

朱媛,张雪松. 茶多酚乙酰化修饰及其抑菌活性[J]. 江苏农业科学,2015,43(6):288-291,359.

doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2015.06.095

茶多酚乙酰化修饰及其抑菌活性

朱媛¹,张雪松²

(1.南京晓庄学院,江苏南京 211171; 2.江苏农林职业技术学院,江苏句容 212400)

摘要:以改性产物对大肠杆菌的抑制能力为参数,结合单因素试验,利用响应面分析法建立了茶多酚乙酰化多元二次回归方程模型,优化了茶多酚乙酰化工艺条件。试验表明,在料液比为 1 g : 7.99 mL、催化剂吡啶用量为 0.32 g、反应温度为 74.7 °C 下回流反应 2.55 h,所得改性茶多酚抑菌圈直径为 8.64 mm,与模型预测结果的相对误差为 -0.46%;与茶多酚对照组相比,抑菌圈直径增加了 1.35 倍,最小抑菌浓度由 0.15 mg/mL 降低到 0.10 mg/mL,改性产物具有较好的热稳定性;与几种常见防腐剂相比,对大肠杆菌抑制能力大小为:苯甲酸 > 改性茶多酚 > 山梨酸钾 > 苯甲酸钠 > 茶多酚,最小抑菌浓度为:改性茶多酚 < 山梨酸钾 < 茶多酚 < 苯甲酸 < 苯甲酸钠。

关键词:茶多酚;乙酰化;抑菌**中图分类号:** TQ243.2 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2015)06-0288-04

茶多酚具有高效的抗氧化、抗癌^[1]、辅助治疗心血管疾病^[2]、精神疾病^[3]、肺损伤^[4]、关节炎^[5]等多种药理、保健功效,作为一种天然的食品添加剂在食品、油脂、医药、日用化学等领域有着广泛的应用。同时,茶多酚对金黄色葡萄球菌、大肠杆菌、沙门氏菌以及枯草芽孢杆菌等病原菌也具有较强的抑制作用^[6-11]。我国是茶叶生产大国,从茶叶中提取茶多酚工艺简单,因此发展以茶多酚为代表的天然防腐剂来代替目前常用的以苯甲酸及其盐类、三梨酸及其盐类为代表的化学防腐剂是未来的发展方向。在对茶多酚的实际应用中,还存在着水溶性较差、抑菌活性不强等问题,限制了茶多酚作为天然防腐剂的应用^[10,12]。因此对其结构进行修饰已成为当前研究的热点之一。目前关于茶多酚酰基化的方法更多的是针对茶多酚水溶性、抗氧化的特性,利用长链脂肪酸酰氯进行酰化,以提高改性产物的脂溶性以及抗氧化性^[13-18],而针对茶多酚抑菌性能的改性研究则少见报道。同时,关于茶多酚乙酰化修饰的报道还较少,乙酰化产物的活性侧重于蛋白酶抑制活性和诱导细胞凋亡的抗肿瘤研究方面,尚缺乏其他潜在功能和活性的探讨^[19]。本试验以茶多酚为底物,利用乙酸酐为酰化剂,以产物对大肠杆菌的抑制能力为参数开展茶多酚乙酰化研究,同时进行了茶多酚改性前后以及与常用的化学防腐剂苯甲酸钠、三梨酸钾的抑菌性能比较,为进一步拓展茶多酚在防腐领域的应用提供一定的依据。

1 材料与方 法

1.1 材料与仪器

大肠杆菌(*Escherichia coli*)由江苏农林职业技术学院生物工程系分离并保存。试验所用试剂:茶多酚(>98%,南通飞宇生物科技有限公司);乙酸酐、乙酸乙酯(分析纯,江苏强盛功能化学股份有限公司);氯仿(分析纯,上海凌峰化学

试剂有限公司);吡啶(分析纯,西陇化工股份有限公司);牛肉膏、蛋白胨、氯化钠、山梨酸钾、苯甲酸、苯甲酸钠(分析纯,国药集团化学试剂有限公司)。

主要设备为:RE-5203型旋转蒸发仪(上海亚荣生化仪器厂);WFJ7200型可见分光光度计(尤尼柯(上海)仪器有限公司);KQ3200E型超声波振荡仪(昆山市超声仪器有限公司);恒温培养箱(上海齐欣科学仪器有限公司)

