

doi:10.3969/j.issn.0253-2417.2013.05.014

响应面法优化化香树果序提取物的提取条件研究



XU Man

徐 曼¹, 汪咏梅^{1,2}, 张亮亮^{1,2}, 吴冬梅¹, 陈笏鸿¹

(1. 中国林业科学研究院 林产化学工业研究所; 生物质化学利用国家工程实验室; 国家林业局 林产化学工程重点开放性实验室; 江苏省 生物质能源与材料重点实验室, 江苏 南京 210042;

2. 中国林业科学研究院 林业新技术研究所, 北京 100091)

摘 要: 在单因素试验的基础上, 利用响应面分析方法优化化香树果序中单宁成分的提取工艺条件。利用中心组合设计研究提取时间、提取温度、液固比 3 个自变量对化香树果序提取物得率的影响。用 Design-Expert 7.1 软件进行结果分析。对于化香树果序提取物最佳提取工艺条件为: 液固比 17.5:1 (mL:g), 提取时间 78 min, 提取温度 90 ℃, 优化条件下化香树果序提取物得率为 50.0%。

关键词: 化香树; 响应面; 鞣花单宁; 提取工艺

中图分类号: TQ35

文献标识码: A

文章编号: 0253-2417(2013)05-0071-06

Extraction Conditions of Ellagic Tannin from Infructescence of *Platycarya strobilacea* Using Response Surface Methodology

XU Man¹, WANG Yong-mei^{1,2}, ZHANG Liang-liang^{1,2}, WU Dong-mei¹, CHEN Jia-hong¹

(1. Institute of Chemical Industry of Forest Products, CAF; National Engineering Lab. for Biomass Chemical Utilization; Key and Open Lab. of Forest Chemical Engineering, SFA; Key Lab. of Biomass Energy and Material, Jiangsu Province, Nanjing 210042, China; 2. Institute of New Technology of Forestry, CAF, Beijing 100091, China)

Abstract: On the base of the single factor experiments, the conditions of the ellagic tannin extracted from infructescence of *Platycarya strobilacea* were optimized using response surface methodology (RSM). A central composite design was used to investigate the effects of three independent variables, namely extraction time, extraction temperature and liquid to solid ratio on the yield of extract product. Data were analyzed using Design-Expert 7.1 software. The optimum extraction conditions were: the extraction time 78 min, extraction temperature 90 ℃, liquid to solid 17.5:1 and extracting two times. Under the optimum conditions, the extraction yield of tannin was 50.0%.

Key words: *Platycarya strobilacea*; response surface methodology; ellagic tannin; extraction technology

化香树 (*Platycarya strobilacea* Sieb. & Zucc.) 是胡桃科化香树属植物, 化香树果序是化香树的干燥果序, 具有清热解毒、活血化瘀、消肿排脓、通窍止痛的功效^[1], 民间用其汤剂治疗鼻炎, 鼻窦炎效果甚佳。化香果过去曾用作生产制革工业用的鞣剂栲胶, 但是其性能差强人意, 已经停止生产退出市场。目前有关化香树资源利用的研究, 主要为采用醇等有机溶剂从其果序、木材和树皮中提取分离得到黄酮类化合物^[2-3], 对于单宁类化合物开发利用方面的研究未见相关报道。化香果单宁属于鞣花单宁, 经过水解反应可以得到鞣花酸。研究表明鞣花酸具有良好的抗氧化性能, 其抗氧化活性是维生素 E 的 50 倍, 并且具有抗癌、抗突变、抗菌等多种功效, 各国已开展相关方面的研究^[4-7]。虽然化香果中存在游离的鞣花酸, 可是含量很少, 对于直接利用研究成本太高^[8]。通过初步研究, 化香果单宁具有良好的抗氧化性能, 化香果序提取物主要成分就是单宁, 所以开发利用化香果序提取物在化妆品, 保健品等方面的功能研究, 具有广阔的前景和研究意义。化香树果序提取物的提取工艺受到许多因素的影响, 各因素还存

