

Box-Behnken 响应曲面法优化楮实子黄酮提取工艺研究

时振伟¹ 何晨阳¹ 张馨洁¹ 朱琳² 李洋¹

(1. 华北理工大学药学院, 河北 唐山 063210)

(2. 华北理工大学冀唐学院, 河北 唐山 063210)

摘要: 选取液料比、浸提时间、浸提温度、乙醇体积分数进行单因素试验, 采用 Box-Behnken 设计试验及响应面法分析, 优化楮实子黄酮提取工艺。结果: 最优提取条件为液料比 55:1 (mL:g)、浸提时间 2.8h、浸提温度 71.5℃、乙醇体积分数 60%, 平均提取率为 0.3071%, 与预测值相符。响应面法优化所得提取工艺科学合理、稳定可行, 可用于楮实子黄酮的提取。

关键词: 楮实子; 黄酮; 提取; 响应面法

楮实子为桑科构属植物构树 (*Broussonetia papyrifera* L. Vent.) 的果实, 又名楮实、楮桃等。果实含色素等多种化学成分^[1]。研究证实该色素属于黄酮醇类黄酮化合物^[2], 具有抗氧化、清除自由基、抗肿瘤等活性^[3,4]。该黄酮类色素显橙红色, 色泽鲜艳、无毒副作用, 适合开发成功能性保健品、天然食用色素等, 具有巨大的市场前景。

目前针对楮实子黄酮提取工艺的研究较少, 限制了楮实子黄酮的开发应用。本试验利用响应曲面法^[5]优化楮实子黄酮提取工艺, 旨在为楮实子黄酮的开发应用奠定基础。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

楮实子 (购于中药市场); 芦丁 (中国药品生物制品检定所, 纯度 > 95%); 其他化学试剂均为分析纯。Lambda 35 紫外可见分光光度计 (美国 PerkinElmer 公司); ICC basic eco 18 恒温器 (德国 IKA 公司)。

1.2 方法

1.2.1 楮实子黄酮的提取

准确称取楮实子 1.00g, 以 50mL70% 乙醇溶液在 40℃ 下浸提 3h, 抽滤并浓缩, 得提取液。

1.2.2 黄酮含量及提取率的测定

以芦丁作标准品, 采用 $\text{Al}(\text{NO}_3)_3\text{-NaNO}_2\text{-NaOH}$ 显色法测定^[6], 得回归方程为 $A=12.723C-0.0121$, $R^2=0.9995$, 在 0.004~0.028mg/mL 范围线性良好。同法测定黄酮含量, 并计算:

$$\text{总黄酮提取率}\% = \frac{C \times V}{W} \times 100\%$$

式中: C 为楮实子提取液黄酮含量, V 为提取液体积, W 为楮实子质量。

1.2.3 单因素试验

准确称取 5 份 1.00g 楮实子, 分别测定在不同液料比 (25:1、35:1、45:1、55:1、65:1 (mL:g)), 不同浸提时间 (1.5、2.0、2.5、3.0、3.5h), 不同浸提温度 (40、50、60、70、80℃) 和不同乙醇体积分数 (30%、40%、50%、60%、70%) 条件下的黄酮含量, 平行测定 3 次, 确定最优条件。

1.2.4 响应面法优化试验

以楮实子黄酮提取率 (Y) 为响应值, 选取液料比 (A)、浸提时间 (B)、浸提温度 (C) 及乙醇体积分数 (D) 4 个因素。采用 4 因素 3 水平进行 Box-Behnken 响应面设计,

见表 1。

表 1 响应面因素水平表

因素	水平		
	-1	0	1
A 液料比 / (mL:g)	45:1	55:1	65:1
B 浸提时间 /h	2.5	3.0	3.5
C 浸提温度 /℃	60	70	80
D 乙醇体积分数 /%	50	60	70

