

正交设计优选乌饭树叶中总黄酮的微波提取工艺研究

王秀敏, 赵永钦, 陈烨, 胡锦涛, 石森林* (浙江中医药大学, 杭州 310053)

摘要: 目的 探讨微波辅助提取乌饭树叶中总黄酮的最佳工艺。方法 利用紫外分光光度法测定乌饭树叶总黄酮的含量, 采用单因素试验和 $L_9(3^4)$ 正交设计试验进行优化, 以其总黄酮转移率为指标, 考察提取温度、提取时间、乙醇浓度、粉碎程度和料液比对总黄酮转移率的影响, 筛选最佳提取工艺。结果 微波提取乌饭树叶总黄酮的最佳工艺: 取乌饭树叶粉碎过 80 目筛, 加入 40 倍量 70% 乙醇于 70 °C 下 250 W 微波提取 10 min。经验证实验结果表明, 此条件下总黄酮转移率达 91.34%, 纯度 21.53%(RSD=0.75%, $n=3$)。结论 微波提取具有效率高、时间短、能耗低等优点, 且优选的提取工艺稳定, 为乌饭树叶的后续研究提供了一定的参考。

关键词: 乌饭树叶; 总黄酮; 微波提取; 正交试验

中图分类号: 285.5 文献标志码: B 文章编号: 1007-7693(2019)05-0575-05

DOI: 10.13748/j.cnki.issn1007-7693.2019.05.013

引用本文: 王秀敏, 赵永钦, 陈烨, 等. 正交设计优选乌饭树叶中总黄酮的微波提取工艺研究[J]. 中国现代应用药学, 2019, 36(5): 575-579.

Study on Microwave Extraction Process of Total Flavonoids from *Vaccinium Bracteatum* Thunb. Leaves by Orthogonal Design

WANG Xiumin, ZHAO Yongqin, CHEN Ye, HU Jinxiang, SHI Senlin* (Zhejiang Chinese Medical University, Hangzhou 310053, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To optimize the microwave extraction process of total flavonoids in leaves of *Vaccinium bracteatum* Thunb.. **METHODS** Ultraviolet spectrophotometry was used to determine the total flavonoids in *Vaccinium bracteatum* Thunb. leaves. While the transferring rate of total flavonoids was taken as index, single factor and $L_9(3^4)$ orthogonal test was employed to optimize the microwave extraction process parameters including extraction temperature, extraction time, ethanol concentration, degree of pulverization and material liquid ratio. **RESULTS** The optimum of microwave extraction process was as followed: the *Vaccinium bracteatum* Thunb. leaves was smashed and filtrated through 80 mesh, then 70% ethanol was added at the material liquid ratio of 1 : 40; the microwave extraction process was performed at the temperature of 70 °C and microwave power of 250 W for 10 min. Under this condition, the verification test results showed that the transferring rate of the total flavonoids of *Vaccinium bracteatum* Thunb. leaves was 91.34% and the purity was 21.53%(RSD=0.75%, $n=3$). **CONCLUSION** Microwave extraction has the advantages of high efficiency, brief and low energy consumption, and the optimized extraction process is stable, which provides a reference for follow-up study of *Vaccinium bracteatum* Thunb. leaves.

KEYWORDS: *Vaccinium bracteatum* Thunb. leaves; total flavonoids; microwave extraction; orthogonal experiment

乌饭树(*Vaccinium Bracteatum* Thunb.)为杜鹃花科越橘属植物, 又名南烛、乌饭子、染菽^[1], 广泛分布于我国长江以南地区以及马来西亚、日本、泰国等东南亚国家^[2]。其叶更是一种药食兼用的传统植物资源, 江浙一带素有以乌饭树的嫩茎叶浸汁后染米蒸饭食用的习惯, 此饭具有很高的营养价值, 有“久服轻身, 长年, 令人不饥, 变白去老”之称^[3]。宋《开宝本草》、明《本草纲目》均记载乌饭树叶有益精气、强筋骨、明目、止泄等功效。但目前对乌饭树叶的研究较少, 研究领域较局限, 综合利用率低。

