

甜叶菊废弃物制得生物制剂的抗氧化活性研究

于 慧, 王锡昌, 奚印慈 *
(上海海洋大学食品学院, 上海 200090)

摘 要: 选择移植中国的南美甜叶菊在生产糖苷时剩余废弃杆茎等为原料, 经不同工艺制得三种生物制剂(简称 S_{C1} 、 S_{C2} 、 S_{C3}), 分别采用清除 DPPH 自由基法、氧自由基吸收能力(ORAC)法和过氧化值(POV)法研究其抗氧化能力。结果表明: 三种生物制剂均具有一定的 DPPH 自由基清除能力, 且随着浓度增加, 其清除能力逐渐增强。在添加量 0.015% 时, 生物制剂 S_{C3} 的 DPPH 自由基清除能力可达 92.21%, 为 BHT 的 1.1 倍, VE 的 5.5 倍; 且其抗氧化稳定性也远强于 BHT、VE 和 VC。另外, 用 ORAC 法比较了 S_{C3} 与天然鱼露的抗氧化能力, S_{C3} 的 ORAC 值高达 326.28 trolox $\mu\text{mol/ml}$, 是天然鱼露的 6.7 倍。另外, 鲈鱼松的贮藏实验表明了 S_{C3} 以 0.2% 的添加量具有较好的抗氧化效果。研究表明 S_{C3} 是一种具有很大开发价值的新型、天然、安全、高效的抗氧化生物制剂。

关键词: 甜叶菊; 生物制剂; 抗氧化能力

Study on Antioxidant Activity of Biological Preparation from *Stevia rebaudiana* Waste

YU Hui, WANG Xi-chang, XI Yin-ci*
(College of Food Science and Technology, Shanghai Ocean University, Shanghai 200090, China)

Abstract: With the trash stem as raw material, which was remained in the production process of glycoside from *Stevia rebaudiana* transplanted in China from South America, three biological preparations, namely S_{C1} , S_{C2} and S_{C3} were obtained by different processes. Their antioxidant activities were assessed by the method of 2,2-diphenyl-1-picryl hydrazyl (DPPH) radical assay, oxygen radical absorbance capacity (ORAC) assay and POV value. The results indicated that they have some certain DPPH radical scavenging activities, and the activities rise with the increase of concentration. When the addition amount of the S_{C3} is 0.015%, its scavenging activity to DPPH radical reaches 92.21%, as 1.1 times as that of synthetic antioxidant BHT and as 5.5 times as that of natural antioxidant vitamin E, and especially its stability of the DPPH radical scavenging activity is better than that of BHT, vitamin E or vitamin C. Furthermore, the antioxidant activities of the S_{C3} and natural fish sauce were assessed by the ORAC assay. Its ORAC value is 326.28 trolox $\mu\text{mol/ml}$, as 6.7 times as that of the natural fish sauce. Besides, the storage results of *Scomber japonicus* floss indicated that the S_{C3} has good antioxidant effect at 0.2% addition level. So it is a novel, natural, safe and highly effective antioxidant biological preparation with great development value.

Key words: *Stevia rebaudiana*; biological preparation; antioxidant capacity

中图分类号: TS202.3

文献标识码: A

文章编号: 1002-6630(2008)08-0065-05

抗氧化活性物质的开发与研究一直是人类研究的重点课题之一, 因为它与我们人类自身健康息息相关。近年来, 由于不断发现国内外广泛使用的合成抗氧化剂, 如二叔丁基羟基甲苯(BHT)、叔丁基羟基茴香醚(BHA)、没食子酸丙酯(PG)和叔丁基对苯二酚(TBHQ)等具有一定的毒性和致畸、致癌作用^[1], 因此, 围绕食品安全性以开发天然、安全、高效的抗氧化活性物质是今后研究的方向^[2]。而甜叶菊(*Stevia rebaudiana*)原产南美巴拉圭东部, 是一种高甜度、低热量、无毒、无副作用

的天然草本植物, 其甜度为蔗糖的 300 倍, 热能仅为其 1/90, 并具有抗氧化, 抗过敏, 抗菌等多种生物活性^[3-4], 而我国在其抗氧化方面的研究还未见相关报道。本研究对移植中国的南美甜叶菊生产糖苷时剩余废弃杆茎等为原料制得的三种生物制剂进行抗氧化活性的测定, 以期今后产业化应用提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料

