

古丽巴哈尔·卡吾力,高晓黎,常占瑛,等.黑果枸杞总黄酮提取工艺优化及抗氧化活性[J].江苏农业科学,2017,45(22):213-217.
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2017.22.058

黑果枸杞总黄酮提取工艺优化及抗氧化活性

古丽巴哈尔·卡吾力,高晓黎,常占瑛,古丽格娜·吐尔地,王玲,谢湘云

(新疆医科大学药学院,新疆乌鲁木齐 830011)

摘要:应用水提法提取黑果枸杞中总黄酮,采用单因素和 Box-Behnken 试验设计,利用响应面分析法选取乙醇体积分数、提取时间、提取温度以及料液比进行 4 因素 3 水平试验,优化黑果枸杞总黄酮的提取工艺,并测定总黄酮清除超氧阴离子、DPPH 和羟自由基的能力,初步考察其抗氧化活性。结果表明:水浴提取的最优工艺参数为乙醇的体积分数为 79.6%,提取时间为 60.8 min,料液比为 1 g:15.6 mL,提取温度为 70.2 ℃。在此优化条件下,黑果枸杞总黄酮的提取量可达到 69.02 μg/mL。其中影响提取工艺参数的主次因素为料液比>乙醇体积分数>提取温度>提取时间。总黄酮对超氧阴离子、DPPH 和羟自由基清除能力可以达到 59.32%、72.68%、46.14%,说明黑果枸杞总黄酮具有一定的抗氧化活性。

关键词:黑果枸杞;总黄酮;响应面;抗氧化活性

中图分类号: R284.2 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2017)22-0213-05

黑果枸杞(*Lycium ruthenicum*)为茄科枸杞属的一个物种,具棘刺,浆果球形,皮薄,皮熟后紫黑色,果实含丰富的紫红色素,极易溶于水,属天然的水溶性花色苷黄酮类。主要出产于甘肃酒泉、新疆、内蒙、青海等沙漠地带,海拔高、气候干旱,生态环境洁净、无污染。传统医学关于黑枸杞的功效论述为,黑枸杞能滋补肝肾、益精明目、适用于腰膝酸软、头晕目眩、两眼昏花等症状,藏医药经典《四部医典》《晶珠本草》等记载黑果枸杞主治心热病、心脏病、月经不调、停经等。《维吾尔药志》记载维吾尔医生常用黑果枸杞果实及根皮治疗尿道结石、癬疥、齿龈出血等症,民间作滋补强壮以及降压药。现代科学研究证实了上述说法,并且认为黑果枸杞可以降低胆固醇,兴奋大脑神经,增强免疫功能,防治癌症,抗氧化、抗衰老和美容,黑果枸杞提取物可促进细胞免疫功能,增强淋巴细胞增殖及肿瘤坏死因子的生成,对白细胞介素 II 有双向调节作用,能缓解糖尿病患者多饮多食、体重减轻症^[1-4]。

黄酮类化合物是一大类天然产物,广泛存在于植物界,是许多中草药的有效成分。在自然界中最常见的是黄酮和黄酮醇,其他包括双氢黄酮(醇)、异黄酮、双黄酮、黄烷醇、查尔酮、橙酮、花色苷及新黄酮类等。人们发现黄酮类化合物有抗炎、抗病毒、利胆、强心、镇静和镇痛等作用。到 20 世纪 70 年代,又发现它们有抗氧化、抗衰老、免疫调节和抗肿瘤等作用^[5-8]。为此,本试验采用单因素和 Box-Behnken 试验优化黑果枸杞总黄酮的提取工艺参数,并对总黄酮抗氧化活性进行检测,以期能为黑果枸杞开发利用提供依据^[9-13]。

收稿日期:2016-05-18

基金项目:新疆地产中药民族药新药研发培育项目(编号:2016-02-12)。

作者简介:古丽巴哈尔·卡吾力(1975—),女,新疆乌鲁木齐人,博士,副教授,主要从事新药及新剂型研究。Tel:(0991)4362442;E-mail:guli5573@163.com。

通信作者:高晓黎,教授,博士生导师,主要从事新药及新剂型研究。

Tel:(0991)4362442;E-mail:xli_g@sina.com。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

