

不同提取方法 对红芪多糖体外抗氧化活性的影响研究

寇宁¹,李磊强¹,李钦¹,程卫东^{1,2,*}

(1.兰州大学基础医学院,甘肃兰州 730000;

2.南方医科大学中医药学院,广东广州 510515)

摘要:红芪多糖(HPS)是中药红芪中的主要成分。本文分别采用微波辅助、超声辅助及常规热水浸提从红芪中提取HPS,经脱蛋白、冷冻干燥后得到三种方法提取的红芪多糖HPS-M、HPS-C和HPS-H。红外光谱分析表明,HPS-M、HPS-C、HPS-H具有多糖的特征吸收峰;GPC测定结果显示,HPS-M、HPS-C、HPS-H的重均分子量分别为 6.29×10^5 、 4.56×10^5 、 5.13×10^5 ,多分散性分别为3.42、3.22、2.31。HPS-H、HPS-M、HPS-C清除羟自由基、超氧自由基、DPPH自由基及还原力测定的体外抗氧化活性实验表明,HPS-M的体外抗氧化活性要显著高于HPS-C、HPS-H,因此,未来可考虑微波辅助法作为红芪多糖提取的首选方法。

关键词:红芪,多糖,体外抗氧化活性

Study on anti-oxidant activity of polysaccharides from *Hedysarum polybotrys* Hand. –Mazz.by different extraction method *in vitro*

KOU Ning¹, LI Lei-qiang¹, LI Qin¹, CHENG Wei-dong^{1,2,*}

(1.College of Basic Medical Sciences, Lanzhou University, Lanzhou 730000, China;

2.College of Chinese Medicine, Southern Medical University, Guanzhou 510515, China)

Abstract: Polysaccharides were one of the main components of *Hedysarum polybotrys* Hand. –Mazz(HPS). In this paper, the antioxidant activity of polysaccharides from *Hedysarum polybotrys* Hand.–Mazz with microwave-assisted extraction, ultrasonic assisted extraction and hot water extraction methods was investigated. HSP-M, HSP-C and HSP-H after deproteinization and vacuum freeze-drying were characterized by FT-IR and measured by GPC. The result indicated that HSP-M, HSP-C and HSP-H had typical absorption peak of polysaccharides, weight average molar mass (M_w) were 6.29×10^5 , 4.56×10^5 , 5.13×10^5 and polydispersion and gyroradius determined were 3.42, 3.22, 2.31. Anti-oxidant effect on scavenging DPPH radicals, OH radicals and superoxide radicals and reducing power on HSP-M, HSP-C and HSP-H were measured. The results showed that anti-oxidant effect of HSP-M was higher than HSP-C and HSP-H. To get practical methods for the research and manufacture of HPS, microwave-assisted extraction method should be chosen.

Key words: *Hedysarum polybotrys* Hand. –Mazz.; polysaccharides; anti-oxidant activity *in vitro*

中图分类号: TS201.1

文献标识码: A

文章编号: 1002-0306(2015)15-0100-05

doi:10.13386/j.issn1002-0306.2015.15.013

红芪为豆科植物多序岩黄芪(*Hedysarum polybotrys* Hand. –Mazz.)的干燥根,具有补气升阳、固表止汗、利水消肿等功效^[1]。红芪多糖(HPS)是红芪的主要活性成分之一,是一种由鼠李糖、木糖、阿拉伯糖、葡萄糖和半乳糖组成的杂多糖^[2],作为中医常用传统药物在恶性肿瘤及各种退行性疾病的临床治疗与康复中用量较大^[1]。李晓东等人的研究发现,

HPS-3能降低血糖,对T2DM大鼠的糖脂代谢紊乱有一定的调节作用,能促进T2DM大鼠肝糖原的合成,修复受损的胰岛 β 细胞,减轻T2DM大鼠胰岛素抵抗^[3]。卫东峰等人利用蛋白质组学技术,研究了HPS对S180瘤细胞化疗协同增效作用的差异蛋白质,发现了对S180小鼠瘤细胞化疗增效作用的靶标蛋白,而这些蛋白质涉及能量代谢、氧化应激反应和

