谢碧秀,马建英,杨泽身,等. 油橄榄果渣多酚分离纯化及抗氧化活性[J]. 江苏农业科学,2017,45(5):178-182. doi:10.15889/j. issn. 1002-1302.2017.05.051

油橄榄果渣多酚分离纯化及抗氧化活性

谢碧秀1,马建英1,杨泽身2,向亚楠1,陈明霜1

(1. 眉山职业技术学院,四川眉山 620020; 2. 凉山州中泽新技术开发有限责任公司,四川西昌 615000)

摘要:研究了6种大孔树脂对油橄榄果渣多酚的吸附性能,筛选出最佳树脂为 XAD-16,进一步对油橄榄果渣多酚的分离纯化工艺进行了优化。最佳工艺为 pH 值 4 的油橄榄果渣多酚提取液浓度为 0.3 mg/mL,上样流速为 2 BV/h,洗脱剂乙醇体积分数为 80%,洗脱量为 3 BV。对纯化后的油橄榄果渣多酚抗氧化活性进行了研究,结果表明,油橄榄果渣多酚具有较强的还原能力,对超氧阴离子自由基、亚硝酸盐具有良好的清除能力。

关键词:油橄榄果渣;多酚;纯化;抗氧化

中图分类号:TS201.2 文献标志码:A 文章编号:1002-1302(2017)05-0178-05

油橄榄(Olea europaea L.) 主产地中海区域,为著名亚热带木本油料兼果用树种,栽培品种含丰富优质食用植物油——橄榄油^[1],享有植物油皇后的美誉^[2]。自20世纪60年代起,油橄榄开始在中国引种,其中,甘肃省陇南市武都区是目前全国最大的油橄榄种植基地^[3]。油橄榄榨油后的果渣、废水等生产副产物虽然富含多酚、苦苷等活性物质,但综合利用还有待开发。多酚类化合物广泛存在于许多植物中,研究证实,油橄榄多酚对 DPPH 自由基和羟基自由基都具有一定的清除能力^[4-5]。国内关于油橄榄果渣、叶片、果实中多酚提取方法的研究已有较多报道^[4-10],但很少看到关于油橄榄果渣中多酚类物质分离纯化的报道。在前期油橄榄多酚提取方法研究的基础上,使用大孔树脂对提取液进行了分离纯化,进一步分析了油橄榄果渣多酚的抗氧化活性。

收稿日期:2016-01-30

基金项目:四川省技术创新工程专项(编号:2013ZZ0038)。

作者简介:谢碧秀(1982—),女,四川资阳人,硕士,讲师,主要从事果 蔬加工方面的研究。E-mail:xiebixiu@163.com。

- [15] Lee H H, Lee S, Lee K, et al. Anti cancer effect of Cordyceps militaris in human colorectal carcinoma RKO cells via cell cycle arrest and mitochondrial apoptosis [J]. DARU – Journal of Pharmaceutical Sciences, 2015, 23(1):35.
- [16] 李小刚,潘卫东,张晓杰,等. 黔产戴氏虫草发酵菌粉的抗肿瘤 化学成分研究[J]. 中药材,2015,38(10):2083-2086.
- [17]王 刚,麻兵继,刘吉开. 人工蛹虫草化学成分研究[J]. 中草 药,2004,35(5):493-495.
- [18]李春娜,刘洋洋,李朋收,等. 东北天南星化学成分及药理作用 [J]. 吉林中医药,2015,35(3):293-296.
- [19]丁 丽,章璐幸,邱 彦,等. 三叶青三氯甲烷部位化学成分及 其抗肿瘤活性研究[J]. 中国药学杂志,2015,50(21):1857 – 1860.
- [20] 王鹏程,赵 珊,王秋红,等. 商陆脂溶性成分的 GC MS 分析 及其利尿、致泻作用研究[J]. 辽宁中医药大学学报,2016,18 (2):15-17.
- [21]张金玲,黄 艳,刘布鸣,等. 甘蔗叶脂溶性成分的 GC MS 分

