

响应面法优化超声波辅助提取泽泻挥发油工艺

黄小强, 谌赛男, 张方方, 张雪, 吴水生* (福建中医药大学药学院, 福建福州 350122)

摘要 [目的] 响应面法优化泽泻挥发油超声波辅助法提取工艺。[方法] 以泽泻挥发油得率为指标, 在单因素试验的基础上, 选取料液比、提取温度和超声时间 3 个因素进行 Box-Behnken 响应面法试验设计, 对其提取工艺参数进行优化。[结果] 通过软件模型拟优化后得到超声波提取泽泻挥发油的最佳工艺参数为料液比 1:8.27、提取时间 41.33 min、提取温度 51.4 ℃, 泽泻挥发油得率为 6.315%, 与理论值较为接近。[结论] 响应面法建立的泽泻挥发油提取工艺模型得率高, 并能很好地预测试验结果。

关键词 超声波辅助提取; 泽泻; 挥发油; 响应面法

中图分类号 S567 **文献标识码** A **文章编号** 0517-6611(2015)34-158-03

Optimization of Ultrasound-assisted Extraction Techniques of Volatile Oil from *Alismatis Rhizoma* by Response Surface Method
HUANG Xiao-qiang, CHEN Sai-nan, ZHANG Fang-fang, WU Shui-sheng* et al (School of Pharmacy, Fujian University of Traditional Chinese Medicine, Fuzhou, Fujian 350122, China)

Abstract [Objective] The research aimed to optimize the ultrasonic-assisted extraction techniques of volatile oil from *Alismatis Rhizoma* by response surface method. [Method] With yield of volatile oil from *Alismatis Rhizoma* as index, on the basis of single-factor experiments, the effects of ultrasonic time, solid-liquid ratio and extraction temperature on the extraction yield of volatile oil from *Alismatis Rhizoma* was investigated with a three-factor Box-Behnken design. [Result] The optimum extraction parameters were: solid-liquid ratio of 1:8.27, ultrasonic time 41.33 min, extraction temperature 51.4 ℃. Under the optimum conditions, the extraction rate of volatile oil from *Alismatis Rhizoma* reached to 6.315%, which was in consistency with the theoretic value. [Conclusion] Ultrasonic-assisted model of volatile oil from *Alismatis Rhizoma* established by Box-Behnken design could precisely predict the experiment results well.

Key words Ultrasound-assisted extraction; *Alismatis Rhizoma*; Volatile oil, Box-Behnken response surface method

泽泻(*Alismatis Rhizoma*)为泽泻科植物泽泻 *Alisma orientale* (Sam.) Juzep 的干燥块茎^[1]。中医理论认为泽泻甘、淡、寒, 归肾、膀胱经, 利水渗湿, 泄热, 化浊降脂。近代药理学研究表明, 泽泻中三萜类化合物具有利尿、降血脂、降血压、抗脂肪肝、抗动脉粥样硬化的作用^[2-5]。泽泻的药理作用与其三萜类化合物有关, 此外还含有挥发油、生物碱、黄酮、磷脂及淀粉等^[6-7]。

目前国内外对于泽泻的质量研究多采用高效液相法, 集中针对三萜类成分进行研究, 挥发油作为中药活性成分的主要组成之一, 具有抑菌、抗病毒、消炎等作用^[8]。关于泽泻挥发油的研究国内外有少量报道, 陈建忠等^[9]和徐飞等^[10]应用 GC-MS 技术对泽泻挥发性成分进行分析, 但对于泽泻挥发油的提取工艺还未见有报道。挥发油多为从植物根、茎、花等固体粉末中采用水蒸气蒸馏法、溶液萃取法、超临界 CO₂ 萃取法、微波辅助提取法、超声波辅助提取法等方法提取^[11-14]。水蒸气蒸馏法用时较长, 且挥发油在高温下容易分解; 有机溶剂萃取法得到的挥发油杂质较多且得率低; 超临界 CO₂ 萃取法对试验设备要求较高, 投资大^[15-16]。因此该研究利用超声波辅助法提取泽泻粗挥发油, 并利用响应面法优化其提取工艺, 为泽泻的进一步充分开发利用奠定基础。

