

响应面法优化复合酶 提取香椿叶总膳食纤维的工艺参数

刘 静,李湘利,张启美,魏海香,朱九滨,赵 敏
(济宁学院生命科学与工程系,山东曲阜 273155)

摘 要:以香椿叶为试材,采用单因素实验和响应面分析法对复合酶(纤维素酶:淀粉酶=1:1)提取香椿叶总膳食纤维(TDF)的工艺参数进行了优化。结果表明:在复合酶添加量0.5%,酶解时间2.0h,酶解温度61℃,酶解pH6.1时,香椿叶TDF提取率最高可达74.01%;所得TDF杂质含量低,生理活性好;持水力和膨胀力分别为6.50g/g和4.50mL/g。

关键词:香椿,总膳食纤维(TDF),复合酶,酶法提取,响应面法

Optimization of process parameters for total dietary fiber from leaves of *Toona Sinensis* with compound enzyme method by response surface methodology

LIU Jing, LI Xiang-li, ZHANG Qi-mei, WEI Hai-xiang, ZHU Jiu-bin, ZHAO Min

(Department of Life Science and Engineering, Jining University, Qufu 273155, China)

Abstract: The method of single factor test and response surface analysis was adopted to optimize the enzymatic extraction of total dietary fiber (TDF) from leaves of *Toona sinensis* with cellulose and amylase (1:1). The results showed that enzyme dosage 0.5%, enzymolysis time 2.0h, temperature 61℃, and pH6.1. The TDF extracting rate was 74.01% under these optimum conditions with low levels of impurities. The physiological activation was good, the holding water capacity and swelling property were 6.50g/g and 4.50mL/g respectively.

Key words: *Toona sinensis*; total dietary fiber (TDF); compound enzyme; enzymatic extraction; response surface methodology

中图分类号:TS201.2

文献标识码:B

文章编号:1002-0306(2014)17-0217-05

doi:10.13386/j.issn1002-0306.2014.17.039

膳食纤维是一类不被人体消化分解的多糖类碳水化合物和木质素的总称^[1]。按溶解性不同可分为水溶性膳食纤维(soluble dietary fiber, SDF)和非水溶性膳食纤维(insoluble dietary fiber, IDF)两类^[2]。研究表明^[3-4],膳食纤维具有促进胃肠蠕动、增加粪便体积、缩短排便时间、预防便秘、结肠癌、心血管疾病等保健功能。营养学家称膳食纤维为“第七大营养素”,现已作为食品工业的重要基料而被开发和应用^[5-6]。香椿(*Toona sinensis* (A.Juss.) Roem.)为楝科香椿属落叶乔木,因其嫩芽有特殊香气而得名^[7]。谷雨前后,香椿叶开始纤维化,不宜食用而被摒弃^[8-9],如将其膳食纤维提取,可延长香椿产业链,增加效益^[10]。目前国内用于提取膳食纤维的原料主要以豆渣和麦麸为主^[11],而对香椿叶膳食纤维的研究较少^[10]。为此,本实验以香椿叶为试材,对复合酶提取香椿叶总膳食纤维(total dietary fiber, TDF)的工艺进

行了系统研究,以期对香椿叶的综合利用及功能性食品开发提供参考。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

香椿叶 2012年9月采自济宁学院教职工生活区;α-淀粉酶(5000U/g) 北京双旋微生物培养基制品厂;纤维素酶(10万U/g) 湖州米纯生物科技有限公司;中性蛋白酶(40万U/g) 南宁庞博生物工程公司;无水乙醇,氢氧化钠等 分析纯。

2H-25C 多功能食品加工机 澳柯玛小家电有限公司;FCD2000 鼓风干燥箱 上海琅环实验设备有限公司;SZF-06C 粗脂肪测定仪 浙江托普仪器有限公司;TD6 低速离心机 长沙英泰仪器有限公司;ZKH2000 快速灰化炉 鹤壁市智胜科技有限公司;pHS-3C 酸度计 上海宇隆仪器有限公司;HH-S24S数显恒温水浴锅 上海跃进医疗器械厂;FA2004N 电子天平 上海精密仪器有限公司。

