

西北大学

硕士学位论文

长柄扁桃仁中苦杏仁苷及蛋白粉提取工艺研究

姓名：刘萍

申请学位级别：硕士

专业：分析化学

指导教师：申烨华

20100618

长柄扁桃仁中苦杏仁苷及蛋白粉提取工艺研究

摘 要

我国是世界上沙漠及沙漠化面积较大的国家之一，治理和控制土地沙漠化以及沙尘暴的发生，已成为亟待解决的环境问题。长柄扁桃具有极强的沙漠生存能力和固沙作用，其种仁营养成分含量丰富，是一种具有较高经济价值的新型生物质能源树种。经检测，长柄扁桃仁中苦杏仁苷和粗蛋白含量丰富，分别为 3.73 %和 25.2 %。为综合开发利用长柄扁桃，本文首次研究了长柄扁桃仁中苦杏仁苷及蛋白粉的提取工艺，并对产品及最终残渣进行营养成分分析。

论文主要包括以下三个部分：

1. 苦杏仁苷提取工艺研究

对从长柄扁桃仁脱脂粕中提取苦杏仁苷的工艺进行了研究。通过单因素及正交试验确定最优工艺为：按料液比 1:9 (w/v)加入乙醇，75 °C回流提取 65 min，提取液减压浓缩至干，粗品按料液比 1:30 (w/v)加入 95 %乙醇结晶 24 h，即得苦杏仁苷产品。高效液相色谱法(HPLC)测定苦杏仁苷产品纯度为 96.20 %，总提取率为 43.07 %，并经熔点、紫外光谱、红外光谱、核磁共振光谱等手段对产品进行了表征。

2. 蛋白粉提取工艺研究及营养价值评价

对从长柄扁桃仁脱脂粕提取苦杏仁苷后的残渣进行了蛋白粉制备研究，并对产品的一般成分、氨基酸、维生素、矿质元素含量等进行了测定。通过单因素及正交试验确定小试实验最优工艺为：按料液比 1:25 (w/v)加入蒸馏水，调节溶液 pH 为 10.5，60 °C下搅拌提取 45 min，再调节提取液 pH 至 4.5 沉淀蛋白，经干燥后即得长柄扁桃蛋白粉。结果表明，蛋白粉总提取率为 41.5 %，蛋白含量达 95 %以上，脂肪含量仅为 0.18 %，氨基酸、维生素和矿质元素含量丰富，属低脂、高蛋白产品。放大实验是在小试实验基础上，进行 90 倍放大提取，蛋白总提取率为 40.6 %，放大工艺与小试工艺的结果基本一致，得到满意的放大效果。蛋白粉的食用安全性有待进一步研究。

3. 最终残渣成分分析

对提取苦杏仁苷、蛋白粉后的最终残渣进行一般成分、氨基酸、矿质元素分析。结果表明，长柄扁桃最终残渣水分 7.62 %，灰分 8.38 %，粗脂肪 16.50 %，粗蛋白 33.70 %；含有植物中存在的 18 种氨基酸，氨基酸总量为 33.65 g/100g，其中 8 种必需氨基酸总量为 10.46 g/100g；矿质元素含量也很丰富。长柄扁桃最终残渣具有一定的饲用价值。

关键词：长柄扁桃，苦杏仁苷，蛋白粉，提取工艺

A study on extraction of Amygdalin and protein powder from *Amygdalus pedunculatus* pall

Abstract

China is one of the largest desertification countries in the world. Governance and control of land desertification and dust storms occurrence have become an urgent environmental problem. *Amygdalus pedunculatus* pall is a new type of biomass energy material, with strong desert viability and sand control, being rich in nutritional composition in kernel, and higher economic value. After testing, *Amygdalus pedunculatus* pall kernel has abundance of amygdalin and protein, which were determined to be 3.73 % and 25.2 %, respectively. In order to achieve comprehensive utilization of *Amygdalus pedunculatus* pall, extraction of amygdalin and protein powder, and analysis of nutritional composition of the products and the final residues were studied.

This thesis includes the following three components:

1. Extraction of amygdalin

The extraction process of amygdalin from *Amygdalus pedunculatus* pall kernel was carried out in experimental condition. The single factor test and orthogonal test results showed that the optimum conditions were liquid ratio 1:9 (w/v) by adding ethanol, extraction temperature 75 °C, extraction time 65 min; After extraction solution evaporated to dry, liquid ratio 1:30 (w/v) by adding 95 % ethanol to the crude products, then crystallized 24 h to obtain purified amygdalin products. The purity of amygdalin was 96.20 % measured by High Performance Liquid Chromatography (HPLC), the total yield was 43.07 %. Melting point, UV, IR, NMR spectra were also used to identify the product structure.

2. Extraction of protein powder and evaluation of nutritional value

The extraction process of protein powder from the residues was studied in experimental and amplification for the first time, and contents of the general composition of the products, amino acids, vitamins, mineral elements were determined. The results of single factor and orthogonal test showed that the optimum conditions at small scale were liquid ratio 1:25 (w/v)

by adding water, pH 10.5, extraction temperature 60 °C, extraction time 45 min, pH being adjusted to 4.5 to precipitate protein, then dried to obtain *Amygdalus pedunculatus* pall protein powder products. The amplified small scale to 90 times test results showed that the total yield was 40.6 %, protein content more than 95 %, fat content 0.18 %, rich in nutritional composition-amino acids, vitamins and mineral elements, and thus can be regarded as a new nutritional product with low fat and high protein; quality security needs further study.

3. Analysis of the final residues

The general composition, amino acids and mineral elements of the final residue were also analyzed after extraction. The experimental results showed that the final residues' moisture was 7.62 %, ash 8.38 %, crude fat 16.50 %, crude protein 33.70 %; containing 18 kinds of amino acids existed in plants, total amino acids 33.65 g/100g, 8 kinds of essential amino acids 10.46 g/100g; still having large quantity of mineral elements. The final residues can be used as an animal feed.

Key words: *Amygdalus pedunculatus* pall, amygdalin, protein powder, extraction

西北大学学位论文知识产权声明书

本人完全了解西北大学关于收集、保存、使用学位论文的规定。学校有权保留并向国家有关部门或机构送交论文的复印件和电子版。本人允许论文被查阅和借阅。本人授权西北大学可以将本学位论文的全部或部分内容编入有关数据库进行检索，可以采用影印、缩印或扫描等复制手段保存和汇编本学位论文。同时授权中国科学技术信息研究所等机构将本学位论文收录到《中国学位论文全文数据库》或其它相关数据库。

保密论文待解密后适用本声明。

学位论文作者签名：刘萍 指导教师签名：申辉军

2010年6月18日

2010年6月18日

西北大学学位论文独创性声明

本人声明：所呈交的学位论文是本人在导师指导下进行的研究工作及取得的研究成果。据我所知，除了文中特别加以标注和致谢的地方外，本论文不包含其他人已经发表或撰写过的研究成果，也不包含为获得西北大学或其它教育机构的学位或证书而使用过的材料。与我一同工作的同志对本研究所做的任何贡献均已在论文中作了明确的说明并表示谢意。

学位论文作者签名：刘萍

2010年6月18日

第一章 文献综述

1.1 长柄扁桃概述

长柄扁桃 (*Amygdalus pedunculatus* pall) 是扁桃属 (*Amygdalus*) 落叶灌木, 又名野樱桃、柄扁桃、毛樱桃^[1], 是我国特有的扁桃属野生种。扁桃, 蔷薇科 (*Rosaceae*) 植物, 普通扁桃商品名为“美国大杏仁”, 与榛子、核桃、开心果并称为世界四大干坚果。扁桃属植物种类较多, 全世界有近40个种, 除广泛分布的栽培种扁桃, 即普通扁桃 (*Amygdalus communis* L.) 外, 其余的均为野生种。分布于我国的扁桃属植物有6个种分别为普通扁桃 (*A. communis* L.)、蒙古扁桃 (*A. mongolica* (Maxim) Yu.)、西康扁桃 (*A. tangutica* Korsh)、矮扁桃 (*A. ledenbouriana* Schlecht)、榆叶梅 (*A. triloba* Lindl) 和长柄扁桃^[2]。

1.1.1 形态特征

长柄扁桃为落叶灌木, 高约1.5~2.0 m, 短枝较多, 小枝有毛, 紫褐色, 枝尖端常呈刺状。叶片倒卵形、椭圆形至长圆形, 有不整齐锯齿, 长3~5 cm, 宽0.8~1.3 cm, 直径约2.4 mm, 玫瑰色。果肉薄, 成熟时开裂, 自动脱落, 核果近球形, 稍扁, 果壳坚硬, 果仁褐色, 味苦, 直径4~6 mm, 仁重0.24 g, 出仁率为34.28 %^[3]。长柄扁桃树身矮小, 根系发达, 其主根入地可达10多米, 具有适应性强、耐旱耐寒、抗病虫等优点, 是荒山造林和治沙造林的先锋树种。

1.1.2 自然分布

目前, 干旱是影响许多国家农林业发展的主要因素, 我国土地干旱、半干旱程度非常严重^[4,5,6,7]。著名的毛乌素沙漠, 是由于植被遭受破坏后就地起沙而形成的。

长柄扁桃是一种国内罕见的濒危原始野生树种, 因沙漠淹没和人为破坏, 长柄扁桃分布零散趋于绝迹, 属二级濒危植物^[8,9]。主要分布在我国西北干旱、半干旱地区, 以阶梯地貌为主, 地表风蚀、风积作用较强。分布区海拔高度为1200~1300 m, 此区植被稀疏, 干旱多风; 最高气温37.6 °C, 最低气温-32.7 °C, 年平均温度7.0~7.9 °C年, 日照数达3216.1 h, 总辐射为8120 MJ/m²; 年降雨量

为422.3 mm,多集中在8、9月份,年蒸发量为年降水量的4~8倍;≥10℃有效积温1783℃,绝对无霜期125 d,年≥8级大风的日数为80 d左右,年均风速2.2~2.7 m/s,最大风速28 m/s,多以西北风形式出现在冬、春季节^[10]。

1.1.3 综合利用

在干旱沙漠地区栽培长柄扁桃,具有极大的开发潜力和保护价值。

1.1.3.1 生态价值和经济价值

长柄扁桃根系发达,萌芽力强,抗风蚀耐瘠薄、耐埋沙,具有防风固沙的优良性能。因此可作为荒山、沙漠地区的造林树种,也可作为公路边坡的生态防护带^[11,12,13,14]。长柄扁桃果仁含油量45%~52%^[15,16],既可食用,也可做工业用^[17];种仁含有15%~30%的粗蛋白,是一种易被人体吸收的高质量蛋白;氨基酸种类齐全、含量丰富,18种氨基酸总量为21.187%,8种人体必需氨基酸总含量为6.301%,其他一些具有一定药理作用的活性氨基酸如谷氨酸、精氨酸、天冬氨酸、甘氨酸、组氨酸等也很丰富;同时种仁还含有人体所需的9种微量元素,含量大小依次为K>Mg>Ca>P>Na>Fe>Zn>Mn>Cu,其中Ca含量为3396.8 mg/Kg,Fe的含量为62.74 mg/Kg,Zn含量为44.19 mg/Kg^[18],不含Pb、Cd、Hg和As等有害元素。

1.1.3.2 药用价值

长柄扁桃种子含有氢氰甙,其与杏仁甙(Amygdalin)薄层层析的 R_f 值一致;果实中含致泄成分郁李仁甙(Amygdaluse),可广泛用于医药、保健方面,对气管炎、高血压、神经衰弱、肺炎、糖尿病、便秘等有一定疗效,也可用来辅助治疗癌症;长柄扁桃种子含有苦扁桃球蛋白氢氯化物,可制成中成药治疗流行病毒性感冒;种仁还可制成镇静剂和止痛剂^[19]。长柄扁桃叶提取物具有杀灭指环虫的作用,杀虫率可达100.0%^[20]。

1.1.3.3 观赏价值

长柄扁桃枝条细长、下垂,花色美丽,可作为观赏灌木,在园林绿化上能充分显示其美丽效果。

1.1.3.4 珍贵的野生果树种质资源

长柄扁桃作为濒危植物物种,是我国特有的十分重要的野生果树种质资源,具有很高的经济开发价值和种质资源保存意义。同时,长柄扁桃也可作为扁桃育

种的原始材料及嫁接繁殖普通桃的砧木。

1.2 天然产物化学成分提取及分离方法

天然产物所含化学成分复杂,通常有甙类、糖类、生物碱、氨基酸、蛋白质、维生素、油脂、酶、蜡、有机酸、色素、鞣质、无机盐、挥发油等^[21,22]。因此,在研究天然产物的工作中,首先必须了解天然产物活性物质提取、分离方面的技术知识。

1.2.1 提取方法

天然产物的提取方法有浸渍法、渗漉法、煎煮法、回流提取法、水蒸气蒸馏法等经典方法。近年来随着科学技术的进步,在提取方面引入了一些新技术、新方法,如超声提取法、超临界流体萃取法、微波辅助提取技术、半仿生提取法、酶法提取等。

1.2.1.1 经典提取技术^[23,24,25,26]

经典提取技术即溶剂提取法,是根据天然产物中被提取成分的极性、共存杂质的理化性质,遵循相似相溶的原则,选用对活性成分溶解度大,对不需要溶出成分溶解度小的溶剂,将有效成分从原料组织内溶解出来的方法。

(1) 溶剂的选择

选择适宜的溶剂是提取活性成分关键。适宜的溶剂应符合以下要求:对目标成分溶解性大,对共存杂质溶解性小;不与目标成分起化学反应;廉价、易得、浓缩方便,并且安全无毒。对于已知化学结构的化合物,可根据分子结构判断其极性,选择合适的提取溶剂。物质的极性与其分子结构有关,分子中含羟基或羧基基团越多,极性就越大,亲水性就越强;反之极性就越小,亲脂性越强。

常用溶剂对天然有机化合物的溶解规律如下:

① 水 可溶解苷类、生物碱盐、氨基酸、有机酸盐、蛋白质、无机盐鞣质、糖类等。酸性水溶液可溶解生物碱,碱性水溶液可溶解酸性成分,如有机酸、多羟基黄酮、蒽醌、香豆素、酚类及内酯等。

② 乙醇 可溶解生物碱及其盐、苷类及苷元、萜类、木脂素、挥发油、树脂、色素、有机酸等。

③ 乙酸乙酯 可溶解苷元、游离生物碱、挥发油、脂肪油、萜类、色素等。

④ 氯仿 可溶解甾类、生物碱、内酯、萜类、油脂类、挥发油、色素、香豆素、蒽醌等。

⑤ 石油醚 可溶解油脂、挥发油、蜡、萜类、亲脂性色素、甾类等亲脂性强的成分。

(2) 提取方法

浸渍法是将原料用适当的溶剂在常温或温热条件下浸泡出有效成分，反复数次，合并浸渍液，减压浓缩即可。此法适用于黏性原料、无组织结构的原料、价格低廉的芳香性原料、新鲜及易于膨胀的原料的浸取，尤其适用于有效成分遇热易挥发或易被破坏的原料。但操作时间长，浸出溶剂用量大，往往浸出效果差，不易完全浸出。以水为提取溶剂时，应注意防止提取液发霉变质。

渗漉法是浸渍法的发展，将原料粗粉湿润膨胀后装入渗漉器内，首先用溶剂浸渍数小时，然后渗漉液由下口流出，渗漉桶上口不断添加新溶剂，进行渗漉提取。该方法浸提效果较浸渍法高，提取比较安全，浸出液较澄清，但溶剂用量大，对原料的粒度及工艺要求较高，并且可能造成堵塞而影响正常操作。

煎煮法是用水做溶剂，将被提取物加热煮沸一定时间，以提取其所含成分的一种常用方法。适用于有效成分能溶于水，对湿、热均稳定且不易挥发的原料，是传统制备汤剂皆用的方法。但对挥发性成分及加热易被破坏的成分不宜使用。

回流提取法是用乙醇等易挥发的有机溶剂作为提取溶剂，加热回流进行提取的方法。一般采用低沸点有机溶剂，如乙醇、氯仿、石油醚等，容器置于水浴上加热或以蒸汽通入夹层锅加热，一般提取三次，合并三次提取液，减压回收溶剂。溶剂法能循环使用，溶剂用量少，但提取液在蒸发锅中受热时间较长，故不适用于受热易破坏的原料成分的浸出，若在装备上安装连续薄膜蒸发装置，则可克服此缺点。

连续回流提取法应用挥发性有机溶剂提取天然产物有效成分，具有溶剂消耗量小，操作简单，提取效率高的特点。连续提取法提取液受热时间长，因此不适用于受热易分解的成分。在实验室连续回流提取常采用索氏提取器或连续回流装置。

1.2.1.2 现代提取技术

经典的天然产物提取方法普遍具有有机溶剂用量大、处理时间长、操作步骤多等缺点。近年来发展较快的提取技术可以解决传统提取法中溶剂带来的不良影响，无溶剂或少溶剂样品萃取方法发展较快。

(1) 超声波提取技术 (Ultrasound Extraction, UE)

利用超声波特殊的强纵向振动，高速冲击破碎，空化效应，搅拌及加热等物理性能，破坏提取物细胞结构，使溶媒能渗入细胞内部，从而加速有效成份的溶解，提高有效成分的提取率。该方法提取时间短，产率高，条件温和^[27,28]。

(2) 超临界流体萃取技术 (Supercritical Fluid Extraction, SFE)

一种以临界流体代替常规有机溶剂，对植物天然成分进行萃取和分离的技术。主要影响因素是温度、压力、萃取物颗粒大小、流体流量、夹带剂和表面活性剂等，可用于提取皂苷类^[29]、挥发油及挥发性成分^[30]、生物碱类^[31]、黄酮类^[32]、蒽类^[33]、醌类^[34]、香豆素和木脂素类^[35]、苯丙素类^[36]等成分。该方法萃取效率高、过程易控制，产品纯度好，能耗低，萃取流体可循环使用，防止了提取过程对人体的毒害和对环境的污染，加入适宜的夹带剂可提取不同极性的物质，适合不稳定、易氧化的挥发性成分和脂溶性成分的提取分离^[37]。

(3) 半仿生提取技术 (Semi-Bionic Extraction Method, SBE)

该法源于仿生学原理，将整体药物研究法与分子药物研究法相结合，模拟口服药经胃肠道环境转运原理设计，尽可能地保留天然产物的有效成分。这种新提取法可以提取和保留更多的有效成分，能缩短周期，降低成本^[38,39]。

(4) 微波辅助提取技术 (Microwave Assisted Extraction, MAE)

应用原理是在微波场中，吸收微波能力的差异使得机体物质的某些区域或萃取体系中的某些组分被选择性加热，从而使得被萃取物质从基体和体系中分离，进入到介电常数较小，微波吸收能力相对差的萃取剂中。主要应用于有机污染物、天然化合物及生物活性成分的提取^[40,41]，该技术具有选择性高、操作时间短、溶剂消耗量少、回收率高、不产生噪音、适用于热稳定物质等特点。

(5) 酶法提取技术 (Enzyme Method, EM)

采用一些恰当的酶类，如纤维素酶、半纤维素酶、果胶酶等作药用植物细胞，使细胞壁及细胞间质中的纤维素、半纤、果胶等物质降解，破坏细胞壁的致密结构，引起细胞壁胞间质等传质屏障对有效成分从胞内向提取介质扩散质阻力，从

传质角度促使有效成分提取率提高。酶法提取需要选择合适的酶，在食品工业^[42]、饲料工业、精细化工、天然产物^[43,44]提取中应用越来越广。

1.2.2 分离纯化方法

天然产物提取液经浓缩后，得到的仍然是混合物，存在大分子和小分子，需选用适当的方法进行分离、纯化、精致，除去杂质。具体的方法随各产物的性质而不同，常有以下几种方法：

1.2.2.1 萃取法

萃取法根据萃取两相状态的不同可分为液-固萃取、液-液萃取和气-液萃取。液-液萃取是天然有机化合物分离中常用的分离方法，利用混合物中各组分在两种互不相溶的溶剂中分配系数的不同而达到分离目的的方法。主要因素包括萃取剂、被萃取物质在萃取剂与原样品溶液两相之间的平衡关系、在萃取过程中两相之间的接触情况。在被萃取物质一定的条件下，主要决定于萃取剂的选择和萃取次数。

(1) 逆流连续萃取法 (Continuous Countercurrent Extraction, CCE)

逆流连续萃取是一种连续的两相溶液萃取法，装置具有一根或数根萃取管。连续萃取时要注意提取液和萃取剂的比重大小。该法可提高萃取效率，对于乳化严重的液-液萃取，常用逆流连续萃取法。

(2) 逆流分配法 (Counter Current Distribution, CCD)

