

费菜总黄酮分离纯化工艺的研究

胡 月,王鸿飞*,刘 飞,许 凤,邵兴锋,李和生

(宁波大学食品科学与工程系,浙江宁波 315211)

摘 要:本文采用了 AB-8 大孔吸附树脂对费菜总黄酮进行分离纯化,利用静态和动态吸附洗脱结合的方法,以 AB-8 大孔树脂的吸附率和解析率为指标考察了 pH、洗脱剂浓度、洗脱时间、吸附流速、洗脱流速、洗脱剂用量、洗脱蒸馏水用量等对费菜总黄酮的分离纯化效果及影响因素。结果表明费菜总黄酮分离纯化的适宜工艺条件:吸附液 pH 为 5.0、洗脱剂为 80% 乙醇、洗脱时间 24h、吸附流速 1~2mL/min、洗脱流速 2mL/min、洗脱剂用量 80mL、洗脱蒸馏水用量 100mL。在该条件下,AB-8 大孔树脂的饱和吸附量为 11mg/g、静态吸附率 68.3%、解析率 94.5%、费菜总黄酮纯度 47.98%。

关键词:费菜,总黄酮,大孔吸附树脂,分离纯化

Separation and purification process of total flavonoids from *Sedum aizoon* leaves

HU Yue, WANG Hong-fei*, LIU Fei, XU Feng, SHAO Xing-feng, LI He-sheng

(Department of Food Science and Engineering, Ningbo University, Ningbo 315211, China)

Abstract: A method for the purification of total flavonoids from *Sedum aizoon* with AB-8 types of macroreticular adsorbents was studied by using combining static adsorption with elution and dynamic adsorption with elution. The adsorption and desorption rate of AB-8 types of macroreticular adsorbents were calculated to determine the effectiveness, and influence factors of separation and purification of total flavonoids with the effects of pH value, elution ethanol concentration, elution time, the adsorption current velocity, the desorption current velocity, the eluant volume, the distilled water of elution volume. Its optimum separation and purification process conditions were determined as follows: the pH value of extracts was 5.0, 80% alcohol as the eluent, 24h as elution time, 80mL volume as the eluant volume and 100mL volume as the distilled water of elution, the adsorption current velocity as 1~2mL/min and the desorption current velocity as 2mL/min. Under the conditions, the static adsorption capacity of AB-8 type of macroreticular adsorbent was 11mg/g and the static adsorption rate was 68.3% while the desorption rate was 94.5%.

Key words: *Sedum aizoon*; total flavonoids; macroreticular adsorbents; separation and purification

中图分类号: TS255.1

文献标识码: B

文章编号: 1002-0306(2014)17-0213-05

doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2014.17.038

费菜(*Sedum aizoon* L.)景天科景天属,多年生肉质草本植物,主产于四川、湖北、浙江、江苏、山东等地。功效类三七,故别名景天三七、养心草、救心菜、土人参等^[1-2]。费菜有扩张动脉血管,兴奋心脏,解毒、降压、镇静、活血止血、安静定气等作用^[3],被称为善治心血管病的费菜。近些年来,费菜中主要含有黄酮类、生物碱、甾醇等活性成分。黄酮类物质具有保护人体心脑血管,促进血液循环的功效,对人类肿瘤、心血管等疾病的预防和治疗具有重要意义^[4-5]。

目前,对于费菜中总黄酮的分离纯化工艺的系统研究还比较少见,因此为了开发利用费菜资源,本

文根据文献报道,采用 AB-8 大孔吸附树脂对费菜叶总黄酮进行分离纯化。大孔树脂具有选择性好、理化性质较稳定、对提取物污染小等优点,且其易于提取,相对于其他分离技术,该方法效率高、稳定性好及容易再生,因而近几年多种植物的黄酮类化合物的分离纯化中被广泛应用^[6-7]。

本实验分别选用静态实验和动态实验考察大孔树脂对费菜总黄酮分离纯化的效果以及影响因素,研究探讨费菜叶总黄酮分离纯化的最佳工艺条件和最佳影响因素,以期对费菜叶总黄酮在生产中最有效的开发利用提供一定的理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

