

DOI:10.16305/j.1007-1334.2016.09.025

效应面—满意度函数法对莪术超声辅助提取工艺的优化研究

王小琴,江莹,胡道德,夏楠,董世杰

上海交通大学附属第一人民医院临床药学科(上海 200080)

【摘要】 目的 采用效应面—满意度函数法优化莪术超声辅助提取工艺。**方法** 在单因素实验的基础上,以莪术中呋喃二烯与 β -榄香烯的提取量为评价指标,采用效应面法,考察液料比、乙醇浓度和超声时间对呋喃二烯与 β -榄香烯提取量的影响,结合满意度函数法同时优化呋喃二烯与 β -榄香烯的最佳超声辅助提取工艺。**结果** 优化得提取工艺的最适条件为:液料比为7 ml/g,乙醇浓度为75%和超声时间为19 min,同时综合满意度值为1.00。在此最佳提取条件下,呋喃二烯与 β -榄香烯的实际提取量分别为137.1 $\mu\text{g/g}$ 和122.4 $\mu\text{g/g}$,与预测值的偏差分别为0.65%和0.73%。应用此法,呋喃二烯与 β -榄香烯提取量高于《中华人民共和国药典》2015年版所载“莪术”中水蒸气蒸馏法的提取量。场发射扫描电子显微镜的结果显示:超声辅助提取明显破坏药材表面结构,使之疏松、空洞。**结论** 效应面—满意度函数法优化所得的莪术超声辅助提取工艺稳定、可行。

【关键词】 莪术;超声波;效应面法;满意度函数

Optimization of ultrasonic-assisted extraction of *Curcumae Rhizoma* based on response surface methodology and desirability function

WANG Xiao-qin, JIANG Ying, HU Dao-de, XIA Nan, DONG Shi-jie

Department of Clinical Pharmacology, The First People's Hospital Affiliated to Shanghai Jiaotong University, Shanghai, 200080

Abstract: Objective To optimize the ultrasonic-assisted extraction process of *Curcumae Rhizoma* based on response surface methodology and desirability function. **Methods** Based on the experiment of single factor, and taken the extraction contents of furanodiene and β -elemene from *Curcumae Rhizoma* as evaluation index, the effect of the ratio of liquid to solid, ethanol concentration and ultrasound time on extraction amount of furanodiene and β -elemene were investigated by using response surface methodology. Combined with the desirability function, best ultrasonic assisted extraction process was optimized. **Results** The value of overall desirability as 1.00 was obtained when the ratio of liquid to solid was 7 ml $\cdot$ g⁻¹, the concentration of ethanol was 75% and the ultrasonic time was 19 min. Under the optimized extraction conditions, the actual extraction contents of furanodiene and β -elemene were 137.1 $\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$ and 122.4 $\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$, and the relative deviations between the measured and predicted value were 0.65% and 0.73%, respectively. Besides, compared to the extraction method of steam distillation recorded in the monograph of *Curcumae Rhizoma* in Chinese Pharmacopoeia, the optimized condition demonstrated higher extraction efficiency. It displayed that the surface structures of the sonicated herbal materials were fluffy and irregular by the field emission scanning electron microscope. **Conclusion** The ultrasonic-assisted extraction technique of *Curcumae Rhizoma* optimized by response surface methodology and desirability function was stable and feasible.

Keywords: *Curcumae Rhizoma*; ultrasonic; response surface methodology; desirability function

莪术为姜科植物蓬莪术 *Curcuma phaeocaulis* Val.、广西莪术 *Curcuma kwangsiensis* S. G. Lee et C. F. Liang 或温郁金 *Curcuma wenyujin* Y. H. Chen et C. Ling 的干燥根茎^[1],在糖尿病、神经精神疾病、肿瘤和肥胖等疾病方面有广泛应用^[2]。现代药理研究表明,

莪术油具有抗肿瘤、抗病毒、抗菌、抗炎等药理作用^[3],其中呋喃二烯和 β -榄香烯是莪术的主要抗肿瘤活性成分^[4-5]。

星点设计—效应面法比正交试验法更加简化,比均匀设计法更加全面,适用于多因素、多水平的试验,具有精密度高和数学模型预测性好等优点^[6-7]。单量化指标的优化可以依据结果直接进行判断,但当指标超过1个时,指标间往往互相影响,对某一项指标有利的条件可能不利于另一指标,最终选择条件往往依据这些指标的综合效应。通过满意度函数,将各个指标标准化为0~1之间的满意度值(desirability),由各指标满意度值求算几何平均数,得综合满意度值(overall

[基金项目] 上海市卫生局科研基金资助项目(2011ZJ021);上海市科委科技支撑项目(16401901400)

[作者简介] 王小琴,女,硕士生,主要从事中药药效物质基础及作用机制研究工作

[通讯作者] 胡道德,博士,副教授,硕士生导师。

E-mail: shanghaiyao@sina.com

desirability, OD)^[8]。

因此,本实验以莪术中呋喃二烯和 β -榄香烯的提取量为响应值,运用星点设计一效应面法结合满意度函数对莪术的超声辅助提取工艺进行优化,为其进一步开发和利用提供有价值的工艺参数。

1 材料

1.1 药材与试剂 广西莪术购于上海交通大学附属第一人民医院中药房(批号:13070536),经上海交通大学医学院王松坡教授鉴定为莪术的干燥饮片。

对照品呋喃二烯(纯度 99.4%,批号 111824-20110)、 β -榄香烯(纯度 99.2%,批号 100268-200401),均购于中国药品生物制品检验所;乙腈、甲醇均为色谱纯,美国 TEDIA 公司;乙醇为分析纯,苏州市三杰化学试剂科技有限公司;水为超纯水。

