

微波辅助提取牡丹籽粕多糖工艺优化及其体外抗氧化活性

郭香凤, 史田, 马雪情, 张改娜, 史国安*

(河南科技大学, 洛阳市牡丹生物学重点实验室, 牡丹种质创新与精深加工河南省工程实验室, 河南洛阳 471023)

摘要: 研究牡丹籽粕多糖(PA)提取工艺及其抗氧化活性。采用微波辅助法提取超临界萃取牡丹籽油后的籽粕中的多糖, 探讨微波处理时间、功率、粒度和料液比对多糖提取率的影响, 通过正交实验优化提取工艺, 用3,5-二硝基水杨酸盐法定量分析多糖含量, 用DPPH和脂质过氧化法分析牡丹籽粕多糖的抗氧化活性。结果表明, 各因素对多糖提取率的影响大小依次为固液比 > 微波处理功率 > 籽粕粒度 > 微波处理时间, 牡丹籽粕多糖的最佳提取工艺为: 微波功率 480 W, 提取时间 8 min, 粒度 120 目, 固液比 1:25 (w/v), 此条件多糖得率为 9.21%。牡丹籽粕多糖溶液能有效的清除 DPPH 自由基, 抑制卵黄组织匀浆的脂质过氧化作用。体外实验牡丹籽粕多糖具有一定程度的抗氧化能力, 可成为一种新的天然抗氧化剂。本研究为牡丹籽粕的综合利用提供了理论依据与参考。

关键词: 牡丹, 籽粕, 多糖, 微波法, 抗氧化活性

Optimization of microwave-assisted extraction technology of polysaccharide from tree peony seed meal and evaluation of antioxidant activity *in vitro*

GUO Xiang-feng, SHI Tian, MA Xue-qing, ZHANG Gai-na, SHI guo-an*

(Luoyang Key laboratory of PeonyBiology, Key laboratory of Peony Germplasm Development and Intensive Processing in Henan Province, Henan University of Science and Technology, Luoyang 471023, China)

Abstract: To develop polysaccharide by microwave-assisted extraction technique and test its antioxidant activity. The polysaccharide was extracted from tree peony seed meal, and that was determined by 3,5-Dinitrosalicylic acid, to investigate extraction time, extraction power, seed meal granularity and the ratio of material to water. Based on these experiments, finally the orthogonal experiments were to optimize extraction condition. Meanwhile, the ability of polysaccharide to scavenge hydroxyl radical was studied to make a preliminary determination of its biological activity. The results showed the effect order of each factor on yield was as follows: stock ratio > extraction power > seed meal granularity > extraction time and the optimal extraction conditions of polysaccharide were 480 W microwave power for 8 min in combination with stock ratio 1:25 (m/v) and the size of granularity among 120 items, by which the yield of polysaccharide was up to 9.21%. The crude polysaccharide from tree peony seed meal could scavenge DPPH radical and inhibit lipid peroxidation of polyunsaturated fatty from yolk lipoprotein. Thus, the polysaccharide from tree peony seed meal could be developed as a new type of anti-oxidants. This study has provided a technical basis for further development of tree peony seed meal polysaccharide functions and utilization of tree peony resources.

Key words: tree peony; seed meal; polysaccharide; microwave; antioxidative activity

中图分类号: TS201.2

文献标识码: B

文章编号: 1002-0306(2018)01-0167-05

doi:10.13386/j.issn1002-0306.2018.01.031

牡丹是原产中国的特色花卉, 传统上主要用于观赏和入药, 被人们认为是富贵吉祥、繁荣昌盛的象征, 在全国各地广泛种植, 其中以河南洛阳、山东菏泽种植最多。近年来, 牡丹籽油开发呈现良好态势, 油用牡丹做为新型木本油料作物在全国的种植面积

迅速扩大, 对满足我国对优质食用油需求和防范食用油安全风险具有重要意义^[1-2]。牡丹籽油生产产生的大量牡丹籽粕副产物, 含有丰富的活性成分和营养物质, 如多糖、糖蛋白、蛋白质和矿物质等^[3]。

