

陈小红,吴德武,陈松茂,等. 茶皂素提取纯化及其与山梨酸钾复配的抑菌防腐效果[J]. 江苏农业科学,2017,45(6):186-190.
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2017.06.049

茶皂素提取纯化及其与山梨酸钾复配的抑菌防腐效果

陈小红¹, 吴德武², 陈松茂², 黄东波²

(1. 龙岩学院生命科学学院, 福建龙岩 364012; 2. 龙岩学院化学与材料学院, 福建龙岩 364012)

摘要:以茶籽粕为原料,采用微波-超声波协同辅助提取茶皂素,在单因素试验基础上,以茶皂素得率为响应值通过响应面法优化茶皂素的提取工艺;以反相柱层析法纯化提取的茶皂素,对纯化的茶皂素通过红外、紫外光谱进行表征;以纯化后的茶皂素与山梨酸钾复配,通过测定试样的菌落总数、挥发性盐基氮(TVB-N)含量,考察复配方对龙岩风味泡鸭爪的抑菌防腐效果。结果表明,在微波功率 700 W,作用时间 2 min 的条件下,茶皂素的最优提取工艺为:乙醇浓度 72%,液料比 11 mL:1 g,超声波功率 79 W,浸提时间 76 min。在优化条件下,茶皂素得率为(13.5±0.2)%,纯度为 68.2%,反相柱层析法纯化提取的茶皂素,可得到纯度为 99.2%的茶皂素,茶皂素与山梨酸钾复配使用对龙岩风味泡鸭爪的防腐抑菌起协同作用,可延长泡鸭爪的保质期。

关键词:茶籽粕;微波-超声波;茶皂素;山梨酸钾;泡鸭爪;防腐剂

中图分类号: TS205 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2017)06-0186-05

茶籽粕是食用油茶籽榨油后得到的残渣,富含 10%~15%的茶皂素^[1],是提取茶皂素的天然原材料之一。从茶籽粕中提取得到的茶皂素又叫做茶皂苷,是一类复杂的糖苷化合物,具有一定的抗细菌效果^[2],对革兰氏阳性细菌金黄色葡萄球菌有明显的抑制作用,对单细胞真菌酵母菌表现出较强的抑菌活性^[3-4]。

由于超声波在介质传播中产生特殊的“空化效应”,微波在辐射过程高频电磁波可穿透介质直接作用于植物内部细胞的效果,近年来,微波提取与超声波提取技术被广泛应用在茶皂素的提取工艺研究中^[5-9]。此外,在食品生产加工中大肠杆菌、金黄色葡萄球菌、黑曲霉、酵母菌等是常见的腐败菌种,而山梨酸钾对革兰氏阳性短芽孢杆菌菌株能有效抑制,对肠杆菌的抑制作用居中,对革兰氏阳性金黄色葡萄球菌的抑制作用较小^[10]。因此,本试验在固定微波功率 700 W,作用时间 2 min 的条件下,通过响应面法优化微波-超声波协同辅助提取茶皂素的提取工艺条件;通过茶皂素与山梨酸钾复配,考察其复配方对龙岩风味泡鸭爪的防腐抑菌效果。

1 材料与与方法

1.1 试验仪器

KQ-100DE 型数控超声波清洗仪(昆山市超声仪器有限公司);MG08S-203 型微波仪(南京汇研微波系统工程公司);YP-B5001 电子天平(北京赛多利斯天平有限公司);UV-5600 紫外可见分光光度计(上海元析仪器有限公司);Nicolet Avatar330 傅立叶红外光谱仪(美国 Thermo Electron 公司);HS-840u 型水平层流单人净化工作台(苏州净化设备

有限公司);DRP-9272 型电热恒温培养箱(上海森信实验仪器有限公司)等。

1.2 试验材料

油茶籽粕(龙岩市茶丽健茶油开发有限公司);茶皂素标准品(上海阿拉丁试剂有限公司);50 μm ODS-A 反相硅胶填料(日本 YMC 公司);鸭爪(龙岩市常爱食品有限公司);无水乙醇等化学试剂均为国产分析纯。

