

重瓣榆叶梅花中黄酮的提取、动态含量及抗氧化活性测定

李怡华¹ 陈媛梅^{2*}

(1. 北京林业大学 生物科学与技术学院,北京 100083;
2. 北京林业大学 理学院,北京 100083)

摘要 选用乙醇溶剂提取法,利用单因素和正交试验研究重瓣榆叶梅花中总黄酮的最佳提取工艺,并对花朵中总黄酮的抗氧化活性进行测定。结果表明:乙醇溶剂提取法的最佳提取工艺为:采用体积浓度为60%的乙醇溶剂、液料比为35:1(mL/g)、水浴温度80℃、提取时间90min。在该提取工艺条件下,测得开花1周的重瓣榆叶梅花总黄酮含量最高,为15.546%。重瓣榆叶梅花总黄酮提取液具有清除羟自由基($\cdot\text{OH}$)的能力,且其清除能力和黄酮提取液浓度呈正相关。

关键词 榆叶梅;总黄酮;乙醇;抗氧化活性

中图分类号 S682 文章编号 1007-4333(2019)07-0064-07 文献标志码 A

Extraction, dynamic content and antioxidant activity of flavonoids determination in *Prunus triloba* f. *multiplex* flowers and its antioxidation property

LI Yihua¹, CHEN Yuanmei^{2*}

(1. College of Biological Sciences and Biotechnology, Beijing Forestry University, Beijing 100083, China;
2. College of Science, Beijing Forestry University, Beijing 100083, China)

Abstract Ethanol solvent extraction method and single factor and orthogonal test were used to optimize the extraction technology of total flavonoids from *Prunus triloba* f. *multiplex* flowers. The antioxidant activity of total flavonoids in flowers was also determined. The results showed that the optimal extraction conditions were as follows: 60% ethanol, solvent to material ratio 35 : 1 (mL/g), 80 °C extraction temperature, and 90 min extraction time. Under above extraction conditions, the highest content of flavonoid in the flowers was collected at the 7th day after blossoming, which reached 15.546%. The flavonoid extraction in *P. triloba* f. *multiplex* flowers displayed the ability to scavenge hydroxyl radicals ($\cdot\text{OH}$), and its scavenging capacity was positively correlated with the concentration of flavonoid extracts.

Keywords *Prunus triloba* f. *multiplex*; flowers; total flavonoids; ethanol solvent extraction; antioxidant activity

重瓣榆叶梅(*Prunus triloba* f. *multiplex*)是我国乡土树种,属蔷薇科(Rosaceae)李属植物,是我国北方地区普遍栽培的早春观花树种^[1]。它具有较强的抗盐碱能力,栽培易于成活和管理,且花先于叶开放,易于采摘,这些都给其开发与利用带来了极大便利^[2]。重瓣榆叶梅花的营养成分非常丰富,花粉富含蛋白质、脂肪、氨基酸和维生素等化合物^[3],具有潜在的开发前景。

黄酮类化合物广泛存在于植物中,是具有多重

药理活性的天然多酚类物质。研究发现,黄酮类化合物具有多种生理活性^[4],有降血压、抗肿瘤、抗衰老和抗氧化等作用;在提高动物机体抗氧化及清除自由基的能力方面,黄酮与超氧化物歧化酶(SOD)具有同等活性,且毒性较低^[5]。自由基是生物体内生化反应的中间物质,具有强氧化性,如果体内自由基累积过多,可加速机体的衰老进程并诱发各种疾病^[6]。因此,抗氧化剂清除自由基的研究日益受到人们的关注。

收稿日期:2018-03-08

基金项目:中央高校基本科研业务费专项资金(2019SG03);北京林业大学大学生科研训练计划(X201510022132)

第一作者:李怡华,本科生,E-mail:liyihua1996@163.com

通讯作者:陈媛梅,副教授,主要从事天然化合物的提取、分析及物理化学性质研究,E-mail:chym11@bjfu.edu.cn

目前,重瓣榆叶梅的研究集中在栽培技术及其果仁成分的分析,重瓣榆叶梅花朵中黄酮类化合物的相关研究较少,且有关不同开花期含量变化的研究还未见报道。本研究旨在参考国内外相关文献的基础上^[7-11],优化黄酮的提取工艺,测定不同开花期的重瓣榆叶梅花朵中总黄酮的含量,研究其抗氧化作用,以期为其开发利用提供试验参考。

