

Box-Behnken设计-响应面法优化芡实中总维生素E的提取工艺研究^Δ

王红^{1,2*}, 吴启南^{2#}, 崔永伟¹, 伍城颖², 沈蓓², 樊修和²(1.南京市溧水区中医院药剂科, 南京 211200; 2.南京中医药大学药学院, 南京 210023)

中图分类号 R927.2; R932 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2019)11-1497-05

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2019.11.12

摘要 目的:优化芡实中总维生素E的提取工艺。方法:以芡实总维生素E提取量为考察指标,提取时间、提取次数、超声功率、粉碎度为考察因素,采用单因素试验和Box-Behnken设计-响应面法优化芡实总维生素E的提取工艺,并进行3次(芡实用量分别为2.0、20.0、40.0 g)验证试验。结果:芡实中维生素E的最佳提取工艺参数为提取时间80 min,提取次数3次,超声功率240 W,粉碎度80目。在验证试验中,总维生素E的提取量分别为2.063、2.103、2.085 mg/g(RSD分别为2.6%、1.5%、1.3%, $n=3$),与预测值(2.092 mg/g)的相对误差分别为0.14%、0.53%、0.33%。结论:优化的提取工艺的方法合理、稳定、可行,可用于芡实中总维生素E的提取。

关键词 芡实; 维生素E; 优化; 提取工艺; Box-Behnken设计-响应面法

Study on Optimization of the Extraction Technology of Total Vitamin E in *Euryale ferox* by Box-Behnken Design-response Surface Methodology

WANG Hong^{1,2}, WU Qinan², CUI Yongwei¹, WU Chengying², SHEN Bei², FAN Xiuhe²(1.Dept. of Pharmacy, Nanjing Lishui District Hospital of TCM, Nanjing 211200, China; 2.College of Pharmacy, Nanjing University of TCM, Nanjing 210023, China)

- injury induced by aerosolized endotoxin in mice[J]. *Vascular Pharmacol*, 2006, 45(2):134-140.
- [11] SCHMITTGEN TD, LIVAK KJ. Analyzing real-time PCR data by the comparative C (T) method[J]. *Nat Protoc*, 2008, 3(6):1101-1108.
- [12] HUXFORD T, MALEK S, GHOSH G. Structure and mechanism in NF- κ B/I κ B signaling[J]. *Cold Spring Harb Symp Quant Biol*, 1999.DOI:10.1101/sqb.1999.64.533.
- [13] BERKOWITZ B, HUANGD B, CHENPARK FE, et al. The x-ray crystal structure of the NF- κ B p50.p65 heterodimer bound to the interferon beta-kappa B site[J]. *J Biol Chem*, 2002, 277(27):24694-24700.
- [14] ZHANG MY, JI XF, WANG S, et al. Shen-fu injection attenuates postresuscitation lung injury in a porcine model of cardiac arrest[J]. *Resuscitation*, 2012, 83(9):1152-1158.
- [15] JI XF, YANG L, ZHANG MY, et al. Shen-fu injection attenuates postresuscitation myocardial dysfunction in a porcine model of cardiac arrest[J]. *Shock*, 2011, 35(5):530-536.
- [16] GU W, LI C, YIN W, et al. Shen-fu injection reduces postresuscitation myocardial dysfunction in a porcine model of cardiac arrest by modulating apoptosis[J]. *Shock*, 2012, 38(3):301-306.
- [17] AI YH, PENG L, ZHANG LN. Protective effect of Shenfu injection on endotoxin induced acute lung injury[J]. *Chinese Journal of Critical Care Medicine*, 2006, 26(4):285-286.
- [18] 李劲松, 陈继军, 朱涛, 等. 参附注射液联合利奈唑胺治疗耐甲氧西林金黄色葡萄球菌重症肺炎的临床观察[J]. *中国药房*, 2017, 28(20):2800-2803.
- [19] LIANG Y, LI X, ZHANG X, et al. Elevated levels of plasma TNF- α are associated with microvascular endothelial dysfunction in patients with sepsis through activating the NF- κ B and p38 mitogen-activated protein kinase in endothelial cells[J]. *Shock*, 2014, 41(4):275-281.
- [20] DAS S, BABICK AP, XU YJ, et al. TNF-alpha-mediated signal transduction pathway is a major determinant of apoptosis in dilated cardiomyopathy[J]. *J Cell Mol Med*, 2010, 14(7):1988-1997.
- [21] 王文珊, 傅冷西, 叶君健. TNF- α 信号传导通路的研究进展[J]. *福建医科大学学报*, 2005, 39(1):27-31.

