

中图分类号: R932; R284.2 文献标志码: A 文章编号: 1006-4931(2023)14-0067-06
doi:10.3969/j.issn.1006-4931.2023.14.015



淫羊藿药材中黄酮类成分提取工艺优选*

张秀秀^{1,2}, 杨洁^{1,2}, 何洁³, 王仕宝^{1,2Δ}, 何志鹏⁴, 房宇^{1,2}, 张慧^{1,2}, 向仪^{1,2}

(1. 汉中职业技术学院药学院, 陕西 汉中 723000; 2. 汉中职业技术学院秦巴山区药(食)用植物研究所, 陕西 汉中 723000; 3. 陕西省汉中市食品药品监督检验检测中心, 陕西 汉中 723000; 4. 陕西国际商贸学院医药学院, 陕西 西安 712046)

摘要:目的 优选淫羊藿药材中黄酮类成分提取工艺。方法 采用高效液相色谱法测定淫羊藿药材中朝藿定A₁、朝藿定A、朝藿定B、朝藿定C、淫羊藿苷、宝藿苷I含量。在单因素试验基础上,以提取溶剂、液料比、提取时间、提取次数为考察因素,待测成分提取总量为考察指标,采用响应面法优选淫羊藿药材中黄酮类成分的提取工艺。结果 最佳提取工艺为液料比100(mL/g)时,以50%乙醇提取2次,每次40 min。验证试验结果显示,待测成分提取总量分别为3.16%,3.08%,3.03%,与预测值(3.12%)相当。结论 该提取工艺合理可行,可为淫羊藿药材的进一步研发提供参考。

关键词:响应面法;淫羊藿;黄酮类成分;提取工艺;优化

Optimization of Extraction Process for Flavonoids in Epimedii Folium

ZHANG Xiuxiu^{1,2}, YANG Jie^{1,2}, HE Jie³, WANG Shibao^{1,2}, HE Zhipeng⁴, FANG Yu^{1,2}, ZHANG Hui^{1,2}, XIANG Yi^{1,2}

(1. College of Pharmacy, Hanzhong Vocational and Technical College, Hanzhong, Shaanxi, China 723000; 2. Institute of Pharmaceutical (Edible) Botany, Qinba Mountains, Hanzhong Vocational and Technical College, Hanzhong, Shaanxi, China 723000; 3. Hanzhong Food and Drug Supervision, Inspection and Testing Center, Hanzhong, Shaanxi, China 723000; 4. College of Pharmacy, Shaanxi Institute of International Trade & Commerce, Xi'an, Shaanxi, China 712046)

Abstract: Objective To optimize the extraction process of flavonoids in Epimedii Folium. **Methods** The contents of epimedin A₁, epimedin A, epimedin B, epimedin C, icariin and baohuoside I in Epimedii Folium were determined by the high-performance liquid chromatography (HPLC) method. Based on the single factor test, the extraction process of flavonoids in Epimedii Folium was optimized by the response surface methodology, with the extraction solvent, liquid-solid ratio, extraction time and extraction frequency as the investigation factors, and with the total extraction amount of components to be tested as the investigation indicator.

Results The optimal extraction process was as follows: the liquid-solid ratio was 100 (mL/g), and extracting twice with 50% ethanol, each time for 40 min. The verification test showed that the total extraction amounts of components to be tested were 3.16%, 3.08%, 3.03%, respectively, which were similar to the predicted value (3.12%). **Conclusion** The extraction process is reasonable and feasible, which can provide a reference for the further development of Epimedii Folium.

Key words: response surface methodology; Epimedii Folium; flavonoids; extraction process; optimization

淫羊藿为小檗科淫羊藿*Epimedium brevicornu* Maxim.、箭叶淫羊藿*Epimedium sagittatum* (Sieb. et Zucc.) Maxim.、柔毛淫羊藿*Epimedium pubescens* Maxim.或朝鲜淫羊藿*Epimedium koreanum* Nakai的干燥叶^[1],具有补肾壮阳、益精补气等功效,主治腰膝酸软、风湿痹痛、四肢麻木不仁等病症^[2]。有研究表明,其在抗衰老、提高免疫力、抑制肿瘤细胞生长、控制心血管系统疾病中疗效显著^[3-4]。淫羊藿总黄酮(TFE)为淫羊藿药材最主要的化学成分,现代药理学研究表明,TFE对内分泌组织、免疫系统、骨与肿瘤及心脑血管系统均有益^[5-7]。基于此,本研究中通过响应面法,以朝藿定A₁、朝藿定A、朝藿定B、