收稿日期: 2017-06-16

作者简介: 郭香凤(1964-), 女, 硕士, 副教授, 主要从事农产品贮藏加工研究, E-mail: gxfeng40@163.com。

* 通讯作者: 史国安(1963-), 男, 博士, 教授, 主要从事生物化学与牡丹生物学研究, E-mail: gashi1963@126.com。

基金项目: 国家自然科学基金(31372098); 河南省教育厅重点研究项目(15A180036); 洛阳市科技支撑计划(1301051A、1401074A)。

植物多糖来源广泛,从植物的根、茎、叶、花、果实、种子及其他器官^[4],均有成功提取活性多糖的报道。尤其是提取植物油脂后的大量饼粕副产物,成为植物多糖最为重要的来源,如油茶、大豆、花生等饼粕^[5-6]。生物多糖具有清除自由基的作用,补充多糖具有明显的抗氧化功能^[7-9]。植物多糖是极性大分子化合物,其提取工艺多以热水法为基础。在多糖提取的研究中采用溶剂提取法、酸提法、碱提法、酶解法、超滤法、超声波法、微波法等多种方法。随着微波技术和设备的日趋完善,微波辅助法提取植物多糖的工艺优化为生产应用奠定了良好基础^[10-12]。张利霞等^[13]通过响应面法优化测得牡丹皮多糖提取率为3.727%,王洪政等^[14]、路祺等^[15]分别测得牡丹果荚多糖提取率为8.77%和8.34%,湛志伟等^[16]通过正交实验测得牡丹种仁的提取率为3.825%,表明牡丹果荚、种皮和种仁中均含有多糖成分。王洪政等^[14]用DPPH法证明牡丹果荚多糖有明显的抗氧化活性。因此,对牡丹籽粕多糖在医药保健品和天然抗氧化剂等领域的深入研究,具有重要的理论和应用价值。

目前,对牡丹籽油提取工艺研究较多^[17-18],而对籽粕综合利用研究的报道较少。本研究采用微波法辅助提取牡丹籽粕中粗多糖,通过正交实验对提取多糖的工艺参数(微波处理时间、功率、籽粕粒度和料液比)进行了优化,并分析了牡丹籽粕多糖的体外抗氧化活性,以期对牡丹籽粕的综合利用提供理论参考。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

‘凤丹’牡丹籽 经超临界萃取牡丹籽油后的籽粕,密封保存于4℃冰箱备用;三氯甲烷、正丁醇、无水乙醇、丙酮、乙醚、盐酸、氢氧化钠、酚酞、葡萄糖、3,5-二硝基水杨酸、酒石酸钾钠、结晶酚、亚硫酸钠、碘、碘化钾、硫酸亚铁、三氯乙酸、抗坏血酸(V_c)、二丁基羟甲基苯(BHT)、1,1-二苯基-2-三硝基苯肼(DPPH)、硫代巴比妥酸(TBA)均为国产分析纯试剂。

格兰仕WD800G-BL20微波炉 顺德市格兰仕电器实业有限公司;RE-52A旋转蒸发器 上海亚荣生化仪器厂;JA8102电子天平 上海精密电子仪器有限公司;TU1810紫外可见分光光度计 北京普析通用仪器有限责任公司;HH-S₂数显恒温水浴锅 金坛市医疗仪器厂;索氏抽提器 上海瀚赫国际贸易有限公司;LD4-2低速离心机 北京医用离心机厂;XH-B涡旋混合器 无锡沃信仪器制造有限公司。

1.2 实验方法

1.2.1 多糖的提

1.2.1.1 多糖微波法提取工艺流程 称取粉碎、过筛分级的牡丹籽粕适量,乙醚回流脱脂3h(固液比1:3,W/V),40℃烘干。准确称取合适粒度的牡丹籽粕2.00g放入三角瓶,加入适量的蒸馏水,经一定的微波功率下间歇处理一段时间,50℃保温振荡