有研究报道^[4], 在乌饭树叶中含有大量的以芦

丁、槲皮素为代表的黄酮类成分。黄酮类成分在抗氧化^[5-8]、抑菌^[9-10]、抗疲劳^[11]以及改善糖尿病患者血糖和血脂水平上有良好功效, 具有一定的市场开发前景。目前, 黄酮类成分的提取以回流提取为主^[12-13], 该方法存在提取时间较长、溶剂消耗大、提取效率较低等问题。也有笔者利用超声提取技术对乌饭树叶进行提取工艺研究^[14], 但提取效果也不理想。而微波提取技术以其能耗低、效率高、提取充分等特点, 广泛应用于各种生物活性成分的提取过程。基于此, 本研究通过正交设计优化乌饭树叶中总黄酮的微波提取工艺, 为乌饭树叶黄酮类化合物的进一步研究和利用提供参考。

作者简介: 王秀敏, 女, 硕士生 Tel: 18757160120 E-mail: 1763316934@qq.com *通信作者: 石森林, 男, 教授 Tel: 13157106148 E-mail: pjstone@163.com

1 仪器与试剂

MAS-II puls 型常压微波提取器(上海新仪微波化学科技有限公司); JA2003N 电子天平(上海精密仪器有限公司); XS105 分析天平(梅特勒-托利多仪器有限公司); UV-2450 紫外可见分光光度计(日本 SHIMADZU 公司); WH-2 微型旋涡混合仪(上海沪西分析仪器公司); DK-S26 电热恒温水浴锅(上海精宏实验设备有限公司); SHB-III 循环水式多用真空泵(郑州长城科工贸有限公司); RE-300V 旋转蒸发仪(上海亚荣生化仪器有限公司); Millipore Synergy 超纯水系统。

试验材料是 2017 年不同叶龄(幼嫩叶和成熟叶)的乌饭树叶, 室温自然阴干, 粉碎过 60 目筛, 备用。硝酸铝(分析纯, 上海科昌精细化学公司); 氢氧化钠(分析纯, 成都市科龙化工试剂厂); 亚硝酸钠(分析纯, 上海振欣试剂厂); 芦丁对照品(中国药品生物制品检定所, HPLC \geq 98.0%, 批号: 100080-200707); 水为 Millipore 超纯水。

2 方法与结果

2.1 乌饭树叶中总黄酮含量测定方法的建立

2.1.1 对照品溶液的配制 精密称取对照品 10 mg, 用 80%的乙醇溶解, 转入 50 mL 干燥恒定的量瓶中, 用 80%乙醇定容, 得 0.2 mg \cdot mL⁻¹ 的芦丁对照品溶液。

2.1.2 供试品溶液的配制 取乌饭树叶粉(过 60 目筛)约 0.4 g, 精密称定, 置 250 mL 圆底烧瓶中, 加 70%的无水乙醇 30 mL, 加热回流 2 次, 每次 2 h, 合并滤液, 浓缩蒸干, 用 80%乙醇定容至 100 mL 量瓶中备用。

2.1.3 检测波长的确定 准确吸取“2.1.1”项下对照品溶液和“2.1.2”项下供试品溶液各 5 mL 至 25 mL 量瓶中, 加入 1.0 mL 5%的 NaNO₂ 溶液, 摇匀, 放置 6 min, 然后加 1 mL 10%的 Al(NO₃)₃ 溶液, 静置 6 min 后, 再加入 10 mL 4%的 NaOH 溶液, 最后用 80%的乙醇定容, 混合均匀, 放置 15 min; 以空白试剂为对照, 用紫外分光光度计在 400~700 nm 下进行扫描^[11], 选择最大吸收波长。结果在 501 nm 处有最大吸收峰, 故选择 501 nm 为测定波长。

