

植物单宁分离提纯及功能活性研究进展

Review on separation, purification and functional activity of plant tannin

黄达荣

张雅甄

郑百涛

杜冰

黎攀

HUANG Da-rong ZHANG Ya-zhen ZHENG Bai-tao DU Bing LI Pan

(华南农业大学食品学院, 广东 广州 510642)

(College of Food Science, South China Agricultural University, Guangzhou, Guangdong 510642, China)

摘要: 文章对单宁种类和应用进行了综述, 并在此基础上, 对部分植物单宁的提纯工艺及功能活性进行了整合, 介绍了其活性机制, 并对其未来发展方向进行了展望。

关键词: 植物单宁; 提取; 纯化; 抗氧化; 机制

Abstract: The types and applications of botanical tannin was reviewed. Moreover, the purification process and functional activity of tannin were summarized, and the relative mechanism was preliminarily introduced. The research direction in the future was also prospected.

Keywords: botanical tannin; extraction; purification; antioxidation; mechanism

植物单宁是一种天然多酚类化合物, 多存在于陆地与海洋的大部分植物之中。其可以与唾液蛋白质结合, 也可以联合动物胶原多肽链从而增强皮的韧性, 前者是涩味的来源, 后者是鞣革的原理, 因此单宁也被称作“鞣质”。单宁作为植物的次生代谢产物, 是丰富度仅次于纤维素、半纤维素和木质素的生物质资源^[1], 主要分布在植物的根^[2]、茎^[3]、叶^[4]及皮^[2-3]中, 具有抗炎、抗氧化、抗肿瘤等活性^[5-7], 被广泛应用于食品、医药及制革^[8]等领域。目前, 常用的单宁提取方法主要为浸提法与萃取法, 并辅以超声波、微波、加压等^[9], 而提取液多为甲醇、乙醇与丙酮等有机溶剂^[10], 但不同植物来源的单宁需要优化其提取与纯化工艺。

文章拟综述单宁的分类与应用, 以及近年来植物单宁的提取与纯化方法的发展现状, 并提供一个通用于大

部分植物单宁提取与纯化的方法, 同时归纳单宁功能活性及其机制, 以期单宁的高效获取与高值化应用提供依据。

1 植物单宁的分类及应用

1.1 植物单宁的分类

植物单宁可根据化学结构、来源品种和化学特性进行分类, 目前普遍按照单宁的结构差异将其分为水解单宁和缩合单宁两大类(见图 1), 其相对分子量约为 500~20 000 Da。此外, 还有复合单宁和褐藻单宁, 但两者罕见于陆生植物中, 复合单宁由黄烷-3-醇与水解单宁结合而成, 褐藻单宁是间苯三酚的聚合产物, 可占海藻干重的 30%, 其已被证明具有抗菌、抗氧化等活性^[11]。植物单宁的常见类型可由表 1 的方法^[12]进行鉴别。

水解单宁即可水解的单宁, 是一种以多元醇为中心, 如葡萄糖, 通过酯键连接数个酚酸及其衍生物的化合物^[13], 其中多元酚酸是决定单宁性质的关键部分。水解单宁遇酸、碱或酶时容易水解生成小分子量的化合物, 根据水解生成的多元酚羧酸不同, 将水解单宁分为鞣花酸单宁和没食子酸单宁。此外, 没食子酸衍生物也是水解单宁的一类, 其一般含有 6 个及以上的没食子酰基单元。

缩合单宁又称原花色素, 以不含糖核的类黄酮、黄烷-3-醇(见图 2)作为结构单元聚合而成, 其 A 环可出现间苯二酚或间苯三酚形式, 而 B 环可出现邻苯二酚或邻苯三酚形式^[14], 构成了不同的缩合单宁结构单元^[15]; 分子间以碳碳键相连且不含糖基, 不易被水解; 与水解单宁相比, 缩合单宁的分子量范围较广, 可以在酸、碱或酶作用下发生缩合反应, 而进一步的缩聚会产生不溶于水的红粉^[12], 但高相对分子质量的缩合单宁的分子体积大, 在空间中移动时受到的阻力大, 导致其生物活性较低。

1.2 植物单宁的应用

单宁不仅可以作为调味剂在茶、咖啡等饮料中调节风味, 用于生产速溶饮料, 还能影响食品色泽, 其机理是单宁在环境中容易被氧化为醌类物质而加深颜色。此外

基金项目: 广东省重点领域研发计划项目(编号: 2020B020226008); 广东省自然科学基金面上项目(编号: 2020A1515011268)

作者简介: 黄达荣, 男, 华南农业大学在读硕士研究生。

通信作者: 杜冰(1973—), 男, 华南农业大学教授, 博士。

E-mail: gzdzubing@163.com

黎攀(1990—), 男, 华南农业大学副教授, 博士。

E-mail: lp19900815@scau.edu.cn

收稿日期: 2021-03-14

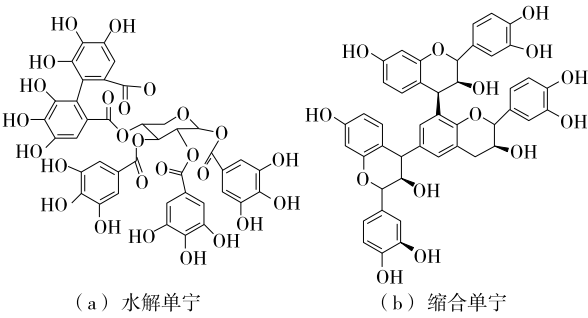


图 1 水解单宁与缩合单宁的典型结构
Figure 1 The typical structure of hydrolysable tannin and condensed tannin

