

# 响应面法优化红莲外皮原花青素的提取工艺研究

彭芳刚<sup>1</sup>, 李绮丽<sup>1</sup>, 吴卫国<sup>1,2</sup>

(1. 湖南农业大学食品科技学院, 湖南长沙 410128)

(2. 食品科学与生物技术湖南省重点实验室, 湖南长沙 410128)

**摘要:** 本实验采用单因素试验和响应面分析法来确定红莲外皮中原花青素提取的最佳工艺条件。通过单因素试验探讨提取溶剂的种类、提取溶剂的浓度、酸的种类、pH、液料比、提取温度、提取时间、提取次数这几个因素对原花青素提取效果的影响; 根据单因素试验结果固定提取温度 40 ℃, 提取时间 90 min, 提取次数 1 次, 选择 pH、液料比和丙酮浓度进行三因素三水平的响应面试验, 依据回归分析得到最优工艺条件为: pH 2.6, 液料比 55 mL/g, 丙酮浓度 67%。此工艺条件下红莲外皮原花青素提取率为 9.57%。

**关键词:** 红莲外皮; 原花青素; 提取率; 响应面

文章编号: 1673-9078(2013)6-1349-1354

## Optimization of Extraction of Proanthocyanidins from Skin of Red Locus Seed Using Response Surface Methodology

PENG Fang-gang<sup>1</sup>, LI Qi-li<sup>1</sup>, WU Wei-guo<sup>1,2</sup>

(1. College of Food Science and Technology, Hunan Agricultural University, Changsha 410128, China)

(2. Laboratory for Food Science and Bio-technology of Hu'nan Province, Changsha 410128, China)

**Abstract:** The extraction of proanthocyanidins from skin of red locus seed were investigated by the single experiments and response surface methodology. The single experiments were used to explore the effects of different extractant, extractant concentration, different acid, pH, liquid-to-material ratio, extraction temperature, extraction time and extraction times on the yield of proanthocyanidins. The best extraction temperature, extraction time and extraction times were determined as 40 ℃, 90 min and one time, respectively. Then the extraction pH, liquid-to-material ratio, and acetone concentration were investigated through response surface experiment. Based on the regression analysis, the extractive conditions were optimized as follows: pH 2.6, liquid-to-material ratio 55 mL/g and acetone concentration 67%. The extraction rate of proanthocyanidins of this optimized procedure reached 9.57 %.

**Key words:** skin of red locus seed; proanthocyanidins; the extraction rate; response surface methodology

莲子具有很高的营养价值和保健价值, 是滋补元气的珍品。但莲子的加工一般要经过干燥、分级、去壳、去皮、去心等工序。其中采用机械磨皮法除去外皮, 每加工 100 kg 红莲, 就会磨去约 15 kg 红皮粉, 只能得到约 85 kg 白莲<sup>[1]</sup>。目前这层红皮粉尚无有效的利用方式, 由于味涩甚至不能作为牲畜饲料, 这造成了很大的资源浪费。因此, 对红莲外皮粉进行深度开发研究具有重要的经济价值和社会意义。

原花青素(proanthocyanidin, PC), 又称聚黄烷醇类多酚, 是一类黄烷类单体及其聚合体的多酚类化合物, 前者为黄烷-4-醇或黄烷-3,4-二醇, 后者则为缩合单宁和酚酸<sup>[2]</sup>。经多年药理学研究和临床应用发现: 原花青素具有清除自由基、抗氧化、抗动脉硬化、防

癌抗癌等功能<sup>[3-6]</sup>。目前在食品、保健品、药品、化妆品等领域已有应用, 在欧美等国家享有“皮肤维生素”和“口服化妆品”的美誉<sup>[7]</sup>。

响应面分析法(response surface methodology, RSM)是利用合理的试验设计, 采用多元二次回归方程拟合因素与响应值之间的函数关系, 通过对回归方程的分析来寻求最佳工艺参数, 能以用较少的试验数量和时间对试验进行全面研究, 对因素及其交互作用的影响也可以进行评价。本文采用单因素试验和响应面分析法, 以红莲外皮原花青素提取率为考察指标, 对红莲外皮原花青素的提取工艺进行研究, 旨在为进一步研究红莲外皮原花青素的化学结构和生物活性提供科学依据, 为红莲外皮粉的开发利用奠定理论基础。

