

大孔树脂纯化苦菜多酚及其组成分析

Purification and composition analysis on polyphenols from *Sonchus oleraceus* L. by macroporous resin

郑翠萍¹ 田呈瑞¹ 马婷婷¹ 权美平^{1,2}

ZHENG Cui-pin¹ TIAN Cheng-rui¹ MA Ting-ting¹ QUAN Mei-ping^{1,2}

(1. 陕西师范大学食品工程与营养科学学院, 陕西 西安 710062;

2. 渭南师范学院多河流湿地重点实验室, 陕西 渭南 714000)

(1. College of Food Engineering and Nutritional Science, Shaanxi Normal University, Xi'an, Shaanxi 710062, China;

2. Key Lab of Wet Land Ecology and Environment of Duoheliu of Shanxi Province, Weinan, Shaanxi 714000, China)

摘要:研究大孔树脂纯化苦菜多酚的吸附特性、工艺条件,分析了苦菜多酚粗品、纯品的组成。分别进行静态吸附和解吸、静态吸附等温曲线(Langmuir 和 Freundlich 等温吸附方程)、动态吸附试验,从 6 种大孔树脂中筛选用于苦菜多酚分离的最佳树脂,并系统研究最佳大孔树脂分离纯化的吸附性能和最优洗脱参数。结果表明: NKA-9 型大孔树脂为分离苦菜多酚类组分的最佳树脂,其分离的最佳工艺条件为样液总酚浓度 0.5 mg/mL,上样流速 3 BV/h, pH 5 的 50% 乙醇以 1 BV/h 流速进行洗脱,该纯化条件下所得苦菜多酚含量为 72.38%,较纯化前提高了 4.92 倍。应用高效液相色谱法分析其组成,结果显示苦菜多酚主要成分为芦丁、绿原酸、咖啡酸、芹菜素、原儿茶素,经 NKA-9 型大孔树脂纯化后的芹菜素达 8.53 mg/g,较粗品提高了 20.16 倍。

关键词:苦菜;多酚;大孔树脂;HPLC

Abstract: The adsorption characteristics and purification process of the polyphenols from *Sonchus oleraceus* L. by macroporous resin were investigated. Meanwhile, the chemical composition on crude and pure products of the polyphenols were also analyzed. The static capacity absorption, static capacity desorption, static adsorption isotherm (Langmuir and Freundlich), dynamic adsorption ratio and dynamic elution ratio of six types of macroporous resin were studied and compared, in order to find the best one, and the adsorption and desorption performances of the best one were studied in detail. The results showed that the type of NKA-9 resin gave the best effect on separation with the sampling rate 3 BV/h, sampling concentrations

of 0.5 mg/mL, the concentration of elution, 50% ethanol in pH 5 with eluting velocity 1 BV/h. The polyphenols of *Sonchus oleraceus* L. gained under these conditions was 72.38%, and 4.92 times more than that of the original sample. The results of chromatography analysis with HPLC showed that rutin, chlorogenic acid, caffeic acid, apigenin and original catechins were the main components existing in the polyphenols. The content of apigenin were 8.53 mg/g, and 20.16 times more than that of the crude sample after NKA-9 macroporous resin purification.

Keywords: *Sonchus oleraceus* L.; polyphenol; macroporous resin; HPLC

苦菜(*Sonchus oleraceus* L.)为菊科多年生草本植物,别名山苦菜、苦碟子、抱茎苦苣菜等。在中国北部和南方局部地区均有分布,资源十分丰富^[1]。现代医学研究表明,苦菜还具有保肝^[2]、抗肿瘤^[3]、保护心血管^[4]、抑菌和抗氧化^[5]等作用。目前,有关苦菜的研究、开发较少,国内外学者关于苦菜的研究主要有苦菜的成分分析^[6-7]、倍半萜帖的分离鉴定^[8]、黄酮类物质的生物活性作用^[9-10]等,但对苦菜多酚的研究很少,仅石同同等^[11-12]对苦菜多酚的提取工艺进行了优化,苦菜多酚得率高达 19.12 mg/g,并未涉及苦菜多酚的纯化。大孔吸附树脂已广泛应用于天然植物有效成分的纯化方面,大孔树脂纯化多酚具有稳定性高、选择性好、纯化量大、速度快、易再生等特点,目前关于多酚类物质的分离纯化主要采用的是大孔树脂纯化^[13-14],但大孔树脂纯化苦菜多酚鲜有报道。

