

25个南瓜品种不同溶剂提取物抗氧化活性研究

王士苗¹,康文艺²,孙丽¹,周俊国¹,李新峰^{1,*}

(1.河南科技学院园艺园林学院,河南新乡 453003;

2.河南大学药学院,河南开封 475000)

摘要:采用清除1,1-二苯基-2-三硝基苯肼(DPPH)自由基、清除[2,2'-连氨-(3-乙基苯并噻唑啉-6-磺酸)二氯盐](ABTS)自由基以及铁离子还原能力(FRAP)的方法,以BHT为阳性对照药物,研究25个南瓜品种的体外抗氧化活性。结果表明:南瓜提取物清除DPPH自由基能力均较弱;“汕美2号”乙酸乙酯清除ABTS自由基($IC_{50} = (4.41 \pm 0.23) \mu\text{g/mL}$)能力最强,强于阳性对照BHT($IC_{50} = (8.59 \pm 0.56) \mu\text{g/mL}$);对于还原 Fe^{3+} 能力,乙酸乙酯提取物高于其他部位提取物,其中“改良蜜本”乙酸乙酯部位($TEAC = (529.65 \pm 69.52) \mu\text{mol/g}$)的还原能力弱于阳性对照Trolox($TEAC = (1387.51 \pm 37.93) \mu\text{mol/g}$)。

关键词:南瓜果实,体外抗氧化,DPPH,ABTS,FRAP

Antioxidant activity of different solvent extracts from 25 kinds of cultivated *Cucurbita* Linn. fruits *in vitro*

WANG Shi-miao¹, KANG Wen-yi², SUN Li¹, ZHOU Jun-guo¹, LI Xin-zheng^{1,*}

(1.School of Horticulture and Landscape Architecture, Henan Institute of Science and Technology, Xinxiang 453003, China;

2.School of Pharmacy, Henan University College, Kaifeng 475000, China)

Abstract: This study was aimed to evaluate the antioxidant activity of 25 kinds of pumpkin extraction *in vitro*. The scavenging of 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) radicals and (2,2'-even the ammonia(3-ethyl benzene and thiazole-6-sulfonic acid) diamonium salt) (ABTS) radicals assay and ferric reducing capacity (FRAP) assay were used to measure the antioxidant activity of pumpkins. And BHT was used as the positive control drug. Results showed that the scavenging capability of DPPH free radical ability was weak. The ethyl acetate extract of Shanmei II showed the strongest power to clear ABTS radical ($IC_{50} = (4.41 \pm 0.23) \mu\text{g/mL}$), better than that of BHT ($IC_{50} = (8.59 \pm 0.56) \mu\text{g/mL}$). The power of ethyl acetate for reduction of Fe^{3+} ability was higher than that of other extracts, and Gailiangmiben ethyl acetate extract ($TEAC = (529.65 \pm 69.52) \mu\text{mol/g}$) was weaker than that of Trolox ($TEAC = (1387.51 \pm 37.93) \mu\text{mol/g}$).

Key words: pumpkin fruit; antioxidant *in vitro*; DPPH; ABTS; FRAP

中图分类号:TS255.1

文献标识码:A

文章编号:1002-0306(2015)07-0118-05

doi:10.13386/j.issn1002-0306.2015.07.016

正常机体中自由基氧化作用与抗氧化防御作用处于动态平衡中,但在自由基产生过多或抗氧化防御系统作用减弱时,体内自由基则不能被完全清除而累积进而损害机体,导致一系列相关疾病,抗氧化剂可以抑制自由基的产生或直接清除自由基。目前食品和医学领域应用的人工合成抗氧化剂如BHT、BHA等有诸多副作用。因此,近年来从自然界中寻求天然、安全抗氧化剂已引起研究人员的高度重视。

南瓜(squash)是葫芦科南瓜属一年生草本植物,

起源于美洲大陆,栽培种及野生近缘种共有27个,是人类最富有变化的植物种类^[1]。传统中医理论认为南瓜性温味甘,入脾、胃经,生肝气、益肝血,具有补中益气之功^[2]。现代药理研究证明:南瓜有降糖^[3-5]、降血脂^[6]、抗氧化^[7-8]、抗癌^[9]、增强免疫吸附功能^[10-11]等作用。近年来南瓜的抗氧化功能已逐渐被人们发现,但是所采用的方法和南瓜提取物的活性成分均有所差异。熊建华等^[12]采用清除DPPH、ABTS自由基和羟基自由基三种方法测定南瓜果实

