

Study on Antioxidation of Extracts from Irradiated *Inonotus obliquus*

Chunying Chi¹, Linghui Zheng², Yanqiu Chang¹, Shengli Li², Chengbi Cui^{1*}

¹Agricultural College, Yanbian University, Yanji Jilin

²Zhejiang Hisun Pharmaceutical Co. Ltd., Taizhou Zhejiang

Email: 727105885@qq.com, *cuichengbi@ybu.edu.cn

Received: Jul. 20th, 2018; accepted: Jul. 31st, 2018; published: Aug. 6th, 2018

Abstract

In order to determine the antioxidant effects of irradiation on *Inonotus obliquus*, 0 kGy, 5 kGy, 10 kGy, 20 kGy and 30 kGy ⁶⁰Co-gamma ray irradiation was applied to *Inonotus obliquus*. By determining *Inonotus obliquus*'s total antioxidant capacity, DPPH· scavenging activity, scavenging ·OH ability and total reduction capacity, the antioxidant effect of radiated *Inonotus obliquus* extracts was studied. The results show that the total antioxidant capacity was different in different irradiation doses. The total antioxidant capacity of 20 kGy irradiated *Inonotus obliquus* extract was the highest, but significantly lower than that of vitamin C. At the same concentration of *Inonotus obliquus*, total antioxidant capacity, DPPH· scavenging activity, and scavenging ·OH ability, total reduction capacity with different irradiation doses were significantly different. With the increase of sample concentration, DPPH· scavenging activity, and scavenging ·OH ability were significantly increased with the increase of sample concentration, but they were all significantly lower than the vitamin C scavenging capacity; the total reduction force of different irradiated doses of *Inonotus obliquus* was fluctuated, but significantly lower than the total reducing power of vitamin C.

Keywords

Irradiation, *Inonotus obliquus*, Extraction, Antioxidant Activity

辐照桦褐孔菌提取物抗氧化作用的研究

池春樱¹, 郑玲辉², 常艳秋¹, 李胜立², 崔承弼^{1*}

¹延边大学农学院, 吉林 延吉

²浙江海正药业股份有限公司, 浙江 台州

Email: 727105885@qq.com, *cuichengbi@ybu.edu.cn

收稿日期: 2018年7月20日; 录用日期: 2018年7月31日; 发布日期: 2018年8月6日

*通讯作者。

摘要

为了研究辐照对桦褐孔菌的抗氧化作用的影响,使用不同辐照剂量,即0 kGy、5 kGy、10 kGy、20 kGy和30 kGy的 ^{60}Co - γ 射线进行辐照处理,通过测定辐照桦褐孔菌提取物的总抗氧化能力、DPPH·清除能力、·OH清除能力和总还原力来研究辐照桦褐孔菌提取物的抗氧化作用。结果表明,不同辐照剂量的桦褐孔菌的总抗氧化能力之间存在一定的差异,20 kGy辐照处理的桦褐孔菌提取物的总抗氧化能力最高,但是它显著低于维生素C的总抗氧化能力;在相同浓度下,不同辐照剂量的桦褐孔菌提取物的DPPH·和·OH清除能力存在显著差异;对于相同辐照剂量的样品,DPPH·清除能力和·OH清除能力随着样品的增加而显著增加,但均显著低于维生素C清除能力($p < 0.05$);不同辐照剂量的桦褐孔菌提取物的总还原力存在波动,但均显著低于维生素C的总还原力。

关键词

辐照, 桦褐孔菌, 提取物, 抗氧化

Copyright © 2018 by authors and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

1. 引言

天然产物在新药研究中发挥着重要的作用,是当代人们探讨和开发的热点话题之一,其中桦褐孔菌是很多科学学者的关注对象。桦褐孔菌具有孕育情况特殊、自然资源有限、难以人工培育的特点,因此加强该菌的钻探势在必行[1][2]。各个国家开始重视桦褐孔菌,例如俄罗斯人民称其为“神奇的药物”,日本在世界各国提出了专利申请保护,美国则已列入为“特殊天然物”宇宙人的未来饮品行列里,韩国开始加强对菌丝体的培养研究以及液体培养[2]。人们很早就发现桦褐孔菌可以食用,并研发了桦褐孔菌类茶、桦褐孔菌类药用菌[3][4]。

