

地榆多酚分离纯化及其抗氧化性研究

毛迪锐,姜贵全*,张诗朦,孙继伟,曹佳硕

(北华大学林学院,吉林吉林 132013)

摘要:通过比较 7 种大孔树脂对地榆多酚的吸附率和解吸率的影响,筛选出 XAD-8 树脂适宜分离地榆多酚。地榆多酚分离纯化的条件为:上样浓度 2.5 mg/mL, pH5.0, 平衡吸附时间 3 h, 洗脱液乙醇体积分数 60%, 上样流速 1.0 mL/min, 洗脱流速 1.5 mL/min, 纯化后地榆多酚纯度由 20.79% 提高到 62.97%。地榆多酚具有较强的抗氧化能力, 清除羟自由基和还原能力均高于 V_C , 地榆多酚对羟自由基和 DPPH 自由基的半抑制质量浓度 (IC_{50}) 分别为 0.179 mg/mL 和 0.691 mg/mL。

关键词:地榆, 多酚, 纯化, 抗氧化

Separation, purification and antioxidant activity of polyphenols from *Sanguisorba officinalis*

MAO Di-rui, JIANG Gui-quan*, ZHANG Shi-meng, SUN Ji-wei, CAO Jia-shuo

(Forestry College of Beihua University, Jilin 132012, China)

Abstract: Through comparing the adsorption and desorption rates of 7 kinds of macroporous resin to polyphenols, the XAD-8 resin was selected to purify polyphenols of *Sanguisorba officinalis*. The optimal purification conditions were the sample concentration of 2.5 mg/mL, pH5.0, the adsorption equilibrium of 3 h, ethanol elution volume fraction of 60%, the sample flow rate of 1.0 mL/min, elution flow rate 1.5 mL/min. After purification of *Sanguisorba officinalis* polyphenols, the polyphenol purity were increased from 20.79% to 62.97%. Polyphenols had strong antioxidant capacity, the scavenging hydroxyl free radical activities and reducing activities of it were superior to V_C , the IC_{50} values of hydroxyl radical and DPPH radical were respectively 0.179 mg/mL and 0.691 mg/mL.

Key words: *Sanguisorba officinalis*; polyphenols; purification; antioxidant

中图分类号: TS201.1

文献标识码: A

文章编号: 1002-0306(2015)21-0068-05

doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2015.21.005

地榆(*Sanguisorba officinalis*)是蔷薇科地榆属的多年生草本植物。地榆主要分布在灌丛、山坡、草地、草原、草甸及疏林下。地榆中含有多种药用化学成分,主要包括鞣质、三萜皂苷、黄酮、蒽醌^[1]等;具有止血、抗氧化、抗肿瘤、抗菌、消炎等多种药理作用^[2]。地榆药用部位为根部,所以主要研究其根部所含有的活性成分。毛迪锐等文献^[3]报道,地榆根中含有丰富的多酚类物质。植物多酚是具有多羟基结构的植物体主要次生代谢物,具有抗氧化、抑制癌变、抗过敏、抗辐射等多种功效。多酚粗提取物分离纯化的主要方法有大孔树脂吸附法^[4]、沉淀分离法^[5]、层析分离法^[6]、HPLC 半制备色谱^[7]、高效逆流色谱^[8]等。大孔吸附树脂是一种具有三维立体空间的有机高分子聚合物,在植物多酚的分离纯化中被广泛应用^[9-11]。

目前,国内对地榆多酚的分离纯化和抗氧化能力研究未见报道。因此,本实验选取了 7 种大孔树

脂,通过比较吸附率和解吸率,筛选出适宜分离地榆多酚的树脂,并对地榆多酚的分离纯化工艺进行优化,研究其抗氧化能力,为合理开发利用地榆多酚提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

地榆 采于吉林市二道林场,根洗净、风干、粉碎,过 40 目筛分器,备用。

HP20 大孔树脂 三菱化学公司; XAD7HP、XAD1600 大孔树脂 北京慧德易科技有限责任公司; XAD-8、LSA-10 大孔树脂 西安蓝晓科技新材料股份有限公司; HB1600 大孔树脂 上海旻永实业有限公司; D001 大孔树脂 安徽三星树脂科技有限公司; 没食子酸标准品 美国 Sigma 公司; 其他试剂 均为国产分析纯。

