

# 马兰头总黄酮的大孔树脂纯化工艺优化

沈欣怡, 姚宏亮\*, 唐 艳

(金陵科技学院动物科学与技术学院食品科学系, 南京 210038)

**摘 要:** **目的** 利用大孔树脂来纯化马兰头中粗黄酮, 并确定纯化黄酮的最佳工艺。**方法** 以黄酮回收率为指标, 在单因素实验的基础上运用 Box-Behnken 响应面法(response surface methodology, RSM)设计三因素三水平实验以获得最佳纯化条件。**结果** HPD-600 大孔吸附树脂纯化马兰头粗提液的最佳工艺条件为: 上样浓度 0.93 mg/mL、上样 pH 为 3.00、洗脱剂体积分数为 84.17%、吸附速率 1 BV/h, 洗脱速率 1 BV/h, 此条件下马兰头总黄酮的质量分数由纯化前的 4.11%提高到纯化后的 50.80%。**结论** 利用 HPD-600 型大孔树脂可以较好地纯化马兰头中的总黄酮。

**关键词:** 马兰头; 总黄酮; 大孔树脂; 纯化; 响应面法

## Optimization of purification process of total flavonoids from *Kalimeris* by macroporous resin

SHEN Xin-Yi, YAO Hong-Liang\*, TANG Yan

(College of Animal Science and Technology, Jinling Institute of Science and Technology, Nanjing 210038, China)

**ABSTRACT: Objective** To purify crude flavonoids from *Kalimeris* by macroporous resin and determine the optimum purifying process for flavonoids. **Methods** Based on the single factor experiment, Box-Behnken response surface methodology, RSM) was used to design a three-factor and three-level experiment to obtain the best purification conditions with flavone recovery rate as the index. **Results** The optimum conditions for purification of crude extract of *Kalimeris* with HPD-600 macroporous adsorption resin were as follows: loading concentration 0.93 mg/mL, loading pH 3.00, eluent volume fraction 84.17%, adsorption rate 1 BV/h, and elution rate 1 BV/h. Under these conditions, the mass fraction of total flavonoids in *Kalimeris* was increased from 4.11% before purification to 50.80% after purification. **Conclusion** HPD-600 macroporous resin can be used to purify the total flavonoids in *Kalimeris*.

**KEY WORDS:** *Kalimeris*; total flavonoids; macroporous resin; purification; response surface method

**基金项目:** 江苏省农业科技自主创新资金项目(CX(17)3035)、江苏省大学生创新训练计划项目(201813573033Y)、金陵科技学院高等教育人才培养创新实验基地建设项目(基于教师科研项目食品科学类专业创新人才培养创新实验基地)、金陵科技学院校级“创客”虚拟班建设项目(2017ck009; 2017ck008)

**Fund:** Supported by the Jiangsu Province Agricultural Science and Technology Independent Innovation Fund Project (CX(17)3035), Jiangsu University Student Innovation Training Program Project (201813573033Y), Construction Project of Innovative Experimental Base for Higher Education Talents Training in Jinling Institute of Science and Technology (Based on Teachers' Research Project, Innovative Experimental Base for Innovative Talents Training in Food Science Specialty), and Jinling Institute of Science and Technology School-level "Creating Customers" Virtual Class Construction Project (2017ck009; 2017ck008)

\***通讯作者:** 姚宏亮, 博士, 副教授, 主要研究方向为食品安全、食品功能性成分及功能产品开发。E-mail: dlyahongliang@jit.edu.cn

\***Corresponding author:** YAO Hong-Liang, Ph.D, Associate Professor, Jinling Institute of Technology, Nanjing 210038, China. E-mail: dlyahongliang@jit.edu.cn

## 1 引言

马兰头 [*Kalimeris indica* (L.)] 别名马榔头、紫菊、鸡儿菜、路边菊、红梗菜、蓑衣莲、田边菊、田菊等, 是一种一直深受人们喜爱的野菜<sup>[1]</sup>。马兰头采摘后由于蒸腾作用、呼吸作用、蔬菜组织膜质过氧化作用及活性氧及其清除酶系统的变化很容易失去新鲜状态, 从而损失营养价值<sup>[2]</sup>。因此对马兰头进行深入研究, 实现其进一步开发利用势在必行。

马兰头作为一种草本植物, 含有氨基酸、多糖、黄酮等多种营养物质<sup>[3]</sup>。黄酮类化合物具有抗炎, 改善血管的通透性, 降低血脂和胆固醇, 保护肝脏, 延缓组织衰老等作用<sup>[4-7]</sup>。且黄酮类化合物毒性低、不良反应小, 近年来备受国内外学者重视, 具有很好的开发前景和利用价值<sup>[4]</sup>。查阅文献发现目前对于植物黄酮提取纯化工艺的研究较多<sup>[8-11]</sup>, 但是针对马兰头黄酮化合物研究较少, 关于马兰头黄酮纯化工艺的文献寥寥无几。