收稿日期: 2008-05-20

作者简介: 于慧(1982-), 女, 硕士研究生, 研究方向为食品营养与卫生。E-mail: zoezhuihui@hotmail.com

* 通讯作者: 奚印慈(1957-), 女, 副教授, 研究方向为食品安全及水产品加工与贮藏。E-mail: xiyinciid@yahoo.co.jp

三种加工工艺制得甜叶菊生物制剂 1(S_{C1})、生物制剂 2(S_{C2})和生物制剂 3(S_{C3})，其工艺流程如下：

S_{C1} ：原料 - 浸泡 - 萃取 - 分离 - 浓缩 - 压滤 - 发酵 - 自然熟成 - 包装 - 成品

S_{C2} ：原料 - 浸泡 - 萃取 - 分离 - 浓缩 - 发酵 - 快速熟成 - 包装 - 成品

S_{C3} ：原料 - 浸泡 - 萃取 - 分离 - 浓缩 - 压滤 - 分段发酵 - 低温熟成 - 包装 - 成品

由日本ウエク株式会社提供的甜叶菊生物制剂(S_J)作为本研究的对照。

冷冻鲈鱼 上海易初莲花超市。

1.2 试剂

95% 乙醇、无水乙醇、正己烷、乙醚、乙酸乙酯、氢氧化钠、三氯甲烷、冰醋酸、碘化钾、硫代硫酸钠、可溶性淀粉等均 AR 级。二叔丁基羟基甲苯(BHT、食用级)、VE(纯度 97%~102%) 上海国药集团化学试剂有限公司；VC(分析纯) 广州市金华大化学试剂有限公司；2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl(DPPH, 纯度 $\geq 85\%$) 德国 Fluka 公司。

1.3 设备

JIRCAS pH030 型恒温干燥箱、RE-52A 型真空旋转蒸发仪、UV-1601PC 型紫外分光光度计、FOSS KJELTEC 2300 型凯氏定氮仪、DD7-A 型马福炉、日立 F-4500 荧光光度计。

1.4 方法

1.4.1 甜叶菊生物制剂基本成分分析

水分 直接干燥法，参照 GB5009.3 - 85；灰分 马福炉灰化法，参照 GB5009.4 - 85；粗蛋白 常量凯氏定氮法，参照 GB5009.5 - 85；粗脂肪 索氏提取法，参照 GB5009.6 - 85；总糖 3,5-二硝基水杨酸比色法^[5]；可溶性固形物 采用 SS-36 型手持糖度计测定；矿质元素 采用 PERKIN-EIMER 2280 型原子吸收分光光度计测定^[6]。

1.4.2 抗氧化活性的测定

1.4.2.1 生物制剂清除 DPPH 自由基能力的测定^[7-8]

分别取一定体积的四种甜叶菊生物制剂于试管中，用蒸馏水溶解至 3ml，然后加入 1ml 无水乙醇及 1ml 0.2mmol/L 的 DPPH 溶液，充分混匀，室温下放置 30min 后以 40% 乙醇溶液(V/V)调零点，在其最大吸收波长 518nm 下测定其吸光度为 B；同时，在不加甜叶菊生物制剂的条件下重复上述步骤作一对照实验，测定其吸光度为 A；再在不加 DPPH 试剂的条件下，为消除甜叶菊生物制剂的颜色干扰，重复上述步骤作一空白实验，记录其吸光度为 C。BHT 和 VE 是将其分别溶解在 1ml 无水乙醇中进行测定。自由基清除率根据下列公式计算：

$$\text{清除率}(\%) = \frac{1 - (B - C)}{A} \times 100$$

1.4.2.2 抗氧化稳定性的测定

取一定量的甜叶菊生物制剂 S_{C3} 和 VC 于烧杯中，将其配成 1% 的水溶液，另取一定量的 BHT 和 VE 于烧杯中，将其配成 1% 的乙醇水溶液，用保鲜膜密封置于室温(5℃)下贮存。每天取样测定其对 DPPH 自由基的清除率，方法同 1.4.2.1。