收稿日期:2014-11-13

作者简介:寇宁(1977-),女,硕士研究生,讲师,研究方向:中西医结合治疗常见病,E-mail:kouning1123@163.com。

*通讯作者:程卫东(1961-),男,博士,教授,研究方向:中西医结合治疗常见病,E-mail:chengweidong888@sina.com。

基金项目:基于不同君药——红芪替换经典复方中黄芪免疫衰老机制比较研究(81373806);用红芪与用黄芪玉屏风散的抗免疫老化机制比较研究(GZK-2012-43);基于蛋白质组学探讨红芪多糖延缓免疫衰老机制(GZK-2013-18)。

凋亡信号^[4]。杨涛等人采用细胞溶血法对 HPS 的抗补体活性进行研究结果表明, HPS 具有一定程度的抗补体活性^[5]。魏舒畅等人利用酶解提取红芪总多糖的研究发现, 酶用量、酶解时间、酶解温度、溶剂 pH、溶剂用量、提取时间等参数的选择会影响活性成分的提取^[6]。

综上所述, 对于 HPS 活性的研究, 主要集中在降血糖、抗肿瘤等生物学活性方面, 而多糖生物学活性与其清除自由基的能力密切相关。研究表明, 不同的提取方法会影响多糖的清除自由基的活性, 但对于不同方法提取的 HPS 的体外抗氧化活性的研究尚无文献报道。

本文以红芪为原料, 分别采用微波辅助、超声辅助与常规热水浸提提取 HPS, 并研究不同提取方法 HPS 的体外抗氧化活性, 从而筛选出获得体外抗氧化活性高的多糖的提取方法, 以便为后续的研究提供基础。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

红芪药材购自甘肃武都。

电子天平 BL320H 北京赛多利斯天平有限公司; 紫外可见分光光度计 UV1000 北京莱伯泰科仪器有限公司; 集热式恒温磁力搅拌器 DF-101B 科瑞仪器有限公司; 冷冻干燥机 LGJ-18S 郑州长城科工贸有限公司; 傅立叶红外光谱仪 Nicolet380 美国热电; Agilent GPC 安捷伦科技有限公司。

1.2 实验方法

1.2.1 HPS 的提取 红芪干燥根经预处理后, 根据前期实验结果^[7], 采用超声辅助、微波辅助和常规热水浸提法对其多糖进行提取, 得到 HPS-C、HPS-M、HPS-H, 具体工艺如图 1 所示。

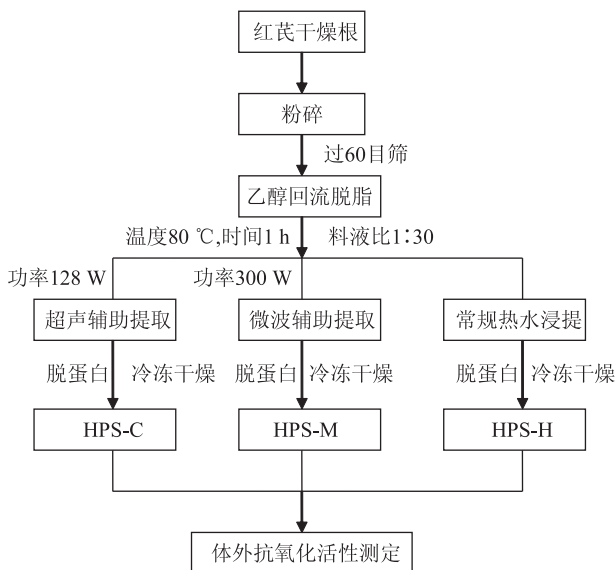


图1 红芪多糖的提取工艺流程

Fig.1 The extracting processes of HPS from *Hedysarum polybotrys* Hand-Mazz

1.2.2 红外光谱表征 (FT-IR) 充分干燥的样品与 KBr 压片, 用 Thermo Nicolet iS10 红外光谱仪在 400~

4000 cm^{-1} 范围内扫描, 扫描次数 16 次, 分辨率 4 cm^{-1} 。

1.2.3 分子量测定 采用体积排阻色谱 (GPC) 测定分子量。红芪多糖样品用去离子水配成所需浓度的溶液, 用微孔滤膜过滤, 在 690 nm 波长下用 GPC 测定。进样量 200 μL , 流速为 0.5 mL/min , 温度为 25 $^{\circ}\text{C}$ 。