1.2 仪器 Agilent 1100 高效液相色谱仪[包括真空脱气机、四元泵、自动进样器、DAD 检测器和 Agilent Chemstation 工作站,色谱柱:Agilent Ecilpse XDBC₁₈(4.6 mm × 150 mm, 5 μ m)],美国安捷伦科技公司;AL104 电子分析天平,梅特勒-托利多仪器有限公司;BUG25-06 超声仪(功率:250 W,频率:25 kHz),必能信超声(上海)有限公司;TGL-16 型高速离心机,上海安

亭科学仪器厂;场发射扫描电子显微镜(FESEM),日本电子株式会社。

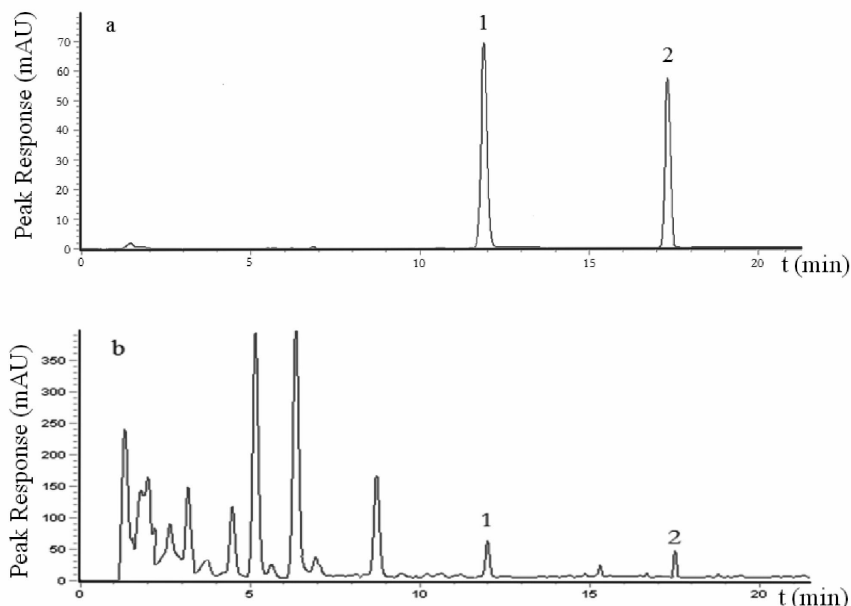
2 方法与结果

2.1 HPLC 测定方法的建立

2.1.1 对照品溶液的制备 精密称取呋喃二烯和 β -榄香烯对照品适量,加甲醇制成每毫升含呋喃二烯 104 μ g 和 β -榄香烯 108 μ g 的混合对照品溶液,摇匀,4 $^{\circ}$ C 贮存,备用。

2.1.2 供试品溶液的制备 莪术药材粉碎,过 60 目筛,称取上述样品约 10 g 置于 100 ml 锥形瓶,按实验设计加入提取溶剂进行超声辅助提取。然后,提取液转移到 10 ml 离心管中,以 6 000 r/min 的速度离心 10 min。最后,收集上清液于 100 ml 容量瓶中并用提取溶剂定容至 100 ml,过 0.45 μ m 微孔滤膜,取续滤液作为供试品溶液。

2.1.3 色谱条件 以 Agilent Ecilpse XDB C₁₈(4.6 mm × 150 mm, 5 μ m) 为色谱柱,乙腈(A)-水(B)为流动相进行梯度洗脱:0 ~ 13 min, 75% ~ 85% A; 13 ~ 16 min, 85% ~ 92% A; 16 ~ 20 min, 92% A。检测波长 210 nm;流速 1.0 ml/min;柱温 25.0 $^{\circ}$ C;进样量 20 μ l。混合对照品和超声辅助提取产物的 HPLC 图。见图 1。



注:1 为呋喃二烯;2 为 β -榄香烯

图 1 混合对照品(a)与莪术样品(b)的 HPLC 图

2.1.4 标准曲线的制备 精密吸取“2.1.1”项下制得的标准品储备液 0.7, 1.5, 3.0, 6.0, 12.5, 25.0, 50.0 ml 分别置 50 ml 量瓶中,用甲醇定容,摇匀,制得 7 份标准品溶液。自动进样器依次吸取 20 μ l 进样,记录呋喃二烯和 β -榄香烯的色谱峰面积。以峰面积 Y 为纵坐标,呋喃二烯和 β -榄香烯的质量浓度 X (mg/ml) 分别为横坐标,绘制标准曲线,得呋喃二烯回归方程为 $Y = 57\,294X + 22.06$, $r^2 = 0.999\,9$, β -榄香烯回归方程为 $Y = 25\,082X + 33.39$, $r^2 = 0.999\,9$ 。

2.1.5 方法学考察 参照《中华人民共和国药典》(以下简称《中国药典》)2015 年版第四部^{[9]374-377}进行精密度试验,呋喃二烯和 β -榄香烯峰面积 RSD 值分别为 1.3% 和 1.5% ($n=6$)。

参照《中国药典》2015 年版第四部^{[9]374-377},同一供试品溶液分别在 0, 2, 4, 8, 12, 24 h 后进样 20 μ l,测定呋喃二烯和 β -榄香烯的峰面积。结果表明,呋喃二烯和 β -榄香烯峰面积的 RSD 值分别为 1.13% 和 1.26%,表明这两种成分均在 24 h 内稳定。

