

超声协同静电场提取黄花菜中总黄酮的研究

杨日福¹, 耿琳琳¹, 范晓丹²

(1. 华南理工大学物理与光电学院, 广东广州 510640; 2. 华南理工大学食品科学与工程学院, 广东广州 510640)

摘要: 在自发研究的提取装置的基础上, 通过单因素试验, 比较超声协同静电场辅助提取和单独使用超声辅助提取黄花菜黄酮的提取效率; 采用正交试验, 探索超声协同静电场辅助提取黄花菜总黄酮的最优工艺。结果表明: 超声协同静电场提取比超声辅助提取可以获得更高的黄花菜黄酮提取得率; 超声协同静电场的最佳提取因素组合是静电场为 7 kV, 超声电功率为 600 W, 乙醇体积浓度为 50%, 提取时间为 40 min, 固液比 1:25 以及提取温度 55℃ 由单因素试验确定。在最佳因素条件下, 黄花菜黄酮的提取得率最高可达 1.48%。通过探讨超声和静电场的作用机理, 从理论上解释为超声具有破壁作用, 静电场具有破膜作用。两者结合共同作用时, 静电场可视为超声场的一个随机干扰, 加强了超声空化效应, 强化了破坏植物细胞组织, 获得了更高的黄酮提取得率。

关键词: 超声; 静电场; 协同; 黄花菜; 黄酮

中图分类号: TQ028.9+6

文献标识码: A

文章编号: 1000-3630(2017)-01-0032-06

DOI 编码: 10.16300/j.cnki.1000-3630.2017.01.007

Research on ultrasound combining electrostatic field extraction of flavonoids from *hemerocallis citrine baroni*

YANG Ri-fu¹, GENG Lin-lin¹, FAN Xiao-dan²

(1. School of Physics and Optoelectronics, South China University of Technology, Guangzhou 510640, Guangdong, China;
2. College of Light Industry and Food Sciences, South China University of Technology, Guangzhou 510640, Guangdong, China)

Abstract: The ultrasound combining electrostatic field extraction of flavonoids from *hemerocallis citrine baroni* (H.flavonoids) is investigated by orthogonal experiments. Results show that the combining extraction is very effective compared to only ultrasound extraction, allowing higher extraction yields under the same single-factor conditions. The optimum conditions for the ultrasound combining electrostatic field extraction are as follows: electrostatic field of 10kV, ultrasonic power of 600W, ethanol concentration of 50%, extraction time of 40 min. The liquid/solid ratio of 25/1(ml/g) and extraction temperature of 55℃ are determined by single factor experiments. Under the optimum conditions, the extraction yield of H.flavonoids is 1.48%. The mechanisms of ultrasound extraction and electrostatic field extraction are respectively destroying cell wall and breaking cell membrane. Moreover, electrostatic field can be regarded as a random disturbance for ultrasonic field, which strengthens the ultrasonic cavitation effect, strengthens the destruction of plant cells and gains higher flavonoids extraction rate.

Key words: ultrasound; electrostatics fields; synergy; *hemerocallis citrine baroni*; flavonoids

0 引言

黄花菜(*Hemerocallis citrina baroni*)又名金针菜。在中国, 黄花菜已有上千年的食用历史, 不仅味美而且还具有提高睡眠质量, 缓解忧郁、安神醒脑、增智宽胸等药用功效^[1]。根据植物化学和药理

学的研究, 黄花菜含有黄酮类、多酚类以及香精油等化学成分^[2]。黄酮类化合物作为黄花菜的主要有效成分, 具有延缓衰老、抗氧化以及清除自由基等多种保健功能, 并且由于其毒副作用小、功能多等特点, 其相关研究也日益受到重视^[3-4]。超声波在媒质中传播时, 会产生机械、热和空化等系列效应, 具有破坏植物细胞壁组织、增加细胞穿透性的功能, 促使目标物质可以快速充分流出细胞外, 在天然植物提取过程中发挥了重大作用^[5]。与传统方法相比, 超声提取(Ultrasound Extraction, UE)具有提取得率高、提取时间短、提取全过程无需高温、节能环保等优点, 因此超声提取被广泛应用于提取天然植物有效成分。但国内现有的超声提取装置中, 功率强度受超声探头的数量所制约, 无法破坏提取

