

DOI: 10.16210/j.cnki.1007-7561.2021.05.017

刘霞, 方小军, 彭敏娟. 酶法辅助聚乙二醇-200 提取野菊花中绿原酸的工艺及数学模型分析[J]. 粮油食品科技, 2021, 29(5): 131-137.

LIU X, FANG X J, PENG M J. Optimization and mathematical model analysis on extraction of chlorogenic acid from *Chrysanthemum indicum* by enzyme-assisted glycol-200[J]. Science and Technology of Cereals, Oils and Foods, 2021, 29(5): 131-137.

酶法辅助聚乙二醇-200 提取野菊花中绿原酸的工艺及数学模型分析

刘霞, 方小军, 彭敏娟

(赣南医学院 药学院, 江西 赣州 341000)

摘要: 研究了酶法辅助聚乙二醇(PEG)-200 提取野菊花中绿原酸的工艺条件。以绿原酸提取率为考察指标, 纤维素酶用量、液固比、酶解温度和酶解时间为试验因素, 通过单因素试验和响应面法对提取工艺条件进行优化。在此基础上建立了不同液固比下的野菊花中绿原酸提取的4种数学模型。结果表明: 最佳工艺为纤维素酶用量0.8%, 液固比20:1(mL:g), 酶解温度55℃, 酶解时间2.5h, 在此条件下野菊花绿原酸提取率可达3.92%; Slogistic1模型可以更好地拟合数学模型过程, 是描述野菊花中绿原酸提取过程的最佳数学模型。

关键词: 野菊花; 绿原酸; 聚乙二醇; 酶法; 提取; 数学模型

中图分类号: TS201.1 文献标识码: A 文章编号: 1007-7561(2021)05-0131-07

网络首发时间: 2021-08-25 10:02:31

网络首发地址: <https://kns.cnki.net/kcms/detail/11.3863.TS.20210824.1503.030.html>

Optimization and Mathematical Model Analysis on Extraction of Chlorogenic Acid from *Chrysanthemum indicum* by Enzyme-assisted Polyethylene Glycol-200

LIU Xia, FANG Xiao-jun, PENG Min-juan

(College of Pharmacy, Gannan Medical University, Ganzhou, Jiangxi 341000, China)

Abstract: This study analyzes the extraction conditions of enzyme-assisted polyethylene glycol (PEG)-200 extraction of chlorogenic acid from *Chrysanthemum indicum*. Single factor test and response surface method are used to optimize the extraction process by employing chlorogenic acid extraction rate as inspection index, with cellulase dosage, liquid-solid ratio, enzymolysis temperature and enzymolysis time as test factors. Under the optimized extraction condition, four mathematical models of chlorogenic acid extraction from *Chrysanthemum indicum* at different liquid-solid ratios are established. The results show that the optimal extraction condition are as follows: 0.8% cellulase, with a liquid-solid ratio of 20:1(mL:g), at 55℃ enzymolysis temperature and of 2.5 hours enzymolysis time. This optimal condition brings up the extraction rate of chlorogenic acid from *Chrysanthemum indicum* to 3.92%. Slogistic1 model can simulate the mathematical model process and best describe the extraction process of chlorogenic acid from *Chrysanthemum indicum*.

Key words: *Chrysanthemum indicum*; chlorogenic acid; PEG; enzymatic method; extraction; mathematical model

收稿日期: 2021-03-18

基金项目: 江西省教育厅科技项目(GJJ190801)

Supported by: Science and Technology Project of Jiangxi Provincial Department of Education (No.GJJ190801)

作者简介: 刘霞, 女, 1980年出生, 高级实验师, 研究方向为天然药物化学。E-mail: gylx529@126.com.

