香叶醇烷基改性壳寡糖的高效制备及表征

孙 丹[1,2]，乐 琳[*1,2]，王 斌[1,2]，姜启兴[1,2]，夏文水[1,2]，平 原[3]
（1. 江南大学 食品学院，江苏 无锡 214122；2. 食品安全与质量控制协同创新中心，江苏 无锡 214122；3. 苏州丰倍生物科技有限公司，江苏 苏州 215600）

摘要：在之前研究的基础上，改进实验方案，提高香叶醇接枝壳寡糖衍生物的产率。通过香叶醇溴化和取代反应两步合成香叶醇烷基改性的壳寡糖 COS-M-Ger1、COS-M-Ger2 和 COS-M-Ger3，与之前的研究相比产率提高 4~7 倍。紫外可见吸收光谱、傅立叶红外光谱、核磁氢谱、元素分析等表征手段表明产物成功合成，产物的取代度为 0.260~0.283；溶解性、X-衍射和热稳定性研究表明，与香叶醇相比产物在酸性和中性条件下有较好的溶解性；相较壳寡糖，产物的结晶度较强而热稳定性较差；平板抗菌结果表明衍生物 COS-M-Ger1、COS-M-Ger2 和 COS-M-Ger3 的抑菌性优于壳寡糖和两种市售抗菌剂；本研究为溶解性好、高效抗菌的壳寡糖衍生物的大批量生产提供理论研究基础。

关键词：壳寡糖；合成；产率；抗菌性；溶解性
中图分类号：TQ 465.91　**文章编号：**1673-1689(2021)05-0021-07　**DOI：**10.3969/j.issn. 1673-1689.2021.05.003

Facile Synthesis and Characterization of Geraniol Alkyl Modified Chitosan Oligosaccharides

SUN Dan[1,2]，*YUE Lin*[*1,2]，*WANG Bin*[1,2]，*JIANG Qixing*[1,2]，*XIA Wenshui*[1,2]，*PING Yuan*[3]
(1. School of Food Science and Technology, Jiangnan University, Wuxi 214122, China; 2. Synergetic Innovation Center of Food Safety and Quality Control, Jiangsu Province, Wuxi 214122, China; 3. Suzhou Fengbei Biotech Co., Ltd., Suzhou 215600, China)

Abstract: The yield of geraniol-modified chitosan oligosaccharide (COS-M-Ger) derivatives was increased based on the improvement of experimental scheme described in previous research. COS-M-Ger1, COS-M-Ger2 and COS-M-Ger3 were synthesized through a two-step reaction of geraniol bromination and substitution, and the yield was 4~7 times higher than that of the previous study. The products were characterized by UV-Vis, FT-IR, ^{1}H-NMR and elemental analysis to confirm the successful synthesis, and the substitution degrees of products were in the range from 0.260 to 0.283. Solubility, X-ray diffraction analysis and TGA showed that the products had better solubility than Ger under acidic and neutral conditions. Compared to COS, the crystallinity of product was stronger, however, the thermal stability was worse. The antibacterial results showed that the antibacterial effects of COS-M-Ger1, COS-M-Ger2 and COS-M-Ger3 were better than those of COS and two commercially available antibacterial agents. This paper provides a theoretical basis for

收稿日期：2020-02-10
基金项目：国家“十三五”重点研发计划项目(2018YFD0901104)；国家自然科学基金青年基金项目(31800679)。
*** 通信作者：**乐　琳(1973—)，男，博士，副教授，硕士研究生导师，主要从事食品化学与分析、食品安全与检测研究。
E-mail：yuelin@jiangnan.edu.cn

the mass production of COS derivatives with good solubility and high antibacterial effect.
Keywords: chitosan oligosaccharides, synthesis, yield, antibacterial activity, solubility

