

构树叶总黄酮提取工艺优化及成分分析

张兴荣¹, 张学林^{1,2}, 贺连智¹, 徐慧¹, 郑小嘎¹, 李峰¹, 黄艳红¹

(1. 山东省食品发酵工业研究设计院, 山东济南 250014)

(2. 齐鲁工业大学(山东省科学院), 食品科学与工程学院, 山东济南 250014)

摘要: 研究构树叶总黄酮的最佳提取工艺及主要成分组成, 采用单因素试验和响应面设计优化分析乙醇浓度、提取时间、提取温度以及料液比对总黄酮得率的影响, 同时测定提取液中总黄酮的组成。结果表明, 当乙醇浓度 30%、提取时间 2.5 h、温度 69 °C、料液比 9% 时, 构树叶总黄酮的最高得率为 37.33 mg/g; 利用超高压相色谱-串联质谱(UPLC-MS/MS)平台进行成分分析, 鉴定出的黄酮类化合物共有 11 种, 分别为: 野黄芩苷、荭草苷、芹黄素-7-O-葡萄糖苷、山奈酚、芹菜素、木犀草苷、高良姜素、芹菜素-7-O-葡萄糖苷、牡荆素葡萄糖苷、6-O-对羟基苯甲酰基桃叶珊瑚苷、牡荆素鼠李糖苷。采用响应面法的 Box-Behnken 设计优化醇法提取构树叶总黄酮, 确定了构树叶中总黄酮最佳提取工艺, 该工艺简单易行、稳定性好, 能够为构树叶黄酮的工业化生产提供指导和参考。

关键词: 黄酮; 构树; 冷沉; 成分分析

文章编号: 1673-9078(2021)02-213-220

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2021.2.0671

Optimization of Extraction Process and Component Analysis of the Flavonoids from *Broussonetia papyrifera* Leaves

ZHANG Xing-rong¹, ZHANG Xue-lin^{1,2}, HE Lian-zhi¹, XU Hui¹, ZHENG Xiao-ga¹, LI Feng¹, HUANG Yan-hong¹

(1. Shandong Food Ferment Industry Research and Design Institute, Shandong, Jinan 250014, China)(2. Qilu University of Technology (Shandong Academy of Sciences), School of Food Science and Engineering, Jinan 250014, China)

Abstract: In order to investigate the optimal extraction process and the main components of flavonoids from the leaves of *Broussonetia papyrifera*, single factor experiments and response surface methodology (RSM) analysis were conducted to examine the effects of ethanol concentration, extraction time, extraction temperature and liquid-material ratio on the yield of flavonoids, as well as the flavonoid composition of the extract. The results showed that when the ethanol concentration was 30%, extraction time was 2.5 h, the extraction temperature was 69 °C, and liquid-material ratio was 9%, the yield of flavonoids in *Broussonetia papyrifera* leaves was 37.33 mg/g; UPLC-MS (UPLC-MS/MS) was used for component analysis, a total of 11 species of flavonoids were identified: scutellarin, orientin, apigenin-7-O-glucuronide, kaempferol, apigenin, cynaroside, galangin, apigenin-7-glucoside, (1 ξ)-1,5-anhydro-1-(5,7-dihydroxy-4-oxo-2-phenyl-4h-chromen-8-yl)-d-glucitol, 6-O-phydroxybenzoylaucubin, and isovitexin. The Box-Behnken Design of response surface methodology was used to optimize the ethanolic extraction of total flavonoids from *Broussonetia papyrifera* leaves, while determining the best extraction process for the total flavonoids. The process was simple and easy to implement with good stability, which can provide guidance and reference for the industrial production of flavonoids from *Broussonetia papyrifera* leaves.

Key words: flavonoids; *Broussonetia papyrifera*; cooling precipitation; component analysis

引文格式:

张兴荣, 张学林, 贺连智, 等. 构树叶总黄酮提取工艺优化及成分分析[J]. 现代食品科技, 2020, 37(2): 213-220

ZHANG Xing-rong, ZHANG Xue-lin, HE Lian-zhi, et al. Optimization of extraction process and component analysis of the flavonoids from *Broussonetia papyrifera* leaves [J]. Modern Food Science and Technology, 2020, 37(2): 213-220

收稿日期: 2020-07-17

项目基金: 国家重点研发计划项目(2016YFD0400500); 济南市科技发展计划(201816003)

作者简介: 张兴荣(1991-), 工程师, 研究方向: 天然活性成分

通讯作者: 黄艳红(1980-), 女, 博士, 高级工程师, 研究方向: 功能微生物开发及天然生物活性成分研究

构树又称楮树, 桑科构树属, 广泛分布于东亚和东南亚^[1], 抗逆性强, 生长迅速、成活率高、易繁殖, 是我国主要的构属种植品种^[2]。构树叶化学成分复杂, 含有丰富的蛋白质、脂肪、糖苷类、萜类、黄酮类、微量元素及多种人体所需的氨基酸、矿物质等, 有独特的营养价值^[3], 目前主要作为饲料原料^[4], 其精加工

产品较少且主要集中在蛋白质^[5]和多糖^[6]的方面,开发利用严重滞后,极大的限制了构树叶的推广和应用。通过现代技术手段提取构树叶中活性成分并对其深加工,可以有效的提高其经济效益,同时也是当前行业研究的重点。

