

离子液体超声辅助提取桑葚中原花青素

张喜峰^{1,2}, 何倩¹, 张斌¹, 王明卉¹, 罗光宏^{3*}

¹河西学院农业与生物技术学院; ²甘肃省河西走廊特色资源利用重点实验室;

³河西学院凯源生物技术开发中心, 甘肃省微藻工程技术研究中心, 张掖 734000

摘要: 采用离子液体超声辅助提取桑葚中原花青素, 在单因素实验基础上, 采用响应面优化 [Bmim]Cl (1-丁基-3-甲基咪唑氯) 浓度、料液比、超声功率、超声时间对桑葚中原花青素得率的影响, 利用扫描电镜分析了该技术提取效果较好的原因。结果表明, 桑葚中原花青素的最佳提取工艺为: [Bmim]Cl 浓度为 0.73 mol/L、料液比 1:21 (g/mL)、超声功率 188 W、超声时间 11 min, 此条件下原花青素得率可达 3.51%, 与模型预测值接近。扫描电镜观察发现, 离子液体超声对桑葚粉末微观结构破坏影响较大。

关键词: 离子液体; 原花青素; 桑葚; 扫描电镜

中图分类号: TS201.2

文献标识码: A

DOI: 10.16333/j.1001-6880.2017.6.011

Ionic Liquid Based Ultrasonic-assisted Extraction of Procyanidins from Mulberry

ZHANG Xi-feng^{1,2}, HE Qian¹, ZHANG Bin¹, WANG Ming-hui¹, LUO Guang-hong^{3*}

¹College of Agriculture and Biotechnology, Hexi University; ²Key Laboratory of Hexi Corridor Resources

Utilization of Gansu; ³Kaiyuan Bio-Tech Development Center, Hexi University, Zhangye 734000, China

Abstract: An ultrasonic-assisted extraction method was developed for the extraction of procyanidins from Mulberry with ionic liquid solution as extracting agent. The extraction parameters ([Bmim]Cl concentration, solid to solvent ratio, ultrasonic power, ultrasonic time) were optimized by single-factor method and response surface methodology based on Box-Behnken design. The reasons for high efficiency of this extraction technology were analyzed by scanning electron microscope (SEM). The optimal extraction conditions were: the concentration of [Bmim]Cl of 0.73 mol/L, solid to solvent ratio of 1:21 (g/mL), ultrasonic power of 188 W, and ultrasonic time of 11 min. The extraction yield of procyanidins was 3.51%, which was well in close agreement with the value predicted by the model. The microcosmic structures of powders of Mulberry after being extracted by ionic liquid based ultrasonic-assisted approach were seriously destroyed from SEM analysis.

Key words: ionic liquid; procyanidins; mulberry; scanning electron microscope

桑葚为落叶乔木桑树的果实, 为聚花果。现代研究表明桑葚已被广泛应用于食品、医药行业, 如桑葚酒、桑葚茶及桑葚冲剂等^[1]。桑葚含有黄酮、蛋白质、多糖、游离酸、白藜芦醇等营养成分^[2-4]。原花青素是桑葚中主要营养成分之一, 具有护肝、抗肿瘤、抗氧化、预防动脉硬化等作用^[5-7]。

包立军^[8]采用超声提取桑葚中原花青素, 在提取温度为 63 °C, 料液比为 1:46, 提取时间为 36

min, 桑葚原花青素得率仅为 0.983%; 袁玲等^[9]在超声功率 315 W, 液料比 60:1 (mL/g), 提取时间 12 min 条件下, 桑葚原花青素的提取值仅为 496.29 μg/g。上述方法存在乙醇使用量大、易挥发、提取温度较高且得率较低; 而离子液体具有稳定性好、不挥发、便于重复利用的特点; 将离子液体作为浸提试剂, 对提取成分具有良好选择溶解性, 兼有高效提取和预浓缩作用, 是一种极具研发价值的提取工艺技术。

本研究采用离子液体超声波辅助提取桑葚中原花青素, 在单因素实验的基础上, 采用响应面优化桑葚原花青素提取条件, 并与传统方法进行了比较, 利用扫描电镜对不同方法的提取效果进行了分析, 可

收稿日期: 2016-07-14 接受日期: 2016-11-01

基金项目: 甘肃省中小企业创新基金 (1047GCCG001); 河西学院科研创新与应用校长基金 (XZ2014-29); 国家级大学生创新创业训练计划 (201510740005); 甘肃省河西走廊特色资源利用省级重点实验室资助 (XZ1607)

