

绞股蓝茶总皂苷的纯化 及其抗氧化活性研究

郭建军, 雷 晓, 任道远, 杨红燕, 杨兴斌*

(陕西师范大学食品工程与营养科学学院, 陕西西安 710119)

摘要: 研究了绞股蓝茶总皂苷的提取、纯化及其抗氧化活性。采用热水浸提法提取,D101 大孔吸附树脂纯化,并通过 DPPH 自由基、羟自由基、超氧阴离子的清除率对纯化的总皂苷进行抗氧化活性研究。结果表明:粗提取的绞股蓝茶总皂苷含量为 3.91%。D101 大孔吸附树脂对提取的绞股蓝茶总皂苷进行纯化后,总皂苷的纯度从 26.2% 提高到了 83%。纯化后的绞股蓝茶总皂苷在浓度为 4、3、3mg/mL 时对 DPPH 自由基清除率、羟自由基清除率、超氧阴离子清除率分别可达到 92%、82%、73%。说明 D101 大孔吸附树脂对绞股蓝茶总皂苷有很好的纯化效果,且纯化后的总皂苷有很好的抗氧化活性。

关键词: 绞股蓝茶, 总皂苷, 提取纯化, 抗氧化活性

Study on purification and antioxidant activity of total saponins of gynostemma tea

GUO Jian-jun, LEI Xiao, REN Dao-yuan, YANG Hong-yan, YANG Xing-bin*

(College of Food Engineering and Nutritional Science, Shaanxi Normal University, Xi'an 710119, China)

Abstract: Extraction, purification and antioxidant activity of the total saponins from gynostemma tea was investigated in the study. The total saponins was obtained with hot water extraction and then purified by D101 macroporous adsorption resin. *In vitro* antioxidant activities of the purified fraction were characterized by DPPH free radical, hydroxyl radical and superoxideanion systems. The results showed that the crude extract of total saponins in gynostemma tea was 3.91%. After the D101 macroporous adsorption resin purification, the purity of total saponins increased from 26.2% to 83%. Besides, the scavenging rate of the purified fraction to DPPH free radical, hydroxyl radical and superoxideanion were 92%, 82%, 73% at 4, 3, 3mg/mL, respectively. The purification effect of total saponins in gynostemma tea by D101 macroporous adsorption resin was proved to be very well, and the purified total saponins was also proved to have a good antioxidant activity.

Key words: gynostemma tea; total saponins; extraction and purification; antioxidant

中图分类号: TS201.2

文献标识码: A

文章编号: 1002-0306(2015)05-0099-05

doi: 10.13386/j. issn1002 - 0306. 2015. 05. 012

绞股蓝, 又名“七叶胆”, 属于葫芦科的一种多年生藤本植物草, 是一种知名的药食两用的植物, 在中国分布很广, 特别是秦岭和长江以南地区。绞股蓝已经临床运用于抑制胆固醇水平、调节血压、增强免疫系统、治疗慢性支气管炎和胃炎、减少炎症等^[1], 且研究已经表明它毒害作用甚微^[2]。制成保健茶饮用, 味道纯正, 极具保健价值, 长期饮用无毒副作用, 被誉为“南方人参”^[3], 定期饮用绞股蓝茶可有益于身心健康和减少许多疾病的严重程度^[4]。临床观察和随访发现每天用绞股蓝 6~10g 泡茶, 坚持服用对预防和治疗高血脂诱发心脑血管疾病的发生可起到很

好的抑制和缓解作用^[5]。

绞股蓝皂苷(Gypenosides)是绞股蓝全草的有效成分, 具有显著降血脂、降血糖、平衡血压、抗癌、抗疲劳、抗缺氧、抗衰老、促进细胞新陈代谢、提高免疫功能、镇痛、催眠的作用, 对大脑中枢有良好的镇静、兴奋双向调节作用及白嫩肌肤等功能^[6-7]。

