

Box-Behnken 响应面法优化毛蕊花糖苷离心萃取工艺

阿依努尔·麦麦提图尔荪¹, 高莉², 霍仕霞², 闫明^{2*} (1.新疆医科大学药学院, 乌鲁木齐 830011; 2.新疆维吾尔自治区维吾尔医药研究所, 乌鲁木齐 830049)

摘要: 目的 采用离心萃取系统萃取毛蕊花糖苷提取物。方法 通过单因素试验, 研究油相中毛蕊花糖苷含量、流量、油水相比、萃取次数、转速、pH 对毛蕊花糖苷萃取率的影响。利用响应面 Box-Behnken 实验设计探究油相中毛蕊花糖苷含量、流量、转速、油水相比对毛蕊花糖苷萃取率的影响并优化最优工艺参数。结果 单因素试验结果表明: 萃取最佳条件为油相中毛蕊花糖苷含量为 $19.20 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$, 转速为 48 Hz, 流量为 $300 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$, 油相与水相比=1:1, 乙酸加入量为 2%, 萃取次数为 3 次。通过响应面分析发现各因素对毛蕊花糖苷萃取率的影响顺序为油相中毛蕊花糖苷含量>油水相比>流量>转速; 在最佳条件下: 油相中毛蕊花糖苷含量 $21.50 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 、转速 48 Hz、流量 $290 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$ 、油水相比 1:1, 3 次平行试验得到的毛蕊花糖苷萃取率分别达 82.49%, 79.38%, 81.76%, 与预测值 80.03% 的相对误差分别为 3.07%, 0.81%, 2.16%。结论 此方法能够有效对毛蕊花糖苷进行纯化, 为毛蕊花糖苷的开发利用提供理论依据。

关键词: 毛蕊花糖苷; 响应面法; Box-Behnken 设计; 离心萃取工艺

中图分类号: R284.2 文献标志码: B 文章编号: 1007-7693(2022)23-3086-06

DOI: 10.13748/j.cnki.issn1007-7693.2022.23.006

引用本文: 阿依努尔·麦麦提图尔荪, 高莉, 霍仕霞, 等. Box-Behnken 响应面法优化毛蕊花糖苷离心萃取工艺[J]. 中国现代应用药学, 2022, 39(23): 3086-3091.

Optimization of Centrifugal Extraction Technology of Verbascoside by Box-Behnken Response Surface Methodology

AYINUER Maimaitituersun¹, GAO Li², HUO Shixia², YAN Ming^{2*} (1.College of Pharmacy, Xinjiang Medical University, Urumqi 830011, China; 2.Uygur Medicine Research Institute of Xinjiang Uygur Autonomous Region, Urumqi 830049, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To extract the extract of verbascoside by centrifugal extraction system. **METHODS** The effects of content of verbascoside in oil phase, flow rate, oil-water ratio, extraction times, rotation speed, pH on the extraction rate of verbascoside were studied by single factor experiment. Box-Behnken response surface design was used to explore the effects of the content of verbascoside in oil phase, flow rate, rotation speed, oil-water ratio on the extraction rate of verbascoside and optimize the optimal process parameters. **RESULTS** The results of single factor experiment showed that the optimum extraction conditions were as follows: the content of verbascoside in oil phase was $19.20 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$, the rotation speed was 48 Hz, the flow rate was $300 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$, the ratio of oil phase to water phase was 1:1, the amount of acetic acid was 2%, and the extraction times were 3 times. Through response surface analysis, it was found that the order of factors affecting the extraction rate of verbascoside was as follows: content of verbascoside in oil phase>oil/water phase ratio>flow rate>rotation speed. Under the optimum conditions, the content of verbascoside in oil phase was $21.50 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$, the rotating speed was 48 Hz, and the flow rate was $290 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$, with oil/water ratio of 1:1, the results of three parallel experiments showed that the extraction rates of verbascoside were 82.49%, 79.38% and 81.76%, respectively, and the relative errors compared with the predicted value of 80.03% were 3.07%, 0.81% and 2.16%, respectively. **CONCLUSION** This method can effectively purify verbascoside and provide theoretical basis for the development and utilization of verbascoside.

