

响应面法优化微波辅助提取姜黄中姜黄素工艺的研究

王丽娜,李坚柱,刘彩琴*

(浙江树人大学生物与环境工程学院,浙江杭州 310015)

摘要:采用微波辅助提取技术提取姜黄中的姜黄素,以姜黄素提取率为指标,通过响应面优化实验,考察了料液比、处理时间、微波功率、乙醇浓度等因素对提取率的影响。结果表明,微波提取的最佳工艺参数是:料液比为1:43、微波功率为540W,处理时间为30s,溶剂为73%乙醇溶液,在此参数下,姜黄素提取率为0.2045%。

关键词:姜黄素,微波辅助提取,响应面法

Optimization of microwave-assisted extraction of curcumin from turmeric by response surface methodology

WANG Li-na, LI Jian-zhu, LIU Cai-qin*

(College of Biology and Environment Engineering, Zhejiang Shuren University, Hangzhou 310015)

Abstract: The optimization of extraction technology of curcumin from turmeric with microwave-assisted method was examined by curcumin yield, using ethanol as extracting solvent based on response surface methodology. Results showed that the optimum microwave extraction parameters were: solid-liquid ratio of 1:43, microwave power for 540W, microwave treatment time for 30s and solvent 73% ethanol solution. Under these conditions, curcumin yield was 0.2045%.

Key words: curcumin; microwave-assisted extraction; response surface methodology

中图分类号: TS202.3

文献标识码: B

文章编号: 1002-0306(2012)20-0248-04

姜黄素(curcumin)是从姜科(Zingiberaceae)植物的根茎中提取的具有生物活性功能的天然化合物^[1],广泛应用于食品^[2]、药品中^[3-5]。近年来研究表明,姜黄素在高温、强酸、强碱或强光环境中稳定性较差^[6],如受热分解为香兰素、阿魏酸和香草酸^[7],致使生物活性降低。因此,合适的提取工艺对姜黄素的应用至关重要。姜黄素的提取工艺有醇提法、酸碱提取法、酶法、水杨酸钠法、超临界CO₂萃取法等。酸碱法所得的姜黄素产品性质不稳定,并且碱提取过程中会溶出大量淀粉,影响下一步的精制,而且姜黄素收率较低;酶法提取需与碱法提取相结合,而且反应条件及碱提条件控制较难,不宜在生产中推广应用;水杨酸钠法提取较简单,所得产品纯度高,但总转移率在30%以下,难以达到工业化生产的要求;超临界CO₂萃取法生产成本低,也不宜在生产中推广;唯有乙醇提取法工艺简单,反应条件易于控制,环境友好,容易在生产中推广应用^[8]。微波辅助提取技术(MAE)因能提供特殊形式的能量,使浸取浓度、浸取率和浸取效率有显著提高^[9]。本实验研究以姜黄素提取率为指

标,以乙醇为溶剂,优化了微波辅助提取姜黄中姜黄素的工艺参数,以期为进一步拓展姜黄素的生产及在食品工业中的应用提供一定的理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

姜黄 购自杭州回春堂药店;姜黄素标准品 上海三爱思试剂有限公司;其他试剂 均为国产分析纯。

WD900BS型格兰仕微波炉;台式高速冷冻离心机 Biofuge Primo R;FW100型高速万能粉碎机 天津市泰斯特仪器有限公司;UV-124型紫外-可见分光光度计 日本岛津;PL303型电子分析天平 梅特勒-托利多仪器(上海)有限公司。

1.2 实验方法

1.2.1 提取方法 姜黄片磨粉过80目筛,准确称取1.000g姜黄粉末于100mL烧杯中,加入乙醇溶液,在不同微波功率下辐射,提取,再将提取液3000r/min离心10min,取上清液定容至50mL,吸取2mL稀释至10mL,用紫外-分光光度计测定在一定波长处的吸光度,根据标准曲线计算提取液中姜黄素的含量。

