

桦褐孔菌总黄酮体内外抗氧化作用

黄晓冬¹, 蔡建秀^{2*}, 许丽璇³, 赵乙桢²

(1.泉州师范学院 湿地研究所,福建 泉州 362000; 2.泉州师范学院 化学与生命科学学院,福建 泉州 362000;

3.泉州幼儿师范高等专科学校,福建 泉州 362000)

摘要:研究了桦褐孔菌总黄酮(TFIO)的体内外抗氧化功效。采用 DPPH·自由基体系,脂肪氧合酶体系评价 TFIO 的自由基清除能力与脂肪氧合酶活力抑制作用;用分光光度法测定 TFIO 对 H₂O₂ 诱导小鼠氧化溶血的抑制作用;并用丙二醛(MDA)及活性氧(ROS)试剂盒测定 TFIO 体内外作用对小鼠肝组织 MDA 及 ROS 含量的影响。体外实验发现:4.00 mg/mL TFIO 对 DPPH·清除率达 76.77%,对脂肪氧合酶活抑制率达 81.73%,对 H₂O₂ 诱导的小鼠红细胞(RBC)溶血抑制率为 83.33%,对小鼠体外肝匀浆 MDA 生成的抑制率分别为 36.73%(非诱导组)、20.34%(Fe²⁺诱导组)与 48.59%(H₂O₂ 诱导组),并使体外肝匀浆抗活性单位极显著增加至 50.75 U/mL($P<0.01$);体内实验表明:当腹腔注射 0.5、2.0 mg/mL TFIO(0.04 mL/(g·d),11 d)后,小鼠肝组织 MDA 值降低达到极显著水平($P<0.01$),MDA 生成抑制率分别达到 48.52%与 58.52%。可见,TFIO 在体内外均具有较强的抗氧化活性。

关键词:桦褐孔菌;总黄酮(TFIO);自由基;抗氧化活性

中图分类号:R 284 文献标志码:A 文章编号:1673—1689(2012)10—1062—07

Study on Antioxidation Effect in Vitro and in Vivo of Total Flavonoids from *Inonotus obliquus*

HUANG Xiao-dong¹, CAI Jian-xiu^{2*}, XU Li-xuan³, ZHAO Yi-zhen²

(1. Institute of Wetland, Quanzhou Normal College, Quanzhou 362000, China; 2. College of Chemistry and Life Science, Quanzhou Normal University, Quanzhou 362000, China; 3. Quanzhou Preschool Education College, Quanzhou 362000, China)

Abstract: To investigate the antioxidant effects in vitro and in vivo of *Inonotus obliquus* total flavonoids (TFIO), the radical scavenging capacity of TFIO and its inhibiting effect on lipoxidase activity were evaluated by the DPPH· model and the lipoxidase system, respectively. Meanwhile, the inhibitory action on hemolysis of mice RBC (red blood cell) by H₂O₂-induced was detected by spectrophotometry method, the effects in vitro and in vivo of TFIO on the formation of MDA (malondialdehyde) and ROS (reactive oxygen species) in mice liver were detected by the reagent

收稿日期: 2011-12-01

基金项目: 福建省自然科学基金重点项目(2009N0049);福建省教育厅 JA 类项目(JA11352);泉州师范学院学科带头人培养基金项目。

作者简介: 黄晓冬(1973—),男,福建南安人,理学硕士,副教授,主要从事食品生物化学与植物资源学方面的研究。E-mail:hxd602@163.com

* 通信作者: 蔡建秀(1957—),女,福建莆田人,教授,主要从事食品营养学与天然产物有机化学方面的研究。E-mail:jxcqz57@163.com

kits. The results showed that in vitro, 4.00 mg/mL TFIO showed 76.77% scavenging rate on DPPH· radical, 81.73% inhibiting rate on lipoxygenase, 83.33% inhibitory rate on mice RBC hemolysis by H_2O_2 -induced, 36.73% (non -induced), 20.34% (Fe^{2+} -induced) and 48.59% (H_2O_2 -induced) inhibiting rates on MDA formation in mice liver homogenate, respectively, it also significantly increased the anti-ROS unit of mice liver homogenate to 50.75 U/mL ($P<0.01$, vs control group). In vivo, the MDA value reduced significantly ($P<0.01$, vs control group) and inhibiting rates of MDA formation reached 48.52% and 58.52% in mice liver after they were continuously treated by intra-peritoneal injected with 0.5 and 2.0 mg/mL TFIO (0.04 mL/(g·d), 11 d), respectively. Therefore, it can be clearly seen that TFIO have strong antioxidant effect in vitro and in vivo.

