

# 沙棘籽粕多酚提取工艺优化、组分分析及抗氧化性能研究

孔宇,张倚菲,韩鹏云,韦柳伊,李文华,王禹鹤,赵紫芙,李欣忆,李超

(天津科技大学 食品工程与生物技术学院,天津 300457)

**摘要:**为提高沙棘籽粕中蛋白质和多酚的利用率,在确保蛋白质溶出率低的情况下,优化了沙棘籽粕多酚的提取工艺条件。同时,采用 HPLC 对沙棘籽粕多酚提取液的组分进行了分析,并研究了沙棘籽粕多酚的抗氧化性。结果表明,沙棘籽粕多酚提取的最佳工艺条件为:80% 甲醇溶液为提取溶剂,超声提取方式,超声频率 40 kHz,超声功率 150 W,料液比 1:25,提取温度 20 ℃,提取时间 20 min。在最佳提取条件下,多酚得率为 $(7.83 \pm 0.03)\%$ 。沙棘籽粕多酚提取液共检出没食子酸、儿茶素、芦丁、杨梅素、槲皮素、山奈酚 6 种多酚类物质,其中芦丁含量最高,为 $(1.623 \pm 0.224)$  mg/g (以沙棘籽粕质量计)。沙棘籽粕多酚具有较强的抗氧化性,对 DPPH 自由基和羟自由基均具有显著清除能力,半数抑制浓度( $IC_{50}$ )分别为 0.057、0.147 mg/mL。

**关键词:**沙棘籽粕;多酚;提取工艺;组分分析;抗氧化性

中图分类号:TS229;TS201.2 文献标识码:A 文章编号:1003-7969(2020)04-0109-06

## Optimization of extraction process, component analysis and antioxidant activities of polyphenols from seabuckthorn (*Hippophae rhamnoides* L.) seed meal

KONG Yu, ZHANG Yifei, HAN Pengyun, WEI Liuyi, LI Wenhua, WANG Yuhe, ZHAO Zifu, LI Xinyi, LI Chao

(College of Food Engineering and Biotechnology, Tianjin University of Science and Technology, Tianjin 300457, China)

**Abstract:** In order to improve the utilization rate of protein and polyphenols in seabuckthorn (*Hippophae rhamnoides* L.) seed meal, the extraction process of polyphenols from seabuckthorn (*Hippophae rhamnoides* L.) seed meal was optimized under the conditions of low protein dissolution rate. At the same time, the components of polyphenols extracted from seabuckthorn (*Hippophae rhamnoides* L.) seed meal were analyzed by HPLC, and the antioxidant activity of polyphenols was studied. The results showed that the optimal extraction conditions were obtained as follows: 80% methanol solution used as the extraction solvent, ultrasonic extraction method, ultrasonic frequency 40 kHz, ultrasonic power 150 W, ratio of material to liquid 1:25, extraction temperature 20 ℃, extraction time 20 min. Under the optimal extraction conditions, the yield of polyphenols was  $(7.83 \pm 0.03)\%$ . Six polyphenols were detected in the polyphenol extract of seabuckthorn (*Hippophae rhamnoides* L.) seed meal, including gallic acid, catechin, rutin, myricetin, quercetin and kaempferol. The content of rutin was the highest, which was  $(1.623 \pm 0.224)$  mg/g. The polyphenols had significant scavenging ability on DPPH free radical and hydroxyl free radical, and its  $IC_{50}$  were 0.057 mg/mL and 0.147 mg/mL, respectively, which showed that the polyphenols had strong antioxidant activity.

收稿日期:2019-05-28;修回日期:2019-11-18

基金项目:天津科技大学大学生创新创业训练计划项目(201810057192);天津科技大学大学生实验室创新基金(1814A208)

作者简介:孔宇(1986),男,工程师,硕士,研究方向为农产品加工(E-mail) yu\_kong@tust.edu.cn。

通信作者:李超,讲师(E-mail) lichao\_ch1@163.com。

**Key words:** seabuckthorn (*Hippophae rhamnoides* L.) seed meal; polyphenol; extraction process; component analysis; antioxidant activity

