

响应面法优化丁香叶总皂苷提取工艺

陈俭清,高凌飞,任涌志,盛尊来,姜岩,高利,李艳华*

(东北农业大学动物医学学院,黑龙江哈尔滨 150030)

摘要:采用响应面分析法对丁香叶总皂苷提取工艺进行优化。以总皂苷提取率为考察指标,在单因素实验基础上,采用响应面分析法对乙醇浓度、液料比、提取温度和提取时间进行优化。结果表明,乙醇回流提取总皂苷的最佳工艺条件为:乙醇浓度 82%、液料比 25:1 mL/g、提取温度 85 ℃、提取时间 116 min、提取次数 2 次,在此条件下总皂苷提取率为 (69.655 ± 0.0145) mg/g,与理论值仅相差 0.461 mg/g,表明此模型准确可靠,是提取丁香叶总皂苷的可行方法。

关键词:丁香叶,总皂苷,响应面,提取工艺

Optimization of extraction process of total saponins from *Syringa oblata* Lindl. leaves by response surface methodology

CHEN Jian-qing, GAO Ling-fei, REN Yong-zhi, SHEN Zun-lai, JIANG Yan, GAO Li, LI Yan-hua*

(College of Veterinary Medicine, Northeast Agricultural University, Harbin 150030, China)

Abstract: Total saponins extraction from *Syringa oblata* Lindl. leaves was performed using the ethanol reflux extraction. Response surface methodology (RSM), based on a three level, four variable Box-Behnken design (BBD), was employed to obtain the best possible combination of ethanol concentration, liqued/material ratio, extraction temperature and extraction time. The optimum extraction conditions were as follows: ethanol concentration of 82%, liqued/material ratio of 25:1 mL/g, extraction temperature of 85 ℃, extraction time of 116 min and extraction times of 2. Under these conditions, the experimental yield was (69.655 ± 0.0145) mg/g. The difference of extract rate between actual value and theoretical value was 0.461 mg/g, therefore the extraction process obtained by response surface methodology was stable and reasonable, accurate and reliable. It was a feasible method to extract the total saponins from *Syringa oblata* Lindl. leaves.

Key words: *Syringa oblata* Lindl. leaves; total saponins; response surface methodology (RSM); extraction process

中图分类号:TS201.1

文献标识码:B

文章编号:1002-0306(2016)10-0320-05

doi:10.13386/j.issn1002-0306.2016.10.057

丁香叶为木樨科(*Oleaceae*)丁香属(*Syringa*)紫丁香的干燥叶片。我国是丁香的栽培起源中心,种质资源丰富,丁香属植物约有 32 种,我国产 27 种,其中特有种 22 种,而欧洲仅产 2 种,亚洲其它国家和地区(如日本、朝鲜、尼泊尔、巴基斯坦、阿富汗等)产 4 种,美洲则完全没有。药用价值早为民间所认知,其水煎剂用于治疗暴火眼和痢疾。对丁香叶大量研究发现,其具有抗菌、抗病毒、清热、燥湿、抗氧化、解毒、消炎和麻醉等作用。通过对丁香叶化学成分进行研究发现,丁香叶含有多种活性成分,例如:有机酸类、挥发油、总黄酮、总酚酸和总皂苷等成分^[1-3],而目前对于丁香叶成分研究主要集中在前几种物质上,对总皂苷的研究较少。

皂苷类物质具有抗菌、抗氧化、免疫系统的双向调节、抗疲劳、抗癌、降血糖、抗艾滋病毒等药物活性,此外总皂苷还可以用于高级化妆品、化工原料和

食品添加剂中^[4-5]。丁香叶中含有丰富的皂苷类物质,而且与丁香叶的多种活性功能有关^[3]。为了使丁香叶更广泛的应用于功能性食品的开发,本实验在原有丁香叶总皂苷提取工艺研究基础上^[3],采用响应面(response surface methodology, RSM)分析法对丁香叶总皂苷的提取方法进行优化,优选出丁香叶总皂苷最佳提取方法和工艺^[6],旨为丁香叶的综合开发利用提供一定理论参考。

