

文章编号:1001-6880(2016)12-1952-07

儿茶素异构化的促进和抑制因素研究

张丹,许兰,唐李俊,李博,屠幼英*

浙江大学茶学系,杭州 310058

摘要:本文探究高温灭菌条件下,不同时间和 pH 值,四种茶多酚样品的异构化情况,以及维生素 C、没食子酸和柠檬酸三者抗儿茶素异构化情况。结果表明,pH 值在 5.0~5.5 时,高压灭菌 20 min 内,儿茶素主要发生异构化反应,其产物随时间增多。维生素 C 抑制儿茶素异构化的最佳浓度是 0.1 mg/mL,柠檬酸在大于 0.3 mg/mL 时显著抑制儿茶素异构化,没食子酸对儿茶素异构化抑制效果最佳,且具有剂量效应。此外,本实验还研究了常温高压和低温(60 °C)负压对儿茶素稳定性的影响,结果显示儿茶素并不受压强大小的影响,温度是影响儿茶素稳定的重要因素。

关键词:表型儿茶素;非表型儿茶素;维生素 C;没食子酸;柠檬酸

中图分类号:R285

文献标识码:A

DOI:10.16333/j.1001-6880.2016.12.018

Promotion and Inhibitory Factors on Isomerization of Tea Catechins

ZHANG Dan, XU Lan, TANG Li-jun, LI Bo, TU You-ying*

Department of Tea Science, Zhejiang University, Hangzhou 310058, China

Abstract:Four different samples of tea polyphenols were used for studying isomerization of tea catechins undergoing various time processes and pH conditions during high temperature sterilization. The inhibitory function of vitamin C, gallic acid, citric acid on isomerization of tea catechins were also studied. The results indicated that the optimal concentration of vitamin C inhibiting isomerization of catechins was 0.1 mg/mL, while citric acid significantly inhibited isomerization of catechins when the concentration was over 0.3 mg/mL, and gallic acid dose-dependently inhibited the isomerization of catechins and showed highest potential activity among three compounds. Besides, the stability of tea catechins was also studied during an ambient temperature and high pressure condition or a low temperature(60 °C) and negative pressure condition. The results indicated the pressure showed no effect on the stability of catechins while temperature was an important factor on that.

Key words:epicatechins; nonepicatechins; vitamin C; gallic acid; citric acid

儿茶素是以 α -苯基苯并吡喃为结构基础的类黄酮化合物,具有良好的抗氧化、防辐射、抗过敏、抑菌、抗病毒、抗肿瘤等功效^[1]。一般茶叶中分离的儿茶素主要为表型儿茶素^[2],占儿茶素总量的 70% 左右^[3]。由于儿茶素的 C 环是吡喃环,C2 和 C3 上的不同取代基(氨基、羟基、苯基)的空间位置不同,能构成几何异构体,顺式化合物通过异构转化为对应的非表型儿茶素^[4]。研究者发现茶饮料中,非表型儿茶素含量高于表型儿茶素,其中 GCG 占了总儿茶素的 45% 以上^[5]。可能在茶汤浓缩、干燥等工艺中,高温导致儿茶素发生降解和异构。活性氧条件下,儿茶素同时发生异构和过氧化物中介自然氧化反应,异构化、降解和氧化三者共同作用致使以

GCG 为主的非表型儿茶素比例均有所增加^[6,7]。

目前,大量研究比较表型儿茶素和非表型儿茶素的生物活性,非表型儿茶素的活性在一定条件下并不低于表型儿茶素^[8]。茶叶加工中,儿茶素异构化甚至有利于其抗氧化、抗突变和抑制脂质过氧化等活性^[9-12]。本文研究了高温灭菌条件下,时间、pH 值、压力、温度对儿茶素异构化的影响情况。此外,本文还比较了维生素 C、没食子酸和柠檬酸抗儿茶素异构化作用效果,探究没食子酸护儿茶素稳定性的作用。为茶叶加工中通过对儿茶素异构化调节,发挥各儿茶素活性优势提供理论依据。

1 材料与仪器

四款茶多酚样品 A、B、C、D,儿茶素含量分别占 40%、50%、70% 和 90%。咖啡碱(Caffeine)标准品

(Mitsui NorinCo. Ltd, Japan) 和八种儿茶素单体, 即表没食子儿茶素没食子酸酯(Epigallocatechingallate, EGC)、表没食子儿茶素(Epigallocatechin, EGC)、表儿茶素没食子酸酯(Epicatechingallate, ECG)、表儿茶素(Epicatechin, EC)、没食子儿茶素没食子酸酯(Gallocatechingallate, GCG)、没食子儿茶素(Gallocatechin, GC)、儿茶素没食子酸酯(Catechingallate, CG)、儿茶素(Catechin, C)。抗坏血酸(Vitamin C, VC)、没食子酸(Gallic acid, GA)、柠檬酸(Citric acid, CA)、冰醋酸、乙腈、乙醇均为分析纯, 10 mol/L 的盐酸, 超纯水。

