黑果腺肋花楸多酚的抑菌活性研究

苗妙，刘宇璇，胡苗苗，岳田利，袁亚宏，蔡瑞，王周利

（西北农林科技大学食品科学与工程学院，农业部农产品质量安全风险评估实验室，国家杨凌农业综合试验工程技术研究中心，陕西杨凌 712100）

摘要：研究黑果腺肋花楸多酚对 5 种细菌和 2 种真菌的抑菌活性及其抑菌稳定性。采用双层平板打孔法，根据抑菌圈直径判断黑果腺肋花楸多酚的抑菌活性；采用比色法测定黑果腺肋花楸多酚对 5 种细菌的最小抑菌浓度（minimum inhibitory concentration，MIC），并以脂环酸芽孢杆菌和枯草芽孢杆菌作为指示菌，研究 NaCl 浓度、温度、紫外线对黑果腺肋花楸多酚抑菌稳定性的影响。研究结果表明黑果腺肋花楸多酚对脂环酸芽孢杆菌、枯草芽孢杆菌等 5 种细菌均具有较好的抑菌活性，对 2 种真菌基本无抑菌效果。黑果腺肋花楸多酚对脂环酸芽孢杆菌（DSM 3922，AAT-92）、阴沟肠杆菌（20051）的 MIC 为 0.40 g/L，对枯草芽孢杆菌（10034）和产气肠杆菌（10017）的 MIC 分别为 0.05 g/L 和 0.10 g/L。随着 NaCl 浓度的增加，黑果腺肋花楸多酚抑菌活性显著下降。多酚溶液经热处理后，抑菌活性有微弱下降趋势，经紫外线处理后抑菌活性基本无变化。

关键词：黑果腺肋花楸；多酚；抑菌活性；稳定性；最小抑菌浓度

文章篇号：1673-9078(2017)12-56-60 DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2017.12.009

Antimicrobial Activity of Polyphenols from Black Chokeberry

MIAO Miao, LIU Yu-xuan, HU Miao-miao, YUE Tian-li, YUAN Ya-hong, CAI Rui, WANG Zhou-li

(College of Food Science and Engineering, Laboratory of Quality & Safety Risk Assessment for Agro-products (YangLing), Ministry of Agriculture, National Engineering Research Center of Agriculture Integration Test (Yangling), Northwest A&F University, Yangling, Shaanxi 712100, China)

Abstract: The antimicrobial activity and antibacterial stability of polyphenols from black chokeberry on five kinds of bacteria and two kinds of fungi were investigated in this study. The bacteriostatic activity of polyphenols from black chokeberry was determined according to the diameter of bacteriostasis zone by double-layer plate perforating method. The minimum inhibitory concentrations (MICs) of polyphenols from black chokeberry against five bacteria were determined by spectrophotometry method. The effects of salt concentration, temperature and UV irradiation on the antibacterial stability of polyphenols from black chokeberry were investigated by using *Alicyclobacillus* and *Bacillus subtilis* as indicator bacteria. The results showed that the polyphenols from black chokeberry had good antibacterial activities against five kinds of bacteria, such as *Alicyclobacillus* and *Bacillus subtilis*, but no antibacterial effect on the two kinds of fungi. The MIC of polyphenols from black chokeberry against *Alicyclobacillus* (DSM 3922, AAT-92) and *Enterobacter cloacae* (20051) was 0.40 g/L, and the MICs of polyphenols from black chokeberry against *Bacillus subtilis* (10034) and *Enterobacter aerogenes* (10017) were 0.05 g/L and 0.10 g/L, respectively. With the increase of NaCl concentration, the antimicorbial activity of polyphenols from black chokeberry decreased significantly. After the heat treatment, the antibacterial activity of polyphenols from black chokeberry decreased slightly, and the antibacterial activity did not change after UV treatment.