本试验拟选取 6 种不同极性和型号的大孔树脂对苦菜多酚粗提取物进行纯化,筛选出最适树脂,优化苦菜多酚纯化工艺,采用高效液相色谱法对苦菜粗多酚和纯化后的多酚成分进行分析鉴定,为苦菜的后续综合开发利用提供依据。

作者简介:郑翠萍,女,陕西师范大学在读硕士研究生。

通讯作者:田呈瑞(1955-),男,陕西师范大学教授。

E-mail: chrtian@snnu.edu.cn

收稿日期:2015-10-20

1 材料与方 法

1.1 材料与仪器

1.1.1 材料与试剂

苦菜:山苦菜,榆林市东方红食品开发有限责任公司;
没食子酸、原儿茶素、绿原酸、芦丁、芹菜素:色谱纯,美国 Sigma 公司;

福林酚试剂、乙醇、无水碳酸钠:分析纯,天津市天力化学试剂有限公司;

大孔吸附树脂:X-5、D101、NKA-9、AB-8、LS-300 和 S-8 型,西安蓝晓科技有限公司。

1.1.2 主要仪器设备

恒温振荡器:SHA-C 型,金坛市富华仪器有限公司;
电子天平:AL204 型,梅特勒-托利多仪器有限公司;
可见分光光度计:722 型,上海光谱仪器有限公司;
pH 计:PHS-3C 型,上海精密科学仪器有限公司;
真空冷冻干燥机:LGJ-18C 型,北京四环科学仪器厂;
高效液相色谱仪:Breeze1525 型,美国 Waters 公司。

1.2 方 法

1.2.1 苦菜多酚粗提物的制备 取粉碎过 60 目筛的苦菜酚适量,按照料液比 1:35($m:V$)、乙醇体积浓度 60%、提取温度 80 °C、提取时间 50 min 水浴震荡提取苦菜多酚,粗提液过滤,滤液 50 °C 旋转蒸发至浸膏状,-60 °C 真空冷冻 24 h 后,-40 °C 冰箱贮存备用。

1.2.2 样品总酚含量的测定 采用 Folin-Ciocalteu 法。标准曲线根据文献[15]的方法绘制,得标准曲线方程: $Y = 1.0889X + 0.0878$, $R^2 = 0.9976$ 。将吸光值代入标准曲线方程,求得试样中总多酚的浓度。

1.2.3 大孔树脂的预处理 用 95% 乙醇溶液浸泡树脂 24 h,蒸馏水反复清洗至无醇味,5% 的 NaOH 溶液浸泡 4 h,用蒸馏水洗至中性后,再用 5% HCl 浸泡 4 h,最后用蒸馏水洗至中性,4 °C 冰箱贮存备用^[16]。

1.2.4 大孔树脂的静态吸附与解吸

(1) 大孔树脂对苦菜多酚吸附量和吸附率、解吸附力和解吸率的测定:称取各型号大孔树脂 1 g 于 50 mL 三角瓶中,加入 30 mL 苦菜多酚粗提取液,25 °C、120 r/min 摇床振荡,静态吸附 24 h,测定上清液总多酚含量,根据式(1)和(2)计算吸附力和吸附率。将充分吸附后的树脂用蒸馏水洗净抽滤,移至三角瓶,加入 50% 乙醇 30 mL,25 °C、120 r/min 解吸 12 h,测定上清液多酚含量,根据式(3)和(4)计算解吸附力和解吸率^[17]。

$$Q_e = \frac{(C_0 - C_e) \times V_i}{m} \quad (1)$$

$$A = \frac{C_0 - C_e}{C_0} \times 100\% \quad (2)$$

$$Q_d = \frac{C_d \times V_d}{m} \quad (3)$$

$$D = \frac{V_d \times C_d}{m \times Q_e} \times 100\% \quad (4)$$

式中:

Q_e ——吸附力,mg/g;

C_0 ——起始质量浓度,mg/mL;

C_e ——平衡质量浓度,mg/mL;

V_i ——吸附溶液体积,mL;

m ——树脂质量,g;

A ——吸附率,%。

Q_d ——解吸附力,mg/g;

V_d ——解吸液体积,mL;

C_d ——解吸后溶液中总多酚质量浓度,mg/mL;

D ——解吸率,%。

(2) 大孔树脂静态吸附和解吸动力学曲线的绘制:称取 NKA-9 树脂 1.0 g,加入多酚粗提取液 30 mL,水浴振荡吸附(25 °C,120 r/min),每隔 1 h 取 0.1 mL,测定多酚含量并计算吸附力,绘制吸附动力学曲线。吸附后的 NKA-9 树脂洗净抽滤,移至三角瓶,加入 50% 乙醇 30 mL,25 °C,120 r/min 解吸 6 h,每隔一定时间,测定解吸液多酚含量,计算解吸附力并绘制静态解吸动力学曲线。

(3) NKA-9 树脂的吸附等温线:准确称取 1 g 干树脂,加入 30 mL 不同浓度的苦菜多酚溶液中,分别在 25,35,45 °C,120 r/min 下振荡吸附,取吸附液测定苦菜多酚质量浓度。根据吸附量与吸附液中剩余的多酚之间的关系,得到该树脂的 Langmuir 和 Freundlich 等温吸附曲线各参数。Langmuir 等温吸附公式和 Freundlich 等温吸附公式见式(5)、(6)。

$$Q_e = \frac{Q_m \times K_L \times C_e}{1 + C_e \times K_L} \quad (5)$$

$$Q_e = K_f \times C_e^{1/n} \quad (6)$$

式中:

Q_e ——吸附平衡时树脂的吸附量,mg;

Q_m ——树脂最大吸附量,mg;

C_e ——吸附平衡时溶液中总酚浓度,mg;

K_L ——Langmuir 方程中反映树脂和多酚类物质作用力强弱的方程系数;

K_f ——Freundlich 方程中与树脂吸附量有关的系数;

$1/n$ ——Freundlich 方程中反映树脂对多酚吸附强度的指数。

1.2.5 静态吸附与解吸条件的单因素试验

(1) pH 对树脂吸附效果的影响:分别取 pH 为 1,2,3,4,5,6,7 的苦菜多酚提取液 30 mL,加入 1 g 树脂,25 °C 恒温震荡 6 h,抽滤,测定上清液吸光度,计算吸附量。

(2) 上样液多酚浓度对树脂吸附效果影响:分别取浓度 0.125,0.25,0.5,1.0 mg/mL 的多酚上样溶液 30 mL,放入装有 1.0 g 大孔树脂的三角瓶中,25 °C 恒温震荡 6 h,测定上清液吸光度,计算吸附量。

(3) 解吸液浓度对树脂解吸效果的影响:取吸附苦菜多酚饱和的 NKA-9 树脂 1 g,分别加入体积分数为 30%,40%,50%,60%,70% 乙醇溶液 30 mL,测定上清液吸光度,计算

解吸量。

(4) pH 对树脂解吸效果的影响:分别取 pH 为 1,2,3,4,5,6,7 的 50% 乙醇溶液 30 mL,加入 1 g 饱和树脂,25 °C 恒温震荡 4 h,测定上清液吸光度,计算解吸量。