MLS-3750 高压蒸汽灭菌锅(Tega Sanyo Industry Co., Ltd. Tottori, Japan), LC-2010 型高效液相色谱仪(Shimadzu Corporation), 2-HS 型高速冷冻离心机(Beckman Coulter, Inc.), AL104 型电子天平(Mettler-Toledo International Inc.), KQ-500E 型超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司), 超高压等静液压机(杭州德科液压动力科技有限公司), RE-52AA 型旋转蒸发器(上海亚荣生化仪器厂)。

2 实验方法

2.1 茶多酚样品含量测定

将4种茶多酚样品A、B、C、D配制成3 mg/mL的茶样溶液, 待用。儿茶素各单体及咖啡碱含量测定采用岛津LC-2010A高效液相色谱仪HPLC检测^[13], 色谱柱为5 μm, 250×4.6 mm, Diamonsil C18柱, SPD-10A可变波长检测器检测, 检测波长280 nm。样品液相分析采用梯度洗脱, 洗脱液由A、B两相组成, 其中流动相A:水/乙腈/乙酸=96.5:3:0.5(v:v:v), 流动相B:水/乙腈/乙酸=69.5:30:0.5(v:v:v)。A相由70%到15%, B相由30%到85%, 共45 min, 流速1.0 mL/min, 柱温为15 °C。

2.2 温度对儿茶素稳定性的影响

取配制好的A、B、C、D茶样溶液5 mL置于10 mL的具塞试管, 120 °C下高温灭菌不同时间(5、10、15、20、30、45、60 min), 冷却至室温, 液相测定儿茶素含量。

2.3 压力对儿茶素稳定性的影响

(1)高压对儿茶素稳定性的影响: 将配制好的A、B、C、D茶样溶液放在超高压等静液压机中, 调节压力分别为100、200、300、400、500 MPa, 在60 °C下反应20 min, 测定儿茶素含量。将茶样溶液放在超高压等静液压机中, 调节压力于400 MPa下分别反

应10、20、30 min, 测定儿茶素含量。

(2)低压对儿茶素稳定性的影响: 将配制好的A、B、C、D茶样溶液在60 °C下保持负压-0.1 MPa旋转蒸发0.5、1、2 h, 恢复到初始体积。分别测定儿茶素含量, 设置对照为60 °C常压(水浴静置0.5、1、2 h)。

2.4 VC、GA 和 CA 对儿茶素稳定性的影响

取配制好的A、B、C、D茶样溶液各5 mL置于10 mL的具塞试管, 分别添加VC、GA和CA至浓度为0.003、0.03、0.1、0.3 mg/mL和1 mg/mL, 设置未添加添加剂且未经高压处理的样品溶液为对照组。120 °C下20 min, 冷却至室温, 测定各体系中EGCG和HCG的含量变化, 高温高压处理后的VC和GA余量比较和各溶液反应前后的pH值。

2.5 pH值对儿茶素稳定性的影响

取配制好的A、B、C、D茶样溶液各5 mL置于10 mL的具塞试管, 分别使用1 mol/mL的盐酸和柠檬酸, 分别调节pH至2、2.5、3、3.5、4、4.5、5, 120 °C高温灭菌20 min, 冷却至室温, 测定儿茶素含量和各溶液反应前后的pH值。

2.6 数据处理

实验数据均采用均数±标准差(mean±SD)表示, 应用SAS 9.1软件进行统计分析, 方差分析显著性多重比较采用Duncan's法进行, $P > 0.05$ 表示无统计学意义, $P < 0.05$ 表示有统计学差异, $P < 0.01$ 表示统计学差异有显著性。