黄酮类物质种类繁多、结构多样,具有抗菌、抗炎^[7]、抗氧化^[8,9]等作用,在医药^[10]、食品、化妆品行业有广泛的应用^[11]。已有研究表明,构树叶中含有丰富的黄酮类化合物,如牡荆素、芹菜素、槲皮素、异甘草素、木犀草素-7-O- β -D-葡萄糖苷、7-甲氧基香豆素、东莨菪素、7-甲氧基芹菜素、胡萝卜苷等^[1]、具有极高的应用价值。

目前构树叶总黄酮提取工艺的研究较少,汪雁等^[12]人以离子液体苯并噻唑甲烷磺酸盐为提取剂,结合超声辅助提取构树叶总黄酮,通过条件优化后测得总黄酮含量为 0.4685 mg/g。楚冰芳等^[13]人采用超声提取法以乙醇为溶剂,通过正交试验得出最佳条件下构树叶黄酮得率为 4.01%。上述方法工艺复杂且溶剂的使用量较大,易造成产品品质的下降,不利于工业化生产和资源环境的保护。本文选择乙醇为溶剂,通过单因素和响应面法优化构树叶总黄酮提取工艺,利用色谱-质谱联用技术为手段,分析并鉴定提取液中黄酮类化合物的种类和结构,以期对构树叶的综合利用提供新的技术和参考,对增加构树产业的附加值,开发高质量的产品具有重要意义。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

构树叶:自然晒干,粉碎过 10 目筛备用。

芦丁标准品(批号 XW01531841),国药集团;甲醇(LC-MS 级),德国默克公司;乙腈(LC-MS 级),德国默克公司;甲酸(LC-MS 级),西亚试剂;亚硝酸钠、硝酸铝、无水乙醇、氢氧化钠等(均为分析纯),国药集团。

1.2 仪器与设备

JD200-3 电子分析天平,沈阳龙腾电子有限公司;MW16-HH-6A 水浴锅,北京海富达科技有限公司;SIEMENSSKK26E28TI 冷藏箱,东莞嘉利来电器有限公司;752N 紫外可见分光光度计,上海精科仪器有限公司;TD5A 台式低速水平离心机,上海赵迪生物科技有限公司;RE-52AA 旋转蒸发器,上海亚荣生化仪器厂;Thermo Vanquish UHPLC 超高效液相色谱仪,赛默飞世尔科技公司;Q-Exactive HF 高分辨质谱,赛

默飞世尔科技公司;Zorbax Eclipse C18 (1.8 μm ×2.1×100 mm),安捷伦科技有限公司。

1.3 方法

1.3.1 总黄酮提取液的制备

准确称取 20.00 g 构树叶置于 500 mL 的锥形瓶中,加入一定量的乙醇溶液,并设定不同的提取温度和时间,浸提过程中每 0.5 h 搅拌一次,结束后用纱布过滤,重复提取两次合并滤液,滤液再经 4 °C 冷沉 12 h,3000 r/min 离心 20 min 去除叶绿素等杂质,得上清液即为总黄酮提取液,记录黄酮提取液的总体积。

1.3.2 芦丁标准曲线的绘制及总黄酮的测定

(1) 采用 $\text{NaNO}_2\text{-Al}(\text{NO}_3)_3\text{-NaOH}$ 法绘制标准曲线及测定总黄酮。

(2) 0.1 g/L 的芦丁标准溶液的配制^[14]:准确称取烘干至恒重的芦丁标准品 0.0100 g,用 50%的乙醇溶液溶解并定容至 100 mL。

分别吸取 0.00、0.25、0.50、1.00、2.00、3.00、4.00、5.00 mL 的芦丁标准溶液于 10 mL 的容量瓶中,用 50%的乙醇溶液将液体补充至 5 mL,并在容量瓶中依次加入 5%亚硝酸钠溶液和 5%硝酸铝溶液各 0.3 mL,混匀后静置 6 min,加入 4%的氢氧化钠溶液 4 mL,最后用 50%的乙醇溶液定容至 10 mL,混匀静置 12 min 后在波长 504 nm 下测吸光度。以容量瓶中芦丁的总含量(μg)为纵坐标,测得的吸光度值为横坐标,绘制标准曲线。

得回归方程为: $y=410.44x$, $R^2=0.9998$

线性关系良好,满足测定要求。

(3) 精密吸取 0.1 mL 的提取液,按照上述方法测定总黄酮得率,公式如下:

$$R1 = \frac{Y \times V}{0.1 \times M \times 1000}$$

式中: R1: 构树叶总黄酮得率,即每 g 干叶中提取出的黄酮量, mg/g; Y: 由标准曲线计算出的反应体系中总黄酮含量, μg ; V: 提取液总体积, mL; M: 原料的投入量, g。

1.3.3 单因素试验

在料液比 10%,乙醇浓度 80%(体积分数,下同),提取时间 2 h 的基础上,探讨温度(30、40、50、60、70、80、90 °C)对总黄酮提取效果的影响;

在温度 70 °C、乙醇浓度 80%,料液比 10%基础上,探讨时间(0.5、1.0、1.5、2.0、2.5、3.0、3.5、4.0 h)对总黄酮提取效果的影响;

在温度 70 °C、乙醇浓度 80%、时间 2.5 h 的基础上,探讨料液比(4%、6%、8%、10%、12%、14%)对总黄酮提取效果的影响;

在温度 70 ℃、料液比 10%，提取时间 2.5 h 基础上，考察乙醇浓度（10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%）对总黄酮提取效果的影响；