1 材料和方法

1.1 材料与试剂

材料:花苞期、花开初期(花开1周左右)、盛花期(花开2周左右)及凋谢期(花开3周左右)4个开花时期的重瓣榆叶梅花朵,均采集于北京林业大学校园内。冷藏于-30℃冰箱中备用。

主要试剂:芦丁标准品、无水乙醇、石油醚、亚硝酸钠、硝酸铝和氢氧化钠均为分析纯。水均为超纯水。

1.2 主要仪器

使用的仪器主要有上海菁华科技仪器有限公司的721型分光光度计,上海精宏实验设备有限公司的DZF型真空干燥箱,昆山市超声清洗仪器有限公司的KQ3200E型超声波清洗器,上海申生科技有限公司的R系列旋转蒸发器,巩义市英峪仪器厂的SHZ-D(Ⅲ)循环水式真空泵,天津乐金电子电器有限公司的WP700(MS-2089T)LG微波炉。

1.3 黄酮含量的测定方法

1.3.1 标准曲线的绘制

配制0.04、0.08、0.12、0.16和0.20 mg/mL系列浓度的芦丁标准溶液。各取5.00 mL于5个10 mL容量瓶中,加入0.40 mL 10%亚硝酸钠,摇匀后静置5 min,再加入0.40 mL质量分数为10%的硝酸铝溶液,摇匀后静置5 min,最后加质量分数为4%的氢氧化钠溶液4.00 mL,摇匀后用体积分数为30%的乙醇定容后摇匀,静置10 min。以不加芦丁的溶液为参比调零,于510 nm波长处测定吸光度。各标准溶液平行测定3次,取平均值作为测定结果。以浓度为横坐标(x),吸光度为纵坐标(y),绘制芦丁标准曲线。将芦丁的标准曲线用最小二乘法作线性回归,方程为 $y=5.66x+0.024$, $R^2=0.999$ 。表明在0.02~0.10 mg/mL内,吸光度与芦丁浓度呈良好的线性关系。

1.3.2 提取液的制备

盛花期(花开2周左右,花瓣开放最旺盛)的重

瓣榆叶梅花朵为试样,采用乙醇溶剂提取法,在单因素试验基础上,设计正交试验优化花朵中总黄酮的提取工艺条件。

试验方法参考黄泽元等^[12]的方法。将重瓣榆叶梅花朵烘干至恒重,粉碎,得到粉末状样品。准确称取 0.2500 ± 0.0002 g样品于烧瓶中,用石油醚浸泡60 min,倾出石油醚并挥发30 min。向样品中加入设定浓度及体积的乙醇溶液,在设定条件下回流提取黄酮。减压过滤,蒸发浓缩,得到黄酮提取液。将提取液定容至50 mL,按照1.3.1节方法测定吸光度。所有试验均重复5次,取平均值。根据吸光度,利用芦丁标准曲线,按照下式计算黄酮提取率。

$$Y = t \frac{c \times V \times 10^{-3}}{m} \quad (1)$$

式中: Y 为黄酮提取率,%; t 为稀释倍数; c 为溶液的质量浓度,mg/mL; V 为提取液的体积,mL; m 为样品质量,g。

1.3.3 单因素试验

选取提取温度、乙醇浓度、液料比及回流时间4个因素为研究对象,以黄酮的提取率为考察指标,对花朵试样进行单因素试验。结果见图1(a)~(d)。

1.3.4 正交试验

在单因素试验的基础上,选取对花朵试样中黄酮提取率影响较大的因素,分别进行正交试验,以确定最佳提取工艺。

1.3.5 验证试验

在最佳提取条件下,进行重复性试验、精密性试验和加样回收试验,以检验最佳工艺的重现性、可行性、准确性和仪器精密性。

1.3.6 不同开花时期花中黄酮的动态含量

分别准确称取花苞期、花开初期、盛花期及凋谢期4个开花时期的重瓣榆叶梅花朵粉末各5份,每份 0.2500 ± 0.0002 g。在最佳提取条件下,测定4个时期花朵中的总黄酮含量。测得的提取率取平均值。

