文冠果叶总黄酮微波辅助酶提取工艺的优化及其抗氧化、抑菌活性

王慧芳¹, 赵飞燕², 刘勇军², 赵润柱³, 王 曼¹, 姚 英¹, 张恒慧³

(1. 太原工业学院化学与化工系, 山西 太原 030008; 2. 浑源一中化学组, 山西 大同 037400; 3. 太原工业学院环境与安全工程系, 山西 太原 030008)

摘要: 目的 优化文冠果叶总黄酮微波辅助酶提取工艺, 并考察其抗氧化、抑菌活性。方法 在单因素试验基础上, 以微波功率、微波时间、乙醇体积分数为影响因素, 总黄酮提取率为评价指标, 响应面法优化提取工艺。然后, 检测抗氧化活性和对金黄色葡萄球菌、大肠杆菌、枯草芽孢杆菌的抑制作用。结果 最佳条件为纤维素酶用量 0.20%, 料液比 1:20, 微波功率 600 W, 微波时间 6 min, 乙醇体积分数 70%, 提取率 9.90%。总黄酮对 DPPH·、ABTS· 的 IC₅₀ 值分别为 12.23、14.59 μg/mL, 略低于维生素 C, 但明显高于芦丁; 该成分对大肠杆菌的抑制作用最强, 其抑菌圈直径大于茶多酚和 95% 乙醇。结论 该方法稳定可靠, 可用于微波辅助酶提取抗氧化、抑菌活性良好的文冠果叶总黄酮。

关键词: 文冠果叶; 总黄酮; 微波辅助酶提取; 抗氧化活性; 抑菌活性; 响应面法

中图分类号: R284.1

文献标志码: A

文章编号: 1001-1528(2020)02-0290-07

doi: 10.3969/j.issn.1001-1528.2020.02.004

Microwave-assisted enzyme extraction process optimization and antioxidant, bacteriostasis activities of total flavonoids from *Xanthoceras sorbifolium* leaves

WANG Hui-fang¹, ZHAO Fei-yan², LIU Yong-jun², ZHAO Run-zhu³, WANG Man¹, YAO Ying¹, ZHANG Heng-hui³

(1. Department of Chemistry and Chemistry Engineering, Taiyuan Institute of Technology, Taiyuan 030008, China; 2. Chemistry Group, The First Middle School of Hunyuan, Datong 037400, China; 3. Department of Environment and Safety Engineering, Taiyuan Institute of Technology, Taiyuan 030008, China)

ABSTRACT: **AIM** To optimize the microwave-assisted enzyme extraction process for the total flavonoids from *Xanthoceras sorbifolia* Bunge leaves, and to investigate their antioxidant, bacteriostasis activities. **METHODS** With microwave power, microwave time and ethanol concentration as influencing factors, the extraction rate of total flavonoids as an evaluation index, the extraction process was optimized by response surface method on the basis of single factor test. Subsequently, the antioxidant activity and inhibitory effects on *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Bacillus subtilis* were detected. **RESULTS** The optimal conditions were determined to be 0.20% for cellulase consumption, 1:20 for solid-liquid ratio, 600 W for microwave power, 6 min for microwave time, and 70% for ethanol concentration, the extraction rate was 9.90%. The IC₅₀ values of total flavonoids on DPPH·, ABTS· were 12.23, 14.59 μg/mL, respectively, which were slightly lower than those of vitamin C, but obviously higher than those of rutin; this component demonstrated the strongest inhibitory effect on *Escherichia coli*, whose antibacterial circle diameter was bigger than that of tea polyphenol and 95% ethanol. **CONCLUSION** This stable and reliable method can be used for the microwave-assisted enzyme extraction of the total flavonoids having good antioxidant and bacteriostasis activities from *X. sorbifolia* leaves.