3 结果与分析

3.1 温度对儿茶素异构化的影响

120 °C高温灭菌条件下, 四个样品的儿茶素含量随时间变化如图1所示。

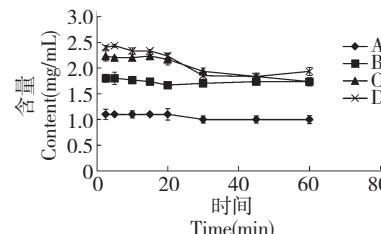


图1 四种茶多酚样品中儿茶素总量的变化

Fig. 1 The content variation of total catechins in the 4 tea polyphenols samples

由图1可知, 儿茶素含量不同的样品在高温高压下的反应不尽相同。从儿茶素总量上看, 20 min

内,儿茶素总量均保持稳定;40 min 后,茶多酚样品 C 和 D(初始儿茶素含量分别为 70% 和 90%)的儿茶素含量出现明显下降,儿茶素总量损失最高达 25%,而儿茶素含量低的茶多酚样品 A 和 B(初始儿茶素含量分别为 40% 和 50%)在 60 min 内基本保持稳定。

对比 A、B、C、D 四个茶多酚样品中的 GCG 和

EGCG 含量随时间的变化,结果如表 1 所示。20 min 内,EGCG 逐渐转化为 GCG,但是两者的总量相对稳定,具有良好的此增彼减的对应关系,说明这段时间内主要为儿茶素的异构化反应;20 min 后,虽然 EGCG 仍有部分转化为 GCG,但是高儿茶素含量的样品 C 和 D 中两者总量开始减少;反应 60 min 时,EGCG 和 GCG 总量减少了约 25%。

表 1 四种茶多酚样品中 EGCG 和 GCG 含量变化

Table 1 The content variation of EGCG and GCG in the 4 tea polyphenols samples

含量 Content (mg/mL)		时间 Time (min)							
		0	5	10	15	20	30	45	60
A	EGCG	0.53 ± 0.00	0.47 ± 0.02	0.36 ± 0.00	0.41 ± 0.01	0.37 ± 0.03	0.35 ± 0.03	0.32 ± 0.01	0.21 ± 0.00
	GCG	0.04 ± 0.04	0.14 ± 0.00	0.18 ± 0.02	0.11 ± 0.02	0.13 ± 0.06	0.13 ± 0.02	0.15 ± 0.01	0.22 ± 0.03
B	EGCG	0.76 ± 0.00	0.71 ± 0.01	0.68 ± 0.08	0.71 ± 0.05	0.68 ± 0.08	0.64 ± 0.04	0.63 ± 0.21	0.43 ± 0.25
	GCG	0.12 ± 0.02	0.13 ± 0.13	0.15 ± 0.15	0.13 ± 0.13	0.14 ± 0.12	0.20 ± 0.12	0.18 ± 0.14	0.37 ± 0.11
C	EGCG	1.34 ± 0.04	1.28 ± 0.08	1.20 ± 0.02	1.17 ± 0.07	1.17 ± 0.07	1.15 ± 0.15	1.12 ± 0.12	0.60 ± 0.08
	GCG	0.27 ± 0.02	0.36 ± 0.06	0.40 ± 0.04	0.32 ± 0.08	0.23 ± 0.12	0.28 ± 0.05	0.26 ± 0.06	0.59 ± 0.14
D	EGCG	1.66 ± 0.09	1.60 ± 0.00	1.45 ± 0.13	1.51 ± 0.09	1.51 ± 0.09	1.19 ± 0.06	1.16 ± 0.13	0.87 ± 0.07
	GCG	0.29 ± 0.01	0.33 ± 0.03	0.25 ± 0.09	0.31 ± 0.11	0.20 ± 0.20	0.26 ± 0.09	0.29 ± 0.09	0.61 ± 0.11

图 2(a~d)分别表示了四个茶多酚样品在高温高压反应中酯型儿茶素、非酯型儿茶素和 GA 含量随时间变化的变化。由图 2 可发现,反应 20 min 内,酯型儿茶素和非酯型儿茶素具有良好的此增彼减

减的对应关系,即酯型儿茶素减少,非酯型儿茶素增多,水解反应仅占儿茶素变化的 10% 以下。随着时间延长,由图 3a 可以发现,没食子酸含量逐渐增多,说明水解反应显著发生。