黑果枸杞采自新疆维吾尔自治区阿克苏市塔里木盆地。芸香苷标准品,成都曼斯特生物科技有限公司(UV 级,纯度为 98.6%);无水乙醇、盐酸、亚硝酸钠、硝酸铝、纯化水、氢氧化钠、DPPH(2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl),Sigma-ALDRICH 公司;无水乙醇、纯水、氢氧化钠、盐酸、铁氰化钾、三氯乙酸、磷酸盐缓冲液、水杨酸、双氧水、硫酸亚铁、抗坏血酸(维生素 C)、硫酸铜、邻苯三酚均为分析纯。

1.2 仪器与设备

紫外可见分光光度计 UV-9100 型,北京莱伯泰科仪器有限公司;扣压式小型粉碎机 XL-02A 型,旭朗机械;电热恒温水浴锅 HWS24 型,上海恒科学仪器有限公司;循环真空泵 SHZ 型,河南省郑州博科仪器设备有限公司;电子天平 XPE 型,梅特勒-托利多;扣压式小型粉碎机 XL-02A 型,旭朗机械。

1.3 方法

1.3.1 黑果枸杞总黄酮含量测定方法学考察

1.3.1.1 标准曲线的绘制 芸香苷标准品 10 mg,用 60%乙醇溶解并定容至 10 mL,摇匀得质量浓度为 1 mg/mL 的芸香苷标准溶液。准确吸取上述标准溶液 0.5、1.0、1.5、2.0、2.5 mL 置于 25 mL 的容量瓶中各加水至 10 mL,加 5%亚硝酸钠溶液 1.0 mL,溶液摇匀放置 5 min,加 10%硝酸铝溶液 1.0 mL,摇匀放置 5 min,加 4%氢氧化钠溶液 10 mL,加水至刻度,摇匀放置 15 min,以相应的试剂溶液为空白,在 500 nm 处测定吸光度。以芸香苷质量浓度(C ,mg/mL)为横坐标,吸光度(D)为纵坐标绘制标准曲线,其回归方程和相关系数为: $C=9.493D+0.044$, $r^2=0.998$,标准曲线具有良好的拟合性。

1.3.1.2 精密度试验 准确吸取 0.05、0.15、0.25 mg/mL 3 种浓度芸香苷标准溶液各 1.0 mL,按照“1.3.1”节方法连续测定 5 次,分别计算总黄酮吸光度的 RSD,其结果分别为 1.02%、1.13%、0.98%。

1.3.1.3 稳定性试验 准确吸取 0.05、0.15、0.25 mg/mL 3 种浓度芸香苷标准溶液各 1.0 mL,按照“1.3.1”节方法分别在 0、2、4、6、8、10 h 测定,分别计算总黄酮吸光度的 *RSD*,其结果分别为 1.32%、2.08%、1.46%。

1.3.1.4 加标回收率考察 准确吸取 9 份已知总黄酮浓度的供试品各 1.0 mL,分别加入 0.05、0.15、0.25 mg/mL 3 种浓度的芸香苷标准品溶液各 1.0 mL,按照“1.3.1”节方法进行测定,其平均回收率为 98.31%、99.01%、99.72%。

1.3.2 黑果枸杞总黄酮提取及含量测定 将采集的黑果枸杞清洗后在阴凉处干燥至恒质量,用粉碎机粉碎并过 60 目筛,索氏提取器用石油醚脱脂 3.0 h,干燥后备用^[14-18]。准确称取脱脂后黑果枸杞粉 0.5 g,用不同体积分数乙醇、不同提取温度、不同提取时间和不同料液比进行水浴提取并离心。离心后的提取液减压浓缩,采用真空干燥箱干燥,再将干品用蒸馏水溶解,按照标准品含量测定的操作测定黑果枸杞总黄酮的提取量。

1.3.3 单因素试验 根据黑果枸杞总黄酮提取方法,准确称取 0.5 g 黑果枸杞粉末,考察乙醇体积分数(60%、70%、80%、90%、100%)、提取时间(40、50、60、70、80 min)、料液比[1:5、1:7.5、1:10、1:12.5、1:15(g/mL)]、提取温度(50、60、70、80、90℃)对黑果枸杞总黄酮提取量的影响。