Key words: black chokeberry; polyphenols; antimicrobial activity; stability; minimum inhibitory concentration (MIC)

黑果腺肋花楸又名野樱莓和不老莓，原产于美国东北部，在欧洲已有 100 余年的引种栽培历史，在加拿大、俄罗斯、保加利亚、匈牙利、波兰和捷克等国家都有相当规模的栽培和相关的加工产业[1,2]。大量研究表明，黑果腺肋花楸中蛋白质、脂肪、有机酸、维生素、碳水化合物和矿物质等营养物质含量丰富，具有抗氧化、抗炎、抗癌和抗高血压等功效[3-4]。同时，黑果腺肋花楸中含有丰富的花青素和原花青素等多酚类物质，其不仅具有自由基清除功效，对泌尿系统疾病、糖尿病和高血脂等代谢疾病具有缓解调节的作用[5-7]，伊利诺斯州立大学功能食品项目的研究人员得出

收稿日期：2017-07-23

基金项目：陕西省科技统筹项目（2016KTCQ03-12）；国家自然科学基金青年项目（31501499、31301498）；西北农林科技大学基本科研业务费专项（2452016085）

作者简介：苗妙（1996-），女，本科生，研究方向：农产品加工与安全控制

通讯作者：王周利（1984-），男，博士，讲师，研究方向：农产品加工与安全控制

了黑果腺肋花楸果实含有治疗癌症和心脏病的特定化合物的结论。另外，黑果腺肋花楸还具有很强的抑菌活性，在天然防腐保鲜剂和医药保健品开发利用方面具有较大的潜能[8]。基于丰富的营养成分和潜在的医学功效，国外以黑果腺肋花楸为原料生产的果酒、果汁、果干和果酱等产品十分丰富[9]。尽管如此，国内对于黑果腺肋花楸的利用主要体现在园林绿化方面，对其果实加工及在药品、保健饮料和食品开发方面的研究还处于起步阶段，在其他方面的开发利用也是严重不足，导致资源浪费严重，经济效益低下[10]。因此，本研究以黑果腺肋花楸为原材料进行多酚提取制备，通过双层平板打孔法评价其对脂环酸芽孢杆菌（DSM-3922、AAT-92）、枯草芽孢杆菌（10034）、产气肠杆菌（10017）、阴沟肠杆菌（20051）和酿酒酵母（1848、1917）七种菌的抑菌活性，采用比色法测定多酚对五种细菌的最小抑菌浓度，并探究 NaCl 浓度、热处理和紫外线等不同处理对黑果腺肋花楸多酚抑菌稳定性的影响，以期为果蔬制品中关键质量安全因子的控制提供技术方法，并为黑果腺肋花楸在食品产业中的开发利用提供新的思路和基础数据。

1 材料与方法

1.1 菌株与培养基

脂环酸芽孢杆菌（*Alicyclobacillus*，DSM-3922、AAT-92）、枯草芽孢杆菌（*Bacillus subtilis*，10034）、产气肠杆菌(*Enterobacter aerogenes*，10017)、阴沟肠杆菌(*Enterobacter cloacae*，20051)、酿酒酵母（*Saccharomyces cerevisiae*，1848、1917），均由西北农林科技大学食品科学与工程学院保藏。

AAM 培养基：酵母浸粉 2.0 g，葡萄糖 2.0 g，硫酸铵 0.4 g，硫酸镁 1.0 g，磷酸二氢钾 1.2 g，氯化钙 0.38 g，蒸馏水 1000 mL。

GPB 培养基：葡萄糖 50.0 g，酵母 1.0 g，蛋白胨 1.0 g，蒸馏水 1000 mL。

1.2 多酚提取液的制备

以实验室研究建立的方法进行黑果腺肋花楸中多酚的提取，具体工艺条件为：提取溶液 55%乙醇、料液比 1:44、温度 45 ℃、超声功率 500 W、提取时间 90 min，浸提液经大孔树脂 AB-8 吸附纯化后，在 45 ℃下使用旋转蒸发仪除去提取液中酒精得到黑果腺肋花楸多酚提取液。采用福林酚法测多酚溶液浓度，按照实验要求对其进行稀释。

1.3 仪器与设备

ZXSD-A1160 型生化培养箱；BSC-1300ⅡA2 型生物安全柜；DK-98ⅡA 型电热恒温水浴锅；DW-FL450 型超低温冷冻贮藏箱；SBL-30DTY 型超声波恒温清洗；RE-5205 型旋转蒸发仪；WGL-230B 型电热鼓风干燥箱。