1.2.4 对 DPPH 自由基的清除作用 分别精确称取 BHT 与多糖样品, 用蒸馏水配制成浓度为 0.04、0.06、0.1、0.2、0.4、0.6、1、2、3 mg/mL 的溶液, 充分摇匀, 备用。准确量取 1 mL 不同浓度的多糖溶液或 BHT 溶液, 分别加入 2 mL 现配的浓度为 0.2 mmol/L 的 DPPH 溶液, 旋涡混匀器混匀后, 置于暗处 30 min , 以蒸馏水为空白调零, 在 517 nm 处测定吸光值, 得 A_i 值; 以蒸馏水代替 DPPH, 测定 A_j ; 以蒸馏水代替样品, 测定 A_0 ^[7-10]。反应物的吸光值越小, 表明多糖对 DPPH 自由基的清除能力越强, 每个样品重复三次, 求平均值。根据以下公式计算 DPPH 自由基的清除率:

$$\text{清除率}(\%) = \frac{1 - (A_i - A_j)}{A_0} \times 100 \quad \text{式(1)}$$

1.2.5 对羟自由基 ($\cdot\text{OH}$) 的清除作用 精确称取一定量的抗坏血酸 (V_c) 与多糖样品, 用蒸馏水配制成浓度为 0.04、0.06、0.1、0.2、0.4、0.6、1、2、3 mg/mL 的溶液, 充分摇匀, 备用。分别量取不同浓度的多糖溶液、 V_c 溶液各 0.1 mL , 依次加入反应液 (20 mmol/L pH7.4 的磷酸盐缓冲液, 2.67 mmol/L 脱氧核糖, 100 mmol/L EDTA) 0.6 mL 、0.4 mmol/L 的硫酸亚铁胺溶液 0.2 mL 、10 mmol/L 过氧化氢溶液 0.2 mL , 在 37 $^{\circ}\text{C}$ 水浴加热 15 min , 再分别加入 1% 丙二酰硫脲溶液和 2% 的三氯乙酸溶液各 1 mL , 终止反应, 然后沸水浴加热 15 min 后冷却至室温, 以蒸馏水为空白调零, 在 532 nm 下测定吸光值, 得 A_i , 用蒸馏水代替样品, 测定 A_0 , 根据以下公式计算羟自由基 ($\cdot\text{OH}$) 清除率^[7-10], 每个样品重复三次, 求平均值。

$$\text{清除率}(\%) = \left(1 - \frac{A_i}{A_0}\right) \times 100 \quad \text{式(2)}$$

1.2.6 对超氧阴离子 ($\text{O}_2^{\cdot-}$) 的清除作用 精确称取一定量的抗坏血酸 (V_c) 与多糖样品, 用蒸馏水配制成浓度为 0.04、0.06、0.1、0.2、0.4、0.6、1、2、3 mg/mL 的溶液, 充分摇匀, 备用。采用吩嗪硫酸甲酯 (PMS)-还原型辅酶 I (NADH)-氯化氮蓝四唑 (NBT) 体系产生超氧阴离子自由基。分别量取不同浓度的多糖溶液、 V_c 溶液各 1 mL , 依次加入用 pH8.0、浓度为 16 mmol/L 的 Tris-HCl 缓冲液配制的浓度为 557 $\mu\text{mol}/\text{L}$ NADH-2Na、浓度为 45 $\mu\text{mol}/\text{L}$ PMS 及浓度为 108 $\mu\text{mol}/\text{L}$ NBT 各 1 mL , 旋涡混匀器混匀后, 在室温静置 5 min , 用蒸馏水调零, 在 560 nm 下测定吸光值 A_i , 以蒸馏水代替多糖溶液, 测定 A_0 , 根据以下公式计算超氧阴离子 ($\text{O}_2^{\cdot-}$) 清除率^[8,10], 每个样品重复三次, 求平均值。

$$\text{清除率}(\%) = \left(1 - \frac{A_i}{A_0}\right) \times 100 \quad \text{式(3)}$$