表 1 水解单宁与缩合单宁的鉴别反应
Table 1 Identification of hydrolysable tannin and condensed tannin

鉴别试剂	水解单宁现象	缩合单宁现象
酸性 5% 溴水	无沉淀	黄色或橙红色沉淀
石灰水	青灰色沉淀	棕色或棕红色沉淀
乙酸铅	有沉淀	有沉淀但可溶于乙酸
1% 铁矾溶液	蓝色或蓝黑色沉淀	绿色或绿黑色沉淀
硫酸(共沸)	无沉淀	暗红色沉淀
甲醛+盐酸	无沉淀, 滤液与铁矾反应蓝黑色	有沉淀, 滤液与铁矾反应无色
香草醛+盐酸	无反应	粉红色

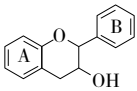


图 2 黄烷-3-醇的结构
Figure 2 Structure of flavan-3-ol

利用单宁与蛋白结合的性质,将牛血清蛋白与单宁酸制成多层微胶囊,可延缓胃酸的侵蚀,有效保护胶囊中的乳铁蛋白,并制备多层微胶囊的乳铁蛋白口服制剂^[16],而固定化单宁可在食品加工领域中纯化活性肽与蛋白质、澄清酒与饮料^[17];单宁还可以抑制食品腐败菌而延长食品保藏期^[18]。此外,单宁在制革^[19]、医药^[20]与水处理^[21]等领域也发挥着重要作用。

2 植物单宁提取与纯化

2.1 提取方法

单宁的含量测定^[22]见表 2。目前,单宁的定量分析方法有高效液相色谱法、液质联用法等,这些方法较多应用于总酚含量的测定,尽管有测定缩合单宁的方法,但几乎没有一种可以普适于各种植物单宁定量的方法,因为定量时常用的如没食子酸、儿茶素、表儿茶素等标准品,与各种植物单宁组分差异较大,其标准品选择仍是一个

表 2 单宁的定量方法

Table 2 Common methods for quantification of tannin

分类	测定方法	测定对象
基于生物作用	蛋白质沉淀法	总酚
	香草醛-盐酸法	缩合单宁
	盐酸-正丁醇法	缩合单宁
常规方法	皮粉重量法	单宁
	磷钼钨酸-干酪素比色法	单宁
	福林酚比色法	总酚
	尺寸排阻色谱法	单宁
色谱法	高效液相色谱法	单宁
	反相高效液相色谱法	单宁

尚未解决的问题。因此目前定量植物单宁一般参考前人文献的方法,或者对多种测定方法进行内标法等方法学筛查,确定含量后再经高效液相色谱分离可以明确植物单宁组分。

2.1.1 溶剂浸提法 溶剂提取法是提取单宁的基础方法,可以分为无机溶剂法和有机溶剂法,如水和甲醇、乙醇、丙酮等。其中热水提取是中国最传统的方法,虽然单宁溶于水、乙醇与丙酮,但植物中也含有水溶性的树脂、蛋白质、淀粉等杂质,直接用水提取所得到的植物单宁含量较低,水与有机溶剂混合后进行提取成为主流,如水-丙酮体系能破坏单宁与蛋白质的连接键,提高单宁提取率^[23]。为了更高效地提取单宁,在确定提取溶剂的基础上,辅以超声波、微波、加热等方法(见表 3),并利用正交试验与响应面试验进行单宁提取工艺优化。

2.1.2 超声波、微波提取和酶解转化法 单宁是植物细胞产物,细胞膜和细胞壁是单宁提取的主要阻碍。超声波具有机械效应、空化效应及热效应,微波则使胞内水分吸收微波能而汽化,对细胞膜和细胞壁产生压力而形成小孔,酶能选择性地分解细胞膜与细胞壁,且条件更为温和,因此酶辅助提取已被广泛用于从食品和植物中提取不同种类的化合物^[34]。三者一般用于辅助溶剂对植物单宁进行提取。

2.1.3 超临界流体萃取法 超临界流体具有液体和气体的双重性质,通过控制压力和温度即能选择性地萃取出植物单宁,二氧化碳因其清洁、成本低、萃取时性质稳定等特点,目前被用作超临界流体,且利用超临界二氧化碳萃取可以保护单宁免受氧化。姜萍等^[35]应用超临界二氧化碳提取五倍子中的单宁酸,经条件优化后得率高达 57.83%,但目前国内外较少应用该技术提取单宁,可能是萃取所用仪器要求高,成本也较高。