野菊花(*Chrysanthemum indicum*)为多年生草本植物,多在秋冬时节初开,体轻,气芳香^[1]。具有降压、保护心血管系统、抗消化性溃疡、抗病毒等药理作用^[2-4]。

目前关于野菊花中绿原酸的提取研究多集中于不同提取工艺的优化,主要为超声法^[5]、水浴提取法^[6]及超声-微波协同萃取法^[7]等。但这些方法不仅成本高、耗时长、溶剂耗量大且提取率低。聚乙二醇(PEG)是一种成本较低、非挥发性且性质比较稳定的环境友好型溶剂^[8-9]。纤维素酶能温和有效地降解植物细胞壁,加速活性成分溶出,从而提高提取效果^[10]。采用酶法辅助 PEG-200 提取野菊花中绿原酸,并对其绿原酸提取过程进行数学模型的研究尚未见报道。本试验以野菊花为原材料,采用酶法辅助 PEG-200 超声提取法,用 Box-Behnken 中心组合设计优化提取工艺,并建立了不同液固比下绿原酸提取的数学模型,从而为野菊花资源的进一步开发利用提供技术依据。

1 材料与方 法

1.1 试验材料

野菊花药材:市售;纤维素酶(5×10^4 u/g):江苏锐阳生物科技有限公司;绿原酸对照品:天津一方科技有限公司;其他试剂均为分析纯。

SPECORD 50 PLUS 型紫外分光光谱仪:德国耶拿分析仪器股份公司;KQ-500DB 数控超声波清洗器:昆山市超声仪器有限公司;Hei-VAP Value Digital G3 旋转蒸发仪:德祥 Tengt;SHA-C 数显水浴恒温振荡器:金坛市白塔新宝仪器厂;PB-10 酸度计:赛多利斯科学仪器有限公司。

1.2 试验方法

1.2.1 标准曲线的绘制

参考文献^[11]绿原酸标准曲线测定方法,精密称取 10.16 mg 绿原酸标准品于 100 mL 容量瓶中,并用体积分数为 30% PEG-200 溶解稀释至刻度,即得 101.6 $\mu\text{g/mL}$ 的绿原酸标准溶液。分别准确吸取 0、0.3、0.6、0.9、1.2 和 1.5 mL 上述标准液,用体积分数为 30% PEG-200 稀释并定容至 10 mL,即得 0、3.12、6.23、9.35、12.47 和 15.59 $\mu\text{g/mL}$ 系列工作液。在最大吸收波长 329 nm 处测定吸光度。以吸光度 A_{329} 为纵坐标、绿原酸质量浓度 C

为横坐标,绘制标准曲线,得到标准曲线方程 $A=0.051C+0.0039$ ($R^2=0.9998$)。

1.2.2 野菊花绿原酸的提取

野菊花→烘干→粉碎→过筛→溶解(体积分数为 30%的 PEG-200)→调节 pH→酶解→超声提取→趁热过滤→滤液减压浓缩→定容

1.2.3 绿原酸提取率测定

将上述提取液按一定比例稀释后,以 30% PEG-200 为参比,按照 1.2.1 的方法测定 A 值,并计算绿原酸提取率。

1.2.4 绿原酸提取工艺优化设计

通过单因素试验考察酶用量、超声温度、液固比、酶解温度及酶解时间对野菊花绿原酸提取率的影响。其中超声温度对绿原酸提取率影响不大,拟固定超声温度为 50 $^{\circ}\text{C}$ 。利用 Design Expert8.0.6 软件进行响应面优化试验方案设计,各因素水平见表 1。

表 1 响应面试验因素水平表

Table 1 Levels of response surface test factors

水平	因素			
	酶用量 A /%	液固比 B /(mL : g)	酶解温度 C / $^{\circ}\text{C}$	酶解时间 D /h
-1	0.8	10 : 1	45	1.5
0	1.2	15 : 1	50	2.0
1	1.6	20 : 1	55	2.5

1.3 数据分析

响应面优化设计采用 Design Expert8.0.6 软件进行了试验设计与数据分析,数学模型拟合采用 Origin Pro 8.0 数据处理软件。

2 结果与分析

2.1 单因素试验

2.1.1 酶用量对绿原酸提取率的影响

由图 1 可知,在酶用量 0%~1.2%时,绿原酸提取率急剧上升;在酶用量为 1.2%时绿原酸提取率达到最大值,随后提取率开始缓缓下降。这是因为随着酶用量的增加,酶与底物接触机会增大,酶解反应速率加快;后续增加酶用量,会导致反应系统中底物浓度相对不够,酶促反应速率下降,因而绿原酸浸出率降低^[12]。因此最佳实验条件选择纤维素酶用量比例为 1.2%。

