

响应面法优化微波辅助提取绞股蓝种子油工艺

白 鸽,肖娅萍*,王 璐

陕西师范大学生命科学院 教育部药用植物资源及天然药物化学重点实验室,西安 710062

摘要:为了探讨微波辅助提取绞股蓝种子油的最佳工艺条件。以种子油得率为考察指标,在单因素试验基础上,采用响应面法对料液比、微波温度、微波时间以及微波功率进行优化研究。得到微波辅助提取绞股蓝种子油的最优条件为料液比 1:15 g/mL,微波温度 59 °C,微波时间 14 min,微波功率 600 W。在此条件下种子油得率 (42.0085 ± 0.02)%,与模型预测值 41.2459% 接近,说明此方法合理可行,该优化工艺稳定可靠。

关键词:绞股蓝;种子油;微波提取;响应面法

中图分类号:TS201

文献标识码:A

DOI:10.16333/j.1001-6880.2016.S.027

Optimization of Microwave-assisted Extraction of Oil from *Gynostemma pentaphyllum* Seed by Response Surface Methodology

BAI Ge, XIAO Ya-ping*, WANG Lu

Key Laboratory of Medicinal Plant Resources and Natural Pharmaceutical Chemistry,

College of Life Sciences, Shaanxi Normal University, Xi'an 710062, China

Abstract: In this study, the microwave-assisted extraction (MAE) of *Gynostemma pentaphyllum* seeds oil was optimized. Based on single factor experiments, with yield of seeds oil as index, the extraction parameters (solid/liquid ratio, microwave temperature, microwave time and microwave power) were optimized by response surface methodology (RSM). The results showed that the optimal conditions to extract oil from *G. pentaphyllum* seeds were as follows: solid/liquid ratio of 1:15 g/mL, microwave temperature of 59 °C, microwave time of 14 min, microwave power of 600 W. Under these conditions, the yield of *G. pentaphyllum* seeds oil (GPSO) reached (42.0085 ± 0.02)%, which was close to the predicted value (41.2459%). The result showed that the developed method was feasible and reliable.

Key words: *Gynostemma pentaphyllum*; seeds oil; microwave-assisted extraction; response surface methodology

绞股蓝 [*Gynostemma pentaphyllum* (Thunb.) Makino] 为葫芦科 (Cucurbitaceae) 绞股蓝属 (*Gynostemma*) 多年生草质藤本植物,多分布于中国、朝鲜、日本等国。在我国主要分布于秦岭以及长江流域以南地区。绞股蓝含有丰富的皂苷,其中有少量和人参皂苷相同,被誉为“南方人参”和“第二人参”^[1]。绞股蓝全草均可入药,现代药理研究发现其具有降血糖^[2]、高血脂^[3]、高血压^[4]等药理活性。目前,对绞股蓝的研究主要集中在根茎叶方面,并取得了积极的成果,如有效成分^[5]、分析方法^[6]及药理药效^[7]等方面。但对于绞股蓝种子,一方面尚未引起人们的重视,研究甚少,主要集中在提取及成分分析方面^[8],尚未涉及药理药效等方面。另一方面其通

常作为副产品没有充分利用,为了能够充分有效的利用,本文以此为研究对象,通过单因素和响应面实验优化提取工艺,探讨微波辅助提取绞股蓝种子油 (GPSO) 的最优条件,为后续绞股蓝种子的深入研究和开发利用提供科学依据和理论基础。

1 材料与仪器

1.1 原料

绞股蓝种子于 2014 年 9 月采于陕西省安康市平利县绞股蓝基地。

1.2 试剂

正己烷,石油醚(沸程 60 ~ 90 °C),丙酮,乙酸乙酯均为分析纯。

1.3 仪器

Q-500B 型旗箭多功能粉碎机(上海冰都电器有限公司),SL202 型药物电子天平(上海明桥精密科学仪器有限公司),MAS-II 型微波萃取仪(上海新仪

微波化学科技有限公司), SHB-III 型循环水式多用真空泵、RE-52AA 型旋转蒸发器(上海亚荣生化仪器厂)等。

2 实验方法

2.1 材料前处理

绞股蓝种子→清洗→60℃干燥箱中干燥至恒重→粉碎→塑封保存→实验材料。

2.2 绞股蓝种子油提取方法和得率的计算

采用微波提取法,准确称取 2.1 下样品粉末于微波萃取仪的反应瓶中,加入一定体积的提取溶剂,设置好各项参数开始提取,待完成后抽滤,取滤液于蒸馏瓶中进行油脂浓缩,将蒸馏瓶中油脂于 50℃干燥至恒重,干燥器中冷却至室温,称重,得油脂重量,计算得率。相同条件下重复三次^[9]。

