籽瓜皮多酚的体外抗氧化及抗紫外线辐射作用研究

刘忠义, 谭操, 刘文平, 彭丽, 包浩, 罗彩连

(湘潭大学化工学院,湖南湘潭 411105)

摘要:利用超声波辅助提取籽瓜皮中的多酚类物质,采用总铁还原能力(FRAP)、清除 1,1-二苯基-2-苦肼基自由基(DPPH·)的能力、清除羟自由基的方法测定籽瓜皮粗提物的抗氧化性,并利用大肠杆菌固体培养基培养法观察其抗紫外线辐射作用。以高效液相色谱法对多酚萃取物的主要成分进行测定。结果表明,籽瓜皮多酚粗提物具有一定的体外抗氧化能力及抗紫外线辐射能力。其清除羟自由基的能力稍弱于 Vc,清除 DPPH 自由基能力与 2,6-二叔丁基对甲酚(BHT)相当,但其铁还原能力远比 BHT 强。给与使大肠杆菌致死率达到 90%以上的辐射强度,与生理盐水相比,籽瓜皮多酚粗提物能提高大肠杆菌存活率。籽瓜皮多酚的抗氧化性及抗紫外线辐射的作用与其浓度都呈现出一定的线性相关性。籽瓜皮多酚的主要成分为没食子酸。

关键词: 籽瓜皮; 多酚; 没食子酸; 抗氧化; 抗紫外线辐射

文章篇号: 1673-9078(2014)8-70-75

In Vitro Antioxidant Activity and Resistance to Ultraviolet Radiation of

Polyphenol from Watermelon Rind

LIU Zhong-yi, TAN Cao, LIU Wen-ping, PENG Li, BAO Hao, LUO Cai-lian

(Collage of Chemical Engineering, Xiangtan University, Xiangtan 411105, China)

Abstract: Polyphenols were extracted from watermelon rind using an ultrasound-assisted process. Antioxidant activity of the crude extract was assessed by determining its hydroxyl radical-scavenging activity, 2,2-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH)-scavenging activity, ferric-reducing ability of plasma (FRAP) assay, whereas resistance to ultraviolet (UV) radiation was studied using solid *Escherichia coli* medium. Composition of the polyphenol extract was determined by high-performance liquid chromatography. The results showed that the crude polyphenol extract from watermelon rind exhibited *in vitro* antioxidant activity and resistance to UV radiation. Additionally, its hydroxyl radical-scavenging activity was weaker than that of Vc, and its DPPH-scavenging activity was equivalent to that of butylated hydroxytoluene (BHT); however, its ferric-reducing activity was significantly stronger than the activity of BHT. When exposed to the same intensity of UV radiation that caused 90% mortality in *E. coli*, a visibly higher number of surviving *E. coli* colonies treated with the crude polyphenol extract from watermelon rind was observed than that observed in the control (saline-treated) group. The antioxidant activity and resistance to ultraviolet radiation correlated linearly with the concentration of polyphenol extracted from watermelon rind. The main component of the extract was gallic acid.

Key words: watermelon rind; polyphenols; gallic acid; antioxidant; resistance to UV radiation

籽瓜属低糖瓜类,具有较高的营养、保健和经济价值,有利尿、解暑、止渴、生津、解毒、益肝、润肺、暖胃、健脾等功效,常食能够调理、增强人体免疫功能,提高人体抗病力,溶蚀软化血管,祛除胃寒,净化体内毒素,同时籽瓜还具有一定的抗氧化和抗肿瘤作用[1]。然而,对产生这些功效与保健作用的物质

收稿日期: 2014-03-18

基金项目: 国家农转资金项目(2013D2002007); 湘潭市农业科技支撑计划(S2013N0012)

作者简介: 刘忠义(1964-),男,博士,教授,主要从事天然产物开发利用 及食品的质量、安全以及功能性质的研究;谭操(1988-),女,硕士研究生, 主要从事活性物质提取、功能性质及农产品加工方面研究 基础及构效关系等的相关研究比较稀少。实际生产生活中,籽瓜常用于取籽,皮和瓤被大量丢弃,其利用率仅为5%左右。

