优化超声波辅助提取豆腐木叶果胶的工艺及产品性质分析

包立军[1,2]，柯斧[3]，孙凯[1]，李竹林[1]

（1.安康学院现代农业与生物科技学院，陕西安康 725000）（2.安康学院陕西省蚕桑重点实验室，陕西安康 725000）（3.陕西省安康市农业科学研究所，陕西安康 725021）

摘要：豆腐木广泛分布于秦巴山区，其叶果胶含量高且酯化度低，具有良好的应用开发前景。为充分利用豆腐木叶果胶资源，考察了 pH、提取温度和超声功率三个因素对豆腐木叶果胶得率的影响，在单因素试验基础上进行了 3 因素 3 水平的 Box-Behnken 中心组合试验，利用响应面分析法对超声波辅助提取技术进行了优化，并对优化后的提取产物进行了 30%和 50%乙醇分级沉淀分离，测定分析了这两个沉淀组分的理化性质和红外光谱特征。试验结果表明，以果胶得率为响应值的曲面回归方程拟合性良好，在 pH 1.9、温度 70 ℃、超声功率 630 W 的条件下，果胶实际得率可达 23.16%，接近理论预测值 23.20%。优化条件下提取的豆腐木叶果胶经 30%和 50%乙醇分级沉淀，两种沉淀组分的 pH、灰分指标值均符合 QB 2484-2000 要求，红外光谱分析结果也表明其均具有果胶典型结构特征。

关键词：豆腐木叶；果胶；提取；响应面分析法；理化性质

文章篇号：1673-9078(2017)10-201-207 DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2017.10.029

Optimization of Ultrasonic-Assisted Extraction of Pectin from *Premna microphylla* Leaves and Analysis of Product Properties

BAO Li-jun[1,2], KE Fu[3], SUN Kai[1], LI Zhu-lin[1]

(1.College of Modern Agriculture and Biotechnology, Ankang University, Ankang 725000, China)

(2.Shaanxi Key Laboratory of Sericulture, Ankang University, Ankang 725000, China)

(3.Institute of Agricultural Science Research of Ankang City, Ankang 725021, China)

Abstract: *Premna microphylla* leaves were wildly existed in Qinba Mountain with high pectin content and low degree of esterification. In order to make full use of *Premna microphylla* leaves, the effects of different solvents-pH, extraction temperature and ultrasonic power on the yield of pectin extraction were investigated. Response surface methodology was employed to optimize the pectin extraction conditions from *Premna microphylla* leaves. The mathematical model was established according to Box-Behnken central composite design. Besides, the fractionally precipitates with ethanol concentration of 30% and 50% respectively were produced from the optimized extraction products, and their physicochemical properties and infrared spectrum were studied. The results showed that the fitted quadratic regression model was valid. The optimum extraction parameters were pH 1.9, extraction temperature 70 ℃, and ultrasonic power 630 W. Under these conditions, the maximal rate of pectin extraction yield was 23.16%, which was close to the predicted value with 23.20%. The pH and ash value of 30% and 50% fractionally precipitates were in accordance with the requirement of QB 2484-2000 and their typical characteristics were also shown by infrared spectrum.

Key words: *Premna microphylla* leaves; pectin; extraction; response surface methodology; physicochemical properties

果胶是一类以 *D*-半乳糖醛酸为主要单位，由 *α*-1,4-糖苷键连接组成的酸性杂多糖[1]。果胶具有胶凝、增稠、抗菌和乳化等多种功能，作为高档的天然食品添加剂和保健食品功能因子在食品、医药品、功能食品和化妆品中广泛应用。目前，生产商品化果胶的原料主要来源于柑橘皮和苹果皮，近年研究表明，在豆腐木[2]、黄秋葵[3]和柚[4]等其他植物中也广泛存在着大量的果胶资源，具有良好的开发利用价值。

超声辅助提取果胶法作为一种新型的辅助提取技术，其原理是利用超声振荡产生的强烈空化效应、扰

收稿日期：2017-03-13

基金项目：陕西省农业科技创新与攻关项目（2014K02-13-01）；安康市科技计划项目（2014AK01-11）；陕西省大学生创新创业计划项目（2015sx jy014）

