

固相萃取技术在水果氨基酸分析前处理中的应用 ——一个仪器分析综合实验

李积慧, 韩健, 陈建新*

河北工业大学化工学院, 天津 300401

摘要: 为提高学生的理论水平和实践能力, 设计了针对欧李果实氨基酸测定的仪器分析综合实验。引入样品分析前处理环节, 构建完整的仪器分析过程。通过氨基酸提取方法比较及固相萃取技术在氨基酸净化过程的方法探索, 有效促进学生理论知识和实践能力的融合, 在解决实际问题的过程中提升学生的科学素养及综合思维能力。

关键词: 综合实验; 仪器分析; 固相萃取; 氨基酸分析

中图分类号: G64; O65

A Comprehensive Experiment for Instrumental Analysis: Solid-Phase Extraction of Amino Acids Analysis in Fruit

Jihui Li, Jian Han, Jianxin Chen *

School of Chemical Engineering, Hebei University of Technology, Tianjin 300401, China.

Abstract: In order to improve students' theoretical level and practical ability, a comprehensive experiment, the determination of amino acids in *Cerasus humilis* fruit, was designed for instrumental analysis course. The sample analysis pretreatment process was introduced to construct a complete instrumental analysis process. Through the comparison of amino acid extraction methods and the exploration of solid phase extraction technology in the process of amino acid purification, students' theoretical knowledge and practical ability can be effectively fused and improved, and the scientific literacy and comprehensive thinking ability of students can thus be improved during the process of solving practical problems.

Key Words: Comprehensive experiment; Instrumental analysis; Solid phase extraction; Amino acids analysis

高等教育是国家教育体系改革的助推器与学术创新的动力与源泉^[1]。教育部“化学类本科教育质量标准”将培养具有创新意识和实践能力的专业人才作为人才培养目标, 将培养学生的动手能力、科学素养与创新能力为目的的实验教学作为支撑目标实现的关键^[2]。为响应国家人才发展战略, 开展结合科学探究的综合性化学实验成为化学教育工作者的努力方向^[3-5]。

仪器分析是一门实践性很强的课程。传统的仪器分析以理论教学为主, 配合相应的验证实验, 促进学生对理论知识的理解。通常验证实验对象简单, 不涉及样品前处理, 与实际应用有明显差距。为构建理论到实践的桥梁, 综合性探究实验被引入实验教学^[6-8]。通过综合实验, 学生可以全面了解仪器分析从样品采集、样品前处理、定量分析到实验数据处理整个分析过程, 并在解决问题的实践中培养学生严谨的科学态度和综合思维能力。

收稿: 2023-04-18; 录用: 2023-05-31; 网络发表: 2023-06-12

*通讯作者, Email: chenjx2000@126.com

基金资助: 河北省自然科学基金项目(B2015202358); 国家重点研发计划(2021YFC3201400)

1 实验背景

为更好理解仪器分析的原理及其实际应用,设计了氨基酸分析仪分析水果中游离氨基酸的综合性实验,涉及水果中氨基酸的提取、富集、提取液脱色以及氨基酸测定等。本文以欧李鲜果为例,培养学生利用仪器分析解决实际问题的能力。欧李是我国北方特有的蔷薇科樱桃属灌木果树^[9]。欧李果中含有多种微量氨基酸和维生素,用于果酒酿制具有特别的风味。同时,新鲜的欧李果浆液呈宝石红色,是天然红色素的重要来源^[10]。利用色谱理论分析欧李果中多种游离氨基酸,需避免色素在仪器分析柱上的附着及对实验结果的影响。因此,样品中氨基酸分析过程中氨基酸提取、富集、色素去除决定了整个分析的准确度及工作效率。

2 教学目标与实验设计

在掌握分析化学、物理化学以及样品前处理知识的基础上,仪器分析综合实验面向本校应用化学专业大三本科生开设。实验安排12个学时,分为三个模块,涉及氨基酸理化性质、色谱分离理论、固相萃取、光谱分析等知识。实验的教学目标为:

(1) 通过氨基酸的提取及样品前处理实验巩固学生色谱理论及样品前处理知识,帮助学生了解仪器分析的全过程;