沙棘原产于欧亚大陆,是一种耐寒的胡颓子科沙棘属灌木植物,广泛生长于印度、中国、巴基斯坦、俄罗斯、英国、德国和法国等国家。沙棘浆果中含有丰富的维生素 C、类黄酮、油溶性化合物以及矿物质等营养物质<sup>[1]</sup>。这些营养性物质使沙棘浆果具有特殊的生物活性,可用于治疗心血管疾病、癌症和急性高山病等多种疾病。沙棘籽油含有大量不饱和脂肪酸、生育酚、类胡萝卜素和黄酮类化合物,具有显著的抗菌、抗动脉粥样硬化和心脏保护作用<sup>[2-3]</sup>。

我国每年沙棘的种植面积为 120 万  $\text{hm}^2$ <sup>[4]</sup>,可收获 115.2 万 t 沙棘鲜果<sup>[5]</sup>。每吨沙棘鲜果可产生 30 kg 沙棘湿籽,提取油脂后会产生 13.8 kg 沙棘籽粕,因此沙棘籽粕的年产量达到 1.5 万 t<sup>[5-6]</sup>。沙棘籽粕中含有 20% 的纤维素、10% 的半纤维素和约 30% 的蛋白质<sup>[7]</sup>。虽然沙棘籽粕中蛋白质含量丰富,但由于多酚的存在,蛋白质的利用率比较低。崔森<sup>[8]</sup>对沙棘籽粕中的蛋白进行了提取及功能性研究,得到的蛋白为褐色粉末,严重影响了蛋白质的加工利用。这是由于酚类化合物在碱性条件下被氧化成醌,醌能缩合形成高相对分子质量的褐色素,这些褐色产物保持高活性并易与蛋白质中的巯基和氨基结合,降低蛋白质的消化率和利用率<sup>[9]</sup>。植物多酚是植物细胞内的重要植物色素、抗氧化剂及具有多种功能的保护因子,具有抑菌、抗肿瘤等作用<sup>[10]</sup>。本实验以沙棘籽粕为原料,通过单因素实验分析结合正交实验优化沙棘籽粕多酚提取工艺,研究沙棘籽粕多酚组分及抗氧化能力,旨在为沙棘籽粕多酚利用提供理论依据,并为沙棘籽粕蛋白提取前处理提供一定参考。

## 1 材料与方法

### 1.1 实验材料

沙棘籽粕,内蒙古宇航人高技术产业有限责任公司;牛血清白蛋白、福林酚,北京索莱宝科技有限公司;考马斯亮蓝 G-250,上海迈瑞尔化学技术有限公司;没食子酸、原儿茶素、新绿原酸、儿茶素、绿原酸、表儿茶素、阿魏酸、芦丁、杨梅素、槲皮素、山奈酚标准品,上海源叶生物科技有限公司;其余化学试剂均为国产分析纯。

Agilent-1260 高效液相色谱仪,美国安捷伦仪器公司;JP-031 超声波清洗机;DF-101 型系列集热式恒温加热磁力搅拌器;德国 IKA RV8 旋转蒸发

仪;电子天平;UV-1800 紫外可见分光光度计;XY-FD-27S 加热型冷冻干燥机;3-18 台式高速冷冻离心机,德国 Sigma;1510-01116 全波长酶标仪,芬兰 Thermo Fisher。

### 1.2 实验方法

#### 1.2.1 沙棘籽粕多酚的提取

沙棘籽粕经粉碎后过 80 目筛,用 10 倍的石油醚浸泡脱脂 2 h。取脱脂沙棘籽粕,按一定料液比加入提取溶剂,按一定方式(冷摇,超声或恒温静置)在一定温度下提取一定时间,离心取上清液,残渣重复提取 2 次,合并上清液,得到多酚提取液。

#### 1.2.2 多酚含量测定及得率计算

参考 Okarter 等<sup>[11]</sup>的方法,采用福林-酚法测定多酚提取液中的多酚含量,按下式计算多酚得率。

$$\text{多酚得率} = \text{多酚提取液体积} \times \text{多酚含量} / \text{沙棘籽粕质量} \times 100\%$$

#### 1.2.3 蛋白质含量测定及得率计算

采用考马斯亮蓝法<sup>[12]</sup>,以牛血清白蛋白含量为横坐标,溶液的吸光度为纵坐标,得到标准曲线回归方程为  $y = 0.7647x + 0.0401$  ( $R^2 = 0.9969$ )。根据标准曲线回归方程测得多酚提取液中蛋白质含量,按下式计算蛋白得率。

$$\text{蛋白得率} = \text{多酚提取液体积} \times \text{蛋白质含量} / \text{沙棘籽粕质量} \times 100\%$$

