

Physicochemical Characteristics and Biological Activities of Polyphenols from *Lachnum**

Meishuang Qian, Jing Ji, Tianle Chen, Liu Yang, Ming Ye[#]

School of Biotechnology and Food Engineering, Hefei University of Technology, Hefei
Email: [#]yeming123@sina.com

Received: Nov. 8th, 2013; revised: Nov. 28th, 2013; accepted: Dec. 5th, 2013

Copyright © 2013 Meishuang Qian et al. This is an open access article distributed under the Creative Commons Attribution License, which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited. In accordance of the Creative Commons Attribution License all Copyrights © 2013 are reserved for Hans and the owner of the intellectual property Meishuang Qian et al. All Copyright © 2013 are guarded by law and by Hans as a guardian.

Abstract: *Lachnum* YMU50 total extracellular polyphenols (LTEP) were extracted and purified. The physicochemical properties, antioxidant and antibacterial activities of LTEP were investigated. UV spectroscopy analysis indicated that LTEP had typical characteristics absorption peaks of phenolic at 270 nm and 340 nm. IR spectroscopy displayed that LTEP had characteristics absorption peaks of phenolic at 3354.360 cm^{-1} and 1048.762 cm^{-1} . Antioxidant trials showed that the scavenging effect of LTEP on $\text{O}_2^{\cdot-}$, DPPH, $\cdot\text{OH}$ and NO_2^- were 76.43%, 72.70%, 55.56% and 59.40% respectively, at the 2 mg/mL concentration of LTEP. LTEP also showed a significantly antibacterial activity against *Staphylococcus aureus*, *S. cerevisiae*, *E. coli*, and *Salmonella typhi*. The MIC (minimum inhibitory concentration) of these four strains was 0.05, 0.1, 0.1 and 0.2 mg/mL, respectively. The results revealed that LTEP had strong antioxidant and antibacterial activities.

Keywords: *Lachnum*; Extracellular Polyphenols; Physicochemical Characteristics; Antioxidant Activity; Antibacterial Activity

粒毛盘菌多酚理化特征及其生物活性研究*

钱梅双, 纪 静, 陈天乐, 杨 柳, 叶 明[#]

合肥工业大学, 生物与食品工程学院, 合肥
Email: [#]yeming123@sina.com

收稿日期: 2013 年 11 月 8 日; 修回日期: 2013 年 11 月 28 日; 录用日期: 2013 年 12 月 5 日

摘 要: 本文作者提取并纯化了粒毛盘菌 YMU50 胞外多酚(LTEP), 研究了其理化特征并测定其抗氧化活性及抑菌活性。紫外光谱显示其在 270 nm 和 340 nm 处有最大吸收峰, 表现出典型的酚类特征; 红外光谱显示其在 3354.360 cm^{-1} 和 1048.762 cm^{-1} 处含有酚类的特征吸收峰。抗氧化试验表明, 当 LTEP 浓度为 2 mg/mL 时, 对 $\text{O}_2^{\cdot-}$ 、DPPH、 $\cdot\text{OH}$ 和 NO_2^- 的清除率分别为 76.43%、72.7%、55.56%、59.4%; 抑菌试验显示, LTEP 对金黄色葡萄球菌、酿酒酵母、大肠杆菌、伤寒沙门氏菌均具有明显抑制作用, 四种菌的最低抑菌浓度(MIC)分别为 0.05、0.1、0.1、0.2 mg/mL, 结果表明 LTEP 具有较强的抗氧化活性和抑菌活性。

关键词: 粒毛盘菌; 胞外多酚; 理化特征; 抗氧化活性; 抑菌活性

*基金项目: 国家自然科学基金项目(31270060)与安徽省年度重点科研计划项目(12070303037)资助。

[#]通讯作者。

1. 引言

多酚是一类含有多个酚羟基的化合物,常存在于植物和微生物中。有研究报道多种微生物可以产生多酚物质,且有些多酚具有抗氧化活性和抑菌活性^[1-4]。自由基是指具有一个或多个不配对电子的原子、分子或离子基团,反应活性高,是人体组织中许多生化反应的中间代谢产物,人类的一些疾病如癌症、心血管疾病等都与自由基的作用有关^[5,6]。由于化学合成防腐剂的安全性问题,人们越来越重视对天然防腐剂的研究。因此开发天然自由基清除剂和天然防腐剂已成为科学发展的趋势。