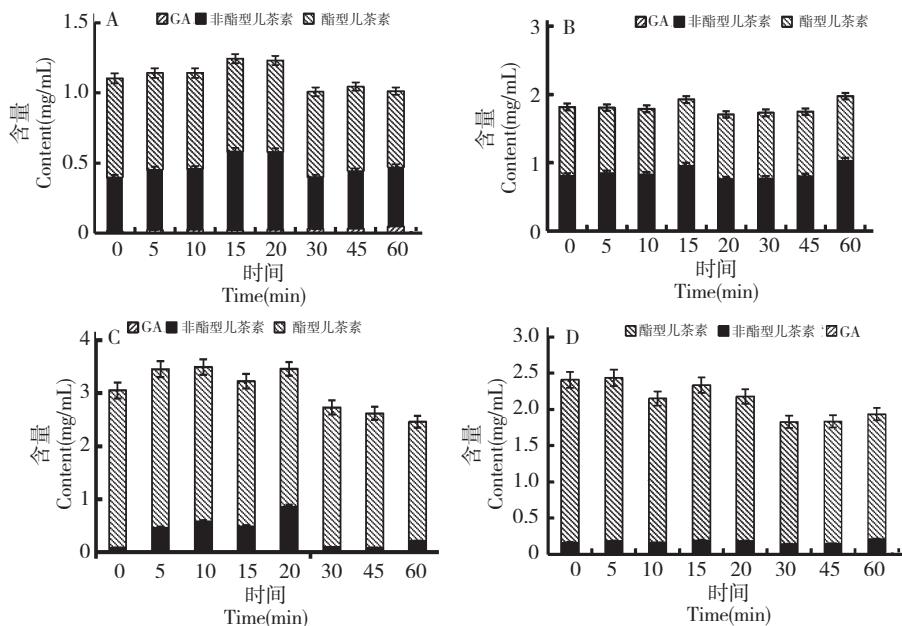


图 2 四种茶多酚样品中酯型儿茶素与非酯型儿茶素含量变化

Fig. 2 The content variation of galloylatedcatechins and non-galloylatedcatechinsin the 4 tea polypenols samples

由于儿茶素的异构化反应只在成对的异构体内

部发生转化,并不影响儿茶素总量;水解反应是指在

成对的酯型儿茶素和非酯型儿茶素之间转化,也不会影响儿茶素总量变化;所以可以推断在长时间的高温作用下,儿茶素还发生了显著的氧化反应,从而导致儿茶素总量的降低,且儿茶素氧化程度随时间增多。同时,由实验结果推知 20 min 是儿茶素异构化反应占主导的极限时间,即控制高温反应在 20 min 内,可以制备不同比例儿茶素组成并保持总量不变。

3.2 压力对儿茶素稳定性的影响

考虑到 120 °C 高温灭菌条件对儿茶素异构化的影响存在压力对其的影响因素,本文探究了 60 °C 常温时,不同压力(0、100、200、300、400、500 MPa)对儿茶素各组分含量的影响,其结果如图 3 所示。图 4 表示在 400 MPa 条件下,儿茶素各组分含量随时间的变化。

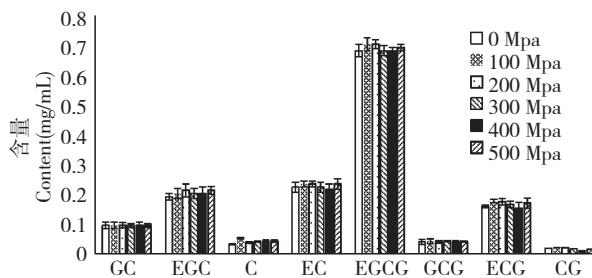


图 3 不同压力对儿茶素各组分含量的影响

Fig. 3 The effect of different pressures on the content of catechins

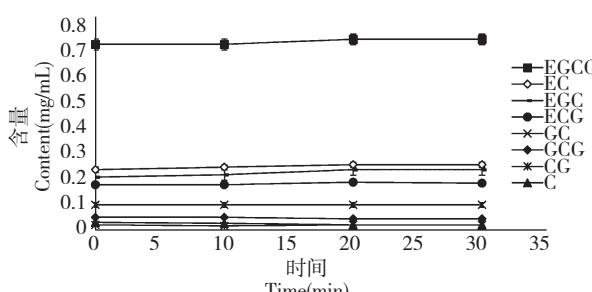


图 4 400 MPa 条件下儿茶素各组分含量随时间的变化

Fig. 4 The content variations of different catechins under 400 MPa pressure over time

由图 3、4 发现,常温超高压作用下,时间和压力均不影响儿茶素的稳定性。高温产生水蒸汽形成的高压,超高压等静液压机通过液体产生的高压对儿茶素的异构化几乎没有影响。由此推断高温高压下,儿茶素的不稳定及异构化主要由于是热作用所引起。

在茶饮料加工中,常采取低温旋转蒸发等工艺对茶汤进行浓缩。本文在图 5 中对比了 120 min 和 60 min 时,60 °C 下常压和负压分别对儿茶素各组分含量影响,其中 CK 组表示为茶多酚溶液未经任何处理。结果显示,120 min 内,四组实验组相对于 CK 组,儿茶素各组分含量基本没有变化。由此可以推断,在茶叶浓缩过程中,负压对儿茶素的异构化作用几乎没有影响,不会使儿茶素的品质发生明显变化的。

