

李芬芳,马艳弘,赵密珍,等. 响应面优化提取草莓多酚及其抗氧化活性研究[J]. 江苏农业科学,2018,46(1):141-145.

doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2018.01.038

# 响应面优化提取草莓多酚及其抗氧化活性研究

李芬芳<sup>1,2</sup>, 马艳弘<sup>2</sup>, 赵密珍<sup>3</sup>, 黄开红<sup>4</sup>, 段云青<sup>1</sup>

(1. 山西农业大学文理学院, 山西太谷 030801; 2. 江苏省农业科学院农产品加工研究所, 江苏南京 210014;

3. 江苏省农业科学院果树研究所, 江苏南京 210014; 4. 句容万山红遍生物科技有限公司, 江苏镇江 212402)

**摘要:**在单因素试验的基础上,通过响应面分析法优化提取工艺,建立了多酚提取的二次项数学模型,测定了其抗 DPPH 自由基、超氧阴离子自由基、羟自由基的能力。结果发现,在乙醇体积分数 43%、料液比 1 g:40 mL、提取时间 104 min、提取温度 57 ℃ 条件下可获得最高提取量 2.418 mg/g;所提取的多酚具有较好的抗氧化活性,0.16 mg/mL 草莓多酚粗提液对 DPPH 自由基的清除率达 93.33%、抗超氧阴离子自由基能力 165.16 U/L、对羟自由基的抑制率为 78.68%。结果表明,草莓多酚具有较高的抗氧化活性。

**关键词:**草莓多酚;提取工艺;响应面法;抗氧化

**中图分类号:** TS201.1 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2018)01-0141-05

草莓(*Fragaria ananassa* Duck)为蔷薇科植物草莓的果实,别称有洋莓、地莓、蚕莓、蛇莓、鸡冠果等<sup>[1]</sup>。草莓含有丰富的多酚、花青素、酚酸和黄酮类等生物活性物质,不仅具有较强的抗氧化能力,同时还具有较高的清除自由基的能力<sup>[2-3]</sup>。此外,草莓中含有丰富的维生素 C、维生素 E、 $\beta$ -胡萝卜素、褪黑激素及酚类化合物等抗氧化物质<sup>[4]</sup>,其中酚类化合物是最能影响草莓植物化学性质的主要组成成分之一<sup>[5]</sup>。酚类物质为草莓中最主要的抗氧化物质,在抗氧化、抑菌、抗癌、抗肿瘤和抑制心脑血管疾病等方面具有显著功效,被广泛用于食品和医药领域<sup>[6]</sup>。近些年通过大量引进国外的优质草莓品种,我国的草莓种类和数量已经位于世界前列。国内对草莓的采后保鲜以及贮藏进行了很多研究,但是对草莓的生物活性及生理功能的研究还处于起步阶段,与国际上的研究存在有很大的差距<sup>[7]</sup>,因而需进一步开发市场前景广阔的草莓多酚活性产品<sup>[8-9]</sup>。

国内外很多学者对植物多酚的提取方法做了大量的研究,采用的方法主要有溶剂萃取法、酶解提取法、微波辅助提取法和超声波辅助提取法等<sup>[10-12]</sup>。其中溶剂萃取法因其操作简便、成本低廉、便于后续分离纯化等优点成为目前国内使用最广泛的多酚提取方法。目前国内对植物多酚的提取、纯化和生物活性的研究主要集中在茶多酚、苹果多酚、石榴多酚等少数几种,而有关草莓多酚的提取及抗氧化活性的报道却不多。本试验拟对草莓多酚提取工艺条件进行优化,并测定草莓多酚粗提物的体外抗氧化能力,旨在为草莓的深度开发

提供参考。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料与试剂

草莓由江苏省农业科学院果树研究所提供;福林酚试剂、源叶生物技术有限公司;DPPH,上海源叶生物科技有限公司;羟自由基测定试剂盒、抗超氧阴离子自由基测定试剂盒,南京建成生物工程研究所;无水乙醇、没食子酸、碳酸钠(均为分析纯试剂),北京奥博星生物技术有限责任公司。