1.2 方 法

1.2.1 茶多酚乙酰化合成工艺及精制 以乙酸酐为酰化剂,乙酸乙酯为溶剂、吡啶为催化剂,回流加热。反应结束后,用少量水洗涤,静置分层,取乙酸乙酯层,经减压蒸馏、真空干燥后获得样品。

1.2.2 培养基的配制和菌悬液的制备 牛肉膏蛋白胨培养基的配制:称取 5 g 牛肉膏、10 g 蛋白胨、5 g NaCl、18 g 琼脂,用灭菌水定容至 1 000 mL,调节 pH 值为 7.2~7.6。菌悬液的制备:取受试大肠杆菌接种到牛肉膏蛋白胨培养基斜面,37 °C 培养 18~24 h,培养产生的孢子用接种环挑菌至无菌水中制成 10⁶~10⁷ CFU/mL 菌悬液^[20]。

1.2.3 样品稀释液的制备 将样品用乙酸乙酯依次稀释成 0.050、0.100、0.125、0.150、0.200、0.250、0.300、0.400 mg/mL 系列稀释液备用。

1.2.4 样品抑菌能力的测定

1.2.4.1 抑菌圈直径的测定 将灭菌后的牛肉膏蛋白胨培养基倒入培养皿中,放置冷却。加 50 μL 菌悬液于平皿中,用玻璃推棒将菌液涂布均匀。取已灭菌、直径 6 mm 干燥滤纸片,置于 0.400 mg/mL 的稀释液中 2 min,50 °C 烘干后,用无菌的镊子夹取滤纸片贴于平板表面,并轻轻按压使其充分接触,标记各皿。在 37 °C 恒温培养箱中培养 48 h,观察各皿菌落生长情况,测量抑菌圈直径,记录数据,并扣除溶剂空白^[21]。

1.2.4.2 最小抑菌浓度(MIC)的测定 用微量移液枪吸取 100 μL 含大肠杆菌的菌悬液于平板中并涂布均匀,然后分别把每个培养基用记号笔标注浓度为 0.050、0.100、0.125、0.150、0.200、0.250、0.300 mg/mL,分别代表各浓度样品稀释

收稿日期:2014-07-14

作者简介:朱媛(1980—),女,江苏南京人,硕士,讲师,主要从事天然活性物质开发利用方面的研究。E-mail:shelz@sina.com。

液。取已灭菌、直径6 mm的干燥滤纸片,用无菌的镊子夹取滤纸片贴于平板表面,并轻轻按压使充分接触,做好标记,于37℃恒温培养箱中培养24 h,溶剂对照菌落被完全抑制的提取物最低稀释浓度即为该种物质对受试菌的MIC^[22]。

1.2.5 样品抑菌活性热稳定性 将样品分别置于40、60、80、100℃下处理1 h后,按“1.2.4.1”节的方法测定抑菌圈直径。

1.2.6 单因素试验 以抑菌圈直径为参数,依次改变反应时间、吡啶用量、原料料液比、反应温度4个因素,研究茶多酚乙酰化产物的抑菌能力。

1.2.7 响应面法优化 综合单因素试验结果,采用Design-Expert V8.0进行试验设计,响应面试验因素水平如表1所示。反应时间、吡啶用量、原料料液比、反应温度分别对应试验中的A、B、C、D因素,抑菌圈直径为衡量指标。

