

锈毛莓总三萜超声提取工艺的优化及其抗氧化活性研究

马晓莉¹, 叶齐², 宁书菊³, 蔡国倩², 公培民², 魏道智^{2*} (1. 福建农林大学食品科学学院, 福建省农业生态过程与安全监控中重点实验室, 福建福州 350002; 2. 福建农林大学生命科学学院, 福建省农业生态过程与安全监控中重点实验室, 福建福州 350002; 3. 福建农林大学作物学院, 作物生态与分子生理学福建省高校重点实验室, 福建福州 350002)

摘要 [目的]研究锈毛莓总三萜最佳提取工艺及其抗氧化活性。[方法]在单因素试验基础上,采用 Box-Behnken 对影响锈毛莓总三萜提取率的 4 个因素进行优化分析,并通过对·OH、DPPH·和 ABTS⁺·的清除能力考察锈毛莓总三萜的体外抗氧化活性。[结果]在超声温度为 80 ℃、料液比为 1:28(g:mL)、超声时间为 70 min、超声功率为 400 W、乙醇体积分数为 83% 时,锈毛莓总三萜提取率为 5.06%,与理论值偏差较小。随着样品浓度的增加,其抗氧化能力逐渐增强,其中对 DPPH·和 ABTS⁺·的清除能力较强,半抑制浓度(IC₅₀)分别为 0.097 和 0.047 mg/mL;对·OH 有较弱的清除能力。[结论]优选工艺适用于锈毛莓总三萜的提取,锈毛莓总三萜具有较好的抗氧化性。

关键词 锈毛莓总三萜;响应面法;提取工艺;抗氧化活性

中图分类号 S567 文献标识码 A

文章编号 0517-6611(2019)07-0188-05

doi:10.3969/j.issn.0517-6611.2019.07.057

开放科学(资源服务)标识码(OSID):



Study on Ultrasonic Extraction Technology Optimization and Antioxidant Activity of Total Triterpenes from *Rubus reflexus* Ker.

MA Xiao-li¹, YE Qi², NING Shu-ju³ et al (1. Fujian Provincial Key Laboratory of Agroecological Processing and Safety Monitoring, College of Food Science, Fujian Agriculture and Forestry University, Fuzhou, Fujian 350002; 2. Fujian Provincial Key Laboratory of Agroecological Processing and Safety Monitoring, College of Life Science, Fujian Agriculture and Forestry University, Fuzhou, Fujian 350002; 3. Key Laboratory of Crop Ecology and Molecular Physiology, Fujian Province Universities, College of Crop Science, Fujian Agriculture and Forestry University, Fuzhou, Fujian 350002)

Abstract [Objective] The research aimed to study the optimum extraction technology and antioxidant activity of total triterpenes from *Rubus reflexus*. [Method] Based on single-factor test, four independent factors were selected as affecting factors for Box-Behnken central composite experiment design. ·OH, DPPH· and ABTS⁺· scavenging assays were carried out to study *in vitro* antioxidant activity of total triterpenes from *Rubus reflexus*. [Result] The optimal extraction technology was as follow: extraction temperature was 80 ℃, material-liquid ratio was 1:28 (g:mL), extraction time was 70 min, ultrasonic power was 400 W, ethanol concentration was 83%. Under these conditions, the extraction rate of total triterpenes was 5.06%, with a small deviation from the theoretical value. With the increase of the concentration of sample, its antioxidant ability gradually increased. Among them, the scavenging ability of DPPH· and ABTS⁺· were more obvious, the half inhibiting concentrations (IC₅₀) were 0.097 and 0.047 mg/mL, the scavenging ability of ·OH was weaker. [Conclusion] The method is reasonable for the extraction of total triterpenes from *Rubus reflexus*, and the total triterpenes has a better anti-oxidation activity.