该法与两相溶剂逆流萃取法原理一致，在加样量一定时，不断在一定量的两相溶剂中，经多次移位萃取分配达到混合物分离。逆流分配法对于分离性质非常相似的混合物，可取得良好的效果，但存在操作时间长、萃取易因机械震荡而损坏、消耗溶剂多等缺点，因此应用较少。

(3) 双水相萃取 (Aqueous Two-phase extration, ATPE)

当两种聚合物或一种聚合物与一种盐溶于同一溶剂时，由于聚合物之间或聚合物与盐之间的不相溶性，当聚合物或盐浓度达到一定值时，就会分成不相溶的两相，因使用的溶剂是水，因此称为双水相。因溶剂中水占很大比例，操作条件温和，常温常压下进行，因此在生物工程^[45,46]、发酵工程^[47,48]、药物^[49,50]、金属分离及络合物^[51,52]等提取方面有广阔的应用前景。

1.2.2.2 沉淀法

在样品溶液中加入某些溶剂或沉淀剂,通过化学反应或者改变溶液的 pH 值、温度等,使分离物质以固相物质形式沉淀析出的一种方法。能否将物质从溶液中析出,取决于分离物质的溶解度或容度积,需选择适当的沉淀剂和沉淀条件。

(1) 溶剂沉淀法

在样品溶液中加入某种试剂,使一种物质的溶解度显著降低而沉淀析出。对于水溶性的多糖、鞣质、酶、蛋白质等,向其水溶液中加入丙酮、乙醇等有机溶剂就可以使它们析出。溶剂沉淀法的影响因素包括:溶剂的种类,溶剂必须是和水相混溶的有机溶剂,如甲醇、丙酮、乙醇、乙醚、丙醇、丁醇、石油醚、四氢呋喃等,其中乙醇最常用,同时要考虑沉淀剂的毒性、价格等因素;样品的浓度,影响沉淀的分离效果;温度,物质的溶解度随温度降低而降低,低温往往有利于沉淀析出;pH,如蛋白质的沉淀往往需要控制 pH 值。

(2) 沉淀剂沉淀法

添加某种化合物与溶液中待分离物质生成难溶性的复合物,从而从溶液中沉淀析出的方法。

(3) 盐析法

在中草药的水提取液中加入无机盐至一定浓度,或达到饱和状态,可使某些成分在水中溶解度降低而沉淀析出,达到与水溶性杂质分离的目的。常用做盐析的无机盐有氯化钠、硫酸钠、硫酸镁、硫酸铵等。

1.2.2.3 结晶和重结晶

结晶是提纯固体化合物的一种重要方法,它适用于产品与杂质性质差别较大,产品中杂质含量小于 5% 的体系。如果第一次结晶所得晶体纯度不够,可进行重结晶。常用于天然有机化合物的提纯和精制,例如用重结晶法可从植物油的脱臭物中得到植物甾醇。

1.2.2.4 膜分离 (Membrane Separation, MST)

膜分离技术的应用原理近似机械筛,是以外界能量或化学位差为推动力,利用天然或人工合成的薄膜,实现双组分或多组分体系的分离、分级、提纯或富集的技术^[53]。目前在天然产物分离中应用较多的膜分离法主要包括超滤、渗透、反渗透、微滤、电渗析、纳滤、渗透蒸发等方法,在实际生产中常常是几种膜技术联合起来,共同完成对天然有机化合物的分离。这是一项操作较为简单的提取

分离方法，常温下操作、环境友好、节能、高效、便于放大等优点^[54]。广泛应用于能源、环境、食品等领域中，在天然产物中主要用于甙类^[55,56]、生物碱^[57]、多糖^[58]、黄酮类^[59,60]、有机酸^[61,62]、植物色素^[63]等的提取纯化。

1.2.2.5 大孔吸附树脂分离法

大孔吸附树脂是六十年代末发展起来的一种不含交换基团、具有大孔径结构的有机高分子聚合物吸附剂。该树脂具有理化性质稳定，不溶于酸、碱和有机溶剂，对有机活性成分有较好选择吸附性，不受无机盐、强离子小分子化合物存在的影响，吸附速度快等优点^[64]。根据分离化合物的大致结构特征来确定分离条件，首先要知道所要分离化合物分子体积的大小；其次要知道分子中是否存在酚羟基、羧基或碱性氮原子等。适用于分离纯化甙类^[65,66]、黄酮类^[67]、皂甙类、生物碱^[68]等成分及大规模生产。

1.3 苦杏仁苷

苦杏仁苷 (Amygdalin)，又称维生素 B₁₇，属于芳香族氰甙，存在于蔷薇科植物杏、山杏、桃、山桃及李的种子中。结构式为：苯羟基乙氰-β-D-葡萄糖-6-β-D-葡萄糖甙。苦杏仁苷的三水合物为斜方柱状结晶，熔点 200 °C，无水物熔点约 220 °C，1 g 溶于 12 ml 水、900 ml 乙醇及 11 ml 沸乙醇，易溶于沸水，几乎不溶于乙醚。苦杏仁苷是传统中药苦杏仁中的有效成分，医药上常用于祛痰止咳剂、辅助性抗癌药物。

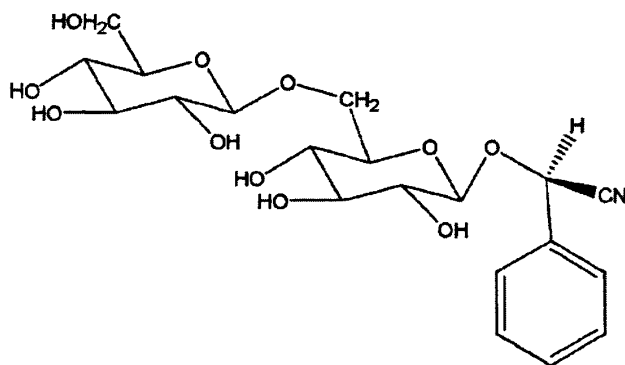


图 1-1 苦杏仁苷结构式

Fig.1-1 The structure of amygdalin

苦杏仁苷在苦杏仁酶及樱叶酶等葡萄糖甙酶作用下水解生成杏仁氰和野樱

皮甙, 前者不稳定, 遇热易分解生成苯甲醛和氢氰酸^[69]。HCN 有剧毒, 大量口服苦杏仁、苦杏仁苷均易产生严重中毒, 主要是因为氢氰酸与细胞线粒体内的细胞色素氧化酶三价铁起反应, 抑制酶的活性而引起组织细胞呼吸抑制, 导致死亡。所以, 开发含有苦杏仁苷植物产品时, 需考虑苦杏仁苷的影响。

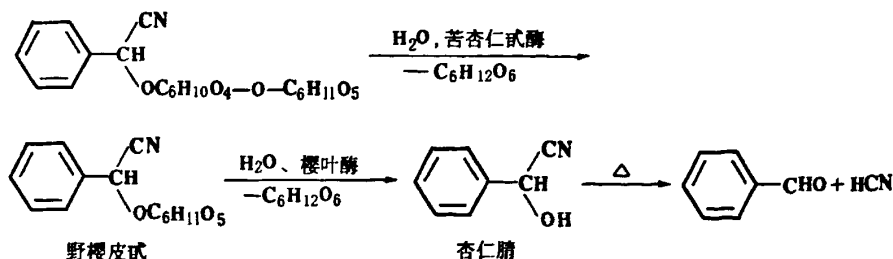


图 1-2 苦杏仁苷的降解机理

Fig.1-2 The degradation mechanism of amygdalin

1.3.1 应用

(1) 对果树生长发育的影响

可促进种子萌芽^[70], 影响果树嫁接^[71]及连作^[72], 与果树抗性有关^[73], 可作为新的氮素来源。

(2) 对动物和人体的生物活性

药理作用 苦杏仁苷在消化道被苦杏仁酶或肠道微生物酶分解, 产生微量氢氰酸, 对呼吸中枢呈抑制作用, 而达到镇咳平喘之功效。苦杏仁苷对油酸型呼吸窘迫症动物可促进肺表面活性物质的合成, 并使病变得得到改善。我国中医药将苦杏仁苷与麻黄等其他中草药配伍, 治疗慢性支气管炎、哮喘性支气管炎、小儿肺炎、小儿百日咳等均有疗效, 还可提高机体免疫功能、抗肝纤维化作用^[74,75,76]。国外自 19 世纪中叶起即有人将此用作抗癌药物, 但其抗癌价值争论颇多。李春华等^[77]经肌肉注射给小鼠苦杏仁苷后, 由尾静脉注入 ^{99m}Tc-植酸钠 (20 μ Cl/只), 观察苦杏仁苷对小鼠单核吞噬细胞系统的影响, 结果显示苦杏仁苷对肝脏枯否细胞、肺内巨噬细胞的吞噬功能均有明显促进作用。常立文等^[78]探讨苦杏仁苷对体外高氧暴露早产鼠肺泡 II 型细胞的保护作用机制, 结果表明, 高氧暴露导致早产鼠 AEC II 增殖抑制及 SP mRNA 表达降低, 200 μ mol/L 苦杏仁苷对体外高氧暴露的早产鼠 AEC II 有一定保护作用。郭君其等^[79]采用消化法原代培养人肾成

纤维细胞, 并以免疫细胞化学方法鉴定, MTT 比色法测定苦杏仁苷培养液对人肾成纤维细胞增殖的影响, 结果表明, 不同质量浓度苦杏仁苷对成纤维细胞的增殖活性均有抑制作用, 且呈一定剂量依赖性, 以 100 mg/L 苦杏仁苷抑制作用最强。方伟蓉等^[80]考察了苦杏仁苷对大鼠佐剂性炎症和小鼠碳粒廓清的影响, 发现苦杏仁苷能抑制佐剂性炎症, 增强巨噬细胞的吞噬功能, 具有调节免疫功能的作用。

毒理作用 大量口服苦杏仁、苦杏仁苷均会严重中毒, 因为氢氰酸与细胞线粒体内的细胞色素氧化酶三价铁起反应, 从而抑制酶的活性, 使组织细胞呼吸受阻, 导致死亡。近些年国外的研究多是集中在动物体内的特异性酶对有潜在毒性的植物葡萄糖甙的处理上。毒理研究缺乏大量的验证资料, 改变剂型后长期临床应用是否有毒性还不明确, 这在很大程度上限制了苦杏仁苷的开发应用^[81]。

1.3.2 提取方法

常用溶剂提取法, 多采用乙醇、水为溶剂水浴加热回流提取。李强^[82]等用水为溶剂提取苦杏仁苷, 采用石油醚提油, 过滤, 滤渣用水浸泡提取, 收取提取液, 浓缩, 测定浓缩液中苦杏仁苷含量, 考察提取因素的结果是提取时间>料液比>浸泡时间, 最佳提取参数为: 提取时间 20 min, 料液比 1:10, 浸泡时间 3 min, 提取 2 次。张红城等^[83]采用超声浸提法提取杏花花粉中的苦杏仁苷, 提取苦杏仁苷的最佳溶剂是乙醇, 最佳提取工艺是浓度为 100 % 的乙醇, 料液比 1:7, 超声提取 20 min, 震荡提取 12 h, 经测定杏花花粉中的苦杏仁苷含量为 6.1 %。吴丽珠等^[84]采用乙醇回流提取苦杏仁苷, 料液比 1:7, 提取 2 次, 每次 2.5~3 h, 提取过程通过加热压缩空气, 通气压以此案料轻轻翻动为准。溶媒与取料动态接触, 保障两者最佳浓度差, 因此提取收率提高至 2.9~3.1 %, 提取率为 79 %, 苦杏仁渣中苦杏仁苷留量小于 0.2 %。车凤斌^[85]从扁桃中提取苦杏仁苷, 利用沸乙醇回流萃取, 提纯过程中, 萃取、结晶和纯化是三个关键步骤, 直接影响产品的得率和质量。崔国庭等^[86]采用 60 % 的乙醇为提取剂, 在 80 ℃ 条件下以物料比 1:6 提取三次, 每次 45 min, 苦杏仁苷提取率可达 75 %。

1.3.3 检测方法

关于苦杏仁苷的测定方法有多种, 包括间接法、紫外分光光度法、高效液相

色谱法、二阶导数光谱法、薄层扫描等，这些方法各有特色。

(1) 间接法

原理是通过水解或酶解把苦杏仁苷分解为苯甲醛、氢氰酸和葡萄糖，然后再测定相应分解物的含量来进行间接分析。间接法包括中国药典法^[87]、化学发光法^[88]及电化学分析法^[89,90]等。欧阳津^[91]利用流动注射-原子吸收法测定苦杏仁苷含量，此法仪器普遍、选择性好，与流动注射技术相结合，操作简单、分析速度快等优点，通过测定苦杏仁苷的水解产物 CN^- 离子的含量，水解液流经装有 CuS 微柱的 FIA 流路时， CN^- 离子与 CuS 作用形成 $\text{Cu}(\text{CN})_4^{3-}$ 可溶性离子，并随载流进入原子化器，检测铜含量可间接求得苦杏仁苷的量。

(2) 紫外分光光度法

该测定方法快速、简便、稳定、准确、可靠。李强^[92]等采用紫外分光光度法，以甲醇为溶剂，在检测波长为 219 nm 处测定苦杏仁苷的含量，在 0.01~0.10 mg/ml 浓度范围内，线性良好，平均回收率在 99.751%~102.124%。

由于植物种仁中苦杏仁苷的紫外吸收光谱背景干扰较大，直接采用紫外吸收光谱或一阶导数光谱扫描测试不能得到理想结果，而二阶导数光谱扫描测试光谱图样品与对照品的峰型相似、峰值及谷值吸收波长相等，峰高与苦杏仁苷浓度大小有关。因此，采用二阶导数光谱法直接测定苦杏仁苷含量，可消除背景干扰。易骏^[93]等采用二阶导数光谱法直接测定了桃仁中苦杏仁苷的含量，二阶导数光谱扫描的测试条件：扫描阶数 $n=2$ ，波长间隔 $\Delta\lambda=2$ nm，扫描范围 250~275 nm。扫描速度 1200 nm/min，狭缝宽度 2 nm，波长标度放大 25 nm/cm。结果表明，福建产的桃仁苦杏仁苷含量为 2.37%，安徽产为 1.38%，新疆产为 2.06%，此方法简便、快速、准确、可靠。

(3) 高效液相色谱法 (HPLC)

高效液相色谱法分离效率高，分析速度快，现已成为有机物定性定量分析研究的主要方法。陈强^[94]等利用高效液相色谱法测定青梅核仁中苦杏仁苷的含量。甄攀等^[95]测定了中药郁李仁中苦杏仁苷的含量，用甲醇提取苦杏仁苷，HPLC 分离，紫外可变波长检测器检测，色谱条件：Agilent 1100 Series 高效液相色谱仪，YWG-C₁₈ (10 μm , 250 mm $\times$ 4.6 mm) 色谱柱，流动相为水-甲醇-乙腈 (70:25:5)，流速 0.6 ml/min，柱温 30 $^{\circ}\text{C}$ ，检测波长 225 nm。结果显示，郁李仁中苦杏仁苷

的含量为 $2.67 \pm 0.05\%$ 。该方法操作简单、稳定、快捷。吕伟峰等^[96]建立了用高效液相色谱法从山楂中提取苦杏仁苷的方法,样品先用石油醚脱脂,然后用甲醇进行索氏提取。色谱条件:反相 C_{18} 柱,流动相为 15 % 的甲醇水溶液,检测波长为 215 nm。结果表明山楂籽比例高的山楂样品中苦杏仁苷的含量高,且山楂粗粒样品中苦杏仁苷的提取量比粉末样品的提取量高。Ja-Yong Koo 等^[97]采用反相-高效液相色谱法测定了苦杏仁苷的含量,色谱条件:流动相 10 mM 磷酸盐缓冲液 (pH 3.1),含有 8.5 % 的乙腈,线性范围为 0.05~0.5 mM。

色谱法具有高分辨效率,而质谱具有灵敏度高、特征性强、定性能力强等优点。色谱-质谱联用技术为重要化学成分的鉴定提供了强有力的手段^[98]。

(4) 毛细管电泳 (Capillary Electrophoresis, CE)

CE 是近年来发展最快的分析分离方法,它是经典电泳技术和现代微柱分离相结合的产物,具有高分辨率、高灵敏度、高速度、样品用量少、成本低等优点。由于苦杏仁苷是水溶性物质,用毛细管电泳分离苦杏仁苷效果极佳。

(5) 薄层扫描

对于含有苦杏仁苷的中药复方制剂,用薄层扫描法来测定其含量也具有较准确、方便的优势。胡润淮^[99]利用薄层扫描法测定麻黄汤冲剂中的苦杏仁苷含量。

1.4 蛋白粉

1.4.1 蛋白质营养价值

蛋白粉是一种改善人体健康状况的营养素补充剂,现已成为一种新型的营养食品走入寻常百姓家中。蛋白粉能使普通人保持体能与活力、维持体型、改善体质、增进健康;能为运动锻炼者弥补因运动强度过大造成的组织损伤,增强机体的合成代谢,并使机体迅速得到恢复;能使运动员增强运动能力,如耐力、力量、速度、爆发力等;对体弱多病及卧床的人来说,高生物价、高利用率的优质蛋白粉,对提高身体免疫力,修复遭受疾病损伤的机体系统,都有着极大的功效。

中国是一个人多地少的发展中国家,在较短时间内无法大幅度提高动物性蛋白供应的情况,加强植物蛋白利用的研究,生产质优价廉的蛋白产品是一条现实而又重要的道路。从营养学的角度来看,动物性蛋白质含有过量饱和脂肪、胆固醇、浓缩的激素和抗生素等对人体有害的物质,过量食用易导致人体脂肪和胆固醇

醇升高,导致心血管疾病的发生。因此现代营养学家提倡每天应该摄取一定量的植物性蛋白质,这种健康的饮食方式已经开始流行。植物蛋白不仅可以满足人类对蛋白的需要,而且国内外大量研究证明,植物蛋白在预防心脑血管方面具有积极作用。Ellen Smit 利用美国成年人血脂含量和食物中不同蛋白质源的关系,得出结论认为心血管疾病和动物蛋白摄入量呈正比,与植物蛋白摄入量呈负相关,证实了植物蛋白对降低心脑血管疾病发生的积极作用^[100]。因此,世界各国都十分重视新的植物蛋白资源的开发利用。

近年来植物中蛋白粉的提取及营养成分分析方面研究较多,如蚕丝蛋白食品的研究开发^[101]、菠菜叶绿体蛋白质的提取与分离^[102]、玉米蛋白粉的营养价值评价^[103]、苦杏仁蛋白开发利用的前景^[104]、板栗花粉中蛋白的提取^[105]、花生蛋白粉提取^[106]、丝胶蛋白粉的制备^[107]、新疆巴丹姆种仁高级脂肪酸与氨基酸营养评价^[108]等。

1.4.2 蛋白质提取方法^[109]

1.4.2.1 碱溶酸沉法

蛋白质可溶于偏离其等电点的稀碱溶液中,在 pH 值接近其等电点时又可析出^[110],是最常用的蛋白质提取方法,该法具有操作方便,不使用有机溶剂,生产成本低等优点,但耗酸、耗碱量大,废水处理费用高,蛋白质易变性,产品收率低。杨伟强等^[111]采用碱提酸沉法从脱脂花生蛋白粉中提取花生分离蛋白,通过单因素试验和正交试验优化了提取工艺:浸提温度 60 ℃,料液比 1:9, pH 9.0,浸提时间 90 min,酸沉 pH 4.5。在此条件下,蛋白质提取率达 42.5 %,产品纯度为 95.65 %。李淑萍等^[112]以铺道蚁为实验材料,分别采用碱提蛋白法、盐提蛋白法、Tris-HCl 缓冲液提蛋白法等三种方法,结果表明,碱提蛋白法的蛋白质得率最高,其次为盐提蛋白法,而 Tris-HCl 缓冲液提蛋白法最低。朱勇等^[113]采用碱溶酸沉法对米酒糟蛋白质进行提取,最佳提取条件为:料液比 1:2, pH 10.0,温度 40 ℃,浸提时间 1.5 h。提取率为 62.41 %,蛋白纯度为 85.09 %。