大孔吸附树脂是一类具有多孔立体结构的有机高分子聚合物, 具有表面积较大、耐酸碱性强、交换速度快、抗污染能力强等优点, 因此常用于分离和纯化植物黄酮类化合物<sup>[8]</sup>。查阅大量文献发现对于黄酮类化合物的纯化较多选用 AB-8、D101、HPD-600 等大孔树脂, 对树脂的吸附和解吸性能通常以黄酮吸附率、解吸率和回收率等作为指标进行考察<sup>[11,12]</sup>。

本研究以黄酮回收率为考察指标, 运用大孔树脂纯化法, 通过单因素实验, 筛选出最优的单因素条件, 再采用响应面分析法, 获得最佳纯化条件, 以期为实现野生植物资源的综合开发利用与深加工提供依据。

## 2 材料与方法

### 2.1 仪器与试剂

Alpha-1106 型紫外可见分光光度计(上海谱元仪器有限公司); PHS-3C 型 PH 计(上海仪电科学仪器股份有限公司); DDL-5M 型低速冷冻离心机(上海卢湘仪离心机仪器有限公司); FA 1204B 型电子天平(上海精科天美科学仪器有限公司); EV351 型旋转蒸发器、真空泵(莱伯泰科有限公司); HL-2B 型数显恒流泵(上海沪西分析仪器厂有限公司); FW400A 型高速万能粉碎机(北京科伟永兴仪器有限公司); DHG-9073BS 型电热恒温鼓风干燥箱(上海新苗医疗器械制造有限公司); HH-2 型数显恒温水浴锅(常州润华电器有限公司); SB5200DTD 型超声波清洗机(宁波新芝生物科技股份有限公司); MX-RL-Pro LCD 型旋转混匀仪[大龙兴创(北京)实验仪器有限公司]; NU 系列(超)纯水制备系统(南京优普环保设备有限公司)。

马兰头(南京市售); 芦丁标准品(分析标准品, HPLC  $\geq 98\%$ , 上海源叶生物科技有限公司); 乙醇(分析纯, 南京寿德生物科技有限公司); 亚硝酸钠、硝酸铝(分析纯, 上海新宝精细化工厂); 氢氧化钠(分析纯, 国药集团化学试剂有限公司); HPD-600 型、D101 型、AB-8 型大孔吸附树脂(上海源叶生物科技有限公司); 实验用水为经纯水制备系统制得的纯水。

### 2.2 实验方法

#### 2.2.1 马兰头粗黄酮提取工艺

##### (1) 原料处理

将新鲜马兰头清洗干净, 在 60 °C 恒温干燥箱中干燥 24 h, 随后粉碎, 过 50 目筛, 密封保存备用。

##### (2) 黄酮提取工艺流程

参照夏海涛等的方法<sup>[9-15]</sup>, 对从马兰头粉中提取粗黄酮的方案进行了修改。准确称取 20.000 g 马兰头干粉, 加入 70%乙醇 500 mL, 于 70 °C 水中 560 W 超声振荡提取 30 min。振荡完成后于离心机中以 3000 r/min 离心 10 min, 取上清液。剩余的残渣加入 500 mL 70%乙醇重复上述操作 2 次。将收集的上清液进行减压浓缩, 定容至 500 mL, 即制备完成马兰头黄酮粗提液。

##### (3) 黄酮含量的测定

###### ① 标准曲线的绘制

以芦丁为标准品, 参照陈琼等人的方法<sup>[12,13]</sup>测定马兰头中黄酮的含量。利用电子天平准确称取芦丁标准品 0.020 g, 加 70%乙醇溶解于烧杯中, 转移至 100 mL 容量瓶中定容至刻度, 得到浓度为 0.2 mg/mL 的芦丁标准溶液。用微量移液器分别量取芦丁标准溶液 0.0、0.5、1.0、1.5、2.0、2.5、3.0 mL, 置于 25 mL 比色管中, 分别加入 50 mg/mL 亚硝酸钠溶液 0.4 mL, 摇匀, 静置 6 min, 加 100 mg/mL 的硝酸铝溶液 0.4 mL, 摇匀, 静置 6 min, 加 400 mg/mL 的氢氧化钠溶液 4.0 mL, 再加 70%乙醇定容至 10 mL 刻度处, 摇匀, 静置 15 min。在 510 nm 波长处测定吸光度, 以芦丁标准溶液浓度为横坐标, 以吸光值为纵坐标, 绘制标准曲线。结果表明, 吸光值(Y)与芦丁标准溶液的浓度(X, mg/mL)线性相关, 芦丁浓度范围为 0.1~0.6 mg/mL, 其线性回归方程为  $Y=1.5379X-0.014$ ,  $r^2=0.9991$  表明线性关系良好。