收稿日期: 2012-10-26

基金项目: 江苏省自然科学基金资助项目 (BK2012064, BK2010127)

作者简介: 徐 曼 (1981-), 女, 江苏沭阳人, 助理研究员, 硕士, 从事植物资源化学利用研究; E-mail: lhxuman@163.com。

在着交互作用。因此,为了考察各因素对提取物的提取影响的变化规律及交互作用,得出最大的提取物得率,通过单因素试验和响应面分析优化(RSM)试验对液固比、提取时间和提取温度进行研究,并对其得率进行测定。以期获得化香树果序提取物的优化提取工艺,并分析各因素的变化规律,为工业化生产提供技术依据。

1 实验

1.1 材料

化香树果序,采集于湖南张家界,1号样采集于2010年7月份,2号样采集于2010年10月份。将采集到的化香树果序风干。用植物粉碎机粉碎(2 mm筛板),筛去灰土和碎屑备用。

试剂:铬皮粉、乙醇、丙酮均为国产分析纯试剂。

1.2 分析测试

化香果序原料中单宁含量测定按照LY/T 1083-2008《栲胶原料分析实验方法》^[9]进行。

提取物中单宁含量测定按照LY/T 1082-2008《栲胶分析实验方法》^[10]进行。

1.3 产物制备

将单宁含量较高的化香树果序原料,根据各种提取因素进行浸提,收集合并提取液,将提取液用旋转蒸发器在真空度约0.09 MPa下浓缩至约5°Be',于5℃冰箱中静置沉降,进行后处理,再经冷冻干燥得产物,计算提取物得率,并测定单宁含量。

1.4 试验设计

1.4.1 原料筛选 为了优选实验原料,对两个批次的原料进行分析,选择单宁含量高的原料作为实验用原料。

1.4.2 单因素试验 对提取溶剂、提取次数、液固比、提取时间、提取温度进行单因素探索试验,分别考察这几个因素对化香果提取物得率的影响,从实验结果分析确定考察区间,以此作为中心组合设计实验方案的基础。

1.4.3 响应面法优化提取工艺 为了分析各因素之间的交互作用对结果的影响,分析参数影响因素,得到最佳的提取工艺,实验在单因素试验结果的基础上,以水为溶剂,提取次数确定为2次,采用中心组合设计,结合前期单因素试验结果,以化香树果序提取物得率为考察目标,分别以液固比、提取时间、提取温度对应3个独立变量 x_1 、 x_2 、 x_3 。

2 结果与讨论

2.1 不同原料单宁分析结果

本实验采集了张家界地区的2个批次的化香树果序(1号样和2号样),分别测定其中的单宁质量分数,以单宁质量分数高的化香果原料进行以后的实验,实验结果如下:1号样,水分9.6%,单宁35.0%;2号样,水分11.1%,单宁20.1%。

由于受条件限制,实验仅采集了同一地区2批不同时间的原料,可以在以后的实验中扩大采集地区和采集批次,进行更广泛的分析比较。从结果看出,不同采集时间的原料单宁含量差别较大,本研究选择单宁含量最高的张家界产地的化香果为实验材料。

2.2 单因素试验

2.2.1 提取溶剂的影响 以单宁含量高1号样化香果序为原料,称取30g(下同)分别以水、乙醇、丙酮为提取溶剂,在液固比10:1(mL:g,单次,下同),提取温度70℃,提取时间30 min的情况下,提取2次,分别得到3种提取溶剂的提取物,以产物得率和单宁含量比较分析3种不同溶剂提取的效果(见表1)。

以水为提取溶剂时的化香果提取物得率最高,并且提取物的单宁质量分数也较高,所以综合考虑实

验成本选择水为以后实验的提取溶剂。

2.2.2 提取次数的影响 在液固比 10:1,提取温度 70 ℃,提取时间 30 min 的条件下,分别提取 1、2、3、4 次,以提取物得率和单宁含量比较提取次数的效果。提取次数对得率和单宁含量的影响见表 1。