1.4.2.2 离心法

添加三氯乙酸、丙酮和硫酸铵沉降蛋白,离心干燥后得到蛋白干粉。采用离心法提取蛋白粉,成本低,但回收率低,难以满足工业生产和环保的要求。

1.4.2.3 利用溶解度差异分离

蛋白质的溶解度受溶液的 pH、离子强度、溶剂的电解质性质及温度等多种因素的影响。在同一特定条件下,不同蛋白质有不同的溶解度,适当改变外界条件,可以有选择地控制某一蛋白质的溶解度,达到分离的目的。分为蛋白质的盐溶与盐析法、结晶法和低温有机溶剂沉淀法,工艺流程比较简单,成本较高。盐提法采用离子强度较低的中性溶液,有促进蛋白质溶解、保护蛋白质活性的作用。常用的盐溶液是 NaCl 溶液,主要影响因素有盐溶液浓度、料液比、温度和时间^[114]。徐建国等^[115]以桑椹为原料,对盐溶法提取桑椹籽蛋白质的参数进行了优化,结果表明,桑椹籽蛋白质的等电点 PI 为 4.3,最佳参数:浸提液 NaCl 浓度 0.3 mol/L,料液比 1:40,浸提温度 50 ℃,浸提时间 40 min,在此条件下,蛋白质的提取率为 28.80 %。

1.4.2.4 酶水解法

蛋白酶能使一部分蛋白质水解成肽和氨基酸,从而提高蛋白质的溶出率。酶法提取黄粉虫蛋白的过程受酶的种类以及水解过程条件的影响。蛋白酶对底物的作用方式以及蛋白酶种类的差异都会影响蛋白质的提取率,因此采用酶法提取,除了要选用适宜的酶之外,还要使酶显示出足够的活性。酶的活性与酶反应温度、pH、时间和底物浓度有关^[116,117]。程波等^[118]对比了 3 种蛋白酶水解鲟鱼鱼皮的效果,单酶水解选择胃蛋白酶为水解的最适酶种,双水解采用正交试验确定其最佳的复合酶类型为胃蛋白酶和木瓜蛋白酶,水解条件为温度 37 ℃和 50 ℃、酶用量 3000 U/g、分别在最适 pH 值 2.5 和 6.0 下共水解 6 h、料液比 1:3,蛋白回收率可达到 94.58 %,经过酸浸预处理后水解液基本无腥苦味,经真空冷冻干燥可制得纯度 98.75 %的蛋白粉。

1.4.2.4 缓冲溶液法

与碱溶酸沉法和酶法相比较,缓冲溶液法的优点是可以最大限度地保护蛋白质的活性。郑亚军等^[119]采用磷酸盐缓冲液法提取椰子分离蛋白质的影响次序为:料液比>温度>提取时间>pH,其中料液比对提取率的影响达到了显著水平;最佳工艺参数为:35 ℃、pH 9.5、料液比 1:20 和时间 120 min,在此条件下,椰子分离蛋白质的提取率为 76.60 %。

1.5 本研究的内容及意义

(1) 研究内容

本文主要对沙生植物长柄扁桃仁中苦杏仁苷及蛋白粉提取工艺进行研究。内容包括：

① 苦杏仁苷提取工艺研究：在实验室小试条件下，长柄扁桃仁经超声脱脂后，从脱脂粕中提取苦杏仁苷，通过单因素及正交实验，确定最佳提取工艺条件，并对粗甙分离纯化条件进行初选；最后对产品进行表征及结构鉴定。

② 蛋白粉提取工艺研究及营养成分分析：以脱脂、提苦杏仁苷后残渣为原料，从两方面研究了蛋白粉提取工艺条件。在实验室小试条件下，通过单因素和正交实验，确定最佳提取工艺条件；按照小试结果进行放大实验，并对产品进行营养成分分析。

③ 最终残渣分析：残渣可考虑作为动物饲料使用，因此对残渣进行一般成分、氨基酸及微量元素的测定，初步评价其营养价值。

(2) 研究意义

我国是世界上沙漠及沙漠化面积较大的国家之一，也是沙漠化灾害严重的国家之一。我国有 70 多万平方公里沙漠，57 万平方公里戈壁荒漠，还有高原荒漠 15 万平方公里，而沙漠每年还在以 3400 多万平方公里的速度不断扩大。沙漠化的推进和沙漠化土地的扩大，给我国不少地区的工农业生产和人民生活带来了严重影响。治理和控制土地沙漠化以及沙尘暴的发生，已成为亟待解决的环境问题。

长柄扁桃是一种新的具有固沙及经济价值的生物质能源物质，主要分布在我国西北干旱、半干旱地区山地和沙漠地带，具有适应范围广、抗旱、固沙、抗风蚀能力强等优良特性。其种仁中粗蛋白、氨基酸、矿质元素、粗脂肪等含量丰富。如果能够大力推广种植，将可达到生态效益和经济效益双赢的目的，因而研究长柄扁桃营养价值并开发利用，对于促进地方经济发展和生态保护具有重大意义。

本课题组首次对长柄扁桃种仁综合开发利用进行了研究，已开发五种主要产品：生物柴油、食用油、蛋白粉、苦杏仁苷、活性炭，还可提取精油及黑色素，最终残渣可用做动物饲料，为长柄扁桃产品开发提供了理论依据。本实验主要对从长柄扁桃脱脂粕中提取苦杏仁苷及蛋白粉的工艺进行研究。此项研究对沙区产业结构调整及可持续发展，建设特色沙区经济林基地和西部大开发有促进作用。

第二章 材料与方法

2.1 试剂

2.1.1 苦杏仁苷提取试剂

长柄扁桃（产自陕北榆林），苦杏仁苷对照品（中国药品生物制品检定所提供，批号：820-200002），95 %乙醇、石油醚、乙醚、氯仿、正己烷、乙醇等均为分析纯（天津市化学试剂厂），甲醇为色谱纯（西安试剂厂）。

2.1.2 蛋白粉提取试剂

考马斯亮蓝 G-250、牛血清白蛋白（西安舟鼎国生物技术有限公司），无水乙醇、浓硝酸、氢氧化钠、高氯酸、盐酸等均为分析纯（西安试剂厂）。

2.1.3 最终残渣成分分析试剂

α -萘酚(纯度 95 %)、 γ -萘酚(95 %)、 δ -萘酚(纯度 95 %)、淀粉酶、溴甲酚绿、硫胺素标准使用液 (0.1 $\mu\text{g/mL}$)、木瓜蛋白酶、蛋白酶、吡哆醇 Y 培养基、核黄素标准使用液 (1.0 $\mu\text{g/mL}$)、琼脂、吡哆醇标准中间液（西安舟鼎国生物技术有限公司），无水硫酸钠、氯化钾、氢氧化钠、铁氰化钾、冰乙酸、乙酸钠、浓盐酸、草酸、硫脲、活性炭、氯化钠等均为分析纯（西安市试剂厂）。

2.2 仪器

2.2.1 苦杏仁苷提取仪器

P230 型高效液相色谱（大连伊利特仪器有限公司），UV230⁺紫外-可见检测器，SinoChrom ODS-BP 色谱柱（200 mm $\times$ 4.6 mm i.d., 5 μm ），EC2000 色谱工作站，EQUINOX-55 型傅立叶红外光谱仪（德国布鲁克公司），Vario EL III 元素分析仪（德国艾乐曼元素分析系统公司），INOVA-400MHz 超导核磁共振仪（美国 Varian 公司），KQ250B 型超声波清洗器（昆山市超声仪器有限公司），101-1AB 型电热鼓风干燥箱（天津市泰斯特仪器有限公司），RE-52A 旋转蒸发仪（上海亚荣生化仪器厂），WND-100 型高速中药粉碎机（浙江省兰溪市伟能达电器有限公司）。

司)。

2.2.2 蛋白粉提取仪器

121MB 型氨基酸分析仪、Avanti J-E 超速冷冻离心机(美国贝克曼库尔特有限公司), ADVANTAQL 全谱直读等离子光谱仪(美国热电公司), F-9600 荧光分光光度计(上海舜宇恒平科学仪器有限公司), 721 型紫外-可见分光光度计(上海第三分析仪器厂), 101A-3 型干燥箱(上海市实验仪器总厂), DNP-9002 电热恒温培养箱(嘉兴中新医疗仪器有限公司), YKH-3 型液体快速混合器(北京鸿泰顺达科技有限公司), BS110S 分析天平(德国, Sartorius), PB-10 型 pH 计(德国, Sartorius), HH-4 数显恒温水浴锅(国华电器有限公司), FD-1A-50 型冷冻干燥机(北京博医康实验仪器有限公司), SHB-III(A)型循环式多用真空泵(河南省太康科教仪器厂), R502B 旋转蒸发器(上海申生科技有限公司), JJ-1 大功率电动搅拌器(金坛市医疗器械厂)。

2.2.3 最终残渣成分分析仪器

121MB 型氨基酸分析仪(美国贝克曼库尔特有限公司), F-9600 荧光分光光度计(上海舜宇恒平科学仪器有限公司), 马弗炉(沈阳市节能电炉厂), 722 型光栅分光光度计(北京纽利德科技有限公司), DNP-9002 电热恒温培养箱(嘉兴中新医疗仪器有限公司), 高压釜(威海市正威机械设备有限公司), YKH-3 型液体快速混合器(北京鸿泰顺达科技有限公司), 硬质玻璃试管(上海源叶生物科技有限公司)。

2.3 实验方法

2.3.1 苦杏仁苷提取工艺研究

2.3.1.1 提取工艺路线

长柄扁桃仁中苦杏仁苷提取工艺如图 2-1 所示。

灭酶: 长柄扁桃破壳, 取仁, 105 °C 加热 2 h 后粉碎。

提油: 取一定量上述粉末, 按一定固液比加入石油醚 (b.p. 30~60 °C), 于功率 250 w、频率 40 KHz 超声波清洗器中提取 30 min, 抽滤后收集滤液与滤饼。

相同条件下重复提取两次，合并滤液，减压蒸馏回收石油醚，80 ℃加热以除去残留石油醚，得长柄扁桃油。所得脱脂粕 105 ℃干燥待用。

提甙：称取适量脱脂粕置于 500 mL 三颈瓶中，加入一定量无水乙醇，回流搅拌提取，趁热过滤并收集滤液。滤液经减压浓缩至干，石油醚洗涤固体三次，滤饼经 105 ℃干燥得到淡黄色粉末粗品。

结晶：粗品按一定料液比加入 95 %乙醇，加热溶解后，室温静置析晶，过滤，滤饼经 105 ℃干燥得到白色晶体。

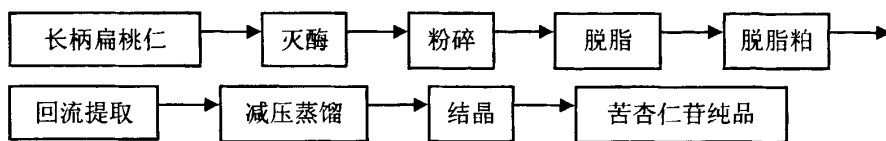


图 2-1 苦杏仁苷提取流程图

Fig.2-1 The extraction process of amygdalin

2.3.1.2 单因素试验

分别以提取溶剂、溶剂用量、提取时间和提取温度为因素，研究其对苦杏仁苷提取率的影响。

$$\text{提取率} = \frac{\text{粗品质量} \times \text{粗品中苦杏仁苷含量}}{\text{脱脂粕质量} \times \text{脱脂粕中苦杏仁苷含量}} \times 100\%$$

2.3.1.3 正交试验

根据单因素试验结果，进行溶剂用量、提取时间、提取温度的三因素三水平 $L_9(3^3)$ 正交试验，各因素及水平安排如表 2-1 所示。

表 2-1 苦杏仁苷提取正交试验因素水平表

Tab.2-1 Levels in the orthogonal design of amygdalin extraction

水平	因素		
	A 温度/℃	B 料液比/(w/v)	C 时间/min
1	70	1:7	25
2	75	1:9	45
3	80	1:11	65

2.3.1.4 分离纯化

回流提取得到的苦杏仁苷粗品含有较多杂质，通过结晶可除去杂质，得到苦

杏仁苷纯品。实验考察结晶溶剂及溶剂用量对产品纯度及收率的影响。

2.3.1.5 苦杏仁苷含量测定

采用高效液相色谱法（HPLC）测定苦杏仁苷含量。

（1）色谱条件

SinoChrom ODS-BP (200 mm×4.6 mm i.d., 5 μm) 色谱柱; UV230⁺紫外可见检测器, 检测波长 220 nm; 流动相为 V(甲醇):V(水)=30:70, 流速 1.0 mL/min; 进样量 10 μL。

（2）对照品溶液的制备

准确称取苦杏仁苷对照品 12.5 mg 于 25 mL 容量瓶中, 甲醇溶解并稀释至刻度, 摇匀, 即得 500 μg/mL 苦杏仁苷对照品溶液。

（3）线性关系与检出限

将500 μg/mL的苦杏仁苷对照品溶液用色谱纯的甲醇分别稀释成浓度为1.0、5.0、10.0、50.0、100.0、150.0 μg/mL的苦杏仁苷对照品溶液, 按照已定色谱条件测定。以对照品溶液浓度为横坐标, 峰面积为纵坐标, 绘制工作曲线, 如图2-2所示。线性方程为 $A=2.2582 \times C - 0.0729$, $R^2=0.9990$ 。说明苦杏仁苷对照品溶液浓度在1.0~150.0 μg/mL范围内, 其峰面积与质量浓度有良好的线性关系。将最低浓度的对照品溶液逐级稀释进样, 信噪比(S/N)为3时的浓度即为检出限, 测得苦杏仁苷的检出限为0.5 μg/mL。

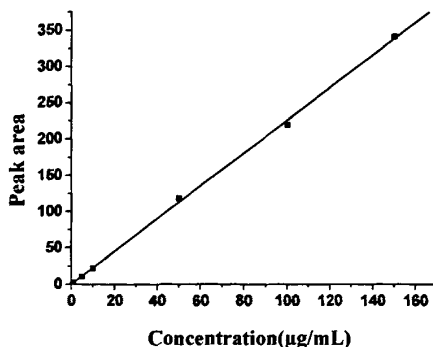


图2-2 苦杏仁苷工作曲线

Fig.2-2 The work curve of amygdalin

（4）产品含量测定

称取适量苦杏仁苷产品, 置于25 mL容量瓶中, 用甲醇溶解并稀释至刻度, 经0.45 μm微孔滤膜过滤后即供试样品溶液。

2.3.1.6 产品鉴定

产品经熔点、紫外光谱、元素分析、红外光谱、氢核磁共振谱 ($^1\text{H-NMR}$)、碳核磁共振谱 ($^{13}\text{C-NMR}$) 等进行表征及结构鉴定。

2.3.2 蛋白粉提取工艺研究及营养成分分析

2.3.2.1 小试工艺

(1) 提取工艺流程

将脱脂、提忒后的长柄扁桃粕自然风干，测得粗蛋白含量为49.28 %。精确称取40.0 g粉末于1000 mL烧杯中，按一定料液比加入蒸馏水，用1 mol/L NaOH调节溶液pH至8.5~12.5，然后在水浴中搅拌提取，静置后收集滤液与滤饼。用1 mol/L HCl调节滤液pH至2.0~6.0，3500 rpm离心15 min，沉淀经干燥即得长柄扁桃蛋白粉。

(2) 单因素试验

分别研究溶液 pH、料液比、提取温度和提取时间等因素对蛋白质提取率的影响，蛋白质提取率按下式计算：

$$\text{提取率} = \frac{\text{提取液总体积} \times \text{蛋白浓度}}{\text{粉末质量} \times \text{蛋白含量}} \times 100\%$$

(3) 正交试验

根据单因素试验结果，进行溶液 pH、料液比、提取温度及提取时间的四因素三水平 $L_9(3^4)$ 正交试验，各因素水平安排如下：

表 2-2 蛋白粉提取正交试验因素水平表

Tab.2-2 Levels in the orthogonal design of protein extraction				
水平	因素			
	A	B	C	D
	溶液 pH	料液比	提取温度/ $^{\circ}\text{C}$	提取时间/ min
1	9.5	1:20	40	45
2	10.5	1:25	50	65
3	11.5	1:30	60	85

(4) 蛋白质沉淀

取一定量提取液，分别用酸沉法、有机溶剂沉淀法及化学混凝法进行蛋白质

沉淀。酸沉法，用 1.0 mol/L HCl 将溶液 pH 值调至 4.0 左右；有机溶剂沉淀法，按体积比 1:5 加入无水乙醇；化学混凝法，按体积比 1:5 加入 5 g/L $\text{Al}_2(\text{SO}_4)_3$ 溶液。分别摇匀后室温静置，再于 3500 rpm 离心 10 min，沉淀真空干燥得蛋白粉。

2.3.2.2 放大试验

长柄扁桃仁压榨脱脂、提甙后残渣粉末，按照小试条件放大 90 倍提取长柄扁桃蛋白粉。

2.3.2.3 蛋白含量测定

蛋白含量测定采用考马斯亮兰法^[120]（Bradford 法）。

（1）溶液配制

准确称取 100.0 mg 考马斯亮蓝 G-250 溶于 50 mL 95 %的乙醇中，再加入 100 mL 85 %磷酸，混合均匀后，转至 1000 mL 容量瓶中，三蒸水定容至刻度线处。棕色试剂瓶于 4 ℃冰箱中储存。使用前需用滤纸过滤，除去储存试剂中沉淀的染料即得考马斯亮蓝溶液。牛血清白蛋白（BSA）标准溶液：0.2 mg/mL，4 ℃冰箱储存；NaCl 溶液：0.15 mol/L。

表 2-3 蛋白含量测定

Tab.2-3 Determination of protein content

实验号	1	2	3	4	5	6	7
考马斯亮蓝/mL	2	2	2	2	2	2	2
BSA/ μL	0	20	40	60	80	100	120
NaCl/ μL	200	180	160	140	120	100	80

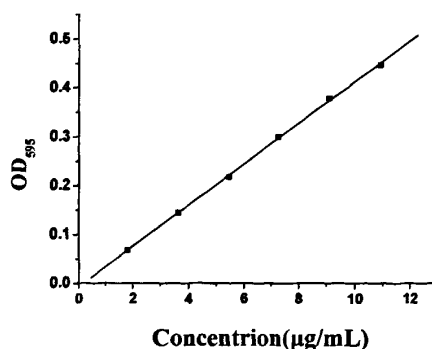


图 2-3 蛋白含量测定工作曲线

Fig.2-3 The work curve of determination of protein content

(2) 标准曲线的绘制

溶液配制见表 2-3, 室温放置 2 min 待其反应充分后, 在 595 nm 条件下测定其吸光度 A 值, 并以吸光度 A 对标准蛋白浓度作图, 绘制工作曲线。线性方程为 $A=0.0420 \times C+0.0086$, $R^2=0.9994$ 。

(3) 样品蛋白含量的测定

预先估计样品的蛋白浓度, 在上述条件下加入一定量的样品蛋白, 溶液颜色变化在标准曲线颜色变化范围之内, 如果样品浓度过大, 可考虑稀释后使用。

2.3.2.4 营养成分分析

(1) 一般成分分析

水分参照 GB/T 5009.3-2003^[121], 采用 105 °C 恒重法;

灰分参照 GB/T 5009.4-2003^[122], 采用 550 °C 恒烧法;

粗脂肪参照 GB/T 5009.5-2003^[123], 采用乙醚索氏提取法;

粗蛋白参照 GB/T 5009.6-2003^[124], 采用凯氏定氮法。

(2) 氨基酸含量分析

长柄扁桃蛋白粉中氨基酸成分分析参照 GB/T 5009.124-2003^[125]。

准确称取 80 mg 长柄扁桃蛋白粉于 20 mL 试管中, 加入 40 mL 6 mol/L 盐酸, 抽真空后封管, 于 110 °C 恒温干燥箱内水解 24 h, 水解液定容至 50 mL 容量瓶中。吸取水解液 2.00 mL 于 20 mL 小试管中, 于 45 °C 水浴中, N₂ 气吹干, 残留物用 4~6 mL 超纯水溶解并蒸干, 反复 3 次。再用 pH 2.2 的缓冲溶液定容至 2.0 mL。最后使用 5 mol/L 氢氧化钠在 110 °C 恒温水解 20 h 使色氨酸进行水解, 之后用 6 mol/L 盐酸中和, 并用 pH 4.3 的缓冲溶液定容。

氨基酸自动分析仪同时测定氨基酸混合标准溶液, 用保留时间定性, 标准峰面积比较法定量, 计算出样品中各种氨基酸含量。

(3) 微量元素测定

采用火焰发射光谱法^[126]测定 Na、K;

采用原子吸收分光光度法测定 Ca^[127]、Fe、Mg、Mn^[128]、Zn^[129]、Cu^[130];

采用氰化物原子荧光法测定 As^[131]、Pb^[132]、Cd^[133];