1 材料和方法

1.1 材料与仪器

丁香叶 采自东北农业大学校园内,经黑龙江省中医药大学李彦冰教授鉴定为丁香叶,采收期为 2013 年 9 月;齐墩果酸标准品 上海金穗生物科技有限公司(纯度 $\geq 98\%$);乙醇等试剂 均为分析纯试剂。

收稿日期:2015-07-21

作者简介:陈俭清(1982-),男,硕士,实验师,研究方向:动物药理学,E-mail:chen-jianqing@hotmail.com。

*通讯作者:李艳华(1970-),女,博士,教授,研究方向:病原微生物耐药性研究及新兽药研发,E-mail:Liyanhua1970@163.com。

基金项目:黑龙江省教育厅科学技术研究项目(12543021)。

UV-8000A 紫外分光光度计 上海市元析仪器有限公司;DH6000A 电热恒温水浴锅 天津市泰斯特仪器有限公司;CPA225D 分析天平 赛多利斯科学仪器(北京)有限公司;KQ3200E 型超声波清洗器 昆山市超声仪器有限公司。

1.2 实验方法

1.2.1 丁香叶总皂苷提取 将丁香叶叶片打碎,粗粉粒径过 2#药筛,不过 3#药筛,称取丁香叶粗粉 5.0 g,置 250 mL 圆底烧瓶中,乙醇回流法提取,提取液抽滤后,合并提取液,采用旋转蒸发仪浓缩,定容至 100 mL 容量瓶中,备用^[5]。

1.2.2 波长的选择 精密称取干燥至恒重的齐墩果酸标准品 11.04 mg 置于 25 mL 容量瓶中,加入甲醇 5 mL,超声处理 5 min,用甲醇定容至刻度,其浓度为 0.44 mg/mL,以其作为标准品储备液。吸取齐墩果酸标准品溶液 0.05 mL 及供试品溶液 1 mL 于 10 mL 具塞试管中,水浴挥干溶剂,精密加入新配制的 5% 香草醛-冰乙酸溶液 0.2 mL,高氯酸 0.8 mL,加塞,摇匀,于 60~65 ℃ 水浴中加热 15 min,取出,流水冷却至室温后,加入冰乙酸 5 mL,摇匀,在 450~900 nm 波长范围内扫描。确定测定波长^[3]。

1.2.3 标准曲线的制备 精密吸取齐墩果酸对照品溶液 0.10、0.15、0.20、0.25、0.30 mL 分别加入 5 支具塞试管中,即各试管中标准品浓度分别为 0.044、0.066、0.088、0.110、0.132 mg/mL,按照“1.2.2”项下操作,测定吸光度^[3]。

1.2.4 丁香叶总皂苷提取单因素实验 分别考察乙醇浓度、液料比、提取温度、提取时间和提取次数 5 个因子对丁香叶总皂苷提取率的影响^[6]。

1.2.4.1 乙醇浓度对丁香叶总皂苷提取率的影响 当提取温度 60 ℃、时间 1 h、液料比 20:1 (mL/g)、提取次数为 1 次时,考察 0、20%、40%、60%、80%、100% 的乙醇溶液对丁香叶总皂苷提取率的影响。

1.2.4.2 液料比对丁香叶总皂苷提取率的影响 当乙醇浓度 80%、提取时间 1 h、温度 60 ℃、提取次数为 1 次时,考察 20:1、25:1、30:1、35:1、40:1 的液料比对丁香叶总皂苷提取率的影响。

1.2.4.3 提取温度对丁香叶总皂苷提取率的影响 当乙醇浓度 80%、时间 1 h、液料比 30:1、取次数为 1 次时,考察 50、60、70、80、90、100 ℃ 的温度对丁香叶总皂苷提取率的影响。

1.2.4.4 提取时间对丁香叶总皂苷提取率的影响 当乙醇浓度 80%、温度 80 ℃、液料比 30:1、提取次数为 1 次时,考察 30、60、90、120、150、180 min 对丁香叶总皂苷提取率的影响。

1.2.4.5 提取次数对丁香叶总皂苷提取率的影响 当乙醇浓度 80%、提取时间 120 min、温度 80 ℃、液料比 30:1 时,考察提取次数 1、2、3、4 次对丁香叶总皂苷提取率的影响。

