

藜麦种子生物碱不同提取方法的比较研究

闫士朋^{1,2}, 冯焕琴^{1,2}, 杨宏伟^{1,2}, 沈宝云³, 李朝周^{1,2}, 王建平^{1,2*}

¹甘肃农业大学生命科学技术学院; ²甘肃省作物遗传改良和种质创新重点实验室, 兰州 730070; ³甘肃条山集团农林科学研究所, 白银 730400

摘要: 本文对乙醇回流法、超声波法提取藜麦种子生物碱及其不同提取条件进行了研究, 在单因素实验的基础上, 利用正交实验考查乙醇浓度、料液比及提取时间对藜麦种子生物碱提取量的影响, 结果表明: 乙醇回流法提取的最佳条件为: 乙醇浓度 80%, 料液比 1:8, 提取 60 min; 测得提取量为 2.17 mg/g; 超声波法提取最佳条件为: 乙醇浓度 80%, 料液比 1:6, 提取 80 min; 测得提取量为 2.03 mg/g。相比而言乙醇回流法提取率较高, 提取时间较短, 从生物碱提取率和提取时间的角度考虑可选用乙醇回流法。且乙醇回流法操作快捷方便、所以更适用于工业生产中应用。

关键词: 超声波法; 藜麦; 生物碱; 乙醇回流法; 正交实验

中图分类号: TS209

文献标识码: A

DOI: 10.16333/j.1001-6880.2017.S.025

Comparing Research on Different Extraction Process of Alkaloids From *Quinoa* Seeds

YAN Shi-peng^{1,2}, FENG Huan-qin^{1,2}, YANG Hong-wei^{1,2}, SHEN Bao-yun³,
LI Chao-zhou^{1,2}, WANG Jian-ping^{1,2*}

¹College of Life Science and Technology, Gansu Agricultural University;

²Gansu Key Laboratory of Crop Genetics & Germplasm Enhancement, Lanzhou 730070, China;

³Gansu Tiaoshan Institute of Agricultural and Forestry Sciences, Baiyin 730400, China

Abstract: The study in the comparison of ethanol reflux method, ultrasonic extraction method and their extraction conditions was reported in this paper, and the best extraction conditions of alkaloid from quinoa seeds were achieved. On the basis of single factor experiments, the effect of ethanol concentration, solid-liquid ratio and extraction time on the alkaloid extraction ratio from quinoa seeds was investigated. The results showed that, with the method of ethanol reflux method, the best extraction condition of alkaloid from quinoa seeds was under the ethanol concentration of 80%, solid-liquid ratio of 1:8, extraction time of 60 min. Under the best extraction conditions, the quinoa seed alkaloid extraction ratio was 2.17 mg/g. With the method of ultrasonic extraction from quinoa seeds, the best extraction condition was under the ethanol concentration of 80%, solid-liquid ratio of 1:6, and extraction time of 80 min. Under the best extraction conditions, the quinoa seeds alkaloid extraction ratio was 2.03 mg/g. So, each one of the two alkaloid extraction methods from quinoa seeds has its own advantages and disadvantages, from the aspect of economize raw material, the ultrasonic extraction method is better; from the aspect of alkaloid extraction ratio and extraction time, the ethanol reflux method is preferable. As the method of ethanol reflux is more convenient and has higher extraction ratio, it is more preferable in the extraction of the alkaloid from quinoa seeds in industry production.