实验结果表明,化香树果序中得率随着提取次数的增加而增大,但在提取 2 次后变化基本平缓,基本提取完全,此时继续增加提取次数已无明显效果,单宁质量分数在 2 次提取以后有所下降,这说明当提取次数达到一定程度,虽然提取产物有所增加,但是有效成分已经基本提取完全,所以含量有所下降,增加提取次数对于实验的后处理和能耗都带来不利影响。综合考虑实验需求,以后的提取实验均采用 2 次提取。

2.2.3 提取时间的影响 液固比 10:1,提取温度 70 ℃ 时,考察提取时间对于单宁得率和含量的影响,每组都提取 2 次。结果亦见表 1。由表 1 可知,随着提取时间的延长提取物得率有所增加,但继续延长到 90 min 以后时,提取物得率基本无变化,说明已经提取完全。综合考虑考察指标和实验需求,提取时间考查范围定为 30~90 min。

2.2.4 提取温度的影响 在液固比 10:1,提取时间为 30 min 的条件下,提取 2 次,以提取物得率和单宁质量分数比较分析提取温度对实验的影响,结果也列入表 1。

由表 1 可知,随着提取温度的增加,在 80 ℃ 以前的提取物得率是处于增大阶段,在 80 ℃ 达到最大,以后提取物得率有所下降。提取温度在 80 ℃ 左右时得率最大,综合考虑提取温度考查水平值定为 80 ℃。

2.2.5 液固比的影响 提取温度 70 ℃,提取时间 30 min 的条件下,提取 2 次,液固比对提取物得率和单宁质量分数的影响同样见表 1。

表 1 提取条件对化香果单宁提取率和质量分数的影响

Table 1 Effects of extraction conditions on yield and content of tannin from infructescence of *P. strobilacea*

| 提取条件 extraction conditions | | 得率/% yield | 单宁质量分数/% tannin content |
|--------------------------------------|------------|---------------|----------------------------|
| 提取溶剂 extraction solvent | 水 water | 43.4 | 78.11 |
| | 乙醇 ethonal | 41.6 | 77.60 |
| | 丙酮 acetone | 38.7 | 76.72 |
| 提取次数 extraction times | 1 | 35.95 | 76.68 |
| | 2 | 43.4 | 78.57 |
| | 3 | 44.2 | 77.82 |
| | 4 | 44.9 | 77.21 |
| 提取时间 extraction time | 30 min | 41.6 | 77.57 |
| | 60 min | 42.5 | 77.22 |
| | 90 min | 42.3 | 77.05 |
| | 120 min | 42.2 | 77.65 |
| 提取温度 extraction temp. | 60 ℃ | 41.9 | 77.54 |
| | 70 ℃ | 42.5 | 78.57 |
| | 80 ℃ | 44.5 | 77.43 |
| | 90 ℃ | 42.8 | 77.04 |
| 液固比 (mL: g) liquid to solid ratio | 5:1 | 40.2 | 77.14 |
| | 10:1 | 41.1 | 78.57 |
| | 15:1 | 41.5 | 78.67 |
| | 20:1 | 44.3 | 77.83 |
| | 25:1 | 44.6 | 77.21 |

实验结果表明,随着液固比的增大,提取物得率也随着增大,在液固比达到 20:1 之后得率增加很小,继续增大液固比,对于实验会加大成本。而且从单宁质量分数指标来看,太高的固液比使单宁质量分数有所下降,这是物料与溶剂之间扩散已经达到平衡,再继续增加溶剂用量得到的提取物虽然有所增加,但是有效成分反而降低,综合考虑,以 15:1 为响应面设计实验的中心水平因素。

