绿茶茶多酚超临界 CO_2 提取及体外抗氧化活性检测

李林　(湖南文理学院生命科学学院,湖南常德 415000)

摘要　[目的]研究绿茶茶多酚超临界 CO_2 提取工艺及茶多酚体外抗氧化活性。[方法]利用超临界 CO_2(SCF-CO_2)萃取绿茶中的茶多酚,以茶多酚提取率为响应值,采用响应面法对萃取工艺予以优化,对所得粗品茶多酚精制后进行体外抗氧化活性研究。[结果]萃取试验结果表明优化萃取工艺条件为:CO_2 压力 25 MPa、萃取温度 80 ℃、萃取时间 2.5 h,在此条件下,SCF-CO_2 可将绿茶中 47.50% 的茶多酚提取出来;抗氧化试验结果表明:SCF-CO_2 萃取的茶多酚具有优异的清除 DPPH 自由基、羟自由基活性和较强的清除超氧负离子自由基活性,具有突出的还原能力(与 V_C 基本相当)和抑制猪油氧化的能力,其抗氧化活性相当于或优于 V_C 且明显高于乙酸维生素 E。[结论]该研究提取的绿茶茶多酚具有较强的体外抗氧化活性。

关键词　茶多酚;超临界 CO_2 萃取;抗氧化活性
中图分类号　TS272　　**文献标识码**　A　　**文章编号**　0517 - 6611(2009)34 - 17061 - 03

The Extraction of Green Tea Polyphenols by Supercritical Carbon Dioxide Fluid and Determination of Its' Antioxidation Activity *in vitro*

LI Lin　(College of Life Science, Hunan University of Arts and Science, Changde, Hunan 415000)

Abstract　[Objective]The research aimed to study the optimal conditions of green tea polyphenols(GTP) extraction and the antioxidation activities of purified GTP *in vitro*. [Method]Technological conditions of extracting green tea polyphenols from green tea by supercritical carbon dioxide fluid(SCF-CO_2) were optimized by response surface methodology(RSM), in which the extraction rate of GTP was taken as response value. After the extracted crude TP was refined, the antioxidation activities of purified GTP *in vitro* were investigated. [Result]The analysis results of RSM in the process of GTP extraction revealed that the optimized technological conditions were CO_2 pressure 25 MPa, extraction temperature 80℃, extraction time 2.5 hours. Under these conditions, 47.50% GTP contained in green tea was extracted. The antioxidation tests indicated that the GTP extracted by SCF-CO_2 had excellent powers in scavenging DPPH and hydroxyl radicals, good activity in trapping peroxy anion radicals, outstanding reducility equal to V_C and inhabiting lard oxidation power. And the antioxidation activities of GTP extracted by SCF-CO_2 were better than(or equal to) that of V_C and superior remarkably than that of DL-α-tocopheryl acetate(V_E). [Conclusion]The GTP extracted in this study had strong antioxidation activities *in vitro*.

Key words　Green tea polyphenols; Supercritical carbon dioxide fluid extraction; Antioxidation activity

茶多酚(Tea Polyphenols,简称 TP)是形成茶叶色香味的主要成分之一,也是茶叶具有保健功能的重要成分,占茶叶干物质的 15% ~30% ,包括儿茶素、黄酮类化合物、花青素、酚酸等 4 大类物质[1]。茶多酚含有多个酚羟基,而酚羟基是良好的电子提供者,具有优异的抗氧化性和清除自由基能力[2-3],因而茶多酚不仅具有抑制细菌生长、抑制艾滋病、防肿瘤、预防心血管疾病、防龋齿等药理与生理功能,还具有去脂减肥、阻止脂质过氧化、抗紫外线、延缓衰老等天然活性作用。由此可见,茶多酚在油脂、食品、医药、日化、化妆、保健等诸多方面具有广阔的应用前景[1,3-6]。

