

超微粉碎对水芹粉末理化性质 及抗氧化活性的影响

唐明明¹, 孙汉巨¹, 赵金龙¹, 何述栋¹, 李延红¹, 张华¹, 郜四羊², 华长虹³

(1. 合肥工业大学食品与生物工程学院, 安徽合肥 230009) (2. 安徽四平食品开发有限责任公司, 安徽铜陵 244000) (3. 安徽省桐城市牯牛背农业开发有限公司, 安徽桐城 231400)

摘要: 本研究以水芹为材料, 通过与传统粗粉碎相对比, 研究了超微粉碎时间对水芹粉末的粒度分布、形貌特征、膳食纤维、黄酮及总酚总溶出量、颜色、功能特性以及流动性的影响。进一步针对不同粒度的水芹粉末中主要活性成分的溶出特性, 进行测定并对比分析。最后, 采用 DPPH 自由基清除率、羟基自由基清除率、ABTS 自由基清除率、总还原力及氧自由基吸收能力 (ORAC), 评价了水芹粉末的抗氧化活性。结果表明: 随着超微粉碎时间的延长, 水芹粉末粒径降低至 42.19 μm , 比表面积增加至 0.28 m^2/g , 可溶性膳食纤维溶出量增加至 7.26%, 黄酮和总酚溶出量显著提高。同时, 超微粉碎处理增强了水芹粉的亮度和绿度, 改善其溶解性、持水力及膨胀力, 但使得水芹超微粉的流动性略微降低。此外, 超微粉碎处理极大地提高了黄酮、总酚、可溶性蛋白及多糖的溶出速率, 且提高了水芹粉末对 DPPH、羟基、ABTS 自由基清除能力、总还原力及氧自由基吸收能力。

关键词: 超微粉碎; 水芹粉; 粒径; 理化性质; 抗氧化

文章编号: 1673-9078(2019)07-55-65

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2019.7.009

Effect of Superfine Grinding on the Physicochemical Properties and Antioxidant Activities of Water Dropwort Powder

TANG Ming-ming¹, SUN Han-ju¹, ZHAO Jin-long¹, HE Shu-dong¹, LI Yan-hong¹, ZHANG Hua¹,
GAO Si-yang², HUA Chang-hong³

(1.School of Food and Biological Engineering, Hefei University of Technology, Hefei 230009, China)

(2.Anhui Siping Develop Limited Company, Tongling 244000, China)

(3.Gu Niubei Agricultural Development Limited Company, Tongcheng 231400, China)

Abstract: In this paper, using water dropwort as material, the effects of superfine grinding time on the particle size distribution, morphology, the dissolutions of dietary fiber, flavonoids, total polyphenols, and color, functional and flow properties of water dropwort powder were investigated by comparing with the traditional coarse grinding. Moreover, the dissolution characteristics of phytochemicals in water dropwort powder with different particle sizes were measured and compared. Then, the DPPH radical scavenging activity, hydroxyl radical scavenging activity, ABTS radical scavenging activity, total reducing power and oxygen radical absorbance capacity (ORAC) assays were evaluated. The results showed that with the prolongation of superfine grinding time, the particle size of water dropwort powder decreased to 42.19 μm , the specific surface area increased to 0.28 m^2/g , the dissolution of soluble dietary fiber increased to 7.26%, and the dissolutions of flavonoids and total polyphenols obviously increased. Meanwhile, superfine grinding enhanced the brightness and greenness, improved its solubility, water holding capacity and swelling capacity, but slightly reduced its fluidity. In addition, superfine grinding greatly improved the dissolution rate of flavonoids, total polyphenols, soluble proteins and polysaccharides, and also enhanced the DPPH, hydroxyl, ABTS radical scavenging activity, total reducing power, and oxygen radical absorbance capacity.

Key words: superfine grinding; water dropwort powder; particle size; physicochemical property; antioxidant activity

收稿日期: 2019-02-26

基金项目: 安徽省科技重大专项项目 (16030701073); 国家自然科学基金项目 (31771974)

作者简介: 唐明明 (1994-), 男, 硕士研究生, 研究方向: 食品资源综合利用

通讯作者: 孙汉巨 (1966-), 男, 教授, 研究方向: 农产品的综合利用

水芹 (*Oenanthe javanica* DC), 又称为楚葵、野芹菜、河芹及水英等, 属于伞形科水芹属植物, 属于多年生湿生草本植物^[1]。水芹是一种风味独特, 清香爽口的传统型蔬菜, 富含蛋白质、碳水化合物、纤维素、氨基酸、维生素和矿物质等营养成分。此外, 还富含黄酮、多酚以及多糖等保健成分^[2]。作为一种具有悠久历史的传统型中药, 水芹具有清热、利尿、防治乙肝、降血压、降血脂、抗动脉硬化以及治疗黄疸等功效^[3,4]。近年来, 水芹除加工为中药材之外, 多以新鲜原料形式出售, 主要作为家庭烹任菜肴的原材料。因新鲜水芹易受到微生物污染而腐败变质, 将其加工成干燥制品将有利于提升其产品价值, 并且拓宽其应用领域。

超微粉碎是一种新型的加工技术, 与传统粉碎技术相比, 其利用机械或流体动力的方法, 如: 碾磨、冲击、剪切等方法克服物料内部凝聚力使之破碎, 进而实现了粉末粒径微粒化, 一般可将较大粒度的物料颗粒粉碎至 10~25 μm , 甚者可粉碎至亚微米或纳米级^[5]。超微粉碎可赋予粉末一些突出的理化特性, 如: 表面效应、尺寸效应、光学性能、力学性能、化学性质等^[6]。此外, 通过破碎粉体细胞壁, 减小粒径, 使得粉体具有较大的比表面积和孔隙率。这极大地提高了粉末中营养物质在溶液中的溶出率, 进而有助于被人体吸收^[7]。目前, 超微粉碎已广泛应用于水果、蔬菜、肉类、香辛料、调味品类、粮食淀粉类、营养强化类 (如: 骨粉、花粉等)、叶类如茶叶粉、桑叶粉等以及药食兼用的保健食品类^[8]。但迄今为止, 关于超微粉碎对水芹粉末的应用研究较少。

本文以水芹为研究对象, 以传统的粉碎技术为对照, 对水芹粉末进行不同时间的超微粉碎处理。首先对水芹粉末的粒度分布、形貌特征、膳食纤维、黄酮和总酚总溶出量以及颜色进行考察。其次, 对不同粒度的水芹粉末的溶解性、持水力、膨胀力、持油力、流动性以及有效成分的溶出特性进行测定并对比分析。最后, 研究了不同粒度的水芹粉末的抗氧化特性, 为水芹的深度开发提供一定的技术支撑。

1 材料与方法

1.1 原材料与试剂

水芹 (产于安徽省桐城市), 由安徽省桐城市牯牛背农业开发有限公司提供; 芦丁、没食子酸、福林酚、牛血清蛋白、考马斯亮蓝 G250、苯酚、纤维素酶、2,2-联氮-二(3-乙基-苯并噻唑-6-磺酸)二铵盐 (ABTS)、二苯基苦味酰基苯肼 (DPPH) (分析级), 北京索莱宝科

技有限公司; 葡萄糖、硫酸亚铁、水杨酸、过氧化氢、硫酸铜、铁氰化钾、过硫酸钾、浓硫酸、硫酸钾、硼酸、亚硝酸钠、硝酸铝、氢氧化钠、无水乙醇、碳酸钠、氯化钠 (分析级), 国药化学试剂有限公司; 大豆油 (市售, 食品级)。

