

超声波协同酶法提取黄山贡菊总黄酮及其抗氧化活性

史建俊, 李伟伟, 王免, 李秀秀, 庄雪燕 (黄山学院化学化工学院, 安徽黄山 245041)

摘要 [目的] 黄山贡菊总黄酮(total flavonoids from Huangshan Gongju, HGTF) 提取工艺优化和抗氧化活性测定。[方法] 以 HGTF 提取率为指标, 采用单因素和正交试验优化超声波协同酶法提取 HGTF 工艺。通过自由基清除试验评价 HGTF 的抗氧化活性。[结果] HGTF 的最佳提取条件为酶解时间 20 min、复合酶质量分数 0.1%、纤维素酶和果胶酶配比 1:1、乙醇浓度 60%、料液比 1:20(g:mL)、超声时间 40 min、超声功率 280 W、超声温度 50 °C, HGTF 提取率为 2.78%。抗氧化活性试验结果表明, HGTF 溶液对 DPPH·、·OH 和 O₂⁻ 的清除率较高, 分别为 90.47% (0.05 mg/mL)、73.44% (0.10 mg/mL) 和 78.73% (0.10 mg/mL)。[结论] 复合酶解后超声波提取 HGTF 条件温和、提取率高。该研究为 HGTF 的应用提供参考依据。

关键词 黄山贡菊; 总黄酮; 超声波协同酶法; 抗氧化活性

中图分类号 R 284.2 **文献标识码** A

文章编号 0517-6611(2020)24-0174-04

doi: 10.3969/j.issn.0517-6611.2020.24.049



开放科学(资源服务)标识码(OSID):

Ultrasonic Assisted Enzymatic Extraction of HGTF and Antioxidant Activity

SHI Jian-jun, LI Wei-wei, WANG Mian et al (School of Chemistry and Chemical Engineering, Huangshan University, Huangshan, Anhui 245041)

Abstract [Objective] To optimize the extraction process and antioxidant activity of HGTF. [Method] Taking the HGTF yield as index, the extraction process was optimized by single factor experiment and orthogonal experiment. The oxidation resistance of HGTF was evaluated by scavenging tests for different free radicals. [Result] The optimum extraction conditions were finally determined as follows, enzymolysis time of 20 min, mass fraction of complex enzyme of 0.1%, cellulase-pectinase ratio of 1:1, ethanol concentration of 60%, solid-liquid ratio of 1:20, ultrasonic time of 40 min, ultrasonic power of 280 W, ultrasonic temperature of 50 °C, the extraction rate of HGTF was 2.78%. The results of antioxidant activity test showed that the scavenging rate of HGTF solution to DPPH·, ·OH and O₂⁻ was high. The clearance rates to DPPH·, ·OH and O₂⁻ were 90.94% (0.05 mg/mL), 73.44% (0.10 mg/mL) and 78.73% (0.10 mg/mL), respectively. [Conclusion] Ultrasonic extraction of HGTF after complex enzymatic hydrolysis has mild conditions and high extraction rate. This research provides some reference for the further application of HGTF.

Key words Huangshan Gongju; Total flavonoids; Ultrasonic assisted enzymatic extraction; Antioxidant activity

菊花为菊科植物菊(*Chrysanthemum morifolium* Ramat)的头状花序。黄山贡菊为中国药典中 5 种药用菊花之一, 具有平肝、明目、清热、解毒等功效^[1], 而且菊花属于药食兼用植物。菊花中主要含有黄酮、萜类、挥发油类等化学成分^[2]。药理学研究主要集中在抗氧化、抗菌消炎^[3]、免疫调节、抗肿瘤^[4]、保护心血管^[5]、保肝作用^[6]等方面, 近年来新发现菊花提取物还具有抗癫痫作用^[7]、预防干眼^[8]、肠道菌群调节^[9]的作用。

黄酮类物质是药用菊花发挥药效的主要成分之一。研究表明菊花黄酮也具有抗氧化性^[10]、降血脂^[11]和抗肿瘤^[12-13]等活性。新的研究发现菊花黄酮可以通过 α-葡萄糖苷酶和 PTP-1B 信号途径的双重调节, 增加 INS-1 细胞胰岛素分泌和显著降低空腹血糖水平, 从而可以用于糖尿病的治疗^[14]。黄酮的提取常用溶剂提取法、微波提取^[15]、超声提取等, 现今, 有些学者改进了提取方法, 如采用酶提取法、超临界 CO₂ 萃取法^[16]、高压水提法^[17]、低共熔溶剂提取法^[18]等。酶可以使植物细胞壁水解破碎, 有利于胞内黄酮类物质的溶出^[19], 与传统提取方法相比, 环境友好、提取率高。超声波在液体中高频振动而产生空穴作用, 加快细胞组织破坏, 缩短提取时间, 提高黄酮得率^[20]。超声波协同酶法结合 2 种方

