

# 黄酮类化合物的定量色谱分析

李广 韶关大学化学系 韶关 512005

王清刚 王义明 罗国安 清华大学化学系 北京 100084

**摘 要** 本文引用了54篇文献,综述黄酮类化合物的定量分析。着重介绍了目前应用广泛,发展快速的平面色谱法,高效液相色谱法,高效毛细管电泳法。同时简要介绍气相色谱法,超临界流体色谱法,色谱与质谱联用技术。

**关键词** 黄酮类 综述 平面色谱 高效液相色谱 高效毛细管电泳

**Abstract** A review with 54 references was presented about the chromatographic quantitative analysis of the flavonoids. Some of the chromatographic methods such as plate chromatography, reversed-phase high performance liquid chromatography, high performance capillary electrophoresis were introduced. Other chromatographic methods such as gas chromatography, supercritical fluid chromatography and chromatography-mass spectrometry were also briefly introduced.

**Key words** Flavonoids Review TLC HPLC HPCE

黄酮类化合物广泛分布于植物界。它们一般具有二个苯环通过中央三个碳链相互联接而成的C<sub>6</sub>-C<sub>3</sub>-C<sub>6</sub>基本构型,主要包括异黄酮、黄酮、异黄酮醇、黄烷酮、异黄烷酮、喹尔酮、口山酮及衍生物等。近二十年来,黄酮类化合物日益引起人们的重视,国内外已经发现的黄酮类化合物有数千种。大多数具有显著生理药理活性,对一些常见病,多发病有重要的生理作用。如有抗氧化作用和清除氧自由基作用;抗癌、防癌作用;对心血管、心肌有益作用;对内分泌系统作用。可降低血糖、激素样作用,对骨组织作用;对免疫系统作用;护肝作用;抗炎、抗过敏作用;抑菌及抗病毒作用<sup>[1]</sup>。在医药上已经广泛应用,在功能食品开发方面越来越受到重视。人们除了利用它的生物活性外,也把它作为功能食品的添加剂,做天然氧化剂,天然色素、天然甜味剂等。已经开发了许多黄酮类功能食品:如银杏叶袋泡茶、白果罐头、山楂冲剂、苦荞速食粉、蜂胶胶囊、沙棘汁、大豆生命素(一种富含大豆异黄酮、皂甙、水苏糖等天然成分的功能性食品)等。

随着研究黄酮类物质的广泛和深入,它的分析方法近年来得到了迅速发展,人们分析对象有天然产物如中草药、水果、蔬菜及加工制品(药品、功能食品)、人血清、尿等。分析方法有利用黄酮类自身或与金属离子Al<sup>3+</sup>、Zr<sup>4+</sup>、Ti<sup>4+</sup>形成配合物在UV或可见光范围有吸收性质的分光光度法<sup>[2~7]</sup>,与铍、铕形成配合物可发荧光性质的荧光法<sup>[8~10]</sup>,利用自身的电化学性质的极谱法<sup>[11, 12]</sup>,库伦滴定法<sup>[13, 14]</sup>,离子选择电极法<sup>[15]</sup>;及近年来发展迅速,应用广泛的色谱及联用技术。

## 1 黄酮类的色谱分析

### 1.1 平面色谱法

**1.1.1 平板色谱** 平板色谱主要指纸色谱(PC)和薄层色谱(TLC)。PC由于选择性和重现性较差,目前已经应用不普遍,而且一般用于定性分析。王威<sup>[16]</sup>等用PC定性分析从山楂中提取黄酮类物质。TLC是50年代由经典色谱和PC发展而来,至今仍然广泛用于复杂体系如天然产物分析。朱新贵<sup>[17]</sup>等用HCl-甲醇溶液提取的玫瑰茄细胞红色素中含有黄酮物质。用纸层析方法鉴别黄酮,用硅胶薄层层析测定玫瑰茄细胞色素中总黄酮含量为15.30~21.50mg/g。曾明<sup>[18]</sup>等用甲醇浸提,浓缩点于硅胶GF254板上,展开剂:氯仿:甲醇:水(7:2.5:0.25),于紫外灯254nm和365nm下观察,记录斑点位置,分析葛属植物藤茎的化学成分。刘善新<sup>[19]</sup>等用薄层层析比较不同生长时间桑枝中黄酮成分,用石油醚脱脂,甲醇水浴回流提取,展开剂为90%乙醇,显色剂为三氯化铝乙醇液,置紫外分析仪365nm下观察荧光斑点。结果生长二年、一年的桑枝总黄酮的含量相近,而生长半年以内桑枝总黄酮含量较低。刘林吉<sup>[20]</sup>等用GF254硅板,展开剂:乙酸乙酯:丁酮:甲酸:水(5:3:1:1);测定波长365nm,紫光灯观察定性,斑点洗脱后用紫外分光光度法,测定苦荞麦疗效粉中芦丁的含量。