2.1.4 测定方法 按“2.1.3”项下方法操作, 随行试剂为空白, 在 501 nm 波长处分别测定供试品溶液和对照品溶液的吸光度, 计算, 即得。

2.1.5 线性关系考察 精密吸取“2.1.1”项下对

照品溶液 0.5, 1.0, 2.0, 3.0, 4.0 mL, 分别置于 10 mL 量瓶中, 各加 80%乙醇溶液至 5 mL, 加 5% NaNO₂ 溶液 0.5 mL, 摇匀放置 6 min, 再加 10%的 Al(NO₃)₃ 溶液 0.5 mL, 摇匀放置 6 min, 加 4%的 NaOH 溶液 4 mL, 摇匀放置 15 min; 以相应试剂为空白, 在 501 nm 处测定对照品溶液的吸光度, 以吸光度为纵坐标(Y), 以芦丁对照品浓度(mg \cdot mL⁻¹)为横坐标(X), 进行线性回归, 得回归方程为 $Y=11.243X-0.0628$, $r=0.9994$ 。结果表明芦丁对照品浓度在 0.01~0.08 mg \cdot mL⁻¹ 内与吸光度呈良好的线性关系。

2.1.6 仪器精密度试验 取对照品溶液, 按“2.1.4”项下方法测定, 在 501 nm 处连续测定吸光度 6 次, 记录吸光度。结果显示, 吸光度的 RSD 值为 0.11%, 表明仪器精密度良好。

2.1.7 稳定性试验 取同一批供试品(批次 1)溶液, 分别在显色后 0, 10, 20, 30, 40, 50 min(从显色放置 15 min 后开始计时)按“2.1.4”项下方法操作, 在 501 nm 处进行测定, 记录吸光度, 结果 RSD 为 2.00%, 表明供试品在 50 min 内稳定性良好。

2.1.8 重复性试验 取乌饭树叶粉末(批次 1)6 份, 每份约 0.4 g, 精密称定, 按“2.1.4”项下方法测定, 并在 501 nm 处测吸光度, 计算得样品中乌饭树叶总黄酮的平均含量为 11.45%, RSD 为 1.96%, 表明该方法重复性较好。

2.1.9 加样回收率试验 取乌饭树叶粉末(批次 1)9 份, 每份约 50 mg, 精密称定, 加入 80%, 100%, 120%的芦丁对照品, 按“2.1.2”项下方法制备, 按“2.1.4”项下方法测定, 平均回收率为 98.04%, RSD 为 2.42%, 表明该方法回收率较好, 结果见表 1。

表 1 回收率试验结果(n=9)

Tab. 1 Results of recovery test(n=9)

称样量/ mg	含总黄酮量/ mg \cdot mL ⁻¹	加入芦 丁量/mg	测得量/ mg	回收率/ %	平均回 收率/%	RSD/ %
50.46	5.78	4.60	10.50	102.61		
50.28	5.75	4.49	10.00	96.81	99.01	3.17
50.16	5.75	4.61	10.25	97.61		
50.34	5.77	5.69	11.25	96.31		
50.27	5.76	5.71	11.25	96.15	96.91	1.22
50.83	5.82	5.78	11.50	98.27		
49.78	5.70	6.69	12.25	97.91		
50.18	5.75	6.86	12.50	98.40	98.92	1.36
50.16	5.75	6.72	12.50	100.45		

2.2 不同叶龄乌饭树叶总黄酮含量的测定

分别称取不同批次乌饭树叶粉(过 60 目)3 份于 250 mL 圆底烧瓶中,加 70%无水乙醇,85 °C 回流提取 2 次,每次 2 h,浓缩,蒸干,用 80%乙醇溶解并定容至 100 mL 量瓶中,取 5 mL 至 25 mL 量瓶中,按“2.1.4”项下显色方法进行显色,测定结果见表 2,说明不同叶龄乌饭树叶的总黄酮含量相差较大,成熟叶总黄酮含量约为幼嫩叶的 2 倍。

表 2 不同叶龄总黄酮含量的测定结果

Tab. 2 Determination result of total flavonoid content in leaves of *Vaccinium Bracteatum* Thunb. at different stage

