

暗紫贝母内生真菌 *Fusarium* sp. A14 次生代谢产物抗氧化活性研究

潘 峰, 陈艾萌, 朱小庆, 吴 卫*

四川农业大学农学院, 成都 611130

摘要: 本文采用石油醚(30~60℃)、乙酸乙酯、二氯甲烷、正丁醇和乙醇5种溶剂依次对暗紫贝母内生真菌 *Fusarium* sp. A14 发酵液进行提取, 获得5种不同极性馏分。用 DPPH·、ABTS⁺· 清除活性和 FRAP 活性对其进行了抗氧化活性评价, 用福林酚法和 NaNO₂-Al(NO₃)₃-NaOH 比色法测定了各馏分中总多酚含量(TPC)和总黄酮含量(TFC), 最后用 TLC 自显影法和 HPLC 法分析抗氧化活性成分。抗氧化活性及 TPC 和 TFC 测定结果表明, 后四种溶剂提取馏分具有良好的抗氧化活性, 以乙酸乙酯和正丁醇提取馏分活性最强, 且抗氧化活性与 TPC 和 TFC 存在明显相关性。此外, TLC 自显影分析结果表明抗氧化活性成分具有多样性; HPLC 分析结果表明乙酸乙酯和二氯甲烷中馏分中有多种具较强抗氧化活性的酚酸类物质, 如儿茶素、咖啡酸、木槲草素和阿魏酸。本研究表明: 暗紫贝母内生真菌 *Fusarium* sp. A14 具有能够生产已知或者未知抗氧化活性物质的潜力, 其在医药健康领域具有重要应用价值。本试验为其进一步开发和利用奠定了基础。

关键词: 暗紫贝母; 内生真菌抗氧化; 总多酚, 总黄酮; TLC 自显影; HPLC

中图分类号: Q939.9

文献标识码: A

DOI: 10.16333/j.1001-6880.2017.3.002

Antioxidant Activity of Secondary Metabolites Derived from the Fungal Endophytic *Fusarium* sp. A14 Isolated from *Fritillaria unibracteata* Hsiao et KC Hsia

PAN Feng, CHEN Ai-Meng, ZHU Xiao-Qing, WU Wei*

Agronomy College, Sichuan Agricultural University, Chengdu 611130, China

Abstract: To study the antioxidant activity and the active ingredients of endophytic fungal *Fusarium* sp. A14 isolated from *Fritillaria unibracteata* Hsiao et KC Hsia (FUB), the petroleum ether (30-60℃), ethyl acetate, dichloromethane, n-butyl alcohol and ethanol were used to extract the metabolic products of *Fusarium* sp. A14. Then, the antioxidant activities of the five fractions were evaluated using DPPH· scavenging assay, ABTS⁺· scavenging assay and ferric reducing-antioxidant power (FRAP) assay. The total polyphenols content (TPC) and total flavonoids content (TFC) of the five fractions were evaluated using folin-reagent method and NaNO₂-Al(NO₃)₃-NaOH colorimetric method, respectively. The antioxidant constituents were analyzed further by TLC-bioautography and high-performance liquid chromatography (HPLC) methods. The results of antioxidant assay, TPC and TFC indicated that the last four fractions had strong antioxidant activities, which possessed positive correlations with the TPC and TFC to some degrees. The TLC-bioautography results exhibited that there were abundant diverse chemical components with antioxidant activity. In addition, HPLC analysis result illustrated that there were multiple phenolic acids in the ethyl acetate and dichloromethane fractions, such as catechin, caffeic acid, luteolin and ferulic acid. Therefore, the present study demonstrated that the fungal endophytic *Fritillaria* sp. A14 from FUB had the potential production of partial known and unknown antioxidants and which could be applied in the health and medical profession. This study will contribute to the development and utilization of natural product from *Fritillaria* sp. A14.