### 1.2 仪器与设备

FW100 高速万能粉碎机:天津市泰斯特仪器有限公司;HJ-6A 多头磁力搅拌器:常州国华仪器有限公司;DK-8D 型电热恒温水槽:上海精宏实验设备有限公司;D-B5 型紫外可见分光光度计:上海奥析科学仪器有限公司;JJ-500 电子天平:常熟市双杰测试仪器厂;TGL-16B 台式离心机:上海安亭科学仪器厂;RE6000 型旋转蒸发器:上海亚荣生化仪器厂;ZD-F12 真空冷冻干燥机:南京载智自动化设备有限公司。

### 1.3 方法

**1.3.1 草莓多酚提取方法** 将新鲜草莓洗净、沥干水分、破碎打浆,与一定浓度的乙醇溶液混合均匀,恒温提取一定时间,4 500 r/min 离心 25 min,沉淀再重复提取 2 次,合并 3 次上清,得多酚提取液。将提取液旋转蒸发器浓缩,用 HPD400 大孔树脂纯化,50% 乙醇溶液洗脱 3 次,合并洗脱液,旋转蒸发器浓缩,真空冷冻干燥至恒质量得草莓多酚粉。

**1.3.2 总酚的测定** 采用福林酚比色法<sup>[13-14]</sup>测定,以没食子酸为标样制作标准曲线,分别加入 5 mL 蒸馏水,1 mL 福林酚试剂和 3 mL 7.5%  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  溶液,45 ℃ 水浴加热 90 min 后,在波长 760 nm 处测吸光度,得到没食子酸质量浓度与吸光度的回归方程: $y = 0.011\,27x + 0.001\,97$  ( $r^2 = 0.999\,8$ ),根据标准曲线计算草莓多酚含量,再按照如下公式计算多酚提取率:多酚得率(按没食子酸计)(mg/g) =  $(C \times V/m) \times 100\%$ ,式中  $C$  为比色杯中多酚质量浓度(mg/mL), $V$  为多酚

收稿日期:2016-08-02

基金项目:江苏省农业科技自主创新资金[编号: CX(15)1021];江苏省重点研发计划(现代农业)项目(编号: BE2015350);句容市农业科技支撑计划(编号: NY2016228842)。

作者简介:李芬芳(1991—),女,河南洛阳人,硕士研究生,主要从事生化分析。E-mail: lifenfang1991@163.com。

通信作者:马艳弘,博士,副研究员,硕士生导师,主要从事生物技术与功能食品研究。E-mail: ma\_yhhy@126.com。

提取液总体积 (mL);  $m$  为草莓总质量 (g)。

1.3.3 单因素试验设计 分别以料液比、提取时间、提取温度、乙醇体积分数 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 8.0.6.1 软件进行响应面设计,优化草莓多酚的提取工艺。

1.3.5 抗氧化活性测定

1.3.5.1 DPPH 自由基清除能力测定<sup>[15-16]</sup> 准确称取 12.5 mg DPPH 标准品,用无水乙醇溶解并定容至 250 mL。准确量取不同体积的样品溶液,加去氧水补足 1 mL,分别加入 5 mL DPPH · 溶液,充分混合,静止 30 min,于 517 nm 处测吸光值  $D_s$ ,5 mL DPPH · 溶液与 1 mL 无水乙醇混合后测吸光度  $D_0$ ,5 mL 无水乙醇与 1 mL 样品溶液混合后测吸光度  $D_b$ 。以同浓度维生素 C 为对照,在 517 nm 处测吸光度。每个样品平行测定 3 次,DPPH · 清除率公式如下:

$$\text{清除率} = [D_0 - (D_s - D_b)] / D_0 \times 100\%。$$

1.3.5.2 抗超氧阴离子自由基能力测定 配制 0.01、0.02、0.04、0.08、0.16 mg/mL 的样品溶液,按照试剂盒说明书操作,取同浓度维生素 C 溶液作为对照,无水乙醇作空白对照,超氧阴离子自由基清除能力计算公式如下:

$$\text{抗超氧阴离子活力单位 (U/L)} = (D_{550 \text{ nm}}(\text{对照组}) - D_{550 \text{ nm}}(\text{试验组})) / (D_{550 \text{ nm}}(\text{对照组}) - D_{550 \text{ nm}}(\text{标准组})) \times \text{标准品浓度 (mg/mL)} \times 1\,000 \text{ mL}。$$

