

葡萄皮渣多酚超声波辅助提取工艺响应面法优化及抗氧化活性研究

令 博¹, 王 捷¹, 吴洪斌², 明 建^{1,3,*}

(1.西南大学食品科学学院, 重庆 400715; 2.新疆农垦科学院农产品加工研究所, 新疆 石河子 832000;

3.重庆市特色食品工程技术研究中心, 重庆 400715)

摘 要:以酿酒葡萄皮渣为原料采用超声辅助法提取葡萄皮渣多酚,在单因素试验基础上固定超声功率 100W、乙醇体积分数 40%,采用三因素三水平的响应面法优化设计方法,研究液料比、提取时间和超声温度对多酚得率的影响,依据回归分析得到最佳提取工艺条件为液料比 16:1(mL/g)、超声提取时间 57min、超声温度 50℃。在此条件下葡萄皮渣多酚提取量为 $(42.51 \pm 1.21)\text{mg}/5\text{g}$ 。以水溶性 VE 为对照物,通过 DPPH 法和铁氰化钾法对葡萄皮渣多酚的抗氧化活性进行体外评价,发现葡萄皮渣多酚具有较强的清除 DPPH 自由基能力和还原能力。由此可以得出,葡萄皮渣多酚具有一定的抗氧化活性,并在一定的范围内,其抗氧化活性与提取液的质量浓度具有较好的线性关系。

关键词:葡萄皮渣;多酚;响应面法;超声提取;抗氧化

Polyphenols from Grape Skin: Optimization of Ultrasonic-assisted Extraction Process by Response Surface Methodology and Antioxidant Activity Evaluation

LING Bo¹, WANG Jie¹, WU Hong-bin², MING Jian^{1,3,*}

(1. College of Food Science, Southwest University, Chongqing 400715, China;

2. Institute of Agro-food Science and Technology, Xinjiang Academy of Agricultural and Reclamation, Shihezi 832000, China;

3. Chongqing Special Food Programme and Technology Research Center, Chongqing 400715, China)

Abstract: Response surface methodology was employed to optimize the ultrasonic-assisted extraction of polyphenols from grape skin as a byproduct of wine making. On the basis of one-factor-at-a-time experiments, through which the optimal ultrasonic power and ethanol concentration were found to be 100 W and 40%, respectively, polyphenol yield was investigated by response surface methodology with respect to liquid-to-material ratio, extraction time and temperature at three levels. The optimal levels of liquid-to-material ratio, extraction time and temperature were determined to be 16:1 (mL/g), 57 min and 50 °C. Under such conditions, the yield of grape skin polyphenols was $(42.51 \pm 1.21) \text{ mg}/5 \text{ g}$. The antioxidant activity *in vitro* of the obtained extract was evaluated by DPPH free radical scavenging assay and potassium ferricyanide reduction assay using water-soluble VE as the control. Grape skin polyphenols were found to have powerful DPPH free radical scavenging capacity and reducing power in a linear dose-dependent manner.

Key words: grape skin; polyphenol; response surface methodology (RSM); ultrasonic-assisted extraction; antioxidant activity

中图分类号: R972.6

文献标识码: A

文章编号: 1002-6630(2011)18-0024-06

葡萄是仅次于柑橘的世界第二大水果,据 FAO 统计,2004 年全球葡萄总产量约为 6500 万吨,其中约 71% 用来酿酒^[1]。葡萄皮渣(grape pomace, GP)即葡萄经酿

酒后产生的残渣,主要由葡萄皮和葡萄籽组成约占其总加工质量的 20%,研究显示因酿酒方式及葡萄品种不同每千克葡萄皮渣中酚类物质(poly-phenolic compounds,

收稿日期: 2011-06-13

基金项目: 新疆生产建设兵团工业科技攻关项目(2009GG39)