桦褐孔菌又被称为白桦茸、桦孔茸,是一种药物真菌[5][6]。桦褐孔菌生存在北半球北纬 $45^{\circ}\text{C}\sim 50^{\circ}\text{C}$ 的 -40°C 的低温下,足以阐明桦褐孔菌菌丝体耐热[6]。桦褐孔菌在黑龙江、吉林、长白山、北美、俄罗斯北部、日本和北海道等寒冷地区生长。从16世纪到17世纪,东欧、俄罗斯和其他国家开始使用桦褐孔菌的功效来防治各种疾病[7][8]。桦褐孔菌一直是俄罗斯当地人的最爱,它通常被用作治疗俄罗斯人患癌症的药用菌。在俄罗斯、美国、日本、韩国和其他国家,他们对桦褐孔菌的药理活性的早期研究增加了他们的探索努力[2]。在我国,对桦褐孔菌的了解不足,学者们后来开始对桦褐孔菌进行研究,与其他国家相比,对桦褐孔菌的研究不够深入。但近年来,学者们认识到桦褐孔菌的优越特性,在桦褐孔菌的开发和应用方面取得了重大进展。许淼等[3]报道了桦褐孔菌的主要成分以及其药用价值。陈艳秋等[2]掌握了桦褐孔菌的人工栽培原理。钟秀宏等[9]分析了桦褐孔菌多糖,结果表明其多糖具备多种药理活性。如血糖,血脂,免疫调节,抗肿瘤,抗辐射,抗氧化等。此外,还有许多研究人员对桦褐孔菌进行了各种研究。研究表明,桦褐孔菌治疗突发性疾病和预防胃癌,肝癌,食道癌,结肠癌,各种消化器官癌症和心脏病,白血病和糖尿病的突然发作等流行病具有显著作用[9][10]。

辐照处理就是使用辐照射线对样品进行处理,目前主要应用在杀菌和诱变育种等方面[11][12][13]。辐照诱变育种能够创造和培育新品种,不仅突变率高、突变性状稳定,而且育种周期短、操作简单,早

已被学者们发现并应用于许多领域中。辐射灭菌的原理是通过射线的能量杀灭物体表面或内部的各种微生物或昆虫,从而延长物体的保存和保存时间[14]。相比之下, ^{60}Co - γ 射线处理较为常见,且其穿透力强、成本低,用于杀菌时具有快捷方便,无污染、无残留、杀菌彻底等优点,属于一种新型、高效辐射方法,应用前景广阔[15]。不仅如此,还易引起植物形态结构和生理生化的变异,因此选择了 ^{60}Co - γ 射线辐照处理桦褐孔菌,进而研究其抗氧化能力。

氧化作用造成细胞膜破坏,使血清蛋白酶活性丧失,损伤的基因导致细胞变异的发生和积累[4]。抗氧化能力与抗病性、抗逆性和延缓衰老密切相关。近年来,有不少学者探讨了抗氧化性问题。甘瑾[16]对抗氧化性物质的研究表明,玛咖具有较强的抗氧化性能;田平等[17]人对核桃青皮进行研究,得出核桃青皮具有抗氧化;李洋等[18]人对枸杞进行研究,结果表明枸杞具有抗氧化活性。

本实验通过测定辐照桦褐孔菌提取物的总抗氧化能力、DPPH·清除能力、 $\cdot\text{OH}$ 清除能力和总还原力来研究辐照桦褐孔菌提取物的抗氧化效果,为辐照处理的桦褐孔菌的抗氧化效果研究提供参考。

2. 材料与方法

2.1. 试验材料

经不同剂量 ^{60}Co - γ 射线处理的桦褐孔菌(本实验所用的桦褐孔菌由长白山科学研究院提供,并于四川省原子能研究院进行辐照处理)。

2.2. 试剂

对乙酸钠、TPTZ、三氯化铁、磷酸氢钠、磷酸二氢钠、磷酸二氢钾、铁氰化钾、三氯乙酸、DPPH溶液、硫酸亚铁、水杨酸、过氧化氢(所用试剂都为分析纯),来自中国药集团化学试剂有限公司。

