

响应面优化提取决明子游离蒽醌工艺

李 佳¹, 吴朝霞^{1,*}, 张 旋¹, 张 琦¹, 徐亚平²

(1. 沈阳农业大学食品学院, 辽宁 沈阳 110866; 2. 朝阳工程技术学校, 辽宁 朝阳 122000)

摘 要: 通过超声波提取对决明子中游离蒽醌的工艺条件进行探讨, 研究乙醇体积分数、超声波温度、超声波时间和料液比对游离蒽醌提取率的影响。通过响应面试验方法对决明子中游离蒽醌的超声波提取工艺条件进行优化。结果表明, 游离蒽醌提取的最佳工艺条件: 以 80% 乙醇溶液为超声提取溶剂、液料比 15:1(mL/g)、提取温度 65℃、提取时间 30min、超声功率 100W, 该条件下游离蒽醌的提取率为 28.32%。因此采用响应面法优化得到的提取条件准确可靠, 并且提取率较高, 具有使用价值。

关键词: 决明子; 超声波; 游离蒽醌; 响应面试验

Optimization of Extraction Process for Free Anthraquinone from *Semen Cassiae* by Response Surface Methodology

LI Jia¹, WU Zhao-xia^{1,*}, ZHANG Xuan¹, ZHANG Qi¹, XU Ya-ping²

(1. College of Food Science, Shenyang Agricultural University, Shenyang 110866, China;

2. Chaoyang Engineering Technical School, Chaoyang 122000, China)

Abstract: Anthraquinone is one of the major functional components in *Cassia obtusifolia* L. seeds. Response surface methodology was employed to optimize the ultrasonic-assisted extraction of free anthraquinone from *Semen Cassiae*. The extraction efficiency of free anthraquinone was investigated with respect to four process conditions including ethanol concentration, extraction temperature, ultrasonic treatment time and material-to-liquid ratio. The optimal conditions for anthraquinone extraction were 80% aqueous ethanol as the extraction solvent, material-to-liquid ratio of 15:1 (mL/g), extraction temperature of 65 °C, ultrasonic treatment time of 30 min and ultrasonic power of 100 W. Under the optimal extraction conditions, the extraction rate of free anthraquinone from *Semen Cassiae* was 28.32%.

Key words: *Cassia obtusifolia* L.; ultrasonic; anthraquinone; response surface methodology

中图分类号: TS201.2

文献标识码: A

文章编号: 1002-6630(2011)16-0192-04

决明子(*Cassia obtusifolia* L.), 又名草决明、千里光、还瞳子、马蹄子、夜拉子等, 为豆科植物决明或小决明的干燥成熟种子, 具有清肝明目、润肠通便之功效, 为临床常用中药^[1]。早在《神农本草经》中就有“久服能益精光, 轻身”等记载, 被列为 120 种“为君主养命以应天”的上药之一^[2]。其性味甘、苦、咸、微寒, 善入肝、肾、大肠经, 是国家卫生部公布的 69 种药食同源的物质之一^[3]。蒽醌类为决明子的主要功效成分之一^[4], 在生品决明中含量为 1.2%, 小决明中含量约为 1.1%。目前文献已报道的蒽醌类化合物就有 30 多种^[5-6]。决明子中结合蒽醌含量约为 1.01%~1.29%, 游离蒽醌的含量约为 0.01%~0.04%。决明子蒽醌苷元的主要成分是大黄酚, 含量为 0.27%^[7], 其中小决明的大黄酚含量比决明高 6 倍, 生品决明比炒决明高^[8]。另外

决明子中还含有红鞣质、决明子苷和决明子苷 B 等成分^[9]。现代研究证明决明子具有降血压、降血脂、保肝、抑菌及抗突变等作用^[10], 具有广阔的开发利用前景。现有研究决明子游离蒽醌提取工艺条件的文献很少, 因此有必要对游离蒽醌的提取最佳工艺条件做更深入的研究。

超声波是一种高频机械波。它在溶液体系中产生的声空化的过程——液体中空腔的形成、振荡、生长、收缩至崩溃, 是集中声场能量并瞬间释放的过程^[11]。在这种特殊的物理环境下, 使处于空化中心附近的细胞受到严重的损伤以至破坏, 从而使细胞中的有效成分得以释放, 直接与溶剂接触并溶解在其中, 从而提高了有效成分的提出率^[12-13]。

