

超声辅助双水相提取无花果总黄酮的工艺优化及其理化性质分析

秦晶晶, 李牧坤, 魏洪权, 侯静雯, 魏 婧

(新乡医学院三全学院 药学院 河南新乡 453200)

摘 要: 采用响应面法优化超声辅助双水相法提取无花果总黄酮的工艺, 并对其稳定性和体外抗氧化性进行研究。结果表明: 提取无花果总黄酮的最佳双水相体系为质量分数 25.2 % 聚乙二醇 1000-质量分数为 28.3 % 硫酸铵; 最佳提取工艺为超声温度 45 ℃、超声功率 70 W、料液比 1 : 32 (g/mL)、提取时间 30 min, 在此条件下无花果总黄酮得率为 0.83 % $\pm$ 0.01 %。无花果总黄酮在温度 < 70 ℃、pH 6 ~ 8、还原剂质量分数 < 0.024 % 作用下稳定性好, 其在储存和生产中应避免接触金属离子 Fe^{3+} 、 Ba^{2+} 、 Ca^{2+} , 食品添加剂(葡萄糖和蔗糖)对其稳定性基本无影响。在一定质量浓度范围内, 无花果总黄酮对 DPPH 自由基、ABTS 自由基、羟基自由基、超氧阴离子自由基的最高清除率分别达到 97.81 %、96.74 %、73.54 %、59.45 %。

关键词: 无花果果实; 总黄酮; 双水相提取; 稳定性; 抗氧化性

Optimization of ultrasonic-assisted aqueous two-phase extraction process of total flavonoids from fig and its physicochemical properties analysis

QIN Jing-jing, LI Mu-shen, WEI Hong-quan, HOU Jing-wen, WEI Jing

(College of pharmacy, Sanquan College of Xinxiang Medical University, Xinxiang 453200, Henan, China)

Abstract: The response surface methodology was used to optimize the process of ultrasound-assisted aqueous two-phase extraction of total flavonoids from figs, and its stability and *in vitro* antioxidant activity were studied. The results showed that the optimal two-phase system for extracting total flavonoids from figs was mass fraction 25.2 % polyethylene glycol 1000-mass fraction 28.3 % ammonium sulfate. The optimal extraction process was ultrasound temperature of 45 ℃, ultrasound power of 70 W, solid-liquid ratio of 1 : 32 (g/mL), and extraction time of 30 min. Under these conditions, the yield of total flavonoids from figs was 0.83 % $\pm$ 0.01 %. The total flavonoids of fig had good stability under the action of temperature < 70 ℃, pH 6 - 8, and reducing agent mass fraction < 0.024 %, metal ions Fe^{3+} , Ba^{2+} , Ca^{2+} should be avoided during its storage and production, and food additives (glucose and sucrose) had little effect on its stability. Within a certain mass concentration, the highest scavenging rates of total flavonoids from figs on DPPH radicals, ABTS radicals, hydroxyl radicals, and superoxide anion radicals were 97.81 %, 96.74 %, 73.54 % and 59.45 %, respectively.

Key words: fig fruit; total flavonoids; aqueous two-phase extraction; stability; antioxidant activity

中图分类号: TS201.1 文献标志码: A 文章编号: 1008 - 9578(2024) 07 - 0076 - 07

无花果主要化学成分有多糖、黄酮、酚类化合物等^[1], 具有清热生津、解毒消肿的作用^[2]。其中, 黄酮化合物有良好的抗氧化、抗菌、抗肿瘤和抗病毒等作用^[3]。目前对于无花果果实总黄酮的提取方法有超声微波辅助溶剂提取法^[4]、溶剂提取法^[5]、闪式提

收稿日期: 2023-07-11

基金项目: 新乡市科技攻关(GG2021021); 河南省科技攻关项目(212102110187、232102310337) 共同资助

作者简介: 秦晶晶(1988—), 女, 硕士, 副教授, 研究方向为天然产物活性成分提取。

通信作者: 魏婧(1989—), 女, 硕士, 副教授, 研究方向为天然产物活性成分研究。

取辅助溶剂提取法^[6]、超声辅助溶剂提取法^[7]等,这些传统的溶剂提取方法存在耗时长、溶剂消耗大、回收率低等局限性。而超声辅助双水相提取法则是利用活性成分在互不相溶的双水相间分配系数的差异实现提取分离,其条件温和、提取效率高,且不存在有机溶剂残留的问题^[8]。

本文运用超声辅助双水相法提取无花果果实总黄酮并运用响应面法对其提取条件进行优化,同时对其稳定性和抗氧化性进行分析,为无花果果实总黄酮在医药领域开发提供理论基础。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

干无花果,市售;芦丁对照品,沃瑞达斯实验试剂耗材有限公司;硫酸铵、聚乙二醇(PEG)系列(相对分子质量分别为200、400、600、1 000、1 500、2 000)、亚硝酸钠、硝酸铝等,分析纯。

