

正交试验法优化微波协同双水相提取甘草中总黄酮的工艺

陈丽娟^{1*}, 柳福智^{2#}, 岳强兵²(1.甘肃奇正藏药有限公司, 兰州 730100; 2.甘肃农业大学农学院, 兰州 730070)

中图分类号 R284.2 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2016)04-0525-04

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2016.04.29

摘要 目的:优化微波协同双水相提取甘草中总黄酮的工艺。方法:以硫酸铵和乙醇为双水相萃取体系,微波法提取甘草中的总黄酮;采用单因素试验和正交试验考察硫酸铵质量浓度、乙醇体积分数、固液比、微波功率、提取时间5个因素对总黄酮提取率的影响,优化提取工艺并进行验证试验。结果:最优提取工艺为硫酸铵质量浓度0.40 g/ml、乙醇体积分数70%、固液比1:25、提取时间3 min、微波功率300 W;验证试验中甘草总黄酮平均提取率为2.038% (RSD=0.69%, n=3), 双水相萃取率为94.46% (RSD=1.30%, n=3)。结论:该工艺操作简单、结果稳定、反应条件温和、提取效率较高,适合工业化提取甘草中总黄酮。

关键词 正交试验;微波;双水相;甘草;总黄酮

Technology Optimization of Microwave-assisted Aqueous Two-phase System of Total Flavonoids from *Glycyrrhiza uralensis* by Orthogonal Test

CHEN Lijuan¹, LIU Fuzhi², YUE Qiangbing²(1.Limited Company of Gansu Chee Zheng Tibetan Medicine, Lanzhou 730100, China; 2.College of Agriculture, Gansu Agricultural University, Lanzhou 730070, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To optimize microwave-assisted aqueous two-phase system of total flavonoids from *Glycyrrhiza uralensis*. METHODS: The ammonium sulfate and ethanol were used as aqueous two-phase extraction system, the method of microwave was applied to extract total flavonoids from *G. uralensis*. The effects of 5 factors on extraction rate of total flavonoids were investigated by single factor test and orthogonal test, such as the mass concentration of ammonium sulfate, ethanol volume fraction, solid-liquid ratio, microwave power and extraction time. Validation test was conducted. RESULTS: The optimal extraction condition was as follows as the mass concentration of ammonium sulfate of 0.40 g/ml, ethanol volume fraction of 70%, solid-liquid ratio of 1:25, extraction time of 3 min and microwave power of 300 W; in validation test, the extraction rate of total flavonoids from *G. uralensis* was 2.038% (RSD=0.69%, n=3), and the extraction rate of two-phase system was 94.46% (RSD=1.30%, n=3). CONCLUSIONS: The technology is simple in operation and stable in results, and also has gentle reaction conditions and high extraction rate, which is suitable for industrial production.

KEYWORDS Orthogonal test; Microwave; Aqueous two-phase; *Glycyrrhiza uralensis*; Total flavonoids

甘草为豆科植物甘草 *Glycyrrhiza uralensis* Fisch.、胀果甘草 *G. inflata* Bat. 或光果甘草 *Glycyrrhiza glabra* L. 的干燥根及根茎^[1]。黄酮是甘草中最重要的活性成分之一^[2], 具有抗氧化、抗肿瘤、抗病毒、抗菌和消炎保肝等重要作用^[3]。

甘草黄酮是一类活性成分, 目前国内主要应用于医药、食品、化妆品等诸多领域^[4]。总黄酮常见提取方法有水提取法^[5]、有机溶剂提取法^[6]、酶辅助提取法^[7]、超临界流体萃取法^[8]和超声波辅助萃取法^[9]等, 但分别具有提取率较低、消耗时间较长、影响因素较多、提取成本高、对人体危害较大的缺点。

微波辅助提取技术是一种新提取方法^[10], 与常规方法相比, 微波辅助提取具有选择性高、快速高效、溶剂消耗少、环境污染小等优势^[11-12]。

双水相萃取是利用物质在互不相溶的两水相间分配系数的差异进行萃取的方法^[13], 具有萃取条件温和、分相快速等优点。传统的双水相体系其水溶性高聚物大多黏度较大, 难以挥发, 后续分离较为复杂^[14]。改良后, 采用小分子醇如乙醇或者丙醇-盐双水相体系克服了上述缺点, 故使其应用领域较广^[15], 目前已用其成功从丹参粗提液中分离了丹酚酸B^[16]。

