

# 超声波辅助高压法提取金针菇黄酮的纯化及活性测定

王广慧, 于德涵, 黎 莉

(绥化学院食品与制药工程学院, 黑龙江 绥化 152061)

**摘要:**为了获知超声波辅助高压法所提取金针菇黄酮的抑菌和抗氧化活性以及D101型大孔吸附树脂纯化金针菇黄酮的最优条件,利用D101型大孔树脂对超声波辅助高压法所提取的金针菇黄酮进行纯化,并对纯化条件进行了优化研究,而后对纯化后黄酮抑制大肠杆菌、枯草芽孢杆菌、沙门氏菌和金黄色葡萄球菌的能力进行了检测;又以抗坏血酸( $V_c$ )为对照,对黄酮清除1,1-二苯基-2-三硝基苯肼自由基(DPPH $\cdot$ )、超氧阴离子自由基( $\cdot O_2^-$ )、羟基自由基( $\cdot OH$ )和2,2-联氮-二(3-乙基-苯并噻唑-6-磺酸)二铵盐自由基(ABTS $\cdot$ )的能力进行测定。结果表明,D101型大孔树脂纯化金针菇黄酮的最适条件为:采用浓度为1.2 mg/mL、pH值为5的上样液,在上样流速为0.75 mL/min的条件下进行吸附;吸附饱和后用70%的乙醇60 mL以1 mL/min洗脱。在此条件下得到的黄酮纯度是纯化前的2.71倍。超声波辅助高压法所提取的金针菇黄酮对四种菌均有不同程度的抑制作用,其抑菌程度大小顺序为:大肠杆菌>沙门氏菌>金黄色葡萄球菌>枯草芽孢杆菌。金针菇黄酮对DPPH $\cdot$ 、 $\cdot O_2^-$ 、 $\cdot OH$ 和ABTS $\cdot$ 均具有一定的清除能力,但弱于 $V_c$ 。可知超声波辅助高压法所提取的金针菇黄酮具有抑菌及抗氧化活性,D101型大孔吸附树脂纯化金针菇黄酮效果较好。

**关键词:**超声波辅助高压法;金针菇黄酮;大孔吸附树脂;抑菌性;抗氧化性

中图分类号:TS201.2

文献标识码:A

文章编号:2096-5877(2021)03-0100-06

## Purification and Activity Determination of Flavonoids from *Flammulina Velutipes* Extracted by Ultrasonic Assisted High Pressure Method

WANG Guanghui, YU Dehan, LI Li

(College of Food and Pharmaceutical Engineering, Suihua University, Suihua 152061, China)

**Abstract:** In order to obtain the antibacterial and antioxidative activities of *Flammulina* flavonoids extracted by ultrasonic assisted high pressure method and the optimal conditions for purification by D101 macroporous resin, the resin was used to purify the flavonoids extracted by ultrasonic assisted high pressure method in the paper. The purification conditions were optimized, and the ability of the purified flavonoids to inhibit *Escherichia coli*, *Bacillus subtilis*, *Salmonella enteritidis* and *Staphylococcus aureus* was detected. The ability of flavonoids to remove DPPH $\cdot$ ,  $\cdot O_2^-$ ,  $\cdot OH$  and 2,2-binitro-bis ABTS $\cdot$  was determined with  $V_c$  as a comparison. The results showed that the optimum conditions for the purification were as follows: the adsorption solution was prepared at a concentration of 1.2 mg/mL and a pH of 5, and the adsorption was carried out at a loading flow rate of 0.75 mL/min. After saturation, it was eluted with 70% ethanol 60 mL at 1 mL/min. The purity of the flavonoids obtained under these conditions was 2.71 times that before purification. The *Flammulina* flavonoids extracted by ultrasonic assisted high pressure method have different inhibitory effects on the four strains. The order of inhibition is: *Escherichia coli*>*Salmonella enteritidis*>*Staphylococcus aureus*>*Bacillus subtilis*. The *Flammulina* flavonoids have certain scavenging ability to DPPH $\cdot$ ,  $\cdot O_2^-$ ,  $\cdot OH$  and ABTS $\cdot$ , but weaker than  $V_c$ . It can be seen that the *Flammulina* flavonoids extracted by the method have antibacterial and antioxidative activities, and D101 macroporous adsorption resin has better effect on purifying *Flammulina* flavonoids.

