

Effects of Enzymatic and Alkaline Extraction on Antioxidant Activity of Soluble Dietary Fiber from Flax Residue

Yuru Guo^{1*}, Wenling Tong^{2*}, Jing Yang¹, Jianguo Xu^{1#}

¹School of Food Science, Shanxi Normal University, Linfen Shanxi

²School of Life Science, Shanxi Normal University, Linfen Shanxi

Email: 1006923453@qq.com, #xjg71@163.com

Received: Jul. 26th, 2019; accepted: Aug. 9th, 2019; published: Aug. 16th, 2019

Abstract

The effects of enzyme and alkali treatment on the antioxidant activity of flax soluble dietary fiber (SDF) are studied in this paper. The results show that the scavenging ability on ABTS and DPPH and reducing power of alkali-treated samples are significantly higher than that of enzyme extraction ($p < 0.05$). SDFs extracted by both of alkali method and enzyme method have good scavenging ability tonitroso radical. When the sample concentration reaches 8 mg/mL, the scavenging rate can reach 99.85%. SDF extracted by enzymatic method has stronger chelating ability to Fe^{2+} than that extracted by alkali method and the chelating rate can reach 94.93%. These results indicate that the samples treated by alkali method or enzyme method have certain antioxidant activity. SDFs extracted by enzymatic method and alkali method are an antioxidant resource with rich sources and good economic prospect.

Keywords

Flax, Soluble Dietary Fiber (SDF), Enzyme Treatment, Alkali Treatment, The Antioxidant Activity

酶法和碱法提取对胡麻渣可溶性膳食纤维抗氧化性的影响

郭玉如^{1*}, 全文玲^{2*}, 杨靖¹, 徐建国^{1#}

¹山西师范大学食品科学学院, 山西 临汾

²山西师范大学生命科学学院, 山西 临汾

Email: 1006923453@qq.com, #xjg71@163.com

*第一作者。

#通讯作者。

收稿日期: 2019年7月26日; 录用日期: 2019年8月9日; 发布日期: 2019年8月16日

摘要

主要研究酶法和碱法两种不同处理对胡麻可溶性膳食纤维(SDF)抗氧化活性的影响。结果表明碱法处理后的样品对ABTS清除能力、DPPH清除能力、还原力显著高于酶法提取的($p < 0.05$); 而且碱法和酶法提取的SDF对亚硝基自由基清除能力都很好, 当样品浓度达到8 mg/mL时, 清除率都可达99.85%; 酶法提取的SDF对 Fe^{2+} 的络合能力比碱法提取的SDF强, 络合率可达94.93%。这表明, 经碱法和酶法处理后的样品中都有一定的抗氧化活性, 酶法和碱法处理胡麻渣提取得到的SDF是一种来源丰富、经济前景良好的抗氧化剂资源。

关键词

胡麻渣, 可溶性膳食纤维(SDF), 碱法, 酶法, 抗氧化性

Copyright © 2019 by author(s) and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

1. 引言

胡麻(*Linum usitatissimum* L.)是亚麻科亚麻属一年生或多年生草木植物亚麻种子, 是我国西北和华北地区特有的油纤兼用型经济作物[1]。胡麻渣是胡麻榨油后的副产物, 研究表明胡麻渣含 28%膳食纤维, 其中 30%为可溶性膳食纤维[2], 所以胡麻渣是良好的膳食纤维来源。然而, 目前对胡麻渣的利用程度很低, 相关的文献报道也较少。研究表明, 碱法和酶法可以有效改善膳食纤维的结构组成和功能活性, 提高膳食纤维的应用价值[3] [4], 但目前没有关于利用碱法和酶法改善胡麻渣膳食纤维的报道。