由于分子间的范德华力、疏水作用、氢键、分子与分子之

* 工程师。研究方向: 药用植物及药品制剂研究开发、质量标准的建立。E-mail: qizhengyanfa@163.com

通信作者: 讲师, 博士。研究方向: 药物植物资源开发利用的教学及科研。E-mail: lzf_1976@126.com

间电荷的作用, 可致总黄酮在上、下相中的浓度不同, 从而达到分离的目的^[17]。相分离条件温和, 因而会保持绝大部分生物分子的活性^[18]。乙醇作为提取溶剂具有选择性好、渗透性强、浸出率较高的优点^[19]。因此, 本试验采用正交试验法优化微波协同双水相提取甘草中的总黄酮, 结合了微波和双水相快速高效、提取条件温和等优点。通过单因素试验和正交试验, 考察了硫酸铵质量浓度、乙醇体积分数、固液比、微波功率、提取时间5个因素对甘草总黄酮提取率的影响, 旨在为甘草总黄酮的提取提供一种新方法。同时, 建立的方法还可为甘草有效成分的综合利用提供依据。

1 材料

1.1 仪器

GZX-GF101-4BS-II 电热恒温鼓风干燥箱(上海跃进医疗器械有限公司); XFB-400 植物样品粉碎机(吉首市中诚制药机械厂); EG720KG4-NA 美的微波炉(广东美的生活电器制造有限公司); SHB-III 循环水式多用真空泵(郑州长城科工贸有限公司); TGL-16G 高速冷冻离心机(长沙湘仪离心机仪器有限公司); T6-紫外-可见分光光度计(北京普析通用仪器有限责任公司)。

1.2 药材、药品与试剂

甘草(兰州复兴厚药材有限公司, 批号: 20140218, 产地甘肃, 经甘肃农业大学陈垣教授鉴定为豆科甘草属植物甘草的根及根茎); 芦丁对照品(深圳市得佳科技有限公司, 批号:

100080-201408,纯度:90.2%);无水乙醇、硫酸铵、亚硝酸钠、硝酸铝、氢氧化钠均为分析纯,水为蒸馏水。

2 方法与结果

2.1 甘草总黄酮的提取

将甘草放置在烘箱中55℃烘干,粉碎,过65目筛。按单因素试验要求先用蒸馏水将硫酸铵溶解,设置硫酸铵质量浓度;准确加入2.00g甘草粉末;加入无水乙醇设置不同的乙醇体积分数、固液比,摇匀,用组培封口膜封口,避免乙醇沸腾时提取液涌出瓶外,静置5min;再按每个单因素试验要求的微波功率、提取时间进行微波提取和双水相萃取。之后取出锥形瓶,放置5~10min,待瓶壁变凉,抽滤,滤液转移到分液漏斗中,待其分为上下两相,取上相溶液定容至100ml,即得甘草总黄酮提取液。测定吸光度,计算总黄酮量及其提取率[总黄酮提取率=提取的总黄酮质量(g)/甘草质量(g)×100%]。

2.2 总黄酮的含量测定^[20]

2.2.1 标准曲线的绘制 准确称取干燥至恒质量的芦丁对照品11.5mg,置于50ml量瓶中,加乙醇溶解并定容,得到质量浓度为0.23mg/ml的芦丁对照品溶液。分别吸取上述对照品溶液1.0、2.0、3.0、4.0、5.0ml于25ml量瓶中,加入0.7ml的5%NaNO₂溶液,摇匀,放置5min后加入0.7ml的10%Al(NO₃)₃溶液,摇匀,静置6min后加入5ml的1mol/LNaOH溶液,摇匀,并用30%乙醇溶液定容至刻度后,摇匀,静置10min。于波长510nm处测定吸光度,以空白试剂为参比液。以溶液质量浓度(x)为横坐标、吸光度(y)为纵坐标,进行线性回归,得回归方程: $y=0.0130x+0.0201$ ($r=0.9994$),表明芦丁检测质量浓度线性范围为9.2~46.0μg/ml。