按《中国药典》2015 年版第四部^{[9]374-377}, 称取 10.0 g 同一批次的莪术粉末 6 份, 然后均分别加入 70% 的乙醇溶液 80 ml, 在 30 ℃ 下超声提取 10 min, 评价重复性。呋喃二烯和 β -榄香烯提取量的 RSD 值分别为 2.4% 和 1.7% ($n=6$)。

按《中国药典》2015 年版第四部^{[9]374-377}, 称取 10.0 g 已知含量的莪术粉末 9 份, 均分别加入 70% 的乙醇溶液 80 ml, 然后平均分为 3 组: 第一组加入呋喃二烯 0.52 mg 和 β -榄香烯 0.54 mg, 第二组加入呋喃二烯 1.04 mg 和 β -榄香烯 1.08 mg, 第三组加入呋喃二烯 1.56 mg 和 β -榄香烯 1.62 mg。在 30 ℃ 下超声提取 10 min, 按照“2.1.2”项下供试品溶液的制备步骤制备, 采用建立的 HPLC 法测定提取液中呋喃二烯和 β -榄香烯的量, 计算加样回收率。结果表明, 呋喃二烯和 β -榄香烯平均回收率分别为 98.3% (RSD 值为 3.9%) 和 99.1% (RSD 值为 2.8%) ($n=9$)。

2.2 单因素考察

2.2.1 乙醇浓度的考察 称取莪术粉末 5 份, 每份约 10.0 g, 按照液料比 8 ml/g 的比例, 分别加入 40%、60%、70%、80% 及 100% 的乙醇溶液 80 ml。在 30 ℃ 下超声提取 10 min, 按照“2.1.2”项下步骤制备供试品, 采用建立的 HPLC 法测定呋喃二烯和 β -榄香烯的提取量, 实验结果见图 2a。采用 SPSS 20.0 统计软件对所得

数据进行方差分析, 结果显示呋喃二烯和 β -榄香烯的提取总量随着乙醇浓度的增大而显著增加 ($P < 0.05$)。当乙醇浓度为 70% 时, 提取总量最大; 而再增加乙醇浓度, 提取总量显著减少 ($P < 0.05$)。因此, 选择 70% 的乙醇溶液为接下来单因素实验的提取溶剂。

2.2.2 液料比的考察 称取莪术粉末 5 份, 每份约 10.0 g, 固定乙醇浓度为 70%, 超声时间为 10 min, 提取温度为 30 ℃, 选择液料比 4 ml/g、6 ml/g、8 ml/g 及 10 ml/g 进行提取, 按照“2.1.2”项下步骤制备供试品, 实验结果见图 2b。方差分析结果显示, 呋喃二烯和 β -榄香烯的提取总量随着液料比的增大而显著增加 ($P < 0.05$), 当液料比为 8 ml/g 时, 提取总量较大, 而再增加溶剂体积提取总量无增加显著 ($P > 0.05$)。

2.2.3 超声时间的考察 称取约 10.0 g 的莪术粉末 5 份, 均加入 70% 的乙醇溶液 80 ml, 在 30 ℃ 下分别超声 3 min、5 min、10 min、15 min 和 20 min, 按照“2.1.2”项的步骤制备供试品, 采用建立的 HPLC 法定量, 实验结果见图 2c。方差分析结果显示, 呋喃二烯和 β -榄香烯的提取总量随着提取时间的增大而显著增加 ($P < 0.05$); 当提取时间为 15 min 时, 提取总量较大, 而再增加超声时间提取总量无显著增加 ($P > 0.05$), 因此超声时间选 15 min。

