

响应面法优化纯种米根霉酒曲 制备工艺的研究

杨建刚¹, 赵中开², 吴赫川¹, 周 健¹, 潘训海¹, 马莹莹^{1,*}

(1. 四川理工学院, 四川自贡 643000;

2. 自贡市食品药品监督管理局, 四川自贡 643000)

摘要:以南方籼米为原料,利用单因素实验和BBD响应面实验以糖化酶活力为指标对纯种米根霉酒曲制备工艺进行研究。主要对影响酒曲糖化酶活力的3个重要因素:培养温度、培养时间、接种量进行研究。结果表明最佳工艺条件为:培养温度33℃,接种量0.6 mL/瓶,培养时间115 h。在此条件下糖化酶活力的预测值为295.2 U/g。在最佳培养条件下对预测值进行验证,实测糖化酶活力为290.5 U/g,与模型预测值基本一致,从而验证了模型的可靠性和实用性。

关键词:米根霉,响应面法,酒曲,制备工艺,优化

Study on the optimum technique of koji-making in pure *Rhizopus oryzae* with response surface methodology

YANG Jian-gang¹, ZHAO Zhong-kai², WU He-chuan¹, ZHOU Jian¹, PAN Xun-hai¹, MA Ying-ying^{1,*}

(1. Sichuan University of Science & Engineering, Zigong 643000, China;

2. Zigong Food and Drug Administration, Zigong, 643000, China)

Abstract: South indica rice was used for raw material and single factor experiment and BBD response surface methodology were applied to optimize the preparation technology of pure *Rhizopus oryzae* koji with saccharifying enzyme activity as an index. Three important factors (culture temperature, culture time, inoculating quantity) that had effects on Koji saccharifying enzyme activity and the optimum preparation technology condition were studied. Result showed that the process conditions as follows: culture temperature was at 33 °C, the inoculating quantity was 0.6 mL/flask, and culture time was 115 h. In this condition, the predictive value of saccharifying enzyme activity was 295.2 U/g. And this prediction was verified under the optimum culture conditions. It showed that the actual measured saccharifying enzyme activity was 290.5 U/g. The predicted and measured were basically in accordance, which was verified the model was reliable and practical.

Key words: *Rhizopus oryzae*; response surface methodology; koji; processing; optimum

中图分类号: TS261

文献标识码: B

文章编号: 1002-0306(2015)21-0232-05

doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2015.21.040

霉菌作为一种在各种酒曲中都存在的功能菌,是我国酒曲微生物的重要组成部分。霉菌具有糖化力强的优点,并能产生多种影响酒类风味的物质,在酒的发酵过程中发挥着不可替代的作用。常用于酿酒的霉菌主要包括根霉属(*Rhizopus*)、曲霉属(*Aspergillus*)、毛霉属(*Mucor*)、犁头霉属(*Absidia*)、青霉属(*Penicillium*)等^[1]。其中米根霉与米曲霉作为两种糖化力很强的霉菌,广泛存在于各种酒曲中。吕旭聪等^[2]对红曲中的丝状真菌进行了研究,在分离得到的43种真菌中发现了11种根霉,其种类数量仅

次于曲霉,其中米根霉的出现频率最高。于博等^[3]对广东肇庆传统小曲的优势霉菌进行了分离,得到糖化酶活力强的菌株F6,经鉴定为米根霉。Hye-Ryun Kim等^[4]在韩国的传统酒曲中也发现了米根霉与米曲霉。

在众多的创新工艺里,以纯种根霉代替传统工艺制曲就是其中很有代表性的一项。相比于传统小曲,纯种根霉曲具有糖化发酵力高、制作周期短、生产成本低等显著优势。王新惠^[5-6]在米根霉产糖化酶研究中得出反应时间、不同底物、底物浓度、反应

收稿日期: 2015-01-28

作者简介: 杨建刚(1961-),男,博士,研究方向:食品发酵与酿造技术,E-mail: jgyang29@163.com。

*通讯作者: 马莹莹(1963-),女,硕士,研究方向:食品发酵与酿造技术,E-mail: xidaya@163.com。

基金项目: 四川省(科技厅)科技创新苗子工程(2015022);四川理工学院人才引进项目(2015RC14);四川省大学生创新创业训练计划(201510622055);四川理工学院培育项目基金(2014PY05)。

