

李小红,杨显辉,李 安,等. 滇黄精总黄酮超声辅助双水相提取工艺优化及其抗氧化活性[J]. 江苏农业科学,2019,47(11):234-238.
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2019.11.053

滇黄精总黄酮超声辅助双水相提取工艺优化及其抗氧化活性

李小红¹, 杨显辉², 李 安³, 吴德智⁴

(1. 贵州民族大学, 贵州贵阳 550025; 2. 贵州省化工研究院, 贵州贵阳 550002; 3. 贵州理工学院, 贵州贵阳 550003;

4. 贵州中医学院, 贵州贵阳 550025)

摘要:以滇黄精为原料,采用 Box-Behnken 响应曲面设计对其总黄酮超声辅助双水相提取工艺条件进行优化,并研究滇黄精总黄酮对 DPPH 自由基、超氧阴离子、羟自由基的清除能力及小鼠肝组织脂质自氧化能力。结果表明,滇黄精总黄酮超声辅助双水相提取的最佳工艺条件为超声时间 32 min、硫酸铵用量 0.39 g/mL、液料比为 24 mL:1 g,此时获得的总黄酮提取率为 6.21%;滇黄精总黄酮对 DPPH 自由基、超氧阴离子、羟自由基均有较强的清除能力,且能抑制小鼠肝组织脂质自氧化能力。

关键词:滇黄精;总黄酮;双水相;超声波;抗氧化

中图分类号: R284.2 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2019)11-0234-04

黄精、滇黄精或多花黄精为百合科黄精属植物,其干燥根茎为药食同源性中草药,味甘性平,主要含有黄精多糖、黄酮、皂苷、氨基酸及微量元素等多种成分,具有补中益气、益肾强骨、健脾润肺、增强免疫功能、延缓衰老、调血脂、降血糖等功效^[1-3]。目前,对黄精多糖的研究相对较多,而对黄精中黄酮类化合物的研究甚少,而黄酮类化合物有较强的清除自由基、抗氧化活性作用,具有抗癌、抗病毒、抗过敏、抗发炎及保护心脑血管等功能。双水相提取是基于分离物质在醇盐双水相体系中分配系数的不同而实现分离^[6-7],不仅有利于醇回收,分离性能较佳,且成本较低,已被广泛应用于天然小分子化合物的提取分离^[8-9],而辅助超声提取可有效缩短提取时间,提高产品得率,产品质量,减少物化危害^[10]。目前,滇黄精总黄酮的提取方法主要有溶剂提取、超声提取、微波提取、超临界流体萃取等方法,而基于超声双水相提取总黄酮鲜见报道。本试验拟以滇黄精总黄酮提取率为指标,通过单因素及 Box-Behnken 响应曲面试验优化超声辅助双水相提取工艺条件,并研究总黄酮对 1,1-二苯基-2-三硝基苯肼(DPPH)自由基、超氧阴离子、羟自由基清除能力及小鼠肝组织脂质自氧化能力,以期为滇黄精黄酮的药用、食用及日化产品的开发提供参考。

1 材料与方法

1.1 试验材料与仪器

1.1.1 试验材料 无水乙醇、硫酸铵、铁氰化钾、无水碳酸钠等,均为分析纯,均由国药集团化学试剂有限公司提供;芸香

苷标准品,纯度≥98%,由西安汇林生物科技有限公司生产;2月龄昆明小鼠(KM小鼠),体质量为(28±5)g,由长沙市天勤生物技术有限公司提供。

1.1.2 仪器 KQ5200DE 型数控超声清洗器,由昆山市超声仪器有限公司生产;RE-52AA 型旋转蒸发器,由上海上天精密仪器有限公司生产;FA1004 型电子天平,由上海越平科学仪器有限公司生产;UV-2550 型紫外-可见分光光度计,由梅特勒-托利多国际贸易有限公司生产。

