

# 陕西苦菜叶总黄酮的提取 及抗氧化活性的测定

周劝娥, 田呈瑞\*, 关 为, 张增帅, 马婷婷

(陕西师范大学食品工程与营养科学学院, 陕西西安 710062)

**摘要:**苦菜总黄酮的提取及抗氧化活性的研究可提高我国野生资源利用和活性成分的开发。以苦菜为原料, 采用超声波辅助提取法对苦菜叶总黄酮的提取工艺进行优化, 采用分光光度法测定提取物的还原力, 对羟基自由基( $\cdot\text{OH}$ )、超氧阴离子( $\text{O}_2^- \cdot$ )、DPPH 自由基(DPPH $\cdot$ )的清除作用进行研究。结果表明: 超声波辅助提取的优化工艺参数为乙醇体积分数 80%、提取温度 70℃、料液比 1:35、超声时间 40min, 此条件下总黄酮的提取含量为 64.62mg/g。苦菜叶黄酮对羟基自由基、超氧阴离子、DPPH 自由基具有良好的清除能力, 同时还具有较强的还原能力, 活性大小与提取物的浓度呈明显的线性关系。

**关键词:**苦菜, 总黄酮, 超声波辅助提取, 抗氧化

## Optimization for ultrasonic-assisted extraction of total flavonoids from wild *patrinia villosa* in shaanxi and its antioxidant activity determination *in vitro*

ZHOU Quan-e, TIAN Cheng-rui\*, GUAN Wei, ZHANG Zeng-shuai, MA Ting-ting

(The College of Food Engineering and Nutrition Science, Shaanxi Normal University, Shaanxi 710062, China)

**Abstract:** Extraction of total flavonoids from wild *patrinia villosa* and its antioxidant activity determination can make full use of this kind of wild resource and exploit activity component. Single factors experiment and orthogonal array design methods were used to optimize the conditions for ultrasonic-assisted extraction of total flavonoids from wild *patrinia villosa*. The antioxidant activity of the extract was evaluated by spectrophotometry on its ability of scavenging hydroxyl radical( $\cdot\text{OH}$ ), superoxide anion radical( $\text{O}_2^- \cdot$ ) and 1-diphenyl-2-picrylhydrazyl(DPPH $\cdot$ ), total reducing power. Results indicated that temperature, solid-liquid ratio, ethanol concentration and extraction time significantly affected the extraction percent of total flavonoids. The optimum procedure for ultrasonic-assisted extraction of total flavonoids were ethanol concentration of 80%, extraction temperature of 70℃, ratio of material to solvent of 1:35, ultrasonic time of 40min and that the flavonoids yield was up to 64.62mg/g. The scavenging effects of the extract on  $\cdot\text{OH}$ ,  $\text{O}_2^- \cdot$ , DPPH $\cdot$  were significant, the extract also had a strong total reducing power. All these activities were concentration dependent.

**Key words:** wild *patrinia villosa*; total flavonoids; ultrasonic-assisted extraction; antioxidant

中图分类号: TS201.1

文献标识码: A

文章编号: 1002-0306(2013)09-0097-06

医学研究表明, 黄酮类化合物具有抗氧化、降血糖、降血脂、抗肿瘤、抗菌、抗病毒等作用<sup>[1-3]</sup>, 在医药、化妆品及食品工业中被广泛应用<sup>[4-6]</sup>。从 20 世纪 80 年代人们就利用黄酮类化合物研发出抗心血管病药物、止咳平喘药等, 临床上用来治疗冠心病、心绞痛、脑血管疾病、脑动脉硬化、高血压、心肌梗塞等疾病<sup>[7-9]</sup>。苦菜, 学名败酱草 (*Patrinia villosa* (Thunb.) Juss), 为败酱科植物。是一种常用的草药, 多野生于山坡、荒路、田边。苦菜分布极广, 几乎全国各地都有生长<sup>[10]</sup>, 可采摘其嫩苗或嫩叶洗净做凉拌菜或做

馅食用, 味道鲜美可口。卢新华<sup>[11]</sup>和李美化<sup>[12]</sup>等的实验证明, 苦菜有明显的抗氧化作用; 韩阳阳<sup>[13]</sup>等研究了苦菜不同部位提取物的抗氧化活性, 表明苦菜提取物的抗氧化活性与其总黄酮和总多酚的含量有关, 其不同部位的抗氧化能力大小为: 花 > 叶 > 茎 > 根; 孟良玉<sup>[14]</sup>等的研究显示, 败酱草黄酮提取物在各抗氧化体系中抗氧化活性均强于  $V_c$ 。目前, 对苦菜的研究主要集中在其粗提物活性的研究上, 对其黄酮类成分的提取工艺及其优化研究较少。苦菜的抗氧化活性因其产地的不同差异较大, 本文针对陕西野生苦菜叶总黄酮的超声波辅助提取进行了优化, 并对提取物的抗氧化活性进行了研究, 以期对陕西野生苦菜的进一步开发和合理高效利用提供依据。