1.2.5 响应面实验设计 提取次数为 2 次时,总皂苷提取率较高,因此确定提取次数为 2 次的前提下,采用统计分析软件 Design-Expert 8.0.6,根据 Box-Behnken 的中心组合实验设计原理,基于单因素实验

结果,以乙醇浓度(A)、液料比(B)、提取温度(C)、提取时间(D)为自变量,丁香叶总皂苷提取率(Y)为响应值,采用四因素三水平的响应面分析法进行实验设计,因素水平设计见表 1^[6-13]。

表1 丁香叶总皂苷提取响应面
分析实验设计因素与水平表

水平	因素			
	A 乙醇浓度 (%)	B 液料比	C 提取温度 (℃)	D 提取时间 (min)
-1	60	25	70	90
0	80	30	80	120
1	100	35	90	150

1.2.6 总皂苷提取率的计算

总皂苷提取率(mg/g) = 提取液中有效成分的浓度 × 提取液的终体积/原药材的质量^[6]

1.3 数据处理

所有数据均为 3 次重复实验的平均值,单因素实验数据运用 Origin7.5 软件绘制趋势曲线图;响应面实验采用 Design-Expert 8.0.6 软件进行。

2 结果与分析

2.1 测定波长和标准曲线的确定

2.1.1 测定波长的确定 齐墩果酸对照品在 553 nm 处有最大吸收,样品溶液在 546 nm 处有最大吸收,但在 553 nm 处也有强吸收,故选择 553 nm 为测定波长。

2.1.2 标准曲线的确定 通过对标准品齐墩果酸的测定,得到吸光度与浓度的方程: $A = 4.9364C - 0.0436$, $r = 0.9996$,在 0.044~0.132 mg/mL 范围内齐墩果酸对照品显色后的吸光度与浓度呈良好线性关系。

2.2 单因素实验

2.2.1 乙醇浓度对丁香叶总皂苷提取率的影响 由图 1 可看出,随乙醇浓度的升高,总皂苷提取率呈现出先上升后下降的趋势,当乙醇浓度为 80% 时提取率最大,即 80% 乙醇有利于丁香叶中总皂苷类物质的溶出。将 80% 定为乙醇浓度优化的中心点。

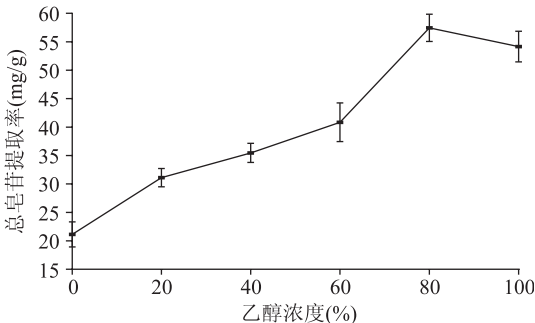


图1 乙醇浓度对总皂苷提取率实验的影响
Fig.1 Effects of ethanol concentration on total saponins extraction rate

2.2.2 液料比对丁香叶总皂苷提取率的影响 由图 2 可看出,随液料比增加,总皂苷提取率呈先升高后降低的趋势,当液料比为 30:1 时达到峰值。溶剂

的增加使物料与溶剂接触面积、溶剂传质推动力均增大,浓度梯度变大,有利于总皂苷的溶出,从而使其溶出速度和提取率变大。当液料比一定时,提取率最高,随着液料比继续增加,溶剂体积增加使得物料吸附溶剂的量也逐渐变大,从而导致总皂苷被物料吸附而不易溶出^[11]。将液料比 30:1 定为液料比优化的中心点。