目前国内外茶多酚粗品的提取方法主要有溶剂提取法、离子沉淀法、树脂吸附分离法、超临界流体萃取法、超声波浸提方法、微波浸提法等 6 种方法,此外,还有低温纯化酶提取法和盐吸法等[1],不同方法各有优缺点。超临界 CO_2(SCF-CO_2)萃取与其他方法相比,具有清洁、无毒、不污染环境、操作条件温和、特别适用于分离热敏性物料的特点,因而 SCF-CO_2 萃取过程中茶多酚不被氧化,所得产品纯度高,粗品经过简单精制即可得到 95% 以上的茶多酚,所以它代表着植物有效成分分离技术发展的趋势,是解决溶剂萃取技术对环境影响的理想方法[1,7]。笔者利用 SCF-CO_2 为溶剂萃取绿茶中的茶多酚,以茶多酚的提取率为目标函数,利用响应面分析试验法优化萃取压力、温度、时间等工艺条件;然后对所得茶多酚进行清除 DPPH 自由基、羟自由基、超氧负离子自由基与还原能力、抑制猪油氧化等体外抗氧化活性测定分析。

作者简介　李林(1969 -),男,湖南常德人,副教授,从事农产品加工研究。
收稿日期　2009-08-03

1　材料与方法

1.1　材料、试剂　绿茶来自湖南石门东山峰茶场,茶多酚含量 22%。分析纯钢瓶装 CO_2,纯猪板油,市售。

1,1-二苯基 - 2 - 苦基苯肼(DPPH,Sigma 公司)、乙酸维生素 E(V_E,DL-α-tocopheryl Acetate,A.R,进口分装)、维生素 C(V_C)、甲醇、邻苯二酚、邻苯三酚、30% H_2O_2、三(羟甲基)氨基甲烷(Tris)等,均为市售分析纯试剂。试验用水为双蒸水,溶液均自行配制。

1.2　仪器　HA111-40-2 型超临界萃取设备、TGL-16 型高速台式冷冻离心机、WFJ-7200 型及 756MC 型 UV-VIS 分光光度计、旋转蒸发仪等。

1.3　茶多酚超临界 CO_2 提取　将绿茶磨细,每次取茶粉 100 g,以超临界 CO_2 进行萃取,根据茶多酚的理化性质[8]及相关文献[3-6,9]和前期预试验研究结果,固定分离温度 50 ℃、CO_2 流量 30 L/h,选取 CO_2 压力、萃取温度、萃取时间进行 3 因素 3 水平响应面试验,因素水平见表 1。试验设计采用 Box-Behnken 方法(表 2)。萃取开始且工艺参数稳定 0.5 h 后可定时收集分离产物,得到 SCF-CO_2 提取的浅黄色茶多酚粗品,称重,取少量溶于水,测量其中茶多酚的含量,剩余部分于 - 18 ℃避光保存。

表 1　响应面试验因素水平

Table 1　Factors and levels of response surface experiment

水平 levels	X_1 压力//MPa Pressure	X_2 温度//℃ Temperature	X_3 时间//h Time
1	28	80	3
0	24	60	2
- 1	20	40	1

1.4　茶多酚粗品的精制　在进行抗氧化活性试验前,对茶

多酚粗品利用三氯甲烷、乙酸乙酯进行精制。在旋转蒸发器上挥干溶剂(温度≤35 ℃),得到棕黄色茶多酚产品,使其纯度达到95%以上。精制方法参考文献[8]。

1.5 茶多酚含量的检测 采用酒石酸亚铁分光光度法[10],但采用邻苯二酚代替没食子酸丙酯制作标准溶液,以邻苯二酚标准溶液浓度为横坐标,以其吸光值为纵坐标,绘制标准曲线,如图1所示。取茶多酚水溶液测定吸光度,插值法求得茶多酚的含量。

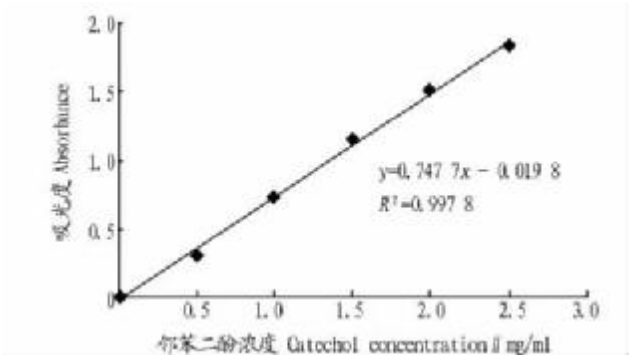

图1 邻苯二酚标准曲线

Fig.1 Standard curve of catechol

1.6 茶多酚的体外抗氧化试验 将浓度为5 mg/ml的茶多酚水(或甲醇)溶液稀释成不同浓度梯度,作为待测样品溶液。不同浓度的V_C水溶液和V_E甲醇溶液作为对照组。