多酚主要来源于瓜果蔬菜及其他植物材料,是一类相对分子质量在 500~3000 道尔顿的具有鞣性的多元酚,可以分为水解单宁和缩合单宁 2 大类化合物,含有众多邻位酚羟基是不同来源的植物多酚在分子结构上的共同特征^[2]。植物多酚具有抗氧化、抗菌、抗突变、抗肿瘤、抗辐射等功效,在医药、食品、日用品等行业都有较高的利用价值^[2]。近年来,多酚物质的抗氧化性、抗辐射性越来越受到各界学者的重视,众多研究人员采用体外抗氧化指标测定的方法,证实

了不同来源的植物多酚具有较强的抗氧化性^[2]。同时,也有学者采用注射法、灌胃法、皮肤氧化损伤模型及皮肤成纤维细胞的培养证实了茶多酚、银杏叶提取物、枸杞多糖等具有抗紫外线辐射作用^[3~5]。但灌胃法、注射法、皮肤氧化损伤模型等耗时较长,实验条件不易控制,皮肤成纤维细胞的培养实验操作要求高,易受到人为因素的影响。

本文以籽瓜皮为原料,提取其多酚物质,通过分 光光度法及大肠杆菌固体培养基培养法分别测定籽瓜 皮多酚粗提物的抗氧化性及抗紫外线辐射作用。期望 有助于籽瓜的深度开发利用,变废为宝,减少因籽瓜 丢弃带来的环境污染。同时,也希望为植物多酚的抗 紫外线辐射初步探讨一种更为简单易行的方法。

1 材料与方法

1.1 实验材料与仪器

1.1.1 材料与试剂

籽瓜摘自湘潭籽瓜实验种植基地,选取成熟无破损的籽瓜,清洗干净,去除绿衣和瓜瓤,将瓜皮打浆粉碎,置于-80 ℃超低温冰箱中保存,使用前置于 4 ℃的冰箱中解冻备用。

大肠杆菌由湘潭大学微生物学实验室提供,保存于-80 ℃超低温冰箱,使用前活化至对数期。

乙醇为分析纯; 乙腈、乙酸均为色谱纯; 没食子酸标准品(色谱纯)成都曼思特生物科技有限公司; 福林酚试剂,合肥博美生物科技责任有限公司。

1.1.2 仪器与设备

LC 20AT 型高效液相色谱仪,日本岛津公司;Forma-86ULT 型超低温冰箱,美国 Thermo 公司;GL21M 高速冷冻离心机,长沙英泰仪器有限公司;RE-2000A 型旋转蒸发仪,上海雅荣生化设备仪器有限公司;WFZ UV-2802SH 型紫外可见分光光度计,上海尤尼柯仪器有限公司;QTR3120 型超声波清洗机,天津市瑞普电子仪器公司;XW-80A 微型旋涡混合器,上海硕光电子科技有限公司;BHC-1300 II A2生物安全柜,阿尔泰实验室设备(北京)有限公司。

1.2 实验方法

1.2.1 籽瓜皮多酚的提取及测定

称取 50~100 g 籽瓜皮浆于烧瓶中,按照料液比 1:10 加入体积分数为 70%的乙醇,60 ℃超声波辅助提取 40 min,抽滤、真空浓缩,得到籽瓜皮多酚粗提物,以没食子酸作为标准物,采用 Folin-Ciocalteu 比色法^[6]测定其多酚含量。

