

SephadexLH-20 纯化红松球鳞片多酚及其体外抗氧化研究

李波^{1,2}, 包怡红¹, 高锋³, 王振宇^{1,*}

(1.东北林业大学林学院, 黑龙江哈尔滨 150040;

2.黑龙江省农业科学院科研处, 黑龙江哈尔滨 150086;

3.黑龙江省农业科学院, 黑龙江哈尔滨 150086)

摘要:为了得到高纯度红松球鳞片多酚样品和初步评价其抗氧化活性,采用葡萄糖凝胶 LH-20 对红松球鳞片多酚的初级纯化物进行二次精制,得到了纯度为 95.86% 的多酚样品。该多酚样品对 DPPH 自由基、ABTS 自由基和羟自由基具有良好的清除作用, IC_{50} 分别为 20.48、86.59 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 和 0.45 mg/mL ; 对铁离子 (Fe^{3+}) 和铜离子 (Cu^{2+}) 具有很强的还原能力, 其还原铁离子 (Fe^{3+}) 能力与 V_c 相近, 还原铜离子 (Cu^{2+}) 能力略低于 V_c ; 对亚铁离子具有一定的螯合作用, 其 IC_{50} 为 2.14 mg/mL ; 对卵黄脂质过氧化具有明显的抑制作用, 其 IC_{50} 为 0.33 mg/mL 。

关键词:红松球鳞片, 多酚, 葡萄糖凝胶 LH-20, 体外抗氧化

Purification of polyphenols from Korean pine cone lamella by SephadexLH-20 and their antioxidative activities *in vitro*

LI Bo^{1,2}, BAO Yi-hong¹, GAO Feng³, WANG Zhen-yu^{1,*}

(1.College of Forestry, Northeast Forestry University, Harbin 150040, China;

2.Department of Scientific Research Management, Heilongjiang Academy of Agricultural Sciences, Harbin 150086, China;

3.Heilongjiang Academy of Agricultural Sciences, Harbin 150086, China)

Abstract: A polyphenols-rich extract from Korean pine cone lamella after the preliminary purification was further purified by Sephadex LH-20 gel chromatography, and high purified polyphenol (HPP) which purity reached 95.86% was obtained. In order to estimate the capacity of HPP to act as antioxidants, its DPPH radical, ABTS radical, hydroxyl radical scavenging activity, ferric ions (Fe^{3+}) and cupric ions (Cu^{2+}) reducing ability, ferrous ions (Fe^{2+}) chelating activity, yolk peroxidation inhibiting effect were studied. HPP was found to exhibit remarkable scavenging activity on DPPH (IC_{50} 20.48 $\mu\text{g}/\text{mL}$), ABTS (IC_{50} 86.59 $\mu\text{g}/\text{mL}$), $\text{OH}\cdot$ (IC_{50} 0.45 mg/mL), as well as a high and dose-dependent Fe^{3+} , Cu^{2+} reducing power. Moreover, it possessed good chelating activity (IC_{50} 2.14 mg/mL) and yolk peroxidation inhibiting effect (IC_{50} 0.33 mg/mL).

Key words: Korean pine cone lamella; polyphenols; Sephadex LH-20; antioxidative effect *in vitro*

中图分类号: TS201.1

文献标识码: B

文章编号: 1002-0306(2014)07-0057-05

随着自由基生物学与自由基医学研究的迅速发展, 现已证明自由基和人类多种疾病均有着密切关系。因此, 从天然植物中寻找新的清除体内自由基的抗氧化剂日益成为研究热点。多酚类物质作为植物抗氧化的主要活性成分之一, 由于其来源广泛、抗氧化活性强和安全性高等特点, 一直备受关注。

近年来研究发现松科植物体内含有大量多酚类物质, 该类物质具有很强的抗氧化活性。苏晓雨等^[1]从红松种皮中提取的多酚对羟自由基、超氧自由基、

DPPH 自由基都有很好的清除作用, Liazid 等^[2]从松树种子中提取的多酚能阻止脂质过氧化, Jeong 等^[3]从松针中提取的多酚能抑制 DNA 的氧化损伤。

