

橙色大白菜球叶总黄酮提取与测定方法的研究

李娟¹, 张鲁刚^{1,2*}, 张昱¹

(¹西北农林科技大学园艺学院, 陕西杨凌 712100; ²农业部西北园艺植物种质资源与遗传改良重点开放实验室, 陕西杨凌 712100)

摘要: 以橙色叶球大白菜为试材对总黄酮提取及含量测定方法进行了研究。通过单因素试验和 L₁₂ (4³) 正交试验筛选出最佳提取方法是超声波法, 其提取工艺是以 80% 乙醇为溶剂, 在料液比 (g/mL) 为 1 20, 温度 60 条件下, 用频率为 60 Hz 的超声波连续提取 2 次, 每次提取 1 h。以芦丁为标样, 利用分光光度法和 RP-HPLC 法进行黄酮测定, 比较表明, 分光光度法和 RP-HPLC 法测定的结果趋势一致, RP-HPLC 法优于分光光度法。建立了大白菜黄酮的 RP-HPLC 测定法, 流动相为甲醇 水 乙酸 = 6 93.4 0.6, 流速 0.5 mL/min, 柱温 25, 检测波长 280 nm。

关键词: 大白菜; 黄酮; 超声波; 分光光度法; RP-HPLC

中图分类号: S 634.1 文献标识码: A 文章编号: 0513-353X (2007) 04-0923-06

A Study on Extraction and Determination of Total Flavonoids in Orange Colour Chinese Cabbages

LI Juan¹, ZHANG Lu-gang^{1,2*}, and ZHANG Yu¹

(¹ College of Horticulture, Northwest A & F University, Yangling, Shaanxi 712100, China; ² Key Laboratory of Horticulture Plant Germplasm and Genetic Improvement, Ministry of Agriculture, Yangling, Shaanxi 712100, China)

Abstract: The methods of extraction and determination of the total flavonoids in the leaf-head of heading Chinese cabbages [*Brassica campestris* ssp. *pekinensis* (Lour.) Olsson] were studied. The optimal conditions for the ultrasonic extracting process were screened by single factor analysis and orthogonal analysis, which using 80% ethanol as impregnant, at the ratio 1 20 of solid to liquid (g/mL), the total flavonoids were extracted by 60 Hz ultrasonic at temperature 60 for 1 h, 2 times. Using rutin as standard compound, the total flavonoids of orange colour Chinese cabbages were determined by UV spectrophotometry and RP-HPLC, respectively. The result shows that RP-HPLC is better than spectrophotometry with the same trend. The condition of RP-HPLC is that a ODS column was used with methanol-water-acetic acid (6 93.4 0.6) as the mobile phase, at a flow rate of 0.5 mL/min, 25 of the column temperature and 280 nm of the UV detection wavelength.

Key words: Chinese cabbage; Flavonoid; Ultrasonic; UV spectrophotometry; RP-HPLC

大白菜 [*Brassica campestris* ssp. *pekinensis* (Lour.) Olsson] 营养成分的研究以往主要是在维生素 C、糖、粗纤维、粗蛋白等方面, 对于其它营养成分了解很少。橙色大白菜新品种的育成大大提高了大白菜的营养成分 (张鲁刚等, 2005)。黄酮类化合物中有药用价值的化合物很多, 但目前尚未见到关于大白菜中黄酮类化合物的报道。开展橙色大白菜中黄酮物质含量的测定研究, 对于了解大白菜种质资源保健价值及开展高营养大白菜育种有重要意义。

收稿日期: 2007 - 05 - 14; 修回日期: 2007 - 07 - 02

基金项目: 国家 '863' 项目 (2003AA207120); 陕西省科技攻关项目

* 通讯作者 Author for correspondence (lugangzh@163.com)

