

# 牡丹籽壳中黄酮类化合物提取及组分分析

## Extraction and composition analysis of flavonoids in peony seed shells

邹平 张迎阳 邹林玲

ZOU Ping ZHANG Ying-yang ZOU Lin-ling

(常州大学食品学院, 江苏 常州 213164)

(School of Food, Changzhou University, Changzhou, Jiangsu 213164, China)

**摘要:**目的:探究牡丹籽壳中天然黄酮化合物(MDZK)的抗氧化性。方法:采用溶剂回流提取法对牡丹籽壳总黄酮进行提取,采用紫外—可见分光光度计法测定 MDZK 含量和抗氧化性能,并采用 LC-MS 法对提取的总黄酮进行组分分析。结果:当提取溶剂为 70% 乙醇,提取温度为 70 °C,料液比为 1:25 (g/mL),提取时间 60 min 时,MDZK 得率最高为 (10.54±0.13)%;当 MDZK 质量浓度为 120 μg/mL 时,其对 DPPH 自由基、超氧阴离子自由基和 OH 自由基的最高清除率分别为 58.54%,55.72%,49.07%,表明 MDZK 具有一定的抗氧化作用且效果良好;通过与数据库比对鉴定出 20 多种黄酮化合物及其衍生物,其中含量最多的为木犀草苷、圣草酚、山奈酚、芹菜素和新橙皮苷等。结论:牡丹籽壳中的黄酮化合物抗氧化活性良好,可作为抗氧化产品用于食品工业或医药等领域。

**关键词:**牡丹籽壳;黄酮类;抗氧化活性;液质联用

**Abstract: Objective:** To extract natural flavonoid compounds (MDZK) from peony seed husks for composition analysis and antioxidant research. **Methods:** The total flavonoids of peony seed shell were extracted by solvent reflux extraction method. The ultraviolet-visible spectrophotometer method was used to determine the MDZK content and antioxidant properties; The total flavonoids extracted were analyzed by LC-MS method. **Results:** When the solvent was 70% ethanol, the extraction temperature was 70 °C, the feed-to-liquid ratio was 1:25 (g/mL), and the extraction time was 60 min, the MDZK yield was the highest, which was (10.54±0.13)%. When the concentration of MDZK reached 120 μg/mL, the highest clearance rates of DPPH radicals, O<sub>2</sub><sup>-</sup> radicals and ·OH radicals were 58.54%, 55.72% and 49.07%, respectively, which showed that MDZK had certain antioxidant effects and good effects. More

than 20 flavonoid compounds and their derivatives were identified by comparison with the database, of which the most abundant content were Luteoloside, Eriodictyol Kaempfero, Apigenin and Neohesperidin. **Conclusion:** The flavonoid compounds in the shell of peony seeds have good antioxidant activity and can be used as antioxidant products in food industry or medicine, and have wide application prospects.

**Keywords:** peony seed shell; flavonoids; antioxidant activity; LC-MS

牡丹 (*Paeonia suffruticosa* Andr) 为毛茛科、芍药属多年生落叶灌木。油用牡丹是中国特有的木本油料植物,具有结籽量大、出油率高、适应性强且产量稳定的特点,可带来可观的经济效益、生态效益及社会效益<sup>[1-5]</sup>。牡丹籽壳是牡丹籽加工后的副产物,重量约占牡丹籽的 1/3<sup>[6]</sup>,含有黄酮类化合物<sup>[7]</sup>、芪类化合物<sup>[8]</sup>、黑色素<sup>[9]</sup>等大量活性物质。黄酮类化合物具有多种生物活性,如抗氧化活性<sup>[10]</sup>、降血糖血压作用<sup>[11-15]</sup>等。目前,牡丹籽壳大多被丢弃,不仅浪费资源还造成环境污染。

黄酮类化合物最常用的提取方法为甲醇、乙醇等溶剂浸提法<sup>[16]</sup>。有研究发现,利用超声<sup>[7]</sup>、微波<sup>[17]</sup>或超声—微波联用<sup>[18]</sup>的方法能够辅助黄酮类化合物的提取。李婉仪等<sup>[7]</sup>采用响应面法对超声辅助提取黄酮化合物进行了工艺优化,获取的天然黄酮化合物(MDZK)得率最高为 13.66%。但这些辅助方法都增加了 MDZK 的提取成本。研究拟对传统溶剂浸提法进行改良,采用回流提取的工艺提取 MDZK,并分析其组分和抗氧化活性,旨在为牡丹籽壳的进一步开发利用提供依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料与仪器

#### 1.1.1 材料与试剂

牡丹籽壳:江苏国色天香油用牡丹科技发展有限公司;

基金项目:江苏省科技支撑计划(编号:BE2018316)

作者简介:邹平,男,常州大学讲师,博士。

通信作者:张迎阳(1980—),男,常州大学副教授,博士。

E-mail: 173884044@qq.com

收稿日期:2022-07-27 改回日期:2022-12-06

1, 10-菲啉、三(羟甲基)氨基甲烷(Tris):分析纯, 国药集团化学试剂有限公司;