KEYWORDS: verbascoside; response surface methodology; Box-Behnken design; technology of centrifugal extraction

肉苁蓉是列当科植物肉苁蓉 *Cistanche deserticola* Y.C. Ma 或管花肉苁蓉 *Cistanche tubulosa* (Schenk) Wight 的干燥带鳞叶的肉质茎,

是新疆的特色资源之一, 有补精血、益肾壮阳等作用^[1]。研究表明, 管花肉苁蓉的化学成分包括苯乙醇苷类、环烯醚萜苷类、木脂素类等近百种化

基金项目: “重大新药创制” 国家科技重大专项子课题(2017ZX09301045); 新疆维吾尔自治区重点实验室开放课题(2020D04022); 新疆维吾尔自治区自然科学基金项目(2022D01D25)

作者简介: 阿依努尔·麦麦提图尔荪, 女, 硕士生 E-mail: 1603175176@qq.com *通信作者: 闫明, 男, 硕士, 研究员 E-mail: 1035034573@qq.com

· 3086 · Chin J Mod Appl Pharm, 2022 December, Vol.39 No.23

中国现代应用药学 2022 年 12 月第 39 卷第 23 期

合物^[2]。毛蕊花糖苷是苯乙醇苷类主要活性成分之一^[3-5]，有抗肿瘤^[6-7]、抗炎^[8]、皮肤保护^[9]、增强记忆力、神经保护等药理作用^[10]。课题组在前期对其改善脑损伤、改善学习与记忆功能障碍、抗氧化和抗衰老、保护神经细胞等方面也开展了深入研究^[11-13]。

现阶段，大多数学者对管花肉苁蓉的研究重点主要集中在对苯乙醇苷类成分的活性研究，对于管花肉苁蓉中毛蕊花糖苷的分离纯化工艺有关的研究相对较少，目前关于毛蕊花糖苷的分离提纯方式主要有大孔吸附树脂法^[14]、膜分离法^[15]、介孔碳吸附法、分子印迹法^[16]、中压柱层析法^[17]等，但采用离心萃取法纯化毛蕊花糖苷的研究鲜见报道。

离心萃取机是一种新型、快捷、高效液-液萃取设备，它和混合澄清器、萃取塔等在工作机制上有着根本的差异^[18]，前者借助离心力场实现液-液两相的接触传质和相分离，而后两者都是靠重力实现两相分离。新型离心萃取机利用离心力分离两相物料，无须人工调节，可连续化生产，操作简单，降低人力投入成本，机内容积小，液体残留量小，萃取剂、溶剂以及洗涤剂的消耗小，从而节约了成本和溶剂的回收再生费用。近年来，被更多地运用在核燃料后处理、医药、冶金、废水处理、石化等产业，并且进展得十分迅速。而目前离心萃取装置研究多集中在对湿法冶金和化工废水处理方面的应用^[19-20]，对模拟转子和堰区域内的流场方面的研究^[21]以及对中药材萃取分离纯化的研究比较欠缺。

鉴于此，本研究采用离心萃取法处理毛蕊花糖苷提取物，期望通过改变操作参数来提高毛蕊花糖苷萃取率。本研究通过考察油相中毛蕊花糖苷含量、油水相比、流量和转速对毛蕊花糖苷萃取率的影响，基于响应面 Box-Behnken 试验，建立响应曲面模型，在模型研究基础上对毛蕊花糖苷萃取工艺参数进行优化。

1 材料和仪器

日本岛津高效液相色谱仪：LC-20AB 泵，CTO-20A 柱温箱，SPD M20A 二极管阵列检测器，SIL-20A 自动进样器，CBM-20A 系统控制器；Inertsil ODS-3V 色谱柱(250 mm×4.6 mm，5 μm)；SQP 电子天平(万分之一)、SQP-QUINTIX 35-1 CN 型分析天平(万分之一)均来自赛多利斯科学仪器

有限公司；CWL50-M 型离心萃取机(郑州天一萃取科技有限公司)；BT300S、BT100S 型蠕动泵(保定雷弗流体科技有限公司)；SHZ-ZA 水浴恒温振荡器(上海梅香仪器有限公司)。

毛蕊花糖苷对照品(中国食品药品检定研究院，批号：111530-201914；纯度：95.2%)；纯净水(娃哈哈集团有限公司)；毛蕊花糖苷提取物(实验室制备)；正丁醇、冰乙酸均为分析纯(天津市富宇精细化工有限公司)；甲酸(色谱纯，天津市大茂化学试剂厂)；甲醇(色谱纯，赛默飞世尔科技有限公司)。