2.2 纯化方法

2.2.1 溶剂萃取及沉淀吸附法 单宁在醇类、丙酮等有

表 3 不同植物单宁的提取方法[†]
Table 3 The extraction method of different plant tannin

原材料			提取方法					得率/ %
植物及部位	尺寸	溶剂	温度/℃	时间/min	料液比(g/mL)	设备操作		
马桑树 ^[24]	树皮	60 目	0.22% NaOH	82	63	1 : 23	加热提取	16.020
苣荬菜 ^[25]	根部	80 目	水	51	105	1 : 16	水浴回流	1.034
塔拉 ^[26]	整体	60 目		100	30	1 : 20	酶解	65.980
金合欢树 ^[27]	树皮	500 μm	20% 甲醇	40	1	1 : 20	微波辅助	8.016
橡子 ^[28]	果实	200~1 000 μm	60% 甲醇	38	150	1 : 100	超声—酶解	63.160
杏仁 ^[13]	皮	40 目	50% 乙醇	70	89	1 : 22	水浴回流	2.130
西加云杉 ^[29]	心材、边材	60~80 目	70% 乙醇	70	120	1 : 18	水浴回流	0.825
香蕉树 ^[30]	叶	100 目	85% 乙醇	—	25	1 : 28	超声辅助	0.715
刺梨 ^[31]	果实	匀浆		60	40	1 : 20	超声辅助	44.980
银缕梅 ^[32]	叶	—	60% 丙酮	50	15	1 : 10	微波辅助	7.200
高粱 ^[33]	籽粒	—	70% 丙酮	50	60	1 : 10	水浴加热	2.610

[†] —表示在相应的文献中没有相关信息。

机溶剂中溶解度较高,而高浓度乙醇能沉淀植物的大部分蛋白质,因此有机溶剂均能在提取与纯化单宁时发挥作用,但利用溶剂萃取仍处于初步纯化阶段且溶剂残留会影响产品质量。此外,还可以利用疏松多孔的活性炭或皮粉吸附大量杂质,其中包括植物色素、树胶等。

2.2.2 色谱分离法 目前制备高纯度单宁及有关化合物的主要方法是色谱分离法。固定相一般选用大孔树脂和葡聚糖凝胶,前者的耐压性较强,装柱后能承载较高流速而不塌陷,纯化效率比后者高,而后者以 Sephadex LH-20 为主。范小曼^[36]联合运用 XAD16HP 大孔树脂与葡聚糖凝胶 LH-20 提纯了白花败酱单宁,并对单宁组分进行了有效分离。在对不同植物单宁进行纯化时,需先筛选合适的固定相,后进行静态与动态的解吸、吸附试验,以确定层析柱的上样浓度、上样流速、洗脱剂类型及浓度等参数。

2.2.3 膜分离 膜技术以选择透过性的膜为基础,如微滤、纳滤和超滤膜,为新兴的绿色技术,但近年来鲜有报道,可能是因为大部分植物的单宁含量较低,提取时需要除去大量杂质,易导致膜堵塞。杜运平等^[37]采用聚砜中空纤维膜分离了板栗苞单宁,纯度约为 64.00%。

3 植物单宁的功能活性及机制

3.1 抗氧化

单宁的抗氧化性体现在 4 个方面:① 作为氢供体通过还原反应降低环境中的活性氧、自由基等;② 螯合金属离子,避免催化过氧化物进一步氧化;③ 调控机体中的氧化还原系统^[38],还原型谷胱甘肽可以上调 Bcl-2 与 Bax 的比值,清除机体内自由基,而丛明等^[39]研究发现,用原花青素灌胃大鼠,能显著增加大鼠大脑皮质的 Bcl-2/Bax 值,调控集体氧化系统;④ 调控机体与氧化应激的相关信

号通路,缓解应激状态下的损伤,目前主要调控的信号通路为 Keap1-Nrf2/ARE,而杏仁皮中的缩合单宁能激活该通路^[40],提高机体抗氧化蛋白的表达量。单宁的抗氧化活性是触发抗炎等有益机制的基础,其可能涉及的机制如图 3 所示,但具体的作用机制仍需更深入的研究,特别是考虑到不同植物的单宁的给药剂量及其代谢图谱的多样性。此外,单宁还能与肠道相互作用,黄烷-3-醇单体能被肠道吸收^[41],但其聚合体能被肠道菌群降解吸收或与肠道蛋白结合而增强肠道屏障。

3.2 抑菌

单宁对致龋细菌、沙门氏菌、金黄色葡萄球菌等致病菌^[42]具有显著的抑制效果,还可以促进牙体组织矿化、治疗牙周及牙体牙髓疾病,因此被广泛应用于口腔医学领域。单宁对细菌抑制的重要结构是酚羟基,而单宁抑菌的机制主要分为:① 螯合细菌所需的金属离子,如铁和铜;② 抑制并破坏细胞壁和细胞内外膜的形成,减少病菌的粘附;③ 与细菌特定靶标蛋白和药物外排蛋白结合,提高药物对细菌的杀伤力;④ 抑制细菌代谢所需的酶^[43],

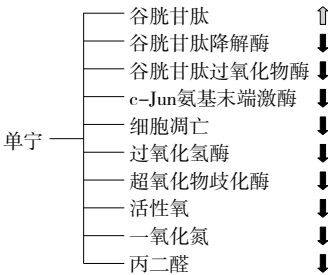


图 3 单宁的抗氧化特性可能涉及的机制^[11]
Figure 3 The suggested mechanisms involved in the antioxidant properties of tannins