1.4.2.3 氧自由基吸收能力(ORAC)的测定

参照 Cao 等的方法^[9]。

1.4.2.4 过氧化值(POV)的测定

按 GB/T 5009.37 - 2003 测定。每个样品平行测定 3 次，取平均值作为测定结果。

1.4.3 应用实验

将市场上新购入的冷冻鲈鱼进行去头、去内脏、去中骨、去皮和去小刺处理，将得到的鱼肉在不锈钢锅中加热炒成鱼松。后各取 100g 鱼松，分别加入 1ml 生物制剂 S_J 、 S_{C1} 、 S_{C2} 、 S_{C3} 和 6.5ml 蒸馏水，充分振荡混匀后，在室温(26℃)下密封保存。每天取样，测定其 POV 值，并作一对照实验(不添加生物制剂)。

2 结果与分析

2.1 甜叶菊生物制剂基本成分分析

2.1.1 主要成分的含量

表 1 四种甜叶菊生物制剂主要基本成分的比较

Table 1 Comparison of main components of four kinds biological preparations derived from *Stevia rebaudiana*

生物制剂	水分(%)	总糖(%)	灰分(%)	粗蛋白(%)	粗脂肪(%)
S_J	82.13 \pm 0.16	7.56 \pm 0.01	4.36 \pm 0.02	2.59 \pm 0.17	0.04 \pm 0.02
S_{C1}	84.76 \pm 0.11	5.23 \pm 0.02	4.83 \pm 0.14	2.77 \pm 0.02	0.07 \pm 0.01
S_{C2}	92.98 \pm 0.05	1.44 \pm 0.00	2.20 \pm 0.02	1.13 \pm 0.01	0.04 \pm 0.01
S_{C3}	80.37 \pm 0.01	5.79 \pm 0.00	4.97 \pm 0.08	3.36 \pm 0.05	0.12 \pm 0.01

从表 1 可以看出，我国自行研制的甜叶菊生物制剂 S_{C1} 、 S_{C3} 的主要基本成分含量与 S_J 较为接近；而生物制剂 S_{C2} 与其相比，差异较为显著。其中，生物制剂的水分含量 S_{C3} 最少，而 S_{C2} 最高，这与甜叶菊生物制剂加工过程中发酵浓缩时间长短有关。生物制剂的总糖含量 S_J 最高， S_{C1} 、 S_{C3} 较为接近， S_{C2} 最低。由于甜叶菊自身特点是含糖量高，热量低，其生物制剂可作为特种规定的食品素材，尤其可适用于糖尿病和肥胖症患者^[10]。生物制剂的灰分和粗蛋白含量 S_{C3} 最高， S_{C1} 、 S_J 次之， S_{C2} 最低，说明 S_{C3} 的无机物和蛋白质含量较为丰富，品质较高。而脂肪含量在这四种生物制剂中没有太大差异。

2.1.2 可溶性固形物的含量

可溶性固形物主要包括糖、酸、维生素、矿物质等可溶性物质,是反映主要营养物质多少的一个指标^[11]。从表2可以看出,可溶性固形物含量较高的为生物制剂S_{C3}和S_J,其含量分别为24.4%、23.0%,生物制剂S_{C1}含量次之,S_{C2}含量最低。

表2 四种甜叶菊生物制剂可溶性固形物含量的比较
Table 2 Comparison of soluble solids contents of four kinds biological preparations derived from *Stevia rebaudiana*

生物制剂	S _J	S _{C1}	S _{C2}	S _{C3}
可溶性固形物(%)	23.20	19.20	8.40	24.4

2.1.3 矿质元素的含量

表3 四种甜叶菊生物制剂主要矿质元素含量的比较(mg/100ml)
Table 3 Comparison of main mineral elements contents of four kinds biological preparation derived from *Stevia rebaudiana* (mg/100 ml)

生物制剂	K	Na	Fe	Ca	Mg
S _J	1630.97 ± 8.53	130.18 ± 0.50	4.68 ± 0.76	53.98 ± 2.33	174.07 ± 10.23
S _{C1}	1619.97 ± 16.86	179.79 ± 12.72	9.66 ± 0.68	82.87 ± 1.61	166.2 ± 3.15
S _{C2}	552.04 ± 15.84	226.67 ± 0.81	1.79 ± 0.90	39.89 ± 1.39	132.85 ± 7.14
S _{C3}	1772.14 ± 13.74	182.15 ± 0.65	8.72 ± 0.78	90.08 ± 1.78	247.05 ± 8.69

