

月桂叶中黄酮类成分的分析鉴定

杨云舒, 李荣, 姜子涛, 刘韬

(天津商业大学生物技术与食品科学学院, 天津市食品生物技术重点实验室, 天津 300134)

摘要: 利用液相色谱-四级杆-飞行时间串联质谱 (LC-Q-TOF-MS), 结合标准品比较、保留时间对比、多级质谱碎片和相关文献, 鉴定了月桂叶黄酮的化学成分。利用液相-三重四级杆串联质谱 (LC-MS/MS) 在多反应监控模式 (MRM) 下, 分别测定了黄酮化合物的含量。从我国月桂叶中分离鉴定出了 16 种黄酮化合物, 包括牡荆素鼠李糖苷 ($1658.53 \mu\text{g/g} \pm 56.9$)、芦丁 ($19883.54 \pm 494.33 \mu\text{g/g}$)、牡荆素 ($4430.87 \pm 89.72 \mu\text{g/g}$)、A-型原花青素三聚体 ($2281.88 \pm 78.90 \mu\text{g/g}$)、表儿茶素 ($148.10 \mu\text{g/g} \pm 2.32$)、山奈酚-3-O-芸香糖苷 ($3491.02 \pm 47.98 \mu\text{g/g}$)、异鼠李素-3-O-芸香糖苷 ($6643.78 \pm 99.04 \mu\text{g/g}$)、金丝桃苷 ($11979.66 \pm 317.79 \mu\text{g/g}$)、山奈酚-7-O-葡萄糖苷 ($738.55 \mu\text{g/g} \pm 10.86$)、紫云英苷 ($508.60 \mu\text{g/g} \pm 6.96$)、槲皮素-3-O-木糖苷 ($2044.22 \mu\text{g/g} \pm 57.65$)、异鼠李素-3-O-葡萄糖苷 ($2079.94 \mu\text{g/g} \pm 76.38$)、槲皮苷 ($2079.94 \mu\text{g/g} \pm 61.84$)、山奈酚-3-O-鼠李糖苷 ($6412.37 \pm 78.65 \mu\text{g/g}$)、槲皮素 ($1629.45 \mu\text{g/g} \pm 47.65$) 和山奈酚 ($364.29 \mu\text{g/g} \pm 2.84$)。测定了月桂叶黄酮提取物清除 DPPH 自由基的能力, 结果证明, 月桂叶黄酮具有良好的清除自由基能力。

关键词: 月桂叶; 黄酮; 结构鉴定; LC-Q-TOF-MS; LC-MS/MS; 清除自由基

文章篇号: 1673-9078(2016)07-270-275

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2016.7.041

Identification of Flavonoids in the Leaves of *Laurus nobilis*

YANG Yun-shu, LI Rong, JIANG Zi-tao, LIU Tao

(Tianjin Key Laboratory of Food Biotechnology, College of Biotechnology and Food Science, Tianjin University of Commerce, Tianjin 300134, China)

Abstract: Flavonoids in the leaves of *Laurus nobilis* were identified using liquid chromatography-quadrupole-time of flight mass spectrometry combined with comparison of the retention times and tandem mass spectrometric fragment patterns of standards or from related literature. Flavonoid contents were measured by liquid chromatography-triple quadrupole tandem mass spectrometry in multiple reaction monitoring mode. Sixteen flavonoids were detected in *L. nobilis* leaves, including vitexin-2-O-rhamnoside ($1658.53 \pm 56.9 \mu\text{g/g}$), rutin ($19,883.54 \pm 494.33 \mu\text{g/g}$), vitexin ($4430.87 \pm 89.72 \mu\text{g/g}$), type-A procyanidin trimer ($2281.88 \pm 78.90 \mu\text{g/g}$), epicatechin ($148.10 \pm 2.32 \mu\text{g/g}$), kaempferol-3-O-rutinoside ($3491.02 \pm 47.98 \mu\text{g/g}$), isorhamnetin-3-O-rutinoside ($6643.78 \pm 99.04 \mu\text{g/g}$), hyperoside ($11,979.66 \pm 317.79 \mu\text{g/g}$), kaempferol-7-glucoside ($738.55 \pm 10.86 \mu\text{g/g}$), astragaloside ($508.60 \pm 6.96 \mu\text{g/g}$), quercetin-3-O-xylopyranoside ($2044.22 \pm 57.65 \mu\text{g/g}$), isorhamnetin-3-O-glycosidase ($2079.94 \pm 76.38 \mu\text{g/g}$), quercitrin ($2079.94 \pm 61.84 \mu\text{g/g}$), kaempferol-3-O-rhamnoside ($6412.37 \pm 78.65 \mu\text{g/g}$), quercetin ($1629.45 \pm 47.65 \mu\text{g/g}$), and kaempferol ($364.29 \pm 2.84 \mu\text{g/g}$). The 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl radical scavenging activities of the extract were determined, and the results clearly demonstrated that flavonoids from *L. nobilis* possessed significant radical scavenging activities.