1.2 仪器与设备

722E 型分光光度计, 上海光谱仪器有限公司; HH-2 型数显恒温水浴锅, 江苏金坛市荣华仪器制造有限公司; DZF-6020 型恒温电热干燥箱, 上海万锐实业有限公司; FA1004 型电子天平, 上海精科天平有限公司; LGJ 冷冻干燥机, 北京松原华兴科技有限公司; TGL16M 高速冷冻离心机, 上海卢湘仪离心机仪器有限公司; HX-300 型中药粉碎机, 永康市溪岸五金药具厂; XDW-6J 型超微粉碎机, 济南达微机械有限公司; MS-2000 激光粒度分析仪, 英国 Malvern 公司; JSM-6490LV 钨丝灯扫描电子显微镜, 日本电子制造公司; NR-200 色差仪, 深圳市 3NH 科技有限公司; Varioskan Flash 酶标仪, 美国 Thermo 公司。

1.3 试验方法

1.3.1 样品制备

将新鲜水芹清洗干净后切成长约 2 cm 的小段, 置于 600 W 微波漂烫 1 min。待样品冷却后, 置于冷冻干燥机中干燥。将干燥的样品用中药粉碎机粗粉碎 2 min, 即为水芹粗粉。将水芹粗粉进行超微粉碎处理, 分别收集超微粉碎 5、15 及 25 min 后的水芹粉末。将水芹粗粉和超微粉密封, 在 -18 $^{\circ}\text{C}$ 下储存。

1.3.2 粒度分布测定

采用激光粒度分析仪, 测定不同粉碎时间下水芹粉末的粒度分布, 均在室温下采用干法测定。其中, D_{10} 、 D_{50} 和 D_{90} 分别表示粒度小于 10、50 和 90% 的累积百分数。 $D_{(3,2)}$ 和 $D_{(4,3)}$ 分别表示表面积的平均直径和体积的平均直径^[9]。

1.3.3 总膳食纤维和可溶性膳食纤维溶出量的测定

根据郝威等^[10]人的方法, 采用酶重量法测定水芹粉中总膳食纤维和可溶性膳食纤维含量。

1.3.4 黄酮和总酚总溶出量的测定

准确称取 1 g 水芹粉, 加入 100 mL 70% 的乙醇溶液超声提取 2 h, 提取液减压抽滤后备用, 用于测定黄酮和总酚的总溶出量。黄酮含量的测定方法参考亚硝酸钠-硝酸铝比色法^[11], 以芦丁为标准品, 其标准曲线为: $y=5.613x+0.003$, $R^2=0.9990$ 。总酚含量的测定采用福林酚比色法^[12], 并以没食子酸作为标准品, 其标

准曲线为: $y=6.7571x+0.0687$, $R^2=0.9970$ 。

1.3.5 色差分析

水芹粉末的颜色用色差仪进行测定。其中: L 值表示亮度; a*值表示绿度→红度; b*值表示蓝度→黄度。

1.3.6 扫描电镜观察

采用钨丝灯扫描电子显微镜观察水芹粉末的表现形态。首先, 将导电胶粘合的碳带贴在圆形铝盘上, 取少量的样品均匀铺在碳带上, 对铝盘进行喷金。然后, 在高真空和加速电压为 20 kV 的条件下, 观察样品的表现形态。

1.3.7 超微粉碎对水芹粉末功能特性的影响

1.3.7.1 溶解性测定

参考 Liu 等^[13]人的方法: 取少量的粉末以 1:25 (W/V) 的比例与蒸馏水混合, 在 80 °C 下磁力搅拌 30 min。在 4500 r/min 下离心 15 min 后, 将上清液倒入培养皿中。将培养皿放在 105 °C 烘箱中干燥至恒重, 冷却至室温后精确称重。根据下列公式计算水芹粉的溶解性:

$$\text{溶解性(g/g)}=(W_3-W_2)/W_1 \quad (1)$$

其中: W_1 为水芹粉的重量 (g); W_2 为培养皿的重量 (g); W_3 为培养皿和样品的重量 (g)。

1.3.7.2 持水力测定

参考何运等^[14]的方法, 准确称量样品和离心管的重量, 将样品以 1:25 (W/V) 的比例与蒸馏水混合, 25 °C 下磁力搅拌 30 min。在 4500 r/min 下离心 15 min, 倒出上清液, 精确称量样品和离心管的重量。根据下列公式计算水芹粉的持水力:

$$\text{持水力(g/g)}=(W_3-W_2-W_1)/W_1 \quad (2)$$

其中: W_1 为样品重量 (g); W_2 为空离心管的重量 (g); W_3 为样品和离心管的重量。

1.3.7.3 膨胀力测定

参考 Meng 等^[15]方法, 精确称取 1 g 的水芹粉末放到量筒中, 加入 20 mL 的蒸馏水溶解, 并记录初始粉末的体积。室温下放置 24 h 后, 记录粉末占据的体积。根据下列公式计算水芹粉的膨胀力:

$$\text{膨胀力(mL/g)}=(V_2-V_1)/m \quad (3)$$

其中: m 为水芹粉重量 (g); V_1 为初始粉末的体积; V_2 为 24 h 后粉末的体积。

1.3.7.4 持油力测定

参考 He 等^[16]的方法, 精确称量样品和离心管的重量, 将水芹粉以 1:20 (W/V) 的比例与大豆油混合, 涡旋 30 s 以充分混匀样品。室温下放置 1 h 后, 在 4500 r/min 离心 15 min, 除去上清液。最后, 精确称量样品和离心管的重量。根据下列公式计算水芹粉的持油力:

$$\text{持油力(g/g)}=(W_3-W_2-W_1)/W_1 \quad (4)$$

其中: W_1 为样品重量 (g); W_2 为空离心管的重量 (g); W_3 为样品和离心管的重量。

1.3.8 超微粉碎对水芹粉末流动性的影响

1.3.8.1 堆积密度的测定

参考 Zhao 等^[17]的方法, 称取 1 g 水芹粉末加入到 10 mL 量筒中, 并记录粉末占据的体积。根据下列公式计算水芹粉的堆积密度:

$$\text{堆积密度(g/mL)}=m/V \quad (5)$$

其中: m 为样品重量 (g); V 为粉末在量筒中占据的体积 (mL)。

1.3.8.2 振实密度的测定

参考 Huang 等^[18]的方法, 精确称量 1 g 粉末加入到 10 mL 量筒中, 读取水芹粉末占据的体积。然后, 量筒在厚纱布上连续振荡, 直到样品的体积不再变化为止, 并读取此刻样品的体积。根据下列公式计算水芹粉的振实密度:

$$\text{振实密度(g/mL)}=m/(V_1-V_2) \quad (6)$$

其中: m 为样品重量 (g); V_1 为振荡前粉末的体积 (mL); V_2 为振荡后粉末的体积 (mL)。

1.3.8.3 休止角的测定

休止角定义为由堆叠层的斜面和水平面形成的最大角度, 其测定参考何运等^[12]方法。将漏斗垂直放置在培养皿上方, 并将粉末不断地倒入漏斗中, 直到粉末锥体的尖端恰好接触漏斗的出口。在锥体稳定 2 min 后, 精确测量粉末锥体的半径和高度。根据下列公式计算水芹粉的休止角:

$$\text{休止角(}^\circ\text{)}=\arctan H/R \quad (7)$$

其中: H 为粉末锥体的高度; R 为粉末锥体的半径。

1.3.9 超微粉碎对水芹粉末中主要活性成分的溶出特性的影响

称取 1 g 的水芹粉末, 分别与 100 mL 的蒸馏水混合, 在转速为 200 r/min 下进行搅拌 2 min。将样品分别放在 75 °C 水浴中孵育 5、10、15、30、60 及 90 min。用 0.45 μm 微孔滤膜过滤, 收集滤液, 用于测定黄酮、总酚、可溶性蛋白及多糖的溶出量。黄酮及总酚含量的测定同 1.3.4。根据考马斯亮蓝法^[19]测定可溶性蛋白质含量, 以牛血清蛋白为标准品, 其标准曲线为: $y=0.6377x+0.0073$, $R^2=0.9921$ 。可溶性多糖含量的测定采用苯酚-硫酸测定法^[20], 以葡萄糖作为标准品, 其标准曲线为 $y=9.7600x+0.0260$, $R^2=0.9957$ 。