抗坏血酸( $V_C$ )、2,2-联苯基-1-苦基肼基(DPPH)、氯化硝基四氮唑蓝(NBT)、还原性辅酶(NADH):分析纯, 阿拉丁试剂(上海)有限公司。

### 1.1.2 主要仪器设备

环水式真空泵:SHB-III A型,上海聚昆仪器设备有限公司;

紫外可见近红外分光光度计:UV-3600型,岛津企业管理(中国)有限公司;

高通量组织破碎仪:Tissuelyser-48型,上海净信实业发展有限公司;

质谱仪:Q Exactive型,美国 Thermo 公司;

超高效液相色谱仪:Vanquish型,美国 Thermo 公司;

漩涡混合器:XH-T型,金坛区白塔新宝仪器厂;

氮气吹扫仪:DN200-12A型,上海左乐仪器有限公司。

## 1.2 方法

### 1.2.1 牡丹籽壳总黄酮提取工艺流程

牡丹籽壳→粉碎过60目筛→石油醚脱脂→乙醇溶液回流提取→过滤→离心取上清液→MDZK

1.2.2 牡丹籽壳总黄酮含量测定 根据文献[19]稍作修改。精确称取20 mg 芦丁标准品,用体积分数60%乙醇溶解并定容至25 mL作为对照品储备液。准确移取5.0 mL对照品储备液于25 mL容量瓶中用60%乙醇定容即为对照品溶液。准确移取0.0,0.6,1.2,1.8,2.4,3.0,3.6,4.2,4.8,5.4,6.0 mL对照品溶液于10 mL容量瓶中,分别加入30%乙醇至5 mL,再加入4 mL质量分数为1%的 $AlCl_3$ 溶液,用30%乙醇定容。摇匀静置30 min,测定415 nm处吸光值,得标准曲线为 $y=0.0279x+0.0166$ ,  $R^2=0.99597$ 。

准确移取1 mL黄酮提取液于10 mL容量瓶中,用4 mL体积分数30%乙醇稀释,加入4 mL质量分数为1%的 $AlCl_3$ 溶液,用30%乙醇定容。摇匀静置10 min,测定415 nm处吸光度值。按式(1)计算MDZK得率<sup>[7]</sup>。

$$R = \frac{c \times V_2 \times V_1}{V_3 \times m} \times 100\% \quad (1)$$

式中:

$R$ ——MDZK得率,%;

$c$ ——MDZK质量浓度,mg/mL;

$m$ ——称取样品的质量,mg;

$V_1$ ——提取液体积,mL;

$V_2$ ——测定时反应体系体积,mL;

$V_3$ ——测定时吸取体积,mL。

1.2.3 牡丹籽壳总黄酮提取工艺优化 在其他条件不变

的情况下,分别考察乙醇体积分数(50%,60%,70%,80%,90%)、反应温度(50,60,70,80,90℃)、料液比[1:20,1:25,1:30,1:35,1:40(g/mL)]以及提取时间(30,60,90,120,150 min)4个因素对MDZK得率的影响。在此基础上,以MDZK得率为响应值,采用Design-Expert 13设计四因素三水平的Box-Behnken模型,通过试验确定最优提取工艺。

### 1.2.4 体外抗氧化活性

(1) DPPH自由基清除作用:参照文献[20]。

(2) OH自由基清除作用:参照文献[21]。

(3) 超氧阴离子自由基清除作用:根据文献[22]。

1.2.5 牡丹籽壳黄酮化合物组成 采用基于液质联用(LC-MS)非靶向<sup>[23-25]</sup>的方式进行,且用正离子模式和负离子模式分别扫描,并将所得的数据供生物信息学分析。

(1) 色谱条件:采用ACQUITY UPLC BEH  $C_{18}$  1.7 mm (2.1 mm×100 mm)色谱柱,自动进样器温度8℃,流速0.25 mL/min,柱温40℃,进样体积2 mL,流动相为0.1%甲酸水(A)—0.1%甲酸乙腈(B),梯度洗脱程序为0~1 min,20% B;1~9 min,20%~50% B;9~12 min,50%~98% B;12~13.5 min,98% B;13.5~14 min,98%~20% B;14~17 min,20% B,紫外检测波长扫描范围为200~400 nm。

(2) 质谱条件:电喷雾离子源(ESI),正离子喷雾电压3.50 kV,负离子喷雾电压2.50 kV,鞘气(Arb)30,辅助气(Arb)10。毛细管温度325℃,以分辨率70 000,扫描范围150~1 000,并采用HCD进行二级裂解,碰撞电压分别为10,50,60 eV,同时采用动态排除法去除无必要的MS/MS信息。

1.2.6 数据处理 利用软件R(v3.1.3)的XCMS程序包进行峰识别、峰过滤、峰对齐,得到包括质核比和保留时间及峰面积等信息的数据矩阵;通过精确分子量确认筛选后根据MS/MS碎片模式对Human Metabolome Database (HMDB)、METLIN、Mass bank、Lipid Maps、mzCloud等标准品数据库确认注释获得代谢物。

## 2 结果与分析

### 2.1 单因素试验

2.1.1 乙醇体积分数对总黄酮得率的影响 由图1可知,MDZK得率随乙醇体积分数的提高而升高,当乙醇体积分数>70%时,MDZK得率下降,是由于乙醇体积分数升高同时也会促进其他非黄酮类物质的溶出,从而影响了MDZK的溶解<sup>[26]</sup>。因此,提取溶剂乙醇的最佳体积分数为70%。

