

# 硅胶固载离子液体基质固相分散法提取蜂房中的酚酸和黄酮类化合物

王志兵, 赵洋, 辛楠, 张胜钰, 邱芳萍

(长春工业大学化学与生命科学学院, 吉林长春 130012)

**摘要:** 建立一种基于离子液体的基质固相分散-高效液相色谱法同时测定蜂房中的 5 种酚酸和黄酮类化合物。采用浸渍法制备硅胶固载离子液体吸附剂, 并将其作为基质固相分散提取法的分散剂用于提取蜂房中的咖啡酸、阿魏酸、桑色素、白杨素和山奈素, 通过高效液相色谱对目标化合物进行分离和测定。实验结果表明, 硅胶固载离子液体-基质固相分散法的最佳提取条件为: 以含 10% [C<sub>6</sub>MIM]Cl 的硅胶固载离子液体为分散剂, 20 mL 正己烷为淋洗剂, 15 mL 甲醇为洗脱剂, 样品与分散剂质量比为 1:4。各目标化合物在线性范围内呈现良好的线性关系 ( $r > 0.9995$ ), 检出限和定量限分别为 0.05~0.18  $\mu\text{g/mL}$  和 0.17~0.59  $\mu\text{g/mL}$ , 日内和日间精密度的 (RSD) 分别低于 5.48% 和 6.60%, 样品加标回收率在 83.73~95.32% 之间。本法结合了离子液体和基质固相分散提取法的优势, 具有提取时间短, 有机溶剂和样品用量少等优点, 本法可广泛应用于药用动植物中酚酸和黄酮类化合物的提取分析。

**关键词:** 离子液体; 基质固相分散; 酚酸; 黄酮; 蜂房; 高效液相色谱

文章编号: 1673-9078(2015)3-158-164

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2015.3.027

## Extraction of Phenolic Acids and Flavonoids from *Nidus Vespae* Using Silica-supported Ionic Liquid-based Matrix Solid-phase Dispersion

WANG Zhi-bing, ZHAO Yang, XIN Nan, ZHANG Sheng-yu, QIU Fang-ping

(College of Chemistry and Life Science, Changchun University of Technology, Changchun 130012, China)

**Abstract:** In this study, a new kind of silica-supported ionic liquid (S-SIL) was prepared by impregnation and employed as the dispersion adsorbent for matrix solid-phase dispersion (MSPD). This system was used for the simultaneous extraction of caffeic acid, ferulic acid, morin, chrysin, and kaempferide from *Nidus Vespae* (honeycomb). High-performance liquid chromatography (HPLC) was used to separate and identify the analytes. The experimental conditions for S-SIL-based MSPD were optimized. S-SIL containing 10% [C<sub>6</sub>MIM]Cl was used as dispersant, 20 mL *n*-hexane was used as washing solvent, and 15 mL methanol was used as the eluent. The mass ratio of sample to S-SIL was set as 1:4. The calibration curve of each target compound showed a good linear relationship within the linear range ( $r > 0.9995$ ). The limits of detection and quantification were in the range of 0.05 to 0.18  $\mu\text{g/mL}$  and 0.17 to 0.59  $\mu\text{g/mL}$ , respectively. The relative standard deviations (RSDs) of intra-day and inter-day precision were lower than 5.48% and 6.60%, respectively. The recoveries were between 83.73% and 95.32%. Thus, a novel method of S-SIL-based MSPD combined with HPLC was developed in this study, to identify five phenolic acids and flavonoids in *Nidus Vespae*. Compared with other extraction methods, this method required less extraction time, sample, and organic solvent, because it combined the advantages of ionic liquid and MSPD. This method could be widely applied for the extraction of phenolic acids and flavonoids from medicinal plants and animals.

**Key words:** ionic liquid; matrix solid-phase dispersion; phenolic acids; flavonoids; *Nidus Vespae*; high-performance liquid chromatography

蜂房, 亦称为蜂巢, 是胡蜂科昆虫果马蜂 *Polistes olivaceous* (DeGeer)、日本长脚胡蜂 *Polistes japonicus Saussure* 或异腹胡蜂 *Parapolybia varia Fabricius* 的巢<sup>[1]</sup>。它是由工蜂的蜡腺所分泌的蜂蜡加工修筑而成,

是蜂群生活、繁衍和贮存食物的场所<sup>[2-3]</sup>。蜂房中含有蜂蜡、色素、鞣质、有机酸、黄酮以及甙类等多种成分, 具有抑菌、消炎、抗病毒、抗肿瘤、抗氧化、增强免疫、降血脂、降血压等多种生理作用<sup>[1-4]</sup>。在这些成分中, 酚酸类化合物(咖啡酸和阿魏酸)和黄酮类化合物(桑色素、白杨素和山奈素)是其主要活性成分, 是保证蜂房药理作用的主要化合物<sup>[1-3]</sup>, 因此,