收稿日期: 2016-03-28; 修回日期: 2016-06-29

基金项目: 国家自然科学基金项目(11464002); 广东省省部产学研结合项目(2013B090600034); 中央高校基本科研业务费专项资金(x2qsD2154180); 国家自然科学基金青年基金项目(21406074); 广东省科技计划项目(2013B020311006 和 2014A020208017)

作者简介: 杨日福(1969—), 男, 广东吴川人, 博士, 教授, 研究方向为超声化工研究。

通讯作者: 范晓丹, E-mail: fanxd@scut.edu.cn

物料细胞膜，难以达到理想的提取效果。电场提取是一项近年来发展起来的新型高效分离技术，电场能使植物细胞膜产生电穿孔现象，提高了细胞膜传质效率^[6]。因此，超声与电场协同提取能加速目标物质从细胞进入溶剂的过程，缩短提取时间，提高产品质量，减少能源消耗，获得更高提取效率。史永刚^[7]等人在脉冲电场降解苯酚的过程中加入超声，结果发现：超声与脉冲电场协同降解速率比单独使用脉冲电场或单独使用超声有明显提高，并且降解更彻底。谢阁^[8]等人在提取啤酒酵母中核酸和蛋白质时，发现啤酒酵母先经过脉冲电场处理，再使用超声提取，核酸与蛋白质提取率分别是单独使用脉冲电场和超声的 1.5 倍和 2 倍。

但目前关于超声协同静电场(Ultrasound combined with Electrostatic Field Extraction, UEFE)提取的研究不多，本研究组前期研制了超声协同电场提取植物有效成分的装置(正交耦合)，并利用该装置进行了静电场协同超声提取甘草中甘草酸的研究，结果表明超声与静电场存在协同作用^[9]。Sobotka^[10]等进行直流电场对超声信号的振幅影响研究表明：超声-静电场正交耦合不如平行耦合效果显著。因此本文进一步研制出超声-静电场正交与平行同时耦合提取装置，并应用于黄花菜中总黄酮的提取，探讨协同效果和最佳提取工艺条件，为超声协同静电场提取技术应用提供科学依据。

1 材料与方法

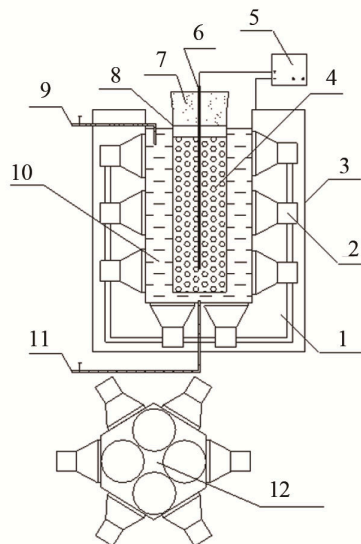
1.1 原料

黄花菜由广东银新现代农业股份有限公司提供(自产自销)；芦丁标准品购于南京广润生物制品有限公司，纯度大于 99.9%；亚硝酸钠、硝酸铝、氢氧化钠、无水乙醇均为分析纯。

1.2 主要仪器设备

SB-5DTD 六边型超声波提取机是自行设计经宁波新芝生物科技股份有限公司加工而成，提取槽是六边形柱体，其中六边形的边长为 9.5 cm，提取槽高度为 25 cm。每个侧面安装 3 个超声换能器，侧面换能器发出超声场跟电场平行协同，底部由于面积有限，最大限度安装了 4 个超声换能器，底部换能器发出超声场跟电场正交协同，超声换能器频率均为 40 kHz，总超声电功率 400~1000 W 连续可调。SC-15 数控超级恒温槽(宁波新芝生物科技股份有限公司)，恒温水槽与超声提取机相连，一是保证提取过程环境温度恒定不变；二是方便进行提取温

度单因素试验，确定试验的最佳提取环境温度。DE-100 高压电源(大连鼎通科技发展有限公司)，输出直流电压 0~50 kV 连续可调，自行搭建超声协同静电场提取装置如图 1 所示，提取槽中放入玻璃大试管，提取物料和溶剂放入试管中，试管盖中央插入电极，中央电极由一根铜棒和绝缘材料保护套组成，与高压电源的输出正电压相连，高压电源的地端通过导线与超声提取机的外壳相连。



