

响应面法优化小叶红豆总黄酮提取工艺及抗氧化活性研究

何国华^{1,2}, 莫秀³, 唐健民^{2,3*}, 邹蓉^{2,3}, 韦霄^{1,2}, 邓振海⁴, 王锋⁵

(1. 桂林理工大学 旅游与风景园林学院, 广西 桂林 541006; 2. 广西壮族自治区中国科学院广西植物研究所, 广西植物功能物质与资源持续利用重点实验室, 广西 桂林 541006; 3. 百色学院 农业与食品工程学院, 广西 百色 533000; 4. 广西雅长兰科植物国家级自然保护区管理中心, 广西 百色 533209; 5. 广东省德庆林场, 广东 肇庆 526600)

摘要: 小叶红豆 (*Ormosia microphylla*) 为国家一级重点保护野生植物, 隶属于豆科红豆属, 野生种群日渐稀少, 但其相关的研究报道较少。为明确小叶红豆不同部位的抗氧化能力, 该研究采用超声辅助提取技术结合响应面分析法, 对小叶红豆总黄酮的提取工艺进行优化, 并探究其不同部位的总黄酮含量差异, 并分析和评估其抗氧化能力。结果表明: (1) 小叶红豆总黄酮最佳提取工艺为乙醇浓度 68%、提取时间 60 min、提取温度 71 °C、料液比 1: 70 g · L⁻¹。(2) 在最佳提取工艺下, 小叶红豆不同部位的总黄酮含量存在显著差异, 具体表现为枝>皮>叶>去皮材>根, 为 5.05%~1.53%, 表明小叶红豆的枝干和树皮部位是黄酮类物质的主要富集部位, 且黄酮在植株表皮组织中的分布可能与其防御功能密切相关。(3) 小叶红豆 5 个不同部位抗氧化活性对比中, 枝干中总黄酮 DPPH 清除率最强, 为 77.96%; 根中总黄酮 OH 清除率最强, 为 63.75%; 小叶红豆去皮材、根、皮、枝 4 个部位具有良好的还原能力。(4) 小叶红豆不同部位的抗氧化活性并不完全与总黄酮含量呈正比, 可能存在其他活性成分及其协同作用对自由基清除能力的贡献。该研究结果为小叶红豆如何通过黄酮类化合物提高自身抗旱、抗病和抗逆能力研究提供科学数据, 同时为小叶红豆的综合保护提供理论依据。

关键词: 珍稀濒危, 小叶红豆, 总黄酮, 响应面法, 抗氧化水平, 超声辅助提取

中图分类号: Q946 **文献标识码:** A

Optimization of extraction process and antioxidant activity of total flavonoids from *Ormosia microphylla* by response surface methodology

HE Guohua^{1,2}, MO Xiu³, TANG Jianmin^{2,3*}, ZOU Rong^{2,3}, WEI Xiao^{1,2}, DENG Zhenhai⁴,
WANG Feng⁵

(1. College of Tourism and Landscape Architecture, Guilin University of Technology, Guilin 541006, Guangxi, China; 2. Guangxi Key Laboratory of Functional Phytochemicals and Continuous Utilization of Resources, Guangxi Institute of Botany, Guangxi Zhuang

基金项目: 广西自然科学基金 (2024GXNSFAA010452, 2023GXNSFAA026253); 广西植物功能性植物化学物质研究与可持续利用重点实验室自主项目 (ZRJJ2024-3, ZRJJ2024-11); 河池市科技基地和人才项目 (河科 AC231113); 广西植物研究所业务费项目 (桂植业 25009)。

第一作者: 何国华, (2000—), 硕士研究生, 主要从事濒危植物保育生物学研究, (E-mail) heguohua1017@163.com。

***通信作者:** 唐健民, 博士, 副研究员, 研究方向为喀斯特植物保护生物学及可持续利用, (E-mail) 690814668@qq.com。

Autonomous Region and Chinese Academy of Sciences, Guilin 541006, Guangxi, China; 3. College of Agriculture and Food Engineering, Baise University, Baise 533000, Guangxi, China; 4. Guangxi Yachang Orchid National Nature Reserve Management Center, Baise 533209, Guangxi, China; 5. Deqing Forest Farm of Guangdong, Zhaoqing 526600, Guangdong, China)

Abstract: *Ormosia microphylla*, a species of the genus *Ormosia* in the Fabaceae family, is listed as a nationally protected Class I wild plant in China. Its wild populations are gradually declining, yet relevant research remains limited. To clarify the antioxidant capacity of different plant parts of *O. microphylla*, this study employed ultrasound-assisted extraction combined with response surface methodology to optimize the extraction conditions for total flavonoids. Furthermore, the variation in total flavonoid content and antioxidant activity among different parts of the plant was analyzed and evaluated. The results were as follows: (1) The optimal extraction conditions for total flavonoids were 68% ethanol concentration, 60 min extraction time, 71 °C extraction temperature, and a material-to-liquid ratio of 1 : 70 g · mL⁻¹. (2) Under these optimal conditions, the total flavonoid content varied significantly among different plant parts, in the order of branch > bark > leaf > debarked stem > root, ranging from 5.05% to 1.53%. This indicates that flavonoids are primarily accumulated in the branch and bark tissues of *O. microphylla*, and their distribution in epidermal tissues may be closely related to the plant's defensive functions. (3) In a comparison of antioxidant activities among the five plant parts tested, total flavonoids from the branches showed the strongest DPPH · radical scavenging activity (77.96%), while those from roots exhibited the highest OH radical scavenging activity (63.75%). The debarked stem, root, bark, and branch also demonstrated good reducing power. (4) The antioxidant activity of different plant parts was not entirely proportional to their total flavonoid content, suggesting that other active compounds and synergistic effects may contribute to free radical scavenging. Flavonoids play an important role in plant self-protection mechanisms. The findings of this study provide scientific evidence for understanding how *O. microphylla* enhances its resistance to drought, disease, and other environmental stresses through the accumulation of flavonoids. Moreover, the results offer a theoretical foundation for the integrated conservation of this endangered species.

Key words: rare and endangered, *Ormosia microphylla*, total flavonoids, response surface methodology, antioxidant activity, ultrasound-assisted extraction

红豆隶属于豆科 (Fabaceae) 蝶形花亚科 (Papilionaceae), 全属约 130 种, 主要分布于亚洲东南部、澳大利亚西北部和热带美洲等地区, 中国共分布有 37 种, 以广东、广西、云南为主要分布区, 是亚洲分布红豆属最多的国家 (Wu et al., 2010)。小叶红豆 (*Ormosia microphylla*) 系红豆属 (*Ormosia*) 植物, 为中国特有种, 主要分布在中国广西、贵州、福建和广东。其因材质特性且颜色与紫檀 (*Pterocarpus indicus*) 相似, 即其边材浅黄褐色, 心材呈深紫红色至深紫色, 纹理通直, 材质坚硬, 又被称为“小叶紫檀”或“广西紫檀”, 主要用于制作高级家具及美术工艺品 (唐健民等, 2023)。由于小叶红豆的木材极为珍贵, 所以其遭受的人为砍伐也日益严重, 加上其结实率低、自然更新缓慢, 野外种群数量逐渐减少, 部分种群即将被群落演替所取代, 小叶红豆野生资源保护及其可持续发展显得尤其重要。因此,