总黄酮提取液的制备参照 1.3.1，得率的测定方法参照 1.3.2，料液比设置为构树叶原料占总料液的百分比。

1.3.4 Box-Behnken 响应面优化

在单因素实验结果的基础上，以构树叶总黄酮得率为响应值，利用 Box-Behnken 设计 4 因素 3 水平的实验。如表 1 所示：

表 1 Box-Behnken 设计因素与水平

因素	水平		
	-1	0	1
乙醇浓度/%	20	30	40
提取温度/℃	60	70	80
提取时间/h	2	2.5	3
料液比/%	9	10	11

1.3.5 总黄酮化合物成分分析

通过色谱串联质谱（HPLC-MS/MS）技术分析提取物中成分组成，色谱条件^[15,16]：C18 色谱柱（1.8 μm×2.1×100 mm），流动相为 0.1%的甲酸水溶液+纯乙腈，梯度洗脱，柱温为 30 ℃，进样量为 2 μL，流速 0.3 mL/min，自动进样器温度 4 ℃。质谱条件：加热器温度 325 ℃，鞘气流速 45 arb，辅助气流速 5 arb，吹扫气流速 1 arb，电喷雾电压 3.5 kV，毛细管温度 330 ℃，S-Lens RF Level 55%，一级全扫描（Full Scan，m/z 100~1500）与数据依赖性二级质谱扫描（dd-MS2，TopN=10），采用正、负检测模式。使用 Compound Discoverer 3.0 进行保留时间校正、峰识别、峰提取等工作，根据二级质谱信息利用 Thermo mzCloud 在线数据库和 Thermo mzValut 本地数据库，进行物质鉴定。

2 结果与讨论

2.1 单因素实验结果分析

2.1.1 温度对构树叶总黄酮得率的影响

不同温度对总黄酮得率的影响结果见图 1，当温度小于 70 ℃时，温度与黄酮得率成正相关，升高体系温度能加速溶剂分子的运动，从而提高了黄酮类化合物的析出速率。但是这些化合物有一定的热敏性，当温度过高时，其分子结构遭到破坏，同时高温会使构树叶中的蛋白质凝固，黄酮不易析出，导致得率下降^[12]。结果显示在 70 ℃时，总黄酮的得率最高，为

20.57 mg/g。

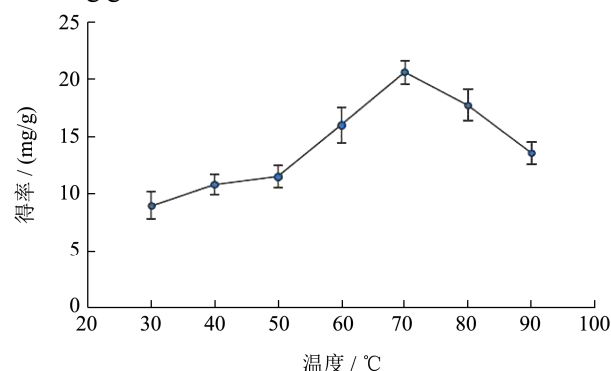


图 1 提取温度对构树叶总黄酮得率的影响

Fig.1 Effect of extraction temperature on yield of flavonoids from *Broussonetia papyrifera* leaves

2.1.2 时间对构树叶总黄酮得率的影响

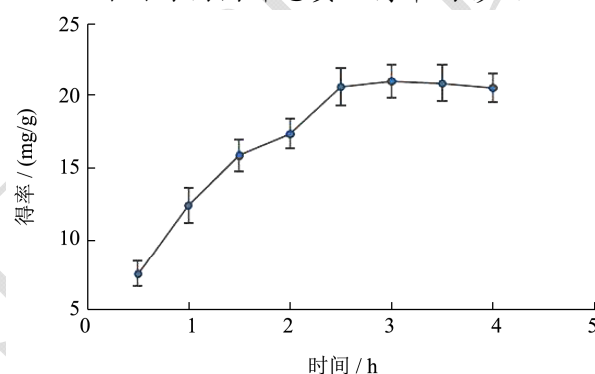


图 2 提取时间对构树叶总黄酮得率的影响

Fig.2 Effect of extraction time on yield of flavonoids from *Broussonetia papyrifera* leaves

不同时间对总黄酮得率的影响结果如图 2 所示，在 0.5~2.5 h 内随着时间的增加，黄酮类化合物溶出的越来越充分，因此得率不断增加。当时间大于 2.5 h 时，高温长时间的作用，导致部分成分受热分解^[17]，得率下降，结果分析可知，提取时间为 2.5 h 时总黄酮的得率最高为 22.59 mg/g。

2.1.3 料液比对构树叶总黄酮得率的影响

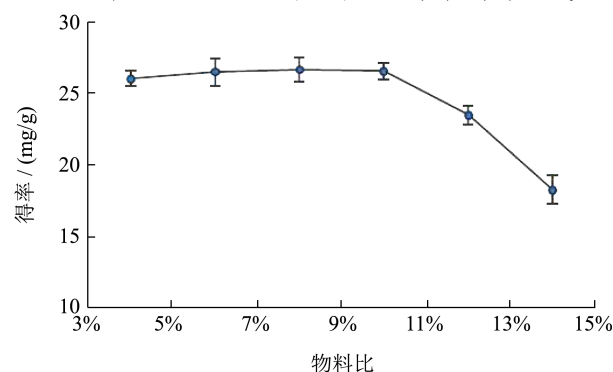


图 3 料液比对构树叶总黄酮得率的影响

Fig.3 Effect of liquid to material ratio on yield of flavonoids from *Broussonetia papyrifera* leaves

