

Box-Behnken 响应面法优化芦笋总皂苷超声提取工艺

揭晶¹, 赵越^{2*}, 王皓¹

(1. 武汉生物工程学院制药工程系, 武汉 430415; 2. 广东药学院中药学院, 广州 510006)

[摘要] 目的: 优选芦笋总皂苷的超声提取工艺。方法: 以总皂苷含量为指标, 在单因素试验基础上, 通过 Box-Behnken 响应面法考察乙醇体积分数、料液比、超声时间和温度对提取工艺的影响。结果: 最佳超声提取工艺为加 15 倍量 74% 乙醇于 50 ℃ 超声提取 54 min; 总皂苷平均质量分数 13.059% (RSD 1.63%), 与预测值(13.185%) 的偏差较小。结论: 优选的提取工艺稳定可行, 为芦笋总皂苷的开发应用提供实验依据。

[关键词] 芦笋; 总皂苷; 超声提取工艺; 单因素试验; Box-Behnken 响应面法

[中图分类号] R284.2; R283.6 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2014)08-0008-04

[doi] 10.13422/j.cnki.syfx.2014080008

Optimization of Ultrasound Extraction Technology for Total Saponins from *Asparagus officinalis* by Box-Behnken Response Surface Methodology

JIE Jing¹, ZHAO Yue^{2*}, WANG Hao¹

(1. Department of Pharmaceutical Engineering, Wuhan Institute of Bioengineering, Wuhan 430415, China;
2. College of Traditional Chinese Medicine, Guangdong Pharmaceutical University, Guangzhou 510006, China)

[Abstract] **Objective:** To optimize ultrasound extraction technology of total saponins from *Asparagus officinalis*. **Method:** With the content of total saponins as index, effects of ethanol concentration, solid-liquid ratio, ultrasonic time and temperature on extraction technology were investigated by single factor tests and Box-Behnken response surface methodology. **Result:** Optimum ultrasound extraction technology was as following: ultrasonic extracted 54 min with 15 times the amount of 74% ethanol at 50 ℃; Under these conditions, the average mass fraction of total saponins was 13.059%, which was very close to the predicted value of 13.185%. **Conclusion:** This optimized technology was stable and feasible to provide a basis for development and application of total saponins in *A. officinalis*.

[Key words] *Asparagus officinalis*; total saponins; ultrasound extraction technology; single factor test; Box-Behnken response surface methodology

芦笋又名石刁柏, 主要成分为甾体皂苷类, 具有

较强的抗肿瘤、降血脂、抗衰老、抗疲劳、免疫调节等作用^[1-2]。芦笋总皂苷的提取常采用浸提法^[3], 该法提取时间长、操作繁琐。超声提取技术作为一种新型中药提取技术, 具有省时、高效、能耗低等优点, 已在中药提取工艺中广泛应用。本实验以总皂苷含量为评价指标, 采用单因素试验和 Box-Behnken 响应面法^[4] 优选芦笋总皂苷的提取工艺, 为该有效部位的开发提供参考。

1 材料

TU-1810 型紫外分光光度计(北京普析通用仪

[收稿日期] 20131125(011)

[基金项目] 国家自然科学基金项目(31302144); 湖北省自然科学基金项目(2012FFB05201); 2012 年度湖北省高等学校青年教师深入企业行动计划项目(XD2012501)

[第一作者] 揭晶, 硕士, 讲师, 从事中药提取和中药制剂等研究, Tel: 027-89645566, E-mail: shu8007@163.com

[通讯作者] * 赵越, 教授, 从事中药新剂型和新技术研究, Tel: 020-39352173, E-mail: zybmylk688@163.com

器有限责任公司), ZBY-26 型商用制冰机(江苏白雪电器股份有限公司), BS124S 型电子天平(北京赛多利斯仪器系统有限公司)。芦笋购于武汉新辰食品有限公司,经本系生药教研室殷丹博士鉴定为百合科植物石刁柏 *Asparagus officinalis* L. 的可食用部分,切段干燥,粉碎过 60 目筛,备用;菝葜皂苷元对照品(国药集团化学试剂有限公司,批号 20100710,纯度 98%),试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 芦笋总皂苷的含量测定

2.1.1 对照品溶液的配制 精密称取菝葜皂苷元对照品 5.1 mg,置于 10 mL 量瓶中,加甲醇溶解并定容至刻度,摇匀,即得。

2.1.2 检测波长的确定 精密吸取对照品溶液适量,置于 10 mL 具塞试管中,水浴挥干溶剂,加高氯酸 5 mL,摇匀,于 65 ℃ 水浴 15 min 后取出,冰水浴冷却 5 min,随行空白,于 200 ~ 500 nm 进行全波长扫描,确定最大吸收波长 311 nm。