国家在最新版《国家重点保护野生植物名录（2021 版）》中，将小叶红豆列为国家一级重点保护野生植物，红豆属的其余种被列为国家二级重点保护野生植物。

张琳婧等（2021）研究发现，红豆属植物中的化学成分主要包括生物碱类、黄酮类、三萜类及其他类型化合物，其中黄酮类化合物主要为黄酮类、黄酮醇类、二氢黄酮类、二氢黄酮醇类、异黄酮类、二氢异黄酮类、紫檀素类和花青素类，具有良好的抗氧化、抗癌、杀虫、抑菌等功能。有研究表明，在花榈木（*Ormosia henryi*）、木荚红豆（*Ormosia xylocarpa*）、红豆树（*Ormosia hosiei*）等红豆属植物的不同部位中已提取出多种天然黄酮类化合物，均具有良好的抗氧化能力（Feng et al., 2012；郑丽鋈等，2022；潘镇泽等，2022）。部分提取物甚至被认为具有缓解慢性应激引起认知障碍的潜力（翟大才等，2019；Liu et al., 2020；郑丽鋈等，2021）。因此，红豆属植物富含多种黄酮类化合物，而黄酮类化合物除了药用价值以外，还能参与植物自身的光合作用和抗病性反应，在植物应对环境胁迫中的作用也不可忽视。例如，Shomali 等（2022）研究表明，黄酮类化合物能有效清除自由基，减轻由非生物胁迫（如干旱、盐碱、紫外线照射和重金属污染等）引起的氧化损伤。在植物生长过程中，黄酮类物质常在表皮细胞中积累，通过较强的抗氧化作用，有效抵御外界环境的各种不利因素，Dias 等（2021）通过研究植物中的总黄酮含量和抗氧化活性，以此阐明植物如何应对环境变化，为理解植物的适应性进化提供了重要线索。Yang 等（2025）研究表明，不同生境（石山和土山）对小叶红豆的演化和适应性机制具有显著的促进作用，黄酮类化合物作为不同生境中植物体内抵御逆境的信号分子，诱导植物合成更多的防御物质，增强自身的免疫性和适应性。由此可见，探究小叶红豆总黄酮含量及其抗氧化能力，能为阐明小叶红豆应对逆境胁迫的生理机制提供理论依据，为小叶红豆不同生境适应性综合保育研究提供新思路。然而，目前对于小叶红豆的研究主要集中在生理生态学（杨汉远等，2013）、遗传分化（Tang et al., 2023）、区域分布（Huang et al., 2025）等方面。针对小叶红豆总黄酮提取工艺优化及抗氧化活性研究鲜有报道。

本研究以小叶红豆为试验对象，采用超声辅助提取结合响应面分析法，对其总黄酮的提取工艺进行优化，以提高总黄酮的提取效率，并评估其抗氧化能力；通过测定小叶红豆不同部位总黄酮对 1,1-二苯基-2-三硝基苯肼自由基（DPPH·）和羟自由基（OH·）的清除能力以及总还原力，系统评价其抗氧化能力，以期为推动小叶红豆资源的综合保护提供理论依据，为红豆属植物在生态适应性演化、多样性保护以及应对逆境胁迫的生理生态机制等提供支撑。本研究拟探讨：（1）影响小叶红豆总黄酮提取效率的关键因素及其最优提取条件；（2）小叶红豆不同部位总黄酮含量的差异及其抗氧化活性表现。

1 材料与方法

1.1 材料

小叶红豆根、茎、叶均采自人工繁育的小叶红豆成年植株，经广西壮族自治区中国科学院广西植物研究所韦霄研究员鉴定为小叶红豆（*Ormosia microphylla*）。样品凭证均存放于广西植物研究所广西植物功能物质与资源持续利用重点实验室。

1.2 仪器和试剂

供试仪器：TU-1901 型双光束紫外可见分光光度计（北京普析通用仪器有限责任公司），DL-720E 型智能超声波、AE200S 型万分之一电子分析天平[梅特勒-托利多仪器（上海）有限公司]，HH-S4 型数显恒温水浴锅（常州金坛双捷实验仪器厂），MultifugeX1R 型台式高速冷冻离心机[赛默飞世尔科技（中国）有限公司]，QE-100 型高速粉碎机（浙江屹立工贸有限公司），101A-3 型电热恒温鼓风干燥箱（上海跃进医疗器械有限公司）。

供试试剂：芦丁标准品（B20771-100 mg，HPLC $\geq$ 98%，购自上海源叶生物科技有限公司），无水乙醇、亚硝酸钠、硝酸铝、氢氧化钠、维生素 C 等（均为分析纯，均购自桂林卓一生物有限公司），总抗氧化能力（DPPH 法）试剂盒（购自苏州科铭生物技术有限公司）。

1.3 方法

1.3.1 样品处理

将采集到的小叶红豆各部位用清水洗净，将样品分为 5 个部位，分别为根、枝、叶、皮、去皮材，放置在 60 °C 的电热鼓风干燥箱中烘干，使用粉碎机粉碎，过 60 目筛后制成样品粉末，备用。

1.3.2 标准曲线的绘制

准确吸取 0、0.4、0.8、1.2、1.6、2.0 mL 浓度为 0.5 mg · mL⁻¹ 芦丁标准溶液，放入 25 mL 容量瓶内，再分别加入 2.0、1.6、1.2、0.8、0.4、0 mL 60%乙醇溶液摇匀；加入 5%亚硝酸钠溶液 0.5 mL 摇匀，静置 6 min；加入 10%硝酸铝溶液 0.5 mL 摇匀，静置 6 min；加入 4%氢氧化钠溶液 4.0 mL，60%乙醇进行定容，摇匀后静置 15 min，使用紫外可见分光光度计进行全波长扫描后确定波长，选用 510 nm 作为测定波长（徐坚旺等，2024）。

1.3.3 供试品溶液的制备

称取小叶红豆根、枝、叶、皮、去皮材样品粉末各 0.2 g，按试验设定的提取时间、料液比、乙醇浓度、提取时间置于智能超声波仪器上，间隔 20 min 摇匀 1 次。待提取结束后，过滤并定容于 25 mL 容量瓶。吸取样品量 2.0 mL，放入 25 mL 容量瓶内，按 1.3.2 方法，用乙醇定容后，使用紫外可见分光光度计测定其 510 nm 处吸光值，平行测定 3 次，分别记录数值。结合芦丁标准曲线和公式（1）计算总黄酮提取率（李艳艳等，2021）。

$$F(\%) = \frac{C \times V \times X}{M} \times 100 \quad (1)$$

式中：F 为总黄酮提取率，%；C 为提取液中黄酮的含量，mg mL⁻¹；V 为提取液体积，mL；X 为溶液稀释倍数；M 为样品粉末质量，mg。

1.4 单因素试验

1.4.1 提取温度对总黄酮含量的影响

选取小叶红豆叶片作为试验对象，准确称取样品粉末 0.2 g，按照料液比 1：50 g · mL⁻¹ 加入 60%乙醇，在提取温度 40、50、60、70、80 °C 条件下，超声辅助提取 40 min，离心取上清液，过滤，复提 2 次，定容于 25 mL 容量瓶中。按照 510 nm 处测定吸光值的方法计算总黄酮提取率。每种处理设置 3 组重复，选取最佳提取温度进行下一步单因素试验。

1.4.2 料液比对总黄酮含量的影响

选取小叶红豆叶片作为试验对象，准确称取样品粉末 0.2 g，按照料液比 1：50、1：60、1：70、1：80、1：90 g · mL⁻¹ 加入 60%乙醇，在提取温度 60 °C、提取时间 40 min 的条件下，超声辅助提取，离心取上清液，过滤，复提 2 次，定容于 25 mL 容量瓶中。按照 510 nm 处测定吸光值的方法计算总黄酮提取率。每种处理设置 3 组重复，选取最佳料液比进行下一步单因素试验。

1.4.3 乙醇浓度对总黄酮含量的影响

选取小叶红豆叶片作为试验对象，准确称取样品粉末 0.2 g，按照料液比 1：50 g · mL⁻¹，分别加入 40%、50%、60%、70%、80%浓度的乙醇，在提取温度 60 °C、提取时间 40 min 的条件下，超声辅助提取，离心取上清液，过滤，复提 2 次，定容于 25 mL 容量瓶中。按照 510 nm 处测定吸光值的方法计算总黄酮提取率。每种处理设置 3 组重复，选取最佳乙醇浓度进行下一步单因素试验。

1.4.4 提取时间对总黄酮含量的影响

选取小叶红豆叶片作为试验对象，准确称取样品粉末 0.2 g，按照料液比 1 : 50 g · mL⁻¹ 加入 60%乙醇，在提取温度 60 °C条件下，超声辅助提取 40、50、60、70、80 min，离心取上清液，分别过滤，复提 2 次，定容于 25 mL 容量瓶中。按照 510 nm 处测定吸光值的方法计算总黄酮提取率。每种处理设置 3 组重复，选取最佳提取时间。