食源性疾病严重危害公众生命健康[1],尤其近年来,抗生素滥用导致耐药性问题不断加重[2],因此迫切需要研究和开发新型抗菌材料。

壳寡糖(COS)作为壳聚糖的水解产物,是由氨基葡萄糖和*N*-乙酰氨基葡萄糖通过β-糖苷键连接成的阳离子线型分子,因其很好的溶解性、抗氧化性、抗炎、降脂等生物活性[3-4],引起科研工作者广泛关注。COS具有抗菌性,在食品、医药、饲料添加剂等领域作为抗菌防腐剂使用。COS的抑菌活性受pH严重影响,在酸性条件下抗菌效果最佳,因此需要通过对壳寡糖进行改性提高其抗菌性[5]。香叶醇是玫瑰精油、香茅精油等精油的主要成分,用于香精和食用香精,还具有较好的抑菌性,但是其水溶性差、易挥发和氧化,不方便利用[6-7]。本研究室Yue等利用香叶醇改性壳寡糖,不仅提高了壳寡糖抗菌性,也便于精油的使用。为了保留壳寡糖的活性氨基,将香叶醇引入壳寡糖的羟基。结果表明,香叶醇接枝产物与壳寡糖相比,对大肠杆菌和金黄色葡萄球菌的抗菌性更突出[8],但反应步骤复杂,需经氨基保护、取代反应和脱保护等步骤,最终导致产率较低。因此,本研究直接将香叶醇引入壳寡糖,提高衍生物产率,为高效抗菌剂的大批量生产提供可能[9]。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

香叶醇(Ger):纯度≥98%,购自阿拉丁试剂(上海)有限公司;壳寡糖:相对分子质量1 500,脱乙酰度≥95%,购自浙江金壳生物化学有限公司;其他化学试剂均为分析纯,购自国药集团化学试剂有限公司;细菌选取大肠杆菌(ATCC 25922)和金黄色葡萄球菌(ATCC 29273):江南大学食品学院安全与检测实验室提供。

UV-100紫外-可见分光光度计:购自上海天美科学仪器有限公司;傅立叶红外光谱仪IS10:购自美国Nicolet公司;全数字化核磁共振波谱仪Avance Ⅲ 400 MHZ:购自德国布鲁克公司;元素分析仪Vario micro cube:购自德国艾力蒙塔公司;X-衍射波谱仪D2 PHASER:购自德国布鲁克公司;热重分析仪:购自梅特勒-托利多仪器有限公司。

1.2 合成与纯化

参考Yue等的方法并进行改进[8-10],本研究主要通过香叶醇溴化和取代反应两步操作合成产物,反应流程见图1。

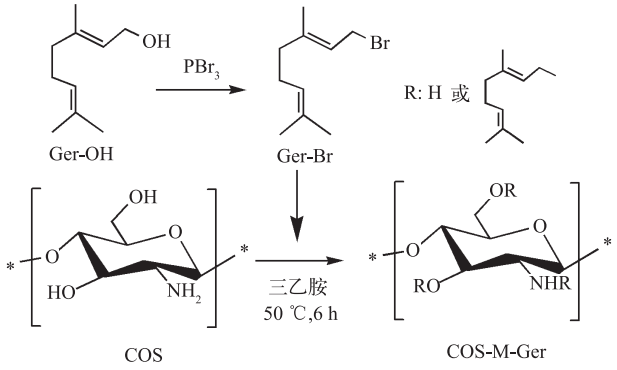


图1 壳寡糖-M-香叶醇合成流程

Fig. 1 Synthesis diagram of COS-M-Ger

1.2.1 香叶醇溴化 参考Yue等的方法[8-10]:1 mol香叶醇溶解在30 mL无水乙醚,加一定量吡啶作催化剂,搅拌得到澄清溶液;冰浴搅拌,15 min内将0.4 mol三溴化磷乙醚混合液滴入反应溶液;反应结束后,反应体系冷却至30 ℃以下,加水分层;上层有机层分别用水、质量分数10%的碳酸氢钠溶液、饱和氯化钠溶液洗涤;有机层用无水硫酸钠干燥过夜;旋转蒸发获得黄色糖浆状产物。

1.2.2 壳寡糖-M-香叶醇制备及纯化 分别制备壳寡糖溶液和香叶醇溴化物溶液:0.005 6 mol壳寡糖溶解在30 mL的二甲基亚砜(DMSO)中,并滴加1~3 mol三乙胺,搅拌至溶液澄清透明;与壳寡糖摩尔比为1:1、2:1和3:1的香叶基溴分别溶解在20 mL *N*,*N*-二甲基甲酰胺(DMF)中,在不断搅拌下,分别逐滴加入壳寡糖溶液中,50 ℃反应6 h[9]。反应溶液冷却至常温,倒入丙酮溶液,离心收集沉淀。45 ℃真空干燥,产物用石油醚索氏抽提12 h;水溶液透析24 h,真空冷冻干燥得到3个不同取代度的产物COS-M-Ger1、COS-M-Ger2、COS-M-Ger3。