Keywords: *Inonotus obliquus*, total flavonoids(TFIO), free radical, antioxidant activity

桦褐孔菌(*Inonotus obliquus* (Pers. Fr.) Aoshi)是生长在俄罗斯、中国吉林长白山以及日本北海道等寒冷地区白桦树上的一种特殊真菌,民间广泛用于防治消化道疾病和肿瘤、心血管疾病和糖尿病等^[1],具有很强药用价值。因此,其化学成分与药理活性^[2]等两大方面的研究引起国内外研究者的关注。其中,其抗氧化活性、自由基清除活性与抗氧化活性成分的研究见文献[3-10],儿茶酚^[4]、多糖^[6]、多酚类^[7-9]等相继被证实为其抗氧化活性成分,而所含的黄酮量也被证明与抗氧化活性大小密切相关^[10]。作者系统地对桦褐孔菌总黄酮(Total flavonoids of *Inonotus obliquus*,以下简称TFIO)的体内外抗氧化活性进行报道,以期桦褐孔菌总黄酮作为抗氧化物质应用于食品、药品、保健品等领域提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 材料

桦褐孔菌菌丝:购于河北省科学院微生物研究所;SPF级健康雄性小鼠:体重(19±1.0)g,由厦门大学动物实验中心提供,许可证号为SCXK-(闽)2008-0001。

1.2 仪器与试剂

主要仪器:UV-1100型紫外可见分光光度计;3K-30高速冷冻离心机;SPX-250B-Z型生化培养箱;美的KJ23B-DE微波炉。主要试剂:1,1-二苯基苦基苯肼DPPH·(sigma公司);活性氧(ROS)试剂盒,丙二醛(MDA)试剂盒:均购自南京建成生物工程研究所,批号20101021;其余试剂均为国产分析纯。

1.3 桦褐孔菌菌丝体的液体培养

将保存菌种接种到母种培养基(马铃薯200.0 g/L,葡萄糖20.0 g/L,琼脂20.0 g/L,加水至1 000 mL)置于28.5℃恒温培养箱中斜面培养7~9 d,活化后备用。接种大小一致活性好的桦褐孔菌活化菌种于装有100 mL PDA培养基(去皮马铃薯200.0 g/L,煮沸30 min后去渣,加入葡萄糖20.0 g/L,加无菌水至加水至1 000 mL)的锥形瓶中28℃恒温培养,定期观察,收集长成的菌丝体,蒸馏水洗净,60℃烘箱鼓风烘干,随后研钵捣碎成60目粉末,备用。

1.4 桦褐孔菌菌丝体总黄酮(TFIO)的提取与样液配制

分批次将桦褐孔菌菌丝体粉末以40倍原料按质量体积的70%乙醇混合,在微波功率352 W条件下,微波间断处理累积150 s,过滤,滤液合并,减压浓缩,浓缩液参照元晓梅^[11]等方法进行含量测定与聚酰胺层析洗脱分离,洗脱液经减压浓缩、冻干即得桦褐孔菌菌丝体粗黄酮,以去离子水为溶媒配制成质量浓度分别为0.05、0.50、2.00、4.00 mg/mL的粗黄酮测试样液。

1.5 TFIO的体内外抗氧化活性

1.5.1 DPPH·自由基清除能力的测定 参照李云峰^[12]等方法。准确称取7.9 mg DPPH·,用无水乙醇溶解并定容于100 mL棕色容量瓶中。分别取2 mL DPPH·溶液及2 mL不同浓度的TFIO样液于具塞比色管中,充分混合,静置40 min后在517 nm处测其吸光度,并按下式计算自由基清除率:

$$D/\%=[1-(A_i-A_0)/A_0]\times 100,$$

式中, A_0 为2 mL无水乙醇加2 mL DPPH·溶液的吸光度; A_i 为2 mL待测液与2 mL DPPH·溶液反应后

的吸光度; A_j 为 2 mL 待测液加 2 mL 乙醇的吸光度。

1.5.2 TFIO 对脂肪氧合酶(LOX)的影响 参照荣建华等^[13]的方法,取 40 g 大豆浸泡于 100 mL 磷酸缓冲液(0.01 mol/L, pH 7.0)中,7 h 后破碎,取 10 mL 溶液溶于 100 mL 磷酸缓冲液,再浸泡 1 h,4 000 r/min 离心 15 min,上清液即为酶液。取 0.2 mL 酶液与 0.05 mL 不同浓度的 TFIO 样液混合,25 °C 下保温 4 min,加入 0.8 mL 底物(含亚油酸 1.32×10^{-3} mL/L,0.5 mL/L 吐温-20 的 0.2 mL/L pH 9.0 硼酸缓冲液),混匀后再保温 4 min,然后加 2 mL 无水乙醇终止反应,再加入 1.95 mL 蒸馏水混匀,测定 A_{234} 。对照组以 0.05 mL 0.01 mol/L pH 7.0 的磷酸缓冲液代替样液。规定反应体系每分钟增加 1 个单位吸光度为一个酶活性单位,按下式计算:

$$\text{酶活 (U/(min} \cdot \text{g))} = (A_{234} \times 200 \times 10) / (0.2 \times 4) = 2\,500 \times A_{234}$$

$$\text{酶活抑制率 (\%)} = (A_0 - A_1) / A_0 \times 100$$

其中, A_0 为无样液时的酶活力, A_1 为加样液时的酶活力。

1.5.3 TFIO 对 H_2O_2 诱导红细胞氧化溶血抑制的测定 参照王关林等^[14]、刁鹏飞等^[15]的方法。小鼠摘眼球取血,加入 10%柠檬酸制成抗凝血,以 4 000 r/min 离心 5 min,分离红细胞,红细胞用冰生理盐水洗 3 次,制成 0.5%的红细胞悬浮液。分别取 1.0 mL 0.5%的红细胞悬浮液,加入 0.5 mL 50 mmol/L H_2O_2 诱导红细胞氧化溶血,后加入 0.5 mL 不同浓度的样液为试样组,以蒸馏水代替样液作为对照组;正常组不加试样也不加 H_2O_2 ,用蒸馏水补足体系体积。各组混匀后,于 37 °C 温育 60 min,3 000 r/min 离心 10 min,取上清液,用生理盐水稀释 5 倍,测 A_{415} 。按下式计算:

$$\text{溶血率 } H(\%) = A_i / A_0 \times 100,$$

$$\text{抑制率 } P(\%) = (A_0 - A_i) / (A_0 - A_j) \times 100,$$

其中, A_0 为 H_2O_2 诱导对照组吸光度; A_i 为试样组吸光度; A_j 为正常组吸光度。

1.5.4 TFIO 对小鼠体外肝匀浆抗活性氧能力与 MDA 生成的影响 参照严奉伟等^[16]的方法,小鼠颈椎脱臼致死并迅速分离肝脏,经冰生理盐水洗去污血后用滤纸吸干,称取 0.3 g 肝组织加入生理盐水(生理盐水体积为组织块质量的 9 倍),制成 10%的肝匀浆,3 000 r/min 离心 15 min,取上清液,-20 °C

保存备用。用活性氧(ROS)试剂盒测定肝匀浆的抗活性氧单位;MDA 测定试剂盒测定加入 TFIO 后正常(无诱导)、 Fe_2SO_4 与 H_2O_2 诱导小鼠肝匀浆中的 MDA 值,并计算 MDA 生成抑制率。肝匀浆蛋白质含量用 Lowry 法测定,以牛血清白蛋白为标准。

1.5.5 TFIO 对小鼠体内肝组织抗活性氧单位与 MDA 生成的影响 SPF 级雄性小鼠 30 只,随机分成实验组和对照组,每组 10 只。实验组分别腹腔注射 0.50 与 2.0 mg/mL TFIO(0.04 mL/(g·d)),对照组注射等体积生理盐水。连续给药 11 d 后,分别制备 10%小鼠肝匀浆,以生理盐水稀释 20 倍后,活性氧(ROS)试剂盒测定肝组织的抗活性氧单位,MDA 测定试剂盒测定肝组织 MDA 值。

以上实验数据用平均值 $\pm$ 标准偏差($\bar{x} \pm s$)表示,试验重复次数用 $n=3$ 或 $n=10$ 表示,采用 SPSS Statistics V17.软件进行 t 检验与 LSD 法两两比较。

