

野菊花 60% 乙醇提取物的酚类成分组成及其清除自由基和防霉变能力分析

申海进, 郭巧生^①, 房海灵

(南京农业大学中药材研究所, 江苏 南京 210095)

摘要: 对野菊(*Dendranthema indicum* (L.) Des Moul.) 花的 60% 乙醇提取物中酚类成分的组成与含量进行了分析, 并研究了该提取物对 $\cdot\text{O}_2^-$ 、 $\cdot\text{OH}$ 和 DPPH 自由基的清除能力以及防牛奶霉变的能力。结果表明, 野菊花 60% 乙醇提取物主要含有黄酮类成分和一定量的酚酸类成分; 酚酸类成分中绿原酸和咖啡酸的含量分别为 $20.74 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$ 和 $1420.57 \mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$; 总黄酮含量为 $490.50 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$, 其中槲皮素、木犀草素、芹菜素、刺槐素和蒙花苷的含量分别为 31.05 、 22.67 、 23.09 、 30.71 和 $107.23 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$, 分别占总黄酮含量的 6.33% 、 4.62% 、 4.71% 、 6.26% 和 21.86% 。该提取物对 $\cdot\text{O}_2^-$ 、 $\cdot\text{OH}$ 和 DPPH 自由基均有一定的清除能力, 在实验设置的浓度范围内, 对 3 种自由基的清除率与该提取物浓度基本呈正相关关系, 回归方程分别为 $y=0.273x+38.540$ 、 $y=1.208x+2.761$ 和 $y=2.032x+45.330$, IC_{50} 分别为 $41.98 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 、 $39.11 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 和 $2.30 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$, 其中对 DPPH 自由基的清除能力最强, 且其 IC_{50} 略高于 V_c 。在牛奶中添加一定量的野菊花 60% 乙醇提取物(质量体积分数 $0.0125\% \sim 0.2\%$), 牛奶中的各级霉斑数量、病情指数以及霉菌孢子数均低于空白处理组, 且该提取物的这种防霉变能力与其浓度呈一定的正相关关系; 其中 0.2% 的野菊花 60% 乙醇提取物的防霉变能力高于质量体积分数 0.01% 山梨酸钾。实验结果显示, 野菊花 60% 乙醇提取物具有较高的抗氧化能力和显著的防霉变能力, 可作为食品防腐剂进行开发利用。

关键词: 野菊花; 60% 乙醇提取物; 酚酸类; 黄酮类; 清除自由基; 防霉变

中图分类号: S682.1⁺1.099; Q949.9 文献标志码: A 文章编号: 1674-7895(2010)01-0020-06

Analyses on phenolic compositions, abilities of scavenging free radicals and mildewproof of 60% ethanol extract from *Dendranthema indicum* flower SHEN Hai-jin, GUO Qiao-sheng^①, FANG Hai-ling (Institute of Chinese Medicinal Materials, Nanjing Agricultural University, Nanjing 210095, China), *J. Plant Resour. & Environ.* 2010, 19(1): 20-25

Abstract: Compositions and contents of phenolic compounds in 60% ethanol extract from *Dendranthema indicum* (L.) Des Moul. flower were analyzed, and its scavenging ability to free radicals of $\cdot\text{O}_2^-$, $\cdot\text{OH}$ and DPPH and its mildewproof ability to milk were also studied. The results show that the 60% ethanol extract mainly contains flavonoids and a certain amount of phenolic acids. In phenolic acids, contents of chlorogenic acid and caffeic acid are $20.74 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$ and $1420.57 \mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$, respectively. Total flavonoids content in the extract is $490.50 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$, in which contents of quercetin, luteolin, apigenin, acacetin and linarin are 31.05 , 22.67 , 23.09 , 30.71 and $107.23 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$, accounting for 6.33% , 4.62% , 4.71% , 6.26% and 21.86% of total flavonoids content, respectively. The extract has a certain scavenging ability to free radicals of $\cdot\text{O}_2^-$, $\cdot\text{OH}$ and DPPH, and the scavenging rate generally appears a positive correlation with the extract concentration in concentration range of each experiment. The linear regression equations between scavenging rate and concentration of the extract are $y=0.273x+38.540$, $y=1.208x+2.761$ and $y=2.032x+45.330$, respectively, and IC_{50} of the extracts to $\cdot\text{O}_2^-$, $\cdot\text{OH}$ and DPPH are $41.98 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$, $39.11 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ and $2.30 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$, respectively. In which,

