

热回流和超声条件下不同溶剂对油茶粕多酚提取的影响

Effects of different solvents on extraction of phenolics from oil-tea meal under hot reflux and ultrasonic assistances

陈佩云^{1,2}

钟海雁^{1,2}

CHEN Pei-yun^{1,2} ZHONG Hai-yan^{1,2}

(1. 中南林业科技大学, 湖南 长沙 410004; 2. 经济林培育与保护教育部重点实验室, 湖南 长沙 410004)

(1. Central South University of Forestry and Technology, Changsha, Hunan 410004, China; 2. Key Laboratory of Cultivation and Protection for Non-Wood Forest Trees, Ministry of Education, Changsha, Hunan 410004, China)

摘要: 研究探讨了热回流和超声辅助条件下甲醇、乙醇和丙酮对油茶粕多酚提取效果及抗氧化活性的影响。热回流和超声辅助条件下, 丙酮提取物的总酚含量分别为 $(1\,444 \pm 2)$, $(1\,623 \pm 1)$ mg GAE/100 g · 油茶粕(DW), 显著高于 ($P < 0.05$) 对应的甲醇、乙醇提取物。通过 HPLC 分析发现油茶粕提取物中含有儿茶素、表儿茶素、芦丁和槲皮素。另外, 热回流和超声辅助条件下丙酮提取物的 ORAC 分别为 (358.4 ± 16.9) 和 (370.6 ± 42.1) $\mu\text{mol TE/g} \cdot \text{油茶粕(DW)}$, 显著高于 ($P < 0.05$) 对应的甲醇、乙醇提取物。结果表明, 丙酮在超声辅助条件下对油茶粕多酚的提取效果高于其他的提取方法。

关键词: 油茶粕; 多酚; 抗氧化活性; 超声; 热回流

Abstract: The effects of methanol, ethanol and acetone was investigated, on the extraction of phenolic contents and antioxidant activity from oil-tea meal under hot reflux and ultrasonic assistances. Under hot reflux and ultrasonic assistances, phenolic contents of acetone extracts were $1\,444 \pm 2$ and $1\,623 \pm 1$ mg GAE / 100 g (DW), respectively. that were significantly higher ($P < 0.05$) than the corresponding methanol and ethanol extracts. Phenolic compounds, including catechin, epicatechin, rutin and quercetin were determinate by HPLC in these extracts. Under hot reflux and ultrasonic assistances, the ORAC values of acetone extracts were 358.4 ± 16.9 and 370.6 ± 42.1 $\mu\text{mol TE/g (DW)}$, respectively. That were significantly high-

er ($P < 0.05$) than the corresponding methanol and ethanol extracts. These results show that the extraction efficiency of acetone coupled with ultrasonic is better than other methods.

Keywords: oil-tea meal; polyphenol; antioxidant activity; ultrasonic; hot reflux

油茶与棕榈、橄榄、椰子并称为世界四大木本油料作物, 在中国主要分布于湖南、江西、浙江等地^[1]。油茶籽经压榨制油后剩下的饼粕称为油茶饼粕。中国油茶资源丰富, 每年油茶粕的产量约 68 万 t^[2], 油茶粕中含有丰富的蛋白、多糖、茶皂素及酚类化合物^[3-5]。研究发现油茶粕蛋白多肽具有降血脂^[2]和免疫调节功能^[6]; 油茶粕多糖具有抗氧化^[7]、降血糖^[8]功能; 油茶粕茶皂素由于其结构特点而成为良好的表面活性剂, 同时具有溶血、抗菌等功效^[9], 因此广泛应用于农药领域^[10]。油茶多酚作为一种高抗氧化活性物质具有抑制油脂氧化^[11]及 DNA 氧化损伤^[12]等作用, 目前对油茶饼粕的研究主要集中在茶皂素以及油茶多糖的提取纯化方面^[13], 对于油茶粕多酚组成及其抗氧化活性方面的研究较少。而研究^[14]油茶粕的抗氧化活性主要包括对 DPPH 自由基、羟基自由基、超氧阴离子的清除作用, 以及对 Fe^{2+} 的络合能力和 Fe^{3+} 的还原能力, 这几种检测方法是单电子转移机制, 其测定过程不包括活性氧, 不能综合反映油茶粕的总抗氧化能力。ORAC 是指氧自由基清除能力或抗氧化能力测定指数, 是一种对总抗氧化能力方便、高效、精确的检测方法^[15]。