1.2.2 籽瓜皮多酚主要成分鉴定

称取 10 mg 没食子酸标准品,溶于 100 mL 容量 瓶中,得 0.1 mg/mL 的没食子酸标准液,以此标准液配制不同浓度的没食子酸系列标准液,经液相色谱得到没食子酸液相色谱图。籽瓜皮多酚粗提物,经离子沉淀法纯化及与提取液等体积的乙酸乙酯萃取三次之后,浓缩至 1 mL,为籽瓜皮多酚萃取物。经 0.45 μm 微孔过滤膜过滤后进色谱柱,根据保留时间定性,进行籽瓜皮多酚主要成分鉴定。色谱柱 Inertsil ODS-SP C18 柱(150 mm×4.6 mm,5 μm);柱温:30 ℃;流速:1.0 mL/min;进样体积:20 μL;检测器:spd-m20a光电二极管阵列检测器;检测波长;280 nm。流动相:乙腈(A),质量分数 0.4%甲酸溶液(B);采用的梯度洗脱程序:0~5 min,25% A;5.01~10.00 min,80% A;10.01~15.00 min,10% A,15.01~25.00 min,25% A。1.2.3 籽瓜皮多酚总铁还原能力测定

参照 Strain 的方法[7],进行适当改动。FRAP 溶液由 40 mmol/L 的 TPTZ (2, 4, 6-三吡啶基三嗪)盐酸溶液、20 mmol/L 的 FeCl₃·6H₂O 溶液、pH 3.6 的醋酸缓冲液按 1:1:10 的体积比进行混合。此溶液为现配现用,配好之后于 37 \mathbb{C} 水浴中温浴。以 FeSO₄·7H₂O 做标准品,分别准确移取不同浓度的 FeSO₄·7H₂O 溶液 0.2 mL,加入 3 mL FRAP 溶液,混匀,加入超纯水 0.3 mL,置于 37 \mathbb{C} 水浴中反应 40 min,快速冷却,在 596 nm处测定吸光度,绘制标准曲线。不同浓度的籽瓜皮多酚粗提物和 BHT (2, 6-二叔丁基-4-甲基苯酚)的还原能力以达到同样吸光度所需的 FeSO₄·7H₂O 溶液浓度表示。以 BHT 做对照,所有样品平行操作三次,计

1.2.4 籽瓜皮多酚清除 DPPH 自由基能力测定参照 Om P.Sharma ^[8]等的方法,进行适当改动。取 2 mL 2 μmoL/L 的 DPPH 溶液,加入 2 mL 不同浓度的籽瓜皮多酚粗提物,30 ℃水浴中避光反应 90 min,快速冷却,在 517 nm 处测定吸光度。以 BHT 做对照,所有样品平行操作三次,计算清除率。

算总铁还原能力。

DPPH自由基清除率/%= $1-(A_i-A_l)/A_0 \times 100\%$ 注: A_0 -DPPH 溶液加入无水乙醇的吸光度: A_i -DPPH 溶液加入提取液后的吸光度; A_l -无水乙醇与提取液混合后的吸光度

1.2.5 籽瓜皮多酚清除羟自由基能力测定

参照文献^[9]的方法,稍作改动,向 10 mL 比色管中加入不同浓度的籽瓜皮多酚粗提物 2 mL,然后依次加入 6 mmoL/L FeSO₄ 2 mL 和 6 mmoL/L 水杨酸-乙醇溶液 2 mL,摇匀,然后再加入 6 mmol/L 的 H_2O_2 2 mL,用超纯水定容至 10 mL,震荡摇匀,于 $37 \text{ ℃水浴锅中$

静置 30 min,用超纯水作为参比,在 510 nm 处测定各溶液吸光度 A_1 。用相同的方法测定不加黄酮提取液的吸光度 A_0 ,不加 H_2O_2 的试剂本底吸光度 A_2 。同时用 BHT 做对照,比较两者清除羟自由基能力。

清除率计算公式如下:

清除率/%=[1-(A₁-A₂)/A₀]×100%

1.2.6 籽瓜皮多酚抗紫外线辐射作用研究

取 2 mL 一定浓度的大肠杆菌菌悬液于不同的离心管中,分别加入多酚浓度为 24.5 μ g/mL 的籽瓜皮多酚粗提物 3 mL、多酚粗提物的 1 倍稀释液(多酚浓度为 24.5 μ g/mL 的多酚粗提物体积: 生理盐水体积=1:1) 3 mL、生理盐水 3 mL,使用旋涡混合器混合均匀,标号 1、2、3。各取 200 μ L 均匀涂布于固体营养培养基表面,紫外线分别照射 0 s、30 s、50 s,照射距离 29 cm,照射之后置于 37 $^{\circ}$ C的培养箱中培养 24 h。所有样品平行三次,计数并观察比较。