1.3 试验方法

1.3.1 茶籽粕中茶皂素的提取 茶籽粕粉碎过 80 目筛,称取 30 g 于索氏提取器在石油醚中回流脱脂 24 h,取出烘干。重复此操作,制备脱脂茶籽粕若干备用。然后称取 5.0 g 的脱脂茶籽粕粉末放入 100 mL 烧杯中加一定体积浓度的乙醇溶液,搅拌分散均匀,放入微波仪中,在 700 W 功率下微波辐射 2 min,之后取出,在超声仪中在不同超声波功率、超声提取时间的条件下,进行浸提。浸提完毕,减压抽滤得到茶皂素浸提液,测定滤液体积 V,装入锥形瓶中。

1.3.2 浸提液中茶皂素含量的测定^[10] 采用 80% 的乙醇溶液为溶剂,称取茶皂素标准品,准确配制 180、360、540、720、900 μg/mL 的标准溶液。用移液枪取 1.00 mL 茶皂素标准溶液加入试管中,往其中加入 1 mL 8% 香草醛乙醇溶液和 10 mL 77% 硫酸溶液,充分混合摇匀后,置于 60 °C 恒温水浴中反应 15 min,取出后置于冰水浴中冷却 10 min,然后放至室温后,把液体移入玻璃比色皿,以 80% 的乙醇溶液为参比,在波长为 550 nm 处测定溶液的吸光度,以茶皂素质量浓度为纵坐标,吸光度为横坐标绘制标准曲线。拟合得回归方程为 $y = 1\,247.399\,4x - 30.560\,5$, $r^2 = 0.998\,7$ 。

准确移取茶皂素滤液 1.00 mL 至 250 mL 容量瓶中,以 80% 的乙醇溶液为溶剂,定容摇匀待测,取 1.00 mL 定容后的稀释茶皂素液加入试管中,采用上述方法测定溶液的吸光度,根据茶皂素浓度-吸光值标准曲线拟合得到的方程,求得稀释定容后茶皂素溶液的茶皂素含量,进而求出茶籽粕中茶皂素提取得率。

收稿日期:2016-06-23

基金项目:龙岩学院“攀登项目”(编号:LQ2013018)。

作者简介:陈小红(1979—),女,福建永定县人,实验师,主要从事生物工程研究。E-mail:wxy1820@163.com。

通信作者:吴德武,讲师,主要从事天然产物化学研究。E-mail:wdds20@163.com。

1.3.3 茶皂素的反相柱层析纯化^[11-12] 以 50 μm ODS - A 反相硅胶为填料,采用无水乙醇匀浆湿法上柱。称取 3 g 提取、干燥后的茶皂素溶解于 40 mL 5% 的甲醇溶液中,通过分液漏斗控制以 1 mL/min 的速度上样,以 1.5 mL/min 的洗脱速度梯度洗脱,先采用 50% 的甲醇溶液以 2 倍柱床体积淋洗;再用 60% 的甲醇溶液以 2 倍柱床体积淋洗,每 2 min 收集 1 份洗脱液,对每份洗脱液进行紫外吸光检测。对 215 nm 处有强吸收峰的洗脱液进行浓缩、干燥。

1.3.4 茶皂素纯化物表征^[11-12]