1.4 实验方法

1.4.1 菌种的活化

将 7 种供试菌于对应液体培养基内进行活化，5 种细菌于 36 ℃恒温生化培养箱内培养 24 h；2 种真菌 28 ℃恒温生化培养箱内培养 48 h。

1.4.2 黑果腺肋花楸多酚抑菌活性的测定

采用双层平板打孔法，在平板下层倒入 2%的琼脂，待其凝固后放置好牛津杯，用移液枪吸取 100 mL 活化好的菌悬液加在下层琼脂表面，倒入含有 1%琼脂的 AAM 培养基形成上层平板，顺时针、逆时针各五圈轻摇混匀。静置，待上层平板凝固后，用镊子取出牛津杯，即形成了上样品的圆孔。用移液枪吸取 150 mL 黑果腺肋花楸多酚提取液加在圆孔中，静置几分钟后将平板放入恒温培养箱中，细菌于 36 ℃培养 24 h。然后测量抑菌圈直径，以抑菌圈直径大小判定黑果腺肋花楸多酚的抑菌活性，平行三次。

1.4.3 最小抑菌浓度(minimum inhibitory concentration，MIC)的测定

最小抑菌浓度(MIC)的测定采用比色法，将黑果腺肋花楸多酚提取液稀释为 1.0 g/L、0.8 g/L、0.6 g/L、0.4 g/L、0.2 g/L、0.1 g/L 和 0.05 g/L，同时设置空白对照组。于 50 mL 三角瓶中加入 25 mL AAM 液态培养基、1 mL 菌悬液、1 mL 黑果腺肋花楸多酚提取液，在 36 ℃培养箱中培养 24 h。判定结果，通过测量 600 nm 下的菌悬液的吸光度判断黑果腺肋花楸的最小抑菌浓度，平行三次。

1.4.4 NaCl 浓度对抑菌稳定性的影响

以脂环酸芽孢杆菌 AAT-92 和枯草芽孢杆菌作为供试菌种，分别向培养基中添加 0%、2%、4%、6%、8%和 10%的 NaCl 溶液，采用双层平板打孔法，培养箱内培养 24 h，观察抑菌圈大小，平行三次。

1.4.5 热处理对抑菌稳定性的影响

以脂环酸芽孢杆菌 AAT-92 和枯草芽孢杆菌作为供试菌种，将黑果腺肋花楸多酚提取液经 40 ℃、60 ℃、80 ℃和 100 ℃热处理 20 min，冷却待用。采用双层平板打孔法，根据不同温度处理过的多酚提取

液形成的抑菌圈直径大小判断热处理对抑菌稳定性的影响，平行三次。

1.4.6 紫外线对抑菌稳定性的影响

以脂环酸芽孢杆菌 AAT-92 和枯草芽孢杆菌作为供试菌种，将黑果腺肋花楸多酚溶液分别在紫外灯下照射 15 min、30 min、45 min 和 60 min。以未经紫外照射的多酚溶液作为对照。采用双层平板打孔法，根据抑菌圈直径大小判断紫外线对抑菌稳定性的影响，平行三次。

1.4.7 数据统计分析

以 SPSS 作统计学分析，实验数据以平均数±标准差（$\bar{x}\pm s$），采用均值比较。

2 结果与讨论

2.1 黑果腺肋花楸多酚的抑菌活性

配制不同浓度的黑果腺肋花楸多酚水溶液，对七种供试菌种进行抑菌实验，比较抑菌圈直径，结果见表 1。黑果腺肋花楸多酚对脂环酸芽孢杆菌（DSM-3922、AAT-92）、枯草芽孢杆菌（10034）、产气肠杆菌（10017）和阴沟肠杆菌（20051）等 5 种细菌的抑菌活性都很明显，其中对产气肠杆菌（10017）和枯草芽孢杆菌（10034）的抑菌效果最好，对脂环酸芽孢杆菌和阴沟肠杆菌的抑菌活性相对弱一些。从表中可以看出，黑果腺肋花楸多酚对酿酒酵母（1845、1917）没有抑制作用。

2.2 黑果腺肋花楸多酚的 MIC

由表 2 可知，黑果腺肋花楸多酚在一定浓度下才会体现出抑菌活性。黑果腺肋花楸多酚对脂环酸芽孢杆菌（DSM-3922、AAT-92）和阴沟肠杆菌（20051）的 MIC≥0.40 g/L，对枯草芽孢杆菌（10034）的 MIC≥0.05 g/L，对产气肠杆菌（10017）的 MIC≥0.10 g/L。总体来看，黑果腺肋花楸多酚对供试菌株的 MIC 分别为脂环酸芽孢杆菌、阴沟肠杆菌>产气肠杆菌>枯草芽孢杆菌。

