

DOI: 10.19812/j.cnki.jfsq11-5956/ts.20250331002

引用格式: 程凯旋, 孙洋, 刘博文, 等. 响应面-人工神经网络优化藤茶二氢杨梅素超声提取工艺及含量分析[J]. 食品安全质量检测学报, 2025, 16(16): 268-278.

CHENG KX, SUN Y, LIU BW, *et al.* Response surface-artificial neural networks optimized ultrasonic extraction process of dihydromyricetin from *Ampelopsis grossedentata* and content analysis [J]. Journal of Food Safety & Quality, 2025, 16(16): 268-278. (in Chinese with English abstract).

响应面-人工神经网络优化藤茶二氢杨梅素超声提取工艺及含量分析

程凯旋¹, 孙洋¹, 刘博文¹, 康宇², 张驰¹, 陈帅³, 商龙臣^{1*}

(1. 湖北民族大学生物与食品工程学院, 恩施 445000; 2. 恩施土家族苗族自治州农业科学院, 恩施 445000; 3. 武汉大学公共健康学院, 武汉 430071)

摘要: **目的** 基于人工神经网络和响应面模型优化超声提取藤茶中二氢杨梅素的工艺。**方法** 以藤茶茎叶为研究对象, 建立超声提取二氢杨梅素体系, 联合单因素实验、响应面法与遗传算法优化的人工神经网络模型, 系统优化工艺参数, 并利用最优工艺对藤茶不同部位提取液中二氢杨梅素的含量进行分析。**结果** 人工神经网络模型具有更高的准确性和预测能力, 最佳工艺条件为: 超声功率 360 W、超声温度 42 °C、液料比 20:1 (mL:g)、超声时间 35 min。此时二氢杨梅素实际提取率达(39.83±0.01)%, 与神经网络模型预测值(40.19%)的相对误差仅为 0.36%。同时, 在最优超声条件下, 藤茶不同部位提取液中二氢杨梅素的提取率为: 藤茶茎叶>藤茶梗>藤茶剪枝。**结论** 本研究通过优化超声提取工艺, 提高二氢杨梅素的提取效率, 并揭示藤茶不同部位提取液的二氢杨梅素提取率存在显著差异。

关键词: 藤茶; 二氢杨梅素; 超声提取; 响应面法; 人工神经网络

Response surface-artificial neural networks optimized ultrasonic extraction process of dihydromyricetin from *Ampelopsis grossedentata* and content analysis

CHENG Kai-Xuan¹, SUN Yang¹, LIU Bo-Wen¹, KANG Yu², ZHANG Chi¹,
CHEN Shuai³, SHANG Long-Chen^{1*}

(1. College of Biology and Food Engineering, Hubei Minzu University, Enshi 445000, China; 2. Enshi Tujia and Miao Autonomous Prefecture Academy of Agricultural Sciences, Enshi 445000, China; 3. School of Public Health, Wuhan University, Wuhan 430071, China)

ABSTRACT: Objective To optimize the ultrasonic extraction process of dihydromyricetin from *Ampelopsis grossedentata* using artificial neural networks combined with response surface methodology. **Methods** The stems

收稿日期: 2025-03-31

基金项目: 湖北省重点研发计划项目(2023BBB005); 湖北省自然科学基金联合基金项目(2024AFD079)

第一作者: 程凯旋(1999—), 女, 硕士研究生, 主要研究方向为天然产物活性与功能评价。E-mail: 1677027406@qq.com

*通信作者: 商龙臣(1990—), 男, 博士, 讲师, 主要研究方向为食品胶体与营养。E-mail: 2021021@hbmzu.edu.cn

and leaves of *Ampelopsis grossedentata* were used as the research material. An ultrasonic extraction system for dihydromyricetin was established, and the process parameters were systematically optimized using a combination of single-factor experiments, response surface methodology and artificial neural network models optimized by genetic algorithms. The extraction yields of dihydromyricetin from different parts of *Ampelopsis grossedentata* were then analyzed under optimal conditions. **Results** The artificial neural network model exhibited superior accuracy and predictive capability in comparison to the response surface methodology. The optimal extraction conditions were determined to be an ultrasonic power of 360 W, a temperature of 42 °C, a liquid-to-solid ratio of 20:1 (mL:g), and an extraction time of 35 min. Under these conditions, the actual extraction yield of dihydromyricetin was (39.83±0.01)%, with a relative error of only 0.36% compared to the artificial neural network-predicted value of 40.19%. Furthermore, the extraction yield of dihydromyricetin from various parts of *Ampelopsis grossedentata* under optimal ultrasonic conditions followed the sequence: Stems and leaves of *Ampelopsis grossedentata*>branches of *Ampelopsis grossedentata*>pruned branches of *Ampelopsis grossedentata*. **Conclusion** This study successfully optimizes the ultrasonic extraction process to enhance the extraction efficiency of dihydromyricetin from *Ampelopsis grossedentata* and reveals significant differences in dihydromyricetin extraction yields among different parts of the plant.

KEY WORDS: *Ampelopsis grossedentata*; dihydromyricetin; ultrasound extraction; response surface methodology; artificial neural networks

0 引言

藤茶(*Ampelopsis grossedentata*)是显齿蛇葡萄提取的一种传统的药食两用植物^[1],数百年来被广泛用于治疗咳嗽、发烧呕吐、黄疸型肝炎、慢性肾炎等多种疾病^[2]。二氢杨梅素(dihydromyricetin, DHM)作为藤茶中最为关键的一种二氢黄酮醇类化合物,其含量通常可达 30%~40%^[3]。DHM 常作为抗氧化剂、抗菌剂、抗病毒剂及抗癌药物使用,对癌症、糖尿病、肥胖等慢性疾病也展现出了一定的治疗潜力^[4]。

DHM 的传统提取方法(如有机溶剂法)仍然是工业生产 DHM 的常用方法。然而,这些方法存在一些缺点,如大多数有机溶剂易燃和环境不友好的特征使提取受到限制^[5]。因此近年来,超声辅助提取作为一种高效、绿色、低能耗的提取技术,在植物活性成分的提取中具有显著优势^[6]。然而,超声提取工艺参数(如提取时间、超声功率、提取温度等)对提取效率有显著影响,需要进行进一步的优化。在工艺优化方法方面,人工神经网络(artificial neural network, ANN)和响应面法(response surface methodology, RSM)是两种常用且有效的手段。RSM 是通过实验数据的回归分析,构建输入变量(因素)与输出响应(结果)之间的函数关系(响应面模型),并利用该模型预测和优化工艺参数^[7]。然而,该方法存在不足,如实验各因素和水平选取不当会影响优化结果,且无法进行非连续变量优化。ANN 则是一种模仿生物神经系统结构和功能的算法模型,由大量相互连接的“神经元”(处理单元)组成,通过调整神经元之间的连接权重来学习数据中的复杂关系^[8]。具有强大的非线性映射能力和自适应学习能力,能够处理复杂的非线性关系,对实验数

据进行准确拟合和预测,从而为优化工艺参数提供有力支持^[9]。本研究旨在通过对比 ANN 和 RSM,优化超声提取藤茶中 DHM 的工艺参数。通过建立和比较两种模型,确定最优的提取条件,提高 DHM 的提取效率,同时使用最佳工艺比较不同部位藤茶提取液中 DHM 提取率的差异。本研究为藤茶资源的高效利用及工业的标准化生产提供了一定的实验依据和思路,也为 ANN 模型在提取 DHM 工艺优化中的应用提供了参考。这不仅有助于提高藤茶的利用价值,还为其他天然产物的提取工艺优化提供了参考。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

藤茶:产地为湖北省恩施州来凤县。

DHM 分析标准品(纯度≥98%,上海阿拉丁生化科技股份有限公司);无水乙醇、三氯化铝、石油醚(分析纯)、磷酸、甲醇(色谱纯)(国药集团化学试剂有限公司);二氧化硒(分析纯,上海麦克林生化科技股份有限公司)。