不同料液比对总黄酮得率的影响结果如图 3 所示,在料液比较低时,溶剂与原料充分接触,溶质的析出量增加,黄酮提取的更加充分得率较高,但是溶剂的使用量会增加生产成本,同时增加提取过程中黄酮的损耗。在料液比 10% 时提取物的浸出达到平衡,之后随原料的增加,料液比变大,原料与溶剂之间的接触面积变小^[18],同时体系的流动性变差,得率下降。综合考虑选取料液比为 10%,此时总黄酮得率为 26.57 mg/g。

2.1.4 乙醇浓度对构树叶总黄酮得率的影响

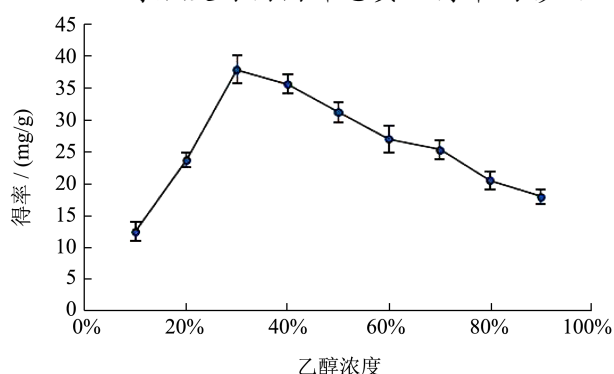


图 4 乙醇浓度对构树叶总黄酮得率的影响

Fig.4 Effect of ethanol concentration on yield of flavonoids from *Broussonetia papyrifera* leaves

不同乙醇浓度对总黄酮得率的影响结果如图 4 所示,乙醇浓度对总黄酮得率影响显著,在乙醇浓度为 30% 时得率最高,此时溶液的极性与黄酮类化合物的极性相似,黄酮类物质更易溶出。随着乙醇浓度的增大,浸提液的颜色加深,醇溶性杂质、色素、亲脂性物质等浸出量增加,竞争性地与乙醇结合,影响了黄酮类化合物与溶剂之间的作用效果^[19],得率下降。因此选择乙醇浓度为 30%,此时总黄酮的得率为 35.15 mg/g。

综合分析上述单因素结果,选择提取温度 70 ℃,提取时间 2.5 h,料液比 10%,乙醇浓度 30% 为响应面实验设计的中心点。

2.2 响应面实验结果分析

2.2.1 回归方程的建立

以取料液比、温度、时间、乙醇浓度四个因素,研究其对构树叶总黄酮得率的影响,因素和水平的取值范围参考单因素实验结果,响应面实验结果如表 2 所示。

利用 Design-ExpertV8.0.6 软件对实验数据进行回归性分析,得到总黄酮得率 R1 对 A (乙醇浓度)、B (提取温度)、C (提取时间)、D (料液比) 的二次回归方程模型:

$$R1=36.92-1.32A-1.79B+0.72C-0.20D+0.040AB+0.146AC-0.77AD+3.33BC-BD+0.65CD-15.64A^2-6.83B^2-2.76C^2-0.045D^2$$

表 2 Box-Behnken 试验设计及结果

Table 2 Design and result in Box-Behnken

编号	因素与水平				总黄酮得率
	A (乙醇浓度)	B (提取温度)	C (提取时间)	D (料液比)	R1/(mg/g)
1	-1	0	-1	0	19.58
2	0	0	0	0	36.53
3	0	1	-1	0	20.60
4	0	0	1	-1	34.38
5	0	1	0	-1	30.15
6	-1	0	0	1	22.42
7	1	0	0	1	18.87
8	1	1	0	0	10.25
9	-1	0	0	-1	20.83
10	-1	0	1	0	19.31
11	0	0	0	0	35.85
12	0	-1	-1	0	30.74
13	0	0	-1	-1	36.58
14	-1	1	0	0	14.41
15	1	-1	0	0	15.43
16	1	0	0	-1	20.38
17	0	-1	0	1	32.15
18	0	0	0	0	37.01
19	0	0	0	0	36.93
20	1	0	1	0	20.57
21	0	1	0	1	28.31
22	0	0	1	1	32.48
23	0	0	-1	1	33.38
24	0	-1	0	-1	30.15
25	-1	-1	0	0	19.75
26	0	1	1	0	29.37
27	0	0	0	0	36.94
28	1	0	-1	0	15.01
29	0	-1	1	0	26.18

2.2.2 模型方差及交互作用分析

如表 3 所示,该模型 F 值为 91.06, $p < 0.0001$, 差异性显著,同时失拟项 $p = 0.2017 > 0.05$,模型的拟合度良好。相关系数 $R^2 = 0.9379$ 及失拟项系数 $R^2 = 0.9783$,说明模型预测值与实际值拟合较好,自变量与响应值之间关系显著,可以用此模型来分析和预测构树叶总黄酮得率。由 F 值得到的各因素的贡献率为 $A > B > C > D$,其中乙醇浓度 (A) 和温度 (B) 对总黄

酮得率影响极显著。不同因素之间的交互作用如图 5 所示, 其中 AC、BC 为显著项, 其他均为不显著项, 表明提取温度 B 和提取时间 C 两者之间的交互影响明显, 其他因素之间的交互作用不明显。