(2) 以实际样品为例提高学生利用色谱知识解决实际问题的能力,培养学生的动手能力和严谨的科学态度;

(3) 在解决样品净化、富集等问题的过程中培养学生的综合思维能力和科学素养。

为实现教学目标,实验按照“样品准备-氨基酸提取-样品脱色-氨基酸分析-实验数据处理”流程设计了以下实验环节,并将实验环节、知识运用以及学生能力培养相关联。三者关系见表1。

表1 实验环节、知识运用与能力培养关系

实验环节	相关知识	能力培养
文献查阅	文献检索及实验方法筛选	发现问题、文献查阅
制订实验方案	样品前处理基本原则、分离理论	问题分析、解决能力
样品及试剂的准备	样品及试剂理化性质	动手能力、综合思维能力
样品中氨基酸提取条件选择	氨基酸理化性质	实验操作、数据处理
氨基酸标准回归曲线	色谱分离、定量方法	仪器操作、数据处理
氨基酸回收率实验	固相萃取理论、方法学考察	实验探究、拓展思维
样品脱色处理及检测	固相萃取、分光光度理论	解决问题能力
样品氨基酸分离定量	色谱分离理论	仪器操作、数据处理
实验报告撰写	数据筛选、提炼	科技报告写作

3 实验原理

实验以色谱分离理论为基础,用氨基酸分析仪测定欧李果中多种微量氨基酸。氨基酸分析前的提取、富集、脱色决定了实验结果的准确性及工作效率。学生通过文献查阅,选择固相萃取技术作为欧李果中氨基酸测定前的处理方法。固相萃取是一种现代样品前处理技术,具有绿色、高效的特点^[11-13]。固相萃取技术基于固定相与样品各组分间作用力不同实现样品中不同组分分离,从而达到样品中目标分析物与干扰组分分离的目的。为帮助学生更好地理解色谱分离及固相萃取理论,实验选取强阴、阳离子、弱阴离子、弱极性及非极性固定相,考察不同极性的固相萃取柱与欧李色素及氨基酸间的不同作用,选取合适的固相萃取柱,去除色素干扰,保证氨基酸准确测定。

4 实验部分

4.1 仪器与试剂

全自动氨基酸分析仪(L-8900, 日本Hitachi)、紫外-可见分光光度计(UV-2700, 日本岛津)、高速冷冻离心机(德国Sigma3-18K)、固相萃取装置(VAC ELUT SPS 24, 美国Varian)、XW-80A涡旋混合仪、SHA-B数显水浴恒温振荡器、101-1AB型电热鼓风干燥箱、超声波清洗器、电热恒温水浴锅、匀浆机、电子分析天平、微波炉(800 W)。

无水乙醇、盐酸、氢氧化钠、甲醇、5-磺基水杨酸、纳米羟基磷灰石等试剂均为分析纯;高纯氮(天津永腾氮气厂);茚三酮、乙二醇甲醚、冰乙酸、醋酸钠、柠檬酸、柠檬酸钠、无水乙醇、氯化钠、氢氧化钠等试剂均为色谱纯,用于氨基酸分析仪的流动相制备。同时实验用到多种不同极性的固相萃取柱。

4.2 样品中游离氨基酸的提取

4.2.1 样品准备

将欧李果洗净,吸干表面水分、去核。称重后倒入匀浆机中,加等量的水匀浆1 min,得到均匀的果肉浆液,倒入烧杯,封膜保存,冷藏备用。

4.2.2 游离氨基酸提取条件选择

准确称取准备好的欧李浆液约10 g,放入不同锥形瓶中,分别以HCl(0.1 mol·L⁻¹)、水、乙醇(体积比1:1)为提取液,水浴振荡、超声、微波三种方式考察果浆中的游离氨基酸的提取方法。提取流程及条件见图1。通过实验结果对比,确定欧李果中氨基酸的提取方法及溶剂。