2.3 NaCl 浓度对黑果腺肋花楸多酚抑菌稳定性的影响

表 1 不同黑果花楸多酚浓度的抑菌活性

Table 1 The antimicrobial activities of different concentrations of polyphenols from black chokeberry

多酚浓度/(g/L)	抑菌圈直径/mm						
	AAT-92	DSM-3922	10034	10017	20051	1917	1848
0	8.00	8.00	8.00	8.00	8.00	8.00	8.00
0.93	12.97	9.17	13.10	14.50	10.83	8.00	8.00
1.85	14.73	10.17	15.00	15.53	12.87	8.00	8.00
3.7	15.43	11.10	16.37	17.13	13.90	8.21	8.00

表 2 黑果花楸多酚对不同细菌的最小抑菌浓度

Table 2 The MICs of polyphenols from black chokeberry against different indicator bacteria

供试菌	多酚浓度/(g/L)							对照组
	1.00	0.80	0.60	0.40	0.20	0.10	0.05	
AAT-92	-	-	-	+	+	+	+	+
3922	-	-	-	+	+	+	+	+
10034	-	-	-	-	-	-	+	+
10017	-	-	-	-	-	+	+	+
20051	-	-	-	+	+	+	+	+

注：+表示有菌生长；-表示无菌生长。

表 3 NaCl 浓度对黑果腺肋花楸多酚抑菌活性的影响

Table 3 Effects of NaCl concentration on the antibacterial activity of polyphenols from black chokeberry

供试菌	抑菌圈直径/mm					
	NaCl 浓度 0%	NaCl 浓度 2%	NaCl 浓度 4%	NaCl 浓度 6%	NaCl 浓度 8%	NaCl 浓度 10%
AAT-92	21.7±0.62	18.80±0.30	18.63±0.55	18.30±0.52	15.27±0.21	13.47±0.64
10034	20.20±0.26	19.17±0.76	17.00±1.00	16.83±0.76	15.00±0.20	13.67±0.29

表 4 温度对黑果腺肋花楸多酚抑菌活性的影响

Table 4 Effects of temperature on the antibacterial activity of polyphenols from black chokeberry

供试菌	抑菌圈直径/mm				
	20 ℃	40 ℃	60 ℃	80 ℃	100 ℃
AAT-92	23.17±0.65	22.40±1.22	21.93±0.75	19.10±0.72	15.33±0.58
10034	15.60±0.53	14.43±0.40	13.73±1.10	13.80±0.53	13.93±0.31

表 5 紫外线对黑果腺肋花楸多酚抑菌活性的影响

Table 5 Effects of UV irradiation on the antibacteria activity of polyphenols from black chokeberry

供试菌	抑菌圈直径/mm				
	0 min	15 min	30 min	45 min	60 min
AAT-92	17.50±0.50	15.67±0.58	15.50±1.80	15.50±2.18	14.27±0.64
10034	16.83±0.35	14.17±1.04	14.13±0.90	13.93±0.51	13.77±0.75

以脂环酸芽孢杆菌（AAT-92）和枯草芽孢杆菌（10034）为供试菌，比较不同浓度盐溶液对黑果腺肋花楸多酚抑菌活性的影响。由表 3 可知 NaCl 浓度对多酚抑菌活性影响较大，在 NaCl 浓度在 2%~8%内，随着 NaCl 浓度的增加，多酚的抑菌活性呈现显著的下降趋势。以多酚类物质进行抑菌时，一般认为抑菌物质与细菌相互作用的方式是静电作用，因此可能是由于培养基中盐离子浓度增多，影响了抑菌物质和细菌的结合从而造成抑菌活性下降[11~13]。

2.4 温度对黑果腺肋花楸多酚抑菌稳定性的影响

以脂环酸芽孢杆菌（AAT-92）和枯草芽孢杆菌（10034）为供试菌，测定经不同温度热处理的黑果腺肋花楸多酚的抑菌活性。由表 4 可知温度对黑果腺肋花楸多酚影响较大，随着温度的升高抑菌活性整体呈下降趋势。在热处理温度低于 80 ℃时，温度对黑果腺肋花楸抑菌活性的影响不大，说明在这个温度范围黑果腺肋花楸多酚具有较好的热稳定性。当热处理温度达到 100 ℃时，抑菌活性有较明显的下降。可能是因为高温条件下破坏了多酚类物质的结构，影响其抑菌效果[14~16]。