### 1 材料与方法

#### 1.1 材料与试剂

收稿日期: 2013-02-07

作者简介: 彭芳刚(1989-), 女, 硕士研究生, 研究方向为食品科学

通讯作者: 吴卫国(1968-), 男, 博导, 研究方向为食品科学

红莲外皮粉, 厂家提供; 甲醇、丙酮等试剂均为分析纯。

## 1.2 仪器与设备

SKY-200B 恒温培养振荡器, 上海沪粤明科学仪器有限公司; RE-2000B 旋转蒸发器, 巩义市予华仪器有限责任公司; SHZ-D(III)循环水式真空泵, 巩义市予华仪器有限责任公司; HH-8 数显恒温水浴锅, 上海浦东物理光学仪器厂; WFJ7200 可见分光光度计, 尤尼柯(上海)仪器有限公司; XH-C 旋涡混合器, 金坛市医疗仪器厂。

## 1.3 方法

### 1.3.1 原花青素的提取

取 1 g 红莲外皮粉加入 100 mL 的锥形瓶中, 再加入一定体积和 pH 的提取液, 瓶口用保鲜膜密封, 将锥形瓶放入恒温培养箱内, 保持振动频率为 120 r/min, 设置提取温度与时间, 提取结束后进行抽滤, 取滤液于 45 °C 旋转蒸发除去丙酮后, 加蒸馏水定容至 200 mL 后测定原花青素的浓度。

### 1.3.2 原花青素含量的测定

采用香草醛-盐酸法<sup>[8]</sup>。实验组: 依次取 0.5 mL 提取液, 3 mL 质量分数 4% 香草醛-甲醇溶液以及 1.5 mL 浓盐酸加入试管中, 充分混匀后于 30 °C 水浴 20 min 后在 500 nm 处测定吸光度  $A_1$ 。对照组: 依次取 0.5 mL 提取物溶液, 3 mL 甲醇以及 1.5 mL 浓盐酸加入试管中, 充分混匀后于 30 °C 水浴 20 min 后在 500 nm 处测定吸光度  $A_0$ 。空白组: 蒸馏水。

原花青素的吸光度:  $A = A_1 - A_0$

注:  $A_{1\bar{}}$  为三次测定  $A_1$  的平均值,  $A_{0\bar{}}$  为三次测定  $A_0$  的平均值。

以儿茶素为标准品, 测得标准曲线方程为  $y = 1.3476x + 0.0166$ ,  $R^2 = 0.9996$ 。线性范围为 0.04~0.64 mg/mL。其中, x 为儿茶素浓度(mg/mL), y 为吸光度。

### 1.3.3 原花青素提取率的计算

红莲外皮原花青素的提取率/%

$$= \frac{\text{提取液中原花青素的浓度} \times \text{提取液的体积}}{\text{莲红皮粉的质量}} \times 100\%$$

### 1.3.4 提取工艺优化

#### 1.3.4.1 单因素试验

分别以提取溶剂的种类、提取溶剂的浓度、酸的种类、pH、液料比、提取温度、提取时间这几个因素做单因素试验, 考察各因素对红莲外皮原花青素提取效果的影响, 以原花青素提取率为指标。

#### 1.3.4.2 响应曲面法优化提取工艺

根据单因素试验的结果分析和 Box-Behnken 原理, 运用 Design-Expert 8.0.5 软件进行响应面设计,

优化红莲外皮原花青素的提取工艺。

## 2 结果与分析

### 2.1 单因素试验分析

#### 2.1.1 不同提取剂对原花青素提取效果的影响

在自然 pH, 液料比为 30 mL/g, 提取温度为 40 °C, 提取时间为 120 min, 提取次数为 1 次的条件下, 分别采用体积分数为 40%、50%、60%、70%、80% 的甲醇、乙醇、丙酮溶液提取红莲外皮原花青素, 以各提取剂体积分数为横坐标, 原花青素提取率为纵坐标作图, 得图 1。