###### ② 样品中总黄酮含量的测定

将处理好的大孔树脂抽滤后准确称取 2.000 g, 取 5.0 mL 马兰头粗提液置于 100 mL 容量瓶中, 并用 70%乙醇定容。准确吸取 5.0 mL 溶液, 测定其吸光度, 计算得出马兰头中总黄酮含量。标准曲线回归方程为  $A=1.5379X-0.014$  (X 为芦丁质量浓度, 范围为 0.1~0.6 mg/mL, A 为吸光度),  $r^2=0.9991$ 。参照标准曲线可以计算出马兰头中黄酮含量。

$$\text{马兰头的黄酮提取率}(\%) = \left( \frac{C \times V \times 1000}{M} \right) \times 100\%$$

式中  $C$  为根据标准曲线计算出的黄酮溶液浓度(mg/mL);  $V$  为粗黄酮溶液体积(mL);  $M$  为马兰头粉末质量(g)。

### 2.2.2 马兰头粗黄酮纯化工艺

#### (1) 大孔吸附树脂的筛选

将 AB-8 型树脂置于 400 mg/mL 的氢氧化钠溶液中浸泡 24 h, 将树脂用纯水冲洗至中性, 再用 4 倍树脂体积的 95%乙醇缓慢冲洗, 最后将树脂用纯水洗至无醇味, 浸泡于纯水中备用。

将 HPD-600 型及 D101 型树脂用 95%乙醇溶液中浸泡 4 h, 期间不断搅拌。抽滤除去乙醇后, 用纯水洗树脂至无白色混浊, 且无醇味。将处理好的树脂浸泡于纯水中备用。

将 2.2.1(2)节得到的马兰头粗黄酮提取液稀释 20 倍, 取该溶液 10.0 mL 经过预处理的 3 种大孔吸附树脂 2.000 g 置于 30 mL 离心管中, 以 20 r/min 速度用旋转混匀仪混匀, 测定吸附后的溶液中黄酮含量。吸附后的树脂在 10.0 mL, 95%乙醇中浸泡 5 h, 用旋转混匀仪以 20 r/min 速度混匀, 将浸泡后的树脂抽滤, 取抽滤液, 定容至 10.0 mL, 取 5.0

mL 测定其在 510 nm 处的吸光值, 测定解附液中的黄酮含量。分别计算 3 种树脂的黄酮吸附率、解附率、回收率, 以黄酮回收率为指标, 筛选出效果最佳的大孔树脂<sup>[20]</sup>。

吸附率、解附率、回收率的计算公式为:

$$\text{吸附率} = \left( \frac{C_1 V_1 - C_2 V_2}{C_1 V_1} \right) \times 100\%$$

$$\text{解附率} = \left( \frac{C_3 V_3}{C_1 V_1 - C_2 V_2} \right) \times 100\%$$

$$\text{回收率} = \text{吸附率} \times \text{解附率}$$

式中  $C_1$  为上样液浓度, mg/mL;  $V_1$  代表上样液体积, mL;  $C_2$  代表过柱液浓度, mg/mL;  $V_2$  代表过柱液体积, mL;  $C_3$  代表解附液浓度, mg/mL;  $V_3$  代表解附液体积, mL。

#### (2) 纯化工艺单因素实验研究

参照姚宏亮等的方法<sup>[15]</sup>, 制定影响马兰头粗黄酮纯化的单因素实验方案。实验方案见表 1。鉴于上样液浓度、上样液 pH、上样流速对吸附和解附 2 个过程都会有一定的影响, 因此选择以黄酮回收率作为指标, 分析其对纯化效果的影响。而洗脱流速、洗脱剂的体积分数仅与解附过程有关, 为了减少误差, 选择以解附率作为指标, 分析其对纯化效果的影响。

表 1 单因素实验设计表  
Table 1 Single factor experimental design table

实验组	因素				
	上样浓度/(mg/mL)	上样 pH	上样流速/(BV/h)	洗脱流速/(BV/h)	洗脱剂体积分数/%
aI	0.6、0.7、1.4、2.1、2.8	7	1	1	95
II	1.4	2、3、4、5、6、7	1	1	95
III	1.4	7	1、2、3、4、5	1	95
IV	1.4	7	1	1、2、3、4、5	95
V	1.4	7	1	1	60、70、80、90、95