绞股蓝种子油(GPSO)得率(%) = 种子油质量/种子粉质量 × 100%

2.3 单因素实验

2.3.1 不同提取溶剂对 GPSO 得率的影响

按照 2.2 方法,在料液比 1:10 g/mL,微波温度 50℃,微波时间 10 min,微波功率 600 W 的条件下,分别选取石油醚(沸程 60~90℃)、乙酸乙酯、丙酮、正己烷四种提取溶剂进行提取,计算种子油得率,分析提取溶剂对得率的影响。

2.3.2 料液比对 GPSO 得率的影响

按照 2.2 方法,在微波功率 600 W,微波时间 10 min,温度 50℃的条件下,分别选取 1:5、1:10、1:

15、1:20、1:25 g/mL 五个不同料液比进行提取,计算种子油得率,分析料液比对得率的影响。

2.3.3 提取温度对 GPSO 得率的影响

按照 2.2 方法,在微波功率 600 W,料液比 1:10 g/mL,微波时间 10 min 的条件下,分别选取 30、40、50、60、70℃五个不同温度进行提取,计算种子油得率,分析微波温度对得率的影响。

2.3.4 微波时间对 GPSO 得率的影响

按照 2.2 方法,在微波功率 600 W,料液比 1:10 g/mL,温度 50℃的条件下,分别选取 2、6、10、14、18 min 五个不同微波时间进行提取,计算种子油得率,分析微波时间对得率的影响。

2.3.5 微波功率对 GPSO 得率的影响

按照 2.2 方法,在料液比 1:10 g/mL,微波时间 10 min,温度 50℃的条件下,分别选取 200、400、600、800、1000 W 五个不同微波功率进行提取,计算种子油得率,分析微波功率对得率的影响。

根据上述进行单因素实验,重复三次并进行数据分析,初步确定料液比,微波温度,微波时间,微波功率四个参数的范围,探究各因素对绞股蓝种子油得率的影响。

2.4 响应面设计

在单因素实验的基础上,选取料液比(A)、微波温度(B)、微波时间(C)及微波功率(D)作为实验因素并确定各因素合适的水平值,以绞股蓝种子油得率为响应值,根据 Box-Behnken Design(BBD)设计四因素三水平实验^[10]如表 1 所示。

表 1 试验因素水平编码

Table 1 Factors and their levels for the construction of Box-Behnken design

水平 Levels	因素 Factors			
	A 料液比 Solid-liquid ratio (g/mL)	B 微波温度 Temperature (°C)	C 微波时间 Microwave time (min)	D 微波功率 Microwave power (W)
-1	10	50	10	400
0	15	60	14	600
1	20	70	18	800

2.5 数据处理

采用 Design-Expert. 8.05b 软件对实验数据进行分析处理并对各因素间的交互作用做回归分析。

3 结果与讨论

3.1 单因素试验

不同提取溶剂对 GPSO 得率的影响如图 1(A),

正己烷提取绞股蓝种子油得率最高,其次是石油醚,丙酮和石油醚提取率相差不大,乙酸乙酯相对比较低。从 GPSO 得率的角度考虑,选用得率最高的正己烷作为最佳提取溶剂。

料液比对 GPSO 得率的影响如图 1(B),随着料液比的增加,得率呈先上升后下降的趋势,在 1:15 g/mL 时达到最大。分析原因,可能是种子油已经基

本提出,过多的溶剂溶解了其他杂质,影响了种子油的得率。从GPSO得率、节约资源的角度考虑,选用料液比1:15 g/mL 适宜。

提取温度对GPSO得率的影响如图1(C),随着温度升高,得率呈先上升后下降的趋势,在60℃时达到最大。分析原因,可能是随着温度升高,分子运动速率逐渐加快,有利于细胞内物质溶出,温度过高时,溶剂易挥发,从而导致得率下降,所以选用提取温度60℃适宜。