收稿日期: 2009-09-21

基金项目: 国家科技基础条件平台项目(2005DKA21000)

作者简介: 申海进(1981—), 男, 江苏泰兴人, 硕士, 助教, 主要从事中药源食品的利用研究。

^①通信作者 E-mail: gqs@njau.edu.cn

the scavenging ability to DPPH free radical is the strongest, and its IC_{50} is slightly higher than that of V_c . When a certain amount of the extract (0.012 5%–0.2%) added in milk, mildew spot number, disease index and spore number in the milk all are lower than those of the blank group, and the mildewproof ability has a positive correlation with the extract concentration. And the mildewproof ability of 0.2% extract is high than that of 0.01% potassium sorbate. It is suggested that 60% ethanol extract from *D. indicum* flower has a stronger oxidation resistance and a significant mildewproof ability, so it can be further exploited and utilized as food antiseptic.

Key words: *Dendranthema indicum* (L.) Des Moul. flower; 60% ethanol extract; phenolic acids; flavonoids; scavenging free radical; mildewproof

野菊花为菊科(Compositae)多年生草本植物野菊(*Dendranthema indicum* (L.) Des Moul.)的干燥头状花序,具有清热解毒等功效,常用于治疗疔疮脓肿、目赤肿痛及头痛眩晕等症^[1]。Yoshikawa 等对野菊花的植化分析结果显示,野菊花药材中含有类黄酮和酚类等成分^[2]。迄今为止,关于野菊花中酚酸类和黄酮类成分的研究文献很多,特别是有关这些成分含量测定的报道较多。吴明侠等^[3-4]测定了野菊花70%乙醇提取液和水提取液中的多种有机酸类组分的含量;贺丹霞等^[5]和申海进等^[6]对野菊花甲醇提取液中多种黄酮类成分的含量进行了分析;刘菲等^[7]则测定了野菊花80%甲醇提取液中多种黄酮类成分的含量。但目前关于野菊花不同溶剂提取液清除自由基和防霉变能力的报道尚不多见。

作者对野菊花60%乙醇提取物的酚类成分组成与含量进行了分析,并对野菊花60%乙醇提取物的清除自由基和防霉变能力进行了研究,以期对野菊花提取物的深度利用提供参考依据。

1 材料和方法

1.1 材料

实验用野菊的头状花序于2007年10月至11月采自安徽省金寨县,经南京农业大学中药材研究所郭巧生教授鉴定。野菊的头状花序在采集后的30 min内于105℃杀青3 min,再于40℃条件下通风干燥,最后置于-20℃条件下密封储藏、备用。

实验用木犀草素(纯度≥98%,116K4078)、槲皮素(纯度≥98%,87K0744)、绿原酸(纯度≥95%,27K2019)和咖啡酸(纯度≥98%,047K1609)等标准品均购自Sigma公司;芦丁标准品(纯度≥95%,15724AH)购自Sigma-Aldrich公司;刺槐素标准品(纯度≥97%,14707294)购自Fluka公司;芹菜素标

准品(纯度≥95%,11006KH)购自Aldrich公司;蒙花苷标准品(纯度98.3%,11158-200606)购自中国药品生物制品检定所;DPPH购自Sigma公司;牛奶为南京卫岗乳业有限公司生产的新鲜牛奶;山梨酸钾为食品级;其余试剂均为国产分析纯级。

