

doi:10.11751/ISSN.1002-1280.2019.02.06

辣蓼总黄酮提取工艺筛选及优化

向 蓉,何立美,陈文露,高 彪,袁明贵,罗胜军,徐志宏,彭新宇*

(广东省农业科学院动物卫生研究所 农业部兽用药物与诊断技术广东科学观测实验站/

广东省畜禽疫病防治研究重点实验室 广东省中兽药工程技术研究中心,广州 510640)

[收稿日期] 2018-09-13 [文献标识码] A [文章编号] 1002-1280 (2019) 02-0040-08 [中图分类号] S853.7

[摘 要] 为了筛选辣蓼总黄酮的最佳提取工艺并优化,采用热水提取法、超声提取法、乙醇加热回流法、索氏提取法分别对辣蓼总黄酮进行提取,NaNO₂-Al(NO₃)₃-NaOH 显色法显色后,紫外-分光光度法测定总黄酮含量。最佳提取方法单因素试验基础上,采用正交试验优化提取工艺。四种提取方法总黄酮含量分别为 17.97、52.90、50.97、41.80 mg/g,超声提取法优于其它几种提取方法。最佳工艺条件乙醇浓度 60%,料液比 1:30,超声提取时间 50 min,超声提取温度 80 ℃,提取总黄酮含量 53.3 mg/g。超声提取法有利于辣蓼总黄酮的溶出,该方法可为生产高质量的辣蓼提取物提供理论依据。

[关键词] 辣蓼;总黄酮;提取工艺;正交试验

Screening and Optimization of Extraction of Flavonoids from *Polygonum hydropiper*

XIANG Rong, HE Li-mei, CHEN Wen-lu, GAO Biao, YUAN Ming-gui,

LUO Sheng-jun, XU Zhi-hong, PENG Xin-yu*

(Institute of Animal Health, Guang dong Academy of Agricultural Sciences, Scientific observing and experimental Station of veterinary drugs

and diagnostic techniques of Guangdong Province, Ministry of Agriculture, Guangdong Provincial Key Laboratory of Animal Disease Prevention,

Guangzhou Guangdong, Chinese Traditional Medicine Engineering Technology Research Center of Guangdong Province, Guangzhou 510640, China)

Corresponding author: PENG Xin-yu, E-mail: p-xy@163.com

Abstract: To screening and optimization of extraction of flavonoids from *Polygonum hydropiper*, Different extraction methods (including hot water extraction, ultrasonic extraction, ethanol is heated to reflux, soxhlet extraction) were compared with total flavonoids content as index. After NaNO₂ - Al (NO₃)₃ - NaOH color development, determination of total flavonoids by ultraviolet-spectrophotometry. Orthogonal design was applied for extraction technology optimization of flavonoids. The total flavonoid content of four kinds of method were 17.97, 52.90, 50.97 and 41.80 mg/g respectively, ultrasonic extraction was better than other extraction methods. The

基金项目:公益性行业(农业)科研专项(201303040-16);广州市科技计划项目(201604020138,201807010060)

作者简介:向 蓉,博士,高级兽医师,从事兽药方向研究。

通讯作者:彭新宇。E-mail:p-xy@163.com

optimum extraction conditions of *P. hydropiper* were 60% ethanol concentration, solid-liquid ratio 1:30, extraction time was 50 min, ultrasonic extraction temperature was 80 °C, under these conditions total flavonoids was 53.3 mg/g. Ultrasonic extraction facilitates the dissolution of total flavonoids from spicy scallion, which helps produce high quality spicy brassica extract.

Key words: *Polygonum hydropiper*; total flavonoid; extraction process; orthogonal design

辣蓼 (*Polygonum hydropiper* Linn.) 为蓼科 (Polygonaceae) 蓼属 (Polygonum) 植物, 别名蓼子草、红辣蓼、斑蕉草等。全国各地均有分布, 但主产于广东、广西及南方各省, 生长在水边潮湿的地方^[1]。全草均可入药, 本品味辛, 性温; 具有祛风利湿、消肿解毒、散淤止痛、止痒杀虫等功效; 用于肠胃炎、痢疾、腹泻、跌打肿痛、风湿关节痛、功能性子宫出血等; 外用治皮肤湿疹、毒蛇咬伤等症状^[2]。临床研究表明, 辣蓼具有杀虫、抑菌、消炎、抗病毒、抗氧化、抑肿瘤、镇痛止血等多种生物活性^[3-5]。因此在农药、医药、兽药、食品及饲料添加剂等方面都有着良好的开发前景, 特别在畜禽安全健康养殖业和生产安全畜禽产品中有广泛的应用前景^[6]。

