V = 3:1)反胶束溶液混合,按照 1.2.3 方法进行操作,计算多糖前萃取率,分析不同浓度盐酸胍对地木耳多糖前萃取的影响,结果如图 4 所示。

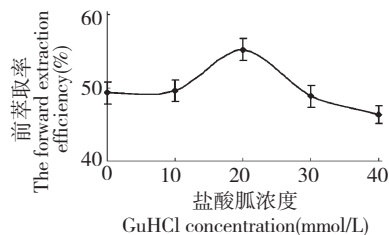


图 4 盐酸胍浓度对前萃取率的影响

Fig. 4 The effect of GuHCl concentration on the forward extraction efficiency

由图 4 可知,当盐酸胍浓度较小时,多糖前萃取率随着盐酸胍浓度增加而增大,当盐酸胍浓度超过 20 mmol/L 后,前萃取率逐渐减小。主要原因是盐

酸胍属于强变性剂,可导致多糖分子结构发生变化,利于多糖进入反胶束极性核内;当盐酸胍浓度达到一定值后,盐酸胍作用机制还不十分明确,可能是降低体系中胶束的动力学半径^[12],使得进入反胶束极性核的多糖分子的数量减少,从而导致前萃取率降低。因此确定盐酸胍的浓度为 20 mmol/L。

2.1.5 不同种类和浓度的盐对地木耳多糖前萃取的影响

将 25 mmol/L TOMAC/氯仿/正丁醇(V/V = 3:1)反胶束溶液与等体积含有不同盐种类和浓度的多糖初提液中混合,按照 1.2.3 方法进行操作,计算多糖前萃取率,分析不同浓度 3 种盐对地木耳多糖前萃取的影响,结果如图 5 所示。

由图 5 可知,三种盐对反胶束前萃取地木耳多糖的影响不同,随着 NaF 和 NaCl 盐浓度逐渐增加,多糖前萃取率先增大后减小;随着 NaBr 盐浓度逐渐增加,前萃取率有下降趋势。当多糖提取液中含有 0.06 mol/ NaF 或 NaCl 时,前萃取率为 43.72% 和 49.34%。因此,NaCl 对地木耳多糖前萃取的效果比 NaF 的效果较好。原因可能是盐浓度影响表面活性剂的电离程度,盐对极性核内表面电荷产生“屏蔽作用”。一方面随着盐浓度逐渐增加,表面活性剂内的亲水基团间的相互斥力增大,所以就会形

成更大的反胶束内核,有利于多糖进入到反胶束内核中,从而使得前萃取率提高;另一方面当盐浓度达到一定值时,促使盐进入反胶束内,影响多糖萃取效果,所以萃取率会下降^[13]。NaBr 对反胶束萃取影响较大,阴离子水化半径较大,对多糖前萃取率影响也大,这可能因为不同离子其半径不同对反胶束双电层的屏蔽作用也不同^[14],因此,确定在多糖提取液中加入 NaCl,使其终浓度为 0.06 mol/L。

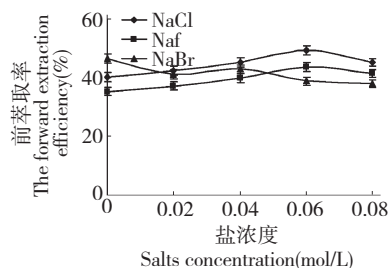


图 5 不同种类盐浓度对前萃取率的影响

Fig. 5 The effect of different salts on the forward extraction efficiency

2.2 正交实验设计

在单因素实验基础上,选择 A-TOMAC 浓度、B-地木耳多糖浓度、C-盐酸胍浓度、D-NaCl 浓度四个因素,以地木耳多糖前萃取率为指标,进行正交实验进行设计,结果如表 1 所示。

表 1 $L_9(3^4)$ 正交实验萃取地木耳多糖结果

Table 1 Orthogonal experimental design and results of extracting *N. commune* polysaccharides by reverse micelles

处理号 No.	A-TOMAC 浓度 TOMAC concentration (mmol/L)	B-多糖粗提液浓度 Crude polysaccharides extract concentration (mg/mL)	C-盐酸胍浓度 GuHCl concentration (mmol/L)	D-NaCl 浓度 NaCl concentration (mol/L)	前萃取率 The forward extraction efficiency (%)
1	1(20)	1(0.5)	1(10)	1(0.02)	46.5
2	1	2(1)	2(20)	2(0.04)	45.6
3	1	3(1.5)	3(30)	3(0.06)	42.1
4	2(25)	1	2	3	53.2
5	2	2	3	1	50
6	2	3	1	2	48
7	3(30)	1	3	2	42.2
8	3	2	1	3	41.2
9	3	3	2	1	35.5
K1	134.2	141.9	135.7	131.96	
K2	151.2	136.8	134.27	135.79	
K3	118.85	125.56	134.29	136.51	
R	10.79	5.45	0.48	1.52	