#### (3) 纯化工艺响应面实验设计

参照上官文菲等的方案<sup>[13,16-18]</sup>, 在单因素实验的基础上, 建立响应面模型优化马兰头总黄酮的纯化工艺, 以上样浓度(A)、上样 pH(B)、洗脱剂的体积分数(C)为考察因素, 以总黄酮回收率为响应值进行优化。因素水平表见表 2。

表 2 响应面实验因素水平表  
Table 2 Factors and levels in response surface methodology

水平	因素		
	A 上样浓度/(mg/mL)	B 上样 pH	C 乙醇体积分数/%
-1	0.6	3	60
0	1.7	5	77.5
1	2.8	7	95

#### 2.2.3 数据处理

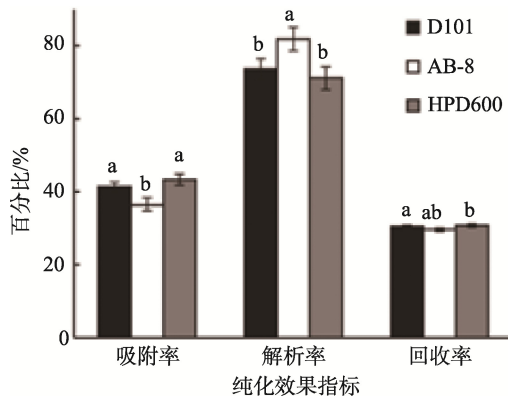
Excel 2010 用于处理原始数据, 计算平均值和标准偏差。Adobe Illustrator 软件用于处理图片处理。Design-Expert.V8.0.6.1 软件用于进行响应面模型建立和数据分析。利用 SPSS 22.0 统计分析软件中的 Duncan's 多重比较法进行差异比较( $P < 0.05$ ), 从而完善单因素方差分析。所有实验均重复 3 次。

## 3 结果与分析

### 3.1 大孔树脂的确定

HPD-600 型大孔树脂黄酮吸附率达到 43.33%, 与 D101 型大孔树脂黄酮吸附率差异不显著, 且明显高于 AB-8 型。AB-8 型大孔树脂的黄酮静态解附率达到 81.77%, 明显高于 HPD-600 型和 D101 型。D101 型树脂与 AB-8 型

树脂黄酮回收率差异不显著, AB-8 型树脂与 HPD-600 型黄酮回收率差异不显著(见图 1)。综合考虑树脂的价格、处理方式及其回收率情况, 因此选择 HPD-600 型大孔吸附树脂。



注: 不同小写字母代表差异显著( $P < 0.05$ )。

图 1 不同树脂对马兰头粗黄酮的纯化效果( $n=3$ )

Fig.1 Purification effect of different resins on crude flavonoids from *Kalimeris* ( $n=3$ )

### 3.2 马兰头粗黄酮纯化工艺单因素实验结果

图 2 为马兰头粗黄酮纯化工艺单因素实验结果。

在图 2 (a)中, 随着上样液质量浓度的增加, 黄酮回收率显著提高, 当上样溶液质量浓度为 1.4 mg/mL 时, 此时大孔树脂的黄酮吸附率达到最大值 43.47%, 黄酮回收率为

