

响应面法优化竹笋剩余物甾醇的 超声辅助提取工艺

陈如寿¹, 殷钟意², 郑旭煦^{1,*}, 伍冬婷¹

(1.重庆工商大学环境与生物工程学院, 重庆 400067;

2.重庆工商大学药物化学与化学生物学研究中心, 重庆 400067)

摘要:以方竹笋加工剩余物为原料,以总甾醇、 β -谷甾醇提取率为考察指标,采用超声波处理法提取竹笋甾醇。在采用单因素试验考察料液比、超声功率、超声时间及颗粒粒径对竹笋甾醇提取率影响的基础上,利用响应面分析法优化超声波处理法提取竹笋甾醇的工艺,在料液比1:31、超声功率410W、超声时间10.5min、颗粒粒径86目条件下,竹笋总甾醇提取率达0.317%, β -谷甾醇提取率达0.249%。

关键词:竹笋剩余物;植物总甾醇; β -谷甾醇;响应面分析;超声波处理

Optimization of Ultrasonic-Assisted Extraction Process for Phytosterol from Bamboo Shoot Scraps by Response Surface Analysis

CHEN Ru-shou¹, YIN Zhong-yi², ZHENG Xu-xu^{1,*}, WU Dong-ting¹

(1. College of Environmental and Biological Engineering, Chongqing Technology and Business University, Chongqing 400067, China; 2. Research Center of Medical Chemistry and Chemical Biology, Chongqing Technology and Business University, Chongqing 400067, China)

Abstract: In this study, response surface methodology was used to optimize the ultrasonic-assisted extraction of phytosterol from bamboo shoot scraps. The effects of four variables including solid-to-solvent ratio, ultrasonic power, ultrasonic treatment time and raw material particle size on total phytosterol and β -sitosterol yields were investigated. The optimal extraction conditions were found as follows: 1:31 of solid-to-solvent ratio, 10.5 min of ultrasonic treatment time, 410 W of ultrasonic power, and 86 mesh of raw material particle size. Under these conditions, the total phytosterol and β -sitosterol yields were 0.317% and 0.249%, respectively.

Key words: bamboo shoot scraps; total phytosterol; β -sitosterol; response surface analysis; ultrasonic treatment
中图分类号: S727.15 文献标识码: A 文章编号: 1002-6630(2012)14-0085-06

植物甾醇是植物中广泛存在的一类次生代谢产物^[1],具有降脂调脂^[2]、抗炎消炎、抑制白血病细胞生长等生理功能^[3],在医药、食品、化工和饲料等领域得到广泛关注和重视^[4]。近代研究表明,竹笋含有丰富的植物甾醇,尤其是笋壳与笋头所含植物甾醇最高^[5]。然而,在笋加工业中却普遍将笋壳与笋头作为残渣,进行简单填埋甚至直接丢弃处理^[6],造成了极大地浪费,因此有必要开发笋加工剩余物的利用价值,进一步实现竹笋加工剩余物的深度转化和综合利用。常见的竹笋甾

醇提取方法主要有溶剂萃取法、短程分子蒸馏^[7]、超临界流体萃取法^[8-9],但这些方法普遍存在提取率低、能耗费用高等缺点^[10]。目前尚未见到采用超声波处理法提取竹笋甾醇工艺的报道。本实验以重庆方竹笋加工剩余物为原料,采用超声波处理法提取竹笋甾醇,考察料液比、超声功率、超声时间以及颗粒粒径等因素对竹笋甾醇提取率的影响,利用响应面分析法对竹笋残渣中植物甾醇提取工艺进行优化,为竹笋加工剩余物的深度开发和综合利用提供科学依据。

收稿日期:2011-05-27

作者简介:陈如寿(1987—),男,硕士研究生,研究方向为固体废弃物资源化利用。E-mail:chenrushou@163.com

*通信作者:郑旭煦(1964—),女,教授,博士,研究方向为生物质资源与技术、天然药物筛选与化学。

E-mail: xuxuzheng@ctbu.edu.cn

1 材料与amp;方法

1.1 材料与试剂

重庆方竹笋加工剩余物(笋头) 重庆南川森源野生食品有限公司。胆甾醇、 β -谷甾醇(均为分析纯) 阿拉丁公司; 正己烷、浓硫酸、氯仿、醋酸酐均为国产分析纯; 己腈、甲醇均为色谱纯。

