

白补药总多酚测定方法及其相关活性的研究

曹 晖¹,常 飞^{1,2},苟体忠^{1,2,3}

1. 凯里学院 化学与材料工程学院, 贵州 凯里 556011
2. 凯里学院 植物资源综合利用研究所, 贵州 凯里 556011
3. 凯里学院 富硒中草药研究中心, 贵州 凯里 556011

摘 要: 本文以没食子酸为对照品,探索白补药多酚 Folin-Ciocalteu 比色法的测定条件。研究表明, Folin-Ciocalteu 比色法测定白补药多酚含量的适宜条件为: Folin-Ciocalteu 试剂 1.5 mL、10% Na₂CO₃ 溶液 6 mL、温度 40 °C、反应 30 min, 该法操作简单、精密度高、稳定性好、回收率高。并考察了白补药多酚和阳性对照 V_c、BHT 的抗氧化活性, 结果显示, 白补药多酚对 DPPH 清除率、总抗氧化能力、还原力均大于同浓度的 V_c 和 BHT。

关键词: 白补药; 多酚; 抗氧化活性

中图分类号: R284.2

文献标识码: A

文章编号: 1000-2324(2017)02-0273-06

Study on the Determination for Total Polyphenol in *Salvia scapiformis* Hance and Its Relative Activities

CAO Hui¹, CHANG Fei^{1,2}, GOU Ti-zhong^{1,2,3}

1. College of Chemistry and Material Engineering/Kaili University, Kaili 556011, China
2. Institute of Comprehensive Utilization for Plants/Kaili University, Kaili 556011, China
3. Research Center of Selenium-rich Chinese Herbal Medicine/Kaili University, Kaili 556011, China

Abstract: The determination conditions of Folin-Ciocalteu colorimetry with the polyphenol of *Salvia scapiformis* Hance was researched. The results showed that Folin-Ciocalteu appropriate conditions were 1.5 mL Folin-Ciocalteu, 6.0 mL 10% Na₂CO₃, 40 °C temperature, 30 min reaction time. The method was simple, good stability, high precision and recovery rate. Moreover, antioxidant activity of polyphenol in *S. Scapiformis* and V_c, BHT was studied, the results showed that the DPPH clearance rate, total antioxidant capacity, and reducing power of polyphenol in *S. Scapiformis* were higher than V_c and BHT at the same concentration.

Keywords: *Salvia scapiformis* Hance; polyphenol; antioxidant activity

白补药 (*Salvia scapiformis* Hance var. *Hirsute* Stib) 又名地埂鼠尾草、翻天雷公, 为唇形科植物花径状丹参的全草, 生于海拔 120~1250 m 的山地、路旁, 主产于贵州、广西等地。在民间用于强筋壮骨, 补虚益^[1,2]。通过对白补药 75%乙醇提取浸膏进行显色反应, 盐酸-镁粉实验、碘化铋钾实验、三氯化铁实验、醋酐-浓硫酸试验和 TLC 检测显示白补药的乙醇提取物含酚酸类等化合物^[3]。

多酚具有抗病作用、抗衰老、抗氧化、抗癌防癌等多种生物活性^[4]。目前, 白补药的研究不多, 尤其是对白补药中多酚含量测定方法及抗氧化活性还未见资料报道。植物多酚含量测定的方法通常有: 高锰酸钾滴定法^[5]、酒石酸亚铁比色法^[6]、Folin-Ciocalteu 法等^[7,8], 比较而言, Folin-Ciocalteu 法 (FC) 操作简单、价格便宜、效率高、重现性好^[9]。但由于不同植物来源的多酚成分的不同, 其比色条件也不尽相同^[10-12], 故需对其显色条件进行优化, 建立白补药的多酚测定方法。同时随着科学的进步, 合成抗氧化剂的危害渐渐凸现^[13]。植物多酚作为一类贮存厚实、可再生的绿色资源, 越来越受到人们的关注。因此, 本文采用贵州雷公山丰富的白补药资源为研究对象, 贵州雷公山, 位于贵州省东南部, 海拔 2178.8 m, 被联合国教科文卫组织称为“现今人类留存最好的一块未受污染的生态文明净地”, 其多酚含量及抗氧化活性应有一定的本土性。通过建立高效, 准确的测定白补药中多酚含量的方法, 及对清除 DPPH、总抗氧化能力、还原力的测定, 为雷公山丰富的白补药资源开