由表 1 可知,根据极差的大小得出各影响因素对地木耳多糖萃取率的影响顺序为 A (TOMAC 浓

度) > B (多糖粗提液浓度) > D (NaCl 浓度) > C (盐酸胍浓度),确定最佳提取条件为 $A_2B_1C_1D_3$,即

表2 方差分析

Table 2 Analysis of variance

变异来源 Sources of variation	平方和 SS	自由度 df	均方 variance	F 值 F value	p-值 p-value
A	174.6814	2	87.3407	389.7784	0.0026
B	46.5937	2	23.2968	103.9677	0.0095
C*	0.4482	2	0.2241		
D	3.9878	2	1.9939	8.8982	0.101
误差	0.4482	2	0.2241		
总和	225.711				

TOMAC 浓度为 25 mmol/L, 0.5 mg/mL 多糖粗提液、10 mmol/L 盐酸胍、0.06 mol/L NaCl。从表 2 的方差分析可知, 在本实验所研究的范围内, A (TOMAC 浓度) 和 B (多糖粗提液) 对地木耳多糖萃取率有极显著性的影响。将最佳前萃取条件进行 3 次重复实验, 地木耳多糖前萃取率为 53.21%。

2.3 反胶团萃取地木耳多糖反萃取过程分析

在前萃取最优条件基础上, 对地木耳多糖进行反萃取分析。

2.3.1 水相 NaCl 浓度对反萃取率的影响

将前萃取后反胶束相与不同 NaCl 浓度水相等体积充分混合, 测定水相中多糖含量, 按照 1.2.3 公式计算反萃取率, 结果如图 6。

由图 6 可知, 在水相中 NaCl 浓度为 0.14 mol/L 时, 反萃取率达到最大值 (88.2%)。原因可能是 NaCl 浓度不断增大后, 反胶束内表面的电荷密度减小, 使反胶束内含水量减小^[15]; 同时 NaCl 会进入反胶束内, 从而取代出多糖, 使多糖从反胶束内被盐析出来。因此, 选择水相中 NaCl 浓度为 0.14 mol/L。

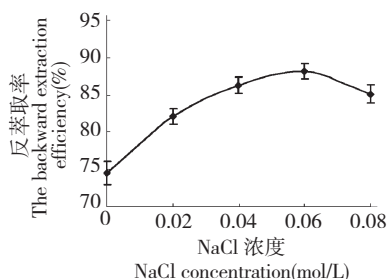


图6 反萃取水相 NaCl 浓度对反萃取率的影响

Fig. 6 The effect of NaCl concentration in backward aqueous phase on the backward extraction efficiency

2.3.2 反萃取水相促溶剂盐酸胍浓度对反萃取率的影响

在前萃取过程中, 一定浓度的盐酸胍可有效提

高地木耳多糖前萃取率, 在反萃取过程中, 研究反萃取水相中加入不同浓度盐酸胍对反萃取率的影响, 结果如图 7 所示。

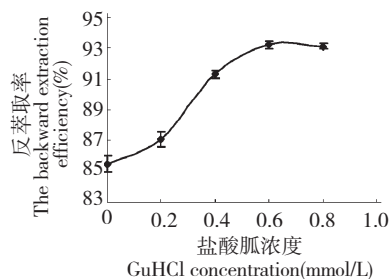


图7 反萃取水相盐酸胍浓度对反萃取率的影响

Fig. 7 The effect of GuHCl concentration in backward aqueous phase on the backward extraction efficiency

如图 7 可知, 随着反胶束水相中盐酸胍浓度由 0~0.6 mol/L 逐渐升高, 地木耳多糖反萃取率逐渐增加; 当盐酸胍浓度由 0.6 mol/L 增加到 0.8 mol/L 时, 反萃取率基本趋于不变。高浓度盐酸胍利于地木耳多糖从反胶束中反萃取出来。原因可能是高浓度盐酸胍促使反胶束内径变小, 形成空间位阻, 无法包裹多糖分子, 使多糖从反胶束内被反萃出来^[12], 所以反萃取率升高。因此, 选择盐酸胍浓度为 0.6 mol/L。

2.4 萃取前后地木耳多糖纯度的变化

地木耳粗提液中多糖纯度为 23.5%, 经反胶束萃取后地木耳多糖纯度上升至 72.4%。

3 结论

本实验中采用阳离子表面活性剂氯化三辛基甲胺 (TOMAC)/氯仿/正丁醇反胶束体系萃取地木耳中的多糖, 采用单因素和正交实验设计优化了反胶束萃取地木耳多糖的前萃取条件, 确定了各因素对地木耳多糖前萃取的影响顺序为 TOMAC 浓度 > 多