2 方法

2.1 单因素试验

在油相中毛蕊花糖苷含量分别为 6.4，12.8，19.2，25.6 mg·mL⁻¹，流量分别为 100，200，300，400 mL·min⁻¹，加入乙酸浓度分别为 0，1%，2%，3%，油水相比分别为 0.6：1，0.8：1，1：1，1：1.2，萃取机转速分别为 44，46，48，50 Hz，萃取次数分别为 1，2，3，4 的条件下，进行油相中毛蕊花糖苷含量、流量、pH、相比、转速、萃取次数 6 个因素对毛蕊花糖苷萃取率的影响试验。

2.2 响应曲面优化试验

在单因素试验结果基础上，采用 Box-Behnken 响应面法设计试验，以油相中毛蕊花糖苷含量(A)、流量(B)、离心萃取机转速(C)和油水相比(D)为自变量，以毛蕊花糖苷萃取率(Y)为响应值，采用 4 因子 3 水平的响应面分析法，进行响应面分析并找出最佳工艺参数，试验设计方案见表 1。

表 1 响应面试验因素与水平

Tab. 1 Test factors and levels of response surface experiment

水平	A(油相中毛蕊花糖苷含量)/mg·mL ⁻¹	B(流量)/mL·min ⁻¹	C(转速)/Hz	D(油水相比)
-1	12.8	100	46	0.8：1
0	19.2	300	48	1：1
1	25.6	500	50	1.2：1

2.3 离心萃取试验

开启离心机使转速达到预定值，然后启动油相蠕动泵，待油相出口出液时，开启轻相蠕动泵，直至油相液体完全输入，停止蠕动泵，然后待两相出口不再有液体流出，调节泵转速旋钮，使之为零，实验结束。

2.4 毛蕊花糖苷的 HPLC 测定方法

2.4.1 色谱条件 色谱柱：Inertsil ODS-3V (250 mm×4.6 mm，5 μm)；流量：1 mL·min⁻¹；检

测波长: 330 nm; 柱温: 35 °C; 进样量 10 μ L; 流动相: 甲醇-0.2%甲酸水溶液(35 : 65)。

2.4.2 供试品溶液的制备 精密量取萃取液 1 mL 至 25 mL 量瓶中, 加流动相定容, 即得。按“2.4.1”项下色谱条件测定, 色谱图见图 1。

2.4.3 对照品溶液的制备 取毛蕊花糖苷对照品适量, 精密称定, 加流动相制成 1.034 $\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ 的对照品储备液。按“2.4.1”项下色谱条件测定, 色谱图见图 1。

2.4.4 阴性对照溶液 以流动相作为阴性对照溶液。按“2.4.1”项下色谱条件测定, 色谱图见图 1。

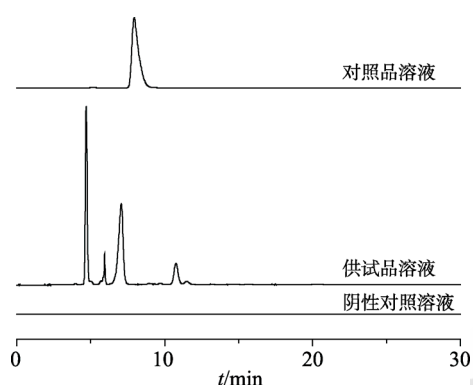


图 1 高效液相色谱图

Fig. 1 HPLC chromatograms

2.4.5 方法学考察 取“2.4.3”项下对照品储备液, 精密吸取适量, 置于多个 10 mL 量瓶中, 分别配成浓度为 10.34, 20.68, 41.36, 62.04, 82.72, 103.40, 124.08, 144.76, 165.44, 186.12 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 的对照品溶液, 用 0.45 μm 微孔滤膜滤过, 按“2.4.1”项下色谱条件测定。以对照品溶液浓度为横坐标、峰面积为纵坐标, 制作毛蕊花糖苷标准曲线, 得回归方程 $y=18\,993x+2\,575.6(r=0.999\,9)$, 结果表明毛蕊花糖苷在 10.34~186.12 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 内呈线性关系, 能够准确测定供试品中毛蕊花糖苷的含量。以信噪比 10 : 1, 3 : 1 测得定量限、检测限分别为 0.310 2, 0.155 1 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$, 方法学验证结果显示, 毛蕊花糖苷日内精密度 RSD 为 0.56%($n=6$)、日间精密度 RSD 为 1.29%($n=12$)、稳定性 RSD 为 0.17%($n=6$)、平均回收率为 99.36% [RSD% 为 0.48%($n=9$)], 均符合中国药典 2020 年版四部要求。