KEY WORDS: *Xanthoceras sorbifolia* Bunge leaves; total flavonoids; microwave-assisted enzyme extraction;

收稿日期: 2019-05-08

基金项目: 山西省应用基础研究计划 (201801D221280); 山西省科技厅农业攻关项目 (20140311007-5); 太原工业学院科技开发项目 (LH2017003); 太原工业学院青年学科带头人支持计划 (2017)

作者简介: 王慧芳 (1977—), 女, 硕士, 副教授, 研究方向为应用化学。E-mail: huifang20012010@163.com

antioxidant activity; bacteriostasis activity; response surface method

黄酮又称黄碱素,是一种以2-苯基色原酮为基本结构的化合物,常在植物体内与糖结合成苷^[1],大多数植物都含有此类化合物,具有调节动物激素、防治心血管疾病、提高机体免疫力、促进机体健康等功效^[2-3],关于其抗氧化、抑菌活性的报道也很多^[4-6]。课题组前期采用HP-20型大孔树脂对提取得到的陈皮黄酮进行分离提纯后,测定它对3种革兰氏菌的抑制作用,发现对大肠杆菌的效果最佳^[7]。

文冠果 *Xanthoceras sorbifolia* Bunge 为无患子科文冠果属木本落叶小乔木或灌木,原产于我国西北部,是一种食用油料树种,寿命可超过200年,具有很高的经济价值^[8-10],其叶中也含有大量黄酮类化合物^[11]。目前,对文冠果的研究主要集中在育苗、种植^[12-13]、不同部位挥发油提取、理化性质、成分分析等方面^[14-18],而关于黄酮提取及其生物活性方面的报道相对较少。因此,本实验进行微波辅助酶提取文冠果叶总黄酮,通过响应面法优化该成分提取工艺,并对其抗氧化、抑菌活性进行初步探索,旨在为油料作物多重开发提供理论依据。

1 材料

文冠果叶采自山东,经山西中医药大学中医学院裴香萍副教授鉴定为正品。芦丁对照品(纯度>98%)购自上海金穗生物科技有限公司;纤维素酶(活性1.5万U/g)购自上海如吉生物科技有限公司;茶多酚(纯度>98%)购自上海今品化学技术有限公司。DPPH·、ABTS·购自美国Sigma公司;大肠杆菌、枯草芽孢杆菌、金黄色葡萄球菌株购自中国普通微生物菌种保藏管理中心。VIS-7220型光度计购自上海棱光科技有限公司;XH-10A型微波仪购自北京祥鹄科技有限公司;DHP-9082型恒温培养箱购自上海雷韵实验仪器有限公司;HB-10型旋蒸仪购自德国IKA公司;FA-2104型数显电子分析天平购自上海舜宇恒平科学仪器有限公司。氢氧化钠、氯化钠、亚硝酸钠、硝酸铝、无水乙醇、磷酸、浓盐酸等均为分析纯,购自天津化学试剂有限公司。

2 方法

2.1 总黄酮提取 采用微波辅助酶法。将文冠果叶烘干、粉碎、过60目筛后,称取0.5g粉末于50 mL圆底烧瓶中,加入3 mL磷酸盐缓冲液(pH=4.5)和适量纤维素酶,55℃下水浴酶解

60 min后沸水浴灭酶,冷却10 min,加入适量乙醇室温浸泡0.5 h,微波提取,2 000 r/min离心10 min,取上层清液,洗涤后合并滤液,抽滤,浓缩,即得提取物。

2.2 总黄酮含量测定

2.2.1 线性关系考察^[19] 以吸光度为纵坐标(A),溶液质量浓度为横坐标(X)进行回归,得方程为 $A = 8.517 0X + 0.006 2$ ($R^2 = 0.999 2$),在0~70 μg/mL范围内线性关系良好。

2.2.2 提取率测定 公式为提取率=(黄酮含量/样品粉末量)×100%。

2.2.3 重复性试验^[20] 配制0.1 mg/mL芦丁对照品溶液,于0、2、4、6、8、10 h测定吸光度,测得其RSD为0.198%,表明该方法重复性良好。

2.2.4 精密度试验 取0.1 mg/L芦丁对照品溶液,连续测定吸光度6次,测得其RSD为0.346%,表明仪器精密度良好。

2.2.5 加样回收率试验 取0.050 6 mg/L提取液10 mL,共9份,置于50 mL量瓶中,加入0.063 2、0.050 6、0.042 2 mg/L芦丁对照品溶液10 mL,共3份,75%乙醇定容,测定吸光度,计算加样回收率。结果,3份溶液回收率分别为98.7%、99.5%、101.0%,RSD为1.58%。

