

响应面法优化金银花精油的提取工艺

李娟丽, 贺立虎 (杨凌职业技术学院, 陕西杨凌 712100)

摘要 [目的]采用响应面法优化 SFE-CO₂ 法萃取金银花精油提取工艺, 确定最佳萃取条件。[方法]在单因素试验的基础上, 选取对提取率有明显影响的 3 个因素萃取温度、萃取压力、夹带剂浓度及变化水平, 采用 Design-Expert 8.05 和 Box-Behnken 法, 以精油得率为评价目标, 建立数学回归模型, 通过优化获得最佳工艺条件。[结果]金银花精油最佳工艺条件为萃取温度 49 ℃、萃取压力 36 MPa、夹带剂浓度 73%, 精油平均提取率为 2.48%。[结论]该试验采用的响应面法方法可靠, 具有可操作性, 得到的二次回归模型拟合度高, 可以为金银花精油工业化生产提供技术支撑, 对金银花的进一步开发利用具有一定的指导意义。

关键词 金银花; 精油; 响应面法; 提取工艺; 优化

中图分类号 R 284 **文献标识码** A

文章编号 0517-6611(2023)11-0144-04

doi: 10.3969/j.issn.0517-6611.2023.11.035

开放科学(资源服务)标识码(OSID):



Optimization of the Extraction Process of Honeysuckle Essential Oil by Response Surface Methodology

LI Juan-li, HE Li-hu (Yangling Vocational and Technical College of Shaanxi, Yangling, Shaanxi 712100)

Abstract [Objective] To optimize the SFE-CO₂ extraction process of honeysuckle essential oil by response surface methodology (RSM) and determine the optimal extraction conditions. [Method] On the basis of single factor experiment, the extraction temperature, the extraction pressure, the concentration of entrainer and the change level three factors which have obvious influence on the extraction rate were selected. The method of Design-Expert 8.05 and Box-Behnken was used to evaluate the yield of essential oil, the mathematical regression model was established, and the optimum technological conditions were obtained by optimization. [Result] The optimum conditions were extraction temperature 49 ℃, extraction pressure 36 MPa and entrainer concentration 73%. The average extraction rate was 2.48%. [Conclusion] The response surface methodology is reliable and operability, and the quadratic regression model obtained is highly fitted, which can provide technical support for the industrial production of honeysuckle essential oil, it has certain guiding significance to the further development and utilization of honeysuckle.

Key words Honeysuckle; Essential oil; Response surface methodology; Extraction process; Optimization

金银花因其初开时花为白色, 两日后变为黄色而得名, 又名忍冬、二花, 是忍冬科植物忍冬 (*Lonicera japonica* Thunb.) 的花蕾, 其味甘、性寒, 含有黄酮、多糖、有机酸、萜类、皂苷和挥发油等多种化学成分, 具有很好的清热解毒、疏散风热、杀菌消炎等作用^[1-3]。其所含的精油不仅气味芳香, 还具有清咽解毒、止咳平喘等功效^[4-8], 常用于医药、化妆品、饮料、保健品、食品等行业^[9-13]。然而, 在中药制剂的开发和加工过程中, 挥发油的提取和保存是保证药品质量的关键, 因此研究精油的提取分离技术对于新药研发具有非常重要意义^[14-18]。

然而, 精油收率低是影响金银花开发利用的根本因素。前期调研和试验表明, 用超临界 CO₂ 技术提取精油具有安全、环保、无污染、效率高等特点, 该研究利用 SFE-CO₂ 萃取技术, 采用响应面法设计试验, 以金银花精油的收率作为优化目标, 考察萃取温度、萃取压力和夹带剂浓度对收率影响, 最终获取最优工艺条件, 对实现金银花精油开发利用和工业化生产提高理论依据。