1.3.5.3 清除羟自由基能力的测定 分别取 0.01、0.02、0.04、0.08、0.16 mg/mL 的样品溶液,按照试剂盒说明书操作,其呈色与  $\cdot\text{OH}$  的多少呈正比关系,即吸光度越小,样品对羟自由基的清除能力越强。取同浓度维生素 C 溶液作为对照,无水乙醇作空白对照,羟自由基抑制能力计算公式:抑制率 =  $(D_{\text{对照组}} - D_{\text{试验组}}) / D_{\text{对照组}} \times 100\%$ 。

## 2 结果与分析

### 2.1 草莓多酚提取单因素试验结果与分析

2.1.1 料液比对草莓多酚得率的影响 在 50 ℃ 分别以料液比 1:5、1:10、1:15、1:20、1:25、1:30、1:35、1:40 (g:mL),70% 乙醇浓度对草莓浆液浸提 2 h,随料液比增大,多酚提取率逐渐增大,在 1 g:35 mL 处多酚得率达到最大值,说明多酚的溶出量已经达到饱和,故最终确定最佳提取料液比为 1 g:35 mL (图 1)。

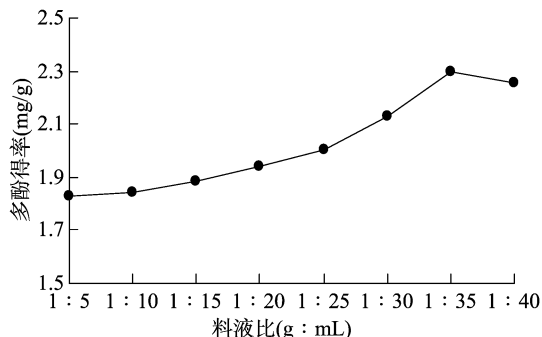


图1 料液比对草莓多酚提取率的影响

2.1.2 提取时间对草莓多酚得率的影响 在 50 ℃ 以料液比

1 g:20 mL、70% 乙醇浓度对草莓浆液分别提取 0.5、1、1.5、2、2.5、3、3.5、4 h。在提取时间 2 h 以内,多酚提取率随着提取时间的延长而逐渐增大,超过 2 h 以后,提取率逐渐趋于平缓。表明充足的提取时间可以使溶剂充分接触,从而提高得率,当时间超过 2 h 以后,多酚溶出基本达到平衡状态 (图 2)。因此,确定最佳提取时间为 2 h。

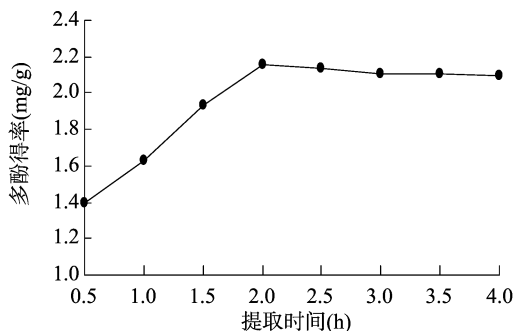


图2 提取时间对草莓多酚得率的影响

2.1.3 乙醇浓度对草莓多酚得率的影响 以料液比 1 g:20 mL,50 ℃ 对草莓浆液进行提取,乙醇浓度分别为 30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%、100%。如图 3 所示,当乙醇浓度小于 50% 时,随着乙醇浓度的增加总多酚提取率逐渐提高,当乙醇浓度达到 50% 时,总多酚的提取率达到最大,此后随着乙醇浓度的增加其提取率逐渐减小 (图 3)。可能是由于过高浓度的乙醇溶液会引起细胞蛋白质的变性,影响多酚类物质的溶出,导致提取率降低<sup>[17]</sup>,最终确定最佳提取乙醇浓度为 50%。