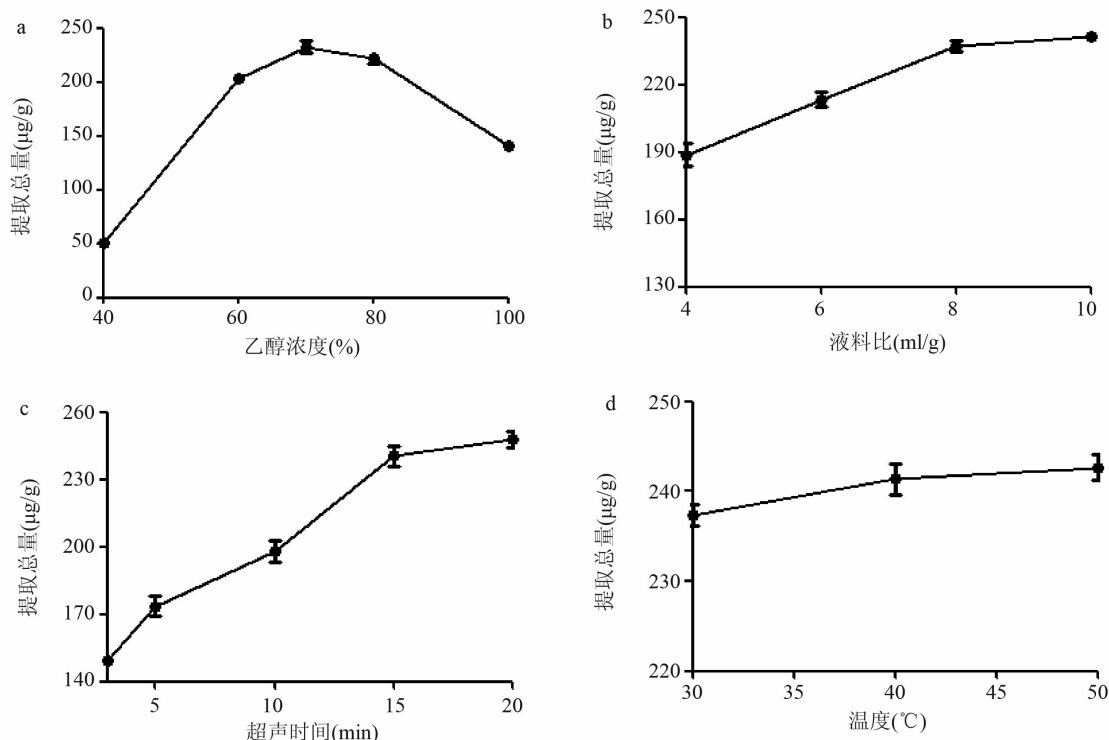


图2 乙醇浓度、料液比、超声时间和温度对莪术中呋喃二烯和 β -榄香烯提取总量的影响

2.2.4 提取温度的考察 称取 5 份莪术粉末, 每份约 10.0 g, 固定乙醇浓度为 70%, 液料比 8 ml/g, 超声时间为 10 min, 选择提取温度 30 ℃、40 ℃ 和 50 ℃ 进行提取, 按照“2.1.2”项下的步骤制备供试品, HPLC 法定量, 实验结果见图 2 d。方差分析结果显示, 呋喃二烯

和 β -榄香烯的提取总量随着温度的上升无显著增加 ($P > 0.05$), 因此提取温度选择接近室温的 30 ℃。

根据单因素结果, 液料比、乙醇浓度和超声时间被选为效应面法优化莪术超声辅助提取工艺的重要因素。

2.3 效应面法优化莪术超声辅助提取工艺试验

2.3.1 效应面试验设计与结果分析 以单因素实验结果为依据,选取液料比、乙醇浓度和超声时间为自变量,呋喃二烯和 β-榄香烯的提取量为因变量,采用三因素五水平的星点设计进一步优化影响莪术中呋喃二烯和 β-榄香烯提取产率的主要因素,见表 1。试验安排 ($N=2^k+2k+n_c=23+2\times3+3=17$,通常 $n_c=3$)^[10]与结果见表 2。

表 2 星点设计优化方案与结果

实验号	液料比 (ml/g)	乙醇浓度 (%)	超声时间 (min)	水平	
				-1.732	-1 0 1 1.732
1	6	39.8	14	17.56	12.30
2	6	90.2	14	83.59	52.05
3	6	65	24.1	127.60	122.40
4	4	50	20	46.74	27.69
5	2.6	65	14	58.49	33.26
6	9.4	65	14	125.80	107.70
7	6	65	3.9	72.96	52.63
8	4	80	8	77.30	46.21
9	6	65	14	116.60	98.45
10	6	65	14	113.80	99.62
11	8	50	8	61.69	39.07
12	8	80	20	133.70	121.20
13	6	65	14	111.00	88.96
14	8	80	8	111.00	103.00
15	8	50	20	82.11	48.02
16	4	50	8	38.62	18.66
17	4	80	20	108.70	87.43

利用 Design-Expert 8.5 软件对表 2 中实验数据进行多元回归拟合,得到呋喃二烯和 β-榄香烯的回归方程分别为:

$$Y_1 = -519.2 + 28.5X_1 + 13.5X_2 + 2.7X_3 - 1.7X_1^2 - 0.1X_2^2;$$

$$Y_2 = -490.8 + 26.0X_1 + 12.3X_2 + 2.3X_3 - 0.1X_2^2$$

(Y_1 为呋喃二烯的提取量, Y_2 为 β-榄香烯的提取量; X_1 为液料比, X_2 为乙醇浓度, X_3 为超声辅助提取时间)。

对上述模型进行方差分析,结果见表 3。结果显示,所选用的回归模型的 P 值均小于 0.01,说明效应面模型呈现极显著水平;失拟项的 P 值均大于 0.05,说明失拟项不显著;相关系数 (r^2) 分别为 0.977 9 和 0.930 5,说明该模型变量与自变量之间的关系显著,回归方程与实际情况拟合度高,模型拟合程度良好。由表 3 中各因素的 F 值可知,乙醇浓度对呋喃二烯和 β-榄香烯提取量影响最大,其次是液料比,超声时间对莪术提取效果的影响最小。另外,自变量 X_2 的二次项对呋喃二烯和 β-榄香烯提取量都有统计学意义 ($P < 0.05$),说明乙醇浓度对呋喃二烯和 β-榄香烯提取量的影响不是简单的线性关系。

2.3.2 效应面分析 等高线平面及效应面曲面可较直观地反映各因素及两两因素的交互作用对响应值的

表 1 星点设计的因素和水平表

因素	水平				
	-1.732	-1	0	1	1.732
X_1 液料比 (ml/g)	2.6	4	6	8	9.4
X_2 乙醇浓度 (%)	39.8	50	65	80	90.2
X_3 超声时间 (min)	3.9	8	14	20	24.1

影响,莪术超声辅助提取的等高线图、三维效应面见图 3 与图 4。

从图 3a、d 和图 4a、d 可以得知,在乙醇浓度较低时,随液料比的增大,呋喃二烯和 β-榄香烯的提取量逐渐增多;但是液料比增大到 7 ml/g 后,呋喃二烯和 β-榄香烯的提取量的增加已不显著。从图 3b、e 和图 4b、e 得知,将液料比维持在一定值,提取量随超声时间的增加而增加,超声时间超过 17 min 后,提取量的增加速度变缓。从图 3c、f 和图 4c、f 可以看出,固定超声时间,提取量随乙醇浓度的增加而增加,但乙醇浓度达到一定水平后,呋喃二烯和 β-榄香烯的提取量不再增加。另外,从图 3 与图 4 可以看出,3 个因变量对呋喃二烯和 β-榄香烯提取量的影响作用均不具有明显的交互性,与表 3 相互作用项系数的 $P > 0.05$ 的结果一致,同时也说明单因数考察结果是可信的。