Key words: leaves of *Laurus nobilis* L.; flavonoids; structure identification; liquid chromatography-quadrupole-time of flight mass spectrometry; liquid chromatography-triple quadrupole tandem mass spectrometry; free radical scavenging

月桂 (*Laurus nobilis* L.) 樟科月桂属亚热带树种, 原产于地中海沿岸, 我国的江苏、浙江、四川、山东、陕西、福建及云南等省有大量栽培^[1]。月桂叶香气浓郁, 能够去除肉类的腥味, 常作为中式菜肴、法式料理、肉制品、鱼类和罗宋汤、洋葱汤等汤羹最基本的调味香料之一, 同时也是制作咖喱粉必不可少的原料^[2]。从月桂叶中提取的挥发油具有较高的药用价值,

收稿日期: 2015-09-04

基金项目: 天津市自然科学基金重点项目 (12JCZDJC34100)

作者简介: 杨云舒 (1991-), 女, 硕士, 研究方向: 食品添加剂

通讯作者: 姜子涛 (1956-), 男, 博士, 教授, 研究方向: 食品添加剂

可用于治疗胃痛、风湿病和消化不良等病症^[3], 并具有抗菌^[4,5]、抗病毒^[6,7]和抗氧化活性^[8]。此外, 月桂叶水提物可作为止泻剂, 用于肠胃疾病的治疗^[9]。目前, 国内外对月桂挥发油的提取、抗氧化活性以及化学成分的研究已有诸多报道^[1,10-16], 但对月桂叶中黄酮类成分研究甚少, 中国产月桂叶中黄酮类化合物成分尚未见报道。Dall'Acqua 等^[17]对意大利产月桂叶中的黄酮类化合物进行了分离分析, 从中鉴定出了 10 种黄酮类成分。Kang 等^[18]的研究显示, 月桂叶中所含的黄酮类化合物对烷基过氧化自由基有非常强的清除作用。Marino 等^[19]则测定了月桂叶经甲醇提取得到的 2 种黄

酮类成分对脂多糖诱导小鼠巨噬细胞所产生一氧化氮的抑制作用。

液相色谱-质谱联用 (Liquid Chromatography-Mass Spectrometer, LC-MS) 技术将高效的色谱分离技术与能够特异性的识别 MS/MS 碎片的串联质谱技术结合, 同时具有高灵敏度、高选择性及图谱简单等特点, 目前已被广泛应用于植物、食品及复杂有机化合物的成分分析。本文利用液相色谱-四级杆-飞行时间串联质谱 (LC-Q-TOF-MS)、液相色谱-三重四级杆串联质谱 (LC-MS/MS)、标准品比较和图谱解析的方法, 对月桂叶中的黄酮类化合物进行了定性和定量分析, 同时测定了月桂叶黄酮对 DPPH 自由基的清除能力, 为月桂叶的综合利用奠定了理论基础。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

月桂叶购自广西河池市, 按照文献^[20]的方法并做适当修改提取黄酮, 冷冻干燥得到月桂叶黄酮粉末, 以备分析检测用; DPPH (分析纯), 美国 Sigma 公司; 甲醇 (色谱纯), 德国 Merck 公司。牡荆素、鼠李糖苷、芦丁、牡荆素、表儿茶素、金丝桃苷、紫云英苷、槲皮苷、槲皮素和山奈酚等标准品 (纯度均大于 98%), 天津一方科技公司。

1.2 仪器与设备

Agilent 6520 LC-Q-TOF 液相色谱-四级杆-飞行时间串联质谱 (LC-Q-TOF-MS), 美国 Agilent 公司; Agilent G6410A LC-MSD QQQ 液相色谱-三重四级杆串联质谱 (LC-MS/MS), 美国 Agilent 公司; U-3900 紫外可见分光光度计, 日本日立公司。