1.4 重瓣榆叶梅花朵黄酮对自由基的清除作用

1.4.1 黄酮样品溶液的制备

称取开花2周的重瓣榆叶梅花朵粉末,在最佳工艺条件下提取黄酮。将提取液浓缩至浸膏状,在58℃下于恒温干燥箱中烘干至恒重,得到黄酮粗提物。

精确称取干燥后的黄酮粗提物 0.0500 g于10 mL容量瓶中,用少量95%乙醇溶解并定容,得浓度为5.00 mg/mL的黄酮样品溶液。

1.4.2 对·OH自由基清除率的测定

参考杨润亚^[13]方法。取5支具塞试管,依次向其中各加入2.0 mmol/L FeSO₄ 2.0 mL、1.0 mmol/L H₂O₂ 2.0 mL,振荡摇匀。接着再分别加入6.0 mmol/L水杨酸3.0 mL,摇匀,于37℃水浴加热15 min。加热完毕后,以去离子水为空白溶液调零,于510 nm波长处测定吸光度A₀。之后,依次向5支试管中加入黄酮样品溶液0.20、0.40、0.60、0.80和1.00 mL,再依次添加去离子水0.80、0.60、0.40、0.20和0.00 mL,摇匀,继续水浴加热15 min,待加热完毕后再分别测定各吸光度A_x。

对照试验:取1支具塞试管,用2.0 mL蒸馏水取代H₂O₂溶液,严格重复上述过程,测定吸光度A_{x0}。根据以下公式计算样品对·OH的清除率。

$$\text{羟自由基清除率}/\% = \frac{A_0 - (A_x - A_{x0})}{A_0}$$

2 结果与分析

2.1 乙醇溶剂法提取工艺优化

2.1.1 乙醇溶液浓度对总黄酮提取率的影响

在液料比30 mL/g,60℃加热60 min的条件下,

选取体积分数分别为40%、50%、60%、70%和80%的乙醇溶液提取样品中的黄酮。乙醇浓度对总黄酮提取率的影响见图1(a)。结果表明,当乙醇浓度增大时,黄酮提取率呈先上升后下降的趋势。乙醇浓度较低时,总黄酮的提取率随乙醇浓度的增加而迅速升高;乙醇体积分数达50%后,黄酮提取率有所下降;在乙醇浓度为70%后,提取率快速下降。多次试验表明,乙醇体积分数在70%处的提取率比60%和80%时均高,但低于50%时的提取率。从降低成本的角度考虑,提取液浓度不宜过大。因此,宜选择50%左右乙醇溶液作提取剂。

已有研究表明,提高扩散速度的方法有增大扩散面积、增加溶剂浓度和升高温度等^[14]。对重瓣榆叶梅花朵中的黄酮而言,乙醇浓度偏低时,其中的蛋白质和糖类等易溶于水的成分易被浸提出来,而且提取液易腐败变质,同时也会增加后续过滤和干燥等的难度;浓度过高时,水溶性的黄酮溶出量降低,使得总黄酮的提取率降低。采用体积分数50%的乙醇溶液,提取率较高,可能是重瓣榆叶梅花朵黄酮的极性与乙醇溶液的极性相当,在此溶液中溶解较好。此时还能减少霉变,易于试剂回收^[15]。