甲醇、乙醇和丙酮是常用的多酚提取剂, 根据其极性的差异可以从植物中萃取出不同极性的酚类化合物。甲醇、乙醇和丙酮常应用于茶叶^[16]及谷物中酚类化合物的提取, 并且发现谷物丙酮提取物的抗氧化活性相比于甲醇和乙醇提取物要高^[17]。超声和热回流是常用的多酚提取辅助手段,

基金项目: 国家林业局林业科学技术推广项目(编号: [2014]57 号); 国家油茶工程技术研究中心开放基金项目(编号: 2014C201-2)

作者简介: 陈佩云, 女, 中南林业科技大学在读硕士研究生。

通讯作者: 钟海雁(1963—), 男, 中南林业科技大学教授。

E-mail: zhonghaiyan631210@126.com

收稿日期: 2016-01-05

超声震动可以改变物质的组织结构,有利于溶剂对酚类化合物的萃取^[18];热回流法可以使提取剂与目标物充分接触,并通过升温来提高溶剂对目标物的提取率,但该法提取时间较长。研究^[19]发现,不同的辅助提取手段对酚类化合物的提取率及活性具有一定的影响。

本研究拟考察甲醇、乙醇和丙酮在超声和热回流辅助条件下,对油茶粕酚类化合物的提取效果,分别采用福林酚—比色法和 HPLC 检测各提取物中总酚含量及酚类化合物组成,并采用 ORAC 方法评价各提取物的总抗氧化活性,旨在探讨出适合油茶粕酚类化合物的最佳提取方法,为进一步研究油茶粕酚类化合物的组成及其生物活性提供依据。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 试剂

油茶粕粉末:湖南省林科院;
甲醇、丙酮、无水乙醇:分析纯,天津试剂公司;
荧光素钠盐、没食子酸、ABAP(2,2'-偶氮二异丁基脒二盐酸盐)、Trolox 标准品:色谱纯,美国 Sigma 公司;
福林酚:分析纯,安徽博美生物制剂有限公司;
96 孔黑色酶标板:康宁公司;
碳酸钠、磷酸氢二钾、磷酸二氢钾:分析纯,广东省化学试剂工程技术研究开发中心。

1.1.2 仪器

电子恒温水浴锅:DZKW-4 型,北京中兴伟业仪器有限公司;
超声清洗机:SB25-12DT 型,宁波新芝生物科技有限公司;
可见分光光度计:721 型,上海菁华科技仪器有限公司;
酶标仪:VICTOR X3 型,美国 PE 公司;
pH 计:Seven Go IP67 型,美国 Mettler Toledo 公司;
高效液相色谱仪:1200 型,美国 Agilent 公司;
色谱柱:Agile ZORBAX SB-C₁₈ 分析型(4.6 mm×250 mm, 5 μm),美国 Agilent 公司;
固相萃取小柱:Welchrom Sep C₁₈,北京中仪宇盛科技有限公司;
固相萃取真空装置:Sep 5010 型,日本岛津公司;
电子天平:AL204 型,Mettler Toledo 仪器(上海)有限公司;
数显旋转蒸发仪:R-3 型,瑞士 Buchi 公司;
超纯水系统:ELGA 分析型,上海恒奇仪器仪表有限公司。

1.2 试验方法

1.2.1 不同提取条件下油茶粕多酚粗提物的制备 本研究根据前人^[13,20]研究结果和预试验设定提取条件如下:

(1) 热回流辅助提取:称取 5.0 g 油茶粕粉末于磨口锥形瓶中,加入 75 mL,50% (V/V) 乙醇,之后将磨口锥形瓶置于水浴锅中,并连接循环冷凝水装置,70 ℃ 提取 4 h。以 4 000 r/min 离心 20 min 回收提取试剂制得热回流辅助乙醇

粗提物,利用上述方法制备甲醇、丙酮提取物。

(2) 超声波辅助提取:称取 5.0 g 油茶粕粉末于磨口锥形瓶中,加入 75 mL,50% (V/V) 乙醇,之后将锥形瓶置于超声波提取仪中,60 ℃ 提取 0.5 h,超声强度 300 W。以 4 000 r/min 离心 20 min 回收提取试剂制得超声波辅助乙醇粗提物,利用上述方法制备甲醇、丙酮提取物。