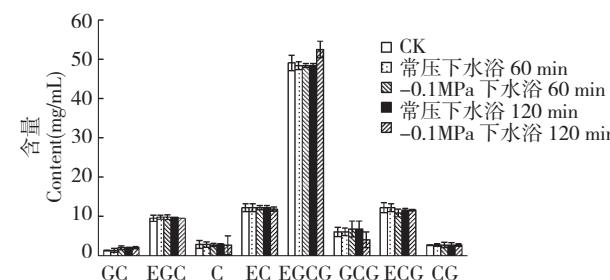


图 5 60 °C 条件下时间和压力对儿茶素各组分含量的影响

Fig. 5 The effect of time and pressure on content of different catechins under 60 °C

3.3 VC、GA 和 CA 对儿茶素稳定性的影响

本文分别选取了抗坏血酸(VC)、没食子酸(GA)和柠檬酸(CA)三种添加剂,探究了不同添加浓度的 VC、GA 和 CA 对儿茶素稳定性的影响,结果如图 6 所示。横坐标表示添加浓度,纵坐标则表示处理样相对于对照样的 EGCG 和 GCG 的变化量,即为 EGCG 的减少量和 GCG 的增加量。

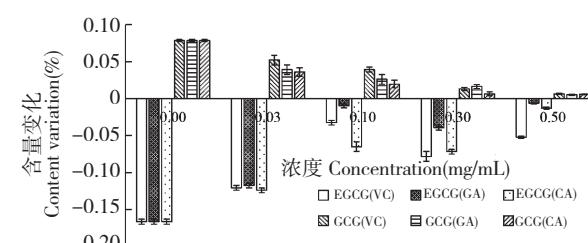


图 6 不同添加浓度的 VC、GA 和 CA 对溶液中 EGCG 和 GCG 含量的影响

Fig. 6 The effect of different concentrations of VC, GA and CA on the content of EGCG and GCG in the tea polyphenol solutions

由图 6 可知,CA 和 GA 对儿茶素异构化的抑制作用在考察浓度范围内具有明显的剂量效应,即添加的浓度越高,EGCG 与 GCG 的变化量越小,即抑制儿茶素异构化效果越好。浓度在 0.3 ~ 0.5 mg/

mL 时,80% 以上的异构化反应被抑制。但对于 VC 而言,浓度为 0.1 mg/mL 时抑制儿茶素异构化效果最佳,过高的浓度反而不利于其保护儿茶素稳定。

如图 6 所示,VC 抑制儿茶素异构化作用效果不及 CA 和 GA。Komatsu Y 等、Chen ZY 等都提及了 VC 对儿茶素的异构化的抑制作用具有剂量效应,即添加浓度越高,抑制儿茶素异构化效果越好^[3,14]。也有研究表明,短时间内 VC 保护儿茶素,但经过一段时间后,反而加速儿茶素的降解。据报道,VC 的降解产物会与儿茶素发生聚合反应,从而降低儿茶素的稳定性。众多研究说明 VC 对儿茶素稳定的保护作用具有浓度和时间局限性^[15]。

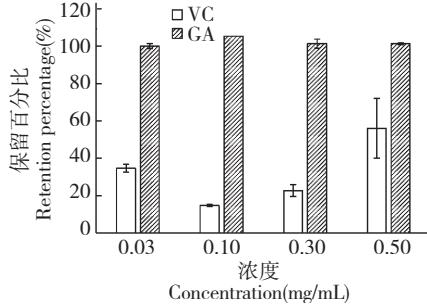


图 7 添加不同浓度的 VC 和 GA 溶液经高温高压处理的 VC 和 GA 的含量保留百分比

Fig. 7 The retention percentage of VC and GA under treatment of high temperature and pressure

根据图 7 可知,GA、CA 和 VC 的添加量为 0.5 mg/mL 时,溶液中酯型儿茶素减少量分别为 2.68%、3.43% 和 7.32%。本文选用添加不同浓度的 VC 和 GA 的茶多酚溶液,对比高温高压处理反应前后 VC 和 GA 的含量,结果如图 7 所示。处理后的 VC 含量减少 50% 以上,但 GA 的含量几乎没有变。由于 GA 是降解反应的产物且在反应体系中较稳定,可以逆向推动酯型儿茶素向非酯型儿茶素的转化反应。而 VC 在高温灭菌的过程中,自身也发生了氧化分解。所以,GA 对儿茶素具有明显的保护优势。

