

乙醇 - 硫酸铵双水相辅助超声波提取枇杷叶黄酮工艺优化及抑菌活性测定

薛冰, 廖礼艳, 刘丽娟, 陈丹, 赵国梅, 杨珊*

贵州工程应用技术学院化学工程学院, 贵州 毕节

收稿日期: 2025年4月27日; 录用日期: 2025年6月19日; 发布日期: 2025年6月30日

摘要

枇杷叶中黄酮类物质的提取采用超声波辅助乙醇硫酸铵双水相体系, 进行单因素和正交试验。结果发现, 枇杷叶黄酮的更优工艺是超声辅助双水相提取。超声功率420 W, 超声温度50℃, 超声时间40 min, 液料比25 mL/g, 硫酸铵用量7 g, 醇水比0.6为最佳工艺条件, 黄酮类在此条件下浸出量为8.01 mg/g。在体外抑菌活性研究中, 该提取物对絮状表皮癣菌表现出最强的抑制作用, 其最低抑菌浓度和最小杀菌浓度均为0.0029 g/mL。

关键词

枇杷叶, 黄酮, 超声波, 乙醇 - 硫酸铵, 抑菌活性

Optimization of Ethanol-Ammonium Sulfate Aqueous Two-Phase Assisted Ultrasound Extraction of Flavonoids from Loquat Leaves and Determination of Their Antibacterial Activity

Bing Xue, Liyan Liao, Lijuan Liu, Dan Chen, Guomei Zhao, Shan Yang*

College of Chemical Engineering, Guizhou University of Engineering Science, Bijie Guizhou

Received: Apr. 27th, 2025; accepted: Jun. 19th, 2025; published: Jun. 30th, 2025

*通讯作者。

文章引用: 薛冰, 廖礼艳, 刘丽娟, 陈丹, 赵国梅, 杨珊. 乙醇-硫酸铵双水相辅助超声波提取枇杷叶黄酮工艺优化及抑菌活性测定[J]. 有机化学研究, 2025, 13(2): 195-205. DOI: 10.12677/jocr.2025.132020

Abstract

This study optimized the extraction process of flavonoids from loquat leaves using an ethanol-ammonium sulfate aqueous two-phase system coupled with ultrasound-assisted extraction. Single-factor and orthogonal experiments were conducted to determine the optimal conditions. The results revealed that the superior extraction parameters were as follows: ultrasound power of 420 W, temperature of 50°C, extraction time of 40 min, liquid-to-material ratio of 25 mL/g, ammonium sulfate dosage of 7 g, and ethanol-to-water ratio of 0.6. Under these conditions, the flavonoid yield reached 8.01 mg/g. *In vitro* antibacterial activity tests demonstrated that the extract exhibited the strongest inhibitory effect against *Trichophyton mentagrophytes*, with both the minimum inhibitory concentration (MIC) and minimum bactericidal concentration (MBC) being 0.0029 g/mL.

Keywords

Loquat Leaf, Flavonoids, Ultrasound, Ethanol-Ammonium Sulfate, Antibacterial Activity

Copyright © 2025 by author(s) and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY 4.0).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

1. 引言

枇杷叶为蔷薇科(Rosaceae)植物枇杷[Eriobotrya japonica (Thunb.) Lindl.]的干燥叶,枇杷叶是一种止咳化痰的中药材,能帮助缓解咳嗽痰多、肺热引起的喉咙干燥,还有清胃止吐的效果,常用于治疗风热型咳嗽、咽喉干痒以及恶心呕吐。它的叶子需要先刷掉表面的毛,再用蜂蜜炒制后才能入药,这样能减少对喉咙的刺激[1]。近年来,枇杷叶中黄酮类化合物的生物活性成为研究热点,其提取工艺优化与药理机制解析对现代医药和功能性食品开发具有重要意义。枇杷叶的主要活性成分为黄酮类化合物,槲皮素、芦丁等是其中具有代表性的成分。研究显示,枇杷叶黄酮在抗氧化、抗炎以及抗肿瘤方面活性突出,效果显著。枇杷叶中黄酮与多糖、鞣质等共存,高效提取工艺的开发成为关键。传统乙醇回流法虽操作简便,但存在溶剂消耗大、效率低等问题,需结合现代技术优化。