1.5 响应面优化工艺

选取小叶红豆叶作为试验对象，利用 Design Expert 13 软件中 Box—Benhken 中心组合设计原理，以料液比（A）、乙醇浓度（B）、提取时间（C）、提取温度（D）4 个具有明显曲线变化的因素为自变量，总黄酮提取率作为因变量，各因素最适宜条件为中心点，上下区域各取 1 个水平值作为响应面试验设计水平，如表 1 所示，根据单因素试验结果分别设置 5 个部位水平值。

表 1 响应面试验因素与水平
Table 1 Response surface test factors and level

水平 Level	A 料液比 Solid-liquid ratio (g · mL ⁻¹)	B 乙醇浓度 Ethanol concentration (%)	C 提取时间 Extraction time (min)	D 提取温度 Extraction temperature (°C)
-1	1:60	50	50	60
0	1:70	60	60	70
1	1:80	70	70	80

1.6 抗氧化活性的测定

1.6.1 DPPH 清除能力的测定

使用总抗氧化能力（DPPH 法）试剂盒，测定小叶红豆不同部位总黄酮提取液的抗氧化能力，以抗坏血酸作为对照。按照说明书操作，空白管加入 50 μL 提取液，随后加入 950 μL 试剂 1；测定管分别加入 50 μL 小叶红豆不同部位总黄酮提取液，再加入 950 μL 试剂 1，充分混匀，室温避光反应 20 min。使用紫外分光光度计在 515 nm 处测量吸光度。其中提取液为无水醋酸钠-冰醋酸溶液；试剂 1 为 DPPH 溶于甲醇溶液。根据公式（2）计算 DPPH 清除率。

$$\text{DPPH} \cdot \text{清除率} (\%) = \frac{A_{\text{空白}} - A_{\text{测定}}}{A_{\text{空白}}} \times 100 \tag{2}$$

式中：A_{空白}为空白管的吸光值；A_{测定}为测定管的吸光值。

1.6.2 羟自由基（·OH）清除能力的测定

将小叶红豆不同组织部位黄酮提取液、抗坏血酸分别配成 0.02~0.08 mg · mL⁻¹ 的样品液，在 510 nm 处测量吸光度。参照朱成豪等（2019）的方法评价小叶红豆不同组织部位黄酮提取液、抗坏血酸对羟基自由基的清除率，根据公式（3）计算对羟基自由基的清除率。

$$\cdot \text{OH} \text{ 清除率} (\%) = \frac{A_s - A_p}{A_b - A_p} \times 100 \tag{3}$$

式中：A_s 为加入提取液后的吸光度；A_p 为空白对照液的吸光度；A_b 为溶液本身的吸光度。

1.6.3 还原能力的测定

将小叶红豆不同组织部位黄酮提取液、抗坏血酸分别配成 0.06~0.08 mg · mL⁻¹ 的样品液，在 510 nm 处测量吸光度。参照朱成豪等（2019）的方法评价小叶红豆不同组织部位黄酮提取液、抗坏血酸对还原力的测定。

1.7 数据分析

使用 SPSS27、Origin2024、Design Expert13 等软件对试验数据进行分析并作图。

2 结果与分析

2.1 标准曲线

以浓度作为横坐标，以一定浓度下所对应的吸光度作为纵坐标绘制标准曲线，得到回归方程 $y = 11.662x - 0.0061$ ， $R^2 = 0.9992$ ，结果（图 1）显示，当芦丁质量浓度在 $0.008 \sim 0.040 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 范围内时，其与吸光度存在良好的线性关系。

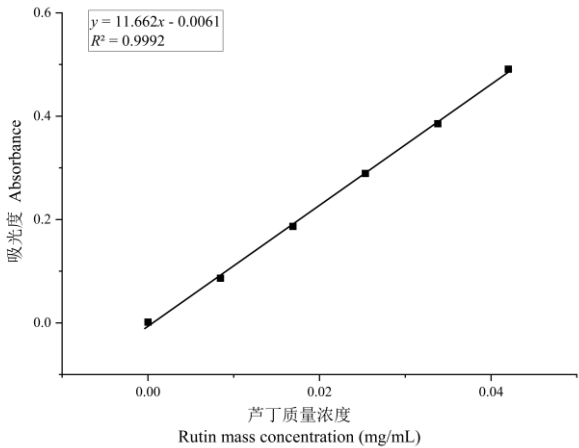


图 1 芦丁的标准曲线

Fig. 1 Standard curve of rutin

2.2 单因素实验

2.2.1 料液比对小叶红豆叶中总黄酮提取率的影响

由图 2: A 可知，小叶红豆总黄酮提取率最高点料液比为 $1 : 70 \text{ g} \cdot \text{mL}^{-1}$ ，总黄酮提取率为 1.72%；总黄酮提取率呈先上后下的趋势，料液比在 $1 : 60 \sim 1 : 70 \text{ g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 区间时总黄酮提取率上升明显， $1 : 80 \sim 1 : 90 \text{ g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 时下降明显。这有可能是一开始溶剂用量还未达到饱和，所以提取率会呈现明显增大的趋势（Tian et al., 2019），随着溶剂量的增加，黄酮类化合物被乙醇溶解基本达到完全后，还可能导致杂质或其它化合物析出，从而降低了总黄酮提取率。因此，确定最佳料液比为 $1 : 70 \text{ g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 。

2.2.2 乙醇浓度对小叶红豆叶中总黄酮提取率的影响

由图 2: B 可知，小叶红豆总黄酮提取率最高点乙醇浓度为 60%，总黄酮提取率为 1.66%。乙醇浓度在 40%~50% 时，总黄酮提取率变化平缓，当乙醇浓度在 50%~60% 时，总黄酮提取率变化明显，开始急剧上升。当乙醇浓度超过 60% 后，总黄酮提取率随着乙醇浓度的增加而减少，这可能是主要由于高浓度的乙醇抑制黄酮的溶出，导致总黄酮提取率降低（张春艳等，2025）。因此，确定最佳乙醇浓度为 60%。

2.2.3 提取时间对小叶红豆叶中总黄酮提取率的影响

由图 2: C 可知，小叶红豆总黄酮提取率最高点提取时间为 60 min，总黄酮提取率为 1.9%。当提取时间在 40~60 min 时，总黄酮提取率随提取时间的增长而上升；当提取时间超过 60 min 后，总黄酮提取率开始快速下降。这可能是由于提取时间过短，会导致黄酮类物质析出不完全，而提取时间过长会导致黄酮物质结构被破坏，其他物质析出过多，导致总黄酮提取率降低。因此，确定提取时间为 60 min。

2.2.4 提取温度对小叶红豆叶中总黄酮提取率的影响

由图 2: D 可知，小叶红豆总黄酮提取率最高点提取温度均为 $70 \text{ }^{\circ}\text{C}$ ，总黄酮提取率为

4.53%。当提取温度在 40~60℃之间时，总黄酮提取率变化缓慢，当提取温度到达 70℃时，黄酮得率上升明显上升；当提取温度超过 70℃后，总黄酮提取率开始下降。因此，确定提取温度为 70℃。