采用钒钼黄比色法测定 P^[134]。

(4) 维生素含量测定

维生素 E, 参照 GB/T 5009.82-2003^[135], 试样中的维生素 E 经皂化提取处理后, 将其从不可皂化部分提取至有机溶剂中。用高效液相色谱 C₁₈ 反相柱将维生素 E 分离, 经紫外检测器检测, 并用内标法定量测定。色谱条件: Ultrasphere ODS (250 mm×4.6 mm i.d., 5 μm) 色谱柱, 柱温为室温; 紫外检测器波长为 300 nm; 流动相为 V(甲醇): V(水)=98:2, 流速 1.7 mL/min; 进样量 20 μL。

维生素 B₁, 参照 GB/T 5009.84-2003^[136], 硫胺素在碱性铁氰化钾溶液中被氧化成噻嘧色素, 在紫外线照射下, 噻嘧色素发出荧光。在给定的条件下, 以及没有其他荧光物质干扰时, 此荧光之强度与噻嘧色素量成正比, 即与溶液中硫胺素量成正比。荧光测定条件: 激发波长 365 nm; 发射波长 435 nm; 激发波狭缝 5 nm; 发射波狭缝 5 nm。

维生素 B₂, 参照 GB/T 5009.85-2003^[137], 核黄素在 440~500 nm 波长光照射下发生黄绿色荧光。在稀溶液中其荧光强度与核黄素的浓度成正比。在波长 525 nm 下测定其荧光强度。试液再加入低亚硫酸钠, 将核黄素还原为无荧光的物质, 然后再测定试液中残余荧光物质的荧光强度, 两者之差即为食品中核黄素所产生的荧光强度。

维生素 C, 参照 GB/T 5009.86-2003^[138], 采用 2,4-二硝基苯肼比色法: 试样中还原型抗坏血酸经活性炭氧化为脱氢抗坏血酸, 再与 2,4-二硝基苯肼作用生成红色脎, 根据脎在硫酸溶液中的含量与总抗坏血酸含量成正比, 进行比色定量。

维生素 B₆, 参照 GB/T 5009.154-2003^[139], 食品某一种细菌的生长必须要有某一种维生素的存在, 卡尔斯伯 (*Saccharomyces Carlsbrgensis*) 酵母菌需在有维生素 B₆ 存在的条件下才能生长, 在一定条件下维生素 B₆ 的量与其生长呈正比关系。用比浊法测定该菌在试样液中生长的浑浊度, 与标准曲线相比较得出试样中维生素 B₆ 的含量。

2.3.3 最终残渣成分分析

考虑残渣可作为饲料或饲料添加剂使用, 因此对残渣中的一般化学成分、氨基酸及矿质元素含量参照 2.3.2.4 中方法进行测定。

第三章 结果与讨论

3.1 苦杏仁苷提取工艺研究

苦杏仁苷是传统中药苦杏仁中的有效成分，医药上常用于祛痰止咳剂、辅助性抗癌药物，广泛存在于杏、山杏、桃、山桃、李、苹果及山楂的种子中，尤其在苦杏仁和苦扁桃中含量较多。经检测，长柄扁桃仁中苦杏仁苷含量为 3.73%，高于苦杏仁，可作为提取苦杏仁苷的首选植物。因此，本文采用回流提取法研究长柄扁桃仁中苦杏仁苷的提取工艺，并对产品进行表征及结构鉴定。

3.1.1 溶剂对脱脂效果的影响

长柄扁桃仁含油率约 50%，苦杏仁苷的浸出与结晶直接受到油脂的影响。常用脱脂方法有两种：一种是灭酶后直接用榨油机脱脂；另一种是灭酶后粉碎长柄扁桃仁，选择合适的溶剂脱脂。前者方法简单，成本低，适合工业化生产，但脱脂不彻底；后者脱脂效果较好，且适合实验室小试脱脂。因此，小试实验选用溶剂脱脂，考察常用提油介质石油醚、乙醚、氯仿和正己烷对脱脂效果的影响，料液比 1:5 (w/v)，提取时间 30 min，超声提取 2 次。结果见表 3-1。

表 3-1 溶剂对提油率的影响/%

Tab.3-1 The influence of solvent on the removing rate/%

溶剂	石油醚 (30~60 ℃)	石油醚 (60~90 ℃)	氯仿	正己烷	乙醚
提油率	49.94	45.90	51.07	40.11	44.35

由表 3-1 可知，五种溶剂中氯仿提取率最高，但价格相对较高，且有毒。石油醚 (30~60 ℃) 提取率略低于氯仿，且便宜、无毒，而正己烷、乙醚的提油率均较低。故选石油醚 (30~60 ℃) 作为脱脂溶剂。

3.1.2 回流提取工艺

3.1.2.1 提取溶剂的选择

苦杏仁苷提取时，溶剂多选择水和乙醇等极性溶剂，其中乙醇提取法应用较多。这是因为苦杏仁苷水提液中往往溶有糖类、蛋白质等多种有机成分，一方面

给后续的分离除杂、结晶等操作带来困难；另一方面，苦杏仁苷水提液存放易腐败变质。乙醇价格便宜，来源方便，易回收反复使用，而且乙醇的提取液不易发霉变质。综合考虑，本实验采用乙醇作为提取溶剂。

3.1.2.2 乙醇用量对提取率的影响

溶剂用量应在一个合适的范围内，既能有效的将苦杏仁苷提取出来，又不会因用量太大而造成浪费。在提取温度 80 ℃，时间 45 min 条件下，分别按料液比 1:5、1:7、1:9、1:11、1:13 (w/v) 加入乙醇，考察乙醇用量对苦杏仁苷提取率的影响，结果如图 3-1 所示。

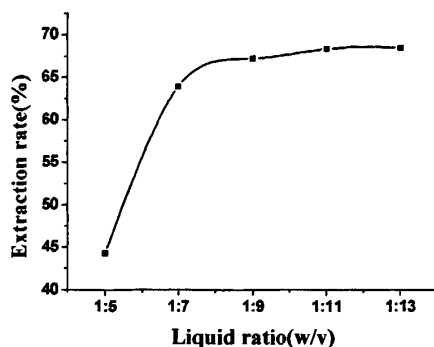


图 3-1 料液比对苦杏仁苷提取率的影响

Fig.3-1 The effect of different ratio of solid to liquid on the amygdalin extraction

由图 3-1 可知，提取率随乙醇用量的增加而增大，当料液比由 1:5 升高到 1:9 时，苦杏仁苷的提取率明显增加，由 44.29 %升高到 67.20 %；当料液比超过 1:9 后，苦杏仁苷的提取率随料液比的升高虽然有所增加，但增加幅度很小。这是因为随着料液比的增大，浓度差提高，有利于传质，而当料液比达到 1:9 后，苦杏仁苷的溶解量已经基本达到了动态平衡状态，因此苦杏仁苷的提取率不随料液比的增大有明显升高，而料液比的增加会使提取液中溶质浓度变低，加大溶剂回收或浓缩溶液的工作量。因此乙醇用量选 1:9 为宜。

3.1.2.3 提取时间对提取率的影响

在提取温度 80 ℃，料液比 1:9 条件下，考察提取时间为 25、45、65、85、105 min 时对苦杏仁苷提取率的影响，结果如图 3-2 所示。

由图 3-2 可知，在 25 min 至 65 min 范围内，提取率随提取时间的延长而升高；当提取时间超过 65 min 后，提取率趋于平缓。这是因为苦杏仁苷的浸出需

要一定的时间，所以适当延长提取时间，提取液与长柄扁桃粕相互作用的时间越长，提取率就越高；当提取时间继续增加，两者达到平衡后，提取率不再增加，此时再增加提取时间会将很多杂质浸出。

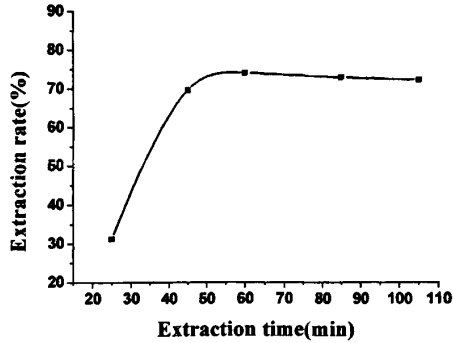


图 3-2 提取时间对苦杏仁苷提取率的影响

Fig. 3-2 The effect of time on the amygdalin extraction

3.1.2.4 提取温度对提取率的影响

在料液比 1:9，提取时间 65 min 条件下，考察提取温度分别为 65、70、75、80、85 °C 时对苦杏仁苷提取率的影响，结果如图 3-3 所示。

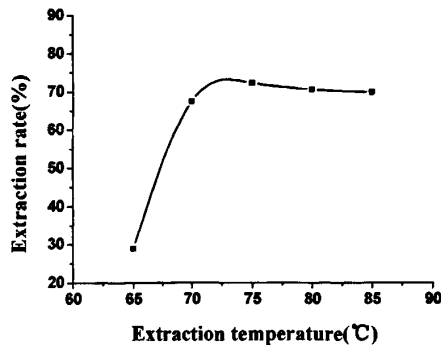


图 3-3 提取温度对苦杏仁苷提取率的影响

Fig.3-3 The effect of temperature on the amygdalin extraction

由图 3-3 可知，温度对苦杏仁苷的提取率影响较大，随着提取温度的增加，提取率先增加后趋于平缓。在 65~75 °C 范围内，提取率由 28.93 %增加至 72.32 %，这是因为温度升高，分子运动速度加快，不但增加了乙醇的渗透能力，有利于溶解原料中的苦杏仁苷，而且加快了回流乙醇的挥发-冷凝-再挥发的速度，从而提高了苦杏仁苷的提取率。当温度升高到 75 °C 时，提取率趋于平缓，

继续增加温度，对提取率效果影响不大。

3.1.2.5 苦杏仁苷提取的正交试验

从单因素试验可知，温度、料液比和时间对提取工艺有较大影响。故选取温度（A）、料液比（B）与时间（C）为考察因素，每个因素选 3 个水平，设计三因素三水平正交试验。正交试验结果见表 3-2，方差分析结果见表 3-3。

表 3-2 苦杏仁苷提取正交试验结果

Tab.3-2 Results of orthogonal experiment on the amygdalin extraction

水平	A 温度 /℃	B 料液比 /(w/v)	C 时间 /min	提取率 /%
1	1(70)	1(1:7)	1(25)	55.36
2	1	2(1:9)	2(45)	67.89
3	1	3(1:11)	3(65)	69.42
4	2(75)	1	2	72.25
5	2	2	3	73.11
6	2	3	1	68.47
7	3(80)	1	3	67.13
8	3	2	1	63.56
9	3	3	2	65.38
均值 1	64.22	64.91	62.46	
均值 2	71.27	68.19	68.51	T=602.57
均值 3	65.36	67.76	69.89	M=T/9=66.95
R	7.05	3.28	7.43	

由表 3-2 极差分析表明，影响苦杏仁苷提取效果的主要因素依次为 $C>A>B$ ，即提取时间对提取率的影响最大，其次为提取温度，料液比对提取率的影响最小。由表 3-3 方差分析表明，各因素对苦杏仁苷提取影响均不显著。确定最佳提取条件为 $A_2B_2C_3$ ，为 5 号试验点，即提取温度 75 ℃，料液比 1:9，提取时间 65 min，在此条件下，苦杏仁苷提取率可达 73.11 %，较各次正交试验的结果都好。

表 3-3 方差分析结果

Tab.3-3 Results of variance analysis

方差来源	偏差平方和	自由度	平均偏差平方和	F 比	显著性
A	86.08	2	43.04	3.44	不显著
B	18.98	2	9.49	0.76	不显著
C	93.53	2	46.77	3.73	不显著
误差	25.05	2	12.52		
总和	223.65	8			

$F_{0.1}(2,2)=9$, $F_{0.05}(2,2)=19$, $F_{0.01}(2,2)=99$

3.1.3 分离纯化

结晶是一个重要的纯化过程，能从杂质含量相当多的溶液中形成纯净的晶体。该方法能量消耗低，且可在较低的温度下进行。结晶过程是一个非常复杂的过程，受很多因素影响，本实验只从工艺的角度对结晶过程进行了探讨。

3.1.3.1 不同溶剂对结晶效果的影响

在制备结晶的过程中，溶剂的选择至关重要。适宜的溶剂既能在温度低时所需成分溶解度较小，又能在温度高时溶解度较大。本实验考察了 95 %乙醇、乙醇及乙醇-5 %乙醚对苦杏仁苷结晶效果的影响，结果见表 3-4。

表 3-4 不同溶剂对结晶效果的影响

Tab.3-4 The effect of different solvent on crystallization

溶剂	晶体纯度/ %	结晶得率/ %	晶形
95 %乙醇	95.93	64.43	白色、针状晶体
乙醇	67.23	76.53	微黄色粉末
乙醇-5 %乙醚	70.89	81.77	微黄色粉末

附注 1: 结晶得率=晶体质量×晶体纯度/(粗品质量×粗品纯度)×100 %,

料液比 1:30, 结晶时间 32 h。

由表 3-4 可知，95 %乙醇含有部分水，可以溶解苦杏仁苷，其结晶得率低于乙醇及乙醇-5 %乙醚结晶，但晶体纯度却高达 95.93 %，且晶形较好，呈白色、针状。乙醇或乙醇-5 %乙醚形成的晶体呈微黄色粉末，可能是由于热乙醇溶解了

较多杂质，苦杏仁苷析出的同时，这些杂质也会沉降析出，从而大大降低晶体纯度。故实验选用 95 %乙醇作为苦杏仁苷的结晶溶剂，只需一步结晶，就可使晶体纯度达到 95 %以上。

3.1.3.2 溶剂用量对结晶效果的影响

溶剂用量是影响结晶效果的另一重要因素。当溶剂用量较小、降温较快时，溶质析出速度过快，结晶的颗粒小，杂质也较多；当溶剂用量太大时，冷溶剂会溶解部分溶质，造成晶体得率的下降。因此，只有当溶剂用量适当，且温度降低较慢时，才会析出纯度较高的晶体。实验考察了溶剂用量分别为 1:10、1:30 和 1:50 (w/v) 时对结晶效果的影响，结果见表 3-5。同时，溶液中苦杏仁苷含量随时间的变化曲线如图 3-4 所示。

表 3-5 溶剂用量对结晶效果的影响

Tab.3-5 The effect of solvent volume on crystallization

溶剂用量/(w/v)	晶体纯度/%	结晶得率/%	晶形
1:10	84.05	48.43	黄色、无定形粉末
1:30	96.38	62.18	白色、柱状
1:50	96.71	36.80	白色、小颗粒

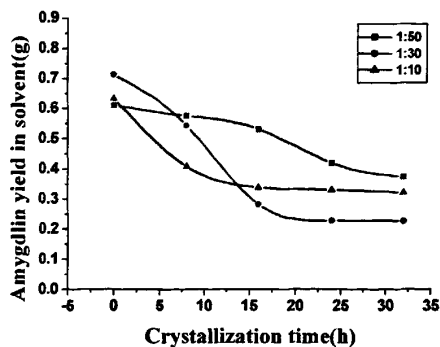


图 3-4 不同溶剂用量下苦杏仁苷的结晶情况

Fig.3-4 Crystallization of the amygdalin under different solvent

由表 3-5 可知，随着 95 %乙醇用量的加大，苦杏仁苷晶体的纯度逐渐增高。由图 3-4 可知，溶剂用量为 1:10 时，析晶速度最快，16 h 即可达到平衡，但产

品为黄色、无定形粉末，晶体纯度及得率都较低；溶剂用量为 1:50 时，晶体纯度虽可达到 96.71 %，但溶剂会溶解一部分溶质，造成结晶得率下降，同时溶剂用量增加，溶质析出缓慢，32 h 才会达到平衡，晶体较小；溶剂用量为 1:30 时，晶体纯度及得率都较高，平衡时间为 24 h，晶体呈柱状。随着结晶时间的延长，晶体质量不断增加，当增至一定质量后，晶体质量随结晶时间的增加减缓，而结晶纯度却随着结晶时间的延长而下降，可能是由于杂质也不断析出的缘故。故溶剂用量选 1:30，结晶时间为 24 h。

3.1.4 工艺验证

在选定的最优工艺条件下，以 100 g 长柄扁桃仁脱脂粕为原料，提取工艺条件为：按料液比 1:9 (w/v) 加入乙醇，时间 65 min，提取温度 75 ℃；分离纯化工艺：按料液比 1:30 (w/v) 加入 95 % 乙醇，加热溶解粗品，室温放置结晶 24 h。平行实验三次，结果见表 3-6。

表 3-6 优化条件下的结果

Tab.3-6 Results of the optional condition

实验序号	1	2	3	平均值
提取率/%	73.45	73.12	72.66	73.08
产品质量/g	1.64	1.69	1.68	1.67
产品纯度/%	95.87	96.42	96.31	96.20
总收率/%	42.15	43.69	43.38	43.07

由表 3-6 可知，苦杏仁苷提取率为 73.08 %；粗品经分离纯化后，得苦杏仁苷产品 1.67 g，纯度为 96.20 %，总收率为 43.07 %。实验采用乙醇为提取溶剂，一次搅拌提取苦杏仁苷，提取率不高，可能是因为一次提取仅将大部分苦杏仁苷浸出，残渣中仍有部分苦杏仁苷，后续放大工艺应进行多次提取，提高产率；以 95 % 乙醇为结晶溶剂，可得到纯度较高的苦杏仁苷产品。

3.1.5 产品鉴定

3.1.5.1 熔点

产品为白色晶体，m.p 199~203 ℃，与文献报道一致^[140]。

3.1.5.2 紫外光谱法

对苦杏仁苷样品溶液进行紫外光谱扫描, 波长范围 200~400 nm, 结果如图 3-5 所示。

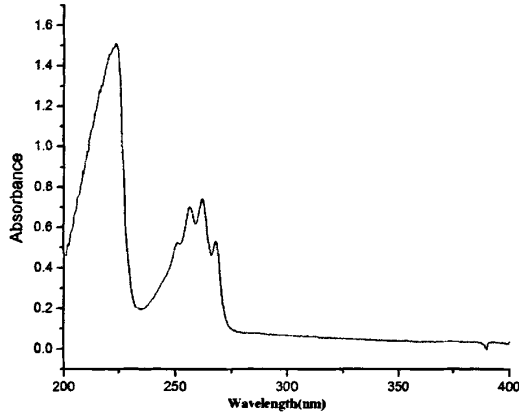


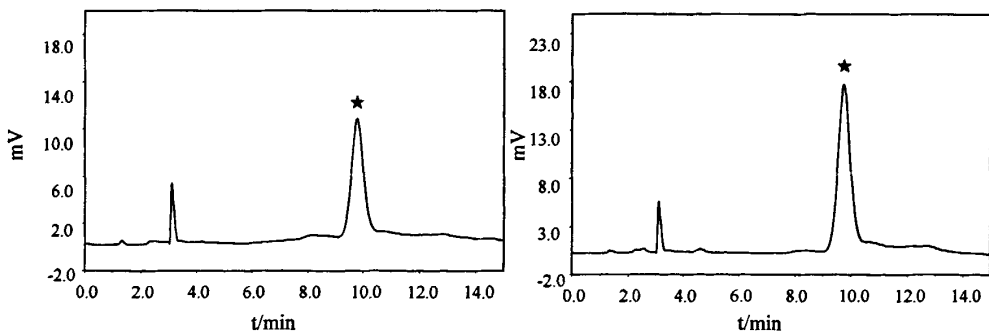
图 3-5 苦杏仁苷样品的紫外光谱图

Fig.3-5 The UV spectrum of the amygdalin sample

由图 3-5 可看出, 最大吸收出现在 220 nm 处, 在 255、260、270nm 处有 3 个强吸收, 与文献报道^[141]中苦杏仁苷的紫外吸收光谱图趋势大体一致。