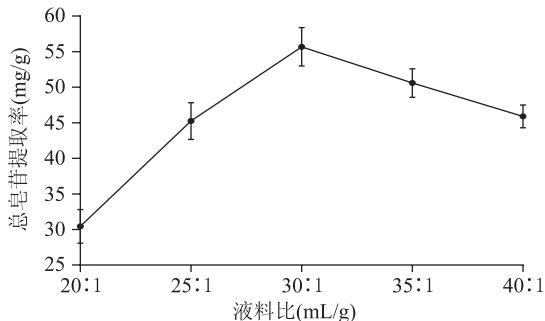


图2 液料比对总皂苷提取率的影响

Fig.2 Effect of liqued/material ratio on total saponins extraction rate

2.2.3 提取温度对丁香叶总皂苷提取率的影响 由图3可看出,随着温度升高总皂苷提取率也逐渐升高,这是由于温度升高有助于传质过程,使分子扩散运动激烈,加快溶质的扩散和溶剂的渗透,有利于总皂苷类物质的溶出。在 80 ℃ 时提取率最高,90 ℃ 时提取率下降,是由于该温度可能使部分结构不稳定的总皂苷类物质被破坏^[3,13]。因此将 80 ℃ 定为温度优化的中心点。

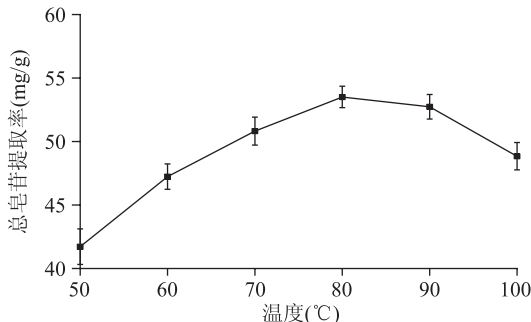


图3 提取温度对总皂苷提取率的影响

Fig.3 Effect of extraction temperature on total saponins extraction rate

2.2.4 提取时间对丁香叶总皂苷提取率的影响 由图4可看出,随着提取时间的延长,总皂苷提取率迅速上升,在 120 min 时提取率达到最高,随着提取时间延长,提取率开始下降,这可能是由于总皂苷类物质发生了氧化和降解等反应^[3,10,13]。将 120 min 定为提取时间的优化中心点。

2.2.5 提取次数对丁香叶总皂苷提取率的影响 由图5可看出,随着提取次数大于2次时,总皂苷的提取率没有发生明显的改变,而且提取次数越多,将会给浓缩带来影响,并造成大量人力、动力和溶剂等的浪费^[6]。因此提取次数的最佳工艺确定为2次。

2.3 丁香叶总皂苷提取工艺优化

2.3.1 数学模型的建立与检验 基于单因素实验,

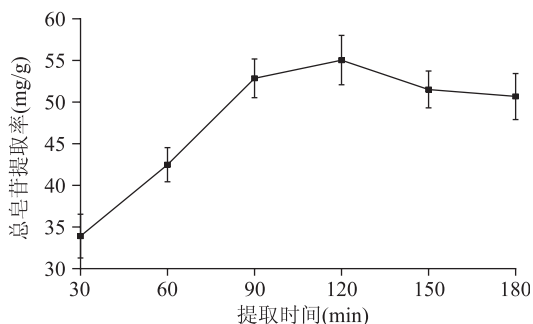


图4 提取时间对总皂苷提取率的影响

Fig.4 Effect of extraction time on total saponins extraction rate

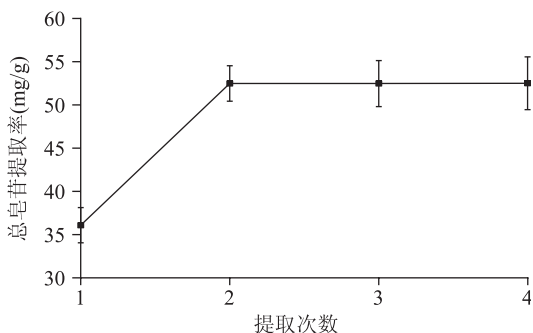


图5 提取次数对实验的影响

Fig.5 Effect of extracting times on total saponins extraction rate

采用响应面法对丁香叶总皂苷的提取工艺进行优化,以乙醇浓度(A)、液料比(B)、提取温度(C)和提取时间(D)为自变量,丁香叶总皂苷提取率(Y)为响应值,根据 Box-Behnken 的实验设计原理,得出丁香叶总皂苷提取率的四因素三水平的实验设计结果(见表2)。采用 Design expert8.0.6 统计分析软件,对表2数据进行了多元回归拟合,得下列函数关系:

$$Y = 66.76 + 1.45A - 1.2B + 0.39C - 2.05D + 0.97AB + 1.52AC + (2.500E-003)AD - 3.22BC + (5.000E-003)BD + 1.76CD - 6.47A^2 + 0.21B^2 - 3.72C^2 - 4.12D^2$$

