

## 油菜花粉中黄酮类化合物的提取与分析

杨必成<sup>1</sup>, 刘海<sup>2</sup>, 杨义芳<sup>1\*</sup>, 金丽丽<sup>1</sup>, 黄春跃<sup>1</sup>, 刘征宇<sup>3</sup>

1. 上海医药工业研究院, 上海 200240

2. 赣南医学院药学院, 江西 赣州 341000

3. 南昌大学医学院, 江西 南昌 330000

**摘要:** 目的 研究油菜花粉中黄酮类化合物的提取方法并进行提取工艺优化, 同时建立 HPLC-UV 法测定槲皮素、山柰酚和异鼠李素 3 种黄酮类化合物的方法。方法 以总黄酮得率为指标, 优选油菜花粉中黄酮类化合物的最佳提取方法和工艺参数; 采用 Capcell PAK-C<sub>18</sub> (250 mm×4.6 mm, 5 μm) 色谱柱, 乙腈-pH 2.2 磷酸水溶液 (35:65) 洗脱, 检测波长 360 nm, 体积流量 1.00 mL/min, 柱温 40 °C, 对提取物中 3 种黄酮类成分进行分析测定。结果 渗漉法为提取油菜花粉中黄酮类化合物的理想方法; 3 种黄酮类成分分离度良好, 各成分质量浓度与峰面积在测定范围内线性关系良好, 重现性、稳定性和加样回收率均符合要求。结论 渗漉法适合提取油菜花粉中的黄酮类化合物, 所建立的 HPLC 法稳定可靠、简便易行, 可用于油菜花粉中黄酮类化合物的同时定量分析, 为油菜花粉原料及其提取物的质量控制和评价奠定了基础。

**关键词:** 油菜花粉; 黄酮; HPLC; 槲皮素; 山柰酚; 异鼠李素

中图分类号: R284.2; 286.02 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2011)12-2451-05

## Extraction and analysis of flavonoids in rape bee pollen from *Brassica campestris*

YANG Bi-cheng<sup>1</sup>, LIU Hai<sup>2</sup>, YANG Yi-fang<sup>1</sup>, JIN Li-li<sup>1</sup>, HUANG Chun-yue<sup>1</sup>, LIU Zheng-yu<sup>3</sup>

1. Shanghai Institute of Pharmaceutical Industry, Shanghai 200240, China

2. College of Pharmacy, Gannan Medical University, Ganzhou 341000, China

3. College of Medicine, Nanchang University, Nanchang 330000, China

**Key words:** rape bee pollen; flavonoids; HPLC; quercetin; kaempferol; isorhamnetin

油菜花粉是十字花科植物油菜 *Brassica campestris* L. 的雄性配子体, 不仅含有丰富的营养成分, 而且还含有许多与生命科学有关的药效成分。国内外临床实践均证明花粉具有良好的治疗前列腺疾病的作用<sup>[1-2]</sup>。以油菜花粉为原料的普乐安片(前列康)是以天然植物油菜花粉直接入药, 未经任何提取纯化的粗制剂, 疗效确切<sup>[3]</sup>, 无明显不良反应报道, 但其具有剂量大、疗程长、见效慢的缺点。为开发出高效低毒的抗前列腺增生的油菜花粉制剂, 本课题组以炎症和丙酸睾丸素诱导的大鼠前列腺增生为药理筛选模型, 以阿司匹林、舍尼通和前列康为阳性对照, 以小鼠耳肿胀、大鼠足跖肿胀、前列腺脏器指数和前列腺增生组织学变化(间质水肿、间质充血、炎细胞浸润、纤维组织增生)对油

菜花粉进行筛选, 确定了油菜花粉黄酮部位为其抗前列腺增生活性部位。油菜花粉中的黄酮类化合物具有明显抑制前列腺特异性抗原(prostate-specific antigen, PSA)的分泌和抑制 5 $\alpha$ -还原酶活性等作用, 为油菜花粉抗前列腺增生的有效成分和药效物质基础<sup>[4]</sup>。本实验考察了回流提取法、超声提取法、浸提法和渗漉提取法 4 种提取方法对油菜花粉黄酮浸膏得率和黄酮提取物中总黄酮质量分数的影响, 确定了渗漉法为提取油菜花粉中黄酮类化合物理想方法, 并通过正交试验对渗漉提取工艺进行优化, 确定了最佳渗漉工艺参数, 最后建立了采用 HPLC-UV 法测定油菜花粉黄酮提取物中槲皮素、山柰酚和异鼠李素 3 种黄酮类化合物的方法, 为开发抗前列腺增生的油菜花粉制剂提供理论参考。

