

星点设计-响应面法优化维吾尔药刺山柑果总酚酸提取工艺

满尔哈巴·海如拉¹, 薛桂蓬¹, 杨伟俊^{1*}, 再娜布·吐合达洪¹, 邵兵兵²

(1. 新疆维吾尔自治区药物研究所, 新疆维吾尔药重点实验室, 乌鲁木齐 830004;
2. 新疆农业大学, 乌鲁木齐 830052)

[摘要] **目的:** 优选维吾尔药刺山柑果总酚酸的提取工艺。**方法:** 采用乙醇回流提取法, 通过单因素试验确定提取次数, 以乙醇体积分数、溶剂用量、提取时间为自变量, 总酚酸提取量为因变量, 通过对自变量各水平的多元线性回归及二项式拟合, 利用响应面法优选刺山柑果总酚酸的提取工艺并进行预测分析。**结果:** 最佳提取工艺为加 15 倍量 70% 乙醇提取 2 次, 每次 1 h; 总酚酸提取量 $7.29 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$, 与模型预测值 ($7.34 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$) 的相对标准偏差 0.68%。**结论:** 星点设计-响应面法优选的刺山柑果总酚酸提取工艺简单、精密度高、可预测性好。

[关键词] 刺山柑果; 星点设计-响应面法; 总酚酸; 原儿茶酸

[中图分类号] R283.6; R284.2 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2014)18-0030-04

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.2014180030

Optimization of Extraction Technology for Total Phenolic Acids from *Capparis spinosa* Fruits by Central Composite Design-response Surface Methodology

Merhaba Heyrulla¹, XUE Gui-peng¹, YANG Wei-jun^{1*}, Zeynep Tohtahun¹, SHAO Bing-bing²

(1. Xinjiang Key Laboratory of Xinjiang Uigur Medicine, Xinjiang Institute of Materia Medica, Urumqi 830004, China; 2. Xinjiang Agricultural University, Urumqi 830052, China)

[Abstract] **Objective:** To optimize extraction process of total phenolic acids in *Capparis spinosa* fruits. **Method:** Independent variables were ethanol concentration, solvent amounts and extracting time, dependent variable was yield of total phenolic acids, levels of independent variables were regressed multiple linearity and fitted by binomial, response surface methodology was used to optimize extraction process, then compared both of observed and predicted values. **Result:** Optimum extraction progress was as follows: extracted 2 twice with 15 times the amount of 70% ethanol for 1 h per time; yield of total phenolic acids was $7.29 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$, whose deviation was 0.68% by comparing with the predicated value ($7.34 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$). **Conclusion:** This optimized process was simple with high precision and good predictability.

[Key words] *Capparis spinosa* fruits; central composite design-response surface methodology; total phenolic acids; protocatechuic acid

刺山柑广泛分布于哈萨克斯坦、阿富汗、伊朗及我国新疆、甘肃(安西、敦煌)、西藏等地,其强大的根系在增加荒漠地表植被的覆盖度、涵养水分、防止

地表风蚀方面具有重要的生态价值^[1]。其叶、根、根皮、果实等部位均为维吾尔医习用药材,始载于阿甫·艾里·伊宾·森纳(阿维森纳)著《医典》中。刺山柑果

[收稿日期] 20140123(009)

[基金项目] 新疆维吾尔自治区科技计划项目(200933123)

[第一作者] 满尔哈巴·海如拉, 实习研究员, 从事维吾尔药质量标准研究, Tel: 13565985137, E-mail: marhaba513@126.com

[通讯作者] * 杨伟俊, 博士, 研究员, 从事维吾尔药资源研究, Tel: 13899875994, E-mail: wilfred3106@163.com

为刺山柑植物的成熟果实,其化学成分主要包括黄酮类、生物碱类、酚酸类、挥发油类、硫苷类和脂肪类等^[2-3],具有抗风湿性关节炎、降血糖、降血脂和保肝等药理作用^[4-5]。为了减少沙漠植被的破坏,现对刺山柑果药材进行研究,鉴于刺山柑果中化学成分较多,本实验采用星点设计-响应面法优选刺山柑果中具有一定抗炎镇痛活性^[6]成分——总酚酸的提取工艺,为该成分的后期制剂工艺研究提供参考。