2.3 单因素试验

2.3.1 微波功率 固定样品粉末用量0.5 g,纤维素酶用量0.15%,乙醇体积分数60%,料液比1:10,微波提取时间3 min,选择微波功率400、500、600、700、800 W,按“2.1”项下方法提取。

2.3.2 微波提取时间 固定样品粉末用量0.5 g,纤维素酶用量0.15%,乙醇体积分数60%,料液比1:10,微波功率600 W,选择微波时间1、3、5、7、9 min,按“2.1”项下方法提取。

2.3.3 料液比 固定样品粉末用量0.5 g,纤维素酶用量0.15%,乙醇体积分数60%,微波功率600 W,微波提取时间5 min,选择料液比1:10、1:15、1:20、1:25、1:30,按“2.1”项下方法提取。

2.3.4 乙醇体积分数 固定样品粉末用量0.5 g,纤维素酶用量0.15%,料液比1:20,微波功率600 W,微波提取时间5 min,选择乙醇体积分数50%、60%、70%、80%、90%,按“2.1”项下方法提取。

2.3.5 纤维素酶用量 固定样品粉末用量 0.5 g, 乙醇体积分数 70%, 料液比 1 : 20, 微波功率 600 W, 微波提取时间 5 min, 选择纤维素酶用量 0.05%、0.10%、0.15%、0.20%、0.25%, 按“2.1”项下方法提取。

2.4 响应面法优化 在单因素试验基础上, 选择微波功率 (A)、微波提取时间 (B)、乙醇体积分数 (C) 作为影响因素进行试验, 因素水平见表 1。

表 1 因素水平

Tab. 1 Factors and levels

水平	A 微波功率/W	B 微波提取时间/min	C 乙醇/%
-1	500	2	60
0	600	6	70
1	700	10	80

2.5 抗氧化活性测定

2.5.1 药液配制 将最优条件下得到的提取液在 50~55 °C 下浓缩至 2.01 mg/mL, 75% 乙醇依次稀释至 5.00、10.00、15.00、20.00、25.00 μg/mL, 并配制相同质量浓度维生素 C、芦丁溶液作为对照, 冷藏备用。

2.5.2 对 DPPH· 的清除能力^[20] 公式为清除

率 = $\frac{1 - (A_i - A_j)}{A_0} \times 100\%$, 其中 A_i 为样品组 (提取液+DPPH 溶液) 吸光度, A_j 为等体积无水乙醇代替 DPPH 溶液的对照组吸光度, A_0 为等体积蒸馏水代替提取液的空白组吸光度。

2.5.3 对 ABTS· 的清除能力(对文献 [20] 稍作改动) 精密称取 0.040 g ABTS 加入 1.0 mg/mL $K_2S_2O_8$ 溶液 8.0 mL, 密封避光反应 16 h, 置于 250 mL 量瓶中, 加入 32 mL 去离子水, 95% 乙醇定容, 静置 10 h, 作为 ABTS 工作液。然后, 精密吸取不同质量浓度提取液 (或芦丁、维生素溶液) 各 0.50 mL, 加入 0.80 mL ABTS 工作液, 再加入 2.70 mL 80% 乙醇, 反应 6 min 后在 734 nm 波长处测定吸光度, 参比液为 75% 乙醇与无水乙醇 (1 : 1) 混合液, 按“2.5.2”项下公式计算。

2.6 抑菌活性测定

2.6.1 被测菌种扩培 参考文献 [21] 方法进行扩培。

2.6.2 抑菌实验 将提取液按“2.5.1”项下方法浓缩后, 室温下晾干冷藏。50% 乙醇配制总黄酮粗提物、茶多酚供试液, 药液质量浓度分别为 8.56、4.28、2.14 mg/mL。滤纸片法^[22] 测定粗提物、茶多酚抑菌活性, 方法为将培养基在 37 °C 恒

温箱中保温 48 h 后, 测定抑菌圈直径 (十字交叉测 2 次, 取平均值), 公式为抑菌圈直径 = 抑菌圈外径 - 滤纸片直径。

3 结果

3.1 单因素试验

3.1.1 微波功率^[23] 图 1 显示, 总黄酮提取率随着微波功率升高而先增后减, 其原因是微波离子传导作用可随其功率增大而加强, 促使文冠果叶细胞膜膨化、破裂, 总黄酮, 于功率为 600 W 时全部溶出; 继续增大微波功率时, 不但损耗能量, 而且过剩的热效应会促使总黄酮分解^[24], 故确定微波功率为 600 W。