Δ 基金项目: 国家科技支撑计划课题(No.2011BAI04B06)

* 中药师, 硕士。研究方向: 中药品质评价。电话: 025-57211712。E-mail: wanghong198942@126.com

通信作者: 教授, 博士生导师, 博士。研究方向: 中药资源生产与品质评价。电话: 025-85811507。E-mail: qnwyjs@163.com

(收稿日期: 2018-10-26 修回日期: 2019-02-16)

(编辑: 唐晓莲)

ABSTRACT OBJECTIVE: To optimize the extraction technology of total vitamin E in *Euryale ferox*. METHODS: With the extraction amount of total vitamin E as reference index, using extraction time, extraction times, ultrasound power and comminution degree as reference factors, single factor test and Box-Behnken design-response surface methodology was used to optimize the extraction technology of total vitamin E from *E. ferox*. The validation tests were conducted for 3 times (the amounts of *E. ferox* were 2.0, 20.0, 40.0 g). RESULTS: The optimal extraction technology of vitamin E included that extraction time of 80 min, extraction times of 3 times, ultrasound power of 240 W, comminution degree of 80 mesh. In validation test, extraction rates of total vitamin E were 2.063, 2.103, 2.085 mg/g (RSD=2.6%, 1.5%, 1.3%, $n=3$), the relative errors of which to predicted value (2.092 mg/g) were 0.14%, 0.53% and 0.33%, respectively. CONCLUSIONS: The optimal extraction technology is reasonable, stable and feasible, and can be used for the extraction of total vitamin E in *E. ferox*.

KEYWORDS *Euryale ferox*; Vitamin E; Optimization; Extraction technology; Box-Behnken design-response surface methodology

芡实为睡莲科芡属一年水生草本植物芡(*Euryale ferox* Salisb.)的干燥成熟种仁,具有养血安神、益肾固精、补脾止泻、祛湿止带的功效^[1-2]。在2007年,李美红等^[3]从芡实中分离纯化了不同构型的生育酚(α 、 β 、 γ 、 δ -生育酚)类物质。生育酚又名维生素E,其中 α -生育酚是自然界分布最为广泛、含量最多且活性最高的维生素E的存在形式^[4],作为细胞内的抗氧化剂^[5],其在促进性激素分泌、增强免疫功能、对抗自由基氧化等过程中扮演着重要的角色,同时也是芡实中医功效物质基础之一^[6-7]。Box-Behnken设计-响应面法是一种优化工艺条件的有效方法,已被广泛地用于多因素的试验优化^[8-11]。本文使用超声辅助法,以无水乙醇为提取剂,采用高效液相色谱法测定芡实中总维生素E的含量^[12],通过单因素试验考察提取时间、提取次数、超声功率、粉碎度对芡实中总维生素E提取量的影响,再利用Box-Behnken设计-响应面法优化其提取工艺条件,为后续芡实脂溶性成分的功效与物质基础研究提供试验依据,也为芡实中总维生素E的资源开发与利用提供参考。

