

# 响应面法优化莽草酸微波辅助提取工艺

姚菁华 肖 雷 李慧蓉 吕小妹  
(中国矿业大学 化工学院, 江苏 徐州 221116)

**摘 要:** 为优化八角茴香中莽草酸的微波提取工艺,在单因素实验基础上,选择微波提取时间、微波功率、液料比(mL/g)为自变量,莽草酸得率作为响应值,采用中心组合设计的方法,研究各自变量及其交互作用对莽草酸提取的影响。采用响应面分析软件,模拟得到二次多项式回归方程的预测模型,并确定微波提取最佳工艺条件为时间 19 min、微波功率 614 W、液料比 17.3:1。在此条件下,莽草酸的平均得率为 3.03%。

**关键词:** 莽草酸; 八角茴香; 微波提取; 响应面分析

**中图分类号:** O658

## 引 言

莽草酸是一种脂肪族有机酸,1885 年由 Eykman 首次从莽草中分离出来。经过 100 多年的研究,科学家发现莽草酸在医药行业中有很大的应用价值,其不但具有较强的镇痛和抑制血小板聚集作用,而且是抗癌药物中间体<sup>[1-3]</sup>。特别是近年来,泰国、越南等多个国家禽流感的爆发,导致治疗药物“达菲”产量明显不足,而生产“达菲”的中间体莽草酸就显得尤为重要<sup>[4]</sup>。

莽草酸存在多种植物中,如无花果、银杏、八角茴香等,尤以八角茴香中含量相对较多,达 10%<sup>[5]</sup>。目前,八角茴香中莽草酸的提取方法主要有浸泡法、回流提取等传统方法,提取效率较低、操作繁琐。近来也有用超声法提取,但超声波法对设备的要求较高,不易实现工业化生产<sup>[6]</sup>。而微波辅助提取具有强力、瞬时、高效的特点,已被应用于植物成分的提取<sup>[7-9]</sup>。

响应面分析方法是 Box 等人提出的一种优化反应条件和加工工艺参数的有效方法<sup>[10]</sup>。本文将微波辅助提取技术应用于莽草酸的提取工艺,通过响应面法优化提取莽草酸的最佳工艺条件,为微波

提取莽草酸的工业化生产提供实验数据。

## 1 实验部分

### 1.1 仪器与试剂

#### 1.1.1 实验原料

甲醇、丙酮、乙酸乙酯,分析纯,上海苏懿化学试剂有限公司;莽草酸对照品(纯度 $\geq 98\%$ ),成都天然产物研究所。

#### 1.1.2 实验仪器

WG800 格兰仕微波炉,格兰仕微波炉电器有限公司;UV-9100 紫外可见分光光度计,尤尼柯(上海)仪器有限公司。

### 1.2 标准曲线的绘制

精确称取 5.0 mg 莽草酸对照品于 25 mL 容量瓶中,以甲醇溶解,定容至刻度,得 0.2 mg/mL 莽草酸标准溶液。精确吸取 0, 0.2, 0.4, 0.6, 0.8, 1.0 mL 莽草酸标准溶液,分别置于 10 mL 容量瓶中,甲醇定容至刻度,以 213 nm 测得的吸光度  $Y$  对浓度  $X$  回归,得回归方程:  $Y = 32.384X + 0.0018$ ,  $r = 0.9924$ 。

### 1.3 莽草酸得率测定

莽草酸得率为提取得到的莽草酸质量与称取的八角茴香样品质量的比值。

### 1.4 单因素试验对莽草酸提取条件的优化

微波作用时间(即提取时间)为 1, 5, 10, 15, 20 min 5 个水平;液料比为 10:1, 15:1, 20:1, 25:1, 30:1 5 个水平;微波功率为 800, 640, 480, 320, 160 W 5 个水平分别进行单因素试验,试验均进行 3 次,取平均值。

收稿日期: 2009-03-04

基金项目: 国家“973”计划(2007CB210205);徐州市社会发展基金(xj08086);中国矿业大学大学生科研训练基金(080603)

第一作者: 女, 1974 年生, 博士生

E-mail: jinghuay@163.com

### 1.5 响应面法对莽草酸微波提取条件的优化

综合单因素试验结果,应用 Box-Behnken 中心组合进行 3 因素 3 水平的试验设计(取  $\alpha = 2$ ),响应面法对八角茴香中莽草酸的微波提取条件进行优化。试验因素和水平见表 1。