收稿日期: 2014-07-20

基金项目: 吉林省教育厅“十二五”科研规划项目(2013124)

作者简介: 王志兵(1982-), 男, 博士, 讲师, 研究方向: 食品分析

有必要建立适当的分析方法测定蜂房中的酚酸和黄酮类化合物。

目前, 超声辅助提取<sup>[5-7]</sup>, 微波辅助提取<sup>[8]</sup>, 溶剂萃取<sup>[9-10]</sup>, 热回流提取<sup>[11]</sup>, 固相萃取<sup>[12]</sup>, 加压溶剂萃取<sup>[13]</sup>和超临界流体萃取<sup>[14]</sup>等常用的样品前处理方法, 已广泛用于提取酚酸和黄酮类化合物。然而, 这些方法在目标化合物浓度极低或在有复杂基质干扰时是不灵敏的, 因此, 需要一系列的分离和纯化过程, 从而使上述这些分析方法变得耗时、费力和复杂。

基质固相分散是由 Barker 等人于 1989 年首次提出的一种类似于固相提取的样品前处理方法, 此法集提取、分离、净化于一体, 操作简单、快速, 现已广泛应用于农兽药残留和动植物活性成分的提取等方面<sup>[15-16]</sup>。离子液体 (ILs) 是由有机阳离子和有机或无机阴离子组成的在室温下呈液体的有离子体系<sup>[17-18]</sup>。由于离子液体具有不挥发、不可燃、导电性强、粘度大、蒸汽压小、性质稳定、溶解性好等诸多优点, 现已在电化学、有机合成、催化、分离等领域被广泛应用<sup>[18]</sup>。

本研究将离子液体和基质固相分散法相结合, 以具有较大表面积和较高吸附性的硅胶为载体, 将离子液体固定在硅胶表面的微孔中, 将制备的硅胶固载离子液体作为基质固相分散提取技术的分散剂, 应用于蜂房中酚酸和黄酮类化合物的提取。一旦离子液体被固定在硅胶的表面, 该离子液体便失去了其液体状态, 而其具有的独特性质却被保留下来, 从而提高目标化合物的传质速率和回收率。

## 1 材料与方法

### 1.1 原料与试剂

蜂房样品由吉林双阳养蜂场提供, 将样品除去死蜂死蛹后自然晒干, 粉碎过 40 目筛后备用。

标准品咖啡酸, 阿魏酸, 桑色素, 白杨素和山奈素购于美国 sigma 公司。将各化合物用适量甲醇溶解, 制备浓度为  $500 \mu\text{g mL}^{-1}$  的标准储备液, 并储存在  $4^\circ\text{C}$  冰箱中备用。工作溶液是由标准储备液经甲醇稀释得到的。

色谱级甲醇和乙腈购于美国 Fisher 公司。1-丁基-3-甲基咪唑氯化物 ( $[\text{C}_4\text{MIM}]\text{Cl}$ ), 1-己基-3-甲基咪唑氯化物 ( $[\text{C}_6\text{MIM}]\text{Cl}$ ) 和 1-辛基-3-甲基咪唑氯化物 ( $[\text{C}_8\text{MIM}]\text{Cl}$ ) 购于上海成捷化学有限公司。硅胶, 活性炭, 硅藻土, 佛罗里硅土, 酸性氧化铝, 中性氧化铝和碱性氧化铝购于中国药品生物制品检定所。其余试剂均为分析纯, 购于北京化工厂。

### 1.2 仪器与设备

1100 型液相色谱仪, 美国安捷伦; DAD 二极管阵列紫外检测器, 美国安捷伦; Zorbax SB-C18 色谱柱,  $5 \mu\text{m}$ ,  $4.6 \text{ mm} \times 150 \text{ mm I.D.}$ , 美国安捷伦; C18 预保护柱,  $7.5 \text{ mm} \times 2.1 \text{ mm I.D.}$ ,  $5 \mu\text{m}$ ; JSM-5600LV 扫描电子显微镜, 日本电子; SBC-12 离子溅射仪, 北京中科; FT-IR360 红外光谱仪, 美国 Nicolet; RE-52C 旋转蒸发仪, 上海亚荣。

### 1.3 硅胶固载离子液体的制备

采用直接浸渍法<sup>[19]</sup>制备硅胶固载离子液体。先将硅胶置于  $150^\circ\text{C}$  烘箱中干燥 3 h, 然后将其浸入到含有离子液体的甲醇溶液中, 将此混合物在室温下搅拌 12 h 后, 于  $150^\circ\text{C}$  左右的烘箱中干燥至恒重, 所得的白色粉末即为硅胶固载离子液体。

