

# 响应面法优化紫山药花青苷提取工艺

党 娅<sup>1,2,3\*</sup>, 刘水英<sup>1</sup>, 李新生<sup>1,2,3</sup>, 米 桂<sup>1</sup>, 赵 璇<sup>1</sup>, 王 昕<sup>1</sup>

<sup>1</sup>陕西理工学院生物科学与工程学院; <sup>2</sup>陕西省资源生物重点实验室;

<sup>3</sup>陕西省黑色有机食品工程技术研究中心, 陕西 汉中 723000

**摘要:**以紫山药为实验材料,以酸性乙醇为提取溶剂通过 Box-Behnken 响应面法及 Design-Expert 8.0.6 分析软件建立二次多项式数学模型优化紫山药花青苷的提取工艺及参数。研究表明,五种单因素对花青苷得率影响大小的顺序为  $X_5$ (盐酸质量分数) >  $X_2$ (时间) >  $X_4$ (乙醇体积分数) >  $X_3$ (料液比) >  $X_1$ (温度)。并且温度和料液比、温度和乙醇体积分数、提取时间和料液比、提取时间和盐酸体积分数之间存在交互作用。得到紫山药花青苷最佳提取工艺参数为温度:81 °C、时间:3.5 h、料液比:1:25、乙醇体积分数:70%、盐酸质量分数:18‰。在此条件下花青苷平均得率达到 4.928 mg/g, 相对标准偏差为 0.31%, 与数学模型理论得率间的相对误差小于 1.0%。

**关键词:**紫山药;花青苷;单因素;响应面法;提取工艺

中图分类号:TS207.3

文献标识码:A

DOI:10.16333/j.1001-6880.2015.03.007

## Optimization of Extraction Process of Purple Yam Anthocyanins Using Response Surface Methodology

DANG Ya<sup>1,2,3\*</sup>, LIU Shui-ying<sup>1</sup>, LI Xin-sheng<sup>1,2,3</sup>, MI Gui<sup>1</sup>, ZHAO Xuan<sup>1</sup>, WANG Xin<sup>1</sup>

<sup>1</sup>College of biological science and engineering, Shaanxi University of Technology; <sup>2</sup>Shaanxi Key Laboratory of Bio-Resource; <sup>3</sup>Shaanxi Province Black Organic Food Engineering Technology Research Center, Hanzhong 723000, China

**Abstract:** In this paper, purple yam was used as testing material. Anthocyanins from purple yam were extracted by acidic ethanol. The quadratic polynomial mathematical model of anthocyanins was set up and its extraction conditions were optimized by Box-behnken response surface method and Design-Expert 8.0.6 analysis software. On the basis of single-factor experiments, the relationships between main extraction conditions including extraction temperature ( $X_1$ ), extraction time ( $X_2$ ), ratio of solid to liquid ( $X_3$ ), ethanol concentration ( $X_4$ ) and hydrochloric concentration ( $X_5$ ) were investigated. Results showed that their effects were in the order of  $X_5 > X_2 > X_4 > X_3 > X_1$ . The optimal extraction conditions were obtained as follows: extraction temperature was 81 °C, extraction time was 3.5 h, the ratio of solid to liquid was 1:25, ethanol concentration was 70%, hydrochloric concentration was 18‰. Under these conditions, the average yield of anthocyanins was 4.928 mg/g, the relative standard deviation was 0.31%, and the relative error was less than 1.0% compared with the mathematical model.

**Key words:** purple yam; anthocyanins; single-factor analysis; response surface method; extraction process

紫山药 (*Dioscorea alata*) 是薯蓣科 (*Dioscoreae*) 山药属 (*Dioscorea* L.) 一年生或多年生蔓生植物, 也称“紫人参”、紫薯蓣、紫蒟药、紫淮山、紫参薯、脚板薯<sup>[1]</sup>。其块根质脆有黏性, 富含淀粉、粘质多糖<sup>[2]</sup>、

