

青扦针叶总黄酮超声提取及抗氧化活性

王 飞,樊金拴*,冯慧英,刘 滨,高智辉

(西北农林科技大学 林学院,陕西 杨陵 712100)

摘 要:对青扦针叶总黄酮超声提取工艺和抗氧化性进行了研究,在单因素试验基础上,采用响应面法优化青扦针叶总黄酮的提取工艺,并通过对 DPPH·、ABTS· 的清除试验以及与 Vc、槲皮素和芦丁的总还原力进行比较,来研究青扦总黄酮的抗氧化活性。结果表明,在料液比为 1:20 的条件下,得到黄酮的最佳提取工艺为:乙醇体积分数 50.63%、超声功率 319.63 W、超声时间 49.46 min、超声温度为 64.88℃,此时青扦黄酮的提取率可达 4.118 69%。青扦针叶总黄酮对 DPPH· 清除率可达 90.21%,清除 ABTS· 的 Trolox 当量为 29 633.3 μmol·g⁻¹,其还原能力优于芦丁,但不及 Vc 和槲皮素。表明青扦针叶总黄酮具有较强的抗氧化能力,可为青扦针叶黄酮资源的开发利用提供依据。

关键词:青扦针叶;总黄酮;超声提取;响应面法

中图分类号:S789.4 **文献标志码:**A **文章编号:**1001-7461(2016)01-0243-07

Ultrasound Assisted Extraction and Antioxidant Activities of Total Flavonoids in the Needles of *Picea wilsonii*

WANG Fei,FAN Jin-shuan*,FENG Hui-ying,LIU Bin,GAO Zhi-hui

(College of Forestry,Northwest A&F University,Yangling,Shaanxi 712100,China)

Abstract: The optimal ultrasound assisted extraction conditions of total flavonoids from *Picea wilsonii* needles were investigated,in which based on the single-factor tests,the optimal values were determined by response surface analysis. Antioxidant activity of the extract was measured. The results showed that with the ratio of material to solvent 1:20,the optimum extraction conditions were ethanol concentration: 50.63% (V/V),power of the generator of the ultrasound of:319.63 W,time of ultrasound assisted extraction 49.46 min,temperature 64.88℃,the ultrasonic power 319.63 W,and ethanol volume fraction 50.63%,by which the extraction rate of total flavonoids was 4.118 69%. The scavenging rate of the extract on DPPH· was 90.21% and the equivalent ABTS scavenging rate was 29 633.3 μmol·g⁻¹,and the reducing power was better than that of rutin,but not as good as Vc and quercetin,indicating that the antioxidant effects of the total flavonoids in the needles of *P. wilsonii* was good. The results could be provide references for the development and utilization of the needles of *P. wilsonii*.

Key words: *Picea wilsonii*; total flavonoid; ultrasonic extraction; response surface methodology

黄酮类化合物广泛存在于自然界,具有抗氧化^[1-2]、抗衰老、抗炎^[3-4]、抗病毒和抗肿瘤^[5]等多种药理活性^[6],除此之外,黄酮类化合物还具保护肝脏^[7-8]和雌性激素样作用^[9],对糖尿病和心脑血管疾

病也有很好的疗效^[10-12],在食品、药品中应用非常广。青扦(*Picea wilsonii*)为松科(Pinaceae)云杉属(*Picea*)的常绿植物,是我国的特有树种,是分布较为广泛的针叶树种之一^[13],已有研究表明,青扦富

含黄酮并具有较高的抗氧化性^[14]。超声波辅助提取技术,因具有提取时间短、提取效率高、节约成本等优点^[15],已经广泛应用于很多植物黄酮的提取。但目前鲜有对青扦针叶中黄酮类物质超声提取的有关报道。本试验以青扦针叶为材料,利用响应面分析技术,优化青扦针叶总黄酮的超声提取工艺,并测定了青扦的抗氧化能力,为青扦针叶黄酮的进一步开发,以及青扦针叶资源的综合利用提供参考依据。