黄酮类是辣蓼的主要活性成分, 目前已从辣蓼的不同部位中分离得到金丝桃苷、芦丁、槲皮素、3'-甲基槲皮素、7,4'-二甲基槲皮素、异鼠李素、山萘酚、儿茶素、表儿茶素等^[7-10]。根据设备与操作方式不同, 总黄酮的提取方法可分为: 渗漉法、浸渍法、索氏提取法、加热回流提取法等, 不同操作方法各有优劣。本文分别比较热水提取法、超声提取法、乙醇加热回流法、索氏提取法对辣蓼总黄酮的提取效率, 并在此基础上优化提取工艺, 获得最佳工艺参数。

1 材料与方 法

1.1 材料 芦丁对照品 (批号: 100080-200707, 中国食品药品鉴定研究院, 纯度 $\geq 98\%$); 亚硝酸钠 (分析纯, 批号 20120314, 上海凌峰化学试剂有限公司); 硝酸铝 (分析纯, 批号 20120304-2, 广州化学试剂厂); 氢氧化钠 (分析纯, 批号 12082311422, 南京化学试剂有限公司); 甲醇 (分析醇, 批号 2013062005, 广州市东红化工厂); 辣蓼 (广东广州,

批次 201309) 经广东药学院李书渊教授鉴定为蓼科植物水辣蓼 *Polygonum hydropiper* Linn.。药材经低温干燥后, 粉碎, 过 20 目筛, 备用。

1.2 仪器 UV-3100PC 紫外-可见分光光度计 (上海美谱达仪器有限公司); BS 123S Sartorius 万分之一电子天平 (北京赛多利斯仪器有限公司); SHZD-D (Ⅲ) 循环式水泵 (巩义市予华仪器有限责任公司); RE-5299 旋转蒸发仪 (上海亚荣生化仪器厂); DL-720A 超声波清洗器 (600 w, 上海之信仪器有限公司); KQ-100B 型超声波清洗器 (100 w, 控温 0~85 °C, 昆山市超声仪器有限公司); HH-2 数显恒温水浴锅 (常州奥华仪器有限公司)。

1.3 总黄酮测定方法建立

1.3.1 线性关系考察

1.3.1.1 对照品溶液的制备 取芦丁对照品 10 mg, 精密称量, 置于 10 mL 容量瓶中, 加 60% 乙醇适量, 水浴 40 °C 使溶解, 放冷至室温, 加 60% 乙醇至刻度, 摇匀, 得芦丁储备液。精密量取 5.0 mL, 置于 25 mL 容量瓶中, 加 60% 乙醇稀释至刻度, 摇匀, 即得对照品溶液 (每 1 mL 含芦丁 0.2 mg)。按 NaNO_2 - $\text{Al}(\text{NO}_3)_3$ -NaOH 显色体系进行显色, 精密量取对照品溶液 1.0、2.0、3.0、4.0、5.0、6.0 mL, 分别置于 25 mL 容量瓶中, 各加 30% 乙醇至 6 mL, 加 5% 亚硝酸钠溶液 1.00 mL, 混匀, 放置 6min; 再加 10% 硝酸铝溶液 1.00 mL, 摇匀, 放置 6min; 加氢氧化钠溶液 10.00 mL, 再加 30% 乙醇至刻度, 摇匀, 放置 15 min, 以相应试剂为空白。

1.3.1.2 供试品溶液的制备 取样品 1.0 g, 精密称定, 提取次数为 2 次, 过滤, 合并两次滤液。取滤液 1.0 mL 置于 25 mL 容量瓶中, 按上述 NaNO_2 - $\text{Al}(\text{NO}_3)_3$ -NaOH 显色方法进行显色, 扣除背景后测