1.2.7 数据分析

数据采用统计软件 SPSS 16.0 进行方差及显著性分析,数值以平均值±标准差表示。

2 结果与讨论

2.1 籽瓜皮多酚主要成分

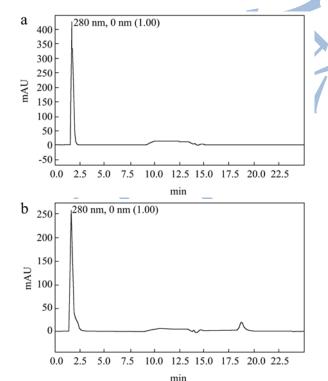


图 1 没食子酸标准品(a)及籽瓜皮多酚萃取物(b)液相色谱图 Fig.1 HPLC chromatograms of gallic acid standard (a) and polyphenols extract of seed watermelon peel (b) 经测定,HPLC 能够较好地检测没食子酸(见图

1),其标准曲线为 y=-3.475+4.17x , R=0.998, P<0.0001,线性关系良好。且该方法回收率为 95.21%,标准偏差为 0.55%,说明该方法准确可靠。图 1 表明,虽然样品峰有明显拖尾及尾部凸出,仍然可以确定籽瓜皮多酚的主要成分是没食子酸。

没食子酸(即单宁酸)广泛存在于植物及水果蔬菜中^[2,10]。籽瓜是一种常见水果,因此籽瓜皮主要成分为没食子酸,可信度较高。

2.2 籽瓜皮多酚总铁还原能力

籽瓜皮多酚粗提物和 BHT 的总铁还原能力测定结果如图 2。如图可见,达到相同的总铁还原能力,籽瓜皮多酚粗提物的浓度比 BHT 浓度小,由此可知籽瓜皮多酚的总铁还原能力比 BHT 强,且都与浓度呈正相关。

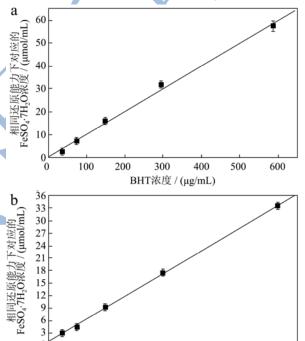


图 2 BHT (a) 及多酚粗提物 (b) 的还原能力

多酚粗提取物浓度 / (μg/mL)

Fig.2 The ferric reducing activity power of BHT (a) and polyphenol extracts (b)

在酸性条件下,Fe³⁺可以与 TPTZ 形成复合物(Fe³⁺-TPTZ),该物质不稳定,在有还原物质存在时,能被还原为 Fe²⁺且呈现明显的蓝色,在 596 nm 左右达到最大吸光度。籽瓜皮多酚中主要含有没食子酸[C₆H₂(OH)₃COOH],其含有较多的酚羟基,酚羟基具有还原性,因此使用 FRAP 法测定籽瓜皮多酚的还原能力有一定的理论依据。该反应中物质的还原性可能与其所含有的酚羟基有关,因单位质量的没食子酸中所含酚羟多,因而表现出更强的还原性。

籽瓜皮多酚粗提物的总铁还原能力低于蜂胶多酚 ^[11]、却高于全缘马尾藻褐藻多酚^[12],这应该与不同的物质中含有的多酚的种类不同有关。

2.3 籽瓜皮多酚清除 DPPH 自由基能力

籽瓜皮多酚粗提物和 BHT 清除 DPPH 自由基能力的测定结果如图 3。图 3 表明,籽瓜皮多酚粗提物和 BHT 清除 DPPH 自由基的能力相当,且都与浓度呈正相关。薛自萍等人对枣果皮中多酚物质的研究得出相似的结果^[13]。