作者简介: 令博(1986—),男,硕士研究生,研究方向为食品化学与营养学。E-mail: 61b61b@163.com

* 通信作者: 明建(1972—),男,副教授,博士,研究方向为食品化学与营养学。E-mail: mingjian1972@163.com

PP)含量可达285~550mg,总膳食纤维(total dietary fiber, TDF)含量可达干物质的70%以上,因此葡萄皮渣是一种具有抗氧化特性的膳食纤维(antioxidant dietary fiber, ADF)^[2-4],对葡萄皮渣进行深度开发研究具有重要的经济价值和社会意义。

植物多酚具有重要生理活性,在抗氧化、抗突变、抗肿瘤和抗心脑血管疾病等方面具有显著功效,作为功能性食品添加剂,可广泛用于食品和医药领域^[5]。近年来由于超声波技术在热敏性成分提取中所显示的独特优势,使其被广泛应用于天然植物有效成分的提取过程中^[6]。响应面法(response surface methodology, RSM)是一种试验优化方法,具有使用简便、精度高、预测性好的优点,广泛应用于农业、生物、食品、化学等领域^[7]。本实验将超声波技术应用于酿酒葡萄皮渣多酚的提取过程中,利用Design-Expert 7.0软件进行响应面分析以期获得最优工艺参数,并对葡萄皮渣多酚提取液的抗氧化活性进行初步研究,为葡萄皮渣多酚的综合开发利用提供一定参考。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

酿酒葡萄皮渣:由新疆西域酒业有限公司提供,经水洗、皮籽分离后冷冻干燥,然后用植物粉碎机粉碎过100目筛收集粉末,即为葡萄皮渣原料粉,密封贮存于阴凉干燥处。

DPPH(1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl)、水溶性VE(Trolox)、Folin-Ciocalteu试剂 美国Sigma公司;无水乙醇、三氯乙酸、铁氰化钾、 Na_3PO_4 、 FeCl_3 、 Na_2CO_3 、 NaH_2PO_4 、 Na_2HPO_4 、没食子酸等均为分析纯。

1.2 仪器与设备

722型分光光度计 上海菁华科技仪器有限公司;FA2004N型电子分析天平 上海精密科学仪器有限公司;KQ2200DB型超声清洗器 昆山市超声仪器有限公司;VDRTEX-5型旋涡混合器 其林贝尔仪器制造有限公司;HH-6型数显恒温水浴锅 金坛市富华仪器有限公司;SHZ-III型循环水式真空泵 上海亚荣生化仪器厂;RE-52AA型旋转蒸发器 上海亚荣生化仪器厂。

1.3 方法

1.3.1 葡萄皮渣多酚类物质的超声辅助提取

精确称取5.000g葡萄皮渣原料粉放入三角瓶中,加入一定量的提取溶剂,在超声波条件下提取多酚类物质,抽滤后40℃浓缩至一定体积,定容至100mL后密封避光储存待测。

1.3.2 总酚的测定

采用福林酚比色法测定^[8],以没食子酸(gallic acid)

为标样制作标准曲线,分别加入5mL蒸馏水,1mL FC试剂和3mL 7.5% Na_2CO_3 溶液,室温避光放置90min后,在波长760nm处测吸光度,得到没食子酸质量浓度 $\rho/(\mu\text{g/mL})$ 与吸光度 A 的回归方程: $\rho = 333.33A + 0.045(R^2 = 0.9996)$,用同样的方法测定样品中多酚含量。

1.3.3 葡萄皮渣多酚提取的单因素试验

分别以乙醇体积分数、超声温度、超声时间、料液比4个因素作单因素试验,考察各因素对多酚提取量的影响。

1.3.4 响应面分析法优化工艺条件

根据单因素试验结果,利用Design-Expert 7.0软件进行响应曲面设计,优化葡萄皮渣多酚的提取工艺。

1.3.5 抗氧化活性测定

1.3.5.1 多酚提取液的准备

准确称取5.000g葡萄皮渣原料粉后用响应面法所得最佳工艺参数提取,滤液用旋转蒸发器浓缩后定容至25mL(相当于200mg/mL),吸取1mL提取液分别稀释至不同浓度进行抗氧化活性测定,结果以水溶性VE(Trolox)当量浓度($\mu\text{mol/L}$)表示。

