

超声—微波联合提取绞股蓝皂苷工艺优化 及协同作用分析

Optimization on ultrasonic-microwave combined extraction of gypenosides and synergetic effect analysis

程轶群 张帆 周守标 何荣荣

CHENG Yi-qun ZHANG Fan ZHOU Shou-biao HE Rong-rong

纪杭燕 黄怡 纪雅丽 陈春华

JI Hang-yan HUANG Yi JI Ya-li CHEN Chun-hua

(安徽师范大学环境科学与工程学院, 安徽 芜湖 241003)

(College of Environmental Science and Engineering, Anhui Normal University, Wuhu, Anhui 241003, China)

摘要:采用响应面法优化绞股蓝总皂苷的超声—微波联合提取工艺,并分析超声、微波间协同作用效果。使用 Box-Behnken 中心组合设计对提取工艺进行优化,研究微波功率、微波时间、提取温度、浸提时间 4 个因素对绞股蓝总皂苷得率的影响。在最佳工艺基础上,通过控制提取过程中不同阶段超声、微波的启停,考察不同提取条件对皂苷得率的影响,并分析超声、微波间有无协同作用及其效果。结果表明,最佳提取工艺为:开启超声(50 W),微波功率 613 W,微波时间 145 s,提取温度 62.0 °C,浸提时间 12.8 min,该条件下绞股蓝皂苷得率为(24.08±0.37) mg/g。通过对比不同条件下绞股蓝皂苷的得率表明,超声、微波间协同作用显著,且协同作用阶段在提取过程中起主要作用。

关键词:绞股蓝;皂苷;超声—微波联合提取;协同作用

Abstract: Optimization on ultrasonic-microwave combined extraction of gypenosides, and the analysis on the synergistic effect between ultrasonic and microwave, were studied. The optimal extraction condition of gypenosides was obtained by response surface methodology. Four factors effect on the yield of gypenosides such as microwave power, microwave processing time, extraction temperature and extraction time were investigated. The synergistic effect of ultrasonic and microwave was analyzed by the yield of gypenosides under different extraction conditions. The optimal extraction condition of gypenosides by ultrasonic-microwave was ultrasonic open (50 W), microwave power at 613 W, microwave processing for 145 s, extraction tem-

perature at 62.0 °C, extraction time was 12.8 min. Under the optimal extraction condition the yield of gypenosides was 24.08±0.37 mg/g. The experiment results showed that the interaction between ultrasonic and microwave was significant and played a major role in the extraction process.

Keywords: *Gynostemma pentaphyllum*; saponins; ultrasonic-microwave combined extraction; synergetic effect

绞股蓝(*Gynostemma pentaphyllum*)是葫芦科绞股蓝属多年生草质藤本植物,富含皂苷^[1-2]、黄酮^[3]、多糖等活性成分^[4],其中具有抗肿瘤^[5-6]、降血压、降血脂、增强免疫力等^[7-8]功能的绞股蓝皂苷为其主要功能性成分。目前,对绞股蓝皂苷提取方法的研究较多,主要有热溶剂提取法^[9]、超声波辅助提取^[10]、酶法提取法^[11]、微波辅助提取^[12-13]、超临界 CO₂ 萃取等^[14-15]。这些提取方法都存在各自的优缺点,且使用单一方法提取时皂苷的得率相对有限。若能将不同提取方法结合使用,通过合理优化使多种作用间产生协同效应,则可以在避免使用单一提取方法固有缺点的同时进一步提高提取效率。其中超声—微波联合提取具有高效、节能等优点,有巨大的应用潜质。然而目前采用超声—微波协同提取的研究还十分有限^[16-17],且已有研究中均未考察两者共同作用时的协同效应。本试验研究和优化超声、微波共同作用下绞股蓝皂苷的提取工艺,分析两者间协同作用效果,旨在为绞股蓝中皂苷的高效利用提供指导依据。

1 材料与方 法

1.1 材料与仪器

1.1.1 材料与试剂

绞股蓝:购自黄山市歙县药材市场;

基金项目:安徽师范大学科研培育基金资助(编号:2014xmpy14)

作者简介:程轶群(1987—),男,安徽师范大学讲师,硕士。

E-mail:cheng.sheng515@gmail.com

收稿日期:2016-06-27

人参皂苷 Rb1 标准品:纯度 $\geq 98\%$,中国药品生物制品鉴定所;