### 1 材料与方法

收稿日期: 2012-10-08 \* 通讯联系人

作者简介: 周劝娥 (1989-), 女, 在读硕士研究生, 研究方向: 植物新资源开发。

## 1.1 材料与仪器

新鲜苦菜 由榆林市东方红有限责任公司提供,采自于陕西省榆林市佳县山区,采摘日期为9月15日;芦丁标准品,生化试剂 西安惠丰生化集团股份有限公司;无水乙醇、亚硝酸钠、硝酸铝、氢氧化钠、三氯化铁、三氯乙酸、氯仿、铁氰化钾、二氯化亚铁、水杨酸、双氧水等均为分析纯 西安化学试剂厂;DPPH 自由基 美国 Sigma 公司。

722 型可见分光光度计 上海光谱仪器有限公司;RE-52A 型旋转蒸发器 上海亚荣生化仪器厂;LAC164 型电子分析天平(精确至 0.0001g) 梅特勒—托利多(上海)仪器有限公司;FW100 型高速万能植物粉碎机 天津市泰斯特仪器有限公司;KQ-600DB型超声波清洗器 昆山市超声仪器有限公司;GZX-9146MBE 数显鼓风干燥箱 上海博迅实业有限公司医疗设备厂;其他均为实验室常用设备与仪器。

## 1.2 实验方法

1.2.1 样品处理 新鲜苦菜→摊凉→去除杂物→洗净→晒至半干→烘箱内 50℃ 烘干→植物粉碎机粉碎→过 60 目筛→密封保存备用。

### 1.2.2 标准曲线的制备

1.2.2.1 芦丁标准溶液的配制 精确称取芦丁标准品 0.0100g,置于 100mL 容量瓶中,用 70% 乙醇溶解,稀释至刻度,摇匀,即可得浓度为 0.1mg/mL 芦丁标准溶液。

1.2.2.2 标准曲线的制作<sup>[15]</sup> 精确吸取标准溶液 0.0、1.0、2.0、3.0、4.0、5.0mL 分别置于 6 个 10mL 试管中,用 30% 的乙醇补足至 5.0mL。再加入 0.3mL 5% 的亚硝酸溶液,摇匀,静置 6min。精确加入 0.3mL 10% 的硝酸铝溶液,摇匀,静置 6min。再加入 4.0mL 4% 的氢氧化钠溶液,用蒸馏水定容。放置 15min,在波长 510nm 处测定吸光度,绘制标准曲线。

1.2.3 样品总黄酮含量的测定 准确称取 2.000g 苦菜粉,按实验方案进行超声波辅助提取,提取液过滤,取上清液,用 70% 的乙醇定容 50mL。取 1.0mL 样品黄酮提取液,按照 1.2.2.2 的方法测定其在 510nm 处的吸光度。根据标准曲线计算提取液中总黄酮含量。总黄酮提取含量为 1g 原料中总黄酮的质量(mg)。

$$Y = C \times V \times D / m$$

式中:Y 为总黄酮提取含量(mg/g);C 为由标准曲线计算得出的样品液的总黄酮质量浓度(mg/mL);V 为样品液的体积(mL);m 为苦菜粉末质量(g);D 为稀释倍数。

1.2.4 单因素实验 在超声功率和超声频率分别为 200W 和 80Hz 的条件下研究超声温度、料液比、乙醇浓度和超声时间对总黄酮提取含量的影响,其中:料液比采用 1:15、1:20、1:25、1:30、1:35、1:40 六个水平、超声温度采用 40、50、60、70、80℃ 五个水平、超声时间采用 10、20、30、40、50min 五个水平、乙醇体积分数采用 50%、60%、70%、80%、90% 五个水平分别进行单因素实验。

1.2.5 正交实验 选  $L_9(3^4)$  作正交实验,以总黄酮的提取含量为指标确定其最佳工艺参数。具体实验设计如表 1 所示。

表 1 正交实验设计

Table 1 The design of orthogonal test method

水平	因素			
	A 乙醇浓度 (%)	B 温度 (°C)	C 料液比	D 超声时间 (min)
1	60	60	1:25	30
2	70	70	1:30	40
3	80	80	1:35	50