法的优点, 已广泛应用于黄酮提取中。

为进一步开发黄山贡菊的综合利用价值, 该研究以黄山贡菊为原料, 采用超声波辅助复合酶法进行 HGTF 的提取条件优化, 并通过检测其清除自由基的能力初步研究 HGTF 的抗氧化活性, 旨在为黄山贡菊资源的深加工提供一定的理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 试材。 黄山贡菊(黄山儒香园茶业有限公司); 纤维素酶(南宁庞博生物工程有限公司); 果胶酶(福州飞净生物科技有限公司); 芦丁标准品(国药试剂公司); DPPH(合肥巴斯夫生物科技有限公司); 水杨酸(天津福晨化学试剂有限公司); 其他试剂均为 AR 级。

1.1.2 仪器。 KQ 超声波清洗机(昆山超声仪器公司); 紫外可见分光光度计(北京普析通用公司); 粉碎机(广州晨雕机械公司)。

1.2 方法

1.2.1 标准曲线。 参照文献^[21], 芦丁浓度和吸光度线性回归方程为 $A = 14.058C - 0.0006$ ($R^2 = 0.9994$), 说明芦丁在 0.004~0.052 mg/mL 线性关系良好。

1.2.2 HGTF 提取率的测定。 称取黄山贡菊粉末 1.0 g 于烧瓶中, 加入 10 mL 蒸馏水, 再加入一定量的复合酶。50 °C 水浴锅中保温酶解后, 高温灭活, 再超声提取, 抽滤得到的滤液用 40% 的乙醇溶液定容到 50 mL, 得到 HGTF 溶液, 稀释后按

基金项目 安徽省教育厅自然科学基金项目(KJHS2016B07, KJHS2017B08); 黄山学院启动项目(2018xkj018); 国家级大学生创新创业项目(201810375040, 201810375010)。

作者简介 史建俊(1982—), 男, 山东潍坊人, 讲师, 博士, 从事天然药物研究和药物研发工作。

收稿日期 2020-06-20

“1.2.1”项下的方法,在 510 nm 处测定吸光度,计算 HGTF 提取率:

$$\text{总黄酮得率} = \frac{C \times n \times V \times 10^{-3}}{W} \times 100\%$$

式中, C 为 HGTF 含量 (mg/mL), n 为稀释倍数, V 为测量体

积 (mL), W 为贡菊质量 (g)。

1.2.3 单因素试验。分别考察料液比(A)、超声时间(B)、超声功率(C)、超声温度(D)、乙醇浓度(E)、酶解时间(F)、复合酶配比(G)、复合酶质量分数(H)对 HGTF 提取率的影响。单因素水平见表 1。

表 1 单因素水平
Table 1 Single factor level

水平 Level	A(料液比 Solid-liquid ratio)	B(超声时间 Ultrasonic time//min)	C(超声功率 Ultrasonic power//W)	D(超声温度 Ultrasonic temperature//°C)	E(乙醇浓度 Ethanol concentration//%)	F(酶解时间 Enzymolysis time//min)	G(复合酶配比 Ratio of cellulase and pectinase)	H(复合酶质量分数 Mass fraction of complex enzyme//%)
1	1:10	20	200	30	30	10	1:0	0.05
2	1:20	30	240	40	40	20	1:1	0.10
3	1:30	40	280	50	50	30	3:2	0.20
4	1:40	50	320	60	60	40	2:1	0.30
5	1:50	60	360	70	70	50	3:1	0.40

1.2.4 正交试验。综合单因素试验中各因素对 HGTF 提取的影响,选择料液比(A)、超声时间(B)、超声功率(C)和超声温度(D)为考察因素,以 HGTF 提取率为评价指标,采用正交试验 $L_9(3^4)$ 优化提取工艺条件。因素与水平见表 2。

表 2 $L_9(3^4)$ 正交试验因素与水平
Table 2 Factors and levels of $L_9(3^4)$ orthogonal test

水平 Level	A(料液比 Solid-liquid ratio)	B(超声时间 Ultrasonic time//min)	C(超声功率 Ultrasonic power//W)	D(超声温度 Ultrasonic temperature//°C)
1	1:20	30	240	45
2	1:30	40	280	50
3	1:40	50	320	55