SE202F 电子分析天平 奥豪斯上海公司; JY92

收稿日期: 2015-02-13

作者简介: 毛迪锐(1978-),女,硕士,讲师,研究方向:天然产物开发利用, E-mail: mdrteacher@163.com。

* 通讯作者: 姜贵全(1975-),男,博士,教授,研究方向:天然产物化学, E-mail: jiangguiquan11@163.com。

基金项目: 吉林省植物化工创新团队(20130521022JH); 吉林省医药专项(20140311056YY)。

-2D 超声波细胞粉碎机 宁波新芝生物科技股份有限公司; LG10-2.4A 高速离心机 北京医用离心机厂; RE52CS-1 旋转蒸发器 上海亚荣生化仪器厂; JH722S 可见分光光度计 上海菁华科技仪器有限公司; HZQ-C 空气浴振荡器 哈尔滨市东联电子技术开发有限公司; 真空冷冻干燥机 德国 Christ 公司。

1.2 实验方法

1.2.1 地榆多酚提取液的制备 称取地榆根粗粉 100 g, 加入 2000 mL 60% 乙醇, 在超声功率 330 W 的条件下提取 20 min, 超声提取 2 次, 合并滤液, 离心分离 (6000 r/min, 15 min), 取上清液于旋转蒸发器中浓缩, 除掉乙醇, 浓缩液备用。

1.2.2 地榆多酚浓度的测定 采用参照国标 (GB/T 8313-2008) 方法中的 Folin-Ciocalteu 法, 测定多酚含量。根据标准曲线计算地榆多酚浓度。

1.2.3 大孔树脂的预处理 称取 7 种不同极性的大孔树脂各 10 g, 用 95% 乙醇浸泡 24 h, 使其充分溶胀, 用蒸馏水洗至无醇味; 再用 1 mol/L 的盐酸溶液浸泡 24 h, 用蒸馏水洗至中性; 最后用 1 mol/L 的氢氧化钠溶液浸泡 24 h, 用蒸馏水洗至中性, 备用。

1.2.4 筛选大孔树脂 准确称取预处理后经滤纸吸干的大孔树脂 2.0 g, 置于 100 mL 三角瓶中, 加入 40 mL 浓度为 2.5 mg/mL 的地榆多酚溶液, 恒温 (30 ℃) 水浴振荡器中 (100 r/min) 振荡吸附 24 h, 抽滤, 测上清液的吸光度值, 按公式 (1)、式 (2) 计算吸附率和吸附量。将充分吸附后的大孔树脂, 用蒸馏水洗净表面残留的多酚溶液, 置于 100 mL 三角瓶中, 各加入 40 mL 60% 的乙醇溶液进行解吸。在相同条件下恒温振荡解吸 24 h, 抽滤, 测定吸光度, 按公式 (3) 计算解吸率。根据吸附率和解吸率, 优选出适合地榆多酚分离纯化的大孔树脂。

$$A(\%) = \frac{C_0 - C_1}{C_0} \times 100 \quad \text{式(1)}$$

$$Q(\text{mg/g}) = \frac{(C_0 - C_1) \times V_1}{M} \quad \text{式(2)}$$

$$D(\%) = \frac{C_2 \times V_2}{(C_0 - C_1) \times V_1} \times 100 \quad \text{式(3)}$$

式中: A 为吸附率 (%); Q 为吸附量 (mg/g); D 为解吸率 (%); C_0 为溶液初始多酚浓度 (mg/mL); C_1 为吸附后溶液剩余多酚浓度 (mg/mL); C_2 为解吸液中多酚的浓度 (mg/mL); V_1 为吸附液体积 (mL); V_2 为解吸液体积 (mL); M 为干树脂质量 (g)。

1.2.5 大孔树脂静态吸附动力学曲线的绘制 分别称取筛选出的大孔树脂 2.0 g, 置于 100 mL 三角瓶中, 加入 40 mL 浓度为 2.5 mg/mL 的地榆多酚溶液, 按照 1.2.4 的方法, 静态吸附, 每隔 1 h 取出一个样品, 抽滤, 测定吸光度, 计算吸附量, 绘制静态吸附动力学曲线。