1.2 仪器与设备

UV-2450型紫外分光光度仪 日本岛津公司; GOLD 166P型高效液相色谱仪 美国System公司; JY92- 型超声波处理机 宁波新芝生物科技股份有限公司; RE-2000型旋转蒸发器 上海亚荣生化仪器厂; 1/12万电子天平 赛多利斯科学仪器(北京)有限公司; FZ-102型植物粉碎机 天津市泰斯特仪器有限公司; 电热恒温干燥箱 上海跃进医疗器材厂。

1.3 方法

1.3.1 原材料预处理

将清洗的笋头于烘箱中60℃干燥24h, 用粉碎机将干燥笋头粉碎, 并依次过20、40、60、80、100、120目筛, 保存备用。

1.3.2 胆甾醇标准曲线绘制

采用Liebermann-Burchard比色法^[11-13], 精确称取20mg胆甾醇标准品, 用三氯甲烷定容至10mL, 分别精密吸取0.5、1.0、2.0、3.0、4.0mL胆甾醇标准储备液, 分别置于10mL棕色容量瓶中, 加三氯甲烷稀释至刻度, 制成0.1、0.2、0.4、0.6、0.8mg/mL的标准溶液。取10mL比色管6支, 分别精密移取乙酸酐2mL于各管中, 加硫酸1滴, 并立即加入标准溶液1mL, 振荡混匀1min后, 静置24min, 倒入比色池中, 于610nm波长处检测其吸光度, 绘制吸光度 Y 与胆甾醇质量浓度 X /(mg/mL)的关系, 得标准曲线 $Y = 0.002831 + 1.82325X$, $R^2 = 0.99972$, 该方法线性相关性良好。

1.3.3 β -谷甾醇标准曲线绘制

色谱分析条件: 色谱柱: Ultimate XB-C₁₈(5 μ m, 4.6mm \times 250mm)(Welch Materials公司); 波长210nm; 流动相为甲醇-乙腈-水(85:13:2, V/V); 流速: 1.0mL/min; 柱温: 20℃; 进样量: 10 μ L。

精确称取 β -谷甾醇对照品3.3mg, 甲醇溶解, 10mL容量瓶定容, 摇匀, 分别吸取0、0.1、0.3、0.5、0.7、1.0mL的备用标品并定容至1mL, 得到质量浓度分别为0、0.033、0.099、0.165、0.231、0.33mg/mL的待测标品。采用上述色谱条件测定色谱峰面积, 绘制峰面积 Y 与 β -谷甾醇质量浓度 X /(mg/mL)的曲线关系, 得到标准曲线 $Y = 62283.77165 + 2967450X$, $R^2 = 0.99794$,

该方法线性关系良好。

1.3.4 竹笋剩余物植物甾醇的提取^[1]

精确称取一定粒径的竹笋残渣粉末0.5g于50mL离心管中, 按比例加入一定量的溶剂, 在常温下超声波处理一定时间, 过滤, 转入旋转蒸发器, 待蒸干后, 用三氯甲烷溶解, 并容至10mL, 在4℃条件下保存, 即得样品中植物甾醇的提取液。

1.3.5 竹笋残渣总甾醇测定方法

测定方法同1.3.2节, 通过对应的标准曲线查得总甾醇质量浓度, 计算总甾醇提取率:

$$\text{总甾醇提取率}/\% = \frac{\text{提取液中总甾醇含量}}{\text{样品质量}} \times 100$$

1.3.6 竹笋残渣 β -谷甾醇测定方法

取部分植物甾醇提取液, 经微孔滤膜(0.22 μ m)过滤后, 得待测样品。测定方法同1.3.3节, 通过对应的标准曲线查得 β -谷甾醇质量浓度, 计算 β -谷甾醇的提取率:

$$\beta\text{-谷甾醇提取率}/\% = \frac{\text{提取液中}\beta\text{-谷甾醇含量}}{\text{样品质量}} \times 100$$

