

响应面法优化脚板薯皂苷提取工艺

刘媛洁¹, 张良², 刘芳兰¹, 肖文焯¹ (1. 江西医学高等专科学校, 江西上饶 334000; 2. 江西省食品发酵研究所, 江西宜春 336000)

摘要 [目的] 优化脚板薯皂苷的最佳提取工艺。[方法] 探讨提取温度、提取时间、料液比和乙醇浓度对脚板薯皂苷提取率的单因素影响。在此基础上, 采用响应面分析方法, 进一步研究各自变量及其交互作用对脚板薯皂苷提取率的影响, 并对其工艺参数进行优化。[结果] 脚板薯皂苷提取的最佳工艺条件为提取温度 76 °C、提取时间 1.5 h、乙醇浓度 90%、料液比 1:30 (m/v), 在此最优工艺条件下, 脚板薯皂苷提取率达 0.291%。[结论] 该研究可为脚板薯皂苷的工业化生产提供理论指导。

关键词 脚板薯; 响应面分析; 皂苷; 提取

中图分类号 S567 **文献标识码** A **文章编号** 0517-6611(2014)36-12885-03

Optimization of Extraction of Total Saponins from *Dioscorea alata* Lirm. sp by Response Surface Analysis

LIU Yuan-jie¹, ZHANG Liang², LIU Fang-lan¹ et al (1. Jiangxi Medical College, Shangrao, Jiangxi 334000; 2. Jiangxi Food Fermentation Institute, Yichun, Jiangxi 336000)

Abstract [Objective] The Response Surface Methodology (RSM) was used to optimize the extraction process of total saponins from *Dioscorea alata* Lirm. sp. [Method] The impact of extraction temperature, extraction time, ethanol concentration and solid-liquid ratio on the yield of diosgenin are investigated, based on which the response surface analysis is adopted to study the impact of each variable and their interaction on yield of diosgenin and optimize the extraction parameter. [Result] It is found that optimal parameters for diosgenin extraction from *Dioscorea alata* Lirm. sp were as follows; extraction temperature 76 °C, extraction time 1.5 h, ethanol concentration 90%, solid-liquid ratio 1:30 (m/v). [Conclusion] The research provides the theoretical guidance for the industrial production of diosgenin in *Dioscorea alata* Lirm. sp.

Key words *Dioscorea alata* Lirm. sp; Response Surface Analysis; Saponins; Extraction

脚板薯 (*Dioscorea alata* Lirm. sp) 属薯蓣属 (*Dioscorea*), 又称参薯, 是一年生或多年生缠绕性藤本植物^[1-2], 其块状根茎发达, 呈不规则扁块形状, 型似脚板, 故得名^[3]。脚板薯块茎颜色呈黄褐色或深褐色, 其含有淀粉、蛋白质、薯蓣皂苷、维生素、粘质多糖等多种成分^[4], 长期食用具健脾、养肺、固肾、益精的生理功效^[5]。薯蓣皂苷是重要的医药原料, 是合成多种甾体抗炎药、性激素、避孕类药物的前体^[6-8]。笔者在此探讨提取温度、提取时间、料液比和乙醇浓度对脚板薯皂苷提取率的单因素影响, 在此基础上, 采用响应面分析方法, 进一步研究各自变量及其交互作用对脚板薯皂苷提取率的影响, 优化了脚板薯中皂苷的提取工艺, 为脚板薯皂苷的工业化生产提供科学参考。

1 材料与方 法

1.1 材 料

1.1.1 供试材料。新鲜脚板薯, 采自江西宜春万载, 经真空干燥后粉碎备用。

1.1.2 主要试剂。石油醚、无水乙醇、甲醇为分析纯; 去离子水为色谱纯。

1.1.3 主要仪器。高速中药粉碎机, 温岭林大机械有限公司; 艾柯 AKRY-UP-1824 型超纯水机, 上海博讯实验专用纯水设备厂; NH-2 数显恒温水浴锅, 扬州盛凯化工有限公司; SHZ-D 型循环水真空泵, 南昌明瑞化工有限公司; 旋转蒸发器, 上海禾气玻璃仪器有限公司; 高效液相色谱仪 (HPLC), 安捷伦科技有限公司。