温度、底物 pH 及金属离子等因素影响该菌株分泌的糖化酶活力。徐成勇^[7]、龙可^[8]在根霉菌、酿酒小曲研究进展中阐述了米根霉在酿酒生产中的重要地位。本研究参考李云雁^[9]、徐向宏^[10]、刘寅^[11]在响应面实验设计、数据处理方法,在纯种米根霉菌的制备及工艺条件优化基础上^[12],旨在优化出最佳的纯种米根霉菌曲制作工艺条件。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

菌种:米根霉 CICC 40467 购于中国微生物菌种网,保藏于葡萄糖马铃薯琼脂(PDA)斜面中。

原辅料:南方籼米,市售,含水量 12.5%;蒸馏水,符合 GB5749-2006《生活饮用水卫生标准》。

恒温培养箱(LHP-250) 常州普天仪器制造有限公司;生物显微镜(BH200) 宁波舜宇仪器有限公司;高温蒸汽灭菌锅(SYQ-DSX-280B) 申安医疗器械厂;电子天平(6102) 杭州友恒称重有限公司;电冰箱(BCD-256L) 青岛乐家电器有限公司;超净工作台 苏净集团安泰公司制造。

1.2 实验方法

1.2.1 酒曲制作工艺流程 原料(籼米)→淘米→浸米 12 h→沥水→分装三角瓶 25 g→蒸米 110 °C, 45 min→降温→接种米根霉菌悬液→培养→扣瓶 1 次/12 h→出曲

1.2.2 工艺操作要点 淘米:除去附在米粒表面的杂质,如糠、尘土及夹杂物等。

浸米:采用蒸馏水在 20 °C 的条件下浸泡 12 h 以上。当米粒从外观上看透明感消失,变成纯白色,用手碾米粒,能将米粒碾碎时,即可将籼米捞出,沥水 30 min,分装蒸米。

蒸米:每个 250 mL 三角瓶中分装 25 g 生米,用高压蒸汽灭菌锅蒸米,条件为 110 °C, 45 min。使蒸出的籼米熟而不烂,内无白心生米;降温:将蒸熟后的米置于接种箱内降温。

接种:当米的品温降至约 35 °C 时接种米根霉菌悬液(取一支 33 °C 条件下培养 5 d 的米根霉菌斜面,在超净工作台中以无菌操作的方式加入 10 mL 无菌水,然后用接种环将斜面上的孢子轻轻刮下制成孢子悬液)。

恒温培养:前 24 h 为 31 °C 恒温培养,24 h 之后调至所需温度培养;扣瓶:由于菌丝的生长会造成米粒结块,使米曲的质量下降。因此应及时扣瓶,将结块的米粒打散。本实验的扣瓶频率为 1 次/12 h。

1.2.3 粗酶液的制备 称取 5 g 绝干米曲样品,置于研钵中充分研磨;然后向研钵中加入 25 mL、pH4.6 的乙酸-乙酸钠缓冲液,继续研磨至糊状;用 75 mL 蒸馏水将其完全转移至 250 mL 烧杯中,35 °C 水浴浸提 1 h,期间每 15 min 搅拌 1 次;浸提完成后以脱脂棉过滤,滤液即为供试酶液^[13]。

1.2.4 糖化酶活力的测定糖化酶活力的定义 1 g 固体酶粉(或 1 mL 液体酶)于 40 °C、pH4.6 的条件下,1 h 分解可溶性淀粉产生 1 mg 葡萄糖即为一个酶活力单位,以 U/g(或 U/mL)表示^[13]。测定方法:采用 GB8267-2006 中规定的方法对曲的糖化酶活力

进行测定^[14]。

1.2.5 单因素实验 首先利用温度、接种量、培养时间三个单因素进行实验分析(单因素实验结果均为两次实验的平均值),找出各因素的水平范围,然后通过 BBD 响应面实验确定最佳制曲工艺。

1.2.5.1 制曲时间对糖化酶活性的影响 分别采用 2、3、4、5、6 d 的制曲时间进行单因素实验,培养结束后,取样测糖化酶活力。单因素实验中温度为 35 °C,接种量为 0.5 mL/瓶,每 12 h 翻曲一次。