1.2.6 地榆多酚分离纯化条件的优化

1.2.6.1 多酚质量浓度对吸附量的影响 准确称取筛选的树脂 2.0 g 加入 100 mL 三角瓶中, 分别量取 40 mL 质量浓度为 1.0、1.5、2.0、2.5、3.0、3.5 mg/mL 的地榆多酚溶液, 恒温振荡, 抽滤收集吸附液, 测定吸光度值, 计算吸附量, 确定适宜的上样多酚质量浓度。

1.2.6.2 多酚溶液 pH 对吸附量的影响 将地榆多酚溶液用盐酸-柠檬酸二钠缓冲溶液和磷酸氢二钠-磷酸二氢钠缓冲溶液分别调节 pH 至 2.0、3.0、4.0、5.0、6.0、7.0、8.0。准确称取大孔树脂 2.0 g, 分别置于 100 mL 三角瓶中, 加入浓度为 2.5 mg/mL 的不同 pH 的地榆多酚溶液 40 mL, 振荡吸附 8 h, 达到吸附饱和, 抽滤收集吸附液, 测定吸光度, 计算吸附量, 确定适宜上样多酚溶液 pH。

1.2.6.3 洗脱液乙醇体积分数对解吸率的影响 称取充分吸附后的大孔树脂 2.0 g, 置于 100 mL 三角瓶中, 分别加入体积分数为 20%、40%、60%、80%、95% 的乙醇溶液 40 mL, 在 30 ℃、100 r/min 的恒温振荡器中解吸振荡 8 h。抽滤, 收集解吸液, 测定解吸液的吸光度, 计算解吸率, 确定适宜的洗脱液乙醇的体积分数。

1.2.6.4 上样流速对洗脱液中多酚质量浓度的影响

称取 4 份预处理过的大孔树脂, 分别湿法装入层析柱中 (1.5 cm × 30 cm), 将地榆多酚提取液 (按照 1.2.6.1 和 1.2.6.2 的结果调整浓度和 pH), 按照 0.5、1.0、1.5、2.0 mL/min 的上样流速进行动态吸附, 分步收集过柱液, 测定各管的多酚吸光度值, 计算多酚浓度, 确定到达泄露点时的流出液体积 (泄露点为流出液中多酚浓度为上样液浓度的 1/10)。从而考察上样流速对洗脱液中多酚质量浓度的影响。

1.2.6.5 洗脱流速对树脂解吸率的影响 将吸附饱和的树脂分别湿法装入层析柱中 (1.5 cm × 30 cm), 将洗脱液乙醇分别按照 0.5、1.0、1.5、2.0 mL/min 的洗脱流速进行洗脱。通过计算解吸率, 确定适宜的洗脱流速。

1.2.7 地榆多酚纯度 将上样液和解吸液分别蒸发浓缩, 冻干 6 h。准确称量冻干粉质量, 并称取 0.01 g 定容于 10 mL 容量瓶, 测吸光度, 按公式 (4) 计算纯化前后的纯度。

多酚纯度 (%) = 多酚质量浓度 × 溶液体积 / 冻干粉质量 × 100 式(4)

1.2.8 地榆多酚抗氧化能力的研究

1.2.8.1 羟自由基清除能力的测定 根据文献^[12]的方法测定地榆多酚羟自由基清除能力。将纯化后的地榆多酚配制成不同浓度的溶液, 各取 2 mL 加入具塞试管中, 加入 6 mmol/L 的 FeSO₄ 溶液 2 mL, 摇匀, 再加入 6 mmol/L 水杨酸溶液 2 mL, 摇匀, 最后加入 6 mmol/L 过氧化氢溶液 2 mL, 在 37 ℃ 水浴锅中反应 30 min, 于 510 nm 处测吸光度。按照公式 (5) 计算羟自由基清除率。V_c 为对照。

$$\text{羟自由基清除率}(\%) = 1 - \frac{A_1 - A_2}{A_0} \times 100 \quad \text{式(5)}$$

式中: A_0 为未加入样品的溶液的吸光度值; A_1 为加入样品和 H₂O₂ 溶液的吸光度值; A_2 为未加入 H₂O₂ 溶液的吸光度值。

1.2.8.2 DPPH 自由基清除能力的测定 参考 Brand Williams^[13]和古绍彬^[14]的方法略作修改。准确配制质量浓度为 2.5 × 10⁻² mg/mL 的 DPPH 标准溶液。分别取 0、2、4、6、8、10 mL 标准溶液用乙醇定容至 10 mL, 分别在 515 nm 波长处的吸光度值, 制作标准