费菜 全草均采自江苏沛县野生蔬菜研究所张寨示范园,采用统一干燥方法加工制样,避免背景干扰;所用试剂无水乙醇、浓盐酸、氢氧化钠、结晶三氯

收稿日期: 2014-01-13 * 通讯联系人

作者简介: 胡月(1990-),女,硕士生,研究方向:食品科学。

基金项目: 国家自然科学基金(31301574);宁波市自然科学基金(2013A610159);宁波大学学科项目(xk11344);宁波大学人才引进项目(ZX2012000031)。

化铝 均为分析纯;对照品芦丁 纯度大于 95%;AB-8型大孔吸附树脂 天津南开大学化工厂。

Cary 50 Scan 紫外分光光度计 美国瓦里安技术有限公司;Orion 420A⁺ 酸度计 美国 Thermo 公司;DKY-II 恒温调速回转式摇床 上海杜科自动化设备有限公司;SB3200D 型超声波清洗机 宁波新芝生物科技股份有限公司;WK-200B 型高速药物粉碎机 山东青州市精诚机械有限公司。

1.2 实验方法

1.2.1 大孔树脂的预处理 将树脂用 95% 乙醇溶液浸泡 24h,使其充分溶胀后用湿法装柱,再用 95% 乙醇洗脱,检查乙醇流出液,至乙醇-水(1:1)流出液不呈白色混浊为止,后再用大量蒸馏水洗至无醇味。再进行酸碱处理,加入 4% 盐酸溶液浸泡 12h,用蒸馏水洗至中性,再加入 4% 氢氧化钠溶液浸泡 12h,后用蒸馏水洗至中性,取出树脂备用。

1.2.2 费菜总黄酮上柱样品液的制备 费菜烘干粉碎过 80 目筛后,用 $L_9(3^4)$ 正交设计筛选出的乙醇超声波提取费菜黄酮的最佳水平组合工艺:即采用超声时间 50min,90% 乙醇溶液,料液比 1:50,乙醇浸提 pH9,浸提温度 60℃,浸提 6h,制得费菜总黄酮提取液(0.9mg/mL)冷藏备用^[8]。

1.2.3 费菜总黄酮含量测定

1.2.3.1 对照品溶液的制备 精密称取 24.4mg 芦丁置于 100mL 容量瓶中,加 30% 乙醇稍加热溶解,冷却并稀释至刻度,摇匀,即得。

1.2.3.2 标准曲线制备 分别吸取 0、0.2、0.4、0.5、0.6、0.8、1.0mL 于 10mL 比色管中,再加入 2% 的 $AlCl_3$ 溶液 1mL,用 30% 乙醇溶液定容,静置 20min,于 275nm 波长处测定各浓度吸光度,绘制标准曲线,计算回归方程。

1.2.4 AB-8 大孔树脂静态吸附解吸实验

1.2.4.1 静态吸附量、吸附率和解析率的测定 准确称取已处理的树脂 2g 于 150mL 锥形瓶中,精密加入 40mL 费菜总黄酮提取液,置于 25℃ 恒温振荡器中振荡 24h(120r/min),待其充分吸附后,按 1.2.3 紫外分光光度法测定溶液中费菜总黄酮的浓度。按下式计算 AB-8 大孔树脂的吸附量和吸附率:

$$Q = (C_0 - C_r) \times V / m \quad (1)$$

$$P = (C_0 - C_r) \times 100\% / C_0 \quad (2)$$

式中:Q 为吸附量(mg/g); C_0 为吸附前费菜总黄酮浓度(mg/mL); C_r 为吸附后浓度(mg/mL);V 为费菜总黄酮溶液体积(mL);m 为树脂质量(g);P 为吸附率(%);