Key words Total triterpenes from *Rubus reflexus* Ker.; Response surface method; Extraction process; Antioxidant activity

锈毛莓(*Rubus reflexus* Ker.)为蔷薇科(Rosaceae)悬钩子属(*Rubus*)药用植物,其根茎均能入药。锈毛莓含有多种有效的化学成分,具有多种药理活性和较高的药用价值,福建闽南客家和畲族民间多用锈毛莓根、茎煲汤做茶饮,治疗肝火虚妄、目赤肿痛,以宣泄肝火,被誉为保肝护肝良药^[1]。萜类是悬钩子属植物中含量较高的成分,从悬钩子属植物中分离到的萜类化合物主要是二萜、三萜以及少数单萜,其中三萜类占多数^[2-4]。目前对锈毛莓总三萜的研究甚少,实验室已通过液相方法确定锈毛莓醇提物中含有熊果酸和齐墩果酸,在前期预试验中发现锈毛莓总三萜对肝损伤小鼠有一定的修护作用,为提高锈毛莓总三萜的利用率,该试验优化总三萜提取工艺,并确定其抗氧化活性,以期为后期锈毛莓三萜类成分的研究奠定试验基础。

1 材料与方

1.1 材料与试剂 锈毛莓干燥根茎购自福建龙岩(由福建农林大学魏道智教授鉴定);熊果酸标准品(上海麦克林生化

科技有限公司);1,1-二苯基-2-苦基肼自由基(DPPH)、2,2-联氮-二(3-乙基-苯并噻唑-6-磺酸)二铵盐(ABTS)均购于北京索莱宝科技有限公司;香草醛、冰醋酸、高氯酸、乙醇、水杨酸、双氧水(H₂O₂)、七水合硫酸亚铁(FeSO₄·7H₂O)、过二硫酸钾(K₂S₂O₈)均购于国药集团化学试剂有限公司。

1.2 仪器 FA2004 电子分析天平,上海上平仪器公司;5804R 离心机,艾本德有限公司;超纯水机,四川沃特尔科技发展有限公司;HH-6 数显恒温水浴锅,国华电器有限公司;SHZ-D(Ⅲ)循环水式真空泵,巩义市予华仪器有限公司;RE-2000B 旋转蒸发器,上海亚荣生化仪器厂;DLSB 低温冷却循环系统,郑州长城科工贸有限公司;101-1AB 电热鼓风干燥器,天津市泰斯特仪器有限公司;FW-80 高速万能粉碎机,上海新诺仪器设备有限公司。

1.3 试验方法

1.3.1 标准曲线的绘制。精密称取熊果酸标准品 12.3 mg,加无水乙醇定容至 25 mL,制成 0.492 mg/mL 的标准溶液,分别吸取 0、25、50、100、200、300、400、500 和 600 μL 于比色管中,将比色管置于水浴锅挥干,冷却至室温。加 200 μL 的 5% 香草醛-冰醋酸和 800 μL 高氯酸,摇匀,于 70 ℃ 水浴 15 min,冰水冷却至室温,加 5 mL 冰醋酸,摇匀,于 546 nm 处测吸光度,以熊果酸质量(μg)为横坐标、吸光度为纵坐标绘

基金项目 福建省自然科学基金项目(2013J01362)。
作者简介 马晓莉(1993—),女,浙江东阳人,硕士研究生,研究方向:药用植物资源。*通信作者,教授,博士生导师,从事药用植物资源及中药化学研究。
收稿日期 2018-12-29

制标准曲线^[5-6],得到回归方程 $Y=0.0046X+0.0423$, $R^2=0.9992$,对对照品含量在 0~295.2 μg 呈良好的线性关系。

1.3.2 锈毛莓总三萜提取工艺及其含量测定。将锈毛莓根茎于 60 $^{\circ}\text{C}$ 烘干,粉碎过 60 目筛,准确称取锈毛莓粉末 2.0 g,按照设定的不同条件进行超声提取,乙醇补足失重,抽滤得滤液。参照“1.3.1”方法于 546 nm 处测吸光度,代入回归方程,计算锈毛莓总三萜的含量及提取率。

$$\text{总三萜提取率}=(m \times V)/(M \times v) \times 100\% \quad (1)$$

式中, m 为代入回归方程计算所得总三萜质量; M 为锈毛莓粉末质量; v 为参加反应加入的提取液体积; V 为提取液总体积。

1.3.3 单因素试验。采用超声提取锈毛莓总三萜,选择乙醇体积分数、料液比、超声时间、超声功率、超声温度进行单因素试验,分别考察它们对锈毛莓总三萜提取率的影响。

1.3.4 响应面优化设计。通过单因素试验分析,根据 Box-Behnken 中心组合试验设计原理,以料液比、超声时间、超声功率、乙醇体积分数为因素进行组合设计,并用响应面分析方法优化锈毛莓总三萜的提取条件。