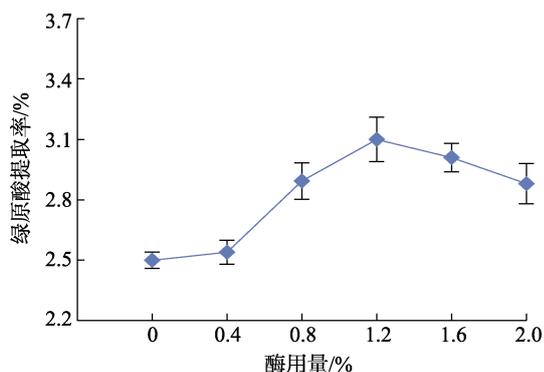


图 1 酶用量对绿原酸提取率的影响

Fig.1 Effect of enzyme dosage on extraction rate of chlorogenic acid

2.1.2 超声温度对野菊花绿原酸提取率的影响

由图 2 得知, 超声温度对野菊花绿原酸提取率的影响是一个先逐步上升后缓慢下降的过程, 在超声温度为 50 °C 时, 绿原酸提取率达到最大值 3.34%。温度超过 50 °C 后, 绿原酸因其结构中的不稳定因素而容易被破坏, 如酚羟基易被氧化变成醌, 酯键容易水解生成羧酸和醇等, 致使提取率下降^[13]。因此选择 50 °C 为最佳超声温度。

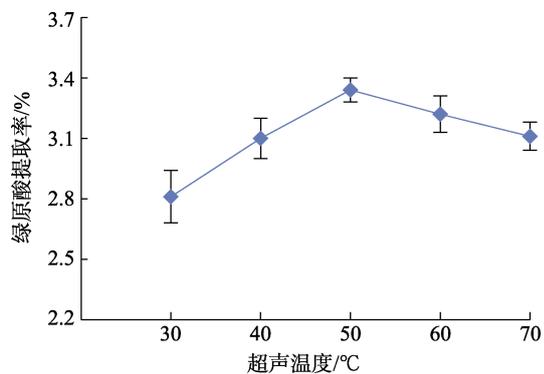


图 2 超声温度对绿原酸提取率的影响

Fig.2 Effect of ultrasonic temperature on extraction rate of chlorogenic acid

2.1.3 液固比对野菊花绿原酸提取率的影响

由图 3 可知, 液固比从 10 : 1 增加 15 : 1 时, 绿原酸提取率增加幅度较明显。当液固比超过 15 : 1 时, 绿原酸提取率开始逐步下降。这是因为 PEG-200 作为非离子型表面活性剂, 可明显降低界面张力, 增加细胞膜的渗透性; 此外 PEG 与水混合后形成胶束, 绿原酸的非极性基团可进入胶束内核被增溶, 使绿原酸更易溶于水。而当液固比超过其最佳比后, 其他物质也会相应进入胶束内核, 占据一定的体积后被增溶^[14], 使绿原酸的溶出减少, 因此, 本试验的液固比定为 15 : 1 为宜。

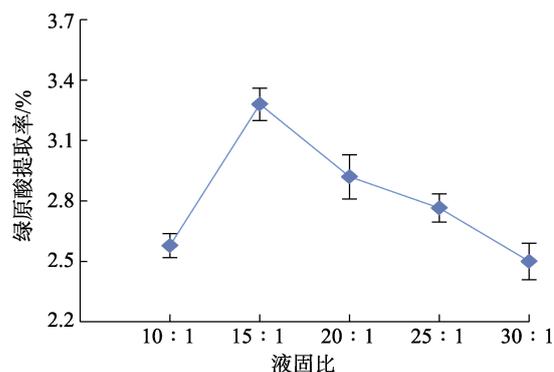


图 3 液固比对绿原酸提取率的影响

Fig.3 Effect of liquid-solid ratio on extraction rate of chlorogenic acid

2.1.4 酶解温度对野菊花绿原酸提取率的影响

由图 4 可知, 酶解温度对野菊花绿原酸提取率的影响是一个呈先上升后下降的趋势, 在酶解温度为 50 °C 时, 绿原酸提取率达到最大值。这是因为酶的活力在最适温度时水解效率最高, 低于该温度, 酶活力不足, 高于该温度, 酶易变性失活。故本试验选择 50 °C 为最佳酶解温度。