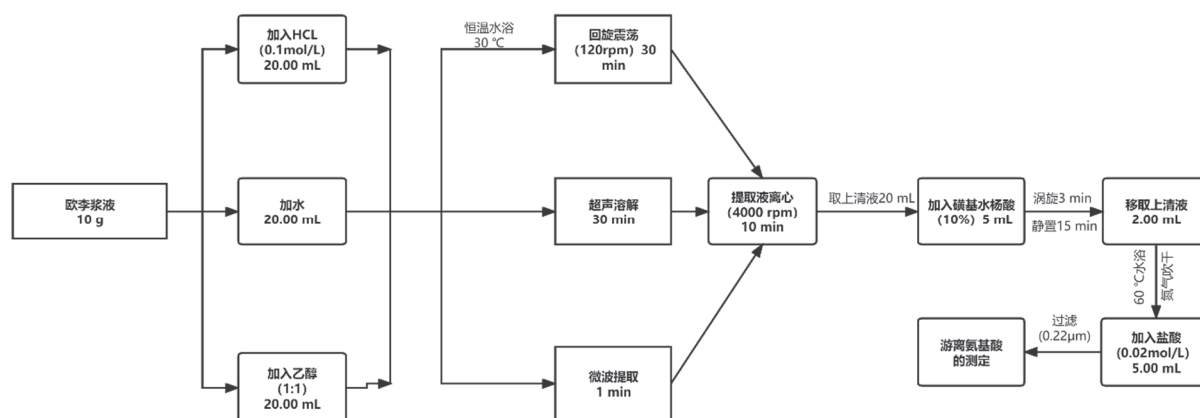


图1 欧李中氨基酸的提取过程

4.2.3 氨基酸标准溶液的制备

氨基酸标准储备液(2.5000 mmol·L⁻¹)用0.02 mol·L⁻¹的盐酸分别稀释成0.0100、0.0250、0.0500、0.0750、0.1000、0.1250 mmol·L⁻¹的氨基酸标准混合溶液,用氨基酸分析仪分离测定,得到十七种氨基酸不同浓度下的峰面积。

4.3 样品脱色处理

欧李氨基酸分析过程中,果肉的红色素干扰实验测定。为考察不同固相萃取柱对水果提取液中氨基酸的净化作用,选择强阳离子固相萃取柱(Waters Oasis Max Part)、强阴离子固相萃取柱(Waters Oasis Mcx Part)、弱阴离子固相萃取柱(AccuBond SPE AMIno cartridges)、弱极性氧化铝柱(DIKMA ProElut AL-A)、弗罗里硅土柱(AccuBond SPE FLORISIL cartridges)、硅胶柱(DIKMA ProElut SI)、非极性C₁₈柱(AccuBond SPE ODS-C₁₈ cartridges)、活性炭柱以及自制纳米羟基磷灰石柱等九种固相萃取柱作为欧李氨基酸分析的前处理工具(依次编号1-9)。实验前学生需确定上述固相萃取柱固定相的官

能团,了解氨基酸与欧李色素的结构。采用色素保留模式,考察离子交换、弱极性、非极性作用对欧李果肉色素的去除及氨基酸测定的影响。通过实验帮助学生理解不同分子间作用力对色素的去除能力。

4.3.1 固相萃取柱筛选

- (1) 准确移取2 mL上述的欧李提取液,分别加样到已活化的不同极性固相萃取柱;
- (2) 收集滤液,比色,初步筛选出滤液为无色的固相萃取柱用于欧李果中氨基酸测定前的净化;
- (3) 筛选出的固相萃取柱用于氨基酸加标回收率实验,考察其对氨基酸测定的影响。选择氨基酸回收率高又具有色素去除能力的固相萃取柱用作欧李果中氨基酸分析前处理工具。

4.3.2 氨基酸回收率实验

- (1) 上述初筛出的固相萃取柱活化,4 mL低浓度氨基酸标液($0.0200 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$)上样,收集萃取液过滤($0.22 \mu\text{m}$),用氨基酸分析仪测试经固相萃取柱处理后氨基酸标准溶液的回收率。
- (2) 选择氨基酸回收率高的固相萃取柱进一步考察其对中浓度($0.0500 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$)、高浓度($0.1000 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$)氨基酸的回收率。