2.3.3 满意度函数法 在 Design-Expert 8.5 软件窗口中合理设置各自变量和因变量的“目标”“上下限”“权重”等,见表 4。采用 Design-Expert 8.5 软件的满意度函数法同时优化呋喃二烯和 β-榄香烯的超声辅助提取工艺,三维效应面见图 5。结果表明,呋喃二烯和榄香烯提取量的综合满意度值为 1.00,提取条件为:液料比为 7 ml/g,乙醇浓度为 75% 和超声时间为 19 min,呋喃二烯和榄香烯的含量分别为 138.0 μg/g

和 123.3 $\mu\text{g/g}$ 。

2.3.4 验证实验 为验证星点设计一效应面法结合满意度函数法所得结果的可靠性,对优化的工艺条件进行验证。按液料比 7 ml/g、乙醇浓度 75% 和提取时间 19 min 进行提取实验 3 次,测得的呋喃二烯和 β -榄香烯的平均含量分别为 137.1 $\mu\text{g/g}$ 和 122.4 $\mu\text{g/g}$ 。根据公式: 偏差 = (预测值 - 实测值)/预测值 $\times$ 100%^[11],计算得呋喃二烯和 β -榄香烯实测提取量与预测值之间的偏差值分别为 0.65% 和 0.73%,无显著性差异($P > 0.05$)。此外,精密称定药材粉末 100 g,置 1 000 ml 的烧杯中,按上述条件,制备 6 份供试品,验证优化工艺的稳定性。得呋喃二烯和 β -榄香烯的平均提取量为 137.3 $\mu\text{g/g}$ 和 122.4 $\mu\text{g/g}$,与预测值无显著性差异($P > 0.05$),说明优化的工艺具有良好的可行性与稳定性。

2.4 超声辅助提取法与水蒸气蒸馏法比较

2015 年

表 3 星点设计试验方差分析

误差来源	df	呋喃二烯			β -榄香烯		
		MS	F	P	MS	F	P
模型	9	2 076.49	34.34	< 0.000 1	2 264.77	10.42	0.002 7
X_1	1	3 885.00	64.25	< 0.000 1	4 817.25	22.16	0.002 2
X_2	1	7 154.81	118.33	< 0.000 1	6 211.34	28.58	0.001 1
X_3	1	2 230.69	36.89	0.000 5	2 776.86	12.78	0.009 0
X_1X_2	1	8.40×10^{-3}	1.390×10^{-4}	0.990 9	310.25	1.43	0.271 1
X_1X_3	1	1.62	0.027	0.874 6	66.70	0.31	0.596 9
X_2X_3	1	81.66	1.35	0.283 3	214.66	0.99	0.353 4
X_1^2	1	534.42	8.84	0.020 7	895.61	4.12	0.081 9
X_2^2	1	5 251.15	86.85	< 0.000 1	5 684.87	26.15	0.001 4
X_3^2	1	181.26	3.00	0.127 0	94.18	0.43	0.531 4
残差	7	60.46			217.36		
失拟项	5	81.51	10.40	0.090 1	290.64	8.50	0.108 6
纯误差	2	7.84			34.18		