1.3.5 锈毛莓总三萜抗氧化活性研究。

1.3.5.1 锈毛莓总三萜对·OH 清除能力的测定。在比色管中依次加入等体积(1 mL)不同浓度的锈毛莓总三萜溶液、9 mmol/L 的 $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 溶液、9 mmol/L 的水杨酸乙醇溶液、8.8 mmol/L 的 H_2O_2 溶液、6 mL 去离子水,摇匀,37 $^{\circ}\text{C}$ 水浴 30 min,于 510 nm 测吸光度^[7-8],以等量 75% 乙醇代替样品做空白对照组,以 V_c 做阳性对照,每组平行测定 3 次,按式(2)计算清除率。

$$\text{清除率}=(A_0-A_1)/A_0 \times 100\% \quad (2)$$

式中, A_0 为空白对照组的吸光度, A_1 为样品或阳性对照溶液吸光度。

1.3.5.2 锈毛莓总三萜对 DPPH·清除能力的测定。用无水乙醇配制 0.2 mmol/L 的 DPPH 溶液,取 2 mL DPPH 溶液,以少量多次的方式加入锈毛莓总三萜溶液,边加边混匀,观察 DPPH 溶液的褪色情况,记录加入药量,配制适宜浓度的锈毛莓总三萜溶液。

在比色管中依次加入不同质量浓度(0、0.01、0.02、0.04、0.06、0.08、0.10、0.12、0.16 和 0.20 mg/mL)的锈毛莓总三萜溶液 1 mL、0.2 mmol/L 的 DPPH 溶液 2 mL,旋涡混匀,避光反应 30 min 后 517 nm 波长处测吸光度^[9]。以等量 75% 乙醇代替样品做空白对照组,以 V_c 做阳性对照,每组平行测定 3 次,按式(3)计算清除率。

$$\text{清除率}=[A_0-(A_1-A_2)]/A_0 \times 100\% \quad (3)$$

式中, A_0 为空白对照组的吸光度; A_1 为样品或阳性对照溶液吸光度; A_2 为无水乙醇溶液代替 DPPH 溶液的吸光度。

1.3.5.3 锈毛莓总三萜对 ABTS⁺·清除能力的测定。取等量 7.4 mmol/L 的 ABTS 溶液和 2.6 mmol/L 的 $\text{K}_2\text{S}_2\text{O}_8$ 溶液旋涡混匀,在室温下避光反应 16 h,用无水乙醇稀释,直至其吸光度在波长 734 nm 处为 0.70 ± 0.02 ,即为 ABTS⁺·工作液。

在比色管中依次加入 3.2 mL ABTS⁺·工作液和 0.8 mL

不同质量浓度(0、0.001 25、0.002 50、0.006 25、0.012 50、0.018 75、0.025 00、0.031 25、0.037 50 和 0.050 00 mg/mL)的总三萜溶液,旋涡混匀,避光反应 6 min,在 734 nm 波长处测吸光度^[10-11]。以等量 75% 乙醇代替样品做空白对照组, V_c 做阳性对照,每组平行测定 3 次,按式(4)计算清除率。

$$\text{清除率}=(A_0-A_1)/A_0 \times 100\% \quad (4)$$

式中, A_0 为空白对照组的吸光度, A_1 为样品或阳性对照溶液吸光度。

2 结果与分析

2.1 锈毛莓总三萜单因素试验

2.1.1 乙醇体积分数对总三萜提取率的影响。精确称取 15 份锈毛莓粉末,按料液比 1:20(g:mL)加入不同体积分数的乙醇溶液(55%、65%、75%、85% 和 95%),每组 3 个平行,超声功率 350 W,超声温度 60 $^{\circ}\text{C}$,超声提取 30 min,补足失重,抽滤测总三萜含量。结果如图 1 所示,总三萜提取率随乙醇溶液体积分数的增加先增后减,当乙醇体积分数为 75% 时达到最大值。

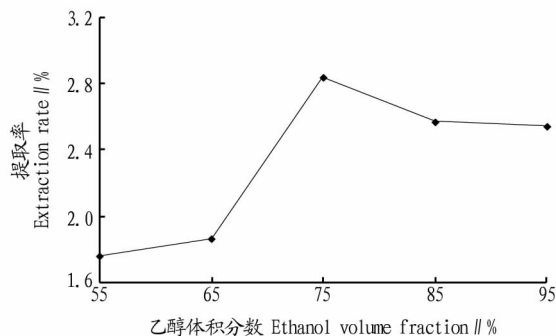


图 1 乙醇体积分数对锈毛莓总三萜提取率的影响

Fig. 1 Effect of ethanol volume fraction on extraction rate of total triterpenes from *Rubus reflexus*