* 通信作者 E-mail: luoguanghong@163.com

为桑葚原花青素高效提取提供理论依据。

1 材料与仪器

1.1 材料与试剂

桑葚采自甘肃张掖河西学院校园内,经罗光宏教授鉴定为桑科桑属多年生木本植物桑树的果实;50℃烘干至恒重,粉碎机粉碎,置于干燥器中备用。

儿茶素标准品(纯度≥99%),上海国药集团化学试剂有限公司;[Bmim]BF₄(1-丁基-3-甲基咪唑四氟硼酸盐)、[Bmim]Cl(1-正丁基-3-甲基咪唑氯)、[Bmim]Br(溴化1-丁基-3-甲基咪唑)兰州化学物理研究所;香草醛、浓盐酸、甲醇均为分析纯。

1.2 仪器与设备

XO-SM50 超声波-微波反应系统:南京先欧仪器制造有限公司;722 型分光光度计:上海光谱仪器有限公司;Quanta 450 场发射扫描电子显微镜:美国 FEI。

2 实验方法

2.1 原花青素不同提取试剂的筛选

取水、0.25 mol/L [Bmim]BF₄、0.25 mol/L [Bmim]Cl、0.25 mol/L [Bmim]Br 为溶剂,分别准确称取 1 g 桑葚粉末,以 1:20(g/mL)的料液比加入上述 4 份提取溶剂中,在超声功率 200 W、超声时间 10 min 条件下进行提取,提取后进行过滤,得桑葚原花青素粗提液,测定和计算原花青素得率,筛选最佳提取溶剂。

2.2 原花青素提取率的测定

原花青素含量的测定采用香草醛-浓盐酸法^[10];采用 60% 乙醇溶液配制 1 mg/mL 儿茶素标准液,采用 60% 乙醇稀释儿茶素浓度分别为 0、0.1、0.15、0.2、0.25、0.3 mg/mL,各取 1 mL,分别加入 2.5 mL 1% 香草醛-乙醇溶液,2.5 mL 浓盐酸,充分混匀后,在 500 nm 处测定其吸光值,绘制标曲。得到回归方程为: $y = 3.602x + 0.019$, $R^2 = 0.9975$ 。其中 y 为吸光值, x 为儿茶素浓度(mg/mL)。

$$\text{原花青素得率/\%} = \frac{\text{桑葚提取液中原花青素含量} \times \text{提取液体积}}{\text{桑葚粉末质量}} \times 100\%$$

2.3 超声提取工艺优化

2.3.1 单因素实验

固定桑葚与[Bmim]Cl料液比 1:20(g/mL)、超声功率 200 W、超声时间 10 min,研究不同[Bmim]

Cl 浓度(0.25、0.5、0.75、1、1.25 mol/L)对原花青素提取率的影响;固定[Bmim]Cl浓度为 0.75 mol/L、超声功率 200 W、超声时间 10 min,研究不同料液比(1:10、1:15、1:20、1:25、1:30)对原花青素提取率的影响;固定桑葚与[Bmim]Cl料液比 1:20(g/mL)、超声时间 10 min,研究不同超声功率(100、200、300、400、500 W)对原花青素提取率的影响;固定[Bmim]Cl浓度为 0.75 mol/L、超声功率 200 W、研究超声时间(5、10、15、20、25 min)对原花青素得率的影响。

2.3.2 响应面设计

在单因素实验基础上,采用响应面优化实验考察[Bmim]Cl浓度、料液比、超声功率、超声时间对桑葚原花青素得率的影响,确定最优工艺条件。

2.4 不同提取方法比较

将离子液体辅助提取桑葚原花青素方法与水浴提取法、有机溶剂超声提取法进行比较。

2.4.1 水浴提取法

称取桑葚粉末 1 g,加 70% 乙醇溶液 21 mL,水浴温度 60℃,提取 60 min 后,抽滤,按照 1.3.2 方法测定吸光度并计算得率。

2.4.2 有机溶剂超声提取法

称取桑葚粉末 1 g,按照 1:21(g/mL)料液比加入 70% 乙醇、超声功率 188 W、超声时间 11 min,测定原花青素的得率。

2.5 电镜扫描

将不同方法处理后的桑葚粉末进行干燥,用扫描电子显微镜观察样品组织结构。

3 结果与分析

3.1 单因素实验结果

3.1.1 不同类型离子液体对桑葚原花青素得率的影响

取水、0.25 mol/L [Bmim]BF₄、0.25 mol/L [Bmim]Cl、0.25 mol/L [Bmim]Br 为溶剂,分别准确称取 1 g 桑葚粉末,以 1:20(g/mL)的料液比加入上述 4 份提取溶剂中,在超声功率 200 W、超声时间 10 min 条件下进行提取,提取后进行过滤,得桑葚原花青素粗提液,测定和计算原花青素提取率,研究不同类型离子液体对桑葚原花青素得率的影响。