由表3可知,甜叶菊生物制剂含有多种人体所需的矿质元素K、Na、Ca、Mg、Fe,并且不同生物制剂间的同一矿质元素含量具有一定的差异。其中,矿质元素K、Mg以生物制剂S_{C3}的含量最高,S_J和S_{C1}较为接近,S_{C2}含量最低。并且以K的含量优势最为明显,这与奚印慈等人的研究结果相一致。K作为主要的碱金属存在于组织和细胞中,不仅对细胞内外的酸碱平衡起着重要的调节作用,而且具有较高的抗氧化活性,并据报道称K₂CO₃、KHCO₃和KCl对亚油酸具有不同程度的抗氧化效果^[12]。

而Mg作为人体所必需的矿质元素,在人体新陈代谢过程中也起着举足轻重的作用。它可激活人体内325个酶系统,参与各种能量代谢,是人体一切生长过程,包括骨、细胞、核糖核酸、脱氧核糖核酸以及各种生物膜形成的重要物质。而Ca的含量在几种生物制剂间均有一定的差异,其中生物制剂S_{C3}含量最高,与Mg相辅相成,能够有效预防及改善人体骨质疏松症,并能巩固骨骼和维护牙齿健康。Fe作为人体所需的微量元素之一,在人体中有着重要的生理功能。例如它能够组成血红蛋白和肌红蛋白,参与氧的运输等^[13]。其中生物制剂S_{C1}含量最高,生物制剂S_{C3}与之较为接近,生物制剂S_{C2}最低。而Na的含量却是生物制剂S_{C2}最高,生物制剂S_J最低,这可能与发酵工艺有关。

2.2 甜叶菊生物制剂的抗氧化活性

2.2.1 甜叶菊生物制剂对DPPH自由基的清除能力比较

将甜叶菊生物制剂折算成固形物含量进行比较。四种甜叶菊生物制剂对DPPH自由基的清除能力见图1。从图中可以看出,四种甜叶菊生物制剂均对DPPH自由基有一定的清除作用,且随着浓度增加,其清除能力逐渐增强,这说明甜叶菊生物制剂对DPPH自由基的清除能力与其浓度存在明显的剂量-效应关系。

目前,普遍采用半数清除浓度(IC₅₀)作为评价物质抗氧化能力强弱的指标^[14]。四种甜叶菊生物制剂的DPPH自由基清除率与浓度之间的线性回归方程分别为Y_{SJ}=16788X_{SJ}+8.4325、Y_{SC1}=13825X_{SC1}+7.3069、Y_{SC2}=15196X_{SC2}+7.643、Y_{SC3}=20187X_{SC3}+7.0476,其半数清除浓度分别为0.0025%、0.0031%、0.0028%、0.0021%,表明甜叶菊生物制剂S_{C3}对DPPH自由基清除能力最高,S_J和S_{C2}次之,S_{C1}最低。甜叶菊生物制剂具有这种清除DPPH自由基能力的大小可能与其中含有多酚及黄酮类化合物等多种抗氧化活性成分含量高低以及加工工艺有关^[15]。

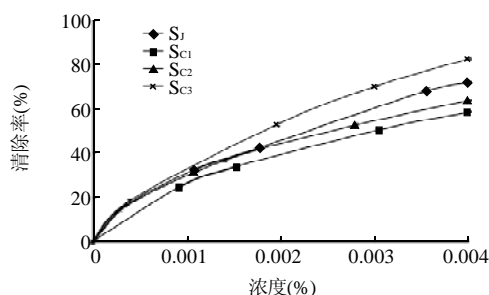


图1 甜叶菊生物制剂的DPPH自由基清除率随浓度变化
Fig.1 Scavenging effect of biological preparation derived from *Stevia rebaudiana* on DPPH radical with concentration

2.2.2 甜叶菊生物制剂S_{C3}与合成抗氧化剂BHT的DPPH自由基清除能力比较

将筛选出的具有较高DPPH自由基清除能力的生物

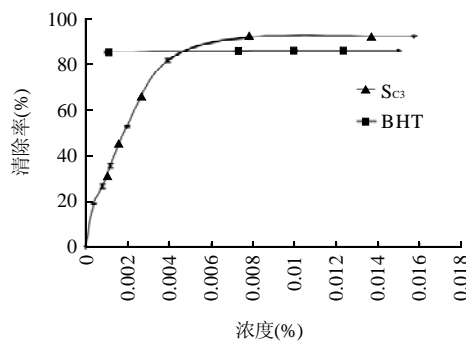


图2 甜叶菊生物制剂S_{C3}、BHT的DPPH自由基清除率随浓度变化图
Fig.2 Scavenging effect of *Stevia rebaudiana* biologicals S_{C3}, BHT on DPPH radical with concentration