1 材料

UV-2401 型紫外分光光度计(上海精科仪器有限公司),BS124S 型 1/10 万电子分析天平(赛多利斯科学仪器北京有限公司),DFT-100 型粉碎机(温岭市岭大机械有限公司),JM1000 型电子天平(余姚纪铭称重校验设备有限公司)。刺山柑果药材购自安徽亳州药材有限公司,批号 20100702,经新疆维吾尔自治区药物研究所何江副研究员鉴定为山柑科 *Capparis spinosa* L. 的果实;原儿茶酸对照品(中国食品药品检定研究院,批号 110809-200604),水为重蒸水,试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 刺山柑果提取液的制备 将刺山柑果粉碎成粗粉,加一定体积分数乙醇提取数次,每次一定时间,过滤,合并滤液,加相应溶剂定容至 1 L,即得。

2.2 总酚酸的含量测定^[7]

2.2.1 供试品溶液的制备 精密称取刺山柑果粗粉 30 g,加不同体积分数乙醇加热回流提取 2 次,每次 1.0 h,滤过,合并滤液,加相应溶剂定容至刻度,即得。

2.2.2 对照品溶液的制备 精密称取原儿茶酸对照品适量,加甲醇超声使溶解并稀释至刻度,得 0.125 g·L⁻¹对照品溶液。

2.2.3 标准曲线的制备 精密吸取原儿茶酸对照品溶液 0.5, 1.0, 1.5, 2.0, 2.5, 3.0 mL, 分别置于 25 mL 量瓶中,加 75% 乙醇至 5.0 mL, 各加入 3 g·L⁻¹十二烷基硫酸钠 2.0 mL 及 6 g·L⁻¹三氯化铁-9 g·L⁻¹铁氰化钾(1:0.9)混合液 1.0 mL, 混匀,暗处放置 5 min;加 0.1 mol·L⁻¹盐酸溶液定容至刻度,摇匀,暗处放置 20 min,以显色剂为空白,于 688 nm 处测定吸光度(A),以质量浓度(C)为横坐标,A 为纵坐标,得回归方程 $A = 54.2C + 0.0068$ ($r = 0.9995$),线性范围 2.5 ~ 15 mg·L⁻¹。

2.2.4 稳定性试验 取同一供试品溶液,于制备后每隔 0.5 h 按 2.2.3 项下方法测定 A,连续测定 6 次,结果 RSD 1.73%,表明供试品溶液在 3 h 内稳定

性良好。

2.2.5 精密度试验 精密量取供试品溶液 5 份,每份 1 mL,按 2.2.3 项下方法显色,于 688 nm 处测定 A,计算 RSD 1.67%,表明该方法精密度良好。

2.2.6 重复性试验 取同一批样品 6 份,按 2.2.1 项下方法制备供试品溶液,按 2.2.3 项下方法显色,于 688 nm 处测定 A,计算 RSD 1.55%,表明该方法重复性良好。

2.2.7 加样回收率试验 精密量取样品溶液 0.5 mL,共 6 份,加入一定量原儿茶酸对照品,按 2.2.3 项下方法显色,于 688 nm 处测定 A,计算加样回收率平均值 97.56%,RSD 1.93%,表明该方法符合测定要求。

2.3 提取次数考察 因提取次数是非连续性的,故采用单因素试验考察。取刺山柑果药材粗粉 30 g,分别加 70% 乙醇提取 1,2,3,4 次,结果总酚酸提取量依次为 7.163,7.304,7.532,7.521 mg·g⁻¹,结合工业化成本考虑,选择提取数 2 次。

2.4 星点设计试验 在预试验基础上,选择乙醇体积分数、溶剂用量、提取时间为自变量,以总酚酸提取量为因变量,提取数设定为 2 次,根据星点设计原理,每个因素设 3 个水平,用代码 -1,0,1 表示,精密称取刺山柑果粗粉约 30 g,共 17 份,按一定工艺条件进行提取,因素水平见表 1,试验安排及结果见表 2。

表 1 刺山柑果总酚酸提取工艺星点试验因素水平

编码水平	X ₁ 乙醇体积 分数/%	X ₂ 溶剂用量 /倍	X ₃ 提取时间 /h
-1	55	10	1.0
0	70	15	1.5
1	85	20	2.0

采用 Design-Expert 8.0.5 软件对表 2 中数据进行分析,得二项式拟合方程 $Y = -4.279 + 0.085X_1 + 1.262X_2 - 1.513X_3 - 2.108 \times 10^{-3}X_1^2 - 0.035X_2^2 - 0.577X_3^2 + 5.200 \times 10^{-3}X_1X_2 + 0.092X_1X_3 - 0.294X_2X_3$ ($R^2 = 0.9482$),表明该回归模型的拟合情况良好,回归方程的代表性较好,能准确的预测实际情况。校正决定系数 0.8817,表明 88.17% 试验数据的变异性可采用此回归模型来解释,信噪比 S/N = 12.384,该模型的方差分析见表 3。