1 材料

1.1 仪器

Waters 2695 高效液相色谱仪,配有高精度四元梯度泵、三极管阵列检测器(PDA)、Empower 色谱工作站(美国 Waters 公司);KH300SP 超声波提取设备(昆山禾创超声仪器有限公司);R-205 旋转蒸发器(瑞士步琪有限公司);SHZ-D(III)循环式真空泵(巩义市英峪予华仪器厂);BT125 千分之一电子天平(德国赛多利斯科学仪器有限公司);SAGA-10TY 实验室级超纯水器(南京易普易达科技发展有限公司)。

1.2 药品与试剂

芡实药材采自扬州高邮湖,经南京中医药大学吴启南教授鉴定为真品; α -生育酚(批号:120961,纯度:99%)、 β -生育酚(批号:120894,纯度:99%)、 δ -生育酚(批号:121052,纯度:99%)对照品均购自美国 Sigma 公司;抗坏血酸粉末(国药集团化学试剂有限公司,批号:F20100108,试验中防止维生素E氧化);甲醇为色谱纯,无水乙醇为分析纯,水为自制超纯水。

2 方法与结果

2.1 芡实中总维生素E的提取

参考相关文献方法^[10],取干燥的芡实药材,打粉过80目筛;称取一定量的芡实粉末,置于锥形瓶中,依次加入无水乙醇、抗坏血酸溶液(质量浓度为0.05 g/mL),超声(频率:40 kHz,功率:240 W)提取,过滤,滤液转入球形蒸发瓶,于旋转蒸发器上减压回收溶剂,得总维生素E干浸膏。

2.2 芡实中总维生素E的含量测定

总维生素E量以 α -生育酚、 β -生育酚、 δ -生育酚的总和计。

2.2.1 色谱条件 色谱柱为 Waters XBridge C₁₈ (150 mm×4.6 mm, 5 μ m);流动相为甲醇-水溶液(97:3, V/V);检测波长为295 nm;柱温为30 $^{\circ}$ C;流速为1 mL/min;进样量为10 μ L。

2.2.2 溶液的制备 (1)混合对照品溶液的制备:分别精密称取12、5.6、0.96 mg的 α -生育酚、 β -生育酚、 δ -生育酚对照品,至10 mL量瓶中,加甲醇溶解并稀释至刻度,摇匀,即得 α -生育酚、 β -生育酚、 δ -生育酚质量浓度分别为1.2、0.56、0.096 mg/mL的混合对照品溶液。(2)供试品溶液的制备:取“2.1”项下制备的干浸膏适量,用甲醇溶解并定容至10 mL量瓶中,摇匀,0.45 μ m微孔滤膜过滤,即得。

2.2.3 专属性考察 取“2.2.2”项下混合对照品溶液和供试品溶液,按“2.2.1”项下色谱条件进样测定,记录色谱图。结果, α -生育酚与 β -生育酚、 β -生育酚与 δ -生育酚的分离度均>1.5,以 α -生育酚峰计理论板数均>2 000。色谱图见图1。

2.2.4 线性关系、检测限及定量限考察 分别精密吸取“2.2.2”项下混合对照品溶液0、100、200、500、800 μ L至1 mL量瓶中,甲醇定容,取10 μ L按“2.2.1”项下色谱条件进样测定,记录峰面积。以 α -生育酚、 β -生育酚、 δ -生育酚的峰面积为纵坐标(y)、质量浓度为横坐标(x)进行线性回归,得 α -生育酚、 β -生育酚、 δ -生育酚的线性回归方程及线性范围。另取“2.2.2”项下混合对照品溶液适量,倍比稀释,按“2.2.1”项下色谱条件进样测定,记录峰