图 1 微波功率对总黄酮提取率的影响

Fig. 1 Effect of microwave power on the extraction rate of total flavonoids

3.1.2 微波提取时间 图 2 显示, 当微波提取时间小于 5 min 时, 总黄酮提取率随着时间延长热效应逐渐加强, 释放量随之增大, 在 5 min 时最高, 表明该成分已完全释放; 在 7 min 时, 提取率略有下降; 在 9 min 时, 提取率迅速下降, 主要是由于过量热效应可使总黄酮分解, 故确定微波时间为 5 min。

图 2 微波提取时间对总黄酮提取率的影响

Fig. 2 Effect of microwave time on the extraction rate of total flavonoids

3.1.3 料液比 图 3 显示, 随着料液比中乙醇用

量增加,总黄酮逐渐被溶出,提取率逐渐增加;但其过量时,反而会因杂质溶出而导致总黄酮提取率下降,故确定料液比为1:20。

图3 料液比对总黄酮提取率的影响

Fig. 3 Effect of solid-liquid ratio on the extraction rate of total flavonoids

3.1.4 乙醇体积分数 图4显示,当乙醇体积分数小于70%时,总黄酮提取率随着其升高而增加,并在70%时达到溶解平衡,提取率最高;大于70%时,过量渗透压会将文冠果叶中杂质溶出,导致提取率反而下降,故确定乙醇体积分数为70%。

图4 乙醇体积分数对总黄酮提取率的影响

Fig. 4 Effect of ethanol concentration on the extraction rate of total flavonoids

3.1.5 纤维素酶用量^[25] 图5显示,当纤维素酶用量在0.05%~0.20%之间时,随着文冠果叶细胞壁被逐渐破坏,总黄酮被逐渐释放出,其提取率也随之增加;在0.20%~0.25%之间时,提取率却在下降,这是因为过度破坏细胞壁会增加杂质溶出,故确定纤维素酶用量为0.20%。

图5 纤维素酶用量对总黄酮提取率的影响

Fig. 5 Effect of cellulase consumption on the extraction rate of total flavonoids

表2 试验设计与结果

Tab. 2 Design and results of tests

试验号	A 微波功率	B 微波提取时间	C 乙醇体积分数	Y 总黄酮提取率/%
1	0	0	0	9.916
2	0	1	-1	7.582
3	0	-1	-1	6.734
4	1	0	1	6.912
5	0	0	0	9.914
6	1	-1	0	5.020
7	0	0	0	9.895
8	1	1	0	5.892
9	0	0	0	9.892
10	0	1	1	7.802
11	1	0	-1	6.564
12	0	-1	1	6.731
13	0	0	0	9.834
14	-1	1	0	6.281
15	-1	0	-1	7.175
16	-1	-1	0	5.222
17	-1	0	1	6.723

方差分析见表3。由此可知,模型 $P < 0.0001$,表明模型显著;失拟项 $P > 0.05$,表明模型失拟性不显著; R^2 为0.9996,表明模型回归显著,准确度高; R^2_{Adj} 为0.9990,表明总黄酮提取率与各因素之间相关度较高;CV仅为0.72%,表明模型可靠性高;模型 F 值与变量对响应值影响呈正比^[26],故各因素影响程度依次为微波提取时间(B) > 微波功率(A) > 乙醇体积分数(C),与单因素试验结果一致;两因素相互作用影响程度依次为 $AC > BC > AB$ 。响应面分析见图6。

3.3 验证试验 最优工艺为纤维素酶用量0.20%,乙醇体积分数70.10%,料液比1:20,微波功率597.19W,提取时间6.49min,总黄酮提取率为9.92%,结合实际生产操作,将其修正为微波功率600W,提取时间6min,乙醇体积分数70%,其他条件不变。然后,进行3批验证试

