

响应面法优化微波提取牡丹籽油的工艺研究

易军鹏^{1,2}, 朱文学², 马海乐¹, 王易芬³

(1. 江苏大学食品与生物工程学院, 江苏 镇江 212013; 2. 河南科技大学食品与生物工程学院, 河南 洛阳 471003;

3. 中国科学院昆明植物研究所, 植物化学与西部植物资源持续利用国家重点实验室, 云南 昆明 650204)

摘 要: 以牡丹籽为原料, 优化牡丹籽油的微波提取工艺, 采用单因素试验对影响牡丹籽出油率的三个主要影响因素(液料比、微波功率和处理时间)进行考察。以出油率为指标, 对三因素进行中心复合设计, 并经响应面法优化, 分析得到二次多项式回归方程的预测模型, 确定微波提取牡丹籽油的最佳工艺条件为: 提取溶剂为正己烷、液料比 9:1(ml/g)、微波功率 825W、提取时间 8min。在该工艺条件下, 牡丹籽油的出油率为 24.52%。GC-MS 分析结果表明牡丹籽油中富含不饱和脂肪酸, 其中亚油酸和亚麻酸的含量分别为 24.57% 和 67.13%。

关键词: 牡丹籽; 微波提取; 中心复合设计; 响应面分析; GC-MS

Optimization of Microwave-assisted Extraction of Oil from *Paeonia suffruticosa* Andr. Seeds Using Response Surface Analysis

YI Jun-peng^{1,2}, ZHU Wen-xue², MA Hai-le¹, WANG Yi-fen³

(1. School of Food and Biological Engineering, Jiangsu University, Zhenjiang 212013, China;

2. College of Food and Bioengineering, Henan University of Science and Technology, Luoyang 471003, China;

3. State Key Laboratory of Phytochemistry and Plant Resources in West China, Kunming Institute of Botany, Chinese Academy of Sciences, Kunming 650204, China)

Abstract: Microwave was applied to the extraction of oil from *Paeonia suffruticosa* Andr. seeds. The extraction technique was optimized using response surface methodology. n-Hexane was selected as a optimal extraction solvent because compared to other solvents including petroleum ether (boiling range 30—60°C or 60—90°C), ethyl acetate and acetone it yielded the most oil and can be easily penetrated by microwave. Effects of three crucial factors (i.e., liquid/material ratio, microwave power and extraction duration) on extraction yield of oil were investigated using one-factor-at-a-time design. Response surface central composition design in which the interactions between the variables were considered was applied to optimize these factors. A quadratic polynomial regression model was developed. The optimal microwave-assisted extraction conditions were as follows: liquid/material ratio (ml/g) 9:1, microwave power 825 W and extraction duration 8 min. Under such conditions, the actual oil yield was 24.52%, between which and the predicted value a relative error of about 0.01% was found. GC-MS Analysis indicated that the oil from *Paeonia suffruticosa* Andr. seeds was abundant in unsaturated fatty acids, in which the contents of linoleic acid and linolenic acid were 24.57% and 67.13%, respectively.

Key words: *Paeonia suffruticosa* Andr. seeds; microwave-assisted extraction; response surface analysis; GC-MS

中图分类号: TS225.19

文献标识码: A

文章编号: 1002-6630(2009)14-0099-06

牡丹是毛茛科芍药属灌木, 在我国各地均有广泛种植。牡丹根皮是一种常用的中草药, 具有抗炎、抗心肌缺血、保肝、降血糖和调节免疫细胞等功效^[1]。但目前牡丹籽除用作育种外, 并没有发挥其药用价值。牡丹籽在民间常用于治疗腰腿疼痛, 具有抗氧化、消炎止痛作用, 且富含亚油酸和亚麻酸^[2]。因此牡丹籽作为潜在的保健油脂资源, 有待深入开发利用。

