# 桔皮中橙皮苷的新型双水相萃取

朱红菊[1,2]，丁 玉[*2]，贾亚伟[2,3]

（1. 中国矿业大学 国家煤加工与洁净化工程技术研究中心，江苏 徐州 221116；2. 中国矿业大学 化工学院，江苏 徐州 221116；3. 江苏洋河酒厂股份有限公司技术中心，江苏 宿迁 223800）

**摘要**：采用新型双水相体系对桔皮中橙皮苷进行分离、纯化研究，考察了粗提物用量、pH、温度等参数对橙皮苷在两相间的分配及其回收率的影响。首先选取2种低分子有机物及3种无机盐分别构成双水相体系，用浊点法对其成相性能进行研究。选取其中成相性能较好的物质构成双水相体系，对橙皮苷的乙醇粗提物进行双水相分离，考察体系及其成相浓度对橙皮苷分配系数的影响。用所得最佳体系——丙酮-$K_2HPO_4$双水相体系对桔皮中橙皮苷进行分离。最佳条件下，橙皮苷的萃取收率可达96.69 %。采用制备型HPLC对其进一步纯化，梯度洗脱时分离效果较好。经测定，双水相体系纯化后，橙皮苷样品纯度约为71.36%。经制备型HPLC精制所得橙皮苷纯度为96.09%。橙皮苷总回收率为83.54%。

**关键词**：橙皮苷；双水相体系；萃取

**中图分类号**：TQ 46　**文献标志码**：A　**文章编号**：1673—1689(2013)09—0995—07

# Hesperidin Extraction from Orange Peel with New Aqueous Two-Phase System

*ZHU Hong-ju*[1,2]，*DING Yu*[*2]，*JIA Ya-wei*[2,3]

(1. National Engineering Research Center of Coal Preparation and Purification, China University of Mining and Technology, Xuzhou 221116, China; 2. School of Chemical Engineering and Technology, China University of Mining and Technology, Xuzhou 221116, China; 3. Yanghe Distillery Co. Ltd., Suqian 223800, China)

**Abstract**: In this manuscript, the separation and purification process of hesperidin from orange peel were developed, through investigating the effect of crude extract volume, pH and temperature on the variation of hesperidin partition and its recovery. Firstly two organic compounds with low molecular weight and three inorganic salts were selected to construct the aqueous two-phase system, whose performance was characterized by cloud point method. The chosen systems with good property in phase forming were applied to extract hesperidin from its crude ethanol extract, meanwhile the dependence of partition coefficient on the concentration of phase-forming substance and the type of system were also researched here. Therefore the best two-phase system was obtained, which is Acetone-$K_2HPO_4$ and applied to extract hesperidin from the peels. The recovery of hesperidin could reach to 96.69% under the optimization condition. The extract was refined

**收稿日期**：2013-03-22

* **通信作者**：丁 玉(1964—)，女，江苏丰县人，工学博士，副教授，主要从事生物及化工分离技术、无机材料等的研究与教学工作。
E-mail：cumtdy@126.com



© 1994-2014 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

further with prep-HPLC and purer hesperidin product was received. Gradient elution strategy made the refining process more effective in prep-HPLC system. The purity of hesperidin samples obtained from aqueous two-phase extraction was about 71.36%. It increased to 96.09% ca. after pre-HPLC refining. The total recovery of hesperidin was 83.54%.

**Keywords**: hesperidin, aqueous two-phase system, extraction

橙皮苷具有抗氧化、降血脂、消炎、维持渗透压、增强毛细血管韧性及降低胆固醇等作用[1-3]，被广泛用于医药及日用化工等领域[4-6]。同时，作为天然抗氧化剂、食品添加剂、果蔬保鲜剂及保健品等，也被食品行业广泛应用。

传统的双水相体系是由两种水溶性高分子或一种水溶性高分子与无机盐组成的混合体系。与其他常规分离方法相比，其显著特点及独有的技术优势在于：由于两相均为水相，故两相界面张力极低，大大低于有机溶剂与水相之间的相间张力，故相分离条件温和，相间传质和平衡过程迅速，产物回收率高。另外，低的界面张力有助于保持被分离物质的生物活性，特别适合于分离有生物活性的物质，在生物大分子等生物类产品的分离过程中得到广泛应用[7]。基于此，为了增加双水相体系的选择性，近年来有诸如双水相与其它分离技术的集成化、亲和双水相等萃取技术的不断发展[8-10]。但这类双水相体系的主要不足是用于分离的高分子聚合物价格昂贵、难以回收、黏度大、聚合物难处理及环境污染等[11]，限制了它们的工业化应用。