1.2.7 还原力 精确称取一定量的抗坏血酸 (V_c),

用蒸馏水配制成浓度为 0.04、0.06、0.1、0.2、0.4、0.6、1、2、3 mg/mL 的溶液,充分摇匀,作为对照品备用。分别量取不同浓度的多糖溶液、V_C 溶液各 1 mL,依次加入磷酸缓冲液 (pH6.6) 和铁氰化钾 (K₃Fe(CN)₆) 溶液 (1 wt%) 各 2.5 mL,混匀后 50 °C 水浴 20 min,然后加入三氯乙酸溶液 (10 wt%) 2.5 mL,混匀,1000 r/min 离心 10 min,取上清液 2.5 mL,再加入蒸馏水和氯化铁 (FeCl₃, 0.1 wt%) 各 2.5 mL,混匀,静置 10 min,蒸馏水调零,在 700 nm 处测定吸光值,每个样品重复三次,以 700 nm 吸光值的平均数表示还原力的高低^[7,9]。

1.3 数据处理

实验数据用 SPSS 13.0 软件进行统计学分析处理,组比较采用单因素方差分析 (one-way ANOVA),各组间比较采用双尾 t-检验,结果以 Mean ± SD 表示, $p < 0.05$ 表示差异显著, $p < 0.01$ 为差异极显著。

2 结果与讨论

2.1 HPS 的红外光谱

图 2 为不同方法提取的红芪多糖的红外光谱图。从图 2 可以看出,三种方法得到的红芪多糖在 3418 cm⁻¹ 有较强吸收峰,为 O-H 伸缩振动;2935 cm⁻¹ 是由 C-H 伸缩振动引起的;1618 cm⁻¹ 附近的吸收峰是由 COO-基团的 C=O 非对称伸缩振动引起的;在 1083 cm⁻¹ 出现的强吸收峰是由糖环中 C-O-C 的伸缩振动引起的。

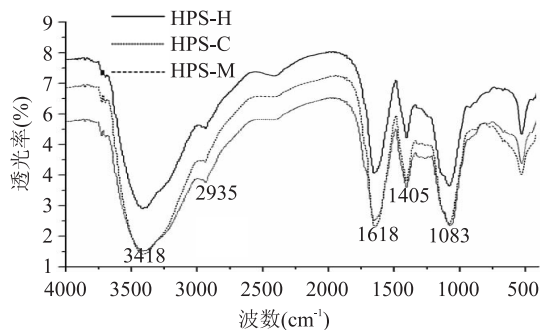


图 2 红芪多糖的红外图谱

Fig.2 FT-IR spectroscopy of HPS

2.2 HPS 的分子量

HPS 分子量的 GPC 色谱图如图 3 所示。由图 3 可以看出,HPS 的色谱图的峰比较单一,表明 HPS 的组分没有聚集。GPC 测定的 HPS-M、HPS-C、HPS-H 重均分子量为 6.29×10^5 、 4.56×10^5 、 5.13×10^5 ,多分散性分别为 3.42、3.22、2.31。这主要是由于微波辐射导致红芪多糖分子的交联,造成微波辅助提取后多糖分子量增大;超声振动会导致分子量断裂,导致超声辅助提取的红芪多糖的分子减小。

2.3 HPS 的体外抗氧化活性

2.3.1 对 DPPH 自由基的清除作用 DPPH 自由基是一种有机氮自由基,在 517 nm 处有吸光值,会随着还原而逐渐的褪色。不同提取方法对 HPS 清除 DPPH 自由基的影响如图 4。由图 4 可知,0.04 ~ 2 mg/mL 的浓度范围内,HPS-M、HPS-C、HPS-H 对 DPPH 自由基的清除率随浓度的升高而增大,并呈剂