2.1.2 提取温度对总黄酮得率的影响 由图2可知,当提取温度<70℃时,MDZK得率随提取温度的升高明显增大,说明提取温度升高能够有效加快分子运动速率,有

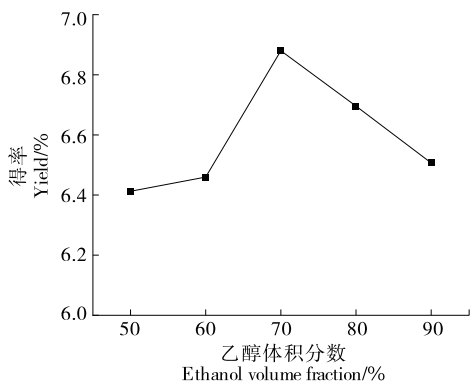


图 1 乙醇体积分数对总黄酮得率的影响  
Figure 1 Effects of ethanol volume fraction on total flavonoid yield

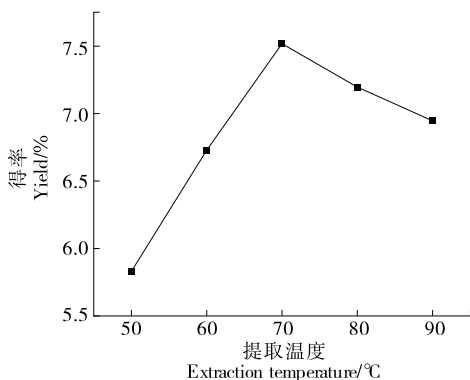


图 2 提取温度对总黄酮得率的影响  
Figure 2 Effects of extraction temperature on total flavonoid yield

利于黄酮类化合物的提取;但是部分黄酮类化合物在高温条件下会分解<sup>[27]</sup>,当提取温度>70℃时,MDZK 得率逐渐减小。因此,最佳提取温度选择 70℃。

2.1.3 料液比对总黄酮得率的影响 由图 3 可知,当料液比<1:25 (g/mL)时,MDZK 得率较低,是因为提取溶

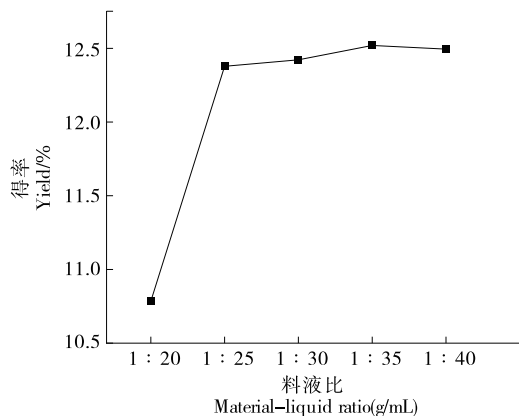


图 3 料液比对总黄酮得率的影响  
Figure 3 Effects of feed-to-liquid ratio on total flavonoid yield

剂越少,与牡丹籽壳粉的接触面积越小,提取总黄酮的量就越少<sup>[28]</sup>;当料液比≥1:25 (g/mL)时,MDZK 得率趋于平衡,可能是因为料液比达到 1:25 (g/mL)时,总黄酮溶出率已达最高。因此,最佳料液比为 1:25 (g/mL)。

2.1.4 提取时间对总黄酮得率的影响 由图 4 可知,当提取时间<60 min 时,MDZK 得率随提取时间的延长逐渐增加,当提取时间>60 min 时,MDZK 得率变化不明显。随着提取时间的延长黄酮被提取出来并逐渐达到饱和<sup>[29]</sup>,故选择最佳提取时间为 60 min。

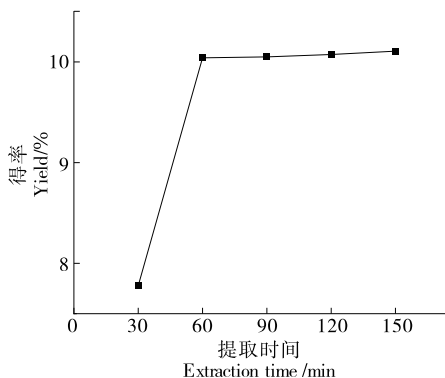


图 4 提取时间对总黄酮得率的影响  
Figure 4 Effects of extraction time on total flavonoid yield

## 2.2 响应面实验

2.2.1 Box-Behnken 设计方案及结果 在单因素试验基础上,以乙醇体积分数、提取温度、料液比和提取时间为因素,以总黄酮得率为响应值,采用 Design-Expert 13 设计四因素三水平的 Box-Behnken 模型。试验因素及水平见表 1,试验设计及结果见表 2。

利用 Design-Expert 13 软件对数据进行回归分析,得二项回归方程为:

$$Y = 10.53 - 0.393 0A - 0.376 9B - 0.292 6C - 0.111 1D + 0.034 2AB - 0.280 4AC + 0.750 3AD + 0.053 0BC + 0.485 6BD - 0.213 9CD - 1.37A^2 - 0.859 2B^2 - 0.739 6C^2 - 0.898 2D^2. \quad (2)$$

