

星点设计-效应面法优化鸡骨香挥发油提取工艺

王佰灵¹, 王淑美¹, 孟江¹, 王国才², 梁生旺^{1*}

(1. 广东药学院中药分析实验室, 广州 510006; 2. 暨南大学中药及天然药物研究所, 广州 510632)

[摘要] 目的: 优选鸡骨香挥发油的提取工艺条件。方法: 采用水蒸气蒸馏法提取鸡骨香中挥发油, 选取挥发油得率和 cypenrenoic acid 提取量的总评“归一值”为因变量, 采用星点设计考察液料比、浸泡时间和提取时间对提取工艺的影响, 对试验数据进行多元线性回归和二项式拟合, 运用效应面法优选提取工艺并进行预测分析。结果: 评价指标的二项式拟合方程 ($r=0.993$) 优于多元线性回归方程 ($r=0.804$), 最佳提取工艺为加 17.57 倍量水浸泡 101.75 min, 提取时间 321.29 min; 挥发油平均得率 4.06%, cypenrenoic acid 提取量 $0.143 \text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$, 与预测值的偏差分别为 1.44%, 2.569%。结论: 该优选工艺简便、预测性良好, 为鸡骨香的资源开发提供参考。

[关键词] 鸡骨香; 星点设计-效应面法; 挥发油; cypenrenoic acid; 提取工艺

[中图分类号] R283.6 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2014)11-0037-04

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.2014110037

[网络出版地址] <http://www.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20140324.1535.002.html>

[网络出版时间] 2014-03-24 15:35

Optimization of Extraction Process for Volatile Oil from *Croton crassifolius* by Central Composite Design-response Surface Methodology

WANG Bai-ling¹, WANG Shu-mei¹, MENG Jiang¹, WANG Guo-cai², LIANG Sheng-wang^{1*}

(1. Laboratory of Analysis of Traditional Chinese Medicine, Guangdong Pharmaceutical University, Guangzhou 510006, China;

2. Department of Chinese Medicine & Natural Products, Ji'nan University, Guangzhou 510632, China)

[Abstract] **Objective:** To optimize extraction process of volatile oil from *Croton crassifolius*. **Method:** Volatile oil from *C. crassifolius* was extracted by steam distillation method, with “overall desirability” of yield of volatile oil and the concentration of cypenrenoic acid as dependent variable, the amount of water, soaking time and extracting time were investigated by central composite design, test data were fitted by multi-linear equation and second-order polynomial equation, extraction technology conditions were optimized by response surface methodology and to predictive analysis. **Result:** Multiple correlation coefficients from second-order polynomial equation ($r=0.993$) were prior to those from multi-linear equation ($r=0.804$), optimum extraction process conditions were as follows: soaked 101.75 min with 17.57 times the amount of water, distillation time of 321.29 min; under these conditions, average yield of volatile oil was 4.06%, extracting amount of cypenrenoic acid was $0.143 \text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$, deviations between observed and predicted values were less than 3%. **Conclusion:** This optimized process was simple with high predictability, it could provide test basis for resource development of *C. crassifolius*.

[Key words] *Croton crassifolius*; central composite design-response surface methodology; volatile oil; cypenrenoic acid; extraction technology

[收稿日期] 20130903(017)

[基金项目] 国家药典委员会专项

[第一作者] 王佰灵, 在读硕士, 从事中药质量控制研究, Tel:13760711317, E-mail:wbling6@126.com

[通讯作者] * 梁生旺, 教授, 从事中药质量控制研究, Tel:020-39352172, E-mail:swliang371@163.com

鸡骨香主要分布于海南、广东、广西等南部地区及越南、老挝、泰国等国,别名驳骨消(《岭南采药录》)、土沉香(《生草药性备要》)、黄牛香(广州部队《常用中草药手册》)、透地龙等^[1],味辛、苦,性温,入心、肺、肝、胃、肾经,具有理气止痛、祛风除湿、舒筋活络的功效,主要用于治疗风湿痹痛、胃及十二指肠溃疡、跌打肿痛、毒蛇咬伤等^[2-3],主要成分包括萜类(倍半萜及其衍生物占挥发油成分的 > 80%)、氨基酸、有机酸及 β -谷甾醇等成分^[4-6]。现代药理研究表明该植物具有抗癌活性^[7],其复方制剂可用于治疗寒性风湿性关节炎、胃炎及十二指肠溃疡等症^[8]。本实验以鸡骨香挥发油得率和 cypenrenoic acid 提取量为评价指标,采用星点设计-效应面法优化鸡骨香中挥发油的提取工艺。