曲线。

以无水乙醇为溶剂,配制不同浓度的地榆多酚溶液,分别取 0.2 mL 样液,加入 7.8 mL 质量浓度为 2.5×10^{-2} mg/mL 的 DPPH 标准液,以乙醇代替样液为空白。混合溶液摇匀,在 515 nm 波长处,测定其在不同时间的吸光度值,根据标准曲线计算 DPPH 的质量浓度,按照公式(6)计算清除率。

清除率(%) = (1 - 反应 30 min 时 DPPH 的浓度 / DPPH 起始浓度) × 100 式(6)

1.2.8.3 还原能力的测定 地榆多酚还原能力的测定根据陈海光等^[15]方法,取不同浓度的纯化后的样品溶液各 0.5 mL,加入 0.2 mol/L 磷酸盐缓冲液(pH6.6)和 1% 的铁氰化钾溶液各 2.5 mL,混匀后置 50 ℃ 水浴中反应 20 min,然后加入 10% 的三氯乙酸溶液 2.5 mL,混合后离心分离(6000 r/min, 8 min)。取上清液和蒸馏水各 2.5 mL,加入 1 mL 0.1% 三氯化铁溶液混合均匀,静置 10 min 后,以试剂作空白调零,在 700 nm 波长处测定吸光度,吸光度增加,表明还原能力增加。以 V_c 做对照。

1.3 数据统计与分析

每次均进行 3 次平行实验,结果取平均值。实验数据用 SPSS 12.0 软件分析。

2 结果与分析

2.1 标准曲线的绘制

以吸光度 Y 为纵坐标,没食子酸溶液质量浓度 X(μ g/mL) 为横坐标,得回归方程为: $Y = 0.01X + 0.0409$, $R^2 = 0.9952$,表明没食子酸在 10~100 μ g/mL 范围内浓度与吸光度呈良好的线性关系。

2.2 大孔树脂的筛选

7 种大孔树脂对地榆多酚的静态吸附实验结果见图 1。由图 1 可以看出,各种大孔树脂对地榆多酚的吸附、解吸效果不同。从吸附效果看,吸附率较高的为 XAD-8 和 XAD7HP 大孔树脂,吸附率分别为 85.79%、84.45%。从解吸角度看,解吸率较高的为 XAD-8 和 HP20,解吸率分别为 96.58%、83.56%。综合考虑吸附率与解吸率,XAD-8 大孔树脂不仅具有较强的吸附能力,而且解吸率也较高,因此选取 XAD-8 作为分离地榆多酚的大孔树脂。

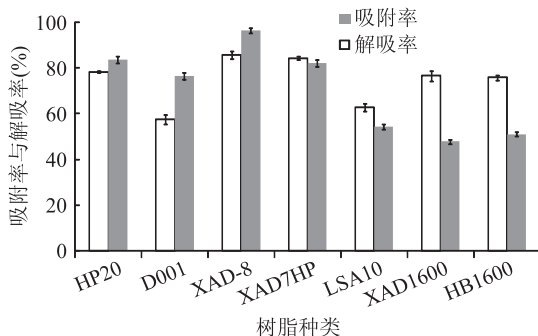


图 1 7 种大孔树脂对地榆多酚的吸附率与解吸率

Fig.1 Adsorption and desorption rate of 7 resins for polyphenols from *Sanguisorba officinalis*

2.3 大孔树脂静态吸附动力学曲线

大孔树脂静态吸附动力学曲线见图 2。由图 2

可知,随着吸附时间的增加,大孔树脂对地榆多酚的吸附量也随之增大,在 3 h 时,已经基本达到吸附平衡,时间继续增加时,吸附量变化不大,因此,XAD-8 树脂对地榆多酚的吸附平衡时间为 3 h。