1.3 结构表征

1.3.1 紫外可见光谱 将COS-M-Ger1、COS-M-Ger2、COS-M-Ger3和COS分别配制成质量浓度为

1 g/L 的母液,用去离子水稀释 10 倍;Ger 以乙醇为溶剂制成质量浓度 2 g/L 的母液,再用乙醇稀释100倍;用紫外可见分光光度计在 190~600 nm 扫描。

1.3.2 红外光谱 采用溴化钾压片法,将 COS、COS-M-Ger1、COS-M-Ger2 和 COS-M-Ger3 分别充分研磨至粘壁;用压片模具制成均匀透亮的薄片;Ger、香叶醇溴化物用液膜法,将其滴于溴化钾薄片上,用傅立叶红外光谱仪于 400~4 000 cm^{-1} 测定红外光谱。

1.3.3 核磁氢谱 COS、COS-M-Ger1 和 Ger 分别以 D_2O 和$CDCl_3$ 为溶剂,TMS 为内标,用核磁共振波谱仪测定物质的核磁氢谱;测试条件:25 ℃。

1.3.4 元素分析 以磺胺嘧啶为标准,用元素分析仪测定 COS 、COS-M-Ger1、COS-M-Ger2 和 COS-M-Ger3 中有机碳、氮元素的质量分数;COS 乙酰度(DA)和产物取代度(DS)分别按公式(1)、(2)计算:

$$DA=R_{C/N}\times M_N/2M_C-3 \quad (1)$$

$$DS=(M_N/M_C\times R'_{C/N}-6-2DA)/10 \quad (2)$$

式中:$R_{C/N}$ 为壳寡糖中碳、氮质量分数比,M_N 和 M_C 分别为氮和碳的相对原子质量,$R'_{C/N}$ 为衍生物中碳、氮质量分数比。

1.4 产物性质测定

1.4.1 溶解性测定 产物的溶解性测定参考 Khan 等的方法[11]:25 mg 样品溶解在浓度 1 mol/L 盐酸溶液中,用浓度 1 mol/L 的 NaOH 溶液调节 pH,用紫外可见分光光度计测定产物在 pH 1~10 的吸光值,制作溶解曲线;并且测定产物在乙醇、丙酮、乙醚、乙酸、DMF、DMSO 等有机溶剂中的溶解性。

1.4.2 结晶度测定 COS、COS-M-Ger1、COS-M-Ger2 和 COS-M-Ger3 的 X-衍射图谱用 X-衍射波谱仪测定。条件:扫描范围:5~60°;温度:25 ℃。

1.4.3 热稳定性测定 通过热分析仪测定 COS、COS-M-Ger1、COS-M-Ger2 和 COS-M-Ger3 的热失重曲线;测试条件:加热温度范围 30~450 ℃;N_2 流量:20 mL/min;升温速率:20 ℃/min。

1.4.4 抑菌性质研究 菌种活化:参考袁晓娴等的方法[12],挑取单菌落于 LB 液体培养基活化 12 h,再于 LB 固体平板上培养;挑取单菌落,在液体培养基中培养至对数期,将菌液稀释到 10^5 CFU/mL,用于后续实验。

抑菌和观察:用试管分别配制 5 mL 质量浓度为 1 g/L 的 COS(编号为 d)、Ger(编号为 e)、壳寡糖衍生物 (COS-M-Ger1、COS-M-Ger2 和 COS-M-Ger3,编号分别为 f、g、h)、苯甲酸钠(Ben,编号为 b)、山梨酸钾(Sor,编号为 c)LB 液体培养基;取 5 μL 菌液加入各个试管中,无添加抗菌物质的 LB 培养基为空白对照(Blank,编号为 a)。37 ℃摇床培养 3 h 后,取 100 μL 培养液与 20~25 mL 的 LB 琼脂培养基混匀,冷却后于 37 ℃培养箱培养 24 h,拍照观察。

抑菌圈测试:通过平板扩散法研究衍生物对大肠杆菌和金黄色葡萄球菌的敏感性。取 100 μL 10^5 CFU/mL 的菌悬液与 20~25 mL 固体培养基混合均匀,冷却至凝固。用 9 mm 的打孔器打孔,并在孔中加入 200 μL 1~8 g/L 的抗菌溶液,4 ℃冰箱预扩散 2 h。在 37 ℃培养箱培养 24 h,测定抑菌圈直径,每个孔径测试 3 次。

