

响应面法优化蛇莓花色苷浸提工艺及稳定性研究

何晨阳, 刘明月, 时振伟, 黄琼, 靖亚菲, 李洋*

华北理工大学药学院, 河北 唐山 063210

摘要:目的 用响应面法优化乙醇浸提蛇莓花色苷的工艺条件并研究其稳定性。方法 在单因素试验基础上, 选取乙醇体积分数、液料比、提取时间、提取温度为自变量, 花色苷提取率为响应值, 采用 Box-Behnken 设计试验及响应面法分析, 优化浸提工艺。研究 pH 值、温度、有机酸、氧化剂对花色苷稳定性的影响。结果 优化的最佳工艺为乙醇体积分数 80%, 液料比 10 : 1, 提取时间 93 min, 提取温度 36 ℃, 在该最优条件下得到花色苷提取率为 1.126%。稳定性实验表明蛇莓花色苷在酸性、低温条件下稳定性好, 添加柠檬酸和没食子酸可增强其稳定性, 而在氨基乙酸、H₂O₂ 中稳定性差。结论 响应面法优化所得工艺科学合理、切实可行, 可用于蛇莓花色苷的提取; 对蛇莓花色苷操作时应注意条件以保持其稳定性。

关键词: 蛇莓; 花色苷; 响应面法; 浸提工艺; 稳定性; Box-Behnken 设计; 有机酸; 柠檬酸; 没食子酸; 氨基乙酸; H₂O₂

中图分类号: R284.2 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2018)08-1829-06

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2018.08.014

Optimization of extraction technology and stability of anthocyanins from *Duchesnea indica* by response surface methodology

HE Chen-yang, LIU Ming-yue, SHI Zhen-wei, HUANG Qiong, JING Ya-fei, LI Yang

School of Pharmacy, North China University of Science and Technology, Tangshan 063210, China

Abstract: **Objective** To optimize extraction technology and evaluate the stability of anthocyanins from *Duchesnea indica* by response surface methodology. **Methods** Based on single factor experiment, the ethanol concentration, liquid-material ratio, extraction time, and extraction temperature were selected as independent variables, and the anthocyanin extraction ratio was selected as response value. The Box-Behnken design method and response surface methodology were used to optimize the extraction technology. Additionally, the effects of pH, temperature, organic acid, and oxidizer on the stability of anthocyanins were investigated. **Results** The optimized extraction technology: ethanol concentration was 80%, liquid-material ratio was 10 : 1, extraction time was 93 min, and extraction temperature was 36 ℃. The ratio of the extraction of anthocyanins with the optimal technology was 1.126%. The stability experiments results showed that the anthocyanins should keep in acid and low temperature conditions. Adding citric acid and gallic acid enhanced its stability, but glycine and H₂O₂ decreased stability. **Conclusion** The extraction technology optimized by response surface methodology was scientific, reasonable, and feasible, and it can be applicable for the extraction of anthocyanins from *D. indica*. Moreover, the condition should be paid attention to in order to maintain the stability of anthocyanins from *D. indica*.

Key words: *Duchesnea indica* (Andr.) Focke; anthocyanin; response surface methodology; extraction technology; stability; Box-Behnken design; organic acid; citric acid; gallic acid; glycine; H₂O₂

蛇莓 *Duchesnea indica* (Andr.) Focke 别名鸡冠果、龙吐珠、地莓等, 为蔷薇科蛇莓属植物, 在全国分布较广, 多见于山林及道旁, 以全草入药, 归肺、肝、大肠经, 具有清热解毒、祛风定惊、消肿化痰等功效, 主治热病、感冒、黄疸、痢疾等^[1],

始记于陶弘景《名医别录》, 其云“主治胸腹大热不止”, 此外《本草纲目》《本草集经注》等对其均有记载, 是民间常用中草药, 由于近年来发现其具有抗菌^[2]、杀蚊幼^[3]及抗肿瘤^[4-5]功效而被广泛关注。

花色苷是一种重要的水溶性色素, 具有抗氧化、

收稿日期: 2017-09-18

基金项目: 河北省自然科学基金项目 (H2016209319); 华北理工大学博士科研启动基金项目 (25759799); 华北理工大学大学生创新创业训练计划项目 (X2017255); 华北理工大学研究生创新项目 (2018S49)

