

明日叶中 4-羟基德里辛和黄色当归醇的提取纯化及鉴定

王磊, 张连富*

(江南大学 食品学院, 江苏 无锡 214122)

摘要: 明日叶是一种药食两用的绿色蔬菜, 极具开发价值。本文以明日叶为原料, 首先通过单因素以及正交试验, 优化了明日叶中 4-羟基德里辛(4-HD)和黄色当归醇(XAG)的提取工艺参数。其次采用乙酸乙酯萃取、硅胶柱层析以及半制备液相结合的方法对粗提液中的 4-HD 和 XAG 进行分离纯化, 并对纯化物的结构及纯度进行分析。结果表明: 最佳提取条件为: 提取 2 次、提取溶剂 80%乙醇、提取温度 55 ℃、提取时间 90 min、料液比 1:10。此时, 4-HD 得率为 1.82 mg/g, XAG 得率为 2.12 mg/g。HPLC-MS 及 NMR 分析结果表明: 纯化得到的两种物质正是 4-HD 和 XAG, 纯度分别为 99.08% 和 98.92%。

关键词: 明日叶; 4-羟基德里辛; 黄色当归醇; 正交试验; 纯化; 鉴定

中图分类号: TS 201.1 **文献标志码:** A **文章编号:** 1673—1689(2018)11—1189—07

Extraction, Purification and Identification of 4-Hydroxyderricin and Xanthoangelol, from *Angelica keiskei*

WANG Lei, ZHANG Lianfu*

(School of Food Science and Technology, Jiangnan University, Wuxi 214122, China)

Abstract: *Angelica keiskei* is a kind of high nutritional vegetable used as both food and medicine. In this study, single factor experiment and orthogonality test were developed to optimize the extraction process of 4-hydroxyderricin (4-HD) and xanthoangelol (XAG), from *Angelica keiskei*. The optimized extraction conditions were as follows: times of extraction, 2 times; extract solvent, 80% ethanol; extraction temperature, 55 ℃; extraction time, 90 min; ratio of solid to liquid, 1:10. Under these optimized conditions, the extraction yield of 4-HD and XAG were 1.82 mg/g and 2.12 mg/g, respectively. Further, isolation and purification of 4-HD and XAG by silica gel column and semi-preparative C₁₈ column was also described, and then the structures and purities were identified by HPLC-MS and NMR. Results showed that 4-HD at 99.08% purity and XAG at 98.92% purity were obtained.

Keywords: *Angelica keiskei*, 4-hydroxyderricin, xanthoangelol, orthogonality test, purification, identification

收稿日期: 2016-03-21

基金项目: 高等学校博士学科点专项科研基金项目(20130093110008); 中央高校基本科研业务费专项资金项目(JUSRP51501)。

* 通信作者: 张连富(1967—), 男, 河北迁安人, 工学博士, 教授, 博士研究生导师, 主要从事食品中功能性组分及应用研究。

E-mail: lianfu@jiangnan.edu.cn

引用本文: 王磊, 张连富. 明日叶中 4-羟基德里辛和黄色当归醇的提取纯化及鉴定[J]. 食品与生物技术学报, 2018, 37(11): 1189-1195.

明日叶(*Angelica keiskei*), 是伞形科多年生草本植物, 可药食两用^[1]。嫩茎和叶可作为蔬菜用于炒、炸、凉拌或做汤, 而全植物可入药。研究表明, 明日叶含有人体所需要的多种矿物质、氨基酸、维生素以及微量元素, 是一种营养较全面、均衡的蔬菜^[2]。此外明日叶还含有查尔酮类、香豆素类、类黄酮类、天然有机锗等天然功能性成分^[3], 具有抗氧化、抗肿瘤、降血压、降血脂、降血糖、改善睡眠、提高免疫力等保健功能^[4]。均衡全面的营养以及优良的保健作用, 赋予了明日叶很大的利用价值, 以明日叶为原料开发出的产品也多种多样, 有保健茶^[5]、保健酒^[6]、固体饮料^[7]、保健胶囊^[8]、咀嚼片^[9]、营养保健面条^[10]、黑番茄酱^[11]等。