TLC法操作简便快速,不需要贵重的仪器设备,杂质对色谱系统的干扰破坏小,分析成本较低。但分析的时间较长,结果重现性较差。方法利用比移值R<sub>f</sub>进行定性,利用斑点大小进行定量,也可将它洗脱后用分光光度法测定。但是操作繁多,误差较大,要更

准确快速定量可用薄层扫描法。

1.1.2 薄层扫描法 (TLCS) 亦称薄层光密度法 (TLCD), 是 70 年代后期发展起来的薄层色谱技术与光密度计和计算机结合的一种新型仪器分析方法。方法简便快速、灵敏准确、专属性好、成本适当、易推广, 对样品预处理要求低, 固定相洗脱液选择范围广, 它作为一种离线技术, 各个环节均已实现仪器化或自动化。它适用于样品筛选, 定性鉴定, 半定量检验, 纯度检验, 精确定量分析。因此, 近年来受到人们的重视。谢辉<sup>[21]</sup>等以 0.5%CMC-Na 溶液为粘合剂制备硅胶 G 板, 杠板归糖浆用水饱和的正丁醇萃取, 用甲醇溶解, 以甲苯:乙酸乙酯:甲酸 (5:4:1) 为展开剂, 薄层扫描法测定杠板归糖浆中槲皮素的含量。张中药<sup>[22]</sup>等用 GF254 板, 展开系统为: 正戊醇: 甲醇: 甲酸: 水 (7:1:1:1), 波长 254nm 荧光灯观察。双波长反射法锯齿波扫描, 测定波长  $\lambda_s=290\text{nm}$ , 参比波长  $\lambda_R=350\text{nm}$  测清开灵注射液中黄芩苷含量, 线性范围  $1\sim 8\mu\text{g}$ 。闵庆旺<sup>[23]</sup>等用葛根素芦丁对照, 乙酸乙酯: 甲酸: 水 (8:1:1) 展开剂, 测定波长 275nm, 扫描条件反射法单波长锯齿波扫描  $\lambda=250\text{nm}$   $S_x=3$ , 测愈风宁心片中葛根素含量, 线性范围  $0.38\sim 3.8\mu\text{g}$ 。

## 2 气相色谱法 (GC)

具有高选择性, 高效能, 高灵敏度, 分析速度快等特点。但是多数黄酮类化合物的沸点高, 对热不稳定, 需将样品用衍生化试剂制成黄酮衍生物, 才能用于气相色谱分离测定。Pierce<sup>[46]</sup>和 Collier<sup>[47]</sup>等人采用三甲基衍生, 用一个内标实现多种儿茶素的同时分析。该法装置较贵, 操作繁琐, 应用不普遍。

## 3 高效液相色谱 (HPLC)

HPLC 法具有分离效果好, 准确性好, 分析速度快及仪器自动化程度高等特点。尤其适合于挥发性低、热稳定性差、分子量大及离子型化合物的分析, 已广泛用于天然产物的分析。成为中草药, 食品化学成分或功能因子的纯度鉴定, 含量测定和质量监控的常用手段。黄酮类 HPLC 分析通常用反相 C18 柱色谱柱。由于黄酮分子中存在酚羟基, 流动相中加入少量的酸可改善峰形。