朝藿定C、淫羊藿苷、宝藿苷I等6种黄酮类成分总含量为评价指标,优选淫羊藿药材最佳提取工艺。现报道如下。

1 仪器与试剂

1.1 仪器

1260B型高效液相色谱仪(美国Agilent公司); DS-8510DTH型超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司); XSR205DU型精密电子天平(瑞士Mettler Toledo公司,精度为0.01 mg)。

1.2 试剂

朝藿定A₁对照品(批号为P02J9S64790)、朝藿定A

*基金项目:陕西省教育厅科学研究计划[20JK0494];2019年陕西省汉中市青年科技创新团队项目[汉市科发[2019]26号]。

第一作者:张秀秀,女,硕士,讲师,研究方向为药物质量分析,(电子信箱)571522552@qq.com。

Δ通信作者:王仕宝,男,硕士,副教授,研究方向为药学、中药学专业教学及科研,(电子信箱)wangshibao.2008@163.com。

对照品(批号为P02J9F64787)、朝藿定B对照品(批号为G19A11L121806)、朝藿定C对照品(批号为N18GB166250)、淫羊藿苷对照品(批号为T11A11B111118)、宝藿苷I对照品(批号为A20GB158231),均购于上海源叶生物科技有限公司(含量 $\geq 98\%$);乙腈、甲醇、乙醇均为色谱纯,其余试剂均为分析纯,水为超纯水。淫羊藿药材样品于2020年5月1日采集于陕西省汉中市宁强县,经汉中职业技术学院秦巴山区药(食)用植物研究所王仕宝副教授鉴定为箭叶淫羊藿的干燥叶;选取绿色鲜艳、完整叶片阴干后保存;试验前将药材样品粉碎(过3号筛),密封,备用。

2 方法与结果

2.1 含量测定

2.1.1 色谱条件

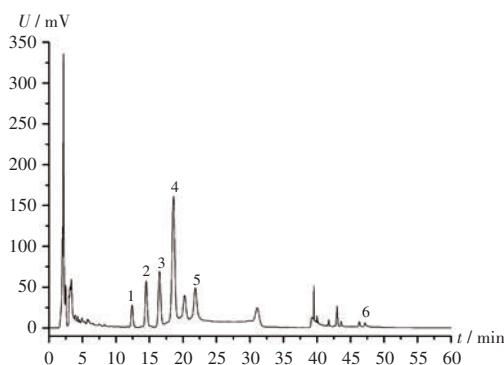
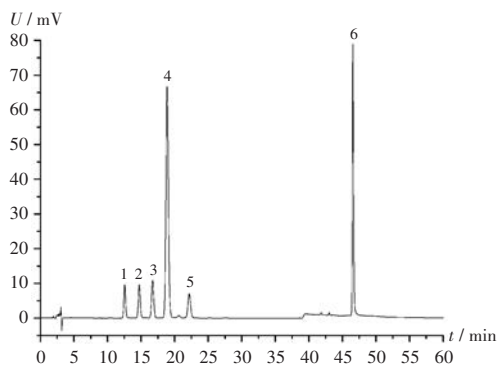
色谱柱:Agilent Eclipse Plus-C₁₈柱(250 mm \times 4.6 mm, 5 μ m);流动相:水(A)-乙腈(B),梯度洗脱(0~35 min时74%A,35~36 min时74%A \rightarrow 55%A,36~45 min时55%A \rightarrow 53%A,45~60 min时53%A \rightarrow 47%A);流速:1.0 mL/min;检测波长:270 nm;柱温:30 $^{\circ}$ C;进样量:10 μ L。

2.1.2 溶液制备

取朝藿定A₁、朝藿定A、朝藿定B、朝藿定C、淫羊藿苷、宝藿苷I对照品各适量,精密称定,用甲醇溶解,制得质量浓度分别为675,698,684,679,657,636 μ g/mL的单一对照品溶液;分别精密量取适量,混合,即得混合对照品溶液。取药材样品粉末约0.1 g,精密称定,置锥形瓶中,精密量取50%乙醇10 mL置锥形瓶中,称定质量,超声(功率600 W、频率40 kHz,下同)提取60 min,冷却,再次称定质量,用50%乙醇补足减失的质量,摇匀,静置,取上清液,经0.22 μ m微孔滤膜滤过,取续滤液,即得供试品溶液。