### 1.2.6 抗氧化活性的测定

1.2.6.1 清除 DPPH 自由基能力的测定 参照 Brandwilliams 等<sup>[16]</sup> 的方法,稍作修改测定苦菜叶提取液纯化后对 DPPH 自由基的清除能力。实验测定之前,配制 0.1mmol/L 的 DPPH 乙醇溶液。用移液管分别吸取 1.0mL 的不同浓度黄酮样品水溶液和 3.0mL 刚配制的 DPPH 溶液于试管中,混合均匀,无光反应 30min,于 517nm 处测定其吸光度,记录数据。用等体积的蒸馏水代替黄酮样品液作空白对照,用来测定乙醇溶液中未反应之前 DPPH 的吸光度。用与样品溶液同浓度的抗坏血酸溶液和 BHT 溶液作为阳性对照。以样品液浓度为横坐标,自由基清除率为纵坐标作图分析样品的自由基清除能力。每次实验重复三次。对 DPPH 自由基的清除能力按以下公式计算:

$$I(\%) = \left(1 - \frac{A_i - A_j}{A_0}\right) \times 100$$

其中:I 表示对自由基的清除率,% ; $A_i$  表示样品溶液和 DPPH 溶液混合液的吸光度(1mL 样品溶液 + 3mL 的 DPPH 溶液); $A_j$  表示未加 DPPH 溶液的样品溶液的吸光度(1mL 样品溶液 + 3mL 的乙醇溶液); $A_0$  表示未加样品时 DPPH 溶液的吸光度(1mL 乙醇溶液 + 3mL 的 DPPH 溶液)。

1.2.6.2 还原能力的测定 样品提取液还原能力的测定按照稍作修改的 Vaquero 等<sup>[17]</sup> 的方法进行。具体的操作步骤是:取 2.5mL 的样品提取液(样品浓度的变化范围是 0.1~1.0mg/mL)加入到装有 2.5mL 0.2mol/L pH6.6 的磷酸缓冲液的试管中,再加入 2.5mL 1% 的铁氰化钾溶液混合均匀。50℃ 反应 20min 后,加入 2.5mL 10% 的三氯乙酸在 3000r/min 的转速下离心 10min,取上清液 5mL 与 4mL 的蒸馏水和 0.5mL 0.1% 的三氯化铁溶液混合。反应 10min 后,在 700nm 处测其吸光度。混合液的吸光度越高表示样品提取液的还原能力越强。

1.2.6.3 清除羟基自由基能力的测定 按照 Yan 等<sup>[18]</sup> 描述的方法测定样品提取液对羟基自由基的清除能力。将 2mL 的样品溶液与 2mL 2mmol/L 的二氯化铁、2mL 2mmol/L 的过氧化氢溶液和 2mL 6mmol/L 的水杨酸混合,再加入 10mL 的蒸馏水,在 37℃ 的水浴锅中反应 30min。在 510nm 处设置空白对照测其吸光值。阳性对照为抗坏血酸和 BHT。以样品浓度为横坐标,清除率为纵坐标作图分析对羟基自由基的清除能力。每次实验重复三次。清除率(SA)按以

下公式计算:

$$SA(\%) = \left(1 - \frac{A_i - A_j}{A_0}\right) \times 100$$

其中:  $A_0$  表示未加样品混合液的吸光度(2mL的二氯化铁+2mL过氧化氢+2mL水杨酸);  $A_i$  表示样品的吸光度(2mL的二氯化铁+2mL过氧化氢+2mL水杨酸+2mL的样品溶液);  $A_j$  未加过氧化氢溶液样品的吸光度(2mL的二氯化铁+2mL水杨酸+2mL的样品溶液); SA 为样品对羟基自由基的清除率, %。

**1.2.6.4 清除超氧阴离子自由基能力的测定** 根据稍作修改的 Marklund 等<sup>[19]</sup>的方法测定样品提取液清除超氧阴离子的能力。取 4.5mL 0.05mol/L Tris-HCL(pH8.2) 的缓冲液, 在 25℃ 的水浴锅中预热 20min, 然后加入 1mL 的样品溶液(浓度变化范围是 0.1~0.7mg/mL) 和 0.4mL 0.025mol/L 邻苯三酚溶液混合均匀。将混合液置于 25℃ 的水浴锅中反应 4min。加入 1.0mL 8mmol/L 的盐酸溶液终止反应。设置空白对照于 320nm 处测定混合液的吸光度。抗坏血酸和 BHT 用作阳性对照。每次实验重复三次。样品液清除超氧阴离子的能力按以下公式计算:

$$I(\%) = \left(1 - \frac{A_i - A_j}{A_0}\right) \times 100$$

其中:  $I$  表示清除率, %;  $A_0$  表示未加样品混合液的吸光度;  $A_i$  表示测试样品的吸光度;  $A_j$  表示不含水杨酸混合液的吸光度。