1.6.1 清除DPPH自由基。参考文献[11]方法。分别测定D_0、D_s、D_r,按式(1)计算DPPH自由基清除率Y_1,利用系列溶液的清除率绘制曲线,由曲线读取DPPH清除率为50%时所需茶多酚溶液浓度,计为IC_{50}^1,以IC_{50}^1值表示茶多酚清除DPPH活性,IC_{50}^1值越小,表示清除能力越强。

$$Y_1 = [1 - (D_r - D_s)/D_0] \times 100\% \quad (1)$$

1.6.2 清除羟自由基。以Fenton反应产生·OH,经自由基氧化水杨酸钠得到2,3-二羟基苯甲酸钠,以其在510 nm处的吸光值来表示·OH的量,吸光值越小,则·OH越少,清除效果越好。具体方法参考文献[11]。

1.6.3 清除超氧负离子自由基($O_2^{-\cdot}$)。采用邻苯三酚在碱性条件下自氧化产生$O_2^{-\cdot}$模型进行测试,具体方法参考文献[12]。

茶多酚对$O_2^{-\cdot}$的清除率Y_2按式(2)计算。利用系列溶液的清除率绘制曲线,由曲线读取$O_2^{-\cdot}$清除率为50%时所需茶多酚溶液浓度,计为IC_{50}^2,以IC_{50}^2值表示茶多酚清除$O_2^{-\cdot}$活性,IC_{50}^2值越小,表示清除能力越强。

$$Y_2 = [(\Delta A_0/\Delta t - \Delta A/\Delta t)/(\Delta A_0/\Delta t)] \times 100\% \quad (2)$$

式中,$\Delta A_0/\Delta t$为邻苯三酚自氧化速率,$\Delta A/\Delta t$为加入茶多酚溶液后邻苯三酚的自氧化速率,单位均为吸光度每分钟的增加值。

1.6.4 还原能力。参考文献[13]方法。样品溶液的吸光度于700 nm处测定,吸光度越大表示还原能力越强。

1.6.5 抑制猪油氧化能力。参照GB/T5538-1995方法,以纯猪油和V_E的甲醇溶液作为对照。

$$POV = c \times (V_1 - V_0)/m \times 500 \quad (3)$$

式中,POV表示过氧化值,mmol/kg;V_1为用于测定的硫代硫酸钠标准溶液的体积,ml;V_0为用于空白的硫代硫酸钠标准溶液体积,ml;c为硫代硫酸钠标准溶液浓度,mol/L;m为试样质量,g。

2 结果与分析

2.1 茶多酚的超临界CO_2提取 Box-Behnken试验设计及结果详见表2。根据表2通过软件Design-Expert 7.1对响应面回归过程进行数据分析,建立响应面的回归模型,进而寻求最优响应值的因素水平。由Design-Expert软件自动分析给出响应面回归模型方程。

$$Y = 9.49 + 0.69X_1 + 1.80X_2 + 0.60X_3 + 0.033X_1X_2 - 0.21X_1X_3 + 0.51X_2X_3 - 0.86X_1^2 - 1.03X_2^2 - 1.11X_3^2 \quad (4)$$

式中,X_1X_2与$X_1X_3$2项为不显著项,剔除不显著项(失拟项),回归方程简化为:

$$Y = 9.49 + 0.69X_1 + 1.80X_2 + 0.60X_3 + 0.51X_2X_3 - 0.86X_1^2 - 1.03X_2^2 - 1.11X_3^2 \quad (5)$$

方差分析结果显示,失拟项大于F值的概率为0.274 4,表明失拟项是不显著的,复相关系数为$R^2 = 0.985\ 9$,模型的调整确定系数为0.960 4,能较好地解释模型的变化;从方程与方差分析还可以看出,萃取温度和萃取时间之间有相互影响。

表2 Box-Behnken设计及试验结果

Table 2 Box-Behnken design and experimental result

试验号	因素 Factors			提取率//%
Tested No.	X_1	X_2	X_3	Extraction rate
1	1	-1	0	6.52
2	0	1	1	10.57
3	1	0	1	8.36
4	0	-1	-1	5.15
5	0	0	0	9.43
6	0	0	0	9.10
7	-1	-1	0	5.21
8	-1	0	-1	6.25
9	0	0	0	9.76
10	0	1	-1	7.87
11	-1	0	1	7.38
12	-1	1	0	8.62
13	0	-1	1	5.81
14	1	1	0	10.06
15	1	0	-1	8.07