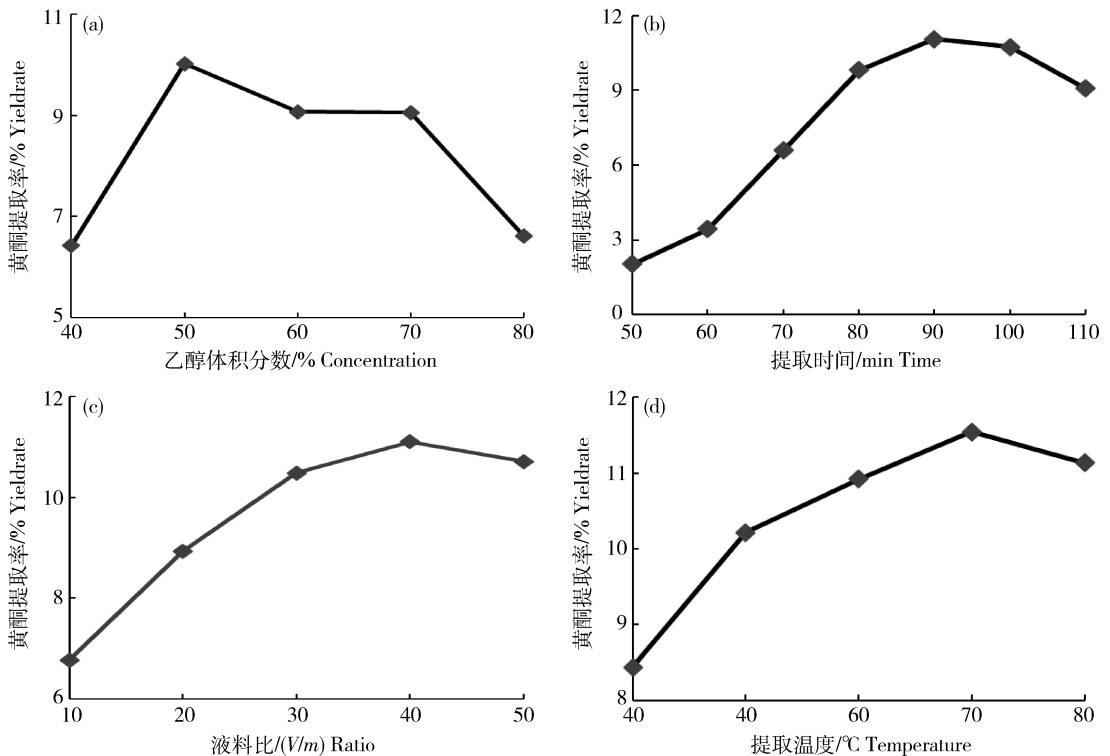


图1 各个因素对重瓣榆叶梅花朵总黄酮提取率的影响

Fig. 1 Effect of various factors on flavonoids extraction rate

2.1.2 提取时间对总黄酮提取率的影响

在液料比 30 mL/g, 体积分数 50% 乙醇溶液为提取剂, 60 °C 加热的条件下, 分别浸提 50、60、70、80、90、100 和 110 min。提取时间对总黄酮提取率的影响见图 1(b)。结果表明, 随着时间的增加, 黄酮提取率呈先上升后下降的趋势, 在 90 min 左右达到最高。说明浸提时间过短, 黄酮溶解不充分; 时间过长, 黄酮在细胞内外已达平衡, 同时由于黄酮结构可能被破坏, 导致提取率较低^[16], 而且耗时耗力。故浸提时间宜控制在 90 min 左右。

2.1.3 液料比对总黄酮提取率的影响

分别选取液料比为 10、20、30、40 及 50 mL/g, 以体积分数 50% 的乙醇溶液为提取液、60 °C 加热 90 min 提取黄酮。液料比对总黄酮提取率的影响如图 1(c) 所示。结果表明, 当液料比较低时, 总黄酮提取率随着液料比的增加明显提高; 当液料比达到 40 mL/g 后, 黄酮提取率呈现下降趋势。说明在液料比为 40 mL/g 附近可以有效增加两相界面浓度差, 有利于黄酮浸出。故选择液料比为 40 mL/g 较好。

2.1.4 提取温度对总黄酮提取率的影响

以 50% 乙醇溶液为提取剂、液料比 40 mL/g, 分别在 40、50、60、70 和 80 °C 温度条件下提取黄酮 90 min。温度对总黄酮提取率的影响见图 1(d)。结果表明: 在随着提取温度的升高, 黄酮提取率逐渐增加, 当提取温度为 70 °C 时达最大值, 而超过 70 °C 后, 黄酮提取率缓慢下降。提取率在低温时较低, 可能是因为低温不利于溶质扩散, 黄酮没有完全浸出。虽然提高温度, 可增大黄酮从植物内部向溶剂的扩散速度, 但温度过高会导致部分黄酮类物质氧化分解, 其他易溶物质溢出量也增加, 同时当温度超过乙醇沸点时溶剂挥发严重, 导致提取率降低。可见, 提取温度应控制在 70 °C 附近。