1 材料与方法

1.1 材料及预处理

供试青扦材料采自陕西省杨陵区西北农林科技大学校园;采样树高 3 m 左右,胸径约 20 cm,平均冠幅约 2.5 m。采后经阴干、粉碎、过筛后冷藏备用。

1.2 方法

1.2.1 青扦针叶黄酮的提取及含量测定 精确称取 0.500 0 g 青扦针叶粉末,置于具塞锥形瓶中,加入乙醇溶液,一定条件下经超声提取,完成后进行抽滤,最后将滤液转于 50 mL 容量瓶中定容,待测。用芦丁标准品,通过亚硝酸钠-硝酸铝法^[16-18]制备标准曲线,得到回归方程为: $y=15.333x-0.0080$, $R^2=0.9993$, (x 为芦丁质量浓度, $\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$; y 为吸光度),在 $0\sim0.0420\text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ 范围内线性关系良好。同法测定黄酮样液吸光度,并计算黄酮含量及提取率。

1.2.2 青扦针叶黄酮超声提取的单因素试验及其工艺优化 根据试验设计(表 1),得出每一组试验的黄酮提取率,分析各因素对青扦针叶黄酮提取率的影响。依据单因素试验的结果,可确定 $1:20\text{ g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 为最佳料液比,选择乙醇体积分数、超声功率、超声时间、超声温度 4 个影响因素,根据 Box-Behnken 原理设计试验的因素与水平(表 2),优化青扦针叶黄酮的超声提取工艺。

1.2.3 青扦针叶总黄酮抗氧化能力测定

1.2.3.1 DPPH·清除能力的测定 以 Trolox 标准液作阳性对照,参照 Yen、Chen、董海丽^[19-20]的方法,测定青扦针叶总黄酮的 DPPH·清除能力。

1.2.3.2 ABTS·清除能力的测定 参照 Rice-Evans^[21]的方法,制备 Trolox 的标准曲线,标准曲线回归方程为: $y=0.0009x+0.0533$, $R^2=0.9991$, (x 为 Trolox 质量浓度, $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$; y 为吸光度)。根据 Trolox 的标准曲线,计算 1 g 青扦黄酮的 Trolox 当量。

1.2.3.3 还原力的测定 采用普鲁士蓝法,参照

Berker K I^[22]的方法,以 Vc、芦丁、槲皮素作为对照物,配梯度浓度,测定其在 700 nm 处的吸光值;同法测得黄酮样液的吸光度,确定其还原力。

表 1 超声提取单因素试验设计

Table 1 Single factor design of ultrasonic extraction		
因素	水平	其他因素
料液比/(mL · g ⁻¹)	1:10、1:20、1:30、1:40、1:50	50%、300 W、30 mim、45℃
乙醇体积分数/%	20、30、40、50、60、70、80、90	1:20、300 W、30 mim、45℃
超声功率/W	200、300、400、500	1:20、50%、30 mim、45℃
超声时间/min	20、30、40、50、60、70	1:20、50%、300 W、45℃
超声温度/℃	35、45、55、65、75	1:20、50%、300 W、30 mim

表 2 响应面试验因素与水平设计

Table 2 Response surface factors and levels design				
水平	因素			
	A 乙醇体积分数/%	B 超声功率/W	C 超声时间/min	D 超声温度/℃
-1	40	200	40	55
0	50	300	50	65
1	60	400	60	75