1.2 方 法

1.2.1 样品溶液的制备。将脚板薯样品烘干、粉碎, 过筛

后干燥保存。精密称取脚板薯粉末 1.0 g, 置于圆底烧瓶中, 加石油醚 15 ml, 脱脂 40 min 后过滤, 挥发去除溶剂。再加入 80% 的乙醇 30 ml, 经 80 °C 水浴回流 1 h 后过滤, 收集滤液。滤渣用 80% 的乙醇 30 ml 再重复提取 1 次, 滤渣用 80% 乙醇 2 ml 洗涤 2 次, 合并滤液。将滤液挥发去除溶剂, 用甲醇溶解残渣, 置于容量瓶中, 再用适量甲醇冲洗 3 次, 合并溶液。用甲醇定容, 过 0.45 μm 的微孔滤膜过滤, 得供试品溶液。

1.2.2 检测方法。采用高效液相色谱 (HPLC) 法^[9]进行脚板薯薯蓣皂苷的分析。色谱条件为安捷伦液相 1200 色谱仪、ODS-3 C18 (150 mm × 4.6 mm, 5 μm) 色谱柱、柱温 25 °C, 流动相为纯甲醇, 流速为 1.0 ml/min, UV 检测波长 210 nm。薯蓣皂苷元标准品购自 Sigma 公司。

1.2.3 影响提取工艺效果的因素试验设计。

1.2.3.1 单因素试验。分别以提取温度、乙醇浓度、提取时间和料液比为响应因素, 研究不同水平下各因素对脚板薯皂苷提取率的影响。

1.2.3.2 Box - Behnken 试验设计。在单因素试验基础上, 利用 Box - Behnken 试验设计原理, 采用三因素三水平的响应面分析法, 以提取温度、提取时间、乙醇浓度为编码自变量, 以脚板薯皂苷提取率为响应值绘制响应面, 分析优化最佳提取条件。Box - Behnken 试验因素与水平设计如表 1 所示。

表 1 Box - Behnken 试验因素与水平设计

| 水平 | 因素 | | |
|----|------------|------------|------------|
| | A(提取温度/°C) | B(提取时间//h) | C(乙醇浓度//%) |
| -1 | 70 | 1.0 | 70 |
| 0 | 80 | 1.5 | 80 |
| 1 | 90 | 2.0 | 90 |

作者简介 刘媛洁 (1983 -), 女, 江西上饶人, 助教, 硕士, 从事预防医学营养方向研究。

收稿日期 2014-11-07

2 结果与分析

2.1 单因素试验结果

2.1.1 提取时间对脚板薯皂苷提取率的影响。由图1可知,随着提取时间的增加,脚板薯皂苷提取率明显升高,当提取时间达1.5 h时,脚板薯皂苷提取率达到最大值;继续增加提取时间,皂苷提取率反而有缓慢下降的趋势。综合考虑,选择提取时间范围为1.0~2.0 h。

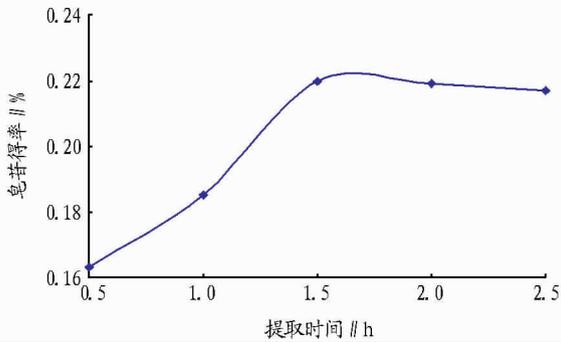


图1 提取时间对皂苷提取率的影响

2.1.2 提取温度对脚板薯皂苷提取率的影响。由图2可知,随着提取温度的增加,脚板薯皂苷提取率逐渐升高,当提取温度为80℃左右时,脚板薯皂苷提取率达到最大值;继续升高提取温度,皂苷提取率呈下降趋势。因此,选择提取温度范围为70~90℃。

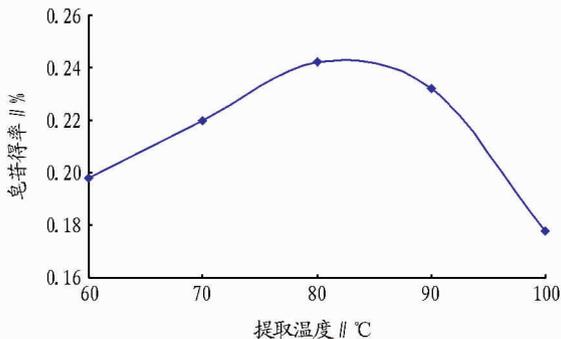


图2 提取温度对皂苷提取率的影响

2.1.3 乙醇浓度对脚板薯皂苷提取率的影响。由图3可知,随着提取溶液中乙醇浓度的增加,脚板薯皂苷提取率逐渐升高,当乙醇浓度为80%时,脚板薯皂苷提取率达到最大值;继续增加乙醇浓度,皂苷提取率反而下降。因此,选择乙

