

Box-Behnken 响应面法优化唐古特大黄有效成分的提取工艺

吕秉遥^{1,2}, 李雪婷³, 韩鸿萍³, 陈志^{1,2}

¹青海师范大学生命科学学院 青海西宁

²青海省青藏高原药用动植物资源重点实验室 青海西宁

³青海师范大学化学化工学院 青海西宁

【摘要】选取提取时间、粉碎粒度、乙醇体积分数、料液比四个单因素进行回流提取唐古特大黄总蒽醌的单因素实验,探究它们对唐古特大黄中有效成分含量的影响。再以单因素实验为基础,采取四因素三水平,对实验数据进行回归分析,最终得到最佳提取条件,为唐古特大黄后续的研究提供科学数据。

【关键词】回流提取;唐古特大黄;大黄素;Box-Behnken 响应面设计法

【收稿日期】2023 年 1 月 7 日 **【出刊日期】**2023 年 2 月 15 日 **【DOI】**10.12208/j.ijmd.20230036

Optimization of extraction process of active components from Tanggu Radix by Box-Behnken response surface method

Bingyao Lv^{1,2}, Xueting Li³, Hongping Han³, Zhi Chen^{1,2}

¹College of Life Science, Qinghai Normal University, Xining, Qinghai Province

²Qinghai Key Laboratory of Medicinal Plant and Animal Resources on Qinghai-Tibet Plateau, Xining, Qinghai

³College of Chemistry and Chemical Engineering, Qinghai Normal University, Xining, Qinghai Province

【Abstract】Four single factors including extraction time, pulverization particle size, ethanol volume fraction and solid-liquid ratio were selected for reflux extraction of total anthraquinone in Tangutan Radix to explore their effects on the content of effective components in Tangutan Radix. Then, on the basis of single factor experiment, four factors and three levels were adopted to conduct regression analysis of experimental data, and finally the optimal extraction conditions were obtained, which provided scientific data for the subsequent research of Tanggu Radix Yellow.

【Keywords】reflux extraction; Tanggu super yellow; Emodin; Box-Behnken response surface design method

1 前言

唐古特大黄的有效成分主要是蒽醌类衍生物,包括大黄素、大黄酚等,具有泻热通肠,凉血解毒,逐瘀通经等功能^[1-3]。大黄酚分离纯化难度大,多以分光光度法测定,但此法实验结果误差大^[4]。此次实验中,采用传统的回流提取法,能充分的将药材中有效成分提取出来,提取效率高^[5]。

2 实验方法

准确称取唐古特大黄粉末 2.0g,加入乙醇溶液,在 40°C 下进行回流后,过滤至 50mL 容量瓶中,定容至刻度线,吸取 0.2mL 于 25mL 比色管中,水浴蒸干,加入 0.8%醋酸镁甲醇指示剂,定容到刻度线,摇匀待测。测定吸光度,计算样品中有效成分含量(T)。进行三次平行测定,取其平均值,以含量(T)

表示。

$$T = \frac{C \times V_1 \times V_2}{m \times V_0} \times 1000 \times 100$$

式中: T: 唐古特大黄有效成分含量(%); C: 大黄素的质量浓度(mg/mL); V₁: 提取溶液测定时定容的体积(mL); V₂: 提取溶液定容时的体积; V₀: 提取溶液测定时移取的体积; m: 唐古特大黄质量(g)。

2.1 设计实验

称取 2g 唐古特大黄粉末,置于 250mL 蒸馏瓶中,加入 40 mL 70%的乙醇溶剂,置于 40°C 恒温水浴锅上,回流 2 小时,所提样品经显色后测定,比较提取结果。分别考察提取时间 T (1h、1.5h、2h、2.5h、3h)、乙醇体积分数 C (50%、60%、70%、

80%、90%)、料液比 L (15:1 mL/g、20:1 mL/g、25:1 mL/g、30:1 mL/g、35:1 mL/g)、过筛目数 M (120M、140M、160M、180M、200M) 四个单因素对唐古特大黄有效成分含量的影响, 最终得到最佳提取条件。

对试验数据进行回归分析, 拟合得到独立变量与响应值之间关系的二元回归方程, 利用该二次回归方程绘制三维响应曲面, 并用方差分析对统计参数进行评价, 得到最佳提取条件。