2 结果与分析

2.1 单因素试验

影响青扦针叶总黄酮超声提取的主要因素有料液比(图 1a)、乙醇体积分数(图 1b)、超声功率(图 1c)、超声时间(图 1d)和超声温度(图 1e)。

由图 1 可知,加大料液比,黄酮提取率提高,当料液比增至 1:20 时,提取率基本趋于稳定,继续加大料液比,黄酮的提取率不再有大的变化。所以下一步试验均选取 1:20 的料液比。乙醇体积分数在 20%~50% 的范围内,黄酮提取率会随着提高,并在乙醇体积分数 50% 时达到最高;乙醇体积分数超过 50%,提取率下降较明显,故选 50% 为最佳乙醇体积分数。随着超声功率的增大,黄酮提取率呈现先上升后下降的趋势,在超声功率达 300 W 时最大。黄酮提取率在超声时间 20~50 min 范围内,随超声提取时间的延长而逐渐提高,在提取 50 min 后的提取率最大;超过 50 min,随着超声时间的延长,黄酮提取率迅速下降,故最佳超声时间选择 50 min。随着温度的升高,黄酮提取率也迅速提高,当温度升到 45℃ 时,黄酮提取率增加缓慢,在 65℃ 提取率达到最大;继续升高温度,提取率下降,所以超声温度选择 65℃。

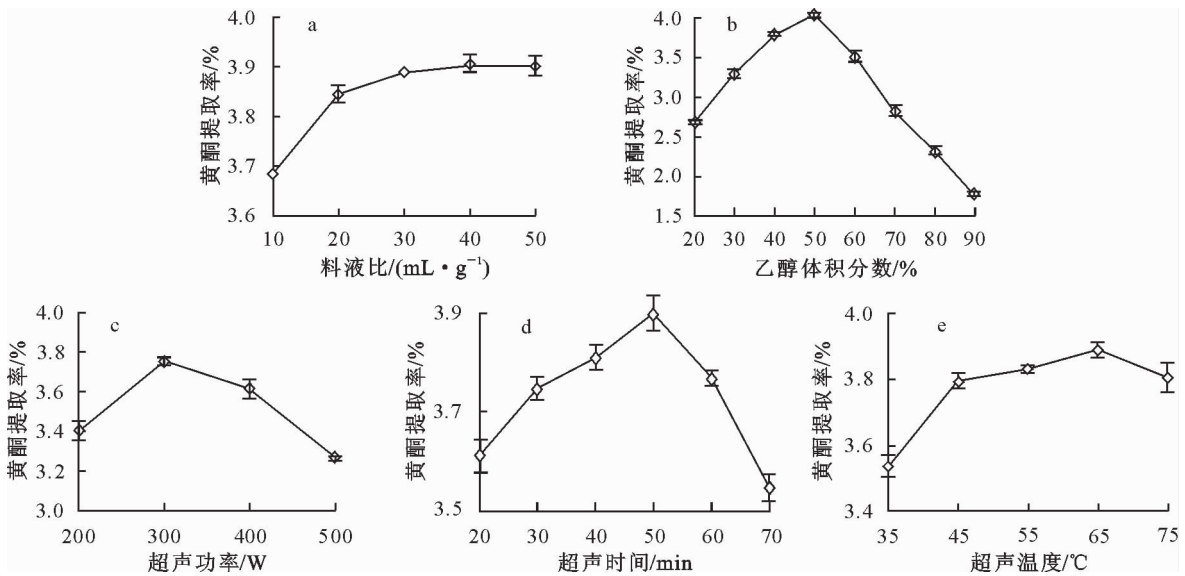


图 1 各因素对青扞针叶总黄酮提取率的影响

Fig. 1 Effect of various factors on the extraction rate of total flavonoids from the needles of *P. wilsonii*

2.2 响应面法优化青扞针叶总黄酮提取工艺条件

2.2.1 模拟方程建立 利用响应面考察乙醇体积分数、超声功率、超声时间、超声温度 4 因素对青扞针叶总黄酮提取率的影响(表 3)。采用 Design-Expert 软件经回归拟合后,得到模型方程:

$$Y = 4.11 + 0.014A + 0.060B - 0.029C - 0.002583D + 0.094AB - 0.0095AC + 0.11AD + 0.052BC - 0.063BD - 0.044CD - 0.25A^2 - 0.16B^2 - 0.17C^2 - 0.24D^2$$