取充分吸附后的树脂抽滤,再用蒸馏水洗去残液,精密加入 40mL 的 70% 乙醇溶液,置于 25℃ 的恒温振荡器中以 120r/min 振荡 24h,按 1.2.3 紫外分光光度法测定溶液中费菜总黄酮的浓度。按下式计算 AB-8 大孔树脂的解析率:

$$D = C_d \times V_d \times 100\% / Q \times m \quad (3)$$

式中:D 为解析率(%); C_d 为解析液中总黄酮浓度(mg/mL); V_d 为解析液体积。

1.2.4.2 pH 对 AB-8 大孔树脂吸附量的影响 准确

称取已处理好树脂各 6 份,每份 2g 于 150mL 锥形瓶中,精密加入 pH 为 3、4、5、6、7、8 费菜总黄酮溶液,置于 25℃ 的恒温振荡器中以 120r/min 振荡 24h,使其充分吸附,吸取其上清液测定费菜总黄酮浓度,按 1.2.4.1 中的(1)式计算吸附量。

1.2.4.3 洗脱剂浓度对解析率的影响 准确称取已处理好树脂各 5 份,每份 2g 于 150mL 锥形瓶中,精密加入 40mL 费菜总黄酮溶液,pH 为 5,置于 25℃ 恒温振荡器中以 120r/min 振荡 24h,使其达到饱和吸附,将树脂抽滤后,对应加入 50%、60%、70%、80%、90% 的乙醇溶液 40mL,再将其置于 25℃ 恒温振荡器中以 120r/min 振荡 24h,待其充分洗脱后取上层液测定费菜总黄酮浓度,按 1.2.4.1 中的公式(3)计算解析率。

1.2.4.4 洗脱时间对解析率的影响 准确称取已处理好树脂各 5 份,每份 2g 于 150mL 锥形瓶中,精密加入 40mL 费菜总黄酮溶液,置于 25℃ 恒温振荡器中以 120r/min 振荡 24h,使其达到饱和吸附,将树脂抽滤后,加入 80% 乙醇溶液 40mL,再将其置于 25℃ 恒温振荡器中振荡,每隔一段时间测定其上层液中费菜总黄酮的浓度,按 1.2.4.1 中的公式(3)计算其解析率。

1.2.4.5 树脂对费菜总黄酮的静态吸附动力学曲线

准确称取已处理树脂 2g 于 150mL 锥形瓶中,精密加入费菜总黄酮提取液 40mL 于 25℃ 恒温振荡器中以 120r/min 振荡 24h,每隔一定时间取吸附余液测定其总黄酮浓度,绘制费菜总黄酮静态吸附动力学曲线。

1.2.5 AB-8 大孔树脂的动态吸附和洗脱性能实验

1.2.5.1 吸附流速对动态吸附性能的影响 准确称取已处理好树脂各 3 份,湿法装入 10×200 mm 色层分析柱中,将 0.35mg/mL 费菜总黄酮溶液以 1、2、3mL/min 的体积流量进行动态吸附,收集流出液中费菜总黄酮浓度(以原液浓度 10% 的流出液总黄酮浓度为泄漏点)。

1.2.5.2 洗脱流速对树脂动态解析性能的影响 准确称取已处理好树脂各 3 份,湿法装入 10×200 mm 色层分析柱中,将 0.35mg/mL 费菜总黄酮溶液以 1mL/min 的体积流量进行动态吸附,以 2mL/min 的速度用蒸馏水洗脱至无色。以 1.2.4.3 中已确定的 80% 乙醇溶液为洗脱剂,分别以 1、2、3mL/min 的体积流量进行吸附,考察对动态吸附性能的影响。

1.2.5.3 洗脱剂用量的确定 取 5g 经预处理的 AB-8 大孔树脂湿法装柱,以 1mL/min 的速度上样,用 2mL/min 的蒸馏水洗脱。再以 3mL/min 的速度,用 80% 乙醇溶液进行洗脱,分步收集洗脱液,测定费菜总黄酮浓度以浓度为零和洗脱液无色为终点,绘制洗脱曲线,确定最佳用量。

1.2.5.4 洗脱蒸馏水用量的确定 取 5g 经预处理的 AB-8 大孔树脂湿法装柱,以 1mL/min 的速度上样,用 2mL/min 的蒸馏水洗脱。分步收集洗脱液,绘制洗脱曲线,确定蒸馏水最佳用量。