1.2 滇黄精总黄酮超声辅助双水相提取工艺优化

1.2.1 标准曲线的绘制 精密称取芸香苷标准品,用 40%乙醇配制成 130.0 mg/L 芸香苷储备液;分别移取 0.0、1.0、2.0、3.0、4.0、5.0 mL 芸香苷储备液于 10 mL 容量瓶中,分别加入 5%亚硝酸钠溶液、10%硝酸铝溶液各 0.5 mL,摇匀,静置 5 min;加入 4%氢氧化钠溶液 3 mL,40%乙醇定容至 10 mL,充分摇匀,静置;以空白试剂作参比,采用紫外分光光度计测定波长为 510 nm 下的吸光度;以吸光度为纵坐标(y)、芸香苷浓度为横坐标(x),得标准回归方程为 $y = 0.1132x - 0.0015$ ($r^2 = 0.9994$)。

1.2.2 滇黄精总黄酮超声辅助双水相提取 准确称取滇黄精适量,干燥,粉碎,装入三角烧瓶中,在乙醇-硫酸铵双水相体系中超声提取黄精总黄酮,浸提液以 3 000 r/min 冷冻离心 20 min;上清液在 60 ℃条件下旋转蒸发回收溶剂得浓缩液,真空冷冻干燥得黄精总黄酮提取物;测定总黄酮提取率^[10-11],计算公式为

$$C = m_1/m_2 \times 100\%$$

式中:C 为总黄酮提取率; m_1 、 m_2 分别为提取的总黄酮量、滇黄精总质量,g。由于乙醇体积分数为 40%,硫酸铵在 0.2~0.6 g/mL 条件下能形成较稳定的双水相体系^[11],因此本试验采用 40%的乙醇进行提取。

1.2.3 超声辅助双水相单因素提取对滇黄精总黄酮提取率的影响 在相应固定硫酸铵[(NH₄)₂SO₄]用量为 0.4 g/mL、

收稿日期:2018-01-11

基金项目:贵州省科技计划(编号:黔科合基础[2017]1073);贵州省大学生创新创业项目(编号:201714440004)。

作者简介:李小红(1984—),女,江西抚州人,博士,副教授,从事食品与药品研究与开发。E-mail:370145344@qq.com。

通信作者:吴德智,博士,副教授,从事食品与药品研究与开发。E-mail:754756587@qq.com。

超声时间为 30 min、液料比为 30 mL : 1 g 中的 2 个因素保持不变条件下,分别考察液料比为 20 : 1、25 : 1、30 : 1、35 : 1、40 : 1 (mL : g), 超声时间为 10、20、30、40、50 min, $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 用量为 0.2、0.3、0.4、0.5、0.6 g/mL 对滇黄精总黄酮提取率^[12-13]的影响,并确定 Box - Behnken 响应曲面设计所需的水平范围。

1.2.4 Box - Behnken 响应曲面法优选滇黄精总黄酮提取工艺 根据单因素试验结果,采用 Design - Expert 8.0.6 提供的 Box - Behnken 试验,以滇黄精总黄酮提取率为指标优化超声时间、硫酸铵用量、液料比等 3 个提取工艺参数,试验设计见表 1。

表 1 Box - Behnken 响应面试验因子与水平

水平	A: 超声时间 (min)	B: 硫酸铵用量 (g/mL)	C: 液料比 (mL : g)
-1	20	0.3	20 : 1
0	30	0.4	25 : 1
1	40	0.5	30 : 1

1.3 滇黄精总黄酮的抗氧化活性

1.3.1 对 DPPH 自由基清除能力的测定 以无水乙醇为溶剂,以标准曲线计算的滇黄精总黄酮量分别配制成 0.1、0.2、0.3、0.4、0.5 mg/mL 的溶液,备用;精密吸取 300 μL 各浓度溶液,分别加入 0.004% DPPH 液 2 mL,充分混合,室温下静置 20 min,同时,另精确吸取各溶液 300 μL ,分别加入无水乙醇 2 mL,混合均匀;采用紫外分光光度计分别测定波长为 517 nm 处的吸光度,计算滇黄精总黄酮对 DPPH 自由基的清除率,公式为

$$D = [1 - (D_1 - D_2) / D_0] \times 100\%。$$

式中: D 为滇黄精总黄酮对 DPPH 自由基的清除率; D_0 为不加样品的 DPPH 吸光度,空白对照; D_1 为溶液加 DPPH 的吸光度; D_2 为以无水乙醇为对照,溶液加无水乙醇的吸光度。同法测定维生素 C 溶液(阳性对照)对 DPPH 自由基的清除能力。