作者简介：包立军（1982-），男，副研究员，从事植物资源开发与利用

动效应、高剪切、破碎和搅拌等多重效应，增大物质分子运动频率和速度，增加溶剂穿透力，从而加速目标成分进入溶剂，促进提取的进行[5]。该方法能有效克服传统酸法工艺提取所需温度高、时间长、产物生物活性低的不足[6]，已在化学和食品科学等领域广泛应用。

豆腐木（*Premna microphylla* Turcz.）又名豆腐柴、豆腐叶、凉粉叶和臭黄荆等，属马鞭草科豆腐木属多年生落叶灌木。在陕南、云贵川、华中和华东等地分布较广，主要生长于海拔 500~1000 m 的疏林、山坡和沟边，为药食兼用植物。豆腐木属高果胶植物，常取其嫩叶制作豆腐，俗称“观音豆腐”，其叶再生能力强，叶果胶含量高且果胶酯化度低[7]，可作为提取天然果胶的原料，也可作为药用成分原料，具有很好的开发应用前景。本试验采用超声波辅助提取技术，结合响应面分析法优化了豆腐木叶果胶提取工艺，并对果胶产品进行乙醇分级沉淀，及分级沉淀物的理化性质和红外光谱分析，为野生资源豆腐木的开发利用提供依据。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

豆腐木叶由陕西省安康市农业科学研究所提供。无水乙醇、盐酸等为分析纯。

Nicolet6700 傅立叶红外光谱仪，美国赛默飞世尔科技公司；JOYN-3000A 超声波细胞破碎仪，上海乔跃电子有限公司；SCIENTZ-50N 冷冻干燥机，宁波新芝生物科技股份有限公司；FW100 高速万能粉碎机，天津市泰斯特仪器有限公司；800 型电动离心沉淀器，江苏龙岗医疗器械厂；HH-4 数显恒温水浴锅，金坛市丹阳门石英玻璃厂；CP214 电子天平，奥豪斯仪器（上海）有限公司制造；101-1BS 电热恒温鼓风干燥箱，上海实验仪器有限公司；PHS-25 型数显酸度计，杭州雷磁分析仪器厂。

1.2 试验方法

1.2.1 工艺流程

豆腐木叶→冲洗→干燥→粉碎→过 60 目筛→称量→浸泡→调 pH→搅拌→超声波辅助提取→恒温水浴→离心→加醇静置→离心→干燥→果胶成品

1.2.2 果胶提取及得率计算

称取 4.0 g 豆腐木叶粉，按 1:20 的料液比（g/mL）加入蒸馏水，超声波处理 60 min 后，60 ℃水浴提取 60 min，3500 r/min 离心 15 min，弃滤渣得果胶初提液，加入等体积无水乙醇进行沉淀分离，3500 r/min 离心 15 min，沉淀物冷冻干燥，即为豆腐木叶果胶成品，称重计算得率。每试验 3 个重复，计算均值与标准差。

得率(%)=(m_1/m_2)×100%

式中：m_1 为豆腐木叶果胶质量，g；m_2 为豆腐木叶粉质量，g。

1.2.3 单因素试验

选取 pH、提取温度、超声功率作为影响果胶得率的主要因素，通过单因素实验确定响应面分析的因素水平，每组试验 3 次重复。

1.2.3.1 pH 对果胶得率的影响

pH 分别调至 1.0、1.5、2.0、2.5 和 3.0，在料液比 1:20（g/mL）、提取温度 60 ℃、提取时间 90 min、超声波功率 450 W，超声波时间 10 min 的条件下，比较不同 pH 对果胶得率的影响。

1.2.3.2 提取温度对果胶得率的影响

分别以 40 ℃、50 ℃、60 ℃、70 ℃和 80 ℃为提取温度，在料液比 1:20（g/mL）、pH 2.0、提取时间 90 min、超声波功率 450 W、超声波时间 10 min 的条件下，比较不同提取温度对果胶得率的影响。

1.2.3.3 超声功率对果胶得率的影响

选择超声波功率分别为 150、300、450、600 和 750 W，在料液比 1:20（g/mL）、pH 2.0、提取温度 60 ℃、超声波时间 10 min、提取时间 90 min 的条件下，比较不同 pH 对果胶得率的影响。