粒毛盘菌属(*Lachnum*)是一类具有重要应用价值的真菌,在深层发酵条件下可以产生多糖、色素等生物活性物质^[7,8]。近年来,我们发现该属的一些菌株能产生多酚物质^[2,9],然而有关粒毛盘菌胞外多酚的理化特征、抗氧化活性及抑菌活性的研究在国际上尚未见报道,本研究的目的在于提取粒毛盘菌胞外多酚,初步探究其理化特征并评价其抗氧化活性、抑菌活性,以期粒毛盘菌的开发利用提供科学依据。

2. 材料与方法

2.1. 菌种

粒毛盘菌 YMU50 是由粒毛盘菌菌株 YM9 为出发菌株经原生质体紫外诱变选育获得,现保藏于合肥工业大学微生物资源与应用研究室。粒毛盘菌 YM9 是由采自云南的粒毛盘菌子实体分离获得。大肠杆菌、伤寒沙门氏菌、酿酒酵母、金黄色葡萄球菌由合肥工业大学微生物实验室提供。

2.2. 试剂

蔗糖、蛋白胨、硝普钠(SNP)、2-4,4,5,5-苯-四甲基咪唑-1-氧-3-氧化物(c-PTIO)、氯化镁、酪氨酸、乙酸乙酯、乙醇、石油醚等,均为国产分析纯。

2.3. 培养基

发酵培养基(g/L):蔗糖 20.00,蛋白胨 5.00,氯化镁 0.81,酪氨酸 0.01,pH 6.00。

2.4. 粒毛盘菌 YMU50 的发酵及其胞外多酚(LTEP)的提取分离

用打孔器接种直径 6 mm、菌龄一致的 YMU50

菌块于装有 150 mL 发酵培养基的 250 mL 三角瓶中,27℃、160 r/min 培养 8 d。将发酵液减压浓缩至 20 mL,加入 60 mL 乙醇,充分搅拌后,用保鲜膜密封,在 4℃冰箱中静置过夜,4000 r/min 离心 10 min。取上清液减压浓缩除去乙醇,先后用等体积石油醚,等体积氯仿各萃取三次,除去有机相,然后用等体积乙酸乙酯萃取三次,合并有机相,旋转蒸发除去有机试剂,冷冻干燥,得到胞外多酚粗品,再经聚酰胺树脂纯化得 LTEP^[2]。

2.5. LTEP 的理化特征

2.5.1. 定性试验

样品分别采用 FeCl₃、饱和中性醋酸铅溶液、FeSO₄、1% AgNO₃、溴试剂、KMnO₄ 溶液进行鉴别^[10]。

2.5.2. UV 分析

将 0.02 g LTEP 溶于甲醇溶液,1 cm 石英比色皿在 200~800 nm 波长处进行光谱扫描。

2.5.3. IR 分析

称取 LTEP 2 mg 与干燥的 KBr 混匀压片,采用 FT-IR5700 傅立叶变换红外光谱仪于 4000~400 cm⁻¹ 区间进行红外光谱测定。

2.6. 抗氧化活性测定

2.6.1. LTEP 还原能力测定

分别吸取 1.0 mL 不同浓度的样品溶液于 10 mL 比色管中,加入 0.2 mol/L PH 6.6 的 H₃PO₄ 2.5 mL,再加入 1%的 KCN 溶液 2.5 mL,摇匀后于 50℃水浴中保温 30 min,加入 10%的三氯乙酸 2.5 mL 终止反应。取此溶液 2.5 mL,加入 2.5 mL 的蒸馏水和 0.5 mL 0.1%的 FeCl₃ 溶液,充分混匀后静置 30 min,700 nm 处测定吸光度。吸光度越大说明样品溶液的还原能力越强^[11,12]。

2.6.2. LTEP 对 O₂⁻ 的清除能力测定

采用邻苯三酚氧化法。利用邻苯三酚在碱性条件下能够迅速自氧化,生成吸收波长在 318 nm 附近的系列中间产物,同时释放出超氧阴离子自由基 O₂⁻。取 3 mL 50 mmol/L Tris-HCl (pH = 8.2)缓冲液放于试管中,加入 1 mL 不同浓度多酚溶液,混匀后于 25℃保温 20 min,再加入经 25℃预热的 0.3 mL 7 mmol/L