1.3 方法

1.3.1 LC-Q-TOF-MS 定性分析

色谱条件: ZORBAX SB-C18 色谱柱 (250×4.6 mm, $5 \mu\text{m}$), 柱温 30°C , 流速 0.3 mL/min 。流动相 A 为含有 0.1% 甲酸的甲醇溶液, B 为含有 0.1% 甲酸的水溶液, 样品液和混合标准品的进样体积均为 $5 \mu\text{L}$ 。流动相 A 的梯度为: $0\sim7 \text{ min}$, $20\sim30\%$, $7\sim10 \text{ min}$, $30\sim30\%$, $10\sim17 \text{ min}$, $30\sim72\%$, $17\sim30 \text{ min}$, $72\sim72\%$ 。质谱条件为: 电喷雾 Dual-ESI 离子源, 负离子模式下采集数据, 离子源温度 350°C , 干燥气流速为 10 L/min , 数据采集范围 m/z 100-1000, 毛细管电压为 3500 V , Fragmentor 电压 175 V , Skimmer 电压为 35 V 。通过对比现有标准品的保留时间以及 MS1、MS2 数据

确定月桂叶黄酮中的 9 种成分, 其余 7 种成分通过对比参考文献进行推断。

1.3.2 LC-MS/MS 定量分析

色谱条件与 1.3.1 节相同。质谱条件: 离子源为电喷雾 ESI 负离子源, 喷雾电压 4000 V , 雾化气流速 10 L/min , 离子源温度 350°C , 雾化气体和碰撞气体均为高纯氮气 (纯度 $>99.99\%$)。采用多重反应监测模式 (MRM), 对特征碎片离子进行检测。对有标准品的 9 种黄酮物质采用外标法进行定量, 对其它 7 种黄酮成分采用对比定量法进行定量。

1.3.3 清除 DPPH 自由基的测定

参照文献^[21]的方法进行。配制浓度为 $0.05\sim0.25 \text{ mg/mL}$ 的月桂叶黄酮样品液和维生素 (Vc) 溶液。在具塞试管中加入浓度为 $1.0 \times 10^{-4} \text{ mol/L}$ 的 DPPH 溶液 3.5 mL 和无水乙醇 0.5 mL , 闭光静置 30 min , 测定其在 517 nm 下吸光度 A_1 ; 在具塞试管中加入 $1.0 \times 10^{-4} \text{ mol/L}$ 的 DPPH 溶液 3.5 mL 和样品液 0.5 mL , 闭光静置 30 min , 测定其在 517 nm 下吸光度 A ; 在具塞试管中加入 3.5 mL 无水乙醇与 0.5 mL 样品液, 测定其吸光度 A_0 。试验重复 3 次, 取平均值。则样品液对 DPPH 自由基的清除率为:

$$\text{清除率} = (1 - \frac{A - A_0}{A_1}) \times 100\% \quad (1)$$

1.4 数据统计分析

使用 Agilent MassHunter 工作站软件-定量分析程序 (B.07 版本) 进行月桂叶黄酮的定量数据分析, 使用 SAS (9.2 版本) 进行数据的统计分析。所有测定进行 3 次。

2 结果与讨论

2.1 LC-Q-TOF-MS 定性分析

根据方法 1.3.1 进行 LC-Q-TOF 分析, 得到月桂叶黄酮及标准品的总离子流图。图 1a 为月桂叶黄酮的总离子流图, 图 1b 为标准品的总离子流图。在相同的分析条件下, 9 种标准品与相应的黄酮成分具有相同的保留时间、分子离子和二级质谱碎片, 分别为峰 1-3、5、8、10、13、15 和 16。在图 1a 中没有标准品的其他峰, 通过二级质谱分析和相关文献进行了鉴定。黄酮的分析结果见表 1。

峰 4 显示分子离子峰为 m/z 863, 碎片离子中含有 m/z 289 和 573, 根据 Passos 等^[22]和刘亮等^[23]的研究, 在负离子模式下产生 m/z 289 的碎片离子的化合物为上端为 A-型结构的原花青素三聚体, 比 B-型原