1.3.2 对羟自由基清除能力的测定 取 1.5 mL 配制好的不同浓度滇黄精总黄酮样品溶液,分别加入 2.5 mmol/L 水杨酸溶液 1.0 mL、5 mmol/L FeSO_4 溶液 1.0 mL、蒸馏水 2.0 mL,摇匀,静置 10 min;加入 5 mmol/L H_2O_2 溶液 1.0 mL,于 37 $^{\circ}\text{C}$ 恒温水浴锅中反应 30 min;分别测定波长为 510 nm 处的吸光度,以维生素 C 溶液作为阳性对照。计算滇黄精总黄酮对羟自由基的清除率,公式为

$$H = [D_0 - (D_2 - D_1)] / D_0 \times 100\%。$$

式中: H 为滇黄精总黄酮对羟自由基的清除率; D_0 为蒸馏水的吸光度,空白对照; D_1 为不加 H_2O_2 样品溶液的吸光度; D_2 为样品溶液加 H_2O_2 的吸光度。

1.3.3 对超氧阴离子自由基清除能力的测定 取 50 mmol/L、pH 值为 8.12 的 Tris - HCl 缓冲液 6.0 mL,分别加入 0.5 mL 配制好的不同浓度滇黄精总黄酮样品溶液,混匀,于 37 $^{\circ}\text{C}$ 水浴锅中静置 10 min;加入 7 mmol/L 邻苯三酚盐酸溶液 1 mL,混匀,静置 5 min,测定波长为 510 nm 处的吸光度。同法,用蒸馏水代替样品测定吸光度作为空白对照,以维生素 C 溶液作为阳性对照。滇黄精总黄酮对超氧阴离子自由基清除率的计算公式如下:

$$O = (D_0 - D) / D_0 \times 100\%。$$

式中: O 为滇黄精总黄酮对超氧阴离子自由基的清除率; D_0

为仅含邻苯三酚盐酸溶液的吸光度,空白对照; D 为样品溶液加入邻苯三酚盐酸溶液的吸光度。

1.3.4 对小鼠肝组织自发性氧化的影响 小鼠肝脏以冰冷的生理盐水灌注,滤纸拭干,称质量;冰浴条件下,用 pH 值为 7.2 的磷酸盐 (PBS) 缓冲溶液制成 10% 组织匀浆;取匀浆 0.5 mL,分别加入不同浓度的滇黄精总黄酮,使总黄酮终浓度分别为 0.1、0.2、0.3、0.4、0.5 mg/mL,生理盐水补充至 1 mL,于 37 $^{\circ}\text{C}$ 恒温振荡器中孵育 1.5 h,测定丙二醛 (MDA) 含量,计算自发性氧化抑制率。以维生素 C 溶液作为阳性对照。

1.4 统计分析

采用 SPSS 软件对试验数据进行统计分析。

2 结果与分析

2.1 超声辅助双水相单因素提取对滇黄精总黄酮提取率的影响

2.1.1 超声时间对总黄酮提取率的影响 由图 1 可知,随超声时间的延长,滇黄精总黄酮提取率呈先上升后下降的趋势,当超声时间为 30 min 时,滇黄精总黄酮提取率相对最大,为 5.63%,这可能是由于超声时间促进细胞壁的破裂,使总黄酮浸出速率和程度提高,但时间过长会使某些黄酮类成分被破坏,致使含量有所下降^[15]。因此,选择 20 ~ 40 min 为响应曲面设计所需的超声时间范围。

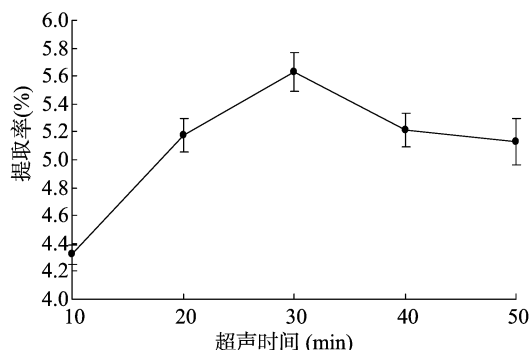


图 1 超声时间对滇黄精总黄酮提取率的影响

2.1.2 硫酸铵用量对总黄酮提取率的影响 由图 2 可知,随硫酸铵用量的增加,滇黄精总黄酮提取率呈先上升后下降的趋势,当硫酸铵用量为 0.4 g/mL 时,总黄酮提取率相对最高,为 5.56%,这是因为增加硫酸铵用量可能会与乙醇争夺体系中的水,使滇黄精总黄酮在乙醇相中的含量相对减少,导致提取率下降。因此,选择 0.3 ~ 0.5 g/mL 为响应曲面设计所需的硫酸铵用量范围。