对所得响应面回归方程,通过Design-Expert软件进一步分析、计算,可以获得模型的最佳萃取工艺条件:萃取压力25.12 MPa、温度80 ℃、时间2.47 h,在此条件下,茶多酚的提取率可达10.65%。这与2号试验所得结果没有明显差异(24 MPa、80 ℃、3 h,10.57%),因此,选择25 MPa、80 ℃、2.5 h作为优化萃取条件。对上述优化工艺条件进行3次验证试验,得到SCF-CO_2对绿茶中茶多酚萃取率结果分别为:10.24%、10.30%、10.81%,平均值为10.45%,相当于将绿茶中47.50%的茶多酚萃取出来,可以与文献[5,7]中的萃取效果相比拟。

从响应面试验结果可以看出,SCF-CO_2对茶叶中茶多酚的萃取受温度影响大,而在选定的压力和时间范围内对茶多酚萃取的影响相对较小。与其他方法相比,SCF-CO_2对茶多酚的萃取率稍显偏低[1,3],这从一个侧面说明了SCF-CO_2主

要萃取绿茶中部分极性较弱的多酚类物质。

2.2　茶多酚的体外抗氧化活性

2.2.1　清除 DPPH 自由基。茶多酚与乙酸维生素 E、V_C 对 DPPH 自由基的清除率 IC_{50}^1 分别为 0.001 6、7.510 0、0.017 0 mg/ml。而且它们清除 DPPH 自由基的活性都随着浓度的增加而明显增强，清除剂浓度与清除率的回归关系式相关系数平方值（R^2）都在 0.95 以上。由此可见，茶多酚清除 DPPH 的 IC_{50}^1 值不仅大于强极性的高效抗氧化剂 V_C，而且远大于弱极性抗氧化剂 V_E 的相应值，表明茶多酚清除 DPPH 自由基活性非常高。

2.2.2　清除羟自由基。SCF-CO_2 萃取茶多酚清除·OH的能力见图2。由图 2 可以看出，浓度 0.1 mg/ml 的茶多酚清除·OH的活性随着加入量的增加而增加，且其清除·OH 能力强于 V_C 尤其是 V_E。这表明茶多酚有极强的清除·OH 活性。

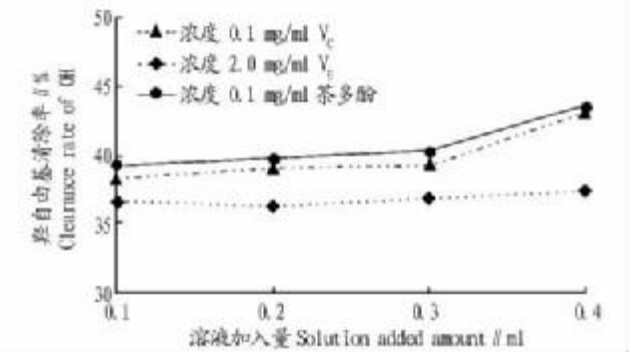

图 2　绿茶茶多酚清除·OH 的活性

Fig. 2　The activity of GTP scavenging ·OH

2.2.3　清除超氧负离子自由基。茶多酚与乙酸维生素 E 及 V_C 清除 $O_2^{-\cdot}$ 的活性 IC_{50}^2 分别为 0.54、0.62、0.03 mg/ml，而且茶多酚与 V_E 及 V_C 清除 $O_2^{-\cdot}$ 的活性都随着浓度的增加而增加。由此可见，SCF-CO_2 萃取茶多酚的清除 $O_2^{-\cdot}$ 活性稍强于 V_E 而明显弱于 V_C，只具有较强的清除 $O_2^{-\cdot}$ 能力。

从反应动力学角度看，清除 $O_2^{-\cdot}$ 的活性应与抗氧化剂传递电子的速率存在相关性，而在水溶液体系中发生氧化还原反应时，SCF-CO_2 萃取的茶多酚与 V_C 相比，在极性、水溶液中的扩散速率、分子的空间结构以及失氢后形成的醌（酮）式共轭结构的稳定性等方面存在较大差异，而导致其在氧化还原反应中电子转移速度较慢，表现为其清除 $O_2^{-\cdot}$ 活性低于 V_C 但高于只有一个酚羟基的 V_E[14-16]。