1.2 仪器与设备

DHG-9070A 电热恒温鼓风干燥箱,郑州杜甫仪器厂;KQ5200DE 数控超声波清洗器,昆山市超声仪器有限公司;UV-2600i 型紫外可见分光光度计,株式会社岛津制造所。

1.3 试验方法

1.3.1 双水相系统的选择

按照浊点滴定法^[9]绘制双水相体系相图,分别考察由不同质量分数的硫酸铵和不同质量分数的PEG200、PEG400、PEG600、PEG1000、PEG1500、PEG2000组成的双水相体系对无花果果实总黄酮得率的影响,确定最佳双水相体系。

1.3.2 芦丁标准曲线的绘制

分别吸取芦丁对照品溶液(1 mg/mL) 0.2、0.4、0.6、0.8、1.0、1.2 mL,于10 mL容量瓶中定容后,采用 $\text{NaNO}_2\text{-Al}(\text{NO}_3)_3\text{-NaOH}$ 比色法^[10]分别测定吸光度,得到芦丁质量浓度(X , $\mu\text{g/mL}$)与吸光度(Y)的标准曲线方程为 $Y = 0.0069X - 0.0179$, $R^2 = 0.9994$ 。

1.3.3 总黄酮测定

干无花果粉碎过0.15 mm筛,密封干燥保存。称取6份无花果果实粉末1 g,按照一定料液比加入双水相体系,进行超声提取,过滤后将滤液转移至具塞量筒里,静置10 min,记录上层体积(V),分别取上层溶液1 mL,按照1.3.2测定吸光度,总黄酮得率计算见式(1)。

$$W = \frac{\rho \times N \times V}{m} \times 100\% \quad (1)$$

式中: W 为总黄酮得率,%; ρ 为提取液黄酮质量浓度, $\mu\text{g/mL}$; N 为溶液稀释倍数; V 为双水相上层溶液的体积, μL ; m 为无花果粉末质量, g 。

1.3.4 单因素试验

在提取时间40 min、料液比1:40(g/mL)、超声功率80 W和超声温度50 $^{\circ}\text{C}$ 的基础上进行单因素试验,分别考察提取时间、料液比、超声功率、超声温度对无花果果实总黄酮得率的影响。

1.3.5 响应面试验设计

在单因素试验的基础上,以超声温度(A)、超声功率(B)、料液比(C)和提取时间(D)为自变量,以无花果果实总黄酮得率(R_1)为响应值,进行响应面试验,因素水平见表1。

表1 响应面试验因素水平表

水平	因素			
	A 超声温度/ $^{\circ}\text{C}$	B 超声功率/ W	C 料液比/ (g/mL)	D 提取时间/ min
-1	45	70	1:30	30
0	50	80	1:40	40
1	55	90	1:50	50

1.3.6 无花果果实总黄酮稳定性试验

1.3.6.1 温度、pH^[11]、食品添加剂^[12](葡萄糖、蔗糖)对无花果果实总黄酮稳定性的影响

分别取无花果总黄酮提取液1 mL置于1~32号容量瓶中。1~8号容量瓶分别在室温及40、50、60、70、80、90、100 $^{\circ}\text{C}$ 条件下放置120 min;9~20号容量瓶分别加入1 mL无水乙醇并用0.1 mol/L盐酸溶液或者NaOH溶液将pH调至1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12,然后在室温下放置120 min;21~30号容量瓶分别加入葡萄糖(0.02、0.04、0.06、0.08、0.10 g/mL)0.5 mL、蔗糖(0.02、0.04、0.06、0.08、0.10 g/mL)1 mL,混匀后在室温下放置120 min,按照1.3.2方法测定吸光度,同时做空白试验。

1.3.6.2 常见金属离子、还原剂(亚硫酸钠)对无花果果实总黄酮稳定性的影响

参考文献^[13-14]的方法并稍作修改。取无花果果实总黄酮提取液0.1 mL,分别加入0.1 mL 0.1 mol/L金属离子溶液(NaCl 、 KCl 、 MgCl_2 、 AlCl_3 、 FeCl_3 、 BaCl_2 、 CaCl_2)混匀后在室温下放置120 min,按照1.3.2方法测定吸光度,同时做空白试验。分

别移取质量分数为 0.008 %、0.016 %、0.024 %、0.032 %、0.040 % 的亚硫酸钠溶液 0.5 mL, 分别置于 10 mL 容量瓶中, 再对应加入 0.5 mL 无花果果实总黄酮提取液, 混匀后在室温下放置 120 min, 按照 1.3.2 方法测定吸光度, 同时做空白试验。