表 4 为该模型的显著性差异检验及方差分析的结果。表中所示,模型 $p < 0.0001$,表明此模型为极显著,其分析结果是可信的;模型的失拟项 $p > 0.05$,表明模型误差小。模型的 R^2 为 0.9922,说明影响因素与黄酮提取率之间关系显著。预测 R^2 为 0.9844,与校正 R^2 (0.9686)很接近,说明模型的拟合度好,可以利用此回归方程分析和预测青扞针叶黄酮的超声提取工艺。

由方差分析的结果可知,超声功率($p < 0.01$)和超声时间($p < 0.01$)是影响黄酮提取率的 2 个极显著因素。各因素 F 值可反映出对提取率的重要性, F 值越大,则影响越大^[23]。可判断 4 个因素对黄酮提取率的影响顺序为:超声功率>超声时间>乙醇体积分数>超声温度。模型方程中的不显著项,经删除简化后,得到的新模型结果可信,其 $p < 0.0001$, R^2 (0.9918)的降幅很小。简化后的方程为:

$$Y = 4.11 + 0.014A + 0.060B - 0.029C - 0.002583D + 0.094AB + 0.11AD + 0.052BC - 0.063BD - 0.044CD - 0.25A^2 - 0.16B^2 - 0.17C^2 - 0.24D^2$$

表 3 响应面试验设计和结果

Table 3 Response surface design and results

试验 号码	A 乙醇 体积分数 /%	B 超声 功率 /W	C 超声 时间 /min	D 超声 温度 /℃	Y 黄酮 提取率 /%
1	0	0	0	0	4.066
2	0	0	-1	1	3.778
3	1	0	-1	0	3.738
4	0	1	1	0	3.862
5	0	-1	1	0	3.652
6	1	-1	0	0	3.561
7	-1	-1	0	0	3.712
8	1	0	1	0	3.641
9	-1	1	0	0	3.669
10	0	-1	0	-1	3.589
11	0	0	-1	-1	3.699
12	0	1	0	-1	3.823
13	0	1	-1	0	3.798
14	0	0	1	-1	3.734
15	0	1	0	1	3.681
16	0	0	1	1	3.637
17	1	1	0	0	3.895
18	1	0	0	-1	3.516
19	1	0	0	1	3.742
20	-1	0	-1	0	3.698
21	0	0	0	0	4.126
22	-1	0	0	-1	3.708
23	-1	0	0	1	3.503
24	0	-1	-1	0	3.798
25	0	0	0	0	4.132
26	0	-1	0	1	3.697
27	0	0	0	0	4.128
28	-1	0	1	0	3.639
29	0	0	0	0	4.106

表 4 方差分析结果
Table 4 Variance analysis results

方差来源	平方和	自由度	均方	F 值	p 值
模型	0.93	14	0.066	127.38	< 0.000 1
A	2.241×10^{-3}	1	2.241×10^{-3}	4.30	0.057 0
B	0.043	1	0.043	82.67	< 0.000 1
C	9.861×10^{-3}	1	9.861×10^{-3}	18.92	0.000 7
D	8.008×10^{-5}	1	8.008×10^{-5}	0.15	0.700 9
AB	0.036	1	0.036	68.18	< 0.000 1
AC	3.610×10^{-4}	1	3.610×10^{-4}	0.69	0.419 2
AD	0.046	1	0.046	89.12	< 0.000 1
BC	0.011	1	0.011	21.16	0.000 4
BD	0.016	1	0.016	29.98	< 0.000 1
CD	7.744×10^{-3}	1	7.744×10^{-3}	14.86	0.001 8
A ²	0.41	1	0.41	789.20	< 0.000 1
B ²	0.17	1	0.17	328.38	< 0.000 1
C ²	0.19	1	0.19	361.00	< 0.000 1
D ²	0.38	1	0.38	724.00	< 0.000 1
残差	7.296×10^{-3}	14	5.211×10^{-4}		
失拟项	4.292×10^{-3}	10	4.292×10^{-4}	0.57	0.784 4
误差项	3.003×10^{-3}	4	7.508×10^{-4}		
总和	0.94	28			