作者简介: 何晨阳 (1996—), 女, 本科在读, 研究方向为天然产物活性。Tel: 18332777972 E-mail: 374485350@qq.com

*通信作者 李洋 (1983—), 男, 讲师, 博士, 研究方向为天然产物的化学与生物活性。Tel: 18331595121 E-mail: yangli@ncst.edu.cn

保护心血管、抗肿瘤等多种功能^[6-8]，作为主要活性成分，在蛇莓果中主要以矢车菊素-3-芸香糖苷形式大量存在^[9]。目前针对蛇莓花色苷提取方法的研究较少，尚无响应曲面法对提取工艺的优化报道，限制了蛇莓花色苷的开发应用。天然花色苷极易受外界因素影响而降解^[10]，使其活性降低而功效减弱，因而探究蛇莓花色苷的稳定性，对其应用至关重要。

本研究以乙醇作为溶剂，利用响应面分析法^[11]优化蛇莓花色苷浸提工艺，同时探讨蛇莓花色苷稳定性的影响因素，旨在为蛇莓花色苷的生产及有效成分的保存提供一定参考依据。

1 仪器与材料

RV 8 型旋转蒸发仪、ICC control eco 18 型恒温器，IKA 公司；Lambda 35 型紫外可见分光光度计，PerkinElmer 公司；FDU-1200 型冷冻干燥机，Eyela 东京理化器械株式会社；CCA-20 型低温冷却水循环泵，巩义予华仪器有限公司；BT 125D 型分析天平、PB-10 型 pH 计，Sartorius 公司。

成熟蛇莓果，2017 年 6 月采于华北理工大学校园内，经华北理工大学药学院张志斐副教授鉴定为蔷薇科蛇莓属植物蛇莓 *Duchesnea indica* (Andr.) Focke 的果实，在 -20 ℃ 下冷藏备用；无水乙醇，分析纯，天津市津东天正精细化学试剂厂；氢氧化钠、氯化钾、醋酸钠、柠檬酸、柠檬酸钠、磷酸氢二钠，分析纯，天津市永大化学试剂有限公司；盐酸，批号 20150912，质量分数 36%~38%，北京化工厂；36%乙酸，分析纯，天津市天力化学试剂有限公司；氨基乙酸，批号 880128，质量分数 ≥99%，北京化工厂；30%过氧化氢 (H₂O₂)，分析纯，天津市大茂化学试剂厂；没食子酸，分析纯，天津市瑞金特化学品有限公司；XDA-8 型大孔吸附树脂，西安蓝晓科技新材料股份有限公司。

2 方法与结果

2.1 测定方法建立

2.1.1 蛇莓花色苷的制备 准确称量 10 g 蛇莓，加入 60 mL 体积分数为 80% 的乙醇溶液（含 0.1% HCl），在 40 ℃ 条件下浸提 1 h，滤过去除滤渣，减压回流，浓缩后得花色苷粗提液。将粗提液用 XDA-8 型大孔吸附树脂吸附 3 h，后用大量去离子水将树脂冲洗干净，再以 60% 乙醇解吸 1 h，收集解吸液并减压回流浓缩，后冷冻干燥，得花色苷粉末备用。

2.1.2 蛇莓花色苷含量及提取率的测定 取 2 mL

蛇莓花色苷粗提液，以去离子水做参比，用紫外可见分光光度计在 400~700 nm 进行波长扫描，确定其最大吸收波长为 527 nm。分别取 2 份 2 mL 蛇莓花色苷粗提液，各加入 2 mL 的 KCl-HCl 缓冲液 (pH 1.0) 和 NaAc-HAc 缓冲液 (pH 4.5)，在 527、700 nm 处测定吸光度 (*A*) 值。以 pH 值示差法^[12]计算花色苷含量，并按公式计算蛇莓花色苷提取率。

$$A = (A_{527} - A_{700})_{\text{pH } 1.0} - (A_{527} - A_{700})_{\text{pH } 4.5}$$

$$C = AM_w DF \times 1\,000 / \varepsilon \times l$$

$$\text{提取率} = C / W$$

*A*₅₂₇、*A*₇₀₀ 依次为花色苷在 527 nm 及 700 nm 时的 *A* 值，*C* 为待测液中花色苷含量，*M_w* 为矢车菊素-3-芸香糖苷的摩尔质量 (*M_w* = 595.2 g/mol)，*DF* 为稀释因子，*ε* 为花色苷的摩尔消光系数 (*ε* = 7 000)，*l* 表示光程 1 cm，*V* 为待测液体积，*W* 为蛇莓质量