表 1 响应面分析因子及水平表  
Table 1 Factors and levels of RSM analysis

水平	$Z_1$ 提取时间/min	$Z_2$ 液料比/mL·g <sup>-1</sup>	$Z_3$ 微波功率/W
-1	10	10:1	320
0	15	15:1	480
+1	20	20:1	640

## 2 结果与讨论

### 2.1 微波提取过程的单因素试验

#### 2.1.1 提取时间对莽草酸得率的影响

液料比为 15:1(mL/g),微波功率 640 W,改变微波作用时间,测定结果如图 1 所示。由图 1 可以看出,在 15 min 内随着提取时间的延长,得率随之增加;15 min 后莽草酸得率出现缓慢下降,这主要是由于微波在 15 min 内对细胞膜的破坏作用较大,溶出物多,得率也高。超过 15 min 后,莽草酸得率略有下降,因此选择提取 15~20 min 左右为宜。

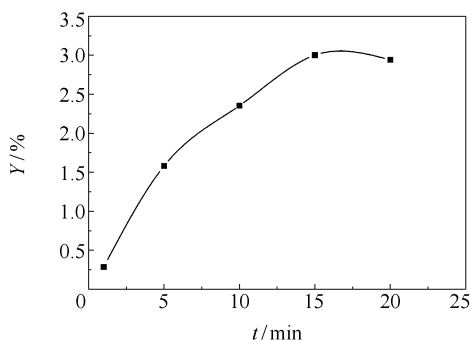


图 1 提取时间对莽草酸得率的影响

Fig. 1 Effect of extracting time on extraction yield of shikimic acid

#### 2.1.2 液料比对莽草酸得率的影响

微波功率 640 W,作用时间 15 min,改变液料比,测定结果如图 2 所示。由图 2 可以看出,随着液料比值的增大,加快整个溶媒的传质过程,得率会明显的提高,但当液料比大于 15:1 时,莽草酸得率增加的幅度不大,而且液料比过大,溶剂用量和下一步浓缩工艺的能耗都会增加,因此,本试验选择的料液

比在 15:1 左右比较合适。

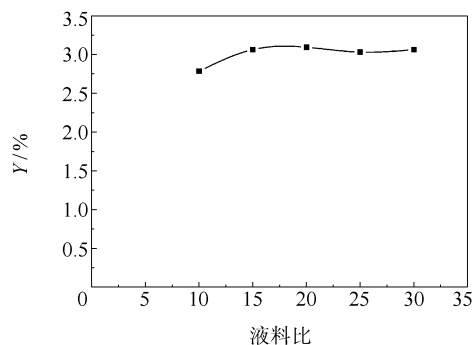


图 2 液料比对莽草酸得率的影响

Fig. 2 Ratio of liquid to solid on extraction yield of shikimic acid

#### 2.1.3 微波功率对莽草酸得率的影响

液料比为 15:1(mL/g),微波作用时间 15 min,改变微波功率,测定结果如图 3 所示。由图 3 可以看出,改变微波功率对莽草酸提取有一定的影响。微波加热使细胞内液态水气化产生压力,冲破细胞膜和细胞壁形成微小孔洞,有利于细胞内莽草酸的溶出<sup>[9]</sup>。微波功率过大,细胞受热加剧,部分莽草酸的结构会破坏。本试验选择提取微波功率以 480 W 左右为宜。

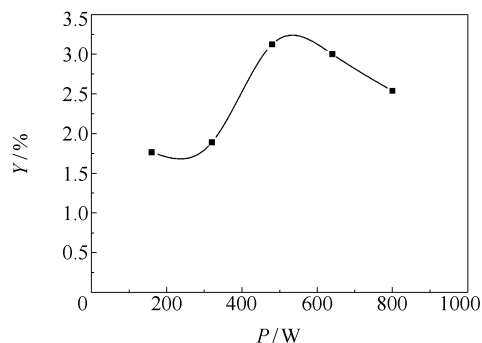


图 3 微波功率对莽草酸得率的影响

Fig. 3 Microwave power on extraction yield of shikimic acid

### 2.2 响应面分析法优化工艺条件

#### 2.2.1 响应面分析方案

在单因素试验基础上,以  $X_1 = (Z_1 - 15)/5$ ,  $X_2 = (Z_2 - 15)/5$ ,  $X_3 = (Z_3 - 480)/160$  为自变量,以莽草酸得率(Y)为响应值,进行响应面分析实验,结果见表 2。

