

综合利用

# 超声波辅助纤维素酶提取牡丹籽饼中多糖 及其清除自由基活性研究

陈程,张存劳,罗国平,闫梦茹,李娜

(西安医学院药学院,西安710021)

**摘要:**采用超声波辅助纤维素酶提取牡丹籽饼中多糖。在单因素试验的基础上,采用PB设计对影响多糖提取量的9个因素(pH、加酶量、酶解时间、酶解温度、超声时间、超声功率、超声温度、液料比、粒度)进行显著性分析。通过BBD响应面法优化最佳提取工艺条件。采用清除DPPH自由基活性评价牡丹籽饼中多糖的抗氧化能力。结果表明,牡丹籽饼中多糖的最佳提取工艺条件为:加酶量0.45%,酶解时间60 min,酶解温度45℃,pH 4.5,超声时间19 min,超声功率300 W,超声温度40℃,液料比19:1,粒度60目。在最佳工艺条件下,牡丹籽饼中多糖提取量为196.87 mg/g。牡丹籽多糖具有一定DPPH自由基清除能力,但弱于 $V_c$ ,其 $IC_{50}$ 值为31.19  $\mu\text{g/mL}$ 。

**关键词:**牡丹籽饼;多糖;自由基清除能力;超声波辅助提取;PB试验;BBD响应面法

**中图分类号:**TS229;O426.9 **文献标识码:**A **文章编号:**1003-7969(2018)04-0119-06

## Ultrasound-assisted cellulose extraction of polysaccharide from peony seed cake and its free radical scavenging activity

CHEN Cheng, ZHANG Cunlao, LUO Guoping, YAN Mengru, LI Na

(Pharmaceutical Institute, Xi'an Medical University, Xi'an 710021, China)

**Abstract:** The ultrasound-assisted cellulose extraction of polysaccharide from peony seed cake was optimized. According to single factor experiment, the significances of nine factors (pH, cellulase dosage, enzymolysis time, enzymolysis temperature, ultrasonic time, ultrasonic power, ultrasonic temperature, ratio of liquid to solid and particle size) affected the extraction quantity of polysaccharide were evaluated by PB design. Then the extraction conditions were optimized by BBD response surface methodology, and the antioxidant activity of peony seed polysaccharide was evaluated by DPPH method. The results showed that the optimal extraction conditions of polysaccharide from the peony seed cake were obtained as follows: pH 4.5, cellulase dosage 0.45%, enzymolysis time 60 min, enzymolysis temperature 45℃, ultrasonic time 19 min, ultrasonic power 300 W, ultrasonic temperature 40℃, ratio of liquid to solid 19:1 and particle size 60 meshes. Under these conditions, the extraction quantity of polysaccharide was 196.87 mg/g. The peony seed polysaccharide had certain scavenging activity on DPPH free radical with  $IC_{50}$  31.19  $\mu\text{g/mL}$ , but the scavenging activity was weaker than that of  $V_c$ .

**Key words:** peony seed cake; polysaccharide; free radical scavenging activity; ultrasound-assisted extraction; PB design; BBD response surface methodology

收稿日期:2017-07-05;修回日期:2017-11-29

基金项目:陕西省教育厅2017自然专项(17JK0649);西安医学院学科建设资助(1007)

作者简介:陈程(1987),男,讲师,硕士,研究方向为中药药效物质基础和剂型改革研究(E-mail) xayxychencheng@163.com。

牡丹籽油已被国家批准为新资源食品,其不饱和脂肪酸含量为82.81%~93.23%,且 $\alpha$ -亚麻酸含量(32%~67%)明显高于其他普通食用植物油<sup>[1-4]</sup>。牡丹籽饼为牡丹籽油经压榨后的副产品,富含蛋白质、糖类化合物、多酚等多种活性成分<sup>[5]</sup>。多糖广泛存在于植物体内,具有抑制肿瘤、