高氯酸、香草醛、乙醇:分析纯,国药集团化学试剂有限公司。

1.1.2 主要仪器设备

超声—微波协同萃取仪: CW-2000 型,微波频率 2 450 kHz,功率 0~1 000 W 任意可调,超声频率 40 kHz,固定功率 50 W,上海新拓公司;

可见分光光度计: 722G 型,上海仪电分析仪器有限公司;

真空干燥箱: DZF-6020A 型,上海邦西仪器科技有限公司;

分析天平: FA1004 型,上海恒平仪器有限公司。

1.2 试验方法

1.2.1 样品预处理 将绞股蓝置于 60 °C 真空干燥箱中减压干燥,至恒重后粉碎,过 60 目筛,置于干燥器内待用。

1.2.2 绞股蓝皂苷提取单因素试验 单因素试验均在开启超声 (50 W) 条件下进行 3 次平行。根据已有研究结果^[18-19],准确称取 2.00 g 绞股蓝粉末,固定乙醇浓度为 70%,料液比为 1:20(g/mL)。所有样品提取完成后抽滤获得提取液,定容到 250 mL 并测定绞股蓝总皂苷得率。

(1) 微波功率:在微波时间 1 min,提取温度 70 °C,浸提时间 15 min 的条件下,考察微波功率(200,400,600,800,1 000 W)对绞股蓝皂苷得率的影响。

(2) 微波时间:在微波功率 600 W,提取温度 70 °C,浸提时间 15 min 的条件下,考察微波时间(1,2,3,4,5 min)对绞股蓝皂苷得率的影响。

(3) 浸提温度:在微波功率 600 W,微波时间 2 min,浸提时间 15 min 的条件下,考察浸提温度(30,40,50,60,70 °C)对绞股蓝皂苷得率的影响。

(4) 浸提时间:在微波功率 600 W,微波时间 2 min,提取温度 60 °C 的条件下,考察浸提时间(5,10,15,20,25 min)对绞股蓝皂苷得率的影响。

1.2.3 响应面设计 在单因素试验结果的基础上,使用 Design Expert 8.0.6 软件以 Box-Behnken 中心组合设计对绞股蓝皂苷提取过程进行响应面优化,考察微波功率、微波时间、提取温度、提取时间 4 个因素对绞股蓝皂苷得率的影响。

1.2.4 绞股蓝皂苷含量测定 采用香草醛—冰醋酸显色法^[3]。以人参皂苷 Rb1 绘制标准曲线,得到标准曲线为: $y(OD_{550\text{nm}}) = 2.9275x - 0.0119 (R^2 = 0.9992)$ 该标准曲线在皂苷含量为 0.04~0.20 mg 内线性良好,可以作为定量的基准。

2 结果与分析

2.1 单因素试验

2.1.1 微波功率对皂苷得率的影响 由图 1 可知,随着微波功率的增加,绞股蓝皂苷得率呈现先增加后减小的趋势。微波功率从 200 W 提高到 600 W 的过程中,绞股蓝粉末中各成分吸收更多的能量,分子的无规则热运动显著加强扩散速

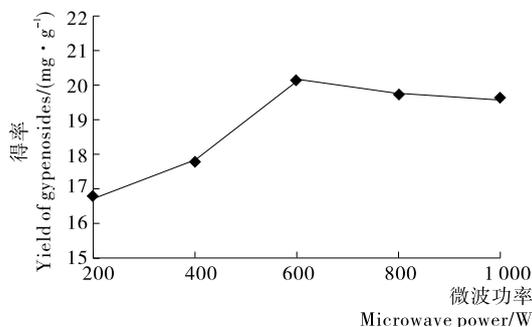


图 1 微波功率对绞股蓝皂苷得率的影响

Figure 1 Effect of microwave power on yield of gypenosides

率大幅上升,因此皂苷得率显著增大。但进一步提高微波功率后,皂苷得率则呈现小幅下降,这或许是高强度的微波作用引起强烈的分子极化效应,对绞股蓝皂苷结构稳定性产生影响,从而影响了皂苷得率。

2.1.2 微波时间对皂苷得率的影响 由图 2 可知,微波时间从 1 min 增加至 2 min 后绞股蓝皂苷得率有较大增长,进一步延长微波处理时间得率则有一定下降。这说明适度的微波处理可以促进分子扩散的速率,有效提升绞股蓝皂苷的得率,但微波处理时间过长则可能由于过量的微波产生强烈的热效应破坏了绞股蓝皂苷结构,造成皂苷得率的降低。

