

藜麦皮总皂苷微波辅助提取工艺及其 抗氧化活性研究

Study on microwave-assisted extraction and antioxidant activity
of total saponins from *Chenopodium quinoa* peel

杨洁 高凤祥 杨敏 边红聿 张仕刚 赵二劳

YANG Jie GAO Feng-xiang YANG Min BIAN Hong-yu ZHANG Shi-gang ZHAO Er-lao

(忻州师范学院化学系, 山西 忻州 034000)

(Department of Chemistry, Xinzhou Teachers University, Xinzhou, Shanxi 034000, China)

摘要:以总皂苷得率为指标,采用单因素结合响应面法对藜麦皮总皂苷微波辅助提取工艺进行优化,并以清除 DPPH·、ABTS⁺·和·OH 法评价其抗氧化活性。结果表明,乙醇浓度、微波功率和料液比对藜麦皮总皂苷得率有极显著影响;优化工艺条件为乙醇浓度 68%,微波功率 455 W,料液比 1:32 (g/mL),微波时间 10 min,提取次数 2 次。该条件下藜麦皮总皂苷得率为 26.329 mg/g。藜麦皮总皂苷清除 DPPH·、ABTS⁺·和·OH 的 IC₅₀ 分别为 34.74, 48.18, 5.45 μg/mL,表明藜麦皮总皂苷具有较强的抗氧化活性。

关键词:藜麦皮;总皂苷;微波辅助;抗氧化活性

Abstract: The microwave-assisted extraction process of total saponin from *Chenopodium quinoa* peel of quinoa was optimized by one-factor combined response surface method with total saponin yield as index. The antioxidant activities were evaluated by DPPH free radical, hydroxyl radical and ABTS free radical method. The results showed that the ethanol concentration, microwave power and solid-liquid ratio had a significant effect on the total saponin yield. The optimum conditions were ethanol concentration 68%, microwave power 455 W, solid-liquid ratio 1:32 (g/mL), microwave time 10 min, and extraction times 2 times. The yield of total saponin from *Chenopodium quinoa* peel was 26.329 mg/g. The IC₅₀ of DPPH·, ABTS⁺· and ·OH scavenging rate were 34.74, 48.18 and 5.45 μg/mL, respectively. The results indicated that the total saponins of *Chenopodium quinoa* peel had strong antioxidant activity.

Keywords: *Chenopodium quinoa* peel; total saponin; microwave-as-

sisted; response surface method; antioxidant activity

藜麦(*Chenopodium quinoa*)为藜科(Chenopodiaceae)藜属(*Chenopodium spp.*)双子叶 1 年生草本植物,原产于南美洲的玻利维亚、厄瓜多尔和秘鲁等地,具有耐旱、耐寒、耐瘠薄、耐盐碱等特性,是公认的全营养谷物^[1]。目前世界各地均有引种,中国西藏、陕西、山西、四川、青海和浙江等地已大量种植^[2]。研究^[3-4]表明,藜麦含有皂苷、不饱和脂肪酸、维生素 E 等多种营养成分,皂苷主要分布在藜麦皮中。

目前,皂苷的提取方法主要有溶剂热提取法、酶法提取法、超声辅助提取法、微波辅助提取法、超临界 CO₂ 萃取法以及超声-微波联合提取法等^[7-8]。微波辅助提取法因具有设备简单、提取效率高、选择性强、节约时间与溶剂、污染小等诸多优点,广泛应用于黄酮^[9]、多糖^[10]、多酚^[11]、色素^[12]等提取中。有关藜麦皮皂苷微波辅助提取的研究未见报道。因此本试验拟采用响应面法优化藜麦皂苷微波辅助提取工艺,并研究其抗氧化活性,以期对藜麦皮综合开发利用及提高藜麦资源附加值提供理论依据。

1 材料与方 法

1.1 材料与试剂

藜麦皮:山西华青藜麦产品开发有限公司,石油醚脱脂后,60 °C 烘箱中烘干,粉碎后过 60 目筛,装瓶保存备用;

齐墩果酸标准品:含量≥98%,上海赛创科学有限公司; DPPH·(1,1-二苯基-2-苦肼基)、ABTS[2,2-联氮-二(3-乙基-苯并噻唑-6-磺酸)二铵盐]:分析纯,美国 Sigma 公司;

香草醛、冰醋酸、高氯酸、过硫酸钾等:分析纯,国药集团化学试剂有限公司。

1.2 主要仪器设备

微电脑微波化学反应器:LWMC-201 型,南京陵江科技

基金项目:山西省 1331 工程重点学科建设计划项目(编号:2017);忻州师范学院基金项目(编号:201714);忻州师范学院博士科研启动项目(编号:2016)

作者简介:杨洁(1987—),女,忻州师范学院讲师,博士。

E-mail:545431607@qq.com

收稿日期:2017-09-07

开发有限责任公司;

紫外可见分光光度计:V-1100D型,上海美谱达仪器有限公司;

电子分析天平:AL204型,梅特勒-托利多仪器(上海)有限公司;