1.3.7 抗氧化活性试验

将最佳提取工艺条件下得到的无花果总黄酮提取液用超纯水稀释成不同质量浓度的样品溶液, 按文献^[15]的方法测定 DPPH 自由基清除率, 按文献^[16-17]的方法测定 ABTS 自由基、羟基自由基清除率, 按文献^[18]的方法测定超氧阴离子自由基清除率。同时以相应质量浓度的抗坏血酸作为对照。

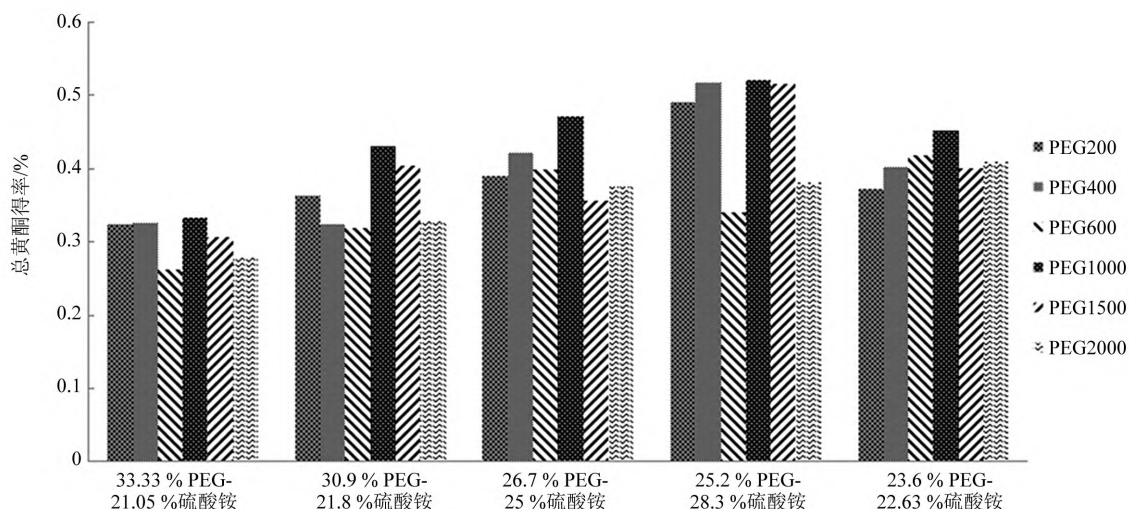


图1 双水相系统体系对黄酮得率影响

2.2 单因素试验结果

2.2.1 提取时间的影响

由图2可知: 随着提取时间的延长, 无花果果实总黄酮得率先升高后降低, 当提取时间为 40 min 时, 总黄酮得率最高, 为 0.66 %。这可能是因为, 在提取时间小于 40 min 时, 超声波辐射产生的强烈空化等多级效应, 加速提取物进入溶剂^[21], 但随着提取时

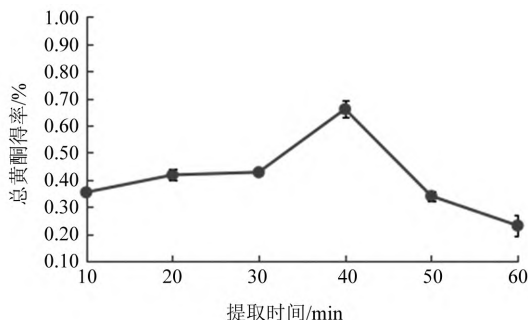


图2 提取时间的影响

2 结果与分析

2.1 双水相系统对黄酮得率的影响

由图1可知: 不同双水相系统对无花果果实总黄酮得率有不同的影响, 无花果果实总黄酮得率在 PEG1000(25.2 %)-硫酸铵(28.3 %) 组成的双水相系统最高。可能是因为相对分子质量小的 PEG 分相能力较弱, 而相对分子质量较大的 PEG 则过于黏稠不利于提取^[19]。PEG 质量分数过低时难以成相, 增大质量分数会使其体系逐渐远离临界点利于成相, 两者情况都会使总黄酮得率减少^[20]。因此选择质量分数 25.2 % PEG1000-质量分数 28.3 % 硫酸铵作为双水相系统。

间延长, 糖和蛋白质溶出量增加, 部分黄酮被氧化或分解^[22]。因此 40 min 为最佳提取时间。

2.2.2 超声温度的影响

由图3可知: 随着超声温度的逐渐升高, 无花果果实总黄酮得率先缓慢升高后略微下降, 当超声温度达到 50 °C 时, 得率最高为 0.75 %。当超声温度超过 50 °C 后, 部分黄酮类化合物可能会被高温破坏,