增强机体免疫、抗氧化、调节血糖血脂、抗病毒等生理活性<sup>[6-8]</sup>。常用的多糖提取方法有回流法<sup>[9]</sup>、超临界 CO<sub>2</sub> 萃取法<sup>[8]</sup>、超声波提取法<sup>[10]</sup>等,其中超声波提取法具有效率高、温度低等特点<sup>[11]</sup>。在多糖提取过程中加入纤维素酶可以提高细胞膜和细胞壁的通透性,进而加速细胞内溶物的溶出,并且安全易控<sup>[12]</sup>。因此,本研究采用超声波辅助纤维素酶提取牡丹籽饼中多糖,在此基础上进行 DPPH 自由基清除活性试验,研究结果为牡丹籽饼中多糖的利用开发提供试验依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验材料

#### 1.1.1 原料与试剂

牡丹籽饼:牡丹种子不脱壳经压榨法提油后的剩余部分;纤维素酶:国药集团化学试剂有限公司;DPPH:梯希爱化成工业发展有限公司;V<sub>C</sub>:北京索莱宝科技有限公司;D-葡萄糖对照品:上海源叶生物科技有限公司;其他试剂均为分析纯。

#### 1.1.2 仪器与设备

Cary60 型紫外分光光度仪:Agilent Technologies UV-Vis;BT125 型电子分析天平;KH7200DB 型数控超声波清洗器。

### 1.2 试验方法

#### 1.2.1 牡丹籽饼中多糖的提取

将牡丹籽饼置于 50℃ 真空干燥箱内 6 h,将其粉碎按照试验安排进行酶解,酶解后 88℃ 下灭酶 10 min,再按照超声工艺条件进行提取,提取液 3 000 r/min 离心 15 min,上清液即为多糖提取液。

#### 1.2.2 多糖含量的测定

精密称定 D-葡萄糖对照品适量,分别用蒸馏水配制成 0.1、0.2、0.3、0.4、0.5、0.6 mg/mL 的对照品溶液,采用苯酚-硫酸法<sup>[13]</sup>显色,并测得吸光度,以 D-葡萄糖质量浓度(C)为横坐标,吸光度(A)为纵坐标,绘制标准曲线,得回归方程: $A = 20.09C + 0.0069$ , $r = 0.9993$ 。样品采用上述显色方法并测定多糖含量,多糖提取量按下式计算:

$$Y = \frac{m}{M}$$

式中:Y 为牡丹籽饼中多糖提取量,mg/g;m 为多糖含量,mg;M 为牡丹籽饼的质量,g。

#### 1.2.3 对 DPPH 自由基的清除活性试验

按照优化工艺条件得多糖提取液,低温减压浓缩至 0.5 g/mL,加入等量无水乙醇,边加边搅拌,4℃ 条件下静置 24 h,收集沉淀,60℃ 减压干燥得粗多糖,备用。参照文献<sup>[14]</sup>测定方法,以 V<sub>C</sub> 为对

照,测定粗多糖对 DPPH 自由基清除活性,并计算 IC<sub>50</sub>(半数抑制浓度)。

## 2 结果与分析

### 2.1 单因素试验

#### 2.1.1 加酶量对多糖提取量的影响

固定其他条件为:粒度 20 目、pH 5.0、液料比 20:1、酶解温度 50℃、酶解时间 60 min、超声功率 200 W、超声温度 60℃、超声时间 30 min,考察加酶量对多糖提取量的影响。结果见图 1。

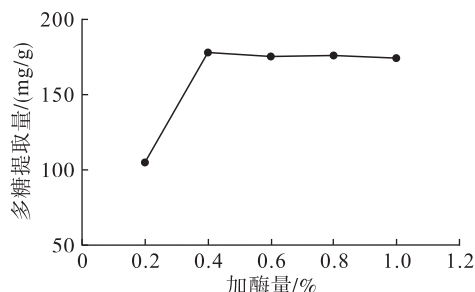


图 1 加酶量对多糖提取量的影响

由图 1 可知,随着加酶量增加,多糖提取量呈先增大后平缓的趋势,当加酶量为 0.4% 时多糖提取量最大。可能是纤维素酶破坏细胞壁,加速多糖的溶出。当加酶量大于 0.4% 时,多糖提取量趋于平缓,可能是底物已经处于酶饱和状态。因此,确定加酶量为 0.4%。