1.2 方法

1.2.1 野菊花60%乙醇提取物的提取和供试溶液的制备 将经过干燥的野菊头状花序粉碎后过100目筛,取野菊花粉末2 kg,用10 L乙醚反复萃取至无色,挥干乙醚后用10 L体积分数60%乙醇反复提取至提取液无色,合并60%乙醇提取液后抽滤,滤液于70℃水浴中旋转蒸发至无醇味,然后于-70℃冷冻并经真空冷冻干燥,得到黄色或棕黄色粉末,此粉末即为野菊花60%乙醇提取物。

将野菊花60%乙醇提取物粉末用体积分数60%乙醇溶解,经0.45 μm微孔滤膜过滤后,作为供试溶液备用。

1.2.2 野菊花60%乙醇提取物的化学组成分析 野菊花60%乙醇提取物溶液中绿原酸和咖啡酸含量的测定参照吴明侠等^[3]的方法进行并略加改动。采用美国GE Healthcare公司生产的ÅKTA purifier 100(Box-900,UV-900)型液相色谱分析仪进行色谱分析。色谱分析条件为:色谱柱为Shim-pack VP-ODS C_{18} 柱(4.6 mm×250 mm,5 μm);流动相为乙腈-水(含体积分数0.5%磷酸)混合液,体积比为81:19;流速1.0 mL·min⁻¹;检测波长326 nm;进样量100 μL;柱温为25℃。将60%乙醇提取物溶液直接进样测定,重复3次;绿原酸和咖啡酸标准品则配制成溶液后同法测定。采用峰面积外标法计算野菊花60%乙醇提取物中绿原酸和咖啡酸的含量。

总黄酮含量测定参照郭巧生等^[8]的方法进行并略加改动。取野菊花60%乙醇提取物溶液1 mL,用体积分数60%乙醇定容至25 mL,混匀后吸取2 mL,

先加入质量体积分数5% NaNO_2 溶液0.3 mL, 摇匀后静置6 min; 再加入质量体积分数10% $\text{Al}(\text{NO}_3)_3$ 溶液0.3 mL, 摇匀后放置6 min; 最后加入质量体积分数4% NaOH 溶液4 mL, 混匀后用蒸馏水定容至10 mL, 反应15 min后用Lambda 25型紫外-可见分光光度计(美国PerkinElmer公司生产)测定反应溶液在510 nm处的吸光值。实验重复3次, 以体积分数60%乙醇作为空白。芦丁标准品则配制成溶液后同法测定, 采用吸光值外标法确定野菊花60%乙醇提取物中总黄酮的含量。

槲皮素、木犀草素、芹菜素及刺槐素的含量测定参照申海进等^[6]的方法进行。使用美国Agilent Technologies公司生产的Agilent 1120 Compact LC (G4288A)型液相色谱分析仪。色谱条件为: 色谱柱为Agilent Zorbax Eclipse XDB- C_{18} 柱(4.6 mm×250 mm, 5 μm)。流动相A为甲醇, B为体积分数0.2%磷酸水溶液, 梯度洗脱程序为: 0~20 min, 47% A-53% B; 21~30 min, 47%~70% A-53%~30% B; 31~40 min, 70% A-30% B; 41~45 min, 70%~100% A-30%~0% B; 46~50 min, 100% A。检测波长350 nm; 流速1.0 mL·min⁻¹; 进样量20 μL ; 柱温为25℃。将60%乙醇提取物溶液直接进样测定, 并重复3次; 槲皮素、木犀草素、芹菜素及刺槐素等标准品则配成溶液后按同法进样测定。采用峰面积外标法确定野菊花60%乙醇提取物中槲皮素、木犀草素、芹菜素及刺槐素的含量。

参考文献[1]的方法测定蒙花苷含量, 使用日本Shimadzu公司生产的Shimadzu Prominence LC (LC-20AT, SPD-20A)型液相色谱分析仪。色谱条件为: 色谱柱为Shim-pack VP-ODS C_{18} 柱(4.6 mm×250 mm, 5 μm); 流动相为甲醇-水-冰醋酸的混合液, 体积比26:23:1; 检测波长334 nm; 流速1.0 mL·min⁻¹; 进样量为20 μL ; 柱温25℃。将60%乙醇提取物溶液直接进样测定, 重复3次; 蒙花苷标准品则配成溶液后按同法进样测定。采用峰面积外标法确定野菊花60%乙醇提取物中蒙花苷的含量。