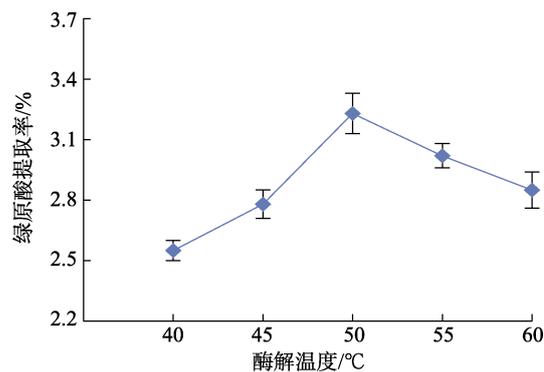


图 4 酶解温度对绿原酸提取率的影响

Fig.4 Effect of enzymolysis temperature on extraction rate of extraction rate of chlorogenic acid

2.1.5 酶解时间对野菊花绿原酸提取率的影响

由图 5 可知, 酶解时间在 0.5~2 h 之间时, 酶

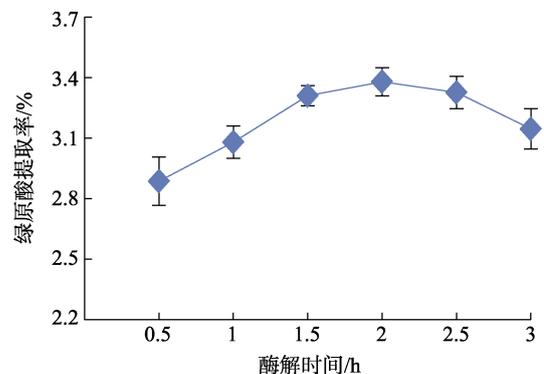


图 5 酶解时间对绿原酸提取率的影响

Fig.5 Effect of enzymolysis time on extraction rate of chlorogenic acid

解作用时间越长, 绿原酸提取率越高, 超过 2 h 后, 绿原酸提取率呈下降趋势。这是因为绿原酸结构具有不稳定性, 长时间加热会导致部分绿原酸水解或者结构异变^[15], 因而提取率下降。故本试验最优酶解时间定为 2 h。

2.2 响应面试验结果

2.2.1 响应面试验结果及方差分析

响应面试验设计方案及结果见表 2。利用 Design-Expert 8.0.6 软件对表 2 中的数据进行回归拟合, 得出方差分析表, 见表 3。

表 2 Box-behnken 中心组合试验结果
Table 2 Test results of Box-behnken center combination

实验编号	A	B	C	D	绿原酸提取率/%	实验编号	A	B	C	D	绿原酸提取率/%
1	-1	1	0	0	3.39	16	1	-1	0	0	3.22
2	-1	0	0	-1	2.85	17	1	0	0	1	3.07
3	0	1	-1	0	3.24	18	0	0	0	0	3.40
4	1	0	-1	0	3.21	19	0	0	-1	-1	3.43
5	1	1	0	0	3.59	20	1	0	1	0	3.29
6	0	1	0	1	3.58	21	0	1	0	-1	3.26
7	0	0	0	0	3.48	22	0	0	1	1	3.64
8	1	0	0	-1	3.79	23	0	0	0	0	3.52
9	0	0	-1	1	2.90	24	0	0	1	-1	2.92
10	0	0	0	0	3.41	25	0	-1	-1	0	2.84
11	-1	0	0	1	3.50	26	0	-1	1	0	3.30
12	0	1	1	0	3.45	27	-1	0	-1	0	2.90
13	0	0	0	0	3.46	28	0	-1	0	1	2.82
14	0	-1	0	-1	3.19	29	-1	0	1	0	3.26
15	-1	-1	0	0	3.00						

表 3 响应面方差分析结果
Table 3 Variance analysis results of response surface

方差来源	平方和	自由度	均方	F	P	显著程度
模型	1.91	14	0.14	22.60	<0.000 1	**
A	0.13	1	0.13	22.23	0.000 3	**
B	0.38	1	0.38	63.11	<0.000 1	**
C	0.15	1	0.15	24.74	0.000 2	**
D	4.083E-004	1	4.083E-004	0.068	0.798 8	
AB	1.000E-004	1	1.000E-004	0.017	0.899 5	
AC	0.020	1	0.020	3.24	0.093 4	
AD	0.47	1	0.47	77.59	<0.000 1	**
BC	0.016	1	0.016	2.58	0.130 3	
BD	0.12	1	0.12	19.68	0.000 6	**
CD	0.39	1	0.39	64.60	<0.000 1	**
A ²	0.040	1	0.040	6.57	0.022 6	*
B ²	0.067	1	0.067	11.16	0.004 9	**
C ²	0.18	1	0.18	29.03	<0.000 1	**
D ²	0.056	1	0.056	9.33	0.008 6	**
残差	0.085	14	6.047E-003			
失拟项	0.075	10	7.474E-003	3.01	0.149 6	不显著
纯误差	9.920E-003	4	2.480E-003			
总差	2.00	28				