2.1.3 浸提温度对皂苷得率的影响 由图 3 可知,随着提取温度由 30 °C 提高到 60 °C,绞股蓝皂苷的得率逐渐增大,但提取温度为 70 °C 时皂苷得率略有下降。这是由于随着提取

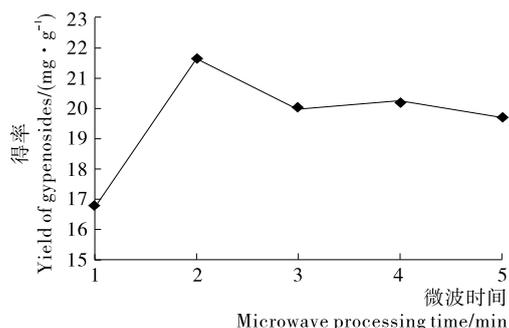


图 2 微波时间对绞股蓝皂苷得率的影响

Figure 2 Effect of microwave processing time on yield of gypenosides

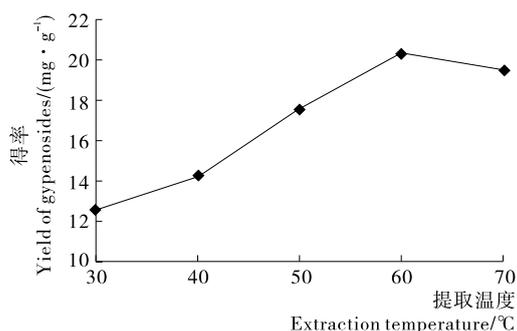


图 3 浸提温度对绞股蓝皂苷得率的影响

Figure 3 Effect of extraction temperature on yield of gypenosides

温度的上升,分子热运动的增强使溶质的溶解动力显著增强,但过高的温度造成大量杂质溶出并对绞股蓝皂苷的溶出造成影响,进而影响了皂苷得率^[20]。

2.1.4 提取时间对皂苷得率的影响 由图 4 可知,在超声浸提条件下 5 min 的浸提时间过短,导致绞股蓝皂苷的提取远未充分。而浸提 10 min 即可获得较高的得率,继续延长浸提时间对皂苷得率影响较小。说明在超声、微波的共同作用下,能显著缩短浸提所需时间,提高提取效率。

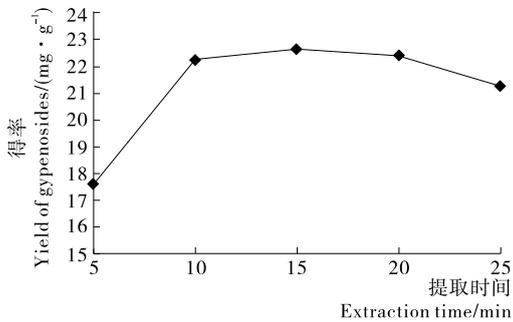


图 4 浸提时间对绞股蓝皂苷得率的影响

Figure 4 Effect of extraction time on yield of gypenosides

2.2 响应面优化与分析

基于单因素试验的结果,设计试验因素及水平(见表 1),并对提取工艺进行响应面优化,结果见表 2。

2.2.1 响应面显著性分析 使用 Design Expert 8.0.6 软件对试验结果进行分析,回归方程方差分析结果见表 3。由表 3 中模型的 P 值 < 0.000 1 可以看出拟合模型为极显著,失拟项的 P 值 = 0.919 3 > 0.05 表明模型差异并不显著,残差主要由随机误差引起。模型的决定系数 R^2 为 0.979 3,校正决定系数 R_{adj}^2 为 0.948 7,说明该模型拟合程度较好,可以有效分析和预测各因素对绞股蓝皂苷得率的影响。

逐项显著性分析表明:试验所选择的因素中微波功率、微波时间以及提取时间对得率有极显著的影响 ($P < 0.000 1$),而提取温度则影响不大 ($P = 0.104 0$);交互项中有 3 个极显著,分别是微波功率与微波时间、微波功率与提取温度、微波时间与提取温度;二次平方项均为极显著 ($P < 0.000 1$)。

对试验结果进行回归分析,得到 4 个试验因素对响应值皂苷得率的标准四元二次回归方程(以编码值为自变量):

$$Y = 23.47 + 0.69A + 1.33B + 0.11C + 1.78D - 1.05AB - 0.49AC + 0.16AD + 0.77BC + 0.012BD + 0.028CD - 1.70A^2 - 1.60B^2 - 1.10C^2 - 1.61D^2. \quad (1)$$

