

文章编号:1009-038X(2005)01-0089-06

# 灵芝提取液清除自由基能力

许钢

(浙江工商大学 食品生物与环境工程学院, 浙江 杭州 310035)

**摘要:** 采用氮蓝四唑(NBT)光化还原法、抗坏血酸— $\text{Cu}^{2+}$ — $\text{H}_2\text{O}_2$ 体系法和亚油酸体系法,对从野生灵芝中提取的有效活性物质,进行清除超氧自由基 $\text{O}_2^{\cdot-}$ 、羟基自由基 $\cdot\text{OH}$ 和脂过氧自由基 $\text{ROO}\cdot$ 的效果进行测定.结果表明,采用体积分数85%的丙酮,液固体积质量比为15 mL:1 g,超声20 min是灵芝有效成分提取的最佳工艺条件.灵芝提取物对自由基有较强的清除作用,在3种不同品种的灵芝提取物中,白灵芝的清除效果最佳,紫灵芝次之,而赤灵芝最差.

**关键词:** 野生灵芝; 黄酮; 多酚; 清除; 自由基

中图分类号: S 646

文献标识码: A

## Study on Scavenging Free Radicals by Active Compounds from Natural *Ganoderma lucidum*

XU Gang

(School of Food Science and Biotechnology and Environmental Engineering, Zhejiang Gongshang University, Hangzhou 310035, China)

**Abstract:** Effects of removing the superoxide radical, hydroxyl radical and alkane radical with active matter extracts from *Ganoderma lucidum*, mainly consisting of flavone compound, were determined by the method of NBT photoreduction, system of ascorbic acid- $\text{Cu}^{2+}$ - $\text{H}_2\text{O}_2$  and oxidation of linolenic acid. The result showed that the optimal conditions for the extraction with ultrasonic technique was to add 15:1 of 85% acetone solution to the natural *Ganoderma lucidum*, and extracting for 30 minutes. The result indicated that, the extraction of *Ganoderma lucidum* can effectively clear out the radicals. Among three kinds of *Ganoderma lucidum*, the removal rate in White *Ganoderma lucidum* is the highest.

**Key words:** natural *Ganoderma lucidum*; flavone; polyphenol; scavenge; free radical

自由基可与生物体内的许多物质如脂肪酸、蛋白质等作用,夺取它们的氢原子,造成相关细胞的结构与功能的破坏,更重要的是其氧化产物和中间产物会伤害生物膜、酶、维生素、蛋白质及活细胞功能,其中一些还被认为是致癌物质<sup>[1]</sup>.因此,对超氧自由基( $\text{O}_2^{\cdot-}$ )、羟基自由基( $\cdot\text{OH}$ )和脂过氧自由

基( $\text{ROO}\cdot$ )清除能力的研究,对于相关疾病的防治有着重要的意义.

灵芝(*Ganoderma lucidum*)是一种药用真菌.其种类繁多,已知有一百多种,中国记录了57种,不过,仅少数才具备药用效能.

我国应用灵芝作为药物已有悠久的历史,公元

收稿日期:2004-03-08; 修回日期:2004-05-29.

作者简介:许钢(1958-),女,广东番禺人,高级实验师.

前11世纪周代《列子》一书中,就有“朽壤之上有菌芝者”的记载,其中认为“煮白沸其味清芳,饮之目明、脑清、心静、肾坚,其宝物也。”<sup>[2]</sup>现代医学实验证明灵芝有促进白细胞增加,加强巨噬细胞吞噬功能;降低血压和血糖,降低转氨酶和胆固醇;增强冠状动脉的血流量,促进受损细胞的修复与再生<sup>[3]</sup>;抑制癌细胞在小白鼠体内生长、提高小白鼠耐受低压缺氧;促进人体红细胞2,3-DPG的生成作用,增加白血球数量;对动物四氯化碳(CCl<sub>4</sub>)肝损伤有保护作用等。灵芝提取物在医学上能对许多病理状况达到保护、治疗及改善的功用。

作者用氮蓝四唑(NBT)光化还原法、抗坏血酸—Cu<sup>2+</sup>—H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>体系法和亚油酸体系法,对从野生灵芝中提取的有效活性物质,进行清除超氧自由基O<sub>2</sub><sup>-·</sup>、羟基自由基·OH和脂过氧自由基ROO·效果的测定,并与茶多酚清除自由基能力进行了比较。