黄酮类化合物的提取主要有浸提法和水浴热回流法、超声波法。前两种方法提取时间长且提取率低,而超声波法可大大缩短提取时间且提取率较高(徐小丽和曹雁平,2006)。黄酮类化合物含量的测定主要有分光光度法和 RP-HPLC法,前者一般只用于测定总黄酮含量,后者既可测定总量也可测定具体的黄酮成分。在测定总黄酮时,若以黄酮苷芦丁(rutin)为对照,黄酮提取液不用水解即可上机测定(杜进等,2005);若以槲皮素(quercetin)、山奈酚(kaempferol)、异鼠李素(isorhamnetin)等黄酮苷元为对照,则提取液要经酸水解后方可上机测定(赵文华和张英侠,2005)。

作者以分光光度法研究了不同提取方法和环境因子对黄酮提取率的影响,设计了正交试验,旨在最佳条件下获得最佳提取效果,筛选了 RP-HPLC法测定大白菜总黄酮的条件,以芦丁为对照比较分光光度法和 RP-HPLC法测定橙色大白菜总黄酮含量的差异,为大白菜黄酮物质的深入研究提供依据。

1 材料与方法

1.1 材料及其总黄酮的提取

橙色大白菜品系 05-2、05-3、05-4、05-5、05-6、05-7由西北农林科技大学园艺学院白菜研究室提供。仪器为分光光度计 SHMADZU UV-1700,数控超声波清洗器 KQ-500DE,高压液相色谱仪岛津 2010AH。试剂为色谱级芦丁标准品、甲醇、超纯水;分析纯 95%乙醇、甲醇、亚硝酸钠、硝酸铝、氢氧化钠。

大白菜进入结球期采样,取叶球由外数第 6~8片叶于 -70℃ 保存。采用单因素试验和 $L_{12}(4^3)$ 正交试验设计。单因素为:提取温度、料液比、提取时间、超声频率和提取次数。正交试验 4个因素及其水平是:超声时间(A),1、2、3 h;浸提次数(B),1、2、3次;提取温度(C),50、60、70℃;超声频率(D),50、60、70 Hz。

测定时将整叶干燥、粉碎,准确称 0.1 g于三角瓶中,加入适量提取溶剂,用水浴热回流法或超声波法提取总黄酮。用石油醚萃取脱脂去杂,用于总黄酮含量的测定。

1.2 分光光度法测定总黄酮含量

按照刘飞和谢镇远(2005)的方法制作芦丁标准溶液的工作曲线,得到吸光值 A与芦丁标准溶液浓度(T, mg/mL)之间的回归方程: $T = -0.0321 + 0.8501A$, $R^2 = 0.9998$, 相对标准偏差 $RSD = 0.16\%$ 。以 5 mL提取液代替芦丁标准溶液进行测定,根据回归方程计算提取液的 T值。样品中总黄酮含量(mg/g DM) = $10 \times T \times V_1 / (M \times 5)$ 。T为测定样品液中总黄酮浓度(mg/mL);M为样品干质量(g); V_1 为样品最后定容体积(mL);5为测定时加入提取液量(mL);10为测定时提取液定容体积(mL)。

1.3 RP-HPLC法测定总黄酮含量

色谱条件: Nova-pak C_{18} 柱(4.6 mm \times 15 cm);流动相甲醇:水:乙酸 = 6:93.4:0.6;流速 0.5 mL/min;柱温 25℃;检测波长 280 nm;进样量 20 μ L。精确配制 100 μ g/mL的芦丁溶液,超滤后上机,进样量分别为 3、5、10、15、20、25 μ L,记录色谱图中芦丁的峰面积,制作标准曲线,得到总峰面积 A与芦丁标准溶液进样量 T(μ L)之间的回归方程: $T = -0.113 + 8E-07A$, $R^2 = 0.9998$, $RSD = 0.17\%$ 。以提取液代替芦丁原液,超滤后上机,计算检测到的所有峰面积之和,通过标准曲线得到 T值。样品中总黄酮的含量(mg/g DM) = $T \times 0.1 \text{ mg/mL} \times V_1 / (M \times V_2)$ 。T为测定样品液中相当于芦丁标准溶液的体积(μ L);0.1 mg/mL为芦丁标准溶液的浓度;M为样品称样干质量(g); V_1 为样品最后定容体积(mL); V_2 为样品进样体积(μ L)。