我国红松资源丰富, 但对其多酚类物质的研究还很少。红松球鳞片作为松子的副产物, 常常被废弃, 因此有必要综合开发利用该资源。本文在利用 AB-8 大孔树脂纯化红松球鳞片多酚的基础上^[4], 选择 Sephadex LH-20 对其进一步纯化, 以期得到高纯度多酚类物质, 并对其体外抗氧化活性进行测定, 为进一步揭示红松球鳞片多酚生物活性提供参考。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

红松球鳞片多酚的初级纯化物: 红松球鳞片粉末经乙醇提取和 AB-8 树脂纯化后的冻干粉, 纯

收稿日期: 2013-09-09 * 通讯联系人

作者简介: 李波 (1980-), 男, 在读博士, 助理, 研究方向: 植物活性成分的分离与开发。

基金项目: 国家自然科学基金 (31170510)。

度 35.07% ; Sephadex LH-20 Pharmacia 公司; DPPH (2,2-Di(4-tert-octylphenyl)-1-picrylhydrazyl)、ABTS(2,2'-Azino-bis-(3-ethyl benzothiazoline-6-sulfonic acid)、BHT(2,6-Di-tert-butyl-4-methylphenol) Sigma 公司; V_c 天津市天力化学试剂有限公司; EDTA- Na_2 (乙二胺四乙酸二钠) 天津市科密欧化学试剂开发中心; 新铜试剂 天津市光复精细化工研究所; 其他试剂均为国产分析纯。

DK-8D 型电热恒温水槽 上海一恒科学仪器有限公司; SHB-III G 循环式多用真空泵 郑州长城科工贸有限公司; RE-5205 旋转蒸发器 上海亚荣生化仪器厂; FA2004 型电子天平 上海天平仪器厂; 722 型可见分光光度计 上海光谱仪器有限公司; FD-1E-50 冷冻干燥机 北京博医康实验仪器有限公司; TU-1810 紫外可见分光光度计 北京普析通用仪器有限责任公司; BSZ-160F 电脑自动部份收集器 上海精科实业有限公司。

1.2 实验方法

1.2.1 多酚含量(浓度)的测定 以没食子酸为标准品,配置成不同浓度的标准品溶液,各吸取 1mL 试液于 25mL 容量瓶中,分别加入福林酚试剂 2mL,充分振荡后静置 3~4min,加入 10% 碳酸钠溶液 10mL,蒸馏水定容,50℃ 水浴 1h,测定 765nm 处的吸光值^[5]。测得标准曲线方程为: $A = 3.7955C + 0.02$, 其中 A 表示吸光值, C 表示没食子酸浓度(mg/mL)。按照式(1)计算多酚含量:

$$\text{多酚含量(mg/mL)} = N \times (A' - 0.02) / 3.7955 \quad \text{式(1)}$$

式中, N 为稀释倍数, A' 为 1mL 稀释液的吸光值。

1.2.2 多酚纯度的测定 称取一定质量的冻干粉并复溶,按照公式(1)测得多酚浓度,按照式(2)计算多酚纯度:

$$\text{多酚纯度(\%)} = V \times (A'' - 0.02) \times 100 / (3.7955m) \quad \text{式(2)}$$

式中, V 为冻干样品复溶后溶液的体积(mL), A'' 为冻干样品复溶后 1mL 溶液的吸光值, m 为冻干样品的质量(mg)。

1.2.3 Sephadex LH-20 纯化方法 取 20g Sephadex LH-20 凝胶经溶胀预处理后,采用逐步沉降法装柱,最后柱体积为 72mL,其中柱长 36cm,柱直径 1.6cm。取 3mL 浓度为 50mg/mL 的多酚样品溶液上样,待样品液全部入柱后,用 50% 乙醇洗脱 3 倍柱体积,洗脱液流出速度 0.8mL/min,每 5min 收集 1 管,共收集 54 管。对每管收集液进行紫外扫描,波长范围 200~400nm,将具有相同或相似峰型的收集液合并,得到不同的组分,冻干后测定各组分纯度,选取高纯度的多酚组分(High purity polyphenols, HPP)进行体外抗氧化实验。