批次	叶龄	含量/%
1	成熟叶	11.45±1.63
2	幼嫩叶	5.95±1.65
3	成熟叶	10.17±2.46

2.3 单因素试验

2.3.1 温度对乌饭树叶总黄酮转移率的影响 称取乌饭树叶粉末(批次 1,过 60 目)15 份,均分成 5 组,每组 3 份,每份 1 g 至 100 mL 四颈圆底烧瓶中,在 250 W 功率条件下,加入 50 倍量 70%乙醇,分别于 50, 60, 70, 80, 90 °C 微波提取 10 min,将提取液浓缩,蒸干,用 80%无水乙醇溶解,精密吸取 5 mL 至 25 mL 量瓶中,按“2.1.4”项下方法测定,计算转移率。结果显示,随着温度的升高,转移率逐渐增大,80 °C 时转移率最高,但温度继续增加,转移率反而下降,因此选择 80 °C 作为提取温度。结果见图 1。

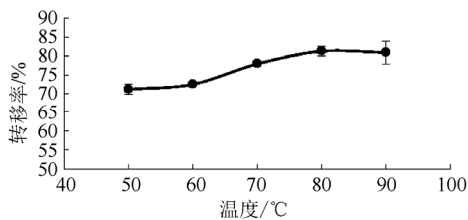


图 1 提取温度对乌饭树叶总黄酮转移率的影响(n=3)

Fig. 1 Effect of different extraction temperature on the transferring rate of total alkaloids in leaves of *Vaccinium bracteatum* Thunb.(n=3)

2.3.2 提取时间对乌饭树叶总黄酮转移率的影响 称取乌饭树叶粉末(批次 1,过 60 目)12 份,均分成 4 组,每组 3 份,每份 1 g 至 100 mL 四颈圆底烧瓶中,在 250 W 功率下加入 50 倍量 70%乙醇,分别于 80 °C 微波提取 5, 10, 15, 20 min,将提取液浓缩,蒸干,80%无水乙醇溶解,精密吸取 5 mL 至 25 mL 量瓶中,按“2.1.4”项下方法测定,

计算转移率,结果显示,随提取时间增加,乌饭树叶总黄酮得率先升高后下降,提取时间为 10 min 时,乌饭树叶总黄酮得率达到最大值,因此,提取时间控制在 10 min 左右为宜。结果见图 2。

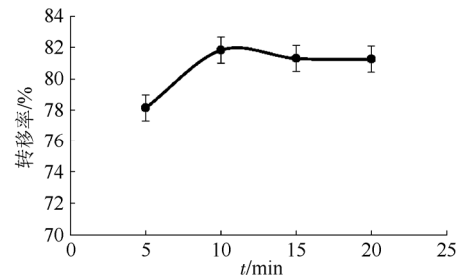


图 2 提取时间对乌饭树叶总黄酮转移率的影响

Fig. 2 Effect of different extraction time on the transferring rate of total alkaloids in leaves of *Vaccinium bracteatum* Thunb.

2.3.3 料液比对乌饭树叶总黄酮转移率的影响 称取乌饭树叶粉末(批次 1,过 60 目)12 份,均分成 4 组,每组 3 份,每份 1 g 至 100 mL 四颈圆底烧瓶中,在 250 W 功率下,分别加入 30, 40, 50, 60 倍量的 70%乙醇,于 80 °C 微波提取 10 min。将提取液浓缩,蒸干,80%无水乙醇溶解,精密吸取 5 mL 至 25 mL 量瓶中,按“2.1.4”项下方法测定,计算转移率,结果显示,随着溶剂用量的增加,转移率明显增加,当料液比达到 1:50 时转移率最高,而继续增加溶剂的量,转移率反而下降。固选择料液比为 1:50。结果见图 3。

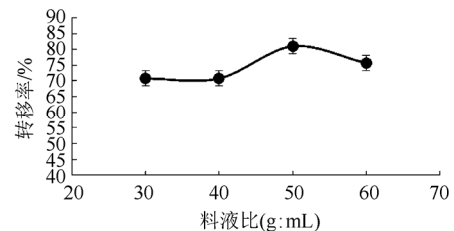


图 3 料液比对乌饭树叶总黄酮转移率的影响

Fig. 3 Effect of different liquid ratio on the transferring rate of total alkaloids in leaves of *Vaccinium bracteatum* Thunb.