近年来，先后出现了无机盐-低分子有机溶剂双水相体系[12]、离子液体双水相体系[13-15]，以及表面活性剂的双水相体系[16]等。这类双水相体系具有传统体系所没有的一些特点，如分相快、成本低、易于处理等。其中以无机盐/低分子有机溶剂形成的双水相体系最为价廉、易得，近年来得到广泛应用[17-20]，且多以微波、超声等手段辅助，以增强萃取效果。用于黄酮类化合物提取的这类双水相体系主要是由一些低分子醇类与硫酸铵构成[17-18,20]，多用于不同天然产物中黄酮类物质的分离。但这类体系对橙皮苷的选择性如何，则研究较少，而对于除低分子醇类之外的有机溶剂更少有人涉及。由于分离是利用目的产物与杂质的性质不同而进行，故萃取介质的不同必然会影响目的产物的分离程度。因此，有必要对低分子醇类以外的有机溶剂及硫酸铵以外的盐类的双水相构成及性质进行研究，以寻求最佳的双水相萃取体系，丰富双水相的构成。

作者采用新型亲水性低分子有机溶剂/无机盐双水相体系纯化橙皮苷，辅以纤维素酶助提取，考察不同的低分子有机物质及无机盐类对橙皮苷纯化的影响。采用制备型高效液相色谱(HPLC)对其进一步纯化。用 HPLC 检测所得橙皮苷的纯度及橙皮苷回收率，以考察新型双水相体系对橙皮苷的分离特异性及其纯化效率。

## 1 材料与方法

### 1.1 粗提物制备

市购蜜桔取皮、清洗、冷冻干燥至恒重。粉碎、过 40 目筛，所得桔皮粉冷藏备用。

取适量桔皮粉于锥形瓶中，加入乙醇并辅以纤维素酶，水浴振荡浸提 30 min 后灭酶、冷却，抽滤得粗提液待用。

### 1.2 双水相成相

关于乙醇、丙醇等低分子醇类与硫酸铵形成的双水相体系研究者众多，故本研究取异丙醇、丙酮及 3 种无机盐类构建双水相体系，进一步考察这类物质的成相性质及对目的产物的选择性。

分别取异丙醇/$(NH_4)_2SO_4$、异丙醇/$Na_2CO_3$、异丙醇/$K_2HPO_4$、丙酮/$(NH_4)_2SO_4$、丙酮/$Na_2CO_3$、丙酮/$K_2HPO_4$ 6 对物质进行研究，用浊点法绘制各自双节线图(相图)，考察最优成相、萃取体系。

### 1.3 双水相体系萃取

将一定量构成双水相体系的有机溶剂、无机盐置于离心管中，取橙皮苷粗提液与之混合，调节 pH，旋涡混合，一定温度下恒温萃取一定时间后，记录两相体积，用紫外分光光度法测定橙皮苷浓度。计算相比 $R$，分配系数 $K$ 和回收率 $Y$。

### 1.4 橙皮苷粗品制备

将双水相上相溶液加质量分数 1%盐酸溶液调 pH 为 4.0，加热至 65 ℃，冷却过夜结晶，过滤洗涤数



© 1994-2014 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

次,真空冷冻干燥得橙皮苷粗品。

### 1.5 制备型 HPLC 精制

将所得粗品用流动相稀释至相应浓度,与标准品溶液及流动相进行超声处理,过 0.45 μm 的滤膜后上样。梯度洗脱,收集主要峰值流出液。

制备条件:色谱柱 DAC- HB50-C18(Φ50 mm×250 mm,10 μm);紫外检测器,检测波长 286 nm;柱温为室温;进样量 15 mL;流动相体积流量 55 mL/min。