## 1 材料与方法

### 1.1 原料,仪器与试剂

1.1.1 原料 野生灵芝(赤、白、紫3个品种),产地为浙江杭州,分别洗净后,自然阴干,磨碎成粉状,过60目筛备用。

1.1.2 仪器 UV-1601型紫外分光光度计及其配套设备,AEL-160型电子天平;日本岛津产品。DBG120-002型台式干燥箱;重庆试验设备厂产品;UT-52超声波发生器、ZF-I型三用紫外分析仪、LD4-2A型离心机、自制反应暗箱。

1.1.3 试剂 无水乙醇、甲醇、丙酮、亚硝酸钠、盐酸、硝酸铝、抗坏血酸、硫酸铜、过氧化氢、三氯乙酸、鞣酸、氯化铁、铁氰化钾、磷酸二氢钠、磷酸氢二钠、细胞色素C(SIGMA)、氢氧化钠,均为分析纯试剂;芦丁标准品、甲硫氨酸、核黄素、氮蓝四唑、硫代巴比妥酸,均为生化试剂;亚油酸,化学纯试剂;茶多酚,食品级产品。

### 1.2 实验方法

1.2.1 灵芝中活性物质的提取 准确称取粉碎后的灵芝10.00 g→浸泡17 h→超声→冷却→抽滤→25 mL浸提剂浸20 min→抽滤→60 mL浸提剂分3次洗滤→定容200 mL。

#### 1.2.2 黄酮质量分数的测定<sup>[4]</sup>

1) 芦丁标准应用液配制:准确称取干燥恒重的芦丁标准品0.0752 g,用体积分数30%的乙醇溶解并定容250 mL,摇匀得质量浓度为0.3008 mg/mL标准应用液。

2) 工作曲线回归方程建立:分别取芦丁标准溶液1.0,2.0,4.0,6.0,8.0 mL,于5只25 mL的容量瓶中,用体积分数30%的乙醇补充至12.5 mL,加入0.7 mL质量分数5%的亚硝酸钠溶液摇匀,放置5 min后加入0.7 mL质量分数10%的硝酸铝溶液,6 min后加入5 mL 1 mol/L的氢氧化钠溶液,混匀,用体积分数30%的乙醇定容至刻度,10 min后于510 nm处比色测定,试剂为空白参比。用最小二乘法进行线性回归,得芦丁质量浓度C与吸光度值A的关系曲线的回归方程式: $C = 233.81A - 2.5125$ ,  $\gamma = 0.9994$

3) 正交设计:为系统考察灵芝活性物质提取的最佳条件,根据已有资料,经预试后设计实验如下:选用浸提剂、浸提剂体积分数、超声时间和液固体积质量比作为考察因素,选用L<sub>9</sub>(3<sup>4</sup>)正交表试验<sup>[5]</sup>。因素水平见表1。

表1 超声因素水平表

Tab.1 Level and factor of supersonic

水平	因素			
	浸提剂 A	浸提剂 体积分数 B/%	超声时间 C/min	液固体积质量比 D/(mL/g)
1	乙醇	55	30	15
2	甲醇	85	20	10
3	丙酮	70	10	20

4) 黄酮质量分数的测定:取浸提液2.0 mL于25 mL容量瓶,按照1.2.2所用方法测定吸光度并计算黄酮质量分数。

#### 1.2.3 灵芝提取物清除自由基体系

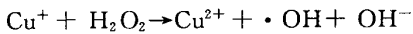
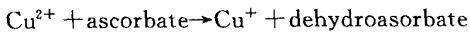
1) 超氧自由基O<sub>2</sub><sup>-·</sup>清除率的测定:甲硫氨酸作用于核黄素时可产生超氧自由基(O<sub>2</sub><sup>-·</sup>),O<sub>2</sub><sup>-·</sup>可还原氮蓝四唑(NBT),使之转化为CN<sub>4</sub>H<sub>4</sub>,而黄酮类化合物可以抑制该反应,故可依据抑制率高低来研究灵芝提取物对O<sub>2</sub><sup>-·</sup>的清除效果。