1.2 仪器与设备

CARY300Conc 紫外可见分光光度计(美国 Varina 公司);SB25-12DTD 超声波清洗机(宁波新芝生物科技股份有限公司);UltiMate300 高效液相色谱仪(赛默飞世尔科技中国有限公司);BSA224S 分析天平(精度 0.1 mg,赛多利斯莱珀思上海贸易有限公司);WK-1000A 摇摆式粉碎机(上海新诺仪器设备有限公司);TG16-WS 台式高速离心机(湖南湘仪实验室仪器开发有限公司);XH-C 旋涡混合器(佑琪安上海科学仪器有限公司);Ultimate®XB-C₁₈ 色谱柱(250 mm×4.6 mm, 5 μm, 月旭科技上海股份有限公司)。

1.3 实验方法

1.3.1 藤茶预处理

将干燥处理后的叶片,利用粉碎机将其粉碎至粉末状态,随后采用 60 目筛进行筛分,收集细粉置于自封袋中密封保存。在进行后续分析之前,将装有粉末样品的自封袋存放于 4 °C 的冰箱环境中,以维持样品的稳定性和完整性,确保其在分析前不受外界因素干扰。

1.3.2 最大吸收波长的选择及标准曲线绘制

准确称量 25.0 g 经干燥处理后的藤茶粉末,置于 500 mL 锥形瓶中,加入 250 mL 沸程为 60~90 °C 的石油醚,进行脱脂处理。脱脂完成后,将藤茶粉末平铺放置在通风橱中,自然挥发 24 h,确认石油醚完全挥发后,将脱脂后的藤茶密封置于 4 °C 冰箱中保存。回收的石油醚经适当处理后可重复使用^[10]。

准确称取 DHM 标准品 10 mg,用 95%乙醇溶解并定容至 200 mL,制备成质量浓度为 50 mg/mL 的 DHM 标准溶液。取脱脂后的藤茶粉末 0.1 g,用 95%乙醇溶液溶解并定容至 50 mL。在超声功率 240 W、温度 40 °C 的条件下超声提取 30 min,得到藤茶提取液。取标准溶液 1 mL 和藤茶提取液 0.2 mL,分别加入 5%三氯化铝溶液 3 mL,用 95%乙醇定容至 10 mL,摇匀后放置 40 min。以 95%乙醇为空白,在 250~350 nm 范围内扫描,选取二者共同的最大吸收波长^[11]。

精密称量 DHM 标准品 5.2 mg(精确至 0.1 mg),用 95%乙醇溶液溶解并定容至 50 mL,涡旋混匀后制备成 DHM 标准品原液。分别配制质量浓度为 0.0025、0.0050、0.0075、0.0100、0.0125 mg/mL 的标准系列溶液,加入 3 mL 三氯化铝显色剂(5%),用同浓度乙醇溶液补足至刻度线,充分振荡后避光静置 40 min。使用紫外分光光度计在 310 nm 处测定各溶液的吸光度值。以 DHM 质量浓度为横坐标(X , mg/mL),对应吸光度值为纵坐标(Y),进行线性回归分析^[12]。

1.3.3 DHM 高效液相色谱法的特征图谱鉴定

根据《中国药典》2020 年版四部通则 0512,采用高效液相色谱法(high performance liquid chromatography, HPLC)测定 DHM 的特征图谱。检测波长设定为 290 nm。使用 Ultimate®XB-C₁₈ 色谱柱(250 mm×4.6 mm, 5 μm)。流动相 A 相为甲醇,流动相 B 为 0.1%磷酸溶液,按照表 1 中的程序进行梯度洗脱。流速为 0.6 mL/min,柱温为 25 °C。

精密称定 DHM 标准品加入甲醇-0.1%磷酸溶液(60:40, V:V),制备质量浓度为 100 μg/mL 的 DHM 对照品溶液。其次,取藤茶样品粉末 0.5 g 置于离心管中,加入 50 mL 甲醇-0.1%磷酸溶液(60:40, V:V)后称重。在超声功率 300 W,频率 45 kHz 下反应 30 min,冷却再称重,溶剂补足缺失重量,8000 r/min 离心后取上清液备用。进样量为 10 μL,测定即得^[13]。与 DHM 对照品进行对比,鉴定提取液最大波长下的样品是否为 DHM,对照品峰和参照物峰的相对保留时

间不超过±8%,理论板数>5000,以确保分析结果的准确性和可靠性。

表 1 DHM 特征图谱 HPLC 梯度洗脱程序
Table 1 HPLC gradient elution program for the characteristic spectrum of DHM

时间/min	流动相 A/%	流动相 B/%
0~20	20→30	80→70
20~40	30→45	70→55
40~48	45→65	55→35
48~50	65→20	35→80
50~60	20	80

1.3.4 单因素实验设计

为了探索超声提取藤茶中 DHM 的最佳提取工艺条件,本研究通过前期文献调研及参考文献优化条件,结合超声仪器参数进行预实验,筛选出 3 种常见提取溶剂,分别为乙醇(55%)、甲醇(80%)和热水(50 °C)^[14],分别称取 1.00 g 藤茶粉末 9 份于离心管中,分别加入热水、80%甲醇、55%乙醇各 20 mL(料液比 1:20, g:mL)备用。采用 40 kHz, 240 W 功率, 40 °C, 超声提取 20 min 后。提取结束后,提取液自然冷却至 25 °C 后, 8000 r/min 离心 15 min 作为供试样品,测定其 DHM 的提取率^[15-16]。

确定溶剂后,以超声功率(A)、超声温度(B)、液料比(C)、超声时间(D)为单因素,通过依次改变这 4 个单因素,分析各因素对 DHM 提取率的影响^[17],具体条件见表 2。

表 2 单因素实验水平设定表
Table 2 Level setting table for single factor experiment

水平	因素			
	A/W	B/°C	C (mL:g)	D/min
1	240	20	10:1	10
2	300	30	15:1	20
3	360	40	20:1	30
4	420	50	25:1	40
5	480	60	30:1	50
6	540	70	35:1	60
7	600	80	/	70

注:/代表无数值设定。

具体过程如下:

超声功率的影响:准确称取 DHM 1 g,用选定的溶剂定容到 20 mL,涡旋混匀。在超声提取过程中,改变超声功率,超声温度为 40 °C,提取时间为 30 min。在 8000 r/min 下离心 15 min,取稀释后的上清液 1 mL,加入 3 mL 5%的三氯化铝,溶剂定容至 10 mL,以相应溶剂作为空白对照,在最大波长下测定其紫外吸光度,最后通过 DHM 的标准曲线计算 DHM 提取率^[18]。B、C、D 除水平梯度和取上一单因素的最高提取条件不同外,其余步骤同上,每个变量

取 3 个水平进行响应面分析。

1.3.5 响应面实验设计

在完成单因素探索性实验后, 采用四维三阶响应面(response surface methodology, RSM)实验设计, 系统分析各工艺参数的交互作用及其 DHM 提取效率的影响权重, 从而构建稳健的工艺参数优化模型。该实验设计以超声功率、超声温度、液料比和超声时间为考察因素, 通过合理安排实验组合, 全面评估各因素间的协同效应, 最终确定优化的提取工艺参数组合, 以实现 DHM 提取效率的最大化^[19]。

1.3.6 ANN 建模

使用 RSM 法中的 87 组数据构建 ANN 模型^[20]。其中 70% 的数据(61 组)用于模型训练, 15% 的数据(13 组)用于验证, 15% 的数据(13 组)用于测试。根据 RSM 模型的结果, 输入层神经元数量为 4(超声温度、超声时间、超声功率和液料比), 输出层神经元数量为 1(DHM 提取率)。采用单隐藏层网络拓扑结构, 网络结构为 4-X-1。通过实验确定隐藏层神经元数量, 隐藏层神经元数量在 3 到 12 之间变化, 模型性能评估基于均方误差(mean square error, MSE), 其计算如公式(1):

$$MSE = \frac{\sum_{i=1}^r (n_i - 1) S_i}{N - r} \quad (1)$$

式中: N 为样本数量; r 为组数; S 为修正方差; $N-r$ 为自由度。

1.3.7 遗传算法优化 ANN 模型

将 ANN 模型作为遗传算法(genetic algorithm, GA)的适应度函数, 以“DHM 提取率”作为适应度值, 最大迭代次数、种群规模、交叉率和变异率分别设置为 100、50、0.8、0.2。每一代个体依据适应度值持续经历选择、交叉和变异过程, 直至找到最优个体, 并据此预测相应的提取条件^[21]。