表 3 方差分析

Table 3 Analysis of variance						
方差来源	平方和	自由度	均方	F 值	P 值	显著性
模型	1902.07	14	135.86	91.06	<0.0001	显著
A	20.75	1	20.75	13.91	0.0022	
B	38.49	1	38.49	25.79	0.0120	
C	6.31	1	6.31	4.23	0.0598	
D	0.46	1	0.46	0.31	0.5874	
AB	6.400E-003	1	6.400E-003	4.290E-003	0.9487	
AC	8.50	1	8.50	5.70	0.0371	
AD	2.39	1	2.39	1.60	0.2266	
BC	44.42	1	44.42	29.77	0.0008	
BD	4.04	1	4.04	2.71	0.3052	
CD	1.69	1	1.69	1.13	0.7291	
A ²	1587.45	1	1587.45	1063.97	<0.0001	
B ²	302.60	1	302.60	202.82	<0.0001	
C ²	49.37	1	49.37	33.09	0.0004	
D ²	0.013	1	0.013	8.869E-003	0.9263	
残差	20.89	14	1.49			
失拟项	20.66	10	2.07	36.39	0.2017	不显著
纯误差	0.23	4	0.057			
总离差	1922.96	28				

注: R²=0.9379; R²_{Adj}=0.9783。

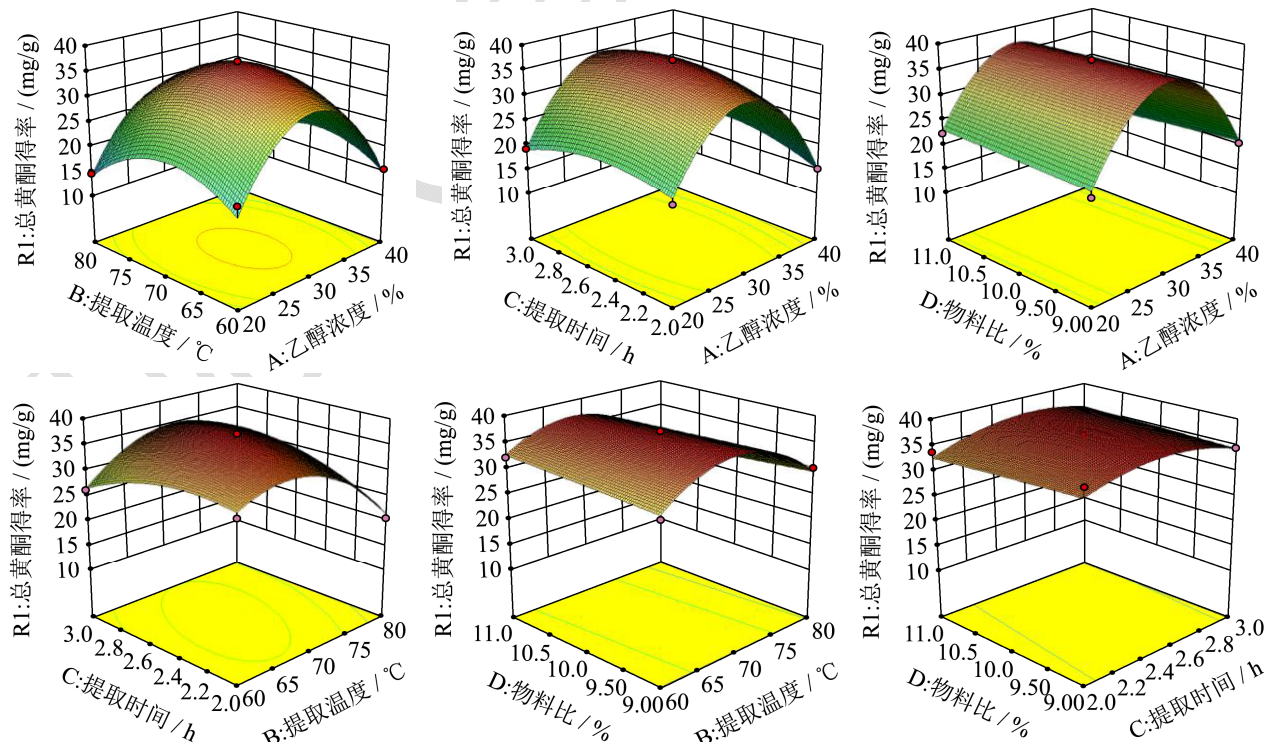


图 5 两因素相互作用的 3D 图

Fig.5 Contour plot of effects of the interaction of tow factors on extraction of flavones

