

不同皂苷质量分数速溶芦笋粉改善睡眠作用

马淑凤^{1,2}, 王芳², 李汉臣³, 王周平^{*1,2}, 黄云祥⁴

(1. 食品科学与技术国家重点实验室 江南大学, 江苏 无锡 214122; 2. 江南大学 食品学院, 江苏 无锡 214122;

3. 河北科技师范学院 食品学院, 河北 秦皇岛 066600; 4. 河北省芦笋工程技术研究中心, 河北 秦皇岛 066600)

摘要: 作者旨在研究不同皂苷质量分数速溶芦笋粉对小鼠改善睡眠作用的影响。18~22 g 健康雄性昆明种小鼠按体质量随机分组, 每天经口灌胃不同剂量皂苷含量为 15% 的速溶芦笋粉 A 和皂苷含量为 50% 的速溶芦笋粉 B 以及阳性对照物(酸枣仁皂苷), 观察小鼠直接睡眠作用, 连续给予受试物 30 d 后, 进行戊巴比妥钠阈下剂量催眠试验、巴比妥钠睡眠潜伏期试验、延长戊巴比妥钠睡眠时间试验。结果表明: 速溶芦笋粉 A 和速溶芦笋粉 B 均具有协同戊巴比妥钠阈下剂量催眠作用、能显著延长戊巴比妥钠睡眠时间; 与空白组比较, 速溶芦笋粉 A 缩短巴比妥钠睡眠潜伏期差异显著, 而速溶芦笋粉 B 缩短巴比妥钠睡眠潜伏期的差异不显著, 但在实验剂量范围内, 其睡眠潜伏期呈逐渐缩短趋势。速溶芦笋粉 A 和速溶芦笋粉 B 均无直接改善睡眠作用。因此速溶芦笋粉 A 和 B 均具有改善睡眠作用, 且速溶芦笋粉 A 对小鼠的睡眠改善作用较速溶芦笋粉 B 显著。

关键词: 芦笋; 速溶芦笋粉; 皂苷质量分数; 改善睡眠; 小鼠

中图分类号: R 151 **文献标志码:** A **文章编号:** 1673—1689(2013)08—0793—06

Study of the Instant Asparagus Powder with Different Content of Saponins on the Sleep Improvement Effect in Mice

MA Shu-feng^{1,2}, WANG Fang², LI Han-chen³, WANG Zhou-ping^{*1,2}, HUANG Yun-xiang⁴

(1. State Key Laboratory of Food Science and Technology, Jiangnan University, Wuxi 214122, China; 2. School of Food Science and Technology, Jiangnan University, Wuxi 214122, China; 3. School of Food Science and Technology, Hebei Normal University, Qin huangdao 066000, China; 4. Hebei Asparagus Engineering Research Center, Qin huangdao 066000)

Abstract: The sleep improvement effects of instant asparagus powder with different content of saponins on mice were studied in this paper. **Methods:** Healthy KM male mice with the body weight of 18~22g were divided into groups randomized and the direct sleep effect of the test material was observed. Then the mice were gavaged with instant asparagus powder A with 15% saponins, instant asparagus powder B with 50% saponins and positive control (Jujuboside) in different dosage every

收稿日期: 2012-09-27

基金项目: 公益性行业(农业)科研专项经费项目(201303079); 中央高校基本科研业务费专项资金项目(JUSRP111A35, JUSRP21115); 江苏高校优势学科建设工程项目; 秦皇岛市科学技术研究与发展计划项目(20121107001)。

作者简介: 马淑凤(1978—), 女, 满族, 河北唐山人, 农学博士, 高级实验师, 主要从事食品营养与安全方面的研究。E-mail: msf971516@126.com

* 通讯作者: 王周平(1974—), 男, 陕西宝鸡人, 理学博士, 教授, 博士研究生导师, 主要从事食品营养与安全方面的研究。

E-mail: wangzp@jiangnan.edu.cn

day, respectively. 30 days later, the sleep-producing test with subthreshold dose of sodium pentobarbital, the incubation period test with barbital sodium and the sleep extending test with sodium pentobarbital were conducted. Results: both of the asparagus powder A and B have hypnotic sleep-producing effects under the threshold hypnotic dosage of pentobarbital sodium, and can significantly prolong sleep time induced by pentobarbital sodium; comparing with the control group, the difference of incubation periods with barbital sodium were significant for the asparagus powder A, not significant for the asparagus powder B, but the incubation periods have gradually shortened trend with the asparagus powder B in this experiment. Both of asparagus powder A and B have not function to improve sleep directly. Conclusion: Instant asparagus powder A and B can improve the sleeping quality of mice, and the asparagus powder A is more significant than asparagus powder B on sleep improvement effects in mice.