收稿日期:2014-05-19

作者简介:王士苗(1989-),女,在读硕士生,研究方向:蔬菜种质资源研究与利用。

*通讯作者:李新峰(1965-),男,学士,教授,主要从事南瓜资源特性与开发利用研究。

基金项目:河南省高校科技创新团队支持计划(2012IRTSTHN016)。

表1 南瓜序号与品种、类型、来源

Table 1 The numbers and varieties, types, sources of the different squashes

序号	品种名称	来源	类型
1	十姐妹南瓜	杭州市郊农家品种	中国南瓜
2	榛盆南瓜	陕西省农家品种	中国南瓜
3	广蜜1号	广东省农业科学院	中国南瓜
4	南瓜大王	河南省地方品种	中国南瓜
5	甜蜜1号	北京市农林科学院	中国南瓜
6	百蜜1号	河南科技学院	中国南瓜
7	百蜜2号	河南科技学院	中国南瓜
8	百蜜3号	河南科技学院	中国南瓜
9	九江轿顶	江西省地方品种	中国南瓜
10	改良蜜本	北京中农绿亨种子科技有限公司	中国南瓜
11	十姐妹×辉4(杂交组合 F ₁)	河南科技学院	中国南瓜
12	009-1×十姐妹(杂交组合 F ₁)	河南科技学院	中国南瓜
13	十姐妹×长2(杂交组合 F ₁)	河南科技学院	中国南瓜
14	和顺南瓜	山西省和顺县农家品种	中国南瓜
15	金园南瓜	江西百园丰实业有限责任公司	中国南瓜
16	盒盘南瓜	上海地区农家品种	中国南瓜
17	蜜丰南瓜	山西省农业科学院	中国南瓜
18	绥德府南瓜	陕西省地方品种	中国南瓜
19	靖边南瓜	陕西省靖边县农家品种	中国南瓜
20	汕美2号	广东汕头市金韩种业有限公司	中国南瓜
21	浙江七叶	浙江省农家品种	中国南瓜
22	枕头南瓜	江西省农家品种	中国南瓜
23	早熟京红栗	北京市农林科学院	印度南瓜
24	蜜龙	山西省太谷德丰种业有限公司	印度南瓜
25	红宝	甘肃酒泉三保种业有限责任公司	印度南瓜

提取物的清除自由基能力;李潇霞等^[13]研究发现南瓜乙酸乙酯提取物DPPH自由基、超氧阴离子自由基和羟基自由基有很好的清除能力;有研究证明^[14-16]南瓜多糖对羟基自由基($\cdot\text{OH}$)和超氧阴离子自由基($\text{O}_2^{\cdot-}$)都有清除能力。李昌勤等^[7]认为南瓜乙酸乙酯提取物有较好的清除ABTS自由基能力和铁离子还原能力,对DPPH自由基清除能力较差。

关于南瓜的研究多集中于水溶性多糖成分上,且实验用所南瓜材料大都是随机选取,且只选择某个品种或少量几个品种^[14-17],本实验对25种中国南瓜和日本南瓜品种石油醚、乙酸乙酯、甲醇提取物抗氧化能力进行综合考察,具有品种广泛性和代表性,以期为南瓜抗氧化活性研究提供基础资料。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

南瓜 为河南科技学院南瓜实验基地种植的25个南瓜品种及组合,包括中国南瓜(*Cucurbita moschata* Duch.)和印度南瓜(*Cucurbita maxima* Duch.),详见表1。2013年3月30日浸种催芽,4月3日播种育苗,4月15日定植。采用随机区组设计,每个品种设3次重复,共15个小区,每个小区种3畦,每畦种植2行。采样时从每个小区中选取3个成熟度一致具有该品种代表性状的果实,在生育期采用常规的栽培管理

措施,于2013年7~8月间取材,并经过后熟和贮藏,在9~10月份进行测定分析。

二苯代苦味酰基自由基(DPPH) 东京化成工业株式会社;ABTS 德国 Fluka 公司;6-三吡啶基三嗪(TPTZ)及二丁基羟基甲苯(BHT) 均购自比利时 Across Organics 公司;Trolox (6-hydroxy-2,5,7,8-tetramethylchroman-2-carboxylic acid) 美国 Sigma-Aldrich 公司;其余试剂均为分析纯。