1.2.5 工艺验证试验。按“1.2.4”得到的最佳提取工艺条件进行提取,根据 5 次平行试验结果计算 HGTF 提取率。

1.2.6 HGTF 抗氧化活性试验。分别配制浓度为 0.005、0.010、0.030、0.050、0.100、0.150、0.200 和 0.250 mg/mL 的 HGTF 提取液和 V_C 溶液,参考文献[21]的方法,测定对 DPPH·、·OH 和 O_2^- 的清除能力。

2 结果与分析

2.1 单因素试验

2.1.1 料液比对 HGTF 提取率的影响。由图 1 可知,当料液比超过 1:20(g:mL)后 HGTF 提取率缓慢降低。其原因可能是加入的溶剂量越大,贡菊细胞内外浓度差越大,溶剂的扩散渗透作用也越强,溶解的黄酮类化合物增多,提取率逐渐升高。但当加入的溶剂量达到一定程度时,黄酮的浸出量达到饱和,而其他杂质的溶出相应增多,从而使提取率逐渐下降。因此适宜料液比为 1:20。

2.1.2 超声时间对 HGTF 提取率的影响。由图 2 可知,随着超声时间的延长 HGTF 提取率先增加后下降。其原因可能是超声处理可有效地破坏贡菊细胞壁,促使细胞内更多的物质溶出,从而使黄酮的提取率升高。但随着时间的延长,较多的杂质也会随之溶出,从而导致 HGTF 提取率下降。因此

适宜的超声时间为 40 min。

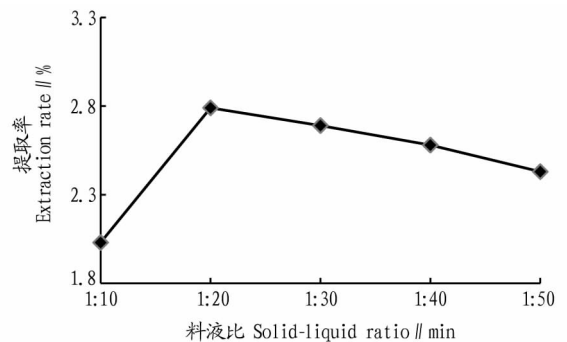


图 1 料液比对 HGTF 提取率的影响

Fig.1 Effects of solid-liquid ratio on the extraction ratio of HGTF

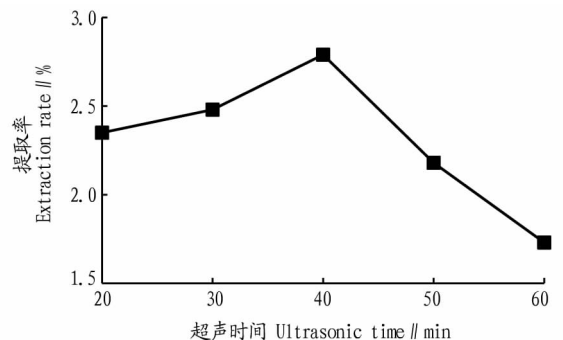


图 2 超声时间对 HGTF 提取率的影响

Fig.2 Effects of ultrasonic time on the extraction ratio of HGTF

2.1.3 超声功率对 HGTF 提取率的影响。由图 3 可知,随着超声功率的升高, HGTF 提取率先显著增大,后又显著降低。其原因是当超声功率逐渐增大时,就会达到其最低空化阈值,其空化作用将细胞破碎,利于胞内组分的浸出;当继续增大超声功率,其空化阈值也随之升高,空化不易产生,且已空化的气泡无充分时间发生爆裂,空化强度减弱^[22]。因此适宜的超声功率为 280 W。