Keywords: asparagus, instant asparagus powder, content of saponins, sleep improvement, mice

芦笋(*Asparagus officinalis* L.)俗称石刁柏、龙须菜,系百合科天门冬属雌雄异株宿根性多年生草本植物^[1]。芦笋中含有丰富的营养物质和活性成分,其中皂苷是其主要活性成分之一^[2],其属于甾体类化合物^[3]。近年来,芦笋皂苷的活性功能受到国内外学者的关注。研究发现,甾体皂苷具有多种生物学活性,如抗肿瘤、抗真菌、防治心血管疾病、降血糖、免疫调节等^[4-5]。苷类也是近年来在镇静催眠类报道中出现较多的天然成分之一^[6-10],黄胜英^[11],王旭峰^[12]等证明酸枣仁皂苷具有明显的镇静、催眠作用。目前国内外对芦笋皂苷改善睡眠功能的研究尚未见报道。本实验室在前期研究中发现,皂苷质量分数为15%的速溶芦笋粉具有改善睡眠作用。因此,作者以酸枣仁皂苷为阳性对照,研究不同皂苷质量分数芦笋速溶粉对于改善睡眠作用的影响,旨在初步探讨不同皂苷含量的速溶芦笋粉改善睡眠的差异性并确定速溶芦笋粉的最佳作用剂量范围,为开发新型芦笋保健食品提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 试验动物

试验选用清洁级健康昆明种小鼠320只,体重 20 ± 2 g,单一雄性,上海斯莱克试验动物有限责任公司提供,试验动物生产许可证号SCXK(沪)2007-0005。试验条件保持温度为 $20\sim 25$ ℃,相对湿度为40%~70%,试验动物使用许可证普通环境许可证号:SYXK(苏)2012-0001。

1.2 受试物与主要试剂

速溶芦笋粉A(皂苷质量分数15%):秦皇岛长胜农业科技发展有限公司提供;速溶芦笋粉B(皂苷质量分数50%):中科院过程所提供;酸枣仁皂苷:纯度2%,南京泽朗医药科技有限公司;巴比妥钠、戊巴比妥钠:Sigma公司。

1.3 动物分组与处理

试验设置一个空白对照组、速溶芦笋粉A三个剂量组、速溶芦笋粉B三个剂量组和2%酸枣仁皂苷阳性对照组。速溶芦笋粉A推荐剂量为成人(按60 kg体质量计)每日人1 g,相当于16.67 mg(四舍五入取17 mg)/日 kg·体质量。试验分别设人体推荐量的5、10、30倍,即每日为:85、170、510 mg/kg。速溶芦笋粉B推荐剂量为成人(按60 kg体质量计)每日人300 mg,相当于5 mg每日 kg·体质量。试验分别设人体推荐量的5、10、30倍,即每日为:25、50、150 mg/kg。

1.4 测定指标和试验方法

试验设三个部分:戊巴比妥钠阈下剂量催眠试验、巴比妥钠睡眠潜伏期试验和延长戊巴比妥钠睡眠时间试验。每个试验组根据动物体质量随机分为五组,每组12只(其中两只用于确定巴比妥钠和戊巴比妥钠注射剂量,数据不计入统计结果中)。设空白对照组、芦笋速溶粉A低、中、高三个剂量组、芦笋速溶粉B低、中、高三个剂量组和一个酸枣仁阳性对照组,灌胃处理30 d^[13]。

1.4.1 直接睡眠试验 以动物的翻正反射消失超过

60 s 判为进入睡眠,翻正反射恢复即为动物觉醒。

1.4.2 戊巴比妥钠阈下剂量催眠试验 在末次灌胃 15 min 后,给各组动物按 31 mg/kg·体质量 剂量腹腔注射戊巴比妥钠,注射量为 0.1 mL/10 g·体质量,以小鼠翻正反射消失达 1 min 以上作为入睡判断标准,记录各组入睡动物数和睡眠发生率。