Key words: ultrasonic extraction method; quinoa; alkaloids; ethanol reflux method; orthogonal experiment

藜麦 (*Chenopodium quinoa* Willd) 又称印第安麦, 是原产于南美洲安第斯山脉的一种藜科藜属植物, 也是印加土著居民的传统食物, 已有 5 000-7

000 年的种植历史^[1,2]。藜麦营养丰富, 食用价值高, 口感好, 在 20 世纪 80 年代被美国宇航局用于太空食品。联合国将 2013 年定为“国际藜麦年”, 旨在让世界关注藜麦的生物多样性和营养价值, 使藜麦在提供粮食安全、消除贫困等方面发挥更大的作用^[3]。

收稿日期: 2017-01-16

接受日期: 2017-03-10

基金项目: 国家科技支撑计划(2012BAD06B03); 甘肃省农牧厅项目(GNSW-2012-21)

* 通信作者 E-mail: wangjp@gsau.edu.cn

藜麦是唯一的全谷全营养完全蛋白碱性食物,蛋白质含量高达 16% -22%,与牛肉相当(牛肉蛋白含量约为 20%),品质与奶粉及肉类相当^[4],富含多种氨基酸,其中有人体必需的全部 9 种必需氨基酸,比例适当且易于吸收,尤其富含一般植物中缺乏的赖氨酸,且钙、镁、磷、钾、铁、锌、硒、锰、铜等矿物质营养含量较高^[5],富含不饱和脂肪酸、类黄酮、B 族维生素和维生素 E 等多种有益化合物,膳食纤维含量高达 7.1%,胆固醇为 0,低脂,低热量(305kcal/100 g),低升糖(GI 升糖值 35,低升糖标准为 55),各项营养特点几乎都是常见食物里最优秀的^[6]。联合国粮农组织(FAO)研究认为藜麦是唯一一种单体植物即可满足人体基本营养需求的食物,正式推荐藜麦为最适宜人类的完美“全营养食品”,列为全球 10 大健康营养食品之一^[7-8]。

生物碱主要分布在植物界,以双子叶植物居多^[9],易溶于苯、乙醚、卤代烷等极性较低的有机溶剂,在丙酮、乙醇、甲醇等亲水性有机溶剂中也有较好的溶解度^[10]。生物碱对人体有很重要的功能,它可以抗肿瘤、抗炎,对肝硬化、肝炎以及其他肝疾病都有良好的疗效;生物碱对血糖血脂也有显著影响,具有显著降低血糖活性^[11]。生物碱的提取方法通常有冷浸法、超临界提取法、超声波提取法以及回流法等^[12],生物碱的含量测定方法主要有分光光度法、高效液相色谱法、气相色谱法以及滴定法等^[13],因分光光度计为常用设备,使用方便,操作简单,并且分析结果快速、可靠,此论文采用分光光度法测定藜麦种子生物碱含量,以生物碱提取量为指标,通过正交试验优化超声提取法和乙醇回流法,以期得出从藜麦种子提取生物碱的最佳方法以及最优条件,为后期工业上提取藜麦生物碱提供技术和理论上的支持。

1 材料与仪器

1.1 实验试剂

藜麦种子:为加拿大 Salt spring seed company 提供的 Kasala quinoa 品种,于景泰条山集团种植收获的种子。盐酸小檗碱标准品(上海源叶生物科技有限公司);pH5.4 柠檬酸缓冲液(取 16 mL 0.1 mol/L 柠檬酸和 34 mL 0.1 mol/L 柠檬酸钠溶液,定容至 100 mL);溴甲酚绿溶液(取溴甲酚绿 50 mg 与邻苯二甲酸氢钾 1.021 g,加 0.2 mol/L 氢氧化钠溶液 6 mL 使之溶解,再加蒸馏水定容至 100 mL);氯仿、无

水硫酸钠等试剂均为分析纯。

1.2 实验仪器

1740QT 超声波清洗仪(北京科玺世纪科技有限公司);HH-6 数显恒温水浴锅(国华电器有限公司);QE 万能粉碎机(浙江屹立工贸有限公司);SP-752 紫外可见分光光度计(上海楚度仪器设备有限公司);JJ200B 电子天平(北京尚德利衡电子衡器有限公司);TDZ4-WS 低速离心机(长沙高新技术产业开发区湘仪离心机仪器有限公司);RE-5250 旋转蒸发仪(上海亚荣生化仪器厂)。