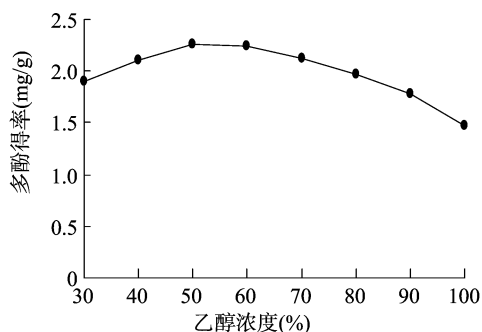


图3 乙醇浓度对草莓多酚得率的影响

2.1.4 温度对草莓多酚得率的影响 以料液比 1 g:20 mL,70% 乙醇浓度对草莓浆液提取 2 h,温度分别为 20、30、40、50、60、70 ℃,小于 60 ℃ 范围内,随着提取温度的升高,提取率逐渐升高,当温度大于 60 ℃ 后,多酚得率呈下降趋势 (图 4)。表明温度越高越有利于多酚的溶出,但是温度太高,草莓中的酚类物质有可能因温度过高发生氧化等变化<sup>[18]</sup>,且温度增高需要更多的热能,从节能经济的角度出发,确定最佳提取温度为 60 ℃。

### 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,以草莓多酚得率为响应值,通过响应面分析法优化提取条件。选取料液比 (A)、提取时间 (B)、乙醇浓度 (C)、提取温度 (D) 为自变量,采用 4 因素 3 水平共 29 个试验点的响应面法分析试验 (表 1、表 2)。

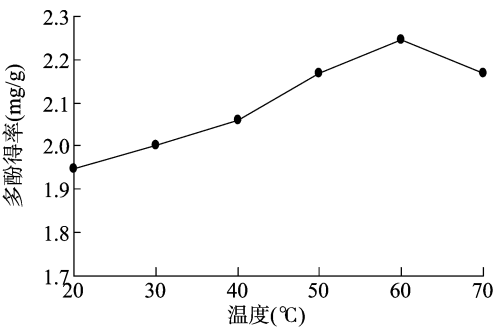


图4 提取温度对草莓多酚得率的影响

表 1 草莓多酚提取工艺响应面分析试验的因素与水平

水平	因素			
	A:料液比 (g : mL)	B:提取时间 (h)	C:乙醇浓度 (%)	D:提取温度 (°C)
-1	1 : 30	1.5	40	50
0	1 : 35	2.0	50	60
1	1 : 40	2.5	60	70

表 2 草莓多酚提取工艺响应面分析试验设计及结果

序号	A:料液比	B:提取时间	C:乙醇浓度	D:提取温度	多酚得率 (mg/g)
1	-1	-1	0	0	1.805
2	1	-1	0	0	2.332
3	-1	1	0	0	1.805
4	1	1	0	0	1.772
5	0	0	-1	-1	2.255
6	0	0	1	-1	2.099
7	0	0	-1	1	2.325
8	0	0	1	1	2.358
9	-1	0	0	-1	1.804
10	1	0	0	-1	2.158
11	-1	0	0	1	2.274
12	1	0	0	1	2.296
13	0	-1	-1	0	2.261
14	0	1	-1	0	1.938
15	0	-1	1	0	1.981
16	0	1	1	0	1.835
17	-1	0	-1	0	2.018
18	1	0	-1	0	2.228
19	-1	0	1	0	2.097
20	1	0	1	0	2.009
21	0	-1	0	-1	2.184
22	0	1	0	-1	1.771
23	0	-1	0	1	2.151
24	0	1	0	1	2.029
25	0	0	0	0	2.481
26	0	0	0	0	2.461
27	0	0	0	0	2.368
28	0	0	0	0	2.408
29	0	0	0	0	2.504

应用 Design Expert 8.0.6.1 软件对试验结果进行多元回归分析,得到以草莓多酚提取率为响应值的回归方程为: $Y = 2.44 + 0.083A - 0.13B - 0.054C + 0.097D - 0.14AB - 0.074AC - 0.083AD + 0.044BC + 0.073BD + 0.047CD -$