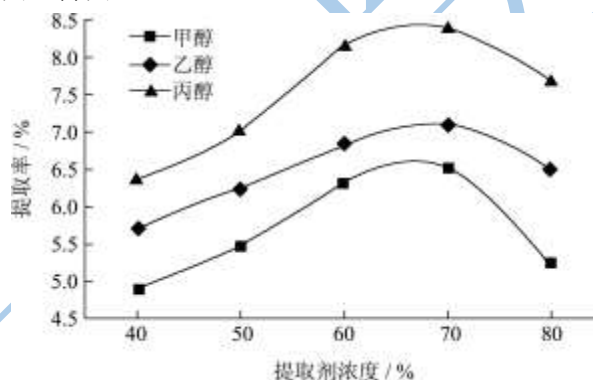


图 1 不同提取剂对原花青素提取效果的影响

Fig.1 Effect of extraction agent on the extraction of proanthocyanidins

由图 1 可知, 甲醇、乙醇和丙酮均可不同程度的渗透植物细胞, 与原花青素结合, 将其溶出。随着各提取剂体积分数的增加, 原花青素的提取率先增大后减少, 其中丙酮的提取效果最好。这是由于丙酮的羰基氧可作为强的氢键受体, 能在葡聚糖上将结合的多聚体酚类取代下来<sup>[9]</sup>。故选择丙酮为提取溶剂。

#### 2.1.2 丙酮浓度对原花青素提取效果的影响

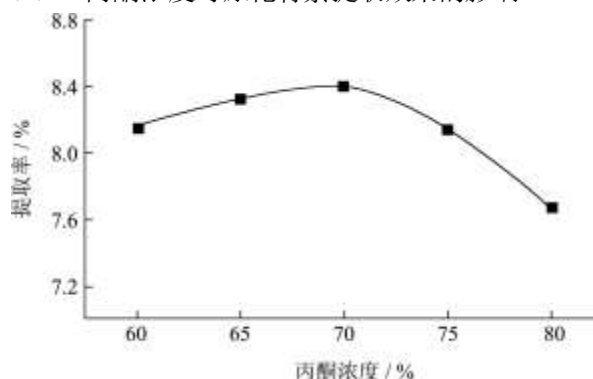


图 2 丙酮浓度对原花青素提取效果的影响

Fig.2 Effect of acetone concentration on the extraction of proanthocyanidins

在自然 pH, 液料比为 30 mL/g, 提取温度为 40 °C, 提取时间为 120 min, 提取次数为 1 次的条件下, 分别采用体积分数为 60%、65%、70%、75%、80% 的丙

酮溶液提取红莲外皮原花青素,以丙酮浓度为横坐标,原花青素提取率为纵坐标作图,得图2。

由图2可知,随着丙酮浓度的增大,原花青素提取率逐渐增大,当丙酮浓度大于70%后,丙酮浓度增加,提取效果反而降低。这可能是因为原花青素属于多酚类化合物,含有大量羟基,具有一定的极性,根据相似互溶原理,当溶剂的极性与原花青素的极性相当时,其溶解度最大,提取量最多。但随着丙酮浓度的增加,一些脂溶性物质大量溶出,与原花青素竞争与丙酮的结合,从而也导致原花青素提取量下降。故提取原花青素的最佳丙酮浓度为70%。

### 2.1.3 丙酮加不同酸对原花青素提取效果的影响

在丙酮浓度为70%,液料比为30 mL/g,提取温度为40℃,提取时间为120 min,提取次数为1次的条件下,分别往丙酮溶液中添加盐酸、柠檬酸和磷酸,调节丙酮溶液的pH分别2、3、4、5,与自然pH条件的丙酮溶液提取效果一起比较,以丙酮溶液pH为横坐标,原花青素提取率为纵坐标作图,得图3。

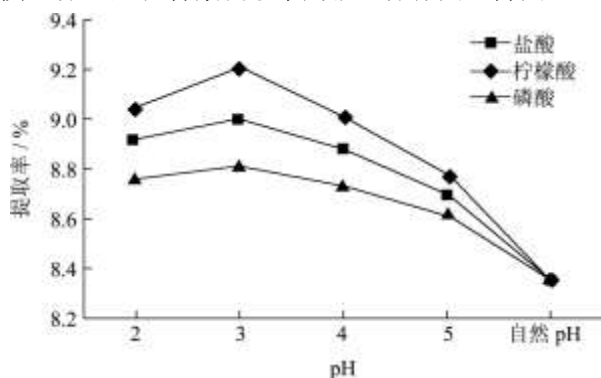


图3 丙酮加不同酸对原花青素提取效果的影响

Fig.3 Effect of different acid in the acetone solvent on the extraction of proanthocyanidins

由图3可知,往丙酮溶液中加入酸后提取效果明显比未加酸时好。这可能是因为原花青素富含酚羟基,呈弱酸性,所以酸性条件有利于它的溶出。同时,在同一pH的条件下,加柠檬酸调整pH的丙酮溶液的提取效果明显比加盐酸或磷酸好。故选择柠檬酸来调节丙酮溶液的pH。