1 材料

2695 型高效液相色谱仪(美国 Waters 公司), BP211D 型 1/10 万电子分析天平(德国赛多利斯公司),挥发油提取器(5 mL, 深圳市瑞鑫达化学仪器有限公司)。鸡骨香购自广西,经广东药学院李书渊教授鉴定为大戟科植物鸡骨香 *Croton crassifolius* Geisel. 的根;cypenrenoic acid 对照品(暨南大学,经面积归一化法计算纯度 98.7%),乙腈为色谱纯,水为屈臣氏蒸馏水,其他试剂均为分析纯。

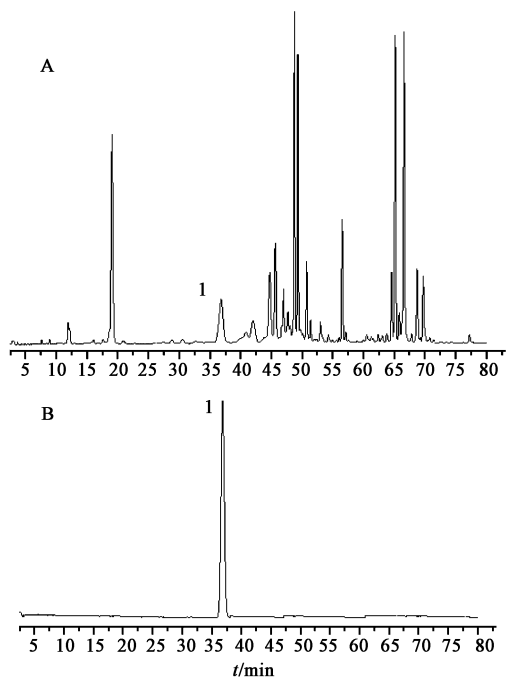
2 方法与结果

2.1 色谱条件 Phenomenex Luna(2) C₁₈ 色谱柱(4.6 mm × 250 mm, 5 μ m),流动相乙腈(A)-0.1% 磷酸水(B)梯度洗脱(0 ~ 40 min, 50% ~ 50% A; 40 ~ 45 min, 50% ~ 80% A; 45 ~ 70 min, 80% ~ 100% A; 70 ~ 80 min, 100% A),流速 1.0 mL·min⁻¹,柱温 30 $^{\circ}$ C,检测波长 254 nm,进样量 10 μ L,见图 1。

2.2 对照品溶液的制备 精密称定 cypenrenoic acid 对照品 10.60 mg,置 50 mL 量瓶中,加甲醇定容至刻度,即得。

2.3 供试品溶液的制备 取鸡骨香药材 25 g,按《中国药典》一部附录 X D 挥发油测定法的甲法提取挥发油,将提取的挥发油定容至 10 mL 量瓶中,摇匀,经 0.45 μ m 微孔滤膜滤过,取续滤液,即得。

2.4 标准曲线的绘制 精密量取 2.2 项下对照品溶液 2, 5, 10, 15, 20, 30 μ L,按 2.1 项下色谱条件测定,以进样量为横坐标,峰面积为纵坐标,得回归方程 $Y = 3 \times 10^6 X - 2.894 \times 10^5$ ($R^2 = 0.9999$),线性范围 0.424 ~ 6.36 μ g。



A. 供试品; B. 对照品; 1. cypenrenoic acid

图 1 鸡骨香挥发油 HPLC

2.5 提取工艺的优选

2.5.1 星点设计 在单因素试验基础上,选择液料比、浸泡时间和提取时间为自变量,因粒度为非连续变量,确定药材粒度 40 目,根据星点设计原理,因素水平见表 1。为将挥发油得率和 cypenrenoic acid 提取量综合为一个能反映总体效应的数值,数据处理采用“归一化法”,采用 Hassan^[9]法分别对各指标进行数学转换求“归一值”(d),公式为 $d_{max} = (Y_i - Y_{min}) / (Y_{max} - Y_{min})$,按公式 $OD = (d_1 \cdot d_2 \cdots d_n)^{1/n}$ 计算总评“归一值”(OD),n 为指标数,试验安排及结果见表 2。

表 1 鸡骨香挥发油的提取工艺星点设计因素水平

水平	X ₁ 液料比 /倍	X ₂ 浸泡时间 /min	X ₃ 提取时间 /min
-1.682	8	30	60
-1	10.43	48.24	132.97
0	14	75	240
1	17.57	101.76	347.03
1.682	20	120	420

2.5.2 模型拟合 以 OD 为因变量,使用 Design-Expert 7.0.0 对各因素进行多元线性回归和二项式拟合,得多元线性回归方程 $Y = -0.325 + 2.131 \times 10^{-2} X_1 + 2.431 \times 10^{-3} X_2 + 2.108 \times 10^{-3} X_3$ ($r = 0.804, P = 0.0007$),说明模型拟合度不高,预测性