1.2.6 NKA-9 树脂动态吸附与解吸 20 g NKA-9 树脂湿法装柱(层析柱:16 mm×500 mm),苦菜多酚粗提液(质量浓度为 0.5 mg/mL)以 1,3,5 BV/h 的流速进行动态吸附,收集吸附液 10 mL/管并测定其多酚含量,确定泄漏点(流出液多酚质量浓度为进样质量浓度的 1/10 时)的吸附液体积,选择最佳上样流速。吸附饱和后用蒸馏水清洗至无残留液,用 pH 为 5 的 50% 乙醇溶液以 1,3,5 BV/h 的流速洗脱,测定洗脱液中多酚含量,选择最佳解吸流速。

1.2.7 HPLC 分析 Diamonsil C₁₈ 色谱柱:5 μm,250 mm×4.6 mm;柱温:30 °C;检测波长:280 nm;进样量:20 μL;流速:1 mL/min;流动相 A:0.1% 的甲酸高纯水;流动相 B:0.1% 的甲酸乙腈;梯度洗脱程序:0 min,8% B;20 min,18% B;25 min,22% B;40 min,50% B。

1.2.8 数据统计与分析 试验数据均重复 3 次,采用 DPS 软件、Excel 2007 进行数据处理、分析及绘图,以平均值±标准偏差来表示。

2 结果与分析

2.1 6 种大孔树脂对苦菜多酚静态吸附及解吸特性

由表 1 可知,6 种型号的树脂对苦菜多酚的吸附量有所差异,吸附力由高到低为 X-5>NKA-9>D101>LS-300>AB-8>S-8;解吸力由高到低为 NKA-9>AB-8>LS-300>D101>X-5>S-8。比较 6 种树脂的物理性质可知,其对苦菜多酚的有效成分吸附与解吸作用也不同。说明树脂的吸附

和解吸性能由树脂的极性大小、树脂表面积以及树脂的平均孔径等多个因素共同决定^[18]。综合考虑吸附力、吸附率、解吸力和解吸率,选择 NKA-9 大孔树脂作为苦菜多酚的纯化。

2.2 静态吸附与解吸苦菜多酚动力学特性

由图 1(a)可知:NKA-9 大孔树脂可快速吸附苦菜多酚类物质,0~3 h 吸附速率较快,然后吸附速率减慢,5 h 就可达到吸附平衡状态,此时的吸附力为(13.86±0.27) mg/g,之后随着时间的延长吸附力无明显变化。由图 1(b)可知,苦菜多酚在 1 h 即可被 50% 乙醇解吸液快速解吸;2 h 即达解吸平衡,此时树脂的解吸率为(8.05±0.12) mg/g。解吸后期,解吸率出现小幅下降趋势,这可能是因为随着时间的延长,出现了复吸现象。

2.3 吸附等温线

由图 2 可知,NKA-9 大孔树脂的平衡吸附能力随着溶液平衡浓度的升高而升高,表明其对苦菜多酚具有良好的吸附能力。吸附量随着温度的升高吸附量降低,与 Xi Li-sha 等^[19]研究结果相同。说明 NKA-9 吸附多酚是放热过程,适当降温能够增加其吸附力。

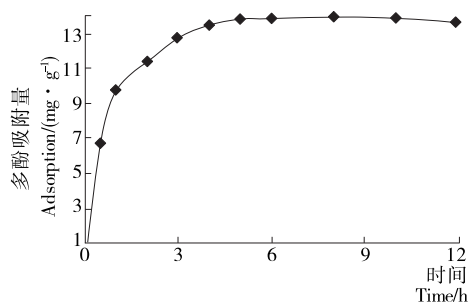
两个热力学模型及相关参数见表 2。25,35,45 °C 下 Freundlich 方程的相关系数均高于方程 Langmuir 的相关系数,可知 Freundlich 方程更适宜描述 NKA-9 大孔树脂对苦菜多酚的等温吸附过程,表明该吸附过程为多分子层吸附。在 25~45 °C 时, K_L 、 K_f 和 Q_m 随温度的升高而降低,这可能是在高温下树脂发生膨胀作用及高温下多酚分子具有较高的动能造成的。在 Freundlich 模型中,若 $1/n$ 小于 1,则表明吸附剂对吸附质的吸附作用容易发生。由表 2 可知, $1/n$ 均小于 0.65,再次说明 NKA-9 树脂对苦菜多酚有很好的吸附能力。

