

伍鸿强, 王娟娟, 庄玮婧, 等. 响应面法优化灵芝黄酮酶辅助提取工艺及抗氧化活性研究 [J]. 福建农业学报, 2017, 32 (1): 87—92.
WU H-Q, WANG J-J, ZHUANG W-J, et al. Optimization of Flavonoid Extraction from *Ganoderma lucidum* by Response Surface Methodology and Antioxidant Activities of Extracts [J]. *Fujian Journal of Agricultural Sciences*, 2017, 32 (1): 87—92.

响应面法优化灵芝黄酮酶辅助提取工艺及抗氧化活性研究

伍鸿强, 王娟娟, 庄玮婧, 郑亚凤, 张 怡*

(福建农林大学食品科学学院, 福建 福州 350002)

摘要: 利用响应面法优化酶辅助提取灵芝黄酮工艺。在酶解温度、酶解时间和酶用量 3 个单因素的基础上, 利用 Box-Behnken 实验设计原理对复合酶的最佳配比进行优化。同时对灵芝提取液的抗氧化活性进行研究。结果表明: 在 80 min、50°C、pH 值为 5.0 的酶解条件下, 最佳酶比例为纤维素酶: 果胶酶: 中性蛋白酶 = 2.07 : 0.86 : 2.11。在该条件下, 灵芝黄酮实际提取率可达 0.75 mg·g⁻¹; 并且灵芝提取液对 DPPH 自由基和羟自由基有一定的清除能力, 同时具有较强的还原力。

关键词: 灵芝; 复合酶比例; 响应面; 黄酮

中图分类号: R 284.2

文献标识码: A

文章编号: 1008—0384 (2017) 01—87—06

Optimization of Flavonoid Extraction from *Ganoderma lucidum* by Response Surface Methodology and Antioxidant Activities of Extracts

WU Hong-qiang, WANG Juan-juan, ZHUANG Wei-jing, ZHENG Ya-feng, ZHANG Yi*

(College of Food Science, Fujian Agriculture and Forestry University, Fuzhou, Fujian 350002, China)

Abstract: Enzyme addition in the hot water extraction of flavonoids from *Ganoderma lucidum* was investigated for improvements on the extraction efficiency and/or enhancement on the antioxidant activity of the extract. The single factor test and the response surface methodology were used to optimize the processing conditions. It was found that a maximized yield of flavonoids of 0.75 mg/g could be obtained with the use of a combination of cellulase, pectinase and neutral proteinase in the ratio of 2.07: 0.86: 2.11 for the extraction at pH 5.0 and 50°C for 80 min. The resulting extract exhibited a high reducing power as well as free radical scavenging activities on DPPH and hydroxyl free radicals.

Key words: *Ganoderma lucidum*; enzyme combinations; response surface; flavonoids

随着生物酶制业的发展, 酶法辅助提取已成为食用菌的提取的辅助技术, 其操作条件温和、环境无污染、能耗小。灵芝 *Ganoderma lucidum* 属于高等真菌, 其活性物质大多存在于子实体的细胞壁中, 与几丁质形成的复合物是细胞壁内层的主要结构, 同时也与细胞壁外的半纤维素等大分子形成了紧密的结合^[1]。研究表明利用酶法提取有助于细胞壁溶解, 释放生物活性物质^[2—4]。

黄酮类化合物是一种存在于植物中的天然产物, 属于天然多酚类结构, 可以清除人体内超氧离子自由基, 具有较强的抗氧化作用^[5—6]。黄酮类化

合物广泛存在于植物的各部位, 主要有三黄酮糖苷和苷元两大形式, 其中包括黄酮、异黄酮、双黄酮、黄烷酮、黄酮醇、查尔酮等及其苷类, 具有极广泛的生物活性特性^[7—9]。

国内外对灵芝的黄酮类化合物的研究还比较少^[10], 本研究对复合酶法提取灵芝黄酮的工艺条件进行优化同时对其抗氧化活性进行探讨, 以期为提高黄酮得率和开发天然抗氧化剂奠定理论基础。