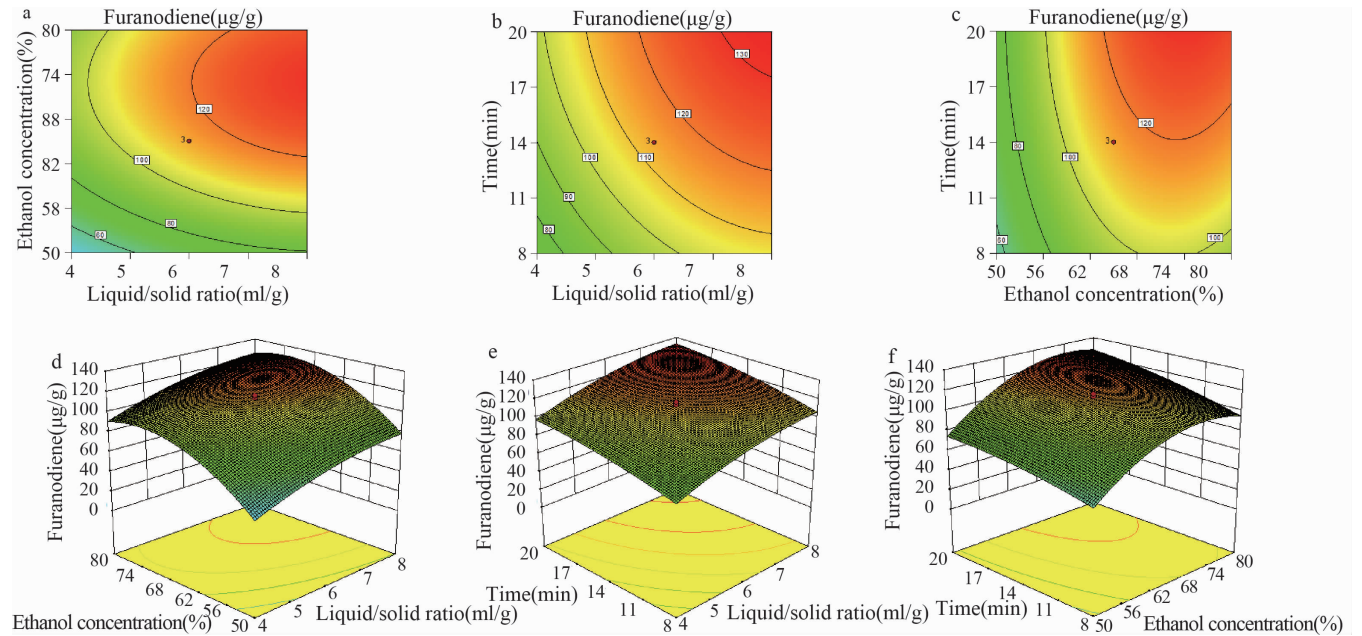


图 3 各因素及其相互作用对呋喃二烯的提取量的影响

版《中国药典》第一部采用水蒸气蒸馏法提取莪术中药效成分^[1]。故精密称定莪术样品 30 g,置烧瓶中,加水 360 ml^[12]进行水蒸气蒸馏,连续蒸馏 5 h,收集挥发油^{[9] 203-204}。重复试验 3 次,与效应面优化的超声辅助提取工艺进行比较,结果见表 5。采用 SPSS 20.0 统计软件对所得数据进行 t 检验,结果表明优化的超声辅助提取法得到的呋喃二烯及 β -榄香烯的产率明显高于药典中的水蒸气蒸馏法($P < 0.05$)。

为了阐述超声提取法的高效性,本实验使用场发射扫描电子显微镜观察超声辅助法和水蒸气蒸馏法提取后药材表面形态结构的变化,电镜图见图 6。从图 6a 发现原药料的表面结构非常致密与完整。图 6b 与 c 分别为超声辅助提取 19 min 和水蒸气蒸馏 5 h 后药材表面结构的变化。显而易见,图 6b 中药材表面结构明显变得蓬松与不规则,还出现部分空洞。

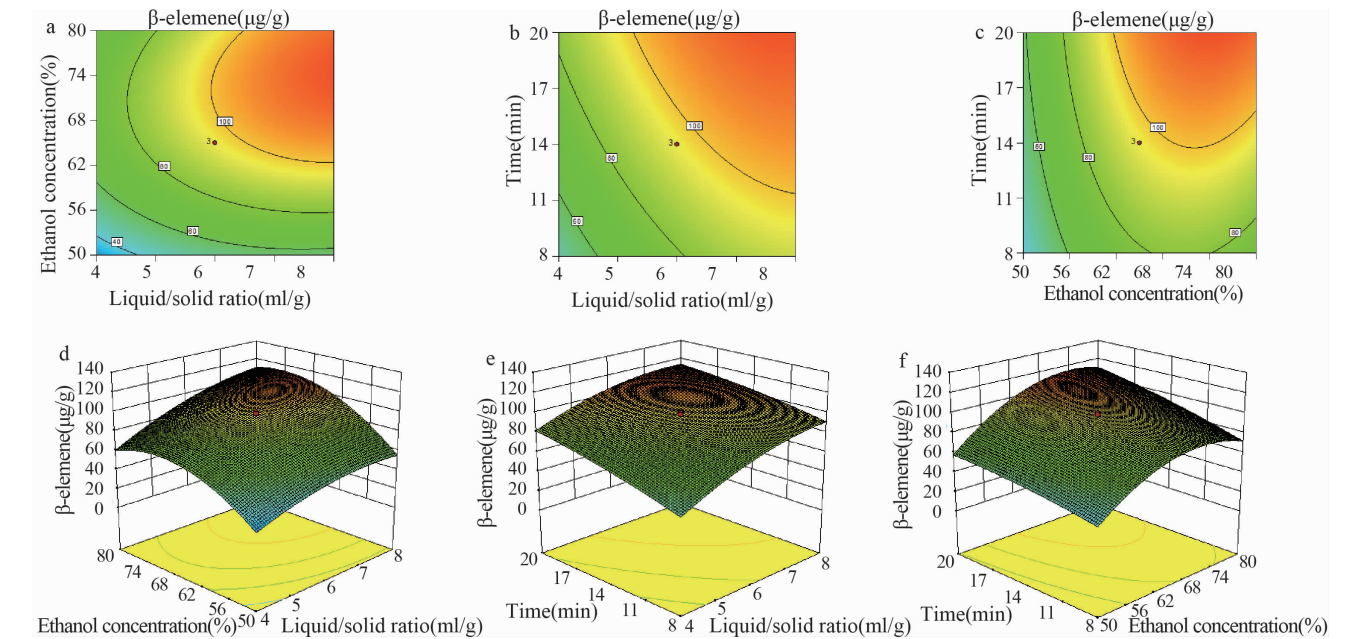


图 4 各因素及其相互作用对 β -榄香烯提取量的影响

表 4 满意度函数法优化

因素	目标	下限	上限	下比重	上比重	权重
X_1 :液料比 (ml/g)	可变	4	8	1	1	3
X_2 :乙醇浓度 (%)	可变	50	80	1	1	3
X_3 :超声时间 (min)	可变	8	20	1	1	3
呋喃二烯 ($\mu\text{g/g}$)	最大	130	133.7	1	1	3
β -榄香烯 ($\mu\text{g/g}$)	最大	120	122.4	1	1	3