1.2 实验方法

1.2.1 样品处理 香椿老叶经60℃烘干后,粉碎过40目筛得香椿叶粉。准确称取一定质量的香椿叶粉,按料水比1:15加水,调节pH和温度经一定量的

收稿日期:2014-01-08

作者简介:刘静(1980-),女,硕士,讲师,主要从事园艺产品资源开发与利用方面的教学与研究工作。

基金项目:山东省高等学校科技计划项目(J12LF52)。

复合酶酶解后,煮沸 10min 灭酶,调整 pH6.0,于 60℃ 水浴中加入中性蛋白酶酶解 30min 后煮沸灭酶 10min,以无水乙醇沉淀 1h,4000r/min 离心 20min,所得沉淀于 105℃ 烘箱中干燥即得产品 TDF。

1.2.2 复合酶提取香椿叶 TDF 影响因素的研究 复合酶添加量的选择:香椿叶粉在酶解 pH6.0、酶解温度 65℃、酶解时间 2.5h 条件下,改变添加复合酶量(0.1%、0.3%、0.5%、0.7%、0.9%)进行酶解提取,以 TDF 提取率为指标确定酶添加量,复合酶(纤维纤维素酶与淀粉酶)的比例经预实验确定为 1:1。酶解时间的选择:香椿叶粉在添加 0.5% 的复合酶,酶解 pH6.0、酶解温度 65℃ 条件下,改变酶解时间(0.5、1.0、1.5、2.0、2.5h)进行提取,以 TDF 提取率为指标确定酶解时间。酶解温度的选择:香椿叶粉在添加 0.5% 的复合酶,pH6.0,酶解 2.0h 条件下,改变酶解温度(45、50、55、60、65℃)进行提取,以 TDF 提取率为指标确定酶解温度。酶解 pH 的选择:香椿叶粉在添加 0.5% 的复合酶,酶解温度 60℃ 下酶解 2.0h,改变酶解 pH(5.5、6.0、6.5、7.0、7.5)进行提取,以 TDF 提取率为指标确定酶解 pH。TDF 提取率的计算公式为:

$$\text{TDF 提取率}(\%) = \frac{\text{TDF 的质量}(\text{g})}{\text{样品的质量}(\text{g})} \times 100$$

1.2.3 提取工艺条件的优化 结合单因素实验结果,根据 Box-Behnken 中心组合实验设计原理,以复合酶添加量、酶解时间、酶解温度、酶解 pH 为变量分别以 X_1 、 X_2 、 X_3 、 X_4 表示,以香椿叶 TDF 提取率 Y 为响应值,以 -1、0、1 分别代表变量的水平,实验因素与水平见表 1,利用响应面分析法优化复合酶提取 TDF 的工艺参数。

表 1 Box-Behnken 中心组合设计因素及水平表
Table 1 Factors and levels of Box-behnken design

水平	因素			
	X_1 酶添加量 (%)	X_2 酶解时间 (h)	X_3 酶解温度 (℃)	X_4 酶解 pH
-1	0.3	1.5	55	5.5
0	0.5	2.0	60	6.0
1	0.7	2.5	65	6.5

1.2.4 分析测试方法 水分,直接干燥法(GB5009.3-2010);蛋白质,考马斯亮蓝染色法^[12];灰分,直接灰化法(GB5009.4-2010);脂肪,索氏抽提法(GB/T5009.6-2003);淀粉,酸水解法(GB/T5009.9-2008);产品膳食纤维,酶重量法(AOAC991.43);持水力和膨胀力,参照文献[13]的方法。

1.3 结果统计方法

应用 Design-Expert 8.0.7 软件、Microsoft Excel 2003 进行数据处理。

2 结果与分析

2.1 单因素实验

2.1.1 复合酶添加量对香椿叶 TDF 提取率的影响 由图 1 可知,香椿粉样液添加复合酶后,在 pH6.0、65℃ 酶解 2.5h,香椿叶 TDF 提取率随酶添加量的增加,呈钟形变化;尤以加酶量 0.5% 时,TDF 提

取率最高,可达 73.02% ($p < 0.05$);加酶量高于 0.5% 时,TDF 提取率反而下降。这是因为用酶量较低时,IDF 降解不彻底;但用酶量过高时,SDF 被降解为低分子量多糖、低聚糖或单糖,而无法被乙醇沉淀,导致 TDF 提取率下降^[14]。因此,复合酶添加量以 0.5% 为宜。