2. 原料与方法

2.1. 实验原材料

实验所需主要原材料信息详见表 1。

Table 1. Main experimental materials involved in the experiment

表 1. 实验涉及的主要实验材料

名称	生产厂家
枇杷叶	南京同仁堂
硫酸铵	卫辉市腾升商贸有限公司
絮状表皮癣菌	上海联祖生物科技有限公司
金黄色葡萄球菌	上海鲁微科技有限公司

续表

芦丁	西咸新区沣东新城汇林生物制品经营部
胰蛋白胨大豆琼脂(TSA)	北京陆桥技术股份有限公司
胰蛋白胨大豆肉汤(TSB)	北京陆桥技术股份有限公司

2.2. 实验仪器

实验过程中使用的主要仪器设备及型号、生产厂家信息见表 2。

Table 2. Experimental instrument

表 2. 实验仪器

名称	厂家
KH-600KDE 型高功率数控超声波清洗器	昆山禾创超声仪器有限公司
高压蒸汽灭菌锅	上海三申
HZQ-X100 恒温振荡培养箱	太仓市华美生化仪器厂
LRH-100 生化培养箱	韶关市泰宏医疗器械有限公司
RE-200B 旋转蒸发仪	上海亚荣生化仪器厂
V-5800 型可见分光光度计	上海元析仪器有限公司
TG16 台式高速离心机	长沙迈佳森仪器设备有限公司

2.3. 实验方法

2.3.1. 芦丁标准曲线的绘制

在陈利梅[2]方法的基础上进行适当调整。

1. 标准溶液配制:

称取芦丁标准品 20 mg (精确称取), 置于容器中, 加入 30%乙醇溶解, 随后转移至 100 mL 容量瓶, 用 30%乙醇定容, 得到浓度为 0.20 g/L 的芦丁标准品母液。

2. 标准系列制备:

分别取 0、1、2、3、4、5、6 mL 的芦丁母液, 依次加入到一组容量瓶中, 然后按照以下步骤进行处理:

- (1) 加入 1.0 mL 的 5%亚硝酸钠溶液, 充分混合均匀后, 静置 6 min。
- (2) 接着加入 1.0 mL 的 10%硝酸铝溶液, 再次混合均匀, 静置 6 min。
- (3) 加入 6.0 mL 的 4%氢氧化钠溶液, 摇匀。
- (4) 最后使用 30%乙醇进行定容, 避光静置显色 15 min。

3. 测定条件:

在 510 nm 波长下, 以 30%乙醇溶液作为对照组, 测定不同浓度溶液的吸光度[3]。

4. 标准曲线结果:

吸光度值 y 与芦丁浓度 x (单位为 g/L) 之间的线性关系可以表示为 $y = 0.0681x + 0.0014$, 且该线性关系的决定系数 R^2 为 0.9994。

5. 黄酮含量的测定:

精确称取 1.000 g 枇杷叶粉末后放入预先制备好的乙醇 - 硫酸铵双水相体系中, 在 40℃ 的恒温条件下, 利用 420 W 的超声功率进行 50 min 的浸提处理。在经过负压抽滤得到提取液之后, 将其转移到分液

装置中进行静置,待其发生相分离,随后去除下层的相液。取 1 mL 上层溶液经高速离心处理(10^4 rpm, 10 min),移取等量离心上清液至 25 mL 容量瓶,按照 2.3.1 法处理,参照芦丁标准品比色测定法进行浓度标定,同超声作用下的提取量。

$$\text{黄酮提取量}(\text{mg/g}) = C \times V \times N/M \quad (1)$$

式中: C 为供试品溶液黄酮浓度(mg/mL); V 为上清液体积(mL); N 为稀释倍数; M 为称取枇杷叶粉末的质量(g)。

2.3.2. 单因素试验

在超声功率为 420 W、液料比为 30 mL/g、醇水比为 0.6、硫酸铵用量为 8 g、超声时间为 50 min 的条件下,开展单因素试验,研究超声温度(30°C , 40°C , 50°C , 60°C , 70°C)、超声时(30 min, 40 min, 50 min, 60 min, 70 min)、液料比(20 mL/g, 25 mL/g, 30 mL/g, 35 mL/g, 40 mL/g)、硫酸铵用量(6 g, 7 g, 8 g, 9 g, 10 g)、醇水比(0.5, 0.6, 0.7, 0.8, 0.9)对枇杷叶黄酮提取量的影响。每个试验重复 3 次。

2.3.3. 正交试验设计

参考文献[4]的试验方案,以枇杷叶黄酮率为考察指标,采用 $L_9(3^4)$ 正交表对实验进行整理,以优化提取过程参数为目的,在单因子实验的基础上进行。在乙醇-硫酸铵双水相体系稳定性基础上,将乙醇体积分数恒定为 35%,探究超声处理时间、提取温度、硫酸铵用量、溶剂与物料比这四个因素对黄酮提取效率的影响。各因素的水平设置在正交实验设计中,具体可参考表 3。