2.3.4 乙醇浓度对乌饭树叶总黄酮转移率的影响 称取乌饭树叶粉末(批次 3,过 60 目)12 份,均分成 4 组,每组 3 份,每份 1 g 至 100 mL 四颈圆底烧瓶中,在 250 W 功率下,分别加入 50 倍量 50%, 60%, 70%, 80%无水乙醇,于 80 °C 微波提取 10 min。将提取液浓缩,蒸干,80%无水乙醇溶解,精密吸取 5 mL 至 25 mL 量瓶中,按“2.1.4”项下方法测定,计算转移率,结果显示,随着乙醇浓度的增加,总黄酮转移率逐渐增加,当乙醇浓度

为 70%时转移率最高, 而继续增加乙醇浓度, 转移率反而大幅度的降低, 故选择 70%乙醇进行后续试验。结果见图 4。

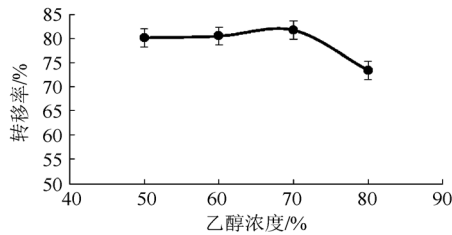


图 4 乙醇浓度对乌饭树叶总黄酮转移率的影响

Fig. 4 Effect of different ethanol concentration on the transferring rate of total alkaloids in leaves of *Vaccinium bracteatum* Thunb.

2.3.5 粉碎程度对乌饭树叶总黄酮转移率的影响
称取乌饭树叶粉末(批次 3)12 份, 均分成 4 组, 每组 3 份, 每份 1 g, 分别过 20, 40, 60, 80 目筛, 分别放置于 100 mL 四颈圆底烧瓶中, 在 250 W 功率下, 分别加入 50 倍量 70%无水乙醇, 于 80 °C 微波提取 10 min。将提取液浓缩, 蒸干, 80%无水乙醇溶解, 精密吸取 5 mL 至 25 mL 量瓶中, 按“2.1.4”项下方法测定, 计算转移率, 结果显示, 随着乌饭树叶粉末颗粒度的减小, 总黄酮转移率提高, 当乌饭树叶粉过 80 目筛时转移率最高, 可能是由于颗粒度减小, 细胞内容物和浸提剂接触面积增加, 从而影响总黄酮的溶出速率。由于粉末过细难以过滤, 滤液不澄清, 过 80 目筛时已存在一定的过滤难度, 暂定以过 80 目筛为考察工艺, 拟在正交设计中进一步对过筛目数进行考察。结果见图 5。

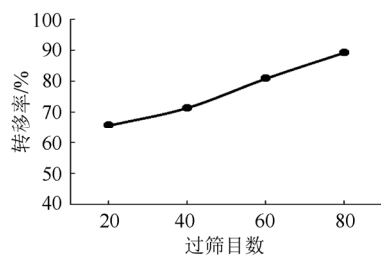


图 5 粉碎程度对乌饭树叶总黄酮转移率的影响

Fig. 5 Effect of different degree of pulverization on the transferring rate of total alkaloids in leaves of *Vaccinium bracteatum* Thunb.

2.4 正交试验优选乌饭树叶总黄酮的提取工艺

2.4.1 因素水平设计 由单因素结果可知各因素对乌饭树叶总黄酮提取率的影响, 采用 $L_9(3^4)$ 正交设计表, 以乌饭树叶总黄酮转移率为评价指标,

对提取温度、料液比、粉碎程度进行考察, 因素水平见表 3。

表 3 正交试验因素水平表

Tab. 3 Table of factor level of orthogonal experiment

水平	因素		
	温度(A)/°C	料液比(B)/mg·mL ⁻¹	粉碎程度(C)/目数
1	70	1 : 40	40
2	80	1 : 50	60
3	90	1 : 60	80