表 4 黄酮类成分解析

Table 4 Identification of flavonoids constituents

编号	保留时间	分子离子峰	m/z			鉴定结果	分子式	相对浓度/(μg/mL)	参考文献
			实测值	理论值	二级碎片离子				
1	6.30	[M+H] ⁺	448	448	299,329 335,383	牡荆素葡萄糖苷	C ₂₁ H ₂₀ O ₁₁	13.14	范世明等 ^[20]
2	6.45	[M+H] ⁺	448	448	299,329,383	荭草苷	C ₂₁ H ₂₀ O ₁₁	17.19	Tanaka 等 ^[21]
3	6.60	[M+H] ⁺	578	578	299,329 353,383	牡荆素鼠李糖苷	C ₂₇ H ₃₀ O ₁₄	9.21	范世明等 ^[20]
4	6.91	[M+H] ⁺	448	448	287,288	木犀草苷	C ₂₁ H ₂₀ O ₁₁	90.48	李晨等 ^[22]
5	6.93	[M+H] ⁺	286	286	161	山奈酚	C ₁₅ H ₁₀ O ₆	17.00	冯阳等 ^[23]
6	6.94	[M+H] ⁺	462	462	287	野黄芩苷	C ₂₁ H ₁₈ O ₁₂	395.70	林志燕等 ^[24]
7	7.38	[M+H] ⁺	270	270	106	芹菜素	C ₁₅ H ₁₀ O ₅	2.35	庞素秋等 ^[25]
8	7.38	[M+H] ⁺	432	432	271	芹菜素-7-葡萄糖苷	C ₂₁ H ₂₀ O ₁₀	93.06	庞素秋等 ^[25]
9	7.44	[M+H] ⁺	270	270	183	高良姜素	C ₁₅ H ₁₀ O ₅	23.85	侯红瑞等 ^[26]
10	7.45	[M+H] ⁺	446	446	271,272	芹菜素-7-O-葡萄糖醛酸苷	C ₂₁ H ₁₈ O ₁₁	612.50	韩颖等 ^[27]
11	7.54	[M+H] ⁺	476	476	301	6-O-对羟基苯甲酰基桃叶珊瑚苷	C ₂₂ H ₂₀ O ₁₂	5.22	韩曼飞等 ^[28]

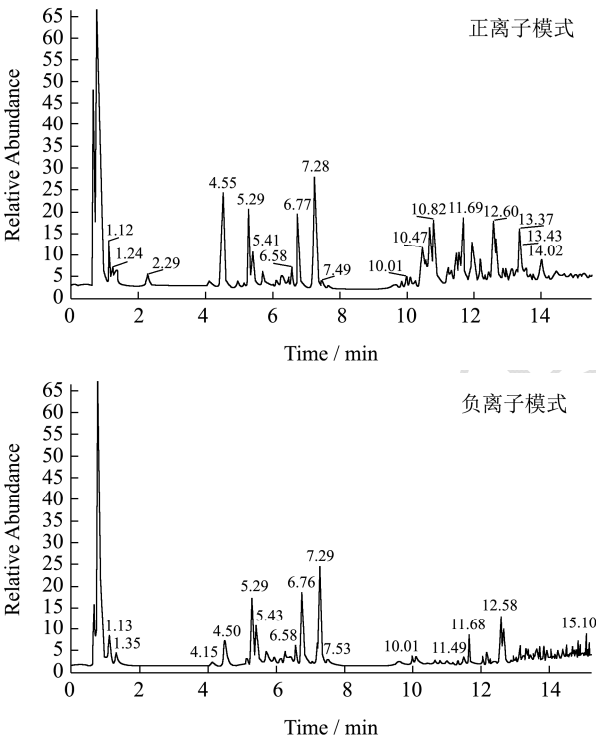


图 6 构树叶黄酮提取物总离子流图

Fig.6 TIC chromatogram of flavonoids from *Broussonetia papyrifera* leaves

2.2.3 最佳工艺条件预测验证

模型给出的理论最佳工艺参数为乙醇浓度 29.82%、温度 69.35℃、提取时间 2.49 h、物料比 9%，总黄酮得率理论值为 37.10 mg/g。考虑到实际操作将理论参数调整为乙醇浓度 30%，提取时间 2.5 h，温度 69℃，物料比 9%，在此条件下测得构树叶中总黄酮得率为 37.33 mg/g，与模型预测值接近，响应面设计

实验所给出的总工艺结果可靠。

2.3 提取物中黄酮类化合物分析鉴定

对冷沉离心后的上清液进行 UPLC-MS/MS 分析，电喷雾正、负离子模式下的质谱信息见图 6。

使用 Compound Discoverer 3.0 分析图谱，由一级质谱的分子离子峰拟合元素组成，得到化合物的分子式，再结合二级质谱的离子碎片峰及质谱裂解规律，利用 Thermo mzCloud 在线数据库、Thermo mzValut 本地数据库和相关参考文献推导化合物的结构。通过分析，提取液中检测出了脂肪类、吡啶类、羧酸及其衍生物、有机氮类、黄酮类等化合物，其中黄酮类化合物有 11 种，分子量在 270~470 之间，黄酮苷元类化合物有山奈酚、高良姜素、芹菜素；黄酮苷类化合物有芹菜素-7-O-葡萄糖醛酸苷、野黄芩苷、木犀草苷、芹甙元-7-葡萄糖苷、6-O-对羟基苯甲酰基桃叶珊瑚苷、异牡荆苷、白杨素 8-C-葡萄糖苷，其中野黄芩苷、芹菜素-7-O-葡萄糖醛酸苷相对含量较高，分别为 395.70、612.50 μg/mL（表 4）。

3 结论

本研究以构树叶为原料，通过选取温度、时间、料液比、乙醇浓度四个因素，采用单因素和响应面优化后得到的最佳工艺条件为乙醇浓度 30%、提取时间 2.5 h、温度 69℃、料液比 9%，在此条件下总黄酮得率为 37.33 mg/g。冷沉离心处理能出去提取液中大部分的蛋白质和叶绿素等，并不会对总黄酮的含量产生明显的影响。通过 UPLC-MS/MS 分析，检测出提取