大量的国内外试验证明, 人体的许多疾病与体内自由基的失衡密切相关[5] [6]。体内过量自由基可进一步引发多种化学反应, 生成一系列化学物质, 从而使人体自由基失衡, 最终导致疾病的产生。同时, 过量自由基也是导致油脂氧化酸败的重要因素[7]。因而, 控制自由基的产生十分关键。目前常用的抗氧化剂多为化学合成, 但因安全性问题其使用量和使用范围受到越来越严格的限制。因此, 寻找安全、高效、无毒的天然抗氧化剂成为研究的热点。本试验以胡麻渣为原料, 研究酶法和碱法提取胡麻渣可溶性膳食纤维的抗氧化性, 以期为胡麻渣的开发利用提供理论基础和指导。

2. 实验材料与仪器设备

2.1. 材料与试剂

胡麻渣由山西省神池县中源小杂粮油脂加工厂榨油后提供; 纤维素酶(1000 U/g), 购于国药集团化学试剂有限公司; 石油醚等试剂均为分析纯, 均购于天津市科密欧化学试剂开发中心。

2.2. 仪器与设备

QE-200 高速万能粉碎机, 浙江屹立工贸有限公司; TDI-80-2B 离心机, 金坛市盛蓝仪器制造有限公司; CM-3700 分光测色计, 苏州广名贸易有限公司。

3. 实验方法

3.1. 脱脂胡麻渣的制备

胡麻原料加入一定量的石油醚(质量体积比为 1:4)震荡脱脂 12 h, 重复 3 次, 脱脂后的胡麻渣在 60℃ 干燥 12 h, 干燥器中保存, 备用。

3.2. 纤维素酶处理脱脂胡麻渣提取可溶性膳食纤维(SDF)制备

脱脂胡麻渣→粉碎→过 100 目筛→按照 1:30 (质量体积比, g/mL)的比例加入 pH 7.0 磷酸盐缓冲液→加入 2%纤维素酶, 在 50℃下酶解 1 h→煮沸 10 min→4000 r/min, 4℃离心 15 min→收集上清液→4℃醇沉 8 h (上清液: 乙醇 = 1:4)→4000 r/min, 4℃离心 30 min→收集沉淀→干燥→SDF。

3.3. 碱处理脱脂胡麻渣提取可溶性膳食纤维(SDF)制备

脱脂胡麻渣→粉碎→过 100 目筛→按照 1:25 (质量体积比, g/mL)的比例加入 8% NaOH 溶液(g/mL), 混匀→80℃、浸提 60 min→4000 r/min, 4℃离心 15 min→收集上清液→调节 pH 到 7→4℃醇沉 8 h (上清液: 乙醇 = 1:4)→4000 r/min, 4℃离心 30 min→收集沉淀→干燥→SDF。

3.4. 化学组成的测定

3.4.1. 多酚含量的测定

多酚含量测定采用 *Folin-Ciocalteu* 测定法。取 0.1 mL 适当浓度的样品于试管中, 加入 2.8 mL 蒸馏水和 0.1 mL 1.0 N *Folin-Ciocalteu* 试剂, 混合均匀, 静止 8 min 后加入 2 mL 7.5% (m/v)碳酸钠溶液, 摇匀, 密封室温下置于避光处, 2 h 后于 765 nm 波长测定吸光值, 平行测定三次, 以乙醇做实验空白, 没食子酸做标准曲线, 其回归方程 $y = 1.7392x + 0.1527$ ($R^2 = 0.9936$), 其中 y 为吸光度值, x 为没食子酸浓度, 多酚含量以每克干燥样品中所含的相当于没食子酸的含量进行计算[8]。

3.4.2. 蛋白质含量的测定

蛋白质含量测定采用考马斯亮蓝测定法, 其回归方程 $y = 0.7033x + 0.0454$ ($R^2 = 0.9907$), 其中 y 为吸光度值, x 为牛血清蛋白浓度。样品蛋白质含量以每克干燥样品中所含的相当于牛血清蛋白的含量进行计算[9]。

3.4.3. 可溶性多糖含量的测定

分别取 1 mL 不同浓度的样品于干燥洁净试管, 分别加 6%苯酚 0.5 mL, 浓硫酸 2.5 mL, 立即摇匀, 沸水浴 10 min, 室温放置, 待凉后于 490 nm 测定光吸收值, 以 1.0 mL 蒸馏水为空白。用无水葡萄糖溶液做标准曲线, 其回归方程 $y = 1.3292x + 0.015$ ($R^2 = 0.9975$), 其中 y 为吸光值, x 为无水葡萄糖浓度(ug/mL)。样品可溶性多糖含量以每克干燥样品中所含的相当于葡萄糖含量进行计算[10]。