1.3.4.1 紫外扫描 以 60% 甲醇溶液为溶剂,将纯化后的茶皂素配制成浓度为 0.5 mg/mL 的溶液,进行紫外扫描,得到紫外扫描光谱图。

1.3.4.2 傅立叶红外扫描 取微量纯化后茶皂素样品与 KBr 混合后压片,进行红外扫描,得到红外扫描光谱图。

1.3.5 茶皂素与山梨酸钾复配防腐剂对龙岩泡鸭爪的抑菌防腐试验 按我国《食品添加剂使用卫生标准》(GB 2760—2014)山梨酸在熟肉制品中添加的最大限量为 0.075 0 g/kg,本试验配制 0.020 0 g/kg 的山梨酸钾溶液,取 0.020 0 g/kg 的山梨酸钾溶液为溶剂分别配制浓度为 100、80、60、40、20、0 mg/mL 的茶皂素、山梨酸钾复配溶液 200 mL 分装至 4 个锥形瓶中标以 A、B、C、D、E、F,滴加冰醋酸调节 pH 值至 3.80,加入龙岩市常爱食品有限公司提供的初步加工的鸭爪进行密封浸泡,以 F 组为对照组,每隔 2 d 分别取 1 次样液检测其细菌总数和挥发性盐基氮含量,测定 5 次。菌落总数的检测方法按照 GB/T 4789.2—2010,采用平板倾注法对试样的菌落总数进行测定,采用 lgCFU/g 表示检测的结果;试样挥发性盐基氮(TVB - N)的检测方法采用半微量定氮法,结果以 mg/100 mL 表示^[13]。

2 结果与分析

2.1 微波-超声波辅助单因素浸提茶皂素试验

2.1.1 乙醇浓度对茶皂素浸提率的影响 按“1.3.1”节的方法,在液料比为 8 mL : 1 g,超声波功率为 70 W,浸提时间为 50 min 的条件下考察乙醇浓度对茶皂素浸提率的影响,结果如图 1 所示。茶皂素浸出浓度随乙醇浓度增大而增大,在乙醇浓度为 70% 时,茶皂素浸出浓度达到最大值。但随乙醇浓度进一步增大,茶皂素浸出浓度略有降低。因此取乙醇的体积浓度 70% 为适宜的浸提液浓度。

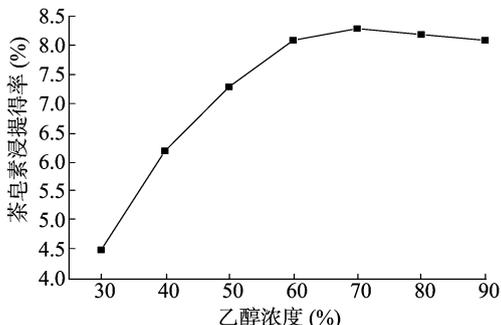


图1 乙醇浓度对茶皂素浸提率的影响

2.1.2 液料比对茶皂素浸提率的影响 在乙醇体积分数为 70%,超声波功率为 70 W,浸提时间为 50 min 的条件下,

按“1.3.1”节的方法,考察不同液料比对茶皂素浸提率的影响,结果如图 2 所示。随液料比增大,茶皂素浸提率随之增大,液料比超过 10 mL : 1 g 后,茶皂素浸提率随液料比的增大而略有增加。为了避免溶剂的浪费且降低茶皂素干燥的能量,因此取液料比 10 mL : 1 g 较为适宜。

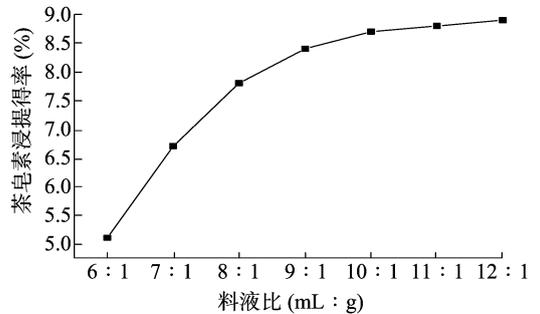


图2 液料比对茶皂素浸提率的影响

2.1.3 超声波功率对茶皂素浸提率的影响 在乙醇体积浓度为 70%,液料比为 10 mL : 1 g,浸提时间为 50 min 的条件下,按“1.3.1”节的方法,考察不同超声波功率对茶皂素浸提率的影响,结果如图 3 所示。由图 3 可知,随超声波功率增大,茶皂素浸提率随之增大,但超声波功率达到 80 W 后,超声波功率进一步增大,茶皂素浸提率稍许降低,可能是浸提液在超声功率 80 W 时,超声波的空化趋于饱和,此时进一步增大超声波强度反而降低了空化强度,对茶皂素浸提率的提高反而不利。因此,取 80 W 为适宜的超声波功率。