$0.22A^2 - 0.31B^2 - 0.12C^2 - 0.084D^2$ 。

失拟项  $P = 0.3089 > 0.05$ ,表明差异不显著,说明残差均有随机误差引起,模型的  $P < 0.0001$ ,表明模型拟合项高度显著(表 3)。 $R^2 = 0.9554$ , $R^2_{Adj} = 0.9108$ ,表明模型与试验值拟合良好,试验误差较小,因此可以用该模型对提取草莓多酚的工艺进行分析预测<sup>[19]</sup>。由 F 值可知,4 个自变量对响应值的影响程度大小依次为  $B > D > A > C$ ,其中各因素中一次项(A、B、D)、交互项 AB 和二次项( $A^2$ 、 $B^2$ 、 $C^2$ 、 $D^2$ )的  $P < 0.01$ ,说明其对响应值影响极显著,一次项 C 和交互项 AC、AD 的  $P < 0.05$ ,说明其对响应值影响显著,而交互项 BC、BD、CD 的  $P > 0.05$ ,说明对结果影响不显著。

表 3 方差分析结果

参数	平方和	自由度	均方	F 值	P 值	显著性
模型	1.42	14	0.1	21.42	<0.0001	**
A:料液比	0.082	1	0.082	17.27	0.001	**
B:时间	0.2	1	0.2	42.93	<0.0001	**
C:乙醇浓度	0.035	1	0.035	7.32	0.017	*
D:温度	0.11	1	0.11	23.7	0.0002	**
AB	0.078	1	0.078	16.51	0.0012	**
AC	0.022	1	0.022	4.68	0.0484	*
AD	0.028	1	0.028	5.8	0.0303	*
BC	0.007832	1	0.007832	1.65	0.2199	N
BD	0.021	1	0.021	4.46	0.0532	N
CD	0.00893	1	0.00893	1.88	0.1918	N
$A^2$	0.32	1	0.32	67.21	<0.0001	**
$B^2$	0.64	1	0.64	134.31	<0.0001	**
$C^2$	0.095	1	0.095	20.02	0.0005	**
$D^2$	0.045	1	0.045	9.54	0.008	**
残差	0.066	14	0.004749			
失拟项	0.054	10	0.005415	1.76	0.3089	N
纯误差	0.012	4	0.003082			
总和	1.49	28				
$R^2$	0.9554					
$R^2_{Adj}$	0.9108					

注:“\*\*”表示影响极显著( $P < 0.01$ ),“\*”表示影响显著( $P < 0.05$ ),N 表示影响不显著( $P > 0.05$ )。

2.2.2 响应面图分析与优化 响应曲面图中曲面的陡峭程度可以表明变量对提取率的影响程度,曲面较陡表明影响较大,反之则较小;等高线图反映了因素间交互作用的强弱,椭圆形表示交互作用显著,圆形则表示交互作用不显著(图 5)。根据回归方程,作响应面图,考察所拟合的响应曲面的形状,分析液料比、时间、乙醇浓度和温度对提取量的影响。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<sup>[20]</sup>。料液比与时间交互作用的响应面坡度陡,说明二者交互作用显著;同一提取时间下,随料液比增加,提取率增加;与之相比,在同一料液比的水平下,随着提取时间的增加,提取率达到最佳后开始减小(图 5-a)。料液比与乙醇浓度交互作用的响应面坡度较陡,等高线较密集,说明二者交互作用显著;同一乙醇浓度下,随料液比增加,提取率增加;与之相比,在同一料液比的水平下,随着乙醇浓度的增加,提取率增加幅度较缓慢(图 5-b)。料液比与温度交互作用的响应面坡度较陡,等高线密集,说明二者交互作用较显著;在同一温度下,随料液比增加,提取率增加;与之相