1.2.3 野菊花60%乙醇提取物清除自由基能力测定 野菊花60%乙醇提取物对 $\cdot\text{O}^{2-}$ 自由基清除能力的测定参照文献[9]的方法进行并略加改动。取4.5 mL 50 mmol·L⁻¹ Tris-HCl缓冲溶液(pH 8.2), 分别加入4.2 mL不同质量浓度(40、80、120和160 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$)的野菊花60%乙醇提取物溶液(对照则加

入4.2 mL蒸馏水), 混匀后于25℃水浴保温20 min, 取出后立即加入0.3 mL经25℃预热的邻苯三酚溶液(用10 mmol·L⁻¹ HCl配制), 迅速摇匀, 并以10 mmol·L⁻¹ HCl代替邻苯三酚作为空白, 在波长325 nm处测定其动力学曲线, 每间隔10 s记录1次数值, 计算线性范围为每分钟吸光度的增加值 ΔA (对照则为 ΔA_0)。根据公式计算野菊花60%乙醇提取物对 $\cdot\text{O}^{2-}$ 自由基的清除率, 推算60%乙醇提取物对 $\cdot\text{O}^{2-}$ 自由基的 IC_{50} , 并按同法测定和计算 V_c 的 IC_{50} 。 $\cdot\text{O}^{2-}$ 自由基清除率的计算公式为: 清除率=[($\Delta A_0 - \Delta A$)/ ΔA_0]×100%。

野菊花60%乙醇提取物对 $\cdot\text{OH}$ 自由基清除能力的测定参照文献[10]的方法进行并略加改动。在0.5 mL 10 mmol·L⁻¹水杨酸溶液(用无水乙醇配制)中分别加入0.5 mL不同质量浓度(20、40、60和80 mg·mL⁻¹)的60%乙醇提取物溶液、0.5 mL 10 mmol·L⁻¹ FeSO_4 溶液和3.5 mL蒸馏水, 混匀后加入25 mL 88 mmol·L⁻¹ H_2O_2 溶液, 启动Fenton反应, 摇匀后, 于510 nm处测定吸光度(A_1); 用0.5 mL蒸馏水代替10 mmol·L⁻¹ FeSO_4 溶液, 按同法进行Fenton反应, 于510 nm处测定吸光度(A_2); 用0.5 mL蒸馏水代替60%乙醇提取物溶液, 按同法进行Fenton反应, 于510 nm处测定吸光度(A_3)。根据公式计算野菊花60%乙醇提取物对 $\cdot\text{OH}$ 自由基的清除率, 推算60%乙醇提取物对 $\cdot\text{OH}$ 自由基的 IC_{50} , 并按同法测定和计算 V_c 的 IC_{50} 。 $\cdot\text{OH}$ 自由基清除率的计算公式为: 清除率=[1-($A_1 - A_2$)/ A_3]×100%。

野菊花60%乙醇提取物对DPPH自由基清除能力的测定参照Shahidi等^[11]的方法进行并略加改动。分别吸取1.0 mL不同质量浓度(10、20和30 mg·mL⁻¹)的野菊花60%乙醇提取物溶液于2组具塞试管中, 向其中一组试管中加入120 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ DPPH溶液至4 mL, 摇匀, 30 min后于517 nm处测定吸光度(A_1), 用蒸馏水代替60%乙醇提取物溶液作为测定参比; 向另一组试管中加入蒸馏水至4 mL, 混匀, 30 min后于517 nm处测定吸光度(A_2)。另外, 按同法测定2 mL蒸馏水与2 mL 120 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ DPPH溶液混合后的吸光度(A_0)。根据公式计算野菊花60%乙醇提取物对DPPH自由基的清除率, 推算60%乙醇提取物对DPPH自由基的 IC_{50} , 并按同法测定和计算 V_c 的 IC_{50} 。DPPH自由基清除率的计算公