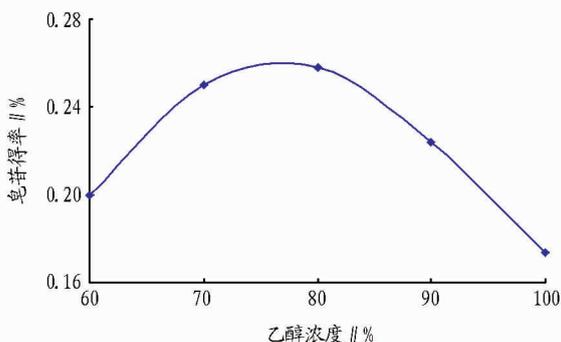


图3 乙醇浓度对皂苷提取率的影响

醇浓度范围为70%~90%。

2.1.4 料液比对脚板薯皂苷提取率的影响。从图4可看出,随着料液比的增加,脚板薯皂苷提取率逐渐升高,当料液比为1:30时,脚板薯皂苷提取率达到最大值;继续增大料液比,皂苷提取率基本保持不变。因此,确定最适宜料液比为1:30。

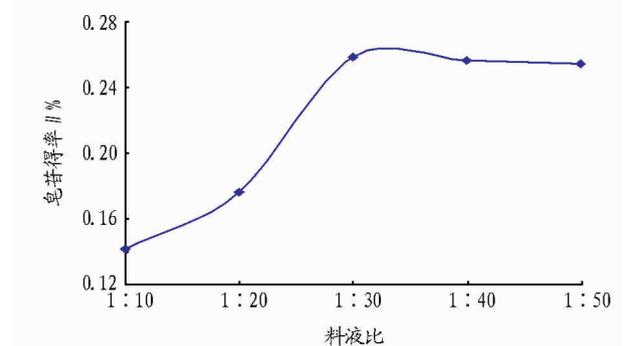


图4 料液比对皂苷提取率的影响

2.2 响应面试验结果 根据表2中的试验数据进行二次多项回归拟合,获得以脚板薯皂苷提取率为响应值对提取温度(A)、提取时间(B)和乙醇浓度(C)为编码自变量的二次多项回归方程为: $Y = 0.25 - 0.057A - 0.019B + 0.067C - 0.019AB - 0.035AC - 0.003BC - 0.120A^2 - 0.036B^2 - 0.036C^2$ 。

对该模型进行方差分析可得 $F_A = 42.06$ 、 $F_B = 4.55$ 、 $F_C = 57.68$ 、 $F_{AB} = 2.46$ 、 $F_{AC} = 7.70$ 、 $F_{BC} = 0.06$ 、 $F_A^2 = 97.46$ 、 $F_B^2 = 8.88$ 、 $F_C^2 = 8.88$ 、 $P_A = 0.0003$ 、 $P_B = 0.0703$ 、 $P_C = 0.0001$ 、 $P_{AB} = 0.1607$ 、 $P_{AC} = 0.0275$ 、 $P_{BC} = 0.8162$ 、 $P_A^2 < 0.0001$ 、 $P_B^2 = 0.0205$ 、 $P_C^2 = 0.0205$,由此可见,该试验所建立的二次多项模型具有高度的显著性($P_{Model} < 0.0001$),失拟项不显著,校正决定系数(r^2_{Adj})为0.9347,表明有约93.47%的脚板薯皂苷提取率的变化能由此模型进行解释;相关系数(r)为