1.2.4 HPP 清除 DPPH 自由基能力测定 参考 Liu 等^[6]的方法。量取不同浓度的 HPP 样液(10~100 μ g/mL) 1mL 于试管中,加入 3mL 浓度为 0.1mmol/L 的 DPPH 乙醇溶液,立即混匀,室温下避光

放置 30min,517nm 波长处测定吸光值 A_1 ; 无水乙醇代替 HPP 样液,测定吸光值 A_0 ; 无水乙醇代替 DPPH 乙醇溶液,测定吸光值 A_2 。按照式(3)计算清除率。

$$\text{清除率(\%)} = [1 - (A_1 - A_2) / A_0] \times 100 \quad \text{式(3)}$$

1.2.5 HPP 清除 ABTS 自由基能力测定 参考 Marino 等^[7]的方法。称取一定量的 ABTS 和过硫酸钾,分别配成浓度为 7.4mmol/L 和 2.6mmol/L 的溶液,按体积比 1:1 混合,室温避光静置 12h,制得 ABTS 自由基储备液,于 4℃ 条件下保存,临用前稀释至一定浓度作为工作液,使其在 734nm 波长处的吸光值为 0.700 ± 0.020 。准确量取不同浓度的 HPP 样液(20~200 μ g/mL) 0.1mL,加入 ABTS 自由基工作液 2.9mL,室温下避光反应 6min 后,测定 734nm 波长处的吸光值 A_1 ; 蒸馏水代替 HPP 样液,测定吸光值 A_0 ; 蒸馏水代替 ABTS 自由基工作液,测定吸光值 A_2 。按照式(3)计算清除率。

1.2.6 HPP 清除羟自由基能力测定 参考李姣等^[8]的方法。向离心管中依次加入 6mmol/L 的硫酸亚铁溶液 1mL 和 6mmol/L 的过氧化氢溶液 1mL,混匀后加入不同浓度的 HPP 样液(0.1~1mg/mL) 1mL,静置 10min 后,加入 6mmol/L 的水杨酸溶液 1mL,振荡均匀后于 37℃ 水浴 30min,然后 5000r/min 离心 10min,取上清液于 510nm 波长处测定吸光值 A_1 ; 蒸馏水代替 HPP 样液,测定吸光值 A_0 ; 蒸馏水代替水杨酸,测定吸光值 A_2 。按照式(3)计算清除率。

1.2.7 HPP 还原铁离子能力测定 采用铁氰化钾还原法^[9]。量取不同浓度的 HPP 样液(30~300 μ g/mL) 0.5mL 于离心管中,分别加入 pH 为 6.6 0.2mol/L 的磷酸盐缓冲液(PBS) 1.25mL、1% 的铁氰化钾溶液 1.25mL,混匀后于 50℃ 水浴 20min,冷却后加入 10% 的三氯化铁溶液 1.25mL,充分振荡后 5000r/min 离心 10min。取离心后的上清液 1.25mL,依次加入蒸馏水 1.25mL、0.1% 的三氯化铁溶液 0.5mL,混匀后静置 10min,于 700nm 波长处测定其吸光值 A_1 ; 蒸馏水代替 HPP 样液,测定吸光值 A_2 。按照式(4)计算还原力。

$$\text{还原力} = A_1 - A_2 \quad \text{式(4)}$$

1.2.8 HPP 还原铜离子能力测定 参考 Gülçin 等^[10]的方法。准确量取不同浓度的 HPP 样液(50~500 μ g/mL) 0.5mL,依次加入 10mmol/L 硫酸铜溶液 0.1mL、7.5mmol/L 新铜试剂 0.1mL,最后加入蒸馏水至总体积 3mL,室温下反应 30min 后于 450nm 波长处测定吸光值,以吸光值(A_{450nm})表示还原铜离子能力。