2.2.4　还原能力。在还原能力分析中，反应产物在 700 nm 处的吸光度越大，表明样品的还原能力越大。还原力与抗氧化活性存在很大的相关性，还原力越强，表明被测样品的抗氧化活性越好[11]。由图 3 可以看出，SCF-CO_2 萃取茶多酚的还原能力随着添加量的增加而增加。茶多酚的还原能力与强还原剂 V_C 基本相当而明显高于 V_E，因而 SCF-CO_2 萃取茶多酚具有非常突出的还原能力。

2.2.5　抑制猪油氧化。SCF-CO_2 萃取茶多酚抑制猪油氧化能力试验结果如图 4 所示。由图 4 可见，茶多酚抑制猪油氧化能力远大于 V_E 的相应能力，在测试期限内，猪油基本没有发生明显氧化。这说明 SCF-CO_2 萃取的茶多酚极性较弱，因而在脂质体系中依然显示出优越的溶解性和分散性，而且各茶多酚分子在抗氧化后产生的游离基间互相作用，生成新的

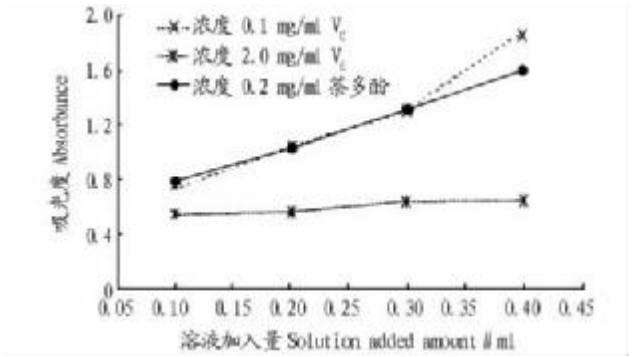

图 3　绿茶茶多酚的还原能力

Fig. 3　The reducibility of GTP

酚型化合物而继续具有抗氧化功能，加之茶多酚分子苯环上有 4～8 个羟基，使其抗氧化能力强而持久，因而茶多酚具有很强的抑制脂质体系氧化的能力[17]。

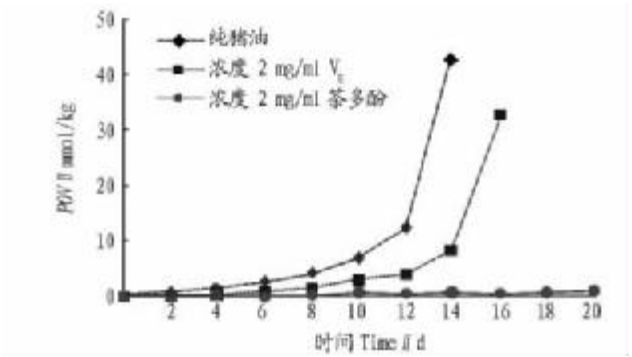

图 4　绿茶茶多酚抑制猪油氧化的能力

Fig. 4　The capacity of GTP inhibiting lard oxidation

3　结论

利用超临界 CO_2 萃取绿茶中的茶多酚，以茶多酚的提取率为目标函数（测量萃取所得茶多酚粗品），根据 Box-Behnken 设计萃取试验，得到了萃取茶多酚的 3 因素 3 水平响应面分析试验的数学模型，经过 Design-Expert 7.1 软件分析计算，该模型能够较好地模拟超临界 CO_2 萃取绿茶中茶多酚的过程，所得优化萃取工艺条件为：CO_2 压力 25 MPa、萃取温度 80 ℃、萃取时间 2.5 h，在此条件下，SCF-CO_2 可将绿茶中 47.50% 的茶多酚提取出来。SCF-CO_2 对茶叶中茶多酚的萃取受温度影响大，而在选定的压力和时间范围内对茶多酚萃取的影响相对较小，且萃取温度和时间之间有相互影响。

茶多酚的抗氧化试验结果表明，与参照物乙酸维生素 E、V_C 相比，其清除 DPPH 自由基、羟自由基的活性强于 V_E 与 V_C，具有极强的清除能力；但清除超氧负离子自由基的活性虽强于 V_E 但弱于 V_C，具有较强的清除超氧负离子自由基的活性；还原能力与 V_C 相当而远强于 V_E；并表现出优异的抑制脂质氧化能力。

参考文献

[1] 王玉春. 茶多酚的提取方法及应用研究进展[J]. 甘肃联合大学学报：自然科学版，2008，22(3)：51－55.
[2] 汪海波，谢笔钧，刘大川. 燕麦中抗氧化成分的初步研究[J]. 食品科学，2003，24(7)：62－67.
[3] 冯耀声，李军. 茶多酚的超临界萃取法研究[J]. 浙江化工，1995，26(4)：10－13.
[4] 张家骊，王洪新. 茶叶原料选择对茶多酚质量的影响[J]. 食品与机械，2000(6)：17－18.