2.2 蛇莓花色苷浸提单因素试验

以乙醇为提取剂，选取影响蛇莓花色苷提取率的 4 个因素，即乙醇体积分数、液料比、提取时间、提取温度进行单因素试验。

2.2.1 乙醇体积分数的影响 分别称取 5 份 10 g 蛇莓，在不同体积分数 (50%、60%、70%、80%、90%) 乙醇下，将蛇莓以 6:1 的液料比于 40 ℃ 提取 1 h，所得花色苷提取率依次为 0.387%、0.470%、0.518%、0.454%、0.417%，花色苷含量随着乙醇体积分数升高先增加后减少，当乙醇体积分数为 70% 时提取率最大。花色苷是由苷元和糖基组成的，当乙醇体积分数过高时会导致花色苷中糖苷的溶解度降低，使得花色苷提取率随之减少^[13]。因此，乙醇体积分数选取 60%、70%、80% 进行后续优化试验。

2.2.2 液料比的影响 分别称取 5 份 10 g 的蛇莓，在不同液料比 (2:1、4:1、6:1、8:1、10:1) 下，将蛇莓以 80% 乙醇于 40 ℃ 提取 1 h，所得花色苷提取率依次为 0.098%、0.217%、0.374%、0.529%、0.566%，随着液料比增加，花色苷提取率逐渐增大后趋于平稳。一定质量的蛇莓中花色苷提取率是有限的，溶剂体积的增大有利于有效成分的溶出，提高提取量，但过大会造成试剂浪费^[14]，适当的液料比不仅有利于花色苷的溶出，而且也减少了过大液料比造成的试剂浪费。因此，液料比选取 6:1、8:1、10:1 进行后续优化试验。

2.2.3 提取时间的影响 分别称取 5 份 10 g 的蛇莓，在不同提取时间 (30、60、90、120、150 min) 下，将蛇莓用 80% 乙醇以 6:1 的液料比于 40 ℃ 提

取, 所得花色苷提取率为 0.299%、0.459%、0.520%、0.530%、0.479%。随着提取时间的延长, 花色苷提取率先增加后减少, 可能是时间过长导致花色苷因各种外界因素而发生部分降解, 导致提取率减少。因此, 提取时间选取 90、120、150 min 进行后续优化试验。

2.2.4 提取温度的影响 分别称取 5 份 10 g 的蛇莓, 在不同提取温度 (35、40、45、50、55 ℃) 下, 将蛇莓用 80%乙醇以 6:1 的液料比提取 1 h, 所得花色苷提取率依次为 0.362%、0.445%、0.382%、0.365%、0.309%。当温度大于 40 ℃时花色苷提取率呈下降趋势, 可能是花色苷对热的不稳定性, 因温度过高而发生热降解, 使得提取率减少。因此, 提取温度选取 35、40、45 ℃进行后续优化试验。

2.3 响应面试验设计与结果分析

2.3.1 响应面试验设计 为分析各因素间交互作用对蛇莓提取液中花色苷含量的影响, 在单因素试验基础上, 选取乙醇体积分数 (A)、液料比 (B)、提取时间 (C)、提取温度 (D) 4 个因素为自变量, 每个自变量以低、中、高实验水平进行-1、0、1 编码, 以蛇莓花色苷提取率 (Y) 为响应值, 对花色苷的提取方法进行 4 因素 3 水平研究, Box-Behnken 试验设计与结果如表 1 所示。

2.3.2 方差分析与显著性检验 用 Design-Expert 8.0.6 对表 1 中数据进行分析, 拟合得到自变量 A、B、C、D 和响应值 Y 之间的二次多项回归方程为

$$Y=0.63+0.05 A+0.16 B-9.67 \times 10^{-3} C+9.58 \times 10^{-3} D+0.04 AB-0.09 AC-3.50 \times 10^{-3} AD-0.10 BC+0.04 BD-0.07 CD+0.08 A^2+0.06 B^2+0.10 C^2-0.03 D^2$$