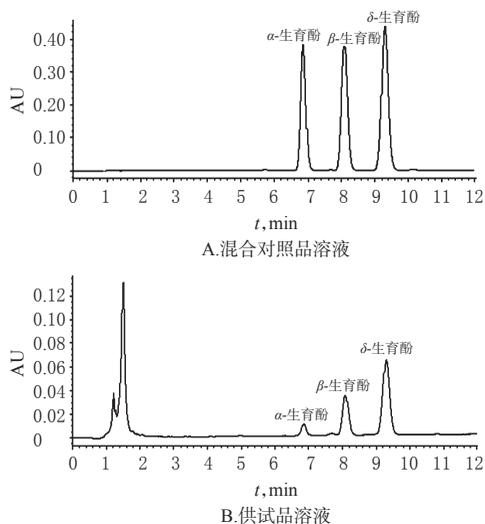


图1 高效液相色谱图
Fig 1 HPLC chromatograms

面积。当信噪比为3:1时得检测限,当信噪比为10:1时得定量限。 α -生育酚、 β -生育酚、 δ -生育酚的回归方程、线性范围、检测限及定量限见表1。

表1 α -生育酚、 β -生育酚、 δ -生育酚的回归方程、线性范围、检测限及定量限

Tab 1 Regression equation, linear range, detection limit and quantification limit of α -tocopherol, β -tocopherol and δ -tocopherol

成分	回归方程	线性范围,mg/mL	r	检测限, μ g/mL	定量限, μ g/mL
α -生育酚	$y=3 \times 10^4 x + 32\ 864$	0.120~1.200	0.999 6	0.327	1.2
β -生育酚	$y=5 \times 10^4 x + 16\ 733$	0.056~0.560	0.999 8	0.155	0.56
δ -生育酚	$y=4 \times 10^4 x - 2\ 430.5$	0.009~0.096	0.999 9	0.025	0.096

2.2.5 精密度、重复性、稳定性和加样回收率试验 将 α -生育酚、 β -生育酚、 δ -生育酚对照品按相关方法进行提取。结果,在精密度试验中, α -生育酚、 β -生育酚、 δ -生育酚峰面积的RSD分别为1.53%、1.88%、2.06% ($n=6$),表明该方法精密度良好;在重复性试验中, α -生育酚、 β -生育酚、 δ -生育酚峰面积的RSD分别为2.05%、1.64%、2.18% ($n=6$),表明该方法的重复性良好;在稳定性试验中,24 h内 α -生育酚、 β -生育酚、 δ -生育酚峰面积的RSD分别为1.36%、2.42%、1.73% ($n=6$),表明供试品溶液在24 h内稳定;加样回收率试验中, α -生育酚、 β -生育酚、 δ -生育酚的平均加样回收率分别为98.23%、101.75%、104.32%,RSD分别为1.62%、2.41%、1.55% ($n=9$)。

2.3 单因素试验筛选芡实中总维生素E提取工艺

在对芡实中总维生素E的提取过程中,药材的提取时间、提取次数、超声功率、粉碎度等因素对提取率有着重要的影响^[13-17]。因此在本试验中,选择上述因素进行考察。

2.3.1 提取时间 称取60目芡实粉末6份,每份2 g,置于100 mL具塞锥形瓶中,依次加入60 mL无水乙醇,10 mL抗坏血酸,在超声功率为240 W的条件下提取1次,考察不同提取时间(10、20、30、60、120、180 min)对芡实

中总维生素E提取量的影响。结果,随着提取时间的增加,芡实中总维生素E提取量先呈上升趋势,当提取时间为60 min时,总维生素E提取量最高(1.644 mg/g),再增加提取时间总维生素E提取量呈下降趋势,由此确定芡实中总维生素E超声提取时间为60 min,详见图2A。