2 结果与分析

2.1 提取溶剂和提取方法对大白菜总黄酮提取效果的比较

在 70℃ 下,以纯水和不同浓度的甲醇、乙醇、丙酮为提取溶剂,对相同质量的干样以频率 60 Hz

的超声波提取 1 h, 由图 1 的结果可以看出, 3 种溶剂的提取率均高于纯水, 而且随着溶剂浓度的增加提取率增加, 其中乙醇的提取率呈抛物线增加, 在浓度 80% 时达到最高, 甲醇、丙酮的提取率则呈平缓上升趋势; 相同浓度相同时间下乙醇的提取率最高, 丙酮与甲醇较低, 且两者差异不大。

进一步以 80% 乙醇为提取液, 在 30、40、50、60、70 °C 下对样品分别进行水浴热回流法和超声波法 (60 Hz) 提取 1 h, 其黄酮提取率见图 2。可以看出, 在不同温度下两种方法提取率的变化趋势相同, 而超声法提取率均大于回流法, 所以提取大白菜黄酮以超声波法为宜。

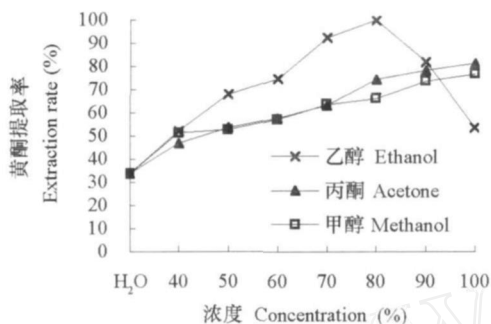


图 1 不同试剂的提取率

Fig. 1 Extraction rate of different reagent

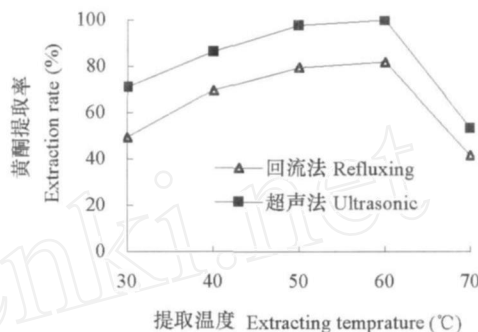


图 2 不同方法的提取率

Fig. 2 Extraction rate of different methods

2.2 超声波提取影响因素的单因素优化

2.2.1 提取温度 由图 2 可看出, 在以 80% 乙醇为提取剂, 超声频率为 60 Hz, 提取时间 1 h 的条件下, 黄酮提取率在 30~50 °C 之间几乎直线上升, 50~60 °C 时趋于平缓, 60 °C 下达到最大, 60~70 °C 直线下降。通过差异显著性分析得出, 50 和 60 两个处理差异达到显著水平, 与其他处理差异达到极显著水平, 因此在 50~60 °C 的温度下提取黄酮为宜。

2.2.2 料液比 按料液比 (g/mL) 分别为 1:10、1:15、1:20、1:25、1:30, 向三角瓶中加入 80% 乙醇, 在 60 °C、60 Hz 下提取 1 h。结果表明, 料液比从 1:10 到 1:20 时, 黄酮得率由 1.96 mg/g 上升至 2.93 mg/g; 料液比大于 1:20 后, 黄酮得率曲线趋于平缓, 分别为 2.94、2.93 mg/g。后 3 组料液比处理间差异不显著, 从节省提取溶剂考虑, 选择料液比 1:20 为宜。

2.2.3 提取时间 用 40 mL 80% 乙醇, 在 60 °C、60 Hz 超声波下, 分别提取 15 min、30 min、1 h、2 h、3 h。结果表明, 随提取时间增加, 黄酮得率呈抛物线增加, 分别为 1.35、1.74、2.01、1.98、1.93 mg/g。1 h 时提取率最高, 因此提取时间以 1 h 为宜。

2.2.4 超声频率 用 40 mL 80% 乙醇, 在 60 °C 下, 超声提取 1 h, 超声频率分别为 30、40、50、60、70 和 80 Hz。结果表明, 随着超声提取频率的增强, 黄酮得率先升高, 在 60 Hz 达到最大值, 然后下降, 测定值分别为 1.98、2.17、2.58、2.77、2.41、2.12 mg/g。因此提取频率以 60 Hz 左右为宜。