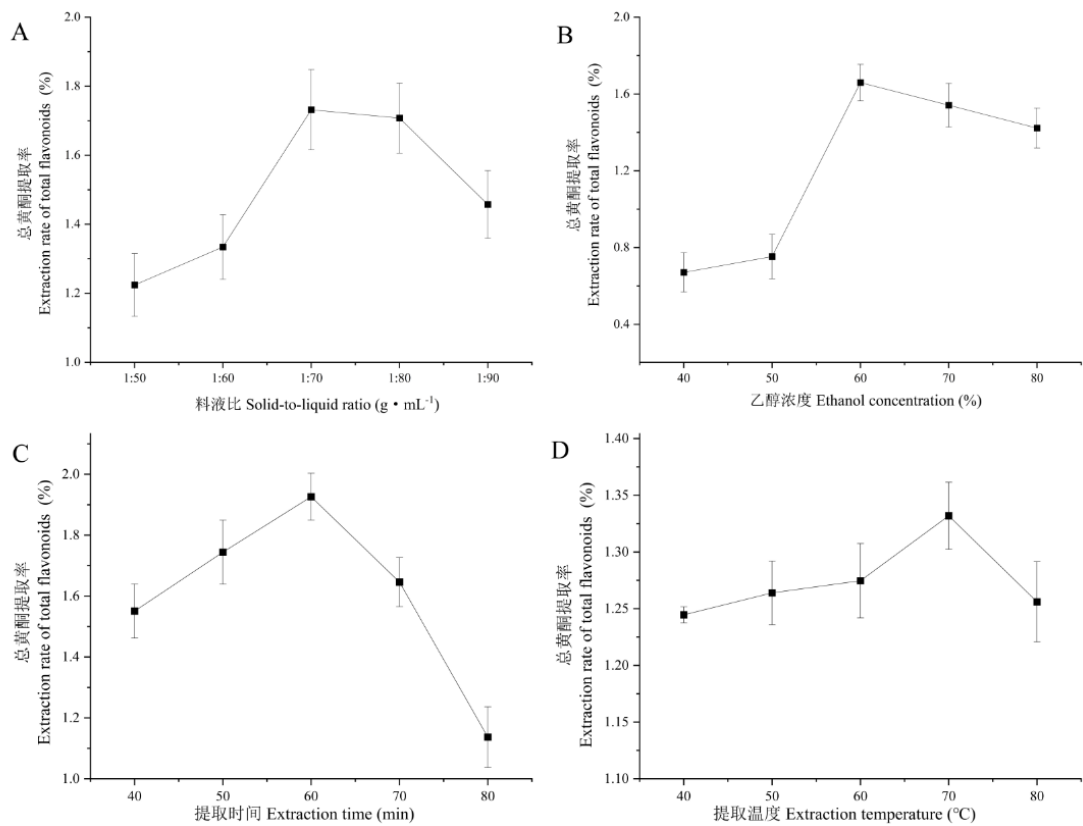


图 2 各因素对总黄酮提取率的影响

Fig. 2 Effects of various factors on the extraction rate of total flavonoids

2.3 响应面优化总黄酮提取工艺

2.3.1 响应面试验结果

根据表 1 设定的因素和水平，将料液比（A）、乙醇浓度（B）、提取时间（C）、提取温度（D）4 个因素设定为考察因素，每个部位分别有 3 个水平，以小叶红豆总黄酮提取率为响应值，共有 29 个试验点，其中 24 个为析因点，5 个为零点，根据单因素试验结果进行响应面试验设计，其响应面结果见表 2。

表 2 小叶红豆总黄酮响应面试验设计及结果

Table 2 Response surface experimental design and results of total flavonoids in *Ormosia microphylla*

试验号 Test number	A 料液比 Solid-to-liquid ratio (g · mL ⁻¹)	B 乙醇浓度 Ethanol concentration (%)	C 提取时间 Extraction time (min)	D 提取温度 Extraction temperature (°C)	总黄酮提取率 Total flavonoid yield (%)
1	80	60	50	70	1.33
2	60	60	50	70	1.51
3	70	60	70	80	1.38
4	70	60	60	70	1.85
5	70	60	60	70	1.86

6	70	70	50	70	1.61
7	70	50	60	60	1.07
8	60	60	60	80	1.26
9	60	50	60	70	1.00
10	70	60	70	60	1.37
11	70	60	60	70	1.86
12	80	60	70	70	1.39
13	70	50	50	70	1.20
14	70	60	50	60	1.36
15	70	70	70	70	1.65
16	70	50	60	80	1.00
17	70	70	60	60	1.60
18	70	70	60	80	1.75
19	70	60	50	80	1.46
20	60	70	60	70	1.58
21	80	70	60	70	1.56
22	80	60	60	80	1.28
23	60	60	60	60	1.32
24	80	50	60	70	1.01
25	80	60	60	60	1.19
26	70	50	70	70	1.04
27	70	60	60	70	1.85
28	60	60	70	70	1.20
29	70	60	60	70	1.90

2.3.2 回归模型方差分析

使用 Design expert13 软件对小叶红豆叶响应面试验结果（表 2）进行二次多元回归拟合分析，得到小叶红豆总黄酮提取率（Y）回归方程 $Y=1.85-0.009\ 3A+0.285\ 4B-0.036\ 7C+0.019\ 1D-0.007\ 5AB+0.093\ 1AC+0.039\ 9AD+0.049\ 6BC+0.054\ 2BD-0.025\ 8CD-0.309\ 6A^2-0.253\ 1B^2-0.202\ 2C^2-0.257\ 2D^2$ ，其回归模型方差分析结果见表 3，可知该模型 F 值为 99.18， $P<0.001$ ，表明该模型具有高度的显著性，具有统计学意义，失拟误差的 P 值为 0.050 8， $P>0.05$ ，表明该模型失拟性不显著，说明非试验因素对试验结果的影响较小，模型确定系数 $R^2=0.999$ ，校正确定系数 $R_{adj}^2=0.98$ ，接近于 1，说明该模型于实际试验拟合程度良好，具有较高的通用性和准确性，可以用于对小叶红豆叶片总黄酮含量的分析预测。其中乙醇浓度（B）的 $P<0.001$ （ $P<0.01$ ），表明乙醇浓度对模型呈极显著影响；提取时间（C）的 $P=0.006\ 4$ （ $P<0.01$ ），表明提取时间对模型呈极显著影响；料液比（A）、提取温度（D）的 P 值分别为 0.428 9、0.117 7， P 值均大于 0.05，表明料液比与提取温度对模型影响不显著；交互项中 AC、A $\times$ B $\times$ C $\times$ D 的 $P<0.01$ ，表明对模型均呈极显著影响；BC、BD 的 $P<0.05$ ，表明对模型呈显著影响；AB、AD 的 $P>0.05$ ，表明对模型均不显著；比较 A、B、C、D 之间的 F 值， $F_B>F_C>F_D>F_A$ ，表明各因素的影响程度依次是乙醇浓度>提取时间>提取温度>料液比。根据分析可以看出，不同因素对小叶红豆提取出的总黄酮含量影响并不是单一线性关系，而是各因素相互作用的结果。

表 3 小叶红豆总黄酮提取率的回归模型方差分析

Table 3 Variance analysis of regression model of total flavonoids yield in *Ormosia microphylla*

来源 Source	平方和 Quadratic sum	自由度 Degree of freedom	均方 Mean square	F 值 F-value	P 值 P-value	显著性 Significance
模型 Model	2.190 0	14	0.156 5	99.18	< 0.000 1	**
A	0.001 0	1	0.001 0	0.66	0.428 9	—
B	0.977 2	1	0.977 2	619.25	< 0.000 1	**
C	0.016 2	1	0.016 2	10.25	0.006 4	**
D	0.004 4	1	0.004 4	2.78	0.117 7	—
AB	0.000 2	1	0.000 2	0.14	0.709 6	—
AC	0.034 7	1	0.034 7	21.97	0.000 3	**
AD	0.006 4	1	0.006 4	4.03	0.064 4	—
BC	0.009 8	1	0.009 8	6.24	0.025 6	*
BD	0.011 7	1	0.011 7	7.44	0.016 3	*
CD	0.002 7	1	0.002 7	1.68	0.215 8	—
A ²	0.621 6	1	0.621 6	393.94	< 0.000 1	**
B ²	0.415 5	1	0.415 5	263.32	< 0.000 1	**
C ²	0.265 1	1	0.265 1	168.00	< 0.000 1	**
D ²	0.429 1	1	0.429 1	271.95	< 0.000 1	**
残差 Residual	0.022 1	14	0.001 6	\	\	\
失拟误差 Lack of fit	0.020 7	10	0.002 1	5.91	0.050 8	—
纯误差 Pure error	0.001 4	4	0.000 4	\	\	\
总差 Total deviation	2.210 0	28	\	\	\	\

注: A. 料液比($\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$); B. 乙醇浓度(%); C. 提取时间(min); D. 提取温度($^{\circ}\text{C}$)。*表示差异显著, $P < 0.05$; ** 表示差异极显著, $P < 0.01$; —表示不显著, $P > 0.05$ 。

Note: A. Solid-to-liquid ratio (g mL^{-1}); B. Ethanol concentration (%); C. Extraction time (min); D. Extraction temperature ($^{\circ}\text{C}$). * means the difference is significant, $P < 0.05$; ** means the difference is extremely significant, $P < 0.01$; — means not significant, $P > 0.05$.