3.1.5.3 高效液相色谱法

按 2.3.1.3 色谱条件进行测定。由线性方程计算苦杏仁苷浓度, 进而计算样品中苦杏仁苷的含量, 色谱图如图 3-6 所示。



(a) 苦杏仁苷对照品

(b) 苦杏仁苷样品

图 3-6 苦杏仁苷 HPLC 色谱图

Fig.3-6 The chromatogram of amygdalin by HPLC

由图 3-6 可以看出, 苦杏仁苷样品保留时间与对照品保留时间一致, 均为

9.79 min，且无杂峰，由外标法测其含量为 96 %以上。

3.1.5.4 元素分析

苦杏仁苷样品元素分析结果见表 3-7。

表 3-7 苦杏仁苷元素分析结果/%

Tab.3-7 Element analysis of amygdalin /%

元素	检测值	理论值
C	52.88	52.52
H	6.02	5.91
O	—	38.51
N	3.25	3.06

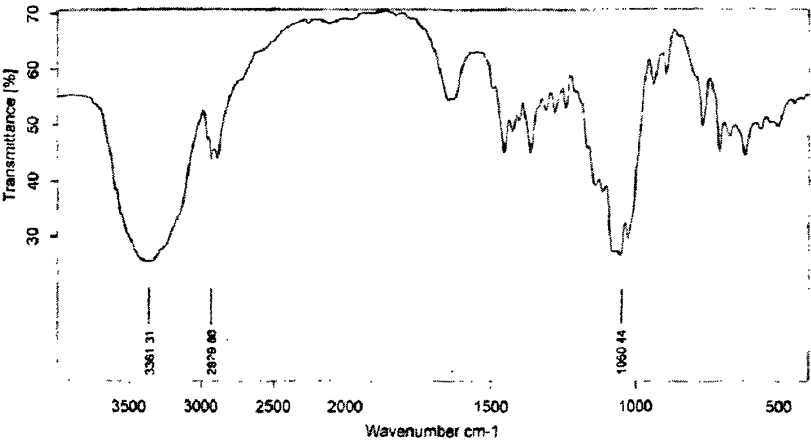
附注 2: “—” 表示未测定

由表 3-7 可知，苦杏仁苷样品的 C、H、O、N 元素含量测定值与理论值基本一致。

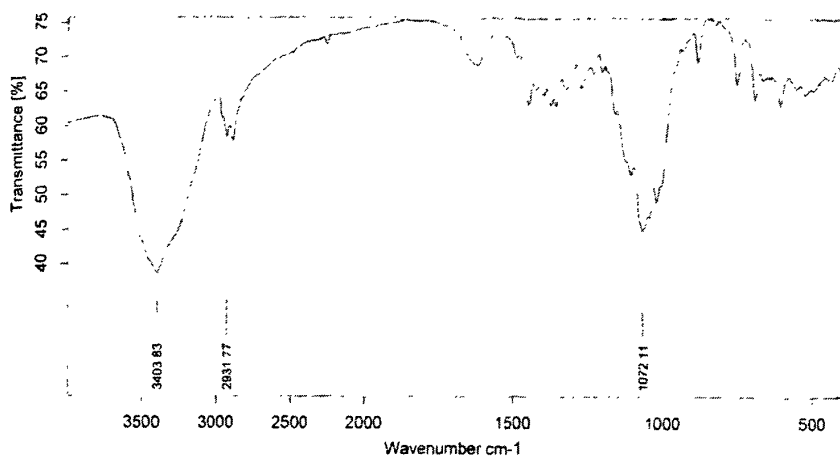
3.1.5.5 红外光谱法

采用 KBr 压片法测定苦杏仁苷样品的红外光谱图，结果如图 3-7 所示。

由图 3-7 可知，苦杏仁苷标品与样品均在 3360 (w, ν_{OH}), 2930 (w, ν_{C-H}), 1050 (w, ν_{C-O})处有特征吸收峰，红外光谱图基本一致。



(a) 苦杏仁苷样品



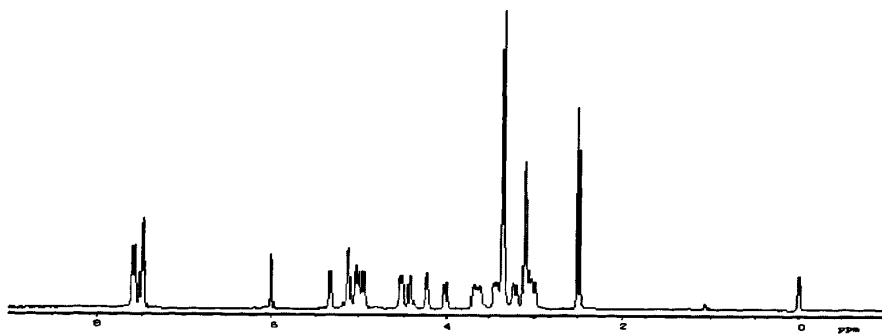
(b) 苦杏仁苷对照品

图 3-7 苦杏仁苷红外谱图

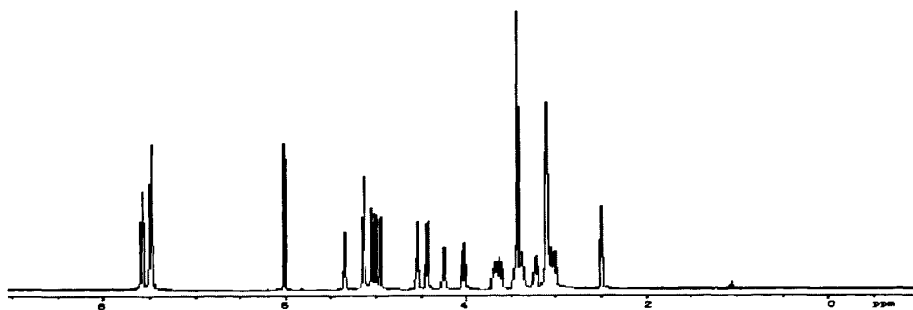
Fig.3-7 Infrared spectra of amygdalin

3.1.5.6 ¹H 核磁共振分析

苦杏仁苷样品与标准品的 ¹H 核磁共振分析谱图如图 3-8 所示，苦杏仁苷对照品与样品的谱图基本一致。



(a) 苦杏仁苷样品



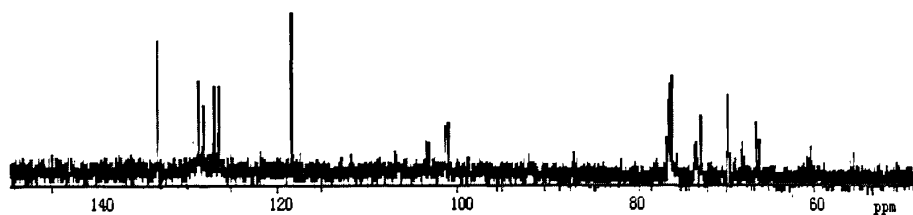
(b) 苦杏仁苷对照品

图 3-8 苦杏仁苷 ^1H 核磁共振分析谱图

Fig.3-8 ^1H -NMR spectra of amygdalin

3.1.5.7 ^{13}C 核磁共振分析

如图 3-9 所示，苦杏仁苷样品与对照品的谱图基本一致。



(a) 苦杏仁苷样品



(b) 苦杏仁苷对照品

图 3-9 苦杏仁苷 ^{13}C 核磁共振分析谱图

Fig.3-9 ^{13}C -NMR spectra of amygdalin

3.2 蛋白粉提取工艺研究及营养成分分析

植物蛋白粉中脂肪含量较低,不仅可以满足人类对蛋白质的需要,且在预防心脑血管疾病方面具有积极作用,是一种健康的营养食品。经检测,长柄扁桃仁经脱脂、提试后残渣中蛋白含量为49.28%,蛋白含量较高,具有较高的经济价值。因此,本部分考察长柄扁桃蛋白粉的提取工艺,并对产品进行营养成分分析。

3.2.1 小试实验

3.2.1.1 溶液 pH 对提取率的影响

碱溶酸沉法是提取蛋白粉的常用方法,远离蛋白的等电点可使蛋白质溶解在水溶液中,因此溶液 pH 是影响蛋白粉提取的重要因素。本实验在料液比 1:25 (w/v),提取温度 50 ℃,搅拌提取 65 min 条件下,考察 pH 值为 8.5、9.5、10.5、11.5、12.5 时对蛋白粉提取率的影响,结果如图 3-10 所示。

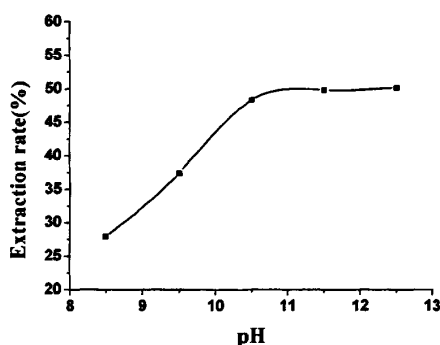


图 3-10 pH 对蛋白粉提取率的影响

Tab.3-10 The effect of pH on protein powder extraction

由图 3-10 可知,在 pH 8.5~10.5 范围内,蛋白粉提取率随 pH 升高而明显增加,这是因为大多数蛋白质的等电点在酸性范围,随着 pH 的增加,溶液 pH 逐渐远离蛋白质的等电点,因而提取率增加。当 pH 大于 10.5 时,提取率趋于稳定,这是因为随着碱液浓度增加,提取效果增强,但由于碱性过强可导致脱氨、脱羧、肽键断裂等蛋白质变性现象,“脱赖反应”会把氨基酸转变为有毒化合物赖-丙氨酸,会使蛋白粉带有咸苦味口感,影响产品风味,丧失营养价值。另外,碱液浓度过高,会使用大量盐酸沉淀蛋白,这样产品中盐分增加,提取液黏度增加,不

利于下一步离心分离。除此之外，碱法提取对反应设备的要求较高，强碱会造成严重的环境污染，增加后处理的生产成本。故选取溶液 pH 值为 10.5。

3.2.1.2 料液比对提取率的影响

在溶液 pH 10.5，提取温度 50 ℃，提取时间 65 min 条件下，考察料液比分别为 1:15、1:20、1:25、1:30、1:35 (w/v) 时对蛋白粉提取率的影响，结果如图 3-11 所示。

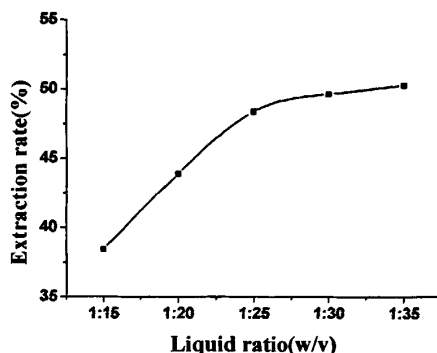


图 3-11 料液比对蛋白粉提取率的影响

Fig.3-11 The effect of different ratio of solid to liquid on protein powder extraction

由图 3-11 可知，蛋白提取率随料液比的增加而增加，但当料液比大于 1:25 以后，提取率增加不明显。在提取过程中，若料液比过小，使原料不易浸透，影响传质过程的进行，导致一部分蛋白质溶出率大大下降；若料液比过大，尽管溶解出的蛋白质较多，但酸沉时蛋白质损失量也会增大，产品得率随之下降。故选取料液比为 1:25。

3.2.1.3 提取温度对提取率的影响

在料液比 1:25，溶液 pH 10.5，提取时间 65 min 的条件下，考察提取温度分别为 30、40、50、60、70 ℃时对蛋白粉提取率的影响，结果如图 3-12 所示。

由图 3-12 可知，当提取温度在 30~60 ℃之间时，蛋白提取率随温度上升而增加，但当温度大于 60 ℃时，随温度上升提取率呈下降趋势。这是因为适当增加提取温度，蛋白质分子运动速度加快，容易从原料中溶解出来，但在过高温度下，易带进较多杂质且会使蛋白质变性。温度若继续升高，蛋白质会形成凝胶。故选提取温度为 60 ℃。

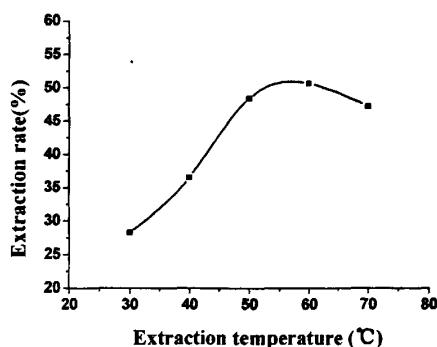


图 3-12 提取温度对蛋白粉提取率的影响

Fig.3-12 The effect of temperature on protein powder extraction

3.2.1.4 提取时间对提取率的影响

在料液比 1:25, pH 10.5, 提取温度 60 °C 条件下, 分别搅拌提取 25、45、65、85、105 min 后, 考察提取时间对蛋白提取率的影响, 结果如图 3-13 所示。

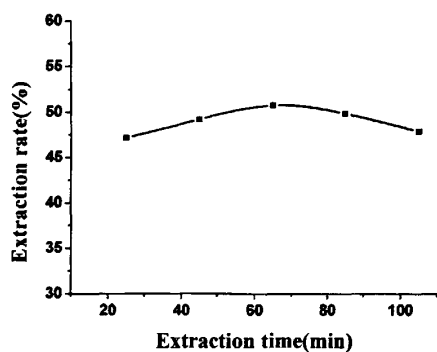


图 3-13 提取时间对蛋白提取率的影响

Fig.3-13 The effect of time on protein powder extraction

由图 3-13 可知, 当提取时间在 25~105 min 范围内时, 蛋白提取率在 47.14 %到 50.72 %之间, 当提取时间为 65 min 时, 达到最大值 50.72 %。由此可见, 蛋白提取率随时间变化不大。综合考虑, 提取时间为 65 min。

3.2.1.5 正交试验

在单因素试验的基础上, 采用正交表 $L_9(3^4)$ 安排试验考察因素及水平。正交试验结果见表 3-8。

从表 3-8 可以看出, 影响蛋白粉提取效果的主要因素依次为 $C > A > B > D$, 即提取温度为影响蛋白粉提取效果的主要因素, 其次是溶液 pH、料液比、提取时

间。极差分析所得最佳工艺条件为 $A_2B_2C_3D_1$ ，为 5 号试验点，即溶液 pH 10.5，料液比 1:25，提取温度 60 °C，提取时间 45 min，此条件下蛋白提取率为 49.18 %，优于其他各次正交试验结果。

表 3-8 正交试验结果

Tab.3-8 Results of the orthogonal test

试验号	A pH	B 料液比	C 提取温度	D 提取时间	提取率/%
1	1(9.5)	1(1:20)	1(40)	1(45)	28.47
2	1	2(1:25)	2(50)	2(65)	37.35
3	1	3(1:30)	3(60)	3(85)	41.12
4	2(10.5)	1	2	3	38.61
5	2	2	3	1	49.18
6	2	3	1	2	37.83
7	3(11.5)	1	3	2	42.26
8	3	2	1	3	36.41
9	3	3	2	1	39.79
均值 1	35.65	36.45	34.24	39.15	
均值 2	41.87	40.98	38.58	39.14	T=351.02
均值 3	39.49	39.58	44.19	38.71	M=T/9=39.00
R	6.22	4.53	9.95	0.44	

3.2.1.6 酸沉法最佳pH的选择

取等量上清液于离心管中，调节溶液至不同 pH 值沉淀蛋白质，常温下 3500 rpm 离心 10 min，考马斯亮蓝法测定上清液中蛋白浓度，结果如图 3-14 所示。

由图3-14可知，当pH值在4.5时，上清液中蛋白总量最低。因为蛋白质在接近其等电点时，所带电荷最少，容易发生聚集沉淀，故上清液蛋白浓度最低时的 pH 值，即为最佳 pH。在此条件下，蛋白粉的总收率为 41.5 %。

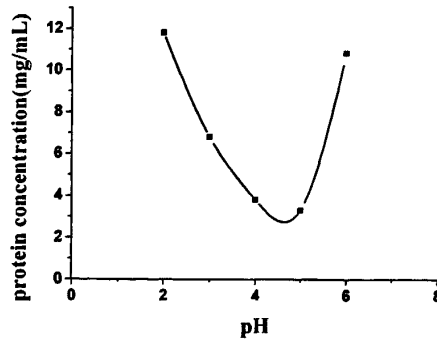


图3-14 pH值对上清液蛋白浓度的影响

Fig.3-14 The effect of pH on protein concentration

3.2.2 放大实验

为了验证小试实验结果是否适用于工业化放大生产，在实验室放大条件下，以压榨脱脂、提忒后残渣为原料，按照小试最优条件，进行 90 倍放大提取。称取脱脂、提忒后干粉 3.5 kg，提取工艺条件：溶液 pH 10.5，料液比 1:25 (w/v)，温度 60 °C，时间 45min，再调节提取液 pH 至 4.5 沉淀蛋白。平行实验三次，结果见表 3-10。

表 3-10 蛋白粉放大提取结果

Tab.3-10 The results of amplification of protein powder

实验序号	1	2	3	平均值
蛋白粉质量/g	736.2	725.1	743.1	734.8
蛋白含量/%	95.8	95.6	94.5	95.3
总收率/%	40.9	40.2	40.7	40.6

由表 3-10 可知，放大提取蛋白粉质量为 734.8 g，蛋白含量 95.3 %，总收率 40.6 %，略低于小试总收率（41.5 %）。由放大实验结果可知，采用碱溶酸沉法提取蛋白粉，经济环保，蛋白粉纯度较高，说明小试条件适合工业化放大生产。

3.2.3 营养成分分析

3.2.3.1 一般成分分析

高蛋白粉是一种蛋白含量高达 80 %以上、低脂肪的特色产品，长期食用时没有动物蛋白的副作用，不会引起肥胖、高血脂、心脑血管等疾病，营养价值较

高。实验对提取的长柄扁桃蛋白粉进行一般成分分析, 结果见表 3-11。

表 3-11 长柄扁桃蛋白粉与常见蛋白粉一般成分比较^[104]/%

Tab.3-11 Comparison of common composition of *Amygdalus*

pedunculatus Pall protein and other protein powder /%

品种	水分	灰分	脂肪	蛋白
长柄扁桃蛋白粉	1.32	2.21	0.18	95.79
花生蛋白粉	6.20	4.90	5.80	56.80
大豆蛋白粉	9.10	6.14	1.72	51.65

由表 3-11 可见, 长柄扁桃蛋白粉中蛋白含量为 95.79 %, 明显高于花生蛋白粉及大豆蛋白粉; 水分、灰分、脂肪含量均较低, 分别为 1.32 %、2.21 %和 0.18 %。脂肪含量低, 使其成为一种很好的低脂肪高蛋白产品的来源。因此, 长柄扁桃蛋白粉属高蛋白粉。

3.2.3.2 氨基酸含量分析

表 3-12 长柄扁桃蛋白粉中氨基酸组成及含量/(g/100g)

Tab.3-12 Amino acid contents of *Amygdalus pedunculatus* pall protein powder /(g/100g)

氨基酸	含量	氨基酸	含量	氨基酸	含量
天门冬氨酸	9.82	丙氨酸	3.77	酪氨酸	2.33
苏氨酸*	1.95	胱氨酸	1.22	苯丙氨酸*	4.33
丝氨酸	3.07	缬氨酸*	4.10	赖氨酸*	1.33
谷氨酸	21.93	蛋氨酸*	0.69	组氨酸	1.78
脯氨酸	3.69	异亮氨酸*	2.99	色氨酸*	0.70
甘氨酸	4.04	亮氨酸*	5.59	精氨酸	9.10
必需氨基酸总量	25.23				
氨基酸总量	82.44				

附注 3: “*”表示必需氨基酸

为了更好的评价长柄扁桃蛋白粉的营养价值, 对提取的长柄扁桃蛋白粉的氨基酸组成进行了测定, 结果见表 3-12。

由表3-12可见, 长柄扁桃蛋白粉氨基酸组成比较丰富, 含有植物中存在的18种氨基酸, 8种人体不能合成的必需氨基酸, 氨基酸总量分别为82.44 g/100g和

25.23 g/100g，必须氨基酸占氨基酸总量的30.60 %。其中具有健脑作用的谷氨酸含量最高，为21.93 g/100g，接下来是天门冬氨酸、精氨酸、亮氨酸、苯丙氨酸、缬氨酸、甘氨酸，蛋氨酸含量最低，为0.69 g/100g，它们在人和动物体内发挥重要作用。天冬氨酸的钾盐与镁盐的混合物能够用于消除疲劳，用来治疗心脏病、肝病、糖尿病等疾病，其钾盐可用于治疗低钾症，铁盐可治疗贫血^[142]。精氨酸对伤口愈合、抗冠心病、提高人体免疫、促进基体生长有显著作用，甚至对肿瘤的诱导及发生过程都具有抑制作用。

表 3-13 长柄扁桃蛋白粉必需氨基酸含量与 FAO 参考模式的比较^[106]

Tab.3-13 Comparison of essential amino acids of *Amygdalus pedunculatus pall* protein and FAO reference model

氨基酸	长柄扁桃蛋白粉/(mg/g)	FAO (1985) /(mg/g)	比例/%
异亮氨酸	31.20	28.00	111
亮氨酸	58.40	66.00	88
赖氨酸	13.90	58.00	24
蛋氨酸+胱氨酸	19.90	25.00	80
苯丙氨酸+酪氨酸	69.80	63.00	111
苏氨酸	20.40	34.00	60
色氨酸	7.30	11.00	66
缬氨酸	42.80	35.00	122
必须氨基酸总量	2.64×10^2	3.20×10^2	82

附注 4: FAO 联合国粮农组织

由表 3-13 的必需氨基酸测定结果及参考模式看出，长柄扁桃蛋白粉大多必需氨基酸比例大于 60 %，仅赖氨酸较低，为 24 %，故赖氨酸是其第一限制氨基酸；苯丙氨酸+酪氨酸、异亮氨酸和缬氨酸的含量均超过 FAO 参考模式；必须氨基酸总量为 2.64×10^2 mg/g，占 FAO 参考模式的 82 %。但是，长柄扁桃蛋白粉中含有所有的必须氨基酸，可以提供综合的氨基酸营养。

3.2.3.3 矿质元素含量分析

长柄扁桃蛋白粉矿质元素成分见表 3-14。

表 3-14 长柄扁桃蛋白粉中矿质元素含量/(mg/kg)

Tab.3-14 Mineral elements content of *Amygdalus**Pedunculatus pall* protein powder /(mg/kg)

成分	含量	成分	含量
Ca	22.86	Mn	3.13
Mg	74.27	Cu	54.61
P	2.82×10^3	Zn	30.94
Fe	1.33×10^2	Cd	...
K	3.40×10^2	As	...
Na	1.38×10^2	Pb	...