### 2.1.4 pH对原花青素提取效果的影响

在丙酮浓度为70%,液料比为30 mL/g,提取温度为40℃,提取时间为120 min,提取次数为1次的条件下,往丙酮溶液中加入柠檬酸分别调节pH为2、2.5、3、3.5、4,以丙酮溶液pH为横坐标,原花青素提取率为纵坐标作图,得图4。

由图4可知,随着pH的增大,原花青素的提取率先增大后减少,在pH为3的时候原花青素提取率最大,故最佳pH为3。

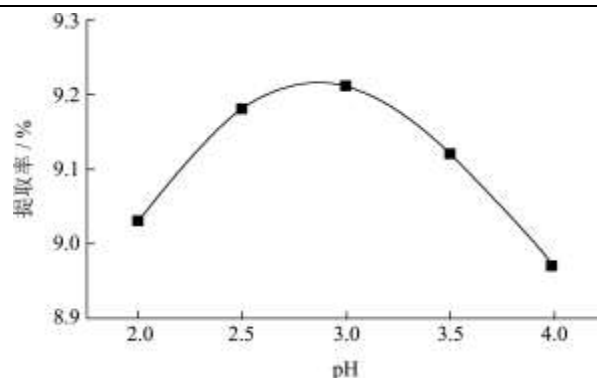


图4 pH对原花青素提取效果的影响

Fig.4 Effect of pH on the extraction of proanthocyanidins

### 2.1.5 液料比对原花青素提取效果的影响

在自然pH,丙酮浓度为70%,提取温度为40℃,提取时间为120 min,提取次数为1次的条件下,使液料比分别为30 mL/g、35 mL/g、40 mL/g、45 mL/g、50 mL/g、55 mL/g,以液料比为横坐标,原花青素提取率为纵坐标作图,得图5。

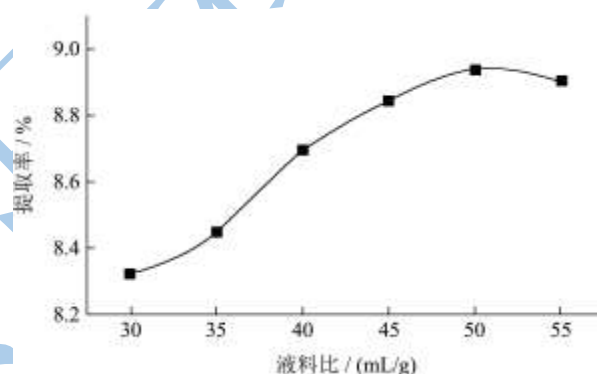


图5 液料比对原花青素提取效果的影响

Fig.5 Effect of liquid-to-material ratio on the extraction of proanthocyanidins

由图5可知,随着液料比的增大,原花青素的提取率逐渐增大,当液料比达到50 mL/g后,继续增大液料比,原花青素的提取量缓慢下降。这是因为随着提取液体积的增大,提取液与原料粉末的接触面积变大,从而有利于促进原花青素成分的溶出<sup>[10]</sup>。当液料比增大到一定程度后,原花青素已能够充分溶出,再增加提取液体积,反而会增大杂质的溶出量,降低原花青素的纯度,同时过高的液料比也会造成溶剂的浪费。故最适宜的液料比为50 mL/g。

### 2.1.6 提取温度对原花青素提取效果的影响

在自然pH,丙酮浓度为70%,液料比为30 mL/g,提取时间为120 min,提取次数为1次的条件下,设置提取温度分别为30℃、35℃、40℃、45℃、50℃,以提取温度为横坐标,原花青素提取率为纵坐标作图,得图6。

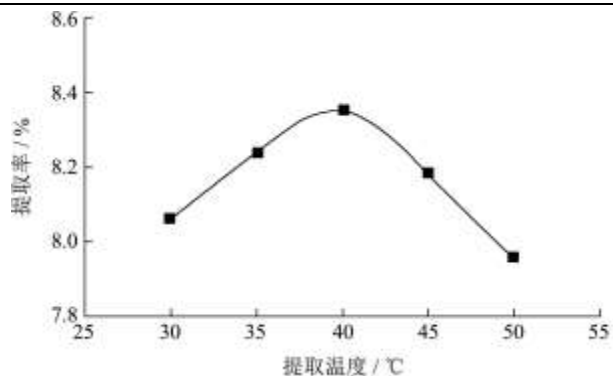


图 6 提取温度对原花青素提取效果的影响

Fig.6 Effect of extraction temperature on the extraction of proanthocyanidins

由图 6 可知, 随着提取温度的增高, 原花青素的提取率逐渐增大, 当提取温度超过 40 °C 后, 原花青素提取率随着温度的增加而下降。这是因为温度升高, 分子运动速度加快, 渗透、扩散、溶解速度加快, 原花青素提取量增加; 但是过高的温度会使原花青素发生氧化, 结构被破坏<sup>[1]</sup>。故最适宜的提取温度是 40 °C。