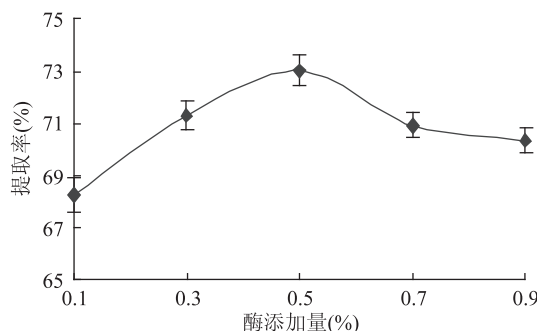


图 1 酶添加量对 TDF 提取率的影响

Fig.1 Effect of enzyme added on the yield of TDF

2.1.2 酶解时间对香椿叶 TDF 提取率的影响 由图 2 可知,香椿粉样液添加 0.5% 的复合酶,在 pH6.0、65℃ 下酶解,随酶解时间延长,香椿叶 TDF 提取率逐渐升高。酶解 2.0h 提取率最高可达 73.41% ($p < 0.05$);酶解 2.0h 以上,TDF 提取率反而下降。因为酶解时间较短,原料中淀粉水解不完全,而酶解较长时间,半纤维素被水解为非膳食纤维,导致 TDF 提取率下降^[15]。可见,酶解时间选择 2.0h 较合适。

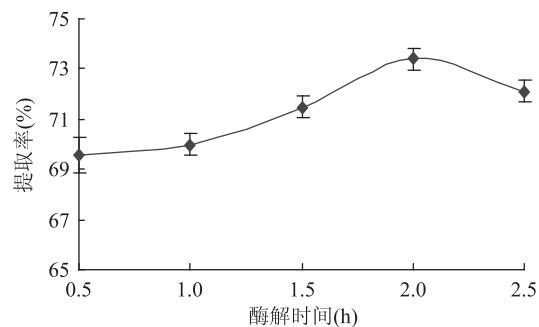


图 2 酶解时间对 TDF 提取率的影响

Fig.2 Effect of enzymolysis time on the yield of TDF

2.1.3 酶解温度对香椿叶 TDF 提取率的影响 由图 3 可知,香椿粉样液添加 0.5% 的复合酶,在 pH6.0 下酶解 2.0h,随酶解温度升高,香椿叶 TDF 提取率升高;60℃ 时,TDF 提取率最高达 73.32% ($p < 0.05$),温度高于 60℃ 时,TDF 提取率反而下降。酶在最适温度下有最大酶活,偏离最适温度,酶活受到抑制^[16]。为此,酶解温度以 60℃ 较适宜。

2.1.4 酶解 pH 对香椿叶 TDF 提取率的影响 由图 4 可知,香椿粉样液添加 0.5% 的复合酶,在 60℃ 下酶解 2.0h,随 pH 的升高,香椿叶 TDF 提取率升高;pH6.0 时 TDF 提取率最高为 73.27% ($p < 0.05$);pH 进一步升高,TDF 提取率逐渐下降。这可能与 pH 接近 6.0 时,复合酶的活性较强有关。故选择酶解 pH6.0。

