

红松壳多酚、黄酮和多糖含量及抗氧化活性相关性的研究

赵楠楠, 朱晓冉, 李德海

(东北林业大学林学院, 黑龙江哈尔滨 150040)

摘要: 为了探究红松壳中主要活性成分的含量及其与抗氧化活性之间的相关性, 试验以伊春红松壳为原料, 使用不同浓度乙醇溶剂提取红松壳多酚、黄酮和多糖并分析其含量, 采用 SPSS 软件分析松壳中活性物质与抗氧化活性之间的相关性。试验结果表明, 当乙醇的浓度为 40% 时, 红松壳多酚、黄酮和多糖得率均最高, 分别为 4.05 mg/g、1.7 mg/g 和 7.05 mg/g。抗氧化活性试验表明, 红松壳多酚抗氧化活性显著高于黄酮和多糖, 与 Vc 抗氧化活性相当。其中松壳多酚对 DPPH 的 IC_{50} (半数清除率浓度) 值是 0.20 ± 0.05 $\mu\text{g/mL}$, 对 $\cdot\text{OH}$ 的 IC_{50} 值是 13.04 ± 0.04 $\mu\text{g/mL}$, 对总还原力的 IC_{50} 值是 40.15 ± 0.06 $\mu\text{g/mL}$ 。相关性分析结果也表明松壳多酚与抗氧化活性相关性最高, 其中松壳多酚与 DPPH 相关性是 0.908, 与 $\cdot\text{OH}$ 相关性是 0.989, 与总还原力相关性是 0.989 ($p < 0.01$), 可以看出松壳多酚是主要的抗氧化成分。本实验研究的结果为伊春红松壳副产物的综合利用以及开发天然抗氧化剂提供了科学依据。

关键词: 红松壳; 多酚; 黄酮; 多糖; 抗氧化

文章编号: 1673-9078(2017)12-44-49

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2017.12.007

Study on the Correlation between Contents of Polyphenols, Flavonoids, Polysaccharides in *Pinus koraiensis* Seed Putamina and Their Antioxidant Activities

ZHAO Nan-nan, ZHU Xiao-ran, LI De-hai

(College of Forestry, Northeast Forestry University, Harbin 150040, China)

Abstract: In order to investigate the correlation between contents of major active ingredients in *Pinus koraiensis* seed putamina and its antioxidant activity, Yichun *Pinus koraiensis* seed putamina was used as raw material in this study to extract polyphenols, flavonoids and polysaccharides by different ethanol concentrations. The correlation between active ingredients in *Pinus koraiensis* seed putamina and their antioxidant activities were analyzed by SPSS statistical analysis software. The results showed that when the concentration of ethanol was 40%, the highest yields of polyphenols, flavonoids and polysaccharides in *Pinus koraiensis* seed putamina were 4.05 mg/g, 1.7 mg/g and 7.05 mg/g, respectively. Antioxidant activity test showed that antioxidant activity of polyphenols from *Pinus koraiensis* seed putamina was significantly higher than that of flavonoids and polysaccharides, which was comparable to that of Vc. The IC_{50} (half clearance concentration) values of polyphenols from *Pinus koraiensis* seed putamina on the 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH), hydroxyl radical ($\cdot\text{OH}$) and the total reducing power were 0.20 ± 0.05 $\mu\text{g/mL}$, 13.04 ± 0.04 $\mu\text{g/mL}$ and 40.15 ± 0.06 $\mu\text{g/mL}$, respectively. The correlation analysis showed that the correlation between the polyphenols from *Pinus koraiensis* seed putamina and the antioxidant activity was the highest, and the correlations between the polyphenols from *Pinus koraiensis* seed putamina and DPPH, $\cdot\text{OH}$ as well as the total reducing power were 0.908, 0.989 and 0.989 ($p < 0.01$), respectively. It could be seen that polyphenols from *Pinus koraiensis* seed putamina were the main antioxidant components. The results of this study provided a scientific basis for the comprehensive utilization of the by-products of the Yichun *Pinus koraiensis* seed putamina and the development of natural antioxidants.