蛋白质、氨基酸、维生素、矿物质、胆碱、薯蓣皂(去氢表雄酮 DHEA)<sup>[3,4]</sup>、花青苷等多种营养成分。《本草纲目》记载其具有补脾胃、益肺肾、消渴, 可治气虚衰弱、慢性泄泻、遗精带下、虚劳咳嗽等病症, 对虚弱、慢性肠胃炎、糖尿病等也有一定的疗效<sup>[5]</sup>, 长期服用可以抗病、强身, 具有药食两用的价值<sup>[6-9]</sup>。目前国内对紫山药中花青苷研究较少, 仅在紫山药引种、种植、品种改良、营养成分等方面有少量报道<sup>[10-15]</sup>, 国外对紫山药中花青苷研究较多<sup>[16,17]</sup>。因此, 本研究就响应面法优化紫山药花青苷提取工艺

收稿日期: 2014-05-08 接受日期: 2014-12-31

基金项目: 陕西省科技统筹创新工程计划项目(2014KTCL02-18); 陕西省科技局项目(2014ZKC47-05); 陕西理工学院研究生创新基金项目(SLGYCX1419); 陕西理工学院科研基金项目(SLGY14-10); 汉中市科技创新工程设计项目(2013KC26)

\* 通讯作者 Tel: 86-013891629886; E-mail: dangya@snut.edu.cn

进行研究,旨在为我国紫山药花青苷进一步的研究和开发利用提供理论参考与实验指导。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料、试剂与仪器

材料:紫山药(购于湖南省长沙地泰农业开发有限公司)。试剂:牵牛花素-3-葡萄糖苷标准品(购于Sigma公司);95%乙醇(分析纯,天津市富宇精细化工有限公司);盐酸、苹果酸、酒石酸、柠檬酸等(均为分析纯,国药集团化学试剂有限公司);实验用水为超纯水(电阻率为 $18.2\text{ M}\Omega\cdot\text{cm}$ , $25\text{ }^{\circ}\text{C}$ )。

仪器:UV-2550型紫外-可见分光光度计(日本岛津仪器公司);SHIMADZU AUW220D型十万分之一电子天平(日本岛津仪器公司);RE-52A型旋转蒸发仪(上海亚荣生化仪器厂);DZF6050型真空干燥箱(上海一恒科学仪器有限公司);HH-S4型数显恒温水浴锅(北京长风仪器仪表有限公司);摩尔超纯水仪(细胞型1810B)等。

### 1.2 实验方法

#### 1.2.1 紫山药提取工艺流程

新鲜紫山药→洗净、带皮切片、干燥、粉碎、过筛→紫山药干粉(含水量 $<5\%$ )→提取花青苷→离心→定容→紫山药花青苷提取液→稀释、定容→待测液。

#### 1.2.2 最佳提取溶剂选择和紫山药色素光谱特性

称取 $5.0\text{ g}$ 紫山药干粉于圆底烧瓶中,以( $V_{0.5\% \text{ 酸}}:V_{\text{醇}}=15:85$ )的酸性乙醇溶液(盐酸-乙醇溶液、苹果酸-乙醇溶液、酒石酸-乙醇溶液、柠檬酸-乙醇溶液)为提取溶剂。加入 $50\text{ mL}$ 上述提取溶剂、混匀,于 $45\text{ }^{\circ}\text{C}$ 恒温水浴中浸提 $120\text{ min}$ , $3500\text{ rpm}$ 离心,定容于 $50\text{ mL}$ 棕色容量瓶,每种溶剂平行试验3次。计算紫山药花青苷的得率,确定最佳提取溶剂。

用UV-2550型紫外-可见分光光度计对紫山药色素提取的稀释液按波长间隔为 $2\text{ nm}$ 在 $300\sim 900\text{ nm}$ 波长范围内进行波长全扫描确定其光谱特性。

#### 1.2.3 花青苷标准曲线的绘制

准确称取 $2.03\text{ mg}$ 牵牛花素-3-葡萄糖苷作为花青苷标准品,用酸性乙醇( $V_{0.5\% \text{ 盐酸}}:V_{70\% \text{ 乙醇}}=15:85$ )超声溶解并定容于 $50\text{ mL}$ 棕色容量瓶中即得到浓度为 $40.6\text{ }\mu\text{g/mL}$ 花青苷标准品对照母液。分别移取对照母液 $0.0$ 、 $0.5$ 、 $1.0$ 、 $1.5$ 、 $2.0$ 、 $3.0$ 、 $5.0\text{ mL}$ 于 $50\text{ mL}$ 棕色容量瓶中并用酸性乙醇定容。得到质量浓