#### 1.2.4 沙棘籽粕多酚提取液组分分析

将沙棘籽粕多酚提取液浓缩到一定体积后加入甲醇定容,吸取 4 mL 样品进行超滤(超滤膜截留相对分子质量 100 kDa),透过超滤膜的部分为游离态酚,过 0.45  $\mu\text{m}$  滤膜,采用 HPLC 测定有效成分的含量<sup>[8]</sup>。

HPLC 条件: Shim-pack GIST C18 色谱柱(250 mm  $\times$  4.6 mm, 5  $\mu\text{m}$ ); 紫外检测波长 280 nm; 流速 0.8 mL/min; 柱温 30  $^{\circ}\text{C}$ ; 流动相以含 2% 冰醋酸的水溶液和甲醇分别为 A 相和 B 相,梯度洗脱。梯度洗脱条件: 0 ~ 20 min, 0 ~ 5% B; 20 ~ 35 min, 25% ~ 45% B; 35 ~ 40 min, 40% ~ 40% B; 40 ~ 41 min, 40% ~ 90% B; 41 ~ 50 min, 95% ~ 95% B; 50 ~ 52 min, 95% ~ 5% B; 52 ~ 55 min, 5% ~ 5% B。以标准品的保留时间对样品的色谱峰定性,采用外标法进行定量。

#### 1.2.5 沙棘籽粕多酚抗氧化性测定

沙棘籽粕多酚提取液经 30  $^{\circ}\text{C}$  真空浓缩、冷冻干

燥,得到多酚提取物,于 $-18^{\circ}\text{C}$ 贮藏,用于抗氧化性分析。

### 1.2.5.1 DPPH 自由基清除能力测定

参考 Zhang 等<sup>[13]</sup>的方法,将样品配制为多酚质量浓度分别为 0.01、0.05、0.10、0.20、0.50 mg/mL 的溶液,分别取样液 5 mL,加入 2 mmol/L 的 DPPH 乙醇溶液 5 mL,混合均匀,置于室温下避光反应 30 min。以蒸馏水代替样品,作为空白组。以无水乙醇 5 mL 代替 2 mmol/L 的 DPPH 乙醇溶液作为对照组。每组进行 3 次平行实验。取 1 mL 反应好的溶液,在 $4^{\circ}\text{C}$ 、6 000 r/min 的冷冻离心机中离心 10 min,在 96 孔板中加入每个样品的上清液 0.2 mL,并在 517 nm 处测定吸光度,按下式计算 DPPH 自由基清除率。

$$\text{DPPH 自由基清除率} = \left( 1 - \frac{A_{\text{样品}} - A_{\text{对照}}}{A_{\text{空白}}} \right) \times 100\%$$

### 1.2.5.2 羟自由基清除能力测定

参考李顺峰等<sup>[14]</sup>的方法,将样品配制为多酚质量浓度分别为 0.01、0.05、0.10、0.25、0.50 mg/mL 溶液。依次取 5 mmol/L 的硫酸亚铁溶液 2 mL、5 mmol/L 的水杨酸乙醇溶液 2 mL、3 mmol/L 的过氧化氢溶液 2 mL,均匀混合后加入 2 mL 样品溶液,最后用蒸馏水补至 10 mL,在 $37^{\circ}\text{C}$ 下水浴 30 min。以蒸馏水代替样品,作为空白组。以蒸馏水 2 mL 代替 3 mmol/L 过氧化氢溶液作为对照组。每组进行 3 次平行实验。取 1 mL 反应好的溶液,在 $4^{\circ}\text{C}$ 、6 000 r/min 的冷冻离心机中离心 10 min,在 96 孔板中加入每个样品的上清液 0.2 mL,在 510 nm 处测定吸光度,按下式计算羟自由基清除率。

$$\text{羟自由基清除率} = \frac{A_{\text{样品}} - A_{\text{空白}}}{A_{\text{对照}} - A_{\text{空白}}} \times 100\%$$