2.3. 仪器设备

标准型圆周(线性)摇床 SK-O/L 180-E: 上海泱浩仪器有限公司;
KRT 65-6 型冷藏冷冻柜: 青岛特博尔科技发展有限公司;
TDZ 5-WS 台式低速离心机: 长沙湘智离心机仪器有限公司;
CS-500A 型高速多功能粉碎机: 辰禾盛丰工贸有限公司;
SP-Max 3500 FL 型多功能荧光酶标仪: 上海闪谱生物科技有限公司;
HWS-24 电热恒温水浴锅: 上海齐欣科学仪器有限公司;
JJ224BC 双杰电子天平: 美国双杰 G & G 电子天平有限公司。

2.4. 试验方法

2.4.1. 试验样品的制备

参考文献[19],并做稍微改动。将原材料桦褐孔菌用 0 kGy、5 kGy、10 kGy、20 kGy、30 kGy 的 ^{60}Co - γ 射线分别处理 96 min、192 min、288 min、384 min、576 min 得到的不同辐照剂量的桦褐孔菌进行粉碎,称取适量桦褐孔菌粉末,加入 85%乙醇,充分混合后,80℃水浴 2.5 h,4000 r/min 离心 20 min,浓缩、冻干,备用。称量提取物,加入 85%乙醇溶解,备用。

2.4.2. 抗氧化活性

1) FRAP 法总抗氧化能力的测定

采用 Zoran Maksimovic 等[4]方法,样液 0.1 mL 同 FRAP 工作液(0.3 mol/L pH 3.6 乙酸钠缓冲液、10 mmol/L TPTZ 和 20 mmol/L 三氯化铁以体积比 10:1:1) 3.0 mL 混匀,37℃反应 10 min,以 FeSO_4 为标准做

标准曲线, 样品的抗氧化能力以 mmol/L 表示, 检测所需波长为 593 nm。

2) DPPH·清除能力

参考文献[20] [21], 并做稍微改动。称取 DPPH 3.9432 g 放入无水乙醇溶解, 避光保存。速度为 450 rpm, 20 min 摇晃。在 560 nm 波长处的吸光度测量。将溶液置于 96 孔板中, 第一组加入样品的溶剂 20 μ L 和 DPPH 溶液 180 μ L, 吸光值记为 C ; 第二组加入 20 μ L 溶剂和 180 μ L 无水乙醇, 并将吸光度值记录为 C_B ; 第三组加入样品 20 μ L 和 DPPH 溶液, 吸光值记为 S ; 第四组加入样品 20 μ L 和无水乙醇 180 μ L, 吸光值记为 S_B 。同时每个浓度重复三次, 实验结果用清除率(%)来表示。

$$\text{DPPH 清除率公式: 清除率(\%)} = \frac{(C - C_B) - (S - S_B)}{C - C_B} \times 100\%$$

3) 羟基自由基清除效果的测定

参考文献[22] [23] [24] [25], 并做稍微改动。依次加入 2 mL 6 mmol/L 硫酸亚铁溶液和 2 mL 6 mmol/L 双氧水, 立即混匀, 再加入样品 1 mL, 充分混合并静置 10 min, 实验组里加入 2 mL 6 mmol/L 水杨酸无水乙醇溶液, 对照组里加入 2 mL 无水乙醇, 37 $^{\circ}$ C 水浴处理 30 min, 4000 r/min 离心 10 min。最后取上清液于 510 nm 处测吸光值, 以 85%乙醇作为空白组。

$$\text{清除率(\%)} = \frac{A_0 - A_1 + A_2}{A_0} \times 100\%$$

式中: A_0 —空白样品的吸光值;

A_1 —样品组吸光值;

A_2 —对照组吸光值;

4) 总还原力

总还原力的测定方法参考文献[20] [26]并略有改变。制备 0.2 mol/L 磷酸氢二钠溶液、0.2 mol/L 磷酸二氢钠溶液、1%铁氰化钾溶液、10%三氯乙酸溶液、1%三氯化铁溶液。样品溶液 1.0 mL 加入到磷酸缓冲液(0.2 mol/L, pH 6.6) 2.5 mL 中, 然后加 1% (w/v)铁氰化钾溶液 2.5 mL, 50 $^{\circ}$ C 水浴 30 min 后加 10% (w/v)三氯乙酸 2.5 mL, 混匀后 1500 r/min 离心 10 min, 上清液 2.5 mL 同水 2.5 mL 和 0.1%三氯化铁 0.5 mL, 充分反应。在 700 nm 波长处测定, 表示为 OD_{700} , 吸光度值越大, 还原能力越强。