2 结果与讨论

2.1 UV-Vis 光谱

原料 COS,Ger 和接枝产物 COS-M-Ger1、COS-M-Ger2 和 COS-M-Ger3 的紫外可见光谱图见图 2。COS 在 280 nm 处有个宽大的紫外吸收峰,由壳寡糖残留乙酰基中 C=O 的 n→π* 引起;而 Ger 在 215、241 nm 处有两个吸收峰,两者分别由香叶醇中非共轭烯烃的 n→π* 和羟基的 n→σ* 引起。COS-M-Ger 衍生物在 197 nm 处出现一个吸收峰,是由香叶醇中非共轭烯烃的 n→π* 跃迁引起,与香叶醇中的跃迁相比发生蓝移,原因是:溶剂对吸收峰有影响——水的极性比乙醇的极性大,烯烃中 n 电子与水形成氢键,基态 n 轨道能量降低幅度大,导致 n→π* 跃迁需要更大能量,吸收带蓝移至 197 nm。由图 2 可知香叶醇修饰的壳寡糖成功制备。

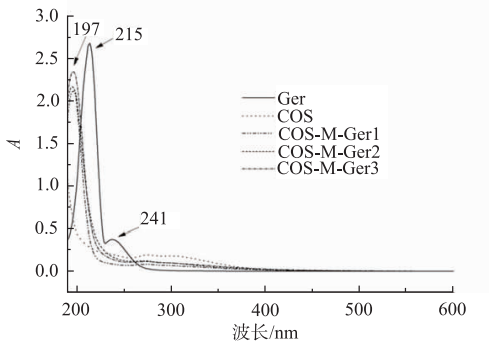


图 2 COS、Ger、COS-M-Ger1、COS-M-Ger2 和 COS-M-Ger3 的紫外可见光谱图

Fig. 2 UV-Vis spectra of COS, Ger, COS-M-Ger1, COS-M-Ger2 and COS-M-Ger3

2.2 红外光谱

图 3 为香叶醇和香叶醇溴化物的红外光谱图，3 300 cm^{-1}左右为羟基的伸缩振动吸收峰，1 670 cm^{-1}处为碳碳双键的伸缩振动峰。Ger-Br 红外谱图与 Ger 相比，3 300 cm^{-1} 左右羟基的吸收峰消失，并且在 1 200 cm^{-1} 和 580 cm^{-1} 分别出现 C-Br 的弯曲振动和伸缩振动。

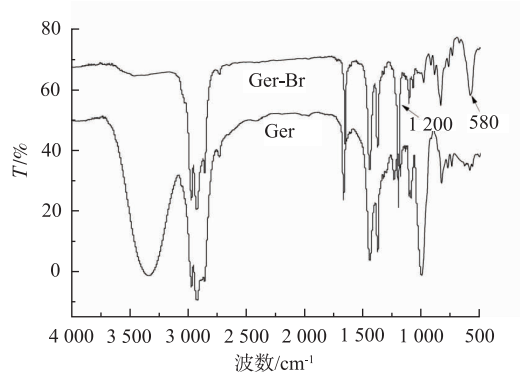
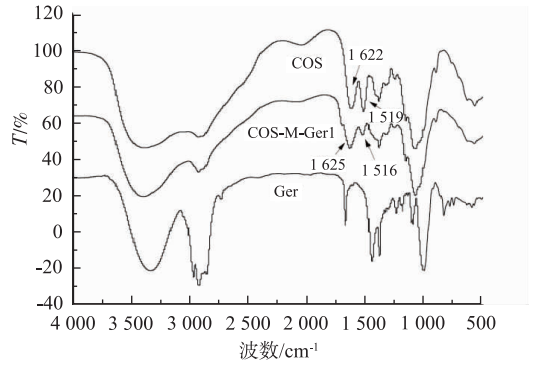