1 材料与与方法

1.1 原料与试剂 金银花, 购于西安中药饮片厂, 产地河南省孟津县; 液体 CO₂ (纯度 99.5%), 食品级, 购于杨凌迈拓特种气体有限公司; 蒸馏水自制; 无水乙醇为 AR 级, 由杨凌三力化玻站提供。

1.2 主要仪器与设备 FA2014 电子分析天平, 常州科源; YF-150B 粉碎机, 瑞安永历; HA120-50-02 型超临界二氧化碳萃取器 (图 1), 江苏南通华安超临界萃取有限公司; KQ100DE 超声波清洗器, 上海科导超声仪器有限公司; 海尔 BCD-470WD 冰箱; PCWJ-20 纯水机; DHG-9145A 真空干燥箱, 上海一恒科学仪器有限公司。



图 1 超临界二氧化碳萃取装置

Fig. 1 Supercritical carbon dioxide extraction unit

1.3 试验方法

1.3.1 样品处理。选取质优的金银花花蕾样品, 置于 50 ℃ 真空干燥箱中烘干 24 h, 粉碎后过 50 目 (孔径 0.3 mm) 药典筛, 置于干燥器中, 备用。

1.3.2 金银花萃取。称取 300 g 处理后的金银花样品置于 1 L 料筒, 按规程操作, 将料筒置于萃取釜中, 设定萃取温度、萃取压力, 开启水泵和制冷系统, 当萃取釜和各分离釜达到规定温度时, 开启气瓶用 CO₂ 冲洗管路并排气, 开启 CO₂ 泵

基金项目 杨凌职业技术学院 2021 年科技创新基金项目 (ZK21-82)。

作者简介 李娟丽 (1980—), 女, 陕西合阳人, 实验师, 硕士, 从事药物制剂实验室运行管理研究。

收稿日期 2022-07-14

电源调节 CO₂ 流量,按规定加入夹带剂进行萃取,萃取物减压后,进入分离釜变为气体后析出,即为金银花精油,萃取到规定时间,停止萃取,精确称定所有萃取物的重量,将其密封,置于冰箱冷藏备用。

1.3.3 金银花精油提取率计算。

$$\text{金银花精油提取率} = \frac{\text{金银花精油提取质量 (g)}}{\text{金银花质量 (g)}} \times 100\%$$

1.3.4 试验设计。

1.3.4.1 单因素试验。通过单因素试验,以精油提取率为评价指标,分别考察萃取温度、萃取压力、夹带剂浓度 3 个因素对 SFE-CO₂ 萃取金银花精油工艺的影响,试验设计见表 1。

1.3.4.2 响应面试验设计。在单因素试验的基础上,选取对提取率有明显影响的因素及变化水平(表 2),采用 Design-Expert 8.05 软件中的 Box-Behnken 响应面设计方法,设计试验方案。以精油得率为评价目标,建立数学回归模型,通过优化选取最佳的萃取工艺。

表 1 单因素试验设计

Table 1 Single factor design

水平 Level	因素 Factor		
	萃取温度 Extraction temperature//°C	萃取压力 Extraction pressure//MPa	夹带剂浓度 Entrainer concentration//%
1	35	25	50
2	40	30	60
3	45	35	70
4	50	40	80
5	55	45	90

2 结果与分析

2.1 单因素试验

2.1.1 萃取温度对金银花精油提取率的影响。在萃取压力 30 MPa、萃取时间 1 h、夹带剂乙醇浓度 60% 的情况下,分别考察了萃取温度为 35、40、45、50、55 °C 时,对金银花提取率的影响。由图 2 可知,金银花精油的提取率随温度升高呈明显上升趋势,当萃取温度为 45 °C 时达到最大值,之后随着温度的继续升高,提取率明显下降。