### 1.6 相关计算

#### 1.6.1 双水相萃取收率

$$Y_1=\frac{\text{精制品中橙皮苷的质量}}{\text{粗制品中橙皮苷的质量}}$$

$$Y_1=\frac{R\times K}{1+R\times K} \quad (1)$$

式(1)中:$R$ 为双水相体系上相体积之比;$K$ 为双水相体系分配系数。

#### 1.6.2 相比

$$R=\frac{V_t}{V_b} \quad (2)$$

式(2)中:$V_t$,$V_b$ 为双水相体系上、下相体积,mL。

#### 1.6.3 分配系数

$$K=\frac{C_t}{C_b} \quad (3)$$

式(3)中:$C_t$,$C_b$ 为上、下相中橙皮苷的质量浓度,mg/mL。

#### 1.6.4 HPLC 精制橙皮苷回收率 $Y_2$ 计算

$$Y_2=\frac{\text{精制冻干品中橙皮苷质量}}{\text{纯化样品(进样时)中橙皮苷质量}}$$

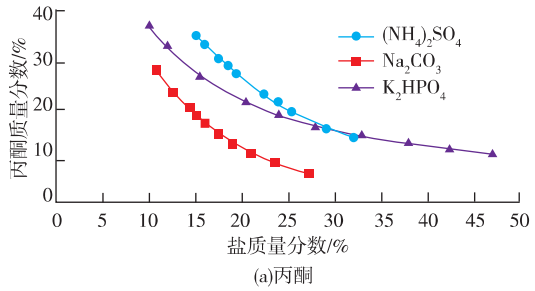
#### 1.6.5 总回收率 $Y$ 计算

$$Y=Y_1\times Y_2 \quad (4)$$

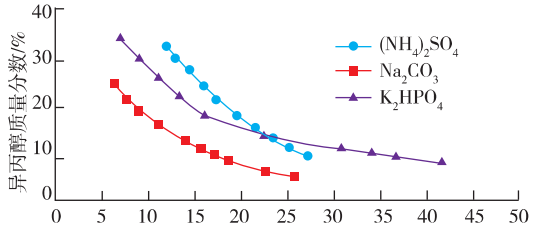
## 2 结果与讨论

### 2.1 双水相体系萃取橙皮苷

**2.1.1 双水相体系成相研究** 一般认为,普通有机物形成双水相是盐溶液与有机溶剂争夺水分子形成缔合水合物的结果。通过绘制双水相双节线图,选择合适的双水相体系。3 种盐分别与丙酮、异丙醇构成双水相体系,见图 1。



(a)丙酮



(b)异丙醇

图 1 不同双水相体系的成相相图

Fig. 1 Phase diagram for different aqueous two-phase Systems

由图 1 可以看出,碳酸钠形成稳定的双水相体系所需盐及醇量均较少,意即其分相能力最强。磷酸氢二钾具有较宽的分相范围。

**2.1.2 双水相体系构成对橙皮苷选择性的影响** 取碳酸钠与磷酸氢二钾进一步研究,分别与异丙醇、丙酮构成 4 组双水相体系,即异丙醇/$Na_2CO_3$、异丙醇/$K_2HPO_4$、丙酮/$Na_2CO_3$、丙酮/$K_2HPO_4$ 体系,探讨橙皮苷粗品在两相间的分配情况,考察体系对橙皮苷的选择性。各体系的成相相比、分配系数及橙皮苷收率见表 1。

表 1 橙皮苷在不同双水相体系中分配效果比较

Table 1 Comparison of hesperidin partitioning in different aqueous two-phase systems

| 双水相体系 | $R$ | $K$ | $Y$/% |
|---|---|---|---|
| 异丙醇/$Na_2CO_3$ | 0.56 | 13.06 | 87.97 |
| 异丙醇/$K_2HPO_4$ | 1.04 | 8.32 | 89.64 |
| 丙酮/$Na_2CO_3$ | 0.50 | 11.25 | 84.91 |
| 丙酮/$K_2HPO_4$ | 0.84 | 17.92 | 93.77 |

由表 1 可知,橙皮苷在丙酮/$K_2HPO_4$ 体系中虽然相比不太理想,但分配系数较大,表明该体系的选择性较高,其回收率 $Y_1$ 可达到 93.77 %。因而确定丙酮/$K_2HPO_4$ 体系作为萃取橙皮苷的适宜双水相体系。

**2.1.3 丙酮和 $K_2HPO_4$ 质量浓度对橙皮苷选择性的影响** 取系统总质量 20 g,加入相当 0.20 g 橙皮苷的粗提液,在 pH 9.0、室温情况下,考察 $K_2HPO_4$、丙酮质量浓度对橙皮苷粗品在两相间的选择性及回收率的影响,结果如图 2 所示。

由图 2 可知,$K_2HPO_4$、丙酮质量分数对橙皮苷粗品的萃取效果影响较为显著;当 $K_2HPO_4$ 质量分数一定时,随着丙酮量的增加,分配系数 $K$ 和萃取