$R^2=0.957 6$ $R^2_{Adj}=0.915 3$

注: **, $P<0.01$, 差异极显著; *, $P<0.05$, 差异显著; $P>0.05$, 差异不显著。

Note: **, $P<0.01$, the difference is extremely significant; *, $P<0.05$, the difference is significant; $P>0.05$, the difference is not significant.

得到野菊花中绿原酸提取率 (Y) 对响应值变量 A 、 B 、 C 和 D 的回归方程为:

$$Y = -11.6628 + 6.6508 \times A + 0.1481 \times B + 0.5098 \times C - 3.7263 \times D - (2.5000E-003) \times A \times B - 0.0350 \times A \times C - 1.7125 \times A \times D - (2.5000E-003) \times B \times C + 0.0690 \times B \times D + 0.1250 \times C \times D - 0.4891 \times A^2 - (4.0800E-003) \times B^2 - (6.5800E-003) \times C^2 - 0.3730 \times D^2$$

由表 3 可知, 模型的相关系数 $R^2=0.9576$, $P<0.01$, 表明该模型极显著。模型校正系数 $R^2_{Adj}=0.9153$, 表明方程对实验拟合良好, 可用此数学模型解释 91.53% 的野菊花中绿原酸提取率的变异性。一次项 A 、 B 、 C , 交互项 AD 、 BD 、 CD , 二次项 A^2 、 B^2 、 C^2 、 D^2 对试验结果影响显著 ($P<0.05$), 表明酶用量、液固比和酶解温度对野菊花中绿原酸提取率影响显著, 且影响顺序(主→次)为液固比>酶解温度>酶用量。

2.2.2 响应面交互作用分析及最佳提取工艺研究

根据表 3 可知, 交互项 AD 、 BD 、 CD 的 P 值均小于 0.01, 表明酶用量与酶解时间、液固比与酶解时间、酶解温度与酶解时间的交互作用对野菊花中绿原酸提取率的影响达到了极显著的水平。利用回归模型作各试验因素间响应面图如图 6 所示。

由 Design-Expert 8.0.6 软件进行分析计算得到野菊花绿原酸提取的最佳工艺为: 纤维素酶用量 0.8%, 液固比 20 : 1(mL : g), 酶解温度 55 °C, 酶解时间 2.5 h, 此时野菊花绿原酸提取率的预测值为 4.05%。在此工艺条件下进行 3 次验证试验, 实际提取率为 3.92%, 相对误差为 3.21%, 表明该模型合理可靠, 具有有效性。

2.3 野菊花中绿原酸提取的数学分析

2.3.1 野菊花中绿原酸提取数学模型的建立

由图 6 可知, 液固比对野菊花中绿原酸的提取率有着极其显著的影响, 本试验固定酶用量为 0.8% 和酶解温度为 55 °C, 考察不同液固比下绿原酸提取率随酶解时间的变化规律 (图 7)。

从图 7 中可以看出, 液固比过大或过小均不利于绿原酸的提取。液固比过大会导致细胞中其他物质与绿原酸竞争其在胶束中的位置, 而液固比过小会导致绿原酸尚未完全溶出就已经饱和, 因而影响提取率。