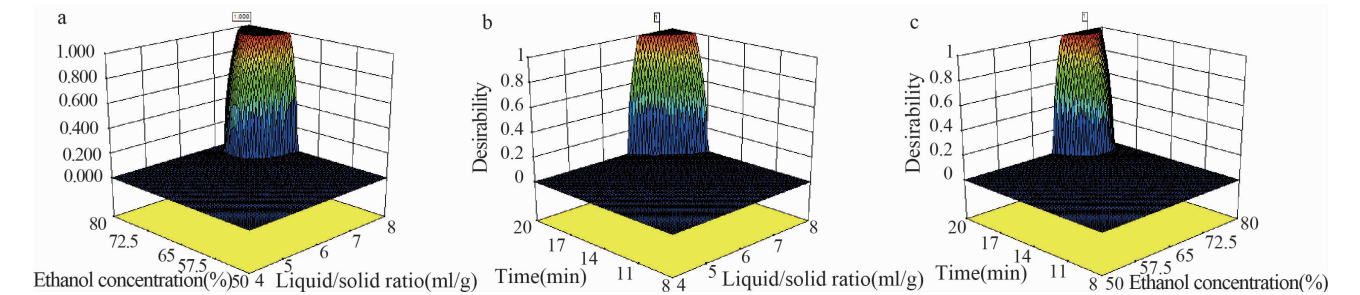
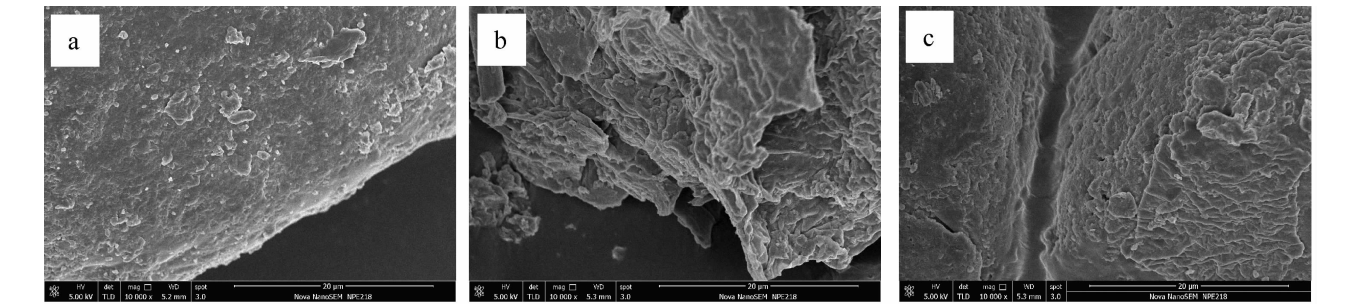


图 5 效应面显示各自变量与因变量的满意度值及综合满意度值 1.00

表 5 超声辅助提取与水蒸气蒸馏法的比较

提取方法	提取溶剂	呋喃二烯 ($\mu\text{g/g}$)	β -榄香烯 ($\mu\text{g/g}$)
超声辅助提取	75% 乙醇	137.1 ± 0.4	122.4 ± 0.8
水蒸气蒸馏法	水	129.0 ± 0.4	115.6 ± 0.6



注:a. 原材料;b. 超声辅助提取 19 min;c. 水蒸气蒸馏 5 h

图 6 药材表面结构的场发射扫描电子显微镜图片

3 讨论

虽然呋喃二烯及 β -榄香烯是挥发性化合物, 但为热敏物质, 在气相色谱条件下呋喃二烯几乎全部转化为莪术烯, 因此气相色谱测定法不适于这些热敏物质的定量测定^[13-14]。此外, 气相色谱测定法中样品前处理过程比较麻烦, 因此本实验采用高效液相色谱法测定呋喃二烯及 β -榄香烯的提取量。考虑到所测组分为挥发油, 容易挥发, 结构不稳定, 受温度的影响较大, 液相色谱柱温设为 25℃^[3]。

超声波提取法提取时间短, 无需加热, 避免高温对有效成分的破坏, 适于热敏性物质的提取^[15-16]。本实验比较了最佳超声辅助提取条件与 2015 年版《中国药典》中莪术挥发油含量测定项下的水蒸气蒸馏法下呋喃二烯和 β -榄香烯的产率, 结果表明超声辅助提取得到的呋喃二烯和 β -榄香烯的产率明显高于水蒸气蒸馏法(表 5, $P < 0.05$), 而且超声提取时间短。相应地, 场发射扫描电子显微镜观察结果(图 6)表明, 超声后原药料的表面结构变得蓬松与不规则, 还有部分空洞。这之前文献^[17-19]的观点是相符的, 即超声波在溶液产生特殊的空化效应对其表面结构与细胞壁造成明显的破坏, 增大药材的表面积, 最终加速有效成分的释放、溶解与转运。

呋喃二烯和 β -榄香烯是倍半萜类化合物, 易溶于乙醇、乙醚和乙酸乙酯等有机溶剂。由于乙醚提取液在 HPLC 定量前需先挥干乙醚, 后用甲醇溶解^[3], 故本实验采用安全无毒、经济环保的乙醇作为提取剂。实验结果表明, 乙醇浓度是影响呋喃二烯和 β -榄香烯提取量的重要因素。表 3 显示乙醇浓度的二次项对呋喃二烯和 β -榄香烯提取量具有统计学意义, 这与图 3 和图 4 显示的呋喃二烯和 β -榄香烯提取量随乙醇浓度的增大而先增大后降低现象是一致的。这可能是由于药材处于脱水与萎缩状态, 在提取时需使用含水溶剂使亲水性的部分细胞和组织膨胀。而呋喃二烯和 β -榄香烯为倍半萜类化合物, 易溶于有机溶剂, 即相似相容原理^[20]。本实验乙醇浓度的最优条件为 70%, 与类似文献^[21]结果相近。