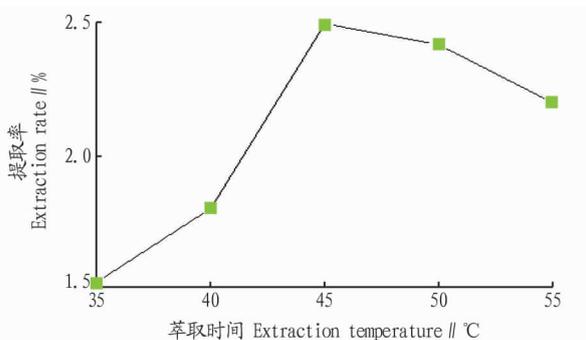


图 2 萃取温度对金银花精油提取率的影响

Fig. 2 Effect of extraction temperature on extraction rate of honeysuckle essential oil

2.1.2 萃取压力对金银花精油提取率的影响。在萃取温度

45 °C、萃取时间 1 h、夹带剂乙醇浓度 60% 的情况下,分别考察了萃取压力 25、30、35、40、45 MPa 时,对金银花提取率的影响。由图 3 可知,金银花精油的提取率随萃取压力升高呈明显上升趋势,当萃取压力为 35 MPa 时达到最大值,之后随着压力的继续升高,提取率缓慢下降。

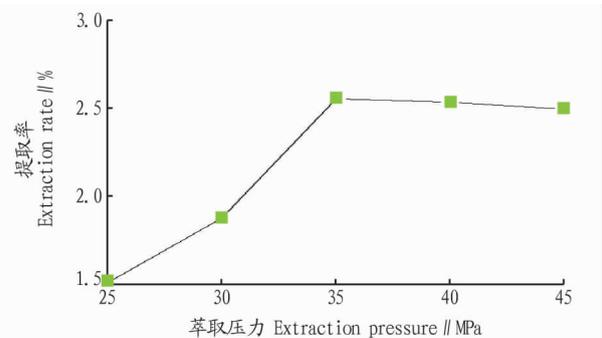


图 3 萃取压力对金银花精油提取率的影响

Fig. 3 Effect of extraction pressure on extraction rate of honeysuckle essential oil

2.1.3 夹带剂浓度对金银花精油提取率的影响。在萃取温度 45 °C、萃取时间 1 h、萃取压力为 35 MPa 的情况下,分别考察了夹带剂乙醇浓度 50%、60%、70%、80%、90% 时,对金银花提取率的影响。由图 3 可知,金银花精油的提取率随夹带剂浓度升高逐渐增大,当夹带剂浓度 80% 时达到最大值,之后随着浓度的继续升高,提取率缓慢下降。

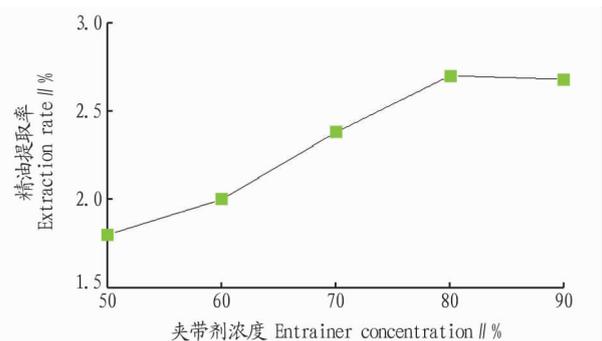


图 4 夹带剂浓度对金银花精油提取率的影响

Fig. 4 Effect of entrainer concentration on extraction rate of honeysuckle essential oil

2.2 响应面优化试验

2.2.1 响应面试验设计与结果。以金银花精油提取率为响应值,在单因素试验的基础上,选取对提取率有明显影响的萃取压力、萃取温度、夹带剂浓度进行 3 因素 3 水平的响应面分析试验,试验设计见表 2~3。

表 2 响应面试验因素与水平

Table 2 Factors and levels of response surface test

试验水平 Test level	萃取温度 Extraction temperature (A)//°C	萃取压力 Extraction pressure (B)//MPa	夹带剂浓度 Entrainer concentration (C)//%
-1	40	30	60
0	45	35	70
1	50	40	80