2.1.4 超声温度对 HGTF 提取率的影响。由图 4 可知,当逐渐升高超声温度时, HGTF 提取率先显著升高,而后又降低。

可能是由于高温破坏了贡菊中黄酮类化合物的结构,并且增加了杂质的溶出量。故超声适宜温度为 50 ℃。

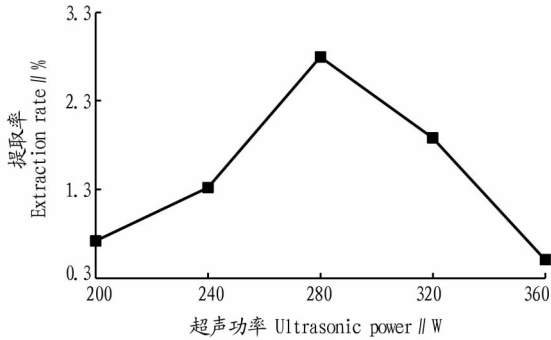


图3 超声功率对 HGTF 提取率的影响

Fig.3 Effects of ultrasonic power on the extraction ratio of HGTF

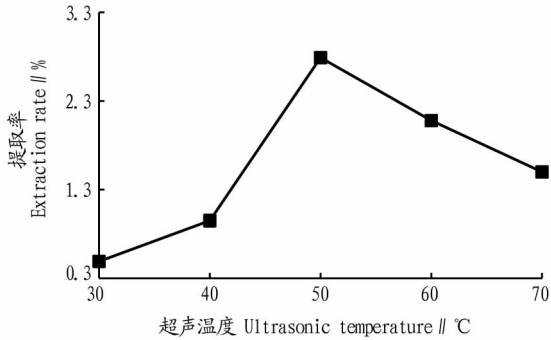


图4 超声温度对 HGTF 提取率的影响

Fig.4 Effects of ultrasonic temperature on the extraction ratio of HGTF

2.1.5 乙醇浓度对 HGTF 提取率的影响。由图 5 可知, HGTF 提取率随着乙醇浓度先增大后减少。说明采用低浓度乙醇时,溶解的黄酮类化合物较少;随着乙醇浓度的增加,传质推动力增大, HGTF 溶出增加;但采用 60% 以上乙醇浓度时,脂溶性杂质的溶出增加,致使 HGTF 提取率下降。因此乙醇浓度选择 60% 比较合适。

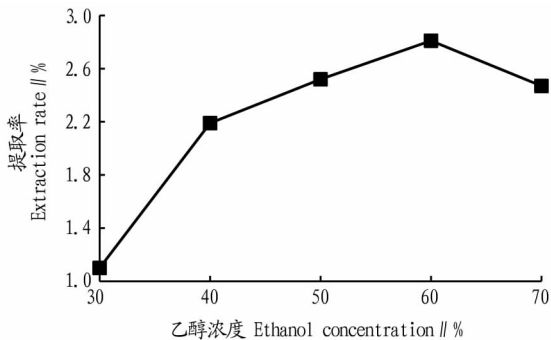


图5 乙醇浓度对 HGTF 提取率的影响

Fig.5 Effects of ethanol concentration on the extraction ratio of HGTF

2.1.6 酶解时间对 HGTF 提取率的影响。由图 6 可知, 20 min 的时间使复合酶与底物结合并充分反应,发挥其最大的酶解作用,使贡菊中的黄酮类化合物溶出完全。而较长的酶解时间可能使贡菊中有效成分在受热条件下发生分解。因此,选择酶解时间 20 min 较为适宜。

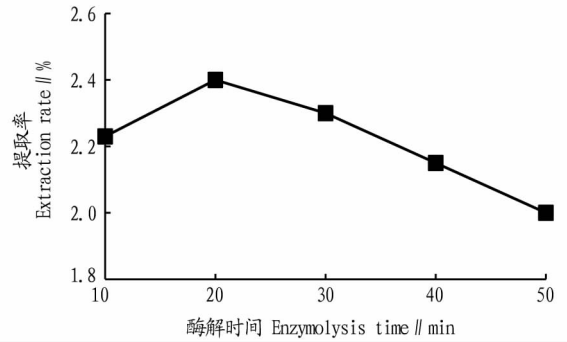


图6 酶解时间对 HGTF 提取率的影响

Fig.6 Effects of enzymolysis time on the extraction ratio of HGTF

2.1.7 复合酶比对 HGTF 提取率的影响。由图 7 可知,随着 2 种酶配比的改变, HGTF 提取率先增大后减小。因为随着纤维素酶在复合酶中所占比重增加,果胶酶所占比重减小,果胶酶对于细胞的分离作用减弱,致使纤维素酶不能充分地将细胞壁降解,细胞内有效成分不能完全溶出。因此,适宜的纤维素酶和果胶酶配比为 1:1。

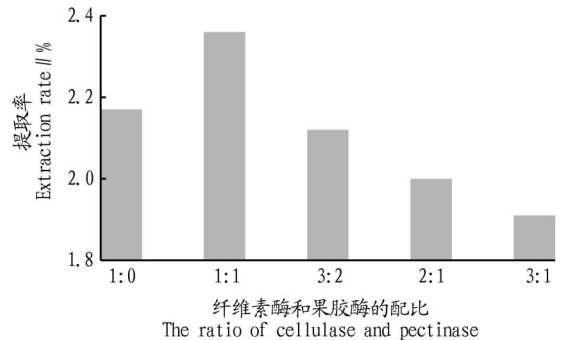


图7 复合酶比对 HGTF 提取率的影响

Fig.7 Effects of the ratio of cellulase and pectinase on the extraction ratio of HGTF