3 结果

3.1 离心萃取工艺单因素试验

3.1.1 油相中毛蕊花糖苷含量 采用正丁醇为萃取剂对毛蕊花糖苷提取液进行离心萃取试验, 在

转速 48 Hz, 流量 300 $\text{mL}\cdot\text{min}^{-1}$, 油水相比 1 : 1, 加入乙酸浓度 2%, 萃取次数 3 次的条件下, 选取油相中毛蕊花糖苷含量分别为 6.4, 12.8, 19.2, 25.6 $\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ 进行油相中毛蕊花糖苷含量对毛蕊花糖苷萃取率的影响试验。结果显示, 随着油相中毛蕊花糖苷含量的增大, 萃取率也随之增大, 当含量为 19.2 $\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ 时萃取率最大, 而当含量为 25.6 $\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ 时毛蕊花糖苷萃取率降低。故选择油相中毛蕊花糖苷含量为 19.2 $\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ 进行后续试验。

3.1.2 转速 转速^[22]对两相传质和分离有明显影响, 是重要操作参数, 转速升高, 则环隙里萃取剂和毛蕊花糖苷提取液混合加剧, 传质效率升高, 但转速太高可能导致物料乳化, 造成分离困难; 固定油相中毛蕊花糖苷含量为 19.2 $\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$, 流量为 300 $\text{mL}\cdot\text{min}^{-1}$, 油水相比为 1 : 1, 加入乙酸浓度为 2%, 萃取次数为 3 次, 分别考察转速 44, 46, 48, 50 Hz 对毛蕊花糖苷萃取率的影响。结果显示, 当转速为 48 Hz 时, 毛蕊花糖苷的萃取效果最好; 提高转速至 50 Hz 时, 毛蕊花糖苷的萃取效率反而下降, 故选择较优转速为 48 Hz。

3.1.3 流量 固定油相中毛蕊花糖苷含量为 19.2 $\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$, 转速为 48 Hz, 油水相比为 1 : 1, 加入乙酸浓度为 2%, 萃取次数为 3 次, 分别考察流量 100, 200, 300, 400 $\text{mL}\cdot\text{min}^{-1}$ 对毛蕊花糖苷萃取率的影响。结果显示, 在不同流量条件下毛蕊花糖苷萃取率随着流量的增大而增大, 当流量超过 300 $\text{mL}\cdot\text{min}^{-1}$ 时, 毛蕊花糖苷的萃取率降低, 故选择最佳流量为 300 $\text{mL}\cdot\text{min}^{-1}$ 。

3.1.4 相比 固定油相中毛蕊花糖苷含量为 19.2 $\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$, 流量为 300 $\text{mL}\cdot\text{min}^{-1}$, 转速为 48 Hz, 加入乙酸浓度为 2%, 萃取次数为 3 次, 考察油水相比分别为 0.6 : 1, 0.8 : 1, 1 : 1, 1 : 1.2 对毛蕊花糖苷萃取率的影响。结果显示, 当油水相比为 1 : 1 时, 毛蕊花糖苷的萃取效果最好, 因此选择较优的油水相比为 1 : 1。

3.1.5 pH 固定油相中毛蕊花糖苷含量为 19.2 $\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$, 流量为 300 $\text{mL}\cdot\text{min}^{-1}$, 转速为 48 Hz, 相比为 1 : 1, 萃取次数为 3 次, 分别选取加入乙酸浓度 0, 1%, 2%, 3% 进行 pH 对萃取率的影响试验。结果显示, 加入 2% 乙酸以后, 增大乙酸浓度, 毛蕊花糖苷的萃取率基本保持不变, 为了降低成本, 最终选择最佳加入乙酸浓度为 2%。

3.1.6 萃取次数 固定油相中毛蕊花糖苷含量为 $19.2 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ ，流量为 $300 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$ ，转速为 48 Hz ，相比为 $1:1$ ，加入乙酸浓度为 2% ，分别对萃取 $1, 2, 3, 4$ 次进行考察。结果显示，萃取第 3 次与第 4 次时毛蕊花糖苷萃取率基本不变，结合毛蕊花糖苷得率以及提取时间考虑，最终选择最佳萃取次数为 3 次。