1.3.4 提取工艺响应面优化试验 在单因素试验基础上,采用 Box-Behnken 试验设计,以黑果枸杞总黄酮提取率为响应值,乙醇体积分数、提取时间、提取温度、料液比为考察因素,利用响应面 4 因素 3 水平试验对黑果枸杞总黄酮提取工艺参数进行优化。采用 Design Expert 8.0.6 软件对数据进行分析。试验因素和水平见表 1。

表 1 响应面设计因素与水平

水平	因素			
	乙醇体积分数 (%)	提取时间 (min)	料液比 (g : mL)	提取温度 (70℃)
-1	70	60	1 : 10	60
0	80	80	1 : 15	70
1	90	100	1 : 20	80

1.3.5 黑果枸杞总黄酮抗氧化活性测定

1.3.5.1 黑果枸杞总黄酮超氧阴离子清除能力 按照王建等的方法^[19]配制总黄酮 1.380、1.726、2.300、3.451、6.902 μg/mL 提取溶液,分别准确吸取 2.0 mL,恒温 25℃下将 pH 值为 8.2 的 Tris-HCl 缓冲液(50 mmol/L)3.0 mL 与邻苯三酚(50 mmol/L)10 μL 迅速混合后,325 nm 处测定吸光度,每隔 30 s 测定 1 次,持续 5.0 min 结束,以 *D* 为横坐标,时间为纵坐标进行回归,其斜率为邻苯三酚自氧化速率为 *D*₀。样品组将 pH 值 8.2 的 Tris-HCl 缓冲液(50 mmol/L)3.0 mL 加 0.5 mL 提取液用同样方法测定,其斜率为 *D*_s,按照下式进行计算:

$$\text{超氧阴离子清除能力} = \frac{1 - (D_0 - D_s)}{D_0} \times 100\%。$$

1.3.5.2 黑果枸杞总黄酮 DPPH 清除能力 按照 Sone 等的方法^[20]配制总黄酮 1.380、1.726、2.300、3.451、6.902 μg/mL 提取溶液,分别准确吸取 2.0 mL,加入 2 mL 0.1 mmol/L DPPH 乙醇溶液混匀,避光放置 30 min,517 nm 处测定 *D*₁。同

法取 2 mL 蒸馏水加入 2 mL 0.1 mmol/L DPPH 乙醇溶液测定吸光度记为 *D*₀。取 2.0 mL 提取液加入 2 mL 乙醇混匀测定吸光度为 *D*_b,按照一下公式计算 DPPH 自由基清除能力:

$$DRSA = \frac{1 - (D_1 - D_b)}{D_0} \times 100\%。$$

1.3.5.3 黑果枸杞总黄酮羟自由基清除能力 按照 Milaevae 等的方法^[21]配制总黄酮 1.380、1.726、2.300、3.451、6.902 μg/mL 提取溶液,分别准确吸取 2.0 mL,加入 9 mmol/L FeSO₄ 0.5 mL、9 mmol/L 水杨酸-乙醇溶液 2.0 mL、8.8 mmol/L 的 H₂O₂ 启动反应,在 37℃水浴 0.5 h,以蒸馏水为对照,在 510 nm 处测定吸光值,记为 *D*_s。对照组加入 2.0 mL 蒸馏水代替提取液,其余操作同上测定吸光值,记为 *D*₀,按照以下公式计算羟自由基清除能力,即:

$$SA = \frac{D_0 - D_s}{D_0} \times 100\%。$$

2 结果与分析

2.1 单因素试验

2.1.1 乙醇体积分数对黑果枸杞总黄酮提取量的影响 变动乙醇体积分数,在提取温度 70℃,料液比 1 g : 10 mL 条件下提取 60 min 并计算其提取量。乙醇体积分数对黑果枸杞总黄酮提取量的影响见图 1。