循环水真空泵:SHZ-DⅢ型,巩义市予华仪器有限责任公司。

1.3 试验方法

1.3.1 齐墩果酸标准曲线绘制 参考文献[13],分别准确移取浓度为0.05 mg/mL齐墩果酸标准溶液0.20,0.40,0.60,0.80,1.00,1.20,1.40 mL于10 mL具塞试管中,70℃水浴将溶剂挥干,然后加入0.20 mL 5%的香草醛-冰醋酸溶液和0.80 mL的高氯酸,加塞摇匀,于60℃水浴加热15 min,取出后立即用冰水冷却5 min,再加入5.0 mL冰醋酸稀释,摇匀,静置30 min后,以不加样品的平行样作为空白,在546 nm波长下测定吸光度。以吸光度(A)为纵坐标,齐墩果酸质量浓度(c)为横坐标,绘制标准曲线,得回归方程: $A = 67.497c + 0.003$, $R^2 = 0.9986$,线性范围为0.002~0.012 mg/mL。

1.3.2 总皂苷的测定 准确移取0.20 mL藜麦皮提取液于10 mL比色管中,按1.3.1的方法测定皂苷含量,按式(1)计算总皂苷得率。

$$Z = \frac{C \times V \times n}{m} \quad (1)$$

式中:

Z——总皂苷得率,mg/g;

C——测量液皂苷浓度,mg/mL;

n——测量时稀释倍数;

V——提取液的定容体积,mL;

m——样品质量,g。

1.3.3 藜麦皮总皂苷的提取 称取藜麦皮样品1.0 g,按单因素及响应面试验设计进行微波辅助提取,提取液过滤后,定容至100 mL,测定总皂苷得率。

1.3.4 单因素试验设计

(1) 乙醇浓度的选择:固定微波时间10 min,微波功率455 W,料液比1:20 (g/mL),提取次数1次,分别考察乙醇浓度为50%,60%,70%,80%,90%时,对藜麦皮总皂苷得率的影响。

(2) 微波时间的选择:固定乙醇浓度70%,微波功率455 W,料液比1:20 (g/mL),提取次数1次,分别考察微波时间为2,6,10,14,18 min时,对藜麦皮总皂苷得率的影响。

(3) 微波功率的选择:固定乙醇浓度70%,微波时间10 min,料液比1:20 (g/mL),提取次数1次,分别考察微波功率为65,195,325,455,585 W时,对藜麦皮总皂苷得率的影响。

(4) 料液比的选择:固定乙醇浓度70%,微波时间10 min,微波功率455 W,提取次数1次,分别考察料液比为1:10,1:20,1:30,1:40,1:50 (g/mL)时,对藜麦皮总皂苷得率的影响。

(5) 提取次数的选择:固定乙醇浓度70%,微波时间10 min,微波功率455 W,料液比1:20 (g/mL)。考察提取次数分别为1,2,3次时,对藜麦皮总皂苷得率的影响。

1.3.5 响应面优化藜麦皮总皂苷提取工艺 根据单因素试验结果,选取乙醇浓度、微波时间、微波功率、料液比4个因素为自变量,以皂苷提取得率为响应值,采用Design Expert 8.0.6.1软件设计四因素三水平响应面试验,分析并优化藜麦皮总皂苷的微波辅助提取工艺。

1.3.6 藜麦皮总皂苷的抗氧化活性 本试验选取3种自由基清除模型考察藜麦皮总皂苷的抗氧化活性,并利用SPSS 20.0软件进行差异显著性分析。

(1) DPPH·清除率测定:根据文献[14]修改如下:取2 mL浓度为0.3 mg/mL的DPPH·溶液8份,分别置于10 mL比色管中,分别加入一定体积的总皂苷提取液,用68%的乙醇溶液定容至刻度,使比色管中总皂苷浓度分别为5,10,15,20,40,60,80,100 μg/mL,摇匀,室温下避光反应30 min后,在517 nm处测量其吸光值为 A_1 。测定不加总皂苷溶液仅DPPH·溶液体系吸光度为 A_0 ,测定不加DPPH·溶液体系吸光度为 A_2 。同法测定 V_C 对DPPH·清除率。

(2) ABTS⁺·清除率测定:根据文献[15]修改如下:取配制好的ABTS溶液2 mL,置于10 mL比色管中,分别加入一定体积的总皂苷提取液,用68%的乙醇溶液定容至刻度,使比色管中总皂苷浓度分别为5,10,15,20,40,60,80,100 μg/mL,摇匀,室温下放置10 min后,在734 nm处测量其吸光值 A_1 。测定不加总皂苷溶液体系ABTS⁺·溶液吸光度为 A_0 ,测定不加ABTS⁺·溶液体系吸光度为 A_2 。同法测定 V_C 对ABTS⁺·清除率。

(3) ·OH清除率测定:根据文献[16]修改如下:取6 mmol/L FeSO₄溶液和6 mmol/L水杨酸溶液各2 mL置于10 mL比色管中,分别加入一定体积的总皂苷提取液,再加入2 mL 3% H₂O₂溶液,最后用68%的乙醇溶液定容,使比色管中总皂苷浓度分别为5,10,15,20,40,60,80,100 μg/mL,摇匀,37℃水浴反应15 min后,在波长510 nm下测量其吸光值为 A_1 。测定不加总皂苷溶液体系吸光度为 A_0 ,测定不加H₂O₂溶液体系吸光度为 A_2 。同法测定 V_C 对·OH清除率。

