



饲料工业

Feed Industry

ISSN 1001-991X, CN 21-1169/S

《饲料工业》网络首发论文

题目：余甘子总黄酮的响应面优化提取及抗氧化活性比较
作者：苏慧慧，杨巧丹，程晓琳，吴定坤，杜佳宁，吕子岩
收稿日期：2024-05-20
网络首发日期：2024-05-28
引用格式：苏慧慧，杨巧丹，程晓琳，吴定坤，杜佳宁，吕子岩. 余甘子总黄酮的响应面优化提取及抗氧化活性比较[J/OL]. 饲料工业.
<https://link.cnki.net/urlid/21.1169.S.20240527.1342.006>



网络首发：在编辑部工作流程中，稿件从录用到出版要经历录用定稿、排版定稿、整期汇编定稿等阶段。录用定稿指内容已经确定，且通过同行评议、主编终审同意刊用的稿件。排版定稿指录用定稿按照期刊特定版式（包括网络呈现版式）排版后的稿件，可暂不确定出版年、卷、期和页码。整期汇编定稿指出版年、卷、期、页码均已确定的印刷或数字出版的整期汇编稿件。录用定稿网络首发稿件内容必须符合《出版管理条例》和《期刊出版管理规定》的有关规定；学术研究成果具有创新性、科学性和先进性，符合编辑部对刊文的录用要求，不存在学术不端行为及其他侵权行为；稿件内容应基本符合国家有关书刊编辑、出版的技术标准，正确使用和统一规范语言文字、符号、数字、外文字母、法定计量单位及地图标注等。为确保录用定稿网络首发的严肃性，录用定稿一经发布，不得修改论文题目、作者、机构名称和学术内容，只可基于编辑规范进行少量文字的修改。

出版确认：纸质期刊编辑部通过与《中国学术期刊（光盘版）》电子杂志社有限公司签约，在《中国学术期刊（网络版）》出版传播平台上创办与纸质期刊内容一致的网络版，以单篇或整期出版形式，在印刷出版之前刊发论文的录用定稿、排版定稿、整期汇编定稿。因为《中国学术期刊（网络版）》是国家新闻出版广电总局批准的网络连续型出版物（ISSN 2096-4188，CN 11-6037/Z），所以签约期刊的网络版上网络首发论文视为正式出版。

余甘子总黄酮的响应面优化提取及抗氧化活性比较

苏慧慧 杨巧丹 程晓琳 吴定坤 杜佳宁 吕子岩
(新乡医学院三全学院, 河南新乡 453003)

作者简介：苏慧慧，硕士，副教授，研究方向为天然药物活性成分研究。

收稿日期：2024-05-20

基金项目：河南省科技公关项目[232102310337]；新乡医学院三全学院骨干教师培养计划[202102310337]；河南省医学教育研究项目[Wjlx2022232]

摘要：研究旨在探讨余甘子总黄酮的最佳提取工艺及抗氧化活性，以余甘子为试验材料，利用聚乙二醇-硫酸铵双水相系统，借助超声技术，在单因素试验基础上，以总黄酮的提取量作为评价指标，采用响应面法对余甘子中总黄酮的萃取工艺进行优化。并与双水相法、乙醇提取法进行比较，同时考察了余甘子总黄酮的抗氧化活性。结果显示：当硫酸铵质量百分比为 34%，PEG1000 质量百分比为 32%，液料比为 40:1 (mL/g)，提取时间为 50 min，超声温度 60 °C 时，总黄酮提取量为 44.89 mg/g，提取工艺稳定。与双水相法和乙醇提取法相比，超声辅助双水相法提取总黄酮含量高，且其余甘子总黄酮对 DPPH、ABTS 自由基有更好的清除作用。

关键词：余甘子；黄酮；双水相体系；响应面法；抗氧化活性

Response Surface Optimization for Extraction of Total Flavonoids from *Phyllanthus Emblica* and Comparison of Antioxidant Activity

SU Huihui YANG Qiaodan CHENG Xiaolin WU Dingkun DU Jianing LÜ Ziyang

(Sanquan College of Xinxiang Medical University, Henan Xinxiang 453003, China)

Abstract: The study aims to explore the optimal extraction process and antioxidant activity of total flavonoids from *Phyllanthus Emblica* L.. *Phyllanthus Emblica* L. was used as the experimental material, and PEG-(NH₄)₂SO₄ system was used, coupled with ultrasound technology. Based on single-factor experiments, total flavonoid extraction yield was used as the evaluation index, and response surface methodology was used to optimize the extraction process of total flavonoids from *Phyllanthus Emblica* L.. The extraction process was compared with the dual-phase extraction method and ethanol extraction method, and the antioxidant activity of total flavonoids from *Phyllanthus Emblica* L. was investigated. The results showed that when the mass percentage of ammonium sulfate was 34%, the mass percentage of PEG1000 was 32%, the liquid-solid ratio was 40:1 (mL/g), and the extraction time was 50 min, the total extraction amount of flavonoids was 44.89 mg/g, and the extraction process was stable. Compared with the dual-phase extraction method and ethanol extraction method, ultrasonic assisted dual-phase extraction method has higher content of total flavonoids, and has better scavenging effect on DPPH and ABTS free radicals.