花青素三聚体少了两个质子。因此，推断峰 4 为 A-型结构的原花青素三聚体。其裂解途径如图 2 所示。

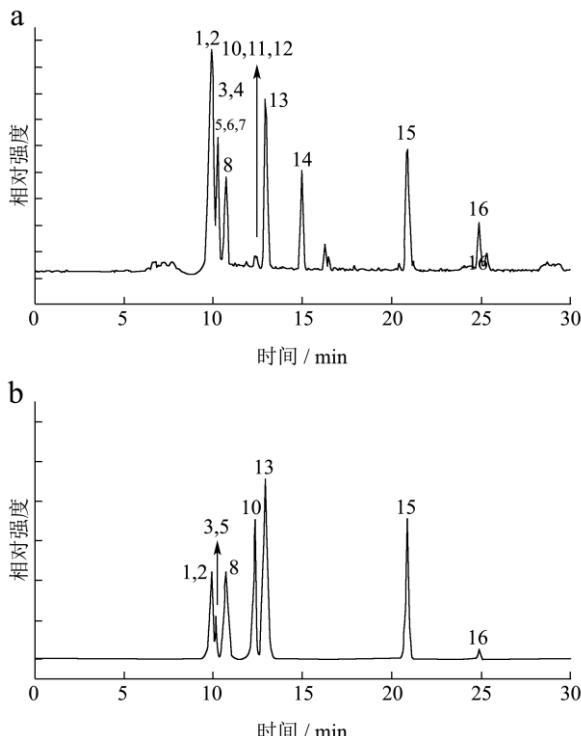


图 1 月桂叶黄酮及标准品的总离子流图

Fig.1 Total ion chromatograms of the flavonoids and the mixture of

reference standards

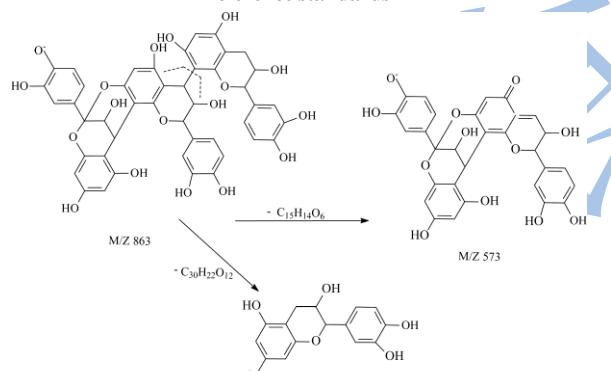


图 2 A-型结构的原花青素三聚体裂解途径

Fig.2 Fragmentation pathway of type-A procyanidins

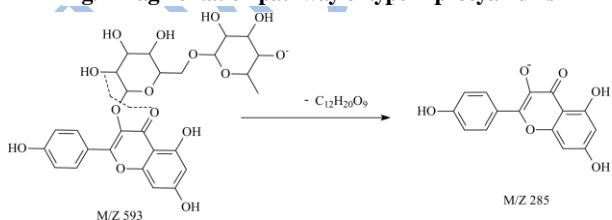


图 3 山奈酚-3-O-芸香糖苷裂解途径

Fig.3 Fragmentation pathway of kaempferol-3-O-rutinoside

峰 6 在负离子模式下显示为 m/z 593 的分子离子峰，二级质谱扫描显示有一个 m/z 285 的碎片离子（山奈酚），这是由在碰撞中母离子失去了 m/z 308 的中性离子即芸香糖苷造成的，对比相关文献^[24]，推断峰 6

为山奈酚-3-O-芸香糖苷。其裂解途径如图 3 所示。

峰 7 的母离子 [M-H]⁻ 为 m/z 623，二级质谱分析显示了 m/z 315 的异鼠李素母离子特征碎片，这证明丢失了一个芸香糖基，根据先前的研究^[25,26]，峰 7 可以被鉴定为异鼠李素-3-O-芸香糖苷。其裂解途径如图 4 所示。

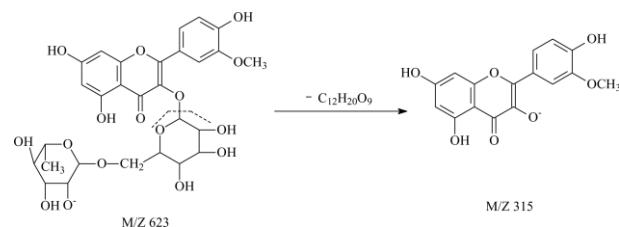


图 4 异鼠李素-3-O-芸香糖苷裂解途径

Fig.4 Fragmentation pathway of isorhamnetin-3-O-rutinoside

峰 9 在负离子模式下的分子离子峰为 m/z 447，与峰 10 紫云英苷的碎片完全相同，保留时间接近，因此推断为紫云英苷的同分异构体。由于紫云英苷是山奈酚-3-O-葡萄糖苷，根据文献^[27]推断峰 9 为山奈酚-7-O-葡萄糖苷。其裂解途径如图 5 所示。