### 2.1.7 提取时间对原花青素提取效果的影响

在自然 pH, 丙酮浓度为 70%, 液料比为 30 mL/g, 提取温度为 40 °C, 提取次数为 1 次的条件下, 设置提取时间分别为 30 min、60 min、90 min、120 min、150 min, 以提取时间为横坐标, 原花青素提取率为纵坐标作图, 得图 7。

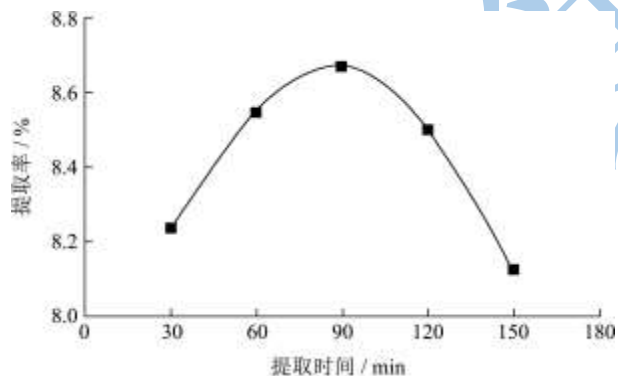


图 7 提取时间对原花青素提取效果的影响

Fig.7 Effect of extraction time on the extraction of proanthocyanidins

由图 7 可知, 随着提取时间的延长, 原花青素的提取率逐渐增大, 当提取时间达到 90 min 后, 再延长提取时间, 提取率逐渐下降。这是因为萃取是一个动态的过程, 需要一定的时间, 所以延长提取时间, 可以使原花青素提取量增多; 但原花青素不稳定, 长时间受热会破坏它的结构, 使原花青素热分解。故最适宜的提取时间为 90 min。

### 2.1.8 提取次数对原花青素提取效果的影响

在自然 pH, 丙酮浓度为 70%, 液料比为 30 mL/g,

提取温度为 40 °C, 提取时间为 120 min 的条件下, 提取 1 次后, 取抽滤后的残渣进行第 2 次提取, 再其残渣进行第 3 次提取, 以提取次数为横坐标, 每次提取时原花青素的提取率为纵坐标作图, 得图 8。

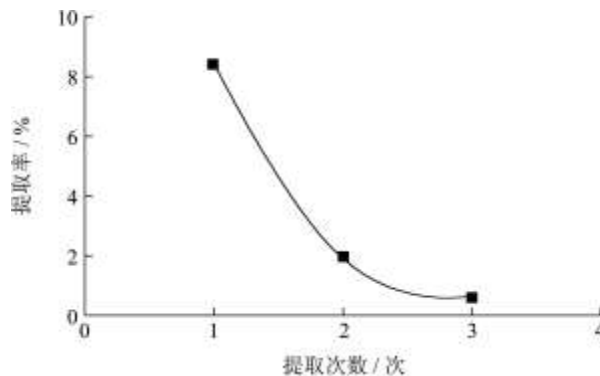


图 8 提取次数对原花青素提取效果的影响

Fig.8 Effect of extraction times on the extraction of proanthocyanidins

由图 8 可知, 每次提取后残渣的原花青素提取率都比原来的提取率低很多。因此从生产效率和节约能源的角度出发, 提取 1 次即可。

## 2.2 响应面试验分析

### 2.2.1 响应面设计与结果分析

综合单因素试验结果固定提取温度 40 °C, 提取时间 90 min, 提取次数 1 次, 利用响应曲面法研究 pH、液料比和丙酮浓度对原花青素提取率的影响。

根据 Box-Behnken 原理, 以 pH ( $X_1$ )、液料比( $X_2$ )、丙酮浓度( $X_3$ )为自变量, 原花青素提取率  $Y$  为响应值, 以 -1、0、1 分别代表变量的三个水平, 按方程  $X=(x-x_0)/\Delta x$  对自变量进行编码。式中,  $X$  为变量的编码,  $x$  为变量的真实值,  $x_0$  为试验中心点变量的真实值,  $\Delta x$  为变量的变化步长<sup>[12]</sup>。在单因素试验的基础上, 确定各变量的参数范围, 试验因素编码及各自变量水平见表 1。