© 1994-2014 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

率 $Y_1$ 总是先明显上升，而后趋于平稳或略有下降。这是由于体系分相能力随丙酮量增加而增大，更有利于橙皮苷分配于上相，提高萃取率；但丙酮质量分数过高，就会有更多的水进入上相，而使分配系数降低，同时 $K_2HPO_4$ 的水化作用不足以夺取这些水分子而出现盐析现象。而 $K_2HPO_4$ 的量也不宜太高，否则导致相比进一步降低，加之盐析的同时作用，会造成橙皮苷萃取率下降，导致原料浪费。欲提高萃取收率 $Y_1$，必须同时考虑分配系数 $K$ 和相比 $R$ 两个参数的作用。因此，取质量分数 28 %丙酮-质量分数 20 % $K_2HPO_4$ 构成的双水相体系作为后续萃取体系。

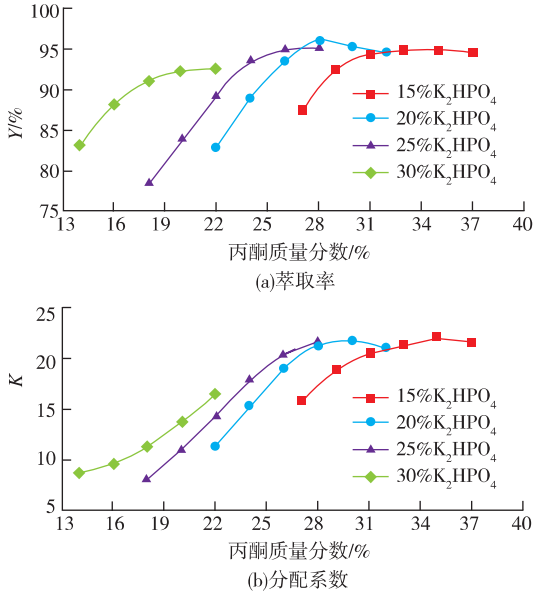



图 2 $K_2HPO_4$、丙酮质量浓度对橙皮苷粗品选择性影响

Fig. 2 Effect of dipotassium hydrogen phosphate and acetone concentration on the selectivety of crude hesperidin

**2.1.4** 粗提物用量对橙皮苷选择性的影响 仍取系统总质量为 20 g、pH 9.0，室温操作，固定 $K_2HPO_4$ 质量分数为 20 %、丙酮质量分数 28 %，考察粗提物加入量对橙皮苷萃取过程的影响，结果示于表 2。

由表 2 可以看出，分配系数 $K$、萃取率 $Y_1$ 随着粗提物量的加大而不断波动，但在用量达到 0.4 g 后，相比下降，$Y$ 呈现下降趋势。综合考虑，取粗提物用量为 0.4 g。

**2.1.5** 温度对橙皮苷分配系数的影响 固定上述条件，即系统总质量 20 g，$K_2HPO_4$ 质量分数 20%、丙酮质量分数 28%，pH 9.0，粗提物加入量 0.4 g。不同温度下橙皮苷粗品的萃取收率与分配系数等参数变化如表 3 所示。

表 2 粗提物用量对橙皮苷分配的影响

Table 2 Effect of the amount of crude hesperidin on its partitioning

| 系统 | 粗提物用量/g | $R$ | $K$ | $Y_1$/% |
|---|---|---|---|---|
| 1 | 0.1 | 0.89 | 20.85 | 94.89 |
| 2 | 0.2 | 1.03 | 21.33 | 95.65 |
| 3 | 0.3 | 0.93 | 20.88 | 95.10 |
| 4 | 0.4 | 1.04 | 21.78 | 95.77 |
| 5 | 0.5 | 0.70 | 20.63 | 93.52 |
| 6 | 0.6 | 0.61 | 20.87 | 92.72 |

表 3 温度对橙皮苷分配系数的影响

Table 3 Effect of temperature on the partition coefficient of crude hesperidin

| 系统 | 温度/℃ | $R$ | $K$ | $Y_1$/% |
|---|---|---|---|---|
| 1 | 25 | 1.04 | 21.76 | 95.77 |
| 2 | 30 | 1.04 | 21.78 | 95.77 |
| 3 | 35 | 1.04 | 21.79 | 95.77 |
| 4 | 40 | 1.04 | 21.81 | 95.78 |
| 5 | 45 | 1.04 | 21.84 | 95.78 |