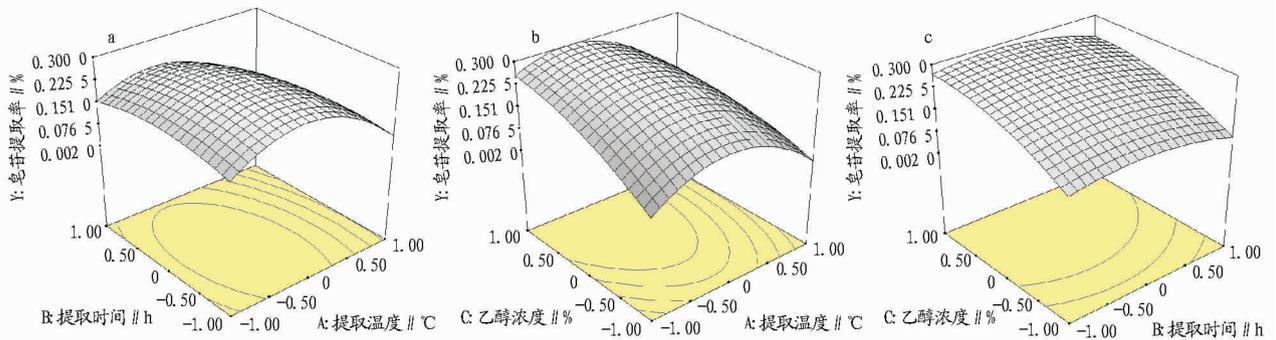
表2 响应面试验设计及结果

| 组别 | 提取温度 (A)/℃ | 提取时间 (B)/h | 乙醇浓度 (C)/% | 皂苷得率/% | |
|----|---------------|---------------|---------------|--------|-------|
| | | | | 试验值 | 预测值 |
| 1 | -1 | -1 | 0 | 0.150 | 0.153 |
| 2 | 1 | -1 | 0 | 0.063 | 0.078 |
| 3 | -1 | 1 | 0 | 0.169 | 0.154 |
| 4 | 1 | 1 | 0 | 0.004 | 0.001 |
| 5 | -1 | 0 | -1 | 0.059 | 0.052 |
| 6 | 1 | 0 | -1 | 0.026 | 0.007 |
| 7 | -1 | 0 | 1 | 0.236 | 0.255 |
| 8 | 1 | 0 | 1 | 0.065 | 0.072 |
| 9 | 0 | -1 | -1 | 0.125 | 0.129 |
| 10 | 0 | 1 | -1 | 0.076 | 0.097 |
| 11 | 0 | -1 | 1 | 0.290 | 0.268 |
| 12 | 0 | 1 | 1 | 0.229 | 0.225 |
| 13 | 0 | 0 | 0 | 0.243 | 0.252 |
| 14 | 0 | 0 | 0 | 0.290 | 0.252 |
| 15 | 0 | 0 | 0 | 0.230 | 0.252 |
| 16 | 0 | 0 | 0 | 0.256 | 0.252 |
| 17 | 0 | 0 | 0 | 0.242 | 0.252 |

0.971 4,表明脚板薯皂苷提取率的实测值与预测值之间的拟合优度较好,因此该模型可以预测以脚板薯皂苷提取率为响应值的实际情况。各自变量试验因素对响应值的影响分别为因素 A^2 对脚板薯皂苷提取率的线性效应高度显著 ($P_A^2 < 0.000 1$);因素 A (提取温度)、 C (乙醇浓度)、 B^2 、 C^2 对皂苷提取率的线性效应显著;因素 B (提取时间)对皂苷提取率的线性效应不显著,表明在前期单因素试验中已将提取时间选在一个较合适的区间,所以提取时间的变化影响已不显著;因素 AC 对脚板薯皂苷提取率的线性交互效应显著;因素 AB 、 BC 对脚板薯皂苷提取率的线性交互效应不显著。

由图 5 分析可知,乙醇浓度 (C) 对皂苷提取率的影响最

显著,表现为曲线较陡;提取温度和提取时间次之,各自变量对脚板薯皂苷提取率的影响为乙醇浓度 > 提取温度 > 提取时间。根据对脚板薯皂苷提取率的二次多项方程求解,得到最佳提取工艺条件为提取温度 (A) 76.30 °C、提取时间 (B) 1.49 h、乙醇浓度 (C) 89.96%,在此最佳条件下,脚板薯皂苷提取率理论上可达 0.299%。为了实际工艺控制的方便,将最佳工艺条件修正为提取温度 76 °C、提取时间 1.5 h、乙醇浓度 90%,在此条件下进行 3 组平行验证试验,实际测得皂苷提取率为 0.291%,与预测值之间有良好的拟合性,证实了模型的有效性,该二元多项回归方程为脚板薯皂苷的提取工艺提供了一个合适的模型。