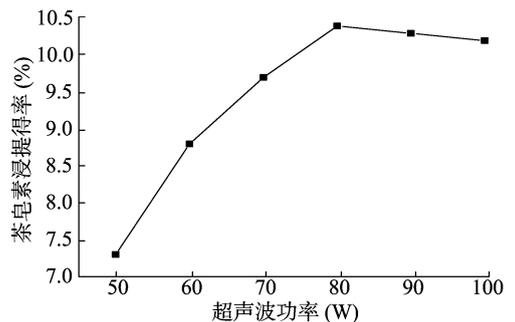


图3 超声波功率对茶皂素浸提率的影响

2.1.4 浸提时间对茶皂素浸提率的影响 在乙醇体积浓度为 70%,液料比为 10 mL : 1 g,超声波功率为 80 W 条件下,按“1.3.1”节的方法,考察不同浸提时间对茶皂素浸提率的影响,结果如图 4 所示。由图 4 可知,茶皂素浸提率随浸提时间的延长而提高,浸提 80 min,茶皂素浸提率达到最大值,进一步延长浸提时间,茶皂素浸提率反而略有降低。主要是因为,在浸提 80 min 时,茶皂素溶出达到平衡,继续延长浸提时间,茶籽粕粉中的多糖、蛋白质等水溶性杂质与茶皂素溶出产生竞争,抑制茶籽粕粉中茶皂素的溶出^[7],所以引起茶皂素浸提率略有降低。因此,取 80 min 为适宜的浸提时间。

2.2 响应面法优化微波-超声波辅助浸提茶皂素工艺条件

以茶皂素浸提率为响应值,茶籽粕粉提取茶皂素的乙醇浓度、液料比、超声波功率和浸提时间为自变量。在单因素试验的基础之上,通过 Box - Behnken 优化茶籽粕粉提取茶皂

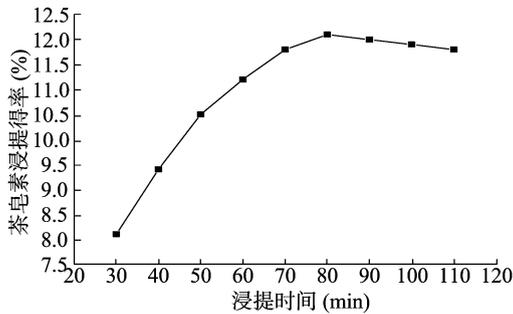


图4 浸提时间对茶皂素浸提得率的影响

素的工艺条件,设计的因素与水平见表1;按 Box - Behnken 优化的浸提条件进行茶皂素的提取试验,测得不同提取条件下茶皂素的浸提得率,结果见表2;对茶皂素提取的试验结果进行回归分析,结果见表3;回归方程的残差正态概率分布图见图5。

表1 Box - Behnken 设计因素水平

水平编码	A:乙醇浓度 (%)	B:液料比 (mL : g)	C:超声波功率 (W)	D:浸提时间 (min)
-1	60	9 : 1	70	70
0	70	10 : 1	80	80
1	80	11 : 1	90	90

由表3模型的 F 值 = 4.27, 表明模型是显著的,由 P 值分析可知 A、B、C、D 4 个因素对模型的影响显著;A、C、C、D 双因素对模型的交互影响显著;A、C、D 3 个因素的平方项对模型的结果影响显著。对表2 试验的结果进行回归分析得到方程:

$$\begin{aligned} \text{茶皂素浸提得率} = & -161.69167 + 1.51067A + 10.75B + \\ & 1.30183C + 0.2485D - 0.015AB + 2.5E - 3AC + 4.5E - 3AD - \\ & 0.0275BC + 0.0275BD + 6.0000E - 3CD - 0.010392A^2 - \\ & 0.42667B^2 - 0.010392C^2 - 8.89167E - 3D^2. \end{aligned}$$