（下转第 17066 页）

总数、挥发性盐基总氮为评价指标得出 4 种防腐剂的最佳配比分别为 $A_3B_2C_3D_1$ 和 $A_3B_2C_3D_3$。仅 EDTA-2Na 1 个因素在 2 种评价指标单独分析的情况下结果不一致，综合分析后确定的较优水平组合为 $A_3B_2C_3D_1$，即双乙酸钠 3.00%、溶菌酶 0.05%、山梨酸钾 0.30%、EDTA-2Na 0.20%。

正交试验显示，山梨酸钾对酱鸭防腐效果影响最大，山梨酸钾通过破坏酶系达到对霉菌、酵母和好气性菌的抑制作用，近年来被证实可延长肉制品的贮存期[7]，邓明等在对冷却肉保鲜的研究中发现，EDTA-2Na 和山梨酸钾存在显著的交互效应[8]，与试验结果一致。

多项研究[9]显示，溶菌酶与其他防腐剂复配后处理肉制品可取得较好的保鲜效果，该试验也证实了溶菌酶与其他防腐剂复配后在酱鸭保鲜中作用显著。

结合真空包装处理酱鸭可以抑制需氧菌的生长，但却对乳酸菌（主要是乳酸杆菌）和明串珠菌属中的同型发酵种的生长有利[10]。目前一致认为真空包装肉类的主要优势菌为乳酸杆菌[11]，中山梨酸钾、双乙酸钠均为广谱抑菌剂，溶菌酶对革兰氏阳性菌（含乳酸杆菌）有强分解作用[12]，EDTA-2Na 可作为螯合剂联合其他防腐剂对革兰氏阴性菌、革兰氏阳性菌及真菌起到防腐作用[13]。正交试验中，9 组经复配防腐剂处理后的酱鸭在 37 ℃恒温贮藏到第 7 天时均符合 GB2726-2005 熟肉制品卫生标准，防腐效果明显高于单一防腐剂处理。

2.3 复合防腐验证试验 采用双乙酸钠 3.00%、溶菌酶 0.05%、山梨酸钾 0.30%、EDTA-2Na 0.20% 对香酥酱鸭进行复合防腐，做 3 个平行样进行验证试验，37 ℃恒温贮藏 7 d 时的检测如下：细菌总数 3.24×10^4 cfu/g，挥发性盐基氮 2.90 mg/100 g，优于正交试验中的最优水平（表 3）。

3 结论

常熟特产香酥酱鸭属低温禽肉制品，在煮制后通过复合防腐剂浸泡结合真空包装进行处理后，在 37 ℃恒温贮藏 7 天仍符合国家标准，货架期明显提高。通过正交试验获得了 4 种防腐剂的最佳复配比例，正交试验及验证试验研究结果均表明，复配使用后防腐效果增强，通过防腐剂之间的复配能发挥防腐剂的互补增效作用[14]，有效地抑制酱鸭中细菌总数、TVB-N 值的上升，从而达到防腐保鲜的目的。防腐剂在复配使用有用量少、效果好的优点。有关防腐剂复配使用的稳定性、对食品感官的影响及在其他肉类产品的应用方面还有待进一步深入研究。

表 3 复合防腐验证试验结果

Table 3 Results of compound preservative confirmatory experiment

组号 Group No.	细菌总数//1×10^4 cfu/g Total bacteria	TVB-N 值//mg/100 g TVB-N value
1	3.25	2.85
2	3.31	2.93
3	3.15	2.91
平均值 Mean	3.24	2.90