1.3.5.2 葡萄皮渣多酚清除DPPH自由基的测定^[9-10]

标准曲线的制作:分别向试管中加入1mL Trolox标准梯度液、1mL H_2O 及4mL 0.1mmol/L的DPPH溶液,旋涡振荡器混匀后避光反应30min,以无水乙醇为空白在波长517nm处测吸光度,得到Trolox浓度与吸光度曲线。回归方程:

$$C/(\mu\text{mol/L}) = 183.049 - 243.902A, R^2 = 0.9957$$

用上述方法测定葡萄皮渣多酚提取液并由回归方程得到Trolox的当量浓度,用来反映提取液清除DPPH自由基的能力。

1.3.5.3 葡萄皮渣多酚还原能力测定(铁氰化钾法)^[11]

标准曲线的制作:分别向小试管中加入1mL各浓度的Trolox标准梯度液、1mL PBS缓冲液、1mL铁氰化钾溶液混合均匀,50℃水浴20min后流水速冷却,加入10%的TCA溶液1mL混匀静置10min,然后加入2mL蒸馏水、1mL FeCl_3 混匀,静置10min后于波长700nm处测定吸光度,得到Trolox浓度与吸光度曲线。回归方程:

$$C/(\mu\text{mol/L}) = 384.615A - 14.615, R^2 = 0.9991$$

用上述方法对葡萄皮渣多酚提取液进行测定,由回归方程求得Trolox的当量浓度用以反映提取液的还原能力。

1.3.6 数据处理

数据采用Excel 2007统计分析,重复3次,结果用“平均值±标准差”表示。

2 结果与分析

2.1 单因素试验结果

2.1.1 乙醇体积分数的确定

在超声温度 25℃, 超声时间 30min、液料比 12:1 (mL/g) 的条件下, 分别采用体积分数 0%、20%、40%、60%、80% 的乙醇溶液提取葡萄皮渣多酚, 乙醇体积分数和多酚提取量的关系见图 1。由图 1 可知, 随乙醇体积分数的增加, 提取量呈现出先增加后逐渐降低的趋势, 其中以 40% 乙醇溶液提取效果最好。由于多酚是一大类极性范围很广的物质, 根据相似相溶原理, 当提取溶剂的极性与多酚的极性接近时, 对多酚的提取效果会更好, 所以适当的乙醇体积分数有利于醇溶性和水溶性多酚的溶出^[12], 考虑到提取成本及操作方便性, 可将乙醇体积分数确定为 40%。