1.2.4 响应面影响因素及水平

采取 Box-Behnken 中心组合试验设计，以 pH、提取温度和超声波功率 3 个因素为自变量，分别以 A、B 和 C 表示，得率(Y)为因变量，即响应值，设计三因素三水平响应面分析试验，试验因素和水平见表 1。

表 1 Box-Behnken 实验设计因素水平

Table 1 Factors and levels of the Box-Behnken experiment design

水平	因素		
	A(pH)	B(提取温度/℃)	C(超声波功率/W)
-1	1.5	60	450
0	2.0	70	600
1	2.5	80	750

1.2.5 乙醇分级沉淀

将上述果胶粉 10 g，复溶于 20 mL 蒸馏水中，加入无水乙醇，调整乙醇浓度依次为 30%和 50%，收集各级沉淀物，冷冻干燥后分别记为 30%乙醇沉淀物、50%乙醇沉淀物。

1.2.6 外观及基本理化指标测定

按照 QB 2484-2000《食品添加剂 果胶》中的方

法对 30%乙醇沉淀物、50%乙醇沉淀物进行外观评定和 pH、灰分指标测定。

1.2.7 FT-IR 分析

取 30%乙醇沉淀物、50%乙醇沉淀物 2 mg 样品于研钵内，各加入 100 mg 干燥的 KBr 粉末，研匀压片，在 4000~400 cm^{-1} 范围内进行红外光谱扫描分析。

1.2.8 数据处理

试验数据经 Microsoft Excel 2013 初步整理，Origin Pro 8 绘图，Design-Expert 8.0.6 进行响应面分析与作图。采用 SAS9.1 进行数据统计及显著性分析，并用 Duncan 多重比较法检验各处理平均数之间的差异显著性（p<0.05）。

2 结果与讨论

2.1 单因素试验结果

2.1.1 pH 对豆腐木叶果胶得率的影响

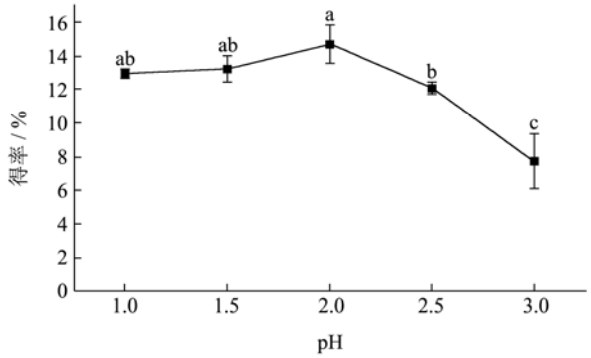


图 1 pH 对果胶得率的影响

Fig.1 Effect of pH on the pectin extraction yield

注：同一曲线中不同小写字母表示差异显著（p<0.05），下同。

从图 1 可得知，pH 从 3.0 降至 2.0 时，果胶得率随 pH 降低而升高，酸度增强有利于原果胶水解，转化为更多的水溶性果胶，而 pH 从 2.0 继续降低时，可能由于溶液中水溶性果胶加剧脱酯裂解，导致果胶得率下降[8]。pH 为 2.0 时，豆腐木叶果胶得率最高。

2.1.2 提取温度对豆腐木叶果胶得率的影响

提取温度对果胶得率的影响见图 2。从图 2 可知，随温度升高，果胶得率先升高后趋降低，70 ℃为峰值。温度升高后，细胞壁和表皮组织变得更加松弛，利于提取剂与原料间的物质交换，而在此温度范围内果胶不会降解，因此得率增加[9]。