2.1.2 料液比对总三萜提取率的影响。精确称取 15 份锈毛莓粉末,按不同料液比(1:10、1:20、1:30、1:40 和 1:50)加入 95% 的乙醇溶液,每组 3 个平行,超声功率 350 W,超声温度 60 $^{\circ}\text{C}$,超声提取 30 min,补足失重,抽滤测总三萜含量。结果如图 2 所示,总三萜提取率随料液比的增加先增后减,在一定范围内增加料液比,有利于三萜类成分析出,当料液比达 1:30 时,提取率达到最大值。

2.1.3 超声时间对总三萜提取率的影响。精确称取 18 份锈毛莓粉末,按料液比 1:20 加入 95% 的乙醇溶液,超声功率 350 W,超声温度 60 $^{\circ}\text{C}$,分别超声提取 15、30、45、60、75 和 90 min,每组 3 个平行,补足失重,抽滤测总三萜含量。结果如图 3 所示,在 60 min 内,锈毛莓总三萜提取率随提取时间的增加而增加,且增加幅度不断增大。60 min 以后,提取率随超声时间的增加而减少,可能是提取时间过长,使其他成分析出,抑制了三萜类成分的提取。

2.1.4 超声功率对总三萜提取率的影响。精确称取 21 份锈毛莓粉末,按料液比 1:20 加入 95% 的乙醇溶液,超声温度 60 $^{\circ}\text{C}$,采用不同超声功率(200、250、300、350、400、450 和 500 W),每组 3 个平行,超声提取 15 min,补足失重,抽滤测

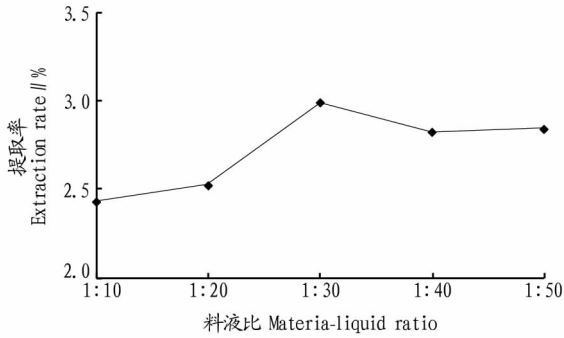


图2 料液比对锈毛莓总三萜提取率的影响

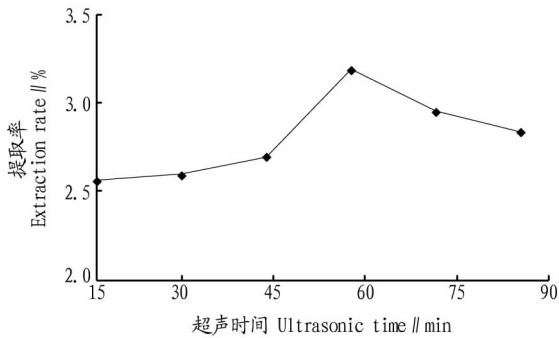
Fig. 2 Effect of materia-liquid ratio on extraction rate of total triterpenes from *Rubus reflexus*

图3 超声时间对锈毛莓总三萜提取率的影响

Fig. 3 Effect of ultrasonic time on extraction rate of total triterpenes from *Rubus reflexus*

总三萜含量。结果如图4所示,锈毛莓总三萜提取率随超声功率的增大先增后减。功率过大,可能会破坏三萜类成分,或有益于其他成分析出,从而抑制三萜类成分的提取,故选取提取功率为400 W。

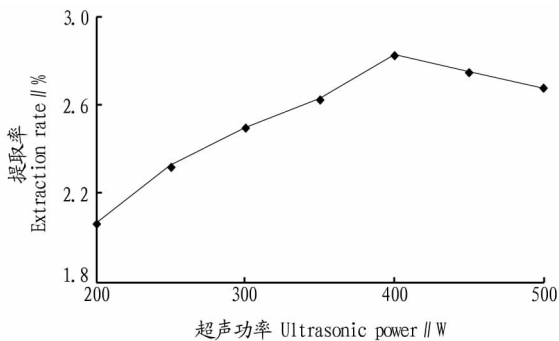


图4 超声功率对锈毛莓总三萜提取率的影响

Fig. 4 Effect of ultrasonic power on extraction rate of total triterpenes from *Rubus reflexus*