对该模型进行显著性分析检验,得方差分析表(表3)。由表3可知,方程总模型和方程二次型 $p = 0.0107 < 0.05$,表明该模型显著,对丁香叶总皂苷提取率的影响显著;回归失拟项 $p = 0.0993 > 0.05$,表明未知因素对该实验的影响较小。除提取时间外,其余三个因子对总皂苷提取率的影响均不显著,由 F 值可得各因素对丁香叶总皂苷提取率的影响顺序为:提取时间 > 乙醇浓度 > 液料比 > 提取温度;其中交互项影响均不显著;二次项影响: B^2 影响不显著, C^2 影响显著, A^2 、 D^2 影响极显著。

2.3.2 丁香叶总皂苷提取工艺条件的优化 由该软件优化的最佳工艺条件为:乙醇浓度 81.84%、液料比 25.00:1、提取温度 84.70 ℃、提取时间 115.55 min、提取 2 次。考虑到实际操作,将以上理论组合校正为:乙醇浓度 82%、液料比 25:1、提取温度 85 ℃、提取时间 116 min、提取次数 2 次。进行 3 次验证实验,得到总皂苷提取率为 (69.655 ± 0.0145) mg/g,接近预测值 69.194 mg/g,表明该工艺优化合理。

表3 方差分析结果
Table 3 Analysis of variance for quadric regression modle

方差来源	平方和	自由度	均方	F 值	p 值	显著性
模型	551.43	14	39.39	3.65	0.0107	*
A	25.35	1	25.35	2.35	0.1479	
B	17.35	1	17.35	1.61	0.2257	
C	1.79	1	1.79	0.17	0.6898	
D	50.55	1	50.55	4.68	0.0483	*
AB	3.78	1	3.78	0.35	0.5635	
AC	9.24	1	9.24	0.86	0.3707	
AD	2.500E-005	1	2.500E-005	2.314E-006	0.9988	
BC	41.60	1	41.60	3.85	0.0699	
BD	1.000E-004	1	1.000E-004	9.255E-006	0.9976	
CD	12.46	1	12.46	1.15	0.3010	
A ²	271.33	1	271.33	25.11	0.0002	**
B ²	0.28	1	0.28	0.025	0.8754	
C ²	89.53	1	89.53	8.29	0.0121	*
D ²	110.05	1	110.05	10.18	0.0065	**
残差	151.27	14	10.80			
失拟项	137.32	10	13.73	3.94	0.0993	
纯误差	13.95	4	3.49			
总回归	702.70	28				

注：*：差异性显著 $p < 0.05$ ，**：差异性极显著 $p < 0.01$ 。

表2 丁香叶总皂苷提取响应面实验设计及结果
Table 2 Process variables and levels in response surface design arrangement and experimental response values

实验号	A	B	C	D	Y:提取率(mg/g)
1	0	0	0	0	68.73
2	0	0	0	0	65.54
3	0	-1	-1	0	61.54
4	0	-1	0	1	64.92
5	1	0	-1	0	53.29
6	0	0	-1	1	53.27
7	-1	0	1	0	55.22
8	0	0	0	0	65.77
9	0	1	-1	0	68.28
10	0	1	0	1	56.55
11	1	0	0	1	56.24
12	0	0	0	0	64.94
13	0	-1	0	-1	67.55
14	0	0	0	0	68.83
15	0	1	1	0	61.25
16	-1	0	0	-1	58.85
17	0	0	1	1	56.02
18	1	-1	0	0	62.19
19	1	0	0	-1	58.49
20	1	0	1	0	60.01
21	0	1	0	-1	59.16
22	0	0	1	-1	59.93
23	-1	-1	0	0	56.81
24	-1	0	-1	0	54.58
25	-1	0	0	1	56.59
26	0	-1	1	0	67.41
27	1	1	0	0	65.01
28	-1	1	0	0	55.74
29	0	0	-1	-1	64.24