## 2 结果与分析

### 2.1 沙棘籽粕多酚提取的单因素实验

#### 2.1.1 提取溶剂对多酚和蛋白得率的影响

多酚因含酚羟基的化学结构,可与大分子、蛋白质或多糖相互结合,形成非共价作用结构<sup>[15]</sup>。不同性质的有机溶剂提取,由于溶剂极性不同,可断裂非共价作用力不同,所以破坏多酚在植物体内形成的氢键或疏水键不同,因此多酚提取效果不同<sup>[16]</sup>。甲醇、乙醇、异丙醇溶液既可保持较高的多酚得率,又对蛋白质的溶解度低<sup>[17]</sup>,有利于后续蛋白质开发利用。使用 60% 乙醇、80% 甲醇、70% 异丙醇作为提取溶剂,在料液比 1:15、超声频率 40 kHz、超声功率 150 W、提取温度 $30^{\circ}\text{C}$ 、提取时间 30 min 条件下,考察提取溶剂对多酚和蛋白得率的影响,结果见图 1。

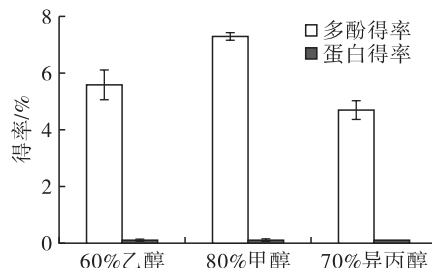
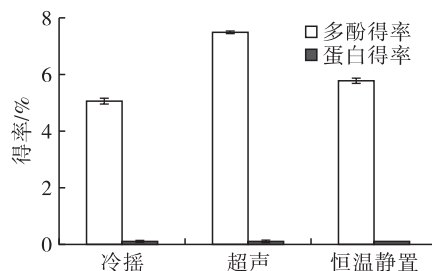


图1 提取溶剂对多酚和蛋白得率的影响

由图 1 可见:80% 甲醇溶液作为提取溶剂,沙棘籽粕多酚得率最高;3 种有机溶剂的蛋白得率均很低,说明仅有少量的蛋白质溶出。因此,沙棘籽粕多酚的最佳提取溶剂为 80% 甲醇溶液。

#### 2.1.2 提取方式对多酚和蛋白得率的影响

在提取溶剂为 80% 甲醇溶液、料液比 1:15、重复提取 2 次的条件下,考察提取方式对多酚和蛋白得率的影响,结果见图 2。



注:冷摇提取方式为 $4^{\circ}\text{C}$ 、150 r/min 下提取 30 min;超声提取方式的提取条件为超声频率 40 kHz、超声功率 150 W、提取时间 30 min、提取温度 $30^{\circ}\text{C}$ ;恒温静置提取方式为在 $30^{\circ}\text{C}$ 水浴中静置提取 30 min。

图2 提取方式对多酚和蛋白得率的影响

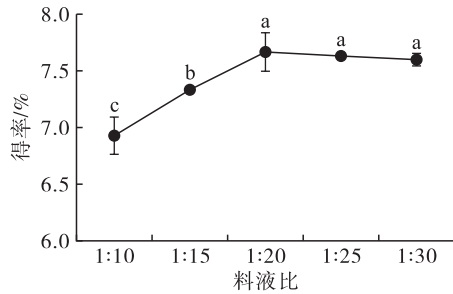
由图 2 可见,超声提取对沙棘籽粕多酚的提取效果最好,其次为恒温静置提取,最后为冷摇提取。这是由于超声的空化作用使样品与溶剂接触更充分,提高了多酚得率<sup>[18]</sup>。冷摇提取温度较低,不利于多酚类成分溶出。3 种提取方式对蛋白得率的影响不大,蛋白得率均很低。因此,选择超声提取作为沙棘籽粕多酚提取的最佳提取方式。

#### 2.1.3 料液比对多酚得率的影响

在 80% 甲醇溶液为提取溶剂、超声频率 40 kHz、超声功率 150 W、提取时间 30 min、提取温度 $30^{\circ}\text{C}$ 条件下,考察料液比对多酚得率的影响,结果见图 3。