1 材料与方法

1.1 试验材料

椴木灵芝: 购于古田县小木食用菌经营部。

收稿日期: 2016—08—02 初稿; 2016—09—15 修改稿

作者简介: 伍鸿强 (1981—), 男, 硕士, 助理实验师, 主要从事食品化学与营养研究

* 通讯作者: 张怡 (1975—), 女, 博士, 教授, 主要从事食品营养与加工研究 (Email: 64439313@qq.com)

基金项目: 福建农林大学科技创新团队支持计划 (cxtdl2009); 福建省高等学校科技创新团队支持计划 (闽教科 [2012] 03 号)

1.2 仪器及试剂

1.2.1 化学试剂 芦丁、亚硝酸钠、氢氧化钠、硝酸铝、抗坏血酸、TCA 等均为分析纯, 购于国药集团化学试剂有限公司。纤维素酶、果胶酶、中性蛋白酶, 购于江苏锐阳生物科技有限公司。1, 1-二苯基-2-三肼 (DPPH)、三羟甲基氨基甲烷 (Tris 碱), 购于 Sigma 公司。

1.2.2 主要仪器与设备 数显三用水浴锅 HH-3A, 金坛市精达仪器制造厂; 低速离心机 SC-3612, 科大创新股份有限公司; 循环水式多用真空泵 SHB-III, 郑州长城科技工贸有限公司; 旋转蒸发仪 R 系列, 上海申生科技有限公司; 紫外可见分光光度计 7200, 上海精密科学仪器有限公司; FZ102 型微型植物粉碎器, 天津市泰斯特仪器有限公司。

1.3 试验方法

1.3.1 复合酶提取 灵芝子实体烘干并粉碎, 过 20 目筛后加入一定 pH 值的缓冲液 (醋酸-醋酸钠缓冲液 pH 值为 4.0~5.5, 磷酸盐缓冲液 pH 值为 6.0~6.5) 在恒温下混匀酶解, 然后灭酶, 依次过滤、浓缩、离心 ($4500 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$, 15 min), 取上清液加石油醚除杂, 最后冻干再复溶、定容, 测定含量。

1.3.2 芦丁标准曲线 根据文献 [11] 称取已恒重的芦丁 0.100 g, 加入适量蒸馏水溶解, 转移到 100 mL 的容量瓶中, 定容至刻度, 摆匀, 备用。准确移取标准溶液 0、2.0、4.0、6.0、8.0、10.0 mL 于 25 mL 容量瓶中, 分别加入 $0.05 \text{ g} \cdot \text{mL}^{-1}$ NaNO_2 溶液 0.8 mL, 摆匀, 静置 5 min; 然后加入 $10 \text{ g} \cdot \text{mL}^{-1}$ $\text{Al}(\text{NO}_3)_3$ 溶液 0.8 mL, 摆匀, 静置 5 min; 再加入 $1 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ NaOH 溶液 10.00 mL; 用体积分数是 70% 乙醇溶液定容至 25.00 mL, 摆匀, 静置 15 min。测量最大吸收波长为 510 nm, 以试剂空白为参比, 用 1 cm 比色皿测定其吸光度。得到的回归方程为: $A_{510} = 0.5889x - 0.0151$, 相关系数 $R^2 = 0.9968$ 。

1.3.3 灵芝黄酮含量测定 称取 3.0 g 灵芝粉末于锥形瓶中, 进行上述各提法提取、抽滤、离心 ($3500 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$, 6 min), 取上清液 1 mL 样品于 25 mL 容量瓶中, NaNO_2 - $\text{Al}(\text{NO}_3)_3$ - NaOH 比色法测定总黄酮, 根据标准曲线回归方程, 由吸光度求出提取液中的黄酮质量浓度, 并按照下列公式计算各处理的黄酮得率。

$$W = CV/m$$

式中: W 为黄酮得率 ($\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$); C 为黄酮

质量浓度 ($\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$); V 为定容体积 (mL); m 为原料质量 (g)。

1.3.4 单因素试验 对灵芝黄酮提取试验进行复合酶提取的单因素试验设计。以中性蛋白酶、纤维素酶和果胶酶 3 种酶的用量、pH 值、温度和酶作用时间为考查因素, 以黄酮的提取量为考查指标, 进行单因素试验。试验重复 3 次。