1.2.2 多酚含量的测定 采用福林酚比色法。

(1) 标准曲线的绘制:根据文献[21]和预试验修改如下:首先以蒸馏水为溶剂配制 100 μg/mL 的没食子酸标准品母液,之后分别吸取 0.0,0.1,0.2,0.3,0.4,0.5 mL 的没食子酸标准品母液于 10 mL 容量瓶中,并加入福林酚试剂 1 mL 及 15% (m/m) Na₂CO₃ 溶液 2 mL,蒸馏水定容;室温下反应 2 h 后,以没食子酸标准品浓度为 0 μg/mL 的反应液为对照测 A₇₆₀,以反应液的吸光度对没食子酸标准品的浓度(1,2,3,4,5 μg/mL)绘制标准曲线。

(2) 样品的测定:首先移取 0.5 mL 稀释至适当倍数的样品于 10 mL 容量瓶中,之后加入福林酚试剂 1 mL 和 15% (m/m) Na₂CO₃ 溶液 2 mL,蒸馏水定容。室温下反应 2 h,以没食子酸标准品浓度为 0 μg/mL 的反应液为对照测样品反应液的 A₇₆₀,将样品反应液的 A₇₆₀ 代入标准曲线计算样品中多酚的含量。

1.2.3 油茶粕多酚粗提取物中多酚组成的测定 采用 HPLC 法。

(1) 样品的纯化:利用固相萃取对油茶粕多酚粗提物进行纯化,首先利用甲醇活化固相萃取小柱(Sep -C₁₈),然后向每个小柱中加入 5 mL 样品,收集经纯化的样品,并经 0.45 μm 滤膜进行过滤,以备 HPLC 分析。

(2) HPLC 分析:利用 HPLC 对油茶粕多酚粗提物的多酚组成进行分析。提取物中各成分的分离在 Agile ZORB-AX SB-C₁₈(4.6 mm×250 mm, 5 μm) 色谱柱中完成。以甲醇为流动相 A,0.2% 醋酸水溶液为流动相 B。洗脱程序为 0~5 min,10%~20% A,90%~80% B;5~18 min,20%~35% A,80%~60% B;18~22 min,35%~50% A,60%~50% B;22~36 min,50%~65% A,50%~35% B;36~40 min,65%~100% A,35%~0% B;40~45 min,100%~10% A,0%~90% B。流速为 1.0 mL/min,柱温 25 ℃,检测波长 280 nm^[22]。绘制以上酚类化合物标准品浓度(0.02, 0.04,0.06,0.08,0.10 mg/mL)对峰面积的标准曲线,依据标准曲线定量样品中酚类化合物的含量。

1.2.4 抗氧化活性的测定 采用 ORAC(氧自由基吸收能力)法。

(1) 磷酸缓冲液的配制:75 mmol/L 磷酸二氢钾(A)溶液配制,添加 10.21 g 磷酸二氢钾于 1 000 mL 容量瓶,添加 700 mL 超纯水和磁力搅拌子,搅拌直至溶解移去磁力搅拌子,添加超纯水定容;75 mmol/L 磷酸氢二钾(B)溶液配制,添加 13.06 g 磷酸氢二钾至 1 000 mL 容量瓶,添加 700 mL 超纯水和磁力搅拌子,搅拌至溶解移走搅拌子,再用超纯水定容;磷酸缓冲液配制,添加 800 mL 溶液 B 至 1 000 mL 烧杯,开始读 pH 计,逐渐添加 200 mL 溶液 A 控制 pH,调至

pH 7.4,将缓冲液储存在褐色玻璃瓶中。

(2) 油茶粕多酚粗提物的抗氧化活性:根据文献[23]以及实际仪器条件修改如下:首先以磷酸缓冲盐为溶剂配制 Trolox 标准品溶液(6.25,12.50,25.00,50.00 μmol/L),并移取 20 μL 样品、标准品至 96 孔黑板中,以磷酸缓冲盐为空白对照;待 96 孔黑板在 37 ℃下孵育 10 min 后,向每个孔中加入 200 μL 荧光素钠盐溶液,并再次在 37 ℃下孵育 20 min。之后向每个孔中加入 20 μL AAPH 溶液,并迅速在酶标仪中(激发波长 485 nm,发射波长 535 nm)每隔 5 min 检测一次 96 孔黑板中各孔的荧光强度,共检测 35 次。通过标准品曲线下面积与浓度之间的关系作线性回归方程,将样品的曲线下面积代入标准品回归方程计算样品的 ORAC 值。