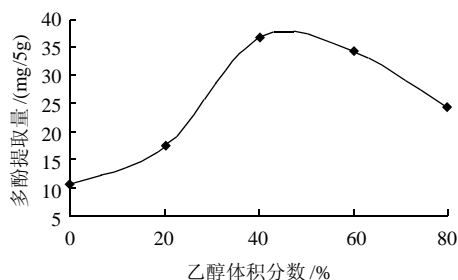


图 1 乙醇体积分数对多酚提取量的影响

Fig.1 Effects of ethanol concentration on polyphenol yield from grape skin

2.1.2 超声时间的确定

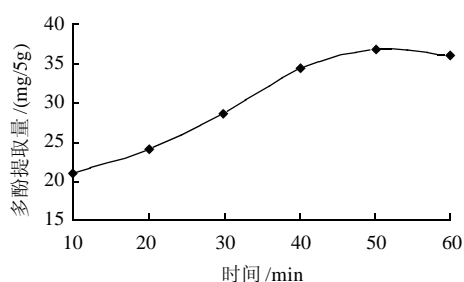


图 2 超声提取时间对多酚提取量的影响

Fig.2 Effects of extraction time on polyphenol yield from grape skin

在超声温度 25℃、液料比 12:1 的条件下, 分别采用 40% 的乙醇溶液浸提葡萄皮渣 10、20、30、40、50、60min, 超声时间和多酚提取量的关系见图 2。由图 2 可知, 随时间延长, 超声波对物料作用更加充分, 多酚的溶出量逐渐增大, 50min 时达到最大值, 继续延长浸提时间提取量有所下降, 可能与长时间超声振动会破坏多酚结构有关, 此外若提取时间过长还会使生产周期延

长, 提高生产成本, 增高能耗^[13]。因此超声提取时间的考察范围定为 40~60min。

2.1.3 超声温度的确定

采用 40% 的乙醇溶液, 按液料比 12:1 分别在 10、25、40、55、70℃ 的条件下对葡萄皮渣超声浸提 50min, 提取温度和多酚提取量的关系见图 3。由图 3 可知, 随着温度升高, 多酚提取量逐渐增大, 55℃ 后提取量逐渐减少, 主要可能是由于随着温度升高, 多酚的化学结构遭到破坏, 另外在高温下乙醇挥发使液料比改变, 影响提取量^[14]。因此超声提取温度的考察范围定为 25~55℃。

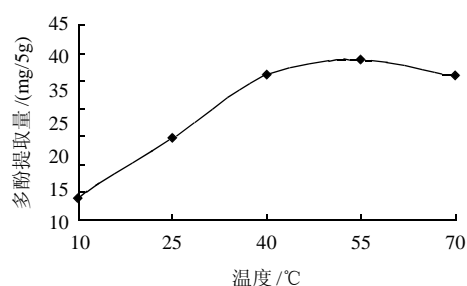


图 3 超声提取温度对多酚提取量的影响

Fig.3 Effects of extraction temperature on polyphenol yield from grape skin

2.1.4 液料比的确定

在 40℃ 分别以液料比 9:1、12:1、15:1、18:1、21:1 的 40% 乙醇溶液对葡萄皮渣超声浸提 50min, 液料比和多酚提取量的关系见图 4。由图 4 可知, 随液料比增大, 多酚提取量逐渐增大, 从 15:1 后提取量开始增长趋缓, 说明多酚的溶出量已达饱和, 从节约溶剂的角度考虑, 液料比的考察范围定为 12:1~18:1。

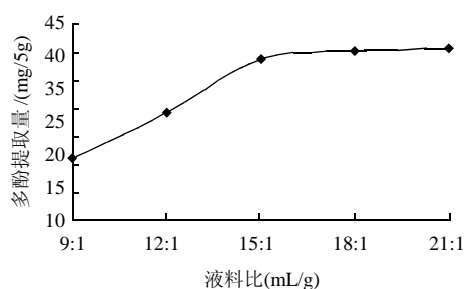


图 4 液料比对多酚提取量的影响

Fig.4 Effects of liquid-to-material ratio on polyphenol yield from grape skin

2.2 响应面分析法优化工艺条件

2.2.1 响应面设计及结果分析

根据 Box-Behnken 原理, 综合单因素试验结果, 以

葡萄皮渣多酚提取量(Y)为响应值,通过响应曲面分析法优化提取条件。选取影响多酚提取量的3个主要因素液料比(X_1)、超声温度(X_2)、超声时间(X_3)为自变量,采用三因素三水平共17个试验点的响应面分析试验。试验因素与水平设计见表1,响应面分析方案与结果见表2,其中1~12组为析因试验,13~17组为中心试验,用来分析试验误差。

表1 葡萄皮渣多酚提取工艺响应面分析试验因素与水平
Table 1 Variables and their coded levels in response surface analysis

因素	代码	水平		
		-1	0	1
A 液料比(mL/g)	X_1	12:1	15:1	18:1
B 温度/℃	X_2	25	40	55
C 时间/min	X_3	40	50	60