在测定样品时,单因素和正交试验中的总黄酮提取率只以上相溶液中的总黄酮量来测定,下相溶液中的总黄酮量测定方法与上相溶液测定方法相同。本试验中所有的总黄酮测量方法都一样。

2.2.2 供试品溶液的制备 用分液漏斗将不同条件下微波萃取液分相,取上层提取液定容至100ml,即得。

2.2.3 精密度试验 分别精密移取芦丁对照品溶液2ml,置于25ml量瓶中,测定吸光度,平行测定5次。结果,吸光度的RSD为0.40%($n=5$),表明该方法精密度良好。

2.2.4 稳定性试验 分别精密移取供试品溶液2ml,置于25ml量瓶中,在90min内每隔15min测1次吸光度,结果,吸光度的RSD为0.12%($n=6$),表明该供试品溶液在90min内稳定性良好。

2.2.5 重复性试验 分别精密移取5份供试品溶液2ml,置于25ml量瓶中,测定吸光度,平行测定5次。结果,吸光度的RSD为1.11%($n=5$),表明该方法重复性良好。

2.2.6 加样回收率试验 精密移取已知含量的供试品溶液12份,每份2ml,分别加入4种不同质量浓度的芦丁对照品溶液,测定吸光度,计算加样回收率。结果,平均加样回收率为101%,RSD为2.98%($n=12$),表明该方法的准确度良好,可用于甘草总黄酮的测定。

2.3 单因素试验

选取硫酸铵质量浓度、乙醇体积分数、固液比、微波功率、提取时间5个因素并设置相关水平考察各因素水平对总黄酮提取率的影响。

2.3.1 硫酸铵质量浓度 选取硫酸铵质量浓度分别为0.25、0.30、0.35、0.40、0.45g/ml。准确取甘草粉末2.00g,加入24ml无水乙醇,使乙醇体积分数为60%,固液比为1:20,提取时间为2min,微波功率为200W,提取,测定总黄酮量,并计算总黄

酮提取率。结果硫酸铵各质量浓度下总黄酮提取率变化不大,以质量浓度为0.40g/ml时成相比较稳定、速度较快、提取率较高。因此,确定硫酸铵质量浓度为0.40g/ml,详见图1A。

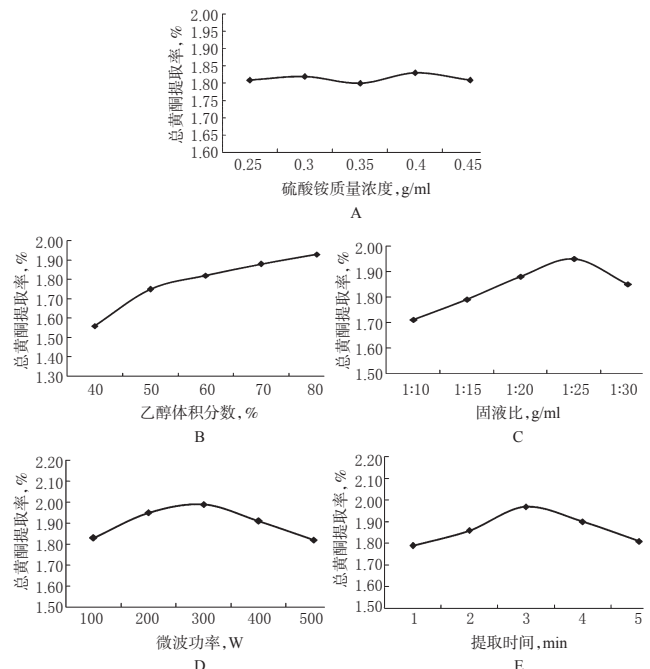


图1 各因素对甘草总黄酮提取率的影响

A. 硫酸铵质量浓度; B. 乙醇体积分数; C. 固液比; D. 微波功率; E. 提取时间

Fig 1 Influence of each factor on the extraction rate of total flavonoids from *G. uralensis*