绞股蓝茶是将收割后的绞股蓝茎或叶, 经过净制、蒸制、炒制、揉制、烘制、包装等工艺加工而成的饮用茶。

目前, 绞股蓝活性成分多糖、皂苷、黄酮等的提取、纯化及其抗氧化活性的研究都有报道^[8-10], 以及

收稿日期: 2014-05-15

作者简介: 郭建军(1988-), 男, 硕士研究生, 主要从事食品营养与功能的研究。

* 通讯作者: 杨兴斌(1969-), 男, 博士, 教授, 主要从事食品生物技术、食品分子营养与功能性食品研究。

基金项目: 国家自然科学基金项目(C31171678)。

一些绞股蓝茶的功效也有新闻报道^[11-12],但对于已经成功投入市场的绞股蓝茶的活性成分的研究尚未见报道。基于以上原因,我们选取陕西平利县绞股蓝龙须茶作为研究对象,从提取纯化方面对绞股蓝茶总皂苷进行研究,并对纯化后的总皂苷进行了抗氧化评价,以便为绞股蓝茶的开发和应用提供一定的参考价值。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

绞股蓝茶 平利县兴强富硒茶叶有限公司;盐酸、冰乙酸、高氯酸、无水乙醚、正丁醇、香草醛、无水乙醇、过氧化氢、甲醇、氢氧化钠、抗坏血酸、硫酸亚铁 均为分析纯;氯仿、水杨酸为化学纯;DPPH、NBT、NADH、PMS Sigma 公司;D101 树脂 天津波鸿树脂科技有限公司;人参皂苷 Rb₁ 标准品 中国药品生物制品检定所。

LD4-2 低速离心机 长沙湘仪离心机仪器有限公司;冷冻干燥设备 EZ-DRY 杭州大卫科教仪器有限公司;HH-6B 数显恒温水浴锅 杭州大卫科教仪器有限公司;AL104 电子天平 梅特勒-托利多仪器(上海)有限公司;752-N 紫外可见分光光度计 上海精密科学仪器有限公司;大孔树脂柱 沈阳天美达科学仪器有限公司;FZ102 微型植物粉碎机 黄骅市中兴有限责任公司;超纯水仪 MILLI-Q MILLIPORE 公司;RE-2000A 旋转蒸发器 上海比朗仪器有限公司。

1.2 实验方法

1.2.1 标准曲线的制备 精确称取干燥好的人参皂苷 Rb₁ 10mg,倒入 10mL 的容量瓶中,用甲醇溶解并定容至刻度,然后分别取不同体积的标准液置于具塞的试管中,于 60℃ 水浴中挥去溶剂,加 5% 香草醛冰醋酸溶液 0.2mL(现用现配)、高氯酸 0.8mL,混匀密置,在 60℃ 水浴中加热 15min,冰水浴冷却后加冰醋酸 5mL,相应试剂为空白,在 550nm 下测吸光值^[6]。以人参皂苷 Rb₁ 的量 x(mg/mL) 对吸光值进行回归,求出标准曲线方程。

1.2.2 绞股蓝茶总皂苷的含量测定 绞股蓝茶总皂苷的含量测定采用香草醛-高氯酸比色法,吸取 100μL 的样液于试管里,按照标准曲线制备的方法测吸光值,然后将吸光值带进回归方程,计算出样液的皂苷含量^[13]。然后用下面公式计算总样液的皂苷含量(M)。

$$M = \frac{C \times V_1}{V_2}$$

式中:C 为 100μL 样液中皂苷含量(mg),V₁ 为样液总体积(mL),V₂ 为取样体积,100μL。

1.2.3 绞股蓝茶总皂苷最佳提取工艺的正交设计 准确称量 9 份 50g 的绞股蓝茶粉末于烧瓶中,分别用不同的料液比(A)、提取时间(B)、提取温度(C)作为实验因素,每个因素取 3 个水平^[14],因素水平见表 1。取样品,按照正交设计进行实验,以绞股蓝总皂苷的得率为考察指标,进行提取工艺的优选。

$$\text{得率}(\%) = \frac{M_1}{M} \times 100$$

式中:M₁ 为提取液中的皂苷重量/mg,M 为称取的绞股蓝茶重量/mg。

表 1 因素与水平表

Table1 The table of factor and level

水平	因素		
	A 料液比	B 温度(℃)	C 时间(min)
1	1:25	75	80
2	1:30	80	90
3	1:35	85	100

1.2.4 D101 大孔吸附树脂的处理 称取 200g D101 固体粉末置于 4% 的 NaOH 溶液中,浸泡 2h 后用无离子水洗至中性,然后加入 4% 的 HCl 溶液,浸泡 2h 后用无离子水洗至中性,装柱,用无离子水浸泡,待用^[15]。