### 3.1 等度洗脱 HPLC 法

该法分析简便, 结果的重现性好。陈晓岚<sup>[24]</sup>等使用 ODS C18 柱 ( $5\mu\text{m}$ ,  $250\times 4.6\text{mm}$ ); 流动相为甲醇: 水 = 65:35 (0.1% 的磷酸二氢钠为缓冲液), 检测波

长 360nm; 测定银杏黄酮浸膏中槲皮素和总黄酮的含量。俞曼雷<sup>[25]</sup>等以槲皮素、山萘素、异鼠李素为对照外标法定量。C18 柱 ( $10\mu\text{g}$ ,  $3.9\times 300\text{mm}$ ); 流动相为甲醇: 0.5% 磷酸水溶液 (48: 52); 检测波 368nm。取银杏浸膏和银杏叶片用甲醇-盐酸水浴回流水解, 用甲醇定容, 测定了银杏叶浸膏及片剂中黄酮甙含量。仲英<sup>[26]</sup>等用 Resolve C18 ( $8\times 100\text{mm}$ ) 柱。流动相为甲醇-0.5% 磷酸溶液 (45:55); 检测波长 368nm; 测定侧柏叶中槲皮素含量, 槲皮素线性范围  $0.25\sim 1.25\mu\text{g}$ 。周欣<sup>[27]</sup>等用甲醇溶解, 加盐酸水浴回流水解银杏叶提取物, 用 TWG C18 ( $4.6\times 150\text{mm}$ ) 柱, 流动相为甲醇: 水: 磷酸 (50:49.8:0.2), 检测波长为 360nm, 分离银杏叶提取物中黄酮类化合物并测定其中槲皮素含量。邬建敏<sup>[28]</sup>等用甲醇浸提, 用 WYG C18 色谱柱, 以甲醇: 水: 磷酸 (60:40:0.5) 为流动相, 以 254nm 为检测波长, 测定了 10 种竹子的叶、枝中的黄酮化合物总量芦丁含量。竹叶中黄酮总量在  $5.9\sim 13.1\text{mg/g}$ , 竹枝中黄酮化合物含量在  $1.3\sim 4.3\text{mg/g}$ 。付桂香<sup>[29]</sup>等用 Nova park C18 ( $4.0\times 150\text{mm}$ ) 色谱柱, 流动相为甲醇: 乙腈: 水 (40:15:45), 0.1% 磷酸调 pH3, 检测波长 254nm, 样品石油醚脱脂, 甲醇加热回流提取, 测定沙棘叶中黄酮含量。王萍<sup>[30]</sup>等采用 YWG C18 柱 ( $4.6\times 200\text{mm}$ ), 流动相为甲醇: 水: ( $0.5\text{mol/L H}_3\text{PO}_4=10:10:1$  (用  $0.2\text{mol/L H}_3\text{PO}_4$  调 pH4.0)), 检测波长 280nm, 测定水飞蓟素中活性黄酮。

### 3.2 梯度洗脱 HPLC 法

能提高分析速度, 对复杂样品的多种组分可以同时进行分析。王萍<sup>[30]</sup>等用 YWG C18 ( $10\mu\text{m}$ ,  $4.6\times 100\text{mm}$ ), 流动相为甲醇: 水: ( $0.2\text{mol/L H}_3\text{PO}_4$ ): ( $0.5\text{mol/L KH}_2\text{PO}_4$ ) = 80:120:1:8 (用  $0.2\text{mol/L H}_3\text{PO}_4$  调 pH4.0), 检测波长 280nm。采用梯度淋洗法, 使水飞蓟素中的 7 种主要成分得到完全分离。方法简便、快速。Hasler<sup>[31]</sup>等用 Hypersil ODS 柱, MeOH-0.5  $\text{H}_3\text{PO}_4$  为流动相, 梯度洗脱, 以桑色素为内标, 分离并测定了银杏叶提取物中 5 个银杏黄酮甙元, 胡敏等<sup>[32]</sup>银杏叶分别乙醇-水提取, 水提取及溶剂萃取方法精制, 银杏叶黄酮糖苷水解后黄酮苷元含量用梯度洗脱, 分辨出 17 个黄酮糖苷, 定量分析 1 个主要糖苷。色谱条件: 甲醇: 乙腈: 水 = 5:5:60, 波长 330nm, 柱子 SPHER-5RP-18micron  $4.6\times 220\text{mm}$ 。池静端<sup>[33]</sup>等用 Zorbax ODS C18 柱 ( $4.0\times 150\text{mm}$ ,  $5\mu\text{m}$ ), 流动相: A. MeOH, B 四氢呋喃 (THF):  $\text{H}_2\text{O}$ :  $\text{HCOOH}$  (34:65:1), 梯度洗脱, 检测波长 350nm, 测定了银杏叶中 6 种黄酮成分即槲