参照Beauchamp等的方法加以改进<sup>[6]</sup>。反应在装有一支10 W的节能日光灯、四周衬有铝箔的暗柜中进行,调节反应物离灯的距离,用光照度计测定其受光照度为20 000 lx。5 mL反应液中,加入1.5 μmol/L的核黄素溶液和2×10<sup>-2</sup> mol/L的甲硫氨酸溶液。在25℃、光照20 min条件下,核黄素即因光化反应产生O<sub>2</sub><sup>-·</sup>。然后在此体系中加入5.1 mmol/L的NBT溶液,使光照后的核黄素产生O<sub>2</sub><sup>-·</sup>,将NBT还原为蓝色的产物,以不光照的试液作校正,在560 nm测得其吸光度为A,可表示O<sub>2</sub><sup>-·</sup>的相对含量。加入灵芝提取物后能清除O<sub>2</sub><sup>-·</sup>来抑制NBT的还原,测得此时的吸光度为

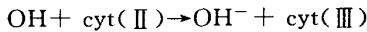
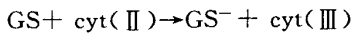
$A_1, A-A_1$  表示  $O_2^- \cdot$  的减少量, 则清除率为:

$$\text{清除率} = (A - A_1) / A \times 100\%$$

2) 羟基自由基  $\cdot OH$  清除率的测定: 参照文献 [7] 的方法, 加以改进, 具体方法如下: 在生理浓度及  $Cu^{2+}$  存在下, 用抗坏血酸作为还原剂, 能与中间生成的  $H_2O_2$  反应, 使  $Cu^{2+}$  还原为  $Cu^+$ , 生成  $\cdot OH$ , 推测  $\cdot OH$  自由基同样能使  $cyt(II)$  转化为氧化型  $cyt(III)$ , 反应机理如下:



根据巯基自由基能使还原型的细胞色素 C [cyt(II)] 氧化的原理



还原型细胞色素 C [cyt(II)] 呈浅红色, 而氧化型呈浅黄色。前者在 550 nm 处有尖锐吸收峰, 而后者不明显。因此, 可用比色分析, 通过测定还原型细胞色素 C [cyt(II)] 含量的变化了解  $\cdot OH$  的生成。

在抗坏血酸— $Cu^{2+}$ — $H_2O_2$  体系中, VC 可能与  $O_2$  缓慢反应生成  $H_2O_2$ ,  $H_2O_2$  再与被抗坏血酸还原的  $Cu^+$  反应产生  $\cdot OH$ 。一般这一系列反应要在 25 °C 条件下作用 90 min 才能进行完毕。经过多次实验和改进, 作者在反应液中加入  $H_2O_2$  后立即进行测定, 使 VC 与  $O_2$  缓慢产生  $H_2O_2$  这一反应提前完成, 这样就大大缩短了反应的时间而不影响实验效果。

将细胞色素 C、抗坏血酸、pH 7.4 的磷酸缓冲液配成 6 mL 的反应液。用紫外分光光度计在 550 nm 处测得吸光值为 A。不改变反应液中细胞色素 C 和抗坏血酸的浓度, 再在反应液中加入  $H_2O_2$  和  $CuSO_4$ , 可见反应体系从浅红色立即转变成浅黄色, 在 550 nm 处测得吸光度值为  $A_1$ ,  $A-A_1$  可表示为生成  $\cdot OH$  的量。在反应液中加入了灵芝提取物后能清除  $\cdot OH$  自由基, 在 550 nm 处测得吸光度值为  $A_2$ ,  $A-A_2$  表示反应体系中最后剩余  $\cdot OH$  自由基的含量, 则清除率为:

$$\text{清除率} = ((A_2 - A_1) / (A - A_1)) \times 100\%$$

3) 脂过氧自由基  $ROO \cdot$  清除率的测定: 亚油酸是一种多不饱和脂肪酸, 是肌体组织和细胞的组成成分, 为人体最重要的必需脂肪酸。硫代巴比妥酸 (TBA) 染料法是基于不饱和脂肪酸通过自由基反应, 形成过氧化自由基, 而氧化生成过氧化物, 后者分解生成丙二醛。丙二醛与 TBA 作用生成 TBA 染料, 最大吸收波长为 532 nm。因此, TBA 染料生成的多少, 是衡量自由基链反应进行程度的标志<sup>[8]</sup> 万方数据