4.3.3 固相萃取柱脱色能力考察

选择氨基酸回收率高的固相萃取柱进一步考察其脱色能力。准确移取2 mL上述欧李提取液用于固相萃取处理,得到的萃取液用分光光度计作光谱扫描,比较欧李提取液经不同固相萃取柱处理前后的光谱变化,从而判断固相萃取柱的脱色能力。

5 结果与讨论

5.1 氨基酸混合标准溶液的回归曲线

由氨基酸混合标准溶液浓度与峰面积线性回归得到十七种氨基酸的标准曲线(图2)。十七种氨基酸的线性回归系数 R 在0.9978–0.9999之间,表明十七种氨基酸溶液在 $0.0100\text{--}0.1250 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 浓度范围内线性良好,可用于微量氨基酸的定量。实验帮助学生巩固了仪器分析的外标定量法及数据处理。

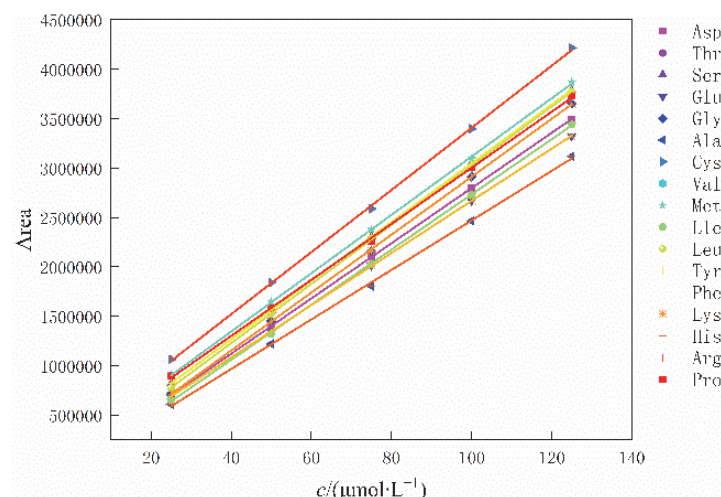


图2 十七种氨基酸的标准回归曲线

电子版为彩图

5.2 游离氨基酸提取结果比较

三种提取方式下,不同溶剂提取欧李中游离氨基酸实验结果见表2。比较结果表明,振荡、超声提取法测得氨基酸的百分含量优于微波提取。由于部分氨基酸在乙醇中的溶解度较差,水、盐酸($0.1 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$)为提取液,多数氨基酸的提取效果优于乙醇提取液(乙醇与水的体积比为1:1)。综合提

取效果、溶剂成本、环境友好等因素,以水为提取溶剂,恒温水浴振荡作为欧李果肉中游离氨基酸的提取方式,保证游离氨基酸充分转移到溶剂中。实验过程帮助学生理解样品中氨基酸提取原则和方法选择。

表2 不同提取条件下欧李果中氨基酸测定结果

氨基酸 (%)	振荡提取			超声提取			微波提取	
	HCl溶液	乙醇溶液	水	HCl溶液	乙醇溶液	水	HCl溶液	水
天冬氨酸Asp	0.0840	0.0482	0.0574	0.1699	0.0550	0.0667	0.0074	0.0085
苏氨酸Thr	0.0520	0.1656	0.1202	0.0796	0.1122	0.1202	0.0771	0.0822
丝氨酸Ser	0.0446	0	0.0844	0.0484	0.0462	0.0849	0.0463	0.0413
谷氨酸Glu	0.0201	0.0119	0.0193	0.0283	0.0150	0.0233	0.0046	0.0065
甘氨酸Gly	0.0040	0.0049	0.0209	0.0054	0.0083	0.0201	0.00545	0.0078
丙氨酸Ala	0.0103	0.0101	0.0168	0.0106	0.0123	0.0169	0.0126	0.0080
胱氨酸Cys	0.0003	0.0036	0	0.0003	0	0	0	0
缬氨酸Val	0.0158	0.0155	0.0197	0.0154	0.0151	0.0197	0.0091	0.0098
蛋氨酸Met	0.0042	0	0.0007	0	0	0	0	0
异亮氨酸Ile	0.0062	0.0100	0.0123	0.0063	0.0095	0.0115	0.0043	0.0046
亮氨酸Leu	0.0044	0.0070	0.0069	0.0045	0.0048	0.0079	0.0032	0.0034
酪氨酸Tyr	0.0078	0.0074	0.0112	0.0078	0.0081	0.0109	0.0050	0.0053
苯丙氨酸Phe	0.0084	0.0086	0.0103	0.0088	0.0082	0.0110	0.0054	0.0058
赖氨酸Lys	0.0026	0.0029	0.0057	0.0027	0.0033	0.0058	0.0019	0.0023
组氨酸His	0.0077	0.0064	0.0140	0.0080	0.0083	0.0135	0.0050	0.0061
精氨酸Arg	0.0092	0.0016	0.0035	0.0015	0.0018	0.0032	0.0010	0.0012
脯氨酸Pro	0.3258	0.3566	0.3800	0.3228	0.3581	0.3869	0.1871	0.2594