1.2.2 姜黄素含量及提取率测定方法

1.2.2.1 标准曲线的制备 精确称量分析纯姜黄素1.000g,用无水乙醇溶于100mL容量瓶中,定容,即为标准溶液。取标准溶液做全波长扫描,然后分别取标准溶液0.10、0.20、0.30、0.40、0.50mL,加75%乙醇定

收稿日期:2012-07-03 * 通讯联系人

作者简介:王丽娜(1990-),女,本科,研究方向:食品科学与工程。

基金项目:浙江省优秀青年教师资助计划和浙江树人大学生物与环境工程学院实验室开放项目。

容至100mL,在425nm测其紫外吸收光度值。以吸光度为纵坐标,浓度为横坐标,建立标准曲线。

1.2.2.2 姜黄素提取率计算方法 按照1.2.1所述的方法得到待测液,以75%乙醇作参比,在一定的波长下测定样品溶液的吸光度,利用回归方程得出样品溶液姜黄素的浓度,按以下公式计算提取物中的姜黄素含量及提取率。

姜黄素含量=样品溶液姜黄素的浓度(mg/mL)×浸提液的稀释倍数×浸提液总体积(mL)

姜黄素提取率(%)=姜黄素含量(g)/药材质量(g)×100

1.3 提取工艺的优化方法

1.3.1 Plackett-Burman实验设计 根据影响姜黄素提取率的各参数的单因素考察结果^[10],在优化初期利用Plackett-Burman设计法,以料液比(X_1)、微波时间(X_2)、微波功率(X_3)、乙醇浓度(X_4)为实验因子,以姜黄素提取率为指标,确定关键影响因素,实验设计见表1。

表1 Plackett-Burman 实验设计试验因子及编码值

Table 1 The coded and uncoded values of factors in Plackett-Burman design

因子	水平		
	-1	0	+1
料液比(W:V, X_1)	1:30	1:40	1:50
微波时间(s, X_2)	20	30	40
微波功率(W, X_3)	360	540	720
乙醇浓度(%, X_4)	65	75	85

1.3.2 中心组合实验设计 在Plackett-Burman实验的基础上,根据Box-Behnken的中心组合实验设计原理,选取料液比(X_1)、乙醇浓度(X_4)为实验因子,以姜黄素提取率为实验指标,设计中心组合实验,其水平编码表见表2。

表2 中心组合实验因子及编码值

Table 2 Levels of variables used in the Central Composite design

因子	水平				
	-1.414	-1	0	+1	+1.414
料液比(W:V, X_1)	18.8	25	40	55	61.2
乙醇浓度(%, X_4)	53.8	60	75	90	96.2

1.4 数据处理

所有的实验数据均为三个重复的平均值,数据经Origin 6.0和SAS 8.0分析和处理。

2 结果与分析

2.1 姜黄素标准曲线

以吸光度A为纵坐标,姜黄素浓度C(mg/mL)为横坐标,建立标准曲线。其方程为 $y=16.904x-0.0094$ ($R^2=0.9999$),表明在该浓度范围内,浓度和吸光度有良好线性关系。