Key words: *Pinus koraiensis* seed putamina; polyphenols; flavonoids; polysaccharides; antioxidant

收稿日期: 2017-07-24

基金项目: 中央高校基本科研业务费专项资金资助 (2572014EA02、2572014GA19); 黑龙江省自然科学基金面上项目 (G2015062)

作者简介: 赵楠楠 (1994-), 女, 硕士研究生, 研究方向: 活性物质提取、功能性质等

通讯作者: 李德海 (1976-), 男, 副教授, 硕士生导师, 研究方向: 食品化学及植物有效成分

细胞或组织除在正常生理代谢过程中产生自由基,当受到烟酒、紫外线照射和环境污染等因素影响时,将会产生大量的自由基,打破自由基的平衡状态,导致细胞内生命分子的氧化损伤^[1],继而会诱导帕金森氏病、动脉粥样硬化、老年痴呆症、关节炎和肿瘤等各种疾病产生^[2]。因此,开发安全有效的抗氧化类药物和抗氧化剂显得非常重要。目前,合成的抗氧化药物种类较少,且存在毒副作用,而黄酮、多酚、多糖和生物酶等天然活性物质具有一定的抗氧化功能,成为人们研究和开发的热点。

红松(*Pinus koraiensis*)又名果松、红果松,其果实富含多糖、多种脂肪酸、蛋白质和矿物质等营养成分,对动脉粥样硬化、胆固醇有明显的调节作用^[3]。随着对红松果实的开发,其副产物松壳资源越来越丰富,仅作为废弃物或者农家燃料,不能被充分利用,造成了资源的浪费。目前已有研究表明松子壳中富含多种功能性成分^[4],具有良好的抑菌、抗氧化和抗肿瘤等生物活性^[5,6]。Yi J^[7]等研究发现松多酚能平衡氧化系统和抗氧化系统比例防止失调,降低由氧化引起的疾病发生率。巴西松树黄酮能够有效地猝灭单线态氧(1O_2),保护质粒DNA,抑制Fenton反应中产生的脂质过氧化物^[8]。马尾松多糖明显的抑制人肝癌HepG2细胞G2/M期的增殖,从而防止癌细胞扩散,降低癌症的死亡率^[9]。但是近年来关于松壳中抗氧化功能成分的研究仅局限于单一物质的抗氧化性研究,而对于松壳中多酚、黄酮和多糖等成分与抗氧化功能之间相关性比较的研究报道较少^[10]。

因此,本实验以伊春红松壳为原料,采用乙醇溶剂提取多酚、黄酮和多糖三种成分,通过SPSS等统计分析多酚、黄酮、多糖三者与抗氧化功能的相关性比较,旨在确定松壳中抗氧化能力最强的活性成分,为开发松壳抗氧化有效成分和促进松壳资源的综合利用提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 原料

红松壳,黑龙江省伊春市。

DPPH(Aldrich公司);抗坏血酸(Sigma公司);没食子酸标准品、葡萄糖、芦丁、福林-酚、硫酸铁、水杨酸、铁氰化钾、三氯化铁、亚硝酸钠、硝酸铝和三氯乙酸等试剂均为国产分析纯。

1.2 主要仪器设备

Buchi旋转蒸发器(瑞士Buchi公司);UV-2250

型紫外-可见分光光度计(日本岛津公司);FW80高速万能粉碎机(天津泰斯特仪器公司);8601精密pH计(上海康代仪器有限公司)TG16台式高速离心机、AUW220D电子天平(郑州长城科工贸有限公司);DZF-6053真空干燥箱(上海恒科学仪器有限公司)。

1.3 试验方法

1.3.1 原料预处理

红松壳低温干燥,粉碎后40目过筛,用石油醚脱脂,低温干燥至恒重,备用。

1.3.2 红松壳活性物质的提取

准确称取1.0g经预处理的红松壳粉于烧杯中,按照1:50料液比加入0%、10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%和100%乙醇溶液,振荡摇匀,50℃水浴提取3h,冷却至室温后,4000r/min离心10min,吸取上清液浓缩以除去杂质与乙醇。