1.3.7 Box-Behnken响应面分析法试验

探讨料液比、超声功率、超声时间、颗粒粒径等因素对超声波处理法提取植物甾醇含量影响, 确定采用Box-Behnken方法优化提取工艺。因素与水平编码见表1。

表1 竹笋甾醇提取Box-Behnken响应面分析法试验因素与水平表
Table 1 Coded levels for independent variables used in response surface analysis

因素	水平		
	- 1	0	1
X_1 料液比(g/mL)	1:20	1:30	1:40
X_2 超声功率/W	300	400	500
X_3 超声时间/min	7	10	14
X_4 颗粒粒径/目	60	80	100

2 结果与分析

2.1 单因素试验

2.1.1 料液比对甾醇提取率的影响

在超声功率300W、超声时间10min、颗粒粒径60目条件下, 考察料液比对竹笋甾醇提取率的影响, 结果如图1所示。

由图1可知, 总甾醇、 β -谷甾醇提取率随溶剂量增加呈现先增大快、后趋于缓慢的变化过程。这是

因为在提取工艺中，一般而言，溶剂用量越大，甾醇提取量也就越多，当溶剂用量不是太大时，甾醇提取率随着溶剂用量的增加呈现增大趋势；但如果溶剂用量增加过大，在有限的时间(10min)内，因溶剂的稀释作用使得甾醇提取率随着溶剂用量的增加而趋于平缓，因此选择选择料液比为 1:30。

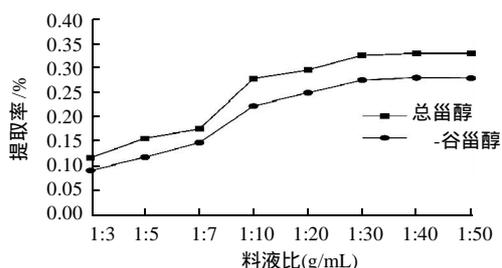


图 1 料液比对甾醇提取率的影响

Fig.1 Effect of solid-to-solvent ratio on total phytosterol and -sitosterol yields

2.1.2 超声功率对甾醇提取率的影响

在料液比 1:30、超声时间 10min、颗粒粒径 60 目条件下，考察超声功率对竹笋甾醇提取率的影响，结果如图 2 所示。

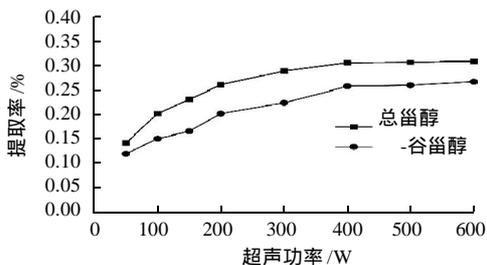


图 2 超声功率对甾醇提取率的影响

Fig.2 Effect of ultrasonic power on total phytosterol and -sitosterol yields

由图 2 可知，总甾醇、-谷甾醇提取率随超声功率的增大呈现先增大后趋于平缓的变化趋势，这是因为较大的超声功率有利于细胞壁的破裂，有利于增大溶剂对甾醇的溶解，当超声功率超过 400W 时，甾醇提取率变化不明显，这是因为细胞壁破裂已趋于完全，兼顾经济效益，选择超声功率为 400W。

2.1.3 超声时间对甾醇提取率的影响

在料液比 1:30、超声功率 400W、颗粒粒径 60 目条件下，考察超声时间对竹笋甾醇提取率的影响，结果如图 3 所示。

从图 3 可知，总甾醇、-谷甾醇提取率随超声时间的增加呈现先增大后减少的变化过程，在 10min 时提

取率达到最大。这是由于随着超声时间的增加，样品中植物甾醇逐渐地溶出，样品与溶剂中的甾醇浓度差越来越小，以至到达平衡，之后，若继续延长超声时间，则可能使溶剂挥发，增大溶剂中的甾醇浓度，破坏平衡，不利于植物甾醇的提取，因此实验选择超声时间为 10min。