利用 OriginPro 8.0 软件对图 7 的实验数据进行

行模型拟合, 结果见表 4。

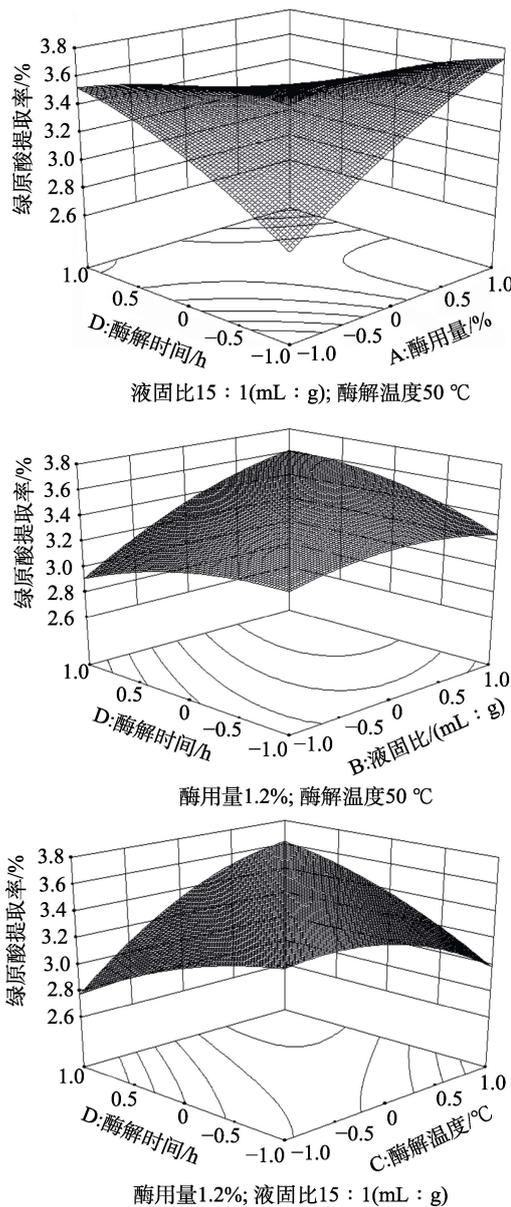


图 6 各两因素交互作用对野菊花绿原酸提取率影响的响应面图

Fig.6 Response surface diagrams of two factors' interaction influence on extraction rate of chlorogenic acid from *Chrysanthemum indicum*

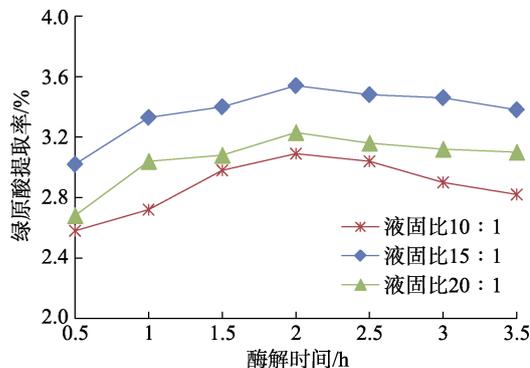


图 7 液固比、酶解时间与绿原酸提取率的关系

Fig.7 The relationship between liquid-solid ratio, enzymolysis time and extraction rate of chlorogenic acid

表 4 不同液固比下提取模型拟合参数

Table 4 Fitting parameters of the extraction model under different liquid-solid ratios

模型名称及方程	液固比	方程中拟合参数				模型评价参数		
		A_1	A_2	x_0	p	Reduced- χ^2	R^2	Adj- R^2
Logistic $y = \frac{A_1 - A_2}{1 + \left(\frac{x}{X_0}\right)^p} + A_2$	10 : 1	2.246 74	3.009 54	0.583 82	4.509 96	0.002 40	0.967 51	0.935 02
	15 : 1	2.989 79	3.458 35	0.834 86	5.201 43	0.005 17	0.910 85	0.821 70
	20 : 1	2.598 12	3.144 97	0.734 84	4.504 40	0.004 36	0.930 95	0.861 91

模型名称及方程	液固比	方程中拟合参数			模型评价参数		
		a	x_c	k	Reduced- χ^2	R^2	Adj- R^2
Sgompertz $y = ae^{-exp[-k(x-x_c)]}$	10 : 1	3.008 63	0.109 15	4.316 21	0.001 79	0.967 70	0.951 55
	15 : 1	3.463 50	-0.254 20	2.637 97	0.003 88	0.910 80	0.866 20
	20 : 1	3.145 24	-0.108 23	3.012 15	0.003 18	0.932 74	0.899 12

模型名称及方程	液固比	方程中拟合参数			模型评价参数		
		a	b	c	Reduced- χ^2	R^2	Adj- R^2
Asymptotic1 $y = a - bc^x$	10 : 1	3.008 79	4.052 31	0.015 75	0.001 78	0.967 78	0.951 67
	15 : 1	3.460 44	1.589 60	0.077 48	0.003 90	0.910 35	0.865 53
	20 : 1	3.145 39	1.989 68	0.054 75	0.003 19	0.932 66	0.898 99