2.3.3 响应面分析

使用 Design-Expert 13 对小叶红豆各因子之间的交互影响进行比较分析, 得到响应面三维曲线图和轮廓图 (图 3, 图 4)。各因素之间的交互情况可以根据响应面的陡峭程度和等高线的密集程度判断, 相应曲面的越陡, 则说明两个因素水平交互作用越显著; 等高线越密集且越接近椭圆形, 则说明这两个因素水平交互作用越明显。料液比与提取时间之间交互最为明显, 上述回归模型系数的显著性分析结果吻合。

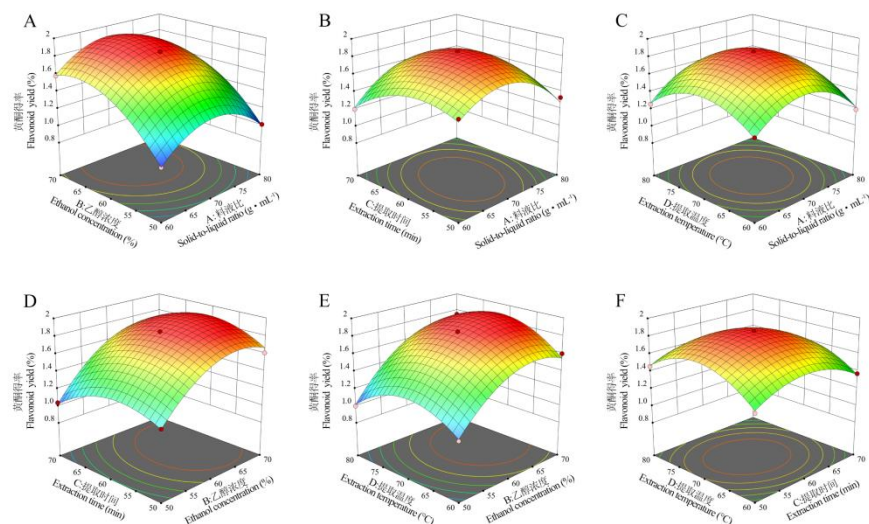


图3 小叶红豆各因子交互作用的响应面三维曲面图

Fig. 3 Response surface 3D surface diagram of each factor interaction of *Ormosia microphylla*

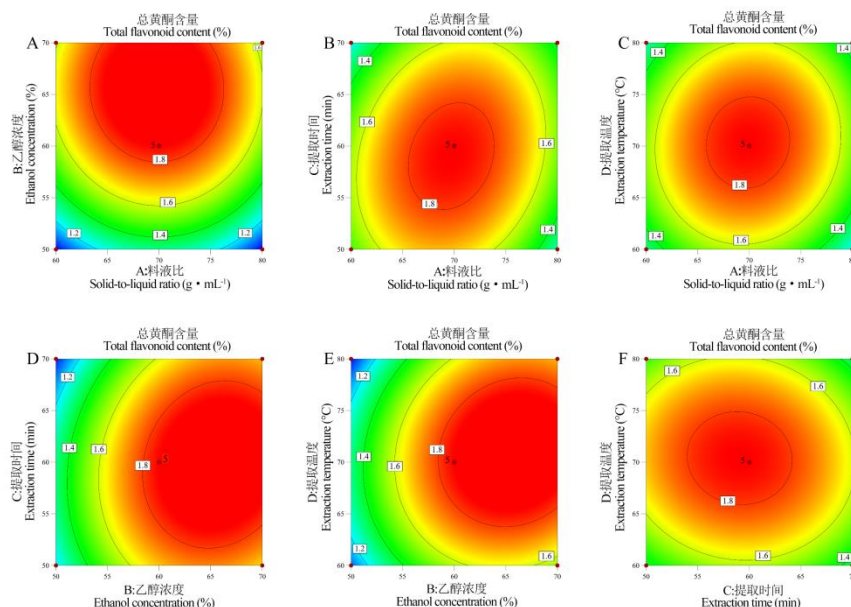


图4 小叶红豆各因子交互作用的响应面轮廓图

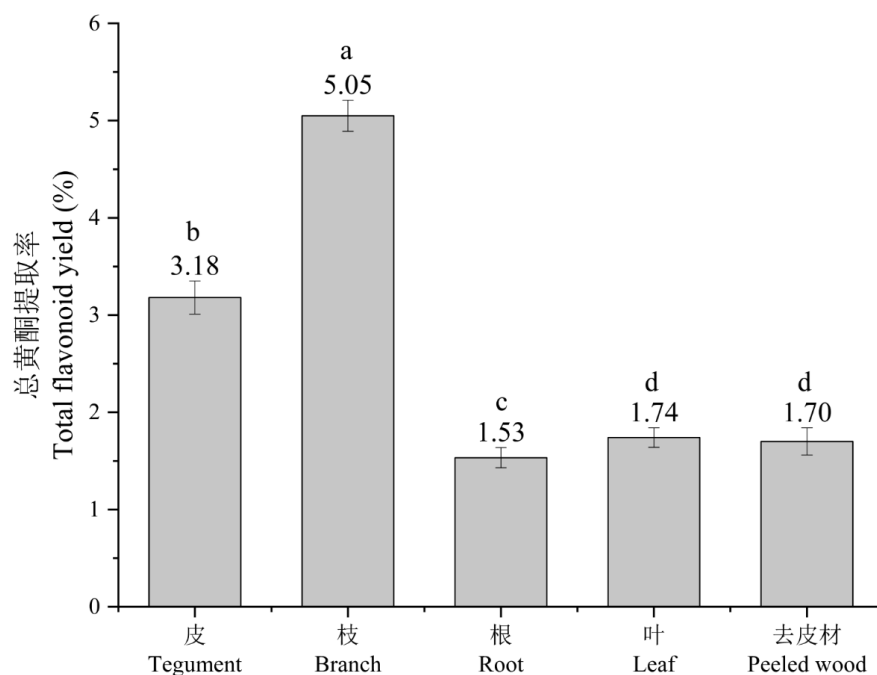
Fig. 4 Response surface contour map of each factor interaction of *Ormosia microphylla*

2.3.4 小叶红豆总黄酮最佳提取工艺确定及验证

依据以上响应面试验模型和结果分析,结合实际,小叶红豆总黄酮最佳提取工艺为:乙醇浓度 68%、提取时间 60 min、提取温度 71 °C、料液比 1 : 70 $\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$,在此条件下,进行 3 次平行试验,得到小叶红豆总黄酮提取率为 1.74%,实际所测得提率与理论值相差 0.03%,表明该模型分析的结果准确性和可信度较高。

2.4 小叶红豆不同部位总黄酮提取率

在最佳条件下分别对小叶红豆的叶、皮、根、枝、去皮材 5 个部位总黄酮含量进行测定,结果见图 5。小叶红豆各部位总黄酮含量差异显著,小叶红豆叶中总黄酮含量为 1.74%,皮中总黄酮含量为 3.18%,根中总黄酮含量为 1.53%,枝干中总黄酮含量为 5.05%,去皮材中总黄酮含量为 1.70%,总黄酮含量枝>皮>叶>去皮材>根。



不同小写字母表示差异显著性, $P < 0.05$ 。下同。

Different lowercase letters indicate significant difference, $P < 0.05$. The same below.