表 1 Box-Behnken 试验因素水平编码表

Table 1 Factors and coded levels of Box-Behnken design

水平	因素		
	$X_1$ (pH)	$X_2$ [液料比/(mL/g)]	$X_3$ (丙酮浓度/%)
1	3.5	55	75
0	3	50	70
-1	2.5	45	65

采用三因素三水平共 15 个试验点的响应面分析试验, 其中标准序 1~12 组为析因试验, 13~15 组为中心试验, 用来估计试验误差。为了避免人为因素导致的系统误差, 将标准序打乱, 按照运行序来进行响应面分析试验, 响应面分析试验设计见表 2。

表 2 响应面分析试验设计及结果

Table 2 experimental design and results for response surface analysis

标准序	运行序	X <sub>1</sub>	X <sub>2</sub>	X <sub>3</sub>	提取率/%
4	1	1	1	0	8.93
15	2	0	0	0	9.28
11	3	0	-1	1	9.10
10	4	0	1	-1	9.44
1	5	-1	-1	1	9.37
9	6	0	-1	-1	9.00
3	7	-1	1	0	9.52
7	8	-1	0	1	9.09
5	9	-1	0	-1	9.27
8	10	1	0	1	8.64
12	11	0	1	1	9.03
2	12	1	-1	0	8.93
6	13	1	0	-1	8.87
13	14	0	0	0	9.37
14	15	0	0	0	9.36

应用 Design-Expert 对试验数据进行多元回归拟合, 得到红莲外皮原花青素的提取率与所选 3 个因素的二次多项回归模型为。

$$Y = -54.925 + 4.52X_1 + 0.3633X_2 + 1.4117X_3 - 0.015X_1X_2 - 0.005X_1X_3 - 0.0051X_2X_3 - 0.6483X_1^2 + 0.0005X_2^2 - 0.0083X_3^2$$

注: Y 为红莲外皮原花青素的提取率, X<sub>1</sub> 为 pH, X<sub>2</sub> 为液料比, X<sub>3</sub> 为丙酮浓度。

通过比较方程中一次项系数的绝对值大小, 可以直接判断因子影响的主次性<sup>[13]</sup>。由回归方程可知, pH 对红莲外皮原花青素的提取率影响最大, 其次是丙酮浓度, 最后是液料比。

对表 2 中试验结果进行统计分析, 得方差分析结果见表 3。由表 3 可知, 模型的 P=0.008, 表明模型显著。其中一次项 X<sub>1</sub>、X<sub>3</sub>、交互作用项 X<sub>2</sub>X<sub>3</sub>、二次项 X<sub>1</sub><sup>2</sup>、X<sub>3</sub><sup>2</sup> 对响应值 Y 影响极显著 (P<0.01); 一次项 X<sub>2</sub> 对响应值 Y 影响显著 (P<0.05); 其余项均不显著 (P>0.05)。失拟项 P=0.4145>0.05, 表明模型失拟度不显著, 说明残差均由随机误差引起, 建立的回归模型能代替实验真实点解释响应结果。模型决定系数 R<sup>2</sup>=0.9814, 说明该模型可以解释 98.14% 的试验, 方程的拟合度较高。离散系数 CV 表示实验的精确度, CV 值越低, 实验的可靠性越高, 本实验的 CV=0.62%, 说明实验操作可信<sup>[14]</sup>。信噪比为 19.247, 远大于 4, 说明该模型拟合度和可信度均较高<sup>[15]</sup>。由此可见, 此模型可用于红莲外皮原花青素提取条件的分析和预

测。

表 3 方差分析结果

Table 3 Analysis of variance of the primarily established quadric regression model