2.2.2 响应面图分析 各因素间交互作用的曲线走势越陡,说明影响越显著;而曲线越平滑,则其影响越小^[24]。图 2 所示,超声功率(B)与各因素间的交互作用最为复杂。图中当超声功率(B)的值一定时,随着各因素的升高,黄酮提取率会达到一个高峰,继续升高各因素值,提取率会缓慢下降。超声时间(C)与各因素之间交互作用也同样复杂。图中乙醇体积分数(A)和超声时间(C)之间的等高线近圆形,说明其交互作用($p>0.05$)对黄酮提取率的影响不显著;其余各因素间交互作用的等高线呈椭圆形,说明这些因素间的交互作用($p<0.01$)对黄酮的提取具极显著影响。

2.2.3 验证试验 依据试验条件,经软件分析得到最佳工艺条件为:超声温度 64.88℃、乙醇体积分数 50.63%、超声时间 49.46 min、超声功率 319.63 W,提取率可达 4.118 69%。结合实际应用,将工艺的各条件调整为超声温度 65℃、乙醇体积分数 51%、超声时间 50 min 和超声功率 320 W,此时的提取率为 4.095 12%,与理论值接近。表明该模型优化得到的工艺条件参数准确可靠。

2.3 青扦针叶总黄酮抗氧化性

2.3.1 DPPH·清除能力 图 3 所示,DPPH·清除率都随着 Trolox 和青扦黄酮浓度的增加而增加,Trolox 和青扦黄酮对 DPPH·的清除率分别达到 95.5%和 90.21%,说明青扦针叶总黄酮具有较强的 DPPH·清除能力。

2.3.2 ABTS·清除能力 图 4 可以看出,青扦黄

酮浓度与 ABTS·清除率之间有良好的线性关系。根据 Trolox 的标准曲线,计算出黄酮的 Trolox 当量为 $29\,633.3\,\mu\text{mol}\cdot\text{g}^{-1}$ 。表明超声提取青扦黄酮具有较好的抗氧化活性。

2.3.3 总黄酮还原能力 由图 5 可以看出 Vc、芦丁、槲皮素这 3 种抗氧化剂的还原力不同,还原力由大到小为 Vc、槲皮素、芦丁。Vc、芦丁、槲皮素其线性方程分别为: $y=19.578x+0.030\,5(R^2=0.996\,7)$ 、 $y=14.961x+0.023\,8(R^2=0.995\,6)$ 、 $y=5.332\,2x-0.009\,8(R^2=0.992\,3)$;在选取范围内均具有良好的线性关系。青扦黄酮的线性方程为: $y=6.661\,3x+0.008\,(R^2=0.996\,8)$,说明其还原能力比芦丁强,但不如 Vc 和槲皮素。

3 结论与讨论

目前自然界的青扦大部分是天然林,但是其针叶很少被有效利用。本试验以青扦针叶作为材料,超声提取其黄酮类化合物,各因素对黄酮提取率的影响顺序为:超声功率>超声时间>乙醇体积分数>超声温度。优化后得到料液比为 1:20 时的最佳工艺条件为:超声温度 64.88℃、乙醇体积分数 50.63%、超声时间 49.46 min 和超声功率 319.63 W,得到青扦针叶黄酮的提取率为 4.118 69%。超声提取能够使植物细胞破裂,黄酮成分更易溶出,有效地提高了黄酮的提取效率,结果表明,超声提取法适用于青扦针叶的黄酮提取,可为青扦针叶总黄酮的开发提供参考依据。

