

多目标遗传算法优化金荞麦的提取工艺

赵炎军¹, 谢升阳¹, 张小霞², 刘园², 吴凡¹, 蔡田恬¹, 吴巧凤^{2*} (1.浙江中医药大学附属第一医院, 杭州 310006; 2.浙江中医药大学药学院, 杭州 311400)

摘要: 目的 优选金荞麦的提取工艺。方法 选择乙醇浓度、溶媒倍数、提取时间、提取次数为考察因素, 以总黄酮和浸膏得率为考察指标进行正交试验, 运用 SPSS 19.0 软件建立总黄酮和浸膏得率的二次回归模型, 采用多目标遗传算法对其进行进一步优化, 确定金荞麦的最优提取工艺。结果 金荞麦的最佳提取条件: 加金荞麦药材 24 倍量的 61%乙醇于 80 ℃提取 3 次, 每次 1.90 h; 总黄酮和浸膏得率分别为 11.58%和 22.83%, 与遗传算法模型预测结果相符。结论 多目标遗传算法优化的效果理想, 所得工艺稳定可行, 有效成分得率高, 可用于金荞麦有效部位的提取。

关键词: 金荞麦; 提取工艺; 多目标遗传算法

中图分类号: R284.2

文献标志码: B

文章编号: 1007-7693(2018)12-1826-05

DOI: 10.13748/j.cnki.issn1007-7693.2018.12.015

引用本文: 赵炎军, 谢升阳, 张小霞, 等. 多目标遗传算法优化金荞麦的提取工艺[J]. 中国现代应用药学, 2018, 35(12): 1826-1830.

Optimization of *Fagopyrum Dibotrys* (D. Don) Hara Extraction Technology Based on Multi-objective Genetic Algorithm

ZHAO Yanjun¹, XIE Shengyang¹, ZHANG Xiaoxia², LIU Yuan², WU Fan¹, CAI Tiantian¹, WU Qiaofeng^{2*} (1.The First Affiliated Hospital of Zhejiang Chinese Medical University, Hangzhou 310006, China; 2.College of Pharmacy, Zhejiang Chinese Medical University, Hangzhou 311400, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To optimize the extraction technology of *Fagopyrum dibotrys* (D. Don) Hara. **METHODS** The ethanol concentration, solvent multiple, extraction time and extraction times were selected as the investigation factors, and the orthogonal test was carried out with the total flavonoids and extract yield. A quadratic regression model of total flavonoids and extract yield was established by SPSS 19.0 software. It was further optimized by multi-objective genetic algorithm to determine the optimal extraction process of *Fagopyrum Dibotrys* (D. Don) Hara. **RESULTS** The best extraction condition for *Fagopyrum dibotrys* (D. Don) Hara were as follows: 24 times of 61% ethanol, extracted 3 times at 80 ℃, each time was 1.90 h. The yields of total flavonoids and extracts were 11.58% and 22.83%, respectively, which were consistent with the predicted results. **CONCLUSION** The multi-objective genetic algorithm can optimize the extraction of effective parts of *Fagopyrum dibotrys* (D. Don) Hara, the process is stable, and the yield of active ingredients is high.

KEYWORDS: *Fagopyrum dibotrys* (D. Don) Hara; extraction technology; multi-objective genetic algorithm

金荞麦[*Fagopyrum dibotrys*(D. Don) Hara]系双子叶蓼科荞麦属植物, 是我国荞麦属野生种类中分布最广的一种, 药物资源丰富, 为民间常用清热解毒类中草药, 临床应用广泛^[1]。《本草拾遗》《纲目拾遗》《李氏草秘》中就有“性寒, 味酸苦, 清热解毒, 祛风利湿”的记载^[2]。近年研究发现, 金荞麦具有较好的抗氧化^[3]、降低血脂^[4]、抑制肿瘤^[5]、抗菌^[6]等作用。金荞麦的化学成分主要有黄酮类、甾体、有机酸类、萜类、苷类等, 其中黄酮类成分是其主要的药理活性成分, 主要包括槲皮素、芸香苷、木犀草素、表儿茶素、原矢车菊素等^[7-9]。