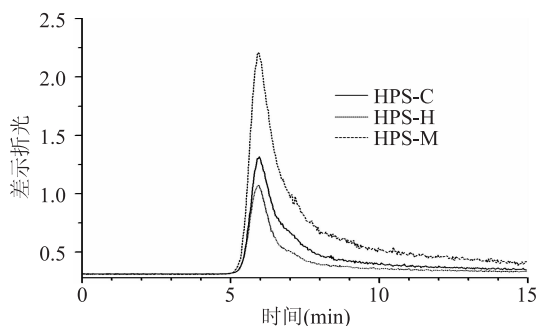


图 3 红芪多糖的 GPC 图谱

Fig.3 GPC chromatograms of

samples Laser light scattering photometry for HPS

量依赖;当 HPS 的浓度高于 2 mg/mL 时,这种趋势不再明显。HPS-M、HPS-C、HPS-H 对 DPPH 自由基的 EC₅₀ 分别为 0.52、0.63、0.72 mg/mL。HPS-M 与 HPS-C、HPS-H 之间差异显著 ($p < 0.05$),HPS-C 与 HPS-H 之间差异不显著。从图 4 可以看出,HPS 浓度较高时对 DPPH 自由基的清除率没有显著增强,这可能主要是由于多糖的溶解度的限制以及氢键的增加所造成的。

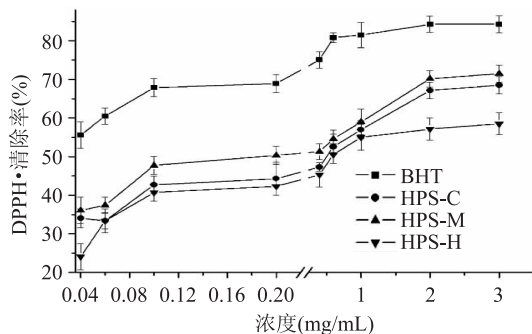


图 4 不同提取方法对 HPS 清除 DPPH·能力影响

Fig.4 The DPPH radical scavenging activity of HPS at different extraction methods

2.3.2 对羟自由基 (·OH) 的清除作用 超声、微波、热水三种提取方法对红芪多糖 HPS 清除羟自由基 (·OH) 的影响如图 5 所示。羟自由基是体内产生的一种时间短、活性高的自由基,对有机体来说危害非常大,除超氧自由基外,羟自由基被认为是与活细胞中所有功能性生物大分子反应最有效的氧化剂^[11-12]。由图 5 可知,当 HPS 的浓度在 0.04 ~ 1.0 mg/mL 时,HPS 对羟自由基的清除能力呈剂量依赖关系,随浓度的增大而增强;当浓度超过 1 mg/mL 时,红芪多糖对羟自由基的清除能力随浓度的增大趋势逐渐减缓,达到平衡。HPS-M、HPS-C、HPS-H 的半数清除浓度 (EC₅₀) 分别为 0.55、0.67、1.42 mg/mL。HPS-C 和 HPS-M 对羟自由基的清除能力要明显高于 HPS-H,且差异显著 ($p < 0.05$),其中微波提取的 HPS-M 对羟自由基的清除活性最高,但三种方法得到 HPS 清除羟自由基的能力均低于维生素 C 的清除能力。

2.3.3 对超氧阴离子 (O₂⁻·) 的清除作用 超氧阴离子自由基可直接损伤重要的生物大分子,并可分解产生单态氧自由基与羟自由基^[13]。不同提取方法对 HPS 清除超氧自由基 (O₂⁻·) 的影响如图 6。由图 6

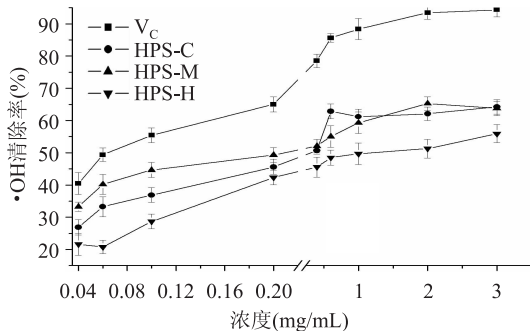


图5 不同提取方法对HPS清除·OH能力影响

Fig5 The ·OH radical scavenging activity of HPS at different extraction methods

可知,不同提取方法得到的HPS对超氧自由基的清除能力都随HPS浓度的增大而升高,在1 mg/mL时清除率达到65%左右,超过此浓度时,HPS-M、HPS-C、HPS-H清除超氧自由基的能力不再随浓度的升高而增大,其最大清除率分别达到65.37%、70.45%、61.23%。HPS-M、HPS-C、HPS-H的EC₅₀分别为0.08、0.86、0.98 mg/mL。其中HPS-M、HPS-C与HPS-H相比,差异极显著($p < 0.01$),HPS-M与HPS-C相比,差异显著($p < 0.05$)。这可能是由于微波辐射在造成多糖分子交联的同时,也导致了基分子构象的改变,从而使多糖链上暴露出更多的羟基,从而能提供更多的质子,从而为自由基提供电子,终止自由基的链式反应。