2.1.5 超声提取温度对总三萜提取率的影响。精确称取18份锈毛莓粉末,按料液比1:20加入95%的乙醇溶液,超声功率350 W,采用不同的超声温度(30、40、50、60、70和80℃),每组3个平行,超声提取15 min,补足失重,抽滤测总三萜含量。结果如图5所示,在30~80℃,锈毛莓总三萜提取率随温度的升高而增加,故选择实验室超声所能达到的最高温度80℃进行后续试验。

2.2 锈毛莓总三萜提取工艺的优化 以料液比、超声时间、

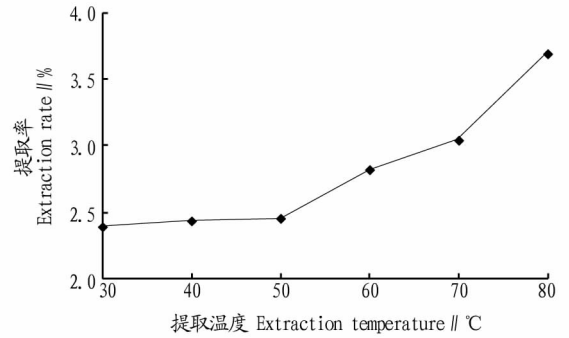


图5 超声提取温度对锈毛莓总三萜提取率的影响

Fig. 5 Effect of ultrasonic extraction temperature on extraction rate of total triterpenes from *Rubus reflexus*

超声功率、乙醇体积分数为因素,采用Design-Expert 8.06,设计4因素3水平(表1),共29个试验点(表2)。模型拟合得到以总三萜提取率为响应值的回归方程:总三萜提取率=

表1 因素与水平

Table 1 Factors and levels

水平 Level	因素 Factors			
	A(料液比 Material-liquid ratio)	B(超声时间 Ultrasonic time min)	C(超声功率 Ultrasonic power//W)	D(乙醇体积 分数 Ethanol volume fraction//%)
-1	1:10	30	300	55
0	1:30	60	400	75
1	1:50	90	500	95

表2 试验设计及结果

Table 2 Experimental design and results

试验号 Test number	A	B	C	D	总三萜提取率 Extraction rate of total triterpenes//%
1	1	0	-1	0	3.81
2	0	0	0	0	4.81
3	0	1	0	1	4.70
4	0	-1	0	-1	3.92
5	0	0	0	0	4.89
6	0	0	0	0	4.79
7	0	0	1	1	4.68
8	-1	1	0	0	4.41
9	0	-1	0	1	4.25
10	0	-1	1	0	4.31
11	0	0	0	0	5.00
12	-1	-1	0	0	3.93
13	1	1	0	0	4.11
14	1	0	0	1	4.15
15	1	0	0	-1	3.63
16	0	1	1	0	4.56
17	-1	0	1	0	4.15
18	0	0	1	-1	4.28
19	0	-1	-1	0	3.98
20	1	0	1	0	4.08
21	-1	0	0	-1	3.87
22	0	0	-1	1	4.51
23	0	1	-1	0	4.48
24	0	0	0	0	5.10
25	0	0	-1	-1	3.76
26	0	1	0	-1	3.88
27	-1	0	0	1	4.35
28	-1	0	-1	0	4.11
29	1	-1	0	0	3.67

4.92-0.11A+0.17B+0.12C+0.28D-0.011AB+0.055AC+9.375×10⁻³AD-0.062BC+0.12BD-0.091CD-0.58A²-0.33B²-0.27C²-0.36D²。对该模型进行方差分析可知,模型 *P* 值小于 0.000 1,说明该模型达到极显著水平,证明该试验方法可靠;*R*_{adj}²=0.936 9,说明模型拟合程度良好;变异系数(*CV*)为 2.41%,说明该模型的置信度较高,适用于锈毛莓总三萜提取工艺的优化。模型中 A(料液比)、B(超声时间)、C(超声功率)、D(乙醇体积分数)、A²、B²、C²、D² 对总三萜提取率影响极显著,BD 影响显著^[12-13]。4 个因素对锈毛莓总三萜