查阅金荞麦提取工艺的相关文献, 大多以黄酮含量为单一指标, 并采用正交试验设计优选提取工艺, 这种传统方法虽能快速、高效地筛选出既定范围内最优工艺, 但只能在有代表性的因素水平点组合进行试验, 优选结果无法超越所取水平的范围, 所得结论只能是试验因素水平上的最优点, 存在局部优化精确度低的缺点^[10]。遗传算法(genetic algorithm, GA)是一种模拟自然进化规律演化而来的随机化搜索方法, 具有较好的全局寻优能力, 通过概率化的寻优方法, 不断调整搜索方向, 并自动获取优化的搜索空间, 在寻求全

基金项目: 浙江省中医药科学研究基金资助项目(2017ZB029); 浙江省药学会医院药学专项科研资助项目(2016ZYY07)

作者简介: 赵炎军, 男, 主管药师 Tel: 13758162092 E-mail: smmuzhaoyan@163.com *通信作者: 吴巧凤, 女, 教授 Tel: (0571)86613605 E-mail: wqfyjm@sina.com

局最优解方面提供了方法^[11]。

在前期的金荞麦提取工艺研究中发现,金荞麦总黄酮得率一般随着浸膏得率的增加而增加,但当浸膏得率过高时,杂质的含量可能增多,影响了提取效果,因此如果能选取总黄酮得率和浸膏得率同时最高的提取条件,则是最理想的。基于遗传算法搜索效率高,可以获得一个或多个满足各目标条件整体上的最优解集,能有效避免局部优化等特点,将其应用于正交试验最优条件的选择中,有很现实的意义。所以本研究将金荞麦作为研究对象,以总黄酮得率和浸膏得率作为评价指标,采用正交设计结合多目标遗传算法优化金荞麦的提取工艺。

1 材料与仪器

1.1 材料

金荞麦[*Fagopyrum dibotrys* (D. Don) Hara], 2016年10月采自浙江省杭州市五云山,经浙江中医药大学张水利教授鉴定。芦丁对照品(中国食品药品检定研究所,含量 $\geq 98\%$,批号:100080-200707);其他试剂均为分析纯。

1.2 仪器

BSA6202S-CW 电子天平(赛多利斯科学仪器有限公司);UV-2600a 型紫外可见分光光度计(尤尼柯有限公司);HH-S 型电热恒温水浴锅(巩义市英峪予华仪器厂);SHB-III 型循环水式真空泵(巩义市英峪高科仪器厂);KQ5200 型超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司);JP-500B 打粉机(永康市久品工贸有限公司)。

2 方法与结果

2.1 正交试验设计及测定结果

根据相关文献^[12]及单因素考察结果,实验中确定乙醇浓度 $X_1(\%)$ 、溶媒倍数 $X_2(\text{倍})$ 、提取时间 $X_3(\text{h})$ 、提取次数 $X_4(\text{次})$ 的3个水平进行 $L_9(3^4)$ 正交试验,以浸膏得率 $Y_1(\%)$ 及总黄酮得率 $Y_2(\%)$ 为评价指标。寻找提取金荞麦时2个指标均最大的工艺条件。各因素水平及正交试验设计见表1~2。

2.2 金荞麦浸膏及总黄酮得率的测定

2.2.1 对照品溶液的制备 精密称取105℃烘干至恒重的芦丁对照品20 mg,置100 mL量瓶中,加适量70%乙醇,超声溶解,放冷,加70%乙醇至刻度,摇匀,即得 $0.2 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 芦丁对照品溶液。

2.2.2 供试品溶液的制备 准确称取金荞麦粗粉(药材粉碎过60目筛)5.0 g,置250 mL圆底烧瓶中,加20倍量70%乙醇,80℃水浴回流提取2次,每次1 h,趁热减压抽滤2次,合并滤液至250 mL量瓶中,加70%乙醇定容,备用。

