

# 超声波辅助法提取三叶青原花青素工艺的研究

何志贵<sup>1</sup>, 聂相珍<sup>1</sup>, 惠小涵<sup>2</sup>, 程婷婷<sup>2</sup>, 滕 浩<sup>1</sup>

(1. 桂林旅游学院 酒店管理学院, 广西 桂林 541006; 2. 西北农林科技大学 化学与药学院, 陕西 杨陵 712100)

**摘要:**以三叶青块根为原料提取原花青素。通过使用超声波辅助法提取原花青素,以葡萄籽原花青素作为分析标品,利用香草醛-盐酸法绘制原花青素含量标准曲线,并对三叶青原花青素含量进行初步定量分析。单因素提取试验分析结果表明,乙醇体积分数、料液比、浸提时间和浸提温度4因素对三叶青原花青素的提取率影响较大,可作为后续工艺优化的主要控制因素。正交试验分析结果显示了最优提取工艺条件为乙醇体积分数为50%,料液比为1:20,浸提温度为40℃,浸提时间为20 min,此条件下的原花青素提取率可达最高。

**关键词:**三叶青; 原花青素; 超声波; 提取; 优化

**中图分类号:**S718. 43      **文献标志码:**A      **文章编号:**1001-7461(2019)03-0207-05

Ultrasonic-assisted Extraction of Proanthocyanidins from *Tetrastigma hemsleyanum*

HE Zhi-gui<sup>1</sup>, NIE Xiang-zhen<sup>1</sup>, HUI Xiao-han<sup>2</sup>, CHENG Ting-ting<sup>2</sup>, TENG Hao<sup>1</sup>

(1. School of Hospitality Management, Guilin Tourism University, Guilin 541006, Guangxi, China;

2. College of Chemistry & Pharmacy, Northwest A&F University, Yangling 712100, Shaanxi, China)

**Abstract:** An ultrasonic-assisted extraction of proanthocyanidins from *Tetrastigma hemsleyanum* rootage was carried out optimized by using orthogonal experiment. Grape seed Proanthocyanidins was used as authentic standard to work out the calibration curve with vanillin-HCl assay method to measure the proanthocyanidin in the samples. The results of single factor extraction showed that the effects of ethanol volume fraction, solid-liquid ratio, extraction time and extraction temperature on the extraction rate of proanthocyanidins were significant, which could be used as the main factors for subsequent process optimization. The orthogonal experiment showed that the optimal extraction conditions were as follows: an ethanol concentration of 50%, a ratio of liquid to material of 1:20(g/mL), a temperature of 40℃ and an extraction time of 20 min, by which the yield of proanthocyanidins was the highest.

**Key words:** *Tetrastigma hemsleyanum*; ultrasonic sound; Proanthocyanidins; extraction; optimization

三叶青(*Tetrastigma hemsleyanum*)为葡萄科崖爬藤属植物,是我国特有的珍贵药材,又名蛇附子、石抱子、土经丸、金线吊葫芦、拦山虎等<sup>[1]</sup>,广泛分布于我国长江以南,主要有浙江、江西、江苏、广东、广西、湖南、湖北、福建等地,常生长于山坡灌木丛中或山谷的岩石缝中。三叶青全草皆有药用价值,采收期长,味微苦而性平,可针对淋巴结结核、跌打损伤、毒蛇咬伤、扁桃体炎等疾病症状进行适量用

药。同时,三叶青又是一种富含原花青素的药用珍稀植物,黄酮类化合物是其主要的活性成分<sup>[2]</sup>。

原花青素(Proanthocyanidins, PC),又称缩合单宁,在植物组织中大量存在,是一类具有特殊分子结构的多酚类化合物总称。可通过多谱学分析技术对三叶青原花青素的结构进行分析。已有研究表明,三叶青原花青素的主要结构由原花青定(PC)和原翠雀定(PD)所构成,儿茶素是其主要的末端单

