论 著

泸州地区狗牙根总黄酮的提取工艺优化

冯跃平[1]，李　建[1]，吕虹林[2]，张　春[2]
西南医科大学　1.中西医结合学院；2.药学院（泸州 646000）

【摘　要】目的 筛选狗牙根总黄酮的最佳提取工艺条件。**方法** 用$NaNO_2$-Al(NO_3)$_3$-NaOH显色法，显色后测定吸光度，通过标准曲线法计算样品中的总黄酮含量，以提取所得的总黄酮含量作为筛选最佳工艺的指标。通过单因素试验，考察提取时间、提取温度、乙醇体积分数、料液比对总黄酮含量的影响。采用四因素三水平正交试验优化提取工艺条件，筛选出狗牙根总黄酮最佳提取工艺条件。**结果** 狗牙根总黄酮的最优提取方法为乙醇回流提取法，最佳提取工艺参数为80%体积分数的乙醇，1∶60 g·mL^{-1}的料液比，100 ℃的浸提温度，1.5 h的浸提时间。**结论** 本实验所得出的狗牙根总黄酮的最佳提取工艺稳定可行，可用于狗牙根总黄酮的提取，为该药材质量标准研究提供了科学依据。

【关键词】狗牙根；总黄酮；回流提取法；正交实验
【中图分类号】 R284.2　　**文献标志码** A　　DOI：10.3969/j.issn.2096-3351.2022.06.012

Optimization of extraction process of total flavonoids *from Cynodon dactylon*

FENG Yueping[1]，*LI Jian*[1]，*LV Honglin*[2]，*ZHANG Chun*[2]
1. *School of Integrated Traditional Chinese and Western Medicine, Southwest Medical University*，*Luzhou 646000*，*China;* 2.*School of Pharmacy*，*Southwest Medical University*，*Luzhou 646000*，*China*

【Abstract】Objective To screen the optimal extraction conditions of total flavonoids from *Cynodon dactylon*. **Methods** The $NaNO_2$-Al(NO_3)$_3$-NaOH colorimetry was used to determine the content of total flavonoids，and the standard curve method was used for content analysis. The content of total flavonoids was used as the index for screening the best extraction process. The extraction time，extraction temperature，ethanol volume and solid-liquid ratio of different gradients were investigated by single factor experiment. Four factors and three horizontal orthogonal experiments were used to optimize the extraction process conditions and screen the best extraction technology of total flavonoids from *Cynodon dactylon*. **Results** The optimal extraction method of total flavonoids from *Cynodon dactylon* was ethanol reflux extraction. The optimal extraction process was 80% ethanol，the material-liquid ratio was 1∶60 (g/mL)，and the reflux extraction time was 1.5 h with 100°C extraction temperature. **Conclusion** This method in this experiment was stable and feasible，and could be used for the extraction of total flavonoids in *Cynodon dactylon*，which provided scientific basis for study of quality standard of this medicinal material.

【Key words】 *Cynodon dactylon*；Total flavonoids；Rreflux extraction；Oorthogonal test

狗牙根为禾本科植物狗牙根 *Cynodon dactylon*（L.）Pers.的全草，首载于《滇南本草》。其味苦、微甘，性凉，归肝经。具有祛风活络、凉血止血的功效[1]，主治风湿痹痛、半身不遂、鼻衄、便血、疮疡肿毒等病症[2-4]。现代研究表明狗牙根具有抗菌、利尿、降血糖等药理作用[5]。目前，对狗牙根的研究主要集中在生物学特征、园林应用、病虫害等[6-8]方面。关于狗牙根化学成分研究发现，其含有黄酮类、木脂素等化学成分[9-11]。黄酮作为广大中草药中的一类主要有效成分，广泛分布于自然界的多种植物中。近年来大量的的科学研究表明，黄酮类化合物是一种很强的抗氧剂，它能与体内的氧自由基反应，从而有效减少人体内的氧自由基[12-13]。这种抗氧化作用可以缓解细胞的氧化、衰老，甚至可以阻止癌症的发生[14-21]。已有相关文献证明了狗牙根中含有黄酮类化合物[22]，而关于狗牙根中总黄酮提取工艺及其含量测定未见报道。因此，本研究通过对各种植物总黄酮的提取工艺的总结归纳[23]，采用乙醇回流提取方法，通过单因素考察实验结合正交实验[24]，设计筛选出狗牙根总黄酮的提取工艺参数，并对其含量进行测定。该研究，为进一步揭示狗牙根的药效有效成分，探索药理活性提供前期试验依据；为狗牙根质量标准制定奠定基础；在进一步提高狗牙根资源的利用率，扩大药用范围上具有重要临床意义。