3.2 响应曲面优化试验

根据单因素实验结果，采用 Box-Behnken 法，以毛蕊花糖苷萃取率作为响应值，进行响应面实验设计，试验设计及结果见表 2。

表 2 试验设计与结果

Tab. 2 Experimental design and results

实验号	A(油相中毛蕊花糖苷含量)/ $\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$	B(流量)/ $\text{mL} \cdot \text{min}^{-1}$	C(转速)/ Hz	D(油水相比)	萃取率/%
1	12.8	100	48	1	34.50
2	25.6	100	48	1	68.96
3	12.8	500	48	1	35.76
4	25.6	500	48	1	54.90
5	19.2	300	46	0.8	43.20
6	19.2	300	50	0.8	40.62
7	19.2	300	46	1.2	52.48
8	19.2	300	50	1.2	53.66
9	12.8	300	48	0.8	33.60
10	25.6	300	48	0.8	53.85
11	12.8	300	48	1.2	38.18
12	25.6	300	48	1.2	61.88
13	19.2	100	46	1	52.65
14	19.2	500	46	1	41.55
15	19.2	100	50	1	50.21
16	19.2	500	50	1	51.71
17	12.8	300	46	1	36.82
18	25.6	300	46	1	55.99
19	12.8	300	50	1	34.78
20	25.6	300	50	1	60.51
21	19.2	100	48	0.8	39.72
22	19.2	500	48	0.8	42.70
23	19.2	100	48	1.2	54.07
24	19.2	500	48	1.2	52.81
25	19.2	300	48	1	78.05
26	19.2	300	48	1	79.56
27	19.2	300	48	1	76.85
28	19.2	300	48	1	78.60
29	19.2	300	48	1	75.19

3.2.1 回归模型建立及方差分析 采用 Design-Expert 软件，对回归模型进行方差分析，结果见表 3。

利用 Design-Expert 8.06 软件对表 3 进行回归拟合，得到的油相中毛蕊花糖苷含量、流量、转速、相比 4 个因素的二次方程模型为： $Y=77.65+11.87A-1.72B+0.73C+4.95D-3.83AB+1.64AC+0.86$

$$AD+3.15BC-1.06BD+0.94CD-15.32A^2-14.10B^2-14.77C^2-15.69D^2。$$

由表 3 可知，二次回归模型的 F 值为 66.22 ， $P<0.0001$ ，说明该模型是极显著的，即该模型在整个回归区域内的拟合很好；失拟项 $P=0.1749>0.05$ ，模型失拟不显著，说明失拟项影响差异无统计学意义，可以较好地描述各因素与响应值之间的关系，回归方程拟合度良好。模型的 $R^2_{\text{Adj}}=0.9702$ ，说明该模型可以解释 97.02% 的响应值变化， $R^2=0.9851$ ，说明有 98.51% 的数据可用此方程解释，可用于模型分析和预测毛蕊花糖苷萃取率。

表 3 回归方程模型的方差分析

Tab. 3 Variance analysis of regression equation model

方差来源	平方和	自由度	均方	F 值	P 值
模型	5 867.18	14	419.08	66.22	<0.0001
A	1 690.95	1	1 690.95	267.20	<0.0001
B	35.65	1	35.65	5.63	0.0325
C	6.44	1	6.44	1.02	0.3302
D	294.08	1	294.08	46.47	<0.0001
AB	58.73	1	58.73	9.28	0.0087
AC	10.75	1	10.75	1.70	0.2135
AD	2.98	1	2.98	0.47	0.5039
BC	39.72	1	39.72	6.28	0.0252
BD	4.50	1	4.50	0.71	0.4131
CD	3.52	1	3.52	0.56	0.4681
A ²	1 522.62	1	1 522.62	240.60	<0.0001
B ²	1 288.78	1	1 288.78	203.65	<0.0001
C ²	1 414.15	1	1 414.15	223.46	<0.0001
D ²	1 596.82	1	1 596.82	252.33	<0.0001
残差	88.60	14	6.33		
失拟项	77.19	10	7.72	2.71	0.1749
纯误差	11.41	4	2.85		
总和	5 955.77	28			

响应面线越陡峭或者等高线越接近于椭圆形说明这 2 种因素对响应值影响越显著，反之则不显著。油相中毛蕊花糖苷含量(A)与流量(B)的响应曲面走势最陡峭，AB 项($P=0.0087$)对响应值有极显著影响。流量(B)与转速(C)的响应曲面走势比较陡峭，BC 项($P=0.0252$)对萃取率也有显著影响。其余的交互因素等高线中心趋近于圆形，交互作用不显著。根据表 3 中 F 的大小，各因素影响本试验萃取率大小的影响因素依次为 A(油相中毛蕊花糖苷含量)>D(油水相比)>B(流量)>C(转速)。