1.2.5.5 树脂对费菜总黄酮的动态吸附动力学曲线 取 5g 经预处理的 AB-8 大孔树脂湿法装柱,以

1mL/min 的速度将一定量浓度的 0.37mg/mL 的费菜总黄酮溶液上样,分段收集,每 5min 收集一份,测定其中费菜总黄酮浓度,绘制动态吸附曲线。

2 结果与分析

2.1 标准曲线绘制

根据 1.2.3.2 中的芦丁标准曲线制备方法,绘制标准曲线,计算回归方程:

$$Y = 38.631X + 0.0016 (R^2 = 0.9999)$$

其中 X 为费菜总黄酮浓度, Y 为吸光度。

所得标准曲线如图 1 所示:

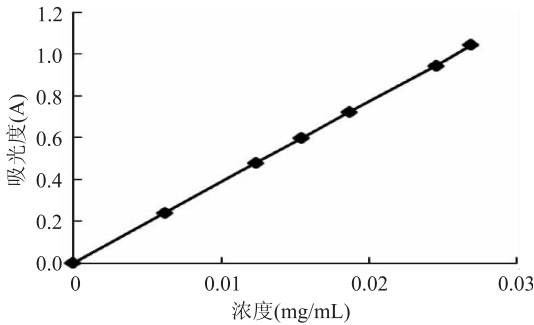


图 1 芦丁标准曲线

Fig.1 Standard curve of rutin

2.2 AB-8 大孔树脂对费菜总黄酮静态吸附解吸优化

2.2.1 pH 对 AB-8 大孔树脂吸附量的影响 不同 pH 条件下 AB-8 树脂对费菜总黄酮的吸附程度不同。由图 2 可知, pH 为 5 时费菜总黄酮的吸附率可达到最大值, 吸附效果好, 因为黄酮类物质为多羟基酚类, 在弱酸或者酸性条件下有较好的吸附效果。如图所示, 当 pH 大于 5 时, 随 pH 增加, 吸附量下降。

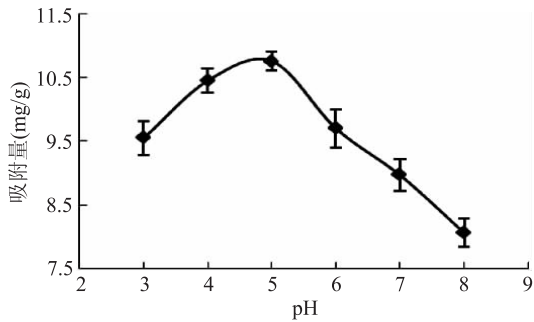


图 2 样品 pH 对总黄酮吸附量的影响

Fig.2 Effects of the sample pH on the adsorption of the resin

2.2.2 洗脱剂浓度对解析率的影响 由图 3 可知: 随着乙醇浓度的升高, 费菜黄酮解析率也逐渐增大, 但当乙醇浓度大于 80% 时, 解析率逐渐减小, 说明费菜黄酮已洗脱完全, 所以 80% 乙醇为最佳洗脱剂浓度。

2.2.3 洗脱时间对解析率的影响 由图 4 可知: 解析率随着时间的延长不断升高, 达到 20h 后, 解析率达到较高值且增加缓慢, 到 24h 时已达到 95%, 说明洗脱 24h 后使得费菜黄酮基本洗脱完, 可以确定洗脱时间为 24h。