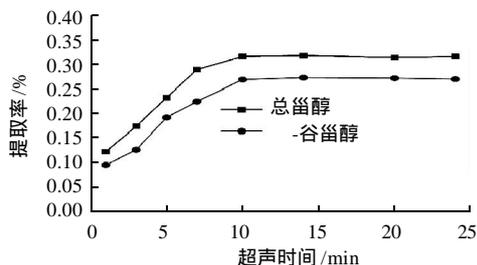


图 3 超声时间对甾醇提取率的影响

Fig.3 Effect of ultrasonic treatment time on total phytosterol and -sitosterol yields

2.1.4 颗粒粒径对甾醇提取率的影响

在料液比 1:30、超声功率 400W、超声时间 10min 条件下，考察颗粒粒径对竹笋甾醇提取率的影响，结果如图 4 所示。

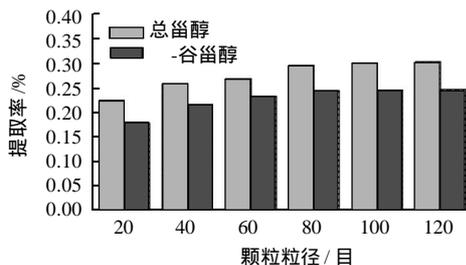


图 4 颗粒粒径对甾醇提取率的影响

Fig.4 Effect of raw material particle size on total phytosterol and -sitosterol yields

由图 4 可知，总甾醇、-谷甾醇提取率随颗粒粒径的增大呈现先逐步增加后趋于平缓的变化趋势，这是因为颗粒粒径的越小有利于样品与溶剂的接触，有利于破碎样品的细胞壁，当随着颗粒粒径达到 80 目后继续增大，提取率没有明显变化，而且颗粒粒径过细，将增大分离难度，因此实验选择颗粒粒径为 80 目。

2.2 响应面分析法优化提取工艺

2.2.1 响应面分析方案与结果

选用了中心复合模型，做四因素三水平共 29 个试验点(5 个中心点)的响应面分析试验，结果如表 2 所示。采用 Design Expert 7.0 软件对数据进行回归分析，并由此得到总甾醇、-谷甾醇提取率与各因素变量的二次

方程模型见式(1)、(2)^[14-16]。

$$Y_{\text{总甾醇}} = -0.20689 + 4.16 \times 10^{-3}X_1 + 5.21333 \times 10^{-4}X_2 + 0.040648X_3 + 3.27556 \times 10^{-3}X_4 + 7.14286 \times 10^{-6}X_1X_3 + 2.5 \times 10^{-6}X_1X_4 - 1.42857 \times 10^{-6}X_2X_3 + 2.5 \times 10^{-7}X_2X_4 + 7.14286 \times 10^{-6}X_3X_4 - 7.51667 \times 10^{-3}X_1^2 - 6.64167 \times 10^{-7}X_2^2 - 1.94014 \times 10^{-3}X_3^2 - 1.96019 \times 10^{-5}X_4^2 \quad (1)$$

$$Y_{\text{-谷甾醇}} = -0.18876 + 3.83833 \times 10^{-3}X_1 + 4.50667 \times 10^{-4}X_2 + 0.033110X_3 + 2.75444 \times 10^{-3}X_4 - 5.00000 \times 10^{-7}X_1X_2 + 7.14286 \times 10^{-6}X_1X_3 - 7.14286 \times 10^{-7}X_2X_3 + 1.66667 \times 10^{-7}X_2X_4 + 4.76190 \times 10^{-6}X_3X_4 - 6.25833 \times 10^{-5}X_1^2 - 5.50833 \times 10^{-7}X_2^2 - 1.58231 \times 10^{-3}X_3^2 - 1.59815 \times 10^{-5}X_4^2 \quad (2)$$

表2 响应面试验设计及结果

Table 2 Box-Behnken design and experimental results for response surface analysis