**Key words:** Ultrasonic assisted high pressure method; *Flammulina* flavonoids; Macroporous resin; Antibacterial property; Inoxidizability

收稿日期:2019-05-28

基金项目:黑龙江省绥化市科技计划项目(SHKJ2017-075);国家自然科学基金项目(21201128)

作者简介:王广慧(1973-),女,教授,硕士,主要从事食用菌中生物活性物质的分离及应用研究。

金针菇(*Flammulina velutiper*)是我国普遍栽培和食用的大型真菌,具有很高的药用食疗价值。金针菇中富含多糖、蛋白质、黄酮类、氨基酸、纤维素等多种活性物质,金针菇黄酮具有消炎镇痛、清除自由基、防治心血管疾病等功能<sup>[1-2]</sup>。大孔吸附树脂因其具有吸附速率快、吸附容量大、洗脱效率高、树脂再生方便等优点常被用于天然产物中有效成分的分离及纯化,但学术界对大孔树脂纯化金针菇黄酮的报道较少。本课题组对超声波辅助高压法提取金针菇黄酮的工艺条件进行了优化研究<sup>[3]</sup>。本文在前期研究工作的基础上继续探讨利用超声波辅助高压法提取的金针菇黄酮经D101型大孔树脂纯化后的抑菌性及抗氧化性问题,并对D101型大孔树脂纯化金针菇黄酮的最佳工艺条件进行优化研究,以期能为金针菇黄酮的开发利用提供一定的理论依据。

## 1 材料与仪器

### 1.1 材料与试剂

金针菇购自福建省古田县食用菌加工基地;D101型大孔吸附树脂购自天津浩聚树脂科技有限公司;实验所用各种化学试剂都为分析纯,购自天津市博迪化工有限公司;枯草芽孢杆菌(*Bacillus subtilis*)、大肠杆菌(*Escherichia coli*)、金黄色葡萄球菌(*Staphylococcus aureus*)、沙门氏菌(*salmonella enteritidis*),由绥化学院食品与制药工程学院微生物实验室提供。

### 1.2 主要仪器

HL-2型恒流泵,上海青浦沪西仪器厂;752型紫外-可见分光光度计,上海菁华科技仪器有限公司;TGL-20bR型冷冻离心机,上海安亭科学仪器有限公司;PHS-25酸度计,上海伟业仪器厂;YXQ-LS-75S II型立式压力蒸汽灭菌器,上海博讯实业有限公司医疗设备厂;FW100型高速万能粉碎机,天津市泰斯特仪器有限公司;普通玻璃层析柱(16 mm×240 mm),上海青浦沪西仪器厂;牛津杯(内径6 mm),上海鲁硕实业有限公司;ZD-85型气浴恒温振荡器,江苏省金坛区荣华仪器制造有限公司;DS-1000Y型超声波细胞粉碎机,上海杜斯仪器有限公司。

## 2 实验方法

### 2.1 黄酮含量的测定方法

采用硝酸铝-亚硝酸钠法测定金针菇中黄酮的含量。标准曲线的绘制及线性回归方程的获得

方法参见文献[3]。

### 2.2 超声波辅助高压法提取金针菇黄酮的操作方法

将金针菇干品用高速万能粉碎机粉碎,过80目筛。按料液比1:45(g/mL)将金针菇干粉与蒸馏水混合,用超声波细胞粉碎机在功率300 W下超声处理6 min,115 °C高压提取40 min。以3 500 r/min离心10 min,分离出上清液备用<sup>[3]</sup>。