比,在同一料液比的水平下,随着温度的增加,提取率增加幅度缓慢(图 5-c)。对图 5 进行分析可得出,温度、时间和料

液比对多酚提取量影响极为显著,乙醇浓度对多酚提取量影响最小。

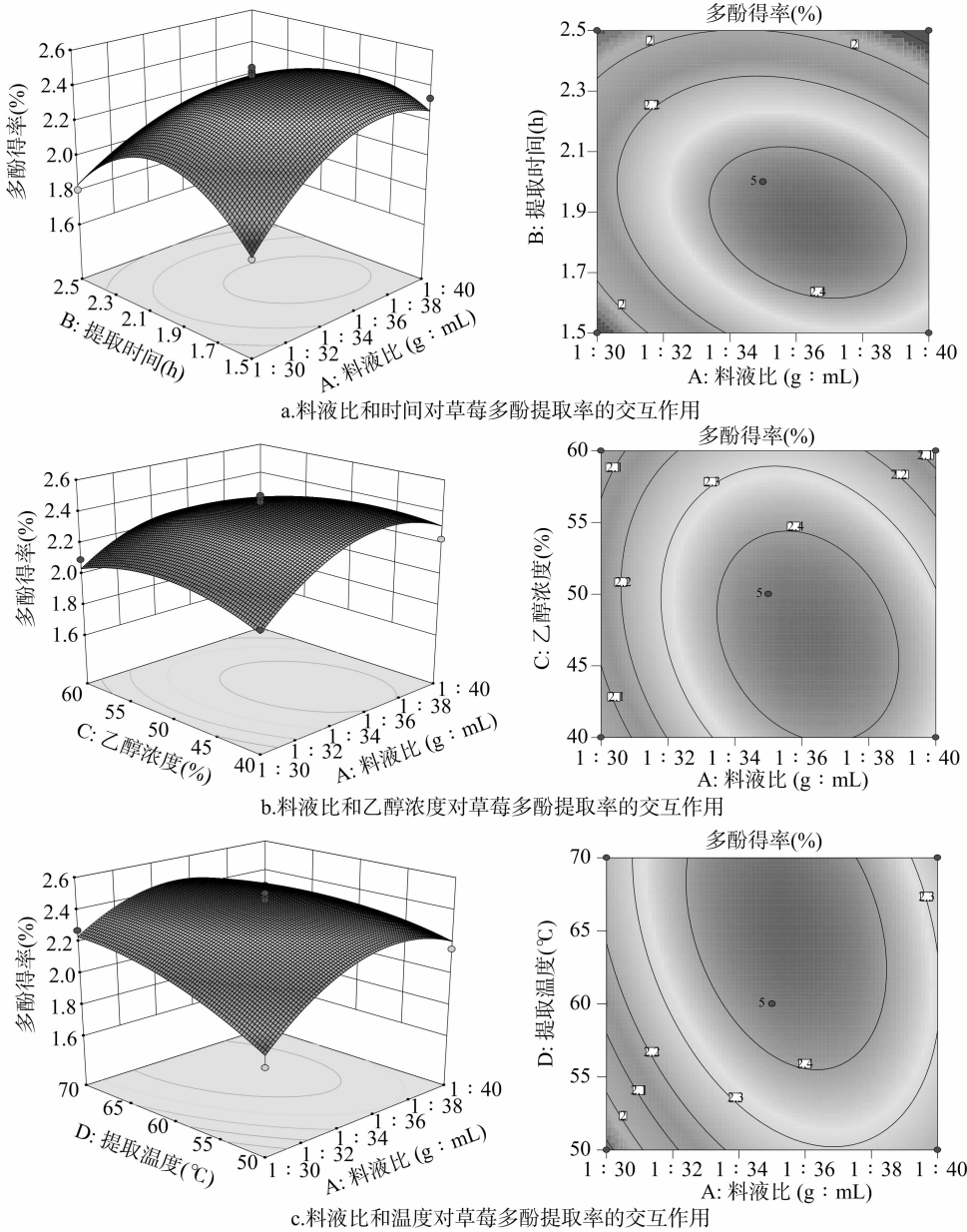


图5 料液比、提取时间、乙醇浓度和提取温度对草莓多酚提取率的交互作用的响应面

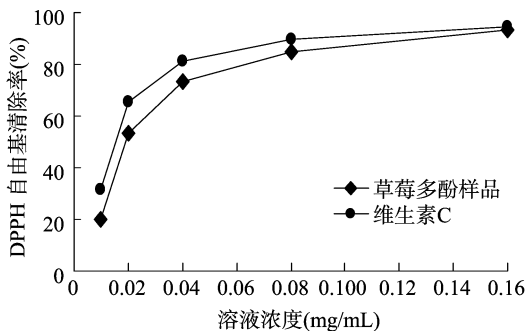
2.2.3 响应面最优提取工艺条件及验证试验 通过软件分析得到草莓多酚醇提最佳提取工艺为:料液比 1 g : 40 mL、时间 1.74 h、乙醇浓度 43.07%、浸提温度 56.62 ℃,在此条件下,草莓多酚醇提得率为 2.417 29 mg/g。为了操作方便,修正最佳提取工艺条件为:料液比 1 g : 40 mL、时间 104 min、乙醇浓度 43%、浸提温度 57 ℃。在此条件下,进行 3 次平行试验,所得提取率平均值为 2.392 mg/g,实测值与预测值相对误差为 0.73%,说明该优化设计方案可以较好地预测草莓多酚醇提情况。

2.3 抗氧化活性测定

2.3.1 对 DPPH 自由基的清除能力 随着溶液浓度的增加,草莓多酚 DPPH · 自由基能力逐渐增强,在相同质量浓度下,草莓多酚清除 DPPH · 的能力低于维生素 C。当草莓多酚溶

液浓度达 0.16 mg/mL 时,其清除率为 93.33% (图 6)。

2.3.2 对超氧阴离子的清除能力 随着溶液浓度的增加,2