附注 5: “...” 表示未检出

由表 3-14 可知, 长柄扁桃蛋白粉富含人体所必需的矿质元素, 其含量依次为 $P > K > Na > Fe > Mg > Cu > Zn > Ca > Mn$, Cd、As、Pb 均未检出。长柄扁桃蛋白粉中 P 含量最高, P 对于人体骨骼和牙齿等硬组织的发育及维持人体内渗透压和酸碱平衡有着重要的作用^[143]。K 作为人体常量元素, 具有调节细胞渗透压, 维持正常的神经兴奋性和心肌运动, 参与细胞内糖和蛋白质的代谢, 调节体液酸碱平衡等重要的生理功能。K 还能降低血压, 膳食中多吃一些高 K 食品, 有预防高血压的作用^[144]。微量元素 Fe 的含量为 1.33×10^2 mg/kg, Fe 是补血生命元素, 缺 Fe 或 Fe 的利用不良, 会造成血红蛋白等失常, 导致氧的运输储存、电子传递等代谢过程紊乱, 产生病理变化, 发生各种疾病。Mg 不仅可以起到与 P 相同的作用, 还是心血管系统的保护因子, 适当补充 Mg 盐可减少心肌梗塞的死亡率。微量元素 Zn 的含量 30.94 mg/kg, Zn 也是人体重要酶所必需的元素, 除了与 RNA、DNA 和蛋白质的生物合成有关外, 在维持视觉方面具有特殊功能, 长柄扁桃仁的明目作用可能与 Zn 有关。Ca 含量远高于杏仁、核桃仁和花生仁, 中国人膳食中 Ca 含量较低, 使人体对 Ca 的摄入量远远不足, 而一般的补 Ca 药物吸收性普遍较差, 所以扁桃仁是优良的补 Ca 食品。

由以上结果可看出, 长柄扁桃蛋白粉矿物质元素含量丰富, 且未检出 Cd、As、Pb, 可作为重要的矿物质营养来源。

3.2.3.4 维生素含量分析

V_{B1} 又名硫胺素, 具有维持正常糖代谢及神经消化系统功能, 用于防治缺乏 V_{B1} 所致的脚气病, 也可用于神经炎、消化不良等症的辅助治疗^[145]。 V_{B2} 又称核黄素, 是机体必需的微量营养素之一, 主要生理功能是参与生物氧化及能量的代谢, 维持皮肤粘膜完整性, 参与药物代谢、抗氧化和视觉感光过程, 影响肾上腺素产生和红细胞形成等^[146]。 V_C 作为维持机体正常生理功能的重要维生素之一, 除广泛参与机体氧化、还原等复杂代谢过程, 还促进体内胶原蛋白和粘多糖的合成, 增加机体抵抗力^[147]。 V_E 是一种脂溶性维生素, 广泛存在于植物油中, 具有保护机体组织结构完整性、增强机体免疫力等功能^[148]。

长柄扁桃蛋白粉维生素含量见表 3-15。

表 3-15 长柄扁桃蛋白粉与常见蛋白粉维生素含量比较^[104]/(mg/100g)

Tab.3-15 Comparison of vitamin content of *Amygdalus pedunculatus* Pall

protein powder and other protein ^[104] /(mg/100g)			
维生素	长柄扁桃蛋白粉	花生蛋白粉	大豆蛋白粉
V_{B1}	0.18	0.84	0.90
V_{B2}	1.35	0.17	0.24
V_C	4.66	—	—
V_E	0.41	—	—
V_{B6}	...	—	—

附注 6: “...” 表示未检出; “—” 表示未测定

由表 3-15 可知, 长柄扁桃蛋白粉中 V_{B1} 含量为 0.18 mg/100g, 低于花生蛋白粉及大豆蛋白粉。 V_{B2} 含量为 1.35 mg/100g, 是花生蛋白粉的 7.9 倍, 大豆蛋白粉的 5.6 倍。此外, 长柄扁桃蛋白粉还含有 V_C 及 V_E , 含量分别为 4.66 mg/100g、0.41 mg/100g。 V_{B6} 没有在长柄扁桃蛋白粉中检出, 这可能是因为维生素对热很敏感, 大多数维生素可能在加工提取过程中丢失^[149,150,151]。

3.3 最终残渣

长柄扁桃脱脂粕经提苦杏仁苷、蛋白粉后, 会产生一部分残渣。残渣的综合利用对解决我国养殖业蛋白饲料资源的短缺问题具有重要的现实意义。

评定饲料营养价值的指标, 总的说来可分两大类: 一类是按饲料的一般成分

来表示,主要有水分、灰分、粗脂肪、粗蛋白等指标;另一类是按饲料所含营养物质的用途评定其营养价值,主要有氨基酸、矿质元素和维生素等指标。本部分对长柄扁桃最终残渣的一般成分及营养成分进行分析,进一步对其营养价值进行客观评定,为将其开发为蛋白饲料或饲料添加剂提供参考。

3.3.1 一般成分分析

长柄扁桃最终残渣与常见饲料一般成分比较见表 3-16。

表 3-16 最终残渣与常见饲料^[152]一般成分的比较/%

Tab.3-16 Comparison of common composition of
the final residue and common feed /%

名称	水分	灰分	粗脂肪	粗蛋白
长柄扁桃最终残渣	7.62	8.38	16.50	33.70
稻谷	14.00	4.60	1.60	7.80
小麦麸	13.00	4.90	3.90	15.70
米糠	13.00	7.50	16.50	12.80

由表 3-16 可知,最终残渣水分为 7.62 %, 低于稻谷、小麦麸及米糠。灰分为 8.38 %, 高于稻谷、小麦麸及米糠。粗脂肪含量为 16.50 %, 与米糠相当, 分别为稻谷及小麦麸的 10.3、4.2 倍。动物饲料中添加脂肪可使畜禽增重提高 15 %~20 %, 它可使氨基酸减少氧化而有较多的氨基酸转化成体蛋白, 提高氨基酸的消化率, 还可有效提高饲料的适口性。粗蛋白含量 33.70 %, 分别为稻谷、小麦麸及米糠的 4.3、2.1 及 2.6 倍, 这是因为长柄扁桃脱脂粕在提取苦杏仁苷和蛋白粉的过程中, 浸出大量杂质, 因此, 最终残渣中粗蛋白含量仍较高。

3.3.2 氨基酸含量分析

长柄扁桃最终残渣与常见饲料氨基酸含量比较见表 3-17。

由表 3-17 可知, 长柄扁桃最终残渣含有 18 种氨基酸, 总氨基酸含量为 33.65 g/100g, 8 种必需氨基酸含量为 10.46 g/100g, 分别是稻谷、小麦麸及米糠的 4.0、2.7 及 2.2 倍。此外, 长柄扁桃最终残渣中也含有一些具有特殊营养价值的氨基酸, 含量依次为精氨酸>组氨酸>胱氨酸>酪氨酸, 均高于稻谷、小麦麸, 与米糠。

表 3-17 最终残渣与常见饲料^[52]氨基酸组成及含量的比较/(g/100g)Tab.3-17 Comparison of amino acid contents of the final
residue and common feed /(g/100g)

氨基酸种类	长柄扁桃最终残渣	稻谷	小麦麸	米糠
天门冬氨酸	3.78	—	—	—
苏氨酸*	1.34	0.25	0.43	0.48
丝氨酸	1.51	—	—	—
谷氨酸	7.19	—	—	—
脯氨酸	1.77	—	—	—
甘氨酸	2.21	—	—	—
酪氨酸	0.51	0.37	0.28	0.50
苯丙氨酸*	2.04	0.40	0.58	0.63
赖氨酸*	1.13	0.29	0.58	0.74
丙氨酸	1.71	—	—	—
胱氨酸	0.73	0.16	0.26	0.19
缬氨酸*	1.78	0.47	0.63	0.81
蛋氨酸*	0.31	0.19	0.13	0.25
异亮氨酸*	1.20	0.32	0.46	0.63
亮氨酸*	2.45	0.58	0.81	1.00
组氨酸	0.80	0.15	0.39	0.39
色氨酸*	0.21	0.10	0.20	0.14
精氨酸	2.98	0.57	0.97	1.06
必需氨基酸	10.46	2.60	3.82	4.68
总氨基酸	33.65			

附注 7：“*”表示必需氨基酸；“—”表示未测定

3.3.3 矿质元素含量分析

长柄扁桃最终残渣矿质元素含量与常见饲料比较见表 3-18。

由表 3-18 可见，长柄扁桃最终残渣中各矿质元素含量依次为 $K > P > Mg >$

$\text{Ca} > \text{Na} > \text{Fe} > \text{Zn} > \text{Mn} > \text{Cu}$, 其中 K 含量为 $1.01 \times 10^4 \text{ mg/kg}$, 是稻谷的 3.0 倍, 低于小麦麸及米糠。矿质元素 P 含量为 $8.00 \times 10^3 \text{ mg/kg}$, 是稻谷的 2.2 倍, 低于小麦麸及米糠。Ca 含量为 $4.24 \times 10^3 \text{ mg/kg}$, 分别为稻谷、小麦麸及米糠的 14.1、3.9、6.1 倍。重金属 Cd 和 Pb 含量分别为 0.01 mg/kg 、 0.18 mg/kg , As 未检出。可见, 长柄扁桃最终残渣中含有多钟有益的矿质元素, 营养价值优于稻谷、小麦麸等常见饲料。

表 3-18 最终残渣与常见饲料^[152]矿质元素含量的比较/(mg/kg)

**Tab.3-18 Comparison of mineral elements content of the
final residue and common feed /(mg/kg)**

成分	长柄扁桃最终残渣	稻谷	小麦麸	米糠
Ca	4.24×10^3	3.00×10^2	1.10×10^3	7.00×10^2
Mg	5.00×10^3	7.00×10^2	5.20×10^3	9.00×10^3
P	8.00×10^3	3.60×10^3	9.20×10^3	1.43×10^4
Fe	2.10×10^2	40.00	1.70×10^2	3.04×10^2
K	1.01×10^4	3.40×10^3	1.19×10^4	1.73×10^4
Na	2.73×10^3	4.00×10^2	7.00×10^2	7.00×10^2
Mn	36.60	20.00	1.04×10^2	1.76×10^2
Cu	13.60	3.50	13.80	7.10
Zn	85.80	8.00	96.50	50.30
Cd	0.01	—	—	—
As	...	—	—	—
Pb	0.18	—	—	—

附注 8: “...” 表示未检出; “—” 表示未测定

结 论

1. 结论

(1) 苦杏仁苷提取工艺

长柄扁桃仁经高温灭酶、超声提油后,以 100g 脱脂粕为原料,乙醇为提取溶剂,经单因素及正交实验确定实验室小试提取最优工艺为:按料液比 1:9 (w/v) 加入乙醇,时间 65 min,温度 75 ℃,在此条件下,苦杏仁苷提取率为 73.08 %;分离纯化工艺:粗品按料液比 1:30 (w/v) 加入 95 %乙醇结晶 24 h,即得苦杏仁苷产品,纯度为 96.20 %,总收率为 43.07 %。

(2) 蛋白粉提取

利用碱溶酸沉法从脱脂、提苦杏仁苷后长柄扁桃粉中提取蛋白粉,通过单因素及正交实验确定最佳工艺条件为:溶液 pH 10.5,料液比 1:25 (w/v),温度 60 ℃,时间 45 min,再调节提取液 pH 至 4.5 沉淀蛋白,经干燥后即可制得优质长柄扁桃蛋白粉,总提取率为 41.5 %。放大实验是在小试实验基础上,进行 90 倍放大提取,蛋白粉总提取率为 40.6 %,放大工艺与小试工艺的结果基本一致,得到满意的放大效果。

对长柄扁桃蛋白粉进行一般成分、氨基酸、维生素、微量金属元素测定,结果表明,长柄扁桃蛋白粉蛋白含量为 95.79 %,是一种高蛋白资源;氨基酸组成及含量比较丰富,包括 8 种人体不能合成的必需氨基酸及一些具有特殊功能的氨基酸;含有多人体必需的矿质元素,未检出 Pb、Cd、As;水溶性及脂溶性维生素含量也比较丰富。长柄扁桃蛋白粉营养价值较高,其食用安全性有待于进一步研究。

(3) 最终残渣分析

实验结果表明,长柄扁桃最终残渣水分为 7.62 %,灰分 8.38 %,粗脂肪 16.50 %,粗蛋白 33.70 %;含有植物中存在的 18 种氨基酸,氨基酸总量为 33.65 g/100g,其中 8 种必需氨基酸总量为 10.46 g/100g;矿质元素含量也很丰富。可见,长柄扁桃最终残渣营养价值较高,可考虑作为动物饲料或饲料添加剂使用。

2. 实验展望

课题组已对长柄扁桃仁进行了系统的开发研究,主产品是长柄扁桃食用油,对脱脂粕进行苦杏仁苷、蛋白粉的提取,最终残渣可作为动物饲料,种皮可用于

提取黑色素。

本论文完成了苦杏仁苷小试、蛋白粉小试及放大提取工艺研究，后期将进行苦杏仁苷的实验室放大工艺研究。在苦杏仁苷的放大实验中，将对提取溶剂的乙醇浓度、提取次数、料液比等做详细考察，以在提高提取率的同时，降低经济成本；提取所得的苦杏仁苷粗品中杂质含量较多，粗品的分离纯化将是重点考察部分。后续实验还将对蛋白粉进行食用安全性评价（Ames 试验、小鼠骨髓细胞微核试验、90 天喂养试验等），并对最终残渣的饲用价值进行全面分析。

参考文献

- [1] 苏贵兴, 姚玉卿. 我国的野生扁桃资源[J]. 野生植物研究, 1983 (2): 7-11.
- [2] 潘晓云, 王根悬, 曹孜义. 扁桃在我国的适宜气候生态引种区研究[J]. 生态学报, 2000(11): 1070.
- [3] 郭春会, 梅立新, 张檀等. 扁桃的园艺技术[M]. 北京: 中国标准出版社, 2001, 1-19.
- [4] 王百田, 王斌瑞. 黄土高原干旱半干旱地区持续林业建设与降水资源合理利用[M]. 北京: 中国林业出版社, 1994, 16-35.
- [5] 胡新生, 王世绩. 树木水分胁迫生理耐旱性研究进展及展望[J]. 林业科学, 1998, 34(2): 77-78.
- [6] 孙丽敏, 侯旭光. 干旱、半干旱地区植被治沙造林技术措施[J]. 防护林科技, 2005, (4): 90-92.
- [7] 熊伟, 王彦辉, 于澎涛. 树木水分利用效率研究进展[J]. 生态学杂志, 2005, 24(4): 417-421.
- [8] 赵一之. 内蒙古珍稀濒危植物图谱[M]. 北京: 中国农业科技出版社, 1992: 36-37.
- [9] 李等武, 党坤良, 温仲明. 黄土高原地区种子植物区系中的珍稀濒危植物研究[J]. 西北植物学报, 2004, 24(23): 2321-2328.
- [10] 南炳辉. 沙地适生灌木繁殖栽培技术[J]. 中国沙漠, 1998, (12): 394-398.
- [11] 温阳, 吴喜发, 王晶等. 几个乡土树种生物学特性及育苗技术研究[J]. 内蒙古林业科技, 2003,(3): 30-34.
- [12] 刘志民. 西藏日喀则固沙植物引种的比较研究[J]. 中国沙漠, 1996, (9): 327-331.
- [13] 程中平, 陈志伟, 胡春根. 利用分子标记对桃属植物种的识别及其亲缘关系分析[J]. 华中农业大学学报, 2001, 20(3): 199-204.
- [14] 赵珍. 扁桃资源及其利用[J]. 内蒙古林业科技, 2004, (12):17.
- [15] Sathe S K. Solubilization, electrophoretic characterization and in vitro digestibility of almond (*Puruns amygdalus*) protien[J]. Journal of Food Biochemistry, 1993, 16: 249-264.

- [16] Sze-Tao K W C, Sathe S K. Functional properties and in vitro digestibility of almond (*Prunus dulcis* L.) protein isolate[J]. Food Chemistry, 2000, 69: 153-160.
- [17] 王燕, 魏蔚, 董发昕等. 长柄扁桃仁的营养成分分析[J]. 西北大学学报(自然科学版), 2009, 39(1): 59-62.
- [18] 郭春会, 罗梦, 马玉华等. 沙地濒危植物长柄扁桃特性研究进展[J]. 西北农林科技大学学报(自然科学版), 2005, 33(12): 125-128.
- [19] 孙贵荣, 白永祥. 内蒙古生态建设与优良植物树种选择的探讨[J]. 内蒙古林业科技, 2004, (3): 29-31.
- [20] 田渭花, 王高学, 李聪等. 长柄扁桃叶指环虫活性部位的研究[J]. 广州化工, 2009, 37(2): 70-73.
- [21] 匡海学. 中药化学[M]. 北京: 中国中医药出版社, 2003.
- [22] 刘小平, 李湘南, 徐海星. 中药分离工程[M]. 北京: 化学工业出版社, 2005: 10-28.
- [23] 汪茂田, 谢培山, 王忠东等. 天然有机化合物提取分离与结构鉴定[M]. 北京: 化学工业出版社, 2004.
- [24] 卢艳花. 中药有效成分提取分离技术[M]. 北京: 化学工业出版社, 2005.
- [25] 曹光明. 中药浸提物生产工艺学[M]. 北京: 化学工业出版社, 2009.
- [26] 卢晓江. 中药提取工艺与设备[M]. 北京: 化学工业出版社, 2004.
- [27] 陈圆华, 谢志兵. 黄姜中薯蓣皂甙元的超声波提取技术[J]. 经济林研究, 2008, 26(4): 83-85.
- [28] 王文莉, 俞作仁, 陈立德. 超声波提取技术对番泻叶总番泻甙提出率的影响[J]. 卫生职业教育, 2003, 21(9): 130-131.
- [29] 王化田, 祖元刚, 毛子军. 超临界 CO₂ 萃取红景天中红景天苷、苷元酪醇的研究[J]. 植物研究, 2004, 24(4): 462.
- [30] 李平华, 赵汉臣, 闫荟. CO₂ 超临界流体萃取乳香的工艺研究[J]. 中国药房, 2007, 1(33): 2584-2585.
- [31] 葛发欢, 黄星, 谭晓华等. 非离子表面活性剂对超临界从苦参中萃取苦参碱类的影响[J]. 中药材, 2003, 26(6): 426-427.
- [32] 余佳红, 柳正良, 王春燕等. 超临界流体萃取-胶束电动毛细管电泳法测定

- 银杏叶粗提取中槲皮素和山柰素的含量[J]. 第二军医大学学报, 2000, 21(10): 958-960.
- [33] Kohler M, Haerdi W, Christen P, *et al.* Extraction of artemisinin and artemisinic acid from *artemisia annua* L. using supercritical CO₂ [J]. *Journal Chromatography A*, 1997, 785(1~2): 353-360.
- [34] 刘莹珍, 廖伟明. 超临界 CO₂ 流体技术在精制丹参酮 II_A 细粉中的研究[J]. 河北中医药学报, 2006, 21(1): 19-20.
- [35] 刘红梅, 张明贤. 白芷中香豆素类成分的超临界流体萃取和 GC-MS 分析[J]. 中国中药杂志, 2004, 29(3): 214-244.
- [36] Lojkova L. SFE of lignans from seeds and leaves of *schizandra chinensis*[J]. *Phytochemical Analysis*, 1997, 8(5): 261-265.
- [37] 葛云初, 黎阳. 超临界流体萃取技术及其在中药提取中的应用[J]. 现代药物与临床, 2009, 24(5): 279-282.
- [38] 张兆旺, 孙秀梅. 半仿生提取法的特点与应用[J]. 世界科学技术-中药现代化, 2000, 2(1): 35-37.
- [39] 王宇卿, 闫明, 贺金华等. 中药半仿生提取法的研究进展[J]. 医药导报, 2007, 26(7): 754-756.
- [40] 潘学军, 刘会洲, 徐永源. 微波辅助提取(MAE)研究进展[J]. 化学通报, 1999, (5): 7-14.
- [41] 干建松, 赵玉萍. 微波辅助提取技术(MAE)研究和应用进展[J]. 现代食品科技, 2005, 21(3): 155-158.
- [42] 郑亚军, 李艳, 陈华等. 酶法提取椰子蛋白质及其对亚基的影响[J]. 果树学报, 2009, 26(1): 113-11.
- [43] 韩爱霞, 任彦蓉. 决明子中总黄酮的酶法提取工艺研究[J]. 广东化工, 2009, 36(8): 193-195.
- [44] 黄山, 公衍玲, 金宏. 酶法提取绞股蓝总皂苷工艺条件的优化[J]. 食品工业科技, 2009, (4): 178-273.
- [45] Chia-Kai S, Been H C. Partitioning and purification of lysozyme from chicken egg white using aqueous two-phase system[J]. *Process Biochemistry*, 2006, 41(2): 257-263.