#### 2.2.2 方差分析

采用 Design expert 程序对所得数据进行回归分析,回归分析结果见表 3。从表 3 中可以看出,方

差分析结果中  $X_1$ ,  $X_3$ ,  $X_1X_2$  和  $X_2^2$  项影响显著,说明各个具体试验因子与响应值都不是简单的线性关系。

表2 响应面分析方案与试验结果

Table 2 The experiment design and results of RSM

实验号	$X_1$	$X_2$	$X_3$	$Y/\%$	实验号	$X_1$	$X_2$	$X_3$	$Y/\%$
1	-1	-1	0	2.149	9	-1	0	-1	2.108
2	-1	1	3	2.507	10	1	0	-1	2.778
3	1	-1	0	3.001	11	-1	0	1	2.794
4	1	1	0	2.415	12	1	0	1	3.145
5	0	-1	-1	2.203	13	0	0	0	2.832
6	0	-1	1	0.477	14	0	0	0	2.711
7	0	1	-1	2.346	15	0	0	0	2.903
8	0	1	1	3.064					

表3 回归分析结果

Table 3 Results of regression analysis

方差来源	平方和	自由度	均方	F 值	p 值	显著性
模型	1.47	9	0.16	5.73	0.0345	*
$X_1$	0.40	1	0.40	13.91	0.0136	*
$X_2$	0.032	1	0.032	1.10	0.3413	
$X_3$	0.52	1	0.52	18.34	0.0078	**
$X_1X_2$	0.22	1	0.22	7.81	0.0382	*
$X_1X_3$	0.025	1	0.025	0.89	0.3882	
$X_2X_3$	0.049	1	0.049	1.73	0.2457	
$X_1^2$	0.012	1	0.012	0.42	0.5466	
$X_2^2$	0.21	1	0.21	7.49	0.0409	*
$X_3^2$	0.010	1	0.010	0.35	0.5777	
失拟性	0.12	3	0.041	4.38	0.1916	

\*\*  $p=0.01$  上显著; \*  $p=0.05$  上显著

### 2.2.3 拟合模型的建立

对表2数据进行回归拟合,确立如下回归方程预测模型:

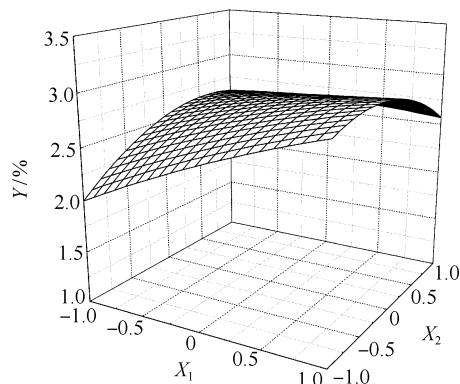
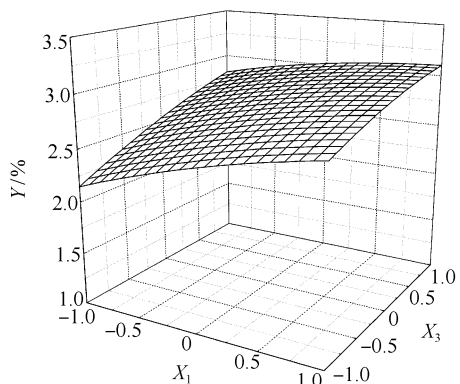
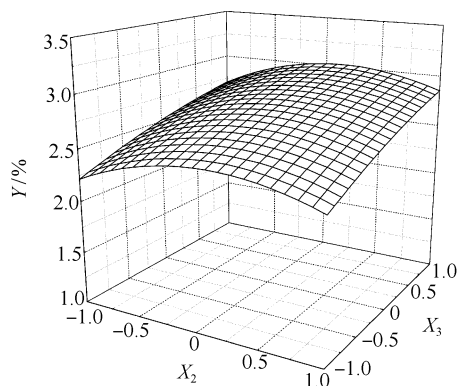
$$Y = 2.8153 + 0.2226X_1 + 0.0628X_2 + 0.2556X_3 - 0.2360X_1X_2 - 0.0798X_1X_3 + 0.0111X_2X_3 - 0.0568X_1^2 - 0.2405X_2^2 - 0.0523X_3^2$$