注:a. 提取时间和提取温度交互影响;b. 提取温度和乙醇浓度交互影响;c. 提取时间和乙醇浓度交互影响。

图 5 各自变量交互影响皂苷提取率的曲面图

3 结论与讨论

该试验在单因素试验的基础上,运用三因素三水平的响应面分析法,以脚板薯提取率为响应值进行回归分析,建立了脚板薯中皂苷提取工艺的二次多项数学模型。通过对该模型方程的求解及其 3D 图的分析,获得了脚板薯皂苷的最佳提取工艺条件为提取温度 76 °C、提取时间 1.5 h、乙醇浓度 90%、料液比 1:30 (m/v),在此最佳条件下,脚板薯皂苷提取率为 0.291%。

参考文献

- [1] 徐成基. 中国薯蓣资源[M]. 成都:四川科技出版社,2000.
- [2] 陆国权,唐忠厚. 脚板薯花青素提取及其纯化技术研究[J]. 粮油食品科技,2006,14(1):34-35.
- [3] 裴鉴,丁志遵. 中国植物志(第十六卷,第一分册)[M]. 北京:科学出版社,1985:117-119.

- [4] 刘媛洁,余俏,张良. 脚板薯的研究进展[J]. 安徽农业科学,2013,41(24):9951-9953,9956.
- [5] 江苏新医学院. 中药大辞典[M]. 上海:上海科学技术出版社,1985:166-168.
- [6] MERKLI A, CHRISTEN P, KAPETANIDIS I. Production of diosgenin by hairy root cultures of *Trigonella foenum-graecum* L. [J]. Plant Cell Reports, 1997,16(9):632-636.
- [7] ONCINA R, BOTÍA J M, DEL RÍO J A, et al. Bio-production of diosgenin in callus cultures of *Trigonella foenum-graecum* L. [J]. Food Chemistry, 2000,70:489-492.
- [8] ONCINA R, DELROJ A, GMEZ P, et al. Effect of ethylene on diosgenin accumulation in callus cultures of *Trigonella foenum-graecum* L. [J]. Food Chemistry, 2002,76:475-479.
- [9] 徐皓. HPLC 法测定紫薯中薯蓣皂苷元的含量[J]. 食品科技,2013(6):317-319.

(上接第 12884 页)

- [13] 牛晓雪,董学会. ICP-AES 法对不同施肥、生长年限秦艽宏量和微量元素的测定[J]. 广东微量元素科学,2011,18(4):36-40.
- [14] 汪树理,王继龙,王卓超,等. 黑水银莲花微量元素的微波高压消解-原子吸收法测定[J]. 时珍国医国药,2014,25(3):560-561.
- [15] 陈晓红,徐玲. 四种药食两用野菜中微量元素的火焰原子吸收光谱法测定[J]. 时珍国医国药,2013,24(2):322-323.
- [16] 何佩雯,杜钢,赵海誉,等. 微波消解-石墨炉原子吸收光谱法测定 9 种中药材中微量元素含量[J]. 药物分析杂志,2010,30(9):1707-1711.
- [17] 杨伟,柴烨,高克立. 兰州百合中铅、镉含量测定[J]. 中国中医药信息杂志,2014,21(5):83-85.
- [18] 陈丽,曾艳霞,沙鸥,等. 雪莲果中多种微量元素含量的测定[J]. 江苏农业科学,2013,41(11):326-328.

- [19] 张慧,林小凤,刘嘉,等. 七叶莲中微量元素含量的电感耦合等离子体光谱法测定[J]. 时珍国医国药,2013,24(12):2894-2895.
- [20] 周学忠,谢华林. ICP-MS 法测定西洋参中微量元素[J]. 食品科学,2013,34(10):207-210.
- [21] 王知斌,武立华,刘秀,等. HPLC 法测定不同产地赤芍中芍药苷的含量及重金属和残留农药的分析[J]. 中医药信息,2013,30(5):58-61.
- [22] 卿德刚,郭伟,倪慧,等. 新疆秦艽、天山秦艽无机元素和氨基酸含量分析[J]. 新疆中医药,2009,27(4):47-48.
- [23] 张兴旺,赵晓辉,文怀秀,等. 微波消解-FAAS 法测定不同地区秦艽花中微量元素的含量[J]. 广东微量元素科学,2010,7(3):37-41.
- [24] 赵晓辉,岳会兰,梅丽娟,等. 微波消解-FAAS 法测定秦艽中 8 种微量元素含量[J]. 光谱实验室,2010,27(5):1864-1867.
- [25] 张兴旺,陶燕铎,梅丽娟,等. 石墨炉原子吸收光谱法测定不同地区秦艽花中铅和镉的含量[J]. 光谱实验室,2010,27(5):1810-1813.