表2 葡萄皮渣多酚提取工艺响应面分析试验设计及结果
Table 2 Experimental design and results for response surface analysis

试验号	X_1	X_2	X_3	Y 多酚提取量/(mg/5g)
1	-1	-1	0	28.454
2	1	1	0	33.098
3	-1	1	0	38.985
4	1	1	0	41.153
5	-1	0	-1	34.379
6	1	0	-1	36.469
7	-1	0	1	38.643
8	1	0	1	39.850
9	0	-1	-1	28.934
10	0	1	-1	38.054
11	0	-1	1	32.762
12	0	1	1	42.113
13	0	0	0	40.532
14	0	0	0	40.721
15	0	0	0	39.853
16	0	0	0	40.469
17	0	0	0	39.891

利用 Design-Expert V7.0 统计软件对表3中试验数据进行回归拟合,得到葡萄皮渣多酚的提取量对所选3个因素的二次多项回归模型为:

$$Y = -99.00075 + 6.34135X_1 + 1.69415X_2 + 1.74647X_3 - 0.013756X_1X_2 - 7.35833 \times 10^{-3}X_1X_3 + 3.85000 \times 10^{-4}X_2X_3 - 0.16673X_1^2 - 0.014978X_2^2 - 0.014573X_3^2 \quad (1)$$

对以上模型进行方差分析的结果见表3。

由表3可知,失拟项 $P = 0.2011 > 0.05$,表明差异不显著,说明残差均由随机误差引起,模型的 $P < 0.0001$,表示模型高度显著。各因素中一次项(X_1 、 X_2 、 X_3)和二次项(X_1^2 、 X_2^2 、 X_3^2)的 P 值均在0.05以下说明其对响应值影响显著,而交互项(X_1X_2 、 X_1X_3 、 X_2X_3)的 P 值均大于0.05,说明对结果影响不显著。

表3 方差分析结果

Table 3 Analysis of variance of the primarily established quadric regression model

方差来源	平方和	自由度	均方	F 值	P 值	显著性
模型	288.68	9	32.08	103.00	< 0.0001	**
X_1	12.77	1	12.77	41.02	0.0004	**
X_2	171.65	1	171.65	551.21	< 0.0001	**
X_3	30.16	1	30.16	96.84	< 0.0001	**
X_1X_2	1.53	1	1.53	4.92	0.0620	N
X_1X_3	0.19	1	0.19	0.63	0.4548	N
X_2X_3	0.013	1	0.013	0.043	0.8419	N
X_1^2	9.48	1	9.48	30.45	0.0009	**
X_2^2	47.821		47.82	153.56	< 0.0001	**
X_3^2	8.94	1	8.94	28.72	0.0011	**
残差	2.18	7	0.31			
失拟项	1.55	3	0.52	3.31	0.1391	N
纯误差	0.63	4	0.16			
总离差	290.86	16				

注:**.影响极显著, $P < 0.01$, *.影响显著, $P < 0.05$, N.影响不显著, $P > 0.05$ 。下同。

2.2.2 模型优化

为进一步确定最佳提取工艺参数,对回归模型(1)进行手动优化,删除不显著项,所得结果见表5,回归方程如下:

$$Y = -94.25200 + 5.97343X_1 + 1.71340X_2 + 1.65150X_3 - 0.013756X_1X_2 - 0.16673X_1^2 - 0.014978X_2^2 - 0.014573X_3^2 \quad (2)$$

由表4可知,模型($P < 0.0001$)具有极显著性,失拟项($P = 0.2261 > 0.05$)差异不显著, $R^2_{Adj} = 0.9829$,说明模型拟合度良好,试验误差较小,因此可用该模型对超声波辅助提取葡萄皮渣多酚的工艺进行分析预测^[15-16]。

表4 回归模型的优化结果

Table 4 Analysis of variance of the quadric regression model without non-significant terms