1.2.5 绞股蓝茶总皂苷吸附量、吸附率的测量 将粗提取的样品配成浓度为 4mg/mL。上柱静态吸附 2h 后,然后用浓度为 30%、50%、70%、90% 的乙醇洗脱,收集各个梯度的洗脱液,每个浓度收集 5 管,每管 20mL。总皂苷吸附量(Q)、吸附率(D)及洗脱率(W)按下列公式计算^[13]。

$$Q = M_1 - M_2$$

$$D(\%) = \frac{M_1 - M_2}{M_1} \times 100$$

$$W(\%) = \frac{M_3}{M_1} \times 100$$

式中:M₁ 为初始液总皂苷含量/mg,M₂ 为水洗脱液总皂苷含量/mg,M₃ 洗脱液中总皂苷含量/mg。

1.2.6 DPPH 自由基清除能力测定 参考文献^[16],取不同浓度的皂苷溶液(0.1、0.5、1、2、4mg/mL)各 1mL 和 2mL 95% 乙醇混合,分别加入 1mmol/L DPPH 溶液 2mL。混合后用力摇晃,在黑暗条件下放置 30min,然后在 517nm 下测各吸光值。用 V_c(0.05、0.5、1、2、4mg/mL)代替皂苷做阳性对照,用 95% 乙醇代替 DPPH 做阴性对照,用 95% 乙醇代替皂苷做空白对照。

$$\text{自由基清除率}(\%) = (1 - \frac{A_i - A_j}{A_0}) \times 100$$

式中:A₀ 表示空白对照组吸光值;A_i 表示样品组吸光值;A_j 表示阴性对照组吸光值。

1.2.7 羟基自由基的清除能力测定 参考文献^[16],取不同浓度的皂苷溶液(0.1、0.5、1、2、3mg/mL)1mL 和 1mL 6mmol/L 的硫酸亚铁混合,再加入 2mL 6mmol/L 的双氧水,反应 10min,之后再加入 2mL 6mmol/L 的水杨酸,充分混匀,反应 30min。最后在 510nm 下测各吸光值。用 V_c(0.1、0.25、0.5、1、3mg/mL)代替皂苷做阳性对照,用蒸馏水代替双氧水做阴性对照,用 95% 乙醇代替皂苷做空白对照。

$$\text{自由基清除率}(\%) = \left(1 - \frac{A_i - A_j}{A_0}\right) \times 100$$

式中:A₀ 表示空白对照组吸光值;A_i 表示样品组吸光值;A_j 表示阴性对照组吸光值。

1.2.8 超氧阴离子的清除能力测定 参考文献^[17]并做了稍微的修改,取不同浓度的皂苷溶液(0.1、0.5、

1、2、3mg/mL)各1mL,依次加入1mL 0.078mol/L NBT溶液,1mL 0.468mol/L NADH溶液,0.4mL 0.06mol/L PMS溶液。混合均匀,放置5min,最后在560 nm下测各吸光值。用V_c(0.1、0.25、0.5、1、3mg/mL)代替皂苷做阳性对照,用蒸馏水代替PMS做阴性对照,用95%乙醇代替皂苷做空白对照。

$$\text{自由基清除率}(\%) = \left(1 - \frac{A_i - A_j}{A_0}\right) \times 100$$

式中:A₀表示空白对照组吸光值;A_i表示样品组吸光值;A_j表示阴性对照组吸光值。

1.3 数据分析

所有实验都均进行三次重复,实验结果采用Microsoft Excel和DPS 7.05软件进行分析。

2 结果与分析

2.1 绞股蓝茶总皂苷最佳提取工艺的确定

按1.2.3方法,选取料液比、提取时间、提取温度为三个因素,每个因素选取三个水平,选用L₉(3⁴)正交表进行实验。实验结果见表2,实验方差分析见表3。

表2 正交实验结果表

Table 2 The table of orthogonal experiment result

实验号	A	B	C	空白	总皂苷得率(%)
1	1	1	1	1	2.81
2	1	2	2	2	3.23
3	1	3	3	3	3.65
4	2	1	2	3	3.26
5	2	2	3	1	3.51
6	2	3	1	2	3.82
7	3	1	3	2	3.23
8	3	2	1	3	3.61
9	3	3	2	1	3.91
K ₁	9.69	9.30	10.24	10.23	
K ₂	10.59	10.35	10.40	10.28	
K ₃	10.75	11.38	10.39	10.52	
k ₁	3.23	3.10	3.41	3.41	
k ₂	3.53	3.45	3.47	3.43	
k ₃	3.58	3.79	3.46	3.51	
R	0.35	0.69	0.06	0.10	