收稿日期: 2011-05-21

基金项目: 国家“重大新药创制”科技重大专项“十一五”计划资助项目(2009ZX09301-007); 上海市自然科学基金资助项目(06ZR14078); 上海市中药现代化专项资助项目(08DZ1971801, 09DZ1975200)

作者简介: 杨必成(1985—), 男, 博士研究生, 专业方向为天然产物的制备与分析。Tel: 15210842585 E-mail: ybc258429312@126.com

\*通讯作者 杨义芳 Tel: (021)62473018 E-mail: yangyf4912@163.com

## 1 仪器与材料

Waters 515 HPLC pump; Waters 2487 紫外检测器; HS 色谱数据工作站 V4.0+; 十万分之一电子分析天平为 Sartorius 公司产品; JSM—6360LV 型扫描电镜及 Falcon 型能谱; HA221—40—11 超临界 CO<sub>2</sub> 萃取装置 (江苏南通华安超临界萃取有限公司); KQ—250DE 超声提取器为昆山超声仪器有限公司产品; 槲皮素 (批号 0081-9304)、山柰酚 (批号 0861-200002)、异鼠李素 (批号 110860-200205) 由中国药品生物制品检定所提供; 油菜花粉为市售, 经电子显微鉴定为油菜花粉; 色谱纯乙腈为 Dima 公司产品, 超纯水为上海申美饮料食品有限公司产

品, 其他试剂均为分析纯。

## 2 方法与结果

### 2.1 破壁花粉的制备

采用酶发酵破壁法, 称取油菜花粉 17.21 kg, 粉碎, 将其与酶液按 10:15 比例多次混合均匀, 37 °C 发酵 48 h 至 pH 值为 4.0, 停止发酵, 得花粉的破壁发酵液。发酵液 4 000 r/min 离心 1 h, 得上清液和残渣, 残渣 60 °C 真空干燥 42 h 后, 得 5.85 kg 破壁油菜花粉。经电子显微镜观察, 所得花粉为破壁花粉。酶发酵破壁技术具体步骤和参数参见本课题组授权专利<sup>[5]</sup>。油菜花粉酶发酵前后电镜扫描照片见图 1。