### 1.4 硅胶固载离子液体-基质固相分散提取法

称取 0.050 g 样品和 0.20 g 硅胶固载离子液体 (分散剂) 放入玛瑙研钵中, 研磨均匀后, 将混合物转移到底部有一层脱脂棉的玻璃柱中, 并用玻璃棒压实。然后, 将样品混合物用适量正己烷 (淋洗剂) 淋洗, 以除去蜂蜡和脂类等杂质, 再用适量甲醇 (洗脱剂) 洗脱目标物。最后, 将甲醇洗脱液收集于 25 mL 的蒸馏烧瓶中, 并于  $40^\circ\text{C}$  条件下减压蒸发至干燥, 残渣用 1 mL 甲醇溶解并过  $0.45 \mu\text{m}$  滤膜, 所得溶液即为样品待测液。

### 1.5 色谱条件

流动相为 0.2% 磷酸水溶液 (A)-乙腈 (B), 梯度洗脱条件为: 0~5 min, 20% B; 5~20 min, 20~50% B; 20~25 min, 50% B; 25~30 min, 50~20% B; 30~35 min, 20% B。流动相流速  $0.5 \text{ mL/min}$ , 进样量  $20 \mu\text{L}$ , 柱温  $35^\circ\text{C}$ , 检测波长为  $320 \text{ nm}$  (咖啡酸和阿魏酸) 和  $260 \text{ nm}$  (桑色素, 白杨素和山奈素)。

### 1.6 数据分析

$$\text{提取率}(\mu\text{g/g}) = \frac{\text{样品中分析物的质量}(\mu\text{g})}{\text{样品质量}(\text{g})} = \frac{C(\mu\text{g/mL}) \times V(\text{mL})}{\text{样品质量}(\text{g})}$$

注: C 是样品待测液中分析物的浓度, V 是样品待测液的总体积。

$$\text{回收率} = \frac{\text{检出量}(\mu\text{g/g}) - \text{初始量}(\mu\text{g/g})}{\text{加入量}(\mu\text{g/g})} \times 100\%$$

所有实验数据采用 Origin 8.0 软件进行统计分析。

## 2 结果与讨论

### 2.1 硅胶固载离子液体的表征

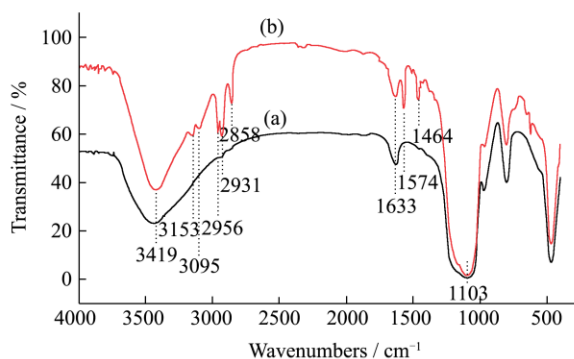


图1 硅胶 (a) 和硅胶固载离子液体 (b) 的红外光谱图

**Fig.1 Infrared spectra of silica gel (a) and silica-supported ionic liquid (b)**

通过比较硅胶和硅胶固载离子液体的红外光谱图,是确定离子液体是否固载到硅胶表面上的重要手段。硅胶和硅胶固载离子液体的红外光谱图如图1所示。从图1a分析可知,在3419和1103 $\text{cm}^{-1}$ 处的特征吸收峰分别是由硅胶表面上的O-H键和Si-O键产生的。在图1b中,3153和3095 $\text{cm}^{-1}$ 处是咪唑环C-H带的伸缩振动吸收峰,1574和1464 $\text{cm}^{-1}$ 处是咪唑环C=C和C=N的伸缩振动吸收峰,2858,2931和2956 $\text{cm}^{-1}$ 处是烷基侧链C-H带的伸缩振动吸收峰。对比图中两条曲线,我们发现纯硅胶没有此类特征峰,这表明通过浸渍法离子液体已被成功地引入到硅胶的表面。

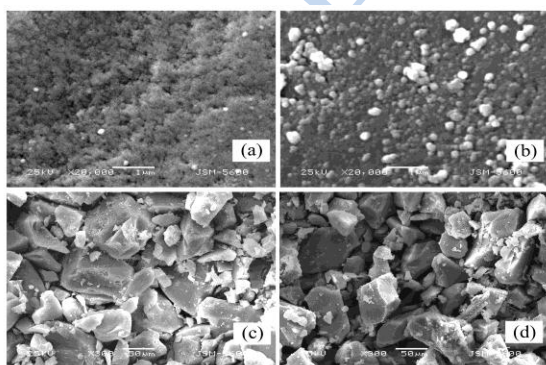


图2 硅胶 (a 和 c) 和硅胶固载离子液体 (b 和 d) 在 20000 和 300 倍下的扫描电镜图

**Fig.2 Scanning electron micrographs of silica gel at magnifications of 20,000×(a) and 300×(c) and silica-supported ionic liquid under the magnifications of 20,000×(b) and 300×(d)**