2.2 Plackett-Burman设计确定关键影响因素

本实验以单因素实验中获得的最适提取条件为基础^[10],将其值确定为中心值,选取2⁴部分因子实验设计筛选影响姜黄素提取率的主要因素,实验设计和结果见表3。

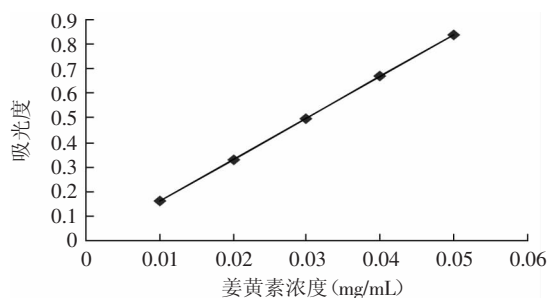


图1 姜黄素标准曲线

Fig.1 The standard curve of curcumin

表3 Plackett-Burman实验设计及结果

Table 3 The design and results of Plackett-Burman design

实验号	x_1	x_2	x_3	x_4	姜黄素提取率(%)
1	-1	-1	1	1	0.183
2	-1	-1	1	-1	0.199
3	1	1	-1	-1	0.206
4	1	-1	1	-1	0.200
5	-1	1	1	-1	0.212
6	1	-1	1	1	0.201
7	-1	0	-1	-1	0.212
8	1	-1	-1	-1	0.204
9	-1	-1	-1	-1	0.183
10	1	-1	-1	1	0.208
11	-1	0	-1	1	0.177
12	1	0	1	-1	0.214
13	1	0	-1	1	0.201
14	1	0	1	1	0.191
15	-1	-1	-1	1	0.187
16	-1	1	1	1	0.180
17	0	0	0	0	0.203
18	0	0	0	0	0.204
19	0	0	0	0	0.205
20	0	0	0	0	0.204
21	0	0	0	0	0.204

注: $x_1=(X_1-40)/10$; $x_2=(X_2-30)/10$; $x_3=(X_3-540)/180$; $x_4=(X_4-75)/10$ 。

对部分因子实验结果进行回归分析,可得姜黄素提取率一次拟合线性回归方程:

$$y=0.19962+0.00593x_1+0.00281x_2-0.00005x_3-0.0062x_4 \quad (1)$$

对式(1)进行方差分析, $F=4.32$, $p=0.0148$,说明模型在概率 $\alpha=0.05$ 水平上足够拟合实验数据。

从分析结果还可以看出:料液比(X_1)对姜黄素提取率的影响是正面的,乙醇浓度(X_4)对姜黄素提取率的影响是负面的。由此看来,微波辅助提取时需要适量浓度的溶剂以提高姜黄素提取效率,提取效率的高低还取决于溶剂中水分含量,因为水有助于姜黄的溶解,这也与Lee J Y等^[11]的研究结果相同。

采用SAS 8.0软件对各因素主效应进行分析表明(见表4),影响姜黄素提取率的实验因素主次顺序为:乙醇浓度(X_4)>料液比(X_1)>微波时间(X_2)>微波功率(X_3)。料液比(X_1)和乙醇浓度(X_4)对姜黄素提取率影响显著,而微波时间(X_2)和微波功率(X_3)对姜黄素提取率影响不显著。

表4 各因子的主要效应

Table 4 Main effects of all factors

因子	t值	Pr> t	效应次序
X ₁	2.77	0.0137	2
X ₂	1.02	0.3224	3
X ₃	-0.02	0.9815	4
X ₄	-2.90	0.0105	1

对实验数据平均值与中心点实验数据的平均值进行t-检验,T统计量检验结果表明,在方差相等和方差不等的条件下,中心实验点姜黄素提取率平均值(19.74%)和部分重复实验姜黄素提取率平均值(20.4%)差异极显著($p < 0.01$),说明实验的最优点(姜黄素提取率最大)在当前实验的设计范围之内。因此,将微波时间(X₂)和微波功率(X₄)确定在中心点,即微波时间为30s,微波功率540W,对料液比(X₁)和乙醇浓度(X₄)作进一步优化。

2.3 响应面优化

以姜黄素提取率为指标,利用中心组合设计(Central Composite Design)对影响显著的这两个独立

表5 中心组合设计及实验结果

Table 5 Experimental designs and the results of central composite design

实验号	x ₁	x ₄	姜黄素提取率(%)
1	0	0	0.204
2	0	0	0.204
3	+1	-1	0.196
4	-1	-1	0.184
5	0	-1.414	0.192
6	0	0	0.203
7	+1	+1	0.195
8	0	+1.414	0.181
9	-1.414	0	0.173
10	0	0	0.204
11	1.414	0	0.189
12	0	0	0.204
13	-1	+1	0.172