2 实验方法

2.1 溶液的配制

2.1.1 标准品溶液的制备

精密称取盐酸小檗碱标准品 20 mg,用蒸馏水定容至 100 mL 容量瓶中,即得 200 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 盐酸小檗碱标准品溶液。

2.1.2 标准曲线的绘制^[14-16]

精密吸取 0、0.2、0.4、0.6、0.8、1.0 mL 的盐酸小檗碱标准品溶液,用蒸馏水补足至 1 mL,加入 5 mL pH5.4 的柠檬酸缓冲液,摇匀,再加 2 mL 溴甲酚绿指示液,摇匀,静置 5 min 后,加 10 mL 氯仿,摇匀、静置 40 min 后加入 0.5 g 无水硫酸钠脱水,以相应试剂作为对照,于 416 nm 处测定吸收度,以吸收度为纵坐标,盐酸小檗碱浓度为横坐标,绘制标准曲线。

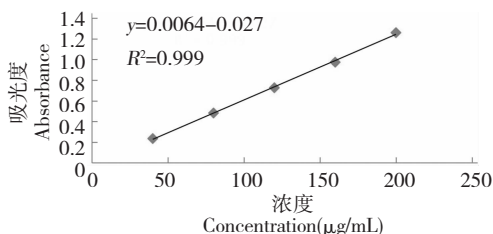


图 1 生物碱溶液标准曲线

Fig. 1 The standard curve of alkaloid solution

2.1.3 供试样品溶液的制备

取样品材料 1 g(80 目),加 1 mL 氨水,再加入一定倍数相应浓度的提取液,在相应温度下提取一定时间后,4 000 rpm 离心 5 min,将上清液移至 50 mL 容量瓶中,沉淀以同样倍数的提取液混匀,在同样的条件下进行二次提取,离心,将上清液并入上述容量瓶中。在提取工艺中改变相应的参数。按照 2.1.2 方法测定吸光值。

2.2 藜麦生物碱提取的工艺优化

2.2.1 单因素试验设计

2.2.1.1 提取液(乙醇)浓度对提取效果的影响

在 50 mL 三角瓶中分别放入 1 g 藜麦种子粉末,加 1 mL 氨水,料液比均为 1:10,在 60 °C 的水浴条件下回流提取 2 次,回流时间均为 60 min,乙醇浓度分别为 50%、60%、70%、80%、90%。按照 2.1.2 方法测定吸光值。

2.2.1.2 料液比对提取效果的影响

在 50 mL 三角瓶中分别放入 1 g 藜麦种子粉末,加 1 mL 氨水,料液比分别为 1:6、1:8、1:10、1:12、1:14,在 60 °C 的水浴条件下回流提取 2 次,回流时间均为 60 min,乙醇浓度为 60%。按照 2.1.2 方法测定吸光值。

2.2.1.3 提取温度对提取效果的影响

在 50 mL 三角瓶中分别放入 1 g 藜麦种子粉末,加 1 mL 氨水,料液比为 1:10,控制温度分别为 40、50、60、70、80 °C,回流时间均为 60 min,乙醇浓度为 60%。按照 2.1.2 方法测定吸光值。

2.2.1.4 提取时间对提取效果的影响

在 50 mL 三角瓶中分别放入 1 g 藜麦种子粉末,加 1 mL 氨水,料液比为 1:10,在 60 °C 水浴条件下回流提取 2 次,回流时间分别为 20、40、60、80、100 min,乙醇浓度为 60%。按照 2.1.2 方法测定吸光值。