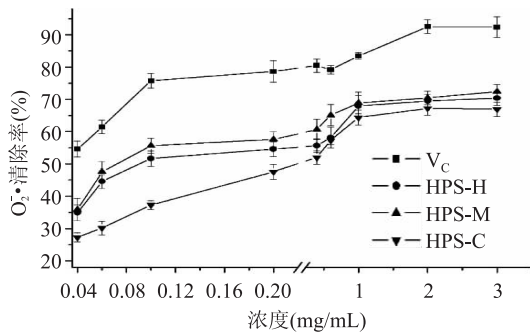


图6 不同提取方法对HPS清除O₂⁻·能力影响

Fig6 The O₂⁻· radical scavenging activity of HPS at different extraction methods

2.3.4 还原力 多糖的还原能力主要是通过多糖存在时Fe³⁺-Fe²⁺的转化所测定的。多糖的还原能力,是多糖所具有的抗氧化活性的重要指标之一。不同处理方法对红芪多糖HPS还原力的影响如图7。由图7可知,在实验浓度范围内,HPS-M、HPS-C、HPS-H的还原力随浓度的增加而增强。在浓度为0.4 mg/mL之前,HPS-M、HPS-C、HPS-H的还原力增强趋势不明显,在0.4 mg/mL之后,随着HPS浓度的增大,还原力明显增强,由此可知,HPS的还原力很大程度上依赖于浓度,浓度增大其活性基团的浓度也随之增加,相应地还原力随之增强。在浓度为0.04~0.2 mg/mL时,HPS-M、HPS-C、HPS-H的差异不显著,0.4 mg/mL时,HPS-M与HPS-C、HPS-H的差异都显著($p < 0.05$)。

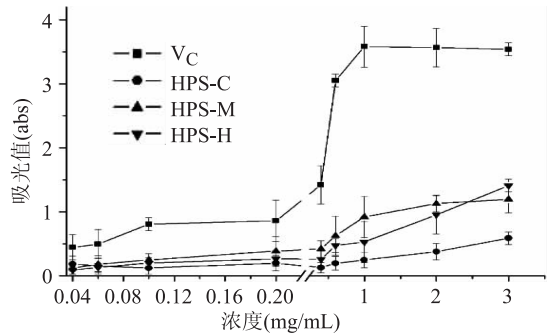


图7 不同提取方法对HPS还原能力影响

Fig.7 The reducing power of HPS at different extraction methods

3 结论

3.1 红外光谱分析表明,三种方法得到的HPS-M、HPS-C、HPS-H在3418、2935、1618、1083 cm⁻¹都有吸收峰,此为多糖特征吸收峰,表明HPS-M、HPS-C、HPS-H均为多糖;GPC测定结果显示,HPS-M、HPS-C、HPS-H重均分子量分别为6.29 × 10⁵、4.56 × 10⁵、5.13 × 10⁵,表明微波、超声均会对多糖的分子量产生影响。

3.2 体外抗氧化活性测定实验表明,HPS-M、HPS-C、HPS-H清除羟自由基、超氧自由基、DPPH自由基的能力依次减小,且HPS-M的体外抗氧化活性要远高于HPS-C、HPS-H。多糖清除羟自由基、DPPH自由基、超氧自由基以及其还原力会影响到红芪多糖的调节血糖、抗肿瘤等方面的生物学活性,因此,出于对红芪多糖生物学活性的考虑与提取效率的考虑,未来可选择微波辅助法作为红芪多糖的提取方法。