3.2 响应面法优化 通过 Design-Expert 8.0.5 软件,以总黄酮提取率为评价指标(Y)进行优化,结果见表2,回归方程为 $Y = 9.86 - 0.14A + 0.46B - 0.065C - 0.167AB + 0.34AC - 0.063BC - 0.21A^2 - 0.28B^2 - 0.21C^2$ 。

注：左图均为三维曲面图，右图均为等高线图。

图 6 各因素响应面图

Fig. 6 Response surface plots for various factors

表 3 方差分析

Tab. 3 Analysis of variance

来源	离均差平方和	自由度	均方	F 值	P 值
模型	47.15	9	5.24	1 755.79	<0.000 1
A	0.13	1	0.13	42.99	0.000 3
B	1.85	1	1.85	621.00	<0.000 1
C	1.60×10^{-3}	1	1.60×10^{-3}	0.53	0.488 3
AB	8.74×10^{-3}	1	8.74×10^{-3}	2.93	0.130 7
AC	0.16	1	0.16	53.63	0.000 2
BC	0.012	1	0.026	4.17	0.080 6
A ²	22.81	1	22.81	7 645.67	<0.000 1
B ²	16.16	1	16.16	5 415.04	<0.000 1
C ²	2.18	1	2.18	729.76	<0.000 1
残差	0.021	7	2.98×10^{-3}	—	—
失拟性	0.016	3	5.50×10^{-3}	4.97	0.077 7
纯误差	4.42	4	1.10×10^{-3}	—	—
总和	47.17×10^{-3}	16	—	—	—
CV/%	0.72	—	—	—	—
R ²	0.999 6	—	—	—	—
R ² _{adj}	0.999 0	—	—	—	—

验，测得总黄酮平均提取率为 9.90%，接近预测值 9.92%，表明模型拟合情况良好。

3.4 抗氧化活性

3.4.1 对 DPPH· 的清除能力 图7显示，各样品对 DPPH· 的清除能力依次为维生素 C>总黄酮>芦丁，并均在被测质量浓度范围内呈良好的线性关系，R² 在 0.959 6~0.982 2 之间，IC₅₀ 分别为 3.82、12.23、49.36 μg/mL，其中维生素 C、总黄酮清除能力均随着其质量浓度升高而增强，而芦丁受其影响相对较小。另外，总黄酮质量浓度为 15.00 μg/mL 时清除能力较小，可能是由于实验误差所致，需作进一步研究。

3.4.2 对 ABTS· 的清除能力 图8显示，各样品随着其质量浓度升高对 ABTS· 的清除能力也随之加强，其中总黄酮在低质量浓度下与维生素 C 差距

图7 各样品对 DPPH· 的清除能力

Fig. 7 Scavenging abilities of various samples on DPPH·

较大, 而与芦丁接近, 但进一步升高时逐渐接近维生素 C, 同时三者均在被测质量浓度范围内呈良好的线性关系, R^2 在 0.972 0~0.984 8 之间, IC_{50} 分别为 1.59、14.59、42.90 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 。与 DPPH· 比较, 总黄酮对 ABTS· 的清除能力相对较弱, 质量浓度均为 25.00 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 时低了 2.60%。

3.5 抑菌活性 表 4 显示, 总黄酮、茶多酚对 3 种革兰氏菌的抑制作用随着其质量浓度升高而加强, 程度依次为大肠杆菌>金黄色葡萄球菌>枯草

图8 各样品对 ABTS· 的清除能力

Fig. 8 Scavenging abilities of various samples on ABTS·

芽孢杆菌, 其中总黄酮质量浓度为 8.56、4.28、2.14 mg/mL 时抑菌圈直径分别比茶多酚大了 1.12、0.38、0.06 mm, 比 95% 乙醇大了 0.42、1.04、0.80 mm; 对金黄色葡萄球菌的抑制作用相对较弱, 仅其质量浓度为 8.56 mg/mL 时抑菌圈直径比茶多酚大 0.30 mm, 但整体上仍比 95% 乙醇强; 在质量浓度 8.56 mg/mL 下对枯草芽孢杆菌的抑制作用比茶多酚强, 而在 8.56、4.28 mg/mL 下强于 95% 乙醇。

表 4 各样品抑菌活性测定结果 ($\bar{x}\pm s$)

Tab. 4 Results of bacteriostasis activity determination of various samples ($\bar{x}\pm s$)