1.3.8 模型误差分析与验证

通过计算决定系数(R^2)、均方根误差(root mean square error, RMSE)、绝对平均偏差(absolute average deviation, AAD)和球概率误差(spherical error probable, SEP)来评估模型的预测能力^[22]。计算如公式(2)~(5):

$$R^2 = \frac{\left(\sum_{i=1}^n (Y_e - \bar{Y}_e)(Y_p - \bar{Y}_p) \right)^2}{\left(\sum_{i=1}^n (Y_e - \bar{Y}_e)^2 \right) \left(\sum_{i=1}^n (Y_p - \bar{Y}_p)^2 \right)} \quad (2)$$

$$RMSE = \left(\frac{1}{n} \sum_{i=1}^n (Y_p - Y_e)^2 \right)^{\frac{1}{2}} \quad (3)$$

$$AAD/\% = \frac{1}{n} \sum_{i=1}^n \frac{|Y_p - Y_e|}{|Y_e|} \times 100\% \quad (4)$$

$$SEP/\% = \frac{RMSE}{Y_e} \times 100\% \quad (5)$$

式中: n 为样本数量; Y_e 为实验值; Y_p 为预测值; 变量上方有横线则表示相应变量的均值。

1.4 数据处理

利用 Design-Expert ver 13.0 设计 RSM 模型, Matlab R 2016 a 构建 ANN 模型, 通过 GraphPad Prism 9.5.0 进行统计分析与绘图, 当 $P < 0.05$ 时, 结果具有统计学意义。除非另有说明, 所有实验均进行 3 次重复。

2 结果与分析

2.1 最大吸收波长、标准曲线及回归方程

图 1 呈现了 DHM 标准溶液和藤茶提取液的扫描结果。从图 1 中可以看出, 两者在 310 nm 处均达到最大吸光度, 且波峰较为单一, 因此确定测定最大吸收波长为 310 nm^[23]。分别测定不同浓度 DHM 标品在 310 nm 处的紫外吸光度, 以吸光度对 DHM 含量作图, 得回归方程 $Y = 58.091X + 0.0070952$, $r^2 = 0.9996$, 表明标品在 0~0.0125 mg/mL 范围内线性关系良好。

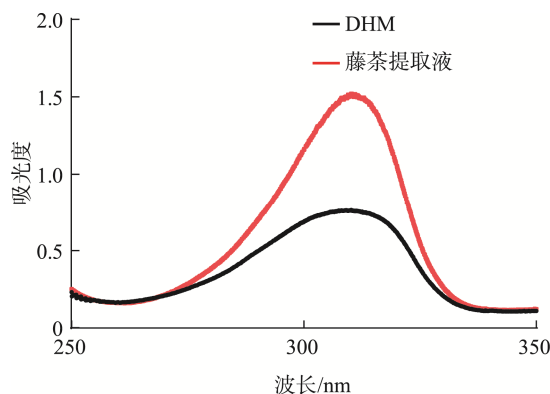


图 1 DHM 标准品和藤茶提取液的紫外光谱
Fig.1 Ultraviolet spectrum of DHM standard and *Ampelopsis grossedentata* extract

2.2 藤茶中 DHM 提取液的鉴定

为保证提取液提取的为 DHM, 使用 HPLC 测定 DHM 的特征图谱。图 2 为藤茶提取液和 DHM 标品的 HPLC 色谱图。从图 2 中可以看出, DHM 标准品的色谱峰出现时间为 21.117 min。藤茶提取液的主要成分色谱峰出现时间为 21.407 min(组分 15), 峰形对称, 另有许多小峰和杂峰。对比样品与标准品的出峰时间, 二者相对保留时间不超过 $\pm 8\%$, 说明经超声辅助提取的提取液主要成分为 DHM^[24], 可以进行下一步实验。

2.3 不同提取溶剂对藤茶中 DHM 提取效果的影响

由图 3 可知, 在初始设置的超声条件下提取藤茶中的 DHM, 以 55% 乙醇提取的 DHM 提取率最高, 为 11.74%。不同溶剂超声提取 DHM 的能力大小为: 55% 乙醇 > 80% 甲醇 > 50 °C 热水, 综合比较, 55% 乙醇作为溶剂提取经济、来源方便、无污染、易于清洁、利于环境保护, 因此, 选取 55% 乙醇溶液作为提取溶剂。

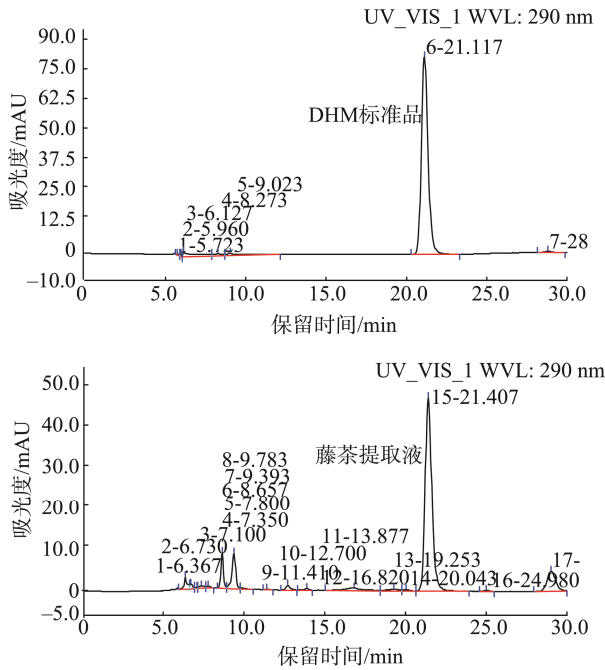
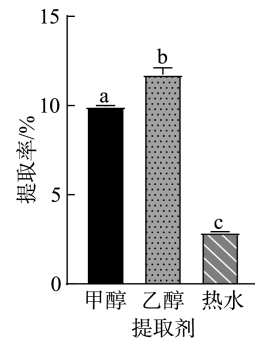


图 2 DHM 标准品和藤茶提取液的 HPLC 色谱图
Fig.2 HPLC chromatograms of DHM standard and *Ampelopsis grossedentata* extract



注: 不同小写字母表示具有显著性差异($P < 0.05$), 图 4 同。

图 3 不同溶剂对藤茶中 DHM 提取率的影响

Fig.3 Effects of different solvents on the extraction rates of DHM from *Ampelopsis grossedentata*

2.4 单因素对藤茶中 DHM 提取效果的影响

从图 4 的数据变化趋势可以看出, 随着依次对 A、B、C、D 4 个单因素(超声功率、超声温度、液料比、超声时间)进行优化调整, DHM 的提取率呈现出逐步提升的态势。这表明每个单因素的改变都对提取率产生了显著的影响, 且在逐步优化的过程中, 这些影响是累加的, 从而使得总体的提取率不断提高^[25]。同时, 藤茶中 DHM 提取率随着