2 结果与分析

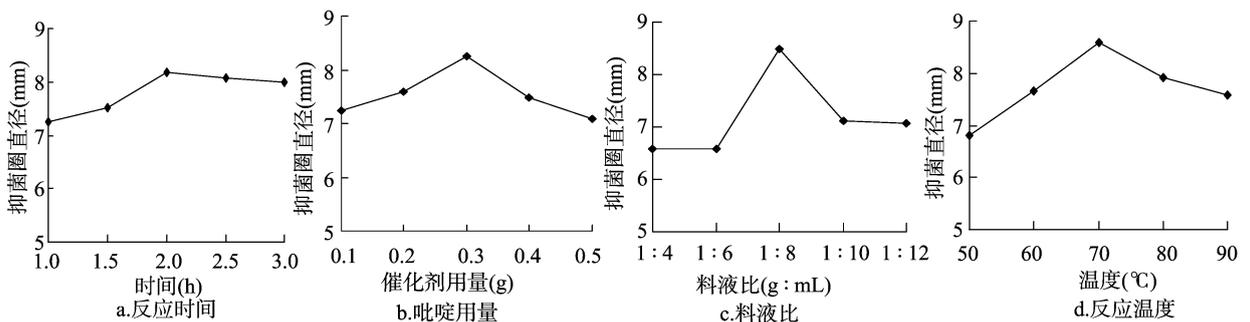


图1 不同因素对产物抑菌能力的影响

2.2 响应面法优化乙酰化工艺条件

2.2.1 响应面法试验设计及结果 茶多酚乙酰化响应面法试验抑菌直径见表2。

2.2.2 方差分析 对表2数据运用Design-Expert V8.0软件进行方差分析,结果见表3、表4。

从方差分析来看,模型 $P < 0.01$,失拟项 $P = 0.5791 > 0.1$,所选择模型显著,而失拟项不显著,因此所选择的模型可靠。在反应时间、吡啶用量、料液比、反应温度4个因素中,反应时间、吡啶用量、反应温度对产物抑菌能力的影响极显著($P < 0.01$),料液比的影响为边际显著($P < 0.1$)。此外,4个因素两两交互影响中,反应时间-料液比(AC)、吡啶用量-料液比(BC)、吡啶用量-反应温度(BD)之间对产物抑菌能力的交互影响较为显著。

从表4可以看出,模型的 $R^2 = 0.9960$,校正 $R^2 = 0.9920$,预测 R^2 与校正 R^2 较为接近,信噪比为53.732(> 4),可知回归方程拟合度和可信度均很高,试验误差较小,故可用此模型对茶多酚乙酰化的工艺条件进行优化与预测。

利用Design-Expert V8.0软件对表2所得试验数据进行多元回归拟合分析,获得改性茶多酚抑菌能力的多元二次回归方程模型为:抑菌圈直径 = $-56.08 + 3.35A + 42.81B + 2.36C + 1.22D - 0.425AB - 0.0788AC - 0.00475AD - 1.425BC - 0.203BD - 0.000875CD - 0.4785A^2 - 26.725B^2 - 0.101C^2 - 0.00774D^2$ 。

2.2.3 响应曲面图及其等高线图 根据回归方程,获得响应

2.1 单因素结果分析

反应时间、催化剂吡啶用量、料液比、反应温度对产物抑菌能力的影响见图1,可以看出,经过乙酰化改性后的产物抑菌能力均高于未改性茶多酚。随着反应时间、吡啶用量、料液比、反应温度的增加,反映产物抑菌能力大小的抑菌圈直径均呈先增加后减小趋势。当反应时间为2 h、吡啶用量为0.3 g、料液比为1 g:8 mL、反应温度为70℃时,产物对大肠杆菌的抑制能力达到最大。

表1 茶多酚乙酰化响应面试验因素水平

水平	因素			
	A:反应时间 (h)	B:吡啶用量 (g)	C:料液比 (g:mL)	D:反应温度 (°C)
-1	1	0.2	1:6	60
0	2	0.3	1:8	70
1	3	0.4	1:10	80

注:吡啶用量对应1 g茶多酚量。

曲面图及等高线图,选择交互影响显著的反应时间-料液比、吡啶用量-料液比、吡啶用量-温度组合研究对产物抑菌能力的影响,如图2至图4所示。

2.2.3.1 反应时间和料液比对产物抑菌能力的交互影响 图2为反应时间和料液比对改性产物抑菌能力影响的响应曲面和等高线图。可以看出,当反应时间与吡啶用量为最佳值时,随着料液比的增大,改性产物的对改性产物抑菌能力先增大后减小。分析确定最佳水平范围的反应时间为1.75~2.83 h,料液比为1 g:7.12 mL~1 g:9.67 mL。