影响细菌的蛋白质合成、能量代谢和氧化还原系统;⑤ 增强机体免疫力,如草莓单宁可以抑制 NF- κ B 信号通路,降低人体炎症因子的水平^[44]。

3.3 抗病毒

植物单宁对冠状病毒^[45]和诺如病毒^[46]有显著抑制能力,后者利用 NoV P 蛋白开发了一种以唾液为基础的结合—阻断试验,并以此来评价 50 种植物单宁抑制诺如病毒的能力,从而筛选出石榴单宁与五倍子单宁作为抗诺如病毒的潜在候选药物,这提示需要建立植物单宁的标准化药效评价体系。单宁抗病毒的机制与抑菌类似,会抑制病毒的酶与生物膜,阻止病毒侵入细胞和细胞核,抑制病毒反转录和复制,此外单宁还会削弱病毒粘附细胞的能力、运动能力^[47],同时单宁促使病毒蛋白质变性、阻断病毒的胞间传播来实现抗病毒的功能,但不同来源和化学结构的植物单宁抗病毒性能也有所差异,因此需进一步探索其具体抗病毒机制和动物试验。

3.4 抗肿瘤

单宁可以通过抑制端粒酶活性、激活内质网应激诱导的 UPR 信号通路诱导肿瘤细胞凋亡。其中肿瘤细胞内 ROS 含量是调控细胞生长的关键,一方面 ROS 能加快肿瘤细胞繁殖分化、激活转移相关的信号通路,而另一方面高浓度的 ROS 含量能诱导肿瘤细胞凋亡;单宁酸能提高肾癌细胞中 ROS 含量、降低黏附分子 ICAM-1 的表达量,促进肾癌细胞的凋亡并抑制细胞集聚与转移。同时抗炎、抗氧化的机制也对抑制肿瘤细胞具有积极影响。已有研究^[48]证明植物单宁对结肠直肠癌、胰腺癌细胞的抑制作用,但多数研究仅聚焦于细胞模型的评价,这与动物模型具有较大差异,细胞模型的积极作用不能等同于动物试验的药效,因此需要建立小鼠或大鼠的肿瘤模型进行药效试验。

3.5 调节血糖

单宁降低血糖的作用已在脂肪细胞、大小鼠、幼猪、鱼类为对象的试验中得到了证实^[49-50]。其血糖调节机制可分为:① 抑制 α -葡萄糖苷酶等食物分解酶的活性,影响机体吸收;② 促进胰岛 β 细胞再生和胰岛素的分泌;③ 促进糖酵解,抑制糖异生;④ 作用于肠道菌群而调节血糖^[50]。单宁对 2 型糖尿病的症状有改善作用^[51],但血糖调节的分子机制仍是单宁降血糖的研究点,单宁对糖酵解、糖异生途径的影响研究不足,尤其是胰岛素与糖代谢的信号通路具有较大的研究潜力。

3.6 抗炎

Aguiar 等^[52]报道原花青素能通过抑制新陈代谢和炎症递质而起积极的抗炎作用;Pallarès 等^[53]发现葡萄籽的原花青素可以降低营养型肥胖大鼠模型的慢性低度炎症。综上,单宁的抗炎能力可能是调节细胞炎症因子

水平如下调肝脏组织中的 TNF- α 与 IL-6 水平、抑制 NO 与前列腺素 E-2 等致炎物质的产生、防止致炎物质与其他分子络合,更具体的抗炎机制还有待探索,但单宁的抗炎活性已被证明,且单宁的抗炎能力与其抗氧化和抗菌等能力相关,因为致病菌和超氧化物与炎症具有密切联系。

3.7 抑制寄生虫

植物及其提取物已被用作人类和家畜的驱虫剂。从水解单宁的角度来看,其干扰虫卵孵化和幼虫运动的 3 种机制^[54]为:① 拥有强蛋白沉淀能力的水解单宁与卵和幼虫通过非共价键结合;② 具有高氧化活性的水解单宁可能被自身氧化,并且氧化产物与卵和幼虫共价结合;③ 水解单宁进行水解,并且水解产物可能通过非共价或共价相互作用与卵和幼虫相互作用,从而破坏卵的发育及幼虫运动,但缩合单宁的驱虫机理与调控机制尚未明确,有待进一步研究。

4 小结与展望

目前单宁主要是从虫瘿五倍子中提取,但随着单宁需求量的上升,不同植物的单宁开发逐渐受到关注,而植物单宁的自然资源丰富,具有广阔的应用前景。单宁类化合物结构复杂,有关单一植物单宁的结构和营养特性研究还不够充分,学科间的交叉研究较为欠缺,导致部分结论与作用机理不明确,在不同植物单宁的生物活性研究方面难以形成完整系统。

在单宁功能活性产品开发方面,其难点在于工作人员需扩大研究范围,针对不同来源的植物单宁中起功效的活性成分、结构特点和发挥作用的机理进行探索,才能实现植物单宁在产品开发上的精准应用。但植物单宁的不同提取来源和添加浓度,以及不同动物种类和生理状态会影响其添加效果。后续需对不同植物单宁的构效关系以及单宁的添加剂量进行标准化,建立不同药效评价模型,并分析不同植物单宁的组分与结构,以明晰不同分子结构类型以及不同剂量单宁的作用机理,实现单宁在各个领域中的应用。

参考文献

- [1] 郭林新, 马养民, 强涛涛, 等. 植物单宁的结构改性研究进展[J]. 化工学报, 2021, 72(5): 2 448-2 464.
- [2] GUO Lin-xin, MA Yang-min, QIANG Tao-tao, et al. Review on structure modification of plant tannins[J]. Journal of Chemical Industry and Engineering(China), 2021, 72(5): 2 448-2 464.
- [3] DONG Li-li, MAO Zi-jun, SUN Tao. Condensed tannin effects on decomposition of very fine roots among temperate tree species[J]. Soil Biology and Biochemistry, 2016, 103: 489-492.
- [4] SARTORI C J, MOTA G S, MIRANDA I, et al. Tannin extraction and characterization of polar extracts from the barks of two euca-