1.2.9 HPP 螯合亚铁离子能力测定 参考张博文等^[11]的方法。向离心管中依次加入不同浓度的 HPP 样液(0.3~3mg/mL) 1mL 和 0.05% 的硫酸亚铁溶液 2mL,振荡均匀后于 37℃ 水浴 30min,再加入 0.1% 的邻菲罗啉 0.5mL,混匀后于 37℃ 水浴 10min,然后 5000r/min 离心 10min,取上清液于 510nm 波长处测定吸光值 A_1 ; 蒸馏水代替 HPP 样液,测定吸光值 A_0 ; 蒸馏水代替邻菲罗啉,测定吸光值 A_2 。按照式(3)计算螯合率。

1.2.10 HPP 抑制卵黄脂质过氧化能力测定 参考张尔贤等^[12]的方法。用 0.1mol/L pH7.4 的磷酸盐缓冲液 (PBS) 配制体积分数 4% 的卵黄悬液。量取 0.2mL 卵黄悬液于试管中,加入不同浓度的 HPP 样液 (0.1 ~ 1mg/mL) 1mL 25mmol/L 硫酸亚铁溶液 0.2mL,用 PBS 缓冲液补齐至 2mL,混匀后 37℃ 水浴振荡 15min,取出后加入 1mL 质量分数 10% 的三氯乙酸,7000r/min 离心 10min。取上清液 2mL 并加入 1mL 质量分数 0.8% 硫代巴比妥酸,加塞,沸水浴保持 30min,冷却后于 532nm 波长处测定吸光值 A_1 ,蒸馏水代替 HPP 样液,测定吸光值 A_0 ;蒸馏水代替卵黄悬液,测定吸光值 A_2 。按照式(3)计算抑制率。

2 结果与分析

2.1 Sephadex LH-20 纯化效果分析

对 54 管收集液逐一进行紫外扫描后发现,3~20 管收集液的光谱峰型基本一致,将其合并得到组分 1;21~54 管收集液的光谱峰型基本一致,将其合并得到组分 2。组分 1 和组分 2 的紫外光谱如图 1 所示。由图 1 可知,组分 1 和组分 2 的紫外光谱曲线差异明显,组分 1 的吸收峰在 240nm 和 300nm 附近,组分 2 的吸收峰在 240nm 和 280nm 附近。组分 1 和组分 2 冻干后,按照式(2)计算纯度。结果表明,组分 1 的纯度 30.01%,略低于初级纯化物的纯度,但组分 2 的纯度有了显著的提高,达到了 95.86%。故选择组分 2 (High purity polyphenols, HPP) 进行后续实验。

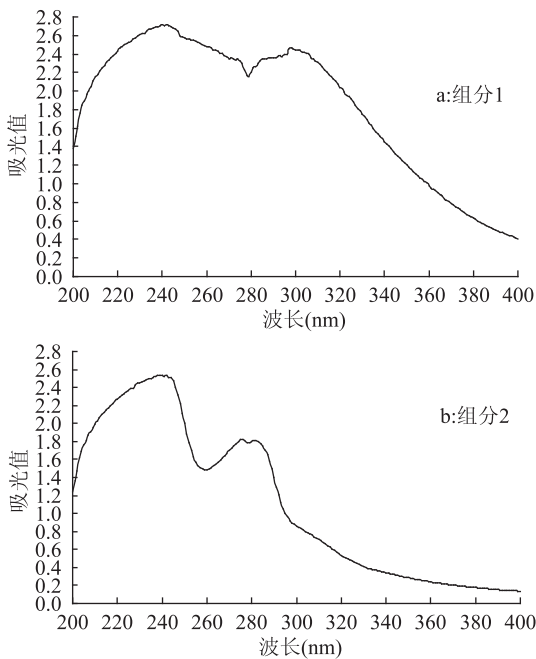


图 1 Sephadex LH-20 分离到的组分 1 和组分 2 的紫外光谱图

Fig.1 UV spectra of part I and part II HPP of Sephadex LH-20

2.2 HPP 对 DPPH 自由基的清除作用

DPPH·是一种稳定的自由基,其乙醇溶液呈紫色,当有供氢能力的抗氧化剂存在时,其单电子被结合而使其颜色减褪,颜色减褪的程度与抗氧化剂清除自由基的能力存在定量关系。图 2 所示的是 HPP