A. the mass concentration of ammonium sulfate; B. ethanol volume fraction; C. solid-liquid ratio; D. microwave power; E. extraction time

2.3.2 乙醇体积分数 设置硫酸铵质量浓度为0.40g/ml,准确加入甘草粉末2.00g,加入不同量的无水乙醇,使乙醇体积分数分别为40%、50%、60%、70%、80%,固液比为1:20,提取时间为2min,微波功率为200W,提取样品,测定总黄酮量,并计算总黄酮提取率。结果,随着乙醇体积分数的增加,总黄酮提取率不断增大,在80%时达到最大值。但是,当硫酸铵质量浓度为0.40g/ml、乙醇体积分数超过80%时,不能形成双水相系统;乙醇体积分数为80%时的提取率其实包括上相和下相两部分的总黄酮。因此,最优乙醇体积分数确定为70%,详见图1B。

2.3.3 固液比 设置硫酸铵质量浓度为0.40g/ml,乙醇体积分数为70%,固液比依次为1:10、1:15、1:20、1:25、1:30,提取时间为2min,微波功率为200W,提取样品,测定总黄酮量并计算总黄酮提取率。结果,当固液比为1:10~1:25时,总黄酮提取率逐渐增加,表明固液比较低时总黄酮过饱和^[21];当固液比为1:30时,总黄酮提取率降低。因此,最优固液比选择为1:25,详见图1C。

2.3.4 微波功率 设置硫酸铵质量浓度为0.40g/ml,乙醇体积分数为70%,固液比为1:25,微波功率依次为100、200、300、400、500W,提取时间均为2min,提取样品,测定总黄酮量并计算总黄酮提取率。结果表明,随着微波功率不断增大,总黄酮提取率不断增加,在300W时达到最大值,之后下降。考虑到微波功率过高可能对黄酮类化合物产生破坏作用,导致提取率下降^[20]。因此,选择最优微波功率为300W,详见图1D。

2.3.5 提取时间 设置硫酸铵质量浓度为0.40g/ml、乙醇体

积分数为70%，固液比为1:25，提取时间依次为1、2、3、4、5 min，微波功率均为300 W，提取样品，测定总黄酮量并计算总黄酮提取率。结果，随着提取时间的延长，总黄酮提取率增加，3 min时达到最大值，之后下降。其原因可能是微波加热时间过长，乙醇易沸腾，且可能发生其他副反应，导致黄酮类化合物结构发生变化^[22]，故致总黄酮提取率下降。因此，选择最优提取时间为3 min，详见图1E。

2.4 正交试验优选

从单因素试验结果可知，硫酸铵质量浓度对甘草总黄酮提取率影响不显著。因此，固定硫酸铵质量浓度为0.40 g/ml，以乙醇体积分数(A, %)、固液比(B, g/ml)、提取时间(C, min)、微波功率(D, W)为考察因素，以总黄酮提取率为评价指标，采用L₉(3⁴)正交试验优选工艺。因素与水平见表1，正交试验设计与结果见表2，方差分析结果见表3。

表1 因素与水平

Tab 1 Factors and levels

| 水平 | 因素 | | | |
|----|--------------|--------------|--------------|------------|
| | A(乙醇体积分数), % | B(固液比), g/ml | C(提取时间), min | D(微波功率), W |
| 1 | 50 | 1:20 | 2 | 200 |
| 2 | 60 | 1:25 | 3 | 300 |
| 3 | 70 | 1:30 | 4 | 400 |