- lyptus urophylla hybrids[J]. *Bioresources*, 2018, 13: 4 820-4 831.
- [4] ZHOU Qi, RATHER L J, ALI A, et al. Environmental friendly bio-active finishing of wool textiles using the tannin-rich extracts of Chinese tallow (*Sapium sebiferum* L.) waste/fallen leaves[J]. *Dyes and Pigments*, 2020, 176: 108230.
- [5] 邱珊莲, 郑开斌, 林宝妹, 等. 干红树葡萄酒与干红葡萄酒功能成分及其抗氧化活性对比[J]. *食品与机械*, 2019, 35(4): 163-167.
- QIU Shan-lian, ZHENG Kai-bin, LIN Bao-mei, et al. Comparison of functional components and antioxidant activities in jaboticaba wine and grape wine[J]. *Food & Machinery*, 2019, 35(4): 163-167.
- [6] DEMARQUE D P, CALLEJON D R, DE O, et al. The role of tannins as antiulcer agents: A fluorescence-imaging based study[J]. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, 2018, 28(4): 425-432.
- [7] CAI Yue-e, ZHANG Jin-ming, CHEN N G, et al. Recent advances in anticancer activities and drug delivery systems of tannins[J]. *Medicinal Research Reviews*, 2017, 37(4): 665-701.
- [8] MAIER M, OELDERMANN A L, RENNER M, et al. Screening of European medicinal herbs on their tannin content: New potential tanning agents for the leather industry[J]. *Industrial Crops & Products*, 2017, 99: 19-26.
- [9] DAS A K, ISLAM M N, FARUK M O, et al. Review on tannins: Extraction processes, applications and possibilities[J]. *South African Journal of Botany*, 2020, 135: 58-70.
- [10] 王玉增, 刘彦. 植物单宁研究进展综述[J]. *西部皮革*, 2014(16): 23-30.
- WANG Yu-zeng, LIU Yan. A review on the research advances of vegetable tannin[J]. *West Leather*, 2014(16): 23-30.
- [11] CORRAL M F, OTERO P, ECHAVE J, et al. By-products of agri-food industry as tannin-rich sources: A review of tannin' biological activities and their potential for valorization[J]. *Foods*, 2021, 10: 137.
- [12] 贾喜庆, 姚庆达, 杨义清, 等. 植物鞣剂的结构, 改性及其在制革中的应用[J]. *西部皮革*, 2018, 40(21): 35-42.
- JIA Xi-qing, YAO Qing-da, YANG Yi-qing, et al. Structure, modification of vegetable tannins and its application in tanning[J]. *West Leather*, 2018, 40(21): 35-42.
- [13] 杜凯. 杏仁皮单宁提取纯化及应用研究[D]. 西安: 陕西科技大学, 2020: 4-5.
- DU Kai. Extraction, purification and application of tannins from almond skin[D]. Xi'an: Shaanxi University of Science and Technology, 2020: 4-5.
- [14] 高晶晶, 慕苗, 闫君芝, 等. 陕北小粒黑豆皮原花青素提取工艺及抗氧化性研究[J]. *食品与机械*, 2019, 35(6): 159-164.
- GAO Jing-jing, MU Miao, YAN Jun-zhi, et al. Study on the extraction processing and antioxidant activity of procyanidins from small black bean coats in northern shaanxi[J]. *Food & Machinery*, 2019, 35(6): 159-164.
- [15] DE HOYOS-MARTINEZ P L, MERLE J, LABIDI J, et al. Tannins extraction: A key point for their valorization and cleaner production[J]. *Journal of Cleaner Production*, 2018, 206: 1 138-1 155.