元,表儿茶素和表没食子儿茶素是其主要的延伸单元<sup>[3]</sup>。目前国内研究揭示了原花青素在抗氧化<sup>[4-5]</sup>、防治心血管疾病<sup>[6-7]</sup>、抗动脉粥样硬化<sup>[8-10]</sup>、抗心肌缺血再灌注损伤<sup>[11-12]</sup>、降血压<sup>[13]</sup>、抗炎<sup>[14-15]</sup>、降血脂<sup>[16]</sup>、降血糖<sup>[17-19]</sup>、抗肿瘤<sup>[20-22]</sup>等方面具有显著的生物活性,在大健康领域具有非常广泛的应用前景<sup>[23-25]</sup>。本试验在超声波辅助法提取三叶青原花青素的基础上,采用单因素试验与正交试验相结合的方法进行试验设计,对三叶青原花青素提取工艺进行优化,进而分析乙醇体积分数、液料比、提取温度和提取时间4个因素对原花青素提取率的影响,为今后拓宽和改良三叶青原花青素的生物活性在功能性食品、化妆品以及保健品开发利用上提供必要的研究基础。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料与试剂

三叶青采自广西壮族自治区河池市天峨县菠结乡常里村,经中药指纹图谱与天然产物国家地方联合工程研究中心董娟娥教授鉴定为葡萄科崖爬藤属植物三叶青(*T. hemsleyanum*)。本试验的原材料为三叶青的块根,用去离子水洗净,45℃烘干,粉碎,过40目筛,−20℃冰箱保存备用。

无水乙醇:天津市天力化学试剂有限公司;浓盐酸:西陇化工股份有限公司;香草醛:上海源叶生物科技有限公司;其余试剂也均为分析纯。

### 1.2 仪器与设备

FW-100D高速万能粉碎机(天津鑫博得仪器有限公司);TDL-5-A台式离心机(上海安亭仪器有限公司);HH4恒温水浴锅(江苏杰瑞尔电器有限公司);UV759紫外-可见分光光度计(上海精密仪器公司);BSA224S电子天平(赛多利斯科学仪器有限公司)。

### 1.3 试验方法

1.3.1 原花青素标准曲线的绘制 用改良的香草醛-盐酸比色法<sup>[26-27]</sup>对原花青素进行标准曲线的绘制。配制1 g·100 mL<sup>-1</sup>的香草醛-甲醛溶液和1 mol·L<sup>-1</sup>的盐酸-甲醇溶液。把以上2种溶液按照体积比1:1充分混匀,制得工作液。称取原花青素分析标准品,以甲醇为溶剂,在容量瓶中定容至质量浓度为0.0、3.0、6.0、9.0、12.0、15.0 μg·mL<sup>-1</sup>的标准溶液。在不同浓度的标准液中分别加入10 mL工作液,充分摇匀,置于室温下反应30 min显色,用甲醇作空白对照,在500 nm波长处测定溶液吸光值。绘制吸光值(Y)与原花青素标准品质量浓度(X)的标准曲线,得标准曲线方程为: $Y=1.677 \times 10^{-4}X + 0.0002$  ( $R^2=0.9925$ )。

### 1.3.2 超声波辅助法提取三叶青原花青素的单因素分析

1.3.2.1 不同乙醇体积分数对三叶青原花青素提取的影响 精密称取三叶青样品粉末1 g,置于锥形瓶中,按料液比为1:20(g:mL)分别加入20 mL体积分数为30%、40%、50%、60%和70%的乙醇溶液,封闭好锥形瓶。样品充分摇匀后于50℃水浴浸提30 min。设置功率30 W,40 kHz的条件下继续超声10 min<sup>[28-29]</sup>。5 000 r·min<sup>-1</sup>离心5 min以去除固体颗粒,取上清10 mL,工作液3 mL,同1.3.1节显色,采用紫外分光光度计在A<sub>500 nm</sub>测定样品吸光值,并通过标准曲线法<sup>[30-32]</sup>计算原花青素含量。

### 1.3.2.2 提取时间对三叶青原花青素提取的影响

精密称取1 g三叶青粉末置于锥形瓶中,加入50%的乙醇溶液20 mL,料液比为1:20(g:mL),使用封口膜封闭锥形瓶。样品摇匀后50℃分别水浴浸提10、20、30、40、50 min。设置功率30 W,40 kHz的条件下继续超声10 min。5 000 r·min<sup>-1</sup>离心5 min以去除固体颗粒,取上清10 mL,工作液3 mL,同1.3.1节显色,采用紫外分光光度计在A<sub>500 nm</sub>测定样品吸光值,并通过标准曲线法计算原花青素含量。