### 2.3 D101型大孔吸附树脂的预处理

将D101型大孔树脂用体积浓度为95%的乙醇浸泡24 h,湿法装柱,树脂高度为12 cm。用无水乙醇以3 mL/min的流速冲洗树脂层至流出的液体清亮、无浑浊为止,再用蒸馏水洗至流出液无醇味。加适量质量分数为5%的HCl溶液浸泡4 h,蒸馏水洗至中性,再加适量质量分数为4%的NaOH溶液浸泡4 h,蒸馏水洗至中性,备用。按如下公式计算大孔树脂的吸附率和解析率: 吸附率 =  $\frac{C_1V_1 - C_2V_2}{C_1V_1} \times 100\%$ , 解析率 =  $\frac{C_3V_3}{C_1V_1 - C_2V_2} \times 100\%$ , 两式中:  $C_1$ 、 $C_2$ 、 $C_3$ 分别表示上样液黄酮质量浓度、饱和时流出液黄酮质量浓度、洗脱液黄酮质量浓度(mg/mL);  $V_1$ 、 $V_2$ 、 $V_3$ 分别表示饱和时上样液消耗的体积、饱和时流出液体积、洗脱液体积(mL)。

### 2.4 金针菇黄酮纯化的工艺条件

采用金针菇黄酮浓度为1.2 mg/mL、pH值为5的上样液,在上样流速为0.75 mL/min的条件下进行吸附;吸附饱和后用70%的乙醇60 mL以1 mL/min的流速进行洗脱<sup>[4-6]</sup>。

### 2.5 工艺验证实验

分别取按最佳工艺条件纯化所获得的金针菇黄酮解析液与纯化前黄酮样品液放入烘箱中烘干,精确称取烘干后物质的干重,通过计算黄酮在解析液及样品液烘干后物质中所占的比例,得到黄酮的纯度及纯化倍数。做平行实验3次。

### 2.6 纯化后金针菇黄酮的抑菌性检测

采用抑菌圈法测定纯化后金针菇黄酮对金黄色葡萄球菌、大肠杆菌、枯草芽孢杆菌、沙门氏菌4种常见菌种的抗菌活性<sup>[7-10]</sup>。

#### 2.6.1 菌悬液的制备

将菌种活化后置于37 °C气浴恒温振荡器中,120 r/min持续培养24 h。当菌悬液在600 nm波长处OD值为0.1时即可用于后续实验,此时菌体浓度约为 $1 \times 10^6 \sim 1 \times 10^7$  CFU/mL。

#### 2.6.2 抑菌实验

在LB培养基平板上均匀涂布各菌悬液0.1

mL,并将无菌不锈钢牛津杯插入平板。将纯化后金针菇黄酮用无菌生理盐水稀释成一定的浓度梯度,取0.1 mL加入各牛津杯中,以生理盐水作为对照。重复3次,在37℃恒温培养箱中持续培养24 h后测量抑菌圈大小。

## 2.7 金针菇黄酮的抗氧化性研究

### 2.7.1 对DPPH·清除能力的测定

将 $1.0 \times 10^{-4}$  mol/L的DPPH溶液(用无水乙醇配制)3.5 mL和无水乙醇0.5 mL加入具塞试管中,闭光静置30 min后测其在517 nm下的吸光值,记为 $A_0$ ;将 $1.0 \times 10^{-4}$  mol/L的DPPH·溶液3.5 mL和金针菇黄酮样品液0.5 mL加到具塞试管中,闭光静置30 min后测其在517 nm下吸光值,记为 $A_1$ ;取3.5 mL无水乙醇与0.5 mL金针菇黄酮样品液,将其在517 nm下的吸光值记为 $A_2$ ,以3.5 mL无水乙醇和0.5 mL蒸馏水的混合液作为空白。平行测定3次,取平均值<sup>[11-12]</sup>。以抗坏血酸( $V_c$ )作为对照。