基金项目：四川省科技厅项目基金（2021YJ0114）；泸州市人民政府--西南医科大学科技战略合作项目（2019LZXNYDR12）
第一作者简介：冯跃平，主管药师，硕士研究生。
通信作者：张　春，教授，硕士研究生导师。E-mail：4327219@qq.com
引用本文：冯跃平，李建，吕虹林.泸州地区狗牙根总黄酮的提取工艺优化[J].西南医科大学学报，2022，45(6)：523-527.DOI：10.3969/j.issn.2096-3351.2022.06.012

1 仪器和材料

1.1 实验仪器

本实验所用主要仪器与设备详见表1。

表1 实验仪器及设备表

Table 1 List of experimental instruments and equipments

名称	厂家	型号
紫外可见分光光度计	安杰龙科技有限公司	Agilent
超声清洗仪	昆山市超声仪器有限公司	JOYN-10A
多功能粉碎机	晟利南京化学科技有限公司	TD-600
超纯水系统（优普系列纯水器）	优普科技有限公司	UPH-1-20L
减压干燥箱	上海海向仪器设备厂	BZF 50
电子分析天平	上海禾汽玻璃仪器有限公司	AL104/100
微量移液枪	北京建强伟业科技有限公司	1 000 μl，200 μl，100 μl，10 μl
恒温水浴锅	欧莱科学仪器北京有限公司美国	SHA-B

1.2 实验材料与试剂

本实验所用材料采自四川省泸州市合江县，经西南医科大学生药学教研室鉴定为狗牙根 *Cynodon dactylon*（L.）Pers.的全草；芦丁对照品，购自成都普思生物科技股份有限公司，批号：153-18-4，经面积归一化法测定含量为99.8%。水为超纯水，其余试剂为分析纯。

2 方法

2.1 分光光度法的建立

2.1.1 样品溶液的制备 将清洗干净狗牙根全草置于60℃减压干燥箱中烘干。粉碎、过40目筛，密封保存，备用。精密称取狗牙根粉末约1 g，至100 mL的圆底烧瓶，80%乙醇作为浸提液，收集滤液至50 mL容量瓶，加80%乙醇定容。

2.1.2 检测波长的选择 取“2.1.1”项的样品溶液，通过乙醇溶液稀释至适宜浓度后作为供试液，使用紫外分光光度仪，以乙醇为空白液，在200～800 nm波长之间进行全波长扫描。结果表明狗牙根总黄酮在510 nm处有最大吸收，与对照品芦丁溶液的最大吸收峰一致，故选择芦丁作为对照品。

2.1.3 对照品溶液的制备 精密称取芦丁对照品粉末10.00 mg，放置于50 mL容量瓶中，加入适量80%体积分数的乙醇溶液溶解，定容至刻度线，振摇均匀，即配制成0.20 mg·mL^{-1}的对照品溶液，冰箱4℃储存备用。

2.1.4 标准曲线的绘制 精密量取“2.1.1”项下的芦丁对照品溶液0.4 mL、0.6 mL、0.8 mL、1.0 mL、1.2 mL、1.4 mL、1.6 mL，分别于10 mL刻度试管中，向各个试管中准确滴加0.4 mL质量分数为5%的$NaNO_2$溶液，充分振荡摇匀，静置6 min后，向试管中精密加入0.4 mL质量分数为10%的$Al(NO_3)_3$溶液，充分振荡摇匀，静置6 min后加入体积为4 mL质量分数为4%的NaOH溶液，最后加蒸馏水至10 mL刻度线，充分振荡摇匀，静置15 min，为对照品供试溶液[25]。本实验选用80%体积分数的乙醇溶液依法操作，作为空白溶液，分别在紫外分光光度计下测定吸光度，记录波长为510 nm的吸光度值[26]。以芦丁标准品溶液质量浓度作横坐标（X），吸光度值作纵坐标（Y），做回归处理，得标准曲线为$Y = 0.0114X + 0.0001$（$R^2 = 0.9992$）。由图1结果显示，芦丁对照品溶液质量浓度在8.0614～32.3596 μg·mL^{-1}范围内与吸光度呈现良好的线性关系。