表 1 6 种树脂静态吸附与解吸结果[†]

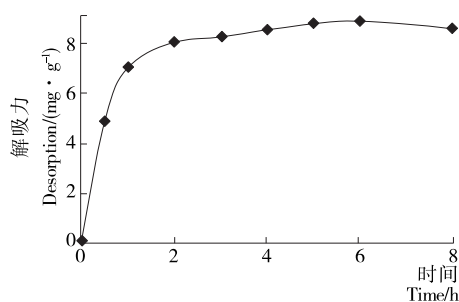
Table 1 Results of static adsorption and desorption rates of six macroporous resins

树脂型号	极性	平均孔径/ Å	表面积/ (m ² ·g ⁻¹)	吸附力/ (mg·g ⁻¹)	吸附率/%	解吸力/ (mg·g ⁻¹)	解吸率/ %
NKA-9	极性	155~165	250~290	12.540±0.080 ^a	55.53±0.12 ^a	8.14±0.17 ^a	92.56±0.16 ^a
S-8	极性	280~300	100~120	2.567±0.230 ^b	21.07±0.09 ^b	0.88±0.13 ^b	34.33±0.07 ^b
AB-8	弱极性	130~140	480~520	7.470±0.110 ^c	41.79±0.05 ^c	6.50±0.09 ^c	86.99±0.31 ^c
X-5	非极性	290~300	500~600	12.540±0.060 ^d	62.17±0.14 ^d	6.58±0.12 ^c	87.43±0.14 ^c
D101	非极性	200~300	480~520	8.190±0.050 ^e	47.68±0.20 ^e	5.01±0.08 ^d	63.24±0.09 ^d
LS-300	非极性	300	600	7.610±0.140 ^f	42.37±0.18 ^f	4.82±0.04 ^e	61.34±0.18 ^e

[†] 同列不同小写字母表示数据之间差异显著(P<0.05)。



(a) 静态吸附曲线



(b) 解吸性能曲线

图 1 NKA-9 大孔树脂对苦菜多酚的静态吸附与解吸性能曲线

Figure 1 Static adsorption and desorption properties of NKA-9 resin

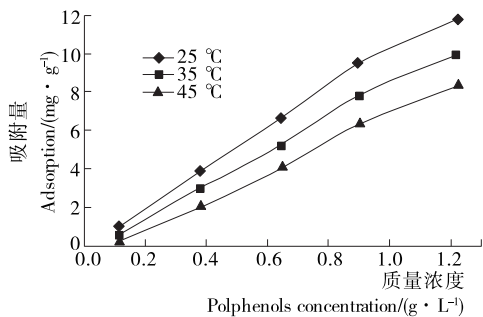


图2 NKA-9大孔树脂对苦菜多酚的等温吸附线

Figure 2 Adsorption isothermal curve of NKA-9 resins

表2 NKA-9大孔树脂对苦菜多酚吸附量的Langmuir和Freundlich方程拟合参数

Table 2 Freundlich model and thermodynamic parameters of total polyphenols on the NKA-9 resin

温度/°C	Langmuir 方程			Freundlich 方程		
	K_L	Q_m	R^2	K_f	$1/n$	R^2
25	1.496 1	62.50	0.844 1	10.288 2	0.641 4	0.995 9
35	1.237 0	52.63	0.814 2	8.657 2	0.638 5	0.993 9
45	0.874 3	41.67	0.820 2	7.221 8	0.630 7	0.990 4