2.4.2 正交试验安排及结果 取乌饭树叶粉末(批次 3)1 g, 按表 3 安排提取试验, 按“2.1.4”项下方法测定乌饭树叶总黄酮的含量, 并计算转移率。正交试验结果见表 4, 方差分析见表 5。从方差分析结果可以看出, 粉碎程度对乌饭树叶总黄酮转移率有显著性影响, 而提取温度影响不大, 料液比对乌饭树叶总黄酮转移率几乎没有影响。结合表 4 结果和生产成本, 最佳提取工艺确定为 $A_1B_1C_3$, 即提取温度 70 °C, 料液比 1 : 40, 粉碎过 80 目筛。

表 4 正交试验安排及结果

Tab. 4 Arrangement and result of orthogonal test

试验号	A	B	C	D(空白)	总黄酮转移率/%
1	1	1	1	1	56.39
2	1	2	2	2	64.78
3	1	3	3	3	90.95
4	2	1	2	3	67.60
5	2	2	3	1	89.29
6	2	3	1	2	68.36
7	3	1	3	2	90.23
8	3	2	1	3	68.62
9	3	3	2	1	67.67
K_1	70.71	71.41	64.46	71.12	
K_2	75.08	74.23	66.68	74.46	
K_3	75.51	75.66	90.16	75.72	
R	4.80	4.253	25.70	4.61	

表 5 方差分析结果

Tab. 5 Results of variance analysis

方差来源	偏差平方和	自由度	F 比	F 临界值	显著性
温度/°C	43.374	2	1.247	19.000	
固液比	28.107	2	0.827	19.000	
粉碎程度	1 216.445	2	35.798	19.000	¹⁾
误差	33.98	2			

注: $F_{0.05(2,2)}=19$, ¹⁾ $P<0.05$ 。

Note: $F_{0.05(2,2)}=19$, ¹⁾ $P<0.05$ 。

2.4.3 工艺验证试验 称取乌饭树叶粉末 3 份(过 80 目), 每份约 5 g, 按选定的工艺条件, 即加入 70%乙醇 200 mL, 于 70 °C 微波提取 10 min, 功率

为 250 W, 提取液浓缩至干, 真空干燥 5 h, 据此进行提取工艺验证试验, 结果见表 6。由实验结果可知总黄酮平均转移率为 91.34%, 纯度为 21.53%, 表明正交试验优选的提取工艺所得乌饭树叶总黄酮转移率高, 工艺稳定可行, 重现性好 (RSD=0.75%, $n=3$)。

表 6 验证试验结果($n=3$)

Tab. 6 Verification test results($n=3$)

编号	药材/g	总黄酮转移率/%	纯度/%
1	5.001	92.13	21.46
2	5.001	91.02	22.23
3	5.000	90.89	20.89
平均值	5.001	91.34	21.53

3 讨论

本研究建立了乌饭树叶中总黄酮的含量测定方法, 并对 3 批不同叶龄的样品进行测定, 结果显示成熟叶中的总黄酮含量明显高于幼嫩叶的总黄酮含量。

微波提取主要利用不同组分吸收微波能力的差异, 使机体物质的某些区域或提取体系中的某些组分被选择性加热, 使得被提取物质从机体或体系中分离进入到介电常数较小、微波吸收能力相对较差的提取溶剂中, 从而获得较高提取率, 是一种新型提取方法^[15]。微波提取是里外同时加热, 热量可以在短时间内穿透植物细胞内部, 使提取时间能够大大缩短, 从而使提取效率大大提高, 并有效地保护药材在提取过程中的功能性成分不被破坏, 目前有关乌饭树叶总黄酮提取方法的报道主要集中在传统溶剂浸渍法、加热回流, 超声等方法^[16-18], 微波提取作为一种高效, 低能耗的提取方法, 目前尚无相关报道。

本实验通过正交试验优选了乌饭树叶最佳提取工艺: 粉碎程度过 80 目筛, 微波功率 250 W, 提取温度 70 °C, 提取时间 10 min, 乙醇体积分数 70%, 料液比 1:40。且经实验验证, 该工艺稳定, 重现性好, 其总黄酮转移率达 91.34%, 为乌饭树叶的综合开发利用提供参考。