2.1.3 方法学考察

系统适用性试验:取上述混合对照品溶液、供试品溶液各适量,按2.1.1项下色谱条件进样测定,记录色谱图。结果,理论板数按淫羊藿苷峰计应大于8 000;分离度均大于1.5,基线分离良好。详见图1。



1. 朝藿定A₁ 2. 朝藿定A 3. 朝藿定B 4. 朝藿定C
5. 淫羊藿苷 6. 宝藿苷I
A. 混合对照品溶液 B. 供试品溶液

图1 高效液相色谱图

1. Epimedin A₁ 2. Epimedin A 3. Epimedin B 4. Epimedin C
5. Icarin 6. Baohuoside I
A. Mixed reference solution B. Test solution

Fig. 1 HPLC chromatograms

线性关系考察:分别精密量取2.1.2项下混合对照品溶液适量,制成系列混合对照品溶液,按2.1.1项下色谱条件进样测定,记录峰面积。以待测成分质量浓度(X, μ g/mL)为横坐标、峰面积(Y)为纵坐标进行线性回归。结果见表1。

检测限与定量限考察:分别精密量取2.1.2项下混合对照品溶液适量,倍比稀释,并按2.1.1项下色谱条件进样测定,以信噪比为3:1、10:1时各成分的质量浓度分别计为检测限、定量限。结果见表1。

表1 线性关系与检测限、定量限考察结果

Tab. 1 Results of the linear relation test, limit of detection and limit of quantification

待测成分	保留时间(min)	回归方程	R ²	线性范围(μ g/mL)	检测限(μ g/mL)	定量限(μ g/mL)
朝藿定A ₁	12.572	$Y_1 = 33.263X_1 + 3.0018$	0.9999	2.73~109.50	0.0380	0.1254
朝藿定A	14.782	$Y_2 = 32.395X_2 + 3.5555$	0.9999	2.91~116.33	0.0219	0.0722
朝藿定B	16.785	$Y_3 = 34.651X_3 + 4.5335$	0.9999	2.85~114.00	0.0178	0.0534
朝藿定C	19.011	$Y_4 = 32.478X_4 + 2.2954$	0.9999	2.82~113.17	0.0607	0.2002
淫羊藿苷	22.339	$Y_5 = 40.535X_5 + 1.5879$	0.9999	2.81~112.50	0.0661	0.2173
宝藿苷I	46.427	$Y_6 = 56.398X_6 + 2.6231$	0.9999	2.65~106.00	0.0291	0.0958

精密度试验:取2.1.2项下混合对照品溶液适量,按2.1.1项下色谱条件连续进样测定6次,记录峰面积。结果朝藿定A₁、朝藿定A、朝藿定B、朝藿定C、淫羊藿苷、宝藿苷I峰面积的RSD分别为0.38%,0.30%,0.32%,0.35%,0.56%,0.84%(n=6),表明仪器精密度良好。

稳定性试验:取2.1.2项下供试品溶液适量,分别于室温下放置0,2,4,8,12,24 h时按2.1.1项下色谱条件进样测定,记录峰面积。结果朝藿定A₁、朝藿定A、朝藿定B、朝藿定C、淫羊藿苷、宝藿苷I峰面积的RSD分别为2.50%,1.57%,1.92%,0.46%,1.62%,1.43%(n=6),表明供试品溶液在室温条件下放置24 h内基本稳定。

重复性试验:取样品适量,精密称定,各6份,按2.1.2项下方法制备供试品溶液,再按2.1.1项下色谱条件进样测定,记录峰面积。结果朝藿定A₁、朝藿定A、朝藿定B、朝藿定C、淫羊藿苷、宝藿苷I峰面积的RSD分别为1.15%,1.83%,0.74%,1.47%,2.89%,0.92%(n=6),表明方法重复性良好。

加样回收试验:取已知含量的样品适量,共9份,分别加入80%,100%,120%质量浓度的混合对照品溶液,按2.1.2项下方法制备供试品溶液,再按2.1.1项下色谱条件进样测定,记录峰面积并计算加样回收率。结果朝藿定A₁、朝藿定A、朝藿定B、朝藿定C、淫羊藿苷、宝藿苷I的平均加样回收率分别为99.96%,100.34%,99.98%,100.48%,100.22%,101.11%,RSD分别为0.19%,0.41%,1.93%,1.95%,0.80%,2.39%(n=9)。