2.2.5 提取次数 用 100 mL 80% 乙醇在 60 °C、60 Hz 条件下, 分别提取 1~4 次, 每次提取 1 h。结果表明随着超声提取次数的增加, 累计总黄酮得率逐渐增加, 第 1 次总黄酮得率为 2.35 mg/g, 提取 2 次达到 2.89 mg/g, 以后增加幅度很小, 第 3 次增加 0.07 mg/g, 第 4 次增加 0.01 mg/g。统计分析表明提取 2、3、4 次无显著差异, 但与提取 1 次差异达到极显著水平, 因此以提取 2 次以上为宜。

2.3 超声波提取影响因素的正交优化

从以上单因素试验可以看出, 提取率受到超声时间、浸提次数、提取温度、超声频率这 4 个因素的影响较大, 为了全面考察这 4 个因素的作用大小和优化组合, 设计了 4 因素 3 水平的正交试验。

由表 1 的正交试验极差 R 值可以看出, 各因素变化对总黄酮提取率的影响程度依次为 $A > B = C > D$, 即超声处理时间 A 的变化对总黄酮得率影响最大, 其中 k_1 值最大, 表明水平 1 效果较好; 影响

最小的因子是超声频率 D, 其 k_2 值最大, 表明水平 2 效果较好; 提取次数 B 和提取温度 C 的 R 值相同, 表明它们对提取率影响程度相当, B 的 k_3 值最大, 而 C 的 k_2 值最大, 分别表示其水平 3 和水平 2 提取效果较好, 这与单因素分析结果基本相符。从各因素级差分析结果看最优组合为 $A_1B_3C_2D_1$, 从实际测定值差异显著性分析可知, 最优组合为 $A_1B_2C_2D_2$, 说明因素之间有互作发生。本试验采取提取时间较短的组合 $A_1B_2C_2D_2$, 即最佳提取工艺为组合 2, 每次提取 1 h, 共提取两次, 提取温度为 60 , 提取超声波频率为 60 Hz。

表 1 正交试验级差及差异显著性分析
Table 1 The rank and significant difference analysis on orthogonal experimental

编号 Number	A 时间 Time (h)	B 次数 Times	C 温度 Temperature ()	D 频率 Frequency (Hz)	黄酮含量 Content of flavonoids (mg/g)	排序 Sorting
1	1 (1)	1 (1)	1 (50)	1 (50)	5. 67 b AB	2
2	1 (1)	2 (2)	2 (60)	2 (60)	6. 12 a A	1
3	1 (1)	3 (3)	3 (70)	3 (70)	5. 26 bc BC	3
4	2 (2)	1 (1)	2 (60)	3 (70)	3. 33 e EF	8
5	2 (2)	2 (2)	3 (70)	1 (50)	3. 50 e EF	7
6	2 (2)	3 (3)	1 (50)	2 (60)	4. 42 d D	5
7	3 (3)	1 (1)	3 (70)	2 (60)	2. 91 f F	9
8	3 (3)	2 (2)	1 (50)	3 (70)	3. 53 e E	6
9	3 (3)	3 (3)	2 (60)	1 (50)	5. 02 c C	4
k_1	5. 68	3. 97	4. 54	4. 73		
k_2	3. 75	4. 38	4. 82	4. 48		
k_3	3. 82	4. 90	3. 89	4. 04		
R	1. 94	0. 93	0. 93	0. 69		

2.4 分光光度法与 RP-HPLC 法测定总黄酮的效果比较

2.4.1 分光光度法 称取相同质量且已测知总黄酮含量的大白菜样品 6 份于三角瓶中, 分别加入 50 和 100 $\mu\text{g/mL}$ 的芦丁标样 1 mL, 按上述最佳提取方法提取并进行测定 (刘飞和谢镇远, 2005), 记录吸光值, 计算回收率 (实测值 / 理论值), 结果见表 2。平均回收率为 1.06%, RSD 值 1.02%。