3 结果与分析

以唐古特大黄蒽醌类物质的含量 (T) 表示最终结果, 用响应面软件进行排列组合, 得到唐古特大黄有效成分含量 T 的回归方程如下:

$$T(\%) = 1.39 + 0.15 \times A - 0.051 \times B - 0.046 \times C - 0.037 \times D + 0.014 \times AB - 0.11 \times AC - 0.065 \times AD - 0.13 \times BC + 0.030 \times BD - 0.01 \times CD - 0.014 \times A^2 - 0.01 \times B^2 - 0.043 \times C^2 - 0.047 \times D^2$$

式中: A: 粉碎粒度 (M); B: 乙醇体积分数 (%); C: 料液比 (mL/g); D: 提取时间 (h)。

模型 $F=12.29$ 、 $P=0.0001$, 表明唐古特大黄有效成分含量的回归模型显著性好。A-粉碎粒度表现显著, AB、AC、BC、 B^2 表现显著, 且通过各因素 F 值的比较可以得到: $A>B>C>D$, 表明: 粉碎粒度>乙醇体积分数>料液比>提取时间。

料液比和提取时间为定值时, 粉碎粒度 160-180 目, 乙醇体积分数 50%-60% 时, 唐古特大黄有效成分含量增加, 粉碎粒度超过 180 目, 乙醇体积分数超过 60% 时, 含量降低。粉碎粒度和乙醇体积分数的三维图有明显脊状, 两单因素作用的等高线图呈现椭圆状, 表明粉碎粒度和乙醇体积分数的交互作用明显, 符合方差分析结果 (图 1)。

乙醇体积分数和提取时间为定值时, 粉碎粒度

160-180 目, 料液比 20:1-25:1mL/g 时, 唐古特大黄有效成分含量增加, 粉碎粒度超过 180 目, 料液比超过 25:1mL/g 时, 含量下降。粉碎粒度和料液比的交互作用等高线呈椭圆状, 表明两者交互作用显著, 与方差分析吻合 (图 2)。

乙醇体积分数和料液比为定值时, 粉碎粒度 160-180 目, 提取时间 1.5-2h 时, 唐古特大黄有效成分的含量增加, 粉碎粒度超过 180 目, 提取时间超过 2h 时, 含量下降。粉碎粒度与提取时间的三维曲线图没有明显的脊状效果, 证明两者交互情况不显著, 符合方差分析结果 (图 3)。

粉碎粒度和提取时间为定值时, 乙醇体积分数 50%-60%, 料液比 20:1-25:1mL/g 时, 唐古特大黄有效成分的含量增加, 乙醇体积分数超过 60%, 料液比超过 25:1mL/g 时, 含量降低。乙醇体积分数和料液比的交互三维图脊状较为明显, 两者等高线呈椭圆状, 证明两者交互作用较为显著, 符合方差分析结果。

粉碎粒度和料液比为定值时, 乙醇体积分数 50%-60%, 提取时间 1.5-2h, 唐古特大黄有效成分的含量增加, 乙醇体积分数超过 60%, 提取时间超过 2h 时, 含量下降。乙醇体积分数和提取时间在三维图上没有明显脊状, 且两者等高线为圆形, 证明两者交互作用不明显, 符合方差分析结果 (图 5)。

粉碎粒度和乙醇体积分数为定值时, 料液比 20:1-25:1mL/g, 提取时间 1.5-2h 时, 唐古特大黄有效成分的含量增加, 料液比超过 25:1mL/g, 提取时间超过 2h 时, 含量下降。料液比和提取时间的交互作用等高线呈圆形, 证明两者的交互作用不明显, 符合方差分析结果 (图 6)。