样液及阳性对照 V_C 和 BHT 对 DPPH 自由基清除能力的测定结果。由图 2 可以看出,BHT 对 DPPH 自由基的清除作用很弱,在实验浓度范围内,清除率最高才达到 20.34%;HPP 和 V_C 则对 DPPH 自由基表现出很强的清除作用,随着样液浓度的增加,清除率都明显提高,当 HPP 和 V_C 浓度分别达到 50 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 和 30 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 后,清除率趋于平缓,不在升高。相比而言,HPP ($IC_{50} = 20.48\mu\text{g}/\text{mL}$) 的清除效果要低于 V_C ($IC_{50} = 12.76\mu\text{g}/\text{mL}$)。

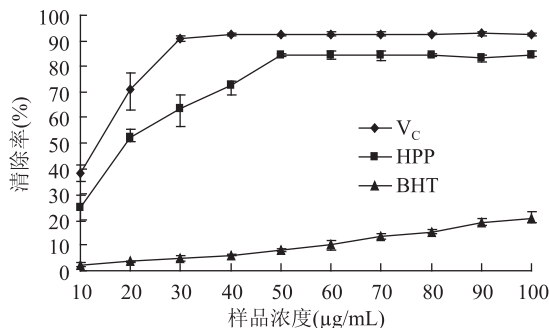


图 2 HPP、 V_C 及 BHT 的清除 DPPH 自由基能力
Fig.2 DPPH radical scavenging activity of HPP, V_C and BHT

2.3 HPP 对 ABTS 自由基的清除作用

ABTS 法最早由 Miller 等人提出,用于测定生物样品的抗氧化能力。目前,该法已广泛应用于蔬菜、水果抗氧化活性的评价和天然抗氧化物质的筛选^[13]。无色的 ABTS 经活性氧化后能够生成稳定的蓝绿色阳离子自由基,即 $ABTS^+ \cdot$,当有供氢能力的抗氧化剂作用时, $ABTS^+ \cdot$ 被还原成无色的 ABTS。图 3 所示的是 HPP、 V_C 和 BHT 对 ABTS 自由基清除能力的测定结果。结果表明,随着浓度的增加,HPP、 V_C 和 BHT 对 ABTS 自由基清除作用增强,呈现很好的量效关系。同等条件下, V_C 的清除效果最好 ($IC_{50} = 66.79\mu\text{g}/\text{mL}$),HPP ($IC_{50} = 86.59\mu\text{g}/\text{mL}$) 次之,BHT ($IC_{50} = 146.11\mu\text{g}/\text{mL}$) 最弱。

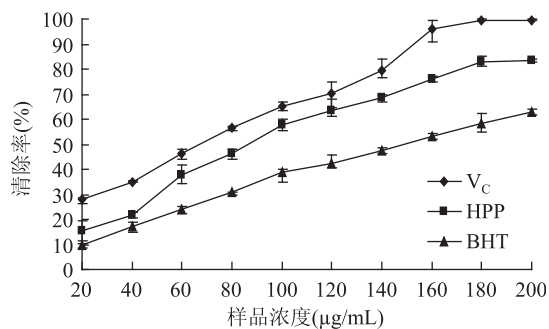


图 3 HPP、 V_C 及 BHT 的清除 ABTS 自由基能力
Fig.3 ABTS radical scavenging activity of HPP, V_C and BHT

2.4 HPP 对羟自由基的清除作用

羟自由基是活性氧中化学性质最活泼的自由基,他几乎能与细胞中任何生物大分子发生反应,且反应速度极快,是对机体危害最大的自由基^[14]。过氧化氢和亚铁离子的混合体系能够启动 fenton 反应,