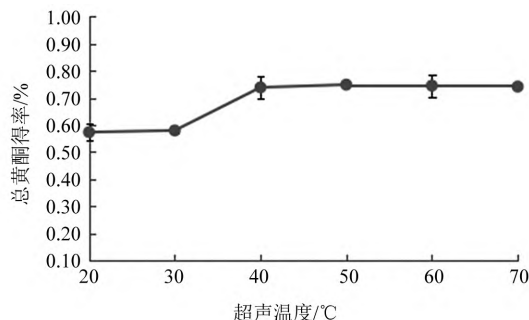


图3 超声温度的影响

导致总黄酮得率下降^[23]。因此 50 ℃ 为最佳超声温度。

2.2.3 超声功率的影响

由图 4 可知:随着超声功率逐渐升高,无花果果实总黄酮得率先逐渐上升后略微下降。当超声功率达到 80 W 时,得率最高为 0.76 %。可能是因为超声功率达到一定程度时,会使其破碎程度增大,从而使黄酮溶出量得到增加^[24],但继续增加超声功率,会导致黄酮类化合物结构遭到破坏,或者一些脂溶性杂质溶出^[25]。因此 80 W 为最佳超声功率。

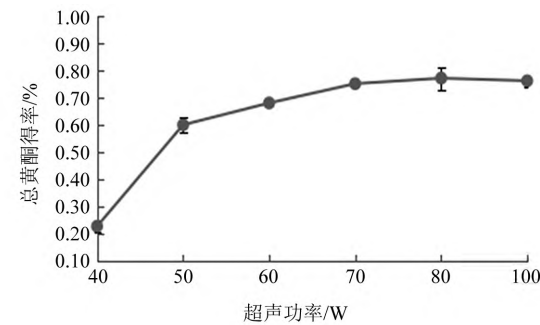


图 4 超声功率的影响

2.2.4 料液比的影响

由图 5 可知:料液比在 1:15 ~ 1:40(g/mL) 范围时,无花果果实总黄酮得率随溶剂用量增加而呈现上升趋势;之后继续增加溶剂用量,总黄酮得率上升缓慢。可能是因为溶剂用量过低,不利于总黄酮的提取,溶剂用量过高,黄酮达到饱和^[26]。因此,为减少成本,选择 1:40(g/mL) 为最佳料液比。

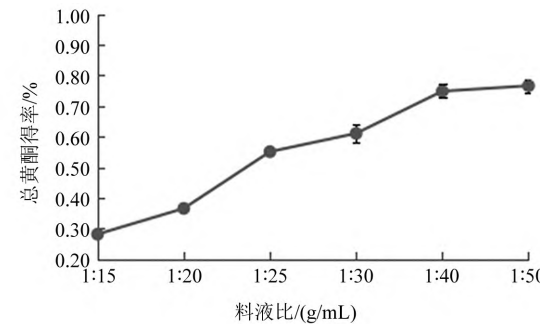


图 5 料液比的影响

2.3 响应面试验结果与分析

响应面试验结果及分析见表 2,方差分析见表 3。

通过 Design-Expert V8.0.6 软件对表 2 数据进行分析,得到回归模型方程: $R_1 = 0.68 + 0.018A - 0.037B + 0.030C - 0.006831D - 0.013AB - 0.058AC - 0.043AD + 0.053BC - 0.006434BD - 0.049CD +$

$0.046A^2 - 0.016B^2 - 0.023C^2 + 0.024D^2$ 。

表 2 响应面试验结果及分析

试验号	A	B	C	D	R_1 /%
1	1	1	0	0	0.682
2	-1	0	1	0	0.775
3	-1	-1	0	0	0.734
4	-1	1	0	0	0.675
5	1	0	0	1	0.695
6	-1	0	-1	0	0.597
7	0	1	0	-1	0.654
8	0	0	1	-1	0.782
9	0	-1	1	0	0.644
10	0	0	0	0	0.671
11	0	0	-1	1	0.702
12	0	0	0	0	0.716
13	0	1	0	1	0.660
14	0	0	1	1	0.681
15	0	0	0	0	0.693
16	0	0	0	0	0.672
17	1	0	1	0	0.699
18	0	1	1	0	0.681
19	1	0	-1	0	0.753
20	1	-1	0	0	0.795
21	-1	0	0	-1	0.719
22	0	0	0	0	0.672
23	0	-1	-1	0	0.709
24	-1	0	0	1	0.749
25	0	-1	0	1	0.740
26	0	-1	0	-1	0.708
27	0	0	-1	-1	0.607
28	0	1	-1	0	0.532
29	1	0	0	-1	0.838