式为:清除率 $=[1-(A_1-A_2)/A_0] \times 100\%$ 。

1.2.4 野菊花 60% 乙醇提取物防霉变能力测定
量取 10 mL 新鲜牛奶置于经过灭菌处理的塑料杯中, 分别添加质量体积分数为 0% (空白)、0.012 5%、0.025%、0.05%、0.1% 和 0.2% 的野菊花 60% 乙醇提取物溶液 1 mL (液面直径 5.0 cm), 于 35 °C 培养箱中自然生菌, 以添加 1 mL 质量体积分数 0.01% 山梨酸钾溶液的新鲜牛奶作为对照。培养 72 h 后, 按照杜敏华等^[12]的方法观察牛奶表面的霉变程度, 根据菌斑数量和级别计算病情指数, 并统计霉菌孢子数。按直径(D)可将霉斑大小分为 5 个级别: I 级, $D \leq 1$ mm; II 级, $1 \text{ mm} < D \leq 2$ mm; III 级, $2 \text{ mm} < D \leq 3$ mm; IV 级, $3 \text{ mm} < D \leq 6$ mm; V 级, $D > 6$ mm。病情指数(K)的计算公式为: $K = \sum(\text{各级霉斑数} \times \text{各级级别}) / M$, 式中, $M = \text{观察样面面积} / \text{各级霉斑面积} \times \text{最高级别} = (\pi \times 625) / (\pi \times 9) \times 5 = 347$ 。

向培养 72 h 的牛奶样品中加入玻璃球, 振荡搅拌均匀后, 取 1 滴牛奶于载玻片上制片, 每个样品制片 3 张, 在 SZX10 显微镜 (日本 Olympus 公司生产) 下观察, 每个载玻片随机选取 3 个视野, 统计霉菌孢子数, 计算平均值。

1.3 数据处理

采用 SPSS 17.0 软件对实验数据进行统计与分析处理。

2 结果和分析

2.1 野菊花 60% 乙醇提取物酚类成分的化学组成及含量分析结果

通过提取及冷冻干燥, 获得的野菊花 60% 乙醇提取物的得率 (提取物占野菊花原料的质量百分率) 为 12.72%。

绿原酸和咖啡酸标准品的浓度与峰面积的回归方程分别为: $y_{\text{绿}} = 1.255 3x - 0.458 1 (R^2 = 0.998 5)$ 和 $y_{\text{咖}} = 7.625 5x - 12.948 (R^2 = 0.998 0)$, 据此, 采用峰面积外标法计算出野菊花 60% 乙醇提取物中绿原酸和咖啡酸的含量分别为 $(20.74 \pm 1.47) \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$ 和 $(1 420.57 \pm 13.18) \mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$ 。

芦丁标准品溶液浓度与吸光值的回归方程为: $y_{\text{芦}} = 0.002 1x + 0.001 8 (R^2 = 0.999 7)$, 据此, 采用吸光值外标法计算出野菊花 60% 乙醇提取物中的总黄酮含量为 $(490.50 \pm 3.64) \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$ 。

黄酮类成分槲皮素、木犀草素、芹菜素和刺槐素标准品的浓度与峰面积的回归方程分别为: $y_{\text{槲}} = 1 000 000x + 207 308 (R^2 = 0.998 9)$ 、 $y_{\text{木}} = 1 000 000x - 239 472 (R^2 = 0.998 5)$ 、 $y_{\text{芹}} = 2 000 000x + 36 255 (R^2 = 0.999 0)$ 和 $y_{\text{刺}} = 1 000 000x + 236 626 (R^2 = 0.999 6)$, 据此, 采用峰面积外标法计算出野菊花 60% 乙醇提取物中槲皮素的含量为 $(31.05 \pm 0.21) \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$ 、木犀草素的含量为 $(22.67 \pm 0.23) \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$ 、芹菜素的含量为 $(23.09 \pm 0.11) \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$ 、刺槐素的含量为 $(30.71 \pm 0.18) \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$, 依次占野菊花 60% 乙醇提取物中总黄酮含量的 6.33%、4.62%、4.71% 和 6.26%。