2.2.2 正交试验设计

在单因素实验的基础上,进行正交试验设计,以提取时间(A)、乙醇浓度(B)和料液比(C)为因素设计三因素三水平正交试验,具体参数见表 1。

表 1 藜麦种子生物碱正交试验因素水平表

Table 1 Factors and levels of orthogonal test of quinoa seed alkaloid

方法 Method	水平 Level	因素 Factors		
		A 乙醇浓度 Ethanol concentration (%)	B 料液比 Solid/liquid ratio (g: mL)	C 时间 Time (min)
回流法 Reflux method	1	70	1:08	40
	2	80	1:10	60
	3	90	1:12	80
超声法 Ultrasonic extraction method	1	70	1:06	40
	2	80	1:08	60
	3	90	1:10	80

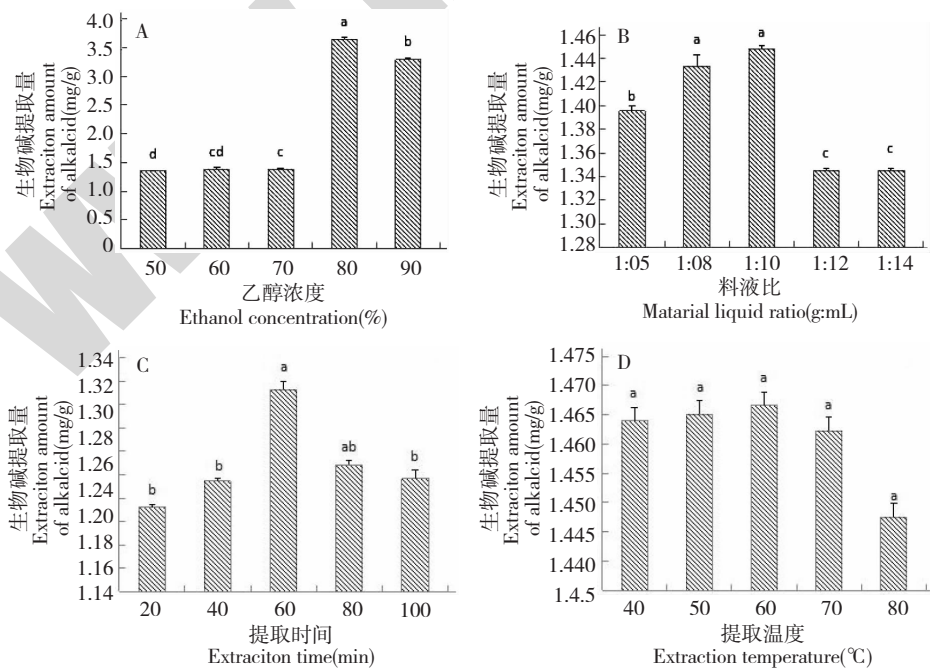


图 2 各因素对藜麦种子生物碱提取量的影响

Fig. 2 Influences of each factor on the extraction amount of alkaloid in quinoa seed

2.3 数据统计分析

本文采用 Microsoft Excel 2010 对数据进行处理、绘图和分析,采用 SPSS 17.0 统计分析软件对数据进行差异显著性检验,显著性水平取 0.05。

3 结果与分析

3.1 乙醇回流提取法结果分析

3.1.1 单因素结果分析

图 2 表示各因素对藜麦种子生物碱提取量的不同影响。随着乙醇浓度的增加,藜麦种子生物碱提取量变化不显著,当乙醇浓度达到 80% 时,生物碱提取量显著增加并且达到 2.27 mg/g;继续增加乙醇浓度,生物碱提取量下降,可见乙醇浓度为 80%

时提取量较高(图 2A)。当料液比从最初的 1:6 增加到 1:10 的时候,藜麦种子生物碱提取量显著增加,继续增加料液比,提取量又呈下降趋势,因而确定料液比为 1:10 较好(图 2B)。随着提取时间的增加,藜麦种子生物碱提取量逐渐增加,当时间为 60 min 时藜麦种子生物碱提取量达到最大值 1.31 mg/g,和 20 min 时相比,显著增加,所以选 60 min 为最佳提取时间(图 2C)。图 2(D)表示不同温度条件下藜麦种子生物碱提取量的变化趋势,由图可知,当温度为 60 °C 的时候,藜麦种子生物碱提取量达到最大值 1.47 mg/g,所以选取 60 °C 为最佳温度;