Key words: *Fritillaria unibracteata* Hsiao et KC Hsia; antioxidant activity of endophytic fungus; total phenolics content; total flavonoids content; TLC-bioautography; HPLC

收稿日期: 2016-09-12 接受日期: 2017-01-16

基金项目: 高等学校博士学科点专项科研基金(20115103110009)

* 通讯作者 Tel: 86-28-86290870; E-mail: ewuwei@sicau.edu.cn

随着生活水平的提高, 人口老龄化及环境污染问题日益严重, 延缓衰老及治疗与衰老相关疾病也

越来越受到人们重视,对寻找更加安全、更加高效的如清除自由基、活性氧等抗氧化天然成分的关注也日益增加^[1]。中草药、香料、蔬菜、水果等植物中含有许多天然抗氧化剂,如茶多酚^[2]、黄酮类物质^[3]、多酚类物质^[4]和多糖类物质^[5]等。但由于植物生长周期长,所需空间大,不利于工业化大规模生产,以及大量开发利用植物资源,将对植物资源和生态环境造成一定程度的破坏,因此寻找新来源的抗氧化活性物质已十分重要。

内生真菌(endophytic fungi)是指在植物某段或整个生活史中生存于其体内且不会对植物造成明显伤害的真菌^[6]。目前研究过的所有植物中几乎都有内生真菌存在,且其在植物中的各部位都有存在。保守估计,内生真菌有100万种。目前,从内生真菌中筛选具有抗氧化的活性成分已成为研究热点^[7],如Flavipin^[8]。真菌生长周期短,人工可控,使利用内生真菌工业化大量生产具抗氧化的活性成分更具可行性。

暗紫贝母(*Fritillaria unibracteata* Hsiao et K. C. Hsia)为著名的川产道地药材,是“松贝”的主要来源,也是中国特有的中药材,生长于海拔2800~4400 m的高寒灌丛草地和高寒草甸地区。本课题组曾分离得到其15株内生真菌^[9],其中一株*Fusarium* sp. A14表现出了良好的抗氧化活性。为此,本试验以DPPH·清除率、ABTS⁺·清除活性和FRAP活性为指标,对菌株A14发酵液不同溶剂提取馏分进行了抗氧化活性研究,对其总多酚含量(TPC)和总黄酮含量(TFC)进行定量测定,并且通过TLC生物自显影技术和HPLC技术对其抗氧化活性成分进行分析,以期为具有良好抗氧化活性的内生真菌A14代谢产物的开发利用奠定基础。

1 材料与仪器

1.1 供试菌株

菌种来源:本试验所用菌株为本课题组成员陈鹄从暗紫贝母健康鳞茎中分离并鉴定为*Fusarium* sp.的内生真菌A14^[9],保存于4℃冰箱内。

1.2 仪器与药品

1.2.1 药品

没食子酸(1)和芦丁(6),中国药品生物制品鉴定所;1,1-二苯基-2-三硝基苯肼(DPPH)、2,2-氨基-二(3-乙基-苯并噻唑啉-6-磺酸)(ABTS)、2,4,6-三(2'-吡啶基)-1,3,5-三嗪(TPTZ)、矢车菊素-3-O葡

萄糖苷(2)、儿茶素(3)、绿原酸(4)、咖啡酸(5)、阿魏酸(7)、根皮苷(8)、淫羊藿苷(9)、迷迭香酸(10)、木犀草素(11)和芹菜素(12),Sigma公司;硫酸亚铁、浓硫酸、抗坏血酸、过硫酸钾、浓盐酸、氯化铁、醋酸钠缓冲液、石油醚(30~60℃)、乙酸乙酯、二氯甲烷、三氯甲烷、甲苯、甲酸、正丁醇、无水乙醇等,均为国产分析纯;HPLC分析所用乙腈,乙酸为色谱纯,美国Fisher公司;硅胶G薄层色谱(TLC)板,青岛海洋化工厂。

1.2.2 仪器

SW-CJ-2FD洁净工作台,苏净集团苏州安泰空气技术有限公司;SPX-150B型智能生化培养箱,上海琅轩生物设备有限公司;HY-150s型生物摇床,武汉汇诚生物科技;UV-2450型紫外分光光度计,日本岛津公司;酶标仪,赛默飞世尔科技(中国)有限公司;安捷伦1100高效液相色谱仪,美国安捷伦科技公司。