1.3.10 超微粉碎对水芹粉末抗氧化活性的影响

1.3.10.1 水芹粉末乙醇提取液的制备

参考张建梅等人^[21]的方法, 将水芹粉末与 70%的

乙醇按照 0.25、0.5、1、2、4 及 8 mg/mL 浓度称取, 在 30 °C 下超声提取 30 min。随后, 将提取液于 3500 r/min 离心 15 min, 收集上清液待用。

1.3.10.2 DPPH 自由基清除率的测定^[22]

吸取 1 mL 的不同浓度的水芹提取液置于试管中, 加入 3.0 mL 100 μmol/L DPPH 无水乙醇溶液, 混匀。在室温条件下避光保存 30 min, 反应结束后, 在 517 nm 波长下测定溶液的吸光度值。以添加 1 mL 无水乙醇和 3.0 mL 100 μmol/L DPPH 无水乙醇溶液作为空白组。以添加 1 mL 不同浓度的水芹提取液和 3 mL 无水乙醇作为对照组。半抑制浓度 (IC_{50}) 为清除率达到 50% 时的样品浓度, 用于衡量自由基清除率。根据下列公式计算 DPPH 自由基清除率:

$$\text{DPPH 自由基清除率}(\%) = [1 - (A_1 - A_2) / A_0] \times 100 \quad (8)$$

其中: A_0 为空白组在 517 nm 波长下的吸光度值; A_1 为样品组溶液在 517 nm 波长下的吸光度值; A_2 为对照组溶液在 517 nm 波长下的吸光度值。

1.3.10.3 羟基自由基清除率的测定^[22]

吸取 1 mL 不同浓度的水芹提取液置于试管中, 加入 2.0 mL 1.8 mmol/L $FeSO_4$ 溶液和 1.5 mL 水杨酸乙醇溶液, 再加入 0.1 mL 0.3% 的 H_2O_2 溶液。混合均匀后, 水浴保温 30 min, 在波长 510 nm 下测量吸光度值。以添加 1.0 mL 乙醇替代样品溶液为空白组。根据下列公式计算羟基自由基清除率:

$$\text{羟基自由基清除率}(\%) = (1 - A_1 / A_2) \times 100 \quad (9)$$

其中: A_1 为样品组在 510 nm 下的吸光度值; A_2 为空白组在 510 nm 下的吸光度值。

1.3.10.4 ABTS 自由基清除率的测定^[21]

将 ABTS 用 0.2 mol/L 磷酸盐缓冲液 (PBS) (pH 7.2) 溶解配制成 7 mmol/L 溶液, 再加入等体积的 2.45 mmol/L 过硫酸钾, 混匀后室温避光反应 16 h, 制备成 ABTS 储备液, 使用时将其稀释至吸光值为 0.7 ± 0.02 。吸取 0.15 mL 不同浓度的水芹提取液置于试管中, 再加入 2.85 mL 稀释后的 ABTS 储备液, 室温反应 10 min 后, 在波长 734 nm 处测其吸光值。以添加 0.15 mL 的乙醇溶液替代样品液作为对照组。根据下列公式计算 ABTS 自由基清除率:

$$\text{ABTS 自由基清除率}(\%) = (1 - A_1 / A_2) \times 100 \quad (10)$$

其中: A_1 为样品组在 734 nm 波长下的吸光度值, A_2 为对照组在 734 nm 波长下的吸光度值。

1.3.10.5 总还原力的测定^[22]

吸取 1 mL 8 mg/mL 水芹提取液置于试管中, 加入 2.5 mL 0.2 mol/L PBS (pH=6.6) 和 2.5 mL 1% 铁氰化钾溶液, 混匀, 在 50 °C 下水浴 20 min。随后, 向试管中加入 2.5 mL 10% 三氯乙酸溶液, 混匀后在 4000

r/min 下离心 10 min, 收集上清液。取 2.5 mL 上清液, 加入 2.5 mL 去离子水和 0.5 mL 三氯化铁溶液 (0.1%, m/V), 充分混合后, 在 700 nm 下测定其吸光度值。

1.3.10.6 氧自由基吸收能力 (ORAC) 的测定^[23]

吸取 25 μL 8 mg/mL 水芹提取液或 Trolox 标准溶液 (0~50 μmol/L) 于黑色 96 孔板内, 再加入 25 μL 504 nmol/L 的荧光素钠溶液 (荧光素钠溶于 pH 7.4 的 PBS 中), 在 37 °C 条件下振荡孵育 5 min, 加入 150 μL 17.07 mmol/L 的 2,2-偶氮二 (2-甲基丙基咪) 二盐酸盐 (AAPH, 溶于 pH 7.4 的 PBS 中) 溶液启动反应, 混匀后立即在激发波长 485 nm, 发射波长 538 nm 下测定, 每 2 min 测定 1 次, 连续测定 120 min。反应结束后获得荧光衰减曲线, 对荧光衰减曲线下的面积积分, 结果表示为氧自由基吸收能力, 用微摩尔 TE 每克样品干质量 (μmol TE/g) 表示。

1.4 数据分析

所有的试验均重复 3 次, 数据表示为平均值±标准差。采用 SPSS 20.0 软件对数据进行统计分析, 以 $p < 0.05$ 为差异显著。

2 结果与分析

2.1 超微粉碎对水芹粉末粒径分布的影响

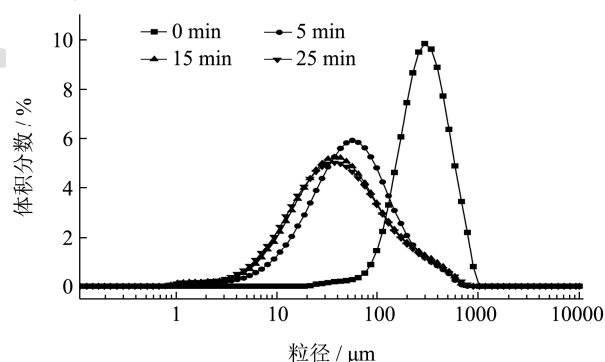


图1 水芹粉末的粒径分布

Fig.1 Particle size distributions of water dropwort powder

水芹粗粉和超微粉的粒径分布如图1所示。随着超微粉碎时间的延长, 水芹粉末的粒径逐渐减小。当超微粉碎时间从 15 min 延长至 25 min 时, 粒度分布无明显变化。由表1可知, 水芹粗粉和超微粉 (5、15 及 25 min) 的中位径 (D_{50}) 分别为 320.71、53.19、43.19 及 42.19 μm。随着超微粉碎时间的延长, $D_{(4,3)}$ 和 $D_{(3,2)}$ 显著降低 ($p < 0.05$), 分别从 390.69 μm 降低至 70.06 μm, 从 174.58 μm 降低至 21.46 μm。此外, 随着粒径的减小, 水芹超微粉 (25 min) 的比表面积比水芹粗粉约大 5.6 倍, 这表明每单位重量的超微粉

中含有较多的颗粒。因此，超微粉与其他物质混合时更易混合均匀^[24]。

表 1 水芹粉末的粒径和比表面积

Table 1 Particle size and specific surface area of water dropwort powder

时间/min	D ₁₀ /μm	D ₅₀ /μm	D ₉₀ /μm	D _(4,3) /μm	D _(3,2) /μm	比表面积/(m ² /g)
0	135.74±3.73 ^a	320.71±5.22 ^a	584.98±7.34 ^a	390.69±4.84 ^a	174.58±3.22 ^a	0.05±0.01 ^c
5	14.73±0.34 ^b	53.19±1.07 ^b	177.72±1.75 ^b	81.72±0.57 ^b	27.46±1.16 ^b	0.23±0.01 ^b
15	11.34±0.62 ^{bc}	43.19±1.07 ^c	166.38±1.80 ^c	71.72±0.57 ^c	23.12±0.76 ^c	0.26±0.02 ^a
25	9.91±0.23 ^c	42.19±0.98 ^c	159.38±1.03 ^c	70.06±0.62 ^c	21.46±0.85 ^c	0.28±0.01 ^a