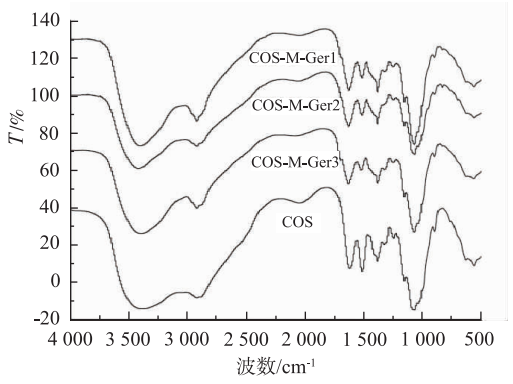
图 3 香叶醇和香叶醇溴化物的红外光谱图

Fig. 3 FT-IR spectra of Ger and Ger-Br

产物和原料的红外吸收图如图 4 所示。与壳寡糖相比，产物在1 516 cm^{-1} 左右的氨基伸缩振动明显减少，壳寡糖中 C=O 的伸缩振动移动至1 625 cm^{-1}，并且吸收峰变宽，主要是因为：香叶醇引入壳寡糖后，Ger 中 C=C 的伸缩振动和 COS 中 C=O 的伸缩振动重合。红外结果表明：香叶醇引入壳寡糖。3 个不同取代度的产物 COS-M-Ger1、COS-M-Ger2 和 COS-M-Ger3 的红外谱图如图 4(b)所示，与之前分析的变化规律吻合。



(a) COS、Ger、COS-M-Ger1的红外光谱图



(b) COS、COS-M-Ger1、COS-M-Ger2和COS-M-Ger3的红外光谱图

图 4 原料及衍生物的红外光谱图

Fig. 4 FT-IR spectra of materials and derivatives

2.3 核磁氢谱

COS、Ger 和 COS-M-Ger1 的 ^{1}H-NMR 图如图 5 所示。香叶醇的各个化学位移值归属如下：δ 1.61、1.68 为 CH_3 上的 H 吸收峰；δ 1.95~2.23 为—CH_2—上 H 的化学位移；δ 4.144 为与—OH 相连的—CH_2—上 H 的化学位移；δ 4.49 为羟基上 H 的化学位移；δ 5.09、5.31 分别—C=C—H 的化学位移。COS 的核磁化学位移值归属：δ 2.07 和 δ 3.08~3.15 分别归属于 *N*-乙酰葡萄糖胺 CH_3 和 NH—的 H 的化学位移；δ 3.32~4.09 为糖环上—CH—的化学位移；产物 COS-M-Ger 除了具有壳寡糖中 H 的化学位移值，在 δ 为 5.15、5.28 处出现了香叶醇—C=C—H 的化学位移值；δ 2.149、2.071 为香叶醇—C=C—H 的化学位移值；δ 1.731、1.696、1.624 为香叶醇 CH3 的化学位移值；结果表明：香叶醇接入壳寡糖。

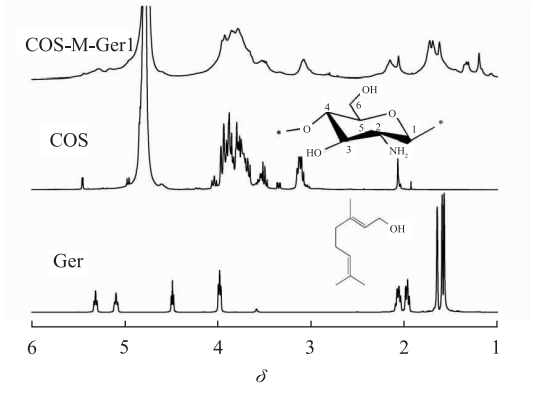


图 5 COS、Ger 和 COS-M-Ger1 的核磁氢谱

Fig. 5 ^{1}H-NMR spectra of COS, Ger and COS-M-Ger1

2.4 元素分析

元素分析结果如表 1 所示。计算得到 COS 的脱乙酰度为 97%；3 个产物的取代度分别为 0.260，0.278 和 0.283。由结果可知原料比对产物取代度影响不大。产物的得率为 61%~78%，与之前研究的得率 11.39%~15.27%相比[8]，提高了 4~7 倍。

表 1 COS、COS-M-Ger1、COS-M-Ger2 和 COS-M-Ger3 的取代度

Table 1 Degree of substitution of COS, COS-M-Ger1, COS-M-Ger2 and COS-M-Ger3

样品	质量/mg	元素分析(质量分数)				得率/%	取代度
		N/%	C/%	H/%	C/N		
COS	4.184	6.65	34.53	6.589	5.19248	–	–
COS-M-Ger1	4.052	5.04	37.44	6.781	7.43091	61	0.260
COS-M-Ger2	4.494	5.30	40.20	7.156	7.58630	67	0.278
COS-M-Ger3	4.493	4.75	36.22	6.539	7.62670	78	0.283

2.5 溶解性测定

各物质在有机溶剂中的溶解性如表 2 所示,衍生物在 DMF 和 DMSO 中完全溶解,在乙醇和乙酸中均微溶,与 COS 相比,产物在有机溶剂中的溶解性均稍有提高。