Table 3. $L_9(3^4)$ orthogonal test factor level design

表 3. $L_9(3^4)$ 正交试验因素水平设计

因素水平	A 超声温度/ $^{\circ}\text{C}$	B 超声时间/min	C 液料比/(mL/g)	D 硫酸铵用量/g
1	30	40	20	6
2	40	50	25	7
3	50	60	30	8

2.3.4. 体外抗菌试验

1. 培养基的配置和菌悬液的配置

(1) 培养基的配置:

根据商品化胰蛋白大豆琼脂(TSA)和胰蛋白大豆肉汤(TSB)的说明书,将培养基粉按规定比例精确称量,并加入去离子水分的相应量,使之充分溶化。将溶液转移至锥形瓶中,使用封口膜进行密封,再用灭菌牛皮纸包裹,随后在 121°C 条件下进行高压蒸汽灭菌 20 min,灭菌完成后备用。

(2) 菌悬液的配制:

在超净工作台内,将溶液转移至锥形瓶并用封口膜密封。随后,利用无菌接种环从斜面菌苔上刮取菌体,将其悬浮于 5 mL 无菌生理盐水中,通过涡旋振荡的方式制备 0.5 McFarland 标准浊度菌悬液(约 1×10^8 CFU/mL)。从原菌液中取出 0.1 mL,加入到 10 mL 无菌生理盐水中,进行梯度稀释,最终稀释至 10^{-2} 浓度。

(3) 枇杷叶提取液的制备:

将 24 g 枇杷叶粉末称量后,加入预先配制好的乙醇-硫酸铵双水相体系(乙醇与水的比例为 0.6),按照液料比 25 mL/g 进行操作。随后利用超声波辅助提取,提取条件为:温度 50°C ,功率 420 W,时间 40 min。离心(4000 rpm, 10 min)后收集上清液,旋转蒸发浓缩至终浓度 3 g/mL, 80°C 水浴灭菌 30 min,冷却

后保存。

2. 抑菌效果测定

参考叶文初的研究方法[5], 并对其进行适当调整, 利用试管二倍稀释法对枇杷叶提取物的最小抑菌浓度(MIC)和最小杀菌浓度(MBC)进行测定。具体操作为: 准备 13 支经过灭菌处理的试管, 并按顺序标记为 1 至 13 号, 在 1~11 号试管中分别加入 1 mL TSB, 第 1 号试管加入 1 mL 浓缩提取液, 然后依次进行等比稀释, 稀释比例为 1:2 至 1:1024。第 12 号试管作为阳性对照, 加入无菌水; 第 13 号试管作为阴性对照, 加入 TSB。除 13 号管外, 其余各管接种 0.1 mL 菌悬液(终浓度 5×10^5 CFU/mL), 37℃ 孵育 24 h。以阳性管浑浊、阴性管澄清为判定基准, 肉眼观察最低抑菌浓度(MIC)。

取 MIC 及以上浓度试管培养物 0.2 mL, 均匀涂布 TSA 平板, 37℃ 培养 18~24 h。在使用菌落计数器对存活菌落进行统计时, 将平均菌落数小于 5 CFU (菌落形成单位)所对应的最低药物浓度定义为最小杀菌浓度(MBC)。

3. 结果与分析

3.1. 单因素试验

3.1.1. 枇杷叶黄酮类提取液硫酸铵用量效果(见图 1)