5) 统计方法

上述实验均重复三次, 结果用平均值 \pm 标准偏差表示。采用 Excel (2007)和 SPSS (19.0)软件对数据进行整理及统计分析。

3. 结果

3.1. 辐照桦褐孔菌提取物的总抗氧化能力

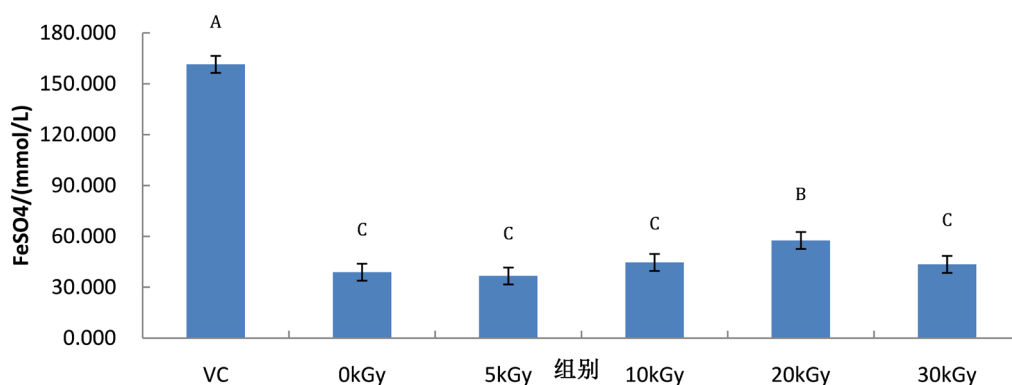
总抗氧化能力是测定抗氧化效果的方法之一。图 1 表示的是辐照桦褐孔菌的总抗氧化能力。硫酸亚铁的标准曲线的公式是: $y = 0.007x + 0.094$, $R^2 = 0.9974$ 。由图 1 可知, 不同辐照剂量的桦褐孔菌的总抗氧化能力不同, 20 kGy 的辐照处理的桦褐孔菌提取物的总抗氧化能力显著高于其他剂量的辐照处理, 但显著低于维生素 C 的总抗氧化能力。Cui 等[27]报道, 桦褐孔菌中提取的多糖具有较弱的抗氧化活性; 从桦褐孔菌提取的多酚可能是其抗氧化活性的主要原因之一。本实验 20 kGy 辐照剂量时, 可能部分多糖、多酚物质的含量有所提高, 导致桦褐孔菌整体的总抗氧化能力提高了。过高或过低的辐照剂量会抑制其总抗氧化能力, 适当剂量的 $^{60}\text{Co-}\gamma$ 射线辐照处理对桦褐孔菌总抗氧化能力的具有积极作用。

3.2. 辐照桦褐孔菌提取物的 DPPH·清除能力

1,1-二苯基-三硝基苯肼(DPPH)是人工合成的一种稳定自由基,它在 517 nm 具有最大吸收峰,具有稳定的单电子,并且甲醇溶液呈紫红色,自由基清除剂存在时与其单电子结合,颜色变浅,OD 值减少[21]。图 2 表示的是辐照桦褐孔菌提取物的 DPPH 清除能力,由图 2 可知,相同浓度下,不同辐照剂量的桦褐孔菌提取物的 DPPH·清除能力存在显著性差异;对于相同的辐照剂量的样品,随着样品浓度的增加,DPPH 清除能力显著增加,但都低于维生素 C 的 DPPH 清除能力。浓度的改变也有可能对 DPPH 的清除能力有一定影响。不同辐照计量的桦褐孔菌提取物清除 DPPH 自由基的 IC_{50} 值分别为 0.252 mg/mL、0.303 mg/mL、0.355 mg/mL、0.331 mg/mL、0.25 mg/mL。