2.1.3 标准曲线的绘制 精密吸取对照品溶液 0.2, 0.3, 0.4, 0.5, 0.6, 0.7 mL, 分别置于 10 mL 具塞试管中,水浴挥干溶剂,按 2.1.2 项下方法显色,于 311 nm 处测定吸光度(A),以菝葜皂苷元质量为横坐标, A 为纵坐标,得回归方程 $Y = 0.0022X + 0.0277$ ($r = 0.9991$),线性范围 102 ~ 357 μg 。

2.2 供试品溶液的制备 精密称取芦笋粉末 5 g,置于 500 mL 锥形瓶中,加入一定体积分数乙醇适量,于一定水浴温度下超声提取一段时间,将粗提液置于 500 mL 圆底烧瓶中旋转蒸发至干,加甲醇溶解,过滤,置于 250 mL 量瓶中定容,备用。

2.3 单因素试验考察

2.3.1 乙醇体积分数 精密称取芦笋粉末 5 g,共 6 份,分别加入 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90% 的乙醇 250 mL,固定超声温度 50 ℃,功率 600 W,时间 50 min,提取 1 次,按 2.2 项下方法制备供试品溶液,精密吸取 0.1 mL,置于 10 mL 具塞试管中,按 2.1.3 项下方法测定 A ,结果总皂苷质量分数分别为 7.64%, 8.73%, 10.11%, 12.81%, 12.12%, 11.36%,表明随乙醇体积分数的提高,总皂苷含量逐渐增加,至 70% 时达最高。

2.3.2 料液比 精密称取芦笋粉末 6 份,每份 5 g,分别按料液比 1:4, 1:6, 1:8, 1:10, 1:15, 1:20 加入 70% 乙醇,其他条件同 2.3.1 项,结果总皂苷质量分数分别为 10.05%, 10.53%, 10.70%, 11.44%, 12.39%, 12.34%,表明随溶剂用量的增加,总皂苷

含量逐渐增加,至料液比 1:15 时达最高,但变化趋势较为平稳。

2.3.3 超声时间 精密称取芦笋粉末 5 g,共 6 份,分别加入 70% 乙醇 100 mL 超声提取 10, 20, 30, 40, 50, 60 min,其他条件同 2.3.1 项,结果总皂苷质量分数分别为 6.71%, 9.23%, 9.75%, 11.35%, 12.61%, 12.57%,表明随超声时间的增加,总皂苷含量逐渐增加,至 50 min 时达最高值。

2.3.4 超声温度 精密称取芦笋粉末 5 g,共 5 份,分别加入 70% 乙醇 100 mL 于 40, 50, 60, 70, 80 ℃ 超声提取,其他条件同 2.3.1 项,结果总皂苷质量分数分别为 11.03%, 11.96%, 10.55%, 9.71%, 8.80%,当超声温度为 50 ℃ 时,总皂苷含量最高,继续升高温度,总皂苷含量下降,可能与高温破坏皂苷成分有关。

2.4 Box-Behnken 响应面法优化提取工艺 在单因素试验基础上,固定料液比 1:15,选取乙醇体积分数、超声时间、超声温度为考察因素,每个自变量的低、中、高水平分别以 -1, 0, 1 进行编码,以总皂苷质量分数为响应值,因素水平见表 1,试验安排及结果见表 2。

表 1 芦笋总皂苷提取工艺 Box-Behnken 试验因素水平

水平	A	B	C
	乙醇体积分数/%	超声时间/min	超声温度/℃
1	70	40	40
0	80	50	50
1	90	60	60

利用 ANOVA 分析响应面的回归参数,采用 Design Expert 8.0 软件对表 2 数据进行多元线性回归拟合,得二次多项回归模型方程 $Y = 12.78 - 0.98A + 0.51B - 0.015C - 0.17AB + 0.10AC - 0.08BC - 0.82A^2 - 0.86B^2 - 1.23C^2$ ($R^2 = 0.9860$),说明该模型拟合度较好,可用此模型对芦笋总皂苷提取工艺进行分析和预测,方差分析见表 3。

由表 3 可知, A, B, A^2, B^2, C^2 对芦笋总皂苷质量分数具有极显著影响,其他各项均不显著。整体模型达到显著水平,回归方程失拟检验不显著,说明未知因素对试验结果干扰很小。该模型的变异系数 1.92%,在可接受范围内,其值越小,重复性越好。