图 5 小叶红豆不同部位总黄酮含量

Fig. 5 Total flavonoids content in different parts of *Ormosia microphylla*

2.5 小叶红豆不同部位抗氧化活性

2.5.1 DPPH 的清除能力

由图 6 可知, 小叶红豆不同部位 DPPH 清除率存在显著性差异。小叶红豆的 DPPH 清除率在 27.22%~77.96%之间, 最低值与最高值相差近 50%。其中枝 > 皮 > 去皮材 > 叶 > 根。枝中总黄酮的 DPPH 清除率最高, 为 77.96%, 皮次之, 为 54.9%, 根最低, 为 27.22%。作为阳性对照的抗坏血酸对 DPPH 的清除率为 91.24%, 枝中总黄酮的 DPPH 清除率达到抗坏血酸的 80%, 皮中总黄酮的 DPPH 清除率达到抗坏血酸的 60%, 说明枝和皮具有较好 DPPH 清除能力。

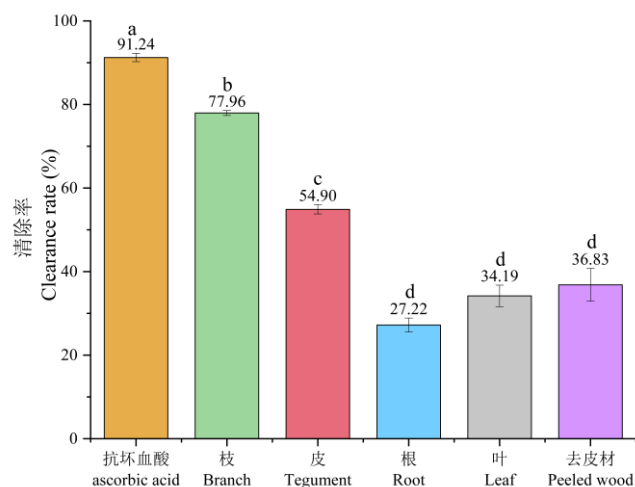


图 6 小叶红豆不同部位总黄酮 DPPH 清除率

Fig. 6 DPPH ·scavenging rate of different parts of *Ormosia microphylla*

2.5.2 OH 的清除能力

由图 7 可知, 小叶红豆不同部位总黄酮提取液对 OH 自由基的清除能力与浓度成正比, 变化范围在 12.19%~63.75%之间, 有较大差异。从总体趋势看, 小叶红豆根提取液在 0.07~0.08 $\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 之间开始逐步平缓, 其余部位没有明显的稳定趋势, 因此随着浓度增加, 小叶红豆其余部位对 OH 清除率依然有可能增加。当浓度达到 0.08 $\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 时, 根中总黄酮的 OH 清除率最高约为 63.75%, 枝和去皮材相似, 分别为 59.93%、59.01%, 皮为 53.53%, 叶的清除率最低, 为 41.57%。作为阳性对照的抗坏血酸在浓度为 0.08 $\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 时, OH 清除率为 86.85%, 除叶以外, 小叶红豆其余部位均达到抗坏血酸的 60%, 具有较好 OH 清除能力。

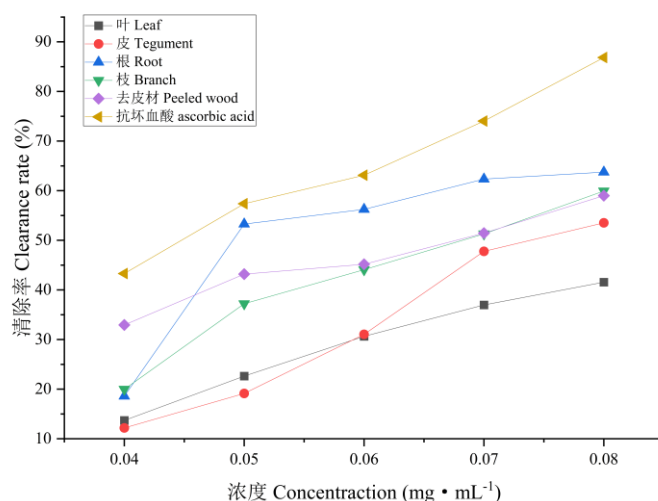


图 7 小叶红豆不同部位总黄酮 OH 清除率

Fig. 7 OH scavenging rate of different parts of *Ormosia microphylla*

2.5.3 总还原力

还原剂借助自身的还原作用达到清除自由基的目的, 吸光度越高说明还原力越高。结果如图 8 所示, 小叶红豆去皮材、根、皮、枝随着浓度的增加, 吸光度也随之增加, 而叶上升并不明显。当浓度为 0.08 $\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 时, 小叶红豆去皮材、根、皮、枝均达到抗坏血酸的 60% 以上, 证明这 4 个部位具有较强的还原能力。

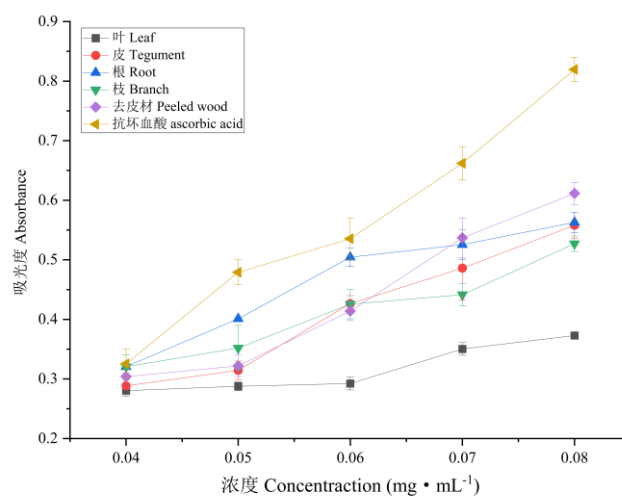


图 8 小叶红豆不同部位总黄酮总还原力

Fig. 8 Total reducing power of total flavonoids in different parts of *Ormosia microphylla*

3 讨论

本研究结果表明,小叶红豆总黄酮含量较为丰富。在最佳提取工艺下,小叶红豆枝干中总黄酮含量为 5.50%,高于花榈木的叶中总黄酮含量(3.961%)(郭昌庆等, 2023)。相比于其他常见药用和珍稀植物,小叶红豆枝干中总黄酮含量高于南方红豆杉(*Taxus wallichiana*, 枝叶总黄酮含量 4.5940%)(王昱霁等, 2020)、肉豆蔻(*Myristica fragrans*, 总黄酮含量 2.503%)(卓微伟等, 2021)、水松(*Glyptostrobus pensilis*, 叶中总黄酮含量 1.31%)(刘特津等, 2017)等珍稀或常见药用植物。有研究表明,黄酮类物质可以在植物的生长过程中承担第一道防御,表皮的黄酮类物质可以有效的屏蔽紫外线,防止病原微生物入侵等(Agati et al., 2012)。此外,植物表皮组织富含活性酶系统和代谢通路,有利于黄酮类物质的生物合成和积累(Treutter, 2006),因此它们主要积累在茎的表皮和皮下组织(Mierziak et al., 2014)。本研究结果表明,小叶红豆皮中总黄酮含量略高于去皮材,由此可以推断,小叶红豆枝干所提取出的总黄酮大部分来自于皮,去除表皮之后对小叶红豆枝干总黄酮含量有较大影响,这种现象与上述研究相似。小叶红豆表皮组织中可能累积较多的黄酮类物质,以此增强植株抗逆防护能力,所以当小叶红豆去除表皮部分后,失去了黄酮含量较多的部分,导致总黄酮含量下降。由此可见,小叶红豆枝干部位黄酮含量相对较高可能与其生长过程中所受的外界胁迫有关。

值得注意的是,在本研究中,小叶红豆不同部位中总黄酮含量顺序为枝>皮>叶>去皮材>根,但其 DPPH 抗氧化能力顺序为枝>皮>去皮材>叶>根,由此可见小叶红豆不同部位的抗氧化能力并不完全与总黄酮含量成正比,可能是由于去皮部分中具有较高活性的特定黄酮单体和其他多酚等成分的协同作用,使其 DPPH 自由基清除能力高于叶片。DPPH 自由基作为一种较为稳定的自由基,其清除率往往与抗氧化能力成正比,清除率越高则抗氧化能力越强。本研究结果中,小叶红豆枝干总黄酮对 DPPH 的清除率达到 77.96%,清除率达到抗坏血酸的 80%,且高于中药葛根(*Pueraria montana*, 74.25%)(彭常安等, 2023)、槲蕨(*Drynaria roosii*, 65.74%)(段小华等, 2022)、桑白皮(*Morus alba*, 62.21%)(张光辉等, 2023)等植物,由此可见,小叶红豆具有良好的 DPPH 清除能力。

