

· 药剂与炮制 ·

新疆4种山楂果实中总黄酮的纯化与抗氧化活性考察

李红丹¹, 姚华², 高冬梅¹, 古丽米热·阿力木¹, 吴晓庆¹, 费春艳¹, 何大俊^{1*}

(1. 石河子大学 生命科学学院, 新疆 石河子 832000;

2. 新疆维吾尔自治区药物研究所, 乌鲁木齐 830004)

[摘要] 目的:优选大孔树脂纯化4种新疆山楂果实总黄酮的工艺条件,评价其抗氧化活性。方法:以总黄酮纯度为评价指标,比较13种大孔树脂对4种山楂果实总黄酮的吸附分离效果,考察上样流速、洗脱剂浓度对4种山楂总黄酮大孔树脂纯化工艺的影响。以清除2,2'-联氮-二(3-乙基-苯并噻唑-6-磺酸)二铵盐(ABTS)和二苯代苦味酰基(DPPH)自由基的方法测定样品的抗氧化活性,利用HPLC测定样品芦丁和金丝桃苷的含量,流动相乙睛-0.4%甲酸溶液(16:84),检测波长360 nm。结果:选择HPD722型大孔树脂纯化总黄酮,最佳纯化工艺条件为上样流速0.84 mL·min⁻¹,总黄酮经树脂充分吸附后,加40%乙醇动态洗脱。经HPD722型大孔吸附树脂纯化后,4种山楂的总黄酮、芦丁、金丝桃苷质量分数和抗氧化活性分别提高了1.9~3.3,2.4~5.1,2.6~3.7,2.0~4.6倍。结论:HPD722型大孔树脂可有效地对4种新疆山楂果实总黄酮进行富集纯化,为这4种药材资源的充分利用提供参考。

[关键词] 山里红; 山楂; 黄果山楂; 红果山楂; 总黄酮; 纯化; 抗氧化活性

[中图分类号] R283.6;R284.1;R284.2 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2015)19-0001-05

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.2015190001

[网络出版地址] <http://www.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20150824.1000.010.html>

[网络出版时间] 2015-08-24 10:00

Purification and Antioxidant Activity of Total Flavonoids from Four *Crataegus* Fruits in Xinjiang

LI Hong-dan¹, YAO Hua², GAO Dong-mei¹, ALIMU·Mireguli¹, WU Xiao-qing¹, FEI Chun-yan¹, HE Da-jun^{1*}
(1. College of Life Sciences, Shihezi University, Shihezi 832000, China; 2. The Xinjiang Institute of Materia Medic, Urumqi 830004, China)

[Abstract] **Objective:** To optimize purification process of total flavonoids from four *Crataegus* fruits in Xinjiang by macroporous resin and evaluate its antioxidant activity. **Method:** With purity of total flavonoids as index, 13 macroporous resins for adsorption and separation of total flavonoids were compared. Purification process of total flavonoids was optimized by screening flow velocity of sample, concentration of eluent. Antioxidant activity was determined by 2, 2'-azino-bis-3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid diammonium salt (ABTS) and 2, 2'-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) radical scavenging method. Contents of rutin and hyperin were determined by HPLC with mobile phase of acetonitrile-0.4% formic acid (16:84) and detection wavelength at 360 nm. **Result:** HPD722 resin offered the best adsorption and desorption capacity for total flavonoids. Optimal purification process was as follows: flow velocity of sample 0.84 mL·min⁻¹, after reaching adsorption balance, dynamically eluted with 40% ethanol. After separated and purified by HPD722 resin, contents of total flavonoids, rutin, hyperin and antioxidant capacity increased 1.9-3.3, 2.4-5.1, 2.6-3.7, 2.0-4.6 times, respectively. **Conclusion:** Total flavonoids from four *C.* fruits can be effectively purified and enriched by HPD-722 macroporous resin.