注: x₁=(X₁-40)/15; x₄=(X₄-75)/15。

表6 中心组合实验响应面分析结果

Table 6 Regression coefficients and their significances from the results of CCD

参数	估计值	标准估计误差	Pr> T
截距	0.203800	0.001053	<0.0001
x ₁	0.007204	0.000833	<0.0001
x ₄	-0.003570	0.000833	0.0036
x ₁ ²	-0.010652	0.000893	<0.0001
x ₄ x ₁	0.002750	0.001177	0.0522
x ₄ ²	-0.007901	0.000893	<0.0001

表7 中心组合实验方差分析

Table 7 Analysis of variance (ANOVA) for the model

回归	自由度	均方和	决定系数R ²	F值	Prob>F
线性	2	0.00051	0.3087	46.63	<0.0001
平方	2	0.001089	0.6501	98.21	<0.0001
交互	1	0.000030250	0.0181	5.46	<0.0001
总模型	5	0.001636	0.9768	59.03	<0.0001

的过程变量的浓度进行优化,即对料液比(X₁)和乙醇浓度(X₄)浓度进行中心组合设计,实验结果见表5。

从表6~表7分析结果可知,该模型在97.68%概率水平上回归显著,因而模型是充分的。表明该模型能解释97.68%的姜黄素提取率的变化。用多项式回归技术对实验数据拟合所得二次多项式方程为:

$$Y=0.203800+0.007204x_1-0.003570x_4-0.010652x_1^2+0.002750x_1x_4-0.007901x_4^2 \quad \text{式(2)}$$

从分析结果还可以看出,料液比和料液比与乙醇浓度的交互作用对姜黄素提取率的影响为正,而乙醇浓度、料液比的平方项和乙醇浓度的平方项对姜黄素提取率的影响为负。该二次多项式方程的三维响应面图见图2。

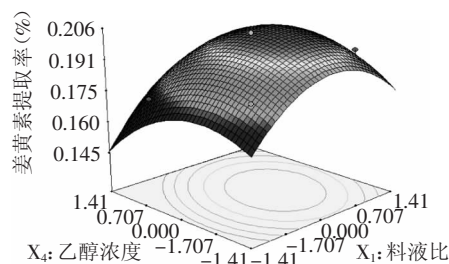


图2 料液比和乙醇浓度对姜黄素提取率的响应面图

Fig.2 The response surface plot of solid-liquid ratio and ethanol concentration to scavenging abilities of curcumin yield

姜黄大约含姜黄素0.91%~2.93%^[11],对方程(2)求导,可以得到模型的极大值处,当x₁=0.223557, x₄=-0.120864,即料液比为1:43,乙醇浓度为73%。此时模型预测的姜黄素提取率最大响应为0.2052%。为了证实模型的预测值与实测值之间的拟合程度,在上述两因子的取值处进行摇瓶验证实验,其响应值结果为0.2045% (N=3),也就是说姜黄素提取率最大响应为0.2045%,预测值与实验值之间具有良好的拟合性,表明了模型的有效性。

3 结论

以姜黄素提取率为指标,经响应面法得到微波辅助提取姜黄中姜黄素的最佳条件为:料液比为1:43,微波时间30s,微波功率540W,乙醇浓度为73%,在此条件下,姜黄素的提取率为0.2045%。从提取率来看,与有些提取工艺相比偏低^[12-13],这可能与原药材的产地、微波时间偏短使姜黄素没有充分溶解到提取溶剂中有关;但是该工艺避免了高温、强碱环境,对姜黄素的生物活性影响较小。