由图 3 可见,沙棘籽粕多酚得率随料液比的增加先上升后逐渐趋于平缓,当料液比为 1:20 时,多酚得率最高,主要是因为增大溶剂用量有利于多酚物质由原料向溶剂扩散,增加多酚得率,但溶剂用量过大,半纤维素等其他成分的溶出量增多,影响多酚

物质的提取<sup>[19]</sup>。提取溶剂用量过大,回收溶剂处理的时间更长,还会造成一定的资源浪费,增加提取成本,因此最佳料液比为 1:20。



注:图中不同字母表示差异显著( $P < 0.05$ ),下同。

图3 料液比对多酚得率的影响

#### 2.1.4 提取时间对多酚得率的影响

在 80% 甲醇为提取溶剂、超声频率 40 kHz、超声功率 150 W、料液比 1:20、提取温度 30 °C 条件下,考察提取时间对多酚得率的影响,结果见图 4。

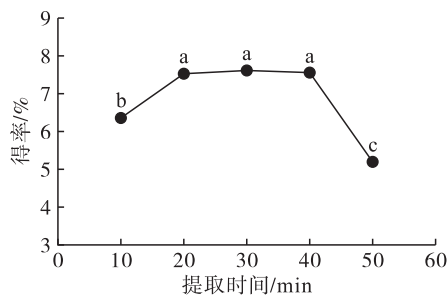


图4 提取时间对多酚得率的影响

由图 4 可见,随着提取时间的延长,多酚得率呈先上升后下降趋势。这主要是由于随着提取时间的延长,多酚溶出量逐渐增多,多酚得率升高,但超声提取时间过长,溶液温度升高,多酚的稳定性变差,发生氧化反应或分解反应,造成多酚得率降低<sup>[20]</sup>。因此,最佳提取时间为 20 min。

#### 2.1.5 提取温度对多酚得率的影响

在 80% 甲醇为提取溶剂、超声频率 40 kHz、超声功率 150 W、料液比 1:20、提取时间 20 min 条件下,考察提取温度对多酚得率的影响,结果见图 5。

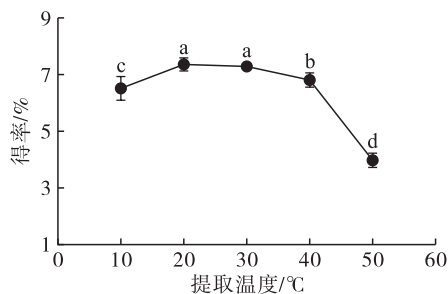


图5 提取温度对多酚得率的影响

由图 5 可见,随提取温度的升高,多酚得率呈先

增加后降低的趋势。这主要是因为随着提取温度的升高,多酚溶出量增多,多酚得率增加,但提取温度过高,多酚稳定性降低,发生氧化或分解反应,造成得率降低。因此,最佳提取温度为 20 °C。

#### 2.2 沙棘籽粕多酚提取的正交实验

通过单因素实验确定 80% 甲醇为提取溶剂,采用超声提取方式,在超声频率 40 kHz、超声功率 150 W 条件下,以料液比、提取温度和提取时间为因素,多酚得率为指标,进行三因素三水平正交实验,对多酚提取条件进行优化。正交实验因素与水平见表 1,正交实验设计及结果见表 2,方差分析见表 3。

表1 正交实验因素与水平

水平	A 料液比	B 提取温度/°C	C 提取时间/min
1	1:15	15	10
2	1:20	20	20
3	1:25	25	30

表2 正交实验设计及结果

实验号	A	B	C	多酚得率/%
1	1	1	1	5.77
2	1	2	2	6.81
3	1	3	3	6.28
4	2	1	2	7.66
5	2	2	1	7.49
6	2	3	3	6.78
7	3	1	3	7.76
8	3	2	1	6.97
9	3	3	2	7.32
$k_1$	6.29	7.06	6.74	
$k_2$	7.31	7.09	7.26	
$k_3$	7.35	6.79	6.94	
R	1.06	0.30	0.52	