1.2.5 数据统计 数据以均值±标准偏差(SD)的形式表示, $n=3$;并采用 Tukey’s 检验对数据进行分析(SPSS version13.0), $P<0.05$ 则认为具有显著性差异。

2 结果与分析

2.1 总酚含量及酚类化合物组成

在热回流和超声辅助提取条件下,丙酮提取物的总酚含量都显著高于($P<0.05$)对应的甲醇、乙醇提取物。并且超声条件下丙酮提取物中的总酚含量显著高于($P<0.05$)热回流条件下的丙酮提取物,其值分别为($1\,623\pm1$)和($1\,444\pm2$) mg GAE/100 g·油茶粕(DW)。在热回流和超声条件下,3 种溶剂对油茶粕总酚的提取效果由高到低分别为丙酮、甲醇和乙醇。

为了评价在热回流和超声辅助条件下甲醇、乙醇和丙酮对油茶粕中单一酚类化合物的提取效果,本研究利用 HPLC 分析了各提取物中的酚类化合物组成其结果见表 1。由表 1 可知,在热回流条件下丙酮对儿茶素、表儿茶素、芦丁和槲皮素的提取效果显著高于($P<0.05$)甲醇和乙醇,该结果与总酚含量一致;但甲醇和乙醇对这些酚类化合物的提取效果因化合物种类的不同而不同。在超声条件下,丙酮对儿茶素、芦丁和槲皮素的提取效果显著高于($P<0.05$)甲醇和乙醇;但丙酮对表儿茶素的提取效果与乙醇等同($P>0.05$),另外甲醇和乙醇对儿茶素、表儿茶素和芦丁提取效果相差不大($P>0.05$),但乙醇对槲皮素的提取效果显著高于($P<0.05$)甲醇。就儿茶素、表儿茶素、芦丁和槲皮素而言,热回流条件

下丙酮提取物中的含量最高,这一结果与总酚含量不一致。这说明提取方法对油茶粕中酚类化合物的提取效果与指示物有关,存在其他多酚物质未被检测出来的现象,天然多酚提取物的成分较复杂,对提取物中其他未检测出的多酚物质的定量还需进一步研究。

在本研究中,丙酮对油茶粕中总多酚、儿茶素、表儿茶素、芦丁和槲皮素的提取效果均高于甲醇和乙醇。热回流方法的提取条件是 70 ℃提取 4 h,超声方法的提取条件是 60 ℃提取 0.5 h。相比于热回流,超声方法中较低的温度更有利于酚类化合物的保护,并且所需的时间更短,超声条件下丙酮提取物中总酚的含量高于热回流条件下的丙酮提取物。就这几个方面而言,超声条件下,采用丙酮作为提取剂更适合于提取油茶粕中的酚类化合物。前人^[24-25]研究不同溶剂的提取多酚效果表明,溶剂的极性较强提取效果较好,丙酮提取大麦多酚效果较好,与本研究的结果一致,说明丙酮是提取多酚物质的一种较优溶剂。有研究^[26-28]表明超声辅助提取法对茶树花多酚、沙枣多酚、桑葚果渣多酚的提取得率较好,与本试验的研究结果一致,说明超声辅助提取法可以作为不同物质的多酚提取的高效方法。

2.2 油茶粕提取物的抗氧化活性

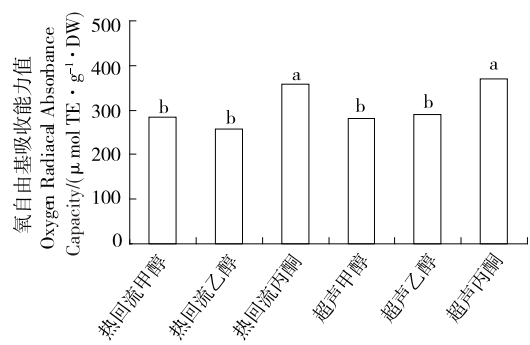
ORAC 方法广泛应用于评价食品及酚类化合物的抗氧化活性,ORAC 方法以脂质自由基作为反应自由基^[29]。因此采用 ORAC 方法评价油茶粕提取物的抗氧化活性,对于油茶粕多酚作为油脂抗氧化剂应用于茶油加工具有重要的意义。不同提取条件下油茶粕提取物的 ORAC 值见图 1。热回流和超声条件下丙酮提取物的 ORAC 分别为(358.4 ± 16.9)和(370.6 ± 42.1) μmol TE/g·油茶粕(DW),显著高于($P<0.05$)对应的甲醇、乙醇提取物。热回流条件下甲醇、乙醇提取物的 ORAC 值分别为(283.0 ± 31.5)和(258.3 ± 21.9) μmol TE/g·油茶粕(DW),超声条件下甲醇、乙醇提取物的 ORAC 值分别为(281.2 ± 9.3)和(291.2 ± 36.3) μmol TE/g·油茶粕(DW),并且这些值之间没有显著性差异($P>0.05$)。结果表明丙酮提取物的总抗氧化活性高于乙醇提取物和甲醇提取物,其中以超声丙酮提取物的 ORAC 值最高,乙醇与甲醇两种溶剂提取多酚效果相近,无显著差异,同等条件下,乙醇较甲醇更经济环保。