目前, 国内外众多科研工作者将微波提取技术用于油脂提取, 如采用微波技术萃取芝麻油^[3]、核桃油^[4]、薏苡仁油^[5]、沙棘籽油^[6]等已有报道, 但目前尚未见采用微波技术萃取牡丹籽油的研究报道。

响应面法(response surface methodology, RSM)是利用合理的试验设计并通过实验得到的一定数据, 采用多元二次回归方程来拟合因素与响应值之间的函数关

收稿日期: 2008-11-19

作者简介: 易军鹏(1976—), 男, 讲师, 在职博士研究生, 研究方向为天然产物开发与利用。

E-mail: yijunpeng@126.com

系,通过对回归方程的分析来寻求最优工艺参数,解决多变量问题的一种统计方法。其中的中心复合设计(central composite design, CCD)应用广泛,可用于确定试验因素及其交互作用在工艺过程中对指标响应值的影响,精确地表述因素和响应值之间的关系。与以往采用的正交设计法不同,响应面分析法通常是利用中心组合试验拟合出一个完整的二次多项式模型,在试验设计与结果表述方面更加优良^[7-8]。

本实验对牡丹籽油微波提取过程中影响牡丹籽出油率的三个主要影响因素(液料比、微波功率和处理时间)进行单因素试验。然后以出油率为响应指标,对三个因素进行中心复合设计,并经响应面法优化分析得到二次多项式回归方程的预测模型,旨在探求牡丹籽油微波提取最优工艺条件,以期对微波提取牡丹籽油的深入研究及牡丹籽油的产业化开发提供试验依据。

1 材料与方法

1.1 材料、试剂与仪器

牡丹籽于2007年8月中旬采于河南省洛阳市国家牡丹园,经河南科技大学食品与生物工程学院朱文学教授鉴定为凤丹牡丹(*Paeonia suffruticosa* Andr.)种子。

正己烷、石油醚(沸程30~60℃及60~90℃)、乙酸乙酯、丙酮、无水硫酸钠均为分析纯。

微波提取设备为自制设备;HP6890GC/5973MS气相色谱-质谱联用仪 美国Agilent Technologies公司;PH070A型电热干燥箱 上海一恒科学仪器有限公司;QJ32W1000A型高速万能粉碎机 天津泰斯特仪器有限公司;AB135-S型电子分析天平(精度0.1mg) 梅特勒-托利多仪器有限公司;461型电子恒温水浴锅、RE111型旋转蒸发仪 瑞士BÜCHI公司。

1.2 方法

1.2.1 牡丹籽油微波提取工艺流程及操作要点

牡丹籽拣选→去壳→干燥→粉碎→称取→微波处理
溶剂回收
牡丹籽油←干燥←减压蒸发←抽滤分离

首先选用新鲜、饱满、无虫害的牡丹籽,手工去壳后在45℃烘箱中干燥至质量恒定。用粉碎机破碎至一定粒度,在粉碎过程中防止粉碎机过热对牡丹籽油造成氧化。准确称取一定量粉碎后的牡丹籽,用水浸湿后置入聚四氟乙烯提取罐中,按一定液料比加入有机溶剂,放入微波处理设备中。在微波辐射处理中,为防止提取液爆沸,采用间歇式辐照。经红外测温仪进行预实验选定间隔时间为60s,每次取出提取罐,冷却到室温,振荡后使牡丹籽与浸提液完全接触,再放入微波设备。辐照结束后用抽滤法分离溶剂混合物与残渣,