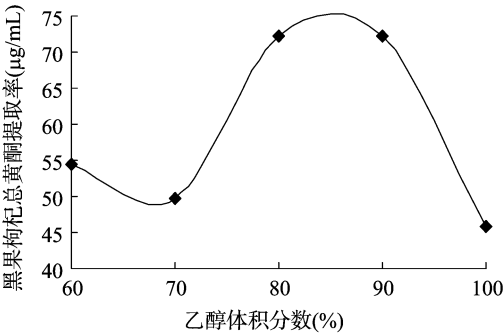


图1 乙醇体积分数对黑果枸杞总黄酮提取量的影响

由图 1 可知,随着乙醇体积分数的提高,黑果枸杞总黄酮提取量明显增加;当乙醇体积分数提高到 80% 时,黑果枸杞总黄酮提取量最高,再提高体积分数提取量反而降低。结果表明,提高乙醇体积分数能增加黑果枸杞中总黄酮向溶剂方向扩散,但是再提高乙醇的体积分数溶出总黄酮的同时,有一些醇溶性杂质,脂溶性成分溶出量增加,使溶液黏度变大,增大了传质过程中溶剂的阻力,减慢了黑果枸杞总黄酮向溶剂扩散,减少了粉末表面与溶剂之间黑果枸杞总黄酮浓度差,从而导致黑果枸杞总黄酮的提取量减少。

2.1.2 提取时间对黑果枸杞总黄酮提取量的影响 改动提取时间,以 80% 乙醇,在提取温度 70℃、料液比 1 g : 10 mL 条件下提取并计算其提取量。提取时间对黑果枸杞总黄酮提取量的影响见图 2。由图 2 可知,随着提取时间的延长,黑果枸杞总黄酮的提取量增加,但提取时间为 80 min 时,提取率开始下降。结果表明,延长提取时间,黑果枸杞总黄酮不断溶出,进入溶液,可以提高黑果枸杞总黄酮提取量。但提取一定时间以后总黄酮已基本溶出,继续增加提取时间,总黄酮提取量反而下降。表明时间过长对总黄酮的提取量无明显影响,

且延长提取时间还会增加耗能,并考虑后期的工业化生产,提取时间在 80 min 左右为宜。

2.1.3 料液比对黑果枸杞总黄酮提取量的影响 改动料液比,以 80% 乙醇,在 70 ℃ 提取 60 min 条件下计算其提取量。料液比对黑果枸杞总黄酮提取量的影响见图 3。由图 3 可知,随着料液比的增加,黑果枸杞总黄酮的提取量虽增加,但到 1 g : 7.5 mL 时提取量开始下降。结果表明,料液比较低时,溶液很容易达到饱和,总黄酮未能充分溶出,提取量较低。当料液比继续增加时,虽然固体粉末与溶剂接触面增加,但是黑果枸杞总黄酮量在大体积溶剂中的被稀释,提取量反而增加,且在工业生产时可以节省部分材料。

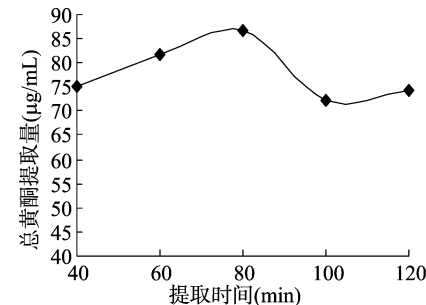


图2 提取时间对黑果枸杞总黄酮提取量的影响

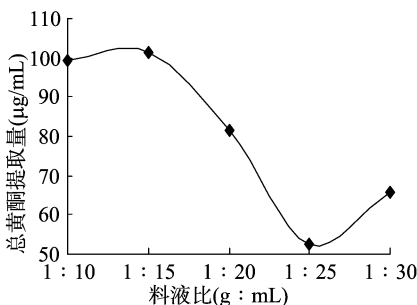


图3 料液比对黑果枸杞总黄酮提取量的影响

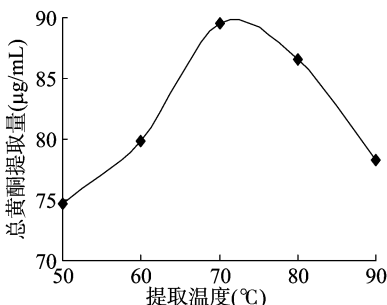


图4 提取温度对黑果枸杞总黄酮提取量的影响

2.2 响应面优化黑果枸杞总黄酮提取工艺

2.2.1 响应面试验结果 在单因素试验结果的基础上,采用 Box - Behnken 试验设计,以乙醇体积分数(A)、提取时间(B)、料液比(C)、提取温度(D)为试验的 4 个因素,并以总黄酮的提取量为考察指标,设计 4 个因素 3 个水平的响应面设计。因素水平及编码见表 1,试验设计方案及结果见表 2。