**1.2.7 数据统计分析** 使用 Excel 与 DPSv7.05 数据处理软件对实验数据的方差显著性进行分析。

## 2 结果与分析

### 2.1 芦丁标准曲线绘制

按照 1.2.2.2 的方法绘制的标准曲线如图 1 所示。

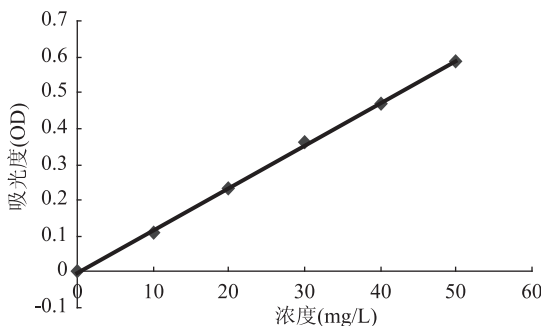


图1 芦丁标准曲线  
Fig.1 The standard curve of rutin

由图 1 可以得到标准曲线的回归方程为  $A = 0.0119C - 0.0036$ ,  $R^2 = 0.9995$ 。芦丁在 0~50mg/L 浓度范围内与吸光度线性良好。

### 2.2 温度对提取含量的影响

由图 2 可知, 温度对苦菜总黄酮的提取含量呈先上升后下降趋势, 在 60℃ 达到最大值, 此时超声波辅助提取总黄酮的含量是 43.4mg/g。这可能是因为, 在一定浓度范围内, 温度的升高有利于黄酮的溶出; 当高于某一值时, 继续升高温度会导致水溶性黄酮的水解进而使其提取含量下降; 另外, 也可能由于黄酮本身具有还原性, 高温会使黄酮变性<sup>[20]</sup>。

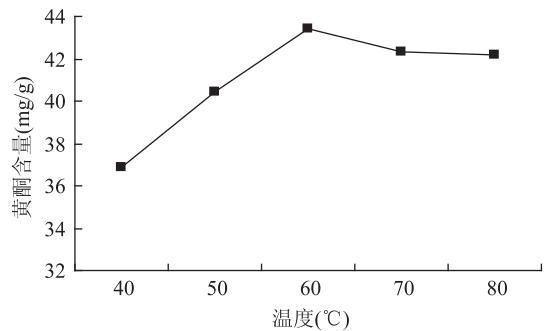


图2 超声温度对提取效果的影响

Fig.2 Effect of ultrasonic temperature on extraction

### 2.3 料液比对提取含量的影响

由图 3 可知, 料液比对总黄酮的提取含量影响明显, 随着溶剂用量的增加先上升后下降, 究其原因可能是料液比影响了溶剂的极性, 使样品中不同极性的黄酮类化合物溶出率不同; 当料液比继续增大时, 可能出现样品过饱和现象, 导致提取率降低<sup>[20]</sup>。超声波辅助提取中, 料液比为 1:30 时, 总黄酮的提取含量最高, 为 34.44mg/g。

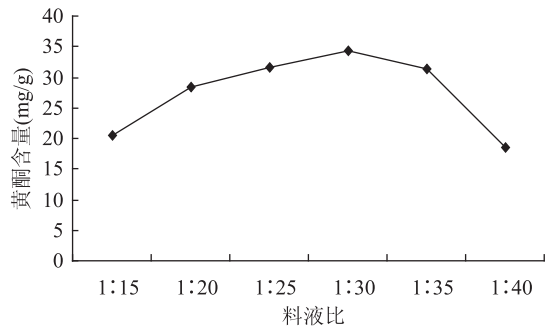


图3 料液比对提取效果的影响

Fig.3 Effect of solid to liquid ratio on extraction

### 2.4 乙醇体积浓度对提取含量的影响

由图 4 可知, 总黄酮提取含量随乙醇浓度的增加先上升后下降, 原因可能是随着乙醇浓度的增加, 样品溶液极性变弱, 导致样品中极性相对较大的黄酮类化合物溶出率下降, 极性小的溶出率上升, 而样品中极性不同的黄酮类化合物含量不同<sup>[20]</sup>。超声波辅助提取中, 乙醇浓度为 60% 时, 总黄酮的提取含量最高, 为 43.83mg/g。