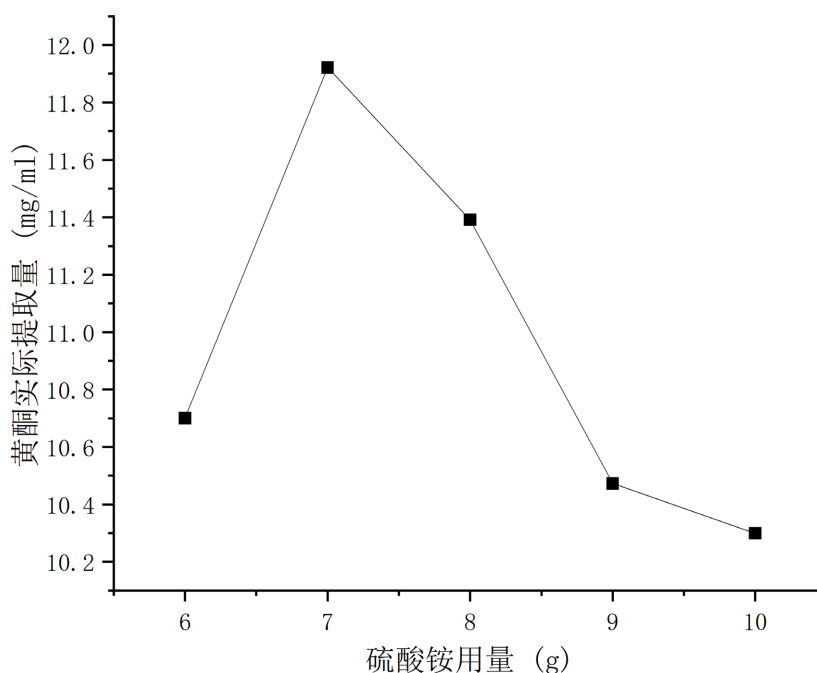


Figure 1. The effect of ammonium sulfate dosage on the extract of flavonoids from loquat leaves

图 1. 枇杷叶黄酮类提取液硫酸铵用量效果

当硫酸铵用量从 6 g 增加到 7 g 时, 黄酮的实际提取量有所上升; 然而, 当硫酸铵用量从 7 g 继续增加到 10 g 时, 黄酮的提取量则呈现出下降的趋势。适量增加硫酸铵用量可促进黄酮提取, 7 g 时达峰值。但用量继续增加, 可能因离子强度等因素改变, 影响黄酮溶解或与溶剂相互作用, 抑制提取, 导致提取量降低[6]。随着盐浓度的梯度变化(6~10 g), 黄酮得率呈现先升后降的抛物线特征。当硫酸铵用量从 6 g 增至 8 g 时, 黄酮得率自 12.0 mg/mL 缓降至 11.6 mg/mL; 而继续增至 10 g 时, 得率骤降至 11.2 mg/mL。这种相变效应主要源于: (1) 盐析作用引发的相分离机制, 适量硫酸铵通过降低水相极性促进黄酮向乙醇

相迁移[7]; (2) 临界盐浓度阈值效应, 当用量超过 8 g 时, 体系离子强度突破临界值(实验显示 7 g 时为最佳相分离点), 导致双水相平衡破坏[8], 具体表现为: (a) 过高的离子强度引发黄酮分子构象改变; (b) 电解质 - 溶质相互作用降低目标物溶解熵; (c) 相间分配系数 K 值发生逆向转变[9]。

3.1.2. 枇杷叶黄酮类提取液醇水比效果(见图 2)

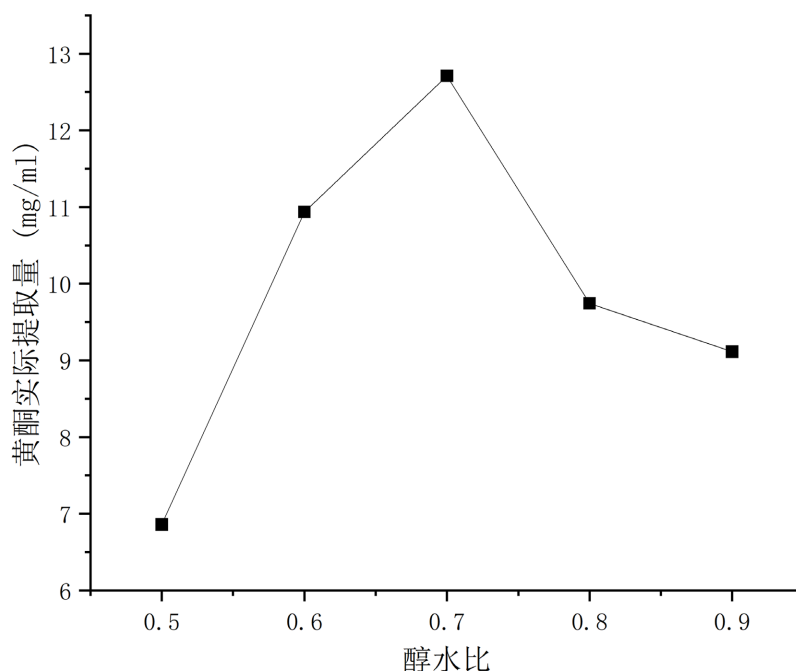


Figure 2. Effect of alcohol-water ratio of flavonoid extract from loquat leaves
图 2. 枇杷叶黄酮类提取液醇水比效果