洗涤残渣2~3次,合并所得滤液。然后减压回收溶剂,最后用无水硫酸钠进行干燥至恒重,称重计算出油率,得到牡丹籽油。每组实验平行对照重复3次取平均值。

1.2.2 牡丹籽出油率

牡丹籽出油率计算公式为:

$$W(\%) = \frac{m_1 - m_2}{m} \times 100$$

式中:W为牡丹籽出油率,%; m_1 为接收瓶和牡丹籽油的质量,g; m_2 为接收瓶的质量,g; m 为干燥牡丹籽的质量,g。

1.2.3 牡丹籽油甲酯化

由于油脂中的脂肪酸是弱极性化合物,沸点较高,不宜直接进行GC-MS分析,因此对脂肪酸进行GC-MS分析之前需要对其进行甲酯化。一般脂肪酸的甲酯化方法分为两类:酸催化和碱催化^[9]。本实验采用酸催化法甲酯化,称取所得牡丹籽油0.5g置于圆底烧瓶,加入1%硫酸-甲醇20ml于70℃水浴加热60min,冷却后转入分液漏斗,加入20ml正己烷,再加一定量的蒸馏水,取出上清液,再用10ml正己烷萃取一次,合并上清液,置于瓶中待测。

1.2.4 GC-MS联用仪工作条件

气相色谱条件:HP-5MS石英毛细管柱(30mm×0.25mm,0.25μm);柱温150~240℃,程序升温3℃/min;进样口温度250℃;柱前压100kPa;进样量0.05μl;分流比10:1;载气为高纯氦气。质谱条件:电离方式EI;电子能量70eV;传输线温度250℃;离子源温度230℃;四级杆温度150℃;质量扫描范围35~450amu;采用wiley7n.1标准谱库检索定性。

1.3 提取工艺试验设计

1.3.1 单因素试验

微波提取过程中主要影响因素有液料比、微波功率和提取时间等。为了探索牡丹籽油在微波提取过程中各影响因素的变化规律,首先进行单因素试验,以液料比、微波功率和提取时间作为考察因素,以牡丹籽出油率作为指标。单因素试验因素和水平见表1。

表1 单因素试验因素和水平
Table 1 Factors and levels in one-factor-at-a-time design

水平	液料比(ml/g)	微波功率(W)	提取时间(min)
1	4	500	2
2	6	600	4
3	8	700	8
4	10	800	12
5	12	900	16
6		1000	20

1.3.2 中心复合(CCD)优化试验设计

采用中心复合设计(CCD)方法,液料比、微波功率和处理时间作为考察变量,分别以A、B和C表示,并以-2、-1、0、1、2分别代表变量的水平,按方程 $X_i = (x_i - x_0) / \Delta x$ 对自变量进行编码,其中, X_i 为变量的编码值, x_i 为变量的真实值, x_0 为试验中心点变量的真实值, Δx 为真实值变量的变化步长。牡丹籽出油率(Y)为响应值。中心复合试验因素和水平设计见表2。采用Design Expert 7.0软件对实验数据进行回归分析。由此可求出影响因素的一次效应、二次效应及其交互效应的关联方程,对微波提取牡丹籽油的影响因素进行更为深入的研究和条件优化,并做出响应面图^[10]。

该模型通过二阶经验模型对变量的响应行为进行表征:

$$Y = \beta_0 + \sum_{i=1}^k \beta_i X_i + \sum_{i=1}^{j-1} \sum_{j=1}^k \beta_{ij} X_i X_j + \sum_{i=1}^k \beta_{ii} X_i^2$$

式中:Y代表系统响应; β_0 、 β_i 、 β_{ii} 分别是偏移项、线性偏移和二次偏移系数; β_{ij} 是交互效应系数; X_i 是各因素水平值。

表2 中心复合设计试验因素和水平
Table 2 Factors and levels in response surface design

编码水平	因素		
	A 液料比(ml/g)	B 微波功率(W)	C 提取时间(min)
-2	4	600	2
-1	6	700	4
0	8	800	6
1	10	900	8
2	12	1000	10

2 结果与分析

2.1 微波提取溶剂的选择

溶剂的选择对于微波提取至关重要,微波提取所选用的溶剂必须对微波透明或半透明,介电常数在8~28范围内。提取物料中若含有不稳定或挥发性成分,宜选用对微波射线高度透明的萃取剂作为提取介质^[11]。