2.5 紫外线对黑果腺肋花楸多酚抑菌稳定性的影响

以脂环酸芽孢杆菌（AAT-92）和枯草芽孢杆菌（10034）为供试菌，测量经紫外线照射不同时间的黑果腺肋花楸多酚的抑菌活性的变化。由表 5 可知，黑果腺肋花楸经紫外线处理后，其抑菌活性无显著变化。说明黑果腺肋花楸多酚对紫外线稳定性较好[17~20]。

3 结论

黑果腺肋花楸多酚对脂环酸芽孢杆菌（DSM-3922、AAT-92）、枯草芽孢杆菌（10034）、产气肠杆菌（10017）和阴沟肠杆菌（20051）等 5 种细菌的抑菌活性都很明显，而对真菌酿酒酵母（1848、1917）几乎不具有抑菌活性。黑果腺肋花楸多酚对脂环酸芽孢杆菌（DSM-3922、AAT-92）、阴沟肠杆菌（20051）的 MIC 为 0.40 g/L，对枯草芽孢杆菌（10034）的 MIC 为 0.05 g/L，对产气肠杆菌（10017）的 MIC 为 0.10 g/L。对黑果腺肋花楸多酚抑菌稳定性的研究显示：随着 NaCl 浓度的增加，黑果腺肋花楸多酚抑菌活性显著下降。多酚溶液经热处理后，抑菌活性有微弱下降趋势，经紫外线处理后抑菌活性基本无变化。整体而言，黑果腺肋花楸多酚的抑菌活性明显，抑菌稳定性很强，具有开发利用的潜能，可用作天然防腐保鲜剂，以此发挥其抑菌作用。本研究为黑果腺肋花楸多酚在食品防腐保鲜方面的应用奠定了基础，也为黑果腺肋花楸的高附加值开发利用提供了技术支持。

参考文献

[1] 高凝轩,李斌,杜姗姗,等.黑果腺肋花楸多酚稳定性的研究[J].食品科学,2016,37(23):20-24
GAO Ning-xuan, LI Bin, DU Shan-shan, et al. Stability of polyphenols from *Aronia melanocarpa* fruits [J]. Food Science, 2016, 37(23): 20-24

[2] Handeland M, Grude N, Torp T, et al. Black chokeberry juice (*Aronia melanocarpa*) reduces incidences of urinary tract infection among nursing home residents in the long term- a pilot study [J]. Nutrition Research, 2014, 34(6): 518-525

[3] Adam J, Jerzy J, Zenon Z. Ingestion of black chokeberry fruit extract leads to intestinal and systemic changes in a rat model

of prediabetes and hyperlipidemia [J]. Plant Foods for Human Nutrition, 2008, 63(4): 176-182

[4] Adam K, Zbigniew J, Maria L. Aronia plants: a review of traditional use, biological activities, and perspectives for modern medicine [J]. Journal of Medicinal Food, 2010, 13(2): 255-269

[5] 李斌,高凝轩,刘辉,等.大孔树脂纯化黑果腺肋花楸多酚的工艺优化[J].食品科学,2016,37(16):69-74
LI Bin, GAO Ning-xuan, LIU Hui, et al. Macroporous adsorption resin for the purification of polyphenols from *Aronia melanocarpa* berries [J]. Food Science, 2016, 37(16): 69-74

[6] 孙红男,孙爱东,苏雅静,等.苹果多酚抑菌效果的研究[J].北京林业大学学报,2010,32(4):280-283
SUN Hong-nan, SUN Ai-dong, SU Ya-jing, et al. Antimicrobial effect of apple polyphenols [J]. Journal of Beijing Forestry University, 2010, 32(4): 280-283

[7] YUN Deng, YANG Gui-yun, YUE Jin, et al. Influences of ripening stages and extracting solvents on the polyphenolic compounds, antimicrobial and antioxidant activities of blueberry leaf extracts [J]. Food Control, 2014, 38(38): 184-191