度分别为: $0.000$ 、 $0.406$ 、 $0.812$ 、 $1.218$ 、 $1.624$ 、 $2.436$ 、 $4.060\text{ }\mu\text{g/mL}$ ,的系列花青苷标准溶液,用UV-2550型紫外-可见分光光度计在 $300\sim 900\text{ nm}$ 波长范围内对标准溶液进行扫描,找出标准品的最大吸收波长 $\lambda_{\text{max}}$ ,以 $\lambda_{\text{max}}$ 下每种浓度对应的吸光值 $A$ 为纵坐标,相应的标准品浓度为横坐标绘制花青苷标准曲线。用线性最小二乘法拟合得到花青苷标准曲线的线性回归方程 $Y=0.1673X-0.0012$ ( $R^2=0.9998$ ),式中: $X$ :牵牛花素-3-葡萄糖苷的浓度,单位: $\mu\text{g/mL}$ ; $Y$ : $\lambda_{\text{max}}$ 下每种浓度标准品对应的吸光值 $A$ 。

#### 1.2.4 紫山药花青苷的测定及得率的计算

取紫山药花青苷粗提取液 $2.0\text{ mL}$ 定容于 $10\text{ mL}$ 棕色容量瓶中,得到紫山药花青苷提取稀释液。在与花青苷标准品相同的条件下,扣除溶剂空白测定稀释液的吸光值 $A$ ,根据花青苷标准曲线的回归方程得到紫山药中花青苷的质量浓度 $C$ 。紫山药花青苷得率计算公式:

$$\omega=(C\times n\times V)/m$$

式中: $\omega$ :紫山药的花青苷的得率,单位: $\mu\text{g/g}$ ;  $C$ :紫山药花青苷的质量浓度,单位: $\mu\text{g/mL}$ ;  $n$ :稀释倍数;  $V$ :紫山药花青苷稀释液的体积,单位: $\text{mL}$ ;  $m$ :紫山药干粉质量,单位: $\text{g}$ 。

#### 1.2.5 单因素实验

称取适量紫山药干粉,以酸性乙醇( $V_{0.5\% \text{ 盐酸}}:V_{70\% \text{ 乙醇}}=15:85$ )作为提取溶剂,以紫山药花青苷得率作为评价花青苷提取的标准,分别考察温度、时间、料液比、乙醇浓度、盐酸浓度、超声波频率、离心转速对紫山药花青苷得率的影响。

#### 1.2.6 响应面法优化提取工艺的研究

根据Box-Behnken模型中心组合的试验设计原理,在单因素试验的基础上采用四因素三水平的响应面分析方法进一步试验。以温度、时间、乙醇浓度、盐酸浓度为自变量,依次用 $X_1$ 、 $X_2$ 、 $X_3$ 、 $X_4$ 表示,并以 $-1$ 、 $0$ 、 $1$ 分别代表各自的低、中、高水平,以花青苷的得率 $Y$ ( $\mu\text{g/g}$ )为响应值,确定这四个自变量对紫山药花青苷得率影响的显著性和提取的最佳工艺条件组合。因素及水平编码表见表1。

## 2 结果与讨论

### 2.1 最佳提取溶剂的选择

不同提取溶剂对紫山药花青苷提取的效果见图1。由图1可以看出在提取紫山药花青苷的四种提取溶剂中盐酸-乙醇作为溶剂时,花青苷的得率最

表 1 因素及水平编码表

Table 1 Factors and levels for response surface analysis

水平 Level	因素 Factor				
	X <sub>1</sub> 提取温度 Extraction temperature(°C)	X <sub>2</sub> 提取时间 Extraction time(h)	X <sub>3</sub> 料液比 Ratio of solid to liquid	X <sub>4</sub> 乙醇浓度 Ethanol concentration(%)	X <sub>5</sub> 盐酸浓度 Hydrochloric concentration(%)
-1	70	2.5	1:15	50	12
0	80	3.0	1:20	60	15
1	90	3.5	1:25	70	18