注：同一列不同字母代表样品间的显著差异 ($p<0.05$)。下表同。

2.2 超微粉碎对水芹粉末中总膳食纤维和可溶性膳食纤维溶出量的影响

溶性膳食纤维溶出量的影响

不同粉碎时间下水芹粉中总膳食纤维及可溶性膳食纤维的溶出量如图 2 所示。总膳食纤维溶出量从 40.97%降低至 38.28%，且水芹超微粉中总膳食纤维的含量低于水芹粗粉。这可能是由于在物理剪切作用下造成大分子断裂造成的^[14]。同时，随着超微粉碎时间的延长，水芹粉末的可溶性膳食纤维溶出量增加了约 29.31%。其溶出量增加的原因可能是由于超微粉具有疏松的结构和较大的比表面积，更有利于提高淀粉酶对底物的作用效率，从而增加可溶性膳食纤维的溶出。此外，膳食纤维中可溶性膳食纤维有助于降低体重，并具有降血压、载脂蛋白、胆固醇、甘油三酯等作用^[25]。此外，可溶性膳食纤维可影响许多糖代谢和脂代谢相关基因进而调节血糖，从而有效发挥降血糖作用^[26]。因此，超微粉碎处理有效提高了水芹粉末中可溶性膳食纤维的溶出，极大地提高了其营养成分的消化及吸收性。

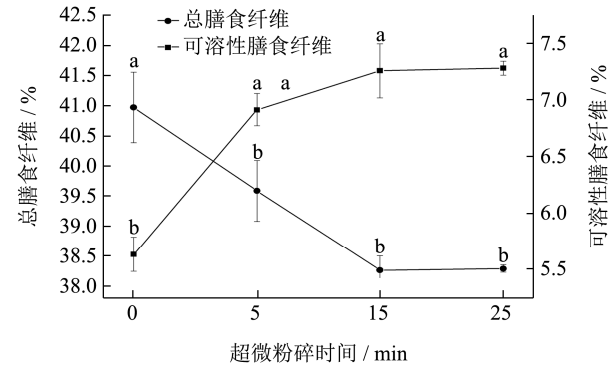


图 2 超微粉碎对水芹粉末中总膳食纤维和可溶性膳食纤维溶出量的影响

Fig.2 Effect of superfine grinding on the dissolutions of total and soluble dietary fiber of water dropwort powder

注：不同字母代表样品间的显著差异 ($p<0.05$)。

2.3 超微粉碎对水芹粉末中黄酮和总酚总溶

出量的影响

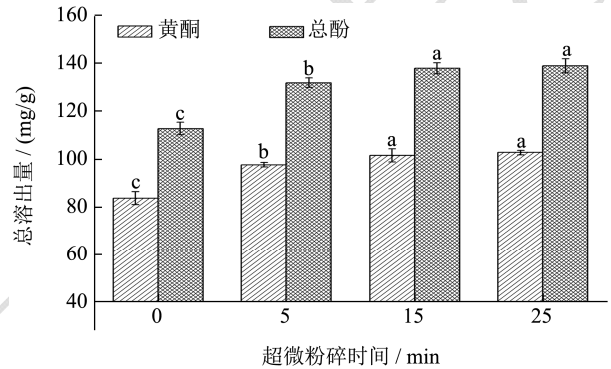


图 3 超微粉碎对水芹粉末中黄酮和总酚总溶出量的影响

Fig.3 Effect of superfine grinding on the dissolutions of flavonoids and total polyphenols of water dropwort powder

注：不同字母代表样品间的显著差异 ($p<0.05$)。

超微粉碎对水芹粉末中黄酮和总酚总溶出量的影响如图 3 所示。随着超微粉碎时间的延长，水芹粉末中黄酮的总溶出量从 83.72 mg/g 增长到 102.89 mg/g，总酚的总溶出量从 112.94 mg/g 增长到 139.24 mg/g。其中，水芹粗粉中黄酮和总酚总溶出量最低，而超微粉碎 15 和 25 min 后的水芹粉中黄酮和总酚的总溶出量并无明显差异。超微粉碎后，水芹粉末中实际黄酮和总酚含量变化应无差异，而黄酮和总酚总溶出量的提高主要是与粉末的粒径大小有关。超微粉碎能够破坏细胞壁而促使黄酮和总酚的溶出^[21]。

2.4 超微粉碎对水芹颜色的影响

不同粉碎时间下水芹粉末的颜色变化如表 2 所示，随着超微粉碎时间的延长，粒径的减小，L 值从 41.30 增加到 44.67 ($p<0.05$)，且水芹超微粉的 a*值要明显低于水芹粗粉，这表明超微粉碎处理使得水芹粉的亮度和绿度显著增加。这可能是由于随着粒径的减小，光反射随着比表面积增大而增加，且内部有色物质易暴露出来（如叶绿素），而使得水芹粉末的亮度和绿度显著增加^[27,28]。但是随着粉碎时间延长至 25 min 后，其亮度和绿度并无明显变化。另外，b*值随着粒

径的减小并无明显变化,且肉眼未观察到黄色或蓝色的变化。综上所述,超微粉碎处理明显提高了水芹粉末的亮度和绿度,极大提高了其相关产品的感官质量。

表2 超微粉碎对水芹颜色的影响

Table 2 Effect of superfine grinding on the color of water

dropwort powder			
时间/min	L	a*	b*
0	41.30±0.49 ^a	-6.48±0.10 ^b	11.45±0.08 ^a
5	43.18±0.03 ^b	-6.84±0.24 ^a	11.75±0.29 ^a
15	44.89±0.26 ^c	-6.94±0.13 ^a	11.76±0.57 ^a
25	44.67±0.32 ^c	-6.87±0.16 ^a	11.73±0.20 ^a

2.5 超微粉碎对水芹粉末颗粒表观形貌的影响

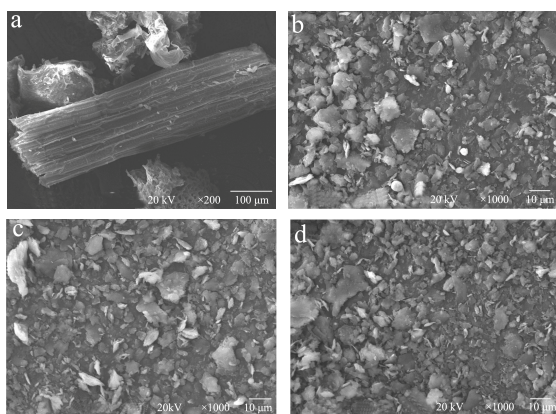


图4 水芹粉末的SEM图像

Fig.4 SEM images of water dropwort powder

注: a: 0 min; b: 5 min; c: 15 min; d: 25 min。

为了进一步表征不同粉碎时间下水芹粉末的表观形态,采用电子显微镜(SEM)在放大倍数为1000倍和200倍下进行观察。如图4所示,超微粉碎处理后水芹的粒径明显减小,这与水芹粉末粒度分布的结果一致。其中水芹粗粉均呈大块的片状结构,且具有粗糙的表面(图4a),而水芹超微粉均表现出圆形和不规则的片状,且具有相对光滑的表面(图4b、c、d)。这种表观形态有助于改善粉末的性质,如溶解性和分散性^[9]。同时,超微粉碎25 min后的水芹粉呈现部分聚集现象,原因可能是由于超微粉处理使得静电相互作用大于分子间的相互作用,使得样品表面产生大量极性基团,使得表面聚合力增大,更易吸附和凝聚^[29]。

