

## 超声波法辅助提取松针多酚

荀二娜<sup>1</sup>, 张春利<sup>2</sup>, 谢晓娜<sup>3</sup>, 陈淑萍<sup>2</sup>, 周芯卉<sup>1</sup>, 王佳欣<sup>1</sup>, 王磊<sup>1</sup>, 王智<sup>1</sup>

(1. 吉林大学 分子酶学工程教育部重点实验室, 长春 130012; 2. 吉林大学 体育学院, 长春 130012;  
3. 吉林大学 白求恩第一医院内分泌科, 长春 130021)

**摘要:** 以乙醇为溶剂, 利用超声辅助法提取红松松针中的多酚类化合物, 考察了乙醇的体积分数、液料比( $V(\text{溶剂}) : m(\text{松针})$ )、超声波功率、超声温度及超声时间等条件对松针多酚提取质量比的影响, 得到了最适提取条件. 结果表明, 与传统有机溶剂回流提取法(醇提法)相比, 在最适提取条件下, 超声作用可以使提取时间缩短 3 h, 提取的质量比达到 52.97 mg/g, 提高了 25.76%.

**关键词:** 红松松针; 多酚; 超声波; 提取

**中图分类号:** R284.2    **文献标志码:** A    **文章编号:** 1671-5489(2012)01-0147-06

## Ultrasonic-Assisted Extraction of Polyphenol from Needles of *Pinus prokoraiensis*

XUN Er-na<sup>1</sup>, ZHANG Chun-li<sup>2</sup>, XIE Xiao-na<sup>3</sup>, CHEN Shu-ping<sup>2</sup>, ZHOU Xin-hui<sup>1</sup>,  
WANG Jia-xin<sup>1</sup>, WANG Lei<sup>1</sup>, WANG Zhi<sup>1</sup>

(1. Key Laboratory for Molecular Enzymology and Engineering of Ministry of Education, Jilin University, Changchun 130012, China; 2. College of Physical Education, Jilin University, Changchun 130012, China;  
3. Department of Endocrinology, First Hospital of Jilin University, Changchun 130021, China)

**Abstract:** Polyphenol was extracted from the needles of *Pinus prokoraiensis* by means of ultrasound with ethanol as solvent. Effects of ethanol volume concentration, liquid to solid ratio ( $V(\text{solvent}) : m(\text{needle})$ ), ultrasonic wave power, ultrasonic temperature as well as ultrasonic time were investigated and then the optimum extraction conditions were screened out. Under the optimum conditions, extraction time could be decreased by 3 h and extraction quantity of total polyphenol (52.97 mg/g) could be achieved under ultrasound. Compared with that of ethanol extraction, the extraction quantity was increased by a factor of 25.76% through ultrasonic-assisted extraction.

**Key words:** needles of *Pinus prokoraiensis*; polyphenol; ultrasound; extraction

松针(pink needle)为松科(pinaceae)松属(*pinus*)植物的叶, 别名猪鬃松叶、松毛、山顶松. 研究表明, 松针提取物中含有大量生理活性成分, 包括挥发油类、粗蛋白、氨基酸、色素、维生素、多酚、脂肪酸、黄酮、甙类、萜类等<sup>[1]</sup>, 其中多酚类化合物可以清除人体自由基<sup>[2]</sup>, 能有效降低运动疲劳, 提高机体的运动能力<sup>[3-7]</sup>.

收稿日期: 2011-06-17.

**作者简介:** 荀二娜(1985—), 女, 汉族, 硕士研究生, 从事生物化学与分子生物学的研究, E-mail: xunerna86@163.com.  
**通讯作者:** 王智(1973—), 男, 汉族, 博士, 副教授, 从事生物催化与生物转化的研究, E-mail: wangzhi@jlu.edu.cn; 王磊(1978—), 男, 汉族, 博士, 副教授, 从事生物催化与生物转化的研究, E-mail: wanglei@jlu.edu.cn.