硅胶和硅胶固载离子液体在300和20000倍下的扫描电镜图如图2所示。从图2a可以明显观察到纯硅胶表面上具有致密的微孔结构,当硅胶被含有离子液

体的甲醇溶液浸泡以后,硅胶表面上的微孔中充满了约0.1 $\mu\text{m}$ 的圆形颗粒(见图1b),这表明通过浸渍法已成功制备了硅胶固载离子液体。而从图1c和d可以看出,在离子液体固载前后,硅胶颗粒的大小和表面形状并没有显著变化。

### 2.2 萃取条件的优化

#### 2.2.1 离子液体的种类和含量

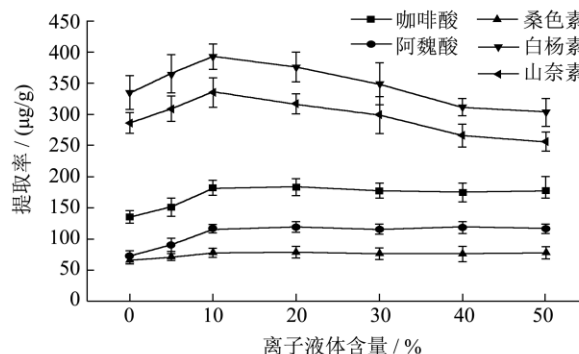


图3 离子液体含量对提取率的影响

**Fig.3 Effect of [C6MIM]Cl content on extraction yields**

本研究考察了[C<sub>4</sub>MIM]Cl、[C<sub>6</sub>MIM]Cl和[C<sub>8</sub>MIM]Cl三种离子液体制备的硅胶固载离子液体分散剂对目标化合物提取率的影响。实验结果表明,由[C<sub>4</sub>MIM]Cl和[C<sub>6</sub>MIM]Cl获得的提取率明显高于[C<sub>8</sub>MIM]Cl。但当使用[C<sub>4</sub>MIM]Cl制备分散剂时,在色谱图中出现一些干扰峰,影响咖啡酸和白杨素的准确定量。因此,本实验选择[C<sub>6</sub>MIM]Cl制备硅胶固载离子液体分散剂。[C<sub>6</sub>MIM]Cl含量(0~50%)对目标分析物提取率的影响如图3所示,当[C<sub>6</sub>MIM]Cl的含量为10%时,酚酸和黄酮类化合物的提取率最高。

#### 2.2.2 样品与硅胶固载离子液体的质量比

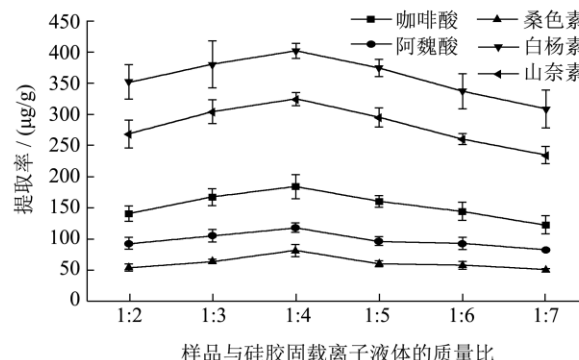


图4 样品与硅胶固载离子液体的质量比对提取率的影响

**Fig.4 Effect of various mass ratios of sample to silica-supported ionic liquid on the extraction yield**

在基质固相分散提取中,分散剂不仅被用作吸附分离材料,也用于破坏和分散样品。由于硅胶具有大的表面积,高的吸附活性和良好的稳定性,在本研究

中被用作分散剂。当[C<sub>6</sub>MIM]Cl被固定在硅胶表面之后，新形成的硅胶固载离子液体结合了硅胶和离子液体的优点，在提取过程中，目标物不仅能与硅胶相互作用，同时也与固定在硅胶表面微孔中的[C<sub>6</sub>MIM]Cl相互作用。因此，样品与硅胶固载离子液体的质量比对提取率会产生重要影响。如图4所示，当质量比为1:4，目标物的提取率最高。因此，本实验选择样品与分散剂质量比为1:4。