黄酮类成分蒙花苷标准品的浓度与峰面积的回归方程为: $y_{\text{蒙}} = 20 560x + 10 981 (R^2 = 0.997 5)$, 据此, 采用峰面积外标法计算出野菊花 60% 乙醇提取物中蒙花苷的含量为 $(107.23 \pm 1.01) \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$, 占野菊花 60% 乙醇提取物中总黄酮含量的 21.86%。

根据以上实验结果可以看出, 野菊花 60% 乙醇提取物中的酚类成分主要为黄酮类成分, 含量约为 50%, 其中蒙花苷含量最高; 另外含有少量酚酸类成分 (绿原酸和咖啡酸)。

2.2 野菊花 60% 乙醇提取物对自由基清除能力的比较分析

野菊花 60% 乙醇提取物对 $\cdot\text{O}_2^-$ 、 $\cdot\text{OH}$ 和 DPPH 的清除率分别见图 1、图 2 和图 3。结果表明, 野菊花 60% 乙醇提取物对 3 种自由基的清除率均随浓度升高而增大, 呈明显的线性关系。

由图 1 可看出, 在 $0 \sim 160 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 范围内, 随质量浓度的提高, 野菊花 60% 乙醇提取物对 $\cdot\text{O}_2^-$ 自由基的清除率呈线性增加, 其回归方程为 $y = 0.273x +$

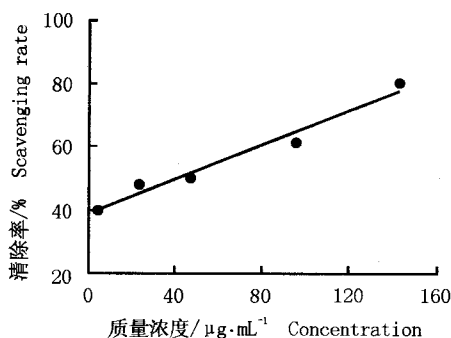


图 1 野菊花 60% 乙醇提取物对 $\cdot\text{O}_2^-$ 自由基的清除率
Fig. 1 Scavenging rate of 60% ethanol extract from *Dendranthema indicum* (L.) Des Moul. flower to $\cdot\text{O}_2^-$ free radical

著降低,其中0.1%和0.2%处理组每个视野的霉菌孢子数与对照(质量体积分数0.01%山梨酸钾)差异不显著,特别是质量体积分数0.2%的野菊花60%乙醇提取物对牛奶中霉菌孢子繁殖的抑制作用最强,甚至高于常用的霉菌抑制剂山梨酸钾(质量体积分数0.01%)。

3 结 论

化学组成和含量分析结果显示,野菊头状花序的60%乙醇提取物中含有丰富的黄酮类成分及一定量的酚酸类成分;黄酮类成分包括蒙花苷、槲皮素、木犀草素、芹菜素和刺槐素等,其中蒙花苷的含量最高;酚酸类成分包括绿原酸和咖啡酸等。

羟自由基、烷自由基和过氧化自由基等是生物体内较活泼、进攻性较强的活性氧,危害较大,可介导多种病理变化。许多研究者认为,黄酮类和酚酸类成分在生物的体内和体外系统中都具有较强的抗氧化能力^[13-15]。野菊花60%乙醇提取物中含有较高含量的黄酮类成分和一定量的酚酸类成分,抗氧化实验结果也显示野菊花60%乙醇提取物有较强的自由基清除能力,说明野菊花60%乙醇提取物中所含的这些酚类成分具有较强的自由基清除能力,在化学本质上具有降低羟自由基、烷自由基或过氧化自由基的有效浓度以及打断脂质过氧化链反应的作用,并且野菊花60%乙醇提取物对DPPH自由基的 IC_{50} ($2.30\text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$)略低于 V_c 的 IC_{50} ($2.38\text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$),因此,可以认为野菊花60%乙醇提取物有较好的抗氧化性能。