1.3.5 响应面试验设计 为了进一步优化灵芝黄酮的提取工艺, 根据单因素试验结果, 在 80 min、50°C、pH 值为 5.0 的酶解条件下, 利用 Box-Behnken 试验设计原理, 以纤维素酶、果胶酶和中性蛋白酶的用量为自变量, 以黄酮得率为响应值进行三因素三水平的响应面试验。试验因素水平设计见表 1。

表 1 响应面试验设计

Table 1 Response surface experimental design

因素	水平		
	-1	0	1
X_1 纤维素酶/%	1.5	2	2.5
X_2 果胶酶/%	0.4	0.8	1.2
X_3 中性蛋白酶/%	1.5	2	2.5

1.3.6 抗氧化试验 根据响应面法优化的条件提取灵芝的样液作为测定对象, 以 DPPH 自由基清除率、羟自由基清除率和总还原力为指标比较灵芝总黄酮提取液及 Vc 的抗氧化能力。

(1) DPPH 自由基清除率的测定: 根据文献 [12] 进行测定。用无水乙醇将 DPPH 配制成 $0.04 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 溶液。在 1 mL 不同浓度的样品 (0.2 、 0.4 、 0.6 、 0.8 、 $1.0 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$) 中加入 2 mL DPPH, 混合均匀后室温避光反应 30 min 后, 于 517 nm 处测吸光值。用 Vc 做阳性对照。DPPH 清除率的计算公式如下:

$$\text{DPPH 清除率} / \% = \{ [\text{A 空白} - (\text{A 样品} - \text{A 对照})] / \text{A 空白} \} \times 100\%$$

式中: A 样品为样品吸光值; A 对照为用乙醇代替 DPPH 的吸光值; A 空白为用乙醇代替样品的吸光值。

(2) 羟自由基清除率的测定: 羟自由基清除率参照 Huang 等^[13] 的方法进行。取 1 mL 不同浓度的样品 (0.2 、 0.4 、 0.6 、 0.8 、 $1.0 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$), 依次加入 FeSO_4 ($9 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$, 1 mL)、水杨酸-乙醇溶液 ($9 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$, 1 mL) 和 H_2O_2 ($9 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$, 1 mL)。在 37°C 水浴下反应 30 min,

在 510 nm 处测定吸光值。以 V_c 作为阳性对照。羟自由基清除率计算公式如下:

$$\text{羟自由基清除率}/\% = \{ [A_{\text{空白}} - (A_{\text{样品}} - A_{\text{对照}})] / A_{\text{空白}} \} \times 100\%$$

式中: $A_{\text{样品}}$ 为样品吸光值; $A_{\text{对照}}$ 为用蒸馏水代替 H_2O_2 的吸光值; $A_{\text{空白}}$ 为用蒸馏水代替样品的吸光值。

(3) 总还原力的测定: 总还原力的测定根据文献 [14] 进行。反应体系包含 2.5 mL 的磷酸缓冲液 ($0.2 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ pH 6.6) 和 1 mL 待测样品溶液。在试管中加入 $0.2 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ pH 6.6 的磷酸缓冲液 2.5 mL 和不同浓度的待测样品溶液 1 mL, 然后于 50℃ 的水中反应 20 min。取出后加入 2.5

mL 三氯乙酸 (10%, W/V) 终止反应。然后加入蒸馏水和三氯化铁溶液 (0.1%, W/V), 混合静置 10 min, 于 700 nm 处测定吸光值。

2 结果与分析

2.1 复合酶提取对灵芝黄酮的单因素试验

2.1.1 酶解 pH 值对灵芝黄酮得率的影响 按不同的酶 pH 值, 酶添加量为 1.0%, 提取温度 50℃, 提取时间 80 min 的条件下测得黄酮得率。由图 1-A 可知, 当酶添加量为 1.0%, 提取温度 50℃, 提取时间 80 min 时, 不同的酶解 pH 会显著影响灵芝黄酮的得率。当 pH 为 5 时, 黄酮得率达到最大, 因此选择 pH 值为 5.0 进一步试验。

