

# 星点设计-效应面优化广西莪术挥发油的提取工艺\*

## Central Composite Design-Response Surface Methodology on the Extraction Process of *Curcuma kwangsiensis*

刘华钢<sup>1</sup>,成晓静<sup>1</sup>,叶月华<sup>2</sup>,赖茂祥<sup>3</sup>

LIU Hua-gang<sup>1</sup>,CHENG Xiao-jing<sup>1</sup>,YE Yue-hua<sup>2</sup>,LAI Mao-xiang<sup>3</sup>

(1. 广西医科大学,广西南宁 530021;2. 广西中医学院,广西南宁 530001;3. 广西中医药研究院,广西南宁 530022)

(1. Guangxi Medical University, Nanning, Guangxi, 530021, China; 2. Guangxi Traditional Chinese Medical University, Nanning, Guangxi, 530001, China; 3. Guangxi Institute Chinese Medicine and Pharmaceutical Science, Nanning, Guangxi, 530022, China)

**摘要:**采用星点设计-效应面优化方法研究广西莪术 (*Curcuma kwangsiensis* S. G. Lee et C. F. Liang)挥发油的提取工艺,星点设计中的考察因素为加水倍量和提取时间,用水蒸气蒸馏法提取挥发油,以总挥发油的体积作为评价指标,对各因素的各水平进行二项式拟合,按二项式描绘三维效应面,从三维效应面上选取对总挥发油的体积较佳的实验条件。结果二项式拟合复相关系数较好,  $r = 0.98157$ ,最佳提取工艺为:加水8倍,提取时间6.5h。依最佳条件提取的挥发油体积为0.742ml,与理论预测值的偏差为-1.45%。星点设计-效应面优化法对提取广西莪术挥发油的实验指标具有较好的优选性和预测性。

**关键词:**提取工艺 挥发油 广西莪术 星点设计-效应面法

中图分类号:R284.2 文献标识码:A 文章编号:1005-9164(2009)03-0307-03

**Abstract:** We obtain the optical volatile oil extraction of *Curcuma kwangsiensis* by Central Composite Design-Response Surface Methodology. Independent variables of the experimental design were water volume and extraction time. The essential oil were obtained by steam distillation. The volumes of the volatile oil were used as estimation index, and linear or nonlinear mathematic models were used to estimate the relation between independent and dependent variables. The bulk of the volatile oil were fitted to a second-order Polynomial equation, surface graphs were produced. Optimum experimental conditions were selected from the stationary point of the response surfaces. The coefficient of correlation of second-order quadratic model was high. It reached 0.98157. The optimum condition was 8 times amount of water, and extraction time was 6.5 hours. The volumes of the volatile oil were 0.742. Bias between observed and predicted values were -1.45%. It shows that the optimum model is highly predictive.

**Key words:** extraction process, volatile oil, *Curcuma kwangsiensis*, Central Composite Design-Response Surface Methodology

广西莪术为姜科姜黄属植物广西莪术 (*Curcuma*

*kwangsiensis* S. G. Lee et C. F. Liang)的干燥根茎,是广西的道地药材,具有破瘀行气、消积止痛之功效<sup>[1]</sup>。中医常用于治疗肿瘤痞块。现代药理学研究亦表明,莪术挥发油具有直接抑制、破坏癌细胞、增强免疫激活、调节免疫、升高白细胞等作用,是莪术治疗肿瘤的有效物质基础<sup>[2]</sup>。与许多化学抗肿瘤药物相比,莪术

收稿日期:2009-02-16

修回日期:2009-05-18

作者简介:刘华钢(1956-),女,教授,博士生导师,主要从事中药新剂型、新制剂及中药药理作用机制研究。

\* 广西科学基金项目(编号:桂科基础 0575060)资助。

提取物无致突变性,在临床应用中是安全可靠的抗肿瘤中药。

在工艺优化和处方筛选过程中,国内常用均匀设计和正交设计进行优化,但是这两种方法实验精度不够,建立的数学模型预测性较差。国外近年来常用集数学和统计学方法于一体的效应面优化法(RSM)进行优化,实验设计采用星点设计(CCD)<sup>[3]</sup>,其应用已比较成熟,而且特点鲜明。本实验利用星点设计-效应面优化方法对广西莪术挥发油的提取工艺进行研究。