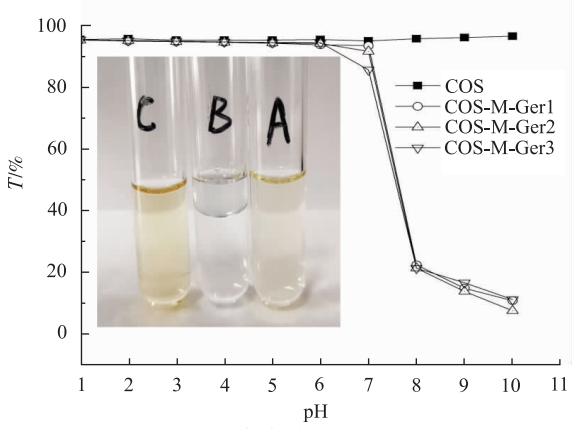
衍生物在 pH 为 1~10 的溶解性如图 6 中折线图所示。COS 在溶液中的溶解性不随 pH 变化而变化,而衍生物COS-M-Ger1、COS-M-Ger2 和 COS-M-Ger3 在酸性和中性条件下溶解性都很好,在碱性条件下溶解度迅速下降。由图 6 可观察到:COS-M-Ger1(C)和 COS(A)的水溶液澄清透明,Ger(B)在水中完全分层,说明:衍生物比香叶醇溶解性高,比壳寡糖的溶解性稍差。证明:疏水基团的引入降低了产物在碱性条件下的溶解性。

表 2 COS、Ger、COS-M-Ger1、COS-M-Ger2 和 COS-M-Ger3 在有机溶剂中的溶解性

Table 2 Solubility of COS, Ger, COS-M-Ger1, COS-M-Ger2 and COS-M-Ger3 in organic solvents

样品	溶剂					
	乙醇	丙酮	乙醚	乙酸	DMSO	DMF
COS	–	–	–	±	+	±
Ger	+	+	+	+	+	+
COS-M-Ger1	±	–	–	±	+	+
COS-M-Ger2	±	–	–	±	+	+
COS-M-Ger3	±	–	–	±	+	+

注:“+”表示溶;“±”表示微溶;“–”表示不溶。



折线下方的图片中为壳寡糖(A),香叶醇(B)COS-M-Ger1(C)在水中溶解后的状态。

图 6 COS、COS-M-Ger1、COS-M-Ger2 和 COS-M-Ger3 不同 pH 下的溶解性

Fig. 6 Effect of pH on solubility of COS, COS-M-Ger1, COS-M-Ger2 and COS-M-Ger3

2.6 结晶度

XRD 是测定物质结晶度的有效手段,图 7 为 COS、COS-M-Ger1、COS-M-Ger2 和 COS-M-Ger3 的 X-射线衍射图。壳寡糖在 2θ 为 13°和 23°处有两个衍射峰,分别是壳寡糖Ⅰ型和Ⅱ型结晶的特征峰。与壳寡糖相比,香叶醇接枝物在 2θ 为 13°处的吸收峰无明显变化,2θ 为 23°处的吸收峰微移至 2θ 为 22°处,且吸收强度稍有增强,说明香叶醇引入壳寡糖后使壳寡糖的内部结构更加有序,导致结晶性略微增加。

2.7 热稳定性

通过热重分析研究物质的热稳定性,图 8(a)为质量随温度变化曲线。可以发现所有物质均有两个热失重阶段,COS 第一失重阶段是 45~150 ℃,质量损失率为 7.5%;第二失重阶段为 200~350 ℃,质量损失率为 53.5%;衍生物 COS-M-Ger 的第一失重阶段为 45~120 ℃,质量损失率为 8.2%,第二失重阶段为 170~280 ℃质量损失率为 49.8%;第一失重阶段的质量损失是因为物质吸附和结合的水分,第二失