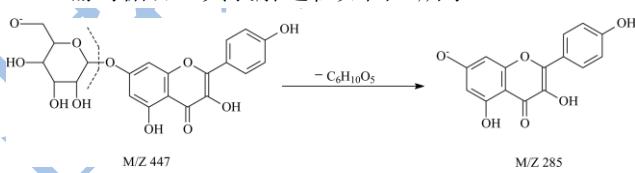


图 5 山奈酚-7-O-葡萄糖苷裂解途径

Fig.5 Fragmentation pathway of kaempferol-7-O-glucoside

峰 11 的母离子 [M-H]⁻ 为 m/z 433，MS/MS 分析显示了一个 m/z 301 (槲皮素) 的主碎片，表明丢失了一个戊糖基，对比文献^[28]，峰 11 可以被推断为槲皮素-3-O-木糖苷。其裂解途径如图 6 所示。

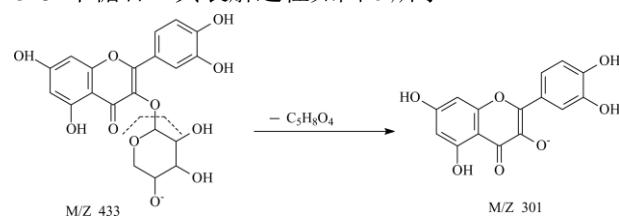


图 6 槲皮素-3-O-木糖苷裂解途径

Fig.6 Fragmentation pathway of quercetin-3-O-xylopyranoside

峰 12 显示分子离子峰为 m/z 477，二级质谱扫描显示了 m/z 315 的异鼠李素母离子特征碎片，这证明丢失了一个中性离子六碳糖苷，根据先前的研究^[29,30]，峰 12 可以被鉴定为异鼠李素-3-O-葡萄糖苷。其裂解途径如图 7 所示。

峰 14 在负离子模式下显示为 m/z 431 的分子离子峰，二级质谱分析显示了 m/z 285 的异鼠李素母离子特征碎片，表明在碰撞过程中丢失了一个鼠李糖苷，根据本课题组前面的研究^[31]，推断峰 14 为山奈酚

-3-O-鼠李糖苷。其裂解途径如图 8 所示。

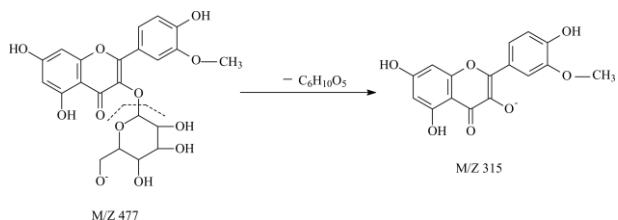


图 7 异鼠李素-3-O-葡萄糖苷裂解途径

Fig.7 Fragmentation pathway of isorhamnetin-3-O-glucoside

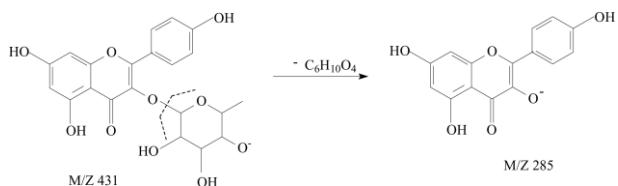


图 8 山奈酚-3-O-鼠李糖苷的裂解途径

Fig.8 Fragmentation pathway of kaempferol-3-O-glucoside

2.2 LC-MS/MS 定量分析

根据方法 1.3.2 进行 LC-MS/MS 定量分析。在 MRM 模式下, 对于有标准品的 9 种黄酮采用标准曲线法定量, 对于没有标准品的另外 7 种黄酮采用对比

表 1 月桂叶黄酮各成分的保留时间、碎片离子和定量结果

Table 1 Retention time, fragment ions and quantitation results of each compound of the flavonoids in *L. nobilis* leaves