方差来源	平方和	自由度	均方	F 值	P 值	显著性
模型	0.86	9	0.095	29.29	0.0008	**
X <sub>1</sub>	0.44	1	0.44	136.22	<0.0001	**
X <sub>2</sub>	0.034	1	0.034	10.42	0.0233	*
X <sub>3</sub>	0.065	1	0.065	19.98	0.0066	**
X <sub>1</sub> X <sub>2</sub>	0.005625	1	0.005625	1.73	0.245	N
X <sub>1</sub> X <sub>3</sub>	0.000625	1	0.000625	0.19	0.629	N
X <sub>2</sub> X <sub>3</sub>	0.065	1	0.065	20.05	0.0065	**
X <sub>1</sub> <sup>2</sup>	0.097	1	0.097	29.91	0.0028	**
X <sub>2</sub> <sup>2</sup>	0.000416	1	0.000416	0.19	0.6811	N
X <sub>3</sub> <sup>2</sup>	0.16	1	0.16	48.82	0.0009	**
残差	0.016	5	0.003243			
失拟项	0.011	3	0.003783	1.55	0.4145	N
纯误差	0.004867	2	0.002433			
总离差	0.87	14				

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 响应面交互作用分析

根据回归模型, 将任一因素固定在零水平, 可以得到体现另外两个因素及其交互作用影响的响应曲面图及对应的等高线图<sup>[6]</sup>, 见图 9~11。

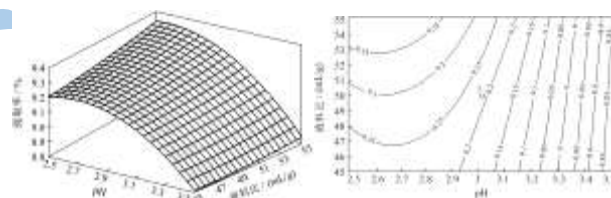


图 9 pH 和液料比对原花青素提取率影响的响应面及等高线

Fig.9 Responsive surface and contours of the effect of pH and liquid-to-material ratio on the extraction rate of procyanidins

图 9 为丙酮浓度为 70% 时, pH 和液料比及两者交互作用对原花青素提取率的影响。当液料比不变时, 随着 pH 的增大, 红莲外皮原花青素提取率减少; 当 pH 不变时, 随着液料比的增大, 红莲外皮原花青素提取率增大。可见, pH 和液料比交互作用不明显。

图 10 为液料比为 50 mL/g 时, pH 和丙酮浓度及两者交互作用对原花青素提取率的影响。当丙酮浓度不变时, 随着 pH 的增大, 红莲外皮原花青素提取率减少; 当 pH 不变时, 随着丙酮浓度的增加, 红莲外皮原花青素提取率先增大后减少。可见, pH 和丙酮浓度交互作用不明显。

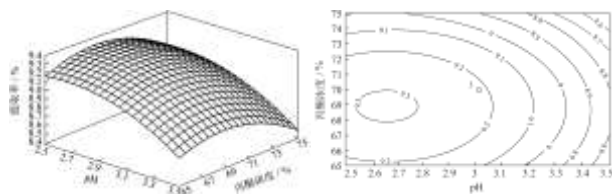


图 10 pH 和丙酮浓度对原花青素提取率的影响的响应面及等高线

Fig.10 Responsive surface and contours of the effect of pH and acetone concentration on the extraction rate of procyanidins

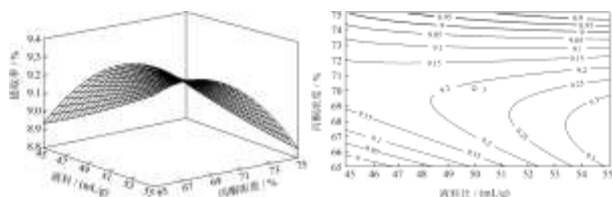


图 11 液料比和丙酮浓度对原花青素提取率的影响

Fig.11 Responsive surface and contours of the effect of liquid-to-material ratio and acetone concentration on the extraction rate of procyanidins

图 11 为 pH 为 3 时,液料比和丙酮浓度及两者交互作用对原花青素提取率的影响。当丙酮浓度处于低水平时,红莲外皮原花青素提取率随液料比的增大而逐渐增大;当丙酮浓度达到一定值后,红莲外皮原花青素提取率随液料比的增大缓慢减少;当液料比不变时,随着丙酮浓度的增加,红莲外皮原花青素提取率先增大后减少。可见,料液比和丙酮浓度均能影响原花青素的得率,且交互作用影响显著。

综合比较三组图可知,pH对红莲外皮原花青素提取率的影响最为显著,因为图 9a 和图 10a 中曲面最陡。

### 2.2.3 红莲外皮原花青素提取工艺条件的确定与验证

在选取的各因素范围内,根据回归模型通过 Design Expert 软件分析得出红莲外皮原花青素最优提取条件为:pH 2.60,液料比 55.00 mL/g,丙酮浓度 67.4%。在此条件下,红莲外皮原花青素提取率的预测值为 9.58%。考虑到实际操作的便利,将提取工艺参数稍作调整为:pH 2.6,液料比 55 mL/g,丙酮浓度 67%。