2.1.3 液料比对总黄酮提取率的影响 由图 3 可知,随液料比的增加,滇黄精总黄酮提取率呈先上升后下降再稳定在一定水平的趋势,当液料比为 25 mL : 1 g 时,总黄酮提取率相对最高,为 5.75%,这可能是因为提取液的增加可使滇黄精与提取溶剂充分接触,有利于总黄酮的浸出,当液料比超过 35 mL : 1 g 时,总黄酮基本达到饱和状态。因此,选择 (20 ~ 30) mL : 1 g 为响应曲面设计所需的液料比范围。

2.2 Box - Behnken 响应曲面设计优化滇黄精总黄酮微波辅助提取工艺

对黄精总黄酮微波辅助提取的工艺进行 Box - Behnken

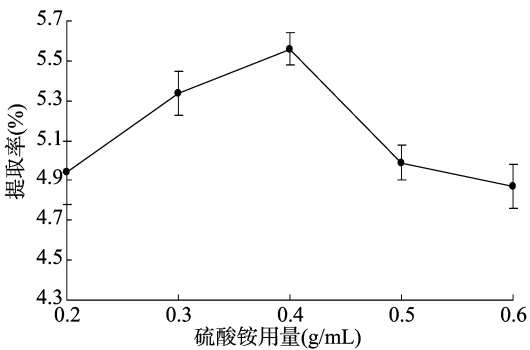


图2 硫酸铵用量对滇黄精总黄酮提取率的影响

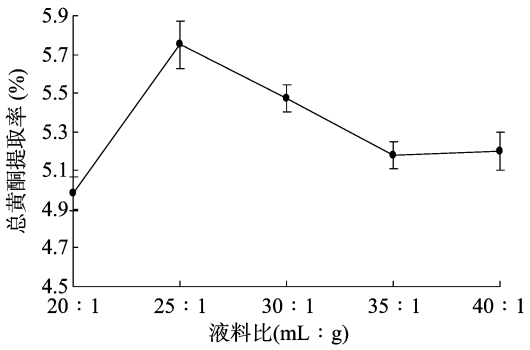


图3 液料比对滇黄精总黄酮提取率的影响

响应曲面设计优化试验,结果见表 2。采用 Design - Expert 8.0.6 提供的 Box - Behnken 试验,对各因素进行拟合,得到多元回归方程为总黄酮提取率 = - 13.118 + 0.547A + 14.508B + 0.583C + 0.148AB + 1.250 × 10⁻³AC + 0.430BC - 9.591 × 10⁻³A² - 39.150B² - 0.016C²。对滇黄精总黄酮提取率回归模型进行方差及显著性分析,由表 3 可见,该模型方程回归性显著($P < 0.000\ 1$),失拟项不显著($P = 0.345\ 2 > 0.05$),说明在本试验条件下,该回归模型所考察的因素足以反映各提取工艺参数对总黄酮提取率的影响;判定系数 R^2 、

表 2 滇黄精总黄酮提取的 Box - Behnken 响应曲面
试验设计及结果

序号	A:超声时间	B:硫酸铵用量	C:液料比	总黄酮提取率 (%)
1	0.00	0.00	0.00	5.81
2	0.00	-1.00	1.00	5.12
3	0.00	0.00	0.00	6.02
4	1.00	-1.00	0.00	5.31
5	1.00	0.00	-1.00	5.16
6	-1.00	-1.00	0.00	4.42
7	0.00	1.00	-1.00	4.84
8	1.00	1.00	0.00	5.13
9	1.00	0.00	1.00	5.37
10	-1.00	0.00	-1.00	4.01
11	0.00	-1.00	-1.00	5.45
12	0.00	0.00	0.00	5.95
13	-1.00	0.00	1.00	3.97
14	-1.00	1.00	0.00	3.65
15	0.00	0.00	0.00	6.06
16	0.00	1.00	1.00	5.37
17	0.00	0.00	0.00	6.05