方差来源	平方和	自由度	均方	F 值	P 值	显著性
模型	288.47	7	41.21	155.31	< 0.0001	**
X_1	12.77	1	12.77	48.14	< 0.0001	**
X_2	171.65	1	171.65	646.90	< 0.0001	**
X_3	30.161	1	30.16	113.65	< 0.0001	**
X_1X_2	1.53	1	1.53	5.78	0.0397	*
X_1^2	9.48	1	9.48	35.73	0.0002	**
X_2^2	47.82	1	47.82	180.22	< 0.0001	**
X_3^2	8.94	1	8.94	33.70	0.0003	**
残差	2.39	9	0.27			
失拟项	1.76	5	0.35	2.25	0.2261	
纯误差	0.63	4	0.16			
总离差	290.86	16				

2.2.3 相应曲面图分析与优化

根据回归方程,作响应曲面图,考察所拟合的响

应曲面的形状,分析液料比、提取时间和超声温度对提取量的影响。响应曲面及其等高线如图5所示,等高线的形状可反映出交互效应的强弱,椭圆形表示两因素交互作用显著,而圆形则与之相反^[17]。图5直观地反映了各因素对响应值的影响。对图进行分析可得出,超声时间对多酚提取量影响极为显著,超声温度对多酚提取量的影响较为显著,液料比对多酚提取量影响最小。

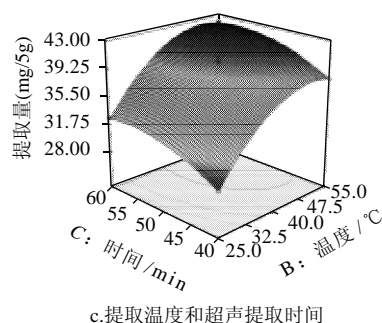
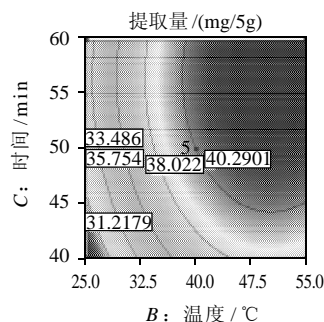
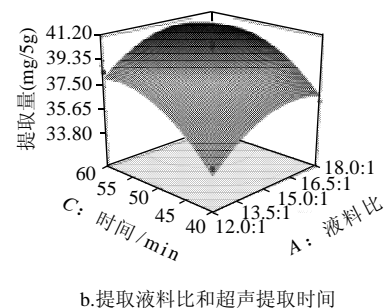
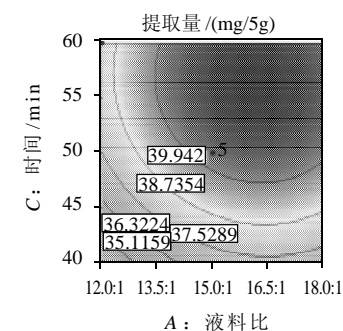
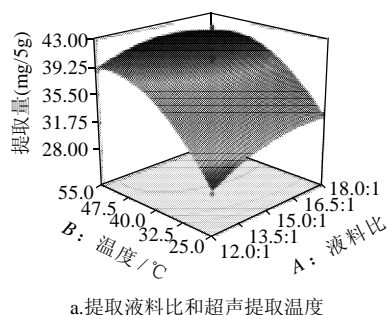
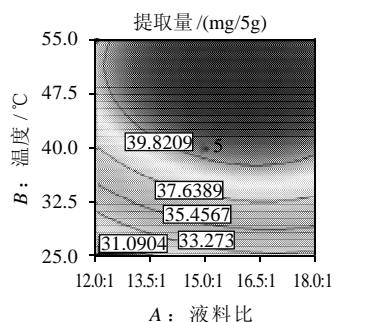