Key words: *Phyllanthus emblica*; Total flavonoids; Aqueous two-phase system; Response surface analysis; Antioxidant activity

余甘子(*Phyllanthus emblica* L.)属于大戟科(Euphorbiaceae)植物，是一种药食两用资源，吃起来有回甘之味，故称“余甘子”。其果实入药，具有生津止渴、清热凉血、消食健胃等功效。余甘子营养价值很高，目前作为一种新型水果资源受到大家关注。现代药理学研究显示，余甘子在抗氧化、降糖、

护肝、抗炎以及抗肿瘤等方面显示出较好的生物活性，其主要活性成分是黄酮类、酚酸类、鞣质类等[1-3]。

双水相体系是由两种不混溶聚合物，或一种聚合物与亲水性盐溶液组成。该体系形成的原因主要是利用了高聚物之间的不相溶，导致两水相无法相互渗透，从而使两相分离。双水相萃取技术早在1995年就进行了生物工程方面的应用，与传统的提取方法相比，具有操作简便、条件温和、分离效率高等优点，目前广泛应用于蛋白质工程、基因工程以及天然产物提取等领域^[4]。

余甘子在我国已经有1800年的栽培史，目前主要应用于食品加工、果汁饮料、医药、饲料添加剂等领域^[5]。此外，余甘子活性成分的提取目前研究的并不够深入，对于采用双水相法提取余甘子总黄酮的工艺还未见报道。本研究采用超声辅助双水相法提取余甘子总黄酮，同时与双水相法、乙醇提取法相比较，寻找最优的提取工艺，对余甘子总黄酮的抗氧化活性展开研究，以期余甘子总黄酮的进一步研究应用提供参考。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

余甘子果实，市售；芦丁标准品（纯度 $\geq 99\%$ ），中国食品药品研究所；1,1-二苯基-2-三硝基苯肼（DPPH），北京索莱宝科技有限公司；硫酸铵、PEG1000、无水乙醇、抗坏血酸（VC）、2,2-联氮-二（3-乙基-苯并噻唑-6-磺酸）二铵盐（ABTS）、过硫酸钾、氢氧化钠、亚硝酸钠、硝酸铝均为分析纯，天津市化学试剂公司。

1.2 仪器与设备

UV1900i 型紫外可见分光光度计，日本岛津；InfiniteM200 型酶标仪，瑞士 Tecan 公司；4500A 粉碎机，永康市速锋工贸有限公司；SB-5200DTDN 超声波清洗机，昆山禾创超声仪器有限公司。

1.3 试验方法

1.3.1 余甘子预处理

余甘子 60℃ 下干燥至恒重，粉碎后过 80 目筛，避光冷藏。

1.3.2 余甘子总黄酮的提取

准确称取 1.0 g 余甘子粉末，按照不同的料液比将余甘子粉末加入不同浓度的 PEG1000-硫酸铵溶液中，在一定温度的超声波清洗器中进行超声至粉末完全溶解，静置，直到溶液完全分层，取上相作为待测液。

1.3.3 黄酮含量测定

精密称取芦丁对照品 25 mg，置于 50 mL 容量瓶中，加入少量 95%乙醇溶解并定容至刻度，摇匀即得芦丁对照品溶液（0.5 mg/mL）。精密吸取芦丁对照品溶液 0、0.2、0.4、0.6、0.8、1.0、1.2 mL 分别置于 10 mL 容量瓶中，分别加水至 5.0 mL，然后分别加入 5%亚硝酸钠 0.6 mL，摇匀，放 6 min，

加入 10%硝酸铝 0.6 mL，摇匀后放置 6 min，加入 4%NaOH 3.0 mL，加水至刻度，摇匀后放置 15 min。于 510 nm 波长处测定吸收度 A，以芦丁浓度 C（mg/mL）为横坐标，吸光度 A 为纵坐标，绘制出芦丁标准曲线，其回归方程为 $y=13.343x+0.0041$ ， $R^2=0.9991$ 。总黄酮含量计算公式如下：

$$\text{总黄酮质量浓度 (mg/g)} = \frac{C \times V \times N}{m}$$

式中：C——总黄酮的质量浓度（mg/mL）；

V——总黄酮提取液的体积（mL）；

N——稀释倍数；

m——表示称取余甘子粉末质量（g）

1.3.4 单因素试验

考察料液比、硫酸铵质量分数、PEG1000 质量分数、提取时间、超声温度五个因素对余甘子总黄酮提取量的影响。在固定超声功率 270 W，样品为 1 g 的基础上进行单因素试验，研究料液比（1：20、1：25、1：30、1：35、1：40、1：45 g/mL）、硫酸铵质量分数（32%、34%、36%、38%、40%、42%）、PEG1000 质量分数（24%、26%、28%、30%、32%、34%）、提取时间（10、20、30、40、50、60 min）、超声温度（40、45、50、55、60、65℃）对余甘子总黄酮提取量的影响。