1.2.3 培养基

马铃薯葡萄糖琼脂培养基(PDA)用于活化菌种,马铃薯葡萄糖液体培养基(PDB)用于菌株发酵。

2 实验方法

2.1 菌株发酵

在无菌工作台上,将保存菌种接种到新鲜PDA培养基上进行活化后,用打孔器在活化菌落边缘处打孔得到直径为6 mm菌饼,转接到装有150 mL的PDB液体培养基的250 mL三角瓶内,培养3~4 d,作为种子液。将种子液按1%的量接种到新的PDB培养液中,于28℃,130 rpm摇床内发酵7 d。

2.2 供试溶液制备

用减压抽滤法分离发酵液的菌丝菌液,收集菌液,然后分别用石油醚、乙酸乙酯、二氯甲烷和正丁醇萃取,每种溶剂等体积萃取2次,静置待分层后收集萃取液,旋转蒸发浓缩,再在蒸发皿中水浴加热挥干,得到4种不同极性萃取物。再收集萃取剩余物减压浓缩成浸膏状,用10倍体积的无水乙醇萃取1~2次,4000 rpm离心10 min,收集乙醇层,浓缩得乙醇提取物。最后用石油醚复溶石油醚提取物,甲醇复溶其它提取馏分,0.45 μm有机滤膜过滤,于5 mL EP管内,45℃挥干,称重,配制成0.10~5.00 mg/mL不同梯度浓度供试液。

2.3 抗氧化活性测定

2.3.1 DPPH 自由基清除能力测定

称取适量 DPPH 粉末,溶解于无水乙醇中配置成 0.04 mg/mL DPPH 溶液。吸取不同浓度的供试溶液 70 μ L,再加入 200 μ L DPPH 溶液,混匀后 27 $^{\circ}$ C 水浴 10 min,重复三次。用酶标仪于 517 nm 测吸光度,记作 A;以无水乙醇 70 μ L + 200 μ L DPPH 溶液的吸光度做对照,记作 A_0 ;待测样品 70 μ L + 无水乙醇 200 μ L 的混合物的吸光度值为空白,记作 B。以公式:清除率(%) = $[1 - (A - B) / A_0] \times 100$,计算供试溶液对 DPPH· 的清除率。

2.3.2 ABTS 阳离子自由基清除能力测定

ABTS 工作液配置参考文献^[10]。移取的样品溶液 15 μ L + ABTS 工作液 170 μ L,混匀,37 $^{\circ}$ C 下避光反应 10 min,于 734 nm 处测定其吸光度,用蒸馏水调零。以甲醇代替样品加入 ABTS 工作液作为空白,每个稀释度做 3 次平行试验,求平均值。ABTS⁺· 清除率(%) = $(1 - A_{\text{sample}} / A_0) \times 100\%$ (A_{sample} 表示加入样品后的吸光度, A_0 表示 ABTS⁺· 的吸光度)。

2.3.3 FRAP 总还原能力测定

准确称取适量七水合硫酸亚铁($\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$)溶于适量的水中,加入 18 mol/L 的硫酸 0.25 mL (纯的浓硫酸),再加水稀释至 50 mL 定容,并置入小铁钉。然后将上述用水稀释成 10 ~ 1000 μ mol/L 标准溶液。 FeSO_4 标准曲线绘制参考文献^[11]执行。然后取不同浓度的样品溶液 70 μ L,加 200 μ L 预热至 37 $^{\circ}$ C 的 FRAP 工作液,摇匀后放置 10 min,于 593 nm 测定其吸光度。空白:溶剂代替样品加入 FRAP 工作液为空白。根据反应后的吸光度,在标准曲线上求得相应 FeSO_4 的浓度(μ mol/L),定义为 FRAP 值。FRAP 值越大,抗氧化活性越强。