邻苯三酚溶液,准确反应 4 min 后,加 1 mL 10 mmol/L HCl 终止反应,在 318 nm 波长处测吸光度值 A_1 :

$$O_2^- \cdot \text{清除率}(\%) = [1 - (A_1 - A_1') / A_0] \times 100\%$$

其中 A_1' 为以水代替反应试剂的吸光度值; A_0 为以水代替样品溶液的吸光度值。

2.6.3. LTEP 对 DPPH·清除能力测定

分别吸取 4.0 mL 不同浓度的样品溶液于 10 mL 的比色管中,加入 1.0 mL 1 mmol/L 的 DPPH 溶液(无水乙醇配制),摇匀后置于暗室中反应 30 min,517 nm 处测定吸光度^[13,14]。计算多酚对 DPPH·的清除率:

$$\text{DPPH} \cdot \text{清除率}(\%) = [A_0 - (A_X - A_{X_0})] / A_0 \times 100\%$$

式中: A_0 为水代替样品溶液的吸光度; A_X 为样品溶液中加入 DPPH 反应后的吸光度; A_{X_0} 为样品溶液的吸光度。

2.6.4. LTEP 对·OH 的清除能力测定

利用 Fe^{2+} 与 H_2O_2 反应产生·OH,加入水杨酸捕捉·OH 并与之反应,生成有色物质,此物质在 510 nm 波长处有最大吸收。分别吸取 1.0 mL 不同浓度的样品溶液于 10 mL 的比色管中,加入 1.0 mL 9 mmol/L 的 $FeSO_4$ 溶液和 1.0 mL 9 mmol/L 的水杨酸-乙醇溶液,充分混匀后,加入 1.0 mL 8.8 mmol/L 的 H_2O_2 ,于 37 °C 下反应 30 min,以蒸馏水为空白,510 nm 处测定吸光度。空白对照组以相同体积的蒸馏水代替样品,同时以 1.0 mL 蒸馏水代替 8.8 mmol/L 的 H_2O_2 ,以消除样品溶液自身的吸光度^[15]。计算多酚对·OH 的清除率:

$$\cdot OH \text{清除率}(\%) = [A_0 - (A_X - A_{X_0})] / A_0 \times 100\%$$

式中: A_0 为空白对照组的吸光度; A_X 为加入样品溶液和 H_2O_2 启动反应后的吸光度; A_{X_0} 为样品溶液的吸光度。

2.6.5. LTEP 对 NO_2^- 的清除能力测定

分别吸取 2.0 mL 5 mg/L 的 $NaNO_2$ 溶液于 25 mL 的比色管中,加入 3.0 mL 不同浓度的样品溶液,用磷酸-柠檬酸缓冲液调节 pH 至 3,在常温下反应 30 min,加入 1.0 mL 0.4% 的对氨基苯磺酸溶液,混匀后静置反应 5 min,再加入 0.5 mL 0.2% 的盐酸萘乙二胺溶液,

用水稀释至刻度,摇匀放置 15 min,538 nm 处测定吸光度^[16]。计算多酚对 NO_2^- 的清除率:

$$NO_2^- \text{清除率}(\%) = [A_0 - (A_X - A_{X_0})] / A_0 \times 100\%$$

式中: A_0 为不加样品溶液时 $NaNO_2$ 的吸光度; A_X 为加入样品溶液和 $NaNO_2$ 反应后的吸光度; A_{X_0} 为样品溶液的吸光度。

2.7. LTEP 抑菌试验

2.7.1. 抑菌圈直径的测定

将各菌种用生理盐水配制菌悬液,调整浊度至 0.5 麦氏标准浊度,用玻璃涂布器在相应的平板上涂布均匀,每皿 0.1 mL,将牛津杯置于平板上,加入胞外多酚溶液 100 μ L,每种菌种做三个平行样,并用茶多酚做对照,置于培养箱培养,细菌于 37 °C 培养 24 h,酵母菌于 30 °C 培养 24 h,取出观察,用游标卡尺量取抑菌圈的直径(mm),求平均值^[17]。