3 结论

将响应面分析法用于丁香叶总皂苷提取工艺参数优化,确定的最佳提取工艺为:乙醇浓度 82%、液料比 25:1、提取温度 85 ℃、提取时间 116 min、提取 2 次。在此条件下丁香叶总皂苷提取率为 (69.655 ± 0.0145) mg/g,与理论值接近,表明此优化工艺可为进一步开发功能性食品提供可靠依据。

参考文献

[1] 李博,朱俊访.丁香叶中所含有效成分的种类及药理作用研究进展[J].黑龙江医药,2009,22(4):510-511.
[2] 孙强,郭永霞.丁香叶中总黄酮提取工艺及数学模拟[J].中国医院药学杂志,2013,33(14):1145-1149.
[3] 郝婷婷,严铭铭,郭婷婷,等.紫丁香叶中总皂苷提取工艺的研究[J].时珍国医国药,2008,19(6):1424-1425.
[4] Blasa M, Candiracci M, Accorsi A, et al. Honey flavonoids as protection agents against oxidative damage to human red blood cells[J].Food Chemistry,2007,104(4):1635-1640.
[5] 张华林,李中,周中流,等.三七叶总皂苷对抑郁大鼠脑内单胺及神经因子的影响[J].现代食品科技,2015,32(1):1-11.
[6] 吴燕,盛尊来,高凌飞,等.响应面法优化丁香叶总酚酸提取工艺[J].食品工业科技,2015,36(2):286-290.
[7] 国蓉,李剑君,国亮,等.采用响应曲面法优化甘草饮片甘草酸的超声提取工艺[J].西北农林科技大学学报:自然科学版,2006,34(9):187-192.
[8] 国蓉,李剑君,国亮,等.采用响应曲面法优化甘草饮片甘草酸的超声提取工艺[J].西北农林科技大学学报:自然科学版,2006,34(9):187-192.

(下转第 328 页)

- [2] Schwenk, Nancy E. Food Trends [J]. Family Economics Review, 1991, 4: 3-16.
- [3] 新疆维吾尔自治区统计局国家统计局. 新疆维吾尔自治区 2013 年国民经济和社会发展统计公报 [R]. 乌鲁木齐统计年鉴, 2014.
- [4] Xianqin Yang, Mohamed K Youssef, Colin O Gill. Effects of meat pH on growth of 11 species of psychrotolerant clostridia on vacuum packaged beef and blown pack spoilage of the product [J]. Food Microbiology, 2014, 39: 13-18.
- [5] Yuemei Zhang, Qian Li, Dongping Li, et al. Changes in the microbial communities of air-packaged and vacuum-packaged common carp (Cyprinus carpio) stored at 4 °C [J]. Food Microbiology, 2015, 52: 197-204.
- [6] Jasson V, Jacxsens L, Luning P, et al. Alternative microbial methods: an overview and selection criteria [J]. Food Microbiology, 2010, 27: 710-730.
- [7] Ercolini D, Russo F, Torrieri E, et al. Changes in the spoiler-related microbiota of beef during refrigerated storage under different packaging conditions [J]. Applied and Environmental Microbiology, 2006, 72(7): 4663-4671.
- [8] Fontana C, Cocconcelli P S, Vignolo G, et al. Direct molecular approach to monitoring bacterial colonization on vacuum-packaged beef [J]. Applied and Environmental Microbiology, 2006, 72: 5618-5622.
- [9] GB/T 9695.5-2008 中华人民共和国国家标准. 肉与肉制品 pH 测定 [S].
- [10] GB 4789.2-2010 食品微生物学检验 菌落总数测定 [S].
- [11] Vitor Rezende, Costa Aguiar Melissa, Freitas Cordeiro-Silva Alex Assis, et al. Comparison of DGGE and immuno histochemistry in the detection of TP53 variants in a Brazilian sample of sporadic breast tumors [J]. Mol Biol Rep, 2011, 38: 3351-3354.
- [12] Shanquan Wang, Jianzhong He. Two-step denaturing gradient gelelectrophoresis (2S-DGGE), a gel-based strategy to capture full-length 16S rRNA gene sequences [J]. Appl Microbiol

(上接第 319 页)

- Journal of Chromatography B, 2011, 879(11-12): 721-726.
- [13] Kalaivani S, Regupathi I. Partitioning studies of α -lactalbumin in environmental friendly poly(ethylene glycol)-citrate salt aqueous two phase systems [J]. Bioprocess Biosyst Eng, 2013, 36(10): 1475-1483.
- [14] Albertsson P A. Partition of Cell Particles and Macromolecules [M]. New York: Wiley Press, 1986.