(4) 自由基清除率:上述3种藜麦皮总皂苷清除自由基试验,按式(2)计算各自由基清除率。

$$s = \frac{A_0 - (A_1 - A_2)}{A_0} \times 100\% \quad (2)$$

式中:

s——清除率,%;

A_0 ——空白对照液的吸光度;

A_1 ——加入待测溶液后的吸光度;

A_2 ——待测液本身的吸光度。

2 结果与分析

2.1 单因素试验

2.1.1 乙醇浓度对藜麦皮总皂苷得率的影响 由图1可知,

随着乙醇浓度的增加,藜麦皮总皂苷得率先增后降,当乙醇浓度为 70% 时,总皂苷得率达到最大,以后随乙醇浓度的增加,总皂苷得率下降。原因可能是随乙醇浓度的增加,溶剂的极性发生变化,使杂质溶出增多,从而影响总皂苷得率^[11]。因此选择乙醇浓度为 70%。

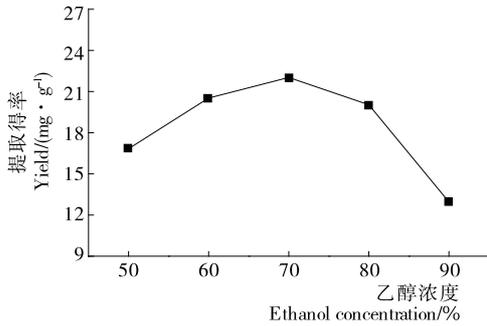


图 1 乙醇浓度对藜麦皮总皂苷得率的影响

Figure 1 Effect of ethanol concentration on the total saponin yield

2.1.2 微波时间对藜麦皮总皂苷得率的影响 由图 2 可知,藜麦皮总皂苷得率随着微波时间的延长而增大,当微波时间为 10 min 时,藜麦皮总皂苷得率达到最大。以后随微波时间的延长总皂苷得率逐渐降低。这可能是微波时间过长会使皂苷结构破坏,导致得率下降^[11]。因此选择微波时间为 10 min。

2.1.3 微波功率对藜麦皮总皂苷得率的影响 由图 3 可知,藜麦皮总皂苷得率随着微波功率的增加,也呈先增后降趋势。当微波功率为 455 W 时,总皂苷得率达到最大,以后有

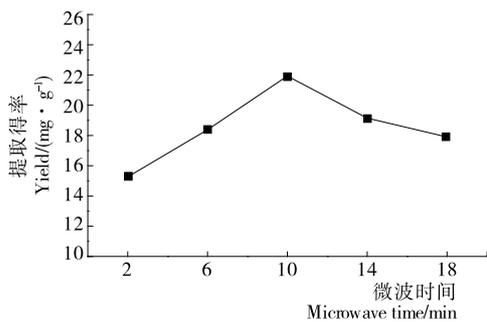


图 2 微波时间对藜麦皮总皂苷得率的影响

Figure 2 Effect of microwave time on the total saponin yield

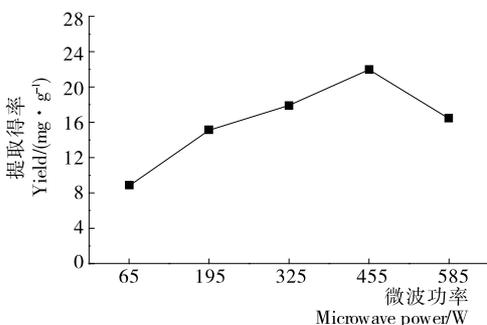


图 3 微波功率对藜麦皮总皂苷得率的影响

Figure 3 Effect of microwave power on the total saponin yield

所下降,可能是微波功率过高使温度升高导致皂苷降解所致^[11]。因此选择微波功率为 455 W。

2.1.4 料液比对藜麦皮总皂苷得率的影响 由图 4 可知,随提取剂的增加,藜麦皮总皂苷得率先增大后降低;当料液比为 1 : 30 (g/mL) 时,藜麦皮总皂苷得率达到最大。可能是由于料液比太小,不利于皂苷溶出,料液比过大,杂质溶出增加影响皂苷溶出^[11]。因此选择料液比为 1 : 30 (g/mL)。

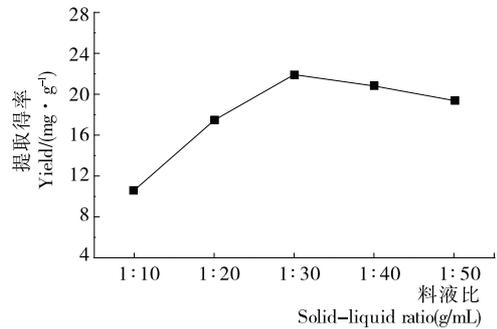


图 4 料液比对藜麦皮总皂苷得率的影响

Figure 4 Effect of solid-liquid ratio on the total saponin yield

2.1.5 提取次数对藜麦皮总皂苷得率的影响 由图 5 可知,随提取次数的增加,总皂苷得率增加,当提取为 2 次或 3 次时,藜麦皮总皂苷得率基本不变,说明此时皂苷已基本溶出,考虑成本,选择提取次数为 2 次。