Multiskan MK3型酶标仪 美国 Thermo Electron 公司;电子天平 美国 Mettler-Toledo 公司;N-1100型旋转蒸发仪 东京理化器械株式会社。

1.2 实验方法

1.2.1 提取物样品的制备 南瓜果实洗净去瓤去籽,阴干粉碎后依次用石油醚、乙酸乙酯和甲醇依次加热提取各两次,温度以溶液微沸为宜,每次1 h,过滤合并滤液,真空浓缩后分别得到石油醚提取物(PE)、乙酸乙酯提取物(EA)、甲醇提取物(ME)三个部位提取物。

1.2.2 提取物体外抗氧化活性筛选方法

1.2.2.1 清除1,1-二苯基-2-三硝基苯肼(DPPH)自由基法 各提取物用甲醇溶液溶解,配制2.0 mg/mL的样品溶液,并参照文献^[18]的方法配制200 μmol/L的DPPH溶液。在96微孔板中加入10 μL样品溶液和175 μL DPPH溶液,混合均匀,室温条件下暗反应

20min 后于 515nm 下测定其吸光值。每份样品平行测定 3 次,求均值并按照下式计算样品清除率。样品溶液对 DPPH 自由基清除率高于 50% 的样品依次往下稀释四个浓度,并依次计算清除率。

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

式中, $A_{\text{对照}}$ 为 DPPH 本身在测定波长处的 A 值; $A_{\text{样品}}$ 为样品溶液对 DPPH 自由基作用后的 A 值(除去样品自身吸收)。

计算得到的清除率,运用 Origin7.5 软件处理,得到样品清除 DPPH 自由基的半数清除浓度(IC_{50})。

1.2.2.2 清除 [2,2'-联氨-(3-乙基苯并噻唑啉-6-磺酸二氮盐] (ABTS) 自由基法 参照^[19]方法配制 ABTS 工作液,96 微孔板中加入 10 μL 样品溶液和 200 μL 工作液,混合均匀,室温下暗反应 20min,在 405nm 处测定吸光值,10 μL 甲醇为对照。每份样品平行重复 3 次,计算均值。样品清除率按下式计算。初筛活性高于 50% 样品依次往下稀释四个浓度,并依次计算清除率。

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

式中, $A_{\text{对照}}$ 为 ABTS 本身在测定波长处的 A 值; $A_{\text{样品}}$ 为样品溶液对 ABTS 自由基作用后的 A 值(除去样品自身吸收)。

根据计算得到的清除率,运用 Origin 7.5 软件处理,计算样品清除 ABTS 自由基的半数清除浓度(IC_{50})。

1.2.2.3 铁离子还原法/抗氧化总能力测定法(FRAP 法) 参照文献^[20]的方法配制 TPTZ 工作液;0.3mol/L 醋酸钠缓冲液、10mmol/L TPTZ 溶液、20mmol/L $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 三者体积比为 10:1:1。首先绘制标准曲线,在 96 孔板中加入 10 μL Trolox 溶液和 200 μL FRAP 工作液,混合均匀,37°C 条件下反应 30min 后在 593nm 处测定吸光度,分别以标准品 Trolox 浓度和吸光值为横纵坐标绘制标准曲线。

测定样品时在 96 孔板中加入 10 μL 样品溶液和配制好的 200 μL FRAP 工作液,每份样品重复 3 次,计算均值,结果以抗氧化当量(即每克样品的自由基清除能力相当于 Trolox 的自由基清除能力的微摩尔数 TEAC)表示。

2 结果与分析

2.1 样品对 DPPH 自由基的清除能力

南瓜不同溶剂提取物在初筛浓度为 108.11 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 时,对 DPPH 自由基的清除率均小于 50%。与阳性对照 BHT(浓度为 54.05 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 时清除率为 60.12%) 相比,各南瓜品种的提取物清除 DPPH 自由基的能力均较低。证明南瓜各部位提取物并无清除 DPPH 自由基的能力。(因为各样品对 DPPH 自由基清除率均小于 50%,无法计算其 IC_{50} ,对 DPPH 自由基清除能力较弱,因此不再列表显示。)

2.2 样品对 ABTS 自由基的清除能力

南瓜提取物在初筛浓度 95.24 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 时,多个南瓜品种乙酸乙酯部位提取物对 ABTS 自由基均有清除能力,表 2 列出了清除能力较好的几个南瓜品种及部位和对应清除率。南瓜提取物中有清除 ABTS