表2 Box - Behnken 试验设计及试验结果

序号	A:乙醇浓度 (%)	B:液料比 (mL : g)	C:超声波功率 (W)	D:浸提时间 (min)	茶皂素浸提得率 (%)
1	80	10 : 1	90	80	11.3
2	80	9 : 1	80	80	10.8
3	70	9 : 1	80	90	8.6
4	70	10 : 1	70	90	8.8
5	60	10 : 1	80	90	8.5
6	60	10 : 1	90	80	8.3
7	70	10 : 1	90	90	11.5
8	70	10 : 1	80	80	12.3
9	80	10 : 1	70	80	10.7
10	70	11 : 1	80	90	11.2
11	60	10 : 1	70	80	8.7
12	80	10 : 1	80	90	11.2
13	70	9 : 1	90	80	10.9
14	70	10 : 1	80	80	11.2
15	70	10 : 1	80	80	13.5
16	70	10 : 1	90	70	12.4
17	60	9 : 1	80	80	8.9
18	70	11 : 1	80	70	12.4
19	70	10 : 1	70	70	12.1
20	70	11 : 1	90	80	12.2
21	70	9 : 1	80	70	10.9
22	70	9 : 1	70	80	10.8
23	70	10 : 1	80	80	13.6
24	70	11 : 1	70	80	13.2
25	70	10 : 1	80	80	13.5
26	60	10 : 1	80	70	11.8
27	80	10 : 1	80	70	12.7
28	60	11 : 1	80	80	12.3
29	80	11 : 1	80	80	13.6

表3 Box - Behnken 试验设计及回归分析结果

方差来源	平方和	自由度	均方	F 值	P 值	显著性
模型	61.66	14	4.40	4.27	0.005 2	****
A:乙醇浓度	11.60	1	11.60	11.25	0.004 7	****
B:液料比	16.3	1	16.3	15.84	0.001 4	****
C:超声波功率	0.44	1	0.44	0.43	0.003 9	****
D:浸提时间	13.02	1	13.02	12.62	0.003 2	****
AB	0.090	1	0.090	0.087	0.772 0	
AC	0.25	1	0.25	0.24	0.030 1	***
AD	0.81	1	0.81	0.79	0.390 5	
BC	0.30	1	0.30	0.29	0.596 6	
BD	0.30	1	0.30	0.29	0.596 6	
CD	1.44	1	1.44	1.40	0.027 1	***
A^2	10.99	1	10.99	10.66	0.005 7	**** *
B^2	1.18	1	1.18	1.14	0.302 7	
C^2	7.00	1	7.00	6.79	0.020 7	***
D^2	5.13	1	5.13	4.97	0.042 6	***
残差	14.44	14	1.03			
失拟项	10.01	10	1.00	0.90	0.594 1	不显著
误差项	4.43	4	1.11			
总离差	76.10	28				

注: P 值 < 0.05 表示影响显著; P 值 < 0.01 影响高度显著;方程的 $R^2 = 0.987 3$ 。

由失拟项 P 值的数值为 0.594 1, 为不显著, 方程的 $R^2 = 0.987 3$, 图 5 中回归方程的残差正态图呈一条直线, 说明回归分析得到的方程拟合程度好, 可信度高, 可以通过拟合的方程预测茶皂素浸提得率。考虑到 A、C、C、D 双因素对模型的交互影响显著, 因此本研究考察 A、C、C、D 双因素交互影响的响应面曲线及对应的等高线图, 其结果如图 6、图 7 所示。