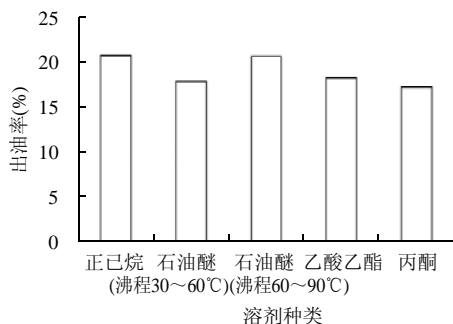


图1 不同溶剂提取牡丹籽出油率比较

Fig.1 Comparison of oil extraction yields using different organic solvents

为了确定较优的提取溶剂,选择微波提取植物油脂最常用的正己烷、石油醚(沸程30~60℃、60~90℃)、乙酸乙酯和丙酮五种溶剂,在物料颗粒大小40目、液料比10:1(ml/g)、微波功率为800W、提取时间2min、提取温度40℃的条件下,测定5种浸提溶剂提取牡丹籽油的出油率,以出油率及提取溶剂微波透明度作为评价指标来确定较理想的微波提取溶剂。

由图1可以看出,正己烷与石油醚(沸程60~90℃)提取的出油率相差不大,但都比石油醚(沸程30~60℃)、乙酸乙酯和丙酮高。综合溶剂微波透明度因素,选用正己烷作为牡丹籽油的提取溶剂。

2.2 单因素试验结果与分析

2.2.1 液料比对出油率的影响

在固定微波功率800W、提取时间2min的条件下,不同液料比对出油率的影响如图2所示。

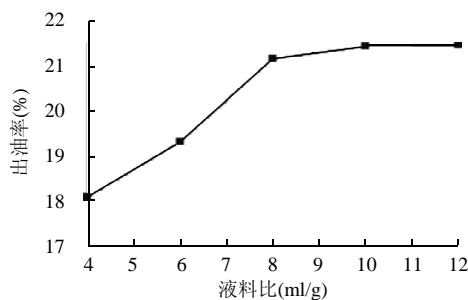


图2 液料比对出油率的影响

Fig.2 Oil extraction yields at different liquid/material ratios

由图2可知,随着液料比的增大,出油率逐渐增大,在液料比为4~8ml/g时,出油率上升很快;当液料比大于8ml/g时,增长趋势开始缓慢。这是由于对于一定量的牡丹籽,溶剂用量的增加可以增加牡丹籽与溶剂的接触面积,并且增大固液浓度差,有利于扩散速度的提高。当液料比继续增大,固液浓度差的增幅逐渐降低,出油率的增势也趋于平缓,过多使用提取溶剂溶液反而使出油率减小,也会造成溶剂浪费。

2.2.2 微波功率对出油率的影响

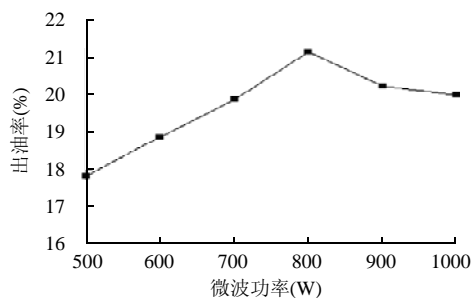


图3 微波功率对出油率的影响

Fig.3 Oil extraction yields at different microwave powers

在固定液料比为 8ml/g、提取时间为 2min 的条件下,不同微波功率对出油率的影响如图 3 所示。通过试验可发现,微波功率越大,牡丹籽油出油率越高,分析原因是由于微波功率越大,一方面,物料内部温度升高越快,内部压力变大导致细胞破裂,油脂透过细胞壁流出并溶解到溶剂中的传递速度越快;另一方面,微波所产生的电磁场加速油脂由物料内部向萃取溶剂界面的扩散速率。但过高的微波功率可能导致油脂成分的改变,出油率反而降低。