糖粗提液浓度 > NaCl 浓度 > 盐酸胍浓度,最佳条件为:反胶束体系为 25 mmol/L TOMAC/氯仿-正丁醇 (V:V=3:1),水相为含 10 mmol/L 盐酸胍 (GuHCl) 和 0.06 mol/L NaCl 0.5 mg/mL 多糖粗提液,将上述两相等体积混合后,在此条件下地木耳多糖前萃取率为 53.21%;反萃取时,水相中 NaCl 和盐酸胍较高时利于多糖的反萃取,即水相中 NaCl 浓度为 0.14 mol/L,盐酸胍浓度为 0.6 mol/L,在此条件下地木耳多糖反萃取率为 93.2%。萃取后纯度由 23.5% 上升至 72.4%。

通过本实验证明反胶束萃取地木耳多糖的可行性,但由于前萃取率较低,且萃取后地木耳多糖只有 72.4%,还有一定杂质存在,后续实验仍需对多糖继续纯化,为地木耳多糖利用及新型产品的开发奠定基础。

参考文献

- 1 Liu ZY(邓中洋),Hu ZY(胡征宇),Kuang QJ(况琪军),*et al.* Study of the mass culture of *Nostoc commune* Vauch. *J Wuhan Botanical Res* (武汉植物学研究),2004,22:578-580.
- 2 Guo M,Ding GB,Guo S,*et al.* Isolation and antitumor efficacy evaluation of a polysaccharide from *Nostoc commune* Vauch. *Food Funct*,2015,6:3035-3044.
- 3 Fan QY(范群艳),Wu XY(吴向阳),Yang LQ(仰榴青). Study on extraction of *Nostoc commune* vauch polysaccharides by response surface methodology. *J Jiangsu Univ, Med Ed* (江苏大学学报,医学版),2007,17:236-240.
- 4 Zhang TW(张唐伟),Liu QH(柳青海),Li TC(李天才). Study on isolation and purification of polysaccharides extracted from *Nostoc commune* Vauch. *Chin Wild Plant Res* (中国野生植物资源),2011,30(3):34-37.
- 5 Zhang TW(张唐伟),Yang L(杨乐),Liu QH(柳青海),*et al.* Antioxidant and antimicrobial Activities of *Nostoc commune* polysaccharides. *J Food Sci Biotechnol* (食品与生物

技术学报),2011,30:868-873.

- 6 Dong RJ(董汝晶). The research progress of polysaccharide extraction method. *Acade Period Farm Prod Proc* (农产品加工),2014,20(4):46-48.
- 7 Zan LX(笪雨霞),Wang Y(王宇),Xu H(徐皓),*et al.* Comparison of two extraction processes of peony seed protein by reverse micelle system. *China Oils Fats* (中国油脂),2016,41(8):23-27.
- 8 Liu R(刘瑞),Zhang HC(张弘池),Zhou F(周凤),*et al.* Optimization of reverse micelles extraction conditions of lysozyme. *Chin J Exp Tradit Med Formu* (中国实验方剂学杂志),2015,21(20):30-33.
- 9 Saha AK,Brewer CF. Determination of the concentrations of oligosaccharides, complex type carbohydrates, and glycoproteins using the phenol-sulfuric acid method. *Carbohydr Res*,1994,254:157-167.
- 10 Gan LH(甘林火),Weng LJ(翁连进). Separation of phycocyanin from *nostoc commune* by reversed micellar extraction. *Chem Ind Eng Prog* (化工进展),2010,29:2362-2367.
- 11 Gao YX(高艳秀),Chen FS(陈复生),Bu GH(布冠好),*et al.* Forward extraction of protein from peanut through SDS reverse micelles assisted by ultrasound. *Cereals Oils*(粮食与油脂),2012,12(7):15-19.
- 12 Li SL(李松丽). purification of polysaccharides using reverse micelles extraction technology. Shanghai:East China University of Science and Technology,PhD. 2012
- 13 Yang GS(杨光胜),Chen FS(陈复生),Zhang LF(张丽芬),*et al.* Research on backward extraction of soy protein by different reverse micelle systems. *Cereals Oils*(粮食与油脂),2014,27(8):45-48.
- 14 Zhang QQ(张芹芹). Study on the extraction of BSA using mixed reverse micelle bromotetradecane. Jinan:Shandong University,PhD. 2014.
- 15 Liu YQ(刘叶青). Experiment in Bioseparation Engineering (生物分离工程实验). Beijing:Higher Education Press,2014. 35.

(上接第 228 页)

- 19 Hazem SH,Shaker ME,Ashamalla SA,*et al.* The novel Janus kinase inhibitor ruxolitinib confers protection against carbon tetrachloride-induced hepatotoxicity via multiple mechanisms. *Chem Biol Interact*,2014,220:116-127.

- 20 Lee IC, Kim SH, Baek HS,*et al.* The involvement of Nrf2 in the protective effects of diallyl disulfide on carbon tetrachloride-induced hepatic oxidative damage and inflammatory response in rats. *Food Chem Toxicol*,2014,63:174-185.