皮素、异鼠李素、山萘酚、白果黄素、银杏黄素、西阿多黄素。单酚酸B为内标,线性范围0.10~2.57  $\mu$ g。仲英<sup>[34]</sup>等样品用乙醇回流,用C18 (8.0  $\times$  100mm)柱,梯度洗脱,检测波长250nm,测定葛根不同生长季节葛根素含量,8月份最低,12月最高。苑可武<sup>[35]</sup>等样品用乙醇提取,盐酸水浴回流水解;用Nova pak C18柱 (4.6  $\times$  150mm),流动相A 甲醇, B 4% 磷酸,梯度洗脱,检测波长368nm,测定银杏叶中黄酮含量季节性变化。测得总黄酮4月份最低,10月份最高。

### 3.3 三维 HPLC 法

在 HPLC 的基础上,采用光电二极管阵列,扫描出三维立体图谱,x 轴为保留时间,y 轴为吸收度,z 轴吸收波长。这样测定的结果更准确可信,定量更方便。陈发奎<sup>[36]</sup>等用三维 HPLC 法测定了牛黄解毒片中黄芩素的含量,在 Intertsil ODS 柱上,以含醋酸的乙腈-水系统线性梯度洗脱,绘制三维谱,由峰形,峰位确定图谱中指标成分吸收峰,按标准曲线由峰面积计算含量。Pietta<sup>[37]</sup>等在 Nucleosil 100C18 柱上,以 0.5%  $H_3PO_4$ -MeOH-THF 梯度洗脱,50min 分离 15 个银杏黄酮化合物,6 个化合物由标准品对照确认,其他由 UV 或可见分光光度计及二级管矩阵检测器确定。

## 4 高效毛细管电泳 (HPCE)

HPLC 已经成为最常用分析方法。但用 HPLC 进行食品和中药成分等复杂混合物分析常遇到一些问题,一是分析时间长、分离效率低,即使采用梯度洗脱技术也难使某些成分完全分离 二是色谱柱容易被污染,而且污染后难于清洗,使柱的使用寿命缩短。近十几年来发展很快的高效毛细管电泳 (HPCE) 是一种高效分离技术,它具有高效 (每米理论塔板数在  $10^5$  以上)、快速 (分析时间一般为十几分钟至几十分钟)、进样体积小 (一般为 nL 级)、溶剂消耗少和抗污染能力强等特点<sup>[38]</sup>。它以高压 (可达 30kV) 产生的强电场为驱动力,以小内径的石英毛细管 (常用 20~100  $\mu$ m, 有效长度 20~100cm) 为分离通道,依据各组分之间电泳淌度或分配系数的差异实现分离。HPCE 常用分离模式为毛细管区带电泳 (CZE)、胶束电动毛细管色谱 (MECC)、毛细管等速电泳 (CITP)、毛细管凝胶电泳 (CGE)、毛细管等电聚焦电泳 (CIEF)、毛细管电色谱 (CEC)。最近几年用于黄酮类物质分析较多的是 CZE 和 MECC, 也有应用 CITP。本文重点介绍 CZE 和 MECC 模式。