表3 方差分析表

Table 3 The table of variance analysis

因素	偏差平方和	自由度	均值	F值	显著水平
A	0.2177	2	0.1088	13.5867	0.0686
B	0.7211	2	0.3605	45.0055	0.0217
C	0.0054	2	0.0027	0.3343	0.7495
空白	0.0160	2	0.0080		
误差	0.0160	2	0.0080		

注:F_{0.01}(2,2)=99.00,F_{0.05}(2,2)=19.00。

由表2结果可知,A、B、C的极差分别为0.35、0.69、0.06。由此可知,因素对实验的影响程度为:B>A>C,即提取温度>料液比>提取时间。表3结

果可知,只有因素B的F值大于F_{0.05}(2,2),即因素B对总皂苷得率影响显著,因此,在提取过程中,对温度的选择最为重要。根据上述条件,确定最佳的提取条件为A₃B₃C₂,即料液比为1:35,提取时间为90min,提取温度为85℃。

2.2 绞股蓝茶总皂苷的含量

按1.2.1的方法制得的标准曲线回归方程为y=7.8377x-0.0018(R²=0.9977)。分别称取纯化前后的绞股蓝茶粉末20mg,配成一定浓度的溶液,按标准曲线方程和1.2.2的方法测得纯化前后绞股蓝茶总皂苷含量为5.24、16.6mg,结果见表4。

表4 绞股蓝茶总皂苷的含量和纯度

Table 4 The quality and purity of gynostemma tea total saponins

处理	质量(mg)	纯度(%)
纯化前	5.24	26.2
纯化后	16.6	83

2.3 绞股蓝茶总皂苷的纯化

绞股蓝茶总皂苷经D101大孔吸附树脂纯化,吸附前样品的皂苷含量为104.71mg,吸附后样品的皂苷含量为31.02mg,通过1.2.5中公式计算出吸附量、吸附率分别为73.69mg、70.38%,说明D101型非极性树脂对皂苷有很好的吸附作用。按1.2.2方法计算出的每管皂苷洗脱量,以洗脱液收集管号为横坐标,每管总皂苷含量为纵坐标绘制柱形图,结果见图1。

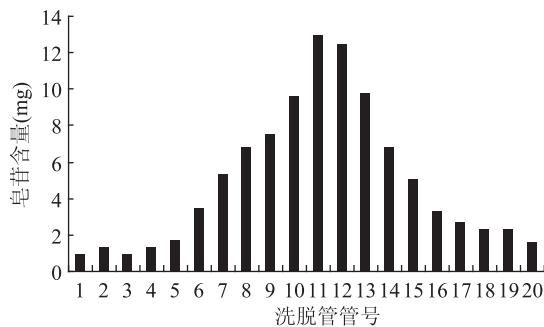


图1 绞股蓝茶总皂苷洗脱柱形图

Fig.1 Gynostemma tea total saponins elution column diagram

图1中,1~5号管为浓度为30%的乙醇洗脱液,6~10号管为浓度为50%的乙醇洗脱液,11~15号管为浓度为70%的乙醇洗脱液,16~20号管为浓度为90%的乙醇洗脱液。

由图1可知,70%的乙醇对皂苷的洗脱量最大,50%的乙醇对皂苷的洗脱量次之,因此确定最佳的洗脱浓度应为50%~70%的乙醇。表5可知50%和70%的乙醇对皂苷的洗脱量占到总洗脱量的33.36%,且70%乙醇洗脱的占到47.79%,因此本实验选取浓度为70%的乙醇进行洗脱,洗脱后的皂苷的纯度可以达到83%,这与绞股蓝的纯化结果基本相一致^[15],说明D101大孔吸附树脂对绞股蓝茶皂苷有很好的纯化效果。

2.4 DPPH 自由基清除率

按1.2.6方法,以皂苷、V_c的浓度为横坐标,吸光

值为纵坐标,DPPH自由基清除率结果见图2。

表5 不同乙醇浓度下皂苷的洗脱量表

Table 5 The table of saponins under different concentration ethanol elution

乙醇浓度(%)	30	50	70	90
洗脱皂苷质量(mg)	6.38	32.92	47.16	12.22
占总皂苷百分比(%)	6.47	33.36	47.79	12.38