2.4 静态吸附与解吸条件的优化

2.4.1 pH对树脂吸附和解吸效果的影响 pH通过改变溶液中目标成分的存在状态,而影响目标成分的溶解度和溶液的极性,所以也能影响树脂对多酚物质的吸附和解吸过程。由图3可知,NKA-9树脂对苦菜多酚的吸附力随pH升高先增大后减小,pH为3时NKA-9树脂的吸附力最高。而pH在2~5时多酚吸附力变化不大,而苦菜多酚为多羟基酚类,呈弱酸性,故在后续试验中不需对pH再做调整。从图3亦可以看出,NKA-9树脂的解吸力随着pH值的升高先升后降,pH5时,解吸力最高,故洗脱液pH的变化对NKA-9树脂的解吸力有较大影响。所以试验选择以pH5的50%乙醇溶液作为苦菜多酚洗脱液。

2.4.2 上样液多酚质量浓度对NKA-9树脂吸附效果的影响 由图4可知,当多酚溶液质量浓度在0.125~0.5 mg/g时,树脂吸附率随着溶液浓度的增加而迅速增加;而当溶液浓度继续增加时,树脂的吸附率反而有下降趋势。这可能是当浓度达到0.5 mg/g时,树脂达到吸附饱和,因此再随着溶液

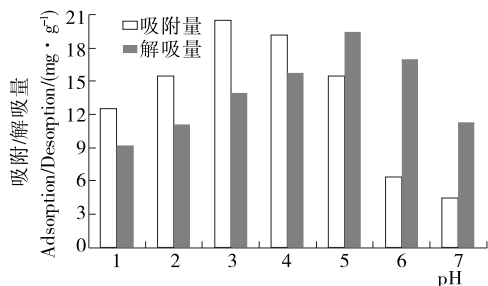


图3 pH对吸附和解吸效果的影响

Figure 3 Effect of pH on the adsorption and desorption efficiency

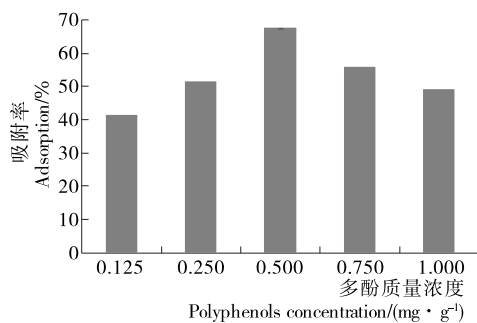


图4 多酚质量浓度对吸附效果的影响

Figure 4 Effect of polyphenol on adsorption of NKA-9 resin

浓度的增加吸附率降低。而且多酚质量浓度过高,上样液有絮凝、沉淀等现象,会使树脂污染和阻塞,影响其吸附效果^[20]。所以,苦菜粗多酚最佳质量浓度为0.5 mg/g。

2.4.3 乙醇体积分数对树脂解吸率的影响 由图5可知,在乙醇体积分数为30%~50%时,解吸率随着乙醇体积分数的升高而增大;50%~80%时,解吸率随着乙醇体积分数的升高而降低。可能是乙醇浓度过低,多酚类物质无法充分溶出,解吸不充分,根据相似相溶原理,多酚类物质无法在高浓度的乙醇溶液中充分溶出。所以乙醇解吸液的最佳浓度为50%。

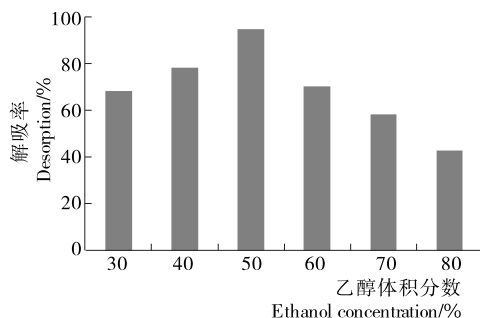


图5 乙醇体积分数对解吸率的影响

Figure 5 Effect of ethanol concentration on desorption rate of NKA-9 resin

2.5 NKA-9树脂动态吸附与解吸

2.5.1 上样速度对吸附效果的影响 上样流速的确定一般是通过树脂泄漏点(流出液质量浓度为上样液质量浓度1/10时)出现的时间来判断的,该时间说明了吸附液中多酚物质的吸附是否充分^[21]。由图6可知,随着吸附液体积的不断增加,苦菜多酚的质量浓度先呈递增趋势增加,后趋向恒定,接近于上样液中多酚的质量浓度。当上样液流速分别为1, 3, 5 BV/h时,各泄漏点出现在350, 450, 300 mL左右。最佳的吸附条件既要保证泄漏点出现较晚,又要保证试验周期时间相对较短,所以最佳上样流速为3 BV/h。