2.1.8 复合酶质量分数对 HGTF 提取率的影响。由图 8 可知,随着复合酶质量分数的提高, HGTF 提取率先增加后减小,当复合酶用量达到贡菊重量的 0.1% 时, HGTF 提取率达到最高。因此,适宜的复合酶质量分数为 0.1%。

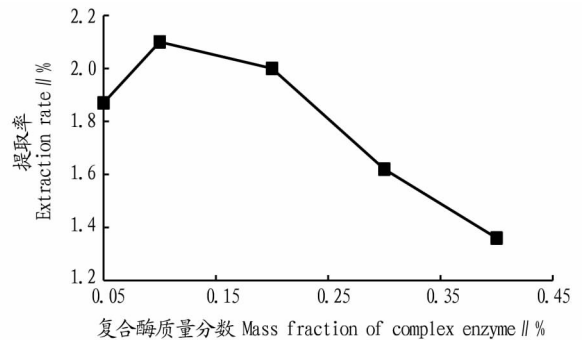


图8 复合酶质量分数对 HGTF 提取率的影响

Fig.8 Effects of mass fraction of complex enzyme on the extraction ratio of HGTF

2.2 正交试验 由表 2 的极差值分析可知,提取条件中超声温度(D)对 HGTF 提取率的影响最大,其次是超声功率(C),

而料液比(A)和超声时间(B)影响较小。再分析各因素不同水平下的综合平均值 k ,可依次得到 A_1 、 B_2 、 C_2 、 D_2 为最优水平。因此,HGTF 提取的最佳条件为 $A_1B_2C_2D_2$,即料液比1:20、超声时间40 min、超声功率280 W、超声温度50℃。在此条件下进行工艺验证试验,HGTF 得率为2.78%。

表2 正交试验结果

Table 2 Orthogonal test results

序号 No.	A	B	C	D	提取率 Extraction ratio//%
1	1	1	1	1	1.36
2	1	2	2	2	2.79
3	1	3	3	3	2.01
4	2	1	2	3	1.95
5	2	2	3	1	1.16
6	2	3	1	2	2.08
7	3	1	3	2	1.77
8	3	2	1	3	1.86
9	3	3	2	1	1.60
k_1	2.053	1.693	1.767	1.373	
k_2	1.730	1.937	2.113	2.213	
k_3	1.743	1.897	1.647	1.940	
R	0.323	0.244	0.466	0.840	

2.3 HGTF 抗氧化活性研究

2.3.1 对 DPPH· 的清除作用。由图9可知,0.05 mg/mL 浓度下 HGTF 溶液和 V_c 溶液对 DPPH· 的清除率分别为 90.47% 和 95.29%,此后清除率增长缓慢。0.25 mg/mL 浓度下 HGTF 溶液的清除率(95.53%)与同浓度 V_c 溶液的清除率(95.41%)几乎相同,说明 HGTF 对 DPPH· 的清除效果较强。

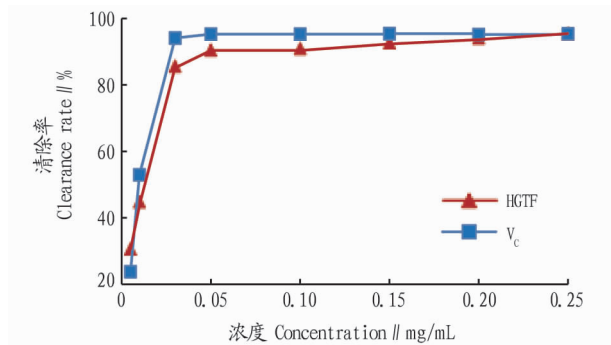


图9 HGTF 对 DPPH· 的清除作用

Fig.9 Scavenging effects of HGTF on DPPH·

2.3.2 对·OH 的清除作用。由图10可知,2种溶液对·OH 的清除效果随着浓度增大不断升高。0.10 mg/mL 的 HGTF 溶液和 V_c 溶液对·OH 的清除率分别达73.44%和90.86%,说明 HGTF 溶液对·OH 的清除效果低于 V_c 溶液,但也有较好的清除效果。