将 5 mL 乙醇、5 mL 0.1 mol/L pH 值 8.0 的磷酸缓冲液、一定量的试样与 0.1 mL 亚油酸混合, 用 10 W 紫外灯的紫外光照射 120 min, 然后加入 4 mL 20 g/dL 的三氯乙酸, 1 mL 3 g/dL 的硫代巴比妥酸, 95 °C 水浴反应 90 min, 离心, 532 nm 处比色, 以蒸馏水代替试样作为空白对照。<sup>[9]</sup> 清除脂过氧自由基活性的计算公式:

$$\text{清除率} = ((A - A_1) / A) \times 100\% \quad (\text{其中 } A \text{ 为空白溶液的吸光度})$$

## 2 结果与讨论

### 2.1 灵芝有效活性物质提取最佳方法的选择

根据表 1 做正交试验, 以提取物黄酮质量浓度为检验, 结果见表 2。

表 2 正交试验设计及结果

Tab. 2 Results of orthogonal design

设计序号	A	B	C	D	黄酮总质量浓度 C/(μg/mL)
1	1	1	1	1	23.96
2	1	2	2	2	30.98
3	1	3	3	3	29.12
4	2	1	2	3	11.80
5	2	2	3	1	24.90
6	2	3	1	2	13.68
7	3	1	3	2	23.96
8	3	2	1	3	43.14
9	3	3	2	1	38.92
I:	84.06	59.72	80.78	87.78	
II:	50.38	99.02	81.70	68.62	ΣC=240.46
III:	106.02	81.72	77.98	84.06	P=6424.56
Q:	6 948.16	6 683.20	6 427.06	6 493.37	
S:	523.60	258.64	2.50	68.81	

$$\text{注: } Q_i = (I_i^2 + II_i^2 + III_i^2) / 3 \quad P = (\Sigma C)^2 / 9 \quad S_i = Q_i - P$$

为了确定显著性因子, 对表 2 做方差分析和显著性检验, 结果见表 3。

表 3 方差分析

Tab. 3 Analysis of variance

方差来源	平方和 S	自由度 f	均方和 S/f	F	显著性
A	523.60	2	261.80	209.440	**
B	258.14	2	129.07	103.256	**
C	2.50	2	1.25	1	
D	68.81	2	34.41	27.312	*

$$\text{注: } F_{0.01}(2, 2) = 99.0; F_{0.05}(2, 2) = 19.0; F_{0.10}(2, 2) = 9.0$$

显著性检验结果表明, 4 种因素对浸提结果影响大小依次为  $A > B > D > C$ , 即浸提剂 > 浸提剂体积分数 > 液固体积质量比 > 超声时间, 最佳组合为

$A_3B_2D_1C_2$ , 即最佳提取条件为: 采用体分数 85% 的丙酮, 超声时间为 20 min, 液固体积质量比为 15 mL : 1 g.

## 2.2 灵芝提取物清除 $O_2^{\cdot-}$ 的效果

生物体内氧化还原反应中, 大致有 2%~5% 的氧会产生超氧自由基, 超氧自由基的毒性是机体发生氧中毒的主要原因<sup>[10]</sup>.

灵芝最佳条件提取的活性物质对  $O_2^{\cdot-}$  的清除效果如表 4 和图 1 所示; 随着提取物质量浓度的增加, 总体清除率呈上升趋势, 当质量浓度达到 4.8 mg/mL 时, 逐渐趋于平缓. 对灵芝的 3 个不同品种所提取的活性物质分别做  $O_2^{\cdot-}$  的清除试验, 结果见图 1. 白灵芝和紫灵芝清除效果相近, 质量浓度在 0.8~5.6 mg/mL 时, 白灵芝略好于紫灵芝和赤灵芝, 灵芝提取物的清除率随着质量浓度的上升仍有上升趋势, 但当质量浓度大于 5.6 mg/mL 时, 紫灵芝的清除率随着质量浓度的升高开始略有降低. 相比之下, 在同一质量浓度时, 赤灵芝的清除率比前两者均低一些.