2.2.3 线性关系考察 精密吸取芦丁对照品溶液1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 mL,置25 mL量瓶中,再加1 mL 5% NaNO_2 溶液,摇匀,放置6 min,加入1 mL 10% $\text{Al}(\text{NO}_3)_3$ 溶液,摇匀,放置6 min,再加入10 mL 4% NaOH 溶液,加蒸馏水定容,摇匀,静置15 min,随行试剂做空白,于510 nm波长处测定吸光度,得吸光度(Y)与芦丁浓度($X, \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$)的回归方程 $Y=11.589X+0.0439$, $R^2=0.9999$,结果表明芦丁在8~48 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 内具有良好的线性关系。

2.2.4 仪器精密度试验 精密吸取芦丁对照品溶液3.0 mL,按“2.2.3”项下方法在510 nm波长处连续测定6次,计算吸光度值的RSD为1.34%,表明仪器精密度良好。

2.2.5 稳定性试验 精密吸取供试液1.0 mL,按“2.2.3”项下方法在510 nm波长处,分别于0, 5, 10, 15, 20, 25, 30 min测定吸光度,计算RSD为0.30%,表明供试品溶液在30 min内稳定。

2.2.6 重复性试验 取同批次的金荞麦粗粉,按“2.2.2”项下方法平行制备6份供试品溶液,按“2.2.3”项下方法测吸光度。计算RSD为0.13%。表明该方法重复性良好。

2.2.7 加样回收率试验 精密称取适量已知含量的金荞麦粗粉9份,每份2.5 g,分别精密加入已知药材粗粉总黄酮含量80%,100%,120%的芦丁对照品。按“2.2.2”项下方法制备供试品溶液,取供试品溶液1.0 mL置25 mL量瓶中,其余操作同“2.2.3”,测定总黄酮含量,计算加样回收率。结果平均回收率为99.17%,RSD为2.23%。

2.2.8 总黄酮得率的测定 按“2.2.2”项下方法制备供试品溶液,根据“2.2.3”项下方法测定吸光度,计算总黄酮得率(总黄酮得率=提取液中总黄酮含量/原药材质量 $\times 100\%$),结果见表2。

2.2.9 浸膏得率的测定 按“2.2.2”项下方法加热回流提取,滤过,合并滤液,减压浓缩,水浴蒸发至浸膏状,于60℃常压干燥至恒质量,称量,计算浸膏得率(浸膏得率=浸膏质量/原药材质量 $\times 100\%$),结果见表2。

表 1 正交试验因素水平

Fig. 1 The factors and levels of orthogonal test

水平	因素			
	$X_1/\%$	$X_2/\text{倍}$	X_3/h	$X_4/\text{次}$
1	60	15	1	1
2	65	20	1.5	2
3	70	25	2	3

表 2 正交试验设计及测定结果

Fig. 2 Design and result of orthogonal test

试验号	因素				$Y_1/\%$	$Y_2/\%$
	X_1	X_2	X_3	X_4		
1	1	1	1	1	18.73	8.47
2	1	2	2	2	19.01	8.37
3	1	3	3	3	18.97	8.91
4	2	1	2	3	21.99	10.57
5	2	2	3	1	17.31	8.10
6	2	3	1	2	18.66	8.63
7	3	1	3	2	21.08	10.32
8	3	2	1	3	20.93	9.69
9	3	3	2	1	15.42	6.99
K_1	85.82	97.87	89.32	78.55		
K_2	91.02	87.18	86.44	91.04		
K_3	89.99	81.76	91.07	97.22		
R	5.20	16.11	4.63	18.67		