2.3 响应面实验方案及结果

2.3.1 实验方案及结果分析 从单因素试验结果看,各实验测定得到的单宁含量指标都是集中在77%~78%左右,所以在接下来的实验中仅以化香树果序提取物的得率为考察目标。在单因素试验结果的基础上,确定提取次数为2次,分别以提取时间、提取温度、液固比为考察因素,采用中心组合设计,对应设计实验方案。实验结果见表2。

表2 实验方案及结果分析

Table 2 Analysis and result of tests

| 实验号 No. | X_1 液固比(mL:g) liquid to solid ratio | X_2 时间/min extraction time | X_3 温度/°C extraction temperature | 得率/% yield |
|------------|---|------------------------------------|--|---------------|
| 1 | 15:1 | 30 | 70 | 42.6 |
| 2 | 20:1 | 90 | 80 | 44.1 |
| 3 | 15:1 | 60 | 80 | 44.5 |
| 4 | 20:1 | 60 | 90 | 48.8 |
| 5 | 15:1 | 60 | 80 | 44.7 |
| 6 | 20:1 | 30 | 80 | 44.5 |
| 7 | 10:1 | 90 | 80 | 42.7 |
| 8 | 20:1 | 60 | 70 | 45.0 |
| 9 | 10:1 | 60 | 70 | 44.6 |
| 10 | 15:1 | 60 | 80 | 44.6 |
| 11 | 10:1 | 60 | 90 | 46.5 |
| 12 | 15:1 | 60 | 80 | 43.9 |
| 13 | 15:1 | 30 | 90 | 42.9 |
| 14 | 15:1 | 90 | 90 | 48.3 |
| 15 | 10:1 | 30 | 80 | 42.1 |
| 16 | 15:1 | 60 | 80 | 44.4 |
| 17 | 15:1 | 60 | 80 | 43.8 |
| 18 | 15:1 | 90 | 70 | 45.7 |

2.3.2 方差分析 通过 Design-Expert 7.1 数据分析软件对实验结果进行分析,方差分析见表3。

表3 回归模型的方差分析

Table 3 Analysis of variance of items of regression equation

| 方差分析 variance analysis | 自由度 df | 总偏差平方和 sum of squares | 平均偏差平方和 mean squares | F 值 F value | P 值 P value |
|---------------------------|-------------|--------------------------|-------------------------|--------------------|--------------------|
| 模型 model | 9 | 44.01 | 4.89 | 3.74 | 0.0383 |
| x_1 | 1 | 5.28 | 5.28 | 4.04 | 0.0792 |
| x_2 | 1 | 9.46 | 9.46 | 7.24 | 0.0274 |
| x_3 | 1 | 9.24 | 9.24 | 7.08 | 0.0288 |
| x_1x_2 | 1 | 0.25 | 0.25 | 0.19 | 0.6733 |
| x_1x_3 | 1 | 0.9 | 0.9 | 0.69 | 0.43 |
| x_2x_3 | 1 | 1.32 | 1.32 | 1.01 | 0.3438 |
| x_1^2 | 1 | 0.16 | 0.16 | 0.12 | 0.7352 |
| x_2^2 | 1 | 5.85 | 5.85 | 4.48 | 0.0671 |
| x_3^2 | 1 | 12.86 | 12.86 | 9.84 | 0.0139 |
| 误差项 residual | 8 | 10.45 | 1.31 | | |
| 失拟项 lack of fit | 3 | 9.74 | 3.25 | 22.92 | 0.0024 |
| 纯误差 pure error | 5 | 0.71 | 0.14 | | |
| 所有项 total | 17 | 54.46 | | | |

由表3可知,在一次项中,提取时间、提取温度对提取物得率影响均达到显著性水平($P < 0.05$)。在二次项中,提取温度的影响达到了显著性水平($P < 0.05$)。由于各因素对化香树果序中提取物得率的影响不是简单的线性关系,为了更明确各因子对其的影响,采用 Design-Expert 7.0 软件对提取物得率进行多元回归分析,各因素经拟合后得到的回归方程如下:

$$Y = +44.32 + 0.81x_1 + 1.09x_2 + 1.07x_3 - 0.25x_1x_2 + 0.47x_1x_3 + 0.57x_2x_3 + 0.19x_1^2 - 1.16x_2^2 + 1.72x_3^2$$