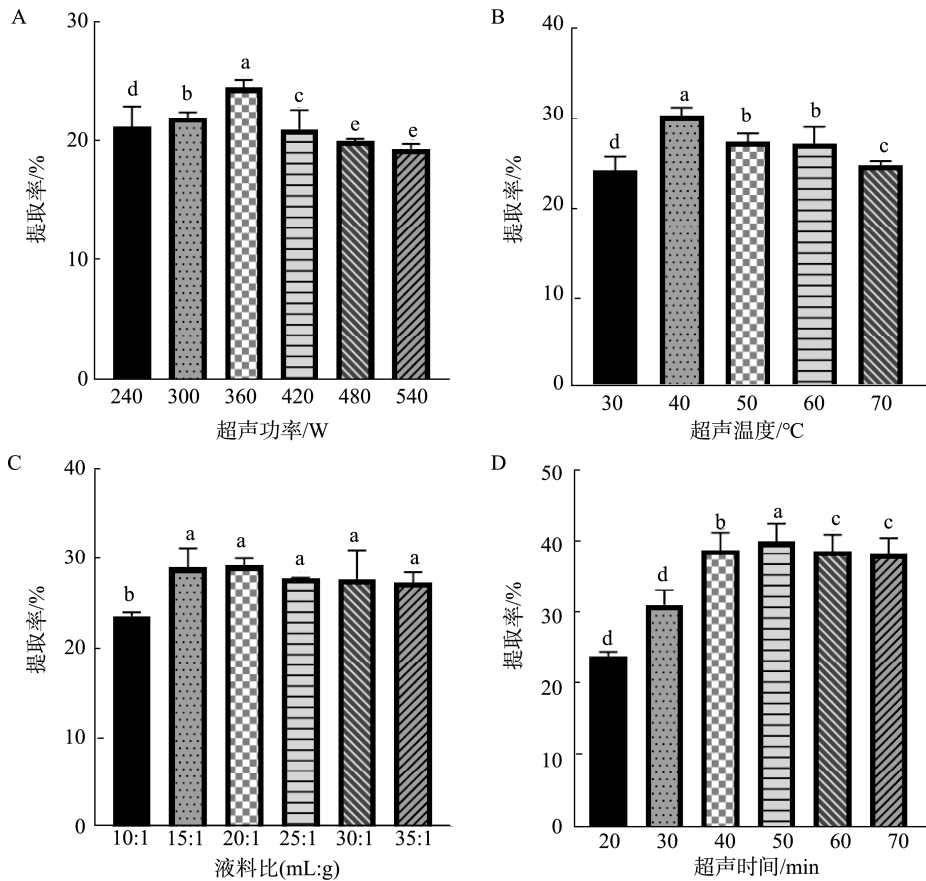


图 4 单因素对藤茶中 DHM 提取率的影响

Fig.4 Effects of single factor on the extraction rates of DHM in *Ampelopsis grossedentata*

超声功率的增大先上升后下降, 较高的超声功率可促进 DHM 的进一步释放, 在超声功率为 360 W 时, DHM 的提取率最大。而当超声功率高于 360 W, 提取率开始降低, 这或许是因为过高的超声功率对 DHM 的分子结构产生了破坏, 影响了其内部的稳定性, 导致提取率下降^[17,24]。在实验设定的温度范围内, DHM 的提取得率相差不大。比较而言, 30~50 °C 的温度范围可以满足要求。在实验中, 选择合适的液料比能够减少溶剂浪费, 简化提取流程, 同时减轻溶剂回收的负担。从图 4 可以观察到, DHM 提取率随着液料比的增加而提升, 但当液料比超过 15:1 (mL:g) 时, 提取率的增加不再具有统计学意义。确定提取的液料比范围为 15:1~25:1 (mL:g)。此外, 随着超声时间的延长, DHM 提取率逐渐上升, 但当超声时间超过 50 min 时, 提取率的增加趋势开始减缓。因此, 将超声辐照时间的考察范围设定为 30~50 min。综上, 超声功率 300~420 W、温度 30~50 °C、液料比 15:1~25:1 (mL:g)、超声时间 30~50 min 为较优提取条件。

2.5 RSM 分析

基于单因素实验结果, 运用 RSM 分析 DHM 提取工艺。实验的具体设置详见表 3, 以 DHM 提取率(Y)作为响应值, 通过回归拟合各影响因子与响应值之间的关系, 得到回归方程:

$$Y=38.90-0.4801A+1.90B-0.4090C-2.95D-0.6847AB+2.64AC-0.3084AD+0.2868BC+0.1357BD+1.21CD-6.79A^2-4.92B^2-5.10C^2-4.74D^2$$

该方程揭示了超声功率(A)、超声温度(B)、液料比(C)和超声时间(D)对 DHM 提取率的综合影响。线性项系数显示各单一因素对提取率的直接影响, 其中 B (超声温度)的正系数表明其在一定范围内对提取率有促进作用。交互项(AB 、 AC 等)反映了不同因素间的协同或拮抗效应, AB 项的负系数意味着超声功率和温度的交互作用可能在过高或过低组合时对提取率产生不利影响。二次项(A^2 、 B^2 等)则体现了各因素的非线性效应, 表明在某些因素水平过高或过低时, 提取率会受到抑制^[26]。

根据表 4 的数据, 模型的 $P<0.0001$, 表明该模型具有高度显著性, 能够可靠地描述各因素对 DHM 提取率的影响。通过 F 分析, 确定各因素对 DHM 提取率的影响程度从大到小依次为: 超声时间(D)>超声温度(B)>超声功率(A)>液料比(C)。RSM 模型分析得出最佳提取条件为: 超声功率 356 W、超声温度 41 °C、液料比 20:1 (mL:g)、超声时间 37 min。此条件下的提取率预计最高。

图 5 显示, 残差的正态概率分布以及预测值与实际值基本位于一条直线上, 表明模型的拟合性较好, 可以使用该模型解释各因素之间的关系, 可用于对实验数据的解释和分析^[27]。

表 3 Box-Behnken 实验设计及结果

Table 3 Experimental design and results of the Box-Behnken design

序号	因素				DHM 提取率/%	
	A/W	B/°C	C (mL:g)	D/min	真实值	预测值
1	360	30	15	40	27.36	27.67
2	360	30	25	40	25.78	26.28
3	420	40	20	50	22.89	23.63
4	360	30	20	50	24.35	24.25
5	420	40	20	30	30.37	30.15
6	360	40	20	40	38.78	38.90
7	300	40	15	40	30.68	30.54
8	360	40	25	50	28.21	26.90
9	420	50	20	40	28.12	27.92
10	300	30	20	40	25.14	25.08
11	360	30	20	30	30.86	30.42
12	360	50	15	40	31.40	30.89
13	360	50	20	30	33.60	33.95
14	360	50	25	40	30.96	30.65
15	420	30	20	40	25.73	25.49
16	420	40	25	40	28.37	28.76
17	300	50	20	40	30.27	30.25
18	360	40	20	40	38.63	38.90
19	360	40	20	40	38.46	38.90
20	360	40	15	30	32.56	33.62
21	360	40	20	40	39.08	38.90
22	420	40	15	40	24.77	24.30
23	360	50	20	50	27.63	28.32
24	360	40	20	40	39.54	38.90
25	360	40	25	30	30.40	30.39
26	300	40	25	40	23.71	24.44
27	360	40	15	50	25.55	25.31
28	300	40	20	30	31.23	30.49
29	300	40	20	50	24.99	25.21

表 4 DHM 提取率回归方程的方差分析结果

Table 4 Results of the variance analysis for the regression equation of DHM extraction rate

来源	离差平方和	自由度	均方	F	P	显著性
模型	690.86	14	49.35	94.17	<0.0001	**
A	2.77	1	2.77	5.28	0.0375	*
B	43.17	1	43.17	82.39	<0.0001	**
C	2.01	1	2.01	3.83	0.0706	
D	104.47	1	104.47	199.37	<0.0001	**
AB	1.88	1	1.88	3.58	0.0794	
AC	27.88	1	27.88	53.21	<0.0001	**
AD	0.3805	1	0.3805	0.7261	0.4085	
BC	0.3291	1	0.3291	0.628	0.4413	
BD	0.0737	1	0.0737	0.1406	0.7133	
CD	5.82	1	5.82	11.1	0.0049	**
A^2	298.97	1	298.97	570.53	<0.0001	**
B^2	157.21	1	157.21	300.01	<0.0001	**
C^2	168.84	1	168.84	322.21	<0.0001	**
D^2	145.8	1	145.8	278.24	<0.0001	**
残差	7.34	14	0.524			
失拟项	6.61	10	0.6609	3.63	0.1126	
纯误差	0.7274	4	0.1818			
总和	698.19	28				
R^2			调整后的 R^2	预测 R^2	标准差	
			0.9790	0.9439	0.7239	