2.2 复合酶提取香椿叶 TDF 的响应面优化

2.2.1 模型的建立与显著性分析 选取复合酶添加

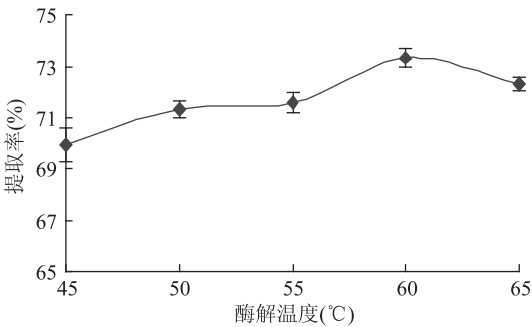


图3 酶解温度对 TDF 提取率的影响

Fig.3 Effect of enzymolysis temperature on the yield of TDF

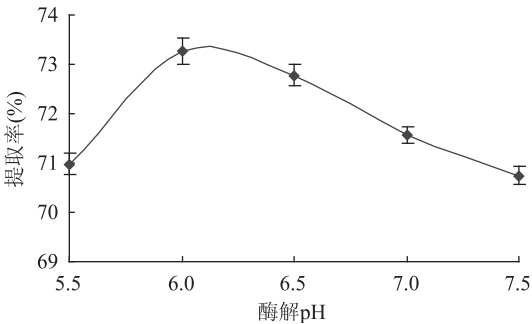


图4 酶解 pH 对 TDF 提取率的影响

Fig.4 Effect of enzymolysis pH on the yield of TDF

量(X_1)、酶解时间(X_2)、酶解温度(X_3)、酶解 pH(X_4)四个因素,以香椿叶 TDF 提取率(Y)为响应值进行中心组合设计,实验设计方案见表 2,实验 1~24 是析因实验,实验 25~29 是中心实验。29 个实验点分为析因和零点,其中析因点为自变量取值在 X_1 、 X_2 、 X_3 、 X_4 所构成的三维顶点;零点为区域的中心点,零点实验重复 5 次,用以估计实验误差。

对表 2 的结果进行多元回归拟合和方差分析,结果见表 3。

由表 3 可知,模型 F 值为 47.57 ($p < 0.01$),说明所得回归模型极显著,而失拟项差异不显著 ($p = 0.2314 > 0.05$)。模型确定系数 $R^2 = 0.98$,调整确定系数 $R^2_{adj} = 0.96$,故模型拟合度较好,可用于预测 TDF 的实际提取率。对回归方程系数进行显著性检验的结果表明,一次项 (X_1 、 X_2 、 X_3 、 X_4) 与二次项 (X_1^2 、 X_2^2 、 X_3^2 、 X_4^2) 对 TDF 提取率影响极显著 ($p < 0.01$),交互项 X_2X_3 影响显著 ($p < 0.05$),交互项 X_1X_2 、 X_1X_3 、 X_1X_4 、 X_2X_4 、 X_3X_4 影响不显著 ($p > 0.05$);去除不显著交互项,得到 TDF 提取率对各因素的回归方程:

$$Y = 73.8 + 0.64X_1 + 0.54X_2 + 0.48X_3 + 0.61X_4 + 0.32X_2X_3 - 1.35X_1^2 - 1.48X_2^2 - 1.52X_3^2 - 1.39X_4^2$$

2.2.2 响应面分析 利用 Design Expert 软件得到二次回归方程的响应面,酶解温度和酶解时间对 TDF 提取率的影响见图 5。

由图 5 可知,在因素所考察的范围内,酶解时间不变时,随酶解温度升高,TDF 提取率呈现先升高后降低的趋势;温度恒定时,随酶解时间的延长,也表现为相同的变化趋势。说明酶解时间与酶解温度间存在明显的交互作用,这与回归方程中 X_2X_3 项系数

为正相关。

表 2 响应面分析方案及实验结果
Table 2 Experiment design and results
of response surface methodology

实验号	X_1	X_2	X_3	X_4	Y 提取率 (%)
1	-1	-1	0	0	69.77
2	1	-1	0	0	71.22
3	-1	1	0	0	70.78
4	1	1	0	0	72.09
5	0	0	-1	-1	70.01
6	0	0	1	-1	70.89
7	0	0	-1	1	70.83
8	0	0	1	1	71.76
9	-1	0	0	-1	69.62
10	1	0	0	-1	70.98
11	-1	0	0	1	71.20
12	1	0	0	1	72.21
13	0	-1	-1	0	69.86
14	0	1	-1	0	70.84
15	0	-1	1	0	70.00
16	0	1	1	0	72.25
17	-1	0	-1	0	69.71
18	1	0	-1	0	71.08
19	-1	0	1	0	71.05
20	1	0	1	0	72.19
21	0	-1	0	-1	70.09
22	0	1	0	-1	70.51
23	0	-1	0	1	71.26
24	0	1	0	1	72.16
25	0	0	0	0	73.98
26	0	0	0	0	73.67
27	0	0	0	0	74.04
28	0	0	0	0	73.57
29	0	0	0	0	73.75

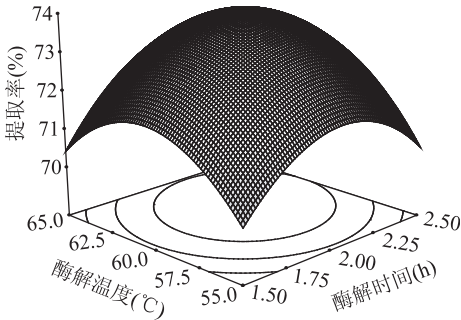


图 5 酶解温度与酶解时间交互影响 TDF 提取率的响应面
Fig.5 Response surface for reciprocal effect of enzymolysis temperature and time on the yield of TDF