#### 2.1.2 酶解时间对多糖提取量的影响

固定其他条件:粒度 20 目、pH 5.0、加酶量 0.4%、液料比 20:1、酶解温度 50℃、超声功率 200 W、超声温度 60℃、超声时间 30 min,考察酶解时间对多糖提取量的影响。结果见图 2。

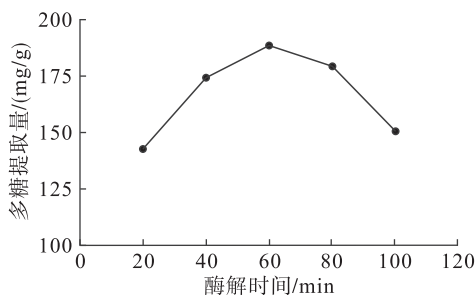


图 2 酶解时间对多糖提取量的影响

由图 2 可知,随着酶解时间延长,多糖提取量呈先增大后减小的趋势,当酶解时间达 60 min 时多糖提取量达最大,可能是纤维素酶逐渐水解牡丹籽饼,多糖持续溶出。当酶解时间超过 60 min 时多糖提取量下降,可能为已溶出的多糖结构发生破坏。因此,确定酶解时间为 60 min。

#### 2.1.3 酶解温度对多糖提取量的影响

固定其他条件:粒度 20 目、pH 5.0、加酶量

0.4%、液料比 20:1、酶解时间 60 min、超声功率 200 W、超声温度 60 ℃、超声时间 30 min,考察酶解温度对多糖提取量的影响。结果见图 3。

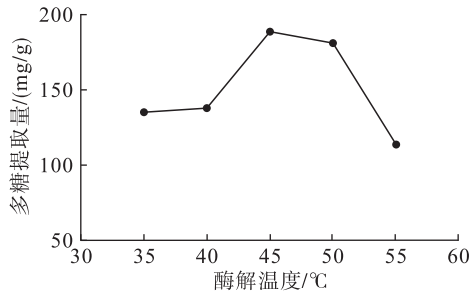


图3 酶解温度对多糖提取量的影响

由图 3 可知,随着酶解温度的升高,多糖提取量呈先增大后减小的趋势,当酶解温度达 45 ℃ 时多糖提取量达最大值。纤维素酶在不同的温度下活性不同,当酶解温度达到 45 ℃ 时,纤维素酶的活性最大;当酶解温度超过 45 ℃ 时,纤维素酶的活性减小,进而影响多糖的溶出。因此,确定酶解温度为 45 ℃。

#### 2.1.4 pH 对多糖提取量的影响

固定其他条件:粒度 20 目、加酶量 0.4%、液料比 20:1、酶解温度 50 ℃、酶解时间 60 min、超声功率 200 W、超声温度 60 ℃、超声时间 30 min,考察 pH 对多糖提取量的影响。结果见图 4。

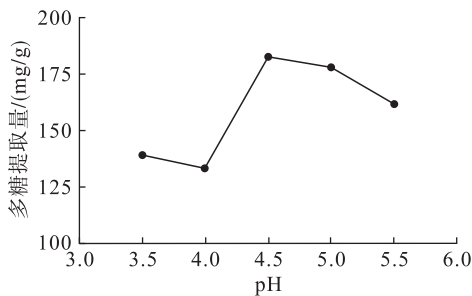


图4 pH 对多糖提取量的影响

由图 4 可知,多糖提取量随 pH 增大整体呈先增大后减小趋势,当 pH 为 4.5 时,纤维素酶活性最大,多糖提取量最大。因此,确定 pH 为 4.5。

#### 2.1.5 超声时间对多糖提取量的影响

固定其他条件:粒度 20 目、pH 5.0、加酶量 0.4%、液料比 20:1、酶解温度 50 ℃、酶解时间 60 min、超声功率 200 W、超声温度 60 ℃,考察超声时间对多糖提取量的影响。结果见图 5。