2.7.2. 最小抑菌浓度(MIC)测定

采用二倍稀释法,准备一系列装有 2 mL 相应液体培养基的试管,于第 1 管中加入 2 mL 胞外多酚溶液,混合后吸取 2 mL 加入第 2 管中,以此类推逐管稀释溶液,共配制 10 管,第 11 管为阳性生长对照管,各管加入 0.1 mL 相应的 0.5 麦氏浓度菌悬液,置于生化培养箱中,细菌于 37 °C 培养 24 h,酵母菌于 30 °C 培养 24 h,以肉眼可见试管清晰透明,可认为该管无菌生长,所对应的最低药物浓度即为最小抑菌浓度(MIC)。

3. 结果与讨论

3.1. 理化特征

3.1.1. 定性反应

由定性实验可知,LTEP 的酚羟基特征反应明显,为多酚类物质^[4,18],如表 1。

3.1.2. LTEP 的 UV 分析

一般酚类化合物 UV 吸收峰在 280 nm 左右,黄酮类物质的 UV 吸收峰在 240~285 nm 与 300~400 nm,如图 1 所示,LTEP 在 270 nm 和 340 nm 处有最大吸收峰,吸光度值在 340 nm 到 800 nm 之间呈指数减小的趋势,说明 LTEP 中含有黄酮类多酚^[4]。

3.1.3. LTEP 的 IR 分析

红外光谱由于不破坏样品结构, 并能提供小样本中的官能团信息, 已被用于多酚化学结构的研究^[4,19]。

Table 1. Qualitative results of LTEP
表 1. LTEP 的定性反应结果

试剂	现象	结论
三氯化铁	黑色络合物	含有酚羟基
中性醋酸铅	桔黄色沉淀	含有酚羟基
硫酸亚铁	红棕色絮状沉淀	含有酚类物质
硝酸银溶液	褐黑色沉淀	含有酚羟基
溴水	白色沉淀	含有酚类物质
高锰酸钾溶液	紫色沉淀	含有酚类物质

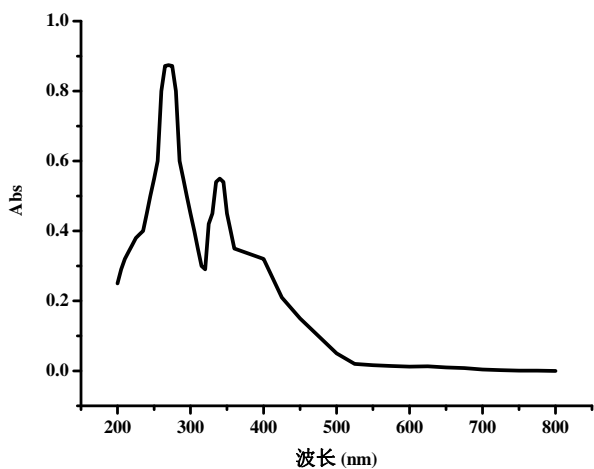


Figure 1. UV spectrum of LTEP
图 1. LTEP 的紫外光谱

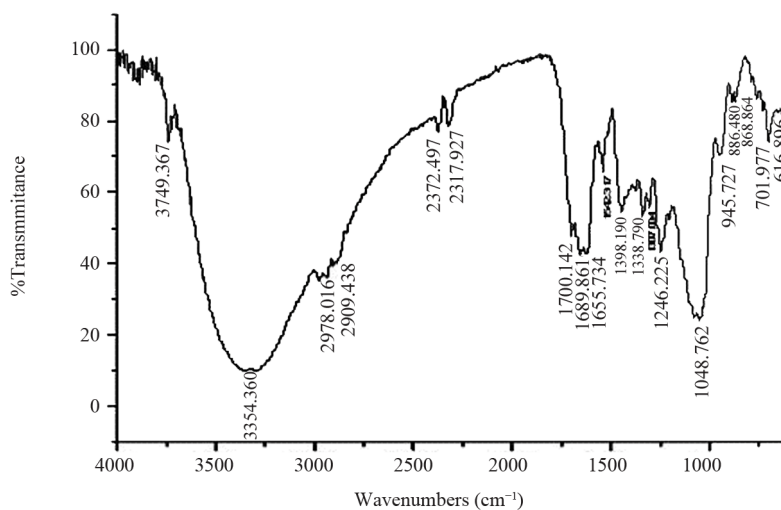


Figure 2. Infrared spectra of LTEP
图 2. LTEP 的红外光谱

由 LTEP 红外光谱图(图 2)可以看出, 3354.360 cm^{-1} 处有较宽的强吸收峰为酚-OH 伸缩振动^[4], 1246.225 cm^{-1} 为酚-OH 弯曲振动, 1655.734 cm^{-1} 为苯环 C-O 弯曲振动, 苯环上 C=C 伸缩振动(1048.762 cm^{-1}), 酚(羧酸) C-O 伸缩振动(1246.225、1338.790 cm^{-1})^[20]。