33.98%; 上样液质量浓度继续增加, 吸附率呈下降趋势, 产生这一现象原因可能为树脂已经吸附饱和且受到其他杂质的干扰。

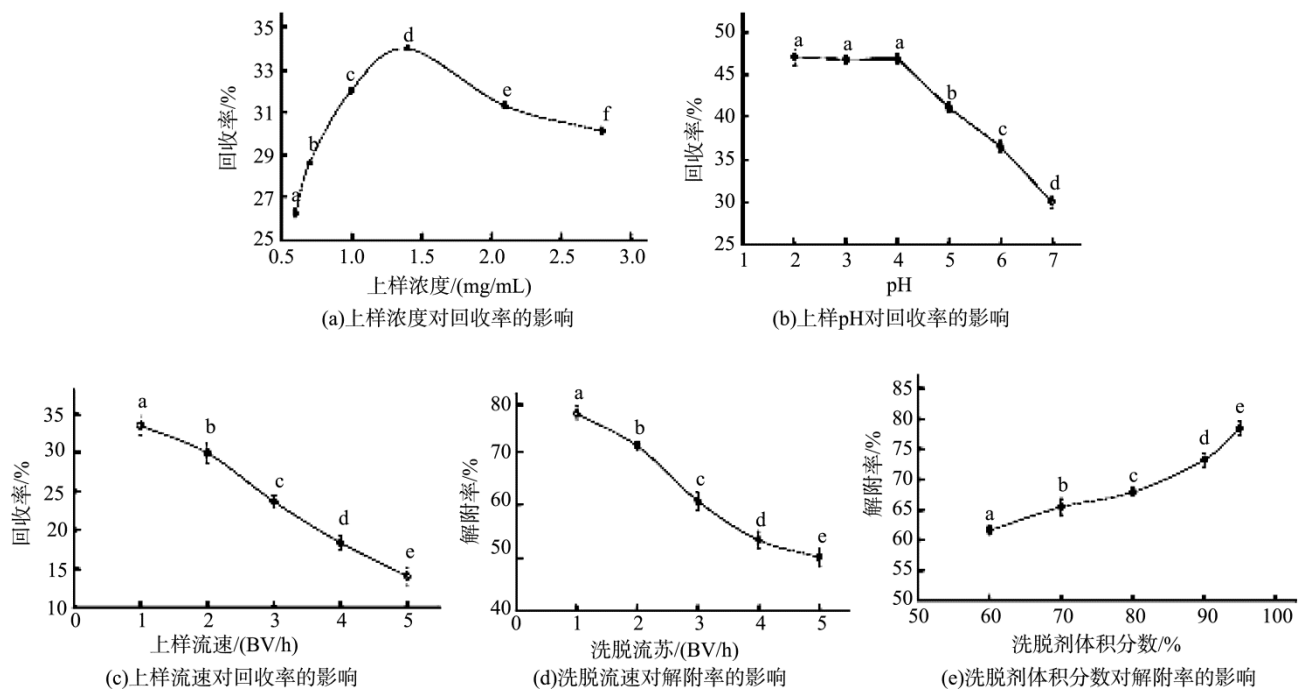
在图 2 (b)中, 当 pH 值为 2~4 时, 黄酮回收率无显著变化, 此时黄酮回收率最大, pH 值大于 4 时, 黄酮回收率明显降低, 其原因可能为高酸性条件下更适合大孔树脂吸附黄酮。

在图 2 (c)中, 随着上样流速的增大, 黄酮回收率逐渐降低, 存在原因可能为, 上样流速与大孔树脂和上样液接触时间有关, 流速越慢, 大孔树脂和上样液接触的时间越长, 吸附效果越好; 反之, 大孔树脂和上样液接触的时间过短则导致黄酮不能被充分吸附; 但吸附速率过慢, 会使实验成本增加, 还可能使黄酮变质。因此选择吸附速率为 1 BV/h。

在图 2 (d)中, 解附率随着洗脱流速的增加而降低, 其原因可能为, 流速过快使乙醇与黄酮接触不充分, 导致黄酮不能从树脂上有效洗脱。

从图 2 (e)可以看出, 随乙醇洗脱剂体积分数的增加, 解附率也随之提高; 当乙醇洗脱剂体积分数为 95%时, 解附率约为 78.43%, 此时解附率达到最大。

出于节约资源与保护环境考虑, 吸附流速、洗脱流速均固定为 1 BV/h, 选择上样液质量浓度, 上样液 pH, 乙醇洗脱剂体积分数为因素, 以黄酮回收率作为指标, 进行下一步工艺优化的响应面实验。



注: 不同小写字母代表差异显著( $P < 0.05$ )。

图 2 纯化条件单因素对马兰头黄酮纯化效果的影响

Fig.2 Effect of single factor on purification conditions of flavonoids from *Kalimeris*

### 3.3 马兰头粗黄酮纯化工艺响应面试验结果

以单因素实验为基础, 依据中心组合试验设计原理, 将上样浓度(A)、上样 pH(B)、洗脱剂的体积分数(C)这 3 个因素作为自变量, 将黄酮回收率(Y)作为响应值, 设计 3 因素 3 水平的试验, 利用数据模型, 考察各因素之间的交互作用, 并预测最佳纯化工艺条件。表 3 为 Box-Behnken 试验设计及结果, 方差分析见表 4。

表 3 Box-Behnken 试验设计及结果  
Table 3 Design and results of Box-Behnken experiments

试验号	A 上样浓度 (mg/mL)	B 上样 pH	C 洗脱剂体积 分数/%	Y 黄酮 回收率/%
1	-1	-1	0	49.10
2	0	0	0	47.28
3	-1	1	0	33.94
4	-1	0	-1	39.85
5	-1	0	1	42.14
6	0	1	1	33.13
7	0	-1	1	49.39
8	1	-1	0	35.25
9	1	0	-1	30.47
10	0	0	0	44.31
11	0	0	0	42.04
12	1	1	0	29.24
13	0	1	-1	29.68
14	1	0	1	29.12
15	0	0	0	44.54
16	0	0	0	44.31
17	0	-1	-1	42.94