注: *表示数值有显著性差异, $P<0.05$; **表示数值有极显著性差异, $P<0.01$ 。

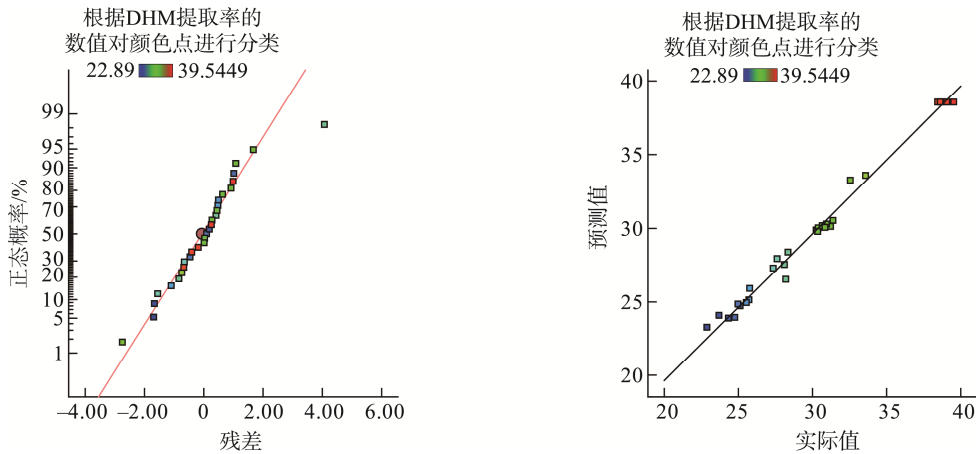


图 5 正态概率分布图与实际值和预测值关系图
Fig.5 Normal probability plot, relation between actual and predicted values

通过综合分析 RSM 实验结果, 如图 6 所示。考虑各因素的交互作用, 可以发现 AC 和 CD 的交互作用较为显著, 即超声功率与液料比、液料比与超声时间之间存在明显的交互作用, 对 DHM 提取率有明显影响。

2.6 ANN 模型训练分析

如表 5 所示, 在 GA-ANN 模型训练过程中, 本研究对隐含层个数进行了深入探究, 发现当隐含层个数设定为 8 时, 模型能够取得最优效果, MSE 降至 6.06271×10^{-2} 。同时,

模型在第 7 次迭代时便成功收敛。基于此结果, 本研究最终确定 ANN 模型的最佳拓扑结构为 $4 \times 8 \times 1$, 处于该结构下的模型展现出了出色的泛化能力。

从图 7 中可以看出, 训练集、验证集、测试集以及全部数据集的相关系数 (R^2) 分别达到 0.99529、0.99711、0.99313 和 0.99448。这些较高的相关系数数值直观地表明, ANN 模型具备良好的回归拟合能力和预测能力, 同时也充分体现了该模型在预测响应方面的高精度特性^[28]。