1.4.3 巴比妥钠睡眠潜伏期试验 在末次灌胃 15 min 后,给各组动物按 290 mg/kg·体质量 剂量腹腔注射巴比妥钠,注射量为 0.1 mL/10g·体质量,以小鼠翻正反射消失为指标,观察受试物能否缩短巴比妥钠睡眠潜伏期。

1.4.4 延长戊巴比妥钠睡眠时间试验 在末次灌胃 15 min 后,给各组动物按 43 mg/kg·体质量 剂量腹腔注射戊巴比妥钠,注射量为 0.1 mL/10 g·体质量,

以小鼠翻正反射消失为睡眠指标,观察受试物能否延长戊巴比妥钠睡眠时间。

1.5 数据处理与统计方法

采用 SPSS 13.0 统计软件进行方差分析和多重比较,显著水平为 $p<0.05$ 。

2 结果与分析

2.1 速溶芦笋粉 A 和速溶芦笋粉 B 对小鼠体质量的影响

试验前,根据小鼠体质量随机分组,试验结束时,各组小鼠的体质量经统计,差异不显著 ($p>0.05$),即速溶芦笋粉 A 和速溶芦笋粉 B 对小鼠的体质量增长均无影响,结果见表 1。

表 1 受试物对小鼠体质量的影响($\bar{X}\pm SE, n=10$)

Table 1 Effect data of test drug on body weight of mice

组别	剂量/(mg/kg)	动物数/只	初始体质量/g	终体质量/g
空白对照组	0	10	21.77±0.31 ^a	45.94±1.34 ^a
速溶芦笋粉 A 处理组	85	10	20.97±0.34 ^a	44.06±0.49 ^a
	170	10	21.45±0.35 ^a	46.05±0.83 ^a
	510	10	20.35±0.31 ^a	43.48±0.81 ^a
速溶芦笋粉 B 处理组	25	10	21.05±0.45 ^a	44.90±0.69 ^a
	50	10	21.26±0.53 ^a	47.06±1.03 ^a
	150	10	21.56±0.42 ^a	43.90±0.81 ^a
酸枣仁皂苷 2%	360	10	20.77±0.50 ^a	46.61±0.83 ^a

注:同列数值中标注不同字母表示对应组别间差异显著($p<0.05$);反之,标注相同字母表示对应组别间差异不显著($p>0.05$)。

从表 1 可以看出,速溶芦笋粉 A 和速溶芦笋粉 B 的低、中、高剂量组试验小鼠初始体质量和终体质量与空白对照组比较差异均不显著($p>0.05$),与阳性对照组比较差异也不显著,表明速溶芦笋粉 A 和速溶芦笋粉 B 对小鼠的体质量增长均无影响。

2.2 速溶芦笋粉 A 和速溶芦笋粉 B 对小鼠直接睡眠的影响

各组小鼠在给予受试物 60 min 内,均未发现有直接睡眠现象。

2.3 速溶芦笋粉 A 和速溶芦笋粉 B 对戊巴比妥钠阈下剂量催眠试验的影响

按国标方法对速溶芦笋粉 A 和速溶芦笋粉 B 进行巴比妥钠阈下剂量催眠试验,研究其对小鼠睡眠发生率的影响,结果见表 2。

从试验结果可以看出,皂苷纯度为 15% 的速溶芦笋粉 A 的低、中、高剂量组的睡眠发生率均显著高于空白对照组($p<0.05$),睡眠发生率随着剂量的增加呈现先降低后升高的趋势。皂苷纯度为 50% 速溶芦笋粉 B 的低、中、高剂量组的睡眠发生率均显著高于空白对照组($p<0.05$),睡眠发生率随着剂量的增加也呈现先降低后升高的趋势;并且速溶芦笋粉 B 受试组的各个剂量组的睡眠发生率均略低于速溶芦笋粉 A 对应剂量组的睡眠发生率。速溶芦笋粉 A 的高剂量组睡眠发生率与阳性对照组相当。以上结果表明速溶芦笋粉 A 和速溶芦笋粉 B 均能显著增加戊巴比妥钠阈下剂量小鼠睡眠发生率,具有催眠作用,但速溶芦笋粉 A 的催眠效果比速溶芦笋粉 B 效果更显著。

表 2 受试物对戊巴比妥钠阈下剂量睡眠发生率的影响 ($n=10$)