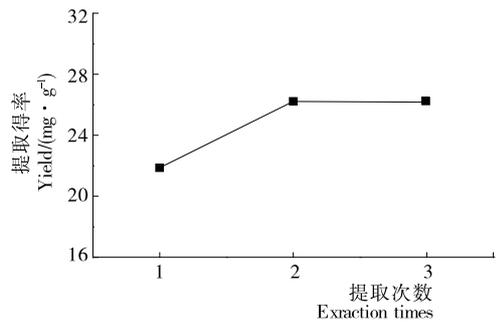


图 5 提取次数对藜麦皮总皂苷得率的影响

Figure 5 Effect of extraction time on the total saponin yield

2.2 响应面法优化藜麦皮总皂苷提取工艺

2.2.1 响应面试验方案设计及结果分析 按试验方法,以总皂苷得率为响应值,试验因素与水平见表 1,试验设计及结果见表 2。

采用 Design-Expert 8.0.6.1 软件对试验数据进行拟合,

表 1 响应面试验因素和水平

Table 1 The factors and levels of response surface method

水平	A 乙醇浓度/ %	B 微波功率/ W	C 料液比 (g/mL)	D 微波时间/ min
-1	60	325	1 : 20	6
0	70	455	1 : 30	10
1	80	585	1 : 40	14

得总皂苷得率的多元回归方程为:

$$Y=26.26-0.47A-0.49B+0.33C-0.13D-0.026AB+0.16AC-0.55AD+0.47BC+0.43BD-1.00CD-0.80A^2-0.89B^2-0.70C^2-1.42D^2 \quad (3)$$

藜麦皮总皂苷得率回归模型的方差及显著性分析见表3。

由表3可知,回归模型达极显著性($P<0.0001$),失拟项

不显著($P>0.05$), $R_{adj}^2=0.9496$,表示所建模型拟合度良好,误差较小,说明该模型所考察的因素足以反映试验中各提取工艺参数对总皂苷得率的影响^[17]。回归系数 $R^2=0.9748$,表明该模型相关度良好,能替代试验真实点解释响应结果。由表3的显著性检验可知,乙醇浓度、微波功率、料液比、乙醇浓度二次项、微波时间二次项、微波功率二次项、料液比二次项、微波功率与料液比交互项、乙醇浓度与微波时间交互

表2 响应面试验设计及结果

Table 2 The designs and results of response surface method

试验号	A	B	C	D	得率/ (mg·g ⁻¹)	试验号	A	B	C	D	得率/ (mg·g ⁻¹)
1	-1	1	0	0	24.556	16	0	-1	1	0	25.178
2	-1	-1	0	0	25.237	17	0	0	0	0	26.245
3	-1	0	0	-1	24.289	18	0	-1	0	-1	24.956
4	0	1	0	1	23.667	19	0	0	1	-1	25.652
5	0	0	0	0	26.408	20	0	0	0	0	26.364
6	-1	0	-1	0	24.911	21	1	0	0	-1	23.963
7	1	0	1	0	24.778	22	0	0	-1	-1	23.237
8	0	0	0	0	26.127	23	0	1	-1	0	23.252
9	0	1	1	0	25.060	24	-1	0	0	1	25.237
10	-1	0	1	0	25.297	25	0	-1	-1	0	25.252
11	0	0	0	0	26.141	26	1	0	-1	0	23.756
12	1	0	0	1	22.718	27	0	-1	0	1	23.978
13	1	1	0	0	23.948	28	0	0	1	1	23.148
14	0	0	-1	1	24.734	29	0	1	0	-1	22.940
15	1	-1	0	0	24.734						

表3 回归模型方差分析[†]

Table 3 Variance analysis for the regression model

方差来源	平方和	自由度	均方	F值	P值	显著性
Model	31.44	14	2.25	38.71	<0.0001	**
A	2.64	1	2.64	45.56	<0.0001	**
B	2.91	1	2.91	50.23	<0.0001	**
C	1.31	1	1.31	22.66	0.0003	**
D	0.20	1	0.20	3.48	0.0833	
AB	2.69E-003	1	2.69E-003	0.05	0.8326	
AC	0.10	1	0.10	1.75	0.2071	
AD	1.20	1	1.20	20.73	0.0005	**
BC	0.89	1	0.89	15.27	0.0016	**
BD	0.73	1	0.73	12.52	0.0033	**
CD	4.00	1	4.00	69.00	<0.0001	**
A ²	4.19	1	4.19	72.23	<0.0001	**
B ²	5.10	1	5.10	87.99	<0.0001	**
C ²	3.18	1	3.18	54.79	<0.0001	**
D ²	13.02	1	13.02	224.48	<0.0001	**
残差	0.81	14	0.06			
失拟项	0.75	10	0.08	4.61	0.0769	
纯误差	0.07	4	0.02			
总和	32.35	28				

[†] *表示显著($P<0.05$);**表示极显著($P<0.01$); $R^2=0.9748$; $R_{adj}^2=0.9496$; $C.V\%=0.98$ 。

项、微波时间与微波功率交互项以及微波时间与料液比交互项对响应值的影响都达到极显著水平,说明各因素对响应值的影响较为复杂,不是简单的线性关系。从各因素显著性检验 F 值的大小可知,各因素影响藜麦皮总皂苷提取的大小顺序为微波功率>乙醇浓度>料液比>微波时间。