参考文献

- [1] 国家药典委员会. 中国药典[S]. 北京: 化学工业出版社, 2005:120.
- [2] 陈同强, ADILBEKOV J, 赵良功, 等. 红芪多糖3中4个组分的单糖组成分析及多糖含量测定[J]. 中国药学杂志, 2012, 47(7): 551-554.
- [3] 李晓东, 封德梅, 赵良功, 等. 红芪多糖HPS-3对2型糖尿病大鼠糖脂代谢和胰腺组织病理改变的影响[J]. 中药药理与临床, 2012, 28(1): 83-86.
- [4] 卫东锋, 赵春燕, 程卫东, 等. 红芪多糖对S180瘤细胞化疗协同增效作用的蛋白质组学分析[J]. 中药材, 2012, 35(2): 749-752.
- [5] 杨涛, 郭龙, 李灿, 等. 红芪多糖HPS1-D的化学结构和抗补体活性研究[J]. 中国中医杂志, 2014, 39(1): 90-92.
- [6] 魏舒畅, 陈方圆, 闫洁攀, 等. 二次通用旋转组合设计优化红芪总多糖与皂苷的酶解提取工艺[J]. 中成药, 2014, 36(2): 286-290.
- [7] 胡燕, 程卫东, 刘欣, 等. 红芪多糖超声法提取工艺的正交实验优选研究[J]. 时珍国医国药, 2011, 22(8): 1953-1954.
- [8] 张泽庆, 田应娟, 张静. 防风多糖的抗氧化活性研究[J]. 中药材, 2008, 2(31): 268-272.

(下转第108页)

开发豆芽安全生产技术,并依据风险评估提出添加剂的使用规范。

表5 市场豆芽4-氯苯氧乙酸钠残留检测结果一览表

Table 5 The 4-chlorophenoxyacetate residue of soybean sprouts in the vegetables market

| 编号 | 残留量 (mg/kg) | 编号 | 残留量 (mg/kg) | 编号 | 残留量 (mg/kg) | 编号 | 残留量 (mg/kg) |
|----|----------------|----|----------------|----|----------------|----|----------------|
| 1 | - | 9 | - | 17 | - | 25 | - |
| 2 | - | 10 | - | 18 | - | 26 | 2.20 |
| 3 | - | 11 | - | 19 | 3.39 | 27 | - |
| 4 | - | 12 | - | 20 | - | 28 | - |
| 5 | - | 13 | - | 21 | - | 29 | - |
| 6 | - | 14 | - | 22 | - | 30 | 1.39 |
| 7 | - | 15 | - | 23 | - | 31 | - |
| 8 | - | 16 | - | 24 | - | 32 | - |

注:“-”表示未检出。

3 结论

适宜浓度的4-氯苯氧乙酸钠对绿豆芽生长有促进作用,浸泡法中,4-氯苯氧乙酸钠最适宜浓度为1 mg/L,浸泡喷洒法中除4 mg/L组出现抑制外,其余各组产率接近,对豆芽生长无明显促进作用,综合考虑,浸泡法更适用于豆芽的培育。各处理组豆芽,随着培育时间的增长,4-氯苯氧乙酸钠的残留明显降低。在最后采收时,均未检出,说明4-氯苯氧乙酸钠在培育过程中可能发生降解,安全性较高。

参考文献

- [1] 庄艳,陈剑.绿豆的营养价值及综合利用[J].杂粮作物,2009,29(6):418-419.
- [2] 王莘,王艳梅,苏玉春,等.绿豆萌芽期功能性营养成分的测定和分析[J].中国食品学报,2004,4(2):48-51.
- [3] 李瑞国,郭少英,王怀远,等.绿豆萌发期蛋白质和V_C含量及营养价值[J].食品研究与开发,2012,33(4):170-173.
- [4] 王明海,徐宁,包淑英,等.绿豆的营养成分及药用价值[J].现代农业科技,2012(6):341-342.
- [5] R Alonso, E Orue, F Marzo. Effects of extrusion and conventional processing methods on Protein and antinutritional factor contents in pea seeds [J]. Food Chemistry, 1998, 63 (4): 505-512.
- [6] 周期年.吃豆芽助长寿[J].江苏调味副食品,2008(3):39.
- [7] 冯家望,吴洁珊,曹桂云,等.高效液相色谱-串联质谱法测定食品中对氯苯氧乙酸的残留[J].理化检验-化学分册,2012,48(10):1219-1222.
- [8] J Dick M Belgers, Ruud J Van Lieverloo, Leo J T, et al. Effects

of the herbicide 2,4-D on the growth of nine aquatic macrophytes [J]. Elsevier, 2007, 86: 260-268.