1-六边型超声波提取机；2-换能器；3-不锈钢金属外壳；4-提取物料和溶液；5-静电场发生器；6-正电极；7-绝缘盖；8-玻璃容器；9-恒温水入口；10-恒温水；11-恒温水出口；12-六边型超声波提取机俯视图

图 1 超声协同静电场提取装置

Fig.1 Schematic diagram of the equipment of ultrasound coupled with electrostatic field

其余设备如下：101-0AB 型电热鼓风干燥箱(天津市泰斯特仪器有限公司)；101AS-1 型不锈钢数显电热鼓风干燥箱(上海浦东荣丰科学仪器有限公司)；高速中药粉碎机(武义县屹立工具有限公司)；标准检验筛(浙江上虞市华丰五金仪器有限公司)；JJ500 型精密电子天平(常熟双杰测试仪器厂)；TDL-50B 台式离心机(上海安亭科学仪器厂)；UV-5200 型紫外/可见分光光度计(上海元析仪器有限公司)；Freshmen 单道可调式移液管(芬兰 Finnnpipette)。

1.3 方法

1.3.1 标准曲线的绘制

准确称取干燥至恒重的芦丁 20 mg 置于 50 mL 的容量瓶中，用 75%的乙醇溶解并定容，摇匀，得到 0.4 mg/mL 对照品溶液。精密吸取 0、0.5、1.0、1.5、2.0、2.5、3.0 mL 对照品溶液，分别置于 25 mL 容量瓶中，加 5%亚硝酸钠溶液 1.0 mL，摇匀后放置 6 min；加 10%硝酸铝 1.0 mL，摇匀放置 6 min；

加 4%氢氧化钠溶液 10.0 mL, 加 75%乙醇定容, 摇匀放置 15 min, 以相应试剂作空白对照, 在波长 510 nm 处测吸光度。以浓度为横坐标, 吸光度为纵坐标, 线性拟合得到标准曲线, 曲线方程和相关系数如下:

$$Y=12.393X-0.0117, R=0.9991$$

其中, Y 表示吸光度, 单位为 abs, X 表示浓度, 单位为 mg/mL。

1.3.2 黄花菜中总黄酮含量的测定

黄花菜干燥至恒重, 粉碎, 过 60 目筛。按照一定的液料比, 取 2 g 物料与一定体积分数的乙醇混合置于大试管中。在设定的温度、超声电功率以及静电场电压下, 提取一定的时间。提取结束后, 将提取液在 4 000 r/min 转速下进行离心 10 min。取上清液并测量体积 V 。进一步取上清液 1 mL, 按照 1.3.1 步骤, 测定吸光度。通过标准曲线, 得出 1 mL 提取液的黄花菜中总黄酮总质量 m , 根据以下公式可以计算出总黄酮提取得率 y 为

$$y=(m \times V) / M \times 100\%$$

其中, m 是 1 mL 黄花菜提取液的总黄酮质量; V 是黄花菜提取液总体积; M 是黄花菜原料的重量 2 g。

1.3.3 单因素对比试验

1.3.3.1 静电场电压单因素试验

取 2 g 黄花菜粉, 按照液料比为 1:20 加入体积分数为 70%的乙醇溶液 40 mL。超声电功率为 600 W, 静电场电压分别为 3、7、10、13、16 kV, 提取温度为 55°C, 提取时间为 30 min, 分别考察静电场电压对黄花菜中总黄酮提取得率的影响。

1.3.3.2 乙醇体积分数单因素试验

UE: 取 2 g 黄花菜粉, 液料比为 1:20 加入乙醇溶液 40 mL, 提取温度为 55°C, 超声电功率为 600 W, 提取时间为 30 min, 分别考察乙醇溶液体积分数为 30%、40%、50%、60%、70%对黄花菜中总黄酮提取得率的影响。

UEFE: 静电场电压为 7 kV, 其他条件同 UE。

1.3.3.3 料液比单因素试验

UE: 取 2g 黄花菜粉, 分别按照料液比为 1:10、1:15、1:20、1:25、1:30 加入体积分数为 60%的乙醇溶液 20、30、40、50、60 mL。超声电功率为 600 W, 静电场电压为 7 kV, 提取温度为 55°C, 提取时间为 30 min, 分别考察料液比对黄花菜中总黄酮提取得率的影响。