30min,然后4000r/min离心25min,取上清液,再加入25%体积的Sevag试剂(V氯仿:V正丁醇=4:1),剧烈振荡20min,4000r/min离心20min,取上清液重复脱蛋白,直至离心后无蛋白中间层出现。然后将上清液减压浓缩至适量,再加入3倍体积的无水乙醇,静置过夜。4000r/min离心25min,沉淀部分经无水乙醇、丙酮、乙醚依次洗涤,静置沉淀离心,弃上清后40℃干燥箱中干燥,即可获得牡丹籽粕粗多糖(PS)。

1.2.1.2 多糖含量测定 以葡萄糖为对照品,采用3,5-二硝基水杨酸比色法测定牡丹籽粕还原糖含量。将提取的牡丹籽粕粗多糖用蒸馏水溶解,定容至250mL。准确吸取稀释液10mL,加入6mol/LHCl溶液5mL,沸水浴中水解0.5h,冷却后用6mol/LNaOH溶液中和至pH呈中性,然后用蒸馏水定容至100mL。分别取1mL糖提取液和糖水溶液,测定还原糖含量。按下列公式计算样品多糖提取得率:

$$\text{还原糖}(\%) = C_1 V_1 / m \times 100$$

$$\text{总糖}(\%) = C_2 V_2 N / m \times 0.9 \times 100$$

$$\text{多糖提取得率}(\%) = \text{总糖} - \text{还原糖}$$

式中: C_1 为还原糖的质量分数(mg/mL), V_1 为样品总糖溶液的体积(mL), C_2 为水解后还原糖的质量分数(mg/mL), V_2 为样品总糖水溶液的体积(mL), N 为稀释倍数, m 为样品的质量(mg)。

1.2.2 牡丹籽粕多糖提取单因素实验 根据预实验的结果,影响牡丹籽粕多糖微波辅助提取的主要因素有微波处理时间、微波功率、籽粕粒度、料液比等。

1.2.2.1 微波处理时间 分别为1、2、3、4、5、6、7、8和9min,在微波功率160W、物料粒度60目、料液比1:15g/mL条件下提取一次,考察微波处理时间对多糖得率的影响。

1.2.2.2 微波功率 分别为160、320、480、640和800W,在微波处理时间7min、物料粒度60目、料液比1:15g/mL条件下提取一次,考察微波功率对多糖得率的影响。

1.2.2.3 物料粒度 分别为20、40、60、80、100和120目,在微波处理时间7min、微波功率480W、料液比1:15g/mL条件下提取一次,考察物料粒度对多糖得率的影响。

1.2.2.4 料液比 分别为1:15、1:20、1:25、1:30、1:35,在微波处理时间7min、微波功率480W、物料粒度80目条件下提取一次,考察料液比对多糖得率的影响。

1.2.3 牡丹籽粕多糖提取正交实验 根据单因素实验确定的条件范围,进行微波处理时间、功率、籽粕粒度和固液比4因素3水平的正交实验,选用 $L_9(3^4)$ 正交实验,确定提取多糖的最佳工艺参数,水平因素见表1。结果由极差分析和SPSS 20.0软件进行方差分析,确定各因素对多糖提取得率的影响大小和多糖最优提取工艺。

1.3 体外抗氧化活性

1.3.1 DPPH自由基体系 按彭长连等^[19]和Larrauri等^[20]的方法加以改进。将1mL不同浓度的多糖水

表1 微波法提取牡丹籽粕多糖正交实验因素水平表

Table 1 The orthogonal test factors and levels of tree peony seed meal by Microwave extract

水平	因素			
	A 时间 (min)	B 功率 (W)	C 粒度 (目)	D 料液比 (g/mL)
1	6	320	60	1:20
2	7	480	80	1:25
3	8	640	100	1:30