产生羟自由基,而水杨酸可以捕获体系中的羟自由基并生成有颜色的物质,该物质在 510nm 波长处有最大吸收,当反应体系中加入具有清除羟自由基作用的样品时,该吸光值降低,通过测定反应体系吸光值的变化可以确定样品的清除作用。图 4 所示的是 HPP、V_c 和 BHT 对羟自由基清除能力的测定结果。由图可以看出,在浓度较低时,HPP 对羟自由基的清除效果略微高于 V_c,但当浓度超过 0.3mg/mL 后,V_c 的清除能力明显优于 HPP。总体来看,HPP 对羟自由基的清除能力 (IC₅₀ = 0.45mg/mL) 不如 V_c (IC₅₀ = 0.31mg/mL),但优于 BHT (IC₅₀ = 0.86mg/mL)。

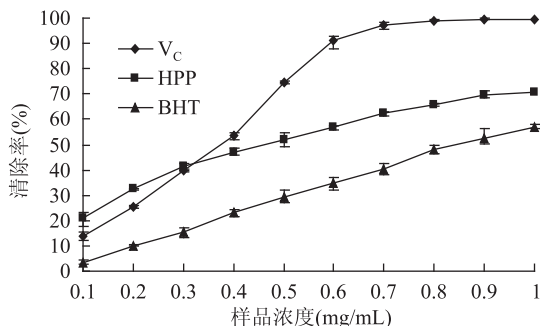


图 4 HPP、V_c 及 BHT 清除羟自由基能力

Fig.4 Hydroxyl radical scavenging activity of HPP, V_c and BHT

2.5 HPP 还原铁离子能力

抗氧化剂能将铁氰化钾还原成亚铁氰化钾,亚铁氰化钾再与三价铁作用,生成普鲁士兰,通过测定普鲁士兰的生成量即可确定样品的还原力。还原力的测定,实质上是检验物质是否为良好的电子供应者的过程。图 5 所示的是 HPP、V_c 和 BHT 还原铁离子能力的测定结果。结果表明,HPP 有较好的还原铁离子能力,吸光值随着浓度的增加而增大,而且与同浓度下 V_c 的还原能力相近,明显高于 BHT。

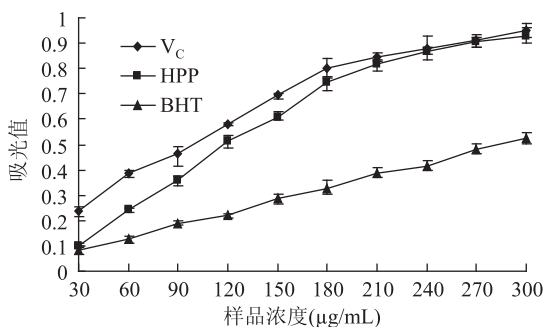


图 5 HPP、V_c 及 BHT 还原铁离子能力

Fig.5 Fe³⁺ reducing ability of HPP, V_c and BHT

2.6 HPP 还原铜离子能力

Cu²⁺ 在有抗氧化剂存在时,被还原成 Cu⁺,后者能与新亚铜试剂生成黄色络合物,该络合物生成的量越多,说明抗氧化剂的还原能力越强。图 6 所示的是 HPP、V_c 和 BHT 还原铜离子能力的测定结果。由图可以看出,在实验浓度范围内,BHT 基本没有还原铜离子的能力,而 HPP 却展现了很好的还原效果,但其还原铜离子的能力还是要弱于 V_c。