2.2.3 最优酶解条件的确定和验证 在所选实验因素范围内,利用 Design Expert 软件,得到复合酶法提取 TDF 的最优条件:酶添加量 0.54%、酶解 pH6.11、酶解时间 2.1h、酶解温度 60.89℃。考虑到实际操作的可行性,将 TDF 提取条件调整为加酶量 0.5%、pH6.1、酶解 2.0h、酶解温度 61℃。此条件的验证性

表3 响应面回归模型方差分析表
Table 3 Variance analysis for the built regression model

来源	平方和	自由度	均方	F 值	p 值	显著性
模型	50.35	14	3.6	47.57	<0.0001	**
X ₁	4.86	1	4.86	64.35	<0.0001	**
X ₂	3.45	1	3.45	45.58	<0.0001	**
X ₃	2.81	1	2.81	37.21	<0.0001	**
X ₄	4.47	1	4.47	59.07	<0.0001	**
X ₁ X ₂	4.90E-03	1	4.90E-03	0.065	0.8027	
X ₁ X ₃	0.013	1	0.013	0.17	0.6821	
X ₁ X ₄	0.031	1	0.031	0.41	0.5347	
X ₂ X ₃	0.4	1	0.4	5.33	0.0367	*
X ₂ X ₄	0.058	1	0.058	0.76	0.3974	
X ₃ X ₄	6.25E-04	1	6.25E-04	8.27E-03	0.9288	
X ₁ ²	11.74	1	11.74	155.27	<0.0001	**
X ₂ ²	14.19	1	14.19	187.68	<0.0001	**
X ₃ ²	15.06	1	15.06	199.28	<0.0001	**
X ₄ ²	12.58	1	12.58	166.43	<0.0001	**
残差	1.06	14	0.076			
失拟项	0.9	10	0.09	2.21	0.2314	
纯误差	0.16	4	0.041			
总误差	51.41	28				

注: * .p < 0.05, ** .p < 0.01。

表4 样品及产品主要成分(%)
Table 4 The main composition of sample and product(%)

样品	脂肪	淀粉	水分	灰分	蛋白质	TDF	SDF	IDF
香椿叶粉	7.32a	1.24a	6.09b	15.55b	0.84a	65.39b	4.61b	60.78b
产品 TDF	1.13b	0.04b	6.51a	17.78a	0.46b	72.49a	6.53a	65.96a

注:表中小写字母表示 t 测验在 0.05 水平上的差异显著性,表 5 同。

实验结果表明,香椿叶 TDF 提取率为 74.01%,与模型预测值 74.04% 基本相符。

2.3 产品 TDF 成分分析

由表 4 可知,所得产品中 TDF 含量为 72.49%,其中 SDF 为 6.53%,IDF 为 65.96%,均高于样品中的含量;除灰分外,各种杂质成分含量较低,说明除杂效果较好。

2.4 产品 TDF 功能性质分析

由表 5 可知,所得产品 TDF 的持水力为 6.50g/g,膨胀力为 4.50mL/g,高于西方国家常用标准麸皮纤维的相应值 4.0g/g 和 4.0mL/g^[17],故本实验所得 TDF 功能特性较好。

表5 持水力和膨胀性的测定结果

Table 5 The results of holding water capacity and swelling property

样品	持水力(g/g)	膨胀力(mL/g)
香椿叶粉	3.16b	2.50b
产品 TDF	6.50a	4.50a

3 结论

以纤维素酶和淀粉酶 1:1 为复合酶,对香椿叶 TDF 进行提取,采用单因素实验和采用 Box-Behnken

中心组合实验设计响应面法建立了复合酶添加量、酶解时间、酶解温度、酶解 pH 四个因素对响应值(香椿叶 TDF 提取率)相互作用的数学模型:Y = 73.8 + 0.64X₁ + 0.54X₂ + 0.48X₃ + 0.61X₄ + 0.32X₂X₃ - 1.35X₁² - 1.48X₂² - 1.52X₃² - 1.39X₄²。利用响应面法对酶解工艺进行了优化,所得 TDF 提取条件为:酶添加量 0.5%,酶解时间 2.0h,酶解温度 61℃,酶解 pH6.1,此条件下,香椿叶 TDF 提取率为 74.01%。香椿叶 TDF 的理化性能较好,持水力为 6.50g/g,膨胀力为 4.50mL/g。