2.5.2 洗脱流速对洗脱效果的影响 由图7可知,随着时间的推移,各流速条件下的洗脱液中多酚浓度均呈现先增加后减少的趋势,洗脱液体积接近于200 mL时,多酚测出量均很低,说明到达洗脱终点;随着洗脱流速加快,洗脱带越宽、拖尾现象越严重,洗脱效果越差。所以1 BV/h为最佳洗脱流速。

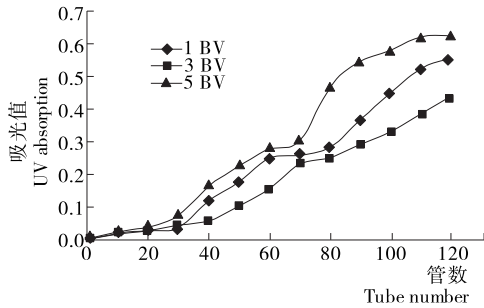


图 6 上样流速对动态吸附的影响

Figure 6 Effect of loading flow rate on kinetic adsorption

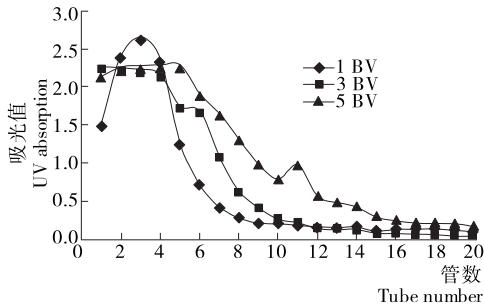


图 7 洗脱流速对洗脱效果的影响

Figure 7 Desorption ratios of NKA-9 resin at different flow rates

2.6 苦菜粗多酚和纯化后多酚含量的计算

将预处理好的 NKA-9 树脂湿法装柱, 0.5 mg/mL 苦菜多酚粗提液以 3 BV/h 流速上柱, 上样量为 450 mL。用适量蒸馏水冲洗树脂层, 再用 pH 为 5 的 50% 乙醇以 1 BV/h 流速洗脱, 收集洗脱液, 旋蒸至一定体积, 通过冷冻干燥制得纯化后苦菜多酚粉末, 并对其纯度进行测定。纯化前苦菜多酚样品含量为 14.72%, 经树脂纯化后测得样品纯度为 72.38%, 精制倍数达到 4.9 倍, 说明 NKA-9 大孔树脂对苦菜多酚的纯化效果很好, 可以大幅度提高提取物的多酚含量。

2.7 HPLC 分析苦菜多酚成分分析鉴定

苦菜多酚粗提物的 HPLC 色谱图见图 8。通过与标准品吸收峰保留时间相对比, 确定了 5 种多酚类成分, 其中以芦丁为主, 含量达 120.987 9 mg/g 干基, 其后依次为绿原酸 7.047 mg/g 干基、咖啡酸 0.677 1 mg/g 干基、芹菜素 0.423 1 mg/g 干基、原儿茶酸 0.115 1 mg/g 干基。

苦菜多酚粗提物经大孔树脂纯化后的 HPLC 色谱图见图 9, 纯化物以芹菜素为主, 含量达到 8.53 mg/g 干基。比较图 8 和图 9 可知, NKA-9 大孔树脂对苦菜多酚中芹菜素分离