本实验拟应用超声波技术辅助提取游离蒽醌, 并就

收稿日期: 2010-11-08

作者简介: 李佳(1985—), 女, 硕士研究生, 研究方向为天然产物。E-mail: lijia0792@163.com

* 通信作者: 吴朝霞(1971—), 女, 副教授, 博士, 研究方向为天然产物化学。E-mail: wuzxsau@163.com

影响游离蒽醌提取率的几个重要因素作系统研究。通过响应面法对乙醇体积分数、超声波提取温度以及超声波提取时间进行优化,得到游离蒽醌最佳的提取工艺,为进一步研究游离蒽醌提供一定参考。

1 材料与方法

1.1 材料与设备

决明子 沈阳市南五马路药材市场; 1,8-二羟基蒽醌标准品 Sigma-Aldrich(上海)贸易有限公司; 其他试剂均为分析纯。

KQ-250DB 型数控超声波清洗器 昆山市超声仪器有限公司; WFJ7200 型可见分光光度计 尤尼柯(上海)仪器有限公司。

1.2 方法

1.2.1 游离蒽醌的提取

决明子蒽醌类成分的提取: 决明子经粉碎后过 40 目筛。精确称取 5.0g 决明子粉于 100mL 烧杯中, 乙醇浸润, 密闭, 电磁搅拌。然后调超声波功率 100W, 在一定温度下用超声波提取一定时间, 趁热抽滤, 测定提取液体积, 取适量滤液置于容量瓶中, 留作待测液。

响应面试验: 在单因素试验基础上, 选取对游离蒽醌提取率影响较大的因素, 根据 Box-Behnken 试验设计原理, 设计三因素三水平的响应面分析试验, 研究乙醇体积分数、超声波提取温度和提取时间及其交互作用对决明子游离蒽醌提取率的影响。

1.2.2 游离蒽醌的测定

标准曲线的确定: 以 0.5% 醋酸镁-甲醇为溶剂制备 0.1mg/mL 1,8-二羟基蒽醌标准液, 分别精密量取 0、0.5、1.0、1.5、2.0、2.5、3.0mL, 置于 10mL 容量瓶中, 加溶剂定容至刻度, 摇匀, 于波长 510nm 处测定其吸收度, 以 0.5% 醋酸镁-甲醇溶液作空白对照, 1,8-二羟基蒽醌质量浓度在 5~30μg/mL 范围内的标准曲线方程为: $Y = 0.3332X + 0.0294$, $R^2 = 0.9954$ 。

游离蒽醌的测定: 吸取各提取液 2mL 于分液漏斗中, 加水 3mL 剧烈摇动, 用 8mL 和 7mL 氯仿萃取 2 次, 加 2mL 蒸馏水洗涤, 收集氯仿液, 水浴上蒸干, 残渣加 5mL 0.5% 醋酸镁-甲醇液溶解, 于波长 510nm 处测吸光度, 计算样品中游离蒽醌的含量。

2 结果与分析

2.1 乙醇体积分数对决明子游离蒽醌提取率的影响

由图 1 可知, 在超声波温度 65℃、超声波时间 30min、液料比 10:1(mL/g)的条件下, 乙醇体积分数为 55%~85% 时提取率缓慢增长, 但当乙醇体积分数达 85% 以后提取率明显降低。这可能是由于决明子中的蒽

醌易与糖结合成甙, 在测定时水浴蒸发提取剂, 甙溶于热水中从而使游离蒽醌升华量减少, 而在高体积分数乙醇溶液中由于乙醇沸点比水低, 容易蒸发, 使游离蒽醌随乙醇蒸发而升华损失。因此, 乙醇中含一定量的水可减少游离蒽醌的损失^[14]。