试验号	X_1	X_2	X_3	X_4	总甾醇 提取率/%	-谷甾醇 提取率/%
1	-1	-1	0	0	0.306	0.248
2	1	-1	0	0	0.306	0.224
3	-1	1	0	0	0.306	0.227
4	1	1	0	0	0.306	0.221
5	0	0	-1	-1	0.278	0.226
6	0	0	1	-1	0.280	0.235
7	0	0	-1	1	0.276	0.233
8	0	0	1	1	0.281	0.236
9	-1	0	0	-1	0.294	0.234
10	1	0	0	-1	0.291	0.232
11	-1	0	0	1	0.292	0.236
12	1	0	0	1	0.292	0.234
13	0	-1	-1	0	0.288	0.232
14	1	0	-1	0	0.287	0.231
15	0	-1	1	0	0.288	0.230
16	0	1	1	0	0.285	0.228
17	-1	0	-1	0	0.292	0.234
18	1	0	-1	0	0.290	0.230
19	-1	0	1	0	0.293	0.237
20	1	0	1	0	0.292	0.234
21	0	-1	0	-1	0.299	0.239
22	0	1	0	-1	0.298	0.240
23	0	-1	0	1	0.298	0.238
24	0	1	0	1	0.300	0.241
25	0	0	0	0	0.321	0.258
26	0	0	0	0	0.319	0.255
27	0	0	0	0	0.316	0.257
28	0	0	0	0	0.320	0.260
29	0	0	0	0	0.317	0.258

由表3、4可见,分别为二次项的 X_3^2 、 X_4^2 对总甾醇、-谷甾醇提取率的曲面效应极显著,整体模型 $P < 0.0001$ 。该二次方程模型达到极显著水平,并且失拟项不显著,说明该方程拟合较好。

表3 回归方程方差分析(总甾醇)

Table 3 Analysis of variance for total phytosterol yield

方差来源	平方和	自由度	均方	F值	P值
模型	4.492×10^{-3}	14	3.209×10^{-4}	28.14	< 0.0001
X_1	3.000×10^{-6}	1	3.000×10^{-6}	0.26	0.6160
X_2	7.500×10^{-7}	1	7.500×10^{-7}	0.066	0.8013
X_3	5.333×10^{-6}	1	5.333×10^{-6}	0.47	0.5052
X_4	8.333×10^{-8}	1	8.333×10^{-8}	7.309×10^{-3}	0.9331
X_1X_2	0.000	1	0.000	0.000	1.0000
X_1X_3	2.500×10^{-7}	1	2.500×10^{-7}	0.022	0.8844
X_1X_4	2.250×10^{-6}	1	2.250×10^{-6}	0.20	0.6637
X_2X_3	1.000×10^{-6}	1	1.000×10^{-6}	0.088	0.7715
X_2X_4	2.250×10^{-6}	1	2.250×10^{-6}	0.20	0.6637
X_3X_4	2.250×10^{-6}	1	2.250×10^{-6}	0.20	0.6637
X_1^2	2.926×10^{-4}	1	2.926×10^{-4}	25.67	0.0002
X_2^2	2.214×10^{-4}	1	2.214×10^{-4}	19.41	0.0006
X_3^2	3.421×10^{-3}	1	3.421×10^{-3}	300.09	< 0.0001
X_4^2	1.840×10^{-3}	1	1.840×10^{-3}	161.37	< 0.0001
残差	1.596×10^{-4}	14	1.140×10^{-5}		
失拟项	1.424×10^{-4}	10	1.424×10^{-5}	3.31	0.1299
净误差	1.720×10^{-5}	4	4.300×10^{-7}		
总差离	4.652×10^{-3}	28			

表4 回归方程方差分析(-谷甾醇)