由图 5 可知,随着超声时间的延长,多糖提取量呈先增大后减小的趋势,当超声时间达 20 min 时,多糖提取量达最大值。继续延长超声时间,多糖提取量减小,可能是多糖在长时间超声作用下结构发生变化。因此,确定超声时间为 20 min。

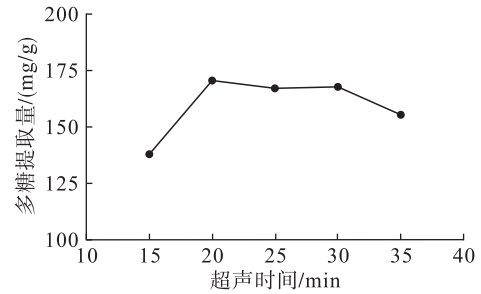


图5 超声时间对多糖提取量的影响

#### 2.1.6 超声温度对多糖提取量的影响

固定其他条件:粒度 20 目、pH 5.0、加酶量 0.4%、液料比 20:1、酶解温度 50 ℃、酶解时间 60 min、超声功率 200 W、超声时间 30 min,考察超声温度对多糖提取量的影响。结果见图 6。

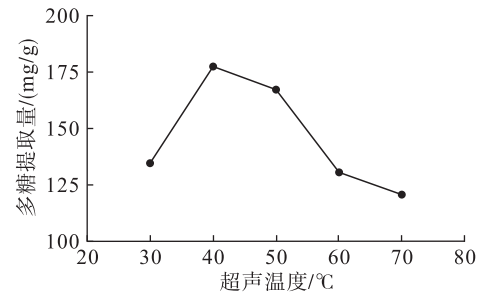


图6 超声温度对多糖提取量的影响

由图 6 可知,超声温度对多糖提取量影响较大,整体呈先增大后减小趋势,当超声温度达 40 ℃ 时,多糖提取量达最大值。可能是超声温度升高,细胞内多糖成分运动加速,进而增加多糖提取量,当超声温度超过 40 ℃ 时多糖提取量降低,可能是溶出的多糖在较高超声温度条件下结构受到破坏。因此,确定超声温度为 40 ℃。

#### 2.1.7 超声功率对多糖提取量的影响

固定其他条件:粒度 20 目、pH 5.0、加酶量 0.4%、液料比 20:1、酶解温度 50 ℃、酶解时间 60 min、超声温度 60 ℃、超声时间 30 min,考察超声功率对多糖提取量的影响。结果见图 7。

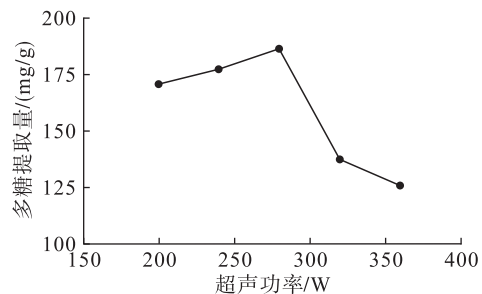


图7 超声功率对多糖提取量的影响

由图 7 可知,超声功率为 280 W 时,多糖提取量达最大值,可能是超声功率大,所具有的能量较大,从而加速多糖溶出;当超声功率过大时,多糖结

构易受到破坏。因此,确定超声功率为 280 W。

### 2.1.8 液料比对多糖提取量的影响

固定其他条件:粒度 20 目、pH 5.0、加酶量 0.4%、酶解温度 50℃、酶解时间 60 min、超声功率 200 W、超声温度 60℃、超声时间 30 min,考察液料比对多糖提取量的影响。结果见图 8。