2.2.4 静态吸附动力学曲线 由图 5 可以看出, 大孔树脂对费菜总黄酮的吸附量随着时间的增加而增

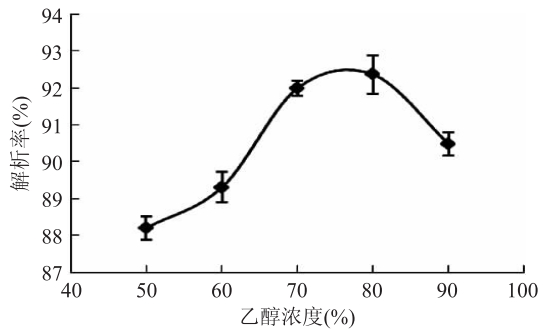


图 3 乙醇浓度对解析率的影响

Fig.3 Effects of ethanol concentration on the desorption ratio

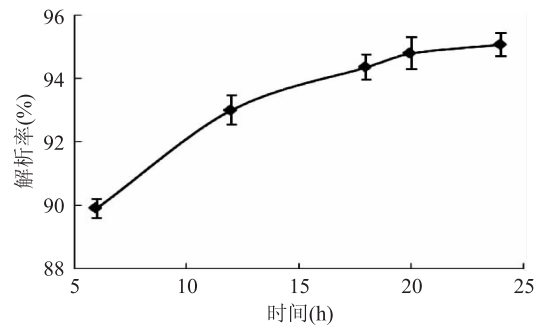


图 4 洗脱时间对解析率的影响

Fig.4 Effects of time on the desorption ratio

加, 当吸附时间达到 24h 后, 吸附量不再增加, 趋于平缓, 说明 AB-8 大孔树脂对费菜总黄酮的吸附量已经达到饱和, 而当吸附时间达到 6h 时, 吸附量已增加缓慢, 所以, 从生产成本这个角度, 6h 为最适宜的饱和吸附时间。

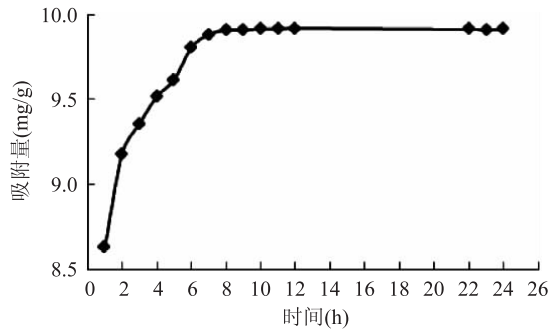


图 5 静态吸附动力学曲线

Fig.5 Changes of adsorption capacity of resin along with the time

2.3 AB-8 大孔树脂的动态吸附和洗脱性能优化

2.3.1 吸附流速的确定 从图 6 可以看出, 以 1、2、3mL/min 的吸附流速, 当流出液中总黄酮浓度为原液浓度的 10% 时, 时间分别是 15、10、7min; 当流速增大时, 提取液中的黄酮分子会与树脂接触不充分^[8], 导致吸附量较低, 所以流速越小时黄酮与树脂可以接触越充分, 而吸附流速太小, 会导致经济与时间的浪费, 循环周期延长。因此, 选择吸附流速为 1~2mL/min 为宜。

2.3.2 洗脱流速的确定 从图 7 可以看出, 洗脱流速为 3mL/min 时洗脱效果最好, 得到的峰形最窄, 峰值

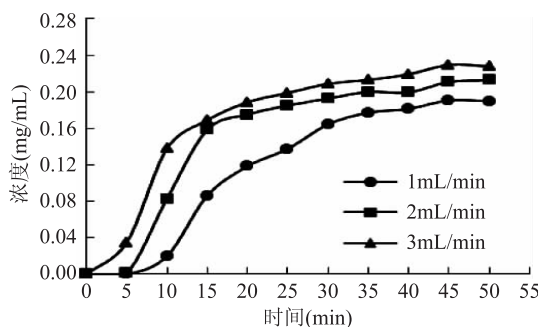


图6 吸附流速对树脂动态吸附的影响

Fig.6 Effects of velocities of the sample on the dynamic adsorption of resin

最高,2mL/min 次之,洗脱效果较好,而 1mL/min 得到的峰形最宽,峰值最低。但是当洗脱流速越快时,洗脱剂与树脂的接触就越不充分,所以选择洗脱流速为 2mL/min 较适宜。