Table 4 Analysis of variance for -sitosterol yield

方差来源	平方和	自由度	均方	F值	P值
模型	3.230×10^{-3}	14	2.307×10^{-4}	21.35	< 0.0001
X_1	2.083×10^{-6}	1	2.083×10^{-6}	0.19	0.6673
X_2	7.500×10^{-7}	1	7.500×10^{-7}	0.069	0.7960
X_3	8.333×10^{-6}	1	8.333×10^{-6}	0.77	0.3947
X_4	3.333×10^{-7}	1	3.333×10^{-7}	0.031	0.8631
X_1X_2	1.000×10^{-6}	1	1.000×10^{-6}	0.093	0.7654
X_1X_3	2.500×10^{-7}	1	2.500×10^{-7}	0.023	0.8813
X_1X_4	0.000	1	0.000	0.000	1.0000
X_2X_3	2.500×10^{-7}	1	2.500×10^{-7}	0.023	0.8813
X_2X_4	1.000×10^{-6}	1	1.000×10^{-6}	0.093	0.7654
X_3X_4	1.000×10^{-6}	1	1.000×10^{-6}	0.093	0.7654
X_1^2	2.541×10^{-4}	1	2.541×10^{-4}	23.51	0.0003
X_2^2	1.968×10^{-4}	1	1.968×10^{-4}	18.21	0.0008
X_3^2	2.437×10^{-3}	1	2.437×10^{-3}	225.53	< 0.0001
X_4^2	1.342×10^{-3}	1	1.342×10^{-3}	124.18	< 0.0001
残差	1.513×10^{-5}	14	1.081×10^{-5}		
失拟项	1.381×10^{-4}	10	1.381×10^{-5}	4.18	0.0901
净误差	1.320×10^{-5}	4	3.300×10^{-6}		
总差离	3.381×10^{-3}	28			

2.2.2 响应面曲面分析

根据回归方程制作响应面图,考察响应曲面所拟合的形状,分析料液比、超声功率、超声时间、颗粒粒径对总甾醇(图5)、-谷甾醇(图6)提取率的影响。

由图5可见,影响总甾醇提取率的因素依次为 $X_3 > X_4 > X_1 > X_2$,为进一步得到此工艺的最佳条件,按照所得的响应面曲线(式1)对 X 分别求偏导后,令其为0,通过求解可得超声波处理总甾醇提取的最佳条件为料液

比 1:28、超声功率 393W、超声时间 10.5min、颗粒粒径 84 目，最大总甾醇提取率预测值为 0.315%。

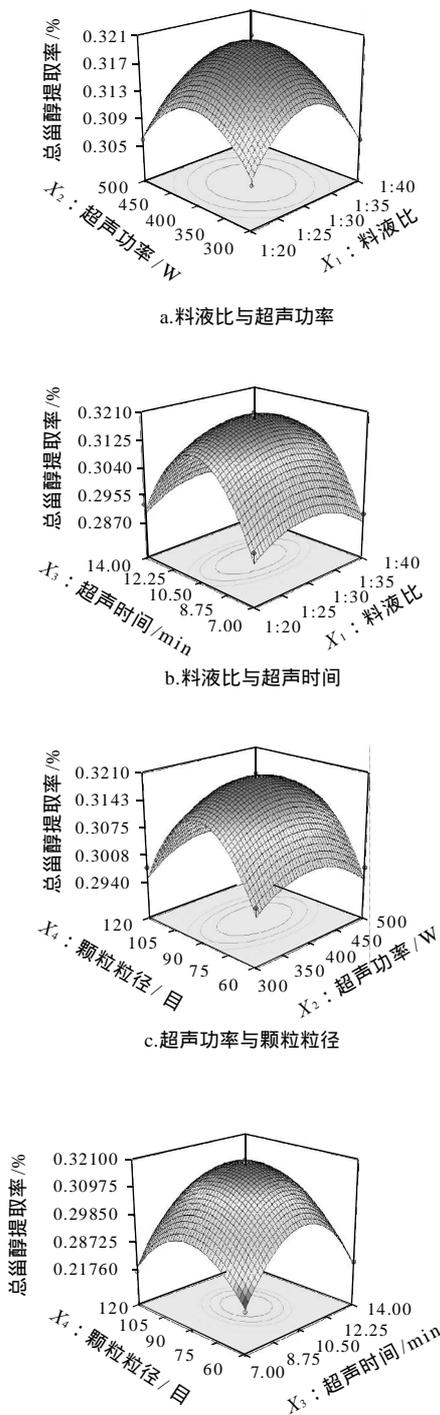


图 5 各两因素交互作用对总甾醇提取率影响的响应面图
Fig.5 Response surface plots showing the pairwise interaction effect of four independent variables on total phytoosterol yield