2.1.5 正交试验

根据单因素试验结果, 采用 L₉(3⁴) 正交表设计试验, 以总黄酮提取率为考察指标, 对重瓣榆叶梅花黄酮提取工艺进行研究。正交试验方案及结果见表 1。结果显示, 不同因素对提取率影响的重要性顺序为 C>A>B>D, 即温度>时间>液料比>浓度, 最佳水平组为 A₂B₁C₃D₃, 即提取温度 80 °C, 提取时间为 90 min, 液料比为 35 mL/g, 乙醇浓度为 60%。

表 1 不同提取因子对总黄酮提取率的影响

Table 1 Influence of different extraction factors on the flavonoids extraction efficiency

试验号 No.	时间 A/min Time	液料比 B/(mL/g) Ratio	温度 C/°C Temperature	乙醇浓度 D/% Content	提取率/% Yield
1	1(80)	1(35)	1(60)	1(40)	8.52
2	1(80)	2(40)	2(70)	2(50)	8.96
3	1(80)	3(45)	3(80)	3(60)	11.04
4	2(90)	1(35)	2(70)	3(60)	12.08
5	2(90)	2(40)	3(80)	1(40)	12.96
6	2(90)	3(45)	1(60)	2(50)	9.84
7	3(100)	1(35)	3(80)	2(50)	12.64
8	3(100)	2(40)	1(60)	3(60)	8.85
9	3(100)	3(45)	2(70)	1(40)	8.18
K1	28.52	33.24	27.21	29.66	—
K2	34.88	30.77	29.22	31.44	—
K3	29.67	29.06	36.64	31.97	—
k1	9.51	11.08	9.07	9.89	—
k2	11.63	10.26	9.74	10.48	—
k3	9.89	9.69	12.21	10.66	—
R	6.36	4.18	9.43	2.31	—
影响因素	C>A>B>D				
最优条件	A ₂	B ₁	C ₃	D ₃	—

注: 括号外数字为单因素组号, 括号内数据表示在该因素中此组号所对应的具体数值。

Note: The Numbers outside the parentheses represent the group numbers of single factor experiment. The data in the parentheses represents the specific values corresponding to the conditions of the experiment group.

2.2 验证试验

2.2.1 重复性试验

准确称取盛开期(开花2周)的重瓣榆叶梅花朵粉末样品5份,每份 0.2500 ± 0.0002 g。在乙

醇溶剂法的最佳条件下提取并测定试样中总黄酮。每份平行测定5次,取提取率平均值,结果见表2。试验中 $RSD=0.206\%$,表明该方法重复性较好。

表2 重复性试验

Table 2 Result of repeated experiments

指标 Index	样品序号 No.				
	1	2	3	4	5
黄酮平均提取率/%	12.77	12.77	12.77	12.69	12.77
RSD/%	—	—	0.206	—	—

2.2.2 加样回收试验

准确称取5份盛开期(开花2周)的重瓣榆叶梅花朵粉末样品,每份 0.2500 ± 0.0002 g。根据上述试验测得的试样中黄酮含量,分别向5份试样中加入其中

黄酮质量的60%、80%、100%、120%和140%芦丁试剂,依次标记为1、2、3、4和5。然后用乙醇溶剂法的最佳条件提取并测定黄酮,计算回收率,结果见表3。试验中,平均回收率为100.6%,表明该方法准确性较好。

表3 加样回收试验

Table 3 Experiment result of sample recovery test

指标 Index	样品序号 No.					平均值 Average value
	1	2	3	4	5	
加入芦丁质量/g	0.0145	0.0193	0.0242	0.0290	0.0338	
回收率/%	99.0	97.0	103.0	103.0	101.0	100.6

2.2.3 精密度试验

为检验仪器的精密程度,准确称取1份盛开期(开花2周)的重瓣榆叶梅花朵粉末试样 $0.2500 \pm$

0.0002 g,按照最佳工艺提取后,平行测定5次,结果见表4。试验中 $RSD=0.0704\%$,表明该方法精密度良好。

表4 精密度试验

Table 4 Precision test

指标 Index	测定序号 No.					%
	1	2	3	4	5	
黄酮提取率	12.77	12.76	12.76	12.79	12.77	
RSD	—	—	0.0704	—	—	