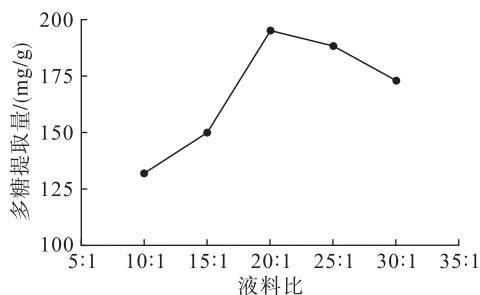


图 8 液料比对多糖提取量的影响

由图 8 可知,随着液料比的增加,多糖提取量呈先增大后减小的趋势,当液料比达 20:1 时,多糖提取量达最大值,可能是溶剂的增加使细胞内外浓度差增加,进而提高多糖提取量;当液料比继续增加时,多糖提取量减小,原因为溶剂的增加,消耗更多的能量。因此,确定液料比为 20:1。

### 2.1.9 粒度对多糖提取量的影响

固定其他条件:pH 5.0、加酶量 0.4%、液料比 20:1、酶解温度 50℃、酶解时间 60 min、超声功率 200 W、超声温度 60℃、超声时间 30 min,考察粒度对多糖提取量的影响。结果见图 9。

由图 9 可知,随着目数的增大,多糖提取量呈先增大后减小的趋势,当粒度达 60 目时多糖提取量达

最大值。可能是适宜粒度加大溶剂和牡丹籽饼、纤维素酶和细胞壁接触面,进而加速多糖溶出。当粒度超过 60 目时,过细的牡丹籽饼黏附并沉淀在瓶底,导致溶剂和牡丹籽饼接触不充分、纤维素酶和细胞壁接触不充分、胞内外浓度差小,进而导致多糖提取量小。因此,确定粒度为 60 目。

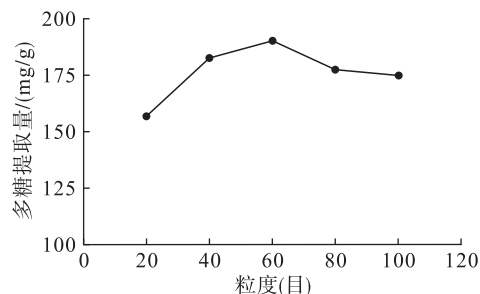


图 9 粒度对多糖提取量的影响

## 2.2 PB 试验

结合单因素试验结果,运用 Design - Expert 8.0.6 软件设计 12 次的 PB 试验,对加酶量(A)、酶解时间(B)、酶解温度(C)、pH(D)、超声时间(E)、超声功率(F)、超声温度(G)、液料比(H)、粒度(I)9 个因素进行多糖提取量(Y)的显著性考察,每个因素设高低两个水平。PB 试验因素水平见表 1, PB 试验设计及结果见表 2, PB 试验模型方差分析见表 3。由表 3 可知,加酶量、超声时间、超声功率、液料比对多糖提取量影响显著,因此选择加酶量(A)、超声时间(E)、超声功率(F)、液料比(H)作为响应面模型的考察因素。

表 1 PB 试验因素水平

水平	A/%	B/min	C/℃	D	E/min	F/W	G/℃	H	I(目)
-1	0.2	40	40	4.0	15	240	30	15:1	40
1	0.6	80	50	5.0	25	320	50	25:1	80

表 2 PB 试验设计及结果

试验号	A	B	C	D	E	F	G	H	I	Y/(mg/g)
1	1	1	-1	1	1	1	-1	-1	-1	161.7
2	-1	1	1	-1	1	1	1	-1	-1	160.3
3	1	-1	1	1	-1	1	1	1	-1	170.8
4	-1	1	-1	1	1	-1	1	1	1	166.6
5	-1	-1	1	-1	1	1	-1	1	1	190.9
6	-1	-1	-1	1	-1	1	1	-1	1	107.0
7	1	-1	-1	-1	1	-1	1	1	-1	170.0
8	1	1	-1	-1	-1	1	-1	1	1	180.6
9	1	1	1	-1	-1	-1	1	-1	1	140.2
10	-1	1	1	1	-1	-1	-1	1	-1	127.9
11	1	-1	1	1	1	-1	-1	-1	1	147.9
12	-1	-1	-1	-1	-1	-1	-1	-1	-1	90.9