参考文献

[1] 郝敬敏，赵霞，马俪珍. 羊肉干贮藏效果的研究[J]. 肉类工业，2001，243(8)：31－33.
[2] 刘树立，王春艳，邹忠义. 纳他霉素的研究现状及其在肉类工业中的应用[J]. 肉类研究，2007(11)：8－11.
[3] 孙卫青. 几种天然香辛料抑菌性能的研究[J]. 湖北农学院学报，2004，24(3)：207－209.
[4] 宋彦梅，尹秋响，王静康. 甘氨酸的应用及生产技术[J]. 氨基酸和生物资源，2003，25(2)：55－60.
[5] 王晓玲. 甲壳素和壳聚糖在食品工业中应用的新进展[J]. 食品研究与开发，2007，28(10)：163－166.
[6] 宁初光，曾庆孝，吴小勇，等. 壳聚糖在月饼保鲜中的应用[J]. 食品工业科技，2006(2)：170－173.
[7] 黄文，蒋予箭，汪志君，等. 食品添加剂[M]. 北京：中国计量出版社，2006：121－123.
[8] 邓明，哈益明，严奉伟，等. NISIN、EDTA-2NA 和山梨酸钾在冷却肉贮藏保鲜中的交互效应分析[J]. 食品科技，2005(9)：66－70.
[9] 王燚，郭淑珍，张淑芹. 溶菌酶及其在肉制品保鲜中的应用[J]. 肉类研究，2007，100(6)：44－47.
[10] 郑海鹏. 肉类腐败微生物[J]. 肉类研究，2008(8)：54－59.
[11] 孙承锋，戴瑞彤，曲富春，等. 微生物与肉类食品的腐败[J]. 肉类研究，2001(1)：32－35.
[12] 陈艳，江明锋，叶煜辉. 溶菌酶的研究进展[J]. 生物学杂志，2009，26(2)：64－66，.
[13] 郭新竹，宁正祥，胡新宇，等. 食品防腐剂作用机理的研究进展[J]. 食品科技，2001(5)：40－42.
[14] 罗傲霜，淳泽，罗傲雪，等. 食品防腐剂的概况与发展[J]. 中国食品添加剂，2005(4)：55－58.

（上接第 17063 页）

[5] 于基成，金莉，薄尔琳，等. 超临界 CO_2 萃取技术在茶多酚提取中的应用[J]. 食品科技，2007(1)：85－87.
[6] 王小梅，黄少烈，李俊华. 茶多酚的提取工艺[J]. 广州化工，2001，29(4)：27－29.
[7] MAGNUS B O ANDERSSON，MUSTAFA DEMIRBIIKER，LARS G BLOMBERG. Semi-continuous extraction/purification of lipids by means of supercritical fluids[J]. Journal of Chromatography A，1997，785：337－343.
[8] 杨贤强，王岳飞，陈留记，等. 茶多酚化学[M]. 上海：上海科学技术出版社，2003：471－472，500.
[9] 曹优明，郑仕远. 茶多酚的制备新方法[J]. 应用化工，2002，31(5)：8－10.
[10] 王丽珠，吴棱，姚元根，等. 酒石酸亚铁分光光度法测定茶多酚[J]. 光谱实验室，1997，14(3)：52－54.
[11] 贾俊强，马海乐，曲文娟，等. 超声预处理大米蛋白制备抗氧化肽[J]. 农业工程学报，2008，24(8)：288－293.
[12] 玄红专，桑青，麻建军. 邻苯三酚自氧化法测定不同蜂产品抗氧化活性的研究[J]. 食品科技，2008(4)：137－139.
[13] ILHAMI GÜLCIN. Comparison of in vitro antioxidant and antiradical activities of L-tyrosine and L-Dopa[J]. Amino Acids，2007，32：431－438.
[14] 金春英，张小勇，崔胜云. DPPH 及邻苯三酚法对牛蒡和小根蒜提取液及其他抗氧剂的清除自由基能力的比较研究[J]. 延边大学学报：自然科学版，2008，34(1)：43－46，61.
[15] 张红雨，陈德展. 酚类抗氧化剂清除自由基活性的理论表征与应用[J]. 生物物理学报，2000，16(1)：1－9.
[16] 熊正英，张全江. 维生素 C 抗氧化作用及其在运动中的应用[J]. 陕西师范大学学报：自然科学版，1998，26(4)：109－112.
[17] 黎伟，边连全，王昊，等. 茶多酚的抗氧化机理及其在畜牧业中应用的前景[J]. 饲料工业，2007，28(1)：57－59.