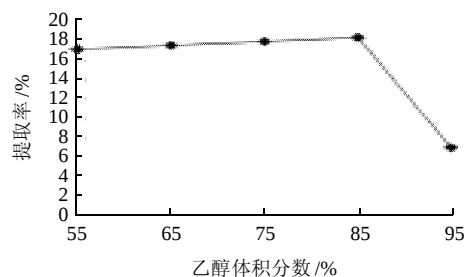


图 1 乙醇体积分数对游离蒽醌提取率的影响

Fig.1 Effect of ethanol concentration on extraction rate of free anthraquinone

2.2 超声波温度对决明子游离蒽醌提取率的影响

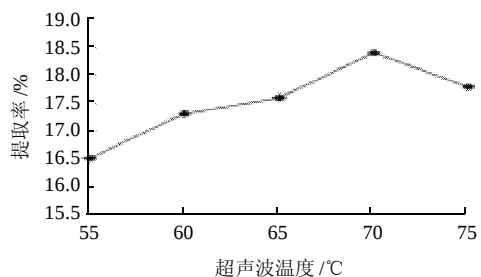


图 2 超声波温度对游离蒽醌提取率的影响

Fig.2 Effect of uextraction temperature on extraction rate of free anthraquinone

由图 2 可知, 在乙醇体积分数 85%、超声波时间 30min、液料比 10:1 条件下, 随着超声波温度的升高游离蒽醌的提取率也增加, 超声波温度 70℃ 时得到最高的提取率, 但当超声波温度超过 70℃ 后呈下降趋势, 故超声波提取温度为 70℃ 左右时较为适宜。

2.3 超声波时间对决明子游离蒽醌提取率的影响

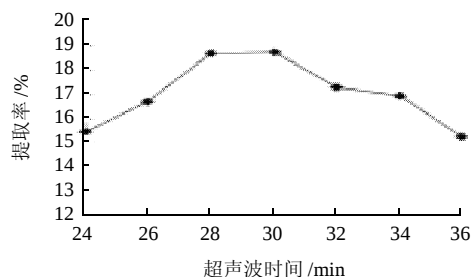


图 3 超声波时间对游离蒽醌提取率的影响

Fig.3 Effect of ultrasonic treatment time on extraction rate of free anthraquinone

由图3可知,在乙醇体积分数85%、超声波温度65℃、液料比10:1的条件下,随着超声波时间的延长游离蒽醌的提取率增加,超声波时间为28~30min时得到较高的提取率,但当超声波时间超过30min后呈下降趋势。随着时间的延长,提取率提高;时间过短,溶出物少且蒽醌含量低;时间过长,随着超声波对细胞膜破碎作用的加大,溶液中溶出物增加,但杂质含量也相应增加,影响提取质量^[15]。

2.4 液料比对决明子游离蒽醌提取率的影响

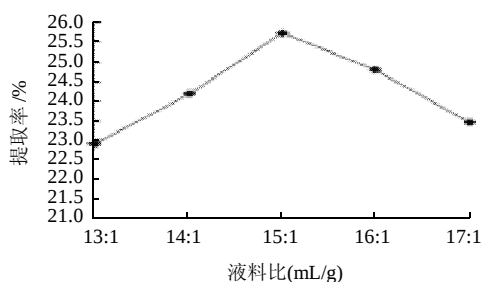


图4 液料比对游离蒽醌提取率的影响

Fig.4 Effect of liquid-to-material ratio on extraction rate of free anthraquinone

由图4可知,在乙醇体积分数85%、超声波温度65℃、超声波时间30min的条件下,随着液料比的增加游离蒽醌的提取率也增加,液料比为15:1时得到最高的提取率,但当液料比超过15:1后呈下降趋势。当提取液浓度处于较低的情况下,超声破碎决明子的细胞壁后能使蒽醌成分充分溶于溶剂,防止由于提取液达到饱和而阻止有效成分的溶出^[14]。

2.5 响应面试验

表1 决明子蒽醌提取工艺优化响应面分析试验设计及结果

Table 1 Experimental design and results for response surface analysis

试验号	X ₁ 乙醇体积分数/%	X ₂ 超声波温度/℃	X ₃ 超声波时间/min	提取率/%
1	75	70	28	24.75
2	85	65	28	26.19
3	75	60	32	28.11
4	85	70	30	28.86
5	65	70	30	26.98
6	65	65	28	25.95
7	75	70	32	26.67
8	65	65	32	26.80
9	65	60	30	24.79
10	75	65	30	28.72
11	75	60	28	23.78
12	85	65	32	26.24
13	75	65	30	28.35
14	75	65	30	28.68
15	85	60	30	27.86