### 4.1 CZE

当缓冲溶液的 pH 大于 3 时,石英毛细管内壁可形成硅羟基,带上负电荷。与之相应毛细管内缓冲溶液带上正电荷,形成双电层。在毛细管进出口两端加上高电压,毛细管内溶液向负极方向移动,形成电渗流。溶液中带电粒子,在电场中受到电泳作用。带正电粒子,电渗流和电泳流方向相同,首先洗脱;中性粒子随电渗流一起移动;带负电荷的粒子电渗流和电泳流方向相反,最后流出毛细管柱。带电的粒子的迁移顺序与带电荷粒子的类型 (正、负)、电荷电量的多少、半径、质量的大小有关。CZE 不能直接分离中性粒子。黄酮类物质一般不带电,可以利用黄酮类含有邻羟基,可与硼砂复合成带电粒子,再用于 CZE 分离分析。扬新<sup>[39]</sup>等以对硝基苯甲酸为内标,50  $\mu$ m  $\times$  40cm 毛细管,25mmol/L 硼砂缓冲液 pH8.5,运行电压 25kV,检测波长 310nm,分离分析银黄冲剂中黄芩素,黄芩素线性范围 160~960mg/L。柴逸峰<sup>[40]</sup>等用 70  $\mu$ m  $\times$  100cm 毛细管,30mmol/L 硼砂缓冲液含 70% 乙腈,运行电压 25kV,检测波长 254nm,双氯灭痛为内标,测定淫羊藿及其制剂中淫羊藿素的含量,线性范围 25~250  $\mu$ g/L。宋秀荣<sup>[41]</sup>等用甲醇、水、乙酸混合液提取样品。75  $\mu$ m  $\times$  50.6cm 毛细管,10mmol/L 磷酸盐和 20mmol/L 硼砂混合液, pH8.6, 运行电压 20kV, 检测波长 254nm, 测定桑叶中有效成分, 槲皮素和紫槲皮素线性范围分别是 0.04~40mmol/L 和 0.02~15mmol/L。

### 4.2 MECC

在缓冲溶液中加入表面活性剂,当表面活性剂浓度高于临界胶束浓度 (CMC) 时,它的疏水基团聚集在一起,形成带负电荷的胶束,胶束在电场的作用下向正极泳动。待测粒子依据疏水性的不同在水相和胶束相之间进行分配,其中疏水性强的中性粒子与胶束结合比较牢固,洗脱时间较长,就会与水溶性较好的中性粒子分离。在 MECC 中,中性粒子的分离机理只是它与胶束间的相互作用,而对于带离子则同时有电泳迁移、静电作用、两相分配等多种分离机理。林海<sup>[42]</sup>等毛细管 50  $\mu$ m  $\times$  40cm, 缓冲液 50mmol/L  $NaH_2PO_4$ -12.5mmol/L 硼砂 pH8.0:乙醇:  $\beta$ -环糊=7:1:2, 电压 20kV, 检测波长 275nm。同时快速测定中药黄芩中六种黄酮类有效成分。杨瑛<sup>[43]</sup>等用甲醇回流提取样品。以苯甲酸钠为内标,石英毛细管 50  $\mu$ m  $\times$  40cm, pH9.0, 20mmol/L 硼砂, 50mmol/L SDS, 10% 乙腈, 电压 20kV, 检测波长 275nm, 用 MECC 测定药材中柚皮苷和橙皮苷。线性范围柚皮苷 200~1000ng/ml, 橙皮苷 100~600ng/ml。Pietta<sup>[44]</sup>等用 72cm 的熔融硅胶

毛细管柱, 50mmol/L (SDS), 20mmol/L 硼酸钠为缓冲液, 电泳分离银杏提取物, 测定了芦丁、金丝桃甙、槲皮素等 9 个黄酮类化合物含量。

#### 4.3 CITP 法

CITP 法是一种“移动边界”电泳技术, 一种前导电解质充满整个毛细管, 另一种尾随电解质置于电泳槽中。前者的淌度高于任何样品组分, 后者则低于任何样品组分。被分离组分按其不同的淌度夹在中间, 以同一个速度移动, 实现分离。Seitz<sup>[45]</sup>等用 PTFE 管, 前导电解质为 15mmol/L HCl 30% 甲酸 0.2%HPMC, 尾随电解质为 10mmol/L 甘氨酸 30% 甲醇 0.2%HPMC, 电导法检测, 分析了洋接骨木 *Sambusnigra* 中的木樨草素、山萘酚、异槲皮素、金丝桃甙和芦丁等黄酮类成分。