## 1 实验材料和方法

### 1.1 实验材料

广西莪术(青塘种,2006年12月采自广西钦州)药材经广西中医药研究院赖茂祥研究员鉴定为为姜科姜黄属植物广西莪术(*Curcuma kwangsiensis* S. G. Lee et C. F. Liang)。

实验仪器主要有挥发油提取器和SS260-13型搅拌机。

### 1.2 实验方法

本实验采用水蒸气蒸馏法<sup>[4]</sup>为提取挥发油的方法,其考察提取的因素常为加水量、提取时间、药材粒度。因为星点设计中考察的影响因素必须是连续性变量的因素,加水量和提取时间符合星点设计条件要求,而药材粒度为非连续性变量,故不能作为星点设计的考察因素。经过药材粒度的单因素预实验,我们发现搅碎后提取效果比切片、切丁好,根据预实验确定加水倍量范围为4~8倍,提取时间为5~9h,采用星点设计两因素表安排实验, $r = (2^2)^{1/4} = 1.414$ ,水平的安排遵循任意两物理量之间的差值与对应的代码之间的差值成比例原则。如以 $X_1$ 为例代码-1所对应的物理量 $n$ 的求值为: $(n-4)/(8-4) = [-1 - (-1.414)]/[+1.414 - (-1.414)]$ , $n = 4.59$ 。依次类推,两个因素的取值如表1、实验设计如表2所示。

### 1.3 实验步骤

取广西莪术新鲜样品1.5kg,去皮后切块,用搅拌机搅碎均匀(约 $1\text{mm}^3$ ),精密称取100g作为1份。以1号实验为例,将1份药材与4.59倍量的水置于1000ml烧瓶中,加入沸石数粒,振摇混匀,连接挥发油测定器与回流冷凝管。按2005版药典(一部)附录XD挥发油测定方法进行测定:自冷凝管上端加水使充满挥发油测定器的刻度部分,并溢流入烧瓶时为止。用电炉缓缓加热至沸,并保持微沸时间为4.73h,停止加热,放置1h,开启测定器下端的活塞,将水缓缓放出,收集挥发油于离心管中,用移液管量取其体

积。其它实验号过程相同。经过11次实验得挥发油体积如表2所示。

表1 两个考察因素的代码水平及对应物理量

Table 1 Two code levels of study factors and the corresponding physical quantity

水平 Levels	因素 Factors		
	对应代码值 Corresponding codes	溶剂倍数 Solvent multiples (n, $X_1$ )	提取时间 Extraction time (h, $X_2$ )
1	-1.414	4	4
2	-1	4.59	4.73
3	0	6	6.5
4	+1	7.41	8.27
5	+1.414	8	9

表2 星点设计实验及效应值

Table 2 Experiment table and response values of central composite design

实验号 Experiment number	$X_1$	$X_2$	加水倍数 Solvent multiples	提取时间 Extraction time(h)	挥发油体积 Volatile oil volume(ml)
1	-1	-1	4.59	4.73	0.552
2	+1	-1	7.41	4.73	0.681
3	-1	+1	4.59	8.27	0.703
4	+1	+1	7.41	8.27	0.751
5	0	-1.414	6	4	0.593
6	0	+1.414	6	9	0.754
7	-1.414	0	4	6.5	0.675
8	+1.414	0	8	6.5	0.753
9~11	0	0	6	6.5	0.725

### 1.4 数据处理

用计算机 Statistica 6.0 统计软件进行数据处理。本实验的多元线性回归拟合方程为: $y = 0.328855 + 0.031725X_1 + 0.025396X_2$ , $r = 0.92046$ , $F_{(2,6)} = 16.640$ , $P < 0.00356$ ;多元非线性回归拟合方程为: $y = -0.56994 + 0.210325X_1 + 0.144028X_2 - 0.01000X_1^2 - 0.005498X_2^2 - 0.00810X_1X_2$ , $r = 0.98157$ 。多元线性回归方程具有显著性,但是两个影响因素与得油量指标之间的线性关系不够理想,方程预测性不好,因此未通过检验。多元非线性回归方程中第二项有显著性,故本实验以此方程作为分析及模型的预测,未将模型进一步简化,用效应面来反映最佳区域。

## 2 结果

从三维效应面(图1)分析得出,在0.75处的区域里是最佳结果的区域。结合效应面及考虑能源和成

本等方面,将提取工艺定为8倍水,提取6.5h。经过3次验证实验,实际测平均值为0.742,与理论预测值的偏差为-1.45%,表明此二次回归模型方程结合效应面具良好的预测性,在工艺研究中值得推广。