表 1 不同提取条件下油茶粕提取物的总酚含量及酚类化合物组成[†]

Table 1 The total phenol content and the phenolic compounds composition of oil-tea meal extraction by different extraction condition

方法	溶剂	儿茶素/ (10 ⁻² mg·g ⁻¹ ·DW)	表儿茶素/ (10 ⁻² mg·g ⁻¹ ·DW)	芦丁/ (10 ⁻² mg·g ⁻¹ ·DW)	槲皮素/ (10 ⁻² mg·g ⁻¹ ·DW)	总酚/(10 ⁻² mg GAE·g ⁻¹ ·DW)
热回流 提取	甲醇	25.483±0.142 ^b	10.734±0.359 ^c	5.391±0.184 ^d	2.644±0.072 ^{bc}	1 199±1 ^d
	乙醇	27.190±0.091 ^d	5.170±0.311 ^d	7.241±0.148 ^c	2.163±0.037 ^d	1 117±1 ^e
	丙酮	41.140±0.224 ^a	26.804±2.344 ^a	14.088±0.304 ^a	3.950±0.004 ^a	1 444±2 ^b
超声 提取	甲醇	31.164±0.510 ^c	20.800±1.996 ^b	11.874±0.400 ^b	2.202±0.077 ^d	1 236±2 ^c
	乙醇	31.554±0.484 ^c	24.890±2.644 ^{ab}	12.067±0.545 ^b	2.546±0.100 ^c	1 102±2 ^f
	丙酮	34.818±0.111 ^b	24.874±3.446 ^{ab}	13.377±0.119 ^a	2.784±0.038 ^b	1 623±1 ^a

[†] 同列中数据带不同的字母表示具有显著性差异($P<0.05$)。



不同字母表示具有显著性差异 (P<0.05)

图 1 不同提取条件下油茶粕提取物的 ORAC 值
Figure 1 The ORAC value of oil tea meal extractive by different extraction condition

徐维盛等^[30]研究得出山楂果乙醇提取物 ORAC 值为 170.3~304.2 μmol TE/g,脐橙乙醇提取物 ORAC 值为 11.4~17.2 μmol TE/g,蜜桔乙醇提取物 ORAC 值为 66.0~80.2 μmol TE/g;赵健等^[31]研究得出 3 种保健食品的 ORAC 值中盐藻素叶黄素软胶囊为 127.5~128.2 μmol TE/g,番茄红素软胶囊为 137.5~138.2 μmol TE/g,原花茶色素胶囊为 129.0~129.2 μmol TE/g。以上几种高抗氧水果和保健品,均较本研究中超声丙酮提取油茶饼多酚的氧自由基吸收能力低,说明油茶饼粕具有较高的抗氧化活性。但油茶饼粕的 ORAC 值相比于茶叶(471.6~1 379.1 μmol TE/g^[32])较低,这是因为茶叶中的多酚类物质含量较油茶饼粕高。