3.3. 辐照桦褐孔菌提取物的羟基自由基清除能力

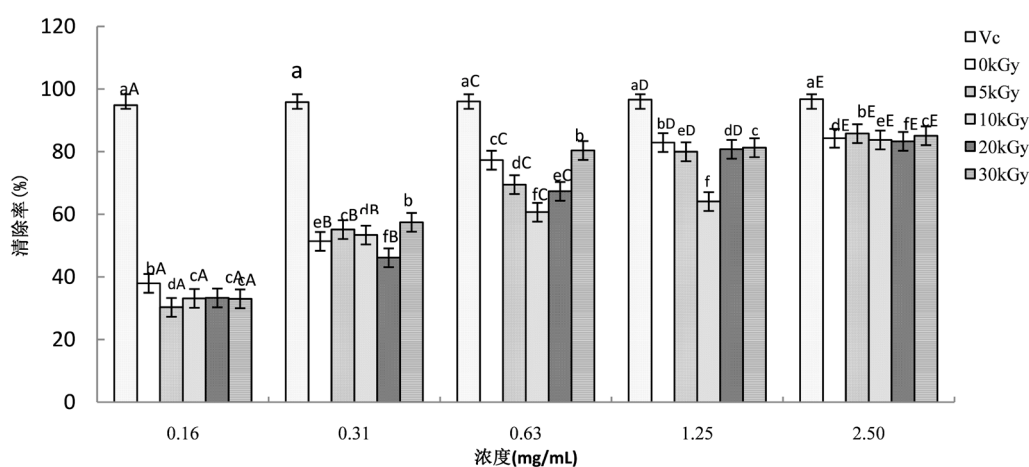
水杨酸法是利用过氧化氢与 Fe^{2+} 混合生成 $\cdot OH$, 加入到反应体系中的水杨酸可以有效地捕获 $\cdot OH$, 并在 510 nm 波长处产生强吸收的有色产物。而加入到反应体系中的水杨酸能有效捕捉 $\cdot OH$, 并能产生在波长



注: 差异显著($p < 0.05$), 差异不显著($p > 0.05$)。

Figure 1. Total antioxidant capacity of extracts from irradiated *Inonotus obliquus*

图 1. 辐照桦褐孔菌提取物的总抗氧化能力



注: 小写字母表示不同辐照剂量的样品相同浓度时 DPPH 清除能力差异显著($p < 0.05$); 大写字母表示相同辐照剂量不同浓度时 DPPH 清除能力差异显著($p < 0.05$)。

Figure 2. DPPH scavenging ability of different irradiation doses of irradiated *Inonotus obliquus* extract

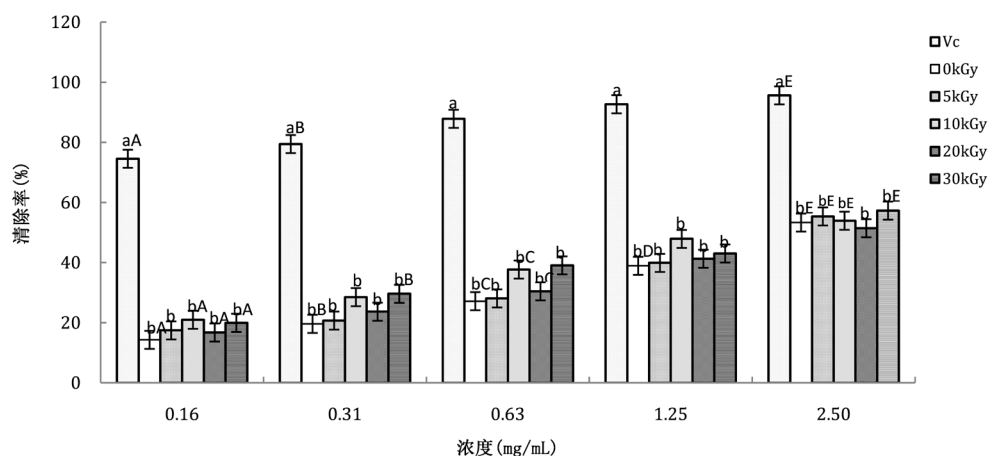
图 2. 辐照桦褐孔菌提取物的不同辐射的 DPPH 清除能力

510 nm 处有强吸收的有色产物；若加入的样品液具有清除·OH 的作用，就会与水杨酸争夺·OH，使有色产物的生成量减少，颜色变浅。羟基自由基是生物体内危害最大、活性最强的氧自由基，因此，羟基自由基的清除率是反映药物抗氧化作用强弱的重要指标[27] [28]。