其中 4-羟基德里辛(4-Hydroxyderricin, 4-HD) 和黄色当归醇(Xanthoangelol, XAG) 是明日叶中主要的功能性保健成分^[12]。因此为了更好地开发和利用 4-HD、XAG、明日叶及其相关的产品, 需要对 4-HD 和 XAG 进行深入的研究探讨。然而, 近年来对明日叶的研究主要集中在 4-HD 和 XAG 的功能保健作用上, 明日叶中 4-HD 和 XAG 的提取工艺尚未见报道。因此本文以明日叶为原料, 以 4-HD 和 XAG 的得率为评价指标, 研究提取工艺参数(提取溶剂、温度、时间、次数以及料液比)对提取得率的影响。在此基础上, 采用正交试验法优化提取工艺。此外, 本文还采用硅胶柱层析和半制备高效液相分离纯化得到高纯度的 4-HD 和 XAG, 并通过液质联用仪(HPLC-MS)及核磁共振仪(NMR)对 4-HD 及 XAG 的分子结构及纯度进行鉴定。为 4-HD、XAG 及明日叶的利用奠定了基础。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

明日叶根: 江苏百代兰花股份有限公司; 硅胶(200~300 目): 国药集团化学试剂有限公司; 甲醇、乙醇、丙酮、乙酸乙酯、乙醚: 均为分析纯, 国药集团化学试剂有限公司; 液相甲醇: 色谱纯, 百灵威科技有限公司。

Waters1525 液相色谱仪(PDA 检测器 Waters2998, 自动进样器 Waters2707); 美国 Waters 公司; Aduance III 400 MHz 核磁共振谱仪: 德国布鲁克 AXS 有限公司; MALDI SYNAPT MS 液相色谱串联质谱联用仪: 美国 Waters 公司; Waters1525

半制备高效液相色谱仪(PDA 检测器 Waters 2998 和自动进样器 Waters 2707); 美国 Waters 公司; CHRIST 冷冻干燥机 ALPHA1-2LD PLUS: 德国 Marin Christ 公司; RV06-ML1B 旋转蒸发仪(倾斜式): 德国 IKA。

1.2 4-HD 和 XAG 含量的测定

1.2.1 混合标准溶液配置 精确称取 4-HD 和 XAG 各 5.0 mg, 用甲醇溶解并定容于 5 mL 容量瓶中, 得质量浓度为 1 mg/mL 的混合对照品储备液。按梯度稀释成质量浓度分别为 0.6、0.3、0.15、0.12、0.09、0.06 及 0.03 mg/mL 的混合标准溶液。

1.2.2 HPLC 色谱条件 色谱柱 Phenomenex (C_{18} , 4.6 mm×150 mm, 5 μ m); 柱温 30 $^{\circ}$ C; 流动相甲醇:水=8:2; 流速 1 mL/min, 进样量 20 μ L; 检测波长 330 nm^[13]。

1.3 4-HD 和 XAG 提取条件优化

1.3.1 原料的预处理 新鲜的明日叶根, 清水洗涤, 除去泥土等杂质, 于 50 $^{\circ}$ C 的电热恒温鼓风干燥箱中干燥, 粉碎过 60 目筛, 备用。

1.3.2 提取试剂的选择 准确称取 5.0 g 明日叶根粉于圆底烧瓶中, 置于水浴锅中提取, 研究提取试剂(乙醚、乙酸乙酯、丙酮、乙醇、甲醇和水)对 4-HD 和 XAG 提取得率的影响。

1.3.3 提取单因素试验 准确称取 5.0 g 明日叶根粉于圆底烧瓶中, 置于水浴锅中回流提取, 研究乙醇体积分数、温度、时间、料液比和提取次数对 4-HD 和 XAG 提取得率的影响。粗提液旋转蒸发除去溶剂后, 冷冻干燥。将冻干的粗提物用甲醇定容于 250 mL 的容量瓶中, HPLC 分析, 以 4-HD 和 XAG 的得率为评价指标, 确定提取工艺条件。

1.3.4 正交试验设计 以上讨论了各单因素的影响, 但实际操作中各因素相互交叉影响。根据单因素试验结果, 选取影响较大的水平进行正交试验, 以确定最佳提取条件。

采用 $L_9(3^4)$ 正交表, 以提取温度(A)、乙醇体积分数(B)、料液比(C)、提取时间(D)作为 4 个考察因素, 选取其最佳条件范围内的 3 个水平进行试验。正交设计试验因素水平见表 1。