1 材料与方法

1.1 试验材料

油橄榄果渣由凉山州中泽新技术开发有限责任公司提供,果实经榨油脱水后产生的果渣立即装袋,真空包装, -20 ℃ 条件下保藏备用。

1.2 试剂与仪器

试剂:蒸馏水;正己烷、无水乙醇、碳酸钠、Folin - Ciocalteu 试剂等均为分析纯,四川成都市科龙化工试剂厂;没食子酸标品,中国医药上海化学试剂公司;大孔吸附树脂 XAD-7HP、XAD-16,罗门哈斯公司;大孔吸附树脂 AB-8、HPD-200、HP-20、D101,四川成都市科龙化工试剂厂。

仪器:UV-18000 紫外可见分光光度仪,翱艺仪器(上海)有限公司;SB-5200 超声波清洗仪,宁波新艺生物科技股份有限公司;ATL-124 分析天平,德国赛多利斯集团;DUG-924GA 电热恒温鼓风干燥箱,上海精宏实验设备有限公司;RE-6000A 旋转蒸发仪,上海亚荣生化仪器厂;玻璃层析柱,16 mm×30 mm;HL-2 恒流泵,上海青浦沪西仪器厂。

析[J]. 广西中医药,2015,38(3):70-73.

[22]李万芳, 闫 滨, 王 璐, 等. 北虫草醚提物成分与抗肿瘤活性 分析[J]. 时珍国医国药, 2014, 25(1):60-62.

- [23]王 鸿,陈 俊,倪建良,等. 生物活性导向分离海洋真菌 *Alternaria* sp. MN801 次级代谢产物[J]. 浙江工业大学学报, 2014,42(1):41-44.
- [24]冯 娜,吴 娜,杨 焱,等. 鲍姆氏层孔菌子实体中化合物的 分离鉴定及其体外抑制肿瘤的研究[J]. 菌物学报,2015,34 (1):124-130.
- [25] Breathnach A S, Robins E J, Nazzaro Porro M, et al. Hyperpigmentary disorders—mechanisms of action; Effect of azelaic acid on melanoma and other tumoral cells in culture [J]. Acta Derm Venereol, 1989, 143:62 - 66.
- [26] Manosroi A, Panyosak A, Rojanasakul Y, et al. Characteristics and anti proliferative activity of azelaic acid and its derivatives entrapped in bilayer vesicles in cancer cell lines [J]. Journal of Drug, 2007, 15(5):334-341.

1.3 试验方法

1.3.1 多酚提取浓缩物的制备 精确称取 10 g 经解冻后的果渣,以 80% 乙醇,料液比 1:24,在 250 W、50 ℃的水浴中超声 45 min,收集上清液,于 40 ℃下旋转蒸发除去溶剂得到棕红色的粗提液;将粗提液用 25 mL 正己烷萃取 2 次,正己烷层浓缩,回收正己烷,得油橄榄果渣提取物精制产品,并于-20 ℃ 条件下保存备用。

1.3.2 多酚含量测定 采用 Folin – Cilcalteu 比色法 [11] 在 765 nm 波长处测定不同浓度的没食子酸标准溶液的吸光值,以吸光度值(y)为纵坐标,标准溶液浓度(x)为横坐标,得到回归方程式 y = 5.169 $7x(r^2$ = 0.999 0),没食子酸标品在 0 ~ 0.275 mg/mL 浓度范围内与吸光度呈良好线性关系。以试样替代没食子酸溶液测定吸光值,根据绘制的标准曲线方程计算多酚含量(以没食子酸计)。

1.3.3 树脂筛选 通过测定 7 种树脂的吸附和解吸能力确定最佳树脂。准确称取经预处理,并经滤纸吸干后的 6 种树脂各 2.000 g,分别置于 250 mL 具塞磨口三角瓶中,加入浓度为 0.25 mg/mL 的多酚粗提液 40 mL,水浴振荡,(25 $^{\circ}$ C、120 r/min)24 h后,过滤取上清液测定滤液体积和多酚的浓度,计算吸附率。将滤出的树脂加入 80% 的乙醇 40 mL 继续振荡 8 h,计算解吸率。

吸附率 = $(C_0 V_0 - C_1 V_1)/C_0 V_0 \times 100\%$; 解吸率 = $C_1 V_2/(C_0 V_0 - C_1 V_1) \times 100\%$ 。

式中: C_0 为吸附前样液多酚的浓度(mg/mL); V_0 为样液体积(mL); C_1 为吸附后多酚的浓度(mg/mL); V_1 为吸附后流出液的体积(mL); C_2 为解吸后多酚的浓度(mg/mL); V_2 为洗脱液的体积(mL)。