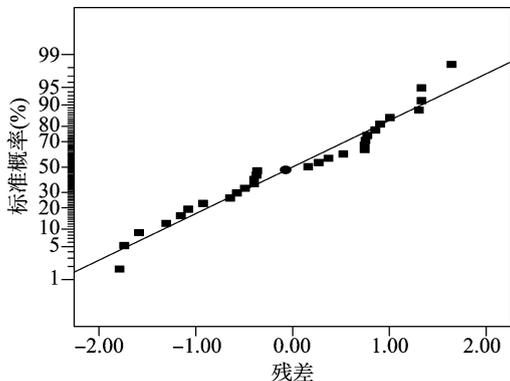


图5 回归分析的残差正态图

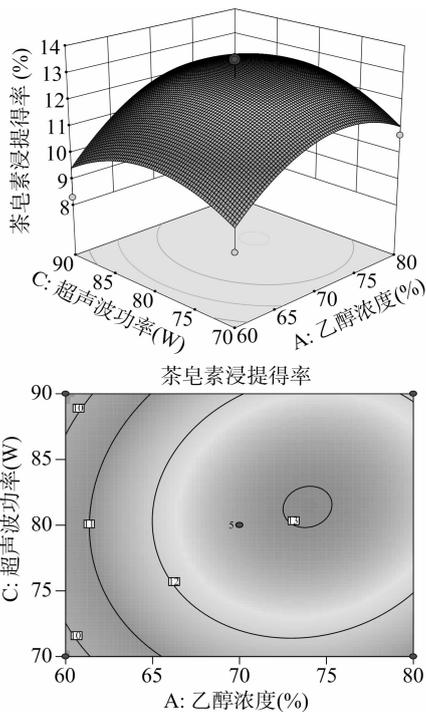


图6 因素 A、C 响应面分析立体图及相应等高图

由图 6 因素 A、C 响应面分析立体图及相应等高线图可知乙醇浓度在 72% ~ 75%、超声波功率在 78 ~ 82 W 的区间范围内可达到响应面顶点, 等高线图中出现圆心区间, 表明在这个范围内响应值有出现最优值; 由图 7 因素 C、D 响应面分析立体图及相应等高线图可知, 响应面顶点值出现在因素 C、D 较大的交互区间, 在等高线图上出现较大的椭圆心区, 表明因素 C、D 对响应值茶皂素浸提得率的交互影响更显著。

通过响应面法对表 2 试验结果进行最优化, 获得微波-超声波辅助从茶籽粕粉浸提茶皂素的最优工艺: 700 W 功率微波辐射 2 min 条件下, 乙醇浓度为 72.35%、液料比为 11 mL : 1 g、超声波功率为 78.68 W、浸提时间为 75.83 min。

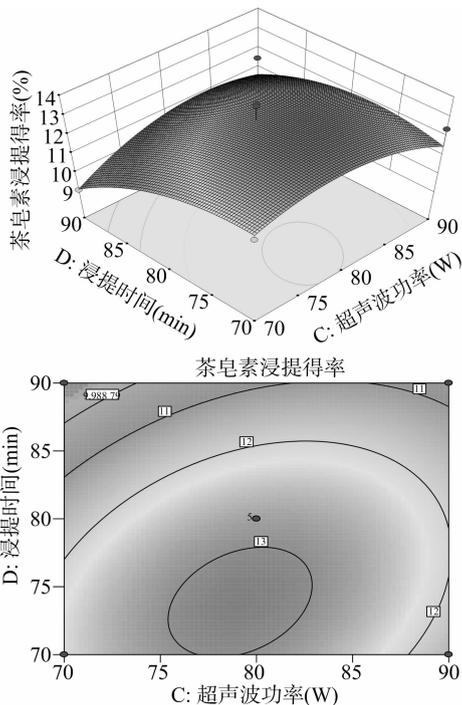


图7 因素 C、D 响应面分析立体图及相应等高图

在最优条件下, 响应面法预测获得的茶皂素浸提得率为 13.82%。

2.3 响应面法优化微波-超声波辅助浸提茶皂素工艺条件的验证

对响应面法优化微波-超声波辅助浸提茶皂素工艺条件的可靠性进行验证, 700 W 功率微波辐射 2 min 条件下, 取乙醇浓度为 72%、液料比为 11 mL : 1 g、超声波功率为 79 W、浸提时间为 76 min, 从茶籽粕粉微波-超声波辅助浸提茶皂素, 平行试验 5 次, 结果取平均值, 测得茶皂素浸提得率为 $(13.5 \pm 0.2)\%$, 干燥后测得其纯度为 68.2%。与预测值的相对误差为 2.2%, 表明响应面法建立茶皂素浸提得率的模型可信度高, 能够指导从茶籽粕粉中采用微波-超声波辅助浸提茶皂素。