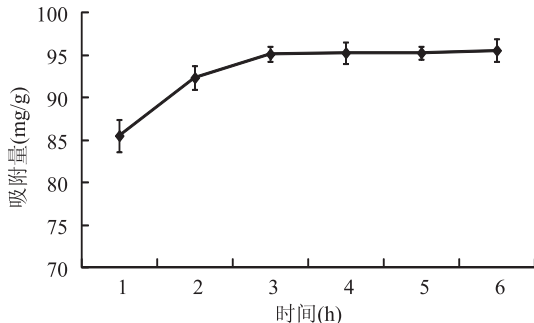


图 2 XAD-8 树脂静态吸附动力学曲线

Fig.2 Kinetic curves of static adsorption of XAD-8 macroporous resins

2.4 地榆多酚分离纯化条件的优化

2.4.1 多酚溶液质量浓度对吸附量的影响 从图 3 中可以看出,在低浓度条件下,随着上样液浓度的增大,可吸附物质也随之增加,当上样液浓度达到 2.5 mg/mL 时,吸附量最大,继续增大上样液的浓度,吸附量反而下降。这是因为根据吸附平衡理论,浓度太高时,容易发生多层吸附,堵塞微孔,降低内孔利用率,导致吸附量降低^[16]。因此多酚质量浓度为 2.5 mg/mL 较合适。

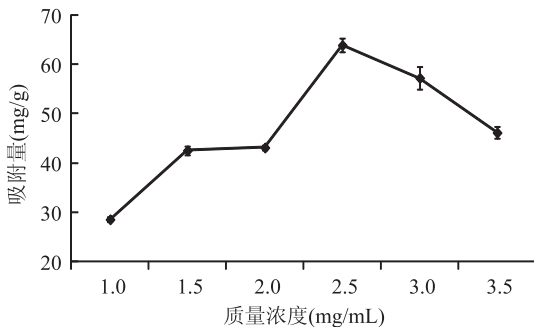


图 3 上样浓度对吸附量的影响

Fig.3 Effect of sample concentration on adsorption quantity

2.4.2 多酚溶液 pH 对吸附量的影响 由图 4 可以看出,随着 pH 的升高,XAD-8 大孔树脂对地榆多酚的吸附量也不断增大,当 pH 达到 5.0 时,吸附量最大,达到 46.32 mg/g。当 pH 继续升高时,吸附量反而下降。原因可能是多酚类化合物具有较多的羟基,容易电离出羟基上的 H^+ ,使水溶液呈弱酸性,而在酸性条件下,不易发生 H^+ 的电离,从而保证了多酚以分子的形式存在,利于吸附。故选择多酚溶液 pH 为 5.0 左右为宜。

2.4.3 洗脱液乙醇体积分数对解吸率的影响 由图 5 可以看出乙醇体积分数对地榆多酚解吸率有较大的影响,随着乙醇体积分数的增大,解吸率也随之升高,当乙醇体积分数为 60% 时,解吸率最大,为 95.14%;但继续增加乙醇的体积分数时,解吸率反而略有下降。分析原因:多酚是一类极性化合物,随着乙醇体积分数的增加,溶剂的极性发生了改变,使得