1.3.3 松壳多酚含量测定

参照E.Aspe^[11]福林-酚比色法,稍作改动,测定红松壳浓缩液液中多酚的含量。以没食子酸质量(mg)为横坐标,以吸光值为纵坐标绘制标准曲线。标准曲线方程为:

$$y=8.32x-0.0063, R^2=0.9997 \quad (1)$$

式中: x 为没食子酸质量,μg; y 为吸光值

准确吸取1.0mL样品于10mL棕色容量瓶中,加入5.0mL10%福林-酚试剂,充分振荡后静置5min,加入4.0mL7.5%Na₂CO₃溶液,加入蒸馏水定容至刻度线,摇匀,25℃恒温水浴1h,测定765nm波长处吸光度。计算样品中的总多酚含量,单位为mg/g。

$$\text{多酚含量} = \frac{C \times V}{M} \quad (2)$$

式中: C 是红松壳提取物中多酚类物质浓度含量,mg/mL; V 是红松壳提取物体积,mL; M 是红松壳质量,g。

1.3.4 松壳总黄酮含量测定

采用A.Hosu^[12]方法,稍作改动。以芦丁为标样,测定松壳中黄酮的含量,以芦丁质量(mg)为横坐标,吸光值为纵坐标绘制标准曲线。标准工作曲线方程为:

$$y=5.0667x-0.0127, R^2=0.9992 \quad (3)$$

式中: x 为芦丁质量,mg; y 为吸光值。

将浓缩液稀释至一定浓度,准确吸取适量样品于10mL容量瓶中,加0.3mL5%NaNO₂溶液,混匀,充分反应6min,加0.3mL10%Al(NO₃)₃溶液混匀,充分反应6min,随后加4mL、1mol/LNaOH溶液摇匀,用60%乙醇定容至10mL,保持15min。以试剂

空白调节零点,在波长 510 nm 处测定吸光度。计算样品中黄酮含量,单位为 mg/g。

$$\text{黄酮含量} = \frac{C \times V}{M} \quad (4)$$

式中: C 是松壳提取物中黄酮浓度含量, mg/mL; V 是松壳提取物体积, mL; M 是红松壳质量, g。

1.3.5 松壳总多糖含量测定

参照文献^[13],以葡萄糖为标样,测定多糖含量,以葡萄糖质量浓度(mg/mL)为横坐标,吸光值为纵坐标绘制标准曲线。标准工作曲线方程为:

$$y = 10.248x + 0.0427, R^2 = 0.9995 \quad (5)$$

式中: x 为葡萄糖质量浓度, mg/mL; y 为吸光值。

取稀释一定浓度的浓缩液,加蒸馏水至 2.0 mL,加 1 mL 6%苯酚混匀,沿管壁加入 5 mL 浓硫酸,振荡混匀,静置 20 min。以试剂空白调零,在 490 nm 波长处测定吸光度。计算样品中多糖含量,单位为 mg/g。

$$\text{多糖含量} = \frac{C \times V}{M} \quad (6)$$

式中: C 是红松壳提取物中多糖浓度含量, mg/mL; V 是红松壳提取物体积, mL; M 是红松壳质量, g。

1.3.6 DPPH·自由基清除能力的测定

按照 S.Cengiz 的方法测定红松壳活性物质 DPPH 清除率^[14],取 2.0 mL 一定浓度的样品溶液于 10.0 mL 比色管中,加 2.0 mL、0.1 mmol/L DPPH 溶液(无水乙醇配制),以等体积的无水乙醇代替样品液作空白组,以等体积的无水乙醇代替 DPPH 作对照组。在避光条件下放置 30 min 后,在波长 517 nm 处测定吸光值,实验 3 次取平均值。以 Vc 为阳性对照来评价活性物质的 DPPH 自由基清除率。

$$\text{DPPH·清除率} = \left(1 - \frac{A_1 - A_2}{A_0}\right) \times 100\% \quad (7)$$

式中: A₀ 为空白组的吸光值; A₁ 为待测组的吸光值; A₂ 为对照组的吸光值。

1.3.7 ·OH 自由基清除能力的测定

在 Nagalt 等^[15]报道的方法上稍作改进。取 1.0 mL 不同浓度的样液于试管中,加 1.0 mL、6 mmol/L FeSO₄ 溶液,加入 1.0 mL、6 mmol/L H₂O₂ 溶液,振荡摇匀,静置 10 min,再加入 1.0 mL、6 mmol/L 水杨酸(50%乙醇作溶剂),静置 30 min,于波长 510 nm 处测定吸光值;用等体积蒸馏水代替样品液作空白组;用等体积蒸馏水代替水杨酸作对照组,实验 3 次取平均值。以 Vc 为阳性对照来评价活性物质的羟基自由基清除率。

$$\cdot\text{OH清除率} = \left(1 - \frac{A_1 - A_2}{A_0}\right) \times 100\% \quad (8)$$