- [46] Harve R, Bajpai R K. Production and purification of tartrate dehydrogenase: Role of aqueous two phase extraction[J]. Applied Biochemistry and Biotechnology, 1998, (70): 677-66.
- [47] Pan L H, Yao H J, Li Y K. Effective extraction and purification of β -xylosidase from *Trichoderma konigiiform* entation culture by aqueous two-phase partitioning[J]. Enzyme and Microbial Technology, 2001, (2):196-201.
- [48] 黄瑛, 尹利, 闫云君. 双水相萃取法分离纯化洋葱假单胞菌 G-63 脂肪酶[J]. 现代化工, 2007, 27(2): 300-305.
- [49] 薛琨, 李蕾, 练萍. PEG800-Tween 80-(NH₄)₂SO₄-H₂O 双水相萃取紫外分光光度法测定银杏叶中的芦丁[J]. 化学分析计量, 2004, 13(5): 34-36.
- [50] 朱自强, 关怡新, 李勉. 双水相系统在抗生素提取和合成中的应用[J]. 化工学报, 2001, 52(12): 1039-1048.
- [51] 邓凡政, 石影, 张广军. 聚乙二醇-硫酸钠-硫氰酸钾体系中 Co(II)、Ni(II)、Mo(IV)的萃取分离研究[J]. 稀有金属, 1998, 22(3): 188-190.
- [52] 聚乙二醇-铬黑 T-硫酸钠双水相中锌的测定[J]. 中国卫生检验杂志, 2009, 19(1): 67-68.
- [53] 钟宁, 王佩迪. 膜技术在中药提取分离、制备中的应用[J]. 安徽医药, 2007, 11(1): 5-7.
- [54] 胡伟, 李湘洲, 孟维等. 膜分离技术在植物有效成分分离与纯化中的应用进展[J]. 化学工程与装备, 2009, (6): 95-97.
- [55] 游双银, 尹卫平, 张丽等. 聚酰胺膜在橄榄苦苷分离上的工艺研究[J]. 中成药, 2007, 29(8): 1235-1238.
- [56] 高晓明, 张效林, 李振武. 微孔滤膜与大孔树脂纯化苦瓜皂苷的工艺研究[J]. 食品与机械, 2006, 22(4): 49-51.
- [57] 梁峰, 张成功, 马铭等. 乳状液膜分离提取荷叶中 3 种生物碱[J]. 精细化工, 2007, 24(6): 565-570.
- [58] 叶晓, 俞军, 易剑平等. 利用膜法分离姬松茸多糖的研究[J]. 食品科技, 2006, (2): 44-46.
- [59] 王士勇, 都丽红, 许莉. 纳滤分离技术在银杏叶提取物生产中的试验研究[J].

- 化工装备技术, 2008, 29(3): 15-18.
- [60] 高红宁, 金万勤, 郭立玮. 微滤-超滤法精制苦参水煎液的工艺研究[J]. 中药新药与临床药理, 2009, 20(6): 571-573.
- [61] 欧敏功, 苏记, 陈亚平等. 膜分离技术精制塔拉单宁酸的研究[J]. 林业科技, 2009, 34(4): 65-66.
- [62] 张太龙, 张宗和. 膜分离技术制备高纯单宁酸的研究[J]. 生物质化学工程, 2007, 41(4): 1-5.
- [63] 李媛媛, 高彦祥. 膜分离技术纯化栀子黄色素的研究[J]. 食品科学, 2006, 27(6): 113-117.
- [64] 沙宏. 中药有效成分提取分离方法研究进展[J]. 黑龙江医药, 2004, 17(5): 375-377.
- [65] 皮文霞, 蔡宝昌, 潘扬等. 大孔树脂与活性炭富集山茱萸总苷的实验研究[J]. 中国中药杂志, 2002, 27(8): 583-584.
- [66] 吴红, 梁恒, 吴道澄等. 大孔吸附树脂法分离纯化山茱萸总苷[J]. 第四军医大学学报, 2003, 24(8): 689-692.
- [67] 何琦, 及元乔, 丁立生等. D140 大孔吸附树脂银杏黄酮提取纯化性能研究[J]. 天然产物研究与开发, 2003, 13(1): 56-58.
- [68] 杨桦, 大孔吸附树脂用于川草乌中总生物碱的分离提纯[J]. 中成药, 2000, 22(8): 53.
- [69] 南京药学院. 药物化学[M]. 人民卫生出版社, 1978: 524.
- [70] 张宇和. 果树繁殖[M]. 上海: 上海科技出版社, 1984: 438-445.
- [71] 万蜀渊. 园艺植物繁殖学[M]. 北京: 中国农业出版社, 1994: 77.
- [72] 曾骧. 果树生理学[M]. 北京: 北京农业大学出版社, 1992: 437-440.
- [73] 张元寿. 植物病理生理学[M]. 南京: 江苏科学技术出版社, 1996: 217-219.
- [74] 赵素莲, 戴兆雄, 李春华. 苦杏仁苷对小鼠脾脏 NK 细胞活性的影响[J]. 山西医学院学报, 1993, (1): 14-15.
- [75] 赵素莲, 刘桂芬, 戴兆雄. 苦杏仁甙对小鼠免疫功能的影响[J]. 山西医药杂志, 1993, (3): 166.
- [76] 李春华, 解方, 赵素莲等. 苦杏仁甙对小鼠肝枯否细胞 γ -DNA 活性及吞噬功

- 能的影响[J]. 中华实用中西医杂志, 1994, (1): 7-8.
- [77] 李春华, 赵素莲, 吴玉秀等. 苦杏仁甙对单核吞噬细胞吞噬功能的影响[J]. 山西医学院学报, 1991, 22(1): 1-4.
- [78] 常立文, 祝华平, 李文斌等. 苦杏仁甙对高氧暴露早产鼠肺泡Ⅱ型细胞的保护作用[J]. 中华儿科杂志, 2005, 43(2): 118-123.
- [79] 郭君其, 盛明雄, 王灵杰等. 苦杏仁甙抑制成人肾脏成纤维细胞的增殖[J]. 中国组织工程研究与临床康复, 2008, 12(18): 3575-3678.
- [80] 方伟蓉, 李运曼, 钟林霖. 苦杏仁甙对佐剂性炎症影响的实验研究[J]. 中药临床药理学与治疗学, 2004, 9(3): 289-293.
- [81] 穆静. 苦杏仁甙的研究进展[J]. 中医药信息, 2002, 19(3): 19-21.
- [82] 李强, 徐小琴, 李艳等. 酸法水解苦杏仁苷的研究[J]. 中国现代中药, 2009, 11(1): 23-25.
- [83] 张红城, 尹策, 懂捷等. 杏花花粉中苦杏仁甙的提取工艺的研究[J]. 食品科学, 2007, 28(7): 236-241.
- [84] 吴丽珠, 肖印宇. 苦杏仁甙生产工艺研究[J]. 黑龙江医药, 2001, 14(5): 352-354.
- [85] 车凤斌. 苦杏仁甙提取工艺研究[J]. 食品工业科学, 1997, (3): 11-13.
- [86] 崔国庭, 田呈瑞. 苦杏仁苷乙醇提取技术研究[J]. 工艺技术, 2005, (3): 118-119.
- [87] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典(2000 年版): 一部. 北京: 化学工业出版社, 2000. 160.
- [88] 庞志功, 汪宝琪. 化学发光猝灭法测定苦杏仁苷[J]. 中国药科大学学报, 1990, 21(3): 155-158.
- [89] Tetsu T, Koichiro T. Interference-based amygdalin sensor with emulsion and peroxides[J]. Sensor Actuator, 1998, B49: 268.
- [90] Merkocia A, Braga S. A potentiometric biosensor for D-amygdalin based on a consolidated biocomposite membrane[J]. Analytica Chimica Acta, 1999, (391): 65-72.
- [91] 欧阳津. 流动注射-原子吸收法测定苦杏仁苷[J]. 分析化学, 1993, 21(11): 1361

- [92] 李强, 陈锦屏. 苦杏仁中苦杏仁甙的水提取工艺及其含量的测定[J]. 食品科学, 2006, 27(9): 140-143.
- [93] 易骏. 3 种不同产地桃仁中苦杏仁甙含量测定[J]. 时珍国医药, 2000, 11(7): 597-598.
- [94] 陈强, 张兰. 高效液相色谱法测定青梅核仁中苦杏仁甙的含量[J]. 海峡科学, 2007, (6): 112-113.
- [95] 甄攀, 王德宝, 贾天军等. 郁李仁中苦杏仁甙的 HPLC 分析[J]. 张家口医学院学报, 2002, 19(5): 13-14.
- [96] 吕伟峰, 丁明玉. 高效液相色谱法测定山楂中的苦杏仁甙[J]. 色谱, 2005, 23(5): 496-498.
- [97] Ja Y K, Eun Y H, Sonhae C, *et al.* Quantitative determination of amygdalin epimers from armeniacaee semen by liquid chromatography[J]. Journal of Chromatography B, 2005, (814): 69-73.
- [98] Ge B Y, Chen H X, Han F M, *et al.* Identification of amygdalin and its major metabolites in rat urine by LC-MS/MS[J]. Journal of Chromatography B, 2007, (857): 281-286.
- [99] 胡润淮. 薄层扫描法测定麻黄汤冲剂中苦杏仁甙含量的研究[J]. 河南中医学院学报, 1995, 10(5): 14-15.
- [100] Ellen S, F.Javier N, Carlos J C, *et al.* Estimates of animal and plant protein intake in US adults: results from the third national health and nutrition examination survey, 1988-1991 [M]. Journal of the American Dietetic Association, 1999, 99(7): 813-820.
- [101] 李德远, 文德卿, 苏喜生等. 蚕丝蛋白饮料的稳定性研究[J]. 食品科学, 1995: 16(1): 11.
- [102] 唐新科, 周平兰, 谭爱武. 菠菜叶绿体蛋白质的提取与分离[J]. 湘潭师范学院学报(自然科学版), 2008, 30(4): 33-35.
- [103] 晏家友, 贾刚. 玉米蛋白粉的营养价值机器应用概况[J]. 饲料工业, 2009, 30(15): 53-55.
- [104] 宋曰钦, 王建中, 赵云霞等. 苦杏仁蛋白开发利用的前景[J]. 食品科学, 2006, 22(1): 68-70.

- [105] 包秀萍, 郭丽梅, 崔岩等. 板栗花粉脂肪酸和蛋白质提取工艺研究[J]. 江西饲料, 2009, (5): 5-8.
- [106] 董贝森, 董贝磊, 陆晓滨. 花生蛋白粉制取及应用研究[J]. 粮油食品科技, 1998, (4): 14-16.
- [107] 代君君, 范涛, 吴传华等. 丝胶蛋白粉的制备及其物理性质初探[J]. 畜牧兽医科学, 2008, 24(4): 16-18.
- [108] 李颖, 易晓华, 李庆典. 新疆巴丹姆种仁高级脂肪酸与氨基酸营养评价[J]. 中国食品学报, 2004, 4(4): 64-70.
- [109] 高锦明. 植物化学[J]. 北京: 科学出版社, 2003: 103-108.
- [110] 王洪新, 胡昌云. 茶叶蛋白质提取及初步纯化研究[J]. 食品工业科技, 2004, (12): 69-73.
- [111] 杨伟强, 李鹏, 袁涛等. 从花生蛋白粉中提取花生分离蛋白的条件优化[J]. 中国油脂, 2009, 34(1): 34-37.
- [112] 李淑萍, 徐心诚, 冯爱华. 蚂蚁蛋白质提取方法的比较研究[J]. 信阳师范学院学报, 2009, 22(4): 537-540.
- [113] 朱勇, 朱明军, 邓毛程等. 米酒糟制备蛋白粉的研究[J]. 现代食品科技, 2009, 25(8): 948-951.
- [114] 王忠英. 茶叶蛋白的提取及理化性质的研究[D]. 杭州: 浙江工商大学, 2006.
- [115] 徐建国, 胡青平, 王向东. 盐溶法提取桑椹籽蛋白质的参数优化[J]. 中国粮油学报, 2009, 24(6): 148-151.
- [116] 王瑛瑶. 水酶法从花生中提取油与水解蛋白的研究[D]. 无锡: 江南大学, 2005.
- [117] 李维胜, 李昱喆, 井闽. 木瓜蛋白酶水解黄粉虫蛋白提取氨基酸工艺条件优化的研究[J]. 现代农业科技, 2007, (4): 107-111.
- [118] 程波, 户业丽, 吕中等. 人工养殖鲟鱼鱼皮制备蛋白粉的工艺研究[J]. 饲料工业, 2007, 28(22): 24-27.
- [119] 郑亚军, 陈华, 李艳等. 椰子分离蛋白质提取工艺的研究[J]. 食品工业科技, 2009, (1): 226-230.

- [120] SF.奥斯伯, RE.金斯顿, JG.塞德曼等. 精编分子生物学实验指南, 颜子颖, 王海林译, 金冬雁校, 科学出版社, 1998.
- [121] GB/T 5009.3-2003, 食品中水分的测定[S]. 北京: 中国标准出版社, 2004.
- [122] GB/T 5009.4-2003, 食品中灰分的测定[S]. 北京: 中国标准出版社, 2004.
- [123] GB/T 5009.5-2003, 食品中蛋白质的测定[S]. 北京: 中国标准出版社, 2004.
- [124] GB/T 5009.6-2003, 食品中脂肪的测定[S]. 北京: 中国标准出版社, 2004.
- [125] GB/T 5009.124-2003, 食品中氨基酸含量测定[S]. 北京: 中国标准出版社, 2003.
- [126] GB/T 5009.91-2003, 食品中钾、钠的测定[S]. 北京: 中国标准出版社, 2004.
- [127] GB/T 5009.92-2003, 食品中钙的测定[S]. 北京: 中国标准出版社, 2004.
- [128] GB/T 5009.90-2003, 食品中铁、镁、锰的测定[S]. 北京: 中国标准出版社, 2004.
- [129] GB/T 5009.14-2003, 食品中锌的测定[S]. 北京: 中国标准出版社, 2004.
- [130] GB/T 5009.13-2003, 食品中铜的测定[S]. 北京: 中国标准出版社, 2004.
- [131] GB/T 5009.11-2003, 食品中总砷及无机砷的测定[S]. 北京: 中国标准出版社, 2004.
- [132] GB/T 5009.12-2003, 食品中铅的测定[S]. 北京: 中国标准出版社, 2004.
- [133] GB/T 5009.15-2003, 食品中镉的测定[S]. 北京: 中国标准出版社, 2004.
- [134] 南京农业大学. 土壤农化分析[M]. 北京: 农业出版社, 1986: 216-217.
- [135] GB/T 5009.82-2003, 食品中维生素 A 和维生素 E 的测定[S]. 北京: 中国标准出版社, 2004.
- [136] GB/T 5009.84-2003, 食品中硫胺素(维生素 B1)的测定[S]. 北京: 中国标准出版社, 2004.
- [137] GB/T 5009.85-2003, 食品中核黄素的测定[S]. 北京: 中国标准出版社, 2004.
- [138] GB/T 5009.86-2003, 食品中蔬菜、水果及其制品中总抗坏血酸的测定[S]. 北京: 中国标准出版社, 2004.
- [139] GB/T 5009.154-2003, 食品中维生素 B6 的测定[S]. 北京: 中国标准出版社, 2004.

- [140] 孙文基, 谢世昌. 天然药物成分定量分析[M]. 中国医药科技出版社, 2003, 26.
- [141] 邓毅, 张艳萍. 甘肃镇原杏仁中苦杏仁甙的提取及含量测定[J]. 甘肃中医, 2000, 13(1): 51-52.
- [142] 王光亚. 食物成分表: 全国分省值[M]. 北京: 人民卫生出版社出版.1992.
- [143] NRC (National Research Council). Nutrient Requirements of Fish. National Academic Press, Washington, DC, 1993.
- [144] 孙远明, 余群力主编. 食品营养学[M]. 北京: 中国农业大学出版社, 2002.
- [145] 郭敏, 卢建中. 维生素B1的分析方法概述[J]. 江西中医学院学报, 2007, 19(2): 96-98.
- [146] 吴琼, 刘伟. 核黄素及其生物学功能[J]. 饲料博览, 2005, (12): 36-37.
- [147] 张高蓉. 维生素C检测方法研究进展[J]. 中国卫生检验杂志, 2009, 19(2): 457-460.
- [148] 王传蓉, 王加启, 周振峰等. 维生素E的免疫研究进展[J]. 中国畜牧兽医, 2008, 35(8): 24-28.
- [149] Yoshiyomi B. Depletion of ascorbic acid derivatives in fish feed by the production process[J]. Fisheries Science, 2004, 70: 1153-1156.
- [150] Robinson E H. Practical guide to nutrition feed, and feeding of catfish[J]. Maine Agricultural Experiment Station Bulletin, 1991: 979.
- [151] Ng W, Keembiyehetty C N, Wilson R P. Bioavailability of niacin from feed ingredients commonly used in feeds for channel catfish[J]. Ictalurus punctatus. Aquaculture, 1998, 161: 393-404.
- [152] 熊本海, 庞之光, 罗清尧. 中国饲料成分及营养价值表[J]. 中国饲料, 2009, (21): 30-35.