1.3.5 响应面试验设计

以单因素试验研究结果为依据，采用响应面法对提取工艺进行优化，将液料比、硫酸铵质量分数、PEG1000 质量分数、提取时间等 4 个因素作为自变量，总黄酮提取量作为响应值，按照 Box-Behnken 试验设计的原理研究余甘子总黄酮的提取工艺，响应面法的试验因素水平如表 1 所示：

表 1 响应面试验因素水平表

因素	水平		
	-1	0	1
A（硫酸铵，%）	34	36	38
B（PEG1000，%）	28	30	32
C（液料比，mL/g）	30	35	40
D（提取时间，min）	30	40	50

1.3.6 数据分析

为了使数据稳定、可靠，每组数据重复 3 次，结果取均值。

1.3.7 对比试验

双水相提取余甘子总黄酮：取余甘子粉末 1 g，采用硫酸铵质量分数为 34%，PEG1000 质量分数为 32%，液料比为 40：1 mL/g，提取时间为 50 min，超声温度 60℃。

乙醇加热回流法提取余甘子总黄酮：取余甘子粉末 1 g，乙醇浓度 70%，液料比 35：1 mL/g、提取温度为 70℃、水浴回流提取 60 min。

1.4 余甘子总黄酮抗氧化活性

1.4.1 DPPH 自由基清除能力测定

取最优条件下的供试品溶液，加超纯水分别配制成浓度为 0.02、0.10、0.18、0.26、0.32、0.34、0.36、0.38 (mg/mL) 的样品溶液；配制 0.02 mmol/L 的 DPPH 溶液；使用酶标仪测定吸光度值。具体操作如下：每孔分别加入 100 μ L 超纯水和样品，吸光度值计为 A_0 ；每孔分别加入 100 μ L DPPH 溶液和样品，吸光度值记为 A_1 ；每孔分别加入 100 μ L DPPH 溶液和超纯水，吸光度值记为 A_2 。每组设置一个复孔，在 25 $^{\circ}$ C 下孵育，避光反应 30 min 后摇匀，随即在 517 nm 处测量吸光度值。以 VC 作阳性对照，DPPH 自由基清除率的计算公式如下：

$$\text{DPPH 清除率 (\%)} = [A_2 - (A_1 - A_0)] / A_2 \times 100$$

1.4.2 ABTS 自由基清除能力的研究

配制 ABTS 溶液：准确称取 38.4 mg ABTS 和 13.4 mg 过硫酸钾，溶于 10 mL 的超纯水中，将两种溶液均匀混合后用锡纸包好，在 4 $^{\circ}$ C 下反应 16 h 后待用。取配制好的 ABTS 溶液 1 mL，用无水乙醇稀释至酶标仪 734 nm 处溶液吸光度为 (0.70 $\pm$ 0.02)，在 96 孔板上进行操作。具体操作如下：每孔加入 100 μ L 超纯水和 100 μ L 样品，吸光度值记为 A_0 ；每孔加入 100 μ L ABTS 工作液和 100 μ L 样品，吸光度值记为 A_1 ；每孔加入 100 μ L ABTS 工作液和 100 μ L 超纯水，吸光度值记为 A_2 。以 VC 作阳性对照，ABTS 自由基清除率的计算公式如下：

$$\text{ABTS 清除率 (\%)} = [A_2 - (A_1 - A_0)] / A_2 \times 100$$

2 结果与分析

2.1 单因素试验结果

2.1.1 液料比对余甘子总黄酮提取量的影响

由图 1 可以看出，在液料比 20:1~45:1 范围内，总黄酮提取量呈先升后降的趋势，在液料比 35:1 时总黄酮提取量最高 34.08 mg/g。当液料比小于 35:1 时，可能由于液料比过小，溶剂通过渗透作用进入余甘子细胞内的扩散作用小，导致黄酮类物质溶出慢，溶出量少；而当液料比过大时，造成黄酮提取量降低的原因可能有两个：其一是溶剂增加导致有其他物质溶出，从而影响黄酮的溶出，导致余甘子总黄酮提取量减少；其二是当液料比过高时，余甘子双水相体系的稳定性被破坏，从而影响总黄酮的溶出^[6]。