对上述回归模型进行显著性检验, 结果见表 2。可知, 各因素对提取液中蛇莓花色苷提取率影响大小为 $B>A>C>D$, 方程的一次项 A、B, 二次项 A^2 、 B^2 、 C^2 及交互项 AC、BC、CD 对响应值的影响极显著, 二次项 D^2 和交互项 AB、BD 对响应值的影响显著。该回归模型 F 值为 41.76 ($P<0.0001$, 极显著), 而失拟项的 F 值为 0.59 ($P=0.7658>0.05$, 不显著), 这可能是由于噪音导致的净误差^[15], 失拟项不显著表明该方程拟合情况较好且具有统计学意义。

2.3.3 响应面分析 响应面图是由特定的响应值对应自变量构成的三维曲线图, 可以直观地反映出各自变量对响应值的影响^[16-17], 根据回归方程绘制不同影响因素对蛇莓醇提液中花色苷提取率的响应面图, 如图 1 所示。由图 1 可知, 液料比与提取时间、乙醇体积分数与提取时间的响应面的曲面较陡, 表明其交互作用对蛇莓花色苷提取率的影响显著, 而乙醇体积分数与提取温度、提取时间与提取温度的响应面图的曲面较平滑, 影响较小。由软件分析得蛇莓花色苷的浸提条件为乙醇体积分数 79.49%、液料比 9.86:1、提取时间 93.08 min、提取温度 36.07 ℃, 预测值为 1.141%。以实际操作便利考

表 1 Box-Behnken 试验设计与结果

Table 1 Design and result of Box-Behnken

试验号	A/%	B	C/min	D/℃	Y/%	试验号	A/%	B	C/min	D/℃	Y/%
1	80 (1)	10:1 (1)	120 (0)	40 (0)	1.030	15	70 (0)	8:1 (0)	120 (0)	40 (0)	0.632
2	60 (-1)	10:1 (1)	120 (0)	40 (0)	0.847	16	60 (-1)	8:1 (0)	90 (-1)	40 (0)	0.666
3	70 (0)	10:1 (1)	120 (0)	35 (-1)	0.776	17	80 (1)	8:1 (0)	150 (1)	40 (0)	0.794
4	70 (0)	8:1 (0)	120 (0)	40 (0)	0.592	18	70 (0)	10:1 (1)	150 (1)	40 (0)	0.831
5	70 (0)	6:1 (-1)	90 (-1)	40 (0)	0.580	19	70 (0)	8:1 (0)	150 (1)	35 (-1)	0.761
6	80 (1)	8:1 (0)	90 (-1)	40 (0)	0.968	20	70 (0)	8:1 (0)	120 (0)	40 (0)	0.668
7	60 (-1)	8:1 (0)	120 (0)	35 (-1)	0.607	21	60 (-1)	8:1 (0)	150 (1)	40 (0)	0.870
8	70 (0)	10:1 (1)	120 (0)	45 (1)	0.867	22	80 (1)	6:1 (-1)	120 (0)	40 (0)	0.604
9	70 (0)	10:1 (1)	90 (-1)	40 (0)	1.079	23	80 (1)	8:1 (0)	120 (0)	35 (-1)	0.703
10	60 (-1)	6:1 (-1)	120 (0)	40 (0)	0.583	24	70 (0)	6:1 (-1)	120 (0)	45 (1)	0.488
11	70 (0)	8:1 (0)	90 (-1)	45 (1)	0.763	25	70 (0)	8:1 (0)	150 (1)	45 (1)	0.602
12	70 (0)	6:1 (-1)	120 (0)	35 (-1)	0.554	26	80 (1)	8:1 (0)	120 (0)	45 (1)	0.756
13	60 (-1)	8:1 (0)	120 (0)	45 (1)	0.674	27	70 (0)	8:1 (0)	90 (-1)	35 (-1)	0.634
14	70 (0)	6:1 (-1)	150 (1)	40 (0)	0.716						