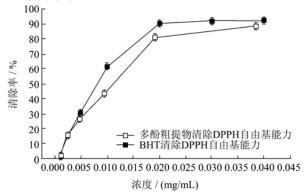


图 3 多酚粗提物和 BHT 的 DPPH 自由基清除率

Fig.3 The free radical DPPH scavenging activity of polyphenol extracts and BHT

DPPH 自由基是一种常用的具有单电子的合成试剂,当有自由基清除剂存在时,DPPH 的单电子被配对,从而形成稳定的 DPPH₂化合物,同时其乙醇(甲醇)溶液由深紫色变成黄色。多酚的酚羟基结构特别是邻苯二酚或邻苯三酚中的邻位酚羟基具有多个活性位点,可以捕获多个自由基,因此对 DPPH 自由基清除率较高。籽瓜皮多酚 DPPH 自由基清除率达到88.92±4.26%后,很难进一步提高,这很有可能是DPPH 自由基清除率易受 DPPH 浓度、反应时间、pH等因素有关。

2.4 籽瓜皮多酚清除羟自由基能力

籽瓜皮多酚粗提物和 Vc 清除羟自由基能力的测定结果如图 4。

由图 4 可知,在试验浓度范围内,Vc 对羟自由基清除率达到 99.51±2.86%,籽瓜皮多酚粗提物对羟自由基的清除率达到 83.85±2.53%,可见 Vc 及籽瓜皮多酚都具有较强的羟自由基清除率,且都与浓度呈现正相关。

羟自由基活性非常强,毒性也较大,是造成生物体内氧化损伤的主要原因,而且物理、化学、及辐射都有可能造成羟自由基的产生^[9]。反应中,过氧化氢与 Fe²⁺反应生成羟自由基,水杨酸能够捕捉到羟自由

基并生成有色物质,且该物质在 510 nm 处有较强的紫外吸收。当在反应中加入具有羟自由基清除效果的物质时,有色物质浓度将大幅降低,吸光度也将随之降低,因而可用该方法测定多酚物质的羟自由基清除率。实验表明,水杨酸能够捕捉羟自由基主要原因是其结构中含羧酸结构^[14]。籽瓜皮多酚的主要成分没食子酸同样中含有羧酸结构,因此表现出一定的羟自由基清除能力。但籽瓜皮多酚粗提物对羟自由基清除率达到 80%左右之后,几乎不能进一步提高,这可能是由多酚纯度及多酚性质所决定的。

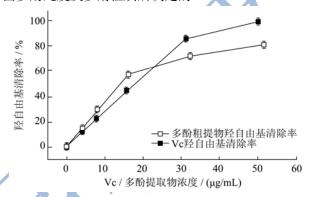


图 4 多酚粗提物和 Vc 的羟自由基清除率

Fig.4 The free radical ·OH scavenging activity of polyphenol extracts and Vc

2.5 籽瓜皮多酚抗紫外线辐射作用

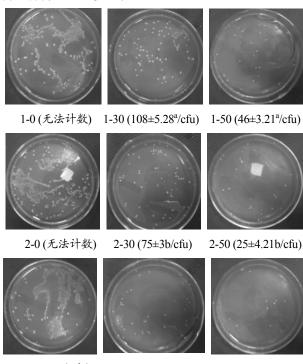
籽瓜皮多酚粗提物的抗紫外线辐射作用测定结果 如图 5。

图 5 表明,未经紫外线照射的大肠杆菌,所有菌长势旺盛,连成一片,无法计数。但紫外线照射 30 s 后,绝大部分菌被杀灭。在相同的紫外线照射时间下,加入多酚提取物的培养皿中菌落总数明显多于只加生理盐水的培养皿,可知多酚提取物有一定的抗紫外线辐射的作用。