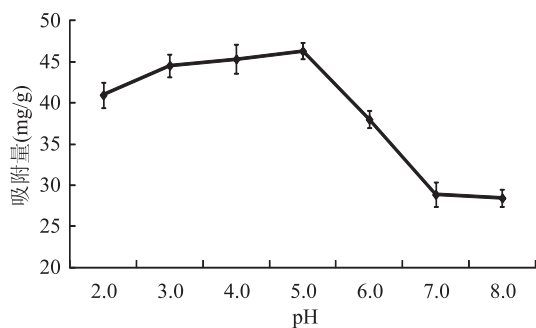


图4 pH对吸附量的影响

Fig.4 Effect of pH value on the adsorption quantity

被吸附的多酚不易被洗脱下来。所以,选用体积分数60%乙醇溶液作为地榆多酚的洗脱液。

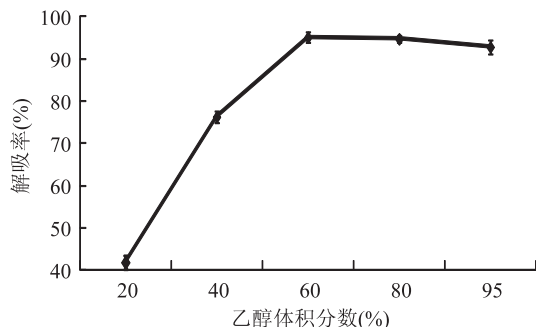


图5 乙醇体积分数对解吸率的影响

Fig.5 Effect of ethanol concentration on desorption rate

2.4.4 上样流速对洗脱液多酚质量浓度的影响 从图6可知,上样流速不同,出现漏点所需要的洗脱体积也不相同,分别为170,150,100,80 mL附近。这是因为流速的变化会影响溶质向树脂内表面的扩散,从而影响吸附效果。从图6中可以看出,上样流速过快,多酚与树脂还未来得及充分接触发生吸附,便很快通过层析柱而流出柱外,所以出现泄露点较快;上样流速为0.5 mL/min时,出现泄露点的时间较晚,操作时间长,降低分离效率;综合实际生产考虑,选用1.0 mL/min的流速进行上样。

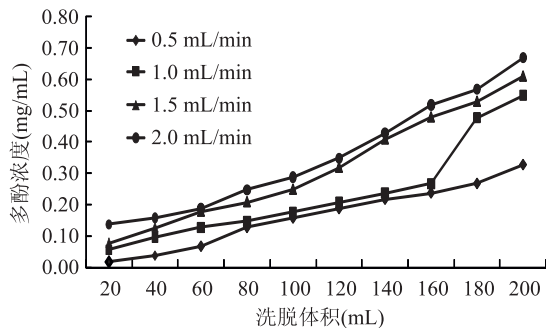


图6 上样流速对洗脱液多酚质量浓度的影响

Fig.6 Effect of sample flowing rate of eluent concentration of polyphenols

2.4.5 洗脱流速对树脂解吸率的影响 如图7所示,当洗脱流速分别为0.5、1.0、1.5、2.0 mL/min时,解吸率分别为56.06%、71.81%、79.52%、65.59%,洗脱流速为1.5 mL/min时解吸率最高,故洗脱流速为1.5 mL/min最佳。

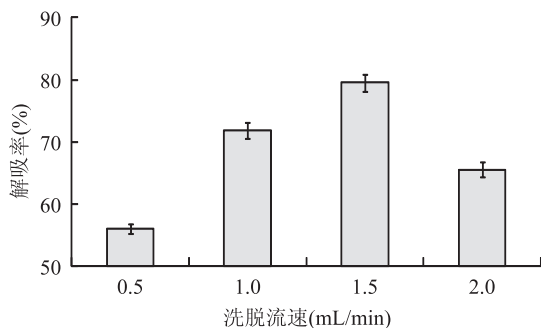


图7 洗脱流速对解吸率的影响

Fig.7 Effect of elution speed on desorption rate

2.5 地榆多酚纯度

地榆多酚经 XAD-8 树脂纯化后,多酚纯度从 20.79% ± 0.71% 提高到 62.97% ± 1.24%,纯度提高 3.0 倍左右。

2.6 地榆多酚抗氧化能力的研究

2.6.1 羟自由基清除能力的测定 由图8可知,在低浓度时, V_c 的清除能力高于多酚,当浓度大于 0.25 mg/mL时,地榆多酚的清除能力超过 V_c ,在浓度为 1.0 mg/mL时,清除率达到 87.8%。地榆多酚具有较强的清除羟自由基的能力,羟自由基的半抑制质量浓度 (IC_{50}) 为 0.179 mg/mL。

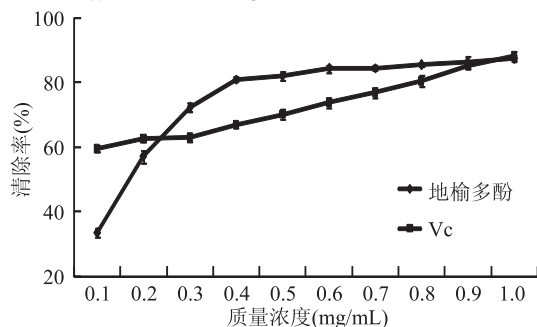


图8 地榆多酚清除羟自由基的能力

Fig.8 Scavenging hydroxyl free radical capacity of *Sanguisorba officinalis* polyphenols