溶液加入 2 mL 100 μmol/L DPPH 乙醇溶液中,以等体积的双蒸水代替多糖溶液作为对照,用乙醇溶液为空白对照调零。室温放置 30 min 后,用分光光度计测定 517 nm 处的吸光值,实验重复 3 次。清除 DPPH 自由基活性用抑制率(%)表示。

抑制率(%) = (对照管 A₅₁₇ - 样品管 A₅₁₇) / 对照管 A₅₁₇ × 100。

以脂溶性 BHT (200 μg/mL) 与水溶性 V_C (80 μg/mL) 的乙醇溶液做阳性对照,绘制清除 DPPH 自由基的时间效应曲线,对比 60 μg/mL 牡丹籽粕多糖(PS)溶液的作用时间效应曲线,以此推断牡丹籽粕多糖的抗氧化剂的作用特性。

1.3.2 卵黄脂蛋白 PUFA 过氧化体系中抗氧化活性的测定 按张尔贤等^[21]和史国安等^[22]方法,建立以 Fe²⁺ 诱发卵黄磷脂 C-2 上的极低密度脂蛋白和低密度脂蛋白 PUFA 的过氧化模型。

取新鲜的鸡蛋黄加等体积的无菌蒸馏水,制备蛋黄悬浮液。配制 100 μg/mL PS 水溶液和 30% 乙醇溶液,及 80 μg/mL V_C 和 200 μg/mL BHT 的乙醇溶液做阳性对照。反应体系:0.2 mL 蛋黄悬浮液,0.2 mL 25 mmol/L FeSO₄, 1.5 mL 磷酸盐缓冲液 (pH7.0), 0.1 mL 样品溶液,将试管置于 37 °C 水浴中温浴 60 min, 然后加入 2.0 mL 质量分数为 0.5% TBA-20% TCA 溶液,沸水浴 15 min, 迅速冷却,于 3500 r/min 离心 5 min, 以空白管调零(以等量的蒸馏水代替),测定 532 nm 处的吸光值。对照管以等量的提取介质代替,其他同样品管。样品抗氧化活性(AOA)用卵黄脂蛋白脂质过氧化的抑制率(%)表示。

AOA(%) = (对照管 A₅₃₂ - 样品管 A₅₃₂) / 对照管 A₅₃₂ × 100。

1.4 数据统计分析

实验数据用 SPSS 20.0 进行统计分析。采用邓肯氏新复极差法检验,以 p < 0.05 为差异显著性。

2 结果与分析

2.1 牡丹籽粕多糖的单因素提取实验

2.1.1 微波处理时间对牡丹籽粕多糖得率的影响 由图 1 可知,相同条件下,牡丹籽粕多糖得率随微波处理时间延长而升高,当微波处理时间超过 7 min 时,牡丹籽粕多糖得率反而略有下降。可能由于在极性溶剂水中,植物细胞结构受到微波辐射的破坏,使细胞内渗透压升高更容易破壁,而微波处理时间长导致较多杂质溶出和多糖水解释的缘故。由于

微波处理时间 7 min 时优势显著,因此选择微波处理时间 7 min 为最佳处理时间。

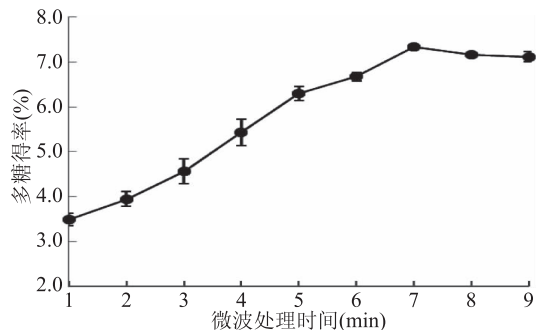


图1 微波处理时间对多糖得率的影响

Fig.1 Effect of microwave time on polysaccharide yield

2.1.2 微波功率对牡丹籽粕多糖得率的影响 由图 2 可知,牡丹籽粕多糖随微波功率的提高呈现升高趋势,当微波功率 480 W 时,多糖得率最高,之后反而下降。可能由于功率过大加速了提取液的流动和物料的温度,在提高多糖浸出的同时加速了多糖的水解。故选择微波功率 320~640 W 范围内进一步优化实验。