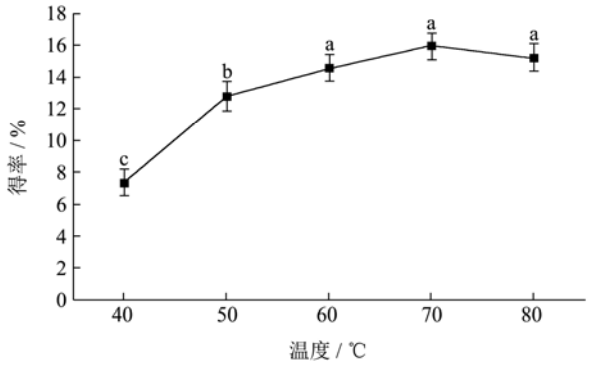


图 2 提取温度对果胶得率的影响

Fig.2 Effect of extraction temperature on the pectin extraction yield

2.1.3 超声波功率对果胶得率的影响

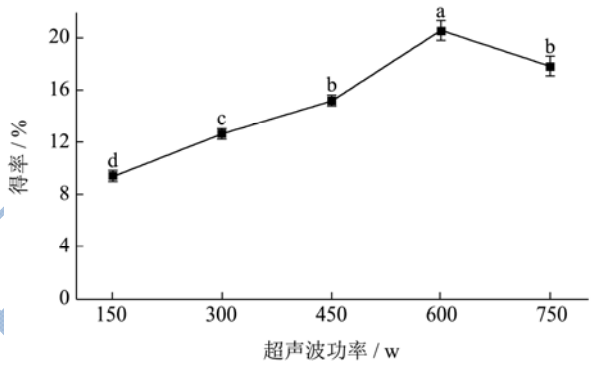


图 3 超声波功率对果胶得率的影响

Fig.3 Effect of ultrasonic power on the pectin extraction yield

超声波功率对果胶得率的影响见图 3。在图 3 中，随超声波功率升高，果胶得率呈先增加后降低趋势，600 W 时得率最高。功率较小时，超声波破壁效果不明显，果胶溶出率少、得率低[10]。当超声波功率大于 600 W 时，可能因高超声波功率导致果胶因分子链断裂而降解，得率降低。

2.2 响应面分析

在单因素试验的基础上，确定了三因素三水平的响应面分析方法，果胶得率结果见表 2。

2.2.1 回归模型的建立

运用 Design-Expert 软件对表 2 中实验数据进行回归拟合分析，得到如下多元二次回归方程：

$$Y=22.95-1.54A-0.42B+0.71C-0.27AB+0.021AC-0.086BC-3.80A^2-2.08B^2-1.59C^2$$

式中各项系数绝对值的大小表示各因素对果胶得率的影响程度，正负符号表示各因素的影响方向。式

中可看出三因素对果胶得率的影响程度为：pH>提取温度>超声功率。

2.2.2 回归模型方差分析

对回归模型的方差分析见表 3。由表 3 可知，回归方程模型的 F 值为 43.40，p<0.0001，说明回归方程模型极显著；因变量与自变量线性关系显著（R^2=0.9824），模型调整确定系数值为 0.9598 说明该模型拟合程度较好[11]；失拟项 F 值为 3.68，p 值为 0.1202（p>0.05），说明该模型失拟性不显著，拟合度好。因此，可用该回归方程对豆腐木果胶提取工艺进行分析预测。

表 2 响应面分析方案及结果

Table 2 Experimental design and results of RSM analysis

试验号	因素			得率/%	
	pH(A)	提取温度(B)	超声功率(C)	实验值	预测值
1	-1	-1	0	18.98	18.76
2	1	-1	0	15.99	16.23
3	-1	1	0	18.69	18.46
4	1	1	0	14.62	14.84
5	-1	0	-1	18.57	18.41
6	1	0	-1	15.91	15.30
7	-1	0	1	19.18	19.79
8	1	0	1	16.60	16.76
9	0	-1	-1	18.52	18.90
10	0	1	-1	17.84	18.23
11	0	-1	1	20.89	20.50
12	0	1	1	19.86	19.48
13	0	0	0	23.17	22.95
14	0	0	0	22.89	22.95
15	0	0	0	22.34	22.95
16	0	0	0	22.99	22.95
17	0	0	0	23.35	22.95