2.2.2 回归模型方程分析 由表 3 可知,模型  $P < 0.000 1$ ,极显著;失拟项  $P = 0.107 4 > 0.05$ ,不显著; $R^2 = 0.964 1$ ,拟合度较好;变异系数为 2.93%,说明该试验具

表 1 响应面实验因素水平

Table 1 Response surface test factor levels

水平	A 乙醇体积分数/%	B 提取温度/°C	C 料液比 (g/mL)	D 提取时间/min
-1	60	60	1:20	30
0	70	70	1:25	60
1	80	80	1:30	90

表 2 响应面试验设计及结果

Table 2 Response surface experimental design and results

试验号	A	B	C	D	总黄酮得率/%
1	0	-1	1	0	8.97
2	-1	0	0	-1	9.59
3	1	0	0	1	8.23
4	0	0	-1	-1	9.13
5	0	-1	0	-1	9.52
6	-1	0	0	1	7.50
7	0	0	0	0	10.46
8	0	1	1	0	8.38
9	-1	1	0	0	8.27
10	0	0	0	0	10.48
11	0	1	0	-1	7.87
12	0	0	0	0	10.39
13	1	0	1	0	7.11
14	1	0	-1	0	8.67
15	0	1	0	1	8.93
16	1	-1	0	0	8.56
17	-1	-1	0	0	9.22
18	0	0	0	0	10.79
19	-1	0	-1	0	9.10
20	-1	0	1	0	8.66
21	1	1	0	0	7.74
22	0	-1	-1	0	9.38
23	0	-1	0	1	8.63
24	0	0	1	-1	9.10
25	0	0	-1	1	9.39
26	1	0	0	-1	7.32
27	0	0	1	1	8.51
28	0	0	0	0	10.54
29	0	1	-1	0	8.58

有良好的稳定性,同时也说明该回归模型能够很好地分析和预测 MDZK 的提取效果。

2.2.3 响应面分析与优化 将模型中 A、B、C 和 D 四因素在方差分析的基础上固定在中间水平,以 MDZK 得率作为相应指标,分别得出两个因素交互作用的响应面模型,响应面的弯曲程度则反映交互作用的大小。由图 5 可知,乙醇体积分数和提取温度之间的交互作用对 MDZK 提取率的影响较大,乙醇体积分数和提取时间交互作用的影响次之,而其他两因素的交互作用影响不太明显。

利用 Design-Expert 13 软件对回归模型进行分析,得出总黄酮提取最佳工艺条件为乙醇体积分数 69.8%,提

表 3 回归模型方差分析<sup>†</sup>

Table 3 Regression model ANOVA

方差来源	平方和	自由度	均方	F 值	P 值	显著性
模型	25.68	14	1.83	26.87	<0.000 1	* *
A	1.85	1	1.85	27.15	0.000 1	* *
B	1.70	1	1.70	24.97	0.000 2	* *
C	1.03	1	1.03	15.05	0.001 7	* *
D	0.15	1	0.15	2.17	0.163 0	
AB	0.005	1	0.005	0.07	0.797 0	
AC	0.31	1	0.31	4.61	0.049 9	*
AD	2.25	1	2.25	32.99	<0.000 1	* *
BC	0.01	1	0.01	0.16	0.691 1	
BD	0.94	1	0.94	13.82	0.002 3	* *
CD	0.18	1	0.18	2.68	0.123 8	
A <sup>2</sup>	12.09	1	12.09	177.05	<0.000 1	* *
B <sup>2</sup>	4.79	1	4.79	70.15	<0.000 1	* *
C <sup>2</sup>	3.55	1	3.55	51.98	<0.000 1	* *
D <sup>2</sup>	5.23	1	5.23	76.66	<0.000 1	* *
残差	0.96	14	0.07			
失拟项	0.86	10	0.09	3.75	0.107 4	不显著
纯误差	0.09	4	0.021			
总变异	26.64	28				

<sup>†</sup> \* 表示显著( $P < 0.05$ ); \* \* 表示极显著( $P < 0.01$ );  $R^2 = 0.964 1, R_{adj}^2 = 0.928 2; CV = 2.93\%$ 。

取温度 69.7 ℃,料液比 1 : 25.4 (g/mL),提取时间 59.8 min,该条件下 MDZK 得率为 10.65%。为方便验证,将最佳工艺条件修正为乙醇体积分数 70%,提取温度 70 ℃,料液比 1 : 25 (g/mL),提取时间 60 min,此时 MDZK 得率为(10.54 ± 0.13)%( $n = 3$ ),与预测值基本一致,说明该响应面模型优化的最佳工艺条件比较准确可靠,对实际操作具有一定的参考价值。

2.3 抗氧化性分析

2.3.1 DPPH 自由基清除作用 由图 6 可知,随着样品质量浓度的升高,DPPH 自由基清除率逐渐增加。当  $V_c$  质量浓度 > 80 mg/mL 时,DPPH 自由基清除率趋于平衡,当样品质量浓度为 120 mg/mL 时,MDZK 对 DPPH 自由基的清除率最高为 58.54%,说明 MDZK 对 DPPH 自由基具有抑制作用,且抑制效果较好。