2.3 不同时期花中黄酮含量的测定

在乙醇溶剂法的最佳提取条件下,测定了花苞期、花开初期、盛开期和凋谢期4个时期花朵中黄酮含量,结果见表5。结果表明,不同时期重瓣榆叶梅花朵总黄酮的含量各不相同。从花苞期到花开初期,总黄酮含量逐渐上升,并在花开初期(开花1周)达到最高,提取率为15.55%;此后,随着花的完全开放,花中黄酮含量逐渐下降,处于凋谢期时含量最低,提取率为11.89%。

植物的总黄酮积累有一个从少到多、再减少过

程。随着花开放程度的增加,黄酮的产生和积累也逐渐增加,直到最高值,最后随花期的结束而减少或停止。但由于不同植物存在差异,次生代谢产物的产生和积累情况不同,使得不同植物中黄酮的动态含量最高点有所不同^[17]。重瓣榆叶梅花朵在花开1周时的黄酮含量最高,此时重瓣榆叶梅的花处于非常旺盛的生长期,次生代谢较强,因此黄酮类物质积累较高;随着花进入成熟后期,花中黄酮逐渐被氧化分解,也可能由于生物酶被降解所影响,黄酮含量逐渐降低。

表5 不同花期花中黄酮含量

Table 5 Flavonoids contents in the flower at different blooming periods %

时期 Period	花苞期 Budding	花开初期 Early blooming	盛花期 Blooming	凋谢期 Withering
平均提取率	13.28	15.55	12.76	11.89

2.4 羟自由基清除率的测定

影响黄酮类化合物抗氧化活性的因素主要是羟基化的程度和羟基的位置^[18]。黄酮类化合物中黄酮醇可作为自由基的受体而阻断自由基的连锁反应,其与金属离子生成螯合物,螯合作用发生在3-基-4-酮基上,当A环在5位上是羟基时,螯合作用则发生在5-羟基-4-酮基上。B环上的邻醌结构也有络合金属离子的性能^[6]。黄酮类化合物清除自由基的能力除了与浓度有关外,还取决于黄酮的分子结构。由图2看出,在所选浓度范围内,重瓣榆叶梅花中的黄酮对·OH自由基具有一定的清除作用,而且黄酮清除·OH的能力随着其加入量的增加而上升,最高可达到33.08%。说明羟自由基的清除率与黄酮样品溶液的用量存在正相关。

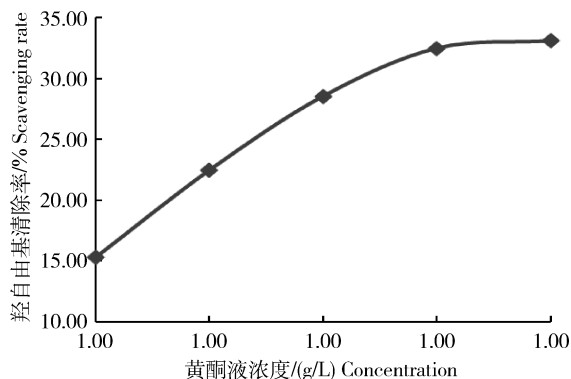


图2 不同浓度黄酮提取液对羟自由基的清除率

Fig. 2 Free radical scavenging effects of flavonoids concentration from flower

3 结论与讨论

在单因素试验基础上,用正交试验优化了重瓣榆叶梅花总黄酮的提取工艺,得出最佳提取方案为乙醇溶剂提取法,具体提取条件为:60%乙醇溶液为提取剂、液料比为35 mL/g、80 °C温度下提取90 min。