### 2.2.3 淋洗剂的种类与体积

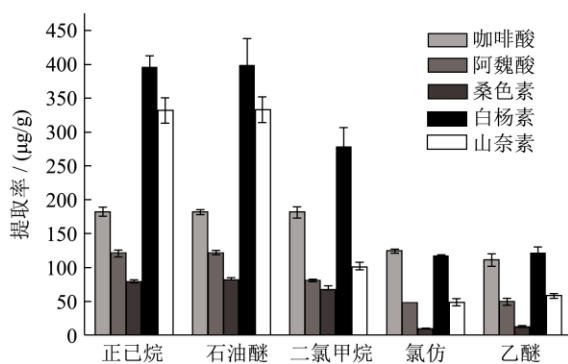


图5 淋洗剂的种类对提取率的影响

Fig.5 Effect of different washing solvents on the extraction yield

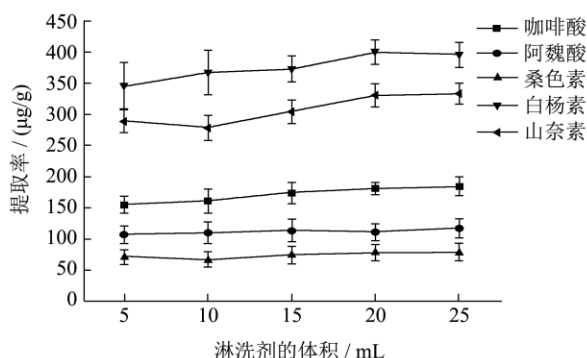


图6 淋洗剂的体积对提取率的影响

Fig.6 Effect of different volumes of washing solvent on extraction yield

为了去除样品中的脂肪，蜂蜡和少量杂质，获得干净的样品色谱图，在洗脱之前需用溶剂对样品混合物进行初步淋洗。因此，本文研究了淋洗剂的种类和用量对提取率的影响。如图5所示，用二氯甲烷，氯仿和乙醚作淋洗剂所获得的提取率明显低于正己烷和石油醚。但用石油醚淋洗后的洗脱液混浊不透明，且在旋转蒸发瓶底部出现一些乳白色的杂质，影响化合物的定性与定量。因此，本实验选择正己烷为淋洗剂，研究了淋洗剂体积对目标化合物提取率的影响。实验结果如图6所示，随正己烷体积的增大，白杨素和山奈素的提取率略有增加。当正己烷体积从20 mL提高到25 mL时，提取率几乎不变。此外，随正己烷体积

的增加，咖啡酸、阿魏酸和桑色素的提取率基本保持不变。根据以上结果，本实验选择20 mL正己烷为淋洗剂。

### 2.2.4 洗脱剂的种类与体积

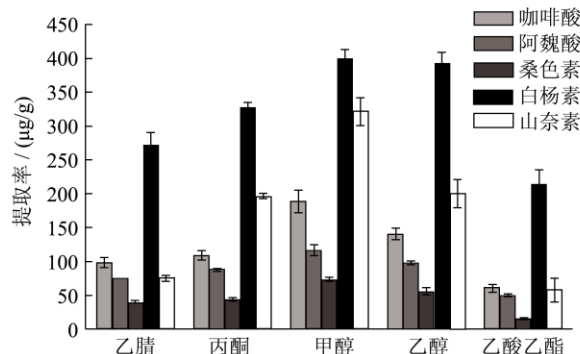


图7 洗脱剂的种类对提取率的影响

Fig.7 Effect of different eluent types on the extraction yield

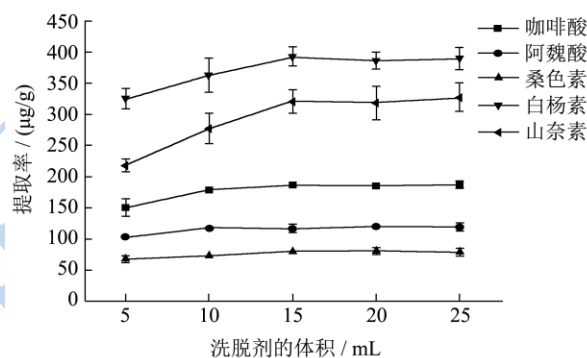


图8 洗脱剂的体积对提取率的影响

Fig.8 Effect of different eluent volumes on the extraction yield

洗脱剂的性质对于目标化合物提取率的影响至关重要。由于酚酸和黄酮类化合物的极性较高，因此，本实验考察了乙腈等几种极性溶剂作为洗脱剂对目标化合物提取率的影响。从图7可以看出，当用甲醇作洗脱剂时，目标化合物的提取率最高。洗脱剂的体积对目标化合物提取率的影响如图8所示，当洗脱剂的体积从5 mL增加到15 mL时，酚酸和黄酮类化合物的提取率逐渐增加。然而，当洗脱剂的体积从15 mL增加到25 mL时，提取率基本保持不变。所以，本研究选择15 mL甲醇作为洗脱剂。