由表 3 可知,各因素的一次项或二次项具有显著性差异,说明各因子对效应值的影响不是简单的线性关系,实测值和预测值基本吻合,表明该模型能较好的解释响应值的变化。根据回归分析结果,作相应曲面图和等高线图,见图 1~3,结果发现当乙

表 2 刺山柑果总酚酸提取工艺星点试验安排

No.	X_1	X_2	X_3	总酚酸提取量 /mg·g ⁻¹
1	-1	-1	0	5.35
2	1	-1	0	4.91
3	-1	1	0	6.31
4	1	1	0	7.43
5	-1	0	-1	8.11
6	1	0	-1	6.74
7	-1	0	1	5.34
8	1	0	1	6.72
9	0	-1	-1	5.62
10	0	1	-1	8.12
11	0	-1	1	6.01
12	0	1	1	5.57
13	0	0	0	6.77
14	0	0	0	7.58
15	0	0	0	7.42
16	0	0	0	7.70
17	0	0	0	7.26

表 3 回归模型方差分析

方差来源	SS	f	MS	F	P
模型	16.16	9	1.8	14.25	0.001 0
X_1	0.060	1	0.060	0.47	0.514 2
X_2	3.84	1	3.84	30.43	0.000 9
X_3	3.06	1	3.06	24.29	0.001 7
X_1X_2	0.61	1	0.61	4.83	0.064 0
X_1X_3	1.89	1	1.89	15.00	0.006 1
X_2X_3	2.16	1	2.16	17.14	0.004 3
X_1^2	0.95	1	0.95	7.51	0.028 9
X_2^2	3.2	1	3.2	25.38	0.001 5
X_3^2	0.088	1	0.088	0.69	0.432 0
残差	0.88	7	0.13		
失拟项	0.36	3	0.12	0.91	0.511 6
纯误差	0.52	4	0.13		
总和	17.05	16			

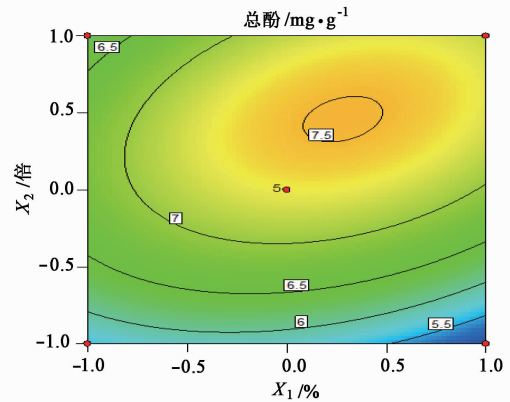
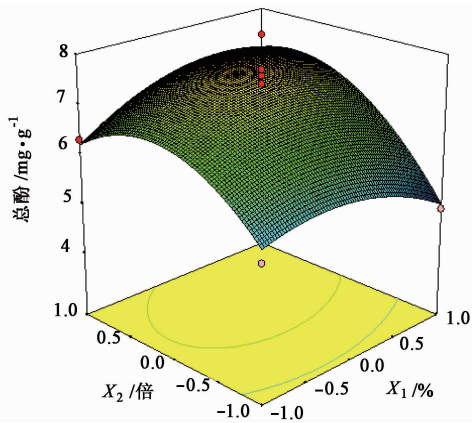


图 1 乙醇体积分数和溶剂用量对总酚酸提取量影响的等高线和效应面

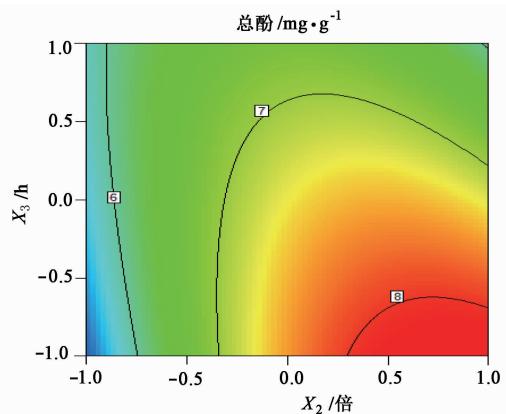
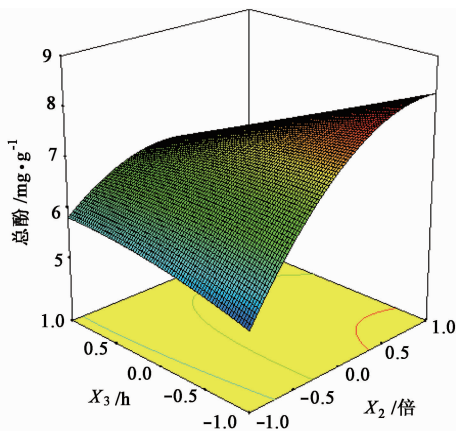