1.4 4-HD 和 XAG 的纯化

称取明日叶根粉 50 g, 在最佳条件(料液比 1:10、80%乙醇、提取温度 55 $^{\circ}$ C、提取时间 90 min、提取 2 次)下进行试验, 收集粗提液, 减压浓缩得到深

黄绿色浸膏。

表1 试验设计因素水平表

Table 1 Actors and levels of orthogonal test

水平	因素			
	A 提取温度/ ℃	B 乙醇体积 分数/%	C 料液比/ (g/mL)	D 提取时间/ min
1	45	70	1:10	60
2	55	80	1:15	90
3	65	90	1:20	120

往浸膏中加入 200 mL 去离子水,使其充分溶解,用 2 倍体积乙酸乙酯萃取 4 次,合并乙酸乙酯相,减压浓缩除去乙酸乙酯,得到萃取液浸膏。

浸膏用少量的洗脱剂(正己烷:乙酸乙酯=3:7)溶解,上样硅胶柱。调节硅胶柱层析的洗脱速度,使其每秒钟流出 1~2 滴,每 5 min 接一管。流出液经 HPLC-MS 检测,分别合并含有 4-HD 和 XAG 的组分流出液。减压浓缩除去洗脱剂,得到硅胶柱层析样品。

用半制备高效液相纯化硅胶柱层析样品。色谱条件如下:半制备 C₁₈ 柱(10 mm×250 mm, 5 μm);柱温 30 ℃;流动相甲醇:水=8:2;流速 4 mL/min,进样量 1 mL;检测波长 330 nm。根据出峰情况分别收集相应组分的流出液。减压浓缩除去甲醇后冷冻干燥。

1.5 4-HD 和 XAG 的鉴定

对冷冻干燥的样品进行 HPLC-MS 及 NMR 鉴定。其中 HPLC-MS 的条件为 CSH C₁₈(2.1 mm×100 mm, 1.7 μm);流动相甲醇:水=8:2;柱温:30 ℃;流速:0.3 mL/min;进样量:5 μL。质谱条件为离子方式:ESI;毛细管电压:3.0 kV;锥孔电压:30 V;离子源温度:100 ℃;脱溶剂气温度:400 ℃;脱溶剂气流速:500 L/h;锥孔气流速度:50 L/h;碰撞能量(eV):6 V;质量范围:100~1 500 m/z;检测器电压:1 800 V。样品溶于 CDCl₃。四甲基硅烷作为化学位移标准品。

2 结果与分析

2.1 4-HD 和 XAG 的混合标准曲线

根据 HPLC 结果可以得出 4-HD 和 XAG 的质量浓度 X (μg/mL) 与峰面积 Y 的线性关系拟合标准曲线公式分别为: $Y=69\,398.19X+136\,486.68$ ($R^2=0.999\,6$)、 $Y=85\,102.85X+138\,820.79$ ($R^2=0.999\,1$),

线性范围为 0.03~1 mg/mL。混合标准品与样品的高效液相色谱图如图 1 所示。

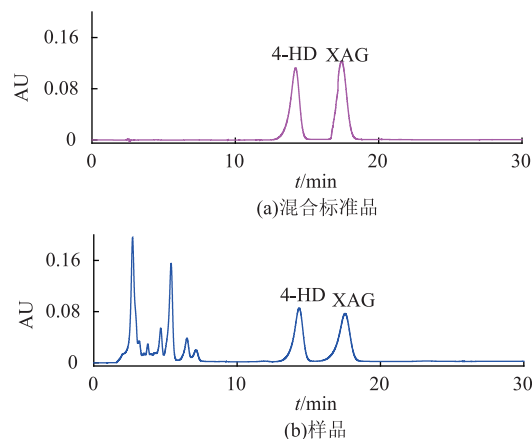


图1 混合标准品及明日叶根粗提液的 HPLC 色谱图
Fig. 1 HPLC analysis of mixed standard samples and crude extract sample solution

2.2 4-HD 和 XAG 提取条件优化

2.2.1 提取试剂的选择 试验结果如图 2 所示。从图中看出,提取试剂对 4-HD 与 XAG 得率的影响是一致的。这可能是由于两种物质具有相似的结构,相似的极性^[14]。但不同溶剂对这两种物质的提取效果差异显著,乙醇和丙酮的效果较好,甲醇、乙酸乙酯、乙醚次之,水的提取效果最差。这可能是因为乙醇和丙酮的渗透性较大,且与 4-HD 与 XAG 的极性较相似,所以乙醇和丙酮的提取效果较好。但是丙酮毒性及挥发性较大,而乙醇较安全,故选择乙醇作为提取溶剂。