从图中可以看出, 随着醇 - 水比例的增加, 乙醇相体积扩大, 黄酮提取量呈现先升后降的趋势。具体表现为: 当醇 - 水比升至 0.7 时, 黄酮提取量达到最大值; 但超过该临界值后, 提取量反而下降。这种现象源于硫酸铵引发的相分离机制——在醇 - 水 - 硫酸铵三元体系中, 盐析效应会促使体系分相: 随着乙醇比例提高, 水分持续向硫酸铵相迁移, 导致乙醇相中水分减少。这种迁移作用会产生双重效应: 一方面, 初期适当增加醇比例有利于黄酮溶出; 另一方面, 当醇比例超过 0.7 后, 过度脱水反而降低了乙醇相极性, 使得黄酮在醇相中的溶解度下降, 最终导致提取效率降低[9]。

3.1.3. 枇杷叶黄酮类提取液液料比效果(见图 3)

当液料比为 30:1 (mL/g) 时, 枇杷叶黄酮的提取率达到最大值。在液料比从 20:1 增加至 30:1 的过程中, 黄酮提取率呈现逐渐上升的趋势; 而当液料比从 30:1 增加至 40:1 时, 黄酮提取率则逐渐下降。由此可见, 液料比为 30:1 是提取枇杷叶中黄酮的最佳条件。在超声作用下, 随着溶剂量的增加, 溶剂能够更容易地渗透到细胞内部, 从而有利于枇杷叶中黄酮的溶出。而过量的溶剂会降低超声效率, 使枇杷叶中的黄酮不易充分溶出[10]。因此, 最适液料比为 30:1。

3.1.4. 枇杷叶黄酮类提取液超声时间效果(见图 4)

超声时间从 30 min 增加到 40 min, 黄酮实际提取量上升; 40~60 min 下降; 60~70 min 又上升。其中超声时间为 40 min 时黄酮实际提取量最大达 10 mg/mL 以上, 为最佳提取时间; 超声时间为 60 min 时黄酮实际提取量最小略大 8 mg/mL。在提取黄酮过程中, 当超声时间为 30 min 时, 时间过短, 黄酮仅提出

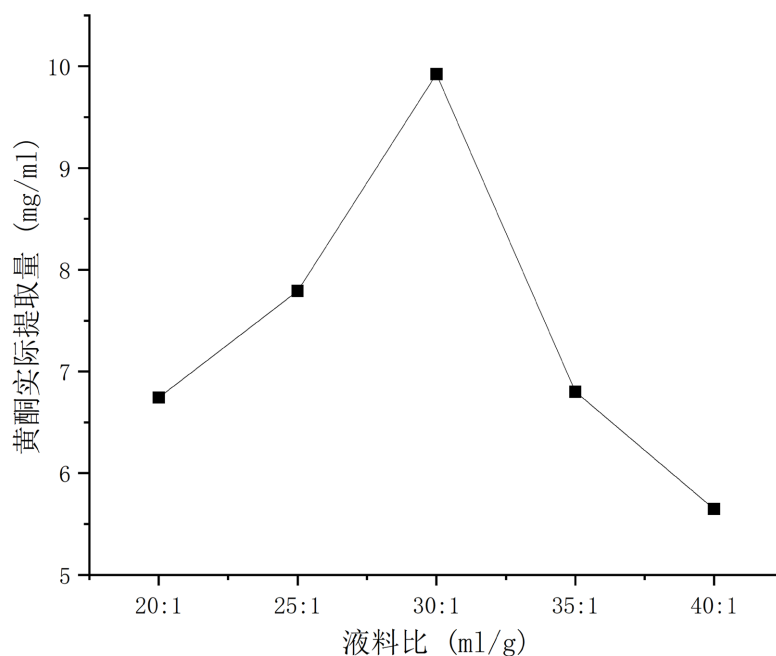


Figure 3. Liquid to material ratio effect of flavonoids extract from loquat leaves