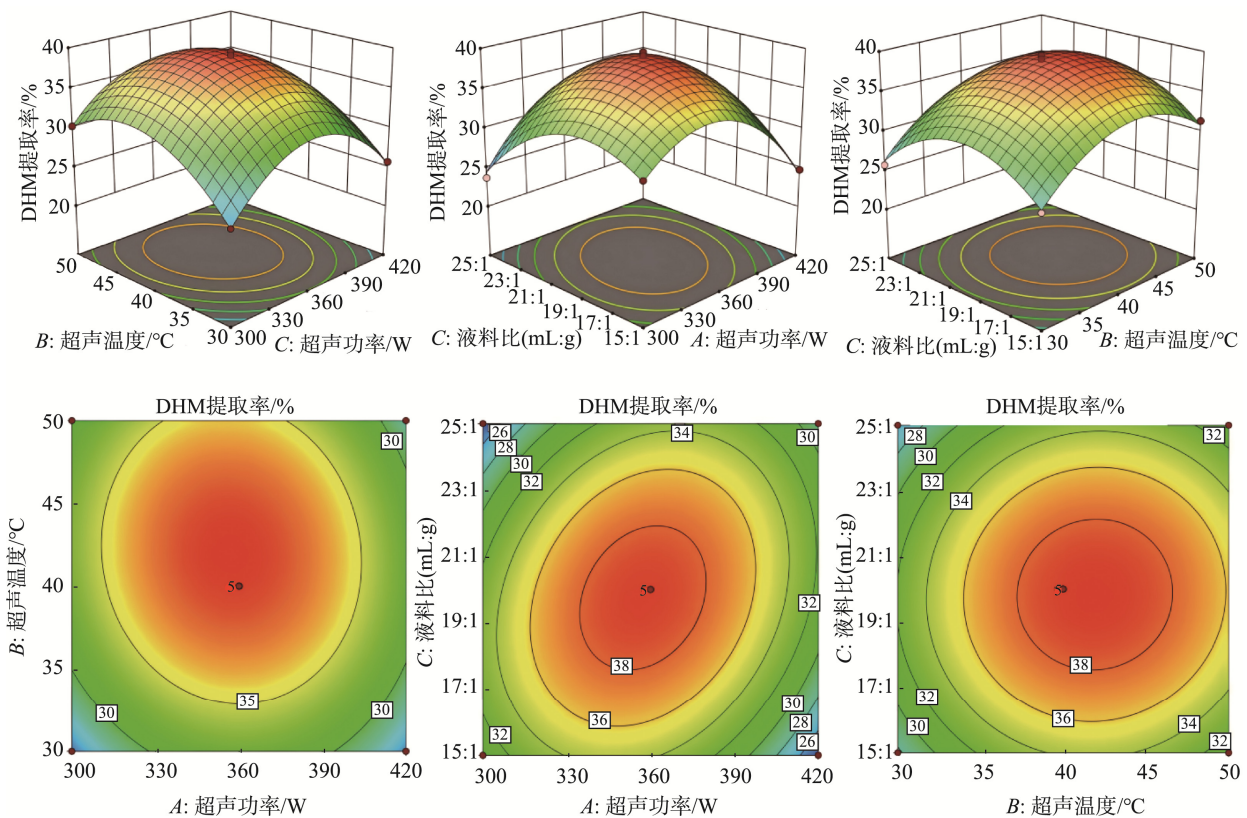


图 6 RSM 分析图
Fig.6 Analysis plot of RSM

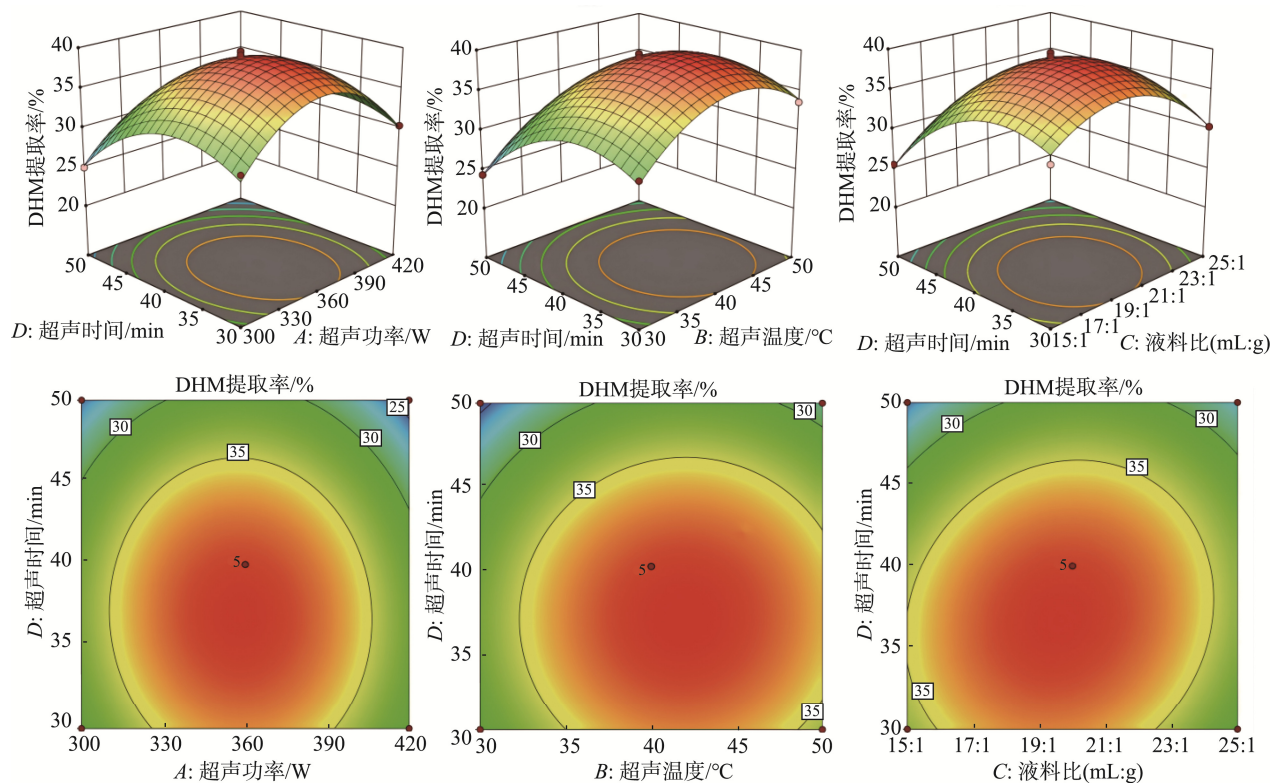


图 6(续) RSM 分析图
Fig.6 Analysis plot of RSM

表 5 不同神经元 BP ANN 的训练结果
Table 5 Training results of different neuron BP ANN

网络拓扑结构	MSE	迭代次数	网络拓扑结构	MSE	迭代次数
4×4×1	2.18789×10^{-1}	20	4×8×1	6.06271×10^{-2}	7
4×5×1	2.05582×10^{-1}	18	4×9×1	9.42597×10^{-2}	11
4×6×1	1.82885×10^{-1}	11	4×10×1	1.03017×10^{-1}	7
4×7×1	1.66155×10^{-1}	14	4×11×1	1.17238×10^{-1}	7

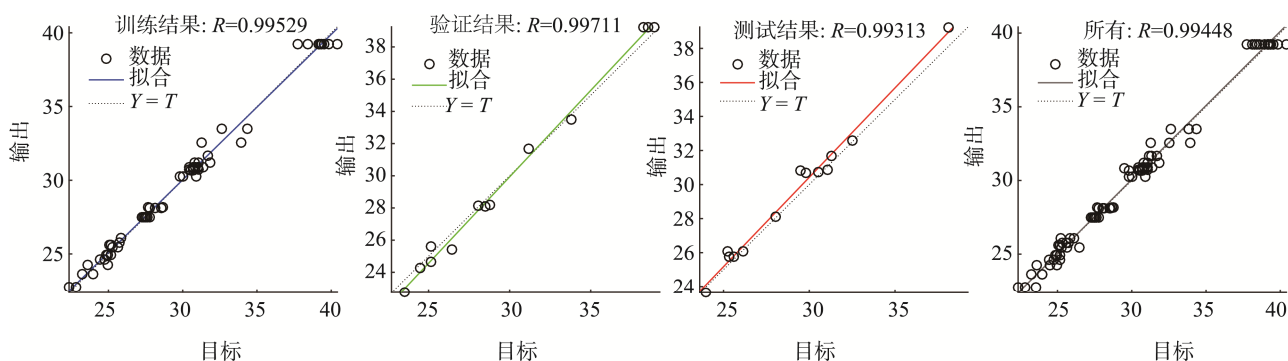


图 7 训练、验证、测试和全部数据集的拟合曲线
Fig.7 Fitting curves for the training, validation, testing and entire dataset

2.7 GA 优化及模型对比评估

从图 8 可以看出, 随着迭代次数的逐步推进, DHM 提取率呈现出一种波动性上升的态势。当种群经过 82 代的迭代进化之后, DHM 提取率达到了峰值, 与此同时, 适应度函数也逐渐趋于稳定状态。经预测, 最优的 DHM 提取率

可达到 40.19%。所对应的超声提取条件为: 超声功率 360 W、超声温度 42 °C、液料比 20:1 (mL:g)、超声时间 35 min。在重复提取 3 次后, DHM 提取率为(39.83±0.01)%。这表明, 通过 ANN 法建立的藤茶 DHM 提取数学模型具有稳定性和可靠性, 实验结果与模型预测相符^[29]。

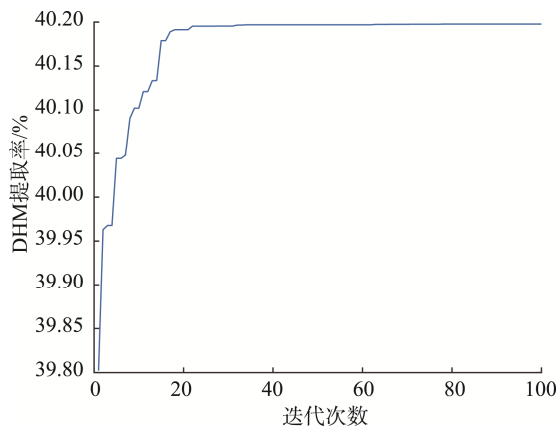


图 8 种群适应度值(DHM 提取率)迭代变化曲线
Fig.8 Iterative change curve of population fitness values (DHM extraction rate)

通过 R^2 、RMSE、AAD 和 SEP 评估模型的预测和优化性能,较高的 R^2 值表示模型对数据的拟合程度更好,而 RMSE、AAD 和 SEP 的值越低,则表明模型的预测值与实际值之间的偏差越小,模型的准确性和稳定性越高^[20]。由表 6 可知,模型的相关系数(R^2)>0.9,表明预测值与实验值高度吻合,模型性能优异。ANN 模型的 R^2 高于 RSM,ANN 的 RMSE、SEP 和 AAD 值均低于 RSM,说明 ANN 的预测值与真实值的平均偏离程度更小,且对数据中的极端值处理更稳定。SEP 值高说明 RSM 的误差累积效应更显著,尤其在数据分布复杂或存在噪声时,ANN 可能更适应^[30]。

表 6 RSM 和 ANN 模型评估参数对比
Table 6 Comparison of evaluation parameters between RSM and ANN models

模型	R^2	RMSE	AAD	SEP
RSM	0.9895	0.5065	0.4058	0.5150
ANN	0.9981	0.2165	0.1613	0.2203

如图 9 和表 7 所示,RSM 和 GA-ANN 分析得出了最佳提取条件。从表 7 中数据可见,GA-ANN 的预测 DHM 提取率和实际 DHM 提取率之间的误差为 0.36%,比 RSM 的预测和实际之间的误差(1.16%)更小,这表明在预测 DHM 提取率的超声条件方面,GA-ANN 模型相较于 RSM 更为合适。最佳提取条件为:超声功率 360 W、超声温度 42℃、液料比 20:1 (mL:g)、超声时间 35 min。

2.8 HPLC 分析藤茶不同部位中 DHM 含量差异

参考湖北省中药材质量标准(鄂 YC-20220001),流动相 A 相为甲醇,流动相 B 为 0.1%磷酸溶液,固定流动相比例为 A:B=32:68 (V:V),按外标法测定 DHM 含量。取 DHM 对照品溶解(甲醇:0.1%磷酸溶液=60:40, V:V),制备 50 $\mu\text{g/mL}$ 的 DHM 标准品溶液作为对照。使用最优

超声条件提取藤茶不同部位的提取液,采用 HPLC 测定其中 DHM 的含量和纯度^[31],所有藤茶样品均由金祈藤茶提供。

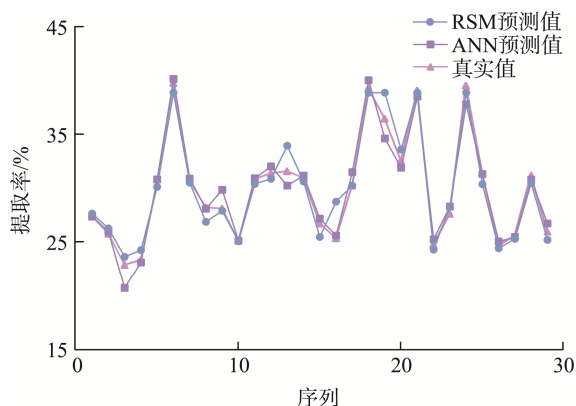


图 9 RSM 和 ANN 的预测值与实验值的对比
Fig.9 Comparison of predicted and experimental values of RSM and ANN

表 7 两种模型预测最优条件下的对比
Table 7 Comparison of 2 kinds of models under the optimal conditions for prediction