定吸光度。

1.3.1.3 检测波长的选择 对照品溶液及供试液按以上显色方法显色后,按各自空白对照进行校准,在 200~700 nm 波长范围内扫描。

1.3.1.4 标准曲线的建立 以吸光度为纵坐标,芦丁标准液的浓度为横坐标,绘制标准曲线。

1.3.2 方法学考察

1.3.2.1 精密密度试验 日内精密密度:取供试液 1.25 mL 于 25 mL 容量瓶中,显色后于同一条件下测定 6 次吸光度,代入标准曲线,求得总黄酮浓度,计算总黄酮含量的变异系数 *RSD* 来考察仪器日内精密密度。

日间精密密度:取供试液 1.25 mL 于 25 mL 容量瓶中显色后平行操作 3 份,测定吸光度,代入标准曲线,求得总黄酮浓度,同法连续操作 3 天,计算总黄酮含量的变异系数 *RSD* 来考察仪器日间精密密度。

1.3.2.2 稳定性试验 取供试液 1.25 mL 于 25 mL 容量瓶中,显色后,定容,放置 15 min 后开始计时,于 0、10、20、30、40、50、60 min 后,测定吸光度值,利用标准曲线计算总黄酮含量的变异系数 *RSD* 来考察样品显色后的稳定时间。

1.3.2.3 重复性试验 取供试品溶液 1.25 mL 于 25 mL 容量瓶中,显色后平行操作 6 份,分别测定吸光度,代入标准曲线方程,计算总黄酮含量的变异系数 *RSD* 来考察供试品的重复性。

1.3.2.4 加样回收率试验 平行取 9 份辣蓼粉末样品,每份 1.0g,精密称定,平均分成 3 组,按供试品处理方法处理后,各取 5.0 mL 分别加入一定量的对照品,使加入量分别约为化合物原始含量的

80% (低浓度组)、100% (中浓度组)、和 120% (高浓度组),显色后测定其吸光度,计算加标回收率及相应的 *RSD* 值。

1.4 提取方法的筛选

1.4.1 热水提取法 取辣蓼粉末 100.00 g,第 1 次加 8 倍水浸泡 2 h 后,煎煮 1.5 h,过滤,滤渣继续加 6 倍水煎煮 1 h,过滤,合并 2 次滤液,于旋转蒸发仪浓缩后,离心 (3500 r/min, 10 min) 取上清液,浓缩至 1000 mL (生药浓度 0.1 g/mL)。

1.4.2 超声提取法 精密称取辣蓼样品 10.0 g 置于具塞锥形瓶中,加入 200.0 mL 60% 乙醇,浸泡 2 h,80 °C 超声处理 30 min,离心,滤渣继续加 200.0 mL 60% 乙醇,超声 30 min,离心,合并两次滤液,于旋转蒸发仪减压浓缩至 100 mL (生药浓度 0.1 g/mL)。

1.4.3 加热回流提取法 精密称取辣蓼样品 10.0 g 置于 500 mL 圆底烧瓶中,精密加入 200.0 mL 60% 乙醇,88 °C 水浴加热回流 4 h,离心,滤渣继续加 200.0 mL 60% 乙醇,回流 4 h,离心,合并两次滤液,于旋转蒸发仪减压浓缩至 100 mL (生药浓度 0.1 g/mL)。

1.4.4 索氏提取法 精密称取辣蓼样品 10.0 g 于 500 mL 索氏回流管中,加入 200.0 mL 60% 乙醇,88 °C 水浴加热回流 4 h,离心,滤渣继续加 200.0 mL 60% 乙醇,回流 4 h,离心,合并两次滤液,于旋转蒸发仪减压浓缩至 100 mL (生药浓度 0.1 g/mL)。

1.5 提取工艺的优化 以辣蓼总黄酮含量为考察指标,选择乙醇浓度、料液比、提取时间及提取温度作为考察超声提取法的四个影响因素,按 4 因素 3 水平进行 L₉(3⁴) 正交试验设计,因素水平见表 1。

表 1 辣蓼总黄酮提取工艺正交实验因素水平

Tab 1 The orthogonal experiment factor level of extraction of total Flavonoids from *Polygonum hydropiper*

因素	A	B	C	D
	乙醇浓度/%	料液比/(g · mL ⁻¹)	提取时间/min	提取温度/°C
1	50	1:10	30	40
2	60	1:30	40	60
3	70	1:50	50	80