2.4 抗氧化成分测定

2.4.1 总多酚含量(TPC)的测定

TPC 的测定采用福林酚法,并参考文献^[11]。以吸光度对没食子酸质量进行线性回归,绘制标准曲线。取 0.5 mL 样品溶液,按照相同步骤测定,记录样品溶液的吸光度。TPC 用每 mg 提取物中没食子酸当量(GAE)表示。

2.4.2 总黄酮含量(TFC)测定

TFC 测定采用 NaNO_2 -Al(NO_3)₃-NaOH 比色法,并参考文献^[11]。以吸光度对芦丁质量进行线性回归,绘制标准曲线。精确移取 2 mL 样品溶液于 25 mL 试管中,加入 40% 乙醇 4 mL,按照相同步骤

测定。由标准曲线可得溶液的 TFC,以每 mg 提取物中芦丁为当量表示。

2.5 TLC 生物自显影分析

TLC 生物自显影分析参考文献^[12]并略作修改。具体为,选用于 105 $^{\circ}$ C 活化 1 h 的硅胶 G 板,5 个提取物每个点样 6 μ L。展开剂由三氯甲烷、甲苯、无水乙醇和甲酸按照 4:4:0.5:0.1 的体积比进行配置,在室温条件下于展开缸中平衡 20 min 后展开。完成展开后,通风厨晾干。先在 254 nm 和 365 nm 紫外光下检视,然后喷 0.04 mg/mL DPPH 乙醇溶液进行显色。

2.6 HPLC 分析

选取常见酚类物质没食子酸、矢车菊素-3-O 葡萄糖苷、儿茶素、绿原酸、咖啡酸、芦丁、阿魏酸、根皮苷/弗罗利辛、淫羊藿苷、迷迭香酸、木犀草素和芹菜素配置成约 1 mg/mL 标准溶液。以安捷伦 1100 高效液相色谱系统(Agilent, USA)为平台,选用 Phenomenex Gemini 5 μ m C₁₈ 110A 色谱柱(250 \times 4.60 mm, 5 μ L, Phenomenex, 托伦斯, 美国),以 0.2% 乙酸水溶液(A)和乙腈(B)为流动相,按照如下梯度洗脱条件:0 ~ 12 min, 5% ~ 40% B; 12 ~ 18 min, 40% ~ 50% B; 18 ~ 22 min, 50% ~ 65% B; 22 ~ 25 min, 65% ~ 95% B; 25 ~ 30 min, 95% B; 30 ~ 35 min, 95% ~ 5% B,在流速 1.0 mL/min 洗脱、30 $^{\circ}$ C 柱温、进样体积 5 μ L, 280 nm 和 350 nm 两个检测波长下,对样品进行分析。根据保留时间(RT)判断是否产目标产物。

2.7 统计分析

DPPH· 法、ABTS⁺· 清除能力测定法、FRAP 总还原能力测定法三种方法的抗氧化能力数据在 EXCEL2010 版软件上进行,三类抗氧化成分含量与其抗氧化活性之间的相关性分析在 SPSS19.0 上进行。

3 结果与分析

3.1 DPPH 自由基清除活性

如图 1 所示,菌株 A14 正丁醇和乙醇提取馏分表现出较强的抗氧化活性,其 IC_{50} 分别为 0.73、1.40 mg/mL。乙酸乙酯和二氯甲烷提取馏分活性相对较弱,其 IC_{50} 分别为 3.39 mg/mL 和 5.45 mg/mL。四个溶剂提取馏分在所测浓度范围内随着浓度的增加其 DPPH 清除活性显著升高,乙酸乙酯提取馏分线性关系为 $Y = 9.9499X + 16.197$, $R^2 = 0.9367$; 二氯

甲烷的为 $Y = 5.5248X + 19.869$, $R^2 = 0.9908$; 正丁醇的为 $Y = 8.9837X + 43.389$, $R^2 = 0.9833$; 乙醇的为 $Y = 17.865X + 24.921$, $R^2 = 0.9828$, 其 R^2 均在 0.9 以上, 表现出显著的量效相关性; 而石油醚提取物活性极低, 并且随浓度的增加, 其 DPPH·清除活性变化极小。