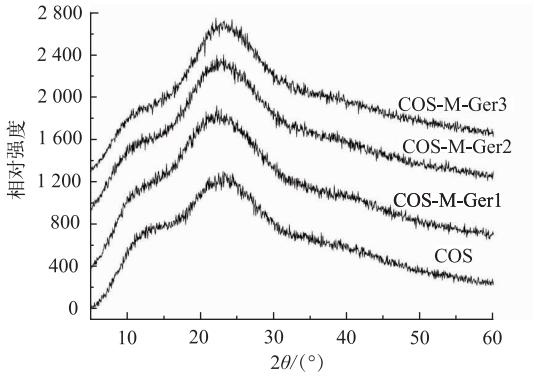
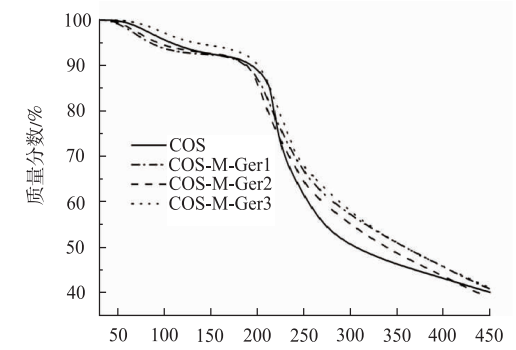


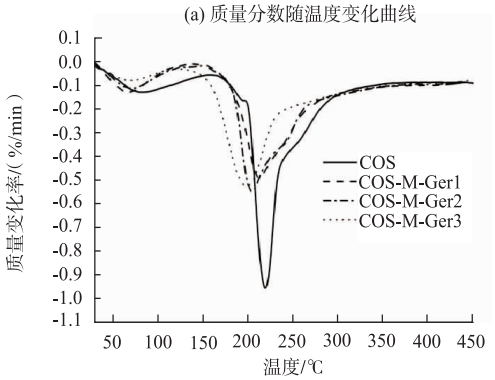
图 7　COS、COS-M-Ger1、COS-M-Ger2 和 COS-M-Ger3 的 X 射线衍射图

Fig. 7　XRD of COS, COS-M-Ger1, COS-M-Ger2 and COS-M-Ger3

重阶段的质量损失是由于物质的热分解。图 8(b)为图 8(a)的一阶微分曲线,反映了质量损失率随温度的变化。由图 8(b)分析,壳寡糖在 224 ℃时,失重率达最大值。3 种衍生物在 200 ℃时,失重率达到最大值,从 TGA 和 TG 的结果分析,衍生物的热稳定性稍弱于壳寡糖,可能是香叶醇引入壳寡糖后,破坏了分子内氢键作用,导致热稳定性降低。



(a) 质量分数随温度变化曲线



(b) 质量变化率随温度变化曲线

图 8　COS、COS-M-Ger1、COS-M-Ger2 和 COS-M-Ger3 的热分析图

Fig. 8　Thermogravimetric curve of COS, COS-M-Ger1, COS-M-Ger2 and COS-M-Ger3

2.8　抗菌性分析

无菌水(编号为 a),苯甲酸钠(编号为 b),山梨酸钾(编号为 c),壳寡糖(编号为 d),香叶醇(编号为 e)和 3 种香叶醇接枝壳寡糖衍生物(分别编号为 f、g、h)对大肠杆菌和金黄色葡萄球菌的抑制结果如图 9A、9B 所示:3 种香叶醇接枝壳寡糖衍生物对大肠杆菌的抑制效果优于 COS 和市售抗菌剂,较低取代度的衍生物抑菌效果稍弱于香叶醇;香叶醇枝接物对金黄色葡萄球菌的抑制作用显著优于 COS 和市售抗菌剂,与香叶醇抑菌效果几乎一样。抑菌实验表明香叶醇接入壳寡糖,明显增强了产物的抗菌性,因为 Ger 自身对细菌的抑菌效果比 COS 显著。