3.5. 抗氧化性分析

准确称取一定量不同处理的可溶性膳食纤维样品, 加入适量的蒸馏水(质量体积比为 1:10), 超声波辅助提取 5 min 后, 4000 r/min 离心 10 min, 取其上清液, 于 4℃下保存, 用于抗氧化活性测定。

3.5.1. ABTS 自由基清除能力测定

配制 7.4 mmol/L ABTS 溶液, 2.6 mmol/L 过硫酸钾溶液, 以体积 1:1 混合于棕色瓶中, 避光反应 12~16 h, 将 ABTS 用乙醇稀释, 使其在 734 nm 波长处吸光值为 0.7000 ± 0.002 。准确量取酶法和碱法处理的不

同浓度下的待测液 0.6 mL, 再加入 2.4 mL ABTS 乙醇溶液, 混合均匀后室温避光保存 10 min, 在 734 nm 处测定吸光度值 A_1 , 做三次平行实验, 以 1 mL ABTS 溶液为空白对照测定吸光度值为 A_2 , 取 1.0 mL 蒸馏水代替试样液, 所测定的吸光度为 A_3 [11]。

$$\text{ABTS 自由基清除率}(\%) = [1 - (A_1 - A_3)/A_2] \times 100$$

3.5.2. DPPH 自由基清除能力

待测液 2 mL, 加入 0.2 mmol/mL 的 DPPH 溶液 2 mL, 无水乙醇 2 mL, 充分混匀后室温避光静置 30 min, 于 517 nm 处测定吸光度, 进行三次平行实验。以未加入样品溶液的吸光度为 A_0 , 未加入样品溶液的吸光度为 A_1 , 未加入 DPPH 溶液的吸光度为 A_2 [12]。

$$\text{DPPH·清除率}(\%) = [1 - (A_1 - A_2)/A_0] \times 100$$

3.5.3. Fe^{3+} 还原能力的测定

取不同浓度样品溶液 1 mL 加入 10 mL 试管中, 分别加入 1 mL 0.2 mol/L 的磷酸盐缓冲液(pH 6.6)和 1 mL 1%铁氰化钾溶液, 摇匀后置于恒温水浴锅 50℃水浴 20 min, 流水下迅速冷却, 加入 1.5 mL 三氯乙酸, 摇匀, 4000 r/min 离心 10 min。离心完毕取上清液 2 mL, 蒸馏水 2 mL, 0.4 mL 0.1%三氯化铁溶液, 充分摇匀之后静置 10 min, 于 700 nm 波长处测定吸光度[13]。

$$\text{Fe}^{3+}\text{还原力}(\%) = (A_1 - A_0) \times 100$$

其中, A_1 为样品管的吸光值; A_0 为空白管的吸光值。

3.5.4. 对亚硝基的清除作用

取不同浓度的样品溶液 1.0 mL 于比色管中, 加 0.25 mL 亚硝酸钠标准溶液, 再加入 5.0 mL 柠檬酸磷酸缓冲溶液, 混匀后加塞置于 37℃恒温水浴锅水浴中反应 1 h。移取 1.0 mL 反应液于比色管中, 加入 2.0 mL 对氨基苯磺酸溶液和 1.0 mL 盐酸萘乙二胺, 摇匀静置 15 min, 以相应浓度的样品溶液空白调零, 在 540 nm 波长处测定吸光值[14]。