模型名称及方程	液固比	方程中拟合参数			模型评价参数		
		a	x_c	k	Reduced- χ^2	R^2	Adj- R^2
Slogistic1 $y = \frac{a}{1 + e^{-k(x-x_c)}}$	10 : 1	3.008 47	0.145 02	4.488 62	0.001 79	0.967 62	0.951 43
	15 : 1	3.460 27	-0.206 01	2.720 80	0.003 87	0.911 22	0.866 82
	20 : 1	3.145 07	-0.060 77	3.123 78	0.003 18	0.932 79	0.899 18

注: y-绿原酸提取率; x-酶解时间。

Note: y-extraction rate of chlorogenic acid; x-enzymolysis time.

表 4 中的数据表明: 除 Logistic 模型外, 其余三个模型 Sgompertz、Asymptotic1 和 Slogistic1 均能较好的拟合绿原酸提取过程。其中在液固比为 10 : 1 时, Asymptotic1 模型的 Adj- R^2 为 0.951 67, 优于其他三个模型; 在液固比为 15 : 1 和 20 : 1 时, Slogistic1 模型的拟合参数最佳, 为最优拟合模型。Slogistic1 模型在液固比 10 : 1 条件下提取绿原酸的数学模型数据与 Asymptotic1 模型相

比差别不大。综合以上数据分析可知 Slogistic1 模型更能反映野菊花中绿原酸提取过程的数学规律。

2.3.2 数学模型的验证

为了验证模型的正确性, 分别在不同液固比条件下选定两个酶解时间。将实际得到的提取率与预测值进行比较, 结果见表 5。由表 5 可知, 实测值与预测值拟合程度高, 说明 Slogistic1 模型是描述野菊花中绿原酸提取过程的最佳数学模型。

表 5 野菊花中绿原酸提取数学模型验证

Table 5 Validation of mathematical model for chlorogenic acid extraction from *Chrysanthemum indicum*

时间/h	绿原酸提取率/%								
	10 : 1			15 : 1			20 : 1		
	预测值	实测值	拟合程度	预测值	实测值	拟合程度	预测值	实测值	拟合程度
1.25	2.99	2.95	0.986 6	3.40	3.26	0.958 8	3.09	3.02	0.977 3
2.75	3.01	2.98	0.986 7	3.46	3.30	0.953 8	3.14	3.07	0.977 7

3 结论

通过响应面分析方法的优化, 采用酶法辅助

PEG-200 提取野菊花中绿原酸的最佳工艺条件为纤维素酶用量 0.8%, 液固比 20 : 1(mL : g), 酶解温度 55 °C, 酶解时间 2.5 h, 此时实际提取率为

3.92%。对不同液固比下绿原酸提取率随酶解时间的变化规律采用了4种数学模型进行拟合,结果显示:Slogistic1模型得到最优拟合,是描述野菊花中绿原酸提取过程的最佳数学模型。

参考文献:

- [1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典(一部)[S]. 北京: 化学工业出版社, 2015: 314.
National Pharmacopoeia Committee. Pharmacopoeia of the People's Republic of China (Part One)[S]. Beijing: Chemical Industry Press, 2015: 314.
- [2] 魏明, 杨晓梅, 刘佳红, 等. 绿原酸的药理作用研究进展[J]. 陕西中医, 2016, 37(4): 511-512.
WEI M, YANG X M, LIU J H, et al. Research progress on the pharmacological effects of chlorogenic acid[J]. Shanxi Traditional Chinese Medicine, 2016, 37(4): 511-512.
- [3] 吴江涛. 绿原酸的生物活性及其应用[J]. 现代农业科技, 2009 (19): 349-350.
WU J T. The biological activity and its application of chlorogenic acid[J]. Modern Agricultural Science and Technology, 2009, (19): 349-350.
- [4] 赵进, 罗建华, 刘娇, 等. 超声波提取野菊花总黄酮及鉴别[J]. 时珍国医国药, 2007, 18(5): 1187-1188.
ZHAO J, LUO J H, LIU J, et al. The total flavanone of *Chrysanthemum indicum* L. extraction and the identification by ultrasonic wave[J]. Lishizhen Medicine and Materia Medica Research, 2007, 18(5): 1187-1188.
- [5] 张明明, 黄芳, 张长丽. 响应面法优化野菊花中绿原酸的提取工艺[J]. 江苏农业科学, 2014, 42(11): 327-329.
ZHANG M M, HUANG F, ZHANG C L. Optimization of extraction process of chlorogenic acid from *Chrysanthemum indicum* by response surface methodology[J]. Jiangsu Agricultural Sciences, 2014, 42(11): 327-329.
- [6] 刘艳清, 汪洪武. 野菊花中绿原酸提取工艺的研究[J]. 时珍国医国药, 2008, 19(7): 1612-1613.
LIU Y Q, WANG H W. Studies on the optimum extraction technology of chlorogenic acid from Flos *Chrysanthemi indicis* with orthogonal design[J]. Lishizhen Medicine and Materia Medica Research, 2008, 19(7): 1612-1613.
- [7] 阮洪生, 曹玲. 超声-微波协同萃取野菊花的提取工艺研究[J]. 安徽农业科学, 2010, 38(8): 4026-4027+4033.
RUAN H S, CAO L. Study on extraction technology of *chrysanthemum indicum* L. by ultrasonic wave and microwave[J]. Journal of Anhui Agricultural Sciences, 2010, 38(8): 4026-4027+4033.
- [8] ZHOU T, XIAO X H, LI G K, et al. Study of polyethylene glycol as a green solvent in the microwave-assisted extraction of flavone and coumarin compounds from medicinal plants[J]. J Chromatogr A, 2011, 1218(23): 3608-3615.
- [9] HUANG H, XU Q, BELWAL T, et al. Ultrasonic impact on viscosity and extraction efficiency of polyethylene glycol: A greener approach for anthocyanins recovery from purple sweet potato[J]. Food chemistry, 2019, 283: 59-67.
- [10] 阮尚全, 斯艳儒, 晏敏, 等. Box-Behnken 设计优化酶法提取青果中黄酮及清除自由基活性研究[J]. 中国食品添加剂, 2018, 177(11): 92-98.
RUAN S Q, SI Y R, YAN M, et al. Chinese olive flavonoids enzymatic extraction by Box-Behnken design and its scavenging free radical activity[J]. China Food Additives, 2018, 177(11): 92-98.
- [11] 刘霞, 杨莹, 刘剑辉. 酶法辅助聚乙二醇-200 提取杜仲叶中绿原酸的工艺研究[J]. 食品工业, 2020, 41(4): 11-14.
LIU X, YANG Y, LIU J H. Optimization on extraction of chlorogenic acid from *Eucommia Ulmoides* leaves by enzyme-assisted PEG-200[J]. The Food Industry, 2020, 41(4): 11-14.
- [12] PURI M, SHARMA D, BARROW C J. Enzyme-assisted extraction of bioactives from plants[J]. Trends in biotechnology, 2012, 30(1): 37-44.
- [13] 石艳宾, 李文静. 响应面优化金银花绿原酸提取工艺及抗氧化作用研究[J]. 食品研究与开发, 2019, 40(21): 152-158.
SHI Y B, LI W G. Optimization on extraction technology of chlorogenic acid from *Lonicera japonica* by RSM and antioxidant activity[J]. Food Research and Development, 2019, 40(21): 152-158.
- [14] 唐薇, 孙飞龙, 曹卓松, 等. 响应面优化提取咖啡豆中绿原酸[J]. 饲料广角, 2018, (8): 37-40.
TANG W, SUN F L, CAO Z S, et al. Optimization on extraction of chlorogenic acid from green coffee beans by RSM[J]. Feed Wide Angle, 2018, (8): 37-40.
- [15] 曾承露, 黄德娜, 李锋. 超声波辅助酶法提取菝葜绿原酸工艺优化[J]. 黔南民族师范学院学报, 2018, 38(4): 31-36.
ZENG C L, HUANG D N, LI F. Optimizing of ultrasonic assisted enzymatic extraction of chlorogenic acid from Smilax[J]. Journal of Qiannan Normal University for Nationalities, 2018, 38(4): 31-36. 

备注: 本文的彩色图表可从本刊官网 (<http://llyspkj.ijournal.cn>)、中国知网、万方、维普、超星等数据库下载获取。