2.2.2 因素交互作用分析 用 Design Expert 8.0.6.1 软件根据回归方程进行绘图分析,得各因素间交互作用响应面及等高线图见图 6~11。曲面倾斜度越高,即坡度越陡,说明两者交互作用越显著,等高线图越椭圆,则说明交互作用越显著^[18]。由图 6~11 看出,CD、AD、BC、BD 交互影响作用显著,与模型的方差分析结果一致。

2.2.3 验证实验 由回归方程得到藜麦皮总皂苷微波辅助提取最佳工艺条件为:乙醇浓度 68.12%,微波功率 423.05 W,料液比 1:32.22 (g/mL),微波时间 9.63 min。该工艺条件下,藜麦皮总皂苷理论预测提取得率为 26.411 mg/g。为了检验试验结果的可靠性,进行验证实验。考虑试验因素的实际可操作性,将上述工艺修正为:乙醇浓度 68%,微波功率 455 W,料液比 1:32 (g/mL),微波时间 10 min,进行 3 次平

行实验,测得总皂苷平均得率为 26.329 mg/g, RSD 为 0.48%。与理论预测值基本相符,说明优化的提取工艺条件可靠,具有实际应用价值。

2.3 藜麦皮总皂苷抗氧化活性分析

2.3.1 藜麦皮总皂苷对 DPPH· 的清除率 由图 12 可知,

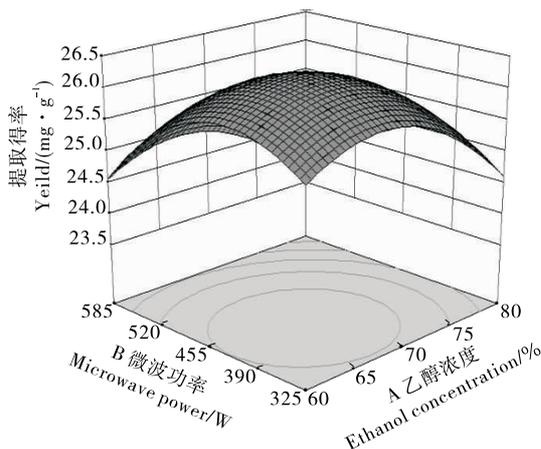


图 6 乙醇浓度与微波功率的交互作用

Figure 6 Interactive effects of ethanol concentration and microwave power

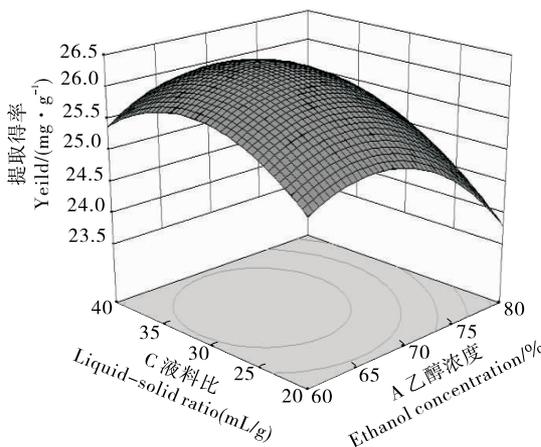


图 7 乙醇浓度与料液比的交互作用

Figure 7 Interactive effects of ethanol concentration and solid-liquid ratio

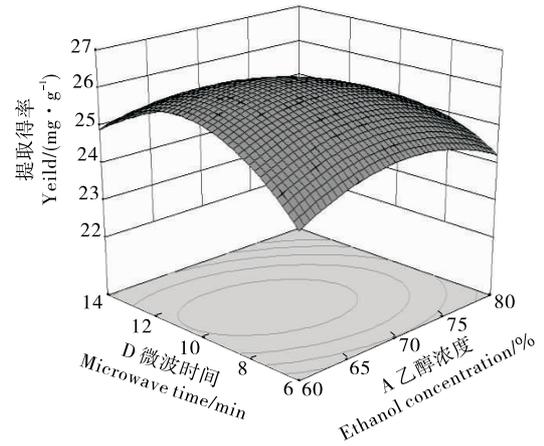


图 8 乙醇浓度与微波时间的交互作用

Figure 8 Interactive effects of ethanol concentration and microwave time

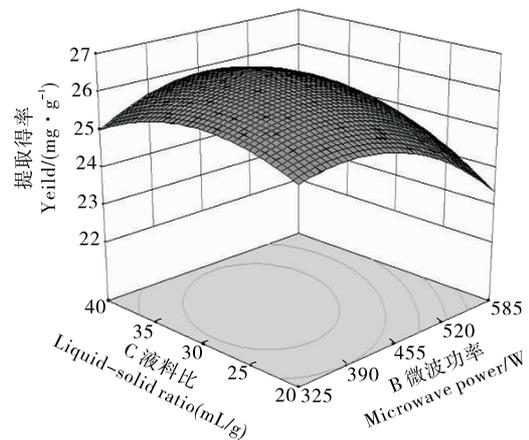


图 9 料液比与微波功率的交互作用

Figure 9 Interactive effects of solid-liquid ratio and microwave power

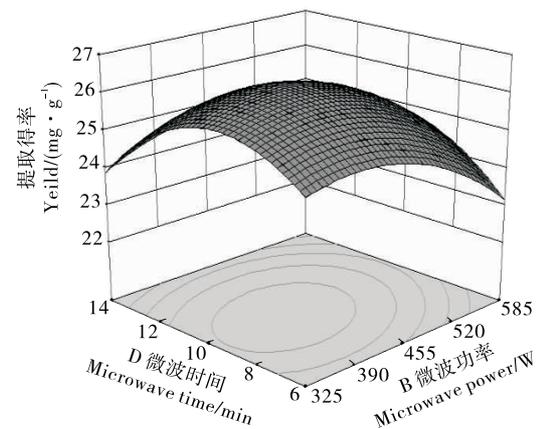


图 10 微波时间与微波功率的交互作用