2.6 超微粉碎对水芹粉末功能特性的影响

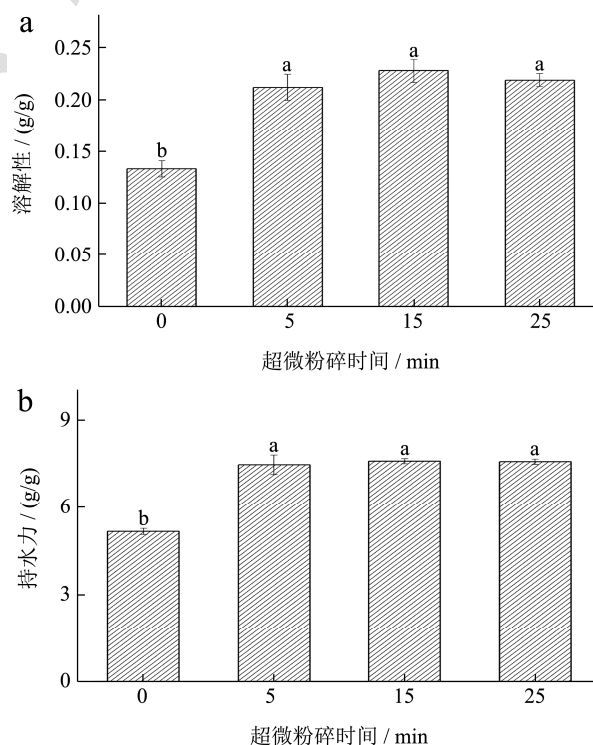
2.6.1 超微粉碎对水芹粉末溶解性的影响

如图5a所示,随着超微粉碎时间的延长,粒径的减小,水芹粉的溶解性显著增加($p<0.05$),表明超微粉处理可以增强水芹粉的溶解性。如上所述,超微粉碎处理可能会使得是纤维素、半纤维素和木质素被降解成可溶性的小分子物质,如:可溶性碳水化合物和膳食纤维^[14]。此外,随着粒径的减小,比表面积的增加,水分与微粒充分接触,从而也会增加水芹粉末中可溶性成分的溶出^[21]。

2.6.2 超微粉碎对水芹粉末持水力和膨胀力的影响

如图5b所示,随着超微粉碎时间的延长,粒径的减小,水芹粉的持水力显著增加,且超微粉的持水力(7.54 g/g)显著高于粗粉(5.14 g/g)。如图5c所示,超微粉的膨胀力(8.30、8.96及8.88 mL/g)要明显高于粗粉(6.46 mL/g),但超微粉碎15及25 min后的水芹粉的膨胀力并无明显差异。其中,超微粉碎处理使得水芹粉具有较大的比表面积和疏松的微观结构,导致纤维素和半纤维素中大量的亲水基团暴露出来。这些亲水基团易与水结合,从而增加超微粉的持水力和膨胀力^[9]。此外,水芹粉具有较大持水力和膨胀力,可以防止水分散失、改善质地以及改善其粉体的冲调性。因此,可以用于功能性食品中^[30]。

2.6.3 超微粉碎对水芹粉末持油力的影响



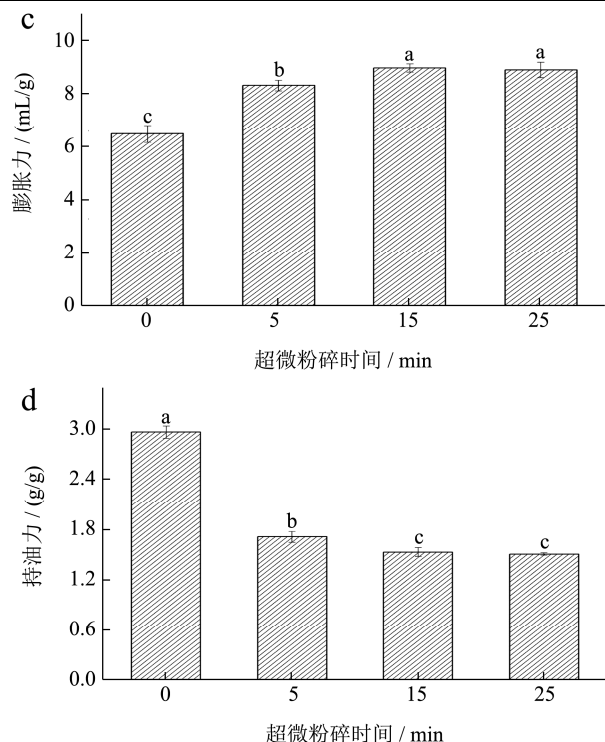


图5 超微粉碎对水芹粉末功能特性的影响

Fig.5 Effect of superfine grinding on functional properties of water dropwort powder

注: a: 溶解性, b: 持水力, c: 膨胀力, d: 持油力, 不同字母代表样品间的显著差异 ($p < 0.05$)。

如图5d所示,超微粉碎处理降低了水芹粉的持油力。与粗粉相比,超微粉(25 min)持油能力减少了约49%。研究表明,具有多孔结构的膳食纤维对油具有较高的亲和力^[31]。但超微粉处理导致水芹粉总溶性膳食纤维含量的降低,从而减小了超微粉的持油力。此外,蛋白质具有亲脂性质,超微粉碎可能会破坏其蛋白质,而导致水芹超微粉的持油力降低^[32]。

2.7 超微粉碎对水芹粉末流动性的影响

如表3所示,随着超微粉碎时间的延长,水芹粉的堆积密度和振实密度分别从0.11增加至0.30 g/mL和0.36至0.61 g/mL,这表明粒径对密度特征呈负相关关系。这主要是有由于超微粉碎后颗粒间空隙的减少,从而可能导致其密度增加^[14]。此外,具有高密度的粉末可广泛用于食品和制药工业,例如添加至面包或烘焙食品中,或填充于胶囊或片剂产品^[33]。休止角是表示粉体流动性能的重要指标。一般认为,休止角越小,表示粉体的流动性越好,反之则越差^[21]。由表3可知,随着粉末粒径的减小,其休止角显著增加。这可能是由于水芹粉末粒径越小,比表面积越大,静电作用力增强,使得表面聚合力增大,更易吸附和凝聚,而引起流动性变差^[29]。其凝聚现象可以在水芹粉

末的形貌表征中得以验证。

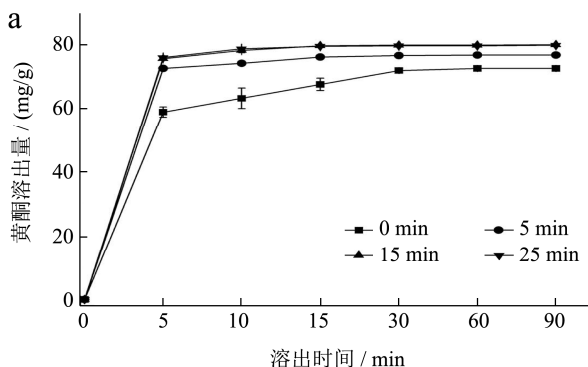
表3 超微粉碎对水芹粉末流动性的影响

Table 3 Effect of superfine grinding on the flow properties of water dropwort powders

时间 /min	流动性		
	堆积密度/(g/mL)	振实密度/(g/mL)	休止角(°)
0	0.11±0.01 ^c	0.36±0.01 ^c	39.14±0.54 ^c
5	0.25±0.01 ^b	0.57±0.01 ^b	41.68±0.52 ^b
15	0.29±0.01 ^a	0.61±0.01 ^a	43.19±0.36 ^a
25	0.30±0.01 ^a	0.61±0.01 ^a	43.14±0.77 ^a

2.8 超微粉碎对水芹粉末中主要活性成分溶出特性的影响

不同粉碎时间下水芹粉中主要活性成分的溶出量随着溶解时间的变化如图6所示。如图6a所示,水芹粉末中黄酮的溶出量随着粒径的减小和溶解时间的延长而增加,且超微粉中黄酮的溶出量在10 min基本能保持平衡,而粗粉中黄酮在30 min才能保持恒定,且明显低于超微粉。同时,水芹粉中总酚溶出量的趋势与黄酮类似,开始5 min时溶出速率较大,随后保持平缓,且超微粉中的总酚的溶出量要明显高于粗粉(图6b)。如图6c所示,水芹粉中蛋白质溶出量随着粒径减小而增加,且与溶解时间成正相关关系。值得注意的是,超微粉中蛋白质的溶出量在15 min后达到溶解平衡,而粗粉中的蛋白质溶出量在30 min后达到溶解平衡。超微粉(25 min)在15 min时多糖的最大溶解量为121.21 mg/g,几乎是相同时间内粗粉中多糖溶出量的1.14倍(图6d)。导致其超微粉溶出量较高、溶出速率较快的主要原因是随着粒径的较小,比表面积的增大,并且粉末的孔隙率增大,水分与颗粒得以充分接触,从而增加了水芹粉末中主要活性成分的溶出量^[9]。上述结果表明,超微粉碎处理可以提高有效成分的溶出量且减少溶出的时间,进而提高其生物利用率。