表 3 果胶得率响应值二次模型的方差分析

Table 3 Analysis of variance for response surface quadratic model

方差来源	平方和	自由度	均方	F 值	p 值	显著性
模型	122.85	9	13.65	43.40	<0.0001	**
A	18.88	1	18.88	60.02	0.0001	**
B	1.41	1	1.41	4.50	0.0716	
C	4.05	1	4.05	12.88	0.0089	**
AB	0.29	1	0.29	0.93	0.3679	
AC	0.00172	1	0.00172	0.00548	0.9431	
BC	0.03	1	0.03	0.094	0.7683	
A^2	60.68	1	60.68	192.95	<0.0001	**
B^2	18.25	1	18.25	58.02	0.0001	**
C^2	10.61	1	10.61	33.75	0.0007	**
残差	2.2	7	0.31			
失拟项	1.62	3	0.54	3.68	0.1202	
净误差	0.59	4	0.15			
总变异	125.05	16				
相关系数(R^2)	0.9824		模型调整确定系数（R_{Adj}^2）		0.9598	

注：*差异显著，p<0.05；**差异极显著，p<0.01。

2.2.3 响应面分析

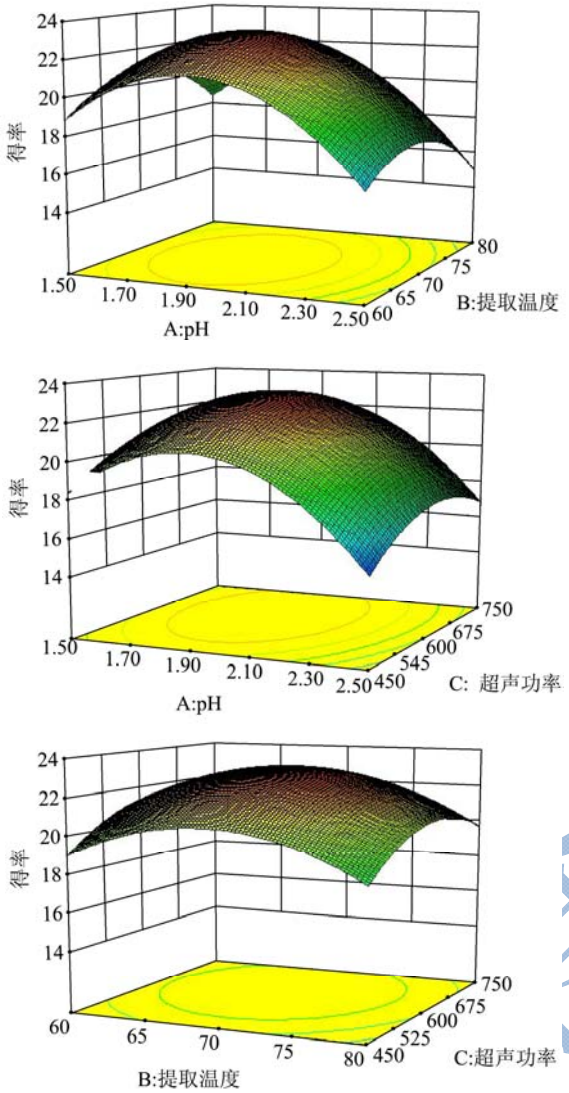


图 4 各因素交互作用对豆腐木叶果胶得率的响应面

Fig.4 The interaction of various factors on the extraction yield

经 Design-Expert.软件分析，pH、提取温度和超声波提取功率三因素交互作用的响应面图见图 4。图 4 中开口均向下，说明在一定范围内，随各因素水平提高，得率先增后减，响应值的最高点即为模型稳定点。

2.2.4 响应面条件优化及验证试验

经 Design Expert 软件分析，豆腐木叶果胶最佳提取工艺条件为 pH 1.9，提取温度 69.08 ℃、超声波功率 633.81 W。在此条件下，豆腐木叶果胶得率模型预测值可达 23.20%。

考虑到实际操作性，将上述最佳工艺条件调整为 pH 1.9，提取温度 70 ℃、超声波功率 630 W。在此条件下进行豆腐木叶果胶提取验证试验，3 次重复，得到得率均值为 23.16%，接近预测值 23.20%，说明响应面优化豆腐木叶果胶的提取工艺条件可行。

2.3 外观及理化指标测定

表 4 豆腐木叶果胶外观及理化指标

Table 4 The appearances and physicochemical properties of pectin in *Premna microphylla* leaves

指标	30%乙醇沉淀物	50%乙醇沉淀物	QB 2484-2000	
			高甲氧基	低甲氧基
外观	浅灰色粉末	淡米黄色粉末	（未说明）	
pH	2.68	2.73	2.6~3.0	4.5~5.0
灰分/%	4.34	3.26	≤5	