UEFE: 静电压电场为 7kV, 其他条件同 UE。

1.3.3.4 提取时间单因素试验

UE: 取 2g 黄花菜粉, 按照料液比为 1:25 加入体积分数为 60%的乙醇溶液 50 mL。超声电功率为 600 W, 静电压为 7 kV, 提取温度为 55°C, 分别提取 10、20、30、40、50 min, 考察提取时间对黄花菜中总黄酮的提取得率的影响。

UEFE: 静电场电压为 7 kV, 其他条件同 UE。

1.3.3.5 超声电功率单因素试验

UE: 取 2 g 黄花菜粉, 按照 1:25 的料液比加入体积分数为 60%的乙醇溶液 50 mL。分别采用超声电功率 400、500、600、700、800 W, 静电压 7 kV, 提取温度为 55°C, 提取时间为 30 min, 考察超声电功率对黄花菜中总黄酮的提取得率的影响。

UEFE: 静电场电压为 7 kV, 其他条件同 UE。

1.3.3.6 提取温度单因素试验

UE: 2 g 黄花菜粉, 分别按照 1:25 的料液比加入体积分数为 60%的乙醇溶液 50 mL。采用的超声电功率为 700 W, 静电压为 7 kV, 提取温度分别为 45°C、55°C、65°C、75°C、85°C, 提取时间为 30 min, 考察提取温度对黄花菜中总黄酮提取得率的影响。

UEFE: 静电场电压为 7 kV, 其他条件同 UE。

1.3.4 UEFE 工艺优化

根据单因素试验, 确定料液比为 1:25, 提取温度 55°C 为最优化条件, 其余静电场电压、超声电功率、溶液中乙醇体积分数和提取时间等因素, 进行 4 因素 3 水平正交试验, 设计表见表 1。

表 1 正交试验设计表(4 因素 3 水平)

Table 1 Orthogonal experimental design with 4 factors and 3 levels

水平	静电场电压/kV	超声电功率/W	乙醇体积分数/%	提取时间/min
1	7	500	50	20
2	10	600	60	30
3	13	700	70	40

2 实验结果与讨论

2.1 静电场电压对黄花菜中总黄酮提取得率的影响

静电场电压对黄花菜中总黄酮提取得率的影响如图 2 所示, 从图 2 可以看出: 在静电场作用下, 总黄酮提取得率随静电场电压先上升后下降, 7 kV 时达到最大值 1.45%, 主要原因是静电场电压对植物细胞组织细胞膜有一定的破坏作用。随着静电场的增强, 细胞膜组织破坏程度加深, 目标物质流出增加, 从而总黄酮提取得率提高。当电场强度过大时, 目标分子结构会被破坏, 黄酮提取得率降低。

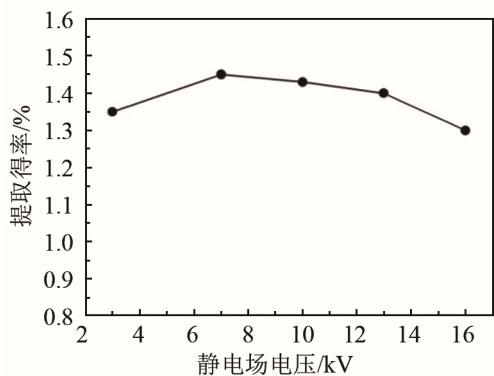


图 2 静电场电压对黄花菜中总黄酮提取得率的影响
Fig.2 Effect of electrostatic field on extraction yield of H.flavonoids