1 材料与与方法

1.1 材料与试剂 泽泻样品采自福建建瓯 GAP 产地, 石油醚(沸程 60-90)、乙醚、乙酸乙酯、正己烷、无水硫酸钠(均为

分析级)。

1.2 仪器 HCP-50A 中药粉碎机(永康市金穗机械制造有限公司); SHB-111 型水式循环真空泵(郑州长城科工贸有限公司); RE-2000 型旋转蒸发器(上海亚荣生化仪器厂); ME204E 万分之一电子天平(梅特勒-托利多仪器(上海)有限公司)。KQ-500E 型台式超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司)。

1.3 试验方法 精密称取 10.00 g 泽泻块茎过 40 目的粉末置于 250 ml 锥形瓶中, 按照试验设计方案加入一定体积的溶剂, 超声波辅助提取一定时间后加入适量无水硫酸钠, 抽滤, 浓缩、称质量后计算得率, 计算方法为: 挥发油得率 = $\frac{M_1}{M_0} \times 100\%$, 式中, M_1 为挥发油的质量; M_0 为原料的质量。

1.4 单因素试验 采用超声波萃取法提取泽泻挥发油, 设计单因素试验分别考察萃取溶剂(石油醚、乙醚、正己烷、乙酸乙酯)、超声时间(10、20、30、40、50、60 min)、料液比(1:4、1:6、1:8、1:10、1:12、1:14 g/ml)、超声温度(30、40、50、60、70 ℃)对泽泻挥发油得率的影响。

1.5 Box-Behnken 试验设计 根据 Box-Behnken 试验设计原理及单因素试验的结果, 选取对试验结果有显著影响的 3 个因素, 设计三因素三水平的响应面试验方案, 试验因素水平编码设计如表 1 所示。数据采用 Design-Expert 8.0.6 统计软件分析。

表 1 响应面试验因素水平及编码

水平	A(超声时间//min)	B(料液比)	C(超声温度//℃)
-1	30	1:6	40
0	40	1:8	50
1	50	1:10	60

基金项目 国家自然科学基金项目(U120502)。
作者简介 黄小强(1988-), 男, 河南商丘人, 硕士研究生, 研究方向: 中药药效物质基础及作用机制。* 通讯作者, 教授, 博士生导师, 从事中药复方物质基础与药效相关性研究。
收稿日期 2015-11-02

2 结果与分析

2.1 提取溶剂的选择 从图 1 可以看出,乙醚作为溶剂时得率最高,达 4.714%,其次是乙酸乙酯,为 4.580%,正己烷作为溶剂时得率最低。但考虑到乙醚的沸点低,在超声波萃取的过程中温度会升高,溶剂更容易挥发,不利于工业生产,且成本较高。综合考虑选择乙酸乙酯作为萃取溶剂。

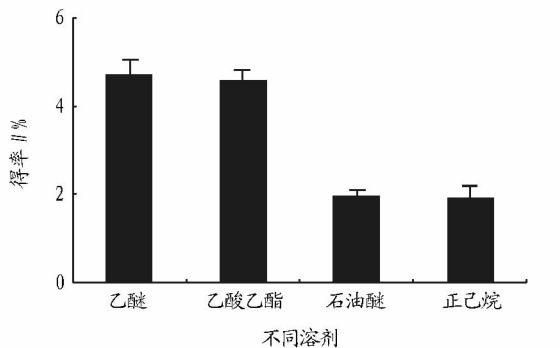


图 1 提取溶剂对泽泻挥发油得率的影响

2.2 单因素试验结果

2.2.1 提取时间对挥发油得率的影响。由图 2 可知,10~40 min 提取率大幅度增加,在 40 min 以后基本趋于稳定,且 40、50 和 60 min 之间无明显差异,这有可能是超声时间过长,溶剂温度升高,从而导致提取溶剂大量挥发。另外结合节省能耗,因此选择 40 min 作为超声波提取时间。