取同一提取样品在 1 h 内每隔 3 min 测定 1 次, 共测定 17 次, 计算该方法稳定性, 结果求得相对标准偏差 RSD (Relative Standard Deviation) 为 1.92%; 同一样品测定 5 次, 得到吸光值分别为 0.53、0.050、0.051、0.052、0.051, 计算该方法重复性, 结果求得相对标准偏差 RSD 为 2.22%。

表 2 分光光度法和 RP-HPLC 法测定的回收率试验
Table 2 Recovery of determination by UV spectrophotometry and RP-HPLC

方法 Method	芦丁浓度 Concentration of lutin ($\mu\text{g/mL}$)	吸光值或峰面积 Absorbance or peak area			回收率 Recovery (%)	平均回收率 Average recovery (%)
		原样品值 Sample value	理论值 Theoretical value	实测值 Measured value		
分光光度法 * UV spectrophotometry	50	0.233	0.86	0.911	1.06	1.06
	50	0.233	0.86	0.917	1.07	
	50	0.233	0.86	0.903	1.05	
	100	0.233	1.447	1.483	1.02	
	100	0.233	1.447	1.472	1.02	
	100	0.233	1.447	1.467	1.01	
RP-HPLC **	100	1626137	5654643	5789252	1.01	1.02
	100	1626137	5654643	5658721	1.01	
	100	1626137	5654643	5858347	1.03	
	100	1626137	5654643	5745216	1.02	
	100	1626137	5654643	5672824	1.02	

*: 吸光值; **: 峰面积。*: Absorbance; **: Peak area

2.4.2 RP-HPLC法 选用甲醇和水为流动相, 以冰乙酸调 pH 值, 通过对流动相比例的细选, 最后选定甲醇 水 乙酸 = 6 93.4 0.6。在这个比例下, 在球叶样品中检测到分离度达到 1.5 以上, 理论塔板数达到 5 000 以上的色谱峰 7 个 (图 3), 这 7 个峰分别代表 7 种未知黄酮物质, 具体物质正在鉴定中。

取 0.1 g 已测知总黄酮含量的球叶干样, 加入 1 mL 100 μ g/mL 的芦丁标准品, 按上述最佳方法提取并测定, 记录色谱峰面积, 计算回收率 (表 2)。平均回收率为 1.02%, RSD 值 1.29%。

将同一样品提取液在相同的色谱条件下连续测定 5 次, 计算该测定方法的精密度, 其结果的相对标准偏差 RSD 为 1.27%。

将同一样品提取液在相同色谱条件下分别在 0、1、2、3、4、5、6 h 各测定 1 次, 计算该测定方法的稳定性, 其结果的相对标准偏差 RSD 为 1.69%。

2.4.3 分光光度法和 RP-HPLC 法测定橙色大白菜总黄酮含量的比较 选取 6 个不同品系的橙色大白菜样品, 采用最佳提取方法, 分别用两种方法测定, 结果趋势一致, 但分光光度法测定的结果总是高于 RP-HPLC 法 (图 4)。