果胶经乙醇分级沉淀后，其 30%乙醇沉淀物、50%乙醇沉淀物的外观及 pH、灰分见表 4。由表 4 可知，两种组分 pH 相近，均属高甲氧基。果胶理化指标与张攀等[4]研究结论基本一致。

2.4 豆腐木叶果胶的红外光谱解析

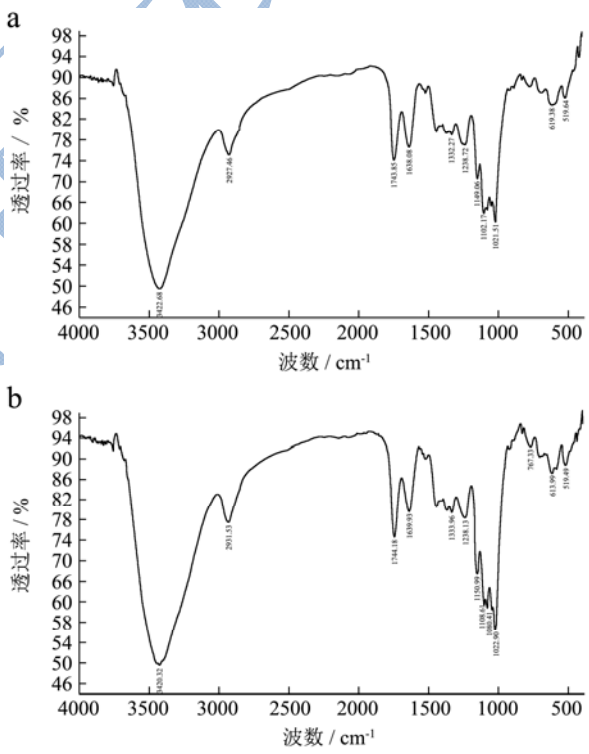


图 5 豆腐木叶果胶的红外光谱图

Fig.5 FT-IR spectra of pectin in *Premna microphylla* leaves

注：a，30%乙醇沉淀物；b，50%乙醇沉淀物。

豆腐木叶果胶 30%乙醇沉淀物、50%乙醇沉淀物的红外光谱图见图 5，两种组分谱图基本一致。1000~2000 cm^{-1} 范围内波形可鉴别果胶中主要的化学官能团，其中 1000~1300 cm^{-1} 范围内的强吸收峰是由 C-O 伸缩振动引起的，1022.90、1108.61 和 1150.99 cm^{-1} 附近的吸收峰为果胶中半乳糖醛酸在指纹区的特征吸收峰[12]。1639.93 cm^{-1} 和 1744.18 cm^{-1} 处的吸收峰说明

果胶中存在游离和酯化的羰基，2931.53 cm^{-1} 处的吸收峰为 C-H 的伸缩振动吸收峰，3420.32 cm^{-1} 是 O-H 的伸缩振动吸收峰，3300~3500 cm^{-1}（-NH_2）处无双峰出现说明无蛋白存在，豆腐木叶果胶红外光谱图与菊芋渣果胶类似[8]，具备果胶典型结构特征。

3 结论

3.1 作为功能食品中重要的功能因子，果胶具有多种生物活性，而其活性与其化学组成、糖醛酸含量、分子质量、结构和构象相关[20]，近年成为研究热点。本试验采用超声波辅助提取豆腐木叶果胶，在单因素试验基础上，利用响应面法进行了提取工艺优化，结果表明，影响果胶得率的因素为：pH>超声波功率>提取温度，优化后的最佳提取工艺条件为 pH 1.9、提取温度 70 ℃、超声波功率 630 W，此条件下豆腐木叶果胶得率均值为 23.16%，理化性质测定和红外光谱结果表明，本试验方法所得果胶分级沉淀物符合 QB 2484-2000 要求，果胶红外光谱特征明显。本提取试验结果优于宁海凤等[13,14]混合酸法提取、张鹏等[15]纤维素酶法提取、陈红玲等[16]酸解法提取、陶阿丽等[17]微波辅助法提取所得的豆腐木叶果胶得率，这可能与试验材料品种、产地及采摘季节有关。另外，可能由于试验材料品种与测定方法的差异，本试验结论与柯斧[18]和李瑜[19]部分结论一致。