2.2.3 提取时间对出油率的影响

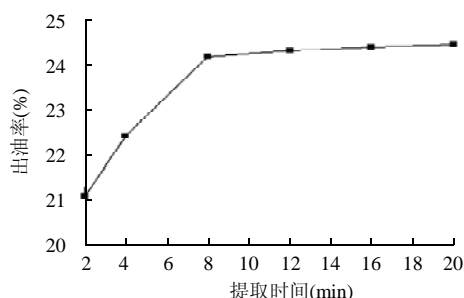


图4 提取时间对出油率的影响

Fig.4 Oil extraction yields at different extraction time

在固定液料比为 8ml/g、微波功率为 800W 的条件下,不同提取时间对出油率的影响如图 4 所示。由图 4 可以看出,随着微波处理时间的延长,牡丹籽油得率不断提高,当处理时间在 2~8min 之间时,出油率上升较快;当处理时间超过 8min 时,出油率上升趋势变缓。分析其原因可能是在提取过程开始时,固液浓度差很大,扩散驱动力大;随着处理时间的延长,油脂在提取液和物料中的浓度达到了动态平衡,出油率也基本保持恒定。

2.3 CCD 试验设计结果与响应面分析

2.3.1 模型的建立与显著性检验

中心复合优化试验设计结果见表 3。应用 Design Expert 软件进行多元回归拟合分析,可以得到牡丹籽油率与微波处理各因素变量的二次方程模型:

$$Y = 23.77 + 0.23A + 0.22B + 0.77C - 0.081AB - 0.086AC - 0.019BC - 0.12A^2 - 0.34B^2 - 0.31C^2$$

对表 3 中的试验结果进行统计分析,得到的方差分析结果如表 4 所示。由表 4 可知,提取时间、微波功率和液料比的一次项均达到极显著水平($p < 0.01$)。由 F 值可知,各因素对牡丹籽出油率的影响次序为:提取时间 > 液料比 > 微波功率。

当“ $p > F$ ”值小于 0.05 时表示该指标显著。从表 3 的分析结果来看,整体模型的“ $p > F$ ”值小于 0.0001,表明该二次方程模型达到极显著水平。因素 A、B、C、

A^2 、 B^2 、 C^2 在该模型中为显著指标。回归方差分析显著性检验结果表明,该模型回归极显著,并且失拟项不显著,说明该方程对试验拟合较好。

表3 微波提取 CCD 试验表

Table 3 Response surface analysis central composite design arrangement and the experimental data

试验序号	A	B	C	牡丹籽出油率(%)
1	-1	-1	-1	21.53
2	1	-1	-1	22.34
3	-1	1	-1	22.15
4	1	1	-1	22.65
5	-1	-1	1	23.27
6	1	-1	1	23.75
7	-1	1	1	23.83
8	1	1	1	23.97
9	-2	0	0	22.91
10	2	0	0	23.77
11	0	-2	0	22.04
12	0	2	0	22.91
13	0	0	-2	21.07
14	0	0	2	24.13
15	0	0	0	23.87
16	0	0	0	23.71
17	0	0	0	23.86
18	0	0	0	23.93
19	0	0	0	23.74
20	0	0	0	23.63

表4 方差分析表

Table 4 Analysis of variance for the oil extraction yield with various extraction conditions

项目	平方和	自由度	均方	F 值	Prob > F
模型	15.47	9	1.72	134.27	< 0.0001
A	0.83	1	0.83	65.06	< 0.0001
B	0.74	1	0.74	58.12	< 0.0001
C	9.41	1	9.41	735.16	< 0.0001
AB	0.053	1	0.053	4.13	0.0697
AC	0.060	1	0.060	4.65	0.0565
BC	2.813×10^{-3}	1	2.813×10^{-3}	0.22	0.6493
A^2	0.38	1	0.38	29.92	0.0003
B^2	2.90	1	2.90	226.63	< 0.0001
C^2	2.39	1	2.39	186.85	< 0.0001
失拟项	0.13	10	0.013		
残差	0.061	5	0.012	0.91	0.5383
净误差	0.067	5	0.013		
总离差	15.60	19			