表 3 PB 试验模型方差分析

项目	平方和	自由度	均方	F	P
模型	9 778.84	9	1 086.54	23.14	0.042 1*
A	1 356.81	1	1 356.81	28.89	0.032 9*
B	298.00	1	298.00	6.35	0.128 0
C	312.12	1	312.12	6.65	0.123 3
D	216.75	1	216.75	4.62	0.164 7
E	2 700.00	1	2 700.00	57.49	0.017 0*
F	1 361.07	1	1 361.07	28.98	0.032 8*
G	18.75	1	18.75	0.40	0.592 1
H	3 293.45	1	3 293.45	70.13	0.014 0*
I	221.88	1	221.88	4.72	0.161 8
残差	93.93	2	46.97		
总离差	9 872.77	11			

注: \*  $P < 0.05$ 。下同。

## 2.3 BBD 响应面试验

### 2.3.1 BBD 响应面试验设计

根据单因素试验和 PB 试验结果,固定其他因素的条件:粒度 60 目、pH 4.5、酶解时间 60 min、酶解温度 45 °C、超声温度 40 °C。选取加酶量(A)、超声时间(E)、超声功率(F)、液料比(H)为自变量,多糖提取量(Y)为因变量。运用 Design - Expert8.0.6 软件设计响应面试验,每个因素设高、中、低 3 水平,响应面试验因素水平见表 4,共设计 29 组试验,其中重复性试验 5 组。响应面试验设计及结果见表 5。

表 4 响应面试验因素水平

水平	A/%	E/min	F/W	H
-1	0.2	15	240	15:1
0	0.4	20	280	20:1
1	0.6	25	320	25:1

表 5 响应面试验设计及结果

试验号	A	E	F	H	Y/(mg/g)
1	-1	-1	0	0	142.1
2	1	-1	0	0	175.1
3	-1	1	0	0	146.6
4	1	1	0	0	149.7
5	0	0	-1	-1	171.4
6	0	0	1	-1	181.6
7	0	0	-1	1	143.2
8	0	0	1	1	164.2
9	-1	0	0	-1	162.8
10	1	0	0	-1	165.0
11	-1	0	0	1	136.1
12	1	0	0	1	161.1
13	0	-1	-1	0	169.3
14	0	1	-1	0	141.5
15	0	-1	1	0	176.7
16	0	1	1	0	164.7
17	-1	0	-1	0	148.5
18	1	0	-1	0	158.1
19	-1	0	1	0	152.6
20	1	0	1	0	176.0
21	0	-1	0	-1	161.1
22	0	1	0	-1	134.7
23	0	-1	0	1	129.5
24	0	1	0	1	127.7
25	0	0	0	0	194.8
26	0	0	0	0	187.3
27	0	0	0	0	186.2
28	0	0	0	0	191.5
29	0	0	0	0	193.2

### 2.3.2 响应面模型建立和分析

运用 Design - Expert8.0.6 软件对试验结果进行分析,得因变量与自变量的回归方程为:  $Y = 19.06 + 0.80A - 0.74E + 0.70F - 0.96H - 0.75AE + 0.35AF + 0.57AH + 0.39EF + 0.61EH + 0.27FH - 1.69A^2 - 2.38E^2 - 0.76F^2 - 2.13H^2$ 。

响应面试验模型方差分析见表 6。由表 6 可知,模型  $P < 0.0001$ ,说明模型具有显著性,能较好反应考察因素与响应值之间的关系,拟合度好。失拟项不显著( $P = 0.0613$ ),表明模型误差较小。采用 Design - Expert8.0.6 软件对各因素水平进行优化预测,得到的工艺条件为加酶量 0.45%、超声时间 18.94 min、超声功率 295.95 W、液料比 19.07:1,在此条件下多糖提取量预测值为 194.8 mg/g。考虑到实际操作的问题将工艺条件调整为:加酶量 0.45%,超声时间 19 min,超声功率 300 W,液料比 19:1。在最佳工艺条件下进行 3 组平行试验,经测定多糖提取量平均值为 196.87 mg/g,与预测值相近,相对误差为 1.06%。