2 结果与分析

2.1 单因素试验

通过单因素试验, 确定浸提温度为 70℃、浸提时间为 3h、液料比为 55:1 (mL:g)、乙醇体积分数为 60% 最佳。

2.2 响应面试验结果

响应面试验结果见表 2。

表 2 Box-Behnken 试验设计与结果

实验号	A 液料比	B 浸提时间	C 浸提温度	D 乙醇体积分数	楮实子总黄酮提取率 (%)
1	0	-1	0	-1	0.2391
2	0	0	0	0	0.3093
3	-1	0	0	-1	0.2682
4	0	-1	0	1	0.2531
5	0	0	0	0	0.3158
6	1	0	-1	0	0.2634
7	0	-1	-1	0	0.2633
8	1	0	0	1	0.2889
9	0	0	1	0	0.2380
10	0	0	0	0	0.3050
11	0	0	1	-1	0.2315
12	1	-1	0	0	0.2915
13	1	1	0	0	0.2705
14	-1	1	0	0	0.2566
15	0	1	-1	0	0.2293
16	0	0	1	1	0.2381
17	-1	0	0	1	0.1912
18	-1	0	-1	0	0.1841
19	1	0	0	-1	0.2072
20	-1	-1	0	0	0.2626
21	1	0	1	0	0.2417
22	0	1	0	1	0.2293
23	0	0	0	0	0.3223
24	0	-1	1	0	0.2777
25	0	1	0	-1	0.2466
26	-1	0	1	0	0.2669
27	0	0	-1	1	0.2099
28	0	0	-1	-1	0.1991
29	0	0	0	0	0.2963

2.3 回归模型的建立及方差分析

应用 Design-Expert 8.0.6.1 软件对表 2 进行非线性回归拟合, 得回归模型: $Y=0.31+0.011A-0.0097B+0.012C+0.0016D-0.0037AB-0.026AC+0.04AD-0.0014BC-$

$0.0078*BD-0.0010*CD-0.024A^2-0.016*B^2-0.043*C^2-0.048*D^2$ 。

方差分析结果见表3。本实验所建立的回归模型 $F=28.36$, $P<0.0001$, 达到极显著差异水平, 同时失拟误差 $P=0.5822>0.05$, 失拟误差不显著, 表明该模型有较高的可信度, 建立的模型回归系数 $R^2=0.9659$, $R^2_{Adj}=0.9319$, 说明该回归模型拟合度好, 自变量与响应值之间相关性显著, 模型具有良好的可行性, 可用于模拟预测楮实子黄酮提取率。对提取率影响程度的顺序为: $C>A>B>D$ 。

表3 回归模型方差分析表

方差来源	平方和	自由度	均方	F 值	P 值	显著性
模型	0.037	14	2.666×10^{-3}	28.36	<0.0001	**
A	1.485×10^{-3}	1	1.485×10^{-3}	15.80	0.0014	**
B	1.139×10^{-3}	1	1.139×10^{-3}	12.12	0.0037	**
C	1.750×10^{-3}	1	1.750×10^{-3}	18.62	0.0007	**
D	2.963×10^{-5}	1	2.963×10^{-5}	0.32	0.5833	
AB	5.556×10^{-5}	1	5.556×10^{-5}	0.59	0.4548	
AC	2.729×10^{-3}	1	2.729×10^{-3}	29.04	<0.0001	**
AD	6.305×10^{-5}	1	6.305×10^{-5}	67.08	<0.0001	**
BC	8.305×10^{-6}	1	8.305×10^{-6}	0.088	0.7706	
BD	2.453×10^{-4}	1	2.453×10^{-4}	2.61	0.1285	
CD	4.366×10^{-6}	1	4.366×10^{-6}	0.046	0.8325	
A ²	3.870×10^{-3}	1	3.870×10^{-3}	41.18	<0.0001	**
B ²	1.726×10^{-3}	1	1.726×10^{-3}	18.37	0.0008	**
C ²	0.012	1	0.012	128.48	<0.0001	**
D ²	0.015	1	0.015	160.73	<0.0001	**
残差	1.316×10^{-3}	14	9.399×10^{-5}			
失拟误差	9.197×10^{-4}	10	9.197×10^{-5}	0.93	0.5822	不显著
纯误差	3.962×10^{-4}	4	9.904×10^{-5}			
总和	0.039	28				

注: * 差异显著, $P<0.05$; ** 差异极显著, $P<0.01$; $R^2=0.9659$; $R^2_{Adj}=0.9319$ 。

2.4 响应面分析

由表2得到各因素交互作用的响应面图, 见图1。A与C, A与D, B与C的响应曲面较陡, 表明其相互作用对提取率影响强烈, 而B与D、A与B以及C与D的响应曲面较平缓, 影响较小。软件分析得出提取条件为液料比 55:1 (mL:g)、浸提时间 2.84h、浸提温度 71.44℃、乙醇体积分数 60.41%, 预测值为 0.3122%。考虑实际实验条件, 修订为液料比 55:1 (mL:g)、浸提时间 2.8h、浸提温度