高;酒石酸-乙醇的提取效果次之。因此,选择盐酸-乙醇作为紫山药花青苷提取的最佳溶剂。

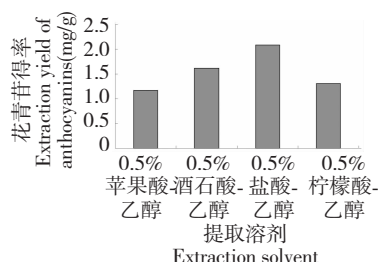


图 1 不同提取溶剂对提取效果的影响

Fig. 1 Effect of different extraction solvent on extraction effect

## 2.2 最大吸收波长的选择

对紫山药花青苷提取液在 300~900 nm 波长范围内进行波长全扫描,紫山药色素提取液在 530.0 nm 处出现特征吸收峰。由于花青苷的光谱学特性是其在可见光区的最大吸收波长为:465~560 nm<sup>[18]</sup>。说明紫山药色素提取物具有花青苷的特征,属于花青苷类物质。

## 2.3 花青苷标准曲线

采用紫外-可见分光光度计,以酸性乙醇( $V_{0.5\% \text{ 盐酸}}:V_{70\% \text{ 乙醇}}=15:85$ )为空白参比,对牵牛花素-3-葡萄糖苷标准品在 200~800 nm 波长范围内进行扫描,得到花青苷标准品的最大吸收波长  $\lambda_{\text{max}}$  为 530 nm。在最大波长下,以花青苷标准溶液各质量浓度对应的吸光值为纵坐标,质量浓度为横坐标作图绘制紫山药花青苷标准品牵牛花素-3-葡萄糖苷的标准曲线,得到标准曲线的线性回归方程: $Y=0.1678X-0.0006$  ( $R^2=0.9998$ )。

## 2.4 单因素实验结果

### 2.4.1 温度对紫山药花青苷提取的影响

由图 2A 可知,在一定的温度范围内,紫山药花青苷得率随着提取温度的升高而升高。当提取温度

达到 80 °C 时,紫山药花青苷的得率达到最大。温度再继续升高时花青苷得率反而呈现下降趋势。可能是由于紫山药花青苷的热稳定性差。当低于 80 °C 时,随着温度的升高紫山药花青苷的溶出率逐渐增大,升高温度有利于紫山药中花青苷的溶出;但高于 80 °C 之后,紫山药花青苷的分解速率明显增大导致花青苷得率降低。综合考虑,提取温度选择 80 °C 最佳。

### 2.4.2 时间对紫山药花青苷提取的影响

提取时间是影响花青苷得率的一个重要因素。由图 2B 可知,提取时间在 1~3 h 内,紫山药花青苷得率随时间的延长而呈现明显增加的趋势。3 h 以后花青苷得率随着时间的延长而呈下降趋势。可能是由于紫山药花青苷的稳定性差,时间太长花青苷部分分解。因此,选择 3 h 作为最佳提取时间。

### 2.4.3 料液比对紫山药花青苷提取的影响

料液比是决定紫山药中花青苷浓度高低的因素之一,也是实际生产中必须考虑的重要因素。由图 2C 可知,在一定范围内,花青苷得率随料液比的升高而增加。当料液比为 1:20 时,紫山药花青苷的得率最大。之后随着料液比的增大花青苷得率基本趋于不变。1:20 的料液比既有利于紫山药中花青苷的提取,又利于实际生产中的节能减排,因此,在 5 个梯度的料液比中 1:20 是最佳料液比。

### 2.4.4 乙醇浓度对紫山药花青苷提取的影响

由图 2D 可以看出,当乙醇体积分数在 40%~60% 之间,随着乙醇浓度的增大紫山药花青苷的得率逐渐增大,花青苷提取效率随着乙醇浓度的增大而增加。当乙醇浓度为 60% 时,花青苷得率达到最高,当乙醇浓度高于 60% 并继续增加时花青苷得率呈现明显的下降趋势。这可能是由于乙醇浓度升高,对于花青苷这种极性高的黄酮类化合物的提取率下降,而对其他杂质的提取率升高。因此,综合考