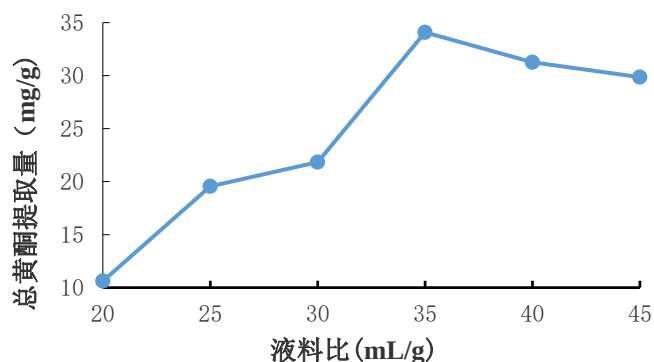


图1 液料比对总黄酮提取量的影响

2.1.2 硫酸铵质量分数对余甘子总黄酮提取量的影响

由图2可以看出,在硫酸铵质量分数32%~42%范围内,总黄酮提取量呈现出先增高再降低的趋势,在硫酸铵质量分数36%时,总黄酮提取量达到最高。原因可能是硫酸铵的用量可以改变两相中物质的组成和相比,从而影响余甘子总黄酮在上相中的分配^[7]。但当硫酸铵用量过多时,双水相体系的稳定性逐渐被破坏,硫酸铵在上相的浓度不断增加,从而阻碍了黄酮的溶出。所以,硫酸铵质量分数36%时为余甘子总黄酮提取的最优浓度。

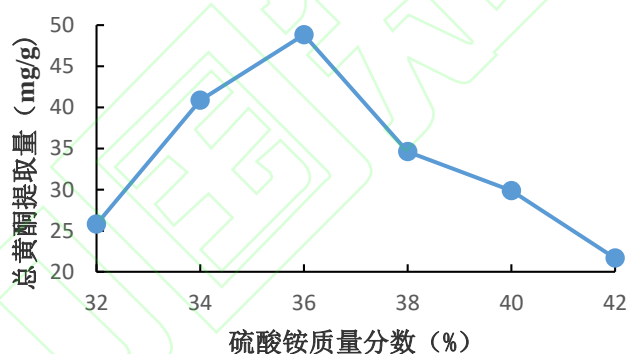


图2 硫酸铵质量分数对总黄酮提取量的影响

2.1.3 PEG1000 质量分数对余甘子总黄酮提取量的影响

由图3可以看出,总黄酮提取量随着PEG1000质量分数的增大而增加,在PEG1000质量分数30%时,总黄酮提取量达到最大30.87 mg/g,继续增大PEG1000的浓度,总黄酮提取量反而减少。推测原因是当PEG1000质量分数增大时,分相能力也就增大,上相中的PEG1000浓度就比较高,其疏水性就更大,有利于余甘子总黄酮在上相的富集。但当PEG1000的质量分数继续增加时,由于上相溶液中的空间位阻、粘性增大,不利于总黄酮的富集,所以其提取量反而减少^[8]。所以PEG1000质量分数为30%时为余甘子总黄酮提取的最优浓度。

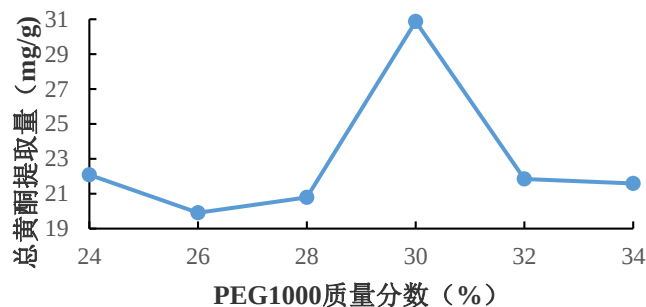


图3 PEG1000 质量分数对总黄酮提取量的影响

2.1.4 提取时间对余甘子总黄酮提取量的影响

据图4可知，随着提取时间的延长，余甘子总黄酮提取量呈现出先增加后减少的趋势。推测原因由于长时间的超声、加热导致黄酮类物质结构被破坏从而导致提取量降低。所以，提取时间40 min时为余甘子总黄酮的最优提取时间。