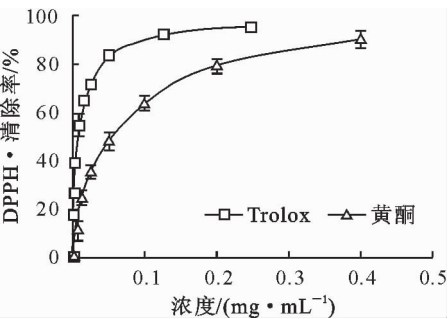


图3 黄酮清除 DPPH· 的曲线

Fig. 3 The scavenging effect on DPPH· for flavonoids

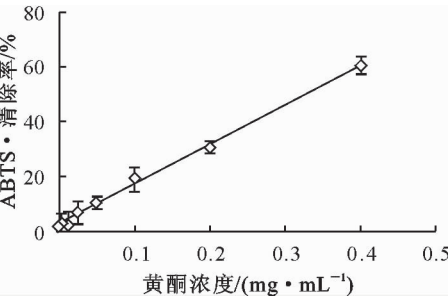


图4 青扦黄酮清除 ABTS· 的曲线

Fig. 4 The scavenging effect on ABTS· for flavonoids

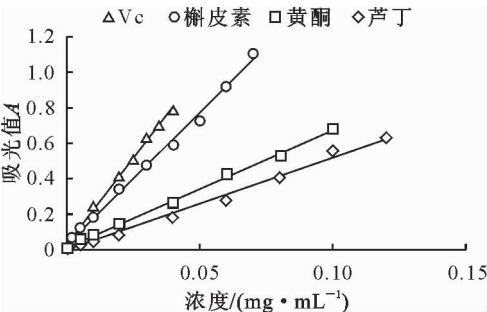


图5 不同抗氧化剂的还原力示意

Fig. 5 Reducing power graph of different antioxidants

黄酮类化合物除作为药品用于临床^[7],还可作为食品、化妆品等的天然添加剂,已有研究以黄酮为功能指标,研制和开发了松针黄酮的保健类产品^[25],具有很好的发展前景。超声提取的青扦针叶总黄酮对 DPPH· 清除率可达 90.21%,这与李小燕等^[14]研究表明的青扦具有较强的抗氧化性的结果相一致;青扦针叶总黄酮清除 ABTS· 的 Trolox 当量为 29 633.3 $\mu\text{mol} \cdot \text{g}^{-1}$,其还原力优于芦丁,但不及 Vc 和槲皮素。说明超声提取的青扦黄酮具有较好的抗氧化活性,可用作天然的抗氧化剂原料。该研究也为青扦针叶黄酮资源的进一步综合利用提供了重要依据。

参考文献:

[1] FU Y, CHEN J, LI Y J, *et al.* Antioxidant and anti-inflammatory

activities of six flavonoids separated from licorice[J]. Food Chem., 2013, 141(2): 1063-1071.

[2] KELLY E H, ANTHONY R T, DENNIS J B. Flavonoid antioxidants: chemistry, metabolism and structure-activity relationships[J]. The Journal of Nutritional Biochemistry, 2002, 13(10): 572-584.

[3] WESTON L A, MATHESIUS U. Flavonoids: their structure, biosynthesis and role in the rhizosphere, including allelopathy [J]. J. Chem. Ecol., 2013, 39(2): 283-297.

[4] FU J H, ZHENG Y Q, LI P, *et al.* Hawthorn leaves flavonoids decreases inflammation related to acute myocardial ischemia/reperfusion in anesthetized dogs[J]. Chinese J. Integr. Med., 2013, 19(8): 582-588.

[5] 王珊, 邓玲玲, 李政政, 等. 植物药物中抗肿瘤成分研究[J]. 哈尔滨商业大学学报: 自然科学版, 2012, 28(3): 260-266.

[6] 刘星雨, 周敏, 孙体健. 天然黄酮类化合物的药理活性及分离提取[J]. 中国药物与临床, 2014, 14(5): 621-623.