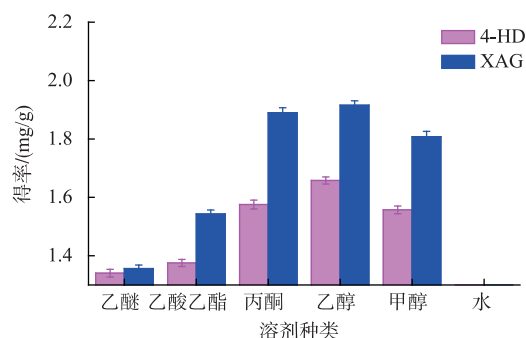


图2 提取试剂对 4-HD 和 XAG 得率的影响
Fig. 2 Effect of solvent on 4-HD and XAG yield

2.2.2 提取温度对提取效果的影响 由图 3 看出,随着温度上升,两个物质得率逐渐增大,当温度达到 55 ℃时,这两物质提取效果最佳。当温度高于

55℃时,这两物质得率逐渐下降。4-HD和XAG的提取属于固-液间进行物质传递的过程。体系的温度会影响到原料微粒在溶剂中的运动特性。温度低时溶剂分子运动慢,不能很好地溶解出4-HD和XAG,温度升高4-HD和XAG溶出量增加,提取量增大;但对4-HD和XAG的稳定性研究表明,当环境温度过高时,4-HD和XAG等查尔酮化合物会不可避免地降解^[15]。当两者的作用达到平衡时提取量将不再增加,但当后者的作用占主导地位时提取量就会降低。故提取温度应选择55℃左右为宜。

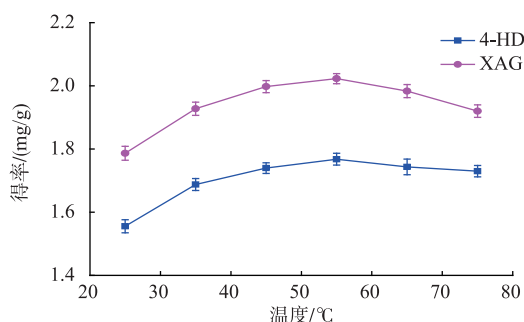


图3 提取温度对4-HD和XAG得率的影响

Fig. 3 Effect of extraction temperature on 4-HD and XAG yield

2.2.3 乙醇体积分数对提取效果的影响 由图4可知,以乙醇为提取溶剂,体积分数在60%~80%范围内,得率随乙醇体积分数的增加而增大,80%乙醇溶液的提取效果最好。80%~100%范围内,得率随乙醇体积分数的增加而减小。4-HD和XAG均含有酚羟基,在植物体内会与蛋白质、多糖等以氢键及疏水键形式结合,而有机试剂具有断裂氢键的作用。但是纯的有机试剂不足以破坏氢键,故可采用有机试剂和水的复合体系作为提取溶剂。但是4-HD和XAG的极性较低,由“相似相溶”原理知,当提取剂中水的比例过高,使得提取剂极性偏大时,得率会下降。所以乙醇体积分数应选择80%左右为宜。

2.2.4 料液比对提取效果的影响 料液比增大,传质动力增加,使原料中更多目标物质进入到溶液中^[16]。当浸提剂用量增加到一定程度,传质达到平衡后,再增加溶剂用量,4-HD和XAG的溶出总量不再增加,而仅仅是更加均匀地分布在溶剂中。考虑到成本,料液比应选择1:10左右为宜(图5)。