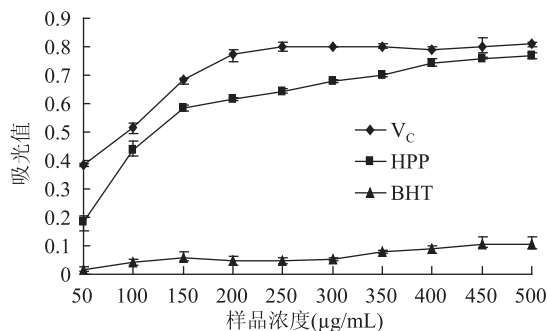


图 6 HPP、V_c 及 BHT 还原铜离子能力

Fig.6 Cupric ion-reducing ability of HPP, V_c and BHT

2.7 HPP 螯合亚铁离子能力

亚铁离子能与邻菲罗啉发生络合反应,生成桔红色络合物,其颜色深浅与反应体系中游离的亚铁离子含量成正相关。因此,反应体系的颜色越浅,说明游离的亚铁离子越少,即样品的螯合能力越强。图 7 所示的是 HPP 样液及阳性对照 EDTA-Na₂ 螯合亚铁离子的测定结果。结果表明,随着浓度的增大,HPP 螯合亚铁离子的能力逐渐增强,展现了很好的量效关系,IC₅₀ = 2.14mg/mL,但其作用效果不及阳性对照 EDTA - Na₂ (IC₅₀ = 0.67mg/mL)。在浓度 1.2mg/mL 时,HPP 的螯合率仅为 24.75%,而 EDTA - Na₂ 的螯合率已达到 94.80%,随着样液浓度的继续加大,HPP 的螯合率由 32.59% 增加到 74.15%,而 EDTA - Na₂ 的螯合率一直在 99% 左右。

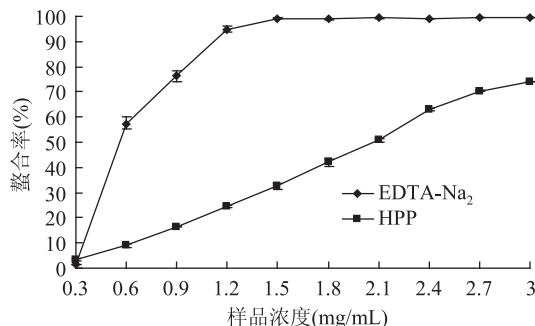


图 7 HPP 和 EDTA-Na₂ 螯合亚铁离子能力

Fig.7 Fe²⁺ chelating activity of HPP and EDTA-Na₂

2.8 HPP 抑制卵黄脂质过氧化的能力

卵黄磷脂 C-2 位上所含极低密度脂蛋白 (VLDL) 和低密度脂蛋白 (LDL) 中的不饱和脂肪酸 (PUFA) 在铁离子催化下,经振荡,能诱发过氧化,产生烷氧基 (LO·) 和烷过氧基 (LOO·),再引发链式反应,加热的条件下,过氧化产物可与硫代巴比妥酸 (TBA) 反应生成红色络合物^[15]。当有抗氧化剂存在时,链式反应被阻断,红色络合物的生成量减少,通过测定其减少程度即可表征样品抑制卵黄脂质过氧化的能力。图 8 所示的是 HPP 样液及阳性对照 V_c 和 BHT 抑制卵黄脂质过氧化能力的测定结果。由图 8 可以看出,HPP 对卵黄脂质过氧化有很好的抑制作用,其作用效果 (IC₅₀ = 0.33mg/mL) 优于 V_c (IC₅₀ =

0.66mg/mL),但却明显不及BHT。BHT在浓度为0.3mg/mL时,抑制率达到了92.99%,此时HPP的抑制率为43.81%。

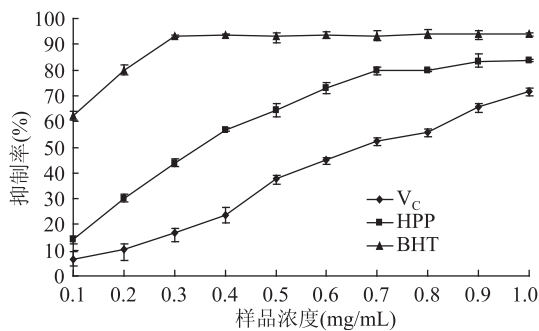


图8 HPP、V_c及BHT抑制卵黄脂质过氧化能力

Fig.8 Inhibiting yolk peroxidation ability of HPP, V_c and BHT

3 结论

采用SephadexLH-20分离纯化红松球鳞片多酚提取物,获得了纯度90%以上的多酚样品。但SephadexLH-20只适合实验室规模的应用。所以仍需要继续探讨红松球鳞片多酚提取物的纯化方法,为实际生产应用提供参考。