**基金项目:** 吉林省自然科学基金(批准号: 201115038).

植物多酚的提取一直是该领域的研究热点之一<sup>[8-11]</sup>. 多酚类化合物的传统提取方法是溶剂浸提法, 但该方法存在提取时间长、提取率低等缺点. 超声波辅助提取法是近几年发展起来的新型提取分离技术, 具有提取速度快、得率高及对热敏感、热不稳定物质破坏少等优点<sup>[12-13]</sup>. 如 Herrera 等<sup>[14]</sup>发现超声辐射对草莓中多酚化合物的提取率有明显的提高; 郭英等<sup>[15]</sup>研究表明, 利用超声波辐射作用可使广枣中多酚的提取时间明显缩短; Hromádková 等<sup>[16]</sup>从麦麸中提取多酚类化合物时, 发现当收率相同时, 超声作用可使提取时间由传统的 60 min 缩短为 5 min. 我国松针资源丰富, 品种多、分布广并相对较集中, 因此松针提取物的合理开发利用将会带来巨大的经济效益和社会效益<sup>[17]</sup>. 目前, 将超声辅助方法应用于松针多酚提取的研究尚未见文献报道. 本文考察超声波对松针多酚提取工艺的影响, 筛选最佳提取条件, 为松针的有效开发和合理利用提供理论依据.

## 1 材料与方法

### 1.1 试剂与仪器

原料: 松针采自桦甸林场. 将去除杂质的新鲜松针经清水漂洗、沥干水分后, 用粉碎机粉碎至 40~60 目, 储存于广口瓶中备用.

试剂: Folin-Ciocalteus 试剂购自美国 Sigma 公司; 乙醇、没食子酸和碳酸钠均为国产分析纯(国药集团化学试剂有限公司产品).

主要仪器与设备: FW200 型高速万能粉碎机(北京中兴伟业仪器有限公司); ESJ-A 型电子天平(沈阳龙腾电子有限公司); UV-1700 型紫外-可见分光光度计(日本岛津公司); KQ-250DE 型台式数控超声波清洗器(中国昆山超声设备有限公司), 最大功率 250 W, 功率可调(40%~100%), 水浴控温(20~80 °C).

### 1.2 松针中多酚的提取

精确称取 1.000 g 经预处理的松针粉末置于锥形瓶中, 加入一定体积的乙醇(体积分数为 60%)后, 在一定条件下进行超声处理, 然后将提取液离心过滤后定容待测.

传统有机溶剂回流提取法: 精确称取 1.000 g 经过预处理的松针粉末置于锥形瓶中, 加入乙醇(体积分数为 70%), 加热回流 2 次(第一次: 回流 150 min, 30 mL 乙醇; 第二次: 回流 100 min, 20 mL 乙醇), 冷却, 离心过滤后定容待测.

### 1.3 总多酚质量浓度的测定

采用 Folin-Ciocalteus 法<sup>[18]</sup>测定总多酚质量浓度, 以没食子酸为标准品.

1.3.1 总多酚标准曲线的绘制 准确称取经真空干燥至恒重的没食子酸标准品 0.025 g, 配制成 0.1 mg/mL 的标准水溶液. 准确吸取 0, 0.5, 1.5, 2.5, 3.5, 4.5, 5.5, 6.5 mL 标准液置于 10 mL 的棕色容量瓶中, 以不加标准液的溶液为空白对照, 分别加入 1.0 mL Folin-Ciocalteu 试剂, 混匀, 在 30 s 内加入 2 mL 质量分数为 15% 的  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  溶液, 充分混合后定容, 室温下避光放置 2 h, 在波长 760 nm 处测定吸光度, 每个样品平行测定 3 次. 以没食子酸在反应体系中的质量浓度为横坐标, 吸光度为纵坐标, 绘制多酚质量浓度测定标准曲线, 如图 1 所示. 所得标准曲线方程为:

$$y = 0.014 1x + 0.005 9, R^2 = 0.999 1.$$

1.3.2 总多酚质量浓度的测定 取 1.2 中的待测样品, 按上述标准曲线制作方法测定样品在 760 nm 处的吸光度. 将测得的吸光度代入标准曲线方程, 可以得到样品中多酚的质量浓度.