2.6.2 DPPH 自由基清除能力的测定 以吸光度 Y 为纵坐标,DPPH 标准溶液质量浓度 X (mg/mL) 为横坐标,得回归方程为: $Y = 0.1107X - 0.0104$ ($R^2 = 0.9996$),说明吸光度与 DPPH 溶液浓度线性关系良好。由图9可知,地榆多酚对 DPPH 自由基具有显著的清除能力。在 0.5~3.0 mg/mL 的质量浓度范围内,地榆多酚清除 DPPH 自由基的能力随着浓度的增加而增加,质量浓度达到 2.5 mg/mL 以后,增加趋势趋于平缓。地榆多酚清除 DPPH 自由基的能力与浓度呈线性相关: $Y = 18.44x + 37.25$ ($R^2 = 0.991$),半抑制质量浓度 (IC_{50}) 为 0.691 mg/mL。

2.6.3 还原能力的测定 由图10可知,随着质量浓度的增加,地榆多酚和 V_c 的吸光度值都增加,表明还原能力随着多酚质量浓度的增加而增加。在 0.5~3.0 mg/mL 范围内,地榆多酚的还原能力大于 V_c 。地榆多酚溶液的还原能力与浓度呈线性相关: $Y = 0.170x + 0.422$ ($R^2 = 0.961$)。

3 结论

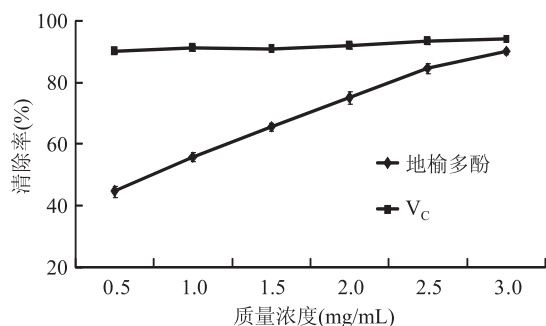


图9 地榆多酚清除 DPPH 自由基的能力

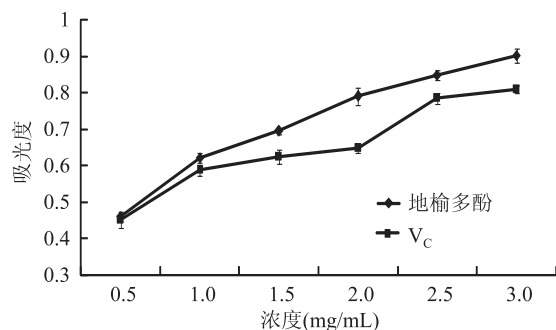
Fig.9 Scavenging DPPH free radical capacity of *Sanguisorba officinalis* polyphenols

图10 地榆多酚的还原能力

Fig.10 The reduction capability of *Sanguisorba officinalis* polyphenols

通过比较吸附率和解吸率, XAD-8 大孔树脂是分离纯化地榆多酚的最佳树脂类型。地榆多酚分离纯化的工艺条件为: 上样液浓度 2.5 mg/mL, pH5.0, 吸附平衡时间为 3 h, 洗脱液乙醇体积分数 60%; 上样流速 1.0 mL/min, 洗脱流速 1.5 mL/min。地榆多酚经 XAD-8 树脂纯化后多酚纯度从 20.79% 提高到 62.97%, 提高 3.0 倍。XAD-8 树脂对地榆多酚具有吸附速度快, 解吸效果好等优点。

抗氧化能力研究结果表明地榆多酚具有较强的抗氧化能力。地榆多酚具有还原能力和对羟基自由基、DPPH 自由基清除能力。在 0.5~3.0 mg/mL 范围内, 地榆多酚的还原能力大于 V_c。当浓度大于 0.25 mg/mL 时, 地榆多酚的清除羟自由基的能力超过 V_c; 地榆多酚对羟自由基和 DPPH 自由基的半抑制质量浓度 (IC₅₀) 分别为 0.179 mg/mL 和 0.691 mg/mL。实验结果可以为地榆多酚的进一步开发利用提供理论基础。

(上接第 67 页)

[11] 周光宏, 罗欣, 徐幸莲, 等. 肉品加工学 [M]. 中国农业出版社, 2009.

[12] 陈韬. 宰后肌肉蛋白质和组织结构变化与冷却猪肉持水性的关系研究 [D]. 南京: 南京农业大学, 2005.