由表 3 可知，随着温度上升，分配系数略有增加，相比未见变化，橙皮苷的萃取收率几乎无变化。出于操作方便和节能降耗的考虑，萃取温度取为室温。

**2.1.6** pH 值的影响 萃取条件固定为：系统总质量为 20 g，$K_2HPO_4$ 质量分数为 20 %、丙酮质量分数为 28 %，室温，粗提物加入量 0.4 g。一般而言，丙酮/$K_2HPO_4$ 双水相体系成相时，溶液 pH 范围在 7~12 之间。因此，考察此区间内 pH 值对橙皮苷粗品萃取过程的影响，结果见表 4。

表 4 pH 值对橙皮苷分配系数的影响

Table 4 Effect of pH value on the partition coefficient of crude hesperidin

| 系统 | pH | $R$ | $K$ | $Y_1$/% |
|---|---|---|---|---|
| 1 | 7 | 0.77 | 15.88 | 92.44 |
| 2 | 8 | 0.82 | 17.96 | 93.64 |
| 3 | 9 | 1.04 | 21.78 | 95.77 |
| 4 | 10 | 1.25 | 23.36 | 96.69 |
| 5 | 11 | 0.95 | 20.48 | 95.11 |
| 6 | 12 | 0.86 | 19.45 | 94.36 |

由表 4 可知，pH 值在 7~10 之间时，随着 pH 值的增加，相比 $R$ 与分配系数 $K$ 不断增大，橙皮苷萃



© 1994-2014 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

取收率上升趋势显著,pH=10 时萃取收率达到最大值。pH 大于 10 后,相比与选择性均降低,萃取收率亦缓慢下降。这可能是因为在 pH<10 时,随着 pH 的增加,溶液中水解产生的 $H_2PO_4^-$减少而 $HPO_4^{2-}$相应有所增加。负电荷的增多致使其对橙皮苷酚羟基氧负离子的排斥作用增强,从而促使更多的橙皮苷分配于上相,提高了橙皮苷的分配系数。pH>10 后,$K_2HPO_4$ 会进一步电离,上、下相的差别缩小,从而使得橙皮苷的选择性减少。最后导致其萃取收率下降。

## 2.2 HPLC 制备橙皮苷

### 2.2.1 流动相及洗脱方式对橙皮苷分离的影响

以甲醇溶剂为对照液,用紫外可见分光光度计对质量浓度 1.5 mg/mL 的橙皮苷标准品于波长 200~600 nm 之间进行全波长连续扫描,发现在 286 nm 处有特征吸收峰。因此,以 286 nm 为检测波长,对双水相纯化后的橙皮苷样品进行 HPLC 精制纯化。

配制质量浓度为 1.0 mg/mL 的样品溶液,按一定的色谱条件进行 HPLC 实验。考察不同流动相及洗脱方式对样品分离效果的影响。按以下 3 种洗脱方式进行考察:

1)纯甲醇洗脱方式。

2)固定 $v$(甲醇):$v$(水)= 45:55 的洗脱方式。

3)梯度洗脱方式。以甲醇与水的初始体积比例为 40:60 开始,不断增加甲醇比例至二者体积比例达到 1:1。而后,逐渐恢复初始比例,直至洗脱结束。所得结果分别示于图 3—5。