式中: A₀ 为空白组的吸光值; A₁ 为待测组的吸光值; A₂ 为对照组的吸光值。

1.3.8 总还原能力的测定

参照 E.Tsantili^[16]采用铁氰化钾还原显色法进行还原能力的测定。取 1.0 mL 待测溶液于试管中,加 1.0 mL、0.2 mol/L 的磷酸盐缓冲液(pH 6.6),加 1.0 mL、1%铁氰化钾溶液振荡混匀,50 °C 水浴 20 min。取出冷却至室温,加入 1.0 mL 的 10%三氯乙酸溶液,3000 r/min 离心 10 min,取上清液 1 mL 后依次加入 1.0 mL 蒸馏水和 0.2 mL、0.1%三氯化铁溶液,混合均匀,静置 15 min 后在波长 700 nm 下测吸光度值,蒸馏水代替样品液作空白组。实验 3 次取平均值。以 Vc 为阳性对照来评价活性物质的总还原能力。

$$\text{总还原力(OD)} = A_1 - A_0 \quad (9)$$

式中: A₀ 为空白组的吸光值; A₁ 为待测组的吸光值。

1.4 统计方法

数据结果以平均值±标准方差(means±SD)表示,数据处理,结果采用统计分析软件 SPSS 21.0 与 Origin 8.5 进行统计分析,以 p<0.05 为差异有统计学意义。

2 结果与讨论

2.1 红松壳中活性物质含量的分析

本试验采用了不同浓度的乙醇提取红松壳中的多酚、黄酮和多糖,并分析了三种活性物质的得率变化,试验结果见图 1。

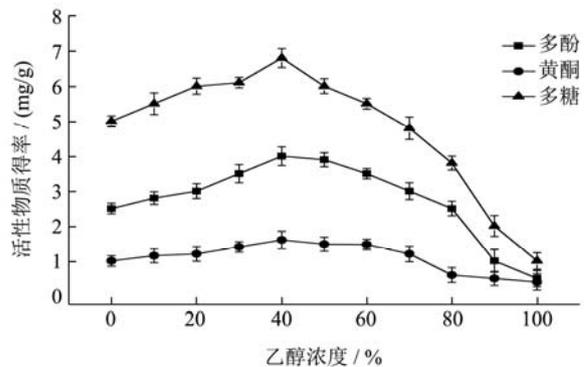


图 1 不同浓度乙醇提取活性物质的得率

Fig.1 The yields of active substances extracted by different concentrations of ethanol

从图 1 结果可以看出,松壳中含有丰富的活性物

质, 多糖、多酚和黄酮的含量随着乙醇浓度的增加得率呈现先增大后降低的趋势。根据相似相溶原理, 溶剂与被提取物质极性相似有利于提取^[17], 乙醇浓度过高和过低其极性与多糖、多酚和黄酮的极性不匹配, 所以导致松壳多糖、多酚和黄酮提取得率降低。从结果中还可以看出, 当乙醇浓度为 40% 时得率最高, 其中松壳多糖得率高 7.05 mg/g, 多酚得率达到 4.05 mg/g, 黄酮的得率最小为 1.7 mg/g。其中乙醇浓度对多酚得率影响的结果与苏晓雨等^[18]研究结果一致, 乙醇浓度 40% 是物质的最佳提取浓度, 松壳中多酚得率可达到 5.01 mg/g。使用同浓度乙醇提取马尾松松针总黄酮时, 在料液比 1:20 的情况下, 总黄酮的提取率可以达到 1.59%^[19]。王薇薇^[20]使用水提醇沉法提取多糖, 多糖得率为 3.68%。

2.2 红松壳中活性物质体外抗氧化能力研究

研究表明, 红松壳多酚、黄酮和多糖均具有抗氧化功能, 但是关于红松壳三种活性物质抗氧化功能综合对比研究还未见报道。因此试验以 DPPH 自由基清除率、羟基自由基清除率、总还原能力为参考指标对红松壳多酚、黄酮和多糖的抗氧化活性进行对比评价。

2.2.1 DPPH·自由基清除能力的测定

DPPH·是一种比较稳定的非生理自由基, 能够被具有抗氧化能力的物质清除, 清除率越大表明抗氧化能力越强, 因此经常用于定量衡量活性物质或食品的抗氧化能力。本试验以 Vc 作阳性对照, 综合测定并比较了红松壳中多酚、黄酮和多糖对 DPPH·的清除能力, 试验结果如图 2。