实验室用紫外杀菌灯一般产生 254 nm 和 185 nm 的紫外线,其中 254 nm 紫外线极易被物体吸收,当 其作用于细菌 DNA 上时,会使 DNA 链上相邻的胸腺 嘧啶形成二聚体,使 DNA 遭到破坏,最终导致复制和转录出现障碍而引起细菌死亡。多酚在 200~350 nm 范围内有较强的紫外吸收^[2],因而能够吸收 254 nm 的紫外线,减弱了紫外线对大肠杆菌的影响,起到保护其 DNA 的作用,使大肠杆菌的存活数明显提高。

同时紫外线辐射对机体的损伤与自由基的产生有极大的关系^[4],紫外线辐射可使机体产生大量自由基,而自由基可诱发机体内一系列脂质氧化反应^[5],甚至直接攻击 DNA,对细胞的生长繁殖产生巨大影响。籽瓜皮多酚具有一定的抗氧化性,能够清除由紫外线辐

射而产生的自由基,维持细胞膜的流动性和蛋白质的构型构象,防止辐射诱发的 DNA 断裂,使细胞的能正常繁殖。本文针对籽瓜皮多酚抗紫外线辐射的研究仅限于抗紫外辐射效果的直观观察,具体机理或者机制还有待于进一步探究。



3-0 (无法计数) 3-30 (38±3.01c/cfu) 3-50 (10±2.13c/cfu) 图 5 多酚提取物抗紫外线辐射作用

Fig.5 Resistance to ultraviolet radiation of polyphenol extracts

注: 1-0 加多酚粗提物,不进行紫外线辐射,大肠杆菌生长情况; 1-30 加多酚粗提物,紫外线辐射 30 s,大肠杆菌生长情况; 1-50 加多酚粗提物,紫外线辐射 50 s,大肠杆菌生长情况; 2-0 加多酚粗提物 1 倍稀释液,不进行紫外线辐射,大肠杆菌生长情况; 2-30 加多酚粗提物 1 倍稀释液,紫外线辐射 30 s,大肠杆菌生长情况; 2-50 加多酚粗取物 1 倍稀释液,紫外线辐射 30 s,大肠杆菌生长情况; 2-50 加多酚粗取物 1 倍稀释液,紫外线辐射 50 s,大肠杆菌生长情况; 3-30 加生理盐水, 不进行紫外线辐射,大肠杆菌生长情况; 3-30 加生理盐水,紫外线辐射 30 s,大肠杆菌生长情况; 3-50 加生理盐水,紫外线辐射 50 s,大肠杆菌生长情况; 3-50 加生理盐水,紫外线辐射 50 s,大肠杆菌生长情况。结果以平均值±标准差,以不同的字母进行标记,不同字母表示显著性差异。

3 结论

采用高效液相色谱法鉴定出籽瓜皮多酚的主要成分为没食子酸。在试验浓度范围内,籽瓜皮多酚粗提液具有较强的还原能力和良好的 DPPH 自由基及羟自由基清除效果,且与提取物中多酚浓度呈正相关。籽瓜皮多酚粗提物的 DPPH 自由基清除能力与 BHT 相当,羟自由基清除能力较 Vc 偏低,但其总铁还原能力明显比 BHT 强。籽瓜皮多酚粗提物可以提高紫外