$$\text{亚硝基清除率}(\%) = (A_1 - A_2)/A_1 \times 100$$

A_1 为空白实验(以蒸馏水代替)的吸光值, A_2 为样品在各浓度下的吸光值。

3.5.5. Fe^{2+} 螯合力测定

取不同浓度的样品溶液 2.0 mL, 依次加入 3.7 mL 蒸馏水, 0.1 mL 浓度为 2.0 mmol/L FeCl_2 , 充分混匀, 室温下静置 30 s, 加入 0.2 mL 浓度为 5 mmol/L 菲洛嗪并混合, 在室温下静置 10 min, 在 4000 r/min 下离心 5 min, 分光光度计测定 562 nm 处的吸光值记为 A_1 , 用水代替样品作为空白进行测定记为 A_2 [15]。

$$\text{Fe}^{2+}\text{螯合率}(\%) = (A_2 - A_1)/A_2 \times 100$$

3.6. 数据分析与处理

每个样品重复测定 3 次, 用 Origin 8.6 绘图, 使用 SPSS 32.0 软件进行统计分析, 描述性统计值使用平均值 \pm 标准差(Mean \pm SD)表示, 差异显著性水平设为 0.05。

4. 结果与讨论

4.1. 化学组成成分对比分析

由表 1 可知, 酶法提取的 SDF 中多酚含量显著高于碱法提取($p < 0.05$), 而碱法提取的 SDF 的蛋白质含量和可溶性多糖都显著高于酶法提取的。化学组成成分的不同可能导致所提 SDF 抗氧化性的差异。

Table 1. The chemical composition of SDF extracted by enzymatic method and alkali method was compared
表 1. 酶法和碱法提取的 SDF 的化学组成成分比较

	多酚(mg/g)	蛋白质(mg/g)	可溶性多糖(mg/g)
SDF (碱法)	7.225 ± 0.24 ^b	48.400 ± 0.07 ^a	39.375 ± 0.03 ^a
SDF (酶法)	8.471 ± 0.18 ^a	20.583 ± 0.06 ^b	19.417 ± 0.25 ^b

注：不同样品间的不同字母表示差异显著($p < 0.05$)。

4.2. 抗氧化对比分析

4.2.1. 对 ABTS 的清除能力测定

ABTS 清除能力是评价膳食纤维总抗氧化性的一个指标。如图 1 为酶法和碱法提取的胡麻 SDF 对 ABTS 清除能力对比。

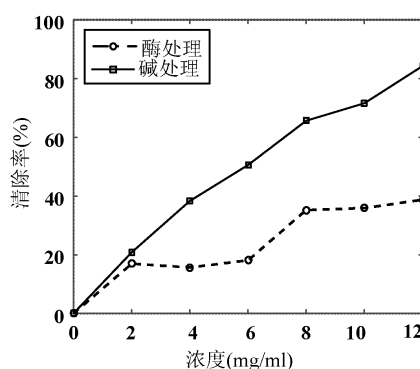


Figure 1. Effect of SDF from flax residue extracted by enzymatic method and alkali method on ABTS clearance rate

图 1. 酶法提取和碱法提取胡麻渣 SDF 对 ABTS 清除率的影响

由图 1 可知，酶法和碱法提取的 SDF 都对 ABTS 有一定的清除能力。在 2~12 mg/mL 的浓度范围内，碱法提取的 SDF 和酶法提取的 SDF 对 ABTS 的清除能力均随浓度的增大而加强，且碱法提取对 ABTS 的清除能力始终强于酶法提取。酶法提取的 SDF 在浓度大于 8 mg/mL 后，清除能力并没有随着浓度增大而有显著增强。

4.2.2. 对 DPPH 自由基清除能力测定

DPPH 法广泛用于定量测定生物试样、酚类物质及膳食纤维的抗氧化能力[16]。酶法提取和碱法提取胡麻渣 SDF 对 DPPH 清除能力测定如图 2。

图 2 可知，酶法和碱法提取的 SDF 都有一定的 DPPH 清除能力。在 2~8 mg/mL 浓度范围内，碱法提取的 SDF 对 DPPH 清除能力随浓度增大而加强在 8 mg/mL 时达到最大；而酶法提取的 SDF 的清除能力随浓度增加变化不大(均不到 5%)。在 8~12 mg/mL 浓度范围内随浓度增加，碱法提取的 SDF 清除能力反而减弱，这可能是由于随着碱浓度增大破坏了纤维结构，使得其对 DPPH 清除能力下降。在同样浓度范围内，酶法提取的 SDF 清除能力随浓度增大而加强。这可能是由于酶法提取 SDF 使得胡麻渣中部分蛋白质分解为小分子肽，因此提高了其 DPPH 清除能力，这与表 1 中蛋白质含量变化相符合。