表 2 响应曲面方差分析及显著性检验

Table 2 Variance analysis and significant test for response surface

方差来源	平方和	自由度	F 值	P 值	方差来源	平方和	自由度	F 值	P 值
模型	0.56	14	41.76	<0.000 1**	CD	0.02	1	21.69	0.000 6**
A	0.03	1	32.22	0.000 1**	A ²	0.04	1	38.16	<0.000 1**
B	0.30	1	316.30	<0.000 1**	B ²	0.02	1	23.09	0.000 4**
C	1.12×10 ⁻³	1	1.17	0.300 1	C ²	0.06	1	59.13	<0.000 1**
D	1.10×10 ⁻³	1	1.15	0.304 1	D ²	5.43×10 ⁻³	1	5.68	0.034 5*
AB	6.56×10 ⁻³	1	6.86	0.022 4*	残差	0.01	12		
AC	0.04	1	37.36	<0.000 1**	失拟项	8.58×10 ⁻³	10	0.59	0.765 8
AD	4.90×10 ⁻⁵	1	0.05	0.824 7	净误差	2.89×10 ⁻³	2		
BC	0.04	1	38.56	<0.000 1**	总离差	0.57	26		
BD	6.16×10 ⁻³	1	6.45	0.026 0*					

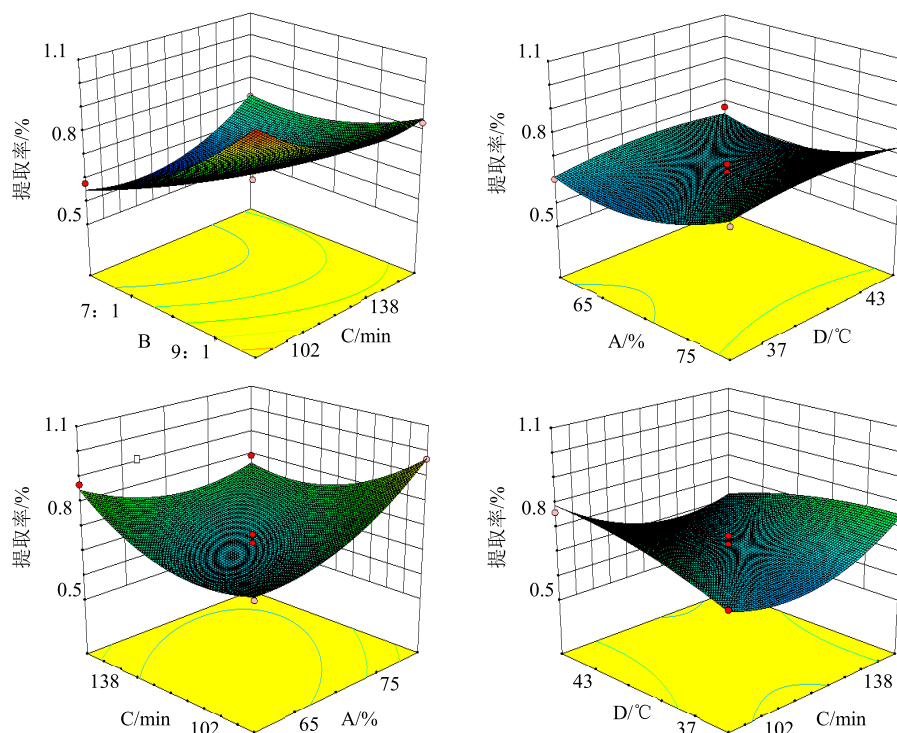
P* < 0.01 为极显著; **P* < 0.05 为显著P* < 0.01 is extremely significant; **P* < 0.05 is significant

图 1 各自变量间交互作用对花色苷提取率的响应面三维图

Fig. 1 Response surface 3D diagram of interaction effect among A, B, C, and D on content of anthocyanin

虑, 将其修正为乙醇体积分数 80%, 液料比 10:1, 提取时间 93 min, 提取温度 36 °C。3 次平行验证实验得花色苷提取率为 1.121%、1.128%、1.129%, 平均提取率为 1.126%, 与理论值相差 1.31%。