满意度函数法能够综合考虑因变量对多个效应面的影响, 从而实现对各指标综合效应的客观量化。综合满意度值在 0.8 ~ 1.0 范围内时, 说明优化结果好, 可以接受^[22]。本实验中呋喃二烯和榄香烯提取量的综合满意度值为 1.00, 表明优化结果质量好。

本研究先通过单因素实验选取提取参数及其水平, 后运用三因素五水平的星点设计—效应面法对影响莪术超声辅助提取工艺的液料比、乙醇浓度和提取时间进行考察, 通过满意度函数法获得最佳提取工艺条件为液料比 7 ml/g、乙醇浓度 75%、提取时间 19 min, 并通过验证实验证明了优化工艺的可行性和稳定性。因此, 效应面法结合满意度函数法适于莪术超声辅助提取工艺的优化, 且在该工艺条件下, 莪术中化

学成分的提取较为充分。本试验结果有望为莪术的进一步合理开发与利用提供相应科学的参考依据。

参考文献:

- [1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典(一部)[S]. 北京: 化学工业出版社, 2015: 274-275.
- [2] 李宝石, 夏宁俊, 朱超林. 中药莪术对肿瘤相关信号通路影响研究进展[J]. 辽宁中医药大学学报, 2015, 17(2): 188-191.
- [3] 任明, 李九席. RP-HPLC 同时测定莪术中莪术二酮、莪术醇、吉马酮、莪术烯、呋喃二烯和 β -榄香烯的含量[J]. 中国实验方剂学杂志, 2013, 19(21): 155-158.
- [4] 陈雨. 呋喃二烯抗肿瘤作用及其机制的初步研究[D]. 广州: 广东药学院, 2015.
- [5] 郑艳萍, 孙秀燕, 巴真真, 等. 呋喃二烯的体内外抗肿瘤作用研究[J]. 烟台大学学报, 2008, 21(2): 115-119.
- [6] 邱颖, 朱玲, 孙晓英. 星点设计—效应面优化法与正交设计和均匀设计的比较及其在药剂研究中的应用[J]. 海峡药学, 2011, 23(2): 18-20.
- [7] 吴修红, 孙泽, 杨恩龙, 等. 响应面法优化女贞子中总三萜的提取工艺研究[J]. 上海中医药杂志, 2016, 50(1): 83-87.
- [8] 张少飞, 陈鹏浩, 张飞, 等. 总评“归一值”在多杀菌素·甲氨基阿维菌素苯甲酸盐聚乳酸微球制备工艺优化中的应用[J]. 农药学报, 2014, 16(3): 337-346.
- [9] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典(四部)[S]. 北京: 化学工业出版社, 2015: 203-204, 374-377.
- [10] Derossi A, Severini C, Del Mastro A, et al. Study and optimization of osmotic dehydration of cherry tomatoes in complex solution by response surface methodology and desirability approach [J]. LWT-Food Sci Technol, 2015(60): 641-648.
- [11] 李玉静. 星点设计—效应面法优化双嗜达莫包合物制备工艺[J]. 中国医院药学杂志, 2015, 35(2): 129-132.
- [12] 项秀娣, 陈素红, 楼招欢. 气相色谱法测定不同方法提取的莪术挥发油中 β -榄香烯的含量[J]. 浙江中医药大学学报, 2011, 35(3): 397-398.
- [13] Dong J, Liu Y, Liang Z, et al. Investigation on ultrasound-assisted extraction of salvianolic acid B from Salvia miltiorrhiza root [J]. Ultrason Sonochem, 2010, 17(1): 61-65.
- [14] Yang FQ, Wang YT, Li SP. Simultaneous determination of 11 characteristic components in three species of Curcuma rhizomes using pressurized liquid extraction and high-performance liquid chromatography[J]. J Chromatogr A, 2006, 1134(1-2): 226-231.
- [15] 胡道德, 顾磊, 姚慧娟, 等. 中药提取及优化的研究进展[J]. 医药导报, 2009, 28(1): 80-83.
- [16] 王佳宁, 郜玉钢, 臧埔, 等. 原花青素的提取方法与药理作用研究进展[J]. 上海中医药杂志, 2015, 49(10): 94-97.
- [17] Shi W, Jia J, Gao Y, et al. Influence of ultrasonic pretreatment on the yield of bio-oil prepared by thermo-chemical conversion of rice husk in hot-compressed water [J]. Bioresource Technol, 2013(146): 355-362.
- [18] 白靖文, 叶非, 贾旭. 正交试验优选东北延胡索超声辅助提取工艺[J]. 中国医院药学杂志, 2011, 31(10): 819-821.
- [19] Bussemaker MJ, Zhang D. Effect of ultrasound on lignocellulosic biomass as a pretreatment for biorefinery and biofuel applications [J]. Ind Eng Chem Res, 2013, 52(10): 3563-3580.
- [20] Lai TNH, André CM, Chirinos R, et al. Optimisation of extraction of piceatannol from Rhodomyrtus tomentosa seeds using response surface methodology [J]. Sep Purif Technol, 2014(134): 139-146.
- [21] 吕沅珊. 正交试验优化莪术的乙醇提取工艺研究[J]. 现代药物与临床, 2013, 28(6): 887-890.
- [22] Amini Sarteshnizi R, Hosseini H, Bondarianzadeh D, et al. Optimization of prebiotic sausage formulation: Effect of using β -glucan and resistant starch by D-optimal mixture design approach [J]. LWT-Food Sci Technol, 2015(62): 704-710.