3 结论

本研究通过对比热回流与超声辅助两种方法以及甲醇、乙醇、丙酮 3 种溶剂对油茶饼多酚提取的影响,发现超声条件下丙酮对油茶粕多酚的提取效果最好,并且该提取物也表现出最高的抗氧化活性。因此,超声辅助条件下丙酮提取可用来评价油茶粕中的酚类化合物组成及抗氧活性。通过 HPLC 分析发现,油茶粕中含有儿茶素、表儿茶素、芦丁和槲皮素 4 种酚类化合物,且存在其他未被检测出的多酚类物质,有待进一步定量研究。抗氧化活性试验结果表明油茶饼粕提取物具有一定的抗氧化活性,其中以超声辅助丙酮提取物的氧自由基吸收能力最强。超声辅助丙酮油茶饼粕提取物的 ORAC 值比一些水果提取物和保健品的 ORAC 值高,说明油茶饼粕提取物具有较高抗氧化活性,未来可作为天然植物源抗氧化剂和保健品研究利用。因此,利用化学提取及纯化手段分离出油茶粕中具有高抗氧活性的酚类化合物是油茶粕精深加工的一个重要方向,所制备的酚类化合物既可以作为食品添加剂用于油脂及其他食品中,也可以作为食品活性因子用以生产功能性食品。

参考文献

[1] 朱勇. 茶油的脂肪酸变化及其生物酚的抗氧作用[D]. 长沙: 中南林业科技大学, 2013: 1.
[2] 龚吉军, 钟海雁, 黄卫文, 等. 油茶粕多酚降血脂活性研究[J]. 食品研究与开发, 2012(10): 24-28.
[3] 方飞, 王力生. 油茶粕资源综合利用研究进展[J]. 饲料博

览, 2011(6): 30-32.
[4] 刘尧刚, 胡健华, 周易枚. 油茶粕中茶皂素提取工艺优化的研究[J]. 粮油加工, 2008(6): 80-83.
[5] 刘小如, 张丽美, 胡蒋宁, 等. 油茶粕多糖的分级纯化及结构研究[J]. 食品科学, 2013(23): 96-102.
[6] 龚吉军, 黄卫文, 钟海雁, 等. 油茶粕多肽对小鼠免疫调节功能的影响[J]. 中国食品学报, 2013(12): 21-27.
[7] 康海权, 陈亚琪, 陈秋平, 等. 油茶果壳多糖的抗氧化作用及单糖组成[J]. 食品与发酵工业, 2010(4): 36-39.
[8] 张宽朝, 马皖燕, 文汉. 油茶籽多糖降血糖作用的初步研究[J]. 食品工业科技, 2014(2): 337-339.
[9] 柳荣祥, 朱全芬, 夏春华. 茶皂素生物活性应用研究进展及发展趋势[J]. 茶叶科学, 1996(2): 3-8.
[10] 郝卫宁, 曾勇, 胡美英, 等. 茶皂素在农药领域的应用研究进展[J]. 农药, 2010, 49(2): 90-93, 96.
[11] 袁英姿, 曹清明, 钟海雁, 等. 油茶籽多酚对茶油的抗氧化性的研究[J]. 食品工业科技, 2009(6): 103-105.
[12] 侍银宝, 钟海雁. 油茶果皮多酚粗提物对 DNA 氧化损伤的影响[J]. 食品与机械, 2013, 29(6): 143-146.
[13] 王徐卿, 沈建福, 王敏, 等. 油茶籽饼多酚的乙醇提取工艺优化研究[J]. 浙江林业科技, 2007, 27(3): 41-44.
[14] 曹耀强, 谢新华, 陈卫军, 等. 油茶饼中酚类化合物的抗氧化性研究[J]. 食品科技, 2012(3): 201-204.
[15] 宋立霞, 王向社, 李明芳, 等. 氧自由基吸收能力测定方法的研究进展[J]. 食品研究与开发, 2008, 29(12): 166-170.
[16] 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.
[17] Zhao Hai-feng, Dong Jian-jun, Lu Jian, et al. Effects of extraction solvent mixtures on antioxidant activity evaluation and their extraction capacity and selectivity for free phenolic compounds in barley (*Hordeum vulgare* L.) [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2006, 54(19): 7 277-7 286.
[18] 李志西, 李元瑞, 葛蕾, 等. 苹果渣多酚超声波提取工艺及其抗氧化性研究[J]. 西北农林科技大学学报: 自然科学版, 2005, 33(8): 131-134.
[19] 蒋丽, 王雪梅, 全学军, 等. 不同提取方法对茶多酚理化性质的影响[J]. 食品科学, 2010(14): 136-139.
[20] 谢骄阳, 何志鹏, 谢东养, 等. 超声辅助乙醇提取油茶籽饼多酚工艺的优化[J]. 南方农业学报, 2012, 43(4): 515-519.
[21] Singleton V L, Rossi J A. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents[J]. American journal of Enology and Viticulture, 1965, 16(3): 144-158.
[22] 廖义秀, 钟海雁. 茶油贮藏的稳定性及高效液相色谱分析[J]. 食品与机械, 2013, 29(1): 173-176.
[23] Huang De-jian, Ou Bo-xin, Hampsch-Woodill M, et al. High-throughput assay of oxygen radical absorbance capacity (ORAC) using a multichannel liquid handling system coupled with a microplate fluorescence reader in 96-well format[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2002, 50(16): 4 437-4 444.
[24] 白雪莲. 苹果渣多酚分离鉴定与体外抗氧化和抗炎活性初步研究[D]. 杨凌: 西北农林科技大学, 2011: 18-22.
[25] 陆健, 孔维宝, 赵海峰, 等. 大麦总多酚不同溶剂提取物对 DPPH 自由基清除能力的影响[J]. 食品与生物技术学报, 2008, 27(1): 58-61.