图 3 表示的是辐照桦褐孔菌的羟基自由基清除能力。从图 3 可以看出，在相同浓度下，不同剂量桦褐孔菌提取物对羟基自由基的清除能力存在显著差异；对于相同辐照剂量处理的样品，羟基自由基清除能力随着浓度的增加而显著增加，但明显低于维生素 C 的羟基自由基清除能力。不同辐照剂量的桦褐孔菌提取物清除 DPPH·自由基的 IC_{50} 值分别为 2.241 mg/mL、2.122 mg/mL、1.64 mg/mL、2.292 mg/mL、1.611 mg/mL。

3.4. 辐照桦褐孔菌提取物的总还原能力

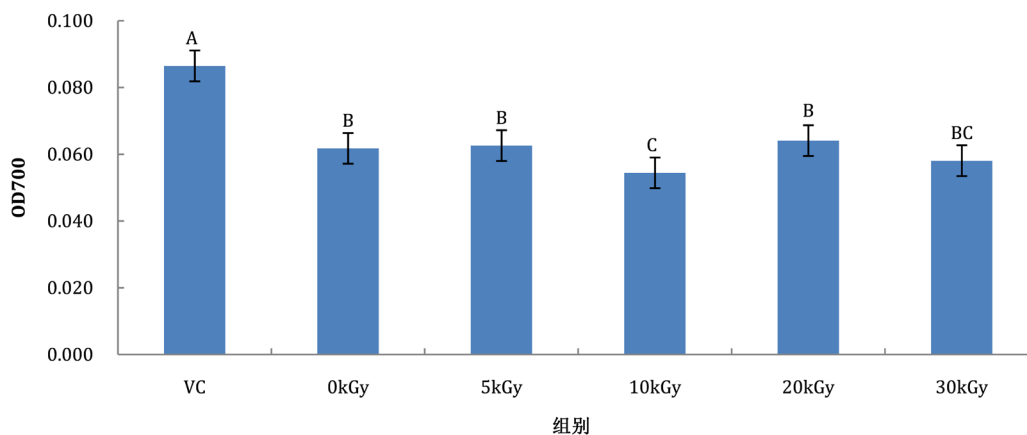
铁氰化钾法是当反应体系中有抗氧化剂时，会使铁离子-铁氰化钾复合物中的 Fe^{3+} 转变成 Fe^{2+} ， Fe^{2+} 复合物在波长 700 nm 处有最大吸收，吸光度值越大表明还原能力越强。图 4 表示的是辐照桦褐孔菌提取



注：小写字母表示不同辐照剂量的样品相同浓度时羟基自由基清除能力差异显著 ($p < 0.05$)；大写字母表示相同辐照剂量不同浓度时羟基自由基清除能力差异显著 ($p < 0.05$)。

Figure 3. The hydroxyl radical scavenging ability of irradiated *Inonotus obliquus* extract

图 3. 辐照桦褐孔菌提取物的羟基自由基清除能力



注：差异显著 ($p < 0.05$)，差异不显著 ($p > 0.05$)。

Figure 4. Total reducing power of irradiated *Inonotus obliquus* extract

图 4. 辐照桦褐孔菌提取物的总还原能力

物的总还原能力,由图4可知,不同辐照剂量的桦褐孔菌提取物的总还原力有波动,0 kGy、5 kGy、20 kGy、30 kGy 辐照处理的桦褐孔菌提取物的总还原力无显著差异, 10 kGy 和 30 kGy 辐照处理的桦褐孔菌提取物的总还原力无显著差异, 但 10 kGy 辐照处理的桦褐孔菌提取物的总还原力显著低于 0 kGy、5 kGy 和 20 kGy 辐照处理的桦褐孔菌提取物的总还原力,桦褐孔菌提取物的总还原力都显著低于维生素 C 的总还原力。0 kGy、5 kGy、20 kGy、30 kGy 辐照剂量时,总还原能力较为敏感。