2.4 反相柱层析纯化后茶皂素的表征

对提取、干燥获得的茶皂素进行反相柱层析纯化, 纯化后样品的红外吸收光谱如图 8、紫外吸收光如图 9 所示。

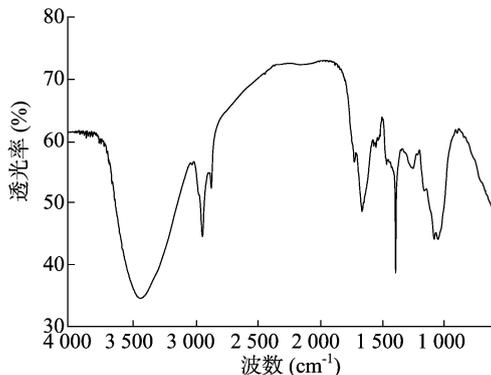


图8 茶皂素纯化物红外图谱

由图 8 可见, 在 2920、2850 cm^{-1} 处出现茶皂素烷基配基的 C—H 伸缩振动吸收峰。在 1610 cm^{-1} 处出现 C=C 伸缩振动吸收峰, 在 1385 cm^{-1} 处出现—OH 伸缩振动吸收峰, 在

1 075、1 045 cm^{-1} 与处出现 C—O 伸缩振动强吸收峰,与文献报道的茶皂素红外光谱值^[14]基本一致。由图 9 可见反相柱层析纯化后的样品在紫外吸收区仅于波长 215 nm 处有最大吸收峰,与文献^[15]相符,在波长 230 nm 后没有出现明显的吸收峰,表明茶皂素提取物中的单宁、黄酮等杂质得到了有效的分离,测得纯化后的样品纯度达 99.2%。

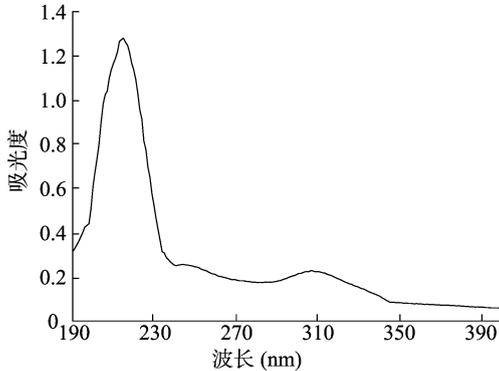


图9 茶皂素纯化物紫外图谱

2.5 茶皂素与山梨酸钾复配防腐剂对龙岩泡鸭爪的抑菌防腐作用

茶皂素与山梨酸钾复配防腐剂对龙岩泡鸭爪的抑菌防腐作用可通过泡鸭爪样液稀释培养的细菌总数 (lgCFU/g) 及样液挥发性盐基氮 (TVB-N) 这 2 个指标进行评价, A、B、C、D、E 以及对对照组 F 共 6 个样的细菌总数 (lgCFU/g) 及挥发性盐基氮 (TVB-N) 随试样保存时间 (d) 的变化如图 10、图 11 所示。

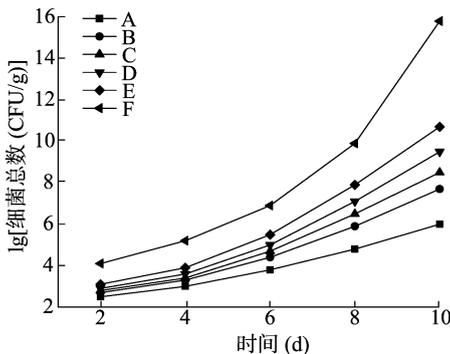


图10 泡鸭爪保存天数与其细菌总数曲线

由图 10 可见, 0.020 0 g/kg 山梨酸钾样液浸泡的泡鸭爪在保存到 10 d 后菌落已经蔓延, 茶皂素与山梨酸钾复配比单独使用山梨酸钾作防腐剂的抑菌效果要好, 随复配方中茶皂素含量增大, 抑菌效果增强; 由图 11 可见, 泡鸭爪在相同保存天数, 茶皂素与山梨酸钾复配可大幅降低泡鸭爪挥发性盐基氮的含量, 复配方中茶皂素含量达到 60 mg/mL 时, 复配方中进一步增加茶皂素含量对泡鸭爪中挥发性盐基氮含量的降低基本没有影响。结果表明茶皂素与山梨酸钾复配使用对龙岩风味泡鸭爪的防腐抑菌起协同作用, 可延长泡鸭爪的保质期。