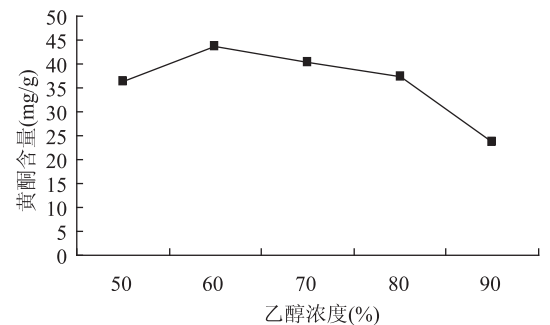


图4 乙醇浓度对提取效果的影响

Fig.4 Effect of ethanol concentration on yield of total flavonoids

### 2.5 时间对提取含量的影响

由图 5 可知, 随着处理时间的延长, 总黄酮的提

取含量呈上升趋势,40min 时达到最大值 46.98mg/g。提取时间增大有助于黄酮类化合物的溶出,但当达到一定的时间时出现稍微下降的趋势,可能是由于黄酮类化合物分解所造成的<sup>[20]</sup>。

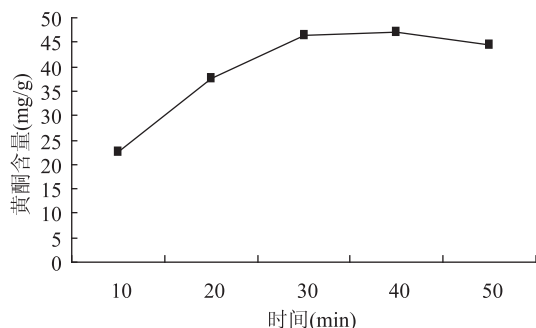


图5 超声时间对提取效果的影响

Fig.5 Effect of ultrasonic time on extraction

## 2.6 正交实验结果与分析

2.6.1 超声波辅助提取正交实验 选取超声时间、超声温度、料液比和乙醇体积分数进行4因素3水平正交实验,实验结果如表2所示。对实验结果进行方差分析,其结果见表3。

表2 正交实验结果

Table 2 The results of orthogonal test method

实验号	A	B	C	D	黄酮含量 (mg/g)
1	1	1	1	1	49.36
2	1	2	2	2	60.99
3	1	3	3	3	21.65
4	2	1	2	3	57.55
5	2	2	3	1	64.10
6	2	3	1	2	24.71
7	3	1	3	2	61.16
8	3	2	1	3	61.19
9	3	3	2	1	24.86
$k_1$	44.01	56.02	45.09	46.08	
$k_2$	48.76	62.07	47.80	48.95	
$k_3$	49.07	23.74	48.95	46.80	
R	5.07	38.33	3.86	2.87	

由表2极值可知,各因素影响的主次顺序为超声温度>乙醇浓度>料液比>超声时间。

方差分析结果表明,超声温度、乙醇浓度、料液比和超声时间对苦菜总黄酮的提取含量影响均极显著。根据分析得出优化最佳提取工艺为  $A_3B_2C_3D_2$ ,

即乙醇浓度为80%、温度为70℃、料液比为1:35、超声时间为40min。

2.6.2 验证实验 按照正交实验获得的最优组合:温度70℃、乙醇体积浓度80%、料液比1:35、提取时间40min,进行超声波辅助提取实验,其总黄酮的平均含量是64.62mg/g,比正交实验表中第5号实验组合  $B_2A_2C_3D_1$  的黄酮含量64.10mg/g高。

## 2.7 苦菜叶黄酮的抗氧化能力

2.7.1 清除DPPH自由基的能力 不同质量浓度的样品和阳性对照清除DPPH自由基能力如图6所示。DPPH自由基是一种被广泛使用的用来测定生物材料抗氧化活性的稳定的色原物质<sup>[21]</sup>。在清除DPPH自由基实验中,抗氧化剂对DPPH自由基的清除能力表现为它们提供氢质子的能力<sup>[22]</sup>。从图6中可以看出,随着样品质量浓度的增加(由0.1~0.7mg/mL),DPPH自由基的清除率从68.6%增加到93.6%。与同等质量浓度的抗坏血酸和BHT相比较,样品的清除率稍微高于BHT的清除率,但低于抗坏血酸的清除率。在实验浓度范围内,抗坏血酸对自由基的清除率在92.4%~98.1%范围内。

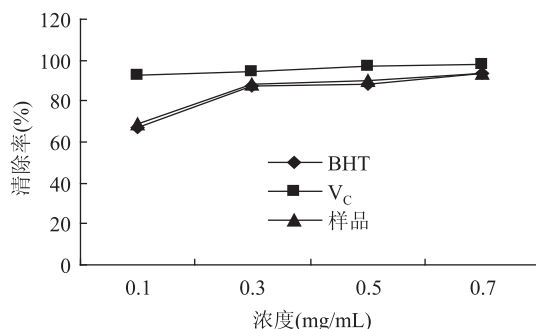


图6 提取液、BHT和抗坏血酸对DPPH自由基的清除效果

Fig.6 Scavenging effect of sample,

BHT and V<sub>c</sub> on DPPH radical

2.7.2 提取物的还原能力 样品提取物、抗坏血酸和BHT的还原能力如图7所示。从图中可以看到,随着质量浓度的增加,其还原力也随之在增加。然而,与抗坏血酸和样品相比,BHT显示出了低还原能力。当质量浓度达到0.9mg/mL时,样品提取物的还原能力明显高于抗坏血酸在此浓度下的还原能力。还原能力的测定中,样品中黄酮类化合物的存在使得铁氧化物中的三价铁变成以  $Fe^{2+}$  存在的复杂化合物。根据文献[23-24]的研究报道,测定黄酮类物质的还原能力对解释说明它们的抗氧化效果和还原能