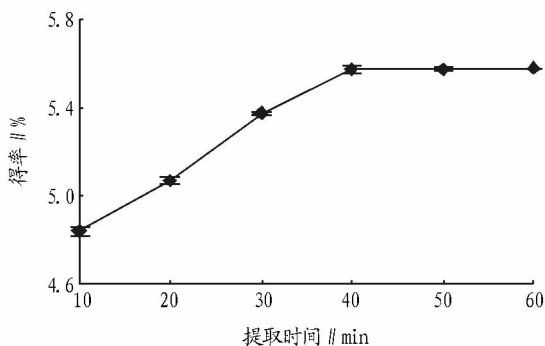


图 2 提取时间对泽泻挥发油得率的影响

2.2.2 料液比对挥发油得率的影响。从图 3 可以看出,不同料液比得率不同。当料液比为 1:4 时提取率最低,这有可能是料液比越低,泽泻粉末吸附的溶剂占的比例越大,被抽滤出来的溶剂中带出的提取物就越少,从而影响泽泻挥发油得率。料液比 1:4~1:8 得率明显增加,随后慢慢随料液比增大而得率缓慢增加。从经济学角度来考虑,因此选择 1:8 作为超声波提取料液比。

2.2.3 提取温度对挥发油得率的影响。从图 4 可以看出,随着超声波萃取温度的提高,泽泻挥发油的得率先升后降,当超声温度为 50 °C 时,泽泻挥发油得率最大,随后下降。主要原因可能是超声温度过高造成溶剂大量挥发,从而使挥发油得率降低;因此选择 50 °C 作为超声波萃取的温度。

2.3 响应面试验结果 在单因素试验基础上,综合考虑各因素对泽泻挥发油得率的影响,以 Box-Behnken 试验设计原

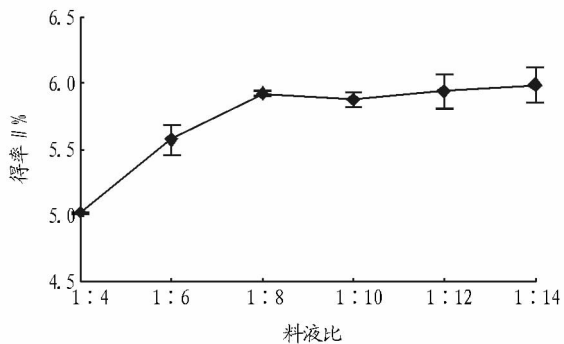


图 3 料液比对泽泻挥发油得率的影响

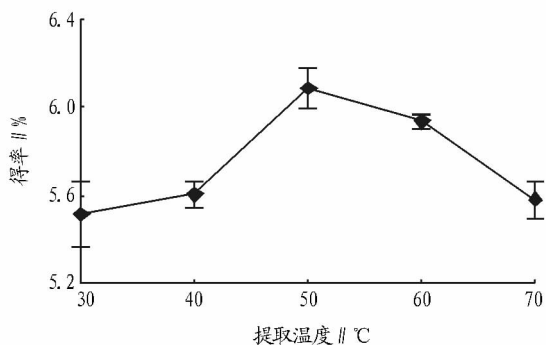


图 4 提取温度对泽泻挥发油得率的影响

理,选择超声时间、超声温度、料液比进行三因素三水平的响应面分析方法,以确定泽泻挥发油得率最佳提取工艺,将所得试验数据(表 2)采用 Design-Expert 8.0.6 软件进行多元回归拟合,从而得到泽泻挥发油得率对超声波提取时间(A)、料液比(B)、超声提取温度(C)的二次多项回归方程: $Y = 6.29 + 0.17A + 0.17B + 0.14C - 0.047AB + 0.039AC + 0.0065BC - 0.18A^2 - 0.25B^2 - 0.26C^2$ 。经检验,模型 F 值为 54.97, $P < 0.0001$,表明响应面回归模型达到了极显著水平。失拟项 $P = 0.0806 > 0.05$,表示失拟不显著,模型的确定系数 $R^2 = 98.57%$,说明该模型能够解释 98.57% 响应值的变化,