2.3 金荞麦提取工艺模型的建立

应用 SPSS 19.0 软件, 利用逐步回归法对正交试验结果进行统计分析, 结果金荞麦的浸膏得率 $\alpha_{\lambda}=0.05$, $\alpha_{\text{出}}=0.1$, $F=39.826$, $R^2=0.960$, $Y_1=0.086X_1X_4-0.203X_2-0.002X_1X_2+31.879$ 。金荞麦总黄酮得率: $\alpha_{\lambda}=0.05$, $\alpha_{\text{出}}=0.1$, $F=22.045$, $R^2=0.930$, $Y_2=0.032X_1X_3X_4-0.099X_2-0.014X_2X_3+14.798$ 。

2.4 单目标及多目标遗传算法搜索最优条件

分别以金荞麦总黄酮得率和浸膏得率的回归模型为目标函数, 使用 Matlab 2009a 外挂 SGALAB beta 5008 工具箱, 应用遗传算法搜索金荞麦提取工艺最优条件, 参数如下: 初始种群大小为 50, 单点交叉概率为 0.85, 单点变异概率为 0.01, 进化 100 代, 分别进行 10 次随机搜索。

2.4.1 金荞麦总黄酮最佳提取条件 从金荞麦总黄酮历代适应度曲线(图 1)可知, 30 代后金荞麦总黄酮得率的最大、最小、平均适应度稳定在 11.5% 水平左右, 搜索达到稳定状态。由表 3 可知, 每

次搜索对目标函数值都很逼近, 精度也很高, 所以取 10 次随机搜索方案的平均值为金荞麦总黄酮的最佳提取方案: 乙醇浓度 61.20%, 溶媒量 24 倍量, 回流提取 3 次, 每次提取 1.96 h。

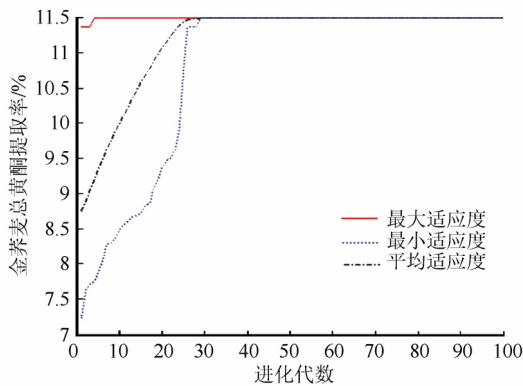


图 1 金荞麦总黄酮历代适应度曲线

Fig. 1 The fitness curve of the total flavonoids of *Fagopyrum dibotrys*(D. Don) Hara

表 3 单目标遗传算法搜索的金荞麦总黄酮得率最佳提取条件

Fig. 3 The optimal extraction conditions of total flavonoids from *Fagopyrum dibotrys* (D. Don) Hara were obtained by single target genetic algorithm

随机搜索顺序	X_1	X_2	X_3	X_4	Y_2
1	62.20	24.63	1.98	2.96	11.54
2	61.70	23.55	1.99	2.87	11.27
3	60.41	24.08	1.94	2.84	11.42
4	61.15	24.40	1.99	2.94	11.60
5	60.89	23.89	1.85	2.93	11.34
6	60.78	24.62	1.98	2.85	11.54
7	60.81	24.85	1.94	2.84	11.50
8	61.96	24.70	1.98	2.98	11.61
9	60.64	23.71	1.91	2.98	11.48
10	61.45	24.02	2.00	2.92	11.49
$\bar{x} \pm s$	61.20 $\pm$ 0.60	24.25 $\pm$ 0.46	1.96 $\pm$ 0.05	2.91 $\pm$ 0.06	11.48 $\pm$ 0.11
95%可信区间	60.02~62.38	23.35~25.14	1.86~2.05	2.80~3.02	11.26~11.69

2.4.2 金荞麦浸膏最佳提取条件 30 代后浸膏得率的最大、最小、平均适应度均稳定在 22.7% 左右, 搜索达到稳定状态, 结果见图 2。金荞麦浸膏的最佳提取方案: 乙醇浓度 60.46%, 溶媒量 24 倍量, 回流提取 3 次, 其中提取时间没有进入以金荞麦浸膏得率为目标函数的模型中, 按实际情况选择, 结果见表 4。