表3 方差分析结果

Table 3 The results of variance analysis

变异来源	偏差平方和 SS	自由度 df	均方 MS	F 值	$F_{\alpha}$	显著性
A	145.33	2	72.66	269.01		**
B	7644.61	2	3822.30	14150.47	$F_{0.05} = 3.493$	**
C	70.72	2	35.36	130.90	$F_{0.01} = 5.849$	**
D	40.21	2	20.10	84.83		**
误差 E	3.79	18	0.24			

注:\*\*表示影响极显著( $p < 0.01$ )。



力之间的关系是必要的。提取物中的黄酮类化合物是良好的电子供体,能够通过使自由基转化成更稳定的产物而使自由基反应链终止。

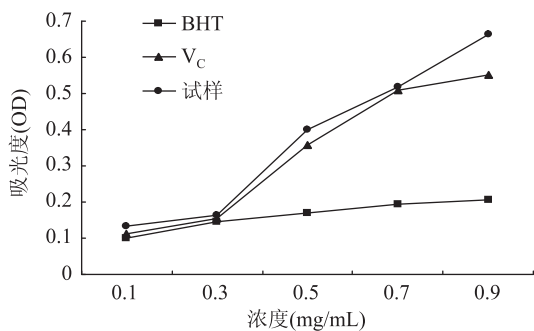


图7 样品、BHT 和抗坏血酸的还原能力  
Fig.7 Reducing power of sample, BHT and Vc

2.7.3 清除羟基自由基的测定 样品提取物以及用作阳性对照的抗坏血酸和 BHT 对羟基自由基的清除能力如图 8 所示。从图中可知:提取物和阳性对照品的抗氧化活性随着浓度的增加而提高。当提取物的浓度由 0.1mg/mL 增加至 0.9mg/mL 时,其对羟基自由基的清除率由 9% 上升到 80%,显著高于 BHT 对羟基自由基的清除率。由图也可知,提取对羟基自由基有较高的清除能力。作为最有反应活性的自由基,羟基自由基能够与活细胞中具有生物功能的几乎所有的生物大分子反应<sup>[25]</sup>。羟基自由基能够通过 Fe<sup>2+</sup> 和 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 的反应而产生,而黄酮类化合物能够螯合 Fe<sup>2+</sup>。因此,黄酮类化合物能够通过螯合 Fe<sup>2+</sup> 减少羟基自由基的产生。

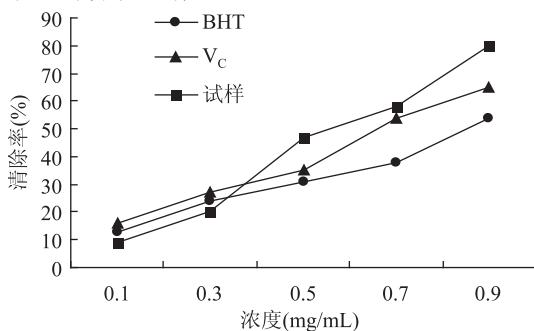
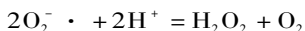


图8 对羟基自由基的清除效果  
Fig.8 Scavenging effect on hydroxyl free radical

2.7.4 清除超氧阴离子的能力 图 9 所示为样品提取物、抗坏血酸和 BHT 对超氧阴离子的清除效果。从图中可知,提取物对超氧阴离子的清除率随着样品浓度的增加而升高。当样品浓度为 0.7mg/mL 时,提取物对超氧阴离子的清除率为 67%,高于此浓度下 BHT 的清除率(51.8%)。黄酮类化合物含有邻位羟基能够提供活性氢质子参与以下清除超氧阴离子的反应:



超氧化物歧化酶通过催化作用参与上述反应,并通过提供氢质子作为一种抗氧化剂<sup>[26]</sup>。拥有较低氧化还原电势(0.23V < E<sub>7</sub> < 0.75V)的黄酮类化合物热力学上能够通过提供氢原子降低氧化还原电势在 2.13~1.0V 范围内的活性氧自由基如超氧阴离子、过