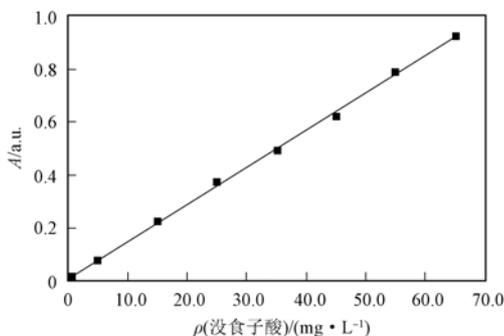


图 1 没食子酸标准曲线

Fig. 1 Standard curve of gallic acid

## 2 结果与讨论

### 2.1 乙醇体积分数的影响

在  $V(\text{溶剂}) : m(\text{松针}) = 40$ 、超声波功率为 200 W、超声温度为 60 ℃、超声提取时间为 50 min 的条件下,选用一系列不同体积分数的乙醇(30%,40%,50%,60%,70%,80%)进行超声辅助松针多酚的提取研究,实验结果如图 2 所示。

由图 2 可见,  $\varphi(\text{乙醇}) = 30\% \sim 60\%$  时,松针多酚的提取质量比随  $\varphi(\text{乙醇})$  的升高而增大,  $\varphi(\text{乙醇}) = 60\%$  时达到最大值,当  $\varphi(\text{乙醇})$  进一步升高时,提取质量比开始下降。  $\varphi(\text{乙醇})$  影响松针多酚提取的原因可能是由于  $\varphi(\text{乙醇})$  过低不利于有效成分的溶解和吸收,而  $\varphi(\text{乙醇})$  较大时,容易导致多酚类化合物发生醇解;此外,也可能因为不同体积分数的乙醇极性不同,根据相似相溶原理,  $\varphi(\text{乙醇})$  越大,多酚类化合物越容易提取出来,但当  $\varphi(\text{乙醇})$  过高时,叶绿素等脂溶性物质溶出也增多,干扰因素随之增大。综上,选用  $\varphi(\text{乙醇}) = 60\%$  的溶液提取松针多酚。

### 2.2 $V(\text{溶剂}) : m(\text{松针})$ 的影响

为了考察  $V(\text{溶剂}) : m(\text{松针})$  对松针多酚提取质量比的影响,分别选择 6 种不同的  $V(\text{溶剂}) : m(\text{松针})$  (15,20,30,40,50,60 mL/g) 进行超声辅助松针多酚的提取研究,实验结果如图 3 所示。

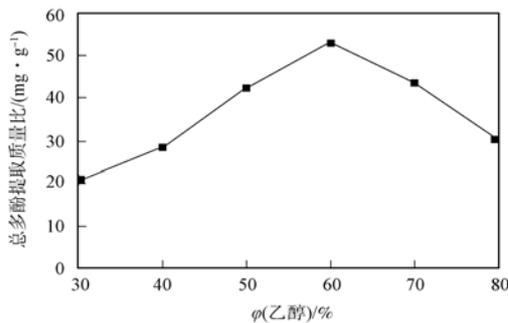


图 2  $\varphi(\text{乙醇})$  对松针多酚提取质量比的影响

Fig. 2 Effect of  $\varphi(\text{ethanol})$  on the extraction mass ratio of total polyphenol

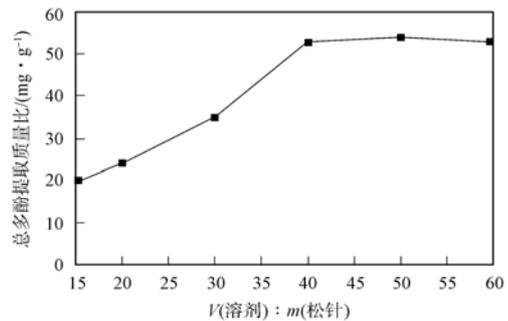


图 3  $V(\text{溶剂}) : m(\text{松针})$  对松针多酚提取质量比的影响

Fig. 3 Effect of  $V(\text{solvent}) : m(\text{needle})$  on the extraction mass ratio of total polyphenol