2 TFIO 的提取率

2.1 TFIO 的提取率

经聚酰胺吸附-硝酸铝显色法^[11]测得 TFIO 的提取率约为 48.49 mg/g。

2.2 TFIO 对 DPPH·自由基的清除能力 DPPH·是一种非常稳定、可以长时间保存的自由基,常被用来作为抗氧化性测试试剂。实验测得 DPPH·清除率随 TFIO 剂量的增加而增加,见表 1。当剂量为 0.05 mg/mL 时清除率达 50%以上,4.00 mg/mL 时清除率可达 76.77%,可见,TFIO 对 DPPH·具有较强的清除作用,表现出较强的自由基清除能力。

表 1 TFIO 对 DPPH·自由基的清除能力

Tab.1 Scavenging activities of TFIO on DPPH· radical

质量浓度/(mg/mL)	清除率/%
0.05	51.52 $\pm$ 0.23
0.50	66.67 $\pm$ 0.45
2.00	72.73 $\pm$ 1.02
4.00	76.77 $\pm$ 1.12

2.3 TFIO 对脂肪氧合酶活力的抑制作用

脂肪氧合酶 LOX 是一种含非血红素铁的蛋白质,在生物体内专一催化含顺,顺-1,4-戊二烯的不饱和脂肪酸及酯的加氧反应,广泛存在于生物体的氧化过程中,LOX 催化多不饱和脂肪酸的氧化,产生氢过氧化物和游离自由基,这些脂质氢过氧化物

和自由基进一步毒害细胞膜系统导致了细胞膜功能的丧失和细胞的降解死亡^[17]。因此,抑制脂肪氧合酶的活力能减少脂质氢过氧化物和自由基的产生从而保护细胞膜系统。由图 1 可知,在施测质量浓度 0.05~4.00 mg/mL 范围内,TFIO 对脂肪氧合酶(Lox)活力均具有明显的抑制作用,0.05 mg/mL 浓度时,脂肪氧合酶活抑制率达 50.17%,4.00 mg/mL 时抑制率高达 81.73%。

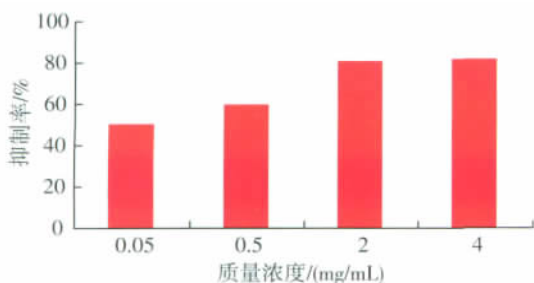


图 1 TFIO 对脂肪氧合酶活力的抑制作用

Fig.1 Inhibiting effects of TFIO on lipoxidase activity

2.4 TFIO 对 H₂O₂ 诱导的小鼠红细胞(RBC)溶血的影响

H₂O₂ 是机体中一种重要的活性氧,可与血中 Fe²⁺反应产生羟基自由基引发氧化作用,导致红细胞膜受氧化而损伤,使之产生溶血。TFIO 对 H₂O₂ 诱导的小鼠红细胞(RBC)溶血的影响见表 2。由表 2 可知,在试验剂量 0.5~4.00 mg/mL 范围内,TFIO 极显著地抑制 H₂O₂ 诱导小鼠红细胞氧化溶血 ($P<0.01$),剂量-效应关系明显,4.00 mg/mL 剂量时对 H₂O₂ 诱导小鼠 RBC 溶血抑制率高达 83.33%。

表 2 TFIO 对 H₂O₂ 诱导的体外小鼠红细胞溶血的影响

Tab.2 Effects of TFIO on hemolysis of mice RBC by H₂O₂-induced

剂量/(mg/mL)	A _{415nm}	溶血率/%	抑制率/%
0.50	0.022±0.002**	55.56	44.44
2.00	0.016±0.005**	33.33	66.67
4.00	0.013±0.006**	16.67	83.33

注:以 H₂O₂ 诱导小鼠红细胞溶血率为 100% (A_{415nm} 0.028±0.003);*, $P<0.05$;**, $P<0.01$

2.5 TFIO 对小鼠体外肝匀浆抗活性氧能力与 MDA 生成的影响

羟基自由基 OH·是生物体内危害最大、活性最强的自由基,它可以通过电子转移、加成以及脱氢等方式与生物体内的多种分子作用,造成糖类、氨基酸、蛋白质、核酸和脂类等物质的氧化性损伤,使