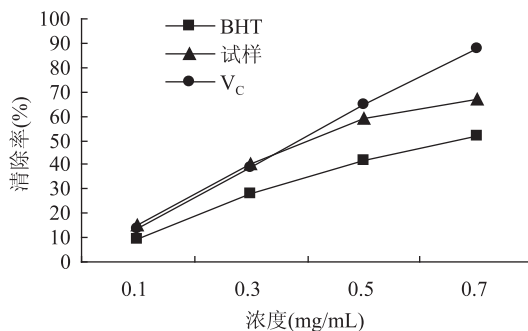


图9 对超氧阴离子的清除效果

Fig.9 Scavenging effect on superoxide free radical

氧化氢、羟基自由基和烷氧基自由基的电势。

### 3 结论

3.1 在超声波辅助提取方法中,温度、时间、乙醇体积分数和料液比对苦菜黄酮的提取含量均影响显著。超声波辅助提取的最佳工艺条件是乙醇浓度为 80%、温度为 70℃、料液比为 1:35、超声时间为 40min。此时苦菜黄酮的提取含量是 64.62mg/g。

3.2 苦菜叶黄酮具有一定的抗氧化能力,且在实验浓度范围内,其对羟基自由基(·OH)、超氧阴离子(O<sub>2</sub><sup>-</sup>·)、DPPH 自由基(DPPH·)的清除能力及其总还原能力与浓度呈明显的线性关系。

### 参考文献

- [1]刘蕊.黄酮类化合物的药理作用研究进展[J].黑龙江医药,2010,23(2):234-236.
- [2]周俊,周德生.天然黄酮类化合物对心脑血管的药理研究进展[J].中西医结合心脑血管病杂志,2010,8(6):725-727.
- [3]PARK S Y, CHANG S Y, OH O J, et al. Nor-oleanene type triterpene glycosides from the leaves of *Acanthopanax japonicus* [J]. *Phytochemistry*, 2002, 59(4): 379-384.
- [4] DUBEY S K, BATRAL A. Hepatoprotective activity from ethanol fraction of *Thuja occidentalis* Linn [J]. *Asian Journal of Research in Chemistry*, 2008, 1(1): 32-35.
- [5]王作昭,刘静波,林松毅,等.葛斯越橘黄酮类化合物提取技术的实验研究[J].食品科学,2006,27(11):391-394.
- [6]万明,宋永钢,杨菠.黄酮类化合物的药理作用及其在食品工业中的应用[J].江西食品工业,2007(3):47-49.
- [7]JEONG S J, JUN K Y, KANG T H, et al. Flavonoids from the fruits of *Opuntia ficus-indica* var. *saboten* [J]. *Korea Journal of Pharmacognosy*, 1999, 30: 84-86.
- [8]郭长江.食物类黄酮物质有营养学意义[J].中国食物与营养,2004(5):38-42.
- [9]陈晓慧,徐雅琴.黄酮类化合物生物活性及在食品中的应用研究[J].食品工程,2006(3):12-14.
- [10]张一芳.败酱草研究进展[J].中草药,2009,32(1):148-152.
- [11]卢新华,谷彬,刘思好.苦菜体内外抗氧化作用的实验研究[J].右江医学,2007,35(2):120-122.
- [12]李美仙,许秀举,李桂兰.苦菜茶对大鼠血清 GSH-PX 活性的影响[J].包头医学院学报,2005,21(3):231-232.
- [13]韩阳阳,王天晓,朱海芳,等.苦菜不同部位提取物的抗

氧化活性[J].食品科学,2010,31(19):45-48.

[14] 孟良玉,兰桃芳,卢佳琨,等.败酱草中黄酮类化合物的提取及其抗氧化活性[J].食品科学,2010,31(24):214-217.

[15] JIA Z S, TANG M C, WU J M. The determination of flavonoid contents in mulberry and their scavenging: Effects on superoxide radicals[J]. Food Chemistry, 1999, 64(4): 555-559.

[16] BRANDWILLIAMS W, CUVELIER M E, BERSET C. Use of a free-radical method to evaluate antioxidant activity[J]. Food Science and Technology - Lebensmittel - Wissenschaft & Technologie, 1995, 28(1): 25-30.

[17] VAQUERO M J R, SERRAVALLE L R T, de NADRA M C M, et al. Antioxidant capacity and antibacterial activity of phenolic compounds from argentinean herbs infusions[J]. Food Control, 2010, 21(5): 779-785.

[18] YAN H L, BO J, TAO Z, et al. Antioxidant and free radical-scavenging activities of chickpea protein hydrolysate[J]. Food Chemistry, 2008, 106(2): 444-450.