R^2_{adj} 分别为 0.990 2、0.977 7,说明回归模型与试验值拟合度较好,可用于滇黄精总黄酮提取率的理论推测和分析;各因素对滇黄精总黄酮提取率的影响表现为超声时间 > 硫酸铵用量 > 液料比;由 F 检验可知,一次项中超声时间、硫酸铵用量对总黄酮的提取具有极显著影响($P < 0.01$),交互项中硫酸铵用量与液料比对总黄酮的提取具有极显著影响($P < 0.01$),超声时间与硫酸铵用量具有显著影响($P < 0.05$),二次项中超声时间、硫酸铵用量、液料比对总黄酮的提取均具有极显著影响($P < 0.01$),其他项作用不显著($P > 0.05$),这与 3D 效应面图(图 4)中反映的各因素间交互作用结果相吻合。

表 3 试验结果方差分析

方差来源	平方和	自由度	均方	F 值	P 值
回归模型	9.16	9	1.02	78.88	<0.000 1
A	3.03	1	3.03	234.42	<0.000 1
B	0.21	1	0.21	16.62	0.004 7
C	0.017	1	0.017	1.33	0.287 4
AB	0.087	1	0.087	6.74	0.035 6
AC	0.016	1	0.016	1.21	0.307 6
BC	0.18	1	0.18	14.32	0.006 8
A^2	3.87	1	3.87	300.00	<0.000 1
B^2	0.65	1	0.65	50.00	0.000 2
C^2	0.65	1	0.65	50.00	0.000 2
残差	0.090	7	0.013		
失拟项	0.048	3	0.016	1.49	0.345 2
净误差	0.043	4	0.011		
总和	9.25	16			

由 Design - Expert 8.0.6 软件得出滇黄精总黄酮提取的最佳工艺参数为超声时间 32.01 min、硫酸铵用量 0.39 g/mL、液料比为 24.32 mL:1 g,此时总黄酮提取率预测值为 6.06%。为便于生产,确定超声时间为 32 min、硫酸铵用量为 0.39 g/mL、液料比为 24 mL:1 g,并进一步验证得出总黄酮提取率为 6.21%,与预测值比较接近,确定超声时间 32 min、硫酸铵用量 0.39 g/mL、液料比 24 mL:1 g 为超声辅助双水相体系提取黄精总黄酮的最优工艺参数。

2.3 滇黄精总黄酮的抗氧化活性

2.3.1 对 DPPH 自由基的清除能力 DPPH 法广泛用于食品的抗氧化能力和生物样品定量检测。由图 5 可知,滇黄精总黄酮对 DPPH 自由基有较强的清除能力,且与使用浓度存在正相关关系;当浓度为 0.5 mg/mL 时,滇黄精总黄酮对 DPPH 自由基的清除率为 86.5%,而等浓度维生素 C 溶液对 DPPH 自由基的清除率为 83.5%,同浓度的滇黄精总黄酮与维生素 C 溶液对 DPPH 自由基的清除能力相互之间差异不明显。

2.3.2 对超氧阴离子的清除能力 由图 6 可知,滇黄精总黄酮对超氧阴离子有较强的清除能力,且随浓度的增加而有所提高;当滇黄精总黄酮浓度为 0.5 mg/mL 时,滇黄精总黄酮对超氧阴离子的清除能力为 88.4%,维生素 C 溶液的清除能力为 87.2%,同浓度的滇黄精总黄酮与维生素 C 溶液对超氧阴离子的清除能力相互之间差异不明显。

2.3.3 对羟自由基的清除能力 由图 7 可知,滇黄精总黄酮对羟自由基有较强的清除作用,且随浓度的增加而增强;当滇黄精总黄酮浓度为 0.5 mg/mL 时,滇黄精总黄酮对羟自由基