自由基能力较好的大部分为乙酸乙酯提取部位,其中汕美 2 号南瓜 EA($IC_{50} = (4.41 \pm 0.23)\mu\text{g}/\text{mL}$)、浙江七叶南瓜 EA($IC_{50} = (5.36 \pm 0.85)\mu\text{g}/\text{mL}$)、改良蜜本南瓜 EA($IC_{50} = (7.78 \pm 0.61)\mu\text{g}/\text{mL}$) 抗氧化能力较好,且强于阳性对照 BHT($IC_{50} = (8.59 \pm 0.56)\mu\text{g}/\text{mL}$)。

图 1 列举了清除 ABTS 自由基能力较好的 7 个品种。由图 1 可看出,在实验浓度范围内,随着浓度升高,南瓜提取物对 ABTS 自由基清除率也逐渐升高。在浓度小于 23.81 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 时,乙酸乙酯部位提取物对 ABTS 自由基清除率增长较快,超出这个范围后,随浓度升高,对 ABTS 自由基的清除率升高速度渐缓,至浓度大于 47.62 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 后,随浓度升高,样品对 ABTS 自由基清除率不再变化,趋于稳定。

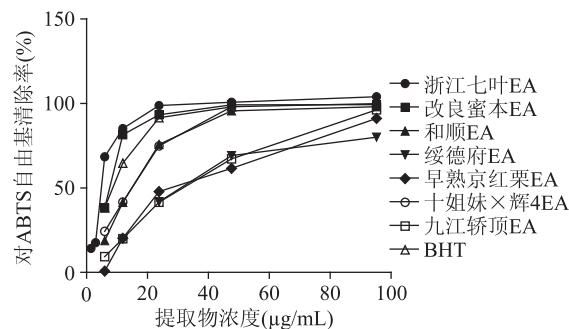


图 1 不同品种南瓜提取物对 ABTS 自由基清除能力
Fig.1 The extracts of different varieties pumpkins' capacity in clear ABTS free radical ability

2.3 铁离子还原能力/总抗氧化能力

表 2 列出了各提取物中铁离子还原能力较高的几个样品及部位和对应的抗氧化当量值。由表可看出,南瓜提取物的 Fe^{3+} 还原能力大小依次为:改良蜜本南瓜 EA > 汕美 2 号南瓜 EA > 早熟京红粟 EA > 百蜜 2 号 EA > 榛盆南瓜 EA > 九江轿顶南 EA > 靖边南瓜 EA,但它们的抗氧化能力都远小于阳性对照 Trolox (TEAC = $(1387.51 \pm 137.93)\mu\text{mol/g}$)。其中改良蜜本(TEAC = $(529.65 \pm 69.52)\mu\text{mol/g}$)、汕美 2 号(TEAC = $(415.26 \pm 8.38)\mu\text{mol/g}$) 和早熟京红粟(TEAC = $(401.03 \pm 27.36)\mu\text{mol/g}$) 3 个南瓜品种提取物的总抗氧化能力在 25 个南瓜品种中最高。

3 结论与讨论

目前测定体外抗氧化活性的方法较多,但大多是针对某一种自由基的清除活性,某一个方法的结果通常只代表样品对某个自由基的清除能力。本实验采用三种方法来衡量样品的抗氧化活性。

DPPH 在有机溶剂中是一种稳定的自由基,在 517nm 附近有较强的吸收,当自由基清除剂加入到 DPPH 溶液中时,DPPH 的单电子被配对,在最大吸收波长处吸收颜色变浅,吸光值也有改变。ABTS 是一种水溶性的自由基引发剂,经活性氧氧化后生成一种稳定的蓝绿色阳离子自由基,若待测物中含有抗氧化物,则会与 ABTS 自由基发生反应而使反应体系颜色褪去。由 Bnezie 和 Starni 建立的 FRAP 法主要衡量样品对 Fe^{3+} 的还原能力,它反映的不是针对一种自由基的清除活性,而是样品总的还原能力,

表2 不同品种南瓜提取物清除ABTS自由基的能力和TEAC值

Table 2 The extracts of different varieties pumpkins' capacity in clear ABTS free radical ability and the value of TEAC