[19] MARKLUND S, MARKLUND G. Involvement of the superoxide anion radical in the autoxidation of pyrogallol and a convenient assay for superoxide dismutase[J]. European Journal of Biochemistry, 1974, 47(3): 469-474.

[20] 韩雅慧,顾赛麒,陶宁萍,等.甘草总黄酮提取工艺及总抗氧化活性研究[J].食品工业科技,2012,33(2):239-241.

[21] Li H, WANG X Y, LI Y, et al. Polyphenolic compounds and antioxidant properties of selected China wines [J]. Food Chemistry, 2009, 112(2): 454-460.

[22] CHEN Y, XIE M Y, NIE S P, et al. Purification, composition analysis and antioxidant activity of a polysaccharide from the fruiting bodies of *Ganoderma atrum* [J]. Food Chemistry, 2008, 107(1): 231-241.

[23] YEN G C, DUH P D, TSAI C. Relationship between antioxidant activity and maturity of peanut hulls [J]. Journal of Agriculture and Food Chemistry, 1993, 41(1): 67-70.

[24] SIDDHURAJU P, MOHAN P, BECKER K. Studies on the antioxidant activity of Indian Laburnum (*Cassia fistula* L.): a preliminary assessment of crude extract from stem bark, leaves, flowers and fruit pulp [J]. Food Chemistry, 2002, 79(1): 61-67.

[25] LAI F R, WEN Q B A, LI L, et al. Antioxidant activities of water-soluble polysaccharide extracted from mung bean (*Vigna radiata* L.) hull with ultrasonic-assisted treatment [J]. Carbohydrate Polymers, 2010, 81(2): 323-329.

[26] PERUMAL S, KLAUS B. Antioxidant properties of various solvent extracts of total phenolic constituents from three different agroclimatic origins of drumstick tree (*Moringa oleifera* Lam.) leaves [J]. Journal of Agriculture and Food Chemistry, 2003, 51(8): 2144-2155.

(上接第96页)

[2] 于立芹,鹿广昌.牛初乳中生物活性成分的研究进展[J].食品科学,2007,28(9):604-609.

[3] 李忠秋.牛初乳 IgG 含量测定及免疫胶体金半定量法的建立与应用[D].哈尔滨:东北农业大学,2005.

[4] Kehoe I, Jayarao B M, Heinrichs A J. A Survey of Bovine Colostrum Composition and Colostrum Management Practices on Pennsylvania Dairy Farms [J]. Journal of Dairy Science, 2007, 90(9): 4108-4116.

[5] Sarkar M, Basu A, Das B C, et al. Yak colostrum chemical constituents [J]. Indian Journal of Dairy Science, 1999, 52(1): 65-66.

[6] Ramírez-Santana C, Pérez-Cano F J, Audí C, et al. Effects of cooling and freezing storage on the stability of bioactive factors in human colostrum [J]. Journal of Dairy Science, 2011, 95(5): 2319-2325.

[7] 曹劲松,段海霞.口服牛初乳及其组分的保健功能[J].中国乳品工业,2004(8):27-31.

[8] 高学军,刘家福.牛乳高端产品研究开发现状与发展趋势[J].中国乳品工业,2004,32(4):23-25.

[9] 陈树兴,赵胜娟,石宝霞.山羊初乳成分及其免疫球蛋白构成变化的研究[J].食品科学,2008,29(1):41-44.

[10] Kehoe S I, Heinrichs A J, Moody M L, et al. Comparison of

immunoglobulin G concentrations in primiparous and multiparous bovine colostrum [J]. The Professional Animal Scientist, 2011, 27(3): 176-180.

[11] Strekozov N I, Yu E N, Fedorov N. Evaluation of the Chemical Composition and Immunological Properties of Colostrum of Cows' First Milk Yield [J]. Russian Agricultural Sciences, 2008, 34(4): 259-260.

[12] Tsuii S, Hirata Y, Mukal F. Comparison of Different Cattle Lactoferrin Content in Colostrum between Breeds [J]. Journal of Dairy Science, 1990, 73(1): 125-128.

[13] Clark R. The Somatogenic Hormones and Insulin-like Growth Factor - I: Stimulators of Lymphopoiesis and Immune Function [J]. Endocrine reviews, 1997, 18(2): 157-173.

[14] Christie W W. Lipid Analysis - Isolation, separation, identification and structural analysis of lipids [M]. England: The Oily Press, 2003, 205-300.

[15] 刘海燕,潘道东.免疫初乳及过渡乳中类胰岛素生长因子-I 含量测定及其变化 [J]. 食品工业科技, 2009, 30(2): 117-119.

[16] Campbell P G, Baumrucker C R. Insulin-like growth factor I and its association with binding proteins in bovine milk [J]. Journal of Endocrinology, 1989, 120(1): 21-29.