由图 1 可知,不同类型提取溶剂 H₂O、[Bmim]BF₄、[Bmim]Cl、[Bmim]Br 对原花青素提取效果不同,[Bmim]Cl 对原花青素提取效果最好,原因可能

是 Cl⁻ 与原花青素之间形成较强 π - π 相互作用和氢键相互作用^[11], 这些作用力利于原花青素的提取。因此, 选择 [Bmim]Cl 作为合适的离子液体的溶剂。

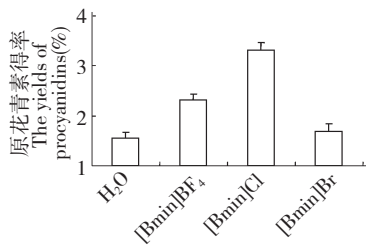


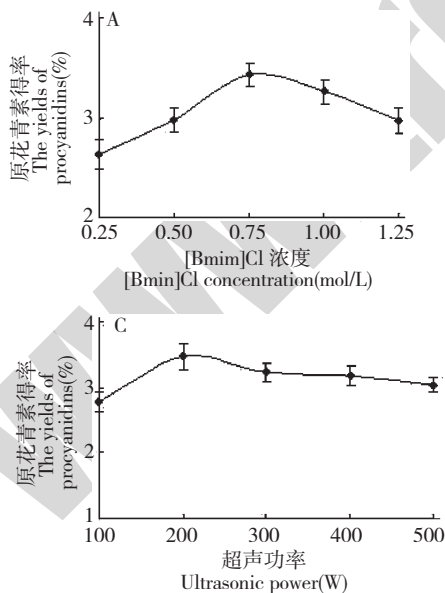
图1 不同提取溶剂对桑葚中原花青素得率的影响

Fig. 1 Effects of different extraction solvents on the yields of procyanidins from Mulberry

3.1.2 [Bmim]Cl 浓度对桑葚原花青素得率的影响

固定桑葚与 [Bmim]Cl 料液比 1:20 (g/mL)、超声功率 200 W、超声时间 10 min, 研究不同 [Bmim]Cl 浓度 (0.25、0.5、0.75、1、1.25 mol/L) 对原花青素得率的影响。

由图 2A 可知, 随着 [Bmim]Cl 浓度逐渐增加, 原花青素得率也逐渐增大, 当 [Bmim]Cl 浓度为



0.75 mol/L 时, 桑葚中原花青素的得率达到最大值, 此后, 桑葚中原花青素的得率随着 [Bmim]Cl 浓度的增加而减小。这可能是因为 [Bmim]Cl 浓度的增加, [Bmim]Cl 溶解性相应增加, 而且 Bmim⁺Cl⁻ 与原花青素之间相互作用增强, 当 [Bmim]Cl 浓度超过 0.75 mol/L 时, [Bmim]Cl 的黏度提高, 导致 [Bmim]Cl 难于进入样品组织结构中^[12]。因此, 选择 0.75 mol/L [Bmim]Cl 用于桑葚原花青素的提取。

3.1.3 料液比对桑葚中原花青素得率的影响

固定 [Bmim]Cl 浓度为 0.75 mol/L、超声功率 200 W、超声时间 10 min, 研究不同料液比 (1:10、1:15、1:20、1:25、1:30) 对原花青素得率的影响。

由图 2B 可知, 随着料液比逐渐增加, 桑葚中原花青素得率先增大后趋于水平, 当料液比为 1:20 (g/mL) 时, 桑葚中原花青素得率达到最大值。这是由于料液比增加, 提高了细胞内外的浓度差, 浓度差成为桑葚中原花青素提取过程驱动力^[13]; 当料液比增加过大时, 离子液体溶解桑葚中原花青素已达到饱和, 提取率趋于水平。因此, 料液比为 1:20 (g/mL) 进行桑葚原花青素的提取。