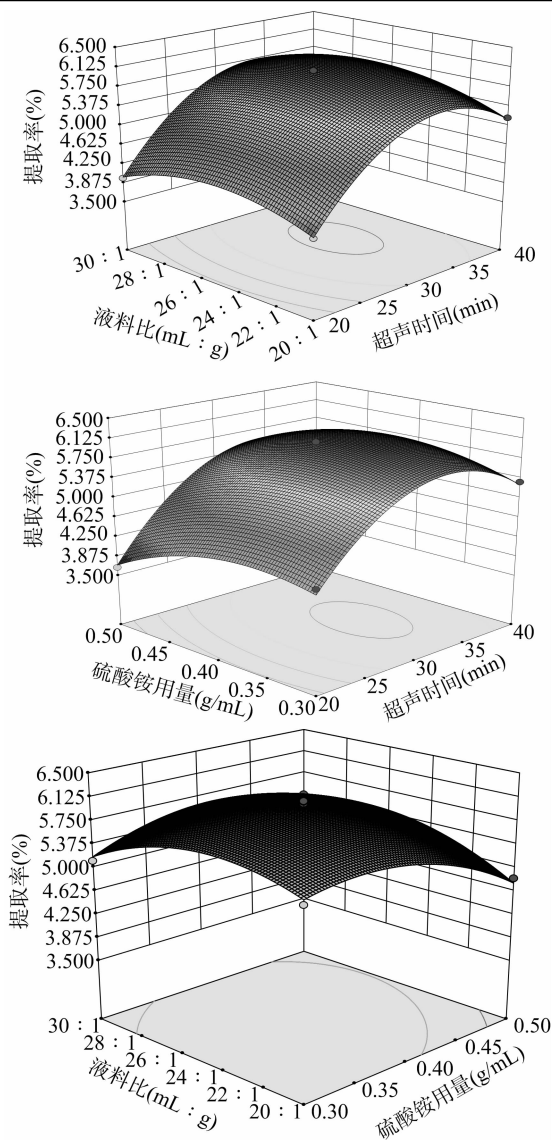


图4 不同提取条件之间交互作用对总黄酮提取率的3D效应面图谱分析

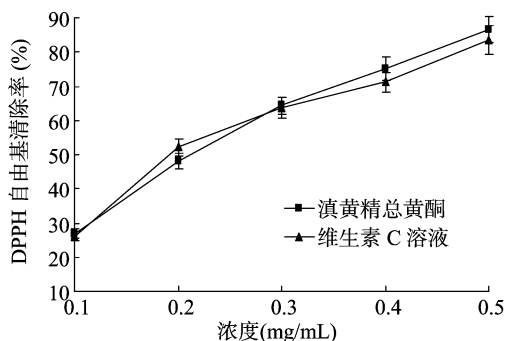


图5 滇黄精总黄酮对DPPH自由基清除率的影响

的清除率为87.3%,维生素C溶液的清除率为88.2%,同浓度的滇黄精总黄酮与维生素C溶液对羟自由基的清除能力相互之间差异不明显。

2.3.4 对小鼠肝组织自发性氧化的影响 由图8可知,滇黄精总黄酮对小鼠肝组织自发性氧化具有明显的抑制作用,且随着总黄酮浓度的增加,抑制作用增强;当滇黄精总黄酮浓度