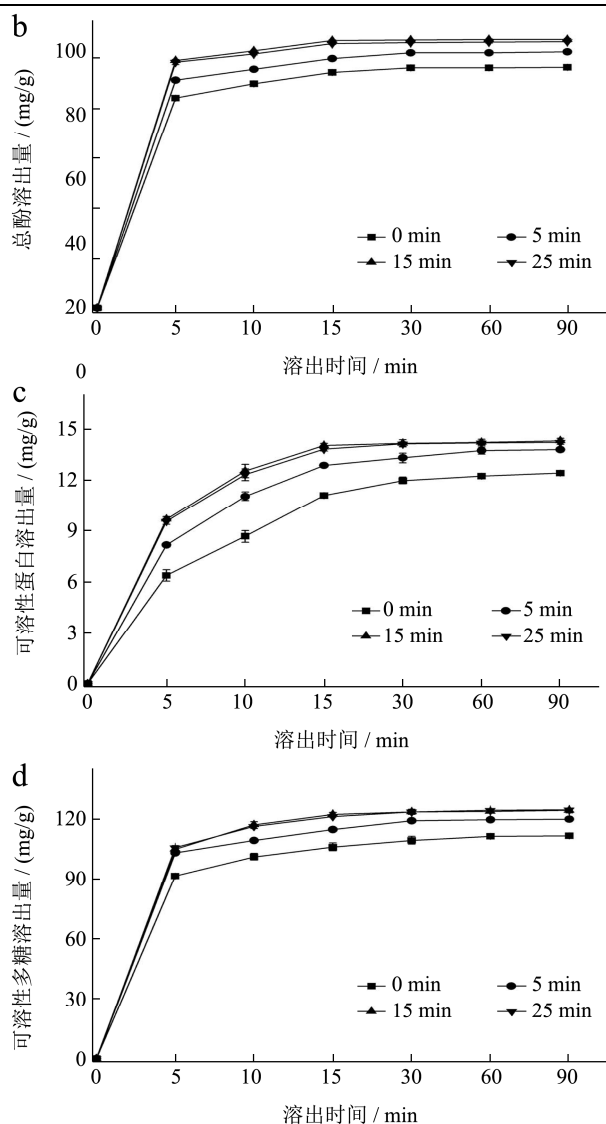


图6 超微粉碎对水芹粉中主要活性成分溶出量的影响

Fig.6 Effect of superfine grinding on the dissolution of the main active ingredients of water dropwort powder

注: a: 黄酮, b: 总酚, c: 可溶性蛋白质, d: 可溶性多糖。

2.9 超微粉碎对水芹粉末抗氧化活性的影响

2.9.1 超微粉碎对水芹粉末自由基清除能力的影响

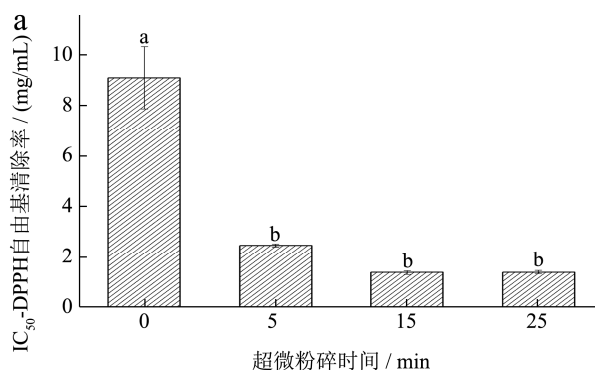
DPPH 自由基清除可用于测量单电子转移以确定抗氧化剂还原能力, 且具有高度可重复性, 并已广泛用于评估各种天然化合物的抗氧化活性^[14]。不同粉碎时间下水芹粉末对 DPPH 自由基清除率的 IC_{50} 值变化如图 7a 所示。随着超微粉碎时间的延长, 粒径的减小, DPPH 自由基清除率的半抑制浓度 (IC_{50}) 降低, 表明

抗氧化活性增加。同时, 超微粉 (15 min) 表现出最低的 DPPH 自由基清除率的半抑制浓度 (1.36 mg/mL), 而粗粉的半抑制浓度最高 (9.06 mg/mL)。如图 7b 所示, 羟基自由基清除率的 IC_{50} 值的变化趋势与 DPPH 自由基清除率类似。其中, 超微粉对羟基自由基清除率的半抑制浓度无显著差异, 但其显著高于粗粉对羟基自由基清除率的半抑制浓度。羟基自由基是活性氧类物质中化学性质最活泼、危害较大的一种自由基, 它在细胞内能够轻易的穿过细胞膜, 进而和蛋白质、氨基酸和 DNA 等分子发生反应, 破坏生物组织, 造成细胞死亡^[22]。因此, 超微粉碎处理有助于水芹粉末清除羟基自由基, 从而提高了水芹的抗氧化性。

ABTS 自由基清除率的 IC_{50} 结果如图 7c 所示, 与清除 DPPH 及羟基自由基的变化趋势类似, 超微粉对 ABTS 自由基清除率的半抑制浓度无显著差异, 但明显高于粗粉对 ABTS 自由基清除率的半抑制浓度。且超微粉碎 15 min 后的水芹粉表现出最低的 ABTS 自由基清除率的半抑制浓度 (4.19 mg/mL)。

2.9.2 超微粉碎对水芹粉末总还原力和氧自由基吸收能力(ORAC)的影响

还原力的强弱是评价抗氧化剂活性的常用方法。中断自由基链式反应与还原酮类似, 都是通过提供一个氢原子与自由基结合, 形成非常稳定的产物, 从而阻止自由基的链式反应, 达到抗氧化的目的样品^[21]。如图 8a 所示, 超微粉碎 15 及 25 min 后的水芹粉表现出较高的还原力, 而粗粉的还原力最低。氢转移反应被认为是自由基氧化反应发生的主要机制, 而 ORAC 反应是一个经典的氢原子转移的氧化过程^[34]。如图 8b 所示, 超微粉碎 15 及 25 min 后, 水芹提取液的氧自由基吸收能力高达 3.55 和 3.57 $\mu\text{mol TE/g}$, 显著高于超微粉碎 5 min 后的水芹粉及水芹粗粉, 且粗粉的氧自由基吸收能力最低, 为 2.73 $\mu\text{mol TE/g}$ 。



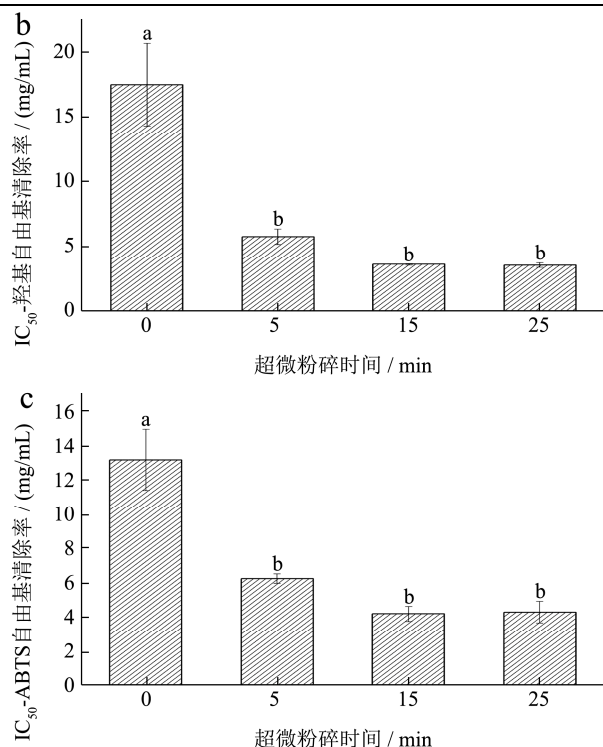


图7 超微粉碎对水芹粉自由基清除能力的影响

Fig.7 Effect of superfine grinding on the radical scavenging activity of water dropwort powder