3.2. 抗氧化活性

3.2.1. 还原力的测定

抗氧化剂的还原能力与其抗氧化活性之间存在一定的关系, 主要是通过自身的还原作用给出电子从而达到清除自由基的目的, 还原力越强, 抗氧化性越强。因此, 还原能力是衡量物质抗氧化能力的一个重要指标^[21]。由图 3 可以看出, LTEP 还原力随着浓度的增加呈增强趋势, 但相同浓度的 LTEP 还原能力低于葡萄多酚。

3.2.2. LTEP 对 O_2^- 清除作用

在邻苯三酚的自氧化过程中会有 O_2^- 产生, 此自由基既是邻苯三酚氧化的中间产物, 又能加速邻苯三酚的自氧化进程, 因此通过测定待测物质对邻苯三酚自氧化的抑制作用, 可以判定其对 O_2^- 的清除能力。由图 4(a)可以看出, LTEP 对超氧离子的清除率随着浓度的增加而增加, 呈现出良好的线性关系($y = 32.13x + 13.17$, $R^2 = 0.995$)。当浓度为 2 mg/mL 时, LTEP 与葡萄多酚对 O_2^- 清除率分别为 77.43%、81.23%, IC_{50} 值分别为 1.15 mg/mL、0.99 mg/mL。表明 LTEP 与葡萄多酚相比对 O_2^- 清除作用稍弱。

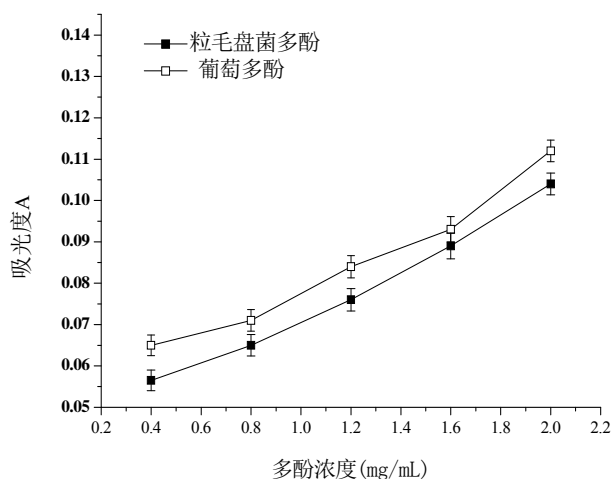


Figure 3. Reducing power of LTEP
图3. LTEP的还原力

3.2.3. LTEP 对 DPPH·清除作用

二苯基苦味酰基苯肼(DPPH·)是一种稳定的自由基,其乙醇溶液在 517 nm 下有最大吸光值,当被抗氧化剂还原时,吸光值会降低,其褪色程度与其接受的电子数量成定量关系。清除 DPPH·的能力主要与酚环结构上的羟基有关,羟基数越多,供给 DPPH·的 H⁺也就越多,那么其清除自由基的能力也就越强^[22]。由图 4(b)可以看出, LTEP 对 DPPH·的清除能力随其浓度的增加而增大,呈现出良好的线性关系($y = 30.30x + 8.66, R^2 = 0.991$)。当浓度为 2 mg/mL 时, LTEP 与葡萄多酚对 DPPH·的清除率分别为 72.7%、88.72%, IC₅₀ 值分别为 1.36 mg/mL、0.99 mg/mL。表明 LTEP 与葡萄多酚相比对 DPPH·清除作用稍弱。