1.3.4 最佳大孔树脂的静态吸附与解析曲线 准确称取筛选出的最佳大孔树脂 2.000 g,置于 250 mL 具塞磨口三角瓶中,加入 40 mL 浓度为 0.25 mg/mL 的多酚粗提液,置于 25 ℃水浴摇床上以 120 r/min 的频率振荡,定时过滤,测定上清液的体积及多酚浓度,绘制吸附动力学曲线。将静态吸附后的上清液过滤去掉后,加入 80%的乙醇溶液 40 mL 继续振荡解析 4 h,定时测定滤液的体积及多酚的浓度,绘制解析动力学曲线。

1.3.5 吸附动态试验

1.3.5.1 pH 值对吸附的影响 将最佳大孔树脂湿法装入 5 根相同型号的层析柱中, 柱体积 10 mL。将 20 mL 浓度为 0.25 mg/mL 的多酚提取液在 pH 值分别为 3、4、5、6、7 的条件下上柱, 上柱速率为 2 BV/h, 以确定最佳 pH 值。

1.3.5.2 上样流速对吸附的影响 取 10 mL 处理过的大孔 树脂湿法装柱。然后将浓度为 0.25 mg/mL、pH 值 4 的多酚 提取液 20 mL 用恒流泵分别以 1、2、3、4、5 BV/h 的速率上柱 吸附,以确定最佳上样流速。

1.3.5.3 上样浓度对吸附的影响 取 10 mL 处理过的大孔 树脂湿法装柱。分别用 20 mL pH 值 4,浓度分别为 0.2、0.3、0.4、0.5、0.6 mg/mL 的多酚提取液上柱,流速为 3 BV/h,以确定最佳上样浓度。

1.3.6 解析动态试验

1.3.6.1 乙醇浓度对洗脱效果的影响 取 10 mL 处理过的 大孔树脂湿法装柱,按优选吸附条件进行上样吸附,收集流出 液并测多酚含量;蒸馏水淋洗,然后分别用 30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%的乙醇溶液,以3 BV/h的流速进行洗脱,洗脱体积为3 BV,以确定乙醇的最佳洗脱浓度。

1.3.6.2 洗脱剂体积对洗脱效果的影响 取 10 mL 处理过的大孔树脂湿法装柱,按优选吸附条件进行上样吸附,收集流出液并测多酚含量;蒸馏水淋洗,80% 乙醇分别以 1、2、3、4、5 BV 的量进行洗脱,以确定乙醇洗脱的最佳体积。

1.3.6.3 动态洗脱曲线的绘制 取 10 mL 处理过的大孔树脂湿法装柱,将 20 mL 多酚提取液按优选吸附条件上柱吸附,再用蒸馏水淋洗树脂,用 80% 乙醇以 3 BV/h 的速率洗脱,收集洗脱液每 2 mL 测 1 次多酚浓度,绘制动态洗脱曲线。

1.3.7 抗氧化活性测定

1.3.7.1 还原力的测定 $^{[12]}$ 在 2.5 mL pH 值 6.6 磷酸盐缓冲液中加入不同浓度的试样溶液 2.5 mL,1% 铁氰化钾溶液 2.5 mL,混合物在 50 ℃恒温 20 min 后,再加入 10% 的三氯乙酸溶液 2.5 mL,然后以 3 000 r/min 离心分离 10 min,取上清液 5 mL 加蒸馏水 5 mL、0.1% FeCl。溶液 1 mL,在 700 nm 处测定吸光度。以蒸馏水为无还原能力对照,维生素 C、BHT 作为还原能力对照。

1.3.7.2 对超氧阴离子自由基(O_2 ·)的清除作用^[13] 取 4.5 mLTris – HCl 缓冲溶液,于 25 ℃水浴中放置 20 min,分别 加入 1 mL 不同浓度的试验溶液和 0.4 mL 25 mmol/L 的邻苯三酚溶液,混匀后于 25 ℃水浴中反应 5 min,然后加入 8 mmol/L 的 HCl 溶液 1 mL 终止反应,然后在 420 nm 处测定 吸光度 D_1 ,空白以蒸馏水代替样品液,测定吸光度 D_0 。按下式计算清除率:

$$O_2^-$$
 · 清除率 = $(D_0 - D_1)/D_0 \times 100\%$ 。

1.3.7.3 橄榄多酚提取物亚硝酸盐(NO_2^-)的清除作用 [14-15] 取不同浓度的样品液 3 mL 于具塞试管中,用 pH 值 3.0 的 柠檬酸缓冲液定溶至 5 mL,然后每管中加入 5 μg/mL 亚硝酸钠 1 mL,混匀,立即置于 37 ℃ 水浴中保温 1 h,随后立即向各反应管加入 0.4%的对氨基苯磺酸 1 mL,混匀,静置 5 min;再向各管加入 0.2%的盐酸萘乙二胺显色剂 0.5 mL,摇匀,定容至 10 mL,静置 15 min。每样品管同时做不加亚硝酸钠的本色管(空白管),并做亚硝酸钠的标准管(不加样品,其余相同),分别测各管在 538 nm 处的吸光度 D 值。按下式计算清除率:

NaNO₂ 清除率 = $[D_{k} - (D_{\ell} - D_{\Xi})]/D_{k} \times 100\%$ 。 式中: D_{k} 为不加待测样只加了 NaNO₂ 标准液和其他试剂的反应管光密度; D_{ℓ} 为既加待测样又加了 NaNO₂ 标准液和其他试剂的反应管光密度; D_{Ξ} 为只加待测样和其他试剂不加 NaNO₃ 标准液的的反应管光密度。

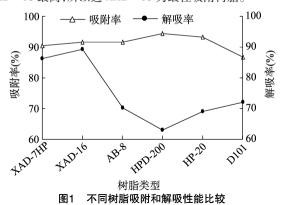
以上试验,每个试样做3次平行。

2 结果与分析

2.1 树脂的筛选

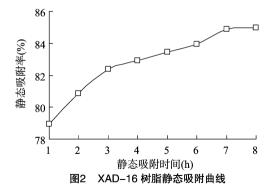
大孔吸附树脂的吸附实质为一种物体高度分散或表面分子受作用力不均等而产生的表面吸附现象,这种吸附性能是由于范德华引力或生成氢键的结果;同时由于大孔吸附树脂的多孔性结构使其对分子大小不同的物质具有筛选作用[16-17], 酚类化合物的分子中含有多个酚羟基,分子极性并

不太高,因此在弱极性和非极性树脂上吸附的效果更好^[18]。从图 1 可以看出,D101 吸附率最低;HPD -200 虽然吸附率最高,但解吸率却最低;HP -20 吸附率第 2,解吸率是倒数第 2;XAD - 7HP、XAD - 16、AB - 8 的吸附率都较高,其中以XAD - 16 最高,所以选 XAD - 16 为最佳吸附树脂。

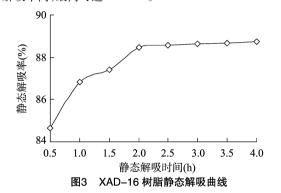


2.2 最佳大孔树脂的静态吸附与解析曲线

从图 2 可以看出, XAD - 16 树脂对油橄榄果渣多酚的静态吸附率随着吸附时间的延长而提高,1 h 时的吸附率即可达到 78.94%,表明 XAD - 16 的吸附效率高。



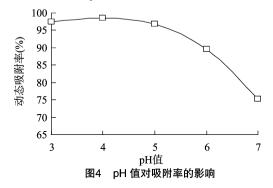
从图 3 可以看出,在 0.5 h 的解吸时间内,多酚解吸率迅速达到 84.64%,超过 2 h 后,随着吸附时间的延长,解吸率变化趋于平缓,表明 80%的乙醇溶液经过 2 h 就能把油橄榄果渣多酚很好地从大孔树脂 XAD - 16 中解吸出来,解吸时间短,解吸率高,最高可达 88.45%。



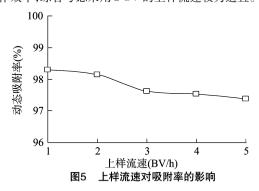
2.3 吸附动态试验

2.3.1 pH 值对吸附的影响 pH 值对物质吸附的影响主要取决于化合物的酸碱度,酸性化合物在酸性溶液中易被吸附,

碱性化合物在碱性条件下易被吸附^[19]。从图 4 可以看出,随着 pH 值的升高,XAD - 16 树脂对油橄榄果渣多酚的吸附率呈现先升高后下降的趋势,并在 pH 值为 4 时达到最大值。这可能与多酚类物质属于带羟基的多元酚酸类有关,在微酸性环境下,酚类物质的结构不易被破坏,以分子态存在,易于被识别并吸附^[20];在溶液 pH 值较高条件下,多酚化合物的酚羟基会解离形成 H⁺,并产生相应的阴离子,进而削弱溶液中氢键间的相互作用力,最终导致树脂的吸附能力随之下降^[14]。因此,样液的 pH 值调为 4 最佳。