4. 讨论

桦褐孔菌是稀有珍贵的药用真菌,具有成本低、生长周期短等特点。大量研究表明药用真菌对病毒有显著的抑制作用。桦褐孔菌具有抗氧化、抗病毒、降血压和降血脂、抗癌等作用,是一种极度想要开发的一种天然抗氧化剂,但是受到各种因素的限制,目前还不能广泛使用。本文对桦褐孔菌的抗氧化能力进行了研究,采取了⁶⁰Co- γ 射线辐照处理了桦褐孔菌,测得其抗氧化能力。

0 kGy 辐照处理的样品,总抗氧化能力显著低于 20 kGy 辐照的样品,与其他辐照剂量相比较,并没有很大的差距。相同浓度不同辐照剂量的桦褐孔菌作为参考,与最小辐照剂量 5 kGy 相比,DPPH 清除能力和羟基自由基清除能力先减小后增大,然后再次降低、增大。总还原能力与其他辐照剂量相比较,总还原能力并不是最差,可能是由于一定剂量的辐照导致桦褐孔菌中的抗氧化物质的含量发生了变化,降低了总还原能力。

30 kGy 辐照处理的样品,总抗氧化能力与其他辐照剂量的相比较,并非最大的辐照剂量对应的总抗氧化能力最大,而是在 20 kGy 辐照剂量时,得出了最佳效果。相同浓度不同辐照剂量的桦褐孔菌作为参考,与最小辐照剂量 5 kGy 相比,本实验数据显示的是,并没有显著性差异。

总结得出,辐照桦褐孔菌具有较强的抗氧化作用。通过适当剂量的辐照可以提高其抗氧化效果,对于本实验的四项实验数据进行分析发现,猜测桦褐孔菌对于辐照并非敏感。可以对 10 kGy 到 30 kGy 的范围进行辐照剂量梯度的改变,进一步进行实验,得出抗氧化效果最好的辐照剂量。本实验结合前人的研究结果,对辐照桦褐孔菌的抗氧化效果进行探讨,以期对辐照桦褐孔菌的抗氧化性研究提供了参考。

5. 结论

通过上述实验结果,得到如下实验结论:

- 1) 不同辐照剂量的桦褐孔菌的总抗氧化能力不同,20 kGy 的辐照处理的桦褐孔菌提取物总抗氧化能力最高,但显著低于维生素 C 的总抗氧化能力;
- 2) 相同浓度时,不同辐照剂量的桦褐孔菌提取物的 DPPH·和·OH 清除能力存在显著性差异;相同辐照剂量的桦褐孔菌,随着浓度的增加,DPPH·和·OH 清除能力显著增加,但都显著低于维生素 C 的清除能力;
- 3) 不同辐照剂量的桦褐孔菌提取物的总还原力存在一定的波动,但均显著低于维生素 C 的总还原力。

基金项目

国家自然科学基金资助项目(31160314)。

参考文献

- [1] 杜秀菊,张扬,刘莲芬,陈韵.桦褐孔菌提取物抗氧化活性部位的筛选[J].食品安全质量检测学报,2015,6(10):4219-4224.
- [2] 陈艳秋,李玉.桦褐孔菌的研究进展[J].微生物学通报,2005(2):124-127.
- [3] 许淼,王谦鹏.桦褐孔菌的研究[J].医学信息,2015,28(29):238-239.