表 4 不同品种灵芝对  $O_2^{\cdot-}$  的清除率

Tab. 4  $O_2^{\cdot-}$  scavenging capacity for three kinds of *Ganoderma Lucidum*

样品体积/ mL	质量浓度/ (mg/mL)	清除率/%		
		赤灵芝	紫灵芝	白灵芝
0.05	0.4	3.56	23.49	17.08
0.10	0.8	28.9	31.28	35.66
0.20	1.6	33.67	48.24	54.62
0.30	2.4	44.41	70.98	70.28
0.40	3.2	52.60	82.29	80.38
0.50	4.0	66.00	86.93	89.43
0.60	4.8	71.54	88.69	91.47
0.70	5.6	72.09	90.72	92.67
0.80	6.4	73.75	88.65	94.48
0.90	7.2	75.64	88.75	100.40

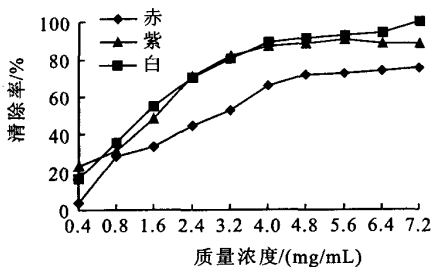


图 1 不同品种灵芝对超氧自由基的清除率

Fig. 1  $O_2^{\cdot-}$  scavenging capacity for three kinds of *Ganoderma Lucidum*

## 2.3 灵芝提取物对 $\cdot OH$ 的清除效果

羟基自由基是最活泼的自由基, 也是毒性最大

的自由基, 它可与活细胞中的任何分子发生反应而造成损害, 且反应速度快<sup>[11]</sup>.

灵芝最佳条件提取的活性物质对  $\cdot OH$  的清除效果如表 5 和图 2 所示; 随着提取物质量浓度的升高, 灵芝的清除率几乎呈直线上升趋势, 其中以白灵芝的清除效果最好, 在质量浓度为 2.4 mg/mL 时, 清除率达到 99.17%, 而紫灵芝在质量浓度上升至 2.0 mg/mL 后, 上升趋势渐近平缓, 赤灵芝的清除效果相比之下比前两者低, 在最高质量浓度时, 清除率仅有前两者的 50%.

表 5 不同品种灵芝对  $\cdot OH$  的清除率

Tab. 5  $\cdot OH$  scavenging capacity for three kinds of *Ganoderma Lucidum*

样品体积/ mL	质量浓度/ (mg/mL)	清除率/%		
		赤灵芝	紫灵芝	白灵芝
0.05	0.4	6.0	13.5	25.62
0.10	0.8	12.5	27.0	39.26
0.15	1.2	22.0	41.5	53.72
0.20	1.6	29.5	57.0	69.01
0.25	2.0	41.5	79.0	82.23
0.30	2.4	50.0	88.1	91.17

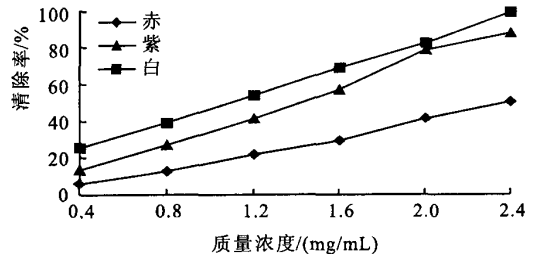


图 2 不同品种灵芝对羟基自由基的清除率

Fig. 2  $\cdot OH$  scavenging capacity for three kinds of *Ganoderma Lucidum*

## 2.4 灵芝提取物清除 $ROO\cdot$ 的效果

灵芝提取物对本体系中亚油酸脂质过氧化反应有清除作用, 其抑制能力随质量浓度的增加而增强. 因为本体系涉及强紫外线光解产生  $CH_3(OH)CH\cdot$ 、 $CH_3(OH)CH\cdot$  作用于亚油酸形成  $R\cdot$ 、 $R\cdot$  氧化形成  $ROO\cdot$  和  $ROO\cdot$  分解为 MDA 等多个过程<sup>[10]</sup>. 实验数据不足以对本体系中亚油酸氧化所涉及的各个过程进行描述, 只能从整体上描述各提取物清除亚油酸引发的脂过氧化自由基的能力.