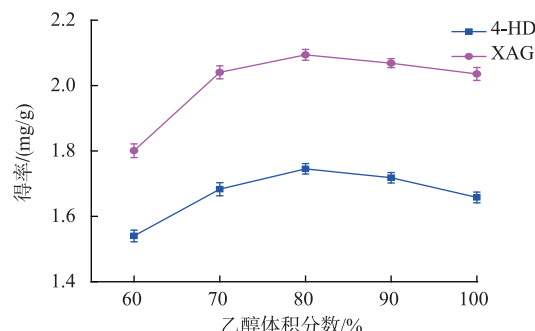


图4 乙醇体积分数对4-HD和XAG提取效果的影响

Fig. 4 Effect of ethanol concentration on 4-HD and XAG yield

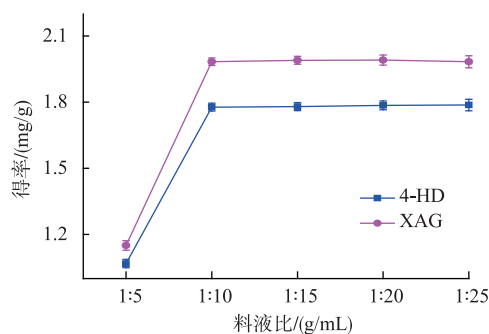


图5 料液比对4-HD和XAG提取效果的影响

Fig. 5 Effect of ratio of solid to liquid on 4-HD and XAG yield

2.2.5 提取时间对提取效果的影响 由图6可知,随着提取时间的延长,得率先增高,后略微下降。在90 min时,两物质得率达到最大。提取的传质过程要有足够的时间达到平衡,时间太短,提取还没有达到平衡,提取量就较低;但是如果提取时间过长,4-HD和XAG在较高温长时间作用下会受到破坏。故提取时间应选择90 min左右为宜。

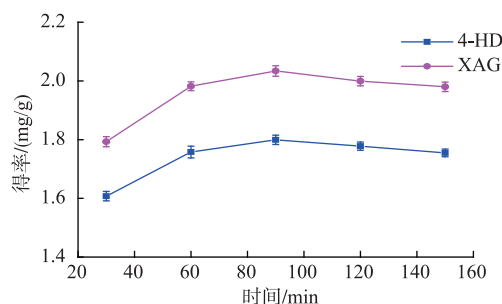


图6 提取时间对4-HD和XAG提取效果的影响

Fig. 6 Effect of extraction time on 4-HD and XAG yield

2.2.6 提取次数对提取效果的影响 从图7可以看出,对4-HD第1次和第2次提取量分别占总提取量的75.21%和22.87%,第3次及第4次提取量分别占总提取量的1.69%和0.23%。对XAG第1次和第2次提取量分别占总提取量的77.80%和19.81%,第3次及第4次提取量分别占总提取量的1.78%和0.61%。总的来说,4-HD和XAG前两次的提取量分别已达到总提取量的98.08%及97.61%。提取的次数越多,目标产物得率也越多,但同时提取剂消耗量也越多。故提取次数应选择提取2次为宜。

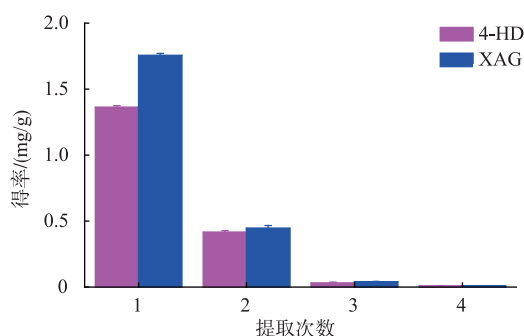


图7 提取次数对4-HD和XAG提取效果的影响

Fig. 7 Effect of times of extraction on 4-HD and XAG yield

2.2.7 正交试验结果与分析 由单因素试验得,各因素对4-HD与XAG得率的影响是一致的,所以为了方便,在正交试验中只需考察各因素对4-HD得率的影响情况。正交试验设计及结果如表2所示。

表2 正交试验设计及结果

Table 2 Orthogonal test and results

试验号	A	B	C	D	4-HD 得率/(mg/g)
1	1	1	1	1	1.22
2	1	2	2	2	1.78
3	1	3	3	3	1.72
4	2	1	2	3	1.68
5	2	2	3	1	1.72
6	2	3	1	2	1.80
7	3	1	3	2	1.75
8	3	2	1	3	1.22
9	3	3	2	1	1.73
K_1	1.600	1.607	1.610	1.590	
K_2	1.622	1.633	1.597	1.627	
K_3	1.605	1.605	1.593	1.590	
K_4	1.583	1.565	1.610	1.603	
R	0.039	0.068	0.017	0.037	

根据表2中K值可知,最佳提取工艺为 $A_2B_2C_1D_2$,即提取温度55℃,乙醇体积分数80%,料液比1:10,提取时间90 min。由极差R的大小,可判断出影响得率的因素顺序依次为 $B>A>D>C$,即乙醇体积分数>提取温度>提取时间>料液比。