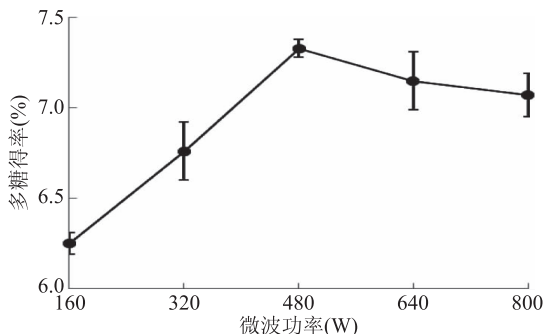


图2 微波功率对多糖得率的影响

Fig.2 Effect of microwave power on polysaccharide yield

2.1.3 物料粒度对牡丹籽粕多糖得率的影响 由图 3 可知,随着物料粒度的增大粒径减小,牡丹多糖得率迅速升高。当粒度 20~80 目范围内,多糖得率增加明显,而物料粒度超过 80 目,则多糖得率反而下降。可能粒径过大则细胞壁破坏困难,多糖溶出扩散运动阻力也随之增加;粒度过小多糖容易溶出,但也亦导致提取液粘度增大的缘故。故选择物料粒度 60~100 目范围内进一步优化实验。

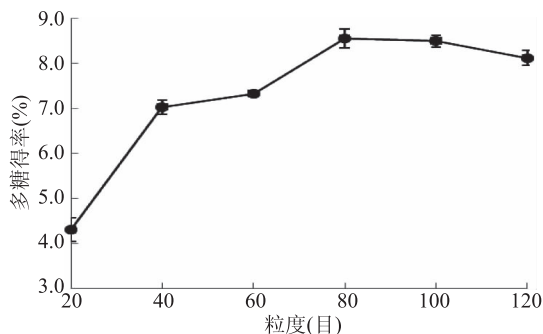


图3 物料粒度对多糖得率的影响

Fig.3 Effect of material size on polysaccharide yield

2.1.4 料液比对牡丹籽粕多糖得率的影响 由图4可知,当料液比由1:15 g/mL增加到1:30 g/mL时,牡丹籽粕多糖得率不断升高,当料液比大于1:30 g/mL时,多糖得率趋于稳定不再升高。在一定范围内,提取液用量越大,多糖得率越高;但当提取液用量过多时,多糖的浸出趋于完全,可能由于此时细胞壁破坏彻底,多糖溶出较完全的原因。故此选择料液比为(1:20~1:30) g/mL进一步优化实验。

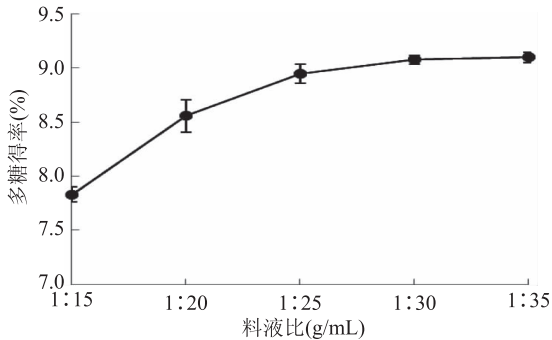


图4 料液比对多糖得率的影响

Fig.4 Effect of material to liquid ratio on polysaccharide yield

2.2 牡丹籽粕多糖的提取工艺优化

根据表3正交实验结果和极差分析可知,微波法辅助提取工艺中,各因素对牡丹籽粕多糖提取得率的影响力大小依次为:料液比 > 微波功率 > 籽粕粒度 > 微波处理时间。最佳提取工艺条件为A₃B₂C₃D₂:微波提取时间8 min,微波功率480 W,粒度100目,料液比1:25。