白灵芝提取物对  $ROO\cdot$  的清除作用如表 6 和图 3 所示, 在 0.8~4.0 mg/mL 时, 随着质量浓度的升高而上升, 清除率上升幅度最大, 当质量浓度为 4.0 mg/mL 时, 清除率达到最大, 为 65.48%, 随后, 清除效果呈下降趋势. 而紫灵芝和赤灵芝对

ROO· 的清除效果并不理想,最高清除率仅为 23.33%。

表 6 白灵芝对 ROO· 的清除率

Tab. 6 ROO scavenging capacity of White Ganoderma Lucidum

样品 体积/mL	质量浓度/ (mg/mL)	清除 率/%
0.10	0.8	12.88
0.20	1.6	23.51
0.30	2.4	24.07
0.40	3.2	36.44
0.50	4.0	65.48
0.60	4.8	48.45
0.80	6.4	39.53
1.00	8.0	35.84

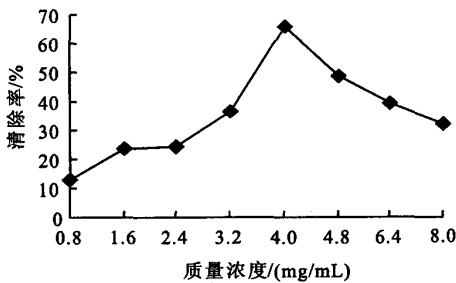


图 3 白灵芝对脂过氧自由基的清除率

Fig. 3 ROO scavenging capacity of White Ganoderma Lucidum

2.5 清除能力的比较实验

目前文献报道已证实,茶多酚对超氧自由基、羟基自由基均有较好的清除效果.因此,作者选用白灵芝与茶多酚进行比照试验.在清除超氧自由基的试验中发现:在样品体积为 0.05 mL 时,茶多酚的清除率为 40.79%,而白灵芝仅为 17.08%,两者相差较大;随后,两者皆呈上升趋势,茶多酚在样品体积为 0.3 mL 时,清除率已达到 92.55%,之后升高趋于缓慢;白灵芝在样品体积为 0.6 mL 时,清除率达到 91.47%,此后上升趋势逐渐平缓,接近于茶多酚的清除率.在清除羟基自由基的试验中发现:茶多酚对于羟基自由基的清除效果随着加入体积的增加,呈平缓的趋势上升,最大清除率为 65.49%;而白灵芝对于羟基自由基的清除率呈线性上升,其幅度明显比茶多酚大,在 0.05~0.15 mL 时,其清除率比茶多酚要低,之后随着加入体积的增加,清除效果越好,当样品添加体积为 0.3 mL 时,清除率最高,为 99.17%.由此可见,灵芝提取物对于超氧

万方数据

自由基的清除效果略低于茶多酚,而对于羟基自由基的清除效果,灵芝提取液高,比茶多酚好,结果见表 7,8 和图 4,5.

表 7 白灵芝与茶多酚对超氧自由基的清除比较

Tab. 7 Comparison of O<sub>2</sub><sup>-</sup>· scavenging capacity between White Ganoderma Lucidum and Tea Polyphenol

样品 体积/mL	清除率/%	
	白灵芝	茶多酚
0.05	17.08	40.79
0.10	35.66	69.57
0.20	54.62	85.59
0.30	70.28	92.55
0.40	80.38	92.96
0.50	89.43	94.20
0.60	91.47	96.07
0.70	92.67	96.53
0.80	94.48	96.53
0.90	100.40	101.00

表 8 白灵芝与茶多酚对羟基自由基的清除比较

Tab. 8 Comparison of ·OH scavenging capacity between White Ganoderma Lucidum and Tea Polyphenol

样品体积/ mL	清除率/%	
	白灵芝	茶多酚
0.05	25.62	41.55
0.10	39.26	48.29
0.15	53.72	57.75
0.20	69.01	60.56
0.25	82.23	61.27
0.30	99.17	65.49