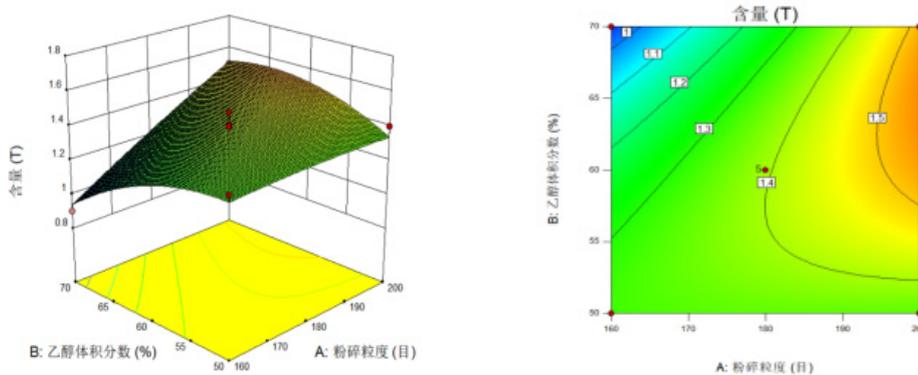


图 1 粉碎粒度和乙醇体积分数交互作用对响应值的等高线图

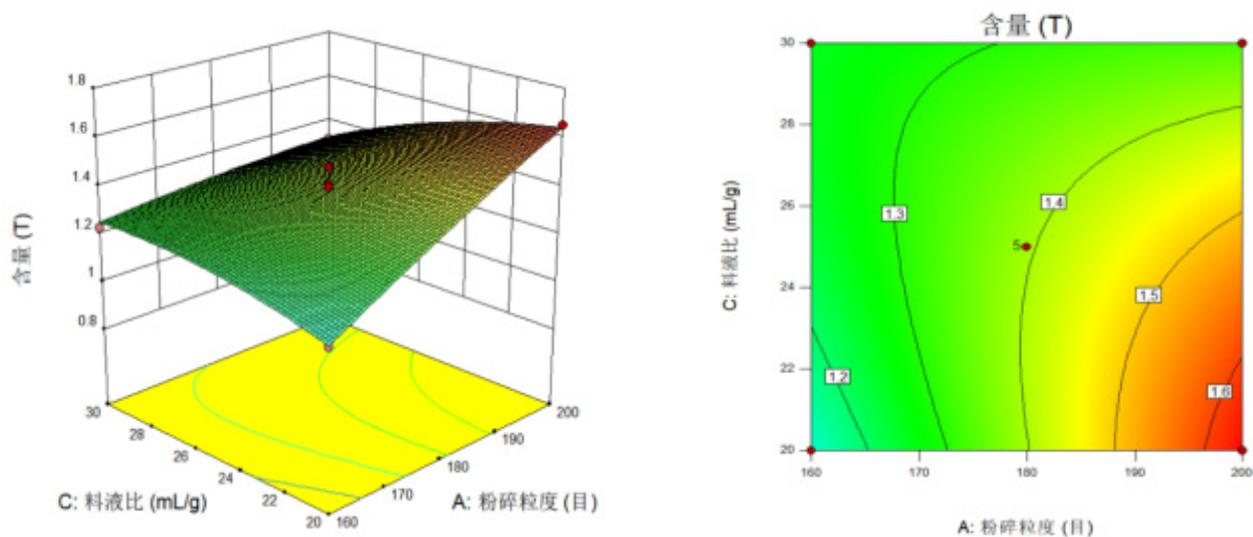


图 2 粉碎粒度和料液比交互作用对响应值的等高线图

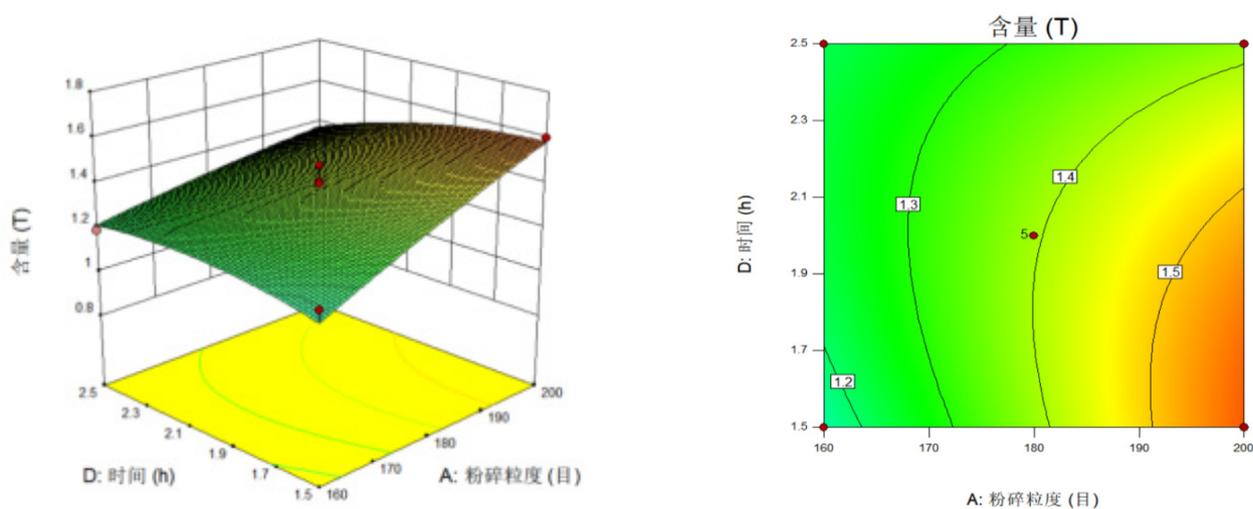


图 3 粉碎粒度与提取时间交互作用对响应值的等高线图

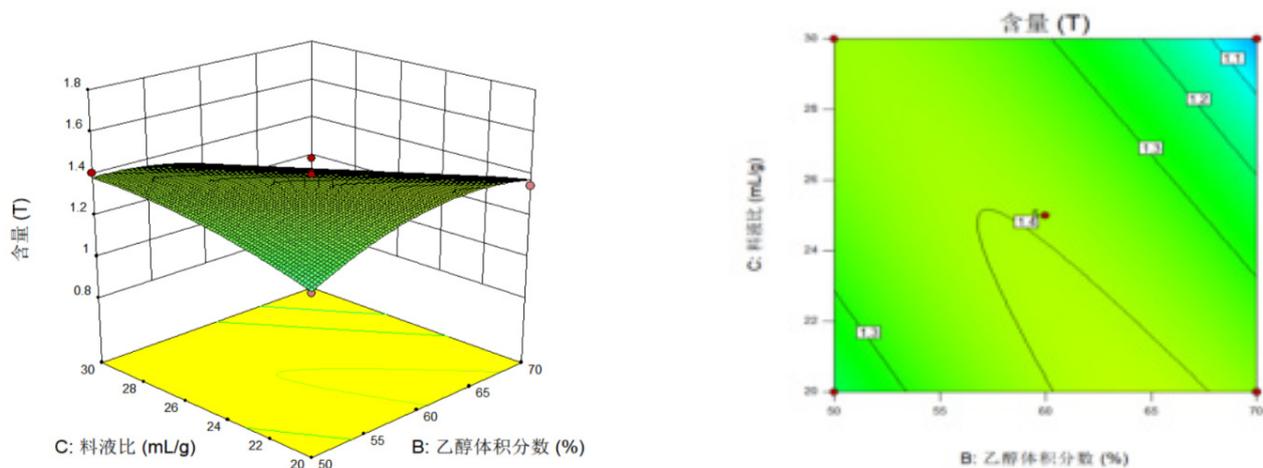


图 4 乙醇体积分数与料液比交互作用对响应值的等高线图

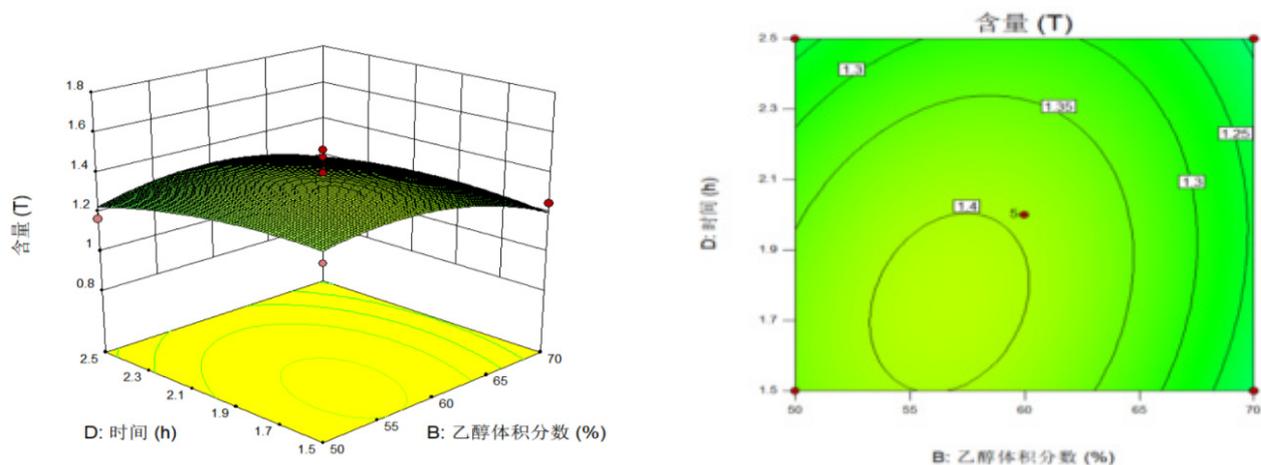


图5 乙醇体积分数和提取时间交互作用对响应值的等高线

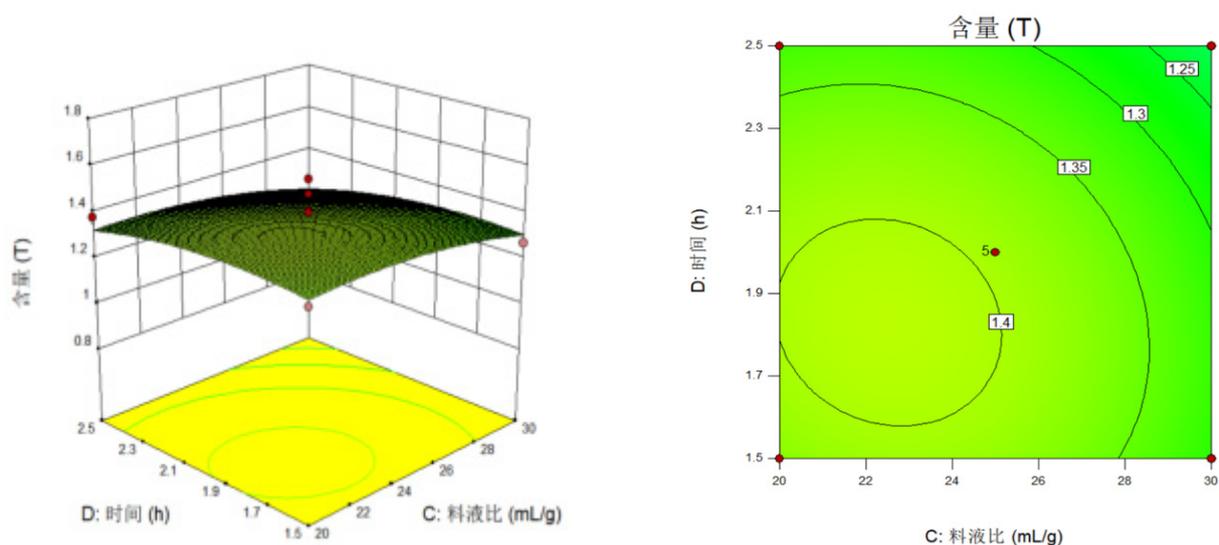


图6 料液比和提取时间交互作用对响应值的等高线

4 结论