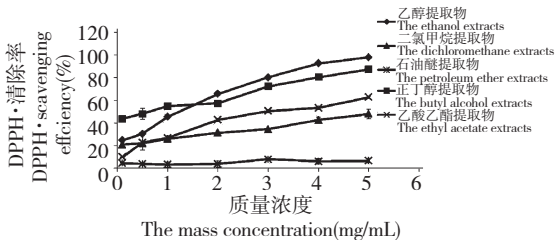


图1 内生真菌 A14 发酵液 5 种溶剂提取物 DPPH·清除活性

Fig.1 DPPH· scavenging effects of 5 different extracts from fungal endophytic strain A14

3.2 ABTS 阳离子自由基清除活性

由图 2 可见, A14 发酵液乙酸乙酯、二氯甲烷、正丁醇和乙醇提取馏分均表现出很强的 ABTS⁺·清除活性, 在浓度为 2.0 mg/mL 时, ABTS⁺·清除活性接近 100%, IC₅₀ 分别为 0.19、0.43、0.25、0.37 mg/mL; 石油醚提取馏分的 ABTS⁺·清除活性仍然显著低于其它馏分。对比不同溶剂提取馏分在 0.5 mg/mL 浓度时 ABTS⁺·清除活性 (图 2), 发现: 乙酸乙酯提取馏分 > 正丁醇提取馏分 > 乙醇提取馏分 > 二氯甲烷提取馏分 > 石油醚提取馏分。

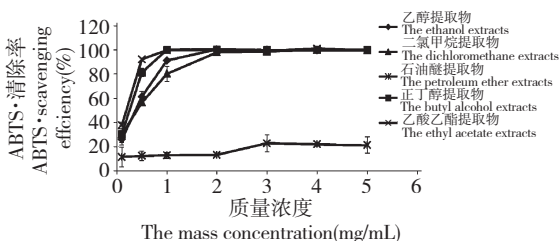


图2 暗紫贝母内生真菌 A14 发酵液 5 种溶剂提取物 ABTS⁺·清除活性

Fig.2 ABTS⁺· scavenging effects of 5 different extracts from fungal endophytic strain A14

3.3 还原能力

由图 3 可见, 随着浓度增加, 乙酸乙酯、二氯甲烷、正丁醇和乙醇提取馏分还原能力 (FRAP 值) 也随之增加, 其线性关系分别为: $Y = 118.24X + 33.831$, $R^2 = 0.9975$; $Y = 39.447X + 38.919$, $R^2 =$

0.9702 ; $Y = 93.911X + 31.781$, $R^2 = 0.9979$; $Y = 59.585X + 44.555$, $R^2 = 0.9934$ 。可见其 R^2 均大于 0.9, 表现出显著的量效相关性。而石油醚提取馏分的还原能力较弱, 根据其所测数据绘制线性关系, 得 $Y = 4.5659X + 24.771$, $R^2 = 0.6085$, R^2 值较小, 量效关系不显著。此外乙酸乙酯提取馏分在浓度为 5.0 mg/mL 时其 FRAP 值为 $636.03 \pm 27.11 \mu\text{mol/L}$, 为所测样品最大值。根据图 3 和对比不同溶剂提取馏分还原能力线性关系, 得到还原能力的顺序为: 乙酸乙酯提取馏分 > 正丁醇提取馏分 > 乙醇提取馏分 > 二氯甲烷提取馏分 > 石油醚提取馏分。不同馏分还原能力的顺序与 ABTS⁺·清除活性顺序完全一致, 但与 DPPH·清除活性强弱的顺序并不完全相同 (图 1), 表明不同的抗氧化体系既存在相关性, 也存在差异。

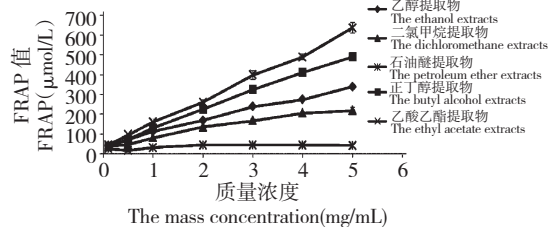


图3 暗紫贝母内生真菌 A14 发酵液 5 种溶剂提取物铁离子还原能力 (FRAP)