收稿日期: 2016-12-15

修回日期: 2017-01-06

基金项目: 贵州省科技厅自然科学基金(黔科合 J 字[2013]2259 号);凯里学院教授专项课题(JS201301);凯里学院博士专项课题(BS201503);凯里学院分析化学重点学科(院科通[2014]157 号);贵州省高层次创新人才“千层次”人才计划项目(黔人领发[2015]3 号);贵州省材料物理与化学特色重点学科资助项目(黔教高发[2011]208 号)凯里学院材料物理与化学重点学科资助项目(院通字[2010]86 号)

作者简介: 曹 晖(1963-),女,教授,主要从事天然药物化学研究. E-mail:CH847190142@163.com

发应用提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 材料

野生白补药(2015年7月采于贵州雷公山)。取白补药全草洗净、晒干,粉碎、过60目筛;取一定量白补药粉末以1:10置于索氏提取器中,用石油醚回流处理(60℃)15h,脱脂、脱色,备用。仪器:UV-2550紫外可见分光光度计(日本岛津销售公司);FA1004电子天平(上海良平仪器仪表有限公司);WH-300超声波清洗机(济宁万和电子设备有限公司);RE 52-99旋转蒸发器(上海亚荣生化仪器厂)等。

1.2 试剂

没食子酸标准品(纯度≥98%)、1,1-二苯基-2-三硝基苯肼(DPPH·)、2,6-二叔丁基-4-甲基苯酚(BHT)、Folin-Ciocalteu(FC)试剂均购于上海晶纯生化科技股份有限公司产品;抗坏血酸(Vc)、无水乙醇、磷酸钠、磷酸氢二钠、三氯乙酸、碳酸钠、铁氰化钾、磷酸二氢钠、钼酸铵、硫酸、三氯化铁、石油醚等均为国产分析纯。

1.3 方法

1.3.1 白补药多酚供试液及对照品的制备 参考赵二劳等的方法^[14],稍作修改。称取2.0007g脱脂、脱色白补药粉末于锥形瓶中,以料液比($\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$)1:10加入60%的乙醇溶液浸泡30min,超声提取3次,每次40min,设定超声功率270w,60℃,合并提取液并浓缩至40mL。取5.0mL提取液于50mL容量瓶,定容,得白补药多酚供试液,备用。

称取150mg干燥至恒重的没食子酸,用去离子水溶解,定容于100mL的容量瓶中,精密移取5.00mL于50mL的容量瓶中,用去离子水定容,得 $150\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 的没食子酸标准溶液。

1.3.2 多酚测定波长的选择 准确移取对照品和白补药多酚供试液各1.0mL分别置于25mL容量瓶中,参照何志勇等研究^[15],依次加入12.0mL去离子水、1.5mLFC,充分摇匀,静置8min,加入浓度为10% Na_2CO_3 溶液6.0mL,混匀,用去离子水定容,室温下避光反应2h,在200~800nm波长范围内进行光谱扫描确定测定波长。在763nm处二者均有最大吸收,故确定763nm为多酚测定波长。

1.3.3 白补药多酚测定方法的研究 以吸光度为考察指标,分别考察FC试剂与10% Na_2CO_3 溶液用量、反应时间和反应温度对吸光度的影响,得出适宜白补药多酚测定的显色条件。

1.3.4 福林酚比色法评价

(a) 稳定性实验:精密移取1.3.1供试液1.0mL于25mL容量瓶内,按最佳显色条件显色,于40℃条件下避光分别放置0.5、1.0、1.5、2、2.5、3h,测定吸光度,计算RSD评价该分析方法在3h内的稳定性。

(b) 精密度实验:精密移取1.3.1供试液1.0mL于25mL容量瓶内,按最佳显色条件显色,测定吸光度,重复测定5次,计算RSD。评价试验方法的精密度。

(c) 加标回收实验:精密移取1.3.1供试液1.0mL于5个25mL容量瓶中,分别加入不同体积的没食子酸标准溶液,在最佳显色条件下避光显色,测定吸光度,计算平均回收率及RSD,以评价该分析方法的准确性和可靠性。