2.2 体积分数对黄花菜中总黄酮提取得率的影响

乙醇体积分数对黄花菜中总黄酮提取得率的影响如图 3 所示，从图 3 可以看出：UEFE 与 UE 两种提取方法下的黄酮提取得率有相同的变化趋势，即先迅速升高之后略有降低，原因是黄花菜中含有的黄酮类化合物难溶于水易溶于甲醇、乙醇等有机溶剂，所以当乙醇分数体积增加时，增加了黄酮类化合物的溶解性，从而提高了黄花菜总黄酮的提取得率，在乙醇体积分数增加到一定程度时，一方面是更高的乙醇浓度会使离子强度降低，影响细胞膜气孔的形成，导致细胞膜渗透过程减慢，从而影响了黄花菜中总黄酮的提取得率降低。另一方面是由于乙醇体积分数过高，导致在提取的过程挥发严重，同时一些醇溶性杂质、色素、脂溶性强的成分溶出量增加，与黄酮类化合物竞争并与乙醇结合，因而导致提取得率略有下降。因此最佳的乙醇体积分数为 60%。同时从图中也可以看出黄酮提取得率 UEFE 法始终比 UE 法高，说明静电场对黄花菜中总黄酮的提取有促进作用。

2.3 液料比对黄花菜中总黄酮提取得率的影响

料液比对黄花菜中总黄酮提取得率的影响如图 4 所示，从图 4 可以看出：液料比为 10 mL/g 时，

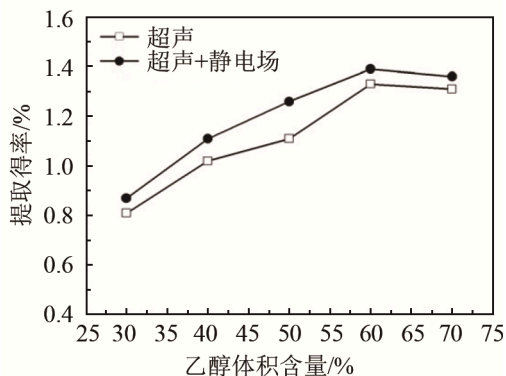


图 3 乙醇体积分数对黄花菜中总黄酮提取得率的影响
Fig.3 Effect of ethanol concentration on extraction yield of H.flavonoids

UEFE 法与 UE 法的黄花菜中总黄酮的提取得率基本相同，随着液料比的增加，UEFE 与 UE 法的黄花菜中总黄酮的提取得率迅速拉开差距，最终两种方法的提取得率差距趋于稳定，即 UEFE 相对于 UE 方法，黄花菜中总黄酮的提取得率更高，再次证明静电场对黄花菜中总黄酮的提取得率有促进作用。总的来说，UEFE 与 UE 法的变化趋势一致，黄酮提取得率先随着液料比的增加而增加，之后随着液料比的继续增加会有降低。这主要是因为液料比增大时，细胞内与细胞外目标物质浓度差别较大，也就是说增加了物质推动力，从而使得黄花菜中总黄酮提取得率增加，但是当料液比达到 25 mL/g 之后，因为溶剂量过大，会使得超声和静电场难于作用于物料，使得目标物质流出速度减慢，因而提取得率有所下降。

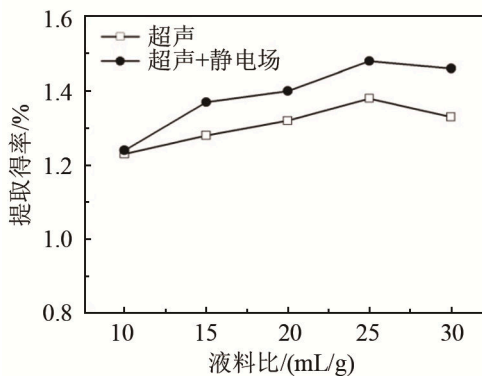


图 4 液料比对黄花菜中总黄酮提取得率的影响
Fig.4 Effect of liquid/solid ratio on extraction yield of H.flavonoids

2.4 提取时间对黄花菜中黄酮提取得率的影响

提取时间对黄花菜中总黄酮提取得率的影响如图 5 所示，从图 5 可以看出：对于 UEFE 和 UE 方法来说，在 30 min 时提取得率均达到了最大。总的趋势都是先随着提取时间的增加而增加，随后随着提取时间的增加会持续下降。这主要是因为时间过短，目标物质黄酮类化合物没有完全析出，所以