2.2.3.2 吡啶用量和料液比对产物抑菌能力的交互影响 图3为吡啶用量和料液比对改性产物抑菌能力大小的响应曲面和等高线图。当反应时间与温度为最佳值时,随着吡啶用量及液料比的增加,产物的抑菌能力均先增强后减弱。分析可以确定最佳水平范围的吡啶用量为0.19~0.38 g,料液比为1 g:7.00 mL~1 g:10.20 mL。

2.2.3.3 吡啶用量和反应温度对产物抑菌能力的交互影响 图4为吡啶用量和温度对改性产物抑菌能力的响应曲面和等高线图。当反应时间与料液比为最佳值时,反应温度对产物抑菌能力有较为显著的影响;随着温度的升高,改性产物抑菌能力先增强后减弱,当温度高于80℃时,随着温度的升高,产物抑菌能力急剧减弱。而随着吡啶用量的增加,改性产物抑菌能力虽然也呈先增强后减弱的趋势,但变化幅度与温度影响相比较为缓和。分析可以确定最佳水平范围的反应温度

表2 响应面试验设计结果

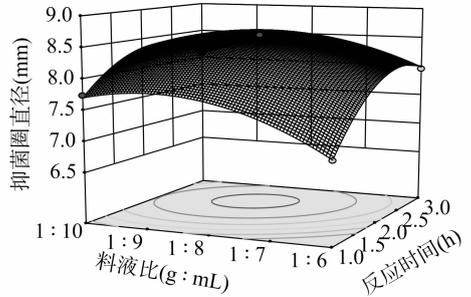
编号	A:反应时间(h)	B:吡啶用量(g)	C:料液比(g:mL)	D:温度(°C)	抑菌直径(mm)
1	2	0.3	1:8	70	8.64
2	1	0.3	1:8	60	6.42
3	2	0.2	1:6	70	7.40
4	2	0.3	1:8	70	8.62
5	2	0.4	1:8	80	7.98
6	2	0.2	1:8	80	8.26
7	2	0.3	1:10	60	7.00
8	1	0.4	1:8	70	7.48
9	2	0.3	1:8	70	8.64
10	1	0.2	1:8	70	7.37
11	3	0.3	1:8	80	8.13
12	1	0.3	1:10	70	7.74
13	2	0.3	1:6	60	6.59
14	2	0.2	1:10	70	8.35
15	2	0.2	1:8	60	6.68
16	1	0.3	1:8	80	7.63
17	2	0.3	1:6	80	7.82
18	2	0.3	1:10	80	8.16
19	3	0.2	1:8	70	8.25
20	3	0.3	1:10	70	8.09
21	2	0.4	1:8	60	7.21
22	2	0.4	1:6	70	8.03
23	2	0.3	1:8	70	8.57
24	3	0.3	1:6	70	7.96
25	2	0.3	1:8	70	8.53
26	3	0.3	1:8	60	7.11
27	1	0.3	1:6	70	6.98
28	2	0.4	1:10	70	7.84
29	3	0.4	1:8	70	8.19

表3 模型方差分析

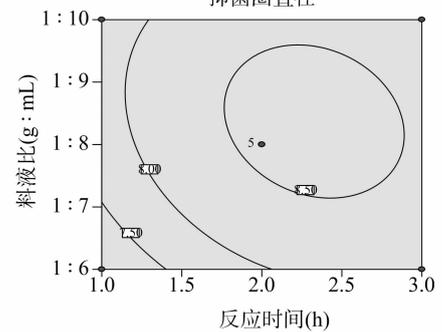
方差来源	平方和	自由度	均方和	F	P < F
模型	11.48	14	0.82	247.74	< 0.000 1
A(反应时间)	1.41	1	1.41	425.45	< 0.000 1
B(吡啶用量)	0.015	1	0.015	4.44	< 0.000 1
C(料液比)	0.48	1	0.48	145.07	0.053 6
D(反应温度)	4.05	1	4.05	1 223.57	< 0.000 1
AB	0.007 225	1	0.007 225	2.18	0.161 6
AC	0.099	1	0.099	29.99	< 0.000 1
AD	0.009 025	1	0.009 025	2.73	0.120 9
BC	0.32	1	0.32	98.20	< 0.000 1
BD	0.16	1	0.16	49.57	< 0.000 1
CD	0.001 225	1	0.001 225	0.37	0.552 6
A ²	1.49	1	1.49	448.87	< 0.000 1
B ²	0.46	1	0.46	140.02	< 0.000 1
C ²	1.05	1	1.05	317.21	< 0.000 1
D ²	3.88	1	3.88	1 172.94	< 0.000 1
残差	0.046	14	0.003 309		
失拟项	0.032	10	0.003 244	0.93	0.579 1
纯误差	0.014	4	0.003 470		
总误差	11.52	28			