表2 鸡骨香挥发油的提取工艺星点试验安排

No.	X_1	X_2	X_3	挥发油 得率 /%	cypenrenoic acid 提取量 /mg·g ⁻¹	OD
1	-1	-1	-1	2.800	0.083	0.203
2	1	-1	-1	3.200	0.095	0.399
3	-1	1	-1	2.960	0.087	0.276
4	1	1	-1	3.320	0.110	0.522
5	-1	-1	1	3.600	0.120	0.673
6	1	-1	1	3.760	0.124	0.747
7	-1	1	1	3.680	0.122	0.708
8	1	1	1	4.080	0.150	1.000
9	-1.682	0	0	3.480	0.119	0.630
10	1.682	0	0	3.800	0.126	0.767
11	0	-1.682	0	3.440	0.113	0.578
12	0	1.682	0	3.920	0.128	0.818
13	0	0	-1.682	2.520	0.064	0.000
14	0	0	1.682	3.880	0.128	0.805
15~20	0	0	0	3.960	0.131	0.850

注:15~20号为重复试验,其值为平均值。

较差。二项式拟合模型为 $Y = -1.936 + 0.128X_1 + 8.654 \times 10^{-3} X_2 + 8.960 \times 10^{-3} X_3 + 3.508 \times 10^{-4} X_1 X_2 - 2.510 \times 10^{-5} X_1 X_3 + 4.018 \times 10^{-6} X_2 X_3 - 4.527 \times 10^{-3} X_1^2 - 8.065 \times 10^{-5} X_2^2 - 1.417 \times 10^{-5} X_3^2$ ($r=0.993, P<0.0001$), 方程显著, 具有较高的可信度, 表明可用此模型对鸡骨香的提取工艺进行分析和预测。

2.5.3 工艺参数优化和预测 根据回归方程作相应曲面图, 见图2~4, 根据拟合的响应曲面形状, 分析各自变量对提取工艺的影响, 基于已建立的数学模型, 得最佳提取条件为加 17.57 倍量水浸泡 101.75 min, 提取时间 321.29 min。

2.5.4 验证试验^[10-11] 称取鸡骨香药粉 25 g, 共 3 份, 按最佳工艺条件进行 3 次验证试验, 结果挥发油平均得率 4.06%, cypenrenoic acid 平均提取量 0.143 mg·g⁻¹, 与预测值的偏差分别为 1.44%, 2.569%, 说明建立的数学模型可靠, 具有良好的预测性。

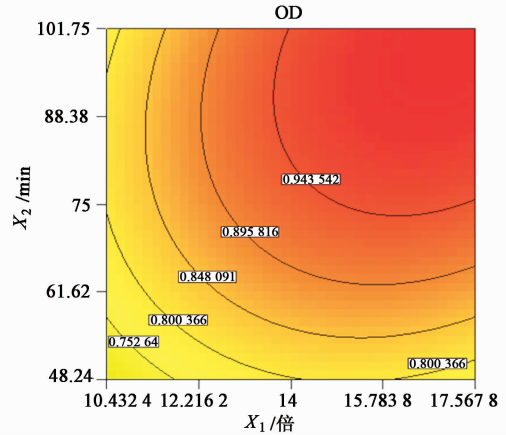
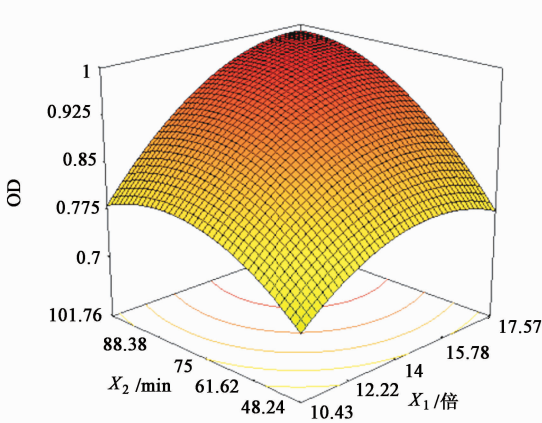


图2 液料比、浸泡时间及其相互作用对鸡骨香挥发油提取工艺影响的响应面和等高线

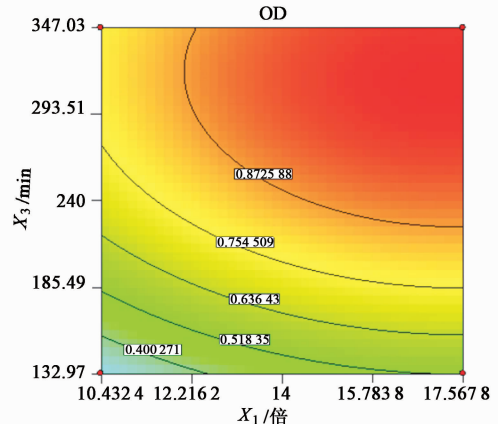
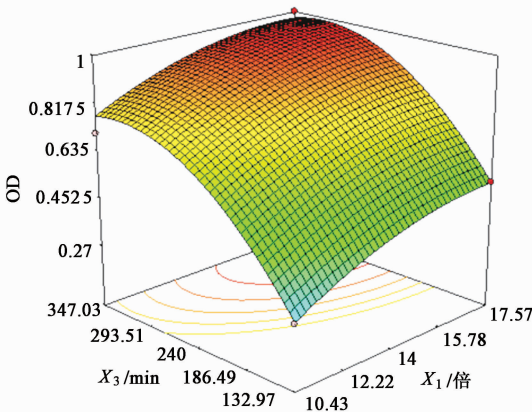