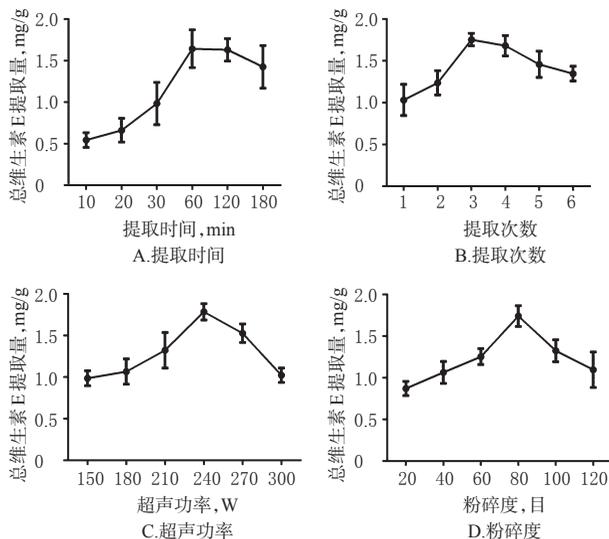


图2 各因素对芡实中总维生素E提取量的影响

Fig 2 Effects of each factor on the extraction amount of total vitamin E in *E. ferox*

2.3.2 提取次数 称取60目芡实粉末6份,每份2 g,置于100 mL具塞锥形瓶中,依次加入60 mL无水乙醇,10 mL抗坏血酸,提取时间为60 min,超声功率为240 W的条件下分别提取1、2、3、4、5、6次,考察不同提取次数对芡实中总维生素E提取量的影响。结果,随着超声提取次数的增加,芡实中总维生素E提取量先呈上升趋势,当提取次数为3次时,总维生素E提取量最高(1.754 mg/g),再增加提取次数总维生素E提取量呈下降趋势,由此确定芡实中总维生素E超声提取次数为3次,详见图2B。

2.3.3 超声功率 称取60目芡实粉末6份,每份2 g,置于100 mL具塞锥形瓶中,依次加入60 mL无水乙醇,10 mL抗坏血酸,提取时间为60 min,分别以超声功率150、180、210、240、270、300 W提取1次,考察不同超声功率对芡实中总维生素E提取量的影响。结果,随着超声功率的增加,芡实中总维生素E提取量先呈上升趋势,当超声功率达到240 W时,总维生素E提取量最高(1.786 mg/g),再提高超声功率总维生素E提取量呈下降趋势,由此确定芡实中总维生素E超声的功率为240 W,详见图2C。

2.3.4 粉碎度 称取芡实过筛20、40、60、80、100、120目粉末各1份,每份2 g,置于100 mL具塞锥形瓶中,依次加入60 mL无水乙醇,10 mL抗坏血酸,超声功率为240 W,提取时间为60 min,考察不同粉碎度对对芡实中总维生素E提取量影响。结果,随着粉碎度的增加,芡实中总维生素E提取量呈上升趋势,当粉碎度达到80目,

总维生素E提取量最高(1.742 mg/g),再提高粉碎度,总维生素E提取量呈下降趋势,由此确定芡实中总维生素E的粉碎度为80目,详见图2D。

2.4 Box-Behnken设计-响应面法优化芡实中总维生素E的提取工艺

2.4.1 试验设计 以提取时间(X_1)、提取次数(X_2)、超声功率(X_3)、粉碎度(X_4)为自变量(X_i),总维生素E提取量(Y)作为响应值,采用中心试验设计方案,在4因素3水平的基础上,运用响应面法优化芡实总维生素E的最佳提取工艺,因素与水平见表2,试验设计与结果见表3。

表2 因素与水平

Tab 2 Factors and levels

水平	因素			
	X_1 (提取时间),min	X_2 (提取次数)	X_3 (超声功率),W	X_4 (粉碎度),目
-1	30	2	210	60
0	60	3	240	80
1	120	4	270	100