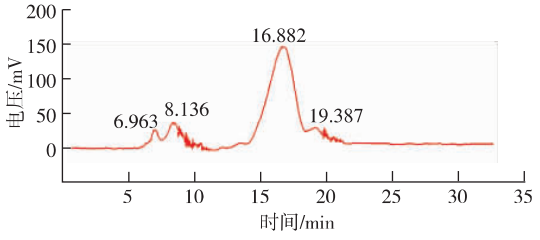



图 3 纯甲醇洗脱时样品的流出情况

Fig. 3 Elution profile while methanol as the elution solvent

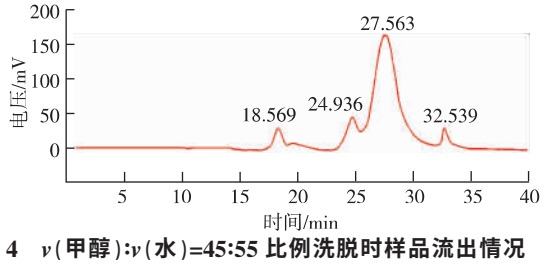



图 4 $v$(甲醇):$v$(水)=45:55 比例洗脱时样品流出情况

Fig. 4 Elution profile of sample when the ratio of methanol to water is 45:55

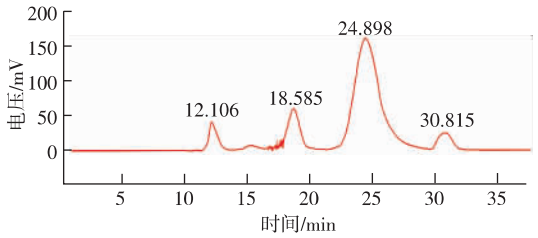



图 5 梯度洗脱时样品流出情况

Fig. 5 Elution profile of sample as gradient elution strategy

由图 3—5 可见,流动相为纯甲醇时,出峰时间较早,但是分离效果较差,并且有拖尾现象和溶剂峰干扰;流动相为甲醇–水(体积比 45:55)时,出峰时间较适宜,峰形较佳,但部分组分不能完全分开;流动相为梯度洗脱时,出峰时间适中,每个组分基本可逐一分离,但个别峰有前滞现象。综合考虑,采取梯度洗脱法精制橙皮苷。

**2.2.2 HPLC 精制橙皮苷** 按以上色谱条件对样品进行精制。以质量浓度 1.5 mg/mL 的标准品作为基准,对相当质量浓度 3.0 mg/mL 的样品进行梯度分离。收集峰流出液,真空旋转蒸发浓缩,回收甲醇溶剂。所得产品用去离子水洗涤数次,真空干燥得橙皮苷精制品。

**2.3 产品纯度分析** 分别将橙皮苷标准品、双水相纯化样品及 HPLC 精制样品配制成质量浓度为 20 μg/mL 的溶液,用 HPLC 分析色谱对各样品进行分析,通过面积归一化方法计算各出峰组分的百分比,近似看作各组分的质量分数。3 种样品的色谱如图 6—8 所示。

根据图 6 橙皮苷标准品的分析色谱图,可知图 7 中出峰时间 7.380 min 即第 4 个峰为橙皮苷,面积归一化得面积分数 71.36 %,即双水相纯化后的橙皮苷干样品纯度约为 71.36 %。

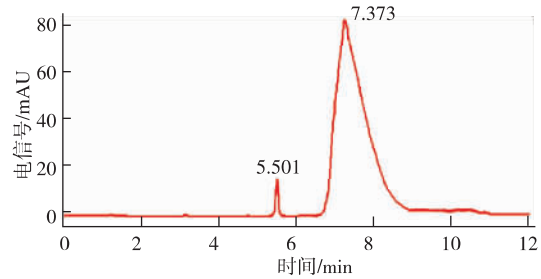



图 6 橙皮苷标准品分析图谱

Fig. 6 HPLC chromatogram of the standard hesperidin



© 1994-2014 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

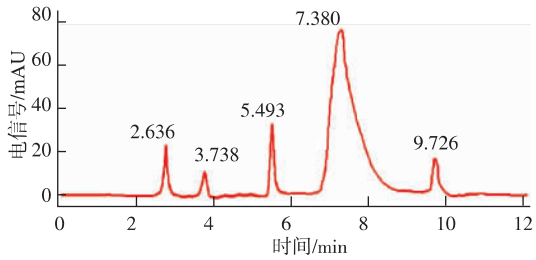



图 7　双水相纯化样品分析图谱

Fig. 7　HPLC chromatogram of purified hesperidin

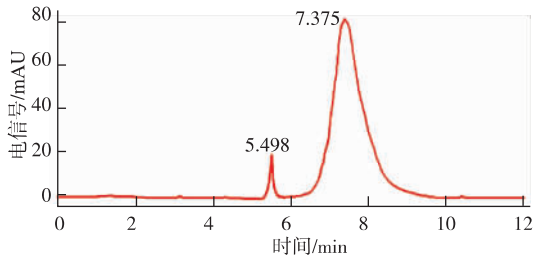



图 8　HPLC 精制品分析图谱

Fig. 8　HPLC chromatogram of the refined hesperidin

图 8 中保留时间 7.375 min 处的峰与橙皮苷标准品(7.373 min)保留时间一致，归一化面积分数为 96.09 %，即制备型 HPLC 系统制备得到的橙皮苷干品纯度约为 96.09 %。