3.1.2 正交试验设计结果分析

表 2 乙醇回流提取法提取藜麦种子生物碱正交试验设计及结果

Table 2 Orthogonal experiment design and results of extracting alkaloid from quinoaseed by ethanol reflux extraction

实验号 No.	A	B	C	生物碱提取量 Extraction of Alkaloids (mg/g)
1	1	1	1	1.19 ± 0.08g
2	1	2	2	1.67 ± 0.04cd
3	1	3	3	2.02 ± 0.04b
4	2	1	2	2.07 ± 0.03a
5	2	2	3	1.50 ± 0.05e
6	2	3	1	1.60 ± 0.02d
7	3	1	3	1.68 ± 0.02cd
8	3	2	1	1.73 ± 0.06c
9	3	3	2	1.33 ± 0.04f
K ₁	1.62	1.72	1.50	-
K ₂	1.80	1.63	1.76	-
K ₃	1.58	1.65	1.74	-
R	0.22	0.09	0.26	-
优水平 Optimal level	A ₂	B ₁	C ₂	-

表 3 乙醇回流提取法提取藜麦种子生物碱正交试验方差分析

Table 3 Analysis of variance (ANOVA) of the orthogonal experiment extracting alkaloid from quinoaseed by ethanol reflux extraction

方差来源 Source of variation	偏差平方和 DEVSQ	自由度 DOF	F 比 F-value ratio	显著性
A	0.078	2	0.116	
B	0.013	2	0.018	
C	0.122	2	0.180	<i>P</i> < 0.05 显著

提取液浓度、料液比以及提取时间对藜麦种子生物碱含量影响的正交试验结果见表 2。从表 2、表

3 可以清清楚楚直观的看出,从本实验的三个因素中,依据极差 R 以及方差分析中的各因素对藜麦种子

生物碱提取量影响显著大小不一,得出对藜麦种子生物碱提取量影响的大小依次为:提取时间(C) > 乙醇浓度(A) > 料液比(B);表3的显著性分析显示,提取时间对藜麦种子生物碱提取量影响显著,表明藜麦种子生物碱提取中,提取时间的控制需要更加稳定。由表2中的K值可以得出,提取藜麦种子