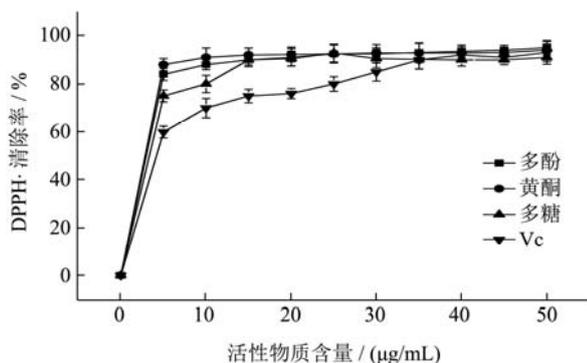


图 2 3 种活性物质对 DPPH 清除能力

Fig.2 The DPPH scavenging ability of three active substances

从图 2 中可以看出, 红松壳中多酚、黄酮和多糖与 Vc 一样, 均对 DPPH·有显著清除能力, 且存在着量效关系。随着红松壳中多酚、黄酮、多糖与 Vc 浓度的增加, DPPH·的清除率显著升高, 当浓度达到 15 μg/mL 时, 对 DPPH·的清除率趋于平缓, 最高值

可达到 93% 左右。从图 2 中还可以看出, 在相同浓度下, 黄酮和多酚对 DPPH·清除率高于多糖和 Vc, 初步说明红松壳黄酮和多酚具有较好的抗氧化能力, 多糖浓度在 50 μg/mL 时, 清除率也可达到 85% 以上^[21]。其中红松壳多酚清除 DPPH·的 IC₅₀ 为 22.16±0.38 μg/mL, 而红松壳黄酮清除 DPPH·的 IC₅₀ 为 25.24±0.05 μg/mL, 进一步说明松壳多酚具有较强清除 DPPH·的能力, 在张根生^[22]等研究松仁红衣多酚对 DPPH·清除率最大可达到 93.23%, 与本实验结果相似。

2.2.2 ·OH 自由基清除能力的测定

·OH 是一种较活泼的活性分子, 具有极强的得电子能力, 能与大多数物质发生氧化反应, 抗氧化剂能有效地清除或减少羟自由基的产生量, 从而抑制氧化的发生。本文测定多酚、黄酮、多糖三种活性物质的·OH 清除能力, 并对其抗氧化能力进行比较, 结果见图 3。

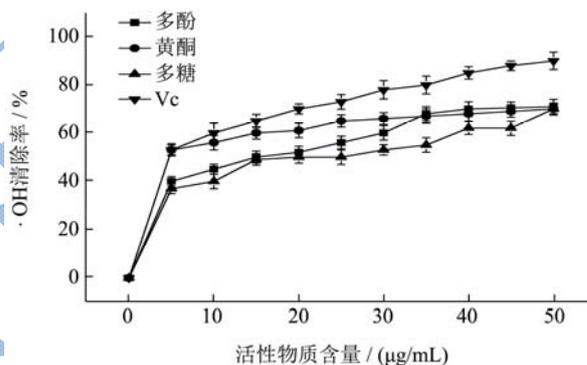


图 3 3 种活性物质对 ·OH 清除能力

Fig.3 The ·OH scavenging ability of three active substances

图 3 结果显示, 在试验浓度范围内, 随着 3 种活性物质及阳性对照 Vc 浓度的增大, 对·OH 的清除能力也显著增强, 多酚、黄酮和多糖清除羟自由基的能力小于同浓度的阳性对照^[23]。当物质浓度达到 35 μg/mL, 多酚和黄酮的清除率达到 65% 左右, 随后清除率增加变化缓慢且趋于平缓^[24]。从图 3 可知, 在 50 μg/mL 时, 各物质对·OH 的清除率均达到最大值, 其中多酚对羟基自由基的清除率达到 71.21%, IC₅₀ 为 23.12±0.04 μg/mL, Vc 对羟基自由基的清除率达到 90.35%, Vc 的 IC₅₀ 为 22.75±0.11 μg/mL, 由此可见, 多酚对于羟基自由基的清除效果与抗氧化剂 Vc 的清除效果接近, 可进一步说明 3 种活性物质中多酚清除羟基自由基的能力最强, 能够有效的清除自由基^[25]。