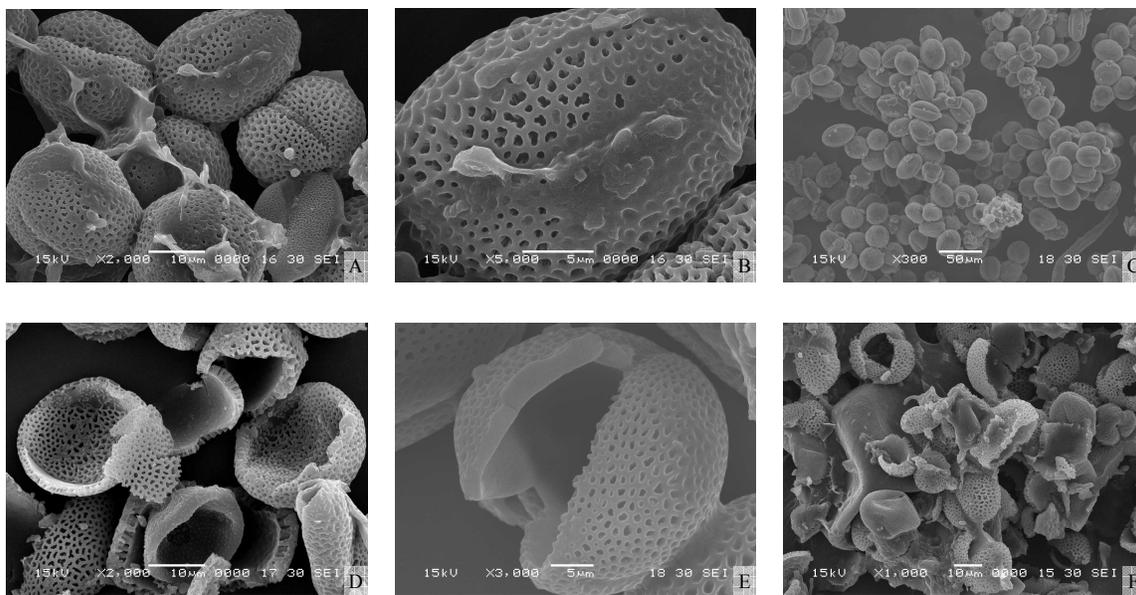


图 1 油菜花粉酶发酵前 (A- $\times 1\ 000$ 、B- $\times 5\ 000$ 、C- $\times 300$ ) 和酶发酵后 (D- $\times 2\ 000$ 、E- $\times 3\ 000$ 、F- $\times 1\ 000$ ) 的电子扫描电镜照片

Fig. 1 SEM photographs of rape bee pollen cell before (A-magnification  $\times 1\ 000$ , B-magnification  $\times 5\ 000$ , C-magnification  $\times 300$ ) and after (D-magnification  $\times 2\ 000$ , E-magnification  $\times 3\ 000$ , F-magnification  $\times 1\ 000$ ) fermentation

### 2.2 UV 法测定油菜花粉总黄酮

精密称取芦丁对照品 20.4 mg, 置 100 mL 量瓶中, 加 95%乙醇置水浴上微热使溶解, 放冷, 加 95%乙醇稀释至刻度, 摇匀, 即得 0.204 mg/mL 芦丁对照品溶液。精密吸取芦丁对照品溶液 0.0、1.0、2.0、3.0、4.0、5.0、6.0 mL, 分别置 25 mL 量瓶中, 加入 30%乙醇 10 mL, 5%亚硝酸钠 0.7 mL, 5 min 后加入 10%硝酸铝 0.7 mL, 6 min 后加入 10%氢氧化钠 5 mL, 用 30%乙醇定容至 25 mL, 摇匀, 静置 20 min。以水作参比在 510 nm 波长处测吸光度 ( $A$ ) 值。以  $A$  值为纵坐标, 质量浓度为横坐标进行线性

回归, 得回归方程  $Y=0.011 X+0.038\ 6$ ,  $r=0.999\ 0$ , 表明芦丁在 8.16~48.96  $\mu\text{g/mL}$  线性关系良好。精密称取一定量的油菜花粉黄酮提取物, 用 95%乙醇溶解并定容至 25 mL 量瓶中, 摇匀, 即得供试品溶液, 参照芦丁处理方法后以水作参比在 510 nm 波长处测定  $A$  值, 计算总黄酮的量。

### 2.3 油菜花粉黄酮类化合物提取方法的选择

为了充分高效地提取油菜花粉中的黄酮类化合物, 本实验选取了回流提取法、超声提取法、浸提法和渗漉提取法 4 种提取方法提取油菜花粉中的黄酮类化合物并进行比较, 筛选出最优的提取方法。

精密称取酶发酵破壁油菜花粉超临界萃取残渣（经检测花粉超临界萃取物中不含黄酮类化合物）粉末 20 g，按以下 4 种不同的提取方法提取：（1）超声提取：加无水乙醇 120 mL 于 25 °C 超声（功率 80 kHz）提取 3 次，每次 30 min；（2）加热回流提取：加无水乙醇 120 mL，85 °C 加热回流提取 3 次，每次 1 h；（3）浸提法：加无水乙醇 120 mL，浸提 3 次，每次 48 h；（4）渗漉法：先加无水乙醇浸泡 24 h，然后以 4 mL/min 体积流量进行渗漉。各提取液滤过，滤液减压浓缩蒸干，称定质量，计算黄酮提取率，并精密称取一定量的油菜花粉黄酮提取物，采用 UV 法测定总黄酮的量，计算黄酮提取物中总黄酮质量分数。各自在相同的条件下重复操作 2 次。酶破壁油菜花粉超临界萃取残渣黄酮提取率和提取物中总黄酮量结果见表 1。从中可知，渗漉法提取油菜花粉中的黄酮类化合物提取率和提取物中总黄酮质量分数均较高，而超声提取法和加热回流提取法虽然提取率很高，但提取物中总黄酮质量分数较低，而浸提法虽然提取物中总黄酮质量分数较高，但提取率较低，所以选择渗漉法提取。