1.6 验证实验 按照最佳工艺条件乙醇浓度 60%, 料液比 1 : 30, 超声提取时间 50 min, 超声提取温度 80℃, 进行重复实验验证。

2 结果与分析

2.1 总黄酮测定方法建立

2.1.1 线性关系考察

2.1.1.1 检测波长的选择 由芦丁和样品的光谱图可知, 在波长为 345 nm、510 nm 处, 溶液的吸光度达到两个峰值, 考虑到许多物质(溶剂等非黄酮类物质)在 345 nm 左右均有吸收, 杂质干扰较大, 故选择 510 nm 作为最大吸收波长。芦丁、供试品经显色后吸收曲线如图 1、2。

2.1.1.2 标准曲线的建立 以吸光度为纵坐标, 芦丁标准液的浓度为横坐标, 绘制标准曲线, 用最小二乘法进行线性回归, 回归方程为 $y = 12.003x + 0.0037$, 相关系数 $R^2 = 0.9999$ 。芦丁的标准曲线如图 3。

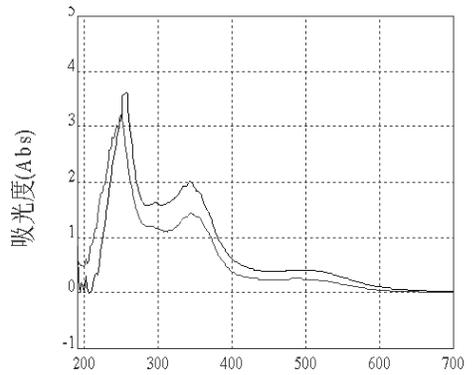


图 2 辣蓼供试品显色后吸收光谱图

Fig 2 Absorption spectra of *Polygonum hydropiper* after coloration

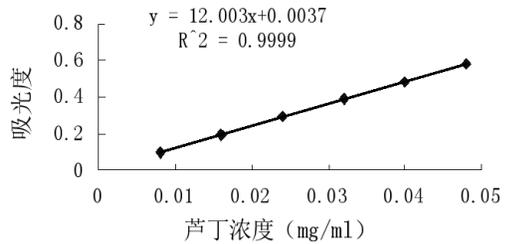


图 3 芦丁标准曲线图

Fig 3 Standard Curves of Rutin

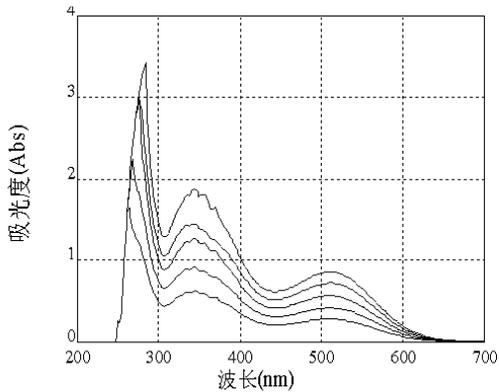


图 1 芦丁显色后吸收光谱图

Fig 1 Absorption spectra of Rutin after coloration

2.1.2 方法学考察

2.1.2.1 精密性试验 日内精密性: 同一条件下测定 6 次吸光度, 代入标准曲线, 求得总黄酮浓度, 计算总黄酮含量的变异系数 RSD 。日内 $RSD = 1.01%$, 试验结果见表 2。

2.1.2.2 日间精密性 平行操作 3 份, 测定吸光度, 同法连续操作 3 d, 计算总黄酮含量的变异系数 RSD 。日间 $RSD = 0.58%$, 试验结果见表 3。

表 2 日内精密性试验结果

Tab 2 The result of within-day precision test

	供试品中总黄酮含量/mg						RSD/%
	1	2	3	4	5	6	
日内精密性	39.8	39.7	40.2	40.7	40.3	40.6	1.01

表 3 日间精密度试验结果

Tab 3 The result of intraday precision test

	供试品中总黄酮含量/mg			RSD/%
	1	2	3	
日间精密度	40.1	40.3	40.4	0.58
	40.4	40.2	40.2	
	39.7	40.3	40.5	

2.1.2.2 稳定性试验 分别于 0、10、20、30、40、50、60 min 测定的吸光度值,利用标准曲线计算总黄酮含量的变异系数 *RSD*。结果显示显色后的供试品在