细胞坏死或突变,OH·还与衰老、肿瘤、辐射损伤和细胞吞噬等有关。因此,羟自由基清除率是反映测试样抗氧化作用的重要指标^[18]。作者采用活性氧(ROS)试剂盒法测定羟自由基抑制能力,规定每毫升样液在 37℃下反应 1 min,使反应体系中 H₂O₂ 浓度降低 1 mmol/L 为一个抑制羟自由基能力单位,并定义为一个抗活性氧单位(Anti-ROS unit),实验结果见表 3。低剂量质量浓度 (0.05、0.5 mg/mL) 的 TFIO 对小鼠体外肝匀浆羟基自由基的生成抑制作用与无添加 TFIO 的对照组差别不显著 ($P>0.05$),但当剂量增加至 2.00 mg/mL 与 4.00 mg/mL 时,肝匀浆的抗活性氧单位与对照组的差异分别达到显著差异 ($P<0.05$) 与极显著水平 ($P<0.01$)。可见,在体外肝匀浆体系中,较高质量浓度的 TFIO 可增强肝匀浆的抗活性氧单位,抑制羟自由基的生成。

表 3 TFIO 对小鼠体外肝匀浆活性氧的清除效果

Tab.3 Scavenging effects of TFIO on ROS in vitro in mice liver

剂量/(mg/mL)	抗活性氧单位/(U/mL)
0	42.18±1.64
0.05	40.16±1.09
0.50	41.58±1.42
2.00	47.24±2.28*
4.00	50.75±1.18**

由于肝匀浆在温育条件下可以自发,也可以诱发(添加自由基诱导剂 Fe²⁺或 H₂O₂)发生氧化反应产生氧自由基,进而引发脂质过氧化反应,并产生终产物 MDA^[19],因此,测试 MDA 的量可反映出样品对肝组织脂质过氧化的影响程度,并间接反映出对肝组织的保护效应。体外肝匀浆实验见表 4。TFIO 对小鼠体外肝匀浆自发性以及 Fe²⁺、H₂O₂ 诱导 MDA 生成均具有显著的抑制作用 ($P<0.05$),在试验剂量 4.0 mg/mL 时,抑制率分别达到 36.73%、20.34% 与 48.59%。总体上,TFIO 对 H₂O₂ 诱导组的抗氧化作用强于 Fe²⁺诱导组,原因可能是 Fe²⁺诱导的自由基(OH·)氧化性强于 H₂O₂ 诱导组诱导的自由基(单线态氧);而 H₂O₂ 诱导组强于无诱导组的原因是 H₂O₂ 组产生的活性氧多于无诱导组 ((5.31±0.22)>(3.43±0.12)),为 TFIO 提供了更多的可抑制活性氧,使之更能表现抑制活性氧作用^[16]。因而,TFIO 在某一体系中清除活性氧存在着最佳浓度范围,H₂O₂ 组效果

最好,说明该施测浓度范围在这一体系中更接近于最佳的效应浓度范围。

表 4 TFIO 对小鼠体外肝匀浆 MDA 生成的影响

Tab.4 Effects of TFIO on MDA formation in vitro in mice liver homogenate

剂量/(mg/mL)	无诱导温育组		Fe ²⁺ 诱导温育组		3% H ₂ O ₂ 诱导温育组	
	MDA/(nmol/mg)	MDA 生成抑制率/%	MDA/(nmol/mg)	MDA 生成抑制率/%	MDA/(nmol/mg)	MDA 生成抑制率/%
CK	3.43±0.12	—	13.96±0.25	—	5.31±0.22	—
0.50	3.13±0.03*	8.74	13.00±0.11**	6.88	3.52±0.11**	33.70
2.00	2.67±0.16**	22.16	12.22±0.10**	12.46	2.79±0.17**	47.46
4.00	2.17±0.21**	36.73	11.12±0.14**	20.34	2.73±0.08**	48.59

2.6 腹腔注射 TFIO 对小鼠肝组织抗活性氧能力及 MDA 生成的影响

与对照组相比(见表 5),经连续 11 d 腹腔注射剂量为 0.5、2.0 mg/mL TFIO 后,各实验组小鼠肝组织的 MDA 值均极显著下降 ($P<0.01$),MDA 生成抑制率分别为 48.52%与 58.52%。从 MDA 值看,腹腔注射 TFIO 明显抑制了脂质过氧化产物的产生;但从抗活性氧单位看,处理组的抗活性氧单位与对照组相比,没有显著差异 ($P>0.05$),似乎 TFIO 的抗氧化效果不大。分析二者产生差异的原因,可能是由于机体维持正常的新陈代谢必须保持适度的自由基水平^[20],而本试验所选用的小鼠为健康的且正处青年期,其体内自由基的产生与清除还处于平衡状态,故抗活性氧单位没有太大差别。