1.3.5 标准曲线的建立 分别准确移取 $150\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 的没食子酸标准溶液0.0、0.3、0.6、0.9、1.2、1.5mL于6个25mL容量瓶中,加入12.0mL去离子水,在2.1最佳显色条件下显色,测定吸光度,将其结果进行线性回归,得回归方程 $y=0.0919x+0.0381$,相关系数是 $R=0.9996$,没食子酸浓度在 $1.8\sim 9.0\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 范围内线性关系良好。

1.3.6 白补药多酚抗氧化活性测定 将白补药多酚提取液浓缩后稀释成6个不同浓度,采用DPPH·法、磷钼络合物法、还原力法测定白补药多酚的抗氧化活性。

1.4 数据分析

用SPSS 19.0进行数据处理。试验均为3次重复。

2 结果与讨论

2.1 白补药多酚测定方法的确定

2.1.1 10% Na₂CO₃ 溶液用量的确定 取供试液和对照品各 1.0 mL 分别置于 25 mL 容量瓶中, 依次加入 12.0 mL 去离子水, 1.5 mL FC, 摇匀, 静置反应 8 min, 再加入不同体积 (1.0、2.0、3.0、4.0、5.0、6.0、7.0、8.0 mL) 10%Na₂CO₃ 溶液, 摇匀, 定容, 避光显色反应 2 h, 测定吸光度, 实验结果见表 1。

表 1 10% Na₂CO₃ 用量对吸光度的影响

Table 1 The effect of 10% Na₂CO₃ on the absorbance

| Na ₂ CO ₃ (mL) | 样品/A Sample | 对照品/A CK |
|--------------------------------------|---------------------------|---------------------------|
| 1.0 | 0.232±0.020 ^d | 0.350±0.017 ^d |
| 2.0 | 0.325±0.015 ^c | 0.462±0.036 ^c |
| 3.0 | 0.386±0.024 ^{ab} | 0.543±0.032 ^{ab} |
| 4.0 | 0.420±0.016 ^a | 0.592±0.016 ^a |
| 5.0 | 0.402±0.028 ^{ab} | 0.557±0.037 ^{ab} |
| 6.0 | 0.375±0.014 ^{ab} | 0.548±0.023 ^{ab} |
| 7.0 | 0.386±0.027 ^{ab} | 0.516±0.040 ^{bc} |
| 8.0 | 0.374±0.013 ^b | 0.502±0.044 ^{bc} |

a、b、c、d分别代表5%水平下的显著性差异。a:将全部平均数从大到小顺序排列, 然后在最大的平均数上标上字母a; b:将该平均数依次与其以下各平均数相比, 凡差异不显著的都标字母a, 直至某一个与之相差显著的平均数则标以字母b; c:再以标有b的最大平均数为标准, 与以下各未标记的平均数比, 凡不显著的继续标以字母b, 直至某一个与之相差显著的平均数则标以字母c。如此重复下去, 直至最小的一个平均数有了标记字母为止。

由表1知, 随着10% Na₂CO₃溶液体积的增大, 供试液、对照品吸光度均增大, 当10% Na₂CO₃溶液体积增至4.0 mL时, 吸光度增至最大, 随后吸光度缓慢下降。根据FC试剂与多酚物质在碱性环境下显色的原理, Na₂CO₃溶液的用量对多酚与FC的显色反应有较大的影响^[16], Na₂CO₃溶液用量不足多酚物质的显色不完全, 吸光度偏低。对供试液、对照品显色反应进行显著性差异分析, 10% Na₂CO₃溶液用量为4.0 mL (FC体积与10% Na₂CO₃溶液的体积比为1:4) 时与1.0、2.0、3.0、5.0、6.0、7.0、8.0 mL时的吸光度均存在显著性差异 ($P<0.05$), 结合分光光度法原理, 可认为当FC的体积与10% Na₂CO₃溶液的体积比为1:4时, 显色较完全, 故选择FC与10% Na₂CO₃溶液最佳比为1:4。

2.1.2 Folin-Ciocalteu 用量的确定 精密移取供试液和对照品各 1.0 mL 分别置于 25 mL 容量瓶中, 加入 12.0 mL 的去离子稀释, 都加入不同体积的 FC 试剂, 混匀后静置反应 8 min, 加入体积为 FC 试剂体积 4 倍的 10% Na₂CO₃ 溶液, 定容, 避光反应 2 h 测定吸光值, 实验结果见表 2。