- [4] 李孝坤, 马金菊, 王浩. 桦褐孔菌抗氧化物质的提取工艺优化及其活性[J]. 食品研究与开发, 2015, 36(16): 53-57.
- [5] 李建光, 司俊娜. 桦褐孔菌研究综述[J]. 安徽农业科学, 2008, 36(2): 571-582.
- [6] 高雪丽, 高愿军, 吴广辉. 桦褐孔菌功能特性的研究进展[J]. 食品与机械, 2006, 22(5): 126-131.
- [7] 黄年来. 俄罗斯神秘民间药用真菌-桦褐孔菌[J]. 中国食用菌, 2002, 21(4): 7-10.
- [8] Li, Y.M., Chan, H.Y.E., Huang, Y., et al. (2007) Green Tea Catechins Upregulate Superoxide Dismutase and Catalase in Fruit Flies. *Food Research*, **51**, 546-554.
- [9] 钟秀宏, 孙艳美, 郑楷, 等. 桦褐孔菌多糖药理活性研究进展[J]. 上海中医药杂志, 2016, 50(1): 94-97.
- [10] 吴艳玲, 南极星. 桦褐孔菌多糖对小鼠抗氧化清除自由基作用的研究[J]. 亚太传统医药, 2009, 5(12): 9-10.
- [11] 张杰, 杨旭东, 包海花. 桦褐孔菌多糖诱导人卵巢癌细胞凋亡的研究[J]. 中国食用菌, 2010, 29(4): 38-39.
- [12] 孔广红, 柳颀, 倪书邦, 等. 澳洲坚果接种 $^{60}\text{Co-}\gamma$ 射线辐射诱变育种适宜剂量的研究[J]. 西南农业学报, 2016, 29(1): 39-43.
- [13] 毛淑红, 靳根明, 卫增泉. 药用微生物辐照诱变研究进展[J]. 激光生物学报, 2004, 13(1): 25-29.
- [14] 蒲彪, 艾志录. 食品工艺学导论[M]. 北京: 科学出版社, 2012: 227.
- [15] 黄桂丹. $^{60}\text{Co-}\gamma$ 射线辐射育种研究进展[J]. 林业与环境科学, 2016, 32(2): 107-111.
- [16] 甘瑾. 玛咖(*Lepidium meyenii* Walp.)抗氧化活性及活性物质基础的研究[D]: [博士学位论文]. 北京: 中国林业科学研究院, 2013.
- [17] 田平平, 李仁宙, 简永健, 等. 核桃青皮的强抗氧化活性成分及其抗氧化稳定性[J]. 中国农业科学, 2016, 49(3): 543-553.
- [18] 李洋, 马文平, 倪志婧. 宁夏枸杞体外抗氧化机理研究[J]. 食品科学, 2014, 35(1): 79-84.
- [19] 王雪芹. 鲑鱼多肽的抗氧化活性与抗疲劳作用研究[D]: [博士学位论文]. 北京: 中国科学院大学, 2014.
- [20] Wang, Y.F. and Yang, Z.W. (2012) Antioxidant Activities Potential of Tea Polysaccharide Fractions Obtained by Ultrafiltration. *International Journal of Biological Macromolecules*, **50**, 558-564. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2011.12.028>
- [21] Blois, M.S. (2012) Antioxidant Determinations by the Use of a Stable Free Radical. *Natures*, **26**, 1199-1203.
- [22] 张丽霞, 张伟娜, 李凌智. 不同提取方法对桦褐孔菌多糖抗氧化活性的影响[J]. 安徽农业科学, 2012, 40(10): 5870-5872.
- [23] 吴龙月, 陈瑶, 向福, 等. 杏鲍菇多糖的酶法提取及其保湿和抗氧化活性评价[J]. 中国酿造, 2017, 36(5): 161-165.
- [24] 来吉祥. 黑豆萌芽水提物抗氧化活性研究及其机理初探[D]: [博士学位论文]. 无锡: 江南大学, 2014.
- [25] 徐红艳, 褚凤艳, 包怡红. 胡桃楸种仁壳黄酮的纯化及抗氧化性研究[J]. 食品工业科技, 2012, 22(33): 113-122.
- [26] Nakajima, Y., Sato, Y. and Konishi, T. (2007) Antioxidant Small Phenolic Ingredients in *Inonotus obliquus* (persoon) Pilat(Chaga). *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*, **55**, 1222-1226. <https://doi.org/10.1248/cpb.55.1222>
- [27] Cui, Y., Kim, D.-S. and Park, K.-C. (2005) Antioxidant Effect of *Inonotus obliquus*. *Journal of Ethnopharmacology*, **96**, 79-85. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2004.08.037>
- [28] 高愿军, 高雪丽, 吴广辉, 等. $^{60}\text{Co-}\gamma$ 射线辐照对几种植物提取物有效成份的影响[J]. 激光生物学报, 2012, 11(5): 335-337.

知网检索的两种方式：

1. 打开知网页面 <http://kns.cnki.net/kns/brief/result.aspx?dbPrefix=WWJD>
下拉列表框选择：[ISSN]，输入期刊 ISSN：2166-613X，即可查询
2. 打开知网首页 <http://cnki.net/>
左侧“国际文献总库”进入，输入文章标题，即可查询

投稿请点击：<http://www.hanspub.org/Submission.aspx>

期刊邮箱：hjfs@hanspub.org