表3 方差分析

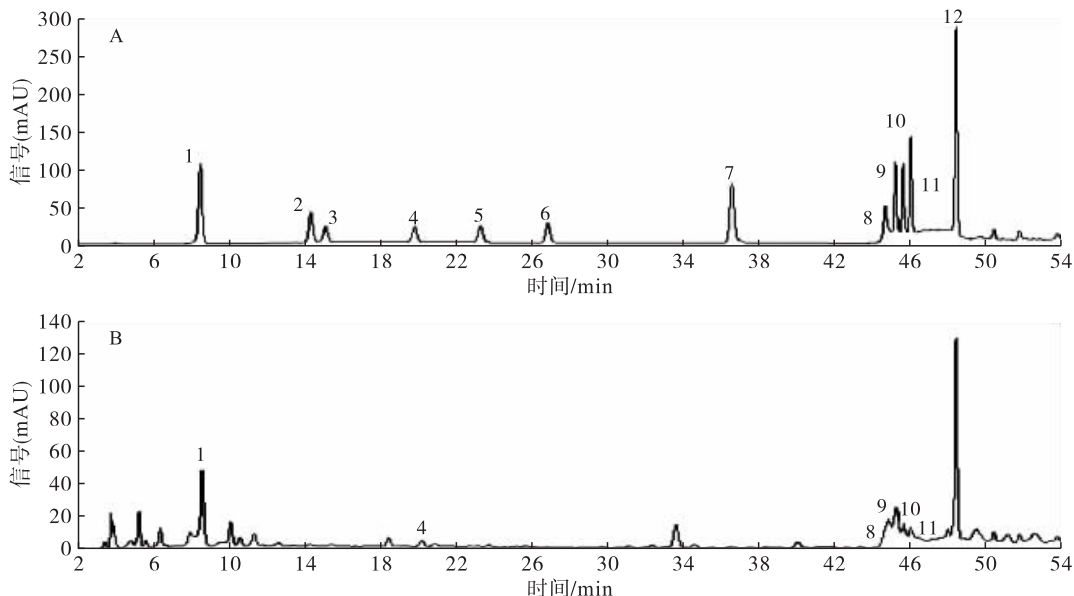
因素	离差平方和	自由度	均方	F	P
A	2.179	2	1.090	21.907	0.044
B	0.162	2	0.081	1.625	0.381
C	1.029	2	0.514	10.342	0.088
误差	0.099	2			

由表 2 可知,影响多酚得率的因素主次顺序为料液比 > 提取时间 > 提取温度,最佳提取工艺条件组合为  $A_3B_2C_2$ 。由表 3 可知,料液比对多酚得率具有显著性影响,提取温度和提取时间影响不显著。多酚的最佳提取工艺条件为:料液比 1:25,提取温度 20 °C,提取时间 20 min。在最佳条件下做验证实验,多酚得率为  $(7.83 \pm 0.03)\%$ 。

### 2.3 沙棘籽粕多酚的 HPLC 分析

将质量浓度为 1 mg/mL 没食子酸、原儿茶素、表儿茶素、绿原酸、新绿原酸、阿魏酸和质量浓度为

0.4 mg/mL 的芦丁、杨梅素、槲皮素、山奈酚、儿茶素的混合多酚标准品溶液以及最佳条件下提取的沙棘籽粕多酚提取液进行 HPLC 分析,结果如图 6 所示。



注:1. 没食子酸;2. 原儿茶素;3. 新绿原酸;4. 儿茶素;5. 绿原酸;6. 表儿茶素;7. 阿魏酸;8. 芦丁;9. 杨梅素;10. 槲皮素;11. 山奈酚;12. 溶剂峰。

图 6 多酚标准品(A)及沙棘籽粕多酚提取液(B)的 HPLC 谱图

由图 6 可见,沙棘籽粕多酚提取液中共有 6 种物质保留时间与标准品溶液的色谱峰保留时间一致,经外标法定量,这 6 种酚类物质的含量(以沙棘籽粕计)见表 4。

表 4 沙棘籽粕多酚物质组成与含量

多酚物质	含量/(mg/g)
没食子酸	0.964 ± 0.016
儿茶素	0.378 ± 0.002
芦丁	1.623 ± 0.224
杨梅素	0.971 ± 0.316
槲皮素	0.190 ± 0.003
山奈酚	0.113 ± 0.005
合计	4.239