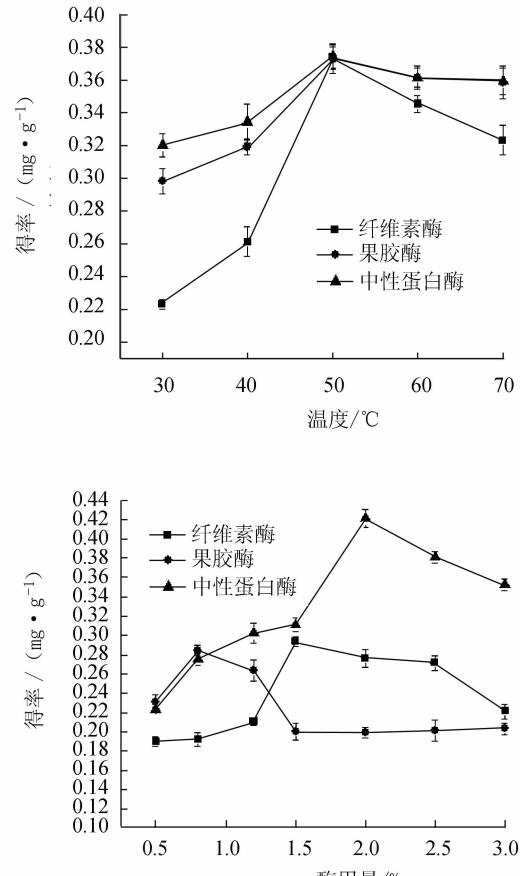
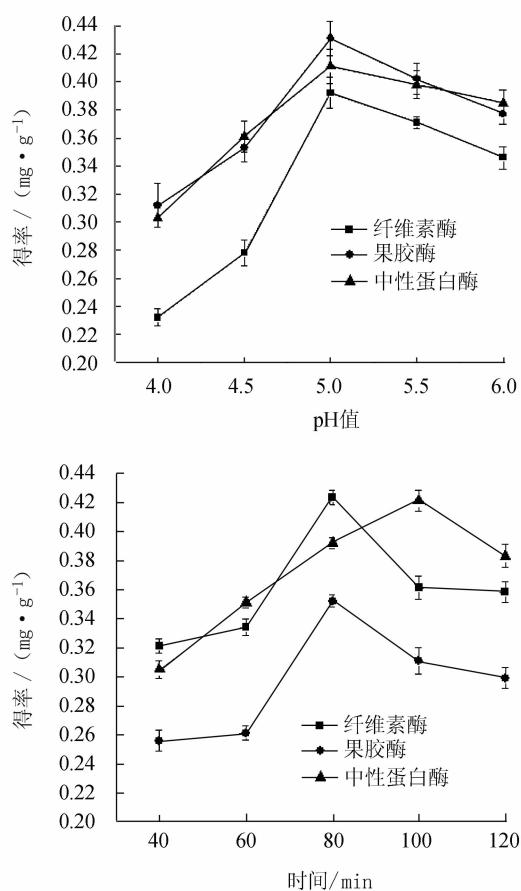


图 1 不同因素对灵芝黄酮得率的影响

Fig. 1 Effect of pH on yield of *G. lucidum* flavone

注: A 为 pH 值对灵芝黄酮得率的影响; B 为酶解温度对灵芝黄酮得率的影响; C 为酶解时间对灵芝黄酮得率的影响; D 为酶用量对黄酮得率的影响。

2.1.2 酶解温度对灵芝黄酮得率的影响 按不同的酶解温度, 酶添加量为 1.0%, 提取 pH 为 5, 提取时间 80 min 的条件下测得的黄酮得率。由图 1-B 可知当酶添加量为 1.0%, 提取酶 pH 值为

5.0, 提取时间为 80 min 时, 在考查温度范围内, 随着温度的升高, 黄酮得率逐渐升高, 当温度为 50℃ 时, 黄酮得率达到最高。

2.1.3 酶解时间对灵芝黄酮得率的影响 按不同

的酶解时间, 酶添加量为 1.0%, 提取 pH 为 5, 酶解温度 50℃ 的条件下测得的黄酮得率。由图 1-C 可知, 当酶添加量为 1.0%, 提取酶 pH 值为 5.0, 酶解温度 50℃ 时, 随着纤维素酶和果胶酶对灵芝作用时间的延长, 黄酮得率逐渐增加, 当酶解 80 min 时, 黄酮得率最大, 而中性蛋白酶则在酶解 100 min 时得率最大, 但是为了后面复合酶比例优化的方便, 统一酶解时间为 80 min 做进一步考查。