由图 3 可见,松针多酚提取质量比随  $V(\text{溶剂}) : m(\text{松针})$  的增大而提高,这是由于随着所用溶剂量的增加,松针与提取液的接触面增大,多酚类化合物容易渗透出来。但由于松针中多酚类化合物质量浓度有限,因此当  $V(\text{溶剂}) : m(\text{松针})$  达到 40 后,提取质量比趋于平缓;同时因为  $V(\text{溶剂}) : m(\text{松针})$  过大时,溶剂用量增加,能耗增加,导致提取成本升高,并且  $V(\text{溶剂}) : m(\text{松针})$  过大会增加去除溶剂的难度,延长操作周期,所以最适  $V(\text{溶剂}) : m(\text{松针}) = 40$ 。

### 2.3 超声功率的影响

考虑到超声波功率的大小直接影响超声波空化的效果,进而影响松针多酚的提取质量比,因此在本文中控制提取条件为  $V(\text{溶剂}) : m(\text{松针}) = 40$ 、 $\varphi(\text{乙醇}) = 60\%$ 、超声提取时间为 50 min、超声温度为 60 ℃,分别选用超声波功率为 100,150,175,200,225,250 W 进行多酚提取研究,考察超声波功率对松针多酚提取质量比的影响,结果如图 4 所示。

由图 4 可见,超声波功率对多酚提取率有较大影响。当超声波功率控制在 100 ~ 200 W 时,松针中总多酚提取质量比随超声波功率的增加而提高,

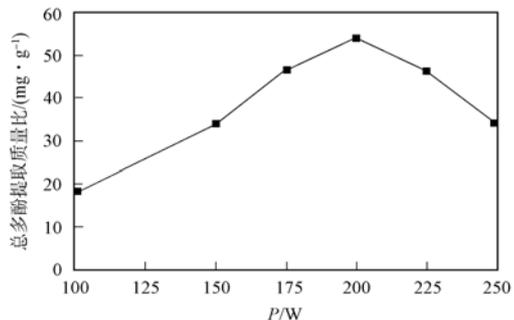


图 4 超声波功率对松针多酚提取质量比的影响

Fig. 4 Effect of ultrasonic wave power on the extraction mass ratio of total polyphenol

在 200 W 时达到最大值. 当功率超过 200 W 后, 提取质量比反而有所下降. 这可能是由于松针细胞中的次生代谢产物主要存在于细胞质中, 超声波通过空化作用加快松针的细胞壁和细胞膜的破碎速度而使松针中多酚类化合物更容易被提取出来<sup>[12-16]</sup>. 当超声波功率较低时, 超声波产生的空化作用较小, 随着超声波功率的增大, 其产生的空化作用也逐渐增强, 引起多酚类化合物的提取质量比增加; 但超声波功率过大, 其空化效应大幅度增强, 容易在介质中产生瞬间高温、高压, 从而破坏松针中的多酚类化合物, 最终导致松针多酚的提取质量比减少. 因此最适超声功率为 200 W.

#### 2.4 超声温度的影响

由于超声作用的效果与超声温度密切相关, 因此, 分别选用不同的温度(30, 40, 50, 60, 70, 80 °C)考察超声温度对松针多酚提取质量比的影响, 实验结果如图 5 所示.

由图 5 可见, 温度过高或过低都不利于超声辅助下松针多酚的提取, 松针多酚提取的最适温度为 60 °C. 这主要是由于松针中多酚类化合物在高温条件下很不稳定, 易受到破坏, 而且温度过高容易导致溶剂挥发损失; 而温度过低不利于超声的空化作用, 因此也会降低松针多酚的提取效果.

#### 2.5 超声作用时间的影响

改变超声提取时间(20, 30, 40, 50, 60, 70 min), 考察超声作用时间对松针多酚提取质量比的影响, 实验结果如图 6 所示.