2.2.2 Box - behnken 试验结果 采用 Design - Expert 8.0.6 软件对黑果枸杞总黄酮提取量进行多元模型拟合分析,得到黑果枸杞总黄酮提取量与乙醇体积分数、提取时间、料液比和提取温度的多项二次回归方程:

$$Y=60.19-3.61A-1.59B-5.83C+2.19D-1.60AB-4.89AC+1.06AD-6.57BC-0.93BD+3.87CD-10.46A^2-6.52B^2-3.33C^2-4.82D^2。$$

应用软件 Design - Expert 8.0.6 对试验结果进行方差分析,结果见表 3。

表 3 结果显示,响应面模型 F 值为 9.09, $P<0.0001$ 回归模型极显著,失拟性为 0.062 6, $P>0.05$ 不显著,说明此模型与实际情况拟合很好。 $R^2=0.9006$, $R_{Adj}^2=0.8012$, $R_p^2=0.4572$, 说明预测值和实测值之间具有高度的相关性,模型方程能够很好地反映真实的试验值。由表 3 可知,该模型中一次项 A、C、D 对该模型的影响达到显著 ($P<0.05$)。二次项中 A^2 、 B^2 、 D^2 对模型的影响极显著 ($P<0.01$), C^2 对模型的影响显著 ($P<0.05$), 且模型中 AC (乙醇体积分数和料液比) 和 BC (提取时间和料液比) 之间具有交互相应 ($P>0.05$), 彼此之间有影响。影响黑果枸杞总黄酮提取量的因素顺序为: 料液比 (C) > 乙醇体积分数 (A) > 提取温度 (D) > 提取时间 (B)。

2.2.3 响应面优化分析 响应面图可以直观地反映交互作用的显著程度,根据回归方程绘制响应面图 (图 5)。由图

2.1.4 提取温度对黑果枸杞总黄酮提取量的影响 改动提取温度,以 80% 乙醇,在料液比 1 g : 10 mL 提取 60 min 条件下并计算其提取量。提取温度对黑果枸杞总黄酮提取量的影响见图 4。由图 4 可知,随着提取温度的提高,黑果枸杞总黄酮的提取量增加,到提取温度为 70 ℃ 时,提取量达到顶点,以后随着温度提高黑果枸杞总黄酮提取量开始下降。结果表明,提高提取温度,增加黑果枸杞总黄酮在溶剂中的溶解度,到 70 ℃ 左右达到最高提取量,但是温度过高可能导致总黄酮的结构被破坏,而且温度过高会导致黑果枸杞总黄酮的生物活性降低。

表 2 Box - behnken 响应面试验及结果

试验号	乙醇体积分数	提取时间	料液比	提取温度	提取量 (μg/mL)
1	-1	-1	0	0	47.81
2	1	-1	0	0	41.04
3	-1	1	0	0	48.52
4	1	1	0	0	35.36
5	0	0	-1	-1	57.80
6	0	0	1	-1	38.90
7	0	0	-1	1	57.38
8	0	0	1	1	53.97
9	-1	0	0	-1	41.36
10	1	0	0	-1	37.88
11	-1	0	0	1	45.09
12	1	0	0	1	45.85
13	0	-1	-1	0	50.75
14	0	1	-1	0	57.27
15	0	-1	0	1	51.79
16	0	1	1	0	32.04
17	-1	0	0	0	54.92
18	1	0	0	0	54.36
19	-1	0	0	0	52.97
20	1	0	0	0	32.87
21	0	-1	-1	-1	50.54
22	0	1	1	-1	51.96
23	0	-1	-1	1	52.36
24	0	1	1	1	50.08
25	0	0	0	0	57.34
26	0	0	0	0	59.17
27	0	0	0	0	62.08
28	0	0	0	0	61.40
29	0	0	0	0	60.94