Figure 10 Interactive effects of microwave time and microwave power

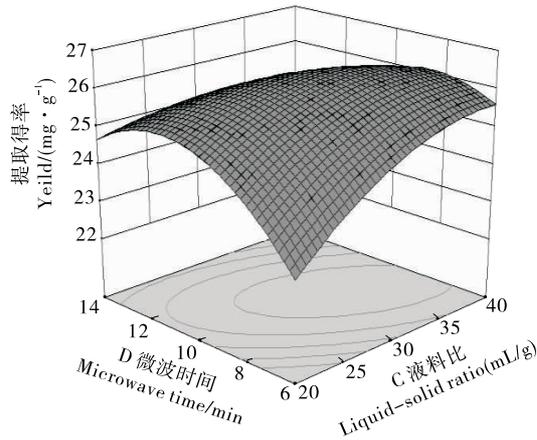


图11 微波时间与料液比的交互作用
Figure 11 Interactive effects of microwave time and solid-liquid ratio

随藜麦皮总皂苷浓度的增加,对 DPPH· 的清除率增大,两者呈明显的量效关系。在测定浓度范围内,由 SPSS 20.0 软件多因素方差分析知,藜麦皮总皂苷与 V_C清除 DPPH· 能力具有显著差异(P<0.05),即藜麦皮总皂苷清除 DPPH· 能力明显低于 V_C,但藜麦皮总皂苷对 DPPH· 最大清除率仍达 80.44%,IC₅₀为 34.74 μg/mL,表明藜麦皮总皂苷具有一定的 DPPH· 清除能力及抗氧化活性。

2.3.2 藜麦皮总皂苷对 ABTS⁺· 的清除率 由图 13 可知,藜麦皮总皂苷对 ABTS⁺· 的清除率随着浓度的增加而增大。SPSS 20.0 软件 ANOVA 多因素方差分析知,在测定浓度范围内,尽管藜麦皮皂苷对 ABTS⁺· 的清除率远低于 V_C,具有显著差异(P<0.05),但藜麦皮总皂苷对 ABTS⁺· 最大清除率仍达 59.16%,IC₅₀为 48.18 μg/mL,也表明藜麦

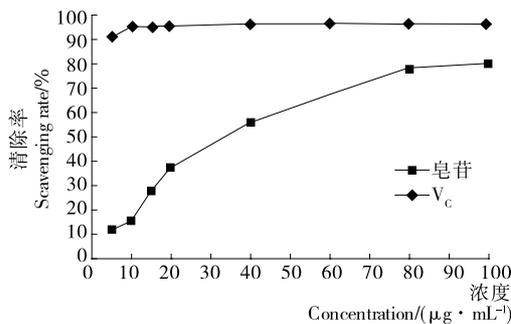


图12 藜麦皮总皂苷对 DPPH· 的清除率
Figure 12 Scavenging rate of total saponins on DPPH·

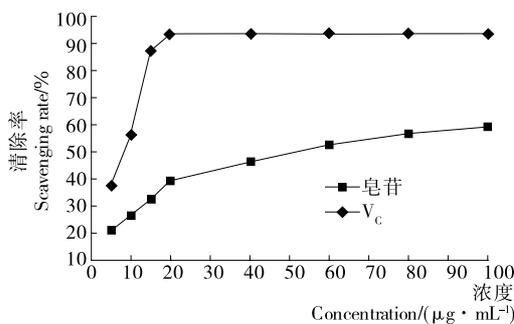


图13 藜麦皮总皂苷对 ABTS⁺· 的清除率
Figure 13 Scavenging rate of total saponins on ABTS⁺·

皮总皂苷具有一定的 ABTS⁺· 清除能力及抗氧化活性。

2.3.3 藜麦皮总皂苷对 ·OH 的清除率 由图 14 可知,随藜麦皮总皂苷浓度的增加,对 ·OH 的清除率增强。由 SPSS 20.0 软件 ANOVA 单因素方差分析知,浓度对藜麦皮总皂苷和 V_C清除 ·OH 能力有显著的影响(P<0.05)。当藜麦皮总皂苷浓度为 100 μg/mL 时,对 ·OH 的清除率最大可达 94.07%,IC₅₀为 5.45 μg/mL,而 V_C的 IC₅₀为 9.79 μg/mL,藜麦皮总皂苷清除 ·OH 能力强于 V_C,且具有显著差异(P<0.05)。表明藜麦皮总皂苷具有较强的 ·OH 清除能力及抗氧化活性。