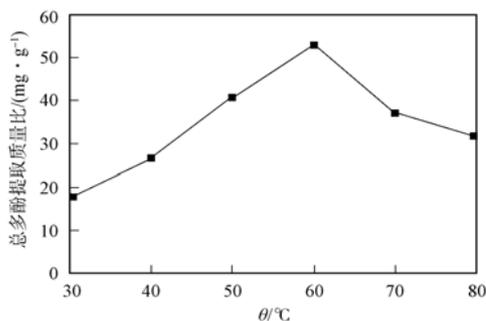


图 5 超声温度对总多酚提取质量比的影响

Fig. 5 Effect of ultrasonic temperature on the extraction mass ratio of total polyphenol

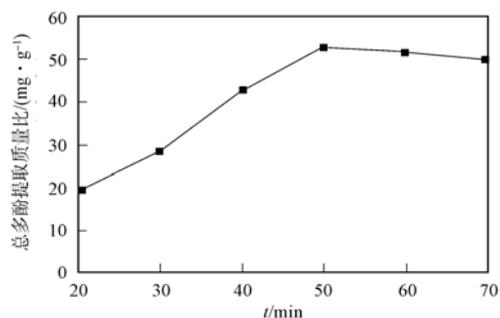


图 6 超声作用时间对总多酚提取质量比的影响

Fig. 6 Effect of ultrasonic time on the extraction mass ratio of total polyphenol

由图 6 可见, 当超声作用时间为 20 ~ 50 min 时, 松针多酚的提取质量比随时间的延长而升高, 但当超声作用时间超过 50 min 后, 多酚提取质量比呈现缓慢下降的趋势. 这主要是因为超声作用达到 50 min 时, 松针中多酚化合物的浸出已经很充分, 继续延长超声作用时间容易导致多酚类化合物被氧化破坏. 因此, 综合考虑多方面因素(操作时间、能耗及提取效率等), 最适超声作用时间为 50 min.

#### 2.6 正交试验

在单因素试验的基础上, 为了全面考察超声功率(A)、超声时间(B)、V(溶剂): m(松针)(C)、超声温度(D)及 φ(乙醇)(E)5 个因素的作用大小与优化组合, 本文设计了 5 因素 4 水平的正交试验, 结果以多酚提取质量比表示, 列于表 1. 由表 1 可见, A, B, C, D, E 5 因素对松针中多酚提取效果影响的主次顺序为: C > E > B > A > D, 在正交试验的考察范围内, V(溶剂): m(松针)对多酚提取质量比影响显著, 超声时间与 φ(乙醇)的影响差异不大, 而超声功率与超声温度影响较小. 极差分析得到最佳组合为 A<sub>3</sub>B<sub>3</sub>C<sub>4</sub>D<sub>3</sub>E<sub>3</sub>, 由于 V(溶剂): m(松针)为 40 和 50 时极差差异不大, 因此从节约原料角度考虑, 最佳 V(溶剂): m(松针)选用 40, 即最佳组合为 φ(乙醇) = 60%, V(溶剂): m(松针) = 40, 超声功率为 200 W, 超声温度 60 °C, 超声时间 50 min. 在最佳条件下进行提取实验, 多酚提取质量比为 52.97 mg/g, 大于正交试验中的提取质量比, 实验方法有效.

#### 2.7 与传统有机溶剂回流提取法的比较

将传统有机溶剂回流提取法(醇提法)与超声波辅助提取法进行比较, 实验结果列于表 2. 由表 2 可见, 与传统醇提法相比, 超声波辅助提取法可以大幅度缩短松针多酚的提取时间, 同时多酚提取质量比也比传统提取法提高了 25.76%. 这是由于一定频率的超声波产生的强烈振动、高加速度、空化效

应、搅拌作用等可使细胞壁破裂,溶剂分子渗透到细胞中,从而更好地与溶质分子接触,使细胞中可溶性成分更快地被释放出来,同时,超声可促进溶剂与活性成分的双向转移,提高提取率,缩短提取时间<sup>[13]</sup>。

表1 超声波辅助提取松针多酚条件筛选的正交试验结果

Table 1 Results on orthogonal experiment of ultrasonic-assisted extraction of polyphenol from needles of *Pinus prokoraensis*