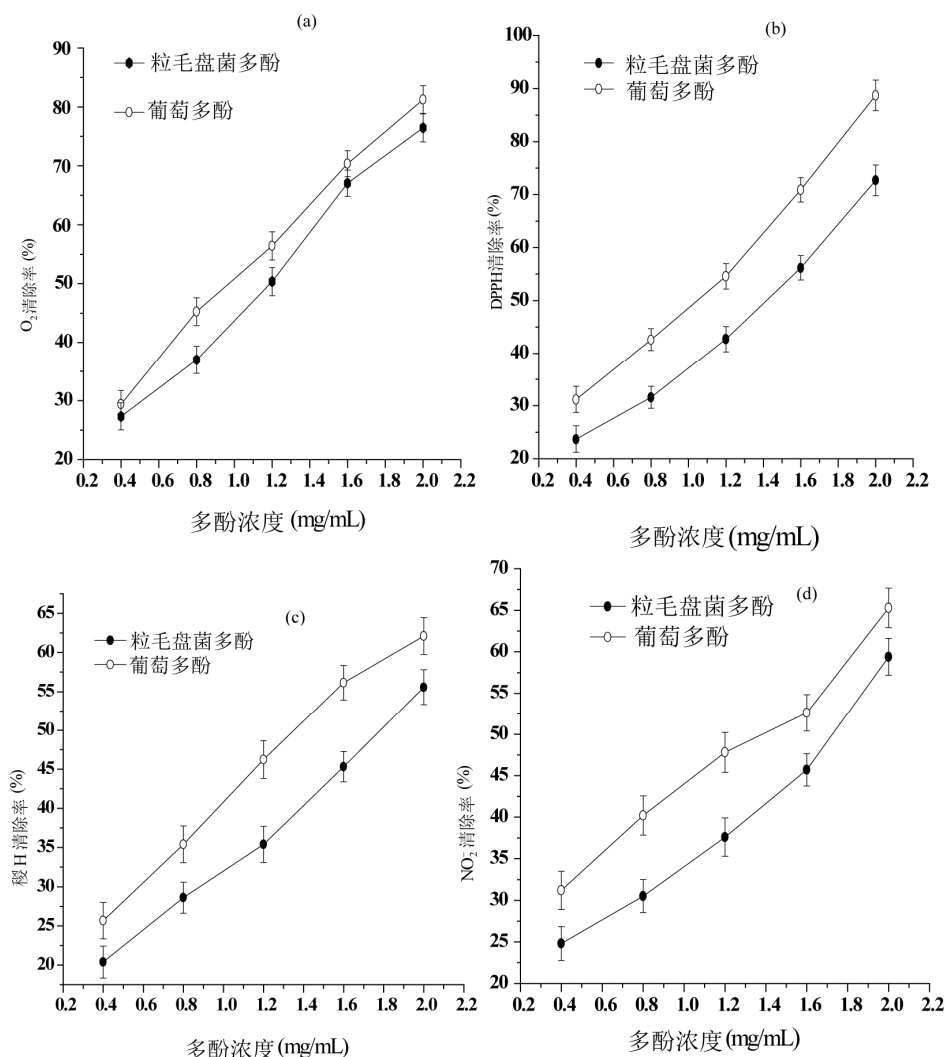


Figure 4. The scavenging effect of LTEP on (a) O₂⁻·; (b) DPPH·; (c) ·OH; (d) NO₂[·]

图 4. LTEP 对(a) O₂⁻·; (b) DPPH·; (c) ·OH; (d) NO₂[·] 的清除作用

3.2.4. LTEP 对·OH 清除作用

酚羟基具有很强的提供质子的能力, 羟基越多, 提供的氢离子越多, 能与更多的活性自由基结合, 而且羟基上氧原子的 p- π 共轭效应使生成的自由基更稳定^[23]。LTEP 对·OH 的清除作用如图 4(c)所示, LTEP 对·OH 的清除作用随浓度的增加而增强, 呈现出良好的线性关系($y = 11.09 + 21.66x$, $R^2 = 0.997$)。当浓度为 2 mg/mL 时, LTEP 与葡萄多酚对·OH 的清除率分别为 55.56%、62.12%, IC_{50} 值分别为 1.80 mg/mL、1.408 mg/mL。表明 LTEP 对·OH 的清除作用略低于葡萄多酚。