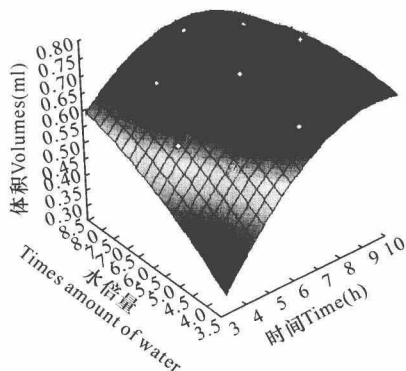


图1 水倍量和提取时间对挥发油体积影响的三维效应面

Fig.1 Solvent multiples and extraction time on the volume of the impact of volatile oil of three-dimensional image

■ 0.75; ■ 0.65; □ 0.55; ■ 0.45; □ 0.35.

### 3 讨论

广西莪术挥发油中含有倍半萜类成分,易溶于有机溶剂,不溶于水,在干燥过程中极易使有效成分损失或破坏,传统提取方法为水蒸汽提取法。王地等<sup>[5]</sup>采用正交实验设计发现药材的粉碎度、加水量和提取时间对挥发油的提出率均有显著影响,适当粉碎并增加水量,可以提高挥发油的提取率,并缩短蒸馏时间。本试验利用莪术新鲜品对挥发油进行提取,减少了蒸、煮等加工炮制的环节,使挥发油的得率大大地得以提高。

本试验采用了星点设计,充分考虑到各因素间的相互的作用,而且设计方法简单,实验次数少,在中心点进行重现性实验以提高实验精度。同时采用非线性数学模型拟合,复相关系数较高,可信度较好,预测值

更接近真实值。正交设计是目前国内较常用的提取工艺设计方法,但是预测性不如星点设计法;均匀设计虽然也能进行回归处理,但是试验次数太少,文献报道回归结果多为线性模型,不能纳入效应面设计;星点设计实验所得的信息量更大,更直观,更适合于探索性的试验研究。

有关莪术成分的报道,多数认为莪术醇、吉马酮等是其主要成分。目前市场上的常用的蒸、煮等炮制方法对莪术的化学成分有所破坏。文献<sup>[6]</sup>证实,莪术醇在高温条件下可以和莪术二酮发生互变异构,而吉马酮在高温下也能转化为 $\beta$ -榄烯酮,故在进行实验条件筛选的时候要严格控制操作温度,尽量避免其含量和成分受到破坏。

### 参考文献:

- [1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典(2005年版一部)[M]. 北京:化学工业出版社,2005:194-195.
- [2] 冯磊,尹光耀,敖宗华,等. 莪术挥发油的提取研究及临床意义[J]. 江苏医药杂志,2003,28(7):544.
- [3] 吴伟,崔光华. 星点设计-效应面优化法及其在药学中的应用[J]. 国外医学药学分册,2000,27(5):292-298.
- [4] 许睿,韦松. 20年来中药化学成分提取分离技术的进展[J]. 中成药,2006,28(11):1646-1651.
- [5] 王地,关怀,于萍,等. 莪术挥发油提取工艺的研究[J]. 中国实验方剂学杂志,2007,13(10):20-21.
- [6] Yang F Q, Li S P, Zhao J, et al. Optimization of GC-MS conditions based on resolution and stability of analyses for simultaneous determination of nine sesquiterpenoids in three species of *Curcuma rhizomes* [J]. Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis, 2006(6):5905-5914.

(责任编辑:邓大玉)

## 菲律宾发现巨型食肉猪笼草

最近生物学家在菲律宾一处山峰发现一种罕见的巨型“食肉”植物。这种植物是以前从未发现的猪笼草新品种,其形状体态宛如一个诱捕昆虫的陷阱,它的瓶状叶可以捕食昆虫等动物,甚至可以把老鼠给“吃”掉。发现的巨型食肉猪笼草是处于山峰的顶部,海拔大约1600m处,周围森林变得稀少,出现了灌木丛和大石头。生物学家把这种巨型猪笼草标本添加到菲律宾巴拉望州立大学的植物标本集里,并把这种猪笼草以英国自然节目主持人、自然历史学家大卫·爱登堡名字命名。这种植物目前还没有大量生长,其所处的边远山区很少有人涉足,暂时还能够防止侵入者对它进行破坏。

(据科学网)