[Key words] *Crataegus pinnatifida* var. *major*; *C. pinnatifida*; *C. chlorocarpa*; *C. sanguine*; total flavonoids; purification; antioxidant activity

[收稿日期] 20150410(004)

[基金项目] 石河子大学高层次人才科研启动项目(RCXZ2011011);石河子大学大学生创新创业训练计划项目(201410759016)

[第一作者] 李红丹,从事植物化学研究,Tel:0993-2058500,E-mail:1310334332@qq.com

[通讯作者] *何大俊,博士,副教授,硕士生导师,从事植物化学研究,Tel:0993-2058500,E-mail:hedajunww@163.com

在新疆主要有 4 种山楂属植物,包括红果山楂(果实血红色)、黄果山楂(阿尔泰山楂,果实金黄色)、山楂(果实暗红色,外被灰白色斑点)和山里红(果形大)^[1]。这 4 种山楂在新疆分布广泛,作为可食植物历史悠久,安全性高。目前,研究较多的是山里红果实、叶的化学成分和生物活性,其化学成分主要有黄酮类、黄烷及其聚合物类、有机酸类及三萜类等^[2-3],山里红的多种生物活性与其丰富的黄酮类成分密切相关^[4-5]。迄今为止,关于黄果山楂和红果山楂化学成分和生物活性的研究尚未见报道。本实验以 4 种山楂的总黄酮含量为指标,考察 13 种大孔树脂对 4 种山楂果实总黄酮的纯化效果,通过单因素试验优化纯化工艺,比较纯化前后总黄酮、芦丁、金丝桃苷含量及其对 DPPH 和 ABTS 自由基清除能力的差异,以期开发高活性、低毒性的天然抗氧化剂,为新疆山楂属植物资源的开发利用提供参考。

1 材料

1200 系列高效液相色谱仪(美国安捷伦科技有限公司),S54 型紫外-可见分光光度计(上海棱光仪器厂),BSA124S 型 1/万电子天平(德国 Sartorius 公司)。4 种山楂果实采集于石河子大学,由石河子大学生命科学学院徐文斌副教授鉴定分别为山楂 *Crataegus pinnatifida*,黄果山楂 *C. chlorocarpa*,红果山楂 *C. sanguine* 和山里红 *C. pinnatifida* var. *major* 的果实;6-羟基-2,5,7,8-四甲基色烷-2-羧酸(Troxol),2,2'-联氮-二(3-乙基-苯并噻唑-6-磺酸)二铵盐(ABTS)和二苯代苦味酰基(DPPH)自由基均购于美国 Sigma 公司;HPD722,AB-8 等 13 种大孔树脂均购于沧州宝恩吸附材料科技有限公司;芦丁、金丝桃苷对照品(中国食品药品检定研究院,批号分别为 100080-201409,111521-201205),乙腈、甲酸为色谱纯,其他试剂均为国产分析纯。

2 方法与结果

2.1 山楂总黄酮的提取 将 4 种山楂果实去核,于 50 °C 烘干,用粉碎机粉碎,分别过孔径 1.0 mm 筛,制备粒径 1.0 mm 的山楂粉末,于 105 °C 干燥至恒重。分别称取 4 种山楂果实粉末,加 40 倍量 40% 乙醇在 90 °C 提取 2 次,每次 45 min,过滤,合并滤液,减压浓缩,得 4 种山楂果实的总黄酮提取液。

2.2 总黄酮的含量测定^[6]

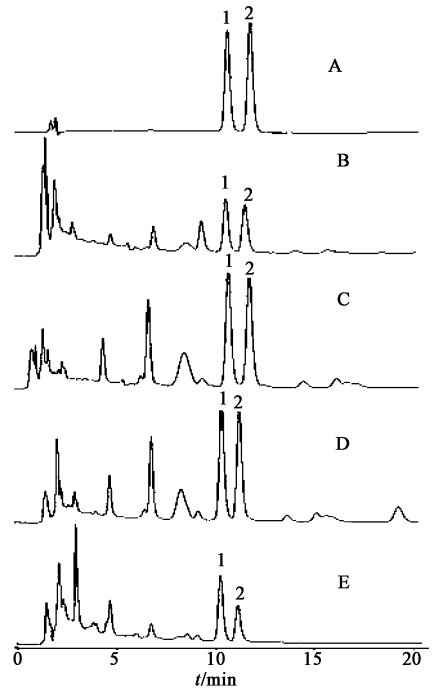
2.2.1 标准曲线绘制 分别精密量取 0.4 g·L⁻¹ 芦丁对照品溶液 0,0.5,1.0,1.5,2.0,2.5 mL 于试管中,分别加 40% 乙醇稀释至 5 mL,各加入 5% 亚硝酸钠 0.3 mL,振荡后放置 5 min;加入 10% 硝酸铝溶