表 6 响应面试验模型方差分析

项目	平方和	自由度	均方	F	P
模型	99.81	14	7.13	12.65	<0.0001*
A	7.73	1	7.73	13.71	0.0024*
E	6.59	1	6.59	11.69	0.0042*
F	5.85	1	5.85	10.38	0.0061*
H	10.98	1	10.98	19.49	0.0006*
AE	2.24	1	2.24	3.97	0.0663
AF	0.48	1	0.48	0.84	0.3736
AH	1.30	1	1.30	2.31	0.1511
EF	0.62	1	0.62	1.11	0.3105
EH	1.51	1	1.51	2.68	0.1236
FH	0.29	1	0.29	0.52	0.4838
A <sup>2</sup>	18.51	1	18.51	32.84	<0.0001*
E <sup>2</sup>	36.64	1	36.64	65.01	<0.0001*
F <sup>2</sup>	3.78	1	3.78	6.70	0.0215*
H <sup>2</sup>	29.44	1	29.44	52.24	<0.0001*
残差	7.89	14	0.56		
失拟项	7.34	10	0.73	5.29	0.0613
误差	0.55	4	0.14		
总离差	107.70	28			

## 2.4 对 DPPH 自由基的清除活性(见图 10)

由图 10 可知,  $V_c$ 、粗多糖对 DPPH 自由基具有一定的清除作用,随着样品质量浓度的增加清除率呈先增加后平缓的趋势。牡丹籽粗多糖对 DPPH 自由基的清除能力弱于  $V_c$ ,  $V_c$  的  $IC_{50}$  值为 8.13  $\mu\text{g/mL}$ ,牡丹籽粗多糖的  $IC_{50}$  值为 31.19  $\mu\text{g/mL}$ 。



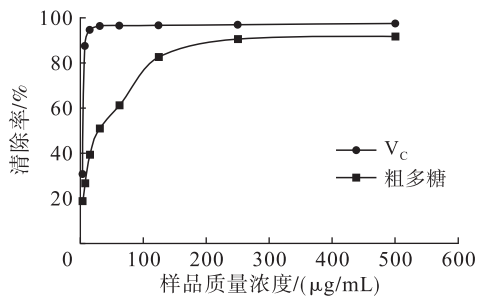


图 10 对 DPPH 自由基清除能力

### 3 结论

在单因素试验基础上,采用 PB 设计结合响应面法优化牡丹籽饼中多糖的提取工艺。最终确定提取工艺条件为:加酶量 0.45%,酶解时间 60 min,酶解温度 45 $^{\circ}\text{C}$ ,pH4.5,液料比 19:1,超声温度 40 $^{\circ}\text{C}$ ,超声时间 19 min,超声功率 300 W,粒度 60 目。在该条件下,牡丹籽饼中多糖提取量为 196.87 mg/g。牡丹籽饼中粗多糖具有一定 DPPH 自由基清除能力,其  $IC_{50}$  值为 31.19  $\mu\text{g/mL}$ 。研究结果为牡丹籽饼中多糖的开发利用和工业化生产提供试验依据。

### 参考文献:

[1] 朱献标,翟文婷,董秀勋,等. 牡丹籽油化学成分及功能研究进展[J]. 中国油脂,2014,39(1):88-90.  
 [2] 程安玮,孙金月,王维婷,等. 牡丹籽油的研究进展[J]. 食品科学技术学报,2016,34(3):79-84.  
 [3] 毛善巧,李西俊. 牡丹籽油的研究进展及油用牡丹资源综合利用价值分析[J]. 中国油脂,2017,42(5):123-126.