种样品抗超氧阴离子自由基能力不断增强;相同浓度条件下,维生素 C 抗自由基能力高于草莓多酚样品。当草莓多酚溶液浓度达 0.16 mg/mL 浓度时,其抗自由基能力达 165.16 U/L (图 7)。

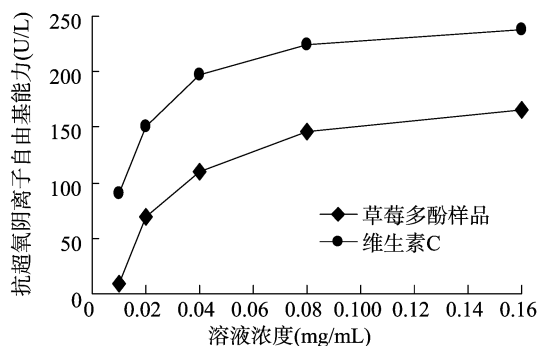


图7 草莓多酚对超氧阴离子的清除作用

2.3.3 对羟自由基的清除能力 随着 2 种样品溶液浓度的增加,羟自由基抑制率不断增加。同浓度时维生素 C 对羟自由基的抑制能力大于草莓多酚样品。当草莓多酚浓度达 0.16 mg/mL 时,羟自由基抑制率达 78.68% (图 8)。

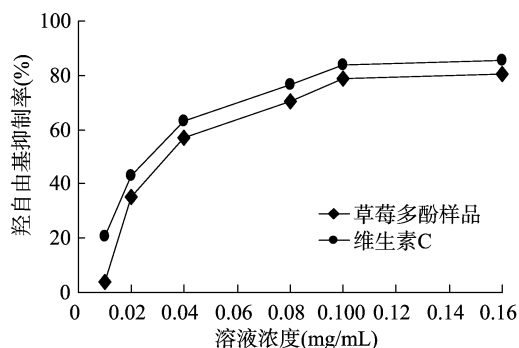


图8 草莓多酚对羟自由基的清除作用

### 3 结语

通过单因素试验和 Box - Behnken 响应曲面法优化,确定草莓多酚提取的最佳试验条件为料液比 1 g : 40 mL、提取时间 104 min、乙醇浓度 43%、提取温度 57 ℃。各因素对多酚得率的影响从大到小依次为提取时间 > 提取温度 > 料液比 > 乙醇浓度。此最佳工艺条件下草莓多酚的提取率(按没食子酸计)为 2.392 mg/g。用所提取的草莓多酚粗提物对 DPPH 自由基、超氧阴离子、羟自由基的清除能力进行体外抗氧化评价试验,可以发现其具有较强的自由基清除力,在一定的浓度范围内,提取液质量浓度与氧化活性呈现出较好的线性关系。随着草莓多酚浓度呈线性增加,当多酚浓度为 0.16 mg/mL 时,对 DPPH 自由基的清除率达到 93.33%,抗超氧阴离子能力达 165.16 U/L,对羟自由基抑制率达 78.68%。