### 1.3.2.3 料液比对三叶青原花青素提取的影响

准确称取2.1、3.3、1.0、0.8、0.67、0.57 g三叶青粉末置于锥形瓶中,加入20 mL、50%的乙醇溶液,配制料液比为1:10、1:15、1:20、1:25、1:30、1:35,使用封口膜封闭锥形瓶。样品摇匀后50℃水浴浸提30 min。设置功率30 W,40 kHz的条件下继续超声10 min。5 000 r·min<sup>-1</sup>离心5 min以去除固体颗粒,取上清液加入3 mL工作液,同1.3.1节显色,根据上述方法计算原花青素含量和原花青素提取率。

### 1.3.2.4 提取温度对三叶青原花青素提取的影响

精密称取1 g三叶青粉末置于锥形瓶中,加入50%的乙醇溶液20 mL,料液比同1.3.2.1,使用封口膜封闭锥形瓶。充分摇匀后,分别置于20、30、40、50、60、70℃的水浴锅中,水浴浸提30 min。设置功率30 W,40 kHz的条件下继续超声10 min。5 000 r·min<sup>-1</sup>离心5 min以去除固体颗粒,取上清液10 mL,工作液3 mL,根据上述方法计算出三叶青原花青素含量和提取率。

### 1.3.3 三叶青原花青素提取的正交试验分析

为准确得到超声波辅助法提取三叶青原花青素的最佳工艺条件,分析原花青素提取的单因素试验结果,以三叶青原花青素的提取率为响应值选取乙醇体积分

数、提取时间、料液比、温度进行  $L_9(3^4)$  正交优化试验<sup>[33-34]</sup>, 对三叶青原花青素提取工艺进行优化, 正交试验设计见表 1。

表 1 正交试验设计的影响因素与水平

Table 1 Factors and levels of orthogonal experiment design

因素	水平		
	1	2	3
乙醇体积分数	40	50	60
提取时间/min	20	30	40
提取温度/℃	40	50	60
料液比/(g:mL)	20	25	30

## 2 结果与分析

### 2.1 三叶青原花青素提取效果单因素试验分析

乙醇体积分数对三叶青原花青素提取率的影响

见图 1(A)结果, 乙醇体积分数<50%时, 三叶青原花青素提取率随着体积分数的逐渐增大而呈上升趋势, 但当乙醇体积分数>50%时, 提取效果呈下降趋势。因此, 采用 40%、50% 和 60% 的乙醇体积分数作为正交试验设计的 3 个水平。

由图 1(B)可见, 提取时间<40 min 时, 其提取效果随时间的延长而呈上升趋势, 当提取时间继续延长, 提取效果反而呈下降趋势。提取时间延长有

可能影响了三叶青原花青素结构的稳定性, 导致提取率降低。因此, 正交试验设计中提取时间 3 个水平为 20、30 和 40 min。

根据图 1(C)结果所示, 提取温度<50℃时, 三叶青中原花青素的提取效果随着温度的升高而呈上升趋势; 但提取温度>50℃时, 提取效果随着温度的升高反而呈下降趋势。因提取温度越低, 三叶青中的原花青素与纤维素、蛋白质等结合物分离速度就越慢, 原花青素的溶出量也就越少, 提取率相对较低。相反, 随着温度升高, 分子间的运动速率、渗透率及溶解度也就越快, 原花青素的溶出量也就越多, 提取率也就越高。但温度过高, 三叶青块根中的原花青素易氧化、结构容易破坏, 导致提取效率降低<sup>[33]</sup>。因此, 正交试验中提取温度 3 个水平为 40、50℃ 和 60℃。