Table 2 Effect data of test drug with subthreshold of pentobarbital sodium on sleeping rate of mice

组别	剂量/(mg/kg)	动物数/只	入睡动物数/只	睡眠发生率/%
空白对照组	0	10	0	0 ^a
速溶芦笋粉 A 处理组	85	10	5	50 ^e
	170	10	3	30 ^e
	510	10	6	60
速溶芦笋粉 B 处理组	25	10	4	40 ^d
	50	10	2	20 ^b
	150	10	5	50 ^e
酸枣仁皂苷 2%	360	10	6	60 ^f

注:同列数值中标注不同字母表示对应组别间差异显著 ($p<0.05$);反之,标注相同字母表示对应组别间差异不显著 ($p>0.05$)。

2.4 速溶芦笋粉 A 和速溶芦笋粉 B 对巴比妥钠睡眠潜伏期的影响

从表 3 可以看出,皂苷纯度为 15% 的速溶芦笋粉 A 低、中、高剂量组与空白对照组比较,均能显著 ($p<0.05$) 缩短小鼠巴比妥钠睡眠潜伏期,促进小鼠入睡作用良好,并随着剂量的增加,其促进睡眠效果增强,但各组间差异不显著。皂苷纯度为 50% 的速溶芦笋粉 B 受试物的低、中、高剂量组的睡眠潜伏期与空白对照组比较,呈现随着剂量的增加睡眠潜

伏期逐渐缩短的趋势,但低、中剂量组的差异不显著,高剂量组差异显著 ($p<0.05$)。速溶芦笋粉 A 的各个剂量组均比速溶芦笋粉 B 所对应的低、中、高剂量组的促进睡眠效果好。速溶芦笋粉 A 高剂量组的睡眠潜伏期与阳性对照组相当。根据国标并结合以上试验结果,判定速溶芦笋粉 A 能显著缩短小鼠巴比妥钠睡眠潜伏期,其促进睡眠效果显著。速溶芦笋粉 B 在试验剂量范围内,其促进睡眠效果呈增加趋势,但不显著。

表 3 受试物对巴比妥钠睡眠潜伏期的影响 ($\bar{X}\pm SE, n=10$)

Table 3 Effects of tested drug on mice sleeping delitescence

组别	剂量/(mg/kg)	动物数/只	睡眠潜伏期/min
空白对照组	0	10	30.47 $\pm$ 1.45 ^e
速溶芦笋粉 A 处理组	85	10	26.71 $\pm$ 1.29 ^{ab}
	170	10	26.02 $\pm$ 0.97 ^{ab}
	510	10	24.69 $\pm$ 1.47 ^{ab}
速溶芦笋粉 B 处理组	25	10	29.24 $\pm$ 0.97 ^{bc}
	50	10	28.43 $\pm$ 1.40 ^{bc}
	150	10	26.69 $\pm$ 1.12 ^{ab}
酸枣仁皂苷 2%	360	10	23.05 $\pm$ 1.07 ^a

注:同列数值中标注不同字母表示对应组别间差异显著 ($p<0.05$);反之,标注相同字母表示对应组别间差异不显著 ($p>0.05$)。

2.5 速溶芦笋粉 A 和速溶芦笋粉 B 对戊巴比妥钠诱导睡眠时间的影响

从表 4 可以看出,皂苷纯度为 15% 的速溶芦笋

粉 A 的低、中、高剂量组与空白对照组比较,小鼠睡眠时间呈显著性差异 ($p<0.05$),各组间差异也显著,中剂量组的睡眠时间最长。皂苷纯度为 50% 的速溶

表 4 受试物对戊巴比妥钠睡眠时间的影响($\bar{X} \pm SE, n=10$)

Table 4 Effect of tested drug to pentobarbital sodium -induced sleep in mice

组别	剂量/(mg/kg)	动物数/只	睡眠时间/min
空白对照组	0	10	21.04±2.04 ^a
速溶芦笋粉 A 处理组	85	10	29.14±1.79 ^{b,c}
	170	10	37.57±2.26 ^d
	510	10	35.01±2.26 ^{c,d}
	25	10	25.45±2.01 ^a
速溶芦笋粉 B 处理组	50	10	27.16±0.99 ^b
	150	10	32.15±1.89 ^{b,c}
酸枣仁皂苷 2%	360	10	28.19±2.18 ^{b,c}