### 2.2.5 净化剂的影响

净化剂常被装于基质固相分散提取柱的底部，当洗脱剂通过提取柱时，杂质被净化剂吸附，进而除去洗脱液中的杂质。目前，常用的净化剂有硅胶，佛罗里硅土，硅藻土，活性炭，酸性氧化铝，中性氧化铝和碱性氧化铝等。实验结果表明，当使用硅胶作为净化剂时，得到的目标化合物的提取率明显高于用其它净化剂。然而，有无硅胶作净化剂所得到的色谱图无

显著差异。因此，本实验中未使用净化剂。

### 2.3 方法评价

#### 2.3.1 分析性能

配制含有 5 种目标化合物的一系列浓度的混合标准溶液，在最佳色谱条件下测定峰面积，以分析物浓度 (C) 为横坐标，以峰面积 (A) 为纵坐标，绘制标准曲线。各化合物在线性范围内线性关系良好，相关系数  $r > 0.9995$ ，实验结果见表 1。检出限 (LOD) 和定量限 (LOQ) 是信噪比 (S/N) 分别为 3 和 10 时实

验方法所能检出和定量的目标化合物的最低浓度，结果表明，各化合物的检出限和定量限分别为 0.05~0.18  $\mu\text{g/mL}$  和 0.17~0.59  $\mu\text{g/mL}$ 。精密度用相对标准偏差 (RSD) 来表示。日内精密度是通过 1 d 之内连续分析 6 次样品所得到提取率的相对标准偏差 (RSD)。日间精密度是通过每天分析 1 次样品，连续分析 6 d 所得到提取率的相对标准偏差。结果表明，各化合物的日内精密度 (RSD) 和日间精密度 (RSD) 分别为 1.73~5.48% 和 2.98~6.60% 之间。因此，本方法的重现性是可以接受的。

表 1 分析性能

Table 1 Analytical performance

分析物	回归方程	相关系数	线性范围 /( $\mu\text{g/mL}$ )	检出限 /( $\mu\text{g/mL}$ )	定量限 /( $\mu\text{g/mL}$ )	日内精密度 /(RSD, %, n=5)	日间精密度 /(RSD, %, n=5)
咖啡酸	$A=185.36C-16.49$	0.9997	0.30-47.04	0.09	0.30	5.48	5.92
阿魏酸	$A=189.82C-12.06$	0.9995	0.30-49.44	0.07	0.24	3.89	4.57
桑色素	$A=68.34C-9.91$	0.9996	0.50-47.26	0.15	0.49	4.99	6.60
白杨素	$A=187.62C+21.03$	0.9998	0.20-96.41	0.05	0.17	1.73	2.98
山奈素	$A=75.65C-13.16$	0.9998	0.60-81.97	0.18	0.59	3.61	4.74

#### 2.3.2 回收率

表 2 化合物的回收率

Table 2 Recovery rates of target analytes

分析物	初始量 /( $\mu\text{g/g}$ )	加标量 /( $\mu\text{g/g}$ )	检出量 /( $\mu\text{g/g}$ )	回收率 /%	RSD /(%, n=5)
咖啡酸	183.45	92.00	268.83	92.80	6.95
		185.00	347.53	88.69	2.74
阿魏酸	119.01	60.00	172.96	89.92	4.38
		120.00	224.49	87.90	6.04
桑色素	75.22	38.00	107.90	86.00	1.20
		75.00	138.60	84.51	5.06
白杨素	392.10	195.00	577.97	95.32	2.18
		390.00	757.10	93.59	4.08
山奈素	328.08	165.00	466.24	83.73	6.23
		330.00	612.77	86.27	3.15

为了评价方法的准确度，本文分析了加标样品的回收率。加标样品是向样品中添加已知浓度的混合标

准溶液，并加入适量甲醇使之完全浸没，混合均匀后，自然干燥 24 h，然后进行提取分析，并按照 1.6 节所示公式计算各化合物的回收率。结果表明，目标化合物回收率为 83.73~95.32%，其相对标准偏差均低于 6.95%。

#### 2.3.3 样品分析

为了评价本法的适用性，本研究对不同批次的蜂房样品进行了分析。结果如表 3 所示，蜂房中的咖啡酸、阿魏酸、桑色素、白杨素和山奈素的含量分别为 81.69~183.45、41.31~119.01、75.22~171.56、213.64~685.14 和 225.35~741.25  $\mu\text{g/g}$ 。可以看出，白杨素和山奈素是蜂房的主要成分，这与先前的报道一致<sup>[20]</sup>。另外，不同批次蜂房中 5 种成分的含量也不尽相同，这可能是由于区域植被，季节，气候和蜜蜂种类等差异，对蜂房的质量有显著影响。蜂房提取物的色谱图如图 9 所示。