3.4 pH 值对儿茶素稳定性的影响

考虑到高浓度 CA 抑制儿茶素异构的效果显著优于 VC,可能是由于反应溶液的 pH 值的降低所引起。测定添加不同添加剂相应浓度的茶多酚溶液反应前后的 pH 值,结果如表 2 所示。添加比较低浓度的 CA、VC 和 GA 三种添加剂,添加前后溶液的 pH 值差别不大;当添加浓度高于 0.1 mg/mL 时,溶液的 pH 值大小为 CA < VC < GA,此时添加剂开始对儿茶素稳定性起显著保护作用;当 CA 的添加浓度达到 0.3 mg/mL 以上时,溶液的 pH 值明显降低,由此推测 pH 值的变化可能是高温高压下保护儿茶素稳定性的重要因素。

表 2 茶多酚溶液随不同添加浓度的 VC、GA 和 CA 的 pH 值变化

Table 2 The pH variations of the tea polyphenol solutions with different concentrations of VC, GA and CA

浓度 Concentration (mg/mL)	0	0.03	0.1	0.3	0.5
pH (CA)	5.16	4.98	4.5	3.96	3.64
pH (VC)	5.16	4.95	4.61	4.25	4.06
pH (GA)	5.16	4.96	4.67	4.3	4.14

本文分别使用盐酸和柠檬酸调节茶多酚溶液的 pH 值,测定不同 pH 值体系的茶多酚溶液,经过 120 ℃ 高温灭菌 20 min 后的儿茶素和 pH 值变化。各溶

液反应前后的 pH 值结果如表 3 所示。由表 3 可见,溶液的 pH 值在反应前后没有发生明显的变化,实验的比较因素 pH 值较稳定,误差小。

表 3 不同 pH 值体系的茶多酚溶液经高温灭菌后的 pH 值变化

Table 3 The pH variations of the tea polyphenol solutions with different original pH values after high temperature sterilization

pH 值							
反应前(加 HCl)	2.01	2.48	3.05	3.57	3.95	4.57	5.53(未添加 HCl 茶汤)
反应后(加 HCl)	2.02	2.45	3.07	3.62	3.99	4.63	5.15(未添加 HCl 茶汤)
反应前(加 CA)	-	2.49	2.96	3.49	3.97	4.45	5.39(未添加 CA 茶汤)
反应后(加 CA)	-	2.47	2.94	3.52	3.98	4.43	5.16(未添加 CA 茶汤)

对比柠檬酸(CA)调节pH值的茶多酚溶液体系中ECG和CG的含量变化、EGCG和GCG的含量变化,分别如图8、9所示;盐酸调节pH值的茶多酚溶液体系中EGCG和GCG的含量变化,如图10所示,其中pH 5.5的溶液即为茶多酚原溶液。由图8~10可见,当pH > 4.0时,有利于异构化反应的推进,pH越大,儿茶素异构化越明显。当pH < 3.0时,儿茶素的减少量尤其是EGCG的减少量显著增加,且pH值越小,EGCG损失量越大。

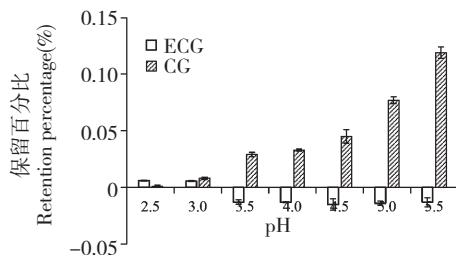


图8 柠檬酸调节的不同pH值的茶多酚溶液中ECG和CG含量

Fig. 8 The content of ECG and CG in the CA-regulated tea polyphenol solutions with different original pH values

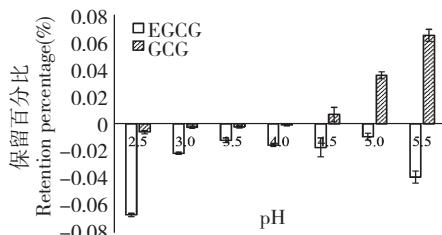


图9 柠檬酸调节的不同pH值的茶多酚溶液中EGCG和GCG含量

Fig. 9 The content of EGCG and GCG in the CA-regulated tea polyphenol solutions with different original pH values