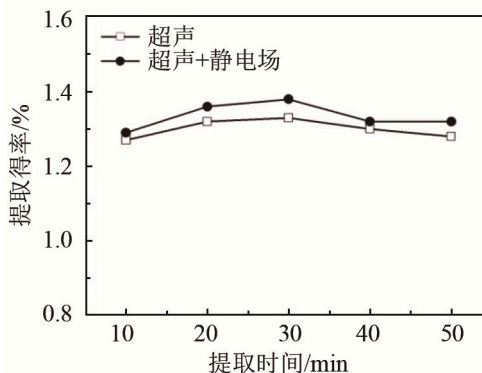


图 5 提取时间对黄花菜中总黄酮提取得率的影响
Fig.5 Effect of extraction time on extraction yield of H.flavonoids

随着提取时间的增加,使得黄酮类化合物的析出逐渐增加直至达到一种平衡状态。当提取时间再继续增加时,由于超声与静电场的长时间作用导致提取出的有效成分的结构遭到破坏,因此黄酮的提取率有所下降。

2.5 超声电功率对黄花菜中总黄酮提取率的影响

超声电功率对黄花菜中黄酮提取率的影响如图 6 所示,从图 6 可以看出:UEFE 和 UE 具有相同的趋势,即在一定的范围内黄花菜中总黄酮提取率随着超声电功率的增加而提高,在超声电功率达到 700 W 时,黄花菜中总黄酮提取率达到最大。之后随着超声功率的继续增加,黄花菜中总黄酮的提取率有所下降。原因是对于一定频率和一定发射面的超声来说,声强随着功率的增大而增大。而声强增大,声压幅值以及液体中的压力也增大,空化泡崩溃所需的时间将变短,也就是说单位时间内超声产生的空化效应越大,从而有利于黄花菜中总黄酮提取率的提高。在超声电功率达到 700 W 之后,黄酮的提取率有所下降,这是因为声强的增大,声压幅值增加(声压与声强的幅值的平方成正比),空化泡在声波膨胀相内可能增加到很大,以至于它在声波的压缩相内还来不及发生崩溃;此外,太高的声强产生的大量空化泡通过反射而减少了能量的传递,并且与声强的增加呈非线性关系,因而不利于提取。所以选择 700 W 是最佳的提取条件。

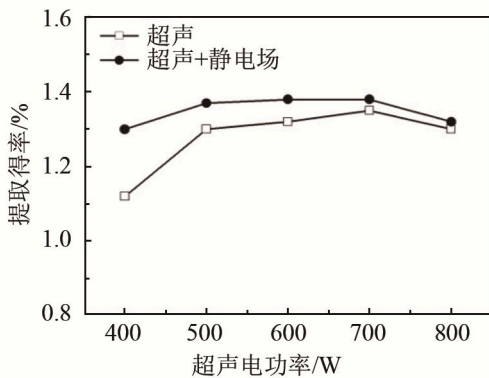


图 6 超声电功率对黄花菜中总黄酮提取率的影响
Fig.6 Effect of ultrasonic power on extraction yield of H.flavonoids

2.6 提取温度对黄花菜中总黄酮提取的影响

提取温度对黄花菜中总黄酮提取率的影响如图 7 所示,从图 7 可以看出:UEFE 和 UE 两种方法下的黄花菜黄酮提取率在温度因素的变化下,都有相同的变化趋势,在 55℃时得到了最大的黄酮提取率,即都是先随着温度的上升而上升,之后随着温度的下降而下降。可能是由于温度升高

使得溶液中分子运动更加激烈,一方面可能使得黄酮的溶解力增强,另一方面会使得目标物质黄酮从细胞内向细胞外转移的速度加快,从而使得黄酮提取率提高。但是温度过高,会使得乙醇挥发严重,黄酮分子结构也可能遭到破坏,因此黄酮的提取率下降。综合考虑,温度在 55℃是最佳的提取条件。

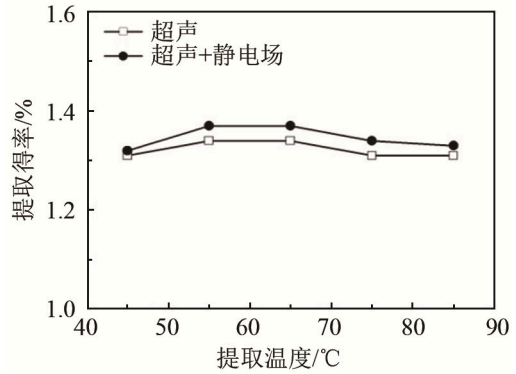


图 7 提取温度对黄花菜中总黄酮提取率影响
Fig.7 Effect of extraction temperature on extraction yield of H.flavonoids