由表 4 可见,芦丁含量最高,为(1.623 ± 0.224) mg/g,没食子酸和杨梅素的含量也较高。沙棘籽粕中被检测出的多酚物质总含量为 4.239 mg/g,而福林-酚法测定结果表明沙棘籽粕中多酚含量为 35.9 mg/g。这是由于多酚中含酚羟基的化学结构,而蛋白质分子由于存在多种不同功能的基团,使得多酚与蛋白质之间通过非共价作用(包括氢键、离子键和疏水相互作用)结合,导致其相对分子质量较大,空间结构复杂,因未能通过超滤膜而未检出<sup>[15]</sup>。

### 2.4 沙棘籽粕多酚的抗氧化性

#### 2.4.1 DPPH 自由基清除能力

DPPH 自由基是一种以氮为中心的稳定自由

基,常用于反映样品抗氧化能力强弱<sup>[21]</sup>。沙棘籽粕多酚与 V<sub>C</sub> 的 DPPH 自由基清除能力对比见图 7。

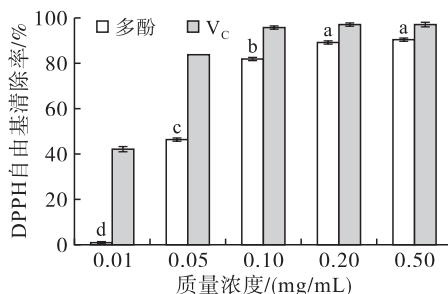


图 7 沙棘籽粕多酚与 V<sub>C</sub> 的 DPPH 自由基清除能力对比

由图 7 可见,沙棘籽粕多酚对 DPPH 自由基的清除作用呈明显的剂量效应,当多酚质量浓度为 0.01 mg/mL 时,对 DPPH 自由基几乎没有清除能力,但当多酚质量浓度提高到 0.10 mg/mL 时,对 DPPH 自由基清除率达到 81.82%,之后继续增加多酚质量浓度,对 DPPH 自由基清除能力增加趋势放缓,清除率最高为 90.08%,沙棘籽粕多酚和 V<sub>C</sub> 对 DPPH 自由基清除作用的半数抑制浓度(IC<sub>50</sub>)分别为 0.057、0.013 mg/mL。

#### 2.4.2 羟自由基清除能力

羟自由基是最活泼的自由基之一,几乎能与活细胞中的任何分子发生反应,反应速度快,引发组织细胞病变而导致各种疾病发生和加速机体衰老。减少此类自由基,即可达到抗衰老、防心血管疾病、抗

癌等作用<sup>[21]</sup>。沙棘籽粕多酚与V<sub>C</sub>的羟自由基清除能力对比见图8。

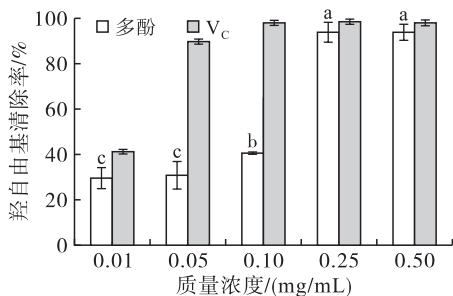


图8 沙棘籽粕多酚与V<sub>C</sub>的羟自由基清除能力对比

由图8可见,沙棘籽粕多酚质量浓度低于0.25 mg/mL时,羟自由基清除率较低,但当沙棘籽粕多酚质量浓度达到0.25 mg/mL时,羟自由基清除率达到93.92%,虽低于V<sub>C</sub>的98.75%,但沙棘籽粕多酚仍具有较好的羟自由基清除能力。沙棘籽粕多酚和V<sub>C</sub>对羟自由基清除作用的IC<sub>50</sub>分别为0.147、0.012 mg/mL。

### 3 结论

在单因素实验的基础上,通过正交实验优化沙棘籽粕多酚提取的工艺条件,确定多酚的最佳提取工艺条件为:80%甲醇为提取溶剂,超声提取方式,超声频率40 kHz,超声功率150 W,料液比1:25,提取温度20℃,提取时间20 min。在最佳提取条件下,多酚得率为(7.83±0.03)%。通过HPLC法对多酚提取液组分进行分析,共检测出6种物质,分别为没食子酸、儿茶素、芦丁、杨梅素、槲皮素、山奈酚,其中芦丁含量最高,为(1.623±0.224)mg/g(以沙棘籽粕质量计)。抗氧化结果显示,沙棘籽粕多酚提取液具有良好的抗氧化能力。