表 5 腹腔注射 TFIO 后对小鼠体内肝组织活性氧清除及 MDA 生成的影响

Tab.5 Effects of TFIO on ROS scavenging and MDA formation in mice liver after being intra-peritoneal injected

剂量/(mg/mL)	抗活性氧单位/(U/mL)	MDA/(nmol/mg)
CK	350.16±5.15	2.70±0.86
0.50	352.23±6.99	1.39±1.02** (48.52%)
2.00	357.42±12.74	1.12±0.56** (58.52%)

3 结 语

生理情况下,机体吸入氧的 98%通过一次接受 4 个电子与 H⁺结合还原成水,另有 2%的氧通过单价还原成高能态不稳定的活性氧——氧自由基^[21]。自由基在机体不断产生的同时,又可被相应的防御

机制所清除,二者形成一种动态平衡^[22],但由于某些生理或病理原因导致自由基增多或防御体系出现故障时,自由基的产生与清除的动态平衡被破坏,过剩的自由基一方面直接造成生物大分子的损伤,另一方面诱导不饱和脂肪酸的脂质过氧化连锁反应产生大量的脂质过氧化物(LPO)而损害细胞膜和其他生物大分子,并改变细胞器的生物学特征,引起细胞的衰老,造成机体损伤,诱发炎症、免疫失调、恶性肿瘤等多种疾病^[23]。黄酮类化合物是具有酚羟基的一类还原性化合物^[24],酚羟基可与自由基反应生成较稳定的半醒式自由基,从而终止自由基链式反应。因而,黄酮类化合物被视为一种高效的、无毒、安全的天然自由基清除剂^[25]。

桦褐孔菌具有较高质量分数的总黄酮,以微波法提取,得率约为 48.49 mg/g。体外抗氧化实验发现,低剂量 0.05 mg/mL TFIO 对 DPPH·自由基清除率与脂肪氧合酶活抑制率均超过 50%;当以 4.00 mg/mL 剂量施测时,DPPH·清除率达 76.77%,脂肪氧合酶活抑制率达 81.73%,对 H₂O₂ 诱导小鼠红细胞溶血抑制率高达 83.33%,对小鼠体外肝匀浆自发性以及 Fe²⁺、H₂O₂ 诱导 MDA 生成的抑制率分别达到 36.73%、20.34%与 48.59%,并可显著增强体外肝匀浆的抗活氧单位以抑制羟自由基的生成。体内实验进一步发现,当腹腔注射剂量为 0.5、2.0 mg/mL TFIO 后,小鼠肝组织的 MDA 值极显著下降,MDA 生成抑制率分别达到 48.52%与 58.52%,说明 TFIO 在体内环境中同样具有较强的抑制脂质过氧化能力;但是,注射 TFIO 后体内肝组织的抗活性氧单位变化不大,可能是在健康的正常的无诱发的生理条件下,即便外源自由基可大幅度清除自由基,但健康小鼠仍会反馈调控以保持有适量的自由基,从而

保证其在细胞分裂与生长、消炎与解毒等方面的积极作用^[20],从这个意义讲,高剂量注射自由基清除剂一旦危及机体自由基清除与产生的调控平衡能力,可能反而对健康机体有害。总之,TFIO 在化学模拟

体系、体外组织细胞及动物个体(影响因素越来越复杂)水平上的体内外检测体系中均表现出较强的抗氧化活性,是一种有待开发的抗氧化药物基料。

参考文献:

- [1] 黄年来. 俄罗斯神秘的民用药用真菌—桦褐孔菌[J]. 中国食用菌,2002,21(4):7-8.
HUANG Nian-lai. *Inonotus obliquus*—a mysterious civil medicinal fungi in Russia[J]. **Edible Fungi of China**,2002,21(4):7-8. (in Chinese)
- [2] 梁丽雅,张泽生,杨海延. 桦褐孔菌的生物活性研究及应用现状[J]. 食品科技,2008,7:125-128.
LIANG Li-ya,ZHANG Ze-Sheng,YANG Hai-yan. Status on bioactivity study and application of *Inonotus obliquus*[J]. **Food Science and Technology**,2008,7:125-128.(in Chinese)
- [3] Rasina L N. Effect of cryosubstance Chagi on deposition or isolation of 90Sr and on the effect of prolonged external exposure to gamma-radiation[J]. **Radiats Biol Radioecol**,2002,42(4):399-403.
- [4] Babitskaia V G,Shcherba V V. The nature of melanin pigments from some micro and macro-mycetes[J]. **Prikl Biokhim Mikrobiol**,2001,38(3):286-291.
- [5] 崔基成,崔永. 桦褐孔菌抗氧化作用的研究[C]. 中国菌物学会首届药用真菌产业发展学术研讨会论文集[A],2005:157-159.
- [6] 陈义勇,顾小红,汤坚. 桦褐孔菌多糖的抗肿瘤活性[J]. 食品与生物技术学报,2011,30(1):65-69.
CHEN Yi-yong,GU Xiao-hong,TANG Jian. Study on anti-tumor activities of polysaccharides from *Inonotus obliquus* [J]. **Journal of Food Science and Biotechnology**,2011,30(1):65-69. (in Chinese)
- [7] Yong Cui,Kim Dong-Seok,Parka Kyoung-Chan. Antioxidant effect of *Inonotus obliquus*[J]. **Journal of Ethnopharmacology**,2005,96:79-85.
- [8] 高晗,周婧琦,高雪丽,等. 桦褐孔菌多酚的抗氧化性及其在食用油脂中的应用[J]. 食品科学,2008,12:39-42.
GAO Han,ZHOU Jing-qi,GAO Xue-li,et al. Antioxidant effects of *Inonotus oblique* polyphenols and their application in preservation of edible oils[J]. **Food Science**,2008,12:39-42. (in Chinese)
- [9] 高愿军,高雪丽,司俊娜. 桦褐孔菌多酚清除自由基作用的稳定性研究[J]. 食品科学,2009,30(10):107-109.
GAO Yuan-jun,GAO Xue-li,SI Jun-na. Study on the stability on radical scavenging of *Inonotus oblique* polyphenol[J]. **Food Science**,2009,30(10):107-109. (in Chinese)
- [10] 卢雪明,陈海霞,曲志爽,等. 桦褐孔菌提取物抗氧化与糖苷酶抑制活性研究[J]. 天然产物研究与开发 2009,21:132-135.
LU Xue-ming,CHE Hai-xia,QU Zhi-suang,et al. Studies on the antioxidant activities and glycosidase inhibitory effects of different extracts from *Inonotus obliquus*[J]. **Natural Product Research and Development**,2009,21:132-135. (in Chinese)
- [11] 元晓梅,蒋明蔚,胡正芝. 聚酰胺吸附—硝酸铝显色法测定山楂及山楂制品中的总黄酮含量[J]. 食品与发酵工业,1996,4:27-32.
YUAN Xiao-mei,JIANG Ming-wei,HU Zheng-zhi. Colorimetric determination of flavones in Hawthorn and its products[J]. **Food and Fermentation Industries**,1996,4:27-32. (in Chinese)
- [12] 李云峰,郭长江,杨继军,等. 石榴皮抗氧化物质提取及其体外抗氧化作用研究[J]. 营养学报,2004,26(2):144-147.
LI Yun-feng,GUO Chang-jiang,YAN Ji-jun,et al. Study on extration of antioxidants in pomegranate peel and its antioxidant acyivites in vitro[J]. **Acta Nutrimenta Sinica**,2004,26(2):144-147. (in Chinese)
- [13] 荣建华,李小定,谢笔钧. 大豆肽的理化性质及其对脂肪氧合酶活性的影响[J]. 食品工业科技,2002,13(8):19-21.
RONG Jian-hua,LI Xiao-ding,XIE Bi-jun. Effect of soybean peptides on the activity of soybean lipoxxygenase and its physical and chemical properties[J]. **Science and Technology of Food Industry**,2002,13(8):19-21. (in Chinese)
- [14] 王关林,田兵,方宏筠,等. 芦荟抗氧化物质活性及对红细胞的保护作用[J]. 营养学报,2002,24(4):380-383.
WANG Guan-lin,TIAN Bing,FANG Hong-jun,et al. Properties of an antioxidant from aloe with protective effect on red blood cells[J]. **Acta Nutrimenta Sinica**,2002,24(4):380-383. (in Chinese)
- [15] 刁鹏飞,郭延生,刘宝剑,等. 当归水提液和醇提液体外抗脂质过氧化和红细胞溶血作用[J]. 天然产物研究与开发,2009,4:

679-683.