- [9] Jeanette Gaultier, Annemieke Farmharst. Degradation of [carboxy-14C] 2,4-D and [ring-U-14C] 2,4-D in 114 agricultural soils as affected by soil organic carbon content [J]. Elsevier Soil Biology Biochemistry, 2008, 40: 217-227.
- [10] 张治家.8%对氯苯氧乙酸钠对番茄安全性、产品及品质的影响[J].山西农业科学,2011,39(7):708-711.
- [11] 崔娜,李天来,赵聚勇.外源生长素PCPA对番茄过熟蔗糖代谢的影响[J].北方园艺,2008(5):8-12.
- [12] 黄星培,吴先福,王桂华,等.植物生长调节剂对氯苯氧乙酸的毒性实验[J].职业医学,1987,14(6):53.
- [13] 冯静仪,张玉华,凌宝银.对氯苯氧乙酸盐对小鼠的睾丸效应[J].劳动医学,1985,2(2):33-35.
- [14] 卫生部办公厅关于《食品添加剂使用标准》(GB2760-2011)有关问题的复函,2011:2.
- [15] 谢寒冰,周明莹,赵海峰,等.高效液相色谱-四极杆飞行时间质谱法同时检测豆芽中的3种外源植物激素残留[J].色谱,2014,32(5):493-498.
- [16] 黄卫平.高效液相色谱法测定豆芽中4-氯苯氧乙酸钠残留量[J].中华预防医学杂志,2009,36(1):44-45.
- [17] TSAI Wan-chun, HUANG Shang-da. Dispersive liquid-liquid-liquid microextraction combined with liquid chromatography for the determination of chlorophenoxy acid herbicides in aqueous samples [J]. Journal of Chromatography A, 2009, 1216: 7846-7850.
- [18] 潘雪峰,陈樱玉.对氯苯氧乙酸液相色谱分析[J].现代农药,2011,10(2):30-31.
- [19] 马智玲.蔬菜水果中农药多残留快速筛查检测技术的研究[D].北京:中国农业科学院,2013.
- [20] NY/T 1434-2007,蔬菜中2,4-D等13种除草剂多残留的测定液相色谱质谱法[S].
- [21] 王一茜.对氯苯氧乙酸钠再绿豆芽种的降解动态及其对品质的影响[D].保定:河北农业大学,2012.
- [22] 丁俊霄,尹涛,余翔,等.外源赤霉素、6-苄基腺嘌呤及矿物质对水培豆芽生长的影响[J].植物生理学报,2011(5):501-504.
- [23] 张永清.发芽条件对豆芽生产的影响[D].南京:南京农业大学,2007.
- [24] 何瑞,刘艾平,曹玉广.植物生长调节剂使用中的安全问题[J].中国卫生监督杂志,2003,10(2):99-101.
- [25] 王一茜,张广华,赵学志,等.对氯苯氧乙酸钠在绿豆芽种的残留分析[J].食品科技,2013,38(10):316-319.
- [26] 谢寒冰.豆芽质量安全的关键影响因素分析及对策[D].青岛:中国海洋大学,2008.

(上接第103页)

- [9] BTZhao, JZhang, XGuo, et al. Microwave-assisted extraction, chemical characterization of polysaccharides from *Lilium davidii* var. *unicolor* Salisb and its antioxidant activities Evaluation [J]. Food Hydrocolloids, 2013, 31: 346-356.
- [10] JHXie, MYShen, MYXie, et al. Ultrasonic-assisted extraction, antimicrobial and antioxidant activities of *Cyclocarya paliurus* (Batal.) Iljinskaja polysaccharides [J]. Carbohydrate

Polymers, 2012, 89: 177-184.

- [11] 张翠兰.人体自由基的产生与危害[J].健康,1994,8:183.
- [12] 周凤鑫.组织血液灌注与微循环的病理(2)-氧化应激与疾病[J].外科理论与实践,2007,6(12):5-12.
- [13] 曹泽虹,董玉玮,王卫东,等.牛蒡菊糖的提取及其抗氧化性能的研究[J].农业机械,2011,35:423-428.