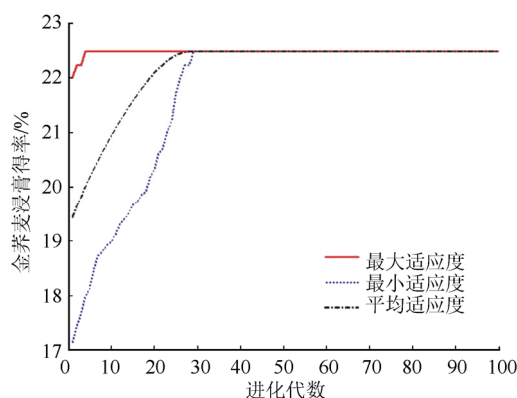


图2 金荞麦浸膏得率历代适应度曲线

Fig. 2 The fitness curve of the extract rate of *Fagopyrum dibotrys* (D. Don) Hara

表4 单目标遗传算法搜索金荞麦浸膏得率最佳提取条件

Fig. 4 The optimal extraction rate of *Fagopyrum dibotrys* (D. Don) Hara were obtained by single target genetic algorithm

随机搜索顺序	X_1	X_2	X_4	Y_1
1	60.52	24.61	2.91	22.77
2	60.57	22.86	2.98	22.68
3	60.36	24.55	2.98	22.96
4	60.17	23.61	2.92	22.76
5	60.49	23.71	2.89	22.62
6	60.80	24.49	2.98	22.83
7	60.60	23.80	2.84	22.56
8	60.45	23.96	2.96	22.81
9	60.04	23.53	2.84	22.62
$\bar{x} \pm s$	60.46 $\pm$ 0.22	23.88 $\pm$ 0.55	2.93 $\pm$ 0.05	22.74 $\pm$ 0.12
95%可信区间	60.02~60.89	22.81~24.95	2.83~3.03	22.50~22.97

2.4.3 多目标遗传算法搜索金荞麦最佳提取工艺

对金荞麦总黄酮得率和浸膏得率 2 个目标函数进行同时寻优。从图 3~4 历代适应度曲线可知，金荞麦总黄酮得率和浸膏得率的最大适应度在 10 代之后达到稳定，平均适应度在 20 代之后达到稳定。从表 5 可知，金荞麦的最佳提取方案：乙醇浓度 60.55%，溶媒量 24 倍量，回流提取 3 次，每次提取 1.90 h。

2.4.4 单、多目标遗传算法搜索金荞麦最佳提取条件的比较 由上可知，在金荞麦提取工艺的单目标搜索中，2 个评价指标各自的最佳提取条件有所不同。两者均与乙醇浓度、溶媒倍数、提取次数有关，此外金荞麦黄酮得率还与提取时间有关。在金荞麦提取工艺的多目标搜索中，采用最佳提取方案所得浸膏得率可达 22.68%，是单目标优化效果的 99.74%；所得总黄酮得率可达 11.43%，是