2.2 单因素试验

提取溶剂:固定液料比为100(mL/g,下同),以不同溶剂超声提取60 min,按2.1.2项下方法制备供试品溶液,按2.1.1项下色谱条件进样测定,记录峰面积并计算含量。结果表明,50%乙醇、50%甲醇作为提取溶剂

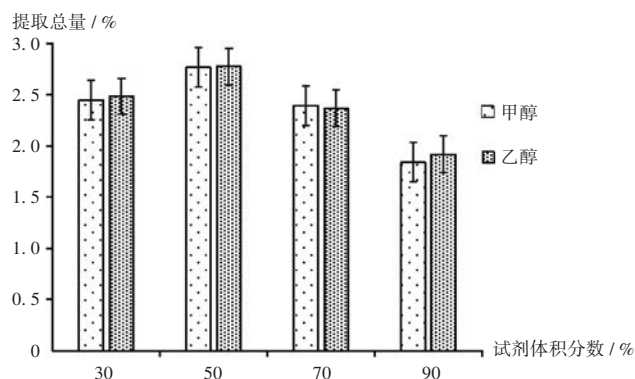


图2 试剂体积分数对提取总量的影响

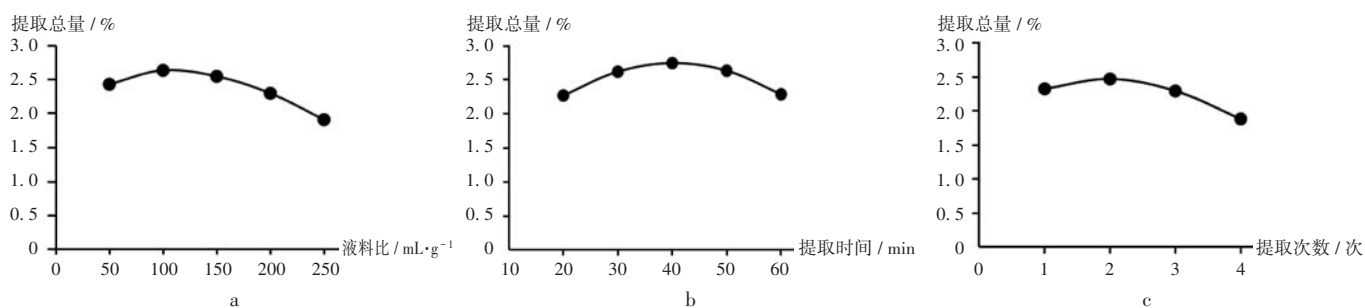
Fig.2 Effect of volume fraction of solvent on the total extraction amount

时待测成分提取总量均较高,因甲醇毒性、挥发性较强,乙醇较安全、经济、环保,故选择50%乙醇作为提取溶剂。详见图2。

液料比:在液料比分别为50,100,150,200,250的条件下,以50%乙醇超声提取60 min,按2.1.2项下方法制备供试品溶液,按2.1.1项下色谱条件进样测定,记录峰面积并计算含量。结果表明,液料比为50,100时待测成分提取总量较高。因液料比为50时,提取溶液过于浓稠,不方便过滤,且各成分峰面积、峰高相差较大,故选择液料比为100。详见图3 a。

提取时间:固定液料比为100,以50%乙醇分别超声提取20,30,40,50,60 min,按2.1.2项下方法制备供试品溶液,按2.1.1项下色谱条件进样测定,记录峰面积并计算含量。结果表明,提取40 min时待测成分提取总量最高,随后开始逐渐下降,故选择提取时间为40 min。详见图3 b。

提取次数:固定液料比为100,以50%乙醇超声提取1~4次,每次40 min,按2.1.2项下方法制备供试品溶液,按2.1.1项下色谱条件进样测定,记录峰面积并计算含量。结果表明,当提取次数超过2次时,总黄酮的提取率缓慢下降,故选择提取次数为2次。详见图3 c。



a. 液料比 b. 提取时间 c. 提取次数

图3 不同因素对提取总量的影响

a. Liquid - solid ratio b. Extraction time c. Extraction frequency

Fig.3 Effect of different factors on the total extraction amount

2.3 响应面法设计

试验设计:根据上述单因素试验结果,以乙醇体积分数(因素A)、提取时间(因素B)、提取次数(因素C)、液料比(因素D)为考察因素,待测成分提取总量为考察指标,采用响应面软件 Design Expert 11.0 优选提取工艺^[8-12]。因素与水平见表2,响应面试验设计及结果见表3。