表 3 回归模型的方差分析

方差来源	平方和	自由度	均方	F 值	P 值	显著性
模型	0.1	14	0.007 224	16.91	< 0.000 1	**
A	0.002 588	1	0.002 588	8.72	0.010 5	*
B	0.017	1	0.017	38.71	< 0.000 1	**
C	0.011	1	0.011	25.34	0.000 2	**
D	0.000 177 4	1	0.000 177 4	1.31	0.272 1	
AB	0.000 725 5	1	0.000 725 5	1.69	0.214 2	
AC	0.013	1	0.013	31.32	< 0.000 1	**
AD	0.008 042	1	0.008 042	17.57	0.000 9	**
BC	0.011	1	0.011	26.55	0.000 1	**
BD	0.000 165 6	1	0.000 165 6	0.39	0.544 2	
CD	0.009 627	1	0.009 627	22.47	0.000 3	**
A ²	0.014	1	0.014	32.18	< 0.000 1	**
B ²	0.001 744	1	0.001 744	3.96	0.066 6	

续表

方差来源	平方和	自由度	均方	F 值	P 值	显著性
C^2	0.003 412	1	0.003 412	7.77	0.014 5	*
D^2	0.003 877	1	0.003 877	8.68	0.010 6	*
残差	0.004 951	14	0.000 353 7			
失拟项	0.003 408	10	0.000 340 8	1.15	0.483 2	
误差	0.001 543	4	0.000 385 8			
总和	0.11	28				
R^2	0.888 3	R^2_{adj}	0.944 2	$C. V.$	2.97 %	

注: * 表示显著($P < 0.05$); ** 表示极显著($P < 0.01$)。

由表3可知:回归模型 $P < 0.000 1$,极显著;失拟项 $P = 0.483 2 > 0.05$,不显著,因此模型成立;模型的校正相关系数 $R^2_{adj} = 0.944 2$ 与相关系数 $R^2 = 0.888 3$ 比较接近,说明模型误差非常小,能够用于呈现响应值的变化。变异系数 $C. V. = 2.97 \% < 10.00 \%$,说明试验具有很好的稳定性。由 F 值可知,各因素对总黄酮得率的影响为 $B > C > A > D$,即超声功率>料液比>超声温度>提取时间。

2.4 验证实验

通过分析预测得到最优工艺条件为超声温度 $44.78\text{ }^{\circ}\text{C}$ 、超声功率 70.51 W 、料液比 $1:32.13\text{ (g/mL)}$ 、提取时间 31.72 min ,此时无花果总黄酮得率预测值为 0.84% 。考虑到实际操作,将其最佳提取条件调整为超声温度 $45\text{ }^{\circ}\text{C}$ 、超声功率 70 W 、料液比 $1:32\text{ (g/mL)}$ 、提取时间 30 min ,在此条件下无花果总黄酮得率为 $0.83\% \pm 0.01\%$,与预测值接近,证实模型有效。

2.5 无花果果实总黄酮稳定性试验

由图6可知:当温度低于 $70\text{ }^{\circ}\text{C}$ 时,其吸光度随温度升高无明显变化,无花果果实总黄酮的稳定性较好;当温度高于 $70\text{ }^{\circ}\text{C}$ 后,其吸光度随温度升高逐渐降低。可能是因为温度的升高会加快分子间的运动,总黄酮氧化分解速率加快^[27]。因此,无花果果实总黄酮在 $70\text{ }^{\circ}\text{C}$ 以下储存稳定性更好。

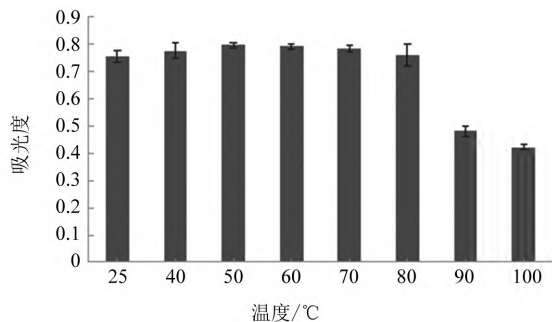


图6 温度对无花果果实总黄酮稳定性的影响

由图7可知:在亚硫酸钠质量分数小于 0.024% 时,对总黄酮提取液吸光度影响不大,当亚硫酸钠质量分数大于 0.024% 时,随着亚硫酸钠质量分数的增大,总黄酮提取液的吸光度逐渐降低。可能是因为随着亚硫酸钠质量分数不断增大,使得黄酮类化合物的结构被破坏,导致黄酮提取液吸光度下降。因此,低含量(亚硫酸钠质量分数 $< 0.024\%$)还原剂下,无花果果实总黄酮稳定性良好。