液 0.3 mL,摇匀后放置 6 min;加入 1 mol·L⁻¹ 氢氧化钠溶液 2 mL,加入 40% 乙醇 5 mL,同时设置空白对照。在 510 nm 处测定吸光度 *A*。以 *A* 为纵坐标,质量为横坐标,得回归方程 $Y = 0.922X$ ($R^2 = 0.996$),线性范围 0~1.0 mg。

2.2.2 样品测定 取 4 种山楂果实总黄酮提取液 1 mL 置于试管中,按 2.2.1 项下方法操作,于 510 nm 处测定 *A*,按标准曲线计算总黄酮含量。

2.3 芦丁和金丝桃苷的含量测定^[7]

2.3.1 色谱条件 Zorbax Eclipse XDB-C₁₈ 色谱柱(4.6 mm×150 mm,5 μm),流动相乙腈-0.4% 甲酸溶液(16:84),检测波长 360 nm,流速 1 mL·min⁻¹,柱温 30 °C,进样量 20 μL。在该色谱条件下,4 种山楂果实中芦丁和金丝桃苷的色谱峰与其他组分的色谱峰均得到了较好的分离,见图 1。



A. 对照品;B. 红果山楂;C. 黄果山楂;D. 山楂;E. 山里红;1. 芦丁;2. 金丝桃苷

图 1 山楂果实总黄酮提取物 HPLC

Fig. 1 HPLC of total flavonoid extract from four *Crataegus* fruits

2.3.2 混合对照溶液的制备 分别精密称取芦丁、金丝桃苷对照品 4.8,4.6 mg,置于同一 5 mL 量瓶中,加甲醇溶解并定容至刻度,摇匀,配成质量浓度分别为 0.96,0.92 g·L⁻¹ 的混合对照品储备液。精密吸取该储备液适量,分别加甲醇稀释 20,25,50,100 倍,按 2.3.1 项下色谱条件测定,以峰面积为纵坐标,进样量为横坐标,得芦丁、金丝桃苷的回归方程分别为 $Y = 52.90X - 90.80$ ($R^2 = 0.993$), $Y =$

$41.87X - 17.57$ ($R^2 = 0.995$), 线性范围分别为 $9.6 \sim 48.0, 9.2 \sim 46.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 。

2.4 抗氧化活性测定

2.4.1 DPPH 法^[8-9]

称取 DPPH 7.9 mg, 加甲醇溶解并定容于 100 mL 量瓶中, 得 $2.0 \times 10^{-4} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 溶液。分别取不同提取条件下的山楂果实提取液各 1 mL, 稀释 100 倍, 将稀释后的山楂果实提取液 2 mL 与 DPPH 溶液 2 mL 混匀, 30 min 后在 517 nm 处测定 A 。以甲醇为空白样本, 按清除率 = $(A_1 - A_2)/A_1 \times 100\%$ 计算各提取液对 DPPH 自由基的清除率, 式中 A_1 为空白样本的吸光度, A_2 为测试样本的吸光度。另以不同浓度 (0, 0.4, 0.8, 1.2, 1.6, 2.0 $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$) 的 Trolox 清除 DPPH 自由基的能力做标准曲线, 计算 4 种山楂的 Trolox 当量抗氧化能力, 得回归方程 $Y = 0.048X$ ($R^2 = 0.996$), 其中 Y 为清除率, X 为 Trolox 浓度。