模型拟合:采用 Design Expert 11 软件进行多元回

表2 因素与水平

Tab.2 Factors and their levels

水平	因素A(%)	因素B(min)	因素C(次)	因素D(mL/g)
-1	30	30	1	50
0	50	40	2	100
1	70	50	3	150

表3 响应面试验设计及结果

Tab.3 Design and results of the response surface test

序号	因素				含量(%)						提取总量(%)
	A	B	C	D	朝藿定A ₁	朝藿定A	朝藿定B	朝藿定C	淫羊藿苷	宝藿苷I	
1	0	1	-1	0	0.007	0.175	0.230	1.836	0.584	0.038	2.869
2	-1	0	0	1	0.005	0.172	0.211	1.755	0.521	0.051	2.714
3	0	0	1	1	0.000	0.187	0.234	1.949	0.652	0.039	3.062
4	1	0	0	-1	0.011	0.167	0.219	1.744	0.549	0.039	2.729
5	0	0	0	0	0.006	0.185	0.226	1.875	0.771	0.058	3.122
6	0	-1	0	-1	0.005	0.184	0.229	1.851	0.627	0.037	2.933
7	-1	-1	0	0	0.008	0.156	0.187	1.564	0.521	0.023	2.459
8	-1	0	1	0	0.006	0.170	0.206	1.715	0.570	0.049	2.717
9	0	-1	-1	0	0.005	0.186	0.229	1.885	0.647	0.041	2.993
10	0	1	1	0	0.005	0.182	0.229	1.881	0.637	0.039	2.972
11	0	0	0	0	0.000	0.208	0.279	2.060	0.645	0.042	3.231
12	0	0	-1	-1	0.006	0.169	0.213	1.739	0.569	0.039	2.735
13	0	-1	0	1	0.006	0.176	0.222	1.828	0.629	0.047	2.908
14	1	-1	0	0	0.005	0.195	0.242	1.986	0.682	0.043	3.152
15	-1	1	0	0	0.006	0.181	0.223	1.846	0.623	0.031	2.910
16	0	0	-1	1	0.007	0.183	0.218	1.779	0.605	0.042	2.833
17	0	0	1	-1	0.008	0.176	0.212	1.713	0.588	0.035	2.731
18	0	0	0	0	0.007	0.192	0.230	1.889	0.641	0.038	2.997
19	1	0	0	1	0.006	0.186	0.226	1.860	0.635	0.044	2.957
20	0	-1	1	0	0.006	0.180	0.223	1.850	0.827	0.040	3.126
21	0	0	0	0	0.007	0.182	0.219	1.889	0.717	0.039	3.053
22	-1	0	0	-1	0.009	0.155	0.196	1.576	0.473	0.038	2.448
23	1	0	1	0	0.006	0.168	0.214	1.731	0.546	0.035	2.700
24	0	1	0	1	0.006	0.168	0.210	1.701	0.553	0.034	2.671
25	1	1	0	0	0.006	0.175	0.227	1.832	0.547	0.048	2.835
26	0	0	0	0	0.006	0.187	0.234	1.977	0.732	0.041	3.177
27	1	0	-1	0	0.006	0.182	0.224	1.842	0.637	0.042	2.932
28	0	1	0	-1	0.009	0.177	0.232	1.861	0.589	0.039	2.908
29	-1	0	-1	0	0.005	0.168	0.206	1.692	0.569	0.019	2.658

归拟合,得待测成分提取总量(Y)与各因素变量的关系方程: $Y = 3.118 + 0.115A - 0.0342B + 0.0242C + 0.0550D - 0.1925AB - 0.0725AC - 0.005AD - 0.01BC - 0.055BD + 0.06CD - 0.2398A^2 - 0.04858B^2 - 0.09858C^2 - 0.1873D^2$ 。