该模型的  $R^2=0.912$ ,此模型与实际试验拟合较好,试验失拟项小,因此可用该回归方程代替试验真实点对实验结果进行分析。

### 2.2.4 交互作用分析

图4~6直观的给出了各个因素交互作用的响

应面图。可以看出,  $X_1$ (提取时间)、 $X_3$ (微波功率)对响应值的影响较大,表现为曲线比较陡,这与回归分析的结果吻合。

图4  $Y=f(X_1, X_2)$ 的响应面图Fig.4 Responsive surface of  $Y=f(X_1, X_2)$ 图5  $Y=f(X_1, X_3)$ 的响应面图Fig.5 Responsive surface of  $Y=f(X_1, X_3)$ 图6  $Y=f(X_2, X_3)$ 的响应面图Fig.6 Responsive surface of  $Y=f(X_2, X_3)$ 

### 2.2.5 最优工艺验证

由 Design expert 分析得到最大响应值(Y)时

$X_1, X_2, X_3$  对应的编码值分别为  $X_1 = 0.93, X_2 = 0.46, X_3 = 0.84$ 。与其相对应的莽草酸的最佳提取条件为：时间 19 min、液料比 17.3:1、微波功率 614 W，莽草酸得率为 3.01%。在最佳提取工艺条件下进行提取验证试验，重复 3 次，取平均值，莽草酸的得率为 3.03%，与优化目标值很接近。

### 3 结 论

(1) 在单因素试验的基础上，将响应面法应用于优化莽草酸的微波提取条件。建立了数学回归模型  $Y = 2.8153 + 0.2226X_1 + 0.0628X_2 + 0.2556X_3 - 0.2360X_1X_2 - 0.0798X_1X_3 + 0.0111X_2X_3 - 0.0568X_1^2 - 0.2405X_2^2 - 0.0523X_3^2$ 。本模型能较准确地预测莽草酸的提取率。

(2) 提取时间对莽草酸微波提取的影响最大。通过响应面优化得到莽草酸的最优提取条件为：萃取时间 19 min、微波功率 614 W、液料比 17.3:1，莽草酸的平均得率为 3.03%。

#### 参考文献：

- [1] 李伟, 杨旭. 八角茴香及其提取物莽草酸的研究进展[J]. 中国调味品, 2008(1): 24-28.
- [2] 马怡, 孙建宁, 徐秋萍, 等. 莽草酸对血小板和凝血的抑制作用[J]. 药学报, 2000, 35(1): 1-3.
- [3] Hirono I, Fushimi K, Matsubara N. Carcinogenicity Test of Shikimic Acid in Rats[J]. Toxicology Letters, 1977(1): 9-10.
- [4] 向莉, 李盾. 达非的主要合成中间体莽草酸获得的新进展[J]. 中国医药导报, 2006, 3(6): 51-52.
- [5] Payne R, Edmonds M. Isolation of Shikimic Acid from Star Aniseed[J]. Journal of Chemical Education, 2005, 82(4): 599-600.
- [6] 逯家辉, 王迪, 郭伟良, 等. 响应面法优化八角茴香中莽草酸超声波提取工艺研究[J]. 林产化学与工业, 2008, 28(1): 87-91.
- [7] 谢明勇, 陈奕. 微波辅助萃取技术研究进展[J]. 食品与生物技术学报, 2006, 25(1): 105-114.
- [8] 林海禄, 彭雪娇, 罗明标, 等. 微波辅助提取八角茴香中莽草酸的工艺研究[J]. 食品工业科技, 2007, 28(3): 137-139.
- [9] 牟番松, 罗猛, 付玉杰, 等. 正交实验优化长春碱微波辅助提取工艺[J]. 化学工程, 2008, 36(7): 62-65.
- [10] 张大皓, 谭天伟, 王炳武. 响应面试验设计优化脂肪酶发酵培养基[J]. 北京化工大学学报: 自然科学版, 2006, 33(2): 41-45.

## Optimization of microwave assisted extraction process of shikimic acid by response surface analysis methodology

YAO JingHua XIAO Lei LI HuiRong LV XiaoMei

(School of Chemical Engineering and Technology, China University of Mining & Technology, Xuzhou Jiangsu 221116, China)

**Abstract:** To optimize the microwave-assisted extraction(MAE) of shikimic acid from *Illicium verum* Hook. f, on the base of single-factor experiment, the extraction time, microwave power and the liquid to solid ratio were studied with the central composite design and their interactions on the yield of shikimic acid were also investigated. The predictive polynomial quadratic equations model was developed by response surface methodology(RSM) software. The optimum extraction condition was obtained as follows: extraction time 19 min, microwave power 614 W and liquid to solid ratio 17.3:1. Under the optimized operating conditions, the extraction rate of shikimic acid is 3.03%.

**Key words:** shikimic acid; *Illicium verum* Hook. f.; microwave extraction; response surface analysis