2.4.2 ABTS 法

参照 Ozgen 等^[10] 的方法制备 ABTS 储备液。称取 ABTS 0.41 g, 用 $20 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 乙酸盐缓冲液溶解并定容至 100 mL, 配成 $7.4 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ ABTS 储备液。称取过硫酸钾 70.3 mg, 加水溶解并定容至 100 mL, 配成 $2.6 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 过硫酸钾储备液。将配置好的 ABTS 储备液与过硫酸钾储备液等体积混合, 在室温黑暗条件下放置 12 h, 用 $20 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 乙酸盐缓冲液 (pH 4.5) 稀释 45 ~ 55 倍, 以 $20 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 乙酸盐缓冲液 (pH 4.5) 为空白对照, 使 ABTS 工作液在 734 nm 处的 $A = 0.70 \pm 0.02$ 。取各提取液 40 μL 置于试管中, 加入无水乙醇 960 μL , 加入 ABTS 工作液 4 mL 震荡 10 s 以充分混匀, 静置 6 min, 用乙酸盐缓冲液做空白对照, 测定 734 nm 处 A_4 。用无水乙醇代替提取液, 加入 ABTS 工作液 4 mL, 在 734 nm 处测定 A_3 , 按清除率 = $(A_3 - A_4)/A_3 \times 100\%$ 计算提取液对 ABTS 自由基的清除率。另以不同浓度 (0, 0.4, 0.8, 1.2, 1.6, 2.0 $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$) 的 Trolox 清除 ABTS 自由基的能力作标

准曲线, 计算 4 种山楂果实总黄酮提取液的 Trolox 当量抗氧化能力, 得回归方程 $Y = 0.050X$ ($R^2 = 0.998$), 其中 Y 为清除率, X 为 Trolox 浓度。

2.5 纯化工艺考察^[11]

2.5.1 大孔树脂预处理

将 AB-8, D101, HPD722 等 13 种大孔树脂分别用无水乙醇浸泡 24 h, 使其充分溶胀, 加乙醇洗净大孔树脂中的杂质, 直至加水后无白色浑浊现象为止, 水洗至无乙醇味, 备用。

2.5.2 大孔树脂对黄酮吸附率和洗脱率的测定

取 13 种处理好大孔树脂各 1.0 g, 分别加入 4 种山楂果实总黄酮提取液 20 mL, 置于摇床中 $25 \text{ }^\circ\text{C}$, $120 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ 振摇 2 h, 放置 10 h, 抽滤, 测定滤液中总黄酮含量。将滤去提取液后的大孔树脂水洗抽干, 加入 60% 乙醇 20 mL, 于 $25 \text{ }^\circ\text{C}$, $120 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ 振摇 2 h, 放置 2 h 进行静态洗脱, 测定洗脱液中总黄酮含量, 结果见图 2, 3。由图 2 可知, 不同型号大孔树脂对 4 种山楂果实总黄酮的吸附量均有差异。

$$\text{吸附量} = \frac{(C_{\text{上样液}} - C_{\text{滤液}})V}{m_{\text{树脂}}}$$

HPD722 型大孔树脂对红果山楂、山里红总黄酮的吸附量最大, 分别为 $2.90, 3.15 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$; HPD100 型大孔树脂对黄果山楂总黄酮的吸附量最大 ($3.49 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$), 略高于 HPD722 型大孔树脂的 $3.30 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$; 对山楂总黄酮吸附量最大的是 AB-8 型树脂, 达 $2.90 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$, HPD722 型树脂的吸附量次之, 且与 AB-8 型树脂的吸附量较为接近。由图 3 可知, HPD722 型树脂对红果山楂、黄果山楂、山楂和山里红的洗脱量分别为 1.33, 1.10, 1.15, 1.23 $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$, 基本均为各树脂洗脱的最大值。综合分析, 确定选择 HPD722 型大孔树脂。

2.5.3 静态吸附动力学研究

称取 4 份预处理好的 HPD722 型大孔树脂, 每份 0.5 g, 分别置于 50 mL 锥形瓶中, 分别加入 4 种山楂果实总黄酮提取液 (总黄酮质量浓度 $4.11 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$) 15 mL, 室温下静置, 间歇振荡, 每隔一定时间测定溶液中总黄酮含量, 直