表 1 响应面因素与水平

Table 1 Factors and levels of response surface methodology experiments

水平	A 微波功率/W	B 微波时间/min	C 提取温度/°C	D 提取时间/min
1	800	3	70	15
0	600	2	60	10
-1	400	1	50	5

表 2 试验设计与结果

Table 2 Experimental design and results

编号	A	B	C	D	得率/(mg · g ⁻¹)
1	-1	-1	0	0	17.078
2	0	-1	1	0	18.832
3	0	1	0	-1	19.686
4	0	0	0	0	23.732
5	1	0	0	-1	19.051
6	1	-1	0	0	20.687
7	0	0	1	-1	19.129
8	1	0	-1	0	21.596
9	0	1	0	1	23.224
10	0	1	-1	0	21.357
11	0	0	0	0	23.176
12	0	-1	0	1	20.573
13	0	0	0	0	23.319
14	0	-1	-1	0	20.164
15	-1	1	0	0	21.778
16	-1	0	0	-1	17.927
17	0	1	1	0	23.119
18	0	1	1	0	23.863
19	0	-1	0	-1	17.082
20	0	0	0	1	22.364
21	1	0	0	1	22.903
22	0	0	1	1	22.821
23	0	0	-1	-1	18.785
24	1	1	0	0	21.205
25	-1	0	-1	0	19.428
26	0	0	0	0	23.253
27	-1	0	0	1	21.137
28	-1	0	1	0	20.469
29	1	0	1	0	20.681

2.2.2 单因子效应分析 采用降维法分析单因子效应,将回归方程(1)中任意 3 个变量固定在零编码水平即得到另一个因素与响应值的关系,得各因素的单因子效应方程见式(2)。再将每个方程中的变量分别固定在 -2、-1、0、1、2 水平上,得到 4 个因素对绞股蓝皂苷总得率的影响。

$$\begin{cases} Y_1 = 23.47 + 0.69A - 1.70A^2; \\ Y_2 = 23.47 + 1.33B - 1.60B^2; \\ Y_3 = 23.47 + 0.11C - 1.10C^2; \\ Y_4 = 23.47 + 1.78D - 1.61D^2. \end{cases} \quad (2)$$

根据单因子效应方程绘制曲线见图 5。

由图 5 可知,绞股蓝皂苷的得率随 4 个因素编码值的增大都呈现出先增大后减小的趋势。其中浸提时间和微波时间两个因素在编码值为 0 和 1 时的响应值均较高,而微波功率和浸提温度两个因素均在编码为 0 时有较大的得率。

2.2.3 边际效应分析 对各单因子效应分析方程求导即得该因子的边际效应方程,反应总皂苷得率随各因子水平而变化的速率。各因素的边际效应方程:

表 3 回归模型方差分析表[†]

Table 3 ANOVA analysis for the response surface modified

来源	平方和	自由度	均方	F 值	P 值
A	5.75	1	5.75	113.26	<0.000 1**
B	21.21	1	21.21	417.80	<0.000 1**
C	0.15	1	0.15	3.02	0.104 0
D	38.03	1	38.03	749.15	<0.000 1**
AB	4.37	1	4.37	86.13	<0.000 1**
AC	0.96	1	0.96	18.84	0.000 7**
AD	0.10	1	0.10	2.03	0.176 1
BC	2.39	1	2.39	47.15	<0.000 1**
BD	5.52E-004	1	5.52E-004	0.01	0.918 4
CD	3.19E-003	1	3.19E-003	0.06	0.805 6
A ²	18.82	1	18.82	370.73	<0.000 1**
B ²	16.56	1	16.56	326.18	<0.000 1**
C ²	7.89	1	7.89	155.37	<0.000 1**
D ²	16.83	1	16.83	331.46	<0.000 1**
模型	112.15	14	8.01	157.82	<0.000 1
残差	0.71	14	0.05		
失拟项	0.33	10	0.03	0.35	0.919 3
误差项	0.38	4	0.10		
总和	112.86	28			

[†] ** 表示极显著 (P<0.001); * 表示显著 (P<0.05)。R² = 0.979 3, R_{adj}² = 0.948 7。

$$\begin{cases} dY/dA = 0.69 - 3.40A; \\ dY/dB = 1.33 - 3.20B; \\ dY/dC = 0.11 - 2.20C; \\ dY/dD = 1.78 - 3.22D. \end{cases} \quad (3)$$