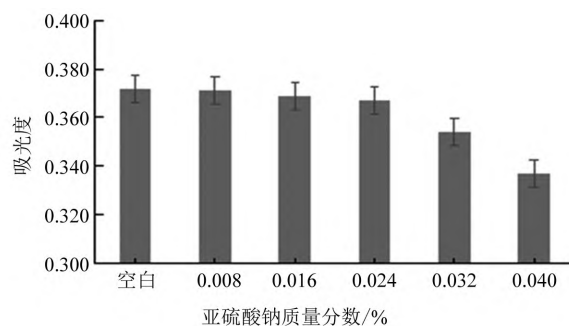


图7 亚硫酸钠质量分数对无花果果实总黄酮稳定性的影响

由图8可知: Na^+ 、 K^+ 、 Mg^{2+} 、 Al^{3+} 对吸光度影响较小, Fe^{3+} 、 Ba^{2+} 、 Ca^{2+} 对吸光度影响明显;其中 Fe^{2+} 、 Ba^{2+} 、 Ca^{2+} 可引起溶液浑浊或者出现沉淀,这主要是因为 Fe^{3+} 、 Ba^{2+} 、 Ca^{2+} 会与黄酮类化合物发生络合反应以及氧化还原反应。因此,无花果果实总黄酮应避免接触金属离子 Fe^{3+} 、 Ba^{2+} 、 Ca^{2+} 。

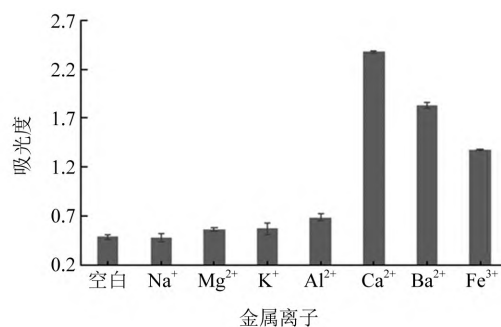


图8 金属离子对无花果果实总黄酮稳定性的影响

由图9可知:在无花果果实总黄酮提取液里面

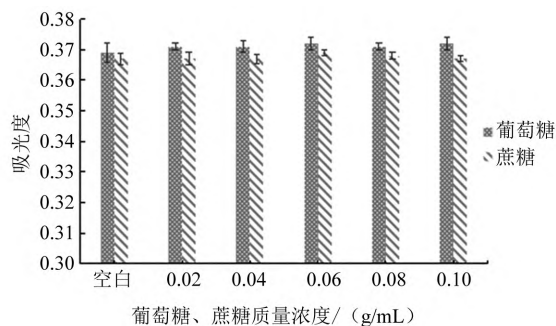


图9 葡萄糖和蔗糖对无花果果实总黄酮稳定性的影响

分别加入不同质量浓度的葡萄糖和蔗糖,无花果黄酮的吸光度基本不受影响,可能原因是糖含量增加,溶液中含氧量随之降低,继而抑制了黄酮的氧化分解^[11]。

由图 10 可知:当 pH 为 6~8 时,无花果果实总黄酮提取液吸光度趋于稳定,当 pH 为 1~5、9~12 时,其吸光度明显较小。这是因为 pH 越小,酸性越强,会导致部分黄酮结构被破坏或者其结构中其有电子对的 1-位氧原子与强酸发生反应;而 pH 越大,碱性越强,黄酮在一定碱性条件下可能会发生羟甲基醚化^[16]。因此,无花果果实总黄酮适宜在 pH 为 6~8 条件下储存和生产。

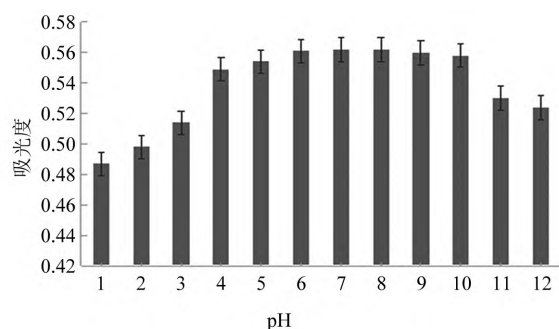


图 10 pH 对无花果果实总黄酮稳定性的影响

2.6 无花果果实总黄酮抗氧化结果分析

由图 11 可知:当无花果果实总黄酮质量浓度在 0.005~0.060 mg/mL 时,其清除 DPPH 自由基的能力随着质量浓度增高而增强,在 0.06~0.10 mg/mL 时,与抗坏血酸相比,两者的差距缩小,在 0.10 mg/mL 时,无花果果实总黄酮和抗坏血酸对 DPPH 自由基清除率达到最大值,分别为 97.81%、98.16%。由此可知,无花果果实总黄酮对 DPPH 自由基清除效果良好。

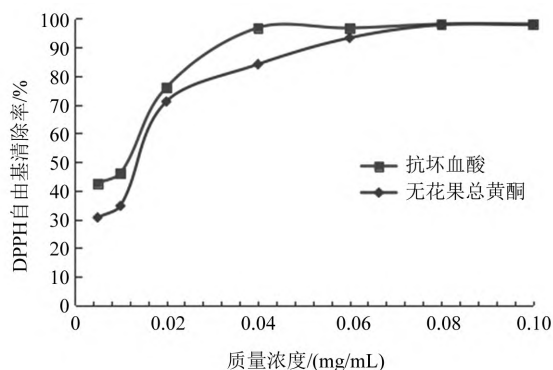


图 11 总黄酮的 DPPH 自由基清除能力

由图 12 可知:在相同质量浓度下,无花果果实总黄酮对 ABTS 自由基的清除能力低于抗坏血酸,

在 0.20~0.30 mg/mL 时,无花果果实总黄酮和抗坏血酸对 ABTS 自由基的清除能力差距缩小,当 0.30 mg/mL 时,两者最高清除率分别为 96.74%、99.72%。说明无花果果实总黄酮对 ABTS 自由基具有一定的清除能力。