参考文献

- [1] Dahl T A, Mc Gowan W M, Shand M A, et al. Photokilling of bacteria by the natural dye curcumin[J]. Arch Microbiol, 1989, 151: 183-185.
- [2] Sogi D S, Sharma S, Oberoi D P S, et al. Effect of extraction parameters on curcumin yield from turmeric[J]. J Food Science and Technology, 2010, 47(3): 300-304.
- [3] 梁广, 田吉来, 邵丽丽, 等. 姜黄素的构效关系及以其为先

(下转第254页)

间的增加含量不断增加,提取时间大于50min后,多酚含量下降。图5b表示在乙醇体积分数55%、料液比1:27.5 (g:mL)的条件下,提取温度和提取时间的交互作用对得率的影响效果。得率随着提取时间的增加而增加,在达到50min之后得率有所下降;随着提取温度的升高得率有所增加,温度大于55℃时,得率的增长减缓。

由响应面二次模型的方差分析和可信度分析中可以看出,模型显著性检验 $p < 0.05$,表明该模型具有统计学意义。方程一次项中 X_1 、 X_2 、 X_3 及交互项 X_1X_2 、 X_2X_3 的影响是显著的,二次项的影响也都是显著的,说明方程的拟合是较充分的。从该方程的方差分析表可见,实验所选用的模型F值为18,表明该模型高度显著, $p < 0.0001$ 表明模型因素水平极显著。回归模型各项的方差分析结果还表明, X_1 、 X_2 、 X_3 、 X_1X_2 、 X_2X_3 、 X_1^2 、 X_2^2 、 X_3^2 、 X_4^2 项为显著项,其余不显著。相关系数值为94.74%,校正相关系数值为89.47%,失拟项不显著,说明方程的因变量与全体自变量间线性关系明显,拟合度好;模型的变异系数值为2.16,说明模型的精密度较好。综合以上各参数表明该实验方法可靠,各因素水平间设计合理,因此可用该回归模型代替实验真实点对实验结果进行分析。

2.4 工艺条件的确定

从分析结果可以看出,提取温度和乙醇体积分数是影响枣皮多酚总提取量的最主要因素,提取时间次之,选择合适的乙醇体积分数和提取温度,可获得较高的南酸枣皮多酚总提取量。对响应面结果利用软件进行最优化分析,以南酸枣皮多酚总得率最高为评价指标,结合生产实际,确定提取工艺的最佳条件如下:提取温度59℃、提取时间52min、乙醇体积分数52%、液料比30:1 (mL:g)。以此条件进行提取,得到的南酸枣皮多酚总提取量的实际值为51.916mg/g,该值与理论预测值52.968mg/g基本吻合,说明该模型具有好的分析能力,这一结果证实实验优化得到的工艺参数基本是可靠的,重现性较好。

3 结论

采用响应面分析法对南酸枣皮的多酚提取工艺进行优化,得到乙醇体积分数、提取温度、提取时间、料液比4个影响因素与南酸枣皮总多酚含量的水平编码回归方程为: $Y(\text{mg/g}) = 52.51 - 21.64X_1 + 0.68X_2 +$

$1.97X_3 + 0.49X_4 - 1.18X_1X_2 + 0.89X_1X_3 + 2.500 \times 10^{-4}X_1X_4 - 1.96X_2X_3 - 0.72X_2X_4 - 0.22X_3X_4 - 3.50X_1^2 - 2.86X_2^2 - 3.41X_3^2 - 1.85X_4^2$, $R^2 = 0.9474$,失拟项 $0.4849 > 0.05$ 不显著,表明模型能在实验范围内较准确的预测南酸枣皮多酚的得率。

实验结果表明,以乙醇为提取剂,南酸枣皮多酚得率最优条件为:提取温度59℃、提取时间52min、乙醇体积分数52%、液料比30:1 (mL:g)。在此工艺条件下南酸枣皮多酚得率可达到51.916mg/g,该值与理论预测值52.968mg/g基本吻合,说明响应面模型可预测理论得率并很好的应用于南酸枣皮多酚提取工艺条件的优化。