表4 R² 综合分析结果

标准偏差	0.058	R ²	0.996 0
平均值	7.78	校正 R ²	0.992 0
变异系数(%)	0.74	预测 R ²	0.981 9
预测残差平方和	0.21	信噪比	53.732

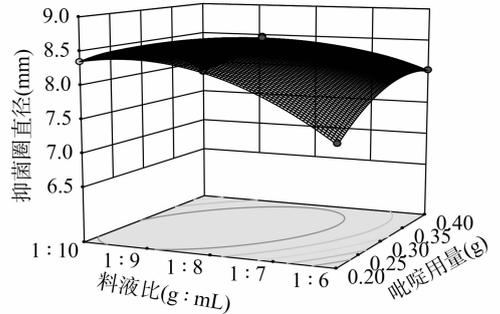


a.响应曲面

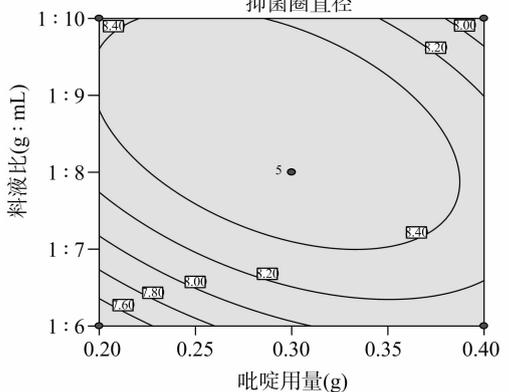


b.等高线

图2 反应时间和料液比对产物抑菌能力影响的响应曲面与等高线



a.响应曲面



b.等高线

图3 料液比和吡啶用量对改性产物抑菌能力影响的响应曲面与等高线

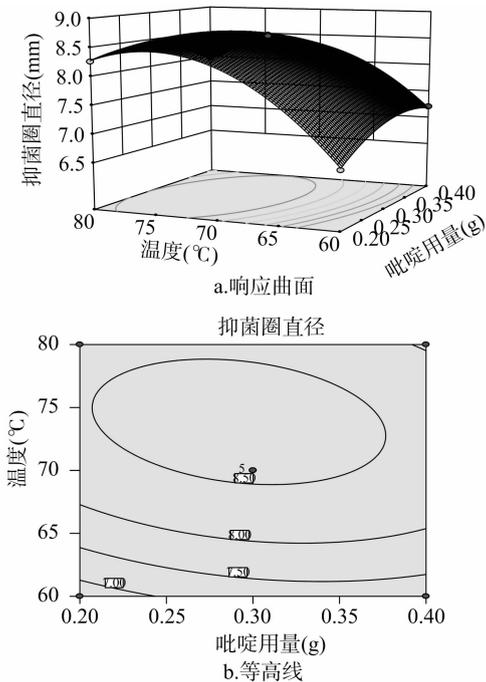


图4 吡啶用量和反应温度对产物抑菌能力影响的响应曲面与等高线

为 69.2 ~ 78.7 °C, 催化剂用量为 0.21 ~ 0.38 g。

2.2.4 最优条件预测 对数据进一步分析可得模型理论最佳条件为料液比 1 g : 7.99 mL、催化剂用量 0.32 g、反应温度为 74.7 °C, 在此条件下回流反应 2.55 h, 模型预测改性茶多酚抑菌圈直径为 8.68 mm。按最优条件进行验证试验, 3 次平行试验所得改性茶多酚抑菌圈平均直径为 8.64 mm, 相对误差为 -0.46%, 两值接近, 说明此模型预测可靠。