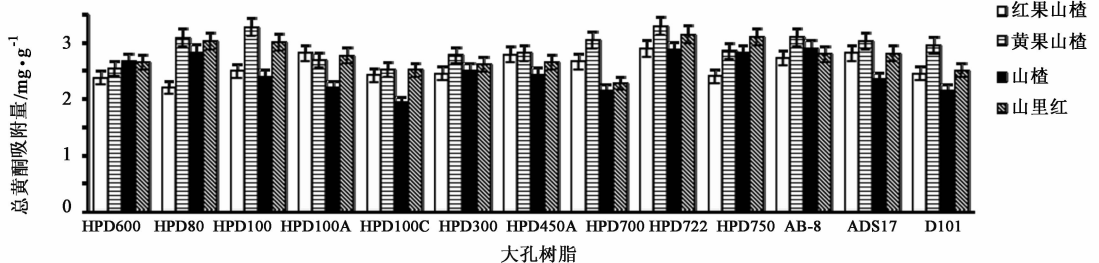


图 2 不同大孔树脂对 4 种山楂果实总黄酮的吸附效果 ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

Fig. 2 Adsorption effect of different macroporous resins on total flavonoids from four *Crataegus* fruits ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

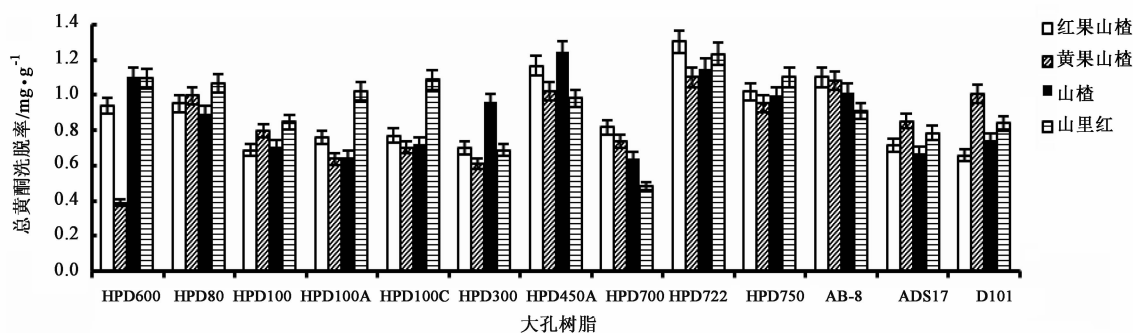


图 3 不同树脂对 4 种山楂果实总黄酮的洗脱效果 ($\bar{x} \pm s, n=3$)

Fig. 3 Desorption effect of different macroporous resins on total flavonoids from four *Crataegus* fruits ($\bar{x} \pm s, n=3$)

至吸附平衡,计算树脂对总黄酮吸附量与时间的关系,见图 4。结果显示在一定时间内,随着时间的增加吸附速率变得缓慢,吸附量逐渐达到饱和,在 3.0 h 时基本达吸附平衡,故选择吸附时间 3.0 h。

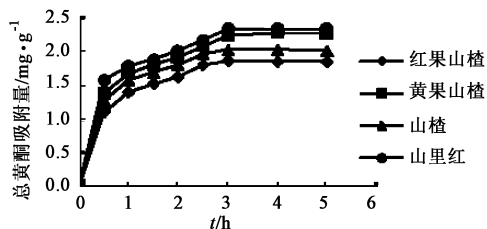


图 4 HPD722 型大孔树脂对 4 种山楂果实总黄酮的静态动力学吸附曲线

Fig. 4 Static adsorption curves of total flavonoids from four *Crataegus* fruits by HPD 722 macroporous resin

2.5.4 上样流速对吸附量的影响 将预处理好的 16 份 HPD722 型树脂各 10.0 g,湿法装入 10 mm × 200 mm 树脂柱,取 4 种山楂果实总黄酮提取液各 4 份,每份 100 mL,分别以 0.42, 0.84, 1.26, 1.68 mL·min⁻¹ 的流速进行吸附,收集流出液,分析树脂吸附量与上样速度的关系。结果显示随着上样流速的增加,树脂对总黄酮的吸附量在相应降低。在上样流速为 0.42 mL·min⁻¹ 时,HPD722 型树脂对红果山楂、红果山楂、山楂、山里红果实总黄酮的吸附量最大,分别为 1.22, 1.56, 2.94, 3.27 mg·g⁻¹;在流速为 0.84 mL·min⁻¹ 时,树脂对 4 种山楂果实总黄酮吸附量分别为 1.19, 1.50, 2.89, 3.25 mg·g⁻¹。随着流速的继续增加,吸附量下降较为明显,这可能是由于随着上样流速的增加,使得树脂与黄酮未充分接触就流出柱子,使得吸附量有所下降。在上样流速最低时,树脂的黄酮吸附量最大,但用时最长,故选择上样流速 0.84 mL·min⁻¹。