40 min 内是稳定的,超过 40 min 后,*RSD*>2.0%,吸光度明显降低,结果见表 4。

表 4 稳定性试验结果

Tab 4 The result of stability test

时间/min	0	10	20	30	40	50	60
总黄酮含量/(mg·g ⁻¹)	40.2	40.1	40	39.4	38.9	37.2	35.3
<i>RSD</i> /%		0.18	0.25	0.90	1.39	2.91	4.74

2.1.2.3 重复性试验 平行操作 6 份,分别测定吸光度,代入标准曲线方程,计算总黄酮含量的变异

系数 *RSD*。结果见表 5,*RSD* 为 1.45%,说明该方法的重复性良好。

表 5 重复性试验结果

Tab 5 The result of reproducibility test

总黄酮含量/(mg·g ⁻¹)						<i>RSD</i> (%)
1	2	3	4	5	6	
39.70	40.78	40.30	39.42	40.09	39.23	1.45

2.1.2.4 加样回收率试验 低浓度组、中浓度组和高浓度组分别显色后测定其吸光度,计算加标回收率及相应的 *RSD* 值。结果见表 6,以芦丁为对照

品,检测样品的平均回收率,*RSD*<2%(*n*=3),均符合要求。

表 6 加样回收试验结果(*n*=3)

Tab 6 The result of recovery test

	供试品内含量/mg	加入量/mg	实测量/mg	回收率/%	<i>RSD</i> /%
低浓度组	4.02	3.20	7.25	100.94	1.25
中浓度组	4.02	4.00	7.98	99.00	0.73
高浓度组	4.02	4.80	8.76	98.75	1.30

2.2 提取方法的筛选 不同提取方法的总黄酮含量 总黄酮含量结果详见表 7,提取率从大到小依次为:超声提取法>加热回流提取法>索氏提取法>热水提取法,超声提取法与加热回流提取法总黄酮得率相差不大,但加热回流提取时间长,能耗较大,所以本研究选用超声提取法。

2.3 提取工艺的优化 正交试验中各因素和水平之间的 9 种组合方式及每组结果见表 8。由表 8 可知,最佳提取工艺条件组合为:A₂B₃C₃D₃,考虑到工

业生产成本,可选择 A₂B₂C₃D₃ 即乙醇浓度为 60%,料液比为 1:30,超声提取时间为 50 min,超声提取温度为 80 ℃。由 RB>RA>RD>RC 得其因素影响顺序为料液比>乙醇浓度>提取温度>提取时间。

2.4 验证实验 按照最佳工艺条件乙醇浓度 60%,料液比 1:30,超声提取时间 50 min,超声提取温度 80 ℃,进行重复实验验证,验证试验结果见表 9。从表 9 可看出,最佳提取工艺条件下 RSD 为 0.68%,具有较好的重复性。

表 7 辣蓼不同提取方法的总黄酮含量(单位:mg/g)

Tab 7 The total flavonoid content of four kinds of method (unit:mg/g)

	热水提取法	超声提取法	加热回流提取法	索氏提取法
均值±RSD	17.97±2.32	52.90±1.13	50.97±0.41	41.80±1.57

表 8 辣蓼超声提取法正交实验 k(34) 设计及结果

Tab 8 Design and result of orthogonal experiment of ultrasonic extraction

序号	A	B	C	D	总黄酮含量/(mg·g ⁻¹)
	乙醇浓度/%	料液比/(g·mL ⁻¹)	时间/min	温度/℃	
1	50	1:10	30	40	35.4
2	50	1:30	40	60	43.9
3	50	1:50	50	80	50.1
4	60	1:10	40	80	46.4
5	60	1:30	50	40	51.5
6	60	1:50	30	60	52.3
7	70	1:10	50	60	40.7
8	70	1:30	30	80	46.8
9	70	1:50	40	40	44.6
k1	43.13	40.83	44.83	43.83	
k2	50.07	47.40	44.97	45.63	
k3	44.03	49.00	47.43	47.77	
R	6.93	8.17	2.60	3.93	

表 9 辣蓼提取工艺最佳条件验证(单位:mg/g)

Tab 9 The result of verifying test(unit:mg/g)