方差分析:模型回归参数方差分析结果见表4。该模型较显著($F = 4.60, P < 0.0036$),表明响应回归模型差异有统计学意义;模型中失拟项不显著($F = 1.91, P = 0.2790 > 0.05$),表明该模型设计合理。方程中A, AB, A², D²对待测成分提取总量的影响有统计学意义,故可用此模型对提取工艺进行分析和预测。结果表明,因素A具有显著意义,为主要因素;因素D影响强度大于因素B、因素C,因素D是影响提取总量的次要因素。

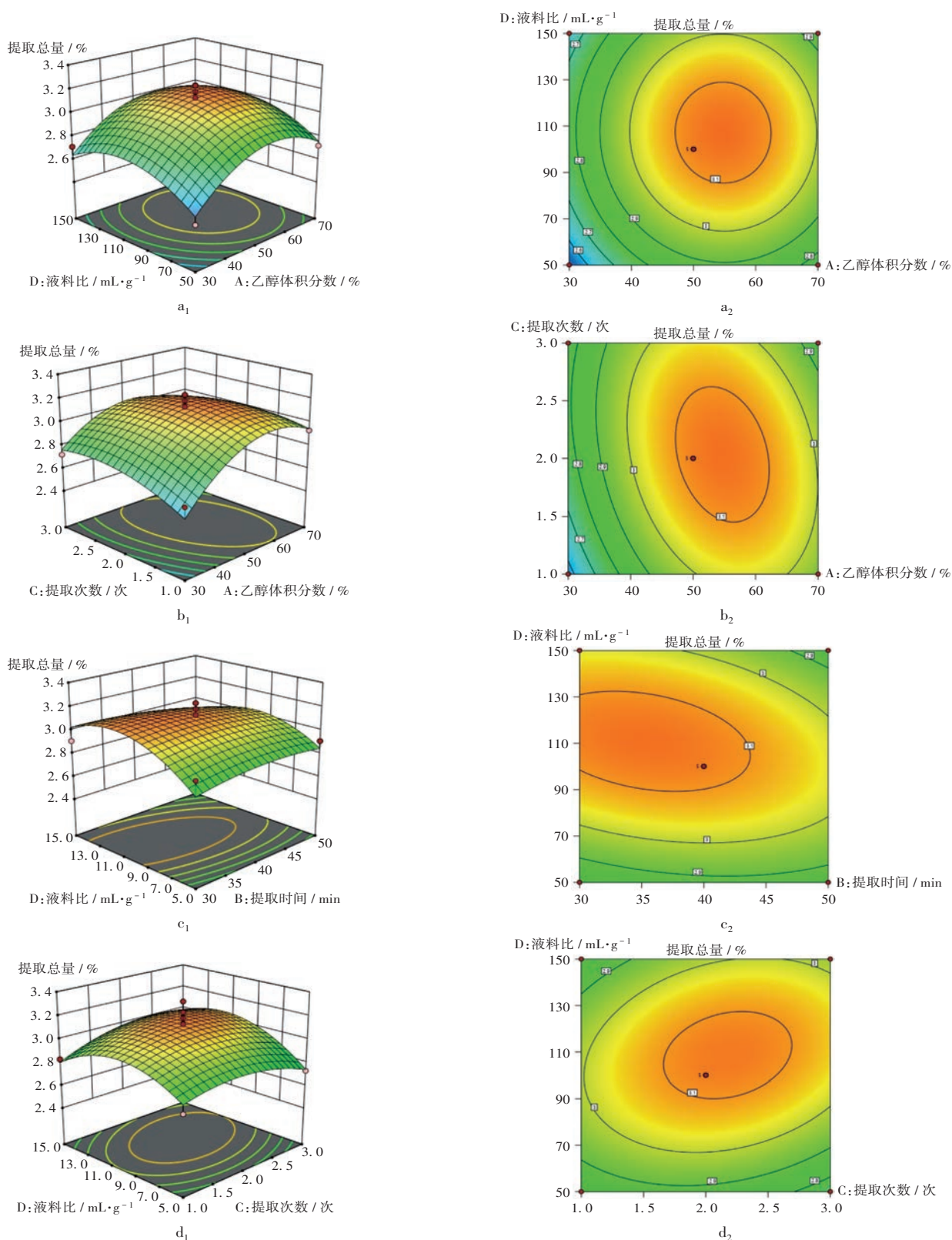
响应面预测与验证:采用 Design - Expert 11.0 软件分析试验结果,得到提取总量与各因素交互作用的三维响应面图和等高线图。因素AD间、CD间交互作用较强,结果影响显著。淫羊藿药材最佳提取工艺为液料比为100时,以50%乙醇提取2次,每次40min。详见图4。