表 1 油菜花粉不同提取方法的比较 (n=3)

Table 1 Comparison of different extracting methods for rape bee pollen (n = 3)

| 提取方法  | 提取率/% | 总黄酮质量分数/% |
|-------|-------|-----------|
| 超声法   | 42.79 | 5.69      |
| 加热回流法 | 39.68 | 4.95      |
| 浸提法   | 9.69  | 19.74     |
| 渗漉法   | 18.58 | 17.43     |

#### 2.4 正交试验优化油菜花粉黄酮渗漉提取工艺

渗漉提取药物有效成分的提取率受到渗漉溶剂的性质、浸润时间、渗漉液与药材的比例、浸提液温度和渗漉液体积流量等诸多因素的影响<sup>[6]</sup>。对于温度，本实验在室温下进行，因此本实验以提取物中总黄酮质量分数为考察指标，考察渗漉溶剂乙醇体积分数(A)、浸润时间(B)、渗漉液体积流量(C)和收集量(D)对提取物总黄酮质量分数的影响，每个因素 3 个水平。实验设计及结果见表 2，方差分析见表 3。

结果发现各因素的主次顺序为 A（乙醇体积分数）>B（浸润时间）>C（渗漉液体积流量）>D（收集量），最优因素组合为 A<sub>3</sub>B<sub>1</sub>C<sub>2</sub>D<sub>1</sub>，即乙醇体积分数为 100%，浸润时间 24 h，渗漉液体积流量 2.4 mL/min，

表 2 L<sub>9</sub>(3<sup>4</sup>) 正交试验设计与结果

Table 2 Design and results of L<sub>9</sub>(3<sup>4</sup>) orthogonal test

| 序号             | 因素      |        |                           |        | 总黄酮质量分数/% |
|----------------|---------|--------|---------------------------|--------|-----------|
|                | A/%     | B/h    | C/(mL·min <sup>-1</sup> ) | D/倍    |           |
| 1              | 40 (1)  | 24 (1) | 1.2 (1)                   | 10 (1) | 13.52     |
| 2              | 40 (1)  | 48 (2) | 2.4 (2)                   | 15 (2) | 11.86     |
| 3              | 40 (1)  | 72 (3) | 3.6 (3)                   | 20 (3) | 10.79     |
| 4              | 80 (2)  | 24 (1) | 2.4 (2)                   | 20 (3) | 16.91     |
| 5              | 80 (2)  | 48 (2) | 3.6 (3)                   | 10 (1) | 15.38     |
| 6              | 80 (2)  | 72 (3) | 1.2 (1)                   | 15 (2) | 15.96     |
| 7              | 100 (3) | 24 (1) | 3.6 (3)                   | 15 (2) | 20.95     |
| 8              | 100 (3) | 48 (2) | 1.2 (1)                   | 20 (3) | 19.87     |
| 9              | 100 (3) | 72 (3) | 2.4 (2)                   | 10 (1) | 21.16     |
| K <sub>1</sub> | 36.17   | 51.38  | 49.35                     | 50.06  |           |
| K <sub>2</sub> | 48.25   | 47.11  | 49.93                     | 48.77  |           |
| K <sub>3</sub> | 61.98   | 47.91  | 47.12                     | 47.57  |           |
| R              | 25.81   | 4.27   | 2.81                      | 2.49   |           |

F<sub>0.05</sub>(2, 2)=19.00 F<sub>0.01</sub>(2, 2)=99.00

表 3 方差分析

Table 3 Analysis of variance

| 方差来源 | 离差平方和   | 自由度 | 均方     | F 值     | 显著性    |
|------|---------|-----|--------|---------|--------|
| A    | 111.177 | 2   | 55.589 | 107.542 | P<0.01 |
| B    | 3.435   | 2   | 1.717  | 3.323   |        |
| C    | 1.467   | 2   | 0.734  | 1.419   |        |
| D    | 1.034   | 2   | 0.517  |         |        |