表2 正交试验设计与结果

Tab 2 Design and results of orthogonal test

| 编号 | 因素 | | | | 提取率, % |
|----------------|-------|-------|-------|-------|--------|
| | A | B | C | D | |
| 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1.73 |
| 2 | 1 | 2 | 2 | 2 | 1.81 |
| 3 | 1 | 3 | 3 | 3 | 1.71 |
| 4 | 2 | 1 | 2 | 3 | 1.82 |
| 5 | 2 | 2 | 3 | 1 | 1.89 |
| 6 | 2 | 3 | 1 | 2 | 1.86 |
| 7 | 3 | 1 | 3 | 2 | 1.89 |
| 8 | 3 | 2 | 1 | 3 | 1.99 |
| 9 | 3 | 3 | 2 | 1 | 1.94 |
| K ₁ | 1.751 | 1.812 | 1.857 | 1.850 | |
| K ₂ | 1.856 | 1.896 | 1.858 | 1.852 | |
| K ₃ | 1.937 | 1.836 | 1.829 | 1.841 | |
| R | 0.186 | 0.083 | 0.029 | 0.011 | |

表3 方差分析结果

Tab 3 Analysis of variance

| 变异来源 | 偏均差平方和 | 自由度 | 均方 | F | P |
|------|--------|-----|--------|----------|-------|
| A | 0.156 | 2 | 0.078 | 1401.800 | <0.01 |
| B | 0.033 | 2 | 0.017 | 299.400 | <0.01 |
| C | 0.005 | 2 | 0.002 | 43.400 | <0.01 |
| D | 0.001 | 2 | <0.001 | 5.600 | <0.05 |
| 误差 | 0.001 | 18 | <0.001 | | |

注: $F_{0.05}(2, 18) = 3.55$, $F_{0.01}(2, 18) = 6.01$

Note: $F_{0.05}(2, 18) = 3.55$, $F_{0.01}(2, 18) = 6.01$

由表2可知，各因素影响甘草总黄酮提取率的主次因素为A>B>C>D，即乙醇体积分数>固液比>提取时间>微波功率；由表3方差分析可知，A、B、C均为极显著因素，D为显著因素，均对甘草总黄酮提取率有显著影响。经综合考察确定最优工艺为A₃B₂C₂D₂，即乙醇体积分数70%、固液比1:25、提取时间3 min、微波功率为300 W。

2.5 工艺验证试验

准确称取甘草粉末15.00 g，固定硫酸铵质量浓度为0.40 g/ml，按照最优工艺重复操作3次，得提取率平均值为2.038%

(RSD=0.69%, n=3)，高于正交试验中的最高值；计算双水相萃取率，即上相溶液中总黄酮量(g)/[上相溶液中总黄酮量(g)+下相溶液中总黄酮量(g)]×100%，得双水相萃取率平均值为94.46% (RSD=1.30%, n=3)。验证试验结果见表4。

表4 验证试验结果

Tab 4 Results of validation test

| 试验号 | 总黄酮提取率, % | 上相溶液中总黄酮量, g | 下相溶液中总黄酮量, g | 双水相萃取率, % |
|-----|-----------|--------------|--------------|-----------|
| 1 | 2.052 | 0.3078 | 0.0223 | 93.24 |
| 2 | 2.038 | 0.3057 | 0.0180 | 94.44 |
| 3 | 2.024 | 0.3036 | 0.0136 | 95.71 |

3 讨论

对于4因素的正交试验方差分析，一般有2种设计方案：一是采用L₁₆(4⁵)正交表设计试验，以其中极差值最小的列为空白列，以反映试验过程中误差的大小；另一种是采用L₉(3⁴)正交表设计试验，9个试验重复3次或以上，将误差降低到最小，以提高试验的准确度，分析4个因素对总黄酮提取率影响的显著性水平。本试验采用了第2种方案，每个试验均重复3次。

试验中硫酸铵质量浓度较高，因此必须先用蒸馏水溶解，如果成相后再溶解硫酸铵，则一部分水分子已经与乙醇互溶，可用于溶解硫酸铵的水分子量减少，导致无法完全将其溶解而致萃取体系的改变。总黄酮绝大部分萃取在上相，当硫酸铵质量浓度为0.40 g/ml、乙醇体积分数为70%时，粗提取液经微波处理后快速分为上下两相；当乙醇体积分数为80%、90%，或低于30%时，溶液始终不能分相。可见，硫酸铵质量浓度与乙醇体积分数需在一定范围内才能成相，但具体原因还待进一步研究。