表 3 不同批次样品中 5 种成分含量 ( $\mu\text{g/g}$ , n=3)

Table 3 Proportion of the five constituents in different samples ( $\mu\text{g/g}$ , n=3)

分析物	咖啡酸	阿魏酸	桑色素	白杨素	山奈素
样品 1	183.45±1.28	119.01±9.47	75.22±6.98	392.10±12.21	328.08±12.29
样品 2	230.23±6.58	97.21±6.22	171.56±4.89	685.14±30.21	741.25±52.18
样品 3	81.69±5.33	41.31±5.46	103.45±6.79	213.64±3.82	225.35±4.49
样品 4	119.09±8.78	88.89±4.45	77.44±5.93	445.78±22.33	588.65±18.92
样品 5	176.65±1.22	101.02±8.83	123.34±8.98	289.54±17.46	333.67±15.34

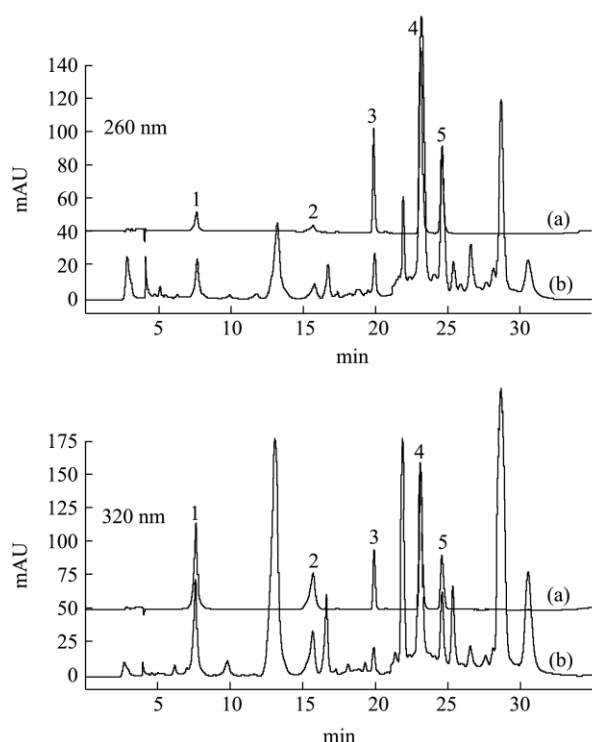


图9 标准溶液 (a) 和样品提取液 (b) 色谱图

**Fig.9 Chromatograms of the standard solution (a) and the extract of sample (b)**

注: (1)咖啡酸, (2)阿魏酸, (3)桑色素, (4)白杨素, (5)山奈素。

### 3 结论

本研究将离子液体应用于基质固相分散提取技术中,以硅胶固载离子液体为分散剂,采用基质固相分散-高效液相色谱法同时测定蜂房中的五种酚酸和黄酮类化合物。本法简单快速,提取效率高,样品用量少,测定结果令人满意,可被广泛应用于药用动植物中酚酸和黄酮类化合物的提取与测定。