由方程的显著性分析得 $F = 3.74$,建立的模型显著,相应的概率值 $P < 0.05$,该方程模型是显著的。“充分精确值”表示预测模型的“信噪比”,即预测准确值和偏离值之间的差异。一般认为“信噪比”大于4是可以接受的^[11-12]。本研究中“信噪比”为8.672,表明预测化香树果序提取物得率的方程模型是可靠的。

2.3.3 响应曲面图分析 为了更直观的表现2个因素同时对提取物得率的影响,可以令其他因素水平值为0,仅考虑这2个因素对得率的影响,绘出相应的响应面图。图1表示当提取温度设定在0水平时,液固比和提取时间对提取物得率的影响方式。随着液固比增大和提取时间的延长提取物得率也逐渐增加,当液固比达到20:1,时间为90 min时单宁得率达到最大值。图2表示当提取时间设定在0水平时,提取温度和液固比对提取物得率的影响。液固比在10:1~17.5:1变化范围内,液固比增加会导致得率明显增加。而液固比在17.5:1~20:1变化范围内,随着液固比的增加,得率反而出现降低的趋势,当提取温度达到80℃,液固比在17.5:1时得率达到最大值。图3表示当液固比设定在0水平时,提取时间和提取温度对提取物得率的影响。

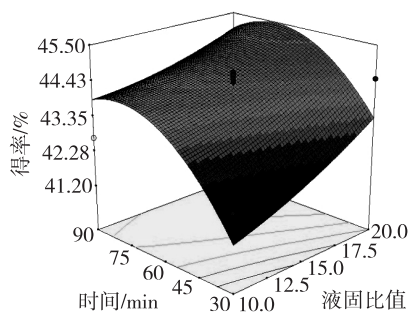


图1 液固比和提取时间交互作用的响应面图

Fig.1 Response surface of interaction of extract time and ratios of liquid to solid

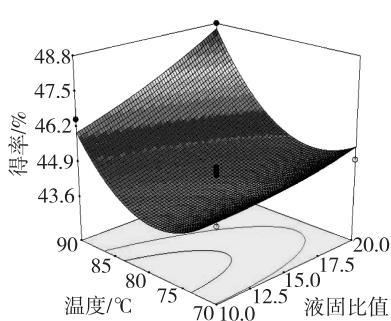


图2 液固比和提取温度交互作用的响应面图

Fig.2 Response surface of interaction of extract temperature and ratios of liquid to solid

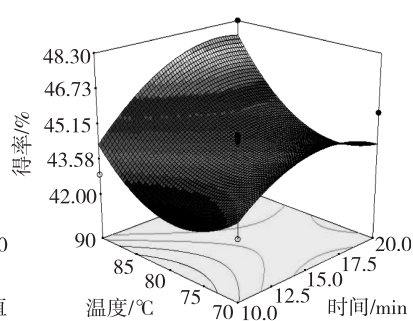


图3 提取时间和提取温度交互作用的响应面图

Fig.3 Response surface of interaction of extract temperature and extract time

通过 Design-Expert 7.1 软件的优化功能,可进一步得到化香树果序提取物的最优提取工艺条件:液固比17.5:1,提取时间78 min,提取温度90℃,优化条件下化香树果序提取物得率为50.0%。为了验证响应面法的可行性,采用得到的最佳提取条件进行化香树果序提取实验,以水为溶剂,在液固比17.5:1,提取时间78 min,提取温度90℃条件下,提取2次,合并提取液进行处理。3次平行实验得到提取物平均得率为49.8%,结果证明实验优化得到的工艺参数是可行的。