2.3.2 响应面分析

根据回归方程,做出响应面和等高线,考察拟合响应曲面的形状,分析液料比、微波功率和处理时间对牡丹籽出油率的影响,见图 5~7。等高线图直观地反映出各因素交互作用对响应值的影响。椭圆形表示两因素交互作用显著,而圆形则与之相反。由图 5 可以看出,液料比和微波功率的交互作用显著,相比较而言,其他因素间交互作用较小。

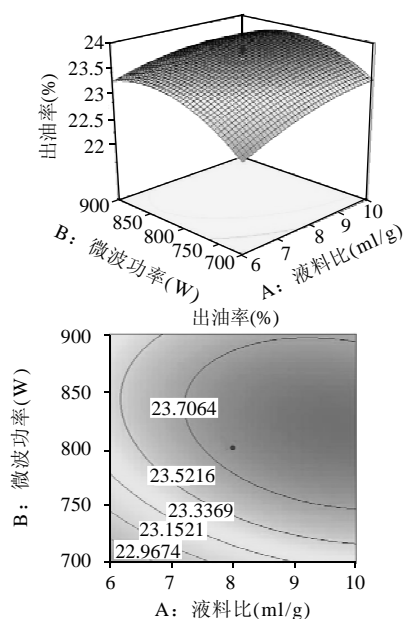


图5 液料比和微波功率对出油率交互影响的响应面图和等高线图
Fig.5 Response surface plot and contour plot showing the effects of microwave power, material/liquid ratio and their interaction on oil extraction yield

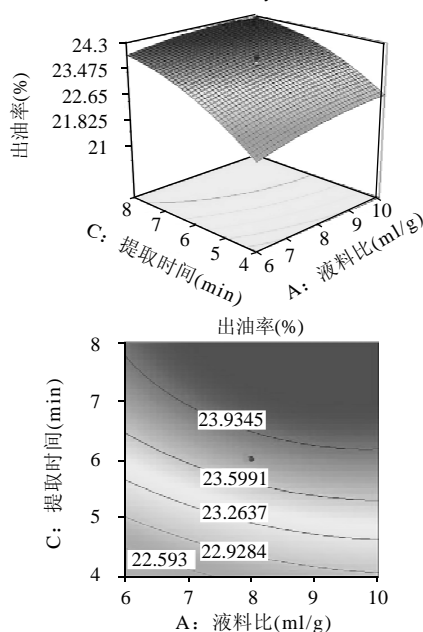


图6 液料比和提取时间对出油率交互影响的响应面图和等高线图
Fig.6 Response surface plot and contour plot showing the effects of extraction duration, material/liquid ratio and their interaction on oil extraction yield

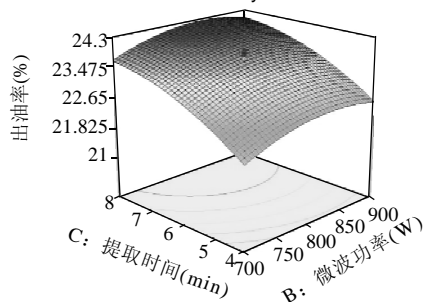


图7 微波功率和提取时间对出油率交互影响的响应面图和等高线图
Fig.7 Response surface plot and contour plot showing the effects of extraction duration, microwave power and their interaction on oil extraction yield

2.3.3 提取工艺条件的确定

为进一步确定最佳工艺点,在模型浓度范围内选择出发点,按照模型使用快速上升法进行优化,可得微波提取牡丹籽油的最佳理论工艺条件为:液料比9.01ml/g,微波功率823.16W,提取时间8min,在此最佳工艺条件下牡丹籽油的理论出油率24.29%。