2.2.8 验证试验 按提取温度55℃,80%乙醇,料液比1:10,提取时间90 min,提取2次进行3次平行试验,4-HD得率均值为1.82 mg/g,XAG得率均值为2.12 mg/g,高于表2每一项试验结果,故 $A_2B_2C_1D_2$ 为最佳提取工艺。

2.3 4-HD和XAG的纯化

50 g明日叶根粉在最优条件下提取,粗提液冷冻干燥得到13.79 g粗提物,经测定,其中含有91 mg 4-HD、106 mg XAG。考虑到4-HD和XAG极性较低,经乙酸乙酯萃取可进入到乙酸乙酯相中^[13],籍此可以初步除去极性较强的杂质,如类黄酮、极性色素、多糖、无机离子等。减压浓缩除去乙酸乙酯,得到1.03 g萃取物。经萃取后,4-HD的纯度由粗提取中的0.66%提高到8.83%;XAG的纯度由0.77%提高到10.29%。

萃取物过硅胶柱层析,经洗脱剂(正己烷:乙酸乙酯=3:7)洗脱,用HPLC-MS检测各收集管4-HD和XAG。结果表明,34-41管主要含有4-HD,50-75管主要含有XAG组分(如图8所示),纯度分别为70.63%和67.94%。合并洗脱组分,浓缩除去洗脱剂,得到硅胶柱层析样品。

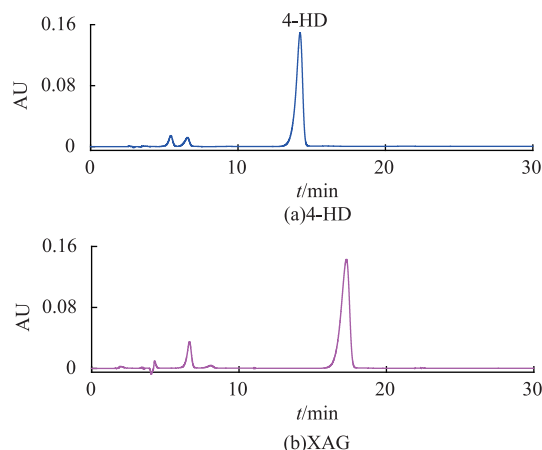


图8 萃取物经硅胶柱层析洗脱HPLC谱图

Fig. 8 HPLC analysis of different fractions purified by silica gel column chromatography

硅胶柱层析样品用半制备高效液相进行纯化。

根据出峰情况分别收集相应组分的流出液,分别在 22.306 和 28.202 min 收集到化合物 1 和化合物 2。减压浓缩除去收集液中的甲醇后冷冻干燥。

2.4 4-HD 和 XAG 的鉴定

对用制备型高效液相纯化得到的化合物 1 和化合物 2 进行 HPLC-MS 及 NMR 结构及纯度鉴定。质谱图如图 9 所示。

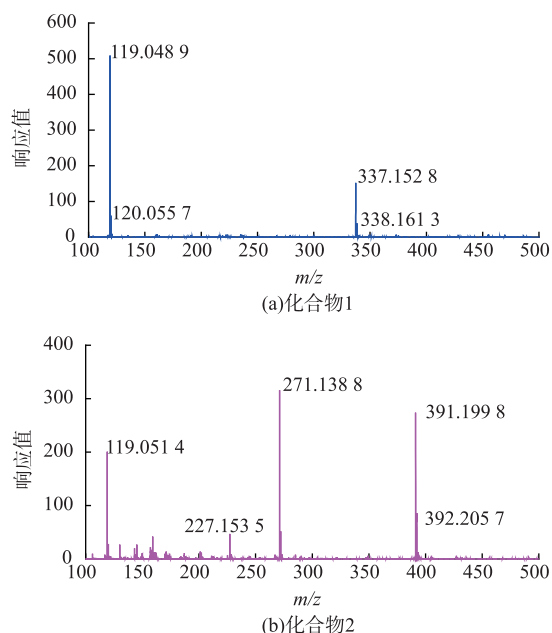


图 9 化合物 1 和化合物 2 的 ESI-MS 图谱

Fig. 9 Results of ESI-MS chromatogram of compound 1 and 2

化合物 1 质谱数据(图 9(a)),碎片 m/z 337.152 8 是[M-H]⁻分子离子峰,338.1613 是母离子峰,所以其分子量为 338。化合物 2 质谱数据(图 9(b)),碎片 m/z 391.199 8 是[M-H]⁻分子离子峰,392.205 7 是母离子峰,所以化合物 2 的分子量为 392。