2.3 茶多酚乙酰化抑菌性能比较

茶多酚改性前后温度对其抑菌活性的影响如图 5 所示。与茶多酚对照组 (即除未加乙酰化试剂外, 与改性产品经过相同的处理) 相比, 温度对改性前后产物的影响较为一致, 改性产物与茶多酚对照组均显示出较强的热稳定性, 当处理达到 100 °C 时, 两者抑菌活性才出现较为明显的下降。

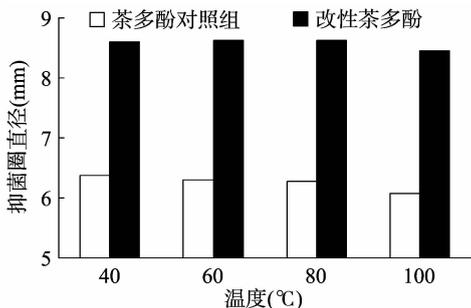


图5 茶多酚改性前后产物抑菌能力热稳定性

苯甲酸(钠)、山梨酸钾是常用的防腐剂, 茶多酚乙酰化改性后与几种常见防腐剂性能比较如图 6 所示。试验结果表明, 乙酰化后的产物对大肠杆菌的抑制能力有了明显提高, 与未改性相比抑菌圈直径提高了 1.35 倍, MIC 值由 0.15 mg/mL 减小为 0.10 mg/mL。改性茶多酚对大肠杆菌抑制能力优于山梨酸钾、苯甲酸钠, 而与苯甲酸相当, 而最小抑菌浓度低于这 3 种常见防腐剂。

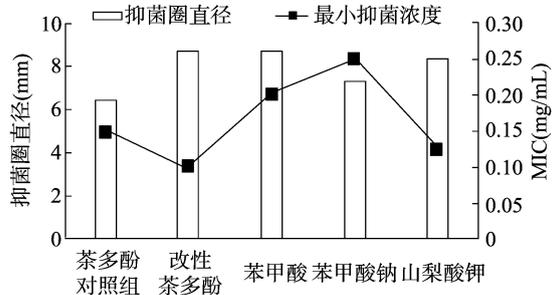


图6 改性茶多酚与几种常见防腐剂性能的比较

3 结论

本研究采用乙酸酐对茶多酚进行改性, 从 4 个因素 (反应时间、吡啶用量、料液比、反应温度) 考察改性产品对大肠杆菌抑制的影响。利用响应面法设计试验, 建立了 4 因素相互作用的数学模型, 模型预测最佳乙酰化条件为: 料液比 1 g : 7.99 mL、催化剂用量 0.32 g、在反应温度为 74.7 °C 下回流反应 2.55 h, 所得乙酰化产物的抑菌圈直径为 8.64 mm, 与模型预测值非常接近, 比改性前提高了 1.35 倍, 同时与未改性的茶多酚对照组相比, 最小抑菌浓度由 0.15 mg/mL 降低到 0.10 mg/mL。改性产物有较好的热稳定性, 当处理达到 100 °C 时, 抑菌活性才出现较为明显的下降。与苯甲酸、苯甲酸钠、山梨酸钾这 3 种常见防腐剂相比, 对大肠杆菌抑制能力为: 苯甲酸 > 改性茶多酚 > 山梨酸钾 > 苯甲酸钠 > 茶多酚, 最小抑菌浓度为: 改性茶多酚 < 山梨酸钾 < 茶多酚 < 苯甲酸 < 苯甲酸钠。

参考文献:

- [1] Iwasaki M, Inoue M, Sasazuki S, et al. Plasma tea polyphenol levels and subsequent risk of breast cancer among Japanese women: a nested case - control study [J]. *Breast Cancer Research and Treatment*, 2010, 124(3): 827 - 834.
- [2] Fuchs F, Grabarek Z. The green tea polyphenol (-) - epigallocatechin - 3 - gallate inhibits magnesium binding to the C - domain of cardiac troponin C [J]. *Journal of Muscle Research and Cell Motility*, 2013, 34(2): 107 - 113.
- [3] Ikeda H, Sano Y, Matsubara T, et al. Drug - tea polyphenol interaction [J]. *Journal of Thermal Analysis and Calorimetry*, 2013, 113(3): 1135 - 1138.
- [4] Di Paola R, Mazzon E, Muiù C, et al. Green tea polyphenol extract attenuates lung injury in experimental model of carrageenan - induced pleurisy in mice [J]. *Respiratory Research*, 2005, 6: 66.
- [5] Ahmed S. Green tea polyphenol epigallocatechin 3 - gallate in arthritis: progress and promise [J]. *Arthritis Research & Therapy*, 2010, 12(2): 208.
- [6] 萧力争, 郭维, 刘素纯, 等. 茶叶提取物与二氢杨梅素抑菌活性比较研究 [J]. *安徽农业大学学报*, 2008, 35(2): 239 - 242.
- [7] 付慧, 杨萍, 汪秋宽. 茶多酚的制备及其抑菌活性的研究 [J]. *食品科技*, 2012, 37(6): 273 - 276.
- [8] Cho Y S, Schiller N L, Oh K H. Antibacterial effects of green tea polyphenols on clinical isolates of methicillin - resistant *Staphylococcus aureus* [J]. *Current Microbiology*, 2008, 57(6): 542 - 546.

80%时,堆肥材料的缩合程度和芳香化程度最快,而且在有限的时间内形成的大分子量组分最多,形成稳定堆肥成品的时间最短且产品也最稳定。

3 结论与讨论

在蚯蚓堆肥有机废弃物过程中,不仅存在有机质的降解转化过程,而且还伴随着有机物的腐殖化过程。在蚯蚓堆置城市和农村有机废弃物过程中,废弃物中有机碳含量整体呈下降趋势,总氮含量整体呈上升趋势,这使有机废弃物的C/N值随时间的延长而变小。经过预处理后的堆肥材料中含有大量难降解的木质素和纤维素等物质,这引起蚯蚓堆置过程中,随着时间的延长,堆肥材料的胡敏酸含量逐渐增加,进而导致产品的HA/FA值整体变大。在蚯蚓堆置过程中,随着时间的延长,胡敏酸的 E_4/E_6 值变小,这表明堆肥材料的缩合程度和芳香化程度越来越大。城市和农村混合有机废弃物经过蚯蚓处理60d后,堆肥产品C/N的值小于15,HA/FA的值达到1.4以上,说明堆肥产品腐熟,适合用于农业生产。本研究结果表明,堆肥材料腐殖化速度与城市和农村有机废弃物比例有关。当牛粪占总有机废弃物总量80%时,腐殖化速率最大,获得堆肥产品质量最好,这是因为这个比例的堆肥材料酶活性最大且更适合于蚯蚓的生存。

参考文献:

- [1] 张宝贵. 蚯蚓与微生物的相互作用[J]. 生态学报, 1997, 17(5): 556-560.
- [2] 高红莉, 周文宗, 张 璐, 等. 城市污泥的蚯蚓分解处理技术研究进展[J]. 中国生态农业学报, 2008, 16(3): 788-793.
- [3] 陈巧燕, 杨 健, 王志强, 等. 蚯蚓堆肥处理有机废弃物的国外研究进展[J]. 中国资源综合利用, 2006, 24(12): 8-10.
- [4] 李国学, 张福锁. 固体废物堆肥化与有机复混肥生产[M]. 北京: 化学工业出版社, 2000.
- [5] 俞花美, 邓 惠, 陈 森, 等. 蚯蚓处理农业废弃物技术研究进展及其在热区的应用[J]. 广东农业科学, 2014, 41(3): 189-193.
- [6] Zhang Y C, Ma X F, Hang C, et al. Effects of ventilation on aerobic composting of organic wastes[C]//International Conference on Remote Sensing, Environment and Transportation Engineering, 2011: 3996-3999.
- [7] 傅积平. 土壤结合态腐殖质分组测定[J]. 土壤通报, 1983, 14(2): 36-37.
- [8] 中国科学院南京土壤研究所. 土壤理化分析[M]. 上海: 上海科学技术出版社, 1978.
- [9] 杨克莲, 陈甫华, 邵洪波, 等. 海河河口水体表层底质中腐殖质的提取及性能表征[J]. 南开大学学报: 自然科学版, 1994(4): 26-30.
- [10] 关松荫, 孟昭鹏. 不同垦殖年限黑土农化性状与酶活性的变化[J]. 土壤通报, 1986, 17(2): 157-159.
- [11] Subramanian S, Sivarajan M, Saravanapriya S. Chemical changes during vermicomposting of sago industry solid wastes[J]. Journal of Hazardous Materials, 2010, 179(1/2/3): 318-322.
- [12] Suthar S. Recycling of agro-industrial sludge through vermitechnology[J]. Ecological Engineering, 2010, 36(8): 1028-1036.
- [13] Kaviani M F, Ghatnekar S D. Bio-management of dairy effluents using culture of red earthworms (*Lumbricus rubellus*) [J]. Indian J Environ Prot, 1991, 11: 680-682.
- [14] Allison F E. Soil organic matter and its role in crop production[M]. Amsterdam: Elsevier Scientific Publishing Company Elsevier, 1973.
- [15] 钱晓雍, 沈根祥, 黄丽华, 等. 畜禽粪便堆肥腐熟度评价指标体系研究[J]. 农业环境科学学报, 2009, 28(3): 549-554.
- [16] Hue N V, Liu J. Predicting compost stability[J]. Compost Science & Utilization, 1995, 3(2): 8-15.
- [17] 李国学. 不同通气方式和秸秆切碎程度对堆制效果和养分转化的影响[J]. 农业环境科学学报, 1999, 18(3): 106-110.
- [18] 马 森. 武夷岩茶茶多酚抑菌作用的研究[J]. 畜牧兽医杂志, 2012, 31(1): 24-26.
- [19] 赖建平, 顾采琴, 朱冬雪, 等. 香蕉果皮黄酮及与丙酸、茶多酚复配剂的抑菌防腐作用[J]. 食品科学, 2012, 33(13): 53-57.
- [20] 潘素君, 李向荣, 谭周进, 等. 茶多酚的抑菌作用研究[J]. 湖南农业科学, 2009(11): 96-97, 100.
- [21] 刘晓辉, 江和源, 张建勇, 等. 儿茶素酰基化修饰研究进展[J]. 茶叶科学, 2009, 29(1): 1-8.
- [22] 吴佳敏. 茶多酚及其改性衍生物抗氧化性研究[J]. 中国食品添加剂, 2009(1): 110-113.
- [23] 张健希, 张玉军, 晁 燕, 等. 茶多酚脂溶性改性条件的确定及其抗氧化性能的研究[J]. 河南工业大学学报: 自然科学版, 2008, 29(3): 15-20.
- [24] 聂 芊, 孔 琪, 沈春艳. 豆油脂肪酸茶多酚酯的制备及其在油脂中的抗氧化性能[J]. 中国粮油学报, 2008, 23(3): 93-95.
- [25] 聂 芊, 沈春燕. 分子修饰法制备油溶性茶多酚及其抗氧化性能的研究[J]. 化学世界, 2007, 48(4): 209-211.
- [26] 孙 达, 张士康, 朱跃进, 等. 响应面设计优化脂溶性茶多酚合成工艺的研究[J]. 中国茶叶加工, 2011(4): 37-41, 46.
- [27] 卢聪聪, 邵卫梁, 杭晓敏, 等. 两种茶多酚化学改性制备的脂溶性茶多酚抗氧化性能研究[J]. 安徽医药, 2008, 12(3): 201-204.
- [28] 张健希, 胡静波, 张玉军, 等. 茶多酚改性及其抗氧化性能的研究[J]. 粮食与食品工业, 2008, 15(2): 33-37.
- [29] 侯美珍, 韦红群, 潘英明. 紫草不同溶剂提取物抑菌活性研究[J]. 食品工业科技, 2006, 27(11): 52-54, 57.
- [30] 陈乃东, 周守标, 罗 琦, 等. 不同提取剂对春花胡枝子黄酮含量及抑菌活性影响的研究[J]. 中国卫生检验杂志, 2007, 17(2): 193-196.
- [31] 张雪松, 朱 媛. 不同提取剂对花椒油树脂抑菌活性影响的研究[J]. 中国调味品, 2010, 35(7): 35-37.

(上接第291页)