[7] 沈杰, 叶蕴华, 周亚伟. 藏药甘青青兰的生物活性成分研究[J]. 中国药学杂志, 2009, 44(3): 170-175.

[8] 姚新生. 天然药物化学[M]. 2 版. 北京: 人民卫生出版社, 1996: 191-195.

[9] 张鞍灵, 高锦明, 王妹清. 黄酮类化合物的分布及开发利用[J]. 西北林学院学报, 2000, 15(1): 69-74.

ZHANG A L, GAO J M, WANG Z Q. The distribution, development and utilization of the flavonoids[J]. Journal of Northwest Forestry University, 2000, 15(1): 69-74. (in Chinese)

[10] 刘馨, 李鑫, 佟宇. 银杏叶提取物对 2 型糖尿病大鼠骨骼肌 GLUT4mRNA 表达的影响[J]. 中国药学杂志, 2009, 44(10): 747-750.

[11] 宋成英, 黄俊懿, 封加福, 等. 对生物黄酮生物活性的综述[J]. 化学工程与装备, 2013, (4): 128-130.

[12] 陈良胜, 方应权. 松针黄酮类物质药理作用研究进展[J]. 中外医疗, 2012, (17): 5-6.

CHEN L S, FANG Y Q. The yellow ketone of a pine needle matter pharmacology effect studies progressing [J]. China Foreign Medical Treatment, 2012, (17): 5-6. (in Chinese)

[13] 中国科学院《中国植物志》编辑委员会. 中国植物志: 第 1 卷 [M]. 北京: 科学出版社, 2004: 106-110.

[14] 李小燕, 刘贤德, 张宏斌, 等. 几种云杉属植物叶片提取物的抗氧化性研究[J]. 甘肃农业大学学报, 2014, 49(6): 102-106.

[15] 胡爱军. 食品超声技术[M]. 北京: 化学工业出版社, 2013: 74.

[16] 张志良, 翟伟芳. 植物生理学实验指导[M]. 北京: 高等教育出版社, 2003: 173-175.

[17] 杨慧珍, 王安柱, 慕小倩. 不同品种桃叶不同生长期总黄酮含量的差异比较[J]. 西北林学院学报, 2014, 30(5): 133-136.

YANG H Z, WANG A Z, MU X Q. Comparison of the differences in flavonoid contents in the leaves of different peach cultivars in different growing periods[J]. Journal of Northwest Forestry University, 2014, 30(5): 133-136. (in Chinese)

[18] 李红娟, 樊金控, 郑涛, 等. 响应面法优化核桃青皮黄酮的超声提取工艺研究[J]. 北方园艺, 2013, (14): 132-136.

[19] YEN G C, CHEN H Y. Antioxidant activity of various tea extracts in relation to their anti-mutagenicity. [J]. Journal of Agriculture and Food Chemistry, 1995, 43(1): 27-32.

[20] 董海丽, 王谦. 枇杷叶总黄酮超高压提取及抗氧化活性[J]. 中

国农学通报,2011,27(5):489-492.

[21] RICE-EVANS C A, MILLER N J, PAGANGA G. Structure-antioxidant activity relationships of flavonoids and phenolic acids[J]. Free Radical Biology and Medicine, 1996, 20: 933-956.

[22] BERKER K I, GÜÇLÜ K, TOR İ, *et al.* Total antioxidant capacity assay using optimized ferricyanide/prussian blue method[J]. Food Analytical Methods, 2010, 3(3): 154-168.

[23] 张卫丽, 韩雅莉. 响应面法优化马尾松松针中总黄酮提取工艺[J]. 广东工业大学学报, 2013, 30(1): 115-119.

[24] 周辉. 响应面法优化超声波辅助乙醇提取余甘多酚的工艺研究[J]. 热带作物学报, 2013, 34(12): 2489-2494.