2.2.3 总还原能力的测定

抗氧化剂是通过自身的还原作用, 给出电子而清除自由基, 供电子能力越强, 还原力越强, 则抗氧化

能力越强。因此可以通过测定其总还原力，评价多酚、黄酮和多糖的抗氧化能力，结果见图4。

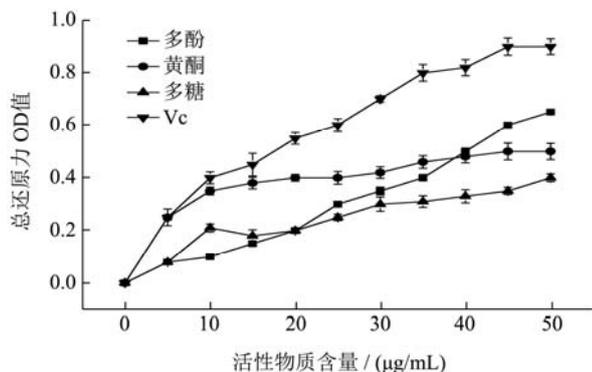


图4 3种活性物质总还原能力

Fig.4 The total reducing power of 3 active substances

从图4中可以看出，红松多酚、黄酮、多糖和Vc的还原能力与浓度之间均呈现一定的量效关系。试验浓度范围内，随着活性物质浓度的增加，总还原力显著升高。在0~20 µg/mL范围内，多糖的总还原能力大于多酚，但其两者均小于抗氧化剂Vc。当活性物质浓度在40~50 µg/mL时，相同浓度下，多酚的总还原力最强，OD值可达到0.6左右，IC₅₀为23.54±0.06 µg/mL。黄酮次之，IC₅₀为27.46±0.09 µg/mL。多糖最弱IC₅₀为29.48±0.13 µg/mL。综上结果红松壳多酚具有明显的还原能力，与活性物质浓度呈良好的相关性，并且其Vc的还原能力最为接近，可作为一种抗氧化能力较稳定的天然抗氧化剂^[26]。

2.3 红松壳活性成分与抗氧化能力的相关性

红松壳的抗氧化能力与多酚、黄酮和多糖3种活性成分之间的相关性见表1。

表1 抗氧化能力与抗氧化物质含量的相关性

Table 1 Correlation between antioxidant capacity and antioxidant content

	DPPH·清除能力	OH·清除能力	总还原能力
多酚	0.908**	0.989**	0.989**
黄酮	0.797*	0.865**	0.860**
多糖	0.492	0.946**	0.961**

注：*，显著相关 ($p < 0.05$)；**，极显著相关 ($p < 0.01$)。

由表1可知，多酚含量与DPPH·清除能力、·OH清除能力、总还原能力之间存在极显著相关性，相关系数分别为0.908、0.989、0.989 ($p < 0.01$)；酚羟基作为氢的供体，与氧化过程中产生的自由基相结合，通过电子转移将DPPH·清除，与Fe²⁺螯合，阻止Fe²⁺催化生成·OH的反应而将自由基清除终止氧化过程的进行。由此说明多酚中提供电子的物质与多酚的含量有良好的量效关系。而与黄酮含量相关性较弱，黄

酮含量仅与·OH清除能力和总还原能力之间具有显著相关，相关系数分别为0.865、0.860 ($p < 0.01$)，与DPPH·清除能力相关系数为0.797 ($p < 0.05$)显著相关，可能与其在红松壳中含量较少有关，而一些黄酮化合物易与糖类结合形成糖苷，减少与自由基的结合。多糖虽是3种活性成分中含量最高的物质，但与DPPH·清除能力无显著相关性 ($p > 0.05$)，与·OH清除能力和总还原能力存在极显著相关，相关系数分别为0.946、0.961 ($p < 0.01$)。通过分析上述结果可知，多酚与3种测定抗氧化方法的相关系数最大，说明多酚含量与抗氧化能力之间的相关性最强，可推断多酚是发挥抗氧化功能的重要物质^[27]。

3 结论

本论文使用不同浓度乙醇溶剂提取红松壳中主要活性成分并分析其含量，同时测定抗氧化活性分析活性成分与抗氧化功能之间的相关性。结果表明乙醇浓度对提取红松壳中活性成分含量存在显著差异，在40%的乙醇浓度下，3种活性成分均可达到最佳提取率，分别为4.05 mg/g、1.7 mg/g和7.05 mg/g。多酚的抗氧化能力最强与抗氧化剂Vc的抗氧化活性基本一致，其中DPPH·清除能力、·OH清除能力及总还原能力的IC₅₀分别为0.20±0.05、13.04±0.04、40.15±0.06 µg/mL，显著高于黄酮、多糖这两种活性成分。相关性分析结果也表明松壳多酚与抗氧化活性相关性最高，其中松壳多酚与DPPH·相关性是0.908，与·OH相关性是0.989，与总还原力相关性是0.989 ($p < 0.01$)。综上所述，红松壳多酚可作为一种安全的天然抗氧化物来源，在食品、药品方面具有较高的应用价值和潜在效益，为红松壳多酚资源的综合利用提供理论依据。