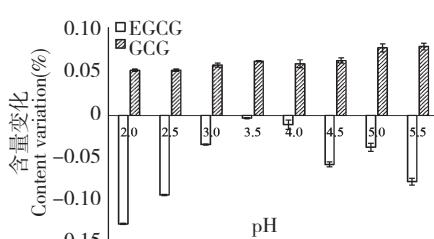


图10 盐酸调节的不同pH值的茶多酚溶液中EGCG和GCG含量

Fig. 10 The content of EGCG and GCG in the HCl-regulated tea polyphenol solutions with different original pH values

pH值是影响儿茶素稳定性的重要因素。由图8可知,当pH介于3~4之间时,有利于儿茶素稳定性的保持,pH 5~6时儿茶素的异构化反应占主导优势。这与Seto等指出的制备儿茶素异构体的最佳反应条件吻合^[16]。无论是表型儿茶素还是非表型儿茶素,都没有发生明显变化。由此推知,过低的pH可能导致儿茶素的降解、聚合、氧化等反应。这与陈利燕等人的报道吻合^[17]。由图6可知,接近的pH值,如CA(0.3 mg/mL)和VC(0.5 mg/mL)比较,对于儿茶素稳定性的保持前者亦优于后者,本文推测CA对儿茶素稳定性的保护还在于柠檬酸根离子可以减少溶液里的离子影响。

4 结论

目前大量研究证明EGCG是茶儿茶素中活性最强的成分,但非表型儿茶素的活性在一定条件下并不低于表型儿茶素,甚至有明显优势。Guo等用ESR技术发现低浓度时,非表型儿茶素清除自由基能力强于其对应的表型儿茶素^[18]。杨贤强等研究比较低浓度时,GCG对光照血卟啉所产生的的清除效果优于EGCG。此外,非表型儿茶素对脂质过氧化抑制能力也稍强于表型儿茶素^[19]。在茶叶制品中,合理控制反应体系的温度、pH值等因素,有助于调配表型和非表型儿茶素的比例,可充分发挥各类儿茶素的优势。

本文通过实验发现表型儿茶素异构为非表型儿茶素,主要与反应体系温度、pH值及离子浓度等相关,与压强无关,高压所引起的高温是影响儿茶素稳定性的重要因素。120 °C高压灭菌20 min内,控制儿茶素溶液pH值为5.0~5.5,儿茶素以异构化反应为主导反应,20min后儿茶素发生更多的是氧化反应。

高温高压下,CA、GA和VC具有抗儿茶素异构化作用。VC浓度为0.1 mg/mL时抑制儿茶素异构化效果最佳,过高的浓度反而不利于其保护儿茶素的稳定性,对儿茶素稳定性的保护作用具有浓度和时间局限性。高浓度CA显著降低溶液pH值,较VC具有更加的保护儿茶素稳定性作用。GA作为酯型儿茶素的水解产物,可以推动反应逆向进行,更有利于保持儿茶素的稳定。可以考虑在今后的茶饮料中添加GA作为儿茶素的保护添加剂。