验证试验:验证最佳工艺,平行3次,结果药材样品中待测成分提取总量分别为3.16%,3.08%,3.03%,与预测值(3.12%)相当。

表4 回归模型的方差分析结果

Tab.4 Results of the ANOVA of regression model

方差来源	离差平方和	自由度	均方	F值	P值
模型	0.9313	14	0.0665	4.60	<0.0036
A	0.1587	1	0.1587	10.97	<0.0051
B	0.0140	1	0.0140	0.9681	0.3418
C	0.0070	1	0.0070	0.4844	0.4978
D	0.0363	1	0.0363	2.51	0.1355
AB	0.1482	1	0.1482	10.24	0.0064
AC	0.0210	1	0.0210	1.45	0.2480
AD	0.0001	1	0.0001	0.0069	0.9349
BC	0.0004	1	0.0004	0.0276	0.8703
BD	0.0121	1	0.0121	0.8362	0.3760
CD	0.0144	1	0.0144	0.9952	0.3354
A ²	0.3731	1	0.3731	25.79	0.0002
B ²	0.0153	1	0.0153	1.06	0.3211
C ²	0.0630	1	0.0630	4.36	0.0556
D ²	0.2276	1	0.2276	15.73	0.0014
残差	0.2026	14	0.0145		
失拟项	0.1675	10	0.0167	1.91	0.2790
纯误差	0.0351	4	0.0088		
总和	1.13	28			



a₁, a₂. 乙醇体积分数与液料比 b₁, b₂. 乙醇体积分数与提取次数 c₁, c₂. 液料比与提取时间 d₁, d₂. 液料比与提取次数

a₁, b₁, c₁, d₁. 响应面图 a₂, b₂, c₂, d₂. 等高线图

图4 不同影响因素间响应面图及等高线图

a₁, a₂. Volume fraction of ethanol and liquid - solid ratio b₁, b₂. Volume fraction of ethanol and extraction frequency

c₁, c₂. Liquid - solid ratio and extraction time d₁, d₂. Liquid - solid ratio and extraction frequency

a₁, b₁, c₁, d₁. Response surface diagrams a₂, b₂, c₂, d₂. Contour diagrams

Fig. 4 Response surface diagrams and contour diagrams of different influencing factors

3 讨论

由于产地、采收季节、生长方式、干燥方式、淫羊藿药材种类、提取检测方法不同,淫羊藿药材中黄酮类成分的种类和含量也存在一定差异。预试验中考察提取工艺时,比较了醇提法、水提法、超声醇提法^[13-17],发现超声醇提法对黄酮类成分的提取量相对较高,故选择该法。按响应面法软件构建的最佳提取工艺进行验证,淫羊藿叶中6种成分提取总量的实际测定值与预测值基本一致。预试验中还分别以水-乙腈、0.1%磷酸水溶液-乙腈^[18]、0.1%甲酸水溶液-乙腈^[19]作为流动相进行梯度洗脱,发现以0.1%磷酸水溶液-乙腈和水-乙腈作为流动相时,色谱峰峰形良好,分离度大,拖尾不明显,但由于以磷酸盐作为流动相,在质量浓度较低时易结晶析出,易造成色谱柱堵塞,冲洗色谱柱耗时较长,故选择水-乙腈作为流动相。在流动相梯度变化时间范围内,适当缩小水相的质量浓度,即可将待测6种黄酮类成分完全分开,且出峰时间也会随之缩短,前期试验中的标准品溶液是用纯甲醇配制的,6种成分的峰形均为前沿峰,后续在配制标准品溶液时,加入了少量的水,使其成为含水12%~15%的甲醇溶液,进样分析后发现峰形前沿情况明显改善,峰形和分离度较好。

2020年版《中国药典(一部)》^[1]明确淫羊藿苷、朝藿定A、朝藿定B、朝藿定C的总量不得少于1.5%,其中朝鲜淫羊藿不得少于0.5%。朝藿定A₁因性质和朝藿定A接近,故在相同色谱条件下也能被分离出。宝藿苷I是淫羊藿苷在体内的水解产物^[2],具有显著的抗氧化、抗骨质疏松^[3]、抗肿瘤活性,2020年版《中国药典(一部)》将其列为炙淫羊藿药材含量测定的指标成分之一^[1],由于淫羊藿总黄酮在淫羊藿的化学成分中的含量最高^[3],药理作用强,临床应用广,故将2种黄酮类成分纳入本次考察。