2.3.2 OH 自由基清除作用 由图 7 可知, $V_c$  对 OH 自由基的清除作用较高,当  $V_c$  质量浓度 > 60 mg/mL 后,OH 自由基清除率一直保持在 90% 左右;MDZK 对 OH 自由基的清除能力虽低于  $V_c$ ,但从线性趋势来看,其对 OH 自由基的清除作用随着样品质量浓度的升高而增加,表明 MDZK 对 OH 自由基具有一定的清除作用。

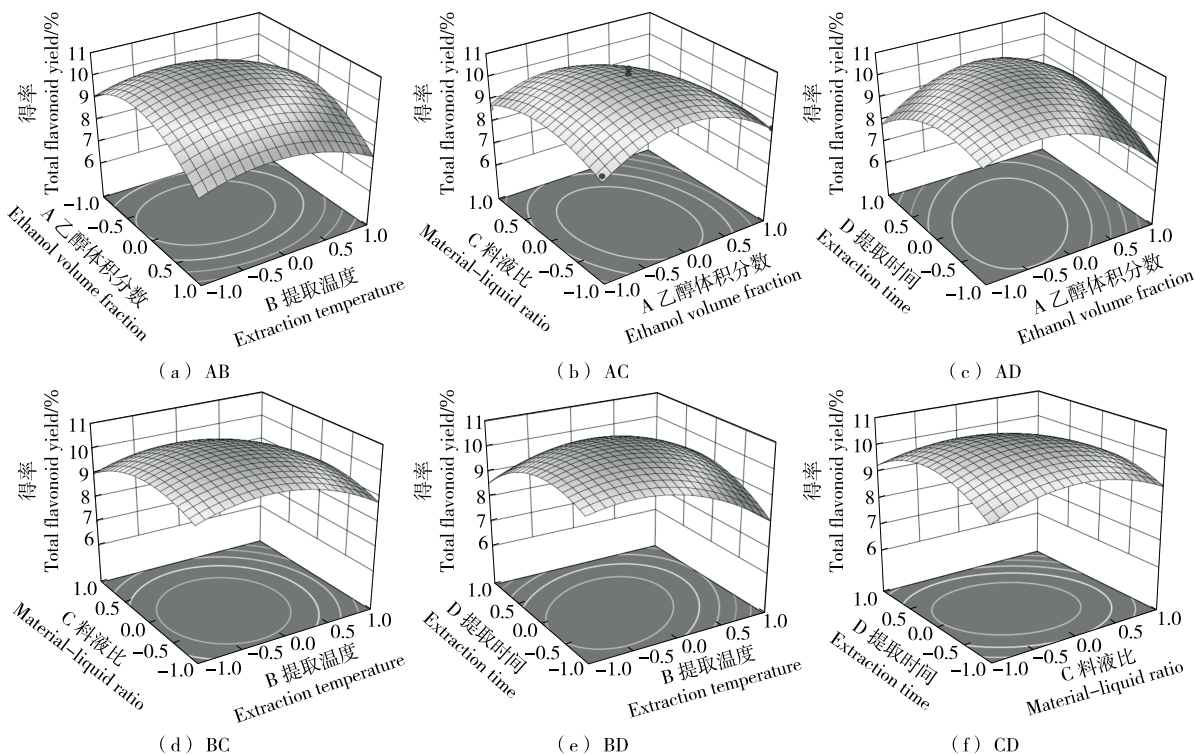


图 5 各因素交互作用对总黄酮得率影响的响应面图

Figure 5 Response surface diagram of the interaction of various factors on the yield of total flavonoids

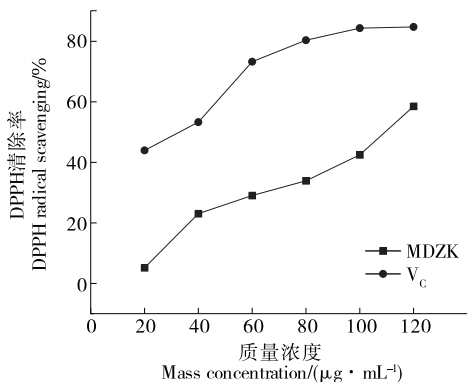


图 6 DPPH 自由基清除作用

Figure 6 Scavenging effect of DPPH free radical

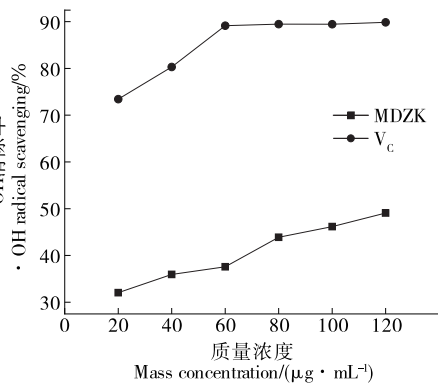


图 7 OH 自由基的清除作用

Figure 7 Scavenging effects of OH free radicals

2.3.3 超氧阴离子自由基清除作用 由图 8 可知, MDZK 和 Vc 对超氧阴离子自由基的清除作用均随样品质量浓度的升高而提高。当质量浓度为 120  $\mu\text{g}/\text{mL}$  时, MDZK 的清除率达 55.72%, Vc 的为 88.07%, 说明 MDZK 对超氧阴离子自由基的清除作用较好。