表 2 Folin-Ciocalteu 用量对吸光度的影响

Table 2 The effect of Folin-Ciocalteu on the absorbance

| FC (mL) | 样品/A Sample | 对照品/A CK |
|---------|--------------------------|--------------------------|
| 0.5 | 0.355±0.015 ^c | 0.418±0.016 ^c |
| 1.0 | 0.406±0.014 ^b | 0.512±0.016 ^b |
| 1.5 | 0.467±0.026 ^a | 0.600±0.016 ^a |
| 2.0 | 0.456±0.020 ^a | 0.579±0.013 ^a |
| 2.5 | 0.458±0.024 ^a | 0.592±0.014 ^a |

由表 2 可知, FC 用量从 0.5 mL 增至 1.5 mL 时, 供试液、对照品吸光度均增大并至最大值, FC 用量从 1.5 mL 增至 2.5 mL 时吸光度趋于平衡。这是因为随着 FC 试剂用量增加, 多酚显色反应逐渐完全, 吸光度增大。对供试液、对照品显色反应进行显著性差异分析, FC 为 1.5 mL 时与 0.5 mL、1.0 mL 的吸光度均存在显著性差异 ($P<0.05$), 与 2.0、2.5 mL 时的吸光度没有显著性差异 ($P>0.05$)。故选用 6.0 mL 10% Na₂CO₃ 与 1.5 mL FC 作为最佳的显色剂配比。

2.1.3 显色剂反应温度与时间的确定 精密移取供试液 1.0 mL 分别置于 25 mL 容量瓶中, 加入 12.0 mL 的去离子水稀释, 加入 2.1.2 得出最佳显色剂用量, 以温度 (30、40、50、60 °C) 及时间 (10、30、60、90、120、150 min) 为变量避光放置, 测定其吸光值, 实验结果见表 3。

表 3 温度、时间对吸光度的影响

Table 3 The effect of the temperature and time on the absorbance

| 时间/ min Time | 温度/°C Temperature | | | |
|-----------------|---------------------------|--------------------------|---------------------------|---------------------------|
| | 30 °C | 40 °C | 50 °C | 60 °C |
| 10 | 0.384±0.014 ^c | 0.433±0.016 ^b | 0.458±0.007 ^d | 0.461±0.014 ^d |
| 30 | 0.426±0.020 ^b | 0.480±0.007 ^a | 0.482±0.012 ^c | 0.474±0.011 ^c |
| 60 | 0.442±0.022 ^{ab} | 0.490±0.020 ^a | 0.436±0.017 ^b | 0.436±0.021 ^b |
| 90 | 0.459±0.012 ^a | 0.477±0.014 ^a | 0.420±0.009 ^{ab} | 0.423±0.014 ^{ab} |
| 120 | 0.459±0.014 ^a | 0.481±0.011 ^a | 0.414±0.005 ^a | 0.408±0.022 ^a |
| 150 | 0.457±0.014 ^a | 0.492±0.018 ^a | 0.408±0.016 ^a | 0.383±0.010 ^a |

由表 3 可得温度、时间对白补药多酚显色反应的影响。30 °C 时, 反应时间在 10~90 min 内, 随着时间的增加吸光度增大, 溶液变蓝并且加深, 90 min 后吸光值变化趋于平稳, 表明显色反应基本完全。40 °C 时, 反应时间在 10~30 min 内, 随着时间的增加吸光度增大, 且 30 min 后, 吸光度变化不大, 说明显色反应完全。50~60 °C 时, 随着反应时间从 10 min 增至 30 min 时, 吸光度增至最大, 30 min 后吸光度逐渐减小, 这是因为在较高的温度下多酚氧化速度加快, 导致吸光度减小。通过对多酚的稳定性及实验效率的考虑, 选择显色温度为 40 °C, 并对 40 °C 下不同反应时间进行差异分析, 30、60、90、120、150 min 吸光度不存在显著性差异 ($P>0.05$), 30 min 吸光度与 10 min 时吸光度存在显著性差异 ($P<0.05$), 故确定显色温度为 40 °C 下, 避光放置 30 min。