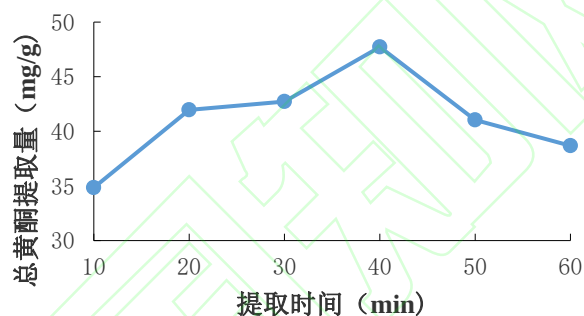


图4 提取时间对总黄酮提取量的影响

2.1.5 提取温度对余甘子总黄酮提取量的影响

由图5可知，余甘子总黄酮的提取量随温度的升高而上升，在60℃时，提取量达到最高，继续升高温度，黄酮含量趋于稳定，因此确定提取温度60℃。

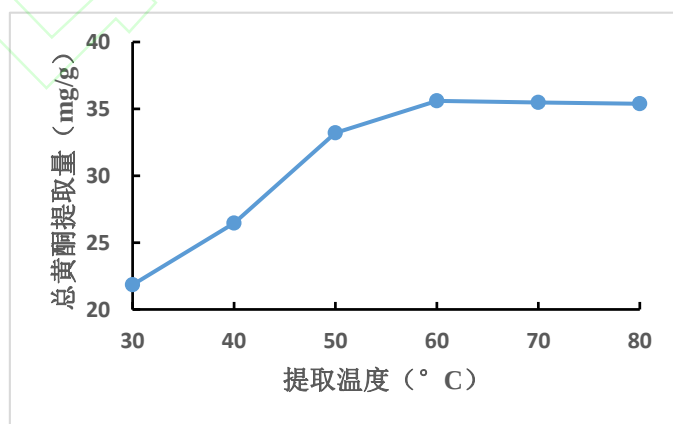


图5 提取温度对总黄酮提取量的影响

2.2 响应面法优化余甘子总黄酮的提取工艺

2.2.1 响应面优化试验设计结果

根据 Box-Behnken 法试验原理，以液料比、硫酸铵质量分数、PEG1000 质量分数、提取时间为自变量，余甘子总黄酮得率为因变量，设计了共 29 个响应面分析试验方案，具体如表 2 所示。运用统计学分析软件 Design Expert 8.0.6 对试验结果回归拟合，确立余甘子总黄酮的最优提取方案，得到了余甘子总黄酮提取量（Y）、硫酸铵质量分数（A）、PEG1000 质量分数（B）、液料比（C）、提取时间（D）的回归方程： $Y=30.06-1.97A-0.272\ 5B+2.98C+3.07D-0.840\ 0AB-0.302\ 5AC+1.55AD-0.027\ 5BC+1.49BD+1.36CD+2.02A^2+0.267\ 8B^2+3.18C^2-0.322\ 2D^2$ 。

表 2 响应面优化试验设计及结果

试验号	A（硫酸铵，%）	B（PEG1000，%）	C（液料比，mL/g）	D（提取时间，min）	总黄酮提取量（mg/g）
1	34	28	35	40	33.17
2	38	28	35	40	31.02
3	34	32	35	40	35.33
4	38	32	35	40	29.82
5	36	30	30	30	27.51
6	36	30	40	30	29.58
7	36	30	30	50	33.51
8	36	30	40	50	41.02
9	34	30	35	30	32.35
10	38	30	35	30	25.99
11	34	30	35	50	34.74
12	38	30	35	50	34.59
13	36	28	30	40	31.37
14	36	32	30	40	29.89
15	36	28	40	40	37.50
16	36	32	40	40	35.91
17	34	30	30	40	33.69
18	38	30	30	40	29.55
19	34	30	40	40	41.29
20	38	30	40	40	35.94
21	36	28	35	30	29.54
22	36	32	35	30	25.99
23	36	28	35	50	30.75
24	36	32	35	50	33.14
25	36	30	35	40	28.99
26	36	30	35	40	30.16
27	36	30	35	40	30.66
28	36	30	35	40	29.63
29	36	30	35	40	30.84

从表 3 可知，回归模型的 F 值=20.06， P 值<0.0001，说明了回归模型是极显著的，模型的决定系数 $R^2=0.952\ 5$ ，说明了拟合度较高，校正系数 $R^2_{Adj}=0.905\ 0$ ，说明了该方程能够解释 90.5%的响应值变化，从而形象地反映出该模型的准确程度和通用性。失拟值（ $P=0.155\ 9>0.05$ ）不显著，说明模型整体的绝对误差小，能够反映出各提取工艺的参数对余甘子总黄酮提取量的影响。