Fig.3 Ferric reducing-antioxidant power (FRAP) of 5 different extracts from fungal endophytic strain A14

3.4 TPC 和 TFC

TPC 和 TFC 测得结果如图 4 所示。就 TPC 而言, 石油醚提取馏分显著低于其它馏分 ($P < 0.05$), 二氯甲烷和乙醇提取馏分表现出中等的 TPC, 乙酸乙酯和正丁醇提取馏分的 TPC 之间无显著差异, 但均显著高于其它提取馏分 ($P < 0.05$)。对比不同馏分 ABTS⁺·清除活性和还原能力发现, TPC 值较高的馏分 ABTS⁺·清除活性和还原能力较高, TPC 值中等的馏分 ABTS⁺·清除活性和还原能力居于中等, TPC 值最低的馏分活性也最低。对比 DPPH·清除活性, 正丁醇提取物 TPC 较高, 其清除活性较强, 二氯甲烷提取馏分 TPC 居于中等, 其清除活性相对较低。表明 TPC 与其抗氧化活性存在显著的正相关。就 TFC 而言, 石油醚提取馏分的 TFC 仍显著低于其它馏分, 乙酸乙酯和二氯甲烷提取馏分 TFC 居于中等, 正丁醇提取馏分 TFC 显著高于二氯甲烷提取馏分, 而已醇提取物有最高的 TFC。因此,

TFC 和 DPPH · 清除活性具有良好的对应关系。可见 A14 菌株发酵液黄酮类成分对 DPPH · 清除活性

有良好的相关性。

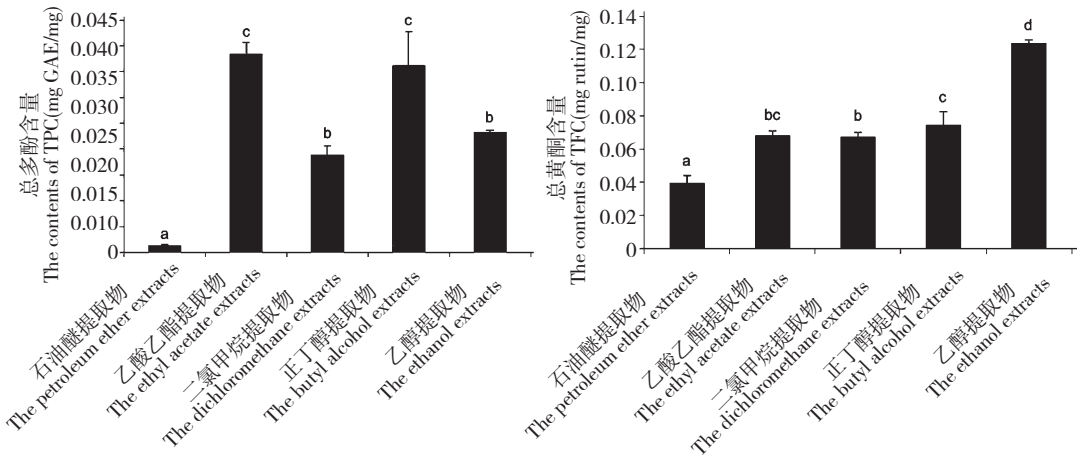


图4 内生真菌 A14 发酵液不同溶剂提取馏分总多酚和总黄酮含量

Fig. 4 Total phenolics content (TPC) and total flavonoids content (TFC) of the 5 fractions from fungal endophytic strain A14

注:不同字母表示彼此之间存在显著性差异 ($P < 0.05$)

Note: Different letters indicated significant difference between each other ($P < 0.05$)