生物碱的最佳提取条件是 $A_2B_1C_2$,即在乙醇浓度为80%,料液比为1:8的条件下,提取60 min条件下藜麦种子生物碱提取量最大。

3.2 超声波提取法结果分析

3.2.1 单因素结果分析

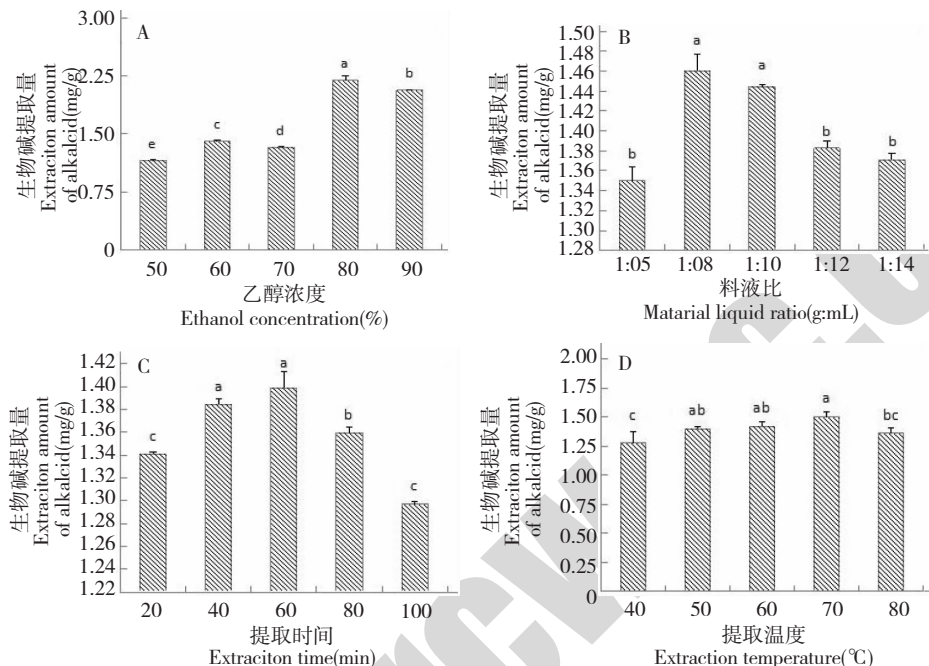


图3 各因素对藜麦种子生物碱提取量的影响

Fig. 3 Effect of each factor on the alkaloid content of quinoa seed

图3表示超声波提取法中各因素对藜麦种子生物碱提取量的不同影响。提取剂浓度对藜麦种子生物碱提取量的影响见图3(A),随着乙醇浓度的增加,藜麦种子生物碱提取量显著增加,当乙醇浓度为70%时,生物碱提取量有所下降,可能是因为实验误差所致,当乙醇浓度达到80%时,生物碱提取量显著增加并且达到2.19 mg/g,继续增加乙醇浓度,生物碱提取量显示下降趋势,因而确定乙醇浓度为80%;图3(B)表示料液比对藜麦种子生物碱提取量的影响,当料液比从最初的1:6增加到1:8时,生物碱提取量达到最大值1.46 mg/g,和料液比1:6相比显著增加0.08%,继续增加料液比,生物碱含量又呈下降趋势,因而确定料液比为1:8;故从节省原料的角度考虑可选用超声波法。提取时间对藜麦种子生物碱提取量的影响见图3(C),随着时间的增加,藜麦种子生物碱提取量逐渐增加,当时间为60 min时藜麦种子生物碱提取量达到最大值1.40 mg/g,和20 min时相比,增加了0.043%,所以选60 min

为最佳提取时间。图3(D)表示不同温度条件下藜麦种子生物碱提取量的变化趋势,由图可知,在不同提取温度下,藜麦种子生物碱提取量变化均不显著,但温度在70 °C的时候,藜麦种子生物碱提取量达到最大值1.50 mg/g,所以选取70 °C为最佳温度。

3.2.2 正交试验设计结果分析

提取液浓度、料液比以及提取时间对藜麦种子生物碱提取量影响的正交试验结果见表4。从表4、表5可以清清楚楚直观的看出,实验的三个因素中,从极差R以及方差分析中的各因素对藜麦生物碱影响显著大小不一,得出影响藜麦生物碱提取的大小依次为:乙醇浓度(A) > 提取时间(C) > 料液比(B),表5的显著性分析显示,在超声波提取法中乙醇浓度对藜麦种子生物碱影响显著,表明藜麦种子生物碱提取中,乙醇浓度的控制需要更加稳定。由表4中的K值可以得出,提取藜麦种子生物碱的最佳提取条件是 $A_2B_1C_3$,即在乙醇浓度为80%,料液比为1:6的条件下,提取80 min。

表4 超声提取法提取藜麦种子生物碱正交试验设计及结果

Table 4 Orthogonal experiment design and results of extracting alkaloid from quinoa seed by ultrasonic extraction

实验号 No.	A	B	C	生物碱提取量 Extraction of Alkaloids (mg/g)
1	1	1	1	1.17 ± 0.04g
2	1	2	2	1.45 ± 0.07e
3	1	3	3	1.36 ± 0.01f
4	2	1	2	1.59 ± 0.02d
5	2	2	3	1.68 ± 0.03c
6	2	3	1	1.82 ± 0.03b
7	3	1	3	1.99 ± 0.03a
8	3	2	1	1.19 ± 0.05g
9	3	3	2	1.33 ± 0.06f
K ₁	1.33	1.63	1.39	-
K ₂	1.70	1.44	1.46	-
K ₃	1.55	1.50	1.72	-
R	0.37	0.19	0.33	-
优水平 Optimal level	A ₂	B ₁	C ₃	-