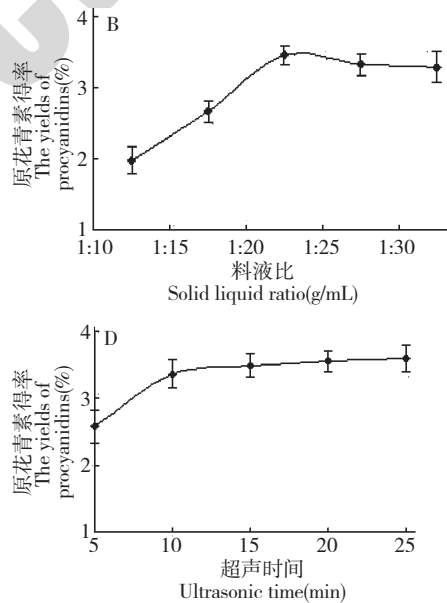


图2 [Bmim]Cl 浓度 (A)、料液比 (B)、超声功率 (C) 及超声时间 (D) 的桑葚原花青素得率的影响

Fig. 2 Effects of [Bmim]Cl concentration (A), solid/liquid ratio (B), ultrasonic power (C) and ultrasonic time (D) on the yields of procyanidins from Mulberry

3.1.4 超声功率对桑葚中原花青素得率的影响

固定桑葚与 0.75 mol/L [Bmim]Cl 料液比 1:20 (g/mL)、超声时间 10 min, 研究不同超声功率

(100、200、300、400、500 W) 对原花青素得率的影响。

由图 2C 可知, 随着超声功率逐渐增加, 桑葚中

原花青素提取率先增大后减小,当超声功率为 200 W 时,桑葚中原花青素提取效果最佳,这可能是由于超声功率变大,利于离子液体空穴泡的形成、膨胀和爆炸,使植物组织细胞破壁能力逐渐增强,桑葚中原花青素浸取速度加快。当超声功率大于 200 W 时,原花青素在强剪切作用下发生断裂,出现损失现象,从而使原花青素得率下降。因此,选择超声功率为 200 W。

3.1.5 超声时间对原花青素得率的影响

固定桑葚与 0.75 mol/L [Bmim]Cl 料液比 1:20 (g/mL)、超声功率 200 W、研究超声时间(5、10、15、20、25 min)对原花青素得率的影响。

如图 2D 所示,随着超声时间的延长,桑葚中原

花青素得率逐步增加。起始阶段(5~10 min)原花青素得率增加较快,10~25 min 原花青素得率增加较慢。其原因可能是超声时间的增加影响着固相和液相之间的浓度差,即推动力,时间的延长利于提高原花青素得率,当得率达到较大值时,细胞内外浓度差趋于平衡,得率增加缓慢。因此,选择超声时间为 10 min。

3.2 响应面实验结果

3.2.1 Box-Behnken 实验设计与结果

根据 Box-Behnken 实验设计,在单因素实验基础上选取 [Bmim]Cl 浓度、料液比、超声功率、超声时间 4 个因素考察进行响应面分析,以桑葚中原花青素得率为响应值,实验结果见表 1、2。

表 1 桑葚中原花青素提取实验设计与结果

Table 1 Experimental design for response surface analysis and corresponding results

实验号 No.	A [Bmim]Cl 浓度 [Bmim]Cl concentration (mol/L)	B 料液比 Solid /liquid ratio (g/mL)	C 超声功率 Ultrasonic power (W)	D 超声时间 Ultrasonic time (min)	Y 原花青素得率 The yields of procyanidins (%)
1	-1(0.5)	-1(1:15)	0(200)	0	3.01
2	1(1.0)	-1	0	0	2.56
3	-1	1(1:25)	0	0	3.02
4	1	1	0	0(10)	3.05
5	0(0.75)	0(1:20)	-1(100)	-1(5)	2.58
6	0	0	1(300)	-1	2.48
7	0	0	-1	1(15)	2.95
8	0	0	1	1	2.45
9	-1	0	0	-1	2.45
10	1	0	0	-1	2.69
11	-1	0	0	1	2.98
12	1	0	0	1	2.3
13	0	-1	-1	0	2.89
14	0	1	-1	0	3.1
15	0	-1	1	0	2.84
16	0	1	1	0	2.72
17	-1	0	-1	0	2.5
18	1	0	-1	0	2.39
19	-1	0	1	0	2.53
20	1	0	1	0	2.36
21	0	-1	0	-1	2.71
22	0	1	0	-1	2.75
23	0	-1	0	1	2.93
24	0	1	0	1	3.2
25	0	0	0	0	3.54

实验号 No.	A [Bmim]Cl 浓度 [Bmim]Cl concentration (mol/L)	B 料液比 Solid /liquid ratio (g/mL)	C 超声功率 Ultrasonic power (W)	D 超声时间 Ultrasonic time (min)	Y 原花青素得率 The yields of procyanidins (%)
26	0	0	0	0	3.51
27	0	0	0	0	3.59
28	0	0	0	0	3.69
29	0	0	0	0	3.53