2.1.4 精密度、稳定性、加标回收率试验 精密度试验结果显示: RSD 为 1.07%, 说明仪器精密度良好。稳定性试验结果显示: 按最佳条件显色后, 待测液在 3 h 内吸光度变化不大, RSD 为 0.94%, 表明该显色条件在 3 h 具有较好的稳定性。加标回收率平均值为 99.40%, RSD 为 1.75%, 说明该方法可靠。

2.1.5 白补药中多酚含量 称取 5 份 2 g 经脱脂、脱色的白补药粉末, 按 1.3.1 操作得白补药多酚供试液, 根据最佳显色条件, 即 FC 试剂用量为 1.50 mL, 10% Na₂CO₃ 用量为 6.0 mL, 在 40 °C 反应 30 min, 测得白补药提取液吸光度, 并代入回归方程计算白补药中多酚含量。由此计算出白补药中多酚的平均含量为 23.78 mg·g⁻¹。

2.2 白补药多酚抗氧化能力

2.2.1 白补药多酚对 DPPH· 自由基清除能力 参照文献^[17], 稍作修改, 吸取 1.0 mL 浓度分别为, 10、30、60、90、120、150 μg·mL⁻¹ 白补药多酚提取液于 6 个 10 mL 容量瓶, 分别加入 3.0 mL 0.1 mmol·L⁻¹ DPPH· 乙醇溶液, 用无水乙醇定容, 摇匀, 室温下避光放置 30 min, 在 517 nm 处测定吸光度。取 1.00 mL 60% 乙醇代替样品, 在 517 nm 处测定吸光度 A₀ 为对对照, 按公式 (1) 计算清除率。并与样品同浓度的 Vc 和 BHT 溶液作阳性对照。

$$K(\%) = \frac{(A_0 - A_s)}{A_0} \times 100\% \tag{1}$$

测定结果见图 1。

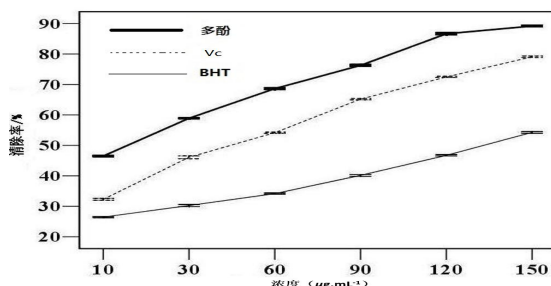


图 1 白补药多酚、Vc 和 BHT 对 DPPH 自由基清除能力
Fig.1 Scavenging of polyphenol, Vc and BHT for DPPH radical

从图1知,在选定的浓度范围内,白补药多酚提取液、Vc和BHT溶液均对DPPH·自由基均有一定的清除率且随着质量浓度增加而增大,对DPPH·自由基的清除率顺序为:白补药总多酚>Vc>BHT。差异性分析表明,白补药多酚、Vc和BHT质量浓度对DPPH·自由基清除率的影响均有极显著差异($P < 0.001$)。以白补药多酚质量浓度、Vc和BHT质量浓度与DPPH·自由基清除率进行线性回归,白补药多酚回归方程分别为: $y = 0.3013x + 47.904 (r = 0.9816)$ 、Vc回归方程分别为: $y = 0.3209x + 33.616 (r = 0.9852)$ 、BHT回归方程分别为: $y = 0.1950x + 23.7 (r = 0.9905)$ 。由此求得DPPH·自由基清除率50%时所需白补药多酚、Vc和BHT质量浓度,即半抑制质量浓度 EC_{50} 分别为 $6.96 \mu\text{g/mL}$, $51.06 \mu\text{g/mL}$, $134.87 \mu\text{g/mL}$ 。说明白补药多酚对DPPH·自由基有很强的清除能力。

2.2.2 总抗氧化能力的测定结果 参照文献^[8],稍作修改,分别取不同浓度的白补药多酚提取液 0.1 mL 于 10 mL 容量瓶中,加入 1.0 mL 磷钼试剂(0.6 mol/L 硫酸, 28 mmol/L 磷酸钠和 4 mmol/L 钼酸铵),再用蒸馏水定容,混合均匀,于 $95 \text{ }^\circ\text{C}$ 水浴中加热 90 min 。冷却至室温后,在 695 nm 波长下测定吸光度,吸光度越大,则总抗氧化能力越强。并与样品同浓度的Vc和BHT溶液作阳性对照。测定结果见图2。