参考文献

[1] 张润光,刁小琴,关海宁. 黑木耳营养保健功能及其产品开发[J]. 保鲜与加工, 2010, 1(1): 54-56.

[2] 刘雅静. 黑木耳化学成分及药理活性研究[D]. 山东: 山东轻工业学院, 2011: 1-10.

[3] Zhang Hua, Wang Zhen-yu, Yang Lin, et al. In vitro antioxidant activities of sulfated derivatives of polysaccharides extracted from *Auricularia auricular*[J]. International Journal of Molecular Sciences, 2011, 12(5): 3 288-3 340.

[4] 王辰龙, 张子奇, 王曼, 等. 黑木耳多糖的提取分离及体外抗凝血作用研究[J]. 食品工业科技, 2013, 34(9): 238-241.

[5] 刘美娜. 木耳多糖的提取[D]. 大连: 大连工业大学, 2009.

[6] 唐娟, 马永强. 超声波技术在黑木耳多糖提取中的应用[J]. 食品与机械, 2005, 21(1): 28-29.

[7] 朱磊, 王振宇, 周芳. 响应面法优化微波辅助提取黑木耳多糖工艺研究[J]. 中国食品学报, 2009, 9(2): 53-60.

[8] 王金凤. 木耳多糖提取工艺研究[J]. 食品科学, 2004, 25(6): 143-146.

[9] 樊梓鸾, 林秀芳, 王丽, 等. 响应面法优化高剪切分散乳化提取

悬钩子多酚[J]. 食品与生物技术学报, 2014, 33(4): 355-360.

[10] 孙术国, 麻成金, 黄群, 等. 高速剪切与微波辅助偶联提取鲜葛中葛根素[J]. 食品科学, 2009, 30(22): 50-53.

[11] 李丽, 卜令娜, 刘晔玮, 等. 高速剪切技术提取油菜花粉总黄酮工艺[J]. 食品工业科技, 2012, 33(13): 285-287,372.

[12] Xu Ya-qin, Zhang Ling, Yang Yu, et al. Optimization of ultrasound-assisted compound enzymatic extraction and characterization of polysaccharides from blackcurrant[J]. Carbohydrate Polymers, 2015,117(13): 895-902.

[13] 张立娟, 于国萍, 周国华. 黑木耳多糖酶法提取条件的研究[J]. 食品研究与开发, 2005, 26(3): 89-91.

[14] 姜在祥, 张有林, 王洪新. 超声波协同酶法提取黑木耳多糖[J]. 食品工业, 2007(1): 29-32.

[15] 黄生权, 敖宏, 郭爱玲. 真菌保健食品中多糖含量测定方法的比较[J]. 现代食品科技, 2010, 26(7): 767-771.

[16] 姜红, 孙宏鑫, 李晶, 等. 酶法提取黑木耳多糖[J]. 食品与发酵工业, 2005, 6(2): 131-133.

[17] 鲜乔, 张拥军, 蒋家新, 等. 胞壁溶解酶用于黑木耳破壁提取工艺的研究[J]. 中国食品学报, 2012, 12(3): 96-103.

(上接第 150 页)

[12] John Moore, Yasunori Maeda, B Millar, et al. Employment of 16S rDNA gene sequencing techniques for improved identification of difficult-to-identify bacterial veterinary pathogens[J]. World J. Microbiol. Biotechnol., 2008, 24(7): 1 227-1 232.

[13] 何建军, 周明全, 胡中立, 等. 真空包装冷藏生鲜净菜莲藕的研制[J]. 湖北农业科学, 2002(6): 118-120.