响应面试验结果见表1。利用 Minitab 软件对试验数据进行分析,经回归拟合后,试验因素对响应值(Y,游离蒽醌提取率预测值)的影响回归方程表达式为:

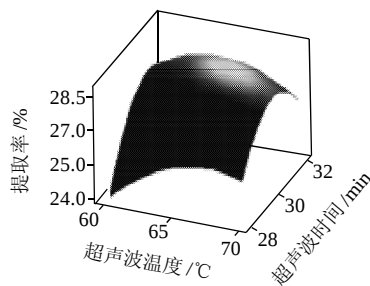
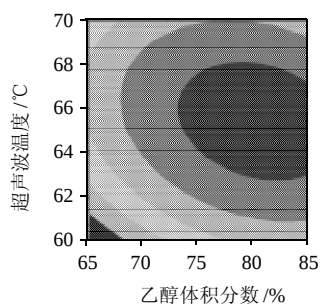
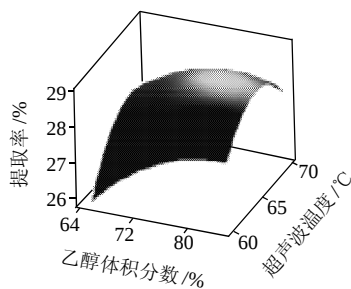
$$Y = 28.5833 + 0.5787X_1 + 0.34X_2 + 0.8938X_3 - 0.2975X_1X_2 - 0.2X_1X_3 - 0.6025X_2X_3 - 0.4967X_1^2 - 0.9642X_2^2 - 1.7917X_3^2$$

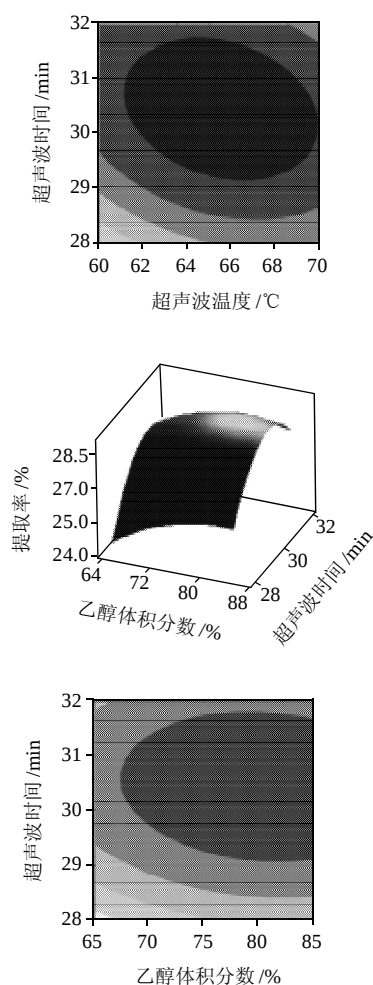
由响应面的方差分析(表2)可见,该回归模型显著($P < 0.05$),且模型的确定系数表明回归模型描述各因素与响应值之间的关系时,其因变量与全体自变量之间的线性关系是显著的,即试验方法是可靠的。方差分析表明,失拟项($P = 0.014 < 0.05$)有显著影响。

表2 响应面分析试验方差分析结果

Table 2 Variance analysis of extraction rate of free anthraquinone with various extraction conditions

来源	自由度	平方和	修正的平方和	修正的均方	F值	P值
回归	9	26.6852	26.6852	2.96503	1.68	0.294
线性	3	9.9947	9.9947	3.33158	1.89	0.249
平方	3	14.7245	14.7245	4.90815	2.79	0.149
交互作用	3	1.9660	1.9660	0.65535	0.37	0.777
残差误差	5	8.8063	8.8063	1.76127		
失拟	3	8.7239	8.7239	2.90796	70.52	0.014





固定因素皆为“0”水平。

图5 乙醇体积分数、超声波温度和超声波时间交互作用对提取率影响的响应面图和等高线图

Fig.5 Response surface and contour plots showing the interactive effects of ethanol concentration, extraction temperature and ultrasonic treatment time on extraction rate of free anthraquinone