据表 3 的实验结果, 利用数据模型进行二次回归拟合, 可以得到各个因素对黄酮回收率的影响。

黄酮回收率的二次回归方程如下:

$$Y=44.50-5.12A-6.34B+1.36C+2.29AB-0.91AC-0.75BC-5.50A^2-2.11B^2-3.60C^2$$

在表 4 中, 回归方程模型项  $P < 0.001$ , 失拟项  $P=0.2587 > 0.05$ , 响应回归模型显著, 而失拟项不显著, 说明建立的回归方程拟合良好<sup>[16]</sup>。影响因子 A、B 的 P 值均  $< 0.01$ , 表明上样浓度(A)、上样 pH(B)这 2 个因素对黄酮纯化回收率影响较显著。二次回归方程的决定系数  $R^2$  为 95.84%, 表明 95.84% 的响应值变化可以由该模型可以解释。校正决定系数  $R^2_{adj}=90.49%$ , 与  $R^2$  相近, 表明该方程较好的反映了上样浓度、上样 pH、洗脱剂的体积分数与马兰头粗黄酮回收率之间的关系, 因此可以用此回归方程来

预测黄酮纯化的回收率<sup>[16-18]</sup>。通过数据模型分析, 得响应面及等高线见图 3。通过数据模型分析, 得到最佳工艺条件为: 上样浓度 0.93 mg/mL、上样 pH 为 3.00、洗脱剂体积分数为 84.17%。此条件下得出的黄酮回收率理论值为 51.74%。进行 3 组重复的验证试验, 得到黄酮回收率实际值为 50.80%, 与预测值接近, 说明 Box-Behnken 设计法用于马兰头中总黄酮纯化工艺的优化筛选可行。

表 4 回归方程方差分析  
Table 4 Variance analysis of regression equation

来源	平方和	自由度	均方	F 值	P 值	显著性
模型	792.53	9	88.06	17.91	0.0005	**
A	209.75	1	209.75	42.66	0.0003	**
B	321.26	1	321.26	65.34	<0.0001	***
C	14.70	1	14.70	2.99	0.1274	
AB	20.91	1	20.91	4.25	0.0781	
AC	3.31	1	3.31	0.67	0.4388	
BC	2.26	1	2.26	0.46	0.5195	
A <sup>2</sup>	127.47	1	127.47	25.93	0.0014	
B <sup>2</sup>	18.73	1	18.73	3.81	0.0919	
C <sup>2</sup>	54.60	1	54.60	11.10	0.0126	
误差	34.42	7	4.92			
失拟项	20.58	3	6.86	1.98	0.2587	
纯误差	13.84	4	3.46			
总和	826.95	16				

注: “\*\*\*”表示差异较显著( $P < 0.01$ ); “\*\*\*\*”表示差异极显著( $P < 0.001$ )。

## 4 结 论

本研究优化了马兰头粗黄酮纯化工艺, 并分析了 3 种不同类型的大孔树脂对马兰头粗黄酮的纯化效果。马兰头粗黄酮纯化工艺最优条件为: 采用 HPD-600 型大孔吸附树脂, 上样浓度 0.93 mg/mL、上样 pH 为 3.00、洗脱剂体积分数为 84.17%、吸附速率 1 BV/h、洗脱速率 1 BV/h, 此条件下马兰头总黄酮的质量分数由纯化前的 4.11%提高到纯化后的 50.80%。

与传统的使用化学试剂进行萃取法相比, 选用大孔树脂对马兰头中的总黄酮进行分离纯化有着显著的优势: 树脂的纯化效果好, 操作简易, 绿色无害, 而且树脂可回收利用, 能大大降低成本。利用大孔树脂对马兰头总黄酮进行分离纯化, 可为马兰头的深入开发利用提供一定的数据参考和技术支持。