3.2.2 响应面分析 分别以油相中毛蕊花糖苷含量(A)、流量(B)、转速(C)和油水相比(D)为自变量，以毛蕊花糖苷萃取率为响应值，使用 Design-Expert 8.0.5 软件绘制响应面和等高线图，见图 2。

结果显示，当流量一定时，随着油相中毛蕊花糖苷含量的增大，毛蕊花糖苷萃取率先增大，

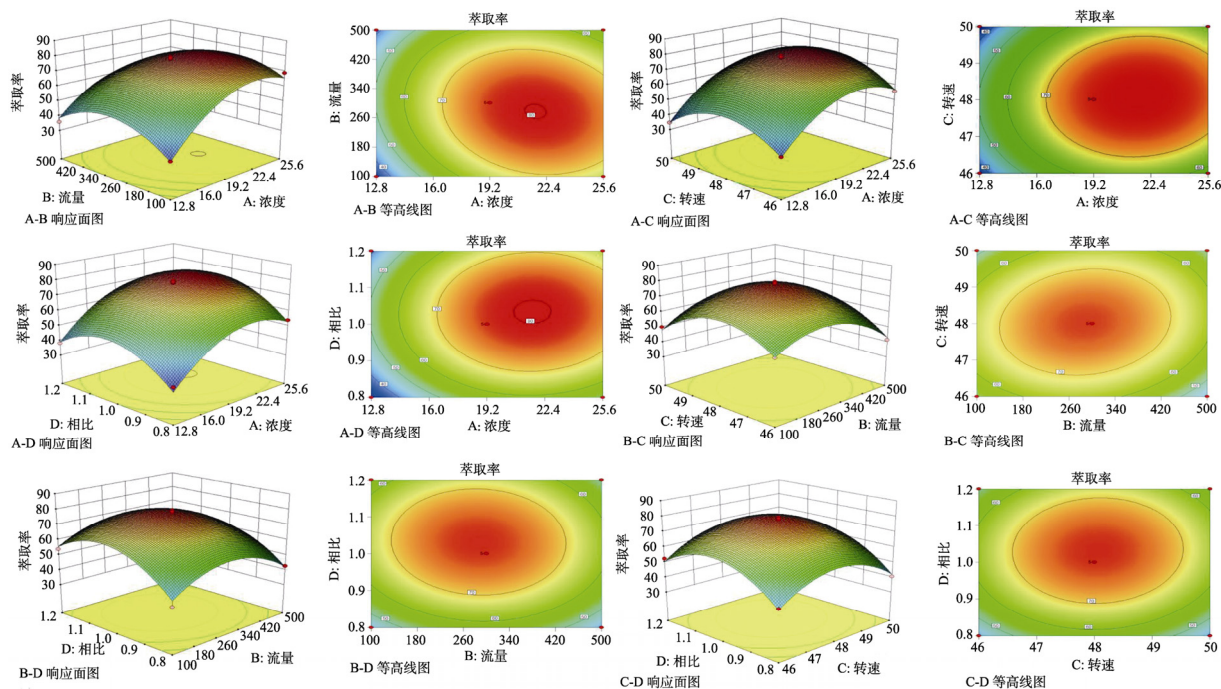


图2 各因素对毛蕊花糖苷萃取率影响的响应面图和等高线图

Fig. 2 Response surface diagram and contour diagram of the influence of various factors on the extraction rate of verbascoside

但超过一定值时,毛蕊花糖苷萃取率呈下降趋势。当油相中毛蕊花糖苷含量一定时,毛蕊花糖苷的萃取率随着流量的增加,先增大后减小。其等高线图形趋于椭圆形,表明油相中毛蕊花糖苷含量和流量之间的交互作用极显著。当油相中毛蕊花糖苷含量一定时,转速在46~50 Hz内毛蕊花糖苷的萃取率先增大后降低,萃取率最高点对应的转速为48.41 Hz;等高线图形趋于圆形,表明油相中毛蕊花糖苷含量和转速交互作用不显著。固定油相中毛蕊花糖苷含量,油水相比在0.8:1~1.2:1内毛蕊花糖苷萃取率先增高后有下降趋势;等高线图表明,油相中毛蕊花糖苷含量和油水相比之间的交互作用不显著。固定转速,流量在100~500 mL·min⁻¹内毛蕊花糖苷萃取率先增高后下降,当流量为292.23 mL·min⁻¹,萃取率达到峰值;等高线图趋于椭圆形,故流量和转速之间的交互作用极显著。随着各个因素的增大,萃取率逐渐增大,增加至一定程度时,萃取率达到最大值,但随着各个因素的继续增加,萃取率会逐渐降低。由等高线图可知,流量(B)与相比(D)的等高线中心趋近于圆形,BD项交互作用不显著。当油水相比一定时,转速在46~48.41 Hz内,毛蕊花糖苷的萃取率逐渐增高,但>48.41 Hz时,毛蕊花糖苷的萃取率反而降低;等高线图表明,油水相比和转速之间的交互作用不显著。结果见图3。