图5 各两因素交互作用对多酚提取量的影响

Fig.5 Response surfaces and contour plots showing the interactive effects of liquid-to-material ratio, temperature and extraction time on polyphenol yield from grape skin

2.2.4 葡萄皮渣多酚提取工艺条件的确定

对回归方程(2),求一阶偏导,并令其为0,得到三元一次方程组:

$$\begin{cases} 4.97303 - 0.013756X_2 - 0.33346X_1 = 0 \\ 1.67213 - 0.013756X_1 - 0.029956X_2 = 0 \\ 1.65150 - 0.029146X_3 = 0 \end{cases}$$

联立可解得最佳工艺参数为液料比 15.86:1(mL/g)、超声温度 49.92℃和超声时间 56.66min,此时葡萄皮渣多酚的最大提取量为 42.65mg/5g。考虑到实际操作的可性,将提取工艺条件修正为液料比 16:1(mL/g)、超声温度 50℃、超声时间 57min。为验证结果的可靠性,采用上述优化出的工艺参数进行 3 次平行实验,得到多酚的实际平均提取量为 $(42.51 \pm 1.21)\text{mg/5g}$,与理论预测值接近。因此利用响应面分析法优化得到葡萄皮渣多酚提取工艺参数真实可靠,具有实用价值。

2.3 葡萄皮渣多酚抗氧化活性测定

2.3.1 葡萄皮渣多酚对 DPPH 自由基的清除能力

图6显示了葡萄皮渣多酚提取液的质量浓度与 Trolox 质量浓度之间的对应关系,可发现在一定质量浓度范围内时葡萄皮渣多酚提取液与其对应的 Trolox 具有良好的线性关系,整体来看葡萄皮渣多酚对 DPPH 自由基具有较强的清除能力,随提取液浓度增大清除力逐渐增强。当质量浓度在 25~125 $\mu\text{g/mL}$ 时,其对 DPPH 自由基的清除能力与浓度范围在 33.39~115.67 $\mu\text{mol/L}$ 的 Trolox 溶液相当。

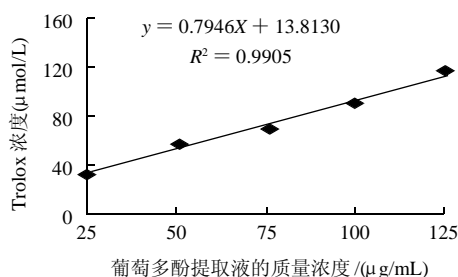


图6 葡萄皮渣多酚对DPPH自由基的清除能力

Fig.6 DPPH free radical scavenging rates of grape skin polyphenols at various concentrations

2.3.2 葡萄皮渣多酚的还原能力

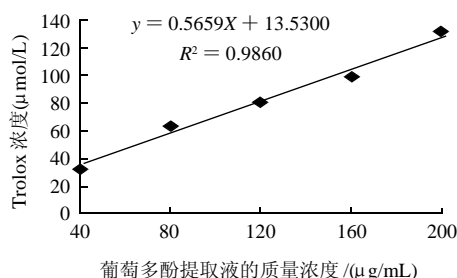


图7 葡萄皮渣多酚还原能力测定

Fig.7 Reducing power of grape skin polyphenols at various concentrations

由图7可以发现,葡萄皮渣多酚提取液与Trolox一样具有较好的还原能力,两者在一定的质量浓度范围内具有较好线性对应关系,整体来看葡萄皮渣多酚的还原能力随提取液质量浓度的增加而提高,当提取液质量浓度在40~200 μg/mL时,其还原能力与浓度范围在34.51~130.33 μmol/L的Trolox溶液相当。

3 结 论

3.1 响应面分析法得到的超声波辅助提取葡萄皮渣多酚最优工艺:在100W的超声条件下、以40%乙醇溶液为提取溶剂、液料比16:1、50℃浸提57min,多酚提取量为(42.51 ± 1.21)mg/5g,与预测值之间的相对偏差较小,证明响应面法优化得到的提取工艺科学合理,准确可靠具有一定的实用意义。