温度的变化会影响硫酸铵的溶解度，从而影响双水相体系。试验中应等待溶液降为室温，双水相体系趋于稳定、总黄酮分配达到平衡后再用分液漏斗分液。

本试验实现了甘草总黄酮的同时提取与分离，且提取率和双水相萃取率均较高。此方法简化了工艺步骤，节省了成本，且条件温和，易于实现工艺放大，从而为甘草总黄酮的提取提供了一种新方法，对其他性质相似物的提取也有借鉴意义。

参考文献

- [1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典:一部[S]. 2010年版.北京:中国医药科技出版社,2010:80-81.
- [2] 马子娇,许颖,刘佳,等.甘草废渣中甘草黄酮提取工艺研究[J].中国实验方剂学杂志,2010,16(15):15.
- [3] 焦艳红,宋艳茹,高述民.药用甘草组织培养生产黄酮的研究进展[J].植物生理学报,2013,49(1):13.
- [4] 裴炜,李梦洁,柯艳娜,等.甘草黄酮的提取与检测方法研究进展[J].农产品加工:学刊,2014(5):38.
- [5] 巨建云,赵海霞.水提取法制备苦参配方颗粒的工艺研究[J].中药材,2009,32(10):1625.
- [6] 赵大云,杨丽娥,赵仪华,等.苜蓿多糖提取及测定方法的比较[J].上海交通大学学报:农业科学版,2004,22(3):256.
- [7] 杨阳,杨京霞,王荣,等.太和香椿总黄酮的提取及含量测定[J].生物学志,2011,28(1):91.
- [8] 李敬华,蔡为荣.超临界CO₂流体萃取香榧油的工艺优化[J].食品工业科技,2012,33(2):228.
- [9] 李建凤,廖立敏,王碧.超声波提取柠檬皮渣总黄酮研究[J].华中师范大学学报:自然科学版,2011,45(3):426.
- [10] 宫静静,王娟,沈平媛.微波辅助萃取技术在不同药用部位的工艺研究[J].中国中药杂志,2007,32(16):1641.

正交试验法优选染料木素固体分散体制备工艺

包琳琳*, 孟庆杰, 潘五九, 王伟明*(黑龙江省中医药科学院, 哈尔滨 150036)

中图分类号 R943 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2016)04-0528-03
DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2016.04.30

摘要 目的: 优选染料木素固体分散体的制备工艺。方法: 以45 min的累计溶出度和溶出50%所用的时间($t_{1/2}$)的综合评分为指标, 通过单因素试验和正交试验考察药载比(m/m)、熔融温度、搅拌时间、表面活性剂及过筛目数对染料木素固体分散体制备工艺的影响, 并进行验证试验。采用高效液相色谱法测定染料木素含量, 色谱条件为Diamonsil C₁₈色谱柱, 流动相为甲醇-0.05%磷酸(70:30), 检测波长为262 nm, 柱温为30 ℃, 进样量为10 μl。结果: 固体分散体的最优制备工艺为药载比1:9, 熔融温度75 ℃, 搅拌时间10 min, 过40目筛, 不加表面活性剂。按最优制备工艺所制的3批样品的 $t_{1/2}$ 分别为23.32、23.10、23.28 min, 累计溶出度分别为91.90%、89.63%、90.08%。结论: 优化的制备工艺可行, 成功制得染料木素固体分散体。

关键词 染料木素; 固体分散体; 正交试验; 制备工艺

Optimization of Preparation Process for Genistein Solid Dispersions by Orthogonal Test