2.1.4 酶用量对灵芝和黄酮得率的影响 按不同的酶用量, 酶解时间为 80 min, 提取 pH 为 5, 酶解温度 50℃ 的条件下测得的黄酮得率。由图 1-D 可知, 当酶提取时间 80 min, 提取酶 pH 值为 5.0, 酶解温度 50℃ 时, 根据总黄酮得率, 纤维素酶的最佳用量为 1.5%, 果胶酶的最佳用量为 0.8%, 中性蛋白酶的最佳用量为 2.0%。

2.2 复合酶响应面试验结果

用 Design Expert 软件对响应面试验结果进行处理和方差分析: 得到灵芝黄酮得率的复合酶用量配比的二次多元回归方程: $Y = 0.69 + 0.049X_1 + 0.055X_2 + 0.039X_3 - 0.0075X_1X_2 - 0.005X_1X_3 - 0.012X_2X_3 - 0.18X_1^2 - 0.18X_2^2 - 0.088X_3^2$ 。

表 2 响应面试验结果

Table 2 Response surface experimental results

试验号	X_1 纤维素酶/%	X_2 果胶酶/%	X_3 中性蛋白酶/%	黄酮得率 ($\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$)
1	1.50	0.80	2.50	0.4
2	2.00	0.80	2.00	0.63
3	1.50	1.20	2.00	0.36
4	2.00	0.80	2.00	0.72
5	2.50	1.20	2.00	0.4
6	2.00	1.20	1.50	0.46
7	2.00	0.80	2.00	0.67
8	2.00	0.80	2.00	0.7
9	2.50	0.40	2.00	0.31
10	2.50	0.80	1.50	0.45
11	1.50	0.80	1.50	0.3
12	1.50	0.40	2.00	0.24
13	2.00	1.20	2.50	0.5
14	2.00	0.40	2.50	0.41
15	2.00	0.40	1.50	0.32
16	2.50	0.80	2.50	0.53
17	2.00	0.80	2.00	0.69

对该模型和回归系数的方差分析结果显示, $P < 0.01$ 表明响应面模型极显著, 即模型有意义。 R^2 为 0.9710, R^2_{Adj} 为 0.9336, 变异系数为 8.33, 表明

模型的拟合程度较好, 试验误差小。失拟项 P 值为 0.5697, 提示其影响不显著, 即失拟项与纯误差之间差异不显著, 由此可知, 试验操作可信度较高, 可以用回归方程对试验结果进行分析和预测。

对回归方程系数进行显著性检验, 表 3 表明纤维素酶 X_1 及其二次项 X_1^2 , 果胶酶 X_2 及其二次项 X_2^2 和中性蛋白酶 X_3 及其二次项 X_3^2 对黄酮得率影响显著 ($P < 0.05$) 的因素项。依据一次项系数 X_1 为 0.049; X_2 为 0.055; X_3 为 0.039 的绝对值可知因素的主效应关系, 果胶酶对黄酮得率影响最大, 中性蛋白酶的影响最小。

表 3 黄酮得率回归系数及显著性检验

Table 3 Regression coefficient and significance test on flavone yield

变异来源	平方和	自由度	均方差	F 值	P 值
模型	0.3643	9	0.0405	26.01	0.0001**
X_1	0.0190	1	0.0190	12.22	0.0101*
X_2	0.0242	1	0.0242	15.55	0.0056**
X_3	0.0120	1	0.0120	7.72	0.0274*
X_1X_2	0.0002	1	0.0002	0.14	0.7151
X_1X_3	0.0001	1	0.0001	0.06	0.8072
X_2X_3	0.0006	1	0.0006	0.40	0.5464
X_1^2	0.1282	1	0.1282	82.38	<0.0001**
X_2^2	0.1246	1	0.1246	80.03	<0.0001**
X_3^2	0.0266	1	0.0266	17.10	0.0044**
残差	0.0109	7	0.0016		
失拟项	0.0040	3	0.0013	0.77	0.5697
纯误差	0.0069	4	0.0017		
总差	0.3752	16			

注: $R^2 = 0.9710$, $R^2_{\text{Adj}} = 0.9336$, $CV = 8.33\%$, * $P < 0.05$, 差异显著; ** $P < 0.01$, 差异极显著。