3.5 TLC 自显影分析

由图 5A、B 所示,所选展开剂可以较好的展开 A14 发酵液提取物中大量的化学成分,但由于所选不同溶剂间极性差别较大,根据相似相容原理,其提取物极性差异也较大,可以看出石油醚提取物中成分迁移速率 (R_f) 多集中在 0.5 ~ 1.0 之间。乙酸乙酯,二氯甲烷和正丁醇提取部分成分能良好分离, R_f 在整个展开泳道上均有分布。而乙醇提取馏分几乎

不能展开,点样处仍残留大量成分。从图 5C 可见,整个薄层板上有丰富的具有 DPPH · 清除能力的化学成分,其中石油醚提取物抗氧化斑点虽然较多,但是其活性较低 (颜色较浅,斑点较小);二氯甲烷提取馏分虽然有较大斑点,但颜色也较浅;乙酸乙酯和正丁醇提取馏分尽管部分未实现完全分离,但是其颜色很深,表示抗氧化活性较强,且部分未展开成分仍表现出良好的抗氧化活性;乙醇提取馏分虽然未

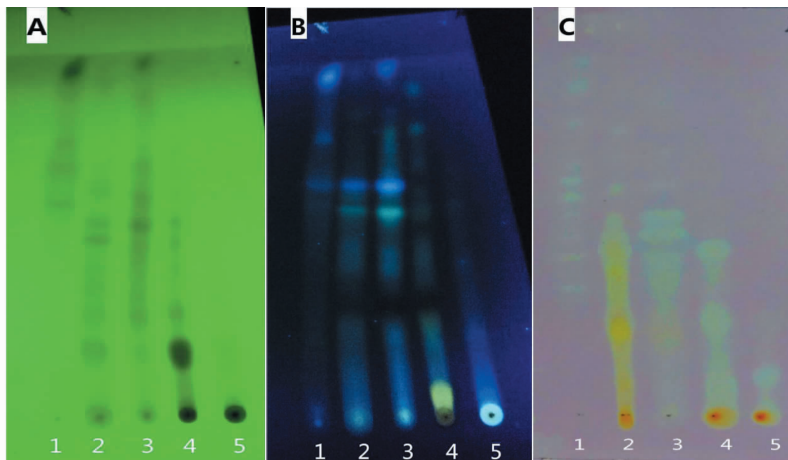


图5 内生真菌 A14 发酵液不同溶剂提取馏分薄层层析 (TLC) 在 254 nm (A)、365 nm (B) 和 DPPH 溶液 (C) 显色后色谱图

Fig. 5 TLC photography of the 5 fractions from fungal endophytic stain A14 using different visualisation methods, namely ultraviolet lamps emitting at 254 nm (A), 365 nm (B) and spraying with DPPH solution (C)

注:1、2、3、4 和 5 分别为石油醚、乙酸乙酯、二氯甲烷、正丁醇和乙醇提取馏分

Note: The petroleum ether, ethyl acetate, dichloromethane, n-butyl alcohol and ethanol fractions was numbered 1, 2, 3, 4 and 5, respectively

实现良好展开,但是在点样处呈橙色,表现出明显抗氧化活性。总之,TLC 自显影结果表明菌株 A14 能够产生较为丰富的抗氧化活性成分,而且不同溶剂提取馏分 TLC 分析结果和前面 DPPH·, ABTS⁺· 和 FRAP 实验结果基本一致。

3.6 HPLC 分析

为了尽可能分析不同溶剂提取馏分的抗氧化活性成分,本试验选取 12 种常见多酚黄酮类成分做标

准品,对其进行 HPLC 分析。如图 6 所示,试验所选的色谱条件可以将 12 种标准物完全分离,具有良好的峰形。在此条件下,只有乙酸乙酯和二氯甲烷提取馏分的多个峰能与标准品 RT 一致,分别是儿茶素、咖啡酸、木犀草素和阿魏酸,其中儿茶素和木犀草素是在两个馏分中均有存在的,且这类物质均具有明显的抗氧化活性^[13-15]。可见 A14 能够同时产生多种酚酸类物质。