模型	因素				DHM 提取率/%	
	A/W	B/°C	C (mL:g)	D/min	预测值	真实值
RSM	356	41	20:1	37	39.55	38.39±0.33
ANN	360	42	20:1	35	40.19	39.83±0.01

结果如图 10 和表 8 所示,研究发现,在最佳超声工艺条件下,藤茶不同部位提取液中 DHM 的提取率由高到低依次为:藤茶茎叶>藤茶梗>藤茶剪枝。需要明确的是,这里的提取率和纯度均是指提取液中的指标,而非占整个藤茶部位的比例。藤茶茎叶提取液的 DHM 提取率较高,且其纯度^[32]在该条件下也很高,达到了(92.75±9.16)%。藤茶梗提取液中 DHM 的提取率相对较低,为(22.89±1.21)%,但其纯度却达到了(97.22±0.86)%。这可能表明,在所用溶剂下,藤茶梗中其他杂质元素的含量较少,或者在提取过程中存在某种选择性,使得提取液中 DHM 相对纯净。不过,要说明的是,在本研究中,纯度的测定是基于 HPLC 的分析结果,通过色谱图中 DHM 峰面积与其他峰面积的相对关系来计算的纯度^[33]。然而,由于 HPLC 分析存在一定局限性,如检测器对某些化合物的响应差异、部分杂质可能未被有效分离或检测等,因此所得到的纯度结果仅作为相对参考,不能完全代表提取液中 DHM 的实际纯度^[34]。总之,这些数据表明,藤茶不同部位的提取液在 DHM 提取率和纯度上存在明显差异。因此,选择合适的藤茶部位对于优化 DHM 提取工艺和提高提取效率具有重要意义。

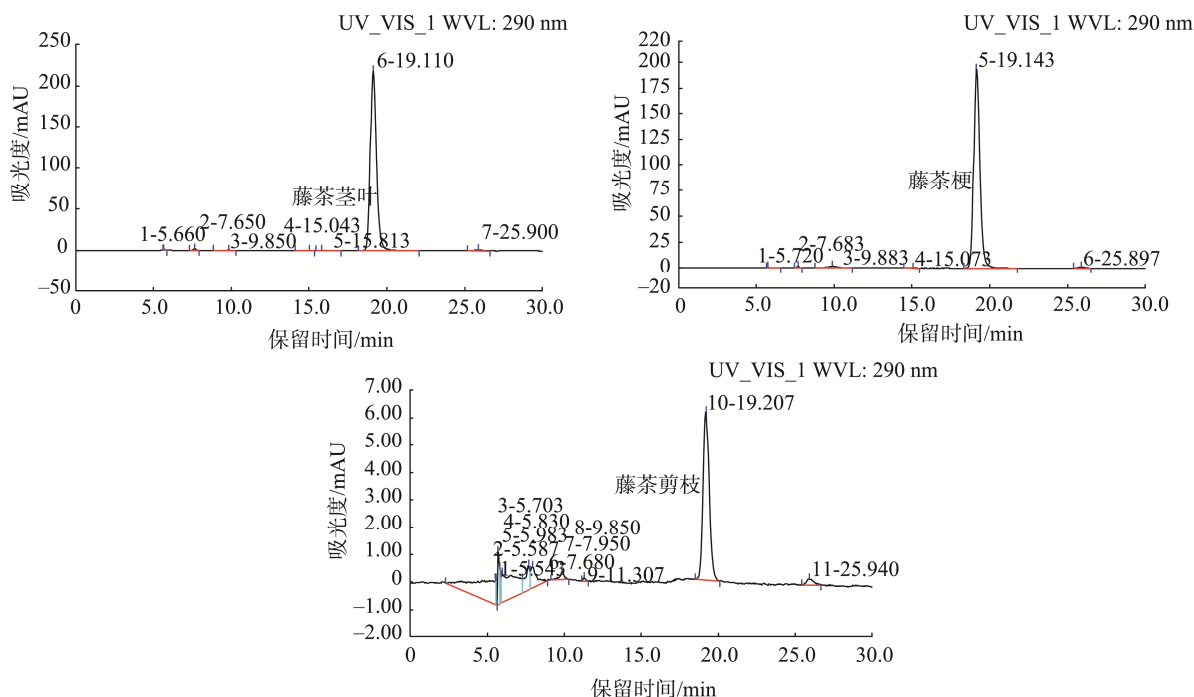


图 10 藤茶不同部位的 DHM 的 HPLC 图谱

Fig.10 HPLC chromatograms of DHM in different parts of *Ampelopsis grossedentata*

表 8 HPLC 检测藤茶不同部位提取液的 DHM 含量和纯度
Table 8 Detection of DHM content and purity of extracts from different parts of *Ampelopsis grossedentata* by HPLC

序号	名称	DHM 提取率/%	DHM 纯度/%
1	藤茶茎叶	44.65±1.09	92.75±9.16
2	藤茶梗	22.89±1.21	97.22±0.86
3	藤茶剪枝	1.26±0.03	43.07±3.29

3 讨论与结论

本研究通过对比 RSM 与 GA-ANN 模型在优化藤茶中 DHM 超声提取工艺方面的应用效果, 得出: GA-ANN 模型在对藤茶中 DHM 提取率进行优化时, 展现出了更高的准确性和更强的预测能力, 相较于传统的 RSM 方法, 具有明显的优势, 可作为更为有效的替代方案用于此类工艺优化工作。

经过对两种模型的深入比较和分析, 最终确定了藤茶中 DHM 超声提取的最佳工艺条件组合为: 超声功率 360 W、超声温度 42 ℃、液料比 20:1 (mL:g) 以及超声时间 35 min。此时 DHM 的实验提取率达到了 (39.83±0.01)%。同时, 在最佳超声工艺条件下, 藤茶不同部位提取液 DHM 的提取率含量由多到少分别为: 藤茶茎叶>藤茶梗>藤茶剪枝。

这一研究成果不仅为藤茶中 DHM 的高效提取提供了科学、精准且实用的工艺参数依据, 有助于推动藤茶相关产业在提取技术方面的进步, 提高 DHM 的提取效率和产量, 同时也为进一步深入研究和开发藤茶中的其他活性成

分提取工艺提供了有益的参考和借鉴, 对于充分利用藤茶这一天然资源, 开发具有高附加值的健康产品等方面具有一定的理论和实际应用价值。

参考文献

- [1] CARNEIRO RCV, YE L, BAEK N, *et al.* Vine tea (*Ampelopsis grossedentata*): A review of chemical composition, functional properties, and potential food applications [J]. *Journal of Functional Foods*, 2021, 76: 104317.
- [2] FAN LL, QU X, PENG Y, *et al.* Metabolomics of the protective effect of *Ampelopsis grossedentata* and its major active compound dihydromyricetin on the liver of high-fat diet hamster [J]. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2020, 2020: 1–15.
- [3] LIU D, MAO Y, DING L, *et al.* Dihydromyricetin: A review on identification and quantification methods, biological activities, chemical stability, metabolism and approaches to enhance its bioavailability [J]. *Trends in Food Science & Technology*, 2019, 91: 586–597.
- [4] LI H, LI Q, LIU Z, *et al.* The versatile effects of dihydromyricetin in health [J]. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine: eCAM*, 2017, 2017: 1053617.
- [5] ZHANG H, CAPRIOLI G, HUSSAIN H, *et al.* A multifaceted review on dihydromyricetin resources, extraction, bioavailability, biotransformation, bioactivities, and food applications with future perspectives to maximize its value [J]. *eFood*, 2021, 2(4): 164–184.
- [6] ZHANG H, XIE G, TIAN M, *et al.* Optimization of the ultrasonic-assisted extraction of bioactive flavonoids from *ampelopsis grossedentata* and subsequent separation and purification of two flavonoid aglycones by high-speed counter-current chromatography [J]. *Molecules (Basel, Switzerland)*, 2016, 21(8): 1096.
- [7] 许春平, 刘亚龙, 刘远上, 等. 响应面法优化顶空固相萃取分析茉莉加香颗粒挥发性成分 [J]. *食品安全质量检测学报*, 2024, 15(7):