### 5 色谱新技术

#### 5.1 超临界液体色谱 (SFC)

超临界流体一般用  $\text{CO}_2$  做流动相, 它既可分析 GC 难以处理的高沸点, 热不稳定的样品, 又有比 HPLC 更高柱效和更短分析时间, 可以使用 GC 和 LC 检测器, 可与 MS、IR 等在线联结; 可以简便快速进行定性定量分析。刘志敏<sup>[48]</sup>等在压力 25.0MPa, 温度 50.0℃, 流动相为超临界  $\text{CO}_2$ : 乙醇: 磷酸 (90:9.98:0.02),  $200 \times 4.6\text{mm}$  苯基固定相柱。用超临界流体色谱法测定银杏叶提取物中的黄酮类化合物, 线性范围 4.0~400mg/L。

#### 5.2 色谱和质谱联用

色谱-质谱联用是以色谱方法作为分离手段, 用质谱作为检测手段 (或用质谱进一步分离, 再用质谱检测)。这类方法具有高分离、分辨能力 (对复杂样品预处理要求不同, 容易实现多种成分的同时测定), 高灵敏度 (检测下限可以达到 pg、ng 数量级), 应用范围广, 分析速度快 (几分钟可以完成一次测定) 等特点。国外已有较多这方面的报导, 国内尚未见报导。目前与质谱联用主要有 GC、LC、CE 等; 使用时间较长是 GC/MS, Devanand<sup>[49]</sup>应用 GC/MS 测人血清中儿茶素和表儿茶素, 在血清中检测下限 10ng/ml。方法可以用于黄酮药物动力学研究。Watson<sup>[50]</sup>用三甲酯衍生, 负离子化学法离子化的 GC/MS, 测定服用银杏叶药片后, 尿中的山萘酚、槲皮素, 最低检出限 20pg。

黄酮类化合物的沸点高, 对热不稳定, 要经过衍生为易气化的样品才用于 GC/MS 分析, 方法操作繁琐, 应用受到限制。而 HPLC、CE 可分离极性的、离

子化的、易挥发的高分子质量和热不稳定的化合物, 同时 LC、CE-MS 联机弥补了传统 LC 检测器的不足, Watson<sup>[50]</sup>用 LC/ESI/MS 负离子方式检验银杏叶药片这种复杂混合物中的糖苷, 最低检出限 10ng。He Xian-guo<sup>[51]</sup>等用 LC/ESI/MS 测定酸柑子中痕量黄酮类。Ulla<sup>[52]</sup>用 HPLC/MS 和 HPLC/PDA 定量分析水果、蔬菜、饮料中的黄酮醇、黄酮、黄烷酮, 方法用于丹麦市场的食品中这些物质普查。Lori<sup>[53]</sup>等用 RP-HPLC 和多反应监测质谱测定血清中异黄酮, 测定出血清中大豆黄酮和 3,5,4'-三羟基异黄酮平均含量为 556 和 345nmol/L。Aramendia<sup>[54]</sup>采用 CE/MS 分离黄酮, 在定量同时对每种成分结构进行解释。随着各种新的离子化技术不断出现, 色谱质谱接口技术不断完善, 使之在黄酮类化合物分析研究应用更加广泛。