制备型 HPLC 精制橙皮苷回收率

$$Y_2=\frac{38.5\ \text{mg}\times 96.09\%}{20\ \text{mL}\times 3\ \text{mg/mL}\times 71.36\%}=86.40\%,$$

则橙皮苷总回收率

$$Y=96.69\times 86.40/100\%=83.54\%。$$

由双水相纯化样品的分析图谱可以看出，丙酮/$K_2HPO_4$ 体系对橙皮苷有一定的富集、纯化作用。对照标准品可知，除主要成分橙皮苷外，还有其他的一些杂质存在。由于缺少对应物质的标准品，尚不能确定它们是哪种物质。这有待于以后的进一步研究。而经制备色谱精制后的样品已经与标准峰值基本无异，说明制备色谱对于橙皮苷类物质的纯化十分有效。

## 3 结 语

1) 采用不同类型有机溶剂/无机盐双水相体系分离纯化橙皮苷粗提物，效果不同。实验条件下，以丙酮/$K_2HPO_4$ 体系效果较好。其最佳萃取条件为：$K_2HPO_4$ 质量分数为 20%、丙酮质量分数为 28%；室温，pH 10，粗提物用量 0.4 g。其时，相比 $R$ 为 1.25，分配系数 $K$ 为 23.36，萃取回收率 96.69%。

2)丙酮/$K_2HPO_4$ 双水相萃取体系对橙皮苷有一定的选择性，可达到 70 %以上的纯度，纯化倍数达 20 倍以上。但其选择专一性还有待进一步研究。

3)制备型 HPLC 的流动相洗脱方式对橙皮苷的分离效果有一定影响。实验条件下，以甲醇-水梯度洗脱方式纯化效果较好。

4)丙酮/$K_2HPO_4$ 双水相体系纯化后的橙皮苷样品的纯度约 71.36%，制备型 HPLC 精制所得橙皮苷干品纯度可达到 96.09%，且回收率较高。

5)本实验橙皮苷总回收率约为 83.54%。

6)由丙酮/$K_2HPO_4$ 构成的双水相体系选择性较高，$K_2HPO_4$ 是生物活性物质的常用缓冲溶液用药品，由此构成的双水相体系更适合于具有生物活性的天然物质的萃取分离，值得对此作进一步研究。

## 参考文献：

[1] 钱俊臻，王伯初. 橙皮苷的药理作用研究进展[J]. 天然产物研究与开发，2010，22：176-180.
QIAN Jun-zhen, WANG Bo-chu. New research progress in harmacological activities of hesperidin[J]. **Nat Prod Res Dev**, 2010, 22: 176-180.(in Chinese)

[2] Pradeep K, Park S H, Ko K C. Hesperidin a flavanoglycone protects against γ-irradiation induced hepatocellular damage and oxidative stress in Sprague-Dawley rats[J]. **European Journal of Pharmacology**, 2008, 587(1-3): 273-280.

[3] Balakrishnan A, Menon V P. Effect of hesperidin on matrix metalloproteinases and antioxidant status during nicotine induced toxicity[J]. **Toxicology**, 2007, 238(2-3): 90-98.

[4] Yeh M H, Kao S T, Hung C M, et al. Heperidin inhibited acetaldehyde-induced matrix metalloproteinase-9 gene expression in human hepatocellular carcinoma cells[J]. **Toxicology Letters**, 2009, 184: 204-210.

[5] Marder M, Viola H, Wasowski C, et al. 6-Methylapigenin and hesperidin: new valeriana flavonoids with activity on the CNS[J]. **Pharmacology, Biochemistry and Behavior**, 2003, 75: 537-545.

[6] Fernández S P, Wasowski C, Loscalzo L M, et al. Central nervous system depressant action of flavonoid glycosides[J]. **European Journal of Pharmacology**, 2006, 539(3): 168-176.