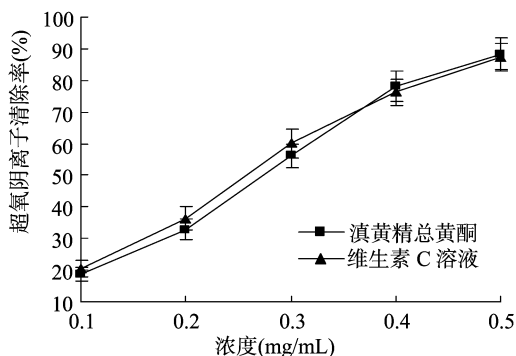


图6 滇黄精总黄酮对超氧阴离子清除率的影响

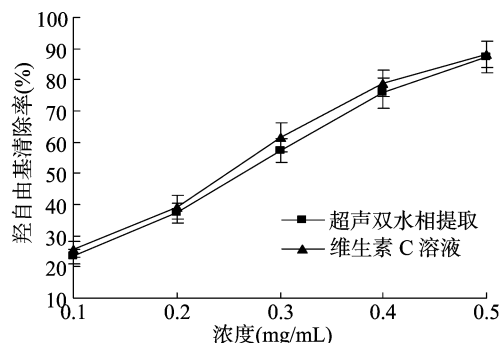


图7 滇黄精总黄酮对羟自由基清除率的影响

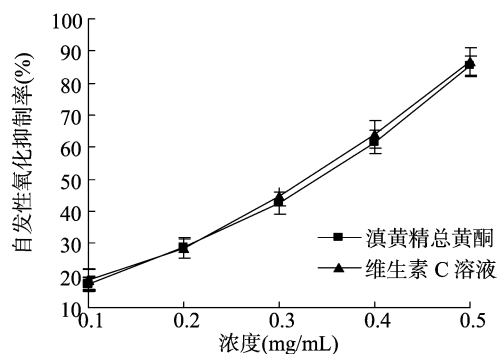


图8 滇黄精总黄酮对肝组织自发氧化清除率的影响

为0.5 mg/mL时,滇黄精总黄酮对肝组织自发性氧化的抑制率为85.3%,维生素C溶液的抑制率为86.8%,同浓度的滇黄精总黄酮与维生素C溶液对小鼠肝组织自发性氧化的抑制率相互之间差异不明显。

3 结论

本试验以滇黄精为主要原料,采用Box-Behnken响应曲面设计对其总黄酮超声辅助双水相提取工艺条件进行优化,并研究滇黄精总黄酮对DPPH自由基、超氧阴离子、羟自由基的清除能力及对小鼠肝组织脂质自氧化能力。结果表明,滇黄精总黄酮超声辅助双水相提取的最佳工艺条件为超声时间32 min、硫酸铵用量0.39 g/mL、液料比24 mL:1 g,在该条件下得出的总黄酮提取率为6.21%;滇黄精总黄酮对DPPH自由基、超氧阴离子、羟自由基均有较强的清除能力,且能抑制小鼠肝组织脂质自氧化能力。超声双水相提取滇黄精黄酮工艺稳定,获得的总黄酮有较好的抗氧化能力,这对滇黄精的加工利用及食品、日化、医药等增值化产品的开发具有一定的参考作用。

王攀,范娜. 木瓜蛋白酶酶解核桃饼粕制备抗氧化多肽的研究[J]. 江苏农业科学,2019,47(11):238-241.
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2019.11.054

木瓜蛋白酶酶解核桃饼粕制备抗氧化多肽的研究

王攀,范娜

(商洛学院生物医药与食品工程学院,陕西商洛 726000)

摘要:以核桃饼粕为原料,研究优化木瓜蛋白酶酶解核桃饼粕制备抗氧化活性多肽的工艺条件。通过研究酶解温度、酶解时间、底物浓度、酶添加量以及酶解 pH 值对酶解产物抗氧化活性的影响,正交优化酶解工艺参数,并将酶解物利用葡聚糖凝胶层析柱进行分离,测定其抗氧化活性。结果表明,当木瓜蛋白酶在酶解温度为 60 ℃、酶解时间为 3.5 h、底物浓度为 2.5 g/100 mL、加酶量为 6 500 U/g、pH 值为 6.5 的酶解条件下,酶解物的抗氧化活性较好,酶解液对二苯代苦味酰基自由基(DPPH·)和羟基自由基的清除率分别为 52.24% 和 53.20%;酶解液经葡聚糖凝胶层析柱分离,酶解物分离多肽的分子量越大,抗氧化活性越低。

关键词:核桃饼粕;木瓜蛋白酶;抗氧化活性;生物活性肽

中图分类号: TS209 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2019)11-0238-04

核桃营养价值较高,含有丰富的油脂和蛋白质,在工业生产中常被作为榨油用料^[1],核桃饼粕是核桃油深加工的副产物^[2],大多作为动物饲料,目前对其利用具有一定的局限性,主要集中于蛋白质与多肽的开发方面^[3]。虽然核桃饼粕中蛋白质含量高达 30%~50%^[4],但核桃蛋白溶解性较低^[5],限制了食品加工中核桃蛋白的利用^[6]。近年来,对核桃饼粕的深加工已逐步开展起来,主要是利用核桃饼粕制备核桃多肽^[7],核桃多肽不仅具有良好的溶解性,而且还具有易消化