表 2 回归模型方差分析

Table 2 Variance analysis of the regression model for the extraction yield of procyanidins

方差来源 Source	偏差平方 Sum of squares	自由度 df	均方和 Mean squares	F 值 F Value	P 值 P-value
模型	4.425059	14	0.316076	26.45433	<0.0001
A	0.1083	1	0.1083	9.064297	0.0094
B	0.0675	1	0.0675	5.649492	0.0323
C	0.088408	1	0.088408	7.39944	0.0166
D	0.110208	1	0.110208	9.224017	0.0089
AB	0.0576	1	0.0576	4.8209	0.0455
AC	0.0009	1	0.0009	0.075327	0.7877
AD	0.2116	1	0.2116	17.71011	0.0009
BC	0.027225	1	0.027225	2.278629	0.1534
BD	0.013225	1	0.013225	1.106882	0.3106
CD	0.04	1	0.04	3.347847	0.0887
A ²	1.840435	1	1.840435	154.0374	<0.0001
B ²	0.176952	1	0.176952	14.81017	0.0018
C ²	1.883878	1	1.883878	157.6734	<0.0001
D ²	1.336478	1	1.336478	111.8581	<0.0001
残差 Residual	0.167272	14	0.011948		
失拟项 Lack of Fit	0.146392	10	0.014639	2.804438	0.1661
纯误差 Pure Error	0.02088	4	0.00522		
总误差 Cor Total	4.592331	28			

采用 Design-Expert 软件经回归拟合后,得到原花青素得率为响应值的二次回归方程: $Y = 3.57 - 0.095A + 0.075B - 0.086C + 0.096D + 0.12AB - 0.015AC - 0.23AD - 0.082BC + 0.057BD - 0.10CD - 0.53A^2 - 0.17B^2 - 0.54C^2 - 0.45D^2$

回归模型方差分析见表 2。由表 2 可知,模型的 F 值为 26.45, P 值小于 0.01, 表明二次方程模型极显著; B (料液比)、C (超声功率) 一次项显著; A ([Bmim]Cl 浓度)、D (超声时间) 一次项及 A²、B²、C²、D² 二次项极显著; AB 交互项显著、AD 交互项极

显著、其它交互项不显著; 失拟项 $P = 0.1661$ 不显著, 方程模拟较好, $R^2 = 96.36\%$ 说明该模型与实际实验拟合较好。离子液体超声提取桑葚中原花青素主要因素是 [Bmim]Cl 浓度和超声时间, 然后依次为超声功率、料液比。

3.2.2 响应面分析

利用 Design-Expert 软件绘制响应面图, 响应面图反映两因素相互作用对响应值的影响。由图 6 可知, 随着每个因素编码值逐渐增加, 原花青素提取率均为先增大后减小, 说明在一定范围内, 原花青素