试验号	A/W	B/min	C/(mL · g <sup>-1</sup> )	D/°C	E/%	多酚提取质量比 /(mg · g <sup>-1</sup> )
1	1	1	1	1	1	31.22
2	1	2	2	2	2	40.24
3	1	3	3	3	3	49.21
4	1	4	4	4	4	45.62
5	2	1	2	3	4	41.31
6	2	2	1	4	3	42.32
7	2	3	4	1	2	47.35
8	2	4	3	2	1	45.31
9	3	1	3	4	2	44.38
10	3	2	4	3	1	46.43
11	3	3	1	2	4	44.35
12	3	4	2	1	3	46.98
13	4	1	4	2	3	45.75
14	4	2	3	1	4	45.23
15	4	3	2	4	1	41.36
16	4	4	1	3	2	43.51
K1	166.29	162.66	161.40	170.78	164.32	
K2	176.29	174.22	169.89	175.65	175.48	
K3	182.14	182.27	184.13	180.46	184.26	
K4	175.85	181.42	185.15	173.68	176.51	
k1	41.57	40.67	40.35	42.69	41.08	
k2	44.07	43.56	42.47	43.91	43.87	
k3	45.54	45.56	46.03	45.12	46.07	
k4	43.96	45.36	46.29	43.42	44.13	
R	3.97	4.89	5.94	2.43	4.99	
最优水平	A3	B3	C4	D3	E3	

表2 超声波辅助提取法与醇提法的比较

Table 2 Comparison between ultrasonic-assisted extraction and ethanol extraction

方法	时间/min	提取质量比/(mg · g <sup>-1</sup> )
传统有机溶剂回流提取法	250	42.12
超声波辅助提取法	50	52.97

综上,本文在超声波辅助提取松针多酚的研究中,确定最适提取条件为:超声波功率200 W,超声时间50 min,φ(乙醇)=60%,V(溶剂):m(松针)=40,超声温度60 °C。与传统醇提法相比,超声辅助提取法可以大幅度缩短松针多酚的提取时间,同时多酚提取质量比也较传统提取法提高了25.76%。

## 参 考 文 献

- [1] ZHENG Xiao-ke, FENG Wei-sheng, WANG Yan-zhi, et al. Chemical Constituents Isolated from Pine Needles of *Pinus massoniana* Lamb [J]. Chinese Pharmaceutical Journal, 2004, 39(11): 820-821. (郑晓珂,冯卫生,王彦志,等. 松针的化学成分研究 [J]. 中国药学杂志, 2004, 39(11): 820-821.)
- [2] SONG Li-jiang, DI Ying, SHI Bi. The Significance and Development Trend in Research of Plant Polyphenols [J].