ZHOU H. Technology of optimizing ultrasonic-assisted ethanol to extract polyphenols from *Phyllanthus emblica* L. by the method of response surface analysis[J]. Chinese Journal of Tropical Crops, 2013, 34(12): 2489-2494. (in Chinese)

[25] 黄佳鑫, 邓丽映, 卢铭瑜, 等. 松针芹菜复合保健饮料加工工艺研究[J]. 食品研究与开发, 2013, 34(5): 47-50.

(上接第 225 页)

[5] 肖笃宁. 景观生态学的理论、方法和应用[M]. 北京: 中国林业出版社, 1991.

[6] FOX J. Land use and landscape dynamics in northern Thailand- Assessing change in three upland watersheds [J]. Ambio, 1995, 24(6): 328-334.

[7] TURNER II B L, SKOLE D L. Global land use/land cover change :towards an intergrated program of study[J]. Ambio, 1994, 23(1): 91-95.

[8] LAMBIN ERIC F, TURNER B L, GEIST HELMUT J. *et al.* The causes of land-use and land-cover change: moving beyond the myths[J]. Global Environment Change, 2001, 11(4): 261-269.

[9] 陈文波, 肖笃宁, 李秀珍. 景观空间分析的特征和主要内容[J]. 生态学报, 2002, 22(7): 1080-1087.

CHEN W B, XIAO D N, LI X Z. The characteristics and contents of landscape spatial analysis[J]. Acta Ecologica Sinica, 2002, 22(7): 1080 -1087. (in Chinese)

[10] 赵华甫, 朱玉环, 吴克宁, 等. 基于动态指标的城乡交错带边界界定方法研究[J]. 中国土地科学, 2012, 26(9): 60-65.

ZHAO H F, ZHU Y H, WU K N, *et al.* Study on the method for the demarcation of Urban-rural fringe based on land use dynamic indicator[J]. China Land Science, 2012, 26(9): 60-65. (in Chinese)

[11] 史利江, 王圣云, 姚晓军, 等. 1994-2006 年上海市土地利用时空变化特征及驱动力分析[J]. 长江流域资源与环境, 2012, 21(12): 1468-1479.

SHI L J, WANG S Y, YAO X J, *et al.* Spatial and temporal variation characteristics of landuse and its driving force in Shanghai City from 1994 to 2006 [J]. Resources and Environment in the Yangtze Basin, 2012, 21(12): 1468-1479. (in Chinese)

[12] 年雁云, 王晓利, 陈璐. 1930-2010 年额济纳三角洲土地利用景观格局变化[J]. 应用生态学报, 2015, 26(3): 777-785.

NIAN Y Y, WANG X L, CHEN L. Land use pattern change in Ejin Delta of northwest China during 1930-2010[J]. Chinese Journal of Applied Ecology, 2015, 26(3): 777-785. (in Chinese)

[13] FUJIHARA M, KIKUCHI T. Changes in the landscape structure of the Nagara River Basin, central Japan[J]. Landscape and Urban Planning, 2005, 7(4): 271-281.

[14] 么欣欣, 韩春兰, 刘洪彬, 等. 基于 RS 与 GIS 的沈阳市土地利用及景观格局变化[J]. 水土保持研究, 2014, 21(2): 158-167.

YAO X X, HAN C L, LIU H B, *et al.* Changes of land use and landscape pattern in Shenyang City based on RS and GIS[J]. Research of Soil and Water Consevation , 2014, 21(2): 158-167. (in Chinese)

[15] DAIYUAN PAN, GERALD DOMON. Temporal (1958-1993) and spatial patterns of land use changes in Haut-Saint-Laurent (Quebec, Canada) and their relation to landscape physical attributes[J]. Landscape Ecology, 1999, 14: 35-52.

[16] TURNER M G, R H GARDNER. Quantitative methods in landscape ecology[M]. New York: Springer-verlag, 1991.

[17] HOBBER R. Future landscapes and future of landscape ecology[J]. Landscape and Urban Planning, 1997, 37: 1-9.