- [16] KILIC E, NOVOSELOVA M V, LIM S H, et al. Formulation for oral delivery of lactoferrin based on bovine serum albumin and tannic acid multilayer microcapsules[J]. *Scientific Reports*, 2017, 7: 44159.
- [17] 陈志宏, 陈静, 张余, 等. 固定化单宁在食品领域的研究与应用[J]. *食品工业*, 2018, 39(2): 289-292.
- CHEN Zhi-hong, CHEN Jing, ZHANG Cuan, et al. The immobilized tannin and its research and utilizations in food fields[J]. *The Food Industry*, 2018, 39(2): 289-292.
- [18] 张雅丽, 李建科, 刘柳, 等. 五倍子单宁对常见食品腐败菌和致病菌抑制作用研究[J]. *食品工业科技*, 2013, 34(18): 141-143.
- ZHANG Ya-li, LI Jian-ke, LIU Liu, et al. Antimicrobial activities of chinese gallotannins against the common food spoilage and foodborne pathogens[J]. *Science and Technology of Food Industry*, 2013, 34(18): 141-143.
- [19] PINTO P, SOUSA G, CRISPIM F, et al. Eucalyptus globulus bark as source of tannin extracts for application in leather industry[J]. *ACS Sustainable Chemistry & Engineering*, 2013(8): 950-955.
- [20] SMERIGLIO A, BARRECA D, BELLOCOO E, et al. Proanthocyanidins and hydrolysable tannins: occurrence, dietary intake and pharmacological effects: Pharmacological aspects of tannins[J]. *British Journal of Pharmacology*, 2016, 174(11): 1 244-1 262.
- [21] LUZARDO F, VELASCO F G, CPRREIA I, et al. Removal of lead ions from water using a resin of mimosa tannin and carbon nanotubes[J]. *Environmental Technology & Innovation*, 2017, 7: 219-228.
- [22] ZHANG Liang-liang, WANG Yong-mei, XU Man, et al. Research advances on analysis of condensed tannins from plant extract[J]. *Biomass Chemical Engineering*, 2012, 46(2): 30-38.
- [23] 田富林, 黄文晶, 王展, 等. 植物多酚提取研究进展[J]. *食品与机械*, 2020, 36(9): 211-216.
- TIAN Fu-lin, HUANG Wen-jing, WANG Zhan, et al. Research progress on the extraction of plant polyphenols[J]. *Food & Machinery*, 2020, 36(9): 211-216.
- [24] GUO Lin-xin, QIANG Tao-tao, MA Yang-min, et al. Optimisation of tannin extraction from *Coriaria nepalensis* bark as a renewable resource for use in tanning[J]. *Industrial Crops and Products*, 2020, 149: 112360.
- [25] 贾贵华, 任雪峰. 苣荬菜根中单宁提取工艺的研究[J]. *中兽医医药杂志*, 2020, 39(2): 24-28.
- JIA Gui-hua, REN Xue-feng. Extraction technology of tannins from the roots of *Sonchus arvensis* L.[J]. *Journal of Traditional Chinese Veterinary Medicine*, 2020, 39(2): 24-28.
- [26] 陈培旭, 刘春利, 王思渊, 等. 塔拉单宁酶解生产没食子酸的工艺优化[J]. *现代食品科技*, 2020, 36(12): 60-68.
- CHEN Pei-xu, LIU Chun-li, WANG Si-yuan, et al. Optimization of gallic acid production by enzymatic hydrolysis of tara tannin[J]. *Modern Food Science & Technology*, 2020, 36(12): 60-68.