线辐射条件下的大肠杆菌存活率,推测其具有一定的 抗紫外线辐射能力。籽瓜皮囊含有具有抗氧化活性和 抗紫外辐射的多酚,有深度加工利用的价值。

参考文献

- [1] 邵苗苗,李娜,赵兵,等.籽瓜养生保健作用研究[J].宁夏农 林科技,2012,53(1):86-87 SHAO Miao-miao, LI Na, ZHAO Bing, et al. Study on health value of seed-used watermelon [J]. Ningxia Journal of Agriculture and Forestry Science and Technology, 2012, 53(1): 86-87
- [2] 宋立江,狄莹,石碧,等.植物多酚研究与利用的意义及发展趋势[J].化学进展,2000,12(2):161-170 SONG Li-jiang, DI Ying, SHI Bi, et al. The significance and development trend in research of plant polyphenols [J]. Progress in Chemistry, 2000, 12(2): 161-170
- [3] 王清吉,王友绍,何磊,等.茶多酚和银杏叶有效成分的抗辐射作用研究[J].核技术,2004,27(2):148-150 WANG Qing-ji, WANG You-shao, HE Lei, et al. Antiradiation effect of tea polyphenol and effective components from ginkgo leaves [J]. Nuclear Techniques, 2004, 27(2): 148-150
- [4] Banerjee G, Gupta N, Kapoor A, et al. UV induced by stander signaling leading to apoptosis [J]. Cancer Letters, 2005, 223(2): 275-284
- [5] 宋琦如,王发选,杨瑾.枸杞多糖对长波紫外线辐射暴露的人皮肤成纤维细胞的影响[J].环境与健康杂志,2007,24(8):586-588

 SONG Qi-ru, WANG Fa-xuan, YANG Jin. The effect of lycium barbarum polysaccharides on fibroblast irradiated by ultraviolet [J]. Journal of Environment and Health,
- [6] 赖富饶,李臻,吴晖,等.甜玉米芯多酚的超声提取工艺优化[J].现代食品科技,2012,28(1):52-55 LAI Fu-rao, LI Zhen, WU Hui, et al. Optimization of ultrasonic extraction process of polyphenols from sweet corncobs [J]. Modern Food Science and Technology, 2012, 28(1): 52-55

2007, 24(8): 586-588

- [7] Omidreza Firuzi, Antonio Lacanna, Rita Petrucci, et al. Evaluation of the antioxidant activity of flavonoids by "ferric reducing antioxidant power"assay and cyclic voltammetry [J]. Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-General Subjects, 2005, 1721(1-3): 174-184
- [8] Om P Sharma, Tej K Bhat. DPPH antioxidant assay revisited [J]. Food Chemistry, 2009, 113(4): 1202-1205

- [9] ZHONG Xian-ke, JIN Xin, LAI Feng-ying, et al. Chemical analysis and antioxidant activities in vitro of polysaccharide extracted from opuntia ficus indica mill cultivated in China [J]. Carbohydrate Polymers, 2010, 3(82): 722-727
- [10] HUANG Long, DENG Yuan-yuan, ZHANG Ming-wei, et al. Comparisons between phenolic compounds and antioxidant of momordica charantia l. in different varieties [J]. Agrichtural Science and Technology, 2012, 13(6): 1263-1269
- [11] Cristina M Mihai, Liviu Al Mărghitaş, Daniel S Dezmirean, et al. Correlation between polyphenolic profile and antioxidant activity of propolis from transylvania [J]. Scientific Papers: Animal Science and Biotechnologies, 2011, 44(2): 100-103
- [12] 卢虹玉,刘义,吉宏武,等.全缘马尾藻褐藻多酚的抗氧化和抗肿瘤细胞增殖作用研究[J].现代食品科技,2013,

- 29(4):702-705
- LU Hong-yu, LIU Yi, JI Hong-wu, et al. Antioxidant activity and antiproliferation effect on tumor cells of phlorotannins from sargassum integerrimum [J]. Modern Food Science and Technology, 2013, 29(4): 702-705
- [13] 薛自萍,曹建康,姜微波,等.枣果皮中酚类物质提取工艺优化及抗氧化活性分析[J].农业工程学报,2009,6(25): 153-158
 - XUE Zi-ping, CAO Jian-kang, JIANG Wei-bo, et al. Optimization of extraction and antioxidant properties of phenolic compounds in Chinese jujube (Ziziphus jujuba Mill) peel [J]. Transactions of the Chinese Society of Agricultural, 2009, 6(25): 153-158
- [14] SU Xiao-yu, WANG Zhen-yu, LIU Jia-ren. *In vitro* and *in vivo* antioxidant activity of pinus koraiensis seed extractcontaining phenolic compounds [J]. Food Chemistry, 2009, 117(4): 681-686