表 3 二次响应面模型方差分析

来源	离差平方和	自由度	均方	F 值	P 值	显著性
Model	1 878.22	14	134.16	9.06	<0.000 1	**
A	156.27	1	156.27	10.55	0.005 8	**
B	30.32	1	30.32	2.05	0.174 3	
C	407.68	1	407.68	27.54	0.000 1	**
D	57.59	1	57.59	3.89	0.068 7	
AB	10.24	1	10.24	0.69	0.419 6	
AC	95.46	1	95.46	6.45	0.023 6	*
AD	4.47	1	4.47	0.30	0.591 2	
BC	172.88	1	172.88	11.68	0.004 2	**
BD	3.43	1	3.43	0.23	0.637 9	
CD	59.93	1	59.93	4.05	0.063 9	**
A ²	709.23	1	709.23	47.90	<0.000 1	**
B ²	276.13	1	276.13	18.65	0.000 7	*
C ²	72.14	1	72.14	4.87	0.044 5	**
D ²	150.45	1	150.45	10.16	0.006 6	
残差	207.28	14	14.81			
失拟性	192.54	10	19.25	5.23	0.062 6	
误差	14.74	4	3.68			
总和	2 085.50	28				

注：“*”“**”分别表示影响显著($P < 0.05$)、极显著($P < 0.01$)。

5 - A 可知,提取时间较短时,提高乙醇体积分数黑果枸杞总黄酮提取量有所提高,但相关性较差。由图 5 - B 可知,料液比较低时,提高乙醇体积分数黑果枸杞总黄酮提取量明显升高。增加料液比总黄酮提取量明显减少,说明乙醇体积分数和料液比相关性较强。由图 5 - C 可知,提取温度和乙醇体积分数两者同时提高时,黑果枸杞总黄酮提取量有所增加,但是差异不明显,乙醇体积分数和提取温度相关性比较弱,无交互作用。由图 5 - D 可知,在较低料液比时,延长提取时间,黑果枸杞总黄酮提取量有明显的上升趋势,彼此之间相关性较强,有交互作用。由图 5 - E 可知,提取温度和提取时间同时增加,提取量有部分上升趋势,但是不明显,响应面图比较平滑,相关性较差。由图 5 - F 可知,料液比和提取温度相关性较强,响应面图较陡峭,随着提取温度的提高,在较低的料液比条件下,黑果枸杞总黄酮提取量明显增加,呈负相关关系。因此,为了进一步探究各因素之间的交互作用,对 Box - behnken 试验结果进行了响应面分析(表 2)。根据建立的回归模型得出黑果枸杞总黄酮的提取工艺参数分别为乙醇体积分数 79.6%、提取时间为 60.8 min、料液比为 1 g : 15. mL、提取温度为 70.2 ℃。按照优化的条件进行验证试验($n = 3$),其提取量可以达到 69.02 μg/mL,说明优化工艺条件参数具