1.2.5.2 接种量对糖化酶活性的影响 分别采用 0.1、0.3、0.5、1、1.5、2 mL/瓶的接种量进行单因素实验,培养结束后,取样测糖化酶活力。该单因素实验中温度为 35 °C,培养时间为 4 d,每 12 h 翻曲一次。

1.2.5.3 培养温度对糖化酶活性的影响 分别在 29、31、33、35、37 °C 下进行制曲实验,培养结束后,取样测糖化酶活力。该单因素实验中接种量为 0.5 mL/瓶,制曲时间为 4 d,每 12 h 翻曲一次。

1.2.6 响应面实验 为了研究不同因素对米根霉菌糖化酶活力的影响并确定最佳制曲条件,本实验选择对曲糖化酶活力影响较大的 3 个因素(培养温度、接种量、培养时间)做响应面回归分析,实验因素水平见表 1。

表 1 实验因素水平表

Table 1 Factors and levels of the response surface experiment

水平	因素		
	A 温度 (°C)	B 接种量 (mL/瓶)	C 培养时间 (d)
-1	31	0.1	3
0	33	0.5	4
+1	35	1.0	5

1.2.7 数据处理方法 利用 Design-Expert 8.0.6 软件对实验数据进行处理。

2 结果与分析

2.1 单因素实验

2.1.1 培养时间对米根霉菌糖化酶活力的影响 实验结果如图 1 所示。

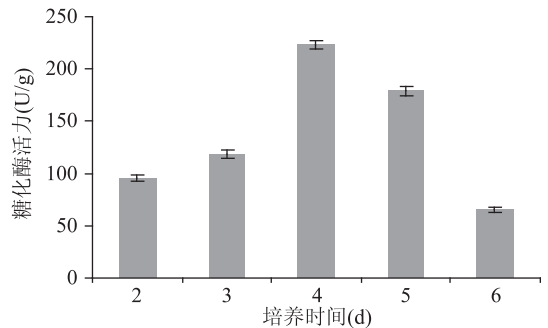


图 1 培养时间对米根霉菌糖化酶活力的影响

Fig.1 Effect of culture time on glucoamylase activity of *Rhizopus oryzae*

由图 1 可知,当培养时间在 2~6 d 时,糖化酶活力随培养时间的增加先上升后下降,在 4 d 时糖化酶活力达到最大,随着培养时间的继续延长,糖化酶活

力开始逐渐降低。在小曲中优良根霉的分离筛选及产酶条件研究^[15]中显示,分离的根霉菌株培养3、4 d有利于其生长和产酶,与本实验结果相符。因此,在响应面实验中选择3、4、5 d三个培养时间。

2.1.2 接种量对米根糖化酶活力的影响 结果如图2所示。

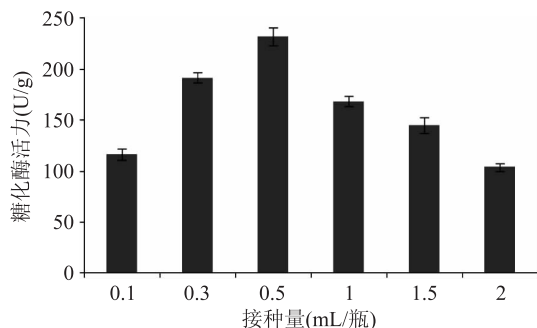


图2 接种量对米根糖化酶活力的影响

Fig.2 Effect of inoculation quantity on glucoamylase activity of *Rhizopus oryzae*

由图2可知,当接种量在0.1~2 mL/瓶的范围内变化时,糖化酶活力先快速上升而后逐渐下降。当接种量为0.5 mL/瓶时,糖化酶活力最高,随着接种量的继续增大,糖化酶活力开始逐渐降低。分析原因,当接种量较大,营养物质都用来米根霉自身生长,较早进入衰老期,不利于代谢产物的合成分泌,因此,合适的接种量有利于米根霉在较短的时间内产生更多高活性的糖化酶^[16]。因此,在响应面实验中选择0.1、0.5、1 mL/瓶三个接种量。