南瓜品种及部位	初筛清除率(%)	IC ₅₀ 值(μg/mL)	TEAC(μmol/g)
十姐妹×辉4 EA	99.85	17.28 ± 3.23	1.51 ± 23.06
十姐妹×辉4 ME	92.77	30.56 ± 2.70	2.09 ± 24.14
甜蜜1号 PE	58.37	71.34 ± 6.56	33.59 ± 8.68
九江轿顶南瓜 EA	96.17	31.40 ± 6.78	222.53 ± 5.37
绥德南瓜 EA	79.96	31.34 ± 0.67	135.11 ± 8.03
靖边南瓜 EA	89.9	30.64 ± 0.41	186.47 ± 8.43
榛盆南瓜 EA	87.08	24.33 ± 1.31	228.29 ± 3.10
枕头南瓜 EA	83.2	18.33 ± 2.86	146.32 ± 10.85
枕头南瓜 ME	64.51	72.55 ± 8.76	12.99 ± 15.14
金园南瓜 EA	68.58	9.55 ± 2.53	108.74 ± 16.09
汕美2号 EA	93.99	4.41 ± 0.23	415.26 ± 8.38
浙江七叶 EA	91.23	5.36 ± 0.85	374.05 ± 16.9
百蜜2号 EA	98.6	29.15 ± 0.8	276.02 ± 1.16
百蜜3号 EA	103.9	16.63 ± 0.32	145.71 ± 8.68
蜜丰南瓜 EA	96.38	9.55 ± 0.40	487.68 ± 8.91
改良蜜本 EA	100.16	7.78 ± 0.61	529.65 ± 69.52
和顺南瓜 EA	97.24	15.27 ± 1.40	116.02 ± 8.80
早熟京红栗 EA	98.99	9.96 ± 1.46	401.03 ± 27.36
红宝 EA	75.14	28.59 ± 9.51	116.02 ± 8.80
BHT	99.43	8.59 ± 0.56	1387.51 ± 37.93

DPPH 和 ABTS 法均可通过在特定波长下吸光度的变化来评价自由基的清除情况,从而评价实验样品的抗氧化能力,抗氧化能力用清除率表示,清除率越大,抗氧化性越大,FRAP 法测定结果抗氧化当量值可用于反映样品总的抗氧化活性。

由结果看出,不同栽培品种南瓜的抗氧化活性不同,不同溶剂提取物之间的抗氧化性也有很大区别,本文采用的3种方法中,南瓜的3种不同溶剂提取物对DPPH自由基的抑制率力均较低,证明南瓜提取物还原DPPH自由基能力较差;ABTS法和FRAP法中,南瓜提取物初筛清除率大50%的样品大部分都是乙酸乙酯(EA)部位提取物,证明南瓜的中等偏低极性成分对ABTS自由基有较好的清除能力,且总还原能力较强。

本实验选取了的25种南瓜品种,主要包括了22种中国南瓜地方品种和3种日本南瓜,具有一定的广泛性和代表性,其中改良蜜本南瓜、汕美2号南瓜提取物清除ABTS自由基能力和Fe³⁺还原能力高于其他品种,可结合其来源和品种进一步加以深入研究。

参考文献

- [1] 杨鹏鸣,李新峰,李孝伟,等.南瓜矿质元素与其他品质性状的相关分析[J].西南农业大学学报,2006,28(2):279-281.
- [2] 国家中医药管理局中华本草编委会.中华本草[M].上海:上海科学技术出版社,1999:4597.
- [3] 李昌勤,卢引,顾雪竹,等.6种栽培品种南瓜提取物的α-葡萄糖苷酶抑制活性的研究[J].食品工业科技,2012,33(21):93-95.

[4] 李昌勤,卢引,李新峰,等.两种栽培品种南瓜降血糖作用的研究[J].食品工业科技,2013,34(19):328-332.

[5] Mohamed Maknia, Hamadi Fetoui, Nabil K Gargouri, et al. Antidiabetic effect of flax and pumpkin seed mixture powder: effect on hyperlipidemia and antioxidant status in alloxan diabetic rats [J]. Journal of Diabetes and Its Complication, 2011, 25: 339-345.

[6] 刘颖,金宏,许志勤,等.南瓜多糖对糖尿病大鼠血糖和血脂的影响[J].中国应用生理学杂志,2006(22):358-361.

[7] Caili F, Haijun T, Tongyi C, et al. Some properties of an acidic protein-bound polysaccharide from the fruit of pumpkin [J]. Food Chemistry, 2007, 100:944-947.