参考文献

- [1] Tanaka M, Takamizu A, Hoshino M, et al. Extraction of dietary fiber from Citrus junos peel with subcritical water. [J]. Food and Bioproducts Processing, 2012, 90(2): 180-186.
- [2] 刘焕云, 李慧荔, 赵红, 等. 燕麦麸中水溶性膳食纤维提取工艺优化[J]. 农业机械学报, 2008, 39(7): 103-106.
- [3] Brownlee Iain A. The physiological roles of dietary fiber[J]. Food Hydrocolloids, 2011, 25(2): 238-250.
- [4] 郭亚姿, 木泰华. 甘薯膳食纤维物化及功能特性的研究[J]. 食品科技, 2010, 35(9): 65-69.
- [5] Valeria S E, Jose V G, Carmen R, et al. Influence of the addition of dietary fiber on the drying curves and microstructure of

- a dry fermented sausage (Sobrassada) [J]. *Drying technology*, 2012, 30(2): 146–153.
- [6] McCleary B V, DeVries J W, Rader J I, *et al.* Determination of insoluble, soluble, and total dietary fiber by enzymatic–gravimetric method and liquid chromatography: collaborative study [J]. *Journal of AOAC International*, 2012, 95(3): 824–844.
- [7] Yu W J, Chang C C, Kuo T F, *et al.* *Toona sinensis* Roem leaf extracts improve antioxidant activity in the liver of rats under oxidative stress [J]. *Food and Chemical Toxicology*, 2012, 50(6): 1860–1865.
- [8] 王昌禄, 江慎华, 陈志强, 等. 香椿叶中活性物质提取及其抗氧化活性的研究 [J]. *农业工程学报*, 2007, 23(10): 229–234.
- [9] 何丹. 8 个种源香椿的营养动态变化分析 [D]. 武汉: 华中农业大学, 2006.
- [10] 刘静, 李湘利, 马义红, 等. 水提法制备香椿叶水溶性膳

- 食纤维工艺的优化 [J]. *食品工业*, 2013, 34(5): 108–110.
- [11] 吴晖, 侯萍, 李晓凤, 等. 不同原料中膳食纤维的提取及其特性研究进展 [J]. *现代食品科技*, 2008, 24(1): 91–95.
- [12] 陈钧辉, 李俊, 张冬梅, 等. *生物化学实验* [M]. 北京: 科学出版社, 2008.
- [13] Rupérez P, Saura – Calixto F. Dietary fiber and physicochemical properties of edible Spanish seaweeds [J]. *European Food Research and Technology*, 2001, 212: 349–354.
- [14] 牟建楼, 王颖, 孙剑锋. 响应面法优化纤维素酶提取苹果渣中水溶性膳食纤维 [J]. *食品科学*, 2012, 33(8): 95–98.
- [15] 谢显华, 李国基. 响应面法研究脱脂豆粕渣膳食纤维提取工艺 [J]. *食品工业科技*, 2010, 31(2): 220–223.
- [16] 景言, 迟玉杰. 豆渣可溶性膳食纤维酶法制备工艺及其品质分析 [J]. *食品与发酵工业*, 2012, 38(8): 68–72.
- [17] 毛慧君, 文良娟, 李英军, 等. 发酵法从西番莲果渣中制备膳食纤维的研究 [J]. *食品科学*, 2010, 31(3): 193–197.