料液比对原花青素提取效果影响的结果见图 1(D), 料液比在小于 1:25 时, 三叶青中原花青素的提取浓度随着料液比的增大而增加, 当料液比进一步增加, 提取效果呈下降趋势。这有可能溶剂量过大, 较多杂质被溶出, 造成了原花青素的提取率降低。因此结合原花青素浓度, 采用 1:20、1:25、1:30 (g:mL) 作为正交试验设计的中料液比的 3 个水平。

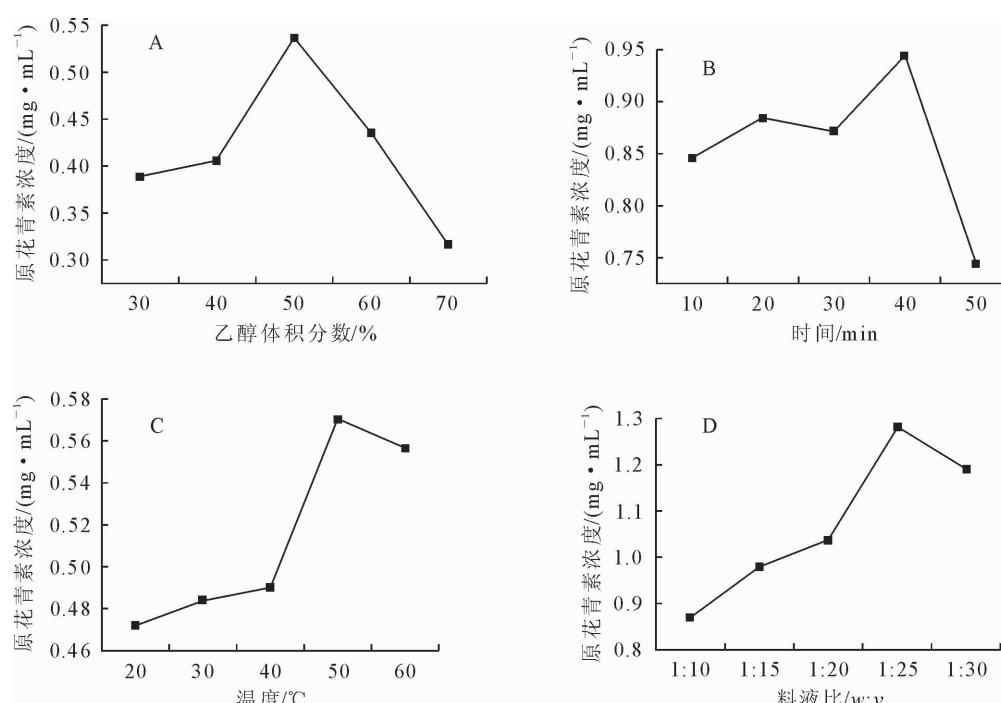


图 1 乙醇体积分数(A)、提取时间(B)、提取温度(C)、料液比(D)对三叶青原花青素提取效果的影响

Fig. 1 Effect of ethanol concentration(A), extraction time, extraction temperature and solid-liquid ratio on the extraction of Proanthocyanidins from *Tetrastigma hemsleyanum*

### 2.2 三叶青原花青素正交试验优化结果

以乙醇体积分数、提取时间、提取温度、料液比

进行的提取参数正交优化结果见表 2。三叶青块根原花青素提取 4 因素的极差大小为乙醇体积分数>

料液比>提取时间>提取温度,优化参数组合为A<sub>2</sub>B<sub>1</sub>C<sub>1</sub>D<sub>1</sub>,即三叶青块根原花青素提取的最适合参数为50%乙醇溶液为提取液、提取时间20 min、温度40℃及料液比1:20。在此优化参数条件下,进行了验证,浓度1.193 mg·mL<sup>-1</sup>提取率最高。

**表2 三叶青原花青素提取工艺正交试验优化设计方案及结果**

Table 2 Proanthocyanidins from *T. hemsleyanum* design arrangement and corresponding results