样品	质量浓度/($\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$)	抑菌圈直径/mm		
		大肠杆菌	金黄色葡萄球菌	枯草芽孢杆菌
总黄酮	8.56	7.72 $\pm$ 0.43	6.70 $\pm$ 0.24	6.60 $\pm$ 0.39
	4.28	6.48 $\pm$ 0.28	5.80 $\pm$ 0.19	5.50 $\pm$ 0.20
	2.14	5.90 $\pm$ 0.11	5.08 $\pm$ 0.15	5.06 $\pm$ 0.14
茶多酚	8.56	6.60 $\pm$ 0.21	6.40 $\pm$ 0.31	6.22 $\pm$ 0.28
	4.28	6.10 $\pm$ 0.16	6.02 $\pm$ 0.18	5.58 $\pm$ 0.22
	2.14	5.84 $\pm$ 0.13	5.44 $\pm$ 0.07	5.04 $\pm$ 0.16
95%乙醇	8.56	7.30 $\pm$ 0.35	6.62 $\pm$ 0.23	6.10 $\pm$ 0.33
	4.28	5.44 $\pm$ 0.16	5.52 $\pm$ 0.18	5.24 $\pm$ 0.15
	2.14	5.10 $\pm$ 0.10	5.04 $\pm$ 0.07	5.06 $\pm$ 0.13
空白	8.56	—	—	—
	4.28	—	—	—
	2.14	—	—	—

4 结论

本实验所得最优文冠果叶总黄酮微波辅助酶提取工艺为磷酸缓冲液 (pH=4.5) 3 mL, 纤维素酶用量 0.20%, 乙醇体积分数 70%, 料液比 1:20, 微波功率 600 W, 提取时间 6 min, 总黄酮提取率为 9.90%, 接近于预测值, 表明工艺准确可靠, 比郝倩^[11]等报道的超声法提高了 2.44 倍。总黄酮提取液对 DPPH·、ABTS· 均有较强的清除能力, 对前者作用更强, 虽然略低于维生素 C, 但明显高于芦丁; 对 3 种革兰氏菌均有较强的抑制作用, 程

度依次为大肠杆菌>金黄色葡萄球菌>枯草芽孢杆菌, 并且对大肠杆菌的抑菌活性明显强于茶多酚, 而对后两者则相对较弱。

综上所述, 文冠果叶总黄酮不但具有较强的抗氧化能力, 还有着良好的抑菌活性 (尤其是对大肠杆菌), 表明该植物可作为天然抗氧化剂和抑菌剂应用于食品、保健品等行业, 开发前景广阔。

参考文献:

[1] 王慧芳, 邵圣娟, 辛先荣, 等. 马铃薯皮中黄酮类物质的提

- 取及其抑菌活性研究[J]. 中北大学学报(自然科学版), 2017, 38(6): 660-665.
- [2] Lin M F, Zhang J J, Chen X Y. Bioactive flavonoids in *Moringa oleifera* and their health-promoting properties [J]. *J Funct Foods*, 2018, 47: 469-479.
- [3] Perez-Vizcaino F, Fraga C G. Research trends in flavonoids and health[J]. *Arch Biochem Biophys*, 2018, 646: 107-112.
- [4] Formagio A S N, Ramos D D, Vieira M C, et al. Phenolic compounds of *Hibiscus sabdariffa* and influence of organic residues on its antioxidant and antitumoral properties [J]. *Braz J Biol*, 2015, 75(1): 69-76.
- [5] 张美娜. 提取工艺对山茶油活性成分及抑菌效果的影响[J]. 食品与机械, 2019, 35(1): 177-180.
- [6] 李 芳, 魏 云, 陈艳杰. 铁皮石斛茎、叶、花中黄酮含量及其体外抗氧化活性研究[J]. 中医学报, 2019, 34(5): 1020-1023.
- [7] 王慧芳, 苏淑云, 邵圣娟, 等. 大孔树脂分离纯化陈皮黄酮工艺及其抑菌活性[J]. 中成药, 2018, 40(12): 2667-2672.
- [8] Ruan C J, Yan R, Wang B X, et al. The importance of yellow horn (*Xanthoceras sorbifolia*) for restoration of arid habitats and production of bioactive seed oils [J]. *Ecol Eng*, 2017, 99: 504-512.
- [9] Shen Z, Zhang K Q, Ma L Y, et al. Analysis of the genetic relationships and diversity among 11 populations of *Xanthoceras sorbifolia* using phenotypic and microsatellite marker data [J]. *Electron J Biotechn*, 2017, 26: 33-39.
- [10] Shen Z, Zhang K Q, Ao Y, et al. Evaluation of biodiesel from *Xanthoceras sorbifolia* Bunge seed kernel oil from 13 areas in China [J]. *J Forestry Res*, 2019, 30(3): 869-877.
- [11] 郝 倩, 段力歆, 马挺军, 等. 超声辅助提取文冠果叶总黄酮的工艺研究[J]. 食品工业科技, 2013, 34(16): 295-300.
- [12] 马 剑, 刘贤德, 孟好军, 等. 水分胁迫对文冠果幼苗生长及生理特性的影响[J]. 干旱区资源与环境, 2018, 32(1): 128-132.
- [13] 周庆源, 郑元润, 来利明, 等. 文冠果有性生殖特征的研究[J]. 西北植物学报, 2017, 37(1): 14-22.
- [14] Wang D, Su D, Yu B, et al. Novel anti-tumour barrigenol-like triterpenoids from the husks of *Xanthoceras sorbifolia* Bunge and their three dimensional quantitative structure activity relationships analysis [J]. *Fitoterapia*, 2017, 116: 51-60.
- [15] Ji X F, Chi T Y, Liu P, et al. The total triterpenoid saponins of *Xanthoceras sorbifolia* improve learning and memory impairments through against oxidative stress and synaptic damage [J]. *Phyto-medicine*, 2017, 25: 15-24.
- [16] Ling J, Wang N, Wang S, et al. Determination and pharmacokinetics of WGA in rat plasma by LC-MS after oral administration of *Xanthoceras sorbifolia* Bunge extract [J]. *J Chromatogr Sci*, 2018, 56(1): 68-73.
- [17] Zhang Y, Ma J N, Ma C L, et al. Simultaneous quantification of ten constituents of *Xanthoceras sorbifolia* Bunge using UHPLC-MS methods and evaluation of their radical scavenging, DNA scission protective, and α -glucosidase inhibitory activities [J]. *Chin J Nat Med*, 2015, 13(11): 873-880.
- [18] Yang N, Jin Y M, Li D D, et al. Development of a series-parallel reaction system for rapid aqueous extraction of seed oil from yellow horn at mild condition [J]. *Food Bioprod Process*, 2017, 102: 144-152.
- [19] 李彩霞, 高海宁, 焦 扬, 等. “黑美人”土豆黄酮提取及抗氧化活性[J]. 食品科学, 2013, 34(4): 88-93.
- [20] 孟戎茜, 邵圣娟, 王慧芳. 卡维地洛滴丸的制备工艺与表征[J]. 化工进展, 2019, 38(4): 1887-1893.
- [21] 王慧芳, 邵圣娟, 王 曼, 等. 陈皮总黄酮提取及抑菌活性初探[J]. 食品工业科技, 2018, 39(8): 130-135.
- [22] 董爱君, 刘华臣, 刘 冰, 等. 肉桂酸薄荷酯的合成及抑菌活性研究[J]. 食品科技, 2017, 42(5): 253-256.
- [23] 陈 烨, 赵永钦, 梅紫薇, 等. 浙贝母花总生物碱微波提取工艺的优化[J]. 中成药, 2018, 40(5): 1074-1077.
- [24] Alara O R, Abdurahman N H, Olalere O A. Optimization of microwave-assisted extraction of flavonoids and antioxidants from *Vernonia amygdalina* leaf using response surface methodology [J]. *Food Bioprod Process*, 2018, 107: 36-48.
- [25] 黎 英, 陈雪梅, 严月萍, 等. 超声波辅助酶法提取红腰豆多糖工艺优化[J]. 农业工程学报, 2015, 31(15): 293-301.
- [26] 宋佳敏, 王鸿飞, 孙 朦, 等. 响应面法优化金蝉花多糖提取工艺及抗氧化活性分析[J]. 食品科学, 2018, 39(4): 275-281.