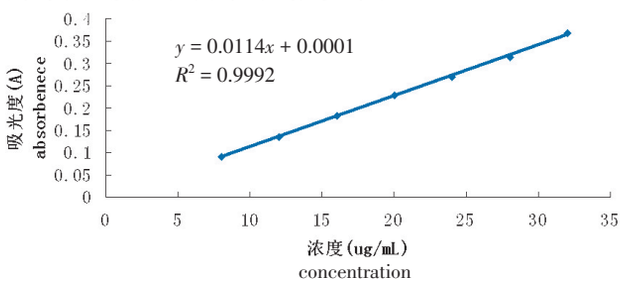


图1 芦丁标准曲线图

Figure 1 Standard curve of rutin

2.1.5 精密度实验 准确量取芦丁对照品溶液，分别按照“2.1.2”项下显色操作后测定吸光度值，连续测定6次并计算相对标准偏差。由表2结果可知，RSD%为1.97%（$n = 6$），相对偏差较小，表明仪器精密度良好。

表2 精密度实验结果

Table 2 Results of precision test

序号	1	2	3	4	5	6
吸光度值	0.137	0.138	0.144	0.137	0.139	0.137

2.1.6 重复性试验 取2.1.1项下样品溶液6份，按照2.1.4项下显色法进行显色，80%乙醇溶液同法操作为空白，在紫外可见分光光度计中测定样品溶液的吸光度值。记录510 nm处的吸光度值，标准曲线法计算总黄酮含量，计算6次平行实验的RSD%。实验结果见表3。由表3可知，RSD%为2.23%（$n = 6$），相对偏差较小，说明该方法重复性好。

表3 重复性实验结果

Table 3 Results of repeatability test

序号	1	2	3	4	5	6
吸光度值	0.055	0.057	0.059	0.062	0.058	0.058

2.1.7 稳定性试验 取2.1.1项下样品溶液6份，按照“2.1.4”项下进行显色，80%乙醇溶液同法操作为空白，分别在0、15、30、45、60、90 min后，在紫外可见分光光度计中测定样品溶液的吸光度，并记录510 nm处的吸光度值。计算样品中的总黄酮含量，并计算RSD%。实验结果见表4。由表4可知，RSD%为2.47%（$n = 6$），

相对偏差较小，表明该方法稳定可行。

表4 稳定性实验结果

Table 4 Results of stability test

序号	1	2	3	4	5	6
吸光度值	0.058	0.059	0.059	0.058	0.055	0.055

2.2 提取方法的选定

2.2.1 狗牙根处理 狗牙根全草鲜品清洗干净，放在60℃减压干燥箱中烘干。趁热用多功能粉碎机粉碎，防止吸潮。粉碎后过40目筛，密封保存，备用。

2.2.2 样品溶液的制备方法 准确称取狗牙根粉末1.00 g，放入100 mL的圆底烧瓶中，根据所控制的条件不同，用相应体积分数的乙醇作为浸提溶液，采用相应的提取方法，浸提一段时间后，趁热过滤，收集滤液，滤液转移至50 mL容量瓶内，向容量瓶中加入95%体积分数的乙醇溶液定容至容量瓶刻度线，即得样品溶液。

2.2.3 不同提取方法的考察 参照蓝莓叶的总黄酮最佳提取工艺条件[26]，准确称取狗牙根粉末1.00 g，用95%的乙醇，料液比1∶20 g·mL^{-1}为提取条件，用不同的提取方法（回流、冷浸、超声），提取0.5 h。超声和回流提取温度为80℃，冷浸法为室温，提取一次。提取后立即过滤，将滤液转移至50 mL容量瓶中，用95%乙醇溶液定容至刻度。取1.2 mL样品溶液到10 mL刻度试管中，按照“2.1.2”项下进行显色操作，用95%乙醇同法操作作为空白，在紫外可见分光光度计中测定不同方法提取的狗牙根样品溶液的吸光度。记录510 nm波长处的吸光度值A。根据所测得的吸光度值，标准曲线法计算总黄酮含量。实验结果见表5。结果表明，三种提取方法对狗牙根总黄酮的提取效率依次为回流法＞超声法＞冷浸法。回流法吸光度最大，提取狗牙根黄酮效果最好，故本研究最终采用回流提取法。