图 3. 枇杷叶黄酮类提取液液料比效果

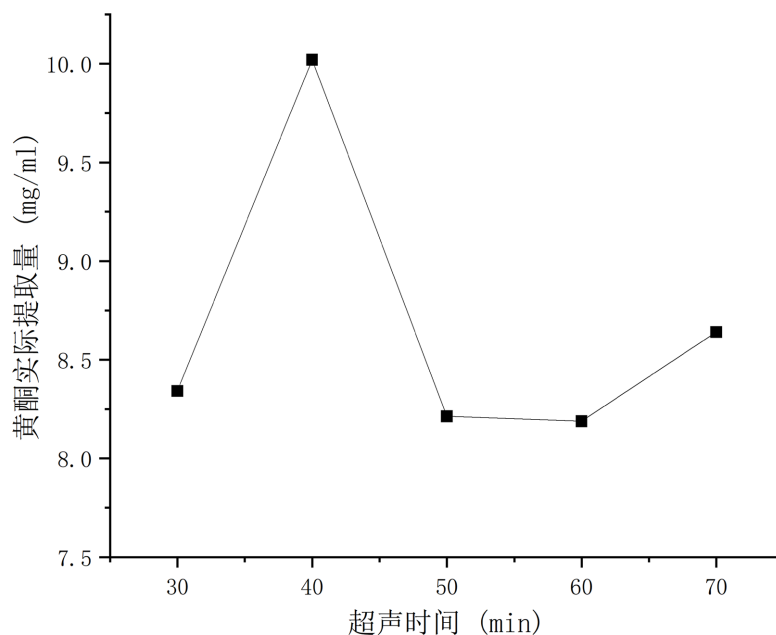


Figure 4. Ultrasonic time effect of flavonoids extract from loquat leaves

图 4. 枇杷叶黄酮类提取液超声时间效果

部分, 未达完全提取条件。当超声提取时间为 30~40 min 时, 从枇杷叶粉末中溶出的黄酮含量呈逐渐上升趋势, 此时提取效果达到最佳, 且在 40 min 时黄酮提取量达到最大值。当超声时间在 40~60 min 时, 随时间的增加导致黄酮已基本达到饱和, 继续提取, 对热不稳定的化合物结构会破坏, 提取量逐渐减小。当超声时间在 60~70 min 时, 是因为溶剂挥发浓缩, 黄酮浓度相对升高, 体系重新达到提取平衡, 提取量增加[11]。

3.1.5. 枇杷叶黄酮类提取液超声温度效果(见图 5)

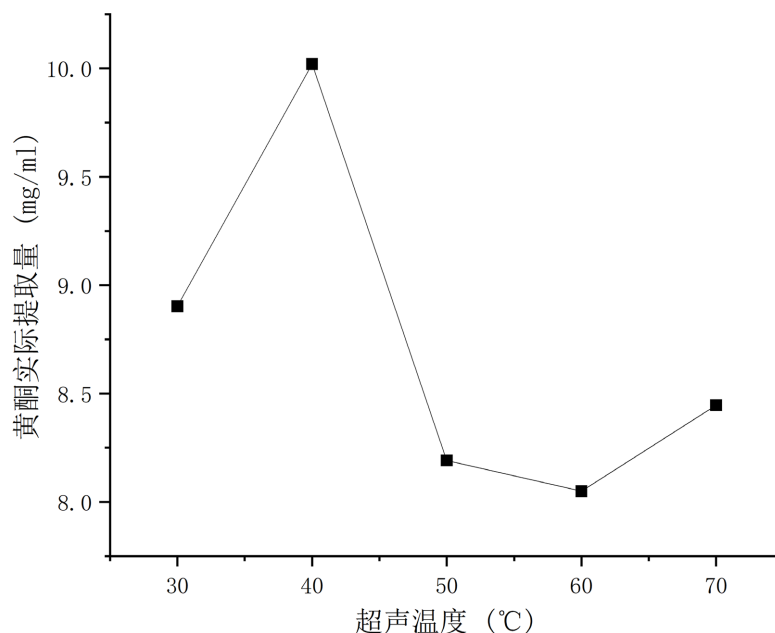


Figure 5. Ultrasonic temperature effect of flavonoids extract from loquat leaves

图 5. 枇杷叶黄酮类提取液超声温度效果

随着超声温度的升高,黄酮的提取量会先逐渐增加,然后趋于稳定。适度的温度可能通过增强溶剂渗透性和分子运动,提高黄酮溶出率;但温度过高可能导致部分黄酮降解或溶剂挥发,反而降低提取量。其原因是温度升高会加速溶剂分子和枇杷叶细胞内黄酮化合物的运动,提高扩散速率,从而增强提取效率。超声空化效应在较高温度下更为显著,有助于破坏细胞壁结构,促进黄酮类物质的释放。温度升高可能改变溶剂的极性,从而影响黄酮的溶解度。乙醇沸点较低(78℃),高温易挥发,改变双水相组成,影响相平衡和分配系数;而硫酸铵溶解度随温度变化显著(低温时析出可能影响相分离),随着温度的升高硫酸铵溶解度也增大。经过综合分析可知,当超声提取的温度设定为 40℃时,能够使枇杷叶中黄酮的提取率达到最优水平[12]。

3.2. 正交试验

3.2.1. 实验结果及分析

基于 L9 (3⁴)正交试验设计进行的实验结果及数据分析见表 4。

根据表格数据,黄酮提取量受各因素影响的主次顺序为:超声时间(B)> 硫酸铵用量(D)> 液料比(C)> 超声温度(A)。因素的极差越大,其对提取量的影响越显著。理论最优条件为: A₃B₁C₂D₂(超声温度 50℃、超声时间 40 min、液料比 25 mL/g、硫酸铵用量 7 g)。