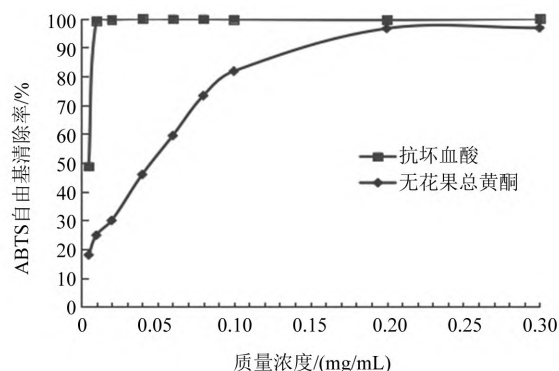


图 12 总黄酮的 ABTS 自由基清除能力

由图 13 可知:无花果果实总黄酮和抗坏血酸质量浓度与羟基自由基清除能力呈量效关系,在相同质量浓度下,总黄酮对羟基自由基的清除能力低于抗坏血酸。在 0.4~0.6 mg/mL 时,总黄酮和抗坏血酸对羟基自由基的清除能力均趋于平稳,其中最高清除率分别达到 73.54%、98.30%。

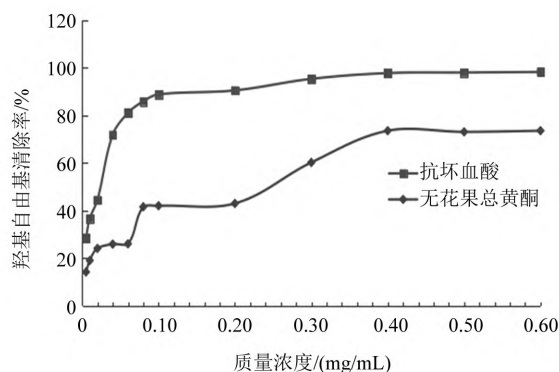


图 13 总黄酮的羟基自由基清除能力

由图 14 可知:在相同质量浓度下,无花果果实

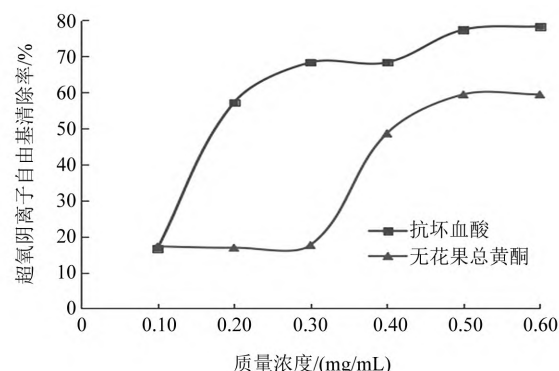


图 14 总黄酮的超氧阴离子自由基清除能力

总黄酮对超氧阴离子自由基清除能力总体上弱于抗坏血酸。在 0.60 mg/mL 时,无花果果实总黄酮和抗坏血酸对超氧阴离子自由基清除率最高,分别为 59.45 %、78.34 % ,表明无花果果实总黄酮对超氧阴离子自由基的清除能力很弱。

3 结论

本研究优化了超声辅助双水相提取法提取无花果果实总黄酮的工艺参数,最优工艺参数为 PEG1000 质量分数 25.2 %、硫酸铵质量分数 28.3 %、超声温度 45 ℃、超声功率 70 W、料液比 1:32(g/mL)、提取时间 30 min,在此条件下黄酮得率为 0.83 % ± 0.01 %。无花果果实总黄酮在温度低于 70 ℃、pH 6~8、在低含量(亚硫酸钠质量分数 <0.024 %)还原剂作用下稳定性好,其储存和生产中应避免接触金属离子 Fe^{3+} 、 Ba^{2+} 、 Ca^{2+} ;食品添加剂(葡萄糖和蔗糖)对无花果果实总黄酮稳定性基本无影响。无花果果实总黄酮对 4 种自由基清除能力强弱依次为 DPPH 自由基、ABTS 自由基、羟基自由基、超氧阴离子自由基,此研究结果可为无花果总黄酮的综合开发利用提供理论基础。

(参考文献)