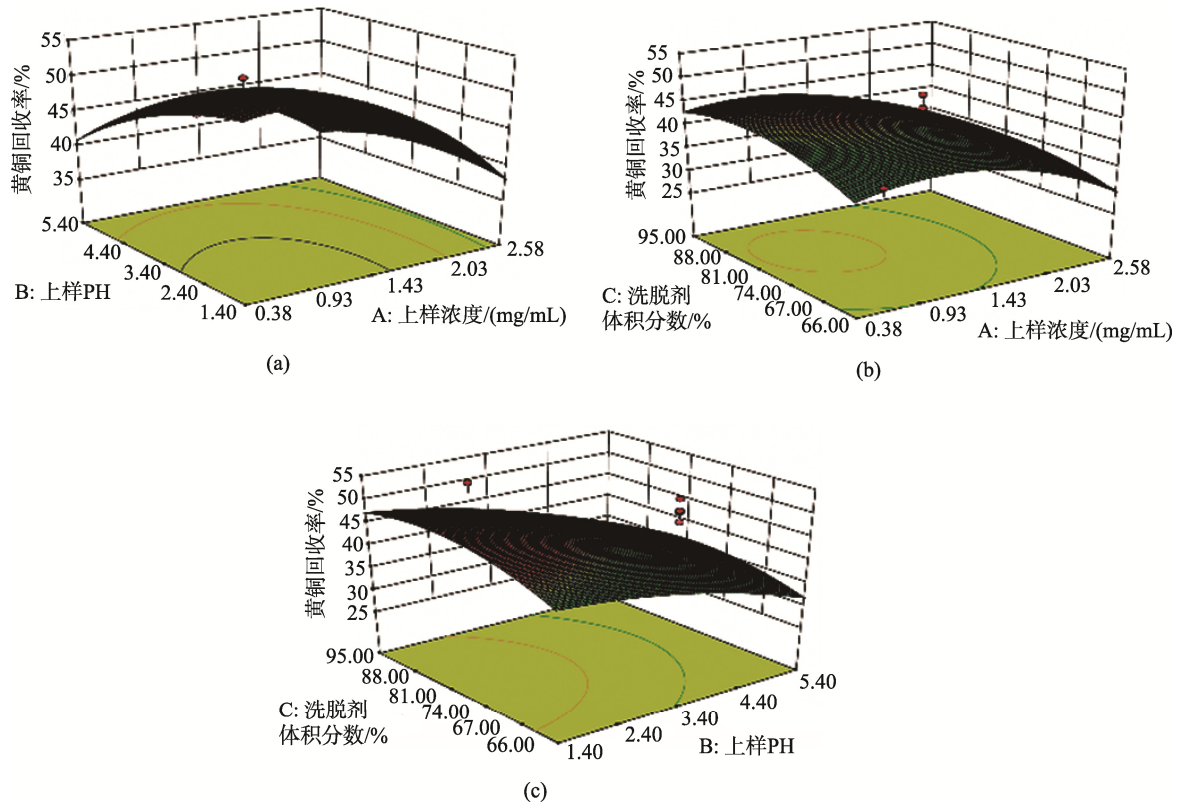


图 3 各因素对马兰头总黄酮含量的交互作用响应面图

Fig.3 Response surface plot of interactions on total flavonoids content in kalimeris

## 参考文献

- [1] 诸尧兴. 马兰头营养价值及栽培技术[J]. 现代农村科技, 2012, (1): 15.  
Zhu YX. Nutritional value and cultivation techniques of *Kalimeris* [J]. Mod Rural Sci Technol, 2012, (1): 15.
- [2] 钱金. 马兰头贮藏期间品质和生理变化及褐变特性研究[D]. 南京: 南京农业大学, 2007.  
Qian J. Study on quality, physiological changes and browning characteristics of *Kalimeris* during storage [D]. Nanjing: Nanjing Agricultural University, 2007.
- [3] 潘春华. 清香翠嫩马兰头[J]. 生命世界, 2019, (2): 42–43.  
Pan CH. Fragrance crisp and tender *Kalimeris* [J]. Life World, 2019, (2): 42–43.
- [4] 何国鑫, 陈华国, 邓青芳, 等. 黄酮类化合物抗肝损伤的作用机制研究进展[J]. 中国现代应用药学, 2019, 36(12): 1583–1591.  
He GX, Chen HG, Deng QF, et al. Progress in research on the anti-liver injury mechanism of flavonoids [J]. Chin J Mod Appl Pharm, 2019, 36(12): 1583–1591.
- [5] 白鹭, 李鸿, 覃琴, 等. 黄酮类化合物对血管内皮细胞损伤的保护作用及机制研究进展[J/OL]. 中国实验方剂学杂志: 1–14.  
Bai L, Li H, Qin Q, et al. Research progress on protective effects and mechanisms of flavonoids on vascular endothelial cell injury [J/OL]. Chin J Exp Tradit Med Formu: 1–14.
- [6] 王溢萍. 黄酮类化合物药理作用的分析[J]. 世界最新医学信息文摘, 2019, 19(70): 151, 166.  
Wang YP. Analysis of pharmacological effects of flavonoids [J]. World's Latest Med Inform Abstr, 2019, 19(70): 151, 166.
- [7] 李萌茹, 周玉枝, 杜冠华, 等. 中药黄酮类化合物抗衰老作用及其机制研究进展[J]. 药理学, 2019, 54(8): 1382–1391.  
Li MR, Zhou YZ, Du GH, et al. Research progress on anti-aging effect and mechanism of flavonoids in traditional Chinese medicine [J]. J Pharm, 2019, 54(8): 1382–1391.
- [8] 王洪彪, 王鹏辉, 秦嘉驹, 等. 植物黄酮类化合物的提纯和含量测定方法研究概况[J]. 吉林化工学院学报, 2018, 35(7): 44–47.  
Wang HB, Wang PH, Qin JJ, et al. Research on purification and content determination of plant flavonoids [J]. J Jilin Inst Chem Technol, 2018, 35(7): 44–47.
- [9] 夏海涛, 刘玉芬, 董超男, 等. 响应曲面法优化野生马兰头总黄酮的提取工艺[J]. 食品科学, 2011, 32(24): 191–195.  
Xia HT, Liu YF, Dong CN, et al. Optimization of extraction process of total flavonoids from wild *Kalimeris* by response surface methodology [J]. Food Sci, 2011, 32(24): 191–195.
- [10] 许先猛, 董文宾, 卢军. 蒲公英总黄酮制备技术研究进展[J]. 食品工程, 2018, (2): 61–64.  
Xu XM, Dong WB, Lu J. Research progress in preparation technology of dandelion flavonoids [J]. Food Eng, 2018, (2): 61–64.
- [11] 王蕾, 张宏贵, 李多伟. 采用大孔吸附树脂法分离纯化金花葵茎叶总黄酮的研究[J]. 离子交换与吸附, 2018, 34(6): 559–567.  
Wang L, Zhang HG, Li DW. Study on separation and purification of total flavonoids from stems and leaves of *malus roxburghii* by macroporous adsorption resin method [J]. Ion Exchange Adsorption, 2018, 34(6): 559–567.