综上所述,本研究中优选的提取工艺合理可行,可为淫羊藿药材的进一步研发提供参考。

参考文献

- [1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典(一部)[M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2020: 340-342.
- [2] 王燕萍, 贾旭森, 王艳, 等. 不同干燥方式对淫羊藿黄酮类成分含量及抗氧化活性影响[J]. 中草药, 2021, 52(14): 4193-4200.
- [3] 龚华乾, 高敏, 柴艺汇, 等. 淫羊藿化学成分与药理作用研究进展[J]. 湖北民族大学学报(医学版), 2021, 38(4): 75-78.
- [4] 李波, 李璐铭, 刘富饶, 等. 朝鲜淫羊藿中性多糖与酸性多糖的理化特征及抗氧化活性的比较[J]. 化学试剂, 2022, 44(3): 369-375.

- [5] 张卫萍, 邓杨阳, 任建勋, 等. 淫羊藿总黄酮对大鼠心肌急性缺血再灌注损伤氧化应激干预机制的研究[J]. 中国中药杂志, 2016, 41(18): 3400-3405.
- [6] ZHAO YD, CHEN SF, WANG YD, et al. Effect of drying processes on prenylflavonoid content and antioxidant activity of *Epimedium koreanum* Nakai [J]. *Journal of Food and Drug Analysis*, 2018, 26(2): 796-806.
- [7] CHO WK, MA JY. Antiviral activity of *Epimedium koreanum* Nakai water extract against influenza viruses [J]. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 2022, 146: 112581.
- [8] 王仕宝, 苏莹, 李会宁, 等. 响应面法优化重楼药材中甾体皂苷的回流提取工艺研究[J]. 陕西农业科学, 2019, 65(1): 46-52.
- [9] 李格, 张静, 韩福国, 等. 响应面法结合信息熵理论优化紫萁总黄酮的提取工艺[J]. 西北药学杂志, 2021, 36(4): 545-551.
- [10] 陈芳, 温艳, 姜小帆. 响应面法优化超声辅助提取灵芝黄酮工艺研究[J]. 湖北农业科学, 2022, 61(14): 113-118.
- [11] 李菁, 杜少兵, 白吉庆, 等. 响应面法优化紫丁香叶总黄酮超声提取工艺[J]. 广东药科大学学报, 2022, 38(4): 52-57.
- [12] 米智, 刘荔贞, 李慧. 响应面法优化黄花菜黄酮提取工艺及抗氧化活性的研究[J]. 中国调味品, 2022, 47(7): 53-57.
- [13] CHEN LG, JIN HY, DING L, et al. Dynamic microwave-assisted extraction of flavonoids from *Herba Epimedii* [J]. *Separation and Purification Technology*, 2008, 59: 50-57.
- [14] ZHANG HF, YANG XH, ZHAO LD, et al. Ultrasonic-assisted extraction of epimedin C from fresh leaves of *Epimedium* and extraction mechanism [J]. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 2009, 10: 54-60.
- [15] JUNG SY, YI YJ, CHANG MS, et al. An improved extraction method for acrylamide determination in fruit and vegetable chips through enzyme addition [J]. *Food Chemistry*, 2021, 360: 129740.
- [16] 张敏, 刘惠娟, 王永福, 等. 一测多评法测定甘肃地区淫羊藿黄酮类成分的含量[J]. 安徽农业科学, 2021, 49(11): 182-185.
- [17] 蔡德, 余白蓉, 杨绮华, 等. 淫羊藿总黄酮提取及其含量测定[J]. 广东药学院学报, 2005, 21(1): 75-76.
- [18] 张凌风, 洪雅丹, 骆瑶, 等. HPLC法测定杜仲-淫羊藿药对中8个化学成分的含量[J]. 药物分析杂志, 2019, 39(5): 772-779.
- [19] 秦伟瀚, 危永胜, 阳勇, 等. 基于UPLC-MS/MS法研究淫羊藿净制干燥前后化学差异[J]. 时珍国医国药, 2022, 33(2): 377-381.

(收稿日期: 2022-10-05; 修回日期: 2022-12-15)