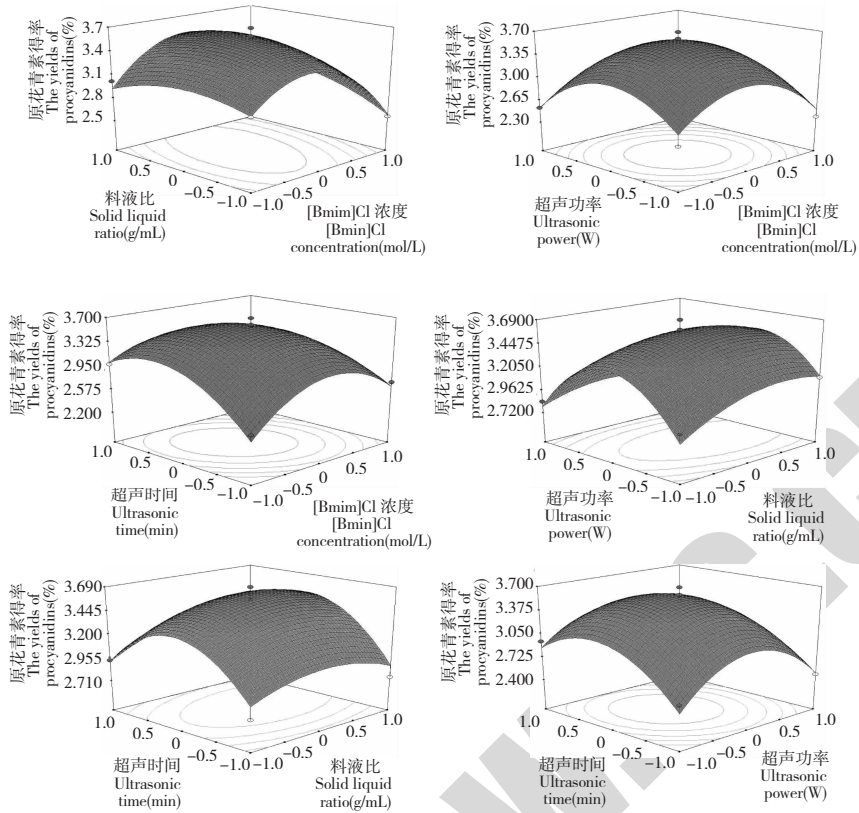


图6 [Bmim]Cl浓度与料液比(A)、[Bmim]Cl浓度与超声功率(B)、[Bmim]Cl浓度与超声时间(C)、超声功率与料液比(D)、超声时间与料液比(E)、超声时间与超声功率(F)交互作用对桑葚原花青素得率的影响

Fig. 6 Effect of interactive effects between [Bmim]Cl concentration and solid /liquid ratio (A), [Bmim]Cl concentration and ultrasonic power (B), [Bmim]Cl concentration and ultrasonic time (C), ultrasonic power and solid /liquid ratio (D), ultrasonic time and solid /liquid ratio (E), ultrasonic time and ultrasonic power (F) on the extraction yield of procyanidins

得率有峰值出现。

通过回归模型预测桑葚中原花青素提取的最佳条件为 [Bmim]Cl 浓度为 0.73 mol/L、料液比 1:21.24(g/mL)、超声功率 188 W、超声时间 10.79 min。在此条件下桑葚中原花青素得率理论上可达 3.59%。根据实际操作的情况,将提取条件修正为 [Bmim]Cl 浓度为 0.7 mol/L、料液比 1:21(g/mL)、超声功率 188 W、超声时间 11 min,在此条件下进行 3 次验证实验,桑葚中原花青素平均得率为 3.51%,与预测值较为接近,证明该法提取桑葚中原花青素是切实可行的。

3.3 水浴提取法与有机溶剂超声提取法提取原花青素

3.3.1 水浴提取法

称取桑葚粉末 1 g,按照 1:21(g/mL)料液比加入 70%乙醇,在 60℃水浴 60 min 后,测得原花青素得率为 2.39%。

3.3.2 有机溶剂超声提取法

称取桑葚粉末 1 g,按照 1:21(g/mL)料液比加入 70%乙醇,在超声功率为 188 W 条件下超声处理 11 min,测定原花青素的平均得率为 2.46%。

3.4 桑葚粉末不同处理后的扫描电镜图

将桑葚样品(图 7a1-a2)、70%乙醇超声处理后桑葚样品(图 7b1-b2)和 0.7 mol/L [Bmim]Cl

处理后桑葚样品(图 7c1-c2)分别干燥后进行电镜扫描分析。如图 7a-c 所示,可以观察到桑葚采用不同方法处理后细胞结构发生变化,乙醇超声处理后,既能破碎细胞,同时在乙醇作用下,又可破坏未破碎细胞的半透性细胞膜,从而在后续浸提中,增加水对完整细胞中原花青素的浸出能力;而离子液体对植物细胞壁中纤维素具有溶解作用,纤维素中的羟基会与离子液体之间相互作用,纤维素分子间及分子内氢键发生断裂使其溶解,导致细胞内的原花青素更易于释放出来。此结果能较好的解释离子