表5 不同提取方法对狗牙根总黄酮含量的影响结果

Table 5 Effects of different extraction methods on the total flavonoids content of *Cynodon dactylon*

提取方法	药材量(g)	乙醇纯度(%)	料液比(g.mL^{-1})	提取时间(h)	提取温度(℃)	提取次数	吸光度(A)
冷浸法	1.00	80	1∶20	0.5	室温	1	0.027
回流法	1.00	80	1∶20	0.5	80	1	0.059
超声法	1.00	80	1∶20	0.5	80	1	0.044

3 结果

3.1 狗牙根总黄酮提取的单因素实验考察

准确称取药材粉末若干份（1.00 g/份），95%体积分数的乙醇溶液作为溶剂、1∶20 g·mL^{-1}作为料液比、80℃作为提取温度、0.5 h作为提取时间，提取一次作为提取次数，以上均作为基本条件。每次实验就提取时间、提取温度、乙醇体积分数、料液比中的一个因素作为变量，控制其他的基本条件不变，做单因素考察实验。每次提取后立即过滤，收集滤液，即为样品溶液，按照“2.1.2”项下方法测定吸光度，标准曲线法计算狗牙根样品中的总黄酮含量（每组重复3次计算平均值）。单因素试验考查结果为：乙醇体积分数对狗牙根总黄酮提取的影响见图2。总体来说，乙醇体积分数与狗牙根总黄酮含量呈正相关，即狗牙根总黄酮含量随乙醇体积分数的增加而增加。在本研究所考察的乙醇体积分数在40% ~ 80%中，当乙醇的体积分数为80%时，狗牙根总黄酮含量有最大值，最大值为3.90 mg·g^{-1}，由于考虑到极性过低，对极性较大的黄酮类物质提取易产生沉淀，因此选择乙醇提取浓度为80%，正交试验乙醇因素选择的三个水平分别为60%、70%、80%。

料液比对狗牙根总黄酮提取的影响：狗牙根总黄酮的含量随提取溶剂用量的增加呈现先稍微降低，后升高的规律（见图3）。在本研究所选取的1∶20 g·ml^{-1}、1∶30 g·mL^{-1}、1∶40 g·mL^{-1}、1∶50 g·mL^{-1}、1∶60 g·mL^{-1}五组料液比中，当料液比为1∶60 g·mL^{-1}时，实验提取的狗牙根总黄酮含量有最大值，最大值为8.63 mg·g^{-1}。因此本研究中正交试验料液比因素选择的三个水平分别为1∶40 g·mg^{-1}、1∶50 g·mg^{-1}和1∶60 g·mL^{-1}。

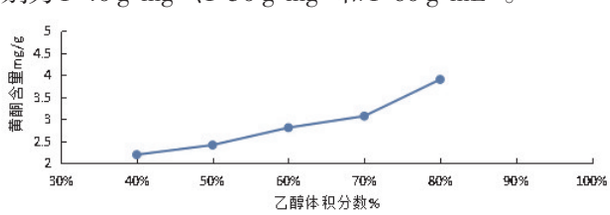


图2 乙醇体积分数对黄酮提取的影响

Figure 2 Effects of ethanol concentration on the yield of total flavonoids

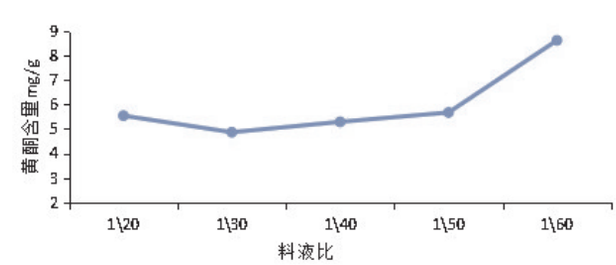


图3 料液比对黄酮提取的影响

Figure 3 Effects of solid-liquid ratio on the yield of total flavonoids

提取温度对狗牙根总黄酮提取的影响：当提取温度在60℃到90℃时，狗牙根总黄酮含量会随着提取温度的增加而呈上升趋势（见图4），说明在此过程中，随着温度的升高破坏了细胞壁，有利于狗牙根的