图 2 提取时间和溶剂用量对总酚酸提取量影响的等高线和效应面

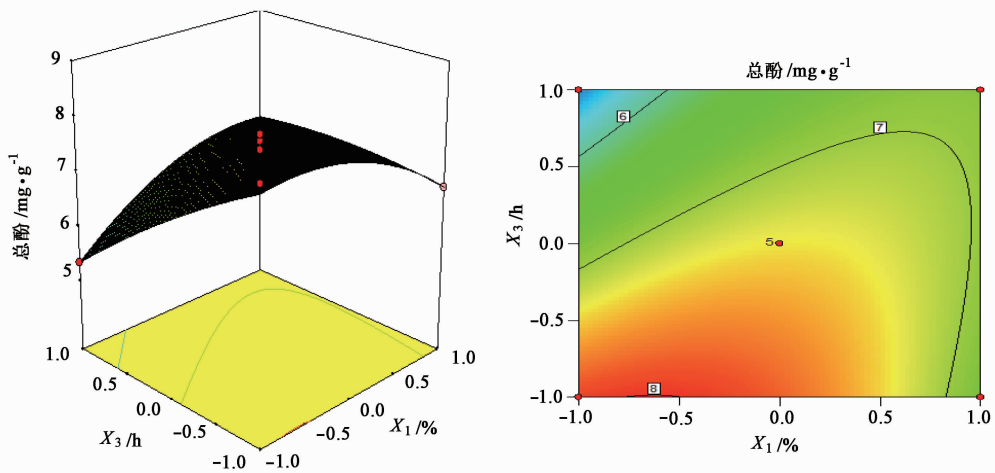


图3 提取时间和乙醇体积分数对总酚酸提取量影响的等高线和效应面

醇体积分数约70%,溶剂用量为15倍时,总酚酸提取量相对较高;随溶剂用量的增大总酚酸提取量呈现逐渐升高的趋势;总酚酸提取量与提取时间呈负相关关系。

2.5 验证试验^[6] 结合生产实际,选择最佳提取工艺为乙醇体积分数70%,溶剂用量15倍,提取时间1h。精密称取刺山柑果粗粉约30g,共3份,按该工艺进行验证试验,结果总酚酸平均提取量7.29 mg·g⁻¹ (RSD 1.46%),与模型预测值(7.34 mg·g⁻¹)的相对标准偏差0.68%,说明该模型比较可靠。

3 讨论

刺山柑果为维吾尔药材刺山柑的果实,含有挥发油类、生物碱类、酚酸类及黄酮类物质,其中酚酸类物质在治疗风湿性关节炎中起着重要作用,故本文选择总酚酸提取量为评价指标。星点设计的理论优化结果与试验值相差不大,采用非线性拟合模型接近客观事实,效应面三维图使因素对指标的影响更为直观、方便。采用星点设计-效应面法对影响总酚酸提取量的各因素进行考察,充分考虑了各影响因素间的交互作用,在反应出来的效应面上寻求优

势区间,以推导所列因素数值取向范围。

[参考文献]

- [1] 刘勇民. 维吾尔药志. 下册[M]. 乌鲁木齐:新疆科技卫生出版社,1999:868.
- [2] 新疆植物志编辑委员会. 新疆植物志. 2卷[M]. 第2分册. 乌鲁木齐:新疆科技卫生出版社,1995:35.
- [3] 赵军,杨伟俊,任远,等. 刺山柑化学成分研究[J]. 天然产物研究与开发,2012,24(1):52.
- [4] Feng X, Lu J, Xin H, et al. Anti-arthritis active fraction of *Capparis spinosa* L. fruits and its chemical constituents [J]. Yakugaku Zasshi, 2011, 131(3):423.
- [5] Wang H, Wang H, Shi S, et al. Structural characterization of a homogalacturonan from *Capparis spinosa* L. fruits and anti-complement activity of its sulfated derivative [J]. Glycoconj J, 2012, 29(5/6):379.
- [6] 高莹莹,敖明章,万军梅,等. 维药刺山柑醇提物抗炎镇痛作用的实验研究[J]. 中药材,2007,30(6):702.
- [7] 张华,朱晓薇,王新春,等. 比色法测定刺山柑巴布剂总酚酸含量[J]. 西北药学杂志,2011,26(2):109.

[责任编辑 刘德文]