参考文献

- [1] Du Y, Guo H, Lou H. Grape seed polyphenols protect cardiac cells from apoptosis via induction of endogenous antioxidant enzymes. [J]. Agric. Food Chem., 2007, 55(5): 1695-1701
- [2] Rohdewald P. A review of the french maritime pine bark extract (Pycnogenol), an herbal medication with a diverse clinical pharmacology [J]. International Journal of Clinical Pharmacology and Therapeutics, 2002, 40(4): 158-168
- [3] Kang Y H, Kim K K, Kim T W, et al. Anti-atherosclerosis effect of pine nut oil in high-cholesterol and high-fat diet fed rats and its mechanism studies in human umbilical vein endothelial cells[J]. Food Science & Biotechnology, 2015, 24(1):323-332.

- [4] 刘冉,王振宇,卢静,等.两种松科植物松多酚体外抗氧化活性评价[J].食品工业科技,2013,4:159-163
LIU Ran, WANG Zhen-yu, LU Jing, et al. Analysis of antioxidant properties of pine polyphenols from two species of pinaceae *in vitro* [J]. Science and Technology of Food Industry, 2013, 4: 159-163
- [5] 付荣霞,崔艳,杨树成,等.石榴皮和松子壳中抑菌物质最佳提取条件的研究[J].食品与药品,2015,5:336-338
FU Rong-xia, CUI Yan, YANG Shu-cheng, et al. Study on optimum extraction conditions of antibacterial substance from pericarpium granati and pine nut shell [J]. Food and Drug, 2015, 5: 336-338
- [6] 李明谦.红松松子壳多糖超声提取工艺的建立与抗肿瘤活性的研究[J].长春:吉林大学,2013
LI Ming-qian. The establishment of ultrasonic-assisted extraction of *Pinus koraiensis* pinon shell polysaccharides and the study of the anti-tumor bioactivity [J]. Changchun: Jilin University, 2013
- [7] Yi J, Qu H, Wu Y, et al. Study on antitumor, antioxidant and immunoregulatory activities of the purified polyphenols from pinecone of *Pinus koraiensis* on tumor-bearing S180 mice *in vivo* [J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2017, 94: 735-744
- [8] Yamaguchi L F, Vassao DG Kato M J, Di M P. Biflavonoids from *Brazilian pine* *Araucaria angustifolia* as potentials protective agents against DNA damage and lipoperoxidation [J]. Phytochemistry, 2005, 66(18): 2238-2247
- [9] Chu H L, Mao H, Feng W, et al. Effects of sulfated polysaccharide from *Masson pine* (*Pinus massoniana*) pollen on the proliferation and cell cycle of HepG2 cells [J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2013, 55(3): 104
- [10] 王毅红,张春生,谭萍,等.石松黄酮类化合物的抗氧化作用研究[J].湖南文理学院学报(自科版),2013,2:30-32
WANG Yi-hong, ZHANG Chun-sheng, TAN Ping, et al. On anti-oxidation of the *Lycopodium japonicum* thunb flavonoids [J]. Journal of Hunan University of Arts and Science (Natural Science Edition), 2013, 2: 30-32
- [11] Aspe E, Fernandez K. The effect of different extraction techniques on extraction yield, total phenolic, and anti-radical capacity of extracts from *Pinus radiata* bark [J]. Industrial Crops and Products, 2011, 34(1): 838-844
- [12] Hosu A, Cristea V M, Cimpoi C. Analysis of total phenolic, flavonoids, anthocyanins and tannins content in Romanian red wines: prediction of antioxidant activities and classification of wines using artificial neural networks [J]. Food Chemistry, 2014, 150(4): 113
- [13] Chamorro S, Viveros A, Alvarez I, et al. Changes in polyphenol and polysaccharide content of grape seed extract and grape pomace after enzymatic treatment [J]. Food Chemistry, 2012, 133(2): 308
- [14] Cengiz S, Bektas T, Deniz K, et al. Evaluation of metal concentration and antioxidant activity of three edible mushrooms from Mugla, Turkey [J]. Food and Chemical Toxicology, 2010, 48(5): 1230-1233
- [15] Nagalt, Myoda T, Nagashima T. Antioxidative activities of water extract and ethanol extract from field horsetail (*tsukushi*) *Equisetum arvense* L [J]. Food Chemistry, 2005, 91(3): 389-394
- [16] Tsantili E, Konstantinidis K, Christopoulos M, et al. Total phenolics and flavonoids and total antioxidant capacity in pistachio (*Pistachis vera* L.) nuts in relation to cultivars and storage condition [J]. Scientia Horticulturae, 2011, 129(4): 694-701
- [17] 李伟,汤杰,谭荣威,等.醇提水沉与水提醇沉对桉叶多酚提取物抗氧化活性的影响[J].桉树科技,2016,33(2):33-38
LI Wei, TANG Jie, TAN Rong-wei, et al. The effect of water-extraction and alcohol-precipitation method and alcohol-extraction and water-precipitation method on the antioxidant activity of eucalyptus polyphenols [J]. Eucalypt Science & Technology, 2016, 33(2): 33-38
- [18] 苏晓雨,王振宇.红松种子壳多酚物质的提取及抗氧化特性[J].农业工程学报,2009,25(1):198-204
SU Xiao-yu, WANG Zhen-yu. Polyphenol extraction from *Pinus koraiensis* seed putamina and its antioxidant activities [J]. Transactions of the CSAE, 2009, 25(1): 198-204
- [19] 张卫丽,韩雅莉.响应面法优化马尾松松针中总黄酮提取工艺[J].广东工业大学学报,2013,30(1):115-119
ZHANG Wei-li, HAN Ya-li. The extraction process of pinus massoniana optimized by response surface [J]. Journal of Guangdong University of Technology, 2013, 30(1): 115-119
- [20] 王薇薇.红松松塔多糖的提取、分离纯化及抗氧化活性研究[D].青岛:青岛科技大学,2013
WANG Wei-wei. Study on the extraction, purification and anti-oxidation activities of polysaccharide from pine cone of *Pinus koraiensis* [D]. Qingdao: Qingdao University of Science & Technology, 2013
- [21] Guo F F, Chen D Y, Dong L, et al. Study on extraction and antioxidant activity of polysaccharide from the pine cone of *Pinus tabulaeformis* carr [J]. Ginseng Research, 2014