$$\text{DPPH}\cdot\text{的清除率} = \frac{A_0 - (A_1 - A_2)}{A_0} \times 100\%$$

### 2.7.2 对超氧阴离子自由基 $\cdot O_2^-$ 清除能力的测定

在试管中加入pH 8.2的Tris-HCl缓冲液(50 mmol/L)2.8 mL及0.1 mL不同浓度梯度黄酮样品液,于25℃恒温水浴中保温10 min,再加入0.1 mL在同样条件下预温的60 mmol/L邻苯三酚(以60 mmol/L盐酸配制),立即摇匀,倒入比色杯中,在420 nm处每隔0.5 min测一次吸光值,此吸光值记为 $A_1$ 。以60 mmol/L盐酸代替邻苯三酚,重复上述操作,所测吸光值记为 $A_2$ ;保留邻苯三酚,以蒸馏水代替黄酮样品液,重复上述操作,所测吸光值记为 $A_0$ 。重复3次,取平均值。以 $V_c$ 作为对照<sup>[13]</sup>。

$$\cdot O_2^-\text{的清除率} = \frac{A_0 - (A_1 - A_2)}{A_0} \times 100\%$$

### 2.7.3 对羟基自由基 $\cdot OH$ 清除能力的测定

在试管中依次加入不同浓度的黄酮样品液1.0 mL、1.8 mmol/mL的 $FeSO_4$ 溶液2.00 mL、1.8 mmol/mL的水杨酸-乙醇1.5 mL,最后加质量分数为0.03%的过氧化氢0.1 mL,振荡混合,37℃下反应30 min后于510 nm下测定吸光值,记为 $A_1$ 。以蒸馏水代替过氧化氢,重复上述操作,所测吸光值记为 $A_2$ ;保留过氧化氢,以蒸馏水代替黄酮样品液,重复上述操作,所测吸光值记为 $A_0$ 。同时以 $V_c$ 作为对照<sup>[14-15]</sup>。

$$\cdot OH\text{清除率} = \frac{A_0 - (A_1 - A_2)}{A_0} \times 100\%$$

### 2.7.4 对ABTS·清除能力的测定

精密称取40.0 mg的ABTS,加入蒸馏水10 mL以及过硫酸钾(1.0 mg/mL)8.00 mL,室温避光静置16 h后转移到250 mL容量瓶中,加入32 mL蒸馏水,用无水乙醇定容至刻度,放置10 h备用。

在试管中加入黄酮样品液0.5 mL和95%乙醇1.5 mL,然后加入配制好的ABTS溶液2 mL,混合后静置30 min,在734 nm波长下测吸光值,记为 $A_1$ 。以水代替ABTS溶液,重复上述操作,测得的吸光值记为 $A_2$ ;保留ABTS溶液,以95%乙醇代替黄酮样品液,重复上述操作,测得的吸光值记为 $A_0$ 。同时以 $V_c$ 作为对照<sup>[16]</sup>。

$$\text{ABTS}\cdot\text{清除率} = \frac{A_0 - (A_1 - A_2)}{A_0} \times 100\%$$

## 3 结果与分析

### 3.1 线性回归方程

按照文献[3]所述方法绘制标准曲线,得到线性回归方程为 $y=0.1441x-0.0117$ , $R^2=0.999$ 。

### 3.2 D101型大孔树脂纯化金针菇黄酮工艺的优化

#### 3.2.1 上样液pH对饱和吸附率的影响

用5%盐酸溶液和2%NaOH溶液将质量浓度为1.35 mg/mL的金针菇黄酮提取液调成pH为4、5、6、7和8的上样液,以0.5 mL/min的上样流速进行吸附实验并计算饱和吸附率。每个样品做三组平行实验,取平均值,下同。由图1可知,pH为5时黄酮的饱和吸附率最大,从5到8随着pH上升,饱和吸附率逐渐减小。可能是因为金针菇黄酮是多羟基酚类化合物,呈弱酸性,在酸性条件保持分子状态,有利于大孔吸附树脂的吸附,而在碱性条件下形成酸根离子不利于吸附。在强酸(pH<5)环境下会形成带有颜色的复合盐结构,导致饱和吸附率偏低<sup>[4]</sup>。