由表3可见,微波处理功率、固液比、籽粕粒度对提取结果的影响差异极显著,微波处理时间对提取结果影响差异显著。

表2 正交实验设计及结果

Table 2 Design and results of orthogonal test

实验号	A	B	C	D	提取得率(%)
1	1	1	1	1	7.19 ± 0.65
2	1	2	2	2	8.49 ± 0.57
3	1	3	3	3	8.15 ± 0.57
4	2	1	2	3	7.77 ± 0.58
5	2	2	3	1	8.20 ± 0.59
6	2	3	1	2	8.36 ± 0.62
7	3	1	3	2	8.40 ± 0.65
8	3	2	1	3	8.35 ± 0.69
9	3	3	2	1	7.60 ± 0.60
K ₁	23.82	23.35	23.89	22.98	
K ₂	24.33	25.02	23.86	25.25	
K ₃	24.34	24.11	24.74	24.26	
R	0.52	1.67	0.88	2.27	
因素影响顺序					D > B > C > A
最优组合	A ₃	B ₂	C ₃	D ₂	

由于正交实验所得的最佳工艺条件A₃B₂C₃D₂不在正交实验表中,故做验证实验,与正交表中多糖得率最高的工艺条件A₁B₂C₂D₂进行对比实验。按照最佳提取工艺验证实验,牡丹籽粕多糖最高提取得率

为9.21%,实验结果表明最佳工艺条件仍为A₃B₂C₃D₂。

表3 微波法提取结果的方差分析

Table 3 Analysis of variance of microwave extraction results

方差来源	离差平方和	自由度	均方差	F值	显著性
A	0.119	2	0.060	7.071	0.017*
B	0.931	2	0.466	55.152	0.000**
C	0.331	2	0.166	19.622	0.001**
D	1.718	2	0.859	101.731	0.000**

注:* $p < 0.05$,差异显著;** $p < 0.01$,差异极显著。

2.3 体外抗氧化活性

2.3.1 清除DPPH自由基活性 从图5时间效应曲线可以看出,清除DPPH反应体系中,水溶性抗氧化剂V_c(80 μg/mL)能够在短时间内达到反应平衡,而脂溶性抗氧化剂BHT(200 μg/mL)达到反应平衡的时间超过50 min。牡丹籽粕多糖(60 μg/mL PS)清除DPPH自由基的时间效应曲线与V_c类似,由此推测PS抗氧化作用的类型类似于水溶性抗氧化剂V_c。

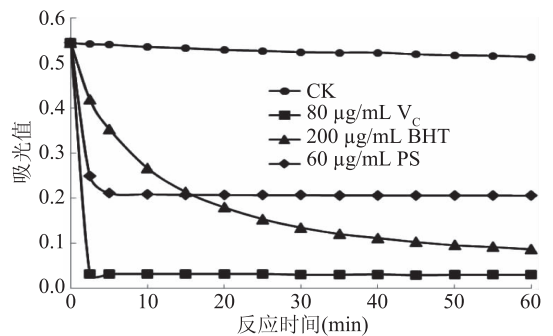


图5 不同效应物清除DPPH自由基的浓度和时间效应曲线

Fig.5 Time curves of scavenging effects of different effectors on DPPH

由图6可知,牡丹籽粕多糖(PS)清除DPPH自由基的能力呈现出明显的量效关系。随着反应体系中牡丹籽粕多糖溶液质量分数的提高,清除DPPH自由基的能力逐渐增强,当质量分数为100 μg/mL时,清除率达80%以上。PS的IC₅₀为43.22 μg/mL,大于V_c的IC₅₀(4.52 μg/mL)和BHT的IC₅₀(21.20 μg/mL)。说明PS对DPPH自由基的亦有较强的清除能力,揭示PS具有较强的抗氧化活性。