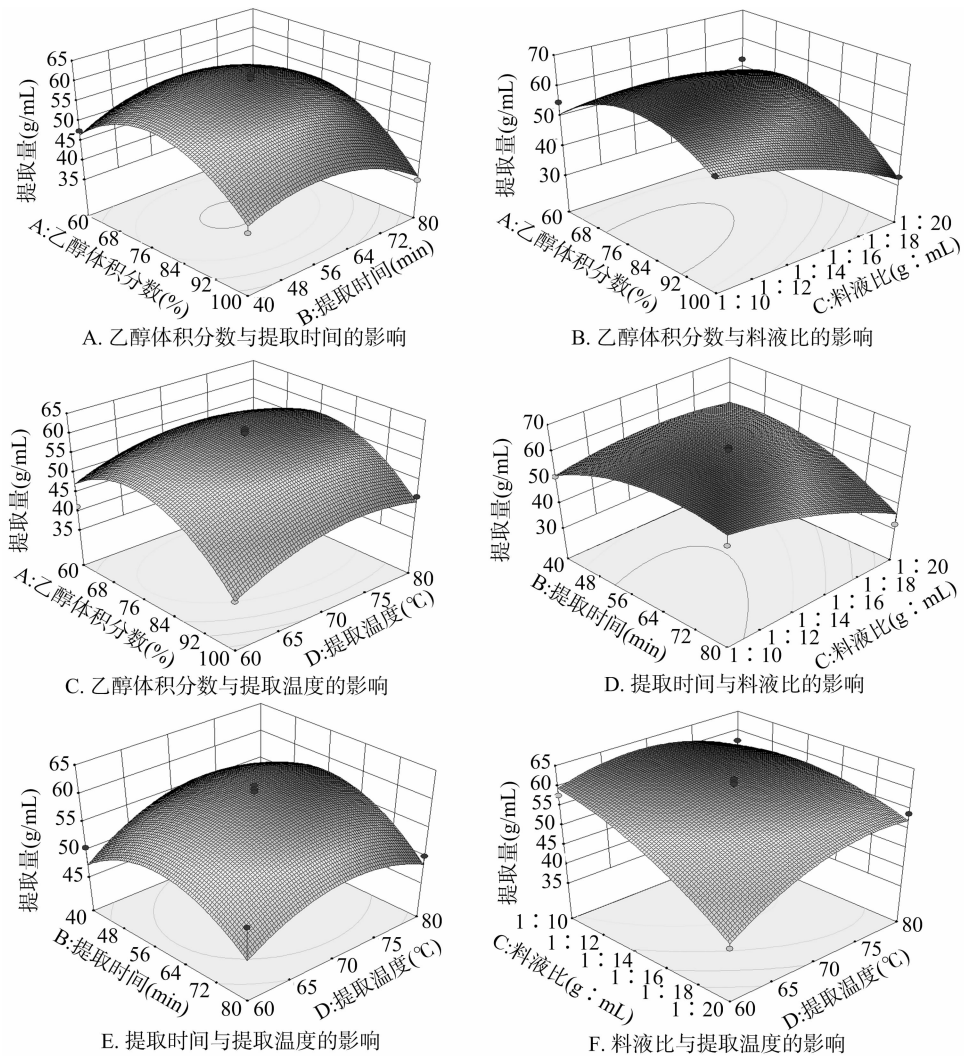


图5 各因素交互作用对黑果枸杞总黄酮提取量的响应面分析

有一定的实际价值。

2.3 黑果枸杞总黄酮抗氧化活性

由图 6 可知,随着黑果枸杞总黄酮质量浓度的增加,其总黄酮对超氧阴离子、DPPH、羟自由基清除能力逐渐提高,分别可以达到 59.32%、72.68%、46.14%。说明黑果枸杞总黄酮能清除体内多余的自由基,清除率与总黄酮浓度有一定的量效关系,说明黄酮有抗氧化活性。

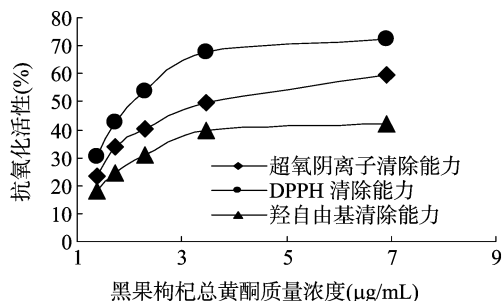


图6 黑果枸杞总黄酮抗氧化活性

3 结论

响应面分析结果表明,提取黑果枸杞总黄酮的最佳组合为:乙醇体积分数 80%、提取时间 60 min、料液比 1 g : 15 mL、提取温度 70 ℃。各因素对总黄酮提取量的影响程度为料液比(C) > 乙醇体积分数(A) > 提取温度(D) > 提取时间(B)。在此条件下实测黑果枸杞总黄酮的提取量为 69.02 μg/mL,与理论值相差 0.120 1 μg/mL。回归模型和响应面分析结果表明,该提取方法合理、可行、稳定。在此基础上对黑果枸杞总黄酮对超氧阴离子、DPPH、羟自由基的清除能力进行检测,结果说明,黑果枸杞总黄酮有较强的抗氧化活性。上述结果为今后黑果枸杞总黄酮提取工艺的放大研究、总黄酮的分离纯化及结构解析、功能机理研究等具有一定的参考价值^[22-25]。

参考文献:

- [1] 矫晓丽,迟晓峰,董琦,等. 柴达木野生黑果枸杞营养成分分析[J]. 氨基酸和生物资源,2011,33(3):60-64.
- [2] 彭强,吕晓鹏,黄琳娟,等. 黑果枸杞多糖的纯化工艺研究[J]. 西北农业学报,2012,21(2):121-126.
- [3] 李永芳,李瑞莲,杨梅,等. 黑果枸杞含片体内抗氧化作用[J]. 中国实验方剂学杂志,2014,20(24):190-193.
- [4] 艾则孜江·艾尔肯,田志浩,冯孟鑫,等. 黑果枸杞质量标准研究[J]. 西北药学杂志,2015,30(3):236-240.
- [5] 林晓春,陈育尧,白殊同,等. 甘草总黄酮对慢性浅表性胃炎大鼠胃黏膜损伤的保护作用[J]. 南方医科大学学报,2013,33(2):299-304.
- [6] 罗国庆,吴亦集,王振江,等. 桑白皮总黄酮的提取工艺优化及不同方法获取桑白皮的总黄酮提取效果[J]. 蚕业科学,2010,36(5):738-742.