表 2 响应面试验设计及结果

试验号	A(超声提取时间//min)	B(料液比)	C(超声提取温度//°C)	泽泻挥发油得率/%
1	50	1:10	50	6.112
2	40	1:8	50	6.231
3	40	1:8	50	6.301
4	40	1:6	60	5.689
5	40	1:8	50	6.299
6	40	1:8	50	6.312
7	50	1:8	60	6.212
8	50	1:6	50	5.946
9	30	1:8	60	5.812
10	40	1:10	40	5.858
11	40	1:6	40	5.451
12	50	1:8	40	5.815
13	30	1:8	40	5.572
14	30	1:6	50	5.512
15	40	1:10	60	6.122
16	30	1:10	50	5.865
17	40	1:8	50	6.298

因此该模型拟合程度较好,可用此模型对泽泻挥发油提取工艺进行分析和预测。由回归模型和方差分析可知,方程一次项 A、B、C 和二次项 A^2 、 B^2 、 C^2 对泽泻挥发油得率达到了极显著水平 ($P < 0.01$),因素 AC、AB、BC 对泽泻挥发油得率的线性交互效应不显著。

由 F 值和图 5 分析可知,料液比(B)对挥发油得率的影响最显著,表现为曲线较陡;超声时间(A)和超声温度(C)次之,各自变量对泽泻挥发油得率的影响为料液比 > 超声时间

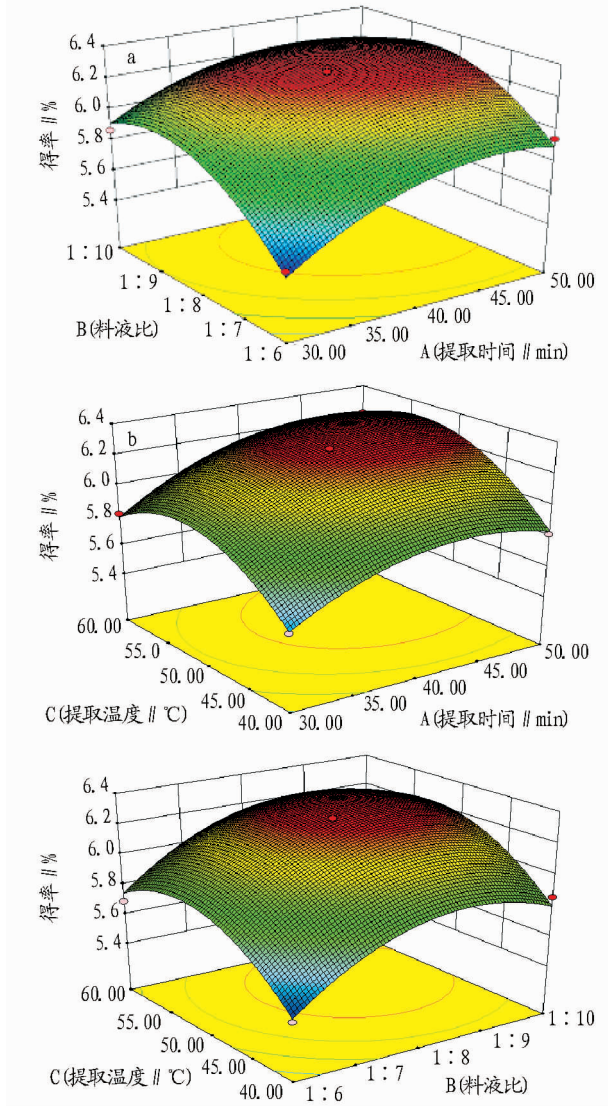
> 超声温度。根据对泽泻挥发油得率的二次多项方程求解,得到最佳提取工艺为提取时间(A)为 41.33 min,料液比(B)为 1:8.27,超声温度(C)为 51.33 °C,挥发油理论得率为 6.334%。考虑试验的可操作性,将最佳提取工艺条件中的超声温度修正为 51.4 °C,依据响应面分析获取修正的最优工艺条件进行 3 次验证试验,结果泽泻挥发油得率平均为 6.315%,实测平均值与理论值非常接近,说明试验值与理论值有较好的拟合性,证实了模型的有效性,该二元多项回归方程为泽泻挥发油提取工艺提供了一个合适的模型。