[8] 吕兆林,林西,郭弘璇,等.竹叶挥发油中主要化合物的抑菌作用[J].食品科学,2012,33(17):54-57
LV Zhao-lin, LIN Xi, GUO Hong-xuan, et al. Antibacterial effects of major compounds in essential oil from bamboo leaves [J]. Food Science, 2012, 33(17): 54-57

[9] 游辉,陈健,孙爱东,等.竹叶黄酮体外抑菌性能研究[J].食品科学,2010,13(z1):249-252
YOU Hui, CHEN Jian, SUN Ai-dong, et al. Study on antibacterial effect of flavonoids from bamboo leaves [J]. Food Science, 2010, 13(z1): 249-252

[10] 刁明明,齐丹萍,张充,等.半乳糖基甘油月桂酸单酯的抑菌活性和稳定性[J].食品科学,2016,37(15):1-6
DIAO Ming-ming, QI Dan-ping, ZHANG Chong, et al. Antimicrobial properties and stability of galactosyl monolaurin [J]. Food Science, 2016, 37(15): 1-6

[11] 杨晓玲,郭彦东.紫甘蓝色素的稳定性及抑菌性[J].食品科学,2010,31(23):32-35
YANG Xiao-ling, GUO Yan-dong. Stability and antibacterial activity of purple cabbage pigment [J]. Food Science, 2010, 31(23): 32-35

[12] Salmanian S, Mahoonak A R S, Alami M, et al. Phenolic content, antiradical, antioxidant, and antibacterial properties of hawthorn (*Crataegus elbursensis*) seed and polp extract [J]. Journal of Agricultural Science and Technology, 2014, 16(2): 343-354

[13] 汪洪涛,陈成,余芳,等.紫叶李果实中总多酚的抑菌性及稳定性研究[J].食品工业,2014,35(8):195-198
WANG Hong-tao, CHEN Cheng, YU Fang, et al. Study on antimicrobial activity and stability of total polyphenol in pranus cerasifera fruit [J]. Food Industry, 2014, 35(8): 195-198

[14] 刘文静,刘东波,张志旭,等.药食兼用植物抑菌和抗炎作用研究进展[J].中草药,2016,47(19):3535-3542
LIU Wen-jing, LIU Dong-bo, ZHANG Zhi-xu, et al. Research progress in antibacterial and anti-inflammatory effect of medicinal and edible plants [J]. Chinese Traditional and Herbal Drugs, 2016, 47(19): 3535-3542

[15] Ehlenfeldt M K, Prior R L. Oxygen radical absorbance capacity (ORAC) and anthocyanin concentrations in fruit and leaf tissues of highbush blueberry [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2001, 49(5): 2222-2227

[16] 刘夫国,马翠翠,王迪,等.蛋白质与多酚相互作用研究进展[J].食品与发酵工业,2016,42(2):282-287
LIU Fu-guo, MA Cui-cui, WANG Di, et al. Recent research progress on interactions between polyphenols and proteins [J]. Food and Fermantation Industries, 2016, 42(2): 282-287

[17] 李建慧,马会勤,陈尚武.葡萄多酚抑菌效果的研究[J].中国食品学报,2008,8(2):100-107
LI Jian-hui, MA Hui-qin, CHEN Shang-wu. Studies on antimicrobial effect of grape-polyphenols [J]. Journal of Chinese Institute of Food Science and Technology, 2008, 8(2): 100-107

[18] 王丽,张毓,陈翠岚.我国食品防腐剂的应用及发展趋势[J].食品安全质量检测学报,2011,2(2):83-87
WANG Li, ZHANG Yu, CHEN Cui-lan. Application and trend of development on food preservations in China [J]. Journal of Food Safety and Quality, 2011, 2(2): 83-87

[19] 赵明慧,姜子涛,刘涛,等.平榛叶中黄酮类化合物成分的研究[J].现代食品科技,2014,30(12):235-240
ZHAO Ming-hui, JIANG Zi-tao, LIU Tao, et al. A study of flavonoids from the leaves of *Corylus heterophylla* fisch [J]. Modern Food Science and Technology, 2014, 30(12): 235-240

[20] Matsuo Y, Fujita Y, Ohnishi S, et al. Chemical constituents of the leaves of rabbiteye blueberry (*Vaccinium ashei*) and characterisation of polymeric proanthocyanidins containing phenylpropanoid units and A-type linkages [J]. Food Chemistry, 2010, 121(4): 1073-1079