5.3 固相萃取柱的选择

5.3.1 固相萃取条件初筛

样品溶液经氧化铝、弗罗里硅土及活性炭固相萃取柱处理后萃取液仍显果肉提取液本来的宝石红色。文献调研发现,欧李红色素为水溶性、酸性条件稳定的黄酮类花色苷类化合物^[14]。尽管三种固定相均为多孔吸附材料,在酸性水溶剂条件下氧化铝的羟基、弗罗里硅土的氧化镁及硅羟基与中等极性色素间分子间作用力降低,非极性活性炭与极性色素分子间作用力弱,无法充分净化样品溶液。实验帮助学生直观理解不同极性固定相与色素间的作用力不同以及溶剂极性在固相萃取过程的影响。

其余六种固相萃取柱处理后的欧李提取液为无色,其对色素的去除能力及对氨基酸测定的影响需通过仪器进一步考察。

5.3.2 氨基酸回收率

为避免固相萃取处理对样品氨基酸测定结果的影响,实验用具有色素吸附能力的六种固相萃取柱处理氨基酸标准溶液($0.0200\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$),根据氨基酸的回收率,判断不同固相萃取柱对氨基酸测定结果的影响。实验结果见表3。

回收率结果表明,氨基酸混合液通过1、3、6号固相萃取柱的回收率明显降低,通过2、7、9号柱回收率较高。根据固相萃取理论,学生们共同探讨产生上述结果的原因,总结如下:酸性条件下氨基酸的氨基官能团带正电荷($-\text{NH}_3^+$),羧基($-\text{COOH}$)基团未解离。1号强阳离子柱固定相在水溶剂中解离为带负电荷的磺酸根离子($-\text{SO}_3^-$),与氨基酸分子间形成静电作用,多种氨基酸被固相萃取柱

保留; 3号柱固定相的氨基官能团与带正电荷的氨基酸官能团形成氢键, 部分氨基酸与固相萃取柱间较强作用力导致其无法完全流出固相萃取柱; 6号硅胶柱的硅羟基与氨基酸形成氢键, 同样不利于氨基酸流出固相萃取柱, 导致氨基酸的回收率偏低。相反, 2号阴离子柱固定相在水溶液中解离为带正电荷的季铵盐, 与带正电的氨基酸分子间存在静电斥力, 氨基酸在该柱上几乎不保留, 经该固相萃取柱处理的十七种氨基酸回收率均在95.47%–100.82%范围内; 7号C₁₈柱的非极性固定相与氨基酸极性官能团间弱相互作用, 对氨基酸测定影响小; 9号强碱磷灰石柱固定相的层状结构及少量羟基与氨基酸官能团有氢键作用, 氨基酸通过该固相萃取柱的回收率低于2号柱及7号柱。实验表明2号强阴离子柱、7号C₁₈固相萃取柱对氨基酸测定结果影响较小。