表3 试验设计与结果

Tab 3 Design and results of tests

试验号	X_1 ,min	X_2 ,次	X_3 ,W	X_4 ,目	Y ,mg/g
1	1	0	0	1	1.206 7
2	1	0	1	0	1.113 2
3	1	-1	0	0	0.897 5
4	0	0	-1	-1	0.641 3
5	-1	1	0	0	1.293 8
6	0	-1	-1	0	0.782 1
7	0	0	0	0	2.045 2
8	-1	-1	0	0	0.699 6
9	1	1	0	0	1.781 8
10	1	0	-1	0	1.423 3
11	1	0	0	-1	1.209 7
12	0	1	1	0	1.669 1
13	-1	0	0	-1	0.892 4
14	0	0	1	1	1.324 2
15	0	1	-1	0	1.598 1
16	0	0	-1	1	1.097 6
17	-1	0	0	1	0.982 4
18	0	0	0	0	1.965 3
19	0	0	0	0	2.137 6
20	-1	0	-1	0	1.145 7
21	-1	0	1	0	1.232 6
22	0	1	0	-1	1.646 1
23	0	-1	0	1	1.098 9
24	0	0	1	-1	1.231 2
25	0	-1	0	-1	0.789 2
26	0	0	0	0	1.957 8
27	0	-1	1	0	1.357 6
28	0	0	0	0	2.096 7
29	0	1	0	1	1.758 6

2.4.2 模型建立与方差分析 采用 Design-Expert V 8.0.6 软件进行结果统计并分析处理相关数据,得到二次多项回归方程 $Y=2.04+0.12X_1+0.34X_2+0.10X_3+0.088X_4+0.073X_1X_2-0.099X_1X_3-0.023X_1X_4-0.13X_2X_3-0.049X_2X_4-0.091X_3X_4-0.49X_1^2-0.30X_2^2-0.40X_3^2-0.49X_4^2$ ($R^2=0.952 5$)。方差分析结果见表4。

由表4可知,该模型的 $P<0.000 1$,表明虚拟模型显

表4 方差分析结果

Tab 4 Results of variance analysis

方差来源	平方和	自由度	均方	F	P	显著性
模型	5.06	14	0.36	13.81	<0.000 1	显著
X_1	0.16	1	0.16	6.11	0.026 9	显著
X_2	1.42	1	1.42	54.09	<0.000 1	显著
X_3	0.13	1	0.13	4.89	0.044 1	显著
X_4	0.093	1	0.093	3.57	0.079 9	不显著
X_1X_2	0.021	1	0.021	0.80	0.385 2	不显著
X_1X_3	0.039	1	0.039	1.50	0.240 1	不显著
X_1X_4	0.002	1	0.002	0.08	0.778 0	不显著
X_2X_3	0.064	1	0.064	2.43	0.141 3	不显著
X_2X_4	0.010	1	0.010	0.37	0.552 0	不显著
X_3X_4	0.033	1	0.033	1.26	0.280 5	不显著
X_1^2	1.55	1	1.55	59.11	<0.000 1	显著
X_2^2	0.59	1	0.59	22.56	0.000 3	显著
X_3^2	1.02	1	1.02	38.91	<0.000 1	显著
X_4^2	1.55	1	1.55	59.12	<0.000 1	显著
残差	0.37	14	0.026			
失拟项	0.34	10	0.034	5.44	0.058 5	不显著
纯误差	0.025	4	0.006			
总误差	5.43	28				

著,具有统计学意义;提取次数、提取时间、超声功率对芡实总维生素E提取量的影响显著,各因素的二次项系数也均对芡实中总维生素E提取量的影响显著;交互项 X_1X_2 、 X_1X_3 、 X_1X_4 、 X_2X_3 、 X_2X_4 、 X_3X_4 对芡实中总维生素E含量的影响不显著,各因素对芡实中总维生素E提取量影响的大小顺序依次为 $X_2>X_1>X_3>X_4$ 。

2.4.3 响应面分析 利用 Design-Expert V 8.0.6 软件分析,得出影响芡实中总维生素E提取量的各因素交互作用的相应响应面图,各因素对芡实中总维生素E提取量的影响见图3。