随着近几年对植物多酚研究的不断深入,多酚类物质的抗氧化作用开始被广泛应用于食品领域,因此草莓中酚类物质作为一种功能性食品添加剂具有广阔的开发前景。因此,本方法所优化提取的草莓多酚实际上是一种良好的天然抗氧化剂的前体物质,极具深入研究和开发的價值。

### 参考文献:

- [1] Kalt W, Forney C F, Martin A, et al. Antioxidant capacity, vitamin C, phenolics, and anthocyanins after fresh storage of small fruits [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 1999, 47 (11): 4638 - 4644.
- [2] Tulipani S, Mezzetti B, Antioxidants C F, et al. And nutritional quality of different strawberry genotypes [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2008, 56 (3): 696 - 704.
- [3] Cai Y, Luo Q, Sun M, et al. Antioxidant activity and phenolic compounds of 112 traditional Chinese medicinal plants associated with anticancer [J]. Life Sciences, 2004, 74 (17): 2157 - 2184.
- [4] Buendía B, Gil M I, Tudela J A, et al. HPLC - MS analysis of proanthocyanidin oligomers and other phenolics in 15 strawberry cultivars [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2010, 58 (7): 3916 - 3926.
- [5] Seeram, P N, Lee, et al. Identification of phenolic compounds in strawberries by liquid chromatography electrospray ionization mass spectroscopy [J]. Food Chemistry, 2006, 97 (1): 1 - 11.
- [6] 吴建华, 吴志瑰, 裴建国, 等. 多酚类化合物的研究进展 [J]. 中国现代中药, 2015, 17 (6): 630 - 636.
- [7] 张欣馨, 王菲, 李浪, 等. 中国草莓生产中面临的主要问题及发展对策 [J]. 中国林副特产, 2016 (2): 92 - 96.
- [8] Kumaran A, Karunakaran R J. Activity - guided isolation and identification of free radical - scavenging components from an aqueous extract of *Coleus aromaticus* [J]. Food Chemistry, 2007, 100 (1): 356 - 361.
- [9] 于漫漫, 弓志青, 曹晖, 等. 不同品种草莓抗氧化能力的分析 [J]. 中国食物与营养, 2016, 22 (2): 63 - 66.
- [10] 唐福才, 姚敦琛, 关天旺, 等. 龙眼核中多酚提取及抗氧化活性的研究 [J]. 食品研究与开发, 2015, 36 (12): 5 - 9.
- [11] 伍鹤, 王远亮, 赵琳, 等. 蓝莓多酚提取方法及功能活性研究进展 [J]. 食品与机械, 2015 (2): 257 - 261.
- [12] 许惠玲, 蔡为荣, 曹天亮, 等. 荷叶多酚提取优化及其在黄酒中的应用 [J]. 食品工业科技, 2015, 36 (8): 277 - 281.
- [13] Amin I, Norazaidah Y, Hainida K I. Antioxidant activity and phenolic content of raw and blanched *Amaranthus* species [J]. Food Chemistry, 2006, 94 (1): 47 - 52.
- [14] Mahdavi R, Nikniaz Z, Maryam R, et al. Determination and comparison of total polyphenol and vitamin C contents of natural fresh and commercial fruit juices [J]. Pakistan Journal of Nutrition, 2010, 9 (10): 968 - 972.
- [15] 王和才, 胡秋辉. DPPH 法测定紫红薯提取物清除自由基的能力 [J]. 食品研究与开发, 2010, 31 (1): 132 - 135.
- [16] Aruoma O I. Nutrition and health aspects of free radicals and antioxidants [J]. Food and Chemical Toxicology, 1994, 32 (7): 671 - 683.
- [17] 颜栋美, 李仁菊, 丘华, 等. 金花茶多酚提取工艺的研究 [J]. 现代食品科技, 2007, 23 (9): 45 - 49.
- [18] 欧阳玉祝, 李勇, 吴道宏, 等. 路边青多酚的稳定性及其热降解动力学 [J]. 食品科学, 2011, 32 (15): 46 - 48.
- [19] 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.
- [20] 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.