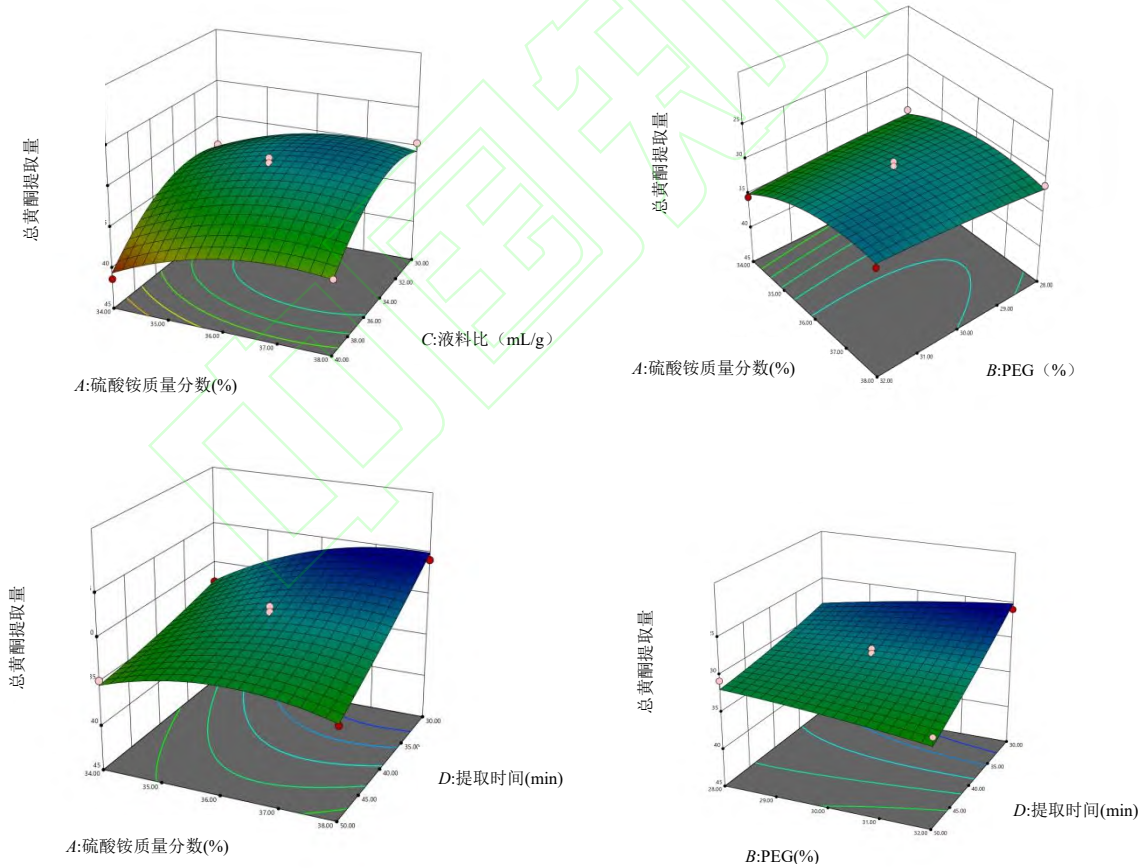
在图 6 的曲面图中，若响应曲面平滑，等高线响应曲面呈圆形，则交互作用弱；反之，响应曲面较陡峭，等高线为椭圆形，则交互作用强。由表 3 和图 6 可知，一次项硫酸铵质量分数（A）、液料比（C）、提取时间（D）以及二次项 A^2 、 C^2 影响极显著，二次项 AD 、 BD 、 CD 影响显著，其他均

不显著。各因素对总黄酮提取量的影响程度： $D>C>A>B$ ，即提取时间>液料比>硫酸铵质量分数>PEG 1 000 质量分数。

表 3 响应面试验回归模型方差分析

方差来源	平方和	自由度	均方	<i>F</i> 值	<i>P</i> 值	显著性
模型	383.35	14	27.33	20.06	<0.000 1	**
<i>A</i>	46.65	1	46.65	33.99	<0.000 1	**
<i>B</i>	0.891 1	1	0.891 1	0.649 3	0.433 8	
<i>C</i>	106.33	1	106.33	77.47	<0.000 1	**
<i>D</i>	112.79	1	112.79	82.19	<0.000 1	**
<i>AB</i>	2.82	1	2.82	2.06	0.173 5	
<i>AC</i>	0.366 0	1	0.366 0	0.266 7	0.613 6	
<i>AD</i>	9.64	1	9.64	7.02	0.019 0	*
<i>BC</i>	0.003 0	1	0.003 0	0.002 2	0.963 2	
<i>BD</i>	8.82	1	8.82	6.43	0.023 8	*
<i>CD</i>	7.40	1	7.40	5.39	0.035 8	*
<i>A</i> ²	26.57	1	26.57	19.36	0.000 6	**
<i>B</i> ²	0.465 3	1	0.465 3	0.339 0	0.569 6	
<i>C</i> ²	65.76	1	65.76	47.92	<0.000 1	**
<i>D</i> ²	0.673 2	1	0.673 2	0.490 6	0.495 2	
残差	19.21	14	1.37	—	—	
失拟项	16.91	10	1.69	2.93	0.155 9	
纯误差	2.31	4	0.577 0	—	—	
总和	404.57	28	—	—	—	