液中的成分中共含有 11 种黄酮类化合物,分别为野黄芩苷、荭草苷、芹黄素-7-O-葡萄糖苷、山奈酚、芹菜素、木犀草苷、高良姜素、芹菜素-7-葡萄糖苷、牡荆素葡萄糖苷、6-O-对羟基苯甲酰基桃叶珊瑚苷、牡荆素鼠李糖苷。本研究采用传统的浸提工艺,以乙醇为溶剂在不加超声波、微波等辅助条件的情况下,构树叶总黄酮的得率较高,且溶剂的使用量小成本低,工艺操作简单、安全。色谱-质谱联用技术的应用更加深入的解析了黄酮类化合物的组成及结构,能够为构树叶黄酮的工业化生产提供科学基础和理论依据。

参考文献

- [1] 徐小花,钱士辉,卞美广,等.构树叶的化学成分[J].中国天然药物,2007,3:190-192
XU Xiao-hua, QIAN Shi-hui, BIAN Mei-guang, et al. Chemical constituents from the leaves of *Broussonetia papyrifera* [J]. Chinese Journal of Natural Medicines, 2007, 3: 190-192
- [2] 张红,陈凤鸣,黄兴国,等.构树叶的营养价值及其在动物生产中的应用研究进展[J].动物营养学报,2020,9:4086-4092
ZHANG Hong, CHEN Feng-ming, HUANG Xing-guo, et al. Nutritional value of *Broussonetia papyrifera* leaf and its application in animal production [J]. Chinese Journal of Animal Nutrition, 2020, 9: 4086-4092
- [3] 李万仓.构树叶活性成分分析及抑菌作用研究[D].武汉:华中科技大学(流行病学与卫生统计学),2008
LI Wan-cang. Study of active ingredients of *Broussonetia papyrifera* leaves and effects of bacteriostasis [D]. Wuhan: Huazhong University of Science and Technology (Epidemiology and Health Statistics), 2008
- [4] 杨小建,王金锡,胡庭兴.中国构树资源的综合利用[J].四川林业科技,2007,1:39-43
YANG Xiao-jian, WANG Jin-xi, HU Ting-xing. On the comprehensive utilization of *Broussonetia papyrifera* in China [J]. Journal of Sichuan Forestry Science and Technology, 2007, 1: 39-43
- [5] 谢艺潇,王学凯,王雨,杨富裕.纤维素酶法辅助浸提构树叶蛋白技术研究[J].草学,2017,(S1):18-19
XIE Yi-xiao, WANG Xue-kai, WANG Yu, et al. Optimization of cellulase-assisted extraction technology for leaf protein from *Broussonetia papyrifera* [J]. Journal of Grassland and Forage Science, 2017, (S1): 18-19
- [6] 孟岩,张玉苍,何连芳,等.构树叶中蛋白和多糖提取工艺研究[J].湖北农业科学,2010,49(4):946-949
MENG Yan, ZHANG Yu-cang, HE Lian-fang, et al. Study on extracting process of protein and polysaccharide from leaves of *Broussonetia papyrifera* [J]. Hubei Agricultural Sciences, 2010, 49(4): 946-949
- [7] Yan-Ping Liu, Xiao-Mei Yu, Wei Zhang, et al. Prenylated chromones and flavonoids from *Artocarpus heterophyllus* with their potential antiproliferative and anti-inflammatory activities [J]. Bioorganic Chemistry, 2020, 101: 104030
- [8] Yang Chun-yan, Li Fu, Du Bao-wen, et al. Isolation and characterization of new phenolic compounds with estrogen biosynthesis-inhibiting and antioxidation activities from *Broussonetia papyrifera* leaves [J]. PloS One, 2014, 9(4): e94198
- [9] SUN Jie, LIU Shao-fang, ZHANG Chu-shu, et al. Chemical composition and antioxidant activities of *Broussonetia papyrifera* fruits [J]. PloS one, 2012, 7(2): e32021
- [10] Li-ming Lien, Meng-jiy Wang, Ray-jade Chen, et al. Nobiletin, a polymethoxylated flavone, inhibits glioma cell growth and migration via arresting cell cycle and suppressing MAPK and akt pathways [J]. Phytotherapy Research, 2016, 30(2): 214-221
- [11] Xin-xin Cao, Ling-guang Yang, Qiang Xue, et al. Antioxidant evaluation-guided chemical profiling and structure-activity analysis of leaf extracts from five trees in *Broussonetia* and *Morus* (Moraceae) [J]. Nature, 2020, 10(4): 1-10
- [12] 汪雁,金光明,钱立生,等.离子液体提取构树叶总黄酮的工艺[J].化工进展,2016,35(z2):328-331
WANG Yan, JIN Guang-ming, QIAN Li-sheng, et al. Study on the ionic liquids-based extraction technology of total flavonoids from *Broussonetia papyrifera* leaves [J]. Chemical Industry and Engineering Progress, 2016, 35(z2): 328-331
- [13] 楚芳冰,吴小燕,丁来欣.构树叶中黄酮提取分离工艺的优化[J].安徽农业科学,2015,43(14):84-86,88
CHU Fang-bing, WU Xiao-yan, DING Lai-xin. Process optimization of extracting and separating flavonoids from *Broussonetia papyrifera* leaves [J]. Journal of Anhui Agricultural Sciences, 2015, 43(14): 84-86, 88
- [14] 顾生玖,姚丽新,刘建楠,等.微波辅助法提取构树叶中总黄酮的工艺研究[J].安徽农业科学,2012,40(2):782-785
GU Sheng-jiu, YAO Li-xin, LIU Jian-nan, et al. T research on the extraction of total flavonoids from *Broussonetia papyrifera* by microwave-assisted extraction [J]. Journal of Anhui Agricultural Sciences, 2012, 40(2): 782-785
- [15] 熊燕飞,赵元昊,杨亚宁,等.构树黄酮的提取及体外抗氧化作用[J].林业科技开发,2009,23(1):42-45