提取时间对GPSO得率的影响如图1(D),提取时间在2~14 min 范围内,得率随着微波时间的增

加而增大,在14 min 时达到最大,超过14 min 后得率下降。分析原因,可能是随着时间的延长,种子油不断溶出,在14 min 时已基本提出,而时间过长,溶出的杂质变多,影响种子油得率。从得率和效率角度考虑,选用14 min 适宜。

提取功率对GPSO得率的影响如图1(E),微波功率在300~600 W 范围内,得率随功率的增大而增加,600 W 时达到最大,超过600 W 后得率下降。分析原因,可能是功率过高破坏了某些目标组分的分子结构。因此选用600 W 合适。

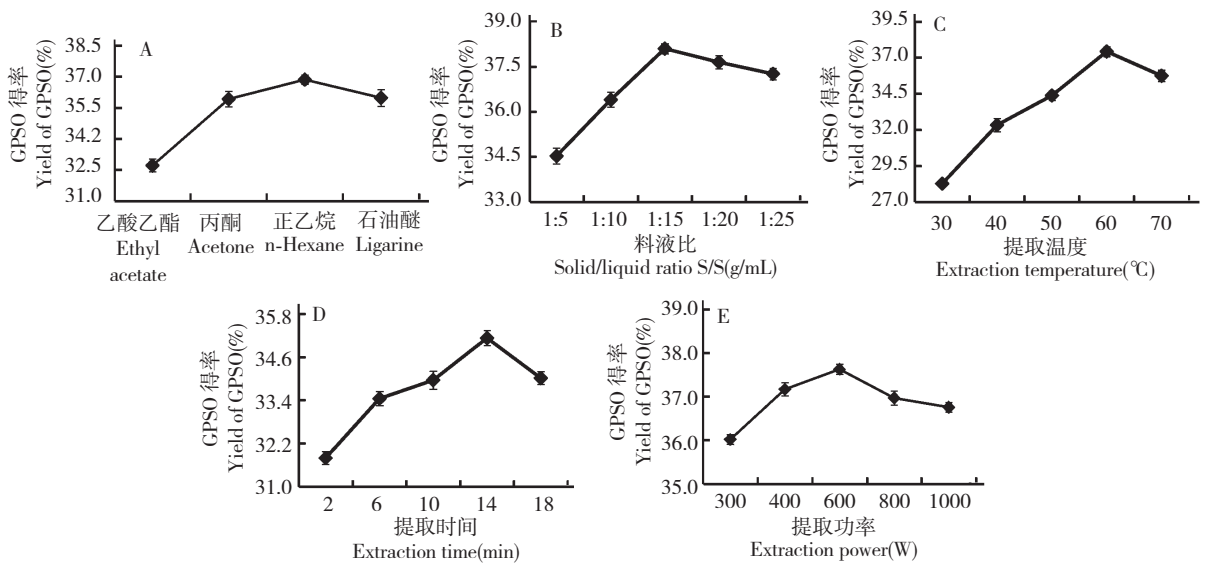


图1 不同提取溶剂(A)、料液比(B)、提取温度(C)、提取时间(D)及提取功率(E)对绞股蓝种子油得率的影响

Fig. 1 Effects of different extraction solvents (A), solid-liquid ratio (B), extraction temperature (C), extraction time (D) and extraction power (E) on yield of GPSO

3.2 响应面实验

3.2.1 响应面实验设计及结果

在单因素实验的基础上,根据 Box-Behnken Design (BBD) 设计实验,以料液比(A),微波温度(B),

微波时间(C)微波功率(D)为自变量,GPSO 得率为因变量(响应值),设计四因素三水平的响应面实验。设计表及结果如表2所示。

表2 BBD 实验设计及结果

Table 2 Experimental design and result of response surface experiments

试验号 No.	A 料液比 Solid-liquid ratio	B 微波温度 Temperature	C 微波时间 Time	D 微波功率 Power	种子油得率 GPSO yield (%)
1	1	0	0	-1	39.36
2	0	-1	-1	0	37.69
3	0	0	0	0	41.21
4	0	1	0	-1	38.71
5	-1	1	0	0	37.75
6	1	1	0	0	38.08