参考文献

- [1] 唐丽,李国玉,杨炳友,等. 广枣化学成分的研究[J]. 中草药,2009,40(4):541-543.
- [2] 任仁安. 中药鉴定学[M]. 上海:上海科学技术出版社,1984:107-109.
- [3] 中国医学百科全书编辑委员会. 中国医学百科全书[M]. 蒙医学. 上海:上海科技出版社,1992:204
- [4] 李卫民,高志. 蒙药广枣的药效学研究概况[J]. 中国民族医药杂志,1996,2(1):41.
- [5] 温俊达. 广枣的生药学鉴别[J]. 湖南中医杂志,2001,17(1):51.
- [6] 金莹,孙爱东. 植物多酚的结构及生物学活性的研究[J]. 中国食物与营养,2005(9):27-30.
- [7] Wang Hua, Gao Xiangdong, Zhou Gaochao, et al. In vitro and in vivo antioxidant activity of aqueous extract from *Choerospondias axillaris* fruit[J]. Food Chemistry. 2008, 106:888-895.
- [8] A A L Ordonez, J D Gomez, M A Vattuone, et al. Antioxidant activities of *Sechium edule* (Jacq.) Swartz extracts[J]. Food Chemistry, 2006, 97:452-458.
- [9] 李傲,沈佩仪,吴华星,等. Hartley方法优化菠萝皮多酚化合物提取工艺[J]. 食品科学,2011,32(4):131-134.
- [10] 于江傲,陈晓静,刘本国,等. 响应面法优化石榴皮中多酚的提取工艺[J]. 食品工程,2011,164-165.
- [11] 吴兰兰,汤凤霞,何传波,等. 响应面法优化龙眼核多酚提取工艺的研究[J]. 集美大学学报,2010,15(5):22-26.
- [12] 李傲,阎娜,沈佩仪,等. 响应面优化荷叶碱盐提取工艺[J]. 食品科学,2011,32(18):54-58.

(上接第250页)

- 导物的抗肿瘤化合物研究进展[J]. 化学通报,2008(2):110-117.
- [4] Sikora E, Scapagnini G, Barbagnallo M. Curcumin, inflammation, ageing and age-related diseases[J]. Immun Ageing, 2010, 7:1.
 - [5] Khanna N M. Turmeric-nature's precious gift[J]. Current Science, 1999, 76:1351-1356.
 - [6] 齐莉莉,王进波. 单体姜黄素稳定性的研究[J]. 食品工业科技, 2007, 28(1):181-182.
 - [7] Suresh D, Gurudutt K N, Srinivasan K. Degradation of bioactive spice compound: curcumin during domestic cooking[J]. Eur Food Res Technol, 2009, 228:807-812.
 - [8] 黄惠芳,吕平,俞奔驰. 姜黄素提取与精制工艺研究进展[J]. 广西热带农业, 2010(1):20-23.

- [9] Lee J Y, Kim J H. Effect of water content of organic solvent on microwave-assisted extraction efficiency of paclitaxel from plant cell culture[J]. Korean J Chem Eng, 2011, 28(7):1561-1565.
- [10] 刘彩琴,赵丹,朱敏. 姜黄素微波提取工艺及其抗氧化活性研究[J]. 食品工业科技, 2012, 33(10):302-305.
- [11] 杨旭,杨志玲,刘若楠,等. 姜黄根茎中姜黄素类成分含量的产地差异及其与环境因子的CCA分析[J]. 植物资源与环境学报, 2011, 20(3):16-23.
- [12] 陈雁虹,秦波,张媛媛,等. 姜黄素不同提取方法比较研究[J]. 中国中医药信息杂志, 2008, 15(7):55-56.
- [13] 李文杰,李国清,林丽英. 姜黄素的提取、分离与测定[J]. 海峡药学, 2007, 19(4):31-33.