根据方程(3)绘制边际效应曲线,见图6。

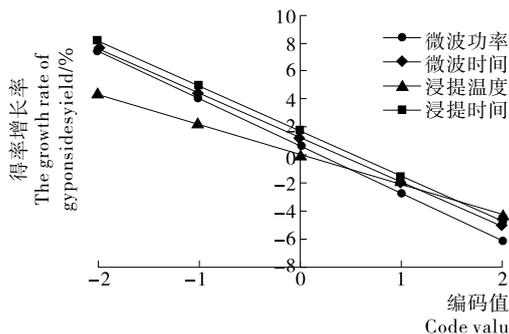


图 6 单因子边际效应曲线

Figure 6 Marginal effect of a single factor curve

由图6结合式(3)的斜率(决定系数)可知,4个因素中微波功率、微波时间、浸提温度3个因素对得率增长的影响程度较为相似,而提取温度则较小。4个因素对得率增长率影响的临界编码值分别为:微波功率 A=0.203,微波时间 B=0.416,提取温度 C=0.05,浸提时间 D=0.553。当各因素编码值小于临界编码值时,皂苷的得率不断增大,但增大率逐渐放缓,直至达到最大值;当各因素编码值大于临界编码值后则得率出现负增长,且降幅逐渐增大。

2.2.4 交互作用分析 为更直观地反应各因素间的交互作用对绞股蓝皂苷得率的影响,绘制得率与各因素的三维空间响应面。响应面图形中的等高线形状越圆则表明交互效应越弱,而椭圆越明显则表明交互作用显著^[21],通过对交互项响应面坡度平缓与陡峭的分析可以得出该条件改变对响应值影响的强弱^[22]。

由图7~9可知,微波时间、微波功率及浸提温度3个因素间两两交互作用都很显著。从图7中响应面的陡峭程度可以看出,在一定的提取温度和浸提时间下,微波功率与微波时间两个因素对绞股蓝皂苷得率的影响较为接近,但微波时间对曲面陡峭程度影响略大,因此微波时间对得率的影响

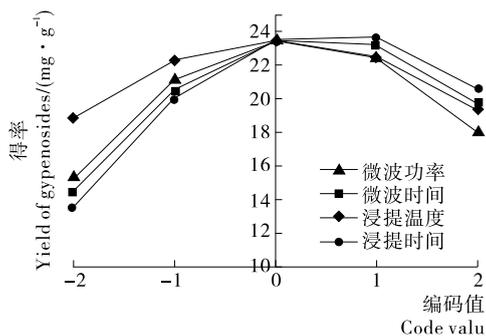


图 5 单因子效应曲线

Figure 5 Single factor effect curve

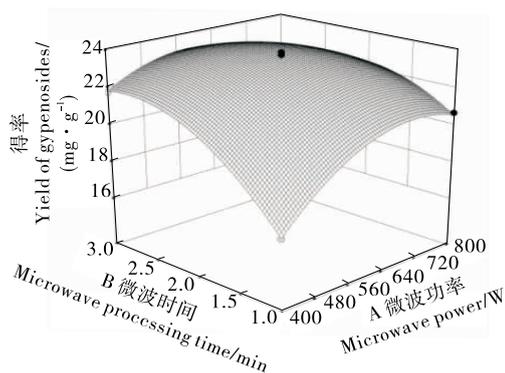
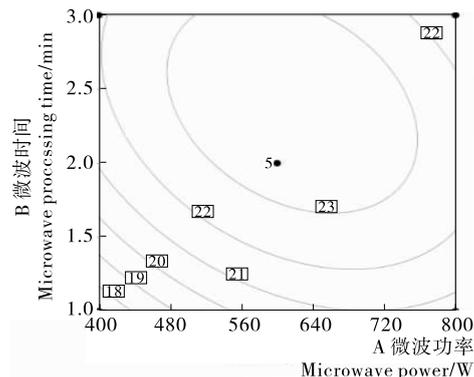


图 7 微波功率与微波时间对皂苷得率的交互作用

Figure 7 Effect of microwave power and microwave processing time on yield of gypenosides