为检验响应曲面法所得结果的可靠性,采用上述优化提取条件重复实验 3 次,红莲外皮原花青素提取率为 $(9.57 \pm 0.03)\%$ ,与模型理论最大值(9.58%)非常接近,说明模型可以较好的反映出莲房原花青素提取的条件,从而也说明了用响应面法对莲房原花青素提取条件参数进行优化是可行的。

## 3 结论

本研究在单因素试验的基础上,采用 Box-

Behnken 试验设计及响应面分析,建立红莲外皮原花青素提取的二次多项式回归模型。经检验证明该模型是合理可靠地,能够较准确的预测红莲外皮原花青素提取率。最终考虑实际操作的便利性得出红莲外皮原花青素的提取最佳条件为:pH 2.6,液料比 55 mL/g,丙酮浓度 67%,提取温度 40 °C,提取时间 90 min,提取次数 1 次,此时红莲外皮原花青素提取率为 9.57%,与预测值非常接近,且高于任何一次单因素试验。证明响应面优化法得到的提取工艺科学合理,准确可靠。

## 参考文献

- [1] 徐虹,朱雨薇,曹杨,等.莲子红皮多糖提取工艺研究[J].食品工业科技,2011,2:266-268
- [2] 张长贵,董加宝,王祯旭.原花色素及其开发应用[J].食品与药品,2006,8(5):13-17
- [3] Amitabhe Luximon-Ramma, Theeshan Bahorun, Mohammed A Soobratee, et al. Antioxidant Activities of Phenolic, Proanthocyanidin, and Flavonoid Components in Extracts of Cassia fistula [J]. J.Agric.Food chem., 2002, 50(18): 5024-5047
- [4] Debasis Bagchi, Manashi Bagchi, Sidney J Stohs, et al. Free radicals and grape seed proanthocyanidin extract: importance in human health and disease prevention [J]. Toxicology, 2000, 148(2): 187-197
- [5] Jun Yamakoshi, Shigehiro Kataoka, Takuro koga, et al. Proanthocyanidin-rich extract from grape seeds attenuates the development of aortic atherosclerosis in cholesterol-fed rabbits[J]. Atherosclerosis, 1999, 142(1): 139-149
- [6] A M Engelbrecht, M Mattheyse, B Ellis, et al. Proanthocyanidin from grape seeds inactivates the PI3-kinase/PKB pathway and induces apoptosis in a colon cancer cell line [J]. Cancer Letters, 2007, 258(1): 144-153
- [7] Bagchi D, Bagchi M, Stohs S J, et al. Free radicals and grape seed proanthocyanidin extract: important in human health and disease prevention [J]. Toxicology, 2000, 148(2/3): 187-197
- [8] 李绮丽,吴卫国,彭芳刚,等.莲子皮原花青素测定方法的研究[J].现代食品科技,2012,28(2):241-245
- [9] Kantz K, Singleton V L. Isolation and determination of polymeric polyphenols using sephadex LH-20 and analysis of grape tissue extracts [J]. Phytochemistry, 1990, 41: 223-228
- [10] 张涛,李超,商学兵.葡萄籽原花青素的纤维素酶辅助提取工艺优化[J].中国食品添加剂,2011,5:82-88

- [11] 史经略,张安宁,王传荣.响应面法优化葡萄籽中原花青素提取[J].食品研究与开发,2011,32(10):187-192
- [12] 王敏,陆兆新,吕凤霞,等.响应曲面法优化酶法提取银杏叶总黄酮[J].食品科学,2007,28(3):117-121
- [13] 周存山,马海乐,胡文彬.多斑紫菜多糖提取工艺的优化[J].农业工程学报,2006,22(9):194-197
- [14] Jin He, Quanwei Zhen, Ning Qiu, et al. Medium optimization for the production of a novel bioflocculant from *Halomonas* sp. V3a' using response surface methodology [J]. *Bioresource Technology*, 2009, 100: 5922-5927
- [15] 刘建平,杨小敏,李倩倩,等.响应曲面法优化超声辅助提取油菜籽皮中的原花青素[J].精细化工,2011,28(7):680-684
- [16] 董发明,白喜婷.响应面法优化超声提取杜仲雄花中黄酮类化合物的工艺参数[J].食品科学,2008,29(8):227-231

现代食品科技