提取率的影响从大到小依次为 D(乙醇体积分数)、B(超声时间)、C(超声功率)、A(料液比)。

利用 Design-Expert 8.06 对各因素之间的交互作用做出相应的响应面图和等高线图。响应面图坡度越陡,说明该因素对总三萜的提取率影响越大;等高线图圆形说明 2 个因素交互作用不显著,椭圆说明 2 个因素交互作用显著^[14]。如图 6 所示,在交互项对总三萜提取率的影响中,超声时间与乙醇体积分数的交互作用显著,其他不显著,与方差分析结果一致。

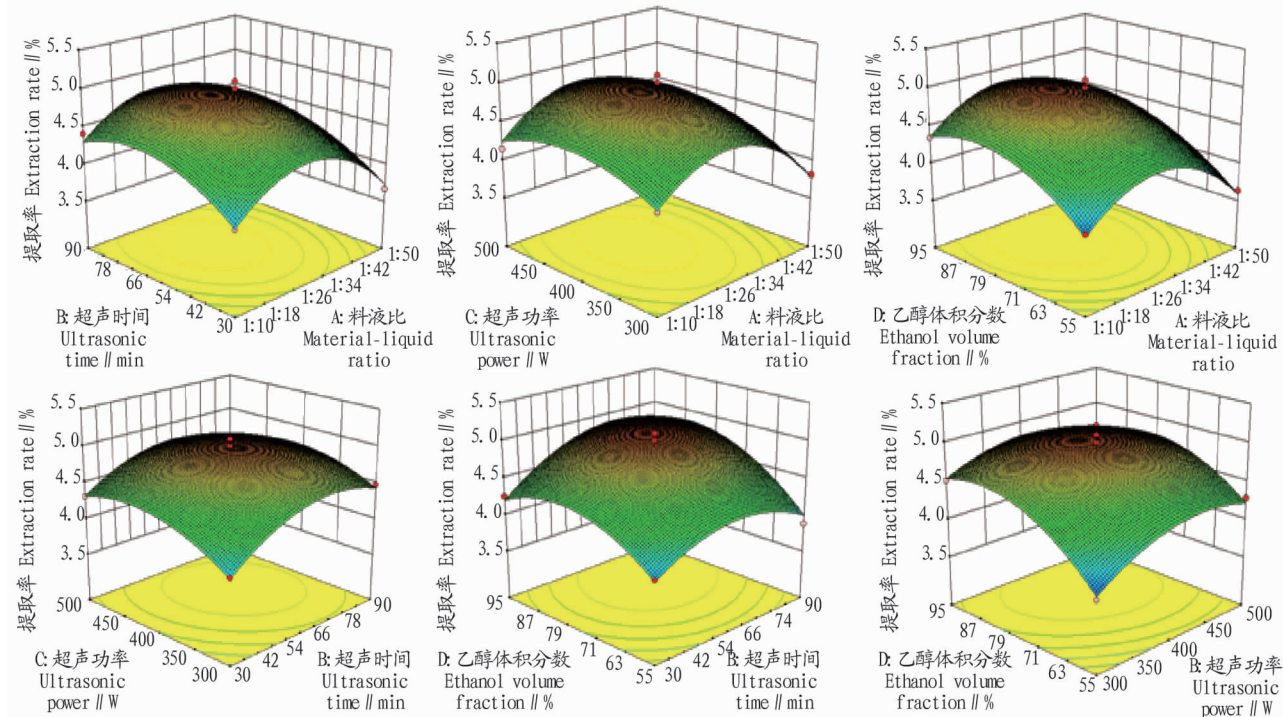


图 6 各因素交互作用的响应曲面

Fig. 6 Responsive surface for the interaction of various factors

由各个响应面(图 6)可知,响应值存在最大值。利用 Design-Expert 8.06 软件分析计算得出理论最佳提取工艺为料液比 1:28.12、超声时间 69.87 min、超声功率 410.23 W、乙醇体积分数 83.43%,提取率为 5.02%。结合实际选择超声温度 80 ℃,料液比 1:28、提取时间 70 min、超声功率 400 W、乙醇体积分数 83%。在此条件下,重复试验 3 次,锈毛莓总三萜的提取率为 5.06%,与理论值接近,说明该方程与实际拟合性较好。

2.3 抗氧化活性

2.3.1 对·OH 的清除作用。不同浓度总三萜溶液对·OH 的清除作用如图 7 所示,在浓度范围内呈良好的量效关系,根据非线性拟合得到 *V*_c 的 *IC*₅₀=0.309 mg/mL,锈毛莓总三萜的 *IC*₅₀=9.467 mg/mL,说明锈毛莓总三萜具有较弱的清除·OH 的能力,与 *V*_c 清除能力相差较大。