3 结论

通过响应面法优化微波-超声波协同辅助提取茶皂素,

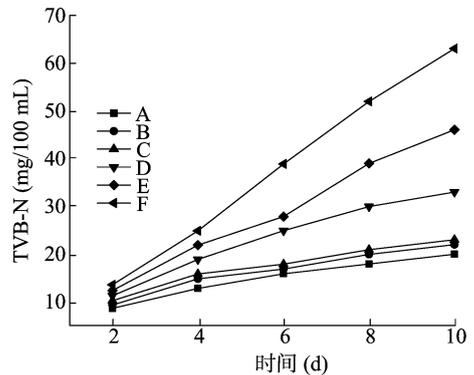


图11 泡鸭爪保存天数与其挥发性盐基氮(TVB-N)曲线

得到浸提最优工艺:微波功率 700 W, 辐射 2 min 条件下, 乙醇浓度为 72%、液料比为 11 mL: 1 g、超声波功率为 79 W、浸提时间为 76 min。在最优条件下茶皂素浸提得率为 (13.5 ± 0.2)%, 干燥后测得其纯度为 68.2%; 通过反相柱层析纯化提取的茶皂素, 可得到纯度为 99.2% 的茶皂素; 茶皂素与山梨酸钾复配使用对龙岩风味泡鸭爪的防腐抑菌起协同作用, 可延长泡鸭爪的保质期。

参考文献:

- [1] 刘红梅, 周建平, 郭华, 等. 油茶皂素提取纯化及含量检测研究综述[J]. 现代食品科技, 2006, 22(4): 265-268.
- [2] 蒋丽. 茶皂素超声提取-纯化新工艺及产物抗菌活性研究[D]. 重庆: 重庆理工大学, 2011: 45-50.
- [3] 赵世光, 薛正莲, 杨超英, 等. 茶皂素浸提条件优化及其抑菌效果[J]. 中国油脂, 2010, 35(5): 64-67.
- [4] 潘任桃, 卢素云, 刘兆颖, 等. 茶皂素与四种抗菌药物的体外联合抗菌效果研究[J]. 动物医学进展, 2013, 34(8): 119-122.
- [5] 吴雪辉, 张喜梅. 茶皂素微波提取过程的优化及数学描述[J]. 华南理工大学学报(自然科学版), 2009, 37(4): 125-129.
- [6] 张卫国. 茶皂素微波辅助提取新工艺条件研究[J]. 韶关学院学报(自然科学版), 2011, 32(4): 45-48.
- [7] 杜志欣, 张崇坚, 万端极. 超声波辅助乙醇法提取茶皂素工艺优化[J]. 化学与生物工程, 2015, 32(3): 56-59.
- [8] 何自强, 张惠玲, 张新欢. 超声波辅助乙醇-氨水提取茶皂素的工艺研究[J]. 湘潭大学自然科学学报, 2015, 37(2): 80-85.
- [9] 张宁, 马朝阳, 姜在祥, 等. 超声-微波协同辅助萃取茶皂素[J]. 中国油脂, 2013, 38(8): 77-80.
- [10] 裴家伟, 王敏, 吴凤亮, 等. 羊肉微生物相调查及山梨酸钾的防腐作用[J]. 肉类研究, 2007, 8: 30-32.
- [11] 刘红梅, 周新跃, 周一建, 等. 油茶皂素定量分析的研究[J]. 生命科学仪器, 2008, 6(10): 13-16.
- [12] 张志强, 苏志国. 正相和反相柱层析组合分离纯化紫杉醇[J]. 生物工程学报, 2000, 16(1): 69-73.
- [13] 张海龙, 张维农, 蒋继, 等. 茶皂素纯化方法的比较及其组分的鉴定[J]. 中国油脂, 2015, 40(11): 94-98.
- [14] 黄现青, 高晓平, 李苗云, 等. 防腐剂复配对溶血性金黄色葡萄球菌抑菌效果研究[J]. 中国食物与营养, 2012, 18(1): 11-13.
- [15] 钟平. 微波辐射法从茶籽饼中提取茶皂素[J]. 粮油加工, 2009(5): 111-113.
- [16] 王林, 苟筱辉. 茶皂素紫外吸收光谱的研究[J]. 中国茶叶, 1990(2): 32-33.