表3 氨基酸溶液经不同固相萃取柱处理后的回收率

氨基酸	回收率/%					
	1号	2号	3号	6号	7号	9号
天冬氨酸Asp	80.48	97.63	0	95.29	99.20	93.10
苏氨酸Thr	74.93	98.64	88.91	94.56	98.90	94.93
丝氨酸Ser	89.89	96.99	99.55	95.61	98.61	94.46
谷氨酸Glu	50.48	98.93	0	95.53	99.04	94.61
甘氨酸Gly	84.64	97.54	97.64	96.00	99.31	94.06
丙氨酸Ala	51.42	97.52	102.44	94.54	98.40	96.01
胱氨酸Cys	0	97.55	95.80	95.26	97.51	94.62
缬氨酸Val	0	97.47	101.10	87.76	98.19	95.63
蛋氨酸Met	0	96.20	0	85.82	97.90	95.74
异亮氨酸Ile	0	96.86	98.07	77.84	98.02	95.57
亮氨酸Leu	0	97.22	103.69	77.47	97.48	95.66
酪氨酸Tyr	0	98.77	92.16	96.66	97.78	95.72
苯丙氨酸Phe	0	96.82	96.69	75.02	96.82	95.93
赖氨酸Lys	0	97.12	100.58	95.94	97.41	94.22
组氨酸His	0	95.47	94.56	93.97	96.40	94.87
精氨酸Arg	0	96.04	101.55	91.14	94.13	94.14
脯氨酸Pro	0	100.82	92.86	72.03	96.75	89.01

为进一步验证上述结论, 分别选择中浓度(0.0500 mmol·L⁻¹)、高浓度(0.1000 mmol·L⁻¹)氨基酸混合标样, 经C₁₈柱、强阴离子固相萃取柱及纳米羟基磷灰石柱处理, 中浓度十七种氨基酸的回收率范围分别为99.16%–102.40%、97.97%–101.48%及92.38%–101.61%; 高浓度氨基酸的回收率范围分别为99.59%–103.86%、98.42%–101.57%及80.42%–96.69%。比较高、中、低浓度氨基酸回收率结果表明, C₁₈柱与强阴离子固相萃取柱对十七种氨基酸的回收率均明显高于纳米羟基磷灰石固相萃取柱。前两种固相萃取柱用于含氨基酸样品前处理对测定结果影响较小。

5.4 固相萃取柱对色素的吸附

在保证固相萃取处理对氨基酸测定结果影响最小的前提下, 考察其对欧李果色素的去除能力。在可见光区(360–800 nm), 欧李提取液经三种固相萃取柱净化后的吸收光谱与原溶液的吸收光谱比较见图3。从下到上, 强阴离子固相萃取柱处理后样品溶液在可见光区无吸收, 表明样品中的红色素被固相萃取柱完全去除; 纳米羟基磷灰石柱的脱色效果优于C₁₈固相萃取柱, 溶液中仍有少部分色素残留; C₁₈固相萃取柱处理后样品溶液的吸收光谱比原溶液的光谱有明显下降, 但仍有较强的吸收峰, 表明该固相萃取柱不能充分净化样品中的色素。因此, 选择强阴离子固相萃取柱用于欧李溶液的前

处理,既能保证氨基酸测定结果的准确性,又能彻底去除溶液中红色素对测定的干扰。

探究三种不同极性固相萃取柱对色素保留的原因,酸性条件下,强阴离子固定相的季铵盐带正电荷,与黄酮类花色苷的多羟基形成强的氢键作用,从而充分富集欧李提取液中的红色素;羟基磷灰石($\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$)的羟基同样能与色素的羟基形成氢键,但羟基磷灰石分子中羟基较少,与色素间作用力较弱,导致少量色素不能被固相萃取柱保留;而 C_{18} 固相萃取柱为非极性固定相,在极性溶剂中与极性色素的芳香环间存在疏水作用,导致部分色素被保留,提取液中仍存在色素残留。