### 参考文献

- [1] GUAN Xiao-xu, ZHOU Yi, LIANG Xue, et al. Effects of compounds found in *Nidus Vespae* on the growth and cariogenic virulence factors of *Streptococcus mutans* [J]. *Microbiological Research*, 2012, 167(2): 61-68
- [2] 王林,王振斌,孙平,等.蜂巢黄酮的超声波辅助提取及其抗氧化活性研究[J].*食品科技*,2012,37(9):222-225  
WANG Lin, WANG Zhen-bin, SUN Ping, et al. Ultrasonic-assisted extraction and antioxidant activity of honeycomb flavonoids [J]. *Food Science and Technology*, 2012, 37(9): 222-225
- [3] 王振斌,姜美花,曲文娟,等.蜂巢中多酚的提取动力学[J].*食品工业科技*,2013,34(15):61-65  
WANG Zhen-bin, JIANG Mei-hua, QU Wen-juan, et al. Extraction kinetics of polyphenols in Honeycomb [J]. *Science and Technology of Food Industry*, 2013, 34(15): 61-65
- [4] 孙平,王振斌,姜美花,等.蜂巢的营养及其在食品工业中的开发前景[J].*食品研究与开发*,2012,33(4):205-207  
SUN Ping, WANG Zhen-bin, JIANG Mei-hua, et al. The utilization status and development prospect of the honey comb in food industry [J]. *Food Research and Development*, 2012, 33(4): 205-207
- [5] LUO Chun-ying, ZOU Xiao-li, LI Yuanqian, et al. Determination of flavonoids in propolis-rich functional foods by reversed phase high performance liquid chromatography with diode array detection [J]. *Food Chemistry*, 2011, 127(1): 314-320
- [6] LIU Guo-zhu, MA Jin-yu, CHEN Ying-zhuang, et al. Investigation of flavonoid profile of *Scutellaria bacalensis* Georgi by high performance liquid chromatography with diode array detection and electrospray ion trap mass spectrometry [J]. *Journal of Chromatography A*, 2009, 1216(23): 4809-4814
- [7] QIAO Shi, SHI Rui, LIU Man, et al. Simultaneous quantification of flavonoids and phenolic acids in *Herba Scutellariae barbatae* and its confused plants by high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. *Food Chemistry*, 2011, 129(3): 1297-1304
- [8] PELLATI Federica, PRENCIPE Francesco-pio, BERTELLI Davide, et al. An efficient chemical analysis of phenolic acids and flavonoids in raw propolis by microwave-assisted extraction combined with high-performance liquid chromatography using the fused-core technology [J]. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 2013, 81-82: 126-132
- [9] EL-HELA Atef-a, AL-AMIER Hussein-a, IBRAHIM Taghreed-a, et al. Comparative study of the flavonoids of some *Verbena* species cultivated in Egypt by using high-performance liquid chromatography coupled with ultraviolet spectroscopy and atmospheric pressure chemical ionization mass spectrometry [J]. *Journal of Chromatography A*, 2010, 1217(41): 6388-6393
- [10] LEE Iris-s-l, BOYCE Mary-c, BREADMORE Michael-c. Extraction and on-line concentration of flavonoids in *Brassica oleracea* by capillary electrophoresis using large volume sample stacking [J]. *Food Chemistry*, 2012,

- 133(1): 205-211
- [11] XU Qian, SHEN Yan-yan, WANG Hai-feng, et al. Application of response surface methodology to optimise extraction of flavonoids from fructus sophorae [J]. Food Chemistry, 2013, 138(4): 2122-2129
- [12] WANG Shu-ping, HUANG Kuo-jun. Determination of flavonoids by high-performance liquid chromatography and capillary electrophoresis [J]. Journal of Chromatography A, 2004, 1032(1-2): 273-279
- [13] CHEN X J, GUO B L, LI S P, et al. Simultaneous determination of 15 flavonoids in Epimedium using pressurized liquid extraction and high-performance liquid chromatography [J]. Journal of Chromatography A, 2007, 1163(1-2): 96-104
- [14] BIMAKR Mandana, RAHMAN Russly-abdul, TAIP Farah-saleena, et al. Comparison of different extraction methods for the extraction of major bioactive flavonoid compounds from spearmint (*Mentha spicata L.*) leaves [J]. Food and Bioproducts Processing, 2011, 89(1): 67-72
- [15] ZHANG Qi, CAI De-fu, LIU Jian-hua. Matrix solid-phase dispersion extraction coupled with HPLC-diode array detection method for the analysis of sesquiterpene lactones in root of *Saussurea lappa* C.B.Clarke [J]. Journal of Chromatography B, 2011, 879(26): 2809-2814
- [16] BARKER Steven-a. Matrix solid phase dispersion (MSPD) [J]. Journal of Biochemical and Biophysical Methods, 2007, 70(2): 151-162
- [17] XIAO Yao, ZHANG Han-qi. Homogeneous ionic liquid microextraction of the active constituents from fruits of *Schisandra chinensis* and *Schisandra sphenanthera* [J]. Analytica Chimica Acta, 2012, 712: 78-84
- [18] 孙伟,高瑞芳,焦奎,等.离子液体在分析化学中应用研究进展[J].分析化学,2007,35(12):1813-1819
- SUN Wei, GAO Rui-fang, JIAO Kui, et al. Research and application of ionic liquids in analytical chemistry [J]. Chinese Journal of Analytical Chemistry, 2007, 35(12): 1813-1819
- [19] WANG Jin-quan, YUE Xiao-dong, CAI Fei, et al. Solventless synthesis of cyclic carbonates from carbon dioxide and epoxides catalyzed by silica-supported ionic liquids under supercritical conditions [J]. Catalysis Communications, 2007, 8(2): 167-172
- [20] 王锦军,张秀梅,张冕,等.RP-HPLC 法同时分析蜂房中槲皮素、山萘酚、木犀草素、芹菜素[J].海峡药学,2009, 21(17):76-79
- WANG Jin-jun, ZHANG Xiu-mei, ZHANG Mian, et al. Simultaneously determination of flavonoids in *Nidus Vespa*. by Rp-HPLC method [J]. Strait Pharmaceutical Journal, 2009, 21(17): 76-79