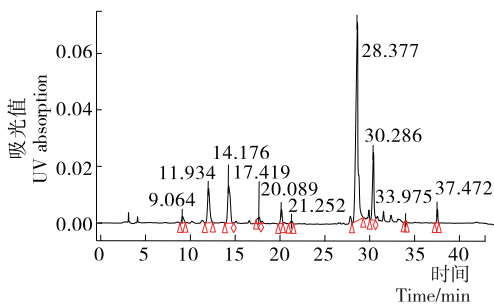


图 8 苦菜多酚粗品的 HPLC 图谱

Figure 8 HPLC chromatogram of crude extracts

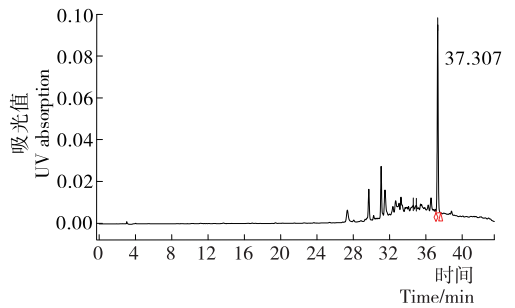


图 9 纯化后多酚的 HPLC 图谱

Figure 9 HPLC chromatogram of purification

纯化可以达到理想的效果, 纯化后芹菜素的浓度提高了 20.16 倍, 说明大孔树脂纯化苦菜多酚可行。

3 结论

NKA-9 型大孔树脂分离纯化苦菜多酚的最佳工艺条件: 上样液多酚浓度 0.5 mg/mL, 上样流速 3 BV/h, 上样量 450 mL, 洗脱剂为 pH 5 的 50% 乙醇, 洗脱流速 1 BV/h, 以此条件可得到纯度为 72.38% 的苦菜多酚化合物, 且解吸效果好, 无明显拖尾现象。用高效液相色谱分析表明苦菜多酚粗提物主要组成成分为芦丁、绿原酸、咖啡酸、芹菜素、原儿茶素, 其中, 纯化后芹菜素浓度较纯化前提高了 20.16 倍。本研究说明大孔树脂可以应用于苦菜多酚的分离纯化, 但本试验仅分离出芹菜素, 大孔树脂分离其他苦菜多酚的组成成分有待进一步的研究。

参考文献

- [1] 姚玉霞. 苦苣菜、小根蒜营养成分分析[J]. 营养学报, 2003, 25(2): 173-174.
- [2] 卢新华, 陈虎云, 戴俊, 等. 苦菜总黄酮对实验性肝损伤的保护作用[J]. 中国现代医学杂志, 2002, 12(3): 8-9.
- [3] Hates, Ishikawa K, Hori K, et al. Differentiation-inducing activity of lupeol, a lupane-type triterpene from Chinese dandelion root (Hokouei-kon), on a mouse melanoma cell line [J]. Biol. Pharm Bull, 2000, 23(8): 962-967.
- [4] Kashyap ML, MC Govern ME, Berrak, et al. Longterms safety and efficacy of a once-daily niacin/lovasta tin formulation for patiens with dyslip idemia [J]. Am. J. Cardiol., 2002, 89(6): 672-676.
- [5] Florence O Jimoh, Adeolu A, Adedapo Anthony J, et al. Comparison of the nutritive value, antioxidant and antibacterial activities of Sonchus asper and Sonchus oleraceus [J]. Rec. Nat. Prod., 2011, 5(1): 29-42.
- [6] 郑冉. 长裂苦苣菜化学成分的研究[D]. 吉林: 吉林大学, 2006: 1-69.
- [7] Garcia-Herrera P, Sanchez-Mata M C, Camara M, et al. Nutrient composition of six wild edible Mediterranean Asteraceae plants of dietary interest [J]. Journal of Food Composition and Analysis, 2014, 34(2): 163-170.
- [8] 封锡志. 抱茎苦苣菜的化学成分和生物活性的研究[D]. 沈阳: 沈阳医科大学, 2001: 92-100.
- [9] 周功娥, 田呈瑞, 关为, 等. 陕西苦苣菜叶总黄酮的提取及抗氧化活性的测定[J]. 食品工业科技, 2013, 34(9): 64-69.

(下转第 186 页)

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.