	1	2	3	均值±RSD
总黄酮含量	53.4	52.9	53.6	53.3±0.68

3 讨论与结论

根据设备与操作方式不同,总黄酮的提取方法可分为:渗漉法、浸渍法、索氏提取法、加热回流提取法等,不同操作方法各有优劣^[11-14]。辣蓼中总黄酮的不同提取方法也有很多文献报道,罗文涓^[15]等采用浸提法、水煎醇沉法、超声法、超声酶解法(加纤维素酶)、超声酶解法(加果胶酶)和超声配合酶解法进行辣蓼总黄酮的提取,结果表明,超声法能耗低、得率高,所得的黄酮种类多于浸提法与水煎醇沉法。利用超声提取配合酶解法对辣蓼总黄酮进行提取,得到的黄酮母体结构具有多样性,因此,采用超声提取配合酶解法获得的辣蓼总黄酮得率最高。

实验采用热水提取法、超声提取法、乙醇加热回流法、索氏提取法分别对辣蓼总黄酮进行提取,最终总黄酮含量从大到小依次为超声提取法(52.90 mg/g)>加热回流提取法(50.97 mg/g)>索氏提取法(41.80 mg/g)>热水提取法(17.97 mg/g)。其中热水提取法为最传统的水煎煮法,不借助任何仪器,也无需添加任何溶剂,因此提取率最低;超声提取法为超声辅助醇提法,无论是有效物质的释放,还是释放后的溶解性都比水煎煮法要显著高出很多;而加热回流法和索氏提取法都是借用不同装置和处理进行的醇提法,提取总黄酮含量比超声提取法略低。热水提取法操作简便,试剂廉价易得,但提取率太低;索氏提取法无论在提取率方面还是节约资源方面都并不理想;加热回流提取法与超声提取法总黄酮得率相差不大,但加热回流法两次提取共耗时超过 8 h,且能耗大,超声提取大大缩短了提取时间(只需 1 h),提取充分,能耗低,操作方便,是较为理想的提取辣蓼总黄酮的方法,所以本次研究最终选用超声提取法进行优化。

正交实验结果显示因素影响顺序为料液比>乙醇浓度>提取温度>提取时间,乙醇浓度为 60%,料液比为 1:30,超声提取时间为 50 min,超声提取温度为 80 ℃时,总黄酮提取浓度最高,为 53.3 mg/g。这与张晶^[16]等人利用单因素试验和正交试验得出的超声波辅助提取辣蓼中总黄酮条件略有不同,但

与其可提取到的黄酮类化合物含量(55.8 mg/g)相差不大,这可能是因为不同产地的辣蓼对不同条件的适应性不一样,但超声处理均可有助于辣蓼中总黄酮的释放和提取。

参考文献:

- [1] Kok P T, Hsaun K, Avadhani, P N. A guide to common vegetables[M].Singapore Science Center,1991: 124.
- [2] 全国中草药汇编编写组.全国中草药汇编[M].北京:人民卫生出版社,1986:896.
National compilation of Chinese herbal medicine writing group. National compilation of Chinese herbal medicine [M]. Beijing: People's Medical Publishing House (PMPH), 1986: 896.
- [3] Maheswaran R, Sararimuthu L. Bioefficacy of essential oil from *Polygonum hydropiper* L. against mosquitoes, *Anopheles stephensi* and *Culex quinquefasciatus* [J]. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 2013, 97: 26-31.
- [4] Maheswaran R, gnacimuthu S. Effect of *Polygonum hydropiper* L. against dengue vector mosquito *Aedes albopictus* L [J]. *Parasitology Research*, 2014, 113(9): 3143-3150.
- [5] Munira S, Sultana F, Mollika S, et al. Anti-Neoplastic activities of *Polygonum hydropiper* linn. against Ehrlich Ascites Carcinoma in Swiss Albino mice [J]. *Advances in Biological Research*, 2013, 7(1): 9-14.
- [6] 肖祝华,罗晓韵,程轩轩,等.辣蓼对大肠埃希菌性腹泻小鼠肠黏膜的修复作用[J]. *中国实验方剂学杂志*, 2018, 24(22): 1-7.
Xiao Zh H, Luo X Y, Cheng X X, et al. Effect of *Polygonum hydropiper* on intestinal mucosal repair in diarrhea mice induced by *Escherichia coli* [J]. *Chinese Journal of Experimental Traditional Medical Formulae*, 2018, 24(22): 1-7.
- [7] 张国英,曾 韬.辣蓼主要化学成分的研究[J]. *林产化学与工业*, 2005, 25(3): 21-24.
Zhang G Y, Zeng T. Study on Chemical Constituents of *Polygonum hydropiper* Linn [J]. *Chemistry and Industry of Forest Products*, 2005, 25(3): 21-24.
- [8] 许瑞波,周洪英,陈林,等.地瓜叶总黄酮的超声辅助提取及生物活性研究[J]. *食品科学*, 2013, 41(3): 141-146.
Xu R B, Zhou H Y, Chen L, et al. Ultrasonic-Assisted extraction and bioactivity of flavonoids from ipomoea batatas lam leaves [J]. *Food Science*, 2013, 41(3): 141-146.
- [9] 巩忠福,杨国林,严作廷,等.蓼属植物的化学成分与药理学活性研究进展[J]. *中草药*, 2002, 33(1): 82-84.