(上接第 212 页)

3 结论

本研究是在单因素实验结果基础上, 利用响应面法优化鲁氏接合酵母产 MAP 酶条件, 通过对实验结果进行方差分析可知, 本实验中对 MAP 酶浓度的影响程度大小依次为盐浓度 > 时间 > 温度。研究结果表明鲁氏接合酵母产 MAP 酶最佳培养条件为温度 27℃、盐浓度 9.2%, 培养时间 80h, 此培养条件下鲁氏接合酵母 MAP 酶的浓度为 3.189ng/mL。

参考文献

- [1] Tena G, Asai T, Chiu W L, *et al.* Plant Mitogen – activated protein kinase signaling cascades [J]. *Current opinion. Plant Biology*, 2001, 74: 392–400.
- [2] Davis R. Signal transduction by the JNK group of MAP kinase [J]. *Cell*, 2000, 103: 239–252.
- [3] Madhani H D, Fink G R. The riddle of MAP kinase signaling specificity [J]. *Trends Genet*, 1998, 14: 151–155.
- [4] Jonak C. Complexity, cross talk and integration of plant MAP kinase signaling [J]. *Current Opinion Plant Biology*, 2002, 5: 415–424.

(上接第 216 页)

剂浓度 80% 乙醇, 洗脱时间 24h, 上样流速 1mL/min, 吸附流速 1~2mL/min, 洗脱流速 2mL/min, 吸附时间 120min, 洗脱用蒸馏水体积 100mL, 洗脱剂用量 80mL。所以本实验对 AB-8 大孔树脂分离纯化费菜总黄酮进行了系统的工艺研究, 所优选的纯化工艺较合理、可行, 以期为费菜总黄酮的工业化奠定理论基础。

参考文献

- [1] 国家中医药管理局《中华本草》编委会. 中华本草 (第 3 册) [M]. 上海: 上海科学技术出版社, 1999: 765–766.
- [2] 张晶晶, 王晶, 薛娇, 等. 费菜茎叶的化学成分 [J]. *沈阳药科大学学报*, 2010, 27(8): 635–638.
- [3] 孟飞, 罗霄, 巩江, 等. 费菜药学研究概况 [J]. *辽宁中医药大学学报*, 2010, 12(8): 31–33.

- [5] Murooka Y, Yamshita M. Traditional healthful fermented products of Japan [J]. *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology*, 2008(35): 791–798.
- [6] Kataoka S. Functional effects of Japanese style fermented soy sauce (Shoyu) and its components [J]. *Journal of Bioscience and Bioengineering*, 2005(100): 227–234.
- [7] Ohata M, Kohama K, Morimitsu Y, *et al.* The formation mechanism by yeast of the 2 (or 5) – ethyl 5 (or 2) – methyl – 4 – hydroxy – 3 (2H) – furanone in Miso [J]. *Biosci Biotech Biochem*, 2007, 71: 407–413.
- [8] Majumder A, Bhandari S, Purama R K, *et al.* Enhanced production of a novel dextran from *Leuconostoc mesenteroides* NRRL B – 640 by response surface methodology [J]. *Ann Microbiol*, 2009, 59(2): 309–315.
- [9] 韩学易, 唐自钟, 胡玉龙, 等. 响应面优化巨大芽孢杆菌产纤维素酶发酵条件 [J]. *四川农业大学学报*, 2013, 31(3): 319–321.
- [10] 张大皓, 谭天伟. 响应面实验设计优化脂肪酶发酵培养基 [J]. *北京化工大学学报*, 2006, 33(2): 41–44.

- [4] 刘晔峰, 马峥嵘, 吴晓琴, 等. 养心草的有效成分及功能性化合物研究进展 [J]. *中华中医药杂志*, 2012, 27(8): 2135–2138.
- [5] 睢玉祥, 张家铭, 穆楠, 等. 翅果油树叶总黄酮分离纯化工艺的研究 [J]. *植物研究*, 2010, 30(3): 373–378.
- [6] 梁平, 赖凤英, 金鑫. 利用大孔树脂提取食用仙人掌黄酮 [J]. *生物活性物质的分离与提纯*, 2005, 31(3): 133–135.
- [7] 于智峰, 王敏. 大孔树脂在黄酮类化合物分离中的应用 [J]. *中药材*, 2006, 29(12): 1380–1384.
- [8] 刘飞, 王鸿飞, 林燕, 等. 费菜总黄酮提取工艺的研究 [J]. *食品工业科技*, 2011, 32(4): 252–257.
- [9] 于智峰, 王敏, 金颖. 大孔吸附树脂对苦荞黄酮吸附分离特性研究 [J]. *食品研究与开发*, 2006(11): 1–5.
- [10] 郝建生, 郝建平. 大孔吸附树脂分离纯化野菊花总黄酮 [J]. *中国中药杂志*, 2007, 32(20): 2123–2127.