附录



报告编号(Report ID): 0912181-089



检测报告 (Testing Report)

样品名称
(Sample Description)

长柄扁桃蛋白粉

委托单位
(Applicant)

西北大学化学与材料科学学院





(Test Results)

第 1 页, 共 2 页 (page 1 of 2)

51

防伪说明: (1)《检测报告》的页码编号是唯一的, 即每一个版次编号就对应唯一的《检测报告》;
(2)《检测报告》: 采用防伪油墨印刷, 纸张表面有“POH”防伪纹路, 该防伪纹路不易复印, 即复制件不会富有“POH”防伪纹路;
(3)《检测报告》: 采用的防伪油墨在室内亦即有紫外线“POH”防伪水印, 在有紫外线光源外照射下可显示出“POH”防伪字样。

Pony Testing International Group

www.ponytest.com	Hotline 400-819-5688	
Add. Yingzhi Building, No. 40-3, Suzhou Road, Haodian District, Beijing	Building 35, No. 680, Gaiping Road, Xuhui District, Shanghai	Building 6 of Zhongying Industry City, Changyang Road, Nanshan District, Shenzhen
Tel: (010) 62611118	(021) 64851999	(0755) 29050900
Fax: (010) 62611629	(021) 64853403	(0755) 26004136
E-mail: pony@ponytest.com	china@ponytest.com	sz@ponytest.com.cn



Pony Testing International Group

检测结果

(Test Results)

报告编号(Report ID): 0911241-045

第 2 页, 共 2 页 (page 2 of 2)

样品名称和编号 (Sample Description and Number)	检测项目 (Test Item)	检测结果 (Test Result)
0911241-045 长柄扁桃蛋白粉	天门冬氨酸	9.82 g/100g
	苏氨酸	1.95 g/100g
	丝氨酸	3.07 g/100g
	谷氨酸	21.93 g/100g
	脯氨酸	3.69 g/100g
	甘氨酸	4.04 g/100g
	丙氨酸	3.77 g/100g
	胱氨酸	1.22 g/100g
	缬氨酸	4.10 g/100g
	蛋氨酸	0.69 g/100g
	异亮氨酸	2.99 g/100g
	亮氨酸	5.59 g/100g
	酪氨酸	2.33 g/100g
	苯丙氨酸	4.33 g/100g
	赖氨酸	1.33 g/100g
	组氨酸	1.78 g/100g
	色氨酸	0.70 g/100g
	精氨酸	9.10 g/100g
	总量	82.44 g/100g
以下空白 (End of Report)	以下空白 (End of Report)	以下空白 (End of Report)

本检测报告依据国家有关标准, 并按照国家单位的商业标准进行编写。委托单位对样品的代表性和资料的真实性负责。本检测单位仅对样品负责, 委托单位对检测结果的运用, 使用所产生的法律责任概不负责。本检测单位不承担法律责任和法律责任。本《检测报告》和《检测报告》用于和提供他人参考或复制。如无效, 任何在本《检测报告》中出现的部分或全部内容, 均应由委托单位负责, 与检测单位无关, 检测单位不承担任何责任。

防伪说明: (1) 检测报告上标注的防伪标志, 即每个报告编号后唯一的“防伪标志”。
(2) 检测报告上标注的防伪标志, 即每个报告编号后唯一的“防伪标志”。
(3) 检测报告上标注的防伪标志, 即每个报告编号后唯一的“防伪标志”。

Pony Testing International Group

www.ponytest.com Hotline 400-819-5688
Add: Xingzhi Building, No. 49-3, Suzhou Road, Haidian District, Beijing Building 35, No. 680, Gupug Road, Changyue Road, Nanshan District, Shenzhen
Tel: (010) 82618116 Xuhui District, Shanghai 0755-26050099
Fax: (010) 82618529 (021) 64851999 (0755) 26068176
E-mail: pony@ponytest.com csh@ponytest.com cz@ponytest.com

PONY**检测结果**

(Test Results)

Pony Testing International Group

报告编号(Report ID): 0912181-089

第1页, 共3页 (page 1 of 3)

样品名称 (Sample Description)	长柄扁桃蛋白粉	样品规格 (Sample Model)	—
委托单位 (Applicant)	西北大学化学与材料科学学院	商标 (Trade Mark)	—
样品来源 (Come From)	西北大学化学与材料科学学院	生产日期或批号 (Producing of Date & Lot No.)	—
到样时间 (Received Date)	2009.12.18	检测类别 (Kind of Test)	委托检测
样品状态 (Sample State)	固态	检测环境 (Environment For Test)	符合要求
检测项目 (Test Item)	见下页		
检测依据 (Standard)	GB/T 5009.19-2008、GB/T 5009.84-2003、GB/T 5009.85-2003、 GB/T 5009.86-2003、GB/T 5009.154-2003		
所用主要仪器 (Main Instrument)	气相色谱仪、液相色谱仪、分子荧光分光光度计		
备注 (Note)	—		
	编制人 (Edited by)	王真	
	审核人 (Checked by)	谢永平	
	批准人 (Approved by)	宋薇	
	签发日期 (Issued Date)	2009.12.31	

本检测单位保证检测的数据公正性, 并对委托单位的商业秘密履行保密义务。委托单位对样品的代表性和资料的真实性负责。本检测单位仅对样品负责, 委托单位对于检测结果的运用、解释和产生的直接或间接损失及一切法律责任, 本检测单位不承担任何经济法律责任。本《检测报告》如经PONY检测单位盖章和检测人签字或复制, 则无效; 任何对本《检测报告》未经授权的部分或全部翻版、篡改、伪造或复制行为都是违法的, 将承担法律责任、行政甚至刑事责任。

防伪说明: (1)《检测报告》的编号是唯一的, 即每一个报告编号对应唯一的《检测报告》;

(2)《检测报告》采用防伪彩色底纹印制, 底纹上面印有“PONY”防伪标识, 该防伪标识不支持复印, 即复制件不会带有“PONY”防伪标识;

(3)《检测报告》采用的防伪纸张内部含有高科技“PONY”防伪水印, 只有专用设备在紫外光照射下方可显现无色荧光防伪字样;

Pony Testing International Group

www.ponytest.com ☎ Hotline 400-819-5688
 Add: Yingxi Building, No.49-3, Suzhou Road, Haidian District, Beijing Building 35, No.660, Guangpu Road, Xuhui District, Shanghai Building 6 of Zhongxing Industry City, Changyu Road, Nanshan District, Shenzhen
 Tel: (010)82618116 (021)64851999 (0755)26050909
 Fax: (010)82619639 (021)64856403 (0755)26083336
 E-mail: pony@ponytest.com csh@ponytest.com rz@ponytest.com



(Test Results)

第 2 页, 共 3 页 (page 2 of 3)

样品名称和编号 (Sample Description and Number)	检测项目 (Test Item)	检测结果 (Test Result)
0912181-089 长柄扁桃蛋白粉	六六六	未检出 (<0.01 mg/kg)
	滴滴涕	未检出 (<0.01 mg/kg)
以下空白 (End of Report)	以下空白 (End of Report)	以下空白 (End of Report)

本投票单位保证按照客观公正原则,并对委托单位的商业秘密履行保密义务;委托单位对样品的代表性和资料的真实性负责。本投票单位对样品意见,委托单位对投票结果的运用,使用所产生的直接或间接收入,均依法纳税。本投票单位不承担任何经济和法律责任。《比赛报告》如无PONY字样和授权人签字无效。同时,附寄:任何对《比赛报告》中获奖的部分内容有争议、疑问、质疑或投诉行为都是违法的,将依法追究,行政甚至刑事责任。

防伪说明: (1)《检测报告》的报告编号是唯一的, 即每一个报告编号只能对应一份《检测报告》。

2.《检测报告》采用特别防伪纸张印制,纸张表面常有“FORS”防伪纹路,该防伪纹路不支特发命,即取照片不会带有“FORS”防伪纹路。

(3) 校测报告：采电的防伪纸张内部加印有高科技“PONY”防伪水印，只有在验钞机等紫外光照射下方可显出无红黄光防伪字样；

Pony Testing International Group

www.ponytest.com

☎ Hotline 400-819-5688

Add: Yingzhi Building, No.49-3, Suzhi
Road, Haidian District, Beijing

Building 35, No. 680, Guiping Road,
Xuhui District, Shanghai

Tel: (610) 826-1811

(02) 64851949

Fax: (010) 82619629
E-mail: pony@pony-fax.com

(021) 64559463
esh.cn-online.com

Building 6 of Zhongxing Industry City,
Chuangye Road, Nanshan District, Shenzhen

(0755) 26050909

(0755) 26968336
www.panytel.com



Pony Testing International Group

检测 结果 (Test Results)

报告编号(Report ID) : 0912181-089

第 3 页, 共 3 页 (page 3 of 3)

样品名称和编号 (Sample Description and Number)	检测项目 (Test Item)	检测结果 (Test Result)
0912181-089 长柄扁桃蛋白粉	维生素 C	4.66 mg/100g
	维生素 B ₁	0.18 mg/100g
	维生素 B ₂	1.35 mg/100g
	维生素 B ₆	未检出 (<5.0 mg/kg)
	维生素 E (以 γ -VE 计)	4.06 mg/kg
以下空白 (End of Report)	以下空白 (End of Report)	以下空白 (End of Report)

本检测单位保证检测数据的客观公正性, 并出具具有法律效力的检测报告。本检测单位对样品的代表性和检测结果的真实性负责。本检测单位仅对样品负责, 委托单位对检测结果的最终使用, 使用所产生的法律责任和损失, 以及法律后果, 本检测单位不承担任何责任和法律责任。本《检测报告》如与 PONY 用章和批准人签字或盖章, 即无效; 任何对本《检测报告》未经授权擅自复制或传播, 篡改, 伪造或冒用本行与都是违法的, 本行将依法追究其法律责任。

附 录 说 明: (1)《检测报告》的编号为唯一性, 即每一个报告编号与检测项目一一对应; (2)《检测报告》采用特制防伪纸张印制, 纸张表面印有“PONY”防伪标识, 该标识仅能在本行复印, 因此复印件不会有“PONY”防伪标识; (3)《检测报告》采用特制防伪纸张印制, 纸张表面印有“PONY”防伪标识, 该标识仅能在本行复印, 因此复印件不会有“PONY”防伪标识。

Pony Testing International Group

www.ponytest.com Hotline 400-819-5688

Add: Yingchi Building, No. 49-3, Suzhou Road, Haidian District, Beijing Building 34, No. 486, Gaojing Road, Xuhui District, Shanghai Building 6 of Zhongxing Industry City, Chongqing Road, Nanshan District, Shenzhen

Tel: (010) 82618116 (021) 64831199 (0755) 26050909

Fax: (010) 82619629 (021) 64850403 (0755) 26065136

E-mail: pony@ponytest.com csh@ponytest.com sz@ponytest.com

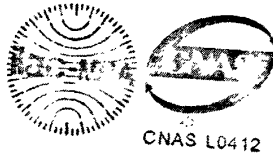
PONY

Pony Testing International Group

报告编号(Report ID): 0912181-090



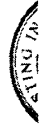
2007010407Z



CNAS L0412

检测报告

(Testing Report)



样品名称
(Sample Description)

最终残渣

委托单位
(Applicant)

西北大学化学与材料科学学院





(Test Results)

报告编号(Report ID) : 0912181-090

第 1 页, 共 5 页 (page 1 of 5)

样品名称 (Sample Description)	最终残渣	样品规格 (Sample Model)	—
委托单位 (Applicant)	西北大学化学与材料科学学院	商标 (Trade Mark)	—
样品来源 (Come From)	西北大学化学与材料科学学院	生产日期或批号 (Producing of Date & Lot No.)	—
到样时间 (Received Date)	2009.12.18	检测类别 (Kind of Test)	委托检测
样品状态 (Sample State)	固态	检测环境 (Environment For Test)	符合要求
检测项目 (Test Item)	见下页		
检测依据 (Standard)	GB/T 5009.3-2003、GB/T 5009.4-2003、GB/T 5009.5-2003、 GB/T 5009.11-2003、GB/T 5009.12-2003、GB/T 5009.90-2003、 GB/T 5009.19-2008、GB/T 5009.124-2003 等		
所用主要仪器 (Main Instrument)	原子吸收光谱仪、原子荧光光谱仪、氨基酸自动分析仪、气相色谱仪		
备注 (Note)	—		
	编制人 (Edited by)	王奕	
	审核人 (Checked by)	谢永平	
	批准人 (Approved by)	宋薇	
	签发日期 (Issued Date)	2009.12.28	

本检测单位保证检测的数据公正性,并负责分析和出具检测报告数据负责;委托单位对样品的真实性和资料的真实性负责。本检测单位保证检测数据真实,委托单位对检测数据的使用,使用单位在有效期内检测数据有效,以后因样品原因,本检测单位不承担任何责任和法律责任;本检测单位为公正和PONY等事相做大量修改和补充,无例外;任何关于本检测能力,本检测单位的部分专业检测,数据,检测结果等均有充分及适当的,并符合所有,行政及所有责任。

附说明：①《松浦集》中的“松浦”即今之“松浦”，即今之“松浦”。②《松浦集》中的“松浦”即今之“松浦”，即今之“松浦”。③《松浦集》中的“松浦”即今之“松浦”，即今之“松浦”。

Pony Testing International Group

www.ponytest.com		Hotline 400-819-5688	
Add: 107895 Huailiang No. 49-3, Suzhou 101876 Haidian District, Beijing	Building 35, No. 680, Garping Road, Changping District, Shijiazhuang	Building 6 of Zhongxing Industry City, Changping Road, Xianxin District, Shenzhen	
Tel: (010)87381516 Fax: (010)873619629	(021)64851499 (021)64854403	(0755)76010099 (0755)26066236	
E-mail: ponytest@ponytest.com		sz@ponytest.com	



检测结果

(Test Results)

报告编号(Report ID) : 0912181-090

第 3 页, 共 5 页 (page 3 of 5)

样品名称和编号 (Sample Description and Number)	检测项目 (Test Item)	检测结果 (Test Result)
0912181-090 最终残渣	总砷	未检出 (<0.01 mg/kg)
	铅	0.18 mg/kg
	铜	13.6 mg/kg
	锌	85.8 mg/kg
	镉	0.015 mg/kg
	铁	210 mg/kg
	镁	5.00×10^3 mg/kg
	锰	36.6 mg/kg
	钾	1.01×10^4 mg/kg
	钠	2.73×10^3 mg/kg
	钙	4.24×10^3 mg/kg
	硒	未检出 (<0.01 mg/kg)
	磷	0.80 %
以下空白 (End of Report)	以下空白 (End of Report)	以下空白 (End of Report)

本检测单位仅对检测内容负责, 不对委托单位的商业机密履行保密义务; 委托检测样品应具有代表性和资料的真实性, 本检测单位只对样品负责, 委托单位对检测样品的使用、使用场所的自提或回收负责, 可以全部委托。本检测单位不承担任何法律责任; 本《检测报告》是 PONY 专用检测标准, 未经 PONY 授权使用, 不得用于检测目的, 不得随意更改或篡改数据, 篡改、伪造检测数据或篡改检测结论, 将按国家法律法规予以严肃处理。

[illegible]

同《检测规范》采用的时间常数 τ 值亦加以修正,即:

www.ponytest.com ☎ Hotline 400-819-5688

Address:	Yingchi Building, No. 49-5, Suzhou Road, Haidian District, Beijing	Building 34, No. 684, Guiliping Road, Xuhui District, Shanghai	Building 6 of Zhongyuan Road, Changyang Road, N.
----------	--	--	--

Tel.	Road, Handian District, Heilong (910) 8261810	Xinlu Road, Tel. Shanghai (921) 64851999	Changyang Road, Tel. Shanghai (0755) 26050609
------	--	---	--

Pony Testing International Group

E-mail: pony@ponylcm.com
call-ponylcm.com

67



Pony Testing International Group

检测结果

(Test Results)

报告编号(Report ID) : 0912181-090

第 4 页, 共 5 页 (page 4 of 5)

样品名称和编号 (Sample Description and Number)	检测项目 (Test Item)	检测结果 (Test Result)
0912181-090 最终残渣	天门冬氨酸	3.78 g/100g
	苏氨酸	1.34 g/100g
	丝氨酸	1.51 g/100g
	谷氨酸	7.19 g/100g
	脯氨酸	1.77 g/100g
	甘氨酸	2.21 g/100g
	丙氨酸	1.71 g/100g
	胱氨酸	0.73 g/100g
	缬氨酸	1.78 g/100g
	蛋氨酸	0.31 g/100g
	异亮氨酸	1.20 g/100g
	亮氨酸	2.45 g/100g
	酪氨酸	0.51 g/100g
	苯丙氨酸	2.04 g/100g
	赖氨酸	1.13 g/100g
	组氨酸	0.80 g/100g
	色氨酸	0.21 g/100g
	精氨酸	2.98 g/100g
	氨基酸总量	33.65 g/100g
以下空白 (End of Report)	以下空白 (End of Report)	以下空白 (End of Report)

本检测单位保证检测结果的客观公正性, 并同委托单位的业务管理部门履行保密义务, 委托单位对样品的代表性和标识的真实性负责, 本检测单位仅对样品负责, 委托单位对检测结果的使用, 保证所产生的一切法律责任均与检测单位无关。本检测单位《承担任何经济和法律责任》, 本《检测报告》如无PONY专用章和检测人员签字或盖章, 即无效。在检测本《检测报告》未授权的部分或全部数据、篡改、伪造或复制行为属违法行为, 将依法追究民事、行政甚至刑事责任。

防伪说明: (1)《检测报告》的检测编号是唯一的, 即每一个报告编号均对应唯一的《检测报告》;
(2)《检测报告》采用防伪微缩纸印刷, 纸张表面印有“PONY”防伪纹路, 以防被复制或非法复印, 即被检测单位非法“PONY”防伪纹路;
(3)《检测报告》采用防伪微缩纸印刷, 纸张表面印有“PONY”防伪纹路, 以防被复制或非法复印, 即被检测单位非法“PONY”防伪纹路。

Pony Testing International Group

www.ponytest.com

Hotline 400-819-5688

Add: Yagzhi Building, No. 49-3, Suzhou

Building 33, No. 620, Guiping Road,

Building 4 of Zhongshan Industry City,

Road, Haidian District, Beijing

Xuhui District, Shanghai

Changyue Road, Nantian District, Shenzhen

Tel: (010) 82618116

(021) 64851919

(0755) 26088800

Fax: (010) 82619620

(021) 64856403

(0755) 26088326

E-mail: pony@ponytest.com

zh@ponytest.com

sz@ponytest.com



Pony Testing International Group

检测结果

(Test Results)

报告编号(Report ID): 0912181-090

第 5 页, 共 5 页 (page 5 of 5)

样品名称和编号 (Sample Description and Number)	检测项目 (Test Item)	检测结果 (Test Result)
0912181-090 最终残渣	六六六	未检出 (<0.01 mg/kg)
	滴滴涕	未检出 (<0.01 mg/kg)
以下空白 (End of Report)	以下空白 (End of Report)	以下空白 (End of Report)

本检测单位受委托检测的客户委托, 并符合本单位的商业标准服务; 委托单位提供样品, 本检测单位对样品进行检测, 本检测单位对检测结果负责, 委托单位对检测结果的使用, 使用所产生的法律责任, 均与本检测单位无关, 本检测单位不承担任何法律责任; 本《检测报告》如无PONY标志和检测人签字, 概不生效; 任何对本《检测报告》本检测单位的部分或全部数据, 篡改, 伪造或复制, 均属于违法行为, 将受到法律追究, 本检测单位不承担任何责任。

附注说明: (1)《检测报告》的编号与样品号一致, 即一个样品只有一个《检测报告》。
(2)《检测报告》采用防伪措施, 即: 所有检测单位, 均使用统一的“PONY”防伪标志, 防伪标志由本检测单位统一印制, 防伪标志上印有“PONY”字样, 防伪标志由本检测单位统一印制, 防伪标志由本检测单位统一印制。
(3)《检测报告》采用防伪措施, 即: 所有检测单位, 均使用统一的“PONY”防伪标志, 防伪标志由本检测单位统一印制, 防伪标志由本检测单位统一印制, 防伪标志由本检测单位统一印制。

Pony Testing International Group

www.ponytest.com ☎ Hotline 400-819-5688
 Add: Yangpu Building, No.49-1, Suzhou Road, Haidian District, Beijing Building 35, No.680, Guojing Road, Changping Road, Nanchang District, Shenzhen
 Tel: (010)82618116 (021)64851999 (0755)26059999
 Fax: (010)82619629 (021)64854003 (0755)26060376
 E-mail: pony@ponytest.com csh@ponytest.com sz@ponytest.com

攻读硕士学位期间取得的科研成果

1. 刘萍, 王艳, 杨赛娜等. 强阳离子交换色谱复性靶向性rhTum-5-NGR研究[J]. 西北大学学报(增刊), 已接收.
2. Xiao-Feng Yang & Ping Liu & Liping Wang, *et al.* A Chemosensing Ensemble for the Detection of Cysteine Based on the Inner Filter Effect Using a Rhodamine B Spirolactam [J]. J Fluoresc, 2008, (18): 453–459.
3. 魏蔚, 刘萍, 白斌等. 重组大肠杆菌DH5 α 生产rhTum-5-NGR培养条件的优化[J]. 西北大学学报(自然科学版), 已接收.
4. 杨赛娜, 王艳, 刘萍等. 靶向性rhTum-5-NGR包涵体的溶解及亲和色谱纯化[J]. 全国生物医药色谱学术交流会论文集, 2010, 70.

致 谢

在本论文完成之际，衷心的感谢我的导师申烨华教授。申老师严谨的治学态度、渊博的知识、大胆创新的进取精神、为人正直的品格都使我受益匪浅。三年的研究生学习和生活让我学到了很多，这份师生情谊会深深记在我心里，衷心的祝愿申老师身体健康，天天好心情！

三年中，李聪老师在实验中给予我许多宝贵的意见，在生活上给予我无微不至的关怀和热心帮助，在此表示深深的谢意！

在论文实验进行当中，王付和先生、曹文波经理提出了许多宝贵的建议以及热心帮助，在此向王老师和曹经理致以衷心的感谢！感谢硕士研究生李冰、惠琅、刘莹、石利利、梁凉、陈俏、李青等同学，还有本科生郭小梅、白斌、王艳、杨赛娜等同学，在学习、实验工作中给予我的帮助！

感谢我亲爱的家人对我生活的无私奉献及大力支持，家人的鼓励始终伴随着我，使我在任何时刻都保持着前进的动力，感谢她们为我所做的一切！

感谢西北大学化学与材料科学学院分析化学学部的老师们给我提供良好的学习环境、仪器方面的指导！

感谢陕西省林业技术推广总站提供的资金支持！感谢神木县生态保护建设协会张应龙经理提供的资金支持及长柄扁桃原料帮助！

真诚的感谢三年来给予我关怀和帮助的所有老师和同学！

最后，向在百忙中抽出时间对本文进行评审并提出宝贵意见的各位专家表示衷心的感谢！