由图5可见,乙醇体积分数、超声波温度和超声波时间的交互作用均有显著影响。根据方程预测超声提取游离蒽醌的最佳条件为乙醇体积分数80%、超声波提取温度65℃、超声波时间30min,预测提取游离蒽醌的提取率为28.84%。

2.6 验证实验

采用上述最优提取条件进行超声波辅助提取游离蒽醌验证实验,测得的游离蒽醌提取率为28.32%,试验值与理论预测值的相对误差为1.8%,因此采用响应面法优化得到的提取条件准确可靠,具有实用价值。

3 讨论

随着现代科学的发展,超声技术、微波技术、超

临界技术亦被应用于植物活性成分的提取。超声波提取的优点是利用超声波的空化现象,造成被破碎物细胞壁及整个生物体破裂,而且整个破碎过程瞬间完成;同时超声波产生的震动作用加强了胞内物质的释放、扩散及溶解,加速植物中的有效成分进入溶剂,进一步增大了有效成分的溶出^[14]。超声波提取法通过振动产生强大的能量,将植物体快速穿透,使溶剂能和植物中的有效成分充分接触,利于有效成分向提取溶剂转移,从而提高提取率^[16]。本实验表明,超声波提取决明子游离蒽醌的最佳工艺条件为乙醇体积分数80%、超声波功率100W、超声波温度65℃、超声波时间30min、液料比15:1,此条件下提取率可达28.32%。超声波提取法具有实验设备简单、操作方便,与常规提取法相比,具有提取时间短、产率高、无需加热等诸多优点,应用前景广阔。

参考文献:

- [1] 张小梅,杨荣平,励娜,等.决明子中蒽醌类成分的含量测定[J].时珍国医国药,2007,18(1):97-98.
- [2] 吕翠婷,黎海彬,李续娥,等.中药决明子的研究进展[J].食品科技,2006,17(8):295-297.
- [3] 黎海彬,方昆阳,李续娥.中药决明子蒽醌类成分含量测定的研究[J].食品科学,2007,28(7):427-429.
- [4] 刘娟,邓泽元.决明子在医药及食品应用中的进展[J].食品研究与开发,2001,22(5):8-12.
- [5] WANG Suiming, WONG M M, SELIGMANN O, et al. Anthraquinone glycosides from the seeds of *Cassia tora*[J]. Phytochemistry, 1989, 28(1): 211-214.
- [6] CHOI J S, JUNG J H, LEE H J, et al. The NMR assignments of anthraquinones from *Cassia tora*[J]. Archives of Pharmacal Research, 1996, 19(4): 302-306.
- [7] 冯晓冰.决明子药材中大黄酚含量的反向HPLC法测定[J].分析测试学报,1999,18(4):79-81.
- [8] 裴妙荣,贾宏伟,王世民.生、炒决明子蒽醌含量比较[J].中国中药杂志,1990,15(8):29.
- [9] KITANALA S, KIMURA F, TAKIDO M. Studies on the constituents of the seeds of *Cassia obtusifolia* Linn. The structures of two new anthraquinone glycosides[J]. Chen Pham Bull, 1985, 33(3): 1274-1277.
- [10] WU Chihao, HSIEH C H, SONG T Y, et al. Inhibitory effect of *Cassia tora* L. on benzo(a) pyrene-mediated DNA damage toward HepG2 cells [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2001, 49(5): 2579-2586.
- [11] 黎海彬,方昆阳,吕翠婷.决明子中蒽醌类成分超声波提取的研究[J].食品科学,2007,28(9):239-242.
- [12] 黎海彬,李琳,郭祀远,等.药用植物有效成分提取技术[J].现代化工,2002,22(5):59-62.
- [13] 汪茂田,谢培山,王忠东.天然有机化合物的提取分离与结构鉴定[M].北京:化学工业出版社,2004.
- [14] 王琴,蒋林,黄艳文,等.超声波强化提取决明子活性成分[J].食品工业科技,2005,26(8):126-127.
- [15] 杨黎燕,赵新法.超声波提取决明子蒽醌成分的研究[J].安徽农业科学,2008,36(5):1726-1727.
- [16] 韩立强,刘建华,杨国宇,等.不同提取方法对决明子蒽醌类成分及抗氧化活性的影响[J].江苏农业科学,2007(6):255-258.