HPP对DPPH自由基、ABTS自由基和羟自由基的清除能力都优于BHT,但却弱于V_c。其IC₅₀分别为V_c的1.61倍、1.30倍和1.45倍;HPP还原Fe³⁺和Cu²⁺的能力明显强于BHT,其还原Fe³⁺能力与V_c相似,还原Cu²⁺能力略低于V_c;HPP螯合Fe²⁺的能力不及EDTA-Na₂,其IC₅₀为EDTA-Na₂的3.19倍;HPP抑制卵黄脂质过氧化的能力虽然不及BHT,但却强于V_c,其IC₅₀为V_c的0.5倍。

体外抗氧化实验结果表明,HPP有很好的清除自由基能力和还原能力,能有效的抑制卵黄脂质过氧化,是一种具有开发潜力的天然抗氧化剂。

参考文献

[1] 苏晓雨,王振宇.红松种子壳多酚物质的提取及抗氧化特性[J].农业工程学报,2009,25(Z1):198-203.
[2] Ali Liazid, Monica Schwarz, Rosa M Varel, et al. Evaluation of various extraction techniques for obtaining bioactive extracts from

pine seeds [J]. Food and Bioproducts Processing, 2010, 88: 247-252.

[3] Jin Boo Jeong, Eul Won Seo, Hyung Jin Jeong. Effect of extracts from pine needle against oxidative DNA damage and apoptosis induced by hydroxyl radical via antioxidant activity[J]. Food and Chemical Toxicology, 2009, 47: 2135-2141.

[4] 李波,包怡红,王振宇,等.大孔树脂纯化红松球鳞片多酚及其抗氧化活性研究[J].食品工业科技,2012,33(22): 251-255.

[5] 李文仙,俞丹,林玲,等.Folin-Ciocalteu比色法应用于蔬菜和水果总多酚含量测定的研究[J].营养学报,2011,33(3): 302-307.

[6] Haiying Liu, Nongxue Qiu, Huihuang Ding, et al. Polyphenols contents and antioxidant capacity of 68 Chinese herbals suitable for medical or food uses[J]. Food Research International, 2008, 41(4): 363-370.

[7] Marino B Arnao, Antonio Cano, Manuel Acosta. The hydrophilic and lipophilic contribution to total antioxidant activity [J]. Food Chemistry, 2001, 73: 239-244.

[8] 李姣,王珂,王瑞坡,等.芦笋多糖提取纯化工艺及其体外抗氧化研究[J].食品科学,2011,32(8): 65-69.

[9] 张灿,张海晖,武妍,等.马兰黄酮类化合物的提取及其抗氧化活性[J].农业工程学报,2011,27(14): 307-311.

[10] İlhami Gülçin, Ercan Bursal, M Hilal Şehitoğlu, et al. Polyphenol contents and antioxidant activity of lyophilized aqueous extract of propolis from Erzurum, Turkey [J]. Food and Chemical Toxicology, 2010, 48: 2227-2238.

[11] 张博文,张肃,雷浪伟,等.太空搭载对短双歧杆菌A04体外抗氧化能力的影响[J].食品科学,2007,28(8): 261-266.

[12] 张尔贤,俞丽君,周意琳,等.Fe²⁺诱发脂蛋白PUFA过氧化体系及对若干天然产物抗氧化作用的评价[J].生物化学与生物物理学报,1996,28(2): 218-222.

[13] 陈小璇.野葛活性内生细菌的筛选和研究[D].广州:华南师范大学,2009.

[14] 徐建国,田呈瑞,胡青平.天然桑椹红色素体外清除自由基活性的研究[J].食品科学,2005,26(12): 77-81.

[15] 蔡碧琼,蔡珠玉,张福娣,等.稻壳中黄酮提取物的抗氧化性质研究[J].江西农业大学学报,2010,32(4): 813-818.

因本刊已被《中国知网》(包括“中国知网”优先数字出版库)独家全文收录,所以所付稿酬中已包含该网站及光盘应付的稿酬。