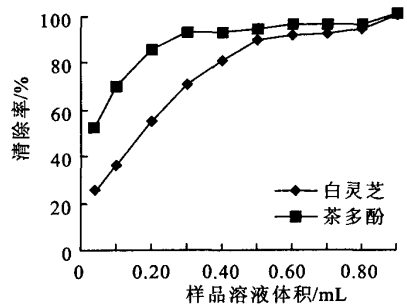


图 4 白灵芝与茶多酚对超氧自由基的清除比较

Fig. 4 Comparison of O<sub>2</sub><sup>-</sup>· scavenging capacity between White Ganoderma Lucidum and Tea Polyphenol

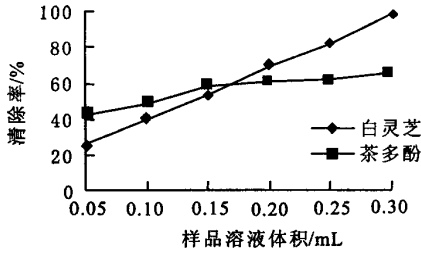


图5 白灵芝与茶多酚对羟基自由基的清除比较

Fig. 5 Comparison of  $\cdot\text{OH}$  scavenging capacity between White Ganoderma Lucidum and Tea Polyphenol

### 3 结论

- 1) 灵芝提取液中总黄酮质量浓度最高的提取条件为:用体积分数85%丙酮浸泡灵芝,超声时间为20 min,液固体积质量比为15 mL:1 g.
- 2) 通过对白灵芝、紫灵芝和赤灵芝提取液与

$\text{O}_2^{\cdot-}$  的清除效果比较,白灵芝的清除效果最好,在一定质量浓度范围内,随着质量浓度的升高,清除能力不断增强,最高可达100%.

3) 通过对白灵芝、紫灵芝和赤灵芝提取液与 $\cdot\text{OH}$ 的清除效果比较,白灵芝的清除效果最好,在一定质量浓度范围内,随着质量浓度的升高,清除能力不断增强,最高可达99.17%.

4) 通过对白灵芝对 $\text{ROO}\cdot$ 的清除效果比较,其清除率最高可达65.48%,之后随着质量浓度的升高,清除率有所下降,而紫灵芝和赤灵芝对 $\text{ROO}\cdot$ 的清除效果皆不太理想.

5) 综合3种灵芝对 $\text{O}_2^{\cdot-}$ 、 $\cdot\text{OH}$ 、 $\text{ROO}\cdot$ 的清除效果,白灵芝清除效果最佳,紫灵芝次之,赤灵芝相对最差.

总之,通过灵芝提取液中生物活性物质对自由基清除的方法研究,对灵芝的综合利用和进一步开发有重要的意义.

### 参考文献:

- [1] 张立新,杭瑚,王宗花,等.某些常见蔬菜抗氧活性的研究[J].食品科学,1999,(11):21-23.
- [2] 周选围,林娟.中国野生灵芝资源的开发利用[J].食用菌学报,1999,6(1):58-64.
- [3] 饶发元.灵芝的临床应用与国内外研究[J].四川中医,2001,19(12):17-18.
- [4] 许钢,胡剑.竹叶黄酮提取方法的研究[J].分析化学研究简报,2000,(7):857-859.
- [5] 郑用熙.分析化学中的数理统计方法[M].北京:科学出版社,1986.18.
- [6] Beauchamp C, Fridovich I. Superoxide dismutase: Improved assays and an assay applicable to acrylamid gels[J]. Anal Biochem, 1971, 44: 276-287.
- [7] Rowley D A, Halliwell B. Superoxide-dependent and ascorbate-dependent formation of hydroxyl radicals in the presence of copper salts: a physiologically significant reaction: archs siochem[J]. Biophys, 1983, 225(1): 283.
- [8] 胡迎芬,胡博路,孟洁,等.月季花抗氧化作用的研究[J].食品工业科技,2000,21(4):24-26.
- [9] 范小晓,严小军,房国明,等.高分子褐藻多酚抗氧化性质研究[J].水生生物学报,1999,23(5):494-499.
- [10] 李丹,肖刚,丁霄霖.苦荞黄酮清除自由基作用的研究[J].食品科技,2000,(6):61-64.
- [11] 张燕平.食品安全、营养与发展[M].北京:中国农业科技出版社,2002.76-82.

(责任编辑:朱明)