2.3.3 对 $O_2^{\cdot-}$ 的清除作用。由图11可知,HGTF 和 V_c 的浓度与 $O_2^{\cdot-}$ 清除率之间存在量效关系。0.1 mg/mL 的 HGTF 溶液和 V_c 溶液对 $O_2^{\cdot-}$ 的清除率分别为78.73%和95.44%,相同浓度下 HGTF 溶液对 $O_2^{\cdot-}$ 的清除效果低于 V_c 溶液。

3 结论

复合使用果胶酶与纤维素酶对黄山贡菊粉末进行酶解,

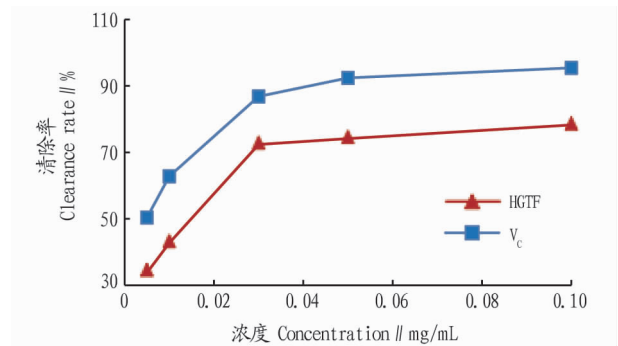
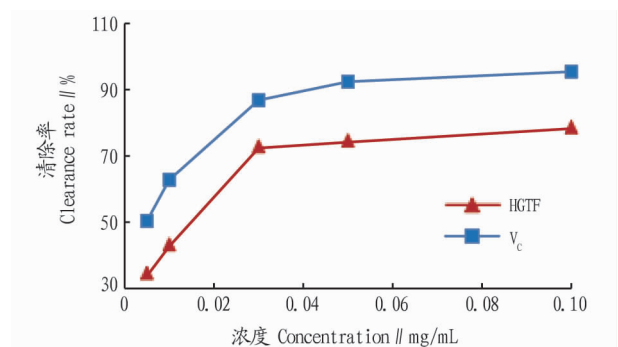


图10 HGTF 对·OH 的清除作用

Fig.10 Scavenging effects of HGTF on ·OH

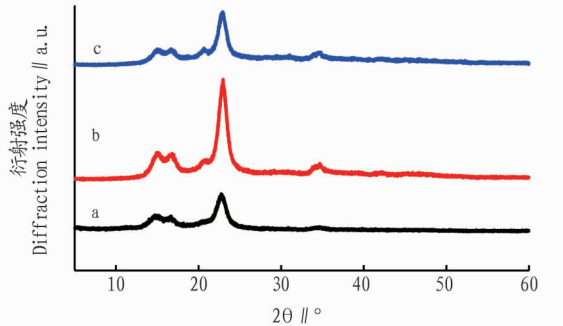
图11 HGTF 对 $O_2^{\cdot-}$ 的清除作用Fig.11 Scavenging effects of HGTF on $O_2^{\cdot-}$

果胶酶降解细胞壁中的果胶,降低细胞间的黏结作用,使细胞破碎分离,再利用纤维素酶处理降解细胞壁,2种酶协同作用,增强了对细胞壁的破坏程度,加速细胞内 HGTF 的溶出。经单因素和正交试验优化,超声波协同酶法提取 HGTF 得率为2.78%。抗氧化试验结果表明,HGTF 溶液对 DPPH· 有很强的清除能力,与 V_c 溶液无较大差异,同时对·OH 和 $O_2^{\cdot-}$ 的清除效果良好。