浸出。当提取温度90～100℃时，提取所得到的狗牙根总黄酮的含量反而呈下降趋势，有可能与温度过高导致部分黄酮的活性与结构改变，破坏了部分黄酮有关；当提取温度为90℃时，狗牙根总黄酮含量有最大值，最大值为5.61 mg.g^{-1}，因此本研究中正交试验提取温度因素选择的三个水平分别为80℃、90℃和100℃。

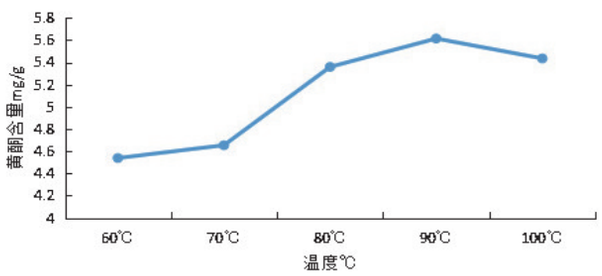


图4　温度对黄酮提取的影响

Figure 4　Effects of extraction temperature on the yield of total flavonoids

提取时间对狗牙根总黄酮提取的影响：当提取时间在0.5到1.5 h时，狗牙根总黄酮含量会随着提取时间的增加而下降（见图5），当时间在1.5 ～ 2.5 h时，狗牙根总黄酮含量呈上升趋势；但是当提取时间为0.5 h和2.5 h时，狗牙根总黄酮含量均有最大值5.56 mg.g^{-1}。本研究正交试验提取时间因素选择的三个水平分别为0.5 h、1 h和1.5 h。

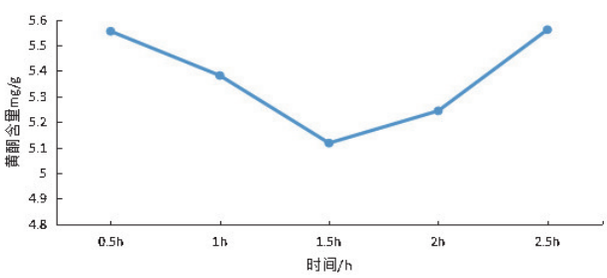


图5　时间对黄酮提取的影响

Figure5　Effects of extraction time on the yield of total flavonoids

3.2 狗牙根总黄酮提取工艺的正交实验

根据单因素考察结果，选取4因素三水平，进行正交试验（见表6），筛选狗牙根总黄酮的最佳提取工艺，考察提取时间、料液比、乙醇体积分数以及提取温度4个因素对狗牙根总黄酮提取的影响。最终以提取所得的狗牙根总黄酮含量为评价指标，以正交实验结果为依据，采用极差分析，来确定狗牙根总黄酮的最佳提取工艺条件。

表6　正交实验因素与水平表

Table 6　Factors and levels of orthogonal experiment

水平	因素			
	乙醇体积分数A（%）	料液比B（g·ml^{-1}）	浸提温度C（℃）	浸提时间D（h）
1	60	1∶40	80	0.5
2	70	1∶50	90	1
3	80	1∶60	100	1.5

根据四因素三水平正交实验结果可知（见表7），乙醇体积分数A、料液比B、提取温度C和提取时间D四个因素的极差分别为0.36、0.58、0.20和0.46。由此可知，对回流法提取狗牙根总黄酮提取效果的影响因素的影响大小依次为B > D > A > C，即料液比为该提取的最主要影响因素，其次为浸提时间，第三个影响因素为乙醇体积分数，最后为浸提温度。本研究得出的狗牙根总黄酮的最佳提取工艺为$A_3B_3C_3D_3$，即80%体积分数的乙醇，1∶60的料液比，浸提温度为100 ℃，浸提时间1.5 h。