2.3.2 卵黄脂蛋白PUFA过氧化体系中抗氧化活性 图7示出,100 μg/mL PS水溶液的抗氧化活性略高于体积分数30%乙醇多糖溶液,两种溶液(100 μg/mL)的AOA值为20%~30%,但低于阳性对照V_c(80 μg/mL)和BHT(200 μg/mL)。提示PS具有一定的抑制脂质过氧化产物形成的能力,生物抗氧化效应明显。

3 结论

本研究以‘凤丹’牡丹籽粕为原料,采用微波辅助法提取牡丹籽粕中多糖,在单因素实验的基础上,通过正交实验设计,优化了最佳的提取工艺条件。正交实验表明,各因素对多糖得率的影响大小依次

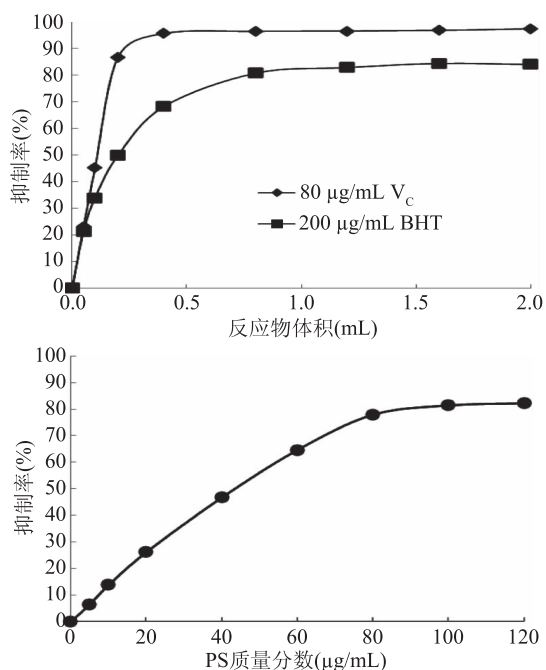


图6 牡丹籽粕多糖对 DPPH 自由基的清除效应
Fig.6 Scavenging effects of crude polysaccharide on DPPH

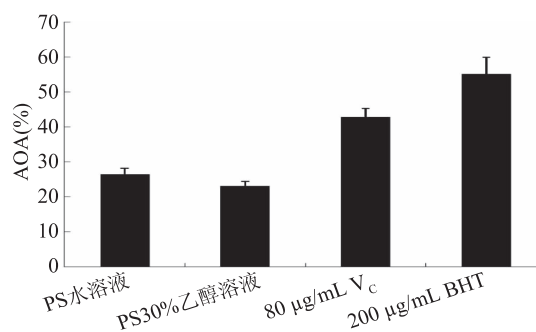


图7 牡丹籽粕多糖(PS)抗脂质过氧化活性
Fig.7 Antilipoperoxidation activity of polysaccharides from tree peony seed meal

为固液比 > 微波功率 > 籽粕粒度 > 微波处理时间, 最佳微波提取工艺条件为: 提取时间 8 min, 微波功率 480 W, 粒度 120 目, 固液比 1: 25 g/mL。在最佳工艺条件下, 一次牡丹籽粕多糖提取率达到 9.21%。微波辅助法是提取牡丹籽粕中水溶性多糖的一种简单高效的好方法。

牡丹籽粕含有丰富的生物多糖。体外抗氧化实验发现, 牡丹籽粕多糖(PS)对 DPPH 的清除能力呈现良好的量效关系, 抑制卵黄脂蛋白 PUFA 过氧化能力明显, 具有较强的抗氧化能力。表明牡丹籽粕多糖有可成为一种新的天然抗氧化剂。本研究结果为进一步探讨牡丹籽粕多糖做为食品添加剂、天然抗氧化剂等中的综合利用提供了科学依据。

参考文献

[1] 史国安, 焦封喜, 焦元鹏, 等. 中国油用牡丹的发展前景及对策[J]. 中国粮油学报, 2014, 29(9): 124-128.
[2] 王瑞元. 发展木本油料产业是提高我国食用油自给率的