- [27] RHAZI N, HANNACHE H, OUMAM M, et al. Green extraction process of tannins obtained from Moroccan *Acacia mollissima* barks by microwave: Modeling and optimization of the process using the response surface methodology RSM[J]. *Arabian Journal of Chemistry*, 2019, 12(8): 2 668-2 684.
- [28] LUO Xiao-hu, BAI Ren-liu, ZHEN De-shuai, et al. Response surface optimization of the enzyme-based ultrasound-assisted extraction of acorn tannins and their corrosion inhibition properties[J]. *Industrial Crops and Products*, 2019, 129: 405-413.
- [29] 郑欣欣, 赵雨婷, 潘彪, 等. 西加云杉木材中单宁的提取、分布及组分[J]. *林业工程学报*, 2021, 6(2): 108-113.
- ZHENG Xin-xin, ZHAO Yu-ting, PAN Biao, et al. Extraction, distribution and composition of tannin in *picea sitchensis*[J]. *Journal of Forestry Engineering*, 2021, 6(2): 108-113.
- [30] 赖晓琳, 张刚, 黄建军. 香蕉叶缩合单宁超声提取工艺优化[J]. *绵阳师范学院学报*, 2020, 39(5): 24-30.
- LAI Xiao-lin, ZHANG Gang, HUANG Jian-jun, et al. Optimization of the extraction process of condensed tannins from banana leaves[J]. *Journal of Mianyang Teachers' College*, 2020, 39(5): 24-30.
- [31] 李志, 冉茂乾, 焦彦朝. 响应面法优化刺梨中单宁提取工艺研究[J]. *云南师范大学学报(自然科学版)*, 2019, 39(2): 53-59.
- LI Zhi, RAN Mao-qian, JIAO Yan-chao. Optimization of extraction process for tannin from *rosa roxburghii* tratt by response surface methodology[J]. *Journal of Yunan Normal University(Natural Sciences Edition)*, 2019, 39(2): 53-59.
- [32] 刘明珍, 孙国鹏, 戴二宁. 银缕梅叶片中单宁提取纯化工艺的研究[J]. *化学研究与应用*, 2020, 32(4): 684-688.
- LIU Ming-zhen, SUN Guo-peng, DAI Er-ning. Study on purification process optimization of tannins from leaves of *parrotia subaequalis*[J]. *Chemical Research and Application*, 2020, 32(4): 684-688.
- [33] 刘晓培. 高粱籽粒单宁的高效提取及在猪肉冷藏保鲜中的作用研究[D]. 泰安: 山东农业大学, 2020: 40.
- LIU Xiao-pei. Efficient extraction of tannin from sorghum grains and its roles in chilled pork preservation[D]. Tai'an: Shandong Agricultural University, 2020: 40.
- [34] NGOH Y Y, GAN C Y. Enzyme-assisted extraction and identification of antioxidative and α -amylase inhibitory peptides from Pinto beans (*Phaseolus vulgaris* cv. Pinto) [J]. *Food Chemistry*, 2016, 190: 331-337.
- [35] 姜萍, 黄娟, 李春福. 超临界 CO_2 萃取单宁酸的研究[J]. *林产化工通讯*, 2005(6): 17-19.
- JIANG Ping, HUANG Juan, LI Chun-fu. Study on supercritical carbon dioxide extraction of tannic acid[J]. *Journal of Chemical Industry of Forest Products*, 2005(6): 17-19.
- [36] 范小曼. 白花败酱单宁的提取、分离及活性研究[D]. 杭州: 浙江大学, 2014: 49.
- FAN Xiao-man. Extraction, separation and activity study of tannin of *patrinia villosa* juss [D]. Hangzhou: Zhejiang University, 2014: 49.
- [37] 杜运平, 秦清, 徐浩, 等. 膜分离技术制备板栗苞单宁的研究[J]. *安徽农业科学*, 2011, 39(11): 6 571-6 572.
- DU Yun-ping, QIN Qing, XU Hao, et al. Study on preparation of chestnut shell tannin by polysulfone membrane [J]. *Journal of Anhui Agricultural Sciences*, 2011, 39(11): 6 571-6 572.
- [38] XIE Wei-ling, MA Wei-jie, LIU Pan, et al. Overview of thioredoxin system and targeted therapies for acute leukemia[J]. *Mitochondrion*, 2019, 47: 38-46.
- [39] 丛明, 罗俊生, 霍小川. 原花青素对创伤性脑损伤大鼠大脑皮质 Bcl-2、Bax 蛋白表达的影响[J]. *山东医药*, 2011, 51(22): 32-33.
- CONG Ming, LUO Jun-sheng, HUO Xiao-chuan. Effect of procyanidins on the expression of Bcl-2 and Bax protein in the cerebral cortex of rats with traumatic brain injury[J]. *Shandong Medical Journal*, 2011, 51(22): 32-33.
- [40] TRUONG V L, BAK M J, JUN M, et al. Antioxidant defense and hepatoprotection by procyanidins from almond (*Prunus amygdalus*) skins[J]. *Journal of Agricultural & Food Chemistry*, 2014, 62(34): 8 668-8 678.
- [41] MONAGAS M, URPI-SARDA M, SANCHEZ-PATAN F, et al. Insights into the metabolism and microbial biotransformation of dietary flavan-3-ols and bioactivity of their metabolites [J]. *Food Function*, 2010(1): 233-253.
- [42] PATHAK A K, DUTTA N, PATTANAIK A K, et al. Effect of condensed tannins containing *Ficus infectoria* and *Psidium guajava* leaf meal mixture supplementation on nutrient metabolism, methane emission and performance of lambs[J]. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*, 2017, 30(12): 1 702-1 710.
- [43] ZARIN M A, WAN H Y, ISHAA A, et al. Antioxidant, antimicrobial and cytotoxic potential of condensed tannins from *Leucaena leucocephala* hybrid-rendang [J]. *Food Science and Human Wellness*, 2016, 5(2): 65-75.
- [44] FUMAMALLI M, SANGIOVANNI E, VRHOVSEK U, et al. Strawberry tannins inhibit IL-8 secretion in a cell model of gastric inflammation [J]. *Pharmacological Research*, 2016, 111: 703-712.
- [45] 付军. 单宁酸在制备抗冠状病毒的药物方面的应用: CN111759851B[P]. 2021-01-26.
- FU Jun. Application of tannic acid in preparation of drugs against coronavirus: CN111759851B[P]. 2021-01-26.
- [46] ZHANG Xu-fu, DAI Ying-chun, ZHONG Wei-ming, et al. Tannic acid inhibited norovirus binding to HBGA receptors, a study of 50 Chinese medicinal herbs [J]. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, 2012, 20(4): 1 616-1 623.
- [47] FARHA A K, YANG Qiong-qiong, KIM G, et al. Tannins as an alternative to antibiotics[J]. *Food Bioscience*, 2020, 38: 100751.
- [48] SIENIAWSKA E. Activities of tannins: From in vitro studies to clinical trials[J]. *Natural Product Communications*, 2015, 10(11): 1 877-1 884.