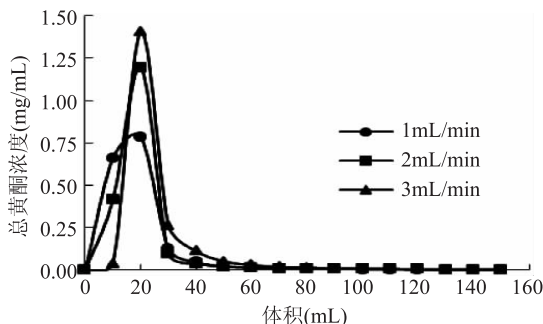


图7 洗脱流速对解析性能的影响

Fig.7 Effects of velocities of the elute on the efficient of desorption

2.3.3 洗脱剂用量的确定 图8表明,以80%乙醇为洗脱剂时,用量为20mL的费菜总黄酮浓度最高,超过20mL后浓度逐步降低,到100mL后洗脱液澄清至无色,费菜总黄酮浓度为零。当洗脱剂用量过多时,不仅造成洗脱剂的浪费,而且大大增加洗脱时间。但是当洗脱剂用量过少又会影响到生产循环周期。所以,以洗脱剂体积计,最佳用量为80%乙醇,2mL/min 流速,80mL 为最佳用量。

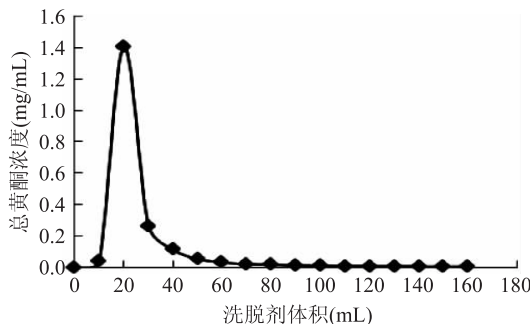


图8 洗脱剂体积的确定

Fig.8 Determination of the volume of the eluent

2.3.4 洗脱蒸馏水用量的确定 蒸馏水以 2mL/min 的流速洗脱,蒸馏水可以洗去多余杂质^[9]。由图9可知,当蒸馏水用量为 20mL 时,洗脱液中费菜总黄酮的浓度最高,说明大部分的费菜总黄酮残余液已经

被洗去。为了将残余液洗脱尽,蒸馏水用量为 150mL 为宜,但是蒸馏水用量过多,会对已吸附的费菜黄酮造成损失,所以选择蒸馏水用量 100mL 为最佳。

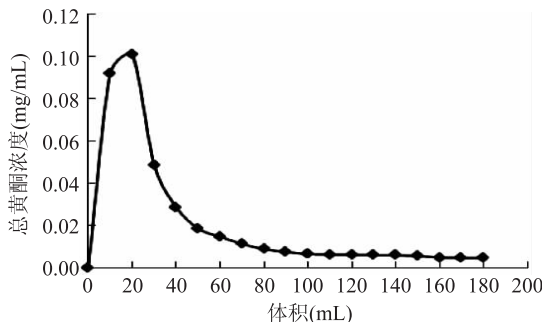


图9 蒸馏水体积的确定

Fig.9 Determination of the volume of distilled water

2.3.5 AB-8 大孔树脂对费菜总黄酮的动态吸附动力学曲线 从图10可知,AB-8 大孔树脂对费菜总黄酮的吸附随着时间的延长,费菜总黄酮浓度逐步增长,约15~20min 时流出液浓度可达到原液浓度的10%,20min 后到40min 之间费菜总黄酮浓度增长迅速,120min 之后树脂吸附基本平衡,流出液中总黄酮浓度变化缓慢。以上结果表明,AB-8 大孔树脂对费菜总黄酮的吸附动力学效果良好,选择该树脂作为本文实验树脂较适合。

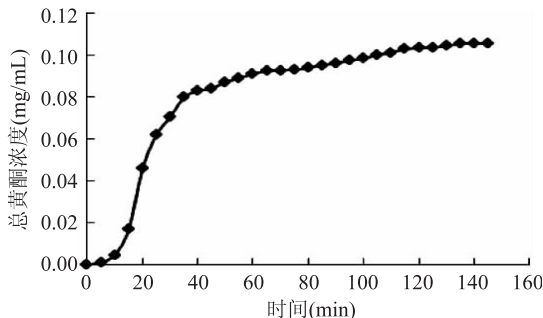


图10 动态吸附曲线

Fig.10 The curve of the dynamic adsorption of resin

2.4 费菜总黄酮分离纯化前后结果

收集解析液,利用旋转蒸发仪回收乙醇得到浓缩液,将浓缩液真空冷冻干燥得到费菜总黄酮干粉。称量一定量的干粉用30%乙醇定容,按照紫外分光光度法测定费菜总黄酮的含量,计算得到费菜总黄酮的纯度为47.98%。