- [12] 林薇薇, 程明, 莫丽红, 等. 大孔树脂纯化芹菜籽黄酮的工艺[J]. 海南热带海洋学院学报, 2019, 26(5): 104-110.  
Lin WW, Cheng M, Mo LH, *et al.* Purification process of flavonoids from celery seeds by macroporous resin [J]. *J Hainan Trop Oceanogr Inst*, 2019, 26(5): 104-110.
- [13] 陈琼 吴菲菲, 李化强, 等. 超声-表面活性剂提取青钱柳总黄酮的工艺优化[J]. 食品安全质量检测学报, 2019, 10(24): 8323-8330.  
Chen Q, Wu FF, Li HQ, *et al.* Optimization of ultrasonic-surfactant extraction of total flavonoids from cyclocarya paliurus [J]. *J Food Saf Qual*, 2019, 10(24): 8323-8330.
- [14] 杨永涛. 罗布麻总黄酮的提取、分离纯化及其抗氧化性能研究[D]. 广州: 华南理工大学, 2018.  
Yang YT. Extraction, purification and antioxidant activity of total flavonoids from apocynum venetum [D]. Guangzhou: South China University of technology, 2018.
- [15] 姚宏亮, 孔聪聪, 颜玉华. 雪樱子粗多糖提取、纯化工艺及抗氧化活性研究[J]. 食品科学技术学报, 2019, 37(2): 102-110.  
Yao HL, Kong CC, Yan YH. Study on extraction, purification and antioxidant activity of crude polysaccharide from *Prunus salicina* [J]. *J Food Sci Technol*, 2019, 37(2): 102-110.
- [16] 上官文菲, 陈合, 陈婧, 等. 响应面法优化发酵乳杆菌产  $\gamma$ -氨基丁酸的培养条件[J]. 中国酿造, 2019, 38(12): 87-91.  
Shangguan WF, Chen H, Chen J, *et al.* Optimization of culture conditions for  $\gamma$ -aminobutyric acid production by lactobacillus fermentum by response surface methodology [J]. *China Brew*, 2019, 38(12): 87-91.
- [17] 胡平, 吴菲菲, 李化强, 等. 响应面法优化超声辅助提取油茶叶总黄酮的工艺研究[J]. 食品安全质量检测学报, 2019, 10(24): 8316-8322.  
Hu P, Wu FF, Li HQ, *et al.* Optimization of ultrasonic-assisted extraction of total phenol from oily tea by response surface methodology [J]. *J Food Saf Qual*, 2019, 10(24): 8316-8322.
- [18] 尚远宏, 田金凤. 响应面法优化芒果蜂蜜果酒发酵工艺的研究[J]. 中国酿造, 2019, 38(12): 183-188.  
Shang YH, Tian JF. Study on optimization of fermentation process of mango honey wine by response surface methodology [J]. *China Brew*, 2019, 38(12): 183-188.

(责任编辑: 于梦娇)

## 作者简介



沈欣怡, 主要研究方向为食品安全、食品功能性成分及功能产品开发。

E-mail: 2574717010@qq.com



姚宏亮, 副教授, 博士, 主要研究方向为食品安全、食品功能性成分及功能产品开发。

E-mail: dlyaohongliang@jit.edu.cn