液体超声提取比乙醇超声提取率较高的原因。

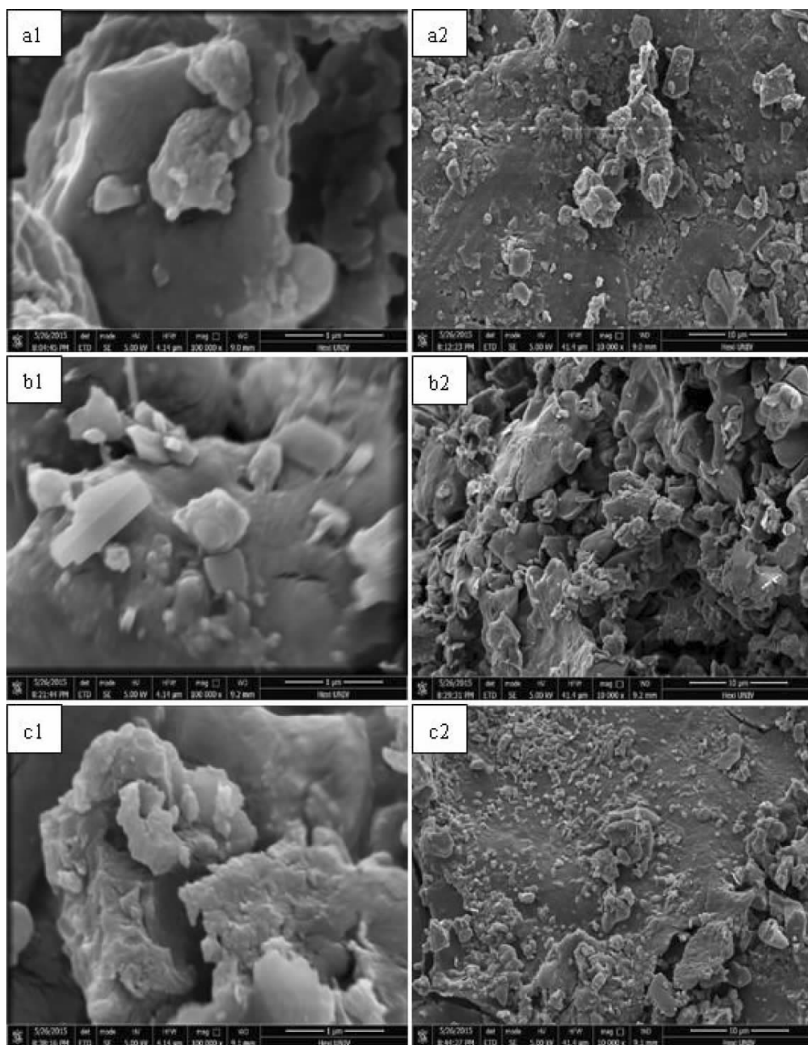


图7 桑葚样品(a1-a2)、70%乙醇超声处理后桑葚样品(b1-b2)和0.7 mol/L [Bmim]Cl 处理后桑葚样品(c1-c2)的扫描电镜图

Fig. 7 Scanning electron micrographs of Mulberry samples (a1-a2), Mulberry samples dissolved with 70% ethanol (b1-b2) and Mulberry samples dissolved with 0.7 mol/L [Bmim]Cl (c1-c2)

4 结论

采用离子液体超声辅助提取桑葚中原花青素,在单因素实验基础上,采用响应面优化 [Bmim]Cl (1-丁基-3-甲基咪唑氯) 浓度、料液比、超声功率、超声时间对桑葚中原花青素得率的影响。通过分析并考虑实际操作条件得到最终优化参数为: [Bmim]Cl 浓度为 0.7 mol/L、料液比 1:21 (g/mL)、超声功率 188 W、超声时间 11 min,在此条件下获得桑葚中原花青素得率为 3.51%,而水浴法和超声辅助提取原花青素得率分别为 2.39% 和 2.46%,可见离子液体超声辅助提取桑葚中原花青素得率最高;扫描电镜

观察发现,离子液体超声提取技术对桑葚粉末细胞结构破坏更严重。因此,采用离子液体超声辅助提取桑葚中原花青素,获得较优提取工艺参数,可为桑葚深层次开发提供理论依据。

参考文献

- Huang Y (黄勇), Zhang L (张林), Zhao WG (赵卫国), et al. 桑椹的化学成分及药理作用研究进展. *Guangxi Sericul* (广西蚕业), 2006, 43(3): 15-19.
- Liu CJ, Lin JY. Protective effects of strawberry and mulberry fruit polysaccharides on inflammation and apoptosis in murine primary splenocytes. *J Food Drug Anal*, 2014, 22: 210-