- XIONG Yan-fei, ZHAO Yuan-hao, YANG Ya-ning, et al. Extraction of the flavone from *Broussonetia papyrifera* vent roots and its anti-oxidization *in vitro* [J]. Journal of Forestry Engineering, 2009, 23(1): 42-45
- [16] Lu Hai-xia, Yang Ke, Zhan Liang-hui, et al. Optimization of flavonoid extraction in *Dendrobium officinale* leaves and their inhibitory effects on tyrosinase activity [J]. International Journal of Analytical Chemistry, 2019, 1-10
- [17] I Podolak, M Olech, A Galanty, et al. Flavonoid and phenolic acid profile by LC-MS/MS and biological activity of crude extracts from *Chenopodium hybridum* aerial parts [J]. 2016, 30(15): 1766-1770
- [18] Ze-bin Weng, Fei Zeng, Zhen-hua Zhu, et al. Comparative analysis of sixteen flavonoids from different parts of *Sophora flavescens* Ait. by ultra high-performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis, 2018, 156: 214-220
- [19] 王昌涛,孙啸涛,周雪.响应面分析法优化雪灵芝黄酮提取工艺[J].食品科学,2013,34(14):91-95
- WANG Chang-tao, SUN Xiao-tao, ZHOU Xue. Optimization of extraction process for flavonoids from *Arenaria kansuensis* Maxim. by response surface methodology [J]. Food Science, 2013, 34(14): 91-95
- [20] 范世明,谢心月,曾繁天,等.三叶青叶化学成分鉴定及其总黄酮含量测定研究[J].药物分析杂志,2017,37(8):1481-1488
- FAN Shi-ming, XIE Xin-yue, ZENG Fan-tian, et al. Identification of chemical components and determination of flavonoids in *Tetrastigma hemsleyanum* leaves [J]. Chinese Journal of Pharmaceutical Analysis, 2017, 37(8): 1481-1488
- [21] Tanaka Akinobu, Zhu Qinchang, Tan Hui, et al. Biological activities and phytochemical profiles of extracts from different parts of bamboo (*Phyllostachys pubescens*) [J]. Molecules, 2014, 19(6): 8238-8260
- [22] 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
- [23] 冯阳,陈玉梅,辛华.金樱子黄酮类成分的UPLC-Q-TOF-MS分析[J].中国实验方剂学杂志,2017,23(12):71-76
- FENG Yang, CHEN Yu-mei, XIN Hua. Analysis of flavonoids in *Rosae laevigatae* fructus by UPLC-Q-TOF-MS [J]. Chinese Journal of Experimental Traditional Medical Formulae, 2017, 23(12): 71-76
- [24] 林志燕,杨荣富,唐跃年.8种黄酮类成分的LC-MS/MS分析[J].中国药师,2014,17(8):1292-1297
- LIN Zhi-yan, YANG Rong-fu, TANG Yue-nian. LC-MS/MS analysis of eight kinds of flavonoids [J]. China Pharmacist, 2014, 17(8): 1292-1297
- [25] 庞素秋,王国权,孙爱静.构树果实化学成分分离与鉴定[J].中国药房,2016,27(31):4384-4387
- PANG Su-qiu, WANG Guo-quan, SUN Ai-jing. Separation and identification of chemical constituents of *Broussonetia papyrifera* fruits [J]. China Pharmacy, 2016, 27(31): 4384-4387
- [26] 韩颖,吕晓玲.竹柳叶中黄酮类化合物的提取工艺和成分分析研究[J].食品研究与开发,2017,38(14):53-59
- HAN Ying, LYU Xiao-ling. Research of extraction process and analysis of flavonoids from bamboo willow leaves [J]. Food Research and Development, 2017, 38(14): 53-59
- [27] 侯红瑞,黄吉东,陈玲,等.制备色谱法分离纯化高良姜黄酮中高良姜素和山柰素[J].色谱,2016,34(6):591-595
- HOU Hong-rui, HUANG Ji-dong, CHEN Ling, et al. Isolation and purification of galangin and kaempferide from *Alpinia officinarum* Hance by preparative high-performance liquid chromatography [J]. Chinese Journal of Chromatography, 2016, 34(6): 591-595
- [28] 韩曼飞,张刘强,李医明.天然桃叶珊瑚苷及其衍生物的化学结构和药理作用研究进展[J].中草药,2017,48(19):4105-4113
- HAN Man-fei, ZHANG Liu-qiang, LI Yi-ming. Research progress on chemical structure and pharmacological action of natural arachnoside and its derivatives [J]. Chinese Herbal Medicine, 2017, 48(19): 4105-4113

(上接第10页)

- [35] Komaiko J S, McClements D J. Formation of food-grade nanoemulsions using low-energy preparation methods: a review of available methods [J]. Comprehensive Reviews in Food Science & Food Safety, 2016, 15(2): 331-352
- [36] Chowhan Z T, Pritchard R. Release of corticoids from oleaginous ointment bases containing drug in suspension [J]. Journal of Pharmaceutical Sciences, 2006, 64(5): 754-759
- [37] Siepmann J, Peppas N A. Higuchi equation: derivation, applications, use and misuse [J]. International Journal of Pharmaceutics, 2011, 418(1): 6-12