2.5.5 乙醇体积分数对洗脱率的影响 将 20 份 HPD722 型树脂各 2.0 g 湿法装入 10 mm × 200 mm

树脂柱,取 4 种山楂果实总黄酮提取液各 5 份,每份 40 mL,以流速 0.84 mL·min⁻¹ 进行吸附,以 1.68 mL·min⁻¹ 流速用水洗后,分别用体积分数 20%, 40%, 60%, 80%, 100% 的乙醇溶液 40 mL 洗脱,收集洗脱液,测定总黄酮含量,见图 5。结果显示随着乙醇体积分数的增加,总黄酮的洗脱量逐渐升高,当乙醇体积分数上升至 40% 时,洗脱量达最高值,随着乙醇体积分数的继续增高,洗脱量反而逐渐下降。

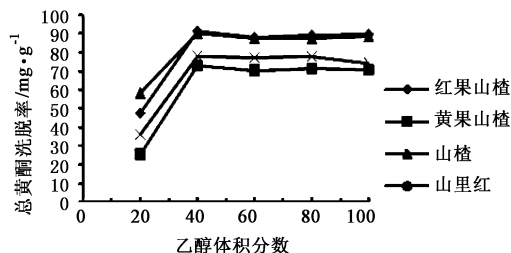


图 5 乙醇体积分数对 4 种山楂果实总黄酮洗脱率的影响

Fig. 5 Effect of ethanol concentration on desorption rate of total flavonoids from four *Crataegus* fruits

2.6 HPD722 型树脂对 4 种山楂果实总黄酮的纯化效果 将 4 种山楂果实纯化前后的总黄酮溶液分别干燥至恒重,分别测定提取物和纯化物中总黄酮、芦丁、金丝桃苷含量及其对 ABTS 和 DPPH 自由基的清除能力,结果见表 1。结果发现经 HPD722 型大孔树脂纯化后,总黄酮、芦丁、金丝桃苷含量均有显著提高,且抗氧化活性显著提高。其中红果山楂、黄果山楂、山楂、山里红的总黄酮质量分数分别提高了 1.9, 2.6, 3.3, 2.8 倍,芦丁质量分数分别提高了 5.1, 4.9, 2.8, 2.4 倍,金丝桃苷质量分数分别提高了 2.6, 2.8, 3.0, 3.7 倍,ABTS 清除能力提高了 2.6, 2.0, 2.2, 2.0 倍,DPPH 清除能力提高了 2.0, 2.9, 4.0, 4.6 倍。表明 HPD722 型树脂适用于富集和纯化 4 种山楂果实中的黄酮类化合物,并能显著提高其抗氧化活性。

表 1 4 种山楂果实总黄酮纯化前后总黄酮、芦丁、金丝桃苷含量及抗氧化活性的比较 ($\bar{x} \pm s, n=3$)

Table 1 Comparison of contents of total flavonoids, rutin, hyperin and antioxidant activity before and after purification ($\bar{x} \pm s, n=3$)

样品	处理方式	总黄酮/ $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$	芦丁/ $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$	金丝桃苷/ $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$	ABTS 清除能力 / $\mu\text{mol} \cdot \text{g}^{-1}$	DPPH 清除能力 / $\mu\text{mol} \cdot \text{g}^{-1}$
红果山楂	纯化前	42.04 ± 0.76	0.14 ± 0.01	0.16 ± 0.01	79.21 ± 0.87	130.53 ± 1.16
	纯化后	78.53 ± 1.86	0.72 ± 0.08	0.41 ± 0.01	205.95 ± 0.23	261.19 ± 1.38
黄果山楂	纯化前	62.20 ± 1.70	0.44 ± 0.01	0.51 ± 0.01	128.86 ± 1.63	188.55 ± 1.17
	纯化后	159.21 ± 2.62	2.15 ± 0.06	1.44 ± 0.01	262.55 ± 2.64	541.93 ± 2.21
山楂	纯化前	61.83 ± 1.17	0.65 ± 0.01	0.75 ± 0.05	172.65 ± 1.58	163.59 ± 1.87
	纯化后	201.47 ± 1.80	1.82 ± 0.01	2.23 ± 0.01	384.34 ± 2.66	662.45 ± 3.98
山里红	纯化前	181.74 ± 3.17	0.22 ± 0.01	0.15 ± 0.01	370.93 ± 3.52	304.41 ± 2.59
	纯化后	501.23 ± 8.10	0.53 ± 0.02	0.55 ± 0.02	749.85 ± 4.71	1 400.29 ± 3.18