参考文献

- Saffari Y, Sadrzadeh SMH. Green tea metabolite EGCG pro-

- tects membranes against oxidative damage *in vitro*. *Life Sci*, 2004, 74:1513-1518.
- 2 Zhang YL(仇燕嵘), Li N(李楠), Han GZ(韩国柱), et al. Advance of researches on epigallocatechingallate. *Chin Tradit Herb Drugs*(中草药), 2006, 37:303-306.
- 3 Wan XC(宛晓春). Tea biochemistry(茶叶生物化学). Beijing: China Agricultural Press, 2003:234-245.
- 4 Yang XQ(杨贤强). Chemistry of tea polyphenols(茶多酚化学). Shanghai: Shanghai Science and Technology Press, 2003.3-8.
- 5 Chen Z, Zhu QY, Tsang D, et al. Degradation of green tea catechins in tea drinks. *J Agric Food Chem*, 2001, 49:477-482.
- 6 Wang R, Zhou W, Jiang X. Reaction kinetics of degradation and epimerization of epigallocatechingallate (EGCG) in aqueous system over a wide temperature range. *J Agric Food Chem*, 2008, 56:2694-2701.
- 7 Wang J(王静), Qi XY(戚向阳). Factors affecting *in vitro* oxidation of epigallocatechin-3-gallate and analysis of its oxidation products. *Fine Chem*, 2006, 23:1094-1098.
- 8 Shen SR(沈生荣), Zhao BL(赵保路). Study on the scavenging effects of EGCG and GCG on singlet oxygen with ESR method. *J Tea Sci*(茶叶科学), 2000, 20(01):19-21.
- 9 Zhao J(赵洁), Tian QW(田庆伟). Advancement of studies on anticarcinogenesis mechanisms of green tea catechin. *China Food Addit*(中国食品添加剂), 2003, 2:26-28.
- 10 Li DX(李大祥), Wan XC(宛晓春), Yang CJ(杨昌军), et al. Oxidation mechanism of tea catechins. *Nat Prod Res Dev*(天然产物研究与开发), 2006, 18:171-181.
- 11 Fan YJ(范远景), Akihiro O(小原章裕), Tsugio M(松久次雄). Effects of isomeric catechines on antimutagenicity of roasted tea. *J Huazhong Agric Univ*(华中农业大学学报), 2002, 21:387-391.
- 12 Makoto K, Tomonori U, Yuko S, et al. Heat-epimerized tea catechinshave the same cholesterol-lowering activity as green tea catechins in cholesterol-fed rats. *Agric Biol Chem*, 2005, 69:2455-2458.
- 13 Tu YY(屠幼英), Liang HL(梁慧玲), Chen X(陈暄), et al. Analysis of catechins and organic acids in compressed teas. *J Tea*(茶叶), 2002, 28(1):22-24.
- 14 Komatsu Y, Suematsu S, Hisanobu Y, et al. Effects of pH and temperature on reaction kinetics of catechins in green tea infusion. *Biosci Biotechnol Biochem*, 1993, 57:907-910.
- 15 Xu Y(徐懿), Tu YY(屠幼英), Zhong XY(钟小玉). Review on epimerization of tea catechins. *Chin Tradit Herb Drugs*(中草药), 2008, 39:1106-1109.
- 16 Seto R, Nanjo FHY, Nakamura H. Preparation of epimers of tea catechins by heat treatment. *Biosci Biotechnol Biochem*, 1997, 61:1434-1439.
- 17 Chen LY(陈利燕), Tu YY(屠幼英), Chen X(陈暄), et al. A study on the stability of catechins under acidic conditions. *J Tea*(茶叶), 2004, 28(2):86-88.
- 18 Guo Q, Zhao B, Shen S, et al. ESR study on the structure-antioxidant activity relationship of teacatechins and their epimers. *Biochimica Et Biophysica Acta*, 1999, 1427:449-452.
- 19 Kobayashi M, Unno T, Suzuki Y, et al. Heat-epimerized tea catechins have the same cholesterol-lowering activity as green tea catechins in cholesterol-fed rats. *Biosci Biotechnol Biochem*, 2005, 69:2455-2458.

(上接第 2010 页)

- 11 Shin TY, Lee KB, Kim SH. Anti-allergic effects of *Sanguisorba officinalis* on animal models of allergic reactions. *Immunopharmacol Immunotoxicol*, 2002, 24:455-468.
- 12 Nie QS(聂奇森). The research of antiallergic ingredient of *Ramuluscinnamomi*. Nanning: Guangxi University (广西大学), PhD. 2008.
- 13 Lin YW(林燕文). Study on the antibacterial effect of elephantopustomentosus to common bacteria. *Hubei Agric Sci*(湖北农业科学), 2011, 5:955-957.
- 14 Fang F(方芳), Zhang H(张恒), Jia JB(贾建波), et al. Antimicrobial effect of 7 kinds of Chinese medicine decoction. *Jiangsu Agric Sci*(江苏农业科学), 2013, 2:265-268.
- 15 Pape WJ, Pfannenbecker U, Argembeaux H, et al. Colipa validation project on *in vitro* eye irritationtests for cosmetic ingredients and finished products (phase I):the red blood cell test for the estimation of acute eye irritation potentials. *Toxicol In Vitro*, 1999, 13(2):343-354.
- 16 Liu S(刘肃), He HH(何华红), Qi LL(戚莉莉). Preliminary study on red blood cell hemolysis test of draize alternatives. *China Med Pharm*(中国医药科学), 2015, 16:188-190.
- 17 Ao HY(敖华英), Cheng SJ(程树军), Tan WJ(谈伟君). Comparison of hemolysistests instead of eye irritationtesting in different mammals. *Chin J Tissue Eng Res*(中国组织工程研究), 2012, 12:2163-2166.
- 18 Deng P, Zhang GQ, Zhou B, et al. Extraction and *in vitro* antioxidant activity of intracellular polysaccharide by *Pholiota adipose SX-02*. *J Biosci Bioeng*, 2011, 111(1):50-54.
- 19 Finkel T, Holbrook NJ. Oxidants, oxidative stress and the biology of ageing. *Nature*, 2000, 408(6809):239-247.