单目标优化效果的 99.56%。两者均达单目标最大函数值 99%以上，从专业角度上来说，其效果是理想的。

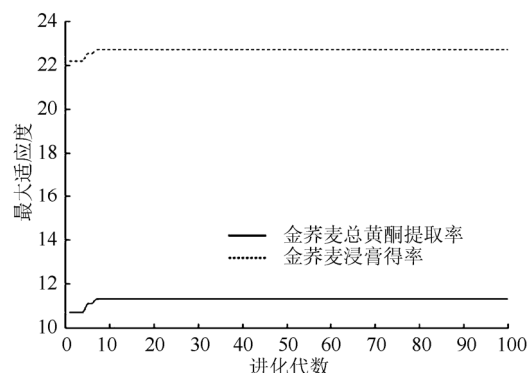


图3 多目标遗传算法最大适应度曲线

Fig. 3 The max fitness curve on multi-objective genetic algorithm

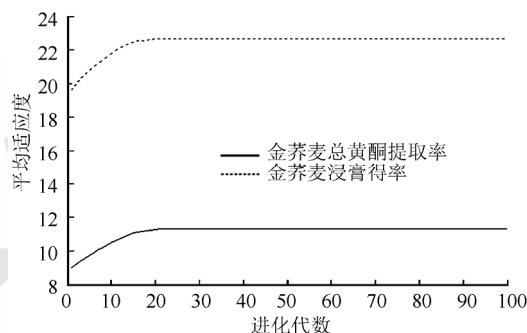


图4 多目标遗传算法平均适应度曲线

Fig. 4 The average fitness curve on multi-objective genetic algorithm

表5 多目标遗传算法随机搜索金荞麦总黄酮得率、浸膏得率的结果(n=10)

Tab. 5 Results of the extraction conditions of total flavonoids and the extraction rate of *Fagopyrum dibotrys* (D. Don) Hara were obtained by multi-objective genetic algorithm(n=10)

随机搜索顺序	X_1	X_2	X_3	X_4	Y_1	Y_2
1	60.41	23.19	1.94	2.98	22.75	11.46
2	61.16	24.97	1.87	2.91	22.67	11.49
3	60.21	23.80	1.87	2.76	22.43	11.18
4	60.76	23.81	1.96	2.99	22.78	11.57
5	60.22	24.04	1.91	2.84	22.64	11.39
6	60.53	24.28	1.81	2.87	22.65	11.31
7	61.26	23.63	1.91	2.89	22.42	11.25
8	60.00	23.87	1.92	2.95	22.88	11.56
9	60.31	23.59	1.87	2.94	22.75	11.39
10	60.60	24.35	1.95	2.97	22.84	11.65
$\bar{x} \pm s$	60.55 $\pm$ 0.41	23.95 $\pm$ 0.49	1.90 $\pm$ 0.05	2.91 $\pm$ 0.07	22.68 $\pm$ 0.15	11.43 $\pm$ 0.15
95%可信区间	59.74~	22.99~	1.81~	2.77~	22.38~	11.13~
	61.36	24.92	1.99	3.05	22.98	11.72

金荞麦提取工艺的单、多目标遗传算法比较表明,多目标遗传算法可客观地搜寻出金荞麦提取工艺的最佳提取条件,有效避免单目标遗传算法的人为主观性,从而验证了用多目标遗传算法优化提取工艺的客观合理性。根据该多目标遗传算法所得结果为依据,从实验的可操作性考虑,确定金荞麦提取工艺的最优条件:乙醇浓度 61%,溶媒量 24 倍量,回流提取 3 次,每次提取 1.90 h。

2.5 优化工艺验证

按确定的最优提取工艺:加 24 倍量的 61%乙醇,于 80 °C 提取 3 次,每次 1.90 h,重复 3 次,得金荞麦的总黄酮得率为 11.58%,RSD 为 0.54%;浸膏得率为 22.83%,RSD 为 1.05%,高于正交试验中的最高结果。

3 讨论

本研究采用逐步回归法建立金荞麦总黄酮得率、浸膏得率及提取因素的二次回归模型,并用遗传算法对目标函数进行搜寻研究,每次搜索结果都在不断靠近目标最大值,搜寻结果稳定,收敛性好,优化工艺验证所得指标与预测结果相符。所确定的工艺方法简便、准确,稳定性和重复性良好,为实现金荞麦提取工艺的多目标寻优提供了新参考。

在利用遗传算法随机搜索单目标最优提取条件时,可进行多次搜索取其最好的结果,并将优化的单目标函数值与多目标优化结果进行比较,从而判断多目标优化的效果,多目标优化所得的目标函数值都略小于单目标函数值,这是由于为获得各自目标的最大解,多目标优化时将各子目标进行折中处理,说明多目标优化中不能同时保证每个目标函数值达到最大,但能提供 Pareto 最优解集^[13]。