表3 响应面试验设计与试验结果

Table 3 Response surface design and test results

试验号 Test number	A	B	C	精油收率 Yield of essential oil//%
1	0	0	0	2.96
2	1	0	-1	2.91
3	0	0	0	2.99
4	0	1	-1	2.85
5	-1	0	-1	2.87
6	1	-1	0	2.87
7	0	-1	-1	2.82
8	0	-1	1	2.88
9	0	0	0	2.94
10	-1	-1	0	2.85
11	0	0	0	2.96
12	-1	1	0	2.88
13	-1	0	1	2.91
14	1	1	0	2.98
15	1	0	1	2.94
16	0	1	1	2.91
17	0	0	0	2.97

2.2.2 响应面分析。采用 Design-Expert 8.05 对上述数据进行分析,得到金银花精油提取率(Y)与萃取温度(A)、萃取压力(B)、夹带剂浓度(C)之间的多元二次回归方程:

$$Y = 2.96 + 0.003\ 613A + 0.004\ 050B + 0.004\ 512C + 0.000\ 400AB + 0.000\ 025AC - 0.001\ 044A^2 - 0.014\ 000B^2 - 0.006\ 992C^2$$

方程中, A 、 B 、 C 的系数说明各因子对精油得率的影响均呈正相关,各因子的系数绝对值越大,表明对精油提取率的影响越大,故三因子对金银花精油提取率(Y)的影响效果为夹带剂浓度(C)>萃取压力(B)>萃取温度(A)。

从表4可知,该模型 $P=0.001\ 3 < 0.01$ (较显著),失拟项 $P=0.521\ 3 > 0.05$ (不显著),结果表明该模型可靠,试验过程无失拟因素,未知因素对试验过程的干扰小; $R^2=0.944\ 6$ 和 $R^2_{Adj}=0.873\ 3$ 表明回归方程的线性关系良好,该模型对于试验结果具有较高的拟合性。 $CV=5.64\%$,表明该模型具有良好的重现性。综上可知,该模型可用来对金银花精油的萃取工艺进行分析和优化。

表4 响应面试验各因素方差分析

Table 4 Analysis of variance of response surface test

方差来源 Source of variance	平方和 Sum of squares	自由度 Degree of freedom	均方 Square	F 值 F value	P 值 P value
模型 Model	0.037 000	9	0.004 156	13.25	0.001 3
A	0.003 613	1	0.003 613	11.52	0.011 5
B	0.004 050	1	0.004 050	12.92	0.008 8
C	0.004 512	1	0.004 512	14.39	0.006 8
AB	0.000 400	1	0.000 400	2.87	0.134 1
AC	0.000 025	1	0.000 025	0.08	0.785 8
BC	0	1	0	0	1
A^2	0.001 044	1	0.001 044	3.33	0.110 7
B^2	0.014 000	1	0.014 000	45.56	0.000 3
C^2	0.006 992	1	0.006 992	22.30	0.002 2
残差 Residual	0.002 195	7	0.000 316		
失拟项 False terms	0.000 875	3	0.000 292	0.88	0.521 3
纯误差 Pure errors	0.001 320	4	0.000 330		
总离差 The total deviation	0.040 0	16			
相关系数 The correlation coefficient(R^2)	0.944 6				
校正决定系数 Correction determination coefficient(R^2_{Adj})	0.873 3				

模型中, A 、 B 、 C 、 B^2 、 C^2 项均存在显著性,表明各因子与因变量具有良好的线性关系,各因素对响应值提取率的影响效果用曲面图和等高线图表示,结果见图5~6。

从图5和图6可知,萃取压力与夹带剂浓度之间的相互关系曲线近似于圆,表明萃取压力与夹带剂浓度的相互作用对精油提取率的影响很小;萃取温度与萃取压力、萃取温度与夹带剂浓度交互作用的等高线为椭圆形,说明 AB 和 AC 的交互作用对精油提取率均有很大的影响,而 AB 曲线比 AC 曲线由蓝色到红色变化的更快,坡度更大,说明 AB 交互作用对精油提取率影响更明显。