2.3.2 对 DPPH· 的清除作用。由图 8 可知,随锈毛莓总三萜浓度的升高,其对 DPPH· 的清除能力不断增强,在试验浓度范围内呈良好的量效关系,根据非线性拟合得到 *V*_c 的 *IC*₅₀=0.023 mg/mL,锈毛莓总三萜的 *IC*₅₀=0.097 mg/mL,说明锈

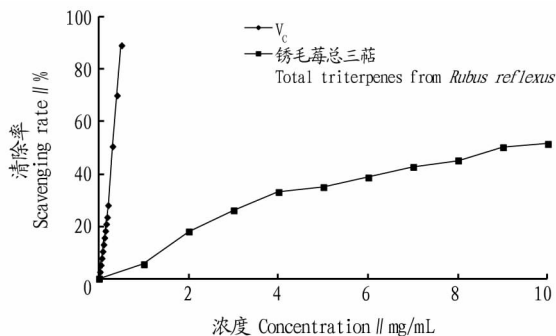


图 7 锈毛莓总三萜对·OH 的清除能力

Fig. 7 Scavenging activity of total triterpenes from *Rubus reflexus* to ·OH

毛莓总三萜具有较强清除 DPPH· 的能力,且当达到较高浓度时,可基本清除。

2.3.3 对 ABTS⁺· 的清除作用。由图 9 可知,在试验浓度范围内,随着锈毛莓总三萜浓度的升高,其对 ABTS⁺· 的清除能力不断增强,且呈现较好的量效关系,根据非线性拟合得到 *V*_c 的 *IC*₅₀=0.019 mg/mL,锈毛莓总三萜的 *IC*₅₀=0.047 mg/mL。

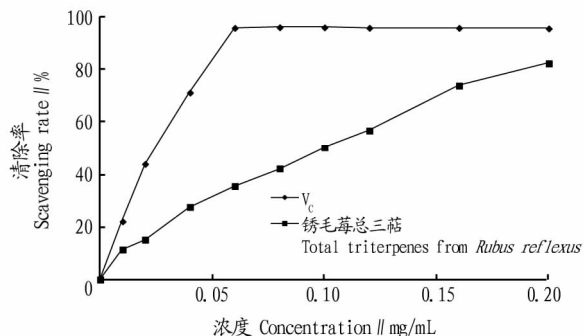


图8 锈毛莓总三萜对 DPPH· 的清除能力

Fig. 8 Scavenging activity of total triterpenes from *Rubus reflexus* to DPPH·

结果表明,锈毛莓总三萜对 ABTS⁺· 具有较强的清除作用,但其清除能力较 V_c 弱。

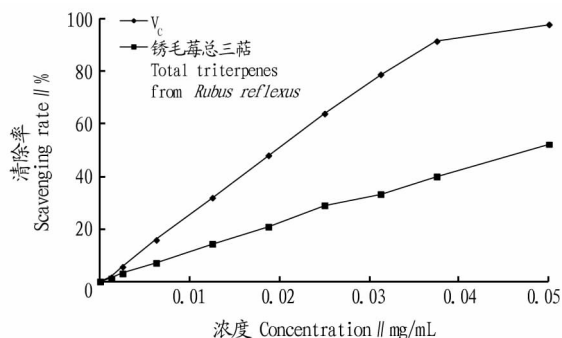


图9 锈毛莓总三萜对 ABTS⁺· 的清除能力

Fig. 9 Scavenging activity of total triterpenes from *Rubus reflexus* to ABTS⁺·

3 结论与讨论

试验以熊果酸为标准品,选用香草醛-冰醋酸显色法测定总三萜含量,通过波长 400~700 nm 全波段扫描,确定最佳检测波长为 546 nm。采用超声提取法,在单因素试验的基础上,利用 Design-Expert 8.06 软件进行响应面优化,得到最佳提取工艺条件为超声温度 80 ℃、料液比 1:28、超声时间

70 min、超声功率 400 W、乙醇体积分数 83% 时,锈毛莓总三萜提取率为 5.06%。

通过试验,发现用 75% 乙醇可使三萜浸膏完全溶解,故在抗氧化试验中以 75% 乙醇作为空白对照。体外抗氧化活性研究结果显示,锈毛莓总三萜类的抗氧化能力具有浓度效应,尤其对 DPPH· 和 ABTS⁺· 的抗氧化能力较为显著。因此,进一步加强锈毛莓三萜类化合物的研究,对于了解锈毛莓的有效活性成分和药效学研究、指导临床应用具有重要意义。