根据以上结果,运用 Design-Expert 8.0.5 软件优化所得的毛蕊花糖苷萃取最佳工艺为油相中毛蕊花糖苷含量为21.53 mg·mL⁻¹、油水相比1.02:1、转速48.41 Hz、流量292.23 mL·min⁻¹。在此条件下毛蕊花糖苷萃取率的预测值为80.03%。考虑到实际操作条件,笔者对预测的工艺参数进行了调整,拟定油相中毛蕊花糖苷含量为21.50 mg·mL⁻¹、油水相比1:1、转速48 Hz、流量290 mL·min⁻¹。

3.2.3 验证试验 取毛蕊花糖苷提取液840 mL(浓度为25.6 mg·mL⁻¹),用水稀释至1000 mL,共3份,进行验证试验,得到毛蕊花糖苷得率平均值为81.21%,与理论预测值相比,差异不显著,表明采用该方法优化的试验方案是可行的,结果见表4。

表4 验证试验结果

Tab. 4 Results of validation test

试验编号	毛蕊花糖苷萃取率/%	相对误差/%
1	82.49	3.07
2	79.38	0.81
3	81.76	2.16

4 结论

响应面法是工艺技术优化设计时常使用的方法之一,以最经济的方法,通过较少的试验次数和较短的时间对所选定的实验设计参数加以全方

位深入研究,用于同时涉及多种工艺参数的工艺优化。通过响应面法可以更有效引导对工艺参数的有效优化,也有助于提升生产效率^[23-24]。

毛蕊花糖苷为肉苁蓉中主要药效成分之一,分离纯化毛蕊花糖苷有重要意义。以往研究多为对毛蕊花糖苷的药理活性研究,对于分离纯化方法的研究较少,其中所涉及的方法存在时间长、得率低等不足之处。相比之下,离心萃取是一种通过离心力有效提取和分离液-液两相的一种技术。离心萃取机是一款新型、安全、环保、节能效率高、自动化程度较高的液-液萃取分离装置,它的主要优势是提取时间更短、溶剂使用量更小、更环保且安全性更高,可实现全自动化、实现液-液两相传质、反应、萃取、洗涤、分离等功能^[25]。

本研究将在单因素试验基础上,通过响应面法对毛蕊花糖苷的离心萃取纯化工艺加以优化,最佳工艺条件下,3次平行试验得到的毛蕊花糖苷萃取率分别为82.49%,79.38%,81.76%。本研究确定的工艺操作简单,可降低人力投入成本,实现连续化生产,能较好地纯化管花肉苁蓉中毛蕊花糖苷。