- 219.
- 3 Butkhip L, Samappito W, Samappito S. Phenolic composition and antioxidant activity of white mulberry (*Morus alba* L.) fruits. *Int J Food Sci Technol*, 2013, 48:934-940.
 - 4 Jiang Y, Nie WJ. Chemical properties in fruits of mulberry species from the Xinjiang province of China. *Food Chem*, 2015, 174:460-466.
 - 5 Gonzalez-Abuin N, Pinent M, Casanova-Martí à, et al. Procy-anidins and their healthy protective effects against type 2 diabetes. *Curr Med Chem*, 2015, 22(1):39-50.
 - 6 Mao X, Hao S, Zhu Z, et al. Procy-anidins protects against oxidative damage and cognitive deficits after traumatic brain injury. *Brain Injury*, 2015, 29(1):86-92.
 - 7 Jing S, Zhang X, Yue L. Purification of procyanidins from Kunlun chrysanthemum by macroporous resins combined with silica gel and evaluation of antioxidant activities *in vitro*. *Pak J Pharm Sci*, 2015, 28:383-391.
 - 8 An LJ(安立军). Ultrasonic extraction of proanthocyanidins from mulberry fruit. *J Anghang Univ* (安康学报), 2012, 24(6):81-84.
 - 9 Yuan L(袁玲), Li JH(李建华). Optimization of extraction process of procyanidins from mulberry by response surface methodology. *J Hubei Eng Univ* (湖北工程学院学报), 2013, 33(6):60-63.
 - 10 Ren XN(任小娜), Chen ZM(陈志梅), Zeng J(曾俊), et al. Study on the optimization of extract conditions and content determination of procyanidins from *Lycium ruthenicum* Murray. *Food Ferment Ind* (食品与发酵工业), 2015, 41:147-150.
 - 11 Ma FY(马飞跃), Duan KF(段开放), WangXQ(王希清), et al. Ionic liquids-based microwave-assisted extraction of biochanin A and genistein from *Dalbergia odorifera* T. Chen leaves. *Bull Botan Res* (植物研究), 2013, 33:494-498.
 - 12 Harde SM, Lonkar SL, Degani MS, et al. Ionic liquid based ultrasonic-assisted extraction of forskolin from *Coleus forskohlii* roots. *Ind Crops Prod*, 2014, 61:258-264.
 - 13 Wei Q(卫强), Gui Q(桂芹), Qiu Z(邱镇), et al. Microwave-assisted extraction and antioxidant activities *in vitro* of polysaccharides from *Cercis chinensis* Bunge flowers. *Food Sci* (食品科学), 2015, 36(4):39-44.

(上接第 916 页)

- 4 Xie WG(谢伟光), Zhang LM(张黎明), Zhang XL(张小利). Characteristic analysis of the FTIR spectrogram of *Ginkgo biloba* leaves in different collecting seasons. *J Tianjin Univ Sci Tech* (天津科技大学学报), 2007, 22(4):37-40.
- 5 Guan M(关明), Li XJ(李晓静), Guo Y(郭勇), et al. Comparative study on FTIR spectra of garlic from different geographical populations. *Spec Spec Anal* (光谱学与光谱分析), 2011, 31:1494-1497.
- 6 Wang B(王斌), Ren XJ(任西杰), Wang Y(王燕), et al. Infrared fingerprint analysis of *Hippocampus*'s ethanol extracts coupled with cluster analysis, principal component analysis and discriminant analysis. *Chin Pharm J* (中国药理学杂志), 2013, 48:253-258.
- 7 Song FF(宋峰峰), Ni XX(倪雪雪), Wei H(魏鸿), et al. Analysis of the principal component in *Morus nigra* Linn based on FTIR. *J Xinjiang Med Univ* (新疆医科大学学报), 2014, 37:565-569.
- 8 Wu JH(吴建华), Luo ZM(罗宗铭), Zheng JG(郑建国), et al. Discrimination of Ginsengs by FTIR. *J Inst Anal* (分析测试学报), 2003, 22(3):75-77.
- 9 Wang H(王弘), Zhao GB(赵国斌), Liu SQ(刘叔倩), et al. Determination of flavonoids in *Ginkgo biloba* leaves from different producing areas. *China J Chin Mater Med* (中国中药杂志), 2000, 25:408-410.
- 10 Kong XP(孔祥鹏), Liu YQ(刘养清), Zhao P(赵平), et al. Studies on the dynamic FTIR fingerprint of *Ginkgo Biloba* chemical components group. *Chin J Spec Lab* (光谱实验室), 2010, 27:151-156.
- 11 Zhang XL(张小利), Zhang LM(张黎明). FTIR and thermal chart character of *Ginkgo* leaves prepared by different procedures. *Nat Prod Res Dev* (天然产物研究与开发), 2008, 20:41-46.
- 12 Tan RX(谭仁祥), Meng JC(孟军才), Chen DF(陈道峰), et al. Analysis of Ingredient in Plant (植物成分分析). Beijing: Science Press, 2002. 134-162.
- 13 Zhang NP(张南平), Xiao XY(肖新月), Zhang P(张萍), et al. Research progress of evaluation and standard on Chinese herbal medicine quality. *Chin Pharm Aff* (中国药事), 2005, 19(1):47-50.
- 14 Jin XJ(金向军), Li XP(李晓萍), Liu ZQ(刘志强), et al. Identification of *Epimedium Koreanum* Nakai by fourier transfer infrared spectroscopy. *Spec Spec Anal* (光谱学与光谱分析), 2006, 26:614-616.