DIAO Peng-fei, GUO Yan-sheng, LIU Bao-jian, et al. Effect of water and alcoholic extracts from *Radix angelicae sinensis* on anti-lipidperoxidation and hemolysis of erythrocyte in vitro[J]. **Natural Product Research and Development**, 2009, 4: 679-683. (in Chinese)

- [16] 严奉伟, 罗祖友, 吴季勤, 等. 菜籽多糖的抗氧化作用与机理研究[J]. **中国农业科学**, 2005, 38(1): 157-162.

YAN Feng-wei, LUO Zu-you, WU Ji-Qin, et al. Study on the anti-oxidative effect and mechanism of polysaccharide from Rapeseed(RSPS)[J]. **Scientia Agricultura Sinica**, 2005, 38(1): 157-162. (in Chinese)

- [17] 熊卫东, 章银良, 马庆一, 等. 脂氧合酶活性抑制剂的筛选及应用保鲜的研究[J]. **食品科技**, 2004, 9: 84-87.

XIONG Wei-dong, ZHANG Yun-liang, MA Qing-yi, et al. Selecting and application research of inhibitor of lipoxygenase[J]. **Food Science and Technology**, 2004, 9: 84-87. (in Chinese)

- [18] 方光荣, 刘洁, 刘丽虹, 等. 分光光度法测定中药对羟自由基的清除率[J]. **湖北大学学报**, 2004, 26(2): 151-154.

FANG Guang-rong, LIU Jie, LIU Li-hong, et al. Determination of elimination activity of Chinese traditional medicine for the hydroxyl radical by UV-Vis spectrophotometry[J]. **Journal of Hubei University**, 2004, 26(2): 151-154. (in Chinese)

- [19] 戚向阳, 陈维军, 张俐勤, 等. 罗汉果皂甙清除自由基及抗脂质过氧化作用的研究[J]. **中国农业科学**, 2006, 39(2): 382-388.

QI Xiang-yang, CHEN Wei-jun, ZHANG Li-qin, et al. Study on the inhibitory effects of natural sweetener mogrosides on radical and lipid peroxidation[J]. **Scientia Agricultura Sinica**, 2006, 39(2): 382-388. (in Chinese)

- [20] 钦传光, 周军, 赵文, 等. 泥鳅多糖清除活性氧和保护 DNA 链的作用[J]. **生物化学与生物物理学报**, 2001, 33(2): 215-218.

QIN Chuang-guang, ZHOU Jun, ZHAO Wen, et al. Effects of the Loach polysaccharide on removal of reactive oxygen species and protection of DNA chains[J]. **Acta Biochimica Et Biophysica Sinica**, 2001, 33(2): 215-218. (in Chinese)

- [21] 黄进, 杨国宇, 李宏基, 等. 抗氧化剂作用机制研究进展[J]. **自然杂志**, 2004, 26(2): 75-78.

HUANG Jin, YANG Guo-yu, LI Hong-ji, et al. Progress in mechanism studies of antioxidants[J]. **Nature Magazine**, 2004, 26(2): 75-78. (in Chinese)

- [22] 李兴泰, 陈瑞, 高明波. 连翘叶水提物保护线粒体及抗衰老研究[J]. **食品与生物技术学报**, 2009, 28(6): 840-844.

LI Xing-tai, CHEN Rui, GAO Ming-bo. Protective effects on mitochondria and anti-aging activity of aqueous extract of *Forsythia suspensa* leaves[J]. **Journal of Food Science and Biotechnology**, 2009, 28(6): 840-844. (in Chinese)

- [23] Wickens A P. Ageing and the free radical theory[J]. **Respir Physiol**, 2001, 128: 379-391.

- [24] 赵继红, 梁宇, 颜达予. 黄酮类化合物抗氧化性的结构因素[J]. **北方工业大学学报**, 2001, 13(1): 36-43.

ZHAO Ji-hong, LIANG Yu, YAN Da-yu. Structure-antioxidation relationship of flavonoid antioxidants[J]. **Journal of North China University of Technology**, 2001, 13(1): 36-43. (in Chinese)

- [25] 魏朝良, 于德红, 安利佳. 黄酮类化合物及清除自由基机制的探讨[J]. **中成药**, 2005, 27(2): 239-241.

WEI Chao-liang, YU Dei-hong, AN Li-jia. Study on flavonoid and its radical removal mechanism[J]. **Chinese Traditional Patent Medicine**, 2005, 27(2): 239-241. (in Chinese)