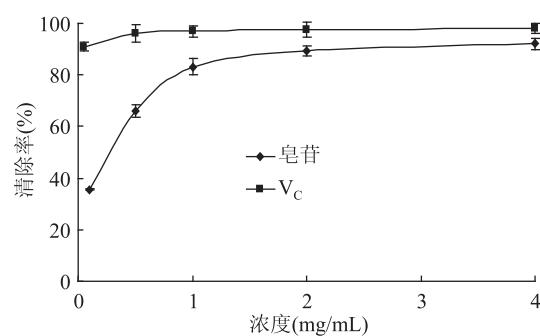


图2 总皂苷清除DPPH·的能力

Fig2 The scavenging capacity to DPPH· of total saponins

从图2中可以看出,V_c在浓度很低的情况下对DPPH·有很强的清除力,V_c浓度为0.05mg/mL时,清除率就可以达到91%,随浓度的增加,浓度为1mg/mL时清除率可以达到97%,之后清除率增长趋于平缓。皂苷的清除率在浓度2mg/mL前增长很快,在浓度2mg/mL后清除率增长平缓,浓度为4mg/mL时清除率可以达到92%。纯化后,绞股蓝茶中的多酚,黄酮类等天然抗氧化化合物被分离,但纯化的皂苷依然有很高的清除DPPH·的能力,这与以往的研究基本一致^[10]。

2.5 羟自由基清除率

按1.2.7方法,以皂苷、V_c的浓度为横坐标,吸光值为纵坐标,计算的羟自由基清除率结果见图3。

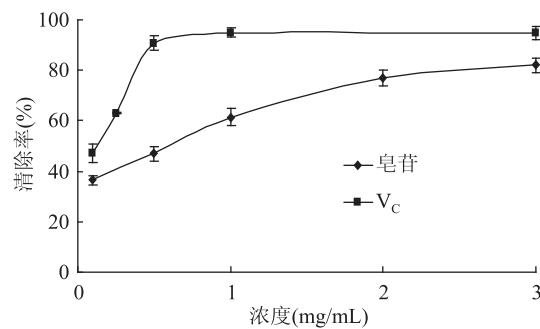


图3 总皂苷清除·OH的能力

Fig3 The scavenging capacity to ·OH of total saponins

从图3中可以看出,V_c在浓度很低的情况下对羟基自由基有很强的清除力,在浓度1mg/mL清除率就达到95%,随浓度的增加,清除率增长趋于平缓。皂苷的清除率在浓度2mg/mL前增长很快,在浓度2mg/mL后清除率增长平缓,浓度为3mg/mL时清除率可以达到82%。这与绞股蓝的粗提取物相比,清除率有所降低^[18],这可能与纯化过程中多酚,黄酮类化合物的分离有关,这些物质也是很好的抗氧化剂,对羟基自由基也有很高的清除率。

2.6 超氧阴离子的清除率

按1.2.8方法,以皂苷、V_c的浓度为横坐标,吸光值为纵坐标,计算对O₂⁻的清除率结果见图4。

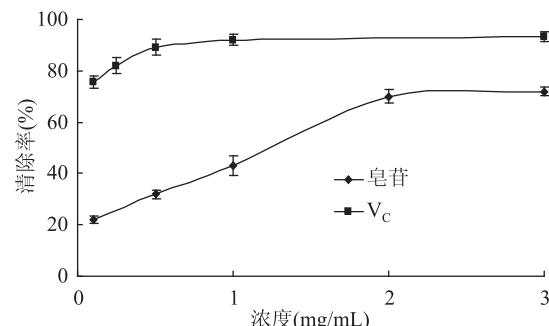


图4 总皂苷清除O₂⁻·的能力

Fig4 The scavenging capacity to O₂⁻· of total saponins

从图4中可以看出,V_c在浓度很低的情况下对O₂⁻·有很强的清除力,浓度0.1mg/mL时清除率可以达到75.5%,随浓度的增加,在浓度1mg/mL清除率可以达到92%,之后清除率增长趋于平缓。皂苷浓度0.5mg/mL时,清除率为32%,到达浓度2mg/mL后清除率增长趋于平缓,浓度为3mg/mL时清除率可以达到73%。这与绞股蓝的粗提取物相比,当粗提物浓度为0.5mg/mL清除率就可以达到60%,说明纯化后清除率有所降低^[18],这可能与纯化过程中多酚,黄酮类等化合物的分离有关,而这些物质都是天然的抗氧化剂。