#### 2.4 牡丹籽壳黄酮化合物组成

经数据处理与分析, 最终鉴定出了 20 种黄酮类化合物及其衍生物。由图 9 和表 4 可知, MDZK 中含有木犀草苷、圣草酚、山奈酚、芹菜素和新橙皮苷等化合物。其中木犀草苷是 MDZK 中含量最多的化合物, 相对含量为 29.32%, 其峰面积为 2 009 472 783.62, 保留时间为 136.5 s, 精确

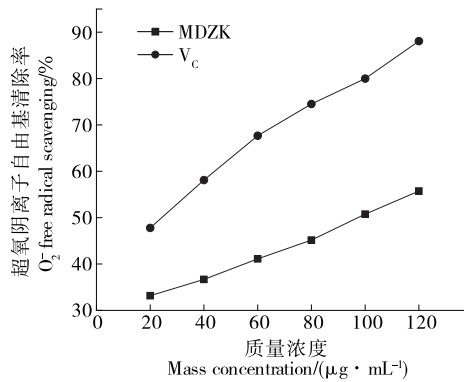


图 8 超氧阴离子自由基的清除作用

Figure 8 Scavenging effects of O<sub>2</sub><sup>-</sup> free radicals

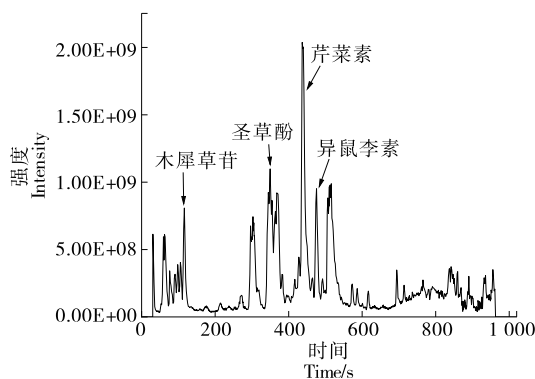


图9 MDZK HPLC图

Figure 9 MDZK HPLC diagram

表4 牡丹籽壳黄酮化合物成分鉴定

Table 4 Identification of flavonoid compounds in peony seed shell

化合物	分子式	保留时间/s	质核比 (m/z)	相对含量/%
木犀草苷	C <sub>21</sub> H <sub>20</sub> O <sub>11</sub>	136.498 8	448.380 0	29.32
圣草酚	C <sub>15</sub> H <sub>12</sub> O <sub>6</sub>	356.575 1	288.063 4	9.87
山奈酚	C <sub>15</sub> H <sub>10</sub> O <sub>6</sub>	136.739 7	286.047 7	2.37
芹菜素	C <sub>15</sub> H <sub>10</sub> O <sub>5</sub>	443.732 7	270.052 8	1.29
新橙皮苷	C <sub>28</sub> H <sub>34</sub> O <sub>15</sub>	918.115 2	610.189 8	1.24
槲皮素	C <sub>15</sub> H <sub>10</sub> O <sub>7</sub>	368.286 3	302.042 7	0.62
根皮素	C <sub>15</sub> H <sub>14</sub> O <sub>5</sub>	450.903 8	274.084 1	0.48
短叶松素	C <sub>15</sub> H <sub>12</sub> O <sub>5</sub>	409.002 3	272.068 5	0.42
柚皮素	C <sub>15</sub> H <sub>12</sub> O <sub>5</sub>	444.918 2	272.068 5	0.22
木犀草素	C <sub>15</sub> H <sub>10</sub> O <sub>6</sub>	362.091 9	286.047 7	0.11
槲皮素-3-龙胆二糖苷	C <sub>27</sub> H <sub>30</sub> O <sub>17</sub>	91.903 0	626.518 0	0.09
染料木素	C <sub>15</sub> H <sub>10</sub> O <sub>5</sub>	96.501 4	270.052 8	0.03
去甲丁香色原酮	C <sub>10</sub> H <sub>8</sub> O <sub>4</sub>	312.944 2	192.042 3	0.02
白杨素	C <sub>15</sub> H <sub>10</sub> O <sub>4</sub>	628.245 1	254.057 9	0.01
异黄腐醇	C <sub>21</sub> H <sub>22</sub> O <sub>5</sub>	880.391 7	354.402 0	0.01
乔松素	C <sub>15</sub> H <sub>12</sub> O <sub>4</sub>	647.721 4	256.073 6	0.01
羟基芫花素	C <sub>16</sub> H <sub>12</sub> O <sub>6</sub>	235.348 7	300.063 4	0.01
野漆树苷	C <sub>27</sub> H <sub>30</sub> O <sub>14</sub>	191.617 4	578.163 6	0.002
桑色素	C <sub>15</sub> H <sub>10</sub> O <sub>7</sub>	132.195 5	302.042 7	0.002
异鼠李素	C <sub>16</sub> H <sub>12</sub> O <sub>7</sub>	475.798 2	316.058 3	0.002