表7　正交设计试验结果（n = 9）

Table 7　Results of orthogonal design test（n = 9）

组别	因素				吸光度A	黄酮浓度C	样品黄酮含量（mg·g^{-1}）
	A	B	C	D			
1	1	1	1	1	0.09	7.62	3.16
2	1	2	2	2	0.10	9.03	3.73
3	1	3	3	3	0.12	10.61	4.40
4	2	1	2	3	0.09	8.24	3.43
5	2	2	3	1	0.09	8.24	3.42
6	2	3	1	2	0.11	9.29	3.86
7	3	1	3	2	0.11	9.29	3.83
8	3	2	1	3	0.11	9.82	4.03
9	3	3	2	1	0.11	9.55	3.92
K1	3.76	3.47	3.68	3.50			
K2	3.57	3.72	3.69	3.81			
K3	3.93	4.06	3.88	3.95			
R	0.36	0.58	0.20	0.46			

3.3 验证性实验

为检验优选工艺的可靠性及稳定性，精密称取狗牙根药材全草粉末1.00 g，按正交实验筛选的最佳提取工艺条件进行验证性实验，重复6次取平均值。取验证性实验所得的样品溶液1.2 mL于10 mL刻度试管中，按照“2.1.2”项下方法，测定吸光度值并计算总黄酮含量。

按编号（1–6）验证性实验结果见表8，验证性实验所提取的狗牙根平均总黄酮含量为4.78 mg·g^{-1}，高于正交组合$A_1B_3C_3D_3$的总黄酮含量（4.40 mg·g^{-1}）；计算得出RSD%为2.18%，表示该提取方法合理且稳定可行，适用于狗牙根总黄酮的提取。

表8　验证性实验结果

Table 8　Results of verification test

项目	1	2	3	4	5	6
总黄酮含量（mg·g^{-1}）	4.67	4.81	4.87	4.80	4.68	4.86
平均值（mg·g^{-1}）			4.78			
RSD（%）			2.18			

4　讨论

在泸州市合江县的狗牙根总黄酮的提取中，料液比对其影响最大，浸提温度影响最小。通过单因素实

验和正交试验结果，可以得出狗牙根总黄酮的最佳提取方法为回流提取法，提取工艺为在80%体积分数的乙醇中，以1∶60的料液比，在100℃下回流提取1.5 h，本实验中在最佳提取工艺条件下提得的总黄酮含量最高为4.87 $mg\cdot g^{-1}$。本研究首次对狗牙根总黄酮含量和其提取工艺进行研究，为狗牙根质量标准研究提供了科学依据。

本研究采用回流提取法，用芦丁做标准品，采用$NaNO_2$-$Al(NO_3)_3$-NaOH显色法，显色后通过紫外可见分光光度计测定吸光度，以标准曲线法计算样品中的总黄酮含量。然后再依据黄酮含量作为指标，用单因素考察以及正交试验来筛选最佳提取工艺条件，方法简便可行，得到的工艺稳定可靠。但是在本次研究中只是对料液比，乙醇浓度，浸提时间和浸提温度等四个因素做了初步考察，尚未全面涵盖可能影响狗牙根总黄酮提取的其他因素。例如，采收时间、采收地点、粉碎度、提取溶剂以及提取次数等。今后还需对这些因素进行综合分析和深入研究。狗牙根作为来源广泛的民间草药，明确其药效物质基础，方能保证其临床用药的安全性、有效性。因此，今后还需对狗牙根中黄酮类化学成分进行分离、纯化，明确其药效有效成分，为其作为新药源的开发奠定基础。