为检验响应曲面法所得结果的可靠性,采用上述优化提取条件下微波提取牡丹籽油,考虑到实际操作的便利,将提取工艺参数修正为:液料比9ml/g,微波功率825W,提取时间8min,实际测得的平均提取率24.52%,与理论预测值相比,其相对误差约为0.01%。因此,基于响应曲面法所得的优化提取工艺参数准确可靠,具有实用价值。

2.4 牡丹籽油的气相色谱-质谱分析结果

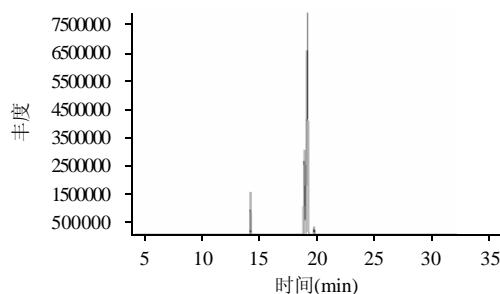


图8 牡丹籽油的气相色谱-质谱总离子流图
Fig.8 GC-MS total ion chromatogram of oil from *Paeonia suffruticosa* Andr. seeds

采用微波提取获得的牡丹籽油,经过甲酯化后进行GC-MS分析,得到的总离子流色谱图如图8。牡丹籽油共分离出21个峰,利用wiley7n.1标准谱库检索定性,鉴定了其中的21个成分,并用峰面积归一化法确定了各组分的相对含量,结果见表5。由表5可知,已鉴定出的组分占总油量的99.92%,牡丹籽油中富含不饱和脂肪酸(占总油量的92.60%),如亚麻酸、亚油酸、二十碳三烯酸、二十碳烯酸和十六碳烯酸等,其中亚麻酸

的含量达到 67.13%，其次为亚油酸 24.57%。

表 5 牡丹籽油甲酯化 GC-MS 分析组成成分表

Table 5 Constituents of oil from *Paeonia suffruticosa* Andr. seeds

序号	保留时间 (min)	化合物名称	分子式	分子 量	相对 含量(%)
1	4.344	十五烷	C ₁₅ H ₃₂	212	0.0467
2	4.666	十二烷酸(月桂酸)甲酯	C ₁₃ H ₂₆ O ₂	214	0.0329
3	5.175	十二烷酸(月桂酸)	C ₁₂ H ₂₄ O ₂	200	0.1545
4	5.711	十六烷	C ₁₆ H ₃₄	226	0.0629
5	7.466	十七烷	C ₁₇ H ₃₆	240	0.0432
6	7.999	十四烷酸(肉豆蔻酸)甲酯	C ₁₅ H ₃₀ O ₂	242	0.1343
7	8.843	十四烷酸(肉豆蔻酸)	C ₁₄ H ₂₈ O ₂	228	0.0426
8	9.619	十八烷	C ₁₈ H ₃₈	254	0.0454
9	9.848	十五碳烯酸甲酯	C ₁₅ H ₃₀ O ₂	240	0.0731
10	10.247	十五烷酸甲酯	C ₁₅ H ₃₀ O ₂	242	0.0514
11	12.254	十六碳烯酸甲酯	C ₁₆ H ₃₀ O ₂	254	0.1209
12	12.802	十六烷酸(棕榈酸)甲酯	C ₁₇ H ₃₄ O ₂	270	5.4608
13	14.841	2-己基环丙基辛酸甲酯	C ₁₇ H ₃₂ O ₂	268	0.0986
14	15.497	十七烷酸甲酯	C ₁₈ H ₃₆ O ₂	284	0.1310
15	17.416	十八碳二烯酸(亚油酸)甲酯	C ₁₉ H ₃₄ O ₂	294	24.5727
16	17.647	十八碳三烯酸(亚麻酸)甲酯	C ₁₉ H ₃₂ O ₂	292	67.1321
17	18.295	十八烷酸(硬脂酸)甲酯	C ₁₉ H ₃₈ O ₂	298	1.7181
18	23.139	二十碳烯酸甲酯	C ₂₀ H ₄₀ O ₂	312	0.2647
19	23.890	二十烷酸甲酯	C ₂₁ H ₄₂ O ₂	326	0.1571
20	33.534	二十二碳烯酸甲酯	C ₂₂ H ₄₄ O ₂	340	1.5435
21	33.986	二十四碳烯酸甲酯	C ₂₄ H ₄₈ O ₂	368	0.5774