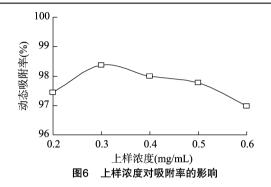
2.3.2 上样流速对吸附的影响 上样流速对树脂吸附的影响主要是溶质向树脂表面的扩散作用,对于相同浓度的上样溶液,上样流速过大,树脂的吸附率就会降低。上样流速过小,多酚分子虽然能够充分与树脂接触,但吸附时间太长,不适用于生产。从图5可以看出,上样流速越快,XAD-16树脂对油橄榄果渣多酚的吸附率逐渐降低,在上样流速为1BV时,吸附率为98.29%;在上样流速为2BV时,吸附率为98.14%。既要使大孔吸附树脂的吸附效果好,又要保证较高的工作效率,综合考虑采用2BV的上样流速较为适宜。



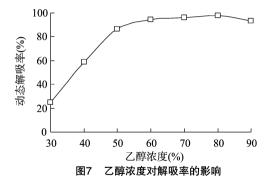
2.3.3 上样浓度对吸附的影响 从图 6 可以看出,随着上样浓度的增加,吸附率随之升高;当浓度达到 0.3 mg/mL 时,吸附率达到最高值 98.36%;超过 0.3 mg/mL 浓度后,吸附率稍有下降。根据吸附平衡理论,浓度减小,达到平衡时所需提液体积增大,残留在流出液中的多酚增多,吸附率降低;浓度过高时,树脂表面的多酚分子单分子层吸附饱和后,会发生多层吸附,并容易产生絮凝和沉淀,堵塞微孔,降低内孔利用率,吸附率也将下降^[19,21]。因此,上样浓度控制在 0.3 mg/mL为宜。

2.4 解析动态试验

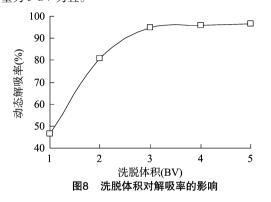
2.4.1 乙醇浓度对洗脱效果的影响 从图7可以看出,在一



定范围内,随着乙醇浓度的增加,树脂对油橄榄果渣多酚的解吸率逐渐提高,当乙醇浓度为80%时,解吸率达到最大值97.82%,继续提高乙醇的浓度,解吸率反而有所下降。因为乙醇浓度过低时,解吸液的极性较高,不仅不能破坏树脂与多酚间形成的氢键,而且多酚在解吸液中的溶解性低,解吸率也低;当乙醇浓度过高时,油橄榄果渣多酚提取液中的大分子物质沉淀会使树脂中多酚分子扩散困难,同时水溶性多酚的溶解量降低而导致解吸率降低。因而选用80%的乙醇溶液进行洗脱。

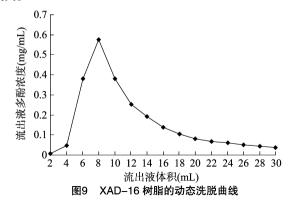


2.4.2 洗脱剂的体积对洗脱效果的影响 洗脱剂乙醇体积对油橄榄果渣多酚洗脱效果的影响见图 8。从图 8 可以看出,随着乙醇用量的增加,多酚的解吸率也随之增加,在洗脱体积为 3 BV 后效果增加不明显。综合考虑选择洗脱剂乙醇的用量为 3 BV 为官。



2.4.3 动态洗脱曲线的绘制 XAD-16 树脂的动态洗脱曲 线见图 9。油橄榄果渣多酚洗脱峰相对集中,较容易洗脱。流出液体积达到 4 mL 时开始有多酚流出;随着流出液体积增加,洗脱液中多酚浓度快速上升,当流出液体积达到 8 mL 左