2.4 稳定性研究

2.4.1 pH 值对花色苷稳定性的影响 按“2.1.1”项下方法, 采用优化条件浸提蛇莓花色苷, 纯化后冻干得到花色苷粉末, 准确称量蛇莓花色苷粉末溶于

去离子水, 配成一定浓度的蛇莓花色苷溶液(下同), 分别取 7 份 50 mL 蛇莓花色苷溶液于锥形瓶中, 用缓冲溶液依次调节 pH 值为 2.0~8.0, 避光保存, 每隔 1 h 取样测定花色苷质量分数。随着 pH 值的升高及时间的延长, 花色苷质量分数逐渐减少, 7 h 后 pH 2.0~8.0 条件下花色苷的保存率依次为 98.47%、93.13%、90.08%、87.79%、79.39%、52.67%、41.22%, 说明花色苷在酸性条件稳定性优于碱性条件, 故而

应于酸性条件下保存且 pH 2.0 时最稳定。

2.4.2 温度对花色苷稳定性的影响 分别取 4 份 50 mL 蛇莓花色苷溶液于锥形瓶中,在 90、45、25、4 °C 条件下避光保存,每隔 1 h 取样测定花色苷的质量分数。花色苷质量分数随温度升高及时间延长而下降。当热处理 1 h 后,4、25、45、90 °C 下花色苷的保存率依次为 100.00%、97.65%、94.12%、91.18%,而 7 h 后依次下降至 95.29%、85.29%、73.53%、52.94%,可见高温对花色苷质量分数的影响较大,在实际生产及保存中应控制温度小于 45 °C。

2.4.3 有机酸对花色苷稳定性的影响 分别取 13 份 25 mL 蛇莓花色苷溶液于 50 mL 量瓶中,各加入质量浓度为 10、20、30、40 mg/mL 的柠檬酸、没食子酸、氨基乙酸溶液定容至 50 mL,对照组用去离子水定容至 50 mL,避光保存,每隔 1 h 取样测定花色苷提取率,7 h 后花色苷质量分数。不同有机酸对花色苷的稳定性影响不同,7 h 后花色苷的保存率为柠檬酸(83.33%)>没食子酸(80%)>对照组(66.67%)>氨基乙酸(53.33%)。此外,花色苷质量分数随柠檬酸和没食子酸质量浓度升高而增加,而随氨基乙酸质量浓度升高而减少。因此,柠檬酸和没食子酸的存在利于花色苷保存,且柠檬酸效果更好,可能是其能更好地与花色苷通过氢键和疏水键产生辅色作用,提高花色苷的稳定性^[18]。

2.4.4 氧化剂对花色苷稳定性的影响 以 H₂O₂ 为氧化剂,分别取 4 份 25 mL 蛇莓花色苷溶液于 50 mL 量瓶中,各加入纯水及质量分数为 0.5%、5%、10% 的 H₂O₂ 溶液定容至 50 mL,避光保存,每隔 1 h 取样测定花色苷的提取率。花色苷质量分数随着 H₂O₂ 质量分数的增大而减少,1 h 后 0~10% H₂O₂ 处理的花色苷保存率依次为 98.67%、84.67%、66.67%、26.67%,而 7 h 后 0~10% H₂O₂ 处理的花色苷溶液保存率依次为 80.67%、46.67%、13.33%、2.67%,加入 H₂O₂ 后花色苷保存率明显低于对照组(无 H₂O₂),说明氧化剂 H₂O₂ 对花色苷有破坏作用且花色苷降解速率随着 H₂O₂ 浓度增高而加快,这与陈莎莎等^[19]在青藏高原黑果枸杞花青素中研究相一致,故应避免接触。

3 讨论

本研究首次采用响应曲面法对蛇莓花色苷浸提工艺参数进行优化,利用 Design-Expert 8.0.6 软件对提取液中花色苷提取率进行预测分析,并通过验证实验确定了优化后花色苷浸提工艺。该提取工艺

稳定、可靠、成本低,为后续蛇莓花色苷的提取开发奠定了基础。

实验所得最佳条件为乙醇体积分数 80%,液料比 10:1,提取时间 93 min,提取温度 36 °C,得到花色苷提取率为 1.126%,与理论值相接近,表明该模型符合良好,提取工艺具有可行性。

蛇莓花色苷稳定性研究表明其在酸性条件下(pH 2.0~5.0)较为稳定,有一定的热稳定性但不耐高温。花色苷稳定性随着柠檬酸、没食子酸质量浓度增大而增强,随氨基乙酸质量浓度增大而减弱。此外,H₂O₂会引起花色苷的降解,质量分数越高降解越快。因此,对蛇莓花色苷进行工业化生产或应用时,适宜在酸性条件下进行,应尽量避免长时间高温操作,同时,花色苷具有还原性,还应注意氧化剂的存在会使其降解。