5 结论

本实验所得出的狗牙根总黄酮的最佳提取工艺稳定可行，可用于狗牙根总黄酮的提取，为该药材质量标准研究提供了科学依据。

（利益冲突：无）

参 考 文 献

[1] 国家中医药管理局. 中华本草[M]. 上海: 上海科学技术出版社，1999.
[2] KARTHIK D，RAVIKUMAR S. A study on the protective effect of Cynodon dactylon leaves extract in diabetic rats[J]. Biomed Environ Sci，2011，24(2): 190-199.
[3] CHEN JB，ZONG JQ，GAO YZ，*et al*. Genetic variation of salinity tolerance in Chinese natural bermudagrass (Cynodon dactylon (L.) Pers.) germplasm resources[J]. Acta Agric Scand B Soil Plant Sci，2014，64(5): 416-424.
[4] 唐欣，向佐湘，苏鹏. 狗牙根研究进展[J]. 作物研究，2009，23(5): 383-386.
[5] 张卿，刘瑶，顾爱彤，等. 狗牙根改善胰岛素抵抗的活性成分研究[J]. 广东药科大学学报，2018，34(4): 452-456.
[6] 顾跃，严伟宾，徐庆国. 抗倒酯对草坪草狗牙根生长和质量的影响[J]. 中国草地学报，2019，41(1): 31-37.
[7] 章武，黄俊文，林金梅，等. 草坪草红丝病与粉斑病的研究进展[J]. 草业科学，2018，35(8): 1819-1828.
[8] WANG ML，ZHANG JX，GUO ZP，*et al*. Morphological variation in Cynodon dactylon (L.) Pers.，and its relationship with the environment along a longitudinal gradient[J]. Hereditas，2020，157(1): 4.
[9] 顾爱彤，李碧君，张卿，等. 狗牙根全草的化学成分分离鉴定[J]. 中国实验方剂学杂志，2018，24(14): 48-51.
[10] 李碧君，刘瑶，顾爱彤，等. 狗牙根乙酸乙酯部位化学成分研究[J]. 中国药学杂志，2017，52(19): 1675-1679.
[11] 梁秋明，顾爱彤，张丽，等. 狗牙根化学成分的研究[J]. 中成药，2020，42(3): 657-661.
[12] 贾庆超，孔欣欣. 模糊数学评价结合响应面法优化山楂黑蒜复合饮料[J]. 食品安全质量检测学报，2021，12(17): 6990-6998.
[13] 王秋阳，赵欣锐，王超，等. 大孔树脂纯化红松松仁膜衣黄酮的抗氧化活性研究[J]. 食品科技，2019，44(9): 223-227.
[14] 程秋月，郭菁，张成义. 黄酮类化合物药理作用的研究[J]. 北华大学学报(自然科学版)，2011，12(2): 180-183.
[15] 郭萌，张晴，闫丽萍，等. 黄酮类化合物为主要活性成分的单味药和复方中药及其药理作用[J]. 沈阳医学院学报，2018，20(6): 558-561，564.
[16] YANG PW，LU ZY，PAN Q，*et al*. MicroRNA-6809-5p mediates luteolin-induced anticancer effects against hepatoma by targeting flotillin 1[J]. Phytomedicine，2019，57: 18-29.
[17] ZHANG HQ，LIU P，DUAN JA，*et al*. Hierarchical extraction and simultaneous determination of flavones and triterpenes in different parts of Trichosanthes kirilowii Maxim. by ultra-high-performance liquid chromatography coupled with tandem mass spectrometry[J]. J Pharm Biomed Anal，2019，167: 114-122.
[18] 杨燕丽，李富娟，郭小英. 翡翠贻贝多糖对宫颈癌荷瘤裸鼠免疫及抗氧化能力和p53mRNA表达的影响[J]. 临床和实验医学杂志，2021，20(23): 2484-2488.
[19] 张澍田，刘萱. 绿茶对食管鳞癌的防治作用[J]. 实用医院临床杂志，2011，8(1): 5-7.
[20] 曹娅，胡源晖，张丹，等. 天然化合物抗白血病活性的研究进展[J]. 西南医科大学学报，2020，43(3): 300-305.
[21] 仲桢玉，杨小生. 葛根发酵液的总黄酮与抗氧化活性的研究[J]. 贵州医科大学学报，2017，42(12): 1379-1383.
[22] 李碧君，刘瑶，顾爱彤，等. 狗牙根的化学成分研究[J]. 中草药，2017，48(1): 62-66.
[23] 徐浪，梅菊，王玉，等. 苦荞黄酮提取及分离纯化工艺研究[J]. 农产品加工，2022(5): 34-38.
[24] 鲁宪坤，翟鑫源，李方红，等. 补骨脂总黄酮提取工艺的优化[J]. 中成药，2022，44(1): 193-197.
[25] 黄彪，韦航，李国良，等. 不同品种紫薯抗氧化物质及体外抗氧化活性比较[J]. 食品工业科技，2020，41(24): 226-231.
[26] 刘建祥，王瑞苓，李芋娇，等. 蓝莓叶黄酮提取条件的研究[J]. 北方园艺，2018(20): 125-130.

（2021-01-20 收稿，2022-07-01 修回）