收集量为 10 倍量。

#### 2.5 验证试验

称取 3 批次干燥后的酶破壁油菜花粉超临界萃取残渣粉末 20.6、22.3、19.8 g，先加无水乙醇浸泡 24 h，然后以 2.4 mL/min 体积流量进行渗漉。各提取液滤过，滤液减压浓缩蒸干，称定质量，计算黄酮提取率，并精密称取一定量的油菜花粉黄酮提取物，按“2.2”项下方法进行总黄酮量的测定，计算 3 批黄酮提取物中总黄酮质量分数分别为 21.67%、20.68%、22.91%。

#### 2.6 HPLC-UV 法测定油菜花粉黄酮提取物中 3 中黄酮类化合物

**2.6.1 色谱条件** 色谱柱为 Capcell PAK-C<sub>18</sub> 柱 (250 mm×4.6 mm, 5 μm)，流动相为乙腈-pH 2.2 磷酸水溶液 (35 : 65)，检测波长 360 nm，体积流量 1.00 mL/min，柱温 40 °C，进样量 20 μL。对照品及油菜花粉提取物色谱图见图 2。

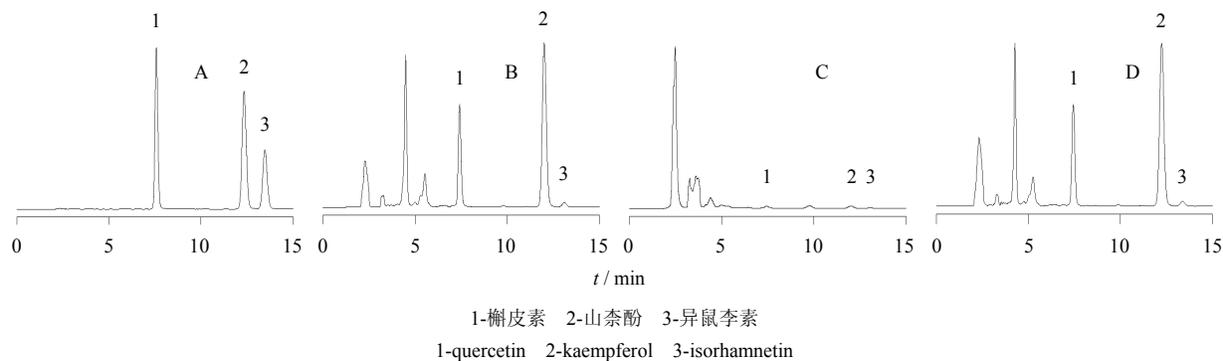


图 2 混合对照品 (A)、酶破壁油菜花粉黄酮提取物 (B)、未破壁油菜花粉黄酮提取物 (C)、油菜花粉黄酮提取物酸水解后 (D) 的 HPLC 色谱图

Fig. 2 HPLC chromatograms of mixed reference substances (A), flavonoids extract from enzymatically pre-treated rape bee pollen (B), flavonoids extract from untreated rape bee pollen (C), hydrolyzed sample of flavonoids extract from rape bee pollen (D)

**2.6.2 对照品溶液的制备** 精密称取经五氧化二磷干燥过的槲皮素、山柰酚、异鼠李素对照品 16.6、17.8、10.7 mg，置 100 mL 量瓶中，甲醇溶解并定容，即得混合对照品溶液。

**2.6.3 未经酸水解供试品溶液的制备** 精密称取按上述渗漉法提取所得的油菜花粉黄酮提取物，以甲醇溶解并定容至 100 mL，以 0.45 μm 微孔滤膜滤过，即得未经酸水解供试品溶液。

**2.6.4 酸水解供试品溶液的制备** 精密称取油菜花粉黄酮提取物，加 70%乙醇 20 mL，溶解，加 7.5%盐酸 20 mL，95 °C 回流提取 2 h，冷却，转移至 50 mL 量瓶中，加无水乙醇至刻度，摇匀，以 0.45 μm 微孔滤膜滤过，即得酸水解供试品溶液。

**2.6.5 线性关系考察** 准确量取“2.6.2”项下混合对照品溶液 1.0、2.0、3.0、4.0、5.0、6.0、10.0 mL 分别置 25 mL 量瓶中配成梯度对照品溶液，分别依次精密吸取梯度对照品溶液 20 μL，注入高效液相色谱仪，按“2.6.1”项下色谱条件进行测定，以峰面积 (Y) 对质量浓度 (X) 进行线性回归，得回归方程：槲皮素  $Y=84\ 394 X-25\ 213$ ， $r=0.999\ 9$ ；山柰酚  $Y=86\ 229 X-20\ 614$ ， $r=0.999\ 9$ ；异鼠李素  $Y=76\ 014 X+7\ 997$ ， $r=0.999\ 9$ ；表明槲皮素、山柰酚、异鼠李素分别在 6.64~66.4、7.12~71.2、4.28~42.8 μg/mL 线性关系良好。