由图 2-A 可以看出: 纤维素酶和果胶酶对灵芝黄酮得率的影响较显著, 曲面较陡, 随着提取时间的延长, 得率经过一个先升高后降低的过程。由图 2-B 可以看出: 纤维素酶对灵芝黄酮得率的影响较显著, 曲面较陡, 随着提取时间的延长, 提取率经过一个先升高后降低的过程; 中性蛋白酶对灵芝黄酮得率的影响不太显著, 曲面较缓和并且随着温度的上升, 提取率经过一个先升高后稍微减小的过程。由图 2-C 可以看出: 果胶酶对灵芝黄酮得率的影响较显著, 曲面较陡, 随着提取时间的延长, 提取率经过一个先升高后降低的过程; 中性蛋白酶对灵芝黄酮得率的影响不太显著, 曲面较缓和并且随着温度的上升, 得率经过一个先升高后稍微减小的过程。

过程。通过软件分析可以得到, 对黄酮得率影响, 酶添加量分别为: 纤维素酶添加量 2.07%; 果胶酶添加量 0.86%; 中性蛋白酶添加量 2.11%。在此条件下黄酮得率预测的最大值为 $0.685 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$ 。采

用上述最优提取条件进行验证试验, 结果测得的灵芝黄酮得率为 $0.75 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$, 与模型预测值的误差为 0.79%, 因此本试验得到的灵芝黄酮提取条件的参数比较准确, 可为实际应用提供参考。

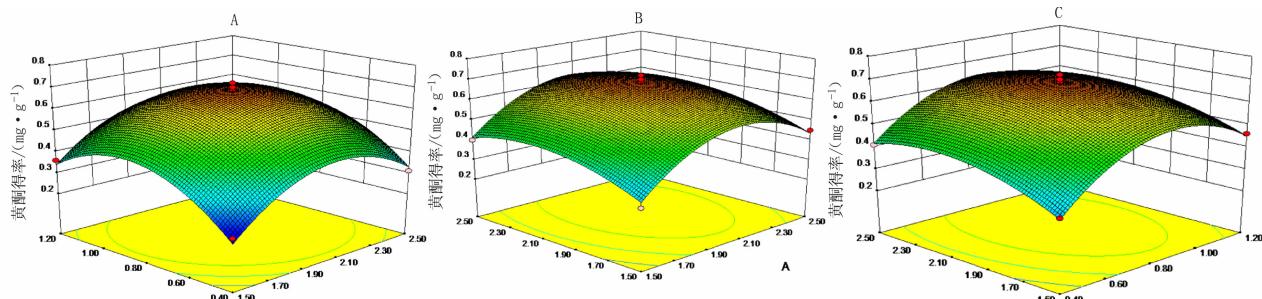


图 2 不同因素交互作用对灵芝黄酮得率响应曲面的影响

Fig. 2 Response surface showing interactive effects of cellulase and pectinase on extraction yield of *G. lucidum* flavone

注: A 为纤维素酶与果胶酶两因素交互作用对灵芝黄酮得率响应曲面的影响; B 为纤维素酶与中性蛋白酶两因素交互作用对灵芝黄酮得率响应曲面的影响; C 为果胶酶与中性蛋白酶两因素交互作用对灵芝黄酮得率响应曲面的影响。

2.3 灵芝提取液抗氧化活性试验结果

2.3.1 灵芝提取液对 DPPH 自由基清除作用 由图 3 可知, 灵芝提取液各组分对 DPPH 清除率结果中, 在试验浓度范围内, 灵芝提取液对 DPPH 的清除率随着浓度的增大而显著增加, 但当浓度大于 $0.8 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 时, 对 DPPH 的清除率没有发生显著性变化 ($P > 0.05$)。经计算灵芝提取液对 DPPH 的清除率的 IC_{50} 为 $2.54 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 。