3.2.5. LTEP 对 NO_2^- 的清除作用

亚硝酸盐在一定条件下, 与仲胺、叔胺等形成亚硝胺, 亚硝胺对动物具有强致癌作用。若某种物质具有清除亚硝胺或前体物 NO_2^- 的作用, 那么这种物质具有一定的防癌作用^[24]。由图 4(d)可以看出, LTEP 对 NO_2^- 的清除能力随其浓度的增加而增大, 呈现出良好的线性关系($y = 20.797x + 14.574$, $R^2 = 0.984$)。当浓度为 2 mg/mL 时, LTEP 与葡萄多酚对 NO_2^- 的清除率分别为 59.4%、65.3%, IC_{50} 值分别为 1.70 mg/mL、1.32 mg/mL。表明 LTEP 对 NO_2^- 的清除作用弱于葡萄多酚。

3.3. 抑菌活性

多酚对常见的致病菌有很强的抑制作用且不影响生物体的生长发育。据报道多酚主要通过抑制微生物中特定的酶, 来控制其正常的新陈代谢^[25]。由图 5 可见, 质量浓度为 0.2、0.4、0.6、0.8、1 mg/mL, LTEP 对金黄色葡萄球菌、大肠杆菌、酿酒酵母、伤寒沙门氏菌均有不同程度的抑制作用。随着多酚浓度增加, 抑菌圈直径增大, 即呈现浓度 - 效应关系。LTEP 对四种菌的抑菌效果依次为: 金黄色葡萄球菌 > 酿酒酵母 > 大肠杆菌 > 伤寒沙门氏菌, 由表 2 可知 LTEP 对这四种菌的最低抑菌浓度(MIC)分别为 0.05、0.1、0.1、0.2 mg/mL。

4. 结论

本研究提取并纯化了粒毛盘菌 YMU50 胞外多酚, UV 检测结果表明 LTEP 在 270 nm 和 340 nm 处有最大吸收峰, IR 光谱显示其在 3354.360 cm^{-1} 和 1048.762 cm^{-1} 处含有酚类的特征吸收峰; 研究结果还

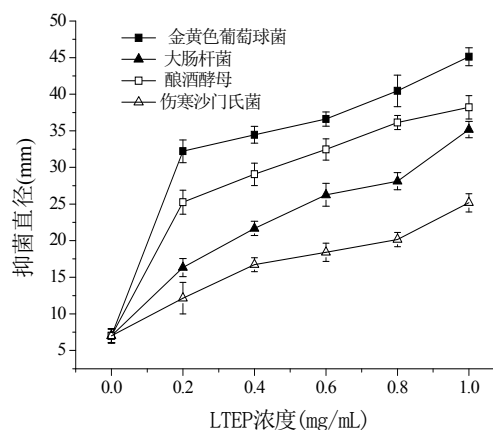


Figure 5. Antibacterial effect of LTEP
图 5. LTEP 的抑菌效果

Table 2. MIC of test bacteria
表 2. 供试菌的最低抑菌浓度(MIC)

LTEP 浓度 (mg/mL)	0.2	0.1	0.05	0.025	0.0125	0.00625
金黄色葡萄球菌	-	-	-	+	+	+
大肠杆菌	-	-	+	+	+	+
酿酒酵母	-	-	+	+	+	+
伤寒沙门氏菌	-	+	+	+	+	+

注: +代表有菌生长; -代表无菌生长。

表明: LTEP具有较强的抗氧化能力, 对金黄色葡萄球菌、大肠杆菌、酿酒酵母、伤寒沙门氏菌有较强的抑制作用, 显示其有望成为天然的抗氧化剂和防腐剂。

参考文献 (References)