制剂 S_{C3} 与合成抗氧化剂 BHT 进行比较测定。从图 2 中可以看出, 合成抗氧化剂 BHT 对 DPPH 自由基的清除能力随浓度变化并不显著, 在 0.001%~0.015% 添加范围内均显示了 85.25%~86.36% 较强的 DPPH 自由基清除率。而甜叶菊生物制剂 S_{C3} 与其相比, 在低于 0.0045% 浓度时, 其 DPPH 自由基清除率低于 BHT, 但高于 0.0045% 时, 其 DPPH 自由基清除率则可高达 92.21%, 效果优于 BHT。由此可以得出, 我国自行研制的甜叶菊生物制剂 S_{C3} 在达到一定剂量的添加情况下, 其抗氧化效果可优于合成抗氧化剂 BHT。

2.2.3 甜叶菊生物制剂 S_{C3} 与天然抗氧化剂 VE 的 DPPH 自由基清除能力比较

VE 是一种天然、安全、高效的抗氧化剂, 目前正广泛应用于我们的日常饮食中。其和甜叶菊生物制剂 S_{C3} 清除 DPPH 自由基能力的比较结果见图 3。从图中可以看出, VE 对 DPPH 自由基的清除能力在 0.001%~0.015% 添加范围内明显低于生物制剂 S_{C3} , 其中, 添加浓度为 0.015% 时, VE 的 DPPH 自由基清除率仅为 16.71%, 而 S_{C3} 可达 92.21%, 是其 5.5 倍。由此可以看出, 甜叶菊生物制剂 S_{C3} 的 DPPH 自由基清除效果明显高于天然抗氧化剂 VE。

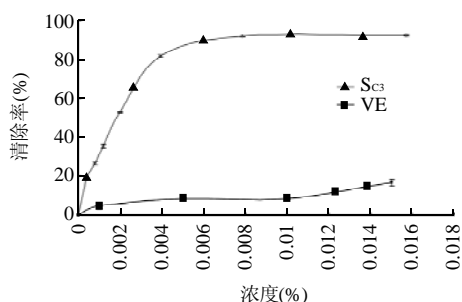


图3 甜叶菊生物制剂 S_{C3} 、VE 的 DPPH 自由基清除率随浓度变化
Fig.3 Scavenging effect of *Stevia rebaudiana* biologicals S_{C3} , VE on DPPH radical with concentration

2.2.4 甜叶菊生物制剂 S_{C3} 、VC、BHT、VE 的抗氧化稳定性

将抗氧化活性较高的生物制剂 S_{C3} 与 VC、BHT、VE 比较进行抗氧化稳定性的测定, 图 4 表示了甜叶菊生物制剂 S_{C3} 、VC、BHT、VE 的 DPPH 自由基清除率随时间变化的曲线图。从图 4 中可以明显看出, 甜叶菊生物制剂 S_{C3} 的 DPPH 自由基清除率较高, 且随时间变化较为稳定, 在第 0~7d 清除率均在 89.04%~91.86% 之间, 抗氧化稳定性较好。而 VC 虽然也对 DPPH 自由基有较高的清除率, 但其稳定性较差, DPPH 自由基清除率曲线随时间波动较大, 在第 0~7d 清除率在 84.55%~94.08% 之间波动, 相差近 10 个百分点, 抗氧化稳定性较差。而合成抗氧化剂 BHT 不仅对 DPPH 自由基的清除率低于

甜叶菊生物制剂 S_{C3} 和 VC, 而且其抗氧化稳定性也较差, 在 75.31%~85.03% 之间波动, 也相差近 10 个百分点。而天然抗氧化剂 VE 虽然具有较好的抗氧化稳定性, 但其对 DPPH 自由基的清除率最低, 仅为 9.85%~13.27%, 约为甜叶菊生物制剂 S_{C3} 的九分之一。由此可见, 甜叶菊生物制剂 S_{C3} 不仅具有较高的 DPPH 自由基清除率, 而且具有较好的抗氧化稳定性, 在今后的食品工业中具有很大的应用价值。