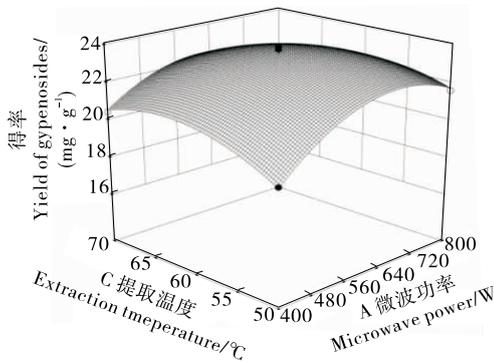


图 8 微波功率与提取温度对皂苷得率的交互作用

Figure 8 Effect of microwave power and extraction temperature on yield of gypenosides

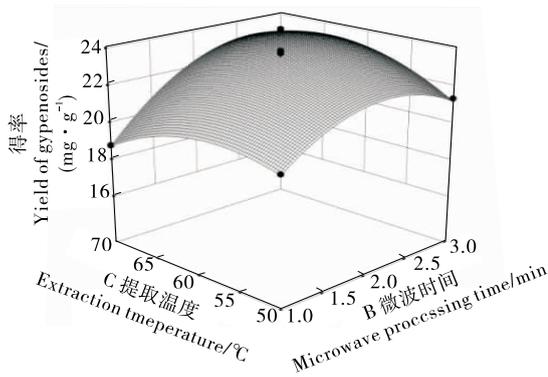
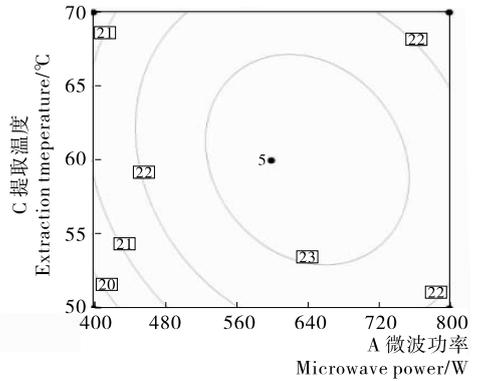
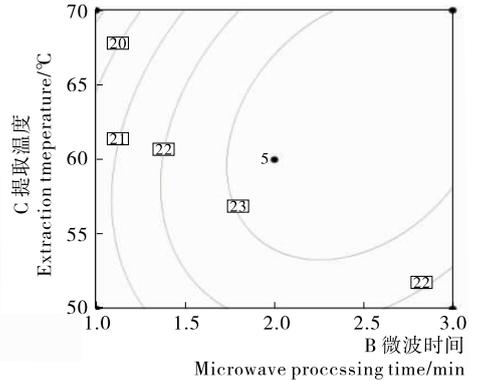


图 9 微波时间与提取温度对皂苷得率的交互作用

Figure 9 Effect of microwave processing time and extraction temperature on yield of gypenosides



略强于微波功率。从图 8 中可以看出,当微波时间与提取时间一定的条件下,微波功率对得率的影响略大于浸提温度。由图 9 可以看出,在微波功率和浸提时间一定的条件下,微波时间对得率的影响稍强于浸提温度。

2.2.5 最佳提取工艺的确定及验证 Design Expert 软件模拟得到的最佳条件为:微波功率 612.91 W,微波时间 2.44 min,提取温度 62.0 °C,提取时间 12.80 min,此条件下得率为 24.296 1 mg/g。

验证实验在微波功率 613 W,微波时间 145 s,提取温度 62.0 °C,提取时间 12.8 min 的条件下重复 3 次,测得绞股蓝皂苷得率为(24.08±0.37) mg/g。验证实验结果与预测值接近,表明该响应面模拟优化结果具有较好的准确性。

2.3 超声—微波协同作用分析

在响应面优化绞股蓝皂苷提取工艺的基础上,以最佳提取工艺为对照,通过控制不同提取阶段超声、微波的启停,考察不同操作条件对绞股蓝皂苷得率的影响,进而分析超声、微波间是否存在协同作用。试验设计的参数、目的及结果见表 4。采用 spss 18.0 软件 Duncan's 程序分析数据间显著性差异,当 $P < 0.05$ 表示数据间具有显著性差异。

由表 4 可知,在以最优提取工艺为基础的不同提取条件下,通过改变超声、微波的启停对绞股蓝皂苷得率影响显著($P < 0.05$)。对比试验 1、2 的结果可以看出,仅通过 145 s 的超声、微波共同作用,绞股蓝皂苷得率即可达到最优条件下 71.6%,说明超声、微波的共同作用阶段在整个绞股蓝皂苷

表 4 超声—微波协同作用分析[†]