- 202–210.
- XU CP, LIU YL, LIU YS, *et al.* Analysis optimization of the volatile components of jasmine flavored granules by head space-solid phase microextraction using response surface method [J]. *Journal of Food Safety & Quality*, 2024, 15(7): 202–210.
- [8] 白天, 张丽华, 李顺峰, 等. 基于近红外光谱的冻融猪肉糜鉴别模型研究[J]. *食品安全质量检测学报*, 2023, 14(20): 56–63.
- BAI T, ZHANG LH, LI SF, *et al.* Study on discrimination model of frozen-thawed minced pork based on near infrared spectroscopy [J]. *Journal of Food Safety & Quality*, 2023, 14(20): 56–63.
- [9] 常洪娟, 蒙庆华, 吴哲锋, 等. 基于反向传播神经网络和高光谱成像的芒果可溶性固形物含量检测[J]. *食品安全质量检测学报*, 2024, 15(2): 141–148.
- CHANG HJ, MENG QH, WU ZF, *et al.* Detection of soluble solids content in mango based on back propagation algorithm neural network and hyperspectral imaging [J]. *Journal of Food Safety & Quality*, 2024, 15(2): 141–148.
- [10] ZHANG X, XU Y, XUE H, *et al.* Antioxidant activity of vine tea (*Ampelopsis grossedentata*) extract on lipid and protein oxidation in cooked mixed pork patties during refrigerated storage [J]. *Food Science & Nutrition*, 2019, 7(5): 1735–1745.
- [11] 付明, 胡朝曦, 周亮, 等. 藤茶黄酮含量及其体外抗脂质过氧化能力研究[J]. *食品工业科技*, 2013, 34(7): 146–148, 214.
- FU M, HU ZD, ZHOU L, *et al.* Study on content and anti-lipoperoxidation activity *in vitro* of flavonoids extracted from ampelopsis grossedentata [J]. *Science and Technology of Food Industry*, 2013, 34(7): 146–148, 214.
- [12] 梁琰, 邱岚, 张良. 响应面法对超声波提取藤茶二氢杨梅素工艺的优化[J]. *湖北农业科学*, 2015, 54(2): 416–420.
- LIANG L, QIU L, ZHANG L. Optimizing ultrasonic-assisted extraction of dihydromyricetin from the wild ampelopsis grossedentata in Fanjing mountain with response surface method [J]. *Hubei Agricultural Sciences*, 2015, 54(2): 416–420.
- [13] HU H, LUO F, WANG M, *et al.* New method for extracting and purifying dihydromyricetin from ampelopsis grossedentata [J]. *ACS Omega*, 2020, 5(23): 13955–13962.
- [14] DIRAR A, ALSAADI D, WADA M, *et al.* Effects of extraction solvents on total phenolic and flavonoid contents and biological activities of extracts from Sudanese medicinal plants [J]. *South African Journal of Botany*, 2019, 120: 261–267.
- [15] 黄旭波, 秦玉川, 刘本同, 等. 浙江引种显齿蛇葡萄二氢杨梅素提取工艺优化及含量分析[J]. *浙江林业科技*, 2023, 43(1): 23–29.
- HUANG XB, QIN YC, LIU BT, *et al.* Optimized extraction and determination of dihydromyricetin content from local and introduced ampelopsis grossedentata to Zhejiang Province [J]. *Journal of Zhejiang Forestry Science and Technology*, 2023, 43(1): 23–29.
- [16] 雷燕妮, 张小斌, 李多伟. 显齿蛇葡萄叶中二氢杨梅素超声提取工艺的优化[J]. *贵州农业科学*, 2018, 46(5): 123–126.
- LEI YN, ZHANG XB, LI DW. Optimization of dihydromyricetin ultrasonic extraction technology from ampelopsis grossedentata leaves [J]. *Guizhou Agricultural Sciences*, 2018, 46(5): 123–126.
- [17] ZHANG X, ZHANG L, ZHANG Y, *et al.* Extracting myricetin and dihydromyricetin simultaneously from *Hovenia acerba* seed by ultrasound-assisted extraction on a lab and small pilot-scale [J]. *Ultrasonics Sonochemistry*, 2023, 93: 106304.
- [18] XIN M, MA Y, LIN W, *et al.* Study on the structure-activity of dihydromyricetin and its new production [J]. *Journal of Thermal Analysis and Calorimetry*, 2014, 116(1): 241–248.
- [19] HADREE J, SHAHIDI F, MOHEBBI M, *et al.* Evaluation of effects of spray drying conditions on physicochemical properties of pomegranate juice powder enriched with pomegranate peel phenolic compounds: Modeling and optimization by RSM [J]. *Foods*, 2023, 12(10): 2066.
- [20] YANG T, LAI H, CAO Z, *et al.* Comparison of an artificial neural network and a response surface model during the extraction of selenium-containing protein from selenium-enriched *Brassica napus* L. [J]. *Foods*, 2022, 11(23): 3823.
- [21] YANG T, ZHENG X, VIDYARTHI SK, *et al.* Artificial neural network modeling and genetic algorithm multiobjective optimization of process of drying-assisted walnut breaking [J]. *Foods*, 2023, 12(9): 1897.
- [22] JILANI A, AWAN ZUH, TAQVI SAA. Predictive modeling of li-air batteries using artificial neural network: A comparative study of cathode morphology [J]. *Periodica Polytechnica Chemical Engineering*, 2025, 69(1): 57–66.
- [23] XUE H, CUI P, TAN J, *et al.* Separation of principal component dihydromyricetin from ampelopsis grossedentata by high-speed counter-current chromatography and its interaction with corn starch [J]. *Journal of Food Science*, 2022(6): 87.
- [24] ZHAO N, KONG H, LIU H, *et al.* A network pharmacology approach to evaluate the synergistic effect of dihydromyricetin and myricitrin in vine tea on the proliferation of b16f10 cells [J]. *Frontiers in Nutrition*, 2022, 9: 993133.
- [25] PAN S, CHEN G, ZENG J, *et al.* Fibrinolytic enzyme production from low-cost substrates by marine bacillus subtilis: Process optimization and kinetic modeling [J]. *Biochemical Engineering Journal*, 2019, 141: 268–277.
- [26] ISHIWU CN. Response surface methodology (RSM): Review of the practical approach in food science and technology research [J]. *International Journal of Agriculture, Food and Biodiversity*, 2022, 1(1): 52–59.
- [27] SAFWA SM, RANA MR, AHMED T, *et al.* Maximization and characterization of ultrasonic-assisted extraction of taro corms mucilage using response surface optimization and comparison with conventional methods [J]. *Food Analytical Methods*, 2023, 16(11): 1724–1737.
- [28] BHAGYA RGV, AND DKK. Comprehensive study on applications of artificial neural network in food process modeling [J]. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 2022, 62(10): 2756–2783.
- [29] LAMIAE D, JABRI A, EL BARKANY A, *et al.* Optimization of fresh food distribution route using genetic algorithm with the best selection technique [M]. Singapore: Springer, 2021.
- [30] OFOEFULE AU, ESONYE C, ONUKWULI OD, *et al.* Modeling and optimization of African pear seed oil esterification and transesterification using artificial neural network and response surface methodology comparative analysis [J]. *Industrial Crops and Products*, 2019, 140: 111707.
- [31] YU ZW, ZHANG N, JIANG CY, *et al.* Exploring the genes involved in biosynthesis of dihydroquercetin and dihydromyricetin in ampelopsis grossedentata [J]. *Scientific Reports*, 2021, 11(1): 15596.
- [32] MEINHART AD, DA-SILVEIRA TFF, GODOY HT. Yerba mate as an inexpensive source of analytical standards of chlorogenic acid isomers: An optimization study [J]. *Food Analytical Methods*, 2024, 17(1): 83–95.
- [33] MUHAMMAD U, LU H, WANG J, *et al.* Optimizing the maximum recovery of dihydromyricetin from Chinese vine tea, ampelopsis grossedentata, using response surface methodology [J]. *Molecules*, 2017, 22(12): 2250.
- [34] PINTO RMC, LEMES BM, ZIELINSKI AAF, *et al.* Detection and quantification of phytochemical markers of *Ilex paraguariensis* by liquid chromatography [J]. *Química Nova*, 2015, 38: 1219–1225.

(责任编辑: 于梦娇 安香玉)