3 结论

本实验通过正交法,确定了绞股蓝茶总皂苷的最佳提取工艺为料液比为1:35,提取时间为90min,提取温度为85℃。在这一条件下,总皂苷得率可以达到3.91%,表明了该工艺对总皂苷有很好的提取效果。

利用D101大孔吸附树脂对提取的绞股蓝茶粗皂苷进行纯化时,D101大孔吸附对皂苷的吸附率可以达到70.38%,D101大孔吸附树脂处理后的总皂苷的纯度从26.2%提高到83%,说明D101大孔吸附树脂对皂苷有很好的纯化效果。

利用DPPH自由基、羟基自由基、超氧阴离子的清除率对绞股蓝茶总皂苷进行抗氧化性评价,结果表明皂苷对DPPH自由基的清除率在浓度为4mg/mL可以达到92%;皂苷对羟基自由基的清除率在浓度为3mg/mL可以达到82%;皂苷对超氧阴离子的清除率在浓度为3mg/mL可以达到73%,这些数据充分说明绞股蓝茶总皂苷有很好的抗氧化能力。

参考文献

- [1] Lv Y, Yang X B, Zhao Y, et al. Separation and quantification of component monosaccharides of the tea polysaccharides from Gynostemma pentaphyllum by HPLC with indirect UV detection [J]. Food Chemistry, 2009, 112(3): 742-746.
- [2] Attawish A, Chivapat S, Phadungpat S, et al. Chronic toxicity of Gynostemma pentaphyllum [J]. Fitoterapia, 2004, 75 (6): 539-551.

(下转第107页)

- [2] 杨超英,董海丽,纵伟.桑叶的化学成分及在食品工业中的应用[J].食品研究与开发,2003,24(2):8-11.
- [3] 赵艳红,李建科,李国秀.天然抗氧化物体外活性评价方法的优选与优化[J].食品科学,2008,29(6):64-69.
- [4] Prior Ronald L, Wu Xianli, Schaich Karen. Standardized methods for the determination of antioxidant capacity and phenolics in foods and dietary supplements [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2005, 53(10):4290-4302.
- [5] Angelino Donato, Gennari Lorenzo, Blasa Manuela, et al. Chemical and cellular antioxidant activity of phytochemicals purified from olive mill waste waters [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2011, 59(5):2011-2018.
- [6] Serem June C, Bester Megan J. Physicochemical properties, antioxidant activity and cellular protective effects of honeys from southern Africa [J]. Food Chemistry, 2012, 133(4):1544-1550.
- [7] Yokomizo Atsushi, Moriwaki Masamitsu. Effects of uptake of flavonoids on oxidative stress induced by hydrogen peroxide in human intestinal Caco-2 cells [J]. Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry, 2006, 70(6):1317-1324.
- [8] 周天山,余有本,李冬花,等.微波杀青对绿茶品质的影响[J].中国茶叶,2010,32(2):20-21.
- [9] 倪德江,陈玉琼.加工工艺对名优绿茶主要品质化学成分的影响[J].华中农业大学学报,1998,17(1):84-88.
- [10] 郭丽,谭俊峰,王力,等.花香型绿茶加工工艺的研究[J].浙江农业科学,2009(5):946-948.
- [11] 杨普香,黎小萍.桑叶黄酮类化合物的测定方法研究[J].食品科学,2001,22(10):81-82.
- [12] 陈菁菁.桑叶总黄酮的分离纯化和降血脂作用[D].杭州:浙江大学,2006.
- [13] 雷桂兰,吴中华,刘世旺,等.苦荆茶中多酚类物质的含量测定[J].长江大学学报:自然科学版,2005,2(1):37-39.
- [14] 何书美,刘敬兰.茶叶中总黄酮含量测定方法的研究[J].分析化学,2007,35(9):1365-1368.
- (上接第102页)