Table 4 Analysis of ultrasonic-microwave synergistic extraction

试验序号	提取条件	试验目的	皂苷得率/(mg·g ⁻¹)
1	超声全程打开,613 W 微波处理 145 s,提取温度 62 °C,浸提时间 12.8 min	以最优提取条件作为对照	24.08±0.37 ^a
2	超声打开,613 W 微波处理 145 s,提取温度 62 °C,浸提时间 0 min	仅考察超声、微波共同作用阶段的影响	17.24±0.37 ^c
3	超声开,613 W 微波处理 145 s,提取温度 62 °C,关闭超声浸提 12.8 min	仅考察浸提阶段超声作用	21.31±0.21 ^b
4	超声全程关闭,613 W 微波处理 145 s,提取温度 62 °C,浸提时间 12.8 min	仅考察微波作用效果	13.89±0.17 ^d

[†] 同一列数据带不同字母表示有显著性差异($P < 0.05$)。

的提取过程中起主要作用;比较试验 1、2、3 的结果可以看出,在超声、微波共同作用后,再经过 12.8 min 的无超声浸提,可以达到最优条件下 88.5%的提取效果,说明在超声、微波共同作用的基础上,浸提阶段的超声作用对得率有一定影响,但较为有限;对比试验 3、4 的结果可以看出,浸提阶段均

无超声,而前期在超声微波共同作用下绞股蓝皂苷得率远高于仅使用微波提取结果,可见提取过程中超声、微波具有显著的协同作用。

综合以上试验结果和分析可以看出,在整个提取过程中超声、微波协同作用显著,且协同作用阶段比超声浸提阶段对绞股蓝皂苷得率的影响强烈得多。这主要是由于超声波可以产生强烈的空化效应,使物料分子运动的频率和速率迅速增大,并通过一系列次级效应将原料的细胞壁破裂,提高目标产物从细胞内释放速率^[23]。若此时再辅以微波作用,使被照射物体产生分子极化效应与离子导电效应,同时利用物料在微波场中吸收能量的高度选择性,迅速于物料内部产生热效应,则可以在超声空化作用基础上结合微波产生的温度梯度进一步强化目标产物的固液传质速率,从而产生协同作用,显著提高提取的效率^[24-25]。结合试验结果进行分析,甚至可能在超声—微波的协同作用阶段已经完成对绝大部分细胞的破碎及绞股蓝皂苷的溶出。只是由于145 s的作用时间较短,这些已经从细胞内溶出的绞股蓝皂苷尚未充分扩散到整个提取溶剂中,故需要一定时间的浸提才能达到较高的得率,因此超声作用已经不再显著。

3 结论

采用响应面法优化得到绞股蓝皂苷的最佳提取条件为:开启超声(50 W),微波功率613 W,微波时间145 s,提取温度62.0℃,提取时间12.8 min,该条件下绞股蓝皂苷得率为(24.08±0.37) mg/g。

在最佳提取条件的基础上分析超声、微波的协同作用效果表明,提取过程中超声、微波间有显著的协同作用。且协同作用阶段对绞股蓝皂苷得率的提高影响强烈,在整个提取过程中起主要作用。在超声微波协同提取的基础上结合一定时间的浸提可以进一步促进绞股蓝皂苷的充分扩散,提高皂苷得率。

试验中由于设备的超声参数固定(50 W,40 kHz)无法设置,因此超声与微波哪个因素对皂苷提取率的影响更显著、超声与微波各在何功率及作用时间分别多长时间能达到最佳的协同作用无法考察,有待进一步研究。