[8] 李昌勤,卢引,尹震花,等.6种南瓜栽培品种体外抗氧化活性研究[J].食品工业科技,2012(15):90-92.

[9] 徐国华,韩志红.南瓜多糖的抑瘤作用及对红细胞免疫功能的影响[J].武汉市职工医学院学报,2000,28(4):8-11.

[10] Sun Y X, Liu J C. Purification, structure and immunobiological activity of a water-soluble polysaccharide from the fruiting body of *Pleurotus ostreatus* [J]. Bioresource Technology, 2009, 100:983-986.

[11] 王鹏,王春玲,张占伟.南瓜镇痛抗炎药理作用实验研究[J].时珍国医国药,1999,10(8):567.

[12] 熊建华,閔嗣璠,董开发,等.南瓜不同部位抗氧化活性的比较[J].食品研究与开发,2011,32(11):135-138.

[13] 李潇霞.南瓜提取物体外抗氧化作用研究[D].西安:陕西师范大学,2008.

[14] 孙婕.南瓜多糖提取分离纯化及其抗氧化活性的研究进展[J].河南城建学院学报,2010,19(5):43-46.

(下转第131页)

processing on anthocyanin stability in foods; mechanisms and kinetics of degradation [J]. Trends in Food Science & Technology, 2010, 21(1): 3-11.

[3] Manas P, Barsotti L, Claude C P. Microbial Inactivation by pulsed electric fields in a batch treatment chamber: effects of some electrical parameters and food constituents [J]. Innovative Food Science & Emerging Technologies, 2001(2): 239-249.

[4] Haile M, Pan Z, Gao M, et al. Efficacy in microbial sterilization of pulsed magnetic field treatment [J]. International Journal of Food Engineering, 2008, 4(4): 1-14.

[5] Wosnitza J, Bianchia A D, Freudenberger J, et al. Dresden pulsed magnetic field facility [J]. Journal of Magnetism and Magnetic Materials, 2007, 310: 2728-2730.

[6] 曹辉, 马海乐. 脉冲磁场对大肠杆菌和金黄色葡萄球菌杀灭效果的实验研究 [J]. 食品工业科技, 2003, 24(4): 29-31.

[7] 高梦祥, 马海乐, 郭康权. 西瓜汁的脉冲磁场杀菌实验 [J]. 食品与发酵工业, 2004, 30(3): 14-17.

[8] 杨巧绒, 高梦祥, 马海乐. 强脉冲磁场的杀菌效果及对食品品质的影响 [J]. 微波学报, 2005, 20(3): 82-85.

[9] 王合利, 马海乐, 祝子坪, 等. 大肠杆菌的脉冲磁场杀菌效果及规律性的研究 [J]. 食品工业科技, 2008(7): 79-81.

[10] 钱静亚, 陈超, 王晨燕, 等. 介质参数对脉冲磁场杀灭枯草芽孢杆菌的影响 [J]. 食品与机械, 2012(5): 8-11.

[11] San Martín M F, Harte F M, Lelieveld H, et al. Inactivation effect of an 18-T pulsed magnetic field combined with other technologies on *Escherichia coli* [J]. Innovative Food Science & Emerging Technologies, 2001, 2(4): 273-277.

[12] 郭书林, 陈信忠, 龚艳清, 等. PCR-RFLP 方法检测和鉴

(上接第 121 页)

[15] 李俊丽, 向长萍. 南瓜水溶性多糖提取及抗氧化性能的研究 [J]. 湖北农业科学, 2006, 45(5): 611-614.

[16] 柳红, 张静. 不同南瓜多糖体外清除羟基自由基作用的研究 [J]. 武汉植物学研究, 2007, 25(4): 356-359.

[17] 张婧媛, 吴昊, 王凤舞, 等. 南瓜酒抗氧化活性及其与 V_C、多酚和多糖含量的关系 [J]. 食品科学, 2013, 34(1): 78-81.

[18] 于海平, 孔祥密, 施余杰, 等. 荆条花不同提取物抗氧化

(上接第 126 页)

隆, 表达及其在肉质中的遗传效应分析 [D]. 雅安: 四川农业大学, 2009.

[15] 靳烨. 高压处理对鲜牛肉感官性能的影响 [D]. 北京: 中国农业大学, 1999.