(上接第 323 页)

- [9] 李富华, 夏春燕, 刘燕妮, 等. 响应面法优化蜂胶黄酮提取工艺及其抗氧化活性研究 [J]. 食品工业科技, 2012, 33(20): 226-230.
- [10] 张百霞, 郭庆梅, 王真真, 等. 响应曲面法优化金银花总酚酸提取工艺 [J]. 中成药, 2013, 35(10): 2144-2148.
- [11] 刘荣华, 陈石生, 任刚, 等. 星点设计-效应面法优化白茅

Biotechnol, 2012, 95: 1305-1312.

- [13] R K Barakat, M W Griffiths, L J Harris. Isolation and characterization of Carnobacterium, Lactococcus, and Enterococcus spp. from cooked, modified atmosphere packaged, refrigerated, poultry meat [J]. International Journal of Food Microbiology, 2000, 62: 83-94.
- [14] Vasileios pothakos, Cindy snauwaert, Paul De Vos, et al. Psychrotrophic members of Leuconostoc gasicomitatum, Leuconostoc gelidum and Lactococcus piscium dominate at the end of shelf-life in packaged and chilled-stored food products in Belgium [J]. Food Microbiology, 2014, 39: 61-67.
- [15] Fan Zhao, Guanghong Zhou, Keping Ye, et al. Microbial changes in vacuum-packed chilled pork during storage [J]. Meat Science, 2015, 100: 145-149.
- [16] Gill C O. Spoilage factors affecting [J]. Encyclopaedia of Meat Science, 2004: 1324-1330.
- [17] Immonen K, Puolanne E. Variation of residual glycogen-glucose concentration at ultimate pH values below 5.75 [J]. Meat Sci, 2000, 55: 279-283.
- [18] Shcherbakova V A, Chuvilskaia N A, Rivkina E M. Novel psychrophilic anaerobic spore-forming bacterium from the overcooled water brine in permafrost: description Clostridium algariphilum sp. Nov. [J]. Extremophiles, 2005, 9: 239-246.
- [19] Vijay K, Juneja Vasco Cadavez, Ursula Gonzales-Barron, et al. Modelling the effect of pH, Sodium chloride and sodium pyrophosphate on the thermal resistance of *Escherichia coli* O157: H7 in ground beef [J]. Food Research International, 2015, 69: 289-304.
- [10] Nychas, Skandamis, Tassou. Meat spoilage during distribution [J]. Meat Science, 2008, 78: 77-89.
- [21] Jones R J, Hussein H M, Zagorec M, et al. Isolation of lactic acid bacteria with inhibitory activity against pathogens and spoilage organisms associated with fresh meat [J]. Food Microbiol, 2008, 25: 228-234.

- [15] Mokhtarani B, Karimzadeh R, Amin M H, et al. Partitioning of Ciprofloxacin in aqueous two-phase system of poly(ethylene glycol) and sodium sulphate [J]. Biochemical Engineering Journal, 2008, 38(2): 241-247.
- [16] Sadeghi R. Measurement and correlation of phase equilibria for several PVP + salt aqueous two-phase systems at 303.15 K [J]. Fluid Phase Equilibria, 2005, 237(1-2): 40-47.

根总酚酸提取工艺 [J]. 中成药, 2011, 33(7): 1149-1153.

- [12] 任凤莲, 谷芳芳, 吴梅林, 等. 利用响应面分析法优化山楂中总黄酮提取条件 [J]. 天然产物研究与开发, 2006, 18(1): 126.
- [13] 李健, 张令文, 刘宁, 等. 苦瓜总皂苷提取工艺的研究 [J]. 食品工业科技, 2005, 26(10): 117-119.