[13] Straadt IK, Rasmussen M, Young JF, et al. Any link between integrin degradation and water-holding capacity in pork [J]. Meat science, 2008, 80(3): 722-727.

[14] Warner RD, Kaufman RG, Greaser ML. Muscle Protein Changes Post Mortem in Relation to pork Quality Traits [J]. Meat Science, 1997, 45(3): 339-352.

[15] Karl OH. Reference Methods for the Assessment of Physical

参考文献

[1] 袁振海, 孙立立. 地榆现代研究进展 [J]. 中国中医药信息杂志, 2007, 14(3): 90-92.

[2] 夏红, 孙立立, 孙敬勇, 等. 地榆化学成分及药理活性研究进展 [J]. 食品与药品, 2009, 11(7): 67-69.

[3] 毛迪锐, 姜贵全, 曹佳硕, 等. 响应面法优化地榆根多酚提取工艺 [J]. 北华大学学报 (自然科学版), 2015, 16(1): 100-105.

[4] 孙协军, 李秀霞, 励建荣, 等. 树脂法分离纯化山楂黄酮 [J]. 食品工业科技, 2014, 35(16): 201-206.

[5] 戴群晶. 用茶末及废茶枝叶提取高纯茶多酚的研究 [J]. 现代食品科技, 2007, 23(1): 45-48.

[6] TANG Zhonghai, QIN Jingping, XU Xiaona, et al. Applying silica gel column chromatography purify resveratrol from extracts of morus alba L. Leaf [J]. Journal of Medicinal Plants Research, 2011, 5(14): 3020-3027.

[7] 欧阳乐, 王振宇, 刘冉, 等. HPLC 法分离鉴定樟子松树皮多酚研究 [J]. 食品工业科技, 2013, 34(13): 276-280.

[8] Kohler N, Wray V, Winterhalter P. Preparative isolation of procyanidins from grape seed extracts by high-speed counter-current chromatography [J]. Journal of Chromatography A, 2008, 1177: 114-125.

[9] 刘荣, 何娇, 王振宇. 大孔树脂对樟子松树皮多酚的纯化工艺的研究 [J]. 食品工业科技, 2013, 34(11): 201-206.

[10] 陶莎, 黄英, 康玉凡, 等. 大孔吸附树脂分离纯化红小豆多酚工艺及效果 [J]. 农业工程学报, 2013, 29(23): 276-285.

[11] 张智, 于震, 王振宇, 等. 落叶松树皮多酚纯化工艺研究 [J]. 食品工业科技, 2014, 35(5): 187-191.

[12] 陈晨, 胡文忠, 田沛源, 等. 超声辅助提取香蕉皮多酚工艺优化及其抗氧化性的分析 [J]. 食品科学, 2014, 35(2): 12-17.

[13] Brand-Williams W, Cuvelie M E, Berset C. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity [J]. Lebensmittel Wissenschaft, 1995, 28(1): 25-30.

[14] 古绍彬, 吴影, 董红敏, 等. 苹果多酚抗氧化作用及其清除自由基能力的研究 [J]. 中国粮油学报, 2013, 28(4): 58-62.

[15] 陈海光, 刘朝霞, 于立梅. 山竹果皮中多酚类物质的抗氧化性研究 [J]. 食品工业科技, 2011, 32(9): 107-110.

[16] 张泽生, 赵春艳, 曹力心, 等. 大孔吸附树脂分离纯化山楂果中原花青素的研究 [J]. 现代食品科技, 2006, 22(2): 16-19.

Characteristics of Meat [J]. Meat Science, 1998, 49(4): 447-457.

[16] Lonergan SM, Huff-Lonergan E, Rowe LJ, et al. Selection for lean growth efficiency in Duroc pigs influences pork quality [J]. Journal of Animal Science, 2001, 79: 2075-2085.

[17] Offer G. Modelling of the formation of pale, soft and exudative meat: Effects of chilling regime and rate and extent of glycolysis [J]. Meat Science, 1991, 30: 157-184.

[18] Zhang WG, Lonergan SM, Gardner MA, et al. Contribution of postmortem changes of integrin, desmin and μ -calpain to variation in water holding capacity of pork [J]. Meat Science, 2006, 74(3): 578-585.