考虑选择乙醇浓度为 60% 为最佳。

#### 2.4.5 盐酸浓度对紫山药花青苷提取的影响

由图 2E 可知,在一定范围内,紫山药中花青苷得率随着盐酸浓度的增大而增加。盐酸浓度在 10‰~12‰之间时花青苷得率随盐酸浓度变化的斜率明显大于盐酸浓度为 8‰~10‰和 12‰~15‰的斜率,说明在此阶段,盐酸浓度对花青苷得率的影响大于后者。当盐酸浓度达到 15‰时,花青苷得率达到最大。继续增大盐酸的浓度,花青苷得率呈现明

显下降的趋势。因此,紫山药花青苷的最佳盐酸浓度为 15‰。

#### 2.4.6 超声波频率对紫山药花青苷提取的影响

由图 2F 可知,当超声频率在 20~80 Hz 之间时,紫山药花青苷得率随着超声频率的增大而增大。80 Hz 时花青苷得率达到最大,80 Hz 之后花青苷得率基本维持不变。因此选择超声频率选择 80 Hz 为最佳。

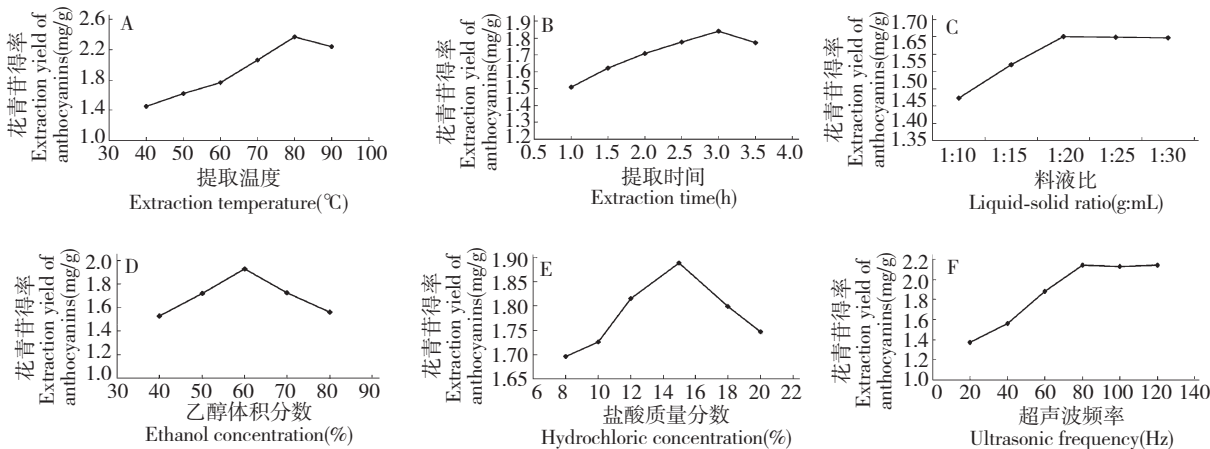


图 2 提取温度 (A)、提取时间 (B)、料液比 (C)、乙醇浓度 (D)、盐酸浓度 (E)、超声频率 (F) 对紫山药花青苷得率的影响

Fig. 2 Effects of extraction temperature (A), extraction time (B), solid-liquid ratio (C), ethanol concentration (D), hydrochloric concentration (E), ultrasonic frequency (F) on the extraction yield of anthocyanins in purple yam

## 2.5 响应面法优化提取紫山药花青苷

### 2.5.1 响应面实验方案及实验结果与分析

结合生产实际情况,在单因素实验结果的基础上,选取影响紫山药花青苷提取效果比较显著的五个因素: $X_1$ (温度/℃)、 $X_2$ (时间)、 $X_3$ (料液比)、 $X_4$ (乙醇体积分数/%)、 $X_5$ (盐酸质量分数/‰)。利用

Design-Expert 8.0.6 设计五因素三水平的 Box-Behnken 响应面实验方案,进一步进行五因素三水平的响应面分析试验。测定结果见表 2,其中实验序号 1~40 为析因实验,41~46 为 5 个估计实验误差的中心实验。