2.2.3 工艺优化与验证。根据 Box-Behnken 曲线可看出,提取率存在真实的最大值,采用 Design-Expert 8.05 对设定

的提取工艺进行优化,得到金银花挥发油最佳萃取条件:萃取温度 48.97 °C、萃取压力 36.47 MPa、夹带剂乙醇浓度 72.67%,在此条件下得到的挥发油提取率为 2.98%。

为检验响应面法所得结果的可信度,同时考虑生产实际,调整萃取条件为:萃取温度 49 °C、萃取压力 36 MPa、夹带剂浓度 73%,进行 3 次验证试验,得到精油平均提取率为 2.48%,比预测值仅差 0.50%。

3 结论

单因素试验结果表明,萃取温度、萃取压力、夹带剂浓度 3 个因素对金银花精油提取率均有不同程度的影响。采用 Box-Behnken 法和 Design-Expert 8.05 优化获得 SFE-CO₂ 法萃取金银花精油最佳工艺条件为萃取温度 49 °C、萃取压力

36 MPa、夹带剂浓度 73%，进行 3 次验证试验，得到精油平均提取率为 2.48%，与理论值相比仅差 0.50%。该试验采用的响应面法方法可靠，具有可操作性，得到的二次回归模型拟

合度高，可以为金银花精油的规模化生产提供重要的指导作用。

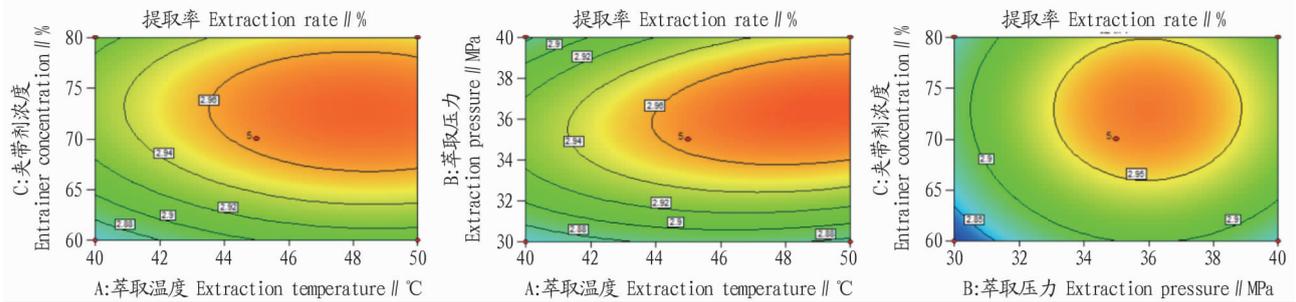


图 5 各因素交互作用对提取率影响的等高线图

Fig. 5 Contour diagram of the effect of each factor interaction on extraction rate