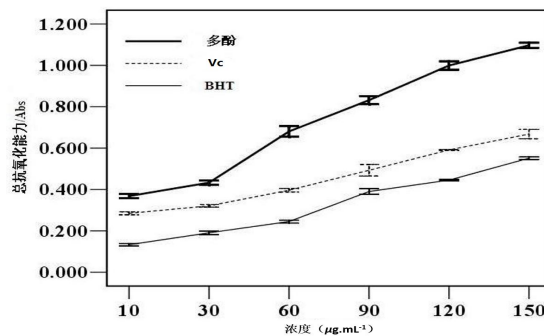


图 2 白补药总多酚、Vc和BHT的总抗氧化能力

Fig.2 The total antioxidant capacity of polyphenol, Vc and BHT

从图2知,白补药多酚、Vc和BHT随着质量浓度的增大,其吸光度值也增大,说明抗氧化能力增大,并且质量浓度与总抗氧化能力呈量效关系。在所给定浓度范围内($10 \sim 150 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$),在 $150 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 时,总抗氧化能力最强,白补药多酚、Vc和BHT三者的吸光度分别为:1.097、0.663、0.551,白补药多酚总抗氧化能力是Vc的1.6倍,是BHT的2倍。差异性分析表明,白补药多酚、Vc和BHT质量浓度对总抗氧化能力的影响均有极显著差异($P < 0.001$)。

2.2.3 白补药多酚还原力的测定结果 根据陈磊等^[9]的研究,稍作修改,分别取 1.0 mL 不同浓度的白补药多酚提取液于离心管中,顺次加入 0.2 mol/L 磷酸盐缓冲溶液($\text{PH}=6.6$) 1.0 mL 、 1% 铁氰化钾溶液 1.0 mL ,置于 $55 \text{ }^\circ\text{C}$ 水浴中保温 20 min 后,迅速冷却,加入 10% 三氯乙酸溶液 1.0 mL ,均匀混合后在 $3500 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ 离心 10 min ,分别取其上层清液 1.0 mL 置于 10 mL 容量瓶中,加入 1.0 mL 蒸馏水及 0.2 mL 0.1% 的 FeCl_3 溶液,均匀混合,静置 10 min 后,在 700 nm 下测定吸光度,吸光度越大,则还原力越强。分别用与样品溶液相同浓度的Vc和BHT溶液作为阳性对照。测定结果见图3。

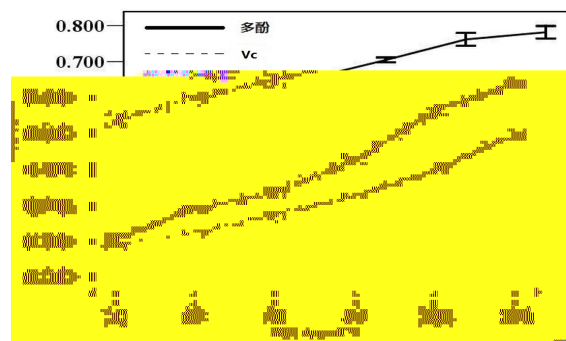


图 3 白补药总多酚、Vc和BHT的还原力能力

Fig.3 The reducing power capacity of polyphenol, Vc and BHT for DPPH

从图3知,白补药多酚、Vc和BHT对 Fe^{3+} 均有较强的还原能力,且还原能力在所给定浓度范围内($10\text{--}150\ \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$)随样品浓度的增大而增强。三者还原能力大小序为:白补药总多酚 $>$ Vc $>$ BHT。在 $150\ \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 时,还原力最大,白补药多酚、Vc和BHT三者的吸光度分别为:0.782、0.637、0.497,白补药多酚还原力是Vc的1.2倍,是BHT的1.6倍。差异性分析表明,白补药多酚、Vc和BHT质量浓度对还原力的影响均有极显著差异($P<0.001$)。说明白补药多酚有较强的还原能力。