### 参考文献:

- [1] URSACHE F M, GHINEA I O, TURTURIC M, et al. Phytochemicals content and antioxidant properties of sea buckthorn (*Hippophae rhamnoides* L.) as affected by heat treatment - quantitative spectroscopic and kinetic approaches [J]. Food Chem, 2017, 233: 442 - 449.
- [2] BASY M, PRASAD R, JAYAMURTHY P, et al. Anti-atherogenic effects of seabuckthorn (*Hippophaea rhamnoides*) seed oil [J]. Phytomedicine, 2007, 14 (11): 770 - 777.
- [3] NEGI P S, CHAUHAN A S, SADIA G A, et al. Antioxidant and antibacterial activities of various seabuckthorn (*Hippophae rhamnoides* L.) seed extracts [J]. Food Chem, 2005, 92(1):119 - 124.
- [4] 朱丹丹. 沙棘果渣系列产品加工工艺研究[D]. 哈尔滨:东北农业大学, 2018.
- [5] 张子哈. 孙吴县沙棘产业发展对策研究[D]. 哈尔滨:东北农业大学, 2016.
- [6] 段爱国. 青海西宁市沙棘产业发展研究[J]. 林业科技通讯, 2019(3):3 - 7.
- [7] USHAKOVA N, BTODSKII E, KOZLOVA A, et al. Anaerobic solid - phase fermentation of plant substrates by, *Bacillus subtilis*[J]. Appl Biochem Microbiol, 2009, 45(1): 61 - 67.
- [8] 崔森. 沙棘籽粕蛋白的提取及其功能性质的研究[D]. 江苏 无锡:江南大学, 2011.
- [9] 张海容,史振华. 响应面法优化超声波辅助提取沙棘籽粕中黄酮工艺[J]. 中国油脂, 2017, 42(3):117 - 121.
- [10] 王佳,王菊,李亚欣,等. 植物多酚的皮肤保护作用机制研究进展[J]. 中药材, 2017(3):733 - 737.
- [11] OKARTER N, LIU C S, SORRELLS M E, et al. Phytochemical content and antioxidant activity of six diverse varieties of whole wheat [J]. Food Chem, 2010, 119(1): 249 - 257.
- [12] 李娟,张耀庭,曾伟,等. 应用考马斯亮蓝法测定总蛋白含量[J]. 中国生物制品学杂志, 2000, 13(2): 118 - 120.
- [13] ZHANG J, ZHANG H, WANG L, et al. Antioxidant activities of the rice endosperm protein hydrolysate: identification of the active peptide [J]. Eur Food Res Technol, 2009, 229(4):709 - 719.
- [14] 李顺峰,张丽华,付娟妮,等. 真姬菇子实体多糖体外抗氧化特性研究[J]. 西北农业学报, 2008, 17(4): 302 - 305.
- [15] LE BOURVELLEC C, RENARD C M G C. Interactions between polyphenols and macromolecules: quantification methods and mechanisms [J]. Crit Rev Food Sci Nutr, 2012, 52(3):213 - 248.
- [16] 郑迎春,曹玉芬,李静,等. 梨叶多酚提取的正交试验优化及其成分测定[J]. 食品科学, 2015, 36(20): 32 - 36.
- [17] VERMEESCH G, BRIFFAUD J, JOYEUX J. Sunflower proteins in human food [J]. Rev Fr Corps Gras, 1987, 7 - 8: 333 - 344.
- [18] 吴昊,宗志敏,石金龙,等. 超声波协同酶法提取银杏黄酮的工艺研究[J]. 中国资源综合利用, 2012, 30(11):26 - 29.
- [19] 张雪春,刘江,吴鑫. 响应面法优化提取文冠果壳中多酚类物质及其体外抗氧化能力分析[J]. 中国油脂, 2018, 43(5): 117 - 122.
- [20] GARDEA - TORRESDEY J L, BECKER - HAPAK M K, HOSEA J M, et al. Effect of chemical modification of algal carboxyl groups on metal ion binding [J]. Environ Sci Technol, 1990, 24(9):1372 - 1378.
- [21] 郭燕飞. 石榴皮多酚的分级制备及生物活性研究[D]. 江苏 无锡:江南大学, 2014.