吸收、促进微生物发酵以及抗氧化等生理活性^[6]。抗氧化肽是一种具有抗氧化活性的生物活性肽,具有清除体内自由基的功能,是一种潜在的、可以利用的外源性抗氧化物质^[8],且采用酶水解核桃蛋白可以制得具有抗氧化活性的生物活性肽^[9]。本研究主要以核桃饼粕为原料,通过研究酶解温度、酶解时间、底物浓度、酶添加量以及酶解 pH 值等因素对木瓜蛋白酶酶解核桃饼粕产物抗氧化活性的影响,正交优化酶解工艺参数,并对酶解物利用葡聚糖凝胶层析柱进行分离,考察分离物的抗氧化活性,以期对核桃饼粕抗氧化活性多肽的制备提供参考。

1 材料与方法

1.1 试验材料

1.1.1 试验材料与试剂 核桃饼粕,购自洛南食品加工厂;木瓜蛋白酶(酶活性 100 000 U/g),购自南宁宏博生物工程有限公司;DPPH,购自 Sigma 公司;无水乙醇、乙醚、氢氧化钠、

收稿日期:2018-03-09

基金项目:陕西省农业科技创新与攻关项目(编号:2016NY-147);

商洛学院服务地方经济社会发展专项(编号:2015SKY-FWDF004)。

作者简介:王攀(1983—),男,陕西宝鸡人,硕士,讲师,主要从事农产品综合利用及新产品开发。Tel:(0914)2398182;E-mail:w1p2004@163.com。

参考文献:

- [1] 姜程曦,张铁军,陈常青,等. 黄精的研究进展及其质量标志物的预测分析[J]. 中草药,2017,48(1):1-16.
- [2] 柳威,林懋怡,刘晋杰,等. 滇黄精研究进展及黄精研究现状[J]. 中国实验方剂学杂志,2017,23(14):226-234.
- [3] 王慧,袁德培,曾楚华,等. 黄精的药理作用及临床应用研究进展[J]. 湖北民族学院学报(医学版),2017,34(2):58-60,64.
- [4] 王文君,向灿辉,刘成红. 黄精总黄酮的提取与性质分析[J]. 食品工业,2014,35(10):258-262.
- [5] 吴丁丁,穆小静,易小琦,等. 双水相萃取技术的新发展[J]. 食品工业科技,2017,38(8):395-400.
- [6] Xavier L, Sonia Freire M, Vidal-Tato I A. Aqueous two-phase systems for the extraction of phenolic compounds from eucalyptus (*Eucalyptus globulus*) wood industrial wastes[J]. Journal of Chemical Technology and Biotechnology,2014,89(11):1772-1778.
- [7] Pimentel M, Araujo A I, Figueiredo Z, et al. Aqueous two-phase

system for citrinin extraction from fermentation broth[J]. Separation and Purification Technology,2013,110(23):158-163.

- [8] 裴志胜,薛长风,王晋伟,等. 鲮鱼鱼脑乙酰胆碱酯酶的双水相萃取[J]. 食品科技,2017,42(3):264-267.
- [9] 李越山,徐艳阳,史爱莹,等. 响应面法优化黑豆酯酶的双水相萃取工艺[J]. 食品科技,2015,40(7):233-239,244.
- [10] Tabaraki R, Nateghi A. Optimization of ultrasonic-assisted extraction of natural antioxidants from rice bran using response surface methodology[J]. Ultrasonics Sonochemistry,2011,18(6):1279-1286.
- [11] 吴德智,郑强,李安,等. 缬草总黄酮超声辅助双水相提取工艺优化及抗氧化活性研究[J]. 食品与机械,2017,33(5):162-167.
- [12] 许海棠,赵彦芝,张金彦,等. 响应面法提取瓶尔小草总黄酮及其抗氧化活性[J]. 食品科技,2017,42(2):215-220.
- [13] 周婧,李钢,徐静. 红海榄不同部位总酚和总黄酮含量分析及抗氧化活性研究[J]. 食品科技,2017,42(6):220-224.