注：“**”表示时表示差异极显著（ $P<0.01$ ），“*”表示差异显著（ $P<0.05$ ），“—”表示无数据。



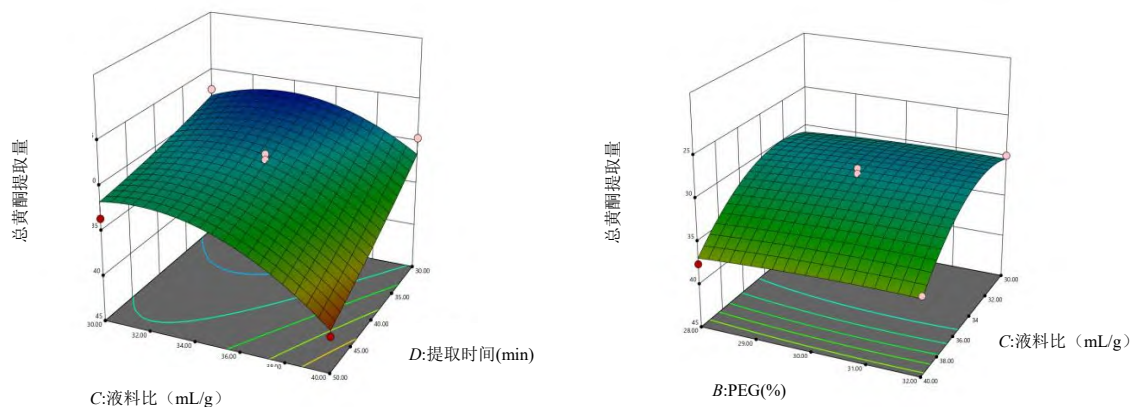


图 6 四因素对总黄酮提取量的响应面图

2.2.2 验证性试验

单因素试验优化得到的最佳条件为:液料比 35:1、硫酸铵质量分数 36%、PEG1000 质量分数 30%、提取时间 40 min、超声温度 60 ℃。进一步用响应面法得到的双水相提取余甘子总黄酮的最佳提取工艺为硫酸铵质量分数 34%、PEG1000 质量分数 32%，液料比 40:1 mL/g，提取时间 49.98 min。便于试验的操作性，我们将提取时间更改为 50 min，在此条件下，平行测量 3 组，总黄酮提取量平均值为 44.89 mg/g，与理论值 45.32 mg/g 相差 0.43 mg/g，与预测值十分接近，试验结果与模型较为符合，说明该试验结果可靠，能够更好地预测出黄酮得率。

2.3 对比试验结果

由表 4 可知，超声辅助双水相提取余甘子总黄酮提取量为 44.89 mg/g，双水相提取余甘子总黄酮提取量为 38.45 mg/g，乙醇提取法得到的余甘子总黄酮提取量 30.68 mg/g。说明超声辅助双水相的提取工艺优势明显。

表 4 不同方法提取的余甘子总黄酮含量 (mg/g)

提取方法	总黄酮含量
超声波双水相法	44.89±0.43
双水相法	38.45±0.38
乙醇提取法	30.68±0.36

2.4 余甘子总黄酮的抗氧化试验

2.4.1 DPPH 自由基的清除能力

由图 7 可以看出，不同提取方法得到的余甘子总黄酮对 DPPH 自由基的清除能力随浓度的增大而增大，当浓度达到 0.38 mg/mL 时，DPPH 自由基清除能力表现为 VC≈超声波双水相法>双水相提取法>乙醇提取法。超声波双水相提取法所提取的总黄酮浓度达到 0.40 mg/mL 时，DPPH 自由基清除率达到 90%，说明余甘子总黄酮具有较强的抗氧化能力。

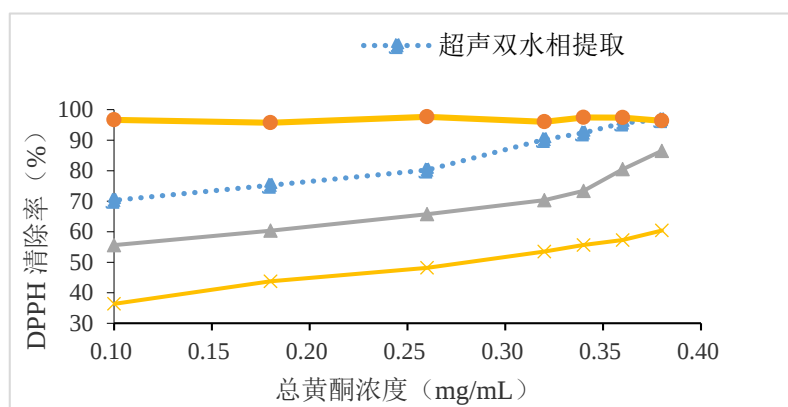


图7 不同浓度的余甘子总黄酮、VC对DPPH自由基的清除能力

2.4.2 ABTS 自由基的清除能力

由图8可知,当总黄酮浓度 $<0.005\text{ mg/mL}$ 时,其ABTS自由基的清除率表现为 $\text{VC}>\text{超声波双水相法}>\text{双水相提取法}>\text{乙醇提取法}$,且不同提取方法得到的余甘子总黄酮对ABTS自由基的清除能力随浓度的增大而增大,当总黄酮浓度达到 0.006 mg/mL 时,三种提取方法的总黄酮ABTS自由基的清除率基本上和VC相等,能够达到90%。