3 结 论

采用微波提取技术对牡丹籽油进行了提取，选择正己烷为提取溶剂，通过单因素试验和中心复合试验设计以及响应面分析对微波提取工艺进行优化，得出较优工艺条件为：液料比 9:1，微波功率 825 W，提取时间 8min，在较优的提取条件下，牡丹籽油的提取率可达到 24.52%。并得到牡丹籽出油率与微波处理各因素变量的二次方程模型，该模型回归极显著，对试验拟合较好，有一定应用价值。

对牡丹籽油进行的 GC-MS 分析结果表明，其中富含不饱和脂肪酸，亚油酸和亚麻酸含量达到 91.70%。研究表明^[12-13]，亚麻酸和亚油酸是人体必需脂肪酸，可以在人体内转变为花生四烯酸，对于合成磷脂，形成细胞结构，维持一切组织的正常功能以及对于合成前列腺素都是必要的。由此可见，牡丹籽油不仅可供食用，还具有较高的医疗、保健价值。因此牡丹籽油具有更多潜在的开发和利用价值，本研究为进一步开发牡丹籽油相关产品提供了可靠的理论依据。

参考文献：

- [1] 李方军. 牡丹皮化学成分及药理作用研究进展[J]. 安徽医药, 2004, 8(2): 9-10.
- [2] 戚军超, 周海梅, 马锦琦, 等. 牡丹籽油化学成分 GC-MS 分析[J]. 粮食与油脂, 2005(11):22-23.
- [3] 王琴, 关建山, 刘文根. 微波法萃取芝麻油的工艺研究[J]. 中国油脂, 2002, 27(4): 11-12.
- [4] 邵海, 李丽华, 宫晓杰, 等. 微波萃取核桃油工艺[J]. 辽宁石油化工大学学报, 2005, 25(2): 13-16.
- [5] 杜邵龙, 周春山. 微波辅助提取薏苡仁油的研究[J]. 中国粮油学报, 2006, 21(2): 79-81.
- [6] 陈金娥, 王晓玲, 张海容. 微波辅助提取沙棘籽油的研究[J]. 食品研究与开发, 2007, 28(10): 80-82.
- [7] BEZERRA M A, SANTELLI R E, OLIVEIRA E P, et al. Response surface methodology (RSM) as a tool for optimization in analytical chemistry[J]. Talanta, 2008, 76(5): 965-977.
- [8] 陈魁. 试验设计与分析[M]. 北京: 清华大学出版社, 1996: 94-180.
- [9] 寇秀颖, 于国萍. 脂肪和脂肪酸甲酯化方法的研究[J]. 食品研究与开发, 2005, 26(2): 46-47.
- [10] PLACKETT R L, BURMAN J P. The design of optimum multi-factorial experiments[J]. Biometrika, 1946, 33: 305-325.
- [11] 陈业高, 海丽娜, 毕先钧. 微波辐射在天然药用活性成分提取分离中的应用[J]. 微波学报, 2003, 19(2): 85-89.
- [12] MATTSON F H, GRUNDY S M. Comparison of effects of dietary saturated, monounsaturated and polyunsaturated fatty acid on plasma lipids and lipoproteins in man[J]. J Lipids Res, 1985, 26(2): 194-202.
- [13] AKPINAR M, AKPINAR A. Total lipid content and fatty acid composition of the seeds of some *Vicia* L. species[J]. Food Chem, 2001, 74(4): 449-453.