BAO Linlin, MENG Qingjie, PAN Wujie, WANG Weiming (Heilongjiang Academy of TCM, Harbin 150036, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To optimize preparation process of Genistein solid dispersions. METHODS: With the cumulative dissolution for 45 min and the time of 50% dissolution ($t_{1/2}$) as index, single factor test and orthogonal test were used to investigate the effects of drugs and carrier ratio (m/m), melting temperature, mixing time, surfactants and mesh sieve on preparation process, and validated. The content of genistein was determined by HPLC. Chromatographic conditions were as follows as Diamonsil C₁₈ column, mobile phase consisted of methanol-0.05% phosphoric acid (70:30), detection wavelength 262 nm, column temperature 30 ℃, sample size 10 μl. RESULTS: Optimal preparation process was as follows as drugs and carrier ratio of 1:9, melting temperature 75 ℃, mixing time 10 min, mesh sieve 40, no active agent. $t_{1/2}$ of 3 batches of samples prepared by optimized preparation technology were 23.32, 23.10 and 23.28 min, and cumulative dissolution of them were 91.90%, 89.63% and 90.08%, respectively. CONCLUSIONS: Optimized preparation process is reliable, and Genistein solid dispersion is prepared successfully.

KEYWORDS Genistein; Solid dispersion; Orthogonal test; Preparation process

染料木素(Genistein, GEN)为异黄酮类化合物, 具有抗炎、镇痛、抗骨质疏松、降血脂、抗肿瘤等作用^[1-5], 与雌二醇具有相似的化学结构, 且有弱的雌激素样作用, 可代替雌二醇用于更年期综合征的治疗。但由于其难溶性, 使得GEN应用受到限制^[6]。固体分散技术可将药物高度分散于水溶性载体中, 用于提高难溶性药物的溶解度及溶出度^[7]。本研究应用固体分散

技术将GEN制备成GEN固体分散体(GSD), 以提高GEN的溶出度。笔者根据预试验结果, 通过单因素考察及正交试验进一步对GSD制备过程中的主要影响因素进行筛选, 最终确定GSD的最优制备工艺, 为GSD后续研究工作奠定了基础。

1 材料

1.1 仪器

- [11] 赵晨晨, 承伟, 王立冬. 微波辅助提取络石藤总黄酮的工艺研究[J]. 中草药, 2012, 43(4): 718.
- [12] 金时, 杨梅, 孔羽, 等. 木豆叶中黄酮微波提取工艺研究[J]. 中草药, 2011, 42(11): 2 235.
- [13] 彭胜, 彭密军, 黄美娥, 等. 双水相体系萃取分离杜仲黄酮[J]. 中药材, 2009, 32(11): 1 754.
- [14] 文赤夫, 向小奇, 曾卫湘, 等. 双水相体系萃取盐酸小檗碱[J]. 中药材, 2011, 34(10): 1 608.
- [15] 成明建, 陈小英, 黄齐慧. 正交试验优选双水相分配与超声提取集成法提取分离连钱草总黄酮的工艺[J]. 中国药房, 2010, 21(27): 2 532.
- [16] 郭永学, 王立红, 张大勇, 等. 乙醇/硫酸铵双水相体系从丹

- 参粗提液中分离丹酚酸B[J]. 化工学报, 2012, 63(6): 1 773.
- [17] 马春宏, 朱红, 王良, 等. 双水相萃取技术的应用研究进展[J]. 光谱实验室, 2010, 27(5): 1 906.
- [18] 谭平华, 林金清, 肖春妹, 等. 双水相萃取技术研究进展及应用[J]. 化工生产与技术, 2003, 10(1): 19.
- [19] 李艳芝, 付英杰, 于婷. 正交试验优选枸骨果实中总黄酮的提取工艺[J]. 中国药房, 2014, 25(3): 238.
- [20] 张艳军, 彭重威, 徐淑庆, 等. 银叶树叶中总黄酮提取工艺优化[J]. 中药材, 2012, 35(4): 638.
- [21] 杨斌, 胡福朝, 陈功锡. 微波提取槲蕨根茎中黄酮类物质的条件优化实验[J]. 中药材, 2009, 32(12): 1 907.
- [22] 白林山, 杨云, 吕丹丹. 微波辅助提取花生衣中总黄酮工艺研究[J]. 中药材, 2012, 35(6): 977.

* 硕士研究生。研究方向: 中药新药研究与开发。E-mail: linlin7055@163.com

通信作者: 研究员, 博士, 硕士生导师。研究方向: 中药剂型。电话: 0451-55665478。E-mail: zyyjy@163.com

(收稿日期: 2015-05-15 修回日期: 2015-07-06)

(编辑: 刘 萍)