#### 参考文献

- 1 张德权, 台建祥. 生物类黄酮的研究及应用概况. 食品与发酵工业, 1999, 25 (6): 52~57.
- 2 张永顺等. 铝盐显色法测山楂汁饮料中总黄酮. 中国公共卫生, 1995, (3): 12.
- 3 吴琼诗. 蒺藜全草中总黄酮的含量测定. 广东药学院学报, 1998, 14 (4): 273~275.
- 4 鞠爱华, 杨来秀等. 金莲花袋泡茶中总黄酮的含量测定. 中成药, 1999, 21 (4): 207~208.
- 5 李石生等. 鄂西产三种野生葛总黄酮含量的紫外分光光度法测定. 植物资源与环境, 1997, 6 (3): 61~62.
- 6 王宗花, 杭瑚. 胶束配合物光度法测定银杏叶口服液中的总黄酮. 青岛大学学报, 1998, 11 (2): 54~57.
- 7 刘霞, 赵淑春. 山楂黄酮类成分的分析测定. 吉林农业大学学报, 1997, 19 (3): 47~49.
- 8 庞志功, 汪宝琪. 用表面活性剂荧光法测定淫羊藿甙. 中药材, 1996, 13 (10): 33.
- 9 邓淑华, 陈达美. 荧光光度法测定黄酮类化合物的研究. 化学世界, 1999, (7): 375~379.
- 10 刘春, 赵慧春. 钽-EDTA-槲皮素荧光体系及槲皮素的测定. 光谱学与光谱分析, 1999, 19 (4): 569~571.
- 11 徐礼, 木焱等. 三白草中黄酮的微分脉冲极谱测定. 药物分析杂志, 1988, 8 (4): 223.
- 12 吴亚西, 徐礼, 木焱等. 鸢尾中异黄酮的方波伏安分析法. 药学学报, 1992, 27 (1): 64.
- 13 徐礼, 木焱, 徐叶周等. 三白草中总黄酮及金丝桃甙的库伦滴定. 药学学报, 1986, 21 (3): 306.
- 14 余红, 徐礼. 红花中总黄酮的库伦滴定法测定. 分析化学, 1997, 25 (3): 371.
- 15 冯今明, 黄德培等. 黄芩甙-聚氯乙烯膜选择电极的研制. 分析化学, 1991, 19 (8): 904.