#### 3.2.2 上样液浓度对饱和吸附率的影响

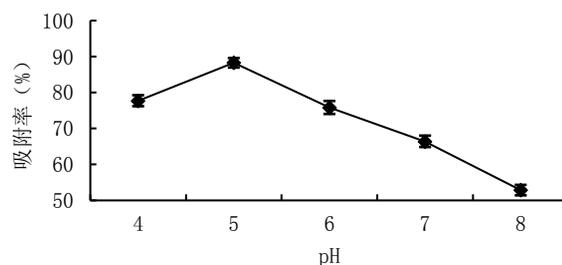


图1 上样液pH对饱和吸附率的影响

将pH为5,浓度分别为0.8、1.0、1.2、1.4、1.6 mg/mL的金针菇黄酮上样液以0.5 mL/min的流速进行吸附实验并计算饱和吸附率。由图2可知,上样液浓度过大过小都不利于吸附,浓度在1.2

mg/mL最为合适,可能是因为浓度较低时,树脂吸附不完全,而浓度增加,树脂的吸附量增大,但浓度过大(超过1.2 mg/mL),与黄酮竞争树脂吸附点的杂质将增多,黄酮吸附率也下降<sup>[5]</sup>。

### 3.2.3 上样液流速对饱和和吸附率的影响

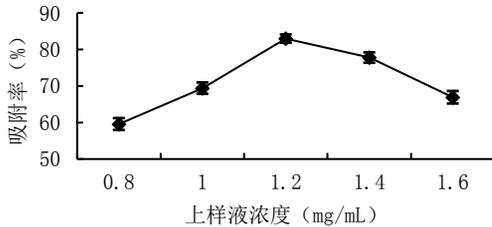


图2 上样液浓度对饱和和吸附率的影响

将pH为5、浓度为1.2 mg/mL的金针菇黄酮提取液分别以0.25、0.5、0.75、1.0、1.25 mL/min的流速进行吸附实验直到饱和,计算黄酮饱和和吸附率。由图3可知,上样液最适流速为0.75 mL/min,可能是因为上样液流速过慢时,树脂在吸附金针菇黄酮的同时也会吸附金针菇提取液中其他含有酚羟基的杂质,所以吸附效率会相对较低;而当吸附流速过快时,树脂与样品液接触不充分,导致吸附效果变差<sup>[6]</sup>。

### 3.2.4 洗脱液浓度对解析率的影响

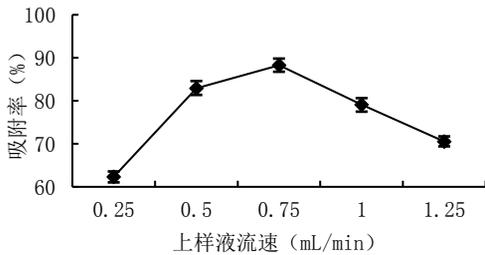


图3 上样液流速对饱和和吸附率的影响

取装有1 BV(1柱体积,树脂高度为12 cm) D101型大孔树脂的层析柱,按上述最佳条件吸附至饱和,先用蒸馏水冲洗至流出液无色,再分别用体积分数为40%、50%、60%、70%、80%的乙醇以2 mL/min的速率进行洗脱,乙醇用量是50 mL,计算黄酮解析率。由图4可知,洗脱液浓度在70%时,解析率最高。分析原因可能是金针菇黄酮为弱极性物质,根据“相似者相溶”的原理,洗

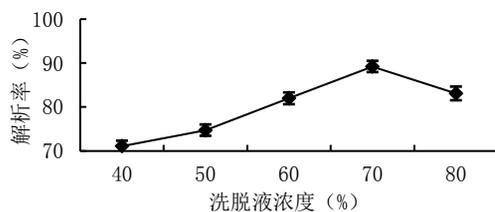


图4 洗脱液浓度对解析率的影响

脱剂乙醇溶液的浓度为70%时与黄酮的极性最接近,因此最有利于黄酮的洗脱。

### 3.2.5 洗脱速率对解析率的影响

取装有1 BV D101型大孔树脂的层析柱,按上述最佳条件吸附至饱和,先用蒸馏水冲洗至流出液无色,再用70%乙醇溶液分别以1、2、3、4、5 mL/min的速率进行洗脱,乙醇用量为50 mL,计算黄酮解析率。由图5可知,洗脱流速越慢黄酮解析率越大,这是因为当洗脱速率过大时,洗脱不充分,从而导致解析率降低,但洗脱速率过大会延长洗脱时间,因此从效率的角度选择1 mL/min为最佳洗脱速率。