2.1.3 温度对米根霉菌糖化酶活力的影响 由图3可知,随着温度的升高,糖化酶活力呈现出先升高后降低的变化规律,在33℃时,糖化酶活力最高。当温度大于33℃时,糖化酶活力开始逐渐降低。究其原因,可能是因为在温度较低时,米根霉的生长不旺盛,产酶量较低,而温度过高时同样也会对米根霉的生长产生抑制,使曲的糖化酶活力较低。在米根霉液态发酵产糖化酶工艺条件研究^[17]中,米根霉在32℃条件下发酵产糖化酶活力最高,与本研究相符。因此在设计响应面实验时,选用31、33、35℃三个培养温度。

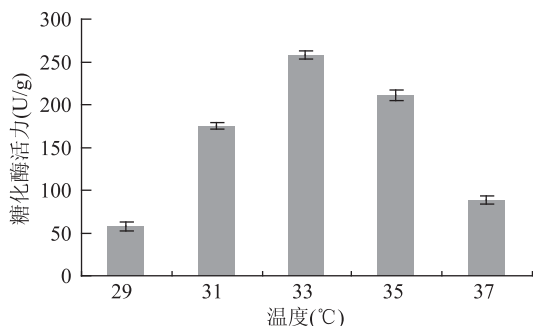


图3 温度对米根霉菌糖化酶活力的影响

Fig.3 Effect of culture temperature on glucoamylase activity of *Rhizopus oryzae*

2.2 响应面实验

该响应面实验共包含15个实验点,这15个实验

点大体可分为两类:一类是析因点,是自变量取值在正方体棱的中间处的实验点,共有12个;另一类是零点,是自变量取值在正方体中心的实验点,零点实验共重复3次,用来估计实验误差。

表2 响应面实验设计及结果

Table 2 Experiment design and result of response surface

实验号	A 温度(°C)	B 接种量(mL/瓶)	C 培养时间(h)	Y 糖化酶活力(U/g)
1	-1	-1	0	16.69
2	1	-1	0	23.20
3	-1	1	0	16.74
4	1	1	0	101.48
5	-1	0	-1	17.07
6	1	0	-1	16.99
7	-1	0	1	211.66
8	1	0	1	101.48
9	0	-1	-1	11.60
10	0	1	-1	63.79
11	0	-1	1	159.47
12	0	1	1	234.86
13	0	0	0	268.96
14	0	0	0	276.05
15	0	0	0	246.46

利用 Design-Expert 软件对实验数据进行二次回归分析,最终得到的回归方程为: $Y = 263.82 - 2.38A + 25.74B + 74.75C + 19.56AB - 27.52AC + 5.80BC - 127.46A^2 - 96.83B^2 - 49.56C^2$, $R^2 = 0.9605$ 。然后,对回归模型进行方差分析,结果见表3。

从表3可以看出,此模型的 $p < 0.01$,说明该响应面回归模型达到极显著水平。其决定系数 $R^2 = 0.9605$,表明模型中96.05%的数据可用这个模型解释。本实验所建模型中 C 、 A^2 、 B^2 、 C^2 对糖化酶活力的影响显著($p < 0.05$),失拟项数据分析表明该模型失拟不显著,因此该二次模型能够较好地拟合真实的响应面数据。

2.2.1 模型分析讨论 利用 Design-Expert 8.0.6 软件对实验数据进行处理,得到响应曲面(RSM)的三维图,其综合反映了各变量与响应值之间、变量与变量之间的关系。

培养温度和接种量的交互作用:由图4可知,响应曲面的坡度较为陡峭,表明响应值(糖化酶活力)对培养温度和接种量的改变较为敏感。从等高线图可以看出两个因素的交互作用较弱,对糖化酶活力的影响不显著。

培养温度和培养时间的交互作用:由图5可知,响应曲面的坡度较为陡峭,表明响应值(糖化酶活力)对培养温度和培养时间的改变较为敏感。当培养时间保持不变时,随着培养温度的升高,糖化酶活力先快速升高再缓慢下降;当培养温度保持恒定时,随着培养时间的延长,糖化酶活力先快速增加而后趋于平稳。从等高线图可以看出两个因素的交互作用较弱,对糖化酶活力的影响不显著。