图3 液料比、提取时间及其相互作用对鸡骨香挥发油提取工艺影响的响应面和等高线

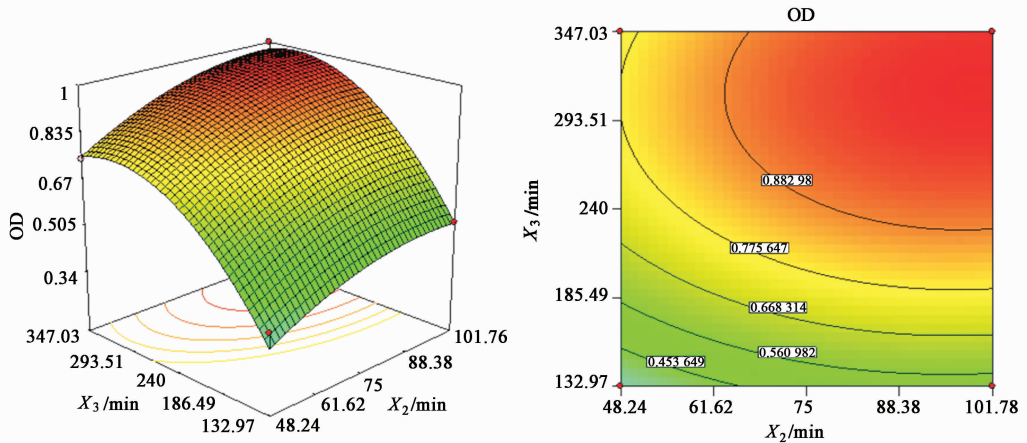


图 4 提取时间、浸泡时间及其相互作用对鸡骨香挥发油提取工艺影响的响应面和等高线

3 讨论

鸡骨香为岭南药物,具有抗癌活性,其复方制剂可用于治疗寒性风湿性关节炎、胃炎及十二指肠溃疡等症,挥发油是其主要成分,而关于挥发油提取工艺的研究至今未见报道。挥发油的提取工艺优化多采用正交设计,而星点设计-效应面法采用非线性数学模型拟合,预测值与真实值更接近且试验次数少,故本文采用星点设计-效应面法优选其提取工艺,为鸡骨香的合理应用提供参考。

[参考文献]

[1] 广东省食品药品监督管理局. 广东省中药材标准. 第 2 册[S]. 广州:广东科技出版社,2011:190.
[2] 广西壮族自治区卫生厅. 广西中药材标准[S]. 南宁:广西科学技术出版社,1992:59.
[3] 邓世明. 海南常用中草药名录[M]. 北京:中国科学技术出版社,2006:19.
[4] 杨先会,邓世明,梁振益,等. 鸡骨香挥发油成分分析[J]. 海南大学学报:自然科学版,2007,25(3):262.

[5] 陈书红,任风芝,李丽红,等. 鸡骨香化学成分研究[J]. 中国药学杂志,2010,45(24):1907.
[6] 杨先会,陈尚文,林强,等. 鸡骨香的萜类成分研究[J]. 广西植物,2009,29(2):272.
[7] Laddawan B, Che C T, Harry H S F, et al. Constituents of *Croton crassifolius* roots [J]. *Planta Med*, 1988, 54(1):61.
[8] 蓝惠玲,刘友章, Sengkongdala T. 胃炎 I 号方治疗慢性萎缩性胃炎 30 例疗效观察[J]. 广州中医药大学学报,2005,22(3):170.
[9] 吴伟,崔光华,陆彬. 实验设计中多指标的优化:星点设计和总评“归一值”的应用[J]. 中国药学杂志,2000,35(8):530.
[10] 孟江,许舒娅,卢国勇,等. 星点设计-效应面法优化姜炭炮制工艺[J]. 中国实验方剂学杂志,2012,18(2):8.
[11] 陈小云,张振海,金鑫,等. 星点设计-效应面法优化基于纳米 CaCO_3 的辣椒素缓释漂浮微丸制备工艺的研究[J]. 中国中药杂志,2012,37(22):3400.

[责任编辑 刘德文]

欢迎投稿

欢迎订阅