- [22] 张根生,侯静,张铭东,等.松仁红衣多酚的提取及体外抗氧化活性研究[J].食品工业科技,2014,35(23):252-256
ZHANG Gen-sheng, HOU Jing, ZHANG Ming-dong, et al. Research of extraction and antioxidant activity *in vitro* of polyphenols from pine nut coat [J]. Science and Technology of Food Industry, 2014, 35(23): 252-256
- [23] Yingbin Shen, Hui Zhang, Lilin Cheng, et al. *In vitro* and *in vivo* antioxidant activity of polyphenols extracted from black highland barley [J]. Food Chemistry, 2016, 194: 1003-1012
- [24] 马承慧,王群,刘牧.3种松科植物松针多酚的体外抗氧化活性评价[J].西南农业学报,2016,29(5):1063-1068
MA Cheng-hui, WANG Qun, LIU Mu. Evaluation of antioxidant activity of pine polyphenols from three pinaceae species *in vitro* [J]. Southwest China Journal of Agricultural Sciences, 2016, 29(5): 1063-1068
- [25] 黄琴,沈杨霞,张成静,等.铁皮石斛多酚和黄酮含量及与抗氧化活性的相关性[J].应用与环境生物学报,2014, 20(3): 438-442
HUANG Qin, SHEN Yang-xia, ZHANG Cheng-jing, et al. Correlation of the antioxidant property with the total phenolic content and total flavonoids of different *Dendrobium officinale* extracts [J]. Chinese Journal of Applied and Environmental Biology, 2014, 20(3): 438-442
- [26] Du G, Li M, Ma F, et al. Antioxidant capacity and the relationship with polyphenol and vitamin C in *Actinidia* fruits [J]. Food Chemistry, 2009, 113(2): 557-562
- [27] Davide T, Elena V, Davide B, et al. *In vitro* bio-accessibility and antioxidant activity of grape polyphenols [J]. Food Chemistry, 2010, 120(2): 599-606