峰号	黄酮成分	[M-H] ⁻ /(m/z)	RT /min	MS ² /(m/z)	标准曲线	线性范围 /(μg/mL)	R ²	含量 ^a /(μg/g)	回收率 ^a /%
1	牡荆素鼠李糖苷	577	9.93	413, 293	$Y=-10964+9017X$	0.10~10.00	0.998	1658.53 ± 56.9	105.24 ± 2.23
2	芦丁	609	9.93	301, 300	$Y=-3392+17337X$	0.50~10.00	0.998	19883.54 ± 494.33	107.31 ± 2.57
3	牡荆素	431	10.00	311, 341	$Y=12877+12484X$	0.10~6.00	0.995	4430.87 ± 89.72	103.82 ± 3.41
4	A型原花青素三聚体	863	10.13	289, 573, 711	-	-	-	2281.88 ± 78.90^b	-
5	表儿茶素	289	10.19	123, 109, 137	$Y=1130+8528X$	0.05~4.00	0.998	148.10 ± 2.32	96.35 ± 2.06
6	山奈酚-3-O-芸香糖苷	593	10.19	285, 284	-	-	-	3491.02 ± 47.98^b	-
7	异鼠李素-3-O-芸香糖苷	623	10.26	315, 314	-	-	-	6643.78 ± 99.04^b	-
8	金丝桃苷	463	10.72	300, 301, 271	$Y=169852+15585X$	0.10~10.00	0.999	11979.66 ± 317.79	98.72 ± 1.29
9	山奈酚-7-O-葡萄糖苷	447	11.88	284, 285, 255	-	-	-	738.55 ± 10.86^b	-
10	紫云英苷	447	12.34	284, 285, 255	$Y=46038+52593X$	0.05~6.00	0.991	508.60 ± 6.96	106.46 ± 3.74
11	槲皮素-3-O-木糖苷	433	12.47	300, 301	-	-	-	2044.22 ± 57.65^b	-
12	异鼠李素-3-O-葡萄糖苷	477	12.47	315, 300, 271	-	-	-	2079.94 ± 76.38^b	-
13	槲皮苷	447	12.93	300, 301, 271	$Y=34036+70253X$	0.10~10.00	0.994	3777.80 ± 61.84	103.42 ± 2.83
14	山奈酚-3-O-鼠李糖苷	431	14.95	285, 284	-	-	-	6412.37 ± 78.65^b	-
15	槲皮素	301	20.89	151, 179, 121	$Y=50785+66371X$	1.00~10.00	0.991	1629.45 ± 47.65	94.42 ± 2.37
16	山奈酚	285	24.88	205, 206, 185	$Y=612+4889X$	0.05~4.00	0.997	364.29 ± 2.84	103.82 ± 3.41

注: ^aMean±SD, ^b对比物为牡荆素。

按照 1.3.3 中方法, 测定样品溶的吸光度, 根据公式(1)计算各样品液和 Vc 对 DPPH 自由基的清除率, 结果如图 9 所示。当加入抗氧化剂时, 能观察到 DPPH

溶液明显褪色, 这是因为其孤对电子被配对造成了在 517 nm 下吸收减弱, 其褪色程度与自由基清除剂的活性有关^[32]。由图 9 可知, 月桂叶黄酮和 Vc 对 DPPH

2.3 清除 DPPH 自由基的能力

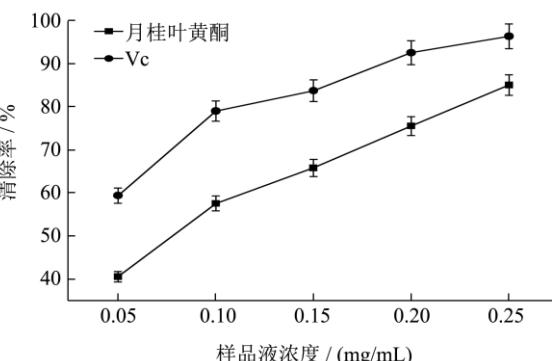


图 9 DPPH 自由基清除率与样品液浓度的关系

Fig.9 Relationship between scavenging rate of DPPH radical and concentration of sample solution

自由基的清除作用随浓度的升高而增加。在低浓度时两者的清除率相差比较大,随着浓度的升高,差距减小。虽然总体上来说月桂叶黄酮清除自由基的能力低于Vc,但其也具有良好的清除自由基能力(IC₅₀值为0.08 mg/mL)。

3 结论

本文首次从中国月桂叶中分离鉴定出了16种黄酮化合物,其主要成分是芦丁($19883.54\pm494.33\text{ }\mu\text{g/g}$)、金丝桃苷($11979.66\pm317.79\text{ }\mu\text{g/g}$)、异鼠李素-3-O-芸香糖苷($6643.78\pm99.04\text{ }\mu\text{g/g}$)、山奈酚-3-O-鼠李糖苷($6412.37\pm78.65\text{ }\mu\text{g/g}$)、牡荆素($4430.87\pm89.72\text{ }\mu\text{g/g}$)、山奈酚-3-O-芸香糖苷($3491.02\pm47.98\text{ }\mu\text{g/g}$)和A型原花青素三聚体($2281.88\pm78.90\text{ }\mu\text{g/g}$)。通过清除DPPH自由基实验证实,月桂叶黄酮具有良好的清除自由基能力。