防霉变实验结果也表明,野菊花60%乙醇提取物有一定的防止牛奶霉变的作用。用质量体积分数0.2%的野菊花60%乙醇提取物溶液处理牛奶,其中的霉菌孢子数低于用质量体积分数0.01%山梨酸钾处理的牛奶,说明在食品中添加一定量的野菊花60%乙醇提取物,可以代替化学防腐剂,具有一定的防止食品霉变的作用。

参考文献:

- [1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典: 2005年版(一部)[M]. 北京: 化学工业出版社, 2005: 219.
- [2] Yoshikawa M, Murakami T, Toguchida I, et al. Medicinal flowers. I. Aldose reductase inhibitors and three new eudesmane-type sesquiterpenes, kikkanol A, B, and C, from the flowers of *Chrysanthemum indicum* L.[J]. Chemical and Pharmaceutical Bulletin, 1999, 47(3): 340-345.
- [3] 吴明侠, 张贵君. HPLC法测定野菊花70%乙醇提取物中两种有机酸类药效组分的含量[J]. 中医药学报, 2007, 35(6): 33-35.
- [4] 吴明侠, 张贵君. HPLC法测定野菊花水提取液中有机酸类药效组分的含量[J]. 中国现代药物应用, 2008, 2(12): 10-12.
- [5] 贺丹霞, 张伟, 秦民坚. 不同产地野菊花中黄酮类成分含量的HPLC分析[J]. 植物资源与环境学报, 2009, 18(3): 91-93.
- [6] 申海进, 郭巧生, 房海灵, 等. RP-HPLC测定野菊花中槲皮素、木犀草素、芹菜素和刺槐素[J]. 中国中药杂志, 2010, 35(2): 191-193.
- [7] 刘菲, 杨洋, 谭晓杰, 等. RP-HPLC同时测定野菊花中6种黄酮的含量[J]. 中国中药杂志, 2009, 34(16): 2067-2070.
- [8] 郭巧生, 汪涛, 程俐陶, 等. 不同栽培类型药用菊花黄酮类成分比较分析[J]. 中国中药杂志, 2008, 33(7): 756-759, 779.
- [9] Li Y H, Jiang B, Zhang T, et al. Antioxidant and free radical-scavenging activities of chickpea protein hydrolysate (CPH)[J]. Food Chemistry, 2008, 106(2): 444-450.
- [10] De Avellar I G J, Magalhães M M M, Silva A B, et al. Reevaluating the role of 1,10-phenanthroline in oxidative reactions involving ferrous ions and DNA damage[J]. Biochimica et Biophysica Acta, 2004, 1675(1/3): 46-53.
- [11] Shahidi F, Liyana-Pathirana C M, Wall D S. Antioxidant activity of white and black sesame seeds and their hull fractions[J]. Food Chemistry, 2006, 99(3): 478-483.
- [12] 杜敏华, 庞振凌. 超声波提取油菜花黄色素及其防腐作用研究[J]. 中国油料作物学报, 2007, 29(2): 216-219.
- [13] Formica J V, Regelson W. Review of the biology of quercetin and related bioflavonoids[J]. Food and Chemical Toxicology, 1995, 33(12): 1061-1080.
- [14] Cook N C, Samman S. Flavonoids: chemistry, metabolism, cardioprotective effects, and dietary sources[J]. The Journal of Nutritional Biochemistry, 1996, 7(2): 66-76.
- [15] Yamasaki H, Sakihama Y, Ikehara N. Flavonoids-peroxidase reaction as a detoxification mechanism of plant cells against H_2O_2 [J]. Plant Physiology, 1997, 115(4): 1405-1412.