编号	A 乙醇体积 分数 /%	B 提取 时间 /h	C 提取 温度 /℃	D 料液比 (g:mL)	浓度 /(mg· mL <sup>-1</sup> )
1	40	20	40	1:20	0.612
2	40	30	50	1:25	0.252
3	40	40	60	1:30	0.314
4	50	20	60	1:25	1.079
5	50	30	40	1:30	1.036
6	50	40	50	1:20	1.006
7	60	20	50	1:30	0.805
8	60	30	60	1:20	0.836
9	60	40	40	1:25	0.807
k <sub>1</sub>	0.393	0.833	0.817	0.818	
k <sub>2</sub>	1.04	0.708	0.713	0.688	
k <sub>3</sub>	0.816	0.709	0.718	0.743	
R	0.647	0.124	0.105	0.130	

### 3 结论

通过单因素试验可知,乙醇体积分数、提取时间、提取温度和料液比4个因素对三叶青原花青素的提取率影响较大,可作为后续工艺优化试验的主控因素。三叶青原花青素正交试验结果表明:乙醇体积分数与提取时间、乙醇体积分数与提取温度、提取时间与提取温度之间的交互影响作用很显著,乙醇体积分数与料液比之间的交互影响作用较显著。当乙醇体积分数为50%、提取时间20 min、提取温度40℃、料液比1:20(g:mL),此条件下三叶青原花青素的提取率最高,本研究结果可为三叶青原花青素的有效利用提供必要的前期基础。

### 参考文献:

- [1] 李瑛琦,陆文超,于治国.三叶青的化学成分研究[J].中草药,2003,34(11):982-983.  
LI Y Q, LU W C, YU Z G. Research on *Tetrastigma hemsleyanum* diels et gilg chemical composition[J]. Chinese Traditional and Herbal Drugs, 2003, 34(11): 982-983. (in Chinese)
- [2] 陈丽芸,郭素华.三叶青的化学成分及药理作用研究进展[J].浙江中医药大学学报,2012,36(12):1368-1370.  
CHEN L Y, GUO S Hua. Chemical components and pharmacological actions of *Tetrastigma hemsleyanum*: A review[J]. Journal of Zhejiang University of Chinese Medicine, 2012, 36(12): 1368-1370.
- [3] 李鑫,刘景玲,李彦,等.三叶青原花青素结构分析[J].食品科学,2018,39(16):247-255.  
LI X, LIU J L, LI Y, et al. Structural analysis of procyanidins from *Tetrastigma hemsleyanum* diels et gilg[J]. Food Science, 2018, 39(16): 247-255. (in Chinese)
- [4] FRACASSETTI D, COSTA C, MOULAY L, et al. Ellagic acid derivatives, ellagitannins, proanthocyanidins and other phenolics, vitamin C and antioxidant capacity of two powder products from camu-camu fruit (*Myrciaria dubia*) [J]. Food Chemistry, 2013, 139(1/4): 578-588.
- [5] LIU Z Q, YANG Q L, ZHANG C S, et al. Study on antioxidant activity of proanthocyanidins from peanut skin[J]. Advanced Materials Research, 2011, 197-198: 1582-1586.
- [6] TAICHI N, YOSHIKO F, YUKO S, et al. Procyandins are potent inhibitors of LOX-1: a new player in the french paradox [J]. Proceedings of the Japan Academy, 2011, 87(3): 104.
- [7] HOLT R R, HEISS C, KELM M, et al. The potential of flavonol and procyanidin intake to influence age-related vascular disease[J]. Journal of Nutrition in Gerontology & Geriatrics, 2012, 31(3): 290-323.
- [8] YAMAKOSHI J, KATAOKA S, KOGA T, et al. Proanthocyanidin-rich extract from grape seeds attenuates the development of aortic atherosclerosis in cholesterol-fed rabbits[J]. Atherosclerosis, 1999, 142(1): 139-149.
- [9] SANO A, UCHIDA R, SAITO M, et al. Beneficial effects of grape seed extract on malondialdehyde-modified LDL[J]. Journal of Nutritional Science & Vitaminology, 2007, 53(2): 174-182.
- [10] 马亚兵,高海青,伊永亮,等.葡萄籽原花青素降低动脉粥样硬化兔血清C反应蛋白水平[J].中国动脉硬化杂志,2004,12(5):549-552.  
MA Y B, GAO H Q, YI Y L, et al. The serum c-reactive protein level of atherosclerotic rabbits was decreased by procyanidins of grape seed [J]. Chinese Journal of Arteriosclerosis, 2004, 12(5): 549-552. (in Chinese)
- [11] ZHAO G, GAO H, JIE Q, et al. The molecular mechanism of protective effects of grape seed proanthocyanidin extract on reperfusion arrhythmias in rats in vivo[J]. Biological & Pharmaceutical Bulletin, 2010, 33(5): 759-767.
- [12] SHAO Z H, WOJCIK K R, DOSSUMBEKOVA A, et al. Grape seed proanthocyanidins protect cardiomyocytes from ischemia and reperfusion injury via Akt-NOS signaling[J]. Journal of Cellular Biochemistry, 2009, 107(4): 697-705.
- [13] BELCARO G, LEDDA A, HU S, et al. Grape seed procyanidins in pre-and mild hypertension: a registry study[J]. Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine, 2013, 2013(6): 1-5.
- [14] IDOWU T O, OGUNDAINI A O, SALAU A O, et al. Doubly linked, A-type proanthocyanidin trimer and other constituents of *Ixora coccinea* leaves and their antioxidant and antibacterial properties[J]. Phytochemistry, 2010, 71(17/18): 2092.
- [15] AL-HABIB A, AL-SALEH E, SAFER A M, et al. Bactericidal effect of grape seed extract on methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) [J]. Journal of Toxicological Sciences, 2010, 35(3): 357-364.
- [16] VERSTRAETEN S V, JAGGERS G K, FRAGA C G, et al. Procyanidins can interact with Caco-2 cell membrane lipid rafts; involvement of cholesterol[J]. Biochimica et Biophysica Acta, 2006, 1761(1): 10-16.