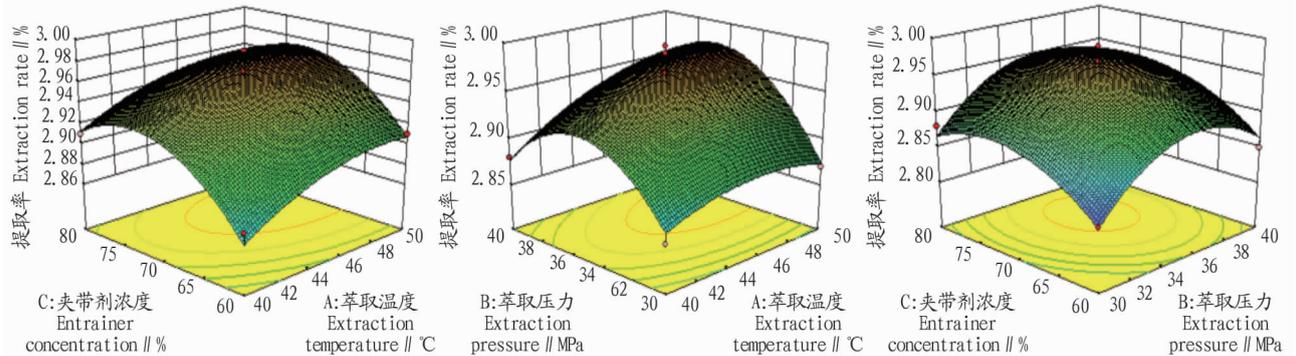


图 6 各因素交互作用对提取率影响的曲面图

Fig. 6 Surface diagram of the influence of each factor interaction on extraction rate

参考文献

- [1] 中国科学院中国植物志编辑委员会. 中国植物志: 第 72 卷[M]. 北京: 科学出版社, 1988.
- [2] 毛利华, 李世周, 杨哲, 等. 金银花活性成分及其产品开发研究进展[J]. 江苏科技信息, 2018, 35(17): 47-49.
- [3] 谭政委, 夏伟, 余永亮, 等. 金银花化学成分及其药理学研究进展[J]. 安徽农业科学, 2018, 46(9): 26-28, 123.
- [4] 曾安琪, 华桦, 陈朝荣, 等. 金银花、山银花抗炎药理作用研究[J]. 中国中药杂志, 2020, 45(16): 3938-3944.
- [5] 张艳冬, 陈宇. 金银花枝叶提取物对炎症小鼠的抗炎镇痛作用研究[J]. 浙江中医杂志, 2019, 54(6): 457-458.
- [6] 崔晓燕. 金银花提取物的抗炎免疫作用研究[J]. 中国药业, 2011, 20(23): 8-9.
- [7] 张旋, 郑明星, 朱志兵, 等. 金银花体外抗呼吸合胞病毒作用研究[J]. 新中医, 2014, 46(6): 204-206.
- [8] 李文, 易进海, 刘芳, 等. 金银花饮片和金银花现代饮片 RP-HPLC 指纹图谱对比研究[J]. 成都大学学报(自然科学版), 2012, 31(1): 21-24.
- [9] 陈璇. 复方金银花中药漱口水的制备及其功效实验研究[D]. 广州: 南方医科大学, 2017.
- [10] 李宗磊, 赵琪, 王明力. 鱼腥草金银花凉茶饮料的研制[J]. 中国酿造, 2014, 33(7): 148-152.
- [11] 孙军涛, 肖付刚, 王思琦. 决明子枸杞金银花复合饮料的研制[J]. 食品研究与开发, 2017, 38(9): 108-111.
- [12] 李敬华. 荷叶金银花保健口香糖的研制[J]. 食品科学, 2004, 25(5): 210-213.
- [13] 曹冠华, 李泽东, 王藩桦, 等. 金银花酸角糕的研制[J]. 食品研究与开发, 2017, 38(5): 90-95.
- [14] 谢君铨, 沈立玉, 周强, 等. 低度保健型黄酒发酵及调配工艺研究[J]. 食品与发酵科技, 2016, 52(2): 66-71.
- [15] 陈丽玲, 陈勃, 何冬萍, 等. 金银花黄酒制备工艺及产品稳定性和抗氧化活性研究[J]. 酿酒科技, 2016(12): 47-51.
- [16] 杨亚军, 林莉, 丁家宜, 等. 天然活性物美白功效的细胞生物学研究[J]. 日用化学工业, 2002, 32(3): 19-21.
- [17] 李杨, 董银卯, 孟宏, 等. 7 种中草药提取物抗过敏功效及刺激性研究[J]. 中国实验方剂学杂志, 2013, 19(4): 191-194.
- [18] 杨子佳, 祝韵. 金银花的功效成分及其在化妆品中的应用[J]. 日用化学科学, 2013, 36(11): 28-31, 41.