[14] Woo P C, Ng K H, Lau S K, et al. Usefulness of the MicroSeq 500 16S ribosomal DNA-based bacterial identification system for identification of clinically significant bacterial isolates with ambiguous biochemical profiles[J]. J. Clin. Microbiol., 2003, 41(5): 1 996-2 001.

[15] 樊振江, 郝亚勤, 张素君, 等. 鲜切莲藕微生物模型的建立及货架寿命预测[J]. 中国农学通报, 2007, 23(1): 326-329.

(上接第 175 页)

[26] 董建瑞, 黄阿根, 梁文娟. 茶树花多酚提取工艺的研究[J]. 食品与机械, 2007, 23(1): 83-86.

[27] 刘红, 李元元, 龚晓武, 等. 不同提取方法对沙枣多酚清除自由基能力的比较研究[J]. 食品科技, 2010, 35(11): 227-230.

[28] 邓义书, 包海蓉, 齐知耕. 桑葚果渣中总多酚的不同提取方法比较研究[J]. 湖南农业科技, 2010(15): 106-108.

[29] Prior R L, Hoang H, Gu Li-wei, et al. Assays for hydrophilic and lipophilic antioxidant capacity (oxygen radical absorbance

capacity(ORAC)) of plasma and other biological and food samples [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2003, 51(11): 3 273-3 279.

[30] 徐维盛, 李东, 刘静, 等. ORAC 法对 12 种水果总抗氧化能力评价研究[J]. 食品工业, 2014, 35(1): 247-250.

[31] 赵建, 宋亮楠, 刘薇, 等. ORAC 法测定保健食品抗氧化能力的体内外实验对比分析[J]. 食品科学, 2011, 32(15): 103-108.

[32] 徐维盛, 张桂雨, 刘静, 等. ORAC 法评价 16 种茶叶的抗氧化能力[J]. 食品安全质量检测学报, 2014, 5(1): 241-246.

(上接第 180 页)

[10] Rades, Thomas, Mcpowell, et al. Anti-ageing effects of *Sonchus oleraceus* L. (puha) leaf extracts on H₂O₂-induced cell senescence[J]. Molecular Plant, 2015, 20(4): 4 548-4 564.

[11] 石同同. 苦菜多酚、总黄酮提取工艺研究及其降解尼古丁作用初探[D]. 保定: 河北农业大学, 2014: 20-30.

[12] 蔡子龙, 潘颖, 聂政权, 等. 中心组合设计优化苦菜多酚类物质的提取工艺[J]. 湖北民族学院学报: 自然科学版, 2012, 30(1): 67-69.

[13] 徐丹丹, 张文斌, 杨瑞金, 等. 大孔吸附树脂对葵仁多酚的分离富集[J]. 食品与机械, 2015, 31(5): 210-216.

[14] 李琼, 陈凯, 陈燕勤, 等. 大孔吸附树脂分离纯化核桃青皮总多酚[J]. 食品与机械, 2015, 31(1): 175-180.

[15] 马婷婷, 田呈瑞, 李龙柱, 等. 响应面优化黄参茎叶多酚的提取工艺及其抗氧化活性[J]. 食品与生物技术学报, 2013, 32

(11): 1 218-1 236.

[16] 熊建华, 汤凯洁, 罗秋水, 等. 大孔吸附树脂纯化金银花叶总多酚的工艺优化[J]. 食品与机械, 2011, 27(3): 52-55.

[17] 袁英姿, 曹清明, 钟海雁, 等. 大孔吸附树脂纯化油茶籽多酚的研究[J]. 食品与机械, 2009, 25(1): 61-63.

[18] 周平, 吕晓玲, 胡淳罡. 大孔吸附树脂分离纯化迷迭香酸的研究[J]. 离子交换与吸附, 2011, 27(4): 304-314.

[19] Xi Li-sha, Mu Tai-hua, Sun Hong-nan. Preparative purification of polyphenols from sweet potato (*Ipomoea batatas* L.) leaves by AB-8 macroporous resins[J]. Food Chemistry, 2015, 172: 166-174.

[20] 刁晶晶, 曹龙奎. 大孔吸附树脂吸附分离纯化软枣猕猴桃总黄酮[J]. 食品科学, 2011, 32(12): 145-149.

[21] 冯进, 李敏, 曾晓雄, 等. 大孔树脂纯化蓝莓叶多酚及其组成分析[J]. 食品科学, 2013, 34(10): 86-91.