### 3.2.6 洗脱剂用量对解析率的影响

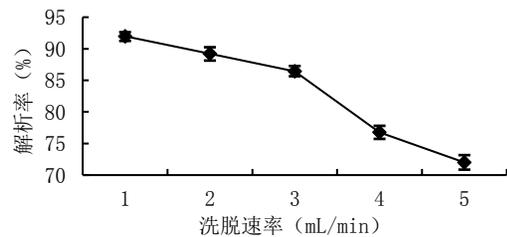


图5 洗脱速率对解析率的影响

取装有1 BV D101型大孔树脂的层析柱,按上述最佳条件吸附至饱和,用蒸馏水洗至流出液无色,再用70%乙醇以1 mL/min的洗脱速率进行洗脱,每10 mL收集一次洗脱液,计算黄酮解析率。由图6可知,在洗脱剂用量为60 mL时,树脂上吸附的黄酮类化合物完全被洗出,因此选洗脱液的最佳用量为60 mL。

### 3.3 工艺验证实验

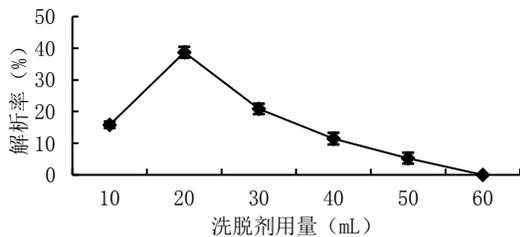


图6 洗脱剂用量对解析率的影响

由表1可知,3组平行实验中纯化后金针菇黄酮的纯度平均是纯化前的2.71倍,可见用此工艺条件纯化金针菇黄酮效果较好。

### 3.4 纯化后金针菇黄酮的抑菌性研究结果

表1 纯化前和纯化后的黄酮纯度

	样品1	样品2	样品3	平均值
纯化前黄酮纯度(%)	6.66	6.49	6.90	6.68
纯化后黄酮纯度(%)	16.77	18.85	18.60	18.07
纯化倍数	2.52	2.90	2.70	2.71

对每个黄酮浓度下3次平行实验所获得的抑菌圈直径取平均值,由表2可知,在测试浓度范围内,金针菇黄酮对大肠杆菌、枯草芽孢杆菌、沙门氏菌和金黄色葡萄球菌均有不同程度的抑制作用,其抑菌效果随着金针菇黄酮浓度的增大而增强。对四个菌种抑菌性大小的顺序为:大肠杆菌>沙门氏菌>金黄色葡萄球菌>枯草芽孢杆菌。

用,其抑菌效果随着金针菇黄酮浓度的增大而增强。对四个菌种抑菌性大小的顺序为:大肠杆菌>沙门氏菌>金黄色葡萄球菌>枯草芽孢杆菌。

### 3.5 金针菇黄酮的抗氧化性研究结果

表2 金针菇黄酮浓度对菌种抑菌圈直径的影响

菌种	黄酮浓度(mg/mL)					无菌生理盐水
	0.15	0.30	0.45	0.60	0.75	
大肠杆菌	7.4	7.5	7.7	7.9	8.1	0
沙门氏菌	7.2	7.3	7.5	7.7	7.9	0
金黄色葡萄球菌	6.3	6.8	7.1	7.5	7.6	0
枯草芽孢杆菌	6.1	6.2	6.4	7.1	7.3	0

#### 3.5.1 对DPPH·清除能力的测定结果

由图7可知,当浓度在0.22~0.78 mg/mL范围内,金针菇黄酮和Vc对DPPH·的清除能力均随着浓度增大而逐渐增强,但在相同浓度时金针菇黄酮的清除率明显低于Vc。