表 2 响应面实验方案及结果

Table 2 Response surface experiment scheme and results

序号 No.	$X_1$ 温度 Temperature(℃)	$X_2$ 时间 Time (h)	$X_3$ 料液比 Solid-liquid ratio	$X_4$ 乙醇体积分数 Ethanol concentration (%)	$X_5$ 盐酸质量分数 Hydrochloric concentration (‰)	花青苷得率 Extraction yield of anthocyanins ( $\mu\text{g/g}$ )
1	70	2.5	1:20	60	15	3.0961
2	90	2.5	1:20	60	15	3.3300
3	70	3.5	1:20	60	15	3.5029
4	90	3.5	1:20	60	15	3.7332
5	80	3	1:15	50	15	3.3233
6	80	3	1:25	50	15	3.6480
7	80	3	1:15	70	15	3.8738
8	80	3	1:25	70	15	4.3142

9	80	2.5	1:20	60	12	3.2564
10	80	3.5	1:20	60	12	3.6384
11	80	2.5	1:20	60	18	3.8845
12	80	3.5	1:20	60	18	4.6818
13	70	3	1:15	60	15	2.9877
14	90	3	1:15	60	15	3.2324
15	70	3	1:25	60	15	3.1811
16	90	3	1:25	60	15	3.7566
17	80	3	1:20	50	12	3.3744
18	80	3	1:20	70	12	3.7592
19	80	3	1:20	50	18	3.9183
20	80	3	1:20	70	18	4.4816
21	80	2.5	1:15	60	15	3.1638
22	80	3.5	1:15	60	15	4.0354
23	80	2.5	1:25	60	15	3.6926
24	80	3.5	1:25	60	15	4.2447
25	70	3	1:20	50	15	2.8200
26	90	3	1:20	50	15	3.3714
27	70	3	1:20	70	15	3.5952
28	90	3	1:20	70	15	3.6112
29	80	3	1:15	60	12	3.2314
30	80	3	1:25	60	12	3.6300
31	80	3	1:15	60	18	3.8379
32	80	3	1:25	60	18	4.5008
33	70	3	1:20	60	12	2.8595
34	90	3	1:20	60	12	3.3024
35	70	3	1:20	60	18	3.5924
36	90	3	1:20	60	18	3.852
37	80	2.5	1:20	50	15	3.283
38	80	3.5	1:20	50	15	3.9842
39	80	2.5	1:20	70	15	3.7944
40	80	3.5	1:20	70	15	4.2970
41	80	3	1:20	60	15	3.9183
42	80	3	1:20	60	15	3.9142
43	80	3	1:20	60	15	3.9982
44	80	3	1:20	60	15	3.9498
45	80	3	1:20	60	15	3.9159
46	80	3	1:20	60	15	3.9643

### 2.5.2 响应面数学模型建立与显著性检验

经 Design-Expert 8.0.6 统计分析软件对表 2 中响应面实验数据进行线性二次多项式回归拟合,以

花青苷得率( $Y$ )为响应值,以温度( $X_1$ )、时间( $X_2$ )、料液比( $X_3$ )乙醇体积分数( $X_4$ )、盐酸质量分数( $X_5$ )为自变量,建立二次多元回归方程:

$$Y = 3.94 + 0.16X_1 + 0.29X_2 + 0.21X_3 + 0.25X_4 + 0.029X_3X_4 + 0.066X_3X_5 + 0.045X_4X_5 - 0.52X_1^2 - 0.36X_5 - 9.000E-004X_1X_2 + 0.083X_1X_3 - 0.13X_1X_4 - 0.038X_2^2 - 0.12X_3^2 - 0.052X_4^2 - 0.023X_5^2 + 0.046X_1X_5 - 0.080X_2X_3 - 0.050X_2X_4 + 0.10X_2X_5 +$$