- 16 王威等.从山楂中提取黄酮类物质及鉴定方法.食品科学, 1994, (3): 53~55.
- 17 朱新贵,郭勇.玫瑰茄细胞红色素中总黄酮的分离及含量测定.食品工业科技, 1998, (1): 66~7.
- 18 章崇仪,郭济贤等.聚酰胺薄膜-薄层扫描法快速测定黄芩中黄芩.中成药, 1993, 15 (6): 43.
- 19 刘善新,贾元印.不同生长时间桑枝中黄酮成分的比较.时珍国药研究, 1997, 8 (1): 20~21.
- 20 刘林吉等.苦荞麦疗效粉中芦丁的含量测定.药物分析, 1991, 11 (1): 49.
- 21 谢辉,顾汉冲.薄层扫描法测定杠板归糖浆中槲皮素的含量.南京中医药大学学报, 1997, 13 (2): 88~90.
- 22 张中药等.薄层扫描测清开灵注射液黄芩苷含量.药物分析, 1995, 15 (4): 51~52.
- 23 闵庆旺,谭生建.薄层色谱扫描测定风宁心中葛根素含量.药物分析, 1994, 14 (1): 57~58.
- 24 陈晓岚,屈凌波等.HPLC定量测定银杏黄酮浸膏中槲皮素和黄酮总量.河南科学, 1998, 16 (2): 178~180.
- 25 俞曼雷等.高效液相法测定银杏叶制剂中黄酮甙含量.中药新药与临床药理, 1999, 9 (1): 46~48.
- 26 仲英,孙立立.高效液相色谱法测定侧柏叶中槲皮素含量.时珍国医国药, 1999, 10 (7): 505~506.
- 27 周欣,钟世江.高效液相色谱法测定银杏叶提取物中槲皮素的含量.中国中药杂志, 1997, 22 (10): 616~618.
- 28 郭建敏,贾之慎.竹类黄酮化合物总量及芦丁含量的测定.浙江农业大学学报, 1998, 24 (40): 339~343.
- 29 付佳香,赵世萍.高效液相色谱法测定沙棘叶中黄酮含量.中国中药杂志, 1997, 22 (5): 299~300.
- 30 王萍,丛润滋.水飞蓟素中活性黄酮的测定.色谱, 1998, 16 (6): 510~512.
- 31 Hasler A, Sticher O, Meier B. High Performance Liquid Chromatographic determination of five widespread flavonoid aglycones. J Chromatogr, 1990, 508: 236.
- 32 胡敏等.不同提纯法精制银杏叶提取物中黄酮糖苷含量分析.食品科学, 1998, 19 (12): 42~45.
- 33 池静端,何秀峰.HPLC法测定银杏叶中6种黄酮成分的含量.药学学报, 1997, 32 (8): 625~628.
- 34 仲英等.HPLC测定葛根不同生长季节葛根素含量与质量.中草药, 1992, 23 (6): 294.
- 35 苑可武等.银杏叶中黄酮含量季节性变化.中草药, 1997, 28 (4): 211.
- 36 陈发奎,郭先珍,孟宪舒.牛黄解毒片的三维高效液相色谱法鉴定和指标成分的定量.药理学, 1993, 28 (1): 57.
- 37 Pietta P G, Mauri P L, Bruno A et al. Identification of flavonoids from Ginkgo biloba L., Anthemis nobilis L. and Equisetum arvense L. by high-performance liquid chromatography with diode-array UV detection. J Chromatogr, 1991, 553: 223.
- 38 魏伟,王义明,罗国安.中药成分的高效毛细管电泳分析.药理学, 1997, 32 (6): 476~480.
- 39 扬新,韩风梅等.银黄冲剂中黄芩甙和绿原酸的毛细管电泳分离分析.色谱, 1999, 17 (6): 573~575.
- 40 柴逸峰,纪松岗.高效毛细管电泳法分离测定淫羊藿及其制剂中淫羊藿甙的含量.毛细管电泳进展(第三卷)-第三届全国毛细管电泳及相关微分离分析技术学术报告会文集.大连, 1998, 167~168.
- 41 宋秀荣,杨更亮.毛细管电泳测定桑叶中药效成分.中成药, 2000, 22 (2): 158~160.
- 42 林海,张正行.中药黄芩黄酮类有效成分的胶束电动毛细管色谱.毛细管电泳进展(第三卷)-第三届全国毛细管电泳及相关微分离分析技术学术报告会文集.大连, 1998, 177.
- 43 杨瑛,王实强.胶束电动毛细管电泳测定柑橘属药材中柚皮苷和橙皮苷的含量.中草药, 1999, 30 (3): 181~183.
- 44 Pietta P G, Marri P L, Rava A et al. Application of micellar electrokinetic capillary chromatography to the determination of flavonoid drugs. J Chromatogr, 1991, 549: 367.
- 45 Seitz U, Bonn G, Oefner P et al. Isotachopheric analysis of flavonoid and phenol carboxylic acid of relevance to phytopharmaceutical industry. J Chromatogr, 1991, 559: 499.
- 46 Pierce A P, Graham H N et al. Anal Chem, 1969, 41: 298~302.
- 47 Collier P D, Graham R J. J Chromatogr, 1971, 57: 29~45.
- 48 刘志敏等.用超临界流体色谱法测定银杏叶提取物中的黄酮类化合物.分析化学, 1999, 27 (2): 214~216.
- 49 Luthria Devanand L, Jones A Daniel, Donovan, et al. GC-MS determination of catechin and epicatechin levels in human plasma. High Resolut. Chromatogr, 1997, 20 (11): 621~623.
- 50 Watson D G, Pitt A. R. Analysis of flavonoids in tablets and urine by gas chromatography/mass spectrometry and liquid chromatography/mass spectrometry. Rapid Commun. Mass Spectrom, 1998, 12 (4): 153~156.
- 51 He Xian-guo, Lian Li-zhi et al. High-performance liquid chromatography-electrospray mass spectrometry in phytochemical analysis of sour orange. J Chromatogr A, 1997, 791 (1+2): 127~134.
- 52 Justesen Ulla, Knuthsen Pia, Leth Torben. Quantitative analysis of flavonols, flavones, and flavanones in fruits, vegetables and beverages by high-performance liquid chromatography with photo-diode array and mass spectrometric detection. J Chromatogr, A, 1998, 799 (1+2): 101~110.
- 53 Coward Lori, Kirk Marion, Albin Nicolas, Barnes Stephen. Analysis of plasma isoflavones by reversed-phase HPLC-multiple reaction ion monitoring-mass spectrometry. Clin Chim Acta, 1996, 247 (1,2): 121~142.
- 54 Aramendia M A, Garcia I, Lafont F et al. J Chromatogr A, 1995, 707: 327.