表3 回归模型的方差分析

Table 3 ANOVA for response surface quadratic model

来源	平方和	自由度	均方	F 值	p	显著性
模型	1.47E + 05	9	16340.32	13.49	<0.01	极显著
A 培养温度	45.17	1	45.17	0.037	0.85	不显著
B 接种量	5299.87	1	5299.87	4.38	0.09	不显著
C 培养时间	44703.49	1	44703.49	36.91	<0.01	极显著
AB	1529.98	1	1529.98	1.26	0.31	不显著
AC	3030.50	1	3030.50	2.50	0.17	不显著
BC	134.56	1	134.56	0.11	0.75	不显著
A ²	59988.17	1	59988.17	49.54	<0.01	极显著
B ²	34621.34	1	34621.34	28.59	<0.01	极显著
C ²	9069.18	1	9069.18	7.49	0.04	显著
残差	6054.94	5	1210.99	-	-	
失拟项	5577.58	3	1859.19	7.79	0.12	不显著
纯误差	477.36	2	238.68	-	-	
总计	1.53E + 05	14	-	-	-	

注: $R^2 = 0.9605$; $p < 0.01$ 为极显著, 用 ** 表示; $0.01 < p < 0.05$ 为显著, 用 * 表示; $p > 0.05$ 为不显著。

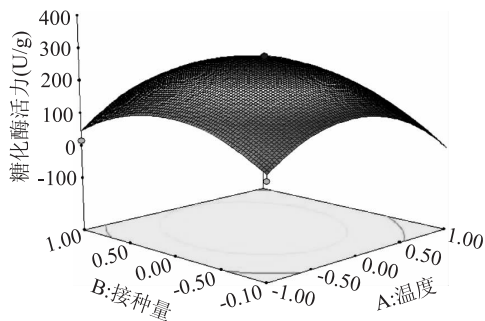


图4 培养温度和接种量的响应面

Fig.4 Response surface plot of the culture temperature and inoculation quantity

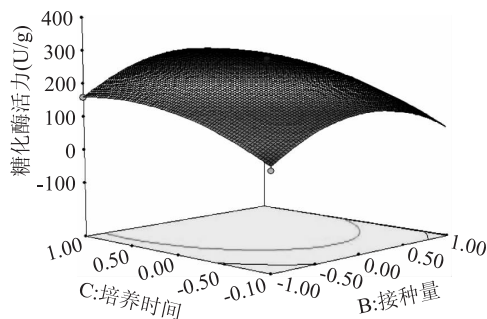


图6 接种量和培养时间的响应面

Fig.6 Response surface plot of the inoculation quantity and culture time

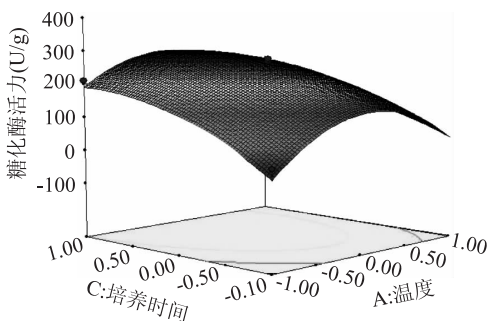


图5 培养温度和培养时间的响应面

Fig.5 Response surface plot of the culture temperature and culture time

接种量和培养时间的交互作用: 由图6可知, 响应曲面的坡度较为陡峭, 表明响应值(糖化酶活力)对接种量和培养时间的改变较为敏感。从等高线图可以看出两个因素的交互作用较弱, 对糖化酶活力的影响不显著。

2.2.2 验证实验 在以上实验结果分析及模型拟合的基础上, 利用“Design - Expert”软件中的 Optimization 功能对制曲工艺进行优化, 得到其最佳工艺条件为: 培养温度 32.84 °C, 接种量 0.56 mL/瓶, 培

养时间 4.79 d。在此条件下糖化酶活力的预测值为 295.20 U/g。在最佳培养条件下(33 °C、0.6 mL/瓶、115 h, 实际实验参数)对预测值进行验证, 实际测得的糖化酶活力为(290.46 ± 4.4) U/g, 与计算机预测值基本一致, 表明预测值和真实值之间拟合较好, 验证了模型的可靠性。