#### 3.5.2 对超氧阴离子自由基·O<sub>2</sub><sup>-</sup>清除能力的测定

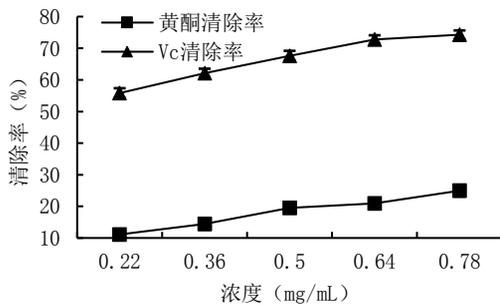


图7 黄酮与Vc对DPPH·的清除能力比较

由表3可知,在一定浓度下,随着时间的延长,金针菇黄酮和Vc对·O<sub>2</sub><sup>-</sup>的清除率都逐渐降低。当浓度在0.22~0.78 mg/mL范围内,金针菇黄酮和

表3 黄酮与Vc清除超氧阴离子自由基能力比较

时间(min)		浓度(mg/mL)				
		0.22	0.36	0.50	0.64	0.78
0.5		10.05	13.14	15.17	23.06	25.5
1	黄酮	9.25	12.71	14.26	22.52	24.83
1.5	清除	8.06	11.76	14.03	21.47	23.46
2	率	7.13	9.85	13.57	20.04	22.48
2.5	(%)	6.25	8.81	12.34	19.41	21.32
3		5.71	7.34	11.15	17.13	19.51
0.5		52.14	57.38	66.85	71.58	76.12
1	Vc	50.43	55.24	65.31	68.47	74.37
1.5	清除	48.52	53.25	63.68	67.46	73.74
2	率	47.28	52.51	62.53	66.87	73.02
2.5	(%)	45.31	51.82	61.74	65.24	71.76
3		43.72	50.33	58.68	64.02	70.53

Vc对·O<sub>2</sub><sup>-</sup>的清除能力均随着浓度的增加而增大,金针菇黄酮的清除率明显低于同浓度下Vc。

#### 3.5.3 对羟基自由基·OH清除能力的测定结果

由图8可知,当浓度在0.22~0.78 mg/mL范围内,金针菇黄酮和Vc对·OH的清除率均随浓度的增大而升高,但在相同浓度下,金针菇黄酮对·OH的清除率低于Vc。

#### 3.5.4 对ABTS·清除能力的测定结果

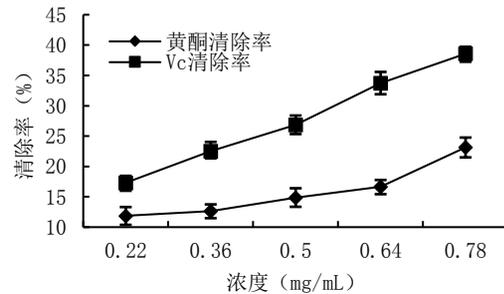


图8 黄酮及Vc对羟基自由基的清除能力比较

由图9可知,当浓度在0.22~0.78 mg/mL范围内,金针菇黄酮和Vc对ABTS·的清除能力均随浓度的增大而增强,但在相同浓度时金针菇黄酮的清除率明显低于Vc。

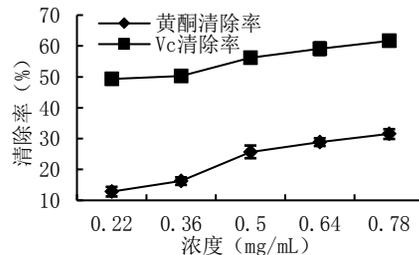


图9 黄酮及Vc对ABTS·的清除能力比较

## 4 结论

本文利用D101大孔树脂对超声波辅助高压

法所提取的金针菇黄酮进行了纯化,并对纯化条件进行了优化,而后对纯化后金针菇黄酮的抑菌性和抗氧化性进行了检测。根据实验结果可得出如下结论:

(1)D101大孔树脂适于纯化金针菇黄酮,其最佳吸附条件为:浓度为1.2 mg/mL,pH值为5,上样流速为0.75 mL/min;最佳洗脱条件为:浓度为70%的乙醇60 mL,洗脱速率为1 mL/min。在此条件下得到的金针菇黄酮纯度是纯化前的2.71倍。