- [7] 李会端,王仪. 酸角叶中总黄酮的提取及清除羟自由基的作用研究[J]. 安徽农业科学,2013,41(23):9612-9614.
- [8] 王晓博,何俊婷. 香椿树皮总黄酮的提取分离工艺研究[J]. 西北药学杂志,2013,28(4):349-352.
- [9] Mohammed S, Manan F A. Analysis of total phenolics tannins and flavonoids from *Moringa oleifera* seed extract[J]. Journal of Chemical and Pharmaceutical Research,2015,7(1):132-135.
- [10] Liu J Q, Du C X, Wang Y F, et al. Anti-fatigue activities of polysaccharides extracted from *Hericium erinaceus*[J]. Experimental and Therapeutic Medicine,2015,9(2):483-487.
- [11] Chen R Z, Li H P, Li S Z, et al. Extraction optimization, preliminary characterization and immunological activity of polysaccharides from figs[J]. International Journal of Biological Macromolecules,2015,72(72):185-194.
- [12] Li H, Luo S L, Su J C, et al. Optimization of extraction conditions for flavonoid composition and antioxidant activity of radix scutellariae[J]. Analytical Letters,2015(48):1234-1244.
- [13] 胡家坤,谢文英,陈升位,等. 25 个大麦地方品种籽粒总黄酮和花色苷的含量差异水[J]. 云南农业大学学报,2015,30(4):522-527.
- [14] 庞玉新,张新蕊,于福来,等. 大飞扬总黄酮提取工艺优化及抗氧化活性测定[J]. 广西植物,2015,35(1):115-119.
- [15] 毕海丹,万照东,崔旭海,等. 花生壳总黄酮提取工艺优化及其抑菌活性研究[J]. 江苏农业科学,2015,43(7):297-299.
- [16] 李凤伟,黄磊. 蕨菜总黄酮超声提取工艺[J]. 湖北农业科学,2015,54(13):3227-3230.
- [17] 刘晓燕,李彬. 绵阳鸡屎藤中总黄酮的提取及含量测定[J]. 安徽农业科学,2015,43(22):66-68.
- [18] 陈晶,李琪,黄春萍,等. 枇杷花总黄酮总三萜的大孔树脂制备工艺[J]. 食品科学,2015,36(18):58-63.
- [19] 王健,潘利华. 蓝莓花青素的抗氧化活性研究[J]. 安徽农业科学,2013,41(12):5487-5490.
- [20] Sone Y, Moon J K, Mai T T, et al. Antioxidant/anti-inflammatory activities and total phenolic content of extracts obtained from plants grown in vietnam[J]. Journal of the Science of Food and Agriculture,2011,91(12):2259-2264.
- [21] Milaeva E R, Filimonova S I, Meleshonkova N N, et al. Antioxidative activity of ferrocenes bearing 2,6-di-tert-butylphenol moieties[J]. Bioinorganic Chemistry and Applications,2010(10):165482.
- [22] 刘霞,李伟,谢保平,等. 响应面法优化广枣总黄酮的超声提取工艺研究[J]. 湖北农业科学,2015,54(9):2210-2214.
- [23] Du N N, Tian W, Zheng D F, et al. Extraction, purification and elicitor activities of polysaccharides from *Chrysanthemum indicum*[J]. International Journal of Biological Macromolecules,2016,82(82):347-354.
- [24] Wang W, Wang X Q, Ye H, et al. Optimization of extraction, characterization and antioxidant activity of polysaccharides from *Brassica rapa* L. [J]. International Journal of Biological Macromolecules,2016,82(82):979-988.
- [25] 向晓黎,黄伟,党富民,等. 气质联用技术分析黑枸杞中脂肪酸组成[J]. 广东化工,2015,42(5):40-43.