71.5℃、乙醇体积分数 60%。3 次平行实验得平均提取率为 0.3071%, $RSD=0.82\%$ 。

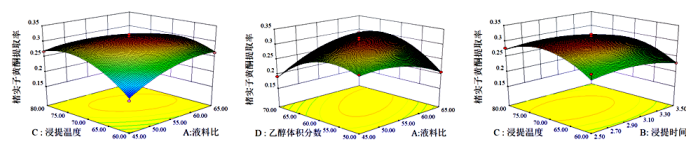


图1 各因素交互作用对楮实子黄酮提取率的响应面图

3 结论

最优提取条件为液料比 55:1 (mL:g)、浸提时间 2.8h、浸提温度 71.5℃、乙醇体积分数 60%, 提取率为 0.3071%。各因素对提取率影响为: 浸提温度>液料比>浸提时间>乙醇体积分数。试验结果为楮实子黄酮的制备提供参考, 并可为楮实子黄酮进一步的开发利用提供基础。

参考文献:

- [1] 张静, 王文林, 彭海燕. 中药楮实子的研究现状与展望 [J]. 中华中医药学刊, 2014, 32(1): 75-78.
- [2] 林少琴, 兰瑞芳. 构树果色素的分离提取及部分性质研究 [J]. 林产化工通讯, 2000(2): 9-12.
- [3] NAVEEN KUMAR N, RAMAKRISHNAIAH H, KRISHNA V, et al. Cytotoxic activity of Broussonetia papyrifera (L.) vent on MCF-7, HeLa and HepG2 cell lines [J]. International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences, 2014, 6(5): 339-342.
- [4] LI Y, SHANG X, NIU W, et al. Inhibitory activity of the extract from Broussonetia papyrifera fruits to cellular lipid peroxidation in vitro [J]. Asian Journal of Chemistry, 2014, 26(1): 201-204.
- [5] 何晨阳, 刘明月, 时振伟, 等. 响应面法优化蛇莓花色苷浸提工艺及稳定性研究 [J]. 中草药, 2018, 49(8): 1829-1834.
- [6] 葛水莲, 陈建中, 刘娜, 等. 响应面优化大孔树脂纯化太行菊总黄酮及其降糖活性 [J]. 食品工业, 2020, 41(5): 107-111.

通讯作者:

李洋 (1983-), 男, 汉族, 河北唐山人, 研究生, 讲师, 研究方向天然产物的化学与药理作用。

基金项目: 华北理工大学大学生创新创业训练计划项目 (X2018019)

验, 具有重大推广意义。

参考文献:

- [1] 赵殿五. 氮氧化物的来源、危害及治理方法简介 [J]. 环境科学研究, 1977(02): 43-48.
- [2] 苗社华. 半干法脱硫+低温 SCR 脱硝一体化工艺在焦炉烟气净化中的应用 [J]. 科学技术, 2018(5): 157-158.
- [3] 冯金煌, 徐剑. 焦炉烟气净化工艺选择与工程实践 [J]. 宝钢技术, 2018(3): 22-26.
- [4] 王晓东. SCR 脱硝工艺的研究 [J]. 山西化工, 2018(05): 138-139.

作者简介:

牛敬超 (1987-), 男, 汉族, 河北邯郸人, 本科, 工程师, 邢台旭阳科技有限公司, 研究方向: 煤化工方向。

(上接第 70 页) 烟气量瞬间发生变化导致压力改变, 而风机又无法及时调节, 很容易造成其他管式炉压力波动, 触发安全连锁而紧急停车。所以需要安装一套压力平衡装置, 精确平衡各个管式炉压力, 当个别管式炉故障停工时, 压力平衡装置可以及时调整, 保证其他管式炉压力不受影响。

3 实际应用情况

邢台旭阳煤化工自采用移动床干法脱硫+SCR 脱硝一体化工艺以来, 装置运行稳定, 烟气指标良好, 净化后的烟气二氧化硫、氮氧化物、颗粒物可以长期稳定控制在 10mg/m³、30mg/m³、10mg/m³ 以下, 烟气指标好于预期, 实现管式炉烟气超低排放, 此工艺应用于化工装置管式炉烟气净化, 属行业首例, 为同行业烟气治理提供了全新方案及经