(2)超声波辅助高压法所提取的金针菇黄酮经D101大孔树脂纯化后对金黄色葡萄球菌、枯草芽孢杆菌、沙门氏菌和大肠杆菌皆有不同程度的抑制作用,其抑菌程度大小顺序为:大肠杆菌>沙门氏菌>金黄色葡萄球菌>枯草芽孢杆菌。

(3)超声波辅助高压法所提取的金针菇黄酮经D101大孔树脂纯化后对DPPH·、 $\cdot\text{O}_2^-$ 、 $\cdot\text{OH}$ 和ABTS·四种自由基均具有一定的清除能力,但都弱于 $\text{V}_c$ 。

以上研究结果表明,利用超声波辅助高压法提取金针菇黄酮,而后采用D101大孔树脂进行纯化的工艺流程可行。这为金针菇黄酮的进一步开发利用,尤其作为抑菌剂或抗氧化剂的研发提供了理论依据。

#### 参考文献:

- [1] 孙传博,姜明,张云野.金针菇食用及药用价值概述[J].宁夏农林科技,2015,56(11):80-82.
- [2] Hu Qinhui, Yu Jie, Yang Wenjian, et al. Identification of flavonoids from flammulina velutipes and its neuroprotective effect on pheochromocytoma-12 cells [J]. Food Chemistry, 2016, 204: 274-282.
- [3] 郭晶,刘晓梅,郭鑫,等.超声波辅助高压法提取金针菇黄酮工艺的优化研究[J].黑龙江畜牧兽医,2017,59(2):207-209.
- [4] 傅春燕,刘永辉,杨林,等.大孔树脂纯化瓜馥木总黄酮工艺及抗抑郁活性研究[J].天然产物研究与开发,2015,27(8):1441-1447.
- [5] 祝波,李永强.山楂中原花青素的大孔吸附树脂纯化工艺研究[J].东北农业科学,2019,44(2):62-67.
- [6] 陈晓侠,宋渊,张纪柏,等.吸附树脂对蛹虫草黄酮纯化工艺条件优化[J].食品科学,2015,36(4):68-72.
- [7] 钟旭美,陈铭中,彭嘉铭,等.春砂仁总黄酮提取物的抗氧化性及抑菌性研究[J].食品安全质量检测学报,2018,9(13):3335-3339.
- [8] 孙彩云,柳鑫华,王庆辉,等.半仿生提取柿叶黄酮及其抗氧化和抗菌作用[J].食品研究与开发,2014,35(10):115-118.
- [9] Pourramezan Z, Kermanshahi R K, Oloomi M A, et al. In vitro study of antioxidant and antibacterial activities of *Lactobacillus probiotic* spp. [J]. Folia Microbiologica, 2018, 63(1):31-42.
- [10] Das A, Datta S, Mukherjee S, et al. Evaluation of antioxidative, antibacterial and probiotic growth stimulatory activities of *Sesamum indicum* honey containing phenolic compounds and lignans [J]. Food Science and Technology, 2015, 61:244-250.
- [11] Chen Xiumin, Andrew R T, David D K. Flavonoid composition of orange peel and its association with antioxidant and anti-inflammatory activities [J]. Food Chemistry, 2017, 218:15-21.
- [12] 荆常亮.紫花苜蓿总黄酮的提取、纯化及其抗氧化活性研究[D].北京:中国农业科学院,2016.
- [13] 杨云舒,姜子涛,李荣.广枣黄酮清除自由基能力及抗氧化性能的细胞模型法评价[J].食品科学,2016,37(9):92-96.
- [14] 刘程程,张彩云,郑奎玲,等.甜茶黄酮回收工艺及抗氧化性研究[J].食品工业科技,2017,38(9):201-205.
- [15] 刘红,陈燕芹,程霞,等.苦荞秸秆中总黄酮的提取及其抗氧化性[J].贵州农业科学,2014,42(3):150-153.
- [16] 曹莹莹.黑种草子中总黄酮的提取、分离纯化及活性研究[D].无锡:江南大学,2016.

(责任编辑:刘洪霞)