3 结论

AB-8 大孔树脂属于极性树脂,黄酮类化合物因其具有酚羟基以及糖苷键等极性结构^[10],所以费菜总黄酮的分离纯化适宜采用 AB-8 大孔树脂。

本实验也表明,AB-8 大孔树脂对费菜总黄酮有较好的静态吸附-洗脱效果,饱和吸附量为 11mg/g,吸附率为 68.3%,解析率为 94.5%。

目前,尚未报道费菜总黄酮分离纯化的最优工艺。本研究采用 AB-8 大孔树脂对费菜总黄酮进行分离纯化,得到最佳的纯化工艺为上样液 pH5.0 洗脱

(下转第 221 页)

- a dry fermented sausage (Sobrassada) [J]. *Drying technology*, 2012, 30(2): 146–153.
- [6] McCleary B V, DeVries J W, Rader J I, *et al.* Determination of insoluble, soluble, and total dietary fiber by enzymatic–gravimetric method and liquid chromatography: collaborative study [J]. *Journal of AOAC International*, 2012, 95(3): 824–844.
- [7] Yu W J, Chang C C, Kuo T F, *et al.* *Toona sinensis* Roem leaf extracts improve antioxidant activity in the liver of rats under oxidative stress [J]. *Food and Chemical Toxicology*, 2012, 50(6): 1860–1865.
- [8] 王昌禄, 江慎华, 陈志强, 等. 香椿叶中活性物质提取及其抗氧化活性的研究 [J]. *农业工程学报*, 2007, 23(10): 229–234.
- [9] 何丹. 8 个种源香椿的营养动态变化分析 [D]. 武汉: 华中农业大学, 2006.
- [10] 刘静, 李湘利, 马义红, 等. 水提法制备香椿叶水溶性膳

- 食纤维工艺的优化 [J]. *食品工业*, 2013, 34(5): 108–110.
- [11] 吴晖, 侯萍, 李晓凤, 等. 不同原料中膳食纤维的提取及其特性研究进展 [J]. *现代食品科技*, 2008, 24(1): 91–95.
- [12] 陈钧辉, 李俊, 张冬梅, 等. *生物化学实验* [M]. 北京: 科学出版社, 2008.
- [13] Rupérez P, Saura – Calixto F. Dietary fiber and physicochemical properties of edible Spanish seaweeds [J]. *European Food Research and Technology*, 2001, 212: 349–354.
- [14] 牟建楼, 王颖, 孙剑锋. 响应面法优化纤维素酶提取苹果渣中水溶性膳食纤维 [J]. *食品科学*, 2012, 33(8): 95–98.
- [15] 谢显华, 李国基. 响应面法研究脱脂豆粕渣膳食纤维提取工艺 [J]. *食品工业科技*, 2010, 31(2): 220–223.
- [16] 景言, 迟玉杰. 豆渣可溶性膳食纤维酶法制备工艺及其品质分析 [J]. *食品与发酵工业*, 2012, 38(8): 68–72.
- [17] 毛慧君, 文良娟, 李英军, 等. 发酵法从西番莲果渣中制备膳食纤维的研究 [J]. *食品科学*, 2010, 31(3): 193–197.

(上接第 212 页)

3 结论

本研究是在单因素实验结果基础上, 利用响应面法优化鲁氏接合酵母产 MAP 酶条件, 通过对实验结果进行方差分析可知, 本实验中对 MAP 酶浓度的影响程度大小依次为盐浓度 > 时间 > 温度。研究结果表明鲁氏接合酵母产 MAP 酶最佳培养条件为温度 27℃、盐浓度 9.2%, 培养时间 80h, 此培养条件下鲁氏接合酵母 MAP 酶的浓度为 3.189ng/mL。

参考文献

- [1] Tena G, Asai T, Chiu W L, *et al.* Plant Mitogen – activated protein kinase signaling cascades [J]. *Current opinion. Plant Biology*, 2001, 74: 392–400.
- [2] Davis R. Signal transduction by the JNK group of MAP kinase [J]. *Cell*, 2000, 103: 239–252.
- [3] Madhani H D, Fink G R. The riddle of MAP kinase signaling specificity [J]. *Trends Genet*, 1998, 14: 151–155.
- [4] Jonak C. Complexity, cross talk and integration of plant MAP kinase signaling [J]. *Current Opinion Plant Biology*, 2002, 5: 415–424.