重要举措[J]. 粮食与食品工业, 2016, 23(4): 1-4.
[3] 史国安, 郭香凤, 金宝磊, 等. 牡丹籽油超临界 CO₂ 萃取工艺优化及抗氧化活性的研究[J]. 中国粮油学报, 2013, 28(4): 93-98.
[4] 常改, 杨溢, 霍飞, 等. 植物多糖的研究进展及保健功能[J]. 中国公共卫生, 2003, 19(11): 1394-1395.
[5] 吴雪辉, 黄永芳, 向汝莎, 等. 微波提取油茶饼粕中多糖的工艺研究[J]. 食品工业科技, 2008, 29(9): 197-199.
[6] 陈红, 王大为, 李侠, 等. 不同方法提取大豆多糖的工艺优化研究[J]. 食品科学, 2010, 31(4): 6-10.
[7] Matthäus B. Antioxidant activity of extracts obtained from residues of different oilseed[J]. Journal of Agricultural and Food chemistry, 2002, 50(12): 3444-3452.
[8] 谢明勇, 聂少平. 天然产物活性多糖结构与功能研究进展[J]. 中国食品学报, 2013, 10(2): 1-11.
[9] 方积年, 丁侃. 天然药物——多糖的主要生物活性及分离纯化方法[J]. 中国天然药物, 2007, 5(5): 338-347.
[10] Ganzler K, Szinai I, Salgo A. Effective sample preparation method for extracting biologically active compounds from different matrices by a microwave technique[J]. Journal of Chromatography A, 1990, 520: 257-262.
[11] 王磊, 刘秀凤, 邱芳萍, 等. 微波辅助提取玉米须多糖及其组成的研究[J]. 食品与生物技术学报, 2009, 28(1): 72-75.
[12] 柯乐芹, 张东旭, 肖建中. 杏鲍菇深加工残渣多糖酶法微波辅助提取工艺优化[J]. 农业工程学报, 2014, 30(21): 332-338.
[13] 张利霞, 常青山, 侯小改, 等. 牡丹皮中多糖提取工艺的响应曲面法优化研究[J]. 山东农业科学, 2015, 47(6): 118-124.
[14] 王洪政, 李媛媛, 刘伟, 等. 响应面法优化牡丹果荚多糖提取工艺及其抗氧化活性评估[J]. 植物研究, 2015, 35(1): 127-132.
[15] 路祺, 高悦, 项凤影, 等. 牡丹种荚多糖提取工艺研究[J]. 植物研究, 2015, 35(1): 154-157.
[16] 湛志伟, 滕文佳, 刘选选, 等. 牡丹种仁多糖提取最佳工艺研究[J]. 中国酿造, 2012, 32(2): 57-59.
[17] 王顺利, 任秀霞, 薛璟祺, 等. 牡丹籽油成分、功效及加工工艺的研究进展[J]. 中国粮油学报, 2016, 31(3): 139-146.
[18] 毛善巧, 李西俊. 牡丹籽油的研究进展及油用牡丹综合利用价值分析[J]. 中国油脂, 2017, 42(5): 123-126.
[19] 彭长连, 陈少薇, 林植芳, 等. 用清除有机自由基 DPPH 法评价植物抗氧化能力[J]. 生物化学与生物物理进展, 2000, 27(7): 658-661.
[20] Larrauri J A, Sanchez-Moreno C, Saura-Calixto F. Effect of temperature on the free radical scavenging capacity of extracts from red and white grape pomace peels[J]. Journal of Agricultural Food Chemistry, 1998, 46(7): 2694-2697.
[21] 张尔贤, 俞丽君, 周意琳, 等. Fe²⁺ 诱发脂蛋白 PUFA 过氧化体系及对若干天然产物抗氧化作用的评价[J]. 生物化学与生物物理学报, 1996, 28(2): 218-222.
[22] 史国安, 郭香凤, 高双成, 等. 牡丹花发育过程中花瓣抗氧化活性的变化[J]. 园艺学报, 2009, 36(11): 1685-1690.