**2.6.6 检测限与定量限** 准确量取“2.6.2”项下混合对照品溶液稀释成不同浓度的对照品溶液，分别依次精密吸取不同浓度的对照品溶液 20 μL，注入高效液相色谱仪，按“2.6.1”项下色谱条件进行测定，以各成分信噪比 3:1 为检测限，信噪比 10:1

为定量限，测得槲皮素、山柰酚、异鼠李素的检测限分别为 2.88、3.36、2.26 ng/mL，定量限分别为 9.60、11.20、11.30 ng/mL。

**2.6.7 精密度试验** 精密吸取槲皮素、山柰酚、异鼠李素分别为 83.0、89.0、53.5 μg/mL 混合对照品溶液，重复进样 6 次，槲皮素、山柰酚和异鼠李素峰面积的 RSD 分别为 0.6%、0.3%、0.3%。

**2.6.8 稳定性试验** 取同一酶破壁油菜花粉超临界萃取残渣，制备供试品溶液，分别在 0、2、4、8、12、24 h 测定，槲皮素、山柰酚和异鼠李素的峰面积的 RSD 分别为 1.3%、0.6%、1.8%，表明供试品溶液在 24 h 内稳定。

**2.6.9 重现性试验** 取 6 份酶破壁油菜花粉超临界萃取残渣，制备供试品溶液，分别进样 20 μL，测定槲皮素、山柰酚和异鼠李素的峰面积，计算得其质量分数的 RSD 分别为 1.8%、1.5%、0.7%。

**2.6.10 加样回收率试验** 精密称取已知量的酶破壁油菜花粉超临界萃取残渣约 0.4 g，平行 6 份，分别加入含槲皮素 83.0 μg/mL、山柰酚 89.0 μg/mL、异鼠李素 53.5 μg/mL 混合对照品溶液 2 mL，制备供试品溶液，进样测定。结果槲皮素平均回收率为 98.8%，RSD 为 0.6%；山柰酚平均回收率为 96.8%，RSD 为 1.8%；异鼠李素平均回收率为 100.1%，RSD 为 2.0%。

**2.6.11 样品测定** 精密称取一定量的酶发酵破壁和未破壁油菜花粉黄酮提取物，按上述方法制备未经酸水解和酸水解后的油菜花粉黄酮提取物供试品溶液，测定提取物中槲皮素、山柰酚、异鼠李素峰面积，依据回归方程，计算槲皮素、山柰酚、异鼠李素在黄酮提取物中的质量分数。结果见表 4。

表4 油菜花粉中黄酮类化合物测定结果

Table 4 Determination of flavonoids in rape bee pollen

| 样 品   |      | 质量分数/% |      |      |      |
|-------|------|--------|------|------|------|
|       |      | 槲皮素    | 山柰酚  | 异鼠李素 | 总黄酮  |
| 未破壁花粉 | 酸水解前 | 0.07   | 0.09 | 0.01 | 0.17 |
|       | 酸水解后 | 1.73   | 4.92 | 0.11 | 6.76 |
| 破壁花粉  | 酸水解前 | 2.37   | 5.06 | 0.17 | 7.60 |
|       | 酸水解后 | 2.58   | 6.04 | 0.21 | 8.83 |