- Gong Z F, Yang G L, Yan Z T, *et al.* Survey of chemical constituents and bioactivity of *Polygonum* L. plants [J]. Chinese Traditional and Herbal Drugs, 2002, 33(1): 82-84.
- [10] 沈冰冰, 王敏, 罗娟, 等. 蓼属药用植物的化学成分及其药理活性研究进展 [J]. 湖南中医药大学学报, 2015, 35(7): 63-70.
- Shen B B, Wang M, Luo J, *et al.* Research progress of chemical constituents and its pharmacological activities from the medicinal plants of genus *Polygonum* [J]. Journal of Hunan Univ. of CM, 2015, 35(7): 63-70.
- [11] 易跃能, 杨华, 赵勇, 等. 渗漉法提取广枣中黄酮类成分的工艺研究 [J]. 中国中药杂志, 2010, 35(14): 1806-1808.
- Yi Y N, Yang H, Zhao Y, *et al.* Extracting flavonoids from *Chorospondias axillaris* by percolation [J]. China Journal of Chinese Materia Medica, 2010, 35(14): 1806-1808.
- [12] 乐薇, 余雨珊, 吴士筠. 提取方法对箬叶总黄酮抑菌效果的影响 [J]. 化学与生物工程, 2015, 32(11): 31-33.
- Yue W, She Y S, Wu S J. Effect of Extraction methods on antibacterial activities of total flavonoids from *Indocalamus* leaves [J]. Chemistry & Bioengineering, 2015, 32(11): 31-33.
- [13] 罗琥捷, 杨宜婷, 黄寿根, 等. 超声提取法与索氏提取法提取陈皮黄酮类有效成分的分析比较 [J]. 中药材, 2016, 39(2): 371-374.
- Luo H J, Yang Y T, Huang S G, *et al.* Comparison of ultrasonic extraction and soxhlet extraction on flavonoids of pericarpium *Citri reticulatae* [J]. Journal of Chinese Medicinal Materials, 2016, 39(2): 371-374.
- [14] 任顺成, 丁霄霖. 玉米须中总黄酮的提取及树脂精制 [J]. 中草药, 2003, 34: 1092-1094.
- Ren S C, Ding X L. Extraction of total flavonoids from corn silk and purification by resin [J]. Chinese Traditional and Herbal Drugs, 2003, 34: 1092-1094.
- [15] 罗文涓, 陶俊宇, 杨剑, 等. 酶解-超声偶联法提取辣蓼总黄酮方法研究 [J]. 畜牧与饲料科学, 2017, 38(6): 4-6.
- Luo W J, Tao J Y, Yang J, *et al.* Development of an enzymolysis-ultrasonic coupling method for extraction of total flavonoids from *Polygonum hydropiper* [J]. Animal Husbandry and Feed Science, 2017, 38(6): 4-6.
- [16] 张晶, 黄士文, 徐绍清, 等. 辣蓼总黄酮超声波辅助提取条件优化研究 [J]. 中国野生植物资源, 2016, 35(5): 25-29.
- Zhang J, Huang S W, Xu S Q, *et al.* Ultrasonic technology for extracting flavonoids from *Polygonum hydropiper* [J]. Chinese Wild Plant Resources, 2016, 35(5): 25-29.

(编辑:陈希)