3 结论

本研究确定了白补药多酚的FC法显色的最佳测定条件:FC比色法测定白补药多酚含量的适宜条件为:FC试剂1.5 mL,10% Na_2CO_3 溶液6 mL、温度 $40\ ^\circ\text{C}$ 、反应30 min,没食子酸浓度在 $1.8\text{--}9.0\ \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 的范围内与吸光度有良好的线性关系,相关系数为 $R=0.9996$,平均回收率为99.40%,RSD为1.75%,说明该方法可靠、简便,可用于白补药中多酚含量测定。并首次测定了贵州雷公山野生白补药多酚的平均含量为 $23.78\ \text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$ 。

通过白补药多酚对DPPH·自由基的清除率、总抗氧化能力、还原能力测定,并与抗氧化剂Vc、BHT作阳性对照,结果显示白补药总多酚、Vc、BHT的抗氧化活性顺序为:白补药总多酚 $>$ Vc $>$ BHT。白补药多酚对DPPH·自由基半抑制质量浓度 EC_{50} 为 $6.96\ \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$,清除率顺序为:白补药总多酚 $>$ Vc $>$ BHT。白补药多酚还原力是Vc的1.2倍,是BHT的1.6倍,总抗氧化能力是Vc的1.6倍,是BHT的2倍。研究结果显示雷公山白补药多酚具有较强的清除自由基和抗氧化活性,是一种很好的天然抗氧化剂。

参考文献

- [1] 李时珍.本草纲目[M].延边:延边人民出版社,2007:71
- [2] 吴征镒.中国植物志[M].第65卷.北京:科学出版社,1997:448
- [3] 帅 维.白补药化学成分的研究[D].湖北:武汉大学,2013:15-18
- [4] 鲁玉妙,马惠玲.植物多酚SCI文献计量及生物活性研究热点分析[J].食品科学,2013,34(23):375-383
- [5] 汤章城,魏家绵,陈 因,等.现代植物生理学实验指南[M].北京:科学出版社,1999:223-225
- [6] 刘 清,李 玉,姚慧源.Folin-Ciocalteu 比色法测定大麦提取液中总多酚的含量[J].食品科技,2007,32(4):175-177
- [7] Singleton VL, Orthofer R, Lamuela Raventós RM. Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteu reagent[J]. Methods in Enzymology, 1999,299(1):152-178
- [8] 曹 炜,索志荣.Folin Ciocalteu 比色法测定蜂蜜中总酚的含量[J].食品与发酵工业,2003,29(12):80-82
- [9] Kim DO, Chun OK, Kim YJ, et al. Quantification of polyphenolics and their antioxidant capacity in fresh plums[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2003,51(22):6509-6515
- [10] 张梅梅,魏志文,刘玉冰,等.Folin-Ciocalteu 比色法测定桦褐孔菌多酚的条件优化[J].菌物学报,2011,30(2):295-304
- [11] 董彩文,段蒙蒙,李帅红,等.福林-酚比色法测定黄秋葵汁中的总多酚[J].食品科技,2015,40(4):352-355
- [12] 田文礼,孙丽萍,董 捷.Folin-ciocalteu 比色法测定蜂花粉中的总多酚[J].食品科学,2007,28(2):258-260
- [13] 李文智.我国天然抗氧化剂的研究及应用[J].西部粮油科技,2003,28(3):39-40
- [14] 赵二劳,栗瑞萍,贾 楠,等.响应面法优化超声辅助提取胡麻粕中多酚工艺条件[J].中国油脂,2015,40(8):77-80
- [15] 何志勇,夏文水.Folin-Ciocalteu 比色法测定橄榄中多酚含量的研究[J].林产化学与工业,2006,26(4):15-18
- [16] 孙 宏,张 泽.分光光度法测定天然多酚类化合物含量的研究进展[J].生物质化学工程,2008,42(3):55-58
- [17] Liu XL, Cui C, Zhao MM, et al. Identification of phenolics in the fruit of emblica (*Phyllanthus emblica* L.) and their antioxidant activities[J]. Food Chemistry, 2008,109(4):905-915
- [18] Rieto P, Pineda M, A guilar MM. Spectrophotometric quantitation of antioxidant capacity through the formation of a phosphomolybdenum complex: specific application to the determination of vitamin E[J]. Anal Biochem, 1999, 269:337-341
- [19] 陈 磊.洋葱黄酮的提取条件及抗氧化活性的研究[J].食品工业科技,2013,34(16):91-99