### 3 讨论

花粉细胞壁由高分子聚合物构成。有研究报道花粉细胞壁具有很强的耐化学腐蚀、耐放射线、抗生物分解、耐强酸强碱等特性。花粉在热的氢氧化钠溶液中浸泡几小时后其细胞未受到明显破坏。另有文献报道,放射线对人体致死量为0.158 4 C/kg,而对花粉细胞放射致死量可达0.077 4~0.129 0 C/kg。从而得出结论必须对花粉细胞壁进行“破壁处理”。目前常见的破壁方法有机械破壁法、温差破壁法和酶发酵破壁法<sup>[7]</sup>。花粉破壁是指花粉细胞受到不同程度的损伤,以便花粉内所含营养物质的释放、吸收和利用,常有3种破壁形式(根据花粉形态破壁程度分类):花粉壁自萌发孔处裂开,内容物自萌发孔处溢出;花粉壁除萌发孔处,其他部分也有破裂,内容物自萌发孔和其他破裂处大部分溢出;花粉壁完全分解为数块残片,内容物全部溢出。本课题组采用酶发酵破壁法对油菜花粉进行破壁预处理,对比酶发酵前后油菜花粉电镜扫描照片,3种破壁形式均存在,其中以花粉壁分解,内容物溢出为主,破壁率极高,在90%以上。

超声法和回流提取法虽然浸膏得率较高,但其在提取黄酮类化合物的同时也把其他成分提取出来,所以提取物中总黄酮质量分数较低。渗漉提取由于始终保持一定的浓度差,所以提取效率有所提高,且提取液中有效成分的量高于冷浸法,并具有设备简单、操作方便、溶剂用量适中、不需加热,有利于不耐热成分不被破坏等特点。经综合考虑可以采用渗漉法提取油菜花粉中的黄酮类化合物。

酶发酵破壁预处理在使得花粉壁破裂的同时,也会改变花粉中的某些化学组分的存在形式,并影响花粉细胞内某些化学成分的释放。从HPLC-UV法对酶发酵破壁花粉和未破壁花粉中黄酮类化合物

的分析结果可以看出,在油菜花粉中黄酮类化合物主要以苷的形式存在,酶发酵在使花粉破壁的同时,也使得大部分黄酮苷类化合物水解成游离黄酮苷元,这可能是由于酶发酵破壁过程中外界所加入的酶或花粉中自身所携带的一些糖苷水解酶使得黄酮苷类化合物水解成了黄酮苷元。此外,有文献报道<sup>[8]</sup>花粉中黄酮苷水解成游离的黄酮苷元后,生物活性增加。酶破壁花粉所得提取物中黄酮质量分数高于未破壁花粉,可能是由于花粉经过破壁处理,使得花粉粒比表面积增大,颗粒和溶剂的接触面积增大,黄酮类化合物从油菜花粉颗粒内部扩散至溶剂的传质路径变短,且黄酮类扩散阻力变小,从而更加有利于黄酮类化合物的提取。

HPLC 色谱柱的选择:郑珺等<sup>[9]</sup>采用 Eclipse XDB C<sub>8</sub>柱测定油菜花粉中的槲皮素和山柰酚2种成分,取得了较好效果,但未测定其中的异鼠李素,本课题组在参考该文献方法同时测定山柰酚、槲皮素和异鼠李素时,发现山柰酚和异鼠李素不能基线分离。而采用 Capcell PAK-C<sub>18</sub>取得了很好的分离效果,在15 min内出峰完全,大大提高工作效率。

### 参考文献

- [1] 杨必成,杨义芳.花粉治疗前列腺疾病的物质基础研究进展[J].中草药,2009,40(1):144-145.
- [2] 李坤,杨义芳,李永辉.油菜花粉抗前列腺增生与炎症的活性部位研究[J].中草药,2010,41(5):798-801.
- [3] 周越,吴海啸.普乐安片治疗良性前列腺增生的临床疗效及其与疗程关系研究[J].中草药,2011,42(8):1588-1590.
- [4] 李坤.油菜花粉抗良性前列腺增生有效成分群及其作用机理研究[D].上海:上海医药工业研究院,2008.
- [5] 杨义芳,李坤,李永辉.一种油菜破壁花粉提取物及其提纯方法和应用[P].中国专利:200710043856.2007-07-17.
- [6] 杨义芳,孔德云.中药提取分离手册[M].北京:化学工业出版社,2009.
- [7] 张星海,沈生荣,郭碧花.油菜花粉的微生物破壁技术研究[J].食品科学,2003,24(3):92-95.
- [8] 孙丽萍.蜂花粉中的多酚和黄酮类成分[J].中国养蜂,2005,56(11):44-48.
- [9] 郑珺,孙兰香,王紫秋,等.油菜花粉中槲皮素和山柰素总含量的HPLC法测定[J].中国新药杂志,2005,14(5):590-592.