分子量为 448.38, 经测定其分子式为 C<sub>21</sub>H<sub>20</sub>O<sub>11</sub>; 其次为圣草酚(9.87%), 峰面积为 676 073 311.3, 保留时间为 356.6 s, 精确分子量为 288.06, 分子式测定结果为 C<sub>15</sub>H<sub>12</sub>O<sub>6</sub>; 山奈酚、芹菜素、新橙皮苷相对含量分别为 2.37%, 1.29%, 1.24%。MDZK 中含量较高的几种黄酮化合物均具有较好的抗氧化活性, 由于木犀草苷和圣草酚含量最高, 山奈酚和芹菜素等相对含量均 < 5%, 因此 MDZK 中是木犀草苷和圣草酚起主要的抗氧化作用。

### 3 结论

研究改良后的溶剂浸提法, 采用回流工艺法对牡丹籽壳中天然黄酮化合物进行提取。试验结果表明, 牡丹籽壳中总黄酮最佳提取工艺条件为乙醇体积分数 70%, 提取温度 70 °C, 料液比 1 : 25 (g/mL), 提取时间 60 min。该条件下天然黄酮化合物得率为 (10.54 ± 0.13)%, 与模型预测的最高得率基本一致。抗氧化性研究表明, 牡丹籽壳中天然黄酮化合物具有一定的抗氧化作用且效果良好。通过与数据库比对共鉴定出 20 多种黄酮化合物及其衍生物, 其中含量最多的为木犀草苷、圣草酚、山奈酚、芹菜素和新橙皮苷等。后续可进一步对黄酮化合物的活性物质进行提纯和开发。

### 参考文献

- [1] 王高潮, 刘仲健. 中国牡丹: 培育与鉴赏及文化渊源[M]. 北京: 中国林业出版社, 2000: 7-10.  
WANG G C, LIU Z J. Chinese peony: Nurturing and appreciating and cultural origins[M]. Beijing: China Forestry Publishing House, 2000: 7-10.
- [2] 赵能, 肖丰坤, 施蕊, 等. 滇牡丹籽油与凤丹牡丹籽油品质及活性对比研究[J]. 中国油脂, 2016, 41(6): 92-95.  
ZHAO N, XIAO F K, SHI R, et al. Comparison of quality and activity between *Paonia delavayi* seed oil and *Paonia sect. Moutan DC* seed oil[J]. China Oils and Fats, 2016, 41(6): 92-95.
- [3] 陈慧玲, 杨彦伶. 油用牡丹研究进展[J]. 湖北林业科技, 2013, 42(5): 41-44.  
CHEN H L, YANG Y L. Research progress on *Paonia suffruticosa* Andr for oil[J]. Hubei Forestry Science and Technology, 2013, 42(5): 41-44.
- [4] 李熙莉, 李平平. 紫斑牡丹的研究进展[J]. 北方园艺, 2007(5): 129-130.  
LI X L, LI P P. Research progress of purple-spotted peony[J]. Northern Horticulture, 2007(5): 129-130.
- [5] 周逢旭, 闫小满. 油用牡丹的应用和研究现状及发展对策[J]. 山东农业工程学院学报, 2018, 35(6): 3-4.  
ZHOU F X, YAN X M. Application and research status and development countermeasures of oil peony[J]. Journal of Shandong Agricultural Administrators' College, 2018, 35(6): 3-4.
- [6] 陈刚, 马晓. “凤丹”牡丹种皮多糖提取工艺的研究[J]. 食品工业科技, 2017, 38(1): 261-264.  
CHEN G, MA X. Extraction of polysaccharide in *Paonia suffruticosa* 'Feng Dan' epispem[J]. Science and Technology of Food Industry, 2017, 38(1): 261-264.
- [7] 李婉仪, 吉文丽. 响应面优化牡丹籽壳总黄酮超声波提取工艺及抗氧化活性研究[J]. 中国油脂, 2018, 43(4): 114-118.  
LI W Y, JI W L. Optimization of ultrasound extraction of total flavonoids from peony seed shell by response surface methodology and its antioxidant activity[J]. China Oils and Fats, 2018, 43(4):