注: a: DPPH, b: OH, c: ABTS, 不同字母代表样品间

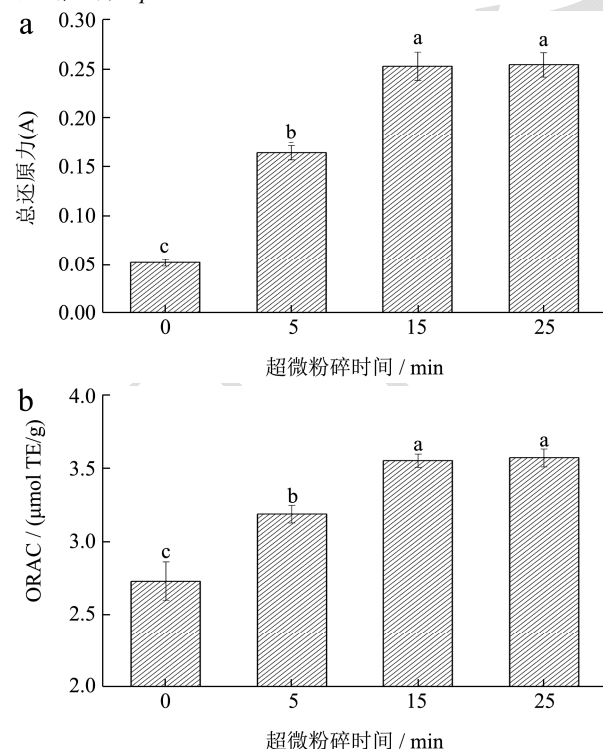
的显著差异 ($p < 0.05$)。

图8 超微粉碎对水芹粉总还原力和氧自由基吸收能力的影响

Fig.8 Effect of superfine grinding on the total reducing power and ORAC of water dropwort powder

注: 不同字母代表样品间的显著差异 ($p < 0.05$)。

超微粉碎后, 水芹粉末对自由基清除率、还原力以及氧自由基吸收能力的提高, 主要是由于随着粉碎时间的延长, 粒径的减小, 比表面积的增加, 水芹粉末中黄酮、酚酸等具有强抗氧化性的物质的提取率增加, 这有助于增强其抗氧化活性。结合黄酮和总酚的溶出特性可以得出, 抗氧化性的增加与黄酮、总酚的溶出率成正相关关系。因此, 超微粉碎处理有助于增强水芹粉末提取液的抗氧化性, 且超微粉碎 15 min 后的水芹粉综合表现出较高的抗氧化性。

3 结论

本文以水芹为研究对象, 与传统粗粉碎相对比, 研究了超微粉碎时间对水芹粉末的理化性质以及抗氧化活性的影响。结果表明, 随着超微粉碎时间的延长, 水芹粉末粒径降低至 $42.19 \mu\text{m}$, 比表面积显著地增加至 $0.28 \text{ m}^2/\text{g}$, 可溶性膳食纤维总溶出量增加至 7.26% , 且黄酮和总酚总溶出量显著提高。同时, 超微粉碎处理增强了水芹粉末的亮度和绿度, 且赋予水芹粉较大的溶解性、持水力及膨胀力。然而, 随着粒径的减小, 水芹粉末的堆积密度、振实密度及休止角显著增加, 使得水芹超微粉的流动性略微降低。此外, 超微粉碎处理极大地提高了黄酮、总酚、可溶性蛋白及多糖的溶出速率, 从而提高水芹粉末的生物有效性。且水芹超微粉, 尤其超微粉碎 15 min 后的水芹粉, 其清除 DPPH 自由基、羟基自由基、ABTS 自由基的 IC_{50} 值显著降低, 分别为: 1.36 、 3.61 及 4.19 mg/mL , 且具有较高的总还原力和氧自由基吸收能力, 从而表现出较高的抗氧化活性。本研究为深入研究超微技术提供了理论依据, 且为合理的开发利用水芹粉加工新产品提供了科学依据。

参考文献

- [1] 赵国平, 戴慎, 陈仁寿. 南京中医药大学. 中药大辞典. 上册 [M]. 上海: 上海科学技术出版社, 2006
ZHAO Guo-ping, DAI Shen, CHEN Ren-shou. Nanjing University of Traditional Chinese Medicine. Dictionary of Traditional Chinese Medicine. Volume 1 [M]. Shanghai: Shanghai Science and Technology Press, 2006
- [2] Park Y J, Kim Y O. Study on the nutrient composition of hydroponic water dropwort (*Oenanthe stolonifera* DC) [J]. Journal of the Korean Society of Food Science & Nutrition, 1995, 24(6): 1016-1019
- [3] Guo A, Huang Z, Liu Q, et al. The protective effect of total phenolics from *Oenanthe javanica* on acute liver failure induced by D-galactosamine [J]. Journal of