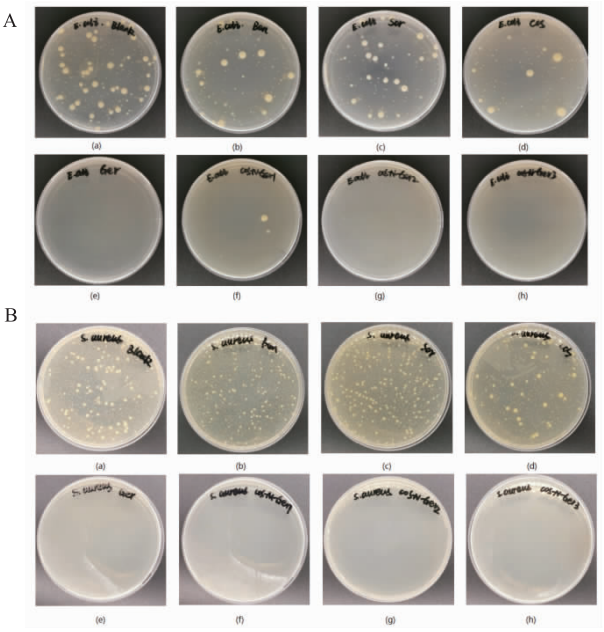


图 9　样品对大肠杆菌和金黄色葡萄球菌的抑制作用

Fig. 9　Inhibitory effect of products on *E. coli* and *S. aureus*

衍生物对大肠杆菌和金黄色葡萄球菌的抑菌圈直径如表 3 所示:随衍生物取代度增加,抑菌圈直径增大;同一质量浓度下,衍生物对金黄色葡萄球菌的抑菌圈直径比大肠杆菌的大。可见,衍生物对两种细菌的抑菌活性随着取代度的增加而增加,且对金黄色葡萄球菌的抑菌活性好于大肠杆菌。

3　结　语

本研究通过将香叶醇溴化和取代,制备了高产率的抗菌物质。采用 UV-Vis、FT-IR 和 ^{1}H-NMR 等表征手段证明:产物成功合成。元素分析得到 3 个产物(COS-M-Ger1、COS-M-Ger2 和 COS-M-Ger3)

表 3 不同衍生物对 *E. coli* 和 *S. aureus* 抑菌圈直径

Table 3 Inhibitory zone diameter of derivatives with different concentrations

单位:mm

样品	*S. aureus*				*E. coli*	
	8 g/L	4 g/L	2 g/L	1 g/L	8 g/L	4 g/L
COS-M-Ger1	13.0±0.2	11.1±0.2	9.5±0.2	9	10.1±0.2	9
COS-M-Ger2	13.5±0.2	12.0±0.2	11.0±0.2	10.0±0.2	10.6±0.2	9
COS-M-Ger3	14.0±0.1	12.4±0.1	11.1±0.2	10.6±0.2	11.0±0.2	9

注:孔径 9 mm。

的取代度分别为:0.260、0.278、0.283。溶解性分析表明:与香叶醇相比,产物在水溶液中的溶解性更高。结晶度和热稳定分析表明:衍生物的结晶性稍好于壳寡糖,但是热稳定性变差。抗菌实验表明:COS-M-Ger1、COS-M-Ger2 和 COS-M-Ger3 对大肠杆菌和金黄色葡萄球菌均有较好的抑菌效果。抗菌性壳寡糖的合成为新型抗菌剂的工业化生产提供可能。

参考文献:

[1] 王博远,刘杨,肖革新,等. 基于“健康中山区域平台”的食源性疾病信息监测挖掘体系设计研究[J]. 食品安全质量检测学报,2019,10(20):7064-7070.

[2] 吴佳慧,刘鹏宇. 氨基糖苷类抗生素的发展历程[J]. 中国抗生素杂志,2019,44(11):1275-1282.

[3] 琚洋洋. 壳寡糖的制备、分离纯化及生物活性研究[D]. 泉州:华侨大学,2016.

[4] 原佳琪,梁爽,孙雅煊,等. 壳寡糖的制备及生物学活性研究进展[J]. 生命的化学,2019,39(4):759-765.

[5] 郑晓杰,何跃,周环,等. 壳寡糖-乳酸链球菌素复合物的制备、表征及其抑菌活性研究[J]. 中国食品学报,2019,19(11):108-115.

[6] 程东伟. 香叶醇糖苷的化学合成、热降解机理及在烟草中应用研究[D]. 湛江:广东海洋大学,2016.

[7] 刘华臣,董爱君,陈义坤,等. 香叶酯类香料的合成及抑菌活性研究[J]. 食品工业,2017,38(10):143-146.

[8] YUE L,LI J,CHEN W,et al. Geraniol grafted chitosan oligosaccharide as a potential antibacterial agent[J]. **Carbohydrate Polymers**,2017,176:356-364.

[9] 孙丹. 香叶醇和肉桂醇改性壳寡糖的制备、性质及抑菌机制研究[D]. 无锡:江南大学,2020.

[10] YUE L,SUN D,KHAN I M,et al. Cinnamyl alcohol modified chitosan oligosaccharide for enhancing antimicrobial activity[J]. **Food Chemistry**,2020,309:125513.

[11] KHAN I,ULLAH S,OH D H. Chitosan grafted monomethyl fumaric acid as a potential food preservative[J]. **Carbohydrate Polymers**,2016,152:87-96.

[12] 袁晓娴,乐琳,姜启兴,等. 2,4-二氯苯氧乙酸壳寡糖酯的制备及抗菌活性研究[J]. 食品与机械,2019,35(6):74-78.