化合物 1 的 NMR 数据:¹H-NMR δ 1.71 (3H, s, H-5''), 1.82 (3H, s, H-4''), 3.41 (2H, d, ³J (H, H) = 7.13 Hz, H-1''), 3.93 (3H, s, 4'-OCH₃), 5.26 (1H, m, ³J (H, H) = 7.16 Hz, H-2''), 6.52 (1H, d, ³J (H, H) = 9.12 Hz, H-5') 6.90 (2H, d, ³J (H, H) = 8.44 Hz, H-3, 5), 7.48 (1H, d, ³J (H, H) = 15.45 Hz, H- α), 7.56 (2H, d, ³J (H, H) = 8.35 Hz, H-2, 6), 7.81 (1H, d, ³J (H, H) = 9.29 Hz, H-6'), 7.84 (1H, d, ³J (H, H) = 16.60 Hz, H- β), 13.48 (1H, s, 2'-OH)。¹³C-NMR δ 17.84 (C-4''), 21.75 (C-1'') 25.81 (C-5''), 55.80 (OCH₃), 102.21 (C-5'), 114.67 (C-1'), 116.08 (C-

3, 5), 117.62 (C-3'), 118.08 (C- α), 122.05 (C-4'), 127.63 (C-1), 129.25 (C-5'), 130.58 (C-3''), 131.97 (C-2, 6), 144.19 (C- β), 158.24 (C-4), 162.99 (C-2'), 163.35 (C-4'), 192.53 (C=O)。

化合物 2 的 NMR 数据:¹H-NMR δ 1.59 (3H, s, H-9''), 1.67 (3H, s, H-8''), 1.83 (3H, s, H-10''), 2.10 (4H, m, H-4'', 5''), 3.49 (2H, d, ³J (H, H) = 7.14 Hz, H-1''), 5.06 (1H, t, ³J (H, H) = 6.09 Hz, H-6''), 5.30 (1H, dd, ³J (H, H) = 7.20 Hz, H-2''), 6.43 (1H, d, ³J (H, H) = 8.90 Hz, H-5'), 6.88 (2H, d, ³J (H, H) = 8.46 Hz, H-3, 5), 7.46 (1H, d, ³J (H, H) = 15.44 Hz, H- α), 7.57 (1H, d, ³J (H, H) = 8.58 Hz, H-2, 6), 7.57 (1H, d, ³J (H, H) = 8.90 Hz, H-6'), 7.86 (1H, d, ³J (H, H) = 15.37 Hz, H- β), 13.88 (1H, s, 2'-OH)。¹³C-NMR δ 16.31 (C-10''), 17.70 (C-9''), 21.81 (C-1''), 25.63 (C-8''), 26.48 (C-5''), 39.77 (C-4''), 114.20 (C-1', 3'), 116.11 (C-3, 5), 118.38 (C- α), 121.11 (C-2''), 123.83 (C-6''), 127.99 (C-1), 129.29 (C-6'), 130.56 (C-2, 6), 132.07 (C-7''), 139.73 (C-3''), 144.09 (C- β), 158.08 (C-4), 161.86 (C-4'), 163.95 (C-2'), 192.36 (C=O)。