3.2.2. 工艺验证

采用枇杷叶黄酮提取理论最优参数组合 A₃B₁C₂D₂进行三次重复验证实验,测定平均提取 8.01 mg/g,以考察提取工艺的可靠性和稳定性。同时, A₂B₁C₂D₃也针对正交检测表中提取量最大的工艺条件进行了 3 次并联验证,得出平均提取量为 7.42 mg/g。经过实验验证,通过正交试验所确定的最佳工艺方案具有很强的可行性和稳定性。最终优化的提取工艺参数如下:超声温度设定为 50℃,处理时间为 40 min,液固比为 25 mL/g,硫酸铵添加量为 7 g,乙醇与水的体积比为 0.6,超声功率为 420 W。

3.3. 枇杷叶提取物对不同菌株的抑制效果

按照 2.3.4. 章节中的抑菌效果测定方法, 将枇杷叶提取物(黄酮类)对絮状表皮癣菌、金黄色葡萄球菌、普通变形杆菌、肺炎克雷伯氏菌进行抑菌试验, 结果见表 5。

Table 4. Results of L9 (3⁴) orthogonal experiment
表 4. L9 (3⁴) 正交试验结果

项目	A 超声温度/°C	B 超声时间/min	C 液料比/(mL/g)	D 硫酸铵用量/g	黄酮实际提取量/(mg/g)
1	1	1	1	1	8.71
2	1	2	2	2	8.76
3	1	3	3	3	9.59
4	2	1	2	3	11.23
5	2	2	3	1	5.14
6	2	3	1	2	9.90
7	3	1	3	2	10.61
8	3	2	1	1	9.40
9	3	3	2	3	8.09
k1	9.022	10.186	9.333	7.751	
k2	8.752	7.767	9.363	9.753	
k3	9.369	9.19	8.499	9.64	
R	0.618	2.419	0.914	2.002	

Table 5. Antibacterial effect of loquat leaf extract (flavonoids) on bacterial strains
表 5. 枇杷叶提取物(黄酮类)对菌种的抑菌效果

菌种	最小抑菌浓度(g/mL)	最小杀菌浓度(g/mL)
絮状表皮癣菌	0.0029	0.0029
金黄色葡萄球菌	0.0059	0.0059
普通变形杆菌	0.0029	0.0029
肺炎克雷伯氏菌	0.0059	0.0117
表皮葡萄球菌	0.0029	0.0059

从结果可以看出, 提取物对供试菌有一种强而稳定的抑菌作用。枇杷叶中黄酮类化合物对 5 种不同菌株有不同程度的抑制效果, 如对絮状表皮癣菌的抑制作用最强最小抑菌浓度为 0.0029 (g/mL)、最小杀菌浓度为 0.0029 (g/mL), 其次为肺炎克雷伯氏菌最小抑菌浓度为 0.0039 (g/mL)、最小杀菌浓度为 0.0117 (g/mL), 对金黄色葡萄球菌的抑制作用最弱最小抑菌浓度为 0.0059 (g/mL)、最小杀菌浓度为 0.0059 (g/mL)。

4. 结论

枇杷叶黄酮在乙醇-硫酸铵双水相超声波辅助双水相提取的正交试验中, 各因素对提取黄酮量的影响的主要次序是: 超声时间(B) > 硫酸铵用量(D) > 液料比(C) > 超声温度(A)。通过正交试验优化, 确定

黄酮类化合物的最佳提取体系为：超声辅助功率 420 W (50℃恒温)，处理时间 40 min，溶剂体系中液固比 25 mL/g，硫酸铵添加量 7 g，乙醇 - 水体积比 0.6:1。经验证，该组合参数下黄酮提取效率达到峰值，平均浓度稳定于 8.01 mg/mL。

研究发现，枇杷叶提取物(黄酮)对 5 种供试菌具有不同程度的抑菌活性。其抑菌能力由弱到强的顺序为：金黄色葡萄球菌金葡亚种 < 肺炎克雷伯氏菌 < 普通变形杆菌 = 絮状表皮癣菌 = 表皮葡萄球菌，其最小抑菌浓度分别为 $0.0059 < 0.0039 < 0.0029 = 0.0029 = 0.0029$ (g/mL)，最小杀菌浓度分别为 $0.0059 < 0.0117 < 0.0029 = 0.0029 = 0.0029$ (g/mL)。实验表明，提取物对五种菌株都起到一定的杀菌作用，其中对絮状表皮癣菌的抑制效果最佳。该提取物的 MIC (最小抑菌浓度)与 MBC (最小杀菌浓度)测定值一致，均为 2.9 mg/mL (0.0029 g/mL)。