根据回归方程分析作出相应的曲面图和等高线图,见图 1 ~ 6。由图 1, 2 可知,当超声温度为 50 ℃ 时,芦笋总皂苷质量分数随乙醇体积分数的降低而增加,超声时间对芦笋总皂苷质量分数的影响呈近

表 2 芦笋总皂苷提取工艺 Box-Behnken 试验安排

No.	A	B	C	总皂苷质量分数/%
1	-1	-1	0	11.34
2	1	-1	0	9.89
3	-1	1	0	12.65
4	1	1	0	10.52
5	-1	0	-1	11.84
6	1	0	-1	9.53
7	-1	0	1	11.73
8	1	0	1	9.82
9	0	-1	-1	10.15
10	0	1	-1	11.39
11	0	-1	1	10.16
12	0	1	1	11.08
13	0	0	0	12.71
14	0	0	0	12.39
15	0	0	0	13.01
16	0	0	0	12.97
17	0	0	0	12.84

表 3 回归方程的显著性检验及方差分析

方差来源	SS	f	MS	F	P
模型	23.61	9	2.62	54.72	<0.000 1
A	7.61	1	7.61	158.64	<0.000 1
B	2.10	1	2.10	43.83	0.000 3
C	0.001 8	1	0.001 8	0.038	0.851 9
AB	0.12	1	0.12	2.41	0.164 4
AC	0.040	1	0.040	0.83	0.391 4
BC	0.026	1	0.026	0.53	0.488 7
A ²	2.86	1	2.86	59.71	0.000 1
B ²	3.11	1	3.11	64.88	<0.000 1
C ²	6.36	1	6.36	132.77	<0.000 1
残差	0.34	7	0.048		
失拟性	0.086	3	0.029	0.46	0.725 3
纯误差	0.25	4	0.062		
总差	23.94	16			

二次关系,当超声时间为 55 min 时达最大值;由图 3,4 可知,当超声时间为 50 min 时,超声温度对芦笋总皂苷提取率的影响呈二次关系,至 50 °C 时达最大值;由图 5,6 可知,当乙醇体积分数为 80% 时,超声时间 > 45 min,此时超声温度对芦笋总皂苷提取率的影响不显著。

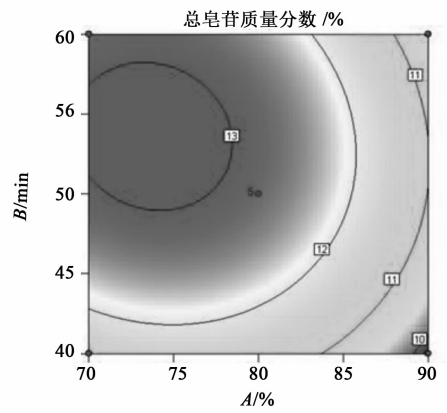


图 1 乙醇体积分数和超声时间对芦笋总皂苷含量影响的等高线

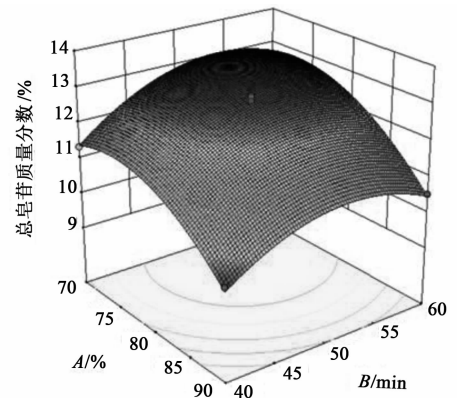


图 2 乙醇体积分数和超声时间对芦笋总皂苷含量影响的响应面

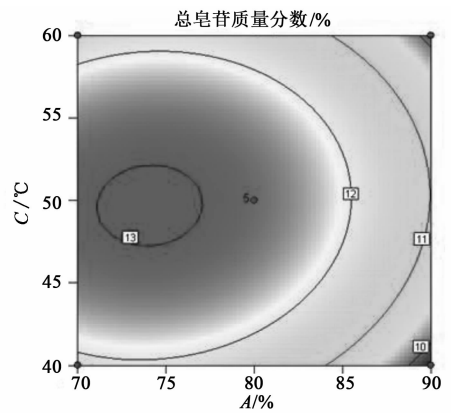


图 3 乙醇体积分数和超声温度对芦笋总皂苷含量影响的等高线

2.5 验证试验 利用软件对回归方程进行分析处理,获得最优工艺参数为乙醇体积分数 73.69%,超声时间 53.63 min,超声温度 49.56 °C。为了验证响应面法的可靠性,按优化的提取条件进行 3 次验证试验。考虑到实际操作的可行性,实际操作中各因素取值为乙醇体积分数 74%,超声时间 54 min,超