7	0	-1	1	0	38.95
8	0	1	0	1	36.32
9	1	0	1	0	36.77
10	1	0	0	1	36.43
11	-1	0	0	-1	38.29
12	0	0	1	-1	38.81
13	-1	0	1	0	38.61
14	0	0	0	0	40.93
15	-1	0	0	1	38.22
16	0	0	0	0	40.95
17	0	1	1	0	36.78
18	0	0	-1	1	37.59
19	0	0	-1	-1	37.62
20	0	1	-1	0	38.33
21	-1	0	-1	0	37.39
22	0	-1	0	1	37.47
23	1	0	-1	0	39.05
24	-1	-1	0	0	38.87
25	1	-1	0	0	38.34
26	0	0	1	1	36.01
27	0	0	0	0	41.81
28	0	-1	0	-1	38.43
29	0	0	0	0	40.88

3.2.2 二次回归拟合及方差分析

利用 Design-Expert 8.05b 软件对表 2 实验数据进行回归拟合,得到二次多项回归方程: $\text{Yield} = 41.16 - 0.092A - 0.31B - 0.14C - 0.77D + 0.21AB - 0.$

$87AC - 0.71AD - 0.70BC - 0.36BD - 0.69CD - 1.34A^2 - 1.52B^2 - 1.79C^2 - 1.83D^2$ 。对实验结果进行拟合的二次模型方差分析见表 3。

表 3 回归模型方差分析

Table 3 Variance analysis of regression model

方差来源 Source	离差平方和 Sum of squares	自由度 DOF	均方 Mean square	F 值 F value	P 值 P value	显著性 Significance
模型 Model	63.10	14	4.15	66.80	<0.0001	* *
A	0.10	1	0.10	1.49	0.2417	
B	1.19	1	1.19	17.65	0.0009	* *
C	0.25	1	0.25	3.74	0.0736	
D	7.02	1	7.02	104.09	<0.0001	* *
AB	0.18	1	0.18	2.74	0.1201	
AC	3.06	1	3.06	45.39	<0.0001	* *
AD	2.04	1	2.04	30.31	<0.0001	* *
BC	1.97	1	1.97	29.26	<0.0001	* *
BD	0.51	1	0.51	7.58	0.0156	*

CD	1.92	1	1.92	28.43	0.0001	**
A ²	11.72	1	11.72	173.73	<0.0001	**
B ²	15.07	1	15.07	223.37	<0.0001	**
C ²	20.77	1	20.77	307.79	<0.0001	**
D ²	21.76	1	21.76	322.59	<0.0001	**
残差 Residual	0.94	14	0.067			
失拟项 Lack of Fit	0.34	10	0.034	0.23	0.9731	
纯误差 Pure Error	0.60	4	0.15			
总变异 Cor Total	64.04	28				
标准偏差 Std. Dev.	0.26					
校正决定系数 Adj R-Squared	0.9705					
复相关系数 R-Squared	0.9853					
精密度 Adeq Precision	27.962					

注: * 表示显著($0.01 < P < 0.05$), ** 表示极显著($P < 0.01$)。

Note: * indicated significant ($0.01 < P < 0.05$), ** indicated extremely significant ($P < 0.01$).

由表 3 可知:模型 $P < 0.0001$ 极显著,失拟项 $P = 0.9731 > 0.05$ 不显著,说明所选用的二次多项模型可靠,可较好的拟合实际值。 $R^2_{Adj} = 0.9705$,表明有 97.05% 数值可以用该模型来解释。因变量与所有自变量之间的线性关系 $R^2 = 0.9853$,说明该模型拟合程度良好,实验误差小。同时可看出四个因素对 Yield 的影响程度为 $D > B > C > A$ 。

由残差分布图(图 2)可看出,29 个实验点基本分布于一条直线上,表明各实验值之间相关性较好,该模型能很好的反映各因素与得率之间的真实关系。综合以上说明可用此模型分析和预测微波辅助提取 GPSO 工艺^[11]。