- Acta (BBA) - Biomembranes, 2013, 1828(11): 2646-2653.
- [17] ZHANG H, YERIGUI, YANG Y, et al. Structures and antioxidant and intestinal disaccharidase inhibitory activities of A-type proanthocyanidins from peanut skin [J]. Journal of Agricultural & Food Chemistry, 2013, 61(37): 8814.
- [18] CEDÓ L, CASTELL-AUÍ A, PALLARÈS V, et al. Grape seed procyanidin extract modulates proliferation and apoptosis of pancreatic beta-cells [J]. Food Chemistry, 2013, 138(1): 524-530.
- [19] CASTELLAUÍ A, CEDÓ L, PALLARÈS V, et al. Procyanidins modify insulinemia by affecting insulin production and degradation [J]. Journal of Nutritional Biochemistry, 2012, 23(12): 1565.
- [20] 杨灌灌, 王雪青, 庞广昌. 原花青素抗肿瘤作用机制研究进展 [J]. 食品科学, 2008, 29(10): 694-697.
- YANG Y Y, WANG X Q, PANG G C. Advances in research on the mechanism of procyanidins antitumor action [J]. Food Science, 2008, 29(10): 694-697. (in Chinese)
- [21] CONNOR C A, ADRIAENS M, PIERINI R, et al. Procyanidin induces apoptosis of esophageal adenocarcinoma cells via JNK activation of c-Jun [J]. Nutrition & Cancer, 2014, 66(2): 335-341.
- [22] SZEWCZYK K. Procyanidins from evening primrose, defatted seeds inhibit invasiveness of breast cancer cells and modulate the expression of selected genes involved in angiogenesis, metastasis, and apoptosis [J]. Nutrition & Cancer, 2013, 65(8): 1219-1231.
- [23] 李佳桥, 余修亮, 曾林晖, 等. 响应面试验优化超声波辅助提取莲房原花青素工艺 [J]. 食品科学, 2016, 37(12): 40-45.
- LI J Q, YU X L, ZENG L H, et al. The response surface test optimizes the ultrasonic assisted extraction process of lotus room procyanidins [J]. Food Science, 2016, 37(12): 40-45. (in Chinese)
- [24] 马烨. 红米原花青素的提取纯化与抗氧化活性研究 [D]. 南昌: 南昌大学, 2016.
- [25] 韦琴, 乐薇, 吕凯波, 等. 板栗壳原花青素的提取及体外抑菌作用研究 [J]. 食品与发酵工业, 2016, 42(4): 214-219.
- WEI Q, LE W, LYU K B, et al. Study on extraction of proanthocyanin from chestnut shell and its bacteriostasis in vitro [J]. Food and Fermentation Industries, 2016, 42(4): 214-219. (in Chinese)
- [26] 李春阳, 许时婴, 王璋. 香草醛-盐酸法测定葡萄籽、梗中原花青素含量的研究 [J]. 食品工业科技, 2004, 25(6): 157-161.
- LI C Y, XU S Y, WANG Z. Determination of procyanidins in grape seed and stem by vanillin-hydrochloric acid method [J]. Science and Technology of Food Industry, 2004, 25(6): 157-161. (in Chinese)