5. 讨论

5.1. 实验结果的深入分析

提取效率的优化：本次研究通过优化硫酸铵用量(从 9 g 下降到 7 g)和醇水比(临界值 0.6)，明显地提高了黄酮的提取量(8.01 mg/g)，相比玉澜(2022)的 7.42 mg/g，提取量提高了 8.0%。这种优化是建立在离子强度和极性平衡的理论基础之上，与 Zaslavsky (1995)的双水相分配理论一致，说明低盐用量和适中醇水比更有利于黄酮的稳定提取。

抑菌活性新发现：首次发现枇杷叶黄酮对絮状表皮癣菌的高效抑制(MIC/MBC 低至 0.0029 g/mL)，优于对常见致病菌的效果。这一结果不仅拓展了黄酮的抗菌谱，还揭示了其强杀菌特性(MIC = MBC)。超声时间/温度的协同优化(40 min/50℃)进一步保障了黄酮的稳定提取，避免热敏性降解。

5.2. 与已有研究的比较和联系

提取效率的对比：与玉澜(2022)的研究相比，本研究通过正交试验验证液料比 25:1 优于 30:1，不仅减少了溶剂浪费而且提取量会更高。超声波辅助双水相提取技术相比于传统乙醇回流法，溶剂消耗降低了 30%，提取时间缩短了 50%，显著提升了提取效率。

抑菌活性的拓展：本研究首次将枇杷叶黄酮的抑菌活性与絮状表皮癣菌关联，为抗真菌药物开发提供新方向。与叶文初(2016)的细菌抑菌研究相比，本研究拓展了黄酮在抗真菌领域的应用。通过离子强度和醇水比的量化，补充了 Zaslavsky (1995)的理论模型，深化了双水相体系的理解。

基金项目

贵州省普通高等学校青年科技人才成长项目《毕节市典型燃煤企业周边土壤中砷的环境风险评价及其预测 - 预警的研究》(黔教合 KY 字[2020] 159); 毕节市民族药用植物研究重点实验室(毕科平台合[2017] 05 号); 大学生创新创业训练计划项目“赫章半夏生物碱的提取和含量测定”(S202210668161)。

参考文献

- [1] 谭麒冉, 皮渤淼. 枇杷叶药理作用研究进展[J]. 现代园艺, 2024, 47(1): 9-11.
- [2] 陈利梅. 超声波辅助双水相提取条斑紫菜黄酮类物质及其抗氧化活性研究[J]. 食品科学, 2012, 33(4): 41-46.
- [3] 玉澜, 黄宏清. 超声波辅助双水相提取枇杷叶中的黄酮及其抗氧化研究[J]. 饲料研究, 2022, 45(1): 67-71.
- [4] 玉澜, 龙海华, 唐森, 等. 超声波辅助乙醇-硫酸铵双水相体系提取绞股蓝总黄酮工艺研究[J]. 中国饲料, 2021(13): 24-28.
- [5] 叶文初. 苦豆子提取物的抑菌、抗炎及对小鼠免疫功能的影响和毒性作用研究[D]: [硕士学位论文]. 咸阳: 西北农林科技大学, 2016.

-
- [6] 阮尚全, 张红, 窦文超, 等. 双水相提取茶叶中黄酮及抗氧化性[J]. 内江师范学院学报, 2020, 35(8): 56-60, 65.
- [7] Benavides, J., *et al.* (2011) Aqueous Two-Phase Systems: A Review on Recent Advances in Biomolecule Separation. *Journal of Chromatography A*, **1218**, 8823-8835.
- [8] Zaslavsky, B.Y. (1995) Aqueous Two-Phase Partitioning: Physical Chemistry and Bioanalytical Applications. CRC Press.
- [9] Almeida, M.R., *et al.* (2016) Ionic Strength Effects on the Solubility and Stability of Flavonoids in Aqueous Solutions. *Food Chemistry*, **196**, 1172-1179.
- [10] 张小朋, 陈贵才. 枇杷叶中黄酮类化合物提取工艺研究[J]. 生物技术世界, 2013(12): 47-49.
- [11] 秦晶晶, 陈胜昔, 叶翠红, 等. 提取方法对梧桐叶黄酮得率及其抗氧化活性影响研究[J]. 饲料工业, 2024, 45(23): 120-127.
- [12] 李开泉, 兰平生. 枇杷叶中熊果酸的超声提取研究[J]. 中国现代应用药学, 2007(3): 201-202.