- Process in Chemistry, 2005, 12(2): 161-170. (宋立江, 狄莹, 石碧. 植物多酚研究与利用的意义及发展趋势 [J]. 化学进展, 2005, 12(2): 161-170.)
- [ 3 ] LIN Sun-che, Chang C M, Deng T S. Enzymatic Hot Pressurized Fluids Extraction of Polyphenolics from *Pinus taiwanensis* and *Pinus morrisonicola* [J]. Journal of the Taiwan Institute of Chemical Engineers, 2009, 40(2): 136-142.
- [ 4 ] Ratola N, Lacorte S, Barceló D, et al. Microwave-Assisted Extraction and Ultrasonic Extraction to Determine Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in Needles and Bark of *Pinus pinaster* Ait. and *Pinus pinea* L. by GC-MS [J]. Talanta, 2009, 77(3): 1120-1128.
- [ 5 ] ZENG Ming, LI Shou-han, GUO Ceng-cheng, et al. Research on Anti-fatigue Effect of Pine Needle for Liquid [J]. China Sport Science and Technology, 2005, 41(2): 117-119. (曾明, 李守汉, 郭层城, 等. 松针提取液抗疲劳作用研究 [J]. 中国体育科技, 2005, 41(2): 117-119.)
- [ 6 ] Ribeiro S M R, Barbosa L C A, Queiroz J H, et al. Phenolic Compounds and Antioxidant Capacity of Brazilian Mango (*Mangifera indica* L.) Varieties [J]. Food Chemistry, 2008, 110(3): 620-626.
- [ 7 ] Kwak C S, Moon S C, Lee M S. Antioxidant, Antimutagenic, and Antitumor Effects of Pine Needles (*Pinus densiflora*) [J]. Nutrition and Cancer, 2006, 56(2): 162-171.
- [ 8 ] HU Dong-hua, GAO Yan-hui, CHEN Xue-song, et al. Quantum Chemistry Studies on Molecular Structure and Character of the Flavonoids in Herbs of Corn Silk and Their Anti-oxidation Activity [J]. Journal of Northeast Normal University: Natural Science Edition, 2009, 41(4): 107-111. (胡冬华, 高艳辉, 陈雪松, 等. 几种玉米须黄酮分子结构性质及抗氧化活性的量子化学研究 [J]. 东北师大学报: 自然科学版, 2009, 41(4): 107-111.)
- [ 9 ] LIU Song-yan, ZHANG Mu-xin, WU Yue-hong, et al. Studies on Chemical Constituents and Antibacterial Effect of Flavonoids in *Chenopodium album* L [J]. Journal of Northeast Normal University: Natural Science Edition, 2011, 43(1): 94-96. (刘松艳, 张沐新, 吴月红, 等. 藜中黄酮类化学成分及抑菌效果的研究 [J]. 东北师大学报: 自然科学版, 2011, 43(1): 94-96.)
- [ 10 ] LI Chun-ying, LI Xiao-juan, YANG Lei, et al. Optimization of Combined Extraction of Glycyrrhizic Acid and Flavonoids by Response Surface Methodology [J]. Journal of Natural Science of Heilongjiang University, 2009, 26(3): 385-390. (李春英, 李晓娟, 杨磊, 等. 响应面分析法优化甘草酸和甘草黄酮联合提取工艺 [J]. 黑龙江大学自然科学学报, 2009, 26(3): 385-390.)
- [ 11 ] WANG Zhen-rong, DENG Li-yu, GUO Wei-ling, et al. Studies on the Polymerization of Acrylicacid by Orthogonal Experimental Design [J]. Journal of Natural Science of Heilongjiang University, 2000, 17(2): 82-84. (王振荣, 邓立育, 郭伟玲, 等. 黑龙江新疆安徽产甘草中糖总皂甙及总黄酮成分的比较研究 [J]. 黑龙江大学自然科学学报, 2000, 17(2): 82-84.)
- [ 12 ] Vinatoru M. An Overview of the Ultrasonically Assisted Extraction of Bioactive Principles from Herbs [J]. Ultrasonics Sonochemistry, 2001, 8(3): 303-313.
- [ 13 ] Romdhane M, Gourdon C. Investigation in Solid-Liquid Extraction; Influence of Ultrasound [J]. Chemical Engineering Journal, 2002, 87(1): 11-19.
- [ 14 ] Herrera M C, Castro L M D, De. Ultrasound-Assisted Extraction of Phenolic Compounds from Strawberries Prior to Liquid Chromatographic Separation and Photodiode Array Ultraviolet Detection [J]. Journal of Chromatography A, 2005, 1100(1): 1-7.
- [ 15 ] GUO Ying, BEI Yu-xiang, WANG Xue-mei, et al. Study on the Extraction of Polyphenol from Choerospondias Fruit with Ultrasonometry [J]. Yunnan Journal of Traditional Chinese Medicine and Materia Medica, 2008, 29(8): 36-37. (郭英, 贝玉祥, 王雪梅, 等. 超声波法提取广枣多酚的研究 [J]. 云南中医中药杂志, 2008, 29(8): 36-37.)
- [ 16 ] Hromádková Z, Košťálová Z, Ebringerová A. Comparison of Conventional and Ultrasound-Assisted Extraction of Phenolics-Rich Heteroxylans from Wheat Bran [J]. Ultrasonics Sonochemistry, 2008, 15(6): 1062-1068.
- [ 17 ] LI Ping, LIU You-ping. Study Process of Pine Needles [J]. Journal of Chengdu University of TCM, 2001, 24(3): 49-50. (李萍, 刘友平. 松针的研究进展 [J]. 成都中医药大学学报, 2001, 24(3): 49-50.)
- [ 18 ] Bonoli M, Verardo V, Marconi E, et al. Antioxidant Henols in Barley (*Hordeum vulgare* L.) Flour: Comparative Spectrophotometric Study among Extraction Methods of Free and Bound Phenolic Compounds [J]. J Agric Food Chem, 2004, 52(16): 5195-5200.

(责任编辑: 单 凝)