黄酮类化合物分子中通常含有多个酚羟基,具备较强的供氢能力,能够稳定自由基并中断自由基链式反应(Mishra et al., 2012),因此黄酮类物质在 DPPH 等稳定疏水性自由基的清除过程中发挥重要作用。在本实验中,小叶红豆枝干部位表现出较高的 DPPH 自由基清除能力,可能与其较高的总黄酮含量有关。此外,根部作为植物应对干旱、盐碱、重金属等非生物胁迫的重要器官,通常具备较为完善的活性氧(ROS)清除机制(Mittler, 2017),从而在 OH 清除中具有优势。本研究中,尽管根部总黄酮含量相对较低,但其在 OH 自由基清除能力测试中却表现出较高活性,提示其抗氧化能力可能并非完全依赖于黄酮类物质,而可能与其他非黄酮类的抗氧化成分有关。例如,酚酸类、抗坏血酸、谷胱甘肽及抗氧化酶等水溶性物质在 OH 的清除过程中起主要作用(Hasanuzzaman et al., 2020)。羟基自由基(OH)作为高活性氧自由基,因其极强的电子亲和力表现出显著氧化特性,可与绝大多数有机化合物发生链式氧化反应,而抗氧化剂则通过清除自由基机制有效阻断 OH 的生成路径,从而实现氧化反应的级联抑制作用。本研究结果表明,当总黄酮浓度为 $0.08 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 时,小叶红豆根中总黄酮对 OH 清除率约为 63.75%,清除率达到抗坏血酸的 73%,高于金毛狗(*Cibotium barometz*, 13.37%)(林燕如, 2012)、杜仲(*Eucommia ulmoides*, 40%)(陆梅元等, 2023),由此可见,小叶红豆具有良好的 OH 清除能力。抗氧化剂(还原剂)是通过自身的还原作用,给出电子,从而清除自由基,还原能力越强,抗氧化性越强。在本研究中,小叶红豆去皮材、根、皮、枝 4 个部位的吸光度均达到抗坏血酸还原能力的 60%以上,证明小叶红豆具有较好的还原能力。

综上所述,小叶红豆不同部位的总黄酮含量及其对自由基(包括 DPPH 和 OH)清除能力存在明显差异,呈现出组织器官差异性。整体来看,枝干部位不仅总黄酮含量较高,同时在 DPPH 自由基清除率、还原能力等指标上也表现优异,显示出较强的抗氧化潜力。这可能与枝干表皮组织中黄酮类物质的高度富集密切相关,在小叶红豆生长过程中,表皮部位可能承担着重要的抵御外界环境胁迫的功能。与此同时,尽管根部总黄酮含量较低,但在 OH 自由基清除活性方面表现突出,提示其可能富含其他非黄酮类的抗氧化成分。此外,在本研究中,小叶红豆表现出“成分与功能不完全正相关”的特征,去皮材虽然总黄酮含量不如皮,但表现出较高的 DPPH 自由基清除能力,进一步印证了植物抗氧化活性不仅受总黄酮含量影响,还可能受到黄酮种类、结构特征及其与其他活性物质的协同作用影响。从植物保护角度来看,小叶红豆枝干表皮等部位富含功能性物质,表示其在自然生境中可能依赖这些组织承担重要的防御功能,因此在今后的种质资源保护及引种驯化过程中,应关注其表皮组织的完整性及功能表达,避免粗放管理或修剪过程中对关键部位的破坏,强化对其功能组织的保护意识。

4 结论

本研究采用超声辅助提取法,提取了小叶红豆五个不同部位的总黄酮,通过单因素实验和响应面分析,确定了小叶红豆总黄酮的最佳提取工艺,即乙醇浓度 68%、提取时间 60 min、提取温度 71 °C、料液比 1:70 g·mL⁻¹。在最佳提取工艺下,小叶红豆叶中总黄酮含量为 1.74%,皮中总黄酮含量为 3.18%,根中总黄酮含量为 1.53%,枝干中总黄酮含量为 5.05%,去皮材中总黄酮含量为 1.70%。小叶红豆 5 个不同部位中,枝干中总黄酮对 DPPH 清除率最强,根中总黄酮对 OH 清除率最强,且去皮材、根、皮、枝 4 个部位达到较好的还原能力。

通过对比小叶红豆不同部位总黄酮含量及其抗氧化能力,推测小叶红豆在长期适应复杂生态环境过程中,已形成了独特的化学防御体系,以提高对外界逆境(如紫外辐射、病原侵染和非生物胁迫等)的抵御能力。这些功能性次生代谢物质在其生存与繁衍过程中可能发挥了重要的生态适应作用。由于粗提总黄酮中可能含有多种结构类型的黄酮及其他活性成分,不同成分对整体抗氧化能力的贡献尚不明确。因此,后续有必要对总黄酮提取物进行纯化和组分鉴定,进一步阐明其主要活性成分及其抗氧化机制,揭示小叶红豆不同部位的黄酮类成分及其抗氧化特性,丰富其化学成分谱信息,为该濒危植物的资源保护、生境修复及后续可持续性保护提供科学依据。

参考文献:

- AGATI G, AZZARELLO E, POLLASTEI S, et al., 2012. Flavonoids as antioxidants in plants: Location and functional significance[J]. Plant Science, 196: 67–76.
- DIAS MC, PINTO DCGA, SILVA AMS, 2021. Plant flavonoids: chemical characteristics and biological activity[J]. Molecules, 26(17): 5377.
- DUAN XH, LUO SJ, WANG WQ, et al., 2022. The optimization of extraction technology of total flavonoids from *Dryopteris roosii* by response surface methodology and its antioxidant activity [J]. Journal of Jiangxi Normal University (Natural Science), 46(5): 497–502. [段小华, 罗时静, 王伟琪, 等, 2022. 响应面法优化槲蕨总黄酮提取工艺及其抗氧化活性[J]. 江西师范大学学报(自然科学版), 46(5): 497–502.]
- FENG SX, HAO JX, XU ZF, et al., 2012. Polyphenylated isoflavanone and isoflavonoids from *Ormosia henryi* and their cytotoxicity and anti-oxidation activity[J]. Fitoterapia, 83(1): 161–

- GUO CQ, XIA SQ, SHAO QF, et al., 2023. Determination of flavonoids in different parts of *Ormosia henryi* and study on antioxidant activity[J]. South China Forestry Science, 51(3): 11–14, 35.[郭昌庆, 夏诗琪, 邵齐飞, 等, 2023. 花榈木不同部位总黄酮含量测定和抗氧化作用研究[J]. 南方林业科学, 51(3): 11–14, 35.]
- HASANUZZAMAN M, BHUYAN MHMB, ZULFIQAR F, et al., 2020. Reactive oxygen species and antioxidant defense in plants under abiotic stress: revisiting the crucial role of a universal defense regulator[J]. Antioxidants, 9(8): 681.
- HUANG P, XIAO YQ, SUN YR, et al., 2025. Distribution changes of *Ormosia microphylla* under different climatic scenarios[J]. Scientific Reports, 15(1): 2607.
- LI YY, WANG QQ, SU YY, et al., 2021. Extraction of total flavonoid in *Taxus media* by response surface methodology and its antioxidant activity[J]. Northern Horticulture, 5: 94–102. [李艳艳, 王倩倩, 苏圆圆, 等, 2021. 响应面法优化提取曼地亚红豆杉总黄酮及抗氧化活性[J]. 北方园艺, 5: 94–102.]
- LIN YR, 2012. Extraction and antioxidant activity of total flavonoids from *Cibotium barometz* leaves[J]. Jiangsu Agricultural Sciences, 40(11): 322–325. [林燕如, 2012. 金毛狗叶总黄酮的提取及抗氧化性[J]. 江苏农业科学, 40(11): 322–325.]
- LIU D, LIU DD, MA L, et al., 2020. *Ormosia henryi* Prain leaf extract alleviates cognitive impairment in chronic unpredictable mild stress mice[J]. Progress in Biochemistry and Biophysics, 47(8): 768–779.
- LIU TL, ZHONG XW, ZHANG WX, et al., 2017. Optimization of extraction procedure for total flavonoids from *Glyptostrobus Pensilis* leaves by orthogonal experiment[J]. Chinese Journal of Rational Drug Use, 14(1): 4–7. [刘特津, 钟希文, 张文霞, 等, 2017. 正交试验法优化水松叶中总黄酮的提取工艺研究[J]. 中国合理用药探索, 14(1): 4–7.]
- LU MY, LI S, YANG MX, et al., 2023. Study on extraction process and antioxidant activity of total flavonoids from *Eucommia ulmoides* peel[J]. South-Central Agricultural Science and Technology, 44(8): 57–61. [陆梅元, 李杉, 杨梦霞, 等, 2023. 中药杜仲皮总黄酮提取工艺及抗氧化活性研究[J]. 中南农业科技, 44(8): 57–61.]
- MIERZIAK J, KOSTYN K, KULMA A, 2014. Flavonoids as important molecules of plant interactions with the environment[J]. Molecules, 19(10): 10.
- MISHRA K, OJHA H, CHAUDHURY NK, 2012. Estimation of antiradical properties of antioxidants using DPPH assay: A critical review and results[J]. Food Chemistry, 130(4): 1036–1043.
- MITTLER R, 2017. ROS are good[J]. Trends in Plant Science, 22(1): 11–19.
- PAN ZZ, FU JR, ZHENG W, et al., 2022. Inhibitory Activity of Isoflavones from *Ormosia hosiei* seeds against *Botrytis cinerea*[J]. Fujian Journal of Agricultural Sciences, 37(6): 794–801. [潘镇泽, 傅佳蕊, 郑威, 等, 2022. 红豆树异黄酮类成分抑制番茄灰霉病菌的活性研究[J]. 福建农业学报, 37(6): 794–801.]
- PENG CA, SUN HH, LIU XY, 2023. A study on extraction and antioxidant activity of total flavonoids from *Pueraria lobata*[J]. 25(4): 32–37. [彭常安, 孙浩浩, 刘小燕, 2023. 葛根总黄酮的提取及抗氧化性研究[J]. 芜湖职业技术学院学报, 25(4): 32–37.]
- POURCEL L, ROUTABOUL JM, CHEYNIER V, et al., 2007. Flavonoid oxidation in plants: From biochemical properties to physiological functions[J]. Trends in Plant Science, 12(1): 29–36.