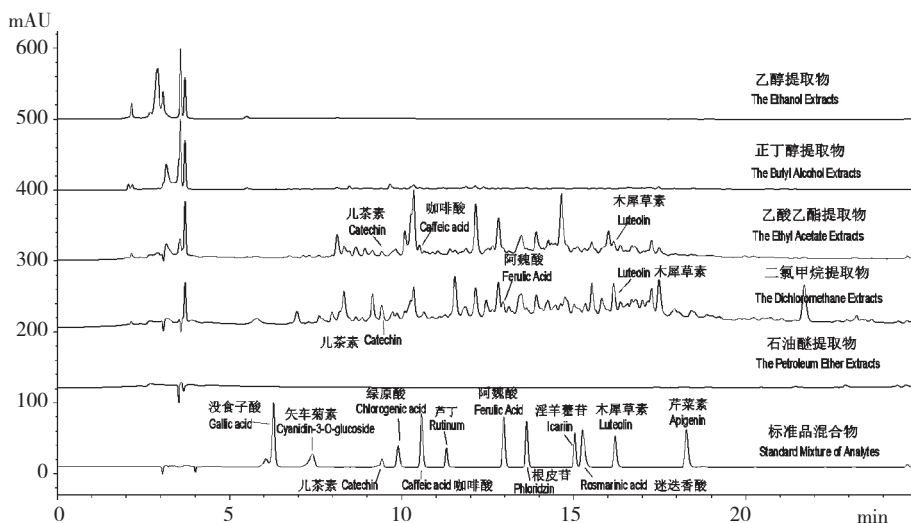


图 6 内生真菌 A14 石油醚、乙酸乙酯、二氯甲烷、正丁醇和乙醇提取馏分及混合标准品高效液相色谱图

Fig. 6 HPLC chromatogram of petroleum ether, ethyl acetate, dichloromethane, n-butyl alcohol and ethanol fractions extracted from fungal endophytic stain A14 and mixed standards

4 结论

内生真菌能够产生大量的次生代谢产物,其中的很大部分具有明显的生物活性,是获取天然产物的重要微生物资源^[16]。本试验也表明来源于暗紫贝母鳞茎的内生真菌 *Fritillaria* sp. A14 的次生代谢产物具有良好的抗氧化活性,其发酵液的不同极性溶剂提取馏分抗氧化活性存在差异。总体上,乙酸乙酯和正丁醇提取馏分抗氧化活性较强,乙醇提取馏分其次,二氯甲烷提取馏分活性较弱,石油醚提取成分抗氧化活性最低。其抗氧化活性强弱与 TPC 和 TFC 存在较显著的相关性。TLC 自显影分析结果表明,A14 能够产生大量的抗氧化活性成分,且不同极性溶剂提取馏分的活性不同。HPLC 分析表明,A14 能够产生多种具有明显抗氧化活性的酚酸类物质(如儿茶素、咖啡酸、木犀草素和阿魏酸等),它们或许为暗紫贝母抗氧化活性物质基础的一部分。并且,真菌具有易培育,周期短,可批量发酵的特点,

利用真菌生产特殊生物活性物质较植物而言更具优势。综上所述,内生真菌 A14 代谢产物具有良好的抗氧化活性,具有能够生产已知或者未知抗氧化活性物质的潜力,应用价值明显,本试验为内生真菌 A14 的进一步开发和利用奠定了基础。

参考文献

- Hou J (侯军), Liu F (刘方), Li L (李乐), et al. Research progress on antioxidant components from fungi. *Food Sci* (食品科学), 2008, 29: 648-653.
- Ramasamy C. Potential natural antioxidants; adjuvant effect of green tea polyphenols in periodontal infections. *Infect Disord Drug Targets*, 2015, 15: 141-152.
- Calado JCP, Albertão PA, de Oliveira EA, et al. Flavonoid contents and antioxidant activity in fruit, vegetables and other types of food. *Agric Sci*, 2015, 6: 426.
- Shahidi F, Ambigaipalan P. Phenolics and polyphenolics in foods, beverages and spices: antioxidant activity and health effects-a review. *J Funct Food*, 2015, 18: 820-897.