(上接第 113 页)

[5] 杜晓凤,邹宁,孙东红. 微绿球藻油脂提取方法的优化[J]. 中国油脂,2012,37(5):10-12.  
 [6] 杜晓凤,邹宁,孙东红,等. 微绿球藻富集油脂的培养条件优化[J]. 中国油脂,2012,37(12):66-69.  
 [7] 王雪青,苗惠,翟燕. 微藻细胞破碎方法的研究[J]. 天津科技大学学报,2007,22(1):21-25.  
 [8] 刘圣臣,邹宁,吴电云,等. 小球藻海藻油提取中不同破壁方法的研究[J]. 中国食品添加剂,2009(5):100-102.  
 [9] CHEN G, CHEN H. Enhancement of oil extraction from sumac fruit using steam-explosion pretreatment[J]. J Am Oil Chem Soc,2011,88(1):151-156.  
 [10] HALIM R, GLADMAN B, DANQUAH M K, et al. Oil extraction from microalgae for biodiesel production[J]. Bioresour Technol,2011,102:178-185.  
 [11] SUGANYA T, RENGANATHAN S. Optimization and kinetic studies on algal oil extraction from marine macroalgae *Ulva lactuca* [J]. Bioresour Technol, 2012, 107: 319-326.

[4] 王顺利,任秀霞,薛璟祺,等. 牡丹籽油成分、功效及加工工艺的研究进展[J]. 中国粮油学报,2016,31(3):139-146.  
 [5] 吴静义,曹丹亮,刘永刚,等. 牡丹籽饼的化学成分研究[J]. 中医药学报,2014,42(1):9-11.  
 [6] 尚庆辉,解玉怀,张桂国,等. 植物多糖的免疫调节作用及其机制研究进展[J]. 动物营养学报,2015,27(1):49-58.  
 [7] 刘正君. 植物多糖生物活性概述[J]. 海峡药学,2014,26(5):13-15.  
 [8] 张淑杰,康玉凡. 天然活性多糖研究进展[J]. 食品工业科技,2017(2):379-389.  
 [9] 李小宁,于欢,龚千锋,等. 柴胡总多糖提取工艺优化及其不同炮制品中总多糖的含量比较[J]. 中国实验方剂学杂志,2016,22(14):27-30.  
 [10] 薛菁,吴晓彤,王颖超,等. 超声波辅助提取口蘑菌丝体多糖工艺优化[J]. 食品与机械,2016,32(1):172-174.  
 [11] 钟玲,尹蓉莉,张仲林. 超声提取技术在中药提取中的研究进展[J]. 西南军医,2007,9(6):84-87.  
 [12] 李静,姚茂君,李俊,等. 响应面法优化牡丹籽油的水酶法提取工艺[J]. 中国油脂,2014,39(10):14-18.  
 [13] 蒋征,王红,吴启南. PB 试验结合 BBD 响应面优化浮萍多糖的提取工艺研究[J]. 中药材,2015,38(6):1283-1286.  
 [14] 陈程,罗国平,闫梦茹,等. 超声波-大孔树脂联用提取富集追风七总黄酮及其清除自由基活性研究[J]. 食品与机械,2016,32(12):156-160.

[12] BALASUBRAMANIAN S, ALLEN J D, KANITKAR A, et al. Oil extraction from *Scenedesmus obliquus* using a continuous microwave system - design, optimization, and quality characterization [J]. Bioresour Technol, 2011, 102: 3396-3403.  
 [13] FRANCO D, PINELO M, SINEIRO J, et al. Processing of *Rosa rubiginosa*: extraction of oil and antioxidant substances[J]. Bioresour Technol, 2007, 98: 3506-3512.  
 [14] KASHYAP M C, AGRAWAL Y C, GHOSH P K, et al. Oil extraction rates of enzymatically hydrolyzed soybeans[J]. J Food Eng, 2007, 81(3): 611-617.  
 [15] 章莹颖,邓春芳,崔岩,等. 不同方法对微藻细胞破碎及油脂提取效果的影响[J]. 中国油脂,2016,41(3):61-65.  
 [16] STRUCKAS A, VASILJEV P, BAREIKIS R, et al. Ultrasonic zeppelin-shape transducer for algae oil extraction [J]. Sensor Actuat A Phys, 2017, 263: 754-761.  
 [17] SO G C, MACDONALD D G. Kinetics of oil extraction from canola (rapeseed) [J]. Can J Chem Eng, 1986, 64(1):80-86.