REFERENCES

[1] 南京新医学院编. 中药大辞典(下)[M]. 上海: 上海人民出版社, 1974: 236.
 [2] ZHAO J P, WU Y N, NIU X, et al. Content determination of vaccinoside in leaves of *Vaccinium bracteatum* Thunb. by

HPLC [J]. Shanghai J Tradit Chin Med(上海中医药杂志), 2017, 10(51): 100-102.
 [3] 李时珍. 本草纲目[M]. 北京: 人民卫生出版社, 1989.
 [4] 王立, 姚惠源. 乌饭树叶中黄酮类色素的提取与分离纯化[J]. 食品与发酵工业, 2009(29): 120-125.
 [5] WAN G L, ZHANG Y, XU M C, et al. Anti-diabetic activity of *Vaccinium bracteatum* Thunb. leaves polysaccharide in STZ induced diabetic mice [J]. Int J Biological Macromol, 2013(61): 317-321.
 [6] 蔡凌云. 乌饭树叶中总黄酮体外抗氧化活性[J]. 中成药, 2011, 33(6): 1054-1057.
 [7] DANIELA B, LUISA T, FRANCESCA D G, et al. Antioxidant activities of sicilian prilian prickly pear (*Opuntia ficus indica*) fruit extracts and reducing properties of its betalains: betanin and indicaxan thin [J]. Agric Food Chem, 2002, 50(23): 6895-6901.
 [8] ZHENG W, DING L J, HUANG S H, . Study on extraction of flavonoids from *dicranopteris linearis* assisted with *Aspergillus niger* fermentation and its antioxidant research [J]. Food Machinery(食品与机械), 2012, 28(3): 115-118.
 [9] 章海燕, 王立, 张晖. 乌饭树叶水溶性黄酮的抑菌作用的研究[J]. 中国食品添加剂, 2010(5): 62-67.
 [10] GOMAH N. Antimicrobial activity of *Calotropis procera* Ait. (*Asclepiadaceae*) and isolation of four flavonoid glycosides as the active constituents [J]. World J Microbiol Biotechnol, 2013(29): 1255-1262.
 [11] WANG L, ZHANG X T, ZHANG H Y, et al. Effect of *Vaccinium bracteatum* Thunb. leaves extract on blood glucose and plasma lipid levels in streptozotocin induced diabetic mice [J]. J Ethnopharmacol, 2010, 130(3): 465-469.
 [12] TU P F, WANG Y F, SHAO J, et al. Study on optimum extraction process of total flavonoids in *resina draconis* [J]. Chin J Exp Tradit Med Form(中国实验方剂学杂志), 2011, 17(6): 30-32.
 [13] ZHENG P J, CHENG H T, WANG X B, et al. Study on the processing condition of extracting total flavonoids from pomelo peel. [J]. Hubei Agric Sci(湖北农业科学), 2018, 57(1): 104-108.
 [14] GU W X, XIE W M. Ultrasonic extraction of pigment from leaves of *Vaccinium bracteatum* Thunb. [J]. Chem Ind Fore Prod(林产化学与工业), 2005, 12(4): 75-78.
 [15] YE C L, HE S, CAO W L, et al. Research progress in new technologies for extraction and separation of Chinese materia medica [J]. Chin Tradit Herb Drugs(中草药), 2015, 46(3): 457-464.
 [16] YU Q, XU H X, XIAO X R, et al. Optimized conditions based on RSM for extracting total flavone from *Vaccinium bracteatum* Thunb. leaf [J]. Chin Agric Sci Bull(中国农学通报), 2008, 24(1): 93-97.
 [17] YU Q, ZHENG X Y, HUANG H X, et al. Technology of supercritical CO₂ extraction of total flavone from the Leaves of *Vaccinium bracteatum* Thunb [J]. J Fujian Agric Forestry Univ(Nat Sci Ed), 2009, 38(1): 98-102.
 [18] ZHANG H Y, WANG L, ZHANG H, et al. Optimization of extraction conditions of soluble flavonoids from *Vaccinium bracteatum* Thunb. leaves based on RSM [J]. Sci Technol Food Ind(食品工业科技), 2010, 31(3): 260-263.

收稿日期: 2018-02-05
 (本文责编: 曹粤锋)