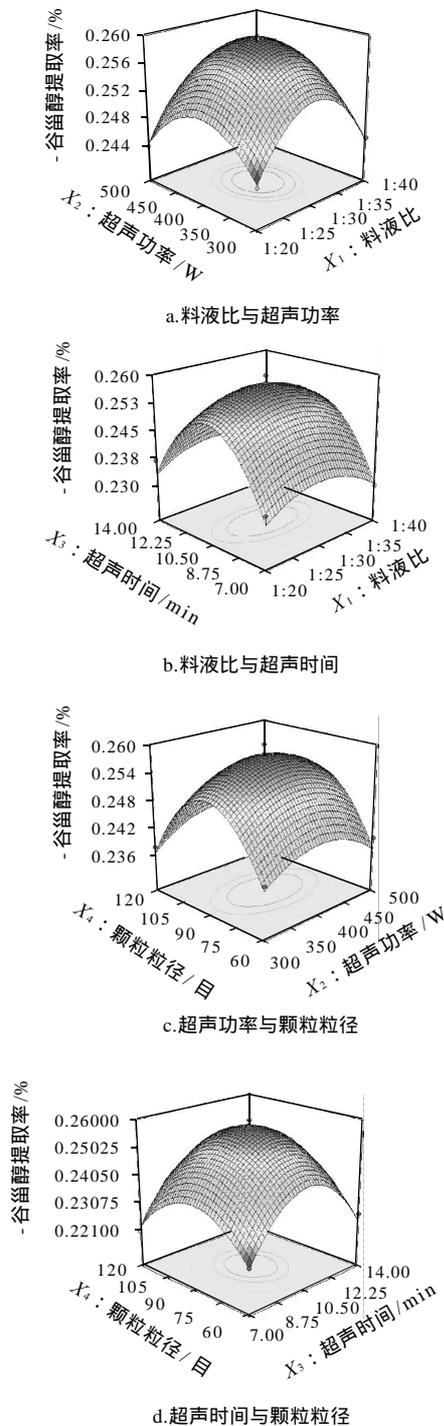


图 6 各两因素交互作用对 - 谷甾醇提取率影响的响应面图
Fig.6 Response surface plots showing the pairwise interaction effect of four independent variables on -sitosterol yield

由图 6 可见，影响 - 谷甾醇提取率的因素依次为 $X_3 > X_4 > X_2 > X_1$ ，为进一步得到此工艺的最佳条件，按照所得的响应面曲线(式 2)对 X 分别求偏导后，令其为 0，通过求解可得超声波处理提取植物甾醇的最佳条件

为料液比 1:31、超声功率 410W、超声时间 10.5min、颗粒粒径 86 目,最大 β -谷甾醇提取率预测值为 0.254%。

2.2.3 验证实验

为检验响应曲面法所得结果的可靠性,分别采用上述 2 种最佳条件测定总甾醇及 β -谷甾醇的提取率。经测定,在第 1 种工艺条件下总甾醇提取率为 0.313%, β -谷甾醇提取率为 0.245%;在第 2 种条件下总甾醇提取率为 0.317%, β -谷甾醇提取率为 0.249%。因此选择第 2 种工艺条件为最佳工艺条件,与理论预测值相比,其相对误差分别约为 1.25%、1.91%。

2.3 提取次数对竹笋甾醇提取率的影响

在料液比 1:31、超声功率 410W、超声时间 10.5min、颗粒粒径 86 目的最佳工艺条件下,考察提取次数对竹笋甾醇提取率的影响,结果如图 7 所示。

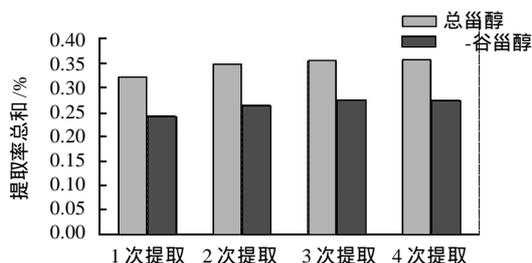


图 7 提取次数对植物总甾醇、 β -谷甾醇提取率的影响
Fig.7 Effect of extracting times to yields of total phytosterol and β -sitosterol