参考文献

- [1] 李荣,盖旭,姜子涛.天然调味香料月桂精油化学成分的研究[J].中国调味品,2011,36(11):98-101
LI Rong, GAI Xu, JIANG Zi-tao. Research on chemical components of essential oil of natural spice, *Laurus nobilis* [J]. China Condiment, 2011, 36(11): 98-101
- [2] 谢亚楠,姜子涛,李荣.调味香辛料月桂挥发油的研究进展[J].中国调味品,2014,39(3):136-140
XIE Ya-nan, JIANG Zi-tao, LI Rong. Research progress of the essential oil in *Laurus nobilis* L. [J]. China Condiment, 2014, 39(3): 136-140
- [3] Marzouki H, Khaldi A, Marongiu B, et al. Chemical polymorphism of essential oils from populations of *Laurus nobilis* grown on Tunisia, Algeria and France [J]. Natural Product Communications, 2011, 6(10): 1483-1486
- [4] Corato U D, Maccioni O, Trupo M, et al. Use of essential oil of *Laurus nobilis* obtained by means of a supercritical carbon dioxide technique against post harvest spoilage fungi [J]. Crop Protection, 2010, 29(2): 142-147
- [5] Derwich E, Benziane Z, Boukir A. Chemical composition and antibacterial activity of leaves essential oil of *Laurus nobilis* from Morocco [J]. Australian Journal of Basic and Applied Sciences, 2009, 3(4): 3818-3824
- [6] Loizzo, Monica R, Saab, et al. Phytochemical analysis and in vitro antiviral activities of the essential oils of seven Lebanon species [J]. Chemistry and Biodivers, 2008, 5(3): 461-470
- [7] Simic A, Sokovic M D, Ristic M, et al. The chemical composition of some Lauraceae essential oils and their antifungal activities [J]. Phytotherapy Research, 2004, 18(9): 713-717
- [8] Politeo O, Jukic M, Milos M. Chemical composition and antioxidant activity of free volatile aglycones from Laurel (*Laurus nobilis* L.) compared to its essential oil [J]. Croatica Chemica Acta, 2007, 80(1): 121-126
- [9] Qnais E Y, Abdulla F A, Kaddumi E G, et al. Antidiarrheal activity of *Laurus nobilis* L. leaf extract in rats [J]. Journal of Medicinal Food, 2011, 15(1): 51-7
- [10] Ozek T. Distillation parameters for pilot plant production of *Laurus nobilis* essential oil [J]. Records of Natural Products, 2012, 6(2): 135-143
- [11] Uysal B, Sozmen F, Buyuktas B S. Solvent-free microwave extraction of essential oils from *Laurus nobilis* and *Melissa officinalis*: comparison with conventional hydro-distillation and ultrasound extraction [J]. Natural Product Communications, 2010, 5(1): 111-114
- [12] Marzouki H , Piras A , Salah K B , et al. Essential oil composition and variability of *Laurus nobilis* L.growing in Tunisia, comparison and chemometric investigation of different plant organs [J]. Natural Product Research, 2009, 23(4): 343-354
- [13] Yalçın H, Anik M, Sanda M A, et al. Gas chromatography/mass spectrometry analysis of *Laurus nobilis* essential oil composition of Northern Cyprus [J]. Journal of Medicinal Food, 2007, 10(4): 715-719
- [14] Kovacevic N N, Simic M D, Ristic M S. Essential oil of *Laurus nobilis* from Montenegro [J]. Chemistry of Natural Compounds, 2007, 43(4): 408-411
- [15] Saab A M, Tundis R, Loizzo M R, et al. Antioxidant and antiproliferative activity of *Laurus nobilis* L. (Lauraceae) leaves and seeds essential oils against K562 human chronic myelogenous leukaemia cells [J]. Natural Product Research, 2012, 26(18): 1741-1745
- [16] Ozcan B, Esen M, Sangun M K, et al. Effective antibacterial and antioxidant properties of methanolic extract of *Laurus nobilis* seed oil [J]. Journal of Environmental Biology, 2010, 31(5): 637-641
- [17] Dall'Acqua S, Cervellati R, Speroni E, et al. Phytochemical composition and antioxidant activity of *Laurus nobilis* L. leaf infusion [J]. Journal of Medicinal Food, 2009, 12(4): 869-876
- [18] Kang H W, Yu K W, Jun W J, et al. Isolation and characterization of alkyl peroxy radical scavenging compound from leaves of *Laurus nobilis* [J]. Biological and Pharmaceutical Bulletin, 2002, 25(1): 102-108