3 讨论

据文献报道,山楂和山里红果实提取物中主要黄酮类成分为芦丁和金丝桃苷^[2,4],对红果山楂和黄果山楂果实的黄酮类成分研究尚未见报道。在实验过程中发现,4 种山楂提取物的 HPLC 中有 2 个主要的色谱峰,其保留时间和芦丁、金丝桃苷的基本一致,在后续 HPLC 研究中,以 2 种对照品和提取物的混合溶液进样,在相同的保留时间有 2 个显著的色谱峰,其保留时间与相应对照品一致,结合孙敬勇等^[2]的研究,可以确定 4 种山楂果实中主要的黄酮类成分为芦丁和金丝桃苷。故在后续实验中,以芦丁和金丝桃苷作为指标成分评价大孔树脂纯化的效果。结果表明这 4 种山楂作为同属植物,其果实中均具有较高的总黄酮含量和抗氧化活性。这 4 种山楂在新疆分布广泛,但未得到充分的利用,资源浪费严重,对四者的化学成分和生物活性进行深入研究,可为开发基于 4 种山楂果实的天然抗氧化剂和植物药提供实验依据。

[参考文献]

[1] 安争夕,周桂玲,杨昌友,等. 新疆植物志. 第二卷 [M]. 乌鲁木齐:新疆科技卫生出版社,1994: 281-284.
[2] 孙敬勇,杨书斌,谢鸿霞,等. 山楂化学成分研究[J]. 中草药,2002,33(6):484-486.
[3] Song S J, Li L Z, Gao P Y, et al. Terpenoids and hexenes from the leaves of *Crataegus pinnatifida* [J]. Food Chem, 2011, 129(3):933-939.

[4] Chang C L, Chen H S, Shen Y C, et al. Phytochemical composition, antioxidant activity and neuroprotective effect of *Crataegus pinnatifida* fruit [J]. S Afr J Bot, 2013, 88:432-437.
[5] 罗玉梅,王贺振. 山楂的化学成分及药理研究进展 [J]. 时珍国医国药, 2004, 15(1):53-54.
[6] 朱锦坤,张全伟,张奕丹,等. 大孔树脂富集纯化木棉花总黄酮的工艺优选 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2014, 20(11):19-22.
[7] 石秋梅,邓翻云,吴敏言. HPLC 法同时测定新疆产 2 种罗布麻叶中芦丁、金丝桃苷及异槲皮苷的量 [J]. 中草药, 2014, 45(9):1326-1329.
[8] 陈永钧,龙晓英,安修,等. 5 种中药乙醇提取物的体外抗氧化活性研究 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2013, 19(22):218-221.
[9] Liu L X, Sun Y, Laura T, et al. Determination of polyphenolic content and antioxidant activity of kudingcha made from *Ilex kudingcha* C. J. Tseng [J]. Food Chem, 2009, 112(1):35-41.
[10] Ozgen M, Reese R N, Miller A R, et al. Modified 2, 2'-azino-bis-3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid (abts) method to measure antioxidant capacity of selected small fruits and comparison to ferric reducing antioxidant power (FRAP) and 2, 2'-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) methods [J]. J Agric Food Chem, 2006, 54(4):1151-1157.
[11] 陶莎,黄英,康玉凡,等. 大孔吸附树脂分离纯化红小豆多酚工艺及效果 [J]. 农业工程学报, 2013, 29(23):276-285.

[责任编辑 刘德文]