王新惠等^[6]曾利用黄豆粉麸皮液体培养基对米根霉产糖化酶的发酵条件作了研究, 其糖化酶活力最高达到 135 U/g, 远低于本实验最佳工艺下的糖化酶活力。对实验过程分析后发现, 二者所采用的培养基存在较大的区别。在刘达玉等的实验中以黄豆粉和麸皮为培养料, 并制成液体培养基进行振荡发酵培养; 而在本实验中则是用籼米固体培养基以恒温静置的方式培养。因此推断, 与王新惠等的实验结果相比较, 本研究在培养基上的巨大差异应为实验结果区别较大的主要原因。

3 结论

通过 BBD 响应面实验对影响米根霉(CICC 40467) 糖化酶活力的 3 个主要因素(培养温度、培养时间、接种量)及制曲的最佳工艺条件进行了研究, 结果显示回归模型是显著的。利用“Design -

Expert”软件中的 Optimization 功能对制曲工艺进行优化,得到其最佳工艺条件为:培养温度 33 ℃,接种量 0.6 mL/瓶,培养时间 115 h。在此条件下糖化酶活力的预测值为 295.2 U/g。在本实验最佳培养条件下对预测值进行验证,实际测得的糖化酶活力为 290.5 U/g,与模型预测值基本一致,从而验证了模型的可靠性。

随着白酒行业的发展,纯种根霉酒曲替代传统小曲应用于小曲酒的生产势不可挡,在这种情况下,必然会有越来越多的小曲酒企业应用这种工艺。在这种背景下,本实验达到了预期的效果,同时为接下来的纯种根霉酒曲酿酒实验奠定了基础。

参考文献

- [1] 谭映月,胡萍,谢和.我国白酒酿造微生物多样性的研究现状及展望[J].酿酒科技,2011,(11):100-105.
- [2] Lv XC, Huang ZQ, Zhang W, et al. Identification and characterization of filamentous fungi isolated from fermentation starters for Hong Qu glutinous rice wine brewing[J].The Journal of General and Applied Microbiology,2012,58(1):33-42.
- [3] 于博,董开发,张凤英.广东肇县传统酒曲优势霉菌的分离及鉴定[J].中国食品学报,2007,(1):95-98.
- [4] Hye - Ryun Kim, Jae - Ho Kim, Dong - Hoon Bai, et al. Identification and characterization of useful fungi with α -amylase activity from the Korean traditional Nuruk[J].Mycobiology,2011,39(4):278-282.
- [5] 王新惠,李再新,刘达玉,等.米根霉糖化酶酶促反应条件

的研究[J].食品科技,2008,(5):26-29.

- [6] 王新惠,刘达玉.米根霉产糖化酶发酵条件的研究[J].中国酿造,2009,(9):85-87.
- [7] 徐成勇,郭波,周莲,等.酿酒小曲研究进展[J].食品与发酵工业,2002,28(3):72-75.
- [8] 龙可,赵中开,马莹莹,等.酿酒根霉菌研究进展[J].现代食品科技,2013,29(2):443-447.
- [9] 李云雁,胡传荣.实验设计与数据处理[M].北京:化学工业出版社,2008.
- [10] 徐向宏,何明珠.实验设计与 Design-Expect、SPSS 应用[M].北京:科学出版社,2010.
- [11] 刘寅,张永光,张汝兵,等.响应面法优化产酸丙酸杆菌丙酸发酵条件的研究[J].食品工业科技,2010,(5):167-170.
- [12] 杨建刚,赵中开,马莹莹.纯种米根霉种曲的制备及工艺条件优化[J].酿酒科技,2014,(9):33-41.
- [13] 沈怡方.白酒生产技术全书[M].北京:中国轻工业出版社,2014:618-619.
- [14] GB8267-2006:食品添加剂-糖化酶制剂.中华人民共和国国家标准,2006.
- [15] 叶磊.小曲中优良根霉的分离筛选及产酶条件研究[D].西南大学,2009.
- [16] Ali Oguz Büyükkileci, Haluk Hamamci, Meral Yucel. Lactate and ethanol production by Rhizopus oryzae ATCC 9363 and activities of related pyruvate branch point enzymes[J]. Journal of Bioscience and Bioengineering, 2006, (102):464-466.
- [17] 林晓庆,黄志清,刘志彬,等.米根霉液态发酵产糖化酶工艺条件研究[J].酿酒科技,2014,(9):9-13.