参考文献

- [1] 国家药典委员会.中华人民共和国药典:2015年版一部[S].北京:中国医药科技出版社,2015:310.
- [2] 王德胜,黄艳梅,石岩,等.菊花化学成分及药理作用研究进展[J].安徽农业科学,2018,46(23):9-11,17.
- [3] 黄春华,谢美强,王小平,等.野菊花不同炮制品的提取物对5种常见致病菌抑菌效果的对比实验[J].抗感染药学,2020,17(4):473-476.
- [4] 瞿璐,王涛,董勇喆,等.菊花化学成分与药理作用的研究进展[J].药物评价研究,2015,38(1):98-104.
- [5] PEI L X, SHU S N, WANG X Y, et al. Effect of chrysanthemum extract on myocardial fibrosis in rats with renovascular hypertension[J]. Journal of traditional Chinese medicine, 2019, 39(4): 542-549.
- [6] 范兰兰,张姗姗,姚梦雪,等.菊花炒制前后化学成分变化及对 CCL₄ 所致小鼠急性肝损伤的影响[J].中国中药杂志,2020,45(13):3144-3154.
- [7] SALEM G A, ALAMYEL F B, ABUSHAALA F A, et al. Evaluation of the hepatoprotective, anti-inflammatory, antinociceptive and antiepileptic activities of *Chrysanthemum trifurcatum* [J]. Biomedicine & pharmacotherapy, 2019, 117: 1-7.
- [8] 陈立浩,时健,刘倩宏,等.菊花总黄酮对去势所致干眼兔泪腺组织中 AR, AR mRNA, Bax mRNA 及形态学的影响[J].湖南中医药大学学报, 2020, 40(4): 406-411.
- [9] LI Y F, HAO Y M, GAO B Y, et al. Chemical profile and *in vitro* gut microbiota modulatory, anti-inflammatory and free radical scavenging properties of *Chrysanthemum morifolium* cv. Fubaiju [J]. Journal of functional foods, 2019, 58: 114-122.

生后, 2θ 角为 15° 、 23° 处衍射强度几乎消失, 仅在 22° 位置具有相对较弱的衍射强度。根据公式计算得知, 再生棉纤维素 b 的相对结晶度有所下降, 说明再生纤维素晶型发生转变, 与天然棉纤维相比, 相对结晶度降低, 再生棉纤维的无定型区增大, 结晶度降低, 有利于后续对棉纤维进行改性和加工。



注: a. 棉纤维; b. DES-OA 纤维; c. DES-AA 纤维
Note: a. CF; b. DES-OA fiber; c. DES-AA fiber

图 4 棉纤维和再生棉纤维的 XRD 谱图分析

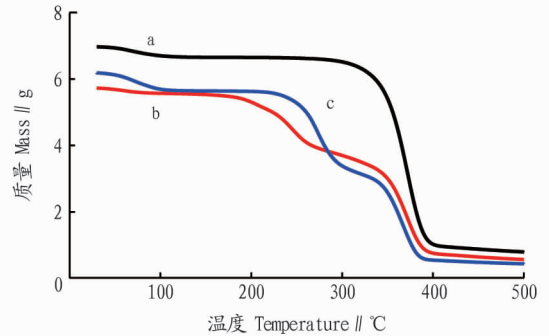
Fig.4 XRD of cotton fiber and regenerated cellulose

2.4 棉纤维再生前后的热重分析 图 5 是天然棉纤维及其再生棉纤维的热重谱图。所有样品均观察到结晶峰, 与图 4 所示的 XRD 试验结果一致。由图 5 曲线 a 可知, 原始棉纤维分解分 3 个阶段: 第一阶段是棉纤维失水等小分子造成的失重, 失重率较小; 第二阶段是棉纤维的热分解阶段, 失重率比较大; 第三阶段是棉纤维残余分解过程, 其热分解速率和失重率较小。由此可知, 低共熔溶剂溶解后得到的再生棉纤维的热稳定性有所降低。同时, 不同的低共熔溶剂再生的棉纤维的热性能有差异, 氯化胆碱和草酸组成的低共熔溶剂对棉纤维的热稳定性影响较大。

3 结论

氯化胆碱和草酸以及氯化胆碱和乙酸组成低共熔溶剂是棉纤维的直接有效溶剂, 溶解后得到的再生棉纤维的化学分子结构没有变化, 表现形貌不均匀, 再生后的棉纤维表面粗糙且结晶度变小, 热稳定性能比较差。同时溶解前后棉纤维没有发生衍生化反应, 即没有新的取代或者官能团产生,

再生棉纤维的相对分子质量下降, 热稳定性降低, 这为以后研究棉纤维在低共熔溶剂中的改性提供了理论基础。



注: a. 棉纤维; b. DES-OA 纤维; c. DES-AA 纤维
Note: a. CF; b. DES-OA fiber; c. DES-AA fiber