提取黄酮类化合物,其本质是将黄酮从植物的内部向溶剂中转移的传质过程^[14]。黄酮在溶剂中

的溶解度大小和在溶剂中扩散的难易程度决定传质过程的效率。提取温度、溶剂浓度、液料比和提取时间为决定传质效率的4个因素。选取了这四因素进行研究,并综合考虑了试验操作难易度、试验成本和效率等因素,获得了较好的提取方法。重复性试验、精密度试验所得提取率的RSD值分别为0.2060%和0.0704%,加样回收试验所得平均回收率为100.6%,说明该方法的重复性好,准确度高,适用于提取重瓣榆叶梅花中的黄酮。

在最佳提取条件下,对不同开花时期的重瓣榆叶梅花中的黄酮含量进行了测定。结果表明,花开初期黄酮含量最丰富,其提取率可达15.55%,此后黄酮含量逐渐降低。除此之外,本研究团队还测定了不同花期的重瓣榆叶梅花朵中的多糖,结果显示花朵中的多糖含量也是在花开初期最高。因此开花初期的重瓣榆叶梅花的利用价值最高。同时,研究处于4个不同开花时期花中黄酮的含量变化规律,为植物生理结构和代谢机理关系的研究提供理论依据。

重瓣榆叶梅花黄酮具有一定清除羟自由基的能力。清除羟自由基能力与黄酮提取液的质量浓度呈正相关,质量浓度越大,其清除率越高。重瓣榆叶梅花种植广泛,色泽诱人,成本较低,有望应用到抗氧化功能性食品中,具有开发前景。

参考文献 References

- [1] 丛欣. 重瓣榆叶梅的绿枝扦插繁殖研究[J]. 园艺学报, 1991, 18(3): 278-280
Cong X. Study of the reproduction of green branch cutting of *Prunus triloba* Lindl Var *plena*[J]. *ACTA Horticulturae Sinica*, 1991, 18(3): 278-280 (in Chinese)
- [2] 颜丽君, 李世敬, 李殿波, 任晶霞, 田金珍. 重瓣榆叶梅的组织培养[J]. 中国林副特产, 1992(3): 40-41
Yan L J, Li S J, Li D B, Ren J X, Tian J Z. Plant tissue culture of *Amygdalus triloba* f *multiplex*[J]. *Quarterly of Forest By-Product and Speciality in China*, 1992(3): 40-41 (in Chinese)
- [3] 徐毅励, 陈媛梅. 重瓣榆叶梅花中蛋白质提取工艺及动态含量