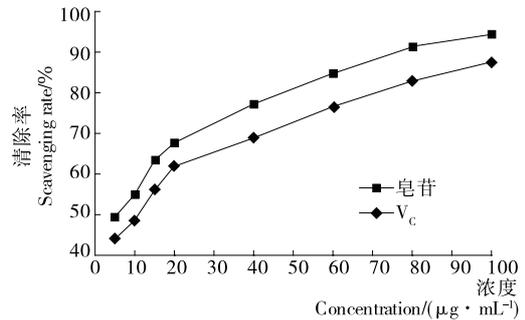


图14 藜麦皮总皂苷对 ·OH 的清除率
Figure 14 Scavenging rate of total saponins on ·OH

3 结论

本试验采用微波辅助提取藜麦皮总皂苷,在单因素试验基础上采用 Box-Behnken 响应面法优化了藜麦皮总皂苷的提取工艺。结果表明,最优提取工艺条件为:乙醇浓度 68%,微波功率 455 W,料液比 1:32 (g/mL),微波时间 10 min,提取次数 2 次。该条件下藜麦皮总皂苷得率为 26.329 mg/g。采用 SPSS 20.0 软件对抗氧化试验数据进行方差分析,结果显示浓度对藜麦皮总皂苷自由基清除能力具有显著影响(P<0.05),随着浓度的增加其清除能力增强,清除 DPPH·、ABTS⁺· 和 ·OH 的 IC₅₀ 分别为 34.74, 48.18, 5.45 μg/mL,表明藜麦皮总皂苷具有较强的自由基清除能力及抗氧化活性,因此藜麦总皂苷的开发利用及其中抗氧化有效单体成分的发现值得进一步深入研究。

参考文献

- [1] 杜静婷, 陈超, 范三红. 响应面优化藜麦糠皂苷的提取及抗氧化活性[J]. 山西农业科学, 2016, 44(7): 932-937.
- [2] 郭晓凤. 试论藜麦的推广前景及栽培技术[J]. 现代农业, 2015 (2): 61-63.
- [3] KULJANABHAGAVAD T, THONGPHASUK P, CHAMULITRAT W, et al. Triterpene saponins from Chenopodium quinoa Wild[J]. Phytochemistry, 2008, 69(9): 1 919-1 926.
- [4] 王晨静, 赵习武, 陆国权, 等. 藜麦特性及开发利用研究进展[J]. 浙江农业大学学报, 2014, 31(2): 296-301.
- [5] 欧阳凯, 何先元, 陈飞, 等. 四齿四棱草总皂苷提取工艺优化及抗氧化性研究[J]. 食品与机械, 2016, 32(7): 141-145.
- [6] 俞琦, 蔡琨, 田维毅. 合欢皮总皂苷对 H22 荷瘤小鼠细胞免疫功能的影响[J]. 中国实验方剂学杂志, 2016, 22(15): 143-148.

(下转第 185 页)

- [J]. 中国酿造, 2008(22): 65-67.
- [9] 袁周率. 糙米酵素产品的研发及其抗细胞凋亡作用的研究[D]. 长沙: 湖南农业大学, 2015.
- [10] 傅亮, 王丽丽, 田利春. 发酵型营养米乳的研制[J]. 食品与机械, 2006, 22(5): 103-105.
- [11] 胡渊, 刘成国, 黄茜, 等. 干酪乳杆菌增殖培养基的优化研究[J]. 食品与机械, 2014, 30(2): 21-22.
- [12] MILLE A, SITTER R. Using the folded-over 12-run plackett-burman design to consider interactions[J]. Technometrics, 2001, 43: 44-54.
- [13] 韩玉洁, 谢应根, 王永华, 等. 响应面分析法优化 *L*-乳酸发酵培养基的研究[J]. 食品与机械, 2006, 22(4): 54-56.
- [14] 宋一恒, 谢定, 钟海雁. 响应面法优化酵母富硒发酵条件[J]. 食品与机械, 2009, 25(6): 125-129.
- [15] 刘丽莎, 陶国琴, 郭宏, 等. 响应面法优化豆乳链球菌增殖培养基[J]. 食品科学, 2014, 35(11): 124-128.
- [16] 梁宝东, 魏海香, 江均平. *L*-乳酸细菌发酵培养基的优化[J]. 食品与机械, 2008, 24(1): 41-45.
- [17] 魏敏, 张斌, 王宁宇, 等. 副干酪乳杆菌耐乳酸的驯化及增殖培养基的优化[J]. 食品与机械, 2014, 30(2): 25-30.
- [18] 杨椰. 发芽糙米研发进展[J]. 粮油食品科技, 2011(3): 19-23.
- [19] 金增辉. 糙米酵素及其产品开发[J]. 粮食与油脂, 2002(4): 14-16.
- [20] 王志坚. 糖化工艺主要技术参数的确定[J]. 山东食品发酵, 2002(2): 41-44.
- [21] 朱凤娇, 陈叶福, 王希彬, 等. 上面发酵高粱啤酒的工艺研究[J]. 现代食品科技, 2017, 33(9): 1-6.
- [22] 管敦仪, 唐是雯. 《啤酒工业手册(修订版)(精)》新版发行[J]. 食品与发酵工业, 2008(8): 17.
- [23] 唐建民, 王福泉, 陆培基, 等. 格瓦斯饮料的巴氏消毒效果的初步观察[J]. 食品科学, 1983(9): 38-39.
- [24] 周德庆. 微生物学教程[M]. 2版. 北京: 高等教育出版社, 2008: 151-152.
- [25] 滕国生, 刘勇, 武丽达, 等. 响应面优化 *L*-赖氨酸培养基[J]. 食品与机械, 2015, 31(5): 256-260.
- [26] TRUPKIN S, LEVIN L, FORCHIASSIN F. Optimization of a culture medium for ligninolytic enzyme production and synthetic dye decolorization using response surface methodology[J]. J Ind Microbiol Biotechnol, 2003, 30: 682-690.
- [27] AMBAT P, AYYANNA C. Optimizing medium constituents and fermentation conditions for citric acid production from palmyrajaggery using response surface method[J]. World Journal of Microbiology & Biotechnology, 2001, 17: 331-335.
- [28] 鲁晶晶, 王远亮, 谢梦琴. 植物乳杆菌 LJ-3 产细菌素的响应面优化[J]. 食品与机械, 2014, 30(5): 242-246.
- [29] PURI S. Optimization of alkaline protease production from *Bacillus* sp. by Response Surface Methodology[J]. Current Microbiology, 2009, 4: 286-290.