[16] 李永鹏. 宰后成熟对藏羊肉肉用品质及挥发性化合物的影响 [D]. 兰州: 甘肃农业大学, 2011.

[17] French M C, Littlejohn R P, Greer G J, et al. Growth hormone and ghrelin receptor genes are differentially expressed between genetically lean and fat selection lines of sheep [J]. Journal of Animal Science, 2006, 84(2): 324-331.

[18] 张佳佳. 沙地雀麦质膜水孔蛋白基因(BiPIP)和 Actin 基因克隆与序列分析 [D]. 呼和浩特: 内蒙古农业大学, 2012.

[19] Livak K J, Schmittgen T D. Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the 2(-Delta Delta C(T)) Method [J]. Methods, 2001, 25(4): 402-408.

别五种李斯特菌 [J]. 食品安全质量检测学报, 2013(2): 504-508.

[13] 石秀东. 液态食品非加热杀菌技术的研究进展 [J]. 冷饮与速冻食品工业, 2002, 8(4): 37-44.

[14] Yin S, Chen X, Hu C, et al. Nanosecond Pulsed Electric Field (nsPEF) Treatment for Hepatocellular Carcinoma: A Novel Locoregional Ablation Decreasing the Lung Metastasis [J]. Cancer letters, 2014, 346(2): 285-291.

[15] Wolff I, Torsello A, Tedesco B, et al. 50-Hz extremely low frequency electromagnetic fields enhance cell proliferation and DNA damage: possible involvement of a redoxmechanism [J]. Biochim Biophys Acta, 2005, 1743(1-2): 120-129.

[16] Fitzsimmons RJ, Gordon SL, Kronberg J, et al. A pulsing electric field (PEF) increases human chondrocyte proliferation through a transduction pathway involving nitric oxide signaling [J]. J Orthop Res, 2008, 26(6): 854-859.

[17] Cebrián G, Raso J, Condón S, et al. Acquisition of pulsed electric fields resistance in *Staphylococcus aureus* after exposure to heat and alkaline shocks [J]. Food Control, 2012, 25(1): 407-414.

[18] Rivas A, Pina-Pérez M C, Rodriguez-Vargas S, et al. Sublethally damaged cells of *Escherichia coli* by Pulsed Electric Fields: The chance of transformation and proteomic assays [J]. Food Research International, 2013, 54(1): 1120-1127.

[19] Zhao W, Yang R, Shen X, et al. Lethal and sublethal injury and kinetics of *Escherichia coli*, *Listeria monocytogenes* and *Staphylococcus aureus* in milk by pulsed electric fields [J]. Food Control, 2013, 32(1): 6-12.

活性的比较研究 [J]. 中国药房, 2013, 24(39): 3672-3674.

[19] Kang WY, Li CF, Liu YX. Antioxidant phenolic compounds and flavonoids of *Mitragyna rotundifolia* (Roxb.) Kuntze *in vitro* [J]. Med Chem Res, 2010, 19: 1222-1232.

[20] Kang WY, Wang JM. *In vitro* antioxidant properties and *in vivo* lowering blood lipid of *Forsythia suspense* leaves [J]. Med Chem Res, 2010, 19: 617-628.

[20] 燕凤. 绵羊 CAPN1, CAST 基因 mRNA 的发育性表达规律及其对肉品质的影响 [D]. 杨凌: 西北农林科技大学, 2008.

[21] Ilian M A, Morton J D, Kent M P, et al. Intramuscular variation in tenderness: association with the ubiquitous and muscle-specific calpains [J]. Journal of Animal Science, 2001, 79(1): 122-132.

[22] 唐仁勇. μ -Calpain, Calpastatin 与猪肉嫩度的关系及其基因表达的营养调控研究 [D]. 雅安: 四川农业大学, 2008.

[23] 姚慧, 陈智华, 钟金城, 等. CAPN1 和 CAST 基因在牦牛不同组织中的表达差异研究 [J]. 河南农业科学, 2014, 43(3): 139-141.

[24] 陈春华, 赵生国, 雷赵民, 等. 甘肃肉牛 CAST 基因的多态性及其与肉质性状的相关性研究 [J]. 中国农学通报, 2013, 35: 17-22.

[25] 管淞, 周汉林, 侯冠彧, 等. 海南黑山羊 MSTN 基因的表达差异与发育性变化研究 [J]. 家畜生态学报, 2013, 11: 15-19.