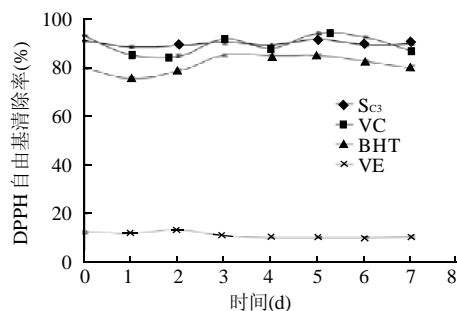


图4 甜叶菊生物制剂 S_{C3} 、VC、BHT、VE 的抗氧化稳定性
Fig.4 Antioxidant stability of *Stevia rebaudiana* biological preparation S_{C3} , VC, BHT, VE

2.2.5 甜叶菊生物制剂 S_{C3} 和天然鱼露的氧自由基吸收能力的比较

鱼露是一种具有天然水产风味的氨基酸调味液, 又是我国传统的调味品, 而日本近期发现天然鱼露也具有一定的抗氧化活性。而氧自由基吸收能力法是用来测定样品清除 ROO、OH 等自由基的能力, 评价的是样品的总抗氧化能力^[16]。因此, 将同是天然物质的甜叶菊生物制剂 S_{C3} 与鱼露进行比较测定, 结果如图 5 所示。从图 5 中可以看出, 天然鱼露的 ORAC 值为 48.81 trolox μ mol/ml, 而生物制剂 S_{C3} 的 ORAC 值高达 326.28 trolox μ mol/ml, 是天然鱼露的 6.7 倍, 说明甜叶菊生物制剂 S_{C3} 的总抗氧化能力优于天然鱼露。

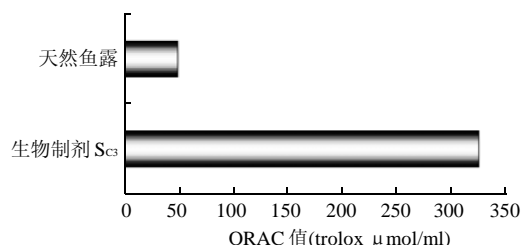


图5 甜叶菊生物制剂 S_{C3} 和天然鱼露的 ORAC 值
Fig.5 ORAC value of S_{C3} and natural fish sauce

2.2.6 甜叶菊生物制剂对鲑鱼松室温储藏过程中产生的过氧化物的影响

本实验探讨了在鲑鱼松中添加 0.2% 甜叶菊生物制剂 (固形物含量) 的情况下, 鲑鱼松的 POV 值随时间变化情

况,如图6所示。从图中可以看出,添加各甜叶菊生物制剂后都不同程度地抑制了鲈鱼松的氧化,其中空白实验在第一天之后鲈鱼松氧化速率明显加快,在第二天就超过了国家食用油脂卫生标准(11.8meq/kg)^[17]。比较各甜叶菊生物制剂, S_{c1} 对鲈鱼松的抗氧化效果较弱,第三天的POV值为11.1meq/kg,接近国家食用油脂卫生标准;而 S_1 和 S_{c2} 对鲈鱼松的抗氧化效果次之,其中在第四天添加 S_1 的鲈鱼松POV值为12.09meq/kg,添加 S_{c2} 的鲈鱼松POV值为10.49meq/kg,也都接近国家食用油脂卫生标准;而生物制剂 S_{c3} 与其相比,鲈鱼松POV值的变化曲线上升较为缓慢,显示了较好的抗氧化效果,在第五天的POV值仅为9.25meq/kg,鲈鱼松品质仍然较好,仅为相同条件下未添加甜叶菊生物制剂鲈鱼松POV值的三分之一左右。由此可见,生物制剂 S_{c3} 对鲈鱼松贮藏过程中抗氧化劣变具有较好的效果。

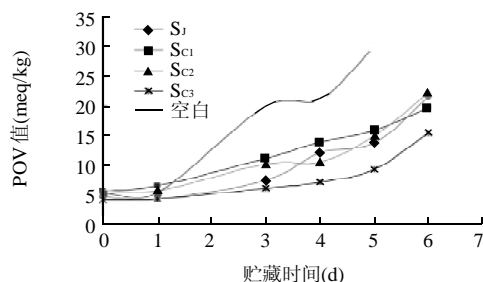


图6 甜叶菊生物制剂对鲈鱼松POV的影响(0.2%添加量)

Fig.6 Effects of *Stevia rebaudiana* biological preparation on *Scomber japonicus* floss pov (0.2%)