注:同列数值中标注不同字母表示对应组别间差异显著($p<0.05$);反之,标注相同字母表示对应组别间差异不显著($p>0.05$)。

芦笋粉 B 的中、高剂量组与空白对照组比较,小鼠睡眠时间呈显著性差异(与对照组相比, $p<0.05$),中剂量组的睡眠时间最长,低剂量组差异不显著。速溶芦笋粉 A 的各个剂量组均比速溶芦笋粉 B 所对应剂量组的睡眠时间长。以上结果表明,速溶芦笋粉 A 和速溶芦笋粉 B 均对延长注射戊巴比妥钠小鼠的睡眠时间具有促进作用,但速溶芦笋粉 A 的延长睡眠效果比速溶芦笋粉 B 显著。

3 结 语

本研究结果表明,经口给予小鼠不同的受试物 30 d,空白对照组、皂苷纯度为 15%的速溶芦笋粉 A 和皂苷纯度为 50%的速溶芦笋粉 B 以及酸枣仁皂苷阳性对照组小鼠在 60 min 内,均未发现有直接睡眠现象,并且两种速溶芦笋粉对小鼠的体质量增加无影响。在巴比妥钠阈下剂量催眠试验中,速溶芦笋粉 A 和速溶芦笋粉 B 的低、中、高剂量组与空白对照组比较,小鼠入睡率呈显著性差异(与空白对照组相比, $p<0.05$),表明其对注射阈下剂量巴比妥钠小鼠的入睡率的提高具有促进作用,且该作用随着剂量的增加呈现先降低后升高的趋势。速溶芦笋粉 A 的低、中、高剂量组与空白对照组比较,可以显著缩短小鼠睡眠潜伏期;而速溶芦笋粉 B 的低、中剂量组缩短小鼠巴比妥钠睡眠潜伏期作用不显著。对巴比妥钠诱导小鼠睡眠时间的影响,速溶芦笋粉 A 各剂量组对巴比妥钠诱导小鼠睡眠时间均有延长

作用,各剂量组与空白对照组比较均存在显著差异,中剂量组的效果最显著。速溶芦笋粉 B 的速溶芦笋粉受试物的中、高剂量组与空白对照组比较,小鼠睡眠时间呈显著性差异($p<0.05$),中剂量组的睡眠时间最长,

根据《保健食品检验与评价技术规范》(2003 年版)对改善睡眠保健食品的判定标准可知,皂苷纯度为 15%速溶芦笋粉 A 具有良好的改善睡眠功能作用。皂苷纯度为 50%的速溶芦笋粉 B 具有一定的改善睡眠作用。

在本试验中,经对比分析得出,皂苷纯度为 15%速溶芦笋粉 A 比皂苷纯度为 50%的速溶芦笋粉 B 的改善睡眠作用好。由于溶芦笋粉 B 是速溶芦笋粉 A 经分离纯化后制得的,表明在分离纯化过程中,部分功效成分损失。但速溶芦笋粉 A 和溶芦笋粉 B 在以上三个实验中所表现出作用趋势和规律是一致的,表明发挥改善睡眠作用的主要功效成分经过分离纯化绝大部分仍保留在受试物中。据此推测,改善睡眠作用的主要成分可能为芦笋皂苷。以上试验结果也说明:对于不同皂苷含量的速溶芦笋粉来说,不是皂苷纯度越高其改善睡眠功能就越好。因此,采用皂苷纯度为 15%速溶芦笋粉 A 进行功能食品的研发其应用效果更显著。从实验结果可以看出,速溶芦笋粉 A 的剂量与改善睡眠作用各个指标间均未呈现正线性关系。从受试物的剂效角度考虑,确定速溶芦笋粉 A 的推荐作用剂量为 85 mg/kg·bw。

参考文献:

- [1] 王春辉,王君虹,陈新峰,等. 芦笋的活性成分及其生物学功能[J]. 安徽农学通报,2006,12(2):23-25.
WANG Cun-hui, WANG Jun-hong, CHEN Xin-feng, et al. Study progress on the bioactive eomponents and biological function of *Asparagus officinalis*[J]. **Auhui Agricultural Science Bulletin**, 2006, 12(2):23-25.(in Chinese).
- [2] 顾关云,蒋昱. 芦笋的化学成分和生物活性[J]. 国外医药-植物药分册,2007,22(2):47-50.
GU Guan-yun, JIANG Yu. Research of chemical composition and biological activity of asparagus [J]. **World Phytomedicines**, 2007, 22(2):47-50.(in Chinese)
- [3] 张若洁,王鲁峰,徐永霞,等. 芦笋中甾体皂苷结构和功能特性的研究进展[J]. 食品科学,2011,32(1):291-296.(in Chinese)
ZHANG Ruo-jie, WANG Lu-feng, XU Yong-xia, et al. Research progress on structures, functional characteristics of steroidal saponins in *Asparagus officinalis*[J]. **Food Science**, 2011, 32(1):291-296.(in Chinese).
- [4] 张存莉,吴战库,惠玲,等. 甾体皂苷的生物活性研究进展[J]. 西北林学院学报,2003,18(2):95-100.
ZHANG Cun-Li, WU Zhan-ku, HUI Ling, et al. The Development of the studies on the natural steroidal saponins biological activities[J]. **Journal of Nournal of Northwest Forestry Univesity**, 2003, 18(2):95-100.(in Chinese).
- [5] 王芳,马淑凤,李汉臣,等. 芦笋醇提取物免疫调节作用的研究[J]. 食品与生物技术学报,2012,29(3):390-394.
WANG Fang, MA Shu-feng, LI Han-chen, et al. Studies on immune regulation effect of ethanol extract from *Asparagus* [J]. **Journal of Food Science and Biotechnology**, 2012, 29(3):390-394.(in Chinese).
- [6] 杨国愉,皇甫恩,苗丹民,等. 人参皂甙对睡眠剥夺大鼠行为的影响[J]. 中国行为医学科学,2001,10(2):84-86.
YANG Guo-yu, HUANG Pu-en, MIAO Dan-min, et al. Effects of ginsenosides on behaviors of rats in sleep deprivation[J]. **Chinese Journal of Behavioral Medical Science**, 2001, 10(2):84-86.(in Chinese).
- [7] 李求实,王升旭. 刺五加总皂甙穴位贴敷抗睡眠剥夺作用的试验研究[J]. 华南国防医学杂志,2002,16(2):11.
LI Qiu-shi, WANG Sheng-xu. Protective effects of eleutherosides acupoint appcication on rats with sleep peprivation [J]. **Military Medical Journal of South China**, 2002, 16(2):11.(in Chinese).
- [8] 徐露,董志,黄彦. 绞股蓝总皂甙催眠作用的试验研究[J]. 重庆科技学院学报:自然科学版,2006,8(4):19-20.
XU Lu, DONG Zhi, HUANG Yan. The experimental research on hypnogenetic effects of gypenosides [J]. **Journal of Chongqing University of Science and Technology: Natural Science Edition**, 2006, 8(4):19-20.(in Chinese).
- [9] MA T C, YU Q H, CHEN M H. Effect of ginsengstem-leaves saponins on one-way avoidance behavior in rats [J]. **Acta Pharmacologica**, 1991, 12(5):403-406.
- [10] 郝昭琳,江璐,车会莲,等. 栀子苷和栀子黄色素改善睡眠作用的研究[J]. 食品科学,2009,30(15):208-210.
HAO Zhao-Lin, JIANG Lu, CHE Hui-Lian, et al. Evaluation of sedative effects of geniposide and gardenia yellow extracted from cape Jasmine fruit on mice[J]. **Food Science**, 2009, 30(15):208-210.(in Chinese)
- [11] 黄胜英,谢世荣,黄彩云,等. 酸枣仁皂甙的镇静作用研究[J]. 大连大学学报,2002,23(4):90-92.
HUANG Sheng-ying, XIE Shi-ying, HUANG Cai-yun, et al. Studies on tranquilizing effect of jujuboside [J]. **Journal of Dalian University**, 2002, 23(4):90-92.(in Chinese)
- [12] 王旭峰,何计国,陈阳,等. 酸枣仁皂苷的提取及改善睡眠功效的研究[J]. 食品科学,2006,27(4):226-229.(in Chinese)
WANG Xu-feng, HE Ji-guo, CHEN Yang, et al. Method of ultrasonic extraction of total jujuboside from *Ziziphus jujuba* mill in mice test[J]. **Food Science**, 2006, 27(4):226-229.(in Chinese)
- [13] 中华人民共和国卫生部. 保健食品检验与评价技术规范[M]. 北京:人民卫生出版社,2003.