- SHOMALI A, DAS S, ARIF N, et al., 2022. Diverse physiological roles of flavonoids in plant environmental stress responses and tolerance[J]. *Plants*, 11(22): 22.
- TANG JM, WEI X, CAI SF, et al., 2023. National key protected wild plants of Guangxi[M]. Beijing: Chinese Forestry Publishing House: 340–375. [唐健民, 韦霄, 柴胜丰, 等, 2023. 广西国家重点保护野生植物 [M]. 北京: 中国林业出版社: 340–375.]
- TANG JM, ZOU R, WEI X, et al., 2023. Complete chloroplast genome sequences of five *Ormosia* species: molecular structure, comparative analysis, and phylogenetic analysis[J]. *Horticulturae*, 9(7): 7.
- TIAN JY, MUHAMMAD S, CHEN A, et al., 2019. An experimental study exploring the influencing factors for ultrasonic-assisted extraction of flavonoid compounds from leaves of *Amorpha fruticosa* L.[J]. *Journal of Forestry Research*, 30(5): 1735–1741.
- TREUTTER D, 2006, Significance of flavonoids in plant resistance and enhancement of their biosynthesis[J]. *Plant Biology*, 7: 581–591.
- WEN KM, FANG XC, YANG JL, et al., 2021. Recent research on flavonoids and their biomedical applications[J]. *Current Medicinal Chemistry*, 28(5): 1042–1066.
- WU YP, JIANG L, RAN WY, et al., 2024. Antimicrobial activities of natural flavonoids against foodborne pathogens and their application in food industry[J]. *Food Chemistry*, 460: 140476.
- WU ZY, RAVEN P, HONG DY, 2010. *Flora of China: Vol.10*[M]. Beijing: Science Press: 73–85.
- WANG LW, ZHU WP, 2020. Optimization of extraction of flavonoids from *Taxus wallichiana* by response surface methodology[J]. *Zhejiang Journal of Traditional Chinese Medicine*, 55(5): 387–389. [王昱霁, 朱婉萍, 2020. 响应面法优化提取南方红豆杉黄酮的工艺研究[J]. 浙江中医杂志, 55(5): 387–389.]
- XU JW, WEI X, TANG JM, et al., 2024. Response surface methodology-based extraction process optimization and antioxidant activity of total flavonoids from *Horsfieldia hainanensis* [J]. *Guangxi Sciences*, 2024, 31(4): 712–722. [徐坚旺, 韦霄, 唐健民, 等, 2024. 基于响应面法的海南风吹楠总黄酮提取工艺优化及抗氧化活性研究 [J]. 广西科学, 31(4): 712–722.]
- YANG HY, FENG BX, YUAN MQ, et al., 2013. Analyses on population pattern and endangered causes of rare and endangered species *Ormosia microphylla*[J]. *Seed*, 32(6): 52–54. [杨汉远, 冯邦贤, 袁茂琴, 等, 2013. 珍稀濒危植物小叶红豆种群格局及濒危原因分析[J]. 种子, 32(6): 52–54.]
- YANG YS, SANG JH, HE GH, et al., 2025. Isolation effects and soil properties drive genetic differentiation in *Ormosia microphylla* populations[J]. *Scientific Reports*, 15(1): 25824.
- ZHAI DC, FANG Z, WANG Y, et al., 2019. Chemical constituents of the seed of *Ormosia hosiei* and its antioxidant and antimicrobial activity[J]. *Natural Product Research and Development*, 31(6): 946-951. [翟大才, 房震, 汪勇, 等, 2019. 红豆树种子化学成分及其抗氧化和抑菌活性研究[J]. 天然产物研究与开发, 31(6): 946–951.]
- ZHANG CY, WANG YR, ZHOU FY, et al., 2025. Optimization of extraction process of phenols from *Rubus occidentalis* L. and its antioxidant and antibacterial activities[J]. *Natural Product Research and Development*, 37:491-501. [张春艳, 王益蕊, 周霏娅, 等, 2025. 黑树莓酚类物质提取工艺优化及抗氧化、抑菌活性研究 [J]. 天然产物研究与开发, 37: 491-501].
- ZHANG GH, LIU JL, LONG X, et al., 2023, Optimization in extraction process of flavonoids from *Mori Cortex* L. by response surface methodology and its antioxidant activity in vitro[J]. *Chemistry & Bioengineering*, 40(3): 44–48. [张光辉, 刘靖丽, 龙旭, 等, 2023. 响应面法

- 优化桑白皮黄酮提取工艺及其体外抗氧化活性研究[J]. 化学与生物工程, 40(3): 44–48.]
- ZHANG LJ, ZHOU WJ, NI L, et al., 2021. A review on chemical constituents and pharmacological activities of *Ormosia*[J]. Chinese Traditional and Herbal Drugs, 52(14): 4433–4442. [张琳婧, 周文娟, 倪林, 等, 2021. 红豆属植物化学成分及其药理活性研究进展[J]. 中草药, 52(14): 4433–4442.]
- ZHENG LJ, FU JR, WANG Q, 2022. Optimization of methods to extract total flavonoids from *Ormosia xylocarpa* and evaluation of their antioxidant activities[J]. Strait Pharmacy Journal, 34(12): 39–43. [郑丽鋆, 傅佳蕊, 王钦, 2022. 木荚红豆叶总黄酮提取工艺优化及其抗氧化活性研究[J]. 海峡药学, 34(12): 39–43.]
- ZHENG LJ, HUANG SM, YAN WQ, et al., 2021. Chemical constituents from seeds of *Ormosia hosiei* Hemsl. & E. H. Wilson[J]. Strait Pharmaceutical Journal, 33(11): 25–28. [郑丽鋆, 黄顺民, 颜文强, 等, 2021. 红豆树化学成分及其抗炎活性研究[J]. 海峡药学, 33(11): 25–28.]
- ZHU CH, TANG JM, WEI X, et al., 2019. Study on the total flavonoids content determination of the *Lepionurus sylvestris* BL. and its antioxidant activity[J]. Food Research and Development, 40(20): 168–175. [朱成豪, 唐健民, 韦霄, 等, 2019. 鳞尾木中总黄酮含量测定及抗氧化活性研究[J]. 食品研究与开发, 40(20): 168–175.]
- ZHUO WW, LI F, HU J, 2021. Optimization of ultrasonic-assisted extraction of total flavonoids from nutmeg by response surface and Its antioxidant activity analysis[J]. Food Research and Development, 42(19): 126–133. [卓微伟, 李凤, 胡君, 2021. 响应面法优化超声辅助提取肉豆蔻总黄酮工艺及其抗氧化活性研究[J]. 食品研究与开发, 42(19): 126–133.]