2.7 正交试验讨论

从表 2 所示正交实验结果可以看出,各个因素对黄花菜黄酮提取率的影响力不同,根据极差分析,其影响主次顺序为:超声电功率>乙醇体积分数>静电场>提取时间。由表 2 中的数据可以看出,最大的黄花菜中总黄酮提取率是 1.48%,其对应的组合为 A₁B₂C₁D₃。即优化后的试验条件为:静电场为 7 kV,超声电功率为 600 W,乙醇体积分数为 50%,提取时间为 40 min。

2.8 机理讨论

国内外关于超声提取植物有效成分和高压脉

表 2 正交试验结果表
Table 2 Results of orthogonal experiments

序号	静电场电压/kV	超声功率/W	乙醇浓度/%	提取时间/min	提取率/%
1	7	500	50	20	1.41
2	7	600	60	30	1.43
3	7	700	70	40	1.45
4	10	500	60	40	1.37
5	10	600	70	20	1.47
6	10	700	50	30	1.43
7	13	500	70	30	1.36
8	13	600	50	40	1.45
9	13	700	60	20	1.37
Y ₁₁	1.430	1.380	1.430	1.417	Y=1.41
Y ₁₂	1.423	1.450	1.390	1.407	
Y ₁₃	1.393	1.417	1.427	1.423	
Δj	0.037	0.070	0.040	0.016	
主次因素				B>C>A>D	
最佳组合				A ₁ B ₂ C ₁ D ₃	

冲电场提取研究的文献很多，两者各具有不同优势。超声提取植物有效成分中，一般认为空化效应占主导地位。由于超声在传播过程中会产生强烈振动、高加速度、搅拌作用以及空化作用与机械效应来提高细胞内溶物的穿透力和传输能力，增大物质的运动频率与速度，则可以充分提取植物中的有效成分，从而可以提高提取效率^[11]。电场强化提取过程使细胞膜发生电穿孔现象，增强细胞膜传质系数。如果外加电场为直流电场，根据刘铮^[12]的研究结论可以得出：外加电场 $U=V_{cr}R/(1.5\cos\theta)$ 时，植物细胞膜就会发生电穿孔现象，其中 r 是细胞的半径， θ 是电场方向与指定点法线之间的夹角， R 为超声提取容器直径， V_{cr} 为细胞膜承受的最大膜电压。在超声协同静电场提取过程中，超声空化仍起主导地位，静电场的存在强化了超声空化现象。刘岩^[13]也提出，为了提高空化声场中的声化学产额，给空化声场施加一个随机干扰，并通过 Noltink-Neppiras 方程进行修正，理论计算其可行性。结果表明微扰给原来处于介稳态的声场施加一个额外的随机性声压，使得处于介稳态的第二类空化核中一部分转变为第一类空化核，从而增强了溶液的空化效应。陈维楚^[14]通过对电导率与超声空化的研究得出，超声协同静电场作用时，静电场会使空化泡发生形变，即使部分稳态空化核转化成瞬态空化，使水中的电导率增加，增加了超声空化产额。超声空化是液体中微小泡核在超声波作用下振荡、生长和收缩、崩溃的动力学过程，空化泡与上述研究中的气泡有相似点，完全可以借助上述的方法研究静电场中空化泡的变形情况，有关这方面研究工作我们正在开展。

3 结论

在自主研究的提取装置的基础上，单因素试验确定了超声协同静电场提取黄花菜中总黄酮的最佳提取温度为 55℃ 和最佳料液比为 1:25，进一步的正交试验得出其他最佳工艺条件，即静电场为 10 kV，超声电功率为 600 W，乙醇体积分数为 70%，提取时间为 20 min。在最佳条件组合下，黄花菜中总黄酮的提取得率达到了 1.47%。通过 UE 和 UEFE 两种提取方法单因素试验对比可以看出，在相同的条件下，UEFE 方法下的黄花菜中总黄酮提取得率始终要比 UE 方法高，说明加入静电场对黄花菜中总黄酮的提取得率有促进作用。从理论上可以知道，对于超声提取，空化效应占主导地位。对于超声而言，静电场相当于给超声提取增加了微干扰，