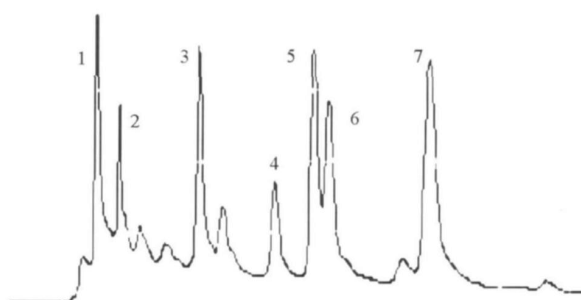


图 3 RP-HPLC 法检测到的大白菜样品色谱图

1~7 个峰代表 7 种未知黄酮物质。

Fig 3 Chromatogram of cabbages in RP-HPLC

1 - 7 peaks stand for 7 unknown flavonoids

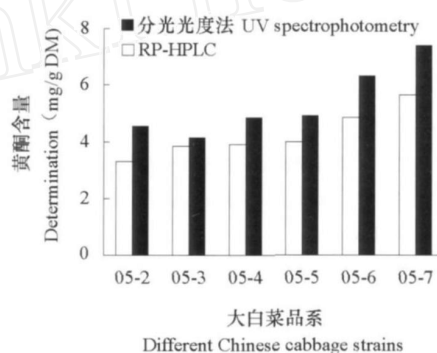


图 4 两种方法测定的黄酮含量

Fig 4 The total flavonoids determined by two methods

3 讨论

3.1 关于乙醇提取浓度的选择

目前对黄酮提取溶剂的研究结果不尽相同, 其中乙醇溶液浓度差异很大, 刘火安等 (2006) 以 30% 乙醇提取葛根黄酮; 丁利君等 (2002) 以 40% 乙醇提取槐花黄酮; 蒋益虹 (2004) 以 50% 乙醇提取荷叶中的黄酮; 李春华 (2003) 以 60% 乙醇提取金银木叶黄酮; 陆国权等 (2005) 以 70% 乙醇提取甘薯黄酮; 杨喜花等 (2006) 以 75% 乙醇提取沙棘叶黄酮; 刘海鹏等 (2005) 以 95% 乙醇提取银杏叶黄酮。而本试验结果为大白菜的最佳提取浓度为 80%。在提取温度、时间、料液比等方面以上报道也有所不同, 这些差异可能是由于试验材料结构或黄酮成分不同造成的。

3.2 关于黄酮提取液的合并定容

在黄酮提取合并滤液后, 若以乙醇溶液定容, 在除杂萃取时乙醇溶液与石油醚不分层, 需加一定量的蒸馏水才能分层。这可能是因为石油醚与乙醇溶液有一定的互溶度, 加入适量水后, 两者互溶度降低。但加入蒸馏水会导致含量计算时的误差较大。本试验中以水代替乙醇溶液进行定容操作, 不分层现象消失, 避免了上述现象所带来的含量计算时的误差问题。

3.3 关于黄酮提取液的除杂问题

在黄酮提取后, 需要去除杂质。一般选用的除杂试剂有: 乙醚、乙酸乙酯、石油醚、三氯甲烷。本试验用以上几种试剂对提取后的黄酮溶液进行萃取, 然后上机进行 RP-HPLC 测定, 发现只有石油醚除杂效果明显。石油醚是酯溶性物质的良好溶剂, 所以用石油醚可以萃取油脂、色素等低极性物

质,起到除杂的作用(丁利君等,2002),可以减小黄酮测定的误差。

3.4 两种测定方法的优缺点

用两种方法测定橙色大白菜总黄酮的含量(图4),结果变化趋势基本一致,用两种方法测定黄酮物质都是可行性的。至于分光法测定的数据高于RP-HPLC法,其原因可能是分光法测定可能存在杂质干扰,且以单组分芦丁为对照品,致使测得的样品中总黄酮含量偏高。另外,分光法只能测得黄酮的总量,而RP-HPLC法可以检测出黄酮的组分及其含量,即橙色大白菜在整个结球期始终含7种主要黄酮类物质(图3),这为进一步探讨大白菜黄酮的代谢和积累提供了依据。