参考文献

- [1] 福建省三明市医学科学研究所. 三明畲族民间医药[M]. 厦门:厦门大学出版社,2002:118.
- [2] MEI Q X, CHEN X L, XIA X, et al. Isolation and chemotaxonomic significance of chemical constituents from *Rubus parvifolius* [J]. Chinese herbal medicines, 2016, 8(1): 75-79.
- [3] CHEN P, YAN H J, MEI Q X, et al. Triterpenoids from the roots and stems of *Rubus alceaefolius* [J]. Chemistry of natural compounds, 2016, 52(2): 248-251.
- [4] ONO M, YASUDA S, KOMATSU H, et al. Triterpenoids from the fruits and leaves of the blackberry (*Rubus allegheniensis*) and their inhibitory activities on foam cell formation in human monocyte-derived macrophage [J]. Natural product research, 2014, 28(24): 2347-2350.
- [5] 康同辉, 张一凡, 解婉莹, 等. 超声波辅助提取灵芝三萜工艺研究[J]. 农业科技与装备, 2017, 23(6): 41-43.
- [6] 洪佳妮, 徐先祥, 何定峰, 等. 大孔树脂纯化七叶莲总三萜工艺研究[J]. 中华中医药杂志, 2016(11): 4811-4814.
- [7] 程旺开, 许月明, 张冬冬. 响应面优化黄秋葵叶多糖的提取工艺及其抗氧化活性考察[J]. 中国实验方剂学杂志, 2017, 23(4): 38-42.
- [8] 宋佳敏, 王鸿飞, 孙贇, 等. 响应面法优化金蝉花多糖提取工艺及抗氧化活性分析[J]. 食品科学, 2018, 39(4): 275-281.
- [9] 王新玲, 王晓梅, 胡君萍, 等. 新疆鼠尾草不同部位不同极性提取物抗氧化活性[J]. 中国实验方剂学杂志, 2017, 23(23): 62-65.
- [10] 赵玉静, 李建宽, 张鑫, 等. 番石榴叶黄酮类化学成分及其抗氧化活性研究[J]. 中国中药杂志, 2018, 43(4): 760-765.
- [11] 艾薇, 李悦, 杨晓娜, 等. 藜香叶黄酮提取工艺及体外抗氧化活性研究[J/OL]. 食品工业科技, 2018-07-17[2018-10-12]. <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.1759.TS.20180716.1159.022.htm>.
- [12] 臧琛, 聂其霞, 王国华, 等. Box-Behnken 响应面法优化铁皮石斛的真空冷冻干燥工艺[J]. 中国实验方剂学杂志, 2018, 24(10): 15-20.
- [13] 林建原, 季丽红. 响应面优化银杏叶中黄酮的提取工艺[J]. 中国食品学报, 2013, 13(2): 83-90.
- [14] 肖怀秋, 李玉珍, 林亲录, 等. 响应面优化冷榨花生粕酶法制备多肽工艺的研究[J]. 中国粮油学报, 2013, 28(9): 50-55.

(上接第 187 页)

- [4] 王南山. 岳西县草地资源存在的问题及发展对策[J]. 现代农业科技, 2012(4): 333-334.
- [5] 赵日成, 何云核, 陈智勇, 等. 岳西妙道山珍稀紫柳林资源保护与开发研究[J]. 安徽林业科技, 2008(Z1): 9-11, 25.
- [6] 王德群. 药用植物生态学[M]. 北京: 中国中医药出版社, 2006.
- [7] 黄兆胜. 中药学[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2003.

- [8] 王德群, 彭华胜, 韩邦兴. 安徽省中药资源优势和永续利用[J]. 安徽中医学院学报, 2004, 23(1): 51-53.
- [9] 王德群. 种质资源在中药产业发展中的地位[C]//全国第 5 届天然药物资源学术研讨会论文集. 银川: 中国自然资源学会天然药物资源专业委员会, 2002: 75-78.
- [10] 方成武, 刘守金, 俞年军, 等. 六安市中药资源分析与产业化发展对策[J]. 安徽中医学院学报, 2004, 23(6): 40-42.