- [19] Marino S D. Megastigmane and phenolic components from *Laurus nobilis* L. leaves and their inhibitory effects on nitric oxide production [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2004, 52(25): 7525-7531
- [20] Ouchikh O, Chahed T, Ksouri R, et al. The effects of extraction method on the measured tocopherol level and antioxidant activity of *L. nobilis* vegetative organs [J]. Journal of Food Composition & Analysis, 2011, 24(1): 103-110
- [21] YANG Li-chen, LI Rong, TAN Jin, et al. Polyphenolics composition of the leaves of *Zanthoxylum bungeanum* Maxim. grown in Hebei, China, and their radical scavenging activities [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2013, 61(8): 1772-1778
- [22] Passos C P, Cardoso S M, Domingues M R M, et al. Evidence for galloylated type-A procyanidins in grape seeds [J]. Food Chemistry, 2007, 105(4): 1457-1467
- [23] 刘亮,曹少谦,谢笔钧.荔枝果皮中花色苷及低聚黄烷醇类化合物的分离纯化及结构鉴定[J].中国食品学报,2013,13(4): 191-201
LIU Liang, CAO Shao-qian, XIE Bi-jun. Purification and structural identification of anthocyanins and oligomeric flavanols from Litchi pericarp [J]. Journal of Chinese Institute of Food Science and Technology, 2013, 13(4): 191-201
- [24] 李晨,姜子涛,李荣.高效液相色谱-串联质谱联用技术鉴定樱桃叶中的黄酮成分[J].食品科学,2013,34(16):226-230
LI Chen, JIANG Zi-tao, LI Rong. Identification of chemical constituents of flavonoids in the leaves of *Prunus pseudocerasus* L. by HPLC-MS-MS [J]. Food Science, 2013, 34(16): 226-230
- [25] Milbury P E, Chen C Y, Dolnikowski G G, et al. Determination of flavonoids and phenolics and their distribution in almonds [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2006, 54(14): 5027-5033
- [26] Arimboor R, Arumughan C. HPLC-DAD-MS/MS profiling of antioxidant flavonoid glycosides in sea buckthorn (*Hippophae rhamnoides* L.) seeds [J]. International Journal of Food Sciences and Nutrition, 2012, 63(6): 730-738
- [27] Lee S J, Chung H Y, Maier G A, et al. Estrogenic flavonoids from *Artemisia vulgaris* L [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 1998, 46(8): 3325-3329
- [28] Tanoli S A K, Tanoli N U, Bondancia T M, et al. Human serum albumin-specific recognition of the natural herbal extract of *Stryphnodendron polypodium* through STD NMR, hyphenations and docking simulation studies [J]. Rsc Advances, 2015, 5(30): 23431-23442
- [29] Arimboor R, Arumughan C. HPLC-DAD-MS/MS profiling of antioxidant flavonoid glycosides in sea buckthorn (*Hippophae rhamnoides* L.) seeds [J]. International Journal of Food Sciences and Nutrition, 2012, 63(6): 730-738
- [30] Sokkar N M, Rabeh M A, Ghazal G, et al. Determination of flavonoids in stamen, gynoecium, and petals of *Magnolia grandiflora* L. and their associated antioxidant and hepatoprotection activities [J]. Qu fú Nova, 2014, 37
- [31] 赵明慧,姜子涛,刘韬,等.平榛叶中黄酮类化合物成分的研究[J].现代食品科技,2014,30(12):235-240
ZHAO Ming-hui, JIANG Zi-tao, LIU Tao, et al. A study of flavonoids from the leaves of *Corylus heterophylla* Fisch [J]. Modern Food Science and Technology, 2014, 30(12): 235-240
- [32] 韦献雅,殷丽琴,钟成,等.DPPH 法评价抗氧化活性研究进展[J].食品科学,2014,35(9):317-322
WEI Xian-ya, YIN Li-qin, ZHONG Cheng, et al. Advances in the DPPH radical scavenging assay for antioxidant activity evaluation [J]. Food Science, 2014, 35(9): 317-322