参考文献

- [1] 张 帅,刘 胜. 中药蛇莓的药理作用和临床应用研究进展 [J]. 云南中医中药杂志, 2016, 37(6): 79-81.
- [2] 林居纯,黄 玲,刘 丹,等. 蛇莓水提物的体外抗菌活性及抗菌机制 [J]. 中国兽医科学, 2013, 43(6): 645-649.
- [3] 于冬冬,闫 合,吴 华,等. 蛇莓杀蚊幼活性成分初步分离与鉴定 [J]. 西北农业学报, 2015, 24(1): 156-160.
- [4] 吴培楠,段宏泉,姚 智,等. 蛇莓中具有抗癌活性的三萜类成分 [J]. 中草药, 2007, 38(9): 1311-1313.
- [5] Peng B, Hu Q, Sun L, et al. *Duchesnea* phenolic fraction inhibits tumor growth through restoring the Th1/Th2 balance in U14 cervical cancer bearing mice [J]. *Chin Med*, 2012, 3(1): 42-45.
- [6] Tsuda T. Dietary anthocyanin-rich plants: Biochemical basis and recent progress in health benefits studies [J]. *Mol Nutr Food Res*, 2012, 56(1): 159-170.
- [7] Lim S, Xu J, Kim J, et al. Role of anthocyanin-enriched purple-fleshed sweet potato p40 in colorectal cancer prevention [J]. *Mol Nutr Food Res*, 2013, 57(11): 1908-1917.
- [8] 蒋晓萌,刘岱琳,李赫宇,等. 黑色谷物中花色苷的研究应用现状 [J]. 中草药, 2009, 40(增刊): 26-29.
- [9] Qin C G, Li Y, Zhang R J, et al. Separation and elucidation of anthocyanins in the fruit of mockstrawberry (*Duchesnea indica* Focke) [J]. *Nat Prod Res*, 2009, 23(17): 1589-1598.
- [10] Faria A, Fernandes I, Norberto S, et al. Interplay between anthocyanins and gut microbiota [J]. *J Agr Food Chem*,

- 2014, 62(29): 6898-6902.
- [11] 王 梓, 赵立春, 李 伟, 等. 响应曲面法 (RSM) 优化人参皂苷 Rh₄ 和 Rk₃ 的制备工艺 [J]. 中草药, 2017, 48(11): 2207-2211.
- [12] Chen R, Li S, Liu C, *et al.* Ultrasound complex enzymes assisted extraction and biochemical activities of polysaccharides from *Epimedium* leaves [J]. *Proc Biochem*, 2012, 47(12): 2040-2050.
- [13] 蒋海伟, 杨婷婷, 李佳桥, 等. 响应面法优化红米花色苷微波辅助提取工艺及其抗氧化活性研究 [J]. 中国食品学报, 2015, 15(5): 74-81.
- [14] Zou T B, Wang M, Gan R Y, *et al.* Optimization of ultrasound-assisted extraction of anthocyanins from mulberry, using response surface methodology [J]. *Int J Mol Sci*, 2011, 12(5): 3006-3017.
- [15] Saini P, Parkash S. Experimental investigation of machining parameters for surface, roughness in high speed CNC turning of EN-24 alloy steel, using response surface methodology [J]. *Int J Eng Res Appl*, 2014, 4(5): 153-160.
- [16] 崔文燕, 刘素香, 赵艳敏, 等. 响应曲面法优化黄花败酱总皂苷提取工艺及体外促进肠平滑肌收缩活性 [J]. 中草药, 2016, 47(12): 2078-2083.
- [17] 覃 勤, 叶利春, 李 群, 等. 七叶皂苷 A~D 体外转化规律研究 [J]. 中草药, 2017, 48(11): 2212-2218.
- [18] 王 萌, 李小定, 刘 硕, 等. 有机酸对紫甘薯花色苷的辅色作用 [J]. 食品科学, 2014, 35(23): 119-124.
- [19] 陈莎莎, 索有瑞, 白 波, 等. 青藏高原黑果枸杞花青素稳定性评价 [J]. 天然产物研究与开发, 2017, 29(2): 322-328.