3.2 豆腐木分布广泛且其叶中果胶极具开发价值，但因其野生未被驯化，一直未被深度开发利用。近年随着扦插繁育研究[21]的深入，将会进一步推动豆腐木资源的栽培驯化及开发利用。本试验基于响应面分析法，优化了超声波辅助提取豆腐木叶果胶工艺技术，提取工艺简单、成本低、得率高，且果胶成品性质良好，为豆腐木叶产业化开发提供了有益参考。

参考文献

[1] Novosel skaya I L, Voropaeva N L, Semenova L N, et al. Trends in the science and applications of pectins [J]. Chemistry of Natural Compounds, 2000, 36(1): 1-10

[2] 张攀,熊双丽,薛朝云.豆腐柴叶果胶的提取与理化性质分析[J].食品工业科技,2016,37(16):278-284
ZHANG Pan, XIONG Shuang-li, XUE Chao-yun. Extraction and physicochemical properties of pectin from *Premna microphylla* Turcz leaves [J]. Science and Technology of Food Industry, 2016, 37(16): 278-284

[3] 李加兴,石春诚,马浪,等.黄秋葵果胶理化特性的研究[J].食品科学,2015,36(17):104-108
LI Jia-xing, SHI Chun-cheng, MA Lang, et al. Physicochemical properties of okra pectin [J]. Food Science, 2015, 36(17): 104-108

[4] 孟鸳,卢小菊,夏小慧.响应面分析法优化超声波辅助提取柚皮果胶工艺的研究[J].中国食品添加剂,2017,2:57-64
MENG Yuan, LU Xiao-ju, XIA Xiao-hui. Optimization of pectin extraction assisted by ultrasound from pomelo peel by response surface methodology [J]. China Food Additives, 2017, 2: 57-64

[5] 张丽芬,朱婉萍,刘东红,等.食品功能组分超声辅助提取的研究进展[J].中国食品学报,2011,11(3):128-132
ZHANG Li-fen, ZHU Wan-ping, LIU Dong-hong, et al. Research advance on the ultrasound assisted extraction of food functional components [J]. Journal of Chinese Institute of Food Science and Technology, 2011, 11(3): 128-132

[6] Chen W, Wang W P, Zhang H S, et al. Optimization of ultrasonic-assisted extraction of water-soluble poly-saccharides from *Boletus edulis* mycelia using response surface methodology [J]. Carbohydrate Polymers, 2012, 87 (1): 614-619

[7] 李瑜,张百忍,柯斧,等.豆腐木叶果胶含量的动态变化规律研究[J].中国野生植物资源,2013,32(6):14-15
LI Yu, ZHANG Bai-ren, KE Fu, et al. Dynamic changes of pectin content in leaves of *Premna microphylla* [J]. Chinese Wild Plant Resources, 2013, 32(6): 14-15

[8] 刘胜一,史雪洁,徐兰兰,等.响应面法优化菊芋渣中果胶的提取工艺及其产品性质分析[J].食品科学,2014,35(24):29-34
LIU Sheng-yi, SHI Xue-jie, XU Lan-lan, et al. Optimization of pectin extraction from *Jerusalem artichoke* Pulp and analysis of product properties [J]. Food Science, 2014, 35(24): 29-34

[9] Veiesmann L C, Teofilo R F, Petkowicz C. Optimization of nitric acid-mediated extraction of pectin from cacao pod husks (*Theobroma cacao* L.) using response surface methodology [J]. Carbohydrate Polymers, 2011, 84(4): 1230-1236

[10] 马森,王文婷,陈志江,等.超声波-有机酸法提取甜菜废粕中果胶[J].中国甜菜糖业,2012,2:22-25
MA Sen, WANG Wen-ting, CHEN Zhi-jiang, et al. Extraction of pectin from sugar beet pulp with ultrasonic-organic acid [J]. China Beet and Sugar, 2012, 2: 22-25