所以由此确定化合物 1 和化合物 2 的分子分别为 C₂₁H₂₂O₄、C₂₅H₂₈O₄。结构式见图 10。即化合物 1 为 4-HD, 化合物 2 为 XAG。

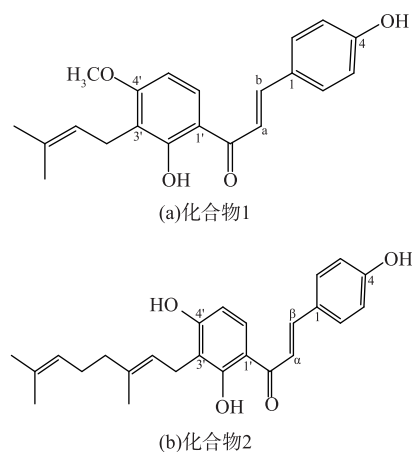


图 10 化合物 1 和化合物 2 的结构式

Fig. 10 Chemical structures of compound 1 and 2

3 结语

本文以明日叶为原料,首次对 4-羟基德里辛和黄色当归醇的提取工艺进行探讨。通过单因素以及

正交试验得出4-羟基德里辛和黄色当归醇最佳提取工艺,条件为:提取次数2次、提取溶剂80%乙醇、提取温度55℃、提取时间90 min、料液比1:10。在此条件下,4-HD得率为1.82 mg/g,XAG得率为2.12 mg/g。这为明日叶以及4-羟基德里辛和黄色当

归醇的利用奠定了基础。采用乙酸乙酯萃取、硅胶柱层析以及半制备液相相结合的方法对粗提液进行纯化,经HPLC-MS及NMR分析表明,纯化得到的两种物质为4-羟基德里辛和黄色当归醇,纯度分别为99.08%和98.92%。

参考文献:

- [1] LI L,ALDINI G,CARINI M,et al. Characterisation,extraction efficiency,stability and antioxidant activity of phytonutrients in angelica keiskei[J]. **Food Chemistry**,2009,115(1):227-232.
- [2] CHEN Xinhua,NING Hongzhen,GUAN Weijun,et al. Study on nutrients and bio-active substance chalcone detection in angelica keiskei[J]. **Science and Technology of Food Industry**,2014,35(15):365-368.(in Chinese)
- [3] AKIHISA T,TOKUDA H,UKIYA M,et al. Chalcones,coumarins,and flavanones from the exudate of angelica keiskei and their chemopreventive effects[J]. **Cancer Letters**,2003,201(2):133-137.
- [4] LIU Chang,WANG Zhengwu,WU Jinhong. Advancement and application of medicinal and edible plant angelica keiskei[J]. **Food and Drug**,2013,15(3):205-209.(in Chinese)
- [5] 张志年. 一种明日叶茶的制作方法[P]. 中国专利:CN103719490A,2014-04-16.
- [6] 王正武,陈琴芳,李永福,等. 明日叶黄酮保健酒及其制备方法[P]. 中国专利:CN103468506A,2013-12-15.
- [7] 刘芳圃. 喷雾干燥明日叶固体饮料加工工艺及其制备方法[P]. 中国专利:CN 103494302 A,2014-01-08.
- [8] 王正武,郑晓艳,陈琴芳,等. 明日叶混合软胶囊及其制备方法[P]. 中国专利:CN103750318A,2014-04-03.
- [9] 王正武,吴金鸿,杨春梅. 明日叶保健咀嚼片及其制备方法[P]. 中国专利:CN102326776A,2012-01-25.
- [10] 鲍光泉. 一种明日叶营养保健面粉及其制备方法[P]. 中国专利:CN104187320A,2014-12-10.
- [11] 王正武,郑晓艳,吴金鸿,等. 明日叶/无籽刺梨复合保健黑番茄酱及其制备方法[P]. 中国专利:201410482833.6,2015-01-07.
- [12] KIM D W,CURTIS-LONG M J,Yuk H J,et al. Quantitative analysis of phenolic metabolites from different parts of angelica keiskei by HPLC-ESI MS/MS and their xanthine oxidase inhibition[J]. **Food Chemistry**,2014,153:20-27.
- [13] KAWABATA K,SAWADA K,IKEDA K,et al. Prenylated chalcones 4 - hydroxyderricin and xanthoangelol stimulate glucose uptake in skeletal muscle cells by inducing GLUT4 translocation[J]. **Molecular Nutrition & Food Research**,2011,55(3):467-475.
- [14] BABA K,NAKATA K,TANIGUCHI M,et al. Chalcones from angelica keiskei[J]. **Phytochemistry**,1990,29(12):3907-3910.
- [15] LI L,ALDINI G,CARINI M,et al. Characterisation,extraction efficiency,stability and antioxidant activity of phytonutrients in angelica keiskei[J]. **Food Chemistry**,2009,115(1):227-232.
- [16] TENG Jingtong,ZHAN Xiaolong,GONG Kun,et al. Extraction of water-soluble β -carotene from carrots by enzymatic hydrolysis [J]. **Journal of Food Science and Biotechnology**,2015,34(7):744-750.(in Chinese)