图 5 棉纤维和再生棉纤维的 TG 图

Fig.5 TG diagram of cotton fiber and regenerated cellulose

参考文献

- [1] 付时雨. 纤维素的研究进展[J]. 中国造纸, 2019, 38(6): 54-64.
- [2] ABIDI N. Chemical properties of cotton fiber and chemical modification [M]// FANG D D. Cotton fiber: Physics, chemistry and biology. Cham: Springer International publishing, 2018: 95-115.
- [3] RAN J H, BI S G, JIANG H Y, et al. Core-shell BiVO₄@PDA composite photocatalysts on cotton fabrics for highly efficient photodegradation under visible light[J]. Cellulose, 2019, 26(10): 6259-6273.
- [4] LIU Y Y, WANG X W, QI K H, et al. Functionalization of cotton with carbon nanotubes[J]. Journal of materials chemistry, 2008, 18(29): 3454-3460.
- [5] SIRVIÖ J A. Fabrication of regenerated cellulose nanoparticles by mechanical disintegration of cellulose after dissolution and regeneration from a deep eutectic solvent[J]. Journal of materials chemistry A, 2019, 7(2): 755-763.
- [6] MILANOVIĆ J, SCHIEHSE S, POTTHAST A, et al. Stability of TEMPO-oxidized cotton fibers during natural aging[J]. Carbohydrate polymers, 2020, 230: 1-8.
- [7] SMITH E L, ABBOTT A P, RYDER K S. Deep eutectic solvents (DESs) and their applications[J]. Chemical reviews, 2014, 114(21): 11060-11082.
- [8] KHANDELWAL S, TAILOR Y K, KUMAR M. Deep eutectic solvents (DESs) as eco-friendly and sustainable solvent/catalyst systems in organic transformations[J]. Journal of molecular liquids, 2016, 215: 345-386.
- [9] ALONSO D A, BAEZA A, CHINCHILLA R, et al. Deep eutectic solvents: The organic reaction medium of the century[J]. European journal of organic chemistry, 2016, 2016(4): 612-632.
- [10] LING Z, EDWARDS J V, GUO Z W, et al. Structural variations of cotton cellulose nanocrystals from deep eutectic solvent treatment: Micro and nano scale[J]. Cellulose, 2019, 26(2): 861-876.
- [11] 黄涵年. 抗白菊总黄酮提取物的体外抗氧化性及抑菌活性研究[J]. 现代农业科技, 2019(23): 221-222, 231.
- [12] 王淑静, 李源馨. 野菊花总黄酮降血脂作用的实验研究[J]. 现代食品, 2017(3): 123-125.
- [13] LIU Y H, MOU X, ZHOU D Y, et al. Extraction of flavonoids from *Chrysanthemum morifolium* and antitumor activity in vitro[J]. Experimental and therapeutic medicine, 2018, 15(2): 1203-1210.
- [14] 乔魏, 荆新鑫, 李明, 等. 基于网络药理学的昆仑雪菊总黄酮对食管癌细胞的抗癌作用[J]. 新疆医科大学学报, 2019, 42(9): 1216-1222.
- [15] CHEN M Z, WANG K L, ZHANG Y N, et al. New insights into the biological activities of *Chrysanthemum morifolium*: Natural flavonoids alleviate diabetes by targeting α -glucosidase and the PTP-1B signaling pathway[J]. European journal of medicinal chemistry, 2019, 178: 108-115.
- [16] 田明杰, 谭宏渊, 叶帆宇, 等. 福白菊总黄酮的微波辅助提取工艺优化及其抗氧化活性研究[J]. 中国酿造, 2020, 39(1): 170-174.
- [17] 王玲玲, 边祥雨, 高蔚娜, 等. 植物类黄酮提取纯化技术研究进展[J]. 营养学报, 2019, 41(6): 606-610.
- [18] 王广慧, 魏雅冬, 于德福, 等. 高压热水浸提法提取金针菇黄酮的纯化及活性测定[J]. 食品科技, 2019, 44(9): 228-235.
- [19] 孙平, 董萍萍, 董丹华, 等. 超声波辅助低共熔溶剂提取野菊花总黄酮的工艺研究[J]. 食品工业科技, 2020, 41(20): 147-152.
- [20] 刘晓飞, 刘宁, 张娜, 等. 超声波辅助酶法提取甜玉米穗轴黄酮及抑菌性检测[J]. 食品科学, 2014, 35(20): 79-82.
- [21] 芦宇, 吕长鑫, 纪秀凤, 等. 超声波-纤维素酶辅助提取红树莓籽黄酮及其体外消化研究[J]. 中国食品学报, 2019, 19(11): 100-107.
- [22] 张冰洁. 金银花叶中黄酮类化合物的提取、纯化及抗氧化研究[D]. 洛阳: 河南科技大学, 2017: 38.
- [23] 王滔, 潘忠礼, 马海乐, 等. 超声波的空化作用及其对多酚稳定性的影响[J]. 食品工业科技, 2014, 35(19): 388-391.

(上接第 177 页)