(上接第 231 页)

- [3] 石恩慧,李红,谷明灿,等.响应面法优化超声提取板栗总苞多酚工艺条件[J].中国食品学报,2013,13(5):69-76.
- [4] 吕惠卿,吴晓莉.木槿花总黄酮超声提取工艺的优化[J].中国中医药科技,2009,16(6):461-463.
- [5] 张婕,李瑞光,陈卫航.木槿花中原花青素的提取工艺研究[J].郑州大学学报,2009,30(4):53-57.
- [6] 蔡定建,戎敢,靖青秀,等.木槿花挥发油化学成分的 GC/MS 分析[J].中国农学通报,2009,25(21):93-96.
- [7] 金月亭,应铁进.木槿花生物活性的初步研究[J].中国食品学报,2008,8(3):37-41.
- [8] Yun B S, Ryo I J, Hibispeptin B. A novel cyclic peptide from hibiscus syriacus[J]. Tetrahedron, 1998, 54:15155-15160.
- [9] Chang Y C, Huang K X. Hibiscus anthocyanins-rich extract inhibited LDL oxidation and oxLDL-mediated macrophages apoptosis[J]. Food and Chemical Toxicology, 2006, 44: 1015-1023.
- [10] Christian K P, Nair M G. Antioxidant and cytochrome P-450 inhibitory activity of sorrel[J]. Journal of Food Composition and Analysis, 2006, 19:778-783.
- [11] Folashade B Awe, Tayo Nathaniel Fagbemi, Beatrice Olawunmi T. Ifesan, et al. Antioxidant properties of cold and hot water extracts of cocoa, Hibiscus flower extract, and ginger beverage blends[J]. Food Research International, 2013, 52(2): 490-495.
- [12] 付婧,岳田利,袁亚宏,等.真空耦合超声提取茶多酚的工艺研究[J].西北农林科技大学学报,2013,41(3):172-178.

- [13] 令博,王捷,吴洪斌,等.葡萄皮渣多酚超声波辅助提取工艺响应面法优化及抗氧化活性研究[J].食品科学,2011,32(18):24-29.
- [14] 房玉林,齐迪,郭志君,等.超声波辅助法提取石榴皮中总多酚工艺[J].食品科学,2012,33(6):115-118.
- [15] 夏季,郑炯,陈光静,等.响应面法优化超声辅助提取野木瓜多酚工艺[J].食品工业科技,2014,35(21):253-258.
- [16] 李颖畅,张笑,吕艳芳,等.响应面优化超声波辅助提取紫菜多酚[J].中国食品学报,2014,14(9):82-89.
- [17] 周丽萍,杨瑞华,张悦.响应面法优化研磨珠辅助超声波萃取苹果多酚的工艺研究[J].食品工业科技,2012,33(21):277-281.
- [18] 缪晓平,邓开野,谭梅唇,等.苹果渣中多酚物质的提取工艺研究[J].安徽农业科学,2012,38(20):11004-11005.
- [19] 包怡红,王硕,王文琼,等.超声波酶法提取红松树皮中多酚类化合物的研究[J].食品工业科技,2013(3):232-236.
- [20] 王雅,樊明涛,赵萍,等.沙枣多酚超声波辅助提取工艺优化及抗氧化性研究[J].中国食品学报,2011,11(2):95-102.
- [21] 白雪莲,岳田利,章华伟,等.响应面法优化微波辅助提取苹果渣多酚工艺研究[J].中国食品学报,2010,10(4):169-176.
- [22] 李珍,哈益明,李安,等.响应面优化苹果皮渣多酚超声提取工艺研究[J].中国农业科学,2013,46(21):4569-4577.
- [23] 李颖畅,张笑,吕艳芳,等.响应面优化超声波辅助提取紫菜多酚[J].中国食品学报,2014,14(9):82-89.