4.2.3. 还原能力测定

抗氧化剂的抗氧化能力与其还原能力密切相关，还原力越强，抗氧化能力越强[17] [18]。图 3 为酶法和碱法提取胡麻 SDF 还原力的测定。

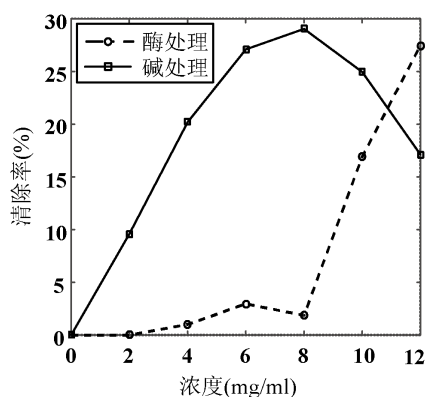


Figure 2. Effect of SDF on DPPH scavenging activity of flax residue by enzymatic extraction and alkaline extraction

图 2. 酶法提取和碱法提取胡麻渣 SDF 对 DPPH 清除率的影响

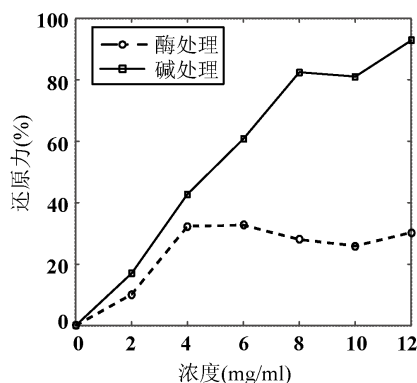


Figure 3. The reducing capacity of SDF extracted from flax residue by enzymatic method and alkali method

图 3. 酶法提取和碱法提取胡麻渣 SDF 的还原能力

由图 3 可知, 酶处理和碱处理后的样品都有一定的还原力。抗氧化剂还原力的大小主要决定于其分子基团给出电子的能力, 即与分子基团外电子云的分布有关。酶法处理后的样品还原力随浓度增大而缓慢变化, 趋于平缓。而碱处理后的样品还原力随浓度增大迅速加强, 并且从整体看来, 显著高于酶法处理的样品还原力($P < 0.05$)。

4.2.4. 对亚硝基自由基清除能力测定

酶法提取和碱法提取的 SDF 对亚硝基清除能力的测定如图 4。

由图 4 可知, 酶法提取和碱法提取的 SDF 都对亚硝基自由基有一定清除能力。在 1~3 mg/mL 浓度范围内碱法提取的 SDF 对亚硝基自由基清除能力与酶法提取的没有太大变化, 在 4~8 mg/mL 浓度范围。碱法和酶法提取的 SDF 清除能力随浓度增大而逐渐加强, 且碱处理后样品清除能力高于酶处理后的 SDF。当浓度大于 8 mg/mL 时, 酶法和碱法提取的 SDF 清除能力达到最大, 接近 100%。

4.2.5. 对 Fe^{2+} 螯合力测定

在生物体内, Fe^{2+} 不仅可催化脂质过氧化反应, 还能与活性氧反应产生羟基自由基, 从而破坏生物体的生物大分子。而生物体的抗氧化剂能够络合 Fe^{2+} 而降低其损害[19]。酶法提取和碱法提取的 SDF 对 Fe^{2+} 螯合力如图 5。