- 114-118.
- [8] 刘丹丹, 郑旭熙. 响应面法优化超声提取牡丹籽壳低聚芪类化合物的工艺研究[J]. 中国油脂, 2017, 42(12): 108-112.  
LIU D D, ZHENG X X. Optimization of ultrasound-assisted extraction of oligomeric stilbene compound from peony seed shell by response surface methodology[J]. China Oils and Fats, 2017, 42(12): 108-112.
- [9] 张海丽, 毕珂. 牡丹籽壳黑色素应用研究[J]. 菏泽学院学报, 2021, 43(5): 89-93.  
ZHANG H L, BI K. On the application of melanin in peony seed shell[J]. Journal of Heze University, 2021, 43(5): 89-93.
- [10] LI C, DU H, WANG L, et al. Flavonoid composition and antioxidant activity of tree peony (*Paeonia section Moutan*) yellow flowers[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2009, 57(18): 8 496-8 503.
- [11] WANG H X, NG T B. Natural products with hypoglycemic, hypotensive, hypocholesterolemic, antiatherosclerotic and antithrombotic activities[J]. Life Sciences, 1999, 65(25): 2 663-2 677.
- [12] BAO G, ZHANG Y, YANG X. Effect of lemon peel flavonoids on anti-fatigue and anti-oxidation capacities of exhaustive exercise mice[J]. Applied Biological Chemistry, 2020, 63(1): 2-11.
- [13] 杨晓. 牡丹籽壳中芪类化合物提取及抗癌活性药理研究[D]. 洛阳: 河南科技大学, 2020: 29-42.  
YANG X. Study on extraction and anticancer activity of stilbenes from peony seed shell[D]. Luoyang: Henan University of Science and Technology, 2020: 29-42.
- [14] 谢映红, 李璐. 辣蓼黄酮对小鼠免疫功能调节作用的研究[J]. 现代畜牧兽医, 2021(1): 28-32.  
XIE Y H, LI L. Effect of flavonoids from *Polygonum hydropiper* L. on immune regulation in mice[J]. Modern Journal of Animal Husbandry and Veterinary Medicine, 2021(1): 28-32.
- [15] 吴永玲, 王静怡, 李俊伟, 等. 响应面法优化牡丹籽壳黄酮提取及抑菌活性[J]. 陕西农业科学, 2021, 67(11): 57-62.  
WU Y L, WANG J Y, LI J W, et al. Optimal extraction of flavonoids from peony seed husk and its antifungal activity by response surface methodology[J]. Shaanxi Journal of Agricultural Sciences, 2021, 67(11): 57-62.
- [16] 张睿, 徐雅琴. 黄酮类化合物提取工艺研究[J]. 食品与机械, 2003, 19(1): 21-22.  
ZHANG R, XU Y Q. The extracting technology of flavonoids compounds[J]. Food & Machinery, 2003, 19(1): 21-22.
- [17] 李金辉, 翁贵英. 微波辅助提取猕猴桃果渣总黄酮及其抗氧化活性[J]. 食品研究与开发, 2022, 43(12): 79-85.  
LI J H, WENG G Y. Microwave-assisted extraction and antioxidant activities of total flavonoids from kiwi fruit residues [J]. Food Research and Development, 2022, 43(12): 79-85.
- [18] 刘馨雨, 张海生. 超声波微波协同提取沙棘叶黄酮及其组成和活性研究[J]. 核农学报, 2022, 36(7): 1 381-1 390.  
LIU X Y, ZHANG H S. Ultrasonic microwave assisted extraction, composition and activity of flavonoids from *Hippophae rhamnoides* L. leaves[J]. Journal of Nuclear Agricultural Sciences, 2022, 36(7): 1 381-1 390.
- [19] 张展适. 辣木叶中总黄酮超声提取工艺优化[J]. 广州化工, 2021, 49(15): 93-95, 173.  
ZHANG Z S. Optimization of ultrasonic extraction technology of total flavonoids from leaves of *moringaoleifera* [J]. Guangzhou Chemical Industry, 2021, 49(15): 93-95, 173.
- [20] ZHU M, LIU T, ZHANG C, et al. Flavonoids of lotus (*Nelumbo nucifera*) seed embryos and their antioxidant potential[J]. J Food Sci, 2017, 82(8): 1 834-1 841.
- [21] YANG H, SU W, WANG L H, et al. Molecular structures of nonvolatile components in the Haihong fruit wine and their free radical scavenging effect[J]. Food Chemistry, 2021, 353: 129298.
- [22] CHU Y H, CHANG C L, HSU H F. Flavonoid content of several vegetables and their antioxidant activity[J]. Journal of the Science of Food and Agriculture, 2000, 80(5): 561-566.
- [23] WANG L, TIAN X, WEI W, et al. Fingerprint analysis and quality consistency evaluation of flavonoid compounds for fermented Guava leaf by combining high-performance liquid chromatography time-of-flight electrospray ionization mass spectrometry and chemometric methods[J]. Journal of Separation Science, 2016, 39(20): 3 906-3 916.
- [24] CARAZZONE C, MASCHERPA D, GAZZANI G, et al. Identification of phenolic constituents in red chicory salads (*Cichorium intybus*) by high-performance liquid chromatography with diode array detection and electrospray ionisation tandem mass spectrometry[J]. Food Chemistry, 2013, 138(2/3): 1 062-1 071.
- [25] BARNES J S, NGUYEN H P, SHEN S, et al. General method for extraction of blueberry anthocyanins and identification using high performance liquid chromatography-electrospray ionization-ion trap-time of flight-mass spectrometry [ J ]. Journal of Chromatography A, 2009, 1 216(23): 4 728-4 735.
- [26] BIMAKR M, RAHMAN R A, TAIP F S, et al. Comparison of different extraction methods for the extraction of major bioactive flavonoid compounds from spearmint (*Mentha spicata* L.) leaves [J]. Food and Bioproducts Processing, 2011, 89(1): 67-72.
- [27] BIESAGA M. Influence of extraction methods on stability of flavonoids[J]. Journal of Chromatography A, 2011, 1 218(18): 2 505-2 512.
- [28] SHENG Z L, WAN P F, DONG C L. Optimization of total flavonoids content extracted from flos populi using response surface methodology[J]. Industrial Crops and Products, 2013, 43: 778-786.
- [29] AZAHAR N F, GANI S S A, MOHD MOKHTAR N F. Optimization of phenolics and flavonoids extraction conditions of *Curcuma Zedoaria* leaves using response surface methodology[J]. Chemistry Central Journal, 2017, 11(1): 1-10.