3 结论

3.1 不同采集时间的化香果原料单宁质量分数差别较大,若是以化香果为原料投入工业化应用时要考虑到采集因素影响,本研究采集原料为湖南张家界(7月份和10月份)的原料,其中以7月份为原料单宁质量分数高达35.0%。

3.2 通过单因素试验研究了提取时间、提取温度、液固比对化香树果序提取物得率的影响。通过响应面法分析,建立了提取化香树果序提取物得率的数学模型,回归方程显著,可以进行实际预测。应用响应面设计法优化出其最佳提取条件为:原料30 g,液固比17.5:1(mL:g),提取时间78 min,提取温度

90 ℃,优化条件下化香树果序提取物得率为 50.0 %。对该优化条件进行实验验证,其提取物得率为 49.8 %,为工业化生产提供技术依据。

参考文献:

- [1] ANGELONE M, ATZENI S, ROLLET S. Conceptual study of a compact accelerator-driven neutron source for radioisotope production, boron neutron capture therapy and fast neutron therapy [J]. Nuclear Instruments and Methods in Physics Research Section A, 2002, 487(3): 585-594.
- [2] 高蓉,李稳宏,刘明霞,等. 化香树果序中总黄酮不同提取方法对比研究[J]. 食品科学, 2007, 28(8): 230-232.
- [3] 高蓉,陈练洪,李稳宏,等. 超声法提取化香树果序中黄酮类化合物工艺[J]. 化学工程, 2007, 35(8): 65-67, 73.
- [4] ANGETIKA R, RONALD E W. Ellagic acid content of red raspberry juice as influenced by cultivar, processing, and environmental factors [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 1993, 41(11): 1951-1960.
- [5] MEYER A S, HEINONEN M, FRANKEL E N. Antioxidant interactions of catechin, cyanidin, caffeic acid, quercetin, and ellagic acid on human LDL oxidation [J]. Food Chemistry, 1998, 61(1/2): 71-75.
- [6] 李庆,姚开,谭敏. 新型天然抗氧化剂——鞣花酸[J]. 四川食品与发酵, 2001, 37(4): 10-14.
- [7] MAAS J L, GALLETTA G J, STONER G D. Ellagic acid, an anticarcinogen in fruits, especially in strawberries: A review [J]. HortScience, 1991, 26(1): 10-14.
- [8] 张亮亮,徐曼,汪咏梅,等. 响应面优化化香树果序中鞣花酸超声波提取的研究[J]. 林产化学与工业, 2011, 31(2): 19-24.
- [9] 陈笏鸿,吴冬梅,汪咏梅,等. LY/T1083-2008 栲胶原料分析试验方法[S]. 北京: 中国标准出版社, 2008.
- [10] 陈笏鸿,吴冬梅,汪咏梅,等. LY/T1082-2008 栲胶分析试验方法[S]. 北京: 中国标准出版社, 2008.
- [11] MONTGOMERY D C. Design and Analysis of Experiments [M]. 2nd ed. New York: Wiley, 1997: 43-80.
- [12] MYERS R H, MONTGOMERY D C. Response Surface Methodology: Process and Product Optimization Using Designed Experiments [M]. New York: Wiley, 1995: 134-174.

本刊信息

《林产化学与工业》再次入选北大中文核心期刊

由中国林科院林产化学研究所与中国林学会林产化学化工分会主办的学术类期刊《林产化学与工业》再次入选北大《中文核心期刊要目总览》(第六版)的核心期刊。本次核心期刊的评选,依据文献计量学的原理和方法,采用了被索量、被摘量、被引量、他引量、被摘率、影响因子、被国内外重要检索工具收录、基金论文比、Web 下载量等 9 个评价指标,选作评价指标统计源的数据库及文摘刊物达 60 余种,涉及期刊 14400 余种。经过定量筛选和专家定性评审,入编核心的期刊有 1982 种,分为 73 个学科。《林产化学与工业》被收录在北大《中文核心期刊要目总览》“化学工业类(TQ35)”。