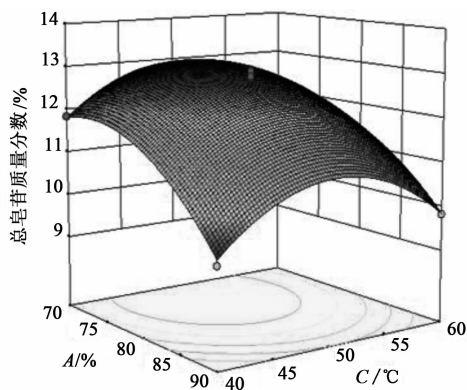


图4 乙醇体积分数和超声温度对芦笋总皂苷含量影响的响应面

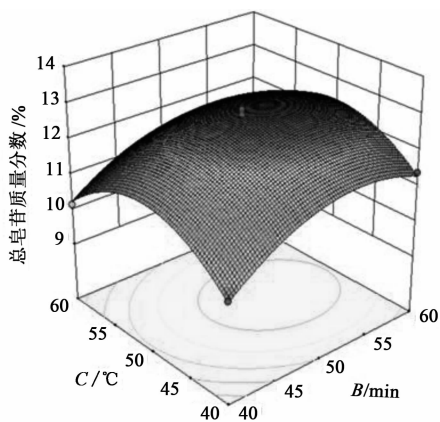


图6 超声时间和超声温度对芦笋总皂苷含量影响的响应面

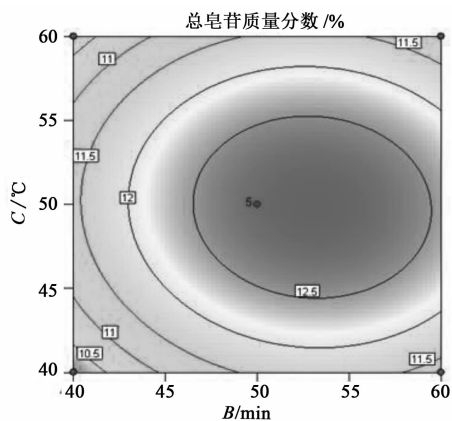


图5 超声时间和超声温度对芦笋总皂苷含量影响的等高线

声温度 50 ℃。结果总皂苷质量分数平均值 13.059% (RSD 1.63%), 与预测值(13.185%) 非常接近,表明建立的模型具有良好预测性,优选的工艺条件重复性良好。

3 讨论

刘杰^[5]采用正交试验优选芦笋茎中总皂苷的回流提取工艺,本文采用超声技术提取芦笋总皂苷,

与常规回流提取法相比,提取率大大提高,因为超声波振动产生的空化效应、机械粉碎、搅拌等作用有利于溶剂渗透植物细胞,加速有效成分的溶解和扩散,而且超声提取操作温度低、时间短、效率高,避免了高温高热对中药材生物活性的破坏。

[参考文献]

- [1] 顾关云,蒋昱. 芦笋的化学成分和生物活性[J]. 国外医药:植物药分册,2007,22(2):47.
- [2] 宋攀,柴秋彦,张立伟. 芦笋总皂苷抗肿瘤作用研究[J]. 食品科学,2010,31(13):273.
- [3] 宋佳,钱海峰,张超,等. 芦笋老茎中皂苷两种提取工艺的比较[J]. 食品科技,2011,36(3):193.
- [4] 余子川,余捷婧,韩建伟. Box-Behnken 效应面法优化地乌总皂苷提取工艺[J]. 中国实验方剂学杂志,2013,19(10):50.
- [5] 刘杰. 正交实验法优选芦笋茎中总皂苷的提取工艺[J]. 光明中医,2008,23(11):1672.

[责任编辑 仝燕]

天津中医药大学期刊编辑部 2014 年征订启事

《天津中医药》月刊,每期 8 元,年定价 96 元,联系电话:022-59596310,联系人:张震之。邮局订阅:邮发代号 6-83 电子邮件:zhongyiyao@vip.126.com, xuebaobj@126.com,网址:http://www.tjzhongyiyao.com,地址:天津市南开区鞍山西道 312 号,邮政编码:300193。

《天津中医药大学学报》双月刊,每期 6 元,年定价 36 元,联系电话:022-59596310,联系人:张震之。邮局订阅:邮发代号 6-153,电子邮件:xuebaobj@vip.126.com, xuebaotxd@126.com,网址:http://www.tjzhongyiyao.com,地址:天津市南开区鞍山西道 312 号,邮政编码:300193。