表5 超声提取法提取藜麦种子生物碱正交试验方差分析

Table 5 Analysis of variance (ANOVA) of the orthogonal experiment extracting total alkaloid from quinoa seed by ultrasonic extraction

方差来源 Source of variation	偏差平方和 DEVSQ	自由度 DOF	F比 F-value ratio	显著性
A	0.203	2	0.611	
B	0.055	2	0.165	P < 0.05 显著
C	0.181	2	0.544	

4 验证性实验

在单因素的基础上,确定了每个因素的三个水平,通过正交试验可以分别得出回流提取法和超声波提取法提取藜麦种子生物碱的最佳提取条件,但

因为最佳提取条件并未出现在正交试验设计中,因而需加以验证正交试验的可靠性。表6表示不同提取方法下藜麦种子生物碱的含量,可见回流提取法生物碱提取量显著高于超声波提取法。

表6 提取藜麦种子生物碱不同方法的比较

Table 6 Comparison among different methods of extracting alkaloid from quinoa seed

提取方法 Extraction method	乙醇浓度 Ethanol concentration (%)	料液比 Solid/liquid ratio (g/mL)	时间 Time (min)	生物碱提取量 Extraction of Alkaloids (mg/g)
回流法 Reflux method	80	1:8	60	2.17 ± 0.02a
超声法 Ultrasonic extraction method	80	1:6	80	2.03 ± 0.02b

5 讨论

本文就藜麦种子生物碱两种不同提取方法进行

了比较,在单因素的基础上,通过正交试验确定了提取藜麦种子生物碱的最佳提取方法及条件。结果表明:乙醇回流法中影响藜麦种子生物碱提取量

的各因素重要性依次为:提取时间(C) > 乙醇浓度(A) > 料液比(B),其中提取时间对藜麦种子生物碱提取量影响最大;超声波法中影响藜麦种子生物碱提取量的各因素重要性依次为:乙醇浓度(A) > 提取时间(C) > 料液比(B),其中乙醇浓度对藜麦种子生物碱提取量影响最大,这与罗毅^[17]超声法提取益母草总生物碱实验得出的结论相同。

由表6验证性实验可知,超声提取法提取时间较长,提取过程中噪音较大,且提取过程不连续,有效成分有所损失;乙醇回流法与之相比具有明显的优势,主要表现在容易操作,提取时间短、升温快速、能耗小,而且避免了长时间高温引起的生物碱的热分解,可以看出在藜麦种子生物碱的提取过程中,利用乙醇回流法提取藜麦种子生物碱的提取量显著高于超声波法,这与杨小青等^[18]用不同的提取方法提取莲子心生物碱的研究结果相一致。另有研究表明,回流提取法提取生物碱有稳定可靠,设备简单,易于操作等优点^[19]。

6 结论

正交试验得出乙醇回流提取法的最优组合为 $A_2B_1C_2$,即在乙醇浓度为80%,料液比为1:8的条件下,提取60 min,此时生物碱提取量为2.17 mg/g;超声提取法的最优组合为 $A_2B_1C_3$,即在乙醇浓度为80%,料液比为1:6的条件下,提取80 min,此时提取的生物碱提取量为2.03 mg/g。从中可以看出,使用超声法藜麦种子生物碱提取量显著低于乙醇回流法,且乙醇回流法操作简单、方便、快捷,在工业化生产中设备较为普及。综合分析,乙醇回流法适用于工业化从藜麦种子中提取生物碱类化合物。