REFERENCES

- [1] 柳玥雯. 管花肉苁蓉中苯乙醇苷的研究进展[J]. 当代农机, 2020(11): 60-62.
- [2] 李佳政. 沙漠人参——肉苁蓉. 新疆农垦科技, 1989(1): 42-44, 40.
- [3] 郭梦环, 甘露, 司婧, 等. 毛蕊花糖苷的药理作用及作用机制研究进展[J]. 中成药, 2020, 42(8): 2119-2125.
- [4] KONG Z, MAO L J, HUO S X, et al. Optimization of the extraction technology of verbascoside from *Cistanche tubulosa* by Box-Behnken response surface methodology[J]. China Pharm(中国药房), 2019, 30(14): 1970-1974.
- [5] ZHOU G, GAO J M, CAO J. Application of *Cistanche* in health food[J]. J Food Saf Qual(食品安全质量检测学报), 2021(3): 898-903.
- [6] WU Y Y, ZENG M N, XU R Q, et al. Inhibitory activity of acteoside in melanoma via regulation of the ER β -Ras/Raf1-STAT3 pathway[J]. Arch Biochem Biophys, 2021(710): 108978.
- [7] MA D, WANG J, LIU L, et al. Acteoside as a potential therapeutic option for primary hepatocellular carcinoma: A preclinical study[J]. BMC Cancer, 2020, 20(1): 936.
- [8] HYANGI L, KYUNG K D, TAE-HYEON K, et al. Acteoside counteracts interleukin-1 β cellular signaling pathway[J]. Oxidative Med Cell Longev, 2021(2021): 8684725.
- [9] SI N, KANAZAWA H, OKUYAMA K, et al. Involvement of catechols in acteoside in the activation of promatrix metalloproteinase-2 and membrane type-1-matrix metalloproteinase expression via a phosphatidylinositol-3-kinase pathway in human dermal fibroblasts[J]. Biol Pharm Bull, 2018, 41(10): 1530-1536.
- [10] WU W J, WU G, CAO D Y. Acteoside presents protective effects on cerebral ischemia/reperfusion injury through targeting CCL2, CXCL10, and ICAM1[J]. Cell Biochem Biophys, 2021, 79(2): 301-310.
- [11] BAI P, PENG X M, GAO L, et al. Study on protective effect of acteoside on cellular model of Alzheimer's disease induced by okadaic acid[J]. China J Chin Mater Med(中国中药杂志), 2013, 38(9): 1323-1326.
- [12] LIN J, GAO L, HUO S X, et al. Effect of acteoside on learning and memory impairment induced by scopolamine in mice[J]. China J Chin Mater Med(中国中药杂志), 2012, 37(19): 2956-2959.
- [13] GAO L, LIN J, ZHANG F C, et al. Antioxidant effects of acteoside on aged mice induced by D-galactose[J]. Chin Pharmacol Bull(中国药理学通报), 2013, 29(10): 1440-1443.
- [14] SU Y, KONG Z, HUO S X, et al. Isolation and purification of verbascoside by macroporous resin[J]. China Med Her(中国医药导报), 2019, 16(31): 30-33, 41.
- [15] HU J P, YAN Y, YANG J H. Membrane separation technology of phenylethanoid glycosides in herba cistanches[J]. Tradit Chin Drug Res Clin Pharmacol(中药新药与临床药理), 2012, 23(4): 480-483.
- [16] PEI W J. Separation and purification of phenylglycosides from *Cistanche tubulosa* (Schenk) Wight[D]. Shihezi: Shihezi University, 2019.
- [17] ZHU Y T, LI M X, WANG J, et al. Rapid separation and purification of echinacoside and verbascoside from *Cistanche* extract by medium pressure column chromatography[J]. Pharm J Chin People's Liberation Army(解放军药学报), 2018, 34(6): 491-493.
- [18] ZHU B X, ZHANG D Y, CHEN C L. Research on large-scale preparation of high-purity lithium chloride from saline lake brine by centrifugal solvent extraction[J]. Fluid Mach(流体机械), 2018, 46(9): 55-58.
- [19] WU W H. Study on the preparation of high purity gold by centrifugal extraction[J]. Gold(黄金), 2018, 39(6): 50-55.
- [20] GAO Y F, LI R C, YANG P F, et al. Treatment of high concentration DMF wastewater by centrifugal extraction[J]. Henan Chem Ind(河南化工), 2020(1): 33-35.
- [21] DUAN W H, WANG C Q, ZENG Q. CFD simulation of gas-liquid two-phase flow in the mixing zone of a centrifugal contactor[J]. Fluid Machinery(流体机械), 2021, 49(6): 22-29.
- [22] YANG X Y, DAI J, WANG B J, et al. Advancement in two-phase flow of annular centrifugal extractor[J]. CIESC J(化工学报), 2021, 72(1): 483-494.
- [23] LI L, ZHANG S, HE Q, et al. Application of response surface methodology in experiment design and optimization[J]. Res Explor Lab(实验室研究与探索), 2015, 34(8): 41-45.
- [24] LIU G, SHI C, WANG H, et al. Optimum technique of extracting polysaccharides from *Tricholoma matsutakes* using box-behnken design-response surface methodology[J]. Chin Arch Tradit Chin Med(中华中医药学刊), 2015, 33(1): 18-20, 4.
- [25] ZHANG M M, ZHANG D Y, CHEN C L, et al. Application of centrifugal extractor in the recover of rhenium from waste acid of copper smelter[J]. Min Metall(矿冶), 2018, 27(6): 75-77, 90.

收稿日期: 2021-11-09

(本文责编: 沈倩)