- [1] Zhao, Y.X., Miao, K.J., Zhang, M.M., et al. (2009) Effects of nitric oxide on production of antioxidant phenolic compounds in *Phaeoporus obliquus*. *Mycosystema*, **28**, 750-754.
- [2] 钱梅双, 吴春艳, 纪静等. (2013) 粒毛盘菌 YMU50 多酚发酵与纯化初步研究. *合肥工业大学学报(自然科学版)*, **36**, 1115-1121.
- [3] 程鑫颖, 包海鹰, 丁燕等 (2011) 瓦宁木层孔菌中多酚和黄酮类成分分离及清除自由基活性的研究. *菌物学报*, **30**, 281-287.
- [4] 陈向东, 刘晓雯, 吴梧桐 (2005) 灰树花多酚的提取和活性研究. *食品与生物技术学报*, **24**, 26-30.
- [5] Kang, N.J., Shin, S.H., Lee, H.J., et al. (2011) Polyphenols as small molecular inhibitors of signaling cascades in carcinogenesis. *Pharmacology & Therapeutics*, **130**, 310-324.
- [6] Terahara, M., Nishide, S. and Kaneko, T. (2002) Preventive effect of lactobacillus delbrueckii subsp bulgaricus on the oxidation of LDL. *Bioscience Biotechnol and Biochemistry*, **64**, 1868-1873.
- [7] Ye, M., Qiu, T., Peng, W., et al. (2011) Purification, characterization and hypoglycemic activity of extracellular polysaccharides from *Lachnum calyculiforme*. *Carbohydrate Polymers*, **86**, 285-290.
- [8] Ye, M., Wang, Y., Qian, M.S., et al. (2011) Preparation and properties of the melanin from *Lachnum singerianum*. *Interna-*

- tional Journal of Basic & Applied Sciences*, **11**, 51-58.
- [9] 叶明, 朱立 (2008) 辛格粒毛盘菌胞内多酚提取及其抗氧化性研究. *食品科学*, **8**, 249-252.
- [10] 黄建林, 张展霞 (2004) GC-MS 分析番石榴叶乙醇提取物的化学成分. *中山大学学报(自然科学版)*, **43**, 117-120.
- [11] Lim, Y.Y. and Murtijaya, J. (2007) Antioxidant properties of *Phyllanthus amarus* extracts as affected by different drying methods. *LWT-Food Science and Technology*, **40**, 1664-1669.
- [12] Dastmalchi, K., Dorman, D.H.J., Oinonen, P.P., *et al.* (2007) Chemical composition and *in vitro* antioxidative activity of a lemon balm (*Melissa officinalis* L.) extract. *LWT-Food Science and Technology*, **40**, 1664-1669.
- [13] Lee, Y.L., Yen, M.T., Mau, J.L. (2007) Antioxidant properties of various extracts from *Hypsizigus marmoreus*. *Food Chemistry*, **104**, 1-9.
- [14] Tsai, S.Y., Huang, S.J. and Mau, J.L. (2006) Antioxidant properties of hot water extracts from *Agrocybe cylindracea*. *Food Chemistry*, **98**, 670-677.
- [15] 陈留勇, 孟宪军, 贾薇等 (2004) 黄桃水溶性多糖的抗肿瘤作用及清除自由基、提高免疫活性研究. *食品科学*, **25**, 167-170.
- [16] 谢祥茂, 丁小雯, 陈俊琴 (2001) 金樱子提取液对 NO₂⁻清除作用的体外实验研究. *食品科学*, **22**, 30-33.
- [17] 李建慧, 马会勤, 陈尚武 (2008) 葡萄多酚抑菌效果的研究. *中国食品学报*, **8**, 100-106.
- [18] 郭炳莹, 程启坤 (1991) 茶汤组分与金属离子的络合性能. *茶叶科学*, **11**, 139-144.
- [19] 贝玉祥, 郭英, 何超等 (2009) 诃子多酚的提取分离结构鉴定及抗氧化活性的研究. *食品研究与开发*, **3**, 6-9.
- [20] Shriner, R.L. (2007) 有机化合物系统鉴定手册: 第八版. 化学工业出版社, 北京.
- [21] Yen, G.C., Duh, P.D. and Tsai, H.L. (2002) Antioxidant and pro-oxidant properties of ascorbic acid and gallic acid. *Food Chemistry*, **79**, 307-313.
- [22] Kim, D.O., Lee, K.W., Lee, H.J., *et al.* (2002) Vitamin C equivalent antioxidant capacity (VCEAC) of phenolic phytochemicals. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **50**, 3713-3717.
- [23] 陈琪, 王伯初, 唐春红等 (2003) 黄酮类化合物抗氧化性与其构效的关系. *重庆大学学报*, **26**, 48-51.
- [24] 吴春, 陈林林, 李俊生 (2012) 黑大豆种皮花色苷对亚硝酸盐内外合成的阻断作用. *中国粮油学报*, **27**, 25-27.
- [25] 严守雷, 王清章, 彭光华等 (2006) 莲藕多酚对微生物抑制作用的研究. *食品研究与开发*, **27**, 148-151.