(上接第 216 页)

剂浓度 80% 乙醇, 洗脱时间 24h, 上样流速 1mL/min, 吸附流速 1~2mL/min, 洗脱流速 2mL/min, 吸附时间 120min, 洗脱用蒸馏水体积 100mL, 洗脱剂用量 80mL。所以本实验对 AB-8 大孔树脂分离纯化费菜总黄酮进行了系统的工艺研究, 所优选的纯化工艺较合理、可行, 以期为费菜总黄酮的工业化奠定理论基础。

参考文献

- [1] 国家中医药管理局《中华本草》编委会. 中华本草 (第 3 册) [M]. 上海: 上海科学技术出版社, 1999: 765–766.
- [2] 张晶晶, 王晶, 薛娇, 等. 费菜茎叶的化学成分 [J]. *沈阳药科大学学报*, 2010, 27(8): 635–638.
- [3] 孟飞, 罗霄, 巩江, 等. 费菜药学研究概况 [J]. *辽宁中医药大学学报*, 2010, 12(8): 31–33.

- [5] Murooka Y, Yamshita M. Traditional healthful fermented products of Japan [J]. *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology*, 2008(35): 791–798.
- [6] Kataoka S. Functional effects of Japanese style fermented soy sauce (Shoyu) and its components [J]. *Journal of Bioscience and Bioengineering*, 2005(100): 227–234.
- [7] Ohata M, Kohama K, Morimitsu Y, *et al.* The formation mechanism by yeast of the 2 (or 5) – ethyl 5 (or 2) – methyl – 4 – hydroxy – 3 (2H) – furanone in Miso [J]. *Biosci Biotech Biochem*, 2007, 71: 407–413.
- [8] Majumder A, Bhandari S, Purama R K, *et al.* Enhanced production of a novel dextran from *Leuconostoc mesenteroides* NRRL B – 640 by response surface methodology [J]. *Ann Microbiol*, 2009, 59(2): 309–315.
- [9] 韩学易, 唐自钟, 胡玉龙, 等. 响应面优化巨大芽孢杆菌产纤维素酶发酵条件 [J]. *四川农业大学学报*, 2013, 31(3): 319–321.
- [10] 张大皓, 谭天伟. 响应面实验设计优化脂肪酶发酵培养基 [J]. *北京化工大学学报*, 2006, 33(2): 41–44.

- [4] 刘晔峰, 马峥嵘, 吴晓琴, 等. 养心草的有效成分及功能性化合物研究进展 [J]. *中华中医药杂志*, 2012, 27(8): 2135–2138.
- [5] 睢玉祥, 张家铭, 穆楠, 等. 翅果油树叶总黄酮分离纯化工艺的研究 [J]. *植物研究*, 2010, 30(3): 373–378.
- [6] 梁平, 赖凤英, 金鑫. 利用大孔树脂提取食用仙人掌黄酮 [J]. *生物活性物质的分离与提纯*, 2005, 31(3): 133–135.
- [7] 于智峰, 王敏. 大孔树脂在黄酮类化合物分离中的应用 [J]. *中药材*, 2006, 29(12): 1380–1384.
- [8] 刘飞, 王鸿飞, 林燕, 等. 费菜总黄酮提取工艺的研究 [J]. *食品工业科技*, 2011, 32(4): 252–257.
- [9] 于智峰, 王敏, 金颖. 大孔吸附树脂对苦荞黄酮吸附分离特性研究 [J]. *食品研究与开发*, 2006(11): 1–5.
- [10] 郁建生, 郁建平. 大孔吸附树脂分离纯化野菊花总黄酮 [J]. *中国中药杂志*, 2007, 32(20): 2123–2127.