参考文献

- 1 Wang LM(王黎明), Ma N(马宁), Li S(李颂), et al. Nutritional properties of quinoa and its application prospects. *Sci Technol Food Ind*(食品工业科技), 2014, 35: 281-289.
- 2 Xiao ZC(肖正春), Zhang GL(张广伦). Development and utilization of *Chenopodium quinoa* Willd. *Chin Wild Plant Res*(中国野生植物资源), 2014, 33(2): 62-66.
- 3 Ding SY(丁双云), Zeng YW(曾亚文), Min K(闵康), et al. Comprehensive research and utilization of functional components in Quinoa. *Current Biotechnol*(生物技术进展), 2015, 5: 340-346.
- 4 Wright KH, Pike OA, Fairbank SDJ, et al. Composition of *Atriplex hortensis*, sweet and bitter *Chenopodium quinoa* seeds. *J Food Sci*, 2002, 67: 1383-1385.
- 5 Abugochj LE. Quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.): composition, chemistry, nutritional, and functional properties. *Adv Food Nutri Res*, 2009, 58: 1-31.
- 6 Bohghava A, Slavastava H. Production and Application of Quinoa. Beijing: Science Press, 2014. 6-11.
- 7 Oshodi AA, Ogungbenle HN, Oladimeji MO. Chemical composition, nutritionally valuable minerals and functional properties of benniseed (*Sesamunradiatum*), pearl millet (*Pennisetum typhoides*) and quinoa (*Chenopodium quinoa*) flours. *Int J Food Sci Nutri*, 1999, 50: 325-331.
- 8 Comai S, Bertazzo A, Bailoni L, et al. The content of proteic and nonproteic (free and protein-bound) tryptophan in quinoa and cereal flours. *Food Chem*, 2007, 100: 1350-1355.
- 9 Bai XJ(白秀君). Extraction and purification of alkaloids from Lotus Leaf. Wulumuqi: Xinjiang Agricultural University(新疆农业大学), 2007.
- 10 Xiao CH(肖崇厚). Chinese Traditional and Herbal Chemistry(中药化学). Shanghai: Shanghai Science and Technology Press, 1994.
- 11 Yu Y(于洋). Study on extraction, purification and separation of alkaloids from common fenugreek seeds. *J Jilin Agric Univ*(吉林农业大学), 2012.
- 12 Han CR(韩长日), Song XP(宋小平), Chen GY(陈光英). Advances in the studies on chemical components of *Calophyllum* and related pharmacological activities. *Chin J Organ Chem*(有机化学), 2003, 23: 212-219.
- 13 Han SY(韩淑云), Han CR(韩长日). Extraction and determination of total alkaloids in *Calophyllum inophyllum* Linn by spectrophotography. *Appl Chem Ind*(应用化工), 2010, 39: 1419-1421.
- 14 Zhe GM(折改梅), Dong HH(董红环), Zhang Q(张强), et al. Quantitative determination of total alkaloids in *fumaeibangchui* (*Aconitum flavum* Hand-Mazz) by spectrophotometry. *J Beijing Univ Tradit Chin Med*(北京中医药大学学报), 2010, 33: 555-558.
- 15 Zhu M(祝明), Hu MS(胡梅素). Determination of hyoscyamine alkaloids in belladonna tablet by spectrophotometry. *Chin J Modern Appl Pharm*(中国现代应用药学杂志), 2001, 18(1): 51-53.
- 16 Cheng H(程华), Yu JL(余龙江), Hu QY(胡琼月), et al. Determination of total alkaloids in different parts of *Corydalis saxicola* Bunting by spectrophotography. *Lishizhen Med Mater Med Res*(时珍国医国药), 2006, 17: 364-365.
- 17 Luo Y(罗毅), Zhou BH(周本宏), Ma YW(马郁文). Research on orthogonal test ultrasonic extraction total alkaloids. *Shanxi Med J*(山西医药杂志), 2007, 10: 948-949.