References

- Ding Li-jun, Wu Zhen-hui, Cai Chuang-hai. 2002. Extraction of flavonoid from pagodatree flower. Transactions of the CSAE, 18 (1): 142 - 146. (in Chinese)
- 丁利君, 吴振辉, 蔡创海. 2002. 槐花中黄酮类物质提取工艺的研究. 农业工程学报, 18 (1): 142 - 146.
- Du Jin, Guo Lei, Tao Hui-ying. 2005. Assaying of flavonoid content in extract of *Ginkgo biloba* leaves. Heilongjiang Medical Journal, 15 (6): 426 - 427. (in Chinese)
- 杜进, 郭磊, 陶慧颖. 2005. HPLC法测定银杏叶提取物中总黄酮含量. 黑龙江医药, 15 (6): 426 - 427.
- Jiang Yi-hong. 2004. Optimum extracting technology of flavonoids in lotus leaves with ethanol. Transactions of the Chinese Society of Agricultural Engineering, 20 (4): 168 - 171. (in Chinese)
- 蒋益虹. 2004. 荷叶黄酮的乙醇提取工艺优化研究. 农业工程学报, 20 (4): 168 - 171.
- Li Chun-hua. 2003. The extraction of flavonoids in the leaves of *Lonicera maackii* Maxim. Journal of Agricultural University of Hebei, 26 (3): 65 - 68. (in Chinese)
- 李春华. 2003. 金银木叶中黄酮类化合物的提取. 河北农业大学学报, 26 (3): 65 - 68.
- Liu Fei, Xie Zhen-yuan. 2005. Absorptiophotometric determination of total flavones in flowers and leavers of buckwheat. PTCA (PART B: CHEM. ANAL.), 41 (2): 93 - 95. (in Chinese)
- 刘飞, 谢镇远. 2005. 吸光度法测定荞麦花叶中总黄酮. 理化检验——化学分册, 41 (2): 93 - 95.
- Liu Hai-peng, Liu Yan-cheng, Ma Dong-sheng, Liu Xian-fang. 2005. Study on extraction of total anthoxanthin from *Ginkgo biloba* leaf by ultrasonic and reflux. Chemical Engineer, 119 (18): 49 - 50. (in Chinese)
- 刘海鹏, 刘延成, 马东升, 刘显芳. 2005. 超声波/回流法银杏叶总黄酮提取的研究. 化学工程师, 119 (18): 49 - 50.
- Liu Huo-an, Wang Bo-chu, Jia Yun, Dai Chuan-yun, Wang Bin-hao. 2006. Study on the process for extraction of total flavonoids from radix of *Pueraria*. Letters in Biotechnology, 17 (1): 043 - 045. (in Chinese)
- 刘火安, 王伯初, 贾云, 戴传云, 王宾豪. 2006. 葛根总黄酮提取工艺的研究. 生物技术通讯, 17 (1): 043 - 045.
- Lu Guo-quan, Ren Yun, Tang Zhong-hou, Wu Xiao-qin. 2005. Flavonoid extraction and flavonoid content genotypic variation in sweet potato storage roots. Journal of Zhejiang University (Agriculture & Life Sciences), 31 (5): 541 - 544. (in Chinese)
- 陆国权, 任韵, 唐忠厚, 吴晓琴. 2005. 甘薯黄酮类物质的提取及其基因型差异研究. 浙江大学学报(农业与生命科学版), 31 (5): 541 - 544.
- Xu Xiao-li, Cao Yan-ping. 2006. Study on the applications of ultrasound in food industry. Food Science and Technology, 7: 12 - 16. (in Chinese)
- 徐小丽, 曹雁平. 2006. 超声技术在食品工业中的研究进展. 食品科技, 7: 12 - 16.
- Yang Xi-hua, Chen Min, Zhu Lei, Li He, Yin Li-jun. 2006. Study of total flavonoid extraction in *Hippophae rhamnoides* leaves by ultrasonic. Transactions of the Chinese Society for Agricultural Machinery, 37 (3): 166 - 168. (in Chinese)
- 杨喜花, 陈敏, 朱蕾, 李赫, 殷丽君. 2006. 超声循环提取沙棘叶中总黄酮的研究. 农业机械学报, 37 (3): 166 - 168.
- Zhang Lu-gang, Hui Mai-xia, Zhang Ming-ke. 2005. Breeding of a new hybrid F_1 of orange-heading Chinese cabbage — 'Jinguan 2'. Vegetables, 7: 6 - 7. (in Chinese)
- 张鲁刚, 惠麦侠, 张明科. 2005. 彩色大白菜新品种'金冠2号'. 蔬菜, 7: 6 - 7.
- Zhao Wen-hua, Zhang Ying-xia. 2005. Determination of the flavonoid aglycones of the key fruit wing from *Acer truncatum* Bunge with reversed-phase high-performance liquid chromatographic methods. Journal of Capital University of Medical Sciences, 26 (4): 438 - 440. (in Chinese)
- 赵文华, 张英侠. 2005. RP-HPLC法对元宝枫果翅中3种黄酮苷元的研究. 首都医科大学学报, 26 (4): 438 - 440.