[11] 丁涌波,赵兴娥,陈光静,等.食品添加剂对透明包装榨菜品质控制的影响[J].食品科学,2014,35(18):201-208
DING Yong-bo, ZHAO Xing-e, CHEN Guang-jing, et al. Effect of food additives on quality control of pickled mustard

packaged with transparent storage [J]. Food Science, 2014, 35(18): 201-208

[12] 窦姣,郭玉蓉,薛战锋,等.超声辅助提取工艺中 pH 对苹果果胶品质的影响[J].食品工业科技,2014,35(10):172-176
DOU Jiao, GUO Yu-rong, XUE Zhan-feng, et al. Effect of pH on the quality of apple pectin extracted with ultrasonic-wave assisted [J]. Science and Technology of Food Industry, 2014, 35(10): 172-176

[13] 宁海凤,童群义.混合酸提取豆腐柴叶中果胶的研究[J].食品工业科技,2011,32(1):222-224,228
NING Hai-feng, TONG Qun-yi. Study on extraction of pectin from leaves of *Premna microphylla* Turcz in the presence of mixed acids [J]. Science and Technology of Food Industry, 2011, 32(1): 222-224, 228

[14] 宁海凤,童群义.超声微波协同萃取豆腐柴叶中果胶的研究[J].食品科技,2011,36(3):148-151
NING Hai-feng, TONG Qun-yi. Ultrasonic-microwave synergistic extraction of pectin from leaves of *Premna microphylla* Turcz [J]. Food Science and Technology, 2011, 36(3): 148-151

[15] 张鹏,沈炼成,茹神来,等.纤维素酶法提取豆腐柴叶果胶的初探[J].广州化工,2011,39(13):63-64,145
ZHANG Peng, SHEN Lian-cheng, RU Shen-lai, et al. Preliminary investigation of cellulose on extracting *Premna* pectin [J]. Guangzhou Chemical Industry, 2011, 39(13): 63-64, 145

[16] 陈红玲,段红,翟科峰,等.正交试验法优选豆腐柴叶中果胶提取工艺[J].淮北师范大学学报(自然科学版),2011,32(3):52-55
CHEN Hong-ling, DUAN Hong, ZHAI Ke-feng, et al. Study on extraction technology of pectin from *Premna micropheua* leaves with orthogonal design [J]. Journal of Huaibei Normal University(Natural Science), 2011, 32(3): 52-55

[17] 陶阿丽,冯学花,尹伟,等.响应面法优化微波辅助提取豆腐柴果胶工艺及其抗氧化研究[J].汕头大学学报(自然科学版),2014,29(4):53-60
TAO A-li, FENG Xue-hua, YIN Wei, et al. Optimization of microwave-assisted extraction of pectin from *Premna microphylla* by response surface method and its antioxidant activity [J]. Journal of Shantou University (Natural Science), 2014, 29(4): 53-60

[18] 柯斧,孙莹莹.秦巴山区野生豆腐木叶片中果胶含量的测定[J].陕西农业科学,2013,59(5):36-37
KE Fu, SUN Ying-ying. The determination of pectin from wild *Premna microphylla* leaves in Qinba mountain [J]. Shaanxi Journal of Agricultural Sciences, 2013, 59(5): 36-37

[19] 李瑜,刘婷.重量法测定豆腐柴叶果胶含量的研究[J].陕西农业科学,2012,58(2):47-48
LI Yu, LIU Ting. Determination of *Premna microphylla* pectin content with gravimetric method [J]. Shaanxi Journal of Agricultural Sciences, 2012, 58(2): 47-48

[20] 宋思圆,苏平,王丽娟,等.响应面试验优化超声提取黄秋葵花果胶多糖工艺及其体外抗氧化活性[J].食品科学,2017,38(2): 283-289
SONG Si-yuan, SU Ping, WANG Li-juan, et al. Optimization of ultrasonic-assisted extraction by response surface methodology and antioxidant activities of pectic polysaccharide from okra flowers [J]. Food Science, 2017, 38(2): 283-289

[21] 柯斧,刘婷,张百忍,等.人工驯化豆腐木扦插繁殖技术研究[J].中国野生植物资源,2011,30(1):64-67
KE Fu, LIU Ting, ZHANG Bai-ren, et al. Research of artificial domestication on cutting propagation of *Premna microphylla* Turcz [J]. Chinese Wild Plant Resources, 2011, 30(1): 64-67