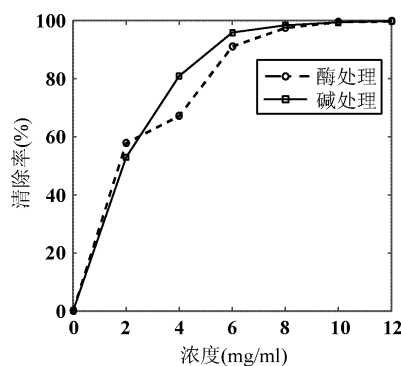


Figure 4. Enzymatic extraction and alkali extraction of linseed residue removal capacity of nitroso

图 4. 酶法提取和碱法提取胡麻渣亚硝基清除能力

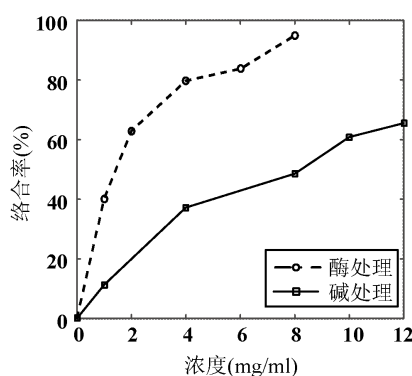


Figure 5. Effects of enzyme extraction and alkali extraction on Fe²⁺ complexation rate of flax residue SDF

图 5. 酶法提取和碱法提取胡麻渣 SDF 对 Fe²⁺整合力的影响

由图 5 可知, 酶法提取和碱法提取的 SDF 都对 Fe²⁺有一定整合能力。在 1~8 mg/mL 浓度范围内, 两种处理对 Fe²⁺络合能力增强得很快, 且酶处理后的样品对 Fe²⁺络合能力整体显著地大于碱处理样品。这表明酶法提取的 SDF 对 Fe²⁺整合力比碱法提取的更强。

5. 结论

当前, 研究各种物质的抗氧化活性是热点问题, 而现在大多数研究抗氧化活性的方向集中在黄酮类物质、酚类物质、多糖物质等方面, 对于胡麻膳食纤维抗氧化活性的研究少之又少, 而且对于胡麻的利用还不够充分, 提取胡麻油之后的胡麻渣多用于动物饲料、闲置或丢弃, 其附加价值有待开发, 因此, 可以充分利用胡麻渣提取其膳食纤维, 利用胡麻渣膳食纤维的高抗氧化活性延伸产业链。

本实验表明, 碱法处理后的样品对 ABTS 清除能力、DPPH 清除能力、还原力远远高于酶法提取的 SDF 的能力; 而且碱法和酶法提取的 SDF 对亚硝基自由基清除能力都很好; 两种方法处理的样品对 Fe²⁺的整合力都强, 可达 94.93%。这表明, 经碱法和酶法处理后的样品中都有较好的抗氧化活性。酶法和碱法处理胡麻渣提取得到的 SDF 是一种来源丰富、经济前景良好的抗氧化剂资源, 这为胡麻渣的充分利用提供了新思路。