3 结论

3.1 四种甜叶菊生物制剂的基本成分存在一定差异。其中,生物制剂 S_{c3} 的水分含量最少,总糖、灰分、蛋白质、可溶性固形物的含量较高,并且矿质元素K、Mg、Ca的含量最为丰富,品质较高。

3.2 甜叶菊生物制剂 S_{c3} 对DPPH自由基具有较高的清除率,且随着浓度增加,清除率逐渐增强。在添加0.015%时的DPPH自由基清除能力可达92.21%,效果是合成抗氧化剂BHT的1.1倍,是天然抗氧化剂VE的5.5倍。

3.3 甜叶菊生物制剂 S_{c3} 有较好的抗氧化稳定性,结合

DPPH自由基清除率,其效能比较:甜叶菊生物制剂 S_{c3} > VC > BHT > VE。

3.4 甜叶菊生物制剂 S_{c3} 的氧自由基吸收能力优于天然鱼露,是其6.7倍。

3.5 四种甜叶菊生物制剂对鲈鱼松都具有一定的抗氧化效果,强弱顺序为:生物制剂 S_{c3} > 生物制剂 S_1 > 生物制剂 S_{c2} > 生物制剂 S_{c1} 。

3.6 甜叶菊生物制剂 S_{c3} 具有上述较好的抗氧化活性,若能对其中的有效抗氧化成分进行分离纯化,它有望替代BHT成为新型的天然抗氧化剂,应用于食品和医药等领域。

参考文献:

- [1] 徐学兵. 油脂化学[M]. 北京: 中国商业出版社, 1993.
- [2] 李文林, 黄凤洪. 天然抗氧化剂研究现状[J]. 粮食与油脂, 2003(10): 10-13.
- [3] 奚印慈, 山口敏康, 佐藤实, 等. ステビアの抗酸化性[J]. 日本食品科学工学会誌, 1998, 45(5): 310-316.
- [4] 広海輝明. 肝臓の特効食"ステビア草"C型肝炎あきらめたら一生の損[M]. 東京: 青萌堂株式会社, 2001.
- [5] 何幼鸾, 汤文浩. 生物化学实验[M]. 武汉: 华中师范大学出版社, 2006.
- [6] 王叔淳. 食品卫生检验技术手册[M]. 北京: 化学工业出版社, 2002.
- [7] 奚印慈, 山口敏康, 佐藤实, 等. ステビア抽出末の抗酸化機構と無機塩の抗酸化性[J]. 日本食品科学工学会誌, 1998, 45(5): 317-322.
- [8] MASUDA T, YAMASHITA D, MAEKAWA T, et al. Identification of antioxidative compounds from Stevia (*Stevia rebaudiana*) [J]. Nippon Shokuhin Kagaku Kogaku Kaishi, 2006, 53(12): 597-602.
- [9] CAO G, ALESSIO H M, CUTLER R G. Oxygen radical absorbance capacity assay for antioxidants[J]. Free Radical BiolMed, 1993, 14(3): 303-311.
- [10] 広海輝明. 糖尿病は治る[M]. 東京: 総合法令出版株式会社, 2002.
- [11] 李贤忠, 刘惠民, 金德良, 等. 美国葡萄柚营养成分分析与评价[J]. 经济林研究, 2006, 24(4): 23-27.
- [12] 奚印慈, 佐藤实, 山口敏康. 酸化抑制剤: 日本, 3959139[P]. 2007-5-18.
- [13] 黄丽华. 砂糖桔营养成分分析[J]. 食品研究与开发, 2007, 28(1): 152-154.
- [14] 贾冬英, 曹冬冬, 姚开. 荸荠皮提取物对DPPH自由基清除活性[J]. 天然产物研究与开发, 2007, 19: 745-747.
- [15] TADHANI M B, PATEL V H, SUBHASH R. In vitro antioxidant activities of *Stevia rebaudiana* leaves and callus[J]. Food Composition and Analysis, 2007, 20: 323-329.
- [16] 续洁琨, 姚新生, 栗原博. 抗氧化能力指数(ORAC)测定原理及应用[J]. 中国药理学通报, 2006, 22(8): 1015-1021.
- [17] 王洪岩, 李艳红. 抗氧化剂对鳕鱼油抗氧化作用的研究[J]. 中国油脂, 1997, 22(4): 38-39.