- Ethnopharmacology, 2016, 186: 53-60
- [4] 袁名安,张尚法,江丽,等.水芹营养与功能保健成分研究[J].园艺与种苗,2016,7:38-40
- YUAN Ming-an, ZHANG Shang-fa, JIANG Li, et al. Study on nutrition and functional health ingredients of *Oenanthe javaica* (Blume) DC [J]. Horticulture & Seed, 2016, 7: 38-40
- [5] 张丽媛,陈如,田昊,等.超微粉碎对苹果膳食纤维理化性质及羟自由基清除能力的影响[J].食品科学,2018,39(15): 139-144
- ZHANG Li-yuan, CHEN Ru, TIAN Hao, et al. Effect of superfine grinding on physicochemical properties and hydroxyl radical scavenging capacity of apple dietary fiber [J]. Food Science, 2018, 39(15): 139-144
- [6] Zhao X, Zhu H, Zhang G, et al. Effect of superfine grinding on the physicochemical properties and antioxidant activity of red grape pomace powders [J]. Powder Technology, 2015, 286: 838-844
- [7] 郭妍婷,黄雪,陈曼,等.超微粉碎技术在食品加工中的应用[J].仲恺农业工程学院学报,2017,30(3):60-64
- GUO Yan-ting, HUANG Xue, CHEN Man, et al. Application of superfine grinding technology in food processing [J]. Journal of Zhongkai University of Agriculture and Engineering, 2017, 30(3): 60-64
- [8] 张洁,于颖,徐桂花.超微粉碎技术在食品工业中的应用[J].农业科学研究,2010,31(1):51-54
- ZHANG Jie, YU Ying, XU Gui-hua. Technology of superfine grinding and its application in food industry [J]. Journal of Agricultural Sciences, 2010, 31(1): 51-54
- [9] Meng Q, Fan H, Xu D, et al. Superfine grinding improves the bioaccessibility and antioxidant properties of *Dendrobium officinale* powders [J]. International Journal of Food Science & Technology, 2017, 52: 1440-1451
- [10] 郝威,许辉,武青丰,等.燕麦中可溶及不可溶膳食纤维含量测定方法的研究[J].内蒙古农业大学学报:自然科学版, 2016,4:136-140
- HAO Wei, XU Hui, WU Qing-feng, et al. Study on determination method of soluble and insoluble dietary fiber contents in oats [J]. Journal of Inner Mongolia Agricultural University(Natural Science Edition), 2016, 4: 136-140
- [11] 吴瑛,王秀芳,袁守亮.响应面分析昆仑雪菊水溶性黄酮类化合物的提取工艺[J].食品科学,2013,34(6):129-133
- WU Ying, WANG Xiu-fang, YUAN Shou-liang. Process optimization by response surface methodology for the extraction of water soluble flavonoids from *Coreopsis tinctoria* flowers [J]. Food Science, 2013, 34(6): 129-133
- [12] Singleton V, Rossi J. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents [J]. American Journal of Enology & Viticulture, 1965, 16: 144-158
- [13] Liu R, Li J, Wu T, et al. Effects of ultrafine grinding and cellulase hydrolysis treatment on physicochemical and rheological properties of oat (*Avena nuda* L.) β -glucans [J]. Journal of Cereal Science, 2015, 65: 125-131
- [14] 何运,范子玮,吴雨,等.不同粒度桑叶粉的物化特性和黄酮体外溶出规律的研究[J].食品科学,2016,37(9):123-127
- HE Yun, FANG Zi-wei, WU Yu, et al. Comparative study on physicochemical characteristics and flavone dissolution properties of mulberry leaf powder with different particle sizes [J]. Food Science, 2016, 37(9): 123-127
- [15] Meng Q, Fan H, Chen F, et al. Preparation and characterization of *Dendrobium officinale* powders through superfine grinding [J]. Journal of the Science of Food & Agriculture, 2017, 8: 15902-15912
- [16] He S, Li J, He Q, et al. Physicochemical and antioxidant properties of hard white winter wheat (*Triticum aestivum* L.) bran superfine powder produced by eccentric vibratory milling [J]. Powder Technology, 2017, 325: 126-133
- [17] Zhao, X, Yang, Z, Gai, G, et al.. Effect of superfine grinding on properties of ginger powder [J]. Journal of Food Engineering, 2009, 91: 217-222
- [18] Huang, X, Dou, J.Y, Li, D, et al. Effects of superfine grinding on properties of sugar beet pulp powders [J]. LWT-Food Science and Technology, 2018, 87: 203-209
- [19] Bradford M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding [J]. Analytical Biochemistry, 1976, 72: 248-254
- [20] Dubois M, Gilles K, Hamilton J, et al. Colorimetric method for determination of sugars and related substances [J]. Analytical Chemistry, 1956, 28(3): 350-356
- [21] 张建梅,罗艳艳,罗海青,等.超微粉碎对黑蒜粉末物理性质及抗氧化能力的影响[J].食品工业科技,2018,402(10):57-63
- ZHANG Jian-mei, LUO Yan-yan, LUO Hai-qing, et al. Effects of ultrafine grinding on the physical properties and antioxidant activities of black garlic powder [J]. Journal of Food Science and Technology, 2018, 402(10): 57-63
- [22] 张智,臧云,王群.酰基化蓝靛果花色苷的抗氧化性研究[J].现代食品科技,2013, 29(3):534-538
- ZHANG Zhi, ZANG Yun, WANG Qun. Study on antioxidant property of acylated anthocyanins from *Lonicera*

- edulis* Turcz [J]. Modern Food Science and Technology, 2013, 29(3): 534-538
- [23] 沈清,楼乐燕,尹培,等.5 种梅干菜的酚类化合物及抗氧化能力比较分析[J].食品科学,2018,39(12):212-218
SHEN Qing, LOU Le-yan, YIN Pei, et al. Phenolic compounds and antioxidant capacity of five pickled and dried mustard brands [J]. Food Science, 2018, 39(12): 212-218
- [24] Riley C K, Adebayo S A, Wheatley A O, et al. Surface properties of yam (*Dioscorea* sp.) starch powders and potential for use as binders and disintegrants in drug formulations [J]. Powder Technology, 2008, 185(3): 280-285
- [25] 刘博,曾琳娜,林亲录,等.可溶性膳食纤维生理功能研究进展[J].粮食与油脂,2013,9:42-45
LIU Bo, ZENG Lin-na, LIN Qin-lu, et al. Research progress on physiological function of soluble dietary fiber [J]. Cereals and Oils, 2013, 9: 42-45
- [26] Brockman D A, Chen X, Gallaher D D. Hydroxypropyl methylcellulose, a viscous soluble fiber, reduces insulin resistance and decreases fatty liver in zucker diabetic fatty rats [J]. Nutrition & Metabolism, 2012, 9(1): 100-105
- [27] Ahmed J, Al-Jassar S, Thomas L. A comparison in rheological, thermal, and structural properties between Indian Basmati and Egyptian Giza rice flour dispersions as influenced by particle size [J]. Food Hydrocolloids, 2015, 48: 72-83
- [28] Chen Y, Zhang, Sun Y, et al. Physicochemical properties and adsorption of cholesterol by okra (*Abelmoschus esculentus*) powder [J]. Food & Function, 2015, 6(12): 3728-3736
- [29] Xiao W, Zhang Y, Fan C, et al. A method for producing superfine black tea powder with enhanced infusion and dispersion property [J]. Food Chemistry, 2017, 214: 242-247
- [30] Wang T, Sun X, Raddatz J, et al. Effects of microfluidization on microstructure and physicochemical properties of corn bran [J]. Journal of Cereal Science, 2013, 58(2): 355-361
- [31] Li C, Li W, Liu X, et al. Prior cell wall breakage and extraction of fine ginger oil with supercritical CO₂ [J]. Chemical Industry & Engineering Progress, 2007, 26(9): 1294-1298
- [32] Walde S G, Tummala J, Lakshminarayan S M, et al. The effect of rice flour on pasting and particle size distribution of green gram (*Phaseolus radiata*, L. Wilczek) dried batter [J]. International Journal of Food Science & Technology, 2010, 40(9): 935-942
- [33] Zhao X, Du F, Zhu Q, et al. Effect of superfine pulverization on properties of *Astragalus membranaceus* powder [J]. Powder Technology, 2010, 203: 620-625
- [34] 杨涛,吴辉辉,徐青,等.抗氧化性能评价 ORAC 法及最新研究进展[J].食品工业科技,2009,7:352-355
YANG Tao, WU Hui-hui, XU Qing, et al. Recent research advances of oxygen radical absorbance capacity (ORAC) assay of antioxidant property evaluation [J]. Science and Technology of Food Industry, 2009, 7: 352-355

(上接第 246 页)

- [27] 冯晓群.马鹿亚种间杂交后代背最长肌脂肪酸的分析研究[J].肉类工业,2012,3:20-25
FENG Xiao-qun. Analysis on fatty acids of meat of cervus elaphus subspecies hybrid of fspring [J]. Meat Industry, 2012, 3: 20-25
- [28] 王艳梅.东北梅花鹿茸主要成分系统性比较研究[D].哈尔滨:东北林业大学,2004
WANG Yan-mei. A systematic comparative study of main chemical composition of Northeast sika deer (*Cervus Nippon hortulorum*) velvet [D]. Harbin: Northeast Forestry University, 2004
- [29] 倪国超,李树明.重庆地区圈养梅花鹿血液营养成分研究[J].草食家畜,2009,1:44-46
NI Guo-chao, LI Shu-ming. Study on blood nutrient composition of captive sika deer in Chongqing area [J]. Grass-Feeding Livestock, 2009, 1: 44-46
- [30] 马志东,张桂华,张文德,等.猪全血中 14 种金属元素的分析及评价[J].中国卫生检验杂志,1996,1:38-39
MA Zhi-dong, ZHANG Gui-hua, ZHANG Wen-de, et al. Analysis and evaluation of 14 metal elements in pig whole blood [J]. Chinese Journal of Health Laboratory Technology, 1996, 1: 38-39
- [31] M Askar, R Seboussi, B Faye. Trace elements and heavy metals in healthy camel blood of United Arab Emirates [J]. Journal of Camel Practice & Research, 2005, 12(1): 1-6
- [32] 孙磊,贾俊梅,李秀珍,等.鹿血中微量元素对人体健康的作用[J].广东微量元素科学,2000,4:39-41
SUN Lei, JIA Jun-mei, LI Xiu-zhen, et al. The effect of trace elements in deer blood on human health [J]. Guangdong Trace Elements Science, 2000, 4: 39-41