基金项目

山西师范大学研究生创新项目资助(01053001)。

参考文献

- [1] 胡晓军. 胡麻食品开发的研究综述[J]. 农产品加工, 2017(7): 42-44.
- [2] 周小洁, 车向荣, 于霏. 亚麻籽及其饼粕的营养学和毒理学研究进展[J]. 饲料工业, 2005, 26(19): 46-50.
- [3] Chen, H., Zhao, C., Li, J., *et al.* (2018) Effects of Extrusion on Structural and Physicochemical Properties of Soluble Dietary Fiber from Nodes of Lotus Root. *LWT*, **93**, 204-211. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2018.03.004>
- [4] 曹银, 杨芳, 周露. 碱法与酶法提取大麦糟膳食纤维的比较[J]. 现代食品科技, 2011, 27(3): 317-320.
- [5] Byun, S.J., Kim, H.S., Jeon, S.M., *et al.* (2001) Supplementation of *Areca catechu* L. Extract Alters Triglyceride Absorption and Cholesterol metabolism in Rats. *Annals of Nutrition and Metabolism*, **45**, 279-284. <https://doi.org/10.1159/000046739>
- [6] Pacifici, R.E. and Davies, K.J.A. (1991) Protein, Lipid and DNA Repair Systems in Oxidative Stress: The Free-Radical Theory of Aging Revisited. *Gerontology*, **37**, 166-180. <https://doi.org/10.1159/000213257>
- [7] Muramatsu, H., Kogawa, K., Tanaka, M., *et al.* (1995) Superoxide Dismutase in SAS Human Tongue Carcinoma Cell Line Is a Factor Defining Invasiveness and Cell Motility. *Cancer Research*, **55**, 6210-6214.
- [8] 严和平, 洪亮, 徐进诺, 罗玉芹, 陈雅顺, 许春, 欧朝凤, 张举成. 红河州 13 种食用花卉的总黄酮、总多酚含量测定[J]. 食品研究与开发, 2018, 39(9): 142-147.
- [9] 王振强, 贾俊伟, 王浩. 燕麦麸皮中燕麦胶的提取纯化工艺优化及纯度测定[J]. 食品研究与开发, 2019, 40(3): 125-130.
- [10] 吴涛, 庞坤宇, 侯杰, 程广有. 枸杞多糖含量种间差异比较[J]. 北华大学学报(自然科学版), 2013, 14(5): 594-596.
- [11] Wu, P., Ma, G., Li, N., *et al.* (2015) Investigation of *in Vitro* and *in Vivo* Antioxidant Activities of Flavonoids Rich Extract from the Berries of *Rhodomyrtus tomentosa* (Ait.) Hassk. *Food Chemistry*, **173**, 194-202. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.10.023>
- [12] 张玉锋, 郭玉如, 赵瑞洁, 宋彦博, 王志煌. 椰蓉及其膳食纤维的理化性质和功能活性分析[J]. 食品科技, 2019, 44(4): 66-70.
- [13] 张玉锋, 段岢君, 王威, 等. 脱脂椰子种皮多肽的抗氧化活性研究[J]. 中国粮油学报, 2014, 29(8): 65-68, 73.
- [14] 曹小红, 雷静, 鲁梅芳, 等. 赤豆皮水不溶性膳食纤维吸附 NO²、胆酸钠的研究[J]. 食品研究与开发, 2009, 30(4): 42-45.
- [15] Rajapakse, N., Mendis, E., Jung, W.-K., *et al.* (2005) Purification of a Radical Scavenging Peptide from Fermented Mussel Sauce and Its Antioxidant Properties. *Food Research International*, **38**, 175-182. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2004.10.002>
- [16] 郑亚军, 陈卫军, 赵松林, 等. 椰肉乙醇提取物抗氧化性的研究[J]. 中国粮油学报, 2009, 24(10): 79-83.
- [17] Guo, Z.Y., Liu, H.Y., Chen, X.L., *et al.* (2006) Hydroxyl Radicals Scavenging Activity of N-Substituted Chitosan and Quaternized Chitosan. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, **16**, 6348-6350. <https://doi.org/10.1016/j.bmcl.2006.09.009>
- [18] Rajapakse, N., Mendis, E., Jung, W.K., *et al.* (2005) Purification of a Radical Scavenging Peptide from Fermented Mussel Sauce and Its Antioxidant Properties. *Food Research International*, **38**, 175-182. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2004.10.002>
- [19] 张玉锋, 宋彦博, 王志煌, 等. 椰蓉膳食纤维的酶法提取与理化性质分析[J]. 食品研究与开发, 2018, 39(3): 24-29.

知网检索的两种方式：

1. 打开知网首页：<http://cnki.net/>，点击页面中“外文资源总库 CNKI SCHOLAR”，跳转至：<http://scholar.cnki.net/new>，搜索框内直接输入文章标题，即可查询；
或点击“高级检索”，下拉列表框选择：[ISSN]，输入期刊 ISSN：2164-5507，即可查询。
2. 通过知网首页 <http://cnki.net/>顶部“旧版入口”进入知网旧版：<http://www.cnki.net/old/>，左侧选择“国际文献总库”进入，搜索框直接输入文章标题，即可查询。

投稿请点击：<http://www.hanspub.org/Submission.aspx>

期刊邮箱：hjas@hanspub.org