- [27] 周秋枝, 黄蕾, 沈丹华, 等. 火棘果中原花青素含量测定方法的建立 [J]. 食品工业科技, 2013, 34(7): 314-318.
- ZHOU Q Z, HUANG L, SHEN D H, et al. Establishment of a method for the determination of procyanidins in echinoderm [J]. Science and Technology of Food Industry, 2013, 34(7): 314-318. (in Chinese)
- [28] 尤新军, 郭蕊, 王琳, 等. 黄精总皂苷超声提取工艺研究 [J]. 西北林学院学报, 2010, 25(3): 163-166.
- YOU X J, GUO R, WANG L, et al. Ultrasonic extraction process of saponins from *Polygonatum sibiricum* [J]. Journal of Northwest Forestry University, 2010, 25(3): 163-166. (in Chinese)
- [29] 刘婷, 金瑞. 超声波法提取西洋参多糖的工艺研究 [J]. 西北林学院学报, 2014, 29(3): 174-177.
- LIU T, JIN R. Technology of ultrasonic wave assisted extraction of polysaccharides from *Panax quinquefolium* [J]. Journal of Northwest Forestry University, 2014, 29(3): 174-177. (in Chinese)
- [30] 黄尚荣, 杨雪娜, 张露, 等. 龙眼皮原花青素提取工艺优化及其抗氧化活性测定 [J]. 食品科学, 2014, 35(10): 68-75.
- HUANG S R, YANG X N, ZHANG L, et al. Optimization of extraction process and determination of antioxidant activity of procyanidins from longeyelid [J]. Food Science, 2014, 35(10): 68-75. (in Chinese)
- [31] 任小娜, 陈志梅, 曾俊, 等. 黑果枸杞中原花青素提取条件的优化与含量测定 [J]. 食品与发酵工业, 2015, 41(1): 147-150.
- REN X N, CHEN Z M, ZENG J, et al. Optimization of extraction conditions and content determination of procyanidins from wolfberry [J]. Food and Fermentation Industries, 2015, 41(1): 147-150. (in Chinese)
- [32] 杨玲, 刘虹男, 张冬严, 等. 紫叶白桦组培苗叶片花青素含量影响因素分析 [J]. 森林工程, 2017, 33(2): 33-40.
- YANG L, LIU H N, ZHANG Y D, et al. Analysis of factors influencing on anthocyanin content in leaves of tissue culture plantlet of Royal Frost *Betula* [J]. Forest Engineering, 2017, 33(2): 33-40. (in Chinese)
- [33] 张镜, 何洪洛. 正交试验优化大叶榕果实原花青素提取工艺 [J]. 食品科学, 2015, 36(2): 41-45.
- ZHANG J, HE H L. Orthogonal experiment was conducted to optimize extraction technology of procyanidins from *ficus macrophylla* fruit [J]. Food Science, 2015, 36(2): 41-45. (in Chinese)
- [34] 秦超, 容蓉, 杨勇, 等. 多指标正交试验优选麻黄附子细辛汤提取工艺 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2012, 18(9): 35-39.
- QIN C, RONG R, YANG Y, et al. The extraction technology of *asarum cassia* decoction from *ephedra rhizome* was optimized by multi-index orthogonal test [J]. Chinese Journal of Experimental Traditional Medical Formulae, 2012, 18(9): 35-39. (in Chinese)