由图3可知,提取时间与超声功率之间、提取时间与粉碎度之间、超声功率与粉碎度之间的交互作用增强,但还未达到显著水平,而提取次数与提取时间之间、提取次数与超声功率之间、提取次数与粉碎度之间的交互作用不显著,总维生素E的提取量随着提取时间、超声功率、粉碎度三者之间的交互作用呈现由低到高再到低的趋势。因此,在适合的提取时间、超声功率、粉碎度下,总维生素E的提取量会出现极大值,且应位于响应面的顶部。由 Design-Expert V 8.0.6 软件分析得出:在稳定状态下芡实中总维生素E提取量的最大值为 2.153 mg/g,相对应的提取时间为 80.49 min、提取次数为 3.54 次、超声功率为 242.69 W、粉碎度为 80.44 目。以实际操作的方便考虑,将其修正为提取时间 80 min、提取次数 3 次、超声功率 240 W、粉碎度 80 目。

2.4.4 验证试验 根据优化提取工艺,分别取芡实药材 2、20、40 g 进行 3 次平行试验,结果,总维生素E的提取量分别为 2.063、2.103、2.085 mg/g (RSD 分别为 2.6%、1.5%、1.3%, $n=3$),与预测值 2.092 mg/g 的相对误差分别为 0.14%、0.53%、0.33%,提示 3 次验证试验的总维生素E提取量差异较小,说明该工艺稳定可靠。

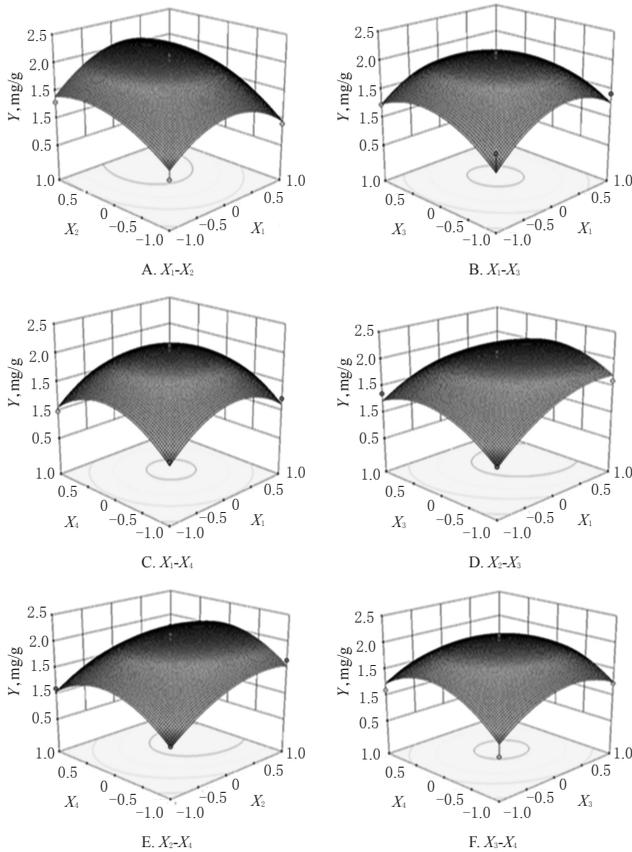


图3 各因素与芡实中总维生素E提取量之间的响应面图

Fig 3 Response surface plots for each factors on the extraction amount of total vitamin E in *E. ferox*

3 讨论

中药芡实的化学成分多样,但由于其含有大量淀粉,加大了分离芡实药效成分的难度。为了优化芡实总维生素E的提取工艺,笔者通过预试验,先后考察了提取方法、提取溶剂的种类、提取次数、提取时间、超声功率、粉碎度等对芡实中总维生素E提取量的影响。在提取方法方面,笔者比较了回流法、超声法与索氏提取法,结果超声法提取效果最好,操作简单;随后,又考察了以石油醚、无水乙醇、80%乙醇、乙酸乙酯、正丁醇、甲醛等为溶剂对提取量的影响,结果以无水乙醇为溶剂提取效果最好。综合考虑,提取时间、提取次数、超声功率、粉碎度对芡实中总维生素E提取量的影响较大,故选择这4个因素对其提取工艺进行优化。