在单、多目标遗传算法随机搜索金荞麦最佳提取条件的 10 次结果中发现 95%可信区间的精度都较高,每次的目标函数值逼近程度都较好,最优提取条件可选择 10 次随机搜索结果的平均水平,也可选择 10 次随机搜索结果中评价指标最高的方案,试验中可根据目的和操作性的不同作出选择。本研究取随机搜索结果的平均值作为最优方案。

通过对该工艺条件的验证,结果表明遗传算法能有效优化正交试验结果,获得全局最优解,

两者结合使所得结果既有正交设计的局部高效性,又有遗传算法的全局收敛可靠性,克服了正交试验不能超越所取水平范围优选结果的缺陷,达到节省人力、物力、提高活性成分提取率、降低研究成本的目的^[14],为金荞麦资源的开发利用及进一步研究金荞麦的活性成分奠定了基础。

REFERENCES

- [1] FENG L S, CHEN F, BAI J. Study of antinicrobial *in vitro* from *Fagopyrum dibotrys* extracts [J]. Plant Sci J(植物科学学报), 2006, 24(3): 240-244.
- [2] ZHU Q Y. Research on the pharmacological and clinical application progress of *Fagopyrum dibotrys* (D.Don) Hara [J]. Med J Comm(交通医学), 2013, 27(2): 145-148.
- [3] LONG S. Studies on the active component and *in vitro* antioxidant activity of different position of *Fagopyrum dibotrys* (D.Don) Hara [D]. Hunan: Hunan Agricultural University, 2008.
- [4] HUANG X Y, WANG J Y, CHEN J F. Golden buckwheat (*Fagopyrum cymosum*) leaf tea function and mechanism of resistance to type II diabetes [J]. Lishizhen Med Mater Med Res(时珍国医国药), 2014, 25(6): 1334-1337.
- [5] CHEN H, HE L J, LIN L F. Research on the anti-tumor mechanism of *Fagopyrum cymosum* [J]. Strait Pharm J(海峡药学), 2014, 26(4): 41-42.
- [6] HUANG R S, MIN C L, YANG Y, et al. Isolation and identification of the endophytic fungi with antimicrobial activity from *Fagopyrum dibotrys* [J]. West Chin J Pharm Sci(华西药理学杂志), 2015, 30(1): 62-64.
- [7] ZHOU J Y, LIN J, DU X, et al. The research of the pharmacological effects of the *Fagopyrum dibotrys* [J]. J Hubei Univ Chin Med(湖北中医药大学学报), 2012, 14(4): 68-69.
- [8] ZHANG J, YIN Z Q, CAO P, et al. A new flavonol derivative from *Fagopyrum dibotrys* [J]. Chem Nat Comp, 2008, 44(6): 701-703.
- [9] TANG Y, JIA H F, SUN J X, et al. Studies on the active ingredients and its content change of *Fagopyrum cymosum* [J]. Hubei Agri Sci(湖北农业科学), 2014, 53(3): 672-675.
- [10] 郝云云, 吴巧凤. 基于遗传算法的香薷总黄酮提取工艺优化[J]. 中国中医药杂志, 2013, 20(2): 157-159.
- [11] 雷英杰, 张善文. MATLAB 遗传算法工具箱及应用[M]. 西安: 西安电子科技大学出版社, 2005.
- [12] RUAN H S, CAO L, CHEN Z B, et al. Optimization of extraction technology for *Fagopyrum dibotrys* by central composite design and response surface methodology [J]. Her Med(医药导报), 2013, 32(2): 226-229.
- [13] WU X J, LIU C Y, WANG X M, et al. Multi-objective optimization of ethanol extraction conditions of *Trollius chinensis* based on niched pareto genetic algorithm [J]. Chin Pharm(中国药房), 2014, 25(3): 228-231.
- [14] ZHANG Y Y, GAI Y Q, LI P, et al. Study of glycosides extraction of multi-objective optimization BYHWD by non-dominated sorting genetic algorithm [J]. Chin J Tradit Chin Med Pharm(中华中医药杂志), 2013, 28(4): 1059-1062.

收稿日期: 2017-12-28

(本文责编: 李艳芳)