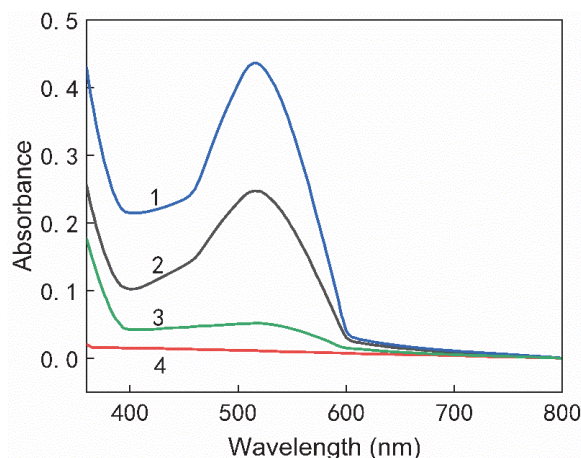


图3 经不同固相萃取柱净化后欧李提取液的吸收光谱图

1-欧李果的提取溶液; 2- C_{18} 柱处理液; 3-纳米羟基磷灰石柱处理液; 4-强阴离子固相萃取柱处理液

5.5 实验收获

通过欧李氨基酸分析综合实验,学生了解了样品分析的全过程,掌握了样品分析前处理的基本原则——高回收率、过程简单、绿色环保。在固相萃取柱的选择过程中,学生体验了不同极性固定相与氨基酸及色素分子间的库仑力、氢键力、范德华力以及溶剂极性、pH对固相萃取分离的影响。实验巩固了学生的色谱理论知识,确定了样品氨基酸分析的净化方法。通过实验数据比较确定样品中氨基酸的提取条件,培养了学生严谨的学习态度和动手能力。在探索样品前处理方法的过程中,学生们分析问题、解决问题的综合能力得到提高,达成了实验的教学目标。仪器分析综合实验的开设,帮助学生理解和运用分析化学理论知识,提升科学素养和实践能力,为毕业论文开展奠定了基础。实验开设四年以来,学生独立思考、解决问题的能力得到明显提高。

6 结语

仪器分析综合实验是一次教学相长的实验过程,学生作为主体体验色谱分离理论与实际应用的紧密联系,提高了他们参与实验的积极性。教师在指导实验的过程中感受到学生的学习主动性和创新能力,认识到给学生更多独立思考空间的重要性。综合实验过程是培养学生独立思考和形成综合性思维的过程,学生在实验中运用理论知识、提高实验技能使个人综合能力得到提升。为更好实现教学目标,教师需要尽可能挖掘身边的实验素材,合理地设计实验,激发学生学习热情,提升学生的综合素质。

参 考 文 献

- [1] 陈伟, 易芬云, 吴世勇. 高教探索, 2020, No. 10, 42.
- [2] 张树永, 朱亚先, 张剑荣. 大学化学, 2018, 33 (10), 1.

- [3] 李娇, 骆睿昊, 金谷. 化学教育(中英文), **2021**, 42 (24), 44.
- [4] 段中余, 任铁真, 杨洋. 化学教育(中英文), **2021**, 42 (2), 55.
- [5] 李厚金, 陈六平, 张树永. 大学化学, **2022**, 37 (2), 2108010.
- [6] 贾琼, 马玖彤, 许海. 化学教育(中英文), **2021**, 42 (22), 63.
- [7] 张娟, 刘庆普, 雷敬卫, 谢彩侠, 纪永升, 麻秋娟. 大学化学, **2023**, 38 (5), 13.
- [8] 黄增芳, 谢辉, 张景强, 雷雪峰, 马军现. 大学化学, **2023**, in press. doi: 10.3866/PKU.DXHX202211021
- [9] 张晓艳, 李连国, 郭金丽, 李晓艳. 北方园艺, **2021**, No. 9, 104.
- [10] 刘皓涵. 欧李果实营养成分分析及其固体饮料加工工艺研究[硕士学位论文]. 西安: 陕西师范大学, 2020.
- [11] 丁明玉. 分析样品前处理技术及应用. 北京: 清华大学出版社, 2017: 157-167.
- [12] Cepeda Insuasty, D. S.; Pineda Castaneda, H. M.; Rodriguez Mayor, A. V.; Garcia Castaneda, M. J. E.; Maldonado Villamil, M.; Fierro Medina, R.; Rivera Monroy, Z. J. *Molecules* **2019**, 24 (7), 1215.
- [13] Suseela, M. N. L.; Viswanadh, M. K.; Mehata, A. K.; Priya, V.; Vikas; Setia, A.; Malik, A. K.; Gokul, P.; Selvin, J.; Muthu, M. S. J. *Chromatogr: A* **2023**, 1695, 463937.
- [14] 杜灵敏. 欧李果实花色苷提取、抑菌及抗氧化研究[硕士学位论文]. 太谷: 山西农业大学, 2020.