由图 7 可知,提取次数由 1 次增加到 2 次,竹笋甾醇提取率增幅较大,而提取次数超过 2 次后再增加次数,竹笋甾醇提取率增幅较小或者甚微。

3 结论

采用超声波处理机提取笋头植物甾醇,通过单因素试验和响应面分析对超声波处理提取工艺进行优化,得出最优工艺条件为料液比 1:31、超声功率 410W、超声

时间 10.5min、颗粒粒径 86 目,该条件下总甾醇提取率为 0.317%, β -谷甾醇提取率为 0.249%,获得的竹笋甾醇提取率与超声波处理提取各因素变量的二次方程模型回归极为显著,对实验拟合良好。

参考文献:

- [1] 陆柏益. 竹笋中甾醇类化合物的研究[D]. 杭州: 浙江大学, 2007.
- [2] LIN Y, MEIJER G W, VERMEER M A, et al. Soy protein enhances the cholesterol-lowering effect of plant sterol esters in cholesterol-fed hamsters [J]. The Journal of nutrition, 2004, 134(1): 143-148.
- [3] MOREAU R A, WHITAKER B D, HICKS K B. Phytosterols, phytosterols, and their conjugates in foods: structural diversity, quantitative analysis, and health-promoting uses[J]. Progress in lipid research, 2002, 41(6): 457-500.
- [4] JONNALA R S, DUNFORD N T, DASHIELL K E. Tocopherol, phytosterol and phospholipid compositions of new high oleic peanut cultivars [J]. Journal of Food Composition and Analysis, 2006, 19(6/7): 601-605.
- [5] 黄金, 春水. 森林食品: 竹食品的开发利用[J]. 中国食品, 2000(7): 31-33.
- [6] 顾小平, 裘福庚, 吴晓丽. 毛竹笋、材加工剩余物的饲用价值[J]. 竹子研究汇刊, 1996(1): 52-57.
- [8] 张英, 陆柏益, 吴晓琴, 等. 从竹笋中提取的植物甾醇类提取物及其制备方法和用途: 中国, 200410099219.8[P]. 2006.
- [7] DUNFORD N T, KING J W. Phytosterol enrichment of rice bran oil by a supercritical carbon dioxide fractionation technique[J]. Journal of Food Science, 2000, 65(8): 1395-1399.
- [9] VLAHAKIS C, HAZEBROED J. Phytosterol accumulation in canola, sunflower, and soybean oils: effects of genetics, planting, location, and temperature[J]. Journal of the American Oil Chemists's Society, 2000, 77(1): 49-53.
- [10] 梁秋英, 吴敏丽. 植物甾醇研究现状[J]. 生物学教学, 2009, 34(11): 5-7.
- [11] 彭莹, 刘福祯, 高欣. 天然植物甾醇的应用与提取工艺[J]. 化工进展, 2002, 21(1): 49-53.
- [12] 蔡美明, 方杭君. 比色法测定舍尼通片中植物甾醇类物质的含量[J]. 江苏药学与临床研究, 2002(10): 18-20.
- [13] 丁卓平, 王明华, 刘振华, 等. 食品中胆固醇含量测定方法的研究与比较[J]. 食品科学, 2004, 25(1): 130-135.
- [14] 易军鹏, 朱文学, 马海乐. 牡丹籽油超声波辅助提取工艺的响应面法优化[J]. 农业机械学报, 2009, 40(6): 103-108.
- [15] 王军, 王敏, 于智峰, 等. 基于响应曲面法的苦荞鼓皮总黄酮提取工艺优化[J]. 农业机械学报, 2007, 38(7): 205-208.
- [16] 李亚娜, 林永成, 余志刚. 响应面分析法优化羊栖菜多糖的提取工艺[J]. 华南理工大学学报: 自然科学版, 2004, 32(11): 28-32.