(1) 影响此次提取唐古特大黄中有效成分含量实验的单因素大小排序为: 粉碎粒度>乙醇体积分数>料液比>提取时间; 此次实验的最佳提取条件为: 粉碎粒度 200 目、乙醇体积分数 70%、料液比 20:1mL/g、提取时间 1.6h, 预测含量为 1.78%。

(2) 此次实验采取传统的回流装置, 与恒温水浴锅相结合, 因此实验温度可控; 能同时提取多组样品, 有效减少实验时间; 提取效率高等优点。

(3) 此次实验选取的单因素互相作用效果不是很明显, 后续应选取不同单因素进行实验, 增加实验结果的可靠性, 为后续的研究工作提供科学数据。

(4) Design-Expert 软件通过设计合理的有限次数试验, 研究各单因素与响应值之间的关系, 快速

准确的得出多因素的最佳实验条件。响应面分析方法有效解决了由于多因素之间相互作用而使试验次数骤增的问题, 有效地减少了实验量; 该方法还具有实验数据准确度高、精密度好、试验周期短等优点。

参考文献

- [1] 张德, 韩海洪, 马永贵, 等. 唐古特大黄中新化学成分鉴定[J]. 青海师范大学学报(自然科学版), 2005(02): 36-37.
- [2] 孙汉青, 李锦萍, 刘力宽, 等. 大黄化学成分与药理作用研究进展[J]. 青海草业, 2018, 27(01): 47-51.
- [3] 张开弦, 姚秋阳, 吴发明, 等. 大黄属药用植物化学成分

及药理作用研究进展[J]. 中国新药杂志, 2022, 31(06): 555-566.

[4] 陈涛, 刘永玲, 王萍, 等. 唐古特大黄中大黄酚苷超声提取工艺的响应面优化及 HPLC 测定[J]. 分析试验室, 2012, 31(09): 9-12.

[5] 闫海燕. 大黄中大黄酚的提取工艺研究[J]. 应用化工,

2012, 41(8): 1477-1478.

版权声明: ©2023 作者与开放获取期刊研究中心(OAJRC)所有。本文章按照知识共享署名许可条款发表。

<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



OPEN ACCESS