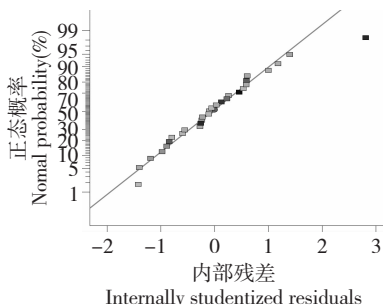


图 2 种子油得率的残差分布图

Fig. 2 Residual scattergram of the yield of GPSO

3.2.3 响应曲面分析

根据回归方程得到响应曲面图(图 3),由此可对任意两因素交互作用后对 GPSO 得率的影响进行分析与评价,以确定最佳因素水平范围。若响应面图越陡峭或呈拱形,表明该因素对响应值影响较大;同理若响应曲面趋于平坦则影响较小。等高线的形

状趋于椭圆,表明两个自变量间交互作用显著;而等高线趋向圆形,表明有显著的交互作用^[12,13]。

由图 3(A)可看出,在相同的提取温度下,随着料液比的增加,响应值(GPSO 得率)呈现先上升后下降的趋势;在相同的料液比下,随着提取温度的升高,响应值呈现先上升后下降的趋势,与之前单因素实验结果一致,两因素之间的交互作用对响应值的影响显著^[14]。在料液比 1:15 g/mL,提取温度 60 °C 左右时,得率达到最大。同理,图 3(B)显示料液比和时间对 GPSO 得率影响显著;图 3(C)显示料液比和功率对 GPSO 得率影响显著;图 3(D)显示温度和功率对得率影响显著;图 3(E)显示时间和功率对得率影响显著。

3.2.4 最优工艺验证

响应面法优化后的各因素分别为:料液比 1:15.05 g/mL,微波温度 59.18 °C,微波时间 14.05 min,微波功率 558.87 W,模型预测值 41.2459%。为了检验所得最优工艺的可靠性并且根据实际情况,取料液比 1:15 g/mL,微波温度 59 °C,微波时间 14 min,微波功率 600 W 提取绞股蓝种子油,实验重复三次,测得绞股蓝种子油得率为 $(42.0085 \pm 0.02)\%$,与预测值相比,相对误差为 1.85%,说明回归模型真实可靠,所得工艺参数准确可靠,可用其预测分析实验结果。

4 结论

本实验在单因素的基础上,采用响应面法对微

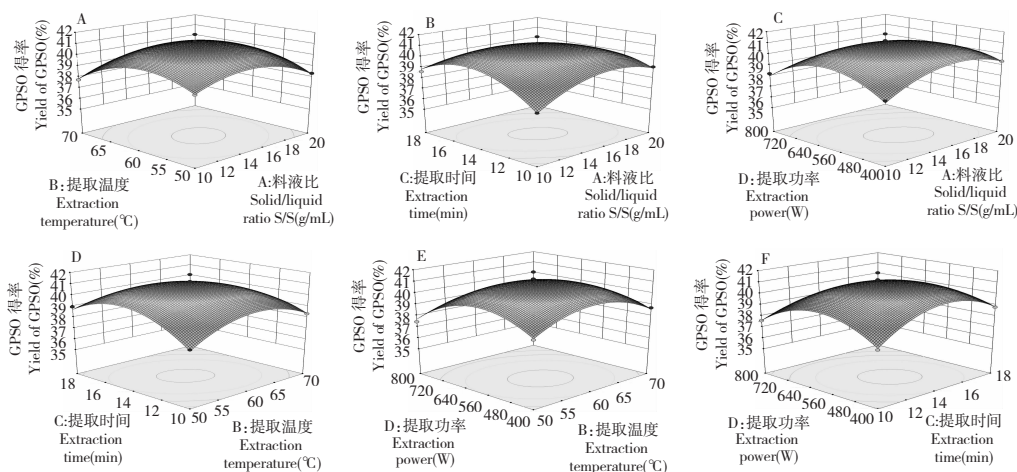


图3 各因素交互作用对GPSO得率影响的响应曲面图

Fig. 3 Response surface plots showing the interactive effects of different factors on the yield of GPSO