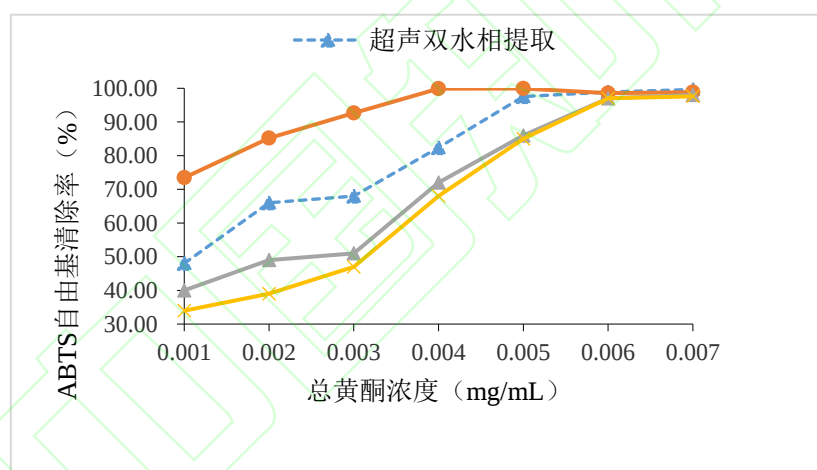


图8 不同浓度的余甘子总黄酮与VC对ABTS自由基清除能力

3 结论

本研究采用了PEG1000-硫酸铵双水相体系提取余甘子中的总黄酮,利用单因素试验结合响应面法对余甘子中总黄酮的最佳提取工艺进行了分析,结果表明:在硫酸铵质量分数34%,PEG1000质量分数32%,液料比40:1(mL/g),提取时间50 min,超声温度 $60\text{ }^{\circ}\text{C}$ 时,总黄酮提取量高达44.89%,与响应面分析出的理论值45.32%基本一致。双水相提取法提取效率高,操作简单,可以作为余甘子总黄酮提取的新方法。

体外抗氧化试验结果表明,余甘子总黄酮对DPPH自由基和ABTS自由基具有较高的清除率。超声波双水相提取的总黄酮清除DPPH、ABTS自由基的能力高于双水相提取法和乙醇提取法。综上所述,超声波双水相提取余甘子总黄酮的效率优于双水相法和乙醇提取法。

双水相法是一种常用的提取黄酮类化合物的方法,双水相法通常需要选择适当的有机溶剂和分散

剂来构建两个不相溶的相，这需要对溶剂的性质和相互作用有一定的选择。本研究直接使用使用的是PEG1000-硫酸铵双水相体系，并未对溶剂进行优化，这也是本研究的局限性。

参考文献

- [1] 刘晓晖, 吕乔, 吉雄, 等. 余甘子化学成分研究[J]. 中成药, 2023, 45(2): 458-462.
- [2] 甘阳英, 肖广江, 蔡时可, 等. 中国余甘子产业发展的现状分析与发展建议[J]. 中国农学通报, 2022, 38(32): 148-154.
- [3] 杨婉媛, 陈晓维, 刘杜娟, 等. 余甘子的生物活性及加工研究进展[J]. 广东农业科学, 2022, 49(7): 120-130.
- [4] 张璟, 邢娜, 韩杨. 双水相萃取技术在生物制药中的应用[J]. 山西化工, 2023, 43(10): 112-114, 120.
- [5] 胡韵璇, 单勇军, 王小娟, 等. 余甘子精深加工现状、难点及对策[J]. 食品研究与开发, 2023, 44(2): 203-211.
- [6] 余波, 刘璨, 曾妍, 等. 响应面法优化菟丝子类药材总黄酮提取工艺及含量测定[J]. 中国饲料, 2023(7): 128-135.
- [7] 玉澜, 龙海华, 唐森, 等. 超声波辅助乙醇-硫酸铵双水相体系提取绞股蓝总黄酮工艺研究[J]. 中国饲料, 2021(13): 24-28.
- [8] 邵圣娟, 卫静莉. 聚乙二醇-硫酸铵双水相体系萃取松花粉中总黄酮的工艺研究[J]. 食品工业科技, 2017, 38(11): 266-269, 275.