3.2 通过测定DPPH自由基清除力和铁氰化钾还原法两种体外抗氧化评价试验,可以发现葡萄皮渣多酚具有较强的自由基清除力及还原能力,在一定的浓度范围内,

提取液质量浓度与抗氧化活性呈现出较好的线性关系。随着近几年对植物抗氧化成分研究的不断深入,植物性抗氧化物质在食品、化妆品和药品等领域的使用日益增多,因此葡萄皮渣及其多酚类物质作为一种功能性食品添加剂资源具有广阔的应用开发前景。

参考文献:

- [1] MARIA A, HARRIS P, SERKOS A H, et al. Bioactive non-coloured polyphenols content of grapes, wines and vinification by-products: evaluation of the antioxidant activities of their extracts[J]. Food Research International, 2010, 43(3): 805-813.
- [2] ANTONIA L, JAIME C. Dietary fiber content and antioxidant activity of *manto negro* red grape (*Vitis vinifera*): pomace and stem[J]. Food Chemistry, 2007, 101(2): 659-666.
- [3] PINELO M, RUBILAR M, JEREZ M, et al. Effect of solvent, temperature, and solvent-to-solid ratio on the total phenolic content and antiradical activity of extracts from different compounds of grape pomace[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2005, 53(6): 2111-2117.
- [4] SAURA C F. Antioxidant dietary fiber product: a new concept and a potential food ingredient[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 1998, 46(10): 4303-4306.
- [5] 郭新竹, 宁正祥. 天然酚类化合物及其保健作用[J]. 食品工业, 2002 (3): 28-29.
- [6] 赵兵, 王玉春, 欧阳藩, 等. 超声波在植物提取中的应用[J]. 中草药, 1999, 30(9): 1-3.
- [7] 郭诗松, 王静龙, 史定华, 等. 统计手册[M]. 北京: 科学出版社, 2003: 78-86.
- [8] 李静, 聂继云, 王孝娣, 等. Folin-Ciocalteus法测定葡萄和葡萄酒中的总多酚[J]. 中国南方果树, 2006, 26(6): 86-87.
- [9] LUANDA M A S, FERNANDA V, PEDROSA R, et al. Free radical scavenging of grape pomace extracts from Cabernet sauvignon (*Vitis vinifera*)[J]. Bioresource Technology, 2008, 99(17): 8413-8420.
- [10] 李巨秀, 李利霞, 曾王旻, 等. 燕麦多酚化合物提取工艺及抗氧化活性的研究[J]. 中国食品学报, 2010, 10(5): 14-20.
- [11] JAYAPRAKASHA G K, SINGH R P, SAKARIAH K K. Antioxidant activity of grape seed (*Vitis vinifera*) extracts on peroxidation models *in vitro*[J]. Food Chemistry, 2001, 73(3): 285-290.
- [12] 李群梅, 杨昌鹏, 李健, 等. 植物多酚提取与分离方法的研究进展[J]. 保鲜与加工, 2010, 10(1): 14-20.
- [13] 周跃勇, 王岸娜. 从猕猴桃中提取多酚的研究[J]. 食品研究与开发, 2007, 28(3): 56-60.
- [14] 王如, 宿文斌, 王承明, 等. 黄连木饼粕粗多酚提取的响应曲面优化研究[J]. 食品科学, 2008, 29(7): 16-19.
- [15] 王钦德, 杨坚. 食品试验设计与统计分析[M]. 北京: 中国农业大学出版社, 2002.
- [16] 周纪芾. 实用回归分析方法[M]. 上海: 上海科学技术出版社, 1990: 77-79.
- [17] 王允祥, 吕凤霞, 陆兆新. 杯伞发酵培养基的响应曲面法优化研究[J]. 南京农业大学学报, 2004, 27(3): 89-94.