波辅助提取绞股蓝种子油工艺进行优化,得到最优条件为料液比1:15 g/mL,微波温度59℃,微波时间14 min,微波功率600 W。经过验证发现此条件下绞股蓝种子油得率为(42.0085 ± 0.2)% ,与理论值41.2459%相比,相对误差为1.85%。表明该数学回归模型合理可靠,此方法合理可行,可为绞股蓝种子后续的开发利用提供理论基础。

参考文献

- Bian GZ (边古筝), Yu YH (禹玉华), Yu SJ (郁书君). The study progress of *pentaphyllum* (Thunb) Makin. *Agric Technol* (农业与技术), 2014, 34:1-5.
- Zhou L (周亮), Xu YP (许玉萍), Wei Y (魏源), et al. The effect of *Gynostemma pentaphyllum* (GP) on plasma lipoprotein metabolism and lipoperoxidation lipoprotein in the experimental hyperglycemia rats. *Chin J Appl Physiol* (中国应用生理学杂志), 2008, 24:205-208.
- Schild L, Roth A, Keilhoff G, et al. Protection of hippocampal slices against hypoxia/hypoglycemia injury by a *Gynostemma pentaphyllum* extract. *Phytomedicine*, 2009, 16:734-743.
- Chen T, Li B, Li YY, et al. Catalytic synthesis and antitumor activities of sulfated polysaccharide from *Gynostemma pentaphyllum* Makino. *Carbohydr Polym*, 2011, 83:554-560.
- Zhou BZ (周宝珍), Xiao YP (肖娅萍), Niu JF (牛俊峰). Isolation, purification and analysis of polysaccharide of *Gynostemma pentaphyllum* polysaccharide by IR, GC. *Chin J Tradit Chin Med Pharm* (中华中医药杂志), 2012, 27:97-100.
- Niu JF (牛俊峰), Jiang DL (姜东亮), Wang L (王璐), et al. SPME-GC-MS analysis on volatile components from five different regions of *Gynostemma pentaphyllum* (Thunb.). *Chin J Pharm* (药物分析杂志), 2012, 32:578-580.
- Shi L (史琳), Zhao H (赵红), Zhang LY (张璐雅), et al. Advances in studies on the pharmacological effects of *Gynostemma pentaphyllum*. *Drug Eval Res* (药物评价研究), 2011, 34:125-129.
- Liu SB (刘世彪), Tan XM (谭秀梅), Peng XL (彭小列), et al. Extraction, composition analysis and acute toxicity test of seed oil of *Gynostemma pentaphyllum*. *Guihaia* (广西植物), 2014, 34:130-134.
- Cheng ZY, Song HY, Yang YJ, et al. Optimization of microwave-assisted enzymatic extraction of polysaccharides from the fruit of *Schisandra chinensis* Bail. *Int J Biol Macromol*, 2015, 76:161-168.
- Lu Y (陆洋), Peng F (彭飞), Huang LX (黄丽霞). Optimization of ultrasonic-assisted extraction conditions of polyphenol from *Cyrtomium fortunei* by response surface methodology. *Nat Prod Res Dev* (天然产物研究与开发), 2015, 27:103-108.
- Adalarasan R, Santhanakumar M, Rajmohan M. Optimization of laser cutting parameters for Al6061/SiCp/Al₂O₃ composite using grey based response surface methodology (GRSM). *Measurement*, 2015, 73:596-606.
- Dashtianeh M, Vatanara A, Fatemi S, et al. Optimization of supercritical extraction of *Pimpinella affinis* Ledeb. using response surface methodology. *J CO₂ Util*, 2013, 3-4:1-6.
- Noorshamsiana AW, Astimar AA, Hayati MN, et al. Optimization of enzymatic sludge palm oil recovery from palm oil mill effluent using response surface methodology. *J Oil Palm Res*, 2013, 25:348-356.
- Zhu S, Li Y, Ma CY, et al. Optimization of lipase-catalyzed synthesis of acetylated EGCG by response surface methodology. *J Mol Catal B-Enzym*, 2013, 97:87-94.