该方程的回归分析与方差分析结果见表 3。

表 3 模型和回归系数显著性检验

Table 3 Model and regression coefficient significance test

变异来源 Source	平方和 SS	自由度 Df	均方 Mean Square	F 值 F-value	P 值 P-value	显著性 Significance
变异模型 Model	8.26	20	0.41	68.81	<0.0001	**
X <sub>1</sub>	0.41	1	0.41	67.98	<0.0001	**
X <sub>2</sub>	1.33	1	1.33	222.07	<0.0001	**
X <sub>3</sub>	0.67	1	0.67	112.24	<0.0001	**
X <sub>4</sub>	1.00	1	1.00	167.03	<0.0001	**
X <sub>5</sub>	2.03	1	2.03	338.21	<0.0001	**
X <sub>1</sub> X <sub>2</sub>	3.240E-006	1	3.240E-006	5.401E-004	0.9816	
X <sub>1</sub> X <sub>3</sub>	0.027	1	0.027	4.56	0.0427	*
X <sub>1</sub> X <sub>4</sub>	0.072	1	0.072	11.95	0.0020	*
X <sub>1</sub> X <sub>5</sub>	8.400E-003	1	8.400E-003	1.40	0.2478	
X <sub>2</sub> X <sub>3</sub>	0.026	1	0.026	4.25	0.0497	*
X <sub>2</sub> X <sub>4</sub>	9.860E-003	1	9.860E-003	1.64	0.2116	
X <sub>2</sub> X <sub>5</sub>	0.043	1	0.043	7.19	0.0128	*
X <sub>3</sub> X <sub>4</sub>	3.347E-003	1	3.347E-003	0.56	0.4621	
X <sub>3</sub> X <sub>5</sub>	0.017	1	0.017	2.91	0.1004	
X <sub>4</sub> X <sub>5</sub>	7.966E-003	1	7.966E-003	1.33	0.2601	
X <sub>1</sub> <sup>2</sup>	2.37	1	2.37	395.26	<0.0001	**
X <sub>2</sub> <sup>2</sup>	0.013	1	0.013	2.14	0.1557	
X <sub>3</sub> <sup>2</sup>	0.12	1	0.12	20.52	0.0001	**
X <sub>4</sub> <sup>2</sup>	0.024	1	0.024	4.01	0.0563	
X <sub>5</sub> <sup>2</sup>	4.684E-003	1	4.684E-003	0.78	0.3853	
残差 Residual error	0.15	25	5.999E-003			
失拟项 Lack of fit	0.14	20	7.213E-003	6.31	0.0252	*
纯误差 Pure error	5.72E-003	5	1.144E-003			
总离差 Total error	8.41	45				

注:  $R^2 = 0.9822, R_{adj}^2 = 0.9679$ , \* 表示差异显著,  $P < 0.05$ ; \*\* 表示差异高度显著,  $P < 0.0001$ 。

Note:  $R^2 = 0.9822, R_{adj}^2 = 0.9679$ , \* means significant difference,  $P < 0.05$ ; \*\* means extremely significant difference,  $P < 0.0001$ .

由上表可知,回归方程的各因变量和自变量间的线性关系明显,该数学模型回归高度显著( $P < 0.0001$ ),失拟项显著且模型的  $R^2 = 0.9822, R_{adj}^2 = 0.9679$  说明该数学模型与试验拟合较好,自变量与响应值间线性关系显著,故可以用于该反应的理论推测。

### 2.2.3 单因素间的交互作用

由 F 检验可以判断自变量对因变量(紫山药花青苷得率)的影响顺序为:  $X_5$  (盐酸质量分数) >  $X_2$

(时间) >  $X_4$  (乙醇体积分数) >  $X_3$  (料液比) >  $X_1$  (温度)。其中  $X_1, X_2, X_3, X_4, X_5, X_1^2, X_3^2$  达到了高度显著的水平,  $X_1 X_3, X_1 X_4, X_2 X_3, X_2 X_5$  达到显著的水平。表明温度和料液比、温度和乙醇体积分数、提取时间和料液比、提取时间和盐酸体积分数存在交互作用。响应面可以反映各单因素(自变量)交互作用对响应值(因变量)影响效果的大小,响应面坡度越陡,则表明他们对响应值的影响效果越显著,  $X_1 X_3, X_1 X_4, X_2 X_3, X_2 X_5$  交互作用见图 3、图 4(以