- [3] 清源.苦丁茶与绞股蓝茶[N].医药养生保健报,2006-7-3(5).
- [4] Rujjanawate C, Kanjanapothi D, Amornlerdpison D. The anti-gastric ulcer effect of *Gynostemma pentaphyllum* Makino [J]. Phytomedicine, 2004, 11(5):431-435.
- [5] 江永江,张秀婷.绞股蓝茶预防高血脂诱发心脑血管病的临床观察[J].中国现代医生,2008,46(9):91.
- [6] 沈宏伟,肖彦春,车仁国,等.绞股蓝中总皂苷的提取及含量研究[J].食品科技,2004(4):158-160.
- [7] 张育松.绞股蓝茶的保健功效[J].农业考古,2003(4):200-201.
- [8] Wang Z J, Luo D H. Antioxidant activities of different fractions of polysaccharide purified from *Gynostemma pentaphyllum* Makino [J]. Carbohydrate Polymers, 2007, 68(1):54-58.
- [9] Kao T H, Huang S C, Chen B H, et al. Determination of flavonoids and saponins in *Gynostemma pentaphyllum* (Thunb.) Makino by liquid chromatography - mass spectrometry [J]. Analytica Chimica Acta, 2008, 626(2):200-211.
- [10] 张猛猛,田冰洁,洪秀云,等.纯化的绞股蓝的抗氧化活性研究[J].生物技术,2013,23(1):76-78.

- [15] 曹建康,王梅.果蔬采后生理生化实验指导[M].北京:中国轻工业出版社,2007.
- [16] 唐晓波,刘晓军,师大亮,等.茶叶中叶绿素含量的季节性差异研究[J].浙江农业科学,2009(3):502-503.
- [17] 黄建琴,丁勇,徐奕鼎,等.鲜叶摊放对条形绿茶品质的影响研究[J].浙江农业科学,2009(3):502-503.
- [18] 于善凯,张英.不同品种杭白菊中酚类物质含量和清除自由基活性的比较[J].食品科学,2001,22(4):84-87.
- [19] Velioglu Y S, Mazza G, Gao L, et al. Antioxidant activity and total phenolics in selected fruits vegetables and grain products [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 1998, 46(10):4113-4117.
- [20] Wolfe Kelly L, Liu Rui Hai. Cellular antioxidant activity (CAA) assay for assessing antioxidants, foods, and dietary supplements [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2007, 55(22):8896-8907.
- [21] Wolfe Kelly L, Liu Rui Hai. Structure-activity relationships of flavonoids in the cellular antioxidant activity assay [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2008, 56(18):8404-8411.
- [22] Pazos M, Gallardo J M, Torres J L, et al. Activity of grape polyphenols as inhibitors of the oxidation of fish lipids and frozen fish muscle [J]. Food Chemistry, 2005, 92(3):547-557.
- [23] RiceEvans C, Miller N J, Bolwell P G, et al. The relative antioxidant activity of plant-derived polyphenolic flavonoids [J]. Free Radical Research, 1995, 22:375-383.
- [24] RiceEvans C, Miller N J. Antioxidant activities of flavonoids as bioactive components of food [J]. Biochemical Society Transactions, 1996, 24:790-795.
- [25] Fukumoto L R, Mazza G. Assessing antioxidant and prooxidant activities of phenolic compounds [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2000, 48(8):3597-3604.
- [26] 董捷,张红城,李慧,等.八种蜂花粉醇提物的体外抗氧化能力研究[J].营养学报,2010,32(3):309-312.
- [11] 任高.茶坛新秀-绞股蓝茶[N].中国特产报,2004-2-9(3).
- [12] 赵杰.甜绞股蓝茶保健康[N].医药养生保健报,2006-6-5(6).
- [13] 洪秀云,吴晓英.高效液相色谱-蒸发光检测法检测绞股蓝皂苷大孔树脂纯化产物[J].食品科学,2012,33(14):251-254.
- [14] 林硕,高学玲,岳琳娜,等.正交法优选绞股蓝皂苷提取工艺及稳定性研究[J].中国食品添加剂,2009(2):89-92.
- [15] 张红梅.绞股蓝的纯化工艺研究[J].食品工业,2012,33(11):77-79.
- [16] He N W, Zhao Y, Guo L, et al. Antioxidant, antiproliferative, and pro-apoptotic activities of a saponin extract derived from the roots of *Panax notoginseng* (Burk.) F.H.Chen [J]. Food Chemistry, 2012, 15(4):350-359.
- [17] Yang J X, Guo J, Yuan J F. In vitro antioxidant properties of rutin [J]. LWT - Food Science and Technology, 2008, 41(6):1060-1066.
- [18] 施跃坚,陈海云.绞股蓝体外抗活性氧自由基的研究[J].云南民族大学学报,2007,17(3):241-243,249.