© 1994-2014 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

[7] 江咏,李晓玺,李琳,等. 双水相萃取技术的研究进展及应用[J]. 食品工业科技,2007,28(10):235-238.
JIANG Yong,LI Xiao-xi,LI Lin,et al. Study and application of aqueous two-phase systems extraction[J]. **Science and Technology of Food Industry**,2007,28(10):235-238.(in Chinese)
[8] 林东强,朱自强,姚善泾,等. 生化分离过程的新探索—双水相分配与相关技术的集成化[J]. 化工学报,2000,51(1):1-6.
LIN Dong-qiang,ZHU Zi-qiang,YAO Shan-jing,et al. Novel technology in bioseparation process-integration of aqueous two-phase partitioning with related techniques[J]. **Journal of Chemical Industry and Engineering**,2000,51(1):1-6.(in Chinese)
[9] 陆瑾,赵珺,林东强,等. 金属螯合双水相亲和分配技术分离纳豆激酶的研究[J]. 高等化学工程学报,2004,18(4):465-470.
LU Jin,ZHAO Jun,LIN Dong-qiang,et al. Separation of nattokinase by immobilized metal ions affinity partitioning in aqueous two-phase systems[J]. **Journal of Chemical Engineering of Chinese Universities**,2004,18(4):465-470.(in Chinese)
[10] 汪苗苗,丁玉. 天花粉蛋白的盐析工艺和亲和双水相分离工艺[J]. 中国食品添加剂,2012(1):128-133.
WANG Miao-miao,DING Yu. Salting-out process and affinity aqueous two-phase extraction process of trichosanthin[J]. **China Food Additives**,2012(1):128-133.(in Chinese)
[11] 陈丛瑾,屈丽娟,陈东. 双水相萃取法分离纯化黄酮类化合物的研究进展[J]. 应用化工,2010,39(10):1587-1589,1596.
CHEN Cong-jin,QU Li-juan,CHEN Dong. Research progress on separation and purification of flavonoids by aqueous two-phase systems extraction[J]. **Applied Chemical Industry**,2010,39(10):1587-1589,1596.(in Chinese)
[12] 赵云灿,薛学东,赵波,等. 头孢菌素 C 的新型双水相萃取[J]. 中国医药工业杂志,2012,43(5):337-339,371.
ZHAO Yun-can,XUE Xue-dong,ZHAO Bo,et al. Extraction of Cephalosporin C with a new type aqueous two-phase system[J]. **Chinese Journal of Pharmaceuticals**,2012,43(5):337-339,371.(in Chinese)
[13] 姜大雨,朱红,王良,等. 离子液体双水相萃取的应用研究进展[J]. 化学试剂,2010,32(9):805-810.
JIANG Da-yu,ZHU Hong,WANG Liang,et al. Ionic liquids aqueous two-phase extraction and progress in study on its application[J]. **Chemical Reagent**,2010,32(9):805-810.(in Chinese)
[14] 戈延茹,潘如,傅海珍,等. 离子液体双水相溶剂浮选法分离/富集桑黄酮类成分[J]. 分析化学,2012,40(2):317-320.
GE Yan-ru,PAN Ru,FU Hai-zhen,et al. Separation/Richment total flavonoids in Phellinus Igniarius by ionic liquid/salt aqueous two-phase Flotation[J]. **Chinese Journal of Analytical Chemistry**,2012,40(2):317-320.(in Chinese)
[15] Muller A,Górak A. Extraction of 1,3- propanediol from aqueous solutions using different ionic liquid-based aqueous two-phase systems[J]. **Separation and Purification Technology**,2012,97:130-136.
[16] 王艳. 表面活性剂双水相萃取分离茶氨酸研究[D]. 无锡:江南大学,2012.
[17] 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.
CHEN Li-mei. Ultrasonic-assisted aqueous two-phase extraction and antioxidant activity of total flavonoids from porphyrayezoensis[J]. **Food Science**,2012,33(4):41-46.(in Chinese)
[18] 左光德,赵志云,高云涛. 超声与双水相体系耦合提取竹叶总黄酮研究[J]. 安徽农业科学,2010,38(23):12448-12449.
ZUO Guang-de,ZHAO Zhi-yun,GAO Yun-tao. Extraction of total flavonoids from bamboo leaf based on propyl alcohol ammonium sulfate aqueous two-phase system coupling with ultrasonic[J]. **Journal of Anhui Agri Sci**,2010,38(23):12448-12449.(in Chinese)
[19] 刘琳,董悦生,修志龙. 微波辅助双水相提取盾叶薯蓣中的皂苷成分[J]. 过程工程学报,2009,9(6):1147-1152.
LIU Lin,DONG Yue-sheng,XIU Zhi-long. Microwave-assisted aqueous two-phase extraction of steroidal saponins in Dioscored zingiberensis[J]. **The Chinese Journal of Process Engineering**,2009,9(6):1147-1152.(in Chinese)
[20] 闫蕊. 微波辅助/双水相法提取分离芦荟中黄酮类化合物及芦荟多糖的研究[D]. 长春:东北师范大学,2008.



© 1994-2014 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net