- 研究[J]. 西北林学院学报, 2015, 30(3): 191-196
- Xu Y L, Chen Y M. Optimal extraction technology and dynamic content of protein in the flower of *Amygdalus trilobifolium multiplex* [J]. *Journal of Northwest Forestry University*, 2015, 30(3): 191-196 (in Chinese)
- [4] 于晶, 郝再彬, 苍晶, 王多佳. 黄酮类化合物的活性研究进展[J]. 东北农业大学学报, 2008, 39(12): 125-130
- Yu J, Hao Z B, Cang J, Wang D J. Research development of flavonoids activity [J]. *Journal of Northeast Agricultural University*, 2008, 39(12): 125-130 (in Chinese)
- [5] 李利华. 鱼腥草中总黄酮的含量测定及抗氧化性研究[J]. 西北药学杂志, 2009, 24(3): 177-180
- Li L H. Content determination and antioxidation property of Flavonoids from *Houttuynia cordata* Thunb [J]. *Northwest Pharmaceutical Journal*, 2009, 24(3): 177-180 (in Chinese)
- [6] 于智峰, 付英娟, 王敏, 王军, 郑慧. 苦荞黄酮提取物体外清除自由基活性的研究[J]. 食品科技, 2007, 32(3): 126-129
- Yu Z F, Fu Y J, Wang M, Wang J, Zheng H. Study on free radical scavenging capacity by tartary buckwheat total flavonoids extract [J]. *Food Science*, 2007, 32(3): 126-129 (in Chinese)
- [7] Stanislaw B, Wieslaw O. Antioxidant and antiradical activities of flavonoids [J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2001, 49(6): 2774-2779
- [8] 石慧, 范文, 陈媛梅. 加杨叶总黄酮提取工艺的优化[J]. 林业科技开发, 2008, 22(2): 48-51 (in Chinese)
- Shi H, Fan W, Chen Y M. Optimal extraction technology of total flavonoids from leaves of *Populus Canadensis Moench* [J]. *China Forestry Science and Technology*, 2008, 22(2): 48-51 (in Chinese)
- [9] 吴素仪, 丘泰球, 范晓丹. 超声波在中草药有效成分提取应用中的研究进展[J]. 江苏中医药, 2008, 40(7): 93-94
- Wu S Y, Qiu T Q, Fan X D. Progress in research of ultrasonic extraction technology of active ingredients from Chinese medicine [J]. *Jiangsu Chinese Medical and Pharmaceutical Journal*, 2008, 40(7): 93-94 (in Chinese)
- [10] 付为琳, 杨立刚, 孙桂菊. 微波萃取在菊花黄酮提取工艺中的应用研究[J]. 食品研究与开发, 2008, 29(1): 1-3
- Fu W L, Yang L G, Sun G J. Microwave-assisted extraction of flavonoids from chrysanthemum [J]. *Food Research and Development*, 2008, (1): 1-3 (in Chinese)
- [11] 杨楠, 韩国庆, 高建萍. 正交试验法优选狗尾草中总黄酮提取工艺研究[J]. 内蒙古医科大学学报, 2017, 39(3): 207-210+214
- Yang N, Han G Q, Gao J P. Orthogonal test for optimization of flavonoids extracting procedure from Green Bristlegrass [J]. *Journal of Inner Mongolia Medical University*, 2017, 39(3): 207-210+214 (in Chinese)
- [12] 黄泽元, 王海滨, 刘志伟. 芝麻叶中总黄酮的最佳提取工艺研究[J]. 农业工程学报, 2004, 20(6): 201-204
- Huang Z Y, Wang H B, Liu Z W. Study on the optimum extraction process of total flavonoids from sesame leaves [J]. *Chinese Journal of Agricultural Engineering*, 2004, 20(6): 201-204 (in Chinese)
- [13] 杨润亚, 明永飞, 王慧. 无花果叶中总黄酮的提取及其抗氧化活性测定[J]. 食品科学, 2010, 31(16): 78-82
- Yang R Y, Ming Y F, Wang H. Extraction and free radical scavenging activity of total Flavonoids from the leaves of *Ficus carica* Linn [J]. *Food Science*, 2010, 31(16): 78-82 (in Chinese)
- [14] 欧阳平, 张高勇, 康保安. 类黄酮提取的基本原理、影响因素和传统方法[J]. 中国食品添加剂, 2003(5): 54-57
- Ou Y P, Zhang G Y, Kang B A. The fundamental, affecting factors and traditional methods of the extraction of flavonoids [J]. *China Food Additives*, 2003(5): 54-57 (in Chinese)
- [15] 蔡健, 华景清, 王薇, 周翠英. 黄酮提取工艺研究进展[J]. 淮阴工学院学报, 2003, 12(5): 82-85
- Cai J, Hua J Q, Wang W, Zhou C Y. Progress in research of the extracting technology of Bioflavonoids [J]. *Journal of Huaiyin Institute of Technology*, 2003, 12(5): 82-85 (in Chinese)
- [16] 张喜梅, 李琳, 陈玲, 苗晓杰. 葛根总黄酮提取工艺研究[J]. 现代食品科技, 2008, 24(1): 42-45
- Zhang X M, Li L, Chen L, Miao X J. Study on the extraction of total flavones from *Pueraria Lobata* Ohwi [J]. *Modern Food Science and Technology*, 2008, 24(1): 42-45 (in Chinese)
- [17] 蒲婧哲. 杭菊中总黄酮花期动态积累研究[J]. 安徽医药, 2008, 12(9): 788-789
- Pu J Z. Study on dynamic accumulation of flavone in *Chrysanthemum morifolium* [J]. *Anhui Medical and Pharmaceutical Journal*, 2008, 12(9): 788-789 (in Chinese)
- [18] 张红雨. 黄酮类抗氧化剂结构活性关系的理论解释[J]. 中国科学: B辑, 1999, 29(01): 91-96
- Zhang H Y. Theoretical explanation of structure activity relationship of flavonoids antioxidants [J]. *Science in China: Series B*, 1999, 29(1): 91-96 (in Chinese)

责任编辑: 王燕华