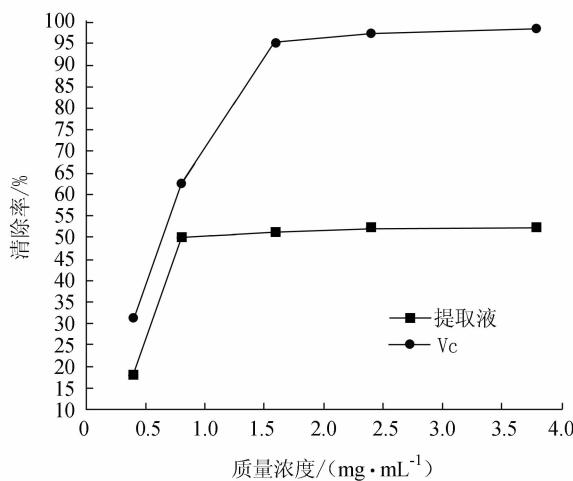


图 3 灵芝提取液对 DPPH 的清除作用

Fig. 3 Scavenging ability of *Ganoderma* extract on DPPH radicals

2.3.2 灵芝提取液对羟自由基清除作用 由图 4 可知, 灵芝提取液对羟自由基清除结果中, 当浓度在 $0.4 \sim 1.6 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 范围内, 灵芝提取液对羟

自由基的清除率具有显著性影响 ($P < 0.05$), 且随着浓度的增大而增大。当质量浓度超过 $1.6 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 后, 对羟自由基的清除率影响趋于平缓。经计算灵芝提取液对羟自由基的清除率的 IC_{50} 为 $2.39 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 。

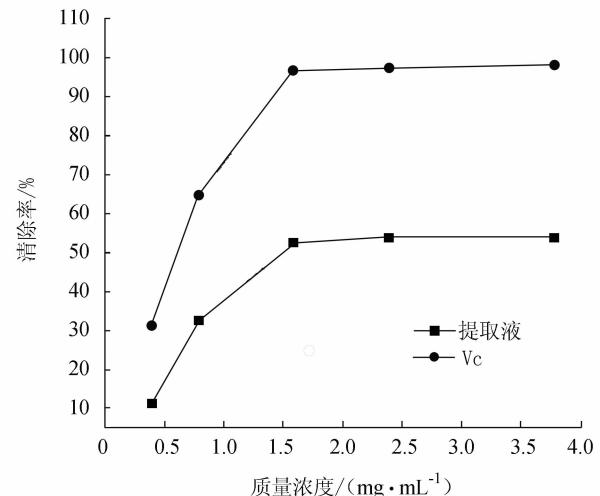


图 4 灵芝提取液对羟自由基的清除作用

Fig. 4 Scavenging ability of *Ganoderma* extract on hydroxyl radicals

2.3.3 灵芝提取液的总还原力 由图 5 可知, 灵芝提取液表现出较强的还原力, 在实验质量浓度范围内, 灵芝提取液的还原力随着质量浓度的增加而增大, 两者呈正相关, 在 $9 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 还原力达到 1.71。

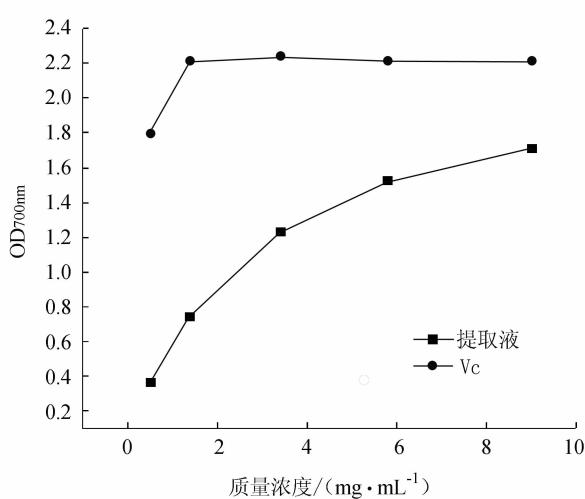


图 5 灵芝提取液的还原力

Fig. 5 Reducing Power of *Ganoderma* extract

3 讨论与结论

黄酮类化合物是一类活性物质，并具有特殊的保健及疗效功能。其提取方法多样，有热水提取法、碱液提取法、丙酮提取法、乙醇浸提法、微波萃取法、超声波法、酶解法、大孔树脂吸附法、超滤法等。彭晓青等^[2]利用复合酶法提取总黄酮，具有较高的提取率。目前在黄酮类化合物的提取方法中，溶剂提取法、热水提取法等传统方法仍占主导地位，但与酶解、超滤、微波等提取分离技术相比，逐渐暴露了许多问题，如提取温度高，时间长，能量消耗大，不利于黄酮类化合物母核活性的保护，产品中黄酮类化合物得率和含量低，尤其是存在溶剂残留。相反酶解等提取方法提取速度快，产率和纯度高，提取条件温和，耗能少，有利于黄酮类化合物母核活性的保护等特点。