$X_1$ 、 $X_3$ 、 $X_1 X_4$ 为例)。

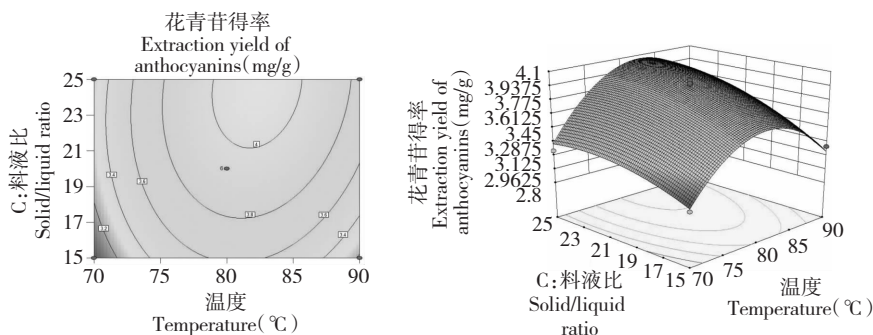


图3 提取温度和料液比的等高线和响应曲面图

Fig. 3 Contour plot and response surface plot for interactive effect of extraction temperature and liquid-solid ratio on extraction yield of anthocyanins

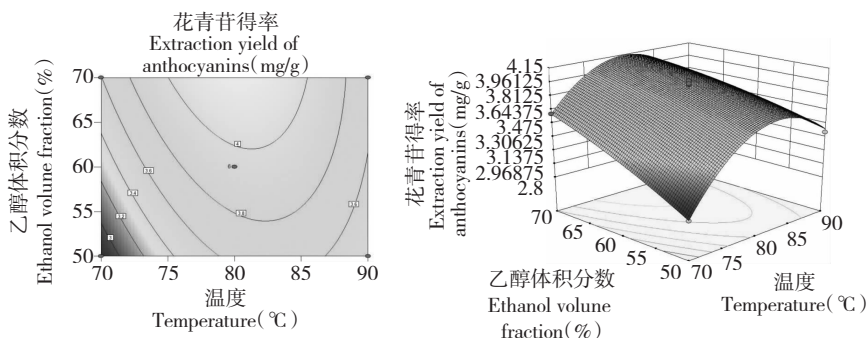


图4 提取温度和乙醇体积分数的等高线和响应曲面图

Fig. 4 Contour plot and response surface plot for interactive effect of extraction temperature and ethanol volume fraction on extraction yield of anthocyanins

#### 2.5.4 提取验证实验

根据线性二次多项式回归方程计算得出紫山药花青苷最佳提取工艺参数为温度:80.55℃、时间:3.5 h、料液比:1:24.72、乙醇体积分数:70%、盐酸质量分数:18‰,此时,紫山药花青苷的理论得率为4.927 mg/g,结合实际修正后的提取工艺参数为温度:81℃、时间:3.5 h、料液比:1:25、乙醇体积分数:70%、盐酸质量分数:18‰。以修正后的提取工艺参数条件进行紫山药花青苷提取验证实验,平行实验5次,测得花青苷得率依次为4.931、4.924、4.925、4.928、4.930 mg/g。计算可得花青苷平均得率为4.928 mg/g,其相对标准偏差为0.31%与预测值间的相对误差为0.02%。

### 3 结论

通过响应面法对紫山药花青苷的提取进行了工艺优化研究。研究表明,温度、时间、料液比、乙醇体积分数、盐酸质量分数对花青苷得率的影响高度显

著,影响大小的顺序为 $X_5$ (盐酸质量分数) $> X_2$ (时间) $> X_4$ (乙醇体积分数) $> X_3$ (料液比) $> X_1$ (温度)。并且温度和料液比、温度和乙醇体积分数、提取时间和料液比、提取时间和盐酸体积分数之间存在交互作用。通过 Design-Expert 8.0.6 软件建立出的数学模型得出紫山药花青苷最优提取工艺条件为温度:80.55℃、时间:3.5 h、料液比:1:24.72、乙醇体积分数:70%、盐酸质量分数:18‰。经5次平行验证实验得出在最优提取工艺条件下花青苷平均得率达到4.928 mg/g,相对标准偏差为0.31%,与数学模型的得率间的相对误差小于1.0%。

#### 参考文献

- 1 Xu CJ(徐成基). Research and development of Medicinal herbs containing Steroid hormones (中国薯蓣资源甾体激素药原植物的研究与开发). Chengdu: Sichuan Science and Technology Press, 2000. (下转第431页)