(下转第 238 页)

- PING Shun, ZHANG Cui-ping, ZHENG Huo-qing, et al. Research progress on freshness index of bee pollen[J]. *Apiculture of China*, 2012, 63(Z3): 36-39.
- [63] 孙毅, 杨义芳, 杨必成, 等. 油菜蜂花粉生理活性及作用机制研究进展[J]. *中国蜂业*, 2010, 61(9): 5-9.
- SUN Yi, YANG Yi-fang, YANG Bi-cheng, et al. Research progress on physiological activity and mechanism of rape bee pollen[J]. *Apiculture of China*, 2010, 61(9): 5-9.
- [64] 王开发, 张盛隆, 支崇远, 等. 花粉化妆品中的应用和前景[J]. *香料香精化妆品*, 2002(3): 42-43, 49.
- WANG Kai-fa, ZHANG Sheng-long, ZHI Chong-yuan, et al. Application and prospect of pollen cosmetics[J]. *Flavour Fragrance Cosmetics*, 2002(3): 42-43, 49.
- [65] 郑慧, 郑淘, 王睿捷, 等. 粉碎粒径对油菜蜂花粉在体外模拟消化中多酚含量及发酵产酸的影响[J]. *食品与发酵工业*, 2019, 45(7): 59-64.
- ZHENG Hui, ZHENG Tao, WANG Rui-jie, et al. Effects of crushing particle size on polyphenols content and fermentation acid production of rape bee pollen during simulated digestion in vitro[J]. *Food and Fermentation Industries*, 2019, 45(7): 59-64.
- [66] 刘文静, 张志旭, 秦丹. 破壁方式对蜂花粉抑制 α -葡萄糖苷酶活性的影响[J]. *食品与机械*, 2017, 33(8): 159-162.
- LIU Wen-jing, ZHANG Zhi-xu, QIN Dan. Effect of wall-breaking method on bee pollen inhibition of α -glucosidase activity[J]. *Food & Machinery*, 2017, 33(8): 159-162.
- [67] 连文绮, 薛霖莉, 郑晓楠. 油菜蜂花粉破壁前后的品质分析[J]. *山西农业科学*, 2016, 44(10): 1 464-1 466.
- LIAN Wen-qi, XUE Lin-li, ZHENG Xiao-nan. Quality analysis of rape bee pollen before and after wall breaking[J]. *Journal of Shanxi Agricultural Sciences*, 2016, 44(10): 1 464-1 466.
- [68] 徐景耀. 蜂花粉人工破壁弊多利少[C]// 2005 年全国蜂产品市场信息交流会论文集. 北京: 中国养蜂学会, 2005: 31-33.
- XU Jing-yao. Artificial wall breaking of bee pollen has more disadvantages than advantages[C]// *Proceedings of the 2005 National Bee products Market Information Exchange Conference*. Beijing: Apicultural Science Association of China, 2005: 31-33.
- [69] 王如伟, 杨开, 何厚洪, 等. 一种治疗前列腺增生的油菜花粉总甾醇及其制备方法: CN107669728A[P]. 2018-02-09.
- WANG Ru-wei, YANG Kai, HE Hou-hong, et al. A kind of rape pollen total sterol for treating prostate hyperplasia and its preparation method: CN107669728A[P]. 2018-02-09.
- [70] 徐一达. 一种油菜花碱及其应用: CN106366014A[P]. 2017-02-01.
- XU Yi-da. A kind of rape alkali and its application: CN106366014A[P]. 2017-02-01.
- [71] 冯瑛, 王永宁, 石玉平, 等. 油菜蜂花粉酒及其制备方法: CN104087491A[P]. 2014-10-08.
- FENG Ying, WANG Yong-ning, SHI Yu-ping, et al. Rape bee pollen wine and its preparation method: CN104087491A[P]. 2014-10-08.
- [72] 徐志军, 尹永, 董湘辉, 等. 油菜蜂花粉提取物及其制备方法和在抗衰老护肤品中的应用: CN102188350A[P]. 2011-09-21.
- XU Zhi-jun, YIN Yong, DONG Xiang-hui, et al. Rape bee pollen extract and its preparation method and application in anti-aging skin care products: CN102188350A[P]. 2011-09-21.
- [73] 安徽鑫牛农业科技有限公司. 一种牦牛饲料配方、制备方法及其饲喂方法: CN201911302529.8[P]. 2020-05-01.
- Anhui Xinniu Agricultural Technology Co., Ltd. A calf feed formula, preparation method and feeding method: CN201911302529.8[P]. 2020-05-01.
- [74] PITSIOS C, CHLIVA C, MIKOS N, et al. Bee pollen sensitivity in airborne pollen allergic individuals[J]. *Annals of Allergy, Asthma & Immunology: Official Publication of the American College of Allergy, Asthma & Immunology*, 2006, 97(5): 703-706.
- [75] 姚海春, 姚京辉, 陈云. 蜂花粉过敏反应与中毒机理临床研究[J]. *中国蜂业*, 2015, 66(6): 50-51.
- YAO Hai-chun, YAO Jing-hui, CHEN Yun. Clinical study on allergic reaction and poisoning mechanism of bee pollen[J]. *Apiculture of China*, 2015, 66(6): 50-51.

(上接第 230 页)

- [49] 耿雪莹, 郭藏, 米生权, 等. 单宁的血糖调节活性功能研究进展[J]. *食品与发酵工业*, 2021, 47(7): 301-306.
- GENG Xue-ying, GUO Cang, MI Sheng-quan, et al. Plasma glucose regulating activity of tannin[J]. *Food and Fermentation Industries*, 2021, 47(7): 301-306.
- [50] 彭凯, 王国霞, 赵红霞, 等. 饲料单宁提高鱼类糖利用能力的作用机制研究进展[J]. *动物营养学报*, 2021, 33(3): 1 208-1 215.
- PENG Kai, WANG Guo-xia, ZHAO Hong-xia, et al. Advances in studies on mechanisms of dietary tannins improving sugar utilization of fish[J]. *Chinese Journal of Animal Nutrition*, 2021, 33(3): 1 208-1 215.
- [51] PRADA A L, AMADO J, KEITA H, et al. Cassia grandis fruit extract reduces the blood glucose level in alloxan-induced diabetic rats[J]. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 2018, 103: 421-428.
- [52] EPASINGHE D J, YIU C, BURROW M F, et al. Effect of flavonoids on the mechanical properties of demineralised dentine[J]. *Journal of Dentistry*, 2014, 42(9): 1 178-1 184.
- [53] PALLARÈS V, CEDÓ L, CASTELL-AUVÍ A, et al. Effects of grape seed procyanidin extract over low-grade chronic inflammation of obese Zucker fa/fa rats[J]. *Food Research International*, 2013, 53(1): 319-324.
- [54] ENGSTRÖM M T, KARONEN M, AHERN J R, et al. Chemical structures of plant hydrolyzable tannins reveal their in vitro activity against egg hatching and motility of haemonchus contortus nematodes[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2016, 64(4): 840-851.