酶解温度、酶解时间和酶用量都会对酶的作用效果产生一定的影响，因此本试验在单因素的基础上确定复合酶中各种酶的最佳酶解温度、酶解时间和酶用量，进而利用 Box-Behnken 响应面试验对复合酶中各种酶的配比进行优化。得出复合酶提取灵芝黄酮的最佳酶比例为纤维素酶：果胶酶：中性蛋白酶为 2.07 : 0.86 : 2.11。在该工艺条件下，灵芝黄酮实际得率可达 $0.75 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$ 。经体外抗氧化活性测定，结果显示，灵芝提取液具有较强的

还原力，对 DPPH 自由基清除率、羟自由基清除率的 IC_{50} 分别为 $2.54 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 和 $2.39 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ ，说明灵芝提取液具有一定的抗氧化活性。如何提高灵芝的黄酮类化合物的得率以及其提取液的抗氧化活性一直是研究的热点，此研究可为开发天然抗氧化剂提供一定参考。

参考文献：

- [1] 刘志恒. 现代微生物学 [M]. 北京: 科学出版社, 2002.
- [2] 彭晓青, 程轩轩, 张旭红, 等. 复合酶法提取龙眼核总黄酮的工艺研究 [J]. 中国医院用药评价与分析, 2014, (2): 134-138.
- [3] 王文渊, 周振华, 龙红萍. 复合酶法提取苦瓜叶总黄酮的研究 [J]. 中国食品添加剂, 2011, (4): 107-112.
- [4] 张天笑, 刘红兵, 张文竹, 等. 复合酶提取灵芝多糖工艺及其抗氧化能力研究 [J]. 安徽农业科学, 2011, 39 (8): 4496-4498.
- [5] 陈生文, 汤超, 田京, 等. 沙棘果渣总黄酮提取工艺及抗氧化活性分析 [J]. 食品科学, 2015, (10): 59-64.
- [6] 李飞, 任清, 季超, 等. 苦荞籽粒黄酮的提取纯化及抗氧化活性研究 [J]. 食品科学技术学报, 2015, (6): 57-64, 82.
- [7] 袁带秀, 舒丽霞, 黄蓉. 杜仲黄酮对 H22 小鼠的抑瘤作用及其机制 [J]. 中国老年学杂志, 2016, (2): 291-293.
- [8] 李月娇, 王雪青, 陈亚蓝, 等. 板栗花黄酮的提取工艺及其抑菌活性研究 [J]. 食品工业科技, 2016, (10): 298-302.
- [9] 宿世震, 项东宇, 孟繁伟, 等. 翻白草黄酮对 2 型糖尿病大鼠胰岛细胞的保护作用及机制研究 [J]. 环球中医药, 2016, (2): 145-148, 216.
- [10] 王昌涛, 孙啸涛, 周雪. 响应面分析法优化雪灵芝黄酮提取工艺 [J]. 食品科学, 2013, 34 (14): 91-95.
- [11] 任少红, 王峰, 丁静, 等. 灵芝中总黄酮的含量测定 [J]. 中国科技信息, 2009, (14): 214.
- [12] HUA S Z, YINA J Y, NIEA S P, et al. In vitro evaluation of the antioxidant activities of carbohydrates [J]. Bioactive Carbohydrates and Dietary Fibre, 2016, 7 (2): 19-27.
- [13] HUANG X Q, TU Z C, JIANG Y, et al. Dynamic high pressure microfluidization-assisted extraction and antioxidant activities of lentinan [J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2012, 51 (5): 926-932.
- [14] YAMAGUCHI T, TAKAMURA H, MATOBA T, et al. HPLC method for evaluation of the free radical-scavenging activity of foods by using 1, 1-diphenyl-2-picrylhydrazyl [J]. Bioscience, biotechnology, and biochemistry, 1998, 62 (6): 1201-1204.

(责任编辑: 柯文辉)