右,多酚浓度达到最大值 0.58 mg/mL;随后流出液体积再增加,多酚浓度降低。当洗脱液达 30 mL 时,洗脱基本完成,因此,选用 3 BV 的洗脱体积,可使洗脱液中的多酚含量达到最大。



2.5 抗氧化活性测定

2.5.1 还原力的测定 多数非酶类抗氧化剂是通过还原反应终止氧化链式反应的,所以,化合物的还原能力是显示其是否具有抗氧化潜能的重要因素^[14]。由 K₃Fe(CN)₆反应成 K₄Fe(CN)₆,并进一步生成 Fe₄ [Fe(CN)₆]₃,这是一有色反应的过程,在 700 nm 波长处有最大吸收峰,吸光度越大则样品的还原力越强^[22]。油橄榄果渣多酚与维生素 C、BHT 还原力的比较见图 10。从图 10 可以看出,在试验浓度范围内,试样的还原力随着浓度的增加均呈上升变化趋势;油橄榄果渣多酚的还原力低于维生素 C,高于 BHT,表明油橄榄果渣多酚具有较强的还原能力。

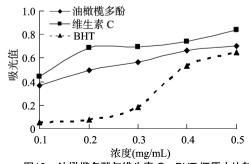


图10 油橄榄多酚与维生素 C、BHT 还原力比较

2.5.2 对超氧阴离子自由基(O_2 ·)的清除作用 超氧阴离子自由基是生物体内氧代谢首先形成的自由基,是所有氧自由基的前身,在某些病理情况下,机体内 O_2 ·产生过多或清除能力减弱,使体内 O_2 ·浓度升高,就会产生氧化损伤而诱发多种疾病^[23],因此,在检验物质的抗氧化活性时常把清除超氧阴离子自由基作为重要指标之一。以维生素 C、BHT为对照,测定油橄榄多酚对超氧阴离子自由基的清除率见图11。油橄榄果渣多酚对超氧阴离子自由基具有一定的清除作用,但其清除能力比维生素 C、BHT 的要弱。当浓度为 $0.1 \sim 0.3$ mg/mL 时,油橄榄果渣多酚对超氧阴离子自由基的清除率从5.17%迅速增至51.86%,随后随着样品浓度的继续增加而清除率变化幅度不大,在浓度为0.5 mg/mL 时清除率达到最大值63.64%。

2.5.3 油橄榄多酚提取物亚硝酸盐 (NO_2^-) 的清除作用 N-亚硝基化合物是一种具有强烈致癌作用的化合物,其前

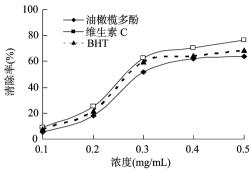


图11 油橄榄多酚与维生素C、BHT 对超氧阴离子 自由基的清除率比较

提物质广泛存在于食品中以及产生于食物在体内的代谢中,硝酸盐或亚硝酸盐和胺类可在体内合成亚硝胺,尤其在胃液中更易合成^[24],是诱发胃癌的重要因素。以维生素 C、BHT 为对照,研究油橄榄多酚对亚硝酸盐的清除作用,试验结果见图 12。在同样浓度条件下,油橄榄果渣多酚对于亚硝酸盐的清除能力低于维生素 C、BHT。在试验浓度范围内,油橄榄果渣多酚对亚硝酸盐的清除作用随着试样浓度的增加而提高,清除率最大值为浓度在 0.5 mg/mL 时的 52.27%。

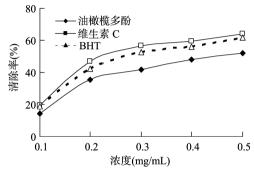


图12 油橄榄多酚与维生素C、BHT 对亚硝酸盐的清除率

3 结论

通过对6种大孔树脂吸附分离性能的考察,筛选出最佳树脂为XAD-16。进一步对油橄榄果渣多酚的分离纯化工艺进行了优化:上柱条件为油橄榄果渣多酚提取液浓度0.3 mg/mL,最佳pH值为4,上样流速为2BV/h。解吸条件为洗脱剂乙醇体积分数80%,洗脱量为3BV。采用大孔树脂分离油橄榄果渣多酚具有吸附容量大、选择性好、易于解吸、机械强度高、再生处理简单、操作简单、得率恒定、产品质量稳定、成本低等特点。

在试验浓度范围内,油橄榄果渣多酚具有良好的抗氧化能力,其还原力低于维生素 C,高于 BHT;油橄榄果渣多酚浓度在 0.5 mg/mL 时对超氧阴离子自由基、亚硝酸盐的清除率分别为 63.64%、52.27%,表现出良好的清除效果。

参考文献:

[1]刘 伟,江国良,钟 奇. 四川油橄榄产业现状及发展建议[J].