(上接第 128 页)

- [14] 张美芳, 何玲, 冯金霞, 等. 银杏叶提取液复合涂膜对鲜切苹果品质的影响[J]. 食品科学, 2014, 35(10): 263-267.
- [15] 王晶英, 敖红, 张杰, 等. 植物生理生化实验技术及原理[M]. 哈尔滨: 东北林业大学出版社, 2003: 8-10.
- [16] 凌关庭. 抗氧化食品与健康[M]. 北京: 化学工业出版社, 2004: 191.
- [17] CROSSETTI R, STEFFEN F P. The antioxidant activity of standardized extract of *Ginkgo biloba* (EGb761) in rats[J]. Phytother Res, 2001, 15(5): 449-451.
- [18] 李凤梅, 周庆新, 李文香, 等. 丁香提取液与壳聚糖复合对草莓保鲜效果的影响[J]. 青岛农业大学学报: 自然科学版, 2008, 25(4): 298-300.
- [19] 程绍玲, 杨迎花. 银杏叶活性成分提取研究进展[J]. 林产化工通讯, 2005, 39(1): 34-37.
- [20] 丁东, 张展鹏, 权美平. 银杏叶提取物的化学成分、生物活性及应用研究进展[J]. 江苏调味副食品, 2015(3): 5-8.
- [21] GU Qiu-han, CHEN Chen, ZHANG Zheng-ping, et al. Ginkgo biloba extract promotes osteogenic differentiation of human bone marrow mesenchymal stem cells in a pathway involving Wnt/beta-catenin signaling[J]. Pharmacol Res, 2015, 97(7): 70-78.
- [22] 田青亚, 巩丽丽. 银杏内酯研究进展[J]. 中南药学, 2016, 14(8): 838-841.
- [23] 何钢, 刘嵬, 李会萍, 等. 银杏叶多糖分离纯化、结构鉴定及抗氧化活性研究[J]. 食品工业科技, 2015, 36(22): 81-86.

(上接第 153 页)

- [7] 张新宇, 张笛, 王琳, 等. 绞股蓝皂苷提取纯化工艺研究进展[J]. 食品工业科技, 2014, 35(18): 378-382, 386.
- [8] 程铁群, 张帆, 周守标, 等. 超声-微波联合提取绞股蓝皂苷工艺优化及协同作用分析[J]. 食品与机械, 2016, 32(9): 135-140.
- [9] 陈铁壁, 肖乐, 杨盟盟, 等. 金桂花中总黄酮的微波辅助提取工艺优化[J]. 食品与机械, 2015, 31(3): 185-188.
- [10] 曾红亮, 黄灿灿, 常青, 等. 金柑多糖微波辅助提取工艺优化及抑菌效果[J]. 食品与机械, 2016, 32(9): 154-160.
- [11] 黄琦, 王启越, 李颖, 等. 石榴皮总多酚的微波辅助提取工艺及抗氧化活性研究[J]. 食品研究与开发, 2016, 37(12): 46-51, 61.
- [12] 师萱, 阎语, 梁旭明, 等. 银耳菌糠黑色素微波辅助提取工艺优化及其抗氧化活性[J]. 食品与机械, 2016, 32(12): 161-165, 174.
- [13] 赵文婷. 藜麦皮总皂苷的提取纯化及其抗氧化和免疫增强作用[D]. 太谷: 山西农业大学, 2015: 12.
- [14] 陈洪彬, 杨敏, 宋露露, 等. 龙须菜多酚提取工艺及其体外抗氧化活性[J]. 食品与机械, 2017, 33(4): 139-143, 194.
- [15] 白海娜, 王振宇, 刘瑞海, 等. 白藜芦醇与黑木耳多糖协同清除 ABTS 自由基活性的研究[J]. 现代食品科技, 2014, 30(3): 64-68.
- [16] 王晓波, 李金芳, 王梅, 等. 山竹壳总黄酮抗氧化及抑制亚硝化作用研究[J]. 食品研究与开发, 2013, 34(6): 9-13.
- [17] 吴德智, 郑强, 李安, 等. 缙草总黄酮超声辅助双水相提取工艺优化及抗氧化活性研究[J]. 食品与机械, 2017, 33(5): 162-167.
- [18] 蒋玉蓉, 袁俊杰, 孙雪婷, 等. 藜麦叶片多糖最佳提取工艺及抗氧化性研究[J]. 中国食品学报, 2017, 17(2): 110-118.