- [1] 柴金珍,黄远英,袁根良,等. 无花果的药理作用研究进展[J]. 中成药,2016,38(8): 1805-1810.
- [2] 姜宏伟,李春英,赵春建,等. 无花果的化学成分、药理作用和临床应用[J]. 黑龙江科学,2019,10(6): 12-15.
- [3] 李玉凤,王刚,赵立春. 荔枝黄酮类成分研究进展[J]. 中国民族民间医药,2021,30(9): 76-84.
- [4] 杨程宇,梁熲珊,黄春怡,等. 超声-微波辅助提取无花果果实总黄酮工艺的优化[J]. 中国处方药,2022,20(2): 40-44.
- [5] 江丹,陈志元,刘晶晶. 无花果中总黄酮和粗多糖同步提取工艺研究[J]. 农产品加工,2021(1): 35-38.
- [6] 莫一凡,姚凌云,冯涛,等. 无花果总黄酮闪式提取工艺优化及其抗氧化活性[J]. 食品工业科技,2020,41(12): 186-191,220.
- [7] 张锦华,徐曼,百宝清,等. 响应面法优化提取无花果干果中多酚和总黄酮物质及其抗氧化活性[J]. 食品工业科技,2018,39(16): 183-190,212.
- [8] 姚琴,赵茂俊,张利,等. 超声辅助双水相提取大黄中蒽醌类成分[J]. 天然产物研究与开发,2018,30(8): 1346-1353.
- [9] 高利,岳璐,杨增航,等. 超声辅助双水相体系优化辛夷总黄酮提取工艺及其抗氧化活性研究[J]. 饲料研究,2023,46(4): 90-94.
- [10] 唐媛,时羽杰,龙晓明,等. 基于 PEG 和不同盐的双水相体系萃取牛血清白蛋白研究[J]. 成都大学学报(自然科学版),2019,38(1): 24-27.
- [11] 夏旭,庾卓思,吕宗浩,等. 木姜叶柯茶汤中总黄酮的加工稳定性[J]. 食品工业,2022,43(12): 134-138.
- [12] 杨洁,柳娜,胡晓晓,等. 黑枸杞总黄酮稳定性的研究[J]. 粮食与油脂,2018,31(6): 89-91.
- [13] 周婧琦,高愿军,秦令祥,等. 秋葵黄酮的超声辅助循环提取工艺及其稳定性的研究[J]. 食品研究与开发,2021,42(20): 124-129.
- [14] 张智慧,单巨川,姚继明. 青核桃皮天然染料的提取及稳定性测试[J]. 针织工业,2021(2): 56-59.
- [15] 黄东滨,李珊,秦高燕,等. 百色红茶总黄酮提取工艺优化及理化性质研究[J]. 食品科技,2021,46(11): 210-217.
- [16] 李慧,刘俊果,冯方圆,等. 桑葚中黄酮提取方法比较与优化及稳定性研究[J]. 应用化工,2021,50(10): 2770-2774.
- [17] 李媛. 蓝莓渣中总黄酮的提取纯化及抗氧化性的研究[D]. 长沙: 湖南农业大学,2020.
- [18] 杨永涛. 罗布麻总黄酮的提取、分离纯化及其抗氧化性能研究[D]. 广州: 华南理工大学,2018.
- [19] 魏来,周强,朱邻遐,等. 基于 Box-Behnken 响应面法的半夏多糖双水相提取工艺优化研究[J]. 湖南中医杂志,2022,38(7): 170-175.
- [20] 袁雷,钟政昌,刘瑜,等. 响应面法优化血满草多糖双水相萃取工艺[J]. 安徽农业科学,2020,48(13): 179-182,234.
- [21] 赵刚,刘振华,辛明杨,等. Plackett-Burman 设计及响应面优化蓝莓中总黄酮的超声提取工艺[J]. 食品工业,2017,38(10): 22-27.
- [22] 李会玲,黄红艳,张路敏,等. 苦豆子中黄酮类物质提取工艺优化及其体外生物活性研究[J]. 中国酿造,2022,41(2): 216-221.
- [23] 王有娣,钟丽娟,徐娟娟,等. 正交试验优选鸡血藤总黄酮提取工艺[J]. 中国饲料,2021(1): 39-42.
- [24] 赵刚,顾佳丽,励建荣. Plackett-Burman 设计及响应面法优化芹菜中总黄酮的超声提取工艺[J]. 中国食品学报,2017,17(8): 147-155.
- [25] 董安强,张哲,黄玉敏. 青钱柳叶片中总黄酮的提取方法研究[J]. 安徽农业科学,2020,48(5): 179-181.
- [26] 江丹,余策,陈阳,等. 黑花生中黄酮和多糖类物质的提取方法研究[J]. 农产品加工,2021(24): 46-49.
- [27] 李可心,张玉,周冉冉,等. 麻城黄金菊总黄酮提取工艺优化及稳定性分析[J]. 酿酒,2021,48(3): 44-50.