- 四川农业科技.2015(6):50-51.
- [2]令 凡,焦 健,李朝周,等. 不同油橄榄品种对低温胁迫的生理 响应及抗寒性综合评价[J]. 西北植物学报,2015,35(3):508 –515.
- [3]朱静平. 油橄榄不同品种叶片中总黄酮提取工艺的比较[J]. 湖 北宏业科学.2015.54(6):1412-1415.
- [4]王寒冬,刘 静,刘 露,等. 微波辅助提取油橄榄多酚及抗氧化活性研究[J]. 食品工业科技,2015,36(21):204-209.
- [5]饶 瑜,焦士蓉,龚 丽,等. 广元地区油橄榄叶多酚提取条件及 抗氧化活性研究[J]. 西华大学学报(自然科学版),2013,32 (5):96-99.
- [6]谢碧秀,刘 滕,马建英,等. 油橄榄果渣中多酚提取工艺的优化 [J]. 食品科技,2015,40(9);192-195.
- [7] 孔维宝,李 阳,自万明,等. 微波辅助提取油橄榄果渣多酚[J]. 食品与发酵工业.2011.37(4).233-237.
- [8] 耿树香, 宁德鲁, 李勇杰, 等. 微波辅助提取不同品种油橄榄叶及 果渣多酚物质[J]. 西部林业科学, 2014, 43(4): 27-30.
- [9] 夏俊雅, 孙小明, 张 佳, 等. HPLC 法同时测定油橄榄叶中的 5 种多酚类化合物含量[J]. 分析试验室, 2014, 33(7): 766 770.
- [10]刘 露,邓俊琳,王寒冬,等.油橄榄鲜果中多酚提取工艺优化及不同成熟度含量变化分析[J].天然产物研究与开发,2015,27(8):1453-1458.
- [11]何志勇,夏文水. Folin Cilcalteu 比色法测定橄榄中多酚含量的研究[J]. 林产化学与工业,2006,26(4):15-18.
- [12]孙 瑾,王宗举,陈 岗,等. 橄榄中多酚类物质体外抗氧化活性研究[J]. 中国食品添加剂,2010(3):69-73.
- [13]武文洁,吕树祥,宋诗莹,等. 芝麻提取物抗氧化性能研究[J]. 中国食品添加剂,2004(1):70-72.
- [14] 王宗举. 橄榄叶多酚类化合物的提取、纯化和抗氧化性能研究 [D]. 重庆:重庆工商大学,2010.
- [15]宋 茹,韦 荣,胡金申,等. 荔枝皮色素体外清除亚硝酸盐作用研究[J]. 食品科学,2010,31(5):104-109.
- [16]谢碧秀,马建英,刘 滕,等. 油橄榄中橄榄苦苷的研究进展 [J]. 北方园艺,2015(24):175-180.
- [17]尚红伟. 大枣多糖提取分离过程研究[D]. 西安:西北大学,2002.
- [18]李 琼,陈 恺,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.
- [19] 贺金娜, 曹 栋, 史苏佳. 大孔树脂纯化苹果多酚的工艺优化 [J]. 食品与发酵工业, 2014, 40(5):135-141.
- [20]郑 菲. 橡实壳多酚分离纯化、抗氧化剂抑菌的研究[D]. 长沙:中南林业科技大学,2011.
- [21]夏昊云,汤小芳,许晨东,等. 大孔树脂分离纯化柚子皮多酚研究[J]. 再生资源与循环经济,2015,8(10);38-40.
- [22]吴遵秋,姜友军,苏光灿,等. 油橄榄叶中橄榄苦苷的体外抗氧化和抑菌活性[J]. 食品科学,2014,35(21):94-99.
- [23] 贺东霞. 超氧阴离子在不同溶剂中的歧化反应及其动力学 [D]. 武汉:华中师范大学,2006.
- [24] 余 华,曹丽容,汤修琴. 核桃体外清除亚硝酸盐及阻断亚硝胺合成的研究[J]. 食品科技,2005(12):17-19.