参考文献

- [1] ZHAO Yang, XIE Zhuo-hong, NIU Yu-ge, et al. Chemical compositions, HPLC/MS fingerprinting profiles and radical scavenging properties of commercial *Gynostemma pentaphyllum* (Thunb.) Makino samples[J]. Food Chemistry, 2012, 134(1): 180-188.
- [2] LIU Fang, REN Dequan, GUO De-an, et al. Method development for gypenosides fingerprint by high performance liquid chromatography with diode-array detection and the addition of internal standard [J]. Chemical & Pharmaceutical Bulletin, 2008, 56(3): 389-393.
- [3] XIE Zhuo-hong, LIU Wei, HUANG Hai-qiu, et al. Chemical composition of five commercial *Gynostemma pentaphyllum* samples and their radical scavenging, antiproliferative, and anti-inflammatory properties [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2010, 58(21): 11 243-11 249.
- [4] GANZLER K, SALGO A, VALKO K. Microwave extraction: a novel sample preparation method for chromatography [J]. Journal of Chromatography A, 1986, 371: 299-306.
- [5] CHEN Dao-jin, LIU Hui-min, XING Shao-fang, et al. Cytotoxic activity of gypenosides and gynogenin against non-small cell lung carcinoma A549 cells [J]. Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters, 2014, 24(1): 186-191.
- [6] YANG Fei, SHI Hai-ming, ZHANG Xiao-wei, et al. Two new saponins from tetraploid jiaogulan (*Gynostemma pentaphyllum*), and their anti-inflammatory and α -glucosidase inhibitory activities [J]. Food Chemistry, 2013, 141(4): 3 606-3 613.
- [7] MUELLER C, GARDENMANN A, KEIHOFF G, et al. Prevention of free fatty acid-induced lipid accumulation, oxidative stress, and cell death in primary hepatocyte cultures by a *Gynostemma pentaphyllum* extract [J]. Phytomedicine, 2012, 19(5): 395-401.
- [8] 朴香兰, 吴倩. 绞股蓝研究进展 [J]. 时珍国医国药, 2010, 21(7): 1 758-1 760.
- [9] 仇小艳, 李向民, 苗玲, 等. 绞股蓝总皂甙提取方法的比较研究 [J]. 现代生物医学进展, 2008, 8(10): 1 936-1 938.
- [10] 杨昱, 白靖文, 俞志刚. 超声辅助提取技术在天然产物提取中的应用 [J]. 食品与机械, 2011, 27(1): 170-174.
- [11] 张新宇, 张笛, 王琳, 等. 绞股蓝皂苷提取纯化工艺研究进展 [J]. 食品工业科技, 2014, 35(18): 378-382.
- [12] 张育松. 微波辅助提取绞股蓝皂甙的初步研究 [J]. 亚热带农业研究, 2008, 4(3): 225-228.
- [13] 郭辉力, 邓泽元. 微波干法辅助提取绞股蓝总皂甙的研究 [J]. 食品与机械, 2009, 25(1): 68-71.
- [14] 易克传, 徐凯, 杨萍, 等. 动态连续逆流提取绞股蓝皂甙的研究 [J]. 天然产物研究与开发, 2012, 24(2): 244-247.
- [15] 樊红秀, 刘婷婷, 刘鸿斌, 等. 超临界萃取人参皂苷及 HPLC 分析 [J]. 食品科学, 2013, 34(20): 121-126.
- [16] 林硕. 超声—微波协同逆流提取的工艺及设备研究 [D]. 合肥: 安徽农业大学, 2009: 34-40.
- [17] 尤秀丽, 郑建忠, 陈熔, 等. 响应面法优化绞股蓝皂苷微波辅助—超声提取工艺 [J]. 食品研究与开发, 2016, 37(12): 52-56.
- [18] 程轶群, 许飞跃, 周守标. 歙县绞股蓝总皂苷大孔树脂纯化研究 [J]. 安徽农业科学, 2015, 43(33): 177-179.
- [19] 黄玉兰, 殷奎德, 岳才军. 响应面法优化微波提取绞股蓝愈伤组织中人参皂苷 Rb1 的工艺研究 [J]. 激光生物学报, 2013, 22(6): 521-527.
- [20] 张慧丽, 宋有涛, 辛如, 等. 超声提取绞股蓝总皂苷及抗氧化作用的研究 [J]. 辽宁大学学报, 2006, 33(4): 346-348.
- [21] 柯乐芹, 张东旭, 肖建中. 杏鲍菇深加工残渣多糖酶法微波辅助提取工艺优化 [J]. 农业工程学报, 2014, 30(21): 332-338.
- [22] 智秀娟, 李栋, 曹新杰, 等. 苦荞总皂苷的提取工艺优化 [J]. 中国粮油学报, 2015, 30(7): 97-103.
- [23] CRAVOTTO G, BOFFA L, MANTEGNA S, et al. Improved extraction of vegetable oils under high-intensity ultrasound and/or microwaves [J]. Ultrasonics Sonochemistry, 2008, 15(5): 898-902.
- [24] 李杨, 赵树法, 李婷, 等. 微波辅助萃取技术在食品工业中的研究进展 [J]. 中国酿造, 2006(9): 5-8.
- [25] WANG Yu-tang, YOU Jing-yan, YU Yong, et al. Analysis of ginsenosides in *Panax ginseng* in high pressure microwave-assisted extraction [J]. Food Chemistry, 2008, 110(1): 161-167.