微干扰的加入会加强超声空化效应，从而强化了对细胞组织的破坏，提高了黄花菜总黄酮的提取得率。

参 考 文 献

- [1] Gu L, Liu Y J, Wang Y B, et al. Role for monoaminergic systems in the antidepressant-like effect of ethanol extracts from *Hemerocallis citrifolia*. *Journal of Ethnopharmacology*, 2012, **139**(3): 780-787.
- [2] Yi L T, Jing L, Li H C, et al. Ethanol extracts from *Hemerocallis citrifolia* attenuate the decreases of brain-derived neurotrophic factor, TrkB levels in rat induced by corticosterone administration. *Journal of Ethnopharmacology*, 2012, **144**(2): 328-334.
- [3] Amado N G, Fonseca B F, Cerqueira D M, et al. Flavonoids: Potential Wnt/beta-catenin signaling modulators in cancer. *Life Sciences*, 2011, **89**(s1516): 545-554.
- [4] Routray W, Orsat V. Microwave- extraction of flavonoids: A review. *Food & Bioprocess Technology*, 2011, **5**(2): 409-424.
- [5] Tomšik A, Pavlič B, Vladič J, et al. Optimization of ultrasound-extraction of bioactive compounds from wild garlic (*Allium ursinum* L.). *Ultrasonics Sonochemistry*, 2016, **29**(3): 502-511.
- [6] Puértolas E, Marañón I M D. Olive oil pilot-production by pulsed electric field: impact on extraction yield, chemical parameters and sensory properties. *Food Chemistry*, 2015, **167**(1): 497-502.
- [7] 史永刚, 土明林, 王帅. 一种超声协同脉冲电场处理含酚废水的降解法: 中国, CN201210300174A[P]. 2012-11-14.
SHI Yonggang, TU Minglin, WANG Shuai. A method for degradation of ultrasound combined with pulsed electric field processing phenol wastewater: China, CN201210300174A [P]. 2012-11-14.
- [8] 谢阁, 杨瑞金, 卢蓉蓉, 等. 高压脉冲电场和超声波协同作用破碎啤酒废酵母的研究. *食品科学*, 2008, **29**(7):133-137.
XIE Ge, YANG Ruijin, LU Rongrong, et al. Combined high pulsed electric field and ultrasound disruption of cell of beer yeast. *Food science*, 2008, **29**(7): 133-137.
- [9] 杨日福, 闵志玲, 陈维楚, 等. 静电场协同超声提取甘草中甘草酸的研究. *应用声学*, 2014, **33**(2): 160-166.
YANG Rifu, MIN Zhiling, CHEN Weichu. Electrostatic fields combined with ultrasound extraction of glycyrrhizic acid from glycyrrhiza. *Applied acoustics*, 2014, **33**(2): 160-166.
- [10] Sobotka J. Longitudinal ultrasonic waves in DC electric field. *Acta Geophysica*, 2009, **57**(2): 247-256.
- [11] 赵超. 超声强化亚临界水提取枸杞多糖的研究[D]. 广州: 华南理工大学, 2014.
ZHAO Chao. Subcritical water enhanced ultrasound extraction of polysaccharides from wolfberry[D]. Guangzhou: South China University of Science and Technology, 2014.
- [12] 刘铮. 高压脉冲电场及超声场提取啤酒废酵母中蛋白质与核酸. 无锡: 江南大学, 2007.
LIU Zheng. Combined high pulsed electric field and ultrasound extraction of protein and nucleic acid from beer yeast[D]. Wuxi: Jiangnan University, 2007.
- [13] 刘岩. 增强超声空化效应的一个途径---给空化声场一个随机微扰. *应用声学*, 1997, **16**(2): 43-45.
LIU Yan. A way of enhancing ultrasonic cavitation effect-a random perturbation for cavitation field. *Applied acoustics*, 1997, **16**(2): 43-45.
- [14] 陈维楚. 超声协同静电场强化提取过程机理研究[D]. 广州: 华南理工大学, 2012.
CHEN Weichu. The mechanisms of ultrasound combined with high pulsed electric field extraction[D]. Guangzhou: South China University of Science and Technology, 2012.