本研究结果显示,随着提取时间的延长,总维生素E的提取量先上升后下降,推测其原因可以与其易氧化有关,导致维生素E的化学结构被破坏,提取量降低;随着超声功率变大,总维生素E的提取量不断增加,但过强的超声功率会破坏芡实中维生素E的结构,故维生素E的提取率随超声功率的增强呈先上升后下降的趋势;粒度过粗的芡实粉末由于与溶剂的接触面积小,提取效率低,粒度过细的芡实粉末使得分子与分子间的吸附作用

增强,故随着芡实粉碎度的增加,维生素E的提取量也是呈先上升后下降的趋势。

综上所述,本文通过Box-Behnken设计-响应面法成功优化了芡实中总维生素E的提取工艺,且优化后的提取工艺合理可行,可为芡实中总维生素E的开发与利用提供参考。

参考文献

- [1] 关克俭.中国植物志:第27卷[M].北京:科学出版社,1979:6-9.
- [2] 国家药典委员会.中华人民共和国药典:一部[S].2015年版.北京:中国医药科技出版社,2015:151.
- [3] 李美红,杨雪琼,万直剑,等.芡实的化学成分[J].中国天然药物,2006,5(1):24-26.
- [4] 袁明雪,黄象男,韩绍印,等.天然维生素E的研究进展[J].生物学杂志,2008,25(3):13-15.
- [5] 刘成梅,冯妹元,刘伟,等.天然维生素E及其抗氧化机理[J].食品研究与开发,2005,26(6):205-208.
- [6] 沈蓓,吴启南,陈蓉,等.芡实提取物对D-半乳糖衰老小鼠学习记忆障碍的改善作用[J].中国老年学杂志,2012,32(20):4429-4431.
- [7] 沈蓓,袁冬平,伍城颖,等.芡实提取物对SH-SY5Y神经细胞损伤的保护作用及体外抗氧化活性研究[J].南京中医药大学学报,2013,29(1):39-43.
- [8] 刘水英,李新生,党娅,等.响应面法优化紫山药花青苷提取工艺及其抗氧化活性[J].食品科学,2014,35(22):84-91.
- [9] 杨家强,车万莉,彭红艳,等.Box-Behnken响应面法优化葎菎总生物碱的提取工艺研究[J].中国药房,2018,29(13):1802-1805.
- [10] 徐璐,王涛,郭巧生,等.响应面法优化超声辅助法提取昆仑雪菊色素的工艺研究[J].中国中药杂志,2014,39(24):4792-4797.
- [11] 刘艳清,汪洪武,蔡璇,等.响应面法优化栀子总黄酮提取工艺研究[J].中药材,2014,37(2):333-337.
- [12] 王红,吴启南,伍城颖,等.高效液相色谱法测定芡实中不同构型维生素E的含量[J].食品工业科技,2014,35(8):74-78.
- [13] 张宏,库尔班·吐松,阿依帕夏·亚森,等.玉米须天然维生素E的提取工艺研究[J].生物技术,2010,20(1):89-91.
- [14] 王延琴,杨伟华,周大云,等.棉籽油天然维生素E的提取工艺研究[J].中国农学通报,2014,30(27):288-292.
- [15] 于宗渊,郑晓丽,王亮,等.Box-Behnken设计-响应面法结合遗传算法和直接搜索算法优化北沙参糖类化合物的提取工艺研究[J].中药材,2018,41(7):1689-1694.
- [16] 刘慧颖,王承潇,杨野,等.微波辅助降解三七茎叶总皂苷生成人参皂苷Rg₃的工艺研究[J].中草药,2018,49(14):3245-3251.
- [17] 李杰,李瑞芳,张玉宾,等.星点设计-响应面法优化枳实中黄酮类化合物的水热法提取工艺[J].药物分析杂志,2018,38(8):1462-1469.

(收稿日期:2018-10-23 修回日期:2019-01-24)

(编辑:唐晓莲)