3 结论与讨论

该试验选用超声辅助法提取泽泻挥发油,首先对提取有机溶剂进行考察,得出乙酸乙酯提取率最高,然后在单因素试验的基础上,运用三因素三水平的响应面分析法,以泽泻挥发油提取率为响应面值进行回归分析,建立了泽泻块茎中挥发油提取工艺的二次多项数学模型,通过对该模型求解及其 3D 图的分析,获得了泽泻挥发油提取工艺的最佳工艺为取温度为 41.33 min,料液比为 1:8.27,超声温度为 51.4 °C,在此条件下泽泻块茎挥发油得率最大值为 6.315%。

参考文献

- [1] 中华人民共和国药典委员会. 中国药典:一部[S]. 北京:中国医药科技出版社,2015:229.
- [2] DAN H, WU J, PENG M, et al. Hypolipidemic effects of alismatis rhizome on lipid profile in mice fed high-fat diet[J]. Saudi Med J, 2011, 32(7): 701-707.
- [3] LI Q, QU H. Study on the hypoglycemic activities and metabolism of alcohol extract of alismatis rhizoma[J]. Fitoterapia, 2012, 83(6): 1046-1053.
- [4] LEE J H, KWON O S, JIN H G, et al. The rhizomes of alisma orientale and alisol derivatives inhibit allergic response and experimental atopic dermatitis[J]. Biol Pharm Bull, 2012, 35(9): 1581-1587.
- [5] LEE S, KHO Y, MIN B, et al. Cytotoxic triterpenoids from alismatis rhizoma[J]. Arch Pharm Res, 2001, 24(6): 524-526.
- [6] 朱玉凤, 彭国平. 泽泻的蒽类化学成分研究进展[J]. 天然产物研究与开发, 2006, 18(2): 348-351.
- [7] 丁霞, 吴水生. 泽泻的研究进展[J]. 中医药信息, 2008, 25(5): 19-21.
- [8] MAKABEL B, ZHAO Y Y, WANG B. Stability and structure studies on alisol a 24-acetate [J]. Chem, Pharm, Bull, 2008, 56(1): 41-45.
- [9] 陈建忠, 李斌, 肖建平, 等. 药对泽泻-白术与其单味药挥发油成分的比较分析[J]. 福建中医药大学学报, 2012, 22(4): 43-46.
- [10] 徐飞, 吴启南, 李兰, 等. 气质联用法分析泽泻中的挥发性成分的研究[J]. 南京中医药大学学报, 2011, 27(3): 277-280.
- [11] 黄罗生, 顾燕飞, 李红. 中药挥发油及芳香性药物的研究进展[J]. 中国中药杂志, 2009, 34(12): 1605-1611.
- [12] 温悦. 挥发油提取方法研究概况[J]. 中国药业, 2010, 19(12): 84-85.
- [13] 李健, 宋帅娣, 刘宁, 等. 万寿菊叶精油的提取及化学成分分析[J]. 食品科学, 2010, 31(18): 359-362.
- [14] 肖家军, 王云, 戴仕奎, 等. 苍耳叶挥发油的提取及抑菌和抗氧化性研究[J]. 食品工业科技, 2011, 32(7): 115-118.
- [15] 马戎. 蒸馏法提取橘皮精油及其在卷烟加香中的应用[J]. 江苏农业科学, 2013(3): 249-251.
- [16] 屈二军, 张亚飞, 谢展, 等. 辛夷精油 CO_2 超临界提取技术条件优化[J]. 江苏农业科学, 2013(12): 277-279.



注: a. 料液比和提取时间; b. 提取温度和提取时间; c. 提取温度和料液比。

图 5 各自变量交互影响挥发油得率的曲面图

(上接第 145 页)

- [3] 樊青松, 张德贵, 汪和平, 等. 香菊片治疗鼻窦炎药理和临床研究[J]. 陕西中医, 2005, 26(11): 1182-1183.
- [4] 国家药典委员会. 中国药典:一部[S]. 北京:中国医药科技出版社, 2010:616.

- [5] 王敏, 李翔, 王逢春. 黄芪及相关药材 HPLC-ELSD 色谱指纹图谱研究[J